

行政院及所屬各機關出國報告

(出國類別: 短期進修)

阿茲海默氏症新藥設計研究概況 報告書

服務機關: 國防大學國防醫學院

出國人 職 稱: 中校教師

姓 名: 胡明寬

出國地區: 美國

出國期間: 九十年六月二十八日至九十年十月十三日

報告日期: 九十年十一月十日

Jo / 09005508

行政院及所屬各機關出國報告提要

出國報告名稱:

阿茲海默氏症新藥設計研究概況

頁數: 10

出國計劃主辦機關/聯絡人/電話:

國防大學國防醫學院/楊素足/(02)8792-3100 ext. 18111

出國人員姓名/服務機關/單位/職稱/電話:

胡明寬/國防大學國防醫學院/藥學系/中校教師/(02)8792-3100 ext 18896

出國類別: 進修

出國期間: 九十年六月二十八日至九十年十月十三日 出國地區: 美國

報告日期: 九十年十一月十日

分類號/目

關鍵詞: 阿茲海默氏症, 腦斑, 酵素抑制劑

內容摘要:

阿茲海默氏症 (Alzheimer's disease) 的失智患者的比例發生也隨著人類壽命提高而大幅增加, 到目前為止, 此類癥狀仍無有效根除的治療藥物, 最近由細胞生物學與生化學家的研究顯示, 造成失智有關的腦神經受損的老化腦斑的生化代謝已被揭露, 此類生化有關的酵素抑制劑即成爲新一代抗失智症藥物開發的目標。針對目前科學界所證實 γ -secretases 與 presenilinase 造成失智的腦斑的形成有密切關係, 設計與合成此兩類酵素抑制劑即成爲許多學術研究單位與藥廠競相開發新型藥物, 氫氧乙基爲主軸的擬胜肽物被發現具有相當的活性, 再進修過程中, 學習了合成此此類胜肽物兩種與製備蘇胺酸環氧化物中間體以作爲發展此類酵素抑制劑的基礎, 前者也進行初步抑制 γ -secretases 的篩選試驗, 針對初步結果參考新進研究報告, 作進一步修飾與改進, 而後者則是以基質衍生物的基本觀念作修飾所獲得的結果, 這些初步的實驗結果可作爲未來在國內實驗室發展此類新藥的良好起步基礎。

本文電子檔已上傳至出國報告資訊網 (<http://report.gsn.gov.tw>)

阿茲海默氏症新藥設計研究概況 報告書

摘要

阿茲海默氏症 (Alzheimer's disease) 的失智患者的比例發生也隨著人類壽命提高而大幅增加，到目前為止，此類癥狀仍無有效根除的治療藥物，最近由細胞生物學與生化學家的研究顯示，造成失智有關的腦神經受損的老化腦斑的生化代謝已被揭露，此類生化有關的酵素抑制劑即成為新一代抗失智症藥物開發的目標。針對目前科學界所證實 γ -secretases 與 presenilinase 造成失智的腦斑的形成有密切關係，設計與合成此兩類酵素抑制劑即成為許多學術研究單位與藥廠競相開發新型藥物，氫氧乙基為主軸的擬胜肽物被發現具有相當的活性，再進修過程中，學習了合成此此類胜肽物兩種與製備蘇胺酸環氧化物中間體以作為發展此類酵素抑制劑的基礎，前者也進行初步抑制 γ -secretases 的篩選試驗，針對初步結果參考新進研究報告，作進一步修飾與改進，而後者則是以基質衍生物的基本觀念作修飾所獲得的結果，這些初步的實驗結果可作為未來在國內實驗室發展此類新藥的良好起步基礎。

目次

壹 進修目的	4
貳 進修過程	5
參 進修心得	9
肆 建議	10

壹. 短期進修目的

當醫藥進步神速的今日，人類壽命大幅提高，阿茲海默症 (Alzheimer's disease) 的失智患者的比例發生也隨著人類壽命提高而大幅增加，造成整個社會與家庭極大的負擔，到目前為止，此類癥狀仍無有效根除的治療藥物，傳統乙酰膽鹼酵素抑制劑等藥物僅能延緩輕度失智患者的病情無法有效恢復原意識或根除失智病徵，且此類藥物仍有副作用嚴重與使用受限的缺點，僅能用於輕度失智者，且效果有限，最近由細胞生物學與生化學家的研究顯示，造成失智有關的腦神經受損的老化腦斑的生化代謝已被揭露，此類生化有關的酵素抑制劑即成為新一代抗失智症藥物開發的目標。

Dr. Selkoe 與 Dr. Wolfe 是哈佛醫學院神經學科教授，Dr. Selkoe 在有關失智病理的生化、細胞生物學有多年的專研，在失智症的醫學研究領域中，他可算是在早發性失智症的研究的先驅，而 Dr. Wolf 則在有關失智的酵素的機制與其新型抑制劑的藥物化學研究有優異的表現，他們共同在研究失智機理的生化、分子生物、細胞生物與藥物開發設計的合作極為突出，最近(1998年)的研究發現引起失智極大關聯的腦斑是經由兩類酵素(beta-secretases 與 gamma-secretases)作用後造成，此兩類酵素遂成為研發新型抗失智藥物的標的。

Dr. Selkoe 與 Dr. Wolfe 的合作研究將使新一代抗失智症新藥研發更有效率，針對 gamma-secretases 的屬性、結構、與對其催化機制、活性中心的深入了解，此類酵素抑制劑作為新一代抗失智藥物將在短時間問世，取代現有傳統用於對乙酰膽鹼酵素抑制藥物如 tacrine(Cognex®)或 Donepezil(Aricept®)等，為提昇在此方向的研究決定前往 Dr. Selkoe 與 Dr. Wolfe 的研究室，發展此類酵素的擬肽與非肽抑制劑作為研究目標，希望能夠對於未來國內在抗失智的新藥研發有助益。

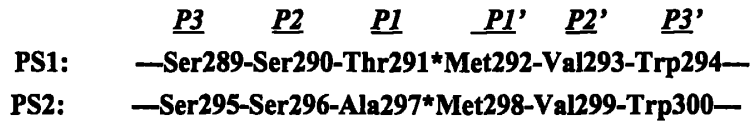
本人於今年六月二十八日由軍醫局經費補助前往美國麻州波士頓市的哈佛醫學院(Harvard Medical School) 與布立根與女子醫院 (Brigham and Women's Hospital) 的神經疾病中心(Center for Neurological Diseases) 之 Dr. Wolfe 的實驗

室作短期進修,希望藉此機會了解目前有關失智的生化病理機制與針對標的作用
酵素的新藥設計研發方向。

貳 進修過程

實驗室主持人 Dr. Wolfe 的實驗室研究人員可分為細胞生物與藥物化學兩組,藥物化學組的人員則從事新型化合物的設計與合成以及初步的藥物篩選實驗工作,進入 Dr. Wolfe 的實驗室後,首先即與 Dr. Wolfe 共同討論有關針對 secretases 酵素抑制劑與其基值得設計與合成,到目前為止,美國多家藥廠以針對 secretases 作有關的新藥研發,期望在最短的時間內找到針對 Alzheimer's disease 的病源作根除或預防性的治療,其中以默沙東(Merck Sharp & Down's)與杜邦 (DuPont) 兩家藥廠的研究較受矚目,在亞洲的人口長壽國-日本的東京大學與有關的藥廠也積極的針對此研究領域有重要的研究,企圖趕上美國在這方面的研究,其他在歐洲方面,法國德國均有對此領域的研究發表,相信這是影響人類壽命與生活品質最重要的領域之一。

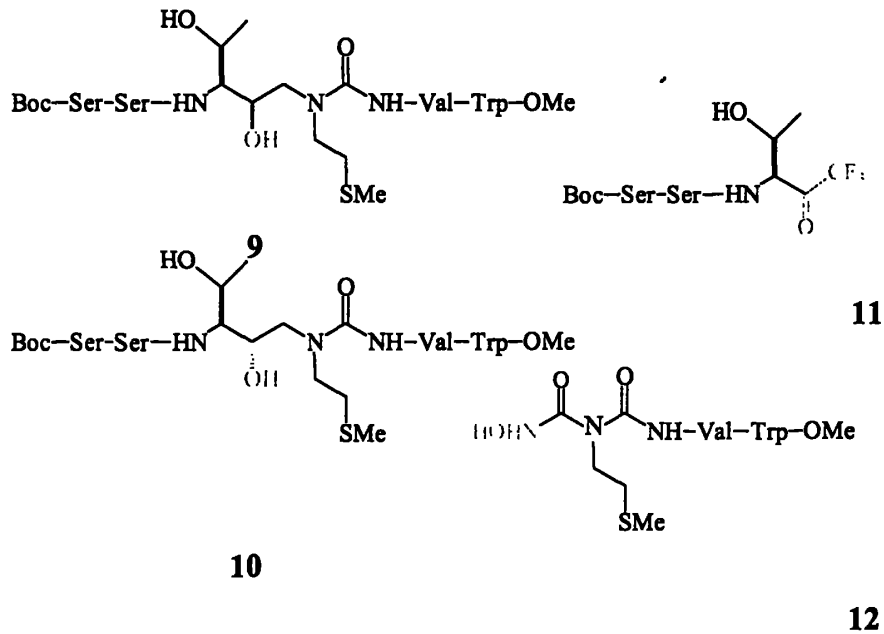
本人認為 Dr. Wolfe 聰明有智慧且他本身對此研究主題極為敏感,也已針對 secretases 的研究發表多篇重要的研究報告,任何其他學者有關此主題的研究均加以思考過濾,我們決定針對主導 gamma-secretase 活性有關的前斑素-1 (presenilin1, PS1)企圖作基質衍生抑制劑 (Substrate-derived inhibitors)的研發,作為我的目標之一,針對前斑素-1 進行以自我蛋白解離(endoproteolysis)成活性態的雜性雙基體(heterodimers)的機制,被暫定為 presenilinase 被認為是主要的進行蛋白解離的的酵素,目前學者對此酵素瞭解設少,因此我們依 PS1 或 PS2 的胺酸序列,如圖一所示 (*表切割部位),作其切割位(Scissile site) 的修飾:



圖一: PS1 與 PS2 進行蛋白分解的切割部位(以*表示)

依據以往對酵素抑制劑的設計與修飾，一般酵素大致可分為四大類，依據其作用機制我們針對分解 PS1 的酵素-Preseulinase 首先設計四類的基質衍生抑制劑如下表所示:

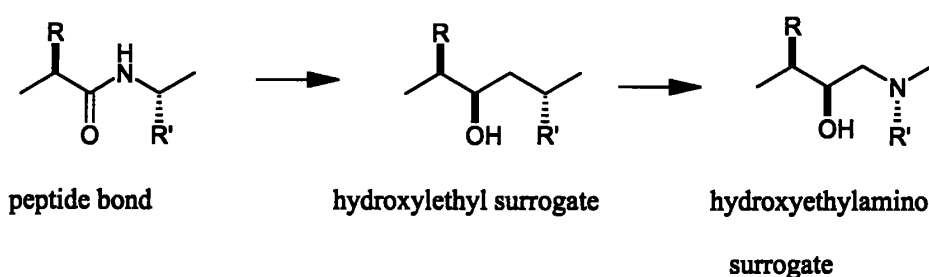
Proposed substrate-based inhibitors of PSase



圖二. 假定設計的基質衍生抑制劑(直接作用於活性部位的基團以綠色來表示，藍色是表示氮來取代碳位)

由先前的學者研究已發現在此活性態的 preseulin 的雜性雙基體的 Asp257 與 Asp385 為活性所必須的殘基(ressidue)，將此二 Asp 殘基作任一的變異，將使此

雜性雙基體的活性降低或消失，此結果可能暗示此雜性雙基體極有可能屬於 aspartyl 蛋白酶，因此當我們進行藥物設計時以假設此雜性雙基體先歸類為 aspartyl 蛋白酶，而進行藥物設計時則先進行此類基質衍生抑制劑的研究，從以往對 HIV 蛋白酶的研究已熟知有關 aspartyl 蛋白酶類的藥物研發，因為 HIV 蛋白酶屬於 aspartyl 蛋白酶的一種，因此，在此我們先進行以含氫氧乙基的擬胜肽類似物，將原有的基質切割位置的胜鍵以其切割進行的的氫氧基四面體過渡態設計成含氫氧乙基(hydroxyethyl)與 氫氧乙胺(hydroxyethylamino)的擬胜肽類似物，如下圖所示:



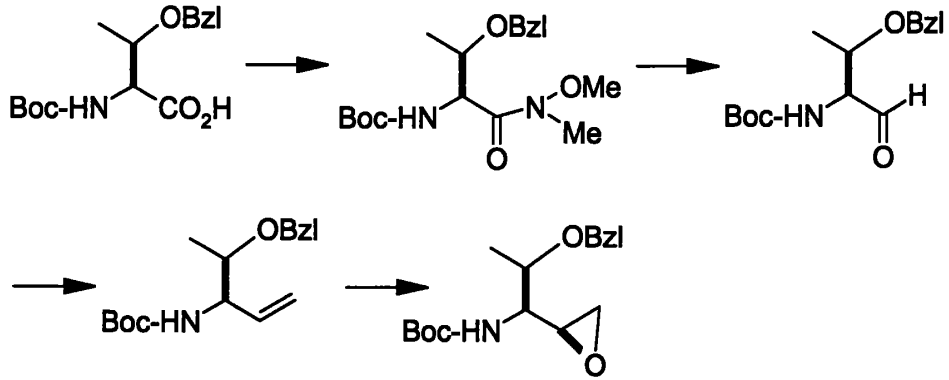
圖三. 氫氧乙基(hydroxyethyl)與 氫氧乙胺(hydroxyethylamino)中間體化學結構

在實驗工作進行的日子裡，也隨時注意在期刊新發表有關失智症新藥的研發，其中默克與杜邦藥廠的研發受到矚目，而我們在實驗室也隨時思考以調整新藥設計的方向以因應新的發展。

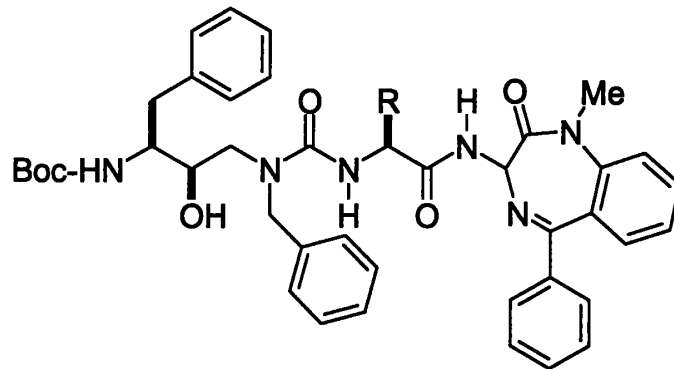
在短短的數個月中，主要進行擬胜肽鍵的合成，以建立此類新型化合物的核心，這段時間的進修中，完成蘇胺酸環氧中間體的製備與化合物 MK-023, MK-024 的合成，前著的製備可繼續作為 PS1 基質衍生抑制劑中間體的研發，後者正進行初步的抑制 gamma-secretase 篩選試驗中。

上述的研究心得將可用於國內有關失智症新型藥物的開發，在醫藥界與產業界大力提倡生醫科技的國內，整合疾病導向的基礎研究是必要的，我們也逐漸看到令

人振奮的結果，希望能持續以恆。



圖四. 蘇胺酸環氧中間體的製備



MK-023, R = -Me

MK-024, R = -CH₂CHMe₂

圖五. MK-023, MK-024 擬胜肽物的結構

參 進修心得

此次在波士頓哈佛醫學院神經學科的神經疾病中心實驗室作短期進修，感覺極為

充實，此上百位研究人員大部份集中於失智症的有關病理的分子生物學方面的探究與將所得資訊與結果同時進行新藥的研發，令人訝異的是整個中心的行政人員極有效率，僅僅數位人員即可支援各項行政工作，而研究人員的來自世界各國，研究工作勤奮，當然，其研發經費一定極為可觀，整個中心的研發極為活潑與有效率，他們對於資訊與實驗材料的取得極為方便，每位哈佛學生或研究人員均可由個人電腦上圖書館建立的網站以 pdf 或 text 檔直接閱讀或列印一、二個月內即將發表的期刊論文或過往的研究文獻，所以其研究工作可隨時維持在前端，這當然是一筆為數可觀的經費來支持，但也可了解到他們對生技、醫藥研發的重視與努力。

最近幾年來，醫學界在細胞生物與分藥理學的突進下，引起失智的遺傳與後天神經性與血管性的失智以大幅了解，小分子結構或類胜肽抗藥物的研發在已有的模式基礎上(如抗愛滋類胜肽新藥的問世)，再度受到重視，配合生化/分生的基礎，失智症新藥的研發，將更能有所突破。

在一般日常生活方面，波士頓是一個具有美國建國歷史與文化的城市，人口約有六、七十萬人，但有市內有學院二十餘所，所以學生人數約佔總人口的三分之一，平均人口年齡為二十六歲，此數據很令外來的人們大吃一驚，事實上也是如此，擁有世界知名學府-哈佛與麻省理工學院的城市自然吸引世界各國優秀學子的眼光與注意，也因為如此，波士頓的生活費與學費甚至房價或租金，都高人一等，最近媒體報導，一些被延攔到波士頓市內大學或學院的任教的新教授都會因為昂貴的房價而裹足不前。

波士頓的地下鐵是美國最悠久的地鐵交通，也是許多上班族或學生依賴的交通工具，其動線涵蓋了整個大波士頓地區，對上下班的人們或觀光客極為方便，也紓解一些平日極為擁擠的平面交通。

七月與八月是新英格蘭地區的炎夏，在進修過程中，波士頓曾經因為氣溫過高，用電超過預期的供量，而不得不停止對市內局部商家或銀行供電，這在波士頓市是

以往所不曾發生的，可見氣候環境的變遷常造成意想不到的結果。

911 事件發生時，我在實驗室工作，在當日上午約 9:20，只聽到同事提到飛機意外，但不到十分鐘後，有人從網路才看到令人震撼與不可思議的事件，由於被劫持撞上 WTC 大樓的飛機均自波士頓羅根機場起飛，使得波士頓市顯得非常緊張，州政府於上午約 10:30 即宣佈疏散市政大樓與市內兩座最高大樓所有人員，且也宣佈所有學校停課，緊急疏散所有學生返家，包括免費搭乘公共運輸工具等，可見在波士頓市內緊張的程度，也可見到州政府機關的果斷與效率，以避免任何可能的意外或事件再發生。

自 911 後，波士頓的機場安全成了各方政治人物、民議代表議論的焦點，代州長被批評任用無經驗專長的機場主管，而接下來的機場主管更替也持續被議論，可見大眾關切機場安全的心態，接著而來媒體提到生化恐怖事件也可能會發生在美國境內，使得美國各大城市如臨大敵，波士頓市自不例外，非但演練地鐵交通的意外發生與善後，也實地的作許多措施，例如將地鐵站內的所有垃圾桶移除以防止有心人士丟擲危險物體在內，造成事件，地鐵的安全人員也大幅增加以防範意外，機場的安全更不在話下，國民兵巡邏機場，國內與國際線旅客分別需要提前二小時與三小時到達機場等等，諸如此類的措施，州政府均經過深思熟慮後所達成的，其目的就是要所有人均要 100%的安全，雖然有些措施造成許多日常生活的不便，但守分與個人教育極為成功的美國人幾乎均能體會與配合，此次恐怖事件，美國聯邦政府與各個州政府的處置與善後措施，值得每個國人作極度的深思與參考，而美國人民的團結與愛國心亦在此次事件中表露無疑，一首歌名為“Gods bless USA”成為每位美國人的心聲與勇敢面對一切的表現。

肆 建議

國內最近幾年正進行著生醫科技的熱潮，也陸續有心的研發成果被報導，但研發新科技或醫藥方面的突破均具備堅實的基礎研究，才能有所成，比較國內與國外的實驗室設施，發現我們的設備並不差，之所以無法和國外實驗室的效率相比

較,主要因素除了可能在新資訊與某些實驗材料無法有效率的獲得與在國內實驗經費短缺情況之下無法作有效率的整合外,基礎研究仍需要持續的堅持與投資,從哈佛醫學院神經疾病中心的實驗室的研究可看到其基礎研究的重視與配合新醫藥的研發。

針對國內特有的醫學環境,作主題研究的整合與投入,從基礎出發,並與生技業界的長遠配合,必定能有所成。