ビタミンD₃のフッ素による化学修飾

小林 義郎*・田 口 武 夫*

Fluorine-Modified Vitamin D₃ Analogs.

Yoshiro KOBAYASHI* and Takeo TAGUCHI*

Studies on fluorine-modified vitamin D₃ analogs : the design, synthesis and biological activity are reviewed. On the basis of the metabolism of vitamin D₃ and the characteristic features of fluorine and fluorinated compounds, fluorine-modified vitamin D₃ analogs were designed, synthesized and their biological activity was investigated to clarify the physiological significance of the metabolic hydroxylation of vitamin D₃.

1. はじめに

1958年、ビタミンD₃の活性代謝産物として、25-OH-D₃^{*1}が、そして、1971年には現在知られている代謝産物のうちで最も強い活性を有する1,25(OH)₂D₃が発見されて以来、この分野の研究は急速な発展を遂げ、生化学者と有機化学者さらには医学者の協力のもとで展開された基礎的研究は、活性型D₃-1,25(OH)₂D₃および1 α -OH-D₃の腎疾患、骨疾患あるいは副甲状腺機能障害の治療薬としての開発へ発展した¹⁻³⁾。更に、最近、1,25(OH)₂D₃のレセプターはガン細胞などにも見い出され⁴⁾、骨髄性白血病細胞の分化誘導を強く促進することが報告され⁵⁾、話題を呼んでいる。また、1,25(OH)₂D₃のレセプターの精製が報告され⁶⁾、このホルモン系をめぐる新しい深層への展開へと進んできている。

一方、フッ素化合物が今日のように、医学薬学分野で広く応用されるようになった引き金は、1953年、9 α -フルオロコルチゾールの強い抗炎症作用の発見である⁷⁾。9 α -フルオロコルチゾール自身は、抗炎症作用の増強と同時に、副腎皮質ホルモンの持つ他の2つの作用、即ち糖質および鉱質代謝活性も同時に増強させる欠点があった。しかしながら、この発見を機にフッ素に対する化学者の関心は高まり、多くの含フッ素ステロイドホルモンの合成がなされ、副作用の軽減(作用の分離)、作用持続時間の延長などの改良が行われてきた^{8,9)}。同時に多くのフッ素化の新反応や新試薬の開発がなされた。その

後、ステロイドホルモンのみならず他の医薬品、農薬をはじめとする生理活性物質のフッ素による化学修飾は優れた薬理効果の発現を目的として広範囲に行われるようになり、フッ素はドラッグデザインにおいて重要な位置を占めている。

筆者らが、ウィスコンシン大学のDeLuca教授および東京工業大学の池川信夫教授との共同研究としてD₃のフッ素による化学修飾に着手したのは、8年程前であり、D₃の代謝と機能に関する研究が活発な時期であった。このことは逆にこれらの生化学的研究には、フッ素化合物のもつ特異的性質に基づいて、D₃の特定の位置にフッ素を導入したアナログが必須であったことを意味するものである。詳細は本論で述べるが、合成した含フッ素アナログはD₃の代謝と機能に関して多くの知見を与えたと同時に、これらのうちには天然の活性型D₃である1,25(OH)₂D₃よりも強い生理作用を発揮するものも見い出されている。

含フッ素ビタミンD₃については、以前、その一部を本誌に総説を書いたが¹⁰⁾、その後新たにいくつかの含フッ素アナログの合成を完成し、さらに多くの生化学的検討が行われたので、ここにまとめて紹介する。これらの研究を通して合成屋としての筆者らが行った有機フッ素

*1 文中次の略語を使用する。

D₃, vitamin D₃; 25-OH-D₃, 25-hydroxyvitamin D₃; 1,25(OH)₂D₃, 1 α , 25-dihydroxyvitamin D₃; 24,25(OH)₂D₃, 24,25-dihydroxyvitamin D₃; 25,26(OH)₂D₃, 25,26-dihydroxyvitamin D₃; 24,24-F₂-25-OH-D₃, 24,24-difluoro-25-hydroxyvitamin D₃; 24-F-25-OH-D₃, 24-fluoro-25-hydroxyvitamin D₃; 26,27-F₂-25-OH-D₃, 26,26,27,27-hexafluoro-25-hydroxyvitamin D₃; 26-F₃-25-OH-D₃, 26,26,26-trifluoro-25-hydroxyvitamin D₃; 1 α -F-25-OH-D₃, 1 α -fluoro-25-hydroxyvitamin D₃; 6-F-D₃, 6-fluorovitamin D₃.

* 東京薬科大学 ()

* Tokyo College of Pharmacy ()

化学がバイオサイエンスという大きな枠組の中にどのように、そして、どの程度かわかり得るものか、その一端としてご理解いただき、ご参考になれば幸いと思う。

生理活性を考える上でのフッ素あるいはフッ素化合物の特徴については、既に筆者らのものも含め多くの総説があるので、詳細はそれらを参照されたい¹⁰⁻¹³⁾。ここでは、本稿との関連から、特に一節を設けず簡単に触れるにとどめる。

1. フッ素は水素に次いで小さな van der Waals 原子半径をもち、C-F 結合は C-H 結合の 1.25 倍であり、有機化合物中の水素をフッ素で置換しても、その分子の立体的大きさの変化は殆んどないため、もとの有機化合物と区別することなく生体に取り込まれる（偽似効果）。

2. フッ素はすべての元素中で最も高い電気陰性度をもち、強大な電子吸引性により、近傍の官能基の性質に大きな変化をもたらす。

3. C-F 結合は C-H 結合よりもその結合エネルギーは大きく、一般的には、化学的反応性に乏しく、生体内でその結合の解裂を伴う代謝は受けにくくなる。

4. フッ素置換基の導入は化合物の親油性 (lipophilicity) を増大させ、生体内での吸収や輸送速度に影響を及ぼす。

5. 自殺型酵素阻害剤にみられるように、フッ素は分子中のある特定の環境におかれた場合、フッ化物イオンとして容易に脱離する場合がある。

以上が生理活性を念頭においたときのフッ素あるいはフッ素化合物の特徴として考慮されるべき点であるが、これまで医薬品にフッ素が導入されて活性が増強された例が多くあるが、フッ素導入効果を的確に指摘することは、なかなか困難である。また、最近の動向のひとつとして天然に見い出される化学的に不安定な生理活性物質を安定化させる目的でフッ素の導入を行っている例がいくつか報告されている^{12,14)}。

2. ビタミン D₃ の代謝とフッ素導入位置の設計

ここ十数年来、ビタミン D の代謝と機能に関する研究は、活性型 D₃、1,25(OH)₂D₃ の発見を機に急速な発展を遂げ、1,25(OH)₂D₃-副甲状腺ホルモンをめぐると新しい内分泌系が明らかにされた。更に、これらの研究の結果、活性型 D₃ が腎疾患・骨疾患治療薬として開発されるに至った。この間、有機化学者は、極微量でしか得られない代謝産物の構造決定、また、臨床試験を含め生化学的検討のため大量供給が必要な代謝産物の有効な合成法の開発、活性の増強や作用選択性の向上、構造活性相関を明らかにすることを目的とした種々のアナログの合

成、アンチビタミン D 活性を有する化合物の合成を目的とした研究が活発に展開され、この分野の発展に大いに貢献してきた。

筆者らは、D₃ のフッ素による化学修飾をここ数年来手がけてきたが、本節ではフッ素導入の考え方を示す。ビタミン D の代謝と機能、生理活性、合成などについてはこれまで多くの総説^{1,15-19)} や著書^{2,3)} が書かれているので、詳細はそれらを参照されたいが、筆者らの行っている含フッ素アナログ合成との関連からその概略を示す。D₃ が生体内において活性を発現するためには代謝を受けなければならないことはよく知られたことである。即ち、まず、肝において 25 位が水酸化されて 25-OH-D₃ となる。25-OH-D₃ は血中の主代謝産物であり、これがさらに腎で 1 位あるいは 24 位が水酸化されて、1,25-(OH)₂D₃ あるいは 24,25(OH)₂D₃ に代謝される。1 位あるいは 24 位のいずれが水酸化されるかは、その生理的条件によって厳密に調節されている。血中の Ca 濃度が高いか、または十分なビタミン D が存在するときは 24,25(OH)₂D₃ に代謝される。更に、このような生理的条件下では 23,25(OH)₂D₃ や 25,26(OH)₂D₃ 更に、前者は 25-OH-D₃-26,23-lactone に代謝されることも明らかにされている。1,25(OH)₂D₃ は現在知られている代謝産物のうちで、最も活性が強く、腸管において Ca および無機リン酸の吸収促進作用を示し、骨においては骨塩溶解作用を示して血中の Ca および無機リン酸濃度を上昇させ、骨形成に関与するホルモンとして認識されている。24 位の水酸化については立体配置の決定や、立体配置の相違による生理活性の差あるいは、腎における 24-hydroxylase の作用に関して、池川・DeLuca らの研究により明確にされた²⁰⁻²³⁾。24,25(OH)₂D₃ は、1,25(OH)₂D₃ の約 1/50 程度のビタミン D 活性を示すが、これは 1,24,25(OH)₃D₃ に代謝されて活性を発現したものである。24,25(OH)₂D₃、25,26(OH)₂D₃ および 23,25(OH)₂D₃ の活性は 25-OH-D₃ に比べ、相当低く、これらの代謝産物が生成する生理的条件は血中 Ca 値が正常で、生体が特にその濃度を高めるようなビタミン D 活性を必要としない場合であり、これらは排泄への不活性化の段階であると考えられる。一方、24,25(OH)₂D₃ の生理活性に関して positive な考え方も提唱された^{24,25)}。例えば、骨形成および骨の石灰化に、1,25(OH)₂D₃ だけでなく 24,25(OH)₂D₃ の存在も必要であるというものである²⁶⁻²⁸⁾。更に、24,25(OH)₂D₃ の存在が必要であるという実験結果は、トリの卵の孵化やヒナの発育の場合などについても報告され²⁹⁾、24 位水酸化の生理的意義に関して議論が沸騰した。

Fig. 1

先に述べたように、フッ素原子は水素原子に次いで立体的に小さな原子であること、また、炭素-フッ素結合はその結合エネルギーが大きく、生体内では通常代謝を受けないことを考え合せば、D₃の24位の水素原子をフッ素原子で置換することにより、生体内では24位の水酸化がブロックされるものと考えられ、このような化合物の生理作用を調べることににより、24位の水酸化の生理的意義を解明する手がかりが得られるものと期待される。このような考え方は、24位水酸化についてばかりでなく、D₃の代謝マップの中で水酸化を受ける殆んどすべての位置について考えられることである。25-OH-D₃の23, 24あるいは26位の水酸化が不活性化の段階であるとするならば、これらの位置の水素原子をフッ素原子で置換した化合物では、その位置での水酸化による不活性化が遅延することが期待される。一方、D₃の主代謝産物である25-OH-D₃の25位の水酸基の役割のひとつは、腎において1-hydroxylaseあるいは24-hydroxylaseが作用するために必要な官能基であると考えられている。また、ビタミンD活性発現には1 α 位の水酸基の存在が必須である。従って、これらの位置にフ

ッ素を導入して水酸化をブロックした化合物はD作用の研究に重要な化合物である。更に、1位水酸基の近傍へのフッ素の導入はフッ素の極性効果により、水酸基の性質や分子のコンホメーションに変化をもたらし、副腎皮質ホルモンなどの場合のように生理活性の変化が期待される。図1の代謝産物のみならず最近、数多くの代謝産物が単離構造決定されているが³⁰⁻³²⁾、大部分は生体中のビタミンDが十分な状態で25-OH-D₃を腎ホモジネートとインキュベートして得られたものであり、いずれもビタミンD活性は小さい。特徴的なことは、酸化が23, 24あるいは26位の位置に起っていることである。また、側鎖部分が切断された代謝産物として1-OH-23-COOH (calcitric acid)や24-COOH (cholecalcitric acid)も見つかっているが、これらにはビタミンD活性はない。

以上述べたように、D₃の代謝経路とフッ素化合物の特異的性質に照合させて、代謝における水酸化の生理的意義の解明という生化学的見地からフッ素導入位置が設定された。

3. 合成と生理活性

3.1. 24位フッ素アナログ 前節で述べたように、筆者らが本研究に着手した当時は、 D_3 の代謝と代謝産物の生理的機能に関する研究が隆盛を迎えた時期であり、特に $24, 25(OH)_2D_3$ の生体内での役割が議論的であったので、まず $24, 24-F_2-25-OH-D_3$ (**6**) の合成から開始した。この化合物に限らず合成に際しては、新しいフッ素化合物合成法を開拓し、それを応用していくことを念頭においた。

筆者らは、ジフルオロシクロプロパン誘導体を用いる合成反応^{33, 34)}の検討を行ってきたが、**6**の合成はアセトキシジフルオロシクロプロパン誘導体の環開裂反応を経由するルートで行った (図2)³⁵⁾。アセトキシジフルオロシクロプロパン誘導体の塩基性条件下での環開裂反応では、対応する α, α -ジフルオロケトン体および (ある

いは) α -フルオロエノン体得られるが、その生成比はシクロプロパンの構造に大きく影響される。**6**の合成の場合には、必ずしも満足できる結果ではなかったが、この点は 24 -ケト- 25 -カルボン酸エステル (**9**) を経由するルートで解決した。即ち、ケトスルホキシド (**7**) の転位異性化³⁶⁾、更に酸化反応により **9** を得た後、DAST (Et_2NSF_3) との反応により好収率でフッ素導入が行われた (図3)³⁷⁾。 $24, 24-F_2-25-OH-D_3$ および $24, 24-F_2-1, 25(OH)_2D_3$ は帝京大グループにより、筆者らとほぼ同じ頃、ケトカルボン酸と DAST との反応を用いたルートでの合成が報告された³⁸⁾。更に、Hoffman-La Roche グループは *pregn-5-en-21-oic acid ester* のアルキル化反応を経由するルートでの合成を報告している (図4)³⁹⁾。

Fig. 2

Fig. 3

Fig. 4

24, 24-F₂-25-OH-D₃ は小腸における Ca 吸収, 骨からの Ca 溶出作用, 血清無機リン酸の上昇, クル病軟骨の石灰化など 25-OH-D₃ とほぼ同等か若干高い活性を示した⁴⁰⁾。この結果は, 25-OH-D₃ の 24 位水酸化はビタミン D の活性化の段階ではなく, むしろ不活性化の段階であることが示唆されたが, この点については, 生体内で炭素-フッ素結合が安定で, この位置での水酸化を受けないこと, 24 位のフッ素の存在が 1 α 位の水酸化を妨害せずに, 24, 24-F₂-1, 25 (OH)₂D₃ を生成すること, 24 位のフッ素は水酸基の mimic ではなく水素基の mimic であることを証明しなければならない。これらのことは, 24, 24-F₂-25-OH-D₃ の代謝実験の結果から, 24 位の水酸化は起っていないこと⁴¹⁾, D 欠トリの腎ホモジネートを用いた実験での 24, 24-F₂-1, 25 (OH)₂D₃ の単離同定により⁴²⁾, 更に, 結合蛋白に対する 24, 24-F₂-25-OH-D₃ の結合能が, 24, 25 (OH)₂D₃ よりも, 更に 25-OH-D₃ のそれよりも強いことなどから, 24 位のフッ素は水酸基の mimic ではなく, 水素基の mimic であると考えられる⁴³⁾。同様な mimic 効果は D₃ の 25 位⁴³⁾あるいは 1 位⁴⁴⁾ フッ素アナログの場合にも明らかにされている。

24, 24-F₂-1, 25 (OH)₂D₃ の *in vitro* 系での Ca 結合蛋白生成を刺激する作用は, 1, 25 (OH)₂D₃ の 4 倍以上であり⁴⁵⁾, ラットを用いた系でのビタミン D 作用は 1, 25 (OH)₂D₃ よりも 5 ~ 10 倍活性が高く, かつ作用持続時間が長い⁴⁶⁾。更に, 24 位水酸化の生理的意義に関して論

議を呼んだ, いわゆる long term での D₃ 作用発現に 24, 25 (OH)₂D₃ も必要な代謝産物であるという点については²⁴⁻²⁹⁾, 24, 24-F₂-25-OH-D₃ を用いた実験から^{47, 48)}, 24, 25 (OH)₂D₃ が生体内で 1, 25 (OH)₂D₃ 以外の特別な役割を果たしているとする考え方に疑問をなげかけている。

25-OH-D₃ の 24 位水酸化は 24 R 配置の 24, 25 (OH)₂D₃ を与える。24-F-25-OH-D₃ では 24 位のフッ素の立体配置は重要な問題である。筆者らは先に 24-F-25-OH-D₃ をその立体異性体の混合物として合成したが (図 5)³⁹⁾, 後に, Hoffmann-La Roche のグループは光学活性なリンゴ酸を用いるルートで (24 R)-24-F-1, 25 (OH)₂D₃ の合成を報告している (図 4)⁴⁹⁾。

3.2. 23 位フッ素アナログ 25-OH-D₃ あるいは 1, 25 (OH)₂D₃ の代謝産物のうちには 23 位の水酸化が関与した 23, 25 (OH)₂D₃, 1, 25 (OH)₂D₃-26, 23-lactone あるいは 1 α -OH-23-COOH (calcitric acid) などが単離構造決定されている。これらの小腸あるいは骨における Ca および無機リン酸代謝に対する活性は低いが, 23 位での酸化が関与する代謝の生理的意義は明確ではない。そこで, 24 位の場合と同様に抗代謝アナログ 23, 23-F₂-25-OH-D₃ の合成を行って, その生理作用を調べることにした。

23, 23-F₂-25-OH-D₃ の合成では, 23-ケト-24-カルボン酸エステル (18) と DAST との反応により 23 位にフッ素を導入した。末端 3 炭素伸長反応では, 23 位

Fig. 5

Fig. 6

の2個のフッ素原子の影響により24位での置換反応は進行しにくく、トリフラートをを用いてマロン酸エステルとの長時間の反応を要した。マロン酸エステル誘導体からは数工程で25-OH コレステロール型を経て24を合成した(図6)⁵⁰⁾。23,23-F₂-25-OH-D₃の生理活性は、小腸からのCa吸収作用、骨塩溶出作用などで25-OH-D₃とほぼ同等であり、D欠トリ腎ホモジネートにより、1 α 位が水酸化された23,23-F₂-1,25(OH)₂D₃を生成し⁵¹⁾、その生理活性は1,25(OH)₂D₃とほぼ同等であった。これらの点で24,24-F₂-25-OH-D₃の場合と同様である。

3.3. 側鎖末端フッ素アナログ 25,26(OH)₂D₃はD₃の主代謝産物のひとつであり、最近になり25位の配置が決定された⁵²⁾。それによると、D₃の代謝において25S体、25R体の両方が生成すること、1 α -hydroxylaseは25S体のみに作用して1,25,26(OH)₃D₃を生成し、25R体は、23位が水酸化またはラクトンへの酸化を受けることが示唆されている。25,26(OH)₂D₃や25-OH-D₃-26,23-lactoneなど26位の酸化が関与した代謝産物のビタミンD活性は低く、24位の水酸化と同様不活性化の過程での代謝産物と考えられる。従って26位および27位の水素原子をフッ素原子で置換した26,26,26,27,27,27-F₆体(26,27-F₆と略)、26,26,26-F₃体(26-F₃と略)は26位の水酸化の生理的意義の解明に重要な化合物である。これらのフッ素アナログの合成は、スルホン誘導体を用いるルートで効率よく行われた。

26,27-F₆-25-OH-D₃は、24位フェニルスルホン誘導体(25)をLDAで処理した後、ヘキサフルオロアセトンとの反応により付加体(26)を得た。ここで得られた付加体(26)のNa-Hgによる脱硫還元反応は水酸基の脱離を伴ったオレフィン体の生成を伴うことなく進行してヘキサフルオロカルビノール体(27)が収率よく得られている(図7)⁵³⁾。2個のトリフルオロメチル基の強い電子吸引効果による水素置換体の場合とは異なった反応の特徴が見られる。更に、1 α 位への水酸基の導入では α -エポキシド(29)のBirch還元反応を用いているが、ヘキサフルオロカルビノール部分を損うことなく収率よく目的物が得られている(図7)⁵⁴⁾。また、26,27-F₆-25-OH-D₃は22-トシラート(32)を出発物質に用いてアセチレン誘導体を経由するルートでも簡単に合成することができる(図8)⁵⁵⁾。

26,27-F₆-25-OH-D₃の生理活性は25-OH-D₃と同等か、若干高く、この化合物の代謝研究から、26位水酸化や26,23-lactoneへの酸化はD₃の不活性化の段階と考えられる⁵⁶⁾。また、26,27-F₆-1,25(OH)₂D₃の生理活性は、1,25(OH)₂D₃よりも強く、例えば血清Caの上昇作用は10倍、クル病軟骨に対する作用は約5倍、骨端軟骨の硬化作用は5~10倍である。更に、1,25(OH)₂D₃に比べて作用持続時間は約3倍である⁵⁷⁾。しかし、1,25(OH)₂D₃のレセプターに対する作用は、24,24-F₂-1,25(OH)₂D₃の場合と同様に、1,25(OH)₂D₃の約1/3と低いので⁵⁸⁾、ヘキサフルオロ体の生理活性の

Fig. 7

Fig. 8

Fig. 9

Fig. 10

増強はレセプターへの結合能の増大によるものではなく、フッ素導入により代謝と排泄がきわめて遅くなるためと考えられる。今後、放射性ラベル体を用いての詳細な検討が必要である。

26-F₃-25-OH-D₃ の合成は、26, 27-F₆-25-OH 体と同様な方法では、Na-Hg による脱硫還元反応の段階で相当量のオレフィン体を副生成物として与えるが、トリフルオロアセチル体の Al-Hg による脱硫還元を用いれば収率よく合成することができる。同様な方法を用いて 27-nor-26-F₃-25-OH-D₃ も合成した (図 9)⁶⁰⁾。

3.4. A 環へのフッ素導入アナログ

3.4.1. 1α-F アナログ D₃ の 1α 位の水酸基は生理活性発現に必須であるが、1α 位のフッ素置換体は、D 作用の研究に重要な化合物である。以前に 1α-F-D₃ の合成が報告されていたが⁶⁰⁾、筆者らは別途ルートでの合成を行い⁴⁴⁾、先に報告されていたものは 1β-F 体であることが判明した。合成は、シクロヘキセンオキシドのフッ化物イオンによる開環反応がトランス-ジアクシャル様式で進行して対応するトランス-フルオロヒドリンを生成することを利用した。

即ち、β-エポキシド (42) を KHF₂ とエチレングリコール中反応を行い、1α 位へフッ素を導入した後、数工

程を経て 1α-F-25-OH-D₃ へ変換した (図 10)⁴⁴⁾。1α-F-25-OH-D₃ はレセプターに対する結合能は 25-OH-D₃ の約 30 倍と強いが、小腸からの Ca 吸収作用や骨からの Ca 溶出作用は殆んど示さなかった。

3.4.2. 2 位フッ素アナログ 2 位フッ素アナログは、1 位水酸基の性質の変化に影響し生理活性の変化が期待される。

2β-F-1α-OH-D₃ の合成は α-エポキシドの KHF₂ による立体特異的な開環反応を用いて行われた (図 11)⁶¹⁾。2β-F-1α-OH-D₃ は 1α-OH-D₃ よりも活性が強い。

Fig. 11

Fig. 12

2 α -F-D₃の合成は4²-エノールアセタート体のCsO₃SOFによる親電子的フッ素化反応により、2 α 位へのフッ素化を経由するルートで行った(図12)⁶²⁾。

3.5. その他のフッ素アナログ 最近、6-F-D₃の合成がDaubenらにより報告された(図13)⁶³⁾。6-F-D₃には、強い1,25(OH)₂D₃のアンタゴニスト活性が述べられているが⁶⁴⁾、フッ素導入効果として、トリエン部分の π 電子密度の変化や、A環を含めたコンホメーションの変化が⁶⁵⁾、レセプターとの結合を増強させていることが考えられるが、詳細は今後の検討に待たれる。

以上、ビタミンD₃のフッ素による化学修飾について筆者らの研究を中心に述べてきたが、これらの他に3位フッ素体⁶⁶⁾や19位フッ素体合成の試み⁶⁷⁾なども報告されているが活性の面などで見るべきものはない。

Fig. 13

4. む す び

先に述べたように、筆者らが本研究に着手した当時はビタミンDの代謝と機能に関する研究の最盛期を迎えた時期であり、新しい代謝産物の検索、代謝産物の生理的役割、作用機序そしてビタミンDを含む生体内でのCaおよび無機リン酸代謝調節機構の解明などが生化学者を

中心に有機化学者の協力のもとで展開され、更に臨床応用への展開を目指して1,25(OH)₂D₃に勝る優れた薬理作用を有するアナログの開発が競われていた。その中で、ウィスコンシン大学のDeLucaらのグループはこの分野では常に世界をリードする研究を展開し、池川らとの協同研究でD₃代謝産物の構造決定、生理活性や機能を次々と明確にしてきた。そのような背景のもとに、多年にわたり有機フッ素化合物の合成と反応に関する研究を遂行してきた筆者らは、DeLuca、池川らとの共同研究としてD₃のフッ素による化学修飾の研究に着手した。D₃の代謝における24位水酸化の生理的意義の解明を目的としてスタートした本研究は、代謝経路や代謝産物における水酸化および酸化の機能と、フッ素化合物がもつ特異性に基づいて、フッ素導入位置や数がデザインされ、結果としては生化学的に問題点となっていた点をいくつか明確にすることができた。更に、24,24-F₂-1,25(OH)₂D₃や26,27-F₂-1,25(OH)₂D₃のように、ビタミンD活性が増強した化合物も見い出され、それらの活性増強の一応の根拠が生化学的な検討から説明された。

生理活性を念頭においた場合のフッ素化合物の特異性は、はじめに触れたように例えば、フッ素導入によって近接する官能基の性質や分子の形状に変化をもたらし、また、分子の親油性を増大させるなどは、一般論として理解はされても、これまでの医薬品の例に見られるようにフッ素導入によってもたらされた活性の増大する理由を的確に説明することは困難である。本稿で述べたD₃の場合、フッ素アナログ自身の代謝やレセプターの構造とフッ素アナログとの相互作用など、今後への課題は多くの難問として残している。

医薬品開発を目的とした場合には、薬物としての活性あるいは毒性といった面がまず前面に出てくるため、勢い闇夜に鉄砲という感でのアナログの検討が先行し勝ちであるが、よりきめ細かな設計と生化学面での基礎的な検討がなされていかなければ、いつまでも徒勞の繰り返しをする可能性が大きい。有機化学者がものをつくるという武器を最大効果的に使用し得るためには、そのものを最大効果的に利用し得る相手との協同作業を展開することが必要であろう。更に、目標化合物合成においては、新反応新試薬の開拓など独自の手法をその中で展開することにより合成屋としての立場は明確なものとなる。とりわけ、フッ素化合物という非天然型の化合物の研究に有機化学の立場で携ってきた筆者の痛感するところである。生化学の進歩はますますフッ素による化学修飾の道を広げており、今後さらに多くの分野での展開が期待される。

最後に筆者らの含フッ素ビタミン D₃ の研究は東京工業大学池川信夫教授, ウィスコンシン大学 DeLuca 教授, 田中洋子博士らの共同研究によるものであり, 更に多くの研究室員の熱心な実験に支えられてきたものである。これらの方々から謝意を表する次第である。

(昭和60年8月2日受理)

文 献

- 1) H. F. DeLuca, H. K. Schnoes, *Annu. Rev. Biochem.*, **45**, 631 (1976); H. F. DeLuca, *Nutr. Rev.*, **37**, 161 (1979)
- 2) D. E. M. Lawson "Vitamin D", Academic Press, Inc., New York (1978)
- 3) A. W. Norman, "Vitamin D, The Calcium Homeostatic Steroid Hormon", Academic Press, Inc., New York (1979)
- 4) J. A. Eisman, L. J. Suva, E. Sher, P. J. Pearce, J. W. Funder, T. J. Martin, *Cancer Res.*, **41**, 5121 (1981)
- 5) E. Abe, C. Miyaura, H. Sakagami, M. Takeda, K. Konno, T. Yamazaki, S. Yoshiki, T. Suda, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **78**, 2936 (1981); 阿部悦子, 須田立雄, 化学と生物, **21**, 217 (1983)
- 6) R. U. Simpson, A. Hamstra, N. C. Kendrick, H. F. DeLuca, *Biochemistry*, **22**, 2586 (1983)
- 7) J. Fried, E. F. Sabo, *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 1455 (1954)
- 8) A. Wettstein, "Carbon Fluorine Compounds", A Ciba Foundation Symposium, Elsevier-Excerpta Medica, North-Holland, p. 281 (1972)
- 9) R. Filler, "Organofluorine Chemicals and Their Industrial Applications", ed. by R. E. Banks, Ellis Horwood Ltd., Chichester, p. 123 (1979)
- 10) 小林義郎, 熊懷稜丸, 田口武夫, 有合化, **38**, 1119 (1980)
- 11) 石川延男, 小林義郎, "フッ素の化合物——その化学と応用", 講談社 (1979); 石川延男, "化学総説 No. 27, 新しいフッ素化学", 日本化学会出版センター, 1 (1980)
- 12a) 石川延男, 有合化, **42**, 770 (1984)
- b) 熊懷稜丸, 有合化, **42**, 786 (1984)
- c) 坂内 清, 黒住精二, 有合化, **42**, 794 (1984)
- d) 吉岡宏輔, 高山千代蔵, 松尾憲忠, 有合化, **42**, 809 (1984)
- 13) R. Filler, Y. Kobayashi, "Biomedical Aspects of Fluorine Chemistry", Kodansha Ltd. Tokyo, Elsevier Biomedical, Amsterdam (1982)
- 14) J. Fried, E. A. Hallinan, M. J. Szwed, Jr., *J. Am. Chem. Soc.*, **106**, 3871 (1984)
- 15) 池川信夫, 化学と生物, **16**, 287 (1978)
- 16) 池川信夫, ホルモンと臨床, **29**, 1363 (1982)
- 17) 池川信夫, 竹下 徹, 有合化, **37**, 755, 809 (1979)
- 18) A. W. Norman, J. Roth, L. Orci, *Endocr. Rev.*, **3**, 331 (1982)
- 19) 池川信夫, 生化学, **55**, 1297 (1983)
- 20) Y. Tanaka, H. F. DeLuca, N. Ikekawa, M. Morisaki, N. Koizumi, *Arch. Biochem. Biophys.*, **170**, 620 (1975)
- 21) Y. Tanaka, H. Frank, H. F. DeLuca, N. Koizumi, N. Ikekawa, *Biochemistry*, **14**, 3293 (1975)
- 22) Y. Tanaka, H. F. DeLuca, A. Akaiwa, M. Morisaki, N. Ikekawa, *Arch. Biochem. Biophys.*, **177**, 615 (1976)
- 23) L. Castillo, Y. Tanaka, H. F. DeLuca, N. Ikekawa, *Miner. Electrolyte Metabol.*, **1**, 198 (1978)
- 24) H. L. Henry, A. N. Taylor, A. W. Norman, *J. Nutr.*, **107**, 1918 (1977)
- 25) J. M. Canterbury, S. Lerman, A. J. Claffin, H. L. Henry, A. W. Norman, E. Reiss, *J. Clin. Invest.*, **61**, 1375 (1977)
- 26) H. Endo, M. Kiyoki, K. Kawashima, T. Naruchi, Y. Hashimoto, *Nature*, **286**, 262 (1980)
- 27) H. Orimo, M. Shiraki, Y. Izawa, S. Ishizuka, M. Kiyoki, S. Ishimoto, "Vitamin D, Chemical Biochemical and Clinical Endocrinology of Calcium Metabolism", ed. by A. W. Norman, de Gruyter, p. 959 (1982)
- 28) M. L. Sunde, C. M. Turk, H. F. DeLuca, *Science*, **200**, 1067 (1978)
- 29) H. L. Henry, A. W. Norman, *ibid.*, **201**, 835 (1978)
- 30) S. Ishizuka, S. Ishimoto, A. W. Norman, *J. Biol. Chem.*, **257**, 14708 (1982); S. Ishizuka, S. Ishimoto, A. W. Norman, *Arch. Biochem. Biophys.*, **217**, 264 (1982); N. Ohnuma, J. R. Kruse, G. Popjak, A. W. Norman, *J. Biol. Chem.*, **257**, 5097 (1982); N. Ohnuma, A. W. Norman, *ibid.*, **257**, 8261 (1982)
- 31) J. L. Napoli, R. L. Horst, *Biochem. J.*, **206**, 173 (1982); R. L. Horst, T. A. Reinhardt, B. C. Pramanik, J. L. Napoli, *Biochemistry*, **22**, 245 (1983)
- 32) Y. Takasaki, T. Suda, S. Yamada, H. Takayama, Y. Nishi, *ibid.*, **20**, 1681 (1981)
- 33) Y. Kobayashi, T. Taguchi, M. Mamada, H. Shimizu, H. Murohashi, *Chem. Pharm. Bull.*, **27**, 3123 (1979)
- 34) Y. Kobayashi, T. Morikawa, A. Yoshizawa, T. Taguchi, *Tetrahedron Lett.*, **22**, 5297 (1981); T. Taguchi, T. Takigawa, T. Tawara, T. Morikawa, Y. Kobayashi, *ibid.*, **25**, 5689

- (1984)
- 35) Y. Kobayashi, T. Taguchi, T. Terada, J. Oshida, M. Morisaki, N. Ikekawa, *ibid.*, **1979**, 2023; Y. Kobayashi, T. Taguchi, T. Terada, J. Oshida, M. Morisaki, N. Ikekawa, *J. Chem. Soc., Perkin I*, **1982**, 85
- 36) S. Iriuchijima, K. Maniwa, G. Tsuchihashi, *J. Am. Chem. Soc.*, **97**, 596 (1975)
- 37) T. Taguchi, M. Nakazawa, Y. Nakama, Y. Kobayashi, unpublished data
- 38) S. Yamada, A. Yamada, M. Ohmori, H. Takayama, *Tetrahedron Lett.*, **1979**, 1859; S. Yamada, A. Yamada, M. Ohmori, H. Takayama, *Chem. Pharm. Bull.*, **27**, 3196 (1979)
- 39) A. B. Parsippany, J. J. Partridge, M. R. Uskokovic, *USP*, **4**, 397, 847 (1983)
- 40) Y. Tanaka, H. F. DeLuca, Y. Kobayashi, T. Taguchi, N. Ikekawa, M. Morisaki, *J. Biol. Chem.*, **254**, 7163 (1979); S. Okamoto, C. Smith, H. F. DeLuca, S. Yamada, H. Takayama, *J. Nutr.*, **113**, 1607 (1983)
- 41) Y. Tanaka, J. K. Wichmann, H. F. DeLuca, Y. Kobayashi, N. Ikekawa, *Arch. Biochem. Biophys.*, **225**, 649 (1983)
- 42) Y. Tanaka, H. F. DeLuca, H. K. Schnoes, N. Ikekawa, Y. Kobayashi, *ibid.*, **199**, 483 (1980)
- 43) J. L. Napoli, M. A. Fivizzani, H. K. Schnoes, H. F. DeLuca, *Biochemistry*, **17**, 2387 (1978); J. L. Napoli, W. S. Mellon, H. K. Schnoes, H. F. DeLuca, *Arch. Biochem. Biophys.*, **197**, 193 (1979); J. L. Napoli, W. S. Mellon, M. A. Fivizzani, H. K. Schnoes, H. F. DeLuca, *J. Biol. Chem.*, **254**, 2017 (1979)
- 44) E. Ohshima, H. Sai, S. Takatsuto, N. Ikekawa, Y. Kobayashi, Y. Tanaka, H. F. DeLuca, *Chem. Pharm. Bull.*, **32**, 3525 (1984)
- 45) R. A. Corradino, N. Ikekawa, H. F. DeLuca, *Arch. Biochem. Biophys.*, **208**, 273 (1981)
- 46) S. Okamoto, Y. Tanaka, H. F. DeLuca, Y. Kobayashi, N. Ikekawa, *Am. J. Physiol.*, **244**, E159 (1982)
- 47) S. Ameenuddin, M. Sunde, H. F. DeLuca, N. Ikekawa, Y. Kobayashi, *Science*, **217**, 451 (1982)
- 48) S. Ameenuddin, M. Sunde, H. F. DeLuca, N. Ikekawa, Y. Kobayashi, *Arch. Biochem. Biophys.*, **226**, 666 (1983)
- 49) J. J. Partridge, S.-J. Shiuey, M. R. Uskokovic, *US Appl.*, **297**, 446 (1981)
- 50) T. Taguchi, S. Mitsuhashi, A. Yamanouchi, Y. Kobayashi, M. Sai, N. Ikekawa, *Tetrahedron Lett.*, **25**, 4933 (1984)
- 51) H. F. DeLuca, Y. Tanaka, N. Ikekawa, Y. Kobayashi, *USP*, 4500460; 4502991 (1985)
- 52) N. Ikekawa, N. Koizumi, E. Oshima, S. Ishizuka, T. Takeshita, Y. Tanaka, H. F. DeLuca, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **80**, 5286 (1983)
- 53) Y. Kobayashi, T. Taguchi, N. Kanuma, N. Ikekawa, J. Oshida, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1980**, 459
- 54) Y. Kobayashi, T. Taguchi, S. Mitsuhashi, T. Eguchi, E. Ohshima, N. Ikekawa, *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 4297 (1982)
- 55) T. Taguchi, S. Mitsuhashi, A. Yamanouchi, Y. Kobayashi, unpublished data
- 56) Y. Tanaka, D. N. Pahuja, J. K. Wichmann, H. F. DeLuca, Y. Kobayashi, T. Taguchi, N. Ikekawa, *Arch. Biochem. Biophys.*, **218**, 134 (1982)
- 57) Y. Tanaka, H. F. DeLuca, Y. Kobayashi, N. Ikekawa, *ibid.*, **229**, 348 (1984)
- 58) P. H. Stern, T. Mavreas, Y. Tanaka, H. F. DeLuca, N. Ikekawa, Y. Kobayashi, *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, **229**, 9 (1984)
- 59) Y. Kobayashi, T. Taguchi, N. Kanuma, N. Ikekawa, J. Oshida, *Tetrahedron Lett.*, **22**, 4309 (1981)
- 60) H. E. Paaren, M. A. Fivizzani, H. K. Schnoes, H. F. DeLuca, *Arch. Biochem. Biophys.*, **209**, 579 (1981)
- 61) J. Oshida, M. Morisaki, N. Ikekawa, *Tetrahedron Lett.*, **21**, 1755 (1980)
- 62) Y. Kobayashi et al., to be published.
- 63) W. G. Dauben, B. Kohler, A. Roesle, *J. Org. Chem.*, **50**, 2007 (1985)
- 64) F. Wilhelm, W. G. Dauben, B. Kohler, A. Roesle, A. W. Norman, *Arch. Biochem. Biophys.*, **233**, 127 (1984)
- 65) R. M. Wing, W. H. Okamura, M. R. Pirio, S. M. Sine, A. W. Norman, *Science*, **186**, 939 (1974); R. M. Wing, W. H. Okamura, A. Rego, M. R. Pirio, A. W. Norman, *J. Am. Chem. Soc.*, **97**, 17 (1975)
- 66) M. Sheves, B. Sialom, Y. Mazur, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1978**, 554
- 67) B. Sialom, Y. Mazur, *J. Org. Chem.*, **45**, 2201 (1980)