

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 2 5 年 5 月 1 0 日現在

機関番号：31305

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010 ～ 2012

課題番号：22590104

研究課題名（和文）イミノ糖 C-グリコシドミミックの創製を基盤とする創薬科学研究

研究課題名（英文）Medicinal scientific study based on imiosugar C-glycosides mimics

研究代表者

高畑 廣紀 (TAKAHATA HIROKI)

東北薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：00109109

研究成果の概要（和文）：C1 位にアルキル基が置換したフラノース型イミノ糖の触媒的不斉合成法を開発し、 α -1-C-alkyl-arabinofuranose の両エナンチオマーを合成したので、 α -グリコシダーゼ阻害活性を行ったところ、意外にもより強い酵素阻害活性を示すのは D 型ではなく L 型誘導体であることを見出した。特に、*n*-ブチル基をもつ L 型アラビノイミノフラノース誘導体は、ラットの小腸由来の α -グリコシダーゼ阻害活性において、既存の臨床薬 acarbose、voglibose、miglitol と同等以上、特にスクラーゼに対しては一桁以上の強力な阻害活性を示した。本化合物は、より低濃度で高血糖を抑えるとともに、副作用発生リスクの少ない次世代型食後過血糖改善薬となりうると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Glycosidases and glycosyltransferases are involved in a wide range of anabolic and catabolic process, including digestion, the lysosomal catabolism of glycoconjugates, glycoprotein biosynthesis. Hence, modifying or blocking these processes in vivo using inhibitors is a topic of great interest from the therapeutic point of view. Iminosugars are sugars in which the endocyclic oxygen is replaced by a basic nitrogen atom. They are regarded as transition state mimics in certain types of enzyme reactions. This makes the field of iminosugars as carbohydrate mimics an exciting area of research. The asymmetric synthesis of α -1-C-alkyl-arabinoiminofuranoses was achieved by asymmetric allylic alkylation, RCM, and Negishi cross coupling as key reactions. Surprisingly, the L-forms showed a quite potent inhibitory activity toward rat intestinal maltase, while the activities of the D-forms were much weaker. Some of the prepared L-forms showed potent inhibitory activities towards intestinal maltase, with IC_{50} values comparable to those of commercial drugs such as acarbose, voglibose, and miglitol, which are used in the treatment of type 2 diabetes. Among them, the inhibitory activity towards intestinal sucrase of α -1-C-L-butylarabinoiminofuranose was quite strong towards intestinal sucrase compared to the above commercial drugs.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,500,000	450,000	1,950,000

2011 年度	900,000	270,000	1,170,000
2012 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総 計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医薬品化学

科研費の分科・細目：薬学・創薬化学

キーワード：イミノ糖、 α -グリコシダーゼ阻害剤、糖尿病、L型糖

1. 研究開始当初の背景

(1) ポストゲノム時代を迎え、今後はタンパク質の翻訳後修飾の機能を解明することは極めて重要な課題である。哺乳動物の場合、合成タンパク質の約90%に糖鎖が付加しており、糖タンパク質や糖脂質における糖鎖の機能を詳細に研究することが重要である。これら糖鎖の形成、修飾に深く関与しているグリコシダーゼおよびトランスフェラーゼを制御する化合物を創出することが出来れば、それは単に細胞生物学的な観点にとどまらず疾患の発症メカニズムの解明や効果的疾患薬の開発といった応用研究を大幅に進展させることになる。これらの候補群として近年大注目を浴びているのが酵素作用に対する潜在的遷移状態（オキシカルベニウム様）アナログであるイミノ糖である。イミノ糖によって阻害される多様な酵素群は糖尿病、ウイルス感染、リソソーム蓄積症、ガン転移など非常に幅広い疾患に対する医薬品創出が期待される極めて魅力的なものである。実際、臨床薬として1996年にII型糖尿病薬として GlysetTMが、2003年に難病のリソソーム蓄積症であるゴーシェ病治療薬と ZavescaTMが上市されている。さらに、医薬品候補として近年続々と輩出してきている。Purine nucleoside phosphorylase (PNP) 欠損は自己免疫疾患や白血病に関与することから、PNP 帯遷移状態構造アナログとして Fodosine（白

血病治療薬、phaseII) や BCX-4208（乾癬病治療薬 phaseII) が開発されている。他に抗がん剤として期待されている SF-4, SDD-8, OGT2378 などが臨床治験中であり、まさしく低分子医薬品候補の宝庫になっている。

(2) 21世紀を迎えるにあたり、これまでに培ってきたアルカロイド合成のノウハウを創薬科学研究に生かすためにグリコシダーゼ阻害剤であるデオキシノジリマイシン (DNJ) に代表されるポリヒドロキシピペリジンのキラル合成に着手した。独自の合成法でファゴミン (4種) およびD体のみならずL体の合成に成功した。世界で初のL体の系統的なグリコシダーゼ阻害活性を測定した結果大きな反響があり高い評価を受けている。また、DNJ (7種) のウロン酸型も D,L体の合成を行い β -グルクロナーゼ阻害活性があることを見いだした。さらに、機能性タンパク質への成熟 (フォールディング) 過程に重要な役割を果たすケミカルシャペロン機能を有するイソファゴミンの全立体異性体の合成を行い、DおよびL体にも β -グリコシダーゼ阻害活性を有することを見いだした。またイソファゴミンピペリジン骨格合成の閉環エンインメタセシス(RCM)で極めて興味あるアリルヒドロキシ基加速効果を見いだした。申請者は、これまでのイミノ糖合成では主流である糖類の変換法は全く用いず、初期はアミノ酸キラルプール法、酵素触媒を利

用していたが、最近では多様な立体配置合成に柔軟性のある不斉触媒法の開発を行っている。研究結果から申請者はイミノ糖関連化合物の合成力の基盤を十分に備えており、これらイミノ糖が糖鎖の機能を詳細に解析する研究に寄与でき、多方面での医薬品応用への可能性に展開できると考えた。

2. 研究の目的

糖の酸素部を窒素で置換されたイミノ糖は糖のミミック体として低分子医薬品の候補として近年極めて注目されている化合物群である。今回、これまでに余り研究がなされていないイミノフラノース型及びイソファゴミン型を中心に N 以外の位置にアルキル鎖（特にアノメリック位）などを導入した多様性置換基を有するイミノ糖 C-グリコシドミミック（安定糖）を設計して、申請者が独自に開発した不斉触媒法を基盤としてイミノ糖のライブラリー構築することで、各種糖鎖関連酵素の阻害に関する構造活性相関を中心に創薬科学研究を行うことを目的とする。

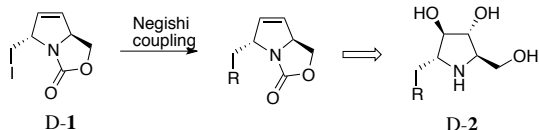
(1) 糖尿病は風邪と同じように万病のもとになるほど深刻な疾患であり、血中の高血糖状態が継続し、血中の赤血球や組織の蛋白のグリケーションによって、網膜症や末梢神経変性などが起こる。慢性化に伴い動脈硬化症も進行させ、心筋梗塞、脳梗塞、脳卒中など生命予後に係る疾病を招く非常に怖い病気である。糖尿病治療薬として、私たちは小腸粘膜上皮細胞に存在する二糖類分解酵素 (α -グルコシダーゼ) の作用を競合的に阻害して二糖類から単糖への分解を抑制する α -グルコシダーゼ阻害薬に着目した。 α -グルコシダーゼ阻害薬は、麦芽糖やショ糖の α -1,4-グリコシド結合を加水分解する α -グルコシダーゼのはたらきを抑えることで、グルコースの消化吸收を緩やかにし、食後の過血糖状態

を改善することで、インスリン分泌とのタイミングを合わせることができる。現在臨床応用されている食後過血糖改善薬として第一世代（カルバ糖型）である acarbose、voglibose が知られており、腸管から吸収されないようにデザインされているので、これら成分の大半は吸収されずに便中に排泄される。しかし、腸管内での分解産物の一部が吸収されることが原因ではないかとされる重篤な肝機能障害、劇症肝炎の報告がある。一方、第二世代（イミノ糖型）の miglitol は小腸上部で吸収されるので低血糖のリスクは少ないが、肝炎のリスクがあるので肝臓への負担の少ない薬剤が求められているなどまだ幾つかの課題がある現状である。構造式から見てみるとカルバ糖はアノマー位にアミノ置換基を有しており、イミノ糖(miglitol)のアノマー位はデオキシ体でアミノ基に置換基を有している。しかしながら、N位アルキル置換基は窒素基の速い反転のため立体配座的には安定ではない。一方、アノマー位アルキル置換基は立体配座は固定化され、不安定な N,O-アセタール基の安定置換基と見なすこともできる。これまでに、C1位にアルキル基が置換したイミノピラノース（ペペリジン）型のイミノ糖グリコシドミミックとして多く合成されている。しかしながら、C1位にアルキル基が置換したイミノフラノース（ピロリジン）型の合成は少なく、しかも L 型糖の研究はほとんどなされていない現状であった。そこで、C1位にアルキル基が置換したフラノース型イミノ糖の合成をおこなう。

3. 研究の方法

C1位にアルキル基が置換したフラノース型イミノ糖の両エナンチオマーの触媒的不斉合成法を開発を企画した。Trost が開発した不斉アリル位アミノ化反応を 2 回用いて合成中

間体ヨードメチルピシクロピロリジン体 **D-1** を入手する。次に、鍵反応の根岸カップリングでアルキル側鎖を導入後酸化、加水分解を経て目的の α -1-C-アルキル-D-アラビノイミノフラノース(α -1-C-butyl-DAB) **D-2** を合成する。同様に、**L-1** から α -1-C-アルキル-L-アラビノイミノフラノース(α -1-C-butyl-LAB) **L-2** の合成をする。



4. 研究成果

両エナンチオマーを合成したので、 α -グリコシダーゼ阻害活性を行ったところ、意外にもより強い酵素阻害活性を示すのは **D** 型ではなく **L** 型誘導体であることを見出した。そこで **C1** 位に種々のアルキル基側鎖の誘導体のライブラリー構築を行い構造活性相関研究をしたところ、*n*-ブチル基をもつ **L** 型アラビノイミノフラノース誘導体 (α -1-C-butyl-LAB) は、ラットの小腸由来の α -グリコシダーゼ阻害活性において、既存の臨床薬 acarbose, voglibose, migilitol と同等以上、特にスクラーゼに対しては一桁以上の強力な阻害活性を示した。

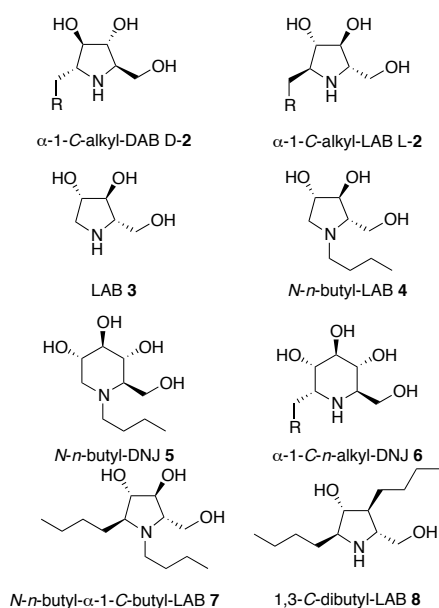


Table IC₅₀ Values (μ M) for α -1-C-Alkyl-LAB against Intestinal α -Glucosidases, Compared with α -1-C-Alkyl-DNJ, Acarbose, Voglibose, and

Compounds	IC ₅₀ (μ M)		
	Maltase	Isomaltase	Sucrase
α -1-C-Ethyl-LAB (2a)	2.6	11	0.68
α -1-C-Propyl-LAB (2b)	1.7	47	0.26
α -1-C-Butyl-LAB (2c)	0.13	4.7	0.032
α -1-C-Pentyl-LAB (2d)	0.71	18	0.19
α -1-C-Hexyl-LAB (2e)	0.51	11	0.11
α -1-C-Heptyl-LAB (2f)	0.38	16	0.24
α -1-C-Octyl-LAB (2g)	0.32	75	0.45
α -1-C-Nonyl-LAB (2h)	0.84	171	1.4
α -1-C-Decyl-LAB (2i)	1.2	606	1.7
α -1-C-Undecyl-LAB (2j)	3.9	NI	13
α -1-C-(4-Phenylbutyl)-LAB (2k)	0.22	14	0.31
α -1-C-(4-Methylpentyl)-LAB (2l)	0.19	12	0.24
LAB (3)	0.93	0.36	1.0
<i>N</i> -butyl-LAB (4)	63	54	73
<i>N</i> -butyl-DNJ(5)	2.1	2.7	58
α -1-C-Butyl-DNJ (6a)	12	0.45	3.8
α -1-C-Hexyl-DNJ (6b)	4.7	0.31	2.4
α -1-C-Octyl-DNJ (6c)	2.1	0.12	1.5
<i>N</i> -Butyl- α -1-C-butyl-LAB (7)	25	NI	8.8
1,3-C-Dibutyl-LAB (8)	NI ^a	NI	NI
Acarbose	0.18	NI	2.9
Voglibose	0.12	5.2	0.37
Migilitol	1.3	39	1.0

また、 α -1-C-butyl-LAB **2c** は、migilitol とは異なり、腹部膨満感や下痢などの副作用発現の原因となるラクタマーゼ阻害活性を示さなかった。さらに、migilitol の副作用に起因となる肝臓内の糖たんぱく質の糖鎖プロセッシングの阻害活性を HepG2 細胞で MALDI-TOF 質量分析で解析したところ、**2c** は migilitol とは違い細胞表面の糖鎖を改変しない極めて良い選択的阻害剤であることが判明した。また、*ddy* 系雄性マウスを用いた糖負荷試験においても本化合物投与群は、陽性対照であるミグリトールの約 1/10 量で食後過血糖を有意に抑制した。

以上の結果から、本化合物 **2c** は、より低濃度で高血糖を抑えるとともに、副作用発生リスクの少ない次世代型食後過血糖改善薬となりうると考えられる。

次に、強力な α -グリコシダーゼ阻害活性を有する **2c** 体とマルターゼとのドッキングシミュレーションを行った所、極めて有効に活性ポケットにはまるのに対して、活性のない **D** 型はブチル基がぶつかりポケットにうまくはまらないことが判明した。またドッキング

シミュレーションの結果ミグリトールと作用機序が似ていることがわかった。

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)

[雑誌論文] (計 4 件)

- ① 高畑廣紀、低分子生体成分ミミック体の創出を基盤とする創薬化学研究、*YAKUGAKU ZASSHI*, 査読有、135, 2013, 575-585.
<http://dx.doi.org/10.1248/yakushi.13-00054>
- ② Kato, A.; Hayashi, E.; Miyauchi, S.; Adachi, I.; Imahori, T.; Natori, Y.; Yoshimura, Y.; Nash, R. J.; Shimaoka, H.; Nakagome, I.; Koseki, J.; Hirono, S.; Takahata, H. α -1-C-Butyl-1,4-dideoxy-1,4-imino-L-arabinitol as a Second- Generation Iminosugar-Based Oral α -Glucosidase Inhibitor for Improving Postprandial Hyperglycemia, *J. Med. Chem.* 査読有、55, 2012, 10347-10362.
[10.1021/jm301304e](http://dx.doi.org/10.1021/jm301304e)
- ③ Natori, Y.; Kikuchi, S.; Yuichi, Y.; Kato, A.; Adachi, I.; Takahata, H. Asymmetric Synthesis of 1-Alkyl-2-deoxyimino-furanoses via The Iridium- catalyzed Intramolecular Cyclization of an Allylic Carbonate, *Heterocycles*, 査読有、86, 2012, 1401-1417.
[10.3987/COM-12-S\(N\)99](http://dx.doi.org/10.3987/COM-12-S(N)99)
- ④ Natori, Y.; Imahori, T.; Murakami, Natori, Y.; Imahori, T.; Murakami, K.; Yoshimura, Y.; Nakagawa, S.; Kato, A.; Adachi, I.; Takahata, H. The synthesis and biological evaluation of 1-C-alkyl-L-arabinoimino-furanoses, a novel class of α -glucosidase inhibitors novel class of α -glucosidase inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 査読有、21, 2011, 738-741.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.11.112>

[学会発表] (計 26 件)

- ① 渡邊靖香、佐久間俊嘉、名取良浩、吉村祐一、佐藤香純、加藤敦、足立伊佐雄、高畑廣紀、 α -1-C-アルキル-D-アラビノイミノ糖誘導体の触媒的不斉合成とその生物活性評価、本薬学会第133年会、2013年3月27日～2013年3月30日、横浜
- ② 佐久間俊嘉、渡邊はるか、名取良浩、吉村祐一、中川進平、加藤敦、足立伊佐雄、高畑廣紀、1-C-n-ブチル-L-イミノフラノース誘導体の触媒的不斉合成、本薬学会第133

年会、2013年3月27日～2013年3月30日、横浜

- ③ 名取良浩、今堀龍志、吉村祐一、島田陽介、加藤敦、足立伊佐雄、高畑廣紀、C1位に4-アリアルブチル基を導入したL-アラビノイミノ糖誘導体の不斉合成と生物活性評価、日本薬学会第133年会、2013年3月27日～2013年3月30日、横浜
- ④ 加藤敦、林恵利奈、足立伊佐雄、今堀龍志、名取良浩、吉村祐一、島岡秀行、中込泉、小関準、広野修一、高畑廣紀、次世代型イミノ糖である α -1-C-alkyl-LABの特性と生物活性について(第2報)、日本薬学会第133年会、本薬学会第133年会、2013年3月27日～2013年3月30日、横浜
- ⑤ 足立伊佐雄、加藤敦、林恵利奈、中川進平、名取良浩、吉村祐一、高畑廣紀、次世代型イミノ糖である α -1-C-alkyl-LABの特性と生物活性について(第1報)、日本薬学会第133年会、本薬学会第133年会、2013年3月27日～2013年3月30日、横浜
- ⑥ 名取良浩、吉村祐一、高畑廣紀、嶋田陽介、加藤敦、足立伊佐雄、C1位に4-アリアルブチル基を組み込んだL-アラビノイミノフラノースの触媒的不斉合成と生物活性評価、第38回 反応と合成の進歩シンポジウム、2012年11月5日～2012年11月6日
- ⑦ 加藤敦、林恵利奈、中川進平、足立伊佐雄、中込泉、小関準、広野修一、名取良浩、今堀龍志、吉村祐一、高畑廣紀、L-アラビノイミノフラノースをベースとした食後過血糖改善薬のデザイン合成研究、第31回糖質学会年会、2012年9月17日～2012年9月20日、鹿児島
- ⑧ Natori, Y.; Yoshimura, Y.; Kato, A.; Adachi, I.; Hirono, S.; Takahata, H. Synthesis of 1-C-Substituted-L-arabinoimino-furanoses and Evaluation of Biological Activities as Novel Class of α -Glucosidase Inhibitors, 13th Tetrahedron Symposium Asia Edition, 2012年11月27日～2012年11月30日, Taipei, Taiwan
- ⑨ Natori, Y.; Imahori, T.; Yoshimura, Y.; Takahata, H. The Synthesis of 1-C-Alkyl-L-arabinoimino-furanoses as Novel Class of α -Glucosidase Inhibitors, 13th Belgian Organic Synthesis Symposium, 2012年7月15日～2012年7月20日, Leuven, Belgium
- ⑩ 高畑廣紀、低分子生体成分ミミック体の創出を基盤とする創薬化学研究、日本薬学会第132年会、2012年3月29日、札幌
- ⑪ 加藤敦、中川進平、足立伊佐雄、中込泉、広野修一、吉村祐一、高畑廣紀、Isofagomine類の β -glucocerebrosidaseに対する結合親

- 和性と構造活性相関について、日本薬学会第132年会、2012年3月29日、札幌
- ⑬ 菊地俊輔、近藤孝洋、名取良浩、吉村祐一、高畑廣紀、イリジウム触媒的環化反応を用いたピロリジンアルカロイドの立体選択的合成研究、日本薬学会第132年会、2012年3月29日、札幌
- ⑭ 名取良浩、今堀龍志、吉村祐一、中川進平、加藤敦、足立伊佐雄、高畑廣紀、C1位に4-アリアルブチル基を導入した L-アラビノイミノ糖誘導体の触媒的不斉合成、日本薬学会第132年会、2012年3月29日、札幌
- ⑮ Kato, A.; Miyauchi, S.; Nakagome, I.; Yoshimura, Y.; Hirono, S.; Takahara, H.; Adachi, I. Docking and SAR studies of D- and L-isofagomine isomers as human β -glucocerebrosidase inhibitors, 8th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium (AIMECS11), 2011年12月1日、東京
- ⑯ Natori, Y.; Imahori, T.; Murakami, K.; Yoshimura, Y.; Nakagawa, S.; Kato, A.; Adachi, I.; Takahata, H. Catalytic Enantioselective Synthesis and Biological Evaluation of C1-Alkyl L-arabino-Iminofuranose Derivatives as α -Glycosidase Inhibitors, AFMC International Medicinal Chemistry Symposium (AIMECS11), 2011年11月30日、東京
- ⑰ Natori, Y.; Imahori, T.; Yoshimura, Y.; Takahata, H. The Synthesis and Biological Evaluation of 1-C-Alkyl-L-arabinoiminofuranoses, A Novel Class of α -Glucosidase Inhibitors, 22nd French-Japanese Symposium of Medicinal and Fine Chemistry, 2011年9月12日, Rouen, France
- ⑱ 菊地俊輔、名取良浩、近藤孝洋、吉村祐一、高畑廣紀、イリジウム触媒的環化反応を鍵工程とするピロリジン誘導体の立体選択的合成、第50回日本薬学会東北支部例会、2011年10月30日、仙台
- ⑲ 名取良浩、今堀龍志、吉村祐一、中川進平、加藤敦、足立伊佐雄、高畑廣紀、C1位アルキルL-アラビノイミノフラノース誘導体の触媒的不斉合成とその生物活性評価、第53回天然有機化合物討論会、2011年9月28日、大阪
- ⑳ 加藤敦、宮内沙織、中川進平、足立伊佐雄、中川泉、広野修一、吉村祐一、高畑廣紀、D-およびL-isofagomine類の合成とグリコシダーゼ阻害活性、第30回日本糖質学会年会、2011年7月13日、新潟

- ⑳ 加藤敦、小池有里子、足立伊佐雄、中込泉、広野修一、高畑廣紀、 β -Glucoserebrosidase に対する1-N型イミノ糖の親和性と構造活性相関について、日本薬学会第131年会、2011年3月、静岡
- ㉑ 名取良浩、今堀龍志、吉村祐一、中川進平、加藤敦、足立伊佐雄、高畑廣紀、C1置換L-アラビノイミノ糖誘導体の触媒的不斉合成、日本薬学会第131年会、2011年3月、静岡
- ㉒ 高畑廣紀、今堀龍志、名取良浩、村上景一、吉村祐一、中川進平、加藤敦、足立伊佐雄、L-アラビノース型アルキルイミノフラノース誘導体の触媒的不斉合成と薬理活性評価、第36回反応と合成の進歩シンポジウム、2010年11月、名古屋
- ㉓ 名取良浩、今堀龍志、村上景一、吉村祐一、高畑廣紀、L-アラビノース型1-アルキルイミノフラノース誘導体の触媒的不斉合成、第49回日本薬学会東北支部大会、2010年10月、郡山
- ㉔ Hiroki Takahata, Synthesis of isofagomine 21nd French-Japanese Symposium of Medicinal and Fine Chemistry, 2010年5月、京都

[産業財産権]

○ 出願状況 (計1件)

名称：食後過血糖改善剤、およびピロリジン型イミノ糖またはその塩

発明者：加藤敦、足立伊佐雄、高畑廣紀、今堀龍志

権利者：富山大学

種類：PCT

番号：JP2010/69950

取得年月日：2010年11月9日

国内外の別：外国

[その他]

ホームページ等

<http://www.tohoku-pharm.ac.jp/laboratory/bunsiya/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高畑 廣紀 (TAKAHATA HIROKI)

東北薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：00109109