The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	N-結合型糖タンパク質糖鎖の合成を目指した効率的β-マンノシル化およびα-シアリル化反応の開発
Author(s)	田中, 伸一
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/48800
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

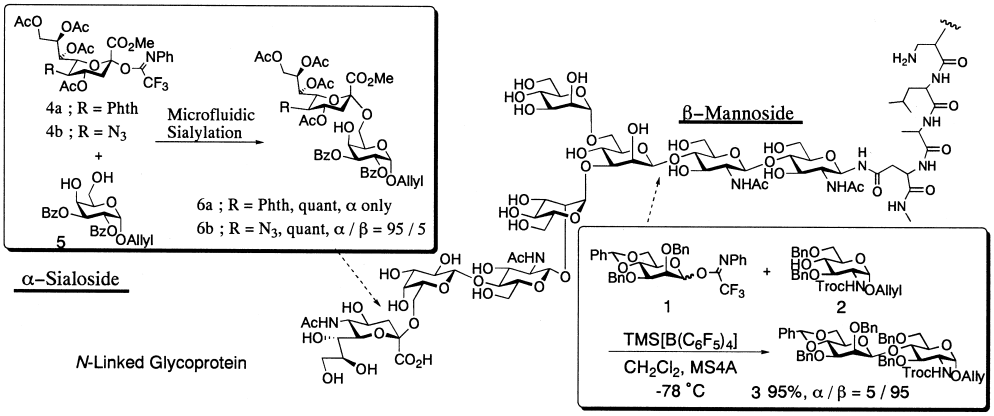
https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【40】

氏　　名	田　中　伸　一（たなか しんいち）
博士の専攻分野の名称	博　士（理　学）
学　位　記　番　号	第　２１７５５　号
学位授与年月日	平成 20 年３月 25 日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 理学研究科化学専攻
学　位　論　文　名	***N*-結合型糖タンパク質糖鎖の合成を目指した効率的β-マンノシル化およびα-シアリル化反応の開発**
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　深瀬　浩一 （副査） 教　授　久保　孝史　　教　授　笹井　宏明

論　文　内　容　の　要　旨



N-結合型糖タンパク質糖鎖（*N*-結合型糖鎖と略すやガングリオシドなどの糖脂質は主に細胞表層に存在し、受精、発生、免疫、細胞輸送、老化、癌化、または疾患などの様々な生命現象に関与している。生体内で重要な役割を果たすこれらの糖鎖を純粋な化合物として化学合成することは、その生物学的役割を分子レベルで明らかにする上で非常に重要である。特に *N*-結合型糖鎖を化学合成において鍵となる、β-マンノシド結合とα-シアロシド結合の形成は、これまで糖鎖合成の分野で最も困難であるとされてきた。そこで著者は、これらの結合を効率的に構築することを目指して研究を行った。

まず、*N*-結合型糖鎖のコアの部分構造である Manβ（1-4）GlcNAc を構築することを目指し、β-マンノシル化反応の検討を行った。この際、糖受容体として高い反応性が期待できる *N*-トリクロロエトキシカルボニル（*N*-Troc）グルコサミン誘導体 **2** を用い、糖供与体としては、4,6-位をベンジリデンアセタール基で保護したマンノース糖供与体１を用いた。さらに、*N*-フェニルトリフルオロアセトイミデートを脱離基として用いることにより、低温条件下での転位生成物である *N*-グリコシドの生成を抑制することを試みた。種々検討の結果、新たに反応活性化剤として嵩高いルイス酸である TMSB$(C_6F_5)_4$ を開発し、グリコシル化反応の速度を著しく向上させると共に（＜20 min）、収率 93%、α/β＝5/95 という高いβ選択性でマンノシル化反応を達成した。

次いで、大量供給にも堪えうる実用的なシアリル化反応の開発を行った。これまでに著者の所属する研究室では、

シアル酸供与体の C5 位にフタルイミド基を有する **4a** の“Fixed Dipole Moment”の効果により、高収率（92%）かつ完全なα選択性で対応するシアリルガラクトースを得ることに成功している。しかし、この糖供与体 **4a** は非常に高い反応性を有するため、大量スケールでは反応温度を常に低温（－78℃）に制御することは難しく、スケールを 50 mg から 100 mg に向上させるだけで、副生成物としてグリカール誘導体が大量に生成し、その結果著しい収率の低下が見られた（60%）。そこで、精密な温度制御と効率的な混合が可能であり、さらに反応効率を低下させることなくスケールアップ合成にも応用可能なマイクロフローシステムを用いてシアリル化反応を検討した。その結果、バッチ式反応で問題となっていたグリカールの生成を抑えることができ、定量的かつ完全なα選択性を以て望むシアリルガラクトース **6a** を得ることができた。さらに、*N*-アセチル基のような天然アミノ基置換体への変換が容易であり、C5 位フタルイミド基と同様に“Fixed Dipole Moment”の効果が期待できるアジド基を有するシアル酸糖供与 **4b** を用いて検討した。その結果、この場合にもマイクロフローシステムを適用することで、収率 93%、α/β＝20/1 という高いα選択性で対応するシアロシド **6b** を得ることに成功した。以上のように、大量合成を視野に入れた効率的かつ実用的なβ-マンノシル化反応、およびα-シアリル化反応を実現した。

論文審査の結果の要旨

N-結合型糖タンパク質糖鎖やガングリオシドなどの糖脂質は、細胞間認識や免疫、発癌、癌転移などの様々な生命現象に関与するが、その機能は詳細にはまだ調べられていない。これらの糖鎖を純粋な化合物として化学合成することは、それらの機能解明に大きな役割を果たすと考えられる。そこで本研究においては、様々なグリコシド結合の中でも、立体化学を制御した化学的な形成が最も困難であるとされてきたβ-マンノシル結合とα-シアロシド結合の効率的な形成法を開発した。

まずβ-マンノシル化反応について検討した。すでに当研究室ではマンノース糖供与体３の 4,6-位の水酸基をベンジリデンアセタール基で保護し、さらに脱離基として N-フェニルトリフルオロアセトイミデートを用い、ルイス酸として TMSOTf を作用させることによって、低温条件下、高いβ-選択性で対応するマンノシド結合を形成させることに成功している。本研究では新しいルイス酸としてトリメチルシリルテトラキスペンタフルオロボロン酸を新たに開発し、その嵩高さを利用して極めて高い選択性でβ-マンノシドを得ることに成功した。

次にシアル酸含有糖鎖の大量供給に耐えうる実用的なα-シアリル化反応を開発すべく検討した。当研究室ではシアル酸糖供与体における C5 位のアミノ基をフタルイミド基で保護することにより、その固定されたカルボニル基の双極子モーメントの効果により、高いα-選択性でシアロシドが得られることが見出されていた。しかし、このシアリル化反応をスケールアップすると、シアル酸糖供与体カチオンの高い反応性を制御することができず、収率、α-選択性ともに著しい低下が見られた。そこでこのシアリル化反応に対してマイクロリアクターを導入し、シアル酸供与体と受容体、およびルイス酸の間での効率的な混合と精密な温度制御を可能にした。その結果、高収率かつ高選択的なシアリル化反応を再現性良く実施することに成功した。しかしフタリル基の脱保護が困難であることが判明したので、同様に固定化された双極子モーメントを有するアジド基に注目し、新規なシアル酸供与体を合成した。予想したようにアジド誘導体はフタルイミド誘導体と同様、ガラクトース受容体との反応において高い反応性とα-選択性を示した。さらに５位のアジド基は容易に天然に多く存在する N-アセチル基へと変換することができた。本反応もマイクロリアクターを利用することで大量スケールの実施 g が可能であり、α-シアロシドの実用的合成法を確立した。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。