

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：15101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K05714

研究課題名（和文）環状オリゴ糖合成の効率化と機能開拓

研究課題名（英文）Development of synthetic methodology and functions cyclic oligosaccharides

研究代表者

野上 敏材（NOKAMI, Toshiki）

鳥取大学・工学研究科・教授

研究者番号：60402963

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：環状オリゴ糖の有機電解合成に取り組み、新規環状オリゴ糖の合成ならびにグリコシル化反応中間体の分光分析を行った。液相電解自動合成を用いたオリゴ糖の逐次合成に加えて、電解重合に基づくオリゴ糖合成法を開発し、鎖状オリゴ糖の迅速合成を実現した。さらに、環状オリゴ糖合成へと応用することで、シクロデキストリンの構成単糖をグルコースからN-アセチルグルコサミンへの置換した環状オリゴ糖の合成を世界で初めて達成した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

グルコースからなる環状オリゴ糖であるシクロデキストリンは最も学術的に注目を集めただけでなく、社会にも普及しているオリゴ糖の一つであると言える。天然に豊富に存在する多糖であるキチンやキトサンを構成するグルコサミンは対応する環状オリゴ糖が天然には存在していない。本研究で世界で初めてシクロデキストリンの構成糖であるグルコースをグルコサミンに置き換えた環状オリゴ糖「シクロカサオドリン」の化学合成に成功した。今後、シクロデキストリンとの比較を通じてシクロカサオドリンの機能が明らかにされるとともに、社会実装も期待される。

研究成果の概要（英文）：We have studied electrochemical synthesis of cyclic oligosaccharide and achieved total synthesis of a novel cyclic oligosaccharide and revealed the reaction intermediate by spectroscopic analysis. In addition to the automated electrochemical assembly we have developed the electrochemical polyglycosylation method for synthesis of oligosaccharides. This method has been successfully applied to the synthesis of cyclic oligosaccharides to make a novel cyclic oligosaccharide which consists of N-acetylglucosamine.

研究分野：有機合成化学

キーワード：環状オリゴ糖 グリコシル化反応 電解合成 チオグリコシド

1. 研究開始当初の背景

オリゴ糖は身近な生体分子の一つであり、栄養源となるだけでなく生体自体を形作る構造材料として機能したり細胞表面上での分子認識にも関わったりするなど、DNA やたんぱく質にも勝る構造的・機能的多様性を有している。ところが、その作用機序が分子レベルでは未解明な糖鎖やオリゴ糖も多数存在している。その理由として生体から得られる糖鎖が少量であったり、精製が困難で構造が均一な糖鎖が得にくいといった理由が挙げられる。そこで、本研究では生体分子としての希少オリゴ糖、特に環状オリゴ糖に有機合成化学的な視点からアプローチし、特に合成手法を革新することで、環状オリゴ糖の分子レベルでの機能解明や新規機能開拓を目指した。

環状オリゴ糖の代表としてシクロデキストリンが挙げられる。かつて、シクロデキストリンも他の環状オリゴ糖同様に希少な化合物であったものの、酵素を用いた工業生産が実現し、試験研究用途だけでなく食品添加物として利用され、今や我々の身近にあるオリゴ糖の一つと言える。ただし、実用化されているシクロデキストリンもグルコースの環状七糖である β -シクロデキストリンに限られている。六糖の α -シクロデキストリンや八糖の γ -シクロデキストリンは酵素法による合成法確立が遅れたため、 β -シクロデキストリン程の普及には至っていない。なお、シクロデキストリンはグルコースの α -1,4-グリコシド結合のみで構成されているため構造は比較的単純であるが、天然には β -グリコシド結合や複数のグリコシド結合が混在した環状オリゴ糖も存在している。また、シクロデキストリンのグルコースをグルコサミンで置き換えた環状オリゴ糖にも構造的・機能的な興味を持たれるが、そもそも天然に存在しておらず、合成も報告されていない。これらを全ての環状オリゴ糖を酵素法によって大量生産する技術を確立するためには、かなりの時間を要すると想定される。

一方、化学法によるオリゴ糖合成は目覚ましい進歩を遂げており、天然・非天然のオリゴ糖を合成する強力な手法である。しかしながら、環状オリゴ糖についてはこれまで化学法を用いて合成するメリットが余り感じられなかった。すなわち、分子内グリコシル化反応によって鎖状オリゴ糖を環状させる際、分子間のグリコシル化反応を抑制するために低濃度条件で反応を行う必要があると、生産性は低くなる。また、鎖状オリゴ糖の場合には機能する立体制御法が環状オリゴ糖合成の場合には十分機能しないといった特有の課題もある。

β グルカンはグルコースが β -グリコシド結合によって繋がった多糖の総称であり、 β -1,4-グリコシド結合で構成されるセルロースをはじめとして植物に広く存在している。生物活性を示す β グルカンとしてはスエヒロタケが産出する多糖はシゾフィラン (sizofiran) と呼ばれ、免疫を活性化することから医薬品として市販されている。また、 β グルカンの中には環状構造を有するものも知られており、下記に示すマメ科の根粒菌 (B. Japonicum) 由来の環状 β -1,3-1,6-グルカンの他にも β -1,2-グリコシド結合を有するものが知られている (Microbiol. Rev. 1994)。しかしながら、天然から単一の構造の環状 β グルカンを得て分子レベルでの機能を解析することは至難であり、通常は環サイズの異なるものの混合物を用いて評価が行われてきた。このような状況を打破するためには、化学合成によって純度が高く、単一構造の β グルカンを得る必要がある。また、環状 β グルカンの化学修飾によって、受容体や細胞内局在化、分解プロセスについて明らかにすることは分子糖鎖科学の発展のために必要不可欠である。

2. 研究の目的

本研究の目的は電気化学的手法に基づく環状オリゴ糖合成の効率化と合成した環状オリゴ糖の機能解明である。代表者らはこれまでに電気化学的手法に基づく、オリゴ糖の液相電解自動合成法を開発しており、その手法を“Automated Electrochemical Assembly”と呼んでいる (Org. Lett. 2013)。液相電解自動合成法を用いて環状オリゴ糖の合成前駆体となる鎖状オリゴ糖を効率的に合成できることは実証済みであり、さらに得られた鎖状オリゴ糖を環化する段階においても電気化学的手法による収率や選択性の向上が可能であるという予備的知見を得ている。

電気化学的手法を用いたグリコシル化反応自体は野依らによって 30 年以上前に報告されている (J. Org. Chem. 1986)。しかし、電解グリコシル化反応を四糖以上のオリゴ糖の合成に利用したのは代表者らの報告 (Chem. Lett. 2008) が初めてであり、さらに液相での自動合成へと展開した点に学術的独自性と創造性があると考えている。この方法は単にオリゴ糖合成だけでなく様々なタイプのオリゴマー合成に利用できると考えており、代表者らが開発したジアリールカルベニウムイオンの高い反応性を利用した dendrimer の電解合成 (J. Am. Chem. Soc. 2008) についても、原理的には同じ合成装置を用いて自動化が可能である。

3. 研究の方法

(1) 分子内電解グリコシル化反応による環状オリゴ糖合成

環状オリゴ糖合成の鍵となる分子内電解グリコシル化反応による鎖状オリゴ糖の環状オリゴ糖への変換における制御因子(温度・濃度・通電量・支持電解質)を明らかにし、バッチ型電解セルでの合成(収率・選択性)を最適化する。続いて、フロー型電解セルを用いてフロー合成特有の反応パラメータ(流速・電極間距離・電極面積)の最適化を行う。また、必要に応じて糖水酸基の保護基も見直す。

(2) 電解グリコシル化重合の開発とワンポット環状オリゴ糖合成

環状オリゴ糖の前駆体となる鎖状オリゴ糖を逐次合成している限り、合成の迅速化は望めない。そこで電解酸化条件での電解グリコシル化重合を検討し、単糖から鎖状オリゴ糖を1回の電解反応で合成する。また、鎖状オリゴ糖から環状オリゴ糖への変換も同じ電解酸化条件下、ワンポットで行うことが出来れば、環状オリゴ糖合成の迅速化が実現する。課題としては糖鎖伸長と環化の反応条件が類似している場合、一定の鎖長になると環化してしまい、環状オリゴ糖の環サイズがコントロール不能となる可能性がある。

(3) 環状βグルカン12糖と類縁体の全合成

最適化した反応条件を用い、環状βグルカン12糖並びにその類縁体を化学合成する。β-1,3-グリコシド結合とβ-1,6-グリコシド結合の両方を有する環状β-1,3-1,6-グルカンはマメ科植物に共生する根粒菌が形成する環状オリゴ糖であり、植物の防御応答抑制に関与していることが知られている。しかしながら、環状βグルカンは構成するオリゴ糖の鎖長も多様であり、分子レベルでの機能解明を達成するためには化学合成によって構造的に純粋な環状βグルカンから分子プローブへと誘導する必要がある。環状βグルカンの前駆体となる鎖状βグルカン12糖は六糖繰り返し構造に二分割出来るため、自動合成によって得られる六糖の二量化により前駆体を効率的に合成する。なお、予備的な検討はすでに開始しており、切断箇所は異なるが、六糖の合成にも成功しており(*Asia J. Org. Chem.* 2018)、研究開始と同時に合成に着手出来る状況にあった。

4. 研究成果

(1) 鎖状βグルカン合成

これまでに合成を達成していた環状12糖の半分の構造である6糖は合成法が煩雑でスケールアップが難しい状況であった。そこで、これまでとは異なる6糖の構造を標的として合成の検討を行った。その結果、3種類の2糖ビルディングブロックからワンポットで望みの6糖へと変換出来ることを見出した。また、これまで全く検討していなかった支持電解質のカチオンに着目し、カチオン構造の違いが収率に与える影響を調べた。その結果、これまで用いていたテトラブチルアンモニウムカチオンよりも目的のオリゴ糖を高い収率で与えるアンモニウム塩を見出した。理由についてはまだ未解明であるが、電極表面の電気二重層がグリコシル化反応中間体の反応性に与える影響も考えられる(投稿準備中)。

(2) 電解グリコシル化反応中間体の解明

2位水酸基上に隣接基配位可能な保護基を有する糖鎖ビルディングブロックを用いた場合に、液相電解自動合成法の反応中間体としてグリコシルジオキサレニウムイオンの発生・蓄積を確認した。また、グリコシルジオキサレニウムイオン中間体の安定性を温度可変NMR測定により見積もり、反応温度を最適化することで、グリコシル化反応の収率を向上させることが出来た(*Eur. J. Org. Chem. in press*)。

(3) 環状オリゴグルコサミンのワンポット電解合成

分子内に無保護水酸基を有するチオグリコシドの電解グリコシル化重合により、β-1,4-グリコシド結合からなるキチンオリゴ糖前駆体8糖までの合成を達成した(論文投稿中)。今回合成したオリゴ糖前駆体は還元末端に硫黄脱離基を有することから、リンカー導入などの選択的分子変換が可能である。β-1,4-グリコシド結合は鎖状オリゴ糖のみを形成するが、α-1,4-グリコシド結合であれば、鎖状オリゴ糖のみでなく環状オリゴ糖の形成も可能である。そこで、β-1,4-グリコシド結合をα-1,4-グリコシド結合へと異性化可能な2,3-オキサゾリジノン保護基を有するチオグリコシドを用い、電解グリコシル化重合-異性化-環化をワンポットで実施した。その結果、収率は10%未満であったが、目的の環状6糖・7糖が得られ、環状6糖については脱保護も実施した。得られた環状オリゴ糖はシクロデキストリンのグルコースをグルコサミンに置き換えた新規環状オリゴ糖である(*Chem. Commun. in press*)。

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 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 H. Endo, M. Ochi, M. A. Rahman, T. Hamada, T. Kawano, T. Nokami	4. 巻 46
2. 論文標題 Synthesis of Cyclic -1,4-Oligo-N-acetylglucosamine 'Cyclokaodorin' via One-Pot Electrochemical Polyglycosylation–Isomerization–Cyclization Process	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chemical Communications	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/d2cc02287g	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 Shibuya, A.; Kato, M.; Saito, A.; Manmode, S.; Nishikori, N.; Itoh, T.; Nagaki, A.; Nokami, T.	4. 巻 -
2. 論文標題 Glycosyl Dioxalenium Ions as Reactive Intermediates of Automated Electrochemical Assembly	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 European Journal of Organic Chemistry	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/ejoc.202200135R1	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 矢野君晟、佐々木紀彦、伊藤敏幸、野上敏材	4. 巻 79
2. 論文標題 液相電解自動合成によるオリゴグルコサミンの合成	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 有機合成化学協会誌	6. 最初と最後の頁 839-848
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5059/yukigoseikyokaishi.79.839	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 Shibuya, A.; Nokami, T.	4. 巻 21
2. 論文標題 Electrochemical Assembly for Synthesis of Middle-Sized Organic Molecules	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Chemical Record	6. 最初と最後の頁 2389-2396
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/tcr.202100085	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 K. Yano, T. Itoh, T. Nokami	4. 巻 492
2. 論文標題 Total Synthesis of Myc-IV(C16:0, S) via Automated Electrochemical Assembly	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Carbohydrate Research	6. 最初と最後の頁 108018
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.carres.2020.108018	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 Y. Morimoto, S. Takahashi, Y. Isoda, T. Nokami, T. Fukamizo, W. Suginta, T. Ohnuma	4. 巻 499
2. 論文標題 Kinetic and thermodynamic insights into the inhibitory mechanism of TMG-chitotriomycin on <i>Vibrio campbellii</i> GH20 exo- <i>-N</i> -acetylglucosaminidase	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Carbohydrate Research	6. 最初と最後の頁 108201
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.carres.2020.108201	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 該当する

1. 著者名 S. Manmode, S. Tanabe, T. Yamamoto, N. Sasaki, T. Nokami, T. Itoh	4. 巻 8
2. 論文標題 Electrochemical Glycosylation as an Enabling Tool for the Stereoselective Synthesis of Cyclic Oligosaccharides	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ChemistryOpen	6. 最初と最後の頁 869-872
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/open.201900185	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 Y. Isoda, K. Kitamura, S. Takahashi, T. Nokami, T. Itoh	4. 巻 6
2. 論文標題 Mixed-Electrolytes-Driven Stereoselective Electrochemical Glycosylation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ChemElectroChem	6. 最初と最後の頁 4149-4152
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/celec.201900215	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10件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 齋藤阿須香, 石坂優依, 小林丈泰, 渋谷章人, 野上敏材
2. 発表標題 -グルカンの電解合成における保護基と支持電解質効果
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 野上敏材, 黒田佳奈, 吉田真弓, Md Azadur Rahman, 遠藤大史, 越智雅治
2. 発表標題 電解グリコシル化重合によるオリゴ糖合成
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 野上敏材
2. 発表標題 電気化学的反應集積化による有機中分子合成
3. 学会等名 第45回有機電子移動化学討論会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 野上敏材
2. 発表標題 液相電解自動合成法によるオリゴ糖の化学合成
3. 学会等名 フロー・マイクロ合成研究会第90回研究会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 遠藤大史, 越智雅治, Md Azadur Rahman, 濱多智昭, 川野貴宏, 野上敏材
2. 発表標題 D-グルコサミンから成る環状オリゴ糖シクロカサオドリンのワンポット電解合成
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 Md Azadur Rahman, 遠藤大史, 越智雅治, 黒田佳奈, 濱多智昭, 川野貴宏, 酒井啓, 野上敏材
2. 発表標題 電解グリコシル化重合によるキチンオリゴ糖前駆体の合成と環状オリゴ糖合成への応用
3. 学会等名 電気化学会第89回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 T. Nokami
2. 発表標題 Towards Automated Electrochemical Assembly of Oligosaccharides
3. 学会等名 PRiME 2020 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 矢野君晟, 野上敏材
2. 発表標題 液相電解自動合成法によるMyc-LCOs合成
3. 学会等名 日本化学会 第101春季年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 M. A. Rahman, S. Takahashi, M. A. Rahman, S. Takahashi, T. Nokami
2. 発表標題 Synthesis of Oligoglucosamine Analogues Equipped with Trimethylammonium Glycoside
3. 学会等名 日本化学会 第101春季年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 T. Nokami
2. 発表標題 Automated Electrochemical Assembly for Oligosaccharide Synthesis
3. 学会等名 The 18th Asian Chemical Congress (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計5件

1. 著者名 M. A. Rahman, K. Yano, S. Manmode, Y. Isoda, N. Sasaki, T. Itoh, T. Nokami	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 11
3. 書名 Middle Molecular Strategy	

1. 著者名 K. Matsumoto, T. Nokami	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Wiley	5. 総ページ数 13
3. 書名 Organic Redox Chemistry	

1. 著者名 野上敏材	4. 発行年 2021年
2. 出版社 シーエムシー出版	5. 総ページ数 8
3. 書名 有機電解合成	

1. 著者名 Rahman, M. A.; Nokami T.	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Elsevier	5. 総ページ数 3355
3. 書名 Comprehensive Glycoscience 2nd edition	

1. 著者名 Endo, H.; Rahman, M. A.; Nokami, T.	4. 発行年 2022年
2. 出版社 Royal Society of Chemistry	5. 総ページ数 386
3. 書名 Sustainable and Functional Redox Chemistry	

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 環状オリゴ糖の製造方法、環状オリゴ糖および包接剤	発明者 野上敏材, 濱多智昭, 真島和弘, 川野貴宏, 村本泰彦	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2021-154167	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 糖鎖の製造方法	発明者 野上敏材, 濱多智 昭, 酒井啓	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2020-0220679	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

野上 有機合成化学研究室ホームページ
<https://sites.google.com/tottori-u.ac.jp/nokami-lab>

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
研究協力者	ラハマン エムディ アザドゥル (RAHAMN Md Azadur)	鳥取大学・大学院工学研究科・博士後期課程 (15101)	

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
---------	---------