

Title	Sialyl glycopeptide synthesis utilizing TFA-labile Bn-type protected sialic acid optimized for sialylation and SPPS
Author(s)	Ito, Shun
Citation	大阪大学, 2022, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/89495">https://hdl.handle.net/11094/89495</a>
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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</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 (伊藤 駿)

## 論文題名

Sialyl glycopeptide synthesis utilizing TFA-labile Bn-type protected sialic acid optimized for sialylation and SPPS  
 (シアリル化とSPPSに最適化したTFA感受性Bn型保護シアル酸によるシアリル糖ペプチド合成)

## 論文内容の要旨

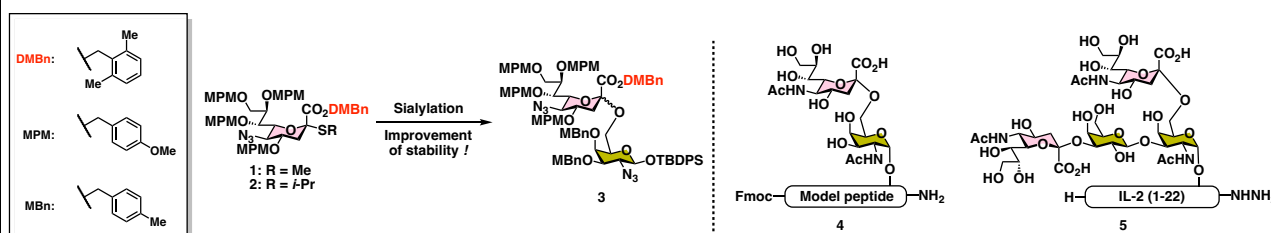
糖タンパク質の糖鎖構造は、Asn側鎖に結合するN結合型とSer/Thr側鎖に結合するO結合型に大別される。これら糖鎖の非還元末端に存在するシアル酸は、C-1カルボキシ基、C-2四級置換炭素、C-3デオキシ炭素、C-7からC-9部位がグリセロール鎖というユニークな構造の単糖である。シアル酸は、哺乳動物においてN-アセチルノイラミン酸 (Neu5Ac) という構造で最も多く存在しており、主にN-アセチルガラクトサミン (GalNAc)、ガラクトース (Gal) およびシアル酸8位と $\alpha$ 結合を介して糖タンパク質に接合している。また、シアル酸は感染、糖タンパク質の半減期決定など多くの生命現象に関与している。シアル酸の機能解析が進めば、新しい治療薬の開発も期待できる。したがって、均一な糖鎖構造を有するシアリル糖タンパク質/ペプチドの簡便かつ堅牢な合成法の開発が求められている。

O結合型シアリル糖ペプチドの合成は、糖アミノ酸誘導体の合成と、それを利用したペプチド固相合成法(SPPS)の2段階に大別される。シアル酸は酸性条件下で自己触媒的にシアリル結合を切断することが知られているため、シアリル結合を如何に保持しつつ完全脱保護ペプチドを得るかが大きな課題となる。したがって、糖水酸基に導入する保護基の選定はシアリル糖ペプチド合成において非常に重要である。

そこで我々は、シアル酸の水酸基には4-メトキシベンジル(MPM)基を、その他の糖水酸基には4-メチルベンジル(MBn)基を導入した新たな保護戦略を見出した。<sup>[1]</sup>この戦略では、ペプチド鎖伸長後のトリフルオロ酢酸(TFA)処理で脱保護することにより、完全脱保護シアリル糖ペプチドの合成に成功している。しかし先行研究では、糖鎖構築の際、シアリル化の収率と立体選択性が中程度だった。原因はシアル酸C-1のMPM基がアクセプター水酸基に転移する副反応であった。

そこで、シアル酸のC-1カルボキシ保護に2,6-ジメチルベンジル(DMBn)基を用いた新しい保護基戦略を確立した。<sup>[2]</sup>MPMエステルを有する従来のドナーに比べ、新規シアリルドナー**1**と**2**は副反応を回避しつつ高収率かつ立体選択的に所望の糖**3**を与えた。加えて、TFA処理による最終脱保護ではMPM保護法と同様、DMBn基の残存なく完全脱保護シアリル糖ペプチド**4**を合成することができた。すなわち、DMBn基はシアリル化およびSPPSの両方に応用可能なシアル酸C-1カルボキシ保護基であると結論づけた。

本保護基戦略の拡張性を検証するためジシアリルT[Neu5Ac $\alpha$ 2,3Gal $\beta$ 1,3(Neu5Ac $\alpha$ 2,6)GalNAc]構造を有するThr誘導体を合成することにした。この誘導体は、コア1構造の3位水酸基と6位水酸基の2ヶ所をシアリルドナー**1**で一挙にシアリル化することにより、ジシアリルT構造を $\alpha$ 異性体のみで構築することができた。この糖Thr誘導体を保護糖ペプチドへと誘導することとし、IL-2 (1-22)ペプチドセグメントを標的配列とした。得られた保護糖ペプチドをTFA処理後、中性条件のリン酸緩衝液中で加水分解することにより、完全脱保護のジシアリル糖ペプチド**5**を単離することに成功した。すなわち、TFA感受性Bn型保護基を利用した本保護基戦略は、 $\alpha$ 2,6および $\alpha$ 2,3シアリル結合を持つシアリル糖ペプチドの合成に適用可能な方法論であることを明らかとした。



[1] Takeda N., Takei T., Asahina Y., Hojo H., *Chem. Eur. J.* **2018**, 24, 2593-2597.

[2] Ito S., Asahina Y., Hojo H., *Tetrahedron* **2021**, 97, 132423.

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 ( 伊 藤 駿 )			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教授	北條 裕信
	副 査	教授	梶原 康宏
	副 査	教授	高尾 敏文

## 論文審査の結果の要旨

糖鎖の非還元末端にはシアル酸がしばしば結合しており、糖タンパク質の活性や特性を大きく左右する。伊藤君は、シアリル糖鎖を持つタンパク質の機能解明に向け、シアル酸をもつ糖タンパク質を化学合成するために、以下の2つの特性を有するシアル酸誘導体の探索を行ってきた。一つ目は、高 $\alpha$ 選択的なシアリル化反応により、収率よくシアリル糖鎖を与えること、2つ目は、得られたシアリル糖アミノ酸を糖ペプチドに変換後、酸による脱保護条件でもシアル酸部位が高い耐性を保つ保護体系となっていること、である。種々の保護基を持つシアル酸誘導体を合成し、その反応生成物を詳細に解析することにより、伊藤君は、シアル酸のカルボキシ基にジメチルベンジルエステルを導入することで、 $\alpha$ 選択的なシアリル化ならびに酸に耐性を示すシアリル糖鎖を持つトレオニン誘導体の合成を達成することができた。この成果は既にテトラヘドロンに筆頭著者として発表されている。

この知見を利用し、伊藤君は、さらにシアル酸を2つもつ4糖をトレオニンの側鎖に導入したものの合成にも成功した。これを保護ペプチドと連結することにより、ヒトインターロイキン-2のN-末端配列ペプチドの合成にも成功した。この糖ペプチドの酸による脱保護を試みたところ、シアル酸の欠落は見られなかった。ただし、シアル酸のカルボン酸が隣の糖とエステル結合を形成する副反応が見られた。これは、得られたペプチドを中性条件に置くことにより、目的化合物への変換が可能であることも見出した。以上のように、このペプチドの合成を通して伊藤君の開発したシアリル基保護体系が有効に機能していることが証明された。また、このペプチドはC-末端がヒドラジドになっているため、今後インターロイキン-2のC-末端側のポリペプチド鎖と縮合することにより、2つのシアル酸を含む4糖を持つインターロイキンの合成が可能となる。これらの結果は、今後、この方法を用いたシアリル糖タンパク質が可能になるという化学的な観点から重要であるのみならず、シアリル糖タンパク質の生物学的機能解明を推進する基盤を提供するという意味でも重要である。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。