



Title	配座制御型BACE1阻害剤の創製研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	米澤, 秀爾
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第11118号
Issue Date	2013-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/53837
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Shuji_Yonezawa_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（生命科学） 氏 名 米 澤 秀 爾

学 位 論 文 題 名

配座制御型 BACE1 阻害剤の創製研究

アルツハイマー病は、認知症の原因疾患のうちの大半を占める痴呆性疾患である。記憶障害などの中核症状に加え、妄想、幻覚などの精神症状、徘徊、暴言などの周辺症状も伴い、日常生活、社会生活の質的低下を引き起こす。近年、患者数は増加の一途にあり、有効な治療法の開発が望まれているが、現在治療薬として用いられているアセチルコリンエステラーゼ阻害剤や NMDA 受容体拮抗薬は、病状の進行を遅らせる作用に留まり、本質的な治療薬が上市されるには至っていない。アルツハイマー病の発症機序の一つとして、 β アミロイド蛋白 ($A\beta$) を原因物質とする $A\beta$ 仮説が提唱されている。 $A\beta$ はアミロイド前駆体 (APP) が、 β セクレターゼ (BACE1)、および γ セクレターゼの作用により切断を受けて産生されることから、それらの阻害剤はアルツハイマー病の根治薬として期待されている。2007 年に、fragment-based drug discovery (FBDD) の技術により見出された、環状アミジン構造を有する BACE1 阻害剤の最初の報告がなされた。以来、本化合物群はその有効性の高さから特に注目を集め、現在多くの製薬会社はその開発にしのぎを削っている。FBDD の fragment growing によるアプローチにおいては、その合成の容易さから単純なアルキル鎖や sp^2 炭素を有するリンカーが用いられてきたが、活性、選択性、物性のさらなる改善のためには、 sp^3 炭素を含むリジッドな構造のリンカーの利用も重要である。シクロプロパン環は最小の分子量を有する飽和環構造であり、FBDD への利用、また BACE1 阻害剤を含む中枢薬への利用に適していると考えられる。筆者は、「不飽和型」および「飽和型」のアミノピリミドン環構造を有する BACE1 阻害剤において、構造自由度の高いエチレンリンカー部分をシクロプロパン環で配座制御することを計画した。即ち、化合物が酵素に結合する際のエントロピー損失を減少させ、活性コンフォメーションを適切に模倣し、置換基を 3 次元的に適切な位置へ配置することによって、従来の化合物のさらなる活性向上と、新しい構造を有する阻害剤の創製を目指した研究を実施した。さらに、X 線結晶構造解析、等温滴定カロリーメトリー (ITC)、量子計算を用いたコンフォメーション解析により、配座制御の効果を構造化学、熱力学、計算科学の面から考察し、本阻害剤と BACE1 との結合様式の解明を試みた。

不飽和型阻害剤の創製研究において、まずシス選択的 Barton 脱カルボキシル化反応を鍵反応とした立体選択的合成ルートを確立した。合成した各立体異性体の BACE1 阻害活性を評価した結果、*cis*-(1*S*, 2*R*) の立体配置を有する化合物が、エチレンリンカー化合物に匹敵する BACE1 阻害活性を示した。対応するエナンチオマーは約 4 倍活性が低下し、*trans* 体は阻害能を示さなかったことから、シクロプロパン環の立体配置が BACE1 阻害活性発現に密接に関係していることがわかった。さらに阻害剤と BACE1 複合体の X 線結晶構造解析を実施したところ、シクロプロパン環の強固な配座制御によって、タンパク質の誘導適合が誘起されることを見出した。即ち、シクロプロパン化合物と結合することで、BACE1 の Tyr71 の側鎖がフリップし、その結果生じた新たな空間を阻害剤が占有していることが明らかとなった。さらにシクロプロパン環と BACE1 の Tyr71 側鎖との間に CH $\cdots$ π 相互作用が存在し、その寄与により阻害剤の空間配置がエチレンリンカー化合物から変化していることがわかった。次に、ベンゼン環

のメタ位への置換基導入を検討した結果、*m*-メトキシフェニル基を有する化合物が対応するエチレンリンカー化合物と同等の阻害活性を示すことを見出した。本化合物の複合体の X 線結晶構造解析より、メトキシ基の酸素原子と Ser229 残基の主鎖のカルボニル酸素が水を介して水素結合ネットワークを形成しており、さらに S1 ポケットを形成している Leu30 側鎖の誘導適合が起きていることを確認した。この誘導適合は環状アミジン型阻害剤における初めての報告であり、今後の BACE1 阻害剤の創製に有益な知見である。さらなる活性の向上を目指して、複合体構造を用いたドッキングスタディを実施し、ベンゼン環メタ位へのスパーサー挿入、ベンゼン環パラ位への置換基導入を検討した。その結果、両誘導体から良好な阻害活性を示す化合物を見出すことに成功した。一方、対応する置換基を有するエチレンリンカー化合物は全く活性を示さなかった。これより、シクロプロパン環の導入に伴う阻害剤の空間配置の変化により、構造活性相関の変化が見られ、従来にない新たな構造を有する BACE1 阻害剤を創出することができた。シクロプロパン環を用いた配座制御が生み出す新しい効果と、構造活性相関研究への新たな利用価値を見出すことができたことは意義深い。

飽和型化合物においても、光学活性なスルフィニルイミンに対するチタンエステルエノラートの付加反応を鍵反応とした立体選択的合成ルートを確立することができた。8 つの立体異性体全てを合成し BACE1 阻害活性を評価した結果、シクロプロパン環の立体配置が(1*R*, 2*R*)、アミノピリミドン環 6 位の立体配置が *S* である化合物が良好な活性を示し、各々の立体配置が BACE1 阻害活性に大きく影響することが明らかとなった。さらに、対応するエチレンリンカー化合物に比較して、本化合物の阻害活性が有意に向上していることがわかった。次いで、ITC 測定により、配座制御が熱力学的パラメーターに与える影響を評価した結果、期待より値は小さかったものの、非ペプチド系の化合物として初めて、シクロプロパン環を用いた配座制御によるターゲット結合時のエントロピーロスの減少を観測することに成功した。一方、活性向上を目指し、ベンゼン環メタ位への置換基導入を検討した結果、シクロプロパン化合物の BACE1 阻害活性はエチレンリンカー化合物に比べ大きく低下し、シクロプロパン環の導入によって、飽和型化合物においても構造活性相関が変化していることがわかった。BACE1 複合体の X 線結晶構造解析を行い、エチレンリンカー化合物、シクロプロパン化合物の結合様式を比較したところ、ベンゼン環部分のコンフォメーションが異なっており、シクロプロパン化合物のベンゼン環は、エチレンリンカー化合物のベンゼン環に比較して、S1 ポケットの浅い位置を占有していた。よって、シクロプロパン化合物においては S1 ポケットにおける疎水性相互作用が減少していることが示唆された。また、ベンゼン環部分のコンフォメーションが異なるために、メタ位からの置換基伸長による活性向上は困難であることも明らかとなった。さらに、量子計算を用いたシクロプロパン化合物のコンフォメーション解析により、本化合物は BACE1 結合時に、やや不安定なコンフォメーションを取ることが明らかとなった。以上より、疎水性相互作用の減少、化合物の不安定なコンフォメーションがエントロピーの損失に繋がっており、シクロプロパン環の導入によるエントロピーの寄与が期待より小さくなっている原因であることを突き止め、本化合物群と BACE1 との相互作用モードを詳細に解明することに成功した。本研究で用いた熱力学、構造化学、計算科学的手法を併用した解析は、配座制御型阻害剤の結合様式を解明するための有用な手段であり、これにより薬物設計をさらに理論的、合理的に行うことができると考えられる。