

氏名（本籍）	田 中 秀 則（愛知県）
学 位 の 種 類	博 士（工学）
学位授与番号	甲第 379 号
学位授与日付	平成 21 年 12 月 9 日
専 攻	物質工学専攻
学位論文題目	The development of a new approach to the synthesis of sialoglycoconjugates (シアル酸含有糖複合体の合成における新手法の開発)
学位論文審査委員	(主査) 松 居 正 樹 (副査) 安 藤 弘 宗 額 額 守 (応用生物科学部准教授) 小 村 賢 一

論文内容の要旨

シアル酸はカルボキシル基とアミノ基を有する特殊な九炭糖（九つの炭素により構成されている）である。近年、シアル酸含有糖鎖（シアロ糖鎖）が細胞間認識、細胞間情報伝達など重要な生命現象の中心的な役割を果たしていることが明らかになった。特に糖鎖の末端にエカトリアル結合（ α 結合）を介して存在するシアル酸がこれら多くの細胞間相互作用に深く関与していることが証明、示唆されてきた。しかしながら、構造多様性を有する微量成分のシアロ糖鎖を生体から得ることは非常に困難であり、質的・量的に十分な研究試料の供給が問題となっている。シアロ糖鎖の化学合成はその有力な解決策として長年研究されているが、生物学的に重要でかつ構造が複雑なシアロ糖鎖の合成では、多くの課題を残している。本研究では、シアロ糖鎖の中でも最も合成が難しいとされる $\alpha(2-8)$ オリゴシアル酸の合成を中心に研究し、シアロ糖鎖の合成化学の再検討を行った。

第一章では1,5-ラクタム化を鍵反応とする $\alpha(2-8)$ オリゴシアル酸の合成研究について述べる。 $\alpha(2-8)$ オリゴシアル酸は、シアル酸残基に数残基のシアル酸が2位と8位で α 結合を介して縮重合した構造をもつ。この構造は哺乳動物の糖脂質ガングリオシドによくみられ、細胞接着、細胞分化、シグナル伝達など種々の生物学的現象に関与している。しかし、シアル酸同士のグリコシル化反応では供与体（アノメリック位に脱離基を有する求電子剤）および受容体（遊離水酸基を有する求核剤）双方に問題を抱えているため、 $\alpha(2-8)$ オリゴシアル酸の合成は二量体でさえ難しい。供与体側の問題として、脱離基の活性化で生じるシアル酸のオキシカルベニウムカチオンの反応性がアノマー炭素に隣接する1位カルボキシル基の電子求引性と立体障害のために低く、しばしば3位で脱プロトン化が起こり2,3-エン体を副生成物として与えることが挙げられる。さらに3位がデオキシ構造のため、隣接基関与による立体制御ができないことから、 α 選択的にグリコシドを得ることが困難化している。一方、受容体側の問題として、8位水酸基と5位アセトアミド基または1位カルボニル基の酸素原子との間の水素結合が8位水酸基の反応性を著しく低下させている。本研究では、シアル酸のピラノース環の配座変換（椅子型→舟型）が8位水酸基の反応性を向上させることに着目し、1位カルボキシル基と5位アミノ基でのラクタム化反応により舟型に配座固定した受容体を用いる合成戦略を考案した。更に、ラクタム化はカルボキシル基とアミノ基がシス配置の場合（ α 体の場合）にのみ進行することから、ラクタム化をアノマー（アノメリックにおける立体異性体 α, β ）の識別反応として捉え、グリコシル化後の異性体の分離の簡便化に応用し、オリゴシアル酸の合成の効率化を図った。

まず初めに、適切に保護基を選択することで1,5-ラクタム化受容体への変換が可能なユニットの合成に成功した。次に、このユニットから誘導したシアル酸単糖アノマー混合物を用いてラクタム化反応を行ったところ、 α 体のみが二環性のラクタム化受容体へ変換され、 β 体由来の生成物との極性差が生じることににより、アノマー異性体の分離が容易に達成された。続いて、得られたラクタム体を受容体に用いたグリコシル化反応を検討した結果、高い収率で $\alpha(2-8)$ シアル酸二量体を合成することができた。次に、ラクタム化、グリコシル化による伸長反応を繰り返すことで $\alpha(2-8)$ シアル酸四量体の構築に成功した。最後に、ラクタムシアル酸を舟形から 2C_5 椅子形配座へ再変換するラクタム開環反応を検討した。種々検討した結果、ラクタム環の窒素保護基をBoc基で保護した場合に高収率で開環が可能であった。また、NBoc基から天然型のNAc基への変換に成功し、1,5-ラクタム化を鍵反応として利用した本手法が $\alpha(2-8)$ オリゴシアル酸の有力な合成法であることが示された。

第二章では5-*N*,7-*O*環状カルボニル化シアル酸供与体を用いたシアリル化反応について述べる。第一章の研究過程で5-*N*,7-*O*環状カルボニル化シアル酸供与体が特異な立体選択性を持つことが明らかとなった。そこで、このシアル酸供与体が有する反応性、立体選択性を詳細に調べることとし、反応条件の影響、受容体基質の一般性を検討した。その結果、高い収率は得られなかったが、立体選択性が溶媒に大きく依存していることを明らかにすることができた。通常高い α 選択性を与えるアセトニトリルを溶媒として用いた時に、予想に反して β 選択性が得られ、一方、ジクロロメタンを用いた場合には、 α 異性体がわずかに優位に生成したという興味深い結果が得られた。また、1級水酸基との反応ではほとんど α 選択性は見られな

ったが、2級水酸基との反応では比較的反応性が高い基質において多少の α 選択性が得られた。

論文審査結果の要旨

酸性糖であるシアル酸が縮重合した $\alpha(2\rightarrow8)$ オリゴ、ポリシアル酸は、発生初期の神経細胞やナトリウムチャンネルなどに存在が見いだされ、近年、神経回路網の構築を司る調節因子としての機能を始め、様々な生物学的機能が示唆されている。これらの機能を分子レベルで詳細に解明するために、合成化学による純粋標品の供給が必要不可欠である。現在、世界中で $\alpha(2\rightarrow8)$ ポリシアル酸合成法の開発が競って行われているが、次に挙げる問題点の克服が課題とされてきた。① 糖受容体側のシアル酸 8 位水酸基の低反応性、② 糖供与体側シアル酸の 1 位カルボキシル基の電子的、立体的な影響による低反応性、③ 3-デオキシ構造に由来するグリコシル化の低立体選択性、④ ③により生じるアノマー混合物の分離である。本論文では上記の問題点を踏まえ、新しい戦略による $\alpha(2\rightarrow8)$ オリゴシアル酸の化学合成を目的としている。

第一部では、オリゴシアル酸に対する新しい合成戦略を提唱し、モデル系による新戦略の有用性の確認とオリゴシアル酸の化学合成を実施した。シアル酸の C1 カルボキシル基、C5 アミノ基でラクタム化した 1, 5-ラクタムシアル酸の水酸基が高い反応性を示す事実と 1, 5-ラクタム化反応が α 、 β グリコシド異性体のうち、 α 体においてのみ進行するであろうという推測をもとに、ラクタム化反応をシアル酸受容体の水酸基活性化とグリコシド異性体の化学的分割を同時達成するための鍵反応として採用した合成サイクルを着想した。まず、戦略の要であるラクタム化反応によるグリコシド異性体の分割に関して、シアル酸単糖を用いたモデル実験により実行可能であることを実証した。次にその結果を踏まえ、オリゴシアル酸合成用の新規シアル酸供与体を設計合成した。続いて、単純アルコールとのグリコシル化によって、 α 体 β 体の異性体混合物を得たのちに、混合物をラクタム化反応に供し、望む α グリコシドのみをラクタム化受容体として高収率で得ることに成功した。得られた受容体に対して、シアル酸供与体を反応させ、同様にラクタム化を行うことでシアル酸二量体へと導いた。この反応を繰り返すことで、シアル酸 4 量体の骨格構築に成功した。また、得られたラクタム体の脱保護反応により、シアル酸 3 量体の全合成を完了した。

第二部では、第一部で実施したオリゴシアル酸合成で、糖鎖伸長に伴いグリコシル化収率が低下した結果を受け、シアル酸受容体の反応性向上を図った。C8 水酸基に隣接する C7 水酸基を遊離とすることで C8 水酸基の反応性が向上することを期待し、これを導くための前駆体となるシアル酸供与体を 5, 7-環状カーバメート構造を有する二環性の構造体として設計した。まず、二環性のシアル酸供与体はこれまでに報告がないことから、その反応性を検証した。その結果、二環性シアル酸供与体は、従来の単環性の供与体に比べて反応性が引くことが、種々の反応検討で判明した。また、シアル酸の α グリコシド形成を誘導するニトリル系の溶媒中では、二環性シアル酸供与体は、 β グリコシドを優先的に生成するという新事実を発見した。これらは、シアル酸のグリコシル化反応の詳細な機構解明の一助となる重要な結果である。

学位論文審査委員会に提出された学位論文の内見指導による審査を行った結果、以上の内容は学位を授与するに値すると確認した。

最終試験結果の要旨

上記申請者は、本論文において、 $\alpha(2\rightarrow8)$ オリゴシアル酸の化学合成を主題として、シアル酸を含む糖鎖およびその複合体の合成に関する化学を探究し、いくつかの新しい成果を得た。

第一に、従来その化学合成が至難であった $\alpha(2\rightarrow8)$ オリゴシアル酸の化学合成に成功した。申請者は、シアル酸の多量体形成を阻む要因として、受容体となるシアル酸の C8 水酸基の低反応性とグリコシル化の立体制御の不完全さに起因するグリコシド異性体の分離の低効率性を挙げ、それに対する新しい合成戦略を提唱した。この戦略では、シアル酸の 1, 5-ラクタム化反応によって、C8 水酸基の反応性が向上することと、ラクタム化反応が α 体のみで進行することを利用して、シアル酸連結反応、1, 5-ラクタム化の合成サイクルを繰り返すことによって、高純度のオリゴマーを迅速に合成しようと計画されていた。実際に、この合成サイクルは申請者の予想通り機能し、シアル酸の三量体を全合成することに成功した。

また、シアル酸四量体の骨格構築にも成功したが、糖鎖が伸張されるに従ってグリコシル化収率が低下したため、さらに、高反応性の受容体を設計し、この前駆体として新しく 5, 7-環状カーバメート構造を有する二環性のシアル酸供与体を設計した。この新規供与体の反応性を検討した結果、グリコシド形成を誘導するニトリル系の溶媒中では、 β グリコシドを優先的に生成するという新事実を発見した。これらは、シアル酸のグリコシル化反応の詳細な機構解明の一助となる重要な結果である。

以上の成果は、1. Synthetic study on $\alpha(2\rightarrow8)$ -linked oligosialic acid employing 1,5-lactamization as a key step, *Tetrahedron Lett.*, 2009, 50, 4478, 2. Sialylation reactions with 5-*N*,7-*O*-carbonyl-protected sialyl donors: unusual stereoselectivity with nitrile solvent assistance, *Carbohydr. Res.*, 2008, 343, 1585. として公表するとともに、国際学会 (Synthetic study on oligo-sialic acid by utilizing 1,5-lactamized sialyl acceptor, XXIII International Carbohydrate Symposium, July 23-28, 2006, Whistler, Canada)、国内学会 (日本化学会第 86 春季年会、同第 88 春季年会、第 26 回日本糖質学会、第 27 回同学会、第 28 回同学会) など多数学会発表を行った。

これらの内容は、学位論文審査委員会で開催した公聴会による審査を行った結果、学位を授与することに値すると確認した。