

(様式 2)

学位論文の概要及び要旨

氏 名 松下 健也 印

題 目 Synthetic study on sulfated oligosaccharides using protected sulfates
(保護硫酸基を用いた硫酸化オリゴ糖の合成研究)

学位論文の概要及び要旨

【はじめに】

硫酸化多糖は、藻類から動物まで様々な生物の体内に存在する多糖類である。これまでに発見された天然に存在する硫酸化多糖には、ヘパリン/ヘパラン硫酸、コンドロイチン硫酸、デルマタン硫酸などがある。これら硫酸化多糖類は位置特異的に硫酸化された水酸基またはアミノ基をもち、その硫酸化パターンによって様々な生理活性を示す。一般に生理活性の研究に用いられる硫酸化オリゴ糖は天然物由来であり、硫酸化パターンや糖鎖骨格に関して構造が不均一であるため、硫酸化オリゴ糖のどのような微細構造が活性発現に関与しているのかは明らかでない。硫酸化オリゴ糖の機能を明らかにするためには、化学合成して得ることが上策である。

一般的な硫酸化オリゴ糖の合成では、目的鎖長まで糖鎖を伸長したのちに任意の水酸基を脱保護し、硫酸化を行う必要がある。しかしながら反応点が多くなると硫酸化が不完全になることがある。そこで本研究では、硫酸基の導入方法として、2,2,2-trichloroethoxysulfuryl-1-methylimidazolium triflate (SMIS)または 2,2,2-trichloroethoxysulfuryl-1,2-dimethylimidazolium triflate (SDIS)を用いた TCE 硫酸(2,2,2-trichloroethoxysulfonate)化に着目した。無保護の硫酸基と異なり、TCE 保護した硫酸基はグリコシル化等種々の化学反応に用いることができるはずである。単糖や二糖など合成の初期段階で任意の水酸基を TCE 硫酸化したのちに種々の化学反応を用いて糖鎖を伸長していくことで、正確な構造をもつ硫酸化オリゴ糖を合成することができると考えた。

【TCE 硫酸基の導入と種々の化学反応における耐性の研究】

[K. Matsushita et al., *Carbohydr. Res.*, **396**, 14-24 (2014).]

これまで、TCE 硫酸基を用いた硫酸化オリゴ糖の合成例はほとんど無い。そのため、TCE 硫酸基導入時の位置選択性や、TCE 硫酸化糖の種々の化学反応における耐性について検証する必要がある。そこで、硫酸化多糖の構成糖として広く天然に存在している中性糖であるグルコース (Glc)、酸性糖であるグルクロン酸 (GlcA)、塩基性糖であるグルコサミン (GlcN)を用い、TCE 硫酸基の導入や TCE 硫酸化糖の種々の化学反応に対する耐性について検討した。

その結果, Glc 誘導体と GlcN 誘導体に対し, 高収率で TCE 硫酸基の導入と脱保護をすることができた. また, TCE 硫酸化 GlcA の合成についても検討した. GlcA 誘導体の TCE 硫酸化の際, TCE 硫酸化された, あるいはアシル化された 4 位水酸基が脱離基となり, 塩基性条件下で β -脱離することが過去の研究で明らかになっている. そこで, TCE 硫酸基を導入した後に一級水酸基を選択的に酸化することで, TCE 硫酸化 GlcA を合成することに成功した. 硫酸化オリゴ糖の合成で鍵となる, 複数の水酸基の TCE 硫酸化についても検討した. Glc の 2,3-diol の TCE 硫酸化を行った結果, 高収率で bis TCE sulfate を得ることができた. 一方, GlcN の 4,6-diol に対して過剰の SDIS を用いて TCE 硫酸化を行った結果, imidazole 置換体が形成した. そこで, 段階的な TCE 硫酸化を行うことでこの副反応を回避し, 4 位と 6 位の水酸基がともに TCE 硫酸化された化合物を合成することができた. 次に, TCE 硫酸基を導入した基質を用い, 種々の化学反応における耐性について検討した. その結果, TCE 硫酸基は酸性条件や弱塩基性条件下の反応, 酸化反応, 還元反応, ラジカル反応等多くの反応条件に対して耐性をもつことが明らかになった. TCE 硫酸化糖を用いたグリコシル化についても検討を行った. TCE 硫酸化した種々の Glc 型糖受容体と GlcN 型糖供与体の縮合を行い, 高収率かつ立体選択的に二糖を合成できた.

これらの結果から, TCE 硫酸基は硫酸化オリゴ糖合成において有用なツールであることが明らかになり, 実際に TCE 硫酸基を用いた硫酸化オリゴ糖であるコンドロイチン硫酸の合成を行った.

【TCE 硫酸基を用いたコンドロイチン硫酸オリゴ糖の合成】

(K. Matsushita et al., *Carbohydr. Res.*, submitted)

コンドロイチン硫酸 (CS)は D-GlcA と N-アセチル-D-ガラクトサミン (GalNAc)からなる二糖単位の繰返しで構成される直鎖多糖である. この繰返し二糖の硫酸化パターンによって, CS-O,-A,-C,-D,-E などに分類されており, 硫酸化パターンによって異なる生理活性を示すことが知られている. 例えば, CS-A には軸索伸長阻害作用が, CS-E および CS-D にはニューロン伸長促進作用がそれぞれ報告されている. 本研究では TCE 硫酸基の CS 合成への適用をめざして, 位置選択的 TCE 硫酸化による CS-C [β GalNAc6S(1-4) β GlcA]と CS-D [β GalNAc6S(1-4) β GlcA2S]の効率的な合成を行うこととした.

共通物質となる β GalN(1-4) β GlcA 二糖の合成では, dodecylthio glycoside である糖受容体と, イミデート型糖供与体を $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ を用いて縮合した結果, 目的とする二糖は 34%しか得られず, dodecylthio 基が活性化されたことによって生じる糖受容体の二量体や糖供与体由来のフッ化糖が多く得られた. そこで基質や反応条件を検討した結果, 単糖受容体として naphthylmethyl glycoside や allyl glycoside を用い高濃度で反応を行うことで, 立体選択的かつ収率 90%以上で目的二糖が合成できた.

こうして得られた二糖は, 数工程を経て NHAc 型 2,6'-diol と N_3 型 2,6'-diol へとそれぞれ誘導した. NHAc 型 2,6'-diol の TCE 硫酸化を行った結果, 目的とする TCE 硫酸化二糖は収率 30%でしか得られず, TCEOSO₃ を脱離基として ONAP が C-6'に転移すると共に, acetamide の酸素原子が C-3'を攻撃することで生成する分子内環化化合物が 35%得られた. 一方, N_3 型 2,6'-diol の TCE 硫酸化では, このような副反応は見られず, SDIS の当量をコントロールすることで, 高選択的に mono TCE sulfate (CS-C 前駆体)と bis TCE sulfate (CS-D 前駆体)を作り分けることができた. 最後にこのようにして得られた mono TCE sulfate と bis TCE sulfate を脱保護することによって, TCE 硫酸基を用いたコンドロイチン硫酸の合成に初めて成功した.

【まとめ】

本研究では、硫酸化オリゴ糖への硫酸基の導入方法として、SDIS を用いる TCE 硫酸化に着目した。種々検討した結果、TCE 硫酸化糖は様々な化学反応において耐性をもつことが判明し、TCE 硫酸化糖に起こりうるいくつかの副反応を初めて明らかにした。これらをもとに TCE 硫酸基を用いたコンドロイチン硫酸の合成に初めて成功した。