

ナルフラフィン活性立体配座に基づく 新規 κ オピオイド鎮痛薬の創出

Creation of a novel κ opioid analgesic based on an active conformation of nalfurafine

南雲 康行
Yasuyuki Nagumo

筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構 助教
International Institute for Integrative Sleep Medicine (WPI-IIS), University of Tsukuba (Assistant Professor)

KEYWORD ▶ オピオイド鎮痛薬

κ 受容体作動薬

副作用分離

はじめに

01

オピオイド（モルヒネ様物質）は服用者において強力な鎮痛作用を示すが、同時に麻薬作用として薬物依存を引き起こす。がん性疼痛や非がん性の慢性疼痛下においては、モルヒネなどのオピオイド鎮痛薬の薬物依存が誘導されにくいものの、オピオイド鎮痛薬の不適切使用によってはその依存性が問題となる。実際、近年の欧米においては、抜歯などの非重篤な痛みに対するモルヒネ系鎮痛薬の処方や非がん性慢性疼痛への過剰処方、患者による飲み残しモルヒネ系鎮痛薬の再服用など、オピオイド鎮痛薬の不適切使用が以前にも増し、「オピオイド危機」として社会や経済状態をひっ迫させている¹⁾。このため、オピオイドリガンドの合成研究では、現在も鎮痛作用と薬物依存作用の分離を目指す検討が続けられている。

受容体のクローニング技術の進歩や様々な薬理学的研究により、オピオイド受容体は μ 受容体、 κ 受容体および δ 受容体に大別されることが明らかになった^{2, 3)}。今日の臨床におけるオピオイド鎮痛薬は、モルヒネをはじめとしてそのほとんどが μ 受容体作動薬である。上述したオピオイド鎮痛薬の薬物依存作用は μ 受容体活性化由来であり、 μ 受容体に類似する薬物依存作用は κ 受容体において無く、 δ 受容体においては無いあるいはほとんど影響しない。興味深いことに、オピオイドの鎮痛作用は、 μ 受容体の活性化のみならず κ 受容体および δ 受容体の活性化においても誘導される³⁾。このことから、現在では新しいオピオイド鎮痛薬の創製において、 κ 受容体や δ 受容体に対する作動薬に注目が集まっている。

κ 受容体作動薬は、モルヒネ様の薬物依存作用が全く無いという点において、新しいオピオイド鎮痛薬の開発において早くから着目されていた。 κ 受容体作動薬 U-50488HがUpjon社によって先駆けて発表されて以降⁴⁾、世界中に創薬研究者によって U-50488H 誘導体の研究開発が始まった。創製された U-50488H やその誘導体を用いた多くの研究により、確かに κ 受容体作動薬に薬物依存作用が無いことが立証されるもの

の、 κ 受容体作動薬には薬物依存作用と異なり幻覚や幻聴などの精神作用を示す薬物嫌悪作用を強く誘導することが明らかになった^{3, 5)}。このため、当時の全ての開発候補薬物は臨床試験を中止している。一方、本総説の監修である長瀬の研究グループでは、当初より独自の化合物設計理論「メッセージアドレス概念」を考案し、早くから U-50488H と全く異なる化合物構造を有する κ 受容体や δ 受容体リガンドを創製していた。現在、難治性の痒みに対して適用されるナルフラフィン（レミッチ[®]）は、長瀬の研究グループで開発された薬物依存性および嫌悪性を示さない臨床で唯一の κ 受容体作動薬である⁶⁾。ナルフラフィンは鎮痛作用と薬物依存性および嫌悪性の分離を達成出来ていたため、鎮痛薬としての開発を進めていたが、ナルフラフィンは鎮痛作用用量で鎮静作用を併発するため鎮痛適用の承認を得られなかった。このため、鎮痛作用より低用量で発現する止痒作用により、腎透析患者や肝炎の患者の重篤な痒みの治療に対して適用承認を得て臨床使用されている。

κ 受容体作動薬と受容体の 推定結合配座と薬理作用の相関性

02

ナルフラフィンの設計は、選択的 κ 受容体拮抗薬 nor-BNI⁷⁾ の化学構造における内因性オピオイド N-末端のチロシン部分構造に着目している。そしてこれを基に、拮抗薬から作動薬への変換を導くためのアクセサリ部位の除去を行い化学構造の全体的なスリム化を行っている。さらに幾つかの構造変換を加えて開発された TRK-820（ナルフラフィン）は、生体における持続性を含めた薬物動態特性が改善され、副作用、毒性なども分離されている⁶⁾。上述する様に、ナルフラフィンの薬理学的特徴は、 μ 受容体作動薬で認められる薬物依存作用（精神依存作用）および U-50488H をはじめとする多くの κ 受容体作動薬で認められる薬物嫌悪作用も示さないことである^{3, 5)}。しかし、鎮痛作用用量では強い鎮静作用を誘発する。これを解決するため、長瀬らはこれまでさらなる改良に取り組んできた。

κ 受容体作動薬の鎮静作用は、ナルフラフィンだけでなく、

U-50488H などの既存の κ 受容体作動薬でも同様に認められる副作用である。実際に、薬理試験結果を元にして、ナルフラフィンと U-50488H の鎮静作用および鎮痛作用の 50% 有効用量 (ED_{50}) 値の比 (鎮痛作用 ED_{50} /鎮静作用 ED_{50}) から鎮静作用と鎮痛作用の分離比を算出すると、ナルフラフィンの分離比は 8.2 であるのに対し、U-50488H の分離比は 1.4 であった。これは、U-50488H は鎮痛作用に対して鎮静作用の分離性がほとんどないのに対し、ナルフラフィンはわずかに分離を示していることがわかる (表 1)⁸⁻¹⁰。この様な 2 つの κ 受容体作動薬間の薬理作用の違いが何故誘導されるかについて、長瀬らは、 κ 受容体に対する作動薬の立体配座の違いによる仮説を提唱している。ナルフラフィンに関する様々な研究成果から、ナルフラフィンの κ 受容体に対する推定活性立体配座は、モルヒナン骨格の C 環上方に 6 位のアミド側鎖が配向し、この配座が κ 受容体との結合に最適かつ望ましい薬理作用の発現を期待出来る (図 1A)^{11, 12}。実際、 κ 受容体に拮抗薬が結合した受容体蛋白結晶による X 線構造解析の結果から配座のシミュレーション解析を行うと、ナルフラフィンの推定活性立体配座は適切に重ね合うことがわかり¹³、数種のナルフラフィン誘導体を用いてもその妥当性が十分であることが確認出来ている^{11-14, 16}。さらに、 κ 受容体に対する U-50488H の推定結合配座とナルフラフィンの化学構造を重ね合わせると^{14, 17}、U-50488H (オレンジ色) とナルフラフィン (白色) の塩基性窒素 (青色) とアミド側鎖は、水平方向へ伸びる様に水平配置する (図 1B)。つまり、ナルフラフィンと U-50488H に共通する鎮静作用発現の要因は、塩基性窒素とアミド側鎖が水平方向に水平配置する結合配座をとることに起因するためであり、U-50488H は化学構造上ほとんどがこの結合配座で受容体と結合するために鎮痛作用と鎮静作用の分離性が乏しいと考えられる。一方、ナルフラフィンは、U-50488H に類似する受容体結合配座と共に上述した本来活性を示す最適な活性立体配座の 2 つが混在するため、鎮痛作用から鎮静作用の完全な分離に至っていないと推定される。

表1 ナルフラフィンと U-50488H の副作用分離性

	U-50488H	Nalfurafine	U-50488H / Nalfurafine
鎮痛作用 (ED_{50}) ⁸	1.16 mg/kg	0.0033 mg/kg	352 倍
鎮静作用 (ED_{50}) ⁸	1.6 mg/kg	0.027 mg/kg	59 倍
鎮静作用 (ED_{50}) / 鎮痛作用 (ED_{50}) ⁸	1.4	8.2	0.17 倍
鎮痛用量の有効範囲 ¹⁰ (ED_{50} の 10~100 倍量) における薬物嫌悪作用	有り	無し	-

鎮痛作用、鎮静作用および薬物嫌悪作用は、それぞれ酢酸ライジング試験、ロータロッド試験および条件付け場所嫌悪性試験により評価。表中の番号は引用文献番号。

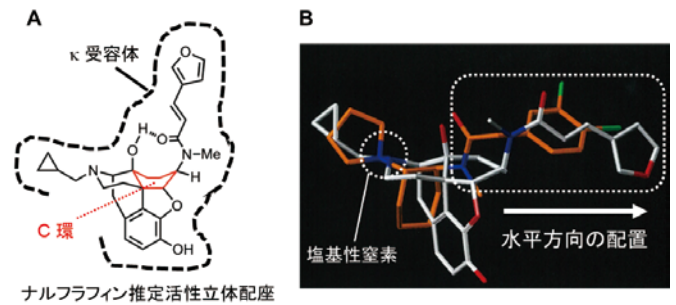


図1 ナルフラフィン推定活性立体配座および U-50488H 受容体結合配座とナルフラフィン構造の重ね合わせ図

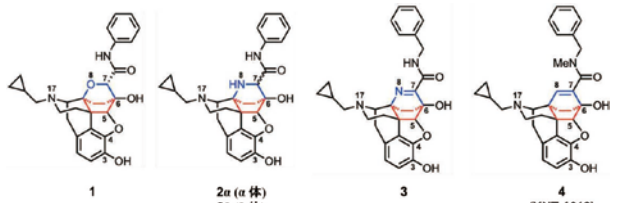
A: κ 受容体に対するナルフラフィンの理想的結合配座モデル。
B: U-50488H (オレンジ) の受容体結合配座に対し、ナルフラフィン (白色) の側鎖が水平方向へ配置される構造が重なり合う。オレンジ色構造: U-50488H。白色構造: ナルフラフィン。青: 窒素原子。赤: 酸素原子。緑: 塩素原子。2010、2020 年発表論文より改変^{14, 15}。

ナルフラフィンの改良型化合物の創製

03

長瀬を筆頭とする著者らのグループは、上述のナルフラフィン推定活性立体配座を固定するため、多くのリガンド設計とスクリーニングを進めてきた。ナルフラフィンの推定活性立体配座を固定した化合物として、ナルフラフィンのモルヒナン骨格の C 環上に対して新たに F 環を構築するために、表 2 に示するような化学構造中の 8 位に酸素原子や窒素原子を導入したビシクロ [2.2.2] オクタン骨格誘導体をそれぞれ合成した (化合物 **1**、**2 α** 、**2 β**)^{11, 13, 14}。これらの化合物は、オピオイド受容体結合試験においていずれも κ 受容体への親和性が非常に高く、推定活性立体配座の固定が正しかったことが確認出来る (表 2)。しかし、これらの化合物は、いずれも 7 位アミド側鎖において立体異性体が存在するため、最適な立体配置の検討を必要とする。そこで、この問題を回避するため、8 位に窒素を導入した化合物 (アザビシクロ [2.2.2] オクテン骨格誘導体) において、F 環の 7 および 8 位に炭素-窒素二重結合導入し、7 位アミド側鎖を F 環の真上に固定した化合物を合成し (化合物 **3**)、これと前述の立体異性体化合物 (化合物 **2 α** 、**2 β**) を用いて、7 位アミド側鎖の最適な立体配置をオピオイド受容体結合試験により検討した。その結果、窒素が 8 位に存在する誘導体では、F 環平面上に側鎖を固定し、さらに κ 受容体への選択性を考慮してアミド側鎖にベンジル基を導入した誘導体 (化合物 **3**) が最も κ 受容体へ高い選択性および親和性を示すことが明らかになった (表 2)^{11, 13, 14}。しかし、これらの 8 位窒素誘導体では、 μ 受容体への親和性がナルフラフィンよりも高くなる傾向にあったため、この 8 位の窒素を炭素へ変換した誘導体 (化合物 **4**: YNT-1612) を設計合成した。その結果、これまでの化合物と比較して μ 受容体との親和性はさらに高まり、 μ 受容体と κ 受容体間における結合選択性はやや低下したが、同時に κ 受容体に対する結合親和性は最も向上することが明らかになった。

表2 ナルフラフィン推定活性立体配座を固定した化合物群のオピオイド受容体結合性



	オピオイド受容体結合試験		
	Ki: nM		
	MOR (^3H DAMGO)	DOR (^3H DPDPE)	KOR (^3H U-89593)
Nalfurafine	0.43	51.3	0.18
1	0.28	1.02	0.12
2α	0.24	1.78	0.22
2β	0.075	4.12	0.11
3	0.14	0.61	0.043
4 (YNT-1612)	0.004	0.003	0.002

Ki: 結合阻害定数 (結合親和性). MOR: μ 受容体. DOR: δ 受容体. KOR: κ 受容体. 化合物 1, 2 α , 2 β , 3 については論文引用^{11, 13, 14}.

表3 YNT-1612 および数種オピオイド作動薬のオピオイド受容体作動活性

	cAMP アッセイ					
	MOR		DOR		KOR	
	EC ₅₀ : nM (95% CI: nM)	E _{max} (% \pm SEM)	EC ₅₀ : nM (95% CI: nM)	E _{max} (% \pm SEM)	EC ₅₀ : nM (95% CI: nM)	E _{max} (% \pm SEM)
(-)U-50488H	—	—	—	—	1.25 (0.74-2.13)	100
Nalfurafine	1631 (361-7370)	40.8 \pm 6.05	64.0 (21.3-67.8)	20.4 \pm 2.80	0.11 (0.08-0.16)	102 \pm 1.95
YNT-1612	2370 (74.9-7499)	82.9 \pm 9.28	5.17 (1.49-18.0)	42.5 \pm 2.84	0.29 (0.14-0.60)	87.5 \pm 3.31
Fentanyl	27.1 (10.2-71.9)	100	—	—	—	—
SNC80	—	—	35.1 (21.3-57.8)	100	—	—

EC₅₀: 50% 有効濃度. E_{max}: 最大反応. 95% CI: 95% 信頼限界域. E_{max} は平均値 \pm 標準誤差で表記. MOR: μ 受容体. DOR: δ 受容体. KOR: κ 受容体. -: Not tested.

YNT-1612 (化合物 4) の副作用分離性 04

これまでのナルフラフィン推定活性立体配座を固定した化合物群において、YNT-1612 は興味深い薬理特性を示す。まず、オピオイド受容体に対する作動活性について cAMP 試験で検討したところ、(-)U-50488H やナルフラフィンと同様に κ 受容体に対して十分な作動活性を示し、 μ 受容体および δ 受容体よりも κ 受容体に対して選択的に作動活性を示すことが明らかになった (表 3)。特に興味深いことに、従来の κ 受容体作動薬と同様に YNT-1612 の鎮痛作用を酢酸ライジング法、鎮静作用をロータロッド試験で検討したところ、YNT-1612 は鎮静作用の用量帯が鎮痛作用の用量帯よりも著しく高用量側にシフトし、主作用である鎮痛作用に対して副作用である鎮静作用の分離が極めて高い (図 2A)。一方、(-)U-50488H とナルフラフィンは、前述の通り鎮痛作用の用量帯に対し鎮静作用の用量帯が一致するかあるいは近い範囲に位置するように、鎮痛作用に対して鎮静作用の分離が低い (図 2B, C)。これらの結果は、長瀬らの考案したナルフラフィン推定活性立体配座モデルが、 κ 受容体活性化の適切な立体配座であるとともに、鎮静作用の分離も可能となる理想的配座であることを示唆している。また、条件付け場所嫌悪性試験により YNT-1612 の薬物嫌悪作用を検討したところ、YNT-1612 は鎮痛作用における ED₅₀ 値の約 600 倍の投与用量でも薬物嫌悪作用は認められなかった (図 2D)。以上の結果は、YNT-1612 が鎮静作用のみならず薬物嫌悪作用も大きく分離した極めて特徴的な κ 受容体作動薬であることを示している。

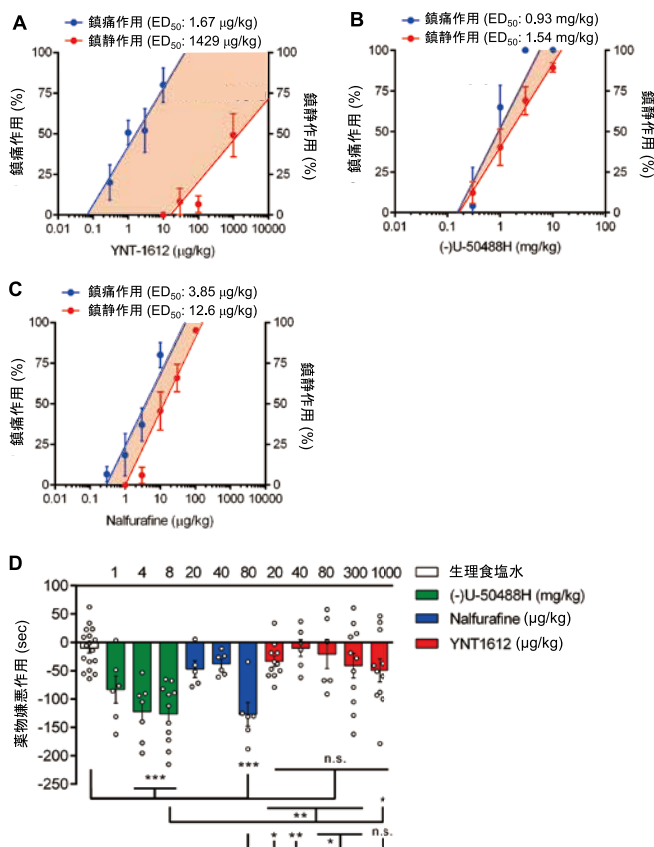


図2 YNT-1612 の副作用分離性

A-C: YNT-1612 (A)、(-)U-50488H (B) およびナルフラフィン (C) の鎮痛作用と鎮静作用の用量依存性比較。鎮痛作用および鎮静作用は、それぞれ酢酸ライジング試験およびロータロッド試験で評価した。
D: (-)U-50488H (緑)、ナルフラフィン (青) および YNT-1612 (赤) の薬物嫌悪作用。薬物嫌悪作用は、マウス条件付け場所嫌悪性試験で評価した。グラフ縦軸の数値が低くなるほど強い場所嫌悪作用 (恐怖や悪夢などの精神作用) を表す。データは、平均値 \pm 標準誤差で表記。統計は、post hoc Tukey test following one-way ANOVA で処理。

おわりに 05

本稿では、ナルフラフィンの推定活性立体配座の固定が、主作用である鎮痛作用から副作用である鎮静作用の分離を達成可能であることを示唆してきた。つまり、ナルフラフィンやその誘導体における最適な活性立体配座は、6 位炭素アミド側鎖が C 環の

垂直上方に配向する化合物構造を設計することが望ましい。これにより、構造を最適化された化合物である YNT-1612 は、従来までの κ 受容体作動薬では前例のない非常に大きな治療係数 (鎮痛作用 vs. 嫌悪・鎮静作用: > 500) を保持するに至っている。さらに重要な点として、本稿における YNT-1612 は、モルヒネなどの μ 受容体作動薬で用いられるテールフリック鎮痛試験においても鎮静作用を誘導することなく明瞭に鎮痛効果を示す。一部、プレリミナリーな結果ではあるが、神経損傷による慢性疼痛モデルマウスにおいてもこの YNT-1612 は有効性を示している。このような結果は、今後のオピオイド創薬の新しい基盤となり、臨床においてはこれまでに成し得ることが出来なかった κ 受容体作動薬による疼痛緩和への承認適用の可能性を大いに示すだろう。また、本化合物を用いた既存薬との比較研究を基礎的に進めることで、 κ 受容体由来の副作用発現メカニズムの多角的な解析に対しても役立てられることを期待している。

参考文献

- 1) C. Park, J. R. Clemencau, A. Seballos, S. Crawford, R. Lopez, T. Coy, G. Atluri, T. H. Hwang, A spatiotemporal analysis of opioid poisoning mortality in Ohio from 2010 to 2016. *Sci. Rep.* **11**, 4692 (2021).
- 2) R. J. Valentino, N. D. Volkow, Untangling the complexity of opioid receptor function. *Neuropsychopharmacology* **43**(13), 2514-2520 (2018).
- 3) M. Narita, M. Funada, T. Suzuki, Regulations of opioid dependence by opioid receptor types. *Pharmacol. Ther.* **89**(1), 1-15 (2001).
- 4) R. A. Lahti, P. F. VonVoigtlander, C. Barsuhn, Properties of a selective κ agonist, U-50,488H. *Life Sci.* **31**(20-21), 2257-2260 (1982).
- 5) T. Suzuki, Y. Shiozaki, Y. Masukawa, M. Misawa, H. Nagase, The role of μ - and κ -opioid receptors in cocaine-induced conditioned place preference. *Jpn. J. Pharmacol.* **58**(4), 435-442 (1992).
- 6) K. Kawai, J. Hayakawa, T. Miyamoto, Y. Imamura, S. Yamane, H. Wakita, H. Fujii, K. Kawamura, H. Matsuura, N. Izumimoto, R. Kobayashi, T. Endo, H. Nagase, Design, synthesis, and structure-activity relationship of novel opioid κ -agonists. *Bioorg. Med. Chem.* **16**(20), 9188-9201 (2008).
- 7) P. S. Portoghese, H. Nagase, A. W. Lipkowski, D. L. Larson, A. E. Takemori, Binaltorphimine-related bivalent ligands and their κ opioid receptor antagonist selectivity. *J. Med. Chem.* **31**(4), 836-841 (1988).
- 8) T. Endoh, H. Matsuura, A. Tajima, N. Izumimoto, C. Tajima, T. Suzuki, A. Saitoh, T. Suzuki, M. Narita, L. Tseng, H. Nagase, Potent antinociceptive effects of TRK-820, a novel κ -opioid receptor agonist. *Life Sci.* **65**(16), 1685-1694 (1999).
- 9) Y. Wang, K. Tang, S. Inan, D. Siebert, U. Holzgrabe, D. Y. W. Lee, P. Huang, J.-G. Li, A. Cowan, L.-Y. Liu-Chen, Comparison of pharmacological activities of three distinct κ ligands (Salvinorin A, TRK-820 and 3FLB) on κ opioid receptors *in vitro* and their antipruritic and antinociceptive activities *in vivo*. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **312**(1), 220-230 (2005).
- 10) 長瀬 博、遠藤 孝、田中利明. 新規 κ 受容体作動薬の薬理学的特徴 鎮痛薬・オピオイドペプチド研究会: オピオイドの基礎と臨床 (ミクス, 東京, 2000), pp. 144-154.
- 11) Y. Watanabe, S. Kitazawa, H. Fujii, T. Nemoto, S. Hirayama, H. Nagase, Design and synthesis of novel opioid ligands with an azabicyclo[2.2.2]octane skeleton and their pharmacologies. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **22**(8), 2689-2692 (2012).
- 12) H. Nagase, H. Fujii, Essential structure of the κ opioid receptor agonist nalfurafine for binding to the κ receptor. *Curr. Pharm. Des.* **19**(42), 7400-7014 (2013).
- 13) Y. Watanabe, S. Kitazawa, H. Fujii, T. Nemoto, S. Hirayama, T. Iwai, H. Gouda, S. Hirono, H. Nagase, Design, synthesis, and structure-activity relationship of novel opioid κ receptor selective agonists: α -iminoamide derivatives with an azabicyclo[2.2.2]octane skeleton. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **24**(21), 4980-4983 (2014).
- 14) H. Nagase, A. Watanabe, T. Nemoto, N. Yamaotsu, K. Hayashida, M. Nakajima, K. Hasebe, K. Nakao, H. Mochizuki, S. Hirono, H. Fujii, Drug design and synthesis of a novel κ opioid receptor agonist with an oxabicyclo[2.2.2]octane skeleton and its pharmacology. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **20**(1), 121-124 (2010).
- 15) Y. Nagumo, K. Katoh, K. Iio, T. Saitoh, N. Kutsumura, N. Yamamoto, Y. Ishikawa, Y. Irukayama-Tomobe, Y. Ogawa, T. Baba, R. Tanimura, M. Yanagisawa, H. Nagase, Discovery of attenuation effect of orexin 1 receptor to aversion of nalfurafine: Synthesis and evaluation of D-nor-nalfurafine derivatives and analyses of the three active conformations of nalfurafine. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **30**(17), 127360 (2020).
- 16) R. Nakajima, N. Yamamoto, S. Hirayama, T. Iwai, A. Saitoh, Y. Nagumo, H. Fujii, H. 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.* **23**(19), 6271-6279 (2015).
- 17) N. Yamaotsu, H. Fujii, H. Nagase, S. Hirono, Identification of the three-dimensional pharmacophore of κ -opioid receptor agonists. *Bioorg. Med. Chem.* **18**(12), 4446-4452 (2010).