

研究種目：基盤研究 (C)
研究期間：2007～2008
課題番号：19590105
研究課題名 (和文) オピオイド受容体リガンドにおける作動薬および拮抗薬の結合部位の解明
研究課題名 (英文) Investigation of binding sites of agonists or antagonists on opioid receptor ligands
研究代表者
長瀬 博 (NAGASE HIROSHI)
北里大学・薬学部・教授
研究者番号：70383651

研究成果の概要：

オピオイド化合物が受容体に結合する際、塩基性窒素が必須であることは既に知られているが、今回、窒素の非共有電子対の配向性が特に重要であることが明らかとなった。すなわち、モルヒネと同様のアキシアル方向にあると結合するが、それとは異なった方向（エクアトリアル方向）にあると結合しないか、結合しても非常に弱いことが明らかとなった。また、作動薬および拮抗薬の溶液中における窒素置換基の配向性を検討したところ、作動薬と拮抗薬とで窒素置換基が空間的に占める位置が異なることが示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
19年度	1,800,000	540,000	2,340,000
20年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・創薬化学

キーワード：生物活性物質

1. 研究開始当初の背景

オピオイド受容体は3つのタイプ(μ 、 δ 、 κ)に分類され、モルヒネは μ 受容体を選択的に結合し、依存性を発現することが知られている。依存性のない鎮痛作用を有する δ 、 κ 受容体選択的作動薬は、一般的に薬物設計に用いられるアクセサリー部位の概念(作動薬と拮抗薬の構造の違いに基づく)を用いて既に創出されている。しかし、 μ 受容体に関しては、本概念の適用例がなく、オピオイド受容体作動薬の設計において残された大きな課題であった。

2. 研究の目的

(1) 化合物が作動活性または拮抗活性を示すには、まず受容体に結合する必要がある。特にオピオイド系化合物においては、受容体に結合する際、塩基性窒素が必須であることが知られている。そこで、受容体結合に必須である塩基性窒素、特に窒素の非共有電子対の配向性に着目し、非共有電子対の配向性が受容体結合に及ぼす影響について検討する。

(2) μ 受容体においては、窒素置換基の種類により、作動活性または拮抗活性を示すことが知られている。そこで、窒素置換基の配

向性に着目し、作動活性または拮抗活性に及ぼす影響について検討する。

(3) 上記二項目を検討するに当たり、塩基性窒素の非共有電子対または置換基の配向性を固定化した化合物を合成する方法論を確立する。

3. 研究の方法

(1) 塩基性窒素を種々の方向に固定化した化合物 (①窒素置換基を縮環構造中に組み込んだ化合物、②通常は六員環 (ピペリジン環) である D 環を五員環 (ピロリジン環) とした化合物、③モルヒナン骨格の D 環 (ピペリジン環) を切断した化合物等) を設計・合成し、それら化合物のオピオイド受容体に対する結合親和性を評価する。適宜、コンピューターを用いた配座解析を行い、塩基性窒素の非共有電子対の配向性を検証する。

(2) ナルトレキソン骨格をテンプレートに、種々の窒素置換基を有する化合物を合成し、その作動活性を評価する。その後、代表的な作動薬および拮抗薬について、二次元 NMR 測定を実施し、その窒素置換基の配向性を解析する。

(3) 比較的入手容易であるナルトレキソンを出発原料に、上記二項目を検討するために必要な化合物の合成法を検討する。特に最も重要となる窒素置換基の変換方法の検討に重点を置く。

4. 研究成果

(1) 設計・合成した化合物の構造と受容体結合実験より求めた K_i 値 (受容体親和性。値が小さいほど、親和性は高い) を図 1 に示した (ND は、親和性が低く K_i 値を算出できなかったことを示す)。化合物 **1** は μ 拮抗薬であるナルトレキソンであり、基準となる。化合物 **2, 3** は窒素置換基を縮環構造中に組み込んだ化合物、化合物 **4** は D 環を五員環とした化合物、化合物 **5, 6** は D 環を切断した化合物に相当する。化合物 **1** の様に窒素の非共有電子対がアキシアルに配向すると、オピオイド受容体に強く結合した。しかし、化合物 **2, 3** の様に窒素の非共有電子対がエクアトリアルに配向すると、受容体親和性は著しく低下した。非共有電子対の配向性を詳細に比較すると、化合物 **2** では、紙面上で左方向に伸びており、通常モルヒナン誘導體 (化合物 **1** が相当) において窒素上で置換基の配向が反転した場合に非共有電子対が占める配向 (天然型エクアトリアル配向) に相当する。一方、化合物 **3** では紙面より手前方向に出ており、通常モルヒナン誘導體においては絶対にとり得ない非共有電子対の配向 (非天然型エクアトリアル配向) である。化合物 **2, 3** の比較より、窒素の非共有電子対がエクアトリアルに配向すると受容体親和性は著しく低下

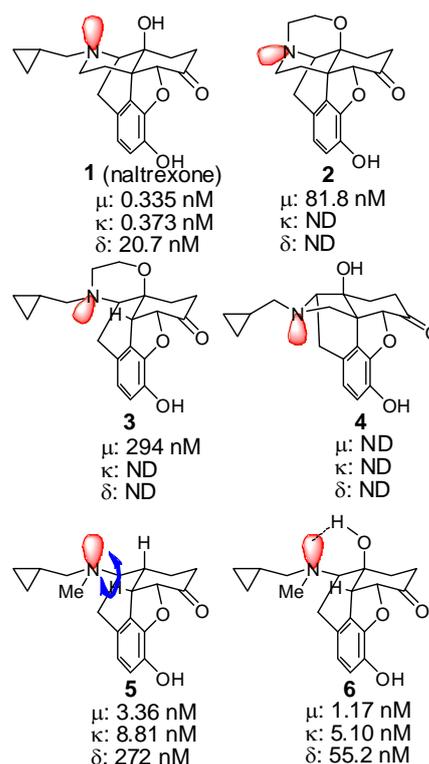


図 1. 非共有電子対の配向性と受容体親和性

するが、化合物 **2** の様な天然型エクアトリアル配向の方が、化合物 **3** の様な非天然型エクアトリアル配向よりも受容体親和性の低下の度合いは小さいことが示された。しかし、化合物 **2, 3** は縮環構造 (モルホリン環) を有しているため、その立体障害により受容体親和性が低下した可能性も考えられる。そこで化合物 **5, 6** を合成して検討した。これらの化合物においては、青矢印で示したような C-N 結合の自由回転が可能であり、自由回転することにより化合物 **1-3** に示された非共有電子対のいずれの配向もとれると考えられる。両化合物ともオピオイド受容体に結合したが、受容体親和性はナルトレキソン **1** と比較すると、化合物 **5** は約 1/10 分の 1、化合物 **6** は約 5 分の 1 と低下した。この結果は、化合物 **2, 3** の受容体親和性低下の主な原因は立体障害というよりも非共有電子対のエクアトリアル配向にあり、ナルトレキソン **1** の様なアキシアル配向性が受容体との結合に最も有利であるという先の考察を支持するものである。化合物 **6** の受容体親和性が化合物 **5** よりも高かったのは、水酸基と非共有電子対との間に分子内水素結合があり、これが C-N 結合の自由回転を抑制して受容体結合に有利な非共有電子対の配向性 (アキシアル配向) を持った立体配座の割合を多くしているためだと考えられる。更に、化合物 **4** はオピオイド受容体に全く結合しなかった。化合物 **4** では D 環が五員環であるため、その非共有電子対はアキシアル (下方向) に配向されてい

る。このような配向性は、コンピューターによる配座解析によっても指示されている。この配向性はナルトレキソン **1** の場合とほぼ正反対の方向であり、このため受容体の対応するアミノ酸（一般的にはアスパラギン酸と考えられている）と相互作用できなくなったと考えられる。以上のように、塩基性窒素の非共有電子対の配向性は、オピオイド受容体との結合に重要な役割をしていると考えられる。

(2) ナルトレキソン誘導体において、窒素置換基がシクロプロピルメチル基 (化合物 **1**)、アリル基 (化合物 **7**)、ベンジル基 (化合物 **8**) の場合には μ 受容体拮抗薬、メチル基 (化合物 **9**)、フェネチル基 (化合物 **10**) の場合には μ 受容体作動薬であることが知られている (図 2)。次項において述べる方法により合成したイソブチル体 **11** は、従来の構造活性相関からは拮抗薬であると予想されたが、作動活性を持つことを見出した。

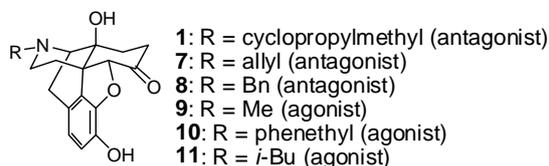
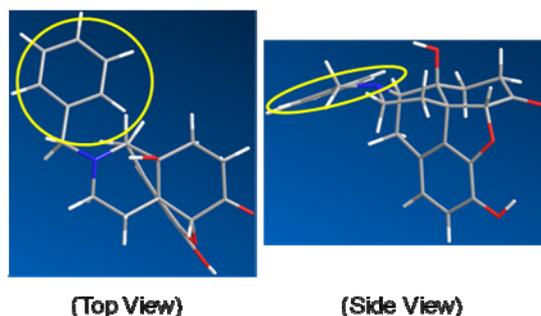


図 2. ナルトレキソン誘導体

これら化合物の 2 次元 NMR 測定を行い、観察された NOE (核オーバーハウザー効果) から溶液中での窒素置換基の配向性を推定した。化合物 **8** (拮抗薬) の窒素置換基の配向性 (模式図) を示す (図 3)。Top View からわかる様に、窒素置換基のベンゼン環 (黄色で囲んだ部分) は、塩基性窒素 (青色) よりも奥の位置 (Top View では上方) に存在すると考えられた。置換基がシクロプロピルメチル基 (化合物 **1**)、アリル基 (化合物 **7**) の場合にも、ほぼ同様の傾向を示したことより、拮抗薬の窒素置換基は、黄色で囲んだ空間的配置を占めると考えられた。なお、塩基性窒素の非共有電子対の配向性は、受容体との相互作用に有利な配向となっていると考えられた。

図 3. 化合物 **8** の窒素置換基の配向性予想



図

次に、化合物 **10** (作動薬) の窒素置換基の配向性 (模式図) を示す (図 4)。Top View からわかる様に、窒素置換基のベンゼン環 (緑色で囲んだ部分) は、拮抗薬の場合と比べて、あまり奥 (Top View では上方) には位置しておらず、また Side View からわかる様に、塩基性窒素 (青色) よりも少し低い位置に存在すると考えられた。新たに見出した作動薬 **11** においても、同様の傾向が見られた。なお、作動薬の場合においても、塩基性窒素の非共有電子対の配向性は、受容体との相互作用に有利な配向となっていると考えられた。

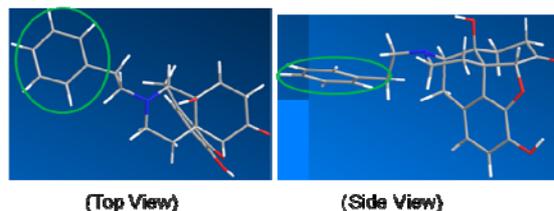


図 4. 化合物 **10** の窒素置換基の配向性予想図

拮抗薬と作動薬の窒素置換基の配向性の違いを明瞭にするため、図 3 と図 4 を重ね合わせた (図 5)。拮抗薬のベンゼン環は黄色、作動薬のベンゼン環は緑色で示した。図 5 より、拮抗薬と作動薬とで、窒素置換基が占める空間的配置が異なることがわかる。拮抗薬では、非共有電子対は受容体との相互作用が有利な配向であるため強力に結合し、かつ黄色で示した空間的配置を占めた窒素置換基が作動活性発現に必要な受容体の立体配座変化を妨げる様に働いている。一方、作動薬では、非共有電子対は受容体との相互作用が有利な配向であるため強力に結合するが、黄色で示した空間的配置に置換基が存在しないため作動活性発現に必要な受容体の立体配座変化が可能となり作用が発現すると推察している。

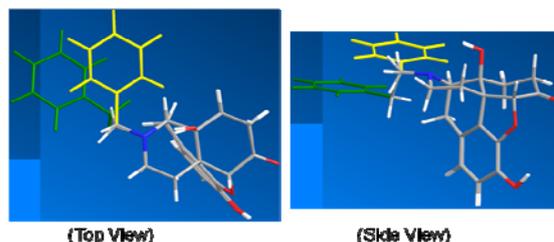
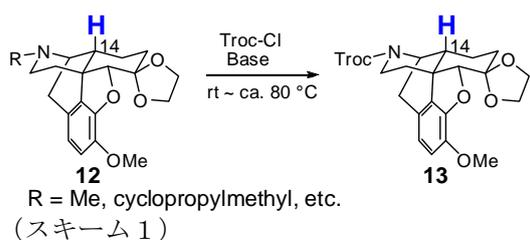
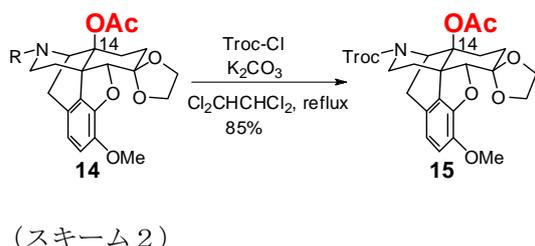


図 5. 図 3 と図 4 の重ね合わせ

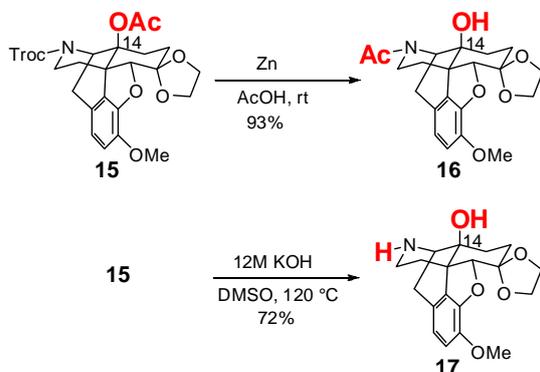
(3) ナルトレキソン **1** を出発原料とすると、上記項目を検討するには、*N*-シクロプロピルメチル基の脱アルキル化反応が重要となる。一般に、クロロギ酸エステルを用いた第三級アミンの脱アルキル化反応は有機合成上多用される方法であり、実際にモルヒナン誘導



体の合成研究にもよく用いられてきた。しかしながら、いずれの例も 14 位が水素である場合のみで (スキーム 1)、ナルトレキソン **1** の様な 14 位が水酸基である化合物に適用された報告例はない。実際に、14 位が水酸基であるナルトレキソン誘導体をスキーム 1 に示したような通常の実験条件に伏しても、反応は全く進行しない。これは、14 位水酸基と塩基性窒素の間の分子内水素結合により塩基性窒素の非共有電子対がブロックされるために、最初の塩基性窒素とクロロギ酸エステル (Troc-Cl など) の反応が進行しにくくなっているためと考察した。そこで、14 位水酸基をアセチル基で保護した化合物 **14** を用いて検討した結果、テトラクロロエタン加熱環流 (bp 147 °C) することにより、脱アルキル化反応が円滑に進行し化合物 **15** が収率 85% で得られた (スキーム 2)。N-H 体 **17** を



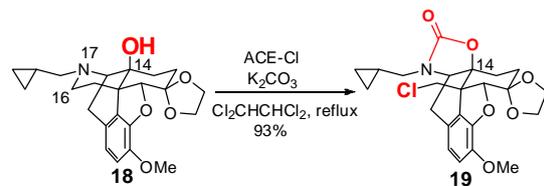
得るには化合物 **15** から Troc 基 (2, 2, 2-トリクロロエトキシカルボニル基) を脱保護する必要があるが、亜鉛/酢酸条件下で化合物 **15** の脱 Troc 化反応を行うと脱 Troc 化とともに 14 位水酸基から窒素へのアセチル基の移動が起こり化合物 **16** を与えた。目的とする N-H 体 **17** は、12M KOH 水溶液を用いて化合物 **15**



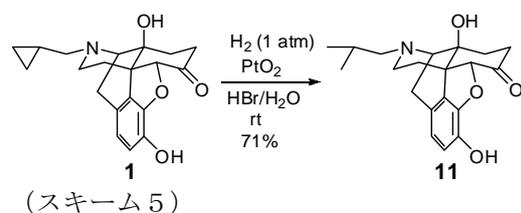
を直接加水分解することにより合成した (スキーム 3)。

また、14 位水酸基が無保護である化合物 **18** とクロロギ酸エステルの反応を詳細に検討した結果、C16-N17 結合が切断された化合物 **19** が得られることを見出した。モルヒナン誘導体において C16-N17 結合が切断されたという報告例はなく、新たな誘導体合成に有用な反応であると考えられる。

スキーム 2, 3 で示した脱シクロプロピルメチル化反応およびスキーム 4 で示した C16-N17 結合切断反応を利用し、第 (1) 項の検討に用いた化合物を合成した。



いまひとつの窒素置換基変換法として、シクロプロパン環の還元的開裂によるシクロプロピルメチル基からイソブチル基への変換方法を見出した (スキーム 5)。一般に、高度に歪んだシクロプロパン環は、遷移金属触媒を用いて還元的に開環することが可能であるが、不飽和結合やカルボニル基などの共役系により活性化されていないシクロプロパン環の開裂反応では、高温/高压の条件を必要とすることが多い。ナルトレキソン **1** のシクロプロパン環は共役系により活性化されていないが、臭化水素酸を用いることで常圧室温下という非常に穏和な条件において反応が進行することを見出した。更には、分子内に還元され得るケト基を有しているにもかかわらずケト基はほとんど還元を受けず、高い官能基選択性でシクロプロパン環の還元的開裂反応が進行した。このため、化合物 **11** はナルトレキソン **1** から 1 段階で合成可能であった。本還元法により合成された化合物 **11** は、従来の構造活性相関情報からの予想に反し作動活性を示した (第 (2) 項参照)。



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 3件)

- ① Fujii, H.; Osa, Y.; Ishihara, M.; Hanamura, S.; Nemoto, T.; Nakajima, M.; Hasebe, K.; Mochizuki, H.; Nagase, H. Synthesis of *N*-isobutylnoroxymorphone from naltrexone by a selective cyclopropane ring opening reaction. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 4978-4981. 査読あり.
- ② Fujii, H.; Imaide, S.; Watanabe, A.; Nemoto, T.; Nagase, H. Novel cleavage reaction of the C16-N17 bond in naltrexone derivatives. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 6293-6296. 査読あり.
- ③ Nagase, H.; Yamamoto, N.; Nemoto, T.; Yoza, K.; Kamiya, K.; Hirono, S.; Momen, S.; Izumimoto, N.; Hasebe, K.; Mochizuki, H.; Fujii, H. Synthesis of a stable iminium salt and propellane derivatives. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 8093-8096. 査読あり.

[学会発表] (計 11件)

- ① 藤井秀明、花村新一、山本直司、石原茉莉菜、長由美子、木綿しのぶ、長谷部光、望月英典、長瀬博. 17-置換モルヒナン誘導体の合成と薬理作用. 第29回鎮痛薬・オピオイドペプチドシンポジウム、2008.8.29-30. 富山.
- ② 花村新一、石原茉莉菜、長由美子、藤井秀明、長瀬博. PtO₂を用いる *N*-シクロプロピルメチル基の還元的開環反応. 第37回複素環討論会. 2007.10.17-19. 長野.
- ③ 今出慧海、渡邊晃生、藤井秀明、長瀬博. ナルトレキソン 16-17 位の新規切断反応を用いたオピオイド受容体リガンドの合成. 第51回日本薬学会関東支部大会. 2007.10.6. 東京.
- ④ Yamamoto, N.; Nagase, H. Synthesis of a novel opioid compound by rearrangement of morphine skeleton. 19th French-Japanese Symposium on Medicinal and Fine Chemistry, 2007.5.14. Toyama.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

長瀬 博 (NAGASE HIROSHI)
北里大学・薬学部・教授
研究者番号：70383651

(2) 研究分担者

藤井 秀明 (FUJII HIDEAKI)
北里大学・薬学部・講師
研究者番号：30458757

根本 徹 (NEMOTO TOURU)
北里大学・薬学部・講師
研究者番号：40458766

(3) 連携研究者

鈴木 勉 (SUZUKI TSUTOMU)
星薬科大学・薬学部・教授
研究者番号：90130757