

Title	細菌細胞壁ペプチドグリカンフラグメントの固相合成研究
Author(s)	角永, 悠一郎
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/50470
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論文内容の要旨

氏名 (角 永 悠 一 郎)

論文題名

細菌細胞壁ペプチドグリカンフラグメントの固相合成研究

論文内容の要旨

固相合成法は、樹脂などに化合物を担持させ、その後、連続的に化合物ユニットを結合させ、最後に、樹脂からの切断を行うことにより、目的の化合物を得る合成法である。本方法の利点は、各反応における試薬の除去が容易かつ精製不要なことであり、網羅的迅速合成に適した合成法である。

一方で、細菌細胞壁ペプチドグリカンは、高等生物の自然免疫活性作用に重要な役割を持っており、その機構解明が急がれている (Figure 1)。当研究室ではこれまでに、種々の PGN フラグメントの合成に着手、これを達成し、それらの機構解明に貢献してきた。そして、更なる生物活性評価のため、より迅速かつ網羅的なライブラリ構築を目的とし、固相合成法を用いた細菌細胞壁ペプチドグリカンフラグメントの合成研究を行うこととした。

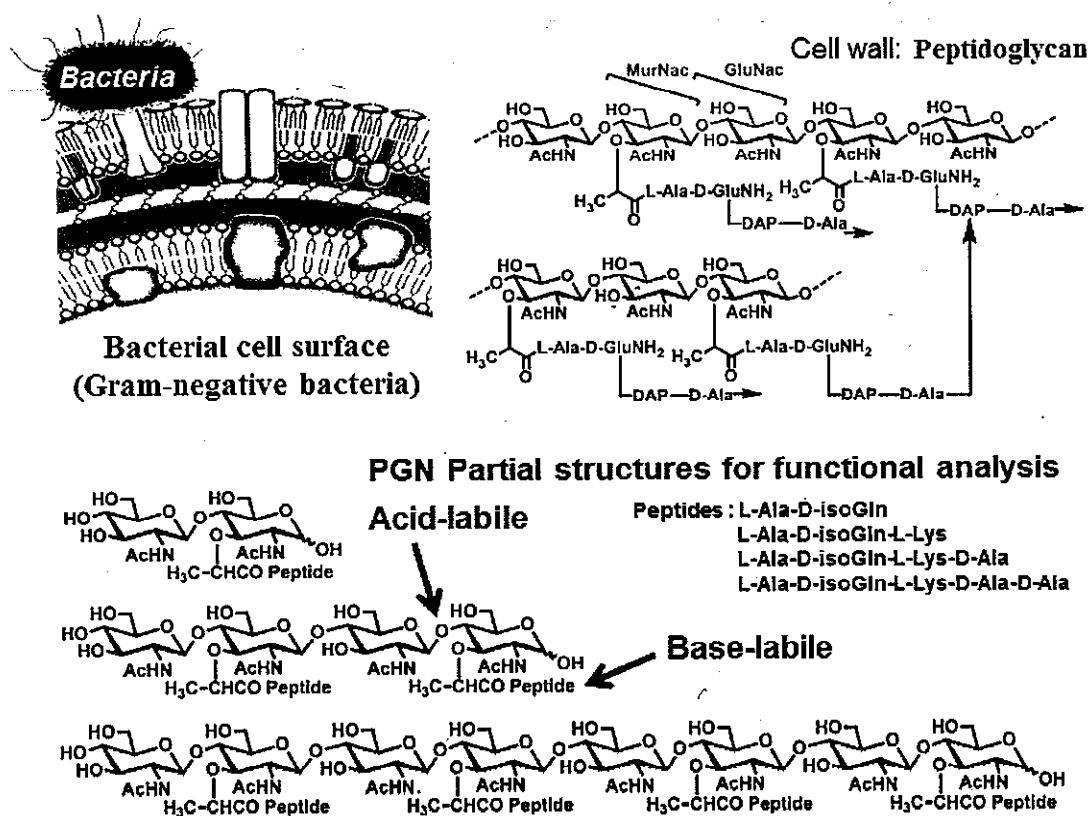
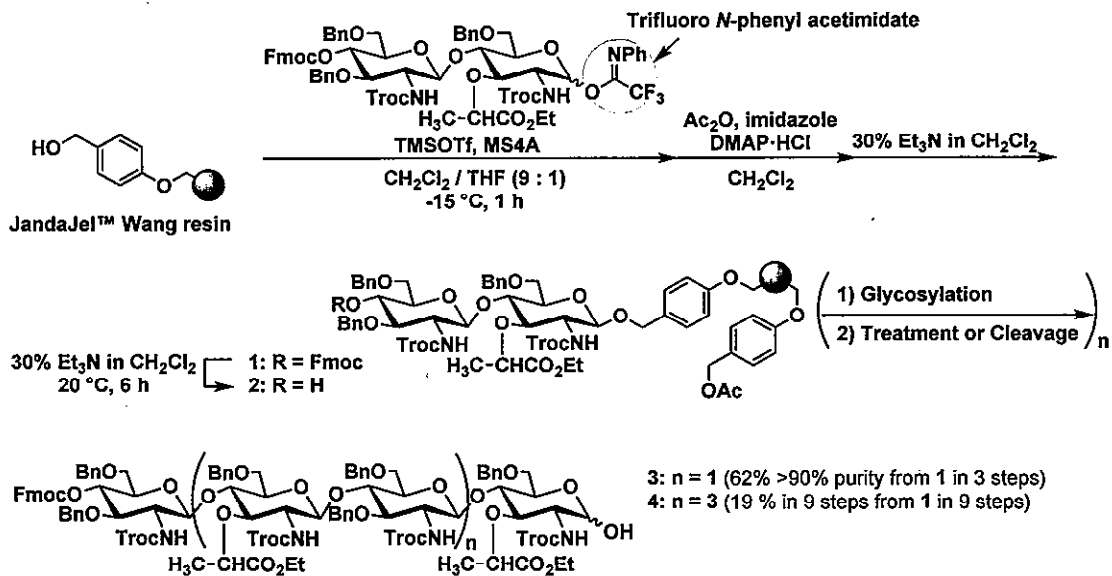


Figure 1. Bacteria cell-wall peptidoglycan and its fragment structures.

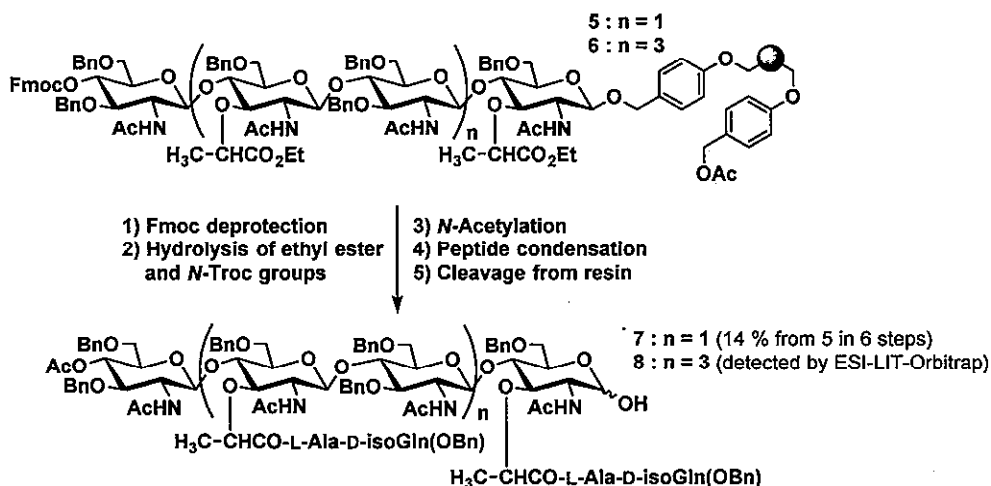
固相担持樹脂としては、高い膨潤性、すなわち固相合成としては比較的高い反応性を有する JandaJel™ を使い、リンカーには、酸で切断される Wang-type を用いた (Scheme 1)。高選択的にβ-グリコシド体を得るため、グリコシル供与体の 2 位アミノ基は Troc 基により保護した。グリコシル供与体に用いる脱離基として、比較的安定かつマイルドな条件にてグリコシル化を行える N-フェニルトリフルオロアセトイミデートを、活性化剤として、TMSOTf を用いた。また、グリコシル化反応に用いた溶媒について、CH₂Cl₂ に、ルイス塩基性を有する THF を少量添加し、よりマイルドな条件下、グリコシル化を行った。その結果、非常に良好な収率にて糖鎖の樹脂への導入を行うことができた。一

段階目のグリコシル化反応の後、未反応のヒドロキシ基は Ac₂O、Imidazole および DMAP·HCl を用いることにより、共存する Fmoc 基 を除去することなくアセチル化を行うことが出来た。樹脂からの切断反応についても、THF 溶媒を少量添加することにより、副反応を抑えて目的の糖鎖を得る方法を見出した。これらの反応条件を用いて固相上でグリコシル化を順次行い、8 糖までの糖鎖骨格伸長に成功した。8 糖の単離収率は、9 ステップ 19% と、良好な結果であった。



Scheme 1. Solid-phase synthesis of tetra and octasaccharide

次に、ペプチドの導入を行った (Scheme 2)。合成した4 糖および 8 糖グリカンに対し、Fmoc 基を除去した後、エチルエステルおよび Troc 基の除去を行った。この加水分解反応は、JandaJel™ の水系溶媒との高い親和性により、円滑に進行した。その後、遊離のアミノ基およびヒドロキシ基に対し、アセチル化を行い、カルボン酸を得た。最後に、ジペプチドとの縮合、続く樹脂からの切断を行い、目的の、PGN フラグメント 4 糖の合成に成功した。また、PGN フラグメント 8 糖の生成も確認した。



Scheme 2. Solid-phase synthesis of tetra and octasaccharide with dipeptides

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (角 永 悠 一 郎)	
	(職) 氏 名
論文審査担当者	主 査 教授 深瀬 浩一
	副 査 教授 村田 道雄
	副 査 教授 加藤 修雄
	副 査 教授 藤本 ゆかり (慶應義塾大学理工学部)



論文審査の結果の要旨

角永悠一郎は「細菌細胞壁ペプチドグリカンフラグメントの固相合成研究」という研究題目で以下の研究を実施した。角永の研究内容は、免疫増強作用を有し、また様々なタンパク質と相互作用する細菌由来複合糖質であるペプチドグリカンについて効率的な合成法の開発を目指して、その固相合成研究に取り組んだ。糖鎖固相合成に実績のある、トリフルオロアセトイミデートを脱離基とする糖供与体を用いるグリコシル化を選択し、ペプチドグリカンフラグメントの合成において固相担持樹脂上で塩基処理を行う必要があることから、温和な酸性条件下で樹脂からの切断が可能な Wang リンカーを選択した。このリンカーはトリフルオロ酢酸によって容易に切断されるが、糖供与体の活性化に用いられるルイス酸によっても切断される可能性がある。角永は、樹脂ならびにグリコシル化の条件について検討した結果、糖鎖の伸長に伴ってグリコシル化の反応性が低下することがわかった。また未反応リンカーに起因する不完全糖鎖を防ぐために新たなアセチルキャッピングの条件についても精査し、水酸基の鍵保護基として用いるフルオレニルメチルオキシカルボニル (Fmoc) 基を損なうことなくキャッピングする条件を見出した。また固相樹脂上でのグリコシル化反応の促進のために、フルオラスエーテル C_4F_9OEt の添加による基質の固相への濃縮効果を利用して、糖鎖伸長の収率を大きく向上させることに成功した。一方通常固相合成によく用いられる CH_2Cl_2 溶媒条件では、*p*-オキシペンジルリンカーが活性化剤である TMSOTf のルイス酸性によって切断されることを見出した。そこでリンカー部分が安定でかつグリコシル化が進行する条件について検討を行い、主溶媒である CH_2Cl_2 - C_4F_9OEt にテトラヒドロフラン (THF) を 1/10 程度の量を添加することにより、樹脂からの切断を抑制できるとともに、糖鎖伸長を好収率で行うことに成功した。さらにこの条件を適用して、糖鎖伸長を行ったのち、保護基の変換、ペプチド部の導入、TFA を用いた樹脂からの切断を経て、ペプチドグリカン 4 糖ジペプチド、ペプチドグリカン 8 糖ジペプチド構造などの合成に成功した。以上の成果は、複雑構造の複合糖質でも固相合成によって効率的に合成できることを示したものである。

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。