

令和 6 年 5 月 21 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K19053

研究課題名（和文）中分子グライコミメティクスの開拓

研究課題名（英文）Development of Medium-Molecular Glycomimetics

研究代表者

平井 剛（Hirai, Go）

九州大学・薬学研究院・教授

研究者番号：50359551

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：グルコサミノグリカン（GAG）は、アミノ糖とウロン酸が交互に連結した長鎖の多糖である。その多くは細胞外に存在し、シグナル伝達や生体恒常性などに寄与している。GAGが生体内酵素によって分解されて生じる8-20糖程度の長さの中分子量GAGには、その長さ依存的な生物活性が知られている。しかし、中分子量GAGも分解される可能性があるため、その詳細な研究はあまり進んでいない。本研究では、酵素に分解されず、ホンモノと同じ構造的性質を有する中分子量GAGアナログの開発を目指し、その合成基盤確立を目指した。本研究ではo-HAに着目し、難易度の高い分解耐性型C-グリコシド2糖アナログの化学合成法を確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、難易度の高いC-グリコシド2糖アナログ合成を実現した。糖同士を炭素で連結するカップリング反応はそれほど例がなく、o-HAを合成できる手法はほとんどなかった。本研究では、o-HAの機能解明やo-HAを基盤とした生物活性分子創製を狙い、様々なC-グリコシド2糖アナログを合成できる手法としたことは学術的に新規性が高く、意義深いものであると考えている。本研究の手法を利用しo-HAアナログの合成が実現できれば、新たな多糖ベースの創薬研究を展開できるため社会的にも意義のあるものと考えている。

研究成果の概要（英文）：Glycosaminoglycans (GAGs) are long-chain polysaccharides composed of alternating amino sugars and uronic acids. Many of these polysaccharides are found extracellularly and contribute to signal transduction and homeostasis processes. Medium molecular weight GAGs, which are approximately 8-20 sugars long and result from the degradation of GAGs by enzymes in vivo, are known to exhibit length-dependent biological activities. However, the potential for further degradation of medium molecular weight GAGs has limited detailed research. In this study, we aimed to develop medium molecular weight GAG analogs that are resistant to enzymatic degradation while maintaining the structural properties of natural medium molecular weight GAGs. Specifically, we focused on o-HA and established a chemical synthesis method for challenging glycohydrolase-resistant C-glycoside disaccharide analogs.

研究分野：生物有機化学

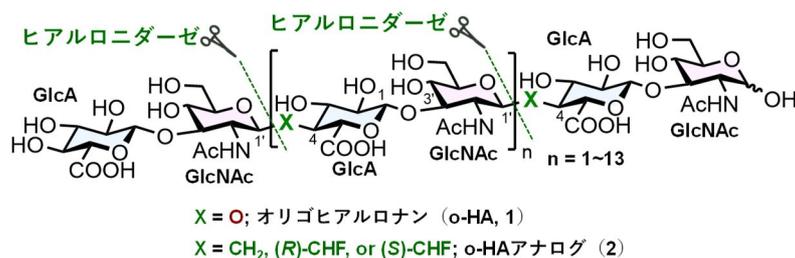
キーワード：グルコサミノグリカン 分解耐性型アナログ C-グリコシド ヒアルロナン 水素添加反応

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ヒアルロナン (HA) は、グルクロン酸 GlcA と N-アセチルグルコサミン GlcNAc が $\beta(1\rightarrow3)$ 結合した 2 糖単量体が、 $\beta(1\rightarrow4)$ 結合で直鎖状に高分子化したグルコサミノグリカンである。HA は数百万 Da 程度の高分子であり、炎症などの刺激によってヒアルロニダーゼ (HYAL) で切断されると、細胞表面の HA レセプター (CD44, RHAMM, TLR2/4 等) との結合様式が変化し、情報伝達される。HA は様々な疾患への関与が知られ、レセプターへの結合も特異的であることから、天然型 HA を創薬モダリティの 1 つとして利用する試みもなされている。

一方、HYAL の切断で、単量体が 3-15 程度連結したオリゴマーHA (o-HA、1) も生じる。興味深いことに、これらの生物活性はその糖鎖長で変化し、例えば、単量体が 6-8 個繋がった o-HA (HA6, HA8) はがん細胞の遊走を促進するが、HA10 は阻害する (Turley ら, PLoS One 2014)。o-HA は複数のタンパク質と相互作用できることから、その長さによって相互作用する“タンパク質複合体”が変化していると推測できる。しかし、o-HA は HYAL で分解されてしまうため、分子レベルでの解析には、o-HA の代謝耐性型アナログの開発が鍵を握る。



2. 研究の目的

代謝耐性を獲得するためには、HYAL が優先的に切断する $\beta(1\rightarrow4)$ 側 O-グリコシド結合 (上図の X) をすべて C-グリコシドとしたアナログ 2 を合成する必要がある。さらに、o-HA はエキソアノマー効果と立体的要因により O-グリコシド結合の配座が規定された独特の高次構造を持ち、これが生物活性に重要であることは明白である。単純な CH₂ 連結型アナログでは配座制御されないが、(R)-CHF 連結型アナログとすれば、F 原子のゴースユ効果で o-HA (1) の高次構造を再現可能と期待される。逆に、異性体である (S)-CHF 連結型アナログは、o-HA (1) が持たない高次構造に制御されるため、天然型配座をもつアナログ 3 とは全く性質が異なると考えられる。ネガティブコントロールとしてだけでなく、新たな生物活性分子、新素材となる可能性もあり、本アナログ創製は、学術的に興味深い研究課題と言える。問題は、前例のない C-グリコシド結合を含む多糖アナログを、如何に効率的に合成するかにある。

3. 研究の方法

多糖化を実現するには、C-グリコシド結合をもつ 2 糖ユニットを短段階で合成する必要がある。2 位を Phth 基で保護した GlcNAc のプロモ糖と、プロモフルオロオレフィンをもつアクセプターの還元的カップリングによって、 β 選択的に 2 糖 C-グリコシドを合成できると考えられる。F 原子を導入可能な直接的 β -C-グリコシル化は新規であり、最適化によって 2 糖 C-グリコシドを短工程 (10 工程以下) で合成できると期待できる。2 糖 C-グリコシドの立体選択的水素添加は困難が予想されるが、実現できれば GlcA 構造への変換を経て、二糖ユニットに変換可能になる。F 化糖やチオ糖へと誘導し、 β 選択的 O-グリコシル化を繰り返すことで、様々な鎖長のアナログを得ることを考えた。保護基を工夫し、糖鎖長を 20 糖程度まで伸ばしたいと考えていた。

4. 研究成果

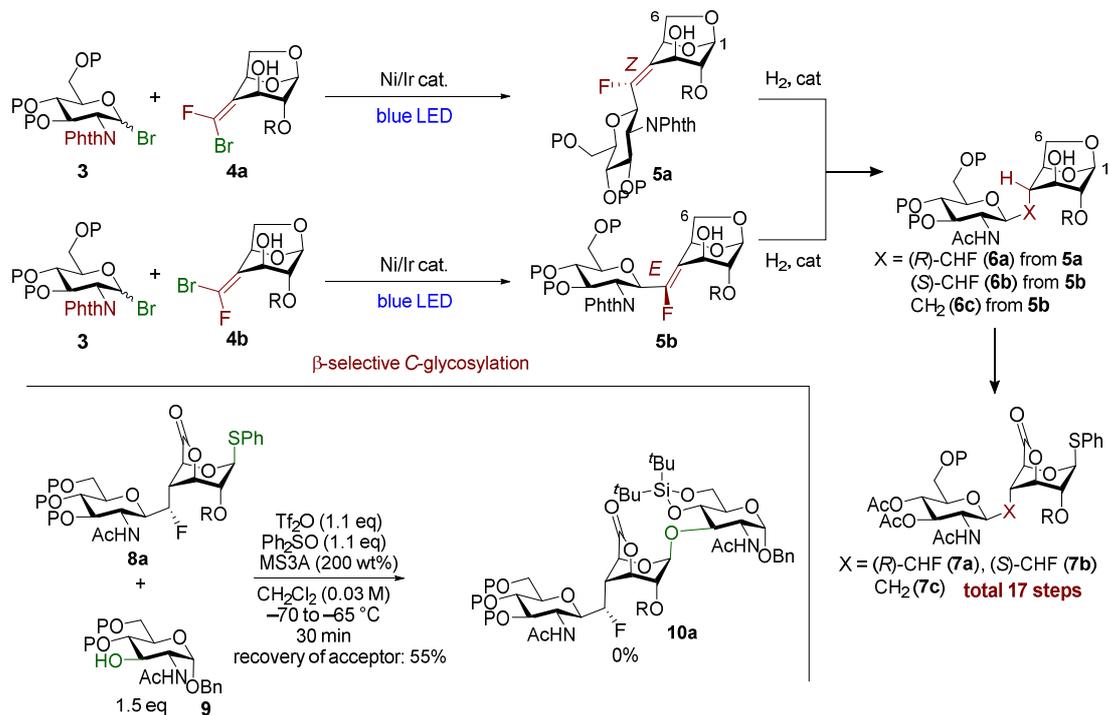
これまでに糖鎖や複合糖質の C-グリコシドアナログを合成する効率的な合成手法を開発してきた。すなわち、ドナーとなるプロモ糖とアクセプターとなるプロモフルオロオレフィンを光触媒と Ni 触媒を用いて還元的にクロスカップリングさせる手法を確立した。まず、これをヒアルロン酸 2 糖 C-グリコシドアナログに適用した。

論文公開前のため、詳細は割愛するが、GlcNAc から誘導したプロモ糖 3 とアンヒドロ糖構造を持つプロモフルオロオレフィンアクセプター 4 をカップリングさせると β 選択的に 2 糖構造 5

を得ることに成功した。プロモフルオロオレフィンの異性体 **4a** および **4b** は選択的に合成可能であり、いずれもカップリングによって **5a** および **5b** に導くことが可能である。これらの水素添加反応によるグルコース構造の構築は、非常に困難であった。ポイントは、GlcNAc 側の N の保護基の選択と GlcA 側の保護基 R の選択、さらに反応に用いる触媒であったが、3 種の炭素連結型 2 糖 **6** をそれぞれ選択的に合成することができた。これらを数工程の変換を経て、GlcA 構造に導き、ラクトン構造をもつヒアルロン酸 2 糖の C-グリコシドアナログ **7** を合成することができた。ここまで全 17 工程であり、これまでに報告されている CH₂-連結型アナログよりも、非常に効率的な合成となった。

7 を O-グリコシル化で連結することで多糖化すれば目的の o-HA アナログに導くことができる。予備実験として、GlcNAc 誘導体 **9** とのグリコシル化を検討したが、目的の 3 糖 **10a** を得ることはできなかった。おそらく **8a** と **9** 双方の反応性が低いことが原因と考えられる。

引き続き、このグリコシル化の最適化に取り組み、分解耐性を獲得した o-HA アナログ **2** の合成を達成し、ケミカルバイオロジー研究を展開したいと考えている。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Chiu Po-Chang, Nakamura Yuri, Nishimura Shinichi, Tabuchi Toshitsugu, Yashiroda Yoko, Hirai Go, Matsuyama Akihisa, Yoshida Minoru	4. 巻 12
2. 論文標題 Ferrichrome, a fungal-type siderophore, confers high ammonium tolerance to fission yeast	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 17411
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-22108-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yoritake Makoto, Hirai Go, Yasutomi Hiroki, Takeda Daiki, Higashibayashi Shuhei, Sugai Takeshi	4. 巻 34
2. 論文標題 Transition-Metal-Free <i>β</i> -Selective C-Glycosylation of <i>β</i> -Glycosyl Boronates via Stereoretentive 1,2-Migration	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Synlett	6. 最初と最後の頁 347 ~ 352
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1055/a-1989-2541	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kurahayashi Kazuki, Hanaya Kengo, Sugai Takeshi, Hirai Go, Higashibayashi Shuhei	4. 巻 29
2. 論文標題 Copper Catalyzed Stereoselective Borylation and Palladium Catalyzed Stereospecific Cross Coupling to Give Aryl <i>β</i> -Glycosides	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chemistry- A European Journal	6. 最初と最後の頁 e202203376
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/chem.202203376	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Uezono Keiya, Maeda Risa, Yoritake Makoto, Matoba Hiroaki, Hirai Go	4. 巻 52
2. 論文標題 Modification of the C3-Position of 2,3-Dehydro-2-deoxy- <i>β</i> -acetylneuraminic Acid with An Acetic Acid Equivalent	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 71 ~ 74
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/cl.220507	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ochi Akihiro, Yoritake Makoto, Miyamoto Tomofumi, Usui Kazuteru, Yusaku Gorawit, Putalun Waraporn, Tanaka Hiroyuki, Hirai Go, Morimoto Satoshi, Sakamoto Seiichi	4. 巻 85
2. 論文標題 Harringtonine Ester Derivatives with Enhanced Antiproliferative Activities against HL-60 and HeLa Cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Natural Products	6. 最初と最後の頁 345 ~ 351
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jnatprod.1c00888	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Moriyama Takahiro, Mizukami Daiki, Yoritake Makoto, Usui Kazuteru, Takahashi Daisuke, Ota Eisuke, Sodeoka Mikiko, Ueda Tadashi, Karasawa Satoru, Hirai Go	4. 巻 28
2. 論文標題 Effect of Alkynyl Group on Reactivity in Photoaffinity Labeling with 2 Thienyl Substituted Ketoamide	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chemistry ? A European Journal	6. 最初と最後の頁 e2021039
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/chem.202103925	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fujii Yui, Yoritake Makoto, Makino Kana, Igawa Kazunobu, Takeda Daiki, Doiuchi Daiki, Tomooka Katsuhiko, Uchida Tatsuya, Hirai Go	4. 巻 27
2. 論文標題 Preparation of Oxysterols by C ₂ H Oxidation of Dibromocholestane with Ru(Bpqa) Catalyst	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 225 ~ 225
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules27010225	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nagaoka Yosei, Parvatkar Prakash, Hirai Go, Ohkanda Junko	4. 巻 48
2. 論文標題 Design, synthesis, and functional evaluation of triazine-based bivalent agents that simultaneously target the active site and hot spot of phosphatase Cdc25B	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 128265 ~ 128265
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmcl.2021.128265	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計20件（うち招待講演 5件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Go Hirai
2. 発表標題 3-Exomethylene sialic acid disaccharides as substrate-type sialidase inhibitors
3. 学会等名 Sialoglyco2022（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 平井剛
2. 発表標題 擬複合糖質研究の開拓
3. 学会等名 第19回糖鎖科学コンソーシアムシンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 平井剛
2. 発表標題 糖鎖に仕掛けを施す有機合成化学
3. 学会等名 第35回ケムステVシンポ「有機合成が拓く最先端糖化学」（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Makoto Yoritake, Daiki Takeda, Hiroki Yasutomi, Suzuka Chiba, Go Hirai
2. 発表標題 Stereo-Controlled Synthesis of C-Glycosides from α -Glycosyl Boronic Acids
3. 学会等名 日本ケミカルバイオロジー学会第16回年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 平井剛
2. 発表標題 代謝耐性型複合糖質のポテンシャル：アジュバントへの展開は可能か？
3. 学会等名 第15回次世代アジュバント研究会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Go Hirai
2. 発表標題 Efficient Synthetic Strategy for C-linked β -Galactosylceramide Analogues
3. 学会等名 7th International Symposium on Middle Molecular Strategy (ISMMS-7)/ 16th Meeting of the International Endotoxin and Innate Immunity Society (IEIIS-16)（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 竹田大樹、安富弘樹、千馬鈴華、寄立麻琴、平井剛
2. 発表標題 グリコシルポロン酸誘導体の合成と β -選択的な直接的2-デオキシ-C-グリコシド誘導体の新規合成法開発
3. 学会等名 第31回万有福岡シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 森山 貴博, 木谷 憲昭, 寄立 麻琴, 加藤 直樹, 沼本 穂, 高橋 俊二, 平井 剛
2. 発表標題 糸状菌 <i>A. nidulans</i> のアミラーゼ産生に対する代謝耐性型イソマルトースの効果
3. 学会等名 ケミカルバイオロジー学会第15回年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 安富弘樹、竹田大樹、千馬鈴華、寄立麻琴、平井剛
2. 発表標題 -グリコシルポロン酸を用いたC-グリコシド合成法の開発
3. 学会等名 第118回有機合成シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 千馬鈴華、小野俊介、寄立麻琴、平井剛
2. 発表標題 グリコシルラジカルを基盤とした 選択的なC-グリコシル化反応の開発
3. 学会等名 創業懇話会2021 in 京都
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 千馬鈴華、寄立麻琴、平井剛
2. 発表標題 グリコシルラジカルを基盤とした 選択的なC-グリコシル化反応の開発
3. 学会等名 第58回化学関連支部合同九州大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木谷憲昭、森山貴博、寄立麻琴、平井剛
2. 発表標題 代謝耐性型中分子ヒアルロナンアナログの合成研究
3. 学会等名 第63回天然有機化合物討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹田大樹、安富弘樹、千馬鈴華、寄立麻琴、平井剛
2. 発表標題 グリコシルボロン酸を用いた2-デオキシ-C-グリコシド誘導体の 選択的合成法の開発
3. 学会等名 第40回日本糖質学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 平井剛、森山貴博、小野俊介、千馬鈴華、木谷憲昭、寄立麻琴、加藤直樹、高橋俊二
2. 発表標題 直接C-グリコシル化による代謝耐性型複合糖質アナログ合成
3. 学会等名 第40回日本糖質学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 千馬 鈴華, 森山 貴博, 小野 俊介, 寄立 麻琴, 平井 剛
2. 発表標題 グリコシルラジカルを基盤とした 選択的C-グリコシル化反応の開発
3. 学会等名 第38回日本薬学会九州山口支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takahiro Moriyama, Naoki Kato, Noriaki Kiya, Riko Tanabe, Makoto Yoritake, Minori Numamoto, Shunji Takahashi, Go Hirai
2. 発表標題 Unique Activity of C-isomaltose analogues in <i>A. nidulans</i>
3. 学会等名 AIMECS2121
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Go Hirai, Shunsuke Ono, Takahiro Moriyama, Makoto Yoritate
2. 発表標題 Synthesis and biological activity of C-linked glycan and glycolipid analogues
3. 学会等名 Pacifichem 2021: Middle molecular strategy for regulation of protein-protein & protein-biomolecule interactions (#370)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木谷憲昭、寄立麻琴、平井剛
2. 発表標題 代謝耐性型ヒアルロナンオリゴマーの合成研究
3. 学会等名 日本化学会第102春季年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 千馬鈴華、森山貴博、小野俊介、寄立麻琴、平井
2. 発表標題 グリコシルラジカルを基盤とした炭素連結型 β -グルコシルセラミドの合成
3. 学会等名 日本化学会第102春季年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 森山 貴博、小野 俊介、寄立 麻琴、千馬 鈴華、田邊 理子、平井 剛
2. 発表標題 直接C-グリコシル化反応を活用した糖鎖アナログの効率的合成法の開発
3. 学会等名 日本薬学会第142回年会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 David C. Baker (編集)	4. 発行年 2023年
2. 出版社 ELSEVIER	5. 総ページ数 182
3. 書名 Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry, Volume 82	

1. 著者名 Kazuya Kabayama (編集), Jin-ichi Inokuchi (編集)	4. 発行年 2023年
2. 出版社 Springer Nature Singapore Pte Ltd.	5. 総ページ数 312
3. 書名 Glycolipids, Methods in Molecular Biology (MIMB, volume 2613)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------