

# 論文の内容の要旨

## 論文題目

### 転写制御を志向した化合物の効率的創製

-ジフェニルメタン骨格による展開-

氏名 丸山 慶輔

#### 【序】

生命現象の本体とも言えるタンパク質に対して、機能解明や創薬のために、種々の化合物が創製されてきた。しかしヒトタンパク質の総数は 50000-70000 と見積もられており、これだけの数の低分子リガンドを網羅的に創出するためには大変な労力を要することが予想され、リード化合物の創出も容易ではない。一方、生体内の天然物リガンドに目を向けると、ステロイド化合物のように、共通骨格から派生したマルチターゲットな化合物が見られる。このような、ターゲットタンパク質の種類を超えたりガンド共通構造として機能しうるものを、当研究室ではマルチテンプレートと呼称している。

マルチテンプレートを用いた化合物創製は、一つの骨格から構造展開することで様々な生理活性物質を創製出来るため、化合物ライブラリー内の母核構造の多様性を抑えつつ、複数種のタンパク質に対して効率良くリガンドを創製することが可能になるはずである。当研究室ではこれまでに、サリドマイドをマルチテンプレートとした構造展開を行い、種々のリガンドを創製してきた<sup>1</sup>。また、ジフェニルメタン骨格をステロイド代替骨格としてとらえ、核内受容体を中心としたリガンド創製も行ってきた<sup>2</sup>。

これらをふまえ、私は、ジフェニルメタン骨格を用いて転写を制御する化合物群を効率的に創製できることを実験的に実証すること目的とした。具体的には、アンドロゲン受容体 (AR) アンタゴニスト、エストロゲン受容体 (ER) アンタゴニスト、ヒストンアセチル化酵素 (HAT) 阻害活性物質の創製を目指した。

## 【第1章 ステロイド骨格とその代替構造】

核内受容体は転写因子の一種であり、その多くは低分子リガンドが結合することで細胞核内での転写を制御する。核内受容体は生殖、恒常性維持、脂質・骨代謝調節、免疫調節など、ヒトの生命機能の根幹を制御している。このため医薬品のターゲットとしても古くから注目されている。内因性の核内受容体リガンドとして、ステロイド誘導体が挙げられる。ステロイド誘導体は、ホルモンをはじめとした様々な生理活性物質として生体内に存在し、ヒトの生命現象をコントロールしている。ステロイド誘導体には医薬品として用いられているものもある。例えば  $1\alpha,25\text{-dihydroxyvitamin D}_3$  (以下  $1,25\text{-VD}_3$ ) はステロイド B 環が開環したセコステロイド骨格を有しており、ビタミン D 受容体 (VDR) を介して骨代謝調節や細胞の分化誘導、免疫調節などの作用を発現している。これらの作用が注目され、 $1,25\text{-VD}_3$  およびその誘導体がカルシウム代謝調節薬・骨粗鬆症治療薬・乾癬治療薬として臨床で用いられており、抗がん薬への応用も期待されている<sup>3</sup>。

20 世紀前半から様々なステロイドホルモンの機能が明らかになるにつれて、天然体や合成類縁体の研究が盛んに行われ、ステロイド骨格を有する数多くの医薬品が誕生した。しかし近年では副作用等の問題から、医薬品開発は非ステロイド型誘導体が求められている。例えばステロイド抗炎症薬であるプレドニゾロンやデキサメタゾンは顕著な抗炎症作用を示すが、その作用点の多さから多岐にわたる副作用が知られており、決して使いやすいとは言えない。副作用を回避するために、各種ターゲットタンパク質に選択的な医薬品の開発が進められ、その課程で非ステロイド型アゴニストが報告されてきた。例えば、1999 年に Boehm らにより報告されたビタミン D アゴニスト LG190178 は、初の非セコステロイド型 VDR リガンドであった<sup>4</sup>。しかし、これらの非ステロイド核内受容体リガンドはいずれも独立にデザインされたものであり、ステロイド骨格に変わる共通骨格は未だ存在しない。当研究室では、ステロイドのマルチターゲット性を背景に、ビタミン D 受容体 (VDR) リガンドである LG190178 のもつジフェニルメタン構造に着目して誘導体展開を行なう中で、ビタミン D 受容体 / アンドロゲン受容体 (AR) デュアルリガンド (VDR アゴニスト / AR アンタゴニスト) や、ファルネソイド X 受容体 (FXR) アゴニスト、 $5\alpha$ 還元酵素阻害薬などを創製することに成功し、ジフェニルメタン構造がステロイド代替骨格になりうることを提案している (Figure 1.)<sup>2</sup>。これらをふまえて種々のリガンド展開に着手した。

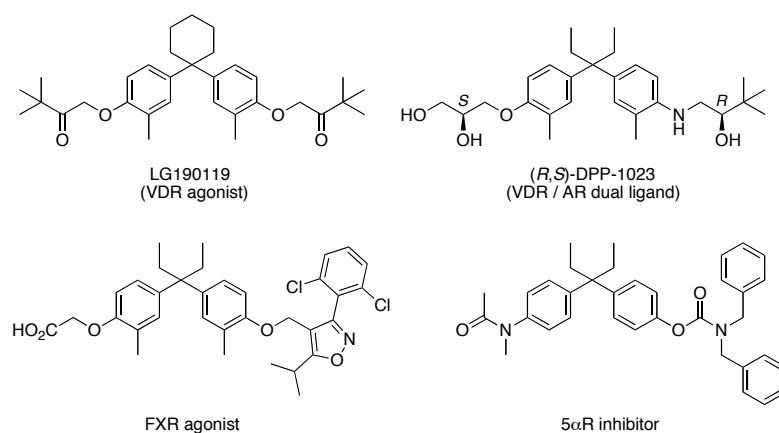


Figure 1.

## 【第2章 AR アンタゴニストへの展開】

アンドロゲン受容体 (AR) は testosterone や 5 $\alpha$ -dihydrotestosterone に代表されるアンドロゲンを内因性リガンドとする核内受容体である。アンドロゲンは AR を介し、男性の二次性徴、筋肉や骨の形成といった重要な作用を発現している。一方で、AR のアンドロゲン依存的な転写活性化は前立腺がんの発症と進展にも深く関与していると考えられている。当研究室ではジフェニルメタン型 VDR / AR デュアルリガンドの創製に成功していたものの、AR 選択的アンタゴニストの創製は未だ達成されていなかった。(S,R)-LG190178 と VDR、および bicalutamide 類縁体と AR の複合体 X 線結晶構造が報告されている。両者を比較したところ、bicalutamide のフルオロベンゼンスルホニル基が、(S,R)-LG190178 の *t*-ブチル基の位置に相当する部位に存在し、これらの官能基の脂溶性と嵩高さが抗アンドロゲン作用に大きな役割を果たしていることが示唆された。

そこで、(S,R)-LG190178 の *t*-ブチル基部分にさらなる置換基を導入することで抗アンドロゲン選択的リガンドが創製できることを期待した。この様にしてデザインした化合物群を合成し、アンドロゲン依存的細胞増殖抑制活性と、ビタミン D 依存的細胞分化促進活性を評価した。その結果、ビタミン D 活性に対して約 30 倍の選択性を持ち、bicalutamide より強い抗アンドロゲン化合物を創出することに成功した (Figure 2.)。

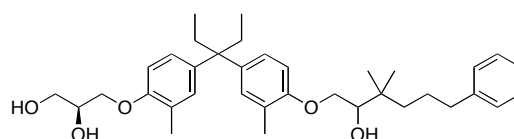


Figure 2.

## 【第3章 ER $\alpha$ アンタゴニストへの展開】

ER は、ER $\alpha$  と ER $\beta$ 、2 つのサブタイプを持ち、ステロイド骨格を有する estradiol (E<sub>2</sub>, 17 $\beta$ -estradiol) に代表されるエストロゲンを内因性リガンドとする核内受容体である。ER $\alpha$  は女性生殖器系に豊富に存在し、乳腺、視床下部、内皮細胞、血管平滑筋にも存在している。一方 ER $\beta$  は前立腺、卵巣に豊富に存在し、肺、脳、血管、骨にも存在している。乳がん細胞の増殖はエストロゲン依存性であることが多く、特に ER $\alpha$  が関与している。このため、抗エストロゲン薬のタモキシフェンは乳がん組織等に存在する ER に競合的に結合し、抗エストロゲン作用を示すことによって抗腫瘍効果を発揮するとして、臨床で用いられている。

一般に環境ホルモン類として知られる化学物質に、ジフェニルメタン誘導体である bisphenol A があり、ポリカーボネート系プラスチックの原料として工業利用されている。Bisphenol A は ER アゴニストとして、またその類縁体は ER リガンドとして機能しうることが報告されているが、アゴニスト作用、アンタゴニスト作用に関する構造活性相関、あるいはその ER $\alpha$ 、ER $\beta$  選択性などは精査されていない。私は、bisphenol A は estradiol と同じ位置に結合し、ステロイド代替骨格として機能していると予想した。そうであれば過去の知見から、リガンドの嵩高さを調整すればアゴニスト・アンタゴニストの作り分けが可能と考えた。化合物群を新規に合成し活性評価したところ、中心部アルキル鎖を変換することで、アゴニストからアンタゴニストを作り分けることができた。更に、ER $\alpha$  選択的で IC<sub>50</sub> 値が 4.9 nM と強い活性を有する ER $\alpha$  アンタゴニストを得た (Figure 3.)。またドッキングスタディによる考察も行った。

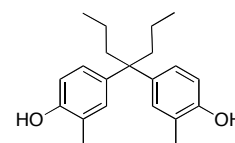


Figure 3.

#### 【第4章 HAT 阻害剤への展開】

HAT は、アセチル CoA をドナーとしてアセチル基をヒストンのリジン残基に転移する酵素である。アセチル化されたヒストンは、リジン残基の正電荷が中和されること、またアセチル化部位を認識するプロモドメインを含むタンパク質によってその情報が読み取られることによって特定のクロマチン領域の目印として機能すると考えられている。一般に高度にアセチル化された領域は、活性クロマチンであると考えられている。ヌクレオソーム構造が緩みプロモーター領域に転写因子が接触しやすくなることにより、転写が活性化される。ER にエストロゲンが結合すると、HAT 活性をもつタンパク質複合体が結合して下流の遺伝子の転写が活性化される。HAT 活性を阻害できれば、エストロゲン依存性の転写を阻害し、乳がん細胞の増殖を抑制するケミカルツールのひとつとなる可能性がある。

HAT 阻害剤としては **anacardic acid** や **curcumin** などが知られているが、合成リガンドの報告は少ない。近年、**curcumin** を構造展開した化合物に HAT 阻害活性が認められるという報告がある<sup>5</sup>。これは当研究室で行ってきたジフェニルメタン型の構造に類似しており、私は構造展開によってジフェニルメタン骨格が HAT 阻害剤としても機能することを期待し、エピジェネティクスへの応用を試みた。種々化合物を合成して活性評価を行い、ジナフチル骨格をもつ HAT 阻害活性化合物を創出した。その中で **anacardic acid** に迫る活性を示す化合物も見出した (**Figure 4.**)。また多重薬理の観点からも考察した。

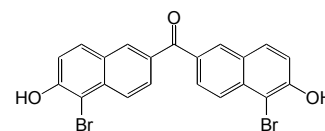


Figure 4.

#### 【第5章 総括】

私は本研究において、ステロイド骨格を天然のマルチテンプレートと捉え、より医薬化学的に扱いやすい代替構造として、ジフェニルメタン骨格を選択した。これをマルチテンプレートとして、転写を制御するリード化合物群の効率的創製を目指し、本手法の有用性を実験的に実証することを目的とした。

**Bicalutamide** を上回る抗アンドロゲン活性を示し、VDR に対して約 30 倍の選択性をもつ抗アンドロゲン化合物を創出した。また、**bisphenol A** をジフェニルメタン型ステロイド代替骨格として捉え、ER $\alpha$  選択的アンタゴニストを効率的に見出すことにも成功し、シンプルな構造展開においてもアゴニストからアンタゴニストへのスイッチ・活性増強・選択性獲得ができることを示した。エピジェネティクスへの展開として、HAT 阻害剤への活性拡張の可能性も示した。これらの結果により、本手法の有用性を示すことができたと考えており、更なる生理活性物質の創製につながるものと期待している。

<sup>1</sup> Hashimoto, Y. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, 10, 461-479.

<sup>2</sup> Hosoda, S, et al. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2009**, 9, 572-580.

<sup>3</sup> Bouillon, R. et al. *W. Endocr. Rev.* **1995**, 16, 200-257.

<sup>4</sup> Boehm, M. F. et al. *Chem Biol.* **1999**, 6, 265-275.

<sup>5</sup> Costi, R. et al. *J. Med. Chem.* **2007**, 50(8), 1973-1977.