

平成 21 年 6 月 5 日現在

研究種目：基盤研究 (C)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19590115
 研究課題名 (和文) デノボ設計によるノンセコ型ビタミンDレセプターリガンドの創製
 研究課題名 (英文) Design and synthesis of non-secosteroidal ligands for VDR
 研究代表者
 栗原 正明 (Kurihara Masaaki)
 国立医薬品食品衛生研究所 有機化学部
 研究者番号：20205206

研究成果の概要：活性型ビタミン D₃ (1 α , 2-ジヒドロキシビタミン D₃; 1 α ,25(OH)₂D₃)は核内受容体の一つであるビタミン D 受容体 (Vitamin D Receptor; VDR) と特異的に結合し、標的遺伝子群の発現を転写レベルで制御している。その生理活性は、カルシウム調節、細胞の分化誘導作用、免疫調節作用などと多岐にわたる。ビタミン D₃ 誘導体などの VDR リガンドは骨粗鬆症や抗ガン剤などとして期待されており、VDR は骨粗鬆症治療薬や抗ガン剤をはじめとした医薬品開発のターゲット分子となっている。1999 年に報告された非セコステロイド型リガンドである LG190178 はラセミ体として報告され、4 つ存在する立体異性体の活性についての詳細は不明であった。そこで、4 つの立体異性体の合成を行い、転写活性を調べたところ、(2S,2'R) 体；YR301 のみが強い活性を有することを見いだした。さらに YR301 と VDR の複合体の X 線構造解析に成功した。それにより YR301 の詳細な結合様式が明らかとなった。また、コンピュータによるモデリングの妥当性も証明できた。

交付額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|------|-----------|
| 2007年度 | 1,800,000 | 0 | 1,800,000 |
| 2008年度 | 1,700,000 | 0 | 1,700,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,500,000 | 0 | 3,500,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：創薬化学

キーワード：デノボ設計, ビタミン D レセプター, ノンセコ型

1. 研究開始当初の背景

活性型ビタミン D₃ は核内レセプターであるビタミン D レセプター (VDR) と結合し、様々な生理作用を転写レベルで制御している。ビタミン D レセプターリガンドは骨粗鬆症、抗ガン薬、免疫調節薬として有望な分子である。現在まで、主に活性型ビタミン D₃

の構造修飾によるセコステロイド型 (セコ型) リガンドの開発のみが行われてきた。我々もそれまでに、いくつかのセコ型リガンドの開発に成功した。

2. 研究の目的

コンピュータモデリングを用いたデノボ設

計により、全く構造の新規なノンセコステロイド型(ノンセコ型)リガンドの開発を行い、特に骨粗鬆症薬に焦点を絞り、新薬候補化合物の開発を行うことを目的とする。

(1) コファクター(コアクチベータ)との相互作用を考慮し、デノボ設計を行い、候補化合物を提出する。(現在まで、コファクターまで考慮に入れたデザインは全く行われていない。)

(2) 合成した候補化合物における、細胞間(腸管細胞、骨芽細胞)の差異を評価する。それにより、レセプターのコファクター結合部位の構造と作用メカニズムを推定する。

(3) 医薬品候補化合物を提出する。(血中カルシウム濃度を上げずに、活性型ビタミンD₃以上の骨量増加作用のあるものを提出する。)

3. 研究の方法

ビスフェノール構造を基本構造とし、デザインを行う。

(1) リガンドの左ハーフ(活性型ビタミンD₃のA環部相当)の設計と合成

水素結合を形成すると考えられる4つの残基と水素結合を形成するように分子設計すれば、活性がさらに増強されることが期待できる。コンピュータモデリングを用いて、より親和性の高いリガンドを設計・合成しその生物活性(転写活性、骨量増加作用、細胞分化誘導作用)を調べる。

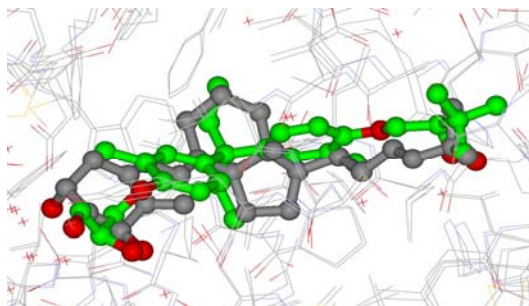
(2) リガンドの右ハーフ(活性型ビタミンD₃の側鎖部分相当)の設計と合成

リガンドの右ハーフ部分は、活性型ビタミンD₃の側鎖部分に対応すると考えられるが、この部分がヘリックス12のコンフォメーション変化に大きく関わると考えられる。この部分の構造を換えることで、結合するアクチベータが異なると考える研究者も多い。つまりリガンドの右ハーフの構造を設計することで生物活性(骨量増加作用、血中カルシウム濃度の上昇作用)の分離が行える可能性がある。

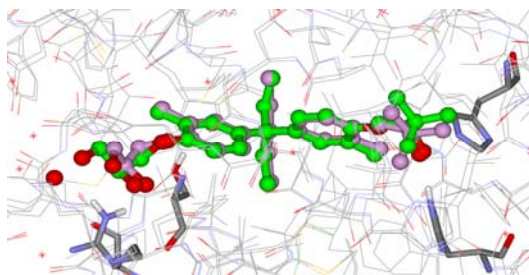
4. 研究成果

1999年に報告された非セコステロイド型リガンドであるLG190178はラセミ体として報告され、4つ存在する立体異性体の活性についての詳細は不明であった。そこで、コンピュータによるモデリングにより、LG190178の4つの立体異性体のVDR結合能に差が認められるか検証した。MacroModelのConformational Searchを用い、最安定構造を結合モデルとした。その結果、(2S, 2' R)体が最も安定であり、(2S, 2' S)体(2R, 2' R)体、(2R, 2' S)体の順となった。絶対配置が既知の化合物より4つの立体異性体の

合成を行った。転写活性を調べたところ、(2S, 2' R)体; YR301のみが強い活性を有することを見いだした。(雑誌論文①)さらにYR301とVDRの複合体のX線構造解析に成功した。(雑誌論文③)それによりYR301の詳細な結合様式が明らかとなった。また、コンピュータによるモデリングの妥当性も証明できた。



活性型ビタミンD₃(X線)とYR301(計算)の重ねあわせ図



YR301のX線構造と計算構造の重ね合わせ

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21件)

- ① W. Hakamata, Y. Sato, H. Okuda, S. Honzawa, N. Saito, S. Kishimoto, A. Yamamoto, T. Sugiura, A. Kittaka, M. Kurihara; (2S,2'R)-Analogue of LG190178 is a major active isomer; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 18, 120-123(2008) (査読有)
- ② S. Honzawa, Y. Yamamoto, A. Yamashita, T. Sugiura, M. Kurihara, M. A. Arai, S. Kato, A. Kittaka; The 2 α -(3-hydroxypropyl) group as an active motif in vitamin D₃ analogues as agonists of the mutant vitamin D receptor (Arg274Leu); *Bioorg. Med. Chem.*, 16, 3002-3024 (2008) (査読有)
- ③ S. Kakuda, K. Okada, H. Eguchi, K. Takenouchi, W. Hakamata, M. Kurihara, M. Takimoto-Kamimura; Structure of the ligand-binding domain of rat VDR in

complex with a nonsecosteroidal vitamin D3 analogue YR301; *Acta Crystallogr. F*, **64**, 970-973(2008) (査読有)

- ④ T. Hasegawa, K. Takahashi, M. Saijo, T. Ishii, T. Nagata, M. Kurihara, Y. Haishima, Y. Goda, N. Kawahara; Isolation and structural elucidation of cyclopentynafil and N-octylnortadalafil found in a dietary supplement; *Chem. Pharm. Bull.*, **57**, 185-189(2009) (査読有)
- ⑤ W. Hakamata, M. Kurihara, H. Okuda, T. Nishio, T. Oku; Design and Screening Strategies for α -Glucosidase Inhibitors Based on Enzymological Information; *Curr. Top. Med. Chem.*, **9**, 3-12 (2009) (査読有)
- ⑥ N. Suzuki, T Suzuki, Y. Ota, T. Nakano, M. Kurihara, H. Okuda, T. Yamori, H. Tsumoto, H. Nakagawa, N. Miyata; Design, Synthesis, and Biological Activity of Boronic acid-Based Histone Deacetylase Inhibitors; *J. Med. Chem.*, **52**, 2909-2922(2009) (査読有)
- ⑦ Nagano, M., Tanaka, M., Doi, M., Demizu, Y., Kurihara, M., Suemune, H.; HelicalScrew Directions of Diastereo- isomeric Cyclic α -Amino Acid Oligomers *Org. Lett.*, **11**, 1135-1137(2009) (査読有)

[学会発表] (計 32 件)

- ① ノンセコ型 VDR リガンドの設計と合成 ; 栗原正明、佐藤由紀子、金子文也、袴田 航、本澤 忍、山下 純、橘高敦史、加藤茂明、奥田晴宏 ; 第 26 回メディシナルケミストリーシンポジウム (2007/11/28-30, 相模原)
- ② ビタミンDレセプターノンセコ型リガンドの設計と合成 ; 金子文也, 佐藤由紀子, 袴田 航, 奥田晴宏, 本澤 忍, 山下 純, 杉浦隆之, 橘高敦史, 加藤茂明, 栗原正明 ; 日本薬学会第 128 年会 (2008/03/26-28 横浜)
- ③ VDR 及び変異 VDR に作用するノンセコ型リガンドの設計と合成 ; 金子文也、佐藤由紀子、岩井すみれ、本澤 忍、山下純、橘高敦史、加藤茂明、奥田晴宏、栗原正明 ; 第 27 回メディシナルケミストリーシンポジウム (2008/10/26-28, 大阪)
- ④ ノンセコステロイド型 VDR リガンドの設計と合成 ; 岩井すみれ, 金子文也, 佐藤由紀子, 出水庸介, 奥田晴宏, 栗原正明 ; 日本薬学会第 129 年会 (2009/03/26-28, 京都)
- ⑤ ノンセコ型リガンドと VDR の結合様式 ; 金子文也, 岩井すみれ, 佐藤由紀子, 出水庸介, 奥田晴宏, 角田真二, 岡田和久, 江口広志, 上村みどり, 高木健一郎, 竹

之内一弥, 栗原正明 ; 日本薬学会第 129 年会 (2009/03/26-28, 京都)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

栗原 正明 (Kurihara Masaaki)
国立医薬品食品衛生研究所 有機化学部
研究者番号 : 20205206

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし