

論文の内容の要旨

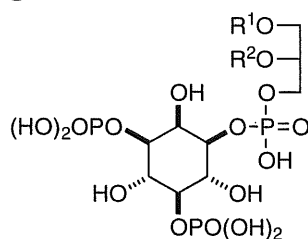
論文題目 生理機能の解明を指向した Phosphatidylinositol-3,5-bisphosphate の合成

氏 名 西川 明日香

【背景・目的】

Phosphatidylinositol (PI)類は他のリン脂質と共に生体膜を構成する脂質であり、細胞外刺激により活性化された酵素群の働きでイノシトール環上の水酸基がリン酸化/脱リン酸化され、セカンドメッセンジャーとして働くことが知られている。近年発見された phosphatidylinositol 3,5-bisphosphate (PI 3,5-P2 (**1**), **Figure 1**)¹は、ゴルジ体や液胞形成など細胞膜輸送に関わっていると考えられているが、細胞内濃度が極めて低く生化学的手法では入手困難であることが大きな制約となり、**1**がどのような分子を介して機能しているのかは明らかでない。本研究では未だ発見されていない**1**の細胞内結合タンパク質の探索を目的として、PI 3,5-P2 APB (**2a**)及びPI 3,5-P2 C4 (**2b**)を設計し、その立体選択的合成を計画した。

Figure 1



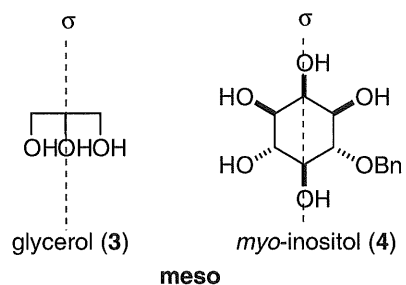
PI 3,5-P2 (**1**): R¹=stearoyl
R²=arachidonoyl
PI 3,5-P2 APB (**2a**): R¹=4-aminophenylbutyryl
R²=acetyl
PI 3,5-P2 C4 (**2b**): R¹=stearoyl
R²=butyryl

【合成戦略】

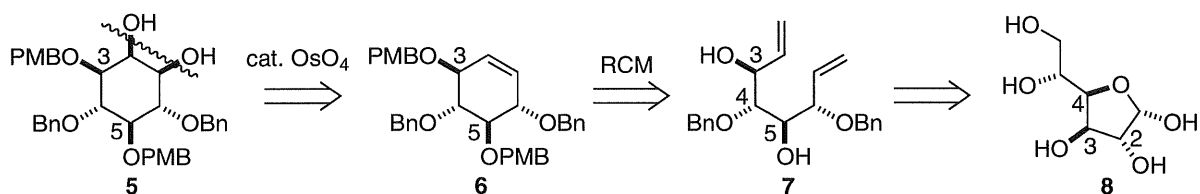
PI類はメゾ体であるグリセロール(**3**)とmyo-イノシトール(**4**)がリン酸ジエステル結合を介して結合し、それぞれが非対称化されることで初めて光学活性な分子として存在する(**Figure 2**)。 **2a**, **2b**の合成を行うに際し水酸基が適切に保護された光学活性なmyo-イノシトール誘導体**5**を重要

中間体として設定したが、**5**を**4**から合成する方法では光学分割による収率の半減が回避できない。そこで光学活性なD-グルコース(**8**)を出発原料とし、**7**→**6**への分子内RCM反応、**6**→**5**への面選択的な四酸化オスmium酸化反応を鍵反応として、**5**を**8**から立体選択的に合成する計画を立てた(Scheme 1)。

Figure 2



Scheme 1



【シクロヘキセン**6**の合成】

グルコース誘導体**9**より合成したアルデヒド**10**に対する、立体選択的な1,2-付加反応により**syn-11**を合成する目的で、求核剤として臭化ビニルマグネシウムを試みたところ立体選択性はほとんど認められなかったが(Scheme 2, Table 1, entry 1)、対応する有機銅試薬では目的とする**syn-11**のみを得た(entry 2)。この立体選択性は5員環キレーション構造**12**において、立体障害の少ない紙面左側から有機銅試薬が接近したためであると考えている(Figure 3)。

Scheme 2

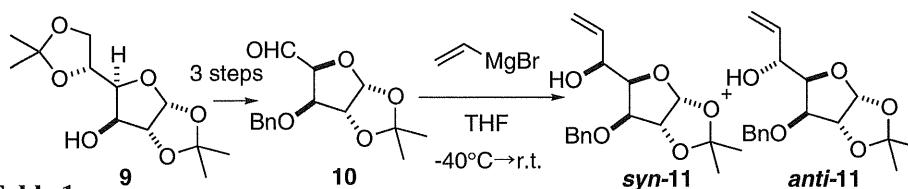
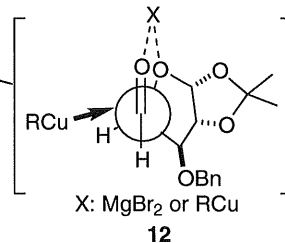


Table 1

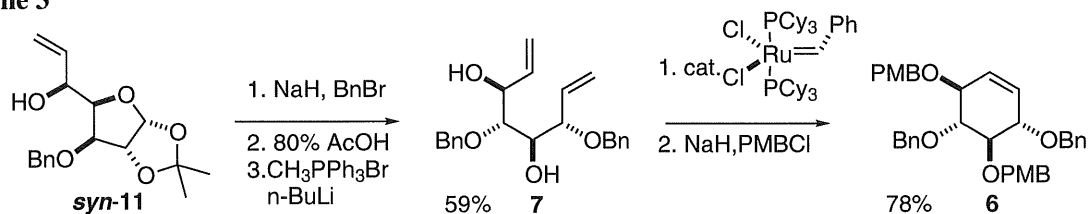
entry	CuBr-Me ₂ S (eq.)	time	<i>syn-11</i> (%)	<i>anti-11</i> (%)
1	none	overnight	48	39
2	3.4	3 h	59	-

Figure 3



次いで**syn-11**の水酸基をベンジル基で保護した後、脱アセタール化反応に続くアノマー位への Wittig 反応により**7**とし、これを閉環メタセシスによりシクロヘキセン**6**とした(Scheme 3)。

Scheme 3



【面選択的な四酸化オスミウム酸化によるイノシトール骨格の構築】

シクロヘキセンの3位置換基に対し *syn* 方向から面選択的にジオールを導入するため、Rを種々の保護基に変換した **6,13-15** への触媒的四酸化オスミウム酸化を検討した (Scheme 4, Table 2)。Rに PMB 基や 2-methoxybenzyl 基を導入した **6** や **13** (entry 1, 2)、立体的に嵩高い **14** (entry 3) では立体選択性が見られなかったが、ベンゾイル基を導入した **15** では、目的とする *syn-19* を優先的に得ることができた (entry 4)。

Scheme 4

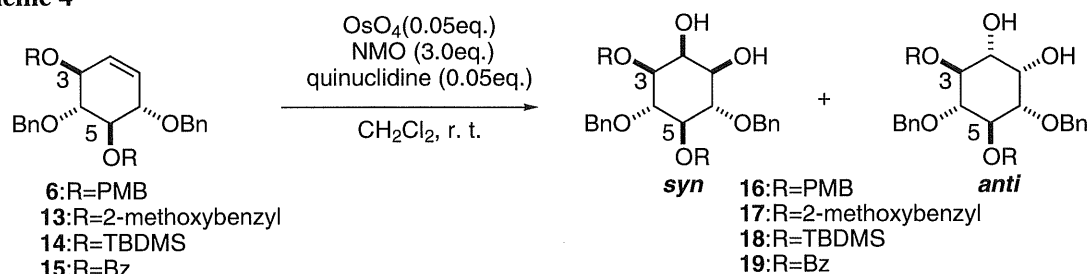


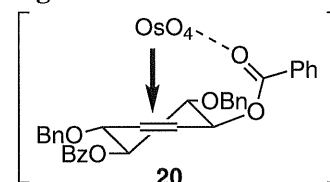
Table 2

**syn, anti*はイノシトール3位置換基に対する相対配置を示す。

entry	R	<i>syn</i> : <i>anti</i>	yield (%)	recovered S.M (%)
1	PMB	50:50	98	n.d.
2	2-methoxybenzyl	50:50	79	18
3	TBDMS	50:50	62	31
4	Bz	92: 8	85	4

この立体選択性発現の理由については、ベンゾイル基のカルボニル酸素の四酸化オスミウムに対する配位効果によるものと考えている (Figure 4)。

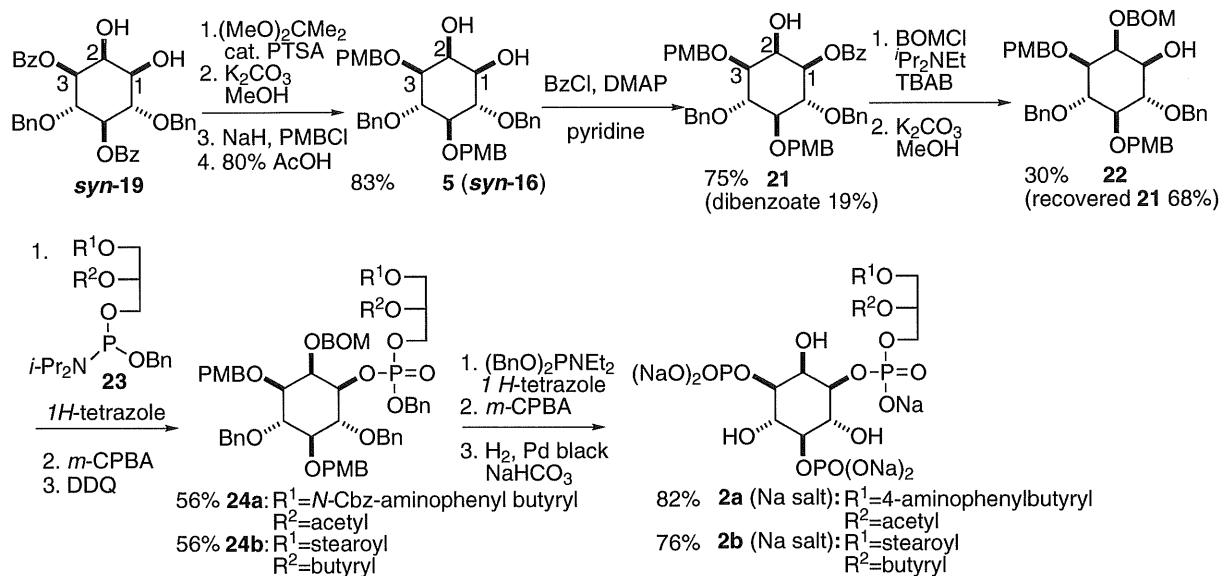
Figure 4



【PI 3,5-P2 (**2a, 2b**)の合成】

*syn-19*のベンゾイル基を PMB 基に置換して **5** とした後、イノシトールの1位水酸基のみをベンゾイル化して **21** を得、さらに2位水酸基への BOM 基導入に続き、脱ベンゾイル化を行い **22** を合成した。これを別途合成したジアシルグリセロアミダイト **23** と縮合させた後、PMB 基の脱保護、リン酸エステル基の導入を行い、最後に接触還元にて脱保護し **2a, 2b** をそれぞれナトリウム塩として得た (Scheme 5)。

Scheme 5



【ヒト胃ガン細胞株 NUGC4 からの PI 3,5-P2(**1**)の結合タンパク質の探索】

合成した**2a**をAffigel 10に結合させてアフィニティークロマトグラフィー用担体を調製し、これを用いて**1**の結合タンパク質の探索を行った。その結果、ヒト胃ガン細胞株 NUGC4 より**1**に特異的に結合すると考えられる約 45kD のタンパク質を見いだした。

【結語】

細胞膜輸送に関与すると考えられている**1**の結合タンパク質を探索することを目的とし、グルコース誘導体より有機銅試薬のアルデヒド**10**への高ジアステレオ選択的な1,2-付加、面選択的四酸化オスミウム酸化を鍵反応とした *myo*-イノシトール骨格の構築法を開発し、**2a**, **2b**の立体選択的合成に成功した²。さらに**2a**を活用することで、世界に先駆けて PI 3,5-P2 の特異的な結合タンパク質の候補を検出するに至り、化合物の有用性と共に**1**の特異的結合タンパク質の単離・同定が実現しうることを示した。

References: 1. Dove, S.; K.; Cooke, F. K.; Douglas, M. R.; Sayers, L. G.; Parker, P. J.; Michell, R. H. *Nature*, **1997**, *390*, 187-192.; 2. Nishikawa, A.; Saito, S.; Hashimoto, Y.; Koga, K.; Shirai, R. *Tetrahedron Lett.*, **2001**, *42*, 9195-9198.