

Title	Chemical Synthesis of Core Fucose Containing Complex-Type N-Glycan
Author(s)	長崎, 政裕
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.18910/56055">https://doi.org/10.18910/56055</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

論文内容の要旨

氏名 ( 長崎 政裕 )

論文題名 Chemical Synthesis of Core Fucose Containing Complex-Type N-Glycan  
(コアフコース含有複合型N-結合型糖鎖の化学合成)

論文内容の要旨

N-結合型糖鎖は糖タンパク質のアスパラギン側鎖に結合した糖鎖であり、その構造によってハイマンノース型、複合型、混合型の3種類に分類される。複合型N-結合型糖鎖は生体内で働くタンパク質の機能や生体内での輸送・安定性などを制御しているが、生体内の糖鎖は構造が不均一な混合物となっており、その構造に関連した機能は十分に明らかにはなっていない。コアフコースは複合型糖鎖の還元末端グルコサミンに $\alpha$ 結合したフコースで、複合型糖鎖の重要な修飾構造の一つである。コアフコースは免疫やガンなどとも関連した様々な機能を有することが報告されているが、更に詳細な機能やその発現機構については明らかになっていない。著者はコアフコースを含むN-結合型糖鎖1を化学的手法で合成し、機能研究に用いることを目的として合成研究を行った。合成戦略として、目的糖鎖をその分基部分で分割する収束的な経路を取ることにした(図1)。本論では、(1)分子間水素結合の切断による効率的グリコシル化、(2)(4+4)および(4+8)グリコシル化による糖鎖骨格の構築、(3)全保護基の除去、について述べる。

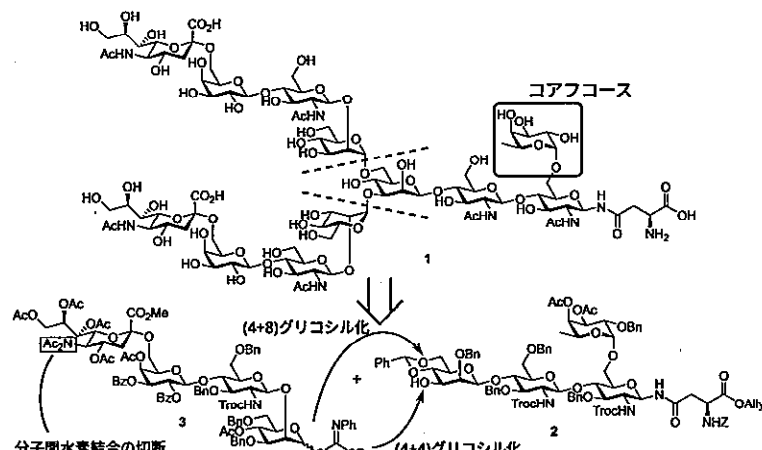
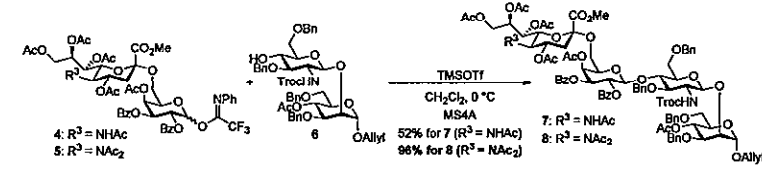


図1. コアフコース含有複合型N-結合型糖鎖1とその合成戦略

(1)分子間水素結合の切断による効率的グリコシル化

本合成の中間体である4糖供与体3は、2糖供与体と2糖受容体との(2+2)グリコシル化を経由して合成できると考えられた。しかし、この4糖構造は非還元末端にシアル酸を含んでおり、シアル酸を含む糖鎖フラグメントは特にグリコシル化において低い反応性を示すという知見が当研究室で得られていた<sup>1</sup>。それに対し、当研究室の周らにより、シアル酸5位に存在するアセトアミド基を別の官能基に変換することで反応性が向上すると報告されていた。そこで、著者はシアル酸5位にアセトアミド基を有する2糖供与体4に加え、そのアミド基をさらにアセチル保護してN,N-ジアセチル基とした供与体5を調製して反応性を比較した。その結果、供与体4(収率52%)に比べ、供与体5は遥かに高い反応性を示し、高収率で4糖を与えた(収率96%、スキーム1)。

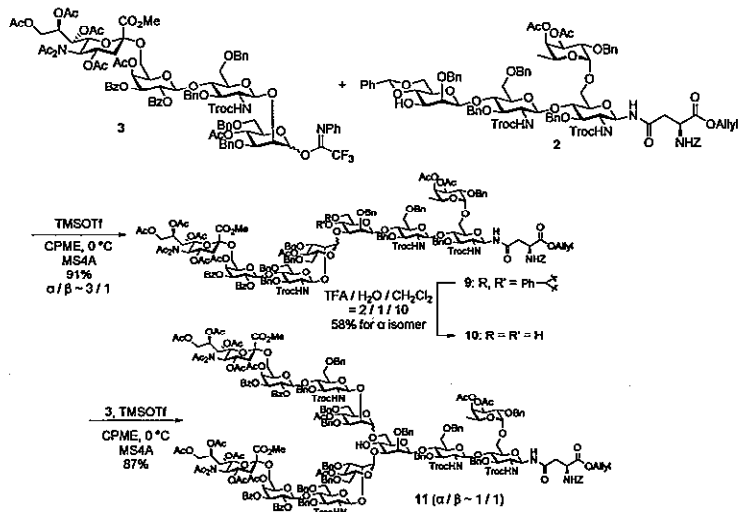


スキーム1. 2種類の2糖供与体を用いた(2+2)グリコシル化

1)。このように、実際の反応点からは離れた位置の置換基が分子全体の反応性に大きな影響を与える原因は、アセトアミド基による分子間の水素結合にあると考えられる。Kononovらはシアル酸単糖の供与体が溶液中で分子間水素結合を介したクラスター状の構造をとっていると報告している<sup>2</sup>が、今回の結果はその効果がより大きな糖鎖フラグメントに対しても働き、基質の反応性を低下させていると考えられる。実際、アセトアミド基を有する供与体4について、様々な濃度条件下で<sup>1</sup>H NMRを測定すると、高濃度においてアミド水素のピークが低磁場シフトすることが確認され、分子間水素結合の存在が示唆された。すなわち、供与体分子がクラスター構造を形成することで、試薬の接近や分子の運動が阻害されたと考えられる。

## (2) (4+4)及び(4+8)グリコシル化による糖鎖骨格の構築

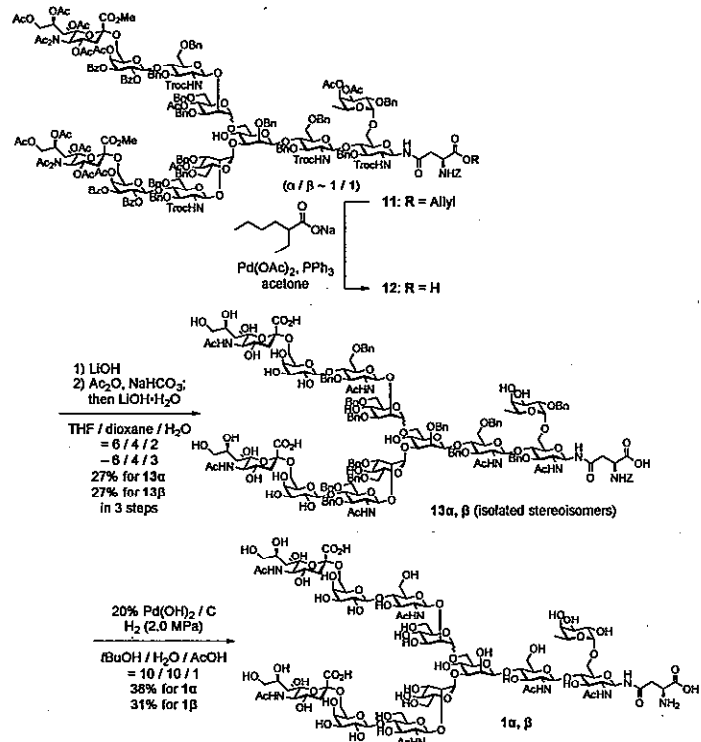
4糖アスパラギン受容体2および4糖供与体3を合成した後、これらを用いた糖鎖骨格の構築を検討した(スキーム2)。まず、受容体2と供与体3の(4+4)グリコシル化について条件検討を行ったところ、エーテル系溶媒であるシクロペンチルメチルエーテル(CPME)を反応溶媒に用いることで収率が向上し、最適条件で91%の収率で8糖アスパラギン9が得られた。しかしこの条件では、マンノース1位において目的の $\alpha$ 体と立体異性体の $\beta$ 体がおよそ3:1の割合で生成した。この立体選択性の向上のために更に検討を行ったが、選択性を向上させることはできなかった。得られた8糖アスパラギン9のベンジリデンアセタールを切断して受容体10とし、さらに4糖供与体3を用いて(4+8)グリコシル化を行った。この反応では(4+4)グリコシル化以上に立体選択性が低下し、 $\alpha$ 体と $\beta$ 体がおおよそ1:1の割合で生成したが、CPME中で反応を行うことで、87%という高収率で12糖アスパラギン11を得ることに成功した。このように、立体選択性には課題が残ったが、配位性のエーテル溶媒を用いることで、大きなフラグメント同士のグリコシル化を効率的に行うことができた。



スキーム2. 糖鎖骨格の構築

## (3) 全保護基の除去

目的糖鎖の保護帯である12糖アスパラギン11の合成が完了したので、全ての保護基を除去する検討を行った(スキーム3)。最初に塩基性条件による脱保護を検討したが、アスパラギンのエステルは塩基性条件で環状イミドを形成することがわかった。そこで、保護体11に対してPd触媒を作用させ、アスパラギンのアリルエステルを選択的に切断した。その後塩基処理を行うことでアシル系保護基およびN-Troc基を切断し、次いでN-アセチル化を行って化合物13を得た。ここで2つの立体異性体を分離し、それぞれの異性体について接触還元を行うことで、目的化合物であるN-結合型糖鎖1 $\alpha$ 及び非天然型の立体化学を持つ異性体1 $\beta$ の合成を達成した。



スキーム3. 全保護基の除去

1) Zhou, J. Doctor Thesis, 2015.

2) Kononov, L. O.; Malysheva, N. N.; Kononova, E. G.; Orlova, A. V. *Eur. J. Org. Chem.* 2008, 3251-3255.

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 ( 長 崎 政 裕 )			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教授	深瀬 浩一
	副 査	教授	梶原 康宏
	副 査	教授	北條 裕信

## 論文審査の結果の要旨

長崎政裕は、「コアフコース含有複合型 *N*-結合型糖鎖の化学合成」と題した以下の研究を行った。

タンパク質のアスパラギン側鎖の窒素原子に結合した *N*-結合型糖鎖は、様々な構造の糖鎖が不均一な構造として存在する。中でも複合型 *N*-結合型糖鎖は、細胞の発生・分化、免疫応答、がんの転移・浸潤など、様々な生命現象や疾患と関連している。コアフコースとは複合型糖鎖の還元末端グルコサミンに  $\alpha$  結合したフコース(Fuc)であり、この糖構造は EGFR 等の増殖因子受容体の活性化、がん転移の抑制、肝腺維化に関与することから注目されているが、その認識タンパクは未同定であるなど、コアフコースの機能や生物作用発現機構の詳細は明らかになっていない。機能研究には十分量のコアフコース含有糖鎖が必要であるので、化学合成によるコアフコース含有糖鎖の供給を目的として研究を実施した。

従来の *N*-結合型糖鎖の合成では糖鎖の合成を完了した後にアスパラギンの導入が行われていたが、極性の高い糖鎖へのアスパラギンの導入等に問題があったので、合成の初期段階で *N*-グリコシル化を行ってアスパラギン残基に糖鎖を導入する新しいストラテジーについて検討した。そこで求核性の低いアスパラギン残基のアミド窒素に対する *N*-グリコシル化を高収率で行う条件を確立し、アスパラギンに結合した単糖 GlcNAc またはアスパラギンとフコースが結合した 2糖 GlcNAc(Fuc $\alpha$ 1-6)を原料とする糖鎖合成を可能とした。

この 2 糖に 2 糖 Man( $\beta$ 1-4)GlcNAc を連結して、4 糖 Man( $\beta$ 1-4)GlcNAc( $\beta$ 1-4)GlcNAc(Fuc $\alpha$ 1-6)-Asn とし、これに 4 糖 NeuAc( $\alpha$ 2-6)Gal( $\beta$ 1-4)GlcNAc( $\beta$ 1-2)Man- *N*-phenyltrifluoroacetimidate を順次グリコシル化することでアスパラギン残基を含有した 12 糖骨格の構築に成功した。さらに、保護アスパラギン残基含有糖鎖からの段階的な保護基の除去法を確立して、目的のコアフコース含有複合型 *N*-結合型糖鎖 12 糖の全合成に成功した。

また、シアル酸のアセトアミド基をジアセチル構造とすることにより、アミド基を介した分子内水素結合を解消することにより、分子の運動性を向上させた結果、分子間のグリコシル化反応の効率が向上し、4 糖 NeuAc( $\alpha$ 2-6)Gal( $\beta$ 1-4)GlcNAc( $\beta$ 1-2)Man を高収率で得られることを見出した。

以上のように長崎政裕は、複雑構造の *N*-グリカンの全合成に成功した。本業績は、糖鎖の新しい合成戦略を提供することで糖鎖合成化学により一層の進歩をもたらすものとして高く評価できる。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。

