

学位論文要旨

北里大学大学院 薬学研究科 薬科学専攻 生命薬化学研究室
氏名 木浦 和哉 印

題目 「ナルトレキソンからメセンブランへの変換および中間体の誘導体を用いたメセンブランアナログのオピオイド受容体に対する親和性の検討」

1. 背景・目的

Gタンパク質共役受容体に属するオピオイド受容体には μ (MOR)、 κ (KOR)、 δ (DOR)の3つのタイプが存在し、タイプ選択的リガンドに関する数多くの研究が為されてきた。しかし、近年、Gタンパク質共役受容体がモノマーだけでなく、ホモおよびヘテロダイマーとしても存在し、受容体ダイマーとしての機能の存在も明らかになっている¹⁾。オピオイド受容体においては、オピオイド受容体同士のヘテロダイマーとして MOR-KOR、KOR-DOR、DOR-MOR、非オピオイド受容体とのヘテロダイマーとして MOR-カンナビノイド CB1 受容体、DOR-ケモカイン CXCR2 受容体、KOR- β_2 アドレナリン受容体などの存在が報告されている²⁾。一方、Gタンパク質共役受容体には β -arrestin のようなGタンパク質とは異なるシグナル伝達分子の存在も知られており、一つのシグナル伝達分子のみを選択的に経由して、細胞応答を誘起するバイアスドアゴニストの報告もある³⁾。さらには、Gタンパク質共役受容体にはスプライスバリエントが存在することが報告されており、MOR では多数のスプライスバリエントの存在が知られている⁴⁾。このような現象に対して、分子生物学、薬理的な観点から様々な研究が試みられているばかりでなく、特異的リガンドの開発も試みられているが、そのようなリガンドの設計における構造的指針はない。これらを解決する為には、異なる化学構造を有するリガンドの創出が重要になると考えられる。

メセンブラン(4)を基本骨格にもつ3種の *Sceletium* alkaloid (メセンブレノン(1) + メセンブレノール(2) > 70%、メセンブリン(3) < 20%) の混合物である Zembrin[®]は弱いながらもオピオイド受容体に対して親和性を示すことが報告されている(Figure 1)⁵⁾。オピオイド受容体との結合には塩基性窒素、ベンゼン環およびフェノール性ヒドロキシ基が重要なファーマコフォアとして知られている。メセンブラン型の化合物も塩基性窒素、ベンゼン環およびメチル化されているがフェノール性ヒドロキシ基を構造中に含み、オピオイド受容体との結合に必要な官能基を有している。一方で、ナルトレキソンはエーテル架橋およびメチレン架橋でベンゼン環を固定したトランス縮環型ヒドロイソキノリン構造を有するのに対し、メセンブランはベンゼン環が自由回転可能なシス縮環型ヒドロインドール構造を有するという違いがある。異なる化学構造を有するオピオイドリガンドの創出という観点において、このようなメセンブラン型の化合物は興味深いため、本研究ではメセンブランアナログのオピオイドリガンドとしての可能性を検討することとした。具体的には、ナルトレキソンからエーテル架橋のみでベンゼン環を固定したシス縮環型ヒドロインドール構造を有する化合物 6 を鍵中間体とし、化合物 6 からメセンブラン(4)

へと変換するとともに誘導化を行い、メセンブラン(4)および鍵中間体 6 の誘導体についてオピオイド受容体に対する結合親和性を評価することとした(Scheme 1)。

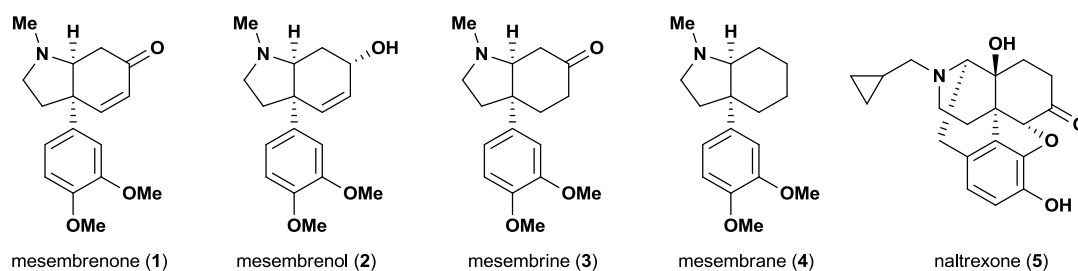
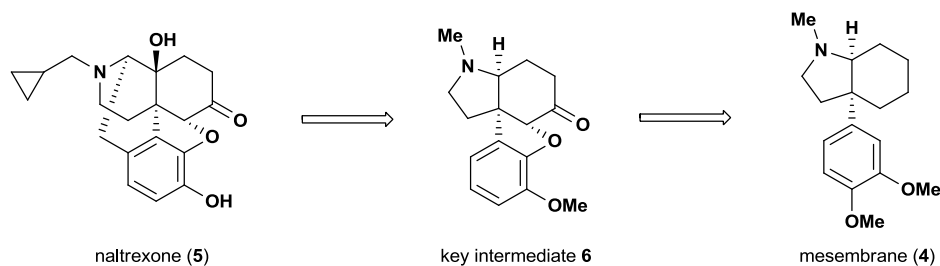


Figure 1. *Scaletium* alkaloids 1 – 4 と naltrexone (5) の構造

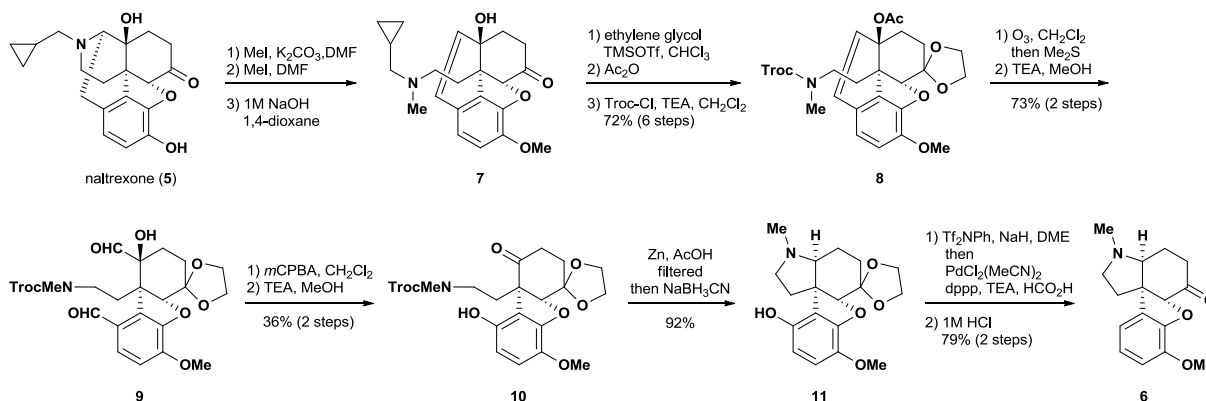


Scheme 1. Naltrexone (5) から mesembrane (4) への変換における戦略

2. 本論

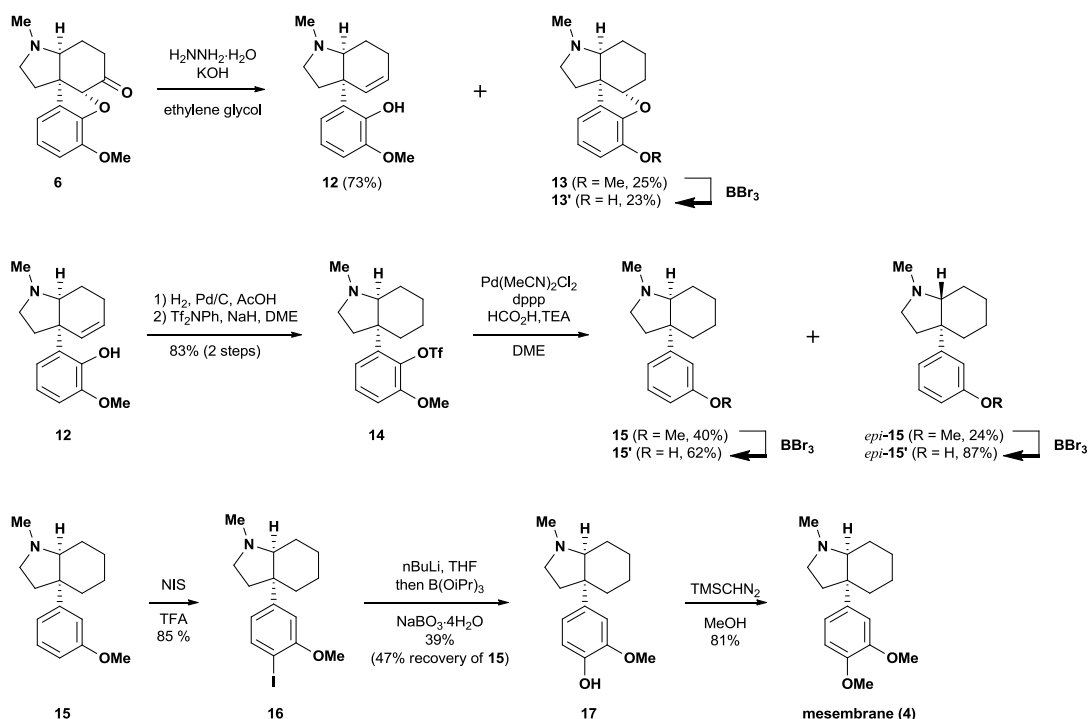
2. 1. ナルトレキソン(5)からメセンブラン(4)への変換

まず、ナルトレキソン(5)から鍵中間体 6 への変換を行った(Scheme 2)。ナルトレキソン(5)のフェノール性ヒドロキシ基のメチル化、続く *N*-メチル化、Hofmann 脱離によりオレフィン体 7 を得た。続いて、オレフィン体 7 のアセタール化、アセチル化、クロロギ酸 2,2,2-トリクロロエチル(Troc-Cl)を用いた脱アルキル化反応により化合物 8 を得た。次にオゾン酸化、脱アセチル化により、ジアルデヒド体 9 へと変換し、Baeyer-Villiger 酸化、脱ホルミル化によりケトン体 10 へと変換した。得られたケトン体 10 について脱 Troc 化、続く還元的アミノ化を行いピロリジン化合物 11 を得た。最後に化合物 11 のヒドロキシ基の除去および脱アセタール化を行い鍵中間体 6 へと導いた。



Scheme 2. 鍵中間体 6 への変換.

続いて、鍵中間体 **6** からメセムبران(**4**)への変換を行った(Scheme 3)。鍵中間体 **6** を Wolff-Kishner 還元 conditions に付すことでオレフィン体 **12** とエーテル体 **13** を得た。オレフィン体 **12** の還元、続くトリフルオロメタンスルホニル化を行い化合物 **14** とした後、パラジウム触媒による還元にて化合物 **15** および *epi*-**15** を得た。なお、化合物 **15**、*epi*-**15** の立体化学はそれぞれ *n*Oe、ROESY により決定した。化合物 **15** のヨウ素化により得た化合物 **16** をボレート化、続く過酸処理にて化合物 **17** へと変換した。最後に化合物 **17** の *O*-メチル化を行い目的としたメセムبران(**4**)へと導いた。なお、化合物 **13**、**15** および *epi*-**15** についてはオピオイド受容体結合試験のために脱メチル化を行い、対応する化合物 **13'**、**15'** および *epi*-**15'** を得た。



Scheme 3. Mesembrane (**4**)への変換.

2. 2. オピオイド受容体に対する結合親和性

上記 2. 1 の Scheme 3 にて得られたメセムبران(**4**)、化合物 **13**、**15**、*epi*-**15**、および対応する脱メチル体 **13'**、**15'**、*epi*-**15'** のオピオイド受容体に対する結合試験を行った(Table 1)。化合物 **13'** の結合親和性は弱いものの、フェノール性ヒドロキシ基を有する化合物 **15'** および *epi*-**15'** はオピオイド受容体に十分な結合親和性を示し、オピオイド受容体の各タイプに対する結合親和性の強さの順番において化合物 **15'** と *epi*-**15'** は同様の傾向を示した (MOR > KOR > DOR)。化合物 **15'** は最も強くオピオイド受容体に結合し、三つのオピオイド受容体タイプの中で MOR に最も強い結合親和性を示した。メトキシ基を有する化合物 **13**、**15** および *epi*-**15** は対応する脱メチル化合物 **13'**、**15'** および *epi*-**15'** と比較し、結合親和性が大きく低下した。オピオイド受容体との結合においてフェノール性ヒドロキシ基は重要なファーマコフォアであることが知られており、ナルトレキソン(**5**)のようなフェノール性ヒドロキシ基を有する

モルヒナン誘導体も対応するメトキシ体より強い結合能を示すことが知られている。このことより、評価化合物はモルヒナン誘導体と同様の結合様式をとっていると示唆される。化合物 **15'** の結合親和性は新規オピオイドリガンドを設計する際にメッセージ部位としてしばしば用いられるナルトレキソン(**5**) の結合親和性よりも弱かったが、モルヒナン骨格とは異なる骨格を有する新規メッセージ部位として利用できると考えられる。

Table 1. オピオイド受容体結合親和性試験

compound	R	K _i (nM)		
		μ	δ	κ
13	Me	ND	ND	ND
13'	H	2151	2363	770
15	Me	5533	19130	4775
15'	H	90	1149	163
<i>epi-15</i>	Me	10650	42380	48940
<i>epi-15'</i>	H	495	6627	585
mesembrane (4)		9102	16230	5800
naltrexone (5)		0.27	12.3	0.70

2. 3. 立体配座解析

化合物 **13'**、**15'** および *epi-15'* の結合親和性の差について考察するため、Conformational Analyzer with Molecular Dynamics And Sampling (CAMDAS) 2.1 program⁶⁾ を用いてプロトン化された化合物の立体配座解析をおこなった。プロトン化された窒素が S 配置である異性体の最安定配座から 10 kcal/mol 以内の配座群についてフェノール環を基準に示した(Figure 2)。また、比較のため、不可逆的 MOR アンタゴニストであるβ-FNA の立体配座も示した⁷⁾。

化合物 **13'**、**15'** および *epi-15'* の中で化合物 **13'** が最も低い結合親和性を示した理由としては、β-FNA と比較して化合物 **13'** の塩基性窒素が望ましい空間(緑線による円の内側)に位置してないためと考えられる(Figure 2, D and I)。これは、化合物 **13'** がエーテル環を有するためにベンゼン環が自由回転できないことに由来すると考えられる。次に化合物 **15'** と *epi-15'* の結合親和性の差についてであるが、これも同様に塩基性窒素が関わっていると考えられる。化合物 **15'** と *epi-15'* は共に塩基性窒素が望ましい空間的配置に位置しているが、化合物 **15'** の方が望ましい空間内に塩基性窒素を含む立体配座が多いため親和性が高かったと考えられる(Figure 2, E, F and I)。これは化合物 *epi-15'* がトランス縮環型インドール構造であるために、フェノールとの間の結合の自由度が化合物 **15'** と比較して低下したためと推察される。

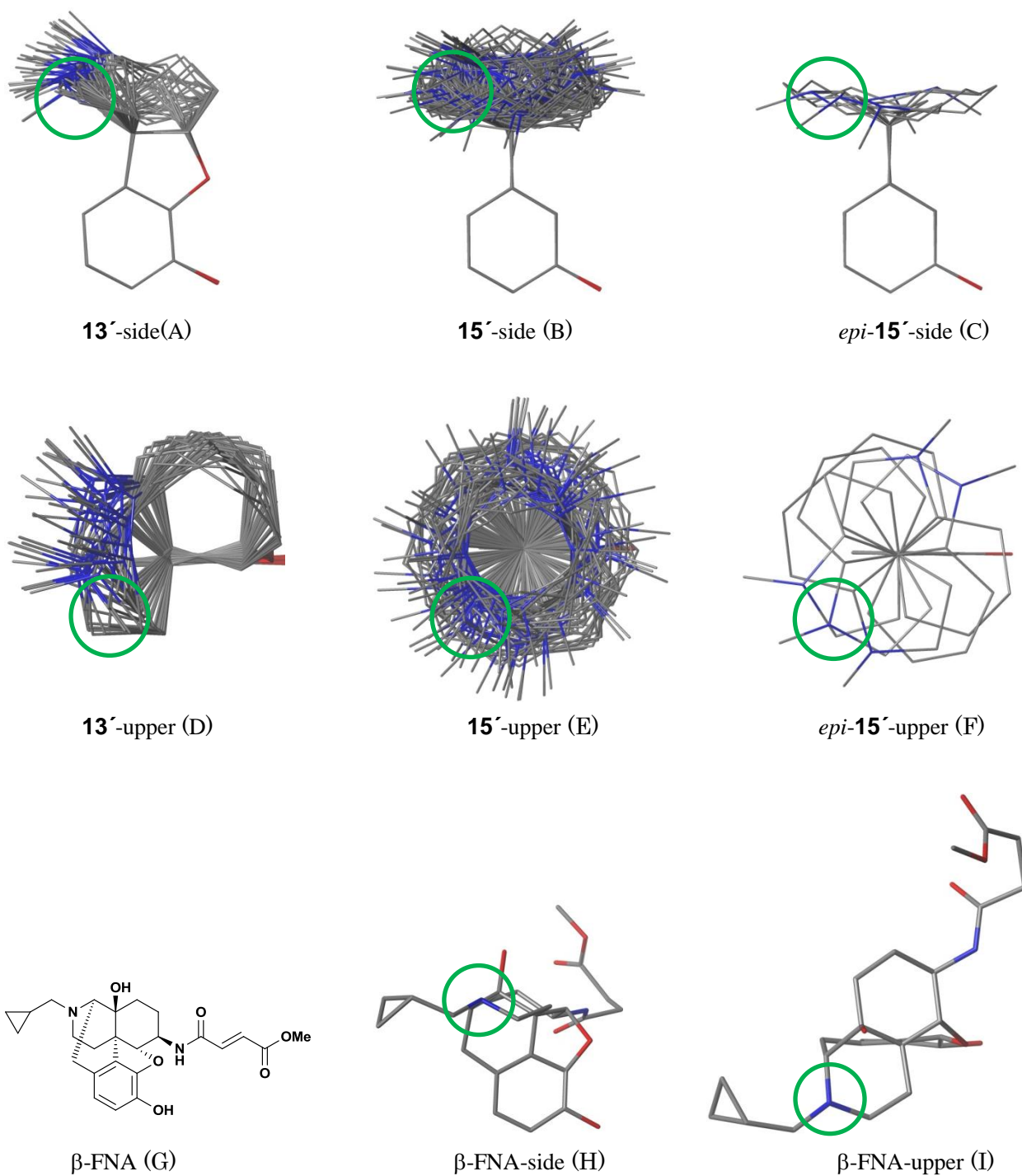


Figure 2. プロトン化された化合物 **13'**、**15'**、*epi*-**15'** の立体配座解析の結果と β -FNA の構造。化合物 **13'**、**15'**、*epi*-**15'** は最安定配座から 10 kcal/mol 以内の配座群。 β -FNA については β -FNA-MOR 複合体の X 線構造解析の座標より構築⁷⁾。緑線による円は β -FNA の窒素に近い空間について示した。

3. 結論

モルヒナン骨格を有するナルトレキソン(5)を原料として鍵中間 6 を経由しメセンブラン(4)へと変換した。また、メセンブラン(4)および鍵中間体 6 より誘導した化合物群についてオピオイド受容体結合試験をおこなった。シス縮環型ヒドロインドール構造を有する化合物 15'は MOR、KOR に対し中程度から強い結合の親和性を示した。化合物 *epi*-15'は MOR、KOR に対し中程度の親和性を示したが、化合物 15'の結合親和性よりは弱かった。化合物 13'はほとんど結合親和性を示さなかった。立体配座解析より評価化合物の親和性の差異は、フェノール環に対するプロトン化された窒素の空間的配置の違いに起因すると考えられた。ナルトレキソン(5)のようなモルヒナン類と異なる構造を有する化合物 15'は、特徴的なオピオイドリガンドを得るための新規な化学構造を有する有用なメッセージ部位として利用できると期待される。

References

- 1) S. C. Prinster, C. Hague, R. A. Hall, *Pharmacol. Rev.* 2005, **57**, 289.
- 2) R. Rozenfeld, I. Gomes, L. A. Devi, in *The Opiate Receptors*, ed G. W. Pasternak, 2nd ed., Humana Press, New York, 2010; pp 407-437.
- 3) (a) T. Kenakin, *Fl1000 Biol. Rep.* 2009, **1**, 87. (b) L. M. Luttrell, *Mol. Endocrinol.* 2014, **28**, 281. (c) C. C. Correll, B. A. McKittrick, *J. Med. Chem.* 2014, **57**, 6887.
- 4) (a) Y. -X. Pan, G. W. Pasternak, in *The Opiate Receptors*, ed G. W. Pasternak, 2nd ed., Humana Press, New York, 2010; pp 121-160. (b) G. W. Pasternak, *Neuropharmacol.* 2014, **76**, 198.
- 5) A. L. Harvey, L. C. Young, A. M. Viljoen, N. P. Gericke, *J. Ethnopharmacol.* 2011, **137**, 1124.
- 6) H. Tsujishita, S. Hirono, *J. Comput. Aided Mol. Des.* 1997, **11**, 305.
- 7) A. Manglik, A. C. Kruse, T. S. Kobilka, F. S. Thian, J. M. Mathiesen, R. K. Sunahara, L. Pardo, W. I. Weis, B. K. Kobilka, S. Granier, *Nature* 2012, **485**, 321.