

## 薬学研究科・生命有機化学研究室

### 1. 研究課題名

「補完代替医療素材由来機能性成分の構造活性相関に関する研究」

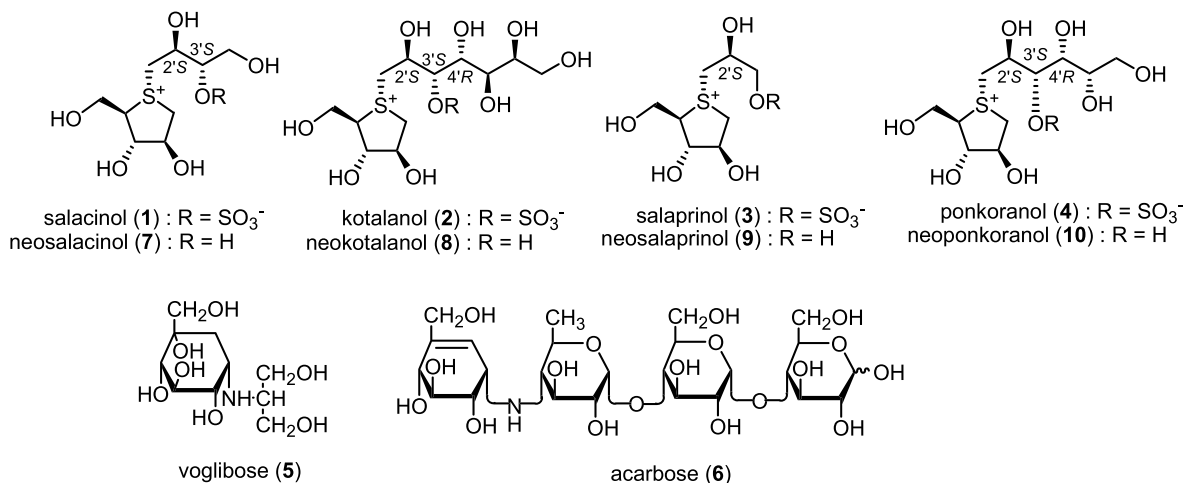
### 2. 研究メンバー

村岡 修	近畿大学大学院薬学研究科生命有機化学研究室・教授
田邊元三	近畿大学大学院薬学研究科生命有機化学研究室・准教授
Gorre Balakishan	ハイテクリサーチセンター・博士研究員
謝 唯佳	近畿大学大学院薬学研究科 博士後期課程 ハイテクリサーチセンター・RA
筒井 望	ハイテクリサーチセンター・研究補助員

### 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* の日本語読みに由来している。 *Salacia* 属植物 [*Salacia reticulata*, *S. oblonga* および *S. chinensis* (*S. prinoidea*)] 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。当初、活性寄与成分として salacinol (**1**), kotalanol (**2**), salaprinol (**3**), および ponkoranol (**4**) が単離・構造決定され、<sup>1)</sup> その後、脱硫酸エステル体 neosalacinol<sup>2a)</sup> (**7**) および neokotalanol<sup>2d,1d)</sup> (**8**) も単離され、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。今年度も引き続き、サラキア抽出エキス中の成分探索を行った結果、新たに2種の関連スルホニウム塩, neosalaprinol<sup>2b)</sup> (**9**) および neoponkoranol<sup>2b)</sup> (**10**) を単離・同定した。



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 ①～⑧ の要件が示唆されている。

#### ポリヒドロキシ側鎖をもつ化合物の要件

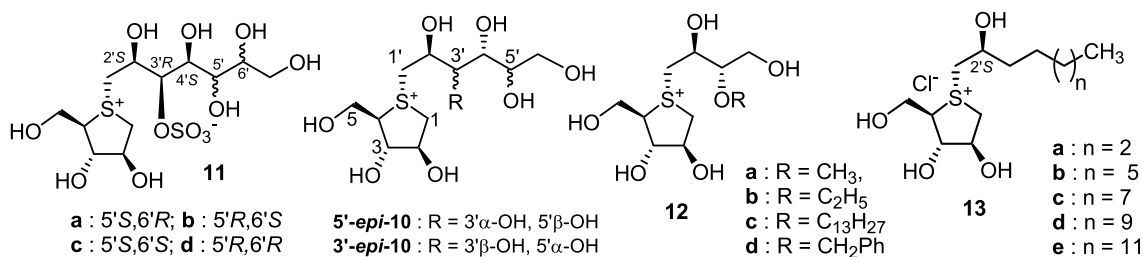
- ① 2'S 配置の水酸基の立体化学が重要。これに加えて 2' 位および 4' 位の水酸基の酵素との相互作用の相乗効果が大きく関わる。
- ② 3'位の硫酸エステル基は阻害活性に関与しない。
- ③ 4'R 配置の水酸基が必要
- ④ 5'位以降の水酸基の立体化学は活性発現に大きく関与していない。
- ⑤ 3'位の硫酸エステル基の立体化学は重要でない。
- ⑥ 要件②に加えて、側鎖部炭素数3の化合物では、3'位の硫酸エステル基は活性を低下させる効果をもつ。
- ⑦ 要件②に加えて、側鎖部炭素数4の salacinol (**1**) および neosalacinol (**7**) では、3'位 S 配置の置換基は阻害活性発現に必須である。

#### ポリデオキシアルジトール側鎖をもつ化合物の要件

- ⑧ 要件①③④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。

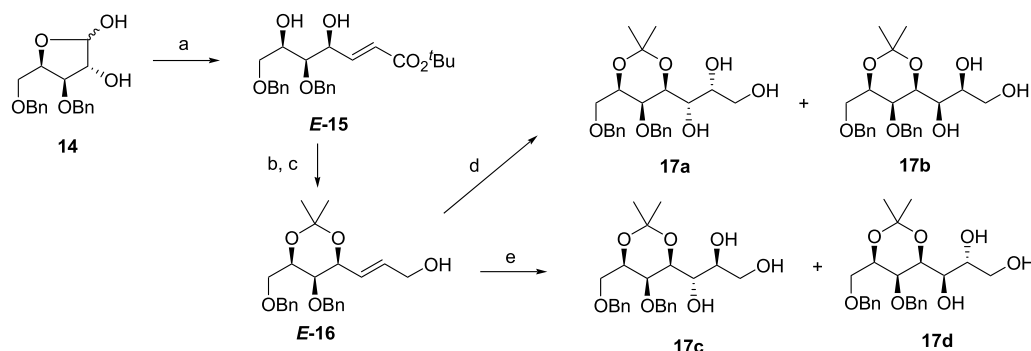
本年度は、側鎖部に関する活性発現に関わる要因についてさらに検討するために、kotalanol (**2**), および neoponkoranol (**10**) の側鎖部水酸基の立体配置の異なる4種の kotalanol ジアステレオマー (**11a**, **11b**, **11c**, **11d**) および2種の *epi*-neoponkoranol (**5'-epi-10**, **3'-epi-10**) の合成を行った。さらに、neosalacinol (**7**) の 3'-O-アルキル化体 (**12**) および関連スルホニウム塩 (**13**) も合成した。

以上の合成品について  $\alpha$ -glucosidase 阻害活性を評価し、構造活性相関について考察した。



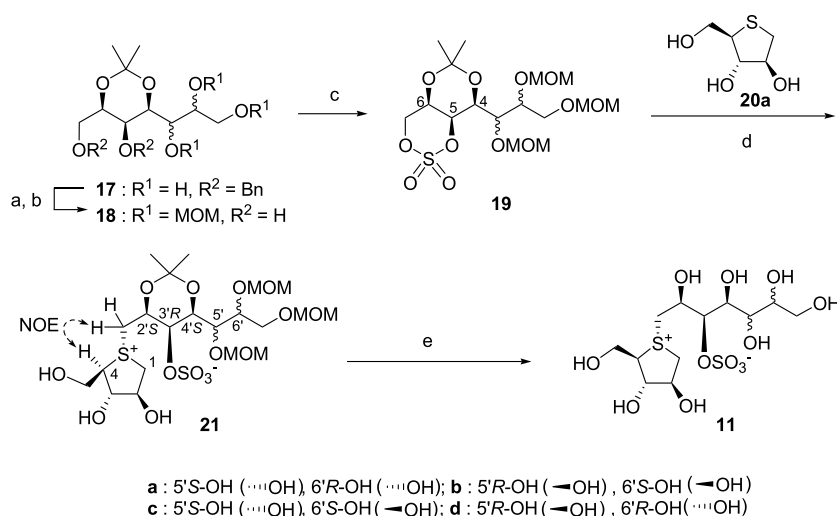
### 3-1. Kotalanol ジアステレオマー (11a, 11b, 11c, 11d) の合成

D-キシロースから4行程で誘導した3,5-dibenzyl-D-xylose (14) の Wittig 反応により得られた オレフィンエステル (E-15) のアセトニド化、DIBAL 還元を経て、オレフィンアルコール (E-16) に導いた。さらに、E-16 の OsO<sub>4</sub> を用いたジヒドロキシル化により、トリオール 17a および 17b を得た。一方、17a および 17b のジアステレオマー 17c および 17d は、E-16 をエポキシ化した後、加水分解して合成した。



Reagents and conditions: (a) Ph<sub>3</sub>P=CHCO<sub>2</sub><sup>t</sup>Bu, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, reflux; (b) (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C(OCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, *p*-TsOH, acetone, (c) 1M soln. of DIBAL in toluene, THF, -50 °C – rt; (d) OsO<sub>4</sub>, NMO, acetone, H<sub>2</sub>O, reflux; (e) 80% *m*-CPBA, NaHCO<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, then 0.5N aq. NaOH, 1,4-dioxane, reflux, 4 h.

引き続き、トリオール 17a, 17b, 17c および 17d の水酸基を全て MOM 保護した後、加水素分解により、ベンジル基を脱保護した。さらに、得られたジオール 18a, 18b, 18c および 18d を環状硫酸エステル化して 19a, 19b, 19c および 19d を好収率で得た。次に、チオ糖 20a とのカップリング反応を 1,1,1,3,3,3-ヘキサフルオロイソプロパノール中で行い、スルホニウム塩 21a, 21b, 21c および 21d に導き、酸処理により MOM 基およびイソプロピリデン基の脱保護を行うことで目的化合物 11a, 11b, 11c および 11d を得た。

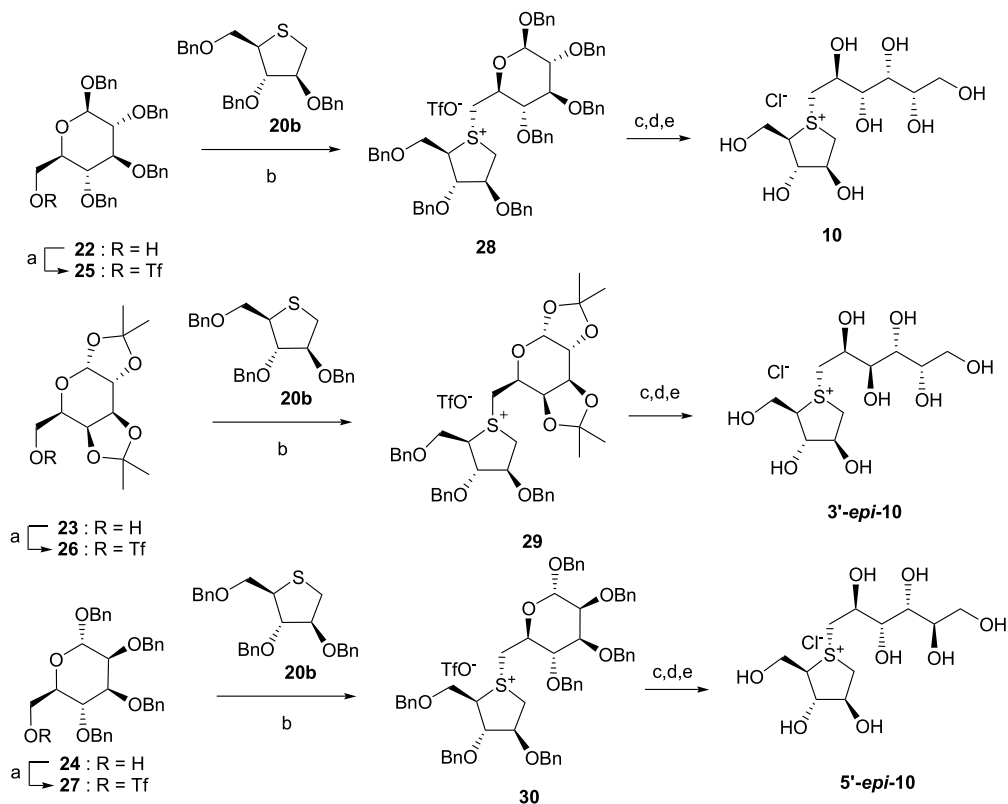


Reagents and conditions: (a) MOMCl, <sup>t</sup>Pr<sub>2</sub>NEt, DMF, 60 °C; (b) H<sub>2</sub>, Pd-C, NaHCO<sub>3</sub>, 1,4-dioxane, 60 °C; (c) SOCl<sub>2</sub>, NEt<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>,

0 °C, then NaIO<sub>4</sub>, RuCl<sub>3</sub>·*n*H<sub>2</sub>O, NaHCO<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>CN, CCl<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O, 0 °C—rt; (d) HFIP, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 65 °C; (e) 30% aq. TFA, 50 °C.

### 3-2. Neoponkoranol (10) およびそのエピマー (5'-*epi*-, 3'-*epi*-10) の合成

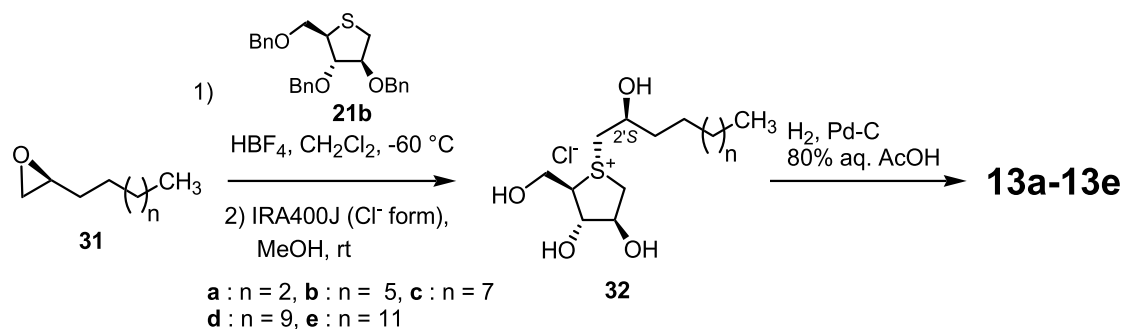
文献に従って合成したグルコース誘導体 benzyl 2,3,4-tri-*O*-benzyl-β-D-glucopyranoside (22), ガラクトース誘導体 1,2:3,4-di-*O*-isopropylidene-α-D-galactopyranose (23) およびマンノース誘導体 benzyl 2,3,4-tri-*O*-benzyl-α-D-mannopyranoside (24) の第一級水酸基を2,6-ルチジンの存在下, トリフルオロメタンスルホン酸無水物と処理して, 相当するトリフレート 25, 26, および 27 を好収率で得た. 次に, 25, 26, および 27 を THF 中でチオ糖 20b とのカップリング反応を行い カップリング体 28, 29, および 30 に変換した後, 脱保護, イオン交換および NaBH<sub>4</sub> 還元を経て, neoponkoranol (10) およびそのエピマー (5'-*epi*-, 3'-*epi*-10) に導いた.



Reagents and conditions: (a) Tf<sub>2</sub>O, 2,6-lutidine, -20-0 °C; (b) thiosugar 20b, THF, 40 °C; (c) H<sub>2</sub>, 10% Pd-C, 30% aq. TFA, 1,4-dioxane, 50 °C or H<sub>2</sub>, 10% Pd-C, 80% aq. AcOH, 60 °C; (d) IRA 400J (Cl<sup>-</sup> form), CH<sub>3</sub>OH, rt.; (e) NaBH<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O, 0 °C.

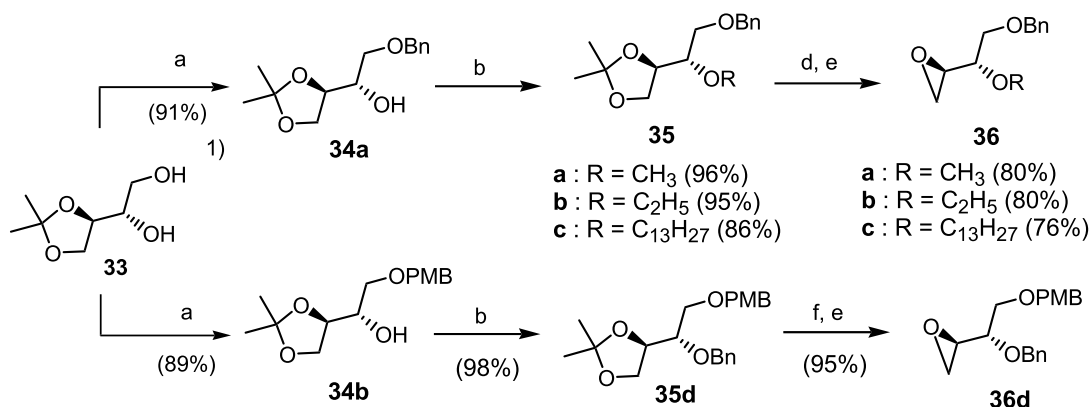
### 3-3. 3',4',5',6',7'-pentadeoxykotalanol (13a) および その類縁体 (13b-13e, n = 5, 7, 9 および 11) の合成

Neosalacinol の合成法 に準じ, 目的のスルホニウム塩 11 および 12 を, 文献既知のエポキシド 31a-31e 14 とチオ糖 20b とのカップリング反応を鍵反応に用いて合成した. (Scheme 1)



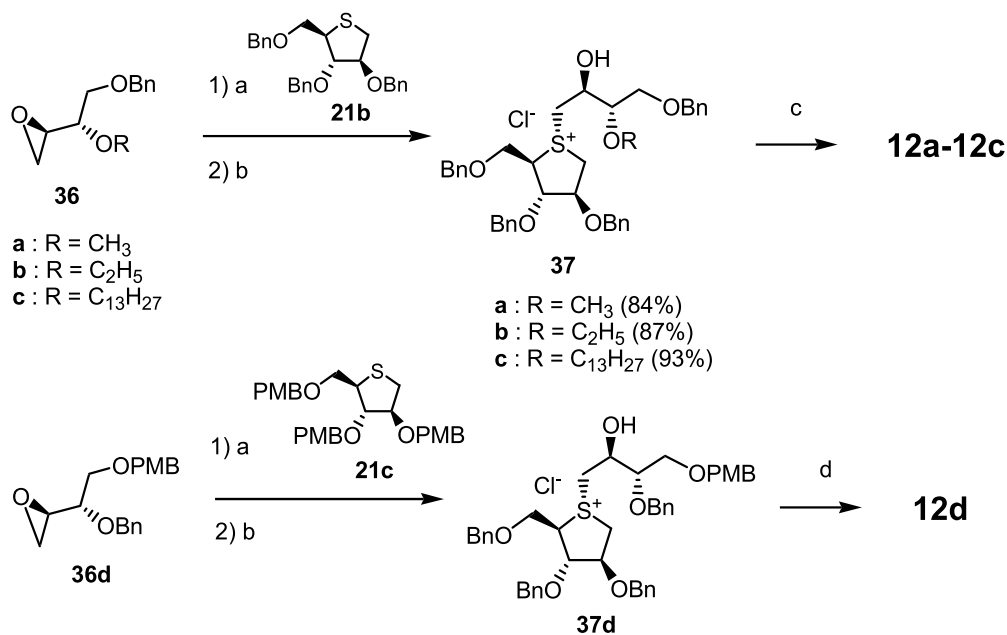
### 3-4. 3'-O-アルキル置換 neosalacinol 誘導体 (12a-12d) の合成

3'-O-アルキル置換 neosalacinol 誘導体 (**12a-12d**) を, 3-3 に示したスルホニウム塩 **13a-13e** の合成法に従って合成した. すなわち, 文献既知のジオール **33** の第一級水酸基を選択的にベンジル化およびパラメトキシベンジル化してモノベンジル体 **34a** あるいは **34b** に導いた. 次に, **34a** の残存する第二級水酸基を  $\text{CH}_3\text{I}$ ,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{I}$  および  $\text{C}_{13}\text{H}_{27}\text{Br}$  を用いてアルキル化し, **35a**, **35b**, **35c** のアセトニド部を加水分解した後光延反応により, 相当するエポキシド **36a**, **36b**, **36c** を高収率で得た. 一方, ベンジル化されたエポキシド **36d** は, **34b** に同様の処理を行い, 3工程で合成した.



Reagents and conditions: (a)  $\text{Bu}_2\text{SnO}$ , toluene, reflux, then  $\text{BnBr}$  or  $\text{PMBCl}$ ,  $\text{CsF}$ , DMF,  $60\text{ }^\circ\text{C}$ ; (b)  $\text{CH}_3\text{I}$ ,  $\text{C}_2\text{H}_5\text{I}$  or  $\text{C}_{13}\text{H}_{27}\text{Br}$ ,  $\text{NaH}$ , DMF,  $0\text{ }^\circ\text{C}$ -rt; (c) 0.5% aq.  $\text{HCl}$ ,  $\text{EtOH}$ , reflux; (d)  $\text{Ph}_3\text{P}$ ,  $\text{DEAD}$ , toluene, reflux; (e) 1)  $\text{AcOH}/\text{H}_2\text{O}$  (2/1, v/v), rt.

つぎに, エポキシド **36a**, **36b**, **36c** および **36d** とチオ糖 **20c** とのカップリング反応で得られたスルホニウム塩 **37a**, **37b**, **37c** および **37d** の脱保護により目的化合物 **12a**, **12b**, **12c** および **12d** を高収率で得た.



Reagents and conditions: (a) HBF<sub>4</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, -60 °C; (b) IRA400J (Cl<sup>-</sup> form), MeOH, rt; (c) H<sub>2</sub>, Pd-C, 80% aq. AcOH, 50–60 °C, then 10% aq. HCl-CH<sub>3</sub>OH, rt; (d) 80% aq. TFA, CHCl<sub>3</sub>, rt.

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

合成した kotalanol ジアステレオマー (**11a**, **11b**, **11c**, **11d**), neoponkoranol (**10**) のエピマー (**5'-epi-**, **3'-epi-10**), 3',4',5',6',7'-pentadeoxykotalanol (**13a**, n = 2) および その類縁体 (**13b-13e**, n = 5, 7, 9 および 11) および 3'-O-アルキル置換 neosalacinol 誘導体 (**12a-12d**) の rat intestinal  $\alpha$ -glucosidase の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とともに天然スルホニウム塩 **1**, **2**, **3**, **4**, **7**, **8**, **10**, 医薬品 voglibose (**5**), acarbose (**6**), miglitol (**38**) の  $\alpha$ -glucosidase の阻害活性を Table 1 に示した.

**Table 1.** IC<sub>50</sub> ( $\mu$ M, *in vitro*) against Rat Small Intestinal  $\alpha$ -Glucosidases

Enzyme	Maltase	Sucrase	Isomaltase	Enzyme	Maltase	Sucrase	Isomaltase
Candidate				Candidate			
salacinol ( <b>1</b> )	5.2	1.6	1.3	<b>5'-epi-10</b>	4.3	2.9	1.0
kotalanol ( <b>2</b> )	7.2	0.8	5.7	<b>3'-epi-10</b>	1.3	0.3	1.0
salaprinol ( <b>3</b> )	>329 (23)	>329 (42)	15	<b>13a</b> (n = 2)	>332(38)	27	0.5
ponkoranol ( <b>4</b> )	3.2	0.3	2.6	<b>13b</b> (n = 5)	52	9.0	0.2
neosalacinol ( <b>7</b> )	8.0	1.3	0.3	<b>13d</b> (n = 7)	37	7.0	0.4
neokotalanol ( <b>8</b> )	4.8	1.8	1.8	<b>13c</b> (n = 9)	63	64	35
neoponkoranol ( <b>10</b> )	7.5	1.5	2.0	<b>13e</b> (n = 11)	>234(44)>234(35)		26
voglibose ( <b>5</b> )	1.2	0.2	2.1	<b>12a</b> (R = CH <sub>3</sub> )	5.3	0.5	0.4
acarbose ( <b>6</b> )	2.0	1.7	155	<b>12b</b> (R = C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> )	1.7	0.1	0.3
miglitol ( <b>24</b> )	8.2	0.4	4.6	<b>12c</b> (R = C <sub>13</sub> H <sub>27</sub> )	1.0	1.3	0.9
<b>11a</b>	>236 (25)	>236 (8)	16	<b>12d</b> (R = Bn)	0.7	0.7	0.3
<b>11b</b>	> 236(32)	> 236(28)	8.5				
<b>11c</b>	57	23	25				
<b>11d</b>	>236(45)	>236(34)	9				

Values in parentheses indicate inhibition (%) at 100 g/ml (**11a-11d**: 236  $\mu$ M, **13a**: 223  $\mu$ M, **13e**: 234  $\mu$ M).

Kotalanol ジアステレオマー (**11a**, **11b**, **11c**, **11d**) は、これまでに判明しているポリヒドロキシ側鎖部の阻害活性発現要件①および③を満足していないため、その maltase および sucrase 阻害活性は kotalanol (**2**) に比べて著しく低下した。しかしながら、いずれの化合物も isomaltase を効果的に阻害することが判明し、新たな要件⑨として 2'S 位に水酸基をもてば、それ以降の水酸基の立体化学の違いに関わりなく isomaltase 阻害活性の発現に有効であることが判明した。

Neoponkoranol (**10**) の 5'位エピマー (**5'-epi-10**) は、ポリヒドロキシ側鎖部の阻害活性発現要件① および ③ を満たしているため neoponkoranol (**10**) に匹敵する強い阻害活性を示した。一方、**10** の 3'位エピマー **3'-epi-10** の同酵素阻害能も著しく強力であった。この結果より、要件⑩として、強い阻害活性発現には、3'位の水酸基の立体化学は、天然スルホニウム塩に共通の 2'S 配置である必要がないことが判明した。

3',4',5',6',7'-Pentadeoxykotalanol (**13a**, n = 2) および その類縁体 (**13b-13e**, n = 5, 7, 9 および 11) の maltase 阻害活性はいずれも kotalanol (**2**) や neokotalanol (**8**) の約 10 分の 1 程度の活性にとどまり、sucrase 阻害もまずまずの活性であった。この結果、ポリデオキシアルジトール側鎖をもつ化合物の maltase および sucrase 阻害には要件 ① および ③ が重要であることを示唆した。しかしながら、**13a**, **13b**, **13c** の isomaltase 阻害活性は kotalanol (**2**) や neokotalanol (**8**) の約 10 倍強力で、要件 ⑨ に加えて、isomaltase 阻害活性の発現には、2'位以降の水酸基は必要なく、単純な脂肪鎖 (n = 2 ~ 7) でよいことが判明した。

3'-O-アルキル置換 neosalacinol 誘導体 (**12a-12d**) の maltase 阻害活性は、メチル置換体 **12a** を除いていずれも neosalacinol (**7**) を凌駕していた。中でも、ベンジル置換体 **12d** の maltase 阻害活性は極めて強く、本スルホニウム塩をリード化合物とした構造活性相関研究において同酵素をワンオーダー低濃度で阻害する化合物の創製に初めて成功した。また、これらの化合物 **12a-12d** はいずれも sucrase および isomaltase をも強力に阻害したことから、要件 ⑩ として  $\alpha$ -glucosidase 阻害には側鎖部 3'位酸素官能基上に脂溶性置換基の存在が有効であることが判明した。以上のように、これまでに判明していた、側鎖部の要件 ① ~ ⑧ に加えて、新たに ⑨ ~ ⑩ が必須要件になることを明らかにした。

## 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; Isolation of **9** and **10**, and synthesis of **10**: (f) Xie W., Tanabe G, Akaki J., Morikawa T., Ninomiya K., Minematsu T., Yoshikawa M., Wu X., Muraoka O. *Bioorg. Med. Chem.*, **19**, 2015-2022 (2011).