

令和 3 年 5 月 27 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06725

研究課題名(和文) 環状ポリオールを基軸とした糖代謝調節分子の探索と創製

研究課題名(英文) Study on cyclic polyol-based carbohydrate metabolism regulatory molecules

研究代表者

内山 武人(Uchiyama, Taketo)

日本大学・薬学部・教授

研究者番号：90261172

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：1,5-アンヒドログルシトールをはじめとする環状ポリオール類を利用して、様々な没食子酸誘導体(ポリフェノール)を化学的かつ系統的に合成し、 α -グルコシダーゼ阻害活性や抗酸化活性を有する有益な化合物を見出すことができた。また、作製した化合物ライブラリーを用いて構造と活性の相関についても検討を加えることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで、環状ポリオール類の没食子酸誘導体(ポリフェノール)について化学的かつ系統的に合成研究された研究報告はない。また、合成された各種ポリフェノール類には糖尿病の治療に有効な α -グルコシダーゼ阻害活性やアンチエイジング効果があるとされる抗酸化活性があることも見い出した。これらの研究成果は、今後の医薬品の開発研究に貢献できると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Using cyclic polyols such as 1,5-anhydroglucitol, various gallate derivatives (polyphenol) were chemically and systematically synthesized and beneficial compounds with α -glucosidase inhibitory activity and antioxidant activity. In addition, the structure-activity relationship of the synthetic compound library was examined.

研究分野：生物有機化学

キーワード：環状ポリオール ポリフェノール α -グルコシダーゼ阻害活性 抗酸化活性 1,5-アンヒドログルシトール

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、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

代表的な環状ポリオールである 1,5-anhydro-D-glucitol (1,5-AG) は、ヒトの血中に多く存在し糖尿病の重症度を見極める際の重要なマーカーである。超高齢化社会となった現在、糖尿病への対策はその予防も含め喫緊の課題であることは論を俟たないが、興味深いことに、この血中に含まれる 1,5-AG にはインスリン感受性増強作用を有する「アディポネクチン」の産生増強効果があることが報告されている。しかしながら、その構造と機能の関係についてはよくわかっていない。我々は 2016 年、無保護糖より簡便に環状ポリオールが化学合成できることを見出した。この合成法には、本研究代表者が 1996 年に発見した新しい糖供与体であるグリコシルヨーダイド中間体を適用している。本方法を適用することで調製される環状ポリオール類やその合成誘導体が糖代謝調節能を有する機能性分子になり得るか、この点が本研究課題における学術的「問い」である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、これまでその有用性について精査されることのなかった環状ポリオール類に焦点を当て、新規糖質素材としての可能性を見出すことである。本研究の遂行にあたっては、申請者が独自に開発した方法で得られる環状ポリオールが鍵化合物となる。糖代謝調節に深く関与するアディポネクチンならびに α -グルコシダーゼに着目し、環状ポリオール由来の新規糖代謝調節化合物をデザイン・合成して評価する。

3. 研究の方法

(1) 環状ポリオール類の合成

我々の開発した合成法を用いて、無保護糖 (D-glucose, L-glucose, D-galactose, D-mannose, L-fucose, L-rhamnose, D-xylose) より 1,5-AG をはじめとする環状ポリオール類をグラムスケールで合成する。さらに、化合物ライブラリーの拡充を目的にリボースなどのペントースを出発原料にして 1,4-アンヒドロアルジトール類の調製法についても検討を加える。

(2) アディポネクチン産生増強能の評価

3T3-L1 細胞が脂肪細胞へと分化していく過程で、1,5-AG をはじめとする環状ポリオール類がアディポネクチン分泌量にどのような影響を及ぼすのか、ELISA キットを用いて経時的に定量し評価する。同時に、脂肪細胞分化におけるマスターレギュレーターである PPAR の転写因子 C/EBP β 発現量についても RT-qPCR 法により精査し、環状ポリオールが PPAR の発現量に与える影響を遺伝子レベルで解明する。さらに、ある種の天然物由来化合物に 3T3-L1 細胞の分化誘導能があることが明になっていることから、環状ポリオール類との併用がアディポネクチンの分泌量や脂肪細胞分化にどのような効果を及ぼすのか、Oil Red 染色および脂肪細胞分化におけるマーカー (adipocyte fatty acid-binding protein: aP2 など) の発現量より評価する。

(3) α -グルコシダーゼ阻害活性を有する化合物の探索

エラジタンニンの一つである Tellimagrandin I のようにグルコースユニットを分子内に有しながら、糖代謝調節に作用する天然物が多い。天然物の構造に含まれるグルコース由来ヘミアセタールが生物活性にどのように関与しているかを明らかにするため、1,5-AG のみならずそれ以外の環状ポリオール類を用いてエラジタンニン類縁体を合成し化合物ライブラリーの充実を図り、環状ピアリール骨格やガロイル基の数にも着目しながら、構造と α -グルコシダーゼ阻害活性の相関や抗酸化活性について精査する。

4. 研究成果

(1) 出発物質として D-Glc, D-Gal, D-Man, D-Fuc, D-Rha, D-Xyl を各々使い、1,5-anhydro-D-glucitol (1,5-AG) をはじめとする 6 種類の環状ポリオールの大量合成 (十グラムスケール) に成功した。合成した 1,5-AG を用いて、強い α -グルコシダーゼ阻害活性を有する Tellimagrandin I のアナログ合成を試みた。Tellimagrandin I の構造に含まれるヘミアセタール性-OH 基や hexahydroxydiphenoyl (HHD) 基の有無、ガロイル基の数や位置が活性に与える影響を明らかにするために、25 種類のアナログ合成に成功し、 α -グルコシダーゼ阻害活性を検討したところ、次の点が明らかとなった。ガロイル基の数が増すほど活性も強くなる。ヘミアセタール性-OH 基の有無は活性に影響を与えない。HHDP 基 (ピアリール構造) の存在により活性は減弱する。

4 位のガロイル基が欠如しても活性に影響を与えない。フェノール性-OH 基は隣り合っていること (カテコール構造) がより強い活性発現に重要である。また、DPPH を用いた抗酸化活性と構造の関係についても検討をおこなった。その結果、ガロイル基の数の増大とともに活性が強くなり比例の関係にあることがわかった。

(2) 1,5-AG は、ヒト血液中に含まれる糖質としてグルコースに次いで多く含まれる環状ポリオール的一种であり、1,5-AG にはインスリン感受性増強作用を有するアディポネクチンの産生増強効果が報告されていることから、3T3-L1 前駆脂肪細胞を用いて 1,5-AG が脂肪細胞分化へ与える影響について検討を行った。1,5-AG の脂肪細胞分化能を Oil Red O 染色により検討したと

ころ, 500 μM および 1000 μM において脂肪細胞分化促進作用が認められた。

(3) 1,5-AG 以外の環状ポリオールとして, すでにグラムスケールで大量合成に成功している 5 種の環状ポリオール, 1,5-anhydro-D-galactitol (1,5-AGal), 1,5-anhydro-D-mannitol (1,5-AMan), 1,5-anhydro-xylitol (1,5-AXyl), 1,5-anhydro-L-rhamnitol (1,5-ARha), 1,5-anhydro-L-fucitol (1,5-AFuc) に着目し, 構造活性相関の検討を試みた。誘導体合成においては, 糖由来アルコールと没食子酸の縮合試薬に向山試薬 (2-Chloro-1-methylpyridinium Iodide) を用いることで, 環状ポリオール類の効率的ガロイル化に成功し, さらなる化合物ライブラリーの拡充および構築をおこなうことができた。あらたに合成した環状ポリオール誘導体の α -グルコシダーゼ活性及び抗酸化活性について検討をおこなったところ, 興味深いことに, 1,5-AG, 1,5-AGal, 1,5-AMan のそれぞれのガロイル誘導体の活性には顕著な差が認められなかった。すなわち, ヒドロキシ基の立体配置は α -グルコシダーゼ活性に影響を与えないことが明らかとなった。6-デオキシ糖 (1,5-ARha, 1,5-AFuc) の誘導体については, galloyl 基の数が減少したことにより, 予想通り α -グルコシダーゼ阻害ならびに抗酸化活性は減弱した。次に, 環内に酸素原子をもたない環状ポリオールであるイノシトールに着目し, 購入可能な 7 種イノシトール異性体 (allo-, D-chiro-, L-chiro-, epi-, scyllo-, muco-, myo-) を用いて 6 つのガロイル基を有する誘導体を合成し, その生物活性を評価したところ, いずれも 1,5-AG 誘導体 (4 つのガロイル基を有する) より強い活性を示した。イノシトール類のガロイル誘導体についての生物活性に関する報告はこれまでになく, 世界に先駆けた新しい知見である。以上のように本研究により得られた研究成果は, 環状ポリオール類の新しい機能の発見に繋がるだけでなく, 糖尿病に対する予防・治療薬開発を目的とした新規化合物の探索研究において, 新たな展開を促すものである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Machida Shota, Mukai Saki, Kono Rina, Funato Megumi, Saito Hiroaki, Uchiyama Taketo	4. 巻 24
2. 論文標題 Synthesis and Comparative Structure?Activity Study of Carbohydrate-Based Phenolic Compounds as -Glucosidase Inhibitors and Antioxidants	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 4340 ~ 4367
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/molecules24234340	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 町田 翔太、菅谷 麻帆、外山 千尋、相川 真海、高野 桃子、中村 雪乃、斎藤 弘明、内山 武人
2. 発表標題 環状ポリオールをコア構造とした没食子酸誘導体の合成と生物活性評価
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 町田翔太、菅谷麻帆、栗原美咲、斎藤弘明、内山武人
2. 発表標題 1-デオキシ糖を基盤としたポリフェノール誘導体の合成とその生物活性
3. 学会等名 第39日本糖質学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 菅谷 麻帆、栗原 美咲、町田 翔太、斎藤 弘明、内山 武人
2. 発表標題 1,5-アンヒドロ糖を基盤とするTellimagrandin I アナログの合成研究
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小池 柚希、野伏 康仁、町田 翔太、内山 武人、岸川 幸生
2. 発表標題 Tellimagrandin および合成アナログの脂肪蓄積抑制効果
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 町田 翔太、河野 里奈、内山 武人、宮入 伸一
2. 発表標題 1,5-アンヒドログルシトールを基盤とするポリフェノール誘導体の合成と α -グルコシダーゼ阻害活性
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 秋山 未来、野伏 康仁、内山 武人、岸川 幸生
2. 発表標題 1,5-アンヒドログルシトールが3T3-L1前駆脂肪細胞の分化誘導に与える影響に関する研究
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 町田翔太、内山武人、河野里奈、宮入伸一
2. 発表標題 α -Glucosidase阻害活性をもつ1,5-anhydro-D-glucitol誘導体の合成
3. 学会等名 第37回日本糖質学会年会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

環状ポリオールは新規糖代謝調節分子の鍵化合物になり得るか？
<https://www.pha.nihon-u.ac.jp/research/about/activity/case-study39/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	野伏 康仁 (Nobushi Yasuhiro) (40385977)	日本大学・薬学部・講師 (32665)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------