

## 3位修飾型擬シアロ糖鎖の効率的合成法開発とシアリダーゼ阻害活性

上蘭, 慶也

<https://hdl.handle.net/2324/6787546>

---

出版情報 : Kyushu University, 2022, 博士 (創薬科学), 課程博士

バージョン :

権利関係 : Public access to the fulltext file is restricted for unavoidable reason (3)

### 3位修飾型擬シアロ糖鎖の効率的合成法開発とシアリダーゼ阻害活性

分野名：薬物分子設計学分野

学籍番号：3PS20004P

氏名：上菌 慶也

**【背景・目的】** 複合糖質の非還元末端からシアル酸を切断する酵素であるシアリダーゼは、創薬標的として注目され、その阻害剤が開発されてきた。その多くは、酵素反応メカニズムの遷移状態を模倣した DANA (5) の誘導体であった (図 1)。一方、ヒトシアリダーゼ (hNEU) は複合糖質の代謝だけでなく、がんなどの疾患への関与も示唆されている<sup>1</sup>。したがって、シアリダーゼに対する阻害剤は、疾患メカニズム解明や新規創薬リード化合物となると期待される。

最近、当研究室ではシアル酸3位にエキソメチレン基を導入した2糖型アナログ 1を開発した。1がシアリダーゼの基質として加水分解されると、高反応性中間体 3が生じる。近傍の Tyr 残基がエキソメチレン基と反応すると、共有結合を形成してシアリダーゼが修飾される。本アナログは基質構造を持つため、基質特異性を反映したシアリダーゼによる分解を、酵素を特定しながら追跡できると期待される。1のシアリダーゼ阻害活性を調べたところ、驚くべきことに NEU2 (hNEU の一種) を既知阻害剤 5 よりも強力に阻害することを見出した<sup>2</sup>。一方で、エキソメチレン基を有する単糖型アナログ 4は阻害活性を示さなかった。さらに、前述した共有結合形成は阻害活性に必須でないことが分かった。以上の結果から我々は、2糖型アナログ 1が“ミカエリス複合体アナログ (ES 複合体アナログ)”として機能していると仮説を立てた。1は導入したエキソメチレン基の影響で、シアル酸配座が<sup>4</sup>S<sub>2</sub>配座 (2) へ移行し易いが、遷移状態 (<sup>4</sup>H<sub>5</sub>配座、3) への移行のみが極めて遅いと考えると、基質と遷移状態ちょうど中間を模倣した、基質+遷移状態ハイブリッドアナログとも言える。したがって、1を基盤とした構造展開によって、これまでとは異なる選択性をもつ新規シアリダーゼ阻害剤を創製できると期待された。しかし、1の合成は煩雑であり<sup>2</sup>、最長直線工程に 19 工程、総収率は 0.3%以下であった。ドナー 8 の合成に 6 のアリル化による 3位増炭と 2炭素減炭を含む 10 工程を要し、さらに 2級アルコールとのグリコシル化が低収率にとどまっていたことが大きな要因であった。本研究では、創薬展開を志向した 3-エキソメチレン型誘導体の短段階合成法の開発を目的とした。

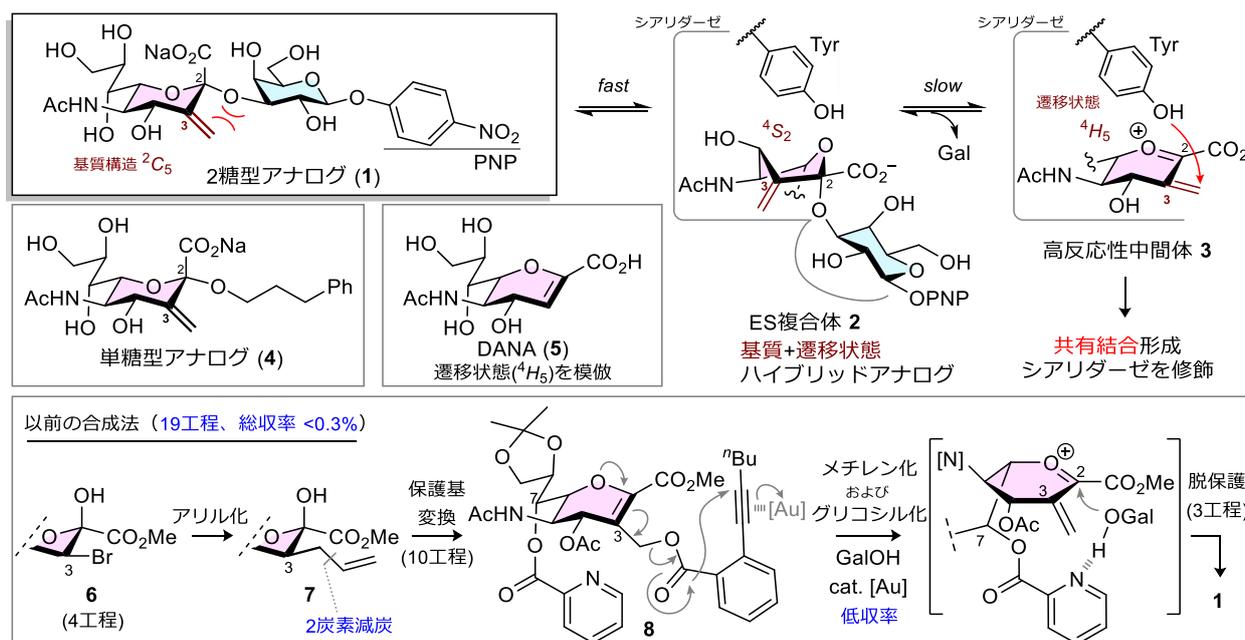


図 1. 本研究の背景および以前の合成法

**【方法・結果】** これまでの合成法の欠点を克服するには、鍵となる  $\alpha$  選択的グリコシル化の後に、エキソメチレン基を構築できる手法が必要だと考えた。そこで、3 位にエステル置換基を導入したドナー**10**の合成を考えた(図2)。合成効率の観点から、酢酸等価体を**9**の3位炭素へ直接導入して**10**を合成する。導入した3位置換基が隣接基関与(**11**)することで、 $\alpha$  選択的グリコシル化を実現できると考えた。エキソメチレン基構築は、3位エステル置換基の脱炭酸反応によって達成できると考えた。本戦略は3位エステル置換基が反応制御に関与し、さらにエキソメチレン基の足掛かりとなる。したがって、本質的にシアル酸保護基の変換を必要とせず、3-エキソメチレン型シアル酸誘導体の短段階合成が可能となると期待した。

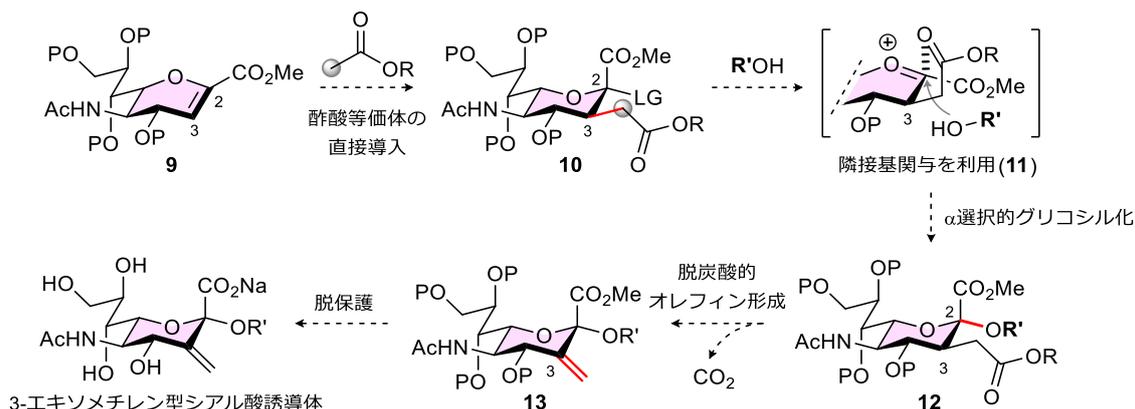


図 2. 3-エキソメチレン型シアル酸誘導体の合成計画

### シアル酸 3 位の酢酸等価体の直接導入検討

種々検討の結果、シアル酸誘導体**14**のエノール様反応性に着目し、求電子的ラジカル種とのカップリングによる3位選択的修飾を着想した。**14**を酢酸中、酢酸マンガニンおよび酢酸カリウム存在下、マロン酸ジメチルと加熱処理したところ、期待通り酸化的ラジカルカップリングが進行し、3-エカトリアル体**15a**を優先的に与えることを見出した<sup>3</sup>(図3)。また、マロン酸ジエチル、またはマロン酸ジイソプロピル、マロン酸ジベンジル、マロン酸ビストリクロロエチルとのカップリング反応では、いずれも円滑に反応が進行し、それぞれ対応する目的物**15b–15e**を良好な収率で与えた。一方で、マロン酸ジ-tブチルやマロン酸ジフェニルを用いた場合は、反応がほとんど進行しなかった。本結果は、t-ブチル基およびフェニル基の嵩高さのため、立体障害によって反応が進行しなかったと考察している。

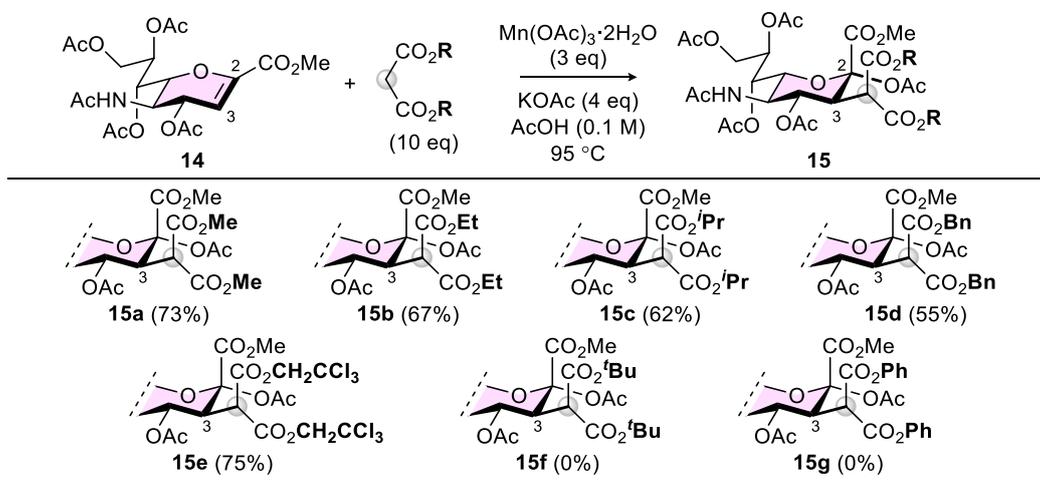


図 3. 酸化的ラジカルカップリングによるシアル酸 3 位修飾

## ドナー合成、および $\alpha$ 選択的グリコシル化

アクセプターとのグリコシル化に用いる、ドナー**18** への変換を検討した (図 4)。後の工程を考慮し、オルソゴナルに除去可能なトリクロロエチル (TCE) エステル体 **15e** を出発物とした。種々検討の結果、**15e** をルチジン中で加熱処理すると脱炭酸が進行し、**16** を良好な収率で与えることを見出した。ヒドラジン酢酸塩を用いて、2 位アセチル基を選択的に除去後、アルキニルベンゾイル基を導入することで、ドナー**17** を短工程で合成した。

**17** と各種アクセプターとのグリコシル化を検討した (図 4)。**17** およびシクロヘキサノールを Au(I) 錯体で処理すると、反応が円滑に進行し、**18a** を高収率で立体選択的に与えた。本結果は、上述した隣接基関与の影響で  $\alpha$  選択的グリコシル化が進行したと考えられる。また、ガラクトース誘導体とのグリコシル化においても、中程度の収率で 2 糖誘導体 **18b** を  $\alpha$  選択的に与えることを見出した。以上により、シアル酸保護基を変換せずとも  $\alpha$  選択的なグリコシル化を実現し、**14** からわずか 5 工程で 3 位修飾型シアロシドを合成することに成功した。

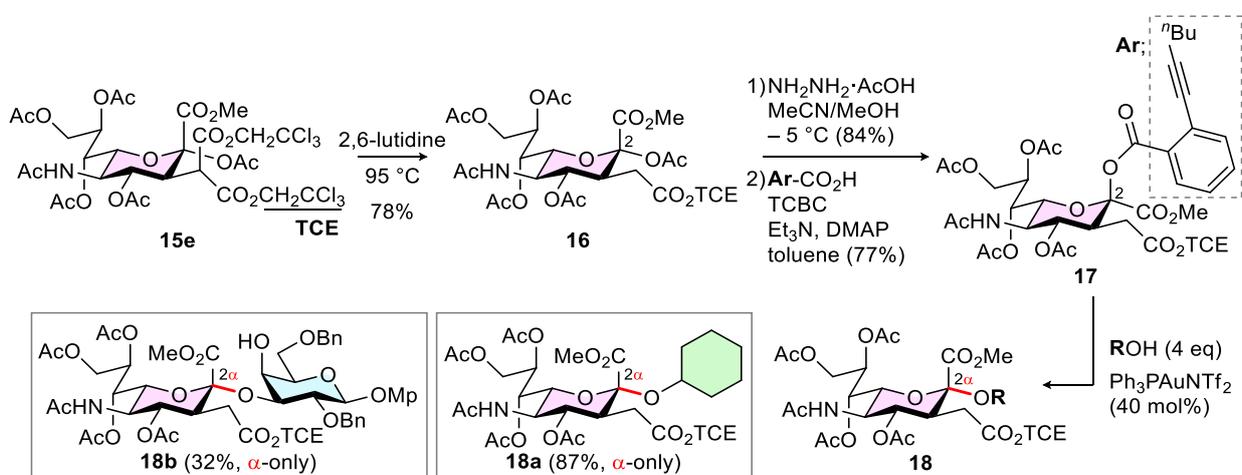


図 4. ドナーの合成および  $\alpha$  選択的グリコシル化

## レドックス活性エステル体の合成、およびエキソメチレン基構築

TCE エステルからエキソメチレン基の構築を検討した (図 5)。これを実現するため、合成した **18b** をレドックス活性エステル体 **20** へ誘導した。**18b** を酢酸中、亜鉛と加熱処理することでトリクロロエチル基を除去した。加水素分解によって Bn 基を除去し、*p*-トルエンスルホン酸存在下、酢酸イソプロペニルと処理することでアセチル保護を試みた。この時、5 位アセトアミド基への過剰アセチル化も進行し、混合物 **19** を与えた。これを、ジクロロエタン中、EDC および DMAP を用いて *N*-ヒドロキシフタルイミドと縮合させた。反応条件下、5 位の余分なアセチル基の除去も同時に進行し、レドックス活性エステル体 **20** を 4 工程収率 84% で合成した。

光反応による脱炭酸的オレフィン形成反応<sup>4</sup>を用いて、前駆体 **20** からのエキソメチレン基構築を検討した (図 5)。有機光触媒 OPC を 10 mol%、銅触媒 [Cu] を 100 mol% 用いて Kessil PR160L-440 を照射することで、脱炭酸反応が進行し、所望のエキソメチレン体 **21** を 63% の収率で与えることを見出した。なお、[Cu] は触媒量でも反応が進行するが、溶媒のベンゼンと反応して生じる 3-CH<sub>2</sub>Ph 体 (ここでは示していない) の副生を抑制するため、100 mol% 用いた。アセチル基の除去、および Chelex 100 を用いたカルボン酸ナトリウム塩の調製により、3-エキソメチレン型 2 糖型アナログ **22** の合成を達成した。本手法では **14** から 2 糖型アナログを全 12 工程・総収率 8% で合成可能であり、効率的合成法の開発に成功した。

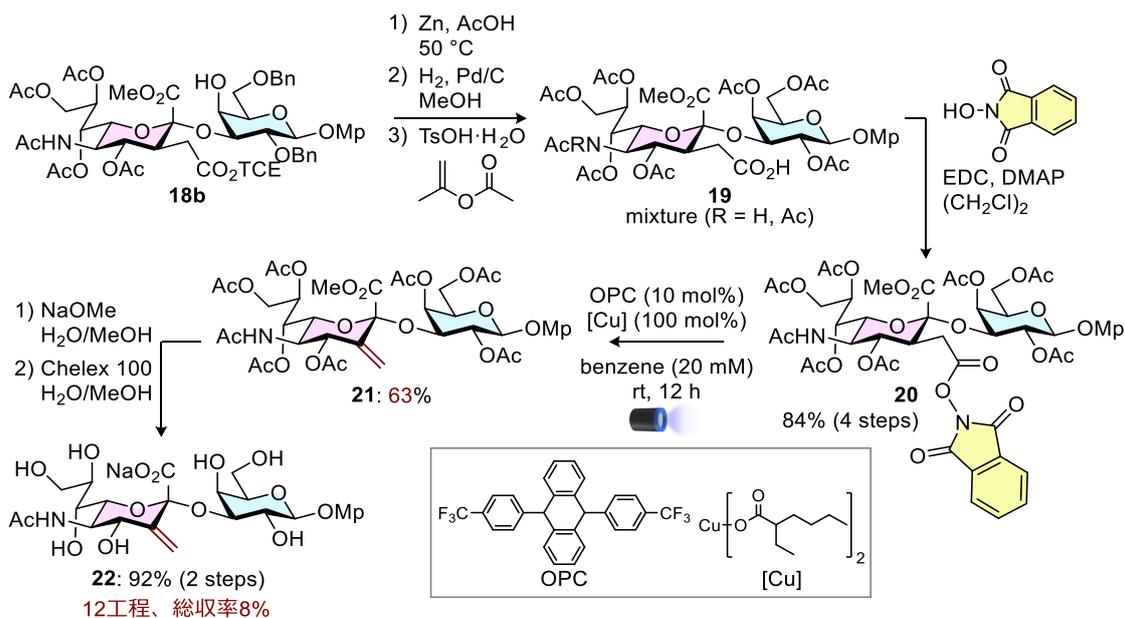


図 5. 3-エキソメチレン型 2 糖型アナログの合成

### ●3 位修飾型 DANA 誘導体の合成

【背景・目的】インフルエンザのグループ 1 シアリダーゼは、開放的な活性部位 150-cavity を持ち<sup>5</sup>、正に帯電している<sup>6</sup>ことが結晶構造解析から示されている。本研究で開発した酸化的ラジカルカップリングを用いて、DANA (5、図 1) の 3 位にカルボン酸置換基を有する 3-CH<sub>2</sub>COONa-DANA (25) の合成を考えた (図 6)。負に帯電したシアル酸 3 位カルボキシレートが、正電荷を持つ活性部位と相互作用することで酵素親和性が向上し、新たな DANA 型阻害剤を創製できると着想した。

【方法・結果】本検討は、修士 1 年の前田梨紗氏の協力のもと実施した。モノエステル体 16 を Ph<sub>3</sub>P·HBr と加熱処理することで 2,3-オレフィン を構築した後、亜鉛処理による TCE 基除去、およびメタノリシスによってカルボン酸体 24 を得た (図 6)。これを加水分解した後、Chelex 100 を用いたカルボン酸ナトリウム塩の調製により、25 の合成を試みたが、ESI-MS 測定の結果、3-CH<sub>2</sub>COOH-DANA (26) が生成していることが示唆された。26 は期待に反し、シアリダーゼを全く阻害しなかった。

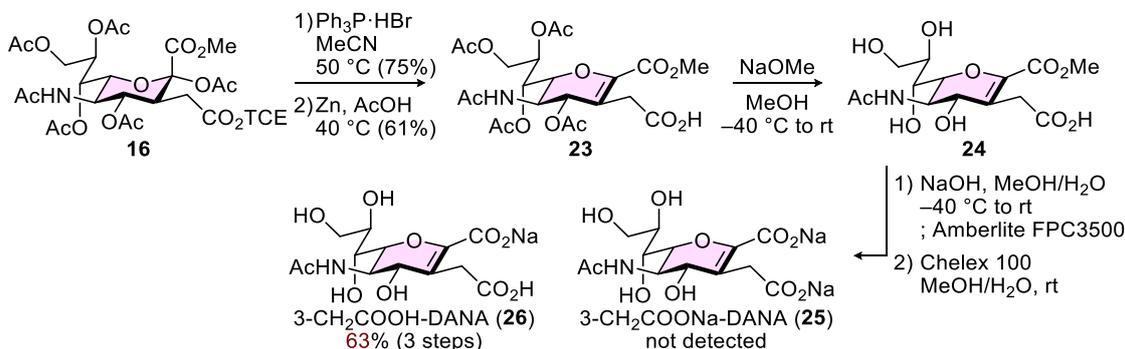


図 6. 3 位修飾型 DANA 誘導体の合成

【参考文献】1) Miyagi, T. *et al. Glycoconj. J.* **2004**, *20*, 189; 2) Fukazawa, R.; Oonuma, K.; Maeda, R.; Uezono, K.; Kato, M.; Koshino, H.; Morita, M.; Miyagi, T.; Sodeoka, M.; Hirai, G. *ChemRxiv*, **2022**; 3) Uezono, K.; Maeda, R.; Yoritate, M.; Matoba, H.; Hirai, G. *Chem. Lett.* **2022**, accepted; 4) Glorius, F. *et al. ACS Catal.* **2018**, *8*, 1715; 5) Skehel, J. J. *et al. Nature*, **2006**, *443*, 45. 6) von Itzstein, M. *et al. ACS Chem. Biol.* **2018**, *13*, 1544.