

所属	薬学部	氏名	仲西 功
----	-----	----	------

課題名			
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 は細胞増殖や COVID-19 の増殖にも関与していることから、その阻害剤は抗がん剤あるいは COVID-19 感染治療薬としての研究開発が進められている。

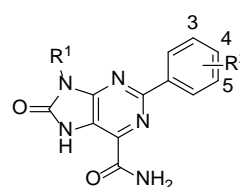
当研究室では、これまでに基本骨格の異なる多数の CK2 を阻害する化合物を見出ししており (Nakanishi et al., Euro. J. Med. Chem, 96, 396, 2015)、その中からピラゾール骨格を有する化合物とプリン骨格を有する化合物をリードとした最適化研究を実施している。今年度はプリン骨格を有する化合物について、CK2 との複合体の X 線結晶構造をもとに、あらたなデザイン戦略を考案し、活性の向上を目指した。

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

## 研究成果

## 【プリン骨格化合物】

CK2 阻害活性を有する化合物 1 と CK2 との複合体の結晶構造をもとに活性増強のデザインを考えた。これまで R<sup>1</sup> には平面状の芳香族置換基を有する化合物について検討してきたが、これを環式飽和炭化水素置換基に変えると、分子の平面性が減少し、R<sup>1</sup> 近傍に存在する Gly リッチループとのファンデルワールス相互作用を形成しやすくなると考えた。そこで R<sup>1</sup> にシクロペンチル(c-Pent)基およびシクロヘキシル(c-Hex)基を、また R<sup>2</sup> には、4-COOH あるいは 3(5)-COOH を導入した。デザイン化合物の結合ギブズエネルギー  $\Delta G_{\text{bind}}$  を算出したところ、3', 5, 5'は1と比べ活性向上が期待された。また、いずれの化合物においても1と同様の結合様式を取ると予想された。実際に化合物を合成し活性測定を行ったところ、いずれの化合物も活性が向上し、5, 5'は1と比較し、約 60 倍活性が向上した。



- 1: R<sup>1</sup> = *n*-Pr, R<sup>2</sup> = 4-COOH
- 2: R<sup>1</sup> = *c*-Pent, R<sup>2</sup> = 4-COOH
- 3: R<sup>1</sup> = *c*-Pent, R<sup>2</sup> = 3-COOH
- 3': R<sup>1</sup> = *c*-Pent, R<sup>2</sup> = 5-COOH
- 4: R<sup>1</sup> = *c*-Hex, R<sup>2</sup> = 4-COOH
- 5: R<sup>1</sup> = *c*-Hex, R<sup>2</sup> = 3-COOH
- 5': R<sup>1</sup> = *c*-Hex, R<sup>2</sup> = 5-COOH

図1 プリン骨格化合物の構造

表1 プリン骨格化合物のMM-PBSA法による $\Delta G_{\text{bind}}$ およびRMSDの計算結果とCK2阻害活性(IC<sub>50</sub>)

Compound	1	2	3	3'*	4	5	5'*
$\Delta G_{\text{bind}}$ (kcal/mol)	-41.1	-38.4	-38.5	-44.6	-34.6	-41.5	-42.5
RMSD (Å)	2.0	1.9	2.3	2.1	2.0	1.6	1.9
IC <sub>50</sub> (μM)	12	1.1	0.67		1.1	0.21	

\* 3と3', 5と5'は同じ化合物であるが、CK2結合時の位置の違いを考慮して別化合物として $\Delta G_{\text{bind}}$ を計算した。

### 【 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害剤】

$\alpha$ -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硫酸基部にベンゼン環を有する化合物群について、特に置換基に正電荷を有する化合物(*o, m, p*-S<sup>+</sup>(Me)<sub>2</sub>)やベンゼン環をアニリンやピリジンに変更した化合物について、ドッキング計算をこれまでと同じ条件で実施した。ジメチルスルホニウム基を有する化合物については、活性測定が行われ、これまでの類縁体の活性を上回ることはなかったが、高い活性が得られた。

### 研究発表

#### ①原著論文

- 1) A novel turn-on fluorescent sensor for cyanide ions based on the charge transfer transition of phenothiazine/indolium compounds. Yasuhiro Morikawa, Miku Hirabara, Keiji Nishiwaki, Shigeo Suzuki, Isao Nakanishi. *Material. Advances*, 2, 6104-6111, (2021).
- 2) Determination of cyanide in blood by GC-MS using a new high selectivity derivatization reagent 1,2,3,3-tetramethyl-3H-indolium iodide. Yasuhiro Morikawa, Keiji Nishiwaki, Shigeo Suzuki, Kazutaka Shiomi, Isao Nakanishi. *Forensic Toxicology*, 40, 393-399, (2022).
- 3) Development of a cost-effective laser diode-induced fluorescence detection instrument for cyanide detection. Yasuhiro Morikawa, Keiji Nishiwaki, Shigeo Suzuki, Mitsuhiro Kinoshita, Isao Nakanishi. *Analytical Sciences*, 38, 437-442 (2022).
- 4) Fragment-based lead discovery to identify novel inhibitors that target the ATP binding site of pyruvate dehydrogenase kinases. Tatsuo Akaki, Yuki Bessho, Takashi Ito, Shingo Fujioka, Minoru Ubukata, Genki Mori, Kenji Yamanakabb, Takuya Orita, Satoki Doi, Tomoko Iwanaga, Kazutaka Ikegashira, Yoshiji Hantani, Isao Nakanishi, Tsuyoshi Adachi. *Bioorg. Med. Chem.*, 44, 116283, (2021)

#### ②学会発表

- 1) 池田朝香、露口正人、中村真也、西脇敬二、仲西功、木下誉富：高選択的 CK2 $\alpha$ 1 阻害剤の創出を目指したニトリル系化合物の阻害機構の解明  
第21回タンパク質科学学会年会、オンライン（つくば）、2021年6月16日
- 2) 森川泰裕、西脇敬二、鈴木茂生、仲西功：2-(5-Bromo-2-pyridylazo)-5-[N-n-propyl-N-(3-sulfopropyl)amino]-phenol-Pd 錯体を用いた血中シアンの吸光光度分析  
第33回バイオメディカル分析科学シンポジウム（BMAS2021）（京都）、2021年9月2日
- 3) 中村真也：MOE でやってみた様々な共同研究とアイデアの実装  
MOE フォーラム 2021、オンライン、2021年9月9-10日
- 4) 森川泰裕、西脇敬二、鈴木茂生、荒木直樹、八坂直幸、岡田悠登、塩見和孝、仲西功：2-(5-bromo-2-pyridylazo)-5-[N-n-propyl-N-(3-sulfopropyl)- amino]phenol-Pd 錯体を用いた血中シアンの新規分析法の開発  
日本分析化学会第70年会、オンライン、2021年9月24日
- 5) 森川泰裕、鈴木茂生、西脇敬二、仲西功：2,3-Naphthalenedialdehyde を用いる血中シアン高感度簡易蛍光測定装置の開発  
日本分析化学会第70年会、オンライン、2021年9月24日
- 6) 森川泰裕、西脇敬二、鈴木茂生、仲西功：新規化学センサー、フェノチアジン-ジアミノマレオニトリル化合物の合成とその金属イオンセンサーとしての利用  
第71回日本薬学会関西支部大会、オンライン、2021年10月9日
- 7) 森川泰裕、荒木直樹、八坂直幸、岡田悠登、塩見和孝、西脇敬二、鈴木茂生、仲西功：Indolium による血中シアン誘導体化 GC/MS 法の開発  
第27回日本法科学技術学会、オンライン、2021年11月11-12日
- 8) 池田朝香、露口正人、中村真也、西脇敬二、仲西功、木下誉富：CK2 $\alpha$ 1 選択性向上に向けたアロステリック部位の構造知見  
第49回構造活性相関シンポジウム、オンライン、2021年11月18-19日
- 9) 赤木辰央、別所祐紀、伊東敬史、藤岡真悟、生方実、森元気、山中健司、折田匠哉、土井郷樹、古園朋子、池頭和孝、判谷吉嗣、仲西功、安達剛：PDHK ATP サイトに対する Fragment Screening での新規ケモタイプ取得  
第49回構造活性相関シンポジウム、オンライン、2021年11月18-19日