

平成22年 6月4日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2009

課題番号：19590010

研究課題名（和文） アリールボロン酸ダイマーの分子認識を利用した糖鎖の効率的合成法の開発

研究課題名（英文） Regioselective glycosylation of fully unprotected sugars by means of molecular recognition using arylboronic acid

研究代表者

西野 貴司（NISHINO TAKASHI）

北里大学・薬学部・講師

研究者番号：50180625

研究成果の概要（和文）：糖鎖を構築するうえで最大の問題となるのは、分子内に存在する複数の水酸基を識別し、いかに望みの水酸基とのみグリコシド結合を形成させるかという位置選択性の問題である。通常では、水酸基に保護基をあらかじめ導入した後にグリコシル化反応を行うという間接的方法がとられている。しかしこれでは糖水酸基の保護基の着脱に多段階の工程を必要とし、「糖を繋げる」という技術をより複雑で困難なものとしている。芳香族ボロン酸が2つの水酸基を認識する性質を利用し、あらかじめ遊離糖を芳香族ボロン酸で処理した後、精製することなく、直接グリコシル化反応を行うことで、様々な二糖をワンポットで合成する方法を確立した。

研究成果の概要（英文）：The methodology is adapted to molecular recognition of sugar structures with arylboronic acids, which form 5-membered boronates from 1,2-*cis*-dihydroxy groups, or 6-membered boronates from 1,3-dihydroxy groups. As expected glycosylation occurs on the left hydroxy group free from the boronate formation, and then the boronates are removed in situ by aqueous workup to yield various disaccharides in one-pot process.

Various hexoses, e.g., D-glucose, D-galactose, D-mannose were glycosylated, after boronate formation, with phenyl per-*O*-benzoyl-1-thio- β -D-glucopyranoside, β -D-galactopyranoside and α -D-mannopyranoside in the presence of promoters (NIS-TMSOTf) to furnish corresponding disaccharides; glycosyl- β (1 \rightarrow 6)-D-glucose, β (1 \rightarrow 6)-D-galactose, β (1,1)-D-mannoside in good yields.

This method would be of significance with respect to regio- and stereoselective glycosylation, which might contribute to simple, one-pot preparation of various oligosaccharides of biological interest.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
19年度	1,200,000	360,000	1,560,000
20年度	800,000	240,000	1,040,000
21年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・化学系薬学

キーワード：糖鎖、アリールボロン酸、分子認識、グリコシル化、無保護、位置選択性

1. 研究開始当初の背景

生体から微量にしか得られない糖鎖を化学合成により容易に入手できれば、糖鎖の機能解明とそれに伴う医薬品開発への貢献度は大きい。多様な糖鎖を正確に効率良く合成する手法の開発は糖鎖の合成化学における重要な課題である。

従来、望む位置の水酸基に新たな糖残基を導入するには、糖は複数の水酸基を有するので保護-脱保護法が用いられてきた。この方法では必然的に合成経路が長くなり、多くの時間と労力が必要であり、エネルギー効率と原子効率が悪いという欠点を抱えている。この煩雑さの克服は実用的な糖鎖合成において極めて重要な課題である。

2. 研究の目的

無保護糖を用いて、従来法（工程が長く煩雑な保護-脱保護法）によらない、新規な短工程糖鎖合成法の確立を目指す。ボロン酸は *cis*-ジオールと容易に水中で可逆的に、有機溶媒中で非可逆的に環状エステルを形成する。このエステルは空気中では安定であるが、水やアルコールを用いて温和な条件で除去できる。ジフェニルメタン骨格に2個のボロン酸残基を導入したアリールボロン酸ダイマーが、塩基性水溶液中でグルコースに高い親和性を示し、グルコースの1位と2位の水酸基および4位と6位の水酸基で1:1の環状構造をとると推定されている。このボロン酸ダイマーの性質を利用して遊離糖（ヘキソース）の5つの水酸基のうち4つをマスクングすることで遊離水酸基を1つに限定することが可能になる。すなわち、アリールボロン酸ダイマーが糖質を認識し、位置選択的に水酸基をマスクングすることを利用し、効率的な位置選択的なグリコシル化反応を開発することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) アリールボロン酸ダイマーの合成

① Bis(6-methoxyphenyl)methane-3,3'-diboronic acid (**1**) の合成

4-bromo-2-(hydroxymethyl)phenol をトルエン/スルホン酸で活性化し、4-bromophenol との求電子置換反応によりジフェニルメタン体を調製し、つづいて Williamson エーテル合成によりメトキシ体を得た。次に宮浦-石山ホウ素化により目的物 (**1**) の前駆体であるボロン酸エステル体を調製した。最後にポ

リスチレン-ボロン酸とのエステル交換によりボロン酸ダイマー (**1**) を合成した。

② Benzoic acid, 4-borono-, 1,1'-[1,2-phenylenebis(methylene)] ester (**2**) の合成
炭酸カリウム存在下 α, α' -dibromo-*o*-xylene と2当量の 4-carboxyphenylboronic acid とから *ortho*-ジボロン酸を合成した。

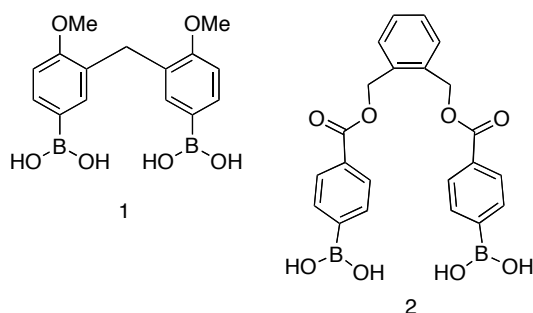


図1 アリールボロン酸ダイマー

(2) アリールボロン酸ダイマーとグルコースとの反応性の検討

グルコースと2種のアリールボロン酸ダイマーとを種々の有機溶媒中で、種々の条件（脱水剤の有無、反応温度）下で攪拌した。得られた反応物の構造を $^1\text{H-NMR}$ および質量分析により解析した。

(3) フェニルボロン酸による種々の遊離糖に対するボロン酸エステル形成反応

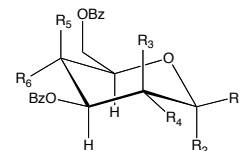
2当量のフェニルボロン酸とグルコースとをアセトン中 50°C で24時間攪拌した。糖水酸基のエステル結合部位を $^1\text{H-NMR}$ によって解析した。また、種々のヘキソース、6-デオキシ糖、ケトース等についても同様に行った

(4) フェニルボロン酸を用いる無保護遊離糖のグリコシル化反応の検討

グリコシルドナーとしてはベンゾイル保護チオグルコシド、チオガラクトシドおよびチオマンノシドを使用した。グリコシルアクセプターとしては種々の無保護遊離糖を使用した。

無保護遊離糖 (1当量) およびフェニルボロン酸 (2当量) に無水アセトン

(0.05M) を加え、 50°C で24時間攪拌した。溶



3 Glic type : $R_1=\text{SPh}$, $R_2=R_3=R_5=\text{H}$, $R_4=R_6=\text{OBz}$

4 Man type : $R_2=\text{SPh}$, $R_1=R_4=R_5=\text{H}$, $R_3=R_6=\text{OBz}$

5 Gal type : $R_1=\text{SPh}$, $R_2=R_3=R_6=\text{H}$, $R_4=R_5=\text{OBz}$

Bz=benzoyl 図2 グリコシルドナー

媒を留去後、グリコシルドナー(2~3当量)、*N*-ヨードコハク酸イミド(2.8当量)およびモレキュラーシーブス 5Å(100mg)を加えた後、反応容器を窒素置換し、無水1,2-ジクロロエタン(0.05M)を加えた。最後にトリフルオロメタンスルホン酸トリメチルシラン(0.2当量)を加え、種々の温度(-30℃~室温)で攪拌し、ドナーの消失をもって反応を停止した。反応後処理によりボロン酸をはずし、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィーで生成物を分離、精製した。

4. 研究成果

(1) アリールボロン酸ダイマーとグルコースとの反応

アリールボロン酸ダイマー(1)はグルコースと水溶液中でボロン酸エステル体(6)を形成することが報告されている(図3)。

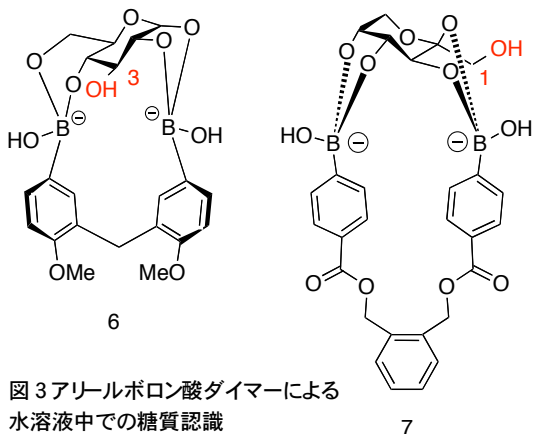


図3アリールボロン酸ダイマーによる水溶液中での糖質認識

したがって、有機溶媒中でも同様にグルコースの1位と2位の水酸基および4位と6位の水酸基を認識しエステル結合を形成すれば、3位水酸基だけがフリーのグリコシルアクセプターを系中で生成することができる。このボロン酸エステル体は簡単な後処理で除去することができる。すなわち、ボロン酸ダイマー(1)および無保護グルコースを適当な有機溶媒中でボロン酸エステル体を生成させた後、グリコシルドナーを加えグリコシル化反応を行えば、グルコースの3位にグリコシルドナーを導入することができ、位置選択的なグリコシル化反応が可能であることを期待した。しかしながら、水溶液中とは異なり、アセトン、ジクロロメタンおよびトルエンなどの有機溶媒中ではグルコースに対してボロン酸エステルを形成しなかった。また、*ortho*-ジボロン酸(2)は水溶液中でフルクトースの2位と3位の水酸基および4位と5位の水酸基を認識しエステル体(7)を形成することが報告(図3)されているので、2に対して有機溶媒中でのエステル形成反応を試みた。しかし、期待に反しエステル

体を得ることができなかった。

(2) フェニルボロン酸による種々の遊離糖に対するボロン酸エステル形成反応

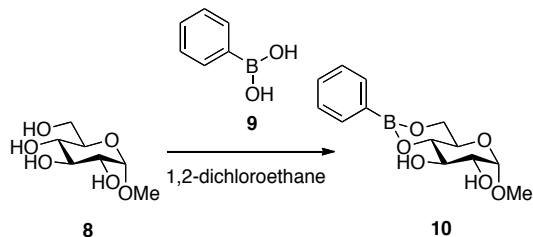


図4フェニルボロン酸によるメチルグルコシドの位置特異的ボロン酸エステル化

フェニルボロン酸(9)はメチルグルコシドに対して有機溶媒中で位置特異的にボロン酸エステル(10)を形成する(図4)。したがって、遊離グルコースに対し2当量のフェニルボロン酸(9)を作用させれば、ボロン酸ダイマー(1)が水溶液中で形成するボロン酸エステル体(6)と同様なジボロン酸エステルグルコース(11)を得ることができると考えた(図5)。

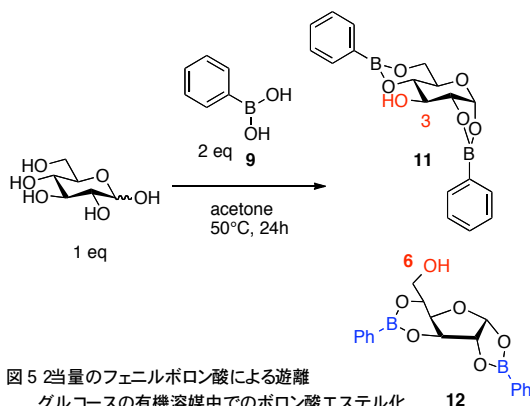


図52当量のフェニルボロン酸による遊離グルコースの有機溶媒中でのボロン酸エステル化

グルコースに対して2当量のフェニルボロン酸を加えアセトン中50℃で24時間攪拌後、溶媒を減圧留去し、生成物の構造を解析した。得られたジボロン酸エステル体はピラノースタイプの11ではなく、6位の水酸基がフリーのフラノースタイプのジボロン酸エステル体(12)であった。グルコース以外の遊離ヘキソースに対して同様な反応を行った。マンノースの場合は2位と3位の水酸基および4位と6位の水酸基とにボロン酸エステルが形成された1位水酸基フリー体が得られた。一方、ガラクトースの場合は、グルコースと同様な6位の水酸基がフリーのフラノースタイプと3位水酸基がフリーなピラノースタイプとが約1:1で得られた。また、種々のケトヘキソース、ペントース、アミノ糖およびウロン酸などについても調べたが、用いた糖それぞれに対し

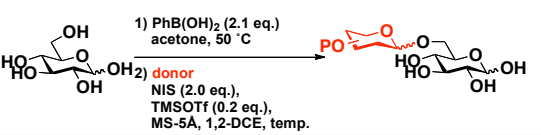
て特異的なボロン酸エステル体が形成されていることが推察されるが、現在まだ解析中である。


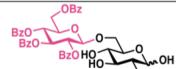
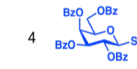
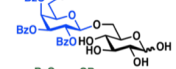
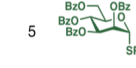
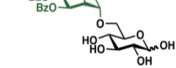
(3) フェニルボロン酸を用いる遊離糖の位置選択的グリコシル化反応

有機溶媒中でも無保護のグルコース（グリコシルアクセプター）に対して2当量のフェニルボロン酸を用いることで糖水酸基を位置特異的にマスキングできることがわかったので、これを反応系中で形成させれば保護基を用いなくても、グリコシルドナーを加えることで位置選択的にグリコシル化反応が可能であることが期待できた。

実際、グルコースと2当量のフェニルボロン酸をアセトン中 50°Cで24時間攪拌後、アセトンを減圧留去し、同じ反応容器中で溶媒をジクロロエタンに換え、グリコシルドナーとしてチオ糖 **3**~**5** を使い、NIS/TMSOTf をプロモーターとしてグリコシル化反応を行ったところ、いずれのドナーを用いた場合においても、位置選択的に(1→6)結合二糖を高収率で得ることができた(表1)

表1 フェニルボロン酸を用いる無保護グルコースの位置選択的グリコシル化反応



donor	(equiv.)	temp. (°C)	disaccharide	yield (%)
	2.0	-30		79
	2.0	-30		85
	2.0	-30		89

グリコシルアクセプターに無保護のマンノースを用いた場合は、予想どおり(1→1)結合でグリコシル化された大変興味深い非天然型トレハロース様二糖を高収率で得ることができた。

現在まで、グルコースやマンノースの他にも、ガラクトース、ケトースであるフルクトースやソルボース、ペントースであるリボース、さらに希少糖のタガトースにも適用できることを見出した。

フェニルボロン酸が糖の2つの水酸基を認識する性質を利用し、反応系中で無保護の遊離糖をフェニルボロン酸で処理したのち、精製することなく、直接グリコシル化反応を行うことで、様々な二糖をワンポットで合成する方法論を確立することができた。本法によ

り、天然および非天然型の様々な二糖ライブラリを効率良く構築することができた。本法をさらに発展させることで保護-脱保護法によらない無保護糖を用いる糖鎖の短工程合成の実用性を飛躍的に高めることが期待できる。

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1件)

Regioselective glycosylation of fully unprotected methyl hexopyranosides by means of transient masking of hydroxyl groups with arylboronic acids, E. Kaji, T.Nishino, K.Ishige, Y.Ohya, Y.Shirai, *Tetrahedron Lettes*, 51 (2010) 1570-1573, 査読有

[学会発表] (計9件)

1. アリールボロン酸の分子認識を利用した遊離糖の位置選択的グリコシル化反応の開発、白井裕子、石毛宏治、山本大介、西野貴司、牧野一石、梶英輔、日本薬学会第130年会、2010年3月29日、岡山

2. アリールボロン酸の分子認識を利用した遊離糖の位置選択的グリコシル化反応の開発、白井裕子、石毛宏治、山本大介、西野貴司、牧野一石、梶英輔、第6回北里化学シンポジウム、2009年12月9日、相模原(神奈川県)

3. アリールボロン酸の分子認識を利用した遊離糖の位置選択的グリコシル化反応の開発、白井裕子、石毛宏治、山本大介、西野貴司、牧野一石、梶英輔、第58回有機合成化学協会関東支部シンポジウム、2009年11月29日、長岡(新潟)

4. アリールボロン酸の分子認識を利用した遊離糖の位置選択的グリコシル化反応の開発、白井裕子、石毛宏治、山本大介、西野貴司、牧野一石、梶英輔、GlycoTOKYO2009シンポジウム、2009年11月14日、お茶の水(東京)

5. アリールボロン酸の分子認識を利用した遊離糖の位置選択的グリコシル化反応、白井裕子、石毛宏治、西野貴司、梶英輔、日本薬学会第129年会 2009年3月27日、京都

6. One-pot regioselective glycosylation of non-protected sugar by transient masking of hydroxyl groups with arylboronic acid, E. Kaji, K.Ishige, T.Nishino, 2nd EuChems Chemistry Congress (第2回欧州化学会議) 2008年9月17日、Torino (Italy)

7. アリールボロン酸の分子認識を利用した無保護糖の位置選択的グリコシル化反応の開発、石毛宏治、西野貴司、梶英輔、日

本薬学会第 128 年会 2008 年 3 月 26 日、横浜（神奈川）

8. アリールボロン酸の分子認識を利用した無保護糖の位置選択的グリコシル化反応の開発、石毛宏治、西野貴司、梶英輔、第 54 回有機合成化学協会関東支部シンポジウム、2007 年 12 月 1 日、新潟

9. アリールボロン酸の分子認識を利用した無保護糖の位置選択的グリコシル化反応の開発、石毛宏治、西野貴司、梶英輔、第 5 回北里化学シンポジウム、2007 年 11 月 21 日、白金（東京）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西野 貴司 (NISHINO TAKASHI)

北里大学・薬学部・講師

研究者番号：50180625

(2) 研究分担者

梶 英輔 (KAJI EISUKE)

北里大学・名誉教授

研究者番号：60050598