

# チューブリンアセチル化剤の創製と医薬品への応用

京都府立医科大学大学院 医学研究科 医薬品化学  
鈴木 孝禎

## 1. はじめに

人口の高齢化に伴い、パーキンソン病やアルツハイマー病に代表される神経変性疾患の患者が増加し、深刻な社会問題になっている。認知症の患者数は、日本国内だけで200万人と推定されており、その数は、今後増加の一途をたどると言われている。しかしながら、神経変性疾患に対する特効薬は未だ存在しない。

近年の研究により、SIRTアイソザイムの一つであるSIRT2は、 $\alpha$ -チューブリンの脱アセチル化を介して、アルツハイマー病などの神経変性疾患の発症に関与することが明らかとなった<sup>1)</sup>。したがって、SIRT2選択的阻害薬は、新たな作用機序の神経変性疾患治療薬として期待されている。

我々の研究グループは、これまでに、SIRT阻害薬として、2-アニリノベンズアミド **1** (図1) 及びその誘導体を得ることに成功している<sup>2,3)</sup>。本研究では、SIRT阻害薬**1**の構造を基に、神経変性疾患治療薬を目指した高活性SIRT2選択的阻害薬の創製研究を行う。これまでに報告されている、もっとも阻害活性が高いSIRT2選択的阻害薬はAGK2 (図1) である<sup>1)</sup>。しかし、AGK2でさえ、SIRT2阻害活性は医薬品として応用するには不十分である ( $IC_{50} = 3.5 \mu M$ )。さらにAGK2は $IC_{50} = 30 \mu M$ でSIRT1も阻害してしまうため、SIRT1を阻害することによる副作用が懸念される。本研究では、**1**の構造を基にクリックケミストリーの手法により、短時間でSIRT阻害薬用の化合物ライブラリーを構築し、SIRT蛍光アッセイによるスクリーニングを行い、高活性、高選択的なSIRT2阻害薬 ( $\alpha$ -チューブリンアセチル化剤) を見出すことを目的とした。

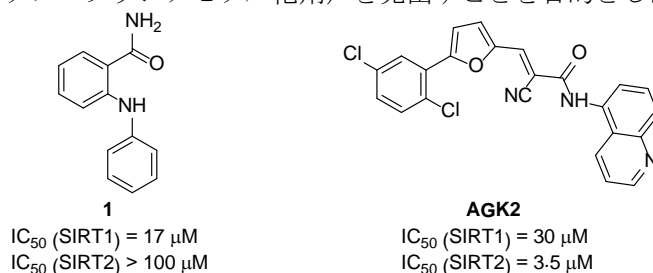


図 1. 2-アニリノベンズアミド **1**、AGK2 の構造と SIRT 阻害活性

## 2. 方法

本研究では、クリックケミストリーによる化合物ライブラリーの作製とそのスクリーニング、得られた化合物の生化学的特性評価の3つの開発ステップを実施した。具体的な研究方法は以下のとおりである。

### 【ステップ1】

まず、化合物**1**のアルキン置換体**2**と様々な構造のアジド体**3**を96穴プレート上でクリックケミストリーにより連結させることで、SIRT阻害薬用の化合物ライブラリーを構築する (アルキン**2**が**m**種類、アジド**3**が**n**種類ある場合、 $m \times n$ 個のトリアゾール化合物を一度に合成できる)

(図2)。HDAC8選択的阻害剤の研究開発経験から<sup>4),5)</sup>、化合物**m**  $\times$  **n**種類で目的とする化合物が得られる必要条件是満たすと推定した。

### 【ステップ2】

つぎに化合物ライブラリーのスクリーニングを96穴プレートを用いてSIRT1及びSIRT2蛍光アッセイにより行った。このアッセイでは、SIRT阻害活性が見られる場合に蛍光の減少が観察される。

### 【ステップ3】

SIRT2蛍光アッセイでのみ蛍光の減少が観察されたトリアゾール体がSIRT2選択的な阻害を示す化合物である。そのヒット化合物を別途合成、精製し、SIRT1、SIRT2に対する阻害活性 ( $IC_{50}$  値) を評価し、AGK2のSIRT2阻害活性、選択性と比較した。

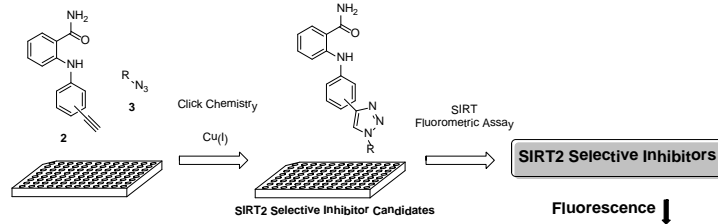


図2. クリックケミストリーを用いた SIRT2 選択的阻害薬の創製

### 3. 結果

化合物1のメタアルキン置換体**A1**、パラアルキン置換体**A2**と様々な構造の57種類のアジド体**B**を合成した(図3)。つぎに、アルキン**A**とアジド**B**を96穴プレート上でクリックケミストリーにより連結させ、114個のトリアゾール化合物からなるSIRT阻害薬用の化合物ライブラリーを構築した(図2参照)。ここでは、TLCおよびLCMSにより原料**A**の消失と生成物を確認した。

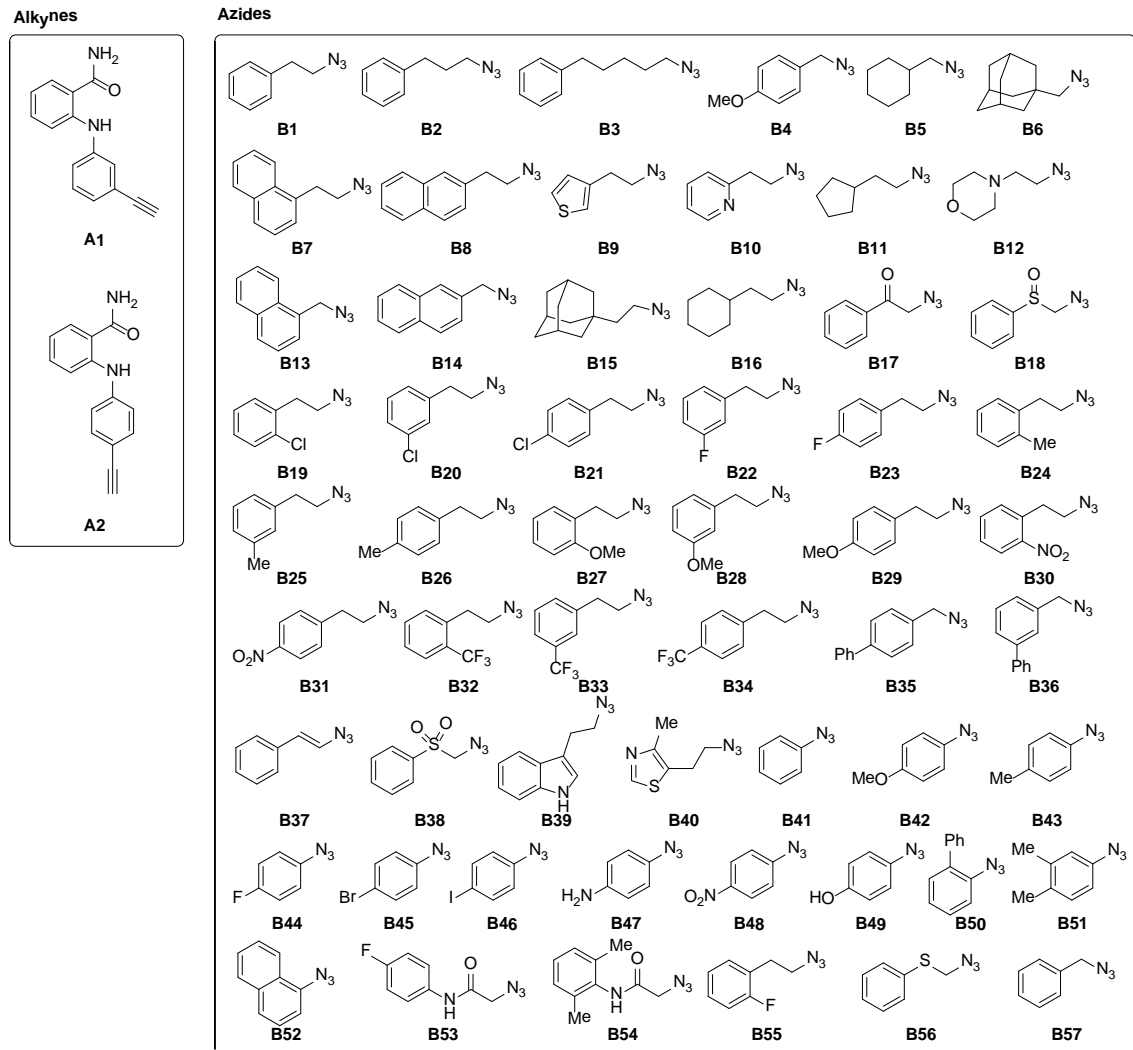


図3. アルキン体**A**およびアジド体**B**の構造

つづいて、単離・生成なしに反応液を希釈し、直接SIRT蛍光アッセイを行った。その結果、化合物**A1B11**および**A2B57**が、既知のSIRT2選択的阻害薬AGK2と同等のSIRT2阻害活性を示した(図4)。また、**A1B11**および**A2B57**は、SIRT1阻害活性を示さなかった。

さらに、**A1B11**および**A2B57**を別途合成し、カラムクロマトグラフィーおよび再結晶により精製し、SIRT阻害活性評価を行った。その結果、**A1B11**および**A2B57**は、AGK2よりも高いSIRT2選択性を示す化合物であることが明らかとなった(表1)<sup>6)</sup>。

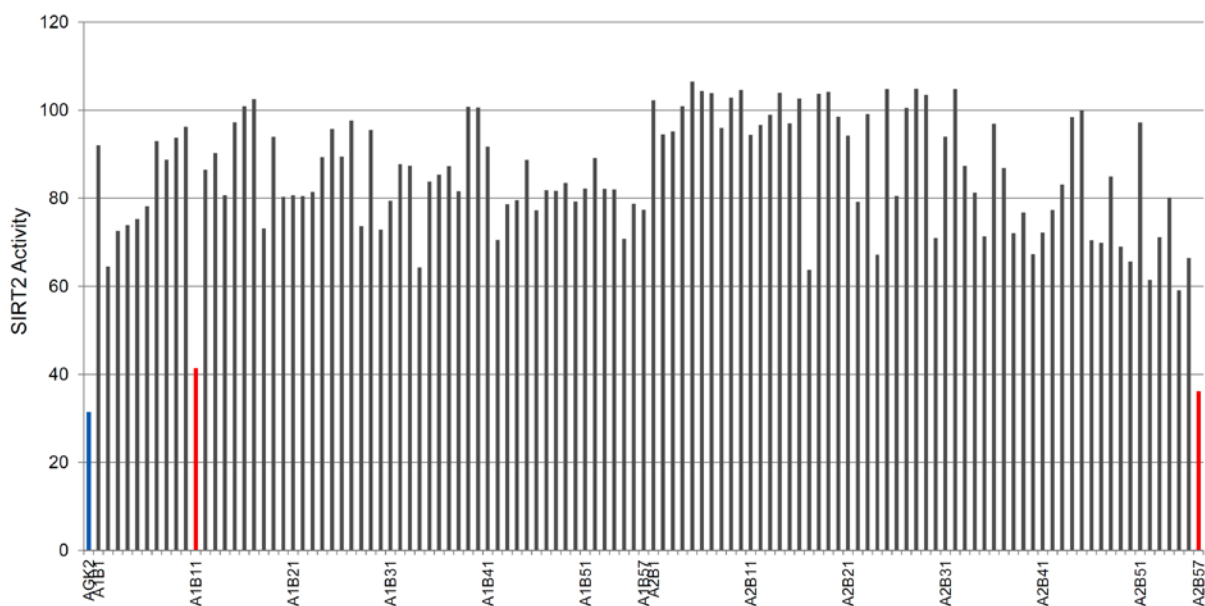


図4. トリアゾールライブラリーのSIRT2阻害活性評価

表 1. AGK2 と A1B11、A2B57 の SIRT 阻害活性

compound	IC <sub>50</sub> (μM)		
	SIRT1	SIRT2	SIRT3
AGK2	3.5	30	91
A1B11	5.3	>100	>100
A2B57	6.3	>100	>100

#### 4. まとめ

本研究により、これまで報告された SIRT2 選択的阻害薬よりも高い SIRT2 選択性を示す化合物 **A1B11**、**A2B57** が見出された。

今後、化合物**A1B11**、**A2B57**あるいはその誘導体を用いた動物実験により、SIRT2選択的阻害薬の神経変性疾患治療薬としての有効性を検証する予定である。動物実験で効果を示す化合物があれば、神経変性疾患治療薬として実用化可能であると考えている。

#### 5. 参考文献

- 1) Outeiro, T. F.; Kontopoulos, E.; Altmann, S. M.; Kufareva, I.; Strathearn, K. E.; Amore, A. M.; Volk, C. B.; Maxwell, M. M.; Rochet, J. C.; McLean, P. J.; Young, A. B.; Abagyan, R.; Feany, M. B.; Hyman, B. T.; Kazantsev, A. G. *Science* **2007**, *317*, 516–519.
- 2) Suzuki, T.; Imai, K.; Nakagawa, H.; Miyata, N. *ChemMedChem* **2006**, *1*, 1059–1062.
- 3) Suzuki, T.; Imai, K.; Imai, E.; Iida, S.; Ueda, R.; Tsumoto, H.; Nakagawa, H.; Miyata, N. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 5900–5905.
- 4) Suzuki, T.; Ota, Y.; Ri, M.; Bando, M.; Gotoh, A.; Itoh, Y.; Tsumoto, H.; Tatum, P. R.; Mizukami, T.; Nakagawa, H.; Iida, S.; Ueda, R.; Shirahige, K.; Miyata, N. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 9562–9575.
- 5) Suzuki, T.; Ota, Y.; Kasuya, Y.; Mutsuga, M.; Kawamura, Y.; Tsumoto, H.; Nakagawa, H.; Finn, M. G.; Miyata, N. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 6817–6820.
- 6) Tatum, P. R.; Sawada, H.; Ota, Y.; Itoh, Y.; Nakagawa, H.; Miyata, N.; Suzuki, T. manuscript in preparation.