

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 20 日現在

機関番号：72690

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790034

研究課題名(和文) One-Potフルオラス合成法を用いた糖鎖ライブラリーの構築

研究課題名(英文) Construction of oligosaccharide library with one-pot fluororous method

研究代表者

後藤 浩太郎 (Goto, Kohtarō)

公益財団法人野口研究所・研究部・研究員

研究者番号：30321673

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：従来のフルオラスタグ法は、未反応のフルオラス性原料やフルオラス性副生成物を目的物と分離することができないといった問題が存在した。現時点では、この問題点の有効な解決方法は存在していない。そこでこれらのフルオラスな副生成物や未反応物を除去可能な新しいフルオラス糖鎖合成法として従来のフルオラスタグ法にOne-Potグリコシル化を組み合わせた「One-Potフルオラス合成法」の開発を試みた。種々検討した結果、糖残基1つに対してペルフルオロオクチル鎖を2本有するフルオラスタグを導入することで、これまで困難であったフルオラス性の副生成物を分配操作のみで除去することが可能であることを見出すことができた。

研究成果の概要(英文)：Conventional fluororous method could not be separated fluororous by-products from the fluororous media. It currently has no methods to remove these fluororous by-products efficiently, and is one of the most potentially problematic issues in the fluororous tagging method. Especially, this task is so serious in oligosaccharides synthesis, because the yield of glycosylation, which is a key reaction in oligosaccharides synthesis, isn't necessary good. In order to overcome this problem, we attempted a development of one-pot fluororous method which was combined with the conventional fluororous method and one-pot glycosylation method. As a result, we found that the fluororous by-products which were introduced a fluororous tag having two perfluorooctyl chains every one sugar residue could be removed into organic layer by a simple partitioning between fluororous solvent and organic solvent.

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：糖鎖合成 フルオラス

1. 研究開始当初の背景

多細胞生物の細胞表面は糖脂質や糖蛋白質の一部として多様な糖鎖が存在する。近年、それら糖鎖が細胞組織認識や増殖、分化など特異的な機能に關与することが次々と明らかにされている。しかし、一般にそれら糖鎖自身は微小不均一性を持つため、天然から単一化合物として糖鎖を得ることは極めて困難である。このような背景から糖鎖の機能解明を分子レベルで行うためには、有機化学的手法による単一構造糖鎖の合成が必要不可欠であるが、多くの天然物合成がそうであるように、糖鎖の合成も非常に困難であり、特に反応生成物の分離精製に膨大な労力と時間を必要とする。このため、それら糖鎖を網羅的に合成できる効率的な手法が存在しないのが現状である。そこで申請者は、その糖鎖を効率的かつ簡便に合成が可能な方法論の創造へのアプローチとして、フルオラスケミストリー(Horváth, I. T. et al *Science* **1994**, 266, 72.)に着目した。

このフルオラスとはこの概念を提唱した Horváth らが考えた造語であり、親水性のという意味の「アクエアス(aqueous)」と同じように親フルオロカーボン性という意味に用いられる。このフルオラス化学はペルフルオロ有機基特有の性質である疎有機性を巧みに利用することで成り立っている。すなわち、ペルフルオロヘキサンに代表されるフルオラス溶媒は、水およびほとんどの有機溶媒とは混和せず、さらにフッ素含量の高い(フルオラスな)化合物を選択的に抽出できる性質を有する。これらの性質を有機合成に展開させた手法がフルオラス合成法である(Curran, D. P. et al *Science* **1997**, 275, 823.)。すなわち、フルオラスタグを導入した基質に対し液相反応を行ったのち、フルオラス溶媒と有機溶媒との分配操作を行うと、フルオラス層にはフルオラスタグの結合した化合物のみが分配され、有機層にはその他の過剰に用いた試薬などが分配される。この手順を繰り返して目的物の骨格を構築後、フルオラスタグを除去し、フルオラス溶媒と有機溶媒で分配すると目的物は有機層に移行し、除去されたフルオラス残基はフルオラス層に分配されて再利用できる。このようにフルオラス合成法はフルオラス溶媒と有機溶媒間の分配操作のみで分離精製が可能のため、通常の有機合成において最も時間と労力を要するカラムクロマトグラフィー等の精製操作を大幅に省略することができる非常に優れた合成手法であると言える。

しかしながら従来のフルオラス合成では反応が定量的に進行しない限り、反応工程を経るごとに目的化合物の他に未反応のフルオラス性原料やフルオラス性副生成物がフルオラス層に蓄積してしまうという問題があった。これは多段階であればあるほどフルオラス層へ分配される目的物の純度が低下してしまうことを意味し、フルオラスタグ除

去後の最終精製が困難になる場合が度々見られた。現時点ではこの問題の有効な解決方法は存在しない。

また、糖鎖合成は多段階であり、さらに糖鎖合成の鍵となるグリコシル化反応が必ずしも高収率の反応ではない故、上述した問題が深刻な課題として存在する。そこで申請者はこの問題を解決でき、さらに従来のフルオラス合成法より迅速かつ効率的に糖鎖を合成可能な実践的合成手法を開発するために、フルオラス合成法と One-Pot グリコシル化法(Takahashi, T. et al *Org. Lett.* **2002**, 4, 4213.)を組み合わせることを考えた。この One-Pot グリコシル化法とは糖鎖合成の際に用いる各単糖ユニットの反応性の差を上手く利用して One-Pot で目的の糖鎖を合成することができる優れた合成手法である。しかし、One-Pot で多段階の反応を行うが故に、最終精製が困難な場合も度々存在する。この最終精製の問題は従来のフルオラス合成法にも共通している。この両者に共通するこの問題を解決する手法として、本研究ではグリコシル化法とフルオラス合成法を組み合わせた「One-Pot フルオラス合成法」を開発する。

2. 研究の目的

- (1) One-Pot フルオラス合成法に必要なフルオラスタグの構造と分配に用いるフルオラス溶媒の検討を行う。
- (2) 得られた結果から最適なフルオラスタグの構造と分配溶媒を決定し、その結果を元にして「One-Pot フルオラス合成法」を確立させる。

3. 研究の方法

まず、**図 1** に One-Pot フルオラス合成法の概念を示した(モデルとして四糖合成を例に挙げている)。この One-Pot フルオラス合成法は**図 1** に示した概念に基づいて、以下の手順で行う。

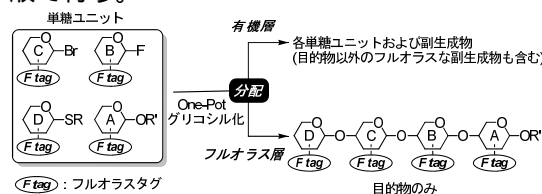


図 1. One-Pot フルオラス合成法の概念

- (1) 比較的小さなフルオラスタグ(1本から2本のフルオラス鎖を持つタグ)を導入した各単糖ユニットを調製する(**図 1**ではユニットA~D)。
- (2) 調製したフルオラスなユニットA~Dの反応性の差を用いて One-Pot グリコシル化を行う。
- (3) 反応終了後、有機溶媒とフルオラス溶媒を用いた分配操作を行うことで目的物のみをフルオラス層へ分配する。有機層には目的

物以外の副生成物(フルオラスな副生成物も含む)の大部分が分配される。

この One-Pot フルオラス糖鎖合成法の鍵となるのは、ステップ(3)の反応後の分配操作において目的物以外のフルオラス性を有する化合物(未反応の原料や副生成物など)をいかに有機層に除去(分配)し、フルオラス層に目的物のみを分配させることができるかという点に尽きる。このためにステップ(1)では従来のフルオラス合成で用いるよりも小さなタグを導入する必要がある(従来のような大きなフルオラスタグを導入すると目的物以外にもフルオラス層へ分配されてしまう可能性が高いため)。そこでまず、ステップ(1)で導入するフルオラスタグの構造を決定し、さらに分配に用いるフルオラス溶媒や有機溶媒についても検討を行い、One-Pot フルオラス合成法に適した分配系の確立を目指す。

図2に具体的な方法を示した。まず、分配系を決定するためのフルオラスタグとしては導入するフルオラスタグについては図2に示した2種類のアシル型フルオラスタグを用いることとした。その後、市販のオリゴ糖(マルトースやマルトトリスなど)の6位の各水酸基へこれらフルオラスタグを選択的に導入することで、各糖残基にフルオラスタグがそれぞれ導入されたオリゴ糖を合成する。次にこれらオリゴ糖の有機溶媒とフルオラス溶媒間の分配効率を種々測定することで、One-Pot フルオラス合成法を行うための適切な分配系の確立を行う。

その後、この確立した分配系を用いて、実際に One-Pot フルオラス合成法の実験が成り立つか検討する。

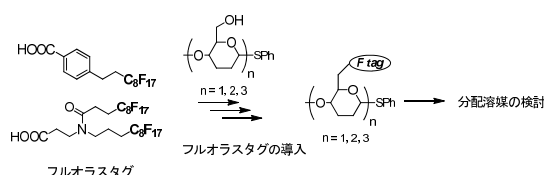


図2. 分配系検討の流れ

4. 研究成果

まず、One-Pot フルオラス合成法を構築するための分配系を確立するためのフルオラスタグの大きさについての検討を試みた。初めに単糖と二糖を分配操作によって分離させる系の検討を行った。種々検討した結果、フルオラス溶媒としては FC72 を用い、また有機溶媒としてはメタノールを選択し、さらにペルフルオロオクチル基を2本有するフルオラスタグを糖1残基につき1つ導入することで、期待したように目的の二糖誘導体をフルオラス層へ、またフルオラス鎖の結合した単糖誘導体を有機層へ分配できることが明らかとなった。この結果は適切な大きさのフルオラスタグと分配系を選択することでフルオラス化合物同士を分配操作のみ分離で

きることを示している。

そこで、次により大きな二糖と三糖を分離させることが可能な系についての検討を行った。まず、糖1残基につきペルフルオロオクチル基を1本有するフルオラスタグを導入することで三糖と二糖とを分離させることを試みた。しかしながら、分配系を種々検討したにもかかわらず、この条件ではこれらの化合物を分配操作のみで分離することはできなかった。そこで、二糖と単糖の分離の時と同様にペルフルオロオクチル基が2本入ったフルオラスタグを糖1残基につき1つ導入した系での検討を試みた。分配溶媒を種々検討した結果、フルオラス溶媒としては FC72 を、また有機溶媒としてはトルエンあるいはアセトニトリルを用いることで、目的の三糖誘導体をフルオラス層へ、二糖誘導体や単糖誘導体は有機層へ分配操作により分離させることが可能であることが明らかとなった。

この条件を踏まえて実際に One-Pot フルオラス合成法による三糖合成についての検討を行った。すなわち、糖残基1つに対してペルフルオロオクチル鎖を2本有するフルオラスタグをそれぞれ導入した3種類の単糖ユニットをそれぞれ合成したのち、実際にそれらを用いた One-Pot 合成を試みた。反応終了後、得られた反応混合物をこれまでに見出した分離条件(FC72-アセトニトリル系)を用いて、フルオラス溶媒と有機溶媒を用いた分配操作による分離を試みた。その結果、期待したように有機層にフルオラス性の不純物の多くを分配、除去することができ、従来のフルオラス合成法より効率的に3糖を合成することが可能であることを示すことができた。

残念ながら糖鎖ライブラリーの構築までには至らなかったが、今回得られた知見より、One-Pot フルオラス合成法を用いることで、これまで困難であったフルオラス性の副生成物を簡便に除去することが可能であり、今後の糖鎖合成の研究に大いに役立つものと確信している。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 3 件)

(1)M. Mizuno, K. Goto, H. Kawakami, M. Tojino, "CARBOHYDRATE SYNTHESIS USING FLUOROUS CHEMISTRY", Madrid, Spain, The 26th International Carbohydrate Symposium (ICS2012), July 22-27(2012).

(2)後藤浩太郎、弘瀬友理子、水野真盛、「フルオラス One-Pot グリコシル化法の開発」、フルオラス科学研究会第5回シンポジウム、仙台、2012年11月29日

(3)K. Goto, M. Mizuno, "STUDY OF PARTITION COEFFICIENTS OF FLUOROUS CARBOHYDRATE SYNTHESIS", Budapest Hungary, International Symposium on Fluorous Technologies, June 2-5(2013).

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

後藤 浩太郎 (Goto Kohtaro)
公益財団法人野口研究所 糖鎖有機化学
研究室 研究員
研究者番号：30321673

(2) 研究分担者 なし
()

研究者番号：

(3) 連携研究者 なし
()

研究者番号：