

親電子性低分子ライブラリによる天然変性概日時計転写因子を標的としたコバレント阻害剤の探索

(信州大農¹・京大化研²) ○山中 和也¹・今西 未来²・大神田淳子¹

Functional evaluation of an electrophilic focused library to identify a covalent inhibitor against intrinsically disordered circadian clock transcription factors (¹*Institution of Agriculture, Shinshu university*, ²*Institution for chemical research, Kyoto university*) ○Kazuya Yamanaka¹, Miki Imanishi², Junko Ohkanda¹

BMAL1/CLOCK are the highly disordered circadian transcription activators and their dysregulation is implicated in various diseases, such as cancer and neurodegenerative diseases. We previously identified a covalent inhibitor for the hetero dimerization of BMAL1 and CLOCK but the chemical stability and selectivity remains to be addressed^[1]. In this study, we synthesized a focused library of small compounds comprising an electrophilic group, such as acrylamide and chloroacetamide, which was evaluated for the inhibitory activity by fluorescence polarization assay. As a result, the chloroacetamide derivative of 3,5-bis(trifluoromethyl) aniline (**1**) was found to be potent, whereas structurally related *p*-trifluoromethyl aniline derivative (**2**) was inactive. Interestingly, **1** and **2** were found to exhibit similar reactivity for a thiol compound with a kinetic constant of 4.6 and $4.5 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1}\text{S}^{-1}$, respectively, clearly indicating that **1** inhibits BMAL1/CLOCK interaction in a structure-dependent manner^[2]. These results highlight potential for development of covalent inhibitors that target transiently generated structural features of intrinsically disordered proteins.

Keyword : *Intrinsically disordered region; Circadian clock transcription factors; Electrophilicity compounds library; Covalent inhibitor; Protein-protein interactions*

生物の概日周期を司る転写因子 BMAL1/CLOCK は配列の約 4 割が天然変性領域 (IDR)であることが知られている。このタンパク質に起因する概日周期の変調は生活習慣病や癌、神経変性疾患の原因となることが報告されており、重要な創薬標的である。既報において我々は、BMAL1/CLOCK の阻害剤の開発を目指し、蛍光偏光変化を指標とする化合物スクリーニングにより BMAL1/CLOCK の二量化を抑制する共有結合性化合物を同定した^[1]。本研究では新たな共有結合性阻害剤の開発を目指し、種々のアミンに対し親電子反応基であるアクリルアミドもしくはクロロアセトアミドを導入した親電子反応性小分子ライブラリを合成し、その評価を行った。その結果、3,5-ビストリフルオロメチルアニリンのクロロアセトアミド誘導体(**1**)が明瞭な二量体形成抑制活性を示した。一方、**1**とその構造類縁体であるパラトリフルオロメチルアニリンのクロロアセトアミド誘導体(**2**)は不活性であった。この結果を踏まえ、**1**と**2**のチオールに対する反応速度定数 k をエルマン試薬による吸光度を指標とした評価系で測定し、比較した。その結果、**1**と**2**の反応速度定数はほぼ同等(**1**: $4.6 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1}\text{S}^{-1}$, **2**: $4.5 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1}\text{S}^{-1}$)であった。このことから**1**はBMAL1/CLOCKと共有結合を形成し、何らかの構造依存的な作用機序により阻害活性を示していることが示唆された^[2]。以上の結果は、IDRの過渡的な構造特性を認識する共有結合性阻害剤の開発が可能であることを示していると考えられる。

[1] Y. Hosoya, et al., *Chem. Comm.* **2020**, 56, 11203. [2] K. Yamanaka, et al., *Bioorg Med. Chem. Lett.* **2023**, in press.