

# Synthesis and Ring-opening Multibranching Polymerization of 1,6-Anhydro-D-hexofuranose Leading to Hyperbranched Polysaccharide

(1,6-アンヒドロ-D-ヘキソフラノースの合成と開環マルチブランチング重合  
によるハイパーブランチ多糖の創製)

## 学位論文内容の要旨

Hyperbranched polysaccharides have attracted much attention due to their advantages such as high solubility, low viscosity, and high density of functional groups at their peripheries that can be readily modified leading to novel nanomaterials. In addition, their diverse bioactivities allow them to have the potential applications in the fields of biochemistry and pharmacology such as antitumor activity against human hepatic cancer, immunomodulator, and glycosidase inhibition. Therefore, the synthesis of this type of polymer has an important meaning. Although, numerous hyperbranched polysaccharides have been investigated, the preparation of hyperbranched polysaccharides from 1,6-anhydro-D-hexofuranoses, namely 1,6-anhydro- $\beta$ -D-glucofuranose (1), 1,6-anhydro- $\beta$ -D-mannofuranose (2), and 1,6-anhydro- $\alpha$ -D-galactofuranose (3) have so far not been reported since 1–3 were difficultly obtained in large amount. Hence, the preparation of 1–3 and their polymerizations are necessary to produce a new structure of hyperbranched polysaccharide which probably has certain interesting properties.

One of the objectives of this study is the selective synthesis of 1–3 as monomers for ring-opening multibranching polymerization. The microwave-assisted heating and the solid-acid catalyzed heating were used for the selective synthesis of 1–3. In addition, the present study also focused on the ring-opening multibranching polymerization of 1–3 leading to novel hyperbranched polysaccharides. Moreover, the cluster effect (multivalent effect) of the hyperbranched polysaccharides was also investigated via the interaction between concanavalin A (ConA) and hyperbranched polysaccharide.

This thesis touches on the selective synthesis and ring-opening multibranching polymerization of 1,6-anhydro-D-hexofuranose and are presented in five chapters as follows:

Chapter 1 describes the general introduction of this study.

Chapter 2 describes the selective synthesis of 1 and 2 using microwave-assisted heating. The effect of different types of starting materials as well as reaction conditions on the selectivity of 1 and 2 were investigated. For example, the dehydration of D-mannose and D-glucose in the ordinary sulfolane gave the mixture of 1,6-anhydrohexopyranose and 1,6-anhydrohexofuranose. In contrast, the demethanolization of methyl-( $\alpha,\beta$ )-D-glucofuranoside (MGF) and methyl- $\alpha$ -D-mannofuranoside (M $\alpha$ MF) in the dry sulfolane afforded high selectivities for 1 and 2, respectively. The microwave-assisted heating of MGF in dry sulfolane at 260 °C and that of M $\alpha$ MF in dry sulfolane at 240 °C were chosen for the

preparation of 1 and 2, respectively. For the synthesis of 3, both microwave-assisted heating and solid-acid catalyzed heating were used. The microwave-assisted heating of D-galactose and methyl- $\beta$ -D-galactofuranoside (M $\beta$ GaF) gave the mixture of 3 and 1,6-anhydro- $\beta$ -D-galactopyranose (6) with the ratio in the range of 24:76 – 64:36. On the other hand, the solid-acid catalyzed heating of D-galactose using Amberlite15DRY (A15D) gave a high selectivity of 3 versus 6 (3:6 = 63:37 – 85:15). As the result, the solid-acid catalyzed heating of D-galactose at 135 °C using A15D in DMF was chosen for the preparation of 3.

Chapter 3 describes the synthesis and characterization of hyperbranched polysaccharides from 1–3 using ring-opening multibranching polymerization in the presence of thermally induced cationic catalyst. The polymerizabilities, the polymer structures, and the solution properties were discussed based on the NMR, light scattering, and viscosity measurements. In addition, the characteristics of poly1–3 were thoroughly compared with the corresponding hyperbranched polysaccharides obtained from 1,6-anhydro- $\beta$ -D-hexopyranoses, namely 1,6-anhydro- $\beta$ -D-glucopyranose (4), 1,6-anhydro- $\beta$ -D-mannopyranose (5), and 6. For example, the obtained poly1–3 have low intrinsic viscosities in the range of 4.9 to 7.4 mL·g<sup>-1</sup> and were highly branched structures with degrees of branching in the range of 0.40 – 0.46. The structures of poly1–3 were constructed by  $\alpha$ - and  $\beta$ -linked D-hexopyranosyl and D-hexofuranosyl residues with the percentages of the terminal units from 31.3 to 43.4 mol %. The portion of the D-hexofuranosyl terminal units of poly1–3 was higher than those of the corresponding polymers (poly4–6).

Chapter 4 describes the cluster effect of the interaction between hyperbranched polysaccharide and ConA. The high portion of the D-hexofuranosyl terminal units of poly1–3 encouraged to investigate its properties. In addition, the high percentage of nonreducing terminal units of poly1–3 provided the efficient cluster effect. Therefore, the cluster effect was investigated via the interaction between hyperbranched polysaccharide and ConA. The saccharide–ConA interaction was investigated by means of the change in fluorescent intensity of fluorescein isothiocyanate (FITC)–ConA when adding hyperbranched polysaccharides into FITC–ConA solutions. The binding constant of poly1,2–ConA interaction was calculated and compared with those of poly4,5–ConA interaction. Poly1 and poly2 showed a strong interaction to ConA due to the cluster effect of numerous nonreducing saccharide units on their surfaces with binding constants from  $1.7 \times 10^4$  to  $2.7 \times 10^5$  M<sup>-1</sup>. The binding constants increased with the increase in molecular weight of poly1. In contrast, the binding constants were almost unchanged irrespective of molecular weights of poly2. Interestingly, the nonreducing D-glucofuranosyl terminal unit of poly1 enhanced the binding constant to ConA, while the nonreducing D-mannofuranosyl terminal unit did not show any change in binding constant. Poly1, which contains a higher portion of D-glucofuranosyl terminal unit than poly4, has stronger interaction with ConA compared with poly4.

Chapter 5 describes the conclusion of this study. The selective synthesis and ring-opening multibranching polymerization of 1,6-anhydro-D-hexose were first researched. The obtained hyperbranched polysaccharides have interesting properties so that they can be used in the field of biotechnology and pharmacology.

# 学位論文審査の要旨

主 査	教 授	覚 知 豊 次
副 査	教 授	田 口 精 一
副 査	准教授	佐 藤 敏 文

## 学 位 論 文 題 名

### Synthesis and Ring-opening Multibranching Polymerization of 1,6-Anhydro-D-hexofuranose Leading to Hyperbranched Polysaccharide

(1,6-アンヒドロ-D-ヘキソフラノースの合成と開環マルチブランチング重合  
によるハイパーブランチ多糖の創製)

近年、高度に分岐した構造を有するハイパーブランチ多糖はその特徴的な化学構造に基づく低い粘性や高い溶解性などの諸物性に加え、抗腫瘍活性や免疫促進作用などの生理活性を有することから幅広い分野で注目され、その合成法や特性解析に関する研究が行われている。しかし、ハイパーブランチ多糖の化学構造と物性や機能性との相関には不明な点が多く、これらに関する包括的な研究が求められている。

本論文は、このような状況にあるハイパーブランチ多糖の研究において、新しい構造を有するハイパーブランチ多糖の合成と特性解析を目的とし、これまで入手困難であった 1,6-アンヒドロヘキソフラノース類の選択的合成法の開発、1,6-アンヒドロヘキソフラノース類を用いた新しいハイパーブランチ多糖の合成、および生成ハイパーブランチ多糖の溶液粘度やレクチン認識能などの特性について研究されたものである。

第 1 章は序論であり、本研究の背景と目的、関連する従来の研究と当面する課題および本論文の構成について述べている。

まず、著者は第 2 章で 1,6-アンヒドロヘキソフラノース類である 1,6-アンヒドロ- $\beta$ -D-グルコフラノース (1)、 $\beta$ -D-マンノフラノース (2)、および  $\alpha$ -D-ガラクトフラノース (3) の簡便かつ選択的な化学合成法を確立した。著者は化合物 1 と 2 の合成に対して、メチル-( $\alpha$ ,  $\beta$ )-D-グルコフラノシドとメチル- $\alpha$ -D-マンノフラノシドをそれぞれ原料としたマイクロ波を用いた加熱法が有効であることを見いだした。この反応は原料を乾燥スルホランに溶かし、3 分間、マイクロ波加熱 (240 ~ 260 °C、無触媒) するだけで高選択的かつ高収率で化合物 1 と 2 を生成した。また、著者は化合物 3 の合成において、原料に D-ガラクトース、触媒にアンバーリスト 15D、溶媒にジメチルホルムアミドを用いた 135 °C での反応が選択性に優れた方法であることを見いだした。従来、1,6-アンヒ

ドロヘキシフラノース類の合成は多段階の化学反応を必要とし、また、その選択性や収率が低いことなどと比較すると、本合成法は合成化学の観点から興味深いのみならず実用的な製造法としても優れていた。

また、著者は第3章で化合物1~3の開環マルチブランチング重合により新しいハイパーブランチ多糖の合成にも成功し、さらに、各モノマーの重合性、生成ポリマーの構造解析、および溶液物性についても解明した。分子量測定やNMR測定、メチル化測定から、生成物が末端構造を31~43モルパーセント有し、分岐度が0.40~0.46の球状多糖であることを明らかにした。また、ハイパーブランチ多糖はその球状構造から分子間での分子鎖の絡み合いが少なく、固有粘度が4.9~7.4 mL/g と他の多糖類に比べ格段に低いことも明らかにした。さらに、著者は本研究で合成したハイパーブランチ多糖の化学構造と特性の相関を1,6-アンヒドロヘキシピラノース類である1,6-アンヒドロ- $\beta$ -D-グルコピラノース(4)、- $\beta$ -D-マンノピラノース(5)、および- $\alpha$ -D-ガラクトピラノース(6)から得られるハイパーブランチ多糖との比較から明らかにした。

次に、著者は第4章で1,6-アンヒドロ糖より得られたハイパーブランチ多糖と糖認識タンパク質であるレクチンがハイパーブランチ多糖の糖鎖クラスター効果により強く相互作用することを明らかにした。このような強い相互作用は単糖類あるいは直鎖多糖では見られない現象であり、興味を持たれる。さらに、著者はハイパーブランチ多糖の化学構造とレクチン相互作用の関係を詳細に検討するため、分子量分画した種々のハイパーブランチ多糖とレクチンであるコンカナバリンA(ConA)との結合定数を測定した。その結果、著者は1) マンノース構造からなるpoly2とpoly5は他のハイパーブランチ多糖よりもConA認識能が強く、その結合定数は分子量や化学構造の影響を受けないこと、2) グルコース構造からなるpoly1は分子量の増加に伴い、結合定数が大きくなること、3) 分子量が同程度のpoly4との比較より、末端構造にグルコフラノース構造をより多く含むpoly1の方がConAに対して強い結合定数を示すことを見いだした。この成果は新たな細胞認識材料の開発として重要であり、今後、ドラッグデリバリーシステム用キャリアの開発への応用が期待される。

第5章は結論であり、本研究で得られた成果について総括している。

これを要するに、著者は有用な化学原料である1,6-アンヒドロヘキシフラノース類の選択的な合成法を開発すると共に新規ハイパーブランチ多糖の簡便な合成法も確立した。本研究で合成されたハイパーブランチ多糖は科学的に興味有る機能性材料としてのみならず工業材料としても多くの可能性を有していた。本研究の成果は糖を有する機能性高分子材料の分子設計に新たな可能性を拓いたものであり、今後の糖化学および高分子化学の発展に大いに寄与するものと考えられる。

よって著者は、北海道大学博士(工学)の学位を授与される資格あるものと認める。