低分子生体成分ミミック体の創出を基盤とする創薬化学研究

高畑 廣 紀

Synthetic Medicinal Chemistry of the Biomolecular Components Mimics

Hiroki Takahata

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tohoku Pharmaceutical University, Komatsushima 4-4-1, Aoba-ku, Sendai 981-8558, Japan.

(Received February 13, 2013)

We are studying the medicinal synthetic chemistry of biomolecular component mimics such as carbohydrates, nucleosides, amino acids, and peptides. In this review, the synthesis and biological activities of iminosugars as carbohydrate mimics are discussed. Glycosidases and glycosyltransferases are involved in a wide range of anabolic and catabolic process, including digestion, the lysosomal catabolism of glycoconjugates, glycoprotein biosynthesis. Hence, modifying or blocking these processes *in vivo* using inhibitors is a topic of great interest from the therapeutic point of view. Iminosugars are sugars in which the endocyclic oxygen is replaced by a basic nitrogen atom. They are regarded as transition state mimics in certain types of enzyme reactions. This makes the field of iminosugars as carbohydrate mimics an exciting area of research. We synthesized all of the stereoisomers of polyhydroxypiperidines such as fagomine, 1-deoxynojirimycin, and isofagomine. In addition, their both enantiomers, as substrates for a variety of glycosidases were evaluated. Secondly, the asymmetric synthesis of α -1-C-alkyl-arabinoiminofuranoses was achieved by asymmetric allylic alkylation, RCM, and Negishi cross coupling as key reactions. Surprisingly, the L-forms showed a quite potent inhibitory activity toward rat intestinal maltase, while the activities of the D-forms were much weaker. Some of the prepared L-forms showed potent inhibitory activities towards intestinal maltase, with IC_{50} values comparable to those of commercial drugs such as acarbose, voglibose, and miglitol, which are used in the treatment of type 2 diabetes. Among them, the inhibitory activity towards intestinal sucrase of α -1-C-L-butylarabinoiminofuranose was quite strong towards intestinal sucrase compared to the above commercial drugs.

Key words—biomolecular component mimic; iminosugar; glucosidase inhibitor; α -1-C-alkyl-arabinoiminofuranose; type 2 diabetes

1. はじめに

生体を構成する分子として重要なものには三大生体高分子と呼ばれているタンパク質、核酸、糖質があり、生化学システムを構成する主役であり、今日でも生化学研究の重要な研究対象の源泉である。これらは低分子の単位物質が多数結合したもので、核酸はヌクレオシド、タンパク質はアミノ酸、糖質は単糖類である。私たちは、生体内の様々な生命現象を有機化学的（分子レベル）側面から解析し、それらを基にした新たな生体関連物質の設計・合成とともにそれらの機能性評価を行う研究を展開してい

る。先に述べた低分子生体成分である、ヌクレオシド、アミノ酸（ペプチド）、単糖のミミック体の創製を機軸とする創薬化学研究を紹介する。本稿では、糖ミミック体であるイミノ糖の探索研究中に得られたわれわれのグループの知見を中心に述べる。ヌクレオシド、¹⁻¹⁰⁾ アミノ酸（ペプチド）¹¹⁻²⁴⁾ のミミック体に関する研究は文献を紹介するに留める。

2. イミノ糖の化学

ポストゲノム時代を迎え、今後はタンパク質の翻訳後修飾の機能を解明することは極めて重要な課題である。哺乳動物の場合、合成タンパク質の90%以上に糖鎖が付加しており、糖タンパク質や糖脂質における糖鎖の機能を詳細に研究することが重要である。これら糖鎖の形成、修飾に深く関与しているグリコシダーゼ及びトランスフェラーゼを制御する化合物を創出することができれば、それは単に細胞

The author declares no conflict of interest.

東北薬科大学（〒981-8558 仙台市青葉区小松島4丁目4-1）

e-mail: takahata@tohoku-pharm.ac.jp

本総説は、平成24年度日本薬学会学術貢献賞の受賞を記念して記述したものである。

Scheme 1.

生物学的な観点に留まらず疾患の発症メカニズムの解明や効果的疾患薬の開発といった応用研究を大幅に進展させることになる。これらの候補群として近年注目を浴びているのが酵素作用に対する潜在的遷移状態（オキソカルベニウム様）アナログであるイミノ糖である（Scheme 1）。

イミノ糖によって阻害される多様な酵素群は糖尿病、ウイルス感染、リソソーム蓄積症、がん転移など非常に幅広い疾患に対する医薬品創出が期待される極めて魅力的なものである。実際、臨床薬として1996年にII型糖尿病薬としてGlysetTMが、2003年に難病のリソソーム蓄積症であるゴーシェ病治療薬とZavescaTMが上市されている。さらに、医薬品候補として近年続々と輩出してきている。Purine nucleoside phosphorylase (PNP) 欠損は自己免疫疾患や白血病に関与することから、PNPに対する遷移状態構造アナログとしてFodosine（白血病治療薬, phase II）やBCX-4208（乾癬病治療薬, phase II）が開発されている。ほかに抗がん剤として期待されているSF-4, SDD-8, OGT2378などが臨床試験中であり、まさしく低分子医薬品候補の宝庫になりつつある。最近にはWileyより単行本（Iminosugars: From synthesis to therapeutic applications）が発表されている。²⁵⁾

グリコシダーゼ阻害活性としての代表的なイミノ糖はdeoxynojirimycin (DNJ) (1)である。DNJは1968年にイミノ糖として最初に単離された比較的不安定なノジリマイシンの還元体として見出された。²⁶⁾ その後1976年に桑属の葉及び根皮から単離された。²⁷⁾ また、桑はDNJの2-デオキシ体であるfagomine (2)を産生する。²⁸⁾ DNJ 1が極めて高いα-グルコシダーゼ活性を有することから一躍注目を浴

び、前述のようにDNJ誘導体の医薬品GlysetTMやZavescaTMが開発されている。私たちが、イミノ糖の研究に着手した1990年代後半まではD体を中心でありL体の合成及び生物活性研究がほとんどなされていない現状であった。

3. Fagimine 類の合成と生物活性

われわれはイミノ糖の立体異性体と生物活性の関心に興味を持ち、まず不斉炭素の少ないfagomine (2)の全立体異性体の合成から開始した。D体のfagomine (2)及びその異性体3-*epi*-fagomine (5), 3,4-di-*epi*-fagomine (6)と4-*epi*-fagomine (7)はD-セリン由来のGarner アルデヒド3から誘導される鍵中間体であるテトラヒドロピリジン4を用いて合成した（Scheme 2）。^{29,30)} 4-*epi*-Fagomine (7)以外は天然から単離されている。同様にL-セリン由来のGarner アルデヒド*ent*-3から4種類のL体（*ent*-2, 5-7）を合成した。詳しい合成法は最近筆者の総説に述べられている。³¹⁾

このようにすべての立体異性体入手したので各種グリコシダーゼ阻害活性を検討した結果をTable 1に示した。³²⁾ D-Fagomine (2)は各種α-グルコシダーゼに対して阻害活性を有していたが、D-DNJ (1)に比してかなり弱かった。また、D-3-*epi*-fagomine (5)に弱いながらβ-グルコシダーゼ及びβ-ガラクトシダーゼに対して阻害活性がみられたが、その他のD体のfagomine類には特に注目する阻害活性はみられなかった。一方、L体に関してはほとんど阻害活性はみられなかったが、*ent*-5及び*ent*-6に非常に弱い一部グリコシダーゼに阻害活性が観測された。ヒドロキシ基の数及びその立体配置で微妙に各種グリコシダーゼの阻害活性に影響を与えることが判明した。

Scheme 2. Synthesis of D-Fagomine and Its Stereoisomers

Table 1. Concentration of D- and L-Fagomine Isomers Giving 50% Inhibition of Various Glycosidases

Enzyme	IC ₅₀ (μM)									
	fagomine 2		3- <i>epi</i> -fagomine 5		3,4-di- <i>epi</i> -fagomine 6		4- <i>epi</i> -fagomine 7		1-deoxynojirimycin 1	
	D	L	D	L	D	L	D	L	D	L
α -glucosidase										
rice	320	NI	120	188	NI	980	NI	NI	0.03	4.3
rat intestinal maltase	113	NI	NI	357	NI	668	NI	NI	0.65	28
rat intestinal isomaltase	37	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	0.65	150
rat intestinal sucrase	34	NI	NI	225	NI	NI	NI	NI	0.51	18
β -glucosidase										
almond	NI	NI	120	NI	NI	NI	NI	NI	80	980
rat intestinal cellobiase	NI	NI	39	809	NI	NI	NI	NI	327	NI
bovine liver	250	NI	5.6	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI
human lysosome	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI
α -galactosidase										
coffee beans	NI	NI	NI	NI	NI	NI	8.0	NI	880	NI
β -galactosidase										
bovine liver	38	NI	3.0	960	NI	NI	NI	NI	NI	560
rat intestinal lactase	NI	NI	4.3	122	NI	NI	NI	NI	49	317
α -mannosidase										
Jack beans	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI
β -mannosidase										
snail	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI
α -L-fucosidase										
bovine epididymis	NI	NI	NI	260	NI	NI	NI	NI	NI	NI
α -L-rhamnosidase										
<i>P. decumbens</i>	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI

NI: No inhibition (less than 50% inhibition at 1000 μM).

4. DNJ 類の合成と生物活性

次に、D-DNJ 及びその立体異性体の合成を、同じく Garner アルデヒド **3** から誘導される 2 種のテトラヒドロピペリジン体 **8** から D-DNJ (**1**), D-*altro*-DNJ (**10**), D-*allo*-DNJ (**11**), D-*manno*-DNJ (**12**) 及び **9** から D-*ido*-DNJ (**13**), D-*galacto*-DNJ (**14**), D-*gulo*-DNJ (**15**) の合計 7 種類達成した (Scheme 3). 残念ながら、ヒドロキシ基がすべてシス配置の D-*talo*-DNJ (**16**) の合成はできなかった.^{33,34)}

同様に L-セリン由来の Garner アルデヒド *ent*-**3** から 7 種類の L 体 (*ent*-**1**, **10–12**, **13–15**) を合成した. 各種グリコシダーゼ阻害活性を検討した結果を

Table 2, 3 に示したが、D 体、L 体では阻害スペクトルが全く異なることが明らかになった.^{35,36)}

まず、D-DNJ (**1**) と L-DNJ (*ent*-**1**) の rice **α**-グルコシダーゼ阻害活性における Lineweaver-Burk plots を測定したところ、**1** は酵素に対して拮抗型競争的阻害剤 ($K_i = 5.7 \mu\text{M}$) で、*ent*-**1** は非拮抗型非競争的阻害剤 ($K_i = 4.5 \mu\text{M}$) であることがわかった. 同様に、D-*galacto*-DNJ (**14**) と L-*galacto*-DNJ (*ent*-**14**) と coffee bean **α**-galactosidase における Lineweaver-Burk plots では、**14** は酵素に対して競争的阻害剤 ($K_i = 3.5 \mu\text{M}$) で、*ent*-**14** は非競争的阻害剤 ($K_i = 7.3 \mu\text{M}$) であった. したがって、L 体の

Scheme 3. Synthesis of D-DNJ and Its Stereoisomers

Table 2. Inhibition of Various Glycosidases by D- and L-1-Deoxyazasugars

Enzyme	IC ₅₀ (μM)													
	DNJ 1		manno-DNJ 12		allo-DNJ 11		altro-DNJ 10		galacto-DNJ 14		gulo-DNJ 15		ido-DNJ 13	
	D	L	D	L	D	L	D	L	D	L	D	L	D	L
α-glucosidase														
rice	0.03	4.3	NI	NI	NI	NI	NI	450	NI	NI	NI	NI	NI	NI
rat intestinal maltase	0.65	28	110	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI
β-glucosidase														
almond	80	980	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	60	NI
α-mannosidase														
Jack bean	NI	NI	840	NI	NI	30	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI
rat epididymis	NI	NI	560	NI	NI	59	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI
β-mannosidase														
rat epididymis	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI
α-galactosidase														
coffee bean	880	NI	NI	NI	260	290	NI	NI	0.003	13	160	NI	67	NI
<i>Aspergillus niger</i>	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	1.8	NI	NI	NI	NI	NI
β-galactosidase														
bovine liver	NI	560	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	560	NI	NI	850	NI
rat epididymis	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	24	NI	NI	NI	NI	NI
α-1-fucosidase														
bovine epididymis	NI	NI	39	NI	NI	NI	194	NI	NI	0.63	NI	156	NI	NI

NI: No inhibition (less than 50% inhibition at 1000 μM).

Table 3. Inhibition of Human Lysosomal Glycosidases by D- and 1-L-Deoxyazasugars

	IC ₅₀ (μM)											
	DNJ 1		manno-DNJ 12		allo-DNJ 11		galacto-DNJ 14		gulo-DNJ 15		ido-DNJ 13	
	D	L	D	L	D	L	D	L	D	L	D	L
α-glucosidase	0.04	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI
β-glucosidase	240	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	66	NI
α-mannosidase	NI	NI	NI	NI	NI	64	NI	NI	NI	NI	NI	NI
β-mannosidase	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI
α-galactosidase	NI	NI	NI	NI	NI	NI	0.07	45	920	NI	390	NI
β-galactosidase	NI	NI	NI	NI	NI	NI	90	NI	NI	NI	NI	NI
α-fucosidase	NI	NI	221	NI	NI	NI	NI	3.5	NI	150	NI	NI

NI: No inhibition (less than 50% inhibition at 1000 μM).

Scheme 4. The Structures of 1-Deoxyfuconojirimycin (DFJ) Analogues and Their K_i Values for Bovine Epididymis R-L-Fucosidase Scheme 5. Hydrolysis of β -Glucoside

ent-1 や *ent-14* が阻害活性を示したのは D 体のように基質の構造類似性ではなく結合部位の違いによる非拮抗型阻害様式を示したものと考えられる。一方, L- α -フコシダーゼに対する阻害活性は D 体においては D-*manno*-DNJ (**12**) と D-*altro*-DNJ (**10**) のみに阻害活性がみられ, L 体では L-*galacto*-DNJ (*ent-14*), L-*gulo*-DNJ (*ent-15*) のみに阻害活性がみられた。

その中で最も高い阻害活性を示したのは *ent-14* であり, 以下 **12**, *ent-15*, **10** の順番であった (Scheme 4)。2 位, 3 位及び 5 位の立体配置が活性中心における認識と結合に重要であると考えられる。これらの DNJ 誘導体は L- α -フコシダーゼに対する阻害様式は Lineweaver-Burk plots により拮抗的に阻害していることがわかったので, D 体, L 体にかかわらず, 対象基質の構造相同性が重要であると推察される。また, 細胞のがん化に伴う細胞表面の糖脂質の糖鎖構造の変化にフコシル化が重要であると報告されている。しかしながら, *ent-14* は L-*fuco*-DNJ (**17**) に比べて阻害活性がかなり弱いことから 5 位の疎水性基の重要性が強く示唆された。それゆえ, 5 位の疎水性基への化学修飾でより強力な阻害剤創出の可能性が期待される。

5. Isifagimine 類の合成と生物活性

次に, 単糖グルコースのアノマー位が窒素に置換した 1-アザ糖の isifagomine (**18**) に強い β -グリコシダーゼ阻害活性を有することが Bols によって見出された。³⁷⁾ この強い阻害活性は糖のグリコシド結合切断の特徴であるカチオン性の遷移状態と構造が似ているためとされている。すなわち, アノマー

Scheme 6. Synthesis of D-Isifagomine

部のカルボカチオン体に近似していると考えられている (Scheme 5)。

最初に, 単糖のアノマー位が窒素に置換した 1-アザ糖の isifagomine (**18**) の合成を行った。閉環メタセシス反応を利用して二段階高収率で合成できる 5-ヒドロキシ-3-ピペリデン体 **19** に対して固定化リパーゼを用いる速度論的光学分割法で **19** の両エナンチオマーを光学純度よく高収率で得た。このようにして得たキラル素子 (*R*)-**19** からエポキシ体 **21** を経て立体選択的に目的のイソファゴミンの合成に成功した (Scheme 6)。同様にして, (*S*)-**19** から L-**18** を合成した。^{38,39)} また, **18** は, 分子内エンイン反応を用いる方法においても合成された。^{40,41)}

次にわれわれは, isifagomine 類のすべての立体異性体 (8 種) の合成を企画し, そのためのキラル素子として 5-ヒドロキシメチルピペリデン体 **22** を

設定した。両エナンチオマー **19** のヒドロキシル基スズメチレン基に変換した化合物の [2,3] Still-Wittig 転位で **22** を得た。 **22** のオレフィン部に対する酸化反応でイソファゴミンを含む 4 種の異性体の合成を行うことができた (Scheme 7).⁴²⁾

さらに、それらの (*S*)-**19** からのエナンチオマー

の合成にも成功したので、各種グリコシダーゼ阻害作用を行い、光学異性体間の生物活性評価を行った。その結果は Table 4 に示されている。³²⁾

予想通り、**D-18** は強い β -グルコシダーゼ阻害活性を有しており、また、**L-18** においても弱いながら活性がみられた。一方、 α -グルコシダーゼ阻害活

Scheme 7. Synthesis of D-Isifagomine and Its Stereoisomers

Table 4. Concentration of D- and L-Isifagomine Isomers Giving 50% Inhibition of Various Glycosidases

Enzyme	IC ₅₀ (μM)							
	Isifagomine 18		3- <i>epi</i> -isifagomine 23		3,4-di- <i>epi</i> -isifagomine 25		4- <i>epi</i> -isifagomine 24	
	D	L	D	L	D	L	D	L
α -glucosidase								
rice	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI
rat intestinal maltase	653	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI
rat intestinal isomaltase	290	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI
rat intestinal sucrase	531	34	NI	NI	NI	NI	NI	NI
β -glucosidase								
almond	0.98	236	443	NI	NI	NI	3.2	983
rat intestinal cellobiase	0.30	110	334	NI	912	NI	4.5	607
bovine liver	31	611	NI	NI	NI	676	63	NI
human lysosome	0.063	8.7	113	NI	NI	NI	54	NI
α -galactosidase								
coffee beans	NI	NI	NI	NI	NI	NI	144	450
β -galactosidase								
bovine liver	3.6	821	NI	NI	NI	389	21	NI
rat intestinal lactase	0.12	20	52	469	211	646	0.51	90
α -mannosidase								
Jack beans	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI
β -mannosidase								
snail	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI
α -L-fucosidase								
bovine epididymis	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI
α -L-rhamnosidase								
<i>P. decumbens</i>	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI

NI: No inhibition (less than 50% inhibition at 1000 μM).

性においては極めて阻害活性は低かった。しかしながら rat intestinal sucrase に関しては L-18 の方が D 体よりも阻害活性が強かった。また、 β -galactosidase (rat intestinal lactase) においては、興味あることに D-18 と D-24 が極めて高い阻害活性を有していた。これらのことから、4 位のヒドロキシ基の立体配置はこれらの酵素に対する阻害活性に対して厳密に影響を与えていないことがわかった。

グリコスフィンゴリピド (glycosphingolipid; GSL) の異常蓄積で引き起こすリソソーム蓄積疾患のゴーシェ病は、GSL グルコシルセラミド (glucosylceramide; GluCer) を分解するリソソーム加水分解酵素であるリソソーム酵素酸 β -グルコシダーゼ (グルコセレブロシダーゼ; glucocerebrosidase; GCase) をコードする遺伝子における遺伝子欠損 (突然変異) に起因する。D-Isfagomine は、組換えヒト酸ベターグルコシダーゼ (GCase) の強力な阻害剤である。Isfagomine 等の酵素阻害剤を使用して、リソソーム蓄積疾患における突然変異酵素活性を強化するための薬理的シャペロン法は有効であると報告されている。⁴³⁾ そこで、 β -glucosidase (human lysosome) に対する isfagomine (D-18) 及び異性体 D-23-25 の阻害活性の相関関係を広野らが開発したブラウン動力学法によるドッキングプログラムで酵素-リガンド複合体構造の解析を行った。Induced-fit ドッキング法で計算された上位 10 位までのドッキングモデルを重ね合わせた図を Fig. 1 に示した。Isfagomine (D-18) が立体配座の最も小さいずれで、以下 D-24, 23, 25 の順番でずれが大きくなり、阻害活性の強さと一致している。一方、2-pro-

pylisofagomine を合成したが、 β -グルコシダーゼ阻害活性の低下が観測された。⁴⁴⁾

6. α -1-C-Alkyliminofuranose 類の合成と生物活性

糖尿病は風邪と同じように万病のもとになるほど深刻な疾患であり、血中の高血糖状態が継続し、血中の赤血球や組織のタンパクのグリケーションによって、網膜症や末梢神経変性などが起こる。慢性化に伴い動脈硬化症も進行させ、心筋梗塞、脳梗塞、脳卒中など生命予後に係わる疾病を招く非常に怖い病気である。糖尿病治療薬として、私たちは小腸粘膜上皮細胞に存在する二糖類分解酵素 (α -グルコシダーゼ) の作用を競合的に阻害して二糖類から単糖への分解を抑制する α -グリコシダーゼ阻害薬に着目した。 α -グルコシダーゼ阻害薬は、麦芽糖やショ糖の α -1,4-グリコシド結合を加水分解する α -グルコシダーゼのはたらきを抑えることで、グルコースの消化吸收を緩やかにし、食後の過血糖状態を改善することで、インスリン分泌とのタイミングを合わせることができる。

現在臨床応用されている食後過血糖改善薬として第一世代 (カルバ糖型) である acarbose, voglibose が知られており、腸管から吸収されないようにデザインされているので、これら成分の大半は吸収されずに便中に排泄される。しかし、腸管内での分解産物の一部が吸収されることが原因ではないかとされる重篤な肝機能障害、劇症肝炎の報告がある。一方、第二世代 (イミノ糖型) の miglitol は小腸上部で吸収されるので低血糖のリスクは少ないが、肝炎のリスクがあるので肝臓への負担の少ない薬剤が求

Fig. 1. Ligand Poses Extracted from Top 10 Docking Models Ranked by IFDscore

(a) D-Isfagomine (18); (b) D-4-*epi*-Isfagomine (24); (c) D-3-*epi*-Isfagomine (23); (d) D-3,4-di-*epi*-Isfagomine (25).

Fig. 2. Sugar Mimics and Antidiabetic α -Glucosidase Inhibitors Scheme 8. Synthesis of α -1-C-Alkyliminofuranoses

められているなどまだいくつかの課題がある現状である。構造式からみるとカルバ糖はアノマー位にアミノ置換基を有しており、イミノ糖 (miglitol) のアノマー位はデオキシ体でアミノ基に置換基を有している。しかしながら、N 位アルキル置換基は窒素基の速い反転のため立体配座的には安定ではない。一方、アノマー位アルキル置換基は立体配座は固定化され、不安定な *N,O*-アセタール基の安定置換基とみなすこともできる。これまでに、C1 位にアルキル基が置換したイミノピラノース (ピペリジン) 型のイミノ糖グリコシドミミックとして多く合成されている。しかしながら、C1 位にアルキル基が置換したイミノフラノース (ピロリジン) 型の合成は少なく、しかも L 型糖の研究はほとんどなされていない現状であった (Fig. 2)。

そこで、C1 位にアルキル基が置換したフラノース型イミノ糖の両エナンチオマーの触媒的不斉合成法の開発を企画した。Trost が開発した不斉アリル位アミノ化反応を 2 回用いて合成中間体ビスクロピロリジン体 D-26 を入手した。次に、鍵反応の根岸カップリングでアルキル側鎖を導入後酸化、加水分解を経て目的の α -1-C-alkyl-D-arabinofuranose D-28 を合成した (Scheme 8)。同様に、L-26 から α -1-C-alkyl-L-arabinofuranose L-28 の合成に成功した。⁴⁵⁾

両エナンチオマーを合成したので、 α -グリコシダーゼ阻害活性を行ったところ、意外にもより強い酵素阻害活性を示すのは D 型ではなく L 型誘導体であることを見出した (Table 5)。

そこで C1 位に種々のアルキル基側鎖の誘導体のライブラリー構築を行い構造活性相関研究をしたと

Fig. 3. Alkylated Iminosugars

Table 5. Inhibitory Activities of Intestinal Glucosidases for 1 and Concentration of **28** for Achieving 50% Inhibition of Rat Intestinal Glycosidases¹⁶⁾

Substrate	IC ₅₀ (μ M)		
	Maltase ^a	Isomaltase ^a	Sucrase ^a
28c	0.2	4.7	0.032
<i>ent</i> - 28c	NI	NI	392
28g	0.32	75	0.45
<i>ent</i> - 28g	500	NI	590

^a From rat intestine. NI: No inhibition (less than 50% inhibition at 1000 μ M).

ころ、*n*-ブチル基を持つ L 型アラビノイミノフラノース誘導体 (α -1-C-butyl-LAB) は、ラットの小腸由来の α -グリコシダーゼ阻害活性において、既存の臨床薬 acarbose, voglibose, miglitol と同等以上、特にスクラーゼに対しては一桁以上の強力な阻害活性を示した (Fig. 3 and Table 6).⁴⁶⁾

また、 α -1-C-butyl-LAB **28c** は、miglitol とは異なり、腹部膨満感や下痢などの副作用発現の原因となるラクタマーゼ阻害活性を示さなかった。さらに、miglitol の副作用に起因となる肝臓内の糖タンパク質の糖鎖プロセッシングの阻害活性を HepG2 細胞で MALDI-TOF 質量分析で解析したところ、**28c** は miglitol とは違い細胞表面の糖鎖を改変しない極めてよい選択的阻害剤であることが判明した。

また、ddy 系雄性マウスを用いた糖負荷試験においても本化合物投与群は、陽性対照である miglitol の約 1/10 量で食後過血糖を有意に抑制した。

以上の結果から、本化合物 **28c** は、より低濃度で高血糖を抑えるとともに、副作用発生リスクの少ない次世代型食後過血糖改善薬となり得ると考えられ

Table 6. IC₅₀ Values (μ M) for α -1-C-Alkyl-LAB against Intestinal α -Glucosidases, Compared with α -1-C-Alkyl-DNJ, Acarbose, Voglibose, and Miglitol

Compounds	IC ₅₀ (μ M)		
	Maltase	Isomaltase	Sucrase
α -1-C-Ethyl-LAB (28a)	2.6	11	0.68
α -1-C-Propyl-LAB (28b)	1.7	47	0.26
α -1-C-Butyl-LAB (28c)	0.13	4.7	0.032
α -1-C-Pentyl-LAB (28d)	0.71	18	0.19
α -1-C-Hexyl-LAB (28e)	0.51	11	0.11
α -1-C-Heptyl-LAB (28f)	0.38	16	0.24
α -1-C-Octyl-LAB (28g)	0.32	75	0.45
α -1-C-Nonyl-LAB (28h)	0.84	171	1.4
α -1-C-Decyl-LAB (28i)	1.2	606	1.7
α -1-C-Undecyl-LAB (28j)	3.9	NI	13
α -1-C-(4-Phenylbutyl)-LAB (28k)	0.22	14	0.31
α -1-C-(4-Methylpentyl)-LAB (28l)	0.19	12	0.24
LAB (29)	0.93	0.36	1.0
N-butyl-LAB (30)	63	54	73
N-butyl-DNJ (31)	2.1	2.7	58
α -1-C-Butyl-DNJ (32a)	12	0.45	3.8
α -1-C-Hexyl-DNJ (32b)	4.7	0.31	2.4
α -1-C-Octyl-DNJ (32c)	2.1	0.12	1.5
N-Butyl- α -1-C-butyl-LAB (33)	25	NI	8.8
1,3-C-Dibutyl-LAB (34)	NI	NI	NI
Acarbose	0.18	NI	2.9
Voglibose	0.12	5.2	0.37
Miglitol	1.3	39	1.0

NI: No inhibition (less than 50% inhibition at 1000 μ M).

る。

7. 結論

生体重要成分ミミック体に的を絞って、化学合成を武器に創薬科学研究を展開した。特に、これまで

にほとんど未知であった L 型イミノ糖の生物機能研究を実現し、糖尿病治療薬として極めて有望なグルコシダーゼ阻害剤を見い出すことができた。さらに、糖尿病と診断されていない耐糖能異常の糖尿病予備軍の人にも α -グルコシダーゼ阻害薬が有効であるという研究が報告されており、今後予防薬の観点からの新展開も期待される。

様々な生命現象に係わる生体分子の機能を構造的基盤に基づいて解明することは、現在の有機化学の重要な課題であり、この分野の発展に貢献することができたと考えている。

謝辞 本研究の大部分は東北薬科大学薬学部分子薬教室化学教室で行われたものであり、教室員及び数多くの大学院生と学部卒論生の献身的な研究なくしては遂行できませんでした。ここに深く感謝いたします。最後に、これまで私を励まし続けてくださった恩師故山崎高應富山医科薬科大学名誉教授に深く感謝いたします。

REFERENCES

- 1) Yoshimura Y., Asami K., Matsui H., Tanaka H., Takahata H., *Org. Lett.*, **8**, 6015–6018 (2006).
- 2) Yoshimura Y., Kuze T., Ueno M., Komiya F., Haraguchi K., Tanaka H., Kano F., Yamada K., Asami K., Kaneko N., Takahata H., *Tetrahedron Lett.*, **47**, 591–594 (2006).
- 3) Yoshimura Y., Yamazaki Y., Kawahata M., Yamaguchi K., Takahata H., *Tetrahedron Lett.*, **48**, 4519–4522 (2007).
- 4) Yoshimura Y., Yamazaki Y., Wachi K., Satoh S., Takahata H., *Synlett*, 111–114 (2007).
- 5) Yoshimura Y., Ohta M., Imahori T., Imamichi T., Takahata H., *Org. Lett.*, **10**, 3449–3452 (2008).
- 6) Yoshimura Y., Yamazaki Y., Saito Y., Takahata H., *Tetrahedron*, **65**, 9091–9102 (2009).
- 7) Yoshimura Y., Asami K., Imamichi T., Kuroda T., Shiraki K., Takahata H., *J. Org. Chem.*, **75**, 4161–4171 (2010).
- 8) Yoshimura Y., Yamazaki Y., Saito Y., Natori Y., Imamichi T., Takahata H., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **21**, 3313–3316 (2011).
- 9) Yoshimura Y., Kan-no H., Kiran Y. B., Natori Y., Saito Y., Takahata H., *Synthesis*, **44**, 1163–1170 (2012).
- 10) Yoshimura Y., Takahata H., *Yuki Gosei Kagaku Kyokai Shi*, **67**, 798–808 (2009).
- 11) Ouchi H., Saito Y., Yamamoto Y., Takahata H., *Org. Lett.*, **4**, 585–587 (2002).
- 12) Takahata H., Shimizu M., *Amino Acids*, **24**, 267–272 (2003).
- 13) Kuraishi Y., Iida Y., Zhang H.-W., Uehara S., Nojima H., Murata J., Saiki I., Takahata H., Ouchi H., *Biol. Pharm. Bull.*, **26**, 550–552 (2003).
- 14) Shimizu M., Nemoto H., Kakuda H., Takahata H., *Heterocycles*, **9**, 245–255 (2003).
- 15) Ouchi H., Kumagai M., Sakurada S., Takahata H., *Heterocycles*, **64**, 505–514 (2004).
- 16) Saito Y., Yamaki T., Kohashi F., Watanabe T., Ouchi H., Takahata H., *Tetrahedron Lett.*, **46**, 1277–1279 (2005).
- 17) Saito Y., Ouchi H., Takahata H., *Tetrahedron*, **62**, 11599–11607 (2006).
- 18) Saito Y., Watanabe T., Takahata H., *Tetrahedron Lett.*, **47**, 3099–3102 (2006).
- 19) Saito Y., Shinkai T., Yoshimura Y., Takahata H., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **17**, 5894–5896 (2007).
- 20) Saito Y., Ouchi H., Takahata H., *Tetrahedron*, **64**, 11129–11135 (2008).
- 21) Sasaki A., Serizawa K., Andoh T., Shiraki K., Takahata H., Kuraishi Y., *J. Pharmacol. Sci.*, **108**, 266–273 (2008).
- 22) Omori Y., Kagaya K., Enomoto R., Sasaki A., Andoh T., Nojima H., Takahata H., Kuraishi Y., *J. Pharmacol. Sci.*, **109**, 532–539 (2009).
- 23) Saito Y., Yoshimura Y., Takahata H., *Tetrahedron Lett.*, **51**, 6915–6917 (2010).
- 24) Saito Y., Yoshimura Y., Wakamatsu H., Takahata H., *Molecules*, **18**, 1162–1173 (2013).
- 25) “Iminosugars—From Synthesis to Therapeutic Applications,” eds. by Compain P., Martin O. R., John Wiley & Sons Ltd., Chichester, 2007, pp. 1–467.
- 26) Inoue S., Tsuruoka T., Ito T., Niida T., *Tetrahedron*, **24**, 2125–2144 (1968).
- 27) Yagi M., Kouno T., Aoyagi Y., Murai H., *Nippon Nogei Kagaku Kaishi*, **50**, 571–572 (1976).
- 28) Koyama M., Sakamura S., *Agric. Biol.*

- Chem.*, **38**, 1111–1112 (1974).
- 29) Banba Y., Abe C., Nemoto H., Kato A., Adachi I., Takahata H., *Tetrahedron: Asymmetry*, **12**, 817–819 (2001).
- 30) Takahata H., Banba Y., Ouchi H., Nemoto H., Kato A., Adachi I., *J. Org. Chem.*, **68**, 3603–3607 (2003).
- 31) Takahata H., *Heterocycles*, **85**, 1351–1376 (2012).
- 32) Kato A., Miyauchi S., Kato N., Nash R. J., Yoshimura Y., Nakagome I., Hirono S., Takahata H., Adachi I., *Bioorg. Med. Chem.*, **19**, 3558–3568 (2011).
- 33) Takahata H., Banba Y., Ouchi H., Nemoto H., *Org. Lett.*, **5**, 2527–2529 (2003).
- 34) Takahata H., Banba Y., Sasatani M., Nemoto H., Kato A., Adachi I., *Tetrahedron*, **60**, 8199–8205 (2004).
- 35) Kato A., Kato N., Kano E., Adachi I., Ikeda K., Yu L., Okamoto T., Banba Y., Ouchi H., Takahata H., Asano N., *J. Med. Chem.*, **48**, 2036–2044 (2005).
- 36) Asano N., Ikeda K., Yu L., Kato A., Takebayashi K., Adachi I., Kato I., Ouchi H., Takahata H., Feet G. W. J., *Tetrahedron: Asymmetry*, **16**, 223–229 (2005).
- 37) Jespersen T. M., Dong W., Sierks M. R., Skrydstrup T., Lundt I., Bols M., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **33**, 1778–1779 (1994).
- 38) Ouchi H., Mihara Y., Watanabe H., Takahata H., *Tetrahedron Lett.*, **45**, 7053–7056 (2004).
- 39) Ouchi H., Mihara Y., Takahata H., *J. Org. Chem.*, **70**, 5207–5214 (2005).
- 40) Imahori T., Ojima H., Tateyama H., Mihara Y., Takahata H., *Tetrahedron Lett.*, **49**, 265–268 (2008).
- 41) Imahori T., Ojima H., Yoshimura Y., Takahata H., *Chem. Eur. J.*, **14**, 10762–10771 (2008).
- 42) Mihara Y., Ojima H., Imahori T., Yoshimura Y., Ouchi H., Takahata H., *Heterocycles*, **72**, 633–645 (2007).
- 43) Lieberman R. L., Wustman B. A., Huertas P., Powe A. C. Jr., Pine C. W., Khanna R., Schlossmacher M. G., Ringe D., Petsko G. A., *Nat. Chem. Biol.*, **3**, 101–107 (2007).
- 44) Taguchi T., Imahori T., Yoshimura Y., Kato A., Adachi I., Kawahata M., Yamaguchi K., Takahata H., *Heterocycles*, **84**, 929–944 (2012).
- 45) Natori Y., Imahori T., Murakami K., Yoshimura Y., Nakagawa S., Kato A., Adachi I., Takahata H., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **21**, 738–741 (2011).
- 46) Kato A., Hayashi E., Miyauchi S., Adachi I., Imahori T., Natori Y., Yoshimura Y., Nash R. J., Shimaoka H., Nakagome I., Koseki J., Hirono S., Takahata H., *J. Med. Chem.*, **55**, 10347–10362 (2012).