

平成22年5月1日現在

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20790001

研究課題名（和文） アデノシン受容体に特異的に作用する分子の探索と開発

研究課題名（英文） Synthesis of eudistomin D analogues and its effects on adenosine receptors

研究代表者

石山 玄明 (ISHIYAMA HARUAKI)

北海道大学・大学院薬学研究院・助教

研究者番号：70333622

研究成果の概要（和文）：当研究室では、カフェインと δ -carboline および β -carboline とのハイブリッド化合物を種々合成し、アデノシンレセプター(AR)のサブタイプ A_3 に対してより選択的に親和性を示すリガンドを開発してきた。本研究では、当初開発したリガンドのピリジン環に酸素原子を介して側鎖を加えた誘導体を種々合成し、AR のそれぞれのサブタイプに対する親和性を調べた結果、親和性および選択性が低下した。一方、キサンチン骨格の *N*-Me 基を *N*-Pr 基に置換し、ピリジン環に酸素原子を介してプロピル基を導入した化合物は、当初開発したリガンドよりも AR のサブタイプ A_3 に対してより親和性および選択性が高いことを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：Two analogues of eudistomin D, a β -carboline alkaloid from a marine tunicate *Eudistoma olivaceum*, were synthesized, and their affinity and selectivity for adenosine receptor subtypes A_1 , A_{2A} , and A_3 were examined. Both compounds exhibited the moderate affinity to the receptor A_3 . On the other hand, four bis-*N*-*n*-propyl analogues in the uracil ring of two hybrid molecules of caffeine and eudistomin D were synthesized, and their affinity and selectivity for adenosine receptors A_1 , A_{2A} , and A_3 were examined. One of the compounds showed the most potent affinity for adenosine receptor A_3 subtype.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・化学系薬学

キーワード：生薬・天然物化学

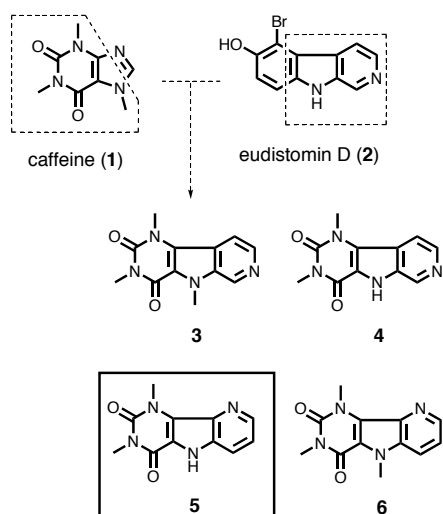
1. 研究開始当初の背景

コーヒーなどに含まれるカフェインは身近な化合物の一つであるが、その機能は多

岐にわたり、気管支拡張作用、強心・利尿・血管拡張作用、および疲労感軽減や覚醒作用などの中枢刺激作用が知られている。こ

これらの作用は、カフェイン(1)がアデノシンレセプター(AR)を遮断することが主な理由の一つと考えられているが、その詳細が未解明のものも少なくない。ARは、脳や心臓の虚血、睡眠障害、免疫障害やがんを治療するための有望な分子標的であると考えられ、国内外においてARのサブタイプ(A₁, A_{2A}, A_{2B}, A₃)に対する数多くの選択的なアゴニストおよびアンタゴニストが開発され、そのうちのいくつかは、不整脈、パーキンソン氏病、および結腸がんの治療薬として臨床試験が行われ、認知症の治療薬としても期待されている。また、カフェインの機能解明のためのリガンドの開発も行われているが、まだ十分な成果が得られておらず、選択性の高いリガンドの開発およびそのリガンドを利用したカフェインの詳細な機能解明は、重要な研究課題である。

一方、申請者らが沖縄産の群体ホヤ(*Eudistoma glaucus*)から単離したβ-カルボリンアルカロイド・ユージストミンD(2)には、カフェインと同様の筋小胞体Ca²⁺遊離促進作用およびホスホジエステラーゼ阻害作用が認められている。そこで、カフェイン(1)とユージストミンD(2)とのハイブリッド構造をもつ化合物(3~6)を分子設計し、合成し



たこれらの化合物についてARのサブタイプ(A₁, A_{2A}, A₃)に対する作用を検討した。その結果、化合物5は、サブタイプA₃に対してより選択的な親和性を示し、この親和性の強さはA₃アゴニストであるNECAに匹敵することを見いだした。

2. 研究の目的

本研究では、サブタイプA₃に対する化合物5の選択性の向上を目指し、5の種々の誘導体を合成し、サブタイプA₃の作用の機能解明に有用なリガンドの合成を目的とする。一方、当研究室で保有している天然物ライブラリーの中で、多環性アルカロイドに着目し、ARの各サブタイプ(A₁, A_{2A}, A_{2B}, A₃)に

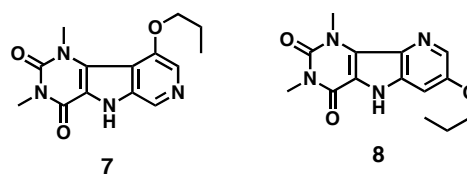
対する作用を調べ、各サブタイプに対して選択性の高いアゴニスト、アンタゴニストを開発することを目的とする。

3. 研究の方法

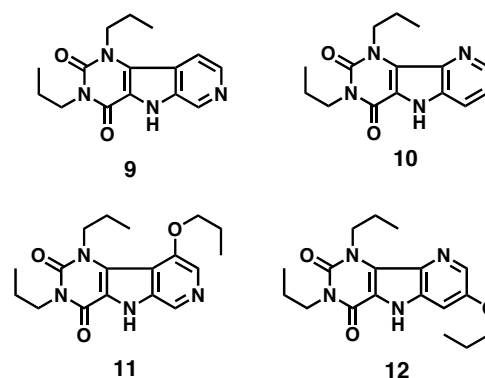
化合物5の種々の誘導体を合成し、サブタイプA₃に対してより選択的に親和性を示すリガンドを開発する。一方、当研究室で保有している天然物ライブラリーの多環性アルカロイドについて、ARの各サブタイプ(A₁, A_{2A}, A_{2B}, A₃)に対する作用を調べ、選択性の高いアゴニスト、アンタゴニストを探索する。いずれかのサブタイプに対して選択性の高いアゴニスト、アンタゴニストが見出された場合、天然物を基本骨格とした化合物の構造活性相関を検討する。

4. 研究成果

当初開発したリガンド(5)のピリジン環上の置換基の影響を調べる目的で、酸素原子を介して側鎖を加えた誘導体7および8を合成しARに対する作用を調べた。その結果、ARのサブタイプA₃に対する親和性および選択性がともに低下した(Table 1)。

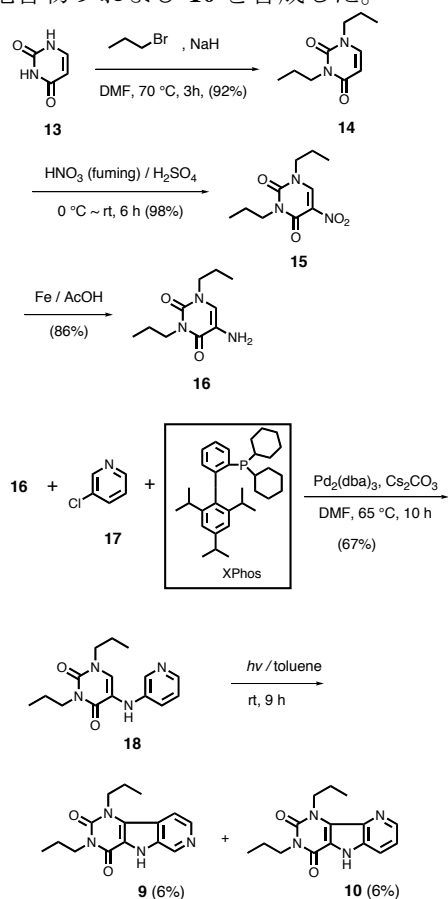


そこで、さらに構造活性相関を検討する目的で、キサンチン骨格のN-Me基をN-Pr基に置換し、ピリジン環に酸素原子を介してプロピル基を導入した化合物(9~12)を合成した。



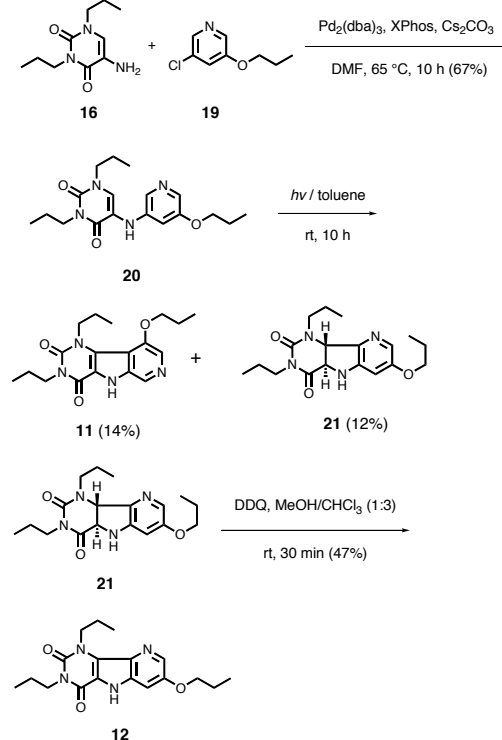
化合物9および10については、以下のよう合成した(Scheme 1)。出発物質にuracil(13)を用い、プロピル化し14を得た。化合物14にニトロ基を導入後、還元反応によりアミノ体16へ誘導した。アミノ体16と3-chloropyridine(17)とのX-Phosを用いたパラジウムカップリングを行い環化前駆体18を得た。トルエン中、光環化反応行

い化合物 **9** および **10** を合成した。



Scheme 1. Synthesis of compounds **9** and **10**.

同様に、uracil (**13**)を出発物質に使い、3-chloropyridine 誘導体との X-Phos を用いたパラジウムカップリング反応および光環化反応を鍵反応として化合物 **11** および **12** を合成した(Scheme 2)。



Scheme 2. Synthesis of compounds **11** and **12**.

Table 1. Affinities of caffeine and eudistomin D hybrid analogues (**4–12**) and its related compounds at human adenosine A_1 , A_{2A} , and A_3 receptors.

Compound	K_i^a (μM) or % inhibition ^b		
	A_1	A_{2A}	A_3
4	1.17 ± 6.2	10.1 ± 0.01	0.526 ± 0.156
5	0.379 ± 0.043	0.893 ± 0.086	0.0139 ± 0.0032
7	1.42 ± 0.14	0.214 ± 0.005	0.185 ± 0.048
8	3.91 ± 0.43	3.10 ± 1.82	0.298 ± 0.046
9	1.41 ± 0.07	3.63 ± 0.18	0.290 ± 0.040
10	0.132 ± 0.011	0.570 ± 0.041	0.0168 ± 0.0021
11	0.346 ± 0.025	0.164 ± 0.023	0.00382 ± 0.00064
12	0.921 ± 0.125	1.47 ± 0.16	0.209 ± 0.048
Caffeine	49.0 ± 19.6	18.1 ± 5.9	9%
XAC	0.009 ± 0.001	nd	nd
CGS21680	nd	0.0462 ± 0.0084	nd
NECA	nd	nd	0.020 ± 0.009

^aThe K_i values are means \pm SEM of two or three separate assays, each performed in duplicate.

^bPercentage of inhibition (%) of specific [³H]DPCPX (for A_1), [³H]CGS21680 (for A_{2A}) or [³H]NECA (for A_3) binding by test compounds at 100 μM concentration. The binding of each radioactive ligand to membranes prepared from HEK293T cells expressing human adenosine A_1 , A_{2A} , or A_3 receptors was best-fitted to a one-site model of binding with estimated K_d (dissociation constant) values of 5, 52, and 6.5 nM, respectively, and B_{max} values of 8600, 7000, and 310 fmol/mg protein, respectively. nd; not determined.

合成した化合物 **9~12** の AR に対する作用を調べた結果、化合物 **11** の AR のサブタイプ A₃ に対する親和性 (K_i 0.00328 μM) は、当初開発した化合物 **5** の親和性 (K_i 0.0139 μM) よりも高く、サブタイプ A₁ および A_{2A} に対する選択性も向上していることがわかった (Table 1)。さらに、AR のサブタイプ A₃ に対する親和性については、ポジティブコントロールの NECA (K_i 0.020 μM) よりも高いことが明らかとなった。

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 2 件)

① Ishiyama, H.; Nakajima, H.; Nakata, H.; Kobayashi, J. Synthesis of hybrid analogues of caffeine and eudistomin D and its affinity for adenosine receptors *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 4280-4284. (査読有)

② Ishiyama, H.; Ohshita, K.; Abe, T.; Nakata, H.; Kobayashi, J. Synthesis of eudistomin D analogues and its effects on adenosine receptors *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 3825-3830. (査読有)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石山 玄明 (ISHIYAMA HARUAKI)
北海道大学・大学院薬学研究院・助教
研究者番号：70333622

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし