

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：34306

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K18902

研究課題名(和文) N-アミジノ含窒素環状骨格を基盤としたBACE1阻害剤の開発研究

研究課題名(英文) Development of novel BACE1 inhibitors based on the N-amidino nitrogen-containing ring structure

研究代表者

小林 数也 (Kobayashi, Kazuya)

京都薬科大学・薬学部・講師

研究者番号：80647868

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：申請者は、新たに考案したN-アミジノ含窒素環状骨格を基盤とした新規低分子 セクレターゼ(BACE1)阻害剤の開発研究を行った。アミジノピロリジンとアミジノピペリジンの2種類の骨格について、それぞれいくつかの誘導体の合成に成功し、得られた誘導体のBACE1阻害活性を評価した結果、(a) 置換基がかさ高いこと、(b) 置換基の相対立体配置がtransであること、が活性発現に有効であることを示唆する知見を得ることができた。

研究成果の概要(英文)：I have investigated to develop novel small molecule -secretase (BACE1) inhibitors based on an N-amidino nitrogen-containing ring structure. Focusing on amidino-pyrrolidine and amidino-piperidine as the structure, I synthesized several derivatives, and evaluated their BACE1 inhibitory activity. The structure-activity relationship study suggested that two bulky substituents located on a five- or six-ring structure with trans-configuration contributed to the bioactivity.

研究分野：創薬科学

キーワード：アルツハイマー病 BACE1 低分子阻害剤 アミジノ基 ピロリジン ピペリジン

1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病 (AD: Alzheimer's disease) は、脳萎縮、老人斑、神経原線維変化といった病理学的特徴を示す疾患であり、その主な症状は進行性の認知障害である。AD の推定患者総数は急激な勢いで増加していることが報告されているが、AD の根本的な治療法ははまだ確立されておらず、早急な AD 治療薬の開発が待ち望まれている。

AD の発症メカニズムにはいまだ不明な点が多いが、前駆体タンパク質から産生されるアミロイドβペプチド (Aβ) が、AD 発症に深く関与していることが示唆されている。この Aβ の産生に關与する β-セクレターゼ (BACE1) は、AD 治療薬開発における重要な創薬標的の一つであり、これまでに多くの BACE1 阻害剤が報告されているが、未だ臨床薬の開発には至っていない。

我々はこれまでに、基質ペプチドの配列を基盤として、基質切断部位にヒドロキシエチルアミンを導入した、ペプチド性 BACE1 阻害剤 1 を見出し、本化合物と BACE1 との複合体 X 線結晶構造解析から、(a) P1、P2 サイトに対応する位置に大きな疎水性ポケットが存在すること、(b) P1' サイトには適度な大きさの疎水性官能基を配置するのが望ましいこと、を明らかにしている (図 1)。しかし、一般にペプチド性高分子は、生体内安定性や膜透過性の観点から薬剤としての利用には克服すべき課題が多い。そこで我々は、上述した構造活性相関の情報を基に、新規低分子 BACE1 阻害剤の開発を行うこととした。

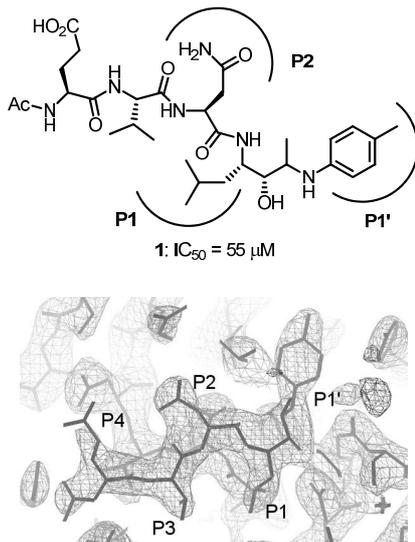


図 1. HEA 型 BACE1 阻害剤 1

低分子 BACE1 阻害剤は、これまでに多くのグループから様々な骨格を有する化合物が報告されているが、他酵素 (BACE2、カテプシン D 等) に対する選択性や血液脳関門透過性などの課題からいまだ有用な AD 治療薬の開発には至っておらず、現在においてもこれら課題を解決しうる低分子

BACE1 阻害剤の開発が求められている。近年、FBDD (Fragment Based Drug Design) による BACE1 阻害剤開発研究において、平面性を持たない環状アミジン骨格 2 を有する阻害剤が数多く報告されており、構造モチーフ 2 が有用なファーマコフォアとして着目されている (Fig 2)。我々はこの環状アミジン骨格に着目し、低分子阻害剤の新規骨格を考案した。

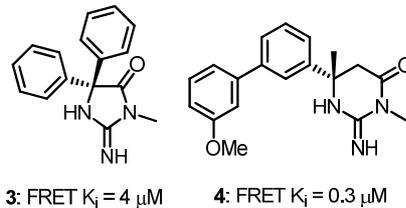
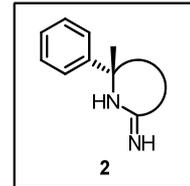


図 2. 低分子 BACE1 阻害剤

2. 研究の目的

本研究では、アルツハイマー病の根本的な治療薬の開発を目的に、新規低分子 β セクレターゼ (BACE1) 阻害剤の開発を行う。

我々は、上述した環状アミジン骨格 2 に着目し、新たな構造モチーフとして N-アミノ含窒素環状骨格 5 を考案した (図 3)。本構造モチーフを基盤に設計した、(1) アミジノピロリジン型 6、(2) アミジノピペリジン型 7、(3) アミジノアザデカリン型 BACE1 阻害剤 8 それぞれについて、様々な置換基を有する誘導体の合成を行い、高い BACE1 阻害活性と優れた物性を有する新規低分子 BACE1 阻害剤の開発を目指す。

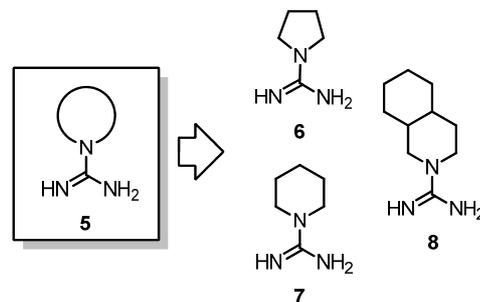


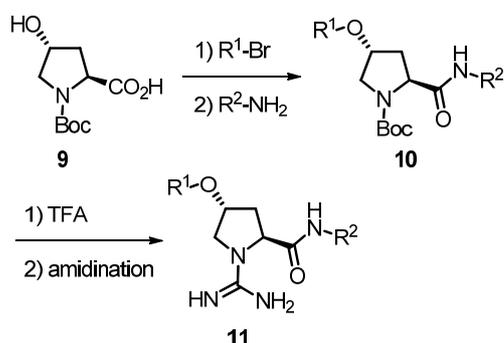
図 3. N-アミジノ含窒素環状骨格

3. 研究の方法

(1) アミジノピロリジン型 BACE1 阻害剤の開発

ヒドロキシプロリンを出発原料として、(a) S_N2 反応を用いた水酸基への R¹ 基の導入、(b) カルボン酸へのアミンの縮合による R² 基の導入、(c) 環上窒素原子へのアミジノ基の導入、の 3 段階の工程により R¹、R² が異なるいくつかの 2,4-二置換型アミジノピロリジン誘

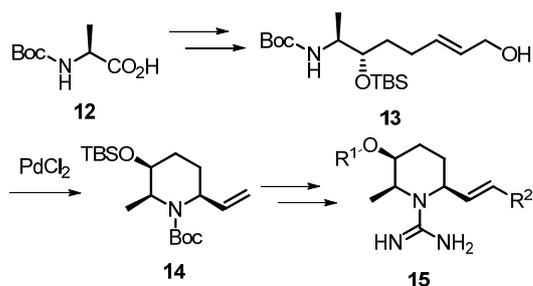
導体を合成した (Scheme 1)。得られた誘導体について BACE1 阻害活性評価を行い、構造活性相関を検討した。



Scheme 1. アミノピロリジン骨格の合成

(2) アミノピペリジン型 BACE1 阻害剤の開発

アラニンを出発原料として誘導した環化前駆体 **13** に対して、所属研究室で開発した Pd 触媒を用いたジアステレオ選択的環化反応を用いてピペリジン骨格の構築を行い、水酸基及びアルケン部への置換基の導入と、環上窒素原子へのアミノ基の導入を行うことで、いくつかの 2,5-*cis*-二置換型アミノピペリジン誘導体を合成した (Scheme 2)。また、別法により置換様式の異なる 2,5-*trans*-二置換型誘導体も合成した。得られた誘導体について BACE1 阻害活性を評価し、構造活性相関を検討した。



Scheme 2. アミノピペリジン骨格の合成

4. 研究成果

(1) アミノピロリジン型 BACE1 阻害剤の開発

誘導体合成の初期検討において、(a) R^1 、 R^2 が *trans*-配置であること、(b) R^1 、 R^2 がかさ高いこと、が活性発現に重要であることが示唆された。これらの知見に基づき更なる構造活性相関研究を行った。具体的には、 R^1 = 2-ピフェニル、3-ピフェニル、1-ナフチル、3-プロモフェニル、 R^2 = 2-ナフチルメチル、3-ピフェニルメチルに関して、これらを組み合わせた誘導体を、確立した合成法を利用して合成した。

現在、得られた誘導体の BACE1 阻害活性評価を進めている段階であり、これまでに誘導体 **16** (図 4) が $IC_{50} = 750 \mu M$ の阻害活性を示すことを見出している。今後は、活性評価

の結果に基づき、更なる構造最適化を行う予定である。

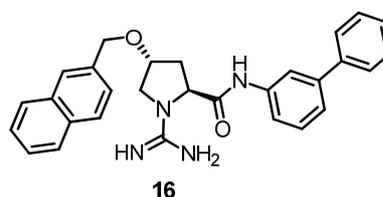
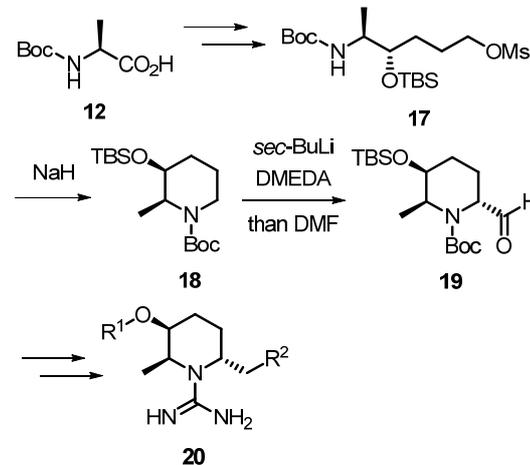


図 4. アミノピロリジン型阻害剤 **16**

(2) アミノピペリジン型 BACE1 阻害剤の開発

上述した合成法により得られた 2,5-*cis*-二置換型アミノピペリジン誘導体について BACE1 阻害活性評価を行ったところ、ピロリジン型と同様にかさ高い置換基が活性発現に有効であることが示唆されたが、得られた誘導体では十分な BACE1 阻害能を有する化合物は見出すことはできなかった。この低活性の原因は、2つの置換基の相対立体配置にあると考え、以下に示す別法により 2,5-*trans*-二置換ピペリジン誘導体の合成を行った (Scheme 3)。現在、得られた誘導体の BACE1 阻害活性評価を進めている段階であり、並行してより簡便に合成可能な 2,6-*cis*-二置換ピペリジン骨格合成を応用した誘導体合成法の検討を行っている。



Scheme 3. 2,5-*trans*-二置換ピペリジン骨格の合成

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 2 件)

Yasunao Hattori, Kazuya Kobayashi, Ayaka Deguchi, Yukie Nohara, Tomomi Akiyama, Kenta Teruya, Akira Sanjoh, Atsushi Nakagawa, Eiki Yamashita, Kenichi Akaji: Evaluation of transition-state mimics in a superior BACE1 cleavage sequence as peptide-mimetic BACE1 inhibitors, *Bioorg. Med. Chem.* **2015**, 23, 5626-5640, 査読有, DOI: 10.1016/j.bmc.2015.07.023.

Kenta Teruya, Yasunao Hattori, Yasuhiro Shimamoto, Kazuya Kobayashi, Akira Sanjoh, Atsushi Nakagawa, Eiki Yamashita, Kenichi Akaji: Structural basis for the development of SARS 3CL protease inhibitors from a peptide mimic to an aza-decaline scaffold, *Biopolymers*, **2016**, *106*, 391-403, 査読有, DOI: 10.1002/bip.22773.

〔学会発表〕(計 6 件)

小林数也: 基質配列に基づく BACE1 阻害剤の開発研究. 第 1 回近畿薬学シンポジウム: 化学系の若い力, 2015.6. 京都大学(京都)

Kazuya Kobayashi, Yasunao Hattori, Ayaka Deguchi, Yukie Nohara, Tomomi Akiyama, Kenta Teruya, Akira Sanjoh, Atsushi Nakagawa, Eiki Yamashita, Kenichi Akaji: Evaluation of Hydroxymethylcarbonyl and Hydroxyethylamine Isosteres in a Superior BACE1 Cleavage Sequence for BACE1 Inhibitors. 7th International Peptide Symposium 2015, 2015.12. Bioplis (Singapore)

Kazuya Kobayashi, Yasunao Hattori, Ayaka Deguchi, Yukie Nohara, Tomomi Akiyama, Kenta Teruya, Akira Sanjoh, Atsushi Nakagawa, Eiki Yamashita, Kenichi Akaji: Synthesis and Evaluation of Substrate-based BACE1 Inhibitors. 20th Korean Peptide Protein Society Symposium, 2016.6. Osaek Greenyard Hotel (Korea)

Kazuya Kobayashi, Yasunao Hattori, Kenta Teruya, Akira Sanjoh, Atsushi Nakagawa, Eiki Yamashita, Kenichi Akaji: Structure Activity Relationship Study for P1-P1' Site of Transition State Mimic Inhibitors for BACE1. 34th European Peptide Symposium/ 8th International Peptide Symposium, 2016.9. Leipzig University (Germany)

小林数也、出口綾香、菊池真理、井尻咲、服部恭尚、赤路健一: HEA 型 BACE1 阻害剤の構造最適化を目指した合成法の開拓. 第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会, 2016.10. 大阪薬科大学(大阪)

城竇大輝、小林数也、服部恭尚、赤路健一: N-アミジノピペリジン型 BACE1 阻害剤の合成. 日本薬学会第 137 年会, 2017.3. 東北大学川内キャンパス(仙台)

〔図書〕(計 0 件)

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小林 数也 (KOBAYASHI, Kazuya)
京都薬科大学・薬学部・助教
研究者番号: 80647868

(2) 連携研究者

赤路 健一 (AKAJI, Kenichi)
京都薬科大学・薬学部・教授
研究者番号: 60142296

服部 恭尚 (HATTORI, Yasunao)
京都薬科大学・薬学部・助教
研究者番号: 20567028