

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 6 月 14 日現在

機関番号：31305

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25860088

研究課題名(和文) C1位に側鎖を持つイミノフラノース誘導体のライブラリー構築とその酵素阻害活性評価

研究課題名(英文) Asymmetric syntheses of various iminofuranoses having a side chain at C1 position and their biological evaluation as enzyme inhibitors

研究代表者

名取 良浩 (NATORI, Yoshihiro)

東北薬科大学・薬学部・助教

研究者番号：50584455

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：糖の環内部の酸素原子を窒素原子で置換したイミノ糖は、糖の擬似化合物として機能する。申請者は、C1位に種々の側鎖を持つイミノ糖誘導体を合成し、それらのグルコシダーゼ阻害活性を測定した。その結果、 $\alpha$ -グルコシダーゼに対し、C1位に4-アリールブチル基をもつL-アラビノース型イミノ糖が極めて高い阻害作用を示すことが判明した。また、 $\beta$ -グルコシダーゼに対しては、C1位に長鎖のアルキル基を持つD-アラビノース型イミノ糖が強い阻害活性を示すことが明らかとなった。 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害作用を示す化合物からは糖尿病治療薬、 $\beta$ -グルコシダーゼ阻害作用を示す化合物からはゴーシェ病の治療薬開発が期待される。

研究成果の概要(英文)：This research program aimed at developing new potent and selective glucosidase inhibitors. I have focused on the  $\alpha$ -1-C-substituted L- and D- iminofuranose derivatives. The asymmetric syntheses of  $\alpha$ -1-C-alkyl D- and L-iminofuranose derivatives were achieved. Their inhibitory activities were measured.

研究分野：医薬品化学

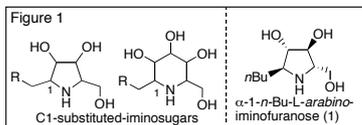
キーワード：医薬品化学 イミノ糖 医薬分子設計 酵素阻害活性物質  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害薬 ゴーシェ病治療薬 ケミカルシャペロン療法

## 1. 研究開始当初の背景

## (1) イミノ糖に関する背景

哺乳動物は、糖をエネルギー源として利用するだけでなく、核酸の構成成分、タンパク質や脂質に含まれる糖鎖として幅広く活用している。そのため糖の代謝、糖鎖の形成に関与する酵素や糖輸送担体を制御する化合物を創出することで、疾患の発症メカニズムの解明や、効果的な治療薬の開発が可能となる。

糖の環内部の酸素原子を窒素原子で置換したイミノ糖



は、糖の擬似化合物として働くため、低分子医薬品の候補として近年、極めて注目を集めている (Figure 1)。これまでに申請者は、精力的にイミノ糖に関しての開発研究を行い、C1 位に *n*-ブチル基を導入した L-アラビノース型イミノフラノースが、既存の糖尿病治療薬を上回る  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害作用を示すことを見出した。

## (2) ライソゾーム病の学術的背景

ライソゾームは、多くの加水分解酵素を含み、細胞内で不要となったタンパク質、脂質、糖等の老廃物を分解する役割を担っている。遺伝的異常により加水分解酵素の変異、欠損が起こると本来、分解されるべき老廃物が次第に細胞内に蓄積してしまう。これにより起こる疾患をライソゾーム病という。

ライソゾーム病の中で糖加水分解酵素欠損による疾患としてゴーシェ病があり、 $\beta$ -グルコシダーゼの遺伝的欠損によって引き起こされる疾患である。有効な治療法が少なく、新たな治療法開発が必要である。その候補の一つとしてケミカルシャペロン療法が存在する。(ケミカルシャペロン療法とは、イミノ糖等の低分子化合物が変異した酵素に結合し、シャペロンとして働くことで、酵素の機能を正常に戻す治療法である。正常な酵素に対しては阻害作用を持つ化合物を治療薬として用いる。)

上記の背景の基、申請者は、糖尿病およびライソゾーム病の治療薬として利用出来るイミノ糖の開発について検討することとした。

## 2. 研究の目的

申請者は、窒素原子以外の位置 (特に C1 位) に種々の側鎖を導入したイミノ糖誘導体を、糖の擬似化合物として設計した。不斉触媒反応を基盤とするイミノ糖誘導体の合成法を開発し、ライブラリー構築を可能にすることで各種糖鎖関連酵素の阻害作用に関する構造活性相関を検討し、創薬科学研究を行うことを目的とする。

合成したイミノ糖を用いて、糖尿病治療薬となる  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害作用と、ゴーシ

ェ病のケミカルシャペロン療法の治療薬となる  $\beta$ -グルコシダーゼ阻害作用について生物活性評価を行うこととした。

## 3. 研究の方法

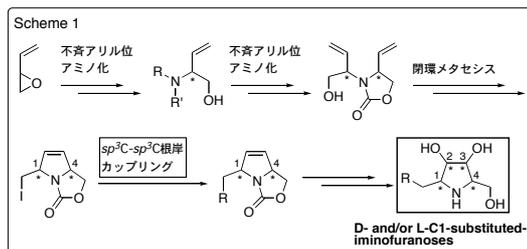
## (1) 種々のイミノ糖誘導体を共有可能な合成法の開発

申請者は、これまでに高い  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害作用を示すイミノ糖誘導体の合成に成功しており、その際に用いた合成法をさらに発展させるため、① C1 位の側鎖部分の検討、② 糖部分の不斉中心の立体選択的構築を行う計画を立案した (Scheme 1)。

① C1 位の側鎖導入では、緩和な条件で可な  $sp^3$ - $sp^3$  根岸カップリングを使用することとした。

② 糖部分の不斉中心の立体選択的構築では、C1, 4 位は、不斉アリル位アミノ化で立体化学を制御し、C2, 3 位は、二重結合に対する立体選択的なジヒドロキシル化で構築することとした。

本合成法を開発出来れば、C1 位に側鎖を持つイミノフラノース誘導体の全ての立体異性体を含めた化合物ライブラリーを構築し、それらの構造活性相関研究を行うことが出来る。



## (2) 合成したイミノ糖の活性評価

合成したイミノ糖誘導体を用いて、 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性 (糖尿病治療薬) と、 $\beta$ -グルコシダーゼ阻害活性 (ゴーシェ病治療薬) の測定を行う。さらに、阻害様式や酵素との結合部位を明らかにすることで、イミノ糖の機能を解析し、酵素に対してより高阻害活性、高選択性を示すイミノ糖誘導体を見出すことが可能となる。

## 4. 研究成果

## (1) L 型のイミノ糖誘導体について

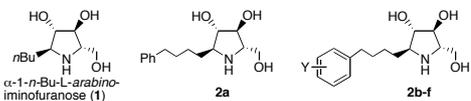
研究方法に従い、16種の立体異性体が存在する C1 置換イミノフラノースの構造活性相関研究について検討を行った。その結果、C1 位に *n*-ブチル基が置換した L 型イミノ糖の全 8 種の立体異性体の合成を達成した。立体中心の構築法に関しては、C1 位と C4 位は不斉アリル位アミノ化を用いて構築し、C2 位と C3 位は根岸カップリング後の二重結合に対する立体選択的なジヒドロキシル化により構築可能であ

った。なお、この合成法は、D-イミノ糖にも適用可能である。

合成した8種のL-イミノ糖の構造活性相関研究として、 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害作用を測定した結果、アラビノース型が最も高い阻害活性を示すことが明らかになった。この結果は、複数の学会で発表を行った。平成28年度に学術論文として投稿する予定である。

さらに、C1位の置換基も同時に検討した結果、4-アリアルブチル基を含むL-アラビノース型イミノ糖が極めて高い酵素阻害作用を示すことが判明した。ベンゼン環上の置換基効果も検討した結果、3,5-ジフルオロフェニル基が最も高い阻害活性を示し、これまでに報告したイミノ糖の中で最も強力な $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害剤となることが明らかとなった (Table 1)。この結果についても、学会発表を行い、学術論文として報告した (*Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2014**, *24*, 3298-3301.)。

Table 1. Inhibitory Activities toward Rat Intestinal  $\alpha$ -Glucosidases



compounds	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)		
	maltase	isomaltase	sucrase
<b>1</b>	0.13	4.7	0.032
<b>2a</b>	0.22	14	0.31
<b>2c</b> (Y = 4-MeO)	0.11	1.8	0.13
<b>2d</b> (Y = 4-HO)	0.17	6.0	0.11
<b>2b</b> (Y = 4-Me)	0.28	0.63	0.045
<b>2e</b> (Y = 4-F)	0.18	3.0	0.17
<b>2f</b> (Y = 3,5-dIF)	0.34	<b>0.22</b>	<b>0.026</b>

さらに、これまでのL-イミノ糖誘導体の合成、生物活性について有機合成化学協会誌に総論を発表した。 (*Journal of Synthetic Organic Chemistry, Japan.*, **2016**, *74*, 335-349.)

## (2) D 型のイミノ糖誘導体について

D-アラビノース型イミノフラノース誘導体の生物活性を測定した結果、 $\beta$ -グルコシダーゼ阻害活性を示すことが判明した。特にC1位にドデシル基、トリデシル基などの長鎖のアルキル基を有するイミノ糖誘導体**4i**, **4j**で極めて高い活性が確認された。この結果より、ゴーシェ病の化学シャペロン療法における治療薬の候補化合物として、 $\beta$ -グルコシダーゼ阻害活性を示す新規D型イミノ糖誘導体を見出した (Table 2)。

Table 2. Glycosidases Inhibitory Activities of  $\alpha$ -1-C-Alkyl-D-arabino-iminofuranoses

Compounds	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)		
	Bovine liver $\beta$ -glucosidase	Bovine liver $\beta$ -galactosidase	Rat intestinal maltase ( $\alpha$ -glucosidase)
D-arabinitol	638	NI	55
<b>4a</b> (R = CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> )	25	15	NI
<b>4b</b> (R = CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> )	4.5	0.76	NI
<b>4c</b> (R = CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> )	1.1	0.22	NI
<b>4d</b> (R = CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> )	0.32	0.079	336
<b>4e</b> (R = CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> )	0.19	0.003	573
<b>4f</b> (R = CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> )	0.077	0.014	260
<b>4g</b> (R = CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>8</sub> )	0.034	0.0076	301
<b>4h</b> (R = CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>9</sub> )	0.027	0.0056	NI
<b>4i</b> (R = CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>10</sub> )	<b>0.013</b>	<b>0.0059</b>	<b>NI</b>
<b>4j</b> (R = CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>11</sub> )	<b>0.022</b>	<b>0.0051</b>	<b>NI</b>
Isogagomine	31	3.6	653

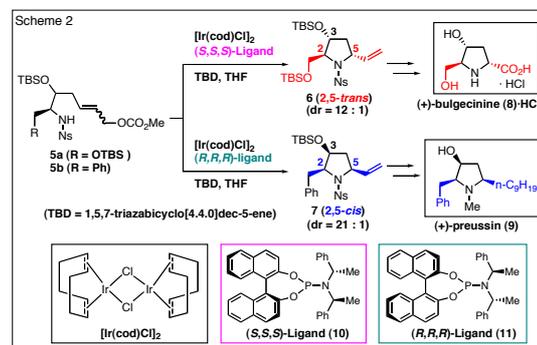
NI : No Inhibition (less than 50% inhibition at 1000  $\mu$ M)

さらに、実際にゴーシェ病治療薬の候補化合物として、臨床第二相試験まで進んだイソファゴミンと比較した結果、**4i**, **4j**の方が高い $\beta$ グルコシダーゼ阻害作用を持つことが判明した。さらにイソファゴミンは、弱いながらも $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害作用を示すのに比べて、**4i**, **4j**では活性が見られないことから、高い酵素識別能を持っていることも明らかとなった (*Org. Biomol. Chem.*, **2016**, *14*, 1039-1048.)。

## (3) その他

イミノ糖誘導体の合成に使用した方法を含窒素五員環であるピロリジン環構築にも適用し、生理活性物質と天然物の合成を行った (Scheme 2)。ピロリジン誘導体合成のため、アリル炭酸メチル**5a**, **5b**に対するイリジウム触媒と不斉配位子を用いた分子内アリル位アミノ化反応について検討を行った。

その結果、(S,S,S)-配置の配位子 (**10**)を用いる事で、2,5-トランス配置のピロリジン誘導体**6**が生成し、(R,R,R)-配置の不斉配位子 (**11**)を用いた場合には、2,5-シス配置のピロリジン誘導体**7**が生成する事が判明した。2,5-トランス配置のピロリジン誘導体からは、(+)-ブルゲシニンの塩酸塩を合成し、2,5-シス配置のピロリジン誘導体からは、プレウシンを得ることが出来た (*Org. Biomol. Chem.*, **2014**, *12*, 1983-1994.)。



## 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名取 良浩、今堀 龍志、吉村 祐一、生物活性含窒素複素環化合物の立体選択的合成法の開発：天然物合成並びに有機触媒への応用研究 Development of Stereoselective Synthesis of Biologically active Nitrogen-heterocyclic compounds: Applications for Syntheses of Natural Product and Organocatalyst、有機合成化学協会誌：Journal of Synthetic Organic Chemistry, Japan.、査読有、vol. 74、2016、pp. 335-349.

DOI:10.5059/yukigoseikyokaiishi.74.335

② Atsushi KATO, Izumi NAKAGOME, Kasumi SATO, Arisa YAMAMOTO, Isao ADACHI, Robert J. Nash, George W. J. Fleet, Yoshihiro NATORI, Yasuka WATANABE, Tatsushi IMSHORI, Yuichi YOSHIMURA, Hiroki TAKAHATA, Shuichi HIRONO、 Docking study and biological evaluation of pyrrolidine-based iminosugars as pharmacological chaperones for Gaucher disease, *Organic & Biomolecular Chemistry*, 査読有、vol 14、2016年 pp.1039-1048  
DOI: 10.1039/C5OB02223A

③ Yoshihiro NATORI, Toshihiro SAKUMA, Yuichi YOSHIMURA, Kyoko KINAMI, Yuki HIROKAMI, Kasumi SATO, Isao ADACHI, Atsushi KATO, Hiroki TAKAHATA, Synthesis and biological evaluation of  $\alpha$ -1-C-4'-arylbutyl-L-arabinoimino-furanoses, a new class of  $\alpha$ -glucosidase inhibitors, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 査読有、vol.24、2014年、pp.3298-3301  
DOI: 10.1016/j.bmcl.2014.06.001

④ Yoshihiro NATORI, Shunsuke KIKUCHI, Takahiro KONDO, Yukako SAIRO, Yuichi YOSHIMURA, Hiroki TAKAHATA, Asymmetric synthesis of 2,5-disubstituted 3-hydroxypyrrolidines based on stereodivergent intramolecular iridium-catalyzed allylic aminations、*Organic & Biomolecular Chemistry*、 査読有、vol.12、2014年、pp.1983-1994  
DOI: 10.1039/C3OB42229A

[学会発表] (計 19 件)

①ピロリジン型イミノ糖を基盤とした新規 GCase 高親和性リガンドのデザインとファーマコロジカルシャペロン効果について、加藤 敦、山本 亜里紗、友原 啓介、足立伊佐雄、渡邊 靖香、名取 良浩、吉村 祐一、中込 泉、広野 修一、日本薬学会第 136 年会、5、2016 年 3 月 26 日～3 月 29 日、パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)

②Yoshihiro NATORI、Atsushi KATO、Isao ADACHI、Yuichi YOSHIMURA、Catalytic Asymmetric Syntheses and Biological Evaluations of  $\alpha$ -1-C-Substituted L-Iminofuranose Derivatives as  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitor、2015 環太平洋国際化学会議 (PACIFICHEM2015)、2015 年 12 月 15 日～12 月 20 日、ハワイコンベンションセンター (ハワイ州ホノルル)

③佐久間 俊嘉、名取 良浩、中川 進平、加藤 敦、足立 伊佐雄、吉村 祐一、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と酵素阻害活性評価、第 33 回メディ

シナルケミストリーシンポジウム、2015 年 11 月 25 日-11 月 27 日、幕張国際研修センター (千葉県千葉市)

④名取 良浩、佐久間 俊嘉、木南 今日子、加藤 敦、足立 伊佐雄、吉村 祐一、C1 位に 4-アリールブチル基が置換したイミノフラノース誘導体の不斉合成とその酵素阻害活性評価、日本薬学会第 135 年会、2015 年 3 月 25 日～3 月 28 日、デザインクリエイティブセンター神戸 (兵庫県神戸市)

⑤佐久間 俊嘉、名取 良浩、加藤 敦、足立 伊佐雄、中川 進平、吉村 祐一、1-C-n-ブチル-L-イミノ糖誘導体の触媒的不斉合成と  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害作用に対する構造活性相関、日本薬学会第 135 年会、2015 年 3 月 25 日～3 月 28 日、兵庫医療大学 (兵庫県神戸市)

⑥名取 良浩、佐久間 俊嘉、加藤 敦、足立 伊佐雄、吉村 祐一、C1 位に 4-アリールブチル基が置換したイミノ糖誘導体の不斉合成とその  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性評価、第 53 回日本薬学会東北支部大会、2014 年 10 月 5 日、いわき明星大学 (福島県いわき市)

⑦名取 良浩、菊地 俊輔、近藤 孝洋、斎藤 有香子、高畑 廣紀、吉村 祐一、イリジウム触媒による分子内環化反応を用いたピロリジン誘導体の立体選択的合成、化学系学協会東北大会、2014 年 9 月 20 日、山形大学米沢キャンパス (山形県米沢市)

⑧佐久間 俊嘉、名取 良浩、中川 進平、加藤 敦、足立 伊佐雄、吉村 祐一、1-C-n-ブチル-L-イミノフラノース誘導体の不斉合成とその酵素阻害活性評価、第 44 回複素環化学討論会、2014 年 9 月 10 日、札幌市民ホール (北海道札幌市)

⑨名取 良浩、盛 友莉恵、加藤 敦、足立 伊佐雄、吉村 祐一、クリックケミストリーを用いた D-イミノフラノース誘導体の合成と酵素阻害活性評価、創薬研究センターシンポジウム-衛生毒性学の最先端研究から創薬への提言-、2014 年 6 月 14 日、東北薬科大学 (宮城県仙台市)

⑩佐久間 俊嘉、名取 良浩、加藤 敦、足立 伊佐雄、中川 進平、吉村 祐一、1-C-n-ブチル-L-イミノ糖誘導体の触媒的不斉合成と  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性評価、創薬研究センターシンポジウム-衛生毒性学の最先端研究から創薬への提言-、2014 年 6 月 14 日、東北薬科大学 (宮城県仙台市)

⑪名取 良浩、盛 友莉恵、吉村 祐一、佐藤 香純、加藤 敦、足立 伊佐雄、高畑 廣紀、ト

リアゾール環を側鎖に持つD-イミノフラノース誘導体の合成と生物活性評価、日本薬学会第134年会、2014年3月27日～3月30日、熊本大学（熊本県熊本市）

⑫佐久間 俊嘉、名取 良浩、吉村 祐一、加藤 敦、足立 伊佐雄、中川 進平、高畑 廣紀、 $\beta$ -1-C-n-ブチル-L-イミノ糖誘導体の触媒的不斉合成と $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害作用に対する構造活性相関、日本薬学会第134年会、2014年3月27日～3月30日、熊本大学（熊本県熊本市）

⑬名取 良浩、菊地 俊輔、近藤 孝洋、斎藤 有香子、吉村 祐一、高畑 廣紀、イリジウム触媒を用いた分子内環化反応を基盤とする置換ピロリジン体の立体選択的合成、第39回反応と合成の進歩シンポジウム、2013年11月5～11月6日、九州大学医学部百年講堂（福岡県福岡市）

⑭盛 友莉恵、名取 良浩、吉村 祐一、高畑 廣紀、クリックケミストリーを利用したトリアゾール環を側鎖に持つD-イミノフラノース誘導体の合成研究、第52回日本薬学会東北支部大会、2013年10月20日、東北大学（宮城県仙台市）

⑮名取 良浩、渡邊 靖香、佐久間 俊嘉、千葉 由稀、吉村 祐一、高畑 廣紀、 $\alpha$ -1-C-アルキル-D-アラビノース型イミノ糖誘導体の合成とその糖加水分解酵素阻害活性評価、2013年10月20日、第52回日本薬学会東北支部大会、東北大学（宮城県仙台市）

⑯佐久間 俊嘉、名取 良浩、吉村 祐一、加藤 敦、足立 伊佐雄、高畑 廣紀、1-アルキル-L-イミノフラノース誘導体の不斉合成と $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害作用に対する構造活性相関研究、第30回有機合成化学セミナー、2013年9月17～9月19日、せとうち児島ホテル（岡山県倉敷市）

⑰Yoshihiro NATORI, Yuichi YOSHIMURA, Atsushi KATO, Isao ADACHI, Hiroki TAKAHATA, The Synthesis of  $\alpha$ -1-C-Alkyl-1,4-dideoxy-1,4-imino-L-arabinitol, A Novel Class of Iminosugar-Based  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitors, 18th European Symposium on Organic Chemistry (ESOC 2013), July, 7-12, 2013, Marseille, France

⑱名取 良浩、今堀 龍志、吉村 祐一、加藤 敦、足立 伊佐雄、広野 修一、高畑 廣紀、 $\alpha$ -1-C-アルキル-1,4-ジデオキシ-1,4-イミノ-L-アラビニトールの不斉合成とその $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性評価、第11回次世代を担う有機化学シンポジウム、2013年5月24日～5月25日、日本薬学会長井記念ホール（東京都渋谷区）

⑲Yoshihiro NATORI, Yasuka WATANABE, Yuichi YOSHIMURA, Atsushi KATO, Isao ADACHI, and Hiroki TAKAHATA, THE SYNTHESIS OF  $\alpha$ -1-C-ALKYL-1,4-DIDEOXY-1,4-IMINO-D-ARABINITOLS AND THEIR BIOLOGICAL ACTIVITIES, The 23rd French-Japanese Symposium on Medicinal and Fine Chemistry, May, 12-15, 2013, Nagasaki, Japan

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.tohoku-mpu.ac.jp/laboratory/bunsiva/research.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

名取 良浩 (NATORI Yoshihiro)  
東北薬科大学・薬学部・助教  
研究者番号：50584455

### (3) 連携研究者

高畑 廣紀 (TAKAHATA Hiroki)  
東北薬科大学・薬学部・教授  
研究者番号：00109109

吉村 祐一 (YOSHIMURA Yuichi)  
東北薬科大学・薬学部・教授  
研究者番号：00230813

加藤 敦 (KATO Atsushi)  
富山大学附属病院薬剤部・准教授  
研究者番号：60303236