

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：31305

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24790115

研究課題名(和文) ホウ素クラスターの特徴を利用した検査、診断、治療を目的とする創薬研究

研究課題名(英文) Discovery of test reagents, diagnostic agents, and therapeutic agents using physicochemical properties of carborane cage

研究代表者

太田 公規(Ohta, Kiminori)

東北薬科大学・薬学部・講師

研究者番号：90347906

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：ホウ素クラスターの物理化学的特性を利用して、生体内に影響をもたらす分子を認識する化合物を創製した。本研究で見出したフッ素イオンを選択的に認識し蛍光を発する化合物は、環境汚染物質であるフッ素イオンの検出に利用可能である。塩素イオンを選択的に認識する化合物は、イオンチャネルとして嚢胞性線維症などの難治性疾患に応用が期待される。また、本研究で合成したアニオン認識化合物の中から、癌細胞の増殖を抑制する化合物も見出し、その活性にホウ素クラスターの構造が重要であることを確認した。本研究の成果は、ホウ素クラスターによる分子認識を創薬へ応用するきっかけとなる新たな発見である。

研究成果の概要(英文)：Based on the physicochemical properties of carboranes, bio-functional molecules, which recognize biogenic substances, were designed and synthesized. Several discovered anion receptors for fluoride and chloride are useful as reagents for detection of their anions in the environment as well as treatment for the diseases related with their anions. In addition, several anion receptors showed cancer cell proliferation inhibitory activity. SAR studies suggested that carborane cage is essential for anti-cancer activity. These results are important milestones in the application of molecular recognition with carborane cage to test reagents, diagnostic agents, and therapeutic agents.

研究分野：創薬化学

キーワード：ホウ素クラスター 創薬化学 分子認識 超分子化学

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、1分子内にホウ素原子を10個含むため、中性子補足療法に対するホウ素キャリアとして盛んに研究が進められていた。本研究者は、カルボラン構造の特徴に着目し、高い疎水性を利用した医薬候補化合物の創製を進め、高機能性医薬候補化合物の創製に成功している。また、カルボランのC-H水素が水素結合ドナーとして機能することを発見し、それを利用したイオン認識化合物の創製に成功している。無機化合物であるカルボランの性質は未だ知られていない部分が多く、既存の医薬品とは異なる性質を示す化合物を創製できる可能性がある。

2. 研究の目的

カルボランが、高い疎水性を維持しながら、その一部が水素結合ドナーとして機能するという点は、相反する性質を併せ持つ化合物という点で非常に興味深い。本研究者は、カルボランが有する特異的性質を制御すれば、今までにない性質を示す化合物を生み出すことができると考えた。そこで、カルボランを利用した次世代の医薬化合物や診断薬の開発を目的として、既に見出したカルボラン化合物を基に、更なる化合物プロファイリング、構造最適化、新たな機能の発見など、本研究の更なる発展とカルボラン誘導体の実用化へ向けた検討を遂行することとした。また、生体内には多くのアニオンが存在し、それらが人間の生理機能を厳密に制御していることから、アニオン認識を中心とし本テーマの成熟に着手した。

3. 研究の方法

本研究者が見出したカルボラン C-H 水素の水素結合能の利用を中心とした化合物デザインを行い、高機能性アニオン認識化合物の創製を検討した。独自に開発したアニオン認識化合物を用いてアニオンの選択的検出を試みると共に、生体におけるアニオン制御への影響などを検討した。また、カルボランの高い疎水性を利用した創薬研究に、カルボラン C-H 水素の性質を組み入れることで、単なる疎水性ファーマコフォアとしての利用に付加価値を持たせることを検討した。

- (1) トリカルボランに蛍光などの光物性を持たせるべく、フルオレセインとの複合体形成を検討した。また、その複合体にアニオンを添加した際の蛍光変化について精査した。
- (2) カルボランのC-H水素を用いた新規アニオン認識化合物の創製を目指し、ジフェニルアミン骨格を利用した簡便かつ高機能性アニオンレセプターの構築を行った。また、アニオンの選択性、結合定数の算出、アニオン検出の可視化など、実用性を視野に入れた解析を検討した。本研究を多方面へ発展させるべく、様々

な応用を視野に入れ、容易に誘導体化できる官能基を組み込んだ。

- (3) クマリンを蛍光団として有するフッ素イオンセンサーのメカニズム解明と、更なる高感度フッ素イオンセンサーの開発を目指し、フッ素イオンによる化学反応を利用した turn-on 型蛍光フッ素イオンセンサーの開発を試みた。化学反応によりクマリンが遊離し蛍光の回復が予想され、NMR などの分光学的手法によりそのメカニズムを決定した。
- (4) フッ素イオンによりカルボラン C-H 水素の引き抜きが起こることを利用し、FDBP のアルデヒド基への求核反応による chemodosimeter 型蛍光フッ素イオンセンサーの開発を試みた。実用性を考慮すると、速やかに有機反応を収束できることが重要であり、反応時間、濃度、温度、溶媒などを精査した。
- (5) カルボランの疎水性を利用した創薬研究にカルボラン C-H 水素による水素結合形成を組み込み、多角的に受容体の活性を制御できる高機能性医薬候補化合物の創製を試みた。
- (6) 本研究者が既に見出した、もしくは本研究で創製したアニオン認識化合物について、生細胞への影響を評価すべく癌細胞を用いた細胞増殖抑制試験ならびに細胞毒性試験を行った。また、評価した化合物の類縁体を合成し、細胞への影響について構造活性相関研究を行い、カルボランが細胞に与える効果について精査した。

4. 研究成果

- (1) トリカルボランは塩素イオンを認識する化合物で、嚢胞性線維症の治療薬としての可能性を秘める化合物である。しかしながら、光物性を持たないため検出薬や診断薬としては実用的でない。そこで、トリカルボランの応用範囲を拡大するため、蛍光化合物であるフルオレセインとの複合体形成を検討した。フルオレセインの溶液にトリカルボランを添加したところ、フルオレセインの蛍光は消光し、トリカルボランと複合体を形成していることが示唆された。そこへ塩素イオンを添加すると、フルオレセインが放出され、フルオレセインの蛍光が検出された。複合体形成による塩素イオンの蛍光検出が可能となった。
- (2) ジフェニルアミンの NH 水素は比較的酸性が高く、アニオン認識に有効であることを本研究者は見出している。またジフェニルアミン骨格は、高収率かつ簡便に構築できるため、実用性の高いアニオンレセプターの基本構造として最適である。本研究者は、ジフェニルアミン骨格に push-pull 構造を有するジフェニル部分を組み込むことで、蛍光を有するアニオ

ンレセプターを構築した。そのアニオン認識部位にカルボランを導入したところ、アニオンに対する結合定数の顕著な上昇が確認された。また、アニオンの認識により蛍光波長の長波長シフトと蛍光強度の上昇がみられ、期待したアニオンレセプターを創製することに成功した。アニオン分離シリカゲルやアニオン認識ポリマーなど、将来的な化学修飾を考え変換容易な官能基を導入した。

- (3) クマリンとカルボランを結合した蛍光フッ素イオンセンサーは、フッ素イオンによるカルボラン C-H 水素の引き抜きが完全に起こる必要がある。それには 20 等量程度のフッ素イオンが必要であり、高い検出感度は望めない。一方、フッ素イオンによる化学反応では等量で反応が完結することから、高感度検出が期待できる。クマリンとカルボランとの結合をエステルに変換し、フッ素イオンにより生じたカルボランのアニオンが分子内求核反応を起こし、蛍光性のクマリンが遊離する化合物を合成した。フッ素イオンの存在によりクマリンの蛍光が増強され、高感度検出は可能となったものの、反応時間に問題が残った。また、分光学的解析により反応のメカニズムなどを明らかにした。
- (4) 本反応はフッ素イオンの存在により起こるため、極めて選択性の高い蛍光フッ素イオンセンサーを構築することに成功した。しかしながら、反応が可逆反応であること、また反応時間が 1 時間程度かかることなどの問題点により実用的なフッ素イオン検出薬とはならなかった。溶媒や濃度などの検討もしたが、数分以内でのフッ素イオンの検出は難しかった。また本化合物は、フッ素イオンの共存により蛍光が消失する turn-off 型センサーであるため感度が悪く、この点でも改善が必要であった。
- (5) カルボランの C-H 水素を受容体のアミノ酸残基との水素結合へ利用すべく、C-H 水素を残した化合物を合成し、その生物活性について精査した。カルボラン C-H 水素の存在により活性が低下する化合物が多く、疎水性構造と水素結合の両方面からのアプローチは想像した以上に難しかった。しかしながら、C-H 水素の存在により抗腫瘍活性を示す化合物が、癌パネルスクリーニングから見出された。標的的同定や構造活性相関研究など、今後の詳細な研究が必要であるが、創薬におけるカルボランの新たな利用法として重要な結果である。
- (6) FDBP を蛍光団として有するフッ素イオンセンサーに細胞死誘導活性を見出した。類縁体の構造活性相関研究から、カルボラン環が活性発現に必須であることが明らかとなった。また、カルボランの C-H

水素の必要性も示唆されているが、アニオン認識との関係性までは明らかにすることはできなかった。本研究成果は、カルボランを利用したアニオン認識化合物に、新たな研究の方向性を与えるきっかけとなった。

5. 主な発表論文等

(雑誌論文)(計9件)

Ohta, K.; Ogawa, T.; Kaise, A.; Endo, Y.; Novel estrogen receptor (ER) modulators containing various hydrophobic bent-core structures; *Bioorg. Med. Chem.* 査読有, **2014**, *22*, 3508-3514.

DOI: 10.1016/j.bmc.2014.04.022

Ohta, K.; Ogawa, T.; Kaise, A.; Oda, A.; Endo, Y.; Aliphatic substitution of o-carboranyl phenols enhances estrogen receptor beta selectivity; *Chem. Pharm. Bull.* 査読有, **2014**, *62*, 386-391.

DOI: 10.1248/cpb.c13-00796

Ohta, K.; Ogawa, T.; Kaise, A.; Endo, Y.; Enhanced estrogen receptor beta (ER β) selectivity of fluorinated carborane-containing ER modulators; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 査読有, **2013**, *23*, 6555-6558.

DOI: 10.1016/j.bmcl.2013.10.067

太田公規; 超分子化学を利用した創薬: 麻酔剤の使用法に革命を起こすホスト化合物; *ファルマシア*; 査読無, **2013**, *49*, 444

Fujii, S.; Ohta, K.; Goto, T.; Oda, A.; Masuno, H.; Endo, Y.; Kagechika, H.; *Med. Chem. Commun.* 査読有, **2012**, *3*, 680-684.

DOI: 10.1039/c2md00294a

Ohta, K.; Endo, Y.; ホウ素クラスターを用いた実践的創薬研究; *Farumashia*, 査読有, **2012**, *48*, 504-508.

Ohta, K.; Ogawa, T.; Endo, Y.; Estrogenic activity of B-fluorinated o-carborane-1,2-bisphenol synthesized via S_NAr reaction; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 査読有, **2012**, *22*, 4728-4730.

DOI: 10.1016/j.bmcl.2012.05.068

Ohta, K.; Taguchi, F.; Endo, Y.; Facile synthesis and estrogenic activity of arylpyrrole-based bisphenol derivatives; *Heterocycles*, 査読有, **2013**, *86*, 165-170.

DOI: 10.3987/COM-12-S(N)56

Ohta, K.; Kawachi, E.; Shudo, K.; Kagechika, H.; Structure activity-relationship study on benzoic acid part of diphenylamine-based retinoids; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 査読有, **2013**, *23*, 81-84.

〔学会発表〕(計 24 件)

- 1 太田公規、皆瀬麻子、遠藤泰之; トロポロン誘導体の抗腫瘍活性における構造活性相関; 第 32 回メディシナルケミストリーシンポジウム; 神戸国際会議場(兵庫県・神戸市); 2014 年 11 月 27 日
- 2 皆瀬麻子、阿部孝俊、太田公規、小田彰史、遠藤泰之; カルボラニルフェニ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; 第 32 回メディシナルケミストリーシンポジウム; 神戸国際会議場(兵庫県・神戸市); 2014 年 11 月 27 日
- 3 太田公規、皆瀬麻子、遠藤泰之; 新規アゾトロポロン誘導体の細胞増殖抑制活性; 日本薬学会第 135 年会; デザインクリエティブセンター神戸(兵庫県・神戸市); 2015 年 3 月 27 日
- 4 太田公規、皆瀬麻子、遠藤泰之; 化合物ライブラリーの構築とランダムスクリーニングからの創薬展開; 創薬研究センターシンポジウム; 東北薬科大学(宮城県・仙台市); 2013 年 5 月 25 日
- 5 太田公規、Chalermkiat Songkram、川幡正俊、山口健太郎、遠藤泰之; カルボランの特性を利用した tripod 宿主化合物の創製; 次世代を担う有機化学シンポジウム; 日本薬学会会長井記念館(東京都・渋谷区); 2013 年 5 月 24 日
- 6 青砥沙也加、皆瀬麻子、太田公規、遠藤泰之; アダマンタンを疎水性骨格とするエストロゲン受容体リガンドの探索: 疎水性構造の変換による活性制御; 第 52 回日本薬学会東北支部大会; 東北大学(宮城県・仙台市); 2013 年 10 月 20 日
- 7 小島友寛、佐藤学、小川卓巳、太田公規、遠藤泰之; 疎水性構造の変換による時フェニルメタン誘導体の ER サブタイプ選択性; 第 52 回日本薬学会東北支部大会; 東北大学(宮城県・仙台市); 2013 年 10 月 20 日
- 8 太田公規、石井康博、遠藤泰之; 新規キサンチンオキシダーゼ阻害剤の創製; 日本薬学会第 134 年会; 熊本大学(熊本県・熊本市); 2014 年 3 月 29 日
- 9 皆瀬麻子、阿部孝俊、太田公規、遠藤泰之; 新規カルボラン含有 AR アンタゴニストの開発: カルボラン環上炭素の位置異性と活性との関係; 日本薬学会第 134 年会; 熊本大学(熊本県・熊本市); 2014 年 3 月 29 日
- 10 Ohta, K.; Songkram, C.; Yamaguchi, K.; Fabio, P.; Endo, Y.; Design and synthesis of artificial molecular receptors with 1,3,5-tris(o-carboranyl)arene structure; International symposium for the 70th anniversary of the tohoku branch of the chemical society of Japan; 東北大学(宮城県・仙台市); 2013 年 9 月 29 日
- 11 皆瀬麻子、太田公規、遠藤泰之; エストロゲン代謝物を基にデザインした新規抗腫瘍性化合物の探索; 創薬研究センターシンポジウム; 東北薬科大学(宮城県・仙台市); 2013 年 5 月 25 日
- 12 太田公規、石井康博、遠藤泰之; キサンチンオキシダーゼ阻害活性を有するとリアジン誘導体; 第 31 回メディシナルケミストリーシンポジウム; 広島大学(広島県・広島市); 2013 年 11 月 21 日
- 13 皆瀬麻子、阿部孝俊、太田公規、遠藤泰之; カルボラニルフェニルグリセロール誘導体におけるカルボラン環上炭素の位置異性と抗アンドロゲン活性の関係; 第 31 回メディシナルケミストリーシンポジウム; 広島大学(広島県・広島市); 2013 年 11 月 21 日
- 14 中川西修、佐々木俊裕、斎藤智恵、深澤鈴、星杏奈、根本瓦、八百板富紀枝、荒井裕一朗、只野武、小川卓巳、太田公規、遠藤泰之、丹野孝一; 眼球摘出マウスの認知障害に対する新規化合物 BE360 の改善効果; 第 17 回活性アミンに関するワークショップ; AOSSA 福井(福井県・福井市); 2013 年 8 月 24 日
- 15 中川西修、佐々木俊裕、斎藤智恵、深澤鈴、星杏奈、根本瓦、八百板富紀枝、小川卓巳、太田公規、遠藤泰之、只野武、丹野孝一; 眼球摘出マウスのうつ様行動に対する新規化合物 BE360 の改善効果; 生体機能と創薬シンポジウム 2013; 九州大学(福岡県・福岡市); 2013 年 8 月 29 日
- 16 皆瀬麻子、後藤徳仁、太田公規、遠藤泰之; 前立腺がんの根治を目指した新規 pureAR アンタゴニストの創製; 創薬研究センターシンポジウム; 東北薬科大学(宮城県・仙台市); 2012 年 5 月 19 日
- 17 伊藤将、太田公規、遠藤泰之; o-カルボランの特異的反応を利用した高選択的フッ素アニオンレセプターの開発; 創薬研究センターシンポジウム; 東北薬科大学(宮城県・仙台市); 2012 年 5 月 19 日
- 18 伊藤将、太田公規、遠藤泰之; 電子不足平面と活性化 C-H 水素によるアニオン認識; 第 9 回ホスト・ゲスト化学シンポジウム; 北海道大学(北海道・札幌市); 2012 年 5 月 26 日
- 19 太田公規、今野俊輔、遠藤泰之; カルボラン誘導体とシクロデキストリンの複合体形成と結合様式; 第 9 回ホスト・ゲスト化学シンポジウム; 北海道大学(北海道・札幌市); 2012 年 5 月 26 日
- 20 太田公規; ホウ素クラスター研究の新展開: 分子認識を基盤とした機能性分子の構築; 日本薬学会東北支部化学系薬学若

- 手研究セミナー；東北大学（宮城県・仙台市）；2012年9月1日
- 21 太田公規、小川真澄、伊藤将、遠藤泰之；新規キサンチンオキシダーゼ(XO)阻害剤の探索；第30回メディシナルケミストリーシンポジウム；タワーホール船堀（東京都・江戸川区）；2012年11月29日
- 22 皆瀬麻子、太田公規、遠藤泰之；エストロゲン代謝物を基にデザインした新規カルボラン含有チューブリン重合阻害剤；第30回メディシナルケミストリーシンポジウム；タワーホール船堀（東京都・江戸川区）；2012年11月29日
- 23 太田公規、小川真澄、伊藤将、遠藤泰之；キサンチンオキシダーゼ阻害剤の探索；日本薬学会第133年会；パシフィコ横浜（神奈川県・横浜市）；2013年3月28日
- 24 皆瀬麻子、太田公規、遠藤泰之；2-メトキシエストラジオールをリード化合物とした新規疎水性骨格を有するチューブリン重合阻害剤の開発；日本薬学会第133年会；パシフィコ横浜（神奈川県・横浜市）；2013年3月28日

6. 研究組織

研究代表者

太田 公規 (OHTA, Kiminori)

東北薬科大学・薬学部・講師

研究者番号：90347906