ビタミン D₃-26, 23-ラク톤を 基盤とするビタミン D 受容体 アンタゴニストの設計と合成

齋藤 望
橘高 敦史*

*Design and Synthesis of Highly Potent Vitamin D Receptor Antagonists
based on the Structural Development of Vitamin D₃-26, 23-lactone*

Nozomi Saito and Atsushi Kittaka*

Vitamin D receptor (VDR) antagonist has attracted significant level of interests because of its potential utility in the treatment of Paget's disease, which is known as the most flagrant example of disordered bone remodeling and the second most common bone disease after osteoporosis in Anglo-Saxons. Recent studies on Paget's disease suggested a specific increase in osteoclasts sensitivity to the differentiation activity of active vitamin D₃ as the principal mechanism for abnormal bone formation. We set out to conduct a structure-activity relationship study on the first VDR antagonists of TEI-9647 and TEI-9648 (25-dehydro-1 α -hydroxyvitamin D₃-26, 23-lactone) toward improved VDR antagonistic activity. Given that both potent agonists and antagonists must have high affinity for the VDR, we hoped that our accumulated knowledge in VDR agonists would help us identify potent antagonists. First, 2 α -modified TEI analogs were synthesized to improve VDR binding affinity, and then, 24-substitution was next investigated to enhance lactone stability under physiological conditions. Finally, 2 α -modified 24-alkyl-, 24, 24-dimethyl-, and 24, 24-ethano-25-dehydro-1 α -hydroxyvitamin D₃-26, 23-lactones were synthesized. It was found that (23S, 24S)-2 α -(3-hydroxypropoxy)-24-propyl-TEI-9647 was found to possess almost 1000-fold improved antagonistic activity (IC₅₀ = 7.4 pM) over the original TEI-9647 (IC₅₀ = 6.3 nM).

Key words: 1 α , 25-dihydroxyvitamin D₃, A-ring modification, 25-dehydro-1 α -hydroxyvitamin D₃-26, 23-lactone, α -methylene- γ -lactone, vitamin D receptor (VDR), antagonist, VDR binding affinity, cell-differentiation, Paget's disease of bone

はじめに

活性型ビタミン D₃(図 1, 1)は生体内においてカルシウムやリンの代謝を司るとともに、腫瘍細胞の増殖抑制や分化誘導作用、免疫調節作用など様々な生理作用を示すことから、近年では単なる「栄養素」ではなく、ホルモンの 1 つとして位置づけられるようになった^{1,2)}。1 の主な作用は核内受容体スーパーファミリーに属するビタミン D 受容体(vitamin D receptor, VDR)との結合を引金として、標的遺伝子の転写を制御することによって発現する^{3,4)}。我々はこれまで 1 の A 環部に着目し系統的な構造-活性相関研究を行ってきたが、その結果 2 α 位に適切な官能基を導入することにより、1 の VDR への結合親和性を始めとする基本的なビタミン D 活性が飛躍的に向上することを初めて明らかにした⁵⁻⁹⁾。2 α 修飾体の中でも特にメチル基 1a⁵⁾、3-ヒドロキシプロピル基 1b⁶⁾

および 3-ヒドロキシプロポキシ基を有する誘導体 1c⁷⁾では、1 に比べて受容体親和性が 3-4 倍に上昇する。この A 環部に着目したアナログ合成と構造活性相関の詳細については、以前本誌において報告しているので参考にして頂ければ幸いである^{8b)}。その後の進展としては、1a-c とヒト VDR との共結晶 X 線構造解析がなされ、1b と 1c の 2 α 位側鎖の末端の水酸基が VDR のリガンド結合領域内部に存在する水分子の代役を担い、VDR-リガンド複合体を高度に安定化させていることが判明した¹⁰⁾。すなわち、VDR のリガンド結合領域には A 環 2 位近傍からタンパク質の表面まで水分子による水素結合のネットワークが形成されており、2 位を化学修飾して VDR へ結合したとき、このネットワークを破壊する置換基は VDR 結合親和性を低下させる。しかし、1b と 1c の 2 α 位置換基はアルキル鎖のメチレン基で 1 分子の水(W1: 本来の存在位置を図 2 に点線で示した)を追いついて、本来 W1 が担う隣の水分子(W2)および Asp-144(カルボニル基)との水素結合を破壊するものの、本来存在する W2 の位置(同じく図 2 に点線で示した)に末端水酸基を代替配置して、Arg-274(グアニジノ基)と水分

* 帝京大学薬学部

* Faculty of Pharmaceutical Sciences, Teikyo University

子 W3 との水素結合を維持することができ、かつ van der Waals 力を 2 位置換基から付加的に得て、それぞれ天然ホルモン 1 の 3 倍と 1.8 倍の結合親和性を発揮する (図 2)。

Fig. 1 Structures of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ 1 and its 2 α -modified analogs 1a-c.

Fig. 2 Close-up view of the human VDR-1b complex near C2 position. W3 indicates one of the water molecules forming a network of hydrogen bonds to the surface of the protein, called a water channel. Graphics are depicted by courtesy of Dr. Shinji Hourai¹⁰⁾.

活性型ビタミン D₃ 1 を医薬品へ応用すべく、合成されてきた誘導体の数は現在までに 2000 を超すとされているが、それらのほとんどが VDR アゴニストであり VDR 特異的なアンタゴニストは全くなかった。1999 年、1 の代謝物研究¹¹⁾の過程において、VDR に対するアンタゴニスト作用を示す初めての誘導体として、側鎖に α -メチレン- γ -ラクトン持つ、25-デヒドロ-1 α -ヒドロキシビタミン D₃-26,23 ラクトン、TEI-9647 (図 3, 2) および TEI-9648 (3) が見出された¹²⁾。23 位の立体化学に

ついて、2 は *S* 配置で 3 は *R* 配置であり、互いにジアステレオマーの関係にあるが、2 のアンタゴニスト活性が 3 よりも IC₅₀ 値で 1 桁以上高い (後に記載の表 1 参照)。この報告を皮切りに、シェーリング社によって側鎖部に長鎖のエステル基を持つ ZK-159222 が¹³⁾、また最近、長澤、橋本らによってラクタム側鎖を持つ誘導体 DLAMs が VDR アンタゴニストとして報告されている¹⁴⁾。いずれのタイプの誘導体も 1 による VDR を介する遺伝子発現を特異的に抑制する¹⁵⁾。近年、VDR アンタゴニストは VDR の 1 に対する感受性が異常に亢進することによって引き起こされる骨 Paget 病^{16,17)}や、ビタミン D 過剰症などで見られる高カルシウム血症などの治療薬として期待されている。さらに近年、米国では骨粗鬆症の治療に低濃度で断続的な投与で骨形成促進作用を発揮する副甲状腺ホルモン (PTH) が臨床的に注目されている。このことに関連して、血中カルシウム濃度の制御を担う活性型ビタミン D₃ 1 のアンタゴニストにより PTH の分泌を効果的に促すことができれば、新たな骨粗鬆症薬としても注目に値する。

さて、骨 Paget 病は、痛みを伴う局所的な奇形骨疾患であり、アングロサクソンでは骨疾患として骨粗鬆症に次いで罹患率が高く、米国では 40 歳以上の約 1% にこの病気がみられる。しかし、日本などのアジア地域では極めて希な疾患であり、我々にはあまりなじみがないかもしれない。骨 Paget 病は、細胞生物学的には破骨細胞数の増加とその活性の高まりによる骨吸収の異常亢進、そして異常な骨吸収に見合うための骨形成の亢進が見られる。骨の一部の領域でこのような骨代謝異常が起こり、厚みはあるが構造的にはもろい骨が局所的に形成される。本疾患の詳細な原因はまだ明らかにはなっていないが、疾病の発生に民族性、地域性があることから遺伝的要素や、ある種のウイルス、特に、はしかウイルスへの感染が発症メカニズムに関与していると考えられている。このような背景の中、我々は 2 および 3 のユニークな構造と生物活性に興味を持ち、これらの誘導体の VDR アンタゴニスト作用を向上させることを念頭に置き、構造活性相関研究を開始することにした。

すなわち、より強力な VDR アンタゴニストが開発で

Fig. 3 Structures of VDR antagonists, TEI-9647 (2), TEI-9648 (3), ZK-159222 and DLAMs.

されば、新しい骨 Paget 病治療薬の開発につながると考え、2 および 3 の基本骨格であるビタミン D₃-26,23 ラクトン構造を基盤とする分子設計を行った(図 4)。まず、我々の以前の検討から得られた知見を基に、図 1 に示した 3 つの VDR 結合親和性向上モチーフ、すなわち 2 α -メチル基、2 α -(3-ヒドロキシプロピル)基、2 α -(3-ヒドロキシプロポキシ)基を 2 および 3 に導入することにした。受容体と結合しやすくなれば、アンタゴニスト活性も上がるのではないかと考えたからである。また、24 位にアルキル基を導入した誘導体を合成し、ラクトン環の構造が受容体への親和性とアンタゴニスト活性にどのように影響するかについて精査することにした。24 位への化学修飾は、 α -メチレン- γ -ラクトンの生理的条件下における化学的安定性にも好影響を与えると考えた。さらに、2 α 位と 24 位の同時修飾が生物活性に及ぼす効果について探ることにした。我々はこの数年間、上記の設計戦略に従い強力な VDR アンタゴニストの創製を目指して研究を行ってきたが、その結果、極めて高活性な誘導体を見出すに至った¹⁸⁻²⁰⁾。本論文ではその詳細について紹介したい。

Fig. 4 Plan for the functionalization of 1 α -hydroxyvitamin D₃-26,23-lactones.

1. ビタミン D₃ ラクトンへの受容体親和性向上モチーフの導入¹⁸⁾

まずビタミン D₃ ラクトン誘導体 2 および 3 の受容体親和性の向上を目指し、それらの 2 α 位に上述した 3 種類のモチーフ、メチル基、3-ヒドロキシプロピル基、3-ヒドロキシプロポキシ基を導入することにした(図 5, 2a-c および 3a-c)。

1.1 CD 環前駆体の合成

ビタミン D₃ のトリエン骨格は、Trost らのパラジウム触媒による A 環前駆体エニンと CD 環前駆体プロモオレフィンとのカップリング反応²¹⁾によって構築することにし、まず CD 環前駆体の合成を行った(スキーム 1)。市販のビタミン D₂(VD₂)から文献記載の方法²²⁾に従って調製したケトン 4 をプロモメチレン化して 5 を得た。トシル基をニトリル基へ変換した後、DIBAL-H で

Fig. 5 Structures of 2 α -modified 1 α -hydroxyvitamin D₃-26,23-lactone analogs 2a-c and 3a-c.

還元しアルデヒド 6 を得た。6 を亜鉛存在下、7 との Reformatsky 型反応に付したところ、23S 配置²³⁾の γ -ヒドロキシエステル 8 およびその立体異性体 9 が得られた。最後にそれぞれを NaH と反応させたところラクトン化は速やかに進行し、対応する 10 および 11 が定量的に生成した。なお、23 位の立体配置は改良 Mosher 法²⁴⁾を用いて決定した。

1.2 2 α 修飾ビタミン D₃ ラクトン誘導体の合成

別途合成した A 環前駆体 12a²⁵⁾、12b^{20a)} および 12c⁷⁾ と 10 および 11 をそれぞれパラジウム触媒存在下でカップリングした後、5% HF/MeCN 溶液中で脱保護することにより、目的とする 2 α 置換ビタミン D₃ ラクトン誘導体 2a-c および 3a-c を、いずれも良好な収率で得ることができた(スキーム 2)。

1.3 2 α 修飾ビタミン D₃ ラクトン誘導体の生物活性評価

2 α 置換ビタミン D₃ ラクトン誘導体 2a-c および 3a-c の生物活性評価を行った(表 1)。まず受容体結合親和性はニワトリ小腸 VDR を用いて測定し、結果は天然ホルモン 1 の親和性を 100 としたときの相対値で示した。TEI-9647 (2) および TEI-9648 (3) の VDR 親和性はそれぞれ、1 の 12%、7% であった。2 および 3 のいずれのタイプの誘導体においても、2 α 位に置換基を導入することにより受容体親和性が向上し、23S 配置の 2a, 2c では 1.3 倍程度、2b では 1.5 倍程度の上昇がみられた。一方、TEI-9648 タイプの誘導体 3a-c の VDR 結合親和性は 3 の 3.3–5.3 倍と大きく上昇し、2 α 位の修飾が VDR アンタゴニストに対しても受容体結合親和性の向上に効果的に働くことが明らかとなった²⁶⁾。一方、アンタゴニスト活性は、1 (10 nM) によるヒト前骨髄球性白血病細胞(HL-60 細胞)の分化誘導作用を 50% 抑制する濃度(IC₅₀)を指標に検討し、TEI-9647 (2) の強度を 100 としたときの相対値を示す。驚くべきことに、いずれの誘導体のアンタゴニスト活性も大幅に増強され、TEI-9647 タイプの 2a では約 10 倍、2b では約 33 倍、2c では約 15 倍に向上した。また、TEI-9648 タイプの

Scheme 1 Synthesis of CD-ring units 10 and 11.

Scheme 2 Synthesis of 2α-modified vitamin D₃ lactones 2a-c and 3a-c.

誘導体 3a-c では TEI-9647 タイプの活性と比べると相対的に低いものの、いずれの場合も TEI-9648 (3) よりも高いアンタゴニスト活性を示し 3 の 5.1–13.1 倍と大きく上昇した。

Table 1 Biological activities of 2α-modified vitamin D₃ lactones 2a-c and 3a-c.

compd	VDR binding affinity ^a	antagonistic activity ^b
2 (TEI-9647)	12	100
2a	16	1019
2b	18	2989
2c	16	1160
3 (TEI-9648)	7	7
3a	37	38
3b	33	100
3c	23	66

^aThe potency of 1 is normalized to 100. ^bThe antagonistic activity was assessed in terms of IC₅₀ for differentiation of HL-60 cells induced by 10 nM of 1. The potency of 2 (IC₅₀ = 8.3 nM) is normalized to 100.

以上のように、2α位の修飾が受容体親和性だけでなく、アンタゴニスト活性も大きく向上させ得ることが明らかとなった。

2. ラクトン環部の修飾と構造活性相関¹⁹⁾

次に我々はラクトン環の立体化学を含めた構造が生物活性にどのように影響するかについて精査することにし

た。すなわち、2および3のラクトン環 24 位に、1 から 4 の炭素数を有する第 1 級アルキル基を系統的に導入した誘導体を設計した (図 6, 13–16)。

Fig. 6 Plan for the C 24-functionalization of vitamin D₃ lactones

2.1 23,24-*syn* 配置の置換基を持つ CD 環前駆体の合成

大塚らのクロム錯体による *syn* 選択的アリル化-ラクトン化²⁷⁾を利用して、23,24-*syn* の CD 環前駆体を合成することにした (スキーム 3)。まず 6 とアリルプロミド体 17–21 を塩化クロム (Ⅲ) と水素化アルミニウムリチウムから調製した 2 価クロム錯体存在下で反応させたところ、アリル化は *syn* 選択的に進行し、(23*S*,24*S*) 配置のラクトン誘導体 22–26 および (23*R*,24*R*) 配置の 27–31 が得られた。詳細は省略するが、これらのラクトン環 23 位と 24 位の相対立体配置は NOE 実験によって

Scheme 3 Synthesis of 23, 24-*syn*-substituted lactone derivatives.

syn であると決定し、その結果と改良 Mosher 法によって絶対配置を決定した^{19c)}。

2.2 23,24-*anti* 配置のラクトンを持つ CD 環前駆体の合成

23,24-*anti* 配置のラクトン環を持つ CD 環前駆体は、対応する 23,24-*syn* ラクトンから 23 位の立体反転を経て合成することにした(スキーム 4)。まず、(23*S*,24*S*) 体 22–26 を DIBAL-H で還元シジオールにした後、第 1 級水酸基をピバロイル基で保護し、第 2 級水酸基を酸化してケトン体 32–36 とした。ケトカルボニル基を LiAlH(O^tBu)₃ で立体選択的に還元した後、ピバロイル基の脱保護、酸化を経て (23*R*,24*S*) 体 37–41 へ導いた(式 1)。一方、(23*R*,24*R*) 体 27–31 から同様の方法で、23 位の立体反転を経て対応する (23*S*,24*R*) 体 47–51 を合成した(式 2)。

2.3 24 位置換ビタミン D₃ ラクトン誘導体の合成

合成した 20 種類の CD 環前駆体(22–31, 37–41,

47–51) をそれぞれ A 環前駆体エンイン 12 とパラジウム触媒を用いてカップリングした後、シリル基を脱保護し目的とする 24 位置換ビタミン D₃ ラクトン誘導体 52–71 を合成した(スキーム 5)。

2.4 24 位置換ビタミン D₃ ラクトンの生物活性評価

20 種類の誘導体 52–71 の生物活性評価を行ったところ、VDR 結合親和性、アンタゴニスト活性ともにアルキル基の長さを含めラクトン環の立体化学に大きく影響されることが明らかとなった(表 2)。(23*S*,24*S*) 体 52–56 の VDR 結合親和性はイソブチル体 56 を除いてアルキル基が長くなるにつれ上昇し、2 の 2.3–3.7 倍となった。一方(23*S*,24*R*) 体 57–61 の場合、VDR 結合親和性はアルキル基の種類によって異なるという傾向がみられた。すなわち、メチル基、エチル基およびブチル基を持つ誘導体 57, 58 および 60 では 2 よりも高い VDR 結合親和性を示したのに対し、プロピル基やイソブチル基を持つ 59, 61 では低下した。一方、TEI-9648 (3) タイプの誘導体 62–71 では、VDR への結合能は 24 位の立体配置とアルキル基の長さによってほとんど影響されることがわかった。

アンタゴニスト活性に関しては、(23*S*,24*S*) 配置の誘導体においてプロピル体 54 で 2 より低下したものの、その他の置換基を導入した誘導体ではいずれも活性が向上し、2 の 1.7–3.5 倍となった。(23*S*,24*R*) シリーズの 57–61 の場合、メチル体 57 のみ 2 よりも高いアンタゴニスト活性(2.5 倍)を示し、アルキル基が長くなるにつれ活性は低下する傾向であった。一方、TEI-9648 タイプの (23*R*,24*S*) 体 62–66 では 3 と同程度のアンタゴニスト活性を示したが、その 24 位の立体異性体 67–71 では、3 よりもアンタゴニスト活性が向上することがわかった。

Scheme 4 Preparation of 23, 24-*anti*-substituted lactones (37–41, 47–51) from the corresponding 23, 24-*syn*-isomers (22–31).

Scheme 5 Synthesis of 24-alkylated vitamin D₃-26, 23-lactones 52-71.

Table 2 Biological activities of 24-alkylated vitamin D₃ lactones 52-71.

compd	VDR binding affinity ^a	relative antagonistic activity ^b	compd	VDR binding affinity ^a	relative antagonistic activity ^b
2	12	100	3	7	7
52	29	220	62	12	7
53	30	345	63	7	6
54	44	86	64	4	8
55	46	179	65	8	4
56	28	174	66	1	5
57	22	250	67	5	18
58	19	70	68	7	13
59	9	60	69	9	38
60	17	58	70	5	17
61	3	40	71	2	9

^a The potency of 1 is normalized to 100. ^b The antagonistic activity was assessed in terms of IC₅₀ for differentiation of HL-60 cells induced by 10 nM of 1. The potency of 2 (IC₅₀ = 6.0–11.0 nM) is normalized to 100.

3. 24,24-ジ置換ビタミン D₃ ラクトンの合成と生物活性²⁰⁾

上記の検討から、ラクトン環の構造が生物活性に大きく影響を与えることが明らかになった。特に、24 位にメチル基を持つ TEI-9647 タイプの 52 と 57 において、メチル基の向きにかかわらず VDR 結合親和性、アンタゴニスト活性ともに向上している点に興味を持った。そこでこの結果をもとに、さらにラクトン環の構造活性相関を探るべく、新たに 24,24-ジメチル体 72 および 73 をデザインした(図 7)。これらは VDR のリガンド結合ポケット内の CD 環側鎖収納部分(ここは比較的空間が広い)に 24 位モノ置換体よりも強固に収まり、VDR 結合親和性がさらに向上するのではないかと考えた。また、24,24-エタノ体 74 および 75 も併せて設計した(図 7)。これらの剛直なスピロ[2.4]環構造が生物活性にどのような効果を及ぼすかについても興味を持たれた。さらに医薬品への応用を考えた場合、不斉炭素の数を減らすことは合成の容易さという観点からも重要である。

Fig. 7 New TEI-lactone analogs-24, 24-dimethylvitamin D₃ lactones (72, 73) and 24,24-ethanovitamin D₃ lactones (74, 75).

3.1 CD 環前駆体の合成

24 位に 2 つのメチル基を持つ CD 環前駆体は、上記の低原子価クロム錯体を用いるラクトン化を利用して合成した(スキーム 6)。すなわち、アルデヒド 6 とプロモ体 76 をクロム錯体存在下で反応させたところ、ラクトン体 77 および 78 がそれぞれ得られた。23 位の絶対配置は X 線結晶構造解析により決定した^{20a)}。

一方、エタノ基を持つ CD 環前駆体はエチレンガスを用いた分子間エニンメタセシス²⁸⁾を利用することにし、メタセシス前駆体 79 を以下のように合成した(スキーム

Scheme 6 Preparation of CD-ring precursors containing 24,24-dimethyl lactone units.

Scheme 7 Synthesis of alkyne 79.

7)。すなわち、アルデヒド **6** にアルキン部を導入後、酸化してアルキノン **79** を得た。

アルキノン **79** の 24 位と 25 位にそれぞれメチレンユニットを導入すべく、ルテニウム触媒によるエチレンとの分子間エニンメタセシスを検討した(表 3)。まず、森らの手法に従い、エチレンガス雰囲気下、塩化メチレン中室温にて **79** を第一世代 Grubbs 触媒 **80a** で処理したが、期待した反応は全く進行しなかった(run 1)。次に、第二世代 Grubbs 錯体 **80b**^{29a)} を用いて同様に検討を行ったが、原料 **79** が分解するのみで目的物 **81** は得られなかった(runs 2 and 3)。一方 Hoveyda らの錯体 **80c**^{29b)} を用いたところ、初めてメタセシス成績体 **81** が 29% と低収率ながら得られ、アルキノンとエチレンとの分子間メタセシスには、イソプロピルフェニルエーテル配位子を持つこのようなタイプのルテニウム錯体が有効であることがわかった(run 4)。次に同じくエーテル結合を有する若松-Blechert 錯体 **80d**^{29c)} を用い、室温で **79** とエチレンガスを反応させたところ、**81** の収率は向上し 55% となった(run 5)。そこで触媒 **80d** を用いて種々反応条件を検討したところ、塩化メチレン中、0 °C で反応を行うことによって、92% の収率で目的とするメタセシス成績

Table 3 Ruthenium-catalyzed enyne metathesis of **79** with ethylene.

run	"Ru" (mol%)	temp	time (h)	yield ^a (%)
1	80a (5)	rt	16	0 (80)
2	80b (5)	rt	24	0 (99)
3	80b (10) ^b	reflux	4	0 (44)
4	80c (20) ^c	rt	24	29 (32)
5	80d (20) ^d	rt	53	55 (6)
6	80d (10)	0 °C	1.5	92

^a The yield in parentheses is that of recovered **79**. ^b 5 mol% of **80b** was used. After 2 h, 5 mol% of **80b** was added. ^c 5 mol% of **80c** was used. Additional amounts of **80c** were successively added (5 mol%, 5 h, 10 mol%, 19 h). ^d 5 mol% of **80d** was used. Additional amounts of **80d** were successively added (5 mol%, 24 h, 10 mol%, 48 h).

体 **81** を得ることに成功した(run 6)。

次に **81** の 24 位にシクロプロパン環を導入すべく、イオウイリドの 1,4 付加を行ったところ、**82** が良好な収率で生成した。ケトン還元し、23 位に関するジアステレオマー **83** および **84** を得た後、それぞれについて脱保護と酸化的ラクトン化を行い、CD 環前駆体 **85** および **86** へと導いた(スキーム 8)。

3.2 24,24-ジ置換ビタミン D₃ ラクトンの合成

上記の CD 環前駆体 **77**, **78**, **85** および **86** を同様にエンイン **12** とカップリングさせた後、脱保護を行い 24, 24-ジ置換ビタミン D₃ ラクトンアナログ **72**—**75** を合成した(スキーム 9)。

3.3 24,24-ジ置換ビタミン D₃ ラクトンの生物活性評価

VDR 親和性とアンタゴニスト活性を評価した(表 4)。表 4 には比較のために 24-モノメチル体 **52**, **57**, **62** および **67** のデータも併せて表記してある。(23S)-24,24-ジメチル体 **72** の VDR 結合親和性は TEI-9647(2) の 3.1 倍となり、TEI-9648(3) タイプの **73** では 3 の 2.6 倍まで向上した。一方、(23S)-24,24-エタノ体 **74** の VDR 結合親和性は 2 よりも格段に向上し 2 の 13.9 倍となった。この化合物は天然ホルモン **1** と比較すると 1.7 倍、対応する 24,24-ジメチル体 **72** と比較すると 4.5 倍高い親和性を示したことになる。これまで 24 位の修飾のみによって VDR 結合親和性が天然ホルモンを凌駕した誘導体は全く報告例がなく、大変興味を持たれる。しかし、その 23 位の立体異性体である **75** では、**74** の場合と異なり、ほとんど VDR 結合親和性を示さなかった。

アンタゴニスト活性に関しては、驚くべきことに (23S)-24,24-ジメチル体 **72** で TEI-9467(2) の 13 倍にまで増強された。この化合物は 24 位の修飾のみによって、2 の 10 倍以上のアンタゴニスト作用を示した唯一の例であった。一方、TEI-9648(3) タイプの 24,24-ジメチル体 **73** のアンタゴニスト活性は 2 よりも低いものの、3 と比較すると 2.7 倍に上昇した。また、24,24-エタノ体 (**74** と **75**) の場合、23 位の立体化学の違いによってアンタゴニスト活性が極端に異なることがわかった。すなわち 23S 配置の **74** では 2 の 8.8 倍もの活性を示したのに対し、24R 配置の **75** はアンタゴニスト活性を示さなかった。

4. 2 α 位および 24 位の同時修飾による活性増強^{19,20)}

4.1 2 α ,24 位同時修飾体の合成

最後に 2 α 位と 24 位の同時修飾が生物活性に及ぼす影響を調べるため、上記の 24 位モノ置換体 (**52**—**71**) および、24,24-ジ置換体 (**72**—**75**) の 2 α 位へメチル基、3-ヒドロキシプロピル基、3-ヒドロキシプロポキシ基を導

Scheme 8 Synthesis of CD-ring precursors 85 and 86.

Scheme 9 Synthesis of 24, 24-dimethylvitamin D₃-26, 23-lactones (72, 73) and 24-ethanovitamin D₃-26, 23-lactones (74, 75).

Table 4 Biological activities of 24, 24-disubstituted vitamin D₃ lactones (72–75).

compd	VDR binding affinity ^a	relative antagonistic activity ^b	compd	VDR binding affinity ^a	relative antagonistic activity ^b
2	12	100	3	7	7
52	29	220	62	12	7
57	22	250	67	5	18
72	37	1318	73	18	19
74	167	879	75	0.7	<1

^a The potency of **1** is normalized to 100. ^b The antagonistic activity was assessed in terms of IC₅₀ for differentiation of HL-60 cells induced by 10 nM of **1**. The potency of **2** (IC₅₀ = 8.3 nM for **72** and **73**, 9.4 nM for **74** and **75**) is normalized to 100.

入した誘導体を系統的に合成した(スキーム 10, 表 5)。

4.2 2α, 24 位同時修飾体の生物活性評価

24-モノアルキル置換 23S-シリーズにおいては, 2α 位の修飾によって著しい生物活性の向上がみられた(表 6)。すなわち, 24S 配置のアナログ(52a–56a, 52b–56b, 52c–56c)の VDR 結合親和性は, **2** の 1.2–6.8 倍に

Scheme 10 Synthesis of 2α, 24-double modified vitamin D₃ lactones.

上昇した。一方, 24R シリーズ(57a–61a, 57b–61b, 57c–61c)の VDR 結合親和性は, 全体的に対応する 23S 体と比べると低かったが, 一部の誘導体(57a–c, 58a, 59b, 60a–c)では TEI-9647(**2**)よりも高い値(1.3–3.5 倍)を示した。

アンタゴニスト活性も対応する 2 位無置換体(52–61)と比較し, 顕著な増強がみられた。すなわち, すべての 24S 体(52a–56a, 52b–56b, 52c–56c)で高いアンタゴニスト作用を示し, 特に(23S, 24S)-2α-(3-ヒドロキシプロポキシ)-24-プロピル体 **54c** では **2** (IC₅₀ = 6.3 nM) の 851 倍(IC₅₀ = 7.4 pM)にまで向上した。24R 配置の誘導体(57a–61a, 57b–61b, 57c–61c)のアンタゴニスト活性もまた, 対応する 2 位無置換体(57–61)よりも向上した。中でも上記の **54c** と同様の置換様式である(23S, 24R)-2α-(3-ヒドロキシプロポキシ)-24-プロピル体 **59c** において顕著な増強作用がみられ, **2** (IC₅₀ = 6.3 nM) の 121 倍(IC₅₀ = 52 pM)のアンタゴニスト活性を示した。

一方, 23R シリーズの 2α 位置換体(62a–71a, 62b–71b, 62c–71c)の受容体親和性とアンタゴニスト活性のデータは表 7 に示すとおりである。多くの誘導体において, 3 よりも VDR 結合親和性が向上し, 特に 2α, 24-ジメチル体 **62b** は **3** の 5.6 倍, 対応する 2α 無置換体 **62** の 3.3 倍の受容体親和性を示した。また, この 23R シリーズにおいても, 全体的に 2α 位の修飾によって対応する 2 位無置換体(62–71)よりもアンタゴニスト作用強度が向上したが, **62b**, **65a** および **66a** では, 無置換体 **62**, **65**, **66** の活性とほとんど同じか, むしろ低下する結果となった。24S 体の中では, 誘導体 **62a**, **64b**, **64c**, **65b** および **65c** が TEI-9647(**3**)の 10 倍以上のアンタゴニスト活性を示した。特に(23R, 24S)-2α-(3-ヒドロキシプロピル)-24-プロピル体 **64b** のアンタゴニスト活性は **3** の 82 倍まで上昇した。また 24R 配置の誘導体群のなかでは, 化合物 **67a**, **68a**, **69a–c** および **70a** が TEI-9648(**3**)の 10 倍以上のアンタゴニスト作用を示した。最も高い作用を示したのは, 2α, 24-ジメチル体 **67a** であり, そのアンタゴニスト活性は **3** の 68 倍, 対応する 2 位無置換体 **67** の 26 倍であった。

Table 5 Synthetic yields of C 2 α and C 24-double functionalized vitamin D₃ lactones.

(23 <i>S</i>)-series				(23 <i>R</i>)-series			
compd	R ¹	R ²	yield (%)	compd	R ¹	R ²	yield (%)
52a	(24 <i>S</i>)-Me	Me	68	62a	(24 <i>S</i>)-Me	Me	53
52b		(CH ₂) ₃ OH	61	62b		(CH ₂) ₃ OH	26
52c		O(CH ₂) ₃ OH	41	62c		O(CH ₂) ₃ OH	52
53a	(24 <i>S</i>)-Et	Me	56	63a	(24 <i>S</i>)-Et	Me	67
53b		(CH ₂) ₃ OH	62	63b		(CH ₂) ₃ OH	53
53c		O(CH ₂) ₃ OH	61	63c		O(CH ₂) ₃ OH	61
54a	(24 <i>S</i>)-Pr	Me	59	64a	(24 <i>S</i>)-Pr	Me	54
54b		(CH ₂) ₃ OH	51	64b		(CH ₂) ₃ OH	56
54c		O(CH ₂) ₃ OH	54	64c		O(CH ₂) ₃ OH	53
55a	(24 <i>S</i>)-Bu	Me	57	65a	(24 <i>S</i>)-Bu	Me	50
55b		(CH ₂) ₃ OH	52	65b		(CH ₂) ₃ OH	40
55c		O(CH ₂) ₃ OH	56	65c		O(CH ₂) ₃ OH	44
56a	(24 <i>S</i>)- ⁱ Bu	Me	49	66a	(24 <i>S</i>)- ⁱ Bu	Me	49
56b		(CH ₂) ₃ OH	59	66b		(CH ₂) ₃ OH	44
56c		O(CH ₂) ₃ OH	56	66c		O(CH ₂) ₃ OH	50
57a	(24 <i>R</i>)-Me	Me	71	67a	(24 <i>R</i>)-Me	Me	55
57b		(CH ₂) ₃ OH	54	67b		(CH ₂) ₃ OH	66
57c		O(CH ₂) ₃ OH	54	67c		O(CH ₂) ₃ OH	51
58a	(24 <i>R</i>)-Et	Me	53	68a	(24 <i>R</i>)-Et	Me	63
58b		(CH ₂) ₃ OH	62	68b		(CH ₂) ₃ OH	54
58c		O(CH ₂) ₃ OH	68	68c		O(CH ₂) ₃ OH	58
59a	(24 <i>R</i>)-Pr	Me	59	69a	(24 <i>R</i>)-Pr	Me	48
59b		(CH ₂) ₃ OH	48	69b		(CH ₂) ₃ OH	43
59c		O(CH ₂) ₃ OH	57	69c		O(CH ₂) ₃ OH	50
60a	(24 <i>R</i>)-Bu	Me	51	70a	(24 <i>R</i>)-Bu	Me	66
60b		(CH ₂) ₃ OH	54	70b		(CH ₂) ₃ OH	52
60c		O(CH ₂) ₃ OH	51	70c		O(CH ₂) ₃ OH	57
61a	(24 <i>R</i>)- ⁱ Bu	Me	54	71a	(24 <i>R</i>)- ⁱ Bu	Me	53
61b		(CH ₂) ₃ OH	57	71b		(CH ₂) ₃ OH	49
61c		O(CH ₂) ₃ OH	43	71c		O(CH ₂) ₃ OH	47
72a	24,24-Me ₂	Me	47	73a	24,24-Me ₂	Me	58
72b		(CH ₂) ₃ OH	39	73b		(CH ₂) ₃ OH	46
72c		O(CH ₂) ₃ OH	69	73c		O(CH ₂) ₃ OH	57
74a	24,24-ethano	Me	60	75a	24,24-ethano	Me	49
74b		(CH ₂) ₃ OH	62	75b		(CH ₂) ₃ OH	54
74c		O(CH ₂) ₃ OH	66	75c		O(CH ₂) ₃ OH	56

Table 6 Biological activities of 2 α , 24-modified (23*S*)-vitamin D₃ lactones.

compd	VDR binding affinity ^a	relative antagonistic activity ^b	compd	VDR binding affinity ^a	relative antagonistic activity ^b
2	12	100	57a	23	6191
52a	63	3752	57b	32	1512
52b	83	517	57c	42	1743
52c	50	1968	58a	25	248
53a	42	1288	58b	6	866
53b	34	442	58c	3	158
53c	15	600	59a	9	2032
54a	42	1537	59b	18	913
54b	59	4200	59c	9	12115
54c	37	85135	60a	22	216
55a	59	2913	60b	16	122
55b	67	1158	60c	20	205
55c	50	1660	61a	4	2229
56a	42	1219	61b	12	388
56b	40	989	61c	9	291
56c	30	3444			

^a The potency of **1** is normalized to 100. ^b The antagonistic activity was assessed in terms of IC₅₀ for differentiation of HL-60 cells induced by 10 nM of **1**. The potency of **2** (IC₅₀ = 6.0–11.0 nM) is normalized to 100.

Table 7 Biological activities of 2 α , 24-modified (23*R*)-vitamin D₃ lactones.

compd	VDR binding affinity ^a	relative antagonistic activity ^b	compd	VDR binding affinity ^a	relative antagonistic activity ^b
3	7	7	67a	5	476
62a	12	85	67b	33	30
62b	39	8	67c	13	41
62c	33	12	68a	7	74
63a	7	18	68b	21	18
63b	15	37	68c	7	27
63c	7	25	69a	9	170
64a	4	12	69b	30	117
64b	11	573	69c	14	97
64c	6	124	70a	5	102
65a	7	1	70b	17	46
65b	15	303	70c	12	37
65c	8	88	71a	2	50
66a	1	4	71b	14	31
66b	5	32	71c	6	25
66c	4	42			

^a The potency of **1** is normalized to 100. ^b The antagonistic activity was assessed in terms of IC₅₀ for differentiation of HL-60 cells induced by 10 nM of **1**. The potency of **2** (IC₅₀ = 6.0–11.0 nM) is normalized to 100.

最後に 24,24-ジ置換体(72–75)における 2 α 位修飾の生物活性への影響について記す(表 8)。まず TEI-9647 (2) タイプの誘導体の VDR 結合親和性を測定したところ、72a は TEI-9647(2) の 5.6 倍、72b は 5.9 倍、72c は 3 倍の強度を示した。また、TEI-9648(3) タイプの誘導体(73a–c)では、73a において 3 の 6.9 倍、73b は 7.6

倍、73c では 1.7 倍の強い VDR 結合親和性を示した。一方、アンタゴニスト活性は 23*S* 体 72 の 2 α 位にメチル基を導入した 72a の場合、2(IC₅₀=8.3 nM)の 89 倍の強い活性(IC₅₀=93 pM)がみられ、その他の誘導体でも 72b は 2 の 13 倍、72c は 31 倍の上昇を示した。また、TEI-9648(3) タイプの化合物については、73a で 3 の 23

倍, 73b は 17 倍, 73c では 4.8 倍強いアンタゴニスト作用を示した。

24,24-エタノ体では, 23S 配置の誘導体 74a-c の VDR 結合親和性は 2 位無置換体 74 よりも低いものの, 2 よりも高い値であった。すなわち, 2 α -メチル体 74a は 2 の 9.3 倍, 74b は 6.9 倍, 74c では 4.9 倍の上昇が見られた。また, 23R タイプの誘導体では 3 に比較して 75a で 2.1 倍, 75b は 4.1 倍, 75c は 1.9 倍に向上した。アンタゴニスト活性はいずれも向上し, TEI-9647(2) タイプでは, 特に 2 α -メチル体 74a において 2 の 19 倍の活性を示した。また, TEI-9648 タイプ(3)の誘導体では, 2 位無置換体 75 で失われたアンタゴニスト活性が回復し, 75a において 3 の 2.4 倍の作用強度を示すことがわかった。

Table 8 Biological activities of 2 α -modified 24, 24-disubstituted vitamin D₃ lactones.

compd	VDR binding affinity ^a	relative antagonistic activity ^b	compd	VDR binding affinity ^a	relative antagonistic activity ^b
2	12	100	3	7	7
72a	67	8925	73a	48	143
72b	71	1186	73b	53	108
72c	36	2767	73c	12	30
74a	111	1918	75a	15	17
74b	83	1270	75b	29	4
74c	59	1709	75c	13	4

^a The potency of **1** is normalized to 100. ^b The antagonistic activity was assessed in terms of IC₅₀ for differentiation of HL-60 cells induced by 10 nM of **1**. The potency of **2** (IC₅₀ = 8.3 nM for 72a-c, 73a-c and 9.4 nM for 74a-c, 75a-c) is normalized to 100.

5. 考 察

一般に活性型ビタミン D₃ 1 およびその誘導体による VDR を介した遺伝子発現は, まず始めに転写不活性な

アポ型の VDR のリガンド結合領域 (ligand-binding domain, LBD) に, 1 やその誘導体がリガンドとして結合することから始まる (図 8, A)。VDR はレチノイド X 受容体 (RXR) とヘテロ二量体を形成し, DNA への結合能を有す。リガンドが結合した VDR はコンホメーション変化を起こし, 転写活性なホロ型へ移行する。このホロ型ではアポ型で VDR に結合していた転写共役抑制因子 (コリプレッサー) が VDR より解離し, 代わりに転写共役活性化因子 (コアクチベータ) をリクルートして基本転写装置を組み込んだ巨大なタンパク質複合体を形成する。巨大タンパク質複合体は, 標的遺伝子の転写活性化装置であり, RNA ポリメラーゼ II をよび入れ, 遺伝子の発現に至る^{1,30)}。この VDR のコンホメーション変化の過程では, 受容体 C 末端の α -helix である helix 12 の位置が重要になる。Helix 12 は転写活性化に必要なコアクチベータなどのタンパクと相互作用する部位を持ち, VDR 表面のどこに位置するかによって, リガンドの作用がアゴニスト作用となるのかアンタゴニスト作用となるのかが決まると考えられている。すなわち, 様々なリガンドの構造の違いによる生物活性の変化は, 結合したリガンドの種類によって helix 12 の位置がそれぞれ異なるためということになる³¹⁾。一方, VDR アンタゴニストである 2 が VDR の LBD に結合すると, helix 12 の動きはアゴニストの場合とまったく異なり, 転写不活性なコンホメーションへ移行する³²⁾ (図 8, B)。

我々はこの通常とは異なるコンホメーション変化は, LBD 中のアミノ酸残基とリガンドのエキシソメチレン部との相互作用によるものではないかと考えた。すなわち, LBD 中の helix 11 上に Cys 403 が, helix 11 と helix 12 をつなぐヒンジ部位には Cys 410 がそれぞれ存

Fig. 8 Conformation of the activation helix with agonist or antagonist.

在し、最近、これら2つのシステイン残基が2のアンタゴニスト作用発現にかかわっていることが明らかにされた³³⁾。また、TEI-9647のラクトン部を様々に変化させた誘導体の合成研究によって、アンタゴニスト活性発現にはオレフィン上に置換基を持たない α -メチレン- γ -ラクトン構造が必須であることもわかっている³⁴⁾。以上の知見より、我々はVDR-LBD中のCys 403およびCys 410のメルカプト基が2のエキソメチレン部に1,4-付加し対応するVDR-2複合体が生成し得るのではないかと考えた³⁵⁾。そのような受容体とリガンドとの異常な相互作用の影響によってhelix 12が通常のアゴニストの場合とは異なる場所へ移動する。その結果、VDRが転写活性なコンホメーションにならないため、2はVDRアンタゴニストとして働くのではないかと考えられる。今回、報告したビタミンD₃ラクトン誘導体の中には極めて高いアンタゴニスト活性を示す化合物が見出された。活性が向上した詳細な理由については明らかではないが、恐らく、それらのビタミンD₃ラクトン誘導体が一環結合領域中で上述したようなシステイン残基との相互作用をするにあたり、最適に働く位置に配置されたためと考えている。ごく最近、山本、山田らによって19-ノルビタミンDのVDRアンタゴニストの構造研究が報告された³⁶⁾。

おわりに

以上のように、我々は強力なVDRアンタゴニストの創製を目指し、ビタミンD₃ラクトン骨格を基盤とする構造展開研究を行ってきた。特に、A環部2 α 位への受容体親和性モチーフの導入と、ラクトン環24位のアルキル化を機軸として様々な誘導体を合成した結果、極めて低濃度で活性型ビタミンD₃の作用を抑制する化合物を見出すことができた³⁷⁾。中でも、(23S,24S)-2 α -(3-ヒドロキシプロポキシ)-24-プロピルビタミンD₃ラクトン誘導体**54c**は、母系化合物TEI-9647(2)の850倍もの強いアンタゴニスト活性を示す^{19c)}。この誘導体は10 nMの天然ホルモン1の作用を50%抑制するために、わずか7.4 pMの濃度しか必要としない、文献上最強のVDRアンタゴニストである。本論文に記載した一連のラクトン化合物にはアンタゴニスト活性を期待する濃度で、一般に細胞毒性がみられない。今後、これらの誘導体が骨Paget病の新しい治療薬のリード化合物や、アンタゴニスト活性発現機構の解明のためのツールとなることを期待している。

謝 辞 本論文での研究成果は、発表論文にに記載した共同研究者の皆様のご協力によるものです。特に毎日夜遅くまで実験を行ってくれた帝京大学大学院薬学研究科・松永敏広修士ならびに増田麻奈美修士に感謝すると

ともに、帝人ファーマ株式会社の共同研究者の皆様(竹之内一弥博士、石塚誠一博士)に厚くお礼申し上げます。図2の作成と本総合論文への掲載をご快諾いただきましたDino Moras博士(IGBMC, Illkirch, France)と宝来真志博士(大日本住友製薬株式会社)に感謝いたします。また本研究は日本学術振興会および文部科学省からの科学研究費補助金基盤研究(C)および若手研究(B)、ならびに上原記念生命科学財団および武田科学振興財団による助成を受けたものであり、この場を借りて深く感謝いたします。

(2007年4月26日受理)

文 献

- 1) (a) "Vitamin D 2nd Edition" ed. by D. Feldman, F. H. Glorieux, J. W. Pike, Academic Press, New York, 2005; (b) R. A. Ettinger, H. F. DeLuca, *Adv. Drug Res.*, **28**, 269 (1996)
- 2) R. Bouillon, W. H. Okamura, A. W. Norman, *Endocr. Rev.*, **16**, 200 (1995)
- 3) (a) R. M. Evans, *Science*, **240**, 889 (1988); (b) K. Umezono, K. K. Murakami, C. C. Thompson, R. M. Evans, *Cell*, **65**, 1255 (1991); (c) P. Chambon, *Mol. Endocrinol.*, **19**, 1418 (2005)
- 4) K. Takeyama, Y. Masuhiro, H. Fuse, H. Endoh, A. Murayama, S. Kitahara, M. Suzawa, J. Yanagisawa, S. Kato, *Mol. Cell Biol.*, **19**, 1049 (1999)
- 5) (a) K. Konno, S. Maki, T. Fujishima, Z. Liu, D. Miura, M. Chokki, H. Takayama, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **8**, 151 (1998); (b) K. Konno, T. Fujishima, S. Maki, Z. Liu, D. Miura, M. Chokki, S. Ishizuka, K. Yamaguchi, Y. Kan, M. Kurihara, N. Miyata, C. Smith, H. F. DeLuca, H. Takayama, *J. Med. Chem.*, **43**, 4247 (2000)
- 6) (a) Y. Suhara, K.-i. Nihei, H. Tanigawa, T. Fujishima, K. Konno, K. Nakagawa, T. Okano, H. Takayama, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **10**, 1129 (2000); (b) Y. Suhara, K.-i. Nihei, M. Kurihara, A. Kittaka, K. Yamaguchi, T. Fujishima, K. Konno, N. Miyata, H. Takayama, *J. Org. Chem.*, **66**, 8760 (2001)
- 7) (a) A. Kittaka, Y. Suhara, H. Takayanagi, T. Fujishima, M. Kurihara, H. Takayama, *Org. Lett.*, **2**, 2619 (2000); (b) N. Saito, Y. Suhara, M. Kurihara, T. Fujishima, S. Honzawa, H. Takayanagi, T. Kozono, M. Matsumoto, M. Ohmori, N. Miyata, H. Takayama, A. Kittaka, *J. Org. Chem.*, **69**, 7463 (2004)
- 8) 総説: (a) H. Takayama, A. Kittaka, T. Fujishima, Y. Suhara, "Vitamin D Analogs in Cancer Prevention and Therapy, Recent Results in Cancer Research 164" ed by J. Reichrath, M. Friedrich, W. Tilgen, Springer-Verlag: Berlin-Heidelberg, 2003, pp 289-317; (b) H. Takayama, A. Kittaka, T. Fujishima, Y. Suhara, *J. Synth. Org. Chem., Jpn.*, **60**, 370 (2002)
- 9) 19-ノルビタミンD₃への2位置置換基の導入: (a) A. Yoshida, K. Ono, Y. Suhara, N. Saito, H. Takayama, A. Kittaka, *Synlett*, **2003**, 1175; (b) K. Ono, A. Yoshida, N. Saito, T. Fujishima, S. Honzawa, Y. Suhara, S. Kishimoto, T. Sugiura, K. Waku, H. Takayama, A. Kittaka, *J. Org. Chem.*, **68**, 7407 (2003)
- 10) S. Hourai, T. Fujishima, A. Kittaka, Y. Suhara, H. Takayama, N. Rochel, D. Moras, *J. Med. Chem.*, **49**, 5199 (2006)
- 11) (a) S. Ishizuka, S. Ishimoto, A. W. Norman, *Biochemistry*, **23**, 1473 (1984); (b) S. Ishizuka, T. Ohba, A. W. Norman, "Vitamin D: Molecular, Cellular and Clinical Endocrinology" ed. by A. W. Norman, K. Schaefer, H. G. Grigoleit, D. von Herrath, Walter de Gruyter, Berlin, pp 143-144 (1988)
- 12) (a) D. Miura, K. Manabe, K. Ozono, M. Saito, Q. Gao, A. W. Norman, S. Ishizuka, *J. Biol. Chem.*, **274**, 16392 (1999); (b) K.

- Ozono, M. Saito, D. Miura, T. Michigami, S. Nakajima, S. Ishizuka, *ibid.*, **274**, 32376 (1999); (c) D. Miura, K. Manabe, Q. Gao, A. W. Norman, S. Ishizuka, *FEBS Lett.*, **460**, 297 (1999); (d) S. Ishizuka, D. Miura, H. Eguchi, K. Ozono, M. Chokki, T. Kamimura, A. W. Norman, *Arch. Biochem. Biophys.*, **380**, 92 (2000); (e) S. Ishizuka, D. Miura, K. Ozono, M. Chokki, H. Mimura, A. W. Norman, *Endocrinol.*, **142**, 59 (2001); (f) S. Ishizuka, D. Miura, K. Ozono, M. Saito, H. Eguchi, M. Chokki, A. W. Norman, *Steroids*, **66**, 227 (2001)
- 13) (a) M. Herdick, A. Steinmeyer, C. Carlberg, *J. Biol. Chem.*, **275**, 16506 (2000); (b) Y. Bury, A. Steinmeyer, C. Carlberg, *Mol. Pharmacol.*, **58**, 1067 (2000); (c) M. Herdick, A. Steinmeyer, C. Carlberg, *Chem. Biol.*, **7**, 894 (2000); (d) S. Väisänen, M. Peräkylä, J. I. Kärkkäinen, A. Steinmeyer, C. Carlberg, *J. Mol. Biol.*, **315**, 229 (2002)
- 14) (a) Y. Kato, Y. Nakano, H. Sano, A. Tanatani, H. Kobayashi, R. Shimazawa, H. Koshino, Y. Hashimoto, K. Nagasawa, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **14**, 2579 (2004); (b) Y. Nakano, Y. Kato, K. Imai, E. Ochiai, J.-i. Namekawa, S. Ishizuka, K. Takenouchi, A. Tanatani, Y. Hashimoto, K. Nagasawa, *J. Med. Chem.*, **49**, 2398 (2006)
- 15) (a) C. Carlberg, *J. Cell. Biochem.*, **88**, 274 (2003); (b) A. Toell, M. M. Gonzalez, D. Ruf, A. Steinmeyer, S. Ishizuka, C. Carlberg, *Mol. Pharmacol.*, **59**, 1478 (2001)
- 16) Paget 骨病に関する最近の総説: G. D. Roodman, J. J. Windle, *J. Clin. Invest.*, **115**, 200 (2005)
- 17) (a) S. Ishizuka, N. Kurihara, D. Miura, K. Takenouchi, J. Cornish, T. Cundy, S. V. Reddy, G. D. Roodman, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **89-90**, 331 (2004); (b) S. Ishizuka, N. Kurihara, S. V. Reddy, J. Cornish, T. Cundy, G. D. Roodman, *Endocrinol.*, **146**, 2023 (2005)
- 18) N. Saito, T. Matsunaga, T. Fujishima, M. Anzai, H. Saito, K. Takenouchi, D. Miura, S. Ishizuka, H. Takayama, A. Kittaka, *Org. Biomol. Chem.*, **1**, 4396 (2003)
- 19) (a) N. Saito, H. Saito, M. Anzai, A. Yoshida, T. Fujishima, K. Takenouchi, D. Miura, S. Ishizuka, H. Takayama, A. Kittaka, *Org. Lett.*, **5**, 4859 (2003); (b) N. Saito, T. Matsunaga, H. Saito, M. Anzai, K. Takenouchi, D. Miura, S. Ishizuka, H. Takayama, A. Kittaka, *Heterocycles*, **67**, 311 (2006); (c) N. Saito, T. Matsunaga, H. Saito, M. Anzai, K. Takenouchi, D. Miura, J.-i. Namekawa, S. Ishizuka, A. Kittaka, *J. Med. Chem.*, **49**, 7063 (2006)
- 20) (a) N. Saito, M. Masuda, T. Matsunaga, H. Saito, M. Anzai, K. Takenouchi, D. Miura, S. Ishizuka, M. Takimoto-Kamimura, A. Kittaka, *Tetrahedron*, **60**, 7951 (2004); (b) N. Saito, M. Masuda, H. Saito, K. Takenouchi, S. Ishizuka, J.-i. Namekawa, M. Takimoto-Kamimura, A. Kittaka, *Synthesis*, **2005**, 2533
- 21) B. M. Trost, J. Dumas, M. Villa, *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 9836 (1992)
- 22) I. Hijikuro, T. Doi, T. Takahashi, *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 3716 (2001)
- 23) 本論文中に記す化合物の炭素番号はステロイド骨格の位置番号に従って表記する。
- 24) I. Ohtani, T. Kusumi, Y. Kashman, H. Kakisawa, *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 4092 (1991)
- 25) Y. Suhara, A. Kittaka, S. Kishimoto, M. J. Calverley, T. Fujishima, N. Saito, T. Sugiura, K. Waku, H. Takayama, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **12**, 3255 (2002)
- 26) VDR アンタゴニスト ZK-159222 の 2 α 位へのメチル基の導入: T. Fujishima, Y. Kojima, I. Azumaya, A. Kittaka, H. Takayama, *Bioorg. Med. Chem.*, **11**, 3621 (2003)
- 27) Y. Okuda, S. Nakatsukasa, K. Oshima, H. Nozaki, *Chem. Lett.*, **1985**, 481
- 28) (a) A. Kinoshita, N. Sakakibara, M. Mori, *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 12388 (1997); (b) K. Tonogaki, M. Mori, *Tetrahedron Lett.*, **43**, 2235 (2002); (c) M. Mori, K. Tonogaki, A. Kinoshita, *Org. Synth.*, **81**, 1 (2004)
- 29) (a) M. Scholl, S. Ding, C. W. Lee, R. H. Grubbs, *Org. Lett.*, **1**, 953 (1999); (b) S. B. Garber, J. S. Kingsbury, B. L. Gray, A. H. Hoveyda, *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 8168 (2000); (c) H. Wakamatsu, S. Blechert, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **41**, 2403 (2002)
- 30) H. Masuno, K. Yamamoto, X. Wang, M. Choi, H. Oozumi, T. Shinki, S. Yamada, *J. Med. Chem.*, **45**, 1825 (2002)
- 31) C. Carlberg, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **89-90**, 227 (2004)
- 32) C. M. Bula, J. E. Bishop, S. Ishizuka, A. W. Norman, *Mol. Endocrinol.*, **14**, 1788 (2000)
- 33) (a) E. Ochiai, D. Miura, H. Eguchi, K. Takenouchi, Y. Harada, Y. Azuma, T. Kamimura, S. Ishizuka, *J. Bone Miner. Res.*, **18** (suppl. 2), S 103 (2003); (b) E. Ochiai, D. Miura, H. Eguchi, S. Ohara, K. Takenouchi, Y. Azuma, T. Kamimura, A. W. Norman, S. Ishizuka, *Mol. Endocrinol.*, **19**, 1147 (2005); (c) M. Peräkylä, F. Molnár, C. Carlberg, *Chem. Biol.*, **11**, 1147 (2004)
- 34) K. Takenouchi, R. Sogawa, K. Manabe, H. Saitoh, Q. Gao, D. Miura, S. Ishizuka, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **89-90**, 31 (2004)
- 35) α -メチレン- γ -ラクトン構造を持つ天然物の中にはシステインのメルカプト基と反応し対応するシステイン付加体を与える化合物があることが知られている。S. M. Kupchan, D. C. Fessler, M. A. Eakin, T. J. Giacobbe, *Science*, **168**, 376 (1970)
- 36) Y. Inaba, K. Yamamoto, N. Yoshimoto, M. Matsunawa, S. Uno, S. Yamada, M. Makishima, *Mol. Pharmacol.*, **71**, 1298 (2007)
- 37) (a) N. Saito, S. Honzawa, A. Kittaka, *Curr. Top. Med. Chem.*, **6**, 1273 (2006); (b) N. Saito, A. Kittaka, *ChemBioChem*, **7**, 1478 (2006)

PROFILE

齋藤 望 北海道大学大学院薬学研究院・准教授 博士(薬学)

〔経歴〕1995年北海道大学薬学部卒業、2000年北海道大学大学院薬学研究科博士課程修了(森美和子教授)、2000-02年日本学術振興会特別研究員(PD)、2000-01年カリフォルニア大学サンタバーバラ校博士研究員(Bruce H. Lipshutz 教授)、2002年帝京大学薬学部助手、2005年同大学講師、2006年10月北海道大学大学院薬学研究院助教授、2007年4月より現職。2006年日本薬学会関東支部奨励賞受賞。〔専門〕有機合成化学、有機金属化学。

橘高敦史 帝京大学薬学部・教授 薬学博士

〔経歴〕1982年東京大学薬学部卒業、1987年東京大学大学院薬学系研究科博士課程修了(大野雅二教授)、1987-89年スイス連邦工科大学博士研究員(A. Eschenmoser 教授)、1989年昭和大学薬学部助手、1994年同大学講師、1999年帝京大学薬学部助教授、2003年より現職。2007年 Brown University Vitamin D Research Award 受賞。〔専門〕有機化学、生物有機化学。〔連絡先〕e-mail: [redacted]