

令和 5 年 6 月 28 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03361

研究課題名(和文)オレキシン1受容体選択的作動薬の創出と薬理作用の解明

研究課題名(英文)Development of novel selective orexin 1 receptor agonists and elucidation of the function of orexin receptors

研究代表者

長瀬 博(Nagase, Hiroshi)

筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構・名誉教授

研究者番号：70383651

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：弱いながらもOX1R作動活性を示すアゼピン骨格を有する化合物とテトラリン骨格を有する化合物を起点として、構造類似性に着目した分子設計により新たに設計したハイブリッド分子がOX1R、OX2R双方に作動活性を示すデュアル活性を示すことを見出した。ビフェニル基の有無によりOX2R作動活性が劇的に変化することから、ビフェニル基に注目した構造活性相関研究によりOX1R選択性を示すケイ皮酸アミドユニットを見出し、アミド基上の置換基を最適化することで世界初となるOX1R選択的作動薬の創出に成功した。得られたOX1R選択的作動薬は、マウスにおいて顕著な疼痛抑制効果を示すことを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

OX1Rは情動や覚醒維持に関与することが知られているが、OX1Rの活性化がどのようなメカニズムでこれら作用を制御しているかは未だ十分に明らかとされておらず、またナルコレプシーなどオレキシン関連疾患におけるOX1Rの役割も不明なままである。従って、OX1Rを選択的に活性化することの出来る作動薬は、これら課題を検討、解決する上で重要なケミカルツールとなる。

研究成果の概要(英文)：We designed and synthesized a new hybrid molecule focusing on structural similarity based on compounds with an azepine skeleton and a tetralin skeleton that showed weak but detectable OX1R agonist activity. The hybrid molecule showed an OX1R/OX2R dual agonist activity. Since the removal of the biphenyl group dramatically changes the OX2R agonist activity, we then conducted structure-activity relationship studies focusing on the biphenyl moiety and discovered a cinnamate moiety to show OX1R-selective agonist activity. Finally, with the optimization of the substituent on the amide group, we succeeded in the discovery of the first potent OX1R-selective agonist. The in vivo experiments revealed that the OX1R-selective agonist exhibits a remarkable pain-suppressing effect in mice through the activation of OX1R.

研究分野：創薬化学

キーワード：オレキシン1受容体 作動薬 オレキシン 分子設計

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ナルコレプシーは、日中の過度な眠気、情動脱力発作、入眠時幻覚、睡眠麻痺を主徴とする覚醒障害であり、未だ根治療法のない希少疾患である。ナルコレプシーは研究協力者の柳沢らにより発見された神経ペプチド「オレキシン」が後天的に欠損することで引き起こされる。オレキシンには2つの受容体 (OX1R と OX2R) が存在し、睡眠覚醒や食欲を始めとする多様な生理現象を制御している (Nat. Rev. Neurosci. 2007, 8, 171)。これまでの遺伝子改変マウスを用いた研究から、OX1R 欠損マウスは覚醒、睡眠に大きな異常は見られないが、オレキシンおよび OX2R 欠損マウスがナルコレプシー様症状を呈することが報告されており (Neuron 2003, 38, 715)、これまでのナルコレプシーの病態研究は特に OX2R が中心的に研究されてきた。一方で、OX1R のナルコレプシー病態における機能は多くが未解明である。

研究代表者らは、OX2R とナルコレプシーの強い相関に着目し、2011 年から OX2R 選択的作動薬の開発を行い、2015 年に世界に先駆けて OX2R 選択的作動薬 YNT-185 を見出した (EC₅₀ = 20.7 nM; J. Med. Chem., 2015, 58, 7931)。YNT-185 は、マウスにおける腹腔内投与にて、顕著なナルコレプシー治療効果および覚醒維持作用を示す (PNAS, 2017, 114, 5731)。また、この報告以降に開発された TAK-925 が 2018 年に臨床第I相試験へと進んだ。一方で、OX1R の作動薬はオレキシンの発見から 20 年以上経つ今なお、特許を含め報告が無く、ナルコレプシー治療薬として OX2R 作動薬が真に有効な薬物かは未だ不明である。

研究協力者の柳沢正史らは、OX1R/OX2R 二重欠損マウスが OX2R 欠損マウスより明らかに重度のナルコレプシー症状を呈すると報告しており (Neuron 2003, 38, 715)、また櫻井らは青斑核において OX1R が覚醒の維持に影響を及ぼすことを報告している (PNAS 2017, 114, E3526; J Clin Invest. 2014, 124, 604)。ナルコレプシー患者の多くはナルコレプトイド性格という特徴的な性格傾向を示し、また、うつや不安などの精神疾患を発症しやすい傾向にある。OX1R は情動の制御に重要な役割を示し、報酬系やうつ・不安、注意力障害、社会性行動の破綻などに深く関与する (Nat. Rev. Neurosci. 2014, 15, 719)。このように、OX1R がナルコレプシーの病態に深く関与しているにも関わらず、これまでの病態研究は極端に OX2R に偏っており、特にナルコレプシーの精神症状における OX1R の関与はよく分かっていない。精神疾患を含むナルコレプシー症状全般を治療し、患者の QOL を回復するためには、両方の受容体の活性化が必要な可能性もあり、OX1R の機能解明が重要な鍵を握っている。

2. 研究の目的

以上の背景に鑑み、本研究ではナルコレプシーの病態における OX1R の機能の解明に向け、オレキシン 1 受容体に対する選択的低分子作動薬の開発ならびに OX1R 作動薬の薬効検証を目的とする。

3. 研究の方法

薬物設計と合成の方法

研究代表者らのこれまでの OX₂R 選択的作動薬 YNT-185 の開発過程で、活性は弱いながらも OX_{1/2}R dual 作動活性を示す薬物 1 や OX₁R 選択的な作動活性を示す薬物 2 の取得にも成功している (特願 2019-180842)。これらのシーズを基盤として研究を進展させることで、独創的で高活性な OX₁R 作動薬の取得を目指すこととした。研究代表者が新たに見出した OX_{1/2}R dual 作動薬 1 (高活性・低選択性) と OX₁R 作動薬 2 (低活性・高選択性) は相補的な課題を有するため、構造類似性に着目したハイブリッド化により 3 を合成、評価し、誘導化の起点とすることとした。

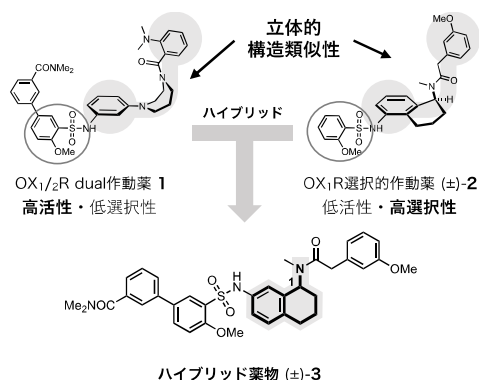


Figure 1. 分子設計

薬物の活性評価

合成した化合物は、human OXR 発現 CHO 細胞を用いた in vitro 評価系にて過渡的な Ca²⁺放出および Ca²⁺依存性の転写活性を指標として評価し、全身投与で活性を示す YNT-185 の活性値を基準とし、EC₅₀ 値 50 nM を満たした化合物について in vivo 評価に供給してマウスにおける全身投与実験を実施し、最終的に判断を行うこととした。

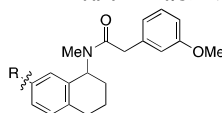
4. 研究成果

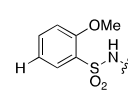
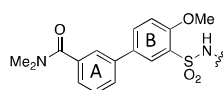
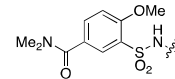
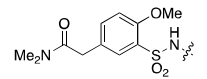
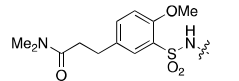
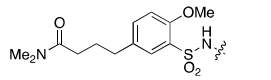
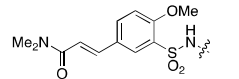
1 と 2 のハイブリッド薬物 3 を合成し、その活性を評価したところ、OX₂R にも活性を示したものの OX₁R に対し 30 nM と、1 よりも 18 倍強い OX₁R 作動活性を示すことを見出した (Table 1)。この結果は、(i) 双方の受容体がスルホンアミド基上の置換基に対し異なった認識パターン

を有し、(ii) 1-aminotetralin がより高活性な骨格であることを示唆していた。また、これまでの YNT-185 の構造活性相関研究では、ピフェニル基の A 環およびジメチルカルバモイル基は OX2R への活性発現に特に重要であることが明らかとなっていることから、主骨格を 1-aminotetralin とし、スルホンアミド部位を種々変換した誘導体を合成し、活性を評価することとした。

化合物 3 の A 環を除去し、ジメチルカルバモイル基を直結した誘導体 4 は、アニソール誘導体 2 と比較して強力なオレキシン受容体作動活性を示したが、OX1R への選択性は低下した。B 環とカルバモイル基の間にメチレンを 1 つ挿入した 5 は 4 と比較して活性および選択性ともに低下したものの、2 つメチレンを挿入した 6 は 4 よりも約 20 倍 OX1R への選択性が向上した。6 の炭素鎖をさらに伸長した 7 は OX1R への選択性が低下した。これらの結果より、カルボニル基と B 環の間のスペーサー長が伸長するにつれて OX2R 作動活性は低下するが、3 炭素まで伸長すると再び活性が増強に転じることが明らかになった。OX1R 選択性の優れる 6 について、炭素鎖を二重結合にて固定した誘導体 8 へと変換したところ、OX1R 作動活性は維持しながらも OX2R 選択性が向上することが分かった。興味深いことに、ピフェニル基 A 環を変換した誘導体はいずれも OX2R に対する作動活性は大きく変動したのに対し、OX1R に対する作動活性は同程度の値を示すことがわかった。このことは、既存のピアリルスルホンアミドユニットのうちの A 環が、特に OX2R と効率的な相互作用を形成に寄与していることを示唆している。

Table 1. ピフェニル部位の構造活性相関研究



Compounds	R ^a	EC ₅₀ (nM) [E _{max} (%)] OX ₁ R	OX ₂ R	OX ₂ R/ OX ₁ R
2		1,496	8,551	5.72
3		30.7	1.51	0.0493
4		606	146	0.241
5		1,040	192	0.185
6		1,759	6,410	3.64
7		831	1,020	1.23
8		1,279	> 10,000	-

続いて、OX1R 選択性を示した 8 について、カルバモイル基の構造最適化を実施した。3 級アミドを 2 級アミド (9) や 1 級アミド (10) へと変換したところ、OX1R 作動活性は 2 倍以上向上した。特に OX1R 選択性の優れる 2 級アミドを起点とし、置換基の検討を行った。メチル基を n-ブチル基 (11) とすると OX1R 作動活性はやや低下した一方、メトキシエチル基 (12) を導入するとわずかに活性が向上した。このことは、アミド基周辺の受容体ポケットにヘテロ原子を介して相互作用可能なアミノ酸残基が存在することを示唆していた。そこで、酸素原子の代わりに窒素原子を有するエチレンジアミン基 (13) を導入したところ、OX1R 作動活性はさらに向上した。アミノ基の導入により劇的な活性向上が見られたことから、最適な配向について調べるために環形成による塩基性窒素原子の固定を試みた。3-ピリジル誘導体 14 としたところ、両受容体に対して作動活性が向上したものの、13 よりも OX1R 作動活性は約 6 倍向上していた。一方で、窒素原子の位置が異なる 2-ピリジル誘導体 15 では OX1R 作動活性は 3-ピリジル誘導体 14 よりも約 5 倍低下した。一方 4-ピリジル誘導体 16 は、OX2R 作動活性は維持しながらも OX1R 作動活性が向上し、これまでで最も強い活性を示す OX1R 選択的作動薬であることがわかった。化

化合物 16 のアミド窒素原子にメチル基を導入した誘導体 17 や窒素原子を炭素に置換した誘導体 18 ではその活性は大きく低下したことから、アミド基の配座がピリジン環の窒素原子の配向を制御し、受容体との相互作用を補助していることが示唆された。

Table 2. アミド基上置換基の構造活性相関研究

Compounds	R ^a	EC ₅₀ (nM) [E _{max} (%)]	OX ₂ R/ OX ₁ R	Compounds	R ^a	EC ₅₀ (nM) [E _{max} (%)]	OX ₂ R/ OX ₁ R
8		1,279	> 10,000	14		43.4	295
9		501	> 10,000	15		201	955
10		581	7,010	16		15.3	229
11		573	-	17		72.8	673
12		476	-	18		472	-
13		271	2,411				

世界初となる OX1R 選択的作動薬 16 を得ることができたため、OX1R の機能として知られる鎮痛効果をモデル系に設定し、マウスにおける *in vivo* 薬理評価を行った。完全フロイトアジュバントを処置することで慢性炎症疼痛を誘発したマウスに対し、16 を皮下投与し、ピンチャー試験により鎮痛効果を調べたところ、16 を 40, 60 mg/kg 投与した際に顕著な鎮痛効果が確認された。この鎮痛効果は、OX1R を欠損したマウスでは確認されなかったことから、16 は OX1R を活性化することで鎮痛作用を発現していることが明らかとなった。

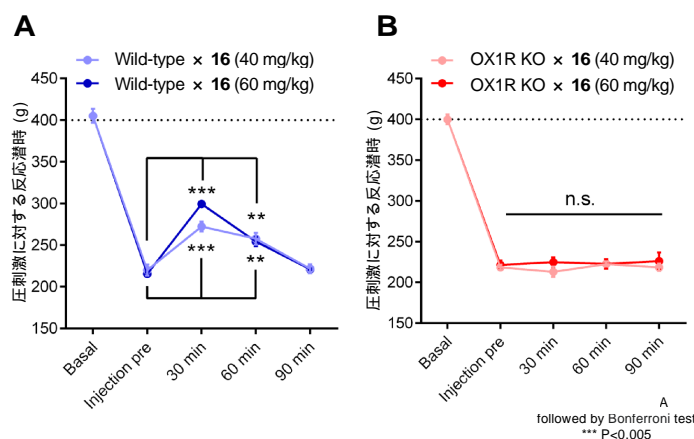


Figure 2. (A) 野生型マウスに完全フロイトアジュバントを処置した慢性炎症疼痛モデルにおける化合物 16 の鎮痛効果、(B) OX1R 欠損マウスに完全フロイトアジュバントを処置した慢性炎症疼痛モデルにおける化合物 16 の鎮痛効果

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Iio Keita, Saitoh Tsuyoshi, Ohshita Ryuichiro, Hino Tsubasa, Amezawa Mao, Takayama Yoshiaki, Nagumo Yasuyuki, Yamamoto Naoshi, Kutsumura Noriki, Irukayama-Tomobe Yoko, Ishikawa Yukiko, Tanimura Ryuji, Yanagisawa Masashi, Nagase Hiroshi	4. 巻 60
2. 論文標題 Discovery of orexin 2 receptor selective and dual orexin receptor agonists based on the tetralin structure: Switching of receptor selectivity by chirality on the tetralin ring	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 128555 ~ 128555
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmcl.2022.128555	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hino Tsubasa, Saitoh Tsuyoshi, Nagumo Yasuyuki, Yamamoto Naoshi, Kutsumura Noriki, Irukayama-Tomobe Yoko, Ishikawa Yukiko, Tanimura Ryuji, Yanagisawa Masashi, Nagase Hiroshi	4. 巻 59
2. 論文標題 Design and synthesis of novel orexin 2 receptor agonists based on naphthalene skeleton	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 128530 ~ 128530
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmcl.2022.128530	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Iio Keita, Hashimoto Kao, Nagumo Yasuyuki, Amezawa Mao, Hasegawa Taisei, Yamamoto Naoshi, Kutsumura Noriki, Takeuchi Katsuhiko, Ishikawa Yukiko, Yamamoto Hikari, Tokuda Akihisa, Sato Tetsu, Uchida Yasuo, Inoue Asuka, Tanimura Ryuji, Yanagisawa Masashi, Nagase Hiroshi, Saitoh Tsuyoshi	4. 巻 66
2. 論文標題 Design and Synthesis of Orexin 1 Receptor-Selective Agonists	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 5453 ~ 5464
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jmedchem.2c01773	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 0件／うち国際学会 4件）

1. 発表者名 Mao Amezawa; Tsuyoshi Saitoh; Yukiko Ishikawa; Yoko Irukayama; Emi Hasegawa; Hiroaki Gouda; Naoshi Yamamoto; Noriki Kutsumura; Yasuyuki Nagumo; Sakurai Takeshi; Masashi Yanagisawa; Hiroshi Nagase
2. 発表標題 Discovery of novel orexin receptor antagonists with 1,3,5-trioxazatriquinane skeleton
3. 学会等名 The 2021 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem)(国際学会) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Mao Amezawa; Jumpei Horiuchi; Tsuyoshi Saitoh; Ryuichiro Ohshita; Naoshi Yamamoto; Yasuyuki Nagumo; Yukiko Ishikawa; Yoko Irukayama; Emi Hasegawa; Noriki Kutsumura; Ryuji Tanimura; Sakurai Takeshi; Masashi Yanagisawa; Hiroshi Nagase
2. 発表標題 Design and Synthesis of Novel Orexin Receptor Antagonists with 1,3,5-Trioxazatriquinane skeleton
3. 学会等名 AIMECS2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Keita Iio, Tsuyoshi Saitoh, Ryuichiro Ohshita, Tsubasa Hino, Mao Amezawa, Sayaka Ohrui, Takahiro Okada, Yasuyuki Nagumo, Naoshi Yamamoto, Yukiko Ishikawa, Yoko Irukayama-Tomobe, Noriki Kutsumura, Masashi Yanagisawa, Hiroshi Nagase
2. 発表標題 Design and Synthesis of Novel Orexin Receptor Dual Agonists with Tetralin Skeleton
3. 学会等名 AIMECS2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 橋本佳応、南雲康行、飯尾啓太、齊藤夕貴、石川有紀子、沓村憲樹、櫻井武、柳沢正史、斉藤毅、長瀬博
2. 発表標題 オレキシン1受容体を介する疼痛制御メカニズムの解析
3. 学会等名 日本薬学会第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 長谷川大晟、飯尾啓太、石川有紀子、沓村憲樹、柳沢正史、長瀬博、斉藤毅
2. 発表標題 オレキシン1受容体選択的作動薬の設計と合成
3. 学会等名 日本薬学会第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 栗林利明、雨澤真櫻、岡田卓大、大下隆一郎、山本直司、南雲康行、沓村憲樹、入鹿山容子、石川有紀子、柳沢正史、長瀬博、斉藤毅
2. 発表標題 配座制御に基づく新規テトラリン型OX2R選択的作動薬の創製
3. 学会等名 日本薬学会第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 飯尾啓太、斉藤毅、橋本佳応、南雲康行、雨澤真櫻、長谷川大晟、石川有紀子、山本直司、沓村憲樹、柳沢正史、長瀬博
2. 発表標題 選択的オレキシン1受容体作動薬の設計と合成
3. 学会等名 第39回メディシナルケミストリーシンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 雨澤真櫻、斉藤毅、岡田卓大、大下隆一郎、山本直司、南雲康行、沓村憲樹、入鹿山容子、石川有紀子、柳沢正史、長瀬博
2. 発表標題 2-メチルテトラリン誘導体を用いたオレキシン受容体作動薬の開発
3. 学会等名 第66回日本薬学会関東支部大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 K. Hashimoto, Y. Nagumo, K. Iio, Y. Saito, Y. Ishikawa, N. Kutsumura, T. Sakurai, M. Yanagisawa, T. Saitoh, H. Nagase
2. 発表標題 Analysis of orexinergic function in chronic pain-like states
3. 学会等名 The 11th Annual WPI-IIIIS Symposium (国際学会)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	南雲 康行 (Nagumo Yasuyuki) (00459661)	国立研究開発法人国立がん研究センター・研究所・主任研究員 (82606)	
研究 分担者	斉藤 毅 (Saitoh Tsuyoshi) (80609933)	筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構・准教授 (12102)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------