

2. シアル酸の歴史は比較的新しい³⁾

ヒトの気管支ムコ蛋白質からのシアル酸含有粘性物質の分画・精製・元素分析に関する最初の報告は1846年のJ. J. Scherer (J. von Liebigの門下生)に遡る⁴⁾。ウシの顎下腺粘液からのシアル酸 (*N, O*-ジアセチル誘導体)の結晶化に1936年に初めて成功したのはスウェーデンのG. Blixであるが⁵⁾、その正しい分子式 $C_{13}H_{21}O_{10}N$ が確定したのは1955年のことである⁶⁾。ドイツのE. KlenkらはTay-Sachs病の小児の脳に蓄積する特殊なガングリオシドを発見し、それをHCl-MeOH中で加熱して**1**の結晶を1940年に得た⁷⁾。他方、1955年にG. Blixらは健常人の脳のガングリオシドからもNeu5Acを結晶として得た⁸⁾。

第2次世界大戦後、**1**の類縁化合物が次々に報告された。たとえば、1954年にR. KuhnとR. Brossmer⁹⁾はウシの初乳からラクタミン酸を、翌年にはF. Zillikenら¹⁰⁾は母乳からジャイナミン酸を、山川民夫ら¹¹⁾はウマの血清からセロラクタミン酸をそれぞれ得た。

これらの名称を整理・統合するために、Blix、Gottschalk、Klenkの3名は連名で冒頭に示した命名法を1957年の*Nature*誌上¹⁾で提案した。すでに1952年にBlixらはアシル化されたノイラミン酸をギリシャ語の唾液 ($\sigma \iota \alpha \lambda \omicron \nu = \text{saliva}$)に因んでSialic acid (シアル酸)と命名していた¹²⁾。

3. 苦労したシアル酸の立体構造の決定

様々なシアル酸の単離・同定と並行して、その基本骨格であるノイラミン酸の構造研究が進行していた。C₉の直鎖構造は1952年にすでに山川らが提案したが¹³⁾、アミノ基とデオキシンの位置が訂正され、1955年にGottschalkが提案した**1**の骨格に落ち着いた^{14,15)}。

NMRもX線結晶回折法も未登場の時代であるので、振り返って見るとシアル酸の立体構造決定は試行錯誤の繰り返しを余儀なくされたイバラの道であった。

シアル酸のアルカリ分解によってピロール-2-カルボン酸が生成することから、**1**のC-1~C-5の部分構造が推定された¹⁶⁾。さらに、(1) Ni(OAc)₂の存在下、ピリジン中でNeu5Acを加熱分解すると*N*-アセチル-D-グルコサミン (GlcNAc) が生成¹⁷⁾; (2) 弱アルカリ¹⁸⁾ またはコレラ菌産生の酵素アルドラーゼ¹⁹⁾による、Neu5Acの逆アルドール反応でGlcNAcとピルビン酸が生成; (3) pH11.0/20°Cの水溶液中でGlcNAcとオキサリ酢酸とからNeu5Acが生成^{20,21)} などの実験結果から、**1**のC-5~C-8の立体配置はGlcNAcのC-2~C-5と同一であると一旦は結論された。しかし、この結論はすぐに否定された。

すなわち、(4) pH10~11/20°Cのアルカリ水溶液中でGlcNAcおよび*N*-アセチル-D-マンノサミン (ManNAc) は2-エピ化して相互変換する²²⁾; (5) *Clostridium perfringens* 菌産生の精製アルドラーゼをpH7.1の水溶液中でNeu5Acに作用させると、逆アルドール反応生成物のManNAcとピルビン酸とが生成する²³⁾; (6) コレラ菌産生の粗製アルドラーゼを用いた同様な分解反応をpH6.1/37°Cで行った場合でも生成するアミノ糖はManNAcである²⁴⁾、という事実が判明した。ゆえに上述の(1)~(3)の実験結果からの結論は否定され、**1**のC-5~C-8の立体配置は、GlcNAcではなく、ManNAcのC-2~C-5と同一であると確定した。(図1)

残る**1**のC-4位の立体配置の問題については次節で述べる。

4. C-4位の立体配置の決定にラクトン則を適用する試み

前出の Kuhn と Brossmer は経験則である Hudson のラクトン則を用いてこの問題を解決しようとした。彼らは邪魔になる 2-位のケトン基をジチオアセタール化してからカルボキシル基と C-4 位水酸基との分子内エステル (γ -ラクトン) に変換し、その比旋光度 $[\alpha]_D$ の負の絶対値が大きいことから、C-4 位水酸基の向きは **図 2** に示すように Fischer 投影式の炭素主鎖の左側であると結論した²⁵⁾。

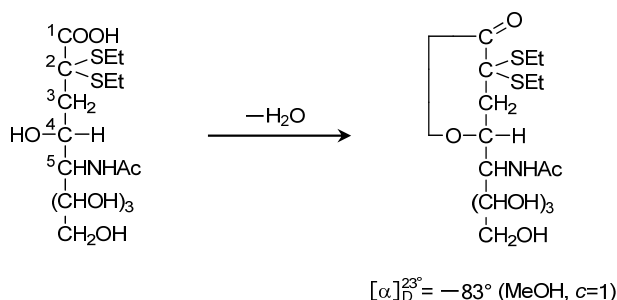


図 2. Neu5Ac のジチオアセタールのラクトン化とその比旋光度の値

これで 1 件落着と Gottschalk³⁾や多くの専門家は思ったが、Kuhn らは結果として過ちを犯してしまった。経験則である以上、多くの類似化合物で検証済みでなければならぬはずである。しかし、ラクトン環内にジチオアセタール基を有する化合物は彼らのそれが最初で、唯一であった。「これでは証明能力としては脆弱であり、より確実な手法が必須である」と当時の私は考えた。私の大学院生の時代（東工大、1957～1962 年）は正にシアル酸の構造決定が大詰めの佳境にあったのである。

かねてからドイツ留学を志向していた私はハイデルベルクの Kuhn 教授の研究室でこの問題を化学合成によって「真に」解決しようと考え、DC3 年生（1961 年）の秋にドイツの Alexander von Humboldt 財団の奨学生に応募した。その添付書類の『研究計画書』（**図 3**）の骨子は、出発原料の GlcNAc と ManNAc をそれぞれ 1,1-ジチオアセタール化して鎖状構造に変換し、遊離水酸基をイソプロピリデン基で保護したのち、ジチオアセタール基を除いてアルデヒド基を露出させてから、ピルビン酸とのアルドール縮合、ついで保護基を除去して、理論上可能な 4 種類の生成物を合成し、Neu5Ac との照合を目論んだものである。この計画案が成就すれば、Neu5Ac の合成と構造決定だけではなく、Neu5Ac の 3 種類の非天然産異性体が一挙に得られることになる。

5. 傑出した Richard Kuhn 教授

ドイツのハイデルベルク大学教授とマックス・プランク研究所の医学研究所長を兼任していた Richard Kuhn（1900～1967）が 1958 年 1 月 30 日に初来日し、その翌日に東京の第一生命ホールで「ラクタミン酸（NeuAc のこと；ウシの初乳から得たシアル酸を彼はこう命名していた）を含むアミノ糖の化学と生理作用」について講演し²⁶⁾、私も拝聴した。

FORSCHUNGSPLAN

*

Thema: Chemie der D-Lactaminsäure (N-Acetyl-neuraminsäure) und ihrer drei Diastereomeren.

Zurzeit wird die Konfiguration der D-Lactaminsäure wie unten vorgestellt. Der wichtigste Punkt bei der Konfigurationsbestimmung war die sterische Anordnung des Hydroxyls an C-4 und der CH₂CO-Gruppe an C-5. Dieser wurde von der Tatsache geklärt, daß die Lactaminsäure durch ein Enzym aus Clostridium perfringens gespalten wird, wobei N-Acetyl-D-mannosamin und nicht N-Acetyl-D-glucosamin entsteht¹⁾, und jeder wurde davon bestimmt, daß Dimethylacetalacton der Lactaminsäure stark links dreht²⁾. Aber keine chemische Synthese hat noch nicht diese Schlüsse nachgewiesen. Ich möchte gern zuerst die Synthese der Lactaminsäure versuchen. Das Schema der Synthese wird auf dem anderen Papier gezeigt. Zur Absonderung und der Unterscheidung von I und II, oder III und IV habe ich Anwendung des Unterschiedes der Komplexbildungstendenzen³⁾ vor.

* * * * *

- 1) D. G. Comb and S. Roseman, J. Am. Chem. Soc., **80**, 497 (1958).
- 2) R. Kuhn and R. Broesmer, Angew. Chem. **60**, 534 (1957).
- 3) G. Drefahr and H. Zimmermann, Chem. Ber. **93**, 1809 (1960).

* * * * *

den 2. Oktober 1961.

T. Nakagawa
(Toshio Nakagawa)

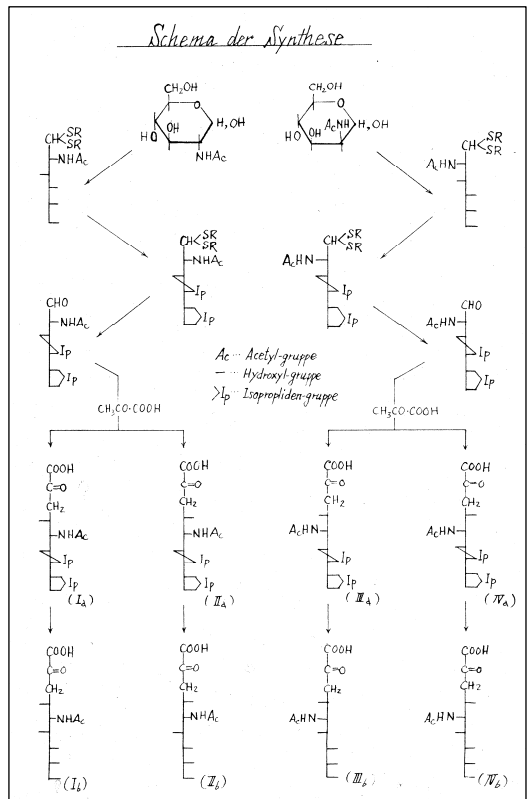
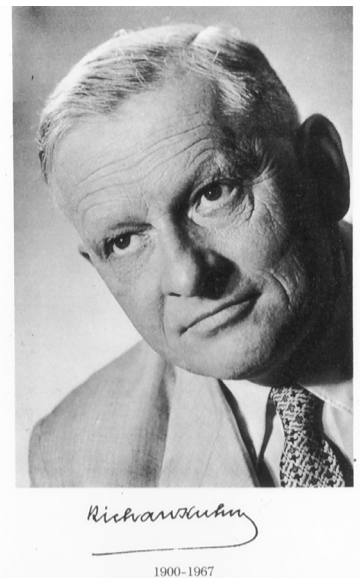


図3. Alexander von Humboldt 財団に提出した研究計画書

彼はミュンヘン大学の R.M.Willstätter 教授の指導のもと 21 歳で学位を取得し、26 歳でスイスの ETH の教授に、ついで 29 歳でハイデルベルク大学教授とカイザー・ウイヘルム研究所 (マックス・プランク研究所の前身) の医学研究所化学部長に就任した俊英である。1930 年代にチューリッヒ大学の P. Karrer 教授と激しく競い合いながら進めたビタミン B₂、B₆、A (カロチノイド) の構造決定と合成研究は有名である。これらの業績に対して 1938 年ノーベル化学賞受賞が発表されたが、ナチスの妨害のために実際の受賞は大戦終了後になった。

「彼の論文は直載簡明、確実で行き届いた模範的なものといえる。」「彼の生涯には創造活動が高揚した 2 つの時期がある。1 つは 30 歳代で、もう 1 つは 50 歳代の半ばである。化学と生理学、医学との境界領域の重要な課題を取り上げ、その化学面を開拓し、徹底的に解決した。」と、私の恩師の 故都築洋次郎教授 (東京理科大学) はこのように高く評価していた²⁷⁾。



6. やはりそれは訂正された

1962年6月初旬に、待望の手紙がボン近郊の Alexander von Humboldt 財団の本部から届いたが (図4)、それは大変残念なことに「不採用」の通知であった。でも、その手紙には発信人としての財団総裁、Professor Dr. Werner Heisenberg (不確定性原理の提唱者；量子力学の創立とオルト・パラ水素の発見で1932年ノーベル物理学賞受賞)の自筆のサインがあり、私の宝物のひとつとなっている。

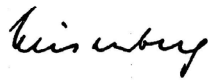
ALEXANDER VON HUMBOLDT - STIFTUNG	
DER PRÄSIDENT	
<u>X/187-A-Pf/R</u> (Bitte bei Antwort angeben)	BAD GODESBERG BEI BONN, den 24. Mai 1962 Schillerstraße 12 Telefon: Sammel-Nr. 6 69 21
Herrn Toshio Nakagawa	
18 Chiyoda-cho Nakano-ku <u>Tokyo</u>	
JAPAN	
Sehr geehrter Herr Nakagawa!	
Die Alexander von Humboldt-Stiftung hat sich sehr eingehend mit Ihrem Stipendiengesuch befaßt. Ich bedauere außerordentlich, Ihnen mitteilen zu müssen, daß wegen der geringen Anzahl von verfügbaren Forschungs-Stipendien und der großen Anzahl von eingereichten Bewerbungen es nicht möglich war, Ihnen ein Stipendium zuzusprechen. Seien Sie versichert, daß die Stiftung Ihre wissenschaftliche Arbeit zu würdigen wußte.	
Sollten Sie es ermöglichen können, Ihre Studien in Deutschland aus eigenen Mitteln zu finanzieren, so steht Ihnen die Stiftung ebenso wie das Akademische Auslandsamt einer deutschen Hochschule jederzeit mit ihrem Rat zur Verfügung.	
Ich danke Ihnen sehr für Ihr Interesse und bitte Sie vielmals um Verständnis. Ihre Bewerbungsunterlagen werden Ihnen - soweit sie keine vertraulichen Mitteilungen enthalten - in Kürze über die deutsche diplomatische Vertretung / das Akademische Auslandsamt in T o k y o zugestellt werden.	
Mit besten Empfehlungen	
	
(Professor Dr. Werner Heisenberg)	

図4. Alexander von Humboldt 財団からの不採用通知
(同財団総裁のハイゼンベルクのサインがある)

そしてその直後に、Kuhn および Brossmer の論文²⁸⁾ (図5) が ----- 私にとっては正に衝撃的な内容の論文が ----- *Angew. Chem.* 誌上に出現した。やはり、あのラクトン則を適用して決めた構造は誤りであり、その箇所(1のC-4位)の立体配置を彼らは鮮やかな合成法によって決め、Neu5Acの立体構造がようやく確定した。

その論文の受理日は1962年3月12日であり、私が「ラクトン則はシアル酸の立体構造決定の決め手にはなりえない」との観点で立案した『研究計画書』の提出が前年の10月2日(私の29歳の誕生日)であるので、わずか5ヶ月ほど後のことである。おそらく両氏も私と同じ「懸念」を抱いていて、より確実な証明法を検討していたと思われる。確かにこの論文は「衝撃的」ではあったが、私自身にある種の自信を与えてくれたこともまた事実である。

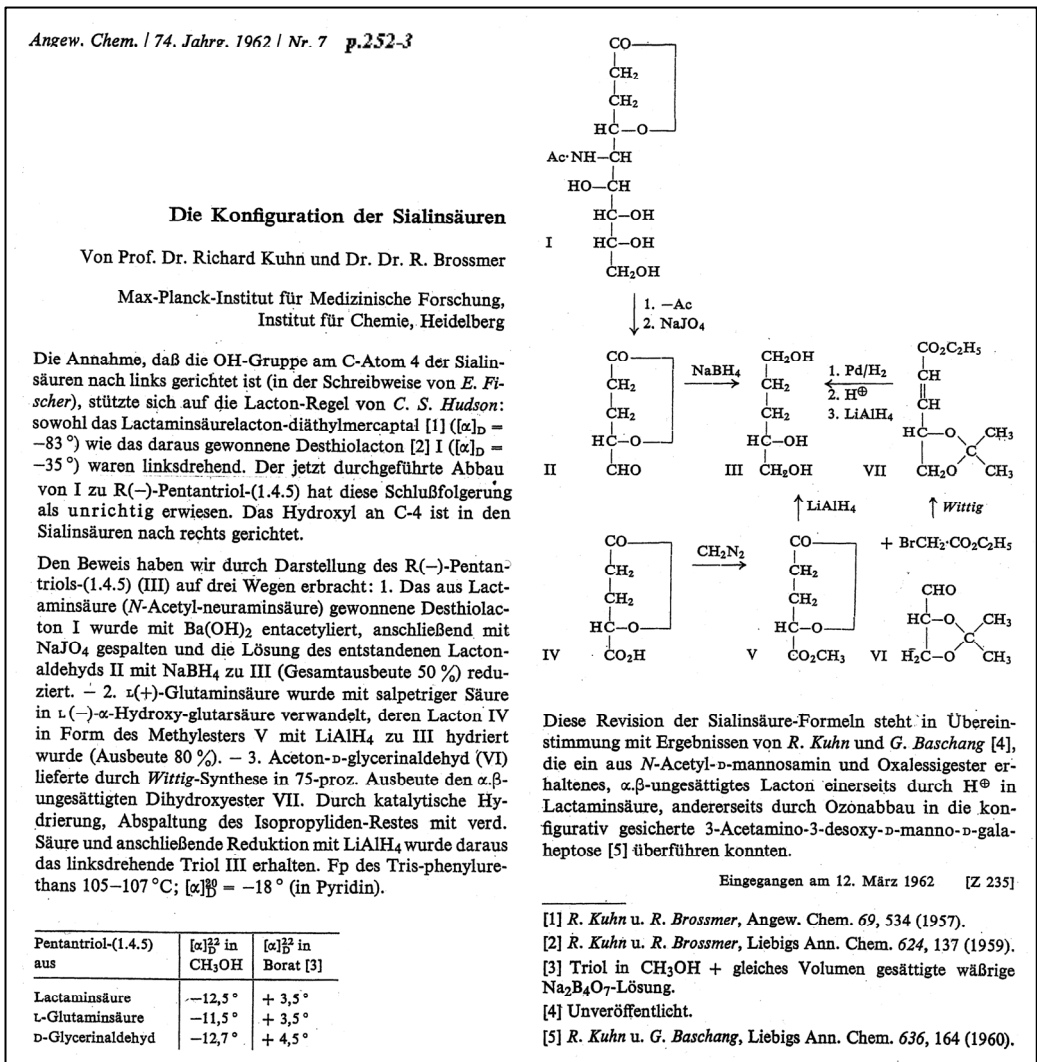


図5. R.KuhnとR.Brossmerの「訂正」論文

7. あとがき

それから約3年後の1965年の秋から、私は Deutsche Forschungsgemeinschaft の奨学金を得て、ダルムシュタット工科大学・有機化学研究所の Priv. Doz. F. W. Lichtenthaler (まもなく教授に昇進) のもとで博士研究員として1年半を過ごす機会を得た。その後も同研究所を度々訪れたが、1998年3月に私が横浜市立大学を定年退職したのちも、客員研究員として約2年半を再び彼の研究室で過した。

そこで得た成果「シクロデキストリンから誘導した大環状クラウン・エーテルの化学」^{29,30}

を、長年にわたり故 Kuhn 教授の有能かつ強力な共同研究者として活躍された Brossmer 教授から彼のセミナーで発表するようにとの嬉しいご招待があった。彼はすでにハイデルベルク大学を定年退職されていたが、羨ましいことに、引き続いて彼の居室と実験室が同大学の生化学研究所に存続していた。左の写真は講演終了後に、彼の居室で撮影したものである (2001.3.8)。

その折に、「あのラクトン則はどなたのアイデアですか? Prof. Kuhn?」と尋ねたところ、Brossmer 先生は笑みを浮かべながら「それは私のアイデアでした」との返事があった。

最後に、2009年発行のパスポートにあるかなり上達した (図3の左下のそれに比べて) わがサインを示してこの小文を閉じよう。



発行年月日/Date of issue

24 APR 2009

有効期間満了日/Date of expiry

24 APR 2019

発行官庁/Authority

MINISTRY OF
FOREIGN AFFAIRS

所持人自署/Signature of bearer

T. Nakajawa

8. 引用文献

- 1) F. G. Bliz, A. Gottschalk, E. Klenk, *Nature*, **1957**, *179*, 1088.
- 2a) A. Varki, R. Schauer, *Sialic Acids*. In *Essentials of Glycobiology, 2nd Ed.*, (ed. A. Varki et al), Chapter 14, pp. 199-217. Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor, 2009.

- 2b) 鈴木康夫, *現代化学*, **2009**, 2月号, 「インフルエンザウイルスに何がおこっているのか — タミフル耐性変異の現状と分子基盤」の図2 (p.21).
- 3) A. Gottschalk, *The Chemistry and Biology of Sialic Acids and Related Substances*; Cambridge Univ. Press: London, 1960.
- 4) J. J. Scherer, *Ann. Chem. Pharm.*, **1846**, 57, 196.
- 5) G. Blix, *Hoppe-Seyl. Z.*, **1936**, 240, 43.
- 6) G. Blix, E. Lindberg, L. Odin, I. Werner, *Nature*, **1955**, 175, 340.
- 7) E. Klenk, *Hoppe-Seyl. Z.*, **1940**, 267, 128.
- 8) G. Blix, L. Odin, *Acta Chem. scand*, **1955**, 9, 1541.
- 9) R. Kuhn, R. Brossmer, *Chem. Ber.*, **1954**, 87, 123.
- 10) F. Zilliken, G. A. Braun, P. Gyöergy, **1955**, *Arch. Biochem. Biophys.*, 54, 564.
- 11) T. Yamakawa, S. Suzuki, *J. Biochem., Tokyo*, **1955**, 42, 727.
- 12) G. Blix, L. Svennerholm, I. Werner, *Acta Chem. scand*, **1952**, 6, 358.
- 13) T. Yamakawa, S. Suzuki, *J. Biochem., Tokyo*, **1952**, 39, 175.
- 14) A. Gottschalk, *Nature*, **1954**, 174, 652; *ibid.*, **1955**, 176, 881.
- 15) A. Gottschalk, *Biochem. J.*, **1955**, 61, 298.
- 16) A. Gottschalk, *Yale J. Biol. Med.*, **1956**, 28, 525.
- 17) R. Kuhn, R. Brossmer, *Chem. Ber.*, **1956**, 89, 2471.
- 18) F. Zilliken, M. C. Glick, *Naturwissenschaften*, **1956**, 43, 536.
- 19) R. Heimer, K. Meyer, *Proc. Nat. Acad. Sci., Wash.*, **1956**, 42, 728.
- 20) J. W. Cornforth, M. E. Daines, A. Gottschalk, *Proc. Chem. Soc., London*, **1957**, p.25.
- 21) S. Roseman, D. G. Comb, *J. Am. Chem. Soc.*, **1958**, 80, 3166.
- 22) R. Kuhn, R. Brossmer, *Liebigs Ann.*, **1958**, 616, 221.
- 23) D. G. Comb, S. Roseman, *J. Am. Chem. Soc.*, **1958**, 80, 497.
- 24) J. Brug, R. J. E. Esser, G. B. Pals, *Arch. Biochem. Biophys.*, **1959**, 33, 241.
- 25) R. Kuhn, R. Brossmer, *Angew. Chem.*, **1957**, 69, 534.
- 26) その講演内容の紹介: 都築洋次郎, *科学*, **1958**, 28; それは前年に発行された彼の論文 (R. Kuhn, *Angew. Chem.*, **1957**, 69, 23.) とほぼ同じである.
- 27) 都築洋次郎, 「科学・技術人名事典」, p.166, 北樹出版 KK, 1986.
- 28) R. Kuhn, R. Brossmer, *Angew. Chem.*, **1962**, 74, 252.
- 29) S. Immel, T. Nakagawa, H. J. Lindner, F. W. Lichtenthaler, *Chem. Eur. J.*, **2000**, 6, 3366.
- 30) S. Immel, F. W. Lichtenthaler, H. J. Lindner, T. Nakagawa, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2001**, 12, 2767.

謝辞

シアル酸に関する最新情報を梶原康宏教授 (大阪大学) にお教えいただいた。本稿の作図・割り付け等は長島 生 (いずる) さん (産業技術総合研究所・北海道センター) がお引き受け下さった。記して、深謝の意を表します。 (2010.11.26)