

博士（地球環境科学） 姜秉元

学位論文題名

New Sulfonated Amino-polysaccharides
Having Pentofuranosidic Structures
and Their Biological Activities

(新規ペントフラナン型硫酸化アミノ多糖の合成と生理活性)

学位論文内容の要旨

序論：

多糖類はタンパク質、核酸とともに生体を構成する重要な高分子であり、最近生命現象に深く係っていることが明らかにされつつある。天然には、抗凝血作用を持つヘパリンを始め、キチン・キトサン、血液型決定糖鎖などアミノ基を持つ多糖も普通に存在し重要な生理活性に関与している。しかし、アミノ基の抗凝血作用、抗HIV作用に及ぼす影響について調べた研究は少ない。当研究室では、新規で構造明確な多糖類を無水糖類の開環重合法によって合成し、構造と硫酸化多糖の重要な生理活性である抗HIV作用、抗凝血作用について研究している。これまでに6单糖の3位にアミノ基を有するアロース型多糖を合成し構造と生理活性について報告したが、ペントフラナン型アミノ多糖の構造と生理活性との関係を調べた研究はなかった。

そこで、本研究では、3位にアミノ基に変換可能なアジド基を持つ無水キシロースおよび無水リボース誘導体を新たに合成し、その開環重合性について詳細に調べ、新規3-アミノキシロフラナン、リボフラナンを合成することが出来た。さらにリボフラナン型アミノ多糖を硫酸化し、構造と生理活性との関係を調ることが大きな目的である。さらに、リボフラナン、リボピラナンと立体構造の異なるアラビノフラナン、キシロフラナンも合成して硫酸化し、さらに1,4- β 構造を持つキシランも硫酸化し、立体構造と抗凝血作用、抗HIV作用との関係を当研究室からすでに報告した硫酸化リボフラナン、リボピラナンと比較検討した。

実験・結果：

D-リボースを真空熱分解して得られた1,4-無水リボースの2位水酸基の保護、3位水酸基のTf化、リチウムアジドで3位立体が反転したキシロース型の3-アミノキシロフラノースを合成することができた。開環重合性はBF₃OEt₂、PF₅触媒を用いた結果、いずれも1,5- α 構造ポリマーになることが分かった。SbCl₅触媒では-60 °CではBF₃OEt₂、PF₅触媒の場合とは異なり重合温度を上昇させるに従い立体規則性が変化し、-20 °Cでは1,5- α と1,5- β 構造との割合が約6:4のポリマーとなった。1,5- α 構造ポリマーのアジド

基をアミノ基に還元し脱保護を行い3-アミノキシロフラナンへと導いた。アミノ基を持つペントフラナンの初めての合成例となった。リボース型の3-アミノリボフラナンを合成するために、上と同様にD-キシロースの真空熱分解により1,4-無水キシロースを得た。2位水酸基の保護、3位水酸基のTf化、リチウムアジドによる反転アジド化によって目的の新規モノマーA3ASRを合成した。 BF_3OEt_2 、 SnCl_4 、 PF_5 触媒では1,5- α 構造のポリマーが得られることが分かった。 SbCl_5 触媒では、この場合も重合温度によって得られたポリマーの構造が大きく変化することが明らかになったが、構造変化はキシロースの場合とは逆になった。すなわち、重合温度を上げるに従い1,5- β 構造の割合が上昇した。1,5- α および1,5- β 構造を持つポリマーの還元、脱保護お行い3-アミノリボフラナンを合成した。さらに、モノマーADSRとの共重合も行い、A3ASRユニットの割合が異なる1,5- α -リボフラナンを合成することが出来た。リボースとは2位、3位の立体配置が異なり、アミノ基を持たないアラビノフラナン、キシロフラナンをポリマー構造と生理活性との関係を調べる目的で、これまでに報告された方法に従って対応する無水糖モノマーの開環重合法によって合成した。上記で得られた3-アミノリボフラナン、ADSRモノマーと共に重合して種々の割合でアミノ基を持つアミノリボフラナン、アラビノフラナン、キシロフラナン、さらに市販の1,4- β 構造を持つキシランを硫酸化して抗HIV作用、抗凝血作用を調べた。硫酸化アラビノフラナンでは、 $\text{EC}_{50} = 0.1 \mu\text{g/ml}$ という高い抗HIV作用を示すことが分かった。硫酸化キシロフラナンでは、 $\text{EC}_{50} = 108 \mu\text{g/ml}$ と低くなるが、硫酸化度が上がると $\text{EC}_{50} = 0.2 \mu\text{g/ml}$ という高い値を示した。フラノース構造に比べて硬い主鎖構造である1,4- β 構造を持つ硫酸化キシランでは $\text{EC}_{50} = 0.1 \mu\text{g/ml}$ となり、分子量、硫酸化度ともに高くなれば抗HIV作用も高くなることが分かった。さらに細胞毒性は、どちらの多糖も $\text{CC}_{50} = >1000 \mu\text{g/ml}$ となり低毒性であった。置換基の立体配置にはそれ程影響されないことも分かった。次に硫酸化多糖の重要な生理活性である抗凝血作用は柔らかいフラナン型主鎖構造を持つ、硫酸化アラビノフラナン、キシロフラナンでは36、28 unit/mgと高い値となり、リジッドな構造を持つ硫酸化キシランでは14~15 unit/mgで低い値をとることが明らかになった。硫酸化リボフラナンでは、56 unit/mgと非常に高い値を示すが、抗凝血作用も分子量、硫酸化度に影響され、さらに今回、主鎖のフレキシビリティによっても大きく変ることが明らかになった。硫酸化アミノリボフラナンでは、36~48 unit/mgとなって高い値になることが分かった。また、アミノ基の割合が減少するに従い抗凝血作用も低くなり、硫酸化多糖に含まれるアミノ基（硫酸アミド基）が生理活性に深く関与していることが新たにわかった。これらの研究は、HIVとの相互作用の検討などによい試料になると考えられる。

結論：

以上のようにこれまでに研究例のないアミノ基を持つペントフラノース型モノマーの合成法を確立し、重合の触媒、温度、保護基、保護基の立体配置などの違いによって開環重合性も異なることを明らかにした。さらにこれらのアミノ多糖、アミノ基を持たないアラビノフラナン、キシロフラナン、キシランを硫酸化して得られる硫酸化多糖は、ペントフラナン構造に由来する主鎖の柔軟さ、硫酸化度、分子量などが抗HIV作

用、抗凝血作用に大きく影響することを明らかにした。さらに硫酸化多糖中のアミノ基は、これら生理活性に深く係っていることも明らかに出来た。これらの研究は、HIVとの相互作用の検討や、副作用の少ないエイズ薬を開発する上でよい試料になると考えられる。

学位論文審査の要旨

主査 教授 坂入信夫
副査 教授 西則夫
副査 助教授 覚知豊次
副査 助教授 吉田 孝（大学院理学研究科）

学位論文題名

New Sulfonated Amino-polysaccharides Having Pentofuranosidic Structures and Their Biological Activities

(新規ペントフラナン型硫酸化アミノ多糖の合成と生理活性)

序論：

多糖類はタンパク質、核酸とともに生体を構成する重要な高分子であり、最近生命現象に深く係っていることが明らかにされつつある。天然には、抗凝血作用を持つヘパリンを始め、キチン・キトサン、血液型決定糖鎖などアミノ基を持つ多糖も普通に存在し重要な生理活性に関与している。しかし、アミノ基の抗凝血作用、抗HIV作用に及ぼす影響について調べた研究は少ない。当研究室では、新規で構造明確な多糖類を無水糖類の開環重合法によって合成し、構造と硫酸化多糖の重要な生理活性である抗HIV作用、抗凝血作用について研究している。これまでに6单糖の3位にアミノ基を有するアロース型多糖を合成し構造と生理活性について報告したが、ペントフラナン型アミノ多糖の構造と生理活性との関係を調べた研究はなかった。

そこで、本研究では、3位にアミノ基に変換可能なアジド基を持つ無水キシロースおよび無水リボース誘導体を新たに合成し、その開環重合性について詳細に調べ、新規3-アミノキシロフラナン、リボフラナンを合成することが出来た。さらにリボフラナン型アミノ多糖を硫酸化し、構造と生理活性との関係を調ることが大きな目的である。さらに、リボフラナン、リボピラナンと立体構造の異なるアラビノフラナン、キシロフラナンも合成して硫酸化し、さらに1,4- β 構造を持つキシランも硫酸化し、立体構造と抗凝血作用、抗HIV作用との関係を当研究室からすでに報告した硫酸化リボフラナン、リボピラナンと比較検討した。

実験・結果：

D-リボースを真空熱分解して得られた1,4-無水リボースの2位水酸基の保護、3位水酸基のTF化、リチウムアジドで3位立体が反転したキシロース型の3-アミノキシロフ

ラノースを合成することができた。開環重合性はBF₃OEt₂、PF₅触媒を用いた結果、いずれも1,5- α 構造ポリマーになることが分かった。SbCl₅触媒では-60 °CではBF₃OEt₂、PF₅触媒の場合とは異なり重合温度を上昇させるに従い立体規則性が変化し、-20 °Cでは1,5- α と1,5- β 構造との割合が約6:4のポリマーとなった。1,5- α 構造ポリマーのアジド基をアミノ基に還元し脱保護を行い3-アミノキシロフラナンへと導いた。アミノ基を持つペントフラナンの初めての合成例となった。リボース型の3-アミノリボフラナンを合成するために、上と同様にD-キシロースの真空熱分解により1,4-無水キシロースを得た。2位水酸基の保護、3位水酸基のTf化、リチウムアジドによる反転アジド化によって目的の新規モノマーA3ASRを合成した。BF₃OEt₂、SnCl₄、PF₅触媒では1,5- α 構造のポリマーが得られることが分かった。SbCl₅触媒では、この場合も重合温度によって得られたポリマーの構造が大きく変化することが明らかになったが、構造変化はキシロースの場合とは逆になった。すなわち、重合温度を上げるに従い1,5- β 構造の割合が上昇した。1,5- α および1,5- β 構造を持つポリマーの還元、脱保護お行い3-アミノリボフラナンを合成した。さらに、モノマーADSRとの共重合も行い、A3ASRユニットの割合が異なる1,5- α -リボフラナンを合成することが出来た。リボースとは2位、3位の立体配置が異なり、アミノ基を持たないアラビノフラナン、キシロフラナンをポリマー構造と生理活性との関係を調べる目的で、これまでに報告された方法に従って対応する無水糖モノマーの開環重合法によって合成した。上記で得られた3-アミノリボフラナン、ADSRモノマーと共に重合して種々の割合でアミノ基を持つアミノリボフラナン、アラビノフラナン、キシロフラナン、さらに市販の1,4- β 構造を持つキシランを硫酸化して抗HIV作用、抗凝血作用を調べた。硫酸化アラビノフラナンでは、EC₅₀ = 0.1 μg/mlという高い抗HIV作用を示すことが分かった。硫酸化キシロフラナンでは、EC₅₀ = 108 μg/mlと低くなるが、硫酸化度が上がるとEC₅₀ = 0.2 μg/mlという高い値を示した。フラノース構造に比べて硬い主鎖構造である1,4- β 構造を持つ硫酸化キシランではEC₅₀ = 0.1 μg/mlとなり、分子量、硫酸化度ともに高くなれば抗HIV作用も高くなることが分かった。さらに細胞毒性は、どちらの多糖もCC₅₀ = >1000 μg/mlとなり低毒性であった。置換基の立体配置にはそれ程影響されないことも分かった。次に硫酸化多糖の重要な生理活性である抗凝血作用は柔らかいフラナン型主鎖構造を持つ、硫酸化アラビノフラナン、キシロフラナンでは36、28 unit/mgと高い値となり、リジッドな構造を持つ硫酸化キシランでは14~15 unit/mgで低い値をとることが明らかになった。硫酸化リボフラナンでは、56 unit/mgと非常に高い値を示すが、抗凝血作用も分子量、硫酸化度に影響され、さらに今回、主鎖のフレキシビリティによって大きく変ることが明らかになった。硫酸化アミノリボフラナンでは、36~48 unit/mgとなって高い値になることが分かった。また、アミノ基の割合が減少するに従い抗凝血作用も低くなり、硫酸化多糖に含まれるアミノ基（硫酸アミド基）が生理活性に深く関与していることが新たにわかった。これらの研究は、HIVとの相互作用の検討などによい試料になると考えられる。さらに、この研究を用いることによりアミノ基の役割をさらに解明することができる。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士（地球環境科学）の学位を受けるのに充分な資格を有するものと判断する。