

総説

ホウ素クラスターの医薬化学への応用

遠藤 泰之

Application of Boron Clusters for Medicinal Chemistry

Yasuyuki ENDO

(Received November 22, 2003)

1. はじめに

ホウ素が化学の世界で注目されたのはさほど古くはなく、1960年代以降である。現在では有機化学の基本的反応とされている水素化ホウ素(ボラン)を利用したアルケンへのハイドロボレーション反応を開発したH. C. Brownが「新しい有機合成法の開発」でノーベル化学賞を受賞したのが1979年であった。また、W. N. Lipscombが「ボランの構造に関する研究」でノーベル化学賞を受賞したのは、その3年前、1976年であった。このように、ホウ素化学は1970年代に画期的な発展を遂げ、その後ホウ素の特性を利用する有機反応の研究という分野の進展により、アリールボロン酸を用いたMiyaura-Suzukiカップリング等、現在の有機合成化学に不可欠な存在となっている。一方、水素化ホウ素(ボラン)の構造研究の分野では、原子価結合法では電子状態や分子構造が理解しにくいホウ素クラスターと呼ばれるこれらの化合物の構造が体系化され、多彩な金属錯体の形成等、無機化学者によって構造化学が研究されてきた。水素化ホウ素化合物のクラスターおよびカゴ状構造は無機化学の教科書では必ず詳述される分野であるが、医薬化学との接点は、最近まで ^{10}B の中性子による核反応を利用する癌の中性子捕捉療法に含ホウ素クラスターが用い

られている例のみであった。本総説では、ホウ素クラスターの概略、癌中性子捕捉療法への応用の有機化学的側面、そして、著者らが展開している医薬化学への新しい応用について述べる。

2. 二十面体型ホウ素クラスター：ジカルバークロゾ-ドデカボラン(カルボラン)

水素化ホウ素の最小の構造は BH_3 であるが、単一の物質としては存在せず、エーテル、スルフィド、アミンとの複合体として存在する。安定な複合体の存在はホウ素の最外殻電子が6個で、オクテット則を満足していないため強いLewis酸性を示すことによる。水素化ホウ素単一で存在する最小の物質はジボラン B_2H_6 (1)である。ハイドロボレーション反応の試薬として使用されるこの化合物自身、その構造は超原子価化合物であり、ホウ素から末端の水素への結合は通常の sp^3 であるが、2つのホウ素原子が中央の水素原子との間に3中心2電子(3c,2e)結合2つを形成している。さらに高次の水素化ホウ素ペンタボラン B_5H_9 (2)では3つのホウ素原子間にも3c,2e結合が形成される。ジボラン、ペンタボランは化学式 B_nH_{n+4} で表わされ分子全体では電氣的に中性である。さらに大きいホウ素クラスターになると $closo$ (ギリシャ語の「かご」)構造と呼ばれる完全に閉じた三角面多

水素化ホウ素の分類と電子数

| 型 | 化学式 | 骨格電子の数 | 例 |
|-------------------|-------------------------------|--------|---|
| $closo$ -(クロゾ) | $(\text{B}_n\text{H}_n)^{2-}$ | $2n+2$ | $(\text{B}_5\text{H}_5)^{2-} \sim (\text{B}_{12}\text{H}_{12})^{2-}$ |
| $nido$ -(ニド) | B_nH_{n+4} | $2n+4$ | $\text{B}_2\text{H}_6, \text{B}_5\text{H}_9, \text{B}_6\text{H}_{10}, \text{B}_{10}\text{H}_{14}$ |
| $arachno$ -(アラクノ) | B_nH_{n+6} | $2n+6$ | $\text{B}_4\text{H}_{10}, \text{B}_5\text{H}_{11}$ |

面体の各頂点に B 原子があって化学式 $(B_nH_n)^{2-}$ で表わされる一連の構造も安定に存在するようになる。この構造では B 原子は外側の水素との sp 軌道による通常の共有結合に 1 電子を使い、残りの 2 電子をクラスター構造に供給している。すなわち、n 個のホウ素原子から計 $2n$ 個の電子がクラスターに供給される。この *closo* 構造の安定化には $2n+2$ 個の電子が必要であるから余分の 2 電子 (-2 価) が加わると非局在化により安定化した構造となる。この $2n+2$ 個の電子を骨格電子と呼ぶ。代表的な *closo*-クラスター構造をもつ $(B_{12}H_{12})^{2-}$ (3) の場合には、B 原子から各 2 個、計 24 個、2 価のアニオンであるから

2 電子が加わり 26 個の電子が骨格電子として非局在化している。

$(B_nH_n)^{2-}$ の B 原子のうち 2 個を C 原子に置換した場合、C 原子は C-H 結合に 1 電子、クラスター構造に各 3 電子を供給することができるから電気的中性の状態で $2n+2$ 個の骨格電子を有する安定なクラスターを形成することができる。この $C_2B_{n-2}H_n$ 構造をカルボランと呼んでいる。中でも最も構造学的に最も安定な三角面 20 面体構造の $C_2B_{10}H_{12}$ (dicarba-*closo*-dodecaboranes) をカルボランと言うことが多く、この場合 10 個の B 原子から各 2 個、2 個の C 原子から各 3 個、合計 26 個の電子が骨格電子として非局在化して

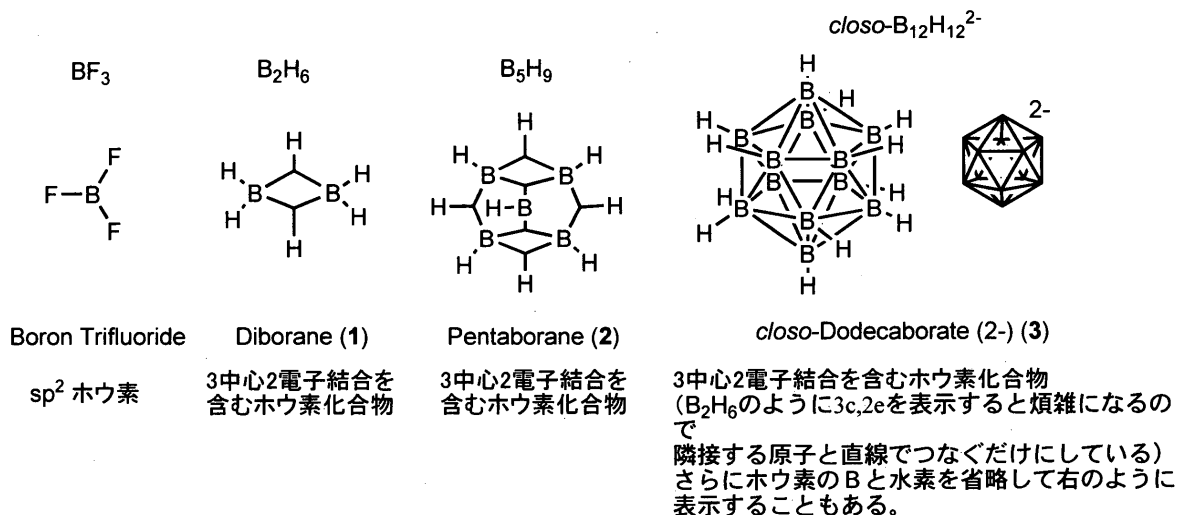


Fig. 1. Structures of boranes with 3-center 2-electron bonds

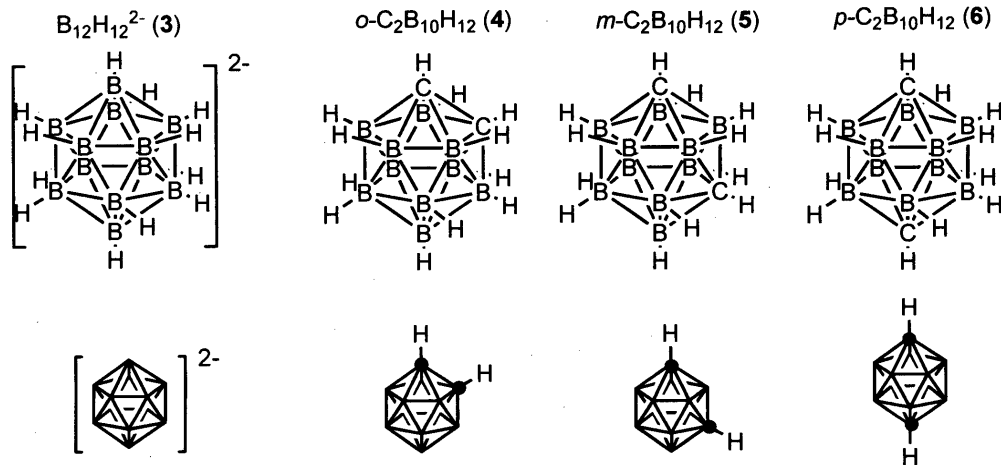


Fig. 2. Structure of *closo*-dodecaborate and dicarba-*closo*-dodecaborane isomers

いる。これらの電子非局在化による構造安定化はベンゼン等の芳香環が $4n+2$ 個の π 電子の非局在化により安定化するのと同じように考えれば判りやすい。異なるところはベンゼンの電子非局在化が平面的であるのに対して、カルボランの電子非局在化が球面上に広がっている点であり、カルボランは三次元的なベンゼンとも言われる (Fig. 1, Fig. 2)。

カルボランは水素化ホウ素化合物の中で、例外的な熱安定性を示し、多くのタイプの反応試薬に対しても安定である。¹⁾ その構造は正 20 面体に近い炭素 2 原子を含むホウ素クラスター化合物であり、炭素の位置により *o*-、*m*-、*p*-カルボラン (1,2-, 1,7-, 1,12-dicarpa-*closo*-dodecaborane 4, 5, 6) の 3 種の異性体が存在す

る。*o*-カルボランはアセチレンを原料として、Lewis 塩基の共存下 *nido*-decaborane (14) ($B_{10}H_{14}$) (7) と加熱することにより合成できる。置換アルキンも同様に $B_{10}H_{14}$ (7) により置換 *o*-カルボランに一段階で合成できるので、この方法はカルボラン環を有する分子の合成にとって大きな利点となる。一方、無置換 *o*-カルボランは、400 °C から 700 °C に加熱することにより熱力学的に安定な *m*-及び *p*-カルボランに誘導できる。 $B_{10}H_{14}$ (7)、*o*-(4)、*m*-(5)、*p*-カルボラン (6) は市販されている。*o*-、*m*-、*p*-カルボランの 2 つの炭素原子上のプロトンは弱いながら酸性を有しているので (pKa 22-24) *n*-BuLi 等の強塩基により引き抜くことができ (8)、アルキルハライドやアルデヒド等の求電子剤が反応して

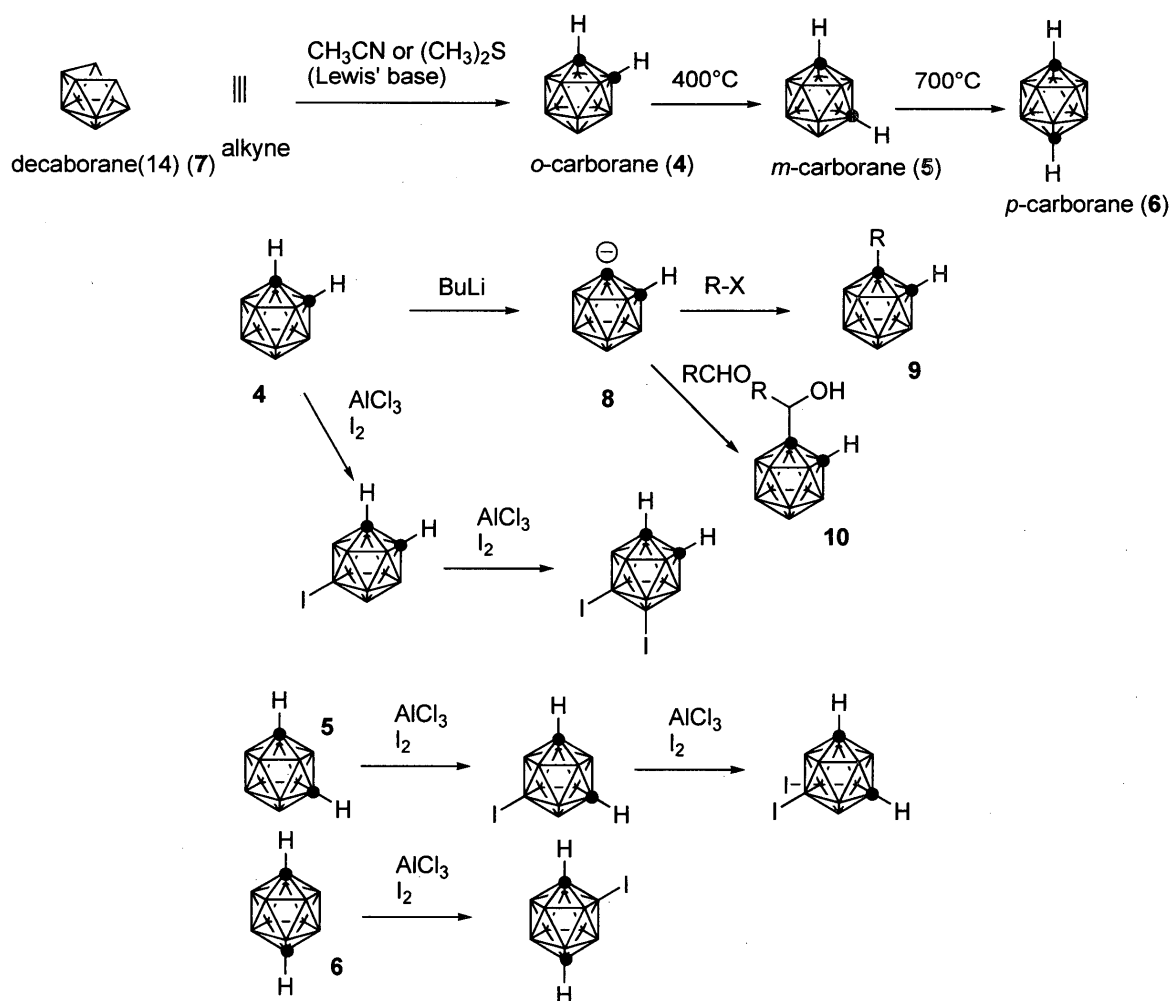


Chart 1. Preparation of carborane cage and typical functionalization

C-アルキル (9) あるいはC-(1-ヒドロキシアルキル) カルボラン (10) が容易に合成できる。¹⁾ また、C-フェニル化、アルケニル化も可能である。²⁾ 一方、カルボラン環上へのFriedel-Craftsハロゲン化等の求電子反応は最も電子密度が高いホウ素原子、*o*-カルボランの場合9, 12位,³⁾ *m*-カルボランの場合9, 10位,⁴⁾ *p*-カルボランの場合3位⁴⁾ に進行し、対応するB-iodo体が選択的に合成できる。¹⁾ これらのB-iodo体はGrignard反応、パラジウム触媒によるカップリング反応により、B-アルキル、B-フェニル、B-アルケニル体に誘導することが可能である (Chart 1).⁵⁾

このように、カルボランはその環上への選択的置換基導入が可能であり、*o*-, *m*-, *p*-C原子の位置異性体を組み合わせることにより医薬を含む機能性分子における多彩な分子設計、合成が可能である。カルボランの特徴的な性質として挙げられる1) 高いホウ素含量 2) 物理的・化学的安定性 3) 球状の立体形状 4) 分子表面の高い疎水性が医薬化学の分野でどのように応用できるかを見ていこう。

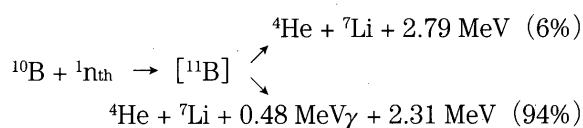
3. 癌の中性子捕捉療法への含ホウ素クラスターの応用

3-1 癌中性子捕捉療法

ホウ素は生体内の微量必須成分であり、幾つかの含ホウ素抗生物質、例えば、boromycin, asplamomycin等が見い出されているが、医薬の素材として広範に利用されているものではない。医薬品化学の分野で含ホウ素化合物が注目され始めたのは癌の中性子捕捉療法 (boron neutron capture therapy) の概念が中性子の発見後、僅

か数年にして提案された1930年代に遡ることができる。

熱中性子 (低速中性子) は癌の放射線治療に用いられるX線、 γ 線等に比較して極めて小さいエネルギー (0.025eV) しかもたず、人体に照射しても影響はほとんどない。しかし、ある種の元素同位体 (^6Li , ^{10}B , ^{113}Cd , ^{149}Sm , ^{155}Gd , ^{157}Gd , ^{235}U) が熱中性子の照射を受けると核反応が起こり、細胞破壊に十分なエネルギー (2.79 MeVあるいは2.31 MeV) が発生する。 ^{10}B の反応: 次式)



この際発生する α 線 (^4He) や弱い γ 線のエネルギーの大部分は細胞内で吸収されてしまう。従って、これらの元素同位体を癌細胞に特異的に取り込ませることが可能となれば、周囲の正常細胞に影響を与えずに有効な癌治療法となりうる。上記の元素同位体の中で、 ^{10}B は天然の同位体存在比が約20% (^{11}B が80%) と高く、 ^{10}B の同位体比を高めた化合物を入手することもできる。また、人体への毒性がなく、生体内での安定性に優れていることにより ^{10}B 含有化合物が中性子捕捉療法に最も適していると考えられ、ホウ素中性子捕捉療法 (Boron Neutron Capture Therapy: BNCT) として、幅広く研究されている。⁶⁾

中性子捕捉療法が適用されている癌の1つは脳腫瘍である。これは、脳腫瘍の存在する脳組織では脳血液関門の働きが弱まり、血中の水溶性化合物が正常な脳組織より取り込まれ易いこ

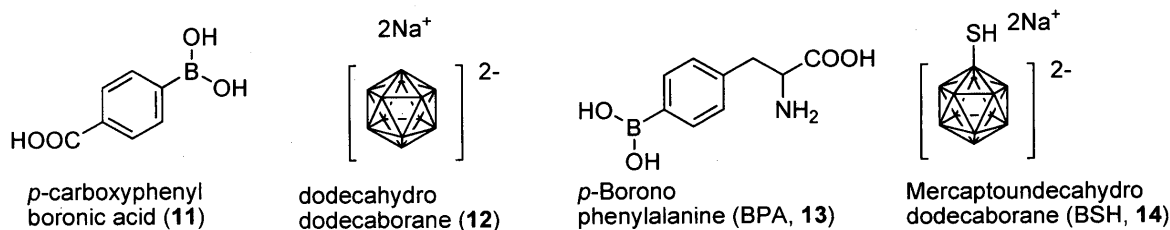


Fig. 3. Boron carrier for neutron capture therapy

と利用できるからである。1950年代に中性子捕捉療法の研究を開始したのも脳神経外科医である Sweet らであった。当時、試用されたホウ素化合物は *p*-carboxyphenylboronic acid (11), Na₂B₁₂H₁₂ (12) (Hawthorne ら) である。これらはマウスにおける腫瘍組織/正常組織の分布比が5~10倍に達するため、期待が持たれ、臨床試行が開始された。次いで、*p*-boronophenylalanine (13) (Soloway ら) が開発され、1960年代末、畠中らが Na₂B₁₂H₁₁SH (14) を用いた臨床応用を我国で開始して、成果を挙げ、世界的にも注目を集めた。⁶⁾ しかし、癌組織や癌細胞への ¹⁰B 化合物の選択的取込みの面から、新しい分子の設計が望まれている (Fig. 3)。

中性子捕捉療法において効果的に癌細胞を死滅させるには1つの細胞あたり 10⁸ ~ 10⁹ 個の ¹⁰B 原子を導入することが必要とされている。これは細胞内容量を 3.6 x 10⁻⁹ ml と仮定すると、¹⁰B-*p*-boronophenylalanine (13) の場合に 10⁻⁵ M 以上に相当する高濃度であり、薬理的活性を示す濃度よりもはるかに高い。したがって、中性子捕捉療法のホウ素キャリアーとしては 1) 1分子あたりのホウ素含量が高い 2) 生体内で安定で毒性が少ない 3) 細胞内での核移行性が高い 4) 癌細胞/正常細胞の分布比が高い等の性質をもつ化合物を目指して研究が進められてきた。カルボランはその高いホウ素含量という性質から中性子補足療法に適した構造単位である。細胞構成物質にカルボランを結合した化合物として、アミノ酸誘導体、核酸前駆体等が、また、ポルフィリン誘導体、DNA 結合物質が合成されている。さらに、共に中性子により核反応を起こす、カルボランとガドリニ

ウムを含む化合物も合成されている。

3-2 アミノ酸誘導体

アミノ酸及びその誘導体は増殖が盛んな癌細胞のタンパク質合成経路に取込まれ癌組織に集まると考えられる。前述の *p*-boronophenylalanine (13) は、メラノーマ (悪性黒色腫) のフェニルアラニンからメラニンの合成系に取込まれ、メラノーマ細胞に蓄積する。⁷⁾ 皮膚表面への中性子線照射が容易なことからも *p*-boronophenylalanine を用いたメラノーマ治療は臨床的に行われている。しかし、*p*-boronophenylalanine は分子中にホウ酸として1個のホウ素原子が存在するのみである。カルボラン含有アミノ酸は、より効果的であると考えられる。フェニルアラニンのベンゼン環を *o*-カルボランに変換した *o*-carboranylalanine (15) の最初の合成は Brrattsev と Zakharkin により *o*-carboranylacetaldehyde (16) からの Strecker 法によるアミノ酸合成,⁸⁾ あるいはアルキンを有する acetoamidomalonate (17) を B₁₀H₁₄ で処理することによりカルボラン環を形成する合成法⁹⁾ により合成された。*o*-Carboranylalanine の *S* 体の最初の合成は酵素により分割した *S*-ethynylalanine 誘導体 (18) を B₁₀H₁₄ でのカルボラン環構築、次いで加水分解によって行われた。¹⁰⁾ その後、19 の不斉プロパルギル化¹¹⁾ や 20 の不斉アミノ化¹²⁾ を鍵反応とする *o*-carboranylalanine の光学活性体の合成法が開発された (Chart 2, Chart 3)。

4-Carboranylphenylalanine (21), *O*-(*o*-carboranylmethyl)tyrosine (22), DOPA 類縁体としての 5-*o*-carboranyl-3,4-dihydroxyphenylalanine (23) の合成等も行われている。¹³⁾ また、Kahl らは carboranedicarboxylic acid からの Curtius

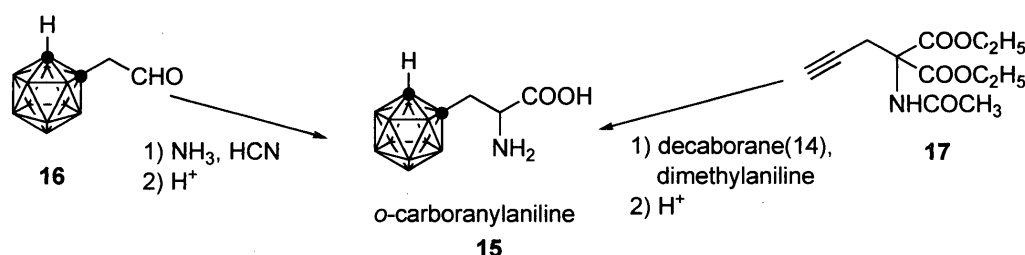


Chart 2. Early synthesis of *o*-carboranylalanine

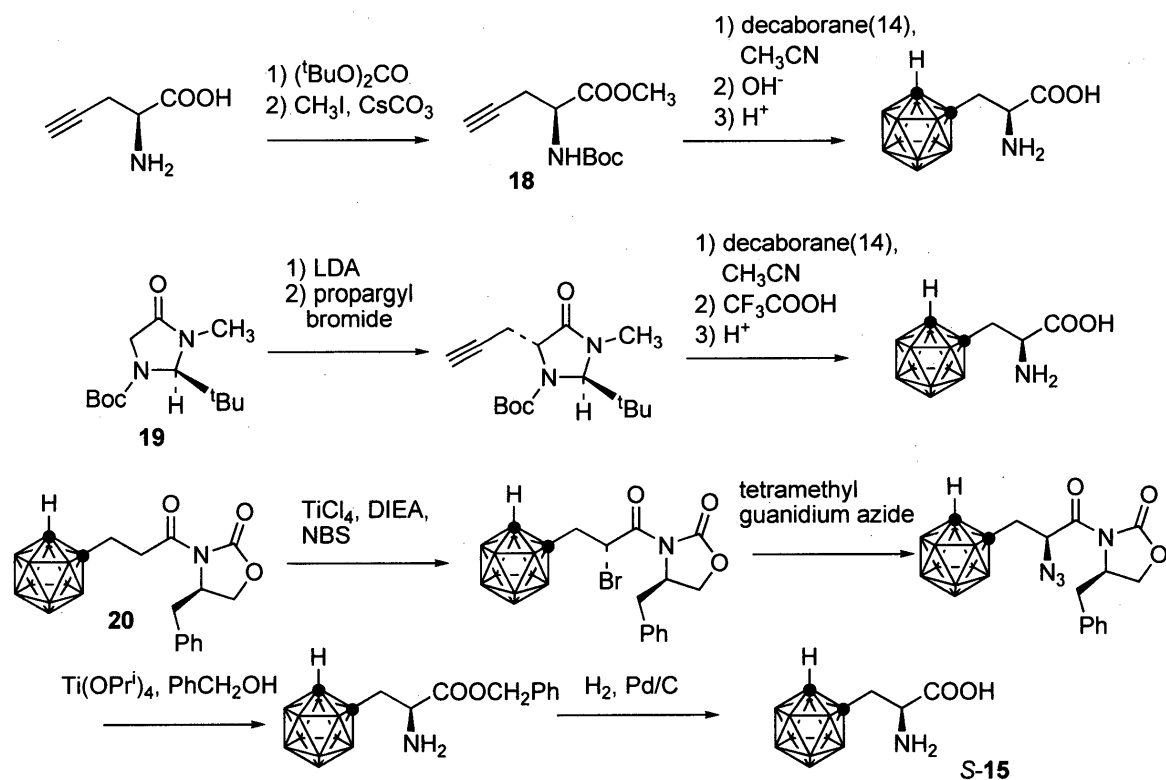


Chart 3. Asymmetric syntheses of S-o-carboranylalanine

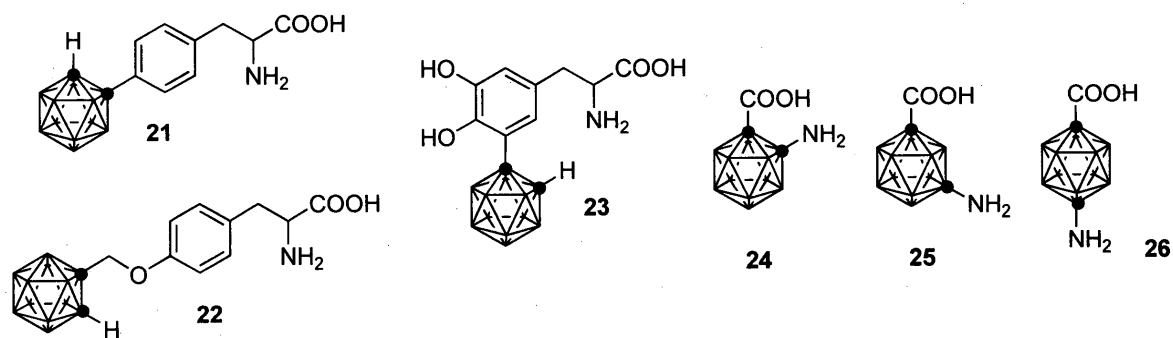


Fig. 4. Carborane-containing amino acid derivatives

転位により *o*-, *m*-, *p*-カルボランの2つの炭素上にアミノ基とカルボキシル基を導入したアミノ酸 (**24**, **25**, **26**) を合成している。¹⁴⁾ これらは、中性子捕捉療法に限らずカルボラン含有生理活性化合物の設計に有用である (Fig 4)。

3-3 DNA 前駆体

増殖が盛んな癌細胞の核酸合成系への介入は、一般の核酸合成阻害による抗癌性腫瘍薬と同様に

中性子捕捉療法においても有効な標的となりうる。この観点からカルボラン含有核酸塩基、ヌクレオシドが設計・合成されている。¹⁵⁾ 最初のカルボラン含有ヌクレオシドはヌクレオシドの糖部分にカルボランを導入した化合物 (**27**) として合成された。¹⁶⁾ ピリミジン環へ直接カルボランを導入した化合物 (**28**) は5-iodonucleoside からパラジウム触媒によるエチニル基への変換、

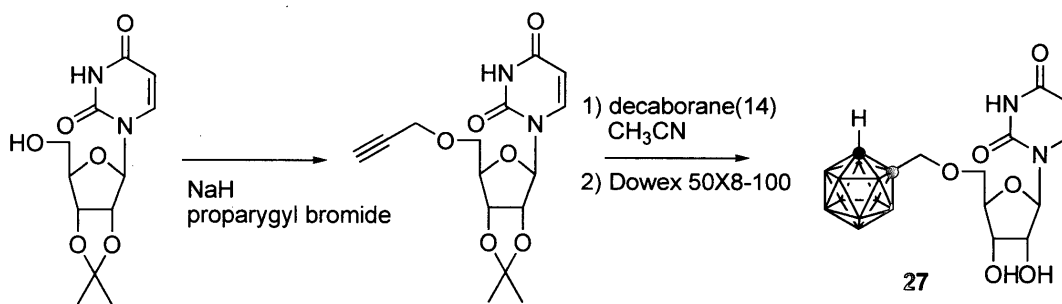


Chart 4. The first synthesis of carborane-containing nucleoside

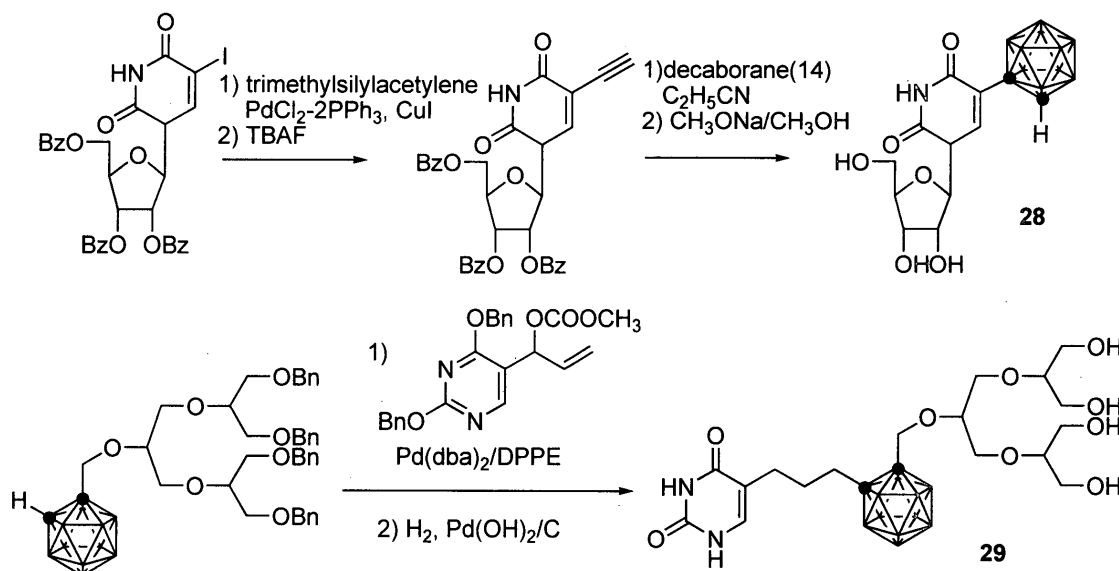


Chart 5. Synthesis of nucleoside with carborane directly on pyrimidine ring, and related water-soluble nucleoside with carborane.

B₁₀H₁₄ でのカルボラン環構築により合成されている。¹⁷⁾ カルボラン環は疎水性が高く溶解性や生体内分布に問題がある。この点を改善する化合物としてポリオール単位を導入して水溶性を高めたカルボラン-核酸塩基誘導体 (29) も合成されている (Chart 4, Chart 5)。¹⁸⁾

3-4 DNA 結合物質

核酸への結合活性を有する化合物も抗悪性腫瘍薬として使用されている。これらの化合物は doxorubicin のように DNA 2 重らせんの塩基ペア間にインターカレートしたり, netropsin の

ように DNA 2 重らせんの Minor Groove に結合することにより DNA の複製や mRNA への転写を阻害する。(Fig. 5) カルボラン含有 DNA インターカレーターとして, 典型的なインターカレーターである acridine に *o*-カルボランを導入した化合物 (30),¹⁹⁾ ethidium に *o*-カルボランを導入した化合物 (31)²⁰⁾ が合成されている。DNA minor groove binder に関して, DNA 2 重らせんの AT rich な groove に結合する distamycin (32) にカルボラン環を導入した化合物 (33), さらにポリオールにより水溶性を高めた化合物 (34)

が合成されている (Chart 6, Fig. 6).²¹⁾

3-5 カルボラン-ガドリニウム複合体

近年, ガドリニウム ^{157}Gd が高い中性子捕捉効率から注目されている. キレート剤 diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA) にカルボランを導入した化合物は DTPA エステル (35) に carboranyl allyl carbonate (36) を反応

させることにより得られる. この化合物 (37) に Gd(III) chloride を加えるとカルボラン-ガドリニウム複合体 (38) を合成することができる.²²⁾ この化合物はカルボランとガドリニウムという2種の中性子捕捉要素をもち, また, ^{157}Gd は MRI により生体内での分布をモニターできるという優れた特徴をもつ (Chart 7).

3-6 nido-カルボラン誘導体

カルボランの高いホウ素含量と安定性は中性子捕捉療法の高ホウ素キャリアーとしての優れた性質であるが, 高い疎水性, すなわち水溶性の欠如は生体内分布に関しては不利である. しかし, *o*-カルボランは容易に水溶性の誘導体に導くことができる. *o*-カルボラン (4) はアルコキシド, 脂肪族アミン, フッ素イオンのような強い求核剤により, カルボラン環上の最も電子密度が低いホウ素原子 (3 位, 6 位) への求核攻撃を受け (39), その B 原子が脱離して1価の負電荷をもつ *nido*-カルボラン (*nido*- $\text{C}_2\text{B}_9\text{H}_{12}$, 40) を生成する (Chart 8).²³⁾

したがって, 最も簡単な水溶性を高める方法として, *closo*-カルボラン環をアルコキシドにより *nido*-アニオンに変換する手法がとられる. この方法で *nido*-カルボラン環を有するアミノ酸が合成されている. また, 最近, *nido*-カルボラン環を有するオリゴフォスフェート (41) が

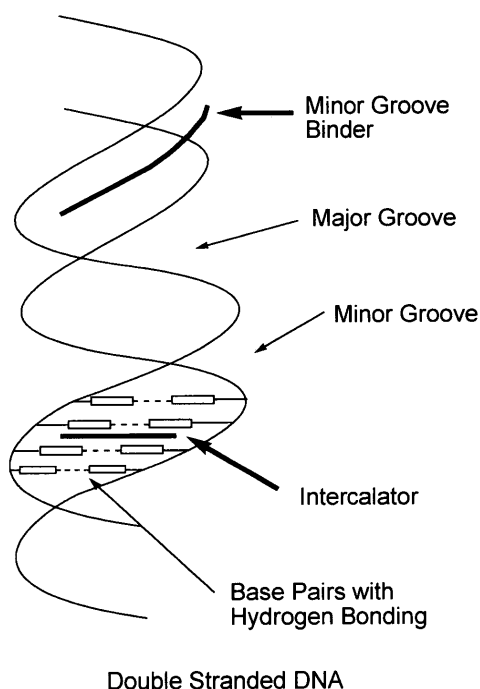


Fig. 5. DNA and the binding sites for targeting molecules

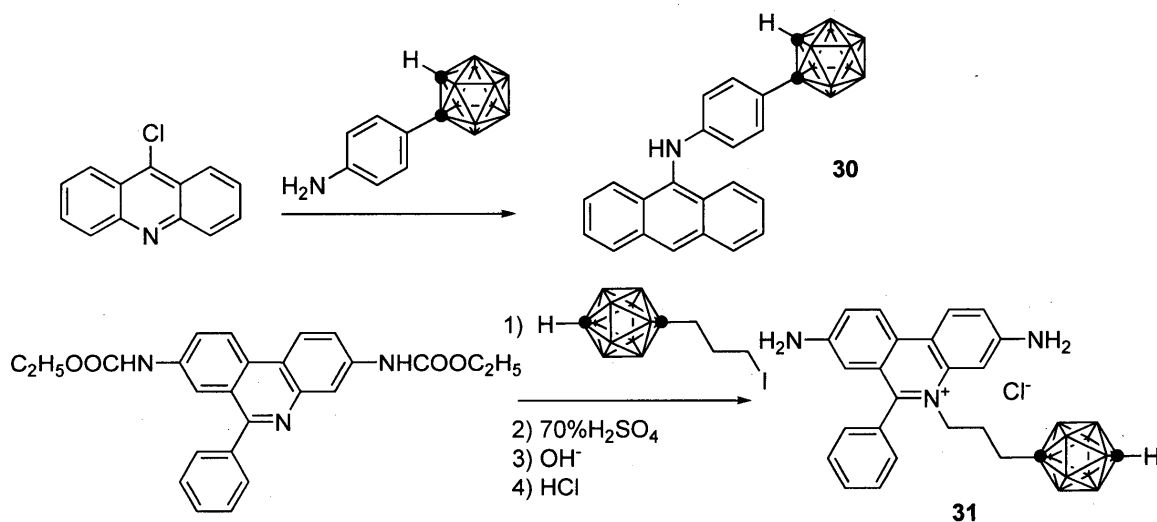


Chart 6. Carborane-containing DNA intercalators

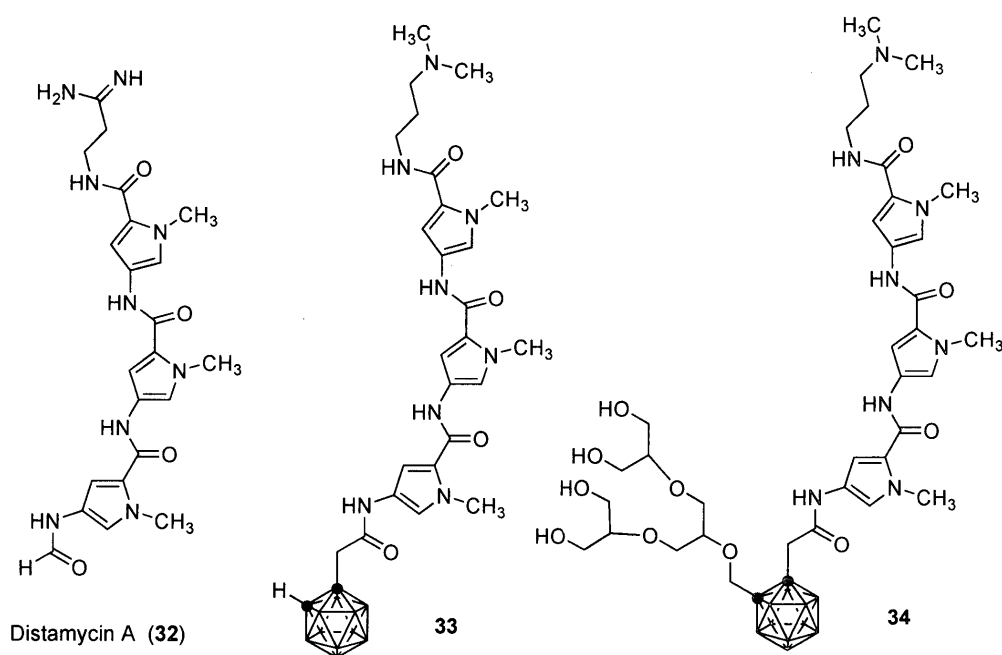


Fig. 6. Carborane-containing DNA minor groove binders

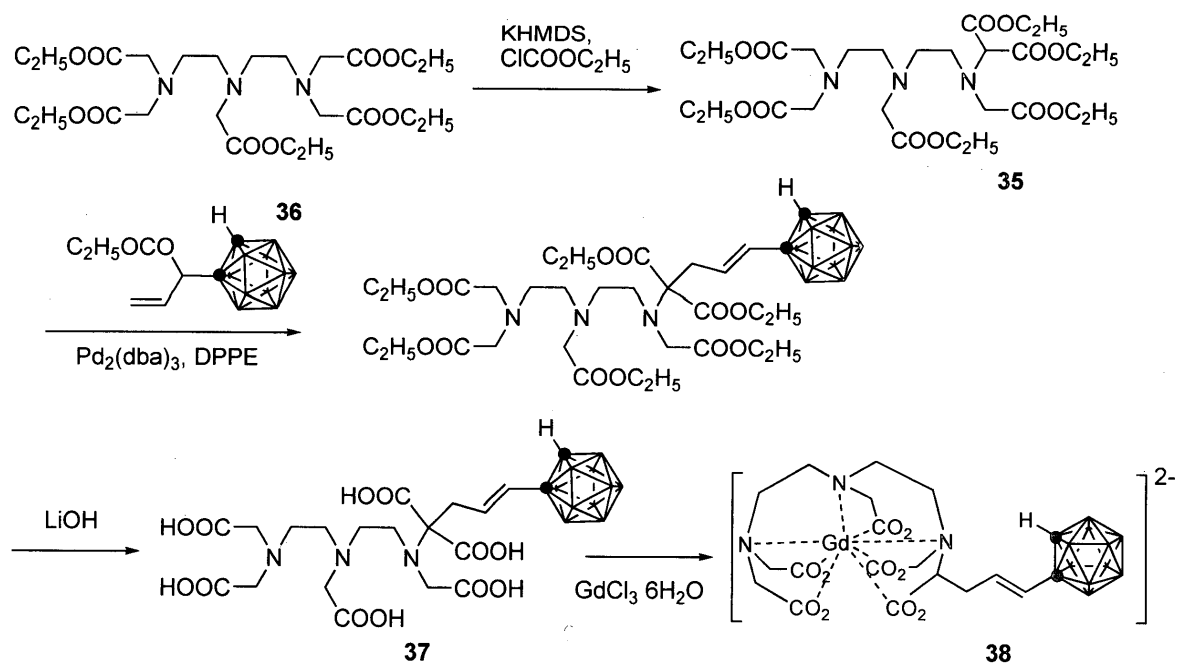


Chart 7. Synthesis of gadolinium-chelating molecule with carborane moiety

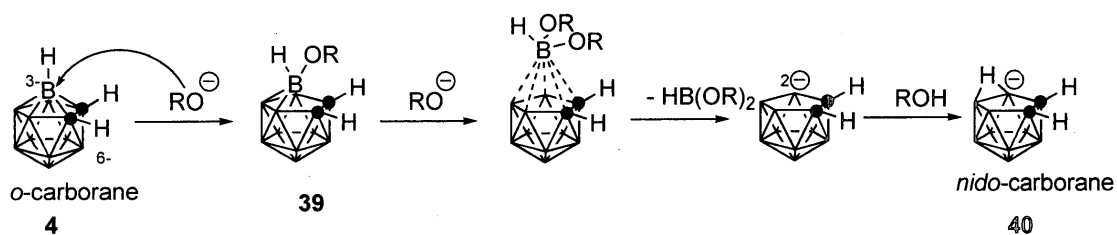
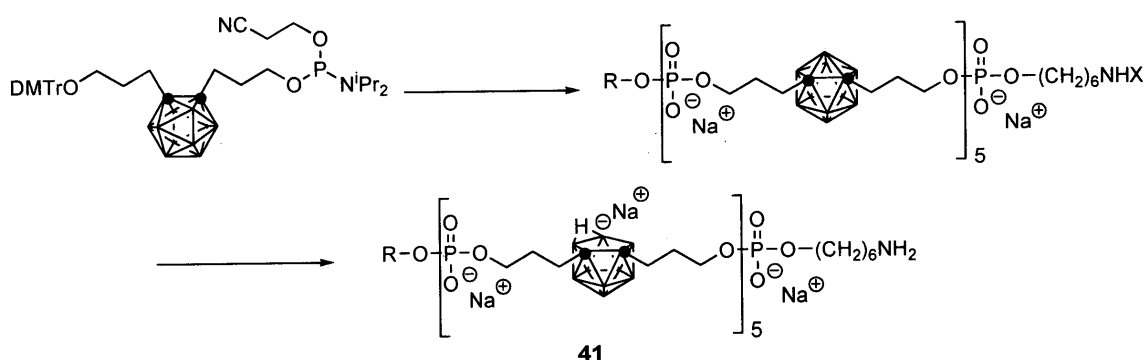


Chart 8. Deboronation of *o*-carborane derivative to *nido*-Anion

Chart 9. *nido*-Carboranyl oligomercer phosphate diester

自動 DNA 合成機を用いて合成されている (Chart 9).^{24,25)}

4. 受容体リガンドの疎水性ファーマコフォアとしての含ホウ素クラスターの応用

4-1 生体内受容体とリガンドの疎水性相互作用

生理活性化合物が特異的に細胞内情報伝達、転写制御あるいは酵素阻害等の作用を発現する為の初期過程は活性化合物の生体内受容体との相互作用による結合である。この相互作用、すなわち、イオン性相互作用、水素結合、疎水性相互作用、ファンデルワールス相互作用等がリガンドの選択性、結合活性の強さに深く関わっている。活性化合物 (リガンド) の側から考えた場合に、これらの相互作用に寄与する構造をファーマコフォアと呼んでいる。イオン結合性あるいは水素結合性官能基が分子構造中特定の位置関係をもつことはリガンドの選択性を発揮する上で最も重要なことであるが、効果的なリガンド-受容体の結合安定化には、それだけでは十分でない。水溶液である生体中で、受容体やリガンドの疎水性部位は周囲に存在する水分子によりエネルギー的に高い状態にある。同時に水分子も疎水性部位が周囲に存在することで不安定化している。受容体とリガンドとの疎水性部位の適切な接近により、これらのエネルギー的不安定性が解消することが疎水性相互作用である。疎水性相互作用はリガンド-受容体の安定化に極めて重要な因子であり、受容体との結

合定数で $10^3 \sim 10^4$ 倍の活性の差が現れることもしばしばある。活性分子の設計にあつたては、極性 (水素結合性) 官能基の配置が過大に評価される傾向があるが、場合によっては、1つの水素結合の欠損が疎水性相互作用で十分に補われることもあり得る。

4-2 カルボランの特性と医薬分子設計

第3章で述べたように、カルボランはその高いホウ素含量という性質から中性子補足療法への応用に展開されている。それ以外のカルボラン骨格の物理的、化学的性質を理解した上で生物活性物質の部分構造として利用しようとする試みは為されていなかった。筆者らは、前節で述べた生理活性分子とリガンドの疎水性相互作用という観点から、中性子捕捉療法のホウ素キャリアーとしては、むしろ障害であったカルボランの高い疎水性²⁶⁾を一般的な医薬分子設計に応用することが可能ではないかと考えた。現在の合成医薬分子の多くは芳香環を中心に、その組合せと水素結合性官能基を適切に配置することにより設計されており、立体的な疎水性構造単位というものが利用されていない。受容体は極性官能基と分子表面の形状・性質を認識するのであって、その構成原子を認識するのではない。したがって、受容体にとっては、カルボランは球状の炭化水素と同じように認識されるはずである。また、カルボランの B-B 結合、B-C 結合の結合距離は約 1.8 Å であり、全体の大きさはベンゼン環を 360 度回転させた大きさ、あるいは adamantane より 2 割ほど大きい程度で、

医薬の構造単位として適切な大きさと言える。これらの点から、カルボランは球状の立体形状と疎水性表面を有するというユニークな医薬分子の構造単位になると考えられる。

そこで、筆者らは受容体リガンド分子のように特異的な受容体を介して作用する化合物の、受容体に認識される部分構造として、カルボランを分子設計に応用する初の試みを行った。カルボランは第2章でのべたように、C原子上、B原子上の特定の位置に選択的置換基導入が可能であり、*o*-, *m*-, *p*-のカルボランを用いることで炭素上からの置換基の方向が異なる種々の化合物を合成することができる。これは、カルボランと類似した立体的な炭化水素骨格、adamantane や 2,2,2-bicyclooctane では困難な、カルボラン独自の分子設計・合成における利点である。カルボランを疎水性構成単位として利用した活性分子の創製のうち新しい核内受容体制御物質（レチノイドとエストロゲン）について、ここに紹介したい。

4-3 レチノイン酸受容体リガンド

レチノイドは細胞の分化、増殖に関わり生命の維持に不可欠な作用を担う分子であり、医薬への応用面では重篤な皮膚疾患の治療薬、分化誘導による白血病の治療薬として顕著な効用があり、固形癌に対する臨床試験も進行している。レチノイドと呼ばれるのは、生体内でビタミンAから変換されるレチノイン酸 (all-*trans*-retinoic acid: **42**) がこの重要な働きを担っているからである。レチノイドの作用は核内受容体であるレチノイン酸レセプター (retinoic acid receptor: RAR) ²⁷⁾ のリガンド結合領域 (ligand binding domain: LBD) との結合を初期過程として、レチノイド X レセプター (retinoid X receptor: RXR) ²⁸⁾ とのヘテロダイマーを形成し、これらのレセプターのDNA結合領域が標的遺伝子のホルモン応答配列に結合して、種々の転写共役因子の働きにより転写を制御して、生物学的な作用の発現に至る。レチノイン酸と同様に RAR に結合し、レチノイドとしての作用を発

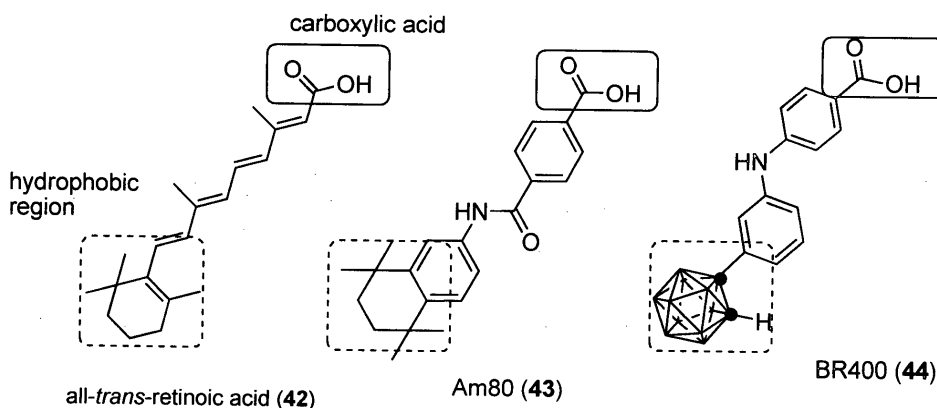


Fig. 7. Design of retinoid receptor (RAR) agonist with carborane cage

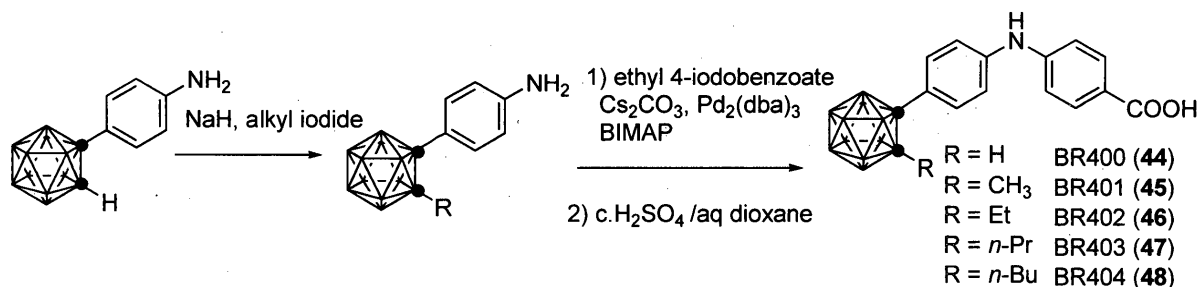


Chart 10. Synthesis of retinoid receptor agonists

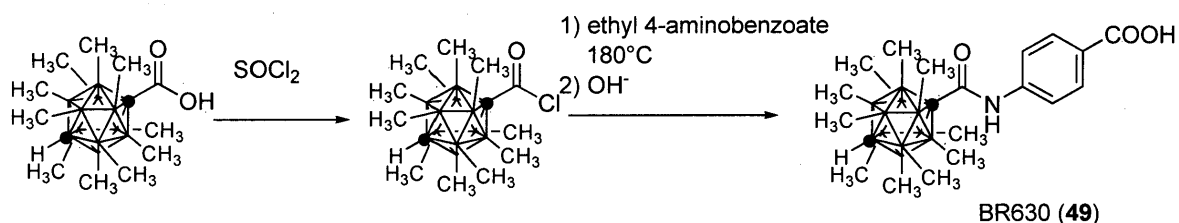


Chart 11. Synthesis of retinoid acid receptor antagonist

現する Am80 (43) に代表される「レチノ安息香酸」と称する一連の化合物も見出されている。²⁹⁾ レチノイン酸と Am80 の構造の共通性や、その構造活性相関により、カルボン酸と、それに対して適切な空間的配置と距離にある嵩高い疎水性基が活性発現の要素であることが明らかになっている (Fig. 7).

そこで、Am80 (43) の嵩高い疎水性基である tetramethyltetrahydronaphtarene 環部分を *o*-カルボランに変換するとともに、この嵩高い疎水性基と水素結合性官能基であるカルボン酸との距離を考慮して、Am80 のベンズアニリド骨格をジフェニルアミン骨格に変換した化合物 BR400 (44) を設計し、類縁体の合成した (Chart 10). 生物活性の検定はヒト前骨髄性白血病細胞 HL-60 がレチノイドによって分化誘導され顆粒球に分化する度合いにより判定している。その結果、化合物 BR400 ~ BR404 (44 ~ 48) は何れも $10^{-8} \sim 10^{-9}$ M の濃度で顕著な分化誘導能を示し、RAR のアゴニストであることを見出した。^{30,31)} 中でも、BR403 (47) は生体内リガンドである *all-trans*-retinoic acid と同等の強い活性を示すレチノイド作用物質である。また、芳香環の窒素原子上にメチル基を導入した化合物ではその活性は完全に消失し、活性には2つの芳香環平面のなす角度が平面的であることが必要とされ、平面性が失われるとカルボン酸と疎水性基の位置関係を変えて、RAR との結合に大きな影響を及ぼすことが判明した。³²⁾

一般に、本来アゴニストである分子に立体的に嵩高い構造を付け加えるとアンタゴニストになる場合がしばしばある。これは受容体に結合するものの、受容体の立体構造変化がアゴニストとの結

合による場合と異なるため、続いて起こるはずの転写共役因子との結合やそれ以降の転写活性化が正常に行われなくなるからである。そこで、カルボランの B 原子を全てメチル化した一回り大きいカルボラン：*B*-dacamethyl-*p*-carborane (フラーレン C₆₀ と同程度の大きさである) を利用して RAR アンタゴニストを設計した。水素結合性官能基であるカルボン酸と *B*-dacamethyl-*p*-carborane を有する BR630 (49) は HL-60 の分化誘導試験において、 10^{-9} M のアゴニスト AM80 の分化誘導効果を、 $10^{-7} \sim 10^{-8}$ M の濃度で阻害した。この化合物 BR630 (49) は強力な RAR アンタゴニストである (Chart 11).³³⁾

4-4 エストロゲン受容体リガンド

エストロゲンは女性ホルモンとして生殖機能に深く関わりと共に、骨代謝因子として作用し、医薬への応用面でも生殖機能調節や骨粗鬆症治療薬として利用される。エストロゲンも代表的な核内受容体リガンドであり、その作用は核内受容体であるエストロゲンレセプター (ER) へのリガンドの結合を引金として引き起こされる。ER-リガンド複合体は2分子のホモダイマーを形成し、これらのレセプターの DNA 結合領域が標的遺伝子のホルモン応答配列に結合して、種々の転写共役因子の働きにより転写を制御して、生物学的な作用の発現に至る。³⁴⁾ ER α と 17 β -estradiol (50) の複合体の X 線結晶解析³⁵⁾ により確かめられているように、ER リガンドの条件は水素結合性だけで考えれば、第一に A 環のフェノール性水酸基と平面的な芳香環であり、第二にそれと適切な空間的位置にある水酸基である。しかし、ステロイド骨格は、それらの官能基の空間的配置を固定しているだけでな

く、C, D 環の嵩高い疎水性構造が結合安定性に寄与していると考えられた。そこで、 17β -estradiol (50) のステロイド C, D 環をカルボラン骨格, すなわち, *p*-カルボランに置き換えて疎水性領域として利用して, 水素結合性の活性発現の構造要件を満足した化合物 51 (BE120) を中心に類縁体の合成を行った (Fig. 8, Chart 12).³⁶⁾

化合物の活性は luciferase 活性を指標とする レポーター遺伝子アッセイにより行った。ER 応答配列 5 コピーと TK promoter を luciferase 遺伝子上流に組込んだプラスミドと CMV promoter を rER α の上流に組込んだプラスミドを COS-1 細胞に transfection することにより, ER リガンドとしての転写活性化効果を測定した。この試験系では, 17β -estradiol が 10^{-8} M 濃度で顕著な転写活性化能を示す。当初, 合成したカルボラン含有化合物の活性がそれほど高いとは考えておらず, 10^{-5} から 10^{-7} M 濃度でアッセイを行っていたが, 結果がバラつき, 高濃度

では細胞の泡沫化が起こる等, 好結果は得られなかった。そこで, 低濃度 10^{-8} から 10^{-10} M でアッセイを行ったところ, 驚くべきことに, 単純な *p*-(carboranyl)phenol: BE100 (52) においても 17β -estradiol に近い転写活性化能を示した。さらに, hydroxymethyl 基を有する BE120 (51) は 17β -estradiol の 10 倍以上の活性を示した。この結果は, hER α の [3 H]estradiol との競合による阻害により, 直接 ER との affinity を検定しても, BE120 は 17β -estradiol の数倍の活性 ($K_i = 0.10$ nM) を示したことから, ER を介した効果であることが確認された。^{37,38)} BE120 が 17β -estradiol よりも強い活性を有している事実は, BE120 の 2 つの水酸基が ER との水素結合に適切な位置をとっていることに加えて, 受容体の cavity にフィットする疎水性構造を有していることによると考えられる。³⁹⁾ また, *in vivo* における活性でも, 卵巣摘出マウスの子宮重量回復に対する効果等で BE120 が 17β -estradiol と同等の活性を有しているという結果が出ている。³⁸⁾

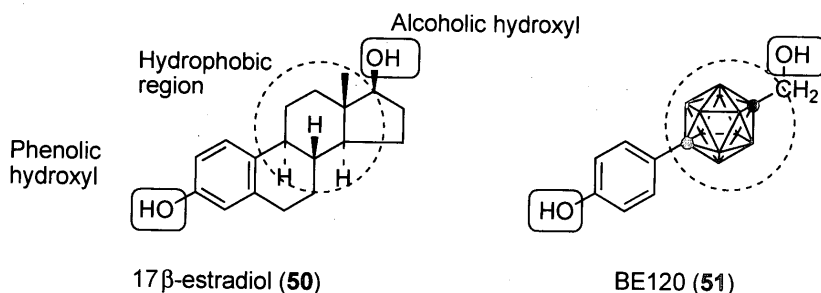


Fig. 8. Design of estrogen receptor agonist with carborane cage

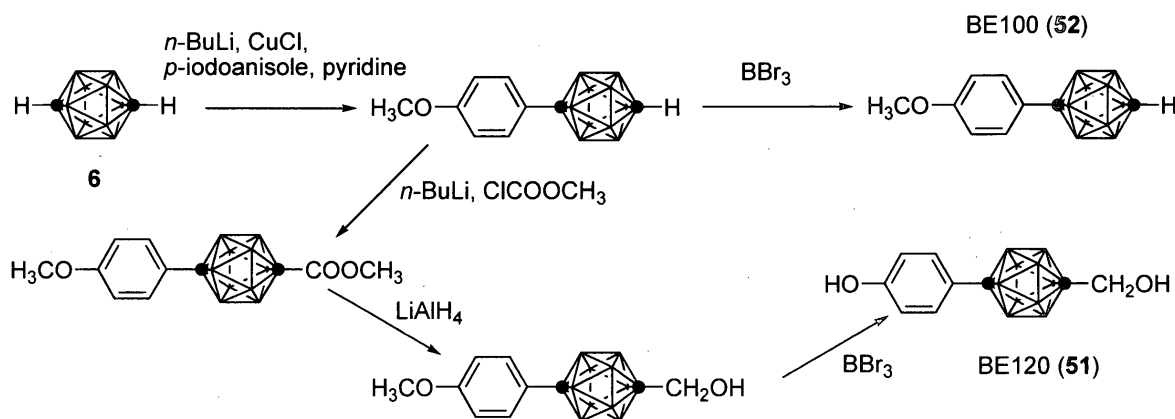


Chart 12. Synthesis of estrogen receptor agonists

したがって、BE120はERへの結合から、転写活性化、*in vivo*における活性まで再現した新しいエストロゲンアゴニストである。

エストロゲン受容体リガンドの医薬への適用は、アゴニストが女性の閉経後のホルモン補充療法や骨粗鬆症に、アンタゴニストがエストロゲン感受性乳癌の治療に有効である。しかし、アゴニストの使用は、エストロゲン依存性の乳がん、子宮がんのリスクの亢進という欠点を持っている。したがって、エストロゲン受容体リガンドの持つ骨、生殖器等への多様な作用を分離し、組織選択的に活性を発現する化合物が求められており、このような生物特性を持つ化合物は、選択的エストロゲン受容体モジュレーター (SERM) と呼ばれている。組織選択性を示す代表的なERリガンドとしては、tamoxifen (53) (活性体は4-hydroxytamoxifenと言われている) や raloxifene (54) が知られている。前者は主として生殖器に対するエストロゲン受容体アンタゴニストとして作用し、エストロゲン感受性乳癌の治療に用いられている。後者は、主として骨組織に対するエストロゲン受容体アゴニストとして作用し、骨粗鬆症の治療薬として認可された。これらの化合物は*in vitro*系でエストロゲンアンタゴニストとして見いだされ

たものである。

Aliphatic-OH基を持たないBE100 (52)が内分泌攪乱物質とされる通常のalkylphenolとは桁違いの活性を示す⁴⁰⁾ことはカルボランの形状が受容体のcavityに適合することによると考えられる。*p*-(carboranyl)phenolのERへの高い親和性を利用すれば、カルボラン骨格を有する新規エストロゲンアンタゴニストを創製できる。Tamoxifen (53)やraloxifene (54)は、phenol環に対して適切な位置にアミノ側鎖をもつphenyl基を有し、その構造がERとの複合体形成時にERのhelix 12のコンフォメーション変化をもたらすことが、活性発現の要因とされている。この構造要素を*o*-, *m*-及び*p*-carboraneを基本骨格として適用し、化合物BE362 (55)を設計、合成した。この化合物はluciferase reporter gene assayにおける 10^{-9} M濃度の17 β -estradiolの転写活性化を 10^{-7} M程度で阻害し、対照としたtamoxifenとほぼ同等の阻害活性を示した。⁴¹⁾さらに、BE362の合成中間体である単純な構造を有するBE360 (56)にもtamoxifenに近い阻害活性を見出すとともに、BE360単独投与では弱いエストロゲンアゴニストとしての活性を示すことを見出した。この部分的アゴニスト作用に着目して*in vivo*活性試

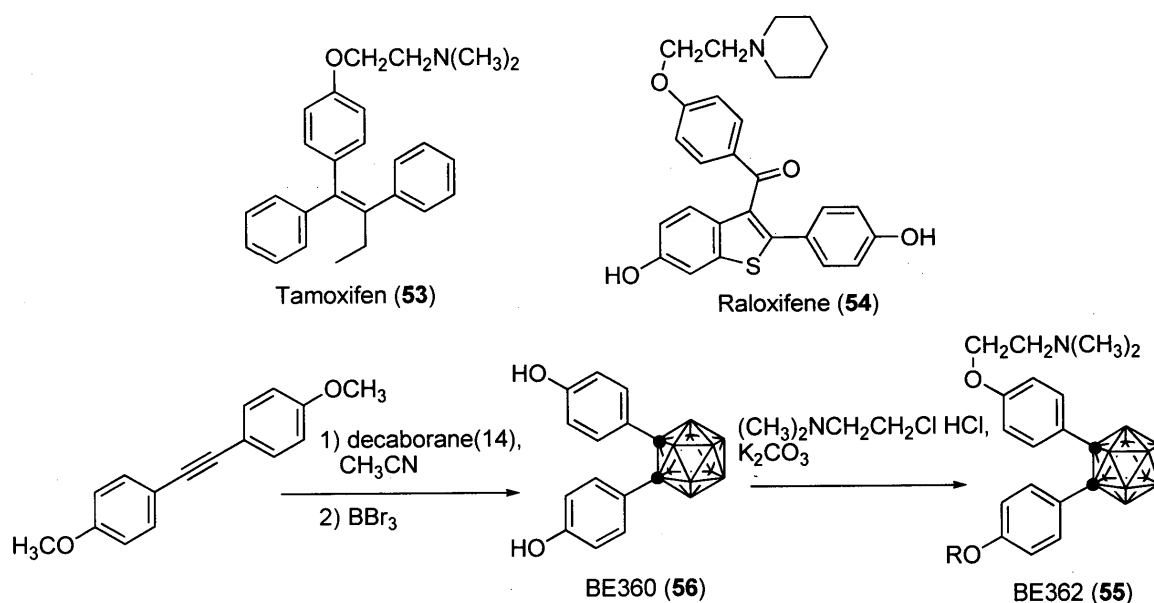


Chart 13. Design and synthesis of estrogen receptor antagonists

験を行ったところ、BE360は卵巣摘出マウスの骨密度低下を回復する効果（骨組織に対するエストロゲン受容体アゴニスト作用）を有するにも拘わらず、子宮重量回復に対する効果（生殖器に対する作用）がほとんど無い選択的エストロゲン受容体モジュレーターであることが見いだされた（Chart 13）。⁴²⁾

5. おわりに

以上の結果から、カルボランの立体的形状と疎水性を、生物活性物質の疎水性ファーマコフォアとして応用するという新しい概念の有効性が示された。今回、高い活性を示した化合物、レチノイド、エストロゲン作用物質は医薬に直結する化合物である。カルボラン骨格自体は中性子捕捉療法への適用の検討において、多量の投与によっても毒性が低く、また、代謝に抵抗することが明らかになっている。したがって、カルボラン含有活性化合物は、従来の活性化合物とは体内動態、すなわち、膜透過性、代謝、分布が異なる新しいタイプの活性物質として今後の発展が期待できる。

REFERENCES

- 1) For reviews: Bregadze V. I., *Chem. Rev.*, **92**, 209-223 (1992).; Plesek J., *Chem. Rev.*, **92**, 269-286 (1992).
- 2) Coult R., Fox M. A., Gill W. R., Herbertson P. L., MacBride J. A. H., Wade K., *J. Organomet. Chem.*, **462**, 19-29 (1993).
- 3) Zakharkin L. I., Koveredou A. I., Ol'Shevskaya V. A., Shaugumbekova S., *J. Organomet. Chem.* **226**, 217-226 (1982).
- 4) Jiang W., Knobler C. B., Curtis C. E., Mortimer M. D., Hawthorne M. F., *Inorganic Chem.* **34**, 3491-3498 (1995).
- 5) Zheng Z., Jiang W., Zinn A. A., Knobler C. B., Hawthorne M. F., *Inorganic Chem.*, **34**, 2095-2100 (1995).
- 6) For reviews: Hawthorne M. F., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **32**, 950-984 (1993).; Soloway A. H., Tjarks W., Barnum B. A., Rong F-G., Barth R. F., Codogni I. M., Wilson J. G., *Chem. Rev.*, **98**, 1515-1562 (1998); 山本嘉則, 化学, **41**, 774-779 (1986).; 山本嘉則, 現代化学, **245**, 55-60 (1991).
- 7) Ichihashi M., Takarishi T., Mishima Y., *J. Invest. Dermatol.* **78**, 215 (1982).
- 8) Brattsev V. A., Stanko V. I., *Zh. Obshch. Khim.* **39**, 1175-1176 (1969).
- 9) Zakharkin L. I., Grebinnikov A. V., L'ov A. I., *Akad. Nauk. SSSR. Ser. Khim.* 106-107 (1970).
- 10) Fauchere J. L., Leukart O., Eberle A. Schwyzer R., *Helv. Chim. Acta*, **62**, 1385-1395 (1979).
- 11) Soloway A. H. Barth R. F., Carpenter D. E., *Advances in Neutron Capture Therapy*, Plenum Press, New York 1993.
- 12) Radel P. A., Kahl S. B., *J. Org. Chem.* **61**, 4582-4588 (1996).
- 13) Soloway A. H., Tjarks W., Barnum B. A., Rong F-G., Barth R. F., Codogni I. M., Wilson J. G., *Chem. Rev.*, **98**, 1515-1562 (1998).
- 14) Kahl S. B., Kasar, R. A., *J. Am. Chem. Soc.* **118**, 1223-1224 (1996).
- 15) Tjarks W., *J. Organomet. Chem.* **614-165**, 37-47 (2000).
- 16) Tjarks W., Anisuzzaman A. K. M., Liu L., Soloway A. H., Barth R. F., Perkins D. J., Adams D. M., *J. Med. Chem.* **35**, 1628-1633 (1992).
- 17) Yamamoto Y., Seko T., Nakamura H., Nemoto H., Hojo H., Mukai N., Hashimoto Y., *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 157-158 (1992).
- 18) Nemoto H., Cai J., Yamamoto Y., *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 577-578 (1994).
- 19) Davis M. A., Soloway A. H., *J. Med. Chem.* **10**, 730-732 (1967).
- 20) Tjarks W., Ghaneolhosseini H., Henssen C. L. A., Malmquist J., Sjöberg, S., *Tetrahedron Lett.* **37**, 6905-6908 (1996).
- 21) Yamamoto Y., Cai J., Nakamura H., Sadayori N., Asao N., Nemoto H., *J. Org. Chem.* **60**, 3352-3357 (1995).
- 22) Nemoto H., Cai J., Nakamura H., Fujiwara M.

- Yamamoto Y., *J. Organomet. Chem.* **58**, 170-175 (1999).
- 23) Wiesboeck R. A., Hawthorne M. F., *J. Am. Chem. Soc.*, **86**, 1642-1643 (1964).; Hawthorne M. F., Wegner P. A., Stafford R. C., *Inorg. Chem.*, **4**, 1675 (1965).
- 24) Kane R. R., Drechsel K., Hawthorne M. F., *J. Am. Chem. Soc.* **115**, 8853-8854 (1993).
- 25) Nakanishi A., Guan L., Kane R. R., Kasamatsu H., Hawthorne M. F., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**, 238-241 (1999).
- 26) Fauchere J. L. Do K. Q., Jow P. Y., Hansch D., *Experientia* **36**, 1203-1204 (1980).
- 27) Mangelsdorf D. J., Thummel C., Beato M., Herrlich P., Schuetz G., Umesono K., Blumberg B., Kastner P., Mark M., Chambon P., Evans, R. M., *Cell*, **83**, 835-839 (1995).
- 28) Heyman R. A., Mangelsdorf D. J., Dyck J. A., Stein R. B., Eichele G., Evans R. M., Thaller C., *Cell*, **68**, 397-406 (1992).; Zhang X.-K., Lehmann, J., Hoffmann, B., Dawson M. I., Cameron J., Graupner G., Hermann T., Tran P., Pfl M., *Nature*, **358**, 587-591 (1992).
- 29) Shudo K., Kagechika H., *Adv. Drug Res.*, **24**, 81-119 (1993).
- 30) Iijima T., Endo Y., Tsuji M., Kawachi E., Kagechika H., Shudo K., *Chem. Pharm. Bull.* **47**, 398-404 (1999).
- 31) Endo Y., Iijima T., Ohta K., Kagechika H., Kawachi E., Shudo K., *Chem. Pharm. Bull.* **47**, 585-587 (1999).
- 32) Endo Y., Iijima T., Yaguchi K., Kawachi E., Kagechika H., *BioMed. Chem. Lett.* **11**, 1307-1311 (2001).
- 33) Endo Y., Yaguchi K., Kawachi E., Kagechika H., *BioMed. Chem. Lett.* **10**, 1733-1736 (2000).
- 34) Green S., Walter P., Kumar V., Krust A., Bornert J.M., Argos P., Chambon P., *Nature* **320**, 134-139 (1986).
- 35) Brzozowski A. M., Pike A. C. W., Dauter Z., Hubbard R. E., Bonn T., Engstrom O., Ohman L., Greene G. L., Gustafsson J., Carlquist M., *Nature*, **389**, 753-758 (1997).
- 36) Endo Y., Iijima T., Yamakoshi Y., Yamaguchi M., Fukusawa H., Shudo K., *J. Med. Chem.* **42**, 1501-1504 (1999).
- 37) Endo Y., Iijima T., Yamakoshi Y., *BioMed. Chem. Lett.*, **9**, 3313-3318 (1999).
- 38) Endo Y., Iijima T., Yamakoshi Y., Fukusawa H., Miyaura C., Inada M., Kubo A., Itai A. *Chem. and Biol.*, **8**, 341-355 (2001).
- 39) Yamamoto K., Endo Y., *BioMed. Chem. Lett.* **11**, 2389-2392 (2001).
- 40) Yamakoshi Y., Otani Y., Fujii S., Endo Y., *Biol. Pharm. Bull.* **53**, 151-158 (2000).
- 41) Endo Y., Yoshimi T., Iijima T., Yamakoshi Y., *BioMed. Chem. Lett.* **9**, 3387-3392 (1999).
- 42) Endo Y., Yoshimi, T., Miyaura, C., *Pure Appl. Chem.*, **75**, 1197-1205 (2003).