

所属	薬学部創薬科学科創薬分子設計学研究室	氏名	仲西 功
----	--------------------	----	------

課題名	体内時計調整化合物としての Protein kinase CK2 阻害剤の探索研究		
研究分担者	氏名	所属	職位
	西脇 敬二	薬学部創薬科学科創薬分子設計学研究室	講師
	中村 真也	薬学部創薬科学科創薬分子設計学研究室	講師

研究概要

体内時計は睡眠・覚醒などのさまざまな生理現象に見られる1日周期のリズムを支配しており、その機能が乱れると睡眠障害やガンなどの疾患にも影響を及ぼすことが指摘されている。また、体内時計が生理的な老化に伴って変化することを、カリフォルニア大学の研究グループが最近報告している (Sato et al., Cell, 170, 664, 2017)。したがって、体内時計の機能を調整する化合物は老化防止 (アンチエイジング) 効果を有する可能性がある。名古屋大学のグループは、体内時計の周期を延長させる化合物を見出し、その標的タンパク質として Protein kinase CK2 (CK2) を同定しており、CK2 に対して高い選択性を有する本化合物がすべての体内時計タンパク質のリン酸化を抑制することを明らかとしている (Oshima et al., Science Advances, 5, 9090, 2019)。これらのことから、CK2 阻害剤は老化の防止 (アンチエイジング) 効果を示す可能性があると考えられる。また、CK2 は細胞増殖に関与していることから、その阻害剤は抗がん剤となることも知られている。

当研究室では、これまでに基本骨格の異なる多数の CK2 を阻害する化合物を見出しており (Nakanishi et al., Euro. J. Med. Chem, 96, 396, 2015)、その中からピラゾール骨格を有する化合物とプリン骨格を有する化合物をリードとした最適化研究を実施している。ピラゾール骨格を有する化合物については、分子内の芳香環上の C-H 結合を網羅的に N 原子あるいは C-F 結合に変換して、CK2 阻害活性および水溶解性の変化に関する構造活性相関研究を実施した。一方、プリン骨格を有する化合物については、複合体の X 線結晶構造解析を実施しても分子内のウレア構造の互変異性により、その結合様式が確定できなかったため、ウレアのカルボニル基のない化合物 (デオキシ体) をデザインし、その活性変化から結合様式を推定し、さらなる活性向上のデザインを目指した。

研究成果

【ピラゾール骨格化合物】

化合物 1 は、 $IC_{50} = 20$ nM の CK2 阻害活性を有するが、水に対する溶解性が非常に乏しい (1 mg/L)。そこで、図 1 に示すようにピラゾール骨格の芳香環上の C-H 結合を一つずつ網羅的に N 原子、あるいは C-F 結合に置き換える N スキャン・F スキャンと呼ばれる手法により、本化合物の誘導体の CK2 阻害活性及び水溶解性の向上を検討している。N スキャンに関しては、 X_1 以外の置換化合物の合成を完了し、水溶解度が大幅に向上した化合物が得られた。しかし、それらの化合物は DMSO 塩であることが結晶構造解析により明らかとなり、化合物自身の溶解度を示すものではなかった。今後、化合物自身の溶解度を測定するとともに、各化合物の細胞膜透過性を評価する予定である。F スキャンについては、 $X_4 \sim X_6$ 置換化合物の合成に成功し、CK2 阻害活性の増減はないものの、 X_4 に F 原子を導入した化合物は水溶解度が 100 倍向上した。今後、その要因を計算化学等により検討する。

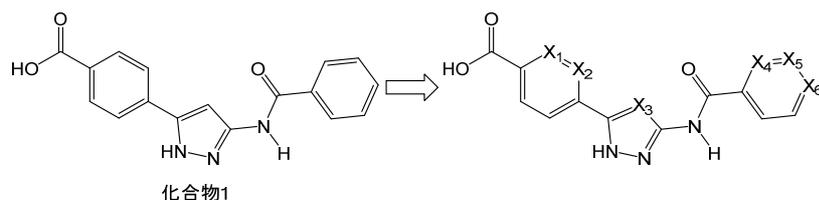


図 1 ピラゾール骨格化合物の N/F スキャン

【プリン骨格化合物】

図 2 にプリン骨格を有する CK2 阻害剤の一般構造式を示す。通常は、ウレア部分の構造はラクタム型で記述されることが多いが、CK2 との複合体の X 線結晶構造解析の結果、CK2 との相互作用を考慮すると、ラクタム型ではなくラクチム型で結合する可能性が示唆された (タンパク質複合体の X 線結晶構造解析では水素原子を観測することが

困難なのでこの互変異性を判別できない)。そこで、相互作用の様式から、ウレア部分のカルボニル酸素原子を除去した化合物（デオキシ体）の活性の増減を評価することにより、どちらの互変異生体であるか判別可能と考え、合成・活性評価を行った。その結果、ウレアカルボニル部分は CK2 との相互作用は不利であるものの、ラクタム型で結合しているとの結論に至った。プリン骨格化合物の CK2 阻害活性は、まだサブ μM レベルであるので、さらなる活性の向上を目指し、探索研究を進める。

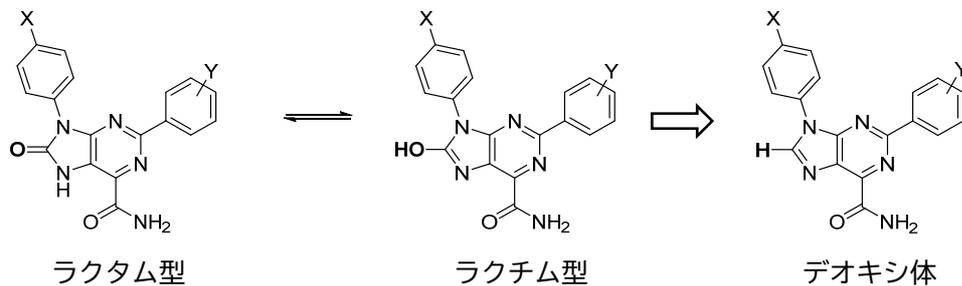


図2 プリン骨格化合物の互変異性とデオキシ体の構造

研究発表

①原著論文

- 1) M. Tsuyuguchi, T. Nakaniwa, M. Sawa, I. Nakanishi, T. Kinoshita.
A promiscuous kinase inhibitor delineates the conspicuous structural features of protein kinase CK2a1. *Acta Cryst.*, F75, 515-519 (2019).

②学会発表

- 1) 奥村 政輝、中西 伸介、西脇 敬二、中村 真也、大石 真也、大野 浩章、仲西 功
Pyrazole 骨格を有する CK2 阻害剤の窒素スキャンによる構造活性・物性相関研究
第 69 回 日本薬学会関西支部大会、2019.10.12、神戸。
- 2) 河津 有貴、中川 愛理、吉岡 賢司、中村 真也、西脇 敬二、露口 正人、木下 誉富、仲西 功
プリン骨格を有する CK2 阻害剤の構造活性相関研究—プリン骨格の互変異性の検討—
第 69 回 日本薬学会関西支部大会、2019.10.12、神戸。
- 3) 釘宮 将也、山口 諒、中村 真也、西脇 敬二、仲西 功
pyrazole 骨格を有する CK2 阻害剤の構造活性相関研究 —フッ素導入による活性および溶解性の変化—
第 69 回 日本薬学会関西支部大会、2019.10.12、神戸。
- 4) Masato Tsuyuguchi, Tetsuko Nakaniwa, Masaki Sawa, Isao Nakanishi, Takayoshi Kinoshita.
Crystal structure of CK2a1 complexed with 5IOD.
International Symposium on Diffraction Structure Biology 2019, 2019.10.17-20, Osaka (Japan).
- 5) 露口 正人、仲庭 哲津子、平澤 明、仲西 功、木下 誉富
高選択的 CK2a1 阻害剤創出に向けた構造知見
日本結晶学会 令和元年 (2019 年) 度年会、2019.11.19-20、金沢。
- 6) 奥村 政輝、中西 伸介、西脇 敬二、中村 真也、大石 真也、大野 浩章、仲西 功
Pyrazole 骨格を有する CK2 阻害剤の構造活性相関研究～窒素置換による物性・活性改善の検討～
第 47 回 構造活性相関シンポジウム、2019.12.12、熊本。
- 7) 河津 有貴、中川 愛理、吉岡 賢司、中村 真也、西脇 敬二、露口 正人、木下 誉富、仲西 功
プリン骨格を有する CK2 阻害剤の構造活性相関—微小な構造変換による結合様式の大きな変化—
第 47 回 構造活性相関シンポジウム、2019.12.12、熊本。
- 8) 釘宮 将也、山口 諒、西脇 敬二、中村 真也、仲西 功
Pyrazole 骨格を有する CK2 阻害剤の構造活性相関研究～フッ素導入による活性および溶解性の変化～
日本薬学会第 140 年会、2020.3.26、京都。
- 9) 奥村 政輝、中西 伸介、栗本 泰奈、西脇 敬二、中村 真也、大石 真也、大野 浩章、仲西 功
Pyrazole 骨格を有する CK2 阻害剤の窒素スキャンによる構造活性・物性相関研究
日本薬学会第 140 年会、2020.3.26、京都。
- 10) 河津 有貴、中川 愛理、吉岡 賢司、中村 真也、西脇 敬二、露口 正人、木下 誉富、仲西 功
プリン骨格を有する CK2 阻害剤の構造活性相関研究—プリン骨格の互変異性の検討—
日本薬学会第 140 年会、2020.3.26、京都。