

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2013-255442

(P2013-255442A)

(43) 公開日 平成25年12月26日(2013.12.26)

(51) Int.Cl.

C12N 9/99 (2006.01)

F1

C12N 9/99

テーマコード (参考)

審査請求 未請求 請求項の数 9 O L (全 25 頁)

(21) 出願番号	特願2012-132385 (P2012-132385)	(71) 出願人	508353271
(22) 出願日	平成24年6月11日 (2012.6.11)		阿部 二期
特許法第30条第2項適用申請有り	平成24年5月15日発行、高分子学会予稿集(61巻1号[2012]、社団法人 高分子学会)、1749頁	(71) 出願人	591045677
			関東化学株式会社
		(74) 代理人	100102842
			弁理士 葛和 清司
		(72) 発明者	辻本 恭
			東京都町田市成瀬が丘3-5-11-203
		(72) 発明者	阿部 二期
			神奈川県川崎市多摩区寺尾台1-9-13

(54) 【発明の名称】 酵素阻害剤

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】光に応答して酵素阻害活性を可逆的に変化させることができる化合物、該化合物を含む酵素阻害剤、該阻害剤を用いた酵素基質反応の調節方法の提供。

【解決手段】酵素阻害剤の活性部位と、該部位のアミノ基と分子内水素結合あるいは静電相互作用により相互を束縛できるカルボキシル基を導入した光応答部位とで形成するフォトクロミック化合物であれば広範な阻害活性部位に導入して様々な可逆的光応答性酵素阻害化合物とする。

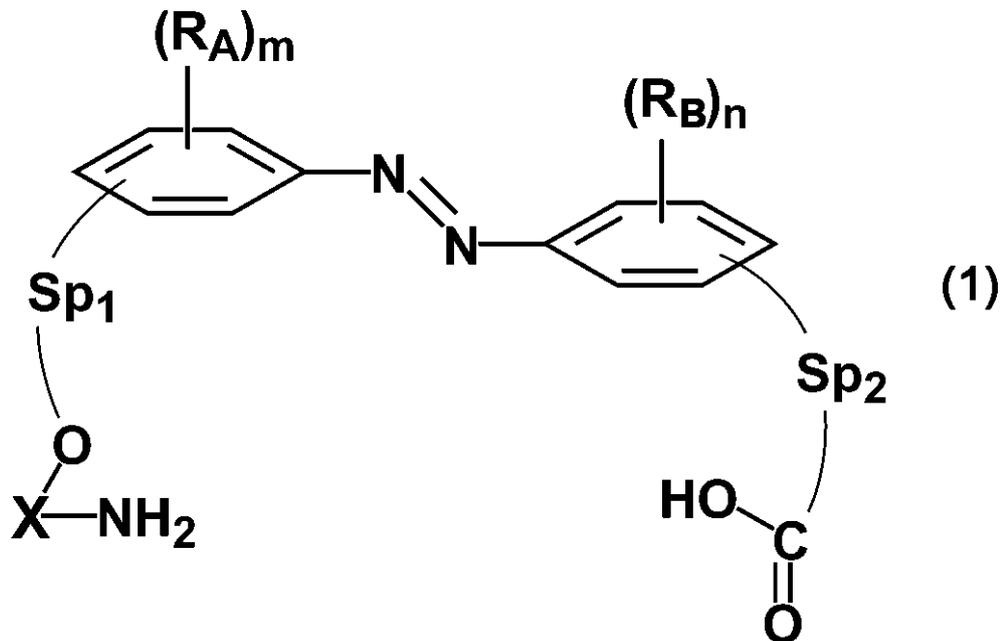
【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

下記一般式 (1)

【化 1】



10

20

式中、 $X-NH_2$ は、アミノ基を有する阻害活性部位であり、

Sp_1 は、原子数 k が 1 ~ 10 であるスペーサー基であり、

Sp_2 は、原子数 l が 1 ~ 10 であるスペーサー基であり、

ここで $k + l$ は、8 ~ 20 であり、

スペーサー基 Sp_1 および Sp_2 中に存在する水素原子は、互いに独立して 1 または 2 以上の置換基 R_x によって置換されていてもよく、

R_x は、互いに独立して同一または異なり、酸素原子、硫黄原子、ハロゲン原子、ニトロ基、シアノ基、トリフルオロメチル基、ヒドロキシ基、チオール基、アミノ基、ジフェニルアミノ基およびカルバゾール基、炭素数 1 ~ 20 の直鎖状または分枝状のアルキル基、アルキルアミノ基およびアルコキシ基、ならびに $-Y_1-SiZ_1Z_2Z_3$ 基、 $-Y_1-SiY_2Z_1Z_2$ 基および $-Y_1-SiY_2Y_3Z_1$ 基（ここで、 $Y_1 \sim Y_3$ は、それぞれ互いに独立して同一または異なり、炭素数 1 ~ 20 の直鎖状または分枝状のアルキル基またはアルキレン基を表し、 $Z_1 \sim Z_3$ は、それぞれ互いに独立して同一または異なり、水素原子、ハロゲン原子または炭素数 1 ~ 8 の直鎖状もしくは分枝状のアルコキシ基を表す）からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上の置換基であり、また、2 以上の R_x が一緒になって環状構造を形成してもよく、

m および n は、それぞれ互いに独立して 0 ~ 4 の整数であり、

置換基 R_A は、ハロゲン原子、ニトロ基、シアノ基、トリフルオロメチル基、ヒドロキシ基、チオール基、アミノ基、ジフェニルアミノ基、カルバゾール基、炭素数 1 ~ 20 の直鎖状または分枝状の、アルキル基、アルキルアミノ基およびアルコキシ基、ならびに $-Y_1-SiZ_1Z_2Z_3$ 基、 $-Y_1-SiY_2Z_1Z_2$ 基および $-Y_1-SiY_2Y_3Z_1$ 基（ここで、 $Y_1 \sim Y_3$ は、それぞれ互いに独立して同一または異なり、炭素数 1 ~ 20 の直鎖状または分枝状の、アルキル基またはアルキレン基を表し、 $Z_1 \sim Z_3$ は、それぞれ互いに独立して同一または異なり、水素原子、ハロゲン原子または炭素数 1 ~ 8 の直鎖状もしくは分枝状のアルコキシ基を表す）、からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上の置換基であり、複数存在する場合には互いに独立して同一または異なってもよく、

30

40

50

置換基 R_B は置換基 R_A と同一の意味を有する、
で表される化合物を含む、酵素阻害剤。

【請求項 2】

紫外線への曝露に応答して不活性型に変化し、可視光への曝露または加熱により活性型に変化することを特徴とする、請求項 1 に記載の酵素阻害剤。

【請求項 3】

阻害活性部位が、アミノ糖である、請求項 1 または 2 に記載の酵素阻害剤。

【請求項 4】

k が、7 であり、 l が、1 である請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の酵素阻害剤。

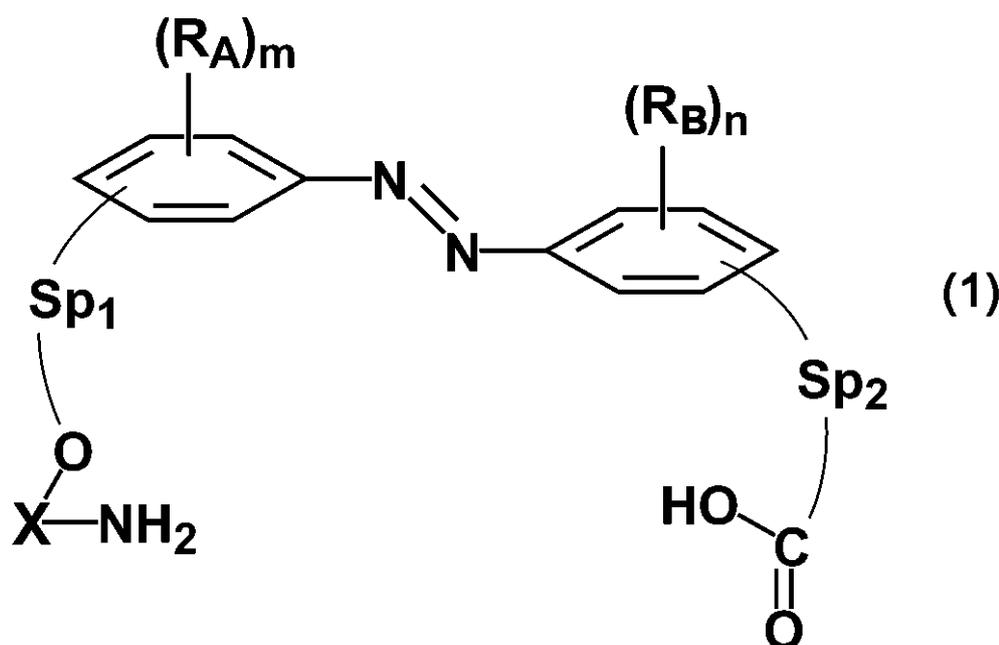
【請求項 5】

酵素が、 α -グルコシターゼである請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の酵素阻害剤。

【請求項 6】

下記一般式 (1)

【化 2】



式中、 $X-NH_2$ はアミノ糖であり、

Sp_1 は、原子数 k が 7 であるスペーサー基であり、

Sp_2 は、原子数 l が 1 であるスペーサー基であり、

スペーサー基 Sp_1 および Sp_2 中に存在する水素原子は、互いに独立して 1 または 2 以上の置換基 R_x によって置換されていてもよく、

R_x は、互いに独立して同一または異なり、酸素原子、硫黄原子、ハロゲン原子、ニトロ基、シアノ基、トリフルオロメチル基、ヒドロキシル基、チオール基、アミノ基、ジフェニルアミノ基およびカルバゾール基、炭素数 1 ~ 20 の直鎖状または分枝状のアルキル基、アルキルアミノ基およびアルコキシ基、ならびに $-Y_1-SiZ_1Z_2Z_3$ 基、 $-Y_1-SiY_2Z_1Z_2$ 基および $-Y_1-SiY_2Y_3Z_1$ 基 (ここで、 $Y_1 \sim Y_3$ は、それぞれ互いに独立して同一または異なり、炭素数 1 ~ 20 の直鎖状または分枝状のアルキル基またはアルキレン基を表し、 $Z_1 \sim Z_3$ は、それぞれ互いに独立して同一または異なり、水素原子、ハロゲン原子または炭素数 1 ~ 8 の直鎖状もしくは分枝状のアルコキシ基を表す) からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上の置換基であり、また、2 以上の R_x が一緒になって環状構造を形成してもよく、

m および n は、それぞれ互いに独立して 0 ~ 4 の整数であり、

10

20

30

40

50

置換基 R_A は、ハロゲン原子、ニトロ基、シアノ基、トリフルオロメチル基、ヒドロキシル基、チオール基、アミノ基、ジフェニルアミノ基、カルバゾール基、炭素数 1 ~ 20 の直鎖状または分枝状の、アルキル基、アルキルアミノ基およびアルコキシ基、ならびに $-Y_1-SiZ_1Z_2Z_3$ 基、 $-Y_1-SiY_2Z_1Z_2$ 基および $-Y_1-SiY_2Y_3Z_1$ 基（ここで、 $Y_1 \sim Y_3$ は、それぞれ互いに独立して同一または異なり、炭素数 1 ~ 20 の直鎖状または分枝状の、アルキル基またはアルキレン基を表し、 $Z_1 \sim Z_3$ は、それぞれ互いに独立して同一または異なり、水素原子、ハロゲン原子または炭素数 1 ~ 8 の直鎖状もしくは分枝状のアルコキシ基を表す）、からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上の置換基であり、複数存在する場合には互いに独立して同一または異なってもよく、置換基 R_B は置換基 R_A と同一の意味を有する、
で表される化合物。

10

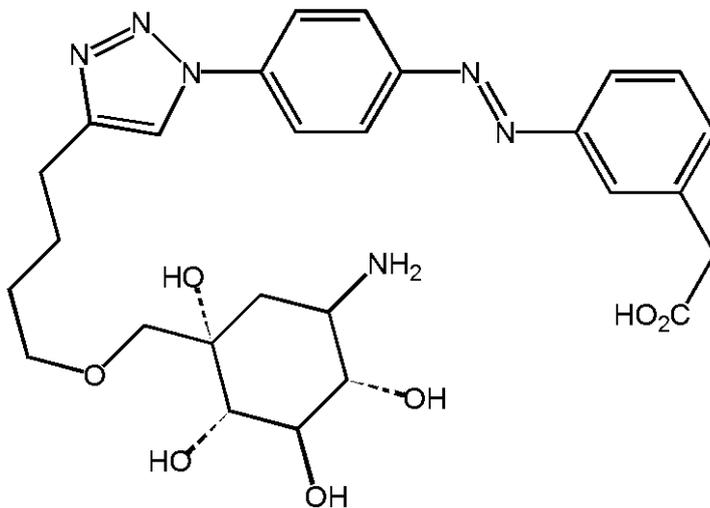
【請求項 7】

アミノ糖が、バリオールアミンである、請求項 6 に記載の化合物。

【請求項 8】

以下の式

【化 3】



20

30

で表される、請求項 6 または 7 に記載の化合物。

【請求項 9】

酵素、該酵素の基質、および該酵素の阻害活性を有する阻害活性部位 $X-NH_2$ を含む請求項 1 ~ 5 に記載の阻害剤を接触させること、および前記阻害剤に紫外線および/または可視光を照射することを含む、酵素基質反応の調節方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、光に応答して阻害活性を可逆的に変化させることが出来る化合物、該化合物を含む酵素阻害剤、該阻害剤を用いた酵素反応の調節方法に関する。

40

【背景技術】

【0002】

酵素は、生体反応において触媒として作用するタンパク質であり、生命活動のあらゆる過程に関与しており、生物が生命活動を維持するために欠かせないものである。生体内において多くの生体反応は、酵素タンパク質をコードする遺伝子の発現および酵素の活性、不活性の切り替えによって制御されている。このような生体反応において、酵素活性を阻害したり賦活したりする酵素反応を利用して疾病の治療や診断をしたり、医薬品を開発する試みが盛んに行われてきている。

一般に酵素反応を制御するには、反応温度や pH を調整する、または酵素阻害剤を添加するなどといった方法が用いられている。しかし、前者の方法では一般的にタンパク質の

50

変性を伴う不可逆的な酵素の失活が生じてしまう。一方、後者の方法においても、酵素阻害剤は一般的に基質と拮抗するように酵素と結合するものであるため、その阻害活性そのものを失活させない限り酵素反応を可逆的に制御することは困難である。しかし、酵素阻害剤の阻害活性を可逆的に切り替えることができる技術を開発することができれば、酵素反応を可逆的に制御可能となるため、医薬への応用ばかりでなく、生命科学分野の基礎研究などにも広範に利用できることとなる。このような試みは幾つか報告されている。

【0003】

例えば特許文献1には、酵素とフォトクロミック化合物を化学的に結合した化合物が記載されている。該化合物は、酵素に結合したフォトクロミック化合物に抗体を結合させることで、抗体の立体障害により酵素を阻害する。この物質は、光の照射によりフォトクロミック化合物が異性化し、抗体が脱離することで立体障害を取り除き、酵素活性を回復する。非特許文献1には、フォトクロミック化合物の一種であるアゾベンゼンをミトコンドリアNADH-ユビキノ酸化還元酵素阻害剤 lac-アセトゲニンの分子内に導入し、光に応答して活性型と不活性型に可逆変化する阻害剤が記載されている。

10

【0004】

一方、酵素の活性、不活性の切り替えとは直接関係ないが、カリウムイオンチャネルとそのオープンチャネルブロッカーである四級アンモニウムイオンとをアゾベンゼンを含む光応答性部位で連結し、光異性化によってチャネルの開閉を行う光応答性チャネル(非特許文献2)や、四級アンモニウムイオンとアゾベンゼンが連結したオープンチャネルブロッカーにおいて、異性化による立体構造の変化でチャネルブロック能力を変化させること(非特許文献3)なども報告されている。

20

【先行技術文献】

【特許文献】

【0005】

【特許文献1】特許第2507033号公報

【非特許文献】

【0006】

【非特許文献1】Fujita et al., Biochemistry, 2006, 45 (21), pp 6581-6586

【非特許文献2】Fortin et al., Nat Methods. 2008 April; 5(4): 331-338

30

【非特許文献3】Banghart et al., "Photochromic Blockers of Voltage-Gated Potassium Channels", Angew Chem Int Ed Engl. 2009; 48(48): 9097-101

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

酵素はその立体構造に合った基質とのみ結合することにより反応を進行すると考えられており、その基質特異性はしばしば鍵と鍵穴に例えられる。特定の基質と結合する部分を特に基質結合部位、基質が実際に反応する部位を酵素活性部位と呼ぶ。一般的に阻害剤を用いて酵素基質反応を可逆的に制御することが困難なのは、酵素と結合できる限りは無作為に酵素の活性を阻害してしまうので、阻害剤と酵素との結合を制御する何らかのメカニズムを必要とするためである。例えば前掲の非特許文献1では、光応答的な酵素反応の制御を可能にしたことが報告されているが、酵素阻害活性部位の特定構造に類似するフォトクロミック部位を導入した化合物によって光応答性の阻害化合物を形成するものであるため、その製造が容易でなく、汎用性が低いなどの問題がある。本発明者は、医薬品の開発や、生命科学分野の基礎研究などへより容易で広範な利用を可能にするには、酵素阻害剤の活性型と不活性型を可逆的に切り替えることをできるだけ広範な酵素阻害剤に適用できる技術が必要であることに着眼した。すなわち本発明の課題は、かかる着眼点に基づき、光に応答して酵素阻害活性を可逆的に変化させることができる、多様な酵素阻害活性部位を有する化合物、該化合物を含む酵素阻害剤、該阻害剤を用いた酵素基質反応の調節方法を提供することにある。

40

50

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明者らは、前記課題を解決すべく鋭意研究する中で、阻害剤の立体構造の変化によって阻害活性を制御する限りにおいては、そもそも阻害剤の阻害活性部位に光応答性部位を導入しなければならないところ、この導入により立体構造に変化を与えてしまうために阻害活性の維持が困難となり得ること、阻害剤自体が低分子物質である場合には、阻害活性部位と立体構造的に類似する光応答部位を阻害活性部位に導入すること自体がそもそも困難であることなどの問題に直面した。

【0009】

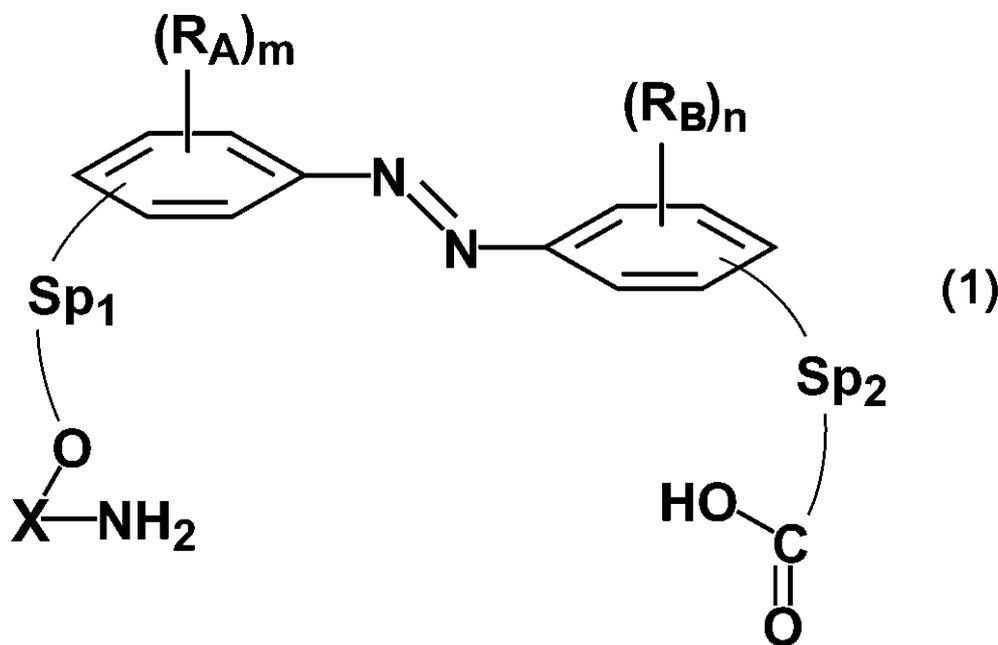
かかる問題の解決のため、酵素阻害剤の活性部位と、該部位のアミノ基と分子内水素結合あるいは静電相互作用により相互を束縛できるカルボキシル基を導入した光応答部位とで形成するフォトクロミック化合物であれば広範な阻害活性部位に導入して様々な可逆的光応答性酵素阻害化合物とすることができることを見出し、さらに研究を進めた結果、本発明を完成させるに至った。

【0010】

すなわち本発明は以下に関する。

[1] 下記一般式(1)

【化1】



式中、 $X-NH_2$ は、アミノ基を有する阻害活性部位であり、
 Sp_1 は、原子数 k が 1 ~ 10 であるスペーサー基であり、
 Sp_2 は、原子数 l が 1 ~ 10 であるスペーサー基であり、
 ここで $k + l$ は、8 ~ 20 であり、

【0011】

スペーサー基 Sp_1 および Sp_2 中に存在する水素原子は、互いに独立して 1 または 2 以上の置換基 R_x によって置換されていてもよく、

R_x は、互いに独立して同一または異なり、酸素原子、硫黄原子、ハロゲン原子、ニトロ基、シアノ基、トリフルオロメチル基、ヒドロキシル基、チオール基、アミノ基、ジフェニルアミノ基およびカルバゾール基、炭素数 1 ~ 20 の直鎖状または分枝状のアルキル基、アルキルアミノ基およびアルコキシ基、ならびに $-Y_1-SiZ_1Z_2Z_3$ 基、 $-Y_1-SiY_2Z_1Z_2$ 基および $-Y_1-SiY_2Y_3Z_1$ 基（ここで、 $Y_1 \sim Y_3$ は、それ

それぞれ互いに独立して同一または異なり、炭素数 1 ~ 20 の直鎖状または分枝状のアルキル基またはアルキレン基を表し、 $Z_1 \sim Z_3$ は、それぞれ互いに独立して同一または異なり、水素原子、ハロゲン原子または炭素数 1 ~ 8 の直鎖状もしくは分枝状のアルコキシ基を表す) からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上の置換基であり、また、2 以上の R_X が一緒になって環状構造を形成してもよく、

【0012】

m および n は、それぞれ互いに独立して 0 ~ 4 の整数であり、

置換基 R_A は、ハロゲン原子、ニトロ基、シアノ基、トリフルオロメチル基、ヒドロキシル基、チオール基、アミノ基、ジフェニルアミノ基、カルバゾール基、炭素数 1 ~ 20 の直鎖状または分枝状の、アルキル基、アルキルアミノ基およびアルコキシ基、ならびに - $Y_1 - Si Z_1 Z_2 Z_3$ 基、- $Y_1 - Si Y_2 Z_1 Z_2$ 基および - $Y_1 - Si Y_2 Y_3 Z_1$ 基 (ここで、 $Y_1 \sim Y_3$ は、それぞれ互いに独立して同一または異なり、炭素数 1 ~ 20 の直鎖状または分枝状の、アルキル基またはアルキレン基を表し、 $Z_1 \sim Z_3$ は、それぞれ互いに独立して同一または異なり、水素原子、ハロゲン原子または炭素数 1 ~ 8 の直鎖状もしくは分枝状のアルコキシ基を表す)、からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上の置換基であり、複数存在する場合には互いに独立して同一または異なってもよく、置換基 R_B は置換基 R_A と同一の意味を有する、
で表される化合物を含む、酵素阻害剤。

10

【0013】

[2] 紫外線への曝露に応答して不活性型に変化し、可視光への曝露または加熱により活性型に変化することを特徴とする、[1] の酵素阻害剤。

20

[3] 阻害活性部位が、アミノ糖である、[1] または [2] の酵素阻害剤。

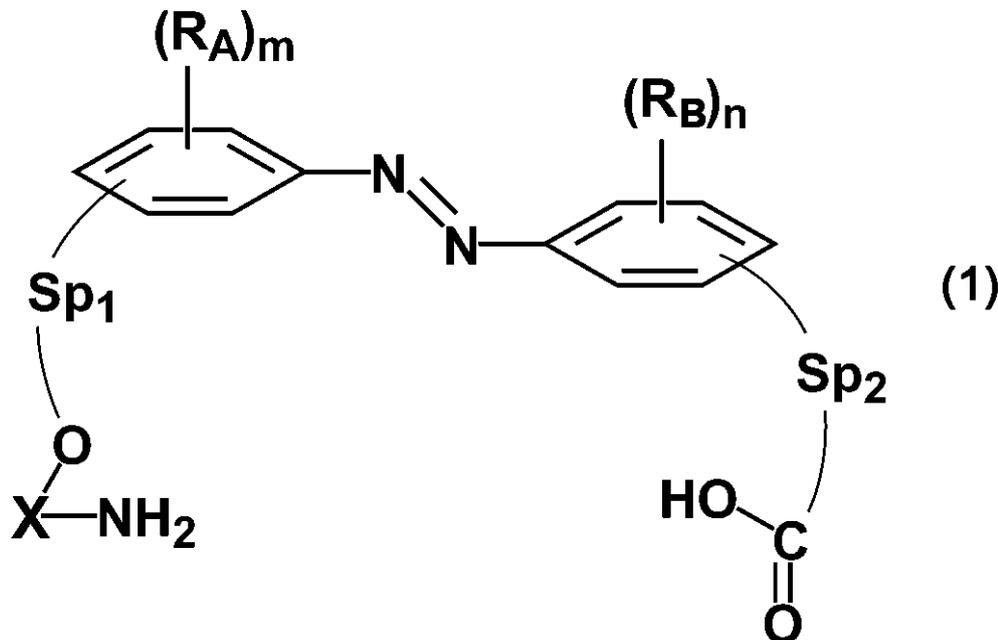
[4] k が、7 であり、 l が、1 である [1] ~ [3] のいずれかの酵素阻害剤。

[5] 酵素が、 α -グルコシターゼである [1] ~ [4] のいずれかの酵素阻害剤。

【0014】

[6] 下記一般式 (1)

【化 2】



30

40

式中、 $X - NH_2$ はアミノ糖であり、

Sp_1 は、原子数 k が 7 であるスペーサー基であり、

Sp_2 は、原子数 l が 1 であるスペーサー基であり、

50

【 0 0 1 5 】

スペーサー基 $S p_1$ および $S p_2$ 中に存在する水素原子は、互いに独立して 1 または 2 以上の置換基 R_x によって置換されていてもよく、

R_x は、互いに独立して同一または異なり、酸素原子、硫黄原子、ハロゲン原子、ニトロ基、シアノ基、トリフルオロメチル基、ヒドロキシル基、チオール基、アミノ基、ジフェニルアミノ基およびカルバゾール基、炭素数 1 ~ 20 の直鎖状または分枝状のアルキル基、アルキルアミノ基およびアルコキシ基、ならびに $-Y_1-SiZ_1Z_2Z_3$ 基、 $-Y_1-SiY_2Z_1Z_2$ 基および $-Y_1-SiY_2Y_3Z_1$ 基（ここで、 $Y_1 \sim Y_3$ は、それぞれ互いに独立して同一または異なり、炭素数 1 ~ 20 の直鎖状または分枝状のアルキル基またはアルキレン基を表し、 $Z_1 \sim Z_3$ は、それぞれ互いに独立して同一または異なり、水素原子、ハロゲン原子または炭素数 1 ~ 8 の直鎖状もしくは分枝状のアルコキシ基を表す）からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上の置換基であり、また、2 以上の R_x が一緒になって環状構造を形成してもよく、

10

【 0 0 1 6 】

m および n は、それぞれ互いに独立して 0 ~ 4 の整数であり、

置換基 R_A は、ハロゲン原子、ニトロ基、シアノ基、トリフルオロメチル基、ヒドロキシル基、チオール基、アミノ基、ジフェニルアミノ基、カルバゾール基、炭素数 1 ~ 20 の直鎖状または分枝状の、アルキル基、アルキルアミノ基およびアルコキシ基、ならびに $-Y_1-SiZ_1Z_2Z_3$ 基、 $-Y_1-SiY_2Z_1Z_2$ 基および $-Y_1-SiY_2Y_3Z_1$ 基（ここで、 $Y_1 \sim Y_3$ は、それぞれ互いに独立して同一または異なり、炭素数 1 ~ 20 の直鎖状または分枝状の、アルキル基またはアルキレン基を表し、 $Z_1 \sim Z_3$ は、それぞれ互いに独立して同一または異なり、水素原子、ハロゲン原子または炭素数 1 ~ 8 の直鎖状もしくは分枝状のアルコキシ基を表す）、からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上の置換基であり、複数存在する場合には互いに独立して同一または異なってもよく、置換基 R_B は置換基 R_A と同一の意味を有する、

20

で表される化合物。

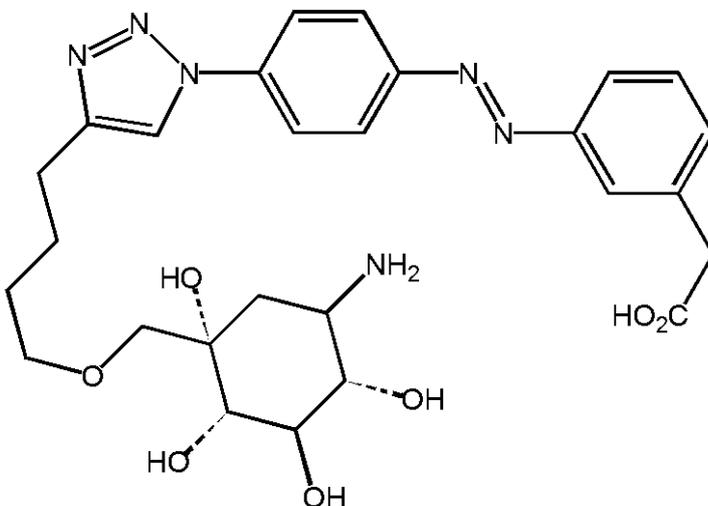
【 0 0 1 7 】

[7] アミノ糖が、バリオールアミンである、[6] の化合物。

[8] 以下の式

【 化 3 】

30



40

で表される、[6] または [7] の化合物。

[9] 酵素、該酵素の基質、および該酵素の阻害活性を有する阻害活性部位 $X-NH_2$ を含む [1] ~ [5] のいずれかの阻害剤を接触させること、および前記阻害剤に紫外線および/または可視光を照射することを含む、酵素基質反応の調節方法。

【 発明の効果 】

【 0 0 1 8 】

50

本発明の化合物は、アミノ基を有する阻害活性部位とカルボキシル基とが光応答性部位であるアゾベンゼン骨格によって連結された構造を有している。アゾベンゼン骨格は紫外線の照射によりシス型に異性化し、可視光の照射や加熱によりトランス型に異性化する性質を有する光応答性部位であり、シス型トランス型の変化により、アゾベンゼンの2つのベンゼン環にそれぞれ結合する置換基同士の距離を変化させることが可能である。本願の化合物は、片方のベンゼン環にアミノ基を有する阻害活性部位を、もう片方のベンゼン環にカルボキシル基を配することにより、アゾベンゼン骨格がシス型になって両基の距離が接近した際、両基が水素結合あるいは静電相互作用により相互を束縛することで、阻害活性部位が失活して不活性型となり、逆にトランス型になって両基の距離が離れた場合は、水素結合を形成できなくなるために阻害活性部位の活性が復活し、活性型となるものである。アミノ基を有する阻害活性部位は、基本的にアミノ基が阻害活性に関与するものであればどのようなものでもよいため、例えばアミノ糖などの既知の阻害性化合物を流用でき、また光応答性部位を阻害性化合物に連結する際には、連結部位を最適に選択することで、阻害性化合物の構造に影響されることなく、また阻害活性を失わせることなく連結することが可能となる。したがって本発明により、アミノ基を有する酵素阻害剤に、光に応答して阻害活性を可逆的に変化するという特性を付与することが可能となり、これにより酵素基質反応を光制御することが可能となる。これは、個々の阻害剤の立体構造に完全に依存していた光制御特性の導入を、「アミノ基を有する阻害剤」というレベルにまで一般化し得た点で非常に有意義である。また本発明の阻害剤により、生体反応を任意の場所および任意のタイミングで阻害することが可能となるため、例えば遺伝子ロックアウトなどでは実現不可能な、時期特異的、部位特異的な機能制御が可能となる。

10

20

30

【図面の簡単な説明】

【0019】

【図1】図1は、PGIおよびそのメチルエステルについて2種の異性体それぞれを酵素活性阻害剤として用いた場合の、(4-ニトロフェニル)-β-D-グルコピラノシドをβ-D-グルコシダーゼで酵素処理した反応液の吸光スペクトルを表す。400nmにおける吸光度が高いほどp-ニトロフェノールの発色が強い、すなわち分解が進行していることを示す。

【0020】

【図2】図2は、(4-ニトロフェニル)-β-D-グルコピラノシドをβ-D-グルコシダーゼで酵素処理する際にPGIを酵素阻害剤として用いて、反応開始後3時間および6時間で光照射を行ったときの、時間と吸光度の関係を表すグラフである。光の照射によって、阻害活性が可逆的に切り替わっていることが分かる。

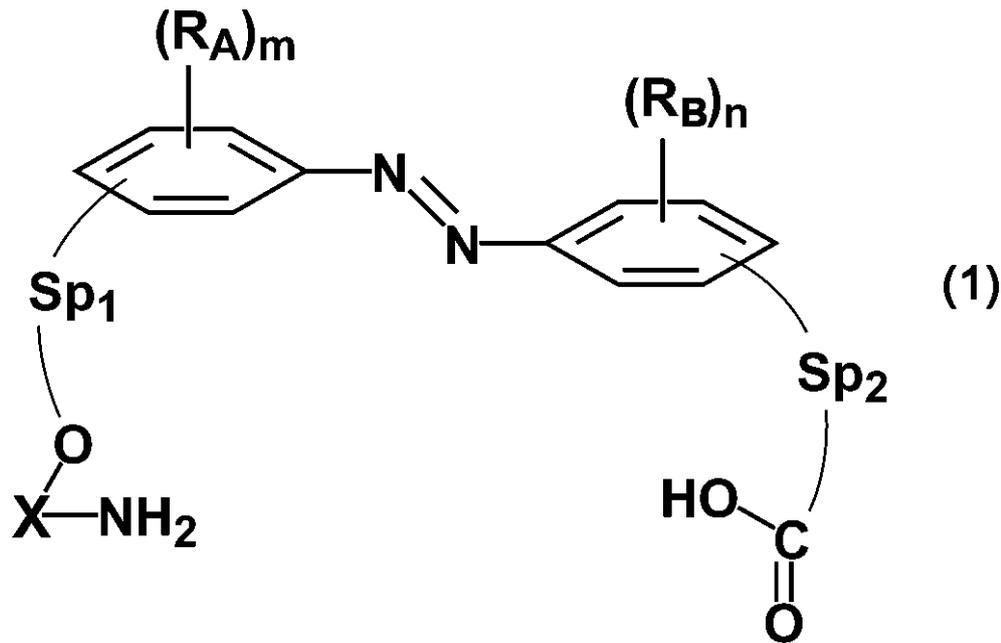
【図3】図3はシス-PGIおよびトランス-PGIの阻害曲線を表す。トランス-PGIと比較して、シス-PGIの半数阻害濃度(IC₅₀)は約1000倍の値を示すことが分かる。

【発明を実施するための形態】

【0021】

本発明は1つの側面において、下記一般式(1)

【化4】



10

20

式中、 $X-NH_2$ は、アミノ基を有する阻害活性部位であり、
 Sp_1 は、原子数 k が 1 ~ 10 であるスペーサー基であり、
 Sp_2 は、原子数 l が 1 ~ 10 であるスペーサー基であり、
 ここで $k + l$ は、8 ~ 20 であり、

【0022】

スペーサー基 Sp_1 および Sp_2 中に存在する水素原子は、互いに独立して 1 または 2 以上の置換基 R_x によって置換されていてもよく、

R_x は、互いに独立して同一または異なり、酸素原子、硫黄原子、ハロゲン原子、ニトロ基、シアノ基、トリフルオロメチル基、ヒドロキシ基、チオール基、アミノ基、ジフェニルアミノ基およびカルバゾール基、炭素数 1 ~ 20 の直鎖状または分枝状のアルキル基、アルキルアミノ基およびアルコキシ基、ならびに $-Y_1-SiZ_1Z_2Z_3$ 基、 $-Y_1-SiY_2Z_1Z_2$ 基および $-Y_1-SiY_2Y_3Z_1$ 基（ここで、 $Y_1 \sim Y_3$ は、それぞれ互いに独立して同一または異なり、炭素数 1 ~ 20 の直鎖状または分枝状のアルキル基またはアルキレン基を表し、 $Z_1 \sim Z_3$ は、それぞれ互いに独立して同一または異なり、水素原子、ハロゲン原子または炭素数 1 ~ 8 の直鎖状もしくは分枝状のアルコキシ基を表す）からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上の置換基であり、また、2 以上の R_x が一緒になって環状構造を形成してもよく、

30

【0023】

m および n は、それぞれ互いに独立して 0 ~ 4 の整数であり、

置換基 R_A は、ハロゲン原子、ニトロ基、シアノ基、トリフルオロメチル基、ヒドロキシ基、チオール基、アミノ基、ジフェニルアミノ基、カルバゾール基、炭素数 1 ~ 20 の直鎖状または分枝状の、アルキル基、アルキルアミノ基およびアルコキシ基、ならびに $-Y_1-SiZ_1Z_2Z_3$ 基、 $-Y_1-SiY_2Z_1Z_2$ 基および $-Y_1-SiY_2Y_3Z_1$ 基（ここで、 $Y_1 \sim Y_3$ は、それぞれ互いに独立して同一または異なり、炭素数 1 ~ 20 の直鎖状または分枝状の、アルキル基またはアルキレン基を表し、 $Z_1 \sim Z_3$ は、それぞれ互いに独立して同一または異なり、水素原子、ハロゲン原子または炭素数 1 ~ 8 の直鎖状もしくは分枝状のアルコキシ基を表す）、からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上の置換基であり、複数存在する場合には互いに独立して同一または異なってもよく、置換基 R_B は置換基 R_A と同一の意味を有する、で表される化合物を含む、酵素阻害剤に関

40

50

する。

【0024】

本発明において、「阻害活性部位」とは、阻害剤として機能する上で必要な部分を意味し、通常は酵素に結合する部分である。阻害活性部位は、必ずしも基質結合部位に結合するものでなくてもよく、例えば基質結合部位ではない部分に結合することで、アロステリック阻害を引き起こすようなものであってもよい。本発明の阻害剤に含まれる化合物は、阻害活性部位にアミノ基を有しており、該アミノ基によって酵素と結合し、酵素活性を阻害する。

【0025】

本発明において、「原子数 x のスペーサー基」とは、 x 個の原子が直鎖状に連結した基であり、それぞれの末端に存在する部位同士の距離を離すために用いられる。スペーサー基として用い得る原子は、直鎖状に連結することが出来る原子であれば何でもよく、これに限定するものではないが、例えば炭素、窒素、酸素、硫黄、ケイ素などが挙げられる。

10

【0026】

また、スペーサー基中に存在する水素原子は、互いに独立して1または2以上の置換基 R_x によって置換されていてよい。置換基 R_x は、酸素原子、硫黄原子、ハロゲン原子、ニトロ基、シアノ基、トリフルオロメチル基、ヒドロキシ基、チオール基、アミノ基、ジフェニルアミノ基およびカルバゾール基、炭素数1~20の直鎖状または分枝状のアルキル基、アルキルアミノ基およびアルコキシ基、ならびに $-Y_1-SiZ_1Z_2Z_3$ 基、 $-Y_1-SiY_2Z_1Z_2$ 基および $-Y_1-SiY_2Y_3Z_1$ 基（ここで、 $Y_1\sim Y_3$ は、それぞれ互いに独立して同一または異なり、炭素数1~20の直鎖状または分枝状のアルキル基またはアルキレン基を表し、 $Z_1\sim Z_3$ は、それぞれ互いに独立して同一または異なり、水素原子、ハロゲン原子または炭素数1~8の直鎖状もしくは分枝状のアルコキシ基を表す）からなる群より選択され、2以上の R_x が同時に存在する場合、同一であっても異なってもよい。また、2以上の R_x が一緒になり、それぞれの R_x が結合している主鎖の原子と共に環状構造を形成してもよい。環状構造を形成する場合、 R_x が結合している原子同士の間の原子数が最も少なくなる鎖を主鎖と定義する。また、主鎖および側鎖の原子間の結合は二重結合または三重結合であってもよい。

20

【0027】

本発明の化合物において、阻害活性部位とカルボキシ基とは、スペーサーを挟んでアゾベンゼン骨格で架橋されている。アゾベンゼン骨格に存在する2つのベンゼン環は、それぞれ独立して0~4つの置換基 R_A および R_B を有していてよい。 R_A および R_B は、互いに独立して同一または異なり、ハロゲン原子、ニトロ基、シアノ基、トリフルオロメチル基、ヒドロキシ基、チオール基、アミノ基、ジフェニルアミノ基、カルバゾール基、炭素数1~20の直鎖状または分枝状の、アルキル基、アルキルアミノ基およびアルコキシ基、ならびに $-Y_1-SiZ_1Z_2Z_3$ 基、 $-Y_1-SiY_2Z_1Z_2$ 基および $-Y_1-SiY_2Y_3Z_1$ 基（ここで、 $Y_1\sim Y_3$ は、それぞれ互いに独立して同一または異なり、炭素数1~20の直鎖状または分枝状の、アルキル基またはアルキレン基を表し、 $Z_1\sim Z_3$ は、それぞれ互いに独立して同一または異なり、水素原子、ハロゲン原子または炭素数1~8の直鎖状もしくは分枝状のアルコキシ基を表す）からなる群から選択される。 R_A および/または R_B が複数存在する場合は、それらはそれぞれ互いに独立して上記群から選択され得る。

30

40

【0028】

本発明の化合物は、同一分子内にアミノ基を有する阻害活性部位およびカルボキシ基を有している。そのため阻害活性部位のアミノ基およびカルボキシ基が分子内水素結合あるいは静電相互作用により相互を束縛し得る。上述の通り、本発明の阻害活性部位はアミノ基によって酵素と結合するため、該アミノ基がカルボキシ基と分子内水素結合あるいは静電相互作用により相互に束縛すると、酵素に結合することが出来なくなり、阻害活性を失うこととなる。

【0029】

50

本発明の阻害活性部位には、アミノ基を有し、該アミノ基によって阻害活性を発揮する既知の酵素阻害物質を用いることが可能である。すなわち本発明は、既知の酵素阻害物質を阻害活性部位として用い、それにカルボキシル基に連結する光応答部位であるアゾベンゼン骨格を連結させることにより、既知の酵素阻害物質を、光に応答して酵素阻害活性が可逆的に変化する阻害剤に変換することが可能となるという点で、非常に有用である。本発明は、酵素阻害物質がアミノ基を有し、該アミノ基によって阻害活性を発揮する限り、いかなる酵素阻害物質を用いることも可能であり、いかなる酵素に対しても阻害剤を設計しうる点で高い汎用性を有する。

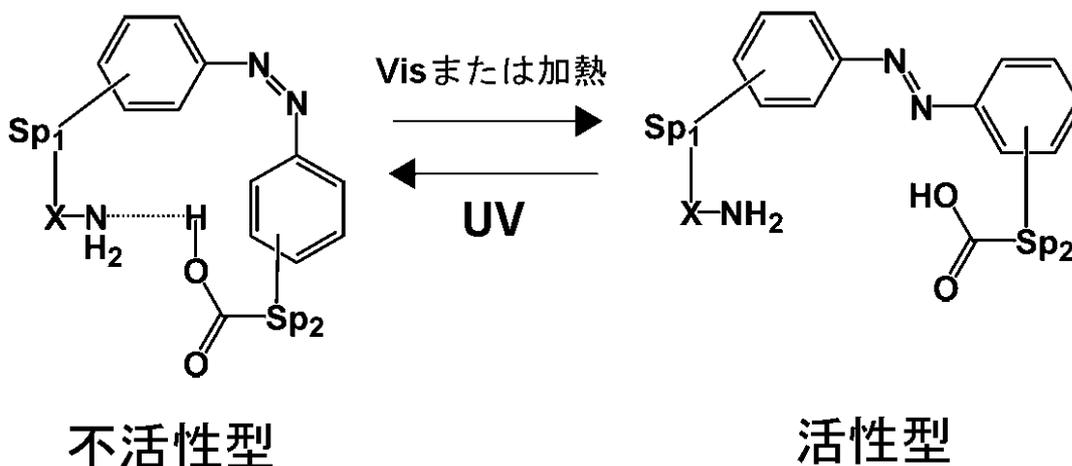
【0030】

したがって、 $X-NH_2$ が酵素の阻害活性を有する限り、 X にはいかなる構造をも用いることが出来る。用い得る $X-NH_2$ としては、これに限定するものではないが、例えばアミノ糖、アミノ酸、ペプチドなどが挙げられる。

【0031】

本発明の化合物は分子内に光応答性部位であるアゾベンゼン骨格を有するため、波長約 365 nm 程度の紫外線に曝露するとアゾベンゼンがシス型に異性化し、約 400 nm ~ 700 nm 程度の可視光に曝露するとトランス型に異性化する。本発明の一態様において、本発明の化合物は、シス型に異性化すると分子の両端に存在するアミノ基とカルボキシル基の距離が近づくこととなり、両基の間で分子内水素結合あるいは静電相互作用により相互を束縛することになる。すなわち、紫外線への曝露によって阻害活性を失い、不活性型に変化する。逆にトランス型に異性化すると分子の両端に存在するアミノ基とカルボキシル基の距離が離れることとなり、両基の間で分子内水素結合あるいは静電相互作用により相互を束縛できなくなる。すなわち、可視光への曝露または加熱によって阻害活性を取り戻し、活性型に変化する。

【化5】



【0032】

本発明の好ましい一態様において、阻害活性部位はアミノ糖である。本発明において、「アミノ糖」とは、アミノ基を含む糖およびその誘導体を意味する。本発明の化合物における阻害活性部位に用いられるアミノ糖としては、酵素に対する阻害活性を有しているものであれば特に限定されず、これに限定するものではないが例えばバリオールアミン、バリエナミン、バリダミン、オセルタミビルなどが挙げられる。

【0033】

本発明の一態様において、原子数 1 ~ 10 であるスペーサー基 Sp_1 および Sp_2 を有するが、 Sp_1 の原子数 k と Sp_2 の原子数 l との合計は、好ましくは 8 ~ 20 である。この合計値は大きすぎても小さすぎても、阻害活性部位とカルボキシル基が分子内水素結合をうまく形成しない。中でも好ましくは 8 ~ 10 程度であり、より好ましくは 8 である。本発明のさらに好ましい一態様において、 k が 7 であり、 l が 1 である。

【0034】

10

20

30

40

50

本発明の一態様において、本発明の阻害活性部位は糖質加水分解酵素、特に好ましくは - グルコシダーゼを阻害するものである。 - グルコシダーゼは、 - グルカン、短鎖オリゴ糖などの非還元末端側からグルコースを解離するエキソ型加水分解酵素である。この酵素は植物におけるデンプン代謝や動物の消化作用ならびにグリコーゲン代謝に関与し、糖質代謝系において重要な役割を果たしている。中でもヒト小腸における糖吸収を制御することから、その阻害剤については多くの研究が為されており、高血糖症状を原因とする糖尿病、高脂血症、肥満などの予防や治療において有効とされる。

【0035】

一般に糖質加水分解酵素は2つのグルタミン酸またはアスパラギン酸残基を有し、一方のカルボン酸側鎖が基質となる糖鎖と水素結合を行い、もう一方のカルボン酸側鎖がアノマー位に求核攻撃を行うことで酵素-基質複合体が形成される。O-アシルグリコシド複合体は速やかに加水分解され、生成物である単糖が遊離される。この作用機序を基に多くの糖加水分解酵素阻害剤が設計、開発されており、かかる阻害剤としては例えば、 - グルコシダーゼと高い親和性を有するミグリトールやボグリボースなどの糖アナログが挙げられる。

10

【0036】

糖鎖関連酵素の阻害剤は、糖鎖機能の研究においてその有用性を指摘されている。糖鎖機能を詳細に研究するためには、特定糖鎖遺伝子のノックアウトアニマルを作成するのが研究の主流となってきたが、特定の糖鎖修飾に関わる複数の遺伝子を同時にノックアウトすることは非常に困難である。また、より還元末端側の糖転移酵素をノックアウトする方法も考えられるが、それにより別の合成経路を遮断する可能性があり、特定の糖鎖の機能を解明するのは難しい。そこで糖鎖関連酵素の阻害剤を用いることで、特定の糖鎖の修飾を阻害することが可能となる。

20

【0037】

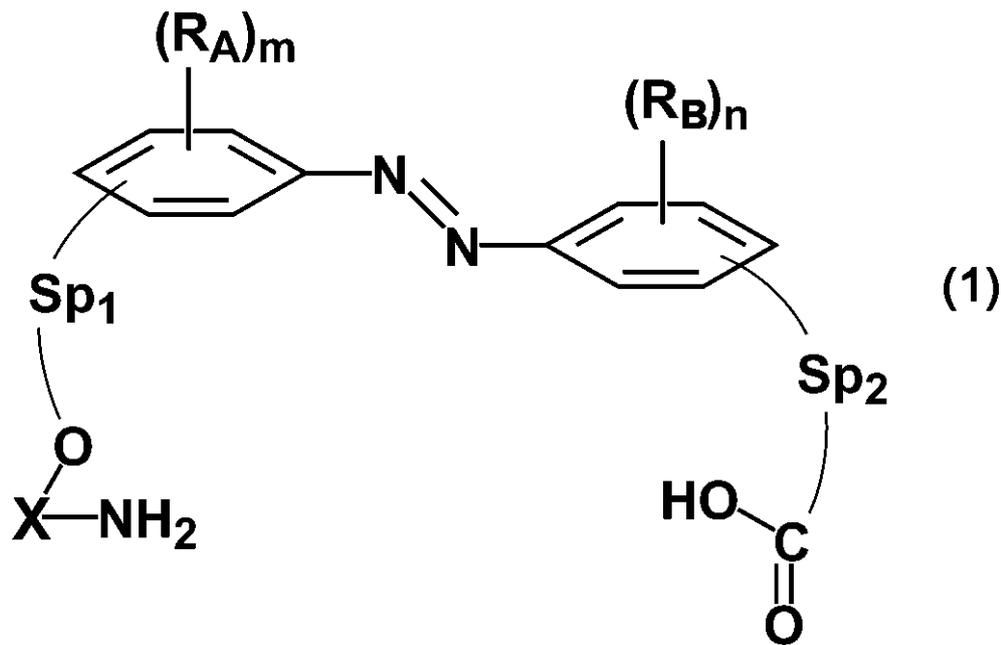
したがって、好ましい態様において、本発明の阻害剤は糖鎖関連酵素を阻害するものである。糖鎖関連酵素としては、例えばシアリルトランスフェラーゼ、フコシルトランスフェラーゼなどの糖転移酵素、 - グルコシダーゼ、 ガラクトシダーゼなどの糖加水分解酵素、などが挙げられる。中でも糖質の代謝系において重要な役割を果たしている - グルコシダーゼが好ましい。

【0038】

本発明には、酵素阻害活性を有する新規な化合物である、以下の式

30

【化6】



10

20

式中、 $X-NH_2$ はアミノ糖であり、

Sp_1 は、原子数 k が 7 であるスペーサー基であり、

Sp_2 は、原子数 l が 1 であるスペーサー基であり、

【0039】

スペーサー基 Sp_1 および Sp_2 中に存在する水素原子は、互いに独立して 1 または 2 以上の置換基 R_x によって置換されていてもよく、

R_x は、互いに独立して同一または異なり、酸素原子、硫黄原子、ハロゲン原子、ニトロ基、シアノ基、トリフルオロメチル基、ヒドロキシル基、チオール基、アミノ基、ジフェニルアミノ基およびカルバゾール基、炭素数 1 ~ 20 の直鎖状または分枝状のアルキル基、アルキルアミノ基およびアルコキシ基、ならびに $-Y_1-SiZ_1Z_2Z_3$ 基、 $-Y_1-SiY_2Z_1Z_2$ 基および $-Y_1-SiY_2Y_3Z_1$ 基（ここで、 $Y_1 \sim Y_3$ は、それぞれ互いに独立して同一または異なり、炭素数 1 ~ 20 の直鎖状または分枝状のアルキル基またはアルキレン基を表し、 $Z_1 \sim Z_3$ は、それぞれ互いに独立して同一または異なり、水素原子、ハロゲン原子または炭素数 1 ~ 8 の直鎖状もしくは分枝状のアルコキシ基を表す）からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上の置換基であり、また、2 以上の R_x が一緒になって環状構造を形成してもよく、

30

【0040】

m および n は、それぞれ互いに独立して 0 ~ 4 の整数であり、

置換基 R_A は、ハロゲン原子、ニトロ基、シアノ基、トリフルオロメチル基、ヒドロキシル基、チオール基、アミノ基、ジフェニルアミノ基、カルバゾール基、炭素数 1 ~ 20 の直鎖状または分枝状の、アルキル基、アルキルアミノ基およびアルコキシ基、ならびに $-Y_1-SiZ_1Z_2Z_3$ 基、 $-Y_1-SiY_2Z_1Z_2$ 基および $-Y_1-SiY_2Y_3Z_1$ 基（ここで、 $Y_1 \sim Y_3$ は、それぞれ互いに独立して同一または異なり、炭素数 1 ~ 20 の直鎖状または分枝状の、アルキル基またはアルキレン基を表し、 $Z_1 \sim Z_3$ は、それぞれ互いに独立して同一または異なり、水素原子、ハロゲン原子または炭素数 1 ~ 8 の直鎖状もしくは分枝状のアルコキシ基を表す）、からなる群より選ばれる 1 種または 2 種以上の置換基であり、複数存在する場合には互いに独立して同一または異なってもよく、置換基 R_B は置換基 R_A と同一の意味を有する、
で表される化合物もまた包含される。

40

50

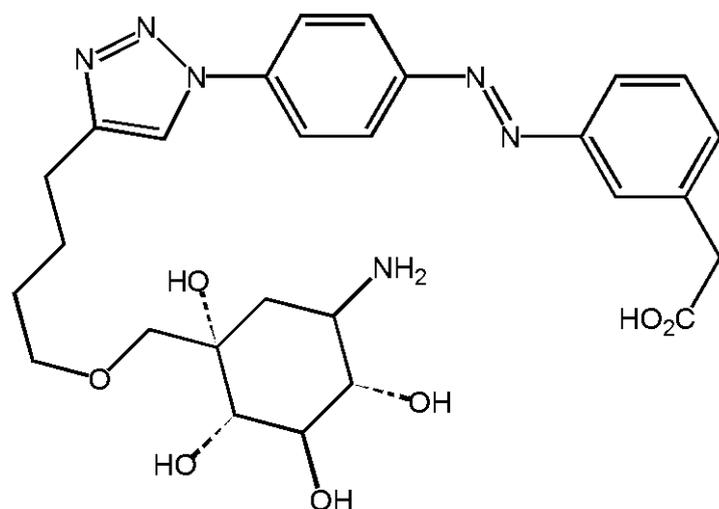
【0041】

上記化合物のうち、好ましくは、アミノ糖がバリオールアミンである場合であり、中でもさらに好ましくは、阻害剤側のベンゼンがパラ位で置換され、カルボキシル基側のベンゼンがメタ位で置換されている場合である。さらにより好ましくは、さらにkが7であり、lが1である場合である。

【0042】

さらに合成の簡便さ、阻害活性の変化の大きさなどの観点から、最も好ましくは以下の式：

【化7】



で表される化合物 (P G I) である。

【0043】

本発明の化合物および阻害剤は、光に应答して阻害活性を可逆的に変化させるものである。したがって本発明には、酵素、該酵素の基質、および該酵素の阻害活性を有する阻害活性部位 X - N H ₂ を含む上記阻害剤を接触させること、および前記阻害剤に紫外線および/または可視光を照射することを含む、酵素基質反応の調節方法もまた含まれる。

【0044】

本発明の方法に用いられる酵素は特に限定されない。したがって本発明の阻害剤の阻害活性部位 X - N H ₂ で機能が阻害される限り、いかなる酵素を用いてもよい。本発明の化合物もまた、使用する酵素を阻害することが出来る限り、特に限定されない。基質として用いられるものは、酵素に依存して変化し得るが、選択した特定の酵素の基質であれば何でもよい。

【0045】

本発明の方法は、酵素および基質を含む組成物に、本発明の阻害剤を接触させることを含む。本発明の阻害剤は前記酵素に対する阻害活性を有しているため酵素基質反応に対して阻害活性を発揮することになる。本発明の方法は、さらに前記阻害剤に紫外線および/または可視光を照射することを含む。

本発明の方法の一態様において、阻害剤が活性型である場合、紫外線を照射することにより不活性型に変換することが可能である。逆に阻害剤が不活性型である場合には、可視光の照射により活性型に変換することが可能である。したがって、酵素基質反応を進行させたい場合には紫外線を照射し、逆に進行を止めたい場合は可視光を照射することで酵素基質反応を調節することが可能となる。

【実施例】

【0046】

以下の実施例は本発明について、さらに具体的に説明するものであり、本発明の範囲を何ら限定するものではない。当業者として通常の知識および技術を有するものは、本発明の精神を逸脱しない範囲で、下記実施例で示された態様に多様な改変を行うことができる

10

20

30

40

50

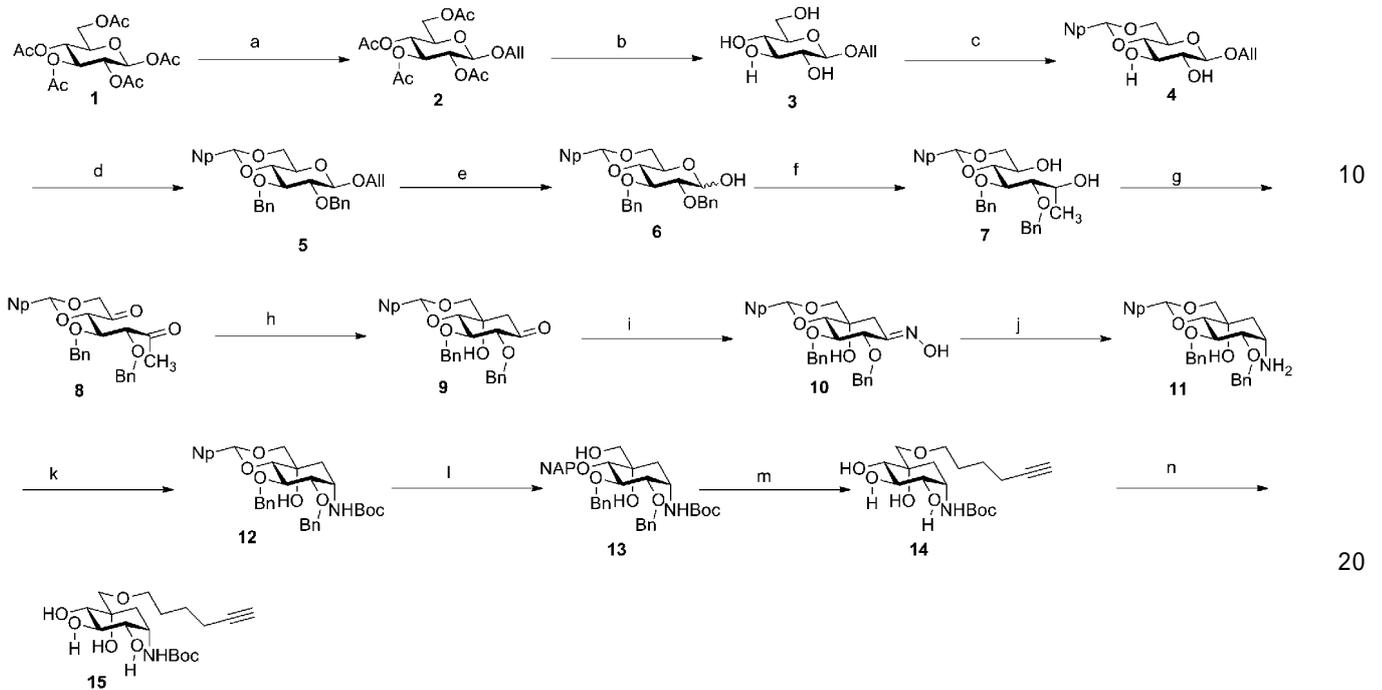
が、かかる改変された態様も本発明に含まれる。

【0047】

例1：ボグリボース誘導体の合成

以下のスキームにしたがってパリオールアミンを合成した。

【化8】



【0048】

試薬および条件：

a) アリルアルコール、 $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ 、 $\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ 、0 から室温、12時間

b) $\text{Et}_3\text{N} - \text{MeOH} - \text{H}_2\text{O}$ (1 : 2 : 1)、室温、12時間

c) 2-ナフトアルデヒド、DL-10-CSA、 $\text{HC}(\text{OMe})_3 - \text{CH}_3\text{CN}$ (1 : 10)、還流、24時間

d) NaH 、DMF、0、20分、その後 BnBr 、 Bu_4NI 、室温、12時間

e) $\text{NiCl}_2(\text{dppp})$ 、 Et_3Al 、トルエン、室温、12時間

f) MeMgBr 、THF、0 から室温、24時間

g) IBX、DMSO、室温、12時間

h) KHMDS 、トルエン、-80、4時間

i) $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ 、 NaH_2CO_3 、MeOH、室温、1時間

j) Zn 、 NH_4Cl 、EtOH、室温、5時間

k) Boc_2O 、 Et_3N 、THF、0 から室温、2時間

l) DIBAL-H 、トルエン、0 から室温、12時間

m) NaH 、THF、0、20分、その後 1-プロモ-5-ヘキシン、 Bu_4NI 、室温、16時間

n) DDQ 、 $\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl} - \text{MeOH}$ 、室温、24時間

【0049】

(1) 化合物2の合成

1、2-ジクロロエタン(100 mL)に(R)-D-グルコースペンタアセテート(7.8 g、20 mmol)、アリルアルコール(3.0 mL)を加え、氷冷下で三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体(4.0 mL)を加えた。氷冷下で30分撹拌した後に室温に昇温し、12時間撹拌した。飽和炭酸水素ナトリウム水溶液(50 mL)を加え、反応を停止した後に分配した。有機層を蒸留水(50 mL)、飽和食塩水(50 mL)で洗浄した。併せた水層を酢酸エチル(100 mL)で抽出し、有機層をジクロロメタン層と併せ

10

20

30

40

50

無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過の後に減圧下溶媒を留去した。残渣をエタノール - ヘキサンより結晶化を行うことで化合物 2 (5 . 9 g、72%) を得た。

【 0 0 5 0 】

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) (ppm) = 2.01, 2.04, 2.06, 2.10 (各 3H, s, $-\text{CH}_3\text{C}=\text{O}$), 3.70 (1H, ddd, $J = 9.6, 4.8, 2.0$ Hz, C5), 4.10 (1H, ddt, $J = 13.2, 6.0, 1.5$ Hz, $-\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{CH}=\text{CH}_2$), 4.16 (1H, dd, $J = 12.4, 2.0$ Hz, C6), 4.28 (1H, dd, $J = 12.4, 4.8$ Hz, C6), 4.35 (1H, ddt, $J = 14.0, 4.8, 1.6$ Hz, $-\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{CH}=\text{CH}_2$), 4.57 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, C1), 5.04 (1H, dd, $J = 8.0, 9.4$ Hz, C2), 5.11 (1H, t, $J = 9.6$ Hz, C3), 5.22 (1H, dd, $J = 10.4, 1.4$ Hz, $-\text{CH}=\text{CH}_\text{cis}\text{H}$), 5.22 (1H, t, $J = 9.6$ Hz, C4), 5.31 (1H, dd, $J = 17.6, 1.4$ Hz, $-\text{CH}=\text{CH}_\text{trans}\text{H}$), 5.86 (1H, dddd, $J = 17.6, 10.0, 6.0, 4.8$ Hz, $-\text{CH}=\text{CH}_2$)

10

【 0 0 5 1 】

(2) 化合物 4 の合成

化合物 2 (4 . 55 g、10.5 mmol) をトリエチルアミン - メタノール - 水 (1 : 2 : 1、40 mL) 混合溶媒に溶解させ、室温で 12 時間攪拌した。減圧下に溶媒を留去したのちに残渣をアセトニトリル - オルトギ酸トリメチル (10 : 1、45 mL) に溶解させた。この溶液に 2 - ナフトアルデヒド (2 . 50 g)、DL - 10 - カンファースルホン酸 (85 mg) を加え、24 時間加熱還流した。反応溶液を室温まで冷却し、2 時間攪拌した後に不溶物を濾過にて除去した。減圧下溶媒を留去した。残渣をクロロホルムヘキサンより結晶化を行うことで化合物 4 (2 . 77 g、84%) を得た。

20

【 0 0 5 2 】

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) (ppm) = 2.62, 2.79 (各 1H, brd, $J = 5.6$ Hz, $-\text{OH}$), 3.54 (1H, dt, $J = 5.6, 9.6$ Hz, C3), 3.60 (1H, ddd, $J = X, Y, Z$ Hz), 3.66 (1H, t, $J = 9.2$ Hz, C4), 3.88 (1H, t, $J = 9.6$ Hz), 3.90 (1H, dt, $J = 5.6, 9.2$ Hz, C2), 4.19 (1H, ddt, $J = 12.8, 6.4, 1.5$ Hz, $-\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{CH}=\text{CH}_2$), 4.40-4.46 (2H, m), 4.51 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, C1), 5.29 (1H, ddt, $J = 10.4, 1.5, 1.5$ Hz, $-\text{CH}=\text{CH}_\text{cis}\text{H}$), 5.38 (1H, ddt, $J = 17.2, 1.5, 1.5$ Hz, $-\text{CH}=\text{CH}_\text{trans}\text{H}$), 5.73 (1H, s, $-\text{OCHArO}-$), 5.98 (1H, dd, $J = 17.2, 10.4, 6.4, 5.2$ Hz, $-\text{CH}=\text{CH}_2$), 7.49-7.53 (2H, m, $-\text{Ar}$), 7.62 (1H, dd, $J = 8.4, 2.0$ Hz, $-\text{Ar}$), 7.84-7.90 (3H, m, $-\text{Ar}$), 8.00 (1H, s, $-\text{Ar}$)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) (ppm) = 134.33, 133.77, 133.53, 132.92, 128.39, 128.22, 127.70, 126.50, 126.21, 125.87, 118.29, 102.19, 101.98, 80.64, 74.54, 73.20, 70.63, 68.74, 66.43.

30

【 0 0 5 3 】

(3) 化合物 5 の合成

化合物 4 (520.9 mg、1.5 mmol)、N, N - ジメチルホルムアミド (20 mL)、水素化ナトリウム (55%、265 mg) を加え、氷冷下 20 分攪拌した。この溶液に臭化ベンジル (1.2 mL、8.5 mmol) とヨウ化テトラ n - ブチルアンモニウム (33 mg) を加え、室温に昇温し 12 時間攪拌した。飽和塩化アンモニウム水溶液 (30 mL) を加え反応を停止し、酢酸エチル (30 mL) で 3 回抽出した。有機層を飽和食塩水 (50 mL) で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過の後に減圧下溶媒を留去した。残渣をエタノール - ヘキサンより結晶化を行うことで化合物 5 (674 mg、98%) を得た。

40

【 0 0 5 4 】

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) (ppm) = 3.42-3.49 (1H, m), 3.53 (1H, t, $J = 8.2$ Hz), 3.72-3.81 (2H, m), 3.85 (1H, t, $J = 10.4$ Hz), 4.18 (1H, ddt, $J = 12.8, 6.0, 1.2$ Hz), 4.40 (1H, q, $J = 6.0$ Hz), 4.43 (1H, ddt, $J = 12.8, 6.0, 1.2$ Hz), 4.58 (1H, d, $J = 7.6$ Hz), 4.79 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, $-\text{ArCH}_\text{A}\text{H}_\text{B}$), 4.83 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, $-\text{ArCH}_\text{A}\text{H}_\text{B}$), 4.93 (2H, d, $J = 11.2$ Hz, $-\text{ArCH}_\text{A}\text{H}_\text{B}$), 5.23 (1H, ddt, $J = 10.6, 1.2, 1.2$ Hz, $-\text{CH}=\text{CH}_\text{cis}\text{H}$), 5.36 (1H, ddt, $J = 17.2, 1.2, 1.2$ Hz, $-\text{CH}=\text{CH}_\text{trans}\text{H}$), 5.73 (1H, s, $-\text{OCHArO}-$), 5.97 (1H, ddt, $J = 17.2, 10.6, 5.4$ Hz, $-\text{CH}=\text{CH}_2$), 7.25-7.38 (10H, m

50

, -Ar), 7.47-7.51 (2H, m, -Ar), 7.59 (1H, dd, $J = 8.8, 1.6$ Hz, -Ar), 7.83-7.87 (3H, m, -Ar), 7.98 (1H, s, -Ar)

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) (ppm) = 66.1, 68.9, 70.8, 75.1, 75.4, 80.9, 81.6, 82.2, 101.4, 103.3, 117.6, 123.7, 125.5, 126.1, 126.4, 127.6, 127.7, 128.0, 127.99, 128.16, 128.29, 128.34, 128.4, 133.0, 133.6, 133.8, 134.7

【 0 0 5 5 】

(4) 化合物 8 の合成

化合物 5 (476 mg、1.5 mmol) をトルエン (10 mL) に溶解させ、トリエチルアルミニウム - 1.0 M トルエン溶液 (5 mL、5 mmol)、ジクロロ (ジフェニルホスフィノ)プロパン) ニッケル (20 mg) を加え、氷冷下 1 時間撹拌した。反応溶液を室温に昇温し、12 時間撹拌後、再度氷冷し、飽和酒石酸ナトリウムカリウム (20 mL) を加え、12 時間撹拌した。有機層と水層を分離し、水層を酢酸エチルで 2 回抽出した。有機層を飽和食塩水 (50 mL) で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過の後に減圧下溶媒を留去した。残渣をテトラヒドロフラン (20 mL) に溶解させ、臭化メチルマグネシウム (5.0 mL、5.0 mmol) を氷冷下加えた。反応溶液を 30 分撹拌し、室温に昇温した後に 24 時間撹拌した。飽和塩化アンモニウム水溶液 (30 mL) を加え反応を停止し、酢酸エチル (30 mL) で 3 回抽出した。有機層を飽和食塩水 (50 mL) で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過の後に減圧下溶媒を留去した。残渣をジメチルスルホキシド (25 mL) に溶解させ、2-ヨードキシ安息香酸 (530 mg、2.0 mmol) を加え、12 時間撹拌した。飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (50 mL) を加え反応を停止した後に分配した。有機層を蒸留水 (50 mL)、飽和食塩水 (50 mL) で洗浄した。併せた水層を酢酸エチル (100 mL) で抽出し、有機層をジクロロメタン層と併せ無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過の後に減圧下溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (展開溶媒 : ヘキサン / 酢酸エチル = 5 : 1) により精製し化合物 8 (315 mg、61%) を得た。

10

20

【 0 0 5 6 】

^1H -NMR (CDCl_3) 2.21 (3H, s), 3.81 (1H, d, $J = 15.9$ Hz), 4.22 (1H, d, $J = 15.9$ Hz), 4.28 (2H, s), 4.69 (1H, s), 4.79 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, $-\text{ArCH}_A\text{H}_B$), 4.83 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, $-\text{ArCH}_A\text{H}_B$), 4.93 (2H, d, $J = 11.2$ Hz, $-\text{ArCH}_A\text{H}_B$), 5.90 (1H, s, $-\text{OCHArO-}$), 7.25-7.38 (10H, m, -Ar), 7.47-7.51 (2H, m, -Ar), 7.59 (1H, dd, $J = 8.8, 1.6$ Hz, -Ar), 7.83-7.87 (3H, m, -Ar), 7.98 (1H, s, -Ar)

30

【 0 0 5 7 】

(5) 化合物 9 の合成

化合物 8 (32 mg、0.1 mmol) をトルエン (3 mL) に溶解させ、カリウムヘキサメチルジシラジド (0.1 mmol) を -80 にて加え 4 時間撹拌した。飽和塩化アンモニウム水溶液 (5 mL) を加え反応を停止し、酢酸エチル (10 mL) で 3 回抽出した。有機層を飽和食塩水 (20 mL) で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過の後に減圧下溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (展開溶媒 : ヘキサン / 酢酸エチル = 5 : 1) により精製し化合物 9 (24 mg、80%) を得た。

40

【 0 0 5 8 】

^1H -NMR (CDCl_3) 2.21 (1H, d, $J = 14.4$ Hz), 2.63 (1H, dd, $J = 14.4, 1.2$ Hz), 3.44 (1H, d, $J = 11.7$ Hz), 3.99 (1H, d, $J = 11.7$ Hz), 4.13 (1H, t, $J = 9.9$ Hz), 4.32 (1H, d, $J = 9.9$ Hz), 4.47 (1H, dd, $J = 9.9, 1.2$ Hz), 4.85 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, $-\text{ArCH}_A\text{H}_B$), 4.88 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, $-\text{ArCH}_A\text{H}_B$), 5.06 (2H, d, $J = 11.2$ Hz, $-\text{ArCH}_A\text{H}_B$), 5.90 (1H, s, $-\text{OCHArO-}$), 7.25-7.38 (10H, m, -Ar), 7.47-7.51 (2H, m, -Ar), 7.59 (1H, dd, $J = 8.8, 1.6$ Hz, -Ar), 7.83-7.87 (3H, m, -Ar), 7.98 (1H, s, -Ar)

【 0 0 5 9 】

(6) 化合物 12 の合成

化合物 9 (156 mg、0.3 mmol) をメタノール (20 mL) に溶解させ、炭酸水素ナトリウム (860 mg、10 mmol)、ヒドロキシルアミン塩酸塩 (390 mg

50

、5.6 mmol)を加え、6時間攪拌した。飽和塩化アンモニウム水溶液(10 mL)を加え反応を停止し、酢酸エチル(20 mL)で3回抽出した。有機層を飽和食塩水(50 mL)で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過の後に減圧下溶媒を留去した。残渣をエタノール(10 mL)に溶解させ、塩化アンモニウム(540 mg、10 mmol)、亜鉛粉末(650 mg、10 mmol)を加え、5時間攪拌した。不溶物を除去し、溶媒を減圧下留去した。残渣をテトラヒドロフラン(20 mL)に溶解させ、トリエチルアミン(1.0 mL, 7.2 mmol)、ジ-tert-ブチル-ジカーボネート(436 mg、2.0 mmol)を氷冷下加え2時間攪拌した。減圧下溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィ(展開溶媒:ヘキサン/酢酸エチル=4/1)により精製し化合物12(130 mg、65%)を得た。

10

【0060】

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) 1.41 (9H, s), 2.35 (1H, d, $J = 14.4$ Hz), 2.53 (1H, dd, $J = 14.4, 1.2$ Hz), 3.44 (1H, d, $J = 11.7$ Hz), 3.99 (1H, d, $J = 11.7$ Hz), 4.13 (1H, t, $J = 9.9$ Hz), 4.32 (1H, d, $J = 9.9$ Hz), 4.47 (1H, dd, $J = 9.9, 1.2$ Hz), 4.85 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, $-\text{ArCH}_A\text{H}_B$), 4.88 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, $-\text{ArCH}_A\text{H}_B$), 5.06 (2H, d, $J = 11.2$ Hz, $-\text{ArCH}_A\text{H}_B$), 5.90 (1H, s, $-\text{OCHArO-}$), 6.13 (1H, br), 7.25-7.38 (10H, m, -Ar), 7.47-7.51 (2H, m, -Ar), 7.59 (1H, dd, $J = 8.8, 1.6$ Hz, -Ar), 7.83-7.87 (3H, m, -Ar), 7.98 (1H, s, -Ar)

【0061】

(7) 化合物13の合成

化合物12(305 mg、0.5 mmol)をトルエン(10 mL)に溶解させ、水素化ジイソブチルアルミニウム(1.0 mL, 1.0 mmol)を加え、氷冷下3時間攪拌した。反応溶液を室温に昇温し、12時間攪拌後、再度氷冷し、飽和酒石酸ナトリウムカリウム(20 mL)を加え、12時間攪拌した。有機層と水層を分離し、水層を酢酸エチル(20 mL)で2回抽出した。有機層を飽和食塩水(50 mL)で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過の後に減圧下溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィ(展開溶媒:ヘキサン/酢酸エチル=3/1)により精製し化合物13(271 mg、90%)を得た。

20

【0062】

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) 1.41 (9H, s), 2.11 (1H, d, $J = 14.4$ Hz), 2.43 (1H, dd, $J = 14.4, 1.2$ Hz), 3.32 (1H, d, $J = 11.7$ Hz), 3.86 (1H, d, $J = 11.7$ Hz), 4.09 (1H, t, $J = 9.9$ Hz), 4.25 (1H, d, $J = 9.9$ Hz), 4.51 (1H, dd, $J = 9.9, 1.2$ Hz), 4.88 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, $-\text{ArCH}_A\text{H}_B$), 4.89 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, $-\text{ArCH}_A\text{H}_B$), 5.03 (2H, s), 5.06 (2H, d, $J = 11.2$ Hz, $-\text{ArCH}_A\text{H}_B$), 6.13 (1H, br), 7.25-7.38 (10H, m, -Ar), 7.47-7.51 (2H, m, -Ar), 7.59 (1H, dd, $J = 8.8, 1.6$ Hz, -Ar), 7.83-7.87 (3H, m, -Ar), 7.98 (1H, s, -Ar).

30

【0063】

(8) 化合物14の合成

化合物13(205 mg、0.33 mmol)、N,N-ジメチルホルムアミド(5 mL)、水素化ナトリウム(55%、40 mg)を加え、氷冷下20分攪拌した。この溶液に1-ブロモ 5-ヘキシン(145 mg、1.0 mmol)とヨウ化テトラn-ブチルアンモニウム(20 mg)を加え、室温に昇温し16時間攪拌した。飽和塩化アンモニウム水溶液(10 mL)を加え反応を停止し、酢酸エチル(10 mL)で3回抽出した。有機層を飽和食塩水(20 mL)で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過の後に減圧下溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィ(展開溶媒:ヘキサン/酢酸エチル=9/1)により精製し化合物14(215 mg、90%)を得た。

40

【0064】

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) 1.31 (2H, qui, $J = 7.1$ Hz), 1.41 (9H, s), 2.11 (1H, d, $J = 14.4$ Hz), 2.17 (1H, brs), 2.43 (1H, dd, $J = 14.4, 1.2$ Hz), 2.51 (2H, t, $J = 7.1$ Hz), 3.32 (1H, d, $J = 11.7$ Hz), 3.63 (2H, t, $J = 7.1$ Hz), 3.86 (1H, d, $J = 11.7$ Hz)

50

, 4.09 (1H, t, J = 9.9 Hz), 4.25 (1H, d, J = 9.9 Hz), 4.51 (1H, dd, J = 9.9, 1.2 Hz), 4.88 (1H, d, J = 11.2 Hz, -ArCH_AH_B), 4.89 (1H, d, J = 11.2 Hz, -ArCH_AH_B), 5.03 (2H, s), 5.06 (2H, d, J = 11.2 Hz, -ArCH_AH_B), 6.13 (1H, br), 7.25-7.38 (10H, m, -Ar), 7.47-7.51 (2H, m, -Ar), 7.59 (1H, dd, J = 8.8, 1.6 Hz, -Ar), 7.83-7.87 (3H, m, -Ar), 7.98 (1H, s, -Ar).

【0065】

(9) 化合物15の合成

化合物14 (202 mg、0.3 mmol) を1,2-ジクロロエタン-メタノール混合溶媒 (9:1, 10 mL) に溶解させ、2,3-ジクロロ-5,6-ジシアノ-1,4-ベンゾキノンを加え、24時間攪拌した。飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (10 mL) を加え反応を停止した後に分配した。有機層を蒸留水 (10 mL)、飽和食塩水 (10 mL) で洗浄した。併せた水層を酢酸エチル (20 mL) で抽出し、有機層をジクロロエタン層と併せ無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過の後に減圧下溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィ (展開溶媒: 酢酸エチル) により精製し化合物15 (76 mg、81%) を得た。

10

【0066】

¹H-NMR (CDCl₃) 1.37 (2H, qui, J = 7.1 Hz), 1.40 (9H, s), 2.15 (1H, d, J = 14.4 Hz), 2.18 (1H, brs), 2.33 (1H, dd, J = 14.4, 1.2 Hz), 2.59 (2H, t, J = 7.1 Hz), 3.26 (1H, d, J = 11.7 Hz), 3.60 (2H, t, J = 7.1 Hz), 3.99 (1H, d, J = 11.7 Hz), 4.08 (1H, t, J = 9.9 Hz), 4.23 (1H, d, J = 9.9 Hz), 4.49 (1H, dd, J = 9.9, 1.2 Hz), 5.27 (2H, br).

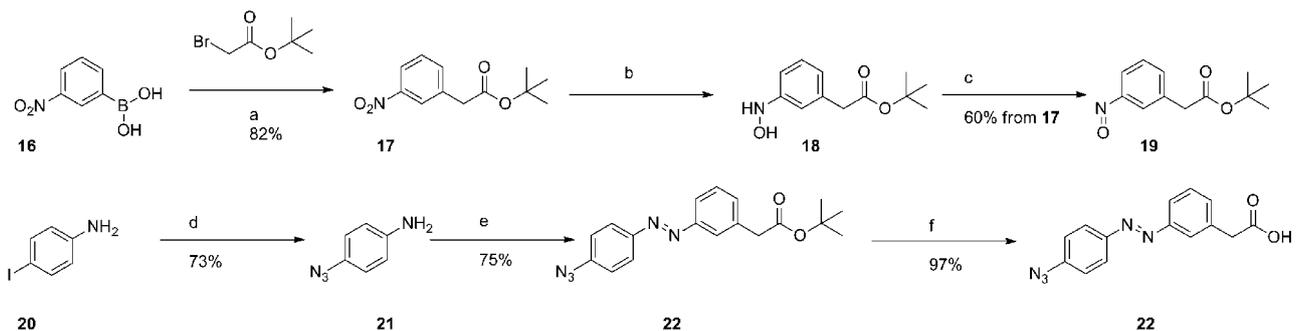
20

【0067】

例2: 置換アゾベンゼンの合成

以下のスキームにしたがってアゾベンゼン部位を合成した。

【化9】



30

【0068】

試薬および条件:

- プロモ酢酸 tert-ブチル、Pd(OAc)₂、K₃PO₄、THF-H₂O (10:1)、室温、20時間
- Zn、NH₄Cl、2-メトキシエタノール、室温、5時間
- FeCl₃·6H₂O、EtOH、0、1時間
- NaN₃、CuI、D-プロリン、NaOH、DMSO、90、24時間
- AcOH、室温、2日
- トリフルオロ酢酸、CH₂Cl₂、室温、36時間

40

【0069】

(1) 化合物17の合成

3-ニトロフェニルボロン酸 (1.67 g、10 mmol)、プロモ酢酸 tert-ブチル (1.80 g、11 mmol) をテトラヒドロフラン-水混合溶媒 (10:1, 55 mL) に溶解させ、リン酸カリウム (5.0 g) を加えた後に凍結脱気を行った。この混合物に酢酸パラジウム (100 mg) を加え、20時間攪拌した。不溶物を濾過にて除去し、濾液をヘキサン (100 mL) にて抽出した。有機層を水 (50 mL)、飽和食塩水

50

(50 mL)にて洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過の後に減圧下溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(展開溶媒:ヘキサン/酢酸エチル=9/1)により精製し化合物17(1.90g、82%)を得た。

【0070】

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) (ppm) = 1.48 (9H, s), 3.66 (2H, s), 7.42 (1H, dt, J = 7.6, 1.2 Hz), 7.50 (1H, dt, J = 1.2, 7.6 Hz), 7.83 (1H, brt), 7.85 (1H, brs)

【0071】

(2) 化合物19の合成

化合物17を2-メトキシエタノールに溶解させ、塩化アンモニウム、亜鉛粉末を加え、5時間攪拌した。不溶物を除去し、溶媒を減圧下留去した。残渣にエタノール、水、塩化鉄六水和物を加え、氷食塩浴にて1時間攪拌し、酢酸エチルで2回抽出した。有機層を水、飽和食塩水にて洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過の後に減圧下溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶媒:ヘキサン/酢酸エチル=6/1)により精製し化合物19(185mg、60%)を得た。

10

【0072】

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) (ppm) = 1.48 (9H, s), 3.66 (2H, s), 7.42 (1H, dt, J = 7.6, 1.2 Hz), 7.50 (1H, dt, J = 1.2, 7.6 Hz), 7.83 (1H, brt), 7.85 (1H, brs)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) (ppm) 170.52, 152.78, 135.82, 133.83, 129.12, 123.40, 121.80, 81.07, 42.48, 28.05

20

【0073】

(3) 化合物21の合成

化合物20(220mg、1mmol)をジメチルスルホキシド(10mL)に溶解させ、D-プロリン(12mg)、水酸化ナトリウム、ヨウ化銅(I)(20mg、0.1mmol)、アジ化ナトリウム(65mg、1mmol)を加え、90°Cで24時間攪拌した。反応溶液を室温に冷却した後に、ヘキサンで抽出した。ヘキサン層を濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し(溶媒:ヘキサン/酢酸エチル=4/1)、化合物21(105mg、73%)を得た。

【0074】

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) (ppm) 3.63 (2H, brs), 6.69 (2H, d, J = 8.8 Hz), 6.86 (2H, d, J = 8.8 Hz),

30

【0075】

(4) 化合物22の合成

化合物19と、化合物21を酢酸(10mL)に溶解させ、室温で48時間攪拌した。溶媒を減圧下留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(展開溶媒:ヘキサン/酢酸エチル=3/1)により精製し化合物22(165mg、75%)を得た。

【0076】

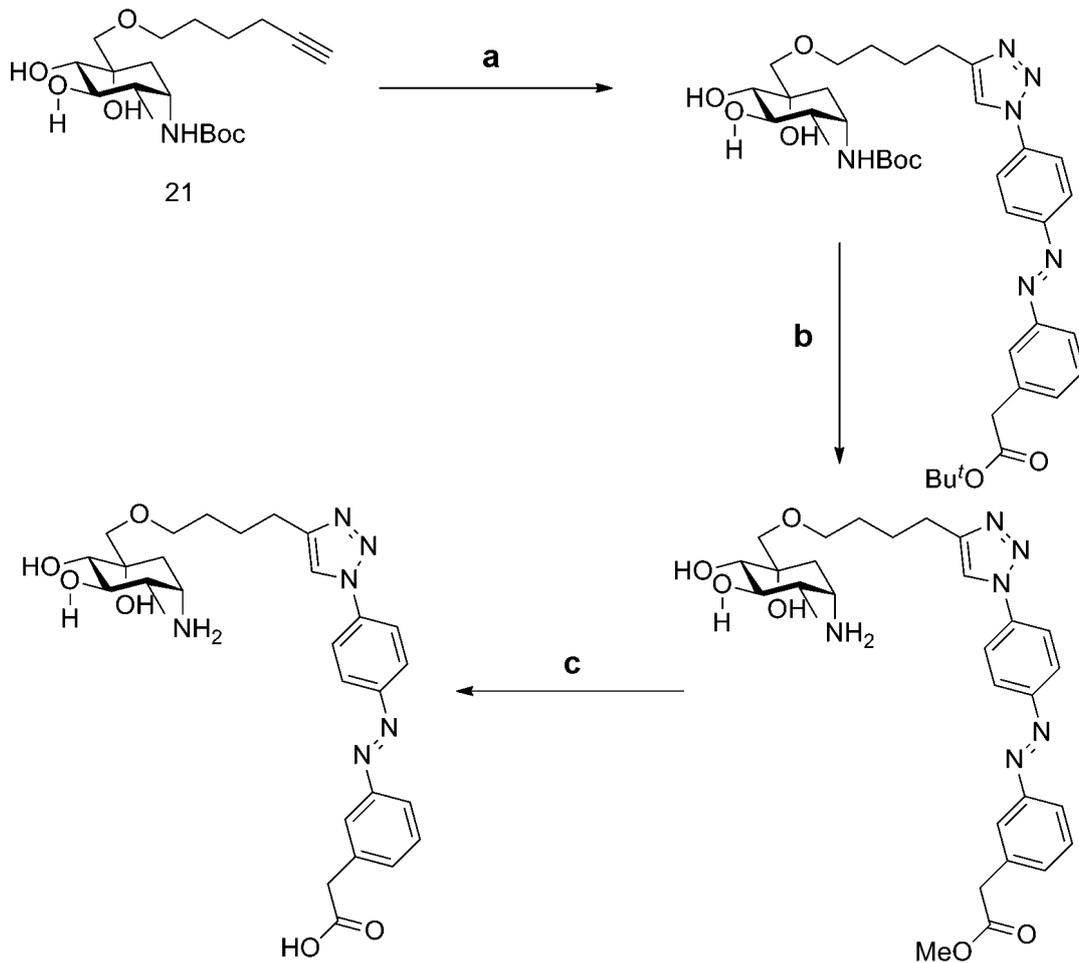
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) (ppm) 1.47 (9H, s), 3.66 (2H, s), 6.69 (2H, d, J = 8.8 Hz), 6.86 (2H, d, J = 8.8 Hz), 7.42 (1H, dt, J = 7.6, 1.3 Hz), 7.50 (1H, dt, J = 7.6, 1.3 Hz), 7.83 (1H, brt), 7.85 (1H, brs).

40

【0077】

例3: フォトクロミック阻害性化合物PGIの合成

【化 1 0】



10

20

試薬および条件：

a) CuI、Et₃N - MeOHb) K₂CO₃、MeOHc) KOH、H₂O

30

【0078】

化合物 15 (37 mg、0.1 mmol) と化合物 22 (28 mg、0.1 mmol) をメタノール トリエチルアミン混合溶媒 (9 : 1、2 mL) に溶解させ、ヨウ化銅 (I) (1.9 mg、0.01 mmol) を加え、室温で 48 時間攪拌した。溶媒を留去し、残渣をメタノール (4 mL) に溶解させた。炭酸カリウム (138 mg、1.0 mmol) を加え、24 時間加熱攪拌した。室温に冷却した後に水 (4 mL) を加え、2 時間攪拌した。不溶物を濾別し、溶媒を減圧下に留去し、残渣を薄層クロマトグラフィー (展開溶媒：クロロホルム / メタノール = 9 / 1) で精製し、PGI (29 mg、55%) 得た。

【0079】

¹H-NMR (CDCl₃) 1.39 (2H, qui, J = 7.0 Hz), 2.19 (1H, d, J = 14.4 Hz), 2.31 (1H, dd, J = 14.4, 1.2 Hz), 2.54 (2H, t, J = 7.1 Hz), 3.23 (1H, d, J = 11.7 Hz), 3.58 (2H, t, J = 7.1 Hz), 3.56 (2H, s), 3.81 (1H, d, J = 11.7 Hz), 4.08 (1H, t, J = 9.9 Hz), 4.23 (1H, d, J = 9.9 Hz), 4.49 (1H, dd, J = 9.9, 1.2 Hz), 6.72 (2H, d, J = 8.8 Hz), 6.94 (2H, d, J = 8.8 Hz), 6.97 (1H, s), 7.35 (1H, dt, J = 7.6, 1.3 Hz), 7.50 (1H, dt, J = 7.6, 1.3 Hz), 7.87 (1H, brt), 7.89 (1H, brs).

40

【0080】

例 4 : PGI による - グルコシダーゼ阻害活性試験

10 mL パイアル中に 100 mM のリン酸バッファー 2800 μL を加え、それに 50 mM の (4 - ニトロフェニル) - D - グルコピラノシド (PNP - D - グルコース) 100 μL (5.0 μmol) を加えたものをコントロールとした。そのコントロール溶

50

液に対し、 α -グルコシダーゼ（酵母由来、 2.4 U/ml ）を $100 \mu\text{l}$ 加え、 37°C で5時間インキュベートした。反応溶液を氷冷し、 50 mM の炭酸ナトリウム緩衝液にて反応を停止した。同様の反応を、コントロール溶液のリン酸バッファ $100 \mu\text{l}$ に代えてトランス-PGI、シス-PGI、トランス-PGIメチルエステル、シス-PGIメチルエステルをそれぞれ $100 \mu\text{l}$ （ 0.5 mM 、 $0.05 \mu\text{mol}$ ）加えて行った。

【0081】

PNP-D-グルコースは、 α -グルコシダーゼにより分解され、グルコースとp-ニトロフェノールとに分解される。このp-ニトロフェノールの生成量は、波長 400 nm の吸光度を測定することにより算出可能であることが知られており、かかる吸光度を測定することで α -グルコシダーゼによる酵素基質反応の進行を評価することが出来る。そこで反応溶液の紫外可視吸収スペクトルを測定し、 400 nm の吸光度を比較した。結果を図1に示す。

10

【0082】

シス-PGIは、コントロールとほぼ同じ程度の吸光度を示し、 α -グルコシダーゼ阻害剤としての活性が低いことが分かった。それに対してトランス-PGIは、吸光度がコントロールの $1/5$ 程度にまで低下しており、シス異性体と比較しても $1/4$ 以下にまで低下していることから、 α -グルコシダーゼに対して高い阻害活性を有する化合物であることが分かった。

一方、PGIのメチルエステルでは、シス異性体およびトランス異性体は同程度の吸光度であり、シス-PGIのものよりも低くトランス-PGIよりも高い吸光度を示したことから、 α -グルコシダーゼ阻害活性は、シス-PGIよりも高く、トランス-PGIよりも低い、異性体間ではほとんど差がないことが分かった。

20

【0083】

以上のことから、PGIはシス、トランス異性体間で顕著な阻害活性の変化を示し、PGIメチルエステルではシス、トランス異性体間で阻害活性に差が見られなかったことから、PGIの異性体間の阻害活性変化はカルボン酸部位の存在によるものであることが推測された。

【0084】

例5：PGIのリアルタイムな阻害活性変化

例4で用いた組成と同様の組成の溶液を用いて、反応開始後3時間および6時間の時点で光照射を行い、吸光度の変化を1時間ごとに観察した。シス異性体およびトランス異性体の阻害剤添加群はそれぞれ3群に分け、トランス異性体を添加した群では光未照射群、紫外光照射群および紫外可視光照射群とし、シス異性体を添加した群では光未照射群、可視光照射群および紫外可視光照射群とした。結果を図2に示す。

30

【0085】

シス異性体添加群については、最初の3時間は3群とも吸光度がコントロール群と同様に上がっていったが、3時間後以降、すなわち1回目の光照射後から、可視光および紫外可視光照射群についてはほとんど吸光度が変化しなくなった。6時間後以降、すなわち2回目の光照射後には、可視光照射群については依然として吸光度変化がほとんど見られなかったものの、紫外可視光照射群については再び吸光度が上昇し始めた。

40

トランス異性体添加群については、最初の3時間は3群とも吸光度がほとんど変化しなかったが、3時間後以降、すなわち1回目の光照射後から、紫外光および紫外可視光照射群については吸光度が上昇し始めた。6時間後以降、すなわち2回目の光照射後には、紫外光照射群については吸光度が引き続き上昇し続けたものの、紫外可視光照射群については再び吸光度がほとんど変化しなくなった。

【0086】

以上のことから、シス異性体は元々阻害活性を有しないが、紫外線の照射により阻害活性を有するようになり、その後可視光の照射で再び活性を失うことが分かった。逆にトランス異性体は元々阻害活性を有するが、可視光の照射で阻害活性を失い、その後紫外線の照射で再び活性を取り戻すことが分かった。したがってPGIの不活性型（シス異性体）

50

は紫外線への曝露で活性型（トランス異性体）に変化し、活性型は可視光への曝露で不活性型に変化することが推測された。

【0087】

例6：IC₅₀の算出

トランス-PGIおよびシス-PGIについて半数阻害濃度を求めた。簡潔には、例4と同様の条件で、それぞれの阻害剤の濃度を变化させたものにつき阻害率を計算した。算出した阻害率を縦軸に、阻害剤濃度の対数を横軸にプロットし、阻害曲線を求め、そこからIC₅₀値を計算した。結果を図3に示す。

【0088】

図3に示した阻害曲線からIC₅₀値を計算すると、トランス-PGIのIC₅₀は1.5 μMであり、シス-PGIのIC₅₀は1.4 mMであった。したがって、α-グルコシダーゼに対する阻害活性については、トランス-PGIはシス-PGIよりも約1000倍強い活性を有していることが推測された。

【産業上の利用可能性】

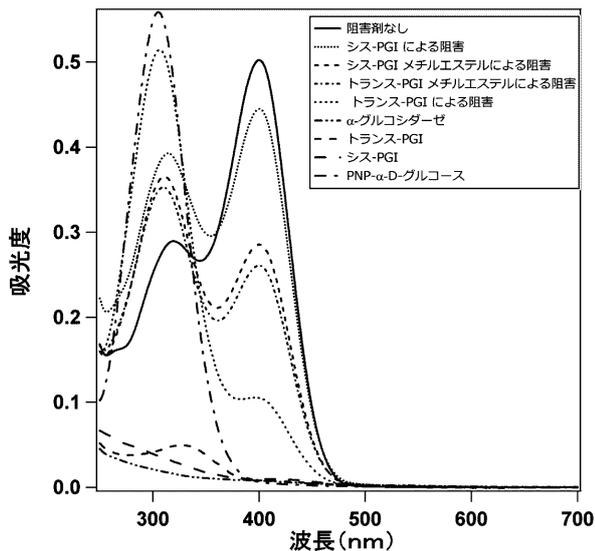
【0089】

以上述べたとおり、本発明の阻害剤は光に応答して酵素に対する阻害活性を变化させるものであり、それにより酵素基質反応を光によって制御できることがわかる。したがって、例えば糖代謝反応など、本願発明の阻害剤によって阻害可能な酵素が関わる生体反応を光により制御可能であり、様々な機能性分子の生体内機能の解明などにも貢献できる。また、本発明の阻害剤の設計思想は特定の分子に特異的なものではないため、阻害活性部位を様々に变化させることで多種の光応答性阻害剤を提供可能である。

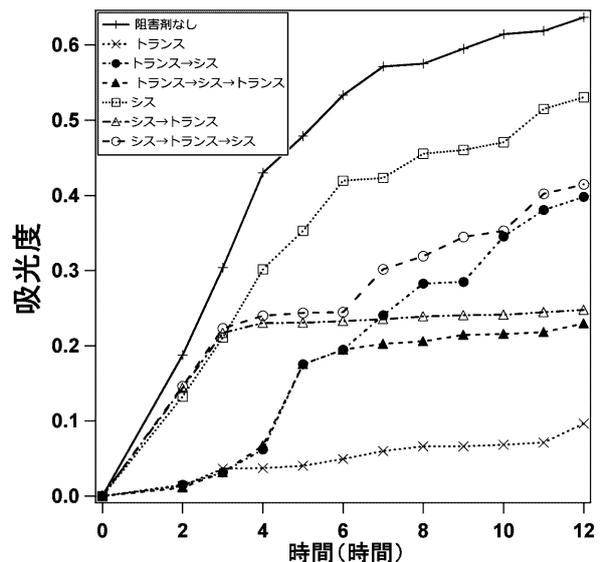
10

20

【図1】



【図2】



【 図 3 】

