

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 8 日現在

機関番号：34504

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K13650

研究課題名(和文)糖立体配座の柔軟化に基づくグリコシル化法の高効率化

研究課題名(英文)Promotion of efficiency of glycosylation reaction based on increasing flexibility of conformation

研究代表者

山田 英俊 (Yamada, Hidetosh)

関西学院大学・理工学部・教授

研究者番号：90200732

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：糖ピラノース環の立体配座を柔軟化して、グリコシル化反応の効率を高めることを目的に、グルコースの3,6位酸素間に架橋基を導入して立体配座の柔軟性と反応性の変化を調査した。その結果、ビベンジルビスメチレンを架橋基とした場合、グルコースの立体配座が広い範囲で可動になること、および、架橋した糖の反応性の向上を観測した。さらに、高い $\alpha$ -選択性で反応を進行させる反応条件を見出した。化学的なグリコシル化反応は、これまで立体配座を固定して行ってきたため、本研究は斬新な試みである。また、開発した $\alpha$ -選択的なグリコシル化反応を利用して、 $\alpha$ -グルコース-1,4-環状オリゴ糖の合成に展開した。

研究成果の概要(英文)：In order to increase the efficiency of the glycosylation reaction by flexibilizing the conformation of the pyranose ring, we investigated flexibility and reactivity of glucose derivatives equipped with bridging groups between the 3- and 6-oxygens. As a result, we revealed that the use of bibenzyl-bismethylene group as the bridging group increased flexibility of the conformation of glucopyranose ring and that reactivity of the bridged glycosyl donor improved comparing to that without the bridge. In addition, we developed a highly  $\alpha$ -selective glycosylation reaction using the bridged glycosyl donor. Previously, the conformation of the glycosyl donors used in the chemical glycosylation reactions have been locked; therefore, our approach is an innovative trial. Further, utilizing the  $\alpha$ -selective glycosylation, we expanded our work to the synthesis of several cyclic 1,4-oligosaccharides.

研究分野：有機合成化学

キーワード：合成化学 糖 立体配座 グリコシル化反応

1. 研究開始当初の背景

化学的グリコシル化は、糖転位酵素の厳しい基質選択性を補い、自在な誘導体合成を可能にする重要な反応である。しかし、立体選択性や反応効率は酵素にはまだまだ及んでいない。糖転位酵素は、糖の立体配座を曲げながら反応を進めることがX線結晶構造解析を根拠に判っている。例えば、グルコースは立体配座が ${}^1S_3 \rightarrow {}^4H_3 \rightarrow {}^4C_1$ と変化する(図1, a、及び図3) [①~③]。更に、立体配座変形の途中で起きる反応は、立体選択性の発現が確かな $S_N2$ 機構である [ ]

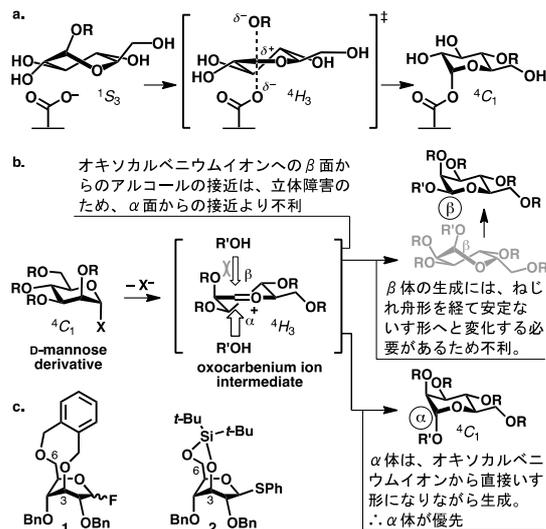


図1. a: 糖転位酵素での反応推移. b: 典型的な化学的グリコシル化の理解. c: Axial-rich 配座に固定した糖.

化学的グリコシル化反応では、 $S_N2$ 機構が提唱されることもあるが、オキソカルベニウムイオン中間体を経る $S_N1$ 機構で進む方が多い。例えば、マンノースが選択性を発現しやすい理由は、図1, bのように $S_N1$ 反応が進行する際の立体障害や、いす形立体配座の優位性により説明される。糖の立体配座は安定系(この場合 ${}^4C_1$ )で議論され、酵素内のようにねじれ舟形を経由する反応を想定しない。つまり、合成化学反応での機構は、酵素反応とはかなり異なる。

私達は、化学的グリコシル化において立体配座を変更した場合の反応性を追求してきた [ ]。最近、他研究者の参入もあって本領域の研究が進み、立体配座の変化が反応に大いに影響することが確実になってきた。例えば、図1, cに示す、架橋基によって立体配座をAxial-richに固定した1や2を用いると、高い立体選択性を伴う反応となる [ ]。ただし、酵素のように立体配座を「柔軟に」推移させるのではなく、「固定」した反応であり、学会の常識の範囲内に留まっている。一方、図2に示すように、私達の研究室では「長い架橋構造を持たせると、グルコースの立体配座が柔軟になる」という可能性を見つ

けていた。立体配座を柔軟にできれば、遷移状態のポテンシャルエネルギーが下がり、反応効率が格段に向上することが期待できる。

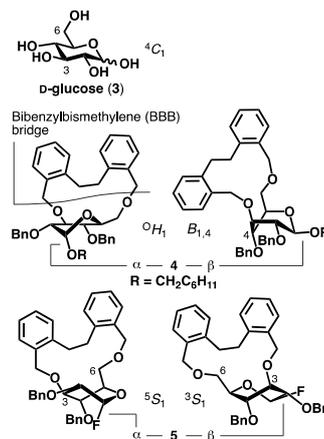


図2. 3,6位酸素をBBB架橋して立体配座が柔軟化した糖.

2. 研究の目的

本研究では、糖の立体配座を柔軟化して、グリコシル化反応の効率を格段に高め、酵素反応に比肩する効率を得ることを目的とする。このため、本研究では、長い架橋基の導入による糖立体配座の柔軟性と反応性を調査し、反応を高効率化する指針を確立する。

従来の化学的グリコシル化反応では、立体配座を「固定」した場合の議論ばかりである。本研究では対照的に、「柔軟」にする斬新なアプローチが特色である。

3. 研究の方法

当初の計画を以下に記述する。

初年度

(1) 立体配座柔軟化の可能性を見出した3,6位酸素をビベンジルビベンジル-2,2'-ビス(メチレン)架橋(BBB)架橋した種々のグルコース誘導体を合成し、立体配座、反応性を調査し、その立体配座推移範囲を明らかにする。

(2) BBB架橋を有するグルコース供与体を用いた選択的グリコシル化反応を開発する。

二年目

(3) BBB基以外の架橋基を有するグルコース誘導体を合成し、その立体配座を調査する。

(4) BBB基以外の架橋基で柔軟化した糖によるグリコシル化反応の検討

(5) 検討対象のマンノース、ガラクトースへの拡大を行う。

(6) 上記の成果を総合して柔軟化糖の設計指針を構築し、グリコシル化反応中のコンフォメーション推移、すなわち、遷移状態の立体配座を基に、高効率化や立体選択性の発現理由などを解明する。

研究活動は、助教、博士研究員、大学院生2名と共に、応募者が統括する。

実際は、二年目に当初の計画と異なる方向へ研究が進展した。

#### 4. 研究成果

[ 3. 研究の方法の(1)について ] 脱離基を異にする三種類の BBB 架橋糖について、立体配座を調査し、アノマー位の脱離基の違いで立体配座が大きく変化することを明らかにした。立体配座の決定には、 $^1\text{H}$  NMR の結合定数を基にした。また、グリコシル化反応の結果生じたグルコシドについてもピラノース環の立体配座を決定した。これらの結果を総合すると、3,6-O-BBB 架橋を有するグルコースは、Cremer-Pople 図における各極点 ( $^1\text{C}_4$  と  $^4\text{C}_1$ ) を含み、赤道線上の  $^3\text{S}_1$ 、 $\text{B}_{1,4}$ 、 $^5\text{S}_1$  を通る経線の範囲内で変化することが明らかになった。

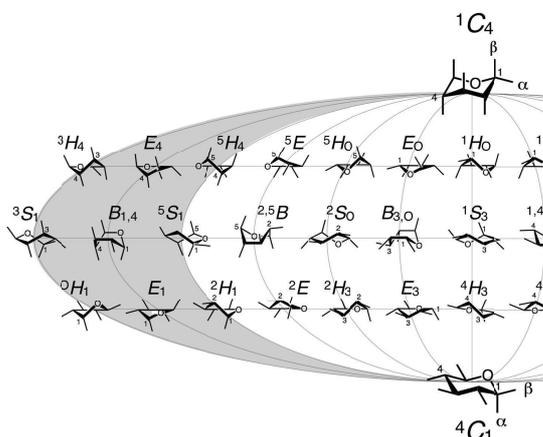


図3. Cremer-Pople 図で表示した 3,6-O-BBB 架橋グルコースの立体配座可動範囲。

[ 3. 研究の方法の(2)について ] BBB 架橋を有するグルコース供与体を用いた  $\beta$ -選択的グリコシル化反応を開発することができた。すなわち、脱離基を異にする三種類 ( $-\text{F}$ 、 $-\text{SPh}$ 、 $-\text{OC}(=\text{NH})\text{CCl}_3$ ) の 3,6-O-BBB 架橋グルコースについて、それぞれ反応最適化を実施した。その結果、どの脱離基を有する場合にも、それぞれ高い  $\beta$ -選択性で反応を進行させることができた。また、高い  $\beta$ -選択性が反応温度の変化にあまり影響されないことが明らかになった。この現象は、ピラノース環の柔軟化によって立体配座が遷移し、脱離基を離しやすい立体配座を取りやすくなっていることが原因であろうと考察している。また、脱離基を  $-\text{SPh}$  とした場合に、通常のグリコシル化反応では採用されない、酢酸エチルを溶媒とした時に非常に高い反応効率が得られた。また、この場合、酢酸エチルが触媒として作用している可能性を示す実験結果が得られた。この点については、今後詳細に調査する必要がある。BBB 基のエチレン部分を、メチレンあるいはプロピレン基に変更した類縁架橋体 (図4) をそれぞれ合成し、その立体配座を明らかにするとともに、グリ

コシル化反応における立体選択性を調査した。その結果、BBB 架橋を有するグルコース供与体を用いた  $\beta$ -選択的グリコシル化反応を開発することができた。また、プロピレン基に変更した類縁体が  $\beta$ -選択性を求める上では最も優れていることが明らかになった。[ 3. 研究の方法の(3)について ] BBB 基のエチレン部分を、メチレンあるいはプロピレン基に変更した類縁架橋体 (図4) をそれぞれ合成し、その立体配座を明らかにした。その結果、3,6 位酸素を BBB 基で架橋した場合に、立体配座の柔軟化が顕著であった。それより架橋基が長い場合は、安定なす形である  $^4\text{C}_1$  配座を中心とした立体配座を取りやすく、それより短い場合は  $^3\text{S}_1$  に近いねじれ舟形に固定され、柔軟性がなくなることが明らかになった。

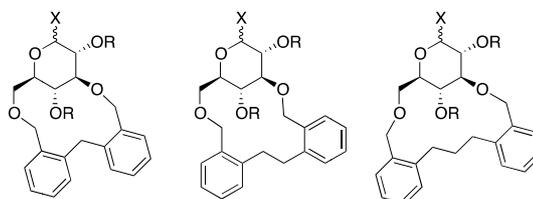


図4. 長さを異にする架橋糖  
R = H または Bn

[ 3. 研究の方法の(4)について ] BBB 基のエチレン部分を、メチレンあるいはプロピレン基に変更した類縁架橋体 (図4) を用い、グリコシル化反応における立体選択性を調査した。その結果、プロピレン基に変更した類縁体が  $\beta$ -選択性を求める上では最も優れていることが明らかになった。

[ 3. 研究の方法の(5)について ]  
(1) 2-デオキシ糖の高  $\beta$ -選択的グリコシル化反応を開発した。本研究は、学会発表レベルまで研究が進行し、今後若干のデータを追加して論文として報告する。  
(2) ガラクトース誘導体でも架橋化によってピラノース環の立体配座が柔軟化する観測した。ただし、現時点では調査範囲が狭く、さらに類縁体の種類を拡げて傾向を観察する必要があるため、学会発表を含めた公表をしていない。

[ 3. 研究の方法の(6)について ] 上述の成果を総合すると、柔軟化糖の設計指針としては、「糖」の種類がグルコースに限るが、立体配座を柔軟化させる架橋基には BBB が優れていることが分かった。また、本期間中に新たに開発したグルコースの 2 位酸素上の官能基活性化を起点とするグリコシル化反応では、BBB 架橋基の有無で糖供与体の反応性に明らかな優劣があり、立体配座の柔軟化による反応性の向上を示す顕著な例になると考えられる。今後、柔軟性を考慮した遷移状態の立体配座の議論を加え、論文として報

告する予定である。

以上を明らかにした上で、グルコースの立体配座柔軟化を利用した予想外の進展があった。立体配座を柔軟化したグルコース誘導体を用いて、環状オリゴ糖を合成する研究を展開した。-グルコース-1,4-環状オリゴ糖は、その6~8量体が、それぞれ-、-、-シクロデキストリンとして、産業界、学会で幅広い分野で活用されている包接化合物である。一方、その環状3、4量体は、従来議論されてきたものの、その化合物が存在できるかどうかさえ明らかにされていなかった化合物である。既に述べたように、3,6-O-BBB 架橋を有するグルコースは、そのピラノース環の立体配座が柔軟化しており、広い範囲を立体配座が可動である。化学計算を用いて求めた-グルコース-1,4-環状3、4量体を構成するピラノース環の立体配座は、その可動範囲内にあることを示した。この立体配座の柔軟性を活かして、これらの環状オリゴ糖の合成を完成できればインパクトの大きな研究成果となることが、本研究を行った理由である。合成方法を種々検討した結果、その化学合成に成功し、-グルコース-1,4-環状3、4量体が存在できることを実証した。本内容については、特許を申請し、現在論文として取りまとめている過程にある。

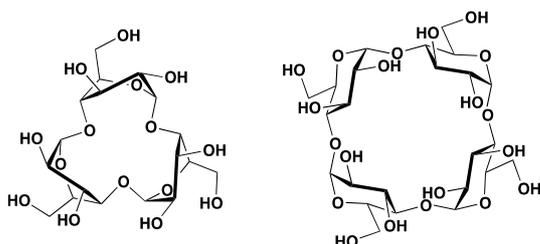


図5 . 存在を実証した-グルコース-1,4-環状オリゴ糖の構造

#### <引用文献>

- Davis, G. J. et.al. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2824.  
Notenboon, V. et.al. *Nature Struct. Biol.* **1998**, *5*, 812.  
Bocadlo, D. J. et.al. *Nature* **2001**, *412*, 838.  
Burmeister, W. P. et.al. *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 39385.  
Yamada, H. *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **2011**, *123*, 122.  
Yamada, H. et.al. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 6940.  
Bols, M. et.al. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 7234.

#### 5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に

は下線)

[雑誌論文](計0件)

[学会発表](計11件)

・伊藤優樹、嶋田浩聡、若森晋之介、池内和忠、山田英俊、3,6位を[1,1'-(エタン-1,2-ジイル)ジベンゼン-2,2'-ビス(メチレン)]基で架橋した2-デオキシグルコースを用いた-選択的グリコシル化反応、ポスター発表、日本化学会第97春季年会、2017年3月17日、慶應義塾大学日吉キャンパス(神奈川県横浜市)

・生田大喜、池内和忠、山田英俊、最小シクロデキストリン：環状-1,4-グルコース三量体の合成、口頭発表、日本化学会第96春季年会、2017年3月17日、慶應義塾大学日吉キャンパス(神奈川県横浜市)

・松本慎太郎、生田大喜、池内和忠、山田英俊、グルコース2位プロパルギル基の活性化を開始点とした新グリコシル化反応の開発、口頭発表、日本化学会第96春季年会、2017年3月17日、慶應義塾大学日吉キャンパス(神奈川県横浜市)

・嶋田浩聡、池内和忠、若森晋之介、山田英俊、3,6-O-[1,1'-(プロパン-1,3-ジイル)-ジベンゼン-2,2'-ビス(メチレン)]架橋グルコースを用いた高-選択的グリコシル化反応、口頭発表、日本化学会第97春季年会、2017年3月16日、慶應義塾大学日吉キャンパス(神奈川県横浜市)

・IKUTA Daiki, TOMABECHI Yusuke, IKEUCHI Kazutada, YAMADA Hidetoshi, Synthetic study of cyclodextrin bearing 3,6-O-[bibenzyl-2,2'-bis(methylene)]-bridge, ポスター発表, The 10th International Symposium on Integrated Synthesis, 2016年11月18日, 淡路夢舞台国際会議場(兵庫県淡路市)

・生田大喜、苔米地裕輔、池内和忠、山田英俊、3,6-O-[ビベンジル-2,2'-ビス(メチレン)]架橋 $\alpha$ -グルコース六量体の合成と構造決定、口頭発表、第35回日本糖質学会年会、2016年9月2日、高知市文化プラザかるぽーと(高知県高知市)

・新井智貴、内野拓耶、池内和忠、山田英俊、3,6位酸素をo-キシリレン架橋したグルコースの効率的誘導化、口頭発表、日本化学会第96春季年会、2016年3月25日、同志社大学京田辺キャンパス(京都府京田辺市)

・生田大喜、苔米地裕輔、池内和忠、山田英俊、3,6-O-[ビベンジルビス-2,2'-(メチレン)]架橋を持つシクロデキストリンの合成研究、口頭発表、日本化学会第96春季年会、2016年3月24日、同志社大学京田辺キャンパス(京都府京田辺市)

・YAMADA Hidetoshi, Glycosylation Using 3,6-O-(o-Xylylene)-Bridged Glucosyl Donor, 口頭発表, The 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin

Societies, 2015 年 12 月 18 日, Hilton Hawaiian Village, (Honolulu, USA)

・生田大喜、山田英俊、1,2,4-オルトアセチルグルコース誘導体の効率的開裂法、ポスター発表、第 34 回日本糖質学会年会、2015 年 8 月 1 日、東京大学安田講堂(東京都、文京区)

・新井智貴、山田英俊、3,6-O-α-キシリレン架橋を有する 1,4-無水グルコピラノースの合成、ポスター発表、第 34 回日本糖質学会年会、2015 年 8 月 1 日、東京大学安田講堂(東京都、文京区)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)

名称：(1-4)グリコシド環状多量体及びその製造方法

発明者：山田英俊

権利者：学校法人関西学院

種類：特許

番号：特願 2017-038585

出願年月日：2017 年 3 月 1 日

国内外の別：国内

取得状況(計 1 件)

名称：2,4-O-架橋反転ピラノース化合物

発明者：山田英俊

権利者：学校法人関西学院

種類：特許

番号：特許第 5800729

出願年月日：2015 年 9 月 5 日

国内外の別：国内

〔その他〕

招待講演

・YAMADA Hidetoshi, Synthetic chemistry using unusual conformer of carbohydrates, Universiteit Leiden Seminar, 2017 年 4 月 3 日, Universiteit Leiden (Leiden, Netherlands)

・山田英俊、1,2-シス-グリコシル化反応：基礎、トレンド、架橋糖を用いたアプローチ、関西創農薬研究会、2016 年 11 月 11 日、日本農薬総合研究所(大阪府河内長野市)

・山田英俊、異常配座糖で挑むグリコシル化反応における立体選択性の限界突破、公益財団法人長瀬化学技術振興財団 平成 27 年度受賞者研究成果発表会、2016 年 4 月 22 日、大阪科学技術センター(大阪市西区)

・山田英俊、立体配座反転糖：意外な遠隔立体制御とエラジタンニン合成、GlycoTOKYO 2015、2015 年 10 月 24 日、慶応大学矢上キャンパス

受賞

・山田英俊、長瀬研究振興賞、長瀬科学技術振興財団、2015 年 5 月

学生の受賞

・IKUTA Daiki, Poster Award, The 10th International Symposium on Integrated Synthesis, 2016 年 11 月 19 日、淡路夢舞台国際会議場(兵庫県淡路市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山田英俊 (YAMADA Hidetoshi)

関西学院大学・理工学部・教授

研究者番号：90200732

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

池内和忠 (IKEUCHI Kazutada)