

DOI: 10.13376/j.cbls/2018072

文章编号: 1004-0374(2018)05-0593-09

β -分泌酶抑制剂研究进展

梁爽, 李筱筱, 华芮萱, 戴雪伶*

(北京联合大学生物活性物质与功能食品北京市重点实验室, 北京 100191)

摘要: 阿尔兹海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种退行性的神经性疾病, 其主要病理特征为 β -淀粉样蛋白 (β -amyloid protein, A β) 的异常聚集及 tau 蛋白的过度磷酸化。研究发现, β -分泌酶上调在 A β 沉积发生发展过程中具有重要作用。抑制 β -分泌酶活性有可能减少淀粉样病变, 从而延缓 AD 病理发生。现结合 AD 的发病机制对 β -分泌酶的特点及 β -分泌酶抑制剂的研究进展进行综述。

关键词: 阿尔兹海默病; β -分泌酶; β -分泌酶抑制剂

中图分类号: Q51; R749.16; R914 文献标志码: A

Research advances in design and development of β -secretase inhibitors

LIANG Shuang, LI Xiao-Xiao, HUA Rui-Xuan, DAI Xue-Ling*

(Beijing Key Laboratory of Bioactive Substances and Functional Food, Beijing Union University, Beijing 100191, China)

Abstract: Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disease characterized by abnormal aggregation of β -amyloid (A β) and hyperphosphorylation of tau protein. It has been found that the up-regulation of β -secretase plays an important role in the development of A β deposition. Inhibition of β -secretase activity may reduce amyloidosis, thus delaying the occurrence of AD pathology. This paper reviewed the characters of β -secretase and research advances of β -secretase inhibitors combined with the pathogenesis of AD.

Key words: Alzheimer's disease; β -secretase; β -secretase inhibitors

阿尔兹海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种慢性神经系统退行性疾病, 其临床表现为认知力下降、定向障碍等, 极大地影响了人的正常工作和生活。发病过程可能会受到基因及环境因素的影响, 但直接的致病因素并不明确^[1]。AD 是继心脏病、癌症和中风之后, 致老年人死亡的第四大病因。AD 发生后的病理表现包括胞外的老年斑 (senile plaque, SP)、胞内的神经纤维缠结 (neurofibrillary tangles, NFTs)、脑部低代谢和神经炎性营养不良^[2]。其中, NFTs 由神经细胞内 tau 蛋白过度磷酸化形成, 胞外 SP 含大量 β -淀粉样蛋白 (β -amyloid protein, A β) 聚集成成分, 在 SP 的形成过程中轴突的发病机制占据主导作用^[3]。

A β 一般含 39~43 个氨基酸残基, 其形成需要淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP) 经 β -分泌酶切割生成 A β 的 N 末端以及膜结合型的

C99 片段, 后 γ -分泌酶作用于 C99 片段以产生 A β 的 C 端^[4]。APP 经 β -、 γ -分泌酶切割产生的 A β , 包括 A β 40 和 A β 42 两种亚型, 它们的异常聚集可能会引发 AD。 β -分泌酶是一种 I 型跨膜天冬氨酸蛋白酶。利用过表达 APP 的 Tg2576 小鼠制备 BACE1 (beta-site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1) 缺陷小鼠 (BACE1^{-/-}), 它们与正常小鼠相比无显著差异, 但在其脑提取物中未发现 A β 和 C99 片段且认知功能障碍得到改善, 提示通过阻断 BACE1 表达而改善或治疗 AD 可能是可行的^[5-6]。且有研究

收稿日期: 2017-12-05; 修回日期: 2018-02-06

基金项目: 北京市自然科学基金项目(6164030); 北京市优秀人才资助项目(2015000020124G049); 北京市教委科技计划面上项目(SQKM201511417013); 北京联合大学“启明星”大学生科技创新项目(201711417008)

*通信作者: E-mail: xueling@buu.edu.cn

证明, 在 SP 形成过程中, BACE1 抑制剂的敏感性在初期最强, 最易发挥抑制剂的作用^[7]。近年来, BACE1 抑制剂已成为 AD 药物研发的热点。

Vassar 等^[8]研究发现, BACE 在神经元中的表达水平远高于神经胶质细胞, 这一结果支持了神经元是淀粉样斑块中细胞外 A β 主要来源的观点。BACE1 与 A β 之间的调节作用是相互的。斑块相关的突触前营养不良性突起中, BACE1 水平的升高可以增加局部斑块 A β 的产生^[9]; 而 A β 会诱导围绕斑块的突触前营养不良性突起中的微管破裂, 从而损害轴突运输并导致 BACE1 的积聚^[10]。编码 BACE1 的基因位于人 11 号染色体的 11q23.2-q23.3, 包含有 9 个外显子和 8 个内含子, 全长为 30.6 kb。BACE1 基因的启动子中无 TATA 盒, 这一点与持家基因类似。编码基因的表达产物除含 501 个氨基酸残基的 BACE1 外, 还有含 432、457 和 476 个氨基酸残基的 BACE1, 其产生差异的原因在于外显子 3 和 4 的选择性拼接, 导致 BACE1 的活性结构域缺少 25、44 或 69 个残基。研究表明, 缺少活性结构域的 BACE1 对底物 APP 不敏感^[11]。由 501 个氨基酸残基组成的 BACE1, 根据残基在膜上的位置及生物功能不同, 可将其分为 5 部分: 1~21 位残基为信号肽; 22~45 位残基为前蛋白结构域; 46~460 位残基为成熟蛋白催化区; 461~477 位残基为跨膜结构域; 478~501 位残基为胞内结构。BACE1 的三级结构的特点为存在 4 个潜在的 N-糖基化位点和 3 对二硫键, 分别是 Cys²¹⁶-Cys⁴²⁰、Cys²⁷⁸-Cys⁴⁴³ 和 Cys³³⁰-Cys³⁸⁰, 这些化学键对酶的适当折叠及活性很重要。BACE1 的催化活性位点位于 DTG(93~95) 和 DSG(289~291), 这两个催化位点在空间上相互靠近构成 BACE1 的催化部位, 以水解酰胺键^[12]。X-衍射晶体结构显示, β -分泌酶的催化区域较大且包含 8 个亚活性位点^[13]: S1 亚位点位于区域较深位置, 该位点包括起催化作用的 Asp228、Asp32 和多个疏水基团, 如 Phe108、Tyr71; S2 由多个亲水性残基构成, 如 Asn233、Thr232; S3 是一个疏水性区域, 由主链和侧链构成, 主链上有 Gly11 和 Gln12, 侧链上有 Leu30、Trp115 等; S4 亚位点包含 Asn233、Gly11 和 Thr232, 亲水性强并位于蛋白表面; S1' 亚位点包括 Val332、Ile226 等基团; S2' 亚位点由 Trp76、Asn37 和 Pro70 等疏水性基团构成; S3' 亚位点包括 Thr330、Tyr198 等残基; S4' 亚位点在电子密度图上无法识别。

1 β -分泌酶抑制剂

β 分泌酶抑制剂要准确发挥作用于 BACE1, 抑制 A β 的形成, 在结构设计时需满足一些要求。有研究证明, BACE1 抑制剂对 KCNH2 基因 (human ether-à-go-go related gene, hERG) 通道有抑制作用, 会增加患心血管疾病的风险^[14], 因此, 设计的抑制剂需尽量减少对 hERG 的抑制作用。BACE1 大量存在于脑中, 因此, BACE1 抑制剂应能通过血脑屏障以发挥作用。除此之外, BACE1 抑制剂还应符合酶结合效率及活性高、特异性好、相对分子质量小、药效学好及剂量安全等生物制剂的一般要求^[15]。最初制备的 BACE1 抑制剂是肽类抑制剂, 但它不具有最优的药物特性, 如口服生物可利用性、长血清半衰期或血脑屏障穿透性。非肽类抑制剂能够获得令人满意的药物动力学, 并能获得足够的大脑穿透能力^[16]。除此之外, 对天然来源的 BACE1 抑制剂的研究也有很大进展。本文将对不同类型的 BACE1 抑制剂进行总结。

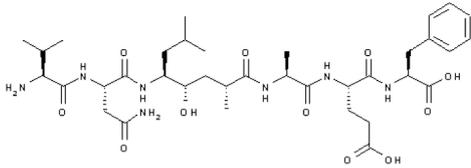
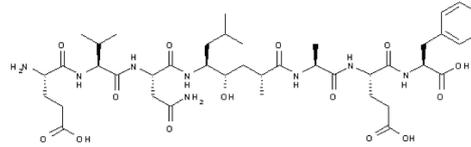
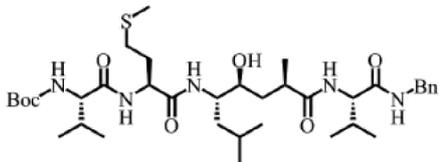
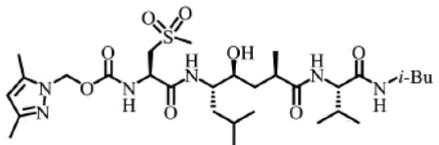
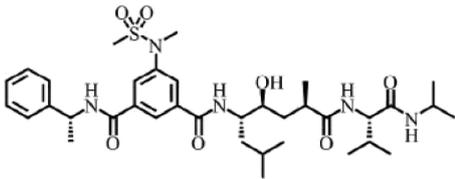
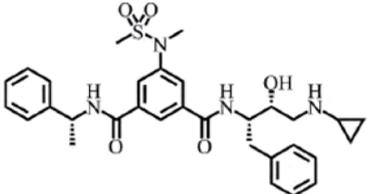
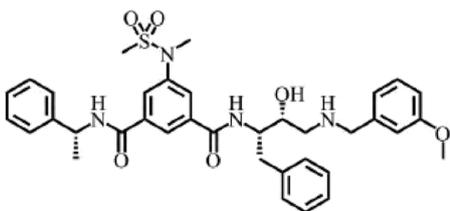
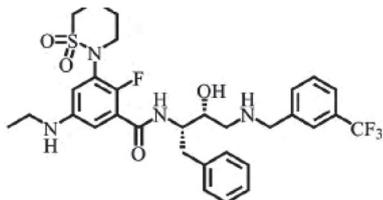
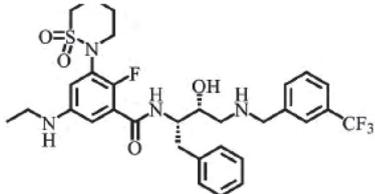
1.1 肽类 β -分泌酶抑制剂

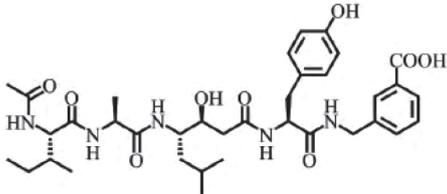
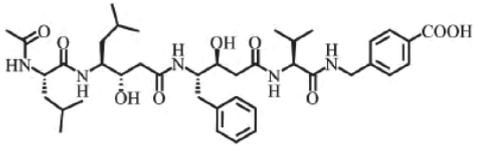
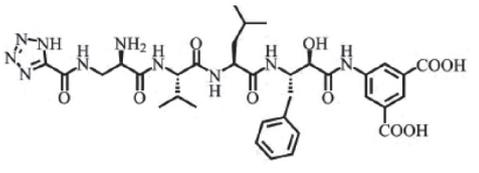
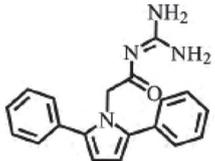
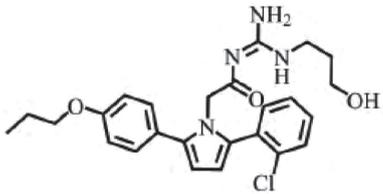
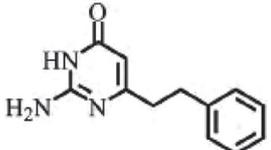
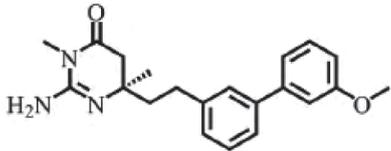
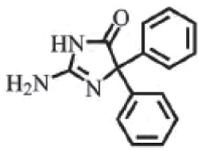
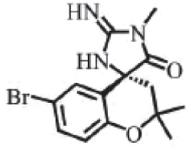
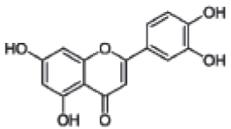
最初的 β -分泌酶肽类抑制剂是截取 APP 断裂位点附近的一个片段 (EVNLDAEF), 然后在切割位点上加入非天然氨基酸, 进而模拟 BACE1 与 APP 作用的四面体过渡态, 从而与 APP 发生竞争性抑制, 以减少 A β 产生^[13,17]。肽类抑制剂有生物相容性好、毒副作用小的特点, 但相对分子质量大、生物稳定性差、口服利用率低、不易通过血脑屏障。

1.1.1 羟乙基型

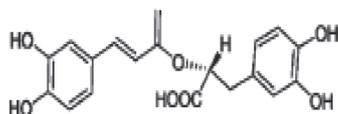
最先被发现的 β -分泌酶羟乙基型抑制剂是由 Ghosh 等^[18]设计的 OM99-1 [化学式见表 1 (1), 下同], $K_i = (6.84 \times 10^{-8} \pm 2.72 \times 10^{-9})$ mol/L 和 OM99-2 [化学式见表 1 (2)], $K_i = (9.58 \times 10^{-9} \pm 2.86 \times 10^{-10})$ mol/L。他们用发生 Asp \rightarrow Ala 突变的 Swedish β -APP 作为模板, 并利用电子等排体将结构中的酰胺键转化为羟乙基。这种变化降低了抑制剂的极性, 增强了亲脂性, 也是通过血脑屏障的重要条件, 但 OM99-1 和 OM99-2 相对分子质量较大, 不利于穿透细胞膜, 因此, Ghosh 等^[19]开始致力于降低相对分子质量并提高效能。他们将 OM99-2 中的 P₃'、P₄' 和 P₄ 的残基去除, 并将 P₂ 的残基替换为一个能有效使氢键和 S2 活性部位特定基团相连接的一个残基 (3), 其 K_i 值为 2.5 nmol/L。这种变化减小了 (2) 的相对分子质量, 但同时也减小了抑制剂对 β -分泌酶的选择性, 不利于抑制剂发挥作用。Ghosh 等^[20]

表1 BACE1抑制剂的化学结构式

文中编号	化学式	IC ₅₀ 值或K _i 值	文献来源
(1)		K _i : (6.84 × 10 ⁻⁸ ± 2.72 × 10 ⁻⁹) mol/L	[14]
(2)		K _i : (9.58 × 10 ⁻⁹ ± 2.86 × 10 ⁻¹⁰) mol/L	[14]
(3)		K _i : 2.5 nmol/L	[15]
(4)		K _i : 0.3 nmol/L	[16]
(5)		IC ₅₀ : 1.1 nmol/L	[17]
(6)		IC ₅₀ : 29 nmol/L	[18]
(7)		IC ₅₀ : 1 nmol/L	[19]
(8)		IC ₅₀ : 5 nmol/L	[20]
(9)		IC ₅₀ : 5.9 nmol/L	[21]

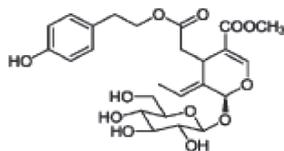
(10)		IC ₅₀ : 110 nmol/L	[22]
(11)		IC ₅₀ : 21 nmol/L	[23]
(12)		IC ₅₀ : 3.9 nmol/L	[24]
(13)		IC ₅₀ : 3.7 μmol/L	[25]
(14)			[25]
(15)		K _D : 0.66 mmol/L	[26]
(16)		IC ₅₀ : 470 nmol/L	[26]
(17)		IC ₅₀ : 7.1 μmol/L	[27-28]
(18)		IC ₅₀ : 82 nmol/L	[29]
(19)		IC ₅₀ : 5.0 μmol/L	[37]

(20)

IC₅₀: 21 μ mol/L

[37]

(21)



[38]

进一步通过在 (3) 的 P₃ 位点加入二甲基吡唑, 得到选择性及活性都大大增强的抑制剂 (4), 其 K_i 值为 0.3 nmol/L, 但 (4) 的透膜性较差, 通过将其 P₂ 片段用磺酰胺基取代后的间苯二甲酰胺片段进行替换, 并将其 P₃ 片段用苄胺结构代替, 得到抑制剂 (5), 其 IC₅₀ 值为 1.1 nmol/L, 不仅提高了膜通透性, 而且较好地保持了抑制效果^[21]。

1.1.2 羟基乙胺型

将 OM99-2 的 P₂ 片段用磺酰胺基取代后的间苯二甲酰胺片段进行替换, 这就产生了最早的羟基乙胺型抑制剂 (6), 其选择性高, IC₅₀ 值为 29 nmol/L^[22]。Ghosh 等^[23] 将 (6)P₂' 片段上的环丙基用甲氧基苄基进行替换, 得到了具有优异透膜性及选择性的抑制剂 (7), 其 IC₅₀ 值为 1 nmol/L。Charrier 等^[24] 将抑制剂 (6) 的磺酰胺基用己内磺酰胺基进行替换, P₃ 位点为乙胺基, 在间苯二甲酰胺的苯环 2-位上加入 F 原子, P₂' 片段是间甲三氟甲基苄基, 以此得到抑制剂 (8), 其 IC₅₀ 值为 5 nmol/L。Cheng 等^[25] 用二乙胺基将 (8) 中的乙胺基进行替换, 得到抑制剂 (9), 其分子水平的 IC₅₀ 值为 5.9 nmol/L, 该抑制剂对 BACE1 具有很高的选择性。

1.1.3 他汀和降他汀型

Hu 等^[26] 以 OM99-2 作为模板并以他汀作为电子等排体设计了抑制剂 (10), 其分子水平的 IC₅₀ 值为 110 nmol/L。随后, Hu 等^[27] 对 (10) 的结构进行了修饰, 在 P₁ 位点引入了苯环等结构, 得到化合物 (11), 其抑制 BACE1 的 IC₅₀ 为 21 nmol/L。Kimura 等^[28] 以降他汀作为电子等排体设计出抑制剂 (12), 其具有一定的透膜性, 分子水平抑制 BACE1 的 IC₅₀ 值为 3.9 nmol/L。除了以上类型抑制剂, 羧甲羰基型、羟乙羰基型和甲胺、仲胺类的 BACE1 抑制剂研究均取得一定进展。

1.2 非肽类 β -分泌酶抑制剂

非肽类 β -分泌酶抑制剂一般是通过随机筛选、计算机辅助设计及磁共振等方法设计而成。相比肽

类 β 分泌酶抑制剂, 它们有更小的相对分子质量、更稳定的生物代谢活性, 且具有较好的膜通透性^[1]。

1.2.1 胍基类

Cole 等^[29] 通过荧光共振能量转移的方法筛选出了对 BACE1 具有选择性且有抑制作用的胍基类抑制剂 (13), 其抑制 BACE1 活性的 IC₅₀ 值为 3.7 μ mol/L。通过进一步的结构优化, 得到了安全性更高的抑制剂 (14)。Astra Zeneca 公司以分子片段的领先合成技术为基础, 发现化合物 (15) 与 BACE1 具有弱结合性, 并通过进一步的结构优化, 得到了对 BACE1 有较好分子水平抑制作用的抑制剂 (16)^[30]。Zhu 等^[31] 和 Malamas 等^[32] 均发现了抑制剂 (17), 其 IC₅₀ 值为 7.1 μ mol/L。该抑制剂血脑屏障透过性好、相对分子质量较低、选择性好且易于改造, 因此被用作许多抑制剂的先导结构。Cumming 等^[33] 在 (17) 的基础上, 将与 S2' 结合的苯环用环丙基代替, 同时在 S1 位点的苯环邻位上加上能与 S3 位点结合的结构, 构造出抑制剂 (18), 其 IC₅₀ 值为 82 nmol/L。之后的学者为了提高抑制剂的血脑屏障通透性而对已发现的胍基类化合物进行结构改造, 但效果均不显著。

1.2.2 氨基异吲哚类

Astra Zeneca 公司采用骨架跃迁的方法设计出具有异吲哚结构的 BACE1 抑制剂, 通过更换环上的取代基, 可以得到一系列的氨基异吲哚类抑制剂^[34]。研究证明, 该类抑制剂对 hERG 具有亲和性, 但在苯环与氨基相连的位点上加 F 原子会降低其对 hERG 的亲和性; 继续在 P₂' 位点添加二氟甲基, 所得抑制剂能有效降低人脑中 A β 的含量, 但出现了很多不良的临床反应, 如眩晕、头痛等, 说明该类化合物不适宜作为药物使用^[35]。

1.2.3 其他类型的非肽类抑制剂

Malama 等^[36] 研制出一系列 2-氨基吡啶类 β -分泌酶抑制剂, 这类抑制剂对 BACE1 具有较强的选择性, 但药代动力学参数不佳。礼来公司通过片段

筛选得到氨基噻唑类抑制剂,这类抑制剂对 BACE1 有高选择性且能显著减少 A β 生成^[37]。Cheng 等^[38] 采用表面等离子共振 (surface plasmon resonance, SPR) 技术筛选出氨基噻唑,亦能抑制 BACE1 发挥作用,该类型的某些抑制剂具有良好的血脑屏障通透性。Gravenfors 等^[39] 研制出了一系列的氨基咪唑类抑制剂,该类抑制剂生物活性及对 BACE1 的选择性都很高,且对 hERG 的抑制作用小,易通过血脑屏障。Yu 等^[40] 基于片段设计出 12 种 2-氨基苯并咪唑类 BACE1 抑制剂,其中有 3 种抑制剂在 10 $\mu\text{mol/L}$ 水平显示出了 50% 的抑制活性。

1.3 天然来源的 β -分泌酶抑制剂

人工合成的 BACE1 抑制剂较天然抑制剂虽有较强的抑制活性,但副作用相对比较大。于是,学者们将目光转向天然的 β -分泌酶抑制剂,试图运用一些技术得到相对分子质量小、选择性高、生物相容性好且易通过血脑屏障的抑制剂。

1.3.1 植物来源的 β -分泌酶抑制剂

Choi 等^[41] 用甲醇对干燥的白苏子进行提取,然后用己烷、二氯甲烷和乙酸乙酯分别进行提取,用硅胶柱层析法对最活跃的乙酸乙酯可溶性组分进行提纯,发现了复合物 (19) 和 (20),即分别是木樨草 ($\text{IC}_{50} = 5.0 \mu\text{mol/L}$) 和迷迭香酸 ($\text{IC}_{50} = 21 \mu\text{mol/L}$)。这两种复合物均对 BACE1 有抑制作用,且木樨草素具有更高的选择性。Lee 等^[42] 通过重复的硅胶、十八烷基硅胶 (ODS) 和交联葡聚糖 LH-20 柱色谱法分离出桂花苷的乙酸乙酯可溶性片段,获得了一种裂环烯醚萜糖苷 (21),这是首次从桂花中分离出该化合物,其具有 BACE1 抑制活性。Hong 等^[43] 对蜂斗菜叶子的乙醇提取物的溶剂馏分进行分析,与白藜芦醇相比,每一组分的 BACE1 抑制活性均呈阳性,其中抑制作用最显著的成分在其浓度为 0.003% 时的抑制率可达 $(95.3 \pm 3.7)\%$ 。Mori 等^[44] 对鞣酸 BACE1 抑制活性进行研究,通过观察其在 335 nm 处的激发荧光与 495 nm 处的发射荧光发现,鞣酸在 1.563 $\mu\text{mol/L}$ 时抑制活性最强。Jung 等^[45] 在莲花中通过对 CH_2Cl_2 、乙酸乙酯和 n-BuOH 馏分重复柱层析提取出 5 种不同的化合物,其中荷花碱及莲心碱均具有 BACE1 抑制活性。他们还研究了莲花不同部位对 BACE1 的抑制活性,其强弱排序为:叶子 > 根茎 > 胚胎 > 种子 > 雄蕊。Youn 等^[46] 从黑姜皮中分离出 3 种多甲氧基黄酮,分别为 5,7-二甲氧基 (DMF)、5,7,4'-三甲氧基 (TMF) 和 3,5,7,3',4'-五甲氧基黄酮 (PMF)。这 3 种多甲氧基黄酮均对

BACE1 有抑制作用,且有较高选择性,Dixon 和 Lineweaver-Burk 图表明它们均为非竞争抑制剂。

1.3.2 微生物来源的 β -分泌酶抑制剂

Lee 等^[47] 用乙醇从珊瑚菌中提取菌丝体,并证明该菌丝体具有 BACE1 抑制活性,且抑制作用存在剂量依赖趋势。有研究者从酵母菌 K-7 中获得了无细胞提取物,将其提取纯化后得到了相对分子质量为 697 Da 的新物质,一级结构中含 Gly-Pro-Leu-Gly-Pro-Ile-Gly-Ser,属非竞争抑制剂,可在 70 $^{\circ}\text{C}$ 下稳定存在 30 min, BACE1 抑制率可达 75%^[48]。Harun 等^[49] 从马来西亚的药用植物中得到了许多菌株,并发现 BACE1 抑制活性最强的是胞菌根瘤菌的 4 种菌株,分别为 HAB16R13、HAB16R14、HAB16R18 和 HAB8R24。其中 HAB16R13 是非竞争抑制剂, K_i 为 10.0 $\mu\text{g/mL}$ 。Harms 等^[50] 从海绵中提取出一株海洋真菌,并发现该真菌产生的 16-O-desmeth-ylaspor-yergosterol- β -D-mannoside 和 xanthocillin X dimethylether 可抑制 A β 42 的产生,但这两种物质的作用机制尚未明确。

1.3.3 动物来源的 β -分泌酶抑制剂

Byun 等^[51] 利用超滤膜反应系统从螃蟹壳中提取出 9 种不同脱乙酰度及分子质量的异壳寡糖 (hetero-COSs)。同时,他们借助三甲基胺-硫三氧化物合成了 hetero-COSs 的硫酸化衍生物以测试 COSs 对 BACE1 的抑制活性。其中,90-MMWCOSs-I,即 90% 脱乙酰化的 COSs 抑制 BACE1 的活性最高。Lee 等^[52] 从鳐鱼皮肤中提取出 6 种蛋白酶水解物,通过 G-25 柱层析法和十二烷基硅烷 C 18 反相高效液相色谱法连续纯化,分离出含 12 个氨基酸残基的 β -分泌酶抑制剂,其序列为 Gln-Gly-Try-Arg-Pro-Leu-Arg-Gly-Pro-Glu-Phe-Leu。该化合物对 β -分泌酶抑制作用强, IC_{50} 值为 24.26 $\mu\text{mol/L}$ 。

2 β -分泌酶抑制剂的临床研究进展

由 Ghosh 等^[21] 设计的 CTS-21166 是最先进入临床 I 期试验的 BACE1 抑制剂,其试验结果证明,CTS-21166 耐受性良好,且能有效降低血浆中 A β 的含量,进一步的临床试验未开展。Jeppsson 等^[35] 设计的 AZD3839 经实验验证能有效减少大脑及脑脊髓液中的 A β 含量,该药物正进行临床 I 期试验。Arai 等^[53] 研制出的 BACE1 抑制剂 ACC-001 在临床 I 期试验中已验证其安全性及耐受性,但该药物在 II 期试验中未能明显提高患者认知功能,且部分患者出现一些不良反应,因此该药物的临床试验

被终止。May 等^[37]使用基于片段的化学策略设计出的 LY2811376 是首个具有 A β 减少作用的非肽类 BACE1 抑制剂, 动物实验证实它能有效减少脑脊液中的 A β 含量, 但 LY2811376 长期使用后, 普通大鼠及 BACE1^{-/-} 小鼠视网膜上皮细胞、脑内神经元及神经胶质细胞均发生变性, 因此, LY2811376 的临床实验就此终止。Strobel 等^[54]设计的 aducanumab (BIIB037) 是 A β 的高亲和力抗体, 能识别 A β N 端的 3~6 位氨基酸。临床 Ib 期试验对前驱型和轻度型 AD 患者进行研究, 结果显示与接受安慰剂的患者相比, 注射这种抗体可以在 26 周时, 甚至在 54 周时能减少淀粉样蛋白负荷, 且改善认知障碍; 目前该抑制剂的 III 期临床试验正在展开, 在全球 150 个研究中心招募前驱型和轻度型 AD 患者。2005 年, BACE1 抑制剂 CAD106 在其临床 I 期试验中验证了耐受性及安全性; 在 IIa 期试验中对轻度型 AD 患者进行研究, 证明该抑制剂能引起 64% 的患者发生免疫反应, 除一例脑出血外其他副作用不明显; 临床 II/III 期试验开始于 2015 年, 并将终止于 2023 年, 研究对象为认知正常的 60~75 岁的纯合 ApoE4 携带者^[55]。此外, BACE1 抑制剂 3D6、RO4909832、AD3239、SCH-900931 目前均处于临床 III 期试验。

3 结语

基于淀粉样蛋白假说在 AD 致病机理研究中的重要性, 抑制 β -分泌酶活性已成为延缓 AD 的思路之一, 目前已发现许多具有 β -分泌酶抑制活性的化合物。人工合成的 β -分泌酶抑制剂抑制能力强、选择性高, 但透过血脑屏障能力较低、生物利用度低, 部分抑制剂甚至会出现严重副作用^[37]。天然来源的 β -分泌酶抑制剂相比化学合成抑制剂, 血脑屏障通透能力较高、副作用小、成本低, 但对 BACE1 的选择性相对低, 抑制能力弱。在今后工作中应注重于提高人工合成 β -分泌酶抑制剂的血脑屏障透过能力和生物利用度, 同时改善天然抑制剂的选择性及有效性, 以更好地发挥化合物对 BACE1 的抑制效果。

近期被寄予厚望的几种 AD 治疗药物的临床试验接连失败, 部分进入临床研究的 BACE1 抑制剂, 如 LY-2811376、LY-2886721 等由于不可接受的副作用而停止研究^[56], 甚至有医药公司已宣布停止所有 AD 相关项目, AD 治疗药物的研究任重道远。深入对 AD 不同发病机制的研究, 包括淀粉样蛋白假说、胆碱能假说和 tau 蛋白异常磷酸化假说等, 寻找更多治疗靶点, 可能会加快 AD 防治的研究进程。

[参 考 文 献]

- [1] Ghosh AK, Osswald HL. BACE1 (β -secretase) inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease. *Chem Soc Rev*, 2014, 43: 6765-813
- [2] Cai Y, Xiong K, Zhang XM, et al. β -Secretase-1 elevation in aged monkey and Alzheimer's disease human cerebral cortex occurs around vasculature in partnership with multisystem axon terminal pathogenesis and β -amyloid accumulation. *Eur J Neurosci*, 2010, 32: 1223-38
- [3] Zhang XM, Cai Y, Xiong K, et al. β -secretase-1 elevation in transgenic mouse models of Alzheimer's disease is associated with synaptic/axonal pathology and amyloidogenesis: implications for neuritic plaque development. *Eur J Neurosci*, 2009, 30: 2271
- [4] Vassar R, Kuhn PH, Haass C, et al. Function, therapeutic potential and cell biology of BACE proteases: current status and future prospects. *J Neurochem*, 2014, 130: 4-28
- [5] Dominguez D, Tournoy J, Hartmann D, et al. Phenotypic and biochemical analyses of BACE1- and BACE2-deficient mice. *J Biol Chem*, 2005, 280: 30797-806
- [6] Roberds SL, Anderson J, Basi G, et al. BACE knockout mice are healthy despite lacking the primary β -secretase activity in brain: implications for Alzheimer's disease therapeutics. *Human Mol Genet*, 2001, 10: 1317-24
- [7] Peters F, Salihoglu H, Rodrigues E, et al. BACE1 inhibition more effectively suppresses initiation than progression of β -amyloid pathology. *Acta Neuropathol*, 2018: 1-16
- [8] Vassar R, Bennett BD, Babukhan S, et al. β -secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE. *Science*, 1999, 286: 735-41
- [9] Kandalepas PC, Sadleir KR, Eimer WA, et al. The Alzheimer's β -secretase BACE1 localizes to normal presynaptic terminals and to dystrophic presynaptic terminals surrounding amyloid plaques. *Acta Neuropathol*, 2013, 126: 329-52
- [10] Sadleir KR, Kandalepas PC, Virginie BP, et al. Presynaptic dystrophic neurites surrounding amyloid plaques are sites of microtubule disruption, BACE1 elevation, and increased A β generation in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol*, 2016, 132: 235-56
- [11] Sambamurti K, Kinsey R, Maloney B, et al. Gene structure and organization of the human β -secretase (BACE) promoter. *FASEB J*, 2004, 18: 1034-6
- [12] 顾为, 聂爱华. 基于分子片段药物发现技术的 β -分泌酶抑制剂研究进展. *中国药物化学杂志*, 2013, 23: 131-40
- [13] Hong L, Koelsch G, Lin X, et al. Structure of the protease domain of memapsin 2 (β -secretase) complexed with inhibitor. *Science*, 2000, 290: 150-3
- [14] Gleeson MP. Generation of a set of simple, interpretable ADMET rules of thumb. *J Med Chem*, 2008, 51: 817-34
- [15] Yuan J, Venkatraman S, Zheng Y, et al. Structure-based design of β -site APP cleaving enzyme 1 (BACE1) inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease. *J Med Chem*, 2013, 56: 4156-80
- [16] Yan R, Vassar R. Targeting the β secretase BACE1 for Alz-

- heimer's disease therapy. *Lancet Neurol*, 2014, 13: 319-29
- [17] Shuto D, Kasai S, Kimura T, et al. KMI-008, a novel β -secretase inhibitor containing a hydroxymethylcarbonyl isostere as a transition-state mimic: design and synthesis of substrate-based octapeptides. *Bioorg Med Chem Lett*, 2003, 13: 4273-6
- [18] Ghosh AK, Shin D, Downs D, et al. Design of potent inhibitors for human brain memapsin 2 (β -secretase). *J Am Chem Soc*, 2000, 122: 3522-3
- [19] Ghosh AK, Bilcer G, Harwood C, et al. Structure-based design: potent inhibitors of human brain memapsin 2 (β -secretase). *J Med Chem*, 2001, 44: 2865-8
- [20] Ghosh AK, Hussain AK, Hong L, et al. Design, synthesis and X-ray structure of protein-ligand complexes: important insight into selectivity of memapsin 2 (β -secretase) inhibitors. *J Am Chem Soc*, 2006, 128: 5310-1
- [21] Ghosh AK, Kumaragurubaran N, Hong L, et al. Design, synthesis, and X-ray structure of potent memapsin 2 (β -secretase) inhibitors with isophthalamide derivatives as the P2-P3-ligands. *J Med Chem*, 2007, 50: 2399-407
- [22] Stachel SJ, Coburn CA, Steele TG, et al. Structure-based design of potent and selective cell-permeable inhibitors of human β -secretase (BACE-1). *J Med Chem*, 2004, 47: 6447-50
- [23] Ghosh AK, Kumaragurubaran N, Hong L, et al. Potent memapsin 2 (β -secretase) inhibitors: design, synthesis, protein-ligand X-ray structure, and *in vivo* evaluation. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, 18: 1031-6
- [24] Charrier N, Clarke B, Demont E, et al. Second generation of BACE-1 inhibitors part 2: optimisation of the non-prime side substituent. *Bioorg Med Chem Lett*, 2009, 19: 3669-73
- [25] Cheng X, Zhou Y, Gu W, et al. The selective BACE1 inhibitor VIa reduces amyloid- β production in cell and mouse models of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 2013, 37: 823-34
- [26] Hu J, Cwi CL, Smiley DL, et al. Design and synthesis of statine-containing BACE inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*, 2003, 13: 433-9
- [27] Hu B, Fan K Y, Bridges K, et al. Synthesis and SAR of bis-statine based peptides as BACE1 inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*, 2004, 14: 3457-60
- [28] Kimura T, Shuto D, Hamada Y, et al. Design and synthesis of highly active Alzheimer's β -secretase (BACE1) inhibitors, KMI-420 and KMI-429, with enhanced chemical stability. *Bioorg Med Chem Lett*, 2005, 15: 211-5
- [29] Cole DC, Manas ES, Stock JR, et al. Acylguanidines as small-molecule β -secretase inhibitors. *J Med Chem*, 2006, 49: 6158-61
- [30] Edwards PD, Albert JS, Sylvester M, et al. Application of fragment-based lead generation to the discovery of novel, cyclic amidine β -secretase inhibitors with nanomolar potency, cellular activity, and high ligand efficiency. *J Med Chem*, 2007, 50: 5912-25
- [31] Zhu Z, Sun Z, Ye Y, et al. Discovery of cyclic acylguanidines as highly potent and selective β -site amyloid cleaving enzyme (BACE) inhibitors: part I--inhibitor design and validation. *J Med Chem*, 2010, 53:951-65
- [32] Malamas MS, Erdei J, Gunawan I, et al. Design and synthesis of 5,5'-disubstituted aminohydantoin as potent and selective human β -secretase (BACE1) inhibitors. *J Med Chem*, 2010, 53:1146-58
- [33] Cumming JN, Smith EM, Wang L, et al. Structure based design of iminohydantoin BACE1 inhibitors: identification of an orally available, centrally active BACE1 inhibitor. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012, 43: 2444-9
- [34] Swahn BM, Kolmodin K, Karlström S, et al. Design and synthesis of β -site amyloid precursor protein cleaving enzyme (BACE1) inhibitors with *in vivo* brain reduction of β -amyloid peptides. *J Med Chem*, 2012, 55: 9346-61
- [35] Jeppsson F, Eketjäll S, Janson J, et al. Discovery of AZD3839, a potent and selective BACE1 inhibitor clinical candidate for the treatment of Alzheimer disease. *J Biol Chem*, 2012, 287: 41245-57
- [36] Malamas MS, Barnes K, Hui Y, et al. Novel pyrrolyl 2-aminopyridines as potent and selective human β -secretase (BACE1) inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*, 2010, 20:2068-73
- [37] May PC, Dean RA, Lowe SL, et al. Robust central reduction of amyloid- β in humans with an orally a-vailable, non-peptidic β -secretase inhibitor. *J Neurosci*, 2011, 31: 16507-16
- [38] Cheng Y, Judd TC, Bartberger MD, et al. From fragment screening to *in vivo* efficacy: optimization of a series of 2-aminoquinolines as potent inhibitors of β -site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1 (BACE1). *J Med Chem*, 2011, 54: 5836-57
- [39] Gravenfors Y, Viklund J, Blid J, et al. New aminoimidazoles as β -secretase (BACE-1) inhibitors showing amyloid- β (A β) lowering in brain. *J Med Chem*, 2012, 55: 9297-311
- [40] Yu J, Niu Y, Sun Q, et al. Design and synthesis of 2-aminobenzimidazoles as potential BACE1 inhibitors. *J Chn Pharmaceut Sci*, 2017, 26: 650-9
- [41] Choi SH, Hur JM, Yang EJ, et al. β -secretase (BACE1) inhibitors from *Perilla frutescens* var. *acuta*. *Arch Pharm Res*, 2008, 31: 183-7
- [42] Lee DG, Choi JS, Yeon SW, et al. Secoiridoid glycoside from the flowers of *Osmanthus fragrans* var. *aurantiacus* makino inhibited the activity of β -secretase. *J Korean Soc Appl Biol Chem*, 2010, 53: 371-4
- [43] Hong SY, Park I, Jun M. Suppression of β -secretase (BACE1) activity and β -amyloid protein-induced neurotoxicity by solvent fractions from petasites japonicus leaves. *Prevent Nutr Food Sci*, 2011, 16:18-23
- [44] Mori T, Rezai-Zadeh K, Koyama N, et al. Tannic acid is a natural β -secretase inhibitor that prevents cognitive impairment and mitigates Alzheimer-like pathology in transgenic mice. *J Biol Chem*, 2012, 287: 6912-27
- [45] Jung HA, Karki S, Kim JH, et al. BACE1 and cholinesterase inhibitory activities of *Nelumbo nucifera* embryos. *Arch Pharm Res*, 2015, 38: 1178-87
- [46] Youn K, Lee J, Ho CT, et al. Discovery of polymethoxyflavones from black ginger (*Kaempferia parviflora*)

- as potential β -secretase (BACE1) inhibitors. *J Funct Foods*, 2016, 20: 567-74
- [47] Lee TH, Park YI, Han YH. Effect of mycelial extract of *Clavicornia pyxidata* on the production of amyloid β -peptide and the inhibition of endogenous β -secretase activity *in vitro*. *J Microbiol*, 2006, 44: 665-70
- [48] Lee DH, Lee DH, Lee JS. Characterization of a new antimentia β -secretase inhibitory peptide from *Saccharomyces cerevisiae*. *Enzyme Microb Technol*, 2007, 42: 83-8
- [49] Harun A, James RM, Lim SM, et al. BACE1 inhibitory activity of fungal endophytic extracts from Malaysian medicinal plants. *BMC Complem Altern Med*, 2011, 11: 1-6
- [50] Harms H, Kehraus S, Nesaee-Mosaferan D, et al. A β -42 lowering agents from the marine-derived fungus *Dichotomomyces cejpilii*. *Steroids*, 2015, 104: 182-8
- [51] Byun HG, Kim YT, Park PJ, et al. Chitoooligosaccharides as a novel β -secretase inhibitor. *Carbohydrate Polymers*, 2005, 61: 198-202
- [52] Lee JK, Li-Chan EC, Byun HG. Characterization of β -secretase inhibitory peptide purified from skate skin protein hydrolysate. *Eur Food Res Technol*, 2015, 240: 129-36
- [53] Arai H, Suzuki H, Yoshiyama T. Vanutide Cridificar and the QS-21 adjuvant in Japanese subjects with mild to moderate Alzheimer's disease: results from two phase 2 studies. *Curr Alzheimer Res*, 2015, 12: 242-54
- [54] Strobel G. Biogen antibody buoyed by phase 1 data and hungry investors[EB/OL]. [2016-3-3]. <https://www.alzforum.org/news/conference-coverage/biogen-antibody-buoyed-phase-1-data-and-hungry-investors>
- [55] Novartis Pharmaceuticals Corporation. Therapeutics, CAD106. [EB/OL].[2016-3-3]. <https://www.alzforum.org/therapeutics/cad106>
- [56] Yan R. Stepping closer to treating Alzheimer's disease patients with BACE1 inhibitor drugs. *Transl Neurodegener*, 2016, 5: 13-23