

学位論文題名

Study on Novel Glucuronyl Donors Having Unusual 1C_4 Conformations(1C_4 配座を有する新奇グルクロン酸糖供与体に関する研究)

学位論文内容の要旨

哺乳類に存在するタンパク質のうちかなり多くの糖鎖による翻訳後修飾を受けており、細胞の増殖や分化、免疫、がんの転移や浸潤、シグナル伝達、感染や炎症などの生命現象に深く関わっていることが知られている。糖鎖は生体内において様々な構造の複合糖質として存在しているため個々の糖鎖機能を調べるためには純度が高く、かつ構造既知の試料が必要となる。しかし、糖鎖研究分野では遺伝子分野において強力な研究ツールとなっている PCR 法のような迅速増幅法が存在しないため、効率的な糖鎖試料調製法が必要不可欠である。

一つのアプローチとして、多糖や糖タンパク質、複合糖質から糖鎖を単離・精製する方法が古くから試みられてきた。しかし、生体由来試料の場合は様々な糖鎖の混合物として存在するので特定の均一な構造の糖鎖を単離・精製することは現在でも容易ではない。

一方、糖鎖を化学合成的に調製する方法は均一な糖鎖を大量に供給できる有望なアプローチである。近年では、オリゴ糖のみならず高分子量の糖鎖の合成も可能になってきており、化学合成の重要性はますます高まっている。

しかし、化学合成によって全ての糖鎖構造が得られるわけではない。特に、グリコサミノグリカンなどの多糖中に多く含まれるグルクロン酸は、連結反応であるグリコシル化反応が難しいとされている単糖である。このグルクロン酸は電子求引性のカルボン酸基と負の超共役を介した環酸素の電子密度の低下により反応性が乏しくなっているため、グリコシル化反応が低収率でしか進行しない例が多数報告されている。グリコサミノグリカン中には多数のグルクロン酸残基が存在するためグルクロン酸の低反応性を克服しない限り比較的分子量の大きいグリコサミノグリカン糖鎖を合成することは困難であると言える。

本研究ではこの低反応性を克服するため、配座変換を鍵戦略として用いることとした。六炭糖からなる単糖は通常 4C_1 配座を取るが六員環構造における熱力学的に不安定な 1C_4 配座では、負の超共役に環酸素が関与しなくなるため、反応性の向上が見込まれる。この 1C_4 配座を有する糖残基はアガロースやカラギナンなどの天然多糖中に多数見出されており、特有のコンフォメーションを誘起して機能を発現している事が知られている。

本研究においては 6,3-lactone 構造及び 2,4-O-silylene 構造を用いて 1C_4 配座に固定した新奇グルクロン酸糖供与体を合成し種々の糖受容体とグリコシル化反応を行った。その結果、いずれの糖供与体においても反応性の改善が認められ高立体選択性かつ高収率にて目的化合物を得ることができた。特筆すべき点として、連結が難しいとされる *N*-アセチルグルコサミン誘導体の 4 位水酸基や立体障害の大きい 3 級アルコールと

も効率良く反応が進行し、目的化合物を高収率にて得ることができた。

さらに 6,3-lactone 構造を有するグルクロン酸供与体を種々のグリコサミノグリカン型二糖構造合成に応用した。コンドロイチン型およびヒアルロン酸型二糖は定量的に、また構築難度の高いヘパラン硫酸型二糖も良好な収率で合成することができた。比較検討用に調製したアセチル保護型 4C_1 配座グルクロン酸糖供与体はヒアルロン酸型二糖をわずかに 22%しか与えないことが明らかとなり、 1C_4 配座を有する糖供与体の優位性が示された。また、6,3-lactone 糖供与体をヒアルロン酸三糖合成へと応用したところ三糖合成においても本手法が有効に機能することを確認した。この結果は、 1C_4 配座は糖供与体の反応性向上に寄与するだけでなく、糖受容体としての活性も高めることを示唆している。

一方、2,4-*O*-silylene 構造により 1C_4 配座を取るグルクロン酸糖供与体は、隣接基関与が考えられないにも関わらず、完璧な β 立体選択性を有することを見出した。一般に β 選択性発現のためには隣接基関与や溶媒効果を利用する必要があり、そのような効果を使用しない β -グルクロン酸含有化合物の合成は極めて珍しい知見と言える。また、この高い立体選択性はグリコシル化反応特有の中間体が媒介するものではなく、2,4-*O*-silylene 側鎖 (tBu 基) 構造の大きな立体障害によって発現したことを活性化条件比較実験から証明することができた。これまでも様々な反応中間体を経由する立体選択的グリコシル化反応が研究されているが、グルコ配位では再現性に乏しいとされており中間体を形成する効果を上回る今回のユニークな立体障害効果を見出したことは今後の糖鎖合成研究において新たな選択肢を与えるであろう。

以上、本研究は本来熱力学的に不安定とされる配座 (1C_4 配座) を積極的に用いることによりグリコシル化反応における反応性や立体選択性を制御することが可能であることを見出し、幅広い糖受容体に対して有効であることを示した。本手法はグルクロン酸以外にも適用可能な概念であり幅広い応用が期待できる。特にフコースなどの側鎖を有する希少なグリコサミノグリカン糖鎖や多修飾型グリコサミノグリカン糖鎖など合成難易度の高い糖鎖構造合成に大きく貢献するものと確信している。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 西 村 紳一郎
副 査 教 授 門 出 健 次
副 査 教 授 玉 置 信 之
副 査 教 授 坂 入 信 夫(環境科学院)
副 査 助 教 比 能 洋

学位論文題名

Study on Novel Glucuronyl Donors Having Unusual 1C_4 Conformations

(1C_4 配座を有する新奇グルクロン酸糖供与体に関する研究)

グリコサミノグリカンは細胞外マトリクスに存在するプロテオグリカンに共有結合している多糖であり、その構造変動が多くの疾患に関与するのみならず、多彩な生理活性が報告されている。近年、医薬品や新しいバイオマテリアルへの応用を目指し様々な研究が進行中である。第1章にて論じられているとおり、このグリコサミノグリカン研究の大きな課題は均一な試料の調達が困難であることであり、特に有機合成化学的アプローチにおいては主要構成成分の一つであるグルクロン酸の連結効率の低さは大きな障害となっている。申請者は配座変換に基づいて β -グルクロン酸残基の効率的な合成を法の開発を目指した。

第二章では6,3-ラクトン構造を有するグルクロン酸糖供与体が高い収率と優れた立体選択性にて種々のグリコサミノグリカン二糖の合成に有効であることを示し、続く第三章にてその応用としてヒアルロン酸三糖骨格の合成を達成した。また、6,3-ラクトン構造は糖供与体のみならず糖受容体としても機能することを証明しており、関連するオリゴ糖合成への新しい道筋を付けることに成功した。

第四章では2,4-*o*-silylene構造を有するグルクロン酸糖供与体が優れた効率でカップリング生成物を与え、かつ高い立体選択性を示すことを明らかにした。この立体選択性は主に2,4-*o*-silylene構造の立体障害によるものであることを見出し、わずかな構造の変化によっても生成物の合成プロセスに大きく影響する反応中間体による立体制御法の新手法として一石を投じている。

以上、本論文はグルクロン酸残基を含む糖鎖の構築においてその立体配座変換が極めて有効に作用することを見出した点が高く評価された。本手法はグルクロン酸以外にも適用可能な概念であり、今後の糖鎖合成研究に新たな手法を提案したものである。グルクロン酸は医薬品の代謝物にも抱合体として機能するなど広く知られているほか、グリコサミノグリカンのみならず関連する新しい医薬品開発への貢献も期待される。

よって申請者は、北海道大学博士(生命科学)の学位を授与される資格があるものと認める。