

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 10 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590128

研究課題名(和文)代謝性核内受容体リガンドの活性拡張による抗アルツハイマー活性の創出

研究課題名(英文)Exploration of gamma-secretase modulator based on metabolic nuclear receptor

研究代表者

宮地 弘幸 (HIROYUKI, MIYACHI)

岡山大学・医歯(薬)学総合研究科・教授

研究者番号：20376643

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：抗痴呆薬創製を目指し、ガンマセクレターゼ阻害剤の探索を行った。核内受容体の一つであるペルオキシソーム増殖剤応答性受容体(PPAR)アゴニストがガンマセクレターゼ阻害活性を示すことから、その構造活性相関を明らかにした。

さらに、光親和性標識化合物との競合実験により、新たに創製した化合物は、既知阻害剤とは異なる作用部位を有し、プレセニリン1(PS1)に結合することでアロステリックな影響を与える可能性を示唆することができた。

研究成果の概要(英文)：In order to create new anti dementia agents, we explored gamma-secretase inhibitors derived from PPAR agonists. The structure-activity relationship was investigated. In addition, we performed photo affinity labelling competition experiment to understand the mechanism(s) of action of the discovered compound, and found that the newly developed compounds binds to different site of plesenilin 1 as compared to the known ligands.

研究分野：薬学

科研費の分科・細目：創薬化学

キーワード：アルツハイマー PPAR プロピオン酸 チアゾリジンジオン セクレターゼ

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成26年 5月16日現在

## 1. 研究開始当初の背景

21世紀の今日本邦は65歳以上人口が全体の23%にも達する超高齢化社会である。“高齢者の生活の質向上”という命題はますます重要となった。高齢者の生活の質を低下させる疾患はADであり、21世紀最大の医療課題である。ADは脳神経細胞で $\gamma$ セクレターゼによりアミロイド前駆体タンパク質(APP)が加水分解されて生じる $A\beta$ が過剰産生・蓄積することで発症すると考えられている(図1)。従って $\gamma$ セクレターゼの活性阻害による治療戦略はADの根本治療に繋がる。しかし、従来の単純なAPP阻害では発生・分化に関与するNotchシグナルも抑制してしまい、強い副作用を呈する。

APP 選択的加水分解制御機構の理解・解明とその論理に基づく新AD治療薬の創出が期待されている(図2)。

近年AD等の神経変性疾患や糖尿病等の生活習慣病では“慢性炎症”が基盤病態として共通しているとの報告がなされた。ADは脳神経系のインスリン抵抗性に起因するというエビデンスが増え、ADを“3型糖尿病”と捉える考えも報告されている(BMB Rep. 2009, 31, 75-81.)。

本申請者は数年来生物応答の上流に位置する核内受容体制御物質の創製研究に従事してきた [Miyachi (last author) 他 5 名, *BMC*, 2010. Miyachi (last author) 他 6 名, *BMCL*, 2009. Miyachi (last author) 他 7 名, *HETEROCYCLES*, 2008. Miyachi (last author) 他 7 名, *CMC*, 2007. Miyachi, *CBC*, 2006. Miyachi, *Idrugs*, 2005 等]。

“ADが脳の糖尿病であり、基盤病態に共通性があるならば、糖尿病治療効果を有する代謝性核内受容体リガンドが、ADの発症・進展に対しても抑制的に作用するはずである！”という大胆な着想に至り、本申請者がこれまでに創製した核内受容体ライブラリーを評価した結果、APP加水分解を選択的に抑制する化合物群(SGMHM系化合物)(図3)を複数見出した。

## 2. 研究の目的

本申請者の化合物ライブラリー評価結果で重要な点は、APP加水分解をより選択的に阻害し、Notch加水分解に与える影響が小さい化合物を見出した事のみならず、逆のパターンである、Notch加水分解をより選択的に阻害し、APP加水分解に与える影響が小さい化合物も幾つか見出した点である。 $\gamma$ セクレターゼは疎水性環境に存在する膜貫通領域を加水分解するという特殊なプロテアーゼでありその加水分解機構は、少なくとも4つの膜蛋白質から構成される巨大高分子量蛋白質複合体であるという困難性から分子レベルでの解明は進んでいない。そこで、本申請者の有するライブラリーならびに、今後合成する化合物をツールに用いた解析により、化合物を主体として、膜蛋白質を加水分解し蛋白質分解依存性シグナル伝達を行う $\gamma$ セクレターゼの機能を理解するという基礎研究が促進され、さらにその分子基盤に基づいた選択的活性制御法を原理とする新AD治療薬の開発という応用研究にも貢献できる。

## 3. 研究の方法

APP 選択的加水分解阻害剤の化学構造を極め、APP および Notch という二つの基質に対する基質選択的加水分解阻害作用発現機構を理解・解明し、その論理に基づく新 AD 治療薬を創出する基盤を確立するため、本研究では以下の 4 研究項目を計画している。

SGMHM 系化合物の誘導体合成

SGMHM 系化合物誘導体の活性測定と構造活性相関解析による最適化構造選択

選択的化合物構造を基にしたケミカルバイオロジー研究プローブ合成

基質選択的加水分解阻害作用物質の作用点解明

#### 4. 研究成果

Notch-sparing ガンマセクレターゼ阻害剤の構造要件解明のため、アミドリンカー体チアゾリジン-2,4-ジオン誘導体、アクリル酸誘導体、およびスルホンアミドリンカー体チアゾリジン-2,4-ジオン誘導体の合成法を確立した。

各化合物の Notch-sparing ガンマセクレターゼ阻害活性評価、Photoaffinity Labelling 競合アッセイによる作用部位の検討を行った。ガンマセクレターゼアッセイでは、酸性頭部二重結合が Aβ 産生抑制、Aβ 産生選択性向上を明らかにし、プロピオン酸においては側鎖導入による Aβ 産生抑制活性向上を明らかにした。疎水性部においては、4 位トリフルオロメトキシ基、3 位にフッ素原子導入で Aβ 産生抑制活性、選択性向上を明らかにした。リンカー部においては、アミドリンカー

は -CH<sub>2</sub>-NH-CO- 構造が Notch-sparing ガンマセクレターゼ阻害剤として適し、逆アミド構造では Aβ 産生抑制活性は消失し、Notch 切断活性が向上することを明らかにした。Notch 選択的阻害活性は、スルホンアミドリンカー体構造においても確認した。したがって、リンカー部位の配置を変換することで Aβ 産生に対する選択性と Notch 切断に対する選択性を制御できることが示唆された。

代表化合物を用いた既知阻害剤のフォトアフィニティプローブとの競合実験の結果、申請者の Aβ 産生選択的な Notch-sparing ガンマセクレターゼ阻害剤は、既知阻害剤とは異なる作用部位を有し、プレセニリン 1(PS1)に結合することでアロステリックな影響を与える可能性を示唆することができた。

本研究成果は、ガンマセクレターゼの制御機構解明の一助となり、アルツハイマー病治療薬として新たな候補化合物を提供する。

#### 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)

1) Ohashi M, Oyama T, Putranto EW, Waku T, Nobusada H, Kataoka K, Matsuno K, Yashiro M, Morikawa K, Huh NH, Miyachi H. Design and synthesis of a series of  $\alpha$ -benzyl phenylpropanoic acid-type peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) gamma partial agonists with improved aqueous solubility. *Bioorg Med Chem.* **2013** Apr 15;21(8):2319-2332.

2) Ban S, Ueda Y, Ohashi M, Matsuno K, Ikeda M, Kato N, Miyachi H. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor delta

Antagonists Inhibit Hepatitis C Virus RNA Replication. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, 23(17):4774-4778.

3) Beniyama Y, Matsuno K, Miyachi H. Structure-guided design, synthesis and in vitro evaluation of a series of pyrazole-based fatty acid binding protein (FABP) 3 ligands. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, 3, 1662-1666.

4) Ohashi M, Nakagome I, Kasuga J, Nobusada H, Matsuno K, Makishima M, Hirono S, Hashimoto Y, Miyachi H. Design, synthesis and in vitro evaluation of a series of  $\alpha$ -substituted phenylpropanoic acid PPAR $\gamma$  agonists to further investigate the stereochemistry-activity relationship. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, 20, 375-383.

5) Ohashi M, Oyama T, Nakagome I, Satoh M, Nishio Y, Nobusada H, Hirono S, Morikawa K, Hashimoto Y, Miyachi H. Design, Synthesis, and Structural Analysis of Phenylpropanoic Acid-Type PPAR $\gamma$ -Selective Agonists: Discovery of Reversed Stereochemistry-Activity Relationship. *J. Med. Chem.* **2011**, 54, 331-341.

6) Ban S, Kasuga J, Nakagome I, Nobusada H, Takayama F, Hirono S, Kawasaki H, Hashimoto Y, Miyachi H. Structure-based design, synthesis, and nonalcoholic steatohepatitis (NASH)-preventive effect of phenylpropanoic acid peroxisome

proliferator-activated receptor (PPAR)  $\alpha$ -selective agonists. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, 19, 3183-3191.

## 6 . 研究組織

### (1) 研究代表者

宮地 弘幸 (MIYACHI HIROYUKI)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授  
研究者番号：20376643

### (2) 研究分担者

松野 研司 (MATSUNO KENJI)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授  
研究者番号：50433214