

令和 5 年 6 月 26 日現在

機関番号：12611

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06963

研究課題名(和文)ステロイド骨格の新規代替構造を用いる新規核内受容体リガンドの創製

研究課題名(英文)Development of Novel Nuclear Receptor Ligands with Nonsteroid Skeleton

研究代表者

棚谷 綾 (Tanatani, Aya)

お茶の水女子大学・基幹研究院・教授

研究者番号：40361654

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、プロゲステロン、アンドロゲン、ビタミンDの各核内受容体を標的として、その特異的機能制御剤の創製を行った。プロゲステロンアンタゴニストに関しては、7位にスルホンアミド基をもつクマリン誘導体及び6位にピロール環を有するキノロン誘導体を系統的に合成し、その構造活性相関を明らかとした。アンドロゲンアンタゴニストに関しては、6-アリアルキノロン誘導体および、cis型構造をとる3級アミド基を持つクマリンまたはキノロン誘導体を設計、合成し、その構造活性相関を明らかとした。更に、セコステロイド構造を持つビタミンDの誘導体として、リトコール酸をリード化合物として高活性誘導体の創製に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、ステロイドホルモン受容体およびビタミンD受容体の機能を厳密に制御する新規モジュレーターの創製を目的に、ステロイド骨格やセコステロイド骨格を他の構造に代替した化合物を設計、合成し、その核内受容体機能制御活性を検討した。得られた構造活性相関に関する知見は、これらの核内受容体の機能制御に有用な構造情報となるとともに、高活性化合物は、生物活性の特性、体内動態等を詳細に解明することで、医薬応用が期待できる。なかでも、高いビタミンD活性を有するリトコール酸誘導体はこれまでに開発されたビタミンD誘導体とは全く異なる構造、物性を有することから、新たなビタミンD療法への展開が期待できる。

研究成果の概要(英文)：Novel specific modulators of progesterone, androgen, and vitamin D receptors have been developed. First, as progesterone antagonists, coumarin derivatives with 7-sulfonamide moiety and quinolone derivatives with pyrrole ring at the 6 position were systematically synthesized, and their structure-activity relationships were elucidated. Second, as androgen antagonists, coumarin and quinolone derivatives with 6-aryl group were systematically synthesized, and their structure-activity relationships were elucidated. Further, we synthesized novel secosteroidal vitamin D derivatives by using lithocolic acid as a lead compound, and succeeded in the development of highly active lithocolic acid derivatives as vitamin D receptor agonist.

研究分野：医薬化学

キーワード：核内受容体 導 プロゲステロン アンドロゲン アンタゴニスト ビタミンD リトコール酸 細胞分化誘導

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

ステロイドホルモン受容体やビタミン D 受容体は、リガンド依存的転写因子として個体の成長や恒常性に重要な働きをしている。これらの核内受容体機能の破綻や異常は、がん、自己免疫疾患、生活習慣病、脳機能疾患などの様々な難治性疾患の発症や治療と密接に関連していることから、これらの疾患治療薬開発の重要な分子標的と捉えられている。既に各種ステロイドホルモン誘導体が医薬品化されている一方で、核内受容体とそのリガンドの多様な機能の十分な理解の欠如から、医薬への応用が困難もしくは制限されている。また、臨床応用されているステロイドホルモン受容体リガンドについても重要な問題を抱えている場合がある。その例が前立腺癌に対するホルモン療法である。アンドロゲン受容体 (AR) の発見以来、アンドロゲンアンタゴニストが臨床に用いられており、ほとんどの症例で有効である一方、治療継続の後、薬剤耐性または疾病の増悪化が起こる。この主な要因として耐性癌には変異型 AR が広く発現していることが挙げられ、変異受容体にも有効な新規アンタゴニストの創成が期待されている。

### 2. 研究の目的

本研究では、リガンド依存的に遺伝子発現の制御を担うステロイドホルモン受容体を標的として、新たな医薬開発を志向して、その機能の特異的に制御する化合物の創製を行う。本研究者が行ってきた核内受容体研究を更に展開し、多様な生理作用を有するステロイドホルモン受容体およびビタミン D 受容体の機能を厳密に制御する新規モジュレーターを創製し、これらの受容体を標的とする医薬開発基盤を構築する。特に、ステロイド骨格を代替する新規構造を基盤として、新たな臨床応用を目指したプロゲステロンアンタゴニスト、変異受容体にも有効なアンドロゲンアンタゴニスト、セコステロイド構造を持たないビタミン D 誘導体を創製する。

### 3. 研究の方法

本研究では、アンドロゲン、プロゲステロンおよびビタミン D の核内受容体に焦点をあて、新規骨格を有する合成リガンドを設計、合成して、その構造活性相関を明らかにする。

### 4. 研究成果

#### (1) 新規プロゲステロンアンタゴニストの創製

本研究者は 6 位にピロール環を有するキノロン誘導体 1 (図 1) にプロゲステロン受容体 (PR) アンタゴニスト活性をみだしてあり、本化合物の誘導体を系統的に合成し、その活性を評価した。化合物 1 において、キノロン環窒素原子上の置換基 ( $R_2$ ) が水素の場合は、高濃度領域にて PR アゴニスト活性を発揮するのに対して、 $R_2$  がメチル基の場合は、そのような活性は見られず、純粋にアンタゴニストとして機能する。本研究では、詳細な構造活性相関を明らかにするために、ピロール環窒素原子上の置換基 ( $R_1$ )、キノロン環窒素原子上 ( $R_2$ ) および 4 位 ( $R_3$ ) の置換基を種々変えた化合物に加え、キノロンのカルボニル酸素を硫黄原子に置き換えた化合物を設計、合成し、その PR 機能制御活性 (ヒト乳がん細胞 T47D を用いたアルカリホスファターゼアッセイ) を検討した。その結果、 $R_2$  としてアリル基や *n*-プロピル基を持つ化合物に高い活性を見いだした。また、化合物 1 の 4 位のメチル基を嵩高い *i*-プロピル基やトリフルオロメチル基にすることで活性が向上した。一方、キノロンのカルボニル酸素を硫黄原子に置き換えた化合物は PR アゴニスト活性を示すことがわかった。

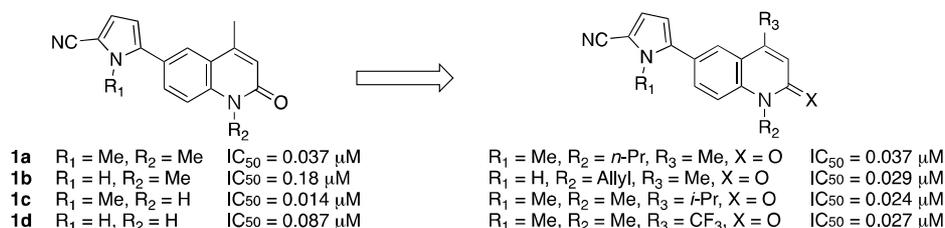


図 1. 新規 PR アンタゴニストの構造

#### (2) 新規アンドロゲンアンタゴニストの創製

これまでに、クマリン環やキノロン環の 7 位に *cis* 型構造をとる 3 級アミド基を持つ化合物 2 (図 2) にアンドロゲン受容体 (AR) アンタゴニスト活性を見いだしている。本化合物において、アミド窒素原子上のメチル基を持たない化合物は AR アンタゴニスト活性を示さない。本研究者はベンズアニリドのような二級アミドが *trans* 型で存在するのに対して、そのメチル化体は *cis* 型で存在することを見いだしている。本クマリン誘導体においても同様の立体特性を有しており、その構造の違いが活性の有無と臆警していると考えられる。そこで、今回、この *cis* 型アミドの置換位置を 6 位または 8 位に変えた誘導体を種々合成した。その結果、6 位および 8 位誘導体には活性は見られず、7 位に *cis* 型アミド基を持つことが活性発現に重要であることがわかった。

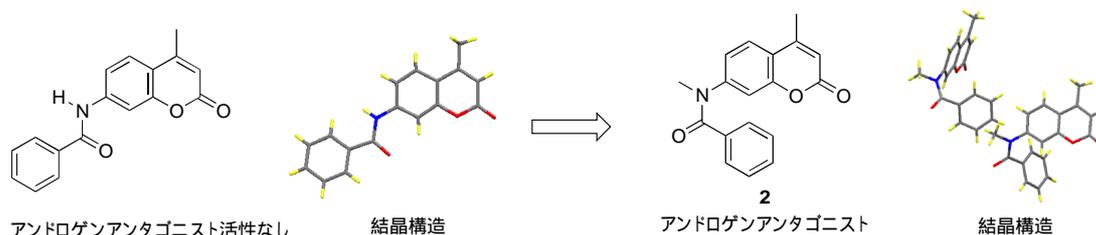


図2 . Cis 型アミド結合を有するアンドロゲンアンタゴニストの構造

### (3) 新規ビタミンD 受容体アゴニストの創製

リトコール酸はビタミンD 核内受容体 (VDR) の第二の内因性リガンドとして同定されたものの、その活性は活性型ビタミンD<sub>3</sub>と比べて著しく低い。本研究者はVDRのリガンド結合ドメイン (LDB) とリトコール酸の共結晶の構造解析の結果をもとに、リトコール酸の3位誘導体を合成し、化合物3 (**Dcha-20**) にリトコール酸の数千倍で、活性型ビタミンD<sub>3</sub>よりも高い活性を持つことを見いだした(図3)。一方で、化合物3の体内動態を解析した結果、血中からの消失が非常に速いことがわかり、体内動態の改善が必要であった。

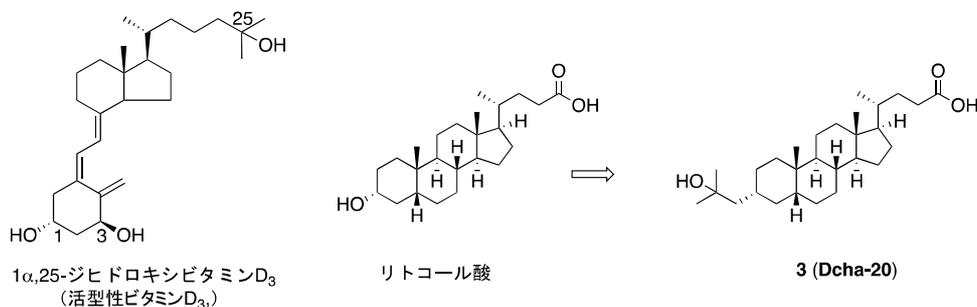


図3 . 活性型ビタミンD<sub>3</sub>、リトコール酸およびその誘導体の構造

そこで、本研究では、体内動態に密接に関わると考えられる側鎖のカルボキシル基を他の官能基に変えた化合物を設計、合成した。その結果、カルボキシル基をアミド基に変えた化合物4や1,3-もしくは1,2-ジオールに代替した化合物に強いVDRアゴニスト活性を見いだした(図4)。これらの化合物の血中からの消失は3のように早くはなく、体内動態の点でも優れている可能性が示唆された。

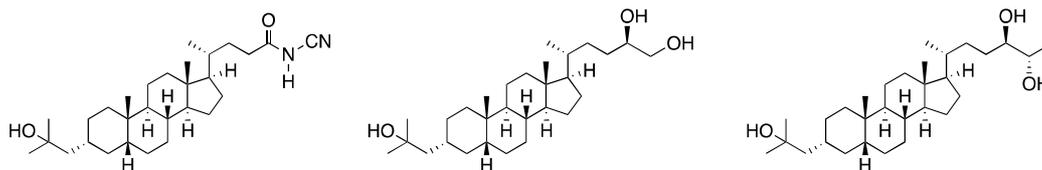


図4 . 高いビタミンD 活性を有する新規リトコール酸誘導体の構造

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yamada, S.; Masuno, H.; Kagechika, H.; Tanatani, A.; Kanda, Y.	4. 巻 45
2. 論文標題 A Novel Lithocholic Acid Derivative Upregulates Detoxification-Related Genes in Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Intestinal Organoids	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biol. Pharm. Bull.	6. 最初と最後の頁 1720-1724
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Mori, S.; Tsuamoto, N.; Kawachi, E.; Takubo, C.; Tanatani, A.; Kagechika, H.	4. 巻 123
2. 論文標題 Development of retinoic acid receptor antagonists bearing trans-SF4-alkynyl structure as a linear linker.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Tetrahedron	6. 最初と最後の頁 132967
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.tet.2022.132967	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yoshihara, A.; Kawasaki, H.; Masuno, M.; Takada, K.; Numoto, N.; Ito, N.; Hirata, N.; Kanda, Y.; Ishizawa, M.; Makishima, M.; Kagechika, H.; Tanatani, A.	4. 巻 12
2. 論文標題 Lithocholic Acid Amides as Potent Vitamin D Receptor Agonists	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 130
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/biom12010130	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Koga, H.; Negishi, M.; Kinoshita, M.; Fujii, S.; Mori, S.; Ishigami-Yuasa, M.; Kawachi, E.; Kagechika, H.; Tanatani, A.	4. 巻 21
2. 論文標題 Development of Androgen-Antagonistic Coumarinamides with a Unique Aromatic Folded Pharmacophore	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int. J. Mol. Sci.	6. 最初と最後の頁 5584
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms21155584	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sasaki, H.; Masuno, H.; Kawasaki, H.; Yoshihara, A.; Numoto, N.; Ito, N.; Ishida, H.; Yamamoto, K.; Hirata, N.; Kanda, Y.; Kawachi, E.; Kagechika, H.; Tanatani, A.	4. 巻 64
2. 論文標題 Lithocholic Acid Derivatives as Potent Vitamin D Receptor Agonists	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J. Med. Chem.	6. 最初と最後の頁 516-526
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jmedchem.0c01420	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Arimura, M.; Tanaka, K.; Kanda, M.; Urushibara, K.; Fujii, S.; Katagiri, K.; Azumaya, I.; Kagechika, H.; Tanatani, A.	4. 巻 86
2. 論文標題 Construction of Aromatic Multilayered Structures Based on the Conformational Properties of N,N'-Dimethylated Squaramide	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ChemPlusChem	6. 最初と最後の頁 198-205
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cplu.202000678	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 吉原沙織、佐々木晴江、川崎波留、吉原綾菜、増野弘幸、諫田泰成、石澤通康、横島誠、影近弘之、棚谷綾
2. 発表標題 VDR機能の特異的制御を目指したリトコール酸誘導体の3位構造変換
3. 学会等名 日本薬学会第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 南真梨果、吉原綾菜、増野弘幸、諫田泰成、平田尚也、影近弘之、棚谷綾
2. 発表標題 ビタミンD活性を有する新規リトコール酸カルバメート誘導体の創製
3. 学会等名 日本ビタミン学会第74回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉原沙織、吉原綾菜、佐々木晴江、川崎波留、増野弘幸、平田尚也、諫田泰成、影近弘之、棚谷綾
2. 発表標題 ビタミンD活性を有するリトコール酸誘導体の構造活性相関
3. 学会等名 日本ビタミン学会第73回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉原沙織、佐々木晴江、川崎波留、吉原綾菜、増野弘幸、諫田泰成、影近弘之、棚谷綾
2. 発表標題 ビタミンD活性を有するリトコール酸誘導体の3位置換基の構造活性相関
3. 学会等名 日本レチノイド研究会第32回学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yoshihara S., Sasaki H., Kawasaki H., Yoshihara A., Masuno H., Kanda Y., Kagechika H, Tanatani A.
2. 発表標題 Structure-activity relationship of Lithocholic Acid as Novel Nonsecosteroidal Vitamin D Derivatives
3. 学会等名 AFMC International Medicinal Chemistry Symposium 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tanatani A., Yoshioka C., Masuno H., Numoto N., Ito N., Hirata N, Kanda Y. Kagechika H.
2. 発表標題 Development of Novel Lithocholic Acid Derivatives: Synthesis of Each Stereoisomer by Using Enzymatic Separation and The Vitamin D Activity
3. 学会等名 Symposium on Molecular Chirality 2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yoshihara S., Sasaki H., Kawasaki H., Yoshihara A., Masuno H., Kanda Y., Kagechika H, Tanatani A.
2. 発表標題 Structure-activity Relationship of Lithocholic Acid As Novel Nonsecosteroidal Vitamin D Derivatives
3. 学会等名 The 6th International Symposium on Biomedical Engineering (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 南真梨果、吉原綾菜、増野弘幸、諫田泰成、平田尚也、影近弘之、棚谷綾
2. 発表標題 ビタミンD活性を有するリトコール酸カルバメート誘導体の創製
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉原綾菜、吉岡千咲、川崎波留、増野弘幸、河内恵美子、諫田泰成、平田尚也、伊藤暢聡、影近弘之、棚谷綾
2. 発表標題 高いビタミンD活性を有するリトコール酸側鎖誘導体の創製
3. 学会等名 日本ビタミン学会第72回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 棚谷綾、吉岡千咲、増野弘幸、森修一、伊藤暢聡、影近弘之、平田尚也、諫田泰成
2. 発表標題 リトコール酸をリードとしたビタミンD誘導体の構造展開
3. 学会等名 第364回脂溶性ビタミン総合研究委員会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田中希実子、神田翠、藤井晋也、影近弘之、棚谷綾
2. 発表標題 N-メチル-N,N'-ジフェニルスクアルアミドの立体特性
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 新規PRアンタゴニストとしての6-アリールキノロン誘導体の構造活性相関
2. 発表標題 隅田理沙、根岸真生、森修一、影近弘之、棚谷綾
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 ビタミンD活性を有するリトコール酸誘導体	発明者 棚谷綾 南真梨果 影近弘之 増野弘幸	権利者 国立大学法人お茶の水女子大学 国立大学法人東
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022- 13077	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 ビタミンD活性を有するリトコール酸誘導体	発明者 棚谷綾、吉岡千咲、吉原綾菜、影近弘之、増野弘幸	権利者 国立大学法人お茶の水女子大学、国立大学法
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2020/ 31642	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------

英国	University of the West of England			
----	--------------------------------------	--	--	--