

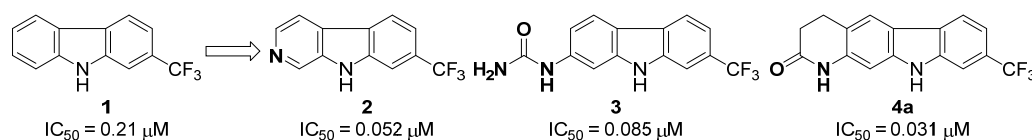
京都大学	博士 (薬科学)	氏名	竹内 智起
論文題目	Development of Kinesin Spindle Protein Inhibitors with Fused-indole and Diaryl Amine Scaffolds (縮環インドール骨格およびジアリールアミン骨格を有するKSP阻害剤の創製研究)		

(論文内容の要旨)

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分裂期 (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。著者は、KSPを標的とする癌治療薬創製のための基盤研究として、新規KSP阻害剤の創製研究を行った。

第1章：縮環インドール型KSP阻害剤の創製研究 (Figure 1)

所属研究室では、KSP阻害活性を示す天然物やその誘導体のスキヤフォールドの共通性から、カルバゾール誘導体**1**が良好なKSP阻害活性を示すことを見出していた。著者は、カルバゾール誘導体**1**にビフェニル型KSP阻害剤の部分構造モチーフを適用することで、**1**の左側部位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**2**、及び、ウレア基やラクタム環のアミド窒素を2位に有するカルバゾール誘導体**3**、**4a**が強力なKSP阻害活性を示すことを見出した。また、化合物**2-4a**は、KSP阻害の典型的な表現型である一極性紡錘体を効率良く誘導した。さらに、酵素反応速度論実験から、化合物**2**、**4a**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。

Figure 1. Identification of potent KSP inhibitors **2-4** with a fused-indole scaffold.

第2章第1節：連続縮環型分子の修飾によるKSP阻害剤の溶解性改善と水溶性に寄与する要因の分子化学的考察 (Figure 2)

縮環インドール型阻害剤**2-4**は強力なKSP阻害活性を示す一方で、水性溶媒への溶解性が乏しく、抗癌剤としての実用性の観点から課題を残していた。著者は、化合物**2-4**の三環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の低減を試みた。

ラクタム縮環型カルバゾール誘導体**4a,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フェニルアミン誘導体**5a,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、化合物**4a**に対応する**5a**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**5b**は**4b**より約4倍強力なKSP阻害活性を示した。さらに、**5b**は**4a,b**と比較して水性溶媒に対する溶解性が4倍程度向上した。

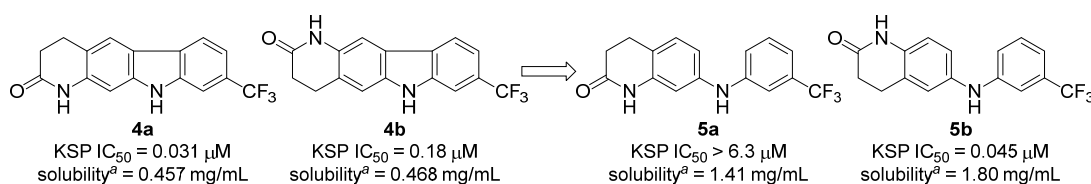


Figure 2. KSP inhibitory activities and aqueous solubility of carbazoles **4** and diphenylamines **5** with a lactam-fused structure.

^aSolubility in 50% EtOH [an equal volume of EtOH and 1/15 M phosphate buffer (pH7.4)].

続いて、単結晶X線構造解析と分子力場計算により結晶パッキングの様式を解析し、水溶性の改善に寄与した要因について精査した。カルバゾール誘導体**4a**では、分子間π-π相互作用・CH/π相互作用が観察され、高い結晶パッキングエネルギーが認められた (-58.8 kcal/mol)。一方、ジフェニルアミン誘導体**5b**では2つのフェニル基の間の大きなねじれが観察され、分子間π-π相互作用は認められなかった。加えて、CH/π相互作用が2分子当たり2組と少なく、低い結晶パッキングエネルギーが算出された (-53.7 kcal/mol)。また、関連化合物であるビフェニル誘導体を含めた検討により、水溶性は全結晶パッキングエネルギーと直接的に相関を示すのではなく、全結晶エネルギー項から静電エネルギー項を差し引いたファンデルワールスエネルギー項と良い相関を示すことが認められた。

第2章第2節：ジアリールアミン型KSP阻害剤の構造最適化研究 (Figure 3)

ジフェニルアミン型KSP阻害剤**5b**の各部位の構造活性相関研究を実施した。その結果、化合物**5b**の連結部位のNH基、右側ベンゼン環3位の疎水性置換基、及び、左側ベンゼン環上に適切に配置されたアミド基が高いKSP阻害活性発現に必須の構造要素であることが示唆された。

続いて、KSP阻害剤の結合部位として想定される3つのポケットに対して、化合物**5b**のドッキングシミュレーションを行ったところ、α4/α6ポケットにおいて最も高いドッキングスコアが観察された。化合物**5b**は大きくねじれたコンフォメーションでα4/α6ポケットに収まり、アニリンのNH基はLeu292、ラクタム環のアミド基はAsn271と水素結合を形成する。また、CF₃基は疎水性ポケットにおいてファンデルワールス相互作用を生じることで結合の安定化に寄与していることが示唆された。

構造最適化研究の結果、ラクタム環に対する硫黄原子の導入、及び、右側ベンゼン環のピリジン環への変換を行った化合物**6**においてKSP阻害活性の向上が認められた。さらに、七員環ラクタムを有する化合物**7**が強力なKSP阻害活性と水性溶媒に対する良好な溶解性を両立することを見出した。

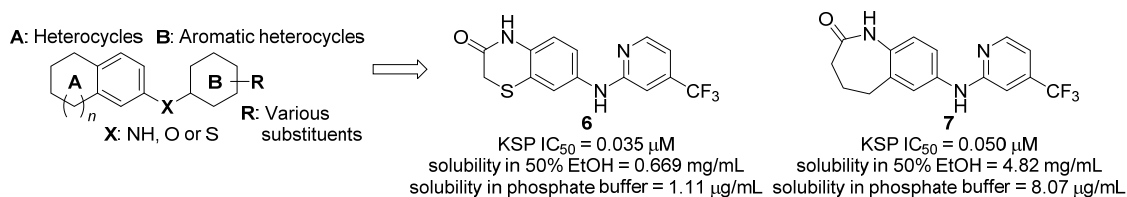


Figure 3. Structural optimization of diaryl amine-type KSP inhibitors.

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

著者は、キネシンモータータンパク質 **KSP** を標的として、カルバゾールおよびジアリールアミンを基本骨格とする新規選択的阻害剤の創製研究を行った。

最初に著者は、良好な **KSP** 阻害活性を示すカルバゾール誘導体に対してヘテロ原子や親水性官能基を配置した各種縮環インドール誘導体を設計し、構造活性相関研究を行った。その結果、 β -カルボリン誘導体および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が極めて強力な **KSP** 阻害活性を示すことを見出した。このうち、ラクタム縮環型カルバゾール誘導体は、強力な細胞増殖抑制活性と高い **KSP** 選択性を示すことを明らかにした。

続いて著者は、縮環インドール型 **KSP** 阻害剤の低水溶性が抗癌剤としての実用化における課題であると判断し、生物活性と水溶性の両面において優れた **KSP** 阻害剤の創製に向けた構造展開を行った。縮環インドール誘導体の平面性と芳香族性を低減した化合物に相当するジアリールアミン誘導体を検討した結果、**KSP** 阻害活性の維持と水溶性の向上を同時に実現するジフェニルアミン誘導体の同定に成功した。さらに、単結晶 X 線構造解析と分子力場計算により、結晶パッキングの様式を解析し、水溶性改善に寄与した要因を分子化学的に精査した。その結果、ジフェニルアミン誘導体における水溶性向上が、結晶パッキングにおけるファンデルワールスエネルギーの低下に由来することを明らかにした。

最後に著者は、ジフェニルアミン誘導体の各部位を修飾した誘導体を設計し、構造最適化研究を行った。その結果、より強力な **KSP** 阻害活性を有するチオモルホリン-3-オン誘導体、及び、活性と水溶性のバランスに優れたベンゾアゼピン-2-オン誘導体の同定に成功した。また、酵素反応速度論実験およびドッキングシミュレーションにより、ジアリールアミン型阻害剤は既存の多くの **KSP** 阻害剤とは異なり、 $\alpha 4/\alpha 6$ ポケットに結合する可能性が高いことを明らかにした。さらに、 $\alpha 4/\alpha 6$ ポケットに対する結合様式を検討し、2つの水素結合と疎水性置換基によるファンデルワールス相互作用の重要性を明らかにした。

以上のように、著者は、カルバゾール誘導体をリード化合物とする **KSP** 阻害剤の構造最適化研究を実施し、新規骨格を有する複数の選択的阻害剤の同定に成功した。これらの研究は、今後の **KSP** 阻害剤の創製研究に有用な知見を提供するとともに、有機化合物の物理化学的特性を考慮した医薬品の分子設計に有益な指針を与えるものと判断される。

よって本論文は博士 (薬科学) の学位論文として価値あるものと認める。

さらに、平成 26 年 2 月 27 日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

要旨公開可能日：平成 27 年 3 月 23 日以降