

Title	フッ素化vitaminD3誘導体の生物活性および化学的性質に関する研究
Author(s)	池田, 雅彦
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/43168">https://hdl.handle.net/11094/43168</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	池田 雅彦
博士の専攻分野の名称	博士(薬学)
学位記番号	第 16685 号
学位授与年月日	平成14年3月12日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	フッ素化 vitamin D <sub>3</sub> 誘導体の生物活性および化学的性質に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 小林 資正
	(副査) 教授 田中 徹明    教授 北 泰行    教授 大森 秀信

#### 論文内容の要旨

Vitamin D<sub>3</sub> の代謝体の中でも極めて生物活性が強い 1 $\alpha$ , 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> は、vitamin D 受容体 (VDR) を介してカルシウム調節、分化誘導、免疫調節作用など多彩な生物活性を示すことが明らかにされている。これに対し、1 $\alpha$ , 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> の側鎖末端をフッ素化した F<sub>6</sub>-1 $\alpha$ , 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> は 1 $\alpha$ , 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> よりもさらに強力な vitamin D 作用を持ち、カルシウム調節機能異常疾患である二次性副甲状腺機能亢進症、副甲状腺機能低下症、くる病、骨軟化症の治療薬として臨床開発されたが、F<sub>6</sub>-1 $\alpha$ , 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> の周辺の誘導体の生物活性や化学的性質についてほとんど解明されていなかった。著者は、F<sub>6</sub>-1 $\alpha$ , 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> および F<sub>6</sub>-1 $\alpha$ , 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> の誘導体の薬理的、化学的な知見をさらに拡充することを目的に研究を開始した。

最初に、著者は F<sub>6</sub>-1 $\alpha$ , 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> の23位に置換基を導入した誘導体(ケト体、アルコール体、フッ素化体、オキセタン誘導体)を合成し、VDR 結合能を中心とする薬効評価を行った。23位修飾体は、ヘキサフルオロアセトンを用いたアルドール反応を経由する方法を新たに開発し、合成した。23位は F<sub>6</sub>-1 $\alpha$ , 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> の代謝部位であるので、23位をあらかじめ修飾することで F<sub>6</sub>-1 $\alpha$ , 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> とは違った薬効プロファイルが発現することを期待した。VDR 結合能の結果に着目すると、アルコール体、フッ素化体では S 体が R 体よりも活性が強く、その傾向はフッ素化体の方が顕著であった。また、1 $\alpha$ , 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> に同じ置換基(ケト基、水酸基)を導入した場合と比較すると、F<sub>6</sub>-1 $\alpha$ , 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> は、23位を修飾しても活性が保持される傾向にあることがわかった。S 体が R 体よりも VDR 結合能が強いという結果に対し、S 体の側鎖が生物活性発現に有利なコンフォメーションで存在しているのではないかと考え、コンフォメーションを分子軌道計算(MM3)を用いて解析した。計算の結果、全ての23位修飾体の側鎖の自由度は、F<sub>6</sub>-1 $\alpha$ , 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> と比較して明らかに低く、S 体は C 型コンフォメーションを優先的にとることがわかった。さらに、乾癬の治療薬として開発することを目的に、合成した化合物について副作用の指標である血中カルシウム濃度上昇作用を測定したところ、23S-OH 体が VDR 結合能と血中カルシウム濃度上昇作用との分離が最も優れていた。次に、化合物を23S-OH 体に絞り、経皮投与によるラット皮膚肥厚作用をみたところ、先行品の Calcipotriol (LEO社) より約100倍強く、血中カルシウム濃度上昇作用は非常に弱いことがわかった。これらのことから、23S-OH 体は先行品よりも少量で効果を示し副作用との分離に優れた安全域の広い治療薬として期待できることが明らかとなった。

次に、著者は A 環部分の構造変換が VDR 結合能にどのように影響しているかを調べるために F<sub>6</sub>-1 $\alpha$ , 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>

とその異性体4種(1-エピ体、3-エピ体、1,3-エピ体、5,6-トランス体)を合成し、VDR結合能を測定した。近年、Troostは、 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の合成法としてビニルプロミドと光学活性なエンイン化合物を用いてトリエン骨格を効率的に構築する方法を開発した。そこで、著者はエンイン化合物の異性体を用いれば $F_6-1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の異性体を効率的に合成できると考えた。 $F_6-1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ に用いるエンイン化合物はD-アラビノースから、また、3-エピ体、1,3-エピ体に必要なエンインに関しては、2*S*-グリシジル*p*-トルエンスルホナートから効率的に導く方法を新たに開発し、合成した。これらの3種のエンイン化合物から収率に問題無く各異性体を合成することができた。1-エピ体と5,6-トランス体は $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の相当する異性体の合成法を適用し、合成した。次に、得られた各異性体のVDR結合能を評価した。1,3位の異性体の中では3-エピ体、1-エピ体、1,3-エピ体の順で結合能が低下し、活性減弱の順序は $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の場合と同じであったが、最も低い1,3-エピ体でも $F_6-1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の15%の結合能を示したことから、 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と比較して格段に活性が保持されたといえる [ $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の1,3-エピ体の結合能は $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ に対し0.22%]。この傾向は5,6-トランス体の場合に特に顕著であり、 $F_6-1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ に対し91%の活性を示した [ $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の5,6-トランス体の結合能は $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ に対し0.22%]。これらの結果から、 $F_6-1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ のA環部分の構造変換によるVDR結合能への影響は $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と比較して小さいことが示唆された。これは23位修飾体のときと同様の傾向を示したといえる。

最後に、著者らはvitamin D<sub>3</sub>誘導体の側鎖の構造およびA環の水酸基の有無がpre体への異性化反応にどのように影響するかを反応速度論的に解析した。Vitamin D<sub>3</sub>は、溶液中で熱異性化することにより一部pre体として存在することが知られている。Pre体のVDR結合能はvitamin D<sub>3</sub>の3分の1程度であることが報告されており、生体中でのvitamin D<sub>3</sub>誘導体の活性の強さを理解する上でpre体への異性化のしやすさを知ることは重要である。代表化合物として $F_6-1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 、 $F_6-1\alpha, 23\text{S}, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 、 $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$ 、vitamin D<sub>3</sub>そして3-deoxy-vitamin D<sub>3</sub>を選択し、<sup>1</sup>H-NMRスペクトルを経時的に測定して反応速度論的解析をした。検討の結果、3-deoxy-vitamin D<sub>3</sub>、vitamin D<sub>3</sub>、 $1\alpha$ 位に水酸基を持つactivated vitamin D<sub>3</sub>の順でpre体へ異性化しやすいことを示し、A環の水酸基の数が異性化のしやすさに影響していることがわかった。一方、側鎖の構造は異性化のしやすさに全く影響しなかった。

#### 論文審査の結果の要旨

Vitamin D<sub>3</sub>の代謝体の中でも極めて生物活性が強い $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ は、核内のvitamin D受容体(VDR)を介してカルシウム調節、分化誘導、免疫調節作用など多彩な生物活性を示す。これに対し、側鎖末端をフッ素化した $F_6-1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ はさらに強力なvitamin D作用を有する治療薬として臨床開発されたが、 $F_6-1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の周辺の誘導体の生物活性や化学的性質についてほとんど解明されていなかった。著者は、 $F_6-1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ およびその誘導体の薬理的、化学的な知見をさらに拡充することを目的に研究を行った。

最初に、著者は新しい乾癬治療薬を開発する目的で、ヘキサフルオロアセトンを用いたアルドール反応を経由する方法を新たに開発し、 $F_6-1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の23位に置換基を導入した種々の誘導体を合成し、VDR結合能を中心とする薬効評価を行った。その結果、23*S*-OH体は先行品のCalcipotriolより皮膚肥厚作用が約100倍強く、また、血中カルシウム濃度上昇作用は非常に弱く、副作用との分離に優れた安全域の広い治療薬として期待できることが明らかとなった。これらの誘導体の側鎖部分のコンフォメーションを分子軌道計算(MM3)を用いて計算し、活性との相関を解析した。

次に、著者はA環部分の構造変換がVDR結合能にどのように影響するかを調べるために、ビニルプロミドと光学活性なエンイン化合物を用いてトリエン骨格を構築する方法により、 $F_6-1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ とその異性体4種(1-エピ体、3-エピ体、1,3-エピ体、5,6-トランス体)を合成し、VDR結合能を測定した。その結果、 $F_6-1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ のA環部分の構造変換によるVDR結合能への影響は $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と比較して小さいことが示唆された。

さらに、著者はvitamin D<sub>3</sub>誘導体の側鎖の構造およびA環の水酸基の有無がpre体への異性化反応にどう影響するかを、<sup>1</sup>H-NMRスペクトルを経時的に測定して反応速度論的に解析した。その結果、A環の水酸基の数が異性

化のしやすさに影響していることがわかった。

以上の成果は博士（薬学）の学位論文として充分価値あるものと認められる。