

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 6 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590007

研究課題名(和文)HWE反応を鍵反応とするリン脂質合成法の開発

研究課題名(英文)Development of Synthetic Methods of Glycerophospholipids Using HWE Reaction as a Key Reaction

研究代表者

佐野 茂樹(SANO, Shigeki)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・教授

研究者番号：20226038

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：細胞膜の主要な構成成分であり細胞内2次情報伝達物質としても重要な役割を担っているグリセロリン脂質の効率的な新規合成法の確立を目的とし、混合ホスホン酸エステルをホスファチジン酸やホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミンなどのグリセロリン脂質の保護前駆体として用いる合成経路を検討した。その結果、ホーナー・ワズワース・エモンズ反応(HWE反応)を鍵反応とする新規グリセロリン脂質合成法の開発に成功した。

研究成果の概要(英文)：Glycerophospholipids are main components of the cell membrane and play an important role as second messengers in cells. Therefore, mixed phosphonoacetates have been investigated as protected precursors for the synthesis of glycerophospholipids, such as phosphatidic acid, phosphatidylcholine, and phosphatidylethanolamine. As a result, we have developed an effective and convenient synthetic method of glycerophospholipids utilizing Horner-Wadsworth-Emmons reaction (HWE reaction) as a key reaction.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・化学系薬学

キーワード：グリセロリン脂質 ホスホン酸エステル リン酸ジエステル HWE反応 ホスファチジン酸 ホスファチジルコリン ホスファチジルエタノールアミン フッ素原子

1. 研究開始当初の背景

複合脂質の一種であるリン脂質(グリセロリン脂質およびスフィンゴリン脂質)は、細胞膜の主要構成成分として古くから知られている。しかしながら、近年では膜構成成分としてのみならず細胞内2次情報伝達物質としても極めて重要な働きを担っていることが次第に明らかにされてきた。さらに、多発性硬化症の治療薬として上市間近と伝えられるフィンゴリモド(製品名ジレニアとして平成23年11月に国内での販売開始)は、スフィンゴシンキナーゼによりリン酸化された後にスフィンゴリン脂質の一種であるスフィンゴシン-1-リン酸の受容体に結合することによって、その免疫抑制活性を発現することが解明された。したがって、リン脂質類の多機能性解明への寄与はもとより、創薬科学的な観点からもリン脂質類の新規合成法の開発は極めて興味深い研究課題の一つである。

そこで、申請者らはホーナー・ワズワース・エモンズ反応(HWE反応)に関するこれまでの研究成果(S. Sano et al., *Chem. Pharm. Bull.*, 2005, 53, 131-134)を基盤とすれば、新たなリン脂質合成法の開発が可能であるとの着想に至った。すなわち、Z選択的HWE試薬より得られる異なるアルコキシ基をリン原子上に有するHWE試薬(混合ホスホン酸エステル)をリン酸ジエステルの保護前駆体として位置付け、リン脂質合成経路の最終段階でHWE反応を行うことにより、ミメティクスをも含んだ多様なリン脂質類のリン酸ジエステルあるいはリン酸モノエステル構造を効率的に構築するという合成戦略である。このような試みは、国内外において全く前例がなく、本研究計画が達成されたならば、HWE反応の有用性が格段に広がるとともに、生化学分野や創薬科学分野をはじめとする広範な研究領域でのリン脂質研究において、学術面からも実用面からも大きく貢献することが期待される。

2. 研究の目的

HWE反応は有機合成上汎用される最も有用な炭素-炭素二重結合形成反応の一つであるが、従来は反応の副生成物として廃棄されていたリン酸ジエステルに着目し、HWE反応を鍵反応とする効率的な新しいリン脂質合成法の開発を目的とする。具体的には以下の(1)~(3)について検討する。

(1) Z選択的HWE試薬として知られるスティル試薬と、長鎖脂肪酸を導入した光学活性1,2-ジグリセリドの反応により、混合ホスホン酸エステル(HWE試薬)を合成する。次に、最終段階での樹脂担持アルデヒド等価体とのHWE反応を鍵反応としてリン脂質を切り出し、効率的な天然型グリセロリン脂質合成が達成されることを明らかにする。

(2) 樹脂担持Z選択的HWE試薬と、長鎖脂肪酸を導入した光学活性1,2-ジグリセリド

の反応により、固定化混合ホスホン酸エステル(HWE試薬)を合成する。次に、最終段階でのベンズアルデヒドとのHWE反応を鍵反応としてリン脂質を切り出し、効率的な天然型グリセロリン脂質合成が達成されることを明らかにする。

(3) 上記2種類の合成経路の有用性を精査し、最適化されたいずれかの合成法を基盤として、天然型あるいは非天然型の各種グリセロリン脂質ならびにスフィンゴリン脂質を合成し、本法の適用範囲および限界を明らかにする。さらに、分子内アシル転位の進行により不安定なことから機能解明が進んでいない1-リゾリン脂質のミメティクスとして、含フッ素誘導体の合成についても検討を加える。

なお、当初の研究目的であった(1)と(2)を予備的に検討した結果、(1)の合成戦略がより効率的であると判断されたため、以下においては(1)および(3)についての研究方法ならびに成果を記載する。

3. 研究の方法

Z選択的HWE試薬として知られるスティル試薬に、長鎖脂肪酸を導入した1,2-ジグリセリドと第2のアルコール(コリン、エタノールアミン等)を導入し、混合ホスホン酸エステル(HWE試薬)を合成する。次に、樹脂担持アルデヒドとのHWE反応を行い、目的とする各種グリセロリン脂質を合成する。さらに、含フッ素リゾリン脂質ミメティクスの合成を行い、本法の適用範囲および限界を明らかにする。具体的には以下の(1)~(3)について検討する。

(1) HWE試薬をリン酸モノエステルおよびリン酸ジエステルの保護前駆体として用い、樹脂担持アルデヒド等価体とのHWE反応を鍵反応として、ホスファチジン酸およびホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルコリンの合成を検討する。

(2) 安価で入手容易なジメチルホスホノ酢酸メチルを原料とするホスファチジン酸の合成を検討する。

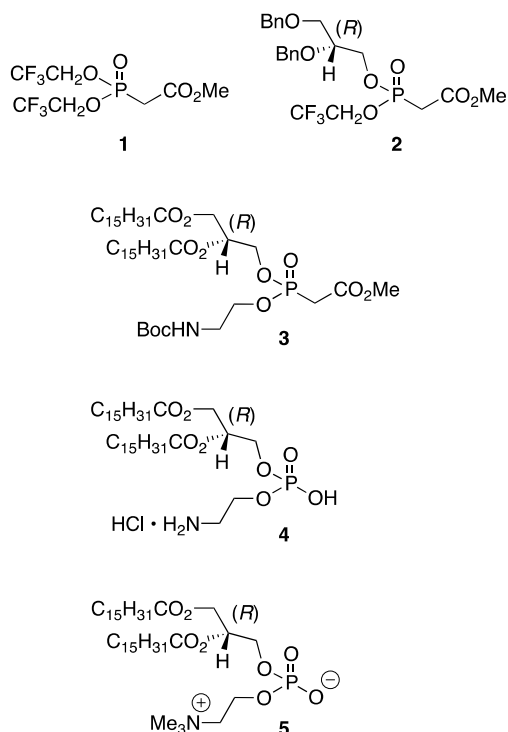
(3) 光学活性含フッ素グリセロールを用い、スティル試薬との反応により得られたHWE試薬を鍵中間体とすることで、含フッ素リゾホスファチジン酸ミメティクスの合成を検討する。

4. 研究成果

(1) ホスファチジルエタノールアミンおよびホスファチジルコリンの合成

Z選択的HWE試薬であるビス(2,2,2-トリフルオロエチル)ホスホノ酢酸メチル(スティル試薬、1)のリン原子上の一方のトリフルオロエトキシ基を、求核置換反応により(9S)-2,3-ジベンジルオキシプロポキシ基へと変換し、一連のグリセロリン脂質合成の鍵中間体となるHWE試薬2を合成した。次に、リン原子上のもう一方のトリフルオロエト

シキ基を N-Boc-2-アミノエタノールと置換し、続くグリセロールの保護基の脱保護とパルミチン酸との縮合反応により、リン酸エステルの保護前駆体である HWE 試薬 **3** を得ることに成功した。最後に、樹脂担持ベンズアルデヒド等価体との HWE 反応を行い、目的とするホスファチジルエタノールアミン **4** の合成を達成した。さらに、ホスファチジルエタノールアミン **4** のアミノ基を 18-クラウン-6-エーテルならびに炭酸カリウムの存在下にメチル化することでホスファチジルコリン **5** へと変換した。

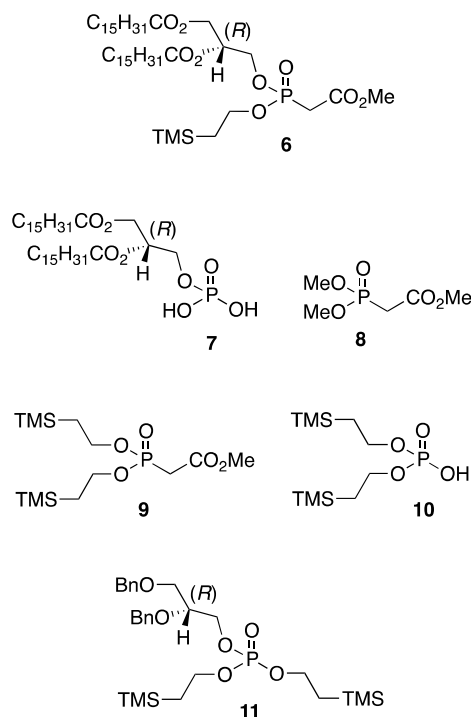


(2) ホスファチジン酸の合成

HWE 試薬 **2** のリン原子上のトリフルオロエトシキ基を 2-(トリメチルシリル)エタノールと置換し、続くグリセロールの保護基の脱保護とパルミチン酸との縮合反応により、リン酸エステルの保護前駆体である HWE 試薬 **6** を得ることに成功した。最後に、樹脂担持ベンズアルデヒド等価体との HWE 反応を行い脱保護することで、目的とするホスファチジン酸 **7** の合成を達成した。

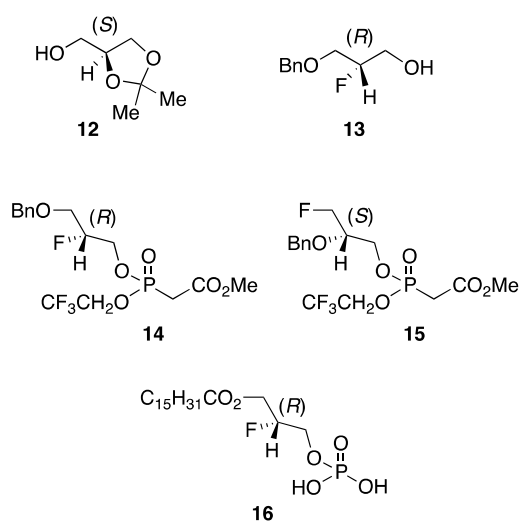
次に、安価で入手容易なジメチルホスホノ酢酸メチル (**8**) を原料とする、より簡便で効率的なホスファチジン酸 **7** の合成法について検討した。すなわち、ジメチルホスホノ酢酸メチルと五塩化リンの反応により得られるジクロロホスホノ酢酸メチルと 2-(トリメチルシリル)エタノールのリン原子上での求核置換反応によりビス(2-トリメチルシリルエチル)ホスホノ酢酸メチル (**9**) を合成し、樹脂担持ベンズアルデヒド等価体との HWE 反応により対応するリン酸ジエステル **10** を得た。次いで、(S)-2,3-ジベンジルオキシプロパノールとの光延反応によりリン酸エステル化反応を行ったところ、目的とするリ

ン酸トリエステル **11** を得ることに成功した。そこで、ベンジル基の脱保護後にパルミチン酸とのエステル化反応を行い、2-(トリメチルシリル)エチル基を脱保護することでホスファチジン酸 **7** へと変換した。



(3) 含フッ素リゾホスファチジン酸ミメティクスの合成

ペルフルオロブタンスルホニルフルオリドによる脱酸素的フッ素化反応により 2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン-4-メタノール (**12**) より合成した光学活性含フッ素グリセロール **13** を用い、ステイル試薬との反応により鍵中間体となる HWE 試薬 **14** および **15** を得た。HWE 試薬 **14** からは、樹脂担持ベンズアルデヒド等価体との HWE 反応を経由し、最後に 2-(トリメチルシリル)エチル基を脱保護することで、含フッ素 1-パルミトイルリゾホスファチジン酸ミメティクス **16** の合成に成功した。



5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計6件)

半田 充史 他、HWE 試薬を用いる光学活性グリセロリン脂質の合成(2)、日本薬学会第 133 年会、2013.3.30、パシフィコ横浜(神奈川県)

半田 充史 他、HWE 反応を鍵反応とする光学活性ホスファチジン酸の合成、第 51 回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会中国四国支部学術大会、2012.11.10、サンラポーむらくも(島根県)

半田 充史 他、HWE 反応を鍵反応とする光学活性グリセロリン脂質の合成、第 38 回反応と合成の進歩シンポジウム、2012.11.6、タワーホール船堀(東京都)

半田 充史 他、HWE 試薬を用いる光学活性グリセロリン脂質の合成、日本薬学会第 132 年会、2012.3.30、北海道大学(北海道)

半田 充史 他、混合ホスホン酸エステルを鍵中間体とするグリセロリン脂質の効率的化学合成、第 50 回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会中国四国支部学術大会、2011.11.12、サンポートホール高松(香川県)

半田 充史 他、HWE 反応を基盤とする効率的なグリセロリン脂質の合成法の開発、創薬懇話会 2011、2011.7.6、ダイヤモンド瀬戸内マリンホテル(岡山県)

6. 研究組織

(1)研究代表者

佐野 茂樹(SANO, Shigeki)
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス
研究部・教授
研究者番号：20226038

(2)研究分担者

中尾 允泰(NAKAO, Michiyasu)
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス
研究部・助教
研究者番号：60550001