

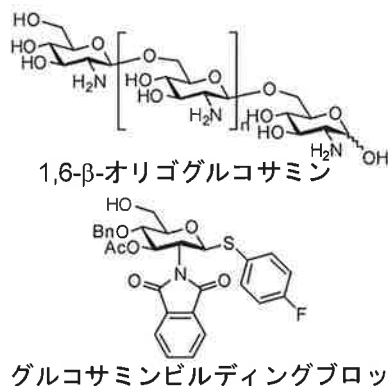
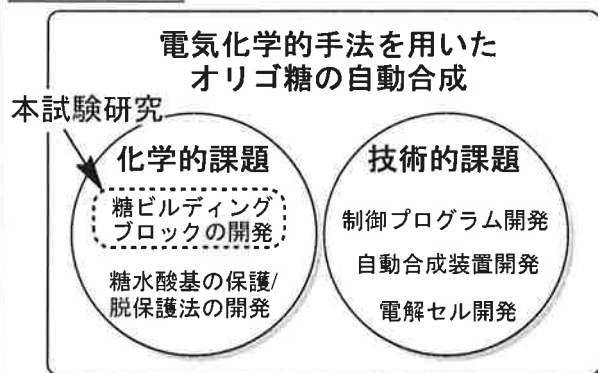
# 研究成果報告書

| 研 究 題 目   |     | 電気化学的手法によるオリゴ糖合成に適した糖ビルディングブロックの開発 | 実 施 年 度 |
|-----------|-----|------------------------------------|---------|
|           |     |                                    | 26 年度   |
| 代 表 研 究 者 | 所 属 | 鳥取大学大学院工学研究科                       |         |
|           | 氏 名 | 野上 敏材                              |         |

## 1. 研究の目的・背景

本研究の目的は電気化学的手法によって、糖どうしをつなぐグリコシド結合形成反応（グリコシル化反応）に用いる単糖の構造を最適化し、高い収率と選択性で望みのグリコシド結合を与える糖ビルディングブロックを開発することである。

研究の全体構想における位置づけは下記の図に示す通りであるが、「電気化学的手法を用いたオリゴ糖の自動合成」という研究の全体構想には大きく分けて化学的課題と技術的課題の二つが存在しており、それぞれにいくつかの開発項目を上げることが出来る。本試験研究では化学的課題に該当する、糖ビルディングブロックの開発を行う予定である。これまでに申請者らはグルコサミンの 1,6-β-グリコシド結合で構成されるオリゴグルコサミン合成に適した糖ビルディングブロックの開発とそれを用いた自動合成を実施している (Nokami T. et al. *Org. Lett.* **2013**, p4520)。その際、硫黄上の置換基や糖水酸基上の保護基がグリコシル化反応の収率に大きな影響を与えるという知見を得ている。従って、糖ビルディングブロックの開発がオリゴ糖の自動合成において化学的課題の中心的な部分を占めており、本研究の重要性は非常に高い。



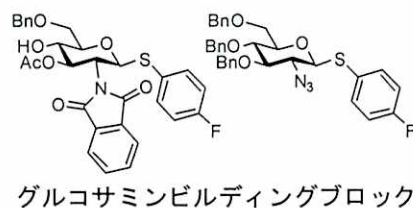
本研究の背景として、これまでもオリゴ糖骨格の構築の効率化を目指して Schuerch らによる研究以降 (*J. Am. Chem. Soc.* **1971**, p492)、固相合成法を利用したオリゴ糖合成が、多数報告されている (最近の報告: Seeberger P. H. et al. *Chem. Sci.* **2012**, p1617)。しかしながら、基質の固相担体への導入や切り出し、固相上の基質の低い反応性のため糖供与体を大過剰用いてグリコシル化反応を行う必要があるなど、固相合成法がオリゴ糖合成の効率化に結びついていないとは言い難い。以上を踏まえて、本研究では①電気化学的手法を用いて、②液相合成法に基づき、オリゴ糖の自動合成を達成しようとしている。

## 2. 研究成果及び考察（申請時の計画に対する達成度合を織込む）

### 主な研究成果

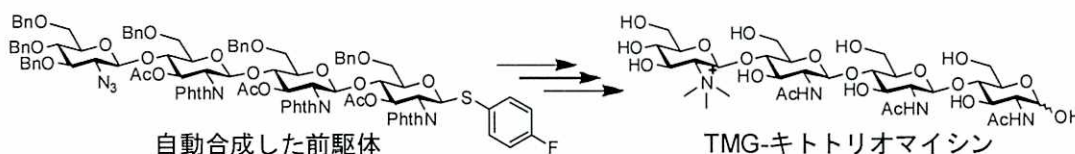
#### ① $\beta$ -1,4-グリコシド結合形成に適したグルコサミン糖ビルディングブロックの開発

これまでに開発に成功していた  $\beta$ -1,6-グリコシド結合形成に適したグルコサミンの糖ビルディングブロックを踏まえて、 $\beta$ -1,4-グリコシド結合形成に適した糖ビルディングブロックを開発した。計算化学的手法と電気化学測定から糖ビルディングブロックの反応性を見積もり、迅速な構造最適化を実現した。



#### ② TMG-キトトリオマイシン四糖の自動合成（学術論文 1, 2）

①の成果を踏まえ、生物活性オリゴ糖の自動合成によって、糖ビルディングブロックの有用性を示そうと考えた。合成ターゲットとしてはオリゴグルコサミンの加水分解酵素阻害剤として働く TMG-キトトリオマイシンを選択した。このオリゴ糖は放線菌の一種から得られるが、さらに研究を進めるためには化学合成による大量供給が望まれていた。これまでの成果として、TMG-キトトリオマイシン前駆体を 1 回の自動合成で 200 mg 以上合成することに成功している。現在、酵素阻害剤としての活性評価に必要なサンプルを提供するため、脱保護とスケールアップも行っている。



#### ③ $\alpha$ -1,6-グリコシド結合形成に適したマンノース糖ビルディングブロックの開発（未発表）

マンノースの 2 位水酸基上に立体制御基を導入し、 $\alpha$ -1,6-グリコシド結合形成に適したマンノースの糖ビルディングブロックを開発した。電気化学測定によって糖ビルディングブロックの酸化電位を求め、水酸基上の保護基や硫黄原子上の置換基が酸化電位に与える影響について明らかにした。現在までのところ、二糖までの合成に成功しており、今後は自動合成装置を用いてオリゴ糖の合成を行い、その収率から糖ビルディングブロックの最適構造を決定し、オリゴマンノシド五糖の自動合成を行う予定である。

### 本研究の達成度合い

グルコサミンの新規糖ビルディングブロックの開発と TMG-キトトリオマイシン四糖の自動合成に成功した。従って、研究計画全体における本研究の目標はほぼ達成されたと考えられる。この検討と並行して、申請時に開発目標の一つとしたマンノースの糖ビルディングブロックについても合成ルートの確立と評価を行った。今後は生物活性を有するオリゴノンノシドの自動合成を行いたいと考えている。なお、TMG-キトトリオマイシン合成は脱保護の最終工程に入っていることから、生物活性評価についても 1 か月以内に実施可能であろう。学生諸君の努力によって予想を上回るペースで研究が進展している点を強調したい。

### 3. 経費の使用状況（申請時の計画に対する実績を記述）

申請額 200 万円に対して、助成額は 150 万円であった。各項目の申請額と実績額ならびに変更状況は以下の通りである。

設備費（申請額：50 万円、実績額：33 万円）：エバポレータ本体の購入ではなく、ダイヤフラムポンプの更新で対応した。

消耗品費（申請額：120 万円、実績額：80 万円）：申請額との差が 50 万円であったことから、主に消耗品費で減額分を吸収した。

賃料損料（申請額：10 万円、実績額：0 万円）：NMR 利用料は基盤経費にて支出したため、本助成金では賃料を支出しなかった。

資料費（申請額：0 万円、実績額：0 万円）：変更無し

印刷費（申請額：3 万円、実績額：0.2 万円）：ポスター印刷のみを行った。

旅費（申請額：7 万円、実績額：15 万円）：当初は予定が無かった京都大学での依頼講演が入ったため、増額した。

謝礼金（申請額：10 万円、実績額：14 万円）：論文補足資料作成のためのアルバイト謝金を増額したため。

その他（申請額：0 万円、実績額：7 万円）：申請当初は予定していなかった、日本糖質学会等への参加登録費を支出したため増額となった。

### 4. 将来展望（今後の発展性、実用化の見込み等について記述）

本研究で開発したグルコサミンの糖ビルディングブロックはグルコサミンの  $\beta$ -1,4-グリコシド結合形成に有用であり、TMG-キトリオマイシン四糖の自動合成に用いることで、その実用性を明らかにした。この糖ビルディングブロックはグルコサミン塩酸塩を出発原料として 7 段階で合成できる。一部の反応でスケールアップが難しいなどの課題も残されているが、段階の収率はおおむね良好(>80%)かつほとんどの工程で再結晶による精製が可能である。従って、グルコサミンを含む生物活性オリゴ糖、特に近年 iPS 細胞や ES 細胞の未分化マーカーとして注目されている硫酸化オリゴ糖、ケラタン硫酸など、様々なオリゴ糖構築に利用可能であると考えている。

一方、マンノースの糖ビルディングブロックはマンノースの  $\alpha$ -1,6-グリコシド結合形成に有用であると考えられ、今後はオリゴマンノシド合成によって実用性を評価する予定である。代表者らはオリゴ糖のグラムスケール合成を目標に電気化学的手法を用いたオリゴ糖自動合成装置の改良も進めており、本研究で開発した糖ビルディングブロックと自動合成装置とを組み合わせることで、生物活性オリゴ糖の自在合成に向けた道筋をつけられると考えている。



5. 成果の発表（学会での発表、学術誌への投稿等を記載。予定を含む）

#### 学術論文

(1) Automated Electrochemical Assembly of the Protected Potential TMG-chitotriomycin Precursor Based on Rational Optimization of the Carbohydrate Building Block.

Nokami, T.; Isoda, Y.; Sasaki, N.; Takaiso, A.; Hayase, S.; Itoh, T.; Hayashi, R.; Shimizu, A.; Yoshida, J. *Organic Letters*, **2015**, 17, 1525-1528.

(2) 電解グリコシル化反応を利用したオリゴ糖自動合成システムの開発

野上敏材, 伊藤敏幸, 吉田潤一, *Electrochemistry*, **2015**, 83, 472-476.

#### 学会発表

(1) TMG-キトトリオマイシンの電解自動合成（ポスター発表）

磯田悠太, 野上敏材, 伊藤敏幸, 第 38 回有機電子移動化学討論会、6 月、岐阜

(2) 電気化学的手法による TMG-キトトリオマイシンの合成（口頭発表）

野上敏材, 磯田悠太, 佐々木紀彦, 伊藤敏幸, 第 33 回日本糖質学会年会、8 月、名古屋

(3) TMG-キトトリオマイシン四糖液相電解自動合成のための糖鎖ビルディングブロックと反応条件の最適化（口頭発表）

磯田悠太, 早瀬修一, 野上敏材, 伊藤敏幸, 日本化学会第 95 春季年会、3 月、千葉