

所属	薬学部	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
	仲西 功	創薬科学科 創薬分子設計学研究室	教授
	西脇 敬二	創薬科学科 創薬分子設計学研究室	講師
	中村 真也	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、老化に伴う睡眠障害を改善する効果を期待できる。近年、体内時計の周期を延長させる化合物とその標的タンパク質 Protein kinase CK2(CK2)が同定されており (Oshima et al., Science Advances, 5, 9090, 2019)、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。

その他、薬学部有機薬化学研究室との共同研究として、 α -グルコシダーゼ阻害剤の研究も実施した。

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 原子に置き換える N 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た。 X_1 以外の置換化合物の合成を完了し、水溶解度が 10 倍以上に向上した化合物が得られた。当初、溶解度の向上した化合物は DMSO 塩の可能性が考えられたが、MS 測定の結果、DMSO 塩となっていないことが判明した。

一方、これらの化合物の *in vitro* での酵素活性阻害作用は臨床試験段階にある CX-4945 と同定であるのに対し、細胞系での活性はその 1/100 程度まで落ちる。おそらく細胞膜透過性の影響と考えられるため、これを解決する方法を今後検討する。

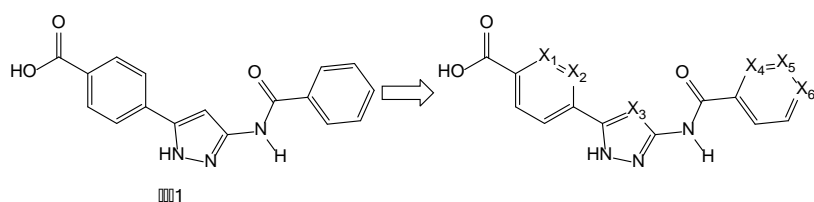


図 1 ピラゾール骨格化合物の N スキャン
 $X_1 \sim X_6$ は N 原子に置換する位置。

【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。これまでの X 線結晶構造解析研究の結果から、オキ

シ体の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）のほうが強い CK2 阻害活性を示すと考えられたため、同じ置換基を有する両骨格の化合物を合成し活性を比較した。その結果、デオキシ体はオキシ体に比べ阻害活性が～6 倍程度強いことが明らかとなり（表 1）、その多くがサブ μM オーダーの IC₅₀ 値を示した。

今後は、側鎖部分の大きな構造変換により 10～100 倍程度の活性向上を目指す。

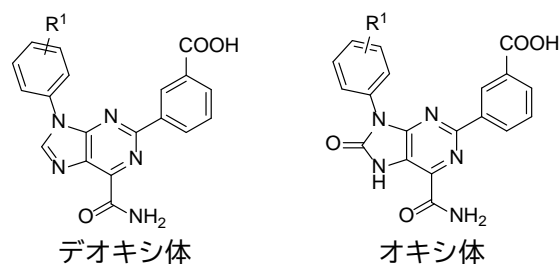


図2 プリン骨格化合物の構造

表 1 プリン骨格化合物の CK2 阻害活性 (IC₅₀)

R ¹	オキシ体	デオキシ体	活性向上度
	IC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)	ratio
4-Me ₂ N-	1.1	0.36	2.8
4-MeO-	2.6	1.0	2.5
4-Me-	0.62	0.64	1.0
H-	1.0	0.34	2.9
4-F-	0.73	0.32	2.3
3-MeO-	1.9	0.33	5.8
4-MeOCO-	3.2	2.8	1.1
4-NC-	0.40	0.52	0.8

【α-グルコシダーゼ阻害剤】

α-グルコシダーゼ阻害剤の創出研究として、サラシノール類縁体のアルキル側鎖を延長した化合物群に対してドッキング計算をこれまでと同じ条件で実施した。その相互作用様式から、マルターゼ・イソマルターゼ・スクラーゼ阻害活性の差やヒトとラットの活性の種差を説明できる構造活性相関の知見が得られた。この成果については論文を公表した。

研究発表

①原著論文

- 1) M. Tsuyuguchi, T. Nakaniwa, A. Hirasawa, I. Nakanishi, T. Kinoshita, Structural insights for producing CK2α1-specific inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 30, 126837 (2020).
- 2) F. Ishikawa, M. Nohara, S. Nakamura, I. Nakanishi, G. Tanabe, Precise probing of residue roles by NRPS code swapping: Mutation, enzymatic characterization, modeling, and substrate promiscuity of aryl acid adenylation domains. *Biochemistry*, 59, 351-363 (2020).
- 3) K. Takashima, M. Sakano, E. Kinouchi, S. Nakamura, S. Marumoto, F. Ishikawa, K. Ninomiya, I. Nakanishi, T. Morikawa, G. Tanabe. Elongation of the side chain by linear alkyl groups increases the potency of salacinol, a potent α-glucosidase inhibitor from the Ayurvedic traditional medicine “Salacia,” against human intestinal maltase. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 33, 127751 (2021).

②学会発表

- 1) 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
第 70 回 日本薬学会関西支部大会、2020.10.10、オンライン。
- 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
第 70 回 日本薬学会関西支部大会、2020.10.10、オンライン。