

学 位 論 文 題 名

A study on synthetic strategy for the
efficient construction of α - and
 β -(1 $\rightarrow$ 3)-branched oligosaccharides(効率的な α - および β -(1 $\rightarrow$ 3) - 分枝オリゴ糖構築の
合成戦略に関する研究)

学位論文内容の要旨

光合成によって二酸化炭素と水から生産される糖質は、地球上でもっとも多量に存在するバイオマスで、地球上における炭素循環の中心化合物である。糖質は、生物のエネルギー源や構築材料として利用される一方、免疫、臓器形成あるいは感染など様々な生命現象における情報分子としても利用されている。単糖類の連なった糖質は非常に多様性に富んだ分子構造を持ち、核酸やタンパク質と異なり、多くの分枝構造を持つ3次元分子であることが大きな特徴である。糖鎖の機能解明を行うために、化学的な手法による糖鎖の合成も活発に研究されている。しかしながら、複雑な糖鎖の分枝した構造を効率よく構築する方法はまだ十分に確立されていない。そこで本研究では生理活性糖鎖に普遍的に存在する α および β -(1 $\rightarrow$ 3)-分枝構造を効率よく構築するための合成戦略の開発を目的として行われた。

第1章では糖鎖の機能および従来の糖鎖合成法を概説し、分枝構造を持つ糖鎖の合成における問題点を示し、本研究の目的について述べた。

第2章では植物が生体防御物質であるファイトアレキシンを産生するきっかけとなる分枝七糖の新規合成方法についての研究を述べた。この糖鎖は β -(1 $\rightarrow$ 6) で結合したグルコースを主鎖として、2つの β -(1 $\rightarrow$ 3) 結合の分枝を持っている。従来は、後者を先に合成して二糖合成ブロックとし、主鎖を構築するというラミナリビオース経路で合成が行われてきた。本研究ではより短工程での合成を目的として先に主鎖を合成した後に分枝構造を導入する新規なゲンチオビオース経路での合成を検討した。しかしながら、チオグリコシドを供与体として NIS-TfOH を活性化剤とした場合は目的とするグリコシドの収率・立体選択性ともに悪く、相当量の α グリコシドが生成していることが判った。そこで種々の活性化剤を比較検討したところ BSP-Tf₂O が良好な立体選択性を示し、目的とする七糖を与えることを見出した。この結果については、前者はジオキソカルベニウムイオン中間体を経由して反応するが糖受容体の立体障害により β 選択性が低下するのに対して、後者は強力な求核剤であるアノメリックトリフラート様の中間体を経由して立体配置の反転を伴って反応が進行していることが示唆された。

第3章では前章で述べた β -(1 $\rightarrow$ 3)分枝を導入する際に立体選択性が低下する要因について詳細に検討した結果について述べている。まず、D-グルコース以外の糖供与体についての三糖受容体との反応を検討したところ、D-ガラクトースおよびL-フコースでも α グリコシドの生成が認められた。しかし、単糖受容体との反応の場合には α グリコシドの生成が認められないことから、単純に受容体水酸基周囲の立体障害が立体選択性に影響しているのではなく、受容体の1位あるいは6位に存在する糖残基の影響によることが示唆された。筆者はこの糖残基が隣接位の置換基に影響を与え、さらにグリコシル化反応点である水酸基へ影響を与えるというドミノ効果を提案している。そこでこのドミノ効果を解消するために、グリコシル化反応点の隣接位の置換基が存在しないジオール受容体を用いて同様のグリコシル化を行うと、期待したように非常に高収率かつ高選択的に β グリコシドがえられることが判明した。

第4章ではルイス式血液型のLewis a(Le^a)抗原である分枝三糖の合成について述べた。N-アセチルグルコサミンの3位に β ガラクトース、4位に α フコースが結合している。アミノ基の保護基の立体障害により前者の導入には困難が予想される。そこでこれまでに述べた研究結果を基にガラクトースの供与体として、より立体障害の小さなアセチル誘導体を用いる計画を立てた。しかしアセチル誘導体はグリコシル化反応に伴ってオルソエステルを形成しやすいという欠点がある。そこで、アセチル化されたチオグリコシドを供与体として効率的にグリコシル化反応に利用するために、活性化剤の検討を行った。その結果、前述したBSP系の試薬を低温で作用させることで、高収率でグリコシドを与えることを見出した。この結果を用いて、これまで β グリコシド結合の形成が困難であると報告されているフタルイミド保護のグルコサミン誘導体の3位への立体選択的なグリコシル化に成功した。さらに、4位へL-フコース誘導体を導入して目的とする Le^a 抗原三糖の合成を達成した。

第5章では、サルモネラ菌のリポ多糖中のO-抗原四糖繰り返し構造の合成研究について述べた。リポ多糖はグラム陰性細菌の外膜成分として存在する複雑な多糖類で病原菌の感染や毒性に関与した糖鎖である。サルモネラ菌のO-抗原多糖も、菌の感染、食物への付着やバイオフィルムの形成に関与していることが知られている。この化合物は中心となるD-マンノースの1,2,3-位に3つの異なる単糖が結合した特異な構造を有している。まず、マンノースを原料として3,6-位をデオキシ化して希少糖であるチベロースを調製した。ついで常法に従ってマンノース供与体とフコース受容体を結合させて二糖ブロックを合成した。3位へのチベロース導入には3章の研究結果を基盤としてジオールシステムへの選択的なグリコシル化反応を試みたところ、期待したように高収率で位置および立体選択的に糖鎖導入に成功した。最後に残った2位水酸基へガラクトース残基を導入して標的化合物の合成に成功した。

第6章では本研究結果を総括している。本研究は自然界に存在する生理活性糖鎖に比較的普遍的に存在する1,3-分枝構造を持つ糖鎖に着目してその効率的な合成法について検討したものである。特に、その結合形成に用いるグリコシル化反応では糖供与体から生じる中間体と糖受容体との立体的な相互作用が生成物の収率やグリコシド結合の配向に大きく影響するなど興味ある知見が得られた。さらに、糖供与体であるチオグリコシドの活性化剤の種類や受容体の立体障害の軽減などにより選択性を制御できることから、今後、合成基質を用いた糖鎖の機能解明などに関する研究の進展に大きく寄与すると期待される。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 坂 入 信 夫
副 査 教 授 松 田 冬 彦
副 査 教 授 中 村 博
副 査 准教授 小 西 克 明

学 位 論 文 題 名

A study on synthetic strategy for the efficient construction of α - and β -(1 $\rightarrow$ 3)-branched oligosaccharides

(効率的な α -および β -(1 $\rightarrow$ 3)-分枝オリゴ糖構築の
合成戦略に関する研究)

光合成によって二酸化炭素と水から生産される糖質は、地球上でもっとも多量に存在するバイオマスで、地球上における炭素循環の鍵となる化合物である。糖質は、生物のエネルギー源や構築材料ばかりでなく、様々な生命現象における情報分子としても重要な化合物である。糖質は、多くの分枝構造を有し、非常に多様性に富んだ三次元分子構造を持つことが大きな特徴である。糖鎖の機能解明を行うために、化学的な手法による糖鎖の合成も活発に研究されているが、複雑な糖鎖の分枝した構造を効率よく構築する方法はまだ十分に確立されていない。本論文は生理活性糖鎖に普遍的に存在する α -および β -(1 $\rightarrow$ 3)-分枝構造を効率よく構築するための合成戦略についての研究結果をまとめたものである。

分枝構造を持つ糖鎖を効率よく合成するためには、グリコシル化反応の立体化学の制御や反応収率の向上など解決しなければならない問題点が多い。本論文では、植物が生体防御物質であるファイトアレキシンを産生するきっかけとなる分枝七糖、ルイス式血液型の Lewis a (Le^a) 抗原である分枝三糖、およびサルモネラ菌のリポ多糖中の O-抗原四糖繰り返し四糖構造の合成方法についての詳細な研究結果を述べている。

ファイトアレキシン エリシター活性糖鎖は β -(1 $\rightarrow$ 6) で結合したグルコースを主鎖として、2つの β -(1 $\rightarrow$ 3) 結合の分枝を持っている。本研究ではより短工程での合成を目的として先に主鎖を合成した後に分枝構造を導入する新規なゲンチオビオース経路での合成を検討した。しかしながら、チオグリコシドを供与体とした通常の糖鎖構築法では目的とするグリコシドの収率・立体選択性ともに悪く、相当量の α グリコシドが生成していることが判った。この問題を解決するために、強力な求核剤であるアノメリックトリフラート様の中間体を経由す

る新規な活性化剤を用い、目的化合物の立体選択的な合成を達成している。

さらに、 β -(1 $\rightarrow$ 3)分枝を導入する際に立体選択性が低下する要因について詳細に検討した結果、グリコシル化反応の糖受容体の1位あるいは6位に存在する糖残基による立体障害が主要な原因であることを見出した。すなわち、糖残基が隣接位の置換基に影響を与え、さらにグリコシル化反応点である水酸基の反応性を低下させるというドミノ効果を提案している。

このドミノ効果による悪影響を低減するために、比較的立体障害の小さなアセチル基で保護された糖供与体ならびにジオール系糖受容体を用いる分岐糖鎖構築法を新たに考案し、その有効性を示している。前者の方法により、Le^a 抗原である分枝三糖の合成を達成している。まず、アセチル化されたチオグリコシドを供与体として効率的にグリコシル化反応に利用するために、前述したグリコシルトリフラートを經由する方法を低温で作用させる方法を開発した。この方法により、 β グリコシド結合の形成が困難であると報告されているフタルイミド保護のグルコサミン誘導体の3位への立体選択的なグリコシル化に成功し、4位へL-フコース誘導体を導入して目的とするLe^a 抗原三糖の合成を達成した。一方、後者の方法により、サルモネラ菌のO-抗原四糖繰返し構造の合成に成功した。リポ多糖はグラム陰性細菌の外膜成分として存在する複雑な多糖類で病原菌の感染や毒性に関係した糖鎖である。サルモネラ菌のO-抗原多糖も、菌の感染、食物への付着やバイオフィルムの形成に関与していることが知られている。この化合物は中心となるD-マンノースの1,2,3-位に3つの異なる単糖が結合した特異な構造を有している。ついで常法に従ってマンノース供与体とフコース受容体を結合させて二糖ブロックを合成した。3位へのチベロース導入には3章の研究結果を基盤としてジオール システムへの選択的なグリコシル化反応を試みたところ、期待したように高収率で位置および立体選択的に糖鎖導入に成功した。最後に残った2位水酸基へガラクトース残基を導入して標的化合物の合成に成功した。

以上、本研究によりいくつかの1,3-分枝構造を持つオリゴ糖の高い立体選択性を持って高収率で合成できることを明らかにした。特に、その結合形成に用いるグリコシル化反応では糖供与体から生じる中間体と糖受容体との立体的な相互作用が生成物の収率やグリコシド結合の配向に大きく影響するなど興味ある知見が得られた。さらに、糖供与体であるチオグリコシドの活性化剤の種類や受容体の立体障害の軽減などにより選択性を制御できることから、様々な分岐糖鎖の効率的な合成に応用可能である。今後、合成基質を用いた糖鎖の機能解明などに関する研究の進展に大きく寄与すると期待される。

審査委員一同は、これらの成果を高く評価し、また研究者として誠実かつ熱心であり、大学院博士課程における研鑽や修得単位などもあわせ、申請者が博士（環境科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。