

氏 名 オカキ トオル
岡城 徹

学位の種類 博士(工学)

学位記番号 富生命博甲第62号

学位授与年月日 平成26年3月21日

専攻名 先端ナノ・バイオ科学専攻

学位授与の要件 富山大学学位規則第3条第3項該当

学位論文題目 グリコシダーゼ阻害活性を有するイミノ糖の合成と活性評価

論文審査委員

(主査) 教授 豊岡 尚樹
教授 阿部 仁
教授 平井 美朗

学位論文内容要旨

イミノ糖は、単糖のヘテロ環内酸素原子を窒素原子で置換したイミノシクリトールの総称であり、糖類と類似した構造をもつ。この擬態化された構造はグリコシダーゼの基質認識と深い関わりがあり、対応するグリコシダーゼを強力に阻害することが知られている。例えば、 α -D-グルコースと高い相同性を示す 1-deoxynojirimycin は、 α -グルコシダーゼを強力に阻害し、その N-ヒドロキシエチル体(ミグリトール)は、現在、経口糖尿病治療薬として臨床利用されている。このような背景から、近年、天然物化学の分野においても、単糖類に類似した構造を持つアルカロイド類の合成研究が盛んに行われている。

Batzellaside 類 (Figure 1) は、2005 年に Crews ら^[1]によりマダガスカル島西海岸に生息している海綿 *Batzella.sp* から単離されたイミノ糖骨格を有するアルカロイドである。1960 年代に Nojirimycin が単離されて以来、陸上の植物や微生物から様々なイミノ糖が発見されているが、Batzellaside 類は海洋生物から得られたイミノ糖の最初の例として興味深い化合物である。

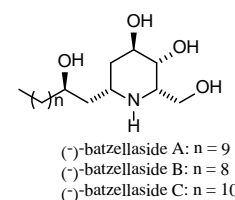


Figure 1. Structure of Batzellaside A, B, and C

(+)-Batzellaside B の最初の全合成は 2011 年に依田等のグループ^{[2],[3]}により達成され、Batzellaside B の 6 位側鎖上ヒドロキシ基の相対配置および絶対配置が決定された。

Batzellaside 類は、イミノ糖構造を有していることから各種グリコシダーゼを酵素選択的に阻害することが期待されるが、Crews らが Batzellaside 類を単離した際、*Staphylococcus epidermidis* の増殖阻害作用を報告している他に報告例はなく、加えて天然からの供給量が微量であることから、生物活性試験は一向に進んでいない。

そこで著者は、Batzellaside 類のより効率的な合成経路による全合成を検討した。その結果 Tri-O-benzyl-D-glucal から 1 工程で得られる既知ラクトンより 13 工程、総収率 12.6%, 13.2%, 13.8% で (-)-Batzellaside A, B, C の全合成を達成した。また、Batzellaside 類およびエピマーの各種グリコシダーゼ阻害活性評価を検討したところ、Batzellaside A が β -galactosidase に対して中程度の阻害活性を示すことが判明した^[4]。

天然では、糖は D 体としてほとんど存在しており、グルコースやガラクトースのような D 糖を擬態したグリコシダーゼ阻害に基づく創薬デザイン研究は盛んに行われてきた。その一方で、L 糖である L-フコースや L-ラムノースのような L 糖の糖代謝酵素に関する創薬研究は圧倒的に少ないのが現状である。

著者らが注目した L-フコースは生体内では糖鎖上 sialyl Lewis X 抗原などに存在し、炎症やがんなど様々な疾病と関連をもつことが知られている。 α -L-フコシダーゼは、糖タンパクや糖脂質上の

L-フコースとガラクトースまたは、*N*-アセチルグルコサミンとの α 結合を切断する酵素であるが、この糖代謝酵素の欠損が原因で引き起こされる疾病にフコシドーシスが挙げられる。フコシドーシスとは、遺伝子変異により、 α -L-フコシダーゼが欠損し、本来分解される L-フコースを含んだ糖タンパクや糖脂質が蓄積することで、中枢神経障害を始めとした重篤な症状を引き起こす難病であるが、現在効果的治療薬は皆無である。著者は、グリコシダーゼ阻害剤がライソゾーム蓄積症治療薬として有効であるという報告例に着目し、 α -L-フコシダーゼ阻害剤は、フコシドーシスに対する薬理的シヤペロン療法を担う医薬品となり得る可能性があると考えた。加えて近年、がん細胞が細胞外マトリックスを形成する複合糖質を分解し、組織へ浸潤を開始する際に α -L-フコシダーゼが用いられていること、また、細菌細胞壁の強度維持に関与していることが報告されていることから、 α -L-フコシダーゼ阻害剤は、がん細胞の組織浸潤を防ぐ効果や抗菌薬としても期待される。

このような背景のもと、著者らは L-フコースと類似構造を有し、アルキル基とベンゼン環を導入した新規フコシダーゼ阻害剤の創製を行った。

L-アラニンを出発物質として、数工程にてアリル中間体を立体選択的に合成し、このアリル基を足がかりとし、誘導体化、脱保護を行い、18 種のイミノ糖誘導体を合成した。得られたイミノ糖誘導体に対し、 α -L-フコシダーゼ阻害活性を測定した。その結果、Trichloro 体の IC_{50} 値は 5.0 nM (bovine kidney 由来) を示し、強力な既存の阻害剤である DFJ (IC_{50} 値:89 nM) と比べ、18 倍強力な α -L-フコシダーゼ阻害活性が認められた。また、Trichloro 体の酵素選択性を検証した結果、 β -ガラクトシダーゼに対し非常に弱い阻害活性を示すものの、 α -L-フコシダーゼに対し酵素選択的に阻害作用を示すことが判明した^[5]。

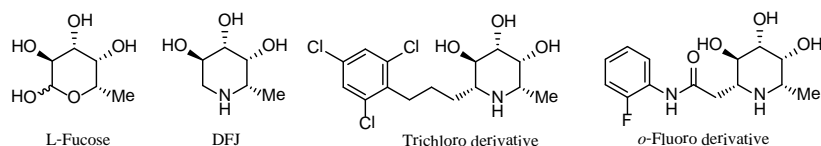


Figure 2. Structure of L-Fucose and iminosugar derivatives

さらなる構造活性相関研究の一環として、アミド型イミノ糖誘導体の合成を試みた。同様の合成経路で *N*-Cbz アリル体を合成し、Lemieux-Johnson 酸化、Pinnick 酸化により共通中間体であるカルボン酸を合成し、アミンとの縮合反応、脱保護を行うことで、14 種のアミド型イミノ糖誘導体を合成した。得られたアミド型イミノ糖誘導体に対し、 α -L-フコシダーゼ阻害活性を測定した。その結果、*o*-Fluoro 体は、 IC_{50} 値 7.9 nM (human lysosome 由来)、12 nM (bovine kidney 由来) の強力な α -L-フコシダーゼ阻害活性を示すことが判明した。また *o*-Fluoro 体の酵素選択性を検証した結果、 β -ガラクトシダーゼを始めとする各種グリコシダーゼに対する阻害作用は認められず、 α -L-フコシダーゼに対し酵素選択的に阻害作用を示した^[6]。

References

- [1] Crews, P.; Segraves, N.L. *J. Nat. Prod.* **2005**, *68*, 118.

[2] Wierzejska, J.; Ohshima, M.; Inuzuka, T.; Sengoku, T.; Takahashi, M.; Yoda, H. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 1173-1175.

[3] Wierzejska, J.; Motogoe, S.; Makino, Y.; Sengoku, T.; Takahashi, M.; Yoda, H. *Beilstein J. Org. Chem.* **2012**, *8*, 1831-1838.

[4] Okaki, T.; Fujimura, R.; Sekiguchi, M.; Zhou, D.; Sugimoto, K.; Minato, D.; Matsuya, Y.; Kato, A.; Adachi, I.; Tezuka, Y.; Saporito, R. A.; Toyooka, N. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, *14*, 2841–2848

[5] Saka, T.; Okaki, T.; Ifuku, S.; Yamashita, Y.; Sato, K.; Miyawaki, S.; Kamori, A.; Kato, A.; Adachi, I.; Tezuka, Y.; Kiria, P. G.; Onomura, O.; Minato, D.; Sugimoto, K.; Matsuya, Y.; Toyooka, N. *Tetrahedron* **2013**, *69*, 10653-10661

[6] Kato, A.; Okaki, T.; Ifuku, S.; Sato, K.; Hirokami, Y.; Iwaki, R.; Kamori, A.; Nakagawa, S.; Adachi, I.; Kiria, P. G.; Onomura, O.; Minato, D.; Sugimoto, K.; Matsuya, Y.; Toyooka, N. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 6565–6573

博士学位論文審査結果の要旨

岡城 徹氏はマダガスカル島西海岸に生息する海綿から単離された海洋天然物である Batzellaside A, B, C の効率的全合成を達成した。さらに, Batzellaside A が β -galactosidase に対して中程度の阻害活性を示すことを明らかにした。また, L-フコースの構造を擬態した2種類のイミノ糖誘導体をデザインし, それぞれ18種および14種の誘導体を合成した。これら誘導体の α -L-fucosidase に対する阻害活性評価を検討したところ, それぞれの誘導体において極めて強力な阻害剤を見出した。 α -L-fucosidase 阻害剤は難病であるフコシドーシスに対する薬理的シャペロン療法を担う医薬品となり得る可能性を秘めており, 本誘導体がこれら医薬品開発におけるリード化合物として有望であることを示した。

以上の結果は, 博士学位論文として十分な内容を含むものと考えられる。