

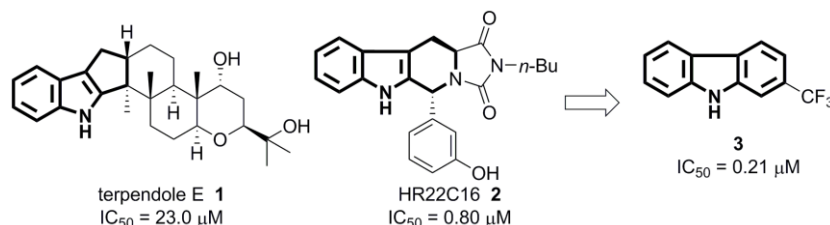
キネシンモータータンパク質 KSP 阻害剤の創製研究 —連続縮環型分子の変換による溶解性改善—

京大院薬¹、静岡県大院薬²

○竹内智起¹、大石真也¹、金田雅仁¹、大野浩章¹、澤田潤一²、浅井章良²、藤井信孝¹

【序論】

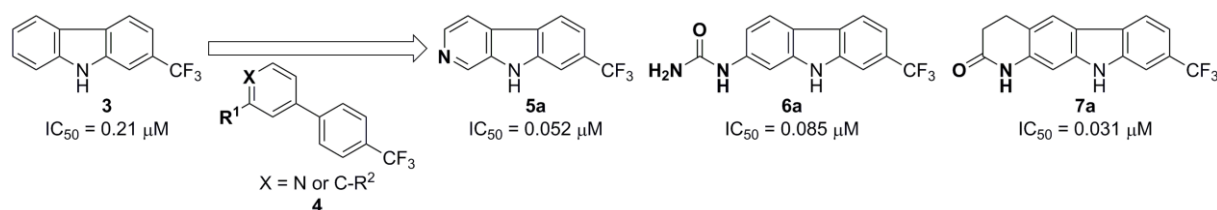
キネシンの一種である KSP (kinesin spindle protein) は、ATP の加水分解で得られるエネルギーを用いて微小管上で動力を生じるモータータンパク質である。KSP は中心体の分離・移動や紡錘体の形成など細胞分裂において重要な役割を果たしており、KSP の阻害により細胞の M 期停止が引き起こされることから、新たな抗癌剤の分子標的として注目を集めている。これまでに KSP 阻害活性を示す天然物やその誘導体として、terpendole E **1** や HR22C16 **2** などが報告されている。我々は、これらのスキaffホルドの共通性に基づき KSP 阻害活性に必要な最小構造が縮環インドール構造であると想定して構造活性相関研究を実施し、カルバゾール誘導体 **3** が良好な KSP 阻害活性を示すことを見出している^[1]。本研究では、化合物 **3** の KSP 阻害活性の増強に加え、カルバゾール誘導体における物性面の課題を克服した新規 KSP 阻害剤の創出を目的として構造活性相関研究を展開した。



【方法・結果】

カルボリン・カルバゾール型 KSP 阻害剤の創製研究

まず、カルバゾール誘導体 **3** にビフェニル型阻害剤 **4**^[2] の部分構造モチーフを適用することで、**3** の左側部にヘテロ原子や親水性官能基を配置した各種誘導体をデザインし、構造活性相関研究を展開した。その結果、β-カルボリン誘導体 **5a**、およびウレア基やラクタム環のアミド基を 2 位に有するカルバゾール誘導体 **6a**、**7a** が強力な KSP 阻害活性を示すことを見出した^[3]。



また、酵素反応速度論実験から、カルボリン・カルバゾール型阻害剤 **5a**、**7a** は既存の大半の KSP 阻害剤と異なり、ATP 競合的阻害を示すことが明らかとなった。一方、分子モデリングに基づく検討において、**5a**、**7a** が結合することが想定される KSP の ATP 結合部位 (アデニン結合部位) は非常に浅く、この部位への阻害剤の結合が困難であることが示唆された。すなわち、**5a**、**7a** は ATP 結合部位には直接結合せずに ATP 競合的阻害を示すという、見かけ上矛盾する阻害様式である可能性が示唆された。

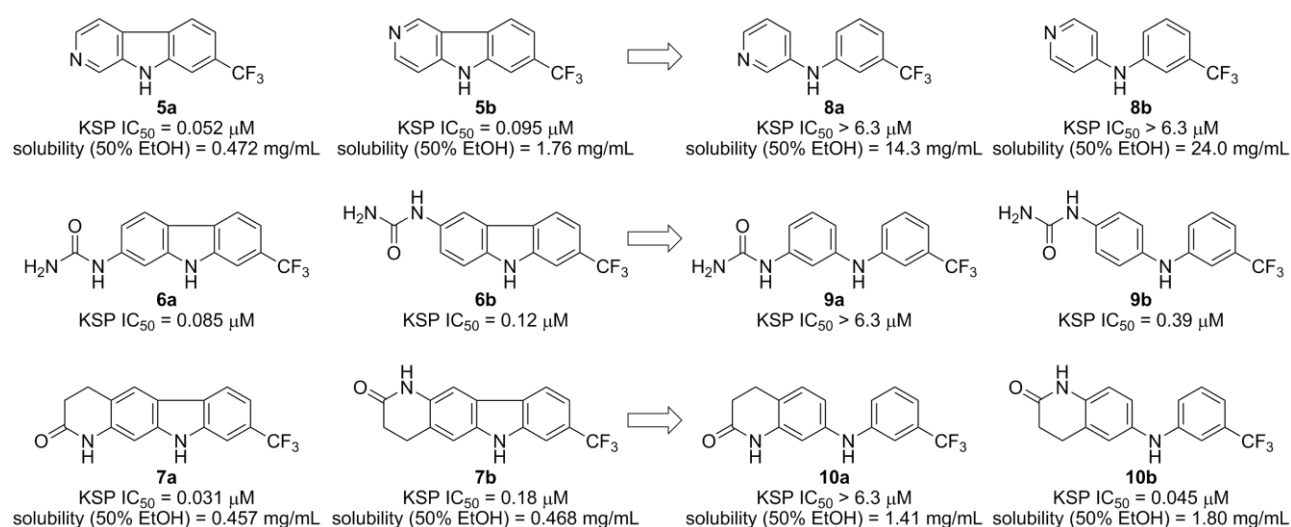
ジアリールアミン型 KSP 阻害剤の創製研究

最も強力な KSP 阻害活性を有するカルバゾール誘導体 **7a** は、水性溶媒中への溶解性が顕著に乏しく、300 °C 以上の極めて高い融点を有する結晶である。我々は、化合物 **5a–7a** の連続縮環構造に基づく分子の高平面性がπ-π相互作用などの分子間相互作用を可能にし、安定な結晶構造を形成した結果、水溶性の低下に至

ったと仮定した。この仮説に基づき、生物活性と水溶性の両面において優れた KSP 阻害剤の創製を目指し、カルボリン・カルバゾール型阻害剤の分子の平面性と芳香族性の低減を試みた。

まず、カルボリン誘導体 **5a,b** のピロール環の炭素-炭素結合を切断した化合物に相当するジアリールアミン誘導体 **8a,b** をデザインし、合成と活性・水溶性評価を行った。その結果、**8a,b** は対応する **5a,b** と比較して、水性溶媒 (50% EtOH) に対する溶解性がそれぞれ約 30 倍と約 14 倍向上した一方で、KSP 阻害活性が大幅に低下した。同様に、ウレア基を有するカルバゾール誘導体 **6a,b** に基づいてデザインしたジアリールアミン誘導体 **9a,b** においても、KSP 阻害活性の低下が認められた。

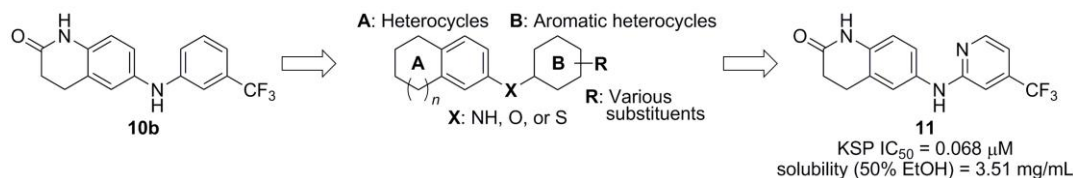
続いて、ラクタム縮環型カルバゾール誘導体 **7a,b** の構造に基づき、ジアリールアミン誘導体 **10a,b** をデザインした。検討の結果、カルバゾール型阻害剤 **7a** に対応する **10a** では KSP 阻害活性の消失が認められた一方で、ラクタム環の配置が異なる **10b** が **7b** より約 4 倍強い KSP 阻害活性を示した。さらに、**10b** は **7a,b** と比較して約 4 倍の水性溶媒に対する溶解性の向上が認められた。このため、**10b** の単結晶 X 線構造解析を行ったところ、2つのアリール基の間の大きなねじれが観察され、平面性の低減が水溶性向上に寄与していることが確認された。



さらに、**10b** の各部位の構造最適化を検討した。その結果、**10b** の架橋部位の NH 基、右側ベンゼン環上のかさ高い疎水性置換基、および左側ベンゼン環上に適切に配置したアミド基が高い KSP 阻害活性に必須な構造要素であることが明らかとなった。さらに、疎水性の低減を目的として右側ベンゼン環の複素環への変換を検討したところ、ピリジン環を有する **11** が強力な KSP 阻害活性を維持し、水溶性のさらなる向上をもたらすことを見出した。



化合物 **10b** の X 線結晶構造



【参考文献】

- [1] Oishi, S.; Watanabe, T.; Sawada, J.; Asai, A.; Ohno, H.; Fujii, N. *et al. J. Med. Chem.* **2010**, 53, 5054–5058.
- [2] Luo, L.; Parrish, C. A.; Nevins, N.; McNulty, D. E.; Chaudhari, A. M.; Carson, J. D.; Sudakin, V.; Shaw, A. N.; Lehr, R.; Zhao, H.; Sweitzer, S.; Latesh, L.; Wood, K. W.; Sakowicz, R.; Annan, R. S.; Huang, P. S.; Jackson, J. R.; Dhanak, D. Copeland, R. A.; Auger, K. R. *Nat. Chem. Biol.* **2007**, 33, 722–726.
- [3] Takeuchi, T.; Oishi, S.; Watanabe, T.; Ohno, H.; Sawada, J.; Matsuno, K.; Asai, A.; Asada, N.; Kitaura, K.; Fujii, N. *J. Med. Chem.* **2011**, 54, 4839–4846.