

22 位にアルキル基をもつ活性型ビタミン D 誘導体の合成と パーシャルアゴニズム/アンタゴニズムに関する構造生物学的研究

医薬分子化学研究室 穴見 康昭

緒言

活性型ビタミン D である $1\alpha,25$ -ジヒドロキシビタミン D_3 は、ビタミン D 受容体 (VDR) に結合し遺伝子転写を介してカルシウム代謝を調節するホルモンであり、その他にも細胞の増殖抑制・分化誘導、免疫調節作用等の生理作用を発現することが知られている。当研究室では、22S 位にアルキル基を導入することでアゴニスト、パーシャルアゴニスト、アンタゴニストを自在に創製できることを明らかにした^a。本研究では、22R 位へのアルキル基導入の効果を明らかにするために 22R-アルキルビタミン D 誘導体を合成し生物活性評価を行った。さらに、パーシャルアゴニズム/アンタゴニズム機構を明らかにするために合成リガンドと VDR の相互作用を構造生物学的手法を用いて解析した。

結果・考察

1. 22R-アルキルビタミン D 誘導体の合成と生物活性評価及び結晶構造解析¹

22R-アルキルビタミン D 誘導体 10 種 (**1a–5a**, **1b–5b**) を設計・合成した (図 1)。(–)-キナ酸とビタミン D_2 を出発原料として、それぞれ A 環部、CD 環部を合成した。次いで、カップリングを行いビタミン D 骨格を構築した後、有機銅試薬を用いて 22 位にアルキル基を導入し側鎖を種々変換し、目的化合物の合成を完了した。VDR との結合親和性を評価した結果、全ての化合物が VDR の特異的リガンドであることが明らかになった。遺伝子転写活性評価の結果、Cos7 細胞において **1a**, **2a**, **2b**, **3a**, **3b** はアンタゴニスト活性を示し、**1b**, **4a**, **4b**, **5a** がパーシャルアゴニスト活性、**5b** がアゴニスト活性を示した。この結果から 22R 位へアルキル基を導入するとアンタゴニスト活性を示す傾向があること、及びアゴニスト活性は水酸基を有する側鎖末端の構造に依存していることが示唆された。

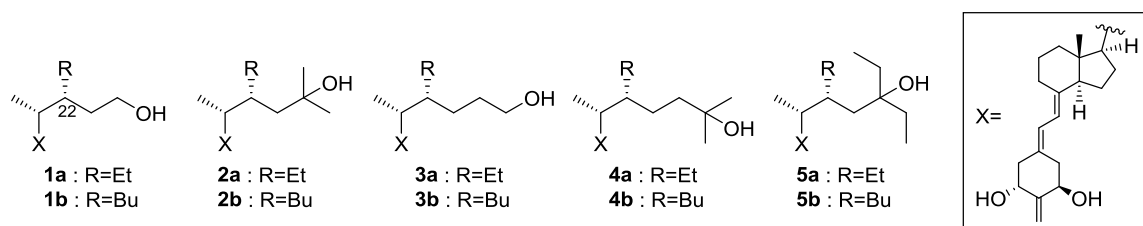


図 1. 目的化合物 1–5

合成リガンドと VDR-リガンド結合領域 (VDR-LBD) との共結晶化を試みた結果、パーシャルアゴニスト 2 種とアゴニストで共結晶が得られ、そのうち 2 種で結晶構造を解析できた。VDR-LBD/**5b** 複合体の結晶構造は、アゴニスト活性を説明できる構造であった。VDR-LBD/**4b** 複合体の結晶構造は、興味深いことに、VDR-LBD に 2 種の配座で結合していることが明らかになった。一方の配座はアゴニスト活性を説明できる構造で、もう一方はアンタゴニスト活性を反映している構造であった。この結果より、パーシャルアゴニズムは、アゴニスト結合型配座とアンタゴニスト結合型配座の比を反映することが示された (図 2)。

さらに、パーシャルアゴニストである 22*S*-ヘキシル体についても結晶構造解析に成功し、同様に2つの配座の比でパーシャルアゴニズムを説明できた²。本研究は、単結晶中に2つの配座のリガンドを捕捉した初めての例であり、得られた知見は、VDR のみならず他の核内受容体にも適用できると考えている。

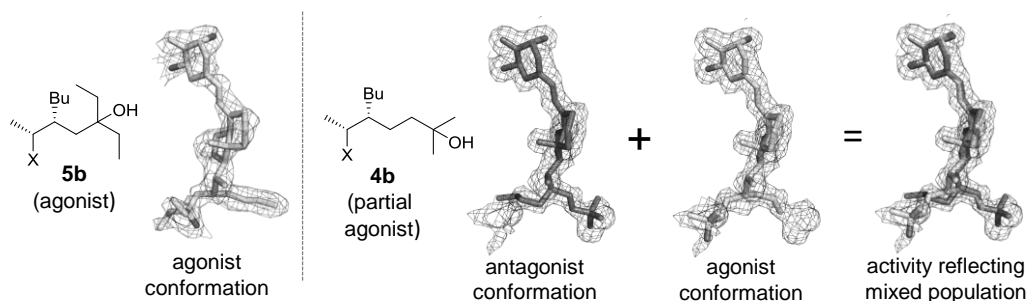


図 2. リガンド配座と活性の関係

2. 溶液中におけるアポ型及びアンタゴニスト結合型 VDR-LBD の構造解析

VDR-LBD/アンタゴニスト複合体の共結晶化は難しく、報告例は2例のみであり、アンタゴニスト活性を明確に説明できる構造は得られていない。そこで、結晶構造の問題点であるパッキングなどの影響を排除でき、溶液中の構造を解析できる X 線小角散乱解析 (SAXS) を行った。得られた SAXS データからのみでは、大きく変化したアンタゴニスト結合構造を精密化できなかった。そこで、別途、分子動力学計算 (MD) を行い、両者の結果を組み合わせることで、信頼性の高いアンタゴニスト結合構造を得ることができた。この構造はアンタゴニズムを説明できるものであった。加えて、リガンドが結合していないアポ VDR-LBD の構造も示すことができた。このように精度の高いアンタゴニスト結合構造とアポ構造を初めて提案することができた。

結論

本研究は、単結晶中に2つの配座のリガンドを捕捉した初めての例であり、得られた知見は、VDR のみならず他の核内受容体にも適用できると考えている。

本研究の成果と既に明らかにされていたアゴニズムに関する知見を組み合わせることで、アゴニズム/パーシャルアゴニズム/アンタゴニズム機構について構造生物学的解析に基づいて論理的に説明できるようになった。これらの知見は核内受容体を標的とするリガンド創製の構造基盤に大きく貢献できると考えている。

参考文献

a) Sakamaki Y.; Inaba Y.; Yoshimoto N.; Yamamoto K. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 5813–5826.

本研究の誌上発表

1. **Anami Y.**; Itoh T.; Egawa D.; Yoshimoto N.; Yamamoto K. *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 4351–4367.
2. **Anami Y.**; Sakamaki Y.; Itoh T.; Inaba Y.; Nakabayashi M.; Ikura T.; Ito N.; Yamamoto K. *Bioorg. Med. Chem.* **2015**, *23*, 7274–7281.