

氏名 (生年月日) おおたに たくや
大谷 拓也 (1993年4月15日)

学位の種類 博士 (薬学)

学位記番号 博薬 第213号

学位授与の日付 2022年3月19日

学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当

学位論文題目 ペプチド性ヒドロキシエチルアミン型BACE1阻害剤におけるP1'置換型誘導体
および大環状誘導体の合成と活性評価

論文審査委員 (主査) 教授 大石 真也

(副査) 教授 武上 茂彦

(副査) 教授 古田 巧

論文内容の要旨

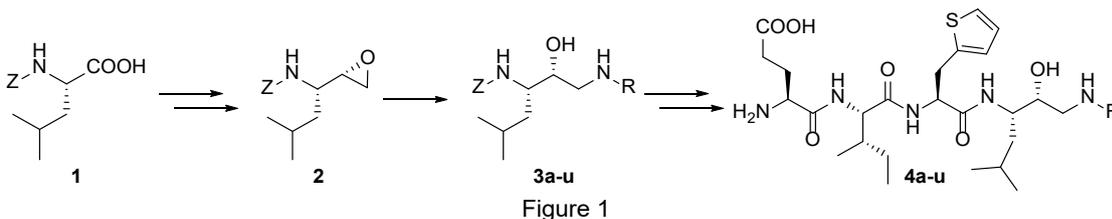
序章

アルツハイマー病 (AD) は、記憶や思考能力が障害される進行性認知症の一種である。AD の発症原因の一つとされる A β の産生に関与する BACE1 (β -site APP Cleaving Enzyme-1) は、AD 治療薬開発における重要な創薬標的の一つと考えられており、その阻害剤開発が精力的に行われている。著者の所属する研究グループではこれまでに、独自に見出した BACE1 に対する高親和性配列とヒドロキシエチルアミン (HEA) 構造を組み合わせた BACE1 阻害剤の合成と活性評価を報告している。本研究では、これらの知見に基づき、ペプチド性阻害剤の P1'および P1-P3 位に着目した新規 BACE1 阻害剤の合成と阻害活性評価を行った。

第1章 HEA 型 BACE1 阻害剤の P1'位に関する構造活性相関研究

先行研究において、HEA 型 BACE1 阻害剤の P1'位での相互作用が阻害活性に大きく影響していることを示唆する結果が得られたことから、本章では更なる活性向上を目的として、P1'位に関する詳細な構造活性相関研究を行った。

HEA 構造中の水酸基は (R)-配置が最適であることが示されているため、立体選択的に合成したエポキシド 2 を共通中間体として、様々なアミン誘導体を反応させることで、所望の立体を有する P1 フラグメント 3a-u を合成した。続いて、この P1 フラグメントに対してアミノ酸を順次縮合することで P1'置換型阻害剤 4a-u を得た (Figure 1)。



合成した阻害剤に対する BACE1 阻害活性評価の結果、P1'位フェニル基のパラ位にアルキル基を導入した誘導体では、無置換体と比較して阻害活性の向上が認められた。一方で、メタ位にメチル基を

導入した誘導体では、その阻害活性は低下した。これらの結果から、S1'ポケットの芳香環のパラ位周辺には疎水性の空間が存在することが示唆された。一方、親水性置換基をパラ位に導入したところ、カルボキシ基を有する誘導体では無置換体と比較して阻害活性が低下したが、カルボキシメチル基や2-カルボキシエチル基を有する誘導体では阻害活性の向上が認められた。その中でも、カルボキシメチル基を導入した誘導体において最も良い阻害活性が認められ、既存の低分子型 BACE1 阻害剤であるラナビセスタットよりも高い阻害活性を示すことが明らかになった。ドッキングシミュレーションの結果から、この阻害活性の向上は、P1'位末端に存在するカルボキシ基と BACE1 の Lys285 残基との間でイオン結合が形成されたためであることが強く示唆された。

第2章 P1-P3 側鎖間に架橋構造を有する大環状 BACE1 阻害剤の合成と阻害活性評価

著者は、更なる阻害活性の向上を目指し、環状化戦略に着目した。これは、架橋構造の導入により適切に阻害剤の構造を固定化することで、阻害活性の向上が期待できるためである。また、環状化によって阻害活性以外に物性の向上も期待できるため、ペプチド性阻害剤の一般的な課題である低い生体内安定性や脳内移行性に対する解決策につながる可能性を有していると考えた。先行研究において示された P1-P3 側鎖間の疎水性空間に着目し、本章では P1-P3 側鎖間に架橋構造を導入した大環状 BACE1 阻害剤の合成と阻害活性評価を行った。

本検討ではまず、阻害剤 5 を親化合物として、12~15 員環を有する大環状阻害剤の合成と活性評価を行った (Figure 2)。架橋部の構築は、P1 および P3 側鎖に末端アルケンを有する環化前駆体を合成し、閉環オレフィンメタセシス反応を行うことによって達成した。合成した大環状誘導体の阻害活性を評価したところ、全ての化合物において阻害活性の著しい低下が認められたが、13 員環誘導体の 1 つである 6 では比較的良好な阻害活性が維持された。また、13 員環誘導体に対するドッキングシミュレーションの結果、P3 位での疎水性相互作用の喪失が阻害活性の低下に寄与していることが示唆された。これらの結果に基づき、次に環サイズを 13 員環に固定し、阻害剤の P3-β 位にメチル基を有する分枝型大環状阻害剤の合成と活性評価を行った。その結果、P3-β 位にジメチル基を有する (Z)-アルケン誘導体 7 において、直鎖架橋型阻害剤 6 と比較して約 100 倍、非環状阻害剤 5 と比較して約 1.5 倍の阻害活性の向上が認められた。この結果より、P1-P3 側鎖を架橋した大環状阻害剤の阻害活性には、S3 ポケットでの疎水性相互作用と (Z)-アルケンによる架橋部構造の固定化が重要であることが示された。さらに、第1章で最も良い阻害活性を示した P1'位の置換基である 4-カルボキシメチルフェニル基を 7 に導入することで、親化合物 5 よりも約 5 倍阻害活性が向上した新規大環状阻害剤 8 を見出した。

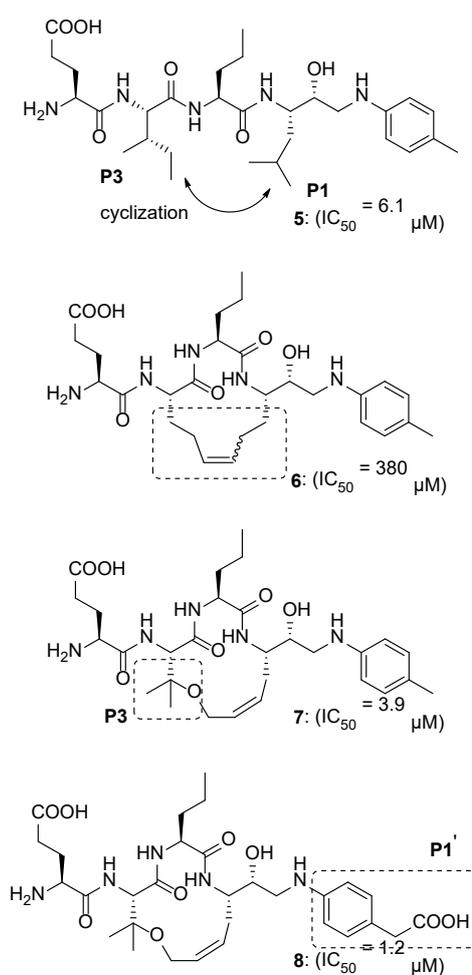


Figure 2

総括

本研究では、ペプチド性 HEA 型 BACE1 阻害剤において、P1'位の芳香環およびその置換基と S1'ポケットとの相互作用が、阻害活性に大きく影響することを明らかにし、ラナビセスタットを超える

活性を有する阻害剤を見出した。また、P1-P3 側鎖間への架橋構造の導入において、最適環サイズが 13 員環であること、S3 ポケットでの疎水性相互作用と (Z)-アルケンによる架橋部構造のコンフォメーション制御が活性発現に重要であることを明らかにした。本研究は、P1'位の構造最適化および大環状化による阻害活性への影響に関わる有用な知見を提供し、今後の BACE1 阻害剤開発に貢献するものと考えられる。

審査の結果の要旨

《緒言》

アミロイドβペプチド (Aβ) は、アルツハイマー型認知症の患者の脳に観察される神経変性を引き起こす原因物質の1つとして考えられている (アミロイド仮説)。Aβの産生やAβの凝集過程を阻害する化合物は、アルツハイマー型認知症の治療薬や予防薬として利用可能であると想定されており、これらの阻害剤の探索・創製研究が国内外において精力的に行われている。本研究では、Aβの産生に関与するβ-セクレターゼ (BACE1) に着目し、これに対する酵素阻害剤の創製研究を行った。

《審査結果の要旨》

第1章 HEA型BACE1阻害剤のP1'位に関する構造活性相関研究

BACE1の基質ペプチドの切断過程における遷移状態の構造を模倣して設計されたヒドロキシエチルアミン (HEA) 型阻害剤の構造解析結果に基づいて、構造最適化の余地があると判断されたS1'ポケットに配置する修飾基 (P1'位) の構造活性相関研究を行った。修飾基を有するアリールアミンやシクロアルキルアミンを導入した化合物のうち、4-(カルボキシメチル)フェニルアミノ基で修飾した化合物がlanabecestatよりも優れたBACE1阻害活性を示すことを明らかにした。また、この新規阻害剤のBACE1との相互作用様式を明らかにするためにドッキングシミュレーションを行い、①HEA部分の水酸基とBACE1のAsp289との相互作用、及び、②新たに導入した4-(カルボキシメチル)フェニルアミノ基のカルボキシ基とBACE1のLys285との相互作用が、BACE1阻害活性の向上に寄与していることを明らかにした。すなわち、P1'位への新たな修飾基の導入により、既報のHEA型阻害剤とは異なるユニークな相互作用様式でBACE1を阻害する新たな阻害剤を見出すことに成功した。

第2章 P1-P3側鎖間に架橋構造を有する大環状BACE1阻害剤の合成

ペプチド性BACE1阻害剤の酵素阻害活性の向上と生体内安定性や膜透過性の改善を視野に入れて、直鎖状阻害剤のアミノ酸側鎖間に架橋構造を導入した新規阻害剤の設計・合成を行った。既報のBACE1阻害剤複合体のX線結晶構造解析の情報をもとに、直鎖状阻害剤のP1位とP3位のアミノ酸側鎖間を架橋部位として設定し、さまざまなリンカー長からなる大環状BACE1阻害剤を設計・合成した。このうち、13員環からなる環状構造を有する化合物が、他の大環状阻害剤よりも優れたBACE1阻害活性を示すことを見出した。また、この13員環阻害剤の相互作用様式の解析結果に基づき、新たに架橋部位にアルキル基を導入した誘導体を設計・合成し、直鎖状阻害剤よりも優れたBACE1阻害剤を見出した。最後に、この誘導体に第1章で見出したP1'位の最適部分構造を導入した化合物を設計・合成し、強力なBACE1阻害活性を示すことを明らかにした。すなわち、これらの検討を通して、従来の大環状阻害剤にはない架橋構造上にBACE1との相互作用部位を配置したユニークなスキヤフォールドから構成された新規阻害剤の創製に成功した。

《結論》

以上のように、P1'位の構造最適化及びP1-P3側鎖間への架橋構造の導入という2つのアプローチにより、従来の直鎖状阻害剤よりも優れた酵素阻害活性を示す新規BACE1阻害剤の創製に成功した。本研究の過程で用いられたペプチドミメティクスの化学合成プロセスは、BACE1阻害剤だけでなく、各種アスパラギン酸プロテアーゼ阻害剤の効率的な合成にも応用可能であり、薬学領域における有機合成化学に有益な知見を与えるものである。また、P1'位の構造最適化やマクロ環導入の過程で得られた分子設計や分子間相互作用に関する知見は、プロテアーゼ阻害剤のみならずさまざまな標的分子に対して作用するペプチド型医薬シーズの創製に有用である。

学位論文とその基礎となる報文の内容を審査した結果、本論文は博士（薬学）の学位論文としての価値を有するものと判断する。