

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 4 月 12 日現在

機関番号：12501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26670042

研究課題名(和文)天然オピオイド類の体内動態解明を目的としたSPECT用プローブの創製

研究課題名(英文)Studies on the synthesis of SPECT probe to elucidate the in vivo dynamics of natural opioids

研究代表者

高山 廣光(TAKAYAMA, Hiromitsu)

千葉大学・大学院薬学研究院・教授

研究者番号：90171561

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：天然由来の鎮痛性インドールアルカロイドを基盤として、SPECTで活用可能な、脳内オピオイド受容体に結合する放射性ヨウ素標識化合物の創製を計画した。MGM-15のアクリレート側鎖置換基上にヨウ素を有する新規な化合物を合成した。In vitro実験でmeta-ヨードベンジルオキシ体はモルヒネと同程度の活性を示したが、in vivo(マウス)でのTail flick法による活性評価では有効な鎮痛活性を示さなかった。そこで、MGM-15の20位にヨードアルケンを導入した誘導体を設計し、二つのルートによる全合成を試みた。現在のところ、目的物の前駆体の不斉全合成を完了した。

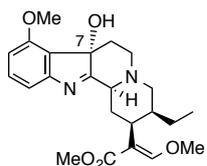
研究成果の概要(英文)：Based on a natural analgesic indole alkaloid, 7-hydroxymitragynine, we planned the creation of a radioactive iodine-labeled compound that binds to the brain opioid receptor, which will be utilized in SPECT and in vivo imaging studies. As an iodine-containing derivative for SPECT, compounds having iodine on the acrylate side chain in MGM-15 were synthesized and the agonistic activity was evaluated by in vitro experiment. As a result, it was found that the meta-iodobenzoyloxy derivative had the same degree of activity as morphine, and then the activity was evaluated by the Tail flick method in vivo (mouse). But, it did not show effective analgesic activity. Therefore, a novel derivative possessing an iodoalkene at position 20 of MGM-15 was designed. The total synthesis was attempted by two routes. At the present time, asymmetric synthesis of a precursor of the target molecule was completed.

研究分野：天然物化学

キーワード：SPECT オピオイド アルカロイド 全合成 Mitragyna

### 1. 研究開始当初の背景

現在、がん疼痛治療においてモルヒネ、オキシコドン、フェンタニルの3剤でのオピオイドローテーションが行われているが、癌性疼痛などのペインクリニック領域では、更なる鎮痛効果の向上、それらの副作用(依存性や便秘など)の低減という点で、新しい疼痛治療剤の開発が待望されている。このような状況下、我々の研究室で発見した天然由来の鎮痛性インドールアルカロイド 7-Hydroxymitragynine (**1**) をシード化合物とした構造活性相関研究を行い、経口投与(マウス)でモルヒネの240倍強力なアゴニスト活性を有する化合物を創出した。しかし、これまでにオピオイドリガンドの体内動態、特に脳内での分布相関、動態、排泄などについての詳細はほとんど明らかにされていない。



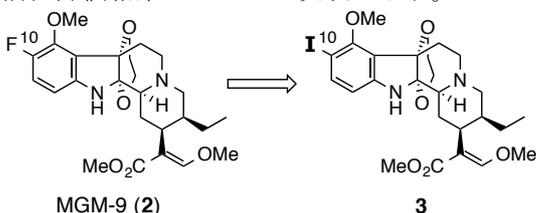
7-Hydroxymitragynine (**1**)  
(Natural indole alkaloid)

### 2. 研究の目的

天然由来の鎮痛性インドールアルカロイド 7-Hydroxymitragynine (**1**) を基盤として、SPECT で活用可能な、脳内オピオイド受容体に結合する放射性ヨウ素標識化合物の創製とこれを用いた *in vivo* イメージング研究を計画した。生きている状態での脳内オピオイドレセプターの機能を探ると共にオピオイドリガンドの動態を明らかにすることは、新規オピオイド性鎮痛薬の開発においても有益な情報をもたらすと考えられる。

### 3. 研究の方法

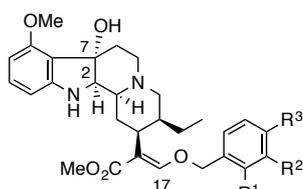
SPECT 用含ヨウ素誘導体として、まず、強い鎮痛活性を持つことが明らかとなっている誘導体 MGM-9 (**2**) のベンゼン環上の10位フッ素の代わりにヨウ素を導入した化合物 **3** を設計した(下図)。本化合物の合成と活性評価結果については次項に示す。



MGM-9 (**2**)

**3**

次にアクリレート側鎖置換基上にヨウ素を有する新規な化合物 **4-5** を設計した。これら化合物の合成と活性評価結果についても次項に示す。

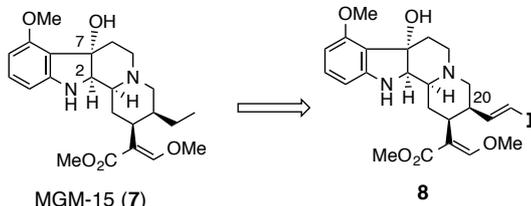


**4**: R<sup>1</sup>=I, R<sup>2</sup>=H, R<sup>3</sup>=H

**5**: R<sup>1</sup>=H, R<sup>2</sup>=I, R<sup>3</sup>=H

**6**: R<sup>1</sup>=H, R<sup>2</sup>=H, R<sup>3</sup>=I

また、新たな SPECT 用プローブとして MGM-15 (**7**) の20位にヨードアルケンを導入した誘導体 **8** を設計した(図7)。化合物 **7** は、エチル側鎖末端にヨウ素置換基を配していること、及びその Log P 値が、優れた活性を示した MGM-9 (**2**) の Log P 値と同程度であることから、*in vivo* での活性発現が期待できる。実際の合成研究については次項に記す。

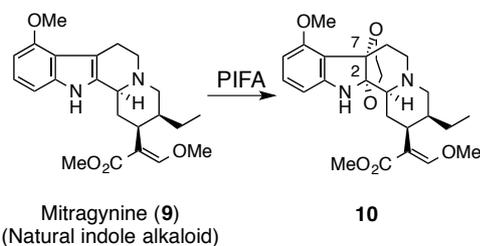


MGM-15 (**7**)

**8**

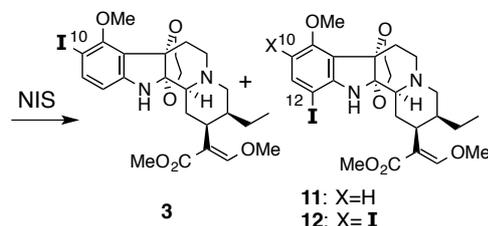
### 4. 研究成果

まず、出発原料として *Mitragayna speciosa* の主塩基 Mitragynine (**9**) を用いてヨウ素誘導体(**3**)を合成した(スキーム1)。すなわち、化合物 **9** を CH<sub>3</sub>CN 中 Ethylene glycol 存在下超原子価ヨウ素試薬の Phenyliodine bis(trifluoroacetate) (PIFA) で処理し、インドール2,3位に Ethylene glycol が架橋された化合物 **10** を定量的に得た。続いて、**10** を AcOH 中 *N*-Iodosuccinimide (NIS) と反応させ、10位にヨウ素が導入された化合物 **3** を収率13%で得た。この際、12位ヨウ素体 **11**、10,12位ジヨウ素体 **12** がそれぞれ36%、21%の収率で得られた。得られた10位ヨウ素体 **3** についてオピオイド受容体への結合能を *in vitro* 実験で評価したところ、結合能が著しく低下することが明らかとなった。



Mitragynine (**9**)  
(Natural indole alkaloid)

**10**

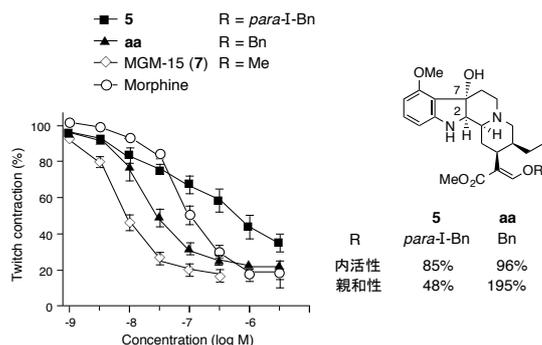


**3**

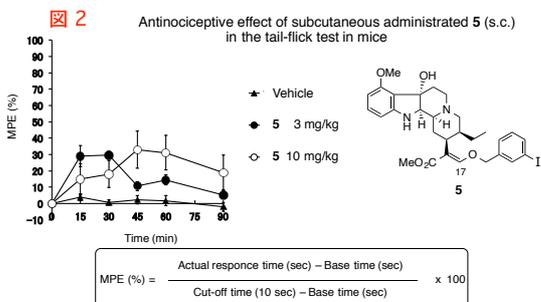
**11**: X=H  
**12**: X=I

次に、天然物(**1**)を原料に用いて、アクリレート側鎖置換基上にヨウ素を有する新規な化合物 **4-6** を合成し、*in vitro* 実験でアゴニスト活性を評価した。その結果、*meta*-ヨードベンジルオキシ体 **5** では、内活性、親和性ともに多少の低下が見られたが、*morphine* と同程度の活性を有することがわかった(図1参照)。そこで、*meta*-ヨードベンジルオキシ体 **5** について、*in vivo* でのマウスを用い

図 1 Twitch contraction induced by electrical stimulation in the guinea-pig ileum



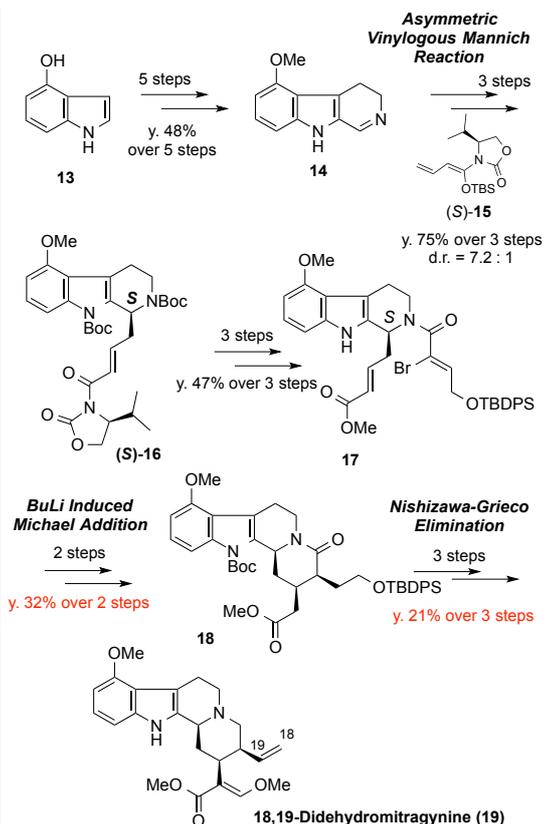
た Tail flick 法による活性評価を行った。その結果、**5** は低濃度 (3 mg/kg)、高濃度 (10 mg/kg) で有効な鎮痛活性を示さなかった (図 2 参照)。その原因として、ヨウ素導入部位の高さ、および、脂溶性の高さにより化合物が血液脳関門を通過できなかったことが推測され、本誘導体の SPECT 用プローブとしての開発を断念した。



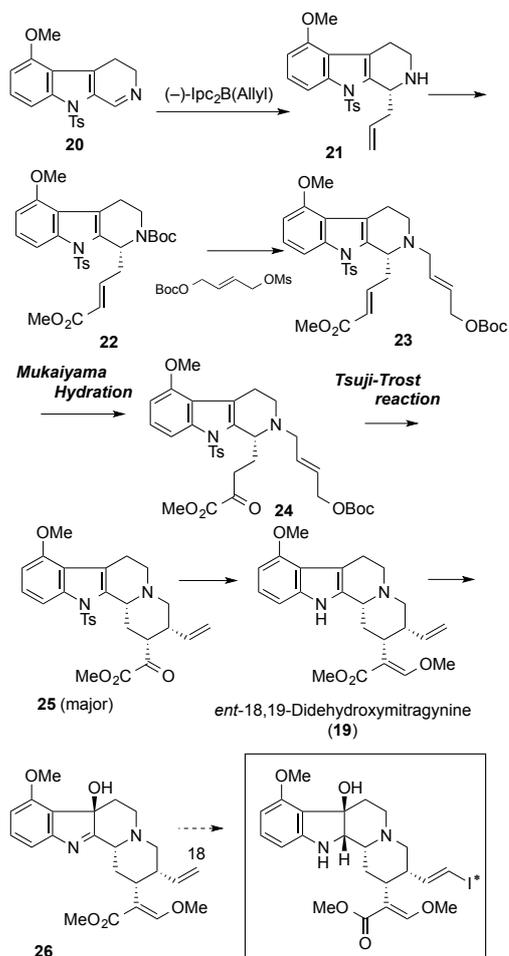
そこで、新たな SPECT 用プローブとして MGM-15 (**7**) の 20 位にヨードアルケンを導入した誘導体 **8** を設計し、全合成を試みた。

まず、4-Hydroxyindol (**13**) を出発物質として各種変換により Dihydro- $\beta$ -carboline 体 **14** を合成した。**14** と (S)-Oxazolidinone 誘導体 **15** との不斉 vinylogous Mannich 反応により、3 位が S 体である **16** を合成した。続いて、不斉補助基の除去、脱 Boc 化、側鎖の導入を行い、アミド体 **17** を合成した。次に得られた **17** の Na の Boc 化、続いてリチウム-ハロゲン交換による分子内 Michael 付加反応を行い、D 環閉環体 **18** を立体選択的に得た。その後、**18** の TBDPS 基の除去、西沢-Grieco 法を用いたオレフィンの構築、およびアミド基の還元を行い、最後に methoxymethylene 基を導入することで、誘導体標識プローブの重要中間体になる 18,19-Didehydroxymitragynine (**19**) の合成を達成した。

しかし、本合成ルートには反応の収率を含め、改善すべき課題があったため、新たな合成ルートによる 18,19-Didehydroxymitragynine (**19**) の合成を行った。すなわち、



Dihydro- $\beta$ -carboline 体 Na-Ts 誘導体 **20** に対して (-)-Ipc<sub>2</sub>B(Allyl) を用いた Brown 不斉アリル化反応により、アリル体 **21** を収率 55%、93% ee で合成することに成功した。しかし、後の合成研究により、本反応にて得られた **21** は目的としていた立体配置とは逆の絶対立体配置を持つことが判明した。本時点では望みの立体配置であると判断したためこの R 体を用いて合成研究を続けた。**21** を Metathesis 反応により  $\alpha,\beta$ -不飽和エステル体 **22** へと導き、Boc 基の脱保護、続く N-アルキル化により三級アミン **23** を合成した。三級アミン **23** を向山水和反応に付すことで、エステル  $\alpha$  位に選択的に酸素官能基を導入して **24** を得ることに成功した。続いて  $\alpha$ -ケトエステル体 **24** を辻-Trost 反応に付すことで望みの相対立体配置を有する D 環閉環体 **25** を主ジアステレオマーとして得た。次に、D 環閉環体 **25** を Wittig 反応に付し、 $\beta$ -メトキシアクリレート残基を構築した。Ts 基の脱保護を行い、ent-18,19-Didehydroxymitragynine (**19**) を合成できたので、7 位に水酸基を導入することで **26** の合成まで達成できた。今後は、18 位へのヨウ素の導入、(+)-Ipc<sub>2</sub>B(Allyl) を用い天然物と同一の絶対立体配置を持つ化合物の合成を行い、SPECT 用プローブの創製を目指す予定である。



#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

- (1) Matsumoto, K., Narita, M., Muramatsu, N., Nakayama, T., Misawa, K., Kitajima, M., Tashima, K., Suzuki, T., Takayama, H. and Horie, S. Orally Active Opioid  $\mu/\delta$  Dual Agonist MGM-16, a Derivative of the Indole Alkaloid Mitragynine, Exhibits Potent Analgesic Effect on Neuropathic Pain in Mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 348 (3), 383-392 (2014) 査読有、DOI: 10.1124/jpet.113.208108.

[学会発表] (計 3 件)

- (1) 高山廣光: 天然物の生合成に関する知見・考察をアルカロイド全合成に活かす. 徳島大学創薬先端合成化学セミナー, 2016年6月15日, 徳島大学(徳島市).
- (2) 鎌谷美友紀, 山田洋介, 小暮紀行, 北島満里子, 高山廣光, 16-(*R*)-Hydroxysempervirine の不斉全合成. 日本薬学会第136年会, 2016年3月28日, パシフィコ横浜(横浜市).
- (3) 高山廣光: 生物活性アルカロイドの探

索・合成・創薬化学研究. 日本生薬学会第62回年会(受賞講演), 2015年9月12日, 長良川国際会議場(岐阜市).

[図書] (計 2 件)

- (1) Kitajima, M. and Takayama, H. Chemistry of *Mitragyna* Alkaloids. Chapter 8, "Kratom and Other Mitragynines: The Chemistry and Pharmacology of Opioids from a Non-Opium Source", ed. by Robert B. Raffa, CRC Press, 101-116 (2015) 査読有.
- (2) Takayama, H. and Kitajima, M. Medicinal Chemistry Based on Mitragynine. Chapter 9, "Kratom and Other Mitragynines: The Chemistry and Pharmacology of Opioids from a Non-Opium Source", ed. by Robert B. Raffa, CRC Press, 117-134 (2015) 査読有.

[産業財産権]

○出願状況 (計 2 件)

名称: Opioid Analgesic

発明者: H. Takayama

権利者: 千葉大学

種類: 米国出願

番号: 15/032,070

出願年月日: 2016年4月26日

国内外の別: 国外

名称: オピオイド鎮痛剤

発明者: 高山廣光

権利者: 千葉大学

種類: 出願

番号: 特願 2015-545005

出願年月日: 2016年4月28日

国内外の別: 国内

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.p.chiba-u.jp/lab/skb/index.html>

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

高山 廣光 (HIROMITSU TAKAYAMA)

千葉大学・大学院薬学研究院・教授

研究者番号: 90171561

(2) 連携研究者

堀江 俊治 (SHUNJI HORIE)

城西国際大学・薬学部・教授

研究者番号: 50209285