

3-ベンジリデンアナバセイン類縁体および3-ベンジリデンミオスミン類縁体の構造と活性

池田 泉

目 的

ニコチン性アセチルコリン (nACh) 受容体は、脳などの中樞神経系に広く存在し、興奮性の神経伝達において重要な役割を果たしている。脊椎動物において、神経の nACh 受容体の一部のサブタイプは、記憶・学習など脳の高次生命現象との関係があると考えられ、それらを解明する研究が盛んに行われている。nACh 受容体に作用するアゴニストの一つとして、3-(2,4-ジメトキシベンジリデン)アナバセイン (*o,p*-DMXBA, GTS-21) があり、記憶増幅効果などを示すことから、アルツハイマー病の治療薬として期待されている (図1)。一方、無脊椎動物においては、近年、nACh 受容体が生物制御剤の作用点として注目されるようになり、昆虫に選択的に作用する数種の生物制御剤も開発された。

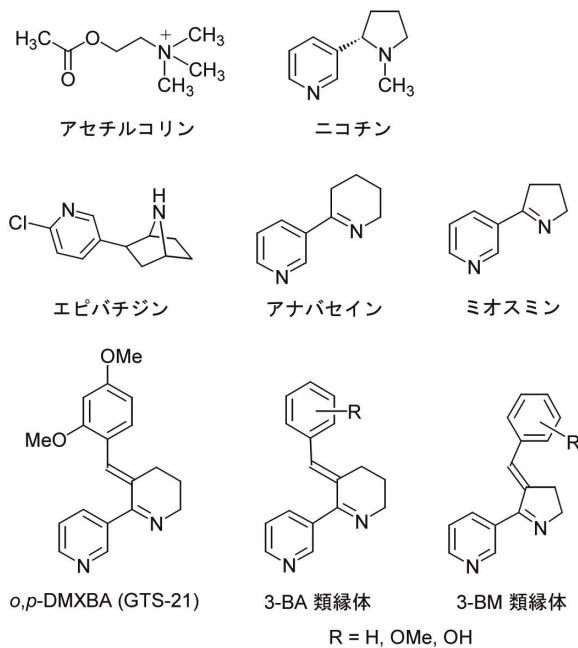


図1 ニコチン性アセチルコリン受容体のリガンド

我々は、昆虫 nACh 受容体のリガンド結合部位の立体的・電子的な性質の解明を目指し、3-ベンジリデンアナバセイン類縁体を用いて研究を行っているが、本研究では、さらにいくつかの類縁体を合成し、3-ベンジリデンアナバセイン類縁体および3-ベンジリデンミオスミン類縁体の昆虫 nACh 受容体における構造活性相関の詳細を明らかにすることを目的とした。

また、セロトニン受容体のサブファミリーの一つであ

る5-ヒドロキシトリプタミン₃ (5-HT₃) 受容体のリガンドが、nACh 受容体にも結合することが最近見出されてきており興味を持たれる。

5-HT₃ 受容体は、リガンド作動性イオンチャネルのスーパーファミリーの一種であり、脊椎動物においては中樞神経系に広く存在するほか、末梢神経にも存在し、中樞機能としては精神機能、学習・記憶や摂食障害など、末梢神経では嘔吐調節などが示唆されている。昆虫においても、セロトニン受容体が存在するとの報告はされているが、5-HT₃ 受容体とは異なるサブファミリーについての報告であり、また機能についてもあまり報告されていない。

本研究では、ワモンゴキブリ神経索に5-HT₃ 受容体が存在するかどうかの検討および5-HT₃ 受容体に対する結合活性を検討することを第2の目的とした。

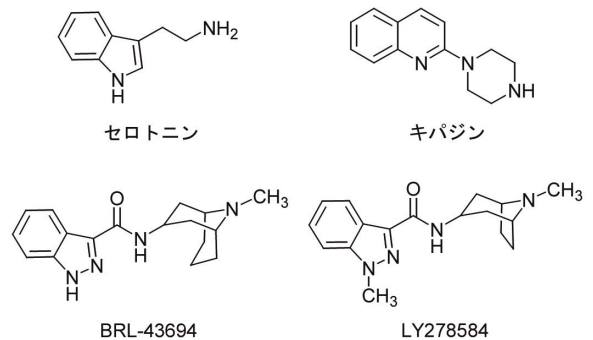


図2 セロトニン5-HT₃ 受容体のリガンド

方 法

ニコチン酸エチルと *N*-ベンゾイルピペリドンとのクライゼン型縮合反応により合成されたアナバセインと、ベンゼン環上にメトキシ基や水酸基を有する各種アリールアルデヒドとのアルドール型縮合反応により3-ベンジリデンアナバセイン類縁体を合成した。

nACh 受容体アゴニスト [³H]エピバチジン、セロトニン5-HT₃ 受容体競合的アンタゴニスト [³H]BRL-43694 および [³H]LY278584 のワモンゴキブリ (*Periplaneta americana* L.) の胸腹部神経索膜画分およびラット脳膜画分への特異的結合に対する3-ベンジリデンアナバセイン類縁体および3-ベンジリデンミオスミン類縁体の阻害率を測定した。非特異的結合量測定のために、[³H]エピバチジン

には非標識エピバチジン, [^3H]BRL-43694 には非標識キバジン, [^3H]LY278584 には非標識 LY278584 を用い, 各結合阻害活性試験を検討した.

結果と考察

ワモンゴキブリ神経索膜画分を用いた [^3H]エピバチジン結合阻害活性試験の結果, 3-ベンジリデンアナバセイン類縁体のうち, ベンゼン環のパラ位に水酸基を持つ3-(4-ヒドロキシベンジリデン)アナバセイン (*p*-HXBA) が nACh 受容体に対し nM オーダーの最も高い親和性を示したが, ベンゼン環のパラ位にメトキシ基を持つ3-(4-メトキシベンジリデン)アナバセイン (*p*-MXBA) は, それより2オーダー低い親和性であった. また, ベンゼン環のオルト位に水酸基を持つ3-(2-ヒドロキシベンジリデン)アナバセイン (*o*-HXBA) やメトキシ基を持つ3-(2-メトキシベンジリデン)アナバセイン (*o*-MXBA) は, いずれも *p*-HXBA と *p*-MXBA の中間程度の親和性を示し, ベンゼン環上のオルト位の水酸基とメトキシ基の nACh 受容体親和性に対する影響にそれほど差は見られなかった. また, ベンゼン環のパラ位にメトキシ基が置換された化合物であっても, オルト位に電子供与性基を有する *o,p*-DMXBA や3-(2-ヒドロキシ-4-メトキシベンジリデン)アナバセイン (*o*-HX,*p*-MXBA) は, *p*-MXBA より親和性は高くなり *o*-HXBA や *o*-MXBA と同程度の親和性を示した.

一方, 3-ベンジリデンミオスミン類縁体の場合は, アナバセイン類縁体の場合に比べ, 全般的にかなり低い親和性であったが, ベンゼン環上の置換基の効果はアナバセイン類縁体の場合と同様の傾向を示した. 3-(2-ヒドロキシベンジリデン)ミオスミン (*o*-HXBM) や3-(2-ヒドロキシ-4-メトキシベンジリデン)ミオスミン (*o*-HX,*p*-MXBM), 3-(2,4-ジメトキシベンジリデン)ミオスミン (*o,p*-DMXBM) においては, μM オーダーの親和性を示し, ベンゼン環のパラ位に水酸基を持つ3-(4-ヒドロキシベンジリデン)ミオスミン (*p*-HXBM) および3-(2,4-ジヒドロキシベンジリデン)ミオスミン (*o,p*-DHXBM) では, それより1オーダー高い親和性を示した. ベンゼン環のパラ位あるいはオルト位にメトキシ基を持つ3-(4-メトキシベンジリデン)ミオスミン (*p*-MXBM) や3-(2-メトキシベンジリデン)ミオスミン (*o*-MXBM) については低い活性を示した.

以前の研究において, ベンジリデン基のベンゼン環上に電子供与基を持つ3-ベンジリデンアナバセイン類縁体は, イミン窒素への電子の押し出しにより窒素原子が生

理的 pH 下でイオン化しやすくなり, 結果的に親和性が増大していると考えられている (Sultana *et al.* 2002a; 2002b). 本研究において3-ベンジリデンアナバセイン類縁体および3-ベンジリデンミオスミン類縁体のベンゼン環上のパラ位の水酸基は, イミン窒素へ電子的に関与するだけではなく, 他の要因, 例えば nACh 受容体リガンド結合部位との水素結合に関与している可能性なども考えられる.

次に, ワモンゴキブリ神経索にセロトニン 5-HT₃ 受容体が存在するのかどうかを探るため, ワモンゴキブリ神経索膜画分に対する [^3H]BRL-43694 および [^3H]LY278584 の特異的結合量を調べた. しかしながら, 全結合量と非特異的結合量に差がなく, 特異的結合量を求めることは出来なかった. 少なくともこの実験結果からはワモンゴキブリにはセロトニン 5-HT₃ 受容体は存在しない可能性が考えられる. ただし, この実験のみでは断定はできないため, 引き続き詳細な検討も必要と思われる.

さらに, ラット脳膜画分を用いて [^3H]LY278584 結合阻害活性試験を検討した. 各試験化合物 10 μM における結合試験の結果では, いずれの3-ベンジリデンミオスミン類縁体も結合活性が低かった. 一方, *o,p*-DMXBA は, μM オーダーの親和性を示した. nACh 受容体と 5-HT₃ 受容体における親和性への3-ベンジリデンアナバセイン類縁体のベンジリデン基のベンゼン環上の置換基の影響を比較するためには, さらに5-HT₃ 受容体親和性を調べる必要がある.

今後, 各受容体のリガンド結合部位での詳細な構造的・電子的性質や相違点を探ることにより, 昆虫 nACh 受容体を作用点とした有用な生物制御剤の分子設計への応用やセロトニン 5-HT₃ 受容体の機能の解明と新規有用生理活性物質の創製が期待される.

引用文献

- Sultana, I., Hosokawa, C., Nishimura, K., Ikeda, I. and Ozoe, Y. (2002a) Benzylidene anabaseines act as high-affinity agonists for insect nicotinic acetylcholine receptors. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, **32**: 637-643.
- Sultana, I., Ikeda, I. and Ozoe, Y. (2002b) Structure-activity relationships of benzylidene anabaseines in nicotinic acetylcholine receptors of cockroach nerve cords. *Bioorg. Med. Chem.*, **10**: 2963-2971.