

核内受容体活性制御仮説に基づく特異的リガンドの創製研究

棚谷 綾

Development of Novel Nuclear Receptor Ligands Based on Receptor-Folding Inhibition Hypothesis

Aya TANATANI

Institute of Molecular and Cellular Biosciences, University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0032, Japan

(Received November 16, 2006)

Nuclear receptors are ligand-inducible transcriptional factors, and regulate various significant biological phenomena such as cell differentiation, proliferation, metabolism, and homeostasis. By the elucidation of the physiological functions of nuclear receptors, they have become one of the most significant molecular targets for drug discovery in the fields of cancer, autoimmune diseases, and metabolic syndrome. In this study, several novel nuclear receptor ligands have been developed, based on the receptor-folding inhibition hypothesis is discussed. In this hypothesis, the antagonists for nuclear receptors are classified into two types, the misfolding inducers and the folding inhibitors, related to the helix 12 (AF-2 region) conformation of the receptor that is significant for the receptor activation. Then, in order to overcome the resistance in the treatment of prostate tumors with androgen antagonists, the novel folding-inhibitor type antagonists such as isoxazole and pyrrolicarboxamide derivatives were designed and synthesized. Some of them exhibited the androgen antagonistic activities in LNCaP cells with mutated androgen receptor in which conventional antagonists such as flutamide and RU56187 were inactive. The folding-inhibitor type vitamin D₃ antagonists (DLAM series) are similarly developed. Further, novel non-*seco*-steroidal vitamin D₃ analogs were designed and synthesized by using a 3,3-diphenylpropane derivative, LG190178 as lead compound. The aza analogs exhibited both potent vitamin D agonistic and androgen antagonistic activities. The results indicate the drug design based on the receptor-folding inhibition hypothesis is efficient in medicinal chemistry of nuclear receptors.

Key words—nuclear receptor; androgen antagonist; vitamin D₃; receptor-folding inhibition hypothesis

1. はじめに

核内受容体は、ステロイドホルモンや活性型ビタミンなどの脂溶性小分子の生体内標的分子であり、リガンド依存的な転写因子として、細胞増殖、分化、形態形成、代謝などを厳密に調節している。ヒトゲノム解析の結果、ヒトには48種類の核内受容体が存在することが知られているが、いずれも癌を始めとする様々な難治性疾患の発症や治療と密接に関与することが明らかになりつつあり、それらの治療薬開発の重要な分子標的として捉えられてい

る。¹⁾

核内受容体のリガンド依存的な活性化機構については、核内受容体リガンド結合領域の結晶構造解析や活性発現に関与するコファクター群の同定により、Fig. 1に模式的に示した機構が明らかとなっている。一般に、核内受容体のリガンド結合領域には12個のヘリックスが存在するが、12番目のヘリックス (Fig. 1中H12で示した)の折りたたみ構造が活性化の鍵構造と考えられている。^{2,3)}リガンドの結合していないアポ型受容体では、ヘリックス12がリガンド結合空間を解放するような立体構造を取っているが、この立体構造には、コリプレッサーと呼ばれるタンパク群が結合することにより、機能が抑制されている。一方、リガンドの結合に伴って、ヘリックス12がリガンド結合空間を閉じるように、大きな構造変化を起こす。この立体転換によっ

東京大学分子細胞生物学研究所 (〒113-0032 東京都文京区弥生 1-1-1)

現住所: お茶の水女子大学大学院人間文化研究科 (〒112-8610 東京都文京区大塚 2-1-1)

e-mail: tanatani.aya@ocha.ac.jp

本総説は平成18年度日本薬学会奨励賞の受賞を記念して記述したものである。

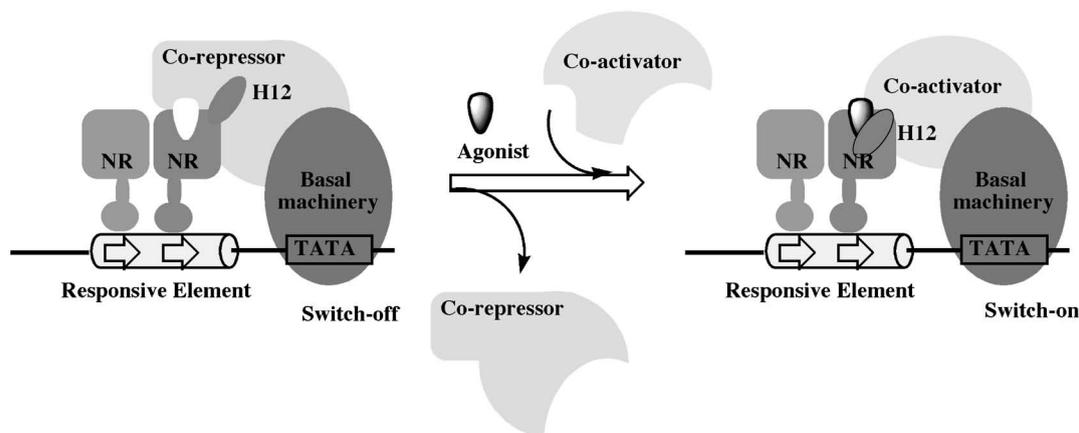


Fig. 1. Molecular Basis of Ligand-inducible Nuclear Receptor Activation

て、コリプレッサーがはずれ、代わりにコアクチベータが結合して、遺伝子発現のスイッチがオンになる。⁴⁻⁶⁾ このように、核内受容体の機能は様々なタンパク群との相互作用によって発揮されるので、その機能の特異的に制御するリガンドを論理的に分子設計する方法はいまだ確立していないのが現状である。例えば、核内受容体リガンドの中には、活性プロファイルが生物検定系や受容体変異によって異なることがしばしば観測される。そこで筆者らは、このような問題点を克服すべく、核内受容体のリガンド依存的構造転換に基づいた「核内受容体活性制御仮説」を提唱し、本仮説の検証と新たなリガンド分子設計を行った。

2. 変異受容体にも有効なアンドロゲンアンタゴニストの創製

2-1. 核内受容体活性制御仮説の構築

アンドロゲン受容体 AR はテストステロンや 5 α -ジヒドロテストステロンなどの男性ホルモンの核内受容体であり、AR の転写活性化は前立腺癌の発症と進展に深く関与していると考えられている。そのため、前立腺癌の治療薬を目的に様々な AR アンタゴニストが開発されてきた。^{7,8)} ステロイド骨格を持つシプロテロンアセテートに加えて、非ステロイド型のフルタミドやビカルタミドなどが知られている (Fig. 2)。しかしながら、これらの非ステロイド型リガンドはいずれもベンズアミドという共通の骨格を持ち、構造のバリエーションはけっして多くはない。

さらに既存の AR アンタゴニストには、数年の治療継続に伴い、耐性化若しくは癌の増悪化を引き起こすという問題を抱えている。このような癌の耐性

化機構の 1 つの要因として AR の変異が考えられている。⁹⁻¹²⁾ 例えば、ホルモン療法を受けた患者において、Fig. 3 に示すような変異 AR が見出されている。このような変異 AR は恒常的活性化能を持っていたり、又は AR アンタゴニストがアゴニストとして機能して、前立腺癌細胞の増殖を促進したりすることが知られている。¹³⁻¹⁵⁾

筆者は、上述の核内受容体の活性化機構を基に、AR アンタゴニストの機能転換について、以下のような仮説をたてた (Fig. 4)。すなわち、正常な受容体の場合、アポ型ではヘリックス 12 のふたが開いた不活性化構造をしているのに対して、アゴニストが結合するとふたが閉まった活性化構造へと変わる。一方、ある種の変異受容体では、ヘリックス 12 が活性化構造に近い折りたたみ構造を持つことにより、構成的な活性を示すと考えられる。そして、既存のアンタゴニストが結合しても、その折りたたみ構造があまり変わらないために、やはり変異受容体は活性化構造となって、癌の増悪化が起こる。このようなアンタゴニストでは、正常な受容体のヘリックス 12 の立体位置に対して小さな変化し



棚谷 綾

お茶の水女子大学大学院人間文化研究科 (理学部化学科) 助教授。1970 年東京生まれ。東京大学薬学部卒、同大学院薬学系研究科修士・博士課程修了。米国イリノイ大学アーバナシャンペン校博士研究員、科学技術振興事業団 (神奈川大学工学部) 博士研究員を経て、2002 年東京大学分子細胞生物学研究所助手。2006 年より現職。機能性芳香族フォルダマーの創製。核内受容体の医薬化学研究。趣味は美術鑑賞、ハイキング。

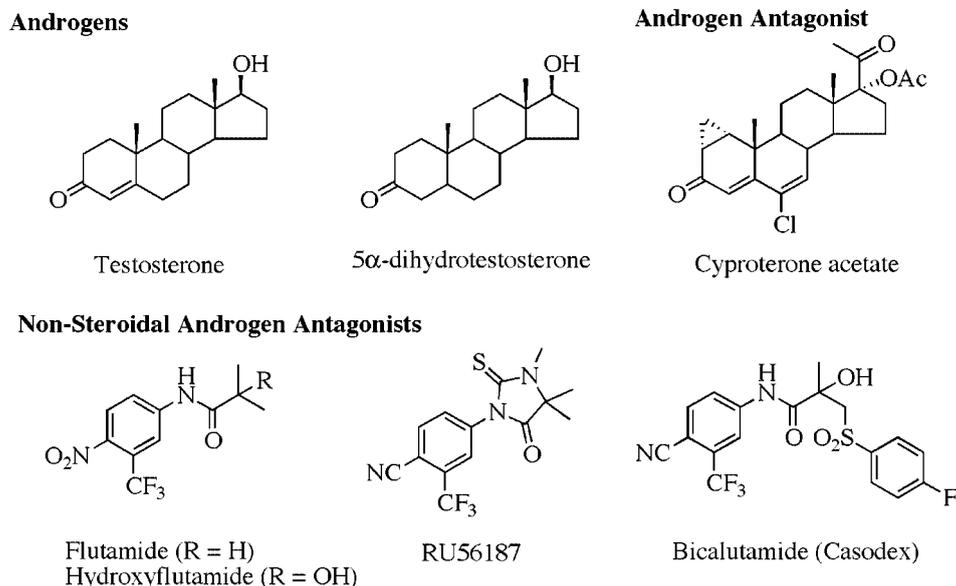


Fig. 2. Structures of Endogenous Androgens and Synthetic Androgen Antagonists

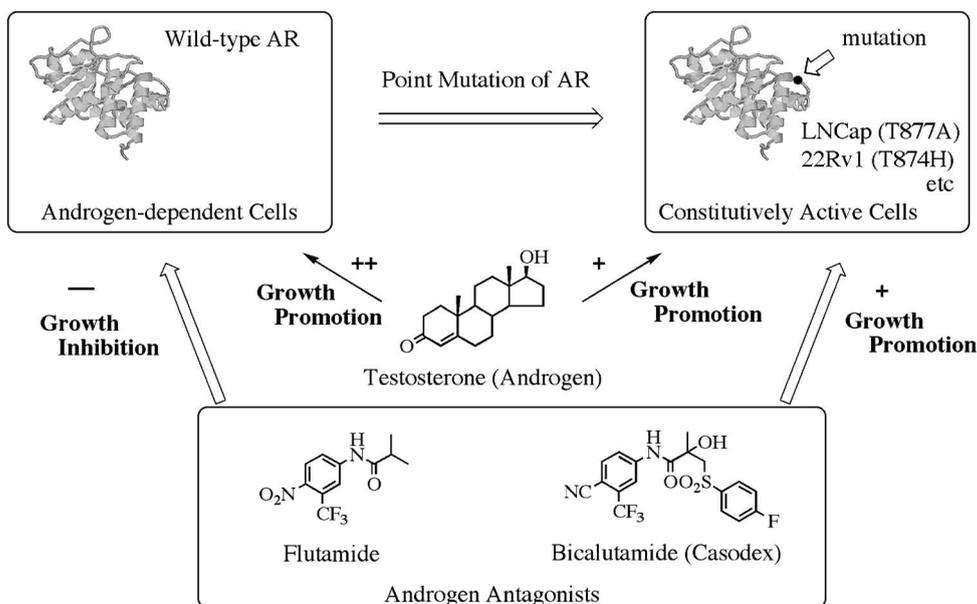


Fig. 3. Action of Androgen Antagonists towards Wild-type and Mutated AR

か与えないと考えられる。実際、アンタゴニストが結合した核内受容体の結晶構造では、ヘリックス12が、アゴニストの場合とは異なる折りたたみ構造を取っているものが知られている。筆者らは、このタイプの化合物を「ミスフォールディング誘導型アンタゴニスト」と名付けた。このタイプに分類される化合物は、受容体変異に限らず、例えば相互作用するコファクターの種類によって活性が変化する可能性があり、組織選択的リガンドの創製などに有

効であるかもしれない。一方、癌の耐性化を克服するためには、このような不完全な阻害ではなく、ヘリックス12の折りたたみ構造自体を阻止する必要があると考えられる。そこで、このようなアンタゴニストを「フォールディング阻止型アンタゴニスト」と名付け、新規ARアンタゴニストの創製を行った。

2-2. 新規アンドロゲンアンタゴニストの創製
ARリガンドの分子設計では、(株)医薬分子設計研究所・板井昭子博士らとの共同研究によるバーチャル

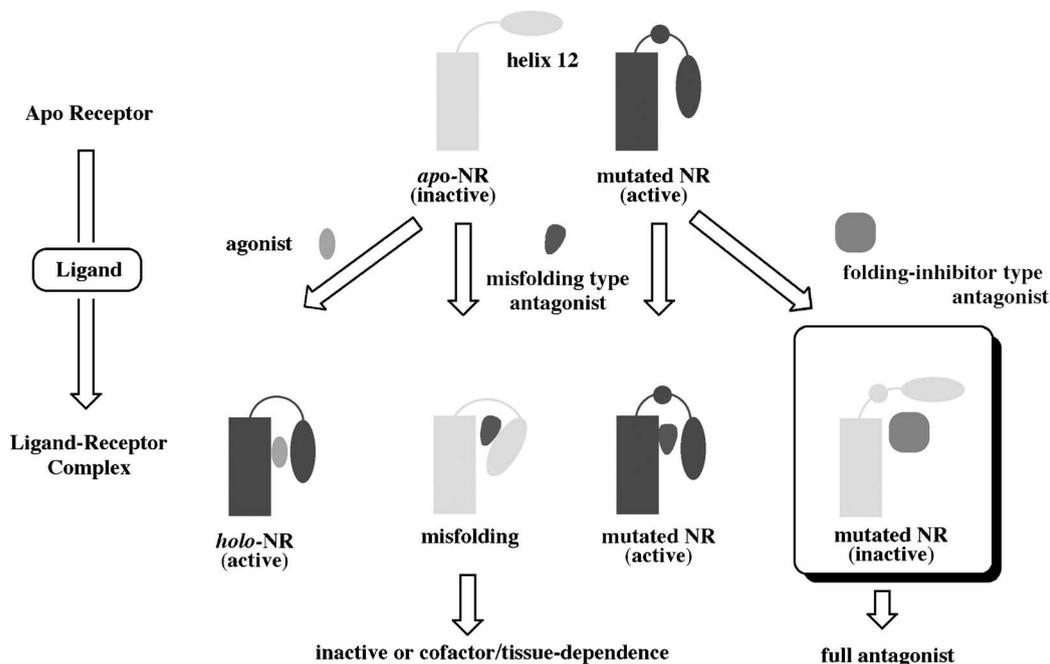


Fig. 4. Receptor-folding Inhibition Hypothesis

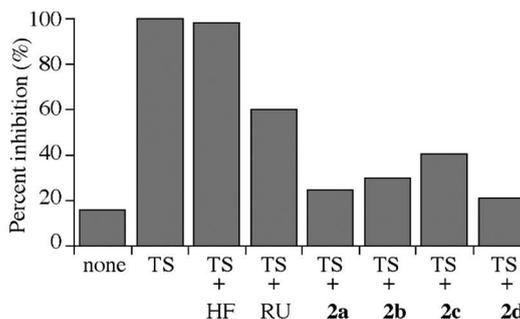
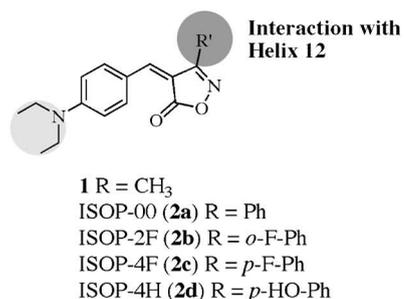


Fig. 5. Isoxazolones as Novel Mutated AR Antagonists

TS: testosterone, HF: hydroxyflutamide, RU: RU56187.

スクリーニングによって新規リガンド骨格を探索し、イソキサゾロン誘導体 **1** (Fig. 5) を選択した。AR とイソキサゾロン誘導体 **1** との結合様式の解析から、イソキサゾロン環上にかさ高い置換基を導入することにより、ヘリックス 12 のフォールディングを阻止できると予想した。例として、イソキサゾロン環上にフェニル基を持つ ISOP シリーズの構造と活性を Fig. 5 に示した。アンドロゲン活性の評価は、変異 AR (T877A) を持つ LNCap 細胞において、AR 応答の遺伝子産物である Prostate Specific Antigen (PSA) 産生量により行った。^{16,17)} この系においては、既存の AR アンタゴニストであるヒドロキシフルタミドや RU56187 はアゴニスト (若

しくはパーシャルアゴニスト) として機能していた。一方、ISOP 誘導体は単独では PSA を産生せず、また、テストステロンによる PSA 産生を抑制したことから、変異 AR に対してもアンタゴニストとして働いていることが示唆された。¹⁸⁾

2-3. ピロールカルボキサミド誘導体への展開
 イソキサゾロン誘導体の結果から、新規骨格の導入と上述の仮説に基づく分子設計が妥当であることが分かったので、さらなる構造展開を行った。ISOP 誘導体の構造活性相関から、2つの芳香環とその間をつなぐリンカーという骨格に、一方には極性官能基を、もう一方にはヘリックス 12 の折りたたみを阻止するかさ高い置換基の導入が有効であると考え、

Fig. 6のような新規構造を設計した。このとき、一方の芳香環として、ピロール環を導入し、そのスペーサーとしてはより単純な官能基を設定した。また、末端極性基としては、より化学的に安定なアミド基を導入した。

アンドロゲン依存的なマウス乳癌細胞 SC-3 の増殖抑制、AR 結合能を指標にして、まず、2つの芳香環の間のリンカーを検討したところ、アミドやスルホンアミドでは活性がみられなかったのに対して、アミノ基若しくはアミノメチレン基の場合に、弱いながらも活性がみられることが分かった。さらに、芳香環や窒素原子上の置換基の検討を行うことにより、活性を100倍以上向上させることに成功した (Table 1).¹⁹⁾ 最も活性の強かった化合物 PYROP-1 (3f) を用いて、LNCap 細胞における活性を検討したところ、PYROP-1 (3f) は変異 AR に対してもアンタゴニストとして働き、その活性はビカルタミドと同程度の強いものであることが分かった (未発表)。最近、ビカルタミドがアゴニストとして機能してしまう変異 AR の報告もあり、²⁰⁾ 現在、PYROP-1 (3f) がそのような変異 AR に対しても有効であるかを検討中である。

3. ビタミン D アンタゴニストのピンポイント創製

ビタミン D は生体内で二段階の代謝を受けて活性型の $1\alpha, 25$ -ジヒドロキシビタミン D₃ ($1, 25$ -

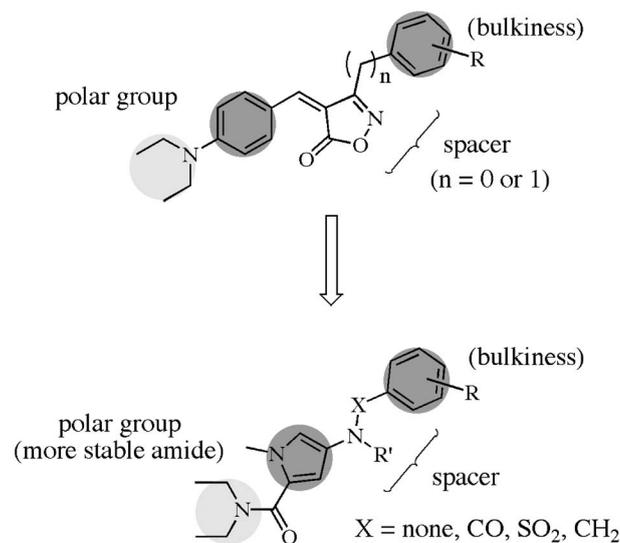


Fig. 6. Design of Pyrrolecarboxamide as Novel AR Antagonist

(OH)₂D₃, Fig. 7) となり、ビタミン D 核内受容体 VDR に結合して、作用を発揮する。²¹⁾ これまでに癌や骨疾患の治療を目的に、3000以上のビタミン D 誘導体が合成されてきたが、ビタミン D アンタゴニストについては、パジェット病への応用などが示唆されているにも係わらず、2種類の化合物 TEI-9647, ZK-168281 (Fig. 7) 及びその類縁体しか知られていなかった。さらに、TEI9647はVDRの動物種によってアゴニスト、アンタゴニスト活性が変化するという報告もある。²²⁾ そこで、ビタミン D についても上記仮説を応用することによりフルアンタゴニストの創製ができると考え、長澤和夫助教授 (現・東京農工大学) とともに研究に着手した。

3-1. ビタミン D アンタゴニスト DLAM の設計と合成 ビタミン D アンタゴニストの分子設計においては、 $1, 25$ -(OH)₂D₃ 及び側鎖にラクトン環を持つ代謝物 (Fig. 7) をリード化合物として、ラクタム誘導体 DLAM を設計した (Fig. 8)。ラクタム環窒素原子上にかさ高い置換基を導入することにより、ヘリックス 12 の折りたたみを阻害できると考えた。

DLAM 誘導体の合成 (Fig. 8) は、ビタミン D₂

Table 1. Structure-activity of Pyrrolecarboxamides **1** and **2**

	R	NR ₂	K _i (μM) ^{a)}	IC ₅₀ (μM) ^{b)}
3a	H		4.9	19.0
3b	Me		3.6	19.0
3c	Et		2.0	16.0
3d	<i>i</i> -Pr		3.4	15.0
3e	CH ₂ (<i>c</i> -C ₆ H ₁₁)		0.52	0.88
3f	CH ₂ Ph		0.11	0.44
4a	CH ₂ Ph	NH ₂	0.22	2.00
4b	CH ₂ Ph	NEt ₂	0.10	1.00
4c	CH ₂ Ph		0.11	1.70
Hydroxyflutamide			0.43	0.35

a) Competitive binding assay, b) IC₅₀ values in growth inhibition of SC-3 cells.

から 13 ステップで得られるアルデヒド体²³⁾を用いて、*N*-置換ニトロンに変換したのち、メタクリル酸メチルと 1,3-双極子環化付加反応を行い、イソキサゾリジン体を得た。この化合物を還元的にラクタムへと変換し、保護基を除去したのち、キラルカラムで分離することにより、23 位と 25 位の立体異

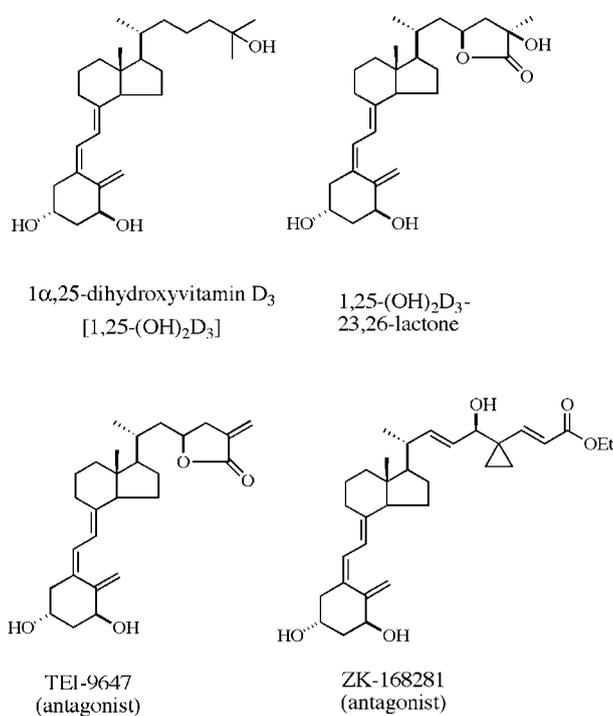


Fig. 7. Structures of Vitamin D Agonists and Antagonists

性体 4 種を得た。²⁴⁾

3-2. ラクタム誘導体 DLAM の VDR アンタゴニスト活性 ビタミン D アンタゴニストとして設計した DLAM 誘導体の活性評価としては、VDR 結合親和性と、1, 25-(OH)₂D₃ によるヒト白血病細胞 HL-60 の分化誘導活性の抑制効果を検討した。23 位と 25 位の立体に関する 4 種の異性体では、(*S*, *S*) 体だけがアンタゴニスト活性を示した。中でも、ラクタム窒素原子上にかさ高いベンジル基 (**5a**) やフェネチル基 (**5b**) を持つ誘導体は 1, 25-(OH)₂D₃ の 1/10—1/50 の親和性で VDR に結合し、その分化誘導活性を濃度依存的に抑制した (Table 2).²⁵⁾

合成したビタミン D アンタゴニストが実際にヘリックス 12 の折りたたみを阻害しているかの実験

Table 2. VDR Antagonistic Activity of (23*S*, 25*S*)-**5**

R ^{a)}	VDR affinity	Antagonistic activity IC ₅₀ (nM) ^{b)}
5a -CH ₂ Ph	2.74	700
5b -(CH ₂) ₂ Ph	8	207
5c -(CH ₂) ₃ Ph	0.68	2200
5d -(CH ₂) ₄ Ph	5.24	390
5e - <i>i</i> -Pr	1.52	>1000

a) (23*S*, 25*S*) isomers. The structures are shown in Fig. 8. b) The relative to 1,25-(OH)₂D₃ normalized as 100. c) IC₅₀ values for HL-60 cell differentiation induced by 1 nM of 1,25-(OH)₂D₃.

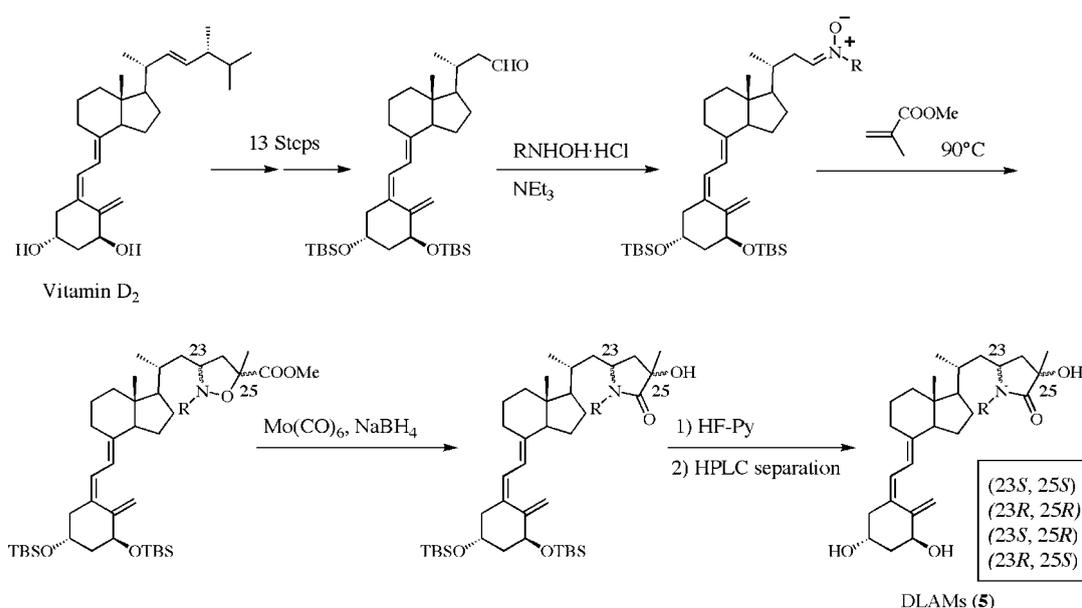
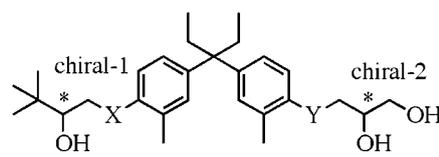


Fig. 8. Synthesis of DLAMs

Table 3. Biological Activity of Novel Non-*sec*-vitamin D₃ Analogs (6–8)


6 X = NH, Y = O
7 X = O, Y = NH
8 X = NH, Y = NH

Compound ^{a)}	HL-60 cell differentiation EC ₅₀ (nM)	VDR binding affinity K _i (nM)	SC-3 growth inhibition IC ₅₀ (nM)	AR binding affinity K _i (nM)
(<i>R, R</i>)-6	30	150	5.0	1200
(<i>S, R</i>)-6	55	180	17	1200
(<i>R, S</i>)-6	4.1	9.5	1.3	910
(<i>S, S</i>)-6	16	20	4.7	730
(<i>R, R</i>)-7	320	340	36	2500
(<i>S, R</i>)-7	770	1100	290	1100
(<i>R, S</i>)-7	47	220	19	1900
(<i>S, S</i>)-7	110	420	55	400
(<i>R, R</i>)-8	48	190	7.1	1100
(<i>S, R</i>)-8	170	580	32	1100
(<i>R, S</i>)-8	6.6	120	4.1	2300
(<i>S, S</i>)-8	43	350	22	540
LG190178	44	360	30	17000
hydroxy-flutamide	—	—	180	940

a) The chiralities are described as (chiral-1, chiral-2).

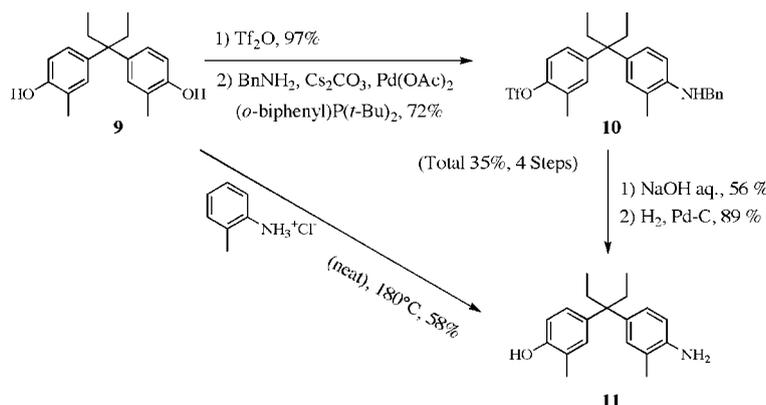
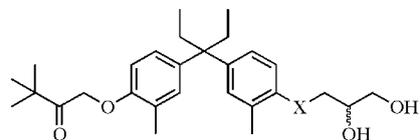


Fig. 10. One-step Synthesis of Unsymmetrical Diphenylmethane Derivatives

への結合親和性により評価した。化合物 6–8 について、4 種類の立体異性体の活性を比較すると、いずれも (*R, S*) 体の活性が最も強かった。特に Table 3 の図中、X で表した部分への窒素原子の導入が有効であり、化合物 (*R, S*)-6 及び (*R, S*)-8 は LG190178 よりも 10 倍強い分化誘導活性を示し、(*R, S*)-6 は 40 倍強い VDR 親和性を示した。²⁹⁾

一方、興味深いことに、化合物 7 及び LG190178 の側鎖にカルボニル基を持つ化合物 12 及び 13 は、対応するアルコール体と比べると、HL-60 細胞の

分化誘導に関しては比較的強い活性を持つにも関わらず、ほとんど VDR 結合能を持たないことが分かった (Fig. 11)。筆者らは、この活性の差から、化合物 12 及び 13 がそれ自身では活性はほとんど示さないものの、細胞内でカルボニル基が還元されてアルコール体 7 及び LG190178 となることにより活性を発現すると予測した。実際、化合物 12 を HL-60 細胞ホモジネートと 4 時間インキュベートしたのち、HPLC で分析したところ、化合物 12 のピークは減少し、代わりに、化合物 7 が確認された。この結果



	HL-60 Cell Differentiation		VDR binding affinity	
	EC ₅₀ (nM)		Ki (nM)	
12 (X = NH)	110		> 5000	
13 (X = O)	90		> 5000	

Fig. 11. Biological Activities of Ketone Derivatives

はいくつかのカルボニル体でも確認され、この種の化合物において一般的な現象であると考えられる。²⁹⁾

非 *seco*-ステロイド型化合物の VDR 結合様式を、ドッキングスタディーによって解析してみると、非 *seco*-ステロイド型化合物は *seco*-ステロイド型化合物と類似の分子形状を取ることができるとが示唆された。また、化合物 **7** の水酸基のうち、化合物 **12** のカルボニルが代謝還元されてできる水酸基はヒスチジン **397** と水素結合し得ることが分かった。ヒスチジン **397** は 1, 25-(OH)₂D₃ の 25 位水酸基と水素結合していることが示されていることから、非 *seco*-ステロイド型化合物の場合も、VDR との結合において、重要な機能を発揮していると考えられる。

4-3. 非 *seco*-ステロイド型ビタミン D 誘導体の VDR/AR デュアル活性 非 *seco*-ステロイド型 VDR アゴニスト **6—8** をマウス乳癌細胞 SC-3 に投与したところ、いずれも濃度依存的な増殖抑制効果を示した。この細胞はアンドロゲン依存的に増殖し、アンドロゲンアンタゴニストによってその増殖が抑制される。SC-3 細胞の増殖抑制効果の作用機序を解明する目的で、化合物 **6—8** の AR 親和性を検討した。その結果、リード化合物である LG190178 以外の含窒素誘導体 **6—8** は、ヒドロキシフルタミドと同程度の活性を示した (Table 3)。²⁹⁾ すなわち、これらの化合物は VDR アゴニスト活性とアンドロゲンアンタゴニスト活性を合わせ持つユニークな生物活性を示すことが明らかとなった。VDR アゴニスト活性では (R, S) 体の活性が最も強かったが、アンドロゲンアンタゴニスト活性では、(S, S) 体が若干他の立体異性体よりも活性が強い傾向があった。また、SC-3 細胞増殖抑制効果

との活性を比較すると、ビタミン D 結合親和性とよい相関を示すことが分かった。前立腺癌の増殖については、アンドロゲン受容体を介した増殖促進と、ビタミン D 受容体を介した増殖抑制効果が報告されている。³⁰⁾ 本化合物がどのような作用機構で活性を発現しているかは定かではないが、これをリード化合物として新たな VDR アゴニスト、アンドロゲンアンタゴニストの創製が可能であろう。また、ジフェニルメタン誘導体が 2 種類の核内受容体に対してデュアルリガンドであることは、このような骨格がステロイド骨格を代替する有用なスキヤフォールドであることを意味していると考えている。

5. おわりに

以上の構造展開は、筆者らが核内受容体のリガンド依存的な活性化機構に基づいて構築した核内受容体活性制御仮説によって行ってきた。幸運にも着手してきた化合物群においていずれも、それぞれに興味深い活性を引き出すことができた。核内受容体活性制御仮説が、核内受容体リガンドの設計に有効な手段の 1 つであることを示したと考えており、現在、これらの知見と手法を他の核内受容体に応用している。例えば、最近子宮内膜症や子宮筋腫に有効であることが示唆されているプロゲステロンアンタゴニストの創製において、ユニークな構造を持つ化合物がみつかってきている。

創薬研究においては、標的分子の設定と化合物分子設計のための作業仮説が重要である。その 1 つとして今回は核内受容体活性制御仮説を提唱し、その実験的検証を行ってきた。研究の展開によってはさらによりよい作業仮説の構築も可能であろう。医薬化学の分野で、いかにオリジナリティーのある面白い研究を発信していくかは、アカデミアの研究者としてどれだけ自分自身の思想を持てるかに掛かっている。常に少しでも新しいものを創製していこうという意欲を失わない限り、ランダムスクリーニングでヒットしてくる化合物群とは異なる新しい構造を創製していけるのではないかと考えている。

謝辞 本研究は、東京大学分子細胞生物学研究所生体有機化学分野にて行ったものであり、終始暖かくご指導頂きました橋本祐一先生に深く感謝いたします。また、有機合成についてご教授頂いた東京農工大学・長澤和夫先生に感謝いたします。東京大

学薬学部時代よりご指導頂き、創薬化学のみならず有機化学の基礎をご教授頂いた東京大学名誉教授・首藤紘一先生、東北薬科大学教授・遠藤泰之先生、東京医科歯科大学教授・影近弘之先生に感謝いたします。計算化学についてお力を頂きました、㈱医薬分子設計研究所・板井昭子先生、アステラス製薬㈱今井啓祐博士に感謝いたします。活性評価法に関してご指導頂いた東京医科歯科大学河内恵美子氏、㈱医薬分子設計研究所深澤弘志博士に感謝いたします。また、東大薬学部、東大分生研における多くの共同研究者の方々に感謝いたします。

REFERENCES

- Laudet V., Gronemeyer H., "The Nuclear Receptor FactsBook," Academic Press, 2001.
- Brzozowski A. M., Pike C. W., Dauter Z., Hubbard R. E., Bonn T., Engström O., Öhman L., Greene G. L., Gustafsson J.-A., Carlquist M., *Nature* (London), **389**, 753–758 (1997).
- Carlberg C., *J. Cell. Biochem.*, **88**, 274–281 (2003).
- Carlberg C., *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **89–90**, 227–232 (2004).
- Christakos S., Dhawan P., Liu Y., Peng X., Porta A., *J. Cell. Biochem.*, **88**, 695–705 (2003).
- Gonzalez M. M., Samenfeld P., Peräkylä M., Carlberg C., *Mol. Endocrinol.*, **17**, 2028–2038 (2003).
- Liao S., Howell D. K., Chang T. M., *Endocrinology*, **94**, 11205–11209 (1974).
- Katchen B., Buxbaum S., *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **41**, 373–379 (1975).
- Feldman B. J., Feldman D., *Nat. Rev. Cancer*, **1**, 34–45 (2001).
- Taplin M.-E., Balk S. P., *J. Cell. Biochem.*, **91**, 483–490 (2004).
- Zegarra-Moro O. L., Schmidt L. J., Huang H., Tindall D. J., *Cancer Res.*, **62**, 1008–1013 (2002).
- Heinlein C. A., Chang C., *Endocr. Rev.*, **25**, 276–308 (2004).
- Fenton M. A., Shuster T. D., Fertig A. M., Taplin M.-E., KolvenBag G., Bublely G. J., Balk S. P., *Clin. Cancer Res.*, **3**, 1383–1388 (1997).
- Veldscholte J., Ris-Stalpers C., Kuiper G. G. J. K., Jenster G., Berrevoets C., Claassen E., van Rooij H. C. J., Trapman J., Brinkmann A. O., Mulder E., *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **173**, 534–540 (1990).
- Taplin M.-E., Bublely G. J., Ko Y.-J., Small E. J., Upton M., Rajeshkumar B., Balk S. P., *Cancer Res.*, **59**, 2511–2515 (1999).
- Riegman P. H., Vlietstra R. J., van der Korp J. A., Brinkmann A. O., Trapman J., *Mol. Endocrinol.*, **5**, 1921–1930 (1991).
- Lee C., Sutkowski D. M., Sensibar J. A., Zelnner D., Kim I., Amsel I., Shaw N., Prins G. S., Kozlowski J. M., *Endocrinology*, **136**, 796–803 (1995).
- Ishioka T., Tanatani A., Nagasawa K., Hashimoto Y., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **13**, 2655–2658 (2003).
- Wakabayashi K., Miyachi H., Hashimoto Y., Tanatani A., *Bioorg. Med. Chem.*, **13**, 2837–2846 (2005).
- Bohl C. E., Gao W., Miller D. D., Bell C. E., Dalton J. T., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **102**, 6201–6206 (2005).
- Zhu G.-D., Okamura W. H., *Chem. Rev.*, **95**, 1877–1952 (1995).
- Peräkylä M., Molnár F., Carlberg C., *Chem. Biol.*, **11**, 1147–1156 (2004).
- Calverley M. J., *Tetrahedron*, **43**, 4609–4619 (1987).
- Kato Y., Nakano Y., Sano H., Tanatani A., Kobayashi H., Shimazawa R., Koshino H., Hashimoto Y., Nagasawa K., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **14**, 2579–2583 (2004).
- Nakano Y., Kato Y., Imai K., Ochiai E., Namekawa J., Ishizuka S., Takenouchi K., Tanatani A., Hashimoto Y., Nagasawa K., *J. Med. Chem.*, **49**, 2398–2406 (2006).
- Boehm M. F., Fitzgerald P., Zou A., Elgort M. G., Bischoff E. D., Mere L., Mais D. E., Bissonnette R. P., Heyman R. A., Nadzan A. M., Reichman M., Allegretto E. A., *Chem. Biol.*, **6**, 265–275 (1999).
- Swann S. L., Bergh J., Farach-Carson M. C., Ocasio C. A., Koh J. T., *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 13795–13805 (2002).
- Hosoda S., Tanatani A., Wakabayashi K., Nakano Y., Miyachi H., Nagasawa K., Hashimoto Y., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **15**,

-
- 4327–4331 (2005).
- 29) Hosoda S., Tanatani A., Wakabayashi K., Makishima M., Imai K., Miyachi H., Nagasawa K., Hashimoto Y., *Bioorg. Med. Chem.*, **14**, 5489–5502 (2006).
- 30) Fife R. S., Sledge Jr. G. W., Proctor C., *Cancer Lett.*, **120**, 65–69 (1997).