

# sp<sup>3</sup>炭素導入による構造複雑化を指向した選択的 CYP1B1 阻害剤の創製と相互作用解析

医薬分子化学研究室 久保 惇

## 【緒言】

CYP1ファミリーは、CYP1A1, 1A2, 1B1 から構成され、多環芳香族炭化水素類やヘテロサイクリックアミン類などの前発癌性物質の生体内活性化や、内因性ホルモンであるエストロゲンの代謝を担う。<sup>1,2</sup> エストロゲン代謝経路において、CYP1A1, 1A2 は不活性化経路を触媒するが、CYP1B1 は発癌性代謝物の産生経路に関与する。この為、選択的 CYP1B1 阻害剤は、エストロゲンの生体内不活化機構を温存した新規乳がん予防・治療薬として期待される。<sup>3</sup> しかし、CYP1 ファミリーのアクティブサイトは高い相同性を有しており、この酵素間選択性が阻害剤開発の最大の課題となる。CYP1 阻害剤の代表例である  $\alpha$ -naphthoflavone (ANF) は、全ての炭素原子が sp<sup>2</sup> 炭素で構成される平面的な構造的特徴を有する化合物であり、強い阻害活性を示すが選択性や溶解性に課題が残る。この課題に対し、sp<sup>3</sup> 炭素がもたらす構造複雑化が効果的に働くと推測した。そこで本研究は、ANF を脱芳香族化した化合物を合成し、医薬品開発に適する選択的 CYP1B1 阻害剤を創製することに加え、その結合様式を明らかにし、CYP1 阻害剤開発研究における新規構造基盤の提案を目的とした。

## 【結果・考察】

### 1. sp<sup>3</sup>炭素導入による構造複雑化を指向した選択的 CYP1B1 阻害剤の創製

ANF/CYP1B1 複合体結晶構造を基に、ANF の B 環部を脱芳香族化した化合物を設計・合成し、CYP1 ファミリーに対する阻害特性および物理化学的性質を評価した。母骨格の検討として、6 種の異なる B 環構造を導入した化合物の阻害活性を評価した結果、シクロヘキサン構造を有する **17** が所望のサブタイプ間選択性と阻害活性を有することが明らかになった。続いて、**17** を母骨格とし、官能基導入による阻害活性の最適化を検討した。29 種の誘導体を比較した結果、アジド基を有する *cis*-**48** は強力な CYP1B1 阻害活性 (IC<sub>50</sub>: 4.4 nM) のみならず、CYP1A に対して 120 倍以上高い選択性を有することが明らかになった。また、環変換による阻害活性への影響を明確化するため、19 種の芳香族性比較化合物を合成し、構造活性相関研究を行った。シクロヘキサン構造の場合と同様に、フェニルアジド体 **73a** は強力な CYP1B1 阻害活性を示したが、サブタイプ間選択性は ANF 以下

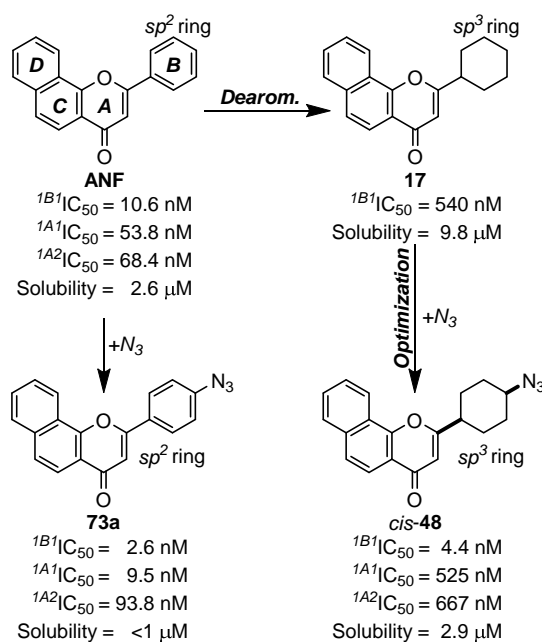


Figure. 1

以下の水準に低下した。さらに、化合物の水系溶媒に対する溶解性を比較した結果、芳香族性 B 環誘導体は溶解度が低いことが明らかになった。この為、sp<sup>3</sup>-B 環構造がサブタイプ間選択性のみならず、溶解性に対しても効果的に働くことを実証することができた。

### 2. 阻害剤と CYP1B1 の相互作用解析

阻害剤と CYP1B1 の相互作用様式について、分光学的手法や X 線結晶構造解析および *in silico* 解析によって評価した。阻害剤添加に伴う CYP1B1 の吸収スペクトル変化を測定した結果、官能基の構造的特徴に由来する 4 つの代表的なスペクトル変化 (Type I, Type II, Rev. Type I, S-配位型. Fig 2.) を示したため、シ

クロヘキサン構造に導入した官能基はヘム近傍に存在することが推定された。また、滴定曲線よりスペクトル解離定数  $K_s$  を算出した結果、*cis*-48 は強い CYP1B1 親和性を有していることが明らかになった。続いて、詳細な結合様式を解明するため、*cis*-48/CYP1B1 複合体の X 線結晶構造解析を行った。*in silico* 解析を組み合わせた手法により、

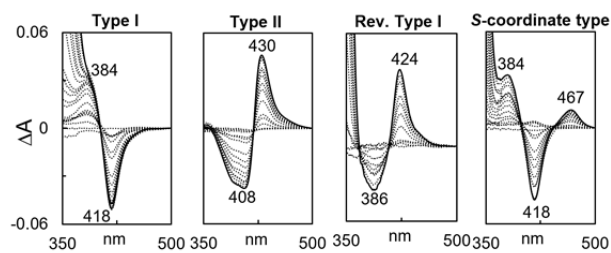


Figure 2. Spectral changes upon binding of inhibitor

CYP1B1 では 2 例目となる結晶構造解析に成功した。*cis*-48/CYP1B1 結晶構造より、*cis*-48 のシクロヘキサン構造は振れた配座をとることから近傍のループ構造を押し上げ、また、アジド基は Thr334, Val395, Thr510 から形成される疎水空間に存在することが判明した (Fig. 3)。このため、*cis*-48 の強力な阻害活性は、平面的なポケット構造に対して不利なシクロヘキサンの配座を、直線的でリジッドなアジド基がポケットに差し込み安定化させたことが要因として考えられる。一方、*cis*-48/CYP1A1 のドッキングモデルでは、対応する箇所とアジド基の相互作用を欠いており (Fig. 4)、骨格構造とアジド基による制御がサブタイプ間選択性に重要であることが示された。

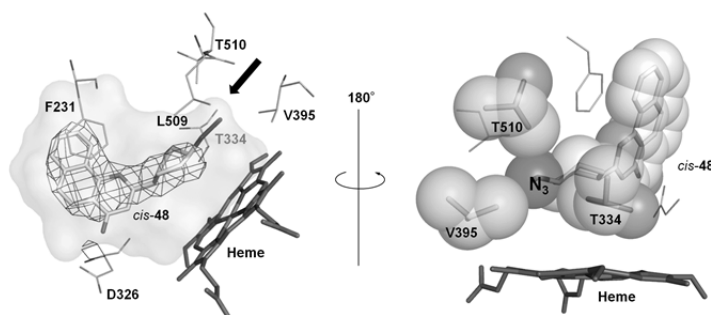


Figure 3. Crystal structure of *cis*-48/CYP1B1 complex

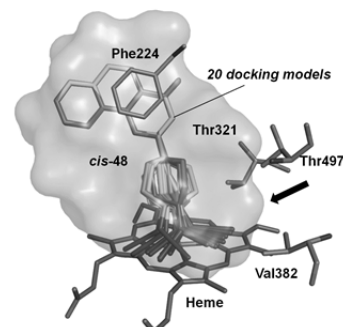


Figure 4. Docking model of *cis*-48/CYP1A1 complex

## 【結論】

CYP 1 ファミリーのポケット構造は平面的であり、基質分子構造も平面的なものが多いため、従来の CYP1B1 阻害剤は  $sp^2$  炭素で構成される平面的な構造展開が主流であった。しかし、著者は  $sp^3$  炭素に由来する構造複雑化が酵素間選択性や溶解性に対して有効だと考え、三次元的な分子構造に着目し構造展開を行った。この結果、優れた阻害活性、サブタイプ間選択性、溶解性を有する CYP1B1 阻害剤 *cis*-48 を創製することに成功した。さらに、その結合様式を 2 例目となる CYP1B1 結晶構造から明らかにしたことで、他の CYP1B1 阻害剤開発における構造基盤を供給した。CYP1B1 はエストロゲン依存性腫瘍組織の増悪因子であるため、本阻害剤をリード化合物とした新規乳がん治療・予防薬の開発展開が期待できる。

## 【参考文献】

- 1) Shimada, T. et. al. *Cancer Res.* **1996**, 56, 2979-2984.
- 2) Yamazaki, H. *Chem. Res. Toxicol.* **1998**, 11, 659-665.
- 3) Dutour, R. et. al. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, 135, 296-306.

## 【本研究の誌上発表】

**Kubo, M.**; Yamamoto, K.; Itoh, T. Design and synthesis of selective CYP1B1 inhibitor via dearomatization of  $\alpha$ -naphthoflavone. *Bioorg. Med. Chem.* in press.