

## 薬学研究科・生命有機薬化学研究室

### 1. 研究課題名

「補完代替医療素材の科学的評価とその機能性成分の構造活性相関に関する研究」

### 2. 研究メンバー

村岡 修	近畿大学薬学部・近畿大学薬学総合研究所 教授
吉川雅之	近畿大学薬学総合研究所食品薬学研究室 客員教授
田邊元三	近畿大学薬学部 准教授
安原智久	近畿大学薬学部 講師
Amer Mumen	近畿大学薬学部ポストドクター
謝 唯佳	近畿大学薬学部研究員 (中国薬科大学)

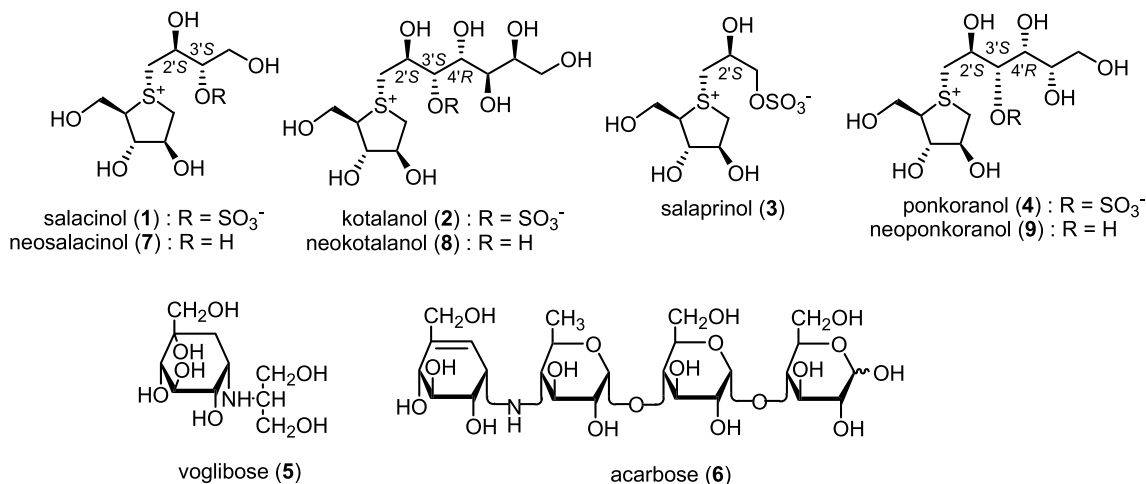
### 3. 研究成果

サラシア

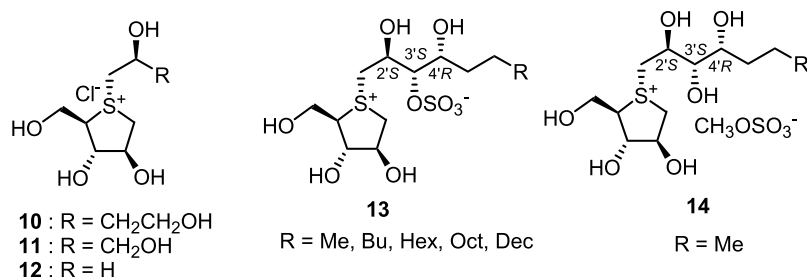
サラシアは、デチンムル科 (Hippocrateaceae) の *Salacia* (サラキア) 属植物を素材として開発された健康食品素材の一般名称で、属名 *Salacia* の日本語読み由来している。*Salacia* 属植物 [*Salacia reticulata*, *S. oblonga* および *S. chinensis* (*S. prinoides*)] はインドやスリランカをはじめ、タイやインドネシアなどの東南アジアおよびブラジルなどの熱帯地域に広く分布し、約 120 種が知られている。これらの植物はインドやスリランカの伝統医学であるアーユルヴェーダで、糖尿病の初期の治療薬として用いられている。これまでに我々はその活性寄与成分の探索を行った結果、新規成分として salacinol (1), kotalanol (2), salaprinol (3) および ponkoranol (4) を単離・構造決定している。<sup>1)</sup> 化合物 3 を除き、いずれの  $\alpha$ -glucosidase 阻害活性も強力で、同作用機序に基づく経口糖尿病治療薬 voglibose (5) および acarbose (6) に匹敵し、しかも isomaltase に対する阻害活性は、6 よりも強いことも明らかにしている。<sup>1)</sup> さらに最近では、これまで合成品として知られていた neosalacinol<sup>2)</sup> (7) および neokotalanol<sup>2,1d)</sup> (8) も相次いで同植物から単離され、いずれも 1, 2 に匹敵する強い  $\alpha$ -glucosidase 阻害作用を示すことが判明している。化合物 1, 2, 3, 4 は Fig. 1 に示すように、いずれもチオ糖スルホニウムカチオンと側鎖部に硫酸エステルアニオンを備えた新奇な分子内塩構造を有している。それゆえ、その強い  $\alpha$ -glucosidase 阻害活性のみならず、構造化学的にも興味を持たれ、その関連化合物も含めた構造と活性の相関に関する研究が国内外において活発に行われている。これまでの構造活性相関研究では、チオ糖構造と alditol 型の側鎖部についてそれぞれ研究されており、チオ糖構造については、salacinol (1), kotalanol (2), ponkoranol (4) に共通の 1,4-dideoxy-1,4-epithio-D-arabinitol 型チオ糖の立体化学が強い阻害活性発現に深くかかわっていることを支持する結果が得られている。一方、側鎖部については、以下に示す ①~⑤ の要件が示唆されている。

- ① 2'S 配置の水酸基の立体化学が重要。これに加えて 2' 位および 4' 位の水酸基の酵素との相互作用の相乗効果が大きく関わる。

- ② 3'位の硫酸エステル基は阻害活性に関与しない。
- ③ 4'R 配置の水酸基が必要
- ④ 5'位以降の水酸基の立体化学は活性発現に大きく関与していない。
- ⑤ 3'位の硫酸エステル基の立体化学は重要でない。

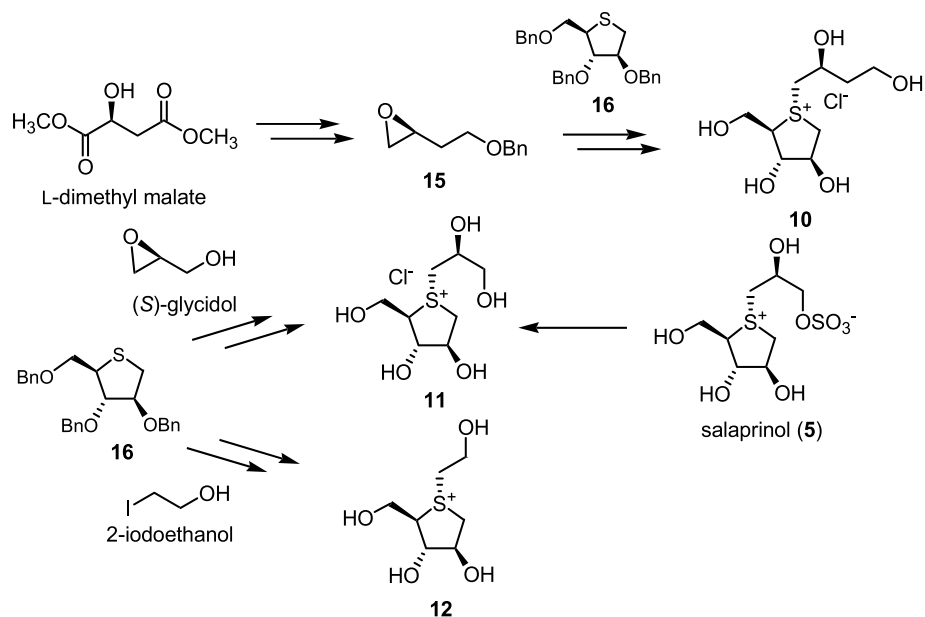


本年度は、側鎖部に関する活性発現に関わる要因についてさらに検討するために、3'-deoxysalacinol (10) およびその類縁体 (11, 12) ならびに 5',6',7'-trideoxykotalanol (13, n = 2) および その類縁体 (13, n = 5, 7, 9 および 14) の合成およびその  $\alpha$ -glucosidase 阻害活性を評価した。



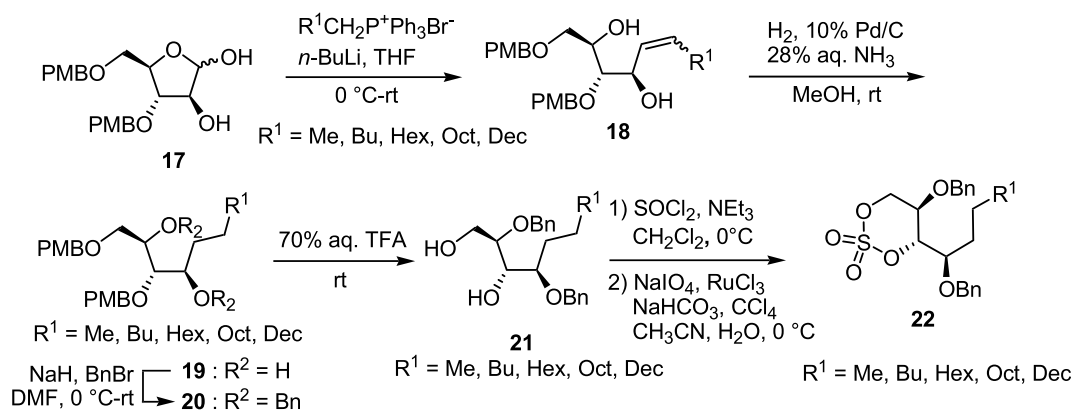
### 3-1. 3'-Deoxysalacinol (10) およびその類縁体 (11, 12) の合成研究

L-Dimethyl malate より6工程で合成したエポキシ体 (15) とチオ糖, 2,3,5-tri-O-benzy-1,4-dideoxy-1,4-epithio-D-arabinitol (16) とのカップリング反応を行った後, カップリング体の脱ベンジル化を経て 3'-deoxyneosalacinol (10) を合成した. 一方, 化合物 10 の類縁体 11, 12 の合成を次のように行った. まず, 市販の (S)-Glycidol とチオ糖 14 とのカップリング反応を行い, neosalaprinol (11) を合成した. 化合物 11 の構造については, salaprinol (3) をメタノール分解して得た化合物 11 とNMR スペクトルが完全に一致したことにより, 硫黄原子上の立体化学を含めた絶対構造を確定した. また, 2-iodoethanol によるチオ糖 14 のアルキル化反応により化合物 (12) を合成した.

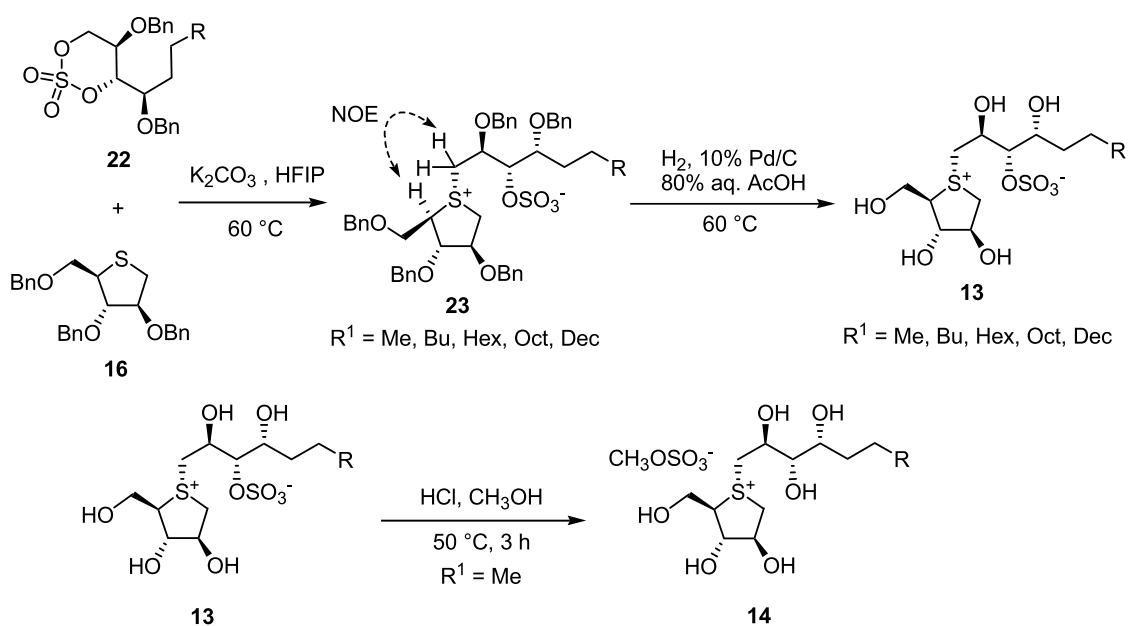


## I-2. 5',6',7'-Trideoxykotalanol (**13**, $n = 2$ ) および その類縁体 (**13**, $n = 5, 7, 9$ および **14**) の合成

D-Arabinose から4工程で合成した化合物 (**17**) の Wittig 反応により得られたオレフィン体(**18**) の接触還元, ベンジル化および PMB 基の加水分解により, ジオール (**21**) に導いた。さらに, **21** を環状硫酸エステル化することにより, アルキル基の炭素数の異なる環状硫酸エステル (**22**) を得た。



つぎに, 化合物 **22** および チオ糖 **16** とのカップリング反応により得られる化合物 **23** の脱保護により, 目的の 5',6',7'-trideoxykotalanol (**13**,  $\text{R}^1 = \text{Me}$ ) および その類縁体 (**13**,  $\text{R}^1 = \text{Bu, Hex, Oct, Dec}$ ) を得た。さらに, 化合物 (**13**,  $\text{R}^1 = \text{Me}$ ) を酸性条件下でのメタノール分解により 5',6',7'-trideoxynorkotalanol (**14**) を得た。



### I-3. 合成品の $\alpha$ -Glucosidase 阻害活性の評価

合成した 3'-deoxyneosalacinol (**10**), neosalaprinol (**11**), 1,4-dideoxy-1,4-[(*R*)-(2-hydroxyethyl)-1,4-episulfoniumylidene]-D-arabinitol chloride (**12**), 5'6'7'-trideoxykotalanol (**13**, R = Me) およびその関連物質 **13** (R = Bu, Hex, Oct, Dec) ならびに 5'6'7'-trideoxyneokotalanol (**14**) の  $\alpha$ -glucosidase 阻害活性について検討を加えた。その阻害活性試験の結果および医薬品 voglibose (**3**), acarbose (**4**), miglitol (**24**) および salacinol 型類縁体 **1**, **2**, **3**, **4**, **7**, **8**, **9** の rat intestinal  $\alpha$ -glucosidase の阻害活性を Table 2 に示した。

Table 2. IC<sub>50</sub> ( $\mu$ M, *in vitro*) against Rat Small Intestinal  $\alpha$ -Glucosidases

Enzyme	Maltase	Sucrase	Isomaltase	Enzyme	Maltase	Sucrase	Isomaltase
salacinol <sup>a</sup> ( <b>1</b> )	5.2	1.6	1.3	3'-deoxyneosalacinol ( <b>10</b> )	114	20	1.9
kotalanol <sup>a</sup> ( <b>2</b> )	7.2	0.8	5.7	neosalaprinol ( <b>11</b> )	>384 (41)	77	6.5
salaprinol <sup>a</sup> ( <b>3</b> )	>329 (23)	>329 (42)	15	compound ( <b>12</b> )	>434 (39)	40	4.4
ponkoranol <sup>a</sup> ( <b>4</b> )	3.2	0.3	2.6	5',6',7'-deoxyneokotalanol	5.4	0.7	2.9
neosalacinol <sup>a</sup> ( <b>7</b> )	8.0	1.3	0.3	( <b>13</b> , R = Me)			
neokotalanol <sup>a</sup> ( <b>8</b> )	4.8	1.8	1.8	compound ( <b>13</b> , R = Bu)	7.6	0.3	4.8
neoponkoranol <sup>b</sup> ( <b>9</b> )	7.5	1.5	2.0	compound ( <b>13</b> , R = Hex)	7.2	0.2	5.4
voglibose ( <b>3</b> )	1.2	0.2	2.1	compound ( <b>13</b> , R = Oct)	6.3	0.2	4.4
acarbose ( <b>4</b> )	2.0	1.7	155	compound ( <b>13</b> , R = Dec)	14	0.6	9.2
miglitol ( <b>24</b> )	8.2	0.4	4.6	5',6',7'-deoxyneokotalanol ( <b>14</b> )	4.7	1.3	0.5

Neosalaprinol (**11**) および化合物 **12** の maltase 阻害活性は、それぞれ 384 および 434  $\mu$ M の濃度で、41% および 39% 程度と極わずかな活性にとどまり、salacinol (**1**, IC<sub>50</sub> 5.2  $\mu$ M) および neosalacinol (**7**, IC<sub>50</sub> 8.0  $\mu$ M) に比べて阻害活性が著しく低下した。この結果から、neosalacinol 型スルホニウム塩が強い maltase 阻害活性を発現するためには、salacinol 型スルホニウム塩と同様に

alditol 側鎖部の 3' 位の硫酸エステル基の有無にかかわらず 2'S 配置の水酸基と 4 位水酸基との相乗効果が必要であることが示唆された。また, 3'-deoxyneosalacinol (**10**) の maltase 阻害の IC<sub>50</sub> 値も 114 μM と低くとどまり, salacinol (**1**) および neosalacinol (**7**) の約 1/14 ~ 1/22 に低下し, 化合物 **1** および **7** では 3'S 配置の水酸基あるいは硫酸エステル基が阻害活性発現に極めて重要な役割を担っていることが判明した。

化合物 **10**, **11** および **12** の sucrase 阻害活性も salacinol (**1**, IC<sub>50</sub> 1.6 μM) および neosalacinol (**7**, IC<sub>50</sub> 1.3 μM) に比べて低くとどまったが, それぞれ, 20 μM, 77 μM および 40 μM とまずまずの IC<sub>50</sub> 値を示し, sucrase 阻害活性発現には, これらの化合物のアルキル側鎖として共通の 2' 位の水酸基が重要なカギ構造になることが示唆された。なお, 側鎖部の炭素数が 3 の neosalaprinol (**11**) の阻害活性が salaprinol (**3**) に比べて僅かではあるが増強されていることから, 3' 位の硫酸エステル基は酵素阻害活性を低下させる効果をもっていることが示唆された。しかし, hydroxymethylene 基の数が **11** より多い s alacinol 型スルホニウム硫酸分子内塩 **1, 2, 4** と neosalacinol 型スルホニウム塩 **7, 8, 9** の間にはほとんど活性に差がみられないため, 2' 位 S 配置および 4' 位 R 配置の水酸基をあわせもつこれらの阻害剤では, 硫酸エステル基の影響を無視できるほど 2' 位と 4' 位の水酸基が強く酵素に結合していることが推察された。

isomaltase 阻害活性に関して, 化合物 **10**, **11** および **12** の阻害強度は天然由来のスルホニウム塩に匹敵することから, 強い阻害活性の発現には側鎖部アルキル基に 2'S 配置の水酸基が必須で, また, 3' 位以降の構造は活性に全く影響を与えていないことが推察された。したがって, IC<sub>50</sub> 値 4.4 μM を示す **12** が salacinol 型スルホニウム塩として最も単純で強力な isomaltase 阻害剤であることを明らかにした。

一方, 5',6',7'-trideoxykotalanol (**13**, R = Me) の上記3種の酵素に対する阻害活性は極めて強く, その阻害強度は kotalanol (**2**) に匹敵することが判明した。この結果は, kotalanol (**2**) の 5' 位以降の水酸基はほとんど活性に寄与せず, 単にアルキル基の一部として存在していることを示唆した。また, その類縁体 **13** (R = Bu, Hex, Oct, Dec) の maltase 阻害活性も強力で, **2** とほぼ同程度の阻害活性を示したことから, 側鎖部のアルキル基の伸長は maltase 阻害活性の向上にはつながらないことが判明した。ところが, これらの類縁体のうち側鎖炭素数が **10, 12, 14** の化合物 **13** (R = Bu, Hex, Oct) の sucrase 阻害活性は, salacinol (**1**), kotalanol (**2**), neosalacinol (**7**) および neokotalanol (**9**) の約5倍強力で, 医薬品の voglibose (**3**) および miglitol (**24**) に匹敵し, 5' 位以降に長鎖アルキル基の導入は sucrase 阻害活性向上のために有効であることが判明した。また, 炭素数 16 の化合物 **13** (R = Dec) の maltase および sucrase 阻害活性が, **13** (R = Bu, Hex, Oct) に比べてわずかではあるが低下していることから, 側鎖炭素数の延長は 14 までが限界であることが示唆された。また, 化合物 **13** (R = Me) の脱硫酸エステル化による maltase および sucrase 阻害活性の動向は, 従来の salacinol 型スルホニウム塩のものと同様で, 5',6',7'-trideoxyneokotalanol (**14**) の maltase および sucrase 阻害活性は極めて良好であった。この結果も, salacinol 型スルホニウム塩の硫酸エステル基は阻害活性発現に関与していないことを支持した。

以下にこれまでに判明している salacinol 型スルホニウム塩の α-glycosidase 阻害活性発現に関する側鎖部の要件 ①~⑤ に, 今回判明した要件 ⑥~⑨ を加えてまとめた。

- ① 2' *S* 配置の水酸基の立体化学が重要. これに加えて 2' 位および 4' 位の水酸基の酵素との相互作用の相乗効果が大きく関わる.
- ② 側鎖部炭素数4以上の側鎖をもつスルホニウム塩では, 3'位の硫酸エステル基は阻害活性に関与しない.
- ③ 4' 位の水酸基の立体化学は *R* 配置でなくてはいけない.
- ④ 5'位以降の水酸基の立体化学は活性発現に大きく関与していない.
- ⑤ 3'位の硫酸エステル基の立体化学は重要でない.
- ⑥ 要件②に加えて, 側鎖部炭素数3の化合物では, 3'位の硫酸エステル基は活性を低下させる効果をもつ.
- ⑦ 要件②に加えて, 側鎖部炭素数4の salacinol (**1**) および neosalacinol (**7**) では, 3' 位 *S* 配置の置換基は阻害活性発現に必須である.
- ⑧ 要件④に加えて, 5'位以降の置換基はアルキル置換でも強い活性が得られる. なお, アルキル側鎖の炭素数は, 10 ~ 14 が好ましい.
- ⑨ 2' 位に水酸基をもてば, isomaltase を強く阻害する. また, 側鎖部炭素数が3以上の場合, 2' 位の立体化学は *S* 配置が好ましい.

#### 引用文献

1. (a) Yoshikawa, M.; Murakami, T.; Shimada, H.; Matsuda, H.; Yamahara, J.; Tanabe, G.; Muraoka, O. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 8367; (b) Yoshikawa, M.; Murakami, T.; Yashiro, K.; Matsuda, H. *Chem. Pharm. Bull.* **1998**, *46*, 1339; (c) Yoshikawa, M.; Morikawa, T.; Matsuda, H.; Tanabe, G.; Muraoka, O. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 1547. (d) Yoshikawa M., Xu F., Nakamura, S., Wang T., Matsuda H., Tanabe G., Muraoka O. *Heterocycles*, **2008**, *75*, 1397; (e) Tanabe G, Sakano M., Minematsu T., Matusda H., Yoshikawa M., Muraoka O. *Tetrahedron*, **2008**, *64*, 10080. Structural elucidation of kotalanol (2): Muraoka O., Xie W., Osaki S., Kagawa A., Tanabe G., Amer M. F. A., Minematsu T., Morikawa T., Yoshikawa M. *Tetrahedron*, **2010**, *66*, 3717-3722.
2. Isolation of **7**: (a) Minami Y.; Kuriyama C.; Ikeda K.; Kato A.; Takebayashi K.; Adachi I.; Fleet W. J. G.; Kettawan A.; Okamoto T.; Asano N. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 2734; synthesis of **7**: (b) Tanabe G.; Yoshikai K.; Hatanaka T.; Yamamoto M.; Shao Y.; Minematsu T.; Muraoka O.; Wang T.; Matsuda H.; Yoshikawa M. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 3926; Revision of the structure of **7**: (c) Tanabe G, Xie W., Ogawa A., Minematsu T., Yoshikawa M., Muraoka O. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **19**, 2195 (2009); Isolation of **8**: (d) Ozaki S.; Oe H.; Kitamura S. *J. Nat. Prod.* **2008**, *71*, 981; Revision of the structure of **8**: (e) Muraoka, O.; Xie, W.; Tanabe, G.; Amer, M. F. A.; Minematsu, T.; Yoshikawa, M. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 7315.