

令和 2 年 5 月 28 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2019

課題番号：15K08029

研究課題名(和文) ホウ素化合物ライブラリーを基盤としたミドルアップダウン型創薬研究

研究課題名(英文) Middle up and down type medicinal chemistry based upon boron compound library

研究代表者

太田 公規(Ohta, Kiminori)

昭和大学・薬学部・准教授

研究者番号：90347906

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)：ホウ素化合物ライブラリーの構築とそのスクリーニングから、創薬へ繋がるシードの発見とホウ素化合物の新たな性質の探索を進めた。創薬シードの探索では、癌細胞の増殖抑制作用を示すホウ素化合物を見出すに至った。また、ホウ素化合物の新たな性質としてラジカル捕捉作用を見出した。ラジカル捕捉作用はホウ素化合物1分子で10以上のラジカル分子を捕捉できることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ホウ素は人体に無害であるにもかかわらず、現在までにホウ素を含む医薬品はわずかしかない。ホウ素の特徴を考慮すると、ホウ素化合物を用いてこれまでにない革新的医薬品を創製することが可能である。ホウ素化合物ライブラリーのスクリーニングから抗腫瘍活性を見出したことは、ホウ素化合物を利用した創薬研究を大きく飛躍させることに繋がる。また、ホウ素クラスターのラジカル捕捉作用はこれまでに報告が無く、創薬のみならずホウ素化合物の基礎化学の点からも注目に値する。

研究成果の概要(英文)：The construction and the random screening of the boron compound library was performed as one of the novel medicinal chemistry approaches. The screening by means of the cell proliferation assay using cancer cell lines revealed that several boron compounds showed potent anticancer activity. Furthermore, another screening using a stable DPPH radical revealed that several boron cluster derivatives showed radical scavenge activities that one boron cluster molecule can scavenge more than 10 DPPH radicals.

研究分野：薬化学

キーワード：ホウ素化合物 化合物ライブラリー ランダムスクリーニング カルボラン 抗腫瘍作用 ラジカル捕捉作用

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

ホウ素は植物の必須構成成分で人体には無害といわれているが、ホウ素を含む医薬品はボルテゾミブしかなかった。一方で本研究者は、これまでホウ素化合物の特徴を利用した医薬候補化合物の開発および物理化学的性質の探索研究を進めてきた。ホウ素化合物を利用した創薬では、高選択的かつ強力な活性を示す核内受容体制御化合物を創製し、核内受容体制御メカニズムの解明に貢献している。また、ホウ素化合物に水素結合能を見出し、その性質を利用しフッ素イオンを選択的に検出できる蛍光センサーなども創製している。ホウ素化合物は通常の有機化合物には無い特性を持っており、それらが医薬品として大きな可能性を秘めていることが考えられる。

### 2. 研究の目的

ホウ素が医薬品の構造として有用であることを認知させることは、現在の成熟した低分子医薬を大きく活性化することができる。本研究では、本研究者がこれまでに合成してきたホウ素化合物を一元集約し、ホウ素化合物ライブラリーの構築とそのスクリーニングから医薬品のリードとなるホウ素化合物を意図的に見出すことを目的とした。また、ホウ素に特化した斬新な化合物ライブラリーの構築は、ホウ素含有医薬品の創製を加速する為に必要不可欠である。一方で、ホウ素の新たな物理化学的性質を明らかにする目的でのスクリーニングも進めることにより、ホウ素の基礎化学の発展に貢献すると同時にホウ素の有用性を大きく拡大することも視野に入れた。

### 3. 研究の方法

本研究者が合成したホウ素化合物を集約した化合物ライブラリーを構築した。また、化合物ライブラリーの充実を図る為に、ホウ素クラスター研究の第一人者である東北医科薬科大学 遠藤泰之教授(研究分担者)より化合物の提供を受けた。構築した化合物ライブラリーを使用し、生物活性についてランダムスクリーニングを進めた。その際に、研究分担者である東北医科薬科大学 皆瀬麻子助教の協力を得て、生物学的評価から細胞機能解析、細胞膜透過性および代謝安定性など *in vitro* での実験を進めた。また本研究者は、物理化学的性質に対するスクリーニングとして DPPH ラジカルを利用したラジカル捕捉作用を検討した。

(1) ホウ素化合物ライブラリーは、これまでに合成したホウ素化合物およびその中間体を一元集約し構築を進めた。また遠藤泰之教授からは、数多くのホウ素化合物の提供を受けた。さらに、構築したホウ素化合物ライブラリーを管理するための高機能データベースも合わせて作成した。

(2) 化合物ライブラリーの生物活性スクリーニングは、癌細胞を用いたフェノタイプアッセイをファーストスクリーニングとして利用した。フェノタイプアッセイでは、性質の異なる2種類の癌細胞を用いた。ヒットした化合物については、セカンドスクリーニングとして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、ホウ素化合物の標的分子を探索することとした。また乳がん細胞でヒットした化合物については、エストロゲン受容体への効果を検討した。

(3) 物理化学的スクリーニングでは、安定な DPPH ラジカルの UV 吸収を利用したラジカル捕捉アッセイを検討した。ホウ素化合物により DPPH 由来の 510 nm の吸収が消失する様子について、2 濃度での 1 時間リアルタイム測定を行った。ラジカル捕捉作用を示した化合物については、<sup>1</sup>H NMR 測定による DPPH-H の生成とホウ素化合物の分解を確認した。また、ESR 測定による新たな安定ラジカル分子の生成などを検討した。

### 4. 研究成果

(1) 合成した中間体ならびに目的化合物、遠藤泰之教授から提供された化合物に通し番号を付与し、20mM の DMSO 溶液として -80 °C で一元管理した。登録化合物は 1000 以上に到達したものの、目標とした 2000 まで届かなかった。その原因として、予想以上にホウ素化合物の合成に時間が掛かったことが挙げられる。また、ホウ素化合物ライブラリーに登録した化合物番号から、構造式、分子量、生物活性プロファイルなど様々な情報が得られるよう ChemFinder を利用して高機能データベースを作成し、化合物の部分構造やアッセイ状況から検索できるようにした。ここで習得したデータベース作成のノウハウを、ホウ素化合物の合成などに利用する一般試薬の管理に応用し、部分構造式検索を含めた多目的検索ができる試薬管理システムを構築した。

(2) 癌細胞を利用したランダムスクリーニングでは、数十のホウ素化合物に  $\mu\text{M}$  オーダーの抗腫瘍活性を見出すに至った。ヒットした化合物の構造が大きく異なるため、抗腫瘍活性に関係する標的分子はそれぞれ異なることが予想された。これら化合物については細胞周期などの解析を進めた。その中の1つが G2/M 期で細胞周期が停止することから、チューブリン重合に関与することが予想され、チューブリン重合抑制化合物を見出すに至った。それ以外の化合物については、現在も標的分子の同定を進めている。乳癌細胞に効果を示す化合物については、エストロゲ

ン受容体へ結合しアンタゴニスト作用を示すことが明らかとなった。また、エストロゲン受容体へ作用する化合物をさらに ELISA アッセイにて評価したところ、エストロゲン受容体の分解を促進する化合物を見出すに至った。これについては現在、ユビキチンの誘導による分解促進などを視野に入れ詳細を検討している。

(3) DPPH ラジカル捕捉アッセイからは、フェニルカルボラン誘導体にラジカル捕捉作用を見出し、ベンゼン環上の置換基とラジカル捕捉作用の相関性も明らかにした。ベンゼン環上に電子吸引基が結合しているとラジカル捕捉作用は強くなり、またカルボランとベンゼン環が直結している必要があることから、ベンゼン環上の置換基がカルボランの電子密度を制御し、それがラジカル捕捉作用と大きく関係することが明らかとなった。また、ホウ素化合物 1 分子で 10 以上のラジカル分子を捕捉することが可能であり、これまでに報告がない非常に興味深い性質を示した。カルボランがラジカルを捕捉することと、その捕捉する数の両面で極めて面白い結果である。また、ホウ素化合物と DPPH を共存させた  $^1\text{H}$  NMR 測定で DPPH-H の生成が確認されたことから、1 電子移動による還元反応が主たる反応機構と考えられた。また大変興味深いことに、NMR 実験ではホウ素化合物の分解は認められなかった。これはホウ素化合物が酸化還元の触媒として機能していることを示唆しており、現在その詳細を検討している。ホウ素化合物と DPPH の混合による ESR 実験では、DPPH ピークの減少は確認されたものの、新たな安定ラジカルピークは確認されなかった。これについては、ストップフロー-ESR によるホウ素化合物由来のラジカル種の確認が必要である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kaise Asako, Endo Yasuyuki, Ohta Kiminori	4. 巻 27
2. 論文標題 Anti-cancer activity of m-carborane-containing trimethoxyphenyl derivatives through tubulin polymerization inhibition	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 1139 ~ 1144
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmc.2019.02.018	査読の有無 有
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 Ohta Kiminori, Kaise Asako, Taguchi Fumi, Aoto Sayaka, Ogawa Takumi, Endo Yasuyuki	4. 巻 24
2. 論文標題 Design and Synthesis of Novel Breast Cancer Therapeutic Drug Candidates Based upon the Hydrophobic Feedback Approach of Antiestrogens	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 3966 ~ 3977
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules24213966	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Ohta Kiminori, Ogawa Takumi, Kato Koichi, Oda Akifumi, Endo Yasuyuki	4. 巻 29
2. 論文標題 ER subtype selectivity of m-carborane-containing phenols: C-alkyl groups on the m-carborane cage enhance ER $\alpha$ selectivity	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 2290 ~ 2293
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmcl.2019.06.025	査読の有無 有
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 Kaise Asako, Ohta Kiminori, Fujii Shinya, Oda Akifumi, Goto Tokuhito, Endo Yasuyuki	4. 巻 26
2. 論文標題 Novel androgen receptor full antagonists: Design, synthesis, and a docking study of glycerol and aminoglycerol derivatives that contain p-carborane cages	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 3805 ~ 3811
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmc.2018.06.007	査読の有無 有
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 Ohta Kiminori, Ogawa Takumi, Endo Yasuyuki	4. 巻 27
2. 論文標題 Design and synthesis of iodocarborane-containing ligands with high affinity and selectivity toward ER	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 4030 ~ 4033
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.07.053">https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.07.053</a>	査読の有無 有
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 Kaise Asako, Ohta Kiminori, Endo Yasuyuki	4. 巻 25
2. 論文標題 Novel p-carborane-containing multitarget anticancer agents inspired by the metabolism of 17- $\beta$ -estradiol	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 6371 ~ 6378
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.10.006">https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.10.006</a>	査読の有無 有
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 Kaise Asako, Ohta Kiminori, Shirata Chinami, Endo Yasuyuki	4. 巻 25
2. 論文標題 Design and synthesis of p-carborane-containing sulfamates as multitarget anti-breast cancer agents	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 6417 ~ 6426
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.10.013">https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.10.013</a>	査読の有無 有
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 Asako Kaise, Kiminori Ohta, Yasuyuki Endo	4. 巻 122
2. 論文標題 Design, synthesis, and anti-proliferative activity of 1-(4-methoxyphenyl)-12-hydroxymethyl-p-carborane derivatives	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Eur. J. Med. Chem.	6. 最初と最後の頁 257-263
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.06.029">http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.06.029</a>	査読の有無 有
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14件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 皆瀬麻子、太田公規、遠藤泰之
2. 発表標題 抗腫瘍活性を示すm-カルボラン含有トリメトキシフェニル誘導体
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 皆瀬麻子、大山美優、吉見友弘、太田公規、遠藤泰之
2. 発表標題 球状ホウ素クラスターを基盤とする新規エストロゲン受容体リガンドの設計と合成
3. 学会等名 第37回メディシナルケミストリーシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 皆瀬麻子、太田公規、白田智七美、遠藤泰之
2. 発表標題 マルチターゲット型抗腫瘍活性を示す新規カルボラン誘導体の創製
3. 学会等名 第36回メディシナルケミストリーシンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 皆瀬麻子、吉見友弘、太田公規、遠藤泰之
2. 発表標題 カルボラン含有新規選択的エストロゲン受容体抑制薬 (SERD) 化合物の探索
3. 学会等名 平成29年度東北医科薬科大学 創薬研究センターシンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Koichi Kato, Kenichiro Fujii, Tomoki Nakayoshi, Yurie Watanabe, Shuichi Fukuyoshi, Kiminori Ohta, Yasuyuki Endo, Noriyuki Yamaotsu, Shuichi Hirono, Eiji Kurimoto, Akifumi Oda
2. 発表標題 Structural differences of the ligand binding pockets between estrogen receptor alpha and beta
3. 学会等名 XXIX IUPAP conference on computational physics (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 皆瀬麻子、太田公規、遠藤泰之
2. 発表標題 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
3. 学会等名 ケミカルバイオロジー学会 第12回年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 皆瀬麻子、白田智七美、太田公規、遠藤泰之
2. 発表標題 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
3. 学会等名 日本薬学会 第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 皆瀬麻子、吉見友弘、太田公規、遠藤泰之
2. 発表標題 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制御薬 (SERD) の開発
3. 学会等名 第34回メディシナルケミストリーシンポジウム
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 皆瀬麻子、吉見友弘、太田公規、遠藤泰之
2. 発表標題 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
3. 学会等名 日本薬学会第137年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 皆瀬麻子、阿部孝俊、太田公規、小田彰史、遠藤泰之
2. 発表標題 変異ARに対するカルボラン含有グリセロール誘導体の活性評価
3. 学会等名 平成28年度創薬研究センターシンポジウム
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 皆瀬麻子、太田公規、遠藤泰之
2. 発表標題 新規カルボラン含有医薬化合物創製への挑戦
3. 学会等名 第54回日本薬学会東北支部大会
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 皆瀬麻子、太田公規、遠藤泰之
2. 発表標題 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
3. 学会等名 第33回メディシナルケミストリーシンポジウム
4. 発表年 2015年



1. 発表者名 皆瀬麻子、太田公規、小田彰史、遠藤泰之
2. 発表標題 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
3. 学会等名 日本薬学会第136年会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 皆瀬麻子、太田公規、遠藤泰之
2. 発表標題 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
3. 学会等名 第10回日本ケミカルバイオロジー学会
4. 発表年 2015年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>東北医科薬科大学 創薬化学教室 革新的創薬研究グループ  <a href="http://www.tohoku-mpu.ac.jp/laboratory/soyaku/ohta/index.htm">http://www.tohoku-mpu.ac.jp/laboratory/soyaku/ohta/index.htm</a>          昭和大学薬学部 基礎薬学講座 薬品製造化学部門  <a href="https://www.showa-u.ac.jp/education/pharm/major/organochem.html">https://www.showa-u.ac.jp/education/pharm/major/organochem.html</a></p>
---

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
研究分担者	皆瀬 麻子  (Kaise Asako)  (30710397)	東北医科薬科大学・薬学部・助教    (31305)	

## 6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	遠藤 泰之  (Endo Yasuyuki)  (80126002)	東北医科薬科大学・薬学部・教授     (31305)	