

機関番号：12602

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21790110

研究課題名（和文） 新規疎水性骨格の開発を基盤とした非セコステロイド型ビタミンD受容体リガンドの創製

研究課題名（英文） Development of non-secosteroidal vitamin D receptor ligands based on novel hydrophobic core structure

研究代表者

藤井 晋也（FUJII SHINYA）

東京医科歯科大学・大学院疾患生命科学部・助教

研究者番号：60389179

研究成果の概要（和文）： ビタミンDの活性本体である活性型ビタミンD₃（1 α ,25(OH)₂D₃）は、その特異的受容体である核内ビタミンD受容体（VDR）を介して様々な生理機能を制御する。本研究は、1 α ,25(OH)₂D₃の誘導体で問題となっている安定性や作用分離が向上した次世代のVDRリガンドを目指し、新しい疎水性骨格を有する新規VDRリガンドの創製を行った。疎水性のホウ素クラスターであるカルボランを疎水性骨格として応用することにより、高い活性を有する新規非セコステロイド型VDRリガンドの創製に成功した。また、球状の疎水性骨格という新しい構造特性を有する新しいVDRリガンドと、従来のセコステロイド型VDRリガンドの構造活性相関の違いを明らかにした。

研究成果の概要（英文）： Activated vitamin D (1 α ,25(OH)₂D₃) regulates various physiological processes by binding to its specific nuclear receptor vitamin D receptor (VDR). In this research, potent non-secosteroidal VDR ligands bearing a boron cluster as hydrophobic core structure were developed. Structural development of boron cluster derivatives revealed structure-activity relationship of novel VDR ligands bearing spherical hydrophobic core.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・創薬化学

キーワード：薬学、有機化学、生理活性

1. 研究開始当初の背景

（1）ビタミンDは、核内受容体であるビタミンD受容体（VDR）への結合を介して血中カルシウム調節、細胞の分化誘導あるいは増殖抑制など多彩な生理作用を担っており、骨代謝や皮膚病そして癌領域の医薬におい

て現在最も注目される分野の一つである。本研究の開始当初において開発されていたVDRリガンドは、そのほとんどが内因性リガンドである活性型ビタミンD₃（1 α ,25(OH)₂D₃：図1）をリードとした誘導体展開であった。活性型ビタミンD₃はセコ

ステロイド骨格を有し、その誘導体は高い生物活性を有する一方で、その化学的な安定性の低さにより、有効濃度の制御や副作用の発現などが臨床応用する上での障壁となっており、次世代のVDRリガンドとして、セコステロイド骨格とは異なる、新しい疎水性骨格構造を有するVDRリガンドの創製が求められている。

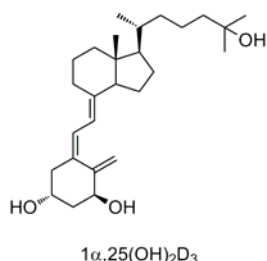


図 1

(2) 研究代表者らは、ホウ素クラスターの一種であるカルボラン(図2)が、核内受容体リガンドの疎水性骨格構造として有効であることを示し、VDRリガンドにも応用可能であることを見出してきた。球状の疎水性骨格という、セコステロイドとは全く異なる構造特性を有するカルボランを基本骨格とすることにより、これまでのVDRリガンドとは性質の異なるリガンドの創製が可能であると考えられる。

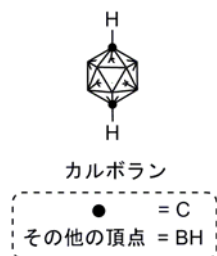


図 2

2. 研究の目的

本研究の目的は、疎水性のホウ素クラスターであるカルボランという、これまでのVDRリガンドと全く異なる疎水性骨格構造を基盤として、新規非セコステロイド型VDRリガンドを創製し、VDRリガンド創薬の新展開に貢献することである。合成が難易で安定性に問題を有するセコステロイド誘導体に比べ、安定で多彩な誘導体展開が可能な非セコステロイド型VDRリガンドの創製は、作用分離型リガンドなどVDRリガンド創薬における課題の解決に貢献するものと期待できる。

3. 研究の方法

(1) まず、これまでに得られている高活性なホウ素クラスター誘導体(1)のエーテル構造に着目し、活性型ビタミンD $_3$ の共役二重結合部との物理化学的な等価性を意図したスルフィド構造を有する化合物群2への展開を行った(図3)。スルフィド構造は、分子量がエチレン基とほぼ同等であり、また非共有電子対を有することから、生体分子との相互作用においてオレフィン構造と類似の作用を有する可能性がある。目的化合物の合成は、アルコールからチオ酢酸を用いた光延反応によりチオエステルを経てチオールへと変換し、種々の末端ジオール構造とのスルフィド形成反応により合成した。

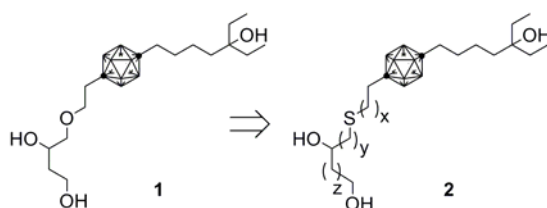


図 3

(2) 活性型ビタミンD $_3$ の誘導体研究により得られている知見を基に、1の1,3-ジオール構造部分への修飾を行った(図4)。セコステロイド誘導体においては、当該ジオール構造部分へのメチル基などの疎水性基、あるいはヒドロキシアルコキシ基の導入が、特徴的な活性の変化を起こしうることが示されている。

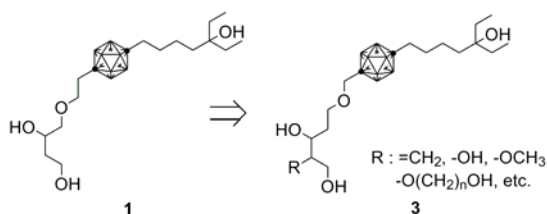


図 4

合成化合物の生物活性については、ヒト前骨髄球形白血病細胞HL-60に対する分化誘導活性により評価した。HL-60はVDRアゴニストの刺激によりマクロファージへと分化する。分化細胞によるNBT還元能を測定しビタミンD活性とした。また、放射ラベルリガンドを用いた受容体結合試験も実施した。

4. 研究成果

(1) スルフィド化合物群2は、多くの誘導体がHL-60に対する分化誘導活性を有し、VDRリガンドとして機能することが示された。リードとしたエーテル誘導体群と比較す

ると、スルフィド誘導体群 2 は若干活性が減弱した。また、エーテル誘導体群がエーテル酸素原子の位置、およびジオール構造の差異すなわち 1, 2 - ジオールあるいは 1, 3 - ジオールという構造の違いにより活性に数倍の差異を生じていたのに対し、スルフィド誘導体群 2 においては多くの誘導体がほぼ同程度の活性を示した。これは、エーテル誘導体のエーテル酸素原子が、VDR との相互作用に寄与している可能性を示すものである。また、スルフィドを酸化しスルホンとした化合物についても合成し、その活性を評価した。その結果、スルホン誘導体は全く分化誘導活性を示さなかった。これは、スルホン構造の高極性が受容体との相互作用に不利であることを示している。このように、カルボラン誘導体においては、球状の疎水性骨格と極性構造であるジオール構造を連結する構造が、その生理活性に大きく寄与することが示された。

(2) ジオール構造部分への構造修飾においては、メトキシ基やメチル基など、空間的に比較的小さい官能基の導入が、高い生理活性の発現に有効であることが示された。特に、メチレン基を導入した化合物 4 (図 5) においては、活性型ビタミン D₃ に匹敵する分化誘導活性を示し、現時点において非セコステロイド型 VDR リガンドとして最も高い活性を示す化合物の一つである。また、メチル基の立体配置と生理活性の相間から、カルボラン誘導体におけるジオール構造部位への置換基の導入では、セコステロイドの該当部位への置換基導入とは異なる構造活性相関を示すことが示唆された。これは、ある程度リジッドに固定されたセコステロイドのジオール構造部位と、自由度の高い鎖状ジオール構造との構造的性質の違いに起因するものと考えている。

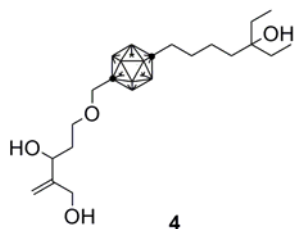


図 5

一方、ヒドロキシアルコキシ基を導入した化合物においては、ヒドロキシプロポキシ基 (図 4 : 化合物群 3、n = 3) 等の導入が活性の向上に有効であった。これは、セコステロイド誘導体においても同様の傾向が見ら

れており、活性型ビタミン D₃ の受容体結合の際に結合に参与する保存された水分子の水素結合を、リガンド分子により形成することにより、エネルギー的に有利になるためと考えられる。また、ヒドロキシアルコキシ誘導体においても、カルボラン誘導体とセコステロイド誘導体では、立体配置に関する傾向が異なっていることが示された。

以上のように、カルボランを疎水性骨格として用いることにより、化合物 4 などの高い活性を有する非セコステロイド型 VDR リガンドの創製に成功した。また、球状という特異な構造を有したカルボランを疎水性骨格とし、鎖状ジオール構造を水素結合性構造として有するこれらの新規 VDR リガンドは、セコステロイド誘導体とは異なる構造活性相関を有することを見出した。これらの知見は、現在求められている新規 VDR リガンドの創薬研究に大きく貢献するものであると考える。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 7 件)

Kiminori Ohta, Tokuhito Goto, Shinya Fujii, Masatoshi Kawahata, Akifumi Oda, Shigeru Ohta, Kentaro Yamaguchi, Shuichi Hirono, Yasuyuki Endo, Crystal structure, docking study and structure-activity relationship of carborane-containing androgen receptor antagonist 3-(12-hydroxymethyl-1,12-dicarba-*closo*-do decaboran-1-yl)benzotrile. *Bioorg. Med. Chem.*, 査読有、in press.

Tokuhito Goto, Kiminori Ohta, Shinya Fujii, Sigeru Ohta, Yasuyuki Endo, Design and synthesis of androgen receptor full antagonists bearing a *p*-carborane cage: Promising ligands for anti-androgen withdrawal syndrome. *J. Med. Chem.*, 査読有、53, 2010, 4917-4926.

Toshie Fujishima, Shinya Fujii, Takashi Harayama, Synthesis and Biological Activity of Fluorinated Vitamin D. *Curr. Org. Chem.*, 査読有、14, 2010, 962-976.

Takashi Harayama, Mariko Asai, Taeko Miyagoe, Hitoshi Abe, Yasuo Takeuchi, Ayako Yamaguchi, Shinya Fujii, Effect of oxygen substituent in the aniline part of benzanilide on the regioselectivity in direct arylation using palladium-phosphine reagents. *Heterocycles*, 査読有、81, 2010, 1881-1889.

Shinya Fujii, Ayumi, Yamada, Kiminori Ohta, Yasuyuki Endo, Hiroyuki Kagechika, Development of novel androgen antagonists based on hydrophobic boron clusters. *Drugs of the Future*, 35 suppl. A, 査読無、2010, 258-259.

Shinya Fujii, Kiminori Ohta, Tokuhito Goto, Hiroyuki Kagechika, Yasuyuki Endo, Acidic heterocycles as novel hydrophilic pharmacophore of androgen receptor ligands with a carborane core structure. *Bioorg. Med. Chem.*, 査読有、17, 2009, 344-350.

〔学会発表〕(計22件)

Shinya Fujii, Ayumi Yamada, Kiminori Ohta, Yasuyuki Endo, Hiroyuki Kagechika, Development of novel androgen antagonists based on hydrophobic boron clusters、EFMC-ISMIC 2010: 21st International symposium on medicinal chemistry、2010年9月8日、ブリュッセル(ベルギー)

Shinya Fujii, Kiminori Ohta, Yasuyuki Endo, Hiroyuki Kagechika, Development of novel nonsteroidal androgen receptor ligands based on hydrophobic boron clusters、ICE2010 Official Satellite Symposia 'Nuclear Receptor and its Frontier'、2010年3月31日、京都

Shinya Fujii, Atsushi Kano, Ryota Sekine, Emiko Kawachi, Hiroyuki Masuno, Tomoya Hirano, Aya Tanatani, Hiroyuki Kagechika, Development of novel non-secosteroidal vitamin D receptor ligands based on carborane as a hydrophobic core structure、14th Workshop on Vitamin D、2009年10月5日、ブルージュ(ベルギー)

Hiroyuki Masuno, Shinya Fujii, Makoto Nakabayashi, Teikichi Ikura, Nobutoshi Ito, Masato Shimizu, Hiroyuki Kagechika, Structures of Non-secosteroid Ligands Bound to Vitamin D Nuclear Receptor、14th Workshop on Vitamin D、2009年10月7日、ブルージュ(ベルギー)

関根良太、藤井晋也、増野弘幸、加納敦、中林誠、伊藤暢聡、河内恵美子、棚谷綾、平野智也、影近弘之、カルボランを基盤とした新規非セコステロイド型ビタミンD受容体リガンドの創製、日本薬学会第131年会、2011年3月31日、静岡

藤井晋也、増野弘幸、埜田善之、加納敦、中林誠、伊藤暢聡、河内恵美子、清水正人、棚谷綾、平野智也、影近弘之、ホウ素クラス

ターを疎水性骨格とする新規非セコステロイド型ビタミンD誘導体 - 受容体結合様式と構造展開 -、日本レチノイド研究会第21回学術集会、2010年11月13日、大阪

増野弘幸、数井優子、伊倉貞吉、中林誠、伊藤暢聡、藤井晋也、河内恵美子、棚谷綾、影近弘之、VDR活性をもつLCA誘導体の合成とVDR結合構造の解析、日本ビタミン学会第62回大会、2010年6月11日、盛岡

関根良太、藤井晋也、増野弘幸、平野智也、河内恵美子、棚谷綾、影近弘之、カルボランを基盤としたチオエーテル構造を有する新規VDRリガンドの創製、日本薬学会第130年会、2010年3月29日、岡山

数井優子、増野弘幸、藤井晋也、平野智也、河内恵美子、影近弘之、棚谷綾、ビタミンD活性を有するリトコール酸誘導体の創製、日本薬学会第130年会、2010年3月29日、岡山

藤井晋也、山田歩、富田景子、長野麻央、原山尚、太田公規、遠藤泰之、影近弘之、変異を有するARに対して有効な新規ARアンタゴニストの創製、日本レチノイド研究会第20回学術集会、2009年11月21日、東京

藤井晋也、加納敦、平野智也、河内恵美子、増野弘幸、棚谷綾、中林誠、伊倉貞吉、伊藤暢聡、清水正人、影近弘之、カルボランを疎水性骨格とする新規非ステロイド型VDRリガンドの構造展開、第35回反応と合成の進歩シンポジウム、2009年11月17日、金沢

藤井晋也、加納敦、平野智也、河内恵美子、増野弘幸、棚谷綾、中林誠、伊倉貞吉、伊藤暢聡、清水正人、影近弘之、新規非セコステロイド型VDRリガンドの構造展開と受容体結合様式の解析、日本ビタミン学会第61回大会、2009年5月31日、京都

〔その他〕

ホームページ

<http://www.tmd.ac.jp/mri/omc/index1.htm>

1

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤井 晋也 (FUJII SHINYA)

東京医科歯科大学・大学院疾患生命科学

研究部・助教

研究者番号：60389179

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし