

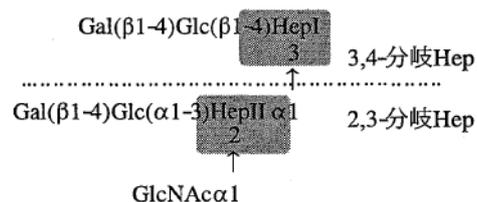
氏名	いしいかずゆき 石井一之
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	甲第375号
学位授与年月日	平成17年 3月15日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	病原性グラム陰性菌が産出するリポオリゴ糖のオリゴ糖鎖合成: 3-O-シリルヘプトース中間体を用いた分岐コアオリゴ糖鎖の構築 (Synthesis of oligosaccharides expressed in lipooligosaccharides produced by pathogenic Gram-negative bacteria: construction of the branched core oligosaccharides by using a 3-O-silyl-heptose intermediate)
学位論文審査委員	(主査) 山崎良平 (副査) 梶原忠彦 尾添嘉久 河野 強 一柳 剛

## 学位論文の内容の要旨

ナイセリアやヘモフィラス属の病原性細菌は、細胞外膜にオリゴ糖とリポド A からなる糖脂質、リポオリゴ糖 (lipooligosaccharide, LOS) を産生する。LOS は腸内細菌の産生するリポ多糖 (lipopolysaccharide, LPS) と異なり、O-抗原を欠損しており、その糖鎖の長さはオリゴ糖の領域に相当する。

近年、LOS のコアオリゴ糖鎖を利用した、細菌感染予防のための糖鎖ワクチン開発研究が行われてきている。このようなコアオリゴ糖鎖のうち、我々が注目したのが、マウスモノクローナル抗体 2C7 (MAb 2C7) の認識する糖鎖抗原決定基(Figure 1)である。この MAb 2C7 の抗原決定基は、*in vivo* でも発現しており、感染予防のための糖鎖ワクチンとしての可能性を有している。本研究は、この糖鎖抗原決定基を合成することを目的とした。

この糖鎖抗原決定基は、ラクトースがコア 3 糖の HepI、HepII にそれぞれ、 $\beta$ 1-4、 $\alpha$ 1-3 結合しており、2,3-分岐、及び 3,4-分岐ヘプトース構造が存在する、立体的に込み合った構造をとる。これまでに、ヘプトース 2,3-ジオール誘導体から有機スズ中間体を経て、2 位、又は、3 位に遊離の水酸基を持つヘ



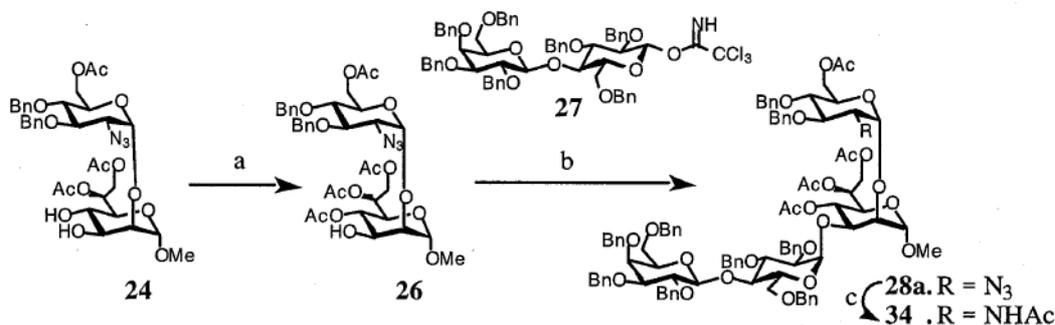
Gal: D-galactose, Glc: D-glucose, GlcNAc: N-acetyl-D-glucosamine, Hep: L-glycero-D-manno-heptose

Figure 1. MAb 2C7の抗原決定基に相当するオリゴ糖鎖構造

プトースが合成されている。しかしながら、この従来の選択的アルキル化では、上記のような、2,3-/3,4-二分岐ヘプトース構造を構築する中間体として使用できない。このような糖鎖構造の構築には、2,3-/3,4-二分岐ヘプトース合成を可能にする新しいヘプトース中間体を開発する必要がある。

新しいヘプトース中間体の開発に際して、簡便で反応収率が高く、また、生成物の汎用性を考慮した。このようなことから、新しい中間体として Hep の 3-O-シリル誘導体を選択した。我々は、2位に置換基を有する Hep の 3,4-ジオールを用いて、4位に遊離の水酸基を有する 3-O-シリル誘導体を高収率で合成した。また、この 3-O-シリル誘導体から、4-OH をアセチル化後、TFA-水 (9:1) 処理することにより、脱 3-O-シリル化を高収率で達成した。位置選択的 3-O-シリル化反応により、2,3-及び 3,4-両分岐構造を有する糖鎖の構築に必要となる 3-O-ヘプトース中間体の開発を達成した。

位置選択的 3-O-シリル化反応は、GlcN<sub>3</sub>(α1-2)Hep の 2 糖誘導体に応用し、初めて 2,3-分岐 Hep を合成した (Scheme 1)。合成した GlcN<sub>3</sub>(α1-2)Hep の 3,4-ジオール誘導体 **24** をトリエチルシリル (TES) 化/アセチル化/脱シリル化反応の 3 行程の反応を行い、総合収率 88% で 3-OH 受容体 **26** を得た。続いて、3-OH 受容体 **26** とラクトース [Gal(β1-4)Glc] 供与体 **27** を α-立体選択的に縮合し 2,3-分岐 4 糖誘導体 **4** を得た。最後に、化合物 **4** のアジド基をアセトアミドへ変換し、2C7 抗原決定基の部分糖鎖構造、2,3-分岐 Hep **28a** の合成を達成した。

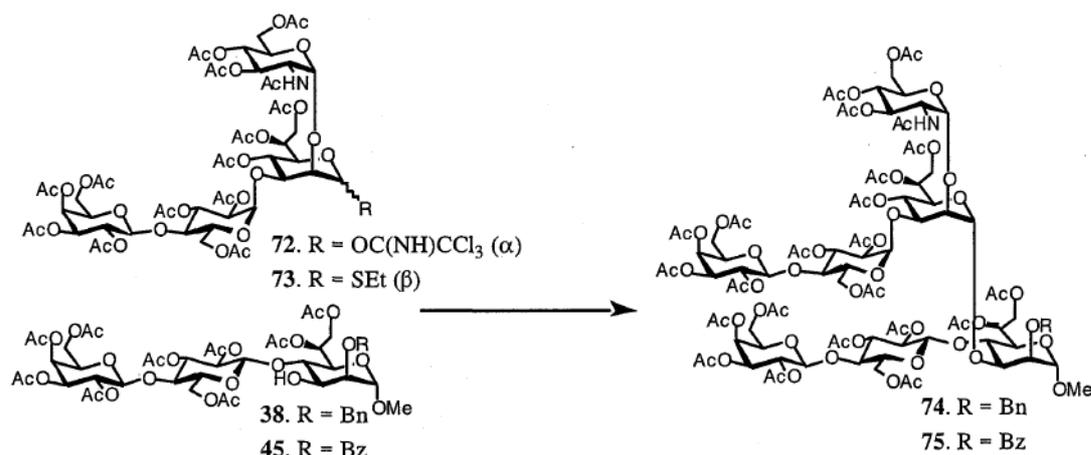


Scheme 1. a) 1. TESCl, pyridine, 0°C → r.t.; 2. Ac<sub>2</sub>O, pyridine; 3. TFA/water (9:1, v/v), 88%; b) **27**, TMSOTf, Et<sub>2</sub>O, r.t. 77% (β-anomer 8%); c) Lindlar cat. H<sub>2</sub> then MeOH - Ac<sub>2</sub>O (7:3, v/v), 89%.

2C7 抗原決定基である 7 糖の構築は、3 糖、Lacβ1-4Hep を受容体とするアプローチを選択した。まず、Hep 単糖を供与体として、3,4-分岐構造の合成を行った。2位の置換基が異なる 4 種類の受容体、2-O-Bn **38**, 2-O-Bz **45**, 2-O-TES **41**, 2-OH **40** を用いて、Hep 単糖とのグリコシル化反応をそれぞれ行った。その結果、3,4-分岐 4 糖の 2-O-Bn **47** (38%), 2-O-Bz **48** (32%) 2-O-TES 誘導体 **49** (22%) を与え、このアプローチで 3,4-分岐構造の合成が可能であることを確認した。この結果から受容体として 2-O-Bn 誘導体 **38**、2-O-Bz 誘導体 **45** を選抜した。

続いて Lac(α1-3)Hep の 3 糖供与体 (2-O-Ac イミデート) と上記で選択した 2-O-Bn **38** 又は 2-O-Bz **45** 受容体とのグリコシル化反応を行った。その結果、3,4-分岐構造を有する 6 糖 **63**, **65** をそれぞれ収率 26% で得ることができた。この 6 糖の合成を達成した後、7 糖構築のために、2,3 分岐 4 糖、

Lac( $\alpha$ 1-3)[GlcNAc( $\alpha$ 1-2)]Hep の  $\alpha$ -イミデート誘導体 **72** と 2-O-Bn 受容体 **38**、及び、4 糖  $\beta$ -チオグリコシド誘導体 **73** と 2-O-Bz 受容体 **45** のグリコシル化反応をそれぞれ行った (Scheme 2)。その結果、2,3-分岐 4 糖を供与体として用いた場合、3 糖供与体にくらべ収率の低下を招いたが、目的とする 7 糖 **74** 及び **75** の合成を達成した。



Scheme 2. 7 糖合成

本研究では、Hep の 3-O-シリル誘導体を、LOS 及び LPS に発現する Hep 分岐構造の構築に必要な新しい中間体として開発した。この 3-O-シリル誘導体から、2,3-および 3,4-分岐、そして、両分岐構造を有する標的 7 糖の合成を達成した。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は、ナイセリア属の病原性細菌に対する感染予防のためのワクチンの標的とされる。リポオリゴ糖のオリゴ糖合成である。本論文の内容は、(1) 病原性細菌の産生するコアオリゴ糖鎖の合成のための新しいペプトース中間体の開発、(2) この中間体を利用した 2,3-分岐オリゴ糖鎖の合成、そして (3) 標的糖鎖である 2,3-3,4-二分岐七糖の全合成である。

最初の章では、マンノースの二級水酸基の反応性をペプトースの 3,4-ジオールに応用し、簡便で且つ高収率で、3,0-シリルペプトース中間体を開発した。また、この中間体の脱シリル化条件を確立し、上記シリルペプトースが種々の分岐糖合成を可能にする有用な中間体であることを明らかにした。

続いて、ペプトースの 2 位に GlcN3 残基を  $\alpha$ -結合で導入した二糖を合成し、この二糖から 3,4-diol を導き、上記のシリル化を応用して、2,3 分岐糖合成のための受容体を合成。そして、ペプトースの三位での  $\alpha$  グリコシル化反応条件を確立し、これまで合成されていなかった、2,3-分岐

4糖の構築を達成した。

最後に、三糖受容体と単糖ならびに三糖供与体を使用して立体的に込み合った糖鎖合成が可能であることを明らかとし、2,3分岐四糖供与体を用い、標的糖鎖である2,3-3,4-二分岐七糖の合成を達成した。この2,3-3,4-二分岐糖合成研究では、数多くの供与体と受容体を新しく合成し、分岐糖合成ではなく、オリゴ糖鎖供与体と受容体の合成法も確立した。更に、コアオリゴ糖鎖の二次元NMRによる構造解析も自ら行い、合成研究に必須な分岐オリゴ糖鎖の一連のNMRデータも積み上げた。

全てのグラム陰性細菌に発現するリポオリゴ糖、あるいはリポ多糖のコア糖鎖には、分岐したペプトースコア構造が存在する。それ故、石井の開発したペプトース中間体と彼の分岐糖鎖合成の結果は、グラム陰性細菌の産生するコア糖鎖合成研究の分野において多いに貢献する。更に、これからのナイセリア属やヘモフィラス属の糖鎖コンジュゲート開発研究を多いに押し進めることは間違いない。

石井の研究は、博士学位論文として十分な価値があるものと判断する。