

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 18 日現在

機関番号：36102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K08337

研究課題名(和文)小員環エーテル構造を導入した新規セコステロイドの合成とその展開

研究課題名(英文) Synthesis and characterization of novel seco-steroid analogues bearing small cyclic ethers instead of the hydroxy groups

研究代表者

藤島 利江 (Fujishima, Toshie)

徳島文理大学・薬学部・教授

研究者番号：90286980

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：紫外線により生成するセコステロイドは、酵素群による厳密なヒドロキシ化を受け、骨形成作用を担うホルモンとして機能する。主要な標的は核内ビタミンD受容体であり、分子認識においては骨格上ヒドロキシ基との水素結合が重要とされる。しかしながら、これらヒドロキシ基に対して有効な官能基変換に成功した例はない。そこで、小員環エーテル構造を新たな酸素官能基として活用するため、新規誘導体の設計及び効率良い合成法を検討した。結果、望みの位置に環状エーテル構造を持つA環部誘導体合成が可能となった。四員環スピロエーテル構造を持つ誘導体の単結晶X線結晶解析の結果、水素結合受容体として機能することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

骨強化ホルモンとしてはたらくビタミンDの受容体結合には3つのヒドロキシ基(-OH)が重要な役割を果たしている。しかしながら、ヒドロキシ基には立体化学が存在すること、その近傍が代謝を受けやすいことなどから、同じ役割を果たしながら新しい骨格を有する酸素官能基の開発が求められていた。そこで、新たにエーテル(-O-)構造を有する小さい環をヒドロキシ基の代替とする新しい誘導体を設計した。それらの合成法を確立し、小員環エーテルが水素結合受容体としてはたらくことを見いだした。持続性の高い誘導体への発展が期待できる。

研究成果の概要(英文)：The hormonally active form of seco-steroids, 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃, exhibits a broad range of biological activities, in addition to its classical role in calcium homeostasis. Major molecular target of vitamin D is considered to be vitamin D receptor (VDR), which belongs to the nuclear receptor super-family. Insight into the structure-function relationships of the seco-steroids is needed to answer how the subtype-free VDR could deliver a variety of actions. A convergent synthetic method using palladium catalysis allowed us to reach the novel 9, 10-seco-steroids bearing small ether structure instead of the hydroxy groups in the A-ring. Preliminary biological evaluation of the novel analogues using bovine thymus VDR suggested that the incorporation of a spiro-oxetane at the C1 position had a beneficial effect on the VDR affinity in comparison with the C3 position counterparts.

研究分野：有機化学

キーワード：ステロイド ホルモン ビタミン 化学合成 複素環 核内受容体

1. 研究開始当初の背景

セコステロイドホルモン原料であるビタミン D₃ は、複数の酵素によって代謝活性化を受け、古典的にはカルシウム恒常性を司る小分子として機能する。近年、骨が体軸を保持する物理的役割を果たすのみならず、例えば、免疫を担当する臓器としても注目を浴びており、骨に作用する重要なホルモンとしてのビタミン D₃ 代謝物群の機能解明が望まれている。さらには、細胞分化や増殖に関わる因子として、医薬品への応用が期待されている。他のビタミン類と異なり、ビタミン D₃ は生体内で生合成され活性本体を生じることから、ホルモンとして捉えるべき分子である。

ビタミン D₃ の主要な標的は核内ビタミン D 受容体であり、その分子認識において骨格上のヒドロキシ基との水素結合が重要であるとされる。興味深いことにセコステロイドが活性化・不活性化に利用する官能基はヒドロキシ基のみである。そこで、同じ役割を果たしながら、立体化学に起因する構造上の問題を排除した官能基をセコステロイド骨格に導入すれば、天然体と異なる作用スペクトルを与えるのではないかと応募者らは考えた。

2. 研究の目的

上記の背景をうけて、①ヒドロキシ基の代替として小員環エーテル構造を導入した誘導体を合成し、②小員環エーテル構造を新たな酸素官能基として活用する手法を開発すると共に、③受容体および酵素群に対する分子認識機構を変化させることで、作用分離を実現する分子創製を目指した。

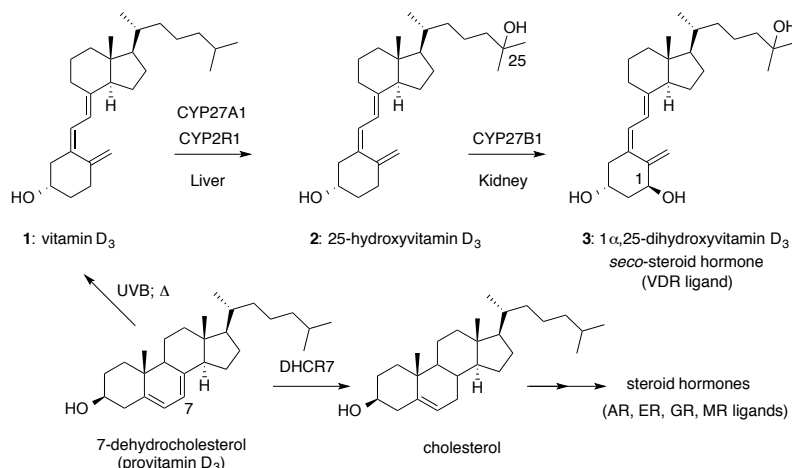


Figure 1. Biosynthesis of the active form of vitamin D₃, 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ (3)

3. 研究の方法

まずは、ヒドロキシ基に替わる新たな酸素官能基として、小員環エーテルのうち対称的な四員環オキセタンを選び、その合成法の確立に着手した。水素結合を担うヒドロキシ基の代替として、四員環オキセタンをセコステロイド骨格 A 環部のそれぞれ 3 位, 1 位に導入したアナログ、並びに、応募者らのこれまでの研究結果に基づき、2 位に導入したアナログの合成を目指した。対称なスピロ環状エーテルを導入するこの分子設計では、もとの 1 位または 3 位ヒドロキシ基の立体化学に関する問題を減じることになり、合成上も有利である。セコステロイド骨格に特徴的なトリエン部分の構築は、鎖状の A 環部前駆体と側鎖部を含む CD 環部を別途合成して後にパラジウム触媒を用いてカップリングする収束的方法を用いた。

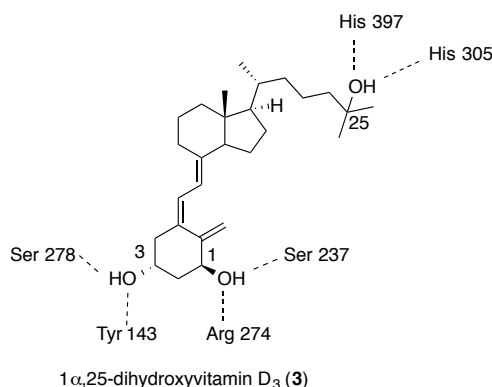


Figure 2. Each of the three hydroxyl groups at positions C1, C3 and C25 in 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ (3) was recognized with the two amino acid residues in the ligand-binding domain (LBD) of human VDR.

4. 研究成果

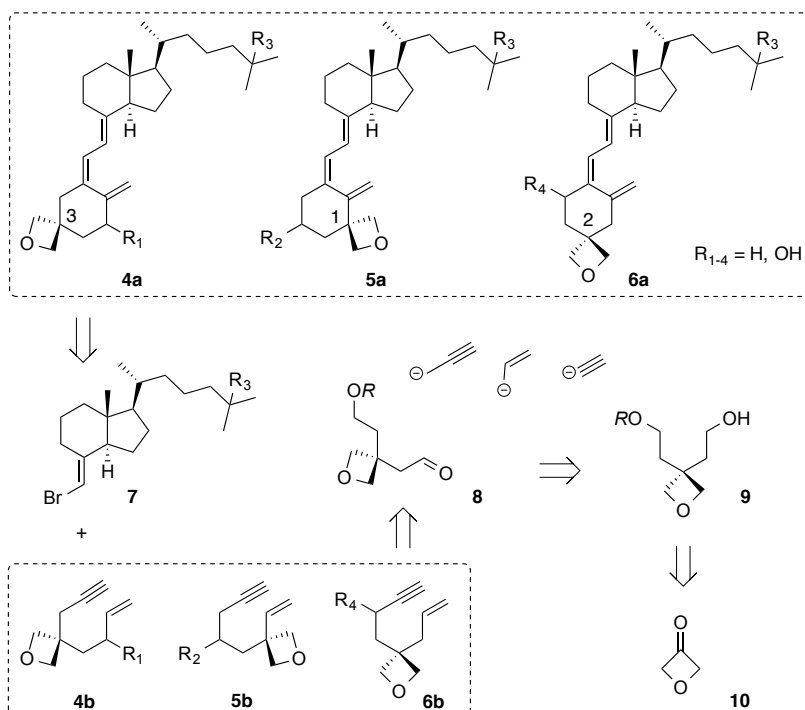
鎖状 A 環部前駆体と CD 環部を別途合成して後に、パラジウム触媒を用いてカップリングする収束的方法を用いることから、1 位または 3 位に相当する位置にオキセタン環を有する鎖状エンイン体の合成法確立が課題となった。結果、汎用性のある合成法を確立するため、具体的には oxetan-3-one より四工程で得られるジオール誘導体から合成できる共通中間体に、Grignard 試薬等の有機金属試薬と反応させることとした。結果、この方法により、様々な位置 (1, 2, 3 位) に環状エーテル構造を持つ A 環部前駆体の合成が可能となった。

まずは 3 位ヒドロキシ基の代替として四員環エーテル構造を有する誘導体 2 種の合成に成功した。次に上記 3 位誘導体合成の共通中間体を用いる効率的手法にて、1 位に四員環エーテル構造を有する誘導体 2 種を合成した。さらに、上記共通中間体を用いて、2 位に四員環エーテル構造を有する誘導体 2 種を合成した。

以上の 6 種の誘導体においては、環状エーテルで置換していない、第 2 級アルコールの立体化学の決定が重要となる。

そこで、セコステロイド骨格の特徴を活かした励起子キラリティー法にて構造決定を試みた。結果、1 位ヒドロキシ基の立体化学の決定には、C(10)19 位エキソメチレン部を利用したアリルアルコール構造が利用できることが確認できた。さらに、3 位ヒドロキシ基に関しても、セコステロイドのトリエン部クロモフォアを活かし、励起子キラリティー法が適用可能であることを見いだした。続いて、4 位ヒドロキシ基を有する 2 位オキセタン誘導体も同様に構造決定を行った。励起子キラリティー法を適用するにあたり、A 環部の配座解析が重要である。まずは、NMR 解析にて様々な溶媒中の配座を確認し、次いで、結晶化に成功したものは X 線結晶解析を行った。結果、スピロオキセタン部の酸素原子の立ち上がりは小さく、四員環エーテルはこの場合、ほぼ平面に近似できることが明らかとなった。さらに、2 位オキセタン誘導体において、4 位ヒドロキシおよびそのベンゾエート基がアキシアル位を優先することを見いだした。これは 4 位の置換基導入が A 環部配座固定に利用できることを示しており、今後の誘導体設計に発展できると考えている。

新規誘導体 6 種のウシ胸腺ビタミン D 受容体を用いた結合能を応募者らで確認した。1 位と 3 位への小員環エーテル置換の効果を比較すると、3 位で大きく 1 位で小さいことが分かった。これは 3 位ヒドロキシ基の水素結合供与体機能を示唆するものと考えており、1 位と 3 位の受容体認識の違いを明らかにする重要な結果である。このように小員環エーテル導入により配座構造ならびに活性を変化させる誘導体創出に至った。



Scheme 1. Design and retrosynthetic analysis of novel *seco*-steroid analogues (**4a**, **5a** and **6a**) having a spiro-cyclic ether fused at the key positions for hydrogen bonding interactions to the VDR. The requisite A-ring enyne precursors (**4b**, **5b** and **6b**) can be synthesized by using the same intermediate (**8**) starting from oxetan-3-one (**10**) via the diol compound (**9**).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4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 Fujishima Toshie, Komatsu Takuro, Takao Yuri, Yonamine Wataru, Suenaga Tsutomu, Isono Hiroaki, Morikawa Masayuki, Takaguchi Keisuke	4. 巻 75
2. 論文標題 Design and concise synthesis of novel vitamin D analogues bearing a functionalized aromatic ring on the side chain	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Tetrahedron	6. 最初と最後の頁 1098 ~ 1106
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tet.2019.01.019	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 Toshie Fujishima,a, Tsutomu Suenaga,a Masatoshi Kawahata, b Kentaro Yamaguchi	4. 巻 187
2. 論文標題 Synthesis and characterization of 20-hydroxyvitamin D3 with the A-ring modification	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Steroid Biochem Mol Biol	6. 最初と最後の頁 27-33
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jsbmb.2018.10.019	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 藤島利江	4. 巻 56
2. 論文標題 新しい生物学的等価体としてのオキセタン	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 化学と生物	6. 最初と最後の頁 589-590
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1271/kagakutoseibutu.56.589	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 Tsutomu Suenaga, Toshie Fujishima	4. 巻 74
2. 論文標題 The C4-functionalized 9,10-seco-5,7,10(19)-cholestatriene derivatives: Concise synthesis and characterization of novel vitamin D analogues with a four-membered heterocyclic ether	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Tetrahedron	6. 最初と最後の頁 1461-1467
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1016/j.tet.2018.02.001	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11件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 森川雅行, 河野夏美, 藤島利江
2. 発表標題 ビタミンD及びその関連化合物における幾何異性化反応の解析
3. 学会等名 日本薬学会 第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤島利江, 小松卓朗, 高尾百合, 与那嶺渡, 末長努, 磯野宏章, 森川雅行, 高口圭輔
2. 発表標題 官能基化された芳香環を有するビタミンD誘導体の設計と合成
3. 学会等名 日本薬学会 第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤島利江, 末長努, 野崎孝徒, 川幡正俊, 山口健太郎
2. 発表標題 A環にオキセタンを有するビタミンD誘導体の合成
3. 学会等名 第4回Neo vitamin D workshop
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Toshie Fujishima, Tsutomu Suenaga, Maki Yamasuge, Syota Onishi, Masatoshi Kawahata, Kentaro Yamaguchi
2. 発表標題 Synthesis and biological evaluation of Novel 20-hydroxyvitamin D analogues with cleaved side-chain
3. 学会等名 The 21st Vitamin D Workshop (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Toshie Fujishima, Tsutomu Suenaga, Takato Nozaki
2. 発表標題 Incorporation of a spiro-oxetane into the A-ring of vitamin D: Design and syntheses of 1,25-dihydroxyvitamin D analogues bearing an additional ring instead of the hydroxy groups
3. 学会等名 The 18th Tetrahedron Symposium (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 森川雅行, 河野夏美, 藤島利江
2. 発表標題 ビタミンD及びその関連化合物における幾何異性化反応の解析
3. 学会等名 日本薬学会 第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤島利江, 大西翔太, 山菅真基, 末長努, 川幡正俊, 山口健太郎
2. 発表標題 側鎖切断型20位ヒドロキシビタミンD誘導体の合成と活性
3. 学会等名 第34回メディシナルケミストリーシンポジウム
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 藤島利江, 末長努, 川幡正俊, 山口健太郎
2. 発表標題 スピロオキセタン構造を有するビタミンD受容体リガンドの合成
3. 学会等名 第27回日本レチノイド研究会学術集会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 藤島利江, 末長努, 野崎孝徒, 川幡正俊, 山口健太郎
2. 発表標題 A環部に小員環エーテル構造を導入した新規セコステロイドの合成と構造決定
3. 学会等名 第58回天然有機化合物討論会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 小松卓朗, 磯野宏章, 与那嶺渡, 高尾百合, 高口圭輔, 末長努, 藤島利江
2. 発表標題 側鎖部に官能基化された芳香環を有する新規ビタミンD誘導体の合成研究
3. 学会等名 日本ビタミン学会 第68回大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 末長努, 藤島利江, 川幡正俊, 山口健太郎
2. 発表標題 A環1位, 2位, 3位に対称なスピロオキセタン構造を有する新規ビタミンD3誘導体の設計と合成
3. 学会等名 日本ビタミン学会 第68回大会
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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
---------------------------	-----------------------	----