

## 論文内容の要旨

論文題目 ケイ素を利用した抗腫瘍活性物質の構造展開

氏名 中村 雅陽

### 1. 背景・目的

ケイ素 (Si) は、炭素 (C) と同じ周期表の 14 族に属することから、創薬化学においては、ケイ素を炭素の代替元素として利用することが試みられている。炭素をケイ素に置換する効果として、分子サイズ・結合角の変化、脂溶性の向上、電気陰性度の違い(電荷の偏り)により、活性、選択性、体内動態などの変化・改善が期待される。また、ケイ素に置換することで化合物の特許上の新規性が得られる可能性もある。しかしながら、ケイ素含有生理活性物質については、研究の歴史も浅く、例も少ない為に、その生物学的特性は良くわかっていない。また、いくつかのケイ素を含有した医薬品候補化合物の臨床試験が行われてきたが、実際に臨床応用されている化合物はほとんど知られていない。そこで本研究では、1) ケイ素の特徴を利用した創薬および化合物の構造最適化手法の開発、2) ケイ素の特徴を活かした医薬品候補化合物の創製を行い、創薬化学におけるケイ素の有用性を示すことを目的とした。以下に、本研究で得られた結果の概略を示す。

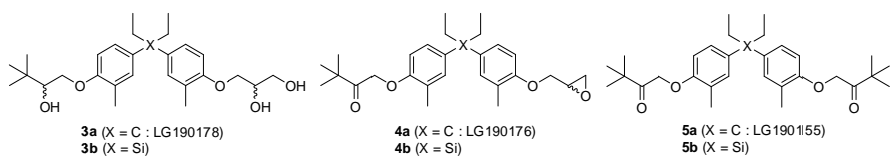
### 2. 炭素/ケイ素置換による核内受容体への選択性の転換 (AR アンタゴニストの創製)

現在、前立腺がんの治療には、ビカルタミド、フルタミドなどのアンドロゲンレセプター (AR) アンタゴニストが用いられている。しかしながら、これらの薬剤は治療継続に伴い、耐性化もしくは増悪化を引き起こすことがあり、新しい前立腺がん治療薬が求められている。

一方、東京大学 分子細胞生物学研究所 橋本研究室では、既知のビタミン D レセプター (VDR) アゴニストであるジフェニルメタン骨格を有する LG190178 誘導体の研究を通し、それらの誘導体が、AR アンタゴニスト活性も有していることを見出した。そこで、私は、抗腫瘍作用につながる一方、高カルシウム血症などの副作用にもつながる VDR アゴニスト活性を減弱させ、AR アンタゴニスト活性を高めた化合物の創製を計画した。

はじめに、既知のジフェニルメタン誘導体 (LG 化合物) と VDR および AR とのドッキングシミュレーションを実施し、その情報を基に LG 化合物のケイ素導入体をデザインした。合成した化合物の VDR および AR に対する活性は、レポータージーンアッセイを用いて評価した (Table 1)。なお、VDR 転写活性については、「 $10\ \mu\text{M}$   $1\alpha,25\text{-VD}_3$  (**1**) (positive control (PC)) の VDR 転写活性の 50% を示す濃度」と定義した  $\text{PC}_{50}$  値を活性の指標として用いた。試験の結果、ジフェニルメタン骨格へのケイ素原子の導入は、AR アンタゴニスト活性の上昇及び VDR のアゴニスト活性の減弱につながる事が明らかとなった。即ち、炭素/ケイ素置換を行うことにより、核内受容体への選択性の転換が生じることを示した。

**Table 1.** LG 化合物とそのケイ素誘導体の VDR および AR レポータージーンアッセイの結果



compound	X =	VDR PC <sub>50</sub> (μM) <sup>a,c</sup>	AR IC <sub>50</sub> (μM) <sup>b,c</sup> (inhibition % at 10 μM)	VDR/AR <sup>d</sup>
LG190178 ( <b>3a</b> ) <sup>e</sup>	C	0.14	>>10 (16%)	<0.014
<b>3b</b> <sup>e</sup>	Si	0.92	6.8	0.14
LG190176 ( <b>4a</b> ) <sup>f</sup>	C	0.68	>>10 (12%)	<0.068
<b>4b</b> <sup>f</sup>	Si	4.8	>10 (49%)	ca.0.48
LG190155 ( <b>5a</b> )	C	4.6	>10 (44%)	<0.46
<b>5b</b>	Si	>30	6.2	>4.8
Hydroxyflutamide	-	inactive <sup>g</sup>	0.3	-
1, 25-VD <sub>3</sub> ( <b>1</b> )	-	0.003 (EC <sub>50</sub> )	>10 (45%)	-

<sup>a</sup>VDR transcriptional activity. <sup>b</sup>AR transcription-inhibitory activity. <sup>c</sup> Assays were performed in triplicate.

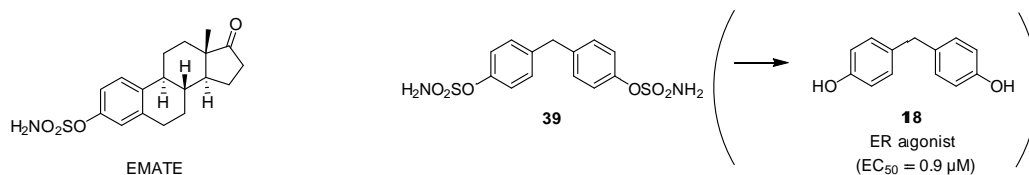
<sup>d</sup>VDR(PC<sub>50</sub>)/AR(IC<sub>50</sub>) was defined as VDR transcriptional activity (PC<sub>50</sub> value)/ AR transcription-inhibitory activity (IC<sub>50</sub> value).

<sup>e</sup>Diastereomeric mixture. <sup>f</sup>Enantiomeric mixture. <sup>g</sup>No activity was observed in the concentration range examined.

次に、化合物 **3b** の光学異性体のうち最も高い AR 選択性を示した (**S,R**)-**3b** (VDR PC<sub>50</sub> >10 μM, AR IC<sub>50</sub> = 7.4 μM) の細胞増殖抑制活性を、テストステロン添加により増殖が促進されるアンドロゲン依存的なマウス乳がん SC-3 細胞を用いて評価した。試験した化合物 (**S,R**)-**3b** は、非常に強力な細胞増殖抑制活性を示した (IC<sub>50</sub> = 0.072 μM)。これは、AR アンタゴニストとして知られる hydroxyflutamide の活性 (IC<sub>50</sub> = 1.4 μM) と比較して、20 倍以上高活性であった。

### 3. ケイ素導入による酵素阻害剤の活性向上 (ステロイドサルファターゼ阻害剤の創製)

乳がんの 70-80% はホルモン依存性の乳がんであり、エストロゲンの関与が示唆されている。また、女性のホルモン依存性乳がんの場合、閉経前後で治療方法 (用いる抗がん剤) が異なり、閉経後乳がんの治療には、抗エストロゲン剤やアロマターゼの阻害剤が治療に用いられる。しかしながら、これらの薬剤を用いた治療も完全ではなく、新たな作用機序を有する薬剤が求められている。一方、ステロイドサルファターゼ (STS) は、血漿中に多く存在する estrone sulfate (E1S) を組織内で加水分解し、estradiol (E2) の前駆体である estrone (E1) へ変換する酵素である。STS は、アロマターゼと別経路で E2 の産生に寄与していることから、閉経後乳がん治療薬を志向した STS 阻害剤の研究が行われている。STS 阻害薬のうちステロイド骨格を有する EMATE は、臨床試験まで進んだが、代謝物が強力なエストロゲン作用を示すことが明らかとなり、開発は中止された (Figure 1. 左)。また、ビスフェノール化合物 **39** も報告されているが、化合物 **39** の推定代謝物 **18** は、エストロゲン (ER) アゴニスト活性を有することが知られており EMATE と同様にがんの治療薬としては不適である (Figure 1. 右)。

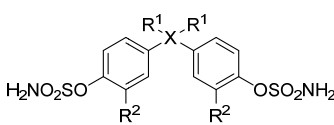


**Figure 1.** EMATE, 化合物 **39** 及びその代謝物 **18** の構造

一方、我々は、ER アゴニスト活性を有するビスフェノールAの置換基を変換することにより、強力なER アンタゴニスト活性を有するケイ素化合物の創製に成功した。そこで、これらの知見を活かし、「STS 阻害活性」と「代謝物によるER アンタゴニスト活性」の2つの阻害作用を有する化合物の創製を行うことを計画した。前出のビスフェノールタイプのSTS 阻害剤**39**の論文中において、イオウ体**40**が、炭素体**39**よりも高い活性を示していたことから、2つのベンゼン環の距離が長くなるとSTS 活性が高くなると予想し、化合物へのケイ素の導入を計画した。

種々のケイ素体および対応する炭素体を合成し、STS 阻害活性を測定したところ、期待通り化合物へケイ素を導入することにより、STS 阻害活性が向上することが分かった。また、各化合物の代謝物のER アゴニストおよびアンタゴニスト活性をレポータージーンアッセイにより評価した。その結果、既知物質**39**および**40**と同程度のSTS 阻害活性を保持しつつ、その代謝物が高いER アンタゴニスト活性を示すケイ素化合物**45b**の創製に成功した(**Table 2.**)。

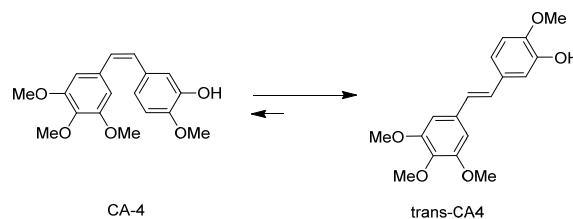
**Table 2.** リード化合物**39**および**40**と得られたケイ素化合物**45b**の活性のまとめ

	compound	X	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	STS阻害活性 IC <sub>50</sub> (μM)	ERαに対する 代謝物の活性
	<b>39</b>	C	H	H	H	1.02
<b>40</b>	S	-	-	H	0.09	agonist
<b>45b</b>	Si	Et	Et	Me	0.17	antagonist (ERα:IC <sub>50</sub> = 30 nM)

### 3. ケイ素リンカーによるオレフィン構造の置き換え (チューブリン重合阻害剤の創製)

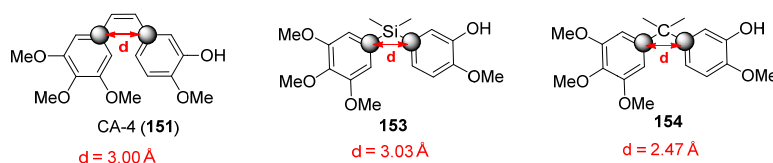
コンブレタスタチン(Conbretastatin)類は、チューブリン重合阻害活性などを有する天然物であり、Conbretastatin A-4 (CA-4 (**151**))のリン酸プロドラッグであるCA-4Pの臨床試験が、固形がんを対象に行われている。一方で、CA-4 (**151**)は、分子内に *cis* 型の炭素 - 炭素二重結合を有しており、薬剤の保存時や投与時により化学的に安定な *trans* 型へと異性化することが知られている(**Figure 2.**)。

ケイ素原子は炭素原子より大きいことから、一般的に、炭素 - ケイ素 (C-Si) 結合は炭素 - 炭素 (C-C) 結合よりも長いことが知られている。本研究では、このケイ素の特徴に注目し、ケイ素リンカーによるCA-4 (**151**)のオレフィン構造の置き換えを計画し、含ケイ素化合物**153**を



**Figure 2.** コンブレタスタチン A-4 の異性化

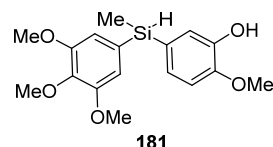
デザインした。はじめに、ケイ素化合物**153**及び対応する炭素化合物**154**の2つのベンゼン環間の距離( $d$ )を計算したところ、期待した通り、ケイ素化合物**153**の距離( $d$ )は、CA-4 (**151**)の *cis* 炭素 - 炭素二重結合の長さと同程度であった(**Figure 3.**)。



**Figure 3.** 化合物のベンゼン環間の距離

次に、デザインしたケイ素化合物 **153** および CA-4 (**151**)とチューブリンの結晶構造(PDB ID: 1SA0) のドッキングシミュレーションを、AutoDock 4.2 を用いて実施した。ケイ素化合物 **153** および CA-4 (**151**)は、期待した通り、チューブリンのコルヒチン結合部位の同じ位置に結合し、両化合物ともチューブリンの Cys241 および Val181 と水素結合していることが示唆された。計算結果を基に、含ケイ素化合物のデザイン、構造最適化を行った結果、CA-4 (**151**) と同等の細胞増殖抑制活性を示すケイ素化合物 **181** を得ることに成功した (Figure 4)。同試験で、対応する炭素体 **185** の細胞増殖抑制活性は、ケイ素体の 1/10 程度であった。

また、CA-4 (**151**) は、PBS/アセトニトリル溶液中、蛍光灯下、24 hr 静置した際、純度が 84% へ低下したが、同条件下で、ケイ素化合物 **181** からは不純物の出現は認められなかった (data not shown)。これらの結果は、ケイ素リンカーが、*cis* 炭素 - 炭素二重結合の代替構造として作用するという我々の仮説を支持するものであり、創薬化学におけるケイ素の新しい利用法となりうると考えられる。



TPI : IC<sub>50</sub> = 28 μM  
 Inhibition of [<sup>3</sup>H]colchicine binding : 91% at 3 μM  
 MCF-7 : IC<sub>50</sub> = 0.007 μM

Figure 4. 化合物 **181** の構造

#### 4. 総括

本研究において、私は、(1)ジフェニルメタン誘導体に対し、炭素/ケイ素置換を行うことにより、核内受容体への選択性の転換が生じることを見出した。(2)ER アゴニストであるビスフェノールAの構造変換により、強力な ER アンタゴニスト活性を有するケイ素化合物の創製に成功した。また、ジフェニルメタン骨格を有する STS 阻害剤に、ケイ素を導入することにより、その活性を向上させることに成功した。これらの知見を合わせ、「STS 阻害活性」と「代謝物による ER アンタゴニスト活性」を有する 2 重阻害剤の創製に成功した。(3)また、不安定な *cis*-オレフィン構造をケイ素リンカーで置換することを計画し、生物活性を維持したまま、安定性を向上させたチューブリン重合阻害剤の取得に成功した。その他、ケイ素特有のシランジオール構造を利用した薬剤の創製、アルキルシリル基を導入した生理活性物質の創製に成功した (Figure 5.)。

本研究で得られた知見は、創薬化学におけるケイ素の有用性を示唆しており、今後の医薬化学および有機ケイ素化学の発展に寄与するものと考えられる。

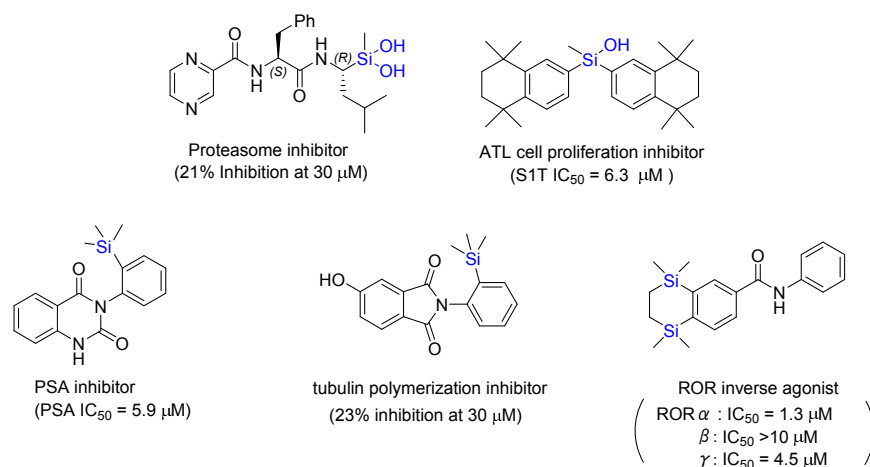


Figure 5. 本研究で創製したその他の含ケイ素生理活性物質