

A Thesis for the Degree of Ph.D. in Science

Chemistry and biology of novel
androgen receptor antagonist antarlides
from microbial origin

March 2017

Graduate School of Science and Technology

Keio University

Shun Saito

主 論 文 要 旨

報告番号	(甲) 乙 第	号	氏 名	齋藤 駿
主 論 文 題 目： Chemistry and biology of novel androgen receptor antagonist antarlides from microbial origin (微生物由来新規アンドロゲン受容体アンタゴニスト Antarlide に関する化学生物学研究)				
【背景・目的】 前立腺がんは、男性ホルモン（アンドロゲン）がアンドロゲン受容体（AR）に結合し転写因子として働くことで悪性化する。そこで、アンドロゲンと AR の結合を阻害する AR アンタゴニストが治療薬の一つとして用いられている。しかし近年、AR アンタゴニストの長期使用により耐性を示す変異体 AR の出現が問題となっている。この耐性が獲得される原因の一つとして、既存の AR アンタゴニストの化学構造の類似性が指摘されている。このことから、既存の AR アンタゴニストとは異なる化学構造を有する化合物は、新しい前立腺がん治療薬シードになり得ると考えられる。そこで、構造多様性に富んだ化合物を多数含有する放線菌代謝産物から新規 AR アンタゴニストの探索を行った。				
【結果・考察】 【Antarlide 類の単離精製・構造解析】 <i>in vitro</i> におけるアンドロゲンと AR の結合阻害活性を指標としたスクリーニングを実施し、放線菌 BB47 株の培養液中に目的の活性を見出した。そして、活性物質の単離精製・構造解析を試みた結果、新規化合物 Antarlide A-F の取得に成功した。Antarlide A-F は 22 員環のマクロライド構造を有しており、それぞれ幾何異性体であることが明らかとなった。次に、主成分である Antarlide A の絶対立体構造については、Antarlide A をメタノリシス反応により開環し、得られたメチルエステル体に対し NMR スペクトル解析や各種化学変換反応を駆使することで決定した。Antarlide B-F は光照射により Antarlide A へと異性化されることから、全て同様の絶対立体構造を有していることが推察された。さらにスクリーニングを継続した結果、20 員環マクロライド構造を有する Antarlide G ,H を発見した。Antarlide G についてもメタノリシス反応により開環し、得られたメチルエステル体に対し LC/MS による解析を行った。その結果、Antarlide A 由来のメチルエステル体とは保持時間が一致しなかったことから、Antarlide G,H は異なる絶対立体構造を有することが推察された。 【Antarlide 類の生物活性】 Antarlide 類の中で安定性の高い Antarlide B 及び G は、アンドロゲンにより誘導されるマーカー遺伝子 PSA mRNA の発現及び細胞増殖を抑制し、細胞レベルでも AR アンタゴニスト活性を示した。さらに、既存の AR アンタゴニストに対して耐性を示す変異体 AR に対してもアンタゴニスト活性を示し、耐性を克服できる可能性が示唆された。				

SUMMARY OF Ph.D. DISSERTATION

School	Student Identification Number	SURNAME, First name
Keio University		SAITO, Shun
Title Chemistry and biology of novel androgen receptor antagonist antarlides from microbial origin		
[Background] Androgen receptor (AR) signaling plays a central role in the malignancy of prostate cancers. Therefore, AR antagonists that compete with androgens for binding to the AR are clinically used for the treatment of prostatic diseases. However, long-term treatment with these AR antagonists can lead to AR point mutations that are linked to the development of resistance. Thus, the development of a new type AR antagonist is an attractive strategy to overcome prostate cancers that are resistant to known antagonists. We therefore screened microbial extracts to find a new type AR antagonist that could inhibit the binding of [³ H]-labeled DHT to the AR in an <i>in vitro binding</i> assay.		
[Results and Discussion] [Isolation and structure elucidation of antarlides] In the course of screening for a new type AR antagonist, we isolated novel compounds, antarlides A-F from the <i>Streptomyces</i> sp. BB47. Antarlides are mutually isomeric with regard to the double bond, having a novel macrocyclic structure of a 22-membered ring. The full stereostructure of antarlide A was established by chemical modifications including methanolysis, the Trost method, acetonide formation and the PGME method. Antarlides B-F were isomerized to antarlide A by irradiation of the room light. This suggested that antarlides B-F are most likely to have the same absolute configurations as that of antarlide A. In our continuous screening, we isolated antarlides G and H, which have a macrocyclic structure of 20-membered ring. The lactone linkage of antarlide G was cleaved by methanolysis to yield the methyl ester, and analyzed with LC/MS. However, the retention time of the methyl ester obtained from antarlide G differed from that of the methyl ester from antarlide A. This suggested that the absolute configurations of antarlide G and H are different from antarlide A. [Biological activities of antarlides] Antarlides B and G, that are more stable among the congeners, inhibited not only the androgen-induced expression of PSA mRNA, but also the androgen-induced growth of prostate cancer cells. Moreover, antarlides B and G inhibited the transcriptional activity of not only wild type AR but also mutant ARs. Therefore, antarlides may have the potential to become a drug seed as a third generation AR antagonist.		