糖質加水分解酵素阻害剤の設計と合成

内田 力, 小川誠一郎*

近年の分子生物学の長足の進歩に伴い、糖質もしくはオリゴ糖鎖の機能や役割に関する知識が急速に深まりつつある。糖質の生合成に関わる酵素阻害剤は糖鎖研究に不可欠な試験薬であり、一方では、有効な医薬・農薬としての用途が開かれたことで、新規酵素阻害剤の開発研究が一段と活発化している。生化学者による微生物代謝産物の探索・スクリーニングから天然産の阻害剤も数多く発見されているが、有機合成化学者による阻害剤の設計・合成もバラエティーに富んだ阻害剤を提供できる一つの優れた方法である。ここでは、糖質加水分解酵素阻害剤に焦点をしぼり、特に5-アミノシクロペンタン-1,2,3,4-テトラオールを母体とする強力な α -グルコシダーゼ阻害剤開発に至る研究の経緯を軸にして紹介する。

近年、真核細胞表層に存在する糖脂質・糖タンパク質に含まれるオリゴ糖鎖の生物学的機能の解明が進むにつれ、これら糖鎖を構築あるいは分解する種々の酵素に対する活性阻害剤を医薬・農薬などに利用しようとする試みが活発に行なわれるようになった。特に最近、新たに糖質加水分解酵素（グリコシダーゼ）阻害剤が癌の転移を抑制することや抗 HIV 活性を有することなど、様々な生理活性発現に関与していることが報告され、きわめ

て注目されている。一方、未だ機能のよくわかっていない糖鎖の研究に阻害剤を試験薬として積極的に利用しようという試みも行なわれている。

グリコシダーゼは、一般の酵素にみられるのと同様に、それぞれ基質特異性をもっており、この基質特異性は対応する酵素と糖鎖の相互作用で説明されている。したがって、特異性の発現を期待して阻害剤を設計する場合、すでに知られている阻害剤をモデルとして、構造化学的手法で実際の基質に類似させる方法が一般的である。

グリコシダーゼ

グリコシダーゼは、それらがもつ触媒機構に基づいて大きく2つに分類される⁽¹⁾。すなわち、①エキソ型とエンド型、および②立体保持型と反転型である。前者は加水分解するグリコシド結合の存在位置で分類する方法である。エキソ型酵素とは非還元末端側の糖残基から一糖ずつ順に加水分解する酵素のことであり、エンド型酵素は非還元末端ではないグリコシド結合部位（還元末端の糖を含む）を加水分解する酵素である。後者は遊離される糖部分のアノメリック位の立体配置から分類する方法である。

Design and Synthesis of Glycosidase Inhibitors

* Chikara UCHIDA, Seiichiro OGAWA, 慶應義塾大学理工学部

反応機構には、グリコシド結合にバインドして、上下に配置・存在するグルタミン酸あるいはアスパラギン酸(時にはチロシン) 残基の関与が指摘されている⁽²⁾。これらグリコシダーゼが基質特異性を発現する要因となる基質認識については、次のような相互作用が報告されている⁽³⁾。① 糖の各水酸基との水素結合、② 糖のピラノース環部分との疎水性相互作用もしくはスタッキング作用、である。グリコン部分とアグリコン部分の両方が、これらの作用で認識され、基質特異性が発現していると推定される。

グリコシダーゼ阻害剤

活発なスクリーニングの結果、現在までに多数のグリコシダーゼ阻害剤が報告されているが、それらの構成成分であり活性中心をなす擬似糖類には図1に示したような化合物^(4~14)がある。

これらの阻害剤の特徴は、基質と阻害剤それぞれの水酸基の立体配置・三次元構造が類似していることと、加水分解されるグリコシド結合周辺に対応する構造部位に塩基性官能基(主に窒素原子からなる)を有しているこ

図1 ■天然に見いだされるグリコシダーゼ阻害剤

図2 ■グルコヒドロラーゼによるグリコシドの加水分解のモデル

図 3 ■ 合成されたグリコシダーゼ阻害剤

とである。酵素と阻害剤との複合体形成において、前者は水素結合に寄与しており、後者は酵素中のグルタミン酸あるいはアスパラギン酸残基のカルボン酸部位との静電的相互作用に寄与しているものと推定される (図 2 にデオキシノジリマイシンが酵素に取り込まれている模式図を示した)。このような特徴を構造中に組み込むことで新規グリコシダーゼ阻害剤の設計が可能となり、活発な合成が展開されている^(15~23) (図 3)。

エンド型グリコシダーゼ阻害剤

天然産エンド型グリコシダーゼ阻害剤の例を 2 種図 4

に示した。

α -グリコシダーゼの一つであるアミラーゼに対する阻害剤アミロスタチン類⁽²⁴⁾——その同族体であるアカルボース⁽²⁵⁾ ($m=0$, $n=1$) はすでに糖尿病薬として上市されている——は、その構造中にグルコース模擬体であるバリエナミンを含んでおり、非還元末端に対応する部分にグルコースが結合している。また、キチナーゼ阻害剤アロサミジン⁽¹²⁾ は、グルコサミンに対応しているアロサミゾリンに *N*-アセチルアロサビオースが結合している。両阻害剤の構造をみると、エンド型グリコシダーゼは非還元末端側にある数個の糖残基を認識しているので、阻害剤の設計には擬似単糖の非還元末端側にいくつ

図 4 ■ 天然産エンド型グリコシダーゼ阻害剤

図 5 ■ 合成されたエンド型グリコシダーゼ阻害剤

か糖残基を結合させる必要がある。このような見地から、デオキシノジリマイシン類似体を母核とするヘパラーゼ阻害剤⁽²⁶⁾や糖タンパク質プロセッシング酵素の一つエンドマンノシダーゼの阻害剤⁽²⁷⁾が合成されている(図5)。

エキソ型グリコシダーゼ阻害剤

一方、エキソ型グリコシダーゼ阻害剤の場合は、対象となる糖残基の立体構造に類似している擬似単糖で十分な阻害活性が発現するようである。加水分解の遷移状態は図2に示したように、半椅子型構造であると考えられており⁽²⁸⁾、一般に阻害剤の構造は半椅子型のほうが阻害活性も高い。しかし、同種のグリコシド結合を加水分解する他の酵素に対する特異性は十分ではない(たとえば、マルターゼとスクラーゼ)。同種のグリコシド結合を切断する酵素でも、それぞれ基質を異にする場合が多く、アグリコン部分も何らかの形で認識していると推察される。

アグリコン部分の認識

1. トレハラーゼ

筆者らは、1992年に発見されたトレハラーゼ阻害剤トレハゾリン⁽¹⁰⁾(図6)の特異な化学構造に注目し、その構造決定も含め全合成を行なった⁽²⁹⁾。この阻害剤をトレハラーゼ以外の別種のグリコシダーゼに応用することができるとすれば、活性発現の中心と考えられるアミノシクリトール部分の合成法の開発と、絶対立体配置の決定法の確立が必要である。

実際には、既知の α -グルコピラノシルイソチオシアナートと絶対構造の決定されたアミノシクリトールをカップリングしてチオ尿素誘導体とした後、酸化水銀(黄色)で環状イソ尿素体とした。ついで脱保護化を施して全合成が達成され、アミノシクリトール部分の絶対立体配置が決定された(式1)。これによって、環状イソ尿素体の合成が容易となり、別種のグリコシダーゼ阻害剤の開発に応用可能となった。

トレハラーゼは擬似単糖であるデオキシノジリマイシンでも阻害される⁽³⁰⁾が、その阻害活性は基質であるトレハロースを構造的に模擬している擬似二糖バリドキシルアミンA⁽⁹⁾やトレハゾリンと比較すると非常に弱い。これは基質が α 、 α -結合型二糖であるのに対して、一方の糖残基にだけ対応しているためであろうと推察された。

そこで、筆者らはトレハゾリンのアナログを合成することで二糖構造の必要性を検討した⁽³¹⁾。まず、トレハロースに特徴的な α 、 α -結合型の折れ曲がった構造が必要なのではないかと予想し、類似しているN-フェニルお

図 6 ■ トレハラーゼ阻害剤

式1: トレハゾリンの全合成

よび *N*-ベンジルトレハミンを合成した。しかし、これらのトレハラーゼに対する阻害活性は、トレハゾリンと比較して著しく低下した。これにより、トレハラーゼはアグリコン部分も水素結合で認識していると推察されたので、水酸基の立体配置を変換したアナログを合成したところ、いずれも親化合物よりも活性が低下した。トレハラーゼにはグリコン部分を認識するポケットに加え、アグリコン部分を認識するポケットが存在し、アグリコン部分も対応する水酸基との水素結合で正確に認識されているものと考えられる。

以上のことから、トレハラーゼ阻害剤の設計には、単糖を模擬するグルコシダーゼ阻害剤にアグリコンに相当するグルコース部分を導入することが必要である。最近、代謝産物からザルボスタチン⁽³²⁾が単離され、ヘキソースの2位と擬似単糖が結合してもトレハラーゼを阻害することが示された。

2. α -グルコシダーゼ

アミラーゼ阻害剤アミロスタチン類の活性発現を担うコア構造と考えられているアカルビオシンは、エキソ α -グルコシダーゼを阻害する。筆者らは、このアグリコンに相当するヘキソース部分を変換して、 α -グルコシダーゼに対する阻害活性の変化を検討した⁽³³⁾。アカルビオシンは α -グルコシダーゼを強力に阻害するが、6位に水酸基を導入すると活性は低下し、水酸基を除去していくと活性が強まることが明らかとなった。一方、バリエナミン自体の阻害活性は擬似二糖アナログと比較すれば低いことから、酵素と阻害剤との間の親和力には、アグリコン部分も影響していることが示唆された。アカルビオシンの構造中でアグリコン部分に相当するヘキソース残基と酵素の間に働く主な相互作用は、トレハラーゼの

場合とは異なり、水酸基を介した水素結合よりも疎水性相互作用であると考えられる。

3. β -グルコセレブロシダーゼ

また、筆者らはグルコシルセラミド加水分解酵素に対する阻害剤を、バリエナミンに実際の基質であるセラミドを β -型に結合させて設計・合成した⁽³⁴⁾。セレブロシダーゼ阻害活性発現にはセラミドの代わりに導入したアルキル鎖でも十分に強力かつ選択的なセレブロシダーゼ阻害剤となることが判明した(図7)。アカルビオシンの場合と同様に、アグリコン部分の認識は厳密ではなく、トレハラーゼと比較すれば曖昧であるともいえよう。

環状イソ尿素類の別種のグリコシダーゼ阻害剤への応用

1. 阻害剤の設計

酵素による糖鎖の認識において重要な鍵を握るのは、言うまでもなく各水酸基との水素結合であるが、最近、スタッキング作用などの疎水性相互作用の重要性も示唆されている⁽³⁾。これは、糖のピラノース環部位と芳香族系アミノ酸残基の芳香環部との間の相互作用が基質の親和力向上に寄与しているという報告である。一見、 π 電子反発が予想される芳香族と芳香族の間にも同様の相互作用が存在することが報告されている。たとえば、Rebek Jr.らはナフタレン環とプリン環との相互作用を水素結合とスタッキング作用とを用いて説明している⁽³⁵⁾。このような見方は、酵素とその基質の間の相互作用にも適用可能であろう。また、首藤らによれば、poly(phenyleneureido)benzeneの三次元構造においてはX線結晶構造解析の結果からベンゼン環はすべてシスの関係が安定であり、この理由をベンゼン環どうしの分子内スタッキング相互作用によるものであると考えている⁽³⁶⁾。

筆者らは、アロサミゾリンとトレハゾリンの特異な構造に注目することにより、他のグリコシダーゼ阻害剤開発へのヒントを探ることができるのではないかと考えた。2つの化合物の活性発現を担う部位は、両者に共通して存在するイソ尿素結合を含むアミノシクロペンタンポリオール部分であると思われた。この結合部位は塩基性を有し、グリコシドが加水分解される際の遷移状態と推定されているグリコシルカチオンに対し、立体電子的な類似構造部位であると思われる。

そこでまず、水酸基の立体配置を対応するグリコシルカチオンのそれらと類似させ、さらにアグリコン部分に何らかの置換基を導入して親和力を向上させた阻害剤を設計することで、強力な阻害剤を創製できると推測した。

図7 ■ β -グルコセレブロシダーゼ阻害剤

図 8 ■設計された阻害剤

アグリコン部分には、前述のように疎水性が高く、スタッキング相互作用による親和力の増大が期待されるフェニル基をスペーサーとして採用することとし、図 8 に示した化合物群を設計した⁽³⁷⁾。

2. 阻害剤の合成

設計した化合物の合成は、トレハゾリン全合成と同様にフェニルイソチオシアナートと対応する光学活性なアミノシクリトール (図 9) のカップリング、続く酸化水銀 (黄色) 処理で効率よく達成された (式 2, 図 10)。なお、メソ型アミノシクリトールから合成されたイソ尿素体は

ラセミ体である。

酸化水銀による環化の際に、基質上のアミノ基と隣接位に 2 つのシス水酸基が存在する場合は、双方の水酸基と環状イソ尿素結合を形成し、2 種類の生成物を与えた。これらは分離可能であるが、酸もしくは塩基を作用させると容易に安定な異性体に変換できる。

3. グリコシダーゼ阻害活性

主なアミノシクロペンタンポリオールとそれらの環状イソ尿素体のグリコシダーゼに対する阻害活性を表 1, 2 に示した。

1) α -グルコシダーゼ (パン酵母)

トレハゾラミン D-1 と、半椅子型構造をとると考えられる遷移状態グルコシルカチオンを対応させてみると、3, 4, 6 位の水酸基は非常にうまくそれぞれに対応させることができる (グルコシルカチオンの 6 位の水酸基に相当するのは、トレハゾラミンの 1 級水酸基か 3 級水酸基かのいずれかであろうと考えられる)。しかし、2 位の水

式 2 : N-フェニル環状イソ尿素体の全合成

図 9 ■アミノシクロペンタンポリオール

図 10 ■環状イソ尿素体

表 1 ■種々のグリコシダーゼに対する主なアミノシクロペンタンポリオール阻害活性

IC ₅₀ (M)						
	α -グルコシダーゼ (パン酵母)	β -グルコシダーゼ (アーモンド)	α -マンノシダーゼ (タチナタマメ)	α -ガラクトシダーゼ (大腸菌)	β -ガラクトシダーゼ (大腸菌)	β -ガラクトシダーゼ (ウシ肝臓)
D-1	2.6×10^{-4}	2.1×10^{-5}	—	—	—	4.2×10^{-4}
L-1	—	—	—	—	—	—
L-2	9.5×10^{-7}	2.9×10^{-5}	—	—	—	3.6×10^{-4}
D-2	1.6×10^{-5}	—	—	—	—	—
D-3	—	9.9×10^{-6}	—	—	—	3.6×10^{-5}
L-3	—	2.1×10^{-4}	—	—	—	—
L-4	—	5.6×10^{-4}	—	—	—	—
D-4	—	—	—	—	—	—
5	—	—	2.9×10^{-5}	—	—	—
D-9	—	8.4×10^{-5}	1.1×10^{-4}	—	7.8×10^{-6}	4.7×10^{-5}
L-9	—	—	1.0×10^{-5}	—	1.3×10^{-4}	—
D-10	—	1.7×10^{-4}	—	—	—	6.1×10^{-4}
L-10	—	—	—	—	—	—
6	—	1.2×10^{-5}	—	—	—	2.4×10^{-4}
7	—	6.7×10^{-4}	—	—	—	3.4×10^{-4}
D-11	—	5.0×10^{-5}	—	—	—	—
L-11	—	—	2.5×10^{-4}	—	—	—
D-12	6.7×10^{-4}	1.3×10^{-4}	—	—	2.7×10^{-4}	1.8×10^{-4}
L-12	—	—	—	—	—	—
8	—	—	—	—	—	—

表 2 ■種々のグリコシダーゼに対する環状イソ尿素体の阻害活性

IC ₅₀ (M)						
	α -グルコシダーゼ (パン酵母)	β -グルコシダーゼ (アーモンド)	α -マンノシダーゼ (タチナタマメ)	α -ガラクトシダーゼ (大腸菌)	β -ガラクトシダーゼ (大腸菌)	β -ガラクトシダーゼ (ウシ肝臓)
D-13	1.3×10^{-6}	—	1.9×10^{-4}	—	—	—
L-13	1.8×10^{-4}	—	7.9×10^{-5}	—	—	3.6×10^{-4}
L-14	2.9×10^{-8}	—	—	—	—	1.5×10^{-4}
L-15	9.0×10^{-12}	—	—	—	—	5.2×10^{-5}
D-14	2.3×10^{-6}	1.1×10^{-5}	—	—	—	3.0×10^{-6}
D-15	1.0×10^{-6}	4.8×10^{-5}	—	—	—	1.9×10^{-6}
D-16	—	5.0×10^{-5}	—	—	—	5.8×10^{-5}
L-16	—	7.2×10^{-5}	—	—	—	8.6×10^{-6}
L-17	—	2.6×10^{-4}	—	3.6×10^{-4}	—	3.6×10^{-5}
L-18	—	2.1×10^{-4}	—	1.2×10^{-4}	—	2.4×10^{-5}
D-17	—	4.8×10^{-5}	—	—	—	2.9×10^{-5}
D-18	—	4.9×10^{-6}	—	—	—	5.7×10^{-7}
DL-19	1.7×10^{-4}	3.0×10^{-4}	—	—	4.2×10^{-5}	—
D-20	—	2.2×10^{-6}	—	—	2.0×10^{-7}	6.0×10^{-5}
L-20	8.2×10^{-5}	6.4×10^{-6}	—	4.0×10^{-4}	9.4×10^{-7}	2.5×10^{-4}
D-21	—	1.7×10^{-5}	—	—	—	—
L-21	—	2.4×10^{-4}	—	—	—	—
DL-22	—	2.4×10^{-4}	7.8×10^{-5}	—	—	2.4×10^{-7}
D-23	2.0×10^{-5}	—	—	—	—	2.1×10^{-5}
L-23	2.5×10^{-4}	—	—	—	—	6.1×10^{-5}
D-24	—	—	3.4×10^{-4}	—	—	6.9×10^{-5}
L-24	—	2.8×10^{-4}	2.3×10^{-4}	—	—	3.7×10^{-5}

酸基は対応する水酸基とよく一致しているとは言いがたい。一方、ヒドロキシメチル基と3級水酸基の配置を逆にしたエピトレハゾラミン L-2 は、グルコシルカチオンと全体的によく一致し (図 11), 阻害活性も 10^{-7} オーダーであり非常に強力である。

フェニル基を導入した化合物 L-15 は、構造からみてグルコシルカチオンときわめてよく一致し、強力な阻害活性を発現することが期待された。実際、その阻害活性は L-2 より IC₅₀ 値で 5 オーダー程度向上した。ほぼ同一条件で測定したデオキシノジリマイシン (IC₅₀ $9.2 \times$

図 11 ■ α -グルコシダーゼ阻害剤

10^{-5} M⁽³⁸⁾) やアカルピオシン (IC_{50} 1.1×10^{-6} M⁽³⁹⁾) と比較しても、今回得られた化合物はきわめて高い活性をもつことがわかる。L-15 のフェニル基をブチル基に置換した化合物は、本酵素に対してさらに強力な阻害活性 (IC_{50} 9.6×10^{-14} M) を示し、糖タンパク質プロセッシング酵素の一つ α -グルコシダーゼ I に対しても強力な阻害活性をもつことが見いだされた (未発表)。L-15 のイソ尿素部分の異性体である L-14 は、 10^{-8} オーダーの阻害活性をもち強力であるが、L-15 の阻害活性と比較す

ると若干弱い。ヒドロキシメチル基を欠いた化合物には顕著な活性はみられず、ヒドロキシメチル基の存在が重要であることが示唆された。また、水酸基はすべてトランス配置であることがこの酵素阻害活性の発現に重要であると思われる。化合物 L-15 は α -グルコシダーゼを特異的に阻害しており、他の酵素に対して顕著な阻害活性を示さないので非常に有用である。

2) β -グルコシダーゼ (アーモンド)

この酵素に対する阻害活性は 10^{-6} M 程度であり、 α -グルコシダーゼに対してより劣るが、デオキシノジリマイシン (IC_{50} 1.5×10^{-4} M⁽³⁸⁾) より強い活性をもっている。しかし、 β -グルコシダーゼを阻害する化合物 D-18, D-20 は β -ガラクトシダーゼにもある程度阻害活性を示しており、特異性は比較的小さいと言える。イソ尿素環を α -側あるいは β -側のどちらに向けるかという問題もある (図 12)。グルコシルカチオンとの比較から、4 位の水酸基に対する認識は曖昧なのではないだろうか。グルコシルカチオンの 4 位の水酸基は、アキシアル、エクアトリアルいずれの配向でも酵素との水素結合が可能なように思われる。

3) α -マンノシダーゼ (タチナタマメ)

今回合成した化合物の中には顕著な阻害活性を有するものは見いだされていない。しかし、 α -マンノシダーゼ阻害剤マンノスタチン A のメチルチオ基が水酸基で置換された化合物 5 および L-9 では中程度の阻害活性が

図 12 ■ β -グルコシダーゼ阻害剤および β -ガラクトシダーゼ阻害剤

図 13 ■ α -マンノシダーゼ阻害剤

図 14 ■ α -および β -ガラクトシダーゼ阻害剤の化合物設計

みられる。遷移状態と推定されるマンノシルカチオンは TS1⁽³⁹⁾, TS2⁽¹⁵⁾ (図 13) いずれの配座を基に阻害剤の構造を相関させるのがよいか議論の分かれるところであろうが、この酵素に対する阻害活性発現には窒素官能基から連続する 3 つの水酸基がシス配置であることが重要に見える。

4) α -ガラクトシダーゼ (大腸菌)

α -マンノシダーゼと同様に顕著な阻害活性はみられなかった。ガラクトシルカチオンとの比較により化合物 L-4 もしくは L-18 は、 α -あるいは β -ガラクトシダーゼに対する阻害活性をもつことが予想された (図 14)。しかし期待に反し、今回検定した化合物の中で阻害活性の最も強いものが 10^{-4} オーダーであり、他の酵素が 10^{-5} ~ 10^{-12} オーダーで阻害されているのとは比べて非常に弱かった。

5) β -ガラクトシダーゼ (大腸菌)

この酵素に対する阻害は化合物 D-20 で、最高 10^{-7} オーダーと、強力な活性が発現した。また、興味深いことに酵素の由来 (大腸菌とウシ肝臓) の違いによる阻害活性発現の相違が浮き彫りとなった。しかし、2) においても述べたが、 β -グルコシダーゼに対しても 10^{-5} ~ 10^{-6} 程度の阻害活性がみられることから特異性が乏しいといえる。ガラクトシルカチオンと阻害剤を比較すれば、2, 3, 4 位の水酸基は非常によく一致させることができるが、6 位に相当する水酸基が構造上存在しない (図 12)。にもかかわらず、強力な阻害活性が発現していることから、この酵素系は 6 位の水酸基をあまり強く認識はしていないとも考えられる。

6) β -ガラクトシダーゼ (ウシ肝臓)

この酵素は大腸菌由来の酵素と比較して、多くのイソ尿素体によって阻害されている。これは基質認識が大腸菌のそれより曖昧であることを示していると思われる。

図 15 ■ N -アセチルノイラミニダーゼ阻害剤

実際、2 つの水酸基がシスの関係である場合、阻害活性の発現 (10^{-5} オーダー以上) が認められ、この関係がきわめて重要であると予想される。強力な阻害活性が認められた D-18 および DL-22 は、ガラクトシルカチオンとある程度類似している (図 12)。大腸菌由来の酵素と同様に 6 位の水酸基に対応する水酸基が存在しなくても阻害活性の発現がみられる。ラセミ体の化合物 DL-22 は 10^{-7} オーダーで阻害し、他の酵素に対する阻害活性より 100 倍以上活性が強い。この化合物はきわめて特異性が高く非常に有効であると思われる。

全体を通してみると、 α -マンノシダーゼ以外のグリコシダーゼに対し、スペーサーとしてフェニル基を導入したイソ尿素類は、母体のアミノシクリトール類よりも 2 桁程度阻害活性が向上した。これは縮環したことによる配座の変化に基づくものとも考えられるが、スペーサーが大きな影響を与えていると思われる。前述のように、スタッキング相互作用の重要性が認識されるようになり、スペーサーとして導入したフェニル基部分が、酵素を構成する疎水的なアミノ酸残基 (たとえばトリプトファン、チロシンなど) の芳香環部位と期待した相互作用を介して酵素との親和力を高め、阻害活性が向上したと考えることもできる。

最近、大腸菌由来の β -ガラクトシダーゼの X 線結晶構造解析が報告され⁽⁴⁰⁾、酵素の活性中心付近にトリプトファン残基が存在することが示された。アミノ酸残基が、基質との相互作用に与り、スペーサーであるフェニル基を介して阻害剤と相互作用していると推察される。フェニルイソ尿素体の阻害活性が対応するアミノシクリトールのそれを上回る理由の一つとして、フェニル基とのスタッキング効果を挙げることも可能である。

今後、これらイソ尿素類の阻害活性の検定を由来の異なる酵素に対し広く行なっていく必要がある。また、スペーサー部分の最適化によって、さらに特異性を高めた阻害剤の開発へと発展させていきたいと考えている。

図 16 ■ グリコシダーゼ阻害剤の設計

酵素の三次元構造に基づいた阻害剤の分子設計

基質をバインドした酵素の三次元構造が明らかにされた場合には、基質が取り込まれるポケットの近傍に存在するアミノ酸残基の特徴を利用して、親和力を増大させるように阻害剤の構造を設計することが可能である。たとえば、*N*-アセチルノイラミニダーゼ阻害剤の設計において、*N*-アセチルノイラミン酸の4位近傍に存在するアミノ酸残基との相互作用を期待して、阻害剤の構造中に塩基性を有するグアニジノ基を導入することにより、強力な阻害剤の合成に成功している⁽⁴¹⁾(図 15)。今後、タンパク質の構造研究者との間で積極的な情報交換が期待される。

*

以上、筆者らの研究を中心にグリコシダーゼ阻害剤の設計と合成について述べてきたが、ここで考慮すべき重要な事柄をまとめてみると次のようになる(図 16)。「エンド型グリコシダーゼ阻害剤」では、① グリコン部分の水酸基の立体配置、② 加水分解される部位の塩基性、③ グリコンの非還元末端側の糖鎖(もしくはそれに相当するスパーサー)など。「エキソ型グリコシダーゼ阻害剤」では、① グリコン部分の水酸基の立体配置、② 加水分解される部位の塩基性、③ アグリコン相当部分の糖(もしくはそれに相当するスパーサー)、④ 酵素中に存在するアミノ酸残基との相互作用を利用して親和力を増強させるための官能基の導入などである。

2種の β -ガラクトシダーゼに対する阻害活性からも明らかにように、酵素の由来の違いによって基質認識の

仕方も異なると考えられるので、阻害剤の設計には対象とする酵素の基質特異性を十分理解する必要がある。そのためにも、さらなる構造活性相関の研究が展開され、重要な知見が蓄積されることを期待したい。様々なグリコシダーゼに対する強力かつ特異的な阻害剤の必要性がますます高まってきており、この小文が阻害剤の設計と合成に関わる研究者の一助になれば望外の喜びである。

文献

- 1) M.L. Sinnott : *Chem. Rev.*, **90**, 1171 (1990).
- 2) E. Truscheit, W. Frommer, B. Jungle, L. Muller, D.D. Schmidt & W. Wingender : *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **20**, 744 (1981).
- 3) a) N.K. Vyas : *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **1**, 732 (1991); b) I. Matsui, S. Yoneda, K. Ishikawa, S. Miyairi, S. Fukui, H. Umeyama & K. Honda : *Biochemistry*, **33**, 451 (1994); c) 山本一夫 : 生化学, **66**, 1111 (1994).
- 4) a) デオキシノジリマイシンについて A. Tan, L. van den Broek, S. van Boeckel, H. Ploegh & J. Bolsher : *J. Biol. Chem.*, **266**, 14504 (1991) およびその引用文献, b) ガラクトスタチンについて Y. Miyake & M. Ebata : *Agric. Biol. Chem.*, **52**, 1649 (1988).
- 5) G. Palamarczyk & A.D. Elbein : *Biochem. J.*, **227**, 795 (1985) およびその引用文献.
- 6) J.E. Tropea, R.J. Molyneux, G.P. Kaushal, Y.T. Pan, M. Mitchell & A.D. Elbein : *Biochemistry*, **28**, 2027 (1989).
- 7) N. Asano, E. Tomioka, H. Kizu & K. Matsui : *Carbohydr. Res.*, **253**, 235 (1994).
- 8) S. Watanabe, H. Kato, K. Nagayama & H. Abe : *Biosci. Biotech. Biochem.*, **59**, 936 (1995) およびその引用文献.
- 9) a) S. Ogawa & Y. Miyamoto : *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1987**, 1843; b) S. Ogawa & Y. Miyamoto : *Chem. Lett.*, **1988**, 889; c) S. Ogawa, Y. Miyamoto & T. Nose : *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1988**, 2675; d) Y. Miyamoto & S. Ogawa : *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1989**, 1013; e) Y. Miyamoto & S. Ogawa : *J. Chem. Soc.*,

- Chem. Commun.*, 1990, 999; f) Y. Miyamoto & S. Ogawa : *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1991, 2121; g) Y. Miyamoto & S. Ogawa : *Carbohydr. Res.*, 223, 299 (1992).
- 10) a) O. Ando, H. Satake, K. Itoi, A. Sato, M. Nakajima, S. Takahashi, H. Haruyama, Y. Ohkuma, T. Kinoshita & R. Enokita : *J. Antibiot.*, 44, 1165 (1991); b) O. Ando, M. Nakajima, K. Hamano, K. Itoi, S. Takahashi, Y. Takamatsu, A. Sato, R. Enokita, T. Okazaki, H. Haruyama & T. Kinoshita : *ibid.*, 46, 1116 (1993); c) T. Nakayama, T. Amachi, S. Murao, T. Sakai, T. Shin, P.T.M. Kenney, T. Iwashita, M. Zagorski, H. Komura & K. Nomoto : *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1991, 919.
 - 11) G.P. Kaushal & A.D. Elbein : *Trends Glycosci. Glycotechnol.*, 5, 209 (1993) およびその引用文献.
 - 12) a) B.M. Trost & D.L. Van Vranken : *J. Am. Chem. Soc.*, 112, 1261 (1990); b) D.A. Griffith & S.J. Danishefsky : *J. Am. Chem. Soc.*, 113, 5863 (1991); c) M. Nakata, S. Akazawa, S. Kitamura & K. Tatsuta : *Tetrahedron Lett.*, 32, 5363 (1991); d) N.S. Simpkins & S. Stokes : *Tetrahedron Lett.*, 33, 793 (1992); e) T. Kitahara, N. Suzuki, K. Koseki & K. Mori : *Biosci. Biotech. Biochem.*, 57, 1906 (1993).
 - 13) T. Aoyama, H. Naganawa, H. Suda, K. Uotani, T. Aoyagi & T. Takeuchi : *J. Antibiot.*, 45, 1557 (1992).
 - 14) H. Umezawa, T. Aoyagi, T. Komiyama, H. Morishima, M. Hamada & T. Takeuchi : *J. Antibiot.*, 27, 963 (1974).
 - 15) R.A. Farr, N.P. Peet & M.S. Kang : *Tetrahedron Lett.*, 31, 7109 (1990).
 - 16) a) G. Papandreou, M.K. Tong & B. Ganem : *J. Am. Chem. Soc.*, 115, 11682 (1993); b) Y. Blieriot, A. Genre-Grandpierre & C. Tellier : *Tetrahedron Lett.*, 35, 1867 (1994); c) S. Knapp, Y.H. Choe & E. Reilly : *Tetrahedron Lett.*, 34, 4443 (1993).
 - 17) a) J. Lehmann & B. Rob : *Liebigs Ann. Chem.*, 1994, 805; b) V.P. Vassilev, T. Kajimoto & C.-H. Wong : Abstract of the 17th International Carbohydrate Symposium, 1994, B1.55, 217.
 - 18) W.M. Best, R.V. Stick & D.M.G. Tilbrook : Abstract of the 17th International Carbohydrate Symposium, 1994, B2.80, 354.
 - 19) T.M. Jespersen, M. Bols, M.R. Sierks & T. Skrydstrup : *Tetrahedron*, 50, 13449 (1994).
 - 20) Y. Ichikawa & Y. Igarashi : *Tetrahedron Lett.*, 36, 4585 (1995).
 - 21) M. Nakata, C. Chong, Y. Niwata, K. Toshima & K. Tatsuta : *J. Antibiot.*, 46, 1919 (1993).
 - 22) K. Tatsuta, S. Miura, S. Ohta & H. Gunji : *J. Antibiot.*, 48, 286 (1995).
 - 23) a) T.D. Heightman, P. Ermert, D. Klein & A. Vasella : *Helv. Chim. Acta*, 78, 514 (1995); b) B. Davis, T.W. Brandstetter, C. Smith, L. Hackett, B.G. Winchester & G.W. Fleet : *Tetrahedron Lett.*, 36, 7507 (1995); c) T.W. Brandstetter, B. Davis, D. Hyett, C. Smith, L. Hackett, B.G. Winchester & G.W. Fleet : *ibid.*, 36, 7511 (1995).
 - 24) a) S. Murao, K. Ohya & S. Ogura : *Agric. Biol. Chem.*, 41, 919 (1977); b) K. Fukuhara, H. Murai & S. Murao : *ibid.*, 46, 1941 (1982).
 - 25) a) D.D. Schmidt, W. Frommer, B. Jungle, L. Muller, W. Wingender, E. Truscheit & D. Schafer : *Naturwissenschaften*, 64, 535 (1977); b) B. Jungle, F.R. Heiker, J. Jurz, L. Muller, D.D. Schmidt & C. Wunsche : *Carbohydr. Res.*, 128, 235 (1984).
 - 26) S. Takahashi & H. Kuzuhara : *Chem. Lett.*, 1994, 2119.
 - 27) H. Ardron, T.D. Butters, F.M. Platt, M.R. Wormald, R.A. Dwek, G.W.J. Fleet & G.S. Jacob : *Tetrahedron Asymmetry*, 4, 2011 (1993).
 - 28) G.C. Look, C.H. Fotsch & C.-H. Wong : *Acc. Chem. Res.*, 26, 182 (1993).
 - 29) C. Uchida, T. Yamagishi & S. Ogawa : *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1994, 589.
 - 30) a) E.T. Reese & F.W. Parrish : *Carbohydr. Res.*, 18, 381 (1971); b) S. Murao & S. Miyata : *Agric. Biol. Chem.*, 44, 219 (1980); c) M. Arai, M. Sumida, S. Nakatani & S. Murao : *Agric. Biol. Chem.*, 47, 183 (1983).
 - 31) C. Uchida, H. Kitahashi, S. Watanabe & S. Ogawa : *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1995, 1707.
 - 32) T. Yamagishi, C. Uchida & S. Ogawa : *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 5, 487 (1995) およびその引用文献.
 - 33) a) Y. Shibata, S. Ogawa & T. Suami : *Carbohydr. Res.*, 200, 486 (1990); b) Y. Shibata, Y. Kosuge, T. Mizukoshi & S. Ogawa : *Carbohydr. Res.*, 228, 377 (1992); c) S. Ogawa, Y. Shibata, Y. Kosuge, K. Yasuda, T. Mizukoshi & C. Uchida : *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1990, 1387; d) S. Ogawa & D. Aso : *Carbohydr. Res.*, 250, 177 (1993).
 - 34) H. Tsunoda, J. Inokuchi, K. Yamagishi & S. Ogawa : *Liebigs Ann. Chem.*, 1995, 279.
 - 35) J. Rebek Jr., B. Askew, P. Ballester, C. Buhr, S. Jones, D. Nemeth & K. Williams : *J. Am. Chem. Soc.*, 109, 5033 (1987).
 - 36) a) K. Yamaguchi, G. Matsumura, H. Kagechika, I. Azumaya, A. Itai & K. Shudo : *J. Am. Chem. Soc.*, 113, 5474 (1991); b) W.L. Jorgensen & D.L. Severance : *J. Am. Chem. Soc.*, 112, 4768 (1990).
 - 37) C. Uchida, H. Kimura & S. Ogawa : *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 4, 2643 (1994).
 - 38) N. Chida, Y. Furuno, H. Ikemoto & S. Ogawa : *Carbohydr. Res.*, 237, 185 (1992).
 - 39) G. Legler : *Adv. Carbohydr. Chem.*, 48, 319 (1990).
 - 40) R.H. Jacobson, X.-J. Zhang, R.F. DuBose & B.W. Matthews : *Nature*, 369, 761 (1994).
 - 41) M. von Itzstein, W.-Y. Wu, G.B. Kok, M.S. Pegg, J.C. Dyason, B. Jin, T.V. Phan, M.L. Smythe, H.F. White, S. W. Oliver, P.M. Colman, J.N. Varghese, D.M. Ryan, J.M. Woods, R.C. Bethell, V.J. Hotham, J.M. Cameron & C.R. Penn : *Nature*, 363, 418 (1993).