



# 岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

セレクチン結合活性を有する sialyl Lewis  
X誘導体の効率的合成法と立体選択的フコシル化反応  
に関する研究

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2008-02-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 清位, 孝夫 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12099/2277">http://hdl.handle.net/20.500.12099/2277</a>

氏 名 (本籍)	清 位 孝 夫 (大 阪 府)
学 位 の 種 類	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 乙 第 3 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 1 1 年 3 月 1 5 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 題 目	セ レ ク チ ン 結 合 活 性 を 有 す る sialyl Lewis X 誘 導 体 の 効 率 的 合 成 法 と 立 体 選 択 的 フ コ シ ル 化 反 応 に 関 す る 研 究
審 査 委 員	主 査 岐 阜 大 学 教 授 木 曾 眞 副 査 岐 阜 大 学 助 教 授 石 田 秀 治 副 査 信 州 大 学 教 授 茅 原 紘 副 査 静 岡 大 学 教 授 碓 氷 泰 市

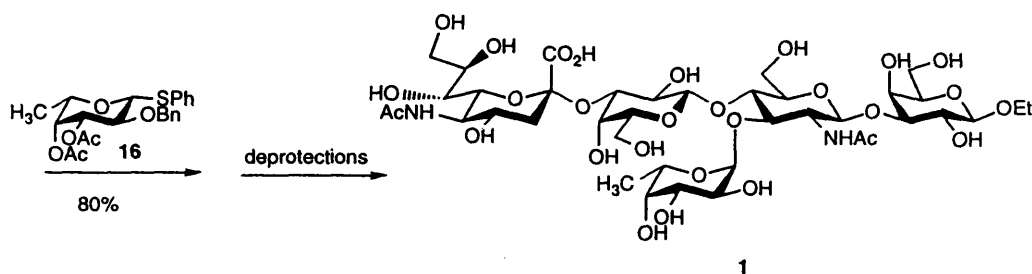
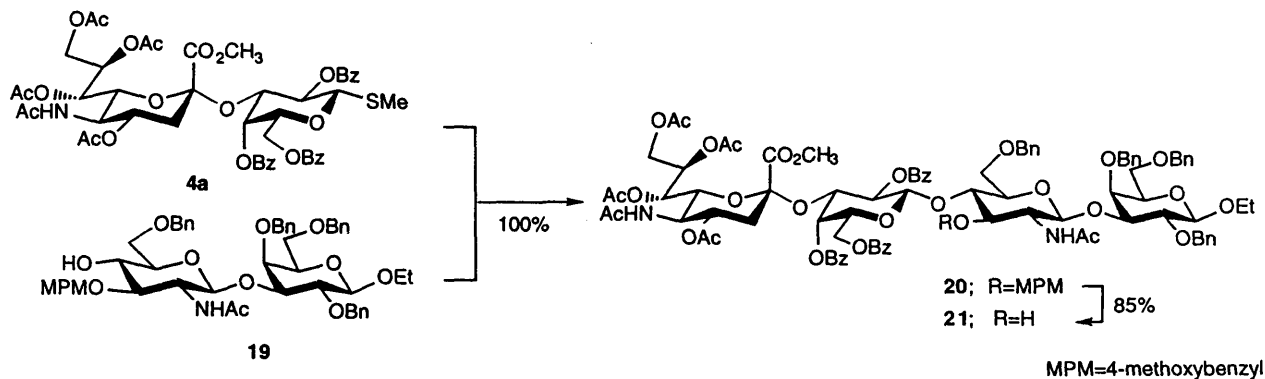
### 論 文 の 内 容 の 要 旨

接着分子の一種であるセレクチンは、炎症部位への白血球の集積や、癌の浸潤、転移等に関与していると考えられている分子である。すなわち、アトピー性皮膚炎、慢性関節リウマチや喘息といった炎症性疾患では、患部の血管内皮細胞表面にセレクチン蛋白の発現が認められている。一方、血液中を循環している白血球等の免疫担当細胞の表面にはセレクチンを認識するリガンドが発現している。そして、この両者が結合することにより、白血球の炎症部位への集積が起こる。また、癌との関連においては、ある種の腫瘍細胞がセレクチンを介した相互作用によって内皮細胞と結合することが報告されている。さらに、腫瘍部位における血管新生においても、セレクチンの関与が示唆されている。従って、セレクチンの関与する細胞接着を阻害することができれば、上述の炎症性疾患や癌の治療につながる事が期待できる。

既に、セレクチンに対するリガンドの一つとして、sialyl Lewis X(sLe<sup>x</sup>)と呼ばれる糖鎖化合物が知られている。sLe<sup>x</sup>は本来、細胞膜上に糖脂質、あるいは糖蛋白質の形で存在している。ところで、炎症を惹起したモデル動物に化合物1の様なsLe<sup>x</sup>誘導体を投与すると、このものがセレクチンと結合するために、白血球が内皮細胞に接着できなくなり、炎症反応が抑制される事が報告されている。

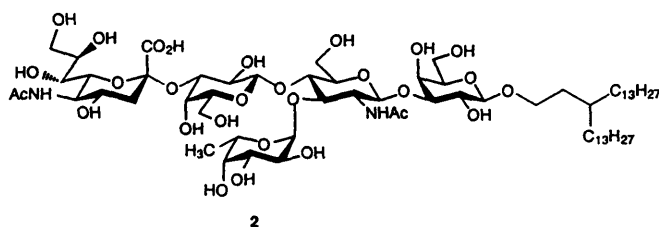
本論文では、sLe<sup>x</sup>の構造をもとにして、より強力でかつシンプルな構造のセレクチン阻害薬を見出すことを目的としている。すなわち、第一章では化合物1の効率的な合成法の確立、第二章ではsLe<sup>x</sup>糖脂質誘導体2の合成と、このものを用いたセレクチン阻害薬のスクリーニング系の確立、そして第三章では新たに見出したセレクチン阻害薬3の効率的合成を可能にした立体選択的フコシル化反応について述べている。

(第一章) sLe<sup>x</sup>誘導体1を非常に効率良く合成できるルートの開発に成功した。すなわち、化合物1を三つのフラグメント(Neuα(2→3)Gal、GlcNAcβ(1→3)GalOEt、およびフコース部分)の集合体と考え、まず、Neuα(2→3)Gal 2糖4aとGlcNAcβ(1→3)GalOEt 2糖19を縮合し、



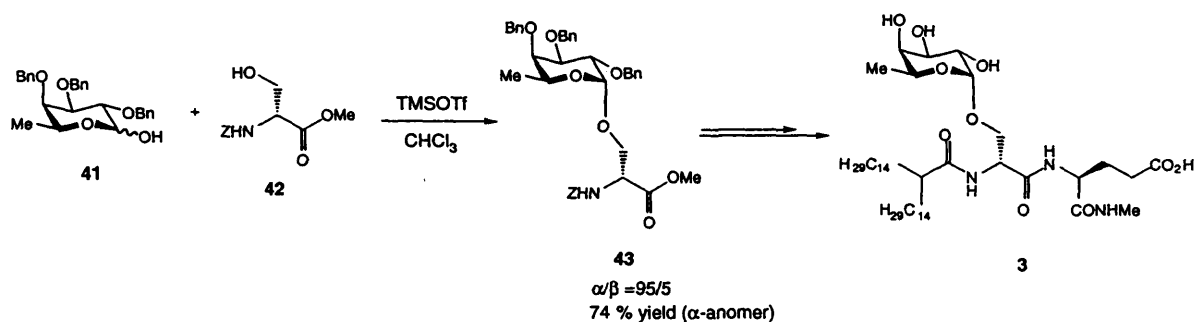
直鎖の4糖化合物20を合成した。この縮合反応は非常に優れたものであり、定量的な収率で進行することを明らかにした。引き続きフコース部分の導入反応も良好な収率で進行し、化合物1を効率よく合成することに成功した。こうして得られた化合物1は、*in vitro*のセレクチン結合阻害活性の測定系や様々な病態動物モデルを確立する上で、標準物質としての役割を果たした。

(第二章) sLe<sup>x</sup>構造を持つ糖脂質化合物2の合成について述べる。化合物2の合成においても、第一章で見いだした手法を応用する事により、効率的な合成法を確立することに成功した。



こうして得られた化合物2は、セレクチン結合阻害活性の測定系(ELISA システム)に必要な不可欠なものである。すなわち、化合物2は、その長鎖アルキル基部分が持つ強い疎水的性質を利用して、アッセイに用いるマイクロプレートに吸着させることができる。ここに、セレクチン構造を有する蛋白を添加すると、両者の結合が観測される。この結合を阻害する化合物が、セレクチン阻害薬の候補化合物となる。このアッセイ系が確立できたことで、数千~数万化合物のスクリーニング(ハイスループットスクリーニング)が可能になった。

(第三章) 第二章で確立したスクリーニング系によって、セレクチン阻害活性を有する新規な化合物3が見出された。化合物3を効率良く合成するためには、優れたフコース導入法の確立が必要である。種々検討の結果、トリメチルシリルトリプレートを活性化剤に用いることによって、1位が水酸基であるフコース誘導体41とセリン誘導体42の縮合反応が



進行することを見出した。この反応の利点として以下の点を挙げる事ができる。(i) 立体選択性が高い( $\alpha/\beta=95/5$ )。(ii) 1位が水酸基の糖誘導体は、一般的な糖供与体の前駆体である事から、このものを用いることによって合成工程の短縮化を図ることができる。(iii) フコース供与体の1位が熱や水分に安定な水酸基であるため、化合物の取り扱いや反応操作が容易である。本反応を用いる事により、セレクチン阻害物質3を効率良く合成することができた。

(総論) 本研究によって、新規な合成戦略に基づくsLe<sup>x</sup>誘導体1の効率的な合成法を確立する事ができた。さらに、この手法を用いて長鎖アルキル基を有するsLe<sup>x</sup>誘導体2を合成し、このものを用いる事によって、セレクチン阻害薬のハイスループットスクリーニングが可能なアッセイ系を確立することができた。また、このアッセイ系を用いて見出した新規なセレクチン阻害物質3の実用的合成法に関する研究を行い、高立体選択的フコシル化反応を見出した。

## 審 査 結 果 の 要 旨

接着分子は、細胞間および、細胞と細胞外基質等との結合を媒介する分子であり、炎症反応、癌の浸潤や転移、発生、止血といった重要な生体反応を担っている。接着分子には非常に多くの種類が存在するが、その中の一つであるセレクチンと呼ばれる蛋白を介した細胞接着が、炎症性疾患や癌の進行に深く関与していることが最近の研究で明らかとなっている。すなわち、アトピー性皮膚炎、慢性関節リウマチや喘息といった炎症性疾患では、患部の血管内皮細胞表面にセレクチン蛋白の発現が認められている。一方、血液中を循環している白血球等の免疫担当細胞の表面にはセレクチンを認識するリガンドが発現している。そして、この両者が結合することにより、白血球の炎症部位への集積が起こる。また、癌との関連においては、ある種の腫瘍細胞がセレクチンを介した相互作用によって内皮細胞と結合することが報告されている。さらに、腫瘍部位における血管新生においても、セレクチンの関与が示唆されている。

既に、セレクチンに対するリガンドの一つとして、sialyl Lewis X(Neu $\alpha$ (2 $\rightarrow$ 3)Gal $\beta$ (1 $\rightarrow$ 4)(Fuc $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 3))GlcNAc, sLe<sup>x</sup>)と呼ばれる糖鎖化合物が知られている。sLe<sup>x</sup>は本来、細胞膜上に糖脂質、あるいは糖蛋白質の形で存在している。ところが、炎症を惹起したモデル動物にsLe<sup>x</sup>誘導体を投与すると、このものがセレクチンと結合するために、白血球が内皮細胞に接着できなくなり、炎症反応が抑制される事が報告されている。本研究は、sLe<sup>x</sup>の構造をもとにして、より強力でかつシンプルな構造の

セレクトイン阻害薬を見いだすことを目的としている。

第一章では、sLe<sup>x</sup>5糖誘導体の効率的な合成法の開発について述べている。すなわち、sLe<sup>x</sup>5糖誘導体を三つのフラグメントの集合体と考え、まず、二種類の2糖を縮合し、直鎖の4糖化合物を合成した。この縮合反応は非常に優れたものであり、定量的な収率で進行する。引き続きフコース部分の導入反応も良好な収率で進行し、sLe<sup>x</sup>5糖誘導体を効率よく合成することに成功した。この化合物は、*in vitro* のセレクトイン結合阻害活性の測定系や様々な病態動物モデルを確立する上で、標準物質としての役割を果たした。

第二章では、sLe<sup>x</sup>構造を持つ糖脂質様化合物の合成について述べている。本化合物の合成においても、第一章で見いだした手法を応用する事により、効率的な合成法を確立することに成功している。こうして得られたsLe<sup>x</sup>糖脂質様化合物を用いることにより、セレクトイン結合阻害活性の測定系(ELISAシステム)を確立できた。本アッセイ法は操作が簡便な上に、迅速かつ大量に検体をスクリーニングすることが可能である。

第三章では、セレクトイン阻害化合物の合成法を確立する上で見いだした立体選択的グリコシル化反応について述べている。すなわち、トリメチルシリルトリフレートを活性化剤に用いることにより、1位が水酸基であるフコース誘導体とセリン誘導体の縮合物を、高い $\alpha$ 選択性で得ることに成功した。この反応で用いる基質は、一般的な糖供与体の前駆体である事から、合成工程の短縮化および合成コストの低減を図ることができる。さらに本反応の応用例についても種々検討しており、本反応が広く適用できうることを示唆している。

これらの研究成果によって、sLe<sup>x</sup>誘導体が従来の方法に比べ格段に容易に合成できるようになった。そして、この手法を応用して合成されたsLe<sup>x</sup>糖脂質誘導体を用いることによって、セレクトイン阻害活性物質のハイスループットスクリーニングが可能になった。さらに、本研究によって見出された高立体選択的グリコシル化反応は、種々の基質に応用可能であり、セレクトイン阻害薬の効率的合成法を可能にした。これらの研究成果は、今後の抗接着分子療法進展の基礎となるものであり、極めて重要な成果であるといえる。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合農学研究科の学位論文として十分価値のあるものとして認めた。

学位論文の基礎となる学術論文

1. Takao Kiyoi, Yoshiyuki Nakai, Hirosato Kondo, Hideharu Ishida, Makoto Kiso, Akira Hasegawa  
A Highly Practical Synthesis of the Sialyl Lewis X Pentasaccharide and an Investigation of Binding to E-, P-, and L-Selectins  
*Bioorg. Med. Chem.*, **4**, 1167-1176 (1996).

2. Takao Kiyoi, Yoshimasa Inoue, Hiroshi Ohmoto, Masahiro Yoshida, Makoto Kiso, Hirosato Kondo  
Synthesis of Sialyl Lewis X Pentasaccharide Analogue for High-throughput Screening of Selectin Blockers  
*Bioorg. Med. Chem.*, **6**, 587-593 (1998).
3. Takao Kiyoi, Hirosato Kondo  
A Stereoselective  $\alpha$ -Fucosylation Reaction Using 1-Hydroxy 2,3,4-tri-*O*-benzyl-L-fucose Donor for the Practical Synthesis of Selectin Blocker  
*Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **8**, 2845-2848 (1998).

既発表学術論文

1. Takahiro Tsukida, Yasuyuki Hiramatsu, Hideki Tsujishita, Takao Kiyoi, Masahiro Yoshida, Kiriko Kurokawa, Hideki Moriyama, Hiroshi Ohmoto, Yukihisa Wada, Tadayuki Saito, Hirosato Kondo  
Studies on Selectin Blockers. 5. Design, Synthesis, and Biological Profile of Sialyl Lewis x Mimetics Based on Modified Serine-Glutamic Acid Dipeptides  
*J. Med. Chem.*, **40**, 3534-3541 (1997).
2. Takahiro Tsukida, Masahiro Yoshida, Kiriko Kurokawa, Yoshiyuki Nakai, Toshio Achiha, Takao Kiyoi, Hirosato Kondo  
A Highly Practical Synthesis of Sulfated Lewis X: One-Pot, Two-Step Glycosylation Using "Armed/Disarmed" Coupling and Selective Benzoylation and Sulfation  
*J. Org. Chem.*, **62**, 6876-6881 (1997).
3. Masahiro Yoshida, Takao Kiyoi, Takahiro Tsukida, Hirosato Kondo  
ONE-POT SYNTHESIS OF LEWIS X OLIGOSACCHARIDE DERIVATIVES USING "ARMED-DISARMED" COUPLING METHOD  
*J. Carbohydr. Chem.* **17**, 673-681 (1998)