

—Reviews—

ピラジノン環誘導体をはじめとするペプチドミメティクスの 構造活性相関に関する研究

宮崎 杏奈

The Structure-Activity Relationship Studies of Peptide Mimetics Containing Pyrazinone Ring Derivatives

Anna MIYAZAKI

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kobe Gakuin University, 1-1-3 Minatojima, Chuo-ku, Kobe 650-8586, Japan

(Received October 16, 2009; Accepted November 10, 2009)

The internal factors such as peptides and proteins could be utilized as diagnosis agents and drugs with reduced of side effect. On the other hand, their application for clinical use has been limited because of the poor oral bioavailability and extensive pharmacological activities.

Okada *et al.* reported on μ/δ opioid agonists in which two Tyr or 2', 6'-dimethyl-L-tyrosine (Dmt) were linked to N-terminus with alkyl chains on positions 3 and 6 of a pyrazinone ring. Interestingly these compounds showed not only an increase in receptor affinity and antinociceptive activity but also the passage through the epithelial membrane of the gastrointestinal tracts and the blood-brain barrier (BBB). Against this background, I synthesized bioactive peptides containing a pyrazinone ring platform and studied their structure-activity relationship. Initially I developed δ opioid antagonists in which two Dmt-Tic (Tic: 1, 2, 3, 4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid) pharmacophores were linked through pyrazinone rings or diaminoalkanes with variable alkyl chains. Owing to the dimerization of Dmt-Tic pharmacophore through the pyrazinone ring, receptor affinity and functional activity increased substantially. Secondly I expanded this design to somatostatin analog, which included the Tyr-D-Trp-Lys active sequence, with antiproliferative activity. As a results, I found that only the compounds with pyrazinone ring as linker exhibited potent activity. The pyrazinone ring would contribute to the proper orientation of pharmacophores and the moderate hydrophobicity of compound as a whole. I suggested that the pyrazinone ring as a platform is very useful in developing peptidic therapeutic agents for the improvement of pharmacological activities and pharmacodynamic advantages.

Key words—pyrazinone ring; structure-activity relationship; opioid; somatostatin; bioavailability

1. はじめに

近年の寿命の高齢化に伴って、循環器疾患、代謝退行性疾患、自己免疫疾患やがんなど、病気の原因が外因性のものから内部環境の乱れによる内

因性のものへと変化してきている。その結果、抗生物質のような治療薬とは別に、ペプチドやタンパク質などの内因性因子を利用する治療法が注目されており、副作用の少ないペプチド性医薬品は臨床の場において大変期待されている。しかしな

がら、ペプチド性医薬品は、多様な薬理活性、酵素抵抗性や吸収性に乏しいなどの点から製剤化する事は困難とされている。そのため、生理活性ペプチドを医薬品として開発するには、作用の分離化やバイオアベイラビリティの向上などを念頭に置いた構造活性相関研究を行うことが必須となる。

多数の医薬品が開発される中、がんやそれに伴う疼痛緩和は、世間の関心が高い分野であるが、これらの治療薬が大変重篤な副作用を有する事は周知の通りである。特に疼痛緩和治療に頻用されているモルヒネは、その強力な鎮痛作用を示す一方で種々の副作用を示し、モルヒネに取って代わる耐性を持たない鎮痛薬の開発は急務とされる。また、エンケファリンやエンドモルフィンなどの内因性オピオイドペプチドは、モルヒネ様作用を示すものの生体内安定性や吸収性などの問題のため医薬品として利用する事は困難である。そのため、耐性や依存性を持たず、バイオアベイラビリティにも優れたオピオイドミメティクスの開発研究が世界中で盛んに行われている。そんな中、岡田らは鎮痛活性の増強と代謝安定性を狙い、ピラジノン環を有するオピオイドアゴニスト (Fig. 1) を開発した¹⁾。この化合物は、ピラジノン環をスペーサーとして、オピオイド活性発現に必須とされる Tyr や 2', 6' -dimethyl-L-tyrosine (Dmt) といった

ファーマコフォアをピラジノン環の 3 位と 6 位に二量化したものである。これは、オピオイド受容体のリガンド認識部位が、近傍に 2 つ存在するという推論に基づいたもので、オピオイドミメティクスのみならず一部の G タンパク質共役型受容体に対するリガンドの開発アプローチにおいても、二価リガンドの概念は非常に有効とされている²⁾。事実、Dmt の二量体化合物は、大変強力な μ 受容体親和性や μ アゴニスト活性を示した。また大変興味深い事に、ピラジノン環を有する事で、代謝安定性だけでなく、消化管細胞膜や血液脳関門透過性が向上し、皮下投与および経口投与でも効果的な鎮痛作用を示した^{1,3)}。つまりピラジノン環は薬物動態学的な面でペプチド性医薬品の欠点を補い、その臨床応用に向けた展開に大きな役割を果たすと考えられる。

そこで本研究では、強力で安定性に優れたペプチド性医薬品を開発すべく、ピラジノン環を基盤としたオピオイドミメティクスおよび抗腫瘍性ペプチドミメティクスの開発研究を行った。

2. ピラジノン環誘導体合成法の確立

目的とするペプチドミメティクス合成のためには、ピラジノン環合成法の簡便化／効率化が要求

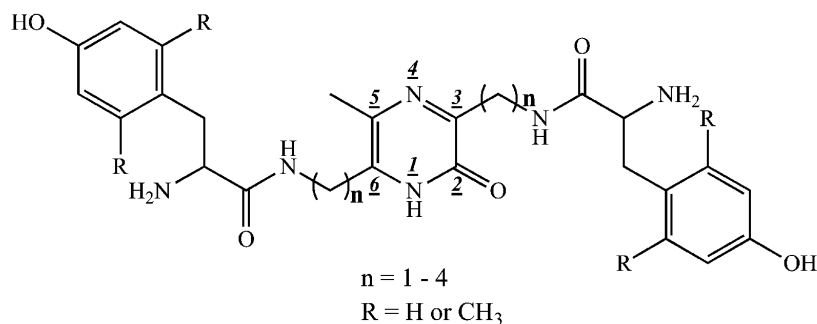
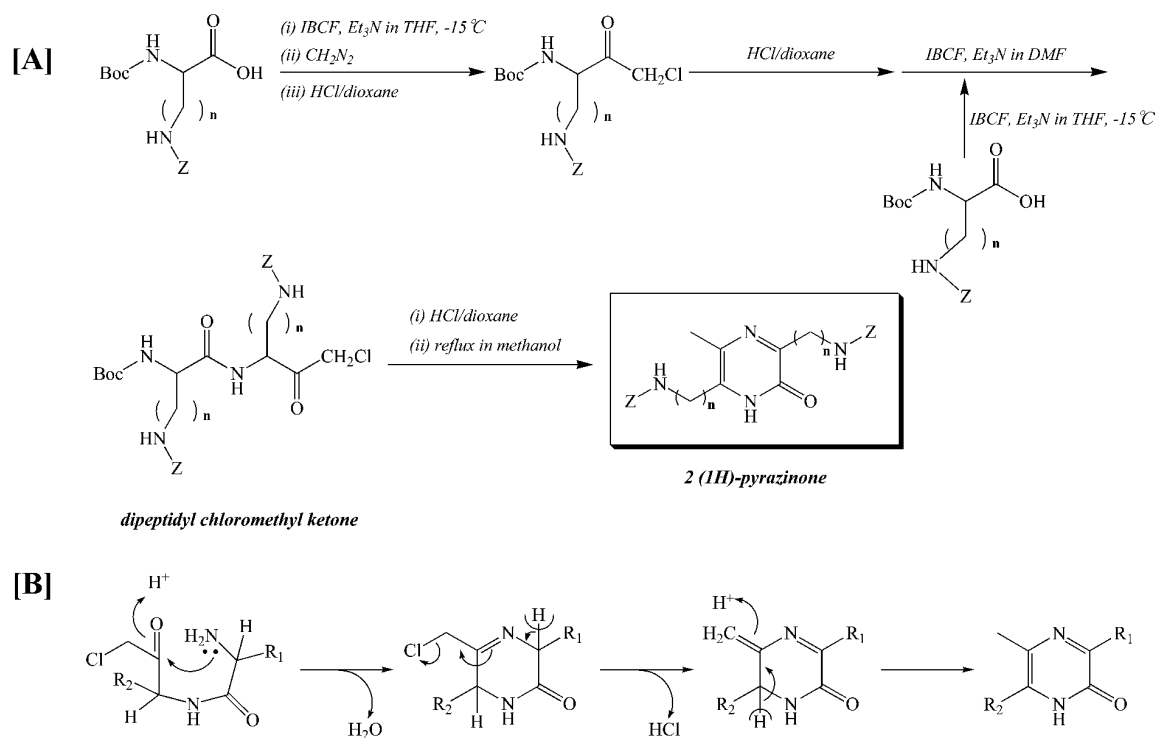


Fig. 1. Design of opioidmimetics containing pyrazinone ring.

される。そこでまず、ピラジノン環の簡易合成法の確立を行った。岡田らが開発したピラジノン環合成法によれば、二種の側鎖保護アミノ酸を出発原料とする。Scheme 1 [A] に示すように、一般的なペプチド合成法に準じて、ジペプチジルクロロメチルケトンとした後、分子内環化によってピラジノン環を合成することができる。また、今回確立したピラジノン環形成反応機構を Scheme 1 [B] に示した。この反応機構によると、ピラジノン環の3位と6位に結合している置換基は、それぞれのアミノ酸側鎖に相当する

事となる。^{4,5)} すなわち出発原料のアミノ酸によってさまざまな官能基やスペーサーの長さを有するピラジノン環誘導体を合成する事ができる。冒頭で述べたように、オピオイドミメティクスなどのGタンパク質共役型受容体に対するリガンドの開発において、スペーサーの長さや構造の制限化は、受容体親和性や活性に影響を及ぼす重要な因子となる。目的とするデザインに応じた多様な誘導体を簡便に合成する事ができるという点でも、ピラジノン環はペプチド性医薬品の開発研究に適したツールと言える。



Scheme 1. [A] Synthesis of pyrazinone ring from two amino acids. [B] Ring formation mechanism from dipeptidyl chloromethyl ketone.

Boc, *tert*-butoxycarbonyl; Z, benzyloxycarbonyl; IBCF, isobutylchloroformate; DMF, *N,N*-dimethylformamide; THF, tetrahydrofuran.

3. ピラジノン環を有するオピオイドミメティクスの開発

優れたオピオイドミメティクス開発研究において、鎮痛作用の発現に関与しているとされる μ および δ 受容体に対するリガンドが今日までに多数合成されてきた。その中で、Fig. 2 に示す H-Dmt-Tic-OH (Tic: 1, 2, 3, 4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid) は、 δ 受容体に高い親和性を有する δ 選択的アンタゴニストとして報告された ($K_i(\delta) = 0.022$ nM, $K_i(\mu) = 3320$ nM, $pA_2(\delta) = 8.48$)⁶⁾。 δ アンタゴニストは、 μ 受容体を介した鎮痛作用に影響する事なく、身体依存性や耐性を

抑制する作用を有する。そこで、強力な δ アンタゴニスト活性を有するオピオイドミメティクス開発のため、H-Dmt-Tic-OH をファーマコフォアとした二量体化合物を合成した。Fig. 3 に示すように、メチレン数が **1-4** までのさまざまな長さを有するピラジノン環をスペーサーとした化合物 (**1-7**)、またピラジノン環と比較するために、さまざまな長さのジアミノアルカンをスペーサーとする化合物 (**8-10**) を合成した。さらに、H-Dmt-Tic-OH を *N,N*-ジメチル化すると δ アンタゴニスト活性が増強するという報告を基に、化合物 **3** および **9** の *N,N*-ジメチル体 (**11, 12**) も合成した。

これらの化合物の δ および μ 受容体に対する

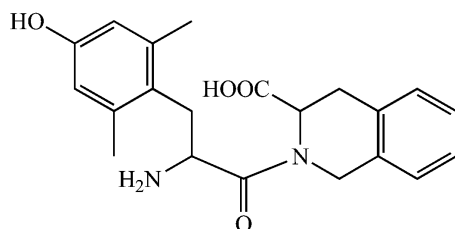


Fig. 2. Structure of H-Dmt-Tic-OH dipeptide.

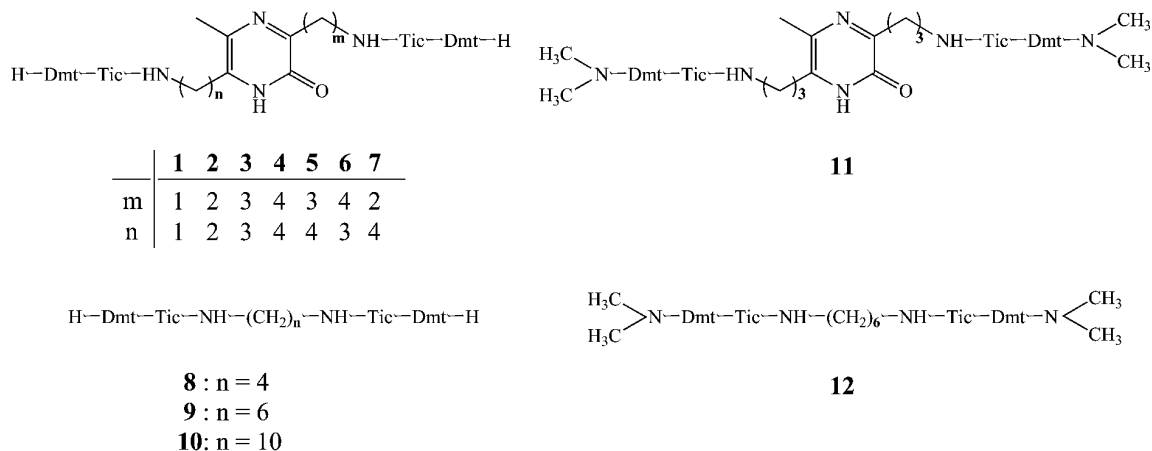


Fig. 3. The prepared opioidmimetics **1-12** containing H-Dmt-Tic-OH as pharmacophore.

親和性を検討した (Table 1). その結果, スペーサーの種類や長さに関わらず, すべての化合物が両受容体に対して強力な親和性を示し, 特に μ 受容体に対しては親化合物と比較すると約

1000 倍上昇した. 続いてこれらのアゴニスト/アンタゴニスト活性について検討した (Table 2). その結果, すべての化合物が強力な δ アンタゴニスト活性を示し, δ アゴニスト活性は全く見られ

Table 1. Rat brain membrane receptor binding affinity of H-Dmt-Tic-OH dimmers.

	Compound	m	n	Ki(δ) (nM)	Ki(μ) (nM)	Ki(μ)/Ki(δ)
1	bis[(Dmt-Tic-NH)methyl]pyrazinone	1	1	0.163 \pm 0.018	3.76 \pm 0.30	23
2	bis[(Dmt-Tic-NH)ethyl]pyrazinone	2	2	0.095 \pm 0.001	2.83 \pm 0.12	30
3	bis[(Dmt-Tic-NH)propyl]pyrazinone	3	3	0.155 \pm 0.016	3.08 \pm 0.17	20
4	bis[(Dmt-Tic-NH)butyl]pyrazinone	4	4	0.323 \pm 0.007	1.74 \pm 0.14	5
5	H-Dmt-Tic-propyl-pyrazinone-butyl-Tic-Dmt-H	3	4	0.16 \pm 0.03	1.56 \pm 0.11	10
6	H-Dmt-Tic-butyl-pyrazinone-propyl-Tic-Dmt-H	4	3	0.092 \pm 0.01	2.28 \pm 0.03	25
7	H-Dmt-Tic-ethyl-pyrazinone-butyl-Tic-Dmt-H	2	4	0.107 \pm 0.007	1.37 \pm 0.13	13
8	bis[Dmt-Tic-NH]butyl		4	0.124 \pm 0.016	5.72 \pm 0.22	46
9	bis[Dmt-Tic-NH]hexyl		6	0.129 \pm 0.03	1.79 \pm 0.08	14
10	bis[Dmt-Tic-NH]decyl		10	1.53 \pm 0.16	4.86 \pm 0.41	3
11	3, 6-bis[<i>N</i> , <i>N</i> -dimethyl-Dmt-Tic-NH-propyl]pyrazinone	3	3	0.287 \pm 0.015	1.68 \pm 0.17	6
12	bis[<i>N</i> , <i>N</i> -dimethyl-Dmt-Tic-NH]hexyl		6	0.06 \pm 0.01	2.21 \pm 0.08	37
	H-Dmt-Tic-OH			0.022	3320	150800

Table 2. Functional bioactivity of H-Dmt-Tic-OH dimmers.

	Compound	m	n	MVD ^a (δ)		GPI ^a (μ)	
				agonist IC ₅₀ (nM)	antagonist ^b pA ₂	agonist IC ₅₀ (nM)	antagonist ^c pA ₂
1	bis[(Dmt-Tic-NH)methyl]pyrazinone	1	1	>10000	11.22	>10000	ND ^d
2	bis[(Dmt-Tic-NH)ethyl]pyrazinone	2	2	>10000	10.73	>10000	6.78
3	bis[(Dmt-Tic-NH)propyl]pyrazinone	3	3	>10000	10.56	7025 \pm 2467	ND
4	bis[(Dmt-Tic-NH)butyl]pyrazinone	4	4	>10000	11.06	>10000	ND
5	H-Dmt-Tic-propyl-pyrazinone-butyl-Tic-Dmt-H	3	4	>10000	10.60	>10000	ND
6	H-Dmt-Tic-butyl-pyrazinone-propyl-Tic-Dmt-H	4	3	>10000	10.47	>10000	6.95
7	H-Dmt-Tic-ethyl-pyrazinone-butyl-Tic-Dmt-H	2	4	>10000	10.99	>10000	ND
8	bis[Dmt-Tic-NH]butyl		4	>10000	10.51	>10000	6.99
9	bis[Dmt-Tic-NH]hexyl		6	>10000	10.62	2715 \pm 1359	ND
10	bis[Dmt-Tic-NH]decyl		10	>10000	10.97	5425 \pm 1838	ND
11	3, 6-bis[<i>N</i> , <i>N</i> -dimethyl-Dmt-Tic-NH-propyl]pyrazinone	3	3	>10000	10.42	>10000	7.71
12	bis[<i>N</i> , <i>N</i> -dimethyl-Dmt-Tic-NH]hexyl		6	>10000	11.28	>10000	8.34
	H-Dmt-Tic-OH			none	8.48	ND	ND
	naltrindole				9.20		7.30

^aThe data are the means of over five independent repetitions used different isolated tissue preparations. MVD, mouse vas deferens; GPI, guinea pig ileum. ^bVersus deltorphin-II as the agonist. ^cVersus endomorphin-2. ^dND=not determined.

なかった。この値は、 δ 選択的アンタゴニストである naltrindole や H-Dmt-Tic-OH より約 10-100 倍も強力で、アンタゴニストの二量化による活性の増強を立証するものであった。また受容体親和性同様、ピラジノン環とジアミノアルカンとでは活性に顕著な差は見られなかったが、ピラジノン環を用いた化合物は、安定性や吸収性に優れていることから *in vivo* でより強力な活性を示すと期待される。さらに興味深い事に、化合物 **3** と **9** はとても弱い μ アゴニスト活性を示したのに対し、それらの *N,N*-ジメチル体 **11** と **12** は強力な μ アンタゴニスト活性 (pA_2 (μ) = 7.71, 8.34) を示した。またこの値は naltrindole (pA_2 (μ) = 7.3) や既に報告されている他の μ アンタゴニスト (pA_2 (μ) = 5.3-6.1) よりも強力であった。

これらの化合物は、モルヒネ疼痛緩和治療における耐性や精神依存性の治療薬として展開する事ができる。また *N,N*-ジメチル体は、薬物依存症やアルコール依存症治療薬としての活躍も期待される。中でも化合物 **11** は、ピラジノン環がもたらす薬物動態学的な利点に加え、ジメチル化による疎水性増加がもたらす細胞膜透過性の増強によって、臨床的なニーズを満たす有用なペプチド治療薬となるであろう。

4. 抗腫瘍性ペプチドミメティクスの開発

4.1 ピラジノン環を有するソマトスタチンアナログの開発

内因性ホルモンであるソマトスタチン-14 [H-Ala-Gly-c(Cys-Lys-Asn-Phe-Phe-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-Ser-Cys)-OH] は、成長ホルモン放出抑制や種々の生体内ホルモンの分泌調節をはじめ、細胞増殖抑制⁸⁻¹¹⁾などの多様な薬理活性に参与している。またオクトレオチド [H-D-Phe-c(Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys)-Thr-ol] は、ソマトスタチンよりも半減期の長いアナログとして報告され、内分泌性腫瘍治療薬や PET 診断薬として臨床でも頻用されている¹²⁾。しかしこれらの多様な薬理活性は、生体内だけでなくがん細胞上にも多数存在しているソマトスタチン受容体を介して発現されるため、抗腫瘍薬としての臨床での使用は制限されている。そんな中 Kéri らは、ソマトスタチン様作用を示さず、抗腫瘍活性のみを示すペプチドとして TT-232 [H-D-Phe-c(Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Cys)-Thr-NH₂] を開発した¹³⁾。筆者はこの報告を基に、強力で選択性かつ安定性に優れた抗腫瘍薬を開発すべく、ピラジノン環を TT-232 の活性配列である Tyr-D-Trp-Lys との組み合わせへと応用した (Fig. 4)。これまでに報告されている環状ソマト

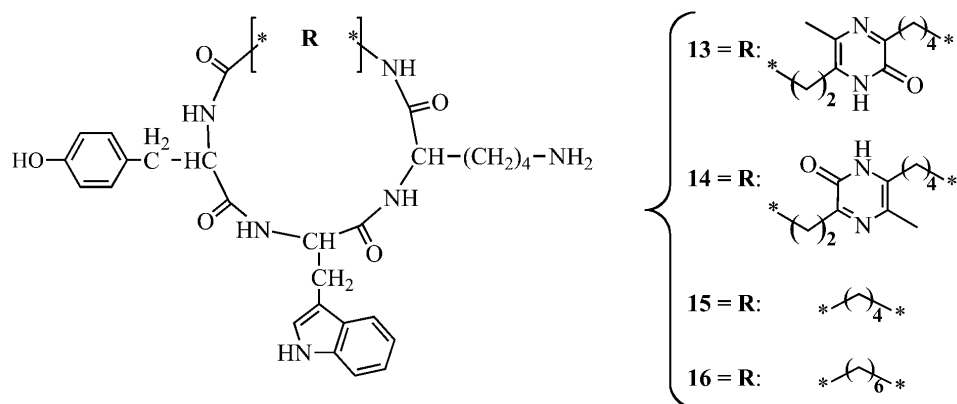


Fig. 4. Cyclic somatostatin analogs **13-16**.

スタチンアナログはジスルフィド結合を有しているものがほとんどであるため、ピラジノン環を用いて環状化したソマトスタチンアナログは、これまでにない特徴的な構造といえる。

Fig. 4 に示すように、ピラジノン環または脂肪族アミノ酸をリンカーとして用いた化合物を合成し、これらの抗腫瘍活性を検討した (Fig. 5)。ソマトスタチン受容体が発現しているヒト扁平上皮ガン細胞 (A431 細胞) を用い、各化合物濃度に対する細胞増殖抑制活性を測定した。その結果 50 μM において、ピラジノン環を有する化合物のみが強力な抗腫瘍活性を示し、この値はポジティブコントロールとして用いたシクロヘキシミドに匹敵するものであった。ソマトスタチンやほとんどの環状ソマトスタチンアナログは β ターン構造を形成し、その二次構造と抗腫瘍活性との相関性が報告されている。^{14, 15)} しかしながら今回合成した化合物は、NMR と circular dichroism (CD) を用いた

検討では特徴的な二次構造を形成しなかったにも関わらず、強力な抗腫瘍活性を示すという興味ある結果であった。またそれとともに、ソマトスタチンアナログへのピラジノン環利用の有用性についても確認することができた。

続いて化合物の疎水性を増強する目的で、活性配列 Tyr を Dmt や Phe に置換した化合物を合成し、これまでと同様に抗腫瘍活性を検討した。ソマトスタチン受容体はオピオイド受容体と同じ G タンパク質共役型受容体であるため、オピオイドミメティクス同様、Tyr を Dmt に置換する事で活性の増強を期待した。しかし、Dmt や Phe に置換することで活性は激減した。化合物全体としての疎水性だけでなく、Tyr や Dmt が有するフェノール性水酸基はオピオイド受容体との結合に重要な役割を果たす。しかしオピオイド受容体とは異なり、Dmt のかさ高さはソマトスタチン受容体には不適合であったと考えられる。

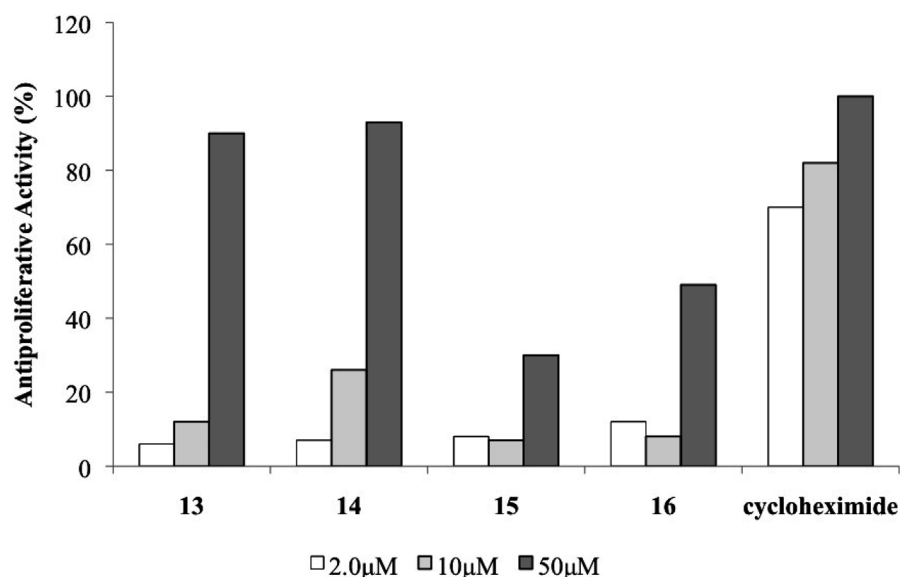


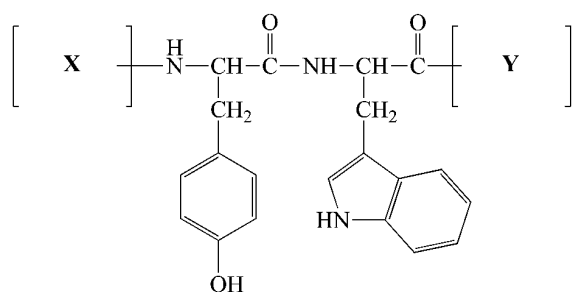
Fig. 5. The results of antiproliferative activity of 13-16 on A431 tumor cells, in which somatostatin receptor are expressed as measured by methylene blue test. The concentrations of the analogs were 2, 10 and 50 μM . Cycloheximide was used as positive control. Antiproliferative activity of compounds is expressed as inhibition of cellular proliferation (%).

4.2 抗腫瘍活性を有する小分子ソマトスタチンアナログの開発

生体内に投与された薬物が効率よく体内に吸収されるには、消化管細胞膜透過性が必須である事はこれまでに述べてきた。それに加え、構造の制限も受容体との相互作用において重要な要素となる。そこで筆者は、より強力な抗腫瘍活性を有するファーマコフォア探索のため、TT-232の活性配列である Tyr-D-Trp-Lys を基盤とし、疎水性増強と構造の制限化に焦点を当てた構造活性相関研究を行った。N 末 Tyr は活性に必須であり、D-Trp は酵素抵抗性を有するため、C 末 Lys の置換に注目し、構造的にかさ高い疎水性官能基を導入した小分子ソマトスタチンアナログを合成した (Fig. 6)。活性配列を基にした化合物 (**19**) をはじめ、C 末 Lys を堅固な構造を有する疎水性残基で置換した化合物 (**26-31**)、疎水性を増加させる目的で N 末および C 末に Boc 基や 9-fluorenylmethyl ester (OFm) 基を導入した化合物 (**17, 18, 20-25**)、また C 末 Lys を除去した化合物 (**32**) を合成した。

これらの化合物の A431 細胞に対する抗腫瘍活性を検討した (Table 3)。活性配列である直鎖ペ

プチド **17-19** がほとんど活性を示さなかった一方で、C 末 Lys をさまざまな疎水性官能基で置換した化合物は濃度依存的な活性を示した。中でも C 末に adamantyl 基を有する化合物 (**20, 21, 26, 27**) は非常に強い抗腫瘍活性を示し、その値は TT-232 やシクロヘキシミドよりも強力であった。化合物の疎水性度を HPLC にて検討したところ、疎水性が高いほど強い活性を示し、疎水性度と抗腫瘍活性との明白な相関性が見られた。しかし、疎水性度が高い化合物 **17** の活性がほとんどなかったことから、C 末官能基のサイズや適度な構造制限も活性に大きく影響していると考えられる。C 末に adamantyl 基や cyclohexyl 基のようなかさ高い脂肪族性官能基の導入は、抗腫瘍活性の増強に非常に有効であると言える。さらに、活性の強かった化合物 **20** のアポトーシスの有無について A431 細胞を用いて検討した。フローサイトメトリーを用いて DNA 断片化を測定したところ、化合物は約 60% のアポトーシスを誘発した。またその時の細胞の形態学的変化も認められ、細胞死を確認する事ができた (Fig. 7)。



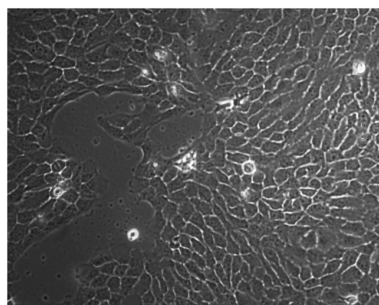
- 17:** X=Boc, Y=Lys(Z)-OFm
18: X=Boc, Y=Lys(Z)-OH
19: X=H-, Y=Lys(Z)-OH
20/26: X=Boc-/H-, Y=1-adamantylamide
21/27: X=Boc-/H-, Y=2-adamantylamide
22/28: X=Boc-/H-, Y=1-naphthylamide
23/29: X=Boc-/H-, Y=*t*-butylamide
24/30: X=Boc-/H-, Y=4-methylcoumarin-7-ylamide
25/31: X=Boc-/H-, Y=cyclohexylamide
32: X=H-, Y=OH

Fig. 6. Linear somatostatin analogs **17-32**.

Table 3. The results of antiproliferative activity of **17-32** on A431 tumor cells by MTT assay. Antiproliferative activity of compounds is expressed as inhibition of cellular proliferation (%) and listed the mean as \pm SE. Cycloheximide and TT-232 were used as positive control.

Compound	A431 (%)		
	10 μ M	25 μ M	50 μ M
17	2 ± 6.4	7 ± 3.9	7 ± 1.9
18	0 ± 4.6	0 ± 7.2	2 ± 6.2
19	0 ± 5.2	0 ± 4.3	0 ± 6.7
20	72 ± 1.4	90 ± 2.6	93 ± 1.7
21	26 ± 5.8	43 ± 5.7	95 ± 2.3
22	25 ± 6.1	21 ± 5.0	19 ± 3.9
23	3 ± 7.2	20 ± 6.0	31 ± 3.4
24	12 ± 3.7	18 ± 1.9	35 ± 5.7
25	21 ± 5.0	17 ± 1.7	58 ± 0.8
26	19 ± 0.8	52 ± 5.8	91 ± 1.0
27	30 ± 5.4	76 ± 2.0	88 ± 9.0
28	7 ± 4.4	18 ± 7.6	40 ± 2.7
29	10 ± 7.2	5 ± 7.4	16 ± 1.0
30	0 ± 6.8	0 ± 6.5	22 ± 5.6
31	18 ± 6.7	20 ± 6.9	39 ± 6.1
32	0 ± 9.5	8 ± 5.9	11 ± 6.8
TT-232	50 ± 9.4	60 ± 8.5	80 ± 7.4
cycloheximide	40 ± 4.6	70 ± 4.9	80 ± 3.1

[A] Control



[B] Compound 20

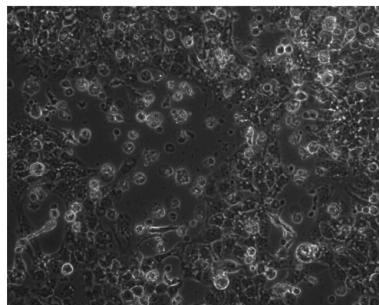


Fig. 7. The microscopic studies of compound **20**. On the basis of the cell proliferation data, the most active compound **20** was selected to visualize the morphological changes in A431 tumor cells after the incubation of cells with **20** (30 μ M) for 48 h. The microscopic visualization showed that **20** was the peptide that indeed changed cell morphology, indicating that apoptosis has been induced.

5. まとめ

本研究では、ピラジノン環の生理活性物質への応用やそれらの構造活性相関について研究を行うことで、非常に強力なアナログの開発に成功する事ができた。そしてピラジノン環を生理活性物質へ応用することは、薬物動態学的に利点をもたらすだけでなく活性の増強においても有益であるという知見が得られた。それ故、これまで困難とされてきたペプチド性医薬品の臨床での応用が、今後ますます広がる事が期待できる。また、今回発見した小分子ソマトスタチンアナログ：Boc-Tyr-D-Trp-1-adamantylamide をファーマコフォアツールとして用いた研究は、より優れた抗腫瘍薬の開発に大きく貢献する事であろう。

謝辞 本研究にあたり、多岐にわたるご指導とご鞭撻を賜りました、神戸学院大学学長、岡田芳男教授に深く感謝いたします。種々のご教示をいただきました、大阪薬科大学、石田寿昌教授に心より厚く御礼申し上げます。本研究を遂行するにあたり、ご指導ならびにご協力いただきました神戸学院大学薬学部、津田裕子教授に深く感謝いたします。NMR測定にご協力いただきました、神戸学院大学薬学部、横井利夫教授に深く感謝いたします。抗腫瘍活性測定にご協力いただきました、神戸学院大学薬学部、福島昭二教授、岸本修一講師に深く感謝いたします。オピオイド受容体結合親和性を測定していただきました、アメリカ国立環境衛生研究所、Dr. Lawrence H. Lazarus に感謝いたします。GPI および MVD 試験を行っていただきました、東北薬科大学生化学教室、佐々木有亮教授、安保明博講師に感謝いたします。抗腫瘍活性にご協力いただきました、セメルワイズ医科大学、Prof. György Kéri, Prof. Anikó Horváth, Dr. Tibor Vántus, Dr. Gyöngyi Bökönyi, Dr. Edit Szabó に感謝いたします。本

研究を遂行するにあたり、多大なるご協力をいただきました、神戸学院大学薬学部薬品化学講座研究員、リ・ティンユー博士、高橋源浩博士ならびに同講座卒業生の藤澤豊修士に感謝いたします。その他、神戸学院大学薬学部薬品化学講座に在籍されました大学院生、学部学生諸氏のご協力に感謝いたします。

REFERENCES

- 1) Jinsmaa Y., Miyazaki A., Fujita Y., Li T., Fujisawa Y., Shiotani K., Tsuda Y., Yokoi T., Ambo A., Sasaki Y., Bryant S. D., Lazaus L. H., Okada Y., *J. Med. Chem.*, **47**, 2599-2610 (2004).
- 2) Portoghese P. S., *Trends Pharmacol. Sci.*, **10**, 231-235 (1989).
- 3) Igarashi K., Murabayashi Y., Koichiro H., Kitamura Y., Kasuya F., Shiotani K., Tingyou L., Miyazaki A., Tsuda Y., Okada Y., Fukushima S., *J. Chromatogr. B.*, **806**, 53-57 (2004).
- 4) Taguchi H., Yokoi T., Tsukatani M., Okada Y., *Tetrahedron*, **51**, 7361-7372 (1995).
- 5) Taguchi H., Yokoi T., Tsukatani M., Okada Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **46**, 1372-1382 (1998).
- 6) Salvadori S., Attila M., Balboni G., Bianchi C., Bryant S. D., Crescenzi O., Guerrini R., Picone D., Tancredi T., Temussi P. A., Lazarus L. H., *Mol. Med.*, **1**, 678-689 (1995).
- 7) Salvadori S., Balboni G., Guerrini R., Tomatis R., Bianchi C., Bryant S. D., Copper P. S., Lazarus L. H., *J. Med. Chem.*, **40**, 3100-3108 (1997).
- 8) Brazeau P., Vale W., Burgus R., Ling N., Butcher M., Rivier J., Guillemin R., *Science*, **179**, 77-79 (1973).
- 9) Reichlin D., *N. Engl. J. Med.*, **309**, 1495-1501 (1983).
- 10) Schally A. V., *Cancer Res.*, **48**, 6977-6985 (1988).
- 11) Lewin M. J. M., *Annu. Rev. Physiol.*, **54**, 455-469 (1992).
- 12) Feindt J., Mentlein R., Krisch B., *Brain Res.*, **746**, 309-313 (1997).

-
- 13) Kéri G., Mezô I., Vadász Z., Horváth A., Idei M., Vántus T., Balogh Á., Bökönyi G., Bajor T., Teplán I., Tamás J., Mák M., Horváth J., Csuka O., *Peptide Res.*, **6**, 281-288 (1993).
 - 14) Wynants C., Van B. G., Loosli H. R., *Int. J. Pept. Protein Res.*, **25**, 622-627 (1985).
 - 15) Melacini G., Zhu Q., Goodman M., *Biochemistry*, **36**, 1233-1241 (1997).