

平成 29 年 6 月 15 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26860076

研究課題名(和文) オピオイド 受容体リガンドにおける側鎖の最適配向の明確化とその応用

研究課題名(英文) Clarification of the optimal orientation and length of the side chain in opioid kappa receptor ligands and its application

研究代表者

山本 直司 (YAMAMOTO, Naoshi)

筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構・助教

研究者番号：80580216

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：ナルトレキソン塩酸塩を出発物質として、ビシクロ[2.2.2]オクテン骨格を有する4,5-エポキシモルヒナン誘導体を効率的に合成する合成経路を確立した。また、F環を有する4,5-エポキシモルヒナン誘導体で、側鎖の伸長方向および長さがオピオイド受容体親和性および選択性に与える影響を検討した結果、側鎖がF環平面上に伸長し、ベンジルアミド程度の長さを有する場合に、受容体に対する高い活性および選択性がみられることを明らかにした。

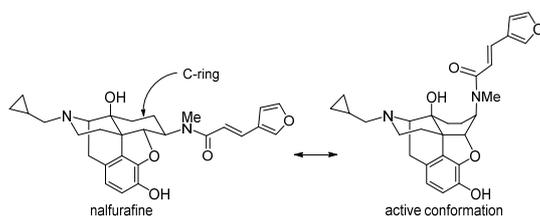
研究成果の概要(英文)：The synthetic route for the 4,5-epoxymorphinan derivatives with a bicyclo[2.2.2]octane skeleton from naltrexone hydrochloride was established. The F-ring contained 4,5-epoxymorphinan derivatives with the side chain characterized by an orientation and a length were prepared and assayed for the affinity for opioid receptors. As a result, the derivative with a benzyl amide side chain oriented in the same plane of the F-ring showed potent activity and high selectivity for opioid kappa receptor.

研究分野：創薬化学

キーワード：受容体作動薬

## 1. 研究開始当初の背景

オピオイド受容体は $\mu$ ・ $\kappa$ ・ $\delta$ の3つの受容体タイプに分類され、いずれも鎮痛作用に関与することが知られている。また、オピオイド系鎮痛薬で問題となる依存性には、 $\mu$ 受容体が関与することから、特に受容体選択的作動薬が依存性のない鎮痛薬として期待されるようになった。しかし、代表的な受容体選択的作動薬であるU-50,488Hは依存性は示さなかったが、今度は薬物嫌悪性が問題となった。その後、薬物依存性と薬物嫌悪性の分離に成功した唯一の受容体作動薬として、ナルフラフィンが開発された。現在、ナルフラフィンは腎透析および慢性肝疾患の重篤な掻痒の治療に臨床使用されているが、有効鎮痛用量において強い鎮静作用が認められるため、鎮痛薬としては認可されていない。つまり、薬物嫌悪性および鎮静作用の分離を同時に達成した受容体選択的作動薬は、これまでに得られていない。薬物嫌悪性の分離がリガンドの構造の変化によって達成されたように、鎮静作用の分離も構造の変換によって実現できる可能性はあるが、オピオイド受容体選択的作動薬の設計における明確な指針が存在しないため、経験や推定によるリガンド設計が行われてきた。



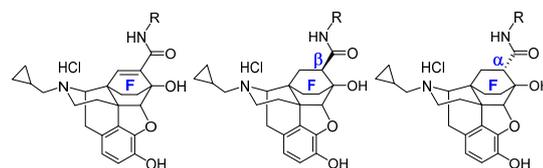
これまでに報告されているナルフラフィンを中心とした構造活性相関から、4,5-エポキシモルヒナン骨格を有するオピオイド受容体選択的リガンドでは、側鎖がC環より上方に位置し、さらに一定以上の長さのアミド側鎖が必要と考えられている。ナルフラフィンについては、受容体に結合する際に、その側鎖がC環の上方に位置する活性立体配座の仮説が提案されており、この仮説を参考に設計されたオピオイドリガンドが報告されてきた。側鎖の伸長方向はリガンドの骨格構造によってある程度制限されるため、リガンド設計の際に、あらかじめ側鎖の伸長方向を考慮しておく必要がある。したがって、側鎖の最適な伸長方向を明確にできれば、リガンドの設計を合理的に行えると考えられ、理想的な受容体選択的作動薬の創出につながると期待される。

## 2. 研究の目的

本研究では、受容体選択的作動薬に要求される側鎖の最適な伸長方向およびその長さを明確にし、ナルフラフィンよりも受容体に対する親和性および受容体タイプ選択性の高い薬物の設計・合成に繋げることを目

的とする。

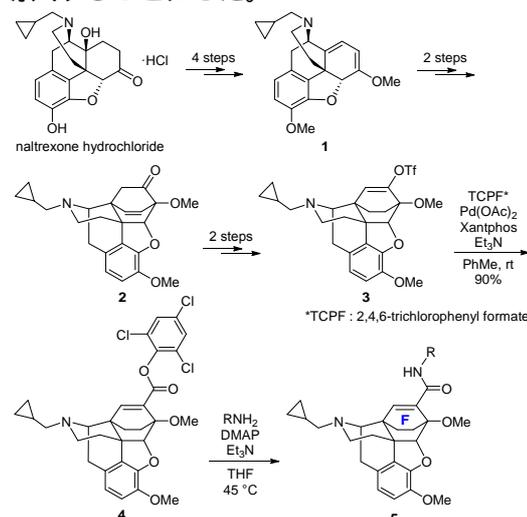
## 3. 研究の方法



ビスクロ[2.2.2]オクテンおよびビスクロ[2.2.2]オクタン骨格を有するモルヒナン誘導体を中心に、種々の長さの側鎖を有する誘導体を合成する。これらの骨格では、側鎖の伸長方向をF環の平面上、側および側にそれぞれ制御可能であると考えられる。合成した誘導体は、オピオイド受容体結合試験をはじめとする薬理的な試験により親和性および受容体タイプ選択性を評価する。そして、ナルフラフィンよりも受容体に対する親和性が高く、かつ受容体選択性( $\mu$  /  $\kappa$  および  $\mu$  /  $\delta$  比)が優れている誘導体の構造的特徴(側鎖の伸長方向およびその長さ)をまとめる。

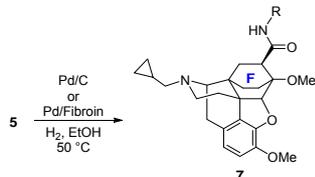
## 4. 研究成果

本研究で必要となるビスクロ[2.2.2]オクテン骨格を有する4,5-エポキシモルヒナン誘導体は、これまでに報告例がないため、その合成経路の検討を行った。まず、F環にフェニルセレンニル基を導入し、その後、酸化、脱離を経て二重結合とする計画を立てたが、フェニルセレンニル基が導入できず、望みのビスクロ[2.2.2]オクテン構造は構築できなかった。そこで、F環上のケトンを経由してエノールトリフラートへ変換することで二重結合を導入することにした。

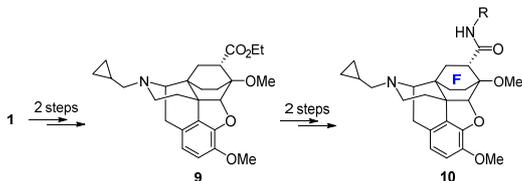


ナルトレキソン塩酸塩から4段階で合成できるジエン1と2-クロロアクリロニトリルとのDiels-Alder反応を行い、水酸化ナトリウム水溶液による処理でケトン2を合成した。次いで、接触水素還元により二重結合を還元した後、カリウムビス(トリメチルシリル)アミドとN-フェニルビス(トリフルオロメタ

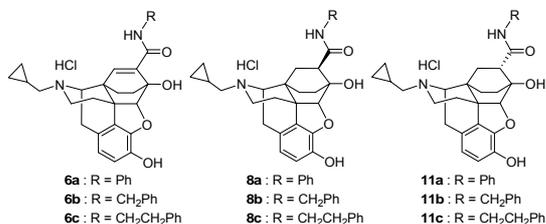
ンスルホンイミド)を用いてエノールトリフラート**3**とした。エノールトリフラート**3**は、酢酸パラジウムを用いたギ酸 2,4,6-トリクロロフェニルとのカップリング反応により、一炭素の増炭を伴い重要中間体**4**へ高収率で変換された。重要中間体**4**は活性エステルを有するため、4-(ジメチルアミノ)ピリジンとトリエチルアミンの存在下、第一級または第二級アミンを作用させることで容易にアミドに変換できることから、多数のアミド誘導体を迅速に合成する際に有用な中間体といえる。ただし、アミンとしてアニリンを用いた場合には、重要中間体**4**から直接アミドに変換できなかったため、加水分解した後に縮合剤を用いてアミドにした。合成したF環平面上に側鎖が伸長したアミド誘導体**5**は、脱メチル化の後、塩酸塩**6a-c**とした。



F環の側に側鎖が伸長した誘導体は、F環平面上に側鎖が伸長したアミド誘導体**5**の接触水素還元により合成した。また、ベンジルアミド誘導体の還元では、ベンジル基の水素化分解を抑制しつつ二重結合を還元するため、パラジウム/フィブロインを触媒として使用した。得られたアミド誘導体**7**は脱メチル化の後、塩酸塩**8a-c**とした。

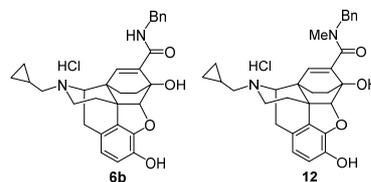


F環の側に側鎖が伸長した誘導体は、アミド誘導体**5**の接触水素還元で得られなかったため、ジエン**1**とアクリル酸エチルのDiels-Alder反応と接触水素還元によって得られたエステル**9**のエトキシカルボニル基を加水分解し、種々のアミンを縮合することで合成した。得られたアミド誘導体**10**は脱メチル化の後、塩酸塩**11a-c**とした。



F環平面上に側鎖が伸長した誘導体**6a-c**、F環の側に側鎖が伸長した誘導体**8a-c**およびF環の側に側鎖が伸長した誘導体**11a-c**についてオピオイド受容体結合試験を行い、その親和性および受容体タイプ選択性について、受容体選択的作動薬であるナルフラフィンと比較した。その結果、9種類の誘導体は、すべてのオピオイド受容体タイプに対

してナルフラフィン( $\mu$ :  $K_i = 2,167$  pM,  $\kappa$ :  $K_i = >10,000$  pM,  $\delta$ :  $K_i = 268$  pM)よりも高い親和性を示した。特にF環平面上にフェニルアミド側鎖を有する化合物**6c**( $\mu$ :  $K_i = 0.030$  pM)は、 $\delta$ 受容体に対して非常に高い親和性を示した。一方、9種類の誘導体の受容体選択性( $\mu/\kappa$  比および  $\mu/\delta$  比)は、いずれもナルフラフィン( $\mu/\kappa = 8.1$ ,  $\mu/\delta = ND$ )より低下した。側鎖の伸長方向に注目すると、側鎖の長さが同じである場合、F環平面上に側鎖が伸長している化合物**6a-c**が、F環の側に側鎖が伸長している化合物**8a-c**および**11a-c**に比べ、すべてのオピオイド受容体タイプに対して高い親和性を示す傾向にあった。また、側鎖の長さに注目すると、化合物**6a**( $\mu$ :  $K_i = 1.2$  pM)、**6b**( $\mu$ :  $K_i = 0.52$  pM)、**6c**( $\mu$ :  $K_i = 0.030$  pM)では、側鎖の脂肪鎖部分が長くなるにつれて受容体への親和性が向上していたが、**8a-c**および**11a-c**ではベンジルアミドよりもフェニルアミドを有する誘導体のほうが受容体への親和性は高かった。化合物**6a-c**で受容体選択性を比較すると、ベンジルアミド側鎖を有する**6b**( $\mu/\kappa = 3.58$ ,  $\mu/\delta = 4.50$ )が最も優れていた。



この結果を基に、N-メチル-N-ベンジルアミド側鎖を有する化合物**12**を合成し、オピオイド受容体結合試験を行った。化合物**6b**と比較すると、化合物**12**は受容体に対する親和性はわずかに低下したものの( $\mu$ :  $K_i = 2.06$  pM)、受容体選択性は向上した( $\mu/\kappa = 8.11$ ,  $\mu/\delta = 5.78$ )。

次に、化合物**12**について $[^{35}\text{S}]\text{GTP S}$ 結合試験を行ったところ、ナルフラフィン( $\mu$ :  $EC_{50} = 63$  pM,  $E_{\text{max}} = 85.0\%$ )に比べ、高い受容体作動活性( $\mu$ :  $EC_{50} = 2.8$  pM,  $E_{\text{max}} = 74.4\%$ )および受容体選択性( $EC_{50}$ 比、 $\mu/\kappa = 989$ ,  $\mu/\delta = 607$ )を示し、特に $\mu/\kappa$ 比はナルフラフィン( $EC_{50}$ 比、 $\mu/\kappa = 103$ ,  $\mu/\delta = 2,794$ )を大きく上回っていた。オピオイド受容体結合試験と $[^{35}\text{S}]\text{GTP S}$ 結合試験では受容体タイプ選択性が大きく異なっていたことから、ピシクロ[2.2.2]オクテンおよびオクタン誘導体の様に、非常に受容体親和性の高い化合物では、複数の活性評価試験を実施し、得られた結果を総合的に評価する必要があると考えられる。

また、*in vivo*試験を行う機会が得られたため、化合物**12**の鎮痛作用、鎮静作用、薬物嫌悪性について、マウスの行動薬理学試験で評価した。予備的な実験結果ではあるものの、化合物**12**はナルフラフィンと同等の鎮痛作用を示すこと、鎮痛用量において鎮静作用および薬物嫌悪性を示さないことを確認

することができた。

以上の結果から考えると、F環を有する4,5-エポキシモルヒナン誘導体では、側鎖がF環平面上に伸長した場合に受容体への親和性が最も高かったことから、側鎖の伸長方向として適切であると考えられる。また、側鎖がF環平面上に伸長した場合には、受容体タイプ選択性においてベンジルアミドの長さが有利であり、側鎖の長さとして妥当であると考えられる。この結果は、モルヒナン骨格を有する新たな受容体作動薬の設計・合成に有用な情報であり、今後さらに構造活性相関研究を継続することで、オピオイド受容体をターゲットとした鎮痛薬の開発につながることを期待される。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

1. Ryo Nakajima, Naoshi Yamamoto, Shigeto Hirayama, Takashi Iwai, Akiyoshi Saitoh, Yasuyuki Nagumo, Hideaki Fujii, Hiroshi Nagase, Synthesis of new opioid derivatives with a propellane skeleton and their pharmacologies: Part 5, novel pentacyclic propellane derivatives with a 6-amide side chain, *Bioorg. Med. Chem.* 2015, 23, 6271-6279、査読有、DOI:10.1016/j.bmc.2015.08.036

〔学会発表〕(計6件)

1. 谷田誠浩、山本直司、南雲康行、長瀬博、ナルフラフィンの活性立体配座の固定による鎮静作用の分離、第34回メディシナルケミストリーシンポジウム、2016年11月30日～2016年12月2日、つくば国際会議場(茨城県つくば市)
2. 谷田誠浩、山本直司、南雲康行、長瀬博、新規ピシクロ[2.2.2]オクテン骨格を有する受容体選択的作動薬の合成と薬理評価、第36回鎮痛薬・オピオイドペプチドシンポジウム、2016年8月19日～2016年8月20日、北海道大学薬学部(北海道札幌市)
3. Ryo Nakajima, Naoshi Yamamoto, Shigeto Hirayama, Takashi Iwai, Akiyoshi Saitoh, Yasuyuki Nagumo, Hideaki Fujii, Hiroshi Nagase, Design and Synthesis of Opioid Receptor Selective Ligand with a Propellane Skeleton、日本化学会第96春季年会2016、2016年3月24日～2016年3月27日、同志社大学京田辺キャンパス(京都府京田辺市)
4. Ryo Nakajima, Naoshi Yamamoto, Shigeto Hirayama, Takashi Iwai, Toru Nemoto, Hideaki Fujii, Hiroshi Nagase, Synthesis of novel pentacyclic derivatives with propellane skeleton

and their structure - activity relationships、Pacifichem2015、2015年12月15日～2015年12月20日、(Honolulu, USA)

5. 中嶋龍、山本直司、平山重人、岩井孝志、根本徹、藤井秀明、長瀬博、プロペラン骨格を有する新規五環性化合物の合成とその構造活性相関、第32回メディシナルケミストリーシンポジウム、2014年11月26日～2014年11月28日、神戸国際会議場(兵庫県神戸市)
6. 中嶋龍、山本直司、平山重人、岩井孝志、根本徹、藤井秀明、長瀬博、プロペラン骨格を有する新規五環性化合物の合成とその構造活性相関、第44回複素環化学討論会、2014年9月10日～2014年9月12日、札幌市民ホール(北海道札幌市)

〔産業財産権〕

出願状況(計2件)

1. 名称：MORPHINAN DERIVATIVE  
発明者：長瀬博、山本直司  
権利者：国立大学法人筑波大学、日本ケミファ株式会社  
種類：特許  
番号：15/463,418  
出願年月日：2017年3月20日  
国内外の別：外国
2. 名称：モルヒナン誘導体  
発明者：長瀬博、山本直司  
権利者：国立大学法人筑波大学、日本ケミファ株式会社  
種類：特許  
番号：特願2017-023444  
出願年月日：2017年2月10日  
国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等  
筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構  
長瀬研究室(創薬化学)  
<http://nagase.wpi-iis.tsukuba.ac.jp/>

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

山本直司(YAMAMOTO, Naoshi)  
筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構・助教  
研究者番号：80580216