

平成 21 年 6 月 3 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2006～2008

課題番号：18590109

研究課題名（和文）肥満改善薬の開発研究

研究課題名（英文）Development research into obesity improvement medicine

研究代表者

東山 公男（HIGASHIYAMA KIMIO）

星薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：70101582

研究成果の概要：本研究は、血糖降下作用と抗酸化作用を同時に有した糖尿病治療薬にも繋がる、肥満改善薬の開発を目指したものである。血糖降下作用部位として metformin の有するピグアニジル基に着目し、これに抗酸化作用部位を結合した様々な化合物を合成して血糖降下作用を調べた。その結果、合成抗酸化剤として使用実績のあるブチルヒドロキシアニソールに 2 個のメチレン鎖を隔ててピグアニジル基を導入した化合物に極めて強力な血糖降下作用があることを見出した。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	1,000,000	360,000	1,360,000
2007 年度	700,000	210,000	910,000
2008 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	2,300,000	750,000	3,050,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・創薬化学

キーワード：肥満、糖尿病、血糖降下作用、抗酸化作用

## 1. 研究開始当初の背景

生活習慣病の特徴の一つは肥満である。肥満は万病の元凶といわれるように、糖尿病や多種循環器疾患等の生活習慣病を誘発する原因となることが多い。10 年間で肥満男性を「4 人に 1 人」から「6 人に 1 人」に減らすことなど、具体的な数値目標を掲げた厚生労働省の健康政策「健康日本 21」にもかかわらず、目標を設定した当時より数値が悪化し、いまや男性の肥満は「3 人に 1 人」に迫りつつある。

肥満は摂取カロリーと消費カロリーのバ

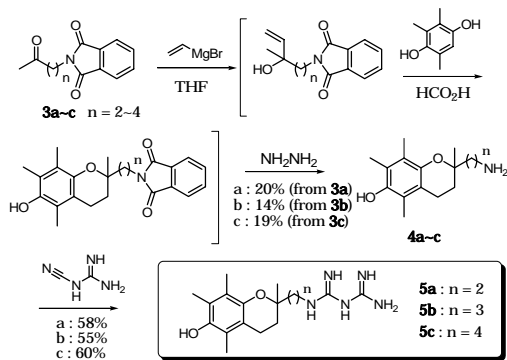
ランスによって決まり、摂取カロリーが消費カロリーを上回ると肥満になる。この肥満を防止、解消するには食事を減らして摂取カロリーを少なくするか、運動により消費カロリーを多くすることが重要である。しかし、食事を制限することは栄養の面からも問題があり、ある程度十分に食べ、その代わり運動によって余分なカロリーを燃焼させるやり方が、健康維持のためには得策だといえる。だが、実際にこれを実行することは大変である。

運動の有効性は述べるまでもなく重要で



目的化合物を合成するためには、クロマン骨格の構築と、ビグアニジル基の導入が問題となる。クロマン骨格の構築は様々な方法が知られているが、hydroquinone を用いた Friedel-Crafts 反応により構築できると考えられる。また、ビグアニジル基の導入では、対応する第 1 級アミン化合物に dicyandiamide を反応させることで導入が可能であると考へた。そこで先ず保護した第 1 級アミン部分の合成を行い、次いでクロマン骨格の構築、最後に脱保護により得られる第 1 級アミン化合物に dicyandiamide を反応させて目的化合物を合成しようと考えた。

炭素数 2 個、および 3 個のメチレン鎖をもつケトイミド(3a, b)は、市販のケトアルコールを出発原料とし、アルコールをメシル化後、精製することなく直ちに potassium phthalimide と反応させることで容易に合成することが出来た。一方、炭素数 4 個のメチレン鎖をもつケトイミド(3c)は、対応するケトアルコールが市販されていないので、アルケニルアルコールを用いて合成した。



Scheme 1 Tocopherol 誘導体の合成

次にケトイミド(3a-c)に vinyl magnesium bromide を反応させるとケトアルコール体を得られた。ここに得られたケトアルコール体は、いずれの化合物も不安定であったので精製することなく直ちにギ酸に溶解し、続く trimethylhydroquinone との Friedel-Crafts 反応を行った。その結果、反応は速やかに進行しクロマン体を得た。次に、クロマン体を hydrazine hydrate と反応させることにより脱保護を行い第 1 級アミン化合物(4a-c)に変換し、最後に塩酸塩とした後 dicyandiamide を反応させると目的とする tocopherol タイプの化合物(5a-c)を得た。

## (2) Tocopherol 誘導体の血糖降下作用

実験には、5-6 週齢の ICR 系雄性マウス (25-35 g) を使用し、薬物投与と同時にグルコース (3g/kg) を経口投与して糖負荷実験とした。血糖値は、薬物投与直前値と投与直後より 30, 60, 90, 120, 150, 180 分後にマウ

ス尾側静脈に穿刺することによって採血し、自動血糖値測定装置を用いて測定した。1 群はそれぞれマウス 12 匹とした。

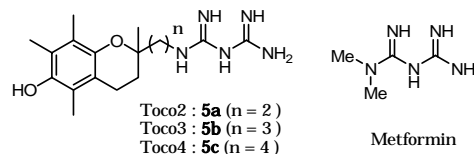


Figure 4 Toco2-4, Metformin の構造式

グラフから明らかなように、今回合成した、3 種類の tocopherol タイプの化合物(5a-c)では、その血糖降下作用がメチレン鎖の長さと同程度であるように思われる。すなわち、最も長い炭素数 4 のメチレン鎖を持つ誘導体(Toco4)よりも炭素数 3 のメチレン鎖を持つ誘導体(Toco3)の方が血糖降下作用は強く現れ、さらに炭素数 2 のメチレン鎖を持つ誘導体(Toco2)の方が最も強く血糖降下作用が現れた。しかし、今回合成した tocopherol タイプの化合物では、最も作用の強く現れた Toco2 でも、その作用は metformin とほぼ同程度であり、期待する強力な血糖降下作用を有する化合物は得られなかった。

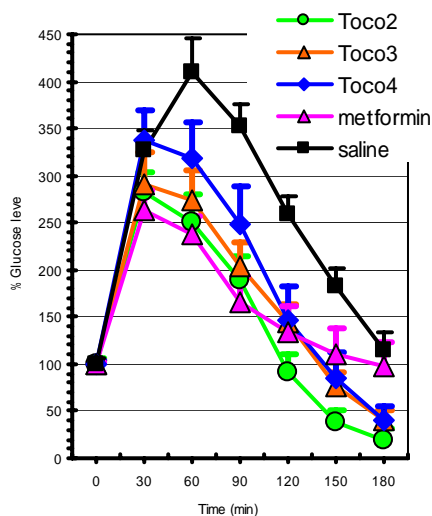


Figure 5 Tocopherol 誘導体の血糖降下作用

## (3) BHA 誘導体の合成

ブチルヒドロキシアニソール(BHA)は、ジブチルヒドロキシトルエン(BHT)とともに 1950 年代からは日本において抗酸化剤として用いられた化合物である。現在、BHA は、油脂の製造に用いるパーム原料油およびパーム核原料油に酸化防止剤として用いられており、一方、BHT は、油脂、バター、魚介乾製品、魚介塩蔵品、魚介冷凍品などの酸化防止剤としても使用されている。一般に BHA、BHT とともに安定な化合物であり、その抗酸化作用は BHT よりも BHA の方が強いと認識され

ている。

そこで、より強力な抗酸化作用を有するBHAを用い、BHAとBHTの構造の類似性を考慮して、BHAのヒドロキシ基隣接位に炭素数2個~4個のメチレン鎖を隔ててビグアニン基の導入した化合物の合成を行った。

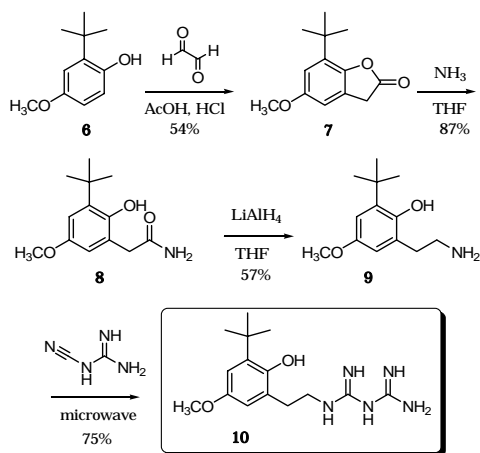


Butylhydroxyanisole(BHA)    Dibutylhydroxytoluene(BHT)

Figure 6 BHA および BHT の構造

### ① メチレン鎖2のBHA誘導体の合成

ブチルヒドロキシアニソール(BHA) (6)を出発原料とし、濃塩酸存在下、酢酸中glyoxalを反応させるとラクトン(7)が得られた。次に第1級アミンに変換すべく、7にアンモニアガスを吹込み、ラクトン環を開環したアミド(8)を得た後、lithium aluminum hydrideにて還元を行うと、目的とする第1級アミン(9)が得られた。最後に9を塩酸塩に変換した後、tocopherolタイプの化合物の場合と同様にキシレン中でdicyandiamideを反応させた。しかし、予想に反して目的化合物は少量しか得られず、分解反応の進行した複雑な生成物を与えるのみであった。そこで、様々な反応条件を検討したところ、CH<sub>3</sub>CNを溶媒として、9の塩酸塩と過剰量のdicyandiamideを用いてmicrowaveを照射しながら120°Cで24時間反応させると、目的化合物の10が75%の収率で得られた。



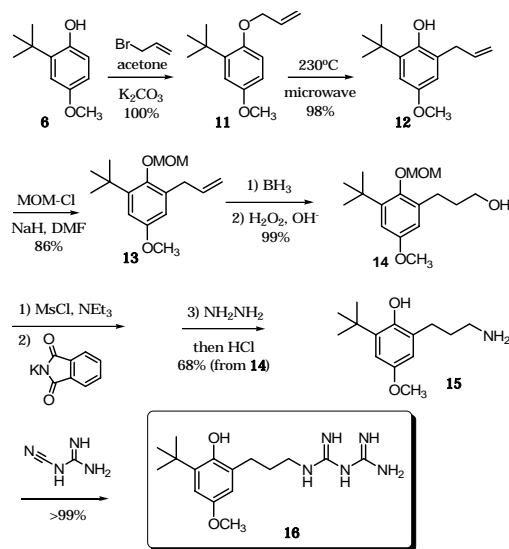
Scheme 2 メチレン鎖2のBHA誘導体の合成

### ② メチレン鎖3のBHA誘導体の合成

6をallyl bromideにてアリルエーテル(11)に変換の後、無溶媒にて230°Cで20時間過熱したところ、Claisen転位が進行し、目

的とする芳香環にアリル基の導入された12が得られた。しかし、本反応の収率は70%程度であり、原料合成としては満足のものではない。そこで、Claisen転位などの熱反応ではmicrowaveが有効であることが知られているので、本反応もmicrowaveを用いることとした。熱吸収効率を高める目的で触媒量のDMFを加えてmicrowaveを照射しながら230°Cで反応を行ったところ、3時間にて反応が終結し、98%の収率で転位生成物(12)が得られた。このように熱反応ではmicrowaveが極めて有効なことが確認された。

次に、目的の12が高収率で得られたので、第1級アミン(15)への変換を検討した。先ず12を用いたヒドロボレーションを行ったが、生成物はフェノール性水酸基と側鎖が閉環反応を起こしたと考えられる生成物を与えるのみであった。そこで、フェノール性水酸基をMOM基で保護し、続いてヒドロボレーション、さらに過酸化水素による酸化を行ったところ定量的な収率でアルコール(14)が得られた。次に14はtocopherol誘導体の合成と同様に、アルコールをメシル化し、精製することなく直ちにpotassium phthalimideと反応させイミドを得、hydrazine hydrateとの反応、続く酸処理により脱保護を行い第1級アミン(15)に変換した。最後に15を塩酸塩とした後、当量のdicyandiamideを加えCH<sub>3</sub>CNを溶媒としてmicrowaveを170°Cで3時間照射して反応を行った。この結果、目的とする炭素数3のメチレン鎖を持つBHA誘導体(16)が収率良く得られた。

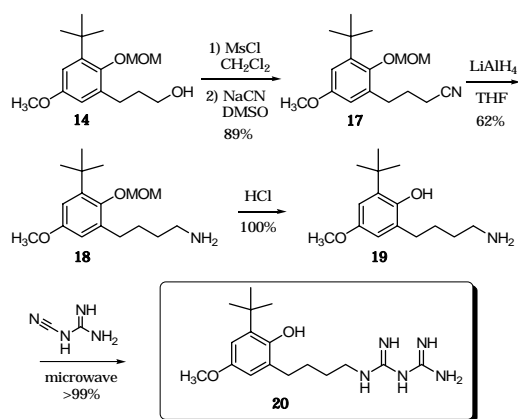


Scheme 3 メチレン鎖3のBHA誘導体の合成

### ③ メチレン鎖4のBHA誘導体の合成

炭素数4のメチレン鎖をもつ誘導体(20)の合成では、先に合成したアルコール(14)を用いて、これをメシル化し、精製することな

く直ちにsodium cyanideを反応させニトリル(17)に変換後、LAH還元、続く酸処理による脱保護を経て、目的の第1級アミン(19)を得た。最後に19を塩酸塩とした後、当量のdicyandiamideを加えCH<sub>3</sub>CNを溶媒としてmicrowaveを170℃で4時間照射して反応を行ったところ、目的とする炭素数4のメチレン鎖を持つBHA誘導体(20)が収率良く得られた。



Scheme 4 メチレン鎖4のBHA誘導体の合成

#### (4) BHA誘導体の血糖降下作用

Tocopherol誘導体と同様の条件にて動物実験を行い、以下の結果を得た。

グラフから明らかなように、今回合成した3種類のBHAタイプの化合物も、先に述べたtocopherolタイプの化合物と同様に、その血糖降下作用がメチレン鎖の長さと相関することが観察された。すなわち、抗酸化作用を示す部位とピグアニジル基とを結合する炭素鎖の長さは、短い方がより強い血糖降下作用が現れており、中でも炭素数2のBHA2では、metforminよりも強力な作用を示した。また、先に示したtocopherol誘導体と今回のBHA誘導体との比較では炭素数が同一の誘導体では、いずれの場合もトコフェロール誘導体よりもBHA誘導体の方がより強い血糖降下作用を示すことも判明した。

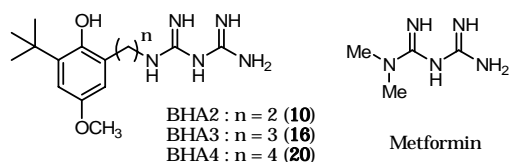


Figure 7 BHA2-4、Metforminの構造式

以上本研究は、血糖降下作用と抗酸化作用も同時に持ち合わせた新たな糖尿病治療薬、更には肥満改善薬に繋がる新規な化合物の開発を目的とし、抗酸化作用を持つ構造としてtocopherolとBHA、血糖降下作用を持つ構造としてピグアニジル基に着目して行った

ものである。その結果、現在糖尿病治療薬として使用されているmetforminを凌駕する血糖降下作用を持つ新たな化合物を見出すことが出来た。しかし、今回の研究では詳細な薬理的検討を加えるには至っておらず、今後投与経路や投与量の検討など多くの課題が残されている。また、今回は抗酸化作用に由来する効果の検討も全く行うことが出来なかった。よって、今後はより炭素数の少ない化合物の合成と評価を行うとともに、インスリン量の変化、慢性投与による血管内皮細胞の形態変化などを含めたより詳細な薬理的検討を行うことで、新たな糖尿病薬や肥満改善薬に繋がる化合物が見出されると期待する。

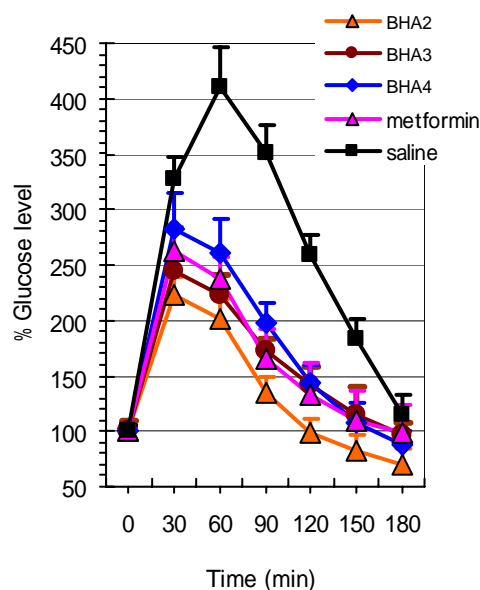


Figure 8 BHA誘導体の血糖降下作用

#### 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 2件)

- ① T. Yamauchi, S. Hagiwara, and K. Higashiyama  
 Concise Total Synthesis of (-)-Deoxo-cuscohygrine and (-)-Dihydro-cuscohygrine.  
*J. Org. Chem.*, **73** (24), 9784-9787 (2008) 査読有
- ② H. Kubo, M. Inoue, J. Kamei, and K. Higashiyama  
 Hypoglycemic effects of multiflorine derivatives in normal mice.  
*Biol. Pharm. Bull.*,

〔学会発表〕(計 3件)

- ① 久保元, 東山公男  
ビグアニジン化合物の合成と血糖降下作用  
日本薬学会第127年会  
2007年3月28-30日、富山
- ② H. Kubo, and K. Higashiyama  
Hypoglycemic effects of metformin derivatives in normal mice.  
21<sup>th</sup> International Congress for Heterocyclic Chemistry  
2007年7月15日-21日  
Sydney, Australia
- ③ 久保元, 鎌田勝雄, 東山公男  
ビスグアニジル化合物の合成と血糖降下作用  
日本薬学会第126年会  
2006年3月28-30日、仙台

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

東山 公男 (HIGASHIYAMA KIMIO)  
星薬科大学・薬学部・教授  
研究者番号：70101582

### (2) 研究分担者

### (3) 連携研究者