

糖鎖含有カルボシランデンドリマーの合成研究 (V)
 -パラグロボシド含有カルボシランデンドリマーの合成と評価-

(埼玉大工・理研[†]・静岡県立大薬[‡]) ○山田明宏・幡野 健・松岡浩司・照沼大陽
 江角保明[†]・青木千恵[‡]・左 一八[†]・鈴木康夫[‡]

【背景および目的】 デングウイルスとはデング熱およびデング出血熱を引き起こす病原体であり、現在、世界の熱帯、亜熱帯地域のほぼ全域にみられる。近年、感染者数の急激な増加が報告され、デングウイルスに対する治療薬の開発が急務となっている。

最近、我々は糖脂質パラグロボシド (Galβ1-4GlcNAcβ1-3Galβ1-4Glcβ-Cer) がデングウイルスと強く結合し、ウイルスの細胞への侵入を阻害することを見出した。¹⁾ また糖鎖部分のみでもデングウイルスの細胞への侵入を阻害することを明らかにしている。この糖鎖をデンドリマー上にクラスター化させることによりさらに強力な結合が得られ、有望なデングウイルス阻害剤になることが期待される。そこでパラグロボシド誘導体を合成し、パラグロボシド誘導体クラスター化合物群の合成を行うこととした。

【実験】 D-ラクトースの完全β-アセチル体を原料とし、1位がβクロリドで2位をフタルイミドとしたグリコシル供与体、1位にペンテニル基を有し3'と4'位が遊離の水酸基となったグリコシル受容体を合成した。供与体と受容体とのグリコシル化反応、保護基の変換を経て、デンドリマーへの導入のためにアグリコン末端にアセチルチオ基を有するパラグロボシド誘導体を構築した。パラグロボシド誘導体を形状の異なる3種類のカルボシランデンドリマーに導入、脱保護することによりパラグロボシドクラスター化合物群の合成を行った。

【結果と考察】 それぞれ合成した供与体と受容体とのグリコシル化反応を行うことでパラグロボシド構造を構築した。フタルイミドの隣接基関与および立体効果、3'位と4'位の水酸基の反応性の差によりβ(1→3)結合を選択的に形成した。保護基の変換を行った後、チオ酢酸のラジカル付加によりパラグロボシド誘導体 (Fig. 1) を得た。得られたパラグロボシド誘導体をカルボシランデンドリマーに導入、脱保護することによりパラグロボシドクラスター化合物群を合成した。

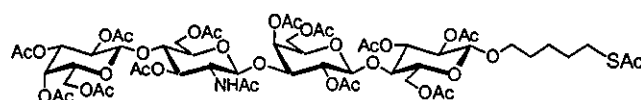


Fig. 1 paragloboside derivative

1) 青木千恵、左 一八、鈴木康夫ら 日本薬学会 123 年会 講演番号 27 【P2】 II - 336

Synthetic Studies of Carbosilane Dendrimers Functionalized with Sugar Moieties (V)

-The Synthesis and Properties on a Series of Carbosilane Dendrimer with Paragloboside Derivative-
 Akihiro YAMADA, Ken HATANO, Koji MATSUOKA, Daiyo TERUNUMA, Yasuaki ESUMI[†], Chie AOKI[‡], Kazuya HIDARI[‡], Yasuo SUZUKI[‡] (Department of Functional Materials Science, Faculty of Engineering, Saitama University, 255 Shimo-ohkubo, Sakura-ku, Saitama 338-8570, Japan; [†]The Institute of Physical and Chemical Research (RIKEN); [‡]Department of Biochemistry, University of Shizuoka School of Pharmaceutical Sciences) Tel & Fax: 048-858-3532, E-mail: teru@fms.saitama-u.ac.jp

Key Word: Carbosilane / Dendrimer / Paragloboside / Dengue / Cluster / Inhibitor

Abstract: We have recently found that paragloboside blocked the uptake of dengue virus. In the course of our investigation, we have interested in the preparation of the carbosilane dendrimer having paragloboside derivative. The preparation and properties of carbosilane dendrimer having paragloboside derivatives will be discussed in this paper.

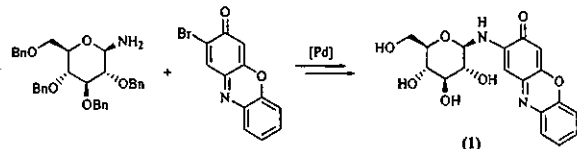
4 J2-29

N-アリアルグリコシドの合成研究

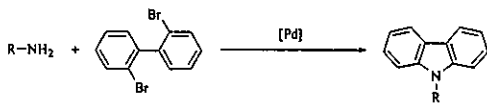
(慶大理工) ○北脇隆文・林陽子・千田憲孝

Synthetic Study on N-Aryl Glycosides (Department of Applied Chemistry, Faculty of Science and Technology, Keio University) KITAWAKI, Takafumi; HAYASHI, Yoko; CHIDA, Noritaka

当研究室はスピカマイシンの合成研究¹⁾において、糖アミンとハロゲン化プリンが、パラジウム触媒によりカップリングし²⁾、N-グリコシド結合が効率的に構築される事を報告した。その後の研究において、この手法は、様々なハロゲン化アリアルに対して応用できることが見出された³⁾。本研究では、このパラジウムを用いるN-グリコシド結合構築法の有用性を示すことを目的として、放線菌の培養液より単離された glucosylquestiomycin(1)の合成を行い、これを達成したことで報告する。



また本法の新たな展開として、カルバゾール環合成法の開発を試みた。様々なアミンと 2,2'-dibromobiphenyl とをパラジウムによりカップリングさせることで対応する N-置換カルバゾールを得ることが出来たので、あわせて報告する。



- 1) Chida, N. et al. *Org. Lett.*, 2000, 2, 1137.
- 2) a) Buchwald, S. L. et al. *J. Organomet. Chem.* 1999, 576, 125.
b) Hartwig, J. F. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1998, 37, 2046.
- 3) 千田憲孝他 日本化学会第 81 春季年会講演予稿集 II, 2 A2-02.

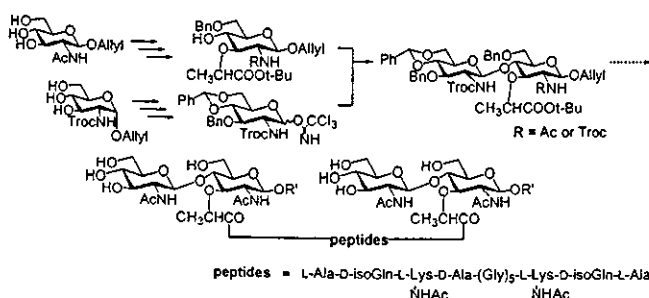
4 J2-31

TLR2 リガンド同定のための細胞壁ペプチドグリカンの合成研究

(阪大院理) ○久保修・藤本ゆかり・深瀬浩一・橋本正一
Synthetic study on microbial peptidoglycan for elucidator of TLR2 ligand (Department of Chemistry, Graduate School of Science, Osaka University) Osamu, Kubo; Yukari, Fujimoto; Koichi, Fukase; Shoichi, Kusumoto

細菌細胞壁の主成分であるペプチドグリカンはアミノ基がアセチル化されたグルコサミンと、グルコサミンの 3 位に乳酸が縮合したムラミン酸が交互にβ(1-4)結合した二糖の繰り返し構造に、ペプチドが架橋した網目状の巨大分子である。このペプチドグリカンは免疫増強作用を示すことが古くから知られていた。

本研究ではペプチドグリカンの活性を担う構造と活性の発現機構を明らかにすることを旨として二本の糖鎖をペプチドで架橋した化合物の合成を計画した。これまでに当研究室で見出された合成法を参考に、まず二糖同士を架橋したものを合成することにした。β(1-4)グリコシド結合の構築には、アミノ基をトリクロロエトキシカルボニル(Troc)基で保護したグルコサミンイミデートを用いた。二糖縮合時の受容体側の 2 位保護基としてアセチル基と Troc 基を比較したところ、Troc 基の方が受容体としての反応性が高かった。続いてペプチド鎖を構築して、二糖と縮合し、目的化合物へと誘導している。



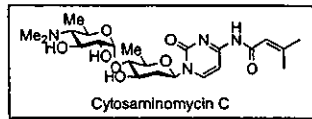
4 J2-30

サイトサミノマイシンの合成研究

(横浜国大・教育人間科学) ○渡辺和紗・杉村秀幸

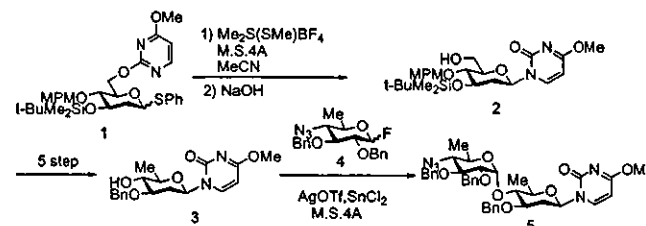
Study on Total Synthesis of Cytosaminomycin C (Yokohma National University) Watanabe, Risa; Sugimura, Hideyuki

サイトサミノマイシンは、放線菌の培養液より単離された抗生物質で、その生理活性に興味を持たれている。我々のグループでは、通常的手法では選択的に得ることの難しい 2'-デオキシ-β-ヌクレオシド類を効率良く得る方法として分子内グリコシル化法を確立している。そこで、サイトサミノマイシンに含まれる 2',6'-ジデオキシ-β-ヘキシピラノシルヌクレオシド部分の合成に、この分子内グリコシル化法を適用することを計画し、サイトサミノマイシンの全合成を計画した。



市販のトリアセチルグリコカルを出発として、7 工程で分子内グリコシル化反応の基質 1 を調製し、これに活性化剤としてジメチル(メチルチオ)スルホニウムテトラフルオロボレートを用いさせ、その後水酸化ナトリウム水溶液で処理すると立体選択的に 2'-デオキシ-β-ヘキシピラノシルヌクレオシド 2 が収率良く得られた。この 6'位を常法によりデオキシ化することで、サイトサミノマイシンの中核部分となる合成中間体 3 を調製し、さらにその 4'位に別途ガラクトースより調製したヘキソース誘導体 4 を導入し、二糖ヌクレオシド骨格 5 を合成した。

その後、4''位のアジド基をジメチルアミノ基とし、ピリミジンの 6 位をアミノ基へ変換したのちにこれをアシル化、最後にベンジル基を脱保護することによって、サイトサミノマイシンの全合成に向けて検討した。



この後、4''位のアジド基をジメチルアミノ基とし、ピリミジンの 6 位をアミノ基へ変換したのちにこれをアシル化、最後にベンジル基を脱保護することによって、サイトサミノマイシンの全合成に向けて検討した。

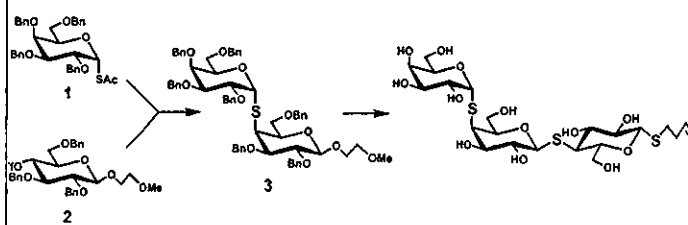
4 J2-32

チオグリコシド型グロボ 3 糖誘導体の合成研究

(埼玉大工・理研) ○黒澤直・小山哲夫・江角泰明・幡野健・松岡浩司・照沼大陽
Synthetic studies of globotriaose analogues having interthioglycosidic bonds (Fac. of Engineering, Saitama Univ., The Inst. of Phys. and Chem. Res. (RIKEN)) KUROSAWA, Sunao; KOYAMA, Tetsuo; ESUMI, Yasuaki; HATANO, Ken; MATSUOKA, Koji; TERUNUMA, Daiyo

病原性大腸菌 O157:H7 が産生するベロ毒素は腸管細胞表面上に存在する糖脂質の 1 つであるグロボトリオシルセラミドの糖鎖部分(グロボ 3 糖)を特異的に認識し、接着する。その後、毒性を発揮するユニットが細胞内へ取り込まれ、発病する事が知られている。このグロボ 3 糖をクラスター化、ポリマー化した化合物はベロ毒素の中和剤として期待され、当研究室では様々な化合物を合成し、それらが高い活性を持つことを見出している。しかしながら、その O-グリコシド結合は生体内の加水分解酵素によって結合が切断されてしまう可能性があるため、代謝系をつき止めるには至っていない。そこで本研究では、生体内においてグリコシダーゼ阻害剤として期待できる S-グリコシド結合型新規グロボ 3 糖誘導体の合成を目的とした。

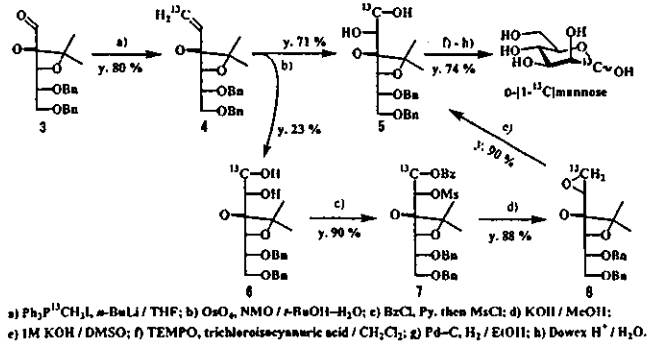
ベンジル保護されたガラクトースのアノマー位にα-チオアセチル基を導入したアクセプター 1 と、グルコースにβ-メトキシエチル基を導入し 4 位に脱離基としてトリフレートを導入したドナー 2 をチオグリコシル化することによりα-S-グリコシド結合を有するガラビオース 3 を合成した。3 糖構築のため、ガラビオース 3 のアノメリック位の化学修飾と、β 選択的チオグリコシル化反応について現在検討中である。



(神奈川大工) ○田田裕樹・黒澤深太・赤井昭二・佐藤憲一
 Synthesis of ¹³C-labeled D-mannose (Faculty of Engineering Kanagawa University) Youda, Hiroki; Kurosawa, Kyota; Akai, Shoji; Sato, Ken-ichi

1. 近年、複合糖質における糖鎖部分の機能を解明するため、生体内における糖鎖の 3 次元的構造を調べる研究が行われている。これに関し、当研究室では、効果的に ¹³C で標識化した糖を合成し^{1) 2)}、それをプローブとし、特殊 NMR 測定により立体配座を明らかにする研究を行っている。糖鎖を構成する重要単糖である D-mannose は 1 位と 6 位を ¹³C 標識化することで、¹³C から ¹H への磁化移動を通して、必要な ¹H 情報が得られる。既に、D-[6-¹³C]mannose の合成は、当研究室での知見を活かし、効率的合成に成功している¹⁾。そこで本研究では D-[1-¹³C]mannose の効率的合成法を開発することとした。D-[1-¹³C]mannose の合成は K⁺CN を用いる手法が報告されている³⁾、生じるジアステレオマーの分離が困難であることから効率的とはいえない。演者は、標識化試薬として最も安価な ¹³CH₃I から調整した Ph₃P⁺¹³CH₃I を用い、より効率的に D-[1-¹³C]mannose を合成したので報告する。

2.3. D-mannitol から導いたアルデヒド体 3 に対して、Ph₃P⁺¹³CH₃I (1 eq.) を用い Wittig 反応し、¹³C オレフィン体 4 を収率 80% で得た。次に、4 のオレフィンに OsO₄ 酸化し manno 立体 5 と gluco 立体 6 を収率 94% (d.r.=3:1) で得た。ここで高価な ¹³C 化合物を目的物へと無駄なく導くために gluco 立体 6 は、エポキシド体を経由することにより manno 立体 5 へと導いた。続いて、5 の 1 級水酸基を触媒量の TEMPO により選択的に酸化した後、Bn 基、イソプロピリデン基を脱保護することで効率的に D-[1-¹³C]mannose を合成した。この合成ルートでの ¹³CH₃I の利用効率は 52% である。

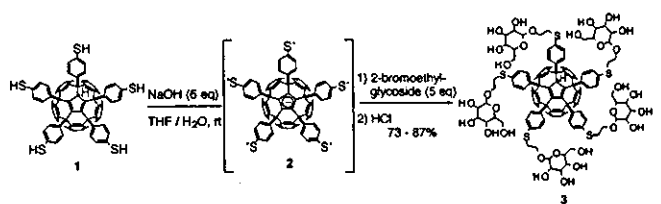


- 1) Sato, K. et al., *Tetrahedron Lett.* 2003, 44, 3513-3516.
- 2) Sato, K. et al., *Tetrahedron Lett.* 2003, 44, 4903-4907.
- 3) Senanni, A. S. et al., *Carbohydr. Res.* 1979, 72, 71-78.

(東大院理) ○真島 敏子・磯部 寛之¹⁾・依光 英樹・中村 栄一
 Synthesis of Fullerene-Glycoconjugates As the New Amphiphiles in Molecular Programming (The Univ. of Tokyo) MASHIMA, Hiroko; ISOBE, Hiroyuki; YORIMITSU, Hideki; NAKAMURA, Eichi

生物の細胞膜上には糖鎖が存在し、タンパクがこの膜上の複数の糖と結合することで種々の特異的認識が起こることが知られている。最近、この効果を利用し、単分子上に複数の糖を呈示することでタンパクを標的とする分子が目玉されている。我々は、これまでに C₂ 対称および擬 C₂ 対称な位置に 5 つの置換基をもつ フラーレンシクロペンタジエン (FCpH) の定量的合成反応の開発を行ってきた。今回、FCpH 上の置換基に無保護の糖化合物を導入する反応を開発し、5 つの糖部位をもつ フラーレン-糖複合体の効率的な合成法を開発した。

疎水的なフラーレンと親水性分子は、非常に異なる親水性を示すため、その間の結合生成反応を行うことは困難である。今回合成した FCpH 1 は、塩基性条件下でチオール及びシクロペンタジエン部位が脱プロトンされ、水溶液に溶ける。ヘキサアニオン種 2 に対し水中でハロゲン化アルキルを作用させると、チオール部位への選択的アルキル化が進行した。この反応を無保護の糖部位をもつハロゲン化アルキルを用いて行うことで、5 つの糖部位を持つフラーレン-糖複合体 3 を良い収率で合成することができた。



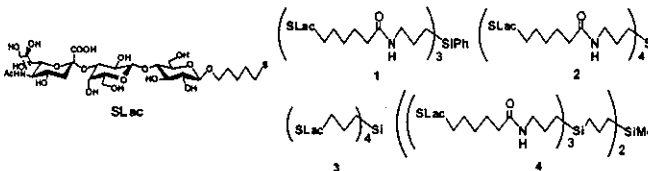
†. PRESTO, JST

(埼玉大工・理研・静岡県立大薬) ○翁長 朝典・小山 哲夫・江角 保
 明・鈴木 康夫・幡野 健・松岡 浩司・照沼 大陽

SYNTHETIC STUDIES OF A SERIES OF CARBOSILANE DENDRIMERS HAVING SIALYLLACTOSE MOIETIES
 (Fac. of Engineering, Saitama Univ., The Institute of Physical and Chemical Research (RIKEN), Department of Biochemistry, University of Shizuoka School of Pharmaceutical Sciences) ONAGA Tomotsune; KOYAMA Tetsuo; ESUMI Yasuaki; SUZUKI Yasuo; HATANNO Ken; MATSUOKA Koji; TERUNUMA Daiyo

インフルエンザウイルスによる疾患は、そのウイルス表層に存在する HA3 量体が宿主細胞上にクラスター化して存在しているシアリル糖鎖を特異的に認識、接着することにより感染、その後発病することが知られている。

これまでの我々の研究において、シアリルラクトース (SLac) を結合¹⁾ させたカルボシランデンドリマー化合物がインフルエンザ A 型ウイルスに対して高い阻害活性をもつという結果を得ている。そこで本研究では、新たなカルボシランデンドリマーをコアとした SLac 含有クラスター化合物のライブラリーを構築し、その阻害活性相関を比較検討することを目的とした。HA3 量体のシアリル糖認識ポケット間距離は 40-50 Å と確認されており²⁾、その距離に合った骨格を設計する必要があるため、今回用いる骨格は、以前の化合物に比べて糖鎖間距離が離れ、糖鎖の自由度に幅を持たせた骨格とした。



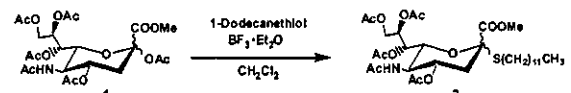
- 1) K. Matsuoka, et al., *Tetrahedron Lett.*, 42, 3327-3330 (2001).
- 2) D. C. Wiley, et al., *Nature.*, 333, 426-431 (1988).

(埼玉大工・北大院地球環境) ○翁長 朝典・小山 哲夫・坂入 慎夫・幡野 健・松岡 浩司・照沼 大陽

SYNTHESIS OF A NOVEL SIALYL DONOR AND ITS REACTIVITY
 (Fac. of Engineering, Saitama Univ., Graduate School of Environmental Earth Science, Hokkaido Univ) ONAGA, Tomotsune; KOYAMA, Tetsuo; SAKAIRI, Nobuo; HATANNO, Ken; MATSUOKA, Koji; TERUNUMA, Daiyo

複合糖質の中にはシアリル酸を含む糖鎖が多く存在する。それらシアリル糖鎖を化学合成するには、優れたシアリル酸供与体が必要とされる。シアリル酸供与体としてのチオグリコシド体はヨードカチオンをプロモーターとして用いることにより、容易に活性化することができる。しかし、これまで用いられてきたシアリル酸チオグリコシドの調製には硫黄原子特有の臭いを持つ低級メルカプタンが用いられていた。そこで、本研究では比較的臭いの弱いドデカチオール¹⁾とグリコシル化を行うことにより、反応に伴う悪臭の低減を達成し、新規シアリル酸チオグリコシド 2 を合成した。得られたシアリル酸チオラウリド 2 の反応性の検討を行うため、α-, β-アノマーをそれぞれ単離し、種々のアルコール性受容体とのグリコシル化反応を行った。

その結果から、β-体が受容体として効率的に反応することを確認し、他の既知チオグリコシド類と比較して、生成、反応性ともに優れた受容体となることを見出した。



- 1) N. Sakairi, et al., *Chem. Lett.*, 326-327 (2000).

ナノサイズで制御された糖鎖クラスター型ペロ毒素中和剤の開発

埼玉大学¹、国立国際医療センター研究所²、奈良県立医大³

松岡浩司^{1*}、幡野健¹、西川喜代孝²、名取泰博²、喜多英二³、照沼大陽¹

【ファウンド名】厚生労働科学研究費補助金（萌芽的先端医療技術推進研究事業）

Vero 毒素産生性大腸菌 (Verotoxin-producing *Escherichia coli*; VTEC) が産生するペロ毒素 (VT) は、毒性を発揮する A サブユニットと宿主細胞に接着するための 5 個の B サブユニットから構成される AB₅ 型の毒素であり、宿主細胞表層上の糖鎖に結合する B サブユニット群の大きさは、およそ 6 nm 程度と見積もられている。本研究においては、この B サブユニット群に最も効率良く結合し、毒素の中和を達成するためのナノサイズに制御された多価型の糖鎖クラスターの合成と評価を行い、ペロ毒素中和剤としての可能性を探求する。

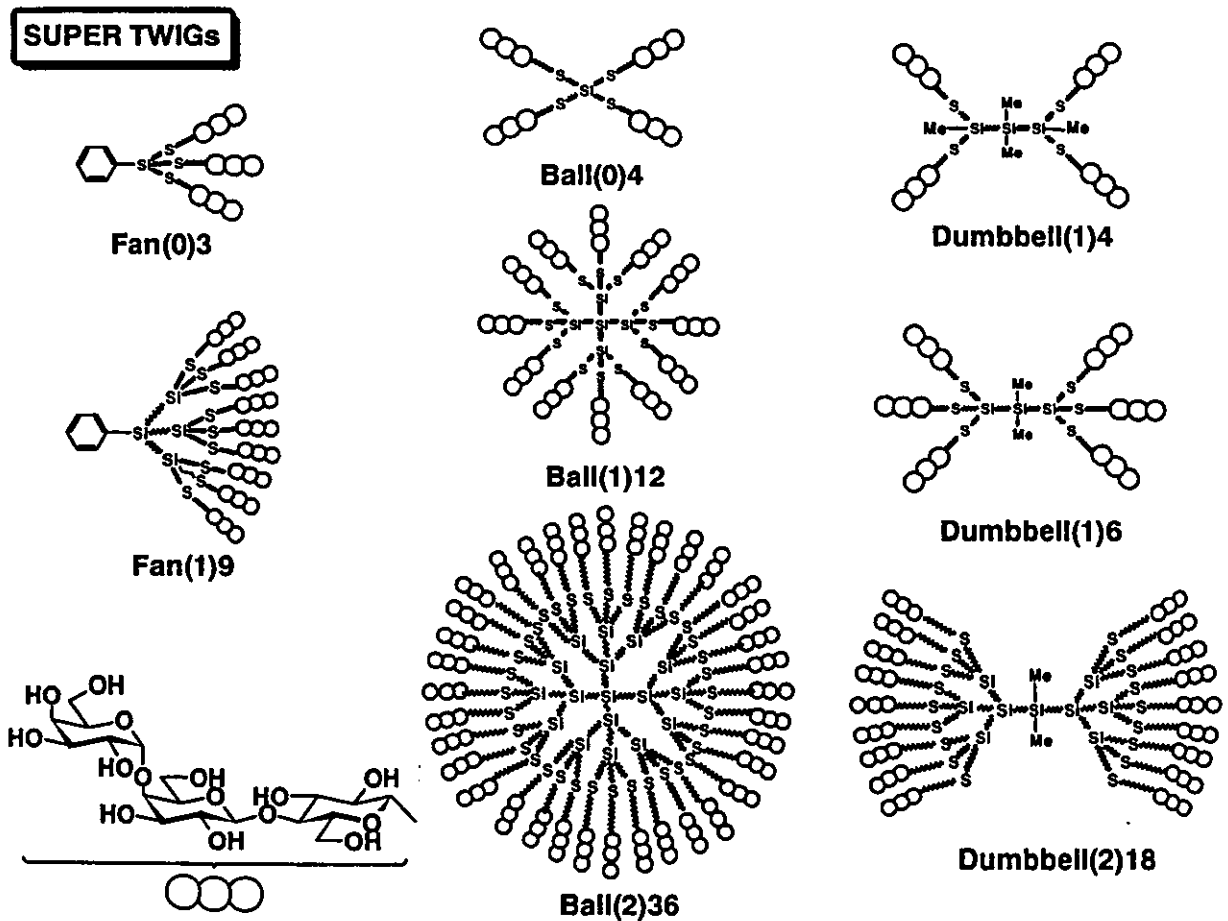


図 1

ペロ毒素に存在する糖鎖結合部位は、B サブユニット 1 分子あたり 3 箇所

存在し、5サブユニット全体で15箇所存在する。また、宿主細胞表層に存在するグロボトリオシルセラミド(Gb3; Gal α 1-4Gal β 1-4Glc β 1-Cer)を特異的に認識することも知られている。そこで、我々は最適な糖鎖数と糖鎖間距離、さらに分子の形状を見出すために、図1に示したGb3の糖鎖部分をエピトープとした種々の糖鎖クラスター化合物群の系統的な設計を行った。これらの化合物は、糖鎖クラスター効果に基づき、多価の結合部位を有するVTsに対して高い活性を発現すると期待した。さらに、コア分子として選定したカルボシランデンドリマーは、化学的に安定であり、原料の選定により自由に分子形態のアレンジおよびサイズのコントロールが可能のため、極めてユニークな糖鎖支持体として選定した。

まず、糖鎖誘導体の調製は、安価なガラクトースとラクトースから3糖骨格を構築し、種々の化学修飾を施すことによりカルボシランへの導入前駆体へと誘導した。一方、カルボシランデンドリマーは、扇型(Fan)、亜鈴型(Dumbbell)、球型(Ball)の形状と複数の糖鎖を担持するため、形状と価数に見合った原料に対して、種々の化学修飾を行い、糖鎖導入に適したカルボシランデンドリマー群を合成した。最後に、これらの糖鎖誘導体とカルボシラン誘導体とを結合させることにより、図1に示した化合物群(Super Twigs)の構築を行った。

得られた化合物を検体として、ベロ細胞を用いた*in vitro*試験、マウスを用いた*in vivo*試験を行った。その結果、生物活性とカルボシランデンドリマーの構造に強い相関があることを見出した。その内、亜鈴型形状のDumbbell(1)6が、合成上の調製の容易さおよび活性強度から考慮して最も活性が高いと判断した。また、このDumbbell(1)6は、マウスに経口投与した致死量のベロ毒素を完全に中和する能力を示した。

以上の結果を踏まえ、最適な化合物を見出すために、Dumbbell(1)6をリード化合物に選定し、コアカルボシランデンドリマー骨格のライブラリー化、さらにアグリコン部分に由来する鎖長の影響等を変化させ、構造活性相関を検討中である。

参考文献

- 1) K. Matsuoka, *et al.*, "Synthetic Assembly of Trisaccharide Moieties of Globotriaosyl Ceramide Using Carbosilane Dendrimers as Cores. A New Type of Functional Glyco-Materials", *Tetrahedron Lett.* **40**, pp. 7839-7842, 1999.
- 2) K. Nishikawa, K. Matsuoka, *et al.*, "A Therapeutic Agent with Oriented Carbohydrates for Treatment of Infections by Shiga Toxin-producing *Escherichia Coli*. O157:H7", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99**, pp. 7669-7674, 2002.

主任研究者：埼玉大学工学部 教授 照沼 大陽

発表者：国立国際医療センター研究所 室長 西川喜代孝

【目的】

O157:H7 などの腸管出血性大腸菌の感染は出血性大腸炎をひき起こすばかりでなく、時に溶血性尿毒症候群 (HUS) や脳症を併発させ、むしろこれらの合併症が患者を死にいたらしめる大きな原因となっている。ペロ毒素 (Shiga toxin; Stx) は腸管出血性大腸菌の産生する主要な病原因子であり、血中に侵入したペロ毒素による腎や脳の微小血管内皮の障害が上記合併症の原因と考えられている。従って、血中に侵入したごく微量の Stx に結合してその作用を阻害する Stx 中和剤は、腸管出血性大腸菌感染症の有効な治療薬になると期待される。本研究では、カルボシランデンドリマーを核構造として用い、Stx に対する結合ユニットとしての糖鎖を集積させるための最適構造を独自に開発し、臨床応用に耐えうる新規な Stx 中和剤を開発することを目的とする。

【背景とこれまでの結果】

Stx は A-B5 型の毒素で、B サブユニットが細胞膜上の受容体、Gb3 (globotriaosylceramide; Gal₁(1-4)-Gal₁(1-4)-Glc₁-Ceramide) に結合することにより細胞内に取り込まれる。B サブユニットペンタマーは Gb3 の糖鎖部 (グロボ3糖; Gal₁(1-4)-Gal₁(1-4)-Glc₁-) を認識する。従って、グロボ3糖を高密度で集積させた化合物は、Stx に高親和性で結合し、その作用を阻害する Stx 阻害剤となりうると思われる。

我々はこれまでに、カルボシランデンドリマーを核構造とし、Stx 結合ユニットとしてグロボ3糖を集積させた化合物 (SUPER TWIG) を開発している。このうち Stx に高親和性で結合し血中で Stx の毒性を強力に阻害する化合物として、1 分子中にグロボ3糖を6個有する化合物 (SUPER TWIG(1)6) を同定することができた。SUPERTWIG(1)6 は、O157:H7 感染実験において有効性が証明された初めての化合物である (K. Nishikawa et al., PNAS, 99, 7669-, 2002)。一方、1 分子中にグロボ3糖を12個有する化合物、SUPER TWIG(1)12 は SUPER TWIG(1)6 よりもグロボ3糖の集積度が高く、*in vitro* では Stx に対する結合能力、Stx の細胞毒性に対する阻害活性ともに SUPER TWIG(1)6 よりも優れているにもかかわらず、血中での Stx 中和剤としての作用は非常に弱いことを見いだしている。このことは、Stx 中和剤開発には *in vivo* での作用を指標とした最適構造の決定が必須であることを意味する。この点について検討を行うため、昨年度において、末端のグロボ3糖数や立体配置が異なる種々の核構造を持つ一連の SUPER TWIG を合成した。今回これら化合物について、*in vitro* および *in vivo* での阻害作用を比較し、最終的に血中で有効に作用するため最適構造の決定を試みた。

【今年度の研究成果】

これまでに開発した3種の SUPER TWIG(0)3, (1)6, (1)12、に加え、新たに5種の SUPER TWIG を合成した。これら化合物の内、最もグロボ3糖を集積させたものは1分子中に36個のグロボ3糖を有する (SUPER TWIG(2)36)。またグロボ3糖数は同じだが (4個)、核構造の異なる化合物を合成し、核構造の重要性についても検討を行った。各々について、Stx1 B-subunit, Stx2 B-subunit に対する Kd 値、Stx の標的細胞への結合に対する阻害能、Stx の細胞傷害活性に対する阻害能、等の *in vitro* における検討、さらにマウスを用いた Stx2 静脈投与による致死性がこれら化合物共投与によりどれだけ阻害されるか、の *in vivo* における検討を行った。

その結果、各 SUPER TWIG の Stx1 B-subunit, Stx2 B-subunit に対する Kd 値は、グロボ3糖を4個から6, 9, 12, 18, 36と増やしていても大きくは変化しないこと、しかしながらグロボ3糖数は同じ (4個) でも核構造を変化させグロボ3糖間の距離を短くしたものでは、著しい親和性の低下が生じることが明らかとなった。このことは SUPER TWIG が高親和性で Stx に結合するためには、グロボ3糖数よりもその核構造が非常に重要であることを意味している。またその他の *in vitro* の検討、

さらにマウスを用いた *in vivo* における検討を行い、最終的に SUPER TWIG(1)6 より優れた化合物として、1分子中にグロボ3糖を18個有する化合物 SUPER TWIG(2)18 を同定することができた。興味深いことに、両化合物は分子全体の形が dumbbell 型であるという特徴的な共通点を有することが明らかとなった。

【今後の計画】

SUPER TWIG(1)6 および SUPER TWIG(2)18 は分子全体の形が dumbbell 型であるという特徴的な共通点を有する。そこでこの形状を基本として、さらに末端グロボ3糖の数、糖鎖間距離、世代数に対応する核構造の長さ、等が異なる SUPER TWIG を合成する予定である。これらの化合物を用いた検討から、最終的に Six 中和剤として血中で有効に作用す驍すめに要求される最適構造を決定する予定である。

また一方で、分子全体の形が dumbbell 型であることが何故 *in vivo* での活性に要求されるのか、という疑問が生じる。この問題解決のためにはこの構造を有する SUPERTWIG と、Six B-subunit との結合様式を明らかにすることが重要と考えられる。この点について検討を行うため、まず一つの B-subunit 上に3種類あるとされているグロボ3糖結合サイトに、それぞれ single, double, triple mutation を導入して各種 mutant B-subunit を調製していく予定である。これら mutant と SUPER TWIG(1)6 または (2)18 との結合親和性を検討し、これら SUPER TWIG と Six B-subunit との結合にどのサイトが使われているのか、等その結合様式について検討を行う。

マンノース担持カルボシラン dendriマーの合成

(埼大工・医療機器センター[†]) ○森 知紀[†]・幡野 健・松岡 浩司・照沼 大陽

Synthesis of Carbosilane Dendrimers Having Peripheral Mannose

Tomonori Mori[†], Ken Hatano, Koji Matsuoka, and Daiyo Terunuma

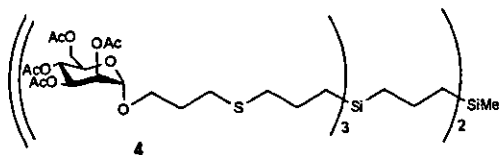
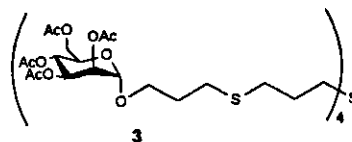
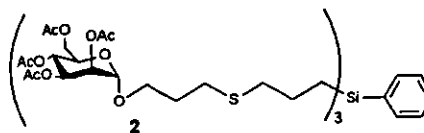
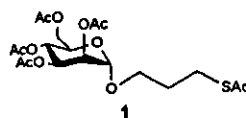
Department of Functional Materials Science, Faculty of Engineering, Saitama University, 255 Shimo-ohkubo, Sakura-ku, Saitama 338-8570, Japan and [†]Japan Association for the Advancement of Medical Equipment

Clustering mannose on carbosilane dendrimer would be able to mimic the high mannose type glycoprotein. So we are described herein the preparation and characterization of a series of carbosilane dendrimers having peripheral mannose, which have α -glycoside bond of the aglycon moiety.

[序] マンノースは生体内において種々の生命活動を司っている糖タンパク質の構成成分であり、高度に集積化されている。例えば、HIV 表面に存在する gp120 分子は、*N*結合型糖鎖が結合している糖タンパク質であり、とりわけ、高マンノース型糖鎖が多く存在している。従って、マンノースを集積化することは糖タンパク質 (特に、高マンノース型糖鎖) の機能を解明するために重要な役割を果たすことが期待される。そこで本発表では、マンノースを担持したカルボシラン dendriマーが得られたので報告する。

[結果・考察] D-マンノースを出発物として、マンノースのチオアセチル誘導体 **1** を合成した。既報¹⁾を参考にして **1** を三種類の典型的なカルボシラン dendriマー骨格にそれぞれ導入した (Fan(0)3 型 (**2**), Ball(0)4 型(**3**), Dumbbell(1)6 型(**4**))。これらはシリカゲルカラムクロマトグラフィーおよび分取型 GPC を用いて精製した。得られたカルボシラン dendriマー (**2**~**4**) については、NMR スペクトルおよびマスマスペクトル (FAB または ESI) によってキャラクタリゼーションを行い、それぞれ三個(**2**)、四個(**3**)、六個(**4**)のマンノースが dendriマーの外面に存在する構造であることを確認した。

これらは、従来にないアグリコン部分が α -グリコシドを有するタイプの糖鎖担持カルボシラン dendriマーである。



1) K. Matsuoka, M. Terabatake, Y. Esumi, D. Terunuma, and H. Kuzuhara, *Tetrahedron Lett.*, **40**, 7839 (1999).

糖鎖含有カルボシラン dendrimer の合成研究 (IV) — ペロ毒素中和剤としての最適構造の探索 —

(埼玉大工^a・医療機器センター^b・国立国際医療センター^c・理研^d)

○ 山田明宏^a・竹澤 豊^a・阿部展久^a・森 知紀^b・小山哲夫^a・幡野 健^a
松岡浩司^a・照沼大陽^{a*}・日野久美子^c・西川喜代孝^c・名取泰博^c・江角保明^d

Synthetic Studies of Carbosilane Dendrimers Functionalized with Sugar Moieties (IV) - Search of Optimum Structure as a Vero Toxin Neutralizer -

Akihiro YAMADA,^a Yutaka TAKEZAWA,^a Nobuhisa ABE,^a Tomonori MORI,^b
Tetsuo KOYAMA,^a Ken HATANO,^a Koji MATSUOKA,^a Daiyo TERUNUMA,^{a*}
Kumiko HINO,^c Kiyotaka NISHIKAWA,^c Yasuhiro NATORI,^c and Yasuaki ESUMI^d

^aDepartment of Functional Materials Science, Faculty of Engineering, Saitama University, 255 Shimo-ohkubo, Sakura-ku, Saitama 338-8570, Japan; ^bJapan Association for the Advancement of Medical Equipment, NKD Building 6-7th Floor 3-42-6 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0033, Japan; ^cDepartment of Clinical Pharmacology, Research Institute, International Medical Center of Japan, 1-21-1 Toyama, Tokyo 162-8655, Japan; ^dThe Institute of Physical and Chemical Research (RIKEN), Woko, Saitama 351-0198, Japan

Tel&Fax:048-858-3532, E-mail:kf024@fms.saitama-u.ac.jp

We have recently found that carbosilane dendrimer having globotriose was effective as a material that neutralization and nontoxic makes pathogenesis O157:H7. In the course of our investigation, we have interested in the effect of dendrimer size, aglycon chain length and number of globotriose on biological assay of carbosilane dendrimer bearing globotriose. Preparations and biological assay of new carbosilane dendrimers bearing globotriose will be discussed in this paper.

【目的】我々のグループはこれまでにカルボシラン dendrimer をコア骨格とするグロボ3糖のクラスター化合物を合成し、ペロ毒素に対する生物学的評価を行ってきた。その中で第1世代6分岐 dendrimer にグロボ3糖を担持させた Dumbbell (1) 6 (Figure 1. n=2) が *in vitro* だけでなく *in vivo* でも活性を示すことを見出した¹⁾。今回、我々は dendrimer 骨格のサイズの違い、また担持糖鎖数やアグリコン鎖長など、構造最適化について検討したので報告する。

【結果・考察】 dendrimer 骨格のサイズの違いによる中和活性への影響を調べるために、Dumbbell(1)6 をリード化合物とし中心ケイ素から分岐ケイ素までの鎖長のことなる dendrimer を合成した (Figure 1. n=1, 3, 4)。 *in vitro* におけるペロ毒素への中和活性は n=4 のとき最も良い結果を示し、n=3 が次に良い結果を示した。また担持糖鎖数による中和活性への影響も調べたのであわせて報告する。

1) K. Nishikawa, K. Matsuoka and D. Terunuma et. al., Proc. Natl. Acad. Sci., 99, 7669 (2002)

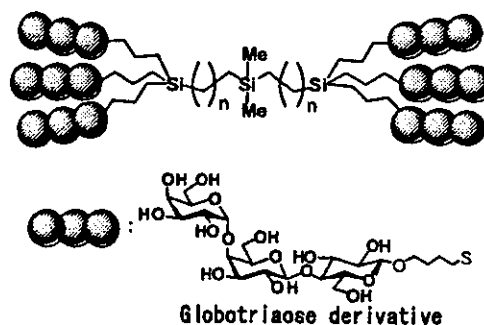


Figure 1.

酵素を模倣したメチル化 β -シクロデキストリン類の合成研究

(埼玉大・工) ○吉田 順子、松岡 浩司、小山 哲夫、幡野 健、照沼 大陽

Synthetic studies of a series of methylated β -cyclodextrin derivatives as enzyme mimics

Junko YOSHIDA, Koji MATSUOKA, Tetsuo KOYAMA, Ken HATANO, and Daiyo TERUNUMA

Department of Functional Materials Science, Faculty of Engineering, Saitama University, Sakura, Saitama 338-8570, Japan (E-mail: kf025@fms.saitama-u.ac.jp)

Summary: A couple of modified β -CD derivatives were efficiently synthesized from uniformly methylated β -CDs as key intermediates. Further transformations of the compounds are now in progress, and the results will be presented.

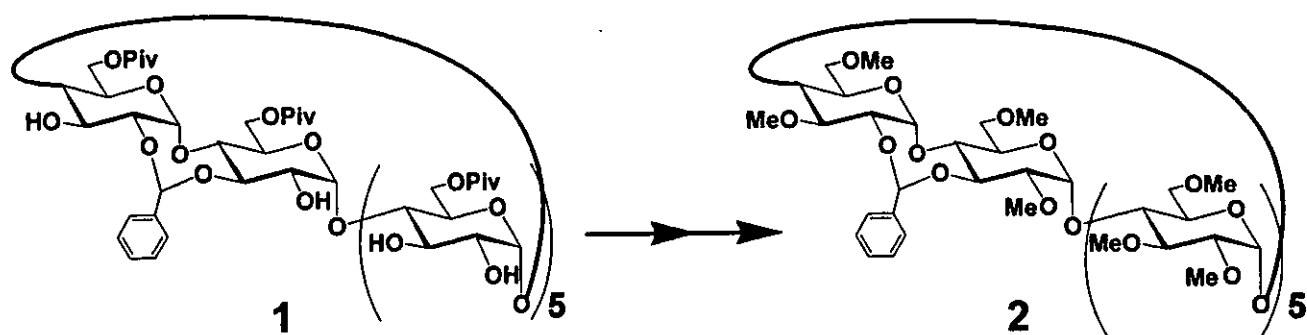
1. 緒言

酵素は 20 種類のアミノ酸が各々の酵素に対応した配列により一本鎖を形成し、さらに複雑な三次元構造を構築した独特な有機高分子である。酵素の特色は、次の特異性にある。①応特異性であり鍵-鍵穴の関係といわれるように固有の型の反応しか触媒しない。②基質特異性、③立体特異性が上げられる。このような天然酵素の利点を模倣した様々な人工酵素の研究が盛んに行われている。シクロデキストリン(CD)もその疎水性内孔を酵素の基質取り込み部分に見立て、分子認識能を機能発現させることを目的とした多くの研究がなされている。しかしながら、天然型 CD では活性部位に相当するポケットは、同一のグルコースのみから形成されているため酵素モデルとしての高い活性を望むには限界がある。さらに、その難溶性も取り扱いを困難にしている。

そこで、本研究では新たなる活性部位の導入を行うにあたり、有機合成的手法により化学修飾を行うこととした。研究対象としては、CD の中でも最も安価であり、適当な内孔を持つ β -CD を原料として選定した。 β -CD は分子内の水酸基による水素結合のため、水に対して難溶性であり、さらにその包接複合体は極めて難溶性である。これに対しメチル化 β -CD は水及び有機溶媒に可溶であり、前述の難点が克服されている。本研究では酵素モデルとなる化合物の設計と合成を目指して、二級水酸基側の特定炭素(C-2 及び C-3 原子)に位置選択的の化学修飾を行い、残りの水酸基をメチル化した化合物の基礎的な合成を行うこととした。

2. 実験

出発原料の β -CD より、すでに我々が報告した^{1)~3)}方法に従い、糖残基間にまたがった 2,3'-O-ベンジリデン体 **1** を得た。次いで脱ピバロイル化、メチル化を順次行いメチル体 **2** を得た。さらに LAH を用いた位置選択的還元開裂反応により、ベンジリデンの切り分けを行い 2 位のみが遊離となったメチル化 β -CD **3** を合成した。このようにして合成した化合物の機能性をさらに拡張させるために、遊離の水酸基に対して種々の化学修飾を行った。



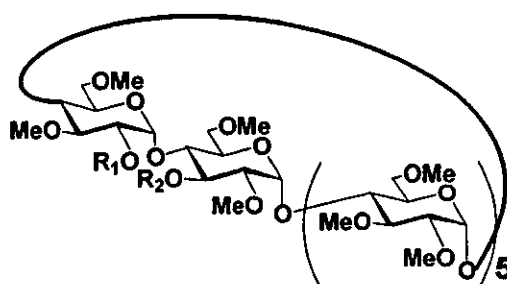
(1) アリル化

DMF 溶媒中 KH、**3** に対してアリルブロミド 20 等量を用いて反応を行ったところ、2 位にアリル基を導入した化合物 **4** を収率 88.9% で得た。

(2) メシル化

Suzuki らの報告⁴⁾を参考に、pyr 中 50 °C、**3** に対して 20 等量の MsCl を用いて反応を行ったところ、78.4% の収率でメシレート **5** を得た。さらに、接触水素還元反応を行うことにより 3 位のみが遊離となった **6** を合成した。

得られたこれらのメチル化β-CD 誘導体に対し、さらなる機能発現のために官能基変換等を検討中である。合成した全ての化合物の構造決定は元素分析、IR、NMR により行った。



4: R₁=All, R₂=Bn

5: R₁=Ms, R₂=Bn

6: R₁=Ms, R₂=H

3. 結果と考察

現在、合成した化合物群に関する物性評価を行っている。これらの化合物は、ゲスト分子が取り込まれると考えられる二級水酸基側への機能性基の導入により、ゲストが取り込まれる際のゲスト-ホスト間の相互作用を効率的に十分に生かすことができる。さらに包接された状態において、天然型 CD においては発現されない、官能基の相互作用による固定化も期待でき、分子配向を有する包接錯体の形成が可能となる。これらのことから、緻密な分子認識の発現が可能であろうと考えている。また、不斉識別や不斉誘導反応への応用も期待している。

4. 参考文献

- 1) N. Sakairi *et al.* (1993) *Chem. Lett.* 2077.
- 2) N. Sakairi *et al.* (1996) *Carbohydr. Res.* **291**, 53.
- 3) K. Matsuoka *et al.* (2001) *Tetrahedron Lett.* **42**, 1531.
- 4) M. Suzuki *et al.* (2002) *Carbohydr. Res.* **337**, 2393.

Novel *N*-Acetyllactosamine Clusters Using Carbosilane Scaffolds

Takumi Ohtawa¹, Koji Matsuoka², Tetsuo Koyama², Yasuaki Esumi³, Ken Hatano², Daiyo Terunuma² and Shin-Ichiro Nishimura¹

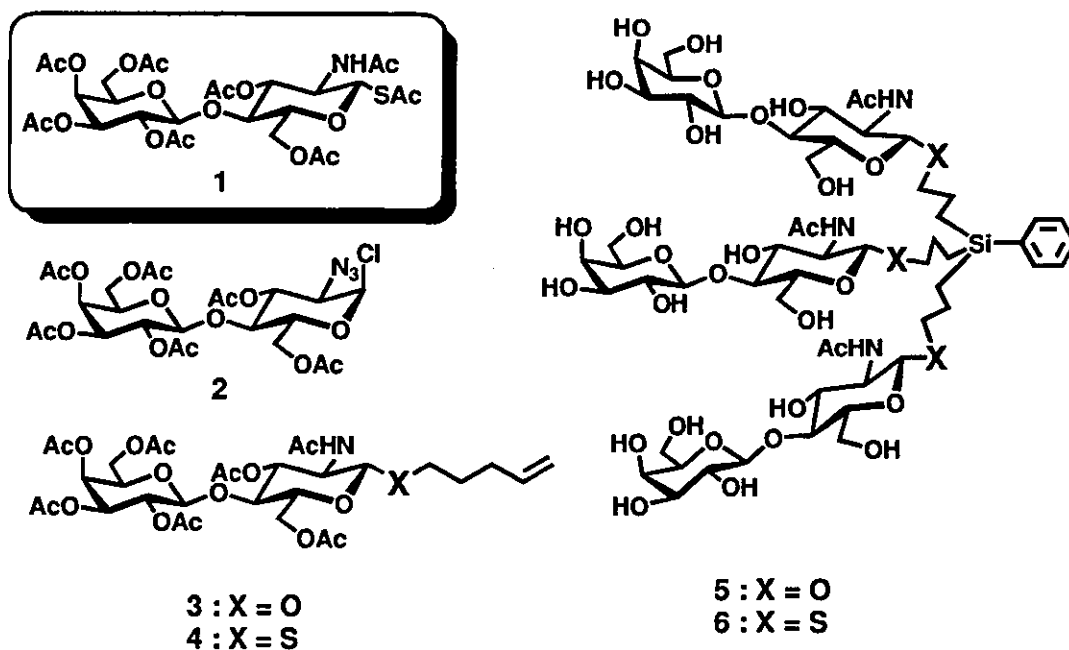
¹*Division of Biological Sciences, Graduate School of Science,
Hokkaido University, Sapporo 060-0810, Japan*

²*Department of Functional Materials Science, Faculty of Engineering,
Saitama University, Saitama 338-8570, Japan*

³*The Institute of Physical and Chemical Research (RIKEN),
Wako, Saitama 351-0198, Japan*

E-mail: takumi@md.fms.saitama-u.ac.jp

A novel anomeric β -thioacetate (**1**) of an *N*-acetyllactosamine (LacNAc) derivative was efficiently synthesized from the known 2-azide glycosyl chloride (**2**) [1] using thioacetic acid as a convenient reagent. Applications of the thioacetate for glycosylation are demonstrated to provide both *O*- and *S*- glycosides (**3** & **4**) in high yields.



An incorporation of LacNAc residues into a couple of carbosilane scaffolds gave the corresponding glycoclusters (**5** & **6**) after deacetylations.

[1] R. U. Lemieux and R. M. Ratcliffe, *Can. J. Chem.*, **57** (1979) 1244-1251.

[1]

N-アセチルラクトサミンを基盤とした糖鎖クラスターの合成研究

埼玉大学工学部機能材料工学科

松岡浩司、大田和拓己、幡野健、照沼大陽

【緒言】

複合糖質糖鎖における N-アセチルラクトサミン(LacNAc)の二糖構造は、シアリル化やフコシル化を受けることによりさらに成熟した糖鎖構造へと成長を遂げ、細胞間相互作用や癌化・老化といった生命現象に深く関わっている。その様な複合糖質コア糖鎖構造として生物学的に極めて重要な役割を担っている LacNAc の効率的調製法の開発とグリコシド誘導體への効率的変換法の確立は、極めて興味深い。さらに、糖鎖クラスター効果に基づく種々のリガンドに対する高いアフィニティーが期待できる LacNAc クラスターの構築は、上述の現象解明に向けて、有効な手段となる。本研究では、LacNAc の効率的調製法と得られる LacNAc 誘導體を利用してクラスター化を行ったので、以下に報告する。

【結果と考察】

LacNAc の調製は、以下のようにして行った。まず、原料である D-ラクタールの完全アセチル体にアジドニトロ化反応後、塩化テトラエチルアンモニウムとの処理により 2-アジド- α -クロライド体を調製した。この中間体をチオ酢酸と処理することにより、安定な 2-アセトアミド- β -チオアセテート体を調製した。この LacNAc のチオアセテート体は、二種類の異なるグリコシル化反応により、O-グリコシドと S-グリコシドの双方にそれぞれ誘導できることを見出している。この度は、この方法論をクラスター型の糖鎖支持体に適用することにより、表記目的達成の足掛かりとなる LacNAc のクラスター化を試みた。O-グリコシド型糖鎖クラスターは、上述の LacNAc のチオアセテート体を既知のオキザゾリン体に変換後、多価のアルコールと結合させることにより調製した。一方、S-グリコシド型糖鎖クラスターについても検討したところ、チオグリコシド誘導體の合成法を参考にすることにより、多価アルキルハライドと結合させて調製した。これらの糖鎖クラスターは、エステル保護体であるため、さらに塩基処理によって脱保護を行い、水溶性の糖鎖クラスター化合物へと変換した。現在、これらの新規化合物を用いて、より複雑な糖鎖構造への変換を検討している。

【参考文献】 1) K. Matsuoka *et al.*, *Tetrahedron Lett.* 44, 3617-3620 (2003).

P2-01

ワンポットグリコシル化反応によるシアル酸含有 O-結合型糖アミノ酸の合成研究

安立 昌篤、田中 浩士、高橋 孝志
(東工大理工)

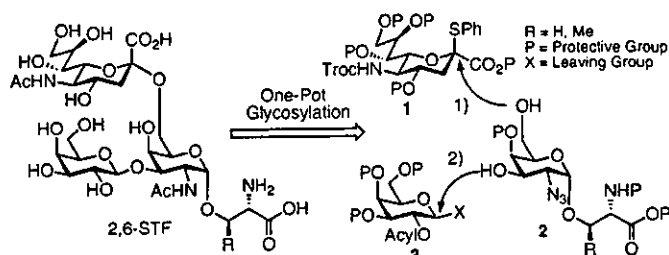
Synthetic Study of Sialy-O-linked Glycosyl Amino Acids by One-Pot Glycosylation

Masaatsu Adachi, Hiroshi Tanaka, Takashi Takahashi
(Department of Applied Chemistry, Graduate School of Science and Engineering, Tokyo Institute of Technology)

Summary: We report the synthesis of 2,6-STF antigen by one-pot glycosylation. Thiosialoside with *N*-Troc group at 5 position was effective for α -selective glycosylation. Feasibility of the glycosyl donor was demonstrated by one-pot synthesis of 2,6-STF antigen using thiosialoside, thiogalactoside, galactosaminyl amino acids. Sequential and regioselective glycosylation with the two thioglycosides provided protected 2,6-STF antigen in 77% yield.

シアル酸は糖タンパク質やガングリオシドの構成成分として存在し、その生理活性発現に重要な役割を果たしている。そのため、化学合成による純粋なシアル酸含有糖鎖の供給が求められている。しかし、反応性の低いアノマー位に対して、隣接基関与を伴わず立体選択的にグリコシル化反応を行わなければならないため、シアル酸のグリコシル化反応はしばしば問題となる。また、容易に副生成物として 2,3-デヒドロ体が生成する。

本研究では、シアル酸の高収率、高立体選択的なグリコシル化反応を目指し、5位の保護基のグリコシル化反応に対する影響について検討を行った。その結果、*N*-Troc基に変換したチオグリコシドを用いた場合、良好な収率、立体選択性でグリコシル化反応に成功した。さらに、このチオグリコシド 1、糖受容体 2、ガラクトース誘導体 3 を用いた 3 成分ワンポットグリコシル化反応による、シアル酸を有する O-結合型糖アミノ酸ユニットである 2,6-STF 保護体の合成に成功した。



P2-02

インフルエンザウイルス阻害能を有する糖鎖クラスターの合成研究

大田和 拓己¹、松岡浩司²、小山 哲夫²、江角 保明³
幡野 健²、照沼 大陽²
(¹北大院・理、²埼玉大・工、³理研)

Synthetic Studies of Glycoclusters Which Inhibit Influenza Virus Cell Adhesion to the Host Cell

Takumi Ohtawa¹, Koji Matsuoka², Tetuo Koyama², Yasuaki Esumi¹, Ken Hatano², Daiyo Terunuma²
(¹Graduate School of Science, Hokkaido University, ²Faculty of Engineering, Saitama University, ³The Institute of Physical and Chemical Research (RIKEN))

Summary: Our previous studies demonstrated that sialyllactose clusters using carbosilane scaffolds inhibit the influenza viruses cell adhesion to the glycoclusters existing on the host cells. Influenza viruses also recognize another type of glycoclusters in which sugar chains are sialyllactosamine (NANA α 2 \rightarrow 3Galy β 1 \rightarrow 4GlcNAc). Now, we are constructing N-acetyllactosamine clusters and enzymatic elongation of sialic acid to the clusters.

[目的] インフルエンザウイルスは、宿主の細胞表層にクラスター化して存在している複合糖質糖鎖の糖鎖部位であるシアリルラクトース、シアリルラクトサミンといった三糖構造を認識、接着することにより生体に感染することが知られている。本研究においては、カルボシラン dendrimer を糖鎖担持骨格としてシアリルラクトサミンをクラスター化させることによるインフルエンザウイルス阻害剤の開発を目的とした。

[方法・結果] 我々はこれまでにアノマー位にチオアセチル基を有する N-アセチルラクトサミン誘導体(以下 LacNAc 誘導体)の新規合成経路を確立した。合成した LacNAc 誘導体、及びそのペンテニルグリコシド誘導体にチオ酢酸を用いて、末端にチオアセチル基を導入した LacNAc 誘導体を NaOMe 存在下、アルキルハライド型カルボシランと結合させた。また、上述の LacNAc 誘導体を直接オキサゾリン誘導体へと変換し、末端に水酸基を有するカルボシランと結合させた。さらに、ペンテニルグリコシド誘導体の末端二重結合を酸化的に開列させ、カルボン酸へと変換後、末端にアミノ基を有するカルボシランと結合させた。続いて、合成したこれらの LacNAc クラスターの糖鎖部位を脱保護を行った。

現在は、合成したこれらの LacNAc クラスターに対して糖転移酵素による糖鎖伸長反応を検討中である。

B 系列ガングリオシド新規合成戦略に基づいたガングリオシド GQ1b の全合成

○今村 彰宏^{1,2}、安藤 弘宗^{1,2}、石田 秀治^{1,2}、木曾 真^{1,2}
(¹岐阜大・農、²CREST)

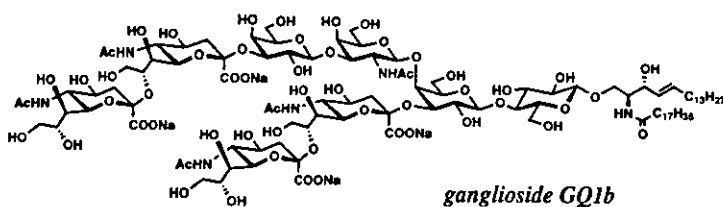
A Total Synthesis of Ganglioside GQ1b Based on a Novel Synthetic Strategy of B-Series Gangliosides

○Akihiro Imamura^{1,2}, Hiromune Ando^{1,2}, Hideharu Ishida^{1,2}, Makoto Kiso^{1,2}
(¹Department of Applied Bioorganic Chemistry, Gifu University, ²CREST)

Summary : It is known that B-series gangliosides, which exist mainly in central nervous system and participate in the formation of neuron network in higher animals, are physiologically important substances. Previously, a systematic synthesis of B-series gangliosides has been achieved by our groups, but there are problems yet to be dissolved in regard to overall yields and stereoselectivity of coupling reactions. Herein, we report a renewed synthetic strategy of B-series gangliosides, which also suits to the synthesis of other ganglio-series, and its practical application to the total synthesis.

B 系列ガングリオシドは高等動物において主に中枢神経系に存在し、神経回路網の形成などに関与する生理学的に重要な分子種である。これまでに B 系列の系統的合成は当研究室の H.-K.Ishida らによってなされているが、収率、立体選択性の面で満足の行くものではなかった。

そこで本研究では、B 系列ガングリオシド及び他のガングリオ系ガングリオシド合成にも応用が可能な方法を確立するとともに、その応用として GQ1b の全合成を行ったので報告する。



特定炭素を化学修飾したメチル化 β-シクロデキストリン類の合成と評価

○吉田 順子、松岡 浩司、小山 哲夫、幡野 健、照沼 大陽
(埼玉大・工)

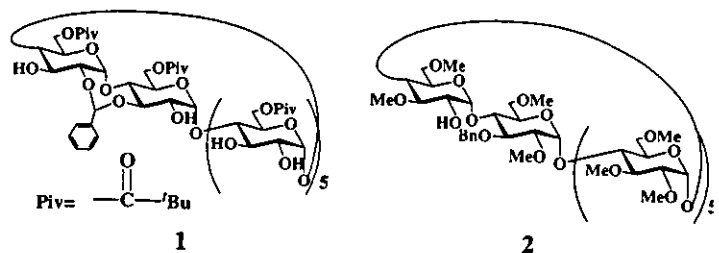
Synthetic Studies of Regioselectively Modified β-CD Derivatives

○Junko Yoshida, Koji Matsuoka, Tetsuo Koyama, Ken Hatano, Daiyo Tenunuma
(Faculty of Engineering, Saitama University)

Summary : A couple of modified β-CD derivatives were efficiently synthesized from the uniformly methylated β-CDs as key intermediates. Further transformations of the compounds are now in progress, and the results will be presented.

【目的】シクロデキストリン (CD) は環状構造に起因する環内空孔の疎水場を持つため、水中において疎水性ゲストを包接する。CD に包接された化合物は安定化-可溶化-乳化-酸化防止-不揮発性化などの作用を受けるため、食品及び医薬品分野で幅広く用いられている。この様な利点を持ちながら、その難溶性、立体構造の複雑さゆえ、取扱いが困難な化合物であることが知られている。そこで本研究ではゲスト分子が取り込まれると考えられる二級水酸基側に着目し、置換基の位置選択的導入を行い、残りの水酸基をメチル化することにより、CD のさらなる機能の拡張を目的とした。研究対象としては CD の中で適当な内孔サイズを提示し、最も安価である β-CD を原料として選定した。

【方法・結果】β-CD を出発物とし既知化合物である 2,3'-O-ベンジリデン体 **1** を得た。脱保護後、遊離の水酸基をすべてメチル化し、次いで位置選択的還元開裂反応により 2 位のみが遊離となった **2** を合成した。2 の遊離の水酸基に対してメシル化、アリル化、プロパルギル化反応等を検討し、目的とする誘導体を合成することに成功した。現在、これら誘導体の化学修飾と物性評価を行っており、さらに CD の機能性を拡張させるための新たな分子設計を考案している。

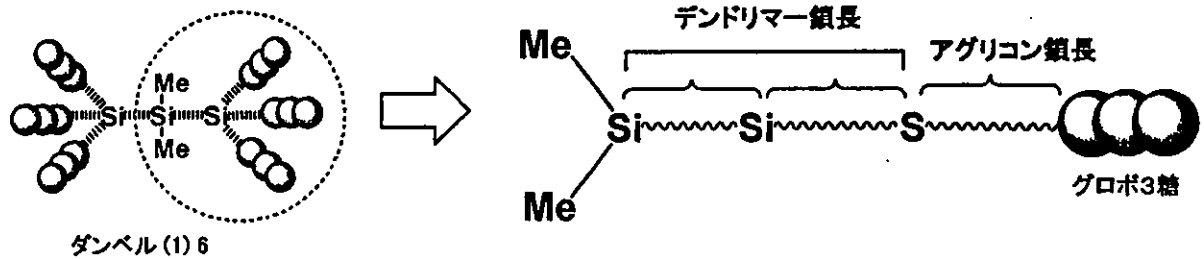


(埼玉大学・工) ○竹澤豊、松岡浩司、小山哲夫、阿部展久、山田明宏、
森知紀、幡野健、照沼大陽

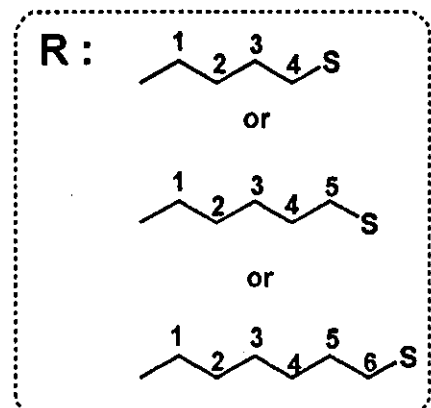
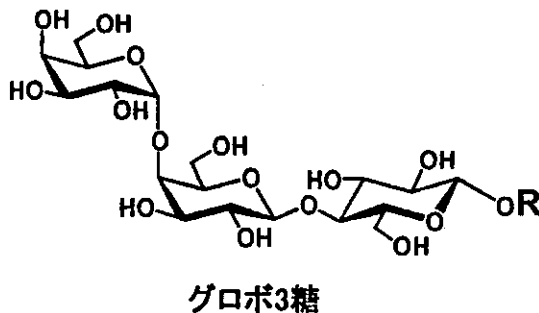
(国際医療センター) 名取泰博、西川喜代孝

(理化学研究所) 江角保明

生体内の細胞表層上には、糖タンパク質や糖脂質などの複合糖質中の糖鎖が外側に向かってアンテナ状に存在している。生体内に侵入してきたウイルスや細菌は、これらの糖鎖をマーカーとし、感染することが知られている。本研究のターゲットである病原性大腸菌 O157:H7 が産生するペロ毒素は、糖脂質グロボトリオシルセラミドの糖鎖部分、すなわちグロボ3糖 (Gal α 1 \rightarrow 4 Gal β 1 \rightarrow 4Glc) を強く認識する。ペロ毒素は多価の糖鎖結合部位を有しており、多価型のレセプターに対して非常に高い結合能を示すと期待されている。我々はこれまでペロ毒素の中和を目指し、カルボシランデンドリマーの末端にグロボ3糖を導入した、多価型レセプターであるグロボ3糖含有カルボシランデンドリマー群の合成を行い、ペロ毒素に対して中和活性評価を行ってきた。その結果、骨格、構造の違いがペロ毒素の中和活性に影響を及ぼすという興味深い結果を得た¹⁾。現在、グロボ3糖含有カルボシランデンドリマーのコア分子と糖鎖間の距離の差によってどのようにペロ毒素の中和活性に影響を及ぼすかを検討するために、コア分子のデンドリマー部分の鎖長を変えた化合物、またコア分子と糖鎖をつなぐアグリコン部分の鎖長を変えた化合物について合成を行っている。



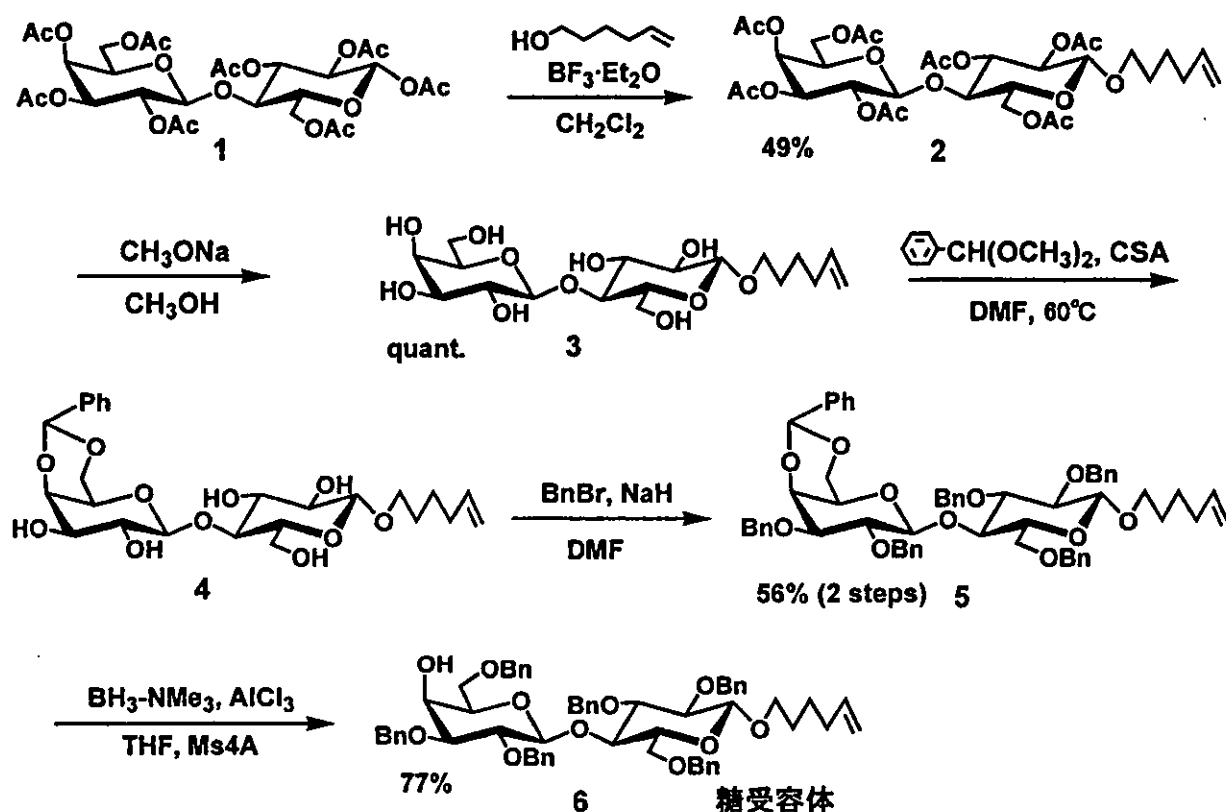
これまで合成したグロボ3糖含有カルボシランデンドリマーのアグリコン鎖長はすべて炭素数4個のものである。本研究では主としてアグリコン炭素数5、炭素数6の化合物ついでにの合成と、ペロ毒素の中和活性評価を報告する。



1. 糖受容体の合成

ラクトースβ-アセテート **1** を出発原料とし、*n*-ヘキセニルアルコール、プロモーターとして $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ を用いてβ-ヘキセニルグリコシド **2** に変換した。続いて、エステル交換反応を行い遊離の水酸基とした後、4',6'位にベンジリデン基を掛け、残りの水酸基にベンジル化を施した。最後に $\text{BH}_3 \cdot \text{NMe}_3$ 、 AlCl_3 を用いてベンジリデン基の選択的還元開裂反応を行い、4'位のみ水酸基を有する糖受容体 **6** を合成した (Scheme 1)。

Scheme 1

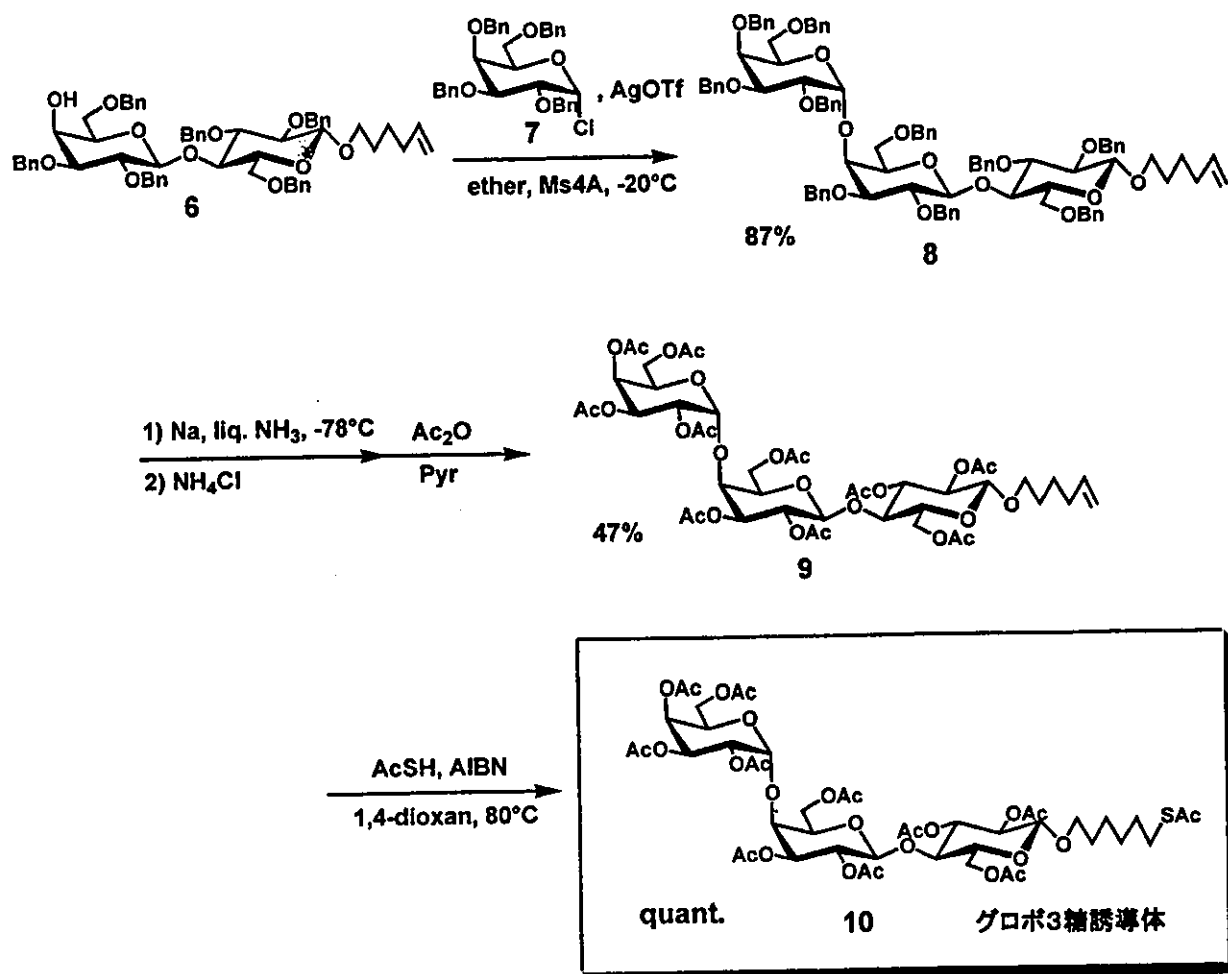


2. グロボ3糖誘導体の合成

先に合成した糖受容体 **6** とガラクトースより誘導した既知の糖供与体 **7** とを、プロモーターとして AgOTf を用いてグリコシル化を行った。その結果、 α -グリコシド結合された新たな3糖骨格構造 **8** を高収率で得ることができた。次に、バーチ還元により脱ベンジル化を行い、続いてアセチル化を施し、保護基をアセチル基に変換した。最後に、ヘキセニル基の末端二重結合に、 AIBN を用いた AcSH のラジカル付加反応を行い、末端にチオアセチル基を有する化合物 **10** を定量的に合成することができた (Scheme 2)。

以上の合成ルートにより、デンドリマーへ導入するための前駆体である、目的とするグロボ3糖誘導体 **10** の合成を達成した。

Scheme 2

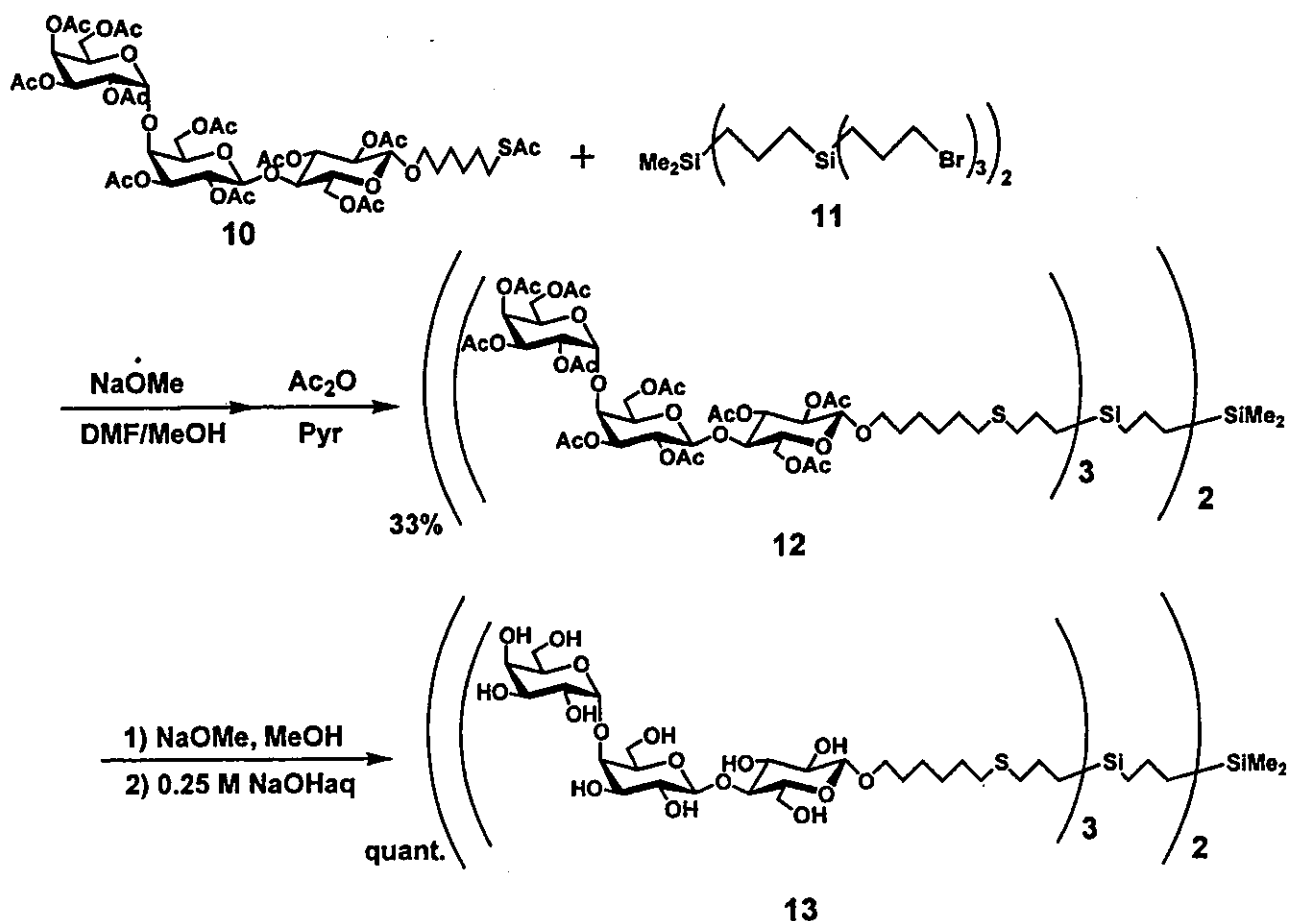


3. デンドリマーへのグロボ3糖導入

グロボ3糖誘導体 **10** のダンベル型カルボシランデンドリマー¹¹の末端への導入反応を行った。反応は MeOH/DMF 混合溶媒中で行い、NaOMe による末端のチオアセチル基の除去により、チオラートアニオンを発生させ、デンドリマー末端へ求核置換反応による導入を行った。この反応過程において、糖鎖のアセチル基が一部はずれるため、再度アセチル化を行い、デンドリマー末端6個すべてにグロボ3糖が導入された化合物を完全保護体 **12** として収率 33% で得た。最後に脱アセチル化を行い、目的とするアグリコン炭素数6の鎖長を伸ばした新規グロボ3糖含有カルボシランデンドリマー **13** を合成した (Scheme 3)。

また同様の条件、経路によりアグリコン炭素数5の化合物についても別途合成した。

Scheme 3



4. 結論

これまで合成した化合物より、アグリコン鎖長を伸ばしたグローブ3糖含有カルボシラン dendrimer を合成した。ペロ毒素に対して合成した化合物による活性評価を行い、アグリコン鎖長の差による中和活性の比較、また同時に dendrimer 部分の鎖長を変えた化合物との中和活性の比較を行い、構造活性相関についての検討を報告する予定である。

5. 謝辞

生理活性試験を行っていただいた、国際医療センターの日野久美子氏に感謝致します。

6. 参考文献

- 1) K. Nishikawa, *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 7669-7674, (2002).
- 2) K. Matsuoka, *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **40**, 7839-7842, (1999).

○小山 哲夫¹・竹澤 豊¹・名取 泰博²・西川 喜代孝²・江角 保明³・
森 知紀⁴・幡野 健¹・松岡 浩司¹・照沼 大陽¹
¹埼玉大工・²国立国際医療センター研究所・³理研・⁴医療機器センター

【目的】我々はこれまで種々のカルボシラン dendリマーの表面に Gb3 糖鎖 (グロボ 3 糖) を導入し、病原性大腸菌 O-157:H7 が生成するペロ毒素に対する「中和効果」の面から検討を行ってきた (Figure 1)。これは dendリマー上の Gb3 糖鎖と、ペロ毒素を構成する複数の B サブユニットが結合した結果、細胞表層上への毒素の接着が著しく阻害されるという原理に基づいている。さらに興味深いことに、中心部分のカルボシラン dendリマーの構造によって中和効果に大きな差が現れることが、これまでの研究によって既に明らかになっている。

【結果】今回は dendリマー構造ではなく、糖鎖のアグリコン部分となるアルキル鎖長を変えた複数の分子に関して、鎖長の長さによるペロ毒素との中和活性の変化を期待した。前述の方針に添って、従来の炭素鎖長 4 のスペーサーを持つ分子(C-4)に対し、炭素鎖長 5(C-5)・炭素鎖長 6(C-6)を合成後、dendリマー表層上に導入した。次いでペロ毒素中和活性に関する「構造の最適化」を目指した。現在、個々の分子に関する生理活性 (*in vitro*・*in vivo*) に関しては検討を行っている。

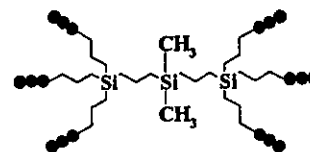


Figure 1. Structure of Carbosilane Dendrimer.
(●●●=Gb3)

Synthetic Studies of Carbosilane Dendrimers Functionalized with Globotriaosyl Moieties (I): Effect of Aglycon Length as Neutralizer of Verotoxin.

Tetsuo KOYAMA*, Yutaka TAKEZAWA*, Yasuhiro NATORI¹, Kiyotaka NISHIKAWA¹, Yasuaki ESUMI², Tomonori MORI³, Ken HATANO*, Koji MATSUOKA*, and Daiyo TERUNUMA* (Fac. of Engineering, Saitama University, Saitama-City, Saitama 338-8570, ¹Dep. of Clinical Pharmacology, Res. Inst., International Medical Center of Japan, ²The Institute of Physical and Chemical Research (RIKEN) and ³Japanese Association for Advancement Medical Equipment)

Phone: 048-858-9129, FAX: 048-858-9131, e-mail: koyama@fms.saitama-u.ac.jp

(埼玉大工・¹医療機器センター・²国立国際医療センター・³理研)

○山田明宏・阿部展久・森 知紀¹・幡野 健・松岡浩司・照沼大陽²・西川喜代孝²・名取泰博²・江角保明³

【目的】我々はこれまで形状の異なるカルボシラン dendリマーをコア骨格とするグロボ 3 糖のクラスター化合物を合成し、それらの O157:H7 の産生するペロ毒素に対する中和活性について調べてきた。これまでの中和活性評価では、Fig. 1 に示す第 1 世代カルボシラン dendリマーに 6 つのグロボ 3 糖を担持させた Dumbbell (1) 6 (n=2) が *in vitro*, *in vivo* の両方で強い阻害活性を示すことを見出した¹⁾。今回、我々は Dumbbell 型カルボシラン dendリマーの骨格を種々合成し分子サイズおよび担持糖鎖数が中和活性に与える影響について調査したので報告する。

【結果・考察】中心ケイ素から分岐ケイ素までの炭素鎖長の異なる dendリマー (n=1, 3, 4) ならびに末端糖鎖数の異なる (2~5 担持) カルボシラン dendリマーをそれぞれ合成した。それらの中和活性評価ではカルボシラン dendリマーの分子サイズがより大きな構造の方が高い阻害活性を示す傾向を示すことが分かった。糖鎖数による影響については現在調査中であるので当日報告する予定である。

1) K. Nishikawa, K. Matsuoka and D. Terunuma *et. al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 99, 7669 (2002)

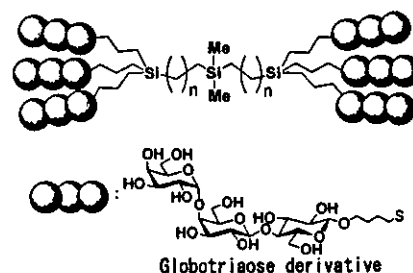


Fig. 1

Synthetic Studies of Carbosilane Dendrimers Functionalized with Grobotriaosylmoieties.(II)

Akihiro YAMADA, Nobuhisa ABE, Tomonori MORI, Ken HATANO, Koji MATSUOKA, Daiyo TERUNUMA*, Kiyotaka NISHIKAWA, Yasuhiro NATORI, Yasuaki ESUMI (Department of Functional Materials Science, Faculty of Engineering, Saitama University, 255 Shimo-ohkubo, Saitama 338-8570, Japan)

Tel & Fax 048-858-3532, E-mail: kf024@fms.saitama-u.ac.jp