

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 23 日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25870140

研究課題名(和文) 脱離基中にアルデヒド基をもつ糖供与体を用いた分子内グリコシル化法の開発

研究課題名(英文) Development of an intramolecular glycosylation using glycosyl donor having aldehyde group as leaving group

研究代表者

土肥 博史(Dohi, Hirofumi)

千葉大学・融合科学研究科(研究院)・助教

研究者番号：10345928

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：生物学的に重要な糖鎖がもつ1,2-シス型グリコシド結合の立体選択的な構築法の確立を目指し、遊離可能なアルデヒド基を脱離基に持つ糖供与体を用いた効率的な分子内グリコシル化法の開発を試みた。糖供与体と糖受容体をアセタール結合によって複合体へと導き、これを用いて分子内グリコシル化反応を検討した結果、二級水酸基がフリーな複合体においては分子内でグリコシル化反応が進行することを見出した。上記研究においてチオフェニル基のオルト位にアルデヒド基を持つ糖供与体が通常のチオグリコシドは活性化されないTMSOTfなどのルイス酸によって活性化されグリコシル化反応が進行することを明らかとした。

研究成果の概要(英文)：Toward stereoselective construction of 1,2-cis glycosides, we attempted to develop an efficient intramolecular glycosylation methodology using glycosyl donors having thiosalicyl aldehyde as leaving group. Glycosyl donor and acceptor could be tethered regioselectively by acetal linkage using aldehyde group in glycosyl donor, and the conjugate was subjected to glycosylation reaction to confirm if the glycosylation was proceeded intramolecularly or not. When MeOTf was employed as a promoter, conjugates having secondary alcohol showed intramolecular glycosylation whereas those having primary alcohol preferred intermolecular reaction. Alternatively, we found that glycosyl donor having thiosalicyl aldehyde as an aglycon could be chemoselectively activated by TMSOTf alone that is inactive against general thioglycosides.

研究分野：複合化学

キーワード：グリコシル化 立体選択性 位置選択性 糖鎖合成 反応性 脱離基 アセタール 化学選択性

### 1. 研究開始当初の背景

糖鎖合成において最も重要な反応であるグリコシル化は、一般的にアノマー位に脱離基をもつ糖供与体と、水酸基をもつ糖受容体とを分子間反応させることで、グリコシド結合を生成する。グリコシド結合は、アノマー位の立体(体・体)と糖供与体の水酸基の位置によって多種の異性体が生成するため、適切な脱離基を選定することと、反応させない水酸基を適切に保護することが重要である。近年のグリコシル化法の発展はめざましく、種々の生理活性糖鎖の合成が可能となってきたが、依然として構築が困難であり、生物学的に重要なグリコシド結合として、(1)アノマー位と2位の酸素原子が同一方向に向いた、1,2-シス型グリコシド結合(2)ガングリオシド中に含まれるβ-シアルリル結合(3)大きな糖鎖同士もしくは大きい糖鎖と脂質の結合、などが挙げられる。これらグリコシド結合を立体選択的に形成する有効な手段として、分子内グリコシル化法が研究されてきた。分子内グリコシル化反応は、糖受容体と糖供与体を適切なリンカーを用いて、空間上に特異的に配置することで、グリコシル化反応における反応性および立体選択性が著しく向上する。しかしながら、リンカーを適切な位置に導入するために、糖供与体と糖受容体ともに多段階の保護・脱保護反応を経て合成しなければならず、非常に煩雑な合成操作が要求される。よって、より簡便な分子内グリコシル化反応を開発することができれば、糖鎖合成における画期的な手法となる。

申請者は、チオサリチル酸メチルを脱離基にもつ糖供与体を開発し、不快なチオール臭を発生することなく、効率的にオリゴ糖類を合成できることを報告してきた。最近、この糖供与体の脱離基中のカルボキシメチル基を、カルボン酸やアルデヒドなどに変換することで、エステル結合やアセタール結合を介して糖受容体と直接結合できること、そして、エステル結合したものがグリコシル化反応を起こし、二糖を与えることを見出した。この方法を分子内グリコシル化法へ適用することで、従来の分子内グリコシル化に必要であった、糖供与体と糖受容体の保護・脱保護反応の工程数を大幅に減らすことが可能となり、形成が困難なグリコシド結合を簡便に構築できる。また、使用できる官能基に乏しくリンカーの導入が困難なシアル酸などにも適用可能である。

### 2. 研究の目的

糖と糖を結合するグリコシル化反応は近年格段に発達してきたが、未だ糖の立体や結合位置の制御が難しい例が多い。通常法では構築が難しいグリコシド結合を形成する場合、分子内グリコシル化法は有効な手段であるが、多段階にわたる保護・脱保護反応を必要とするため非常に煩雑な方法である。本研

究では、上記の欠点を解消することを目的として、遊離可能なアルデヒド基を脱離基に持つ糖供与体を用いて、効率的な分子内グリコシル化法の開発を行う。さらに本法を用いて、構築が難しい1,2-シス型グリコシド結合の立体選択的な構築法を確立し、生物学的に重要な糖鎖の効果的な合成を目指した。

### 3. 研究の方法

本研究で提案する遊離可能なアルデヒド基を脱離基に持つ糖供与体を用いて、分子内グリコシル化法を検討し、天然の糖鎖に多く発現している1,2-シス型グリコシド結合の構築を目指し、以下の研究を遂行した。

(1)遊離可能なアルデヒド基を脱離基中に持つ糖供与体の合成法と糖供与体への導入法の確立

(2)糖供与体-糖受容体複合体を用いた分子内グリコシル化の反応条件や複合体の構造による反応性、各種選択性の評価

(3)遊離可能なアルデヒド基を脱離基中に持つ糖供与体を用いた分子間グリコシル化の検討

### 4. 研究成果

(1)遊離可能なアルデヒド基を脱離基中に持つ糖供与体の合成法と糖供与体への導入法の確立

チオサリチル酸を脱離基に持つガラクトース型糖供与体に対して、けん化、還元および酸化反応を順次施すことでアルデヒド基を脱離基に持つ糖供与体の合成法を確立した。得られた糖供与体をアセタール結合を介して糖受容体に導入して複合体を形成する手法を検討した結果、*p*-トルエンスルホン酸を触媒に用いてトルエン中加熱還流することで、糖供与体を位置選択的かつ高効率にて糖受容体に導入できることがわかった。

(2)糖供与体-糖受容体複合体を用いた分子内グリコシル化の反応条件や複合体の構造による反応性、各種選択性の評価

活性化剤としてNIS/TfOHもしくはDMTSFを用いると効率よく二糖を与えること、そして複合体の構造によって高いβ-選択性が発現することがそれぞれ明らかとなった。しかしながら、分子間で行う常法に比べて反応性が低くなることがわかった。その原因をチオエーテルのオルト位にアセタール結合があるために糖供与体としての反応性が低下しているためと予想し、チオフェニル基のオルト位にアルデヒド基を持つ糖供与体を糖受容体と複合化せずに分子間グリコシル化を行った。その結果、反応はスムーズに進行し対応する二糖を良好な収率で与えたことから、複合体の低い反応性は反応するアルコールの近傍にアセタール結合を介した糖供与

体が存在することによる立体的な要因であることが推測された。そこで、アセタールを位置選択的に還元開裂することで糖供与体と糖受容体の結合様式をより柔軟な構造を持つベンジルエーテルに変換し、これを用いた分子内グリコシル化反応を検討した。その結果、様々な形状の複合体のなかでも一級水酸基がフリーの複合体ではいかなる条件でも分子間反応が優先することがわかった。その一方で二級水酸基がフリーな複合体においては、MeOTf を活性化剤に用いた場合において分子内でグリコシル化反応が進行することがわかり、反応温度が高いほど優れた立体選択性を示すことを見出した。

(3) 遊離可能なアルデヒド基を脱離基中に持つ糖供与体を用いた分子間グリコシル化の検討

上記研究(1)および(2)を遂行する際に、チオフェニル基のオルト位にアルデヒド基を持つ糖供与体(チオサリチルアルデヒド型糖供与体)が通常はチオグリコシドは活性化されない TMSOTf などのルイス酸によって活性化されグリコシル化反応が進行することを見出した。本糖供与体の立体選択性や活性化剤感受性などを詳細に調べた結果、チオサリチルアルデヒド型糖供与体はチオフェニル基をアグリコンに持つ糖受容体存在下でも化学選択的に活性化され、対応する二糖のみを与えることを明らかとした。また、TMSOTf の代わりに Tf<sub>2</sub>O を活性化剤として用いると反応率が大幅に向上することが分かった。さらに、イミデート糖供与体とチオサリチルアルデヒドをアグリコンとして有する糖受容体を共存させて TMSOTf を用いてグリコシル化を行ったところ、イミデートが特異的に活性化され対応する二糖のみを与えることを新たに見出した。本法による連続グリコシル化反応を検討した結果、チオグリコシドのみを用いた場合においてもワンポットで3回の連続的グリコシル化反応を達成することができた。

## 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6件)

- 1) Yuan, M., Fukuda, K., Dohi, H., Uzawa, H., Nishida, Y., "Comparative analyses of helical property in asymmetric 1,2-diacyl-sn-glycerols by means of circular dichroism (CD) and <sup>1</sup>H NMR spectroscopies: Notable effects of substituting groups at sn-3 position," *Tetrahedron: Asymmetry* 2015, 20, 1138-1144. (査読有)  
doi: 10.1016/j.tetasy.2015.08.012
- 2) Fukuda K., Tojino M., Goto K., Dohi H.,

Nishida Y., Mizuno M., "A recyclable heavy fluorine tag carrying an allyl alcohol pendant group: design and evaluation toward applications in synthetic carbohydrate chemistry," *Carbohydr. Res.* 2015, 407, 122-130. (査読有)

doi: 10.1016/j.carres.2015.02.002

- 3) Dohi, H., Kanazawa, T., Saito, A., Sato, K., Uzawa, H., Seto, Y., Nishida, Y., "Bis(β-lactosyl)-[60]fullerene as novel class of glycolipids useful for the detection and the decontamination of biological toxins of the *Ricinus communis* family," *Beilstein J. Org. Chem.* 2014, 10, 1504-1512. (査読有)  
doi: 10.3762/bjoc.10.155
- 4) Cui Z., Ito J., Dohi H., Amemiya Y., Nishida Y., "Molecular Design and Synthesis of Novel Salicyl Glycoconjugates as Elicitors against Plant Diseases," *PLOS ONE* 2014, 9, 1-9. (査読有)  
doi: 10.1371/journal.pone.0108338
- 5) Fukuda, K., Tojino, M., Goto, K., Dohi, H., Nishida, Y., Mizuno, M., "Preparation of acid-resistant heavy fluorine tags for recycling in synthetic systems," *J. Fluorine Chem.* 2014, 166, 52-59. (査読有)  
doi: 10.1016/j.jfluchem.2014.07.014
- 6) Dohi, H., Nishida, Y., "Odorless Access to Thioglycosides for Oligosaccharide Synthesis: Their Design and Advanced Procedures for Thioglycosidation," *Trend. Glycosci. Glycotechnol.* 2014, 26, 119-130. (査読有)  
doi: 10.4052/tigg.26.119

[学会発表](計30件)

- 1) 駒井亮太、堺英俊、佐々木リサ、西田芳弘、土肥博史、「脱離基中にアルデヒドを持つチオグリコシドドナーに関する研究」, 日本農芸化学会 2016 年度大会, 平成 28 年 3 月 29 日, 札幌コンベンションセンター(北海道・札幌市)
- 2) 小林真己、田村真奈美、西田芳弘、土肥博史、「水酸基近傍にチオエーテルを有する糖受容体を用いた 1,2-cis 選択的グリコシル化」, 日本農芸化学会 2016 年度大会, 平成 28 年 3 月 29 日, 札幌コンベンションセンター(北海道・札幌市)
- 3) 江澤あやめ、木村智文、金澤尊、小林真己、駒井亮太、西田芳弘、土肥博史、「脱

- 離基中の官能基の違いによる新しい連続グリコシル化法の開発」,日本農芸化学会 2016 年度大会,平成 28 年 3 月 29 日,札幌コンベンションセンター(北海道・札幌市)
- 4) Dohi, H., Kimura, T., Kanazawa, T., Ezawa, A., Kobayashi, M., Komai, R., Nishida, Y. " Sequential glycosylation method using phenylthioglycoside with arming or disarming group in the aryl ring," Pacifichem2015, 平成 27 年 12 月 19 日, Hawaii Convention Center (Honolulu, USA)
  - 5) Komai, R., Sakai, H., Sasaki, R., Nishida, Y., Dohi, H. " Reaction behavior of thioglycoside donors having aldehyde in leaving group," Pacifichem2015, 平成 27 年 12 月 19 日, Hawaii Convention Center (Honolulu, USA)
  - 6) Kobayashi, M.; Tamura, M., Ezawa, A., Nishida, Y., Dohi, H., " Stereoselective glycosylation using thioether groups in glycosyl acceptor," Pacifichem2015, 平成 27 年 12 月 19 日, Hawaii Convention Center (Honolulu, USA)
  - 7) 駒井亮太、堺英俊、佐々木リサ、西田芳弘、土肥博史,「脱離基中にアルデヒドを持つチオグリコシド型糖供与体の反応挙動」, GlycoTOKYO2015 シンポジウム, 平成 27 年 10 月 24 日, 慶應義塾大学矢上キャンパス(神奈川県・横浜市)
  - 8) 小林真己、田村真奈美、江澤あやめ、駒井亮太、西田芳弘、土肥博史,「水酸基近傍にチオエーテルを有する糖受容体を用いたグリコシル化」, GlycoTOKYO2015 シンポジウム, 平成 27 年 10 月 24 日, 慶應義塾大学矢上キャンパス(神奈川県・横浜市)
  - 9) 江澤あやめ、木村智文、金澤尊、小林真己、駒井亮太、西田芳弘、土肥博史,「芳香環上に電子供与性または電子吸引性基を持つフェニルチオグリコシドを用いた連続グリコシル化法」, GlycoTOKYO2015 シンポジウム, 平成 27 年 10 月 24 日, 慶應義塾大学矢上キャンパス(神奈川県・横浜市)
  - 10) 駒井亮太、堺英俊、佐々木リサ、西田芳弘、土肥博史,「脱離基中にアルデヒドを持つチオグリコシド型糖供与体の反応挙動」, 第 34 回日本糖質学会年会, 平成 27 年 8 月 2 日, 東京大学安田講堂(東京都・文京区)
  - 11) 小林真己、田村真奈美、江澤あやめ、駒井亮太、西田芳弘、土肥博史,「水酸基近傍にチオエーテルを有する糖受容体を用いたグリコシル化」, 第 34 回日本糖質学会年会, 平成 27 年 8 月 2 日, 東京大学安田講堂(東京都・文京区)
  - 12) 江澤あやめ、木村智文、金澤尊、小林真己、駒井亮太、西田芳弘、土肥博史,「芳香環上に電子供与性または電子吸引性基を持つフェニルチオグリコシドを用いた連続グリコシル化法」, 第 34 回日本糖質学会年会, 平成 27 年 8 月 1 日, 東京大学安田講堂(東京都・文京区)
  - 13) 駒井亮太、木村智文、堺英俊、西田芳弘、土肥博史,「脱離基中にアルデヒドを持つチオグリコシドドナーに関する研究」, 日本農芸化学会 2015 年度大会, 平成 27 年 3 月 28 日, 岡山大学津島キャンパス(岡山県・岡山市)
  - 14) 小林真己、田村真奈美、江澤あやめ、西田芳弘、土肥博史,「糖受容体中のチオエーテル基がアシストする全く新しい 1,2-cis 選択的グリコシル化法に関する研究」, 日本農芸化学会 2015 年度大会, 平成 27 年 3 月 28 日, 岡山大学津島キャンパス(岡山県・岡山市)
  - 15) Dohi, H., Kanazawa, T., Sato, K., Seto, Y., Uzawa, H., Nishida, Y., " Bis( -lactosyl)-fullerene as novel class of glycolipids useful for detection and decontamination of biological toxins in Ricinus communis family," 2014 Joint Meeting of the Society for Glycobiology and the Japanese Society of Carbohydrate Research, 平成 26 年 11 月 18 日, Hilton Hawaiian Village Waikiki Beach Resort (Honolulu, USA)
  - 16) 駒井亮太、若杉裕樹、西田芳弘、土肥博史,「脱離基中にアルデヒドを持つ糖供与体の反応挙動」, GlycoTOKYO2014 シンポジウム, 平成 26 年 11 月 8 日, 千葉大学松戸キャンパス(千葉県・松戸市)
  - 17) 田村真奈美、若杉裕樹、西田芳弘、土肥博史,「アクセプターの立体配置の違いによるシアリル化の反応挙動」, GlycoTOKYO2014 シンポジウム, 平成 26 年 11 月 8 日, 千葉大学松戸キャンパス(千葉県・松戸市)
  - 18) 駒井亮太、若杉裕樹、西田芳弘、土肥博史,「脱離基中にアルデヒドを持つ糖供与体の反応挙動」, 第 33 回日本糖質学会年会, 平成 26 年 8 月 10 日, 名古屋大学豊田講堂(愛知県・名古屋市)
  - 19) 田村真奈美、若杉裕樹、西田芳弘、土肥博史,「様々な立体配置を持つアクセプターを用いたシアリル化反応の検討」, 第 33 回日本糖質学会年会, 平成 26 年 8 月 10 日, 名古屋大学豊田講堂(愛知県・名古屋市)
  - 20) 福田和男、戸治野真美、後藤浩太郎、土肥博史、西田芳弘、水野真盛,「炭素-炭素結合型ヘビーフルオラストグを利用した糖鎖合成」, 第 33 回日本糖質学会年会, 平成 26 年 8 月 12 日, 名古屋大学豊田講堂(愛知県・名古屋市)

- 21) 若杉裕樹、田山和哉、駒井亮太、池田理絵、木村智文、西田芳弘、土肥博史、「チオサリチル酸メチルを脱離基に持つシアリルドナーに関する研究」,日本農芸化学会 2014 年度大会,平成 26 年 3 月 29 日,明治大学生田キャンパス(神奈川県・川崎市)
- 22) 田村真奈美、櫻井理沙、小林真己、西田芳弘、土肥博史、「チオサリチル酸誘導体を脱離基にもつ各種糖供与体の反応挙動」,日本農芸化学会 2014 年度大会,平成 26 年 3 月 29 日,明治大学生田キャンパス(神奈川県・川崎市)
- 23) Dohi, H., Sakurai, R., Tamura, M., Nishida, Y., “Reactivity of Thioglycosyl Donors Carrying Thiosalicylic Acid Derivatives,” 27th International Carbohydrate Symposium, 平成 26 年 1 月 15 日, Indian Institute of Science (Bangalore, India)
- 24) Fukuda, K., Tojino, M., Goto, K., Dohi, H., Nishida, Y., Mizuno, M., “Design of an acid resistant heavy fluorine tag-supported oligosaccharide synthesis,” 27th International Carbohydrate Symposium, 平成 26 年 1 月 15 日, Indian Institute of Science (Bangalore, India)
- 25) 福田和男、戸治野真美、後藤浩太郎、土肥博史、西田芳弘、水野真盛、「耐酸性ヘビフルオラスタグを用いた糖鎖合成」,フルオラス科学研究会第 6 回シンポジウム,平成 25 年 11 月 1 日,岡山国際交流センター(岡山県・岡山市)
- 26) 土肥博史、尾山知絵、松田幸枝、松田和洋、西田芳弘、「肺炎マイコプラズマに由来する糖脂質抗原の合成研究」,第 32 回日本糖質学会年会,平成 25 年 8 月 7 日,大阪国際交流センター(大阪府・大阪市)
- 27) 若杉裕樹、田山和哉、西田芳弘、土肥博史、「チオサリチル酸メチルを脱離基に持つシアリルドナーに関する研究」,第 32 回日本糖質学会年会,平成 25 年 8 月 7 日,大阪国際交流センター(大阪府・大阪市)
- 28) 須山奈月、藤田実加子、田澤健太、齋藤明広、西田芳弘、土肥博史、「放線菌 ABC 輸送体の基質特異性解明に向けたキトビオース型二糖類の合成」,第 32 回日本糖質学会年会,平成 25 年 8 月 7 日,大阪国際交流センター(大阪府・大阪市)
- 29) 櫻井理沙、田村真奈美、西田芳弘、土肥博史、「チオサリチル酸誘導体を脱離基に持つグリコシルドナーの反応挙動」,第 32 回日本糖質学会年会,平成 25 年 8 月 7 日,大阪国際交流センター(大阪府・大阪市)
- 30) 福田和男、戸治野真美、後藤浩太郎、土肥博史、西田芳弘、水野真盛、「耐酸性ヘビフルオラスタグの開発と糖鎖合成への応用」,第 32 回日本糖質学会年会,平

成 25 年 8 月 6 日,大阪国際交流センター(大阪府・大阪市)

〔図書〕(計 1 件)

1. 西田芳弘、土肥博史(2014)、「マイクロナノカプセルの調製、徐放性制御と応用例」,第 16 節,pp 80-87,「グライコナノカプセルの調製と機能評価」,技術情報協会編,510 ページ

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

土肥 博史 (Dohi, Hirofumi)  
千葉大学・大学院融合科学研究科・助教  
研究者番号: 10345928

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし