

( 続紙 1 )

京都大学	博士 (薬学)	氏名	高橋 淳
論文題目	アルツハイマー病治療薬としてのカーバメート系コリンエステラーゼ阻害薬に関する研究		
(論文内容の要旨)			
<p>人類の平均余命は急激に延長してきたが、一方では高齢人口の増加に付随する問題も生じてきている。その1つは老年性疾患の患者数増加である。老年性認知症はそのような疾患の代表的なもので、患者数は2040年までに世界で8,100万人にも上るとされている。認知機能低下の原因として様々な疾患が知られているが、その中でも老年期に最も好発するのはアルツハイマー病 (AD) である。ADは進行性の神経変性疾患であり、ベータアミロイド (<math>A\beta</math>) やタウなど疾患に特徴的なタンパク質の変性が根本原因と考えられているが、これらとADでみられる認知機能低下の関係の詳細については、依然明らかではない。ADのもう1つ神経病理学的な特徴としてコリン作動性神経の脱落があるが、各種動物を用いた研究結果からも、コリン性神経伝達の低下が認知機能低下のより直接的な原因であると考えられている。コリン性神経伝達を賦活する方法としては様々な方策が考えられるが、著者は、近年動物モデルや認知症患者で有効性が示唆されたブチリルコリンエステラーゼ (BuChE) に着目し、本酵素の選択的阻害薬の創出を目的として検討を行った。また、コリンエステラーゼ阻害薬には<math>A\beta</math>産生に影響を及ぼすものも知られており、この作用はADの根本治療においても有用な可能性があることから、<math>A\beta</math>産生に及ぼす影響についても検討を行った。</p>			
第1章 3環系カーバメート化合物のコリンエステラーゼ阻害作用に関する検討			
<p>古典的なコリンエステラーゼ阻害薬であるフィゾスチグミンおよびその誘導体は、アセチルコリンエステラーゼ (AChE) とBuChEの最も顕著な違いであるアシルポケットに構造中のカーバメート部分を配位させる形で活性部位と相互作用することから、選択的な阻害薬を創出する上で非常に有用と考えられるため、フィゾスチグミンを基本骨格として選択的BuChE阻害薬を創出することとした。まずフィゾスチグミンM位における置換基の影響について検討した。嵩高さ、電子的影響などについて検討を行った結果、ピリジニルエチルやピペリジニルエチル基を導入することで活性が向上することが明らかとなった。続いてカーバメート部分における置換基の影響について検討した結果、カーバメート窒素原子に環構造を直結するよりもメチレンを介在させることで活性は向上し、さらにベンジルよりもシクロヘキシルメチルとすることで選択性が飛躍的に向上することが明らかとなった。さらに、M位、カーバメート部分で良好な結果を示した置換基を組み合わせたところ、BuChE阻害活性 (<math>IC_{50}</math>) はすべて1 nM以下となり、最大2,000倍以上の選択性を示す化合物を得た。</p>			
第2章 2環系カーバメート化合物のコリンエステラーゼ阻害作用に関する検討			
<p>3環系カーバメート化合物に関しては、C環が折れ曲がるようにしてMがアニオニックサイト (コリン結合サイト) のTrpと相互作用して安定化されると考えられている</p>			

が、リバスチグミンのようにC環を持たないより化合物もコリンエステラーゼ阻害作用を有しており、カーバメート化合物が活性をもつためにどのような性質が必須であるのかは明らかでない。そこで著者は続いて、ファーマコフォアに関する知見を得ることと骨格の簡素化を目的として検討を行った。まず、Trpと相互作用するとされるC環を削りインドリンとした誘導体で検討を行ったが、活性は消失しておらず、ベンジルインドリン誘導体では3環性誘導体と同等の活性が保持されていた。イソインドリンやインドールとしたところ、活性は低下したものの消失はしなかった。一方で塩基性窒素原子を持たないインダンとすることにより活性が消失したことから、位置はそれほど厳密ではないものの、塩基性窒素原子の存在が必要であることが示唆された。ベンジルインドリン誘導体で活性が保たれていたため、次にインドリン窒素原子上の置換について検討した。各種置換基での検討の結果、アラルキル基での比較ではベンジル基が最適で、ピリジニルエチル基でも同等の活性を持つことが明らかとなった。カーバメート部分に関しても検討を行ったが、概ね3環系化合物で得られたのと同様の傾向で、2環系化合物でもBuChEに対するIC<sub>50</sub>が3nM、選択性30,000倍以上のものを得た。

### 第3章 カーバメート化合物BNCのアミロイドカスケードに対する影響

海馬由来初代培養神経細胞に対してカーバメート化合物であるBNCを24時間処置したところ、有意なAβ産生低下がみられた。この効果は各種アセチルコリン受容体拮抗薬では抑制されなかった。これまでに報告されているカーバメート化合物における同様の作用は、アミロイド前駆タンパク質（APP）の翻訳阻害によると報告されているが、著者の検討ではAPP量に変化は見られなかった。そこで次にAPPからの切断に対する影響について検討したところ、BNCはγ切断を有意に抑制した。以上の結果から、BNCによるAβ産生低下には、APPからの切断過程の抑制が一部関与することが示唆された。

以上、著者が得たカーバメート化合物によるコリンエステラーゼの阻害およびアミロイドカスケードへの影響に関する新規の知見は、AD治療薬の開発における基礎的情報となることが期待される。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

アルツハイマー病 (AD) は進行性の神経変性疾患であり、ベータアミロイド (A $\beta$ ) やタウなどのADに特徴的なタンパク質の変性が根本原因と考えられているが、これらの現象とADでみられる認知機能低下の関係の詳細については不明の点が多い。ADの神経病理学的な特徴としてコリン作動性神経の脱落があり、各種動物を用いた研究結果からもコリン性神経伝達の低下が認知機能低下のより直接的な原因であることが示唆されている。申請者は、健忘動物モデルや認知症患者で有効性が示唆されたブチリルコリンエステラーゼ (BuChE) に着目し、本酵素の選択的阻害薬の創出を目的として検討を行った。コリンエステラーゼ阻害薬にはA $\beta$ 産生に影響を及ぼすものも知られており、この作用はADの根本治療においても有用な可能性があることから、A $\beta$ 産生に及ぼす影響についても検討を行った。

### 第一章 3環系カーバメート化合物のコリンエステラーゼ阻害作用に関する検討

古典的なコリンエステラーゼ阻害薬であるフィゾスチグミンおよびその誘導体は、アセチルコリンエステラーゼ (AChE) と BuChE の最も顕著な違いであるアシルポケットに構造中のカーバメート部分を配位させる形で活性部位と相互作用することから、選択的な阻害薬を創出する上で非常に有用と考えられるため、フィゾスチグミンを基本骨格として選択的 BuChE 阻害薬を創出することとした。まずフィゾスチグミン M 位における置換基の影響について検討した。嵩高さ、電子的影響などについて検討を行った結果、ピリジニルエチルやピペリジニルエチル基を導入することで活性が向上することが明らかとなった。続いてカーバメート部分における置換基の影響について検討した結果、カーバメート窒素原子に環構造を直結するよりもメチレンを介在させることで活性は向上し、さらにベンジルよりもシクロヘキシルメチルとすることで選択性が飛躍的に向上することが明らかとなった。さらに、M 位、カーバメート部分で良好な結果を示した置換基を組み合わせたところ、BuChE 阻害活性 (IC<sub>50</sub>) はすべて 1 nM 以下となり、最大 2,000 倍以上の選択性を示す化合物を得た。

### 第二章 2環系カーバメート化合物のコリンエステラーゼ阻害作用に関する検討

3環系カーバメート化合物に関しては、C環が折れ曲がるようにしてMがアニオンックサイト (コリン結合サイト) の Trp と相互作用して安定化されると考えられているが、リバスチグミンのようにC環を持たないより化合物もコリンエステラーゼ阻害作用を有しており、カーバメート化合物が活性をもつためにどのような性質が必須であるのかは明らかでない。そこで、ファーマコフォアに関する知見を得ることと骨格の簡素化を目的として検討を行った。まず、Trp と相互作用するとされるC環を削りインドリンとした誘導体で検討を行ったが、活性は消失しておらず、ベンジルインドリン誘導体では3環性誘導体と同等の活性が保持されていた。イソインドリンやインドールとしたところ、活性は低下したものの消失はしなかった。一方で塩基性窒素原

子を持たないインダンとすることにより活性が消失したことから、位置はそれほど厳密ではないものの、塩基性窒素原子の存在が必要であることが示唆された。ベンジルインドリン誘導体で活性が保たれていたため、次にインドリン窒素原子上の置換について検討した。各種置換基での検討の結果、アラルキル基での比較ではベンジル基が最適で、ピリジニルエチル基でも同等の活性を持つことが明らかとなった。カーバメート部分についても検討を行ったが、概ね3環系化合物で得られたのと同様の傾向で、2環系化合物でもBuChEに対するIC<sub>50</sub>が3 nM、選択性30,000倍以上のものを得た。

### 第三章カーバメート化合物BNCのアミロイドカスケードに対する影響

海馬由来初代培養神経細胞に対してカーバメート化合物であるBNCを24時間処置したところ、有意なAβ産生低下がみられた。この効果は各種アセチルコリン受容体拮抗薬では抑制されなかった。これまでに報告されているカーバメート化合物における同様の作用は、アミロイド前駆タンパク質（APP）の翻訳阻害によると報告されているが、著者の検討ではAPP量に変化は見られなかった。そこで次にAPPからの切断に対する影響について検討したところ、BNCはγ切断を有意に抑制した。以上の結果から、BNCによるAβ産生低下には、APPからの切断過程の抑制が一部関与することが示唆された。

以上、申請者が得たカーバメート化合物によるコリンエステラーゼの阻害およびアミロイドカスケードへの影響に関する新規の知見は、AD 治療薬の開発における基礎的情報となることが期待される。

よって本論文は博士（薬学）の学位論文として価値あるものと認める。

さらに、平成22年2月23日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 平成 年 月 日以降