

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590140

研究課題名(和文) サラシノールをシードとする高活性スルホニウム塩型食後過血糖改善薬の合成と活性評価

研究課題名(英文) Synthesis and evaluation of sulfonium-type alpha-glucosidase inhibitors based on the structure of salacinol

研究代表者

田辺 元三 (TANABE, Genzoh)

近畿大学・薬学部・准教授

研究者番号：40217104

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：Salacinol (1) は、アーユルベータ医学における糖尿病の特効薬物 (Salacia reticulata) から単離された強い α -グルコシダーゼ阻害作用を示す化合物である。今回、1 の側鎖部 3' 位疎水性置換基を種々検討し、その誘導体の合成および活性評価を行った結果、メチル基を除くアルキル基およびベンジル基をもつ化合物に、著しい活性の向上が認められ、中でも、3'-O-(*o*-ニトロベンジル)体が 1 の約 40 倍強力な活性を示し、糖尿病治療薬、acarbose, voglibose を凌駕する活性を示すことを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：To develop more potent alpha-glucosidase inhibitors whose seed-compound is salacinol (1), a potent natural alpha-glucosidase inhibitor isolated from Salacia reticulata of Ayurvedic traditional medicine, several candidates with 3'-O-alkyl (CH₃, C₂H₅, C₁₃H₂₇) or benzyl groups (CH₂C₆H₅, CH₂C₆H₄CH₃, CH₂C₆H₅Cl, CH₂C₆H₄CF₃, CH₂C₆H₄NO₂) instead of the 3'-O-sulfate anion in 1 were synthesized. These analogs showed equal or considerably higher inhibitory activity against rat small intestinal alpha-glucosidases than 1. Among the sulfonium salts designed, one with 3'-O-(*o*-nitrobenzyl) moiety was found to be the most potent, and ca. forty times as potent as 1, the compound being the strongest inhibitor among the sulfonium type inhibitors synthesized so far.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：創薬化学

キーワード：サラシノール α -グルコシダーゼ阻害剤

1. 研究開始当初の背景

申請者らは、インドやスリランカの伝統医学であるアーユルヴェーダ (Ayurveda) において、糖尿病の特効薬として使用されている天然薬物 *Salacia reticulata* WIGHT のエタノールエキスから、極めて強い血糖値上昇抑制 (α -グルコシダーゼ阻害) 作用を示す成分、salacinol (1) を単離し、その絶対構造を含めたその特異なスルホニウム硫酸分子内塩構造を明らかにしている。また、その活性強度は、同作用機序に基づく経口糖尿病薬、voglibose (2, 商品名: ベイスン) および acarbose (3, 商品名: グルコバイ) に匹敵し、しかも isomaltase に対する阻害活性は acarbose よりもはるかに強いことも明らかにしている (*Tetrahedron Lett.*, **1997**, 38, 8367, *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, 10, 1547)。また、1 の類縁体、kotalanol (4), ponkoranol (5) も同属の植物から単離された (*Chem. Pharm. Bull.* **1998**, 46, 1339, *Heterocycles*, **2008**, 75, 1397)。さらに、これまで合成品であった 1, 4, 5 の脱硫酸エステル体、neosalacinol (6), neokotalanol (7) および neoponkoranol (8) も相次いで植物成分として単離された (*Bioorg. Med. Chem.* **2008**, 16, 2734, *J. Nat. Prod.* **2008**, 71, 981, *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, 19, 2015)。これら化合物の α -glucosidase 阻害活性も良好で、いずれも 2 および 3 に匹敵する強い阻害作用を示すことも明らかになっている。

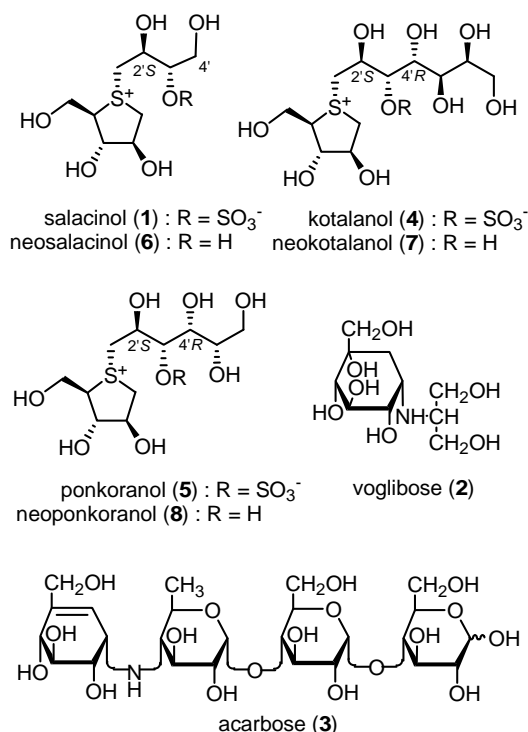
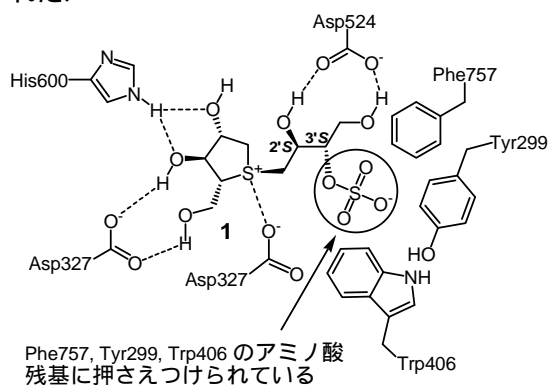


Table 1. IC₅₀ (μ M, *in vitro*) against Rat Small Intestinal α -Glucosidases

Enzyme	1	4	5	6	7	8	2	3
Maltase	5.2	7.2	3.2	8.0	4.8	5.1	1.2	1.7
Sucrase	1.6	0.8	0.3	1.3	4.5	1.0	0.22	1.5
Isomaltase	1.3	5.7	2.6	0.3	1.8	1.4	2.1	646

このように強い生理活性と特異な構造のため、申請者らの第1報以来、1 およびその関連類縁体は国内外において多くの研究者の関心を集め、全合成ならびに構造活性相関研究が盛んに行われてきた。しかしながら、経口糖尿病薬 2, 3 を凌ぐ阻害活性を示す化合物の創製には至っていない。

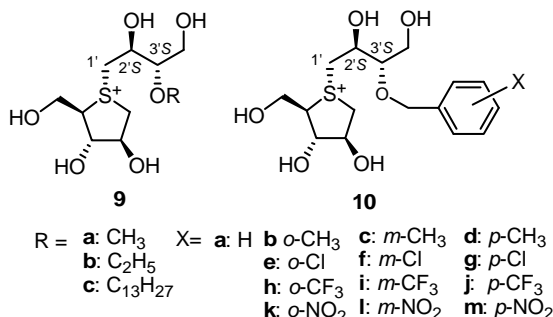
上述の血糖値上昇抑制剤の酵素阻害様式は競合拮抗的であるため、強い活性の発現には、酵素との親和性が問題になる。酵素には、二糖類 (例えば maltose) の還元末端と非還元末端の極性官能基を認識する部位が存在する。これまでの申請者らを含め国内外における構造活性相関から、1, 2 に共通の 5 員環チオ糖構造とその置換基の立体化学が活性発現に必須であることが判明している。一方、側鎖部に関する研究では、申請者らは 酵素阻害には側鎖部の硫酸エステルアニオンは必須でないことを明らかにする (*Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, 15, 3296) とともに、salacinol 誘導体 (側鎖炭素数が 4) を用いて 強い阻害活性の発現には、1 の 2'S 配置の水酸基と 4' 位の水酸基が必須であることも明らかにしている (*Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, 14, 500)。さらに、最近では、側鎖の炭素数が 5 ~ 7 の硫酸分子内塩およびその脱硫酸エステル体も合成され、側鎖部炭素数が 5 以上の化合物の阻害活性の発現には 2'S 配置に加えて 4' 位に R 配置の水酸基が必須であることが判明している (B. M. Pinto *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, 131, 5621)。近年、申請者らの *in silico* 計算化学 (*Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2010**, 20, 4420) および国外での X 線を用いた研究 (B. M. Pinto *et al.*, *Biochemistry*, 2010, 48, 443) により、salacinol (1) の陰電荷をもつ 3'位硫酸エステル部が、酵素の疎水性アミノ酸残基 Phe575, Tyr299 および Trp406 の近傍に位置し、酵素との親和性に全く関与せず、これらの残基により抑えつけられ、側鎖部の酵素結合部位における安定性を妨げていることが示唆された。



2. 研究の目的

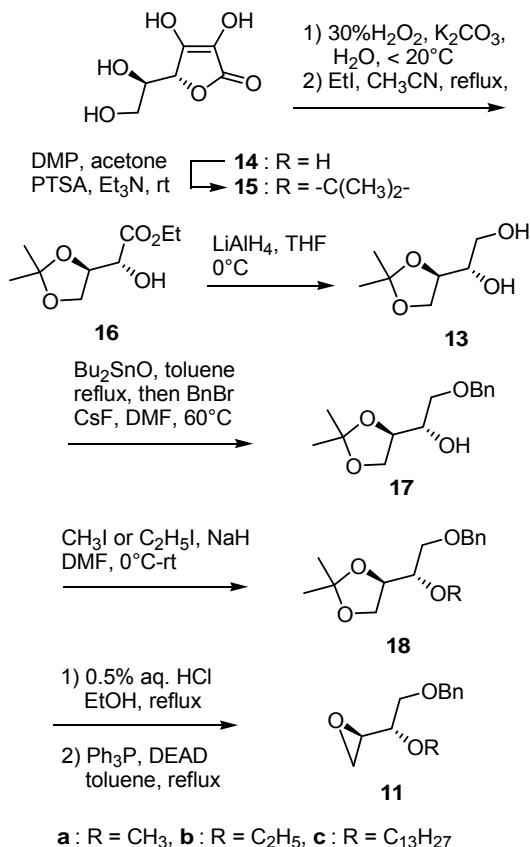
これまでの背景を踏まえて本研究では、salacinol (1) の親水性の硫酸エステル部を疎水性置換基に変換し、硫酸エステル部が阻害

活性に与える負の効果の回避が期待される化合物として、3'位にアルキル基 (**9a–9c**)あるいはベンジル基 (**10a–10m**)を有するスルホニウム塩を合成し、これらの阻害活性を評価した。

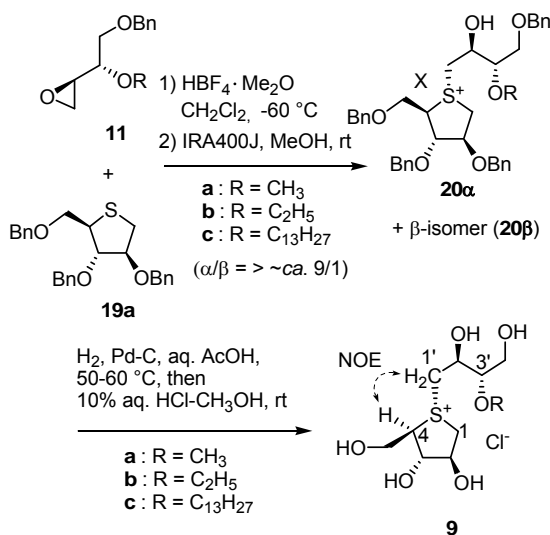


3. 研究の方法

まず、目的化合物の合成に必要な中間体であるエポキシド (**11a–11c**) および (**12a–12m**) の合成を行った。まず、文献 (*J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 2598) の方法に準じて、両エポキシドの共通の原料となるジオール (**13**) をイソアスコルピン酸 (**14**) から合成した。引き続き、常法にしたがって、**13** の第一級水酸基を選択的にベンジル基で保護して、ベンジル体 (**17**) に導いた後、**17** に残存する水酸基を相当するアルキルハライドで処理し、**18a–18c** を得た。引き続き、これらのイソプロピリデンアセタール部を加水分解して得たジオールをアゾジカルボン酸ジエチルとトリフェニルホスフィンを用いた光延型エポキシ化反応に付し、目的のエポキシ体 **11a–11c** を得た。

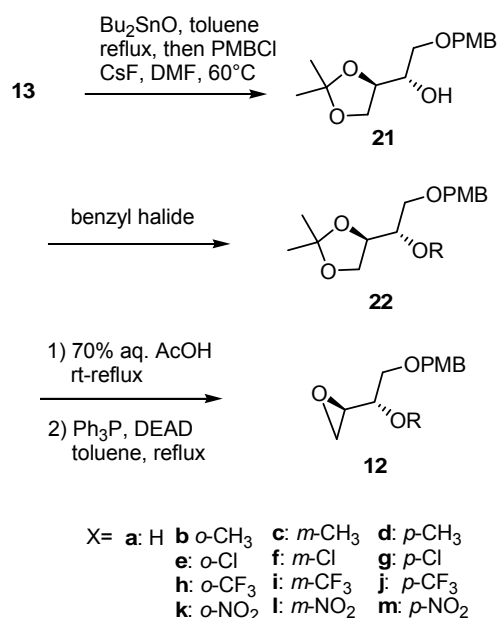


次に、申請者が確立している neosalacinol (**6**) の合成法 (*Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 2195) に準じ、HBF₄ の存在下にエポキシド **11a–11c** とチオ糖 **19** のカップリング反応に付し、相当するスルホニウム塩 (**20aα–20cα** X = BF₄) 及びその β 異性体の混合物に導いた (α/β = > ~ca. 9/1). 引き続き、これらを陰イオン交換樹脂 (IRA-400J, Cl⁻ form) で処理したのち、主生成物をカラムクロマトグラフィーで分離精製し相当する塩化物 (**20aα–20cα** X = Cl) を得た。最終的に、加水素分解により脱ベンジル化し目的のスルホニウム塩 **9a–9c** に導いた。

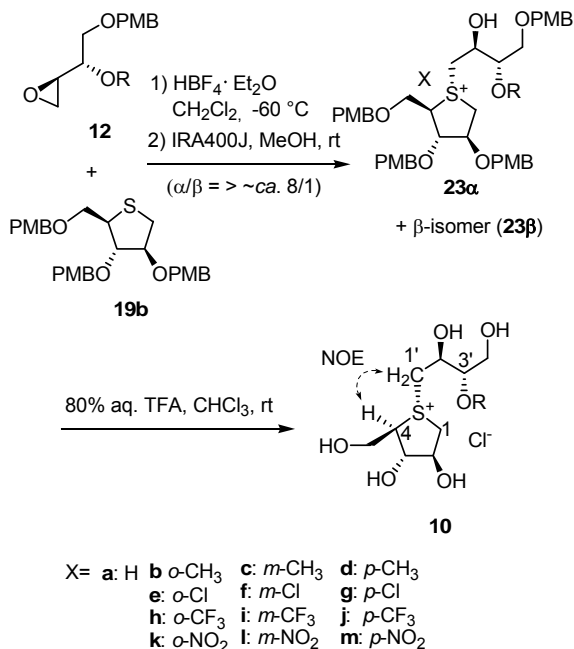


次に、ベンジル化スルホニウム塩 **10a–10m** の合成に必要なエポキシド **12a–12m** を以下のように合成した。

前述のジオール **13** を出発原料に用い、再一級水酸基の選択的 *p*-メトキシベンジル化により得た化合物 **21** を相当するベンジルハライドで処理して **22a–22m** を得た。さらに、常法に従い **22a–22m** を 2 工程でエポキシド **12a–12m** に誘導した。



上述の方法で得たエポキシドをアルキル化スルホニウム塩合成法に従い, PMB 化チオ糖 (19b) とカップリングさせ, 相当するスルホニウム塩 (23a-c-23m) X = BF₄) の混合物に導いた ($\alpha/\beta = > \sim ca. 8/1$). カラムクロマトグラフィーで分離精製した主生成物を, 陰イオン交換樹脂 (IRA-400J, Cl⁻ form) で処理し, 相当する塩化物 (23a-c-23m) X = Cl) とした後, TFA 水溶液により脱 PMB 化を行い目的のスルホニウム塩 10a-10c に導いた.



4. 研究成果

合成したアルキル化スルホニウム塩 9a-9c およびベンジル化スルホニウム塩 10a-10m について, ラット小腸由来の glucosidase を用いた α -glucosidase 阻害活性について検討を加えた.

いずれのアルキル化スルホニウム塩 9a-9c も isomaltase 対して, salacinol (1) および neosalacinol (6) に匹敵するほど顕著な阻害作用を示した. また, Sucrase に対する阻害能も顕著で, 9a, 9b 及び 9c は, いずれも 1 および 7 より強力な阻害活性を示した. 中でも, 3'位にエトキシ基をもつ 9b の阻害活性が最も強く, 1 や 7 の約 10 倍強力であった. Maltase 阻害活性に関しては, 3'位にメトキシ基をもつ 24a の阻害活性は 1 及び 6 と同程度にとどまり, 3'-O-メチル化による阻害能の改善は認められなかった. しかし, 同位にエトキシ基およびトリデシル基もつ基質 9b および 9c の阻害活性は 1 および 7 より良好であった.

一方, ベンジル化スルホニウム塩 10a-10m は, いずれも maltase, sucrase および isomaltase を著しく強く阻害した. また, 置換基の種類に関わらず, オルト位に置換基をもつ 10b, 10e, 10h, 10k が, 相当するメタおよびパラ置換体に比べ, maltase および sucrase に対して強い活性を示す傾向にある

ことも判明した. 中でも o-nitro 置換体 10k の maltase 阻害活性は, 著しく強力で 1 の約 40 倍の活性に達することが判明した. 同様に, 10k の sucrase に対する阻害能も顕著に増強され, 1 の 40 倍に達した.

以上のように, 3'-O-アルキル化およびベンジル化は, 当初の予想通り阻害効果発現に有効であることが証明された.

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 2 件)

1. G. Tanabe, S. Nakamura, N. Tsutsui, G. Balakishan, W. Xie, S. Tsuchiya, J. Akaki, T. Morikawa, K. Ninomiya, I. Nakanishi, M. Yoshikawa, O. Muraoka, *Chem. Commun.*, **2012**, 48, 8646-8648. (査読あり)
2. G. Tanabe, T. Otani, W. Cong, T. Minematsu, K. Ninomiya, M. Yoshikawa and O. Muraoka, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2011**, 21, 3159-3162. (査読あり)

〔学会発表〕(計 16 件)

1. 田邊元三, 中村真也, 筒井 望, 赤木淳二, 森川敏生, 二宮清文, 仲西 功, 吉川雅之, 村岡 修. α -グルコシダーゼ阻害剤, Salacinol の構造活性相関研究—トルイル酸型置換基による 3'位疎水化の効果—第 30 回メディシナルケミストリーシンポジウム (広島), 2013 年 11 月 22 日.
2. 田邊元三, 中村真也, 國方雄介, 筒井 望, 赤木淳二, 森川敏生, 二宮清文, 仲西 功, 吉川雅之, 村岡 修. α -グルコシダーゼ阻害剤, salacinol の構造活性相関研究: 3'位脂溶性化が活性に及ぼす効果. 第 5 回食品薬学シンポジウム (京都), 2013 年 11 月 2 日.
3. 田邊元三, 中村真也, 國方雄介, 筒井 望, 赤木淳二, 森川敏生, 二宮清文, 仲西 功, 吉川雅之, 村岡 修. α -グルコシダーゼ阻害剤, salacinol の構造活性相関研究: トルイル酸型置換基による 3'位疎水化の効果. 第 63 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (京都), 2013 年 10 月 12 日.
4. G. Tanabe, S. Nakamura, N. Tsutsui, J. Akaki, T. Morikawa, K. Ninomiya, I. Nakanishi, M. Yoshikawa, O. Muraoka. Structure Activity Relationship Study on Salacinol, a Potent α -Glucosidase Inhibitor from Ayurvedic Traditional Medicine "Salacia": Effect of 3'-O-Aralkylation with Toluic Acid. 9th AFMS International Medicinal Chemistry Symposium (AIMECS13), (Taipei, Taiwan), October, 16th-18th, 10. 2013.
5. 田邊元三, 國方雄介, 中村真也, 筒井 望, 赤木淳二, 森川敏生, 二宮清文, 仲西 功, 吉川雅之, 村岡 修. Salacinol をシードとするスルホニウム塩型 α -グルコシダーゼ

- 阻害剤の *in silico* 設計, 合成および評価: 3'位アルキル化の効果. 日本薬学会第133年会(横浜)2013年3月29日.
6. 田邊元三, 中村真也, 筒井 望, 赤木淳二, 森川敏生, 二宮清文, 仲西 功, 吉川雅之, 村岡 修. Salacinol をシードとするスルホニウム塩型 α -グルコシダーゼ阻害剤の *in silico* 設計, 合成および評価. 第30回メディシナルケミストリーシンポジウム(東京), 2012年11月20日.
 7. G. Tanabe, S. Nakamura, N. Tsutsui, Masahiro Yoshinaga, Y. Kunikata, J. Akaki, T. Morikawa, K. Ninomiya, I. Nakanishi, M. Yoshikawa, O. Muraoka. The 12th International Kyoto Conference on New Aspects of Organic Chemistry (IKCOC-12, Kyoto, Japan), November, 15th, 2012.
 8. 田邊元三, 中村真也, 國方雄介, 土屋聡史, 吉長正紘, 筒井 望, 赤木淳二, 森川敏生, 二宮清文, 仲西 功, 吉川雅之, 村岡 修. Salacinol をシードとするスルホニウム塩型 α -グルコシダーゼ阻害剤の *in silico* 設計, 合成及び評価. 第62回日本薬学会近畿支部大会(武庫川), 2012年10月20日.
 9. 田邊元三, 中村真也, 吉長正紘, 筒井 望, Gorre Balakishan, 赤木淳二, 森川敏生, 二宮清文, 仲西 功, 吉川雅之, 村岡 修. Salacinol をシードとするスルホニウム塩型 α -グルコシダーゼ阻害剤の *in silico* 設計, 合成及び評価. 第54回天然有機化合物討論会(東京), 2012年9月18日.
 10. 田邊元三, 土屋聡史, 筒井望, 峯松敏江, 赤木淳二, 中村真也, 仲西 功, 吉川雅之, 村岡 修. α -Glucosidase 阻害剤 salacinol の構造活性相関: 3'位ベンジル化の効果. 日本薬学会第132年会(札幌)2012年3月31日.
 11. 田邊元三, Balakishan Gorre, 筒井 望, 中村真也, 仲西 功, 吉川雅之, 村岡 修. α -Glucosidase 阻害剤 salacinol の3'位アルキル化体の合成および活性評価: 3'位疎水性置換基が活性に及ぼす効果. 生物分子システムに基づく創薬科学フロンティア研究成果発表会(京都), 2012年2月18日.
 12. G. Tanabe, N. Tsutsui, M. Oka, B. Gorre, W. Xie, S. Nakamura, I. Nakanishi, M. Yoshikawa, O. Muraoka. Biological Evaluation of 3'-O-Alkylated Analogs of Salacinol, the Role of Hydrophobic Alkyl Group at 3' Position in the Side Chain on the α -Glucosidase Inhibitory Activity. 8th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium "Frontier of Medicinal Science", Tokyo, November, 30th, 2011.
 13. 田邊元三, 中村真也, 國方雄介, 土屋聡史, 吉長正紘, 筒井 望, 赤木淳二, 森川敏生, 二宮清文, 仲西 功, 吉川雅之, 村岡 修. Salacinol をシードとするスルホニウム塩型 α -グルコシダーゼ阻害剤の *in silico* 設

計, 合成及び評価. 第19回天然薬物の開発と応用シンポジウム(大阪), 2011年11月1日.

14. 田邊元三, 土屋聡史, 筒井望, 赤木淳二, 中村真也, 仲西功, 吉川雅之, 村岡 修. α -Glucosidase 阻害剤 salacinol の3'位疎水化の活性に及ぼす効果. 第61回日本薬学会近畿支部大会(神戸), 2011年10月22日.
15. G. Tanabe, T. Otani, H. Takemura, S. Tsuchiya, N. Tsutsui, B. Gorre, M. Yoshikawa, O. Muraoka. Synthesis and Biological Evaluation of 3'-O-Alkylated Salacinols as α -Glucosidase Inhibitors. 22nd French-Japanese Symposium on Medicinal and Fine Chemistry, Rouen, France, September, 11th-14th, 2011.
16. G. Tanabe, T. Otani, N. Tsutsui, H. Takemura, W. Xie, B. Gorre, M. Yoshikawa, O. Muraoka. Biological Evaluation of 3'-O-Alkylated Analogs of Salacinol, the Role of Hydrophobic Alkyl Group at 3' Position in the Side Chain on the α -Glucosidase Inhibitory Activity. 23rd International Congress on Heterocyclic Chemistry, Glasgow, Scotland, August, 1st, 2011.

〔図書〕(計 1 件)

1. 「薬用食品の開発 - 薬用・有用植物の機能性食品素材への応用」シーエムシー出版 2012年4月2日

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織
(1) 研究代表者
田邊 元三 (TANABE Genzoh)
近畿大学・薬学部・准教授

研究者番号：40217104

(2)研究分担者

峯松 敏江 (MINEMATSU Toshie)

近畿大学・薬学部・助手

研究者番号：60088151

(3)連携研究者

()

研究者番号：