Synthesis of Biologically Interesting Glycopeptides

生物学的に興味のある糖ペプチドの合成

Horst Kunz and Wolfgang K. -D. Brill

Institut für Organische Chemie, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Mainz, Germany, FAX: 49-6131-39-5396

Key Words: *synthetic glycopeptides, glycosylation of amino acids, protecting groups, palladium(0) catalyzed allyl transfer, solid phase synthesis*

Abstract

Most proteins found in mammals are glycoproteins. Their carbohydrate side chains play important roles in the biological selectivity, in particular, in recognition processes on membranes. All glycoproteins contain glycosidic linkages between the carbohydrate side chains and the peptide backbone. Therefore, the synthesis of glycopeptides requires methods for the stereoselective formation of these glycosidic linkages and selective protecting techniques which do not affect the glycosidic bonds. The benzylic protecting groups and their hydrogenolytic removal fulfil these demands. Since these protections, however, often are required for the blocking of the carbohydrate hydroxy functions, the functional groups of the peptide portion have to be protected with groups which are selectively removable and orthogonally stable towards the benzylic groups. In this sense, the fluorenylmethoxycarbonyl (Fmoc) group and its removal with the weak base morpholine and the allyloxycarbonyl (Aloc) groups removable by palladium(0) catalyzed allyl transfer revealed to be valuable amino protecting groups in glycopeptide chemistry. The allyl ester using the analogous palladium(0) chemistry and the acidolytically cleavable *tert*-butyl ester proved to be useful for the carboxy protection. The benzylic and the allylic (HYCRAM™) ester principle are successfully demonstrated as the anchoring systems in solid phase syntheses of glycopeptides.

要 旨

哺乳動物に見出される大部分のタンパクは糖タンパクである。それらの糖鎖は生物学的選択性、特に膜上での認識過程に重要な働きをしている。全ての糖タンパクは糖鎖とペプチドとの間にグリコシド結合を有している。それゆえに糖ペプチドの化学合成は、立体特異的なグリコシド結合の生成と、グリコシド結合に影響を与えない選択的な保護が要求される。ベンジルグループとそれらの水素添加による脱離法は、これらの要求を満たす。しかしながら、これらの保護法を用いる方法は糖質の水酸基のブロックを必要とするので、ペプチド部分の官能基は選択的に脱離可能でそしてベンジル基に対してorthogonalに安定なグループで保護されなければならない。この意味においてフルオレニルメトキシカルボニル(Fmoc)基と、弱塩基、モルフォリンによる脱離と、パラジウム(0)触媒によるアリル基転移によって脱離可能なアリルオキシカルボニル(Aloc)基は、糖ペプチド化学においてアミノ基の保護基として有用である事が明らかにされた。同様なパラジウム(0)の化学を用いるアリルエステルと、酸により除去可能なtert-ブチルエステルはカルボキシル基の保護に有用である事が分かった。ベンジル基とアリルエステル(HYCRAM™)を用いる糖ペプチドの固相合成におけるアンカーシステムとして有効に利用される事が示された。

A. Introduction

During the past decade the biological importance of glycosylated proteins has become increasingly recognized. Their glycosylation pattern plays a key role in processes such as cell-cell recognition, the transport of proteins through the endoplasmic reticulum or the protection of peptides from degradation. Therefore, it is not surprising that partial sequences of glycoproteins, bearing one or many glycosidic residues covalently linked to amino acid side chains via *N*-glycosidic or *O*-glycosidic bonds are in demand for research, chemotherapy, antiviral treatment and medical diagnostics(1, 2).

A. はじめに

この10年間でグリコシル化されたタンパク質の生物学的重要性が益々認識されるようになった。そのグリコシル化の様式は、細胞間認識、小胞体を通してのタンパク質輸送、あるいはペプチドの分解防御といった過程においてきわめて重要な役割を担っている。それゆえ、当然のことながら、1個または多数個の糖残基がN-グリコシドまたはO-グリコシドでアミノ酸側鎖に共有結合した糖タンパク質の部分配列は、研究用として、また化学療法、抗ウイルス療法、ならびに医学的診断等に対しても大変有用である(1, 2)。

B. The Carbohydrate-Peptide Linkage Region

Glycoproteins can be characterized by the nature of their carbohydrate-peptide linkage region. In *N*-glycoproteins 1 (Scheme 1), most frequently found in nature, the side chain amide function of an asparagine unit is usually linked to an *N*-acetylglucosamine residue through a β -*N*-glycosidic bond(3). This structure is typical for serum components such as amylases, plasmaproteins(*e.g.* fibrinogen and transferrin), immunoglobulins, hormones(*e.g.* chorionic gonadotropin), hormone precursors(*e.g.* thyroglobulin), and membrane glycoproteins(*e.g.* glycosyltransferases, rhodopsin and receptor glycoproteins, including the galactose-specific receptor of the hepatocyte membrane). The β -*N*-acetylglucosamine-glycoproteins can also be characterized by classification of the oligosaccharide next to the *N*-acetylglucosamine residue(4).

Scheme 1

The second important type of connection between the carbohydrate and peptide parts of glycoproteins is the *O*-glycosidic linkage. The β -*O*-glycosidic bond between xylose and serine, 2(Scheme 1), is the characteristic connecting element of the proteoglycans of the extracellular matrix and of connective tissue(5). The α -*O*-glycosidic linkage between *N*-acetylgalactosamine and serine or threonine, 3(Scheme 1), was first found in the mucous glycoproteins(mucins)(6). It is characteristic for many other serum and membrane glycoproteins, including the blood-group glycoproteins(7, 8), human glycophorin(9) and the glycoproteins of the tumor-associated TN and T antigens(10). In collagen and collagen-type macromolecules, the β -*O*-glycosidic bond is found exclusively between galactose and δ -hydroxylysine(11). Interestingly, this structural element is also thought to occur in the C1q components of the complement system(12). *O*-Glycoproteins containing a β -glycosidic bond between arabinose and 4-hydroxyproline(extensin type) are widely spread in cell wall compartments of plants and in lectines(13).

C. The Formation of Glycosidic Bonds

The synthesis of glycopeptides begins with the construction of suitably *N*-protected amino acids, bearing protected mono or oligosaccharides, in other words the "isolated glycosylation sites". The carbohydrate parts have to be synthesized in the classical ways, which have been dealt with in many re-

B. 糖-ペプチド結合領域

糖タンパク質は、糖-ペプチド結合領域の性質によって特徴づけられる。天然に最もよく見出されるN-糖タンパク質1(スキーム1)では、普通アスパラギン単位の側鎖アミド基が、 β -N-グリコシド結合でN-アセチルグルコサミン残基と結合している(3)。この構造はアミラーゼ、血漿タンパク質(例えばフィブリノーゲンやトランスフェリン)、イムノグロブリン、ホルモン(例えば絨毛性性腺刺激ホルモン)、ホルモン前駆体(例えばチログロブリン)、および膜糖タンパク質(例えば糖転移酵素、ロドプシン、肝細胞膜のガラクトース特異的レセプターを含めたレセプター糖タンパク質)のような血清成分に典型的である。 β -N-アセチルグルコサミン-糖タンパク質は、N-アセチルグルコサミン残基に続くオリゴ糖の分類によっても特徴づけられる(4)。

糖タンパク質の糖とペプチド間を結ぶ第2の重要な結合様式は、*O*-グリコシド結合である。キシロースとセリン間の β -*O*-グリコシド結合2(スキーム1)は、細胞外マトリックスや結合組織中のプロテオグリカンに特異な結合成分である(5)。N-アセチルガラクトサミンとセリンまたはスレオニン間の α -*O*-グリコシド結合3(スキーム1)はムコ糖タンパク質(ムチン)で最初に発見された(6)。それは、血液型糖タンパク質を含む血漿もしくは膜糖タンパク質(7, 8)、ヒトグリコホリン(9)、癌関連TNおよびT抗原の糖タンパク質(10)に特有である。

コラーゲンやコラーゲン様高分子において β -*O*-グリコシド結合はガラクトースと δ -ヒドロキシリジン間でのみ見られる(11)。興味深いことにこの構造要素はまた補体系のC1q成分にも存在するものと思われる(12)。アラビノースと4-ヒドロキシプロリン間の β -グリコシド結合を含む*O*-糖タンパク質(エクステンシン型)は、植物細胞壁成分やレクチンに幅広く分布している(13)。

C. グリコシド結合の形成

糖ペプチドの合成は、保護した単糖またはオリゴ糖、換言すると“孤立グリコシル化部位”を有し、N原子が適切に保護されたアミノ酸の構築から始められる。糖部分は、数多くのレビューで扱われている古典的方法で合成されなければならない(14, 15)。適当な構築ブロックが得られた後、それらはペプチド合成におけるアミノ酸と同様に用いられる。

しかしながら、ペプチド合成と比較して、糖ペプチド合成はさらに多くの多様な官能基の保護が必要である。グリコシド結合の立体選択的な形成も重要である。決定的な要素は、反応性に富むアセタールタイプのグリコシド結合と糖鎖間の結合に影響を及ぼさずに達成されるべき糖ペプチドの選択的脱保護である(16)。先に述べたいくつかの糖-ペプチド結合は以下の方法により合成される。

C-1. アスパラギン-グルコサミン結合

N-アセチルグルコサミンとアスパラギン間の β -N-グリコシド結合1(スキーム1)は、例えば縮合物5のようにN原子を保護したアスパラギン酸の α -モノエステルと、2-アセトアミド-3,4,6-トリ-O-アセチル-2-デオキシ- β -D-グルコピラノシルアミン4と

views(14, 15). After obtaining the appropriate building blocks, they can be used like amino acids in peptide synthesis.

In comparison to peptide synthesis, however, glycopeptide synthesis requires the protection of many more diverse functional groups. The stereoselective formation of the glycosidic linkage is also important. A deciding factor is that glycopeptides must be selectively unblocked without affecting the sensitive acetal-type glycosidic and intersaccharidic bonds(16). Some previously introduced carbohydrate-peptide linkages can be synthesized in the following ways:

C-1. The Asparagine-Glucosamine Linkage

The β -N-glycosidic linkage between *N*-acetylglucosamine and asparagine, 1(Scheme 1), *e.g.* in the conjugate 5, is formed by the condensation of *N*-protected aspartic acid α -monoesters with 2-acetamido-3, 4, 6-tri-*O*-acetyl-2-deoxy- β -D-glucopyranosylamine 4.

For these reactions of glycosylamines of type 4 with *N*-protected aspartic acid α -monoesters, to form completely protected *N*-glycosylasparagine derivatives of type 5, only *N*, *N'*-dicyclohexylcarbodiimide was used at first(17-19). However, among the condensation reagents employed, ethyl 2-ethoxy-1, 2-dihydroquinoline-1-carboxylate(EEDQ)(20) has proved to be especially effective.

For example, the allyl ester of *tert*-butyloxycarbonylaspartic acid reacts smoothly with 4 in the presence of EEDQ to give the N4-glucosaminyl asparagine ester 5, which is ready for selective deblocking(Scheme 2)(21).

C-2. The Formation of *O*-Glycosidic Bonds

The formation of an *O*-glycosidic bond is more complex. Depending on the substituent in neighborhood of an anomeric center, either an α -*O*-glycosidic or β -*O*-glycosidic bond(Scheme 1) may dominate in the target glycopeptide(19).

The β -*O*-glycosidic linkage of the serine hydroxyl group, in the form of xylose derivatives of type 2, is especially characteristic of the proteoglycans in the animal kingdom. The syntheses of those glycosyl serine compounds were carried out by reacting carbohydrate ortho esters with *N*-protected serine and threonine esters(22). The Koenigs-Knorr method was successfully applied in the syntheses of xylosyl serine conjugates(23), and the 2-bromoethyl ester-protected glucosyl-serine derivative 6(Scheme 3)(24). The silver triflate(25) used in the latter reaction did not affect the halogen of the ester protective group.

Also, the trichloroacetimidate glycosylations(26), *e.g.* using 7, were successfully employed(Scheme 4) giving the β -xylosyl serine derivative 10 with high selectivity, despite the protection of the carbohydrate moiety with non-participating benzyl ethers(27).

Compound 10 can also be obtained by reacting benzyl-protected xylopyranosyl fluoride 9 with the serine ester 8 in the presence of boron trifluoride etherate and triethyl-

Scheme 2

の縮合により形成される。タイプ4のグリコシルアミンとN-原子を保護したアスパラギン酸 α -モノエステルとの反応でタイプ5の完全に保護したN-グリコシルアスパラギン誘導体を形成するために、N,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミドが最初に使われた(17-19)。しかし、使用された縮合剤の中でも、エチル2-エトキシ-1, 2-ジヒドロキノリン-1-カルボキシレート(EEDQ) (20) が特に効果的であることが分った。

例えば、*tert*-ブトキシカルボニルアスパラギン酸のアリルエステルはEEDQの存在下4とすみやかに反応して、N4-グルコサミニルアスパラギンエステル5を与える。それは選択的脱保護が容易である(スキーム2)(21)。

C-2. *O*-グリコシド結合の形成

O-グリコシド結合の形成はもっと複雑である。アノメリック中心に隣接する置換基により、目的とする糖ペプチドは、 α -*O*-グリコシド結合か β -*O*-グリコシド結合のどちらかが優先して生成する(スキーム1)(19)。タイプ2のキシロース誘導体の形をとるセリン水酸基の β -*O*-グリコシド結合は動物界のプロテオグリカンに特有である。これらのグリコシルセリン化合物の合成は、糖オルソエステルとN原子を保護したセリンやスレオニンエステルとの反応で達成された(22)。ケーニッツヒクノール法はキシロシルセリン縮合物(23)や2-プロモエチルエステルで保護したグルコシルセリン誘導体6(24)の合成にうまく応用された(スキーム3)。後者の反応で用いた銀-トリフレート(25)はエステル保護基中のハロゲンには影響しなかった。

Scheme 3

また、トリクロロアセトイミデートによるグリコシル化(26)を例えば7を用いて行くと、糖部分の保護に隣接基関与のないベンジルエーテルを用いているにもかかわらず、高い選択性を持って β -キシロシルセリン誘導体10が得られた(スキーム4)(27)。化合物10はまたBF₃-エーテレートとトリエチルアミン存

Scheme 4

amine(Scheme 4)(28). Finally, the glycosylation of **8** is smoothly accomplished by allowing pentapivaloyl glucose(**29**) to react with trimethylsilyl trifluoromethanesulfonate(30).

The formation of the α -glycosidic linkage between *N*-acetylgalactosamine and serine or threonine(structure type **3**), which is characteristic of many serum and membrane glycoproteins can be achieved by using glycosyl chlorides or bromides containing the 2-azido function as a non-neighboring-group-active substituent as glycosyl donors under the conditions of an "in situ anomerization"(31-33), or after activation by silver perchlorate/silver carbonate in dichloromethane/toluene(33). The simultaneous α -glycosidic linking of both the two disaccharide units to the seryl serine derivative by using the glycosyl halide **11**(Scheme 5)illustrates the efficacy of this method(33). The selective reduction of the azido function in complex glycopeptides, such as **12**, is accomplished with nickel tetra-hydroborate(34).

After the acetylation of the amino group thus formed, structures of type **3** are obtained, *e.g.* partial structures of glycoproteins of the T-antigen type associated with tumors. The azido group can also be reduced to an amino group using hydrogen sulfide(35), or immediately to an acetamido group with dimethyl(phenyl)phosphine in glacial acetic acid(36).

Also, α -glycosides of 2-azido-2-deoxygalactopyranose with serine derivatives are prepared by the trichloroacetimidate method(37). Another α -glycoside synthesis, without mercury or silver reagents, is based on the activation of the free anomeric hydroxy groups of the azido galactose with trifluoromethanesulfonic anhydride(38). In the glycosylation of the threonine derivatives, however, significant amounts of the β -anomers are formed and must be separated.

C-3. Chain Extension on Glycopeptides

Once having obtained the glycosylated protected amino acids they are selectively deblocked on either the amino or the carboxy terminus and condensed with suitably protected amino acids or even peptides to give the target sequences. Condensing agents commonly used are DCC with 1-hydroxy benzotriazol

在下、ベンジル基にて保護したキシロピラノシルフロリド **9**とセリンエステル **8**との反応でも得られる(スキーム4)(28)。最後に**8**のグリコシル化はペンタピバロイルグルコース(**29**)にTMS-トリフルオロメタンスルホネートを反応させることによりすみやかに行われる(30)。数多くの血漿や膜の糖タンパク質に特徴的である*N*-アセチルガラクトサミンとセリンあるいはスレオニン間の α -グリコシド結合(タイプ**3**構造)の形成はグリコシル供与体として隣接基効果を有しない2-アジド基を含む糖クロル体、またはプロモ体を用いてin situアノメリゼーション(31-33)の条件下、またはジクロロメタン/トルエン(33)中過塩素酸銀と炭酸銀による活性化の後、達成される。糖ハロゲン体 **11**(スキーム5)を用いると、2つのジサッカライドが同時に α -グリコシド結合したセリルセリン誘導体を生成することから、この方法の有効性が明かである。**12**のような複雑な糖ペプチドにおけるアジド基の選択的還元はニッケルテトラヒドロボレートにより達成される(34)。

このように生成したアミノ基をアセチル化後、タイプ**3**の構造が得られる。この中には、癌関連T抗原型の糖タンパク質

Scheme 5

の部分構造がある。アジド基は硫化水素を用いてもアミノ基に還元され(35)、また氷酢酸中ジメチルフェニルホスフィンによってすみやかにアセトアミド基へと導くこともできる(36)。また、セリン誘導体と2-アジド-2-デオキシガラクトピラノースとの α -グリコシドは、トリクロロアセトイミデート法によって調製される(37)。水銀や銀試薬を使わないもう1つの α -グリコシド合成は、無水トリフルオロメタンスルホン酸によるアジドガラクトースの遊離のアノメリック水酸基の活性化に基づいている(38)。しかし、スレオニン誘導体のグリコシル化においては多量の β -アノマーが形成されるので、分離が必要である。

C-3. 糖ペプチド鎖の延長

いったんグリコシル化した保護アミノ酸が得られれば、アミノあるいはカルボキシル末端を選択的に脱保護し、適切に保護されたアミノ酸あるいはペプチドと縮合して目的とする配列を得る。普通、よく用いられる縮合剤はDCCと1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(HOBT)(39)または水溶性カルボジイミド(40)である。保護した糖アミノ酸の立体障害のため、縮合反応はゆるやかに進む。糖ペプチドの合成を通じて特に重要なことは、保護基除去のための穏やかな方法である。強酸やピペリジンのような比較的強い塩基を必要とする古典的な脱保護の方法

(HOBt)(39) or water soluble carbodiimides(40). Due to the steric bulk of protected glycosyl amino acids the coupling reactions may be sluggish. Throughout the syntheses of glycopeptides, special emphasis has been given to mild methods for the removal of protecting groups. Thus classical deprotecting procedures requiring strong acids or relatively strong bases such as piperidine, are considered too vigorous, since they may lead to undesired effects such as anomerizations, transesterifications or scissions of the glycosidic linkages. Nevertheless, even successful solid phase peptide syntheses have been reported, employing classical solid phase methods such as the use of HF in the final release of the peptide from the resin(41). Other problems arise due to the tertiary structures of glycopeptides, leaving some functionalities inaccessible for rather bulky deprotection reagents such as heterogeneous hydrogenation catalysts(42). Thus, the exact deprotection procedure for a given glycopeptide has to be optimized in each case(16, 42, 44).

C-4. Carbohydrate Protective Groups

Commonly, the acetyl or benzoyl group is used to protect the hydroxy functions of saccharidic residues. Glycosylated serine and threonine residues undergo base-catalyzed β -elimination, and aminoacyl moieties undergo racemization upon treatment with base. Therefore, mild deacetylation conditions are necessary. Thus, hydrazine/methanol treatments(45) were very effective in selective deacetylation of the carbohydrate part. In turn, potassium cyanide in methanol/ethanol or dilute sodium methoxide have also been recommended(46, 47).

In general, the acid-stability of glycoside and intersaccharide bonds obviously depends upon the type of protection within the carbohydrate portion of glycopeptides. This has been demonstrated in the synthesis of branched fucosyl chitobiose asparagine peptides(48). The acidolytic removal of *tert*-butyl esters of these compounds results in a complete cleavage of the α -fucoside bond as long as the fucose part carries benzyl ether protecting groups. However, the fucoside bond is stable under identical conditions if the fucose portion is protected by acetyl groups(48). Alternatively, the allylsulfonyl(Als) group may open up new synthetic aspects. It can be introduced under very mild conditions onto even hindered hydroxyl functions and is stable to strong acids such as HBr/HOAc, TiBr_4 or TfOH and mild bases such as NEt_3 and methanol/*tert*-butylamine. In contrast to acyl groups, it does not transesterify and is a powerful stabilizer of glycosidic linkages if present in the adjacent position. Its removal is accomplished by Pd(0)-catalyzed irreversible allyltransfer onto suitable acceptor nucleophiles such as morpholine. In contrast to the Alloc-group(48) discussed later, formaldehyde has to be added to the deprotection cocktail to avoid SO_2 poisoning of the catalyst(49).

C-5. The N-Terminal Protection during Glycopeptide Synthesis

For the N-terminal protection during solution phase

is激し過ぎると考えられている。なぜならアノメリゼーション、エステル転移、あるいはグリコシド結合の切断といった副反応が起こるからである。それにも拘らずペプチドの固相合成の成功例が報告され、最終的な樹脂からのペプチドの解離においてHFを用いる古典的固相法が使われている(41)。糖ペプチドの三次元構造のため、いくつかの官能基が不均一な水素添加触媒(42)のように、比較的大きな脱保護剤と接触できないというまた別の問題が生じる。このように糖ペプチドの脱保護の方法はそれぞれの場合に応じて最適化されなければならない(16, 42, 44)。

C-4. 糖の保護基

一般にアセチル基やベンゾイル基が、糖水酸基の保護に用いられる。グリコシルセリンやスレオニン残基が塩基触媒下で β -脱離反応を受け易いのと同様に、アミノアシル部分は塩基処理によるラセミ化を受ける。それゆえ穏やかな脱アセチル化の条件が追求されている。ヒドラジン/メタノール処理(45)は、糖部分の脱アセチル化に非常に有効であることが明らかにされた。メタノール/エタノール中シアン化カリウムや希釈ナトリウムメトキシドを用いる方法もまた推められる(46, 47)。

一般にグリコシド結合および糖間結合の酸安定性は、糖ペプチド糖部分中の保護基の種類に明らかに依存している。これは分枝フコシルキトビオースアスパラギンペプチドの合成で明らかにされてきた(48)。これらの化合物の*tert*-ブチルエステルを酸によって脱保護すると、フコース部分がベンジルエーテル基で保護してある限り、 α -フコシド結合が完全に切断される。しかし、フコース部分がアセチル基にて保護してあるなら、フコシド部分は、全く同じ条件でも安定である(48)。代りに、アリルスルホニル(Als)基は新しい合成の見地を開くかもしれない。Als基は遮へいされた水酸基にも穏やかな条件で導入でき、HBr/HOAc, TiBr_4 やTfOHといった強酸に安定で、 NEt_3 やメタノール/*tert*-ブチルアミンといった弱塩基にも安定である。アシル基と対比してAls基はエステル転移を起こさないし、隣接位置にあるならグリコシド結合の有力な安定要因となる。その脱保護はモルホリンのような適切な求核アクセプターへのPd(0)触媒による不可逆的なアリル基転移によって達成される。しかし、後に述べるAlloc基(48)とは違い、 SO_2 が触媒毒となるのを避けるために、ホルムアルデヒドを脱保護反応液に加えなければならない(49)。

C-5. 糖ペプチド合成中のN末端保護

糖ペプチドの液相合成の間のN末端保護にとってアセタールタイプのグリコシド結合の酸不安定性により保護基の選択が余儀なくされる。氷酢酸中の臭化水素によってグリコシルセリンのZ基を選択的に除去しようとする試みは、求める生成物の収率が35%以下というように、広範なグリコシド結合の切断を引き起こした(50)。もし、弱い求核剤が溶液中に存在するならグリコシド結合の切断は抑えられるが、アノメリゼーションの危険性は常に存在する。O-グリコシド結合の不安定さは、糖ペプチドの構造にも依存するものと思われる(51, 52)。それ故に、糖ペプチド合成における保護基の酸分解は各々の場合で試され

glycopeptide synthesis also, the acid lability of the acetal-type glycosidic linkages puts constraints on the choice of protecting groups. Thus, attempts to selectively remove the Z-group from glycosyl serine derivatives by means of hydrobromic acid in glacial acetic acid brought about extensive cleavage of the glycoside bond with yields less than 35% of the desired product(50). If only poor nucleophiles are present in the solution, the cleavage of the glycoside bond is suppressed; the danger of anomerization, however, is always present. The lability of the *O*-glycosidic bond also appears to depend on the structure of the glycopeptide(51, 52). Therefore, the acidolysis of protective groups in glycopeptide synthesis needs to be examined depending on the glycopeptide.

The synthesis of glycopeptides of the glycosyl serine or threonine type(2 or 3) turns out to be still more difficult, because of the characteristic base-lability of the *O*-glycosyl β -hydroxycarboxylic acid derivatives(45). In fact, base is used analytically to demonstrate the presence of the *O*-glycosyl serine or -threonine linkages in glycoproteins(53). Thus in a sodium carbonate solution, the protected glycosyl threonine methyl ester **13**(Scheme 6) is cleaved quantitatively within seconds before cleavage of the methyl ester is achieved(54).

The rate of β -elimination to form an α -amino acrylic acid derivative, such as **14**, depends on the structure of the glycoconjugate and, especially, on the substituents at the amino and carbonyl functions of the amino-acid portion. Esters and amides undergo elimination even at room temperature at pH 9(54). The base-lability and the potential acid-lability of glycopeptides permits only the use of protective groups that can be removed under mild and, if possible, neutral conditions. The development of new, more suitable protective groups and appropriate use of the existing ones are undertaken to accomplish glycopeptide syntheses(16).

C-6. The (9-Fluorenyl)methoxycarbonyl(Fmoc) Group

The Fmoc group(55), frequently applied in peptide chemistry, is usually cleaved with piperidine/DMF, or selectively, in high yields with the weak base morpholine(pKa = 8.3) even from glycopeptides containing residues sensitive to base-catalyzed β -elimination such as the protected *O*-glucosyl- and *O*-xylosyl serine derivatives **15** and **16**. The selectively deblocked compounds **17** and **18** are obtained in almost quantitative yield(Scheme 7)(45).

In this way, the Fmoc group was applied in the synthesis of a number of glycopeptide structures such as the monosaccharidic TN antigen and disaccharidic T antigen forms of the N-terminal sequence of human glycophorin with M- and N-blood group structures(Scheme 8)(38, 44, 56, 57).

The only drawback in the use of Fmoc group along with benzyl esters is its cleavage susceptibility during the hydrogenolysis of the benzyl ester in some cases.

Scheme 6

る必要がある。

グリコシルセリンあるいはスレオニンタイプ(2,3)の糖ペプチド合成は、*O*-グリコシル- β -ヒドロキシカルボン酸誘導体(45)に特有な塩基不安定性のため、今なお困難である。実際、塩基は糖タンパク質中の*O*-グリコシルセリンあるいはスレオニンの存在を示す分析に使われている(53)。例えば炭酸ナトリウム溶液中、保護グリコシルスレオニンのメチルエステル**13**(スキーム6)は、メチルエステルの切断が起こる前数秒のうちに*O*-グリコシドが定量的に切断される(54)。**14**のような α -アミノアクリル酸誘導体を形成する β -脱離反応の反応速度は、複合糖質の構造、特にアミノ酸部分のアミノ基とカルボニル基の置換基に依存する。エステルとアミドは、pH9、室温下ですら脱離を受ける(54)。糖ペプチドの塩基不安定性と潜在的な酸不安定性のために、穏やかな条件、可能ならば中性の条件で除去できる保護基の使用が望ましい。糖ペプチドの合成を達成するために、新しいより安定な保護基の開発と既知の保護基の適切な使用が試みられている(16)。

C-6. (9-フルオレニル)メトキシカルボニル(Fmoc)基

ペプチド化学においてよく用いられるFmoc基(55)は、ふつうピペリジン/DMFを用いて切断され、また弱塩基性モルホリン(pKa = 8.3)を使って保護された*O*-グルコシルセリンや*O*-キシロシルセリン誘導体 **15**, **16**といった塩基触媒 β -脱離反応に敏感な残基を含む糖ペプチドからでも高収率で選択的に除去できる。選択的に脱保護された **17**と**18**がほぼ定量的に得られる(スキーム7)(45)。

この方法でFmoc基は、M-およびN-血液型構造をもつヒトグリコホリンのN末端配列のうち単糖TN抗体型および二糖T抗体型のような数多くの糖ペプチド構造の合成に応用された(スキ

Scheme 7

Scheme 8

C-7. The 2-(Pyridyl)ethoxycarbonyl(Pyoc) Groups

The 2-(pyridyl)ethoxycarbonyl(Pyoc) protective groups (58) are very stable to acids and bases but can be removed, e.g. with morpholine, after methylation of the pyridine nitrogen moiety(Scheme 8). The main drawback of the Pyoc groups is their ability to promote ortho ester formation during glycosylations.

When used in combination with the Fmoc group, preferentially applied during glycosylation reactions, the advantageous influence of the Pyoc groups on solubility and stability of the protected peptide fragments can likewise be exploited (Scheme 8).

Thus, in the synthesis of the N-terminal glycopeptide 27 of the human glycoporphin with M specificity(44, 59), the Fmoc group in the disaccharidic glycosyl serine 19 and -threonine 20 was selectively removed with morpholine(45)without destroying the numerous ester groups and the sensitive O-glycoside bonds. However, since the free amino compounds 21 and 22 tend to undergo self-catalyzed destruction, they had to be immediately condensed with the Pyoc-protected carboxyl components 23 or 25 to give 24 (51% based on 19) or 26, respectively. The stability of the Pyoc group towards hydrogenolysis allowed debenzylation of 24 to yield 25, while 26 could be selectively deblocked and subsequently acetylated to give 27 in 76% yield based on 26(44, 59).

ーム8)(38, 44, 56, 57)。Fmoc基とベンジルエーテルとの併用での唯一の欠点は、いくつかの場合でのベンジルエーテルの水素添加分解の際にFmoc基が敏感に切断されることがあるという点である。

C-7. 2-(ピリジル)エトキシカルボニル(Pyoc)基

2-(ピリジル)エトキシカルボニル基、Pyoc基(58)は、酸や塩基に非常に安定であるが、例えばピリジン窒素のメチル化の後モルホリンを用いて除去される。Pyoc基の主な欠点はグリコシル化の際にオルソエステルの形成を促進することである。Pyoc基をグリコシル化反応の際に優先的に用いられたFmoc基と併用すれば、保護ペプチド断片の溶解性や安定性に対してPyoc基の都合のよい影響を利用することもできる。

このように、M特異性(44, 59)を持ったヒトグルコホリンのN末端糖ペプチドの合成において、二糖グリコシルセリン19およびグリコシルスレオニン20のFmoc基は、モルホリンを用いることによって、多数のエステル基や敏感なO-グリコシド結合の破壊を起こすことなく、選択的に除去された。しかし遊離のアミン化合物 21, 22は分子内にアミノ基が存在し自己触媒的に分解する傾向があるため、即座にPyoc基にてカルボキシル基を保護した化合物 23または 25と縮合する必要があり、それぞれ24(19より51%)、または26を与えた。Pyoc基は水素添加分解に対して安定であり、24の脱ベンジル化によって25を、一方26は選択的に脱保護され、続いてアセチル化することにより、26より76%の収率で27を与えた(44, 59)。これらの例や他の糖ペプチ

Scheme 9

These and other glycopeptide syntheses demonstrate the efficiency of the Pyoc protection. The single restriction is that the alkylation of the stable protective group to give its labile form is not possible in presence of amino acids that can undergo alkylation, *e.g.* cysteine.

C-8. The Allyloxycarbonyl(Aloc) Group

The allyloxycarbonyl(Aloc) group constitutes a particularly valuable amino protecting group for glycopeptide syntheses(60). It is stable to acidic and basic conditions usually applied in peptide chemistry. However, it can be removed under practically neutral conditions upon Pd(0)-catalyzed allyltransfer onto morpholine, or CH-acidic compounds, *e.g.* dimedone(5, 5-dimethyl- 1, 3-cyclohexanedione), malonate or, favorably *N*, *N'*-dimethyl barbituric acid(60), which avoid "selftrapping of the allylgroup" by the liberated primary amine resulting from Aloc-removal. Thus, compound 29 was obtained from 28 in quantitative yield(Scheme 9).

Then compound 29 can be extended at the N-terminus to give the glycopeptide 30 which represents a fragment of the linkage region of a viral envelope glycoprotein(48). Recently, the 3-(3-pyridyl)-allyloxycarbonyl group has been introduced, enhancing the water solubility of the peptide residues. Thus, peptide condensation and enzymatic procedures may be distinctly simplified(61).

ト合成がPyoc保護基の有効性を示すが、ただ1つの制約はシステインのようなアルキル化を受けるアミノ酸が存在すると、Pyoc基のN-アルキル化が不可能になるということである。

C-8. アリルオキシカルボニル(Aloc)基

アリルオキシカルボニル(Aloc)基は糖ペプチド合成のための有用なアミノ基の保護基である(60)。それは、ペプチド化学に用いられる酸や塩基性条件に安定である。しかしながら、Aloc基はモルホリンまたはCH-酸性化合物、例えばジメドン(5, 5-1,3-ジメチルシクロヘキサジオン)、マロン酸ジエチル、また好ましくはN, N'-ジメチルバルビツル酸(60)へのPd(0)触媒アリル転移によって、実質上中性条件で除去される。こうすれば、Aloc基の除去によって生成した一級アミンによる"アリル基の自己トラップ"を避けることができる。このように化合物29は28より定量的に得られた(スキーム9)。

化合物29は、その後、N-末端で延長され、ウイルス外皮糖タンパク質(48)の結合領域の断片を表す糖ペプチド30を与えた。最近、3-(3-ピリジル)-アリルオキシカルボニル基が導入され、ペプチド残基の水溶性を増している。このようにペプチドの縮合と酵素的手法は明白に単純化されているようである(61)。

C-9. C-末端保護基 tert-ブチルエステル

tert-ブチルエステルはアミノ末端保護基としてのZ基と連

C-9. C-Terminal Protective Groups: The *tert*-Butyl Ester

Tert-butyl esters have been applied as C-terminal blocking groups in conjunction with the Z-group as the amino terminal protection group. In general, it is cleaved by treatment with trifluoroacetic acid, while the Z-group, stable to the former conditions, can be removed by hydrogenation(51, 35).

To avoid side reactions due to *tert*-butyl cations or *tert*-butyl trifluoroacetate, 98% formic acid can be used instead of trifluoroacetic acid to cleave a C-terminal *tert*-butyl group(35). For the same reason, often nucleophilic trapping reagents like 1, 2-ethanedithiol(62) are added. Therefore, the deprotection conditions for the *tert*-butyl esters in glycopeptides have to be optimized for every substrate to ensure minimal glycoside cleavage due to the acidic conditions in the presence of nucleophilic trapping agents.

C-10. The Allyl esters

Allyl esters of amino acids are easy to prepare and stable under a wide variety of glycosylation conditions(21, 27, 36, 63, 64). They are stable to hydrochloric or trifluoroacetic acid, reagents suitable for the removal of the Boc-group or the *tert*-butyl ester protection from less sensitive *N*-glycopeptides(e.g. 5, Scheme 2)(21). Cleavage of the allyl esters can be achieved *via* isomerization of the double bond, mediated by a rhodium(I) catalyst (21), followed by hydrolysis of the transient enol ester (propenyl ester). This deprotection method was used successfully, e.g. in the synthesis of a partial structure of human orosomucoid(α_1 acid glycoprotein)(63). Alternatively, allyl esters can be removed *via* palladium(0)-catalyzed allyl transfer to an accepting nucleophile such as morpholine(27, 36, 64), in THF or other solvents which is not affected by amino acids bearing nucleophilic groups such as methionine(60). If dimethylaniline is used as the allyl trapping agent, orthogonality with the Fmoc-group is established, as was demonstrated in the synthesis of glycoporphin partial structures(65).

D. Synthesis of Glycopeptides on a Polymeric Support

The "Merrifield" type synthesis on a polystyrene resin has generally been accomplished by using the Boc or the Fmoc chemistry(66-68). According to the original protocol, glycosylated somatostatin has successfully been synthesized on Merrifield resin(41).

However, in general it is to be noted that because of the protective group problems already discussed, the anchoring of the peptides to the polymeric support with an ability to release the synthesized peptides and glycopeptides from the resin under almost neutral conditions, is highly desirable. Thus, resins with allylic anchoring groups have been developed. They can be cleaved under neutral conditions based on the palladium(0)-catalyzed allyl transfer to weakly or non-basic nucleophiles(69). In this way, the protected *O*-glycopeptide 31 sensitive to acid-catalyzed anomerization and base-catalyzed β -

係してC末端保護基として用いられてきた。一般に*tert*-ブチルエステルは、トリフルオロ酢酸で処理すると切断される。一方、Z基は先の条件では安定で水素添加によって除去される(51, 35)。

tert-ブチルカチオンや*tert*-ブチルトリフルオロアセテートによる副反応を避けるため、C末端*tert*-ブチル基の切断にはトリフルオロ酢酸の代わりに98%ギ酸が用いられる(35)。同じ理由で1,2-エタンジチオール(62)のような求核トラップ試薬がしばしば加えられる。それ故糖ペプチドにおける*tert*-ブチルエステルの脱保護条件は、求核トラップ試薬存在下での酸性条件によるグリコシドの切断を最小限にとどめるように個々の基質で最適化されなければならない。

C-10. アリルエステル

アミノ酸のアリルエステルは簡単に調製され、様々なグリコシル化の条件下で安定である(21, 27, 36, 63, 64)。アリルエステルは塩酸やトリフルオロ酢酸のようなあまり反応性の高いN-糖ペプチド(例えば5、スキーム2)のBoc基や*tert*-ブチルエステル保護基の除去に使われる試薬に安定である(21)。アリルエステルの切断はロジウム(I)触媒による二重結合の異性化(21)を経て、引き続き中間体のエノールエステル(プロペニルエステル)の加水分解によって達成される。この脱保護法は、ヒトのオロソムコイド(α_1 酸性糖タンパク質)(63)の部分構造合成において首尾よく用いられた。アリルエステルはまたメチオニン(60)のように求核基を持つアミノ酸によって影響されないTHFやその他の溶媒中でモルホリンのような求核アクセプターへのパラジウム(0)触媒によるアリル転移を経て除去される(27, 36, 64)。もしジメチルアニリンがアリルトラップ試薬として用いられるなら、グリコホリン部分構造合成に示したようにFmoc基との直交性が確立される(65)。

D. 高分子支持体における糖ペプチド合成

ポリスチレン樹脂上の"Merrifield"タイプの合成は一般にBocやFmocの化学を用いて行なわれてきた(66-68)。最初のプロトコールに従ってグリコシルソマトスタチンはMerrifield樹脂上で首尾よく合成されてきた。

しかし一般に、先に述べた保護基の問題のため、ほぼ中性条件下で合成ペプチドや糖ペプチドを樹脂から遊離させる能力を有する高分子支持体へのペプチドの固定が切望されている。そこでアリル固定基を有する樹脂が発達してきた。それらは、弱塩基性もしくは非塩基性求核剤へのパラジウム(0)触媒アリル基転移に基づいて、中性条件下で切断される(69)。この方法で、触媒によるアノメリゼーションや塩基触媒による β -脱離反応に敏感な保護O-糖ペプチド31が高収率で合成され、樹脂から遊離された(70)(スキーム10)。

最近、糖ペプチド合成が酸に敏感なアルコキシおよびジアアルコキシベンジルエステルアンカーを持つ高分子支持体を用いても行なわれている。ブタのグリコホリン鎖32はこの方法によって合成された(スキーム11)。これらの合成においては、N末端の一時的な保護は塩基感受性Fmoc基を用い、脱保護は弱塩基

Scheme 10

Hycram is a Trade Mark of
the ORPEGEN, Heidelberg, Germany

Scheme 11

elimination is synthesized and released from the resin in high overall yield(70)(Scheme 10).

Recently, glycopeptide syntheses have also been performed with polymeric supports carrying acid-sensitive alkoxy and dialkoxy benzyl ester anchors(46, 47). The porcine glyco-phorin sequence 32 was constructed according to this method(46)(Scheme 11). The temporary N-terminal protection is achieved in these syntheses by utilizing the base-sensitive Fmoc group and its removal with the weakly basic morpholine(45).

In summarizing the research on glycopeptide synthesis of the last decade, we can conclude that novel protection and de-protection procedures have made the synthesis of glycopeptides possible. In turn, the scope of glycopeptide applications appears almost limitless, considering their important role in immunochemistry. Still, many problems remain, especially, in the synthesis of longer peptides with more diverse side chains or more complex carbohydrate residues.

モルホリンを用いて達成される。

最近10年間の糖ペプチド合成に関する研究をまとめると、新規な保護法と脱保護法が糖ペプチド合成を可能としてきたと結論できる。一方、糖ペプチド応用の広がり、その免疫化学における重要な役割を考えると、殆ど限らないように思われる。しかし、もっと多様な側鎖や複雑な糖残基を含む長鎖ペプチドの合成においてはまだ多くの問題が残っている。

岐阜大学 農学部
石田 秀樹 訳

References

- Kennedy, R.C., Dreesman, G.R., Chanh, T.C., Boswell, R.N., Allan, J.S., Lee, T.H., Essex, M., Sparrow, J., Ho, D.D., and Konda, P. (1987) *J. Biol. Chem.* **262**, 5769-5779
- Modrow, S., Hoeflacher, B., Merz, R., and Wolf, H. (1989) *J. Immunol. Methods* **118**, 1-7
- Johansen, P.G., Marshall, R.D., and Neuberger, A. (1961) *Biochem. J.* **78**, 518-537
- Detailed review: Montreuil, J. (1979) *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **37**, 157-223
- Muir, H. (1985) *Biochem. J.* **69**, 195-201
- Montreuil, J. in Neuberger, A., and van Deenen, L.L.M. (eds.) (1981) *Comprehensive Biochemistry* Vol. 19BII, p 1 Elsevier, Amsterdam
- Feizi, T., Kabat, E.A., Vicari, G., Anderson, B., and Marsh, W.L. (1971) *J. Immunol.* **106**, 1578-1592
- Lloid, K.O., and Kabat, E.A. (1968) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **61**, 1470-1477
- Dahr, W., Beyreuther, K., Steinbach, H., Gielen, W., and Krüger, J. (1980) *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **361**, 895-906
- See, e. g.: Springer, G.F., Desai, P.R., Murthy, M.S., and Scanlon, E.F. (1978) *ACS Symp. Ser.* **80**, 311-325
- Butler, W.T., and Cunningham, L.W. (1966) *J. Biol. Chem.* **241**, 3882-3888; Spiro, R. G. (1967) *J. Biol. Chem.* **242**, 4813-4823
- Calcott, M.A., and Müller-Eberhard, H.-J. (1972) *Biochemistry* **11**, 3443-3540
- Lamport, D.T.A. (1967) *Nature(London)* **216**, 1322-1324
- Paulsen, H. (1982) *Angew. Chem.* **94**, 184-201; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **21**, 155-172
- Schmidt, R.R. (1986) *Angew. Chem.* **98**, 213-236; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **25**, 212-235
- Kunz, H. (1987) *Angew. Chem.* **99**, 297-311; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **26**, 294-308
- Bolton, C.H., and Jeanloz, R.W. (1963) *J. Org. Chem.* **28**, 3228-3230
- Horton, D., and Wolfrom, M.L. (1962) *J. Org. Chem.* **27**, 1794-1800
- Review: Garg, H., and Jeanloz, R.W. (1985) *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **43**, 135-201
- Belleau, B., and Malek, G. (1968) *J. Am. Chem. Soc.* **90**, 1651-1652
- Waldmann, H., and Kunz, H. (1983) *Liebigs Ann. Chem.* **1983**, 1712-1725
- See, e. g.: Kochetkov, N.K., Derevitskaya, V.A., Khorlin, A.Y., Vafina, M.G., and Bochkov, A.F. (1965) *Izv. Akad. Nauk SSSR Ser. Khim.* **1965**, 1698
- Garegg, P.J., Lindberg, B., and Norberg, T. (1979) *Acta Chem. Scand. Ser. B33*, 449-443
- Kunz, H., and Buchholz, M. (1981) *Angew. Chem.* **93**, 917-919; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **20**, 894-896
- Hanessian, S., and Banoub, J. (1977) *Carbohydr. Res.* **53**, C13-C16
- Schmidt, R.R., and Michel, J. (1980) *Angew. Chem.* **92**, 763-764; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **19**, 731-732
- Kunz, H., and Waldmann, H. (1984) *Angew. Chem.* **96**, 49-50; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **23**, 71-72
- Kunz, H., and Sager, W. (1985) *Helv. Chim. Acta* **68**, 283-287
- Kunz, H., and Harreus, A. (1982) *Liebigs Ann. Chem.* **1982**, 41-48
- Ogawa, T., Beppu, K., and Nakabayashi, S. (1982) *Carbohydr. Res.* **93**, C6-C9
- Lemieux, R.U., and Ratcliff, M.M. (1979) *Can. J. Chem.* **57**, 1244-1251
- Ferrari, B., and Pavia, A.A. (1980) *Carbohydr. Res.* **79**, C1-C7
- Paulsen, H., Paal, M., and Schultz, M. (1983) *Tetrahedron Lett.* **24**, 1759-1762
- Heyns, K., Feldmann, D., Hadamczyk, D., Schwentner, J., and Thiem, J. (1981) *Chem. Ber.* **114**, 232-239
- Paulsen, H., Schultz, M., Klamann, J.-D., Waller, B., and Paal, M. (1985) *Liebigs Ann. Chem.* **1985**, 2028-2048
- Friedrich-Bochnitschek, S., Waldmann, H., and Kunz, H. (1989) *J. Org. Chem.* **54**, 751-756
- Grundler, G., and Schmidt, R.R. (1984) *Liebigs Ann. Chem.* **1984**, 1826-1847
- Pavia, A.A., and Ferrari, B. (1983) *Int. J. Pept. Protein Res.* **22**, 539-549
- König, W., and Geiger, R. (1970) *Chem. Ber.* **103**, 788
- Sheehan, J.C., and Ledis, S.L. (1973) *J. Am. Chem. Soc.* **95**, 875
- Lavielle, S., Ling, N. C., Saltman, R., and Guillemin, R. C. (1981) *Carbohydr. Res.* **89**, 229-236
- Kunz, H., and Waldmann, H. (1985) *Helv. Chim. Acta* **68**, 618-622
- Ferrari, B., and Pavia, A.A. (1985) *Tetrahedron* **41**, 1939-1944
- Kunz, H., and Bimbach, S. (1986) *Angew. Chem.* **98**, 354-355; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **25**, 360-361
- Schultheiss-Reimann, P., and Kunz, H. (1983) *Angew. Chem.* **95**, 64-65; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **22**, 62-63; *Angew. Chem. Suppl.* **1983**, 39-46
- Paulsen, H., Merz, G., and Wichert, U. (1988) *Angew. Chem.* **100**, 1425-1427; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **27**, 1365-1367
- Lüning, B., Norberg, T., and Tejbrant, J. (1989) *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1989**, 1267-1268
- Kunz, H., and Unverzagt, C. (1988) *Angew. Chem.* **100**, 1763-1765; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **27**, 1697-1699
- Brill, W. K. -D., and Kunz, H. (1991) *Synlett* **1991**, 163-164
- Garg, H.G., and Jeanloz, R.W. (1976) *Carbohydr. Res.* **43**, 246-250
- Verez Bencomo, V., and Sinay, P. (1983) *Carbohydr. Res.* **116**, C9-C12
- Kunz, H., and Waldmann, H. (1985) *Angew. Chem.* **97**, 885-887; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **24**, 883-885
- Review: Marshall, R.D., and Neuberger, A. (1970) *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **25**, 407-478
- Vercellotti, J.R., Fernandez, R., and Chang, C.J. (1967) *Carbohydr. Res.* **5**, 97-101
- Carpino, L.A., and Han, G.Y. (1970) *J. Am. Chem. Soc.* **92**, 5748-5749
- Kunz, H., Friedrich-Bochnitschek, S., Birnbach, S., and Unverzagt, C. (1988) *Peptide Chemistry 1987* (Shiba, T., Sakakibara, S., eds) Protein Research Foundation, Osaka, 1988, 323-326
- Paulsen, H., and Schultz, M. (1986) *Liebigs Ann. Chem.* **1986**, 1435-1447
- Kunz, H., and Bimbach, S. (1984) *Tetrahedron Lett.* **25**, 3567-3570
- Kunz, H., Birnbach, S., and Wernig, P. (1990) *Carbohydr. Res.* **202**, 207-223
- Kunz, H., and Unverzagt, C. (1984) *Angew. Chem.* **96**, 426-427; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **23**, 436-437

61. von dem Bruch, K., and Kunz, H. (1990) *Angew. Chem.* **102**, 1520-1522; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **29**, 1457-1459
62. Wünsch, E., Jaeger, E., Kisfaludy, L., and Löw, M. (1977) *Angew. Chem.* **89**, 330-331; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **16**, 317-318
63. Waldmann, H., März, J., and Kunz, H. (1990) *Carbohydr. Res.* **196**, 75-93
64. Jeffrey, P.D., and McCombie, S.W. (1982) *J. Org. Chem.* **47**, 587-590
65. Ciommer, M., and Kunz, H. (1991) *Synlett*, 1991, 593-595
66. Merrifield, R.B. (1963) *J. Am. Chem. Soc.* **85**, 2149-2154
67. Barany, G., Kneib-Cordonier, N., and Mullen, D.G. (1987) *Int. J. Pep. Protein Res.* **30**, 705-739
68. Eberle, A.N., Atherton, A., Dryland, A., and Sheppard, R.C. (1986) *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* 361-367
69. Kunz, H., and Dombo, B. (1988) *Angew. Chem.* **100**, 732-734; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **27**, 711-713; Kunz, H., Dombo, B., Ger. Patent Appl. P 3720269.3(19.6.1987)
70. Kunz, H., Dombo, B., and Kosch, W. (1989) in Jung, G., Bayer, E. (eds.): *Peptides 1988*, 154-156

GLYCONEWS

Dr. Akira Kobata wins 1992 Claude S. Hudson Award

Dr. Akira Kobata, Institute for Medical Science, University of Tokyo, will win the 1992 Claude S. Hudson Award from the Carbohydrate Chemistry Division, American Chemical Society. The purpose of the award is to recognize outstanding contributions to carbohydrate chemistry, whether in education, research, or applications. The award will be given to his studies on "Structures, Metabolism, Functions and Pathology of the N-linked Sugar Chains of Glycoproteins." Dr. Kobata is internationally known for his studies on structural analysis of glycoprotein sugar chains. He established a method for the structural analysis of N-linked sugar chain of glycoprotein by combining hydrazinolysis and ^3H -labelling of sugars. The award has been given to carbohydrate chemists in the USA, Canada and Europe. Dr. Kobata is the first Japanese winner of the award. He graduated in 1956 from the Department of Pharmaceutical Science, University of Tokyo School of Medicine. He moved to the Institute of Medical Science, University of Tokyo, via Takeda Pharmaceutical Industry Co., Ltd, National Institute of Health, USA, and Kobe University School of Medicine. He has been the director of the Institute of Medical Science, University of Tokyo, since April 1990.

Dr. Yuan Chuan Lee wins 1992 Herbert A. Sober Lecture-ship Award

Dr. Yuan Chuan Lee, Department of Biology, Johns Hopkins University, will win the 1992 Herbert Sober Lecture-ship Award. This lectureship is to be awarded to an investigator who has made outstanding contributions to biochemistry and molecular biology, especially to advances in methodology. This award is given to Dr. Lee for his studies on "Binding Mechanism of Hepatic Lectin Using Neoglycoproteins and Synthetic Ligands and Chromatographic Separation of Saccharides." He graduated from the Department of Agricultural Chemistry, National Taiwan University in 1955, and he moved to the USA. He took his Ph. D. under the guidance of Dr. R. Montgomery, University of Iowa, and he has devoted himself to carbohydrate chemistry and biochemistry since then. He has shown outstanding contributions on hepatic lectins by applying techniques of synthesis to biochemistry for the past ten years.

木幡陽博士1992年度Claude S. Hudson 賞を受賞

東京大学医科学研究所、木幡陽博士は1992年度アメリカ化学会の炭水化物化学部会のHudson 賞を受賞される。同賞は炭水化物化学分野での研究、教育、応用のいずれかに顕著な業績に対するものである。その受賞の対象となったのは同博士の"糖タンパク質のN-結合型糖鎖の構造、代謝、機能と病理学"に関する研究である。木幡博士は糖タンパク質糖鎖の構造研究では世界的に著名な業績を挙げておられ、この方面の研究の指導的役割を果たしておられる。同博士はヒドラジン分解法と ^3H -標識方法を組み合わせた独特の糖タンパク質のN-結合型糖鎖の分析法を確立された。同賞の受賞者は米国、カナダ、ヨーロッパの研究者に与えられてきたが、今回の木幡博士の受賞は日本人として初めてである。木幡博士は1956年東京大学医学部薬学科卒業で、武田薬品工業、NIH、神戸大学医学部を経て、東京大学医科学研究所へ移れ、昨年4月からは所長をしておられる。

Yuan Chuan Lee博士1992年度Herbert A. Sober 賞を受賞

Johns Hopkins大学生物学科のYuan Chuan Lee博士は1992年度のHerbert A. Sober賞を受賞される。同賞はAmerican Society for Biochemistry and Molecular Biologyから生化学と分子生物学における、特に方法論において優れた業績を挙げた研究者に与えられる。今回の受賞は同博士のネオオグリコプロテインと合成リガンドを用いた肝臓の動物レクチンの結合機構と、糖質のクロマトグラフィーによる分離の研究に対して与えられる。Lee博士は1955年台湾大学農藝化学科卒で、その後米国に移られ、L. Montgomery博士の許でPh. D.を取られ、以後糖質研究一筋に打ち込んでこられた。過去十数年、合成技術を生化学に応用し、動物レクチンに関する研究で優れた業績を挙げておられる。