

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：31305

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K15961

研究課題名（和文）医薬品構造としてのカルボラン実践応用に向けた基盤的研究

研究課題名（英文）Fundamental research for practical application of carborane as a pharmaceutical structure

研究代表者

皆瀬 麻子（Kaise, Asako）

東北医科薬科大学・薬学部・助教

研究者番号：30710397

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：ホウ素クラスターであるカルボランの創薬ツールとしての実用性を検証するために、細胞膜透過性、代謝安定性試験を実施した。カルボラン誘導体が既存医薬品と遜色ない細胞膜透過性と安定性を有することを見出した。薬物代謝トランスポーターであるP-gpに対しては親和性は有さず、阻害活性のみ示すことが明らかとなった。また、2種の乳癌細胞の増殖を抑制し、新たな活性メカニズムを持つと予測されるカルボラン誘導体を開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

カルボランは長らく創薬基礎研究において医薬化合物の疎水性中心骨格としての利用が検討されてきたものの、実際の医薬品開発で利用される段階には至っていなかった。カルボランを医薬品構成要素として利用することは、ケミカルライブラリーの拡大に貢献し、低分子創薬を活性化することに繋がる。カルボラン誘導体の薬物動態学的特性を調査し、既存の医薬品と遜色ない性質を持つことを確認したことは、カルボランの創薬ツールとしての実用化推進に繋がる。

研究成果の概要（英文）：To elucidate the pharmacokinetic properties of carborane, cell membrane permeability and metabolic stability to carborane derivatives were evaluated. Carborane derivatives showed Caco-2 cell membrane permeability and hepatic microsomal metabolic stability comparable to existing drugs. Furthermore, several novel carborane derivatives were developed that inhibit breast cancer cell lines growth.

研究分野：薬化学

キーワード：ホウ素クラスター カルボラン 細胞膜透過性 薬物安定性 抗腫瘍作用 乳癌

1. 研究開始当初の背景

ホウ素クラスターであるカルボランは1960年代から創薬基礎研究に取り入れられ、その高い疎水性から医薬化合物の疎水性中心骨格としての利用が検討されてきた。女性ホルモンであるエストラジオールの疎水性骨格をカルボランに置き換えた化合物は、エストラジオールよりも強力なエストロゲン活性を示した。エストロゲン受容体を標的とする医薬活性化合物をはじめとして様々な誘導体が開発され、本研究も核内受容体のみならずステロイドスルファターゼやチューブリンを標的とした抗腫瘍化合物を創製し、カルボランの応用領域の拡大に貢献してきた。しかしカルボランを創薬ツールとしての応用は実際の医薬品開発では例がなく、医薬活性化合物の構造要素としての利用は基礎研究領域に留まっていた。

2. 研究の目的

カルボランを医薬品構成要素として利用することは、ケミカルライブラリーの拡大に貢献し、低分子創薬を大きく活性化することが出来る。本研究ではカルボランの創薬ツールとしての実用性を検証することを目的とした。創薬ツールとしてカルボランが浸透しない要因の一つに、カルボラン誘導体の生化学的性質に対する知見が不足していることが考えられた。特に、医薬品開発において薬物動態学的性質は開発の進展を大きく左右する要素であるが、カルボランの性質は未解明であった。また炭化水素からカルボランへの変換で活性が向上するメカニズムについても検討が不十分であった。本研究では開拓研究として、細胞内移行性評価、代謝安定性試験とカルボラン誘導体と標的タンパク質との相互作用解析を実施し、さらに臨床応用を志向した新たなカルボラン化合物の創出を発展的目標とした。

3. 研究の方法

(1) 細胞内移行性評価ではCaco-2細胞を用いた細胞膜透過評価を行い、細胞単層膜を透過した化合物量をLC/MS/MSにより算出した。apical to basolateral (A to B) と basolateral to apical (B to A) の2方向の透過試験を実施し、見かけの透過係数 (Papp) を算出した。さらに薬剤排泄ポンプによる細胞外への流出を検討すべく、MDCK細胞およびP-糖たんぱく質 (P-gp) を高発現するMDR1-MDCK細胞を用いP-gp親和性を評価し、あわせてP-gp基質化合物を用いたP-gp阻害能も評価した。

(2) 代謝安定性試験では、CYP含有肝ミクロソーム画分を用いたin vitro代謝安定性評価を実施した。ラットおよびヒト肝ミクロソームを用い、37℃で30分間インキュベーションした後、化合物の残存率をLC/MS/MSにて算出した。

(3) 相互作用解析は等温滴定型カロリメトリーを用い、分子間結合で熱変化量をもとに評価することとした。活性標的タンパク質に対し評価化合物を滴下し、発生熱量から相互作用機序の推定を試みた。

(4) 新たな化合物の創出研究では、これまでに研究者が開発してきたカルボラン誘導体を基に化合物を設計、合成し、がん細胞を用いた細胞増殖抑制活性評価を実施した。活性が認められた化合物については、フローサイトメトリーによる細胞周期の確認などを行い、標的分子を探索した。

(1)~(3)の評価では、カルボラン化合物とその類似構造を持ち経口医薬品としても使用されているカルボラン非含有化合物との性質を比較した。

4. 研究成果

(1) Caco-2細胞を用いた細胞膜透過性評価では、カルボランの有無による透過性の大きな違いは認められなかった。一般的に疎水性化合物は高い細胞膜透過性を示すことから、カルボラン誘導体の高い細胞膜透過性を予測していたが、比較化合物とほぼ同等の中程度のPapp(A to B)が算出された。Papp(B to A)はPapp(A to B)より低値であり、このことからカルボラン誘導体が薬剤排泄トランスポーターなどにより活発な排泄を受ける可能性が低いことが示唆された。P-gp親和性試験においても細胞膜透過性に顕著な違いは認められず、カルボラン誘導体が薬剤トランスポーターに認識されずに細胞内に到達できる可能性が示された。P-gpは临床上重要な薬

剤相互作用や癌の多剤耐性とも関連することから、カルボラン誘導体の P-gp 阻害活性を評価したところ、対照化合物がほとんど阻害活性を示さないのに対して、カルボラン誘導体には中程度の活性が認められた。

(2) ヒト肝ミクロソームを用いた代謝安定性評価ではカルボラン誘導体の方が若干高い安定性を示した。ラット肝ミクロソームを用いた評価では、いずれの化合物も複数の代謝物に代謝され、安定性の違いは認められなかった。今後主代謝物を解明する予定であるが、カルボラン誘導体は一定の代謝安定性を有していることが明らかとなった。

(3) カルボラン導入による活性向上のメカニズムとして、カルボランの高い疎水性に基づく細胞膜透過における優位性、標的タンパクとの疎水性相互作用の強化を推察したが、(1)の細胞膜透過性試験により、カルボラン導入による透過性向上効果は認められなかった。相互作用解析では、本研究課題期間中には評価化合物と標的タンパク質との相互作用様式の詳細な比較には至らなかった。要因として評価化合物と標的タンパク質の相互作用が強力なため、詳細な熱量変化測定が困難であったと予想される。現在新たなプロトコルを検討し評価を進めている。

(4) 新たなカルボラン含有活性化合物の開発では、m-カルボランを有する化合物群が、二種類の乳癌細胞株に対して比較的強い細胞増殖抑制活性を示すことを見出した。細胞周期解析では G2/M 期の延長が確認され、チューブリンのコルヒチン結合部位に結合して重合阻害作用を示していることが予測された。ヒトがん細胞パネル(JFCR39)を用いた作用機序評価では、チューブリン以外の標的分子の存在も示唆され、現在探索を進めている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 0件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 皆瀬麻子、太田公規	4. 巻 54
2. 論文標題 カルボランを用いた実践的な低分子創薬研究	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 月刊細胞	6. 最初と最後の頁 530-533
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 皆瀬麻子、太田公規	4. 巻 6
2. 論文標題 カルボランを用いた実践的な低分子創薬研究	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 アグリバイオ	6. 最初と最後の頁 1164-1169
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 太田公規、皆瀬麻子、藤井晋也、小田彰史
2. 発表標題 ハウ素クラスターの化学的特徴を利用した新規核内アンドロゲンfull-antagonistの創製
3. 学会等名 日本レチノイド研究会 第33回学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 太田公規、皆瀬麻子、小川卓巳、遠藤泰之
2. 発表標題 アルキルアミノ側鎖を持たないエストロゲン受容体パーシャルアゴニスト
3. 学会等名 日本薬学会第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Asako Kaise, Yuya Yamashita, Kiminori Ohta, Yasuyuki Endo
2. 発表標題 Development of novel tubulin polymerization inhibitors based on m-carborane cage
3. 学会等名 AIMECS 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 皆瀬麻子、山下雄也、太田公規、遠藤泰之
2. 発表標題 m-カルボランを基礎骨格とする新規マルチターゲット型抗腫瘍活性化化合物の開発
3. 学会等名 日本薬学会141年会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関