

論文の内容の要旨

論文題目 Development of the Utility of Boron Clusters as Hydrophobic Pharmacophore
(ホウ素クラスターの医薬分子疎水性構造としての展開)

氏名 藤井 晋也

【序】医薬品創製において、疎水性構造は物性や体内動態に関し大きな影響を有する一方で、実際の医薬品開発では炭化水素骨格以外の疎水性構造の探索は行われていなかった。しかし近年、疎水性構造の違いが物性に与える影響に着目してケイ素官能基やフルオロアルキル基を有する化合物が創製され、それらが興味深い生物活性を有することが明らかになるなど、疎水性構造に関する研究は現在の医薬化学における重要な課題である。本研究では、無機材料化学の分野で注目されているホウ素クラスター「カルボラン (dicarba-closo-dodecaborane)」(図1)に着目し、医薬分子の疎水性構造としての応用を検討した。カルボランは、2個の炭素原子と10個のホウ素原子より構成される含炭素ホウ素クラスターで、正二十面体という特異な立体構造と高い疎水性を有し、水素化ホウ素化合物としては例外的に炭化水素に匹敵する化学的・熱的安定性を持つ。カルボランはこれまでに、レチノイン酸受容体やエストロゲン受容体のリガンドの疎水性構造としての有効性が検討されてきた。私はその知見を基盤とし、ステロイドホルモン受容体であるアンドロゲン受容体 (AR)、および脂溶性ビタミン受容体であるビタミンD受容体 (VDR) の2種の受容体リガンドの創製を検討した。カルボラン

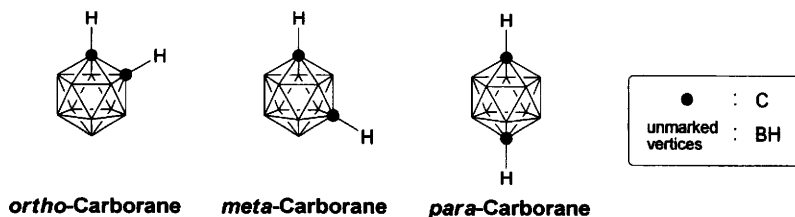


図1. dicarba-closo-dodecaboraneの構造

を生理活性分子へ利用する手法の有用性や一般性を検討し、また受容体-リガンド結合様式の解析からカルボランと受容体の相互作用に関する分子基盤の確立を目指した。

【AR リガンドの創製】AR は核内受容体スーパーファミリーに属するリガンド依存的転写調節因子であり、DNA の特異的配列を認識・結合し、リガンドの結合により標的遺伝子の転写を制御する。AR は男性生殖機能の発達や筋・骨量の恒常性維持などの多様な機能を担っており、そのリガンドはホルモン補充療法やホルモン依存性癌など種々の疾患の治療薬として応用されている。まず、AR の既存のリガンドの構造要素に基づき、化合物 **II-23** をはじめとするシクロヘキサノン環を有する一群の化合物、および、**II-75** をはじめとする一群のフェニルカルボラン誘導体を設計・合成した。合成化合物の AR アゴニスト/アンタゴニスト活性をレポータージーンアッセイおよびアンドロゲン依存的に増殖する SC-3 細胞の増殖促進/抑制試験により評価した結果、**II-23** はARアンタゴニストであり、その活性強度は代表的な AR アンタゴニスト hydroxyflutamide と同程度であることが示された。またフェニルカルボラン誘導体も AR アンタゴニスト活性を示し、最も高い活性を示した **II-75** および **II-109** は hydroxyflutamide の 10 倍程度の AR アンタゴニスト活性を有した。

次に、さらに斬新な構造を有する AR リガンドの創製を目的とし、フェニルカルボラン自体を疎水性テンプレートとして新しい極性構造の探索を行った。AR は既存のリガンドの水素結合性官能基がニトロ基およびシアノ基等に限定されており、新しい官能基の開拓は AR リガンドの医薬開発において重要である。

新規リガンドとして、結合に重要な Arg752 残基との静電的な相互作用を意図し、テトラゾールその他の酸性複素環を導入した種々の化合物を合成した。結合活性評価の結果、1,2,4-オキサジアゾール-5-チオン構造を有する **II-145** および **II-153** が強い親和性を示し、同構造がニトロ基やシアノ基の生物学的等価体となる可能性を示唆した。

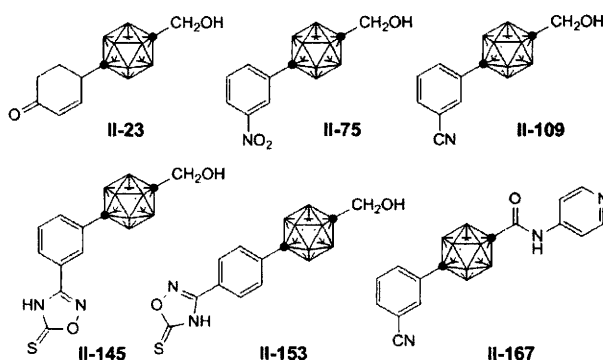


図2. カルボラン含有ARリガンドの構造

一方、SC-3 細胞に対しアンタゴニスト活性を示した化合物 **II-109** は、変異 AR を有する前立腺癌細胞株 LNCap に対してはアゴニストとして機能することが明らかとなった。変異 AR に対するアンタゴニストの創製は前立腺癌治療において最も重要な課題の一つである。そこで **II-109** をリードとした誘導体展開により、LNCap に対するアンタゴニストの創製を検討した。その結果、アミド誘導体 **II-167** 等が LNCap に対してアンタゴニストとして作用することを見出した。同化合物は SC-3 に対してもアンタゴニストとして機能し、種々の細胞においてアンタゴニストとして作用することが期待される。

また、これまで用いてきたカルボラン ($C_{2}B_{10}H_{12}$) よりもホウ素原子の数が2個少ない ten-vertex カルボラン (dicarba-closo-decaborane: $C_{2}B_{8}H_{10}$) を用いた誘導体を合成し、骨格構

造における疎水性容積の変化がリガンドとしての機能に及ぼす効果を検討した (図 3)。その結果、**II-23** に対応する ten-vertex カルボラン誘導体 **II-194** および **II-109** に対応する **II-207** は AR アゴニスト様の作用を示した。これは、カルボラン含有 AR リガンドのアンタゴニスト活性が、カルボランの嵩高さを要因の一つとすることを示唆するものである。

【VDR リガンドの創製】ビタミンDは、特異的受容体である核内受容体 VDR との結合を介し、血中カルシウム調節、細胞の分化誘導や増殖抑制など多彩な作用を担っている。現在まで数千のビタミンD誘導体が合成され詳細な構造活性相関が検討されているが、VDR は $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ (図 4) が有するセコステロイド

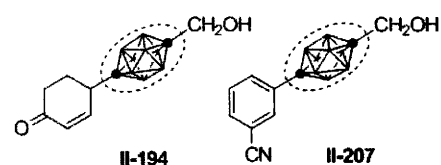


図 3. ten-vertexカルボラン誘導体の構造

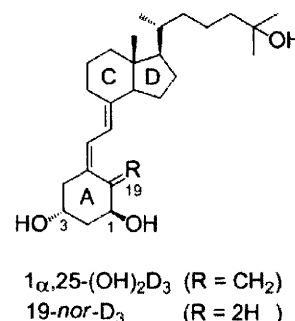


図 4. $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ および 19-nor-D_3 の構造

ド骨格への構造要求性が高いため、他の骨格を有する VDR リガンドの報告例は少ない。一方でセコステロイド誘導体は不安定であり、それがビタミンD誘導体の医薬品としての開発を困難にする要因でもある。そのため非セコステロイド型 VDR リガンドは、安定な高活性ビタミンDとして、VDR の多彩な作用の解明および新規ビタミンD医薬の開発の礎として期待される。そこで、カルボランを骨格構造として用いた非セコステロイド型 VDR リガンドの創製を行い、ホウ素クラスターの有効性をさらに検討するとともに、非セコステロイド型 VDR リガンドを創製するうえで基盤となる受容体との相互作用様式の解析を行った。

まず、 $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ より安定性や作用分離の点で優れているとされる 19-nor-D_3 をリードに、A 環構造および共役二重結合部位を保持し疎水性骨格にカルボランを配置した化合物を設計・合成した。合成化合物のビタミンD活性をヒト前骨髄球性白血病細胞 HL-60 に対する分化誘導能で評価した結果、これらの誘導体はビタミンD活性を示し、側鎖部の構造を精査することにより 19-nor-D_3 と同程度の活性を持つ化合物 **III-74** の創製に成功した。

続いて **III-74** をリードとして、セコステロイド骨格の複雑さや不安定性の要因である A 環構造および共役二重結合部位を、安定な飽和鎖状構造に展開した種々の誘導体を設計、合成した。最も高い活性を有した鎖状誘導体 **III-170** は 19-nor-D_3 に匹敵する高い分化誘導活性を示し、自由度の大きな構造でありながらリード化合物と同等の活性を示した。

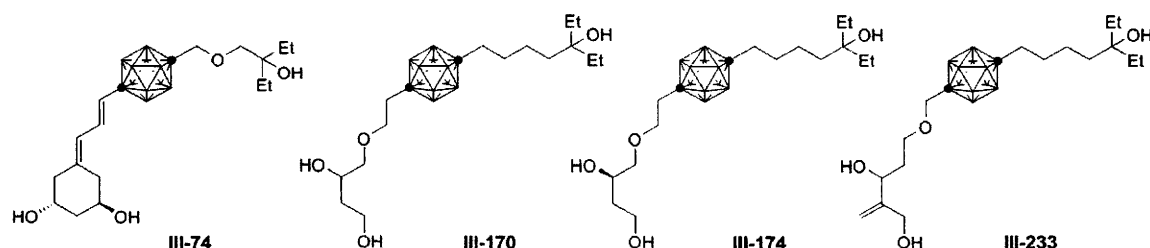


図 5. カルボラン含有VDRリガンドの構造

創製したカルボラン誘導体の活性発現機構を検討するため、**III-170**の光学活性体の一つである**III-174**に関して、ラットVDRリガンド結合ドメイン(LBD)を用いた複合体X線構造解析を行った。 $1\alpha,25-(OH)_2D_3$ との複合体構造との比較において、両者の構造はほぼ一致して

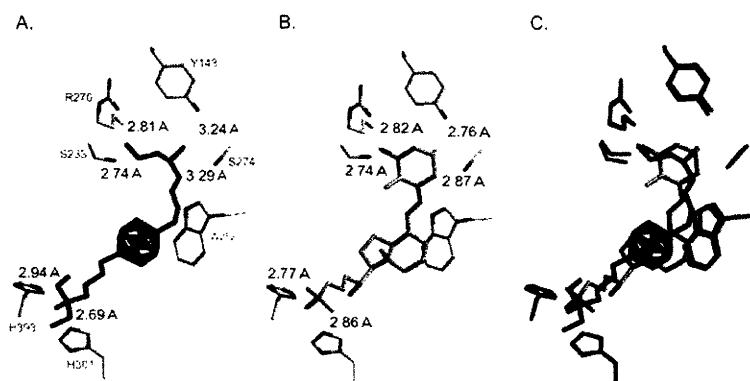


図6. 複合体X線構造解析による結合様式の解析. A) **III-174**とratVDR-LBDの共結晶構造. B) $1\alpha,25-(OH)_2D_3$ とratVDR-LBDの共結晶構造. C) 重ね合わせ.

おり、**III-174**は $1\alpha,25-(OH)_2D_3$ の場合と同様の受容体コンフォメーションを誘起することで活性を発現することが示唆された。また、カルボランは受容体のリガンド結合ポケットにおいて $1\alpha,25-(OH)_2D_3$ のCD環に相当する空間を占め、カルボランが受容体表面に対し炭化水素と同様の相互作用をすることを確認した。さらに3つの水酸基も $1\alpha,25-(OH)_2D_3$ と同様の水素結合様式にて受容体と相互作用していることが示された(図6)。また、**III-174**では鎖状ジオール構造の炭素鎖が緩やかなターンを形成することで2つの水酸基を最適な空間に配置しており、その自由度の高さにより化合物が最適なコンフォメーションに誘導され活性を発現していると考えられる。なお、この結晶構造はカルボラン誘導体と受容体との結合を直接的に確認した初めての例であり、カルボランを含有する生理活性分子を創製する上で有益な知見であると考えられる。

さらにX線構造解析により、ジオール部の水酸基の周辺に疎水性空間の存在が示された。このため、ジオール近傍に置換基を導入した誘導体を設計しその構造活性相関を検討した。その結果、 $1\alpha,25-(OH)_2D_3$ と同程度の活性を示す高活性VDRリガンド**III-233**の創製に成功した。セコステロイド骨格を持たない化合物が $1\alpha,25-(OH)_2D_3$ と同等の活性を示した例は稀であり、VDRの機能解明のツールや医薬のリードとして興味深い化合物である。本知見はカルボランの有効性を示すとともに、今後のVDRリガンド研究に新しい方向性を提案するものとする。

【総括】本研究では、ホウ素クラスターを含有するARおよびVDRの2種の核内受容体の高活性リガンドを創製し、ホウ素クラスターが疎水性骨格として一般に応用しうることを示した。ホウ素クラスターが新規部分構造探索のテンプレートとして有効であり、また疎水性空間の制御がリガンドの機能解析へ知見を与えることを示した。VDRのように構造要求性の高い受容体についてもホウ素クラスターが疎水性テンプレートとして効果的であることを明らかとし、そのX線構造解析により、カルボランと受容体表面の相互作用を初めて確認した。これらの知見は、それぞれの受容体リガンド創製に関して重要な指針を示すと同時に、カルボランを医薬品の疎水性構造として応用する際の分子基盤を与えるものであると考えられる。