

令和 2 年 5 月 31 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08377

研究課題名(和文) サラシノールをシードとする新規ジカチオン型高活性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 di-cationic 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・教授

研究者番号：40217104

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：アーユルベータ薬物“サラシア”から単離された、強力な α -グルコシダーゼ阻害剤、サラシノール(1)、ネオコタラノール(2)の効率的な大量合成を目的として、チオ糖とエポキシドとのS-アルキル化を鍵反応とするスルホニウム塩構築法のジアステレオ選択的合成法を確立した($dr, \text{ / } = \text{約}26/1$)。また、本手法を用いて、高活性誘導体[3-O-(一置換ベンジル)体]の合成を行い、*in vitro*でヒト小腸由来マルターゼに対して糖尿病治療薬、アカルボース、ボグリボース以上のIC50値をしめすことを明らかにした。さらに、これら誘導体のマウスへの投与で食後過血糖の上昇が著しく阻害されることも判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

サラシアは、世界的に糖尿病患者およびその予備軍に関心が持たれている天然薬物である。したがって、サラシアエキス品質管理用の標品としての活性成分の大量供給法を確立できたことは意義がある。糖尿病治療薬、アカルボース、ボグリボースには肝障害などの副作用を示すことが報告されているが、サラシア活性成分はそれとは全く異なるチオ糖スルホニウム塩構造をもつことから医薬品シードとして期待できる。その中で、*in vivo*で高活性を示す誘導体の合成に成功したことは、糖尿病予防・治療への貢献ができるものと考えている。

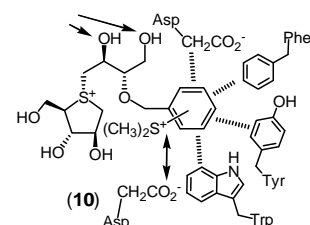
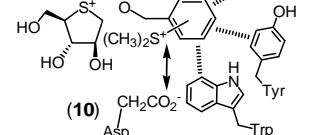
研究成果の概要(英文)：A facile and highly diastereoselective approach toward the synthesis of potent salacinol-type α -glucosidase inhibitors, originally isolated from plants of the genus “Salacia”, was developed using the S-alkylation of thiosugars with epoxides in HFIP (約90%, $dr, \text{ / } = \text{約}26/1$). The dr ratio of the product was significantly improved by the protocol as compared to that of the conventional S-alkylation of thiosugars ($dr, \text{ / } = \text{約}8/1$). The protocol could be used for gram scale synthesis of the desired compounds. The 3-O-benzylated salacinol analogs, which are the most potent *in vitro* inhibitors to date, were synthesized and evaluated *in vivo*; all analogs suppressed blood glucose levels in maltose-loaded mice, at levels comparable to those of the antidiabetic agent, voglibose.

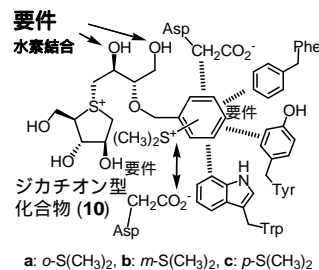
研究分野：有機合成、構造活性相関

キーワード：salacinol neokotalanol α -glucosidase inhibitor Salacia SAR study Diabetes

2. 研究の目的

これまでの背景を踏まえて本研究では、salacinol (3) およびその関連化合物の簡便合成法の開発に着手するため、スルホニウム塩のジアステレオ選択的簡便合成法に着手した。

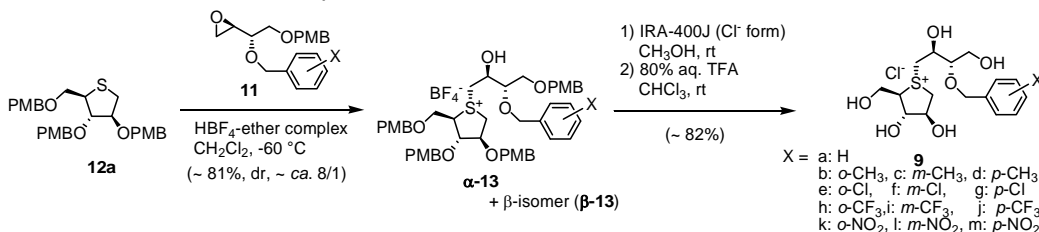
さらに、salacinol (3) の硫酸エステル部が阻害活性に与える負の効果を回避するため、要件  を備えるのみならず、3'位ベンジル基上に、新たな要件  として「Asp 残基との静電的安定化効果の獲得が期待できる陽電荷置換基」したジカチオン型スルホニウム塩 (10a-10c) の合成に着手した。



要件 van der Waals 相互作用:
要件 静電的相互作用: \longleftrightarrow
Fig. 4

3. 研究の方法

これまでの Brønsted 酸を用いるエポキシドによるスルフィドの *S*-アルキル化では、CF₃SO₃H (pK_a = -5.5), CH₃SO₃H (pK_a = -1.9), HBF₄ (pK_a = -0.4), CF₃CO₂H (pK_a = 0.2) などの強酸が用いられている。これらの酸を用いたサラシノール類縁体の合成では、エポキシド (11) とチオ糖 (12a) とのカップリング反応が速度論的支配下に進むため、Scheme 1 に示したように目的の α -異性体 (α -13) の他に、相当量の β -異性体 (β -13) の生成を避けることができない ($\alpha/\beta = ca. \sim 8/1$)。

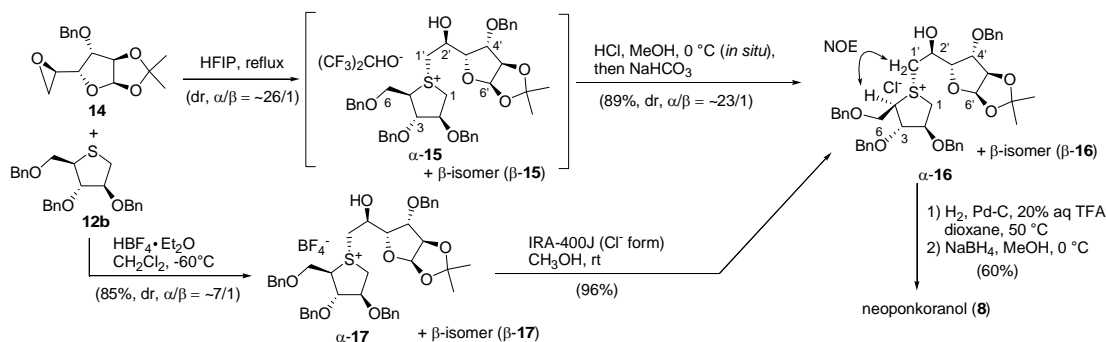


Scheme 1

一方、1,1,1,3,3,3-hexafluoroisopropanol (HFIP, pK_a = 9.3) はアミンによるエポキシドの開環反応を促進することが知られているが、これまでにスルフィドによるエポキシドの開環反応 (*S*-アルキル化) に使用されていなかった。スルホニウム塩類の簡便大量合成法の確立を志向して、HFIP を溶媒中における *S*-アルキル化の反応性について検討した。

4. 研究成果

HFIP 中でチオ糖 12b (1.3 eq) とエポキシド 14 (1.0 eq) を 18 時間加熱還流した。その後、HFIP を減圧去留したところ目的化合物 α -15 が高ジアステレオ選択的に生成 ($\alpha/\beta = \sim 26/1$) することが判明した (Scheme 2)。主生成物 α -15 は、¹³C NMR スペクトルでスルホニウム塩部の炭素に由来する 11 シグナルを示す他、陰イオン部 (CF₃)₂CHO⁻ の 2 種類の炭素に由来するピークを示した。しかし、これらのスルホニウム塩は不安定で、室温で徐々に原料 12b および 14 に分解し、(CF₃)₂CHO⁻ をもつスルホニウム塩 α -15 および β -15 として単離できないことが判明した。そこで反応終了後、反応液を 10% メタノール性塩化水素で処理し、(CF₃)₂CHO⁻ イオンを Cl⁻ イオンに変換して安定な塩化物 α -16 および β -16 として高収率で単離することに成功した (90%, dr, $\alpha/\beta = \sim 23/1$)。なお、この変換で得られた主生成物の ¹³C NMR スペクトルは、従来法にしたがって HBF₄ の存在下に合成した化合物 α -16 のイオン交換反応を経て調製した標品 α -15 のものと完全に一致した。最後に、 α -15 を加水素分解および NaBH₄ 還元を経て neoponkoranol (8) に導いた (Scheme 2)。



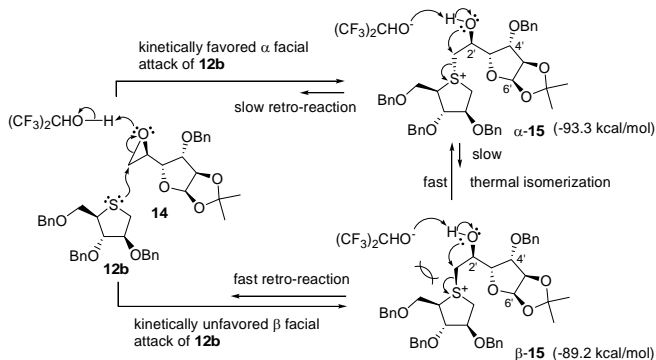
Scheme 2

本反応の高いジアステレオ選択性に関わる要因を明らかにするために、HFIP-*d*₂ 中で 12b (1.3 eq) と 14 (1.0 eq) の反応を ¹H NMR スペクトルを用いて追跡した。初めに、その混合物を 30 °C で処理したところ、約 42 時間で 14 が完全に消失し、 α -15/ β -15 = 9/1 の比率で生成物が

得られた。このサンプルを、さらに6時間放置したが α -15 および β -15 の生成比に変化は見られなかった。引き続き、同サンプルを 55–60 °C で 13 時間加熱したところ両異性体の比率が約 α -15/ β -15 = 26/1 に変化した。また、この条件でエポキシド **11** が極わずかではあるが再生することが判明した。次に、別途 **12b** (1.3 eq) と **14** (1.0 eq) および HFIP-*d*₂ の混合物を反応開始から 55–60 °C で加熱したところ、42 時間後に約 97% の **14** が消費され、 α -15/ β -15 は約 26/1 であった。その後 25 時間加熱を続けたが、**14** の消費量および α -15/ β -15 の生成比にほとんど変化は見られなかった。

以上の結果から、HFIP 中で見られたジアステレオ選択的な α -15 の生成には Scheme 3 に示した経路の関与が示唆された。まず、エポキシドによるチオ糖の *S*-アルキル化は速度論支配に α/β = 約 9/1 の選択性で進む (30 °C)。次に、55–60 °C に加熱することで熱力学的に不安定な β -15 (–89.2 kcal/mol) からより安定な α -15 (–93.3 kcal/mol) への異性化反応が加速されたものと考えられる。さらに、 β -15 の原料への分解が α -15 よりも早いことも判明した。したがって、本反応が可逆であることから不安定な β -15 から再生した原料が優先的に α -15 の生成に再び使用されていることも良好な α/β 比の上昇に寄与したものと推測される。つまり、この可逆な *S*-アルキル化と異性化反応の繰り返しにより高い選択性が実現したと考えられる。

さらに、本手法を用いて強い活性を示す salacinol 誘導体 (**9**, Scheme 1) を大量に合成し、*in vitro* でヒト小腸刷子縁膜由来 α -glucosidase の阻害活性を測定し、比較評価した。その結果、**9b**, **9e**, **9h**, **9k** は *in vitro* で salacinol (**3**), neosalacinol (**6**) および voglibose, miglitol, acarbose よりヒト小腸刷子縁膜由来 α -glucosidase を強く阻害することが判明した。また、**9e**, **9h**, **9k** の活性強度は salacinol (**3**) の約 20–45 倍であった。また、これらの誘導体はヒト小腸刷子縁膜由来 α -glucosidase に対する阻害機構は、競合阻害であることが明らかになった (**9b**, **9e**, **9h**, **9k** の阻害定数 K_i = 15–73 nM)。マウスを用いた *in vivo* 試験では、マルトースを経口投与されたマウスにおいて、30 分後に血糖値が最大になるが、0.3 mg/kg の **9b**, **9e**, **9h**, **9k** を投与されたマウスは **3** を投与されたときよりも 15–30 分後の血中濃度上昇が抑制された。また、興味深いことに *in vitro* では、**9b** は **9e**, **9h**, **9k** よりも阻害活性は弱かったが、*in vivo* では血糖値の上昇はほとんど変わらないことが判明した。また、その効果は用量依存的であり、**9k** について 0.1 mg/kg 投与のときに voglibose と同等の効果を発揮することが明らかになった。



Scheme 3. Plausible mechanism for the diastereoselective formation of α -17 in HFIP.

Table 3. E_{bind} (kcal/mol) to human *N*-terminal maltase-glucoamylase (hNtMGAM), and IC_{50} and K_i values (μM) values against human intestinal maltase.

Entry	Compound	E_{bind}	IC_{50}	K_i
1	9 (<i>o</i> -CH ₃)	–37.2	0.58	0.073
2	9e (<i>o</i> -Cl)	–41.6	0.11	0.023
3	9h (<i>o</i> -CF ₃)	–37.5	0.22	0.035
4	9k (<i>o</i> -NO ₂)	–38.9	0.15	0.015
5	Salacinol (3)	–37.0	4.9	0.44
6	Neosalacinol (6)	–36.4	9.0	1.2
7	Voglibose	–	1.3	0.17
8	Acarbose	–	16.7	2.6
9	miglitol	–	3.7	0.57

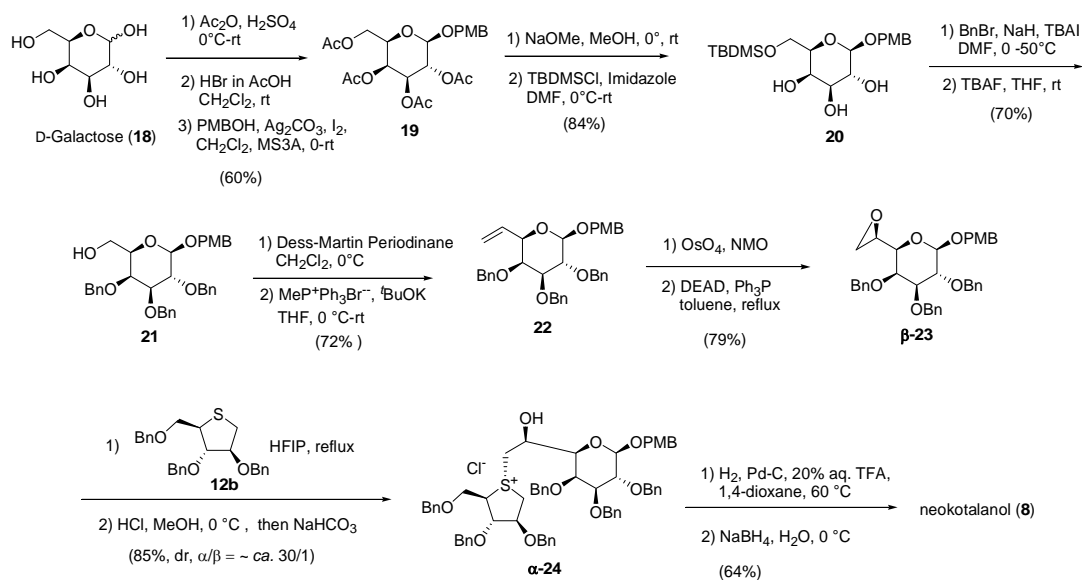
Table 4. Inhibitory effects of **7b**, **7e**, **7h**, **7k** and salacinol (**1**) on blood glucose levels in mice.

Treatment	Dose (mg/kg, <i>po</i>)	N	Blood glucose (mg/dL)					
			0 min	15 min	30 min	60 min	120 min	180 min
Normal	—	4	77.8±5.0	99.0±6.2 ^{***}	99.0±2.1 ^{***}	98.3±2.8 ^{***}	90.3±5.1	82.8±4.1
Control	—	8	70.8±5.5	195.5±10.0	196.3±10.7	158.1±9.8	100.6±4.3	90.4±6.1
Salacinol (1)	0.3	6	74.0±5.6	158.0±9.3 ^{**}	165.8±5.8 [*]	143.0±8.1	95.8±4.6	84.0±2.8
7b (<i>o</i> -CH ₃)	0.3	6	72.7±3.7	124.8±3.2 ^{**}	128.2±3.2 ^{**}	127.5±6.6 [*]	102.5±4.1	91.5±4.1
7e (<i>o</i> -Cl)	0.3	6	70.0±3.2	118.3±4.4 ^{**}	130.3±4.9 ^{**}	123.0±6.5 ^{**}	96.2±4.9	82.2±5.4
7h (<i>o</i> -CF ₃)	0.3	6	74.7±4.2	119.2±6.4 ^{**}	130.5±9.0 ^{**}	134.0±8.8	107.5±5.9	82.3±3.5
7k (<i>o</i> -NO ₂)	0.3	6	77.8±3.0	116.5±2.7 ^{**}	127.0±6.4 ^{**}	125.8±4.3 [*]	106.8±6.7	96.5±7.3

Each value represents the mean±SEM. Significantly different from the control: * p <0.05, ** p <0.01, # p <0.05, ## p <0.01. Normal group: administrated a distilled water; Control group: administrated a 10% (w/v) maltose solution (1 g/kg).

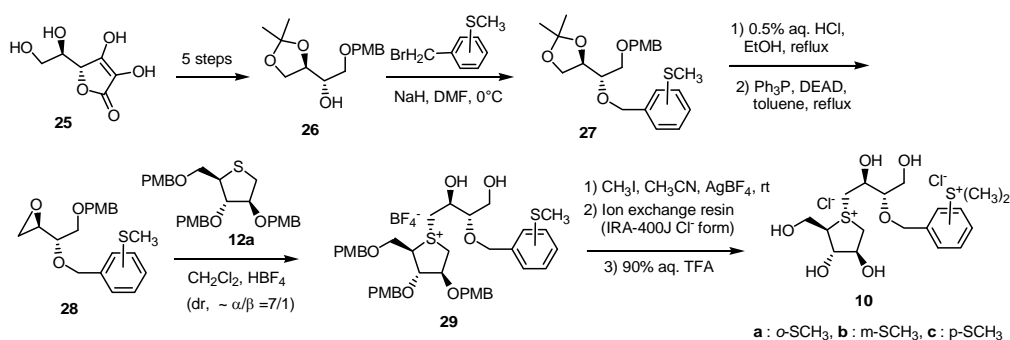
次に、上述したジアステレオ選択的スルホニウム塩合成法を、最も合成が困難とされていた neokotalanol (**8**) の合成に適用した。まず、Scheme 4 に示すように、チオ糖 (**12b**) の *S*-アルキル

化に使用するエポキシド (β -23) を, 入手容易な D-ガラクトース (18) から 11 工程 20% の収率で大量に合成する方法の開拓に成功した. さらに, HFIP 中で β -23 とチオ糖 (12b) とのカップリング反応を行い高いジアステレオ選択性で目的の立体化学をもつスルホニウム塩 α -24 を合成に成功した (95%, dr, $\alpha/\beta = \sim 30/1$). さらに, α -24 の脱保護により neokotalanol (8) を得た.



Scheme 4

次に, 構造活性相関研究に用いるジカチオン型スルホニウム塩 (10a-10c) の合成を行った. まず, 側鎖部として用いるエポキシド (28a-28c) を, 次のように合成した. まず, 化合物 (25) から 5 行程で合成した (26) の第 2 級水酸基を *o*-, *m*-, *p*-(methylsulfonyl)benzyl bromide でベンジル化し (27-27c) を高収率で得た. さらに, (27a-27c) を常法に従い, エポキシド (28a-28c) に導いた. 次に, HFIP 中 28a-28c とチオ糖 12a とのカップリング反応を行ったところ, 複雑な混合物が得られた. これは (28a-28c) のベンゼン環上の methylsulfonyl 基がエポキシ部と反応し (28a-28c) が自己重合したためと考えられる. そこで, HBF_4 を用いてチオ糖 12a とのカップリング反応を行い目的のスルホニウム塩 (29a-29c) を合成した. 引き続き, 29a-29c を *S*-メチル化, イオン交換, 脱 PMB 化に付し, 目的の 10a-10c に導いた.



Scheme 5

< 引用文献 >

- 1) (a) Yoshikawa, M., Tanabe G. and co-workers, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 8367-8370; (b) Yoshikawa, M., Tanabe G. and co-workers, *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, 10, 1547-1554.
- 2) Yoshikawa, M. and co-workers, *Chem. Pharm. Bull.* **1998**, 46, 1339-1340.
- 3) Yoshikawa, M., Tanabe G. and co-workers, *Heterocycles* **2008**, 75, 1397-1405.
- 4) Minami, Y. and co-workers, *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, 16, 2734-2740.
- 5) Ozaki, S. and Oe, H.; Kitamura, S. *J. Nat. Prod.* **2008**, 71, 981-984.
- 6) Xie, W., Tanabe, G. and co-workers, *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, 19, 2015-2022.
- 7) Tanabe, G. and co-workers, *Chem. Commun.* **2012**, 48, 8646-8684.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3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 G. Tanabe, S. Teramae, Y. Kunikata, S. Marumoto, S. Okugawa, F. Ishikawa, W. Xie, T. Morikawa, and Osamu Muraoka	4. 巻 97
2. 論文標題 Synthesis of salacinol-d4 as an internal standard for mass-spectrometric quantitaatiion of salacinol, a potent alpha-glucosidase inhibitor found in a tradiitiional ayurvedic medicine "Salacia"	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Heterocycles	6. 最初と最後の頁 314-332
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3987/COM-18-S(T)21	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 F. Ishikawa, K. Jinno, E. Kinouchi, K. Ninomiya, S. Marumoto, W. Xie, O. Muraoka, T. Morikawa, G. Tanabe	4. 巻 83
2. 論文標題 Diastereoselective Synthesis of Salacinol-Type -Glucosidase Inhibitors	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 The Journal of Organic Chemistry	6. 最初と最後の頁 185-193
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.joc.7b02566	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 G. Tanabe, S. Ueda, K. Kurimoto, N. Sonoda, S. Marumoto, F. Ishikawa, W. Xie, O. Muraoka	4. 巻 4
2. 論文標題 Facile Synthesis of Neokotalanol, a Potent -glycosidase Inhibitor Isolated from the Ayurvedic Traditional Medicine "Salacia"	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ACS Omega	6. 最初と最後の頁 7533-7542
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsomega.9b00610	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5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 F. Ishikawa, K. Jinno, N. Sonoda, E. Kinouchi, J. Akaki, K. Ninomiya, S. Marumoto, O. Muraoka, T. Morikawa, G. Tanabe
2. 発表標題 Highly Diastereoselective Synthesis of Salacinol-type alpha-Glucosidase Inhibitors and Evaluation of Their in vivo alpha-Glucosidase Inhibitory Activity
3. 学会等名 The 28th International Symposium on the Organic Chemistry of Sulfur (ISOCS-28) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 上田哲志、小林祐喜、石川 文洋、村岡 修、田邊 元三
2. 発表標題 Highly Diastereoselective Synthesis of an alpha-Glucosidase Inhibitor, neokotalaniols from Ayurvedic Traditional Medicine "Salacia" Using S-Alkylation of Thiosugar with Epoxide
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 石川文洋, 神農佳澄, 藺田直樹, 木内恵里, 赤木淳二, 二宮清文, 村岡修, 吉川雅之, 森川敏生, 田邊元三
2. 発表標題 天然薬物 "サラシア" 由来サラシノール類縁体のジアステレオ選択的合成及び in vivo -グルコシダーゼ阻害活性評価
3. 学会等名 第35回メディシナルケミストリーシンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 石川 文洋, 神農 佳澄, 藺田 直樹, 村岡 修, 田邊 元三
2. 発表標題 チオ糖とエポキシドとのS-アルキル化を鍵反応に用いるサラシア"由来, サラシノール型 -グルコシダーゼ阻害剤の高ジアステレオ選択的 合成
3. 学会等名 第43回反応と合成の進歩シンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 石川 文洋, 神農 佳澄, 藺田 直樹, 木内 恵里, 赤木 淳二, 二宮 清文, 村岡 修, 吉川 雅之, 森川 敏生, 田邊 元三
2. 発表標題 アーユルベータ天然薬物 "サラシア" 由来スルホニウム塩類のジアステレオ選択的合成及び in vivo -グルコシダーゼ阻害活性評価
3. 学会等名 第59回天然有機化合物討論会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
--	---------------------------	-----------------------	----