

ボロン酸の分子認識能を利用した無保護糖の位置選択的硫酸化反応の開発と硫酸化糖脂質セミノリピドの全合成に関する研究

北里大学大学院薬学研究科
 医薬品化学教室 (牧野一石教授)
 博士後期課程 3年 福原賢司

1. 緒言

有機ホウ素化合物は、糖質ヒドロキシ基と位置特異的に複合体を形成することが古くより知られている¹⁾。すなわち、糖質上に複数存在するヒドロキシ基のうち4,6位ヒドロキシ基やシス-1,2-ジオールといったヒドロキシ基間で位置選択的にホウ酸エステルを生じる(Figure 1)。

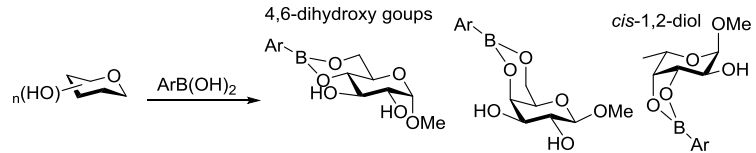


Figure 1. Regioselective recognition of hydroxy groups with arylboronic acid.

当研究室ではこれまでに、有機ホウ素化合物のヒドロキシ基認識能に着目した位置選択的グリコシル化反応を報告している²⁾。すなわち、ボロン酸により反応系中で糖受容体の特定のヒドロキシ基をマスキングした後、続けてグリコシル化反応の条件に付すことで位置選択的グリコシル化反応に成功している。そこで今回我々は、本手法の適用系拡張研究の一環として、無保護糖の位置選択的硫酸化反応の開発を目指し研究に着手することとした(Figure 2)。硫酸基を含む糖鎖は細胞表面に存在し、生体情報の伝達や細胞同士の識別など、相互作用や識別現象の際の情報分子として機能している。しかしながら、天然の硫酸化糖は硫酸化の位置や割合が制御されていないために構造活性相関の解析が容易ではない。従って、硫酸化糖における硫酸基の導入位置ならびに導入率の制御を可能とする方法論の開発が重要な課題である。

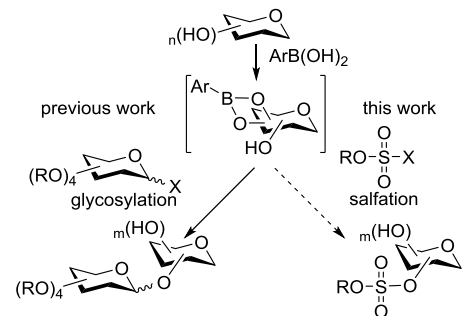
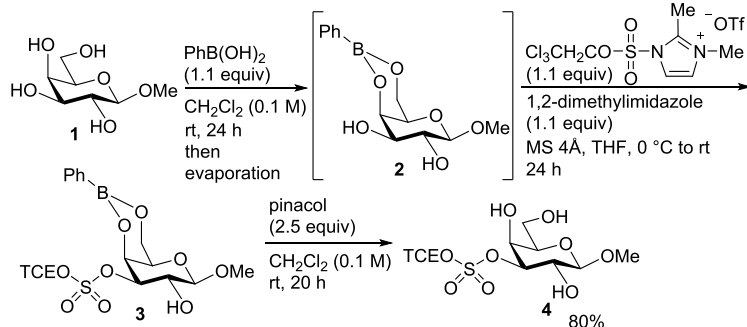


Figure 2. Regioselective *O*-functionalization of unprotected carbohydrates by molecular recognition with arylboronic acid.

2. ボロン酸の分子認識能を利用した無保護糖の位置選択的硫酸化反応³⁾

はじめに、フェニルボロン酸によりメチル-β-D-ガラクトピラノシド(1)の4,6位ヒドロキシ基のマスキングを行い、ボロン酸エステル2を得た。次いで、塩基として1,2-ジメチルイミダゾール存在下、Taylorらのスルフリルイミダゾリウム塩⁴⁾を用い3位ヒドロキシ基の位置選択的硫酸化を行った



Scheme 1. Regioselective sulfation by molecular recognition with phenylboronic acid.

(Scheme 1)。ここで、得られた硫酸化糖3は意外にも安定であり、ボロン酸エステルを損なうことなく、カラムクロマトグラフィーでの精製が可能であった。次に4,6位を遊離ヒドロキシ基にすべく種々検討を行った結果、ピナコールを用いたエステル交換反応によって中性条件下、ボロン酸を除去することができ、目的の3位硫酸化糖4を総収率80%で得ることに成功した。

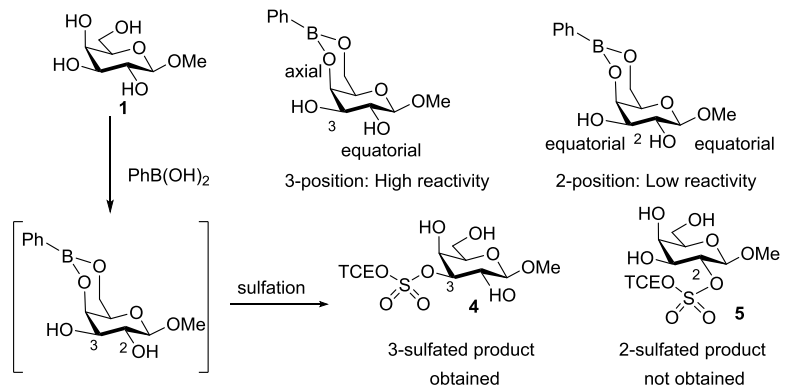
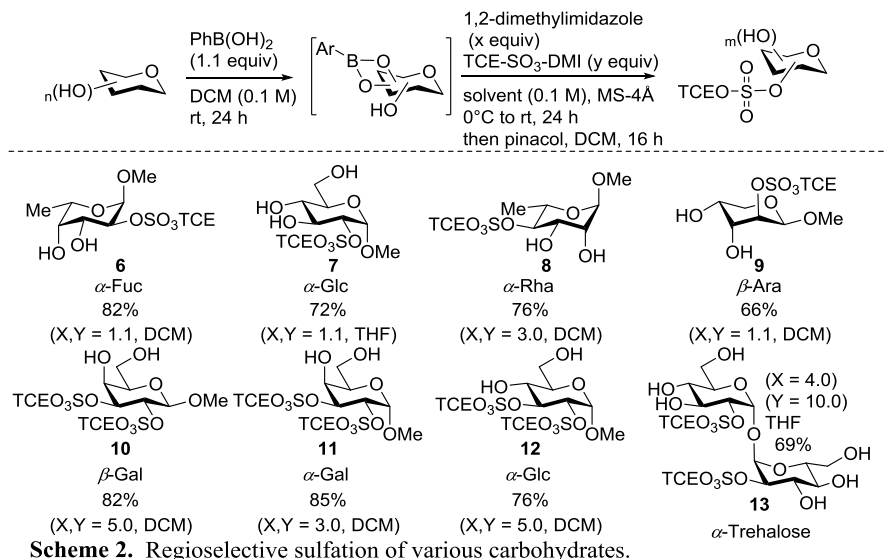


Figure 3. Relationship between regioselectivity and stereochemistry.

なお、過ホウ素酸を用いた酸化条件では硫酸基の分解が認められた。

メチル-β-D-ガラクトピラノシド(1)では3位のヒドロキシ基にのみ硫酸化されたモノ硫酸化糖は確認されたが、2位にのみ硫酸化されたモノ硫酸化糖は確認できなかった。この結果について

は、糖質の立体化学が影響していると考えている。すなわち、反応点に対して隣接している置換基のいずれかがアキシアル位に配向している場合は反応点の反応性は高く、一方で反応点に対して隣接している置換基が共にエクソトリアル位に配向している場合は反応点の反応性は低いことが考えられる (Figure 3)。次に、適用範囲の拡張を目指し、さまざまな単糖を基質として用い、位置選



択的硫酸化反応の検討を行った (Scheme 2)。その結果、 α -メチルフコースや α -メチルグルコースのように反応点に対して隣接している置換基に対し、一方がアキシアル位に配向している場合、最小限の当量の試薬で位置選択的な硫酸化反応を高収率で行うことに成功した。また、 α -メチルラムノースなどのように反応点に対して隣接している置換基が共にエクソトリアル位に配向している場合には試薬の当量数や溶媒の調整を行うことで、反応点が低いヒドロキシ基に対しても硫酸化反応が進行し、モノ硫酸化糖やビス硫酸化糖をそれぞれ主生成物として得ることができた。また、本法はトレハロースのようなヒドロキシ基を8つ有する高極性化合物においてもボロン酸の分子認識を利用した位置選択的硫酸化を行うことにより、特定の位置にのみ硫酸化されたビス硫酸化糖 **13** を直接的に得ることも可能である。

3. 硫酸化糖の新規脱保護法の開発³⁾

今回用いた硫酸化試薬は硫酸基がトリクロロエチル基で保護されているため、脱保護の必要がある。これまでに Taylor ら⁴⁾は亜鉛とギ酸アンモニウムを用いた脱保護法を報告しているが、本法では無機塩を取り除くためにイオン交換樹脂を用いる必要があるなど、精製操作の煩雑さが課題として残されている (Figure 4)。そこ

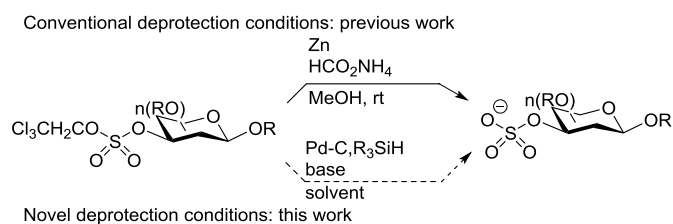
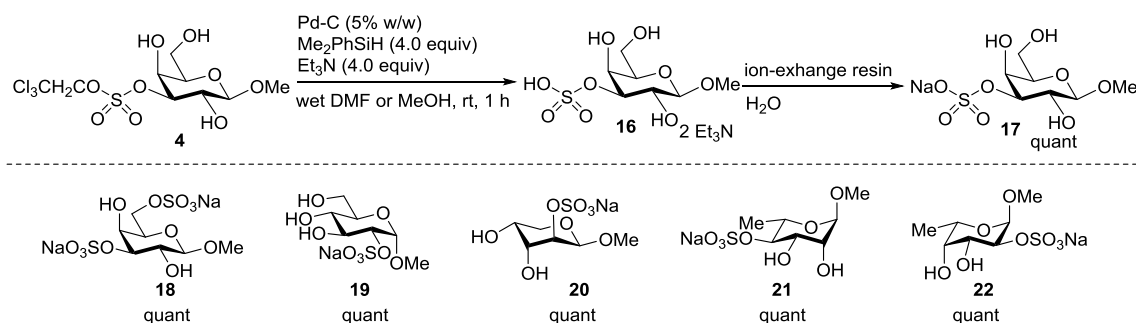


Figure 4. Deprotection of 2,2,2-trichloroethyl protected sulfate group.

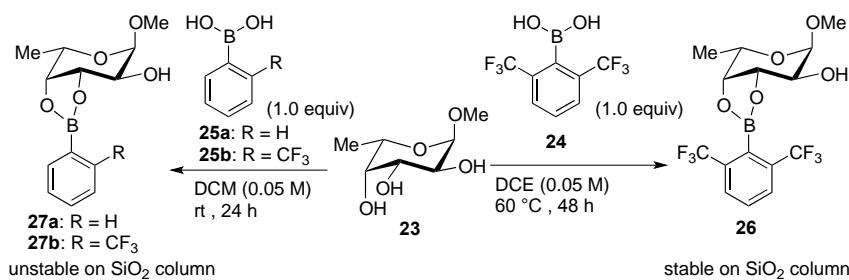
で、我々は大量合成にも適用可能な簡便脱保護法を目指し検討を行うこととした。その結果、溶媒として DMF または MeOH を使用し、触媒量の Pd-C 存在下、塩基としてトリエチルアミンを用い、還元剤としてジメチルフェニルシランを作用させることにより再現性良くトリクロロエチル基が除去された硫酸化糖をトリエチルアミン塩 **16** として高収率で得ることに成功した (Scheme 3)。また、トリエチルアミン塩 **16** はイオン交換樹脂で処理することで容易にナトリウム塩 **17** へと交換可能であった。今回、新たに見出した脱保護法では、ろ過と分液の簡便な操作のみで純度の高い目的化合物を得ることが可能であり、本反応は糖質の立体化学に影響することなく、いずれも定量的にトリクロロエチル基の脱保護が可能である。



Scheme 3. Deprotection of 2,2,2-trichloroethyl protected sulfate group using Me₂PhSiH/Pd-C.

4. オルト二置換芳香族ボロン酸の特性を活用した新規ジオールの保護基の開発⁵⁾

我々は無保護糖の位置選択的硫酸化反応の開発研究の途上で、生成物であるトリクロロエチル基で保護された硫酸基を導入したボロン酸エステル誘導体が想定外に安定であるという興味深い知見を得た(前述、Figure 5)。そこで、ボロン酸エステルの安定化効果がボロン酸のホウ素原子とトリクロロエチル基の塩素原子との相互作用に起因するという仮説の下、ホウ素原子の近接位にハロゲン原子を配置した芳香族ボロン酸を用いて対応するボロン酸エステルの安定性の検証、ならびにその応用研究を目的として研究に着手した。我々は両オルト位にトリフルロメチル基が置換しているボロン酸**24**とフコース**23**から調製したボロン酸エステル**26**の安定性について検証を行った(Scheme 4)。その結果、有機相/水相二相系の分液操作やシリカゲルカラムクロマトグラフィーによる精製過程で分解することなく**26**の安定性を確認することができた。一方、フェニルボロン酸(**25a**)や2-トリフルオロメチルフェニルボロン酸(**25b**)由来の



Scheme 4. Stability of the boronic esters.

ボロン酸エステル**27a**、**27b**は分液操作や精製過程での分解が認められた。現在のところ、ボロン酸**24**が対応するボロン酸エステルを安定化する理由は明らかとなっていないが、**24**のX線結晶構造解析の結果(Figure 6)より、二つのホウ素原子とフッ素原子の原子間距離が2.62 Åと2.64 Åであり、いずれもVan der Waals 半径の和である3.38 Åよりも短いことから、ホウ素原子の五配位構造⁶⁾がボロン酸エステルの安定化に寄与しているのではないかと推察している。以上の知見をもとに、ボロン酸**24**のジオールの保護基としての応用について検討を行った(Figure 7)。モデル基質として1,3,6-ヘキサントリオール(**28**)を選定し、ボロン酸エステル**29**を調製した後、アシル化やシリル化、酸化、還元、増炭反応などの種々官能基変換を行った。その結果、いずれの場合もボロン酸エステルの分解は認められず、反応は円滑に進行し良好な収率で所望とする生成物を得ることができた。ボロン酸エステルは、通常の後処理で用いる酸性水溶液や塩基性水溶液にも耐性を示した。なお、ボロン酸エステルの脱保護はジオールを用いたエステル交換により可能であった(後述)。以上のことより、ボロン酸**24**が中性の穏和な条件下で着脱可能な新しいジオールの保護基としての可能性を見出した。

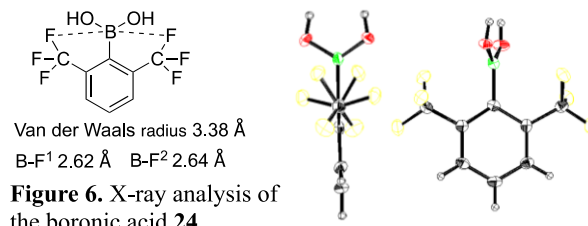
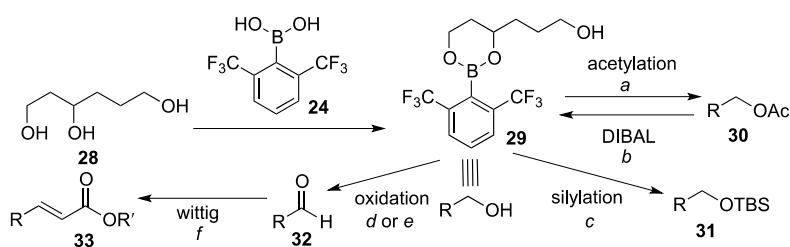


Figure 6. X-ray analysis of the boronic acid **24**.

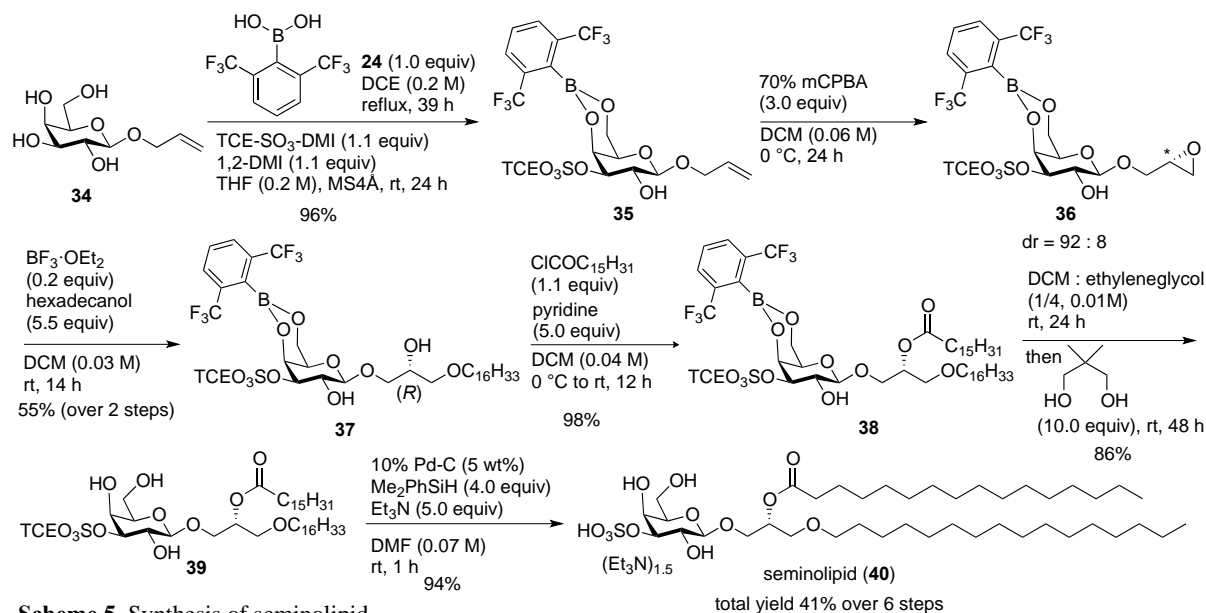


reaction conditions: a: AcCl (1.5 equiv), collidine (2.0 equiv), CH₂Cl₂ (0.1 M), rt, 20 h, 99% ; b: DIBAL (2.0 equiv), CH₂Cl₂ (0.05 M), -78 °C, 3 h 78% ; c: TBSCl (1.2 equiv), imidazole (2.0 equiv), DMF (0.1 M), rt, 21 h, quant ; d: DMP (1.5 equiv), CH₂Cl₂ (0.1 M), rt, 1 h, 75% ; e: (COCl)₂ (1.5 equiv), DMSO (3.0 equiv), Et₃N (5.0 equiv), CH₂Cl₂ (0.1 M), -78 °C to 0 °C, 2 h, 80% ; f: Ph₃C=CH₂CO₂Me (2.0 equiv), CH₂Cl₂ (0.05 M), rt, 7 h, 80%

Figure 7. Arylboronic acid **24** as novel protecting group of diol.

5. 位置選択的硫酸化反応を基盤とするセミノリピドの合成⁵⁾

セミノリピドは、1973年石塚ら⁷⁾によって単離・構造決定された硫酸化グリセロ糖脂質であり、3位ヒドロキシ基が硫酸化されたガラクトースにグリセロ脂質がβ結合した特徴的な分子構造を有している。セミノリピドは哺乳類精子中全糖脂質の90%を占める構成成分であり、主に精子表面に分布していることから受精のメカニズムへの関与が示唆されている。そのため、硫酸化セラミド糖脂質であるスルファチドと並び生物学的に重要な二大硫酸化糖脂質の1つとして位置づけられている。これまでにGigg⁸⁾によってその全合成が達成されているものの、煩雑な保護基の着脱を経るために工程数が多く、総収率が低いことが課題となっている。今回我々は、無保護糖の位置選択的硫酸化反応を基盤とするセミノリピドの全合成研究に着手した(Scheme 5)。はじめに、アリル-β-D-ガラクトピラノシド(**34**)を出発原料とし、先にジオールの保護基としての有用性が見出されたボロン酸**24**を用いて、位置選択的硫酸化反応を行った。その結果、



Scheme 5. Synthesis of seminolipid.

期待通り3位のヒドロキシ基のみが硫酸化されたモノ硫酸化糖**35**を収率96%で得ることができた。続いて *m*CPBAによるエポキシ化を検討した結果、92 : 8 の良好な立体選択性でエポキシド**36**を得た。次に $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ 存在下、ヘキサデカノールを作用させることで位置選択的エポキシドの開環反応が進行し、2工程収率55%でアルコール**37**を合成することができた。なお、立体化学については改良モッシャー法により *R*配置であると決定した。次に、ジクロロメタン中、ピリジンを塩基としてパルミチン酸塩化物を作用させることにより、脂質部位のヒドロキシ基のみが位置選択的にアシル化された化合物**38**を98%の高収率で得ることに成功した。続いてボロン酸エステルの交換反応を利用することで、中性条件下ボロン酸エステルの脱保護を行った後、最後に我々が見出したトリクロロエチル基の脱保護条件に付すことにより、6工程総収率41%でセミノリピド**40**の全合成を達成した。なお、本合成経路はエポキシ体**36**を中間体とすることで様々なアシル側鎖やエーテル側鎖が組み込まれたセミノリピド誘導体を合成することが可能である (Figure 8)。現在、構造活性相関研究を視野に入れた多様な誘導体合成について検討を行っている。

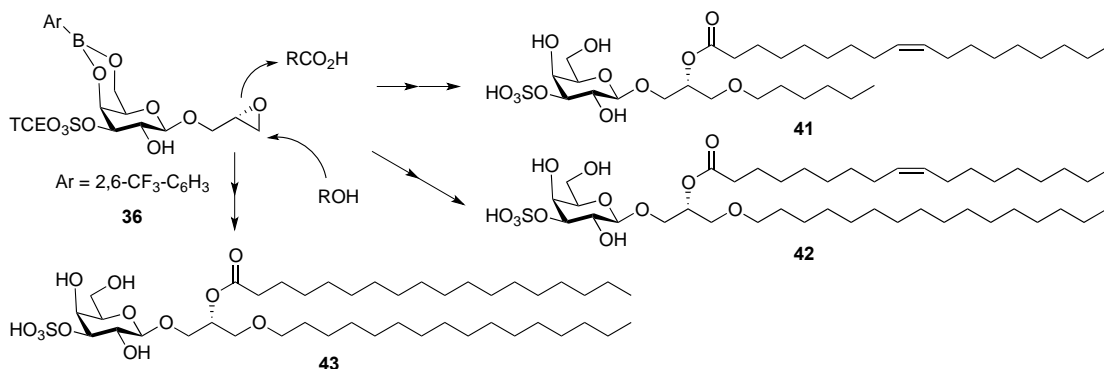


Figure 8. Syntheses of seminolipid derivatives.

References

- (a) Ferrier, R. J. *J. Chem. Soc.* **1961**, 2325–2330; (b) Ferrier, R. J.; Oerend, W. G. T.; Smith, B. C. *Carbohydr Res.* **1965**, *1*, 38–43; (c) Oshima, K.; Kitazono, E.; Aoyama, Y. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 5001–5004; (d) Brimacombe, J. S.; Hudsins, A. *Carbohydr Res.* **1969**, *10*, 141–151.
- (a) Kaji, E.; Nishino, T.; Ishige, K.; Ohya, Y.; Shirai, Y. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 1570–1573; (b) Nishino, T.; Ohya, Y.; Murai, R.; Shirahata, T.; Yamamoto, D.; Makino, K.; Kaji, E. *Heterocycles* **2012**, *84*, 1123–1324; (c) Kaji, E.; Yamamoto, D.; Shirai, Y.; Ishige, K.; Arai, Y.; Shirahata, T.; Makino, K.; Nishino, T. *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, 3536–3539;
- 第44回複素環化学討論会 (2014年9月11日、札幌、口頭発表、2O-03、○福原賢司、嶋田修之、西野貴司、牧野一石)、日本薬学会第135年会 (2015年3月27日、神戸、口頭発表、2C-pm09、○福原賢司、嶋田修之、牧野一石)
- (a) Ingram, L. J. Taylor, S. D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 3503–3506; (b) Igram, L. J.; Desoky, A.; Ali, Taylor, S. D. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 6479–6485; (c) Desoky, A. Y.; Taylor, S. D. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 9406–9412.
- 第34回日本糖質学会年会 (2015年8月1日、本郷、口頭発表、B-09、○福原賢司、嶋田修之、牧野一石)
- Yamashita, M. Yamamoto, Y. Akiba, K-y. Nagase, S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 4055–4058.
- Ishizuka, I. Suzuki, M. Yamakawa, T. *J. Biochem.* **1973**, *73*, 77–87.
- Gigg, R. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1978**, 712–718.