A Breakthrough in Oligosaccharide Synthesis

オリゴ糖合成における飛躍的進歩「ワンポット連続的グリコシル化反応」

Key Words: *one-pot glycosylation, structural effects, relative reactivity*

With the growing demand of glycobiology for synthetic oligosaccharides and glycoconjugates, efforts to expand efficient glycosylation methods have been increasingly recognized. However, despite the recent advances in regio- and stereocontrol in glycoside bond-forming processes, the construction of complex oligosaccharides remains a laborious task involving a tedious series of protection and deprotection steps that are usually proportional to the length of the desired oligosaccharide. The requirement for easy synthesis of complex oligosaccharides with high chemical yield as well as applicability to large-scale preparations still presents a formidable challenge to the synthetic chemist.

There is no universal reaction condition or protocol that can be applied to any combination of donor, promoter and acceptor without consideration of their substituent patterns and their relative reactivities. Based on the observation that a large difference between the reactivities of different glycosyl donors can be achieved by varying the protecting groups and the electron-donating and -withdrawing character of the leaving group, a new chemoselective glycosylation strategy, the "one-pot sequential glycosylation", has been recently developed [Zhang, Z., Ollman, I., Ye, X., Wischnat, R., Baasov, T., and Wong, C. (1999) *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, 734–753]. Moreover, the creation of a computer program, OptiMer, provided the relative reactivity donor database for the selection of appropriate building blocks necessary in the assembly of the target oligosaccharide.

The general strategy carried out by the authors involved the use of stable *p*-methylphenyl thioglycosides (STol), which are either fully protected or have one exposed hydroxyl group, as building blocks. Precise quantification of the relative reactivities of the glycosyl donors was facilitated by the high UV absorbance of the *p*-methylphenylthio group. An evaluation of the relative reactivity due to structural effects (electron-withdrawing and electron-donating effect) of about 50 different donor and acceptor molecules involving different monosaccharide skeletons (fucose, glucose, galactose, mannose, glucosamine, galactosamine) and protecting groups was quantitatively determined by HPLC. Quantification of glycosyl donor reactivities based on the works of Sinnott [Sinnott, M.L. (1990) *Chem. Rev.*, **90**, 1171] and Fraiser-Reid *et al.*, [Fraiser-Reid, B., Wu, Z., Udodong, U.E., and Ottosson, H. (1990) *J. Org. Chem.*, **55**, 6068] employ direct competition assay between two donors to determine the relative rate of reactivity between them. Since the re-

糖鎖生物学の領域で化学的に合成したオリゴ糖や複合糖質に対する需要が増すに従い、効率良い糖鎖合成法の開発が益々求められている。位置選択的かつ立体選択的なグリコシル化法が現在急速に進歩しているとはいえ、保護・脱保護といった苦勞の多い作業が目的とするオリゴ糖の長さに比例して増えることは避けられない。そのため、複雑なオリゴ糖を収率良く大量に、しかも簡単に合成することは、合成化学者にとって依然として手強い挑戦となっている。

ドナー、プロモーター、アクセプターのどのような組み合わせに対しても、置換基のパターンや相対的な反応性を考慮せずに用いられる反応条件やプロトコルは存在しない。グリコシルドナーの反応性が、脱離基の電子供与性および電子吸引力や保護基を変えることによって大きく変化するという知見に基づいて、化学選択的グリコシル化の新しい戦略である「ワンポット連続的グリコシル化反応」が最近発表された[Zhang, Z., Ollman, I., Ye, X., Wischnat, R., Baasov, T., and Wong, C. (1999) *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, 734–753]。さらに、ドナーの相対的反応性をデータベース化したプログラム OptiMer が作成され、目的とするオリゴ糖の組立てに必要な構成ブロックを選択する際に応用されている。

この著者らの基本的戦略は、完全に保護したもしくは一つの水酸基以外を保護した、安定な *p*-メチルフェニルチオグリコシド(Sugar-STol)を組立ブロックとして用いることであった。*p*-メチルフェニルチオ基のUV吸収性を利用することで、グリコシルドナーの相対的反応性が正確に定量された。異なる単糖骨格(フコース、グルコース、ガラクトース、マンノース、グルコサミン、ガラクトサミン)や様々な保護基を有する約50種のドナーやアクセプター分子が合成され、電子吸引力や電子供与性といった電気的効果に起因する相対的反応性が、HPLCにより定量的に評価された。Sinnott [Sinnott, M.L. (1990) *Chem. Rev.*, **90**, 1171] および Fraiser-Reid ら[Fraiser-Reid, R., Wu, Z., Udodong, U.E., Ottosson, H. (1990) *J. Org. Chem.*, **55**, 6068]は、二つのドナー間の直接競合アッセイを行うことで、両者の間の相対的反応性を調べている。反応性は相対的に評価され、今回調べた物質の中で

activity values are relative, they are normalized such that the least reactive donor in the library has a reactivity of 1.0.

Results of the competition reactions between perbenzylated and peracetylated thioglycosides of different monosaccharides show that the reactivity order appears to be fucose>galactose>glucose>mannose. The higher reactivity of fucose may be attributed to the presence of the electron-donating methyl group. Reactivity of 2-aminoglycosides is significantly influenced by the protecting group at nitrogen *i.e.*, the -NTroc group has a large activating effect compared to the -NPhth or azide group.

An examination of the activation and deactivation of a series of glycosyl core structures in conjunction with a number of different protecting groups at the 2-position shows that the deactivating power of electron withdrawing groups in the galactosyl core was in the order of $-N_3 > -OCIAc > -NPhth > -OBz > -OBn$.

NIS-TfOH, a stoichiometric reagent suitable for a variety of thioglycosides, was chosen by the authors as the main promoter in this study. However, the effect of promoters on the reactivities of glycosyl donors was also determined using not only NIS-TfOH but also DMTST. The observed relative reactivity value was approximately the same in both promoter systems and thus, preliminary results suggest that promoters do not dramatically affect the reactivities of glycosyl donors.

With the aid of the database, construction of several oligosaccharides was carried out via reactivity-based one-pot synthesis. Over the course of the synthetic sequence, linear and branched oligosaccharides were prepared via sequential addition based on decreasing donor reactivity.

In high-yielding multi-step glycosylation, the difference in the reactivity of the donor and acceptor plays a very important role. The largest reactivity difference at each step give high-yielding procedures. Thus, donors destined to react in the first coupling step may be chosen from among the most reactive donors in the database while those which are destined to react at the last coupling step may be chosen from the pool of least reactive donors. Moreover, the ratio of reactivities between donor and acceptor should be the same for each step for optimal yield of the target oligosaccharide.

The programmable one-pot oligosaccharide synthesis developed by the authors is a practical and systematic approach to the synthesis of complex oligosaccharides via sequential multi-glycosylation under optimum conditions. However, while the automated design seems to be an easy and rapid alternative to the synthesis of oligosaccharides, the need to expand the number of building blocks that will respond to synthesis of various carbohydrates with diverse structures is still a limitation. A discrepancy between the theoretical and experimental yield of the glycosylation reaction was not anticipated since the reported yields in OptiMer are optimum without taking into consideration possible side reactions.

最小の反応性を有するドナーの反応性を 1.0 として表してある。

異なる単糖骨格を有するチオグリコシドの完全ベンジル化体および完全アセチル化体の反応性は、フコース>ガラクトース>グルコース>マンノースの順であった。フコースの反応性が高いのは、電子供与性のメチル基の存在による。一方、2-アミノグリコシドの反応性はアミノ基の保護基により大きく影響され、-NTroc は -NPhth やアジド基に比べて大きな活性化効果がある。

C2 位におけるいくつかの保護基についてグリコシル骨格構造の活性化及び抑制効果を調べたところ、ガラクトース骨格における電子吸引基の抑制効果は、 $-N_3 > -OCIAc > -NPhth > -OBz > -OBn$ の順であった。

この研究では、多くのチオグリコシドに対し化学量論的に働くプロモーターとして知られている NIS-TfOH が主に用いられた。しかし、グリコシルドナーの反応性に対するプロモーターの効果は、NIS-TfOH だけでなく DMTST も用いて調べられており、この両方のプロモーターでほぼ同じ相対的反応性値が得られたので、プロモーターはグリコシルドナーの反応性に大きな影響を与えないことが示唆された。

データベースを用いることで、相対反応性値が次第に減じられるようなドナーの組み合わせを選択し、ドナーを反応系に順番に添加することで、数種類の直鎖および分岐オリゴ糖がワンポットで合成された。

多段階グリコシル化反応で高収率を達成するためには、ドナーの反応性とアクセプターの(ドナーとしての)反応性の差を考慮する必要がある。それぞれの反応における反応性の差が大きいほど、反応がより進む。したがって、最初のカップリング反応におけるドナーはデータベース中で最も相対反応性値の高いドナーの中から選ばれ、最後のカップリング反応では相対反応性値が最小のものから選ばれる必要がある。加えて、ドナーの相対反応性値とアクセプターの(ドナーとしての)相対反応性値の比が各反応段階ごとに同じであることも重要である。

ここに紹介したプログラム化されたワンポットオリゴ糖合成は、グリコシル化反応を最適な条件下で連続的に多段階で行うことにより、複雑なオリゴ糖を合成するための実用的かつ系統的な研究である。しかし、この自動化されたデザインはオリゴ糖の簡単に迅速な合成法ではあるけれども、様々な構造を有する糖鎖を合成するためには、構成ブロックの種類を更に増やす必要がある。副反応が起こらない系でのオリゴ糖の構築の際には、OptiMer で得られる理論収率によって実験収率を予想できるだろう。

X represents the *p*-methylphenylthio group.

Strategy for One-Pot Synthesis of Linear and Branched Oligosaccharides

The promoters used in this study were limited to NIS-TfOH and DMTST. While the preliminary results show that promoters do not affect the relative reactivities of glycosyl donors, further verification of this assumption using other promoters needs to be established.

Reported by Maria Carmelita Z. Kasuya

Department of Biomolecular Engineering
Tokyo Institute of Technology
4259 Nagatsuta-cho, Midori-ku, Yokohama
226-8501, Japan
FAX: 81 3-3870-9631

この研究で用いたプロモーターは NIS-TfOH と DMTST だけである。プロモーターがグリコシルドナーの相対反応性値に影響を及ぼさないことが今回の予備的な研究により示されたが、他のプロモーターを用いてこの予想が正しいことを示す必要がある。

日本皮革研究所・糖鎖情報工学
山形 達也 訳
東京工業大学・生命理工
太田 稔久 訳