

医薬品の新素材としてのシアル酸誘導体

小 倉 治 夫*

Sialic Acid Derivatives for Novel Medicines

Haruo OGURA*

Neu 5 Ac, the most important sialic acid was obtained from edible bird's nest, KDN was prepared from D-mannose and oxalacetic acid. KDN glycosides were synthesized by the Koenigs-Knorr reaction for cholesterol and Williamson method for phenols.

S, S'-Bis(1-phenyl-1H-tetrazol-5-yl) dithiocarbonate prepared from 5-mercapto-1-phenyl-1H-tetrazole and trichloromethyl chloroformate, was attempted to a novel glycosylation reagent. Sialosyllactose and sialosyl-cholesterol were synthesized by this method.

G_{M3} cholesterol analog and mitomycin derivatives were synthesized.

Key words : Sialic acid ; Neu 5 Ac ; KDN ; Koenigs-Knorr reaction ; Williamson reaction ; S, S'-Bis(1-phenyl-1H-tetrazol-5-yl) dithiocarbonate ; G_{M3}cholesterol analog ; Mitomycin glycoside.

シアル酸とは N-アセチルノイラミン酸(Neu 5 Ac)や N-グリコリルノイラミン酸, およびそれらの O-アシル, O-メチル, デオキシ誘導体などの総称である。主として脊椎動物の糖蛋白質や糖脂質, ムチンなどのムコ多糖などの構成成分で, 細胞膜表面オリゴ糖鎖の末端に存在する九炭糖である¹⁾。これらの複合糖質は, 生物の生命維持に欠くことのできないもので, 細胞相互の機能に重要な役割りを演じている。最近, 箱守らによって糖鎖同士の特異的相互作用などが明らかにされた²⁾。また, インフルエンザウイルスのレセプター部分がシアロシルラクトース³⁾構造であることが X 線解析で明らかになった⁴⁾。シアル酸誘導体の合成については, 既に本誌に報告したことがあるので⁵⁾, 初期の文献などはこれを参考にして頂きたい。本稿ではその後の発展を中心に最近までの研究を紹介したい。

『分子全体の形がよく, 水溶性部分と脂溶性部分とのバランスがよい, シアル酸誘導体(鍵)は酵素やホルモン(鍵穴)に作用して生理活性をもつ』という作業仮説を立てて, 立体化学の確実なシアル酸誘導体を合成してきた。この考えは箱守らの考察によっても支持されるものである²⁾。原料のシアル酸の中, N-アセチルノイラミン酸は

「アマツバメ」の巣からえたものを用い⁶⁾, 3-deoxynonulosonic acid [3-deoxy-D-glycero-D-galacto-2-nonulosonic acid](KDN)は合成法(後述)によるものを用いた。Neu 5 Ac の構造とこれに関連する基本化合物については別報を参照して頂きたい⁷⁾。

1. KDN の合成と反応

1.1. KDN の合成 サケ科魚類の未受精卵の表層複合糖鎖からシアル酸の 1 種 KDN が発見され⁷⁾, 早速その合成法を開発した。KDN は Neu 5 Ac の 5 位アミノ基を水酸基に置き替えたものであるから, Neu 5 Ac から誘導できる。即ち, Neu 5 Ac (1) を Neu 4, 5, 7, 8, 9 Ac₅ 1 Me 2 Me⁸⁾ (2) とし, ニトロソ化(3)して熱分解すると KDN 4, 5, 7, 8, 9 Ac₅ 1 Me 2 M² (4) が得られる⁹⁾(スキーム 1)。しかし, 収量は 17% にしかすぎず, その他の化合物が 3 種類(5, 6, 7)も生成するから, 合成法としては採用できない。

そこで, D-マンノースとオキサロ酢酸を縮合させてよい収量で KDN を合成する方法を開発した¹⁰⁾。この方法は縮合反応後に塩化ニッケルを加えて脱炭酸の触媒とするものである(表 1)。

この方法を D-アラビノースに応用して 66% の好収量で 3-deoxy-D-manno-2-octulosonic acid (KDO) を合成することができた¹⁰⁾

* 北里大学薬学部 ()

* School of Pharmaceutical Sciences, Kitasato University ()

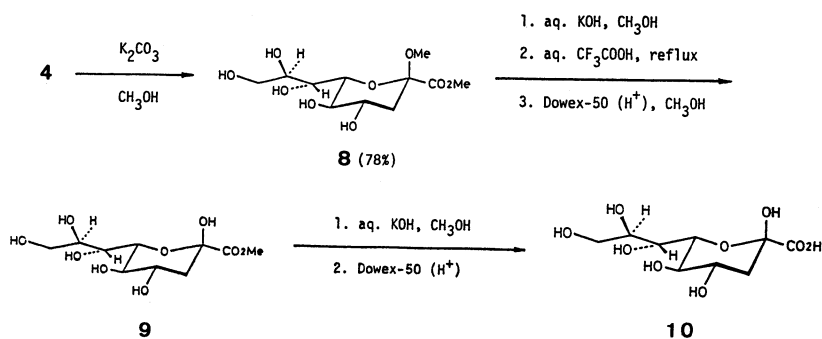
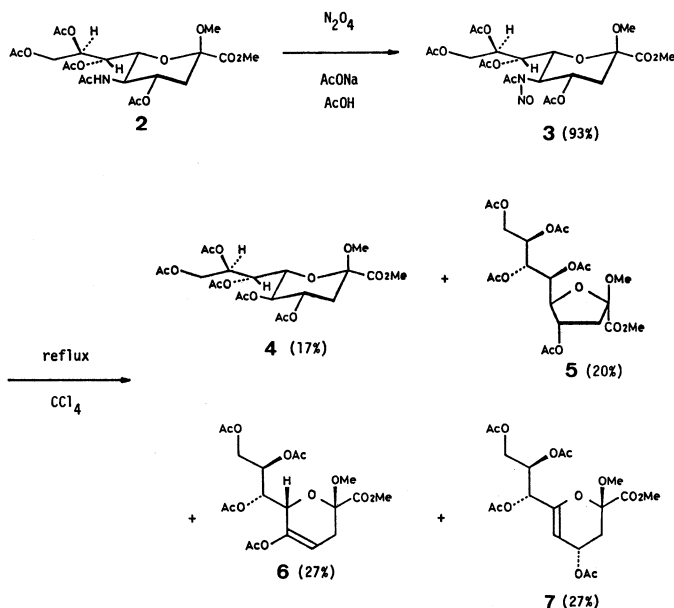
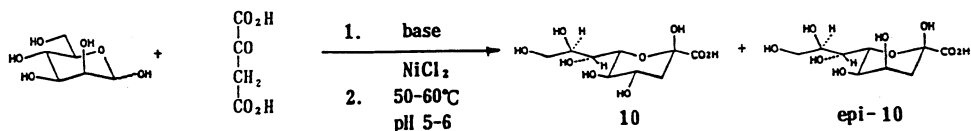


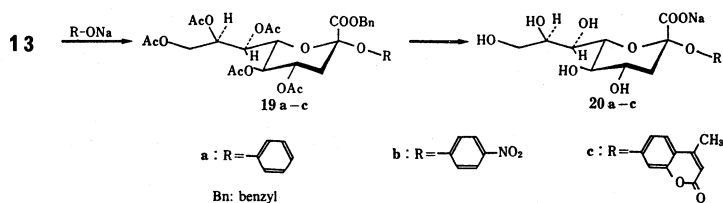
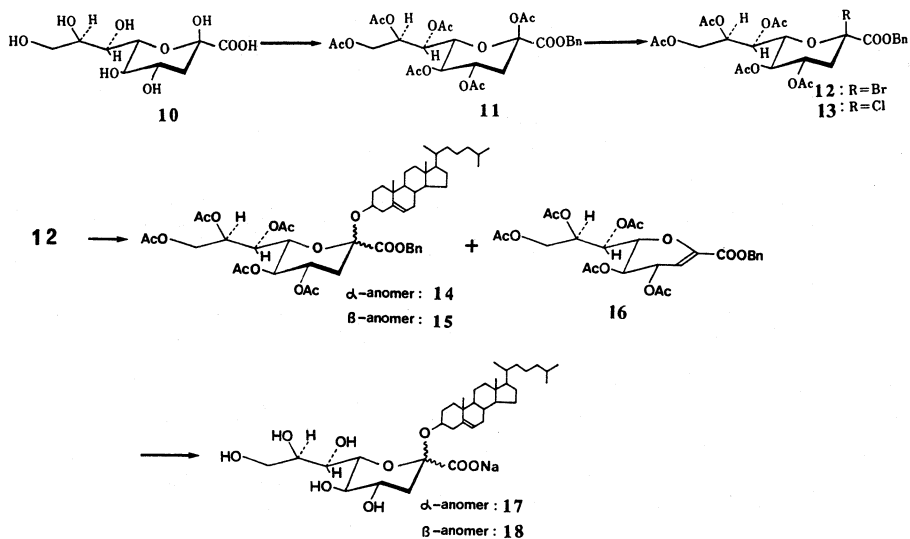
Table 1 Synthesis of KDN.



run	condensation condition	NiCl ₂ ^{***}	yield (%)	10 : epi-10
1*	pH 10 (NaOH)	10 mol%	11	4.3 : 1
2**	pH 10 (NaOH-NiCl ₂)	10 mol%	13	1 : 1
3*	pH 11 (NaOH)	1 mol%	69	4.3 : 1
4*	pH 11 (NaOH-NaC ₂ O ₃)	1 mol%	70	4.2 : 1

* NiCl₂ was added to the reaction mixture in decarboxylation step.** NiCl₂ was added to the reaction mixture in condensation step.

*** Relative amount to oxalacetic acid.



さらに、サケ科魚卵の受精の際に、KDN が切断されて分離してくることを明らかにした¹¹⁾。

1.2. Koenigs-Knorr 法による KDN グリコシドの合成
KDN のハロゲン誘導体は Neu 5 Ac のそれに較べて安定であるから、2-プロモ誘導体-KDN 4,5,7,8,9 Ac₅1 Bn 2 Br (12) を合成中間体として用いた。12 は KDN 2,4,5,7,8,9 Ac₅1 Bn (11) と臭化チタンとの反応で大変よい収量で合成することができた。この中間体とコレステロールとの Koenigs-Knorr 反応で可溶性の銀トリフラートを用いて、12% の収量で目的とする KDN 4,5,7,8,9 Ac₅1 Bn 2 Ch を得た。 α -アノマー(14)と β -アノマー(15)の生成比は2:1で、同時に2-デヒドロ誘導体-KDN 4,5,7,8,9 Ac₅2 en(16)が37%の収量で生成する。

この結果は Neu 5 Ac の場合とほぼ同様であるが¹²⁾、不溶性銀塩やクロロ誘導体をドナーとする場合には収量が大きく減少する。アセチル誘導体(14, 15)は1N 水酸化ナトリウムで定量的に脱アセチル、脱ベンジル化して、目的化合物をナトリウム塩(17, 18)として得た¹³⁾。

1.3. Williamson 法による KDN グリコシドの合成

N-アセチルノイラミン酸の系¹⁴⁾と同様にフェノール性化合物との Williamson 法によるグリコシドの生成は、S_N2 機構で進行して α -アノマー(19)だけを与える。収量もよくフェノール:31%、*p*-ニトロフェノール:77%、4-メチルウンベリフェロン:66%である¹⁵⁾。

0.1N 水酸化ナトリウムで脱保護すると、80~87%のよい収量でナトリウム塩(20)が得られる。

2. 新グリコシル化試薬

2.1. S, S'-ビス(1-フェニル-1H-テトラゾール-5-イル)ジチオカルボナート この新規な試薬は5-メルカプト-1-フェニル-1H-テトラゾールとトリクロロメチル=クロロホルマーとの反応で好収量で合成することができる¹⁶⁾。

この試薬の構造は 21, 21' の二つが考えられ、NMR スペクトルでも決定できないのでX線解析により決定した¹⁷⁾。この試薬は強力な活性エステル合成試薬で、分子内にテトラゾール環の強い電子吸引性と硫黄原子の強い求核性をもつため、各種の反応に応用できることが判っ

た。

即ち、スキーム6にまとめたようにペプチドやエステルの合成、Friedel-Crafts型反応、インサージョン、イソチオシアナートの合成などに応用できる¹⁷⁾。さらに、アリル型アルコールやベンジル型アルコールと反応して、アリルスルフィドが生成することが判った¹⁸⁾。さらにアリルスルフィドはO-シリケートン類と反応して各種のケトン類を合成することができるとのほかに、炭素-炭素結合を形成する新反応を開発した¹⁹⁾。

2.2. S-グリコシドの合成とO-グリコシドへの変換
この試薬(21)がアリル型アルコールと反応してスルフィドを生成することは、糖のアノマー位との反応を示唆するものである。早速、グルコースとの反応を検討したところ、1位と共に6位にS-テトラゾール基が導入された。その生成比は3:1であった。1-S-テトラゾリルグリコシド(スキーム6)はアルコール類と処理すると高収量でO-グリコシドを与えた²⁰⁾。

この方法を Neu 5 Ac に応用したところ、3種の誘導体が得られた。このうち、 α -および β -S-テトラゾール誘導体(24, 25)を用いてO-グリコシド合成を試みた。

α -、および β -S-テトラゾール誘導体混合物(24+25)を用いてコレステロールとの反応を行ったところ、64%

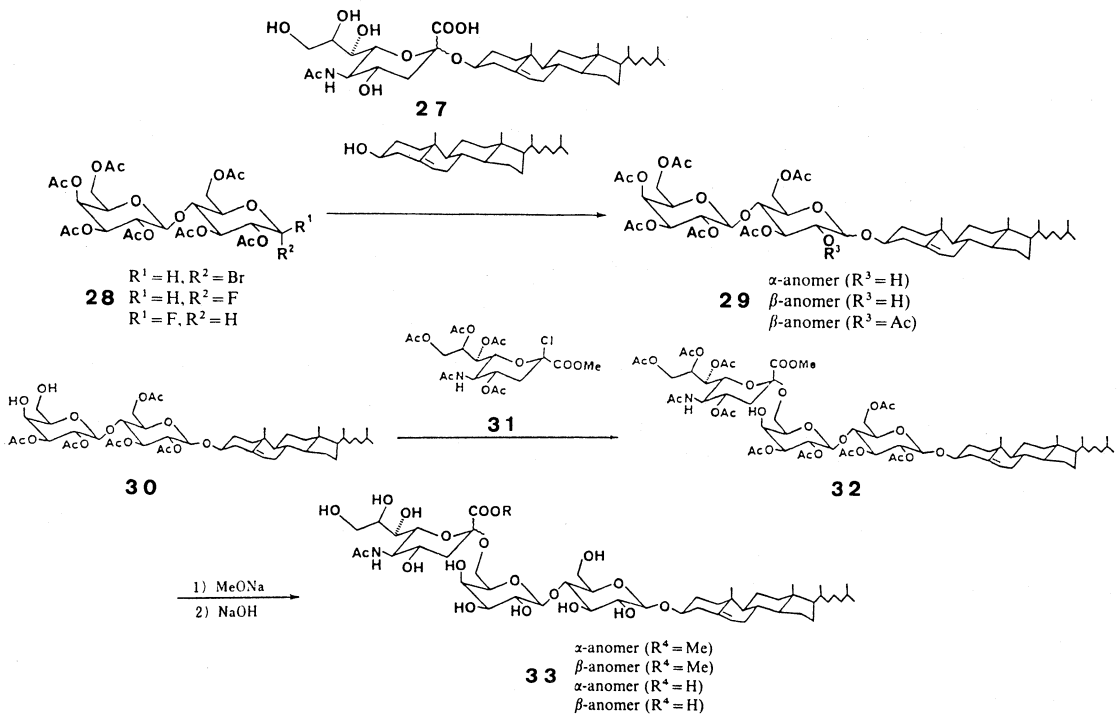
の高収量で β -グリコシドをえた²¹⁾。2,6-シアロシルラクトースも α -S-ドナー(24)から34%の収量で α : β 比(1:3)、 β -S-ドナー(25)からは54%の収量で α : β 比(1:5)の目的物をえた。この方法はグリコシド合成法として広く利用できるであろう。

3. 生理活性物質の合成

3.1. G_{M3} コレステロールアナログの合成 N-アセチルノイラミノシルコレステロール(27)¹²⁾は、先に報告したように神経成長因子やG_{q1b}に比し、数百倍の強力な神経突起誘導・伸展作用がみられたので²²⁾、G_{M3}コレステロールアナログの合成を行った。はじめ、ラクトースのコレステロールグリコシド(29)を合成して脱アセチル化、ベンジリデン化、続いてアセチル化の後脱ベンジリデン化反応で、アクセプターとしてのアルコール(30)をえた。

30とクロロ誘導体(31)のKoenigs-Knorr反応は30%近い収量で α -アノマー(32)を与えた。反応時間を長くすると収量がおちて、 β -アノマーが生成してくる(表2)。32は脱保護反応を行って目的化合物(33)を合成することができた²³⁾。

3.2. N-アセチルノイラミン酸のマイトマイシン誘導



Scheme 8

Table 2 Yield of Koenigs-Knorr reaction.

Promoter	Reaction time hr	Yield	Ratio $\alpha : \beta$
HgBr ₂ /Hg (CN) ₂	4.5	—	
BF ₃ /Et ₃ N	7	—	
AgOTf/Na ₂ HPO ₄	5	28	1 : 0
AgOTf/Na ₂ HPO ₄	10	10	7 : 3
Cp ₂ ZrCl ₂ /AgClO ₄	10	—	

体の合成 マイトマイシン(34, 35)は1956年秦らによって発見された制癌剤としてよく知られている²⁴⁾。副作用として骨髄毒性があるが、切れ味のよい制癌剤として最近再び脚光を浴びている。マイトマイシンのこのような毒性が除ければ、素晴らしい制癌剤が得られるはずである。そこで、マイトマイシンを糖で包めば毒性が押さえられるのではないかと考えて、まず7位グリコシドを合成した(スキーム9)。

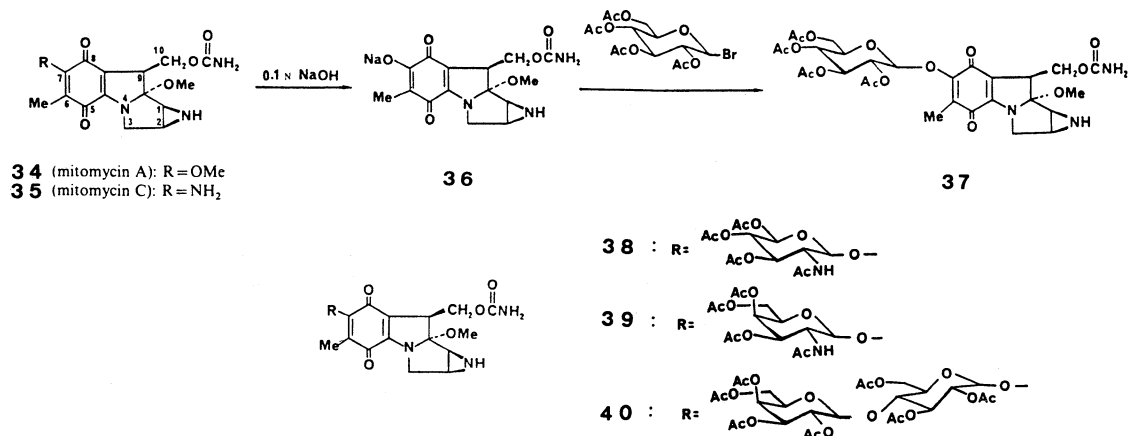
7-O-ヒドロキシ-9a-メトキシミトサンナトリウム

(36)と臭化2,3,4,6-テトラ-O-アセチル-D-グルコピラノシル、塩化2-アセトアミド-3,4,6-トリ-O-アセチル-2-デオキシ-D-グルコピラノシル、塩化2-アセトアミド-3,4,6-トリ-O-アセチル-2-デオキシ-D-ガラクトピラノシル、臭化2,3,6,2',3',4',6'-ヘプタ-O-アセチル-D-ラクトシルのWilliamson法によるグリコシル化の結果、スキーム9に示すように各種のグリコシド(37, 38, 39, 40)を合成した²⁵⁾。

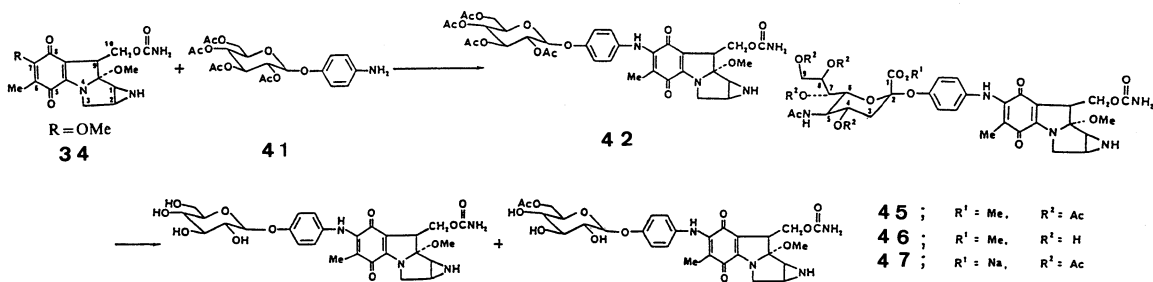
しかし、N-アセチルノイラミン酸のグリコシドは単離することができなかったため、7位にスペーサーとしてフェノールを挟むことにした。合成法はスキーム10に示した。

Williamson法では収量がよくないので、マイトマイシンA(34)を原料として、2,3,4,6-テトラ-O-アセチル(p-アミノフェニル)グルコシド(41)を反応させる方法で目的物をえた。この方法ではN-アセチルノイラミン酸グリコシドを収量よく合成することができた²⁶⁾。

これらの方法で合成した各種の誘導体の立体配置は



Scheme 9



Scheme 10

NMR, CD スペクトルの解析のほか, 加水分解速度測定法を新たに開発して決定した²⁵⁾。

4. シアル酸誘導体の生理活性

作業仮説に従って合成した各種のシアル酸誘導体のうち, 5-フルオロウリジン誘導体は強い免疫調節作用を示した。また, マウスの結腸癌 26 細胞由来の高転移性株 NL-17 および低転移性株 NL-44 細胞に適用した実験で, 肺転移結節の数が減少して生存日数が有意義に延長した²⁷⁾。N-アセチルノイラミノシルコレステロールは神経芽腫瘍細胞(Neuro 2a)に対する神経突起誘導・伸展作用が強く, 神経成長因子の 270 倍である²²⁾。この化合物はまた, グリア細胞成長因子と異なる作用機序でグリア細胞の形態分化を促進することが明らかになった²⁸⁾。KDN コレステロールも同様に神経芽突起誘導・伸展作用があることが判った⁶⁾。このように, シアル酸誘導体には多彩な生理活性が認められた。今後, さらに多くの生理活性が報告されるものと考えられ²⁹⁾, シアル酸が医薬品の新素材となることを示している。この分野で特異な医薬品が見い出されることを期待している。

(平成 3 年 1 月 9 日受理)

文 献

- 1) R. Schauer, Ed., "Sialic Acids, Chemistry, Metabolism, and Function", Springer-Verlag, Wien (1982)
- 2) 小倉, 古畑, 有合化, 42, 356(1984)
- 3) N. Kojima, S. Hakomori, *J. Biol. Chem.*, 264, 20159 (1989)
- 4) W. Weis, J.H. Brown, S. Cusack, J.C. Paulson, J.J. Skehel, D.C. Wielew, *Nature*, 333, 426 (1988)
- 5) 小倉治夫編著, "複合糖質の化学と応用", pp.25-49, シーエムシー(1989)
- 6) 小倉治夫, メデイシナルケミストリーシンポジウム 130 (1990); 小倉, 化学と生物, 投稿中; K. Furuhata, S. Sato, K. Anazawa, M. Goto, H. Takayanagi, H. Ogura, *Chem. Pharm. Bull.*, 35, 3609 (1987); N. Sugiyama, K. Sugai, N. Yamada, M. Goto, C. Ban, K. Furuhata, H. Ogura, *ibid.*, 36, 1147 (1988); K. Furuhata, S. Sato, M. Goto, H. Takayanagi, H. Ogura, *ibid.*, 36, 1872 (1988); S. Sato, K. Furuhata, H. Ogura, *ibid.*, 36, 4678 (1988)
- 7) D. Nadano, M. Iwasaki, S. Endo, K. Kitajima, S. Inoue, Y. Inoue, *J. Biol. Chem.*, 261, 11550 (1986)
- 8) G. Reuter, R. Schauer, "Sialic Acids", Eds. R. Schauer, T. Yamakawa, 98(1988)の提案による表示法を用いた
- 9) R. Shirai, M. Nakamura, S. Hara, H. Takayanagi, H. Ogura, *Tetrahedron Lett.*, 29, 4449 (1988)
- 10) R. Shirai, H. Ogura, *ibid.*, 30, 2263 (1989)
- 11) M. Nakamura, K. Furuhata, K. Yamazaki, H. Ogura, H. Kamiya, H. Ida, *Chem. Pharm. Bull.*, 37, 2204 (1989)
- 12) S. Sato, S. Fujita, K. Furuhata, H. Ogura, S. Yoshimura, M. Itoh, Y. Shitori, *ibid.*, 35, 4043 (1987)
- 13) M. Nakamura, K. Furuhata, H. Ogura, *ibid.*, 36, 4807 (1988)
- 14) K. Furuhata, H. Ogura, *ibid.*, 37, 2037 (1989)
- 15) M. Nakamura, K. Furuhata, H. Ogura, *ibid.*, 37, 821 (1989)
- 16) K. Takeda, K. Tsuboyama, H. Takayanagi, H. Ogura, *Synthesis*, 1987, 560
- 17) K. Takeda, K. Tsuboyama, H. Takayanagi, R. Shirokami, M. Takeura, H. Ogura, *Chem. Pharm. Bull.*, 37, 2334 (1989)
- 18) K. Takeda, K. Torii, H. Ogura, *Tetrahedron Lett.*, 31, 265 (1990)
- 19) K. Tsuboyama, K. Takeda, K. Torii, H. Ogura, *Chem. Pharm. Bull.*, 38, 2357 (1990)
- 20) K. Tsuboyama, K. Takeda, K. Torii, M. Ebihara, J. Shimizu, A. Suzuki, N. Sato, K. Furuhata, H. Ogura, *ibid.*, 38, 636 (1990)
- 21) K. Takeda, K. Tsuboyama, K. Torii, K. Furuhashi, N. Sato, H. Ogura, *Carbohydr. Res.*, 203, 57 (1990)
- 22) 永井, 伊藤, 志鳥, 小倉, 日特昭 62-265229, 217(1986); S. Tsuji, T. Yamashita, M. Tanaka, Y. Nagai, *J. Neurochem.*, 50, 414 (1988)
- 23) K. Suzuki, R. Kobayashi, K. Furuhata, H. Ogura, *Chem. Pharm. Bull.*, 38, 2083 (1990)
- 24) T. Hata, Y. Sano, R. Sugawara, A. Matsumae, K. Kanamori, T. Shima, T. Hoshi, *J. Antibiot.*, A9, 141 (1956)
- 25) K. Furuhata, K. Komiyama, K. Takeda, H. Takayanagi, K. Torii, K. Mishima, H. Ogura, T. Hata, *Chem. Pharm. Bull.*, 37, 2651 (1989)
- 26) K. Furuhata, K. Komiyama, H. Ogura, T. Hata, *ibid.*, 39, 255 (1991)
- 27) 豊島, 大沢, *Oncologia*, 13, 13(1985)
- 28) T. Kato, J. Ito, R. Tanaka, Y. Suzuki, Y. Hirabayashi, M. Matsumoto, H. Ogura, K. Kato, *Brain Res.*, 438, 277 (1988)
- 29) 斎藤政樹, 油化学, 37, 906 (1988)