

# 分光学的手法による溶液状態でのサリドマイド分子挙動の解析

(早大・先進理工\*, 産総研\*\*, 名工大院・工\*\*\*)

○荻野禎之\*, 田中真人\*\*, 鈴木俊哉\*, 柴田哲男\*\*\*, 朝日透\*

【序】 サリドマイドは 1950 年代に睡眠薬として発売されたが、1960 年代に入ると次々にその催奇形性が報告された。サリドマイドは不斉炭素有し、対掌構造を持つ(R)体および(S)体のサリドマイドが存在するが、Blaschke(1979)らの報告によれば催奇形性を示すのは(S)体のサリドマイドであり、(R)体のサリドマイドは一切催奇形性を示さないという[1]。しかし、サリドマイドはその構造的特徴によりプロトン性溶媒中でキラル反転を起こし、さらに水の存在下においては容易に加水分解を受ける。したがって体内に投与されたサリドマイドは加水分解を受けて別の物質へと変化し、さらにキラル反転も起こすため、Blaschke らの当初の報告の一部は疑問視されている。サリドマイドの催奇形性に結びつく効果の一つとして、DNA への酸化ストレスが知られている[2]。これは理論的考察により、サリドマイドのフタルイミド環の部分が DNA の GC-rich なプロモーター領域との相互作用が原因であると考えられている[3]が、この説に基づくとフタルイミド環が加水分解により開環されていない産物が催奇形性を示すことになる。さらに、(R)体と(S)体の立体配置の差異によりこの効果の有無が決まるとされている。また最近我々は、サリドマイド単結晶の構造解析と DFT に基づく水素結合エネルギー計算により、サリドマイドの結晶状態における二量体形成の安定性を評価し、サリドマイドのラセミ体とエナンチオマー間の物理化学的性質の違いが、ホモキラルあるいはヘテロキラルなサリドマイド二量体が形成される際のエネルギー的な安定性の違いに起因することを明らかにしている[4]。

ヒト体内でのサリドマイドは加水分解とキラル反転により複雑な挙動を示すと考えられ(図 1)、さらに酵素の存在下ではいくつかの部位へのヒドロキシル化も起こる。これらの代謝システムを解明することは、近年再び注目され始めているサリドマイドのハンセン病や多発性骨髄腫の治療薬としての効果を評価し、安全にサリドマイドを処方するために不可欠である。本研究は、溶液状態でのサリドマイド分子の挙動を解析するため、加水分解とキラル反転の関係性について、紫外吸収スペクトルと円二色性スペクトルの時間変化を様々な温度と pH の条件下で詳細に測定し、さらに、加水分解とキラル反転の温度・pH 依存性、および加水分解により生成される代謝産物のキラリティーの保存に関して議論した。

【実験】 サリドマイドのラセミ体(RS)とエナンチオマー(R,S)、およびサリドマイドを構成するフタルイミドとグルタルイミドの CH<sub>3</sub>CN 溶液(10 mM)を MilliQ 水 100 mL に 20 μL 入れて最終濃度を 20 μM

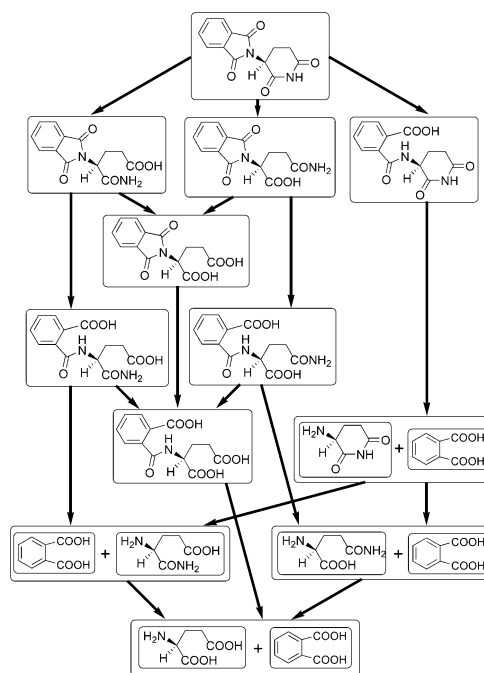


図 1 (S)体サリドマイドの加水分解とキラル反転の経路 ([5]より作成)

とした。これを石英製セルに入れ円二色性分散計(JASCO, J-820)を用いて 200nm-350nm の紫外吸収スペクトルと円二色性スペクトルを得た。pH は Tris-HCl 緩衝液を使用して 5.5, 7.4, 8.5, 9.7 にそれぞれ調整した。温度はペルチェ式セルホルダを使用して 7, 17, 27, 37 および 47°C に制御した。

【結果と考察】 図 2 に(R)体サリドマイドの紫外吸収スペクトルの経時変化(pH 9.7, 47°C)を示す。サリドマイドの加水分解については塩基触媒性であることが以前の研究から示唆されていたが[6], 今回の実験でも塩基性条件においてサリドマイドに特徴的なくつかのピークの速やかな減少が短時間の間に見られた。(S)体, (RS)体でもほとんど同様の結果が得られた。また, サリドマイドを構成するフタルイミドとグルタルイミドに関しても紫外吸収スペクトルの経時変化を観察したところ, フタルイミドはサリドマイドと同様な大きな吸収の変化を示し, グルタルイミドはほとんど吸収の変化を示さなかった。これらより, サリドマイドの加水分解はフタルイミド環の加水分解が優先し, グルタルイミド環の開環は, フタルイミド環の結合が何らかの影響を与えていることが示唆された。

図 3 に(S)体サリドマイドの円二色性スペクトルの経時変化(pH 9.7, 47°C)を示す。円二色性スペクトルは溶液中の物質のキラリティーを直接反映するが, 加水分解が進んでも円二色性は消失せずに, ある別の形のスペクトルが保持されている。このことより, サリドマイドの加水分解産物においては, 元来のサリドマイドのキラリティーが部分的に保持され, それぞれのエナンチオマーの効果が加水分解産物において残っているということが実験的に明らかとなった。

#### 【文献】

- [1] G. Blaschke *et al.*, *Arzneim. Forsch.* **29**, 1640-1642 (1979)
- [2] T. Parman *et al.*, *Nature Medicine* **5**, 582-585 (1999)
- [3] Trent D. Stephens *et al.*, *Biochemical Pharmacology* **59**, 1489-1499 (2000)
- [4] T. Suzuki *et al.*, *Phase Transitions* **83**, 223-234 (2010)
- [5] H. Schumacher *et al.*, *Brlt. J. Pharmacol.* **25**, 324-337 (1965)
- [6] M. Reist *et al.*, *Chem. Res. Toxicol.* **11**, 1521-1528 (1998)

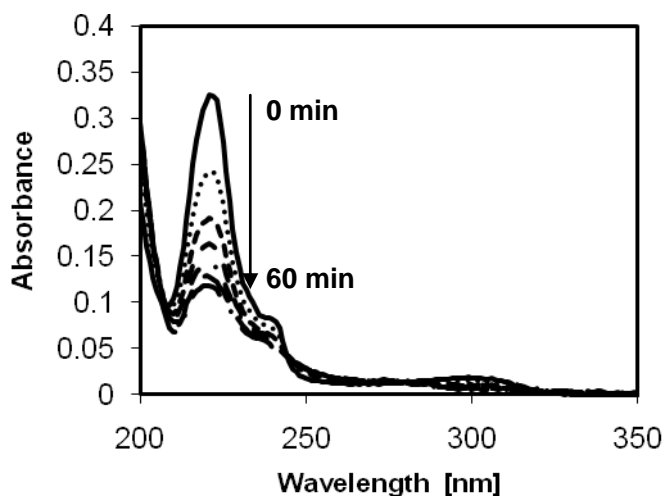


図 2 (R)体サリドマイドの紫外吸収スペクトルの時間変化(pH 9.7, 47°C)

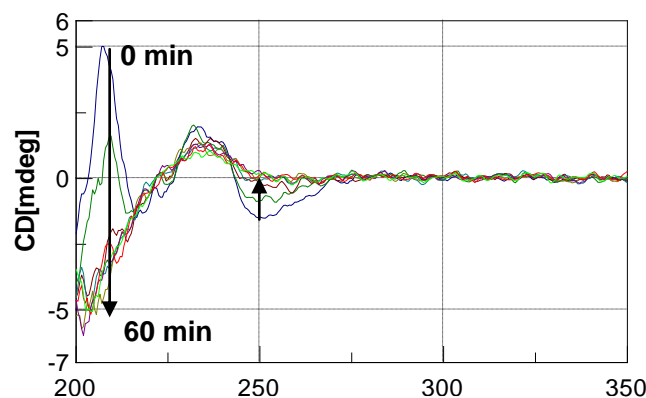


図 3 (S)体サリドマイドの円二色性スペクトルの時間変化(pH 9.7, 47°C)