

## FBDD 戦略に基づく $\beta$ 酸化を制御するコバレント阻害剤の探索

○YIN RUIKANG<sup>1</sup>・井上和哉<sup>1</sup>・井上咲季<sup>1</sup>・Xiao Xiwen<sup>1</sup>・内之宮祥平<sup>1</sup>・王子田彰夫  
(九大院薬)

### Discovery of Covalent Inhibitors that Modulate Beta Oxidation Activity Based on FBDD Approach

(<sup>1</sup>Graduate School of Pharmacy, Kyushu University) YIN RUIKANG<sup>1</sup>, Kazuya Inoue<sup>1</sup>, Saki Inoue, Xiao Xiwen, Shohei Uchinomiya<sup>1</sup>, Akio Ojida<sup>1</sup>

創薬研究におけるリード化合物探索の有用な戦略として、分子量 300 以下からなる低分子フラグメントライブラリーを用いた FBDD が挙げられる。フラグメント化合物は標的タンパク質と結合しやすいことから、従来の分子量の大きな化合物からなるライブラリーと比較して、FBDD はヒット化合物を得やすいという利点がある。特に最近、標的タンパク質と共有結合形成によって強い薬効を得るコバレント FBDD が注目されている。一方、共有結合形成のための反応基としてクロロアセトアミド(CA)やマイケルアクセプターが用いられているが、反応性が高く off-target との非特異的な反応が問題となっていた。一方、我々の研究室では穏やかな反応性を有するクロロフルオロアセトアミド (CFA) を、標的タンパク質選択性の高い新しい反応基として開発した<sup>(1)</sup>。そこで本研究では、CFA を反応基として有する化合物ライブラリーを構築し、その反応性の評価や阻害剤探索を行った。

様々な骨格の芳香族アミンに CFA 基または CA 基を導入し、約 150 化合物からなるライブラリーを作成した。続いて本ライブラリーの生体適応性を評価するため、チオール化合物との *in vitro* 反応性、生細胞内でのタンパク質との反応性、および細胞毒性を評価した。その結果、CFA 基を有するライブラリーは CA 基を有する同骨格のライブラリーと比較して反応性が 30 倍低く、ほとんどの化合物で細胞毒性を示さないことが分かった。続いて、本ライブラリーを用いて、重要なエネルギー生産代謝である  $\beta$  酸化の阻害剤を探索した。我々は生細胞内で  $\beta$  酸化を検出可能な蛍光プローブを開発している<sup>(2)</sup>。肝臓がん由来の HepG2 細胞にライブラリー化合物を添加したのち、 $\beta$  酸化検出プローブの蛍光をプレートリーダーで測定することで、 $\beta$  酸化を阻害するヒット化合物を見出した。この化合物の CFA 基をアセチル基に変更した化合物では阻害活性を示さなかったことから、ヒット化合物は共有結合を形成によって阻害能を示すことが分かった。続いて標的タンパク質を同定するためにアルキンを有する化合物を合成し、ケミカルプロテオミクスを行った。その結果、この化合物は細胞内でタンパク質 X を選択的にラベル化することが分かった。



Figure 1. CA/ CFA ライブラリーの生物適応性評価

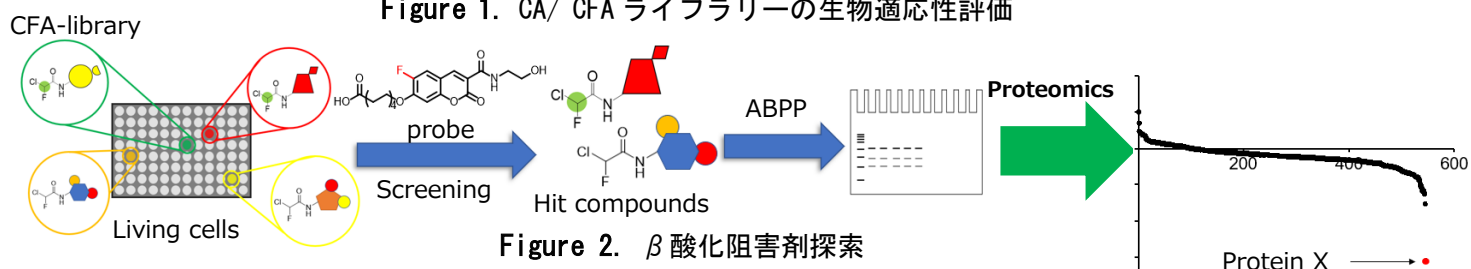


Figure 2.  $\beta$  酸化阻害剤探索

(1) Naoya S. *et al. Nature Chemical Biology*, **15**, 250–258, (2019);

(2) Shohei U. *et al. Chem. Commun.*, **56**, 3023, (2020)