

令和元年9月18日現在

機関番号：25406

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07720

研究課題名(和文)ジアリールエーテル型PTP 1B阻害剤の作出および構造活性相関の解明

研究課題名(英文) Syntheses and structure-activity relationship studies of diaryl ether type PTP 1B inhibitors

研究代表者

野下 俊朗 (Noshita, Toshiro)

県立広島大学・生命環境学部・教授

研究者番号：50285574

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：2型糖尿病の新規治療薬の開発を目指し、エゾウコギから単離・構造決定された Protein Tyrosine Phosphatase 1B (PTP1B)阻害活性を有するジアリールエーテル型化合物の合成を最初の目的としその合成法を確立した。しかし合成で得られた化合物の機器分析データおよびPTP1B阻害活性はLiらの単離報告と全く一致しなかった。そこで合理的に考えうる構造異性体を全て合成し、各種機器分析データの比較、単離文献にあるスペクトルの仔細な検討を行った。その結果、Liらの単離報告にある化合物は実在しないと結論した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Liらによってエゾウコギ (*Acanthopanax senticosus*) に含まれる強いPTP1B阻害物質として報告されたジアリールエーテル化合物およびその異性体の合成法を確立できたことから、この型の化合物の合成法としては古典的なウルマンエーテル合成が適していることが判明した。

一方、合成で得た化合物の各種機器分析データとLiらによる天然物のデータは一致せず、また合成した化合物は全くPTP1B阻害活性を示さなかった。Liらのデータを仔細に検討したところ、本研究で目的とした化合物は天然には存在せず、本化合物に糖尿病治療薬の可能性がないことがわかった。

研究成果の概要(英文)：With the aim of developing new therapeutic agents for type 2 diabetes, the first objective was to synthesize the diarylether compound having protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) inhibitory activity, which was isolated from *Acanthopanax senticosus* and structurally determined by Li et al. And we established the synthesis method. However, There were found that the analytical data and bioactivity of the compound obtained by the synthesis did not at all coincide with the data in the isolation report by Li et al. Therefore, all structural isomers that can be considered rationally were also synthesized, comparison of various in analytical data, and detailed examination of spectra in the isolated literature were conducted. As a result, the diaryl ether type compound described in the isolation report by Li et al. did not exist.

研究分野：天然物化学

キーワード：天然物合成 生物活性物質 有機合成化学 2型糖尿病 プロテインチロシンホスファターゼ1B阻害剤

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

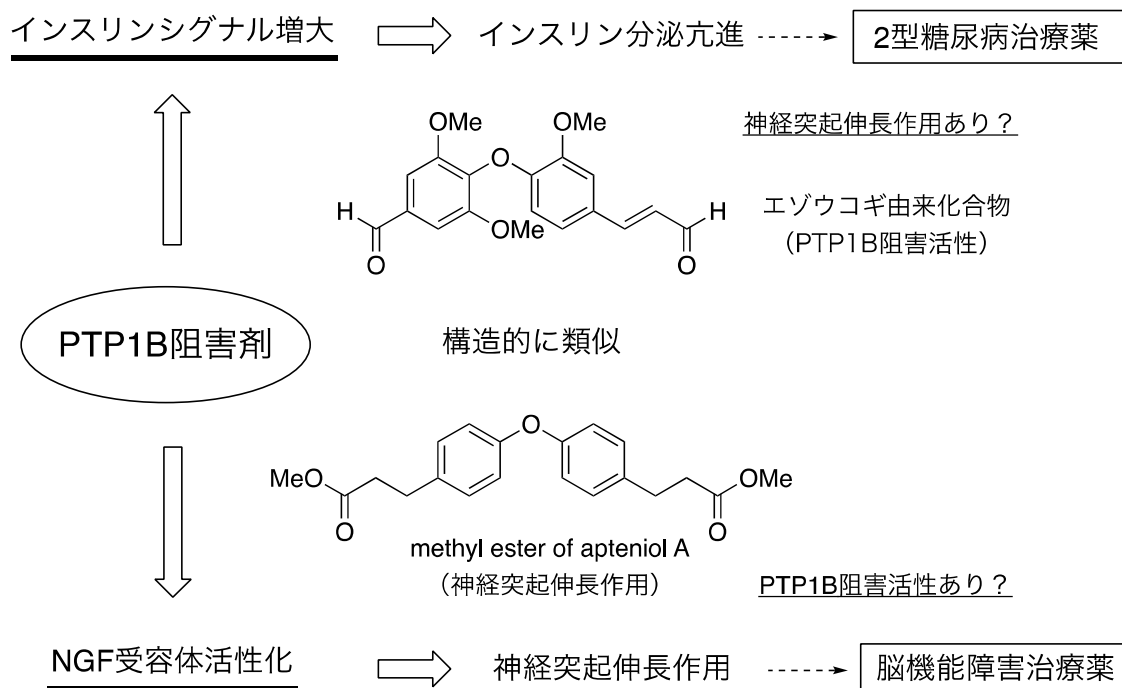
1. 研究開始当初の背景

近年、生活習慣の欧米化に伴い、肥満をはじめとするいわゆる生活習慣病と呼ばれる疾患が増加し大きな社会問題となっている。様々な生活習慣病の中でも特に注目されている疾患の一つが糖尿病であり、2013年の厚労省の調査によれば我が国における糖尿病有病者（糖尿病が強く疑われる者を含む）の割合は、男性16.2%、女性9.2%であり、その対策が求められている。糖尿病患者の90%以上を占め、現在急増している2型糖尿病はインスリンの分泌低下やインスリン抵抗性によるインスリンの相対的な不足によって慢性的な高血糖を呈する。その治療薬としてスルホニルウレア系薬、ビグアニド系薬や α -グルコシダーゼ阻害薬などが臨床に用いられているが副作用や毒性などの課題が問題視されており未だ十分な糖尿病治療薬はない。

インスリンシグナリングは、インスリンがインスリン受容体に結合するとそのチロシンキナーゼが活性化され自己リン酸化することで発動し、インスリン受容体気質-1のチロシンリン酸化を促す。リン酸化シグナルは下流のシグナル分子に伝達され、グルコースの取り込みを促進する。Protein Tyrosine Phosphatase 1B (PTP1B) はインスリンの標的器官である肝臓などに存在しインスリンシグナリングを負に制御しており、PTP1Bを阻害することでインスリンシグナルは増強される。近年、PTP1B阻害剤は新規糖尿病治療薬としてその開発が期待されており、その基質であるリン酸化チロシンをリード化合物とした化合物が合成されている。しかし、選択性や水溶性などの問題点から実用化に至った化合物は見出されていない。また合成とは別に生薬を中心に様々な天然資源からのPTP1B阻害活性物質の探索が進められている。

ごく最近Liらはエゾウコギ(*Acanthopanax senticosus*)からPTP1B阻害活性物質として3-[3'-methoxy-4'-(4"-formyl-2",6"-dimethoxyphenoxy)phenyl]propenalを単離、その構造を報告している[Li *et al.*, *Phytochemistry Lett.*, **13**, 286-289 (2015)]。彼らによればPTP1B阻害活性の発現にはphenyl propenal構造が重要であると推定している。申請者らは上記化合物と類似の基本骨格を有する一連の化合物の合成研究を実施してきた[Noshita *et al.*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **79**, 1743-1749 (2015). Nishikawa *et al.*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **78**, 1485-1489(2014)]。そのため、上記化合物(構造式を下に示す。)の合成は勿論、その構造類縁体の合成も比較的短期間に完了でき、合成した化合物を用いてPTP1B阻害活性の評価を行うことで2型糖尿病の新規治療薬の開発のためのリード化合物を検索できる。

一方、申請者らがこれまでに合成した化合物(apteniol類)の生物活性は植物に対する成長抑制活性のみが知られていたが、我々の研究によってその類縁体には神経突起伸長作用があることが判明した。効果的な神経突起伸長作用物質は、アルツハイマー病を代表とする脳機能障害の改善・治療に応用可能な化合物にもなる可能性をもつ。述べるまでもなく急速に高齢化が進行する我が国において重大な問題である加齢性疾患のうち脳機能障害の治療効果の向上は急務である。名古屋大学の内田らによれば、PTP1Bの過剰発現系においてPTP1B阻害剤は神経成長因子(Nerve Growth Factor; NGF)受容体Trk Aの持続的な活性化を亢進することで神経突起伸長活性を示す[Shibata *et al.*, *J. Neurochem.*, **170**, 1248-1260 (2008).]ことから、PTP1B阻害剤は脳機能障害治療薬開発のためのリード化合物にもなりうる。以上のことから申請者らが合成したジアリールエーテル化合物およびエゾウコギ由来のジアリールエーテルを中心に、その構造を改変した一連の化合物を用いて神経突起伸長活性を評価することで脳機能障害に対する新規治療薬の開発のためのリード化合物を検索することも可能となる。



2. 研究の目的

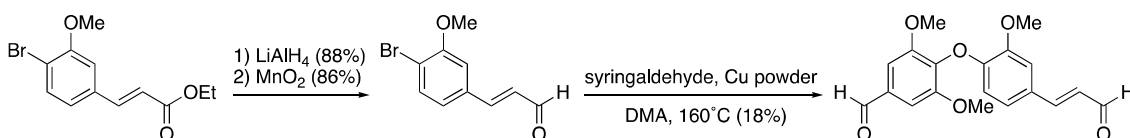
2 型糖尿病の新規治療薬の開発を志向した Protein Tyrosine Phosphatase 1B (PTP1B) 阻害剤の作出を本研究の目的とする。最近エゾウコギから見出されたジアリールエーテル型骨格を有する化合物は、顕著な PTP1B 阻害活性を有している。一方、申請者らは同様の基本骨格を持つ化合物の合成研究を行ってきた。そこで、これまでに得られている合成の知見を生かしてエゾウコギ由来の活性成分およびその類縁化合物を多数合成し、その構造と活性の相関を明らかにするとともに 2 型糖尿病の新規治療薬の開発のためのリード化合物を創出することを目的とする。さらに、PTP1B 阻害活性と神経突起伸長作用との関連も指摘されていることから両活性の相関も検討していく。

3. 研究の方法

まず Li らによって単離・構造決定の報告がなされているエゾウコギ由来 PTP1B 阻害活性物質 3-[3'-methoxy-4'-(4''-formyl-2'',6''-dimethoxyphenoxy)phenyl]propenal の全合成を行ない、その化学構造を合成化学的に確認する。ジアリールエーテルの構築には、古典的な Ullmann エーテル合成の条件を用いた場合、ある程度立体障害がある基質においても中程度の収率ながらジアリールエーテル合成を達成できることを明らかにした (Shioe らの条件: 過剰な銅粉の存在下、*N,N*-dimethylacetamide (DMA) を溶媒として用いる。Shioe *et al.*, *Chem. Pharm. Bull.*, **61**, 1308-1314 (2013))。合成して得られたジアリールエーテル型ジアルデヒドを利用し PTP1B 阻害活性試験を行う。さらに類縁体も合成し生物活性の評価を行い構造活性相関を明らかにする。

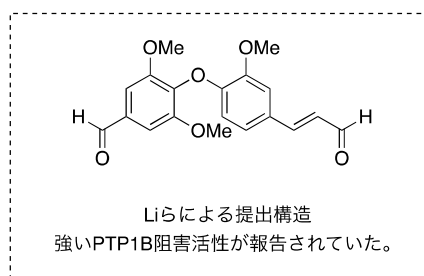
4. 研究成果

下に示した経路で Li らによって単離・構造決定の報告がなされているエゾウコギ由来 PTP1B 阻害活性物質 3-[3'-methoxy-4'-(4''-formyl-2'',6''-dimethoxyphenoxy)phenyl]propenal の全合成を達成した。しかしながら、今回の合成で得られた化合物のスペクトルデータと、報告されている

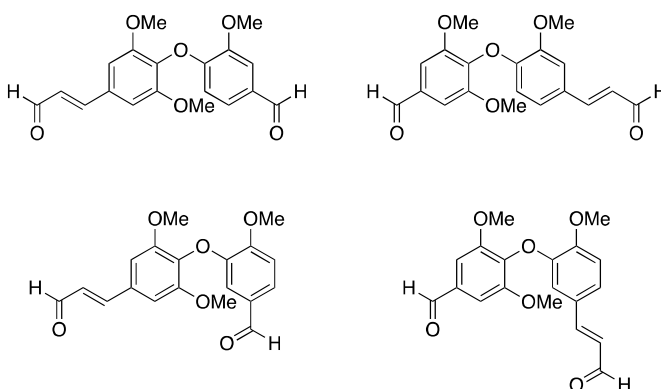


化合物のデータが一致しないことから Li らの提出構造に誤りがあることが強く示唆された。そのため真の PTP1B 阻害物質の構造を前記化合物の構造異性体である 3-[4'-methoxy-3'-(4''-formyl-2'',6''-dimethoxy)phenyl]propenal と推定し、全合成を試みた。その結果、ジアリールエーテルの構築に Shioe らの方法 (古典的 Ullmann エーテル合成の条件) を用いることで目的とした異性体の合成を完了した。しかしこの化合物のスペクトルデータも報告されている化合物のデータとは一致しなかった。そこで合理的な範囲で推定しうる異性体を全て合成したものの、これらいずれのスペクトルデータも天然物として報告されているデータと一致しなかった。さらに合成で得た化合物を PTP1B 阻害活性試験に供しその活性を評価したところ、報告されている濃度域では阻害活性を全く示さないことも明らかにした。以上のことから Li らの構造決定に誤りがあると結論し、彼らの論文に添付されているスペクトル [Li *et al.*, *Phytochemistry Lett.*, **13**, 286-289 (2015) に付随の Supporting Information 中、Fig. S1 と Fig. S3] を仔細に検討したところ一次元 NMR スペクトル (Fig. S1) には存在しないシグナルが二次元スペクトル (Fig. S3) 中に存在するという「加工」と考えざるを得ない部分が見出された。また一次元 NMR スペクトル (Fig. S1) 中にはノイズが全く存在しない不自然な領域も見られた。これらのことから Li らによる報告には人為的な加工がなされたデータが存在し、報告された PTP1B 阻害活性物質はエゾウコギ中にそもそも存在しない可能性が極めて高いと考えるのが合理的な結論である。

以上のように本研究そのものの前提が失われたことになるため、ジアリールエーテル型 PTP1B 阻害剤を作出する研究の意義も失われた。



一体何を単離した？
何の生物活性を調べた？



5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Toshiro Noshita, Ryoya Onishi, Kaori Miura, Yoshitomo Hamada, Yuki Nishino, Hidekazu Ouchi, Akihiro Tai. Synthetic and *in vitro* studies to indicate that the structure of the PTP1B inhibitor isolated from *Acanthopanax senticosus* requires reinvestigation. *Phytochemistry Letters*, Vol. 27, 2018, 214-218(査読あり)

DOI: 10.016/j.phytol.2018.07.028

<https://doi.org/10.1016/j.phytol.2018.07.028>

〔学会発表〕(計 3 件)

大西良弥、野下俊朗、濱田義知、齊藤安貴子「エゾウコギ (*Acanthopanax senticosus*) から単離された PTP1B 阻害活性物質の合成研究」日本農芸化学会中四国支部第 45 回講演会 (2016 年 06 月 11 日)

大西良弥、野下俊朗、濱田義知、齊藤安貴子「*Acanthopanax senticosus* から単離された PTP1B 阻害物質の合成」日本農芸化学会中四国支部第 47 回講演会 (2017 年 01 月 28 日)

大西良弥、三浦香織、濱田義知、齊藤安貴子、大内秀一、田井章博、野下俊朗「エゾウコギから単離された PTP1B 阻害物質の提出構造は誤りである」日本農芸化学会中四国支部第 51 回講演会 (2018 年 06 月 16 日)

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：田井 章博

ローマ字氏名：TAI akihiro

所属研究機関名：県立広島大学

部局名：生命環境学部

職名：教授

研究者番号 (8 桁): 70284081

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。