



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

生体機能性糖脂質ラクト系ガングリオシド類の系統的合成研究

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2014-04-01 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 亀山, 昭彦 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12099/2351">http://hdl.handle.net/20.500.12099/2351</a>

氏 名 (本籍)	亀 山 昭 彦 (愛知県)
学 位 の 種 類	博士 (農学)
学 位 記 番 号	農博甲第10号
学 位 授 与 年 月 日	平成6年3月14日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当
研 究 科 及 び 専 攻	連合農学研究科 生物資源科学専攻
研究指導を受けた大学	岐阜大学
学 位 論 文 題 目	生体機能性糖脂質ラクト系ガングリオシド類 の系統的合成研究
審 査 委 員	主査 岐 阜 大 学 教 授 長谷川 明 副査 岐 阜 大 学 教 授 木 曾 眞 副査 信 州 大 学 教 授 柴 田 久 夫 副査 岐 阜 大 学 教 授 原 徹 夫 副査 静 岡 大 学 教 授 碓 氷 泰 市

### 論 文 の 内 容 の 要 旨

細胞表層には糖蛋白質や糖脂質 (ガングリオシド) が存在し、糖鎖部分を細胞外に配向させ、外界の情報の認識や自己の存在を示し、ホルモン、ウイルス、バクテリア、細胞毒素、その他のレセプター機能をはじめ、細胞間認識や細胞の分化・増殖、がん化、受精、免疫などの基本的な生命現象に深く関与する分子種であり、その生物学的役割の多彩さから、最近特に注目をあつめている。その中で、特異な構造を有する炭素9原子から成る糖酸、いわゆるシアル酸を構成成分とするオリゴ糖鎖及びそのセラミド誘導体 (ガングリオシド) は生体内にごく微量しか存在せず、オリゴ糖鎖構造の多様性に加えて、シアル酸及び脂質部分であるセラミド分子にも多様性があり、天然から純粋な単一化合物として得ることは困難である。この多彩な生物活性を担うシアロ複合糖質の生物学的機能の解明を分子レベルで行うためには、合成化学的手段による単一化合物及びその類縁体の合成が必要不可欠な課題である。

本研究ではこの問題に取り組み、ガングリオシドのうち、古くからがん関連抗原として知られていたラクト系列及びネオラクト系列の系統的合成法の確立を目的としたものである。なおこのラクト系列に属するシアリル-ルイス a 及び x 糖鎖がサイトカイン刺激により血管内皮細胞表面、血小板及び白血球表面に一時的に出現する蛋白質・セレクチンにより特異的に認識されることが発見され、がんの転移、炎症に起因する

病気、血栓形成との関連から特に注目されている分子種である。

ガングリオシド合成を困難にしていた点はシアル酸の位置及び $\alpha$ -立体選択的グリコシル化法であったが、チオグリコシドを用い、適切に保護されたガラクトース受容体及び反応機構に新たな考察を加え、アセトニトリルを反応溶媒に選び、グリコシル化剤として、ジメチルメチルチオトリプレイト (DMTST) あるいはN-沃素こはく酸イミド (NIS)-トリフルオロメタンスルホン酸 (TfOH) を選択することにより、熱力学的に不安定であるシアル酸の $\alpha$ -グリコシドを目的とする位置に導入することができた。この方法を他の糖受容体に応用しても、またシアル酸類縁のチオグリコシドを糖供与体とした場合でも目的とする $\alpha$ -配糖体のみを好収率で合成することができた。このことはシアリル糖鎖の合成を可能とした点で特に重要である。しかし、この $\alpha$ -グリコシル化法も立体的に込み入った糖鎖への直接的なシアル酸の導入には必ずしも有利とは云えない。一方生体内では、シアル酸はガラクトースの3位及び6位に $\alpha$ -結合して存在することが多いので、系統的にガングリオシド類を合成するためには、先の方法にて容易に合成できるシアリル $\alpha$  (2-3) ガラクトース及びシアリル $\alpha$  (2-6) ガラクトースを合成ブロックとして使用することにした。この2種類のシアリル-ガラクトースをそれぞれチオグリコシドに導き2糖供与体として用いた。一方ラクトースのトリメチルシリルエチルグリコシドを合成し、種々の化学変換ののち、そのC-3'位にグルコサミン誘導体を $\beta$ -グリコシドとして導入し、3糖誘導体を合成した。このグルコサミン部分のC-3位あるいはC-4位のみ遊離とした化合物に導き、ラクト及びネオラクト系列合成の鍵3糖受容体を合成した。先に合成したシアリル-ガラクトースを縮合させることにより、ラクト及びネオラクト糖鎖が、またL-フコースを $\alpha$ -グリコシドとして導入し、4糖としたのち、グルコサミン部分のベンジリデン基を還元的に開裂し、4位水酸基に、また同様にグルコサミン部分のC-3位水酸基のみを遊離としたのちにそれぞれシアリル-ガラクトース供与体をDMTST存在下縮合することにより、シアリル-ルイスa及びx糖鎖の合成に成功し、ラクト系列糖鎖の一般的合成法を確立した。最後にガングリオシドへの誘導法であるが、ベンジル基を還元的に脱離した後アセチル体に導く。ついで糖鎖のC-1位置換基 (SE基) を $\text{BF}_3 \cdot \text{エーテル}$ で除き、 $\text{CCl}_3\text{CN}$ でイミデートを合成する。得られた糖鎖にアジドスフィンゴシンを $\beta$ -グリコシドとして導入し、アジド基の選択的還元、脂肪酸の導入、保護基の除去という共通した反応経路により、目的とするガングリオシドの全合成及びその類縁体の合成に成功した。

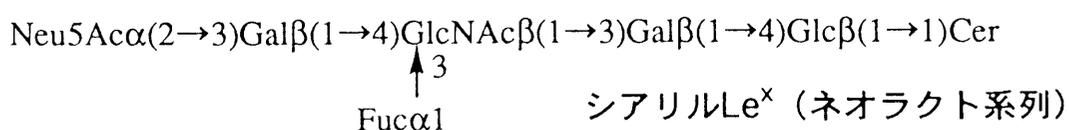
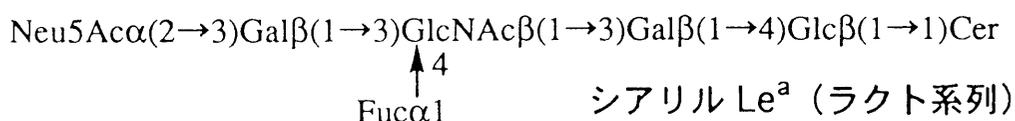
以上、本研究で確立したラクト系列ガングリオシド合成法の成功は、他系列ガングリオシド合成にも応用できるとともに、広くシアロ複合糖質の合成研究ならびに分子レベルにおける生物学的機能解析研究に大いに貢献するものと考えられる。

## 審 査 結 果 の 要 旨

シアロ複合糖脂質であるガングリオシドは動物細胞表層に局在し、糖鎖部分を細胞外に配向させ、外界の情報や自己の存在を顕示し、ホルモン、ウイルス、バクテリア、細菌毒素、その他のレセプター機能をはじめ、細胞間認識や細胞

の分化・増殖、がん化、受精、免疫などの基本的な生命現象に深く関与する分子種である。その化学構造は特異な構造を有する炭素9原子から成る糖酸、すなわちシアル酸と各種のオリゴ糖鎖及び脂質部分であるスフィンゴシンと脂肪酸から構成されているセラミドから構築されている。このガングリオシドは生体内にごく微量しか存在せず、オリゴ糖鎖構造の多様性に加えて、シアル酸及び脂質部分にも多様性があり、天然から純粋な単一化合物として得ることは困難である。この多彩な生物活性を担うガングリオシドの生物学的機能の解明を分子レベルで行うためには、合成化学的手段による単一天然化合物及びその類縁体の合成が必要不可欠な課題である。

本研究では、ガングリオシドのうち、とくに以前よりがん関連抗原として知られていたラクト系列ガングリオシドの機能解明を有機合成化学的手法を用いて行うことを目的とした。なおこの研究中に、各種の抗原刺激により生成するリンホカインにより、血管内皮細胞表面、血小板や白血球表面に一時的に出現する細胞接着蛋白質セレクトイン・ファミリーがこのラクト系列ガングリオシドを認識することが生化学的に推定され、炎症に関連する病気、がんの転移への関与等から一躍注目を集める分子種となった。このラクト系列ガングリオシドの構造はオリゴ糖鎖の還元末端にセラミドが $\beta$ -グリコシド結合し、以下に示すように、ラクトース、N-アセチルグルコサミン、ガラクトース、シアル酸、更にフコースがグルコサミンのC-3あるいはC-4位に結合している。またラクトサミン構造が2分子、3分子とくり返し構造をしているものも存在する。



本研究では、これらのラクト及びネオラクト系列ガングリオシドの系列的全合成経路を世界ではじめて完成し、セレクトイン・ファミリーが関与する細胞接着がシアリル  $\text{Le}^a$  及び  $\text{Le}^x$  糖鎖構造であることを証明した。その合成法の特徴を要約するとつぎの通りである。ガングリオシド合成の問題点は熱力学的に不安定なシアル酸の $\alpha$ -配糖体合成である。この点に関しては、シアル酸のチオグリコシドを始めて合成し、アセトニトリル中、反応促進剤にN-沃素こはく酸イミド-TfOHあるいはDMTSTを用いることにより解決し、シアリル $\alpha$ (2-3)Gal及びシアリル $\alpha$ (2-6)Galを合成し、数段階の反応によりメチルチオグリコシドに導いた。一方ラクトースのトリメチルシリルグリコシドを合成し、Gal部分の3位水酸基のみを遊離とし、そこにグルコサミンを $\beta$ -結合させる。

得られた3糖のC-3位あるいはC-4位(GlcNAc部分)にシアリル-Galを結合させてラクト及びネオラクト糖鎖を合成した。一方L-フコースのベンジル体のチオグリコシドをトルエン中で、先に合成した2種の3糖に $\alpha$ -グリコシド結合させ、つづいてシアリル $\alpha$ (2-3)及び $\alpha$ (2-6)Galを $\beta$ -結合させることによりシアリルLe<sup>a</sup>及びLe<sup>x</sup>糖鎖を合成した。最後に糖鎖還元末端のみを遊離とし、ルイス酸を作用させてこれをイミデートとしたのち、スフィンゴシンを $\beta$ -結合にて導入し、最後に脂肪酸を縮合させることにより、セラミド誘導体すなわち目的とするガングリオシドの全合成経路を世界に先駆けて確立した。以上の業績は、困難とされていたガングリオシドの分子レベルでの機能解析を可能にするものであるとともに糖鎖工学に新たな方法論を提供するものである。よって本論文は博士(農学)学位論文として十分な価値があるものと認めた。