

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 1 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24590041

研究課題名(和文) エンド開裂による異性化を基盤とした生理活性糖鎖合成研究

研究課題名(英文) Synthesis of Biologically Active Oligosaccharide Using Anomerization Reaction via Endocyclic Cleavage Reaction

研究代表者

眞鍋 史乃 (Manabe, Shino)

国立研究開発法人理化学研究所・伊藤細胞制御化学研究室・専任研究員

研究者番号：60300901

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：アノマー炭素と環内酸素の間の結合が切断されるエンド開裂反応は極めて珍しい反応様式である。2位アミノ基と3位水酸基をカーバメート基で保護することによりエンド開裂反応が容易におこることを見出した。エンド開裂反応により生じる鎖状カチオンを還元やFriedel-Crafts反応により捕捉することにより、その存在を明らかにした。また、カーバメート基窒素原子上置換基効果を検討し、アセチル基の場合、完全に異性化することを見出した。これまでのグリコシド結合形成時にアノマー位の立体を決定するグリコシル化反応と異なり、複数の既存のグリコシド結合の1,2-trans体を1,2-cis体に変換可能であった。

研究成果の概要(英文)：The bond between anomeric position and external oxygen is cleaved in endocyclic cleavage reaction. Endocyclic cleavage reaction is rare in glycoscience. We found endocyclic cleavage reaction is promoted by protection of amino group at 2-amino group and 3-hydroxy group by cyclic carbamate group. Clear evidence of endocyclic cleavage reaction was demonstrated by capturing acyclic cation by reduction and intramolecular Friedel-Crafts reaction. Investigation on substituent effect reveals Ac group makes complete anomerization in various substrates. By using endocyclic cleavage reaction, existing multiple stereochemistries at anomeric position can be changed to α -isomer, which is difficult to be created by conventional glycosylation reaction. Novel α -linked chitosan oligomer was synthesized from β -chitosan in one-step.

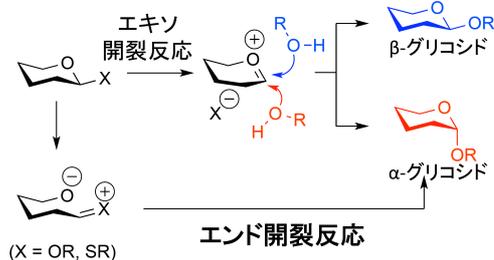
研究分野：有機化学、糖質科学

キーワード：糖 ピラノシド 異性化 エンド開裂反応 1,2-cis アミノグリコシド 置換基効果

1. 研究開始当初の背景

グリコシル化反応、酵素反応においてエキソ開裂反応が広く知られている。エキソ開裂反応では、アノマー炭素と環外酸素、あるいは活性化基との間の結合が切断され、環状カチオンを与える。一方、アノマー炭素と環内酸素との間の結合が切断されるエンド開裂反応は、限られた条件においてのみの存在は知られていたが、一般的には認知されていなかった。1986年に Karplus が糖加水分解酵素であるリゾチームと基質糖鎖の X 線結晶構造においてピラノシドが 4C_1 配座を保っていたことから、計算化学により、酵素によりエンド開裂反応がおこっていることを示唆した。その後、1990年代にかけて実験化学的にエンド開裂反応の証拠を示す試みが行われてきたが、基質がピラノシドそのものではなく、糖ミミックであることや、最大でも室温で、室温にて 30%程度しかエンド開裂反応を示さないこと等が報告されていた。また、反応機構からの観点のみの研究例の報告に限られていた。

申請時には、2,3-*trans* カーバメート基やカーボネート基を持つピラノシドが弱い酸性条件において容易に β 体から α 体へと異性化することを見出し、異性化反応がエンド開裂反応に基づくことをエンド開裂反応により生じる鎖状カチオンを還元、分子内・分子間 Friedel-Crafts 反応により捕捉することによる証拠を得ていた。



2. 研究の目的

上記のエンド開裂反応を有機合成化学的に有用な反応に発展させることを目的とした。最初に報告された 1893 年の Fischer グリコシル化反応以来、アノマー位の立体化学は、糖供与体と糖受容体との間でグリコシド結合が形成されるときに逐一形成されてきたが、エンド開裂反応を展開すれば、複数の既存のグリコシド結合のアノマー位の立体化学を一気に変換することが可能となる。

また、従来のグリコシル化反応では、1,2-*cis* グリコシル化反応の形成は困難である。特にアミノ糖の場合には、1,2-*cis* 体の合成のための糖供与体としては、2 位にアジド基を有する糖供与体のみしか候補がないが、その調整、また、グリコシル化反応における選択性には、問題があることが知られている。立体化学制御が容易である 1,2-*trans* グリコシドを構築した後、エンド開裂反応により、エンド開裂反応を経由した異性化反応を適用する

ことにより、これまでの 1,2-*cis* アミノグリコシドの合成の困難さを克服することを目的とした。

以上のように、これまでのグリコシル化反応とは活性種、立体制御法が異なる革新的反応に展開することが期待された。

3. 研究の方法

単糖、2 糖の 1,2-*trans* グリコシドの 2,3-*trans* カーバメート基上の置換基を系統的に変換し、異性化反応に適した置換基を見出す。さらにその置換基を様々なピラノシドに適用し、基質についての適用範囲を明らかにする。さらに、複数の 1,2-*trans* グリコシドを持つアミノ糖として、キトサン 4 糖を化学合成した後、2,3-*trans* カーバメート基の導入、ルイス酸による異性化反応を行うことにより、複数のグリコシド結合の立体化学を通常のグリコシル化反応では構築が困難である 1,2-*cis* アミノグリコシドへと変換する。

4. 研究成果

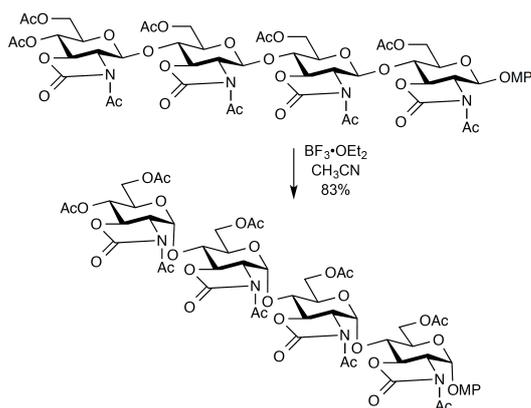
置換基効果を調べることを目的として、単糖チオグリコシドを基質として 2,3-*trans* カーバメート基窒素原子上置換基効果を検討した。ベンジル基を基準として、電子を求引する *o*-ニトロベンジル基、電子を供与する *p*-メトキシベンジル基、アノマー位に生じるカチオンを安定化するニトリル基やアシル基を導入したが、異性化の程度は中程度にとどまった。一方、アルキル基からアシル基であるアセチル基、メトキシカーバメート基、アシルオキシカーバメート基、トリクロロエチルカーバメート基、ベンジルオキシカーバメート基に置換すると 1,2-*cis* グリコシドへの完全な異性化反応が観測された。特にアセチル基の場合に、速やか、かつ、完全な異性化反応が観測された。

置換基効果は *O*-グリコシドである 2 糖についても同様であり、アセチル基の場合には、完全な異性化が観測され、異性化条件において、糖鎖合成に汎用される保護基も安定であった。

ルイス酸として一般的な $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ が有効であったが、その当量を触媒量まで抑えることができることも見出した。

さらに、複数の既存のグリコシド結合のアノマー位の立体化学を一気に変換することができることを示すために、1,2-*trans* キトサン 4 糖について、本異性化反応を適用した。1,2-*trans* キトサン 4 糖は、2 位アミノ基をフタルイミド基で保護し、水酸基を適宜保護したグルコサミンを用いて行った。フタルイミド基を除去し、*N*-アセチル 2,3-*trans* カーバメート基の導入、酸による異性化反応を行うと、既存の 1,2-*trans* グリコシドが一気に 1,2-*cis* グリコシドへと変換できた。合成した 4 糖は、

新規糖オリゴマーである。



本研究遂行に伴い、副次的な成果として、フッ化糖の簡便な活性化法を見出した。フッ化糖の活性化は、テクニカル的に煩雑な操作を必要としていたが、市販の $\text{Hf}(\text{OTf})_4$ を用いて、簡便にグリコシル化反応を行うことができる。

また、通常の保護基は、温和な条件においては、安定であり、強い条件で除去する。水酸基をスルホニルカーバメート基で保護することにより、強塩基性で安定であるが、弱い塩基性条件により除去できるユニークな保護基を見出した。

以上により、Fischer グリコシル化反応の開発以来、100 年以上行われて来たグリコシド結合の立体化学制御法と異なる手法の開発に成功した。本手法は、1) 活性種が通常のグリコシド反応と異なり、鎖状カチオンであること、2) 糖供与体と糖受容体からグリコシド結合形成時にアノマー位の立体化学を逐一制御するのではなく、既存の複数のグリコシド結合の立体化学を変換することが可能であること、3) 通常のグリコシル化反応では構築が困難である 1,2-*cis* アミノグリコシドが完全な選択性で合成できること、の特長を持つ。生理活性を持つ糖鎖には 1,2-*cis* アミノグリコシド構造が多く見られることから、合成化学的にも有用な方法論になると期待できる。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 8 件)

1. “Pyranosides with 2,3-*trans* Carbamate Groups: Exocyclic or Endocyclic Cleavage Reaction?” Shino Manabe, Yukishige Ito, *Chem. Rec.* **2014**, 査読有、14, 502-515: DOI: 10.1002/tcr.201402004.
2. “Significant Substituent Effect on the Anomerization of Pyranosides: Mechanism of Anomerization and Synthesis of a 1,2-*cis* Glucosamine Oligomer from the 1,2-*trans* Anomer” Shino Manabe, Hiroko Satoh, Jürg Hutter, Hans Peter Lüthi, Teodoro Laino, Yukishige Ito, *Chem. Eur. J.* 査読有、**2014**, 20, 124-132: DOI:

10.1002/chem.201303474.

3. 「2,3-*trans* カーバメート基を持つ糖構造の特異な反応性: 糖化学におけるエンド開裂反応の再発見」眞鍋史乃、佐藤寛子、*有機合成化学協会誌*、査読有、**2013**, 71, 616-624: DOI: 10.5059/yukigoseikyokaishi.71.616.
4. “Glycosylation Reaction: Relationship between Conformation and Reactivity, Investigation From Experimental and Computational Chemistry” Hiroko Satoh, Shino Manabe, *Chem. Soc. Rev.* 査読有、**2013**, 42, 4297-4309: DOI: 10.1039/c3cs35457a.
5. “Hafnium(IV) Tetratriflate in Selective Reductive Carbohydrate Benzylidene Acetal Opening Reaction and Direct Silylation Reaction” Shino Manabe, Yukishige Ito, *Tetrahedron Lett.* 査読有、**2013**, 54, 6838-6840: DOI: 10.1016/j.tetlet.2013.10.011.
6. “Sulfonylcarbamate as a Versatile and Unique Hydroxy-Protecting Group: Protecting Group Stable under Severe Conditions and Labile under Mild Conditions” Shino Manabe, Masanori Yamaguchi, Yukishige Ito, *Chem. Comm.* 査読有、**2013**, 49, 8332-8334: DOI: 10.1039/c3cc43968b.
7. “Hafnium(IV) Tetratriflate as a Glycosyl Fluoride Activation Reagent” Shino Manabe, Yukishige Ito, *J. Org. Chem.* 査読有、**2013**, 78, 4568-4572: DOI: 10.1021/jo400282x.
8. “Electrochemical Generation of 2,3-Oxazolidinone Glycosyl Triflates as an Intermediate for Stereoselective Glycosylation” Toshiki Nokami, Akito Shibuya, Yoshihiro Saigusa, Shino Manabe, Yukishige Ito, Jun-ichi Yoshida, *Beilstein J. Org. Chem.* 査読有、**2012**, 8, 456-460: DOI: 10.3762/bjoc.8.52.

[学会発表] (計 20 件)

1. “Control of stereochemistry at anomeric centers via acyclic cation formation: The endocyclic cleavage reaction” Shino Manabe, Yukishige Ito, THE INTERNATIONAL CHEMICAL CONGRESS OF PACIFIC BASIN SOCIETIES 2015 (PACIFICHEM2015), December 19, 2015, Honolulu, USA
2. “Sulfonylcarbamate as a unique hydroxy protecting group: Protecting group stable under severe conditions yet labile under mild conditions” Shino Manabe, Yukishige Ito, THE INTERNATIONAL CHEMICAL CONGRESS OF PACIFIC BASIN SOCIETIES 2015 (PACIFICHEM2015), December 16, 2015, Honolulu, USA

3. “Reinvestigation of Glycosyl Bond Cleavage” Gordon Research Conference, Cellulosomes, Cellulases & Other Carbohydrate Modifying Enzymes, Aug. 6, 2015, Andover, USA (招待講演)
 4. 「非環状カチオンを経由するアノマー位立体制御法: エンド開裂反応とその合成的有用性」眞鍋史乃、第 34 回日本糖質学会年会、2015 年 8 月 1 日、安田講堂 (東京都・文京区) (招待講演)
 5. “Pyranosides with 2,3-*trans* Carbamate Group: Exocyclic Cleavage or Endocyclic Cleavage?” Shino Manabe, Gordon Research Conference, Carbohydrates Frontiers in Basic and Translational Glycosciences, June 16, 2015, West Dover, USA (招待講演)
 6. 「強塩基性条件において安定で、弱塩基性条件において除去可能である保護基の開発」眞鍋史乃、伊藤幸成、第 95 回日本化学学会年会、2015 年 3 月 27 日、日本大学理工学部船橋キャンパス (千葉県・船橋市)
 7. 「オリゴキトサン異性化による *cis*-オリゴキトサン創製」眞鍋史乃、伊藤幸成、日本応用糖質科学会平成 26 年度大会 (第 63 大会) 2014 年 9 月 24 日、朱鷺メッセ新潟コンベンションセンター (新潟県・新潟市)
 8. 「温和な塩基性条件において除去可能、かつ、強い塩基性条件において安定である保護基」眞鍋史乃、伊藤幸成、日本プロセス学会、2014 サマーシンポジウム、2014 年 8 月 1 日、タワーホール船堀 (東京都・江戸川区)
 9. 「異性化反応による mycothiol 合成研究」眞鍋史乃、伊藤幸成、第 33 回日本糖質学会年会、2014 年 8 月 12 日、名古屋大学豊田講堂 (愛知県・名古屋市)
 10. 「異性化反応による 1,2-*cis* アミノグリコシドの合成」眞鍋史乃、伊藤幸成、第 94 回日本化学学会年会、2014 年 3 月 28 日、名古屋大学東山キャンパス (愛知県・名古屋市)
 11. 「鎖状カチオンを経由したピラノシドの異性化反応による 1,2-*cis* アミノグリコシドオリゴマーの合成」、眞鍋史乃、佐藤寛子、Jurg Hutter, Hans Peter Luthi, Teodoro Laino, 伊藤幸成、第 39 回反応と合成の進歩シンポジウム、2013 年 11 月 6 日、九州大学医学部百年講堂 (福岡県・福岡市)
 12. “Synthesis of α -glycosamine oligomer from β -glucosamine oligomer by endocyclic cleavage reaction” Shino Manabe, Yukishige Ito, 10th Asia-Pacific Chitin& Chitosan Symposium, October 5, 2013, Yonago, Japan
 13. 「既存グリコシドの異性化反応を利用した新規糖鎖合成」、眞鍋史乃、伊藤幸成、日本プロセス化学会 2013 サマーシンポジウム、2013 年 7 月 18 日、つくば交際会議場 (茨城県・つくば市)
 14. 「鎖状カチオンを経由する 1,2-*cis* グルコサミンオリゴマーの合成」眞鍋史乃、伊藤幸成、第 32 回日本糖質学会、2013 年 8 月 5 日、大阪国際交流センター (大阪府・天王寺区)
 15. 「ピラノシドのエンド開裂反応と置換基効果」眞鍋史乃、石井一之、越野広雪、伊藤幸成、第 133 回日本薬学会年会、2013 年 3 月 28 日、パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市)
 16. 「グリコシル化反応の溶媒効果に関する理論的研究: オキサカルベニウム-カウンターイオン中間体の立体配座による立体選択性の制御」佐藤寛子、ハルバーハンセン、眞鍋史乃、ウィルフレドファン グンステレン、フィリップヒューネンベルガー、第 6 回分子科学討論会、2012 年 9 月 18 日、東京大学本郷キャンパス (東京都・文京区)
 17. “Endo/Exo C-O Bond Cleavage Manners of Glycosides with 2,3-*trans* or 2,3-*cis* Cyclic Protecting Groups” Hiroko Satoh, Shino Manabe, Yukishige Ito, Hans Peter Luethi, Teodoro Laino, Juerg Hutter, 26th International Carbohydrate Symposium July 26, 2012, Madrid, Spain
 18. “Pyranoside Conformational Effect on Reactivity and Selectivity in Glycosylation Reactions” Shino Manabe, Kazuyuki Ishii, Hiroko Satoh, Daisuke Hashizume, Yukishige Ito, 26th International Carbohydrate Symposium July 26, 2012, Madrid, Spain
 19. 「エンド開裂反応を利用した 1,2-*cis* アミノグリコシドアノマー位立体制御と新規糖鎖合成」眞鍋史乃、佐藤寛子、石井一之、越野広雪、橋爪大輔、Hans P. Luethi, Teodoro Laino, Juerg Hutter, 伊藤幸成、第 54 回天然有機化合物討論会、2012 年 9 月 20 日、東京農業大学世田谷キャンパス百周年記念講堂 (東京都・世田谷区)
 20. 「グリコシドの C-O 結合開裂反応: 2,3-*trans* に環状保護基をもつグリコシドにおけるエンド開裂反応の主要支配因子の解明と反応性予測」佐藤寛子、眞鍋史乃、伊藤幸成、Hans P. Luethi, Teodoro Laino, Juerg Hutter, 第 101 回有機合成化学協会シンポジウム、2012 年 6 月 7 日、慶応義塾大学薬学部マルチメディア講堂 (東京都・港区)
- 〔図書〕 (計 3 件)
1. “1,2-*cis* aminoglycoside” in “Glycoscience: Biology and Medicine”, Eds. Taniguchi Naoyuki, Endo Tamao, Gerard Hart, Peter Seeberger, Chi-Huey

- Wong, Springer, **2015**, Shino Manabe, 1568 (359-363).
2. 「立体選択的グリコシル化合成」 「糖鎖の新機能開発・応用ハンドブック～創薬・医療からヘルスケアまで」 秋吉一成、津本浩平、加藤晃一、鷹羽武史、深瀬浩一、古川鋼一編集、エヌ・ティー・エス出版、**2015**, 眞鍋史乃、678 (307-309)
3. “1,2-Anhydro Mannose” in “Carbohydrate Chemistry: Proven Methods” Vol. 2, Paul Kovác, G. van der Marel. J. Codee eds, CRC-press, **2013**, Shino Manabe, Qingju Zhang, Yukishige Ito, 293 (234-238).

〔産業財産権〕

○出願状況（計 2 件）

名称：「糖鎖化合物および糖鎖化合物の製造方法」

発明者：眞鍋史乃、石井一之、佐藤寛子

権利者：理化学研究所、情報・システム研究機構

種類：特許

番号：PCT/JP2013/73398

出願年月日：2013 年 8 月 30 日

国内外の別：国外

名称：「糖鎖化合物および糖鎖化合物の製造方法」

発明者：眞鍋史乃、石井一之、佐藤寛子

権利者：理化学研究所、情報・システム研究機構

種類：特許

番号：特願 2013-41312

出願年月日：2013 年 3 月 1 日

国内外の別：国内

○取得状況（計 2 件）

名称：「糖鎖化合物および糖鎖化合物の製造方法」

発明者：眞鍋史乃、石井一之、佐藤寛子

権利者：理化学研究所、情報・システム研究機構

種類：特許

番号：特願 2013-41312

出願年月日：2013 年 3 月 1 日

国内外の別：国内

名称：「糖鎖化合物および糖鎖化合物の製造方法」

発明者：眞鍋史乃、石井一之、佐藤寛子

権利者：理化学研究所、情報・システム研究機構

種類：特許

番号：PCT/JP2013/73398

出願年月日：2013 年 8 月 30 日

国内外の別：国外

〔その他〕

ホームページ等

<http://researchmap.jp/1250/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

眞鍋 史乃 (MANABE Shino)

国立研究開発法人理化学研究所・伊藤細胞

制御化学研究室・専任研究員

研究者番号：

60300901

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし