



Title	Study for the efficient synthesis of oligosaccharides : alternative sialylation and rapid separation methods
Author(s)	Salmasan, Regina
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/34054
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

Abstract of Thesis

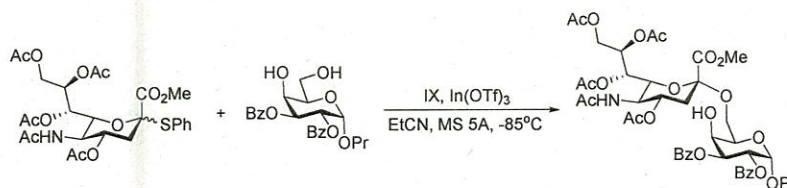
Name (Regina Madelo Salmasan)

Title

Study for the efficient synthesis of oligosaccharides: alternative sialylation and rapid separation methods
(効率的オリゴ糖合成に関する研究：新しいシアリル化法と迅速分離法)

Abstract of Thesis

Oligosaccharides are carbohydrates composed of a small number of monosaccharides usually present as components of glycolipids and glycoproteins. These are not only involved in normal physiological processes but in pathogenesis as well. Sialic acid-containing oligosaccharides in pathogenesis can either function as a marker that the pathogen has already penetrated a vulnerable part of the host's system, or as a decoy of the host's immune system to eliminate the pathogen and prevent virulence. For the synthesis of sialic acid containing oligosaccharide, stereoselective α -sialylation is essential but it has been placed as one of the most difficult glycosylations, since the glycosylation takes place at the sterically hindered position in the absence of participating group that can direct stereoselectivity, and the presence of an electron-withdrawing carboxylic acid at C1 electronically disfavors oxocarbenium ions. The recent advances in glycosylation chemistry, e.g., development of the new leaving groups and protecting groups, enabled the efficient construction of α -sialoside linkages. In the present study, the author developed the new stereoselective sialylation method using a sialyl thioglycoside as a donor and iodine interhalogen compounds together with $\text{In}(\text{OTf})_3$ system as activators. The combination of iodine interhalogen compounds with $\text{In}(\text{OTf})_3$ was found to be highly reactive to promote the glycosylation under -85°C to afford the desired α -sialyloside with high selectivity (Figure 1).

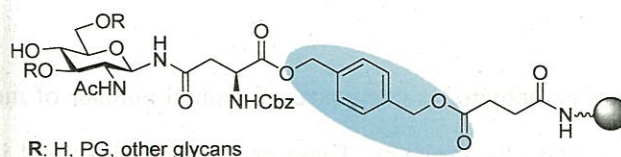
Figure 1. IX/ $\text{In}(\text{OTf})_3$ -promoted α -sialylation.

Because the sialylation sometimes affords by-products such as glycols and hydrolyzed donors, which render the purification of the desired products difficult, the author then investigated the glycan synthesis using phase tag method. One kind of phase tag called affinity tag/label uses specific molecular recognition in facilitating easier separation of the tagged product. By attaching Triton X-100 as a tag to the galactoside acceptor followed by α -sialylation using $\text{ICl}/\text{In}(\text{OTf})_3$, and finally, passing the reaction mixture through ArgoPore-NH₂ columns, the Triton-tagged disaccharide was obtained. This methodology can be applied to the

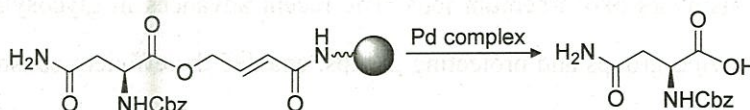
synthesis of various oligosaccharides as well as other compounds.

Aside from phase tagging, oligosaccharides can also be synthesized using the solid-phase method. In this rapid separation technique, substrates are attached onto polymer beads prior to the reaction via suitable linkers. *N*-glycan synthesis on solid supports have already been reported, however, *N*-glycans linked with asparagine have yet to be synthesized using solid-phase methods. In this study, several benzyl ester-type (Figure 1) and allyl linkers (Scheme 2) have been developed.

Figure 1. Benzyl ester linker.



Linkers were either connected with asparagine prior to resin loading, or directly attached onto the linker followed by asparagine loading. With the benzyl ester linkers, glycosylation was found to proceed on the solid support, however, isomerization of asparagine after basic cleavage was observed. To circumvent this, an allyl linker which is cleavable using palladium complexes was investigated. Allyl linkers were synthesized via cross-metathesis reaction, allylic alcohol oxidation, or direct loading of 4-bromocrotonic acid. Cleavage, on the other hand, were carried out using palladium (II) acetate or tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0).



Scheme 2. Allyl linker.

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (Regina Madelo Salmasan)			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教授	深 瀬 浩 一
	副 査	教授	梶 原 康 宏
	副 査	教授	加 藤 修 雄

論文審査の結果の要旨

Regina Madelo Salmasan は「Study for the efficient synthesis of oligosaccharides: alternative sialylation and rapid separation methods(効率的オリゴ糖合成に関する研究: 新しいシアリル化法と迅速分離法)」という研究題目で以下の研究を実施した。

シアル酸含有オリゴ糖は、糖タンパク質や糖脂質の糖鎖として認識に関する様々な生物機能を担っている。化学合成はそれらの機能解明に、大きな役割を果たしてきた。本研究では、シアル酸含有オリゴ糖の鍵となるシアリル化反応について新規手法を開発した。従来の研究から、天然型の α -シアロシドを立体選択的に構築するには -80°C という低温での温度制御を厳密に行う必要があることが示され、低温下でもシアリル化を行うためには、反応性の高い糖供与体を使用する必要があることが示された。一方、Salmasan はシアリル化に汎用されている *N*-アセチルノイラミン酸のチオグリコシドを糖供与体に用いた方法について検討した。Salmasan は、 $\text{ICl-In}(\text{OTf})_3$ および $\text{IBr-In}(\text{OTf})_3$ が高い反応性を有しており、 -80°C で効率的にチオグリコシドを活性化して目的の α -シアロシドを高い立体選択性で与えることを見出した。

このシアリル化反応においては、分離が困難な副生成物がしばしば得られるので、Salmasan は次に目的物を速やかに分離する手法の開発に携わった。そこで界面活性剤である Triton X-100 をタグに用い、固相担持アンモニウムイオンとの相互作用を利用した固相抽出法について検討を行った。Triton X-100 と種々のスパーサー部分を結合させた化合物が、 CH_2Cl_2 を溶出溶媒に用いると固相中に保持され、次に CH_2Cl_2 -MeOH で溶出することにより、目的の Tag を結合した化合物を効率的に精製できることを示した。

また Salmasan は、アスパラギン結合型糖タンパク質糖鎖 (*N*-glycan) の効率的な合成を目指し、固相合成法についても研究を行った。当該研究室において、糖鎖部のみの *N*-グリカンの固相合成はすでに達成されていたが、ペプチドに導入するためにはアスパラギンの結合した *N*-グリカンを合成する必要がある。様々な *N*-グリカンを効率的に合成するためにアスパラギン残基への *N*-グリコシル化を行った後に、糖鎖を伸長するストラテジーを採用した。まずアスパラギンを固相につなぐリンカーについて検討した。ベンジルエステル型リンカーを用いて、アスパラギン残基への固相上での *N*-グリコシル化に成功した。しかし、固相からのアルカリによる切断の際に、環状スクシニミドを形成し、さらにエピメリ化などの副反応を生じることがわかった。そこで副反応を引き起こすことなく、アスパラギン残基を固相から切断するリンカーとして、アリルエステル型のリンカーを見出した。

以上のように Salmasan は効率的な糖鎖合成法の開発に大きく貢献した。よって、本論文は博士(理学)の学位論文として十分価値あるものと認める。