

自己評価報告書

平成 23年 3月 31日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2008～2011

課題番号：20350051

研究課題名(和文) 保護基を全く用いない水中での糖質モノマーの一段階合成とその重合

研究課題名(英文) One-step Preparation of Glycosyl Monomers in Aqueous Media without Using Protecting Groups and its Application to Polysaccharide Synthesis

研究代表者

正田 晋一郎 (SHODA SHIN-ICHIRO)

東北大学・大学院工学研究科・教授

研究者番号：10143364

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・高分子化学

キーワード：無保護糖、配糖化、糖加水分解酵素、ジメトキシトリアジン誘導体、オリゴ糖、脱水縮合剤、キシログルカンオリゴ糖、キシロビオース

1. 研究計画の概要

従来、オリゴ糖鎖合成の常識は、合成プロセスのどこかで、保護基の導入が必要であり、また、活性中間体の単離が不可欠なことであった。本研究では、このような常識を打ち破り、無保護かつワンポットでオリゴ糖を、位置ならびに立体選択的に合成することを目的とする。これは、申請者が世界に先駆けて開発してきた、水中における活性中間体の調製、および水中での完全立体選択的配糖化、という二つの基盤技術の融合により、初めて可能となるものである。

(1) 糖オキサゾリン糖供与体の一段階合成

糖オキサゾリン誘導体は、酵素的配糖化反応における有用な中間体であることが知られている。しかし、その合成は、水酸基の保護、脱保護、アノマー位の活性化等の複数のステップを経て行われている。本研究では、2-アセタミド糖を、保護基を全く用いることなく、水中で、対応する糖オキサゾリン誘導体への変換する新しい方法論を開発する。

(2) 新規糖供与体 DMT 配糖体の一段階合成

酵素的配当化に用いる典型的な糖供与体であるフッ化糖や *p*-ニトロフェニル誘導体の合成は、これまで多段階の反応を経て合成されている。本研究は、トリアジン系脱水縮合剤である DMT-MM を、無保護糖に作用させることにより、水中で、対応する糖供与体を一段階で合成する新しい手法を開発する。

(3) 酵素触媒によるオリゴ糖の合成

配糖化反応は、本研究の根幹をなす部分で、特に綿密な実験計画が必要であり、以下の3つの観点から詳細な検討を行う。具体的には、活性化モノマーを最もよく認識する酵素触媒の探索、反応系内に混在するさまざまな化学種に対する酵素触媒の安定性に関する基

礎的知見の集積、配糖化条件の最適化を行う。

2. 研究の進捗状況

(1) 糖オキサゾリン糖供与体の一段階合成

無保護の2-アセタミド糖に、トリエチルアミンの存在下、塩化2-クロロジメチルイミダゾリニウムを作用させると、対応するオキサゾリン誘導体がほぼ定量的に得られることを見出した。本反応は、無保護のオリゴ糖、硫酸化糖、リン酸化糖など、これまでオキサゾリン化が困難とされていた糖に適応することができた。

(2) 新規糖供与体 DMT 配糖体の一段階合成

トリアジン系脱水縮合剤である DMT-MM を、2,6-ルチジンの存在下、無保護糖に作用させることにより、水中で、対応する活性糖供与体を一段階で合成する新しい手法を開発することに成功した。すなわち、グルコース、セロビオース、キシロビオースならびにキシログルカンオリゴ糖を、対応する DMT 糖へと変換した。従来、分子量の大きなオリゴ糖の活性化は極めて困難であり、本研究により比較的容易にオリゴ糖を活性化することが可能となった。

(3) 酵素触媒によるオリゴ糖の合成

最近我々の研究室で開発したフッ化糖を基質とする酵素スクリーニング法を用い、糖加水分解酵素であるセルラーゼの探索を行った。また、セロビオースあるいはキシロビオースから誘導される DMT 誘導体をモノマーとする酵素触媒重合により、セロオリゴ糖あるいはキシロオリゴ糖を簡便に合成することができた。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

(理由)

(1) 2-アセタミド無保護糖および中性オリゴ糖を、保護基を全く用いることなく、水中で、直接対応する活性化糖誘導体へと変換することができ、当初の目的を十分に達成することができた。特に、従来法では、合成困難であった重合度の大きなオリゴ糖の活性化に成功したことは、酵素的配糖化のスコープを大きく広げる結果となった。

(2) 一方、触媒酵素の探索に関しては、フッ化糖を用いる方法を駆使することにより、DMT 糖の重合触媒については、ある程度達成することができたが、糖オキサゾリンを基質とする酵素の探索については、今後検討の余地が残されている。

4. 今後の研究の推進方策

(1) 3年間の研究期間内において、保護基を全く用いることなく、無保護糖から活性糖供与体を合成し、さらにそれらの酵素触媒による配糖化反応プロセスを構築することができた。今後は、この基盤技術を、糖鎖医薬品の製造へと応用する研究へと発展させたい。具体的には、分子内にシアル酸を有する複雑なオリゴ糖をオキサゾリン化し、エンド酵素を用いる配糖化により、各種糖タンパク質の合成を試みる。

(2) また、DMT 糖を用いる配糖化反応の応用として、抗ピロリ菌活性を有する有用オリゴ糖の合成を行い、得られたオリゴ糖の抗ピロリ菌活性を評価する。

5. 代表的な研究成果

(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7件)

① T. Tanaka, M. Noguchi, M. Ishihara, A. Kobayashi, S. Shoda, Synthesis of Non-natural Xyloglucans by Polycondensation of 4,6-Dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl Oligosaccharides Monomers Catalyzed by Endo- β -1,4-glucanase, *Macromol. Symp.*, **297**, 200-209 (2010). 【査読有】

② T. Tanaka, M. Noguchi, K. Watanabe, T. Misawa, M. Ishihara, A. Kobayashi, S. Shoda, Novel dialkoxotriazine-type glycosyl donors for cellulase-catalysed lactosylation, *Org. Biomol. Chem.*, **8**, 5126-5132 (2010). 【査読有】

③ A. Kobayashi, T. Tanaka, K. Watanabe, M. Ishihara, M. Noguchi, H. Okada, Y. Morikawa, S. Shoda, 4,6-Dimethoxy-1,3,5-triazine oligo saccharides: Novel one-step preparable substrates for studying action of endo- β -1,4- glycanase III from *Trichoderma reesei*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **20**, 3588-3591 (2010). 【査読有】

④ T. Tanaka, W. C. Huang, M. Noguchi, A. Kobayashi, S. Shoda, Direct Synthesis of 1,6-anhydro sugars from unprotected glycol

pyranoses by using 2-chloro-1,3-dimethyl imidazolium chloride, *Tetrahedron Lett.*, **50**, 2154-2157 (2009). 【査読有】

⑤ M. Noguchi, T. Tanaka, H. Gyakushi, A. Kobayashi, S. Shoda, Efficient Synthesis of Sugar Oxazolines from Unprotected N-Acetyl-2-amino Sugars by Using Chloroformamidinium Reagent in Water, *J. Org. Chem.*, **74**, 2210-2212 (2009). 【査読有】

⑥ T. Tanaka, A. Kobayashi, M. Noguchi, K. Kimura, K. Watanabe, S. Shoda, Dimethoxy Triazine Glycosides as New Glycosyl Donors for Chemo-enzymatic Synthesis of Oligosaccharides, *J. Appl. Glycosci.*, **56**, 83-88 (2009). 【査読有】

⑦ T. Tanaka, M. Noguchi, A. Kobayashi, S. Shoda, A novel glycosyl donor for chemo-enzymatic oligosaccharide synthesis: 4,6-dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl glycoside, *Chem. Commun.*, 2016-2018, (2008) 【査読有】

[学会発表] (計2件)

① S. Shoda, Facile Chemo-Enzymatic Glycosylating Process through Dialkoxotriazine (DAT) Synthetic Intermediate, International Carbohydrate Symposium, 3, Aug., 2010, Makuhari Messe

② S. Shoda, One-pot chemo-enzymatic glycosylation, 236th ACS National Meeting, 21 Aug., 2008, Philadelphia, USA.

[図書] (計1件)

酵素利用技術体系

正田晋一郎、小林厚志、野口真人、NTS, 408-413, 2010

[産業財産権]

○出願状況 (計1件)

名称: N-アセチルグルコサミンが α で結合した糖誘導体の調製方法

発明者: 藤田雅也、土田明子、正田晋一郎、田中知成

権利者: 財団法人野口研究所

番号: 特願 2010-054874

出願年月日: 平成22年3月11日

国内外の別: 国内

[その他]

ホームページ

http://www.tohoku.ac.jp/japanese/2011/02/press_20110208-2.html