

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

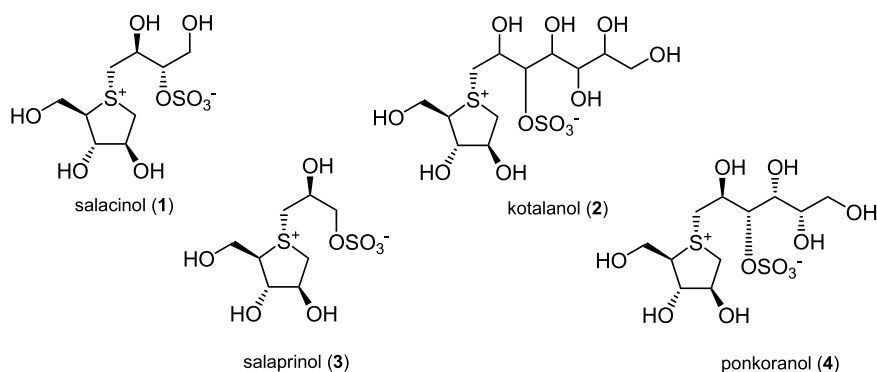
村岡 修	近畿大学薬学研究科・近畿大学薬学総合研究所 教授
田邊元三	近畿大学薬学研究科 准教授
安原智久	近畿大学薬学研究科 講師
謝 唯佳	近畿大学薬学部研究員 (中国薬科大学)
Amer Mumen	ハイテクリサーチセンター・ポストドクター
筒井 望	ハイテクリサーチセンター・研究支援者 (平成 20 年 4 月～)

3. 研究成果

I. サラシア

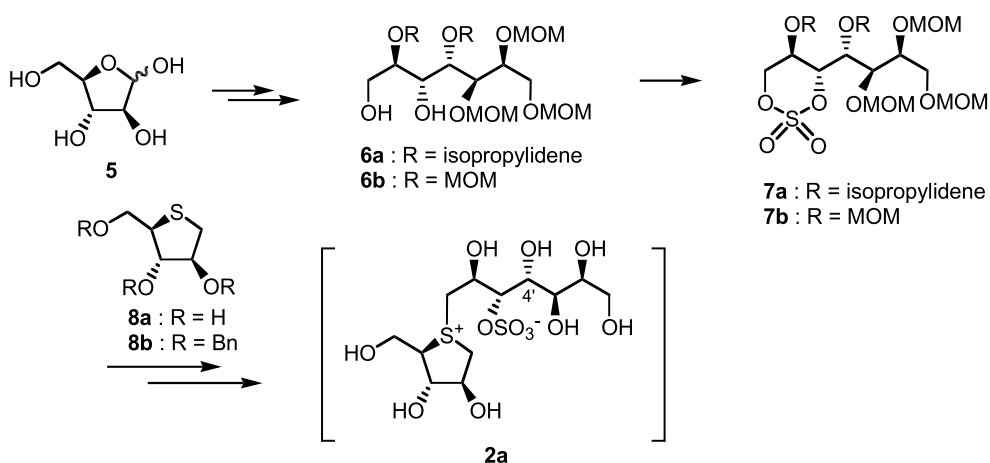
サラシアは、デチンムル科 (Hippocrateaceae) の *Salacia* (サラキア) 属植物を素材として開発された健康食品素材の一般名称で、属名 *Salacia* の日本語読み由来している。*Salacia* 属植物はインドやスリランカをはじめ、タイやインドネシアなどの東南アジアおよびブラジルなどの熱帯地域に広く分布し、約 120 種が知られている。スリランカ、インド、タイなどに多く自生する *Salacia reticulata*, *S. oblonga* および *S. chinensis* (*S. prinooides*) などは、つる性の多年生木本で、成木では幹の太さが 20 cm を越えるものもある。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は、糖尿病の初期の治療薬として *S. reticulata* や *S. oblonga* などが用いられており、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、新奇チオ糖スルホニウム硫酸分子内塩構造をもつ新規化合物 salacinol (1) および kotalanol (2) を単離・構造決定するとともに、その作用機序が、消化管内に存在する糖質加水分解酵素 (α -グルコシダーゼ) に対する阻害作用であることを見出している。その作用強度はいずれも市販糖尿病治療薬のアカルボースやボグリボースに匹敵するほど強いことも判明し、salacinol (1) については、単結晶 X 線構造解析により、チオ糖スルホニウム上に硫酸イオンをもつエリスリトール側鎖をもつことを明らかにしている。¹⁾ しかし、kotalanol (2) のヘプチトール型側鎖の立体化学はいまだ不明である。

平成 19 年度は、同属植物の *S. prinooides* から、1 および 2 の類縁化合物として salaprinol (3) および ponkoranol (4) を単離・構造決定し、その側鎖部の立体化学を除いた構造決定を行った。²⁾ また、*Salacia* 属由来のチオ糖スルホニウム硫酸分子内塩の絶対立体構造の解明およびその合成法の確立について検討しており、kotalanol (2) および salaprinol (3) の側鎖部の立体化学を解明するため、これらの合成を検討した。³⁾



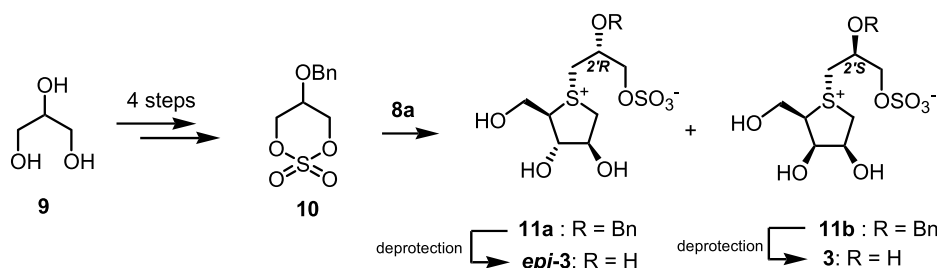
I-1. Kotalanol 類縁体の合成研究

D-arabinose (**5**) から、11 工程で合成したジオール (**6a**) の環状硫酸エステル化により (**7a**) に導いた。しかし、**6a** のジオキサン環は水酸基およびヒドロキシメチル基が *diaxial* 配置のコンフォメーションを優先してもつことが NMR より示唆され、その環状硫酸エステル化の収率も 20% 程度にとどまった。次に、常法に基づき、環状硫酸エステル **7a** をチオ糖 **8a, 8b** とのカップリング反応に付したが、反応溶液中 **7a** は極めて不安定で容易に分解することが判明した。そこで、環状硫酸エステルの収率向上と保護基の検討を行うために、ジオキサン環の拘束を除去した、化合物 **6b** を用いたところ、硫酸エステル化の収率は著しく向上し、87%の収率で **7b** を得た。しかし、**7b** も反応溶液中で不安定で、**8a** あるいは **8b** との反応により目的化合物 **2a** を得るには至らなかった。



I-2. Salaprinol の立体化学の解明

Glycerol (**9**)から 4 工程で合成した環状硫酸エステル (**10**) とチオ糖 **8a** とのカップリング反応によりスルホニウム塩 **11a** および **11b** に導いた。それぞれを分離後、脱保護することにより salaprinol (**3**) および *epi*-salaprinol (*epi-3*) を得た。それぞれの単結晶 X 線結晶構造解析を行い、**3** の 2 位の立体化学は *S* 配置であることを明らかにした。³⁾



I-3. Salacinol および kotalanol の定量分析法の確立

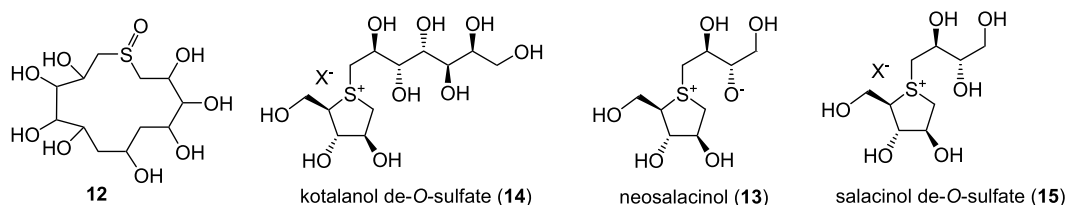
一方, *Salacia* 属植物には, 種の違いや産地, 生育場所および使用部位の違いによって α -グルコシダーゼ活性が著しく異なることが判明している. そこで, その科学的品質評価を目的に, LC-MS を用いた salacinol および kotalanol の定量分析法の確立を検討した.

I-4. Salacinol および kotalanol の定量分析法の確立

また, サラシアの使用部位が根部や幹部であり, かつ, その供給をもっぱら野生品に頼っているため, 節度のない乱獲による天然資源の枯渇と環境破壊をもたらしている. 事実, 輸出にあたって規制や禁止措置などがとられている地域も少なくない. 我々は, 平成 19 年度において 2 度にわたり, タイにおけるサラシアの分布調査を実施するとともに, 現地での栽培化プロジェクトにも着手している.

平成 20 年度

2008 年に Ozaki らおよび Minami らが相次いで, *S. reticulata* および *S. oblonga* から, salacinol (**1**) および kotalanol (**2**) に匹敵する α -glucosidase 阻害活性を示す化合物として 1,3-員環スルホキシド (**12**) および neosalacinol (**13**) の単離を報告した.⁴⁾ しかし, スペクトルの詳細な検討および別途合成により, **12** および **13** がそれぞれ, これまでに我々が α -glucosidase 阻害活性成分として見出していた kotalanol de-*O*-sulfate (**14**) および salacinol de-*O*-sulfate (**15**) であることを明らかにし, 文献提示構造の改訂を行った.^{5,6)} また, kotalanol (**2**) のアルカリ分解を行い, 分解生成物を別途合成することにより, kotalanol (**2**) の側鎖部の立体化学を明らかにした.⁷⁾



I-5. 1,3 員環スルホキシド (**12**) の構造改訂

Ozaki らによって, *S. reticulata* の強い α -glucosidase 阻害活性を示す成分として報告された 1,3 員環スルホキシド^{4a)} (**12**) の ¹³C NMR では, δ 58.0 および δ 62.0 にメチレン炭素由来のピークを示すが, 彼らはこれらのピークを C6 および C8 由来のものとアサインしている. しかし, -CH(OH)-CH₂-CH(OH)- 構造のメチレン炭素の理想的な化学シフトが ca. 40 ppm である

ため、文献提示構造に懸念がもたれた。化合物 **12** のFAB-MS スペクトルが m/z 345 にピークを示すことから、同じ質量ピーク示す化合物として我々が昨年度に報告した kotalanol de-*O*-sulfate (**14a**) の ^1H および ^{13}C NMR スペクトルを比較したところ完全に一致した。 ^1H NMR スペクトルを Fig.1 に示した。そこで、Ozaki らの間違いが重水中のスペクトル解析によることを、重ピリジン中の各種2次元 NMRスペクトルによる詳細な構造解析により指摘するとともに、文献提示構造を改訂した。⁵⁾

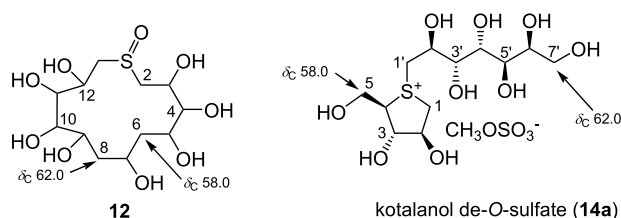


Table 1. ^1H and ^{13}C NMR data for compounds **7** and **14a** in D_2O (δ in ppm and J in Hz)

Compound 12 (400 MHz and 100MHz) ^{lit.5a} an internal standard: acetone			Compound 14a (600 MHz and 150MHz) an external standard: DSS				
	δ_{H}^a	δ_{C}^a		δ_{H}	δ_{C}	$\Delta\delta_{\text{H}}^b$	$\Delta\delta_{\text{C}}^b$
H-2a	3.79–3.75 (2H, m)	46.9	H-1a	3.87 (dd, $J=12.7, 4.5$)	50.8	0.12	3.9
H-2b			H-1b	3.91 (dd, $J=12.7, 3.1$)			
H-3	4.59 (q, $J=3.4$)	75.8	H-2	4.72–4.75 (m)	79.7	0.15	3.9
H-4	4.28 (t, $J=3.4$)	76.4	H-3	4.43 (t-like, $J=ca. 2.6$)	80.2	0.15	3.8
H-5	3.94 (m)	68.8	H-4	4.07–4.10 (m)	72.66	0.15	3.9
H-6a	3.78 (dd, $J=13.2, 2.2$)	58.0	H-5a	3.92 (dd, $J=10.5, 2.9$)	61.9	0.14	3.9
H-6b	3.96 (dd, $J=13.2, 4.6$)		H-5b	4.12 (dd, $J=10.5, 4.8$)		0.16	
H-13a	3.63 (dd, $J=13.4, 8.8$)	49.3	H-1'a	3.78 (dd, $J=13.4, 9.1$)	53.1	0.15	3.8
H-13b	3.82 (dd, $J=13.4, 3.2$)		H-1'b	3.97 (dd, $J=13.4, 3.1$)		0.15	
H-12	4.07 (dt, $J=8.8, 2.4$)	66.3	H-2'	4.22 (ddd, $J=9.6, 9.1, 3.1$)	70.1	0.15	3.8
H-10	3.73 (t, $J=9.5$)	66.9	H-3'	3.86 (dd-like, $J=ca. 9.6, 1.2$)	70.7	0.13	3.8
H-9	3.49 (t, $J=9.5$)	68.0	H-4'	3.64 (dd, $J=9.4, 1.2$)	71.8	0.15	3.8
H-11	3.72 (br d, $J=9.5$)	70.4	H-5'	3.87 (d-like, $J=ca. 9.4$)	74.3	0.15	3.9
H-7	3.79 (dt, $J=6.6, 2.2$)	68.9	H-6'	3.94 (td, $J=6.4, 1.0$)	72.72	0.15	3.8
H-8a	3.51 (2H, d, $J=6.6$)	62.0	H-7'a	3.66 (2H, d-like, $J=6.4$)	65.9	0.15	3.9
H-8b			H-7'b				
				3.71 (s, $\text{CH}_3\text{OSO}_3^-$)	58.1		

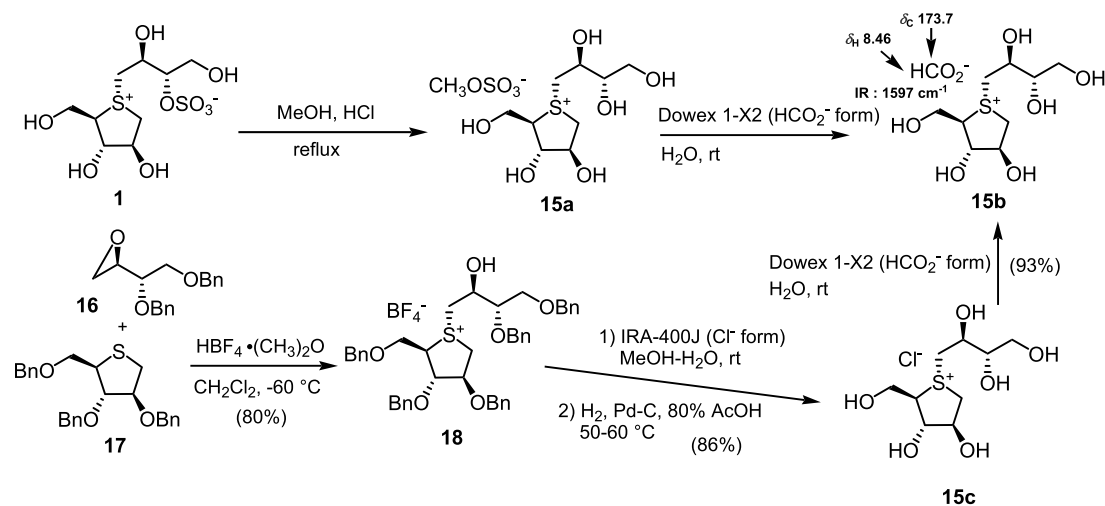
^aThe order of the signals of **12** was rearranged according to the assignment of **14a**.

^bDeviations of the chemical shift between **12** and **14a** in D_2O .

I-5. Neosalacinol (**13**) の構造改訂および salacinol de-*O*-sulfate の簡便合成法の確立

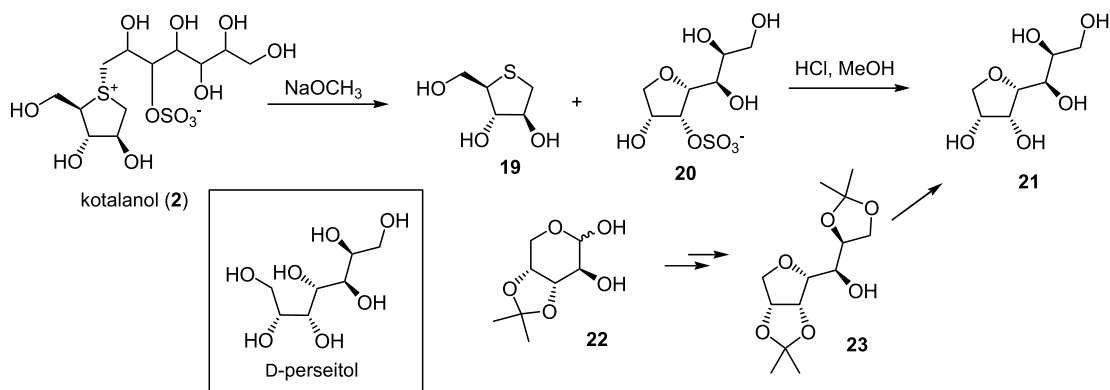
Minami らによって、*S. oblonga* の強い α -glucosidase 阻害活性を示す成分として neosalacinol (**13**) が単離され、そのチオ糖アルコキシド分子内塩構造が salacinol (**1**) の分解反応により確認されている。^{4b)} しかし、これまでの我々の知見から分子内にアルコキシドイオンをもつチオ糖スルホニウム塩はとして想定しがたい構造であるため、彼らの方法に従い、**1** の分解反応を行った。まず、**1** を塩化水素含有メタノール中で還流し、salacinol de-*O*-sulfate (**15a**) に導いた後、陰イオン交換樹脂 Dowex 1-X2 (HCO_2^- form) で処理し、重ピリジン-重水 (5/1) の混合溶媒中で neosalacinol (**13**) の NMR と一致するスペクトルを示す化合物 (**15b**) を得た。しかし、この化合物は IR スペクトルにて 1597 cm^{-1} に HCO_2^- の $\text{C}=\text{O}$ の伸縮振動に基づく吸収帯を示すことから、溶媒を重水に変更して NMR スペクトルを測定した結果、 HCO_2^- 構造に由来するシグナルを δ_{H} 8.46 および δ_{C} 173.7 に示したことから、本化合物はチオ糖スルホニウムギ酸塩

15b であることを明らかにし, **neosalacinol (13)** の構造を改訂した.⁶⁾ また, **salacinol de-O-sulfate (15)** の簡便別途合成の検討を行い, エポキシ体 (**16**) およびチオ糖 (**17**) のカップリングにより得られる化合物 (**18**) の脱保護およびイオン交換反応を経て **15** を高収率で得ることに成功した.⁶⁾



I-6. Kotalanol のアルカリ分解反応による側鎖部立体化学の解明⁷⁾

Kotalanol (**2**) の NaOMe 処理により, 5員環チオ糖 (**19**) とともに得られる anhydroheptitol 誘導体 (**20**) をメタノール分解して, anhydroheptitol (**21**) に導いた。別途, D-arabinose 誘導体 (**22**) から **23** を合成し, 脱保護により **21** に導き, **2** の側鎖部には D-perseitol 型側鎖が結合していることを明らかにした。



引用文献

- (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.
- Yoshikawa M., Xu F., Nakamura, S., Wang T., Matsuda H., Tanabe G., Muraoka O. Salaprinol and

- ponkoranol with thiosugar sulfonium sulfate structure from *Slacia prinoides* and α -glucosidase inhibitory activity of ponkoranol and kotalanol desulfate. *Heterocycles*, **75**, 1397 (2008).
3. Tanabe G, Sakano M., Minematsu T., Matusda H., Yoshikawa M., Muraoka O. Synthesis and elucidation of absolute stereochemistry of salaprinol, another thiosugar sulfonium sulfate from the ayurvedic traditional medicine *Salacia prinoides*. *Tetrahedron*, **64**, 10080 (2008).
 4. (a) Ozaki S., Oe H., Kitamura S., *J. Nat. Prod.* **2008**, *71*, 981–984; (b) 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.
 5. Muraoka O., Xie W., Tanabe G, Amer M. F. A., Minematsu T. Yoshikawa M. On the structure of the bioactive constituent from Ayurvedic medicine *Salacia reticulata*: Revision of the literature. *Tetrahedron Lett.*, **49**, 7315 (2008).
 6. Tanabe G, Xie W., Ogawa A., Minematsu T., Yoshikawa M., Muraoka O. Facile synthesis of de-*O*-sulfated salacinols: revision of the structure of neosalacinol, a potent α -glucosidase inhibitor. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **19**, 2195 (2009).
 7. Tanabe, G, Yasuhara T., Muraoka, O. ハイテクリサーチセンタープロジェクト報告会 2009. 5月 (*Tetrahedron Lett.*, submitted)