

平成 22 年 4 月 30 日現在

研究種目：若手研究（スタートアップ）
 研究期間：2008 ～ 2009
 課題番号：20890266
 研究課題名（和文）生理活性脂肪酸を基盤とした新規抗認知症治療剤の創製および作用メカニ
 ズムの解明
 研究課題名（英文） Development and mechanistic study of novel anti-Alzheimer's disease
 drugs based on physiologically active fatty acid
 研究代表者
 清水 忠（SHIMIZU TADASHI）
 兵庫医療大学・薬学部・助教
 研究者番号：40509022

研究成果の概要（和文）：

既に生理活性脂肪酸誘導体が動物レベルにおいて抗認知症作用を示すことを見出していたが、当該化合物は4種類の光学活性体の混合物であったため、毒性や副作用の問題が懸念された。そのため、本研究ではリパーゼの光学分割を鍵とした光学活性体の合成法を開発し、4つの異性体の活性を調べた結果、1つの光学活性体が高い活性を有することを見出した。

研究成果の概要（英文）：

We have already reported linoleic acid analogues without unstable *cis*-double bonds, called DCP-LA, which induced LTP-like long-lasting facilitation of hippocampal neurotransmission in both in vitro and in vivo systems. However, DCP-LA was four stereo-isomer mixtures, the determination of the most active isomer have been remained. In this reserch, we have developed synthetic route for the preparation of all of the four isomers of enantiomerically pure DCP-LA employing lipase-mediated resolution method, and found the most active stereoisomers.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,340,000	402,000	1,742,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,540,000	762,000	3,302,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・創薬化学

キーワード：認知症治療剤、生理活性脂肪酸、光学分割、光学活性誘導体、シクロプロパン

1. 研究開始当初の背景

高齢化時代の現代において、認知症治療は患者本人の苦しみだけでなく家族負担も大きく、創薬研究が

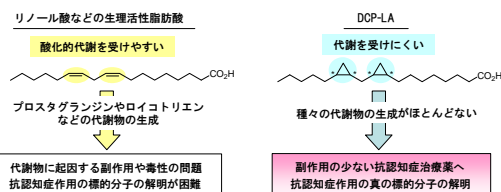
解決しなければならない重要課題のひとつである。これまで、我が国で開発されたアリセプトなどの薬剤が臨床現場において一定の有効

性を示してきているが、残念ながら患者ニーズを十分満足しているとは言い難い現状である。

海馬で起こるシナプス伝達の長期増強作用 (long-term potentiation, LTP) は学習や記憶形成過程において、重要な役割を果たすと考えられており注目を集めている。アラキドン酸やリノール酸などの生理活性脂肪酸は、その著名な生理活性代謝物であるプロスタグランジンやロイコトリエンにこれまで注目が集まってきたが、これらの脂肪酸本体が直接 LTP を活性化作用を有することからその誘導体研究も行われてきた。しかし、これらの脂肪酸は投与後速やかに脂肪組織等に取り込まれ有効な薬物動態を達成できない問題や、多量の投与によるプロスタグランジンやロイコトリエンなどによる副作用や毒性発現に結びつく懸念もあり、その解決が望まれてきた。

図 1 : DCP-LA の設計

そこで本研究では、新たな生理活性脂肪酸誘導体として、リノール酸の 2 つの二重結合部位をシクロプロパンに置き換えた DCP-LA (dicyclopropyl linoleic acid) を設計し、抗認知症治療剤を目指した研究を行った。



一般に哺乳動物では DCP-LA のような枝分かれ型脂肪酸を細胞膜に取り込むことが少ないことから、天然脂肪酸のように脂肪組織や細胞膜への取り込みを受ける懸念が少なく、かつ生理活性代謝物産生に必要な二重結合を欠失していることから副作用の回避もできると期待できた。

ただし、DCP-LA は 4 種のラセミ体ジアステレオマー混合物として合成されてきたため(図中*部分)、薬理結果はこれら混合物の総和である欠点があった。サリドマイドの悲劇に代表されるように、各異性体それぞれに異なった薬理作用と副作用・毒性が発現する可能性がある

ことから、DCP-LA の更なる高次評価のためには光学的にも高純度な DCP-LA 合成が求められてきた。

2. 研究の目的

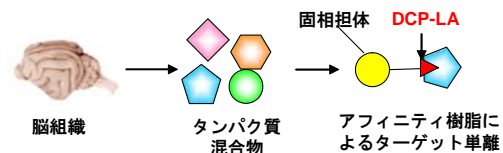
本研究は以下の 2 点を目的として研究を行った。

第 1 の目的は DCP-LA 光学活性体を高純度に合成し、各光学活性誘導体に関する薬理評価を行い、*in vivo* において有効性を示す DCP-LA の主たる活性誘導体(いわゆる活性本体)を明確にし、抗認知症治療に貢献できる薬物を創出することを旨とした。

第 2 の目的は 4 種の光学活性体に関するアフィニティ樹脂を合成し、各誘導体特異的な結合蛋白質を同定・比較し、新規抗認知症治療剤創出に貢献しうる新規創薬ターゲットを同定することを目指した。

3. 研究の方法

本研究は大きく次の 3 つのステップ



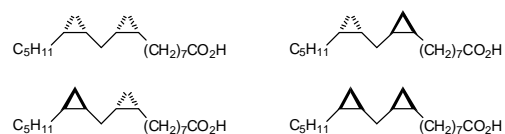
から構成された。

第 1 ステップでは 4 種の DCP-LA 光学活性体合成に必要な光学活性シクロプロパン誘導体の合成方法としてリパーゼによる光学分割を鍵とする合成方法の開拓を 2008 年度内に行った。

第 2 ステップでは第 1 ステップで確立した 4 種の光学活性シクロプロパン誘導体合成法を用い、4 種類の高純度 DCP-LA 光学活性体の合成と薬理評価を 2008 年度後半および 2009 年度中盤まで行った。

第 3 ステップでは 4 種類の DCP-LA 光学活性体を研究代表者の所属する研究室で開発された新規アフィニティ樹脂に固定化し、各誘導体特異的な結合蛋白質の同定を 2009 年度後半で検討した(図 2)。

図 2 : アフィニティ樹脂によるターゲット探索研究



4. 研究成果

【本研究の主な成果】

2008年度において、本研究課題の第1ステップとなる酵素を用いた光学活性シクロプロパン合成法の確立に成功した。具体的には、シクロプロパンを有するアルコール誘導体を市販リパーゼと反応させることによって、高い光学純度を有するシクロプロパン誘導体を得ることができた(図3)。

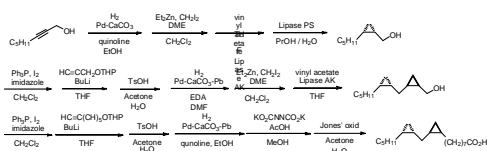


図3：光学活性 DCP-LA の合成ルート

続いて、2008年度後半および2009年度前半において、第2ステップにあたる光学活性 DCP-LA (4種類) 全合成に着手した。ステップ1で確立した光学活性シクロプロパン誘導体合成法を用いて、4種類の光学活性シクロプロパン誘導体を合成し、これら中間体から、4種類の光学活性 DCP-LA の異性体の全合成に成功した(図2、3)。さらに、これら光学異性体の活性を調べたところ、当初の目的通り、ある1つの異性体が最も高い活性を示すことを見出した。

図3：合成完了した光学活性 DCP-LA の構造

さらに、2009年度後半では、4種類の DCP-LA 光学活性体を新規アフィニティ樹脂に固定化し、各誘導体特異的な結合蛋白質の同定を検討したところ、ラット脳組織から取り出した蛋白質混合物よりいくつかのターゲット蛋白質候補が見出された。現在、分子生物学的手法を用いて、候補タンパク質の同定を検討している。

【本研究成果の位置づけ】

本研究成果において、光学活性 DCP-LA の合成法の鍵反応として見出した、リパーゼによるアセチル化反応および加水分解反応の組み合わせ合成法は光学活性なシクロプロパンを有する誘導体の合成において新たな手法を提供するものであり、今後、新たな脂肪酸ミミ

クの合成において強力な手法となるものと期待できる。

また、本研究で合成した光学活性 DCP-LA は脂肪組織への取り込みおよび生理活性代謝物産生の懸念がないため、これまで生理活性脂肪酸の認知症改善効果の研究において障害となっていた部分を克服し、今後の抗認知症作用研究においての重要な研究ツールとなると考えられる。

さらに、光学活性 DCP-LA のターゲット探索研究において見出されたターゲット候補蛋白質は今後の認知症のターゲットとして重要な意味合いを持つことが大きく期待される。

【今後の展望】

本研究で合成した光学活性 DCP-LA を創薬へと展開するためには、本研究で見出した合成ルートでは効率的合成ルートではない (total yield=1.0%)。そのため、今後、光学活性 DCP-LA 体の効率的合成ルートを構築し、種々の薬理評価を充分に行えるサンプル量を合成する計画である。

さらに、DCP-LA 関連誘導体合成は上述の合成的制限から、ほとんど行われていない。そこで、今後の創薬研究に必要な構造活性相関を明らかにし、DCP-LA を凌ぐ新規化合物創出を目指す計画である。

また、DCP-LA のターゲット蛋白質の同定を進め、新規な創薬ターゲットの提示も行う計画である。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計2件)

① E. Iwaoka, T. Mori, T. Shimizu, K. Hosoya, A. Tanaka; Improvement of monolithic solid material by utilization of spacer for identification of the target using affinity resins; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **19**, 1469-1472 (2009) 査読有

② G. Hirai, Y. Ogoshi, M. Ohkubo, Y. Tamura, T. Watanabe, T. Shimizu, M. Sodeoka, Asymmetric synthesis of isobenzofuranone derivatives and their unique character as protein kinase Cα (PKCα). *Tetrahedron Lett.*, **50**,

3609-3612 (2009) 査読有.

6. 研究組織

① 研究代表者

清水 忠 (SHIMIZU TADASHI)

兵庫医療大学・薬学部・助教

研究者番号 : 40509022