

平成 30 年 6 月 5 日現在

機関番号：31305

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26460151

研究課題名(和文)新規疎水性構造を利用した分子設計による受容体制御の新たな展開

研究課題名(英文)A New Development of Molecular Design Utilizing Novel Hydrophobic Structures

研究代表者

遠藤 泰之 (ENDO, Yasuyuki)

東北医科薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：80126002

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、ホウ素クラスター、カルボランを代表とする新しい疎水性構造を用いた核内受容体、すなわち、エストロゲン受容体リガンド、アンドロゲン受容体リガンドの設計、合成を課題とした。この研究により、従来の抗がん薬に抵抗性のあるがん細胞に対して効果をもつ抗がん化合物、骨粗しょう症薬のリード化合物となる化合物を見出した。一方、本研究により、新規カルボラン化合物BE360が、海馬細胞増殖に関連して、抗うつ及び抗認知症の効果を有することが示された。本化合物はアルツハイマー病など神経変性への治療薬の可能性をもつ。

研究成果の概要(英文)：In this project, we focused design and synthesis of new estrogen receptor ligands and androgen receptor ligands utilizing a new hydrophobic structure such as boron cluster, carboranes. We have developed lead compounds for anti-osteoporosis drugs and anti-prostate cancer drugs which are effective for resistant cancer cells against conventional anticancer drugs. On the other hand, the present study has demonstrated that a new carborane compound BE360 has antidepressant and antimentia effects related by hippocampal cell proliferation. These results indicate that BE360 may have a valuable therapeutic potential against depression and neurodegenerative diseases such as AD.

研究分野：創薬化学

キーワード：医薬分子設計 核内受容体 エストロゲン受容体 アンドロゲン受容体 アゴニスト アンタゴニスト

### 1. 研究開始当初の背景

本研究者は既に 40 年前から適切な疎水性構造の有無により 1000 倍以上の生物活性の差が生じることを天然物関連の合成研究において目の当りにしていた。医薬分子の設計の観点から、疎水性構造単位は分子全体を支持する骨格構造であるとともに、膜透過性や受容体との疎水性相互作用に関与し、受容体との結合親和性に大きな効果を発揮する。しかし、現代の合成医薬の多くは、芳香族あるいは複素芳香族骨格の組合せにより立体構造や水素結合性基の配置を巧みに制御することにより展開しており、立体的な疎水性骨格を積極的に利用した例は少ない。薬物と受容体との疎水性相互作用による形状認識の観点から考えると、適度な分子サイズをもった三次元的疎水性構造単位は医薬分子の設計に極めて有望な素材である。本研究者は上記の観点から、医薬分子設計における新規素材：ジカルバ-*closa*-ドデカボラン（カルボラン）に着目し、本骨格を受容体に認識される部分構造として用いた初の分子設計と合成を展開してきた。

医薬分子の疎水性構造変化による生物活性制御という着想を実証する対象として、本研究者は核内受容体リガンドを選択した。特に、エストロゲン受容体リガンドとして、カルボラン疎水性骨格として設計した化合物から、エストラジオールをはるかに上回るエストロゲン受容体 (ER) 結合活性、転写活性化能を示し、*in vivo* においても強力なエストロゲン活性を示す BE120 を始めとして、ER に対するアンタゴニストとして、ER 拮抗剤 BE362、選択的 ER 受容体制御剤 BE360、ER 選択性化合物を得ている。

アンドロゲン受容体 (AR) リガンドであるテストステロン及びフルタミドの構造に基づきカルボラン含有アンドロゲン受容体拮抗剤 BA321 を得ることに成功した。ER および AR アンタゴニストは、直接的にはそれぞれ、乳がん、前立腺がん等のホルモン依存性がんに対する抗がん薬となり得るものであるが、他組織との作用の分離不十分による副作用、受容体の変異による抗がん薬に対する耐性などの課題を残している。一方、これらの受容体の多彩な生理作用から、その選択性や活性発現機構の解明により骨や神経系などの加齢性疾患への効果的な医薬品となる可能性を有する。

### 2. 研究の目的

核内受容体はリガンドとの複合体結晶解析が明らかとなり、構造化学的なアプローチが可能とはなっているが、医薬創製との関連では以下の 3 点が課題となると考えた。

(1) 受容体アミノ酸残基 1~2 個の相違による受容体サブタイプ選択性や抗がん薬の投与による受容体変異による耐性への対応  
(2) 受容体-リガンド複合体の構造と共役因子との関係による組織選択性の制御

(3) 従来の核内受容体を介さないステロイドの膜受容体の制御と新たな医薬としての機能の開拓である。

医薬化学分野で、カルボラン骨格の立体形状と疎水性を利用して生物活性物質の部分構造として応用しようとする試みは本研究者の独創的研究であり、この方法論を広く医薬への実用化への情報提供することについても目的としている。

### 3. 研究の方法

(1) エストロゲン受容体 と のリガンド結合領域での相違はアミノ酸残基 2 個のみであり、Met がその認識の鍵であると考えた。そこでカルボラン含有エストロゲン受容体アゴニスト BE120 の構造及び本研究らが見出したジフェニルメタン構造を有するエストロゲン受容体アゴニストをリードとして、ハロゲン位置選択的に導入した一連の化合物を合成し、新しい機構の 選択性リガンドの創製を目指す。

(2) エストロゲン拮抗化合物の既存の機構である helix12 の構造変化に対応する側鎖構造が骨格構造にカルボランあるいは環状炭化水素を中心疎水性構造として用いることでアゴニスト/アンタゴニスト バランスを制御する可能性を見出している。その構造活性相関による解析と組織選択的リガンドとしての活性評価を行う。

(3) 本研究らが見出したカルボラン含有アンドロゲン受容体アンタゴニスト BA321 の新しい作用を探索し、特に性差に着目して、男性の骨疎しょう症に対する効果についての見当を行う。

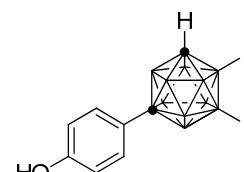
(4) カルボラン含有エストロゲン受容体パースシャルアゴニスト BE360 は動物試験で子宮に対する作用は無く、骨形成にアゴニストとして作用する。また、最近、予備的試験により認知症動物モデルでの顕著な改善効果が見出された。本化合物及び関連化合物の動物試験により、その作用の構造活性相関を明らかにすることを目指す。さらに、組織学的、分子薬理的解析を行い、ステロイド膜受容体の関与も想定し、改善効果の分子論の作業仮説を構築する。

(5) カルボランを疎水性構造として含む分子設計を行い、特に新しい作用機序を有する抗がん活性化合物の創製を行う。

### 4. 研究成果

研究の方法のそれぞれの方針に従って、研究を進め、以下の成果を得た。

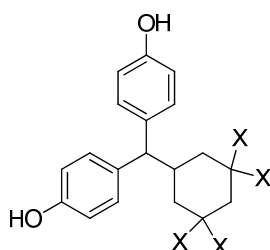
(1) エストロゲン受容体  $\beta$  選択的アゴニストの開発を目的としてヨウ素置換のカルボランニルフェノール誘導体 10 種の設計、合成、活性評価



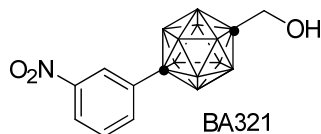
を行った。o-, m-, p-カルボランの種類とヨウ

素の置換位置により選択性的変化が認められ、4-(9,10-iodido-m-carboran-1-yl)phenol の ER $\beta$  への親和性はエストロジオールより強く、ER $\alpha$  との選択性は 14 倍であることを見出した。

(2) 適切な疎水性構造を有するビスフェノール誘導体及びそのジメチルアミノエチルエーテル体の疎水性構造をアダマンタン、*m*-カルボラン、ジメチル *m*-カルボランに変換したエストロゲン受容体リガンドを合成し、その受容体親和性、MCF-7 細胞でのアゴニスト/アンタゴニスト活性の評価を行った。ジメチル *m*-カルボラン、アダマンタンを有する化合物はエストロジオールよりも受容体への親和性は低い、細胞への効果ではパーシャルアゴニスト活性を示した。一方、*m*-カルボランを有する化合物は完全アゴニストとしての活性を示し、疎水性構造の僅かな違いにより、アゴニスト/アンタゴニストバランスが変化することを見出した。一方、単純な構造を有するビス(4-ヒドロキシフェニル)メタン誘導体はエストロゲン受容体に対して弱い親和性を有する。適切な疎水性構造を付与することにより、その活性を著しく向上させることができると仮定した。3,3-ジメチル基を有する化合物は ER への結合親和性は estradiol に近い活性を示した。一方、4,4-ジメチル基を有する化合物ではその活性は著しく低下した。これらの化合物は MCF-7 細胞を用いた細胞増殖試験では、アゴニスト作用を示すが、高濃度で弱いアンタゴニスト作用を示すパーシャルアゴニストであることを見出した。



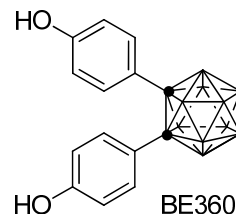
(3) 当研究室で開発したカルボラン含有アンドロゲン受容体アンタゴニスト BA321 がエストロゲン受容体  $\alpha$  及び  $\beta$  に親和性があることを見出した。精巣摘出雄性マウスでは骨密度の減少が起こるが、BA321 の投与により回復した。一方、精囊の重量減少は回復しない。雌性マウスでは



BA321 はエストロゲン受容体アゴニストとして作用し、卵巣摘出マウスでの骨密度の減少と子宮重量の減少を共に回復した。BA321 は、男性の骨疎しょう症に対する選択的アンドロゲン受容体制御薬 (SARM) となり得る化合物であることを見出した。

(4) 当教室で開発した受容体制御化合物の神経系疾患制御に関する 2 つの重要な展開があった。選択的エストロゲン受容体制御薬 BE360 を、抑うつ状態のモデルとして嗅球摘出 (OBX) マウスを用い、短期記憶に対する Y-maze 法による行動薬理学的解析を行った。

OBX により障害された短期記憶は、BE360 の 100microg/day の投与により有意に改善した。神経新生数も有意に増加し、一方で BE360 は生殖器官には影響を及ぼさないことも判明した。また、RXR アンタゴニストを神経細胞での保護作用の機構研究



に用いた。Bexaroten は白血病治療薬として知られているが、虚血発作時の神経保護作用があり、RXR アンタゴニストとしても知られている。この作用の機構を解明することを目的として研究を行い、RXR アンタゴニスト BR1211 がその効果を効果的に阻害することを見出した。

(5) 女性ホルモンであるエストロジオールの代謝体 2-methoxyestradiol はエストロゲン受容体との親和性は著しく低下し、一方で細胞増殖抑制活性を示す。本研究で、カルボラン含有 ER アゴニストを基本骨格とするがん細胞の増殖阻害化合物の設計、合成を行った。カルボラニルフェノールのエチル体及びそのスルファメートが種々のがん細胞に対する増殖抑制活性を示すと共に、エストロジオールの前駆体であるエストロンスルファートからエストロンへの変換酵素であるステロイドスルファターゼを強力に阻害することを見出した。

今後益々重要となる受容体構造に立脚した論理的な医薬分子設計には、受容体とリガンドとの結合の下流の構造変化と、それによる機能制御に関する考察が必要である。本研究は医薬分子設計における新規疎水性構造とその方法論を提供するとともに、有用な医薬の創製という面においても寄与するものと考えている。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 16 件)

Design and Synthesis of *p*-Carborane-containing Sulfamates as Multitarget Anti-breast Cancer Agents

Asako Kaise, Kiminori Ohta, Chinami Shirata, Yasuyuki Endo

Bioorg. Med. Chem., 2017, 25, 6417-6426 査読有

<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.10.013>

Novel *p*-carborane-containing multitarget anticancer agents inspired by the metabolism of 17 $\beta$ -estradiol

Asako Kaise, Kiminori Ohta, Yasuyuki Endo

Bioorg. Med. Chem., 2017, 25, 6371-6378 査読有

<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.10.006>

Design and synthesis of iodocarborane-

containing ligands with high affinity and selectivity toward ER $\beta$

Kiminori Ohta, Takumi Ogawa, Yasuyuki Endo  
Bioorg. Med. Chem. Lett., 2017, 27,  
4030–4033 査読有

<http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.07.053>

Structure-activity relations of rosmarinic acid derivatives for the amyloid  $\beta$  aggregation inhibition and antioxidant properties

Riho Taguchi, Koki Hatayama, Tomohito Takahashi, Takafumi Hayashi, Yuki Sato, Daisuke Sato, Kiminori Ohta, Hiroto Nakano, Chigusa Seki, Yasuyuki Endo, Kiyotaka Tokuraku, Koji Uwai

Eur. J. Med. Chem., 2017, 138, 1066–1075 査読有

<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.07.026>

BA321, a novel carborane analog that binds to androgen and estrogen receptors, acts as a new selective androgen receptor modulator of bone in male mice

Kenta Watanabe, Michiko Hirata, Tsukasa Tominari, Chiho Matsumoto, Yasuyuki Endo, Gillian Murphy, Hideaki Nagase, Masaki Inada, Chisato Miyaura

Biochem. Biophys. Res. Commun., 2016, 478, 279–285 査読有

<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.07.027>

Design, synthesis, and anti-proliferative activity of 1-(4-methoxyphenyl)-12-hydroxy-methyl-*p*-carborane derivatives

Asako Kaise, Kiminori Ohta, Yasuyuki Endo  
Eur. J. Med. Chem., 2016, 122, 257–26 査読有

<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.06.029>

Symmetric 4,4'-(piperidin-4-ylidene-methylene)bisphenol derivatives as novel tunable estrogen receptor (ER) modulators

Manabu Sato, Kiminori Ohta, Asako Kaise, Sayaka Aoto, Yasuyuki Endo

Bioorg. Med. Chem. 2016, 24, 1089–1094 査読有

<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.01.035>

BE360, a new selective estrogen receptor modulator, produces antidepressant and antimentia effects through the enhancement of hippocampal cell proliferation in olfactory bulbectomized mice

Osamu Nakagawasai, Wataru Nemoto, Hiroshi Onogi, Takahiro Moriya, Jia-Rong Lin, Takayo Odaira, Fukie Yaoita, Takumi Ogawa, Kiminori Ohta, Yasuyuki Endo, Koichi Tan-No

Behavioural Brain Research, 2016, 297, 315–322 査読有

<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.10.013>

Activation of RXR/PPAR $\gamma$  underlies neuroprotection by bexarotene in ischemic stroke

Michelangelo Certo, Yasuyuki Endo, Kiminori Ohta, Shinobu Sakurada, Giacinto Bagetta, Diana Amante

Pharmacological Research, 2015, 102, 298–307 査読有

<https://doi.org/10.1016/j.phrs.2015.10.009>

Estrogenic activity of bis(4-hydroxyphenyl) methanes with cyclic hydrophobic structure

Tomohiro Kojima, Takumi Ogawa, Soichiro Kitao, Manabu Sato, Akifumi Oda, Kiminori Ohta, Yasuyuki Endo

Bioorg. Med. Chem., 2015, 23, 6900–6911 査読有

<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2015.09.046>

Design and synthesis of carborane-containing estrogen receptor-beta (ER $\beta$ )-selective ligands

Kiminori Ohta, Takumi Ogawa, Akifumi Oda, Asako Kaise, Yasuyuki Endo

Bioorg. Med. Chem. Lett., 2015, 25, 4174–4178 査読有

<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.08.007>

Synthesis and biological evaluation of novel m-carborane-containing estrogen receptor partial agonists as SERM candidates

Kiminori Ohta, Takumi Ogawa, Asako Kaise, Yasuyuki Endo

Bioorg. Med. Chem. Lett., 2015, 25, 3213–3216 査読有

<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.05.083>

Structure-activity relationship study of diphenylamine-based estrogen receptor (ER) antagonists

Kiminori Ohta, Yuki Chiba, Asako Kaise, Yasuyuki Endo

Bioorg. Med. Chem., 2015, 23, 861–867 査読有

<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2014.12.022>

Aliphatic substitution of o-carboranyl phenols enhances estrogen receptor beta selectivity

Kiminori Ohta, Takumi Ogawa, Asako Kaise, Akifumi Oda, Yasuyuki Endo

Chem. Pharm. Bull. 2014, 62, 386–391 査読有

Novel Estrogen Receptor (ER) Modulators Containing Various Hydrophobic Bent-Core Structures

Kiminori Ohta, Takumi Ogawa, Asako Kaise, Yasuyuki Endo

Bioorg. Med. Chem. 2014, 22, 3508–3514 査読有

<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2014.04.022>

Enhanced Estrogen Receptor beta (ER $\beta$ ) Selectivity of Fluorinated Carborane-containing ER Modulators

Kiminori Ohta, Takumi Ogawa, Asako Kaise, Yasuyuki Endo

Bioorg. Med. Chem. Lett., 2013, 23, 6555–6558 査読有

<http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2013.10.067>

[学会発表](計19件)

ホウ素クラスター誘導体の抗腫瘍活性とそのメカニズムについて

皆瀬麻子, 白田 智七美, 太田 公規, 遠藤泰之 日本薬学会第 138 年会、金沢、2018 年 3 月、27PA-pm101

卵巣摘出マウスのうつ様行動に対する新規選択的エストロゲン受容体モジュレーター-BE360 の効果

佐久間若菜, 中川西 修, 根本 互, 小平貴代, 小川卓巳, 太田公規, 遠藤泰之, 只野武, 丹野孝一

第 21 回活性アミンに関するワークショップ, 京都, 2017 年 8 月, p.17-18

Hydrophobicity and electronic effects of carborane for application in medicinal drug design (invited lecture)

Yasuyuki Endo, Keisuke Yamamoto, Kiminori Ohta, Hiroto Yamazaki, Asako Kaise 16th International Meeting on Boron Chemistry (IMEBORON XVI), Hong Kong, 2017 年 7 月、IL-06, p70

Structural differences of the ligand binding pockets between estrogen receptor-alpha and beta

Koichi Kato, Kenichiro Fujii, Tomoki Nakayoshi, Yurie Watanabe, Shuichi Fukuyoshi, Kiminori Ohta, Yasuyuki Endo, Noriyuki Yamaotsu, Shuichi Hirono, Eiji Kurimoto, Akifumi Oda

XXIX IUPAP Conference on Computational Physics, CCP2017, Paris, 2017 年 7 月、P52, p25

カルボラン含有非ステロイド型 2-methoxyestradiol 誘導体の抗腫瘍活性

皆瀬麻子, 太田公規, 遠藤泰之 日本ケミカルバイオロジー学会第 12 回年会、札幌、2017 年 6 月、P-038

新規 SERD 化合物の探索: カルボラン含有 ER リガンドによる ER ダウンレギュレーション

皆瀬麻子, 吉見友弘, 太田公規, 遠藤泰之 日本薬学会第 137 年会、仙台、2017 年 3 月、27PA-am078

フェニルアゾトロポロン誘導体のキサンチンオキシダーゼ阻害活性とそのメカニズム解析

佐藤 大輔, 氣仙 拓也, 太田 公規, 遠藤泰之

日本薬学会第 137 年会、仙台、2017 年 3 月、25Q-pm13

ホウ素クラスターを中心骨格とする新規選択的エストロゲン受容体抑制薬 (SERD) の開発

皆瀬麻子, 吉見友弘, 太田 公規, 遠藤 泰之

第 34 回メディシナルケミストリーシンポジウム、つくば、2016 年 11 月、2P-57

更年期障害モデルマウスのうつ状態に対する新規選択的エストロゲン受容体モジュレーター-BE360 の効果

佐久間 若菜, 中川西 修, 根本 互, 八百板富紀枝, 小川 卓巳, 太田 公規, 遠藤 泰之,

丹野 孝一

生体機能と創薬シンポジウム 2016, 仙台, 2016 年 8 月, p.84

カルボラン含有グリセロール誘導体の抗アンドロゲン活性

皆瀬 麻子, 太田 公規, 小田 彰史, 遠藤泰之

日本薬学会第 136 年会, 横浜, 2016 年 3 月, 28T-pm02.

カルボラン含有 2-methoxyestradiol 誘導体の細胞増殖抑制作用とメカニズム解析

皆瀬麻子, 太田公規, 遠藤泰之 第 33 回メディシナルケミストリーシンポジウム、千葉、2015 年 11 月、1P-41

新規チオフェン含有エストロゲン受容体制御化合物の開発

青砥沙也加, 田口史, 皆瀬麻子, 太田公規, 遠藤泰之

第 33 回メディシナルケミストリーシンポジウム、千葉、2015 年 11 月、2P-37

バナナ型構造を持つエストロゲン受容体リガンドにおけるアゴニスト - アンタゴニストバランスの制御

太田公規, 皆瀬麻子, 遠藤泰之

日本ケミカルバイオロジー学会 第 10 回年会、仙台、2015 年 6 月、P-018

エストロゲン代謝物を基にデザインした球状ホウ素クラスター含有新規抗腫瘍性化合物の開発とメカニズム解析

皆瀬麻子, 太田公規, 遠藤泰之

日本ケミカルバイオロジー学会 第 10 回年会、仙台、2015 年 6 月、p-019

m-カルボランを中心骨格とする新規抗腫瘍性化合物の開発

皆瀬麻子, 遠藤泰之

日本薬学会第 135 年会, 神戸, 2015 年 3 月, 28S-am10

ER サブタイプ選択性を有した SERM を目指したジフェニルメタン誘導体の疎水性構造変換

小島 友寛, 佐藤 学, 小川 卓巳, 太田 公規, 遠藤泰之

日本薬学会第 135 年会, 神戸, 2015 年 3 月, 28S-am11

含硫黄複素環を有する新規エストロゲン受容体リガンドの合成と活性評価

青砥沙也加, 田口史, 皆瀬麻子, 太田公規, 遠藤泰之

第 32 回メディシナルケミストリーシンポジウム、神戸、2014 年 11 月、1P-37

カルボラニルフェノールグリセロール誘導体の抗アンドロゲン活性とその構造活性相関

皆瀬麻子, 阿部孝俊, 太田公規, 小田彰史, 遠藤泰之

第 32 回メディシナルケミストリーシンポジウム、神戸、2014 年 11 月、1P-38

Carborane As Three Dimensional Hydrophobic Pharmacophore in Medicinal Drug Design (Invited Lecture)

Yasuyuki Endo

15th International Symposium on Boron  
Chemistry, Prague, Czech Republic, August,  
2014

〔その他〕

ホームページ等

[http://www.tohoku-mpu.ac.jp/laboratory/soyaku/  
english0.html](http://www.tohoku-mpu.ac.jp/laboratory/soyaku/english0.html)

## 6．研究組織

### (1)研究代表者

遠藤 泰之 (ENDO, Yasuyuki)  
東北医科薬科大学・薬学部・教授  
研究者番号：80126002

### (2)研究分担者

猪股 浩平 (INOMATA, Kohei)  
東北医科薬科大学・薬学部・准教授  
研究者番号：60221785

太田 公規 (OHTA, Kiminori)  
東北医科薬科大学・薬学部・講師  
研究者番号：90347906

### (3)連携研究者

丹野 孝一 (TAN-NO, Koichi)  
東北医科薬科大学・薬学部・教授  
研究者番号：20207260

中川西 修 (NAKAGAWASAI, Osamu)  
東北医科薬科大学・薬学部・准教授  
研究者番号：50296018