

國立交通大學應用化學研究所
Department of Applied Chemistry, National Chiao-Tung University

博士論文

壹、對甲苯磺酸在醣化學的應用：一個較環保的醣基建構單元合成法

貳、低濃度腈類溶劑系統醣基化反應建構 1,2-反式 β -醣苷鍵與其

反應機構探討

參、正交醣基化反應與反應活性基礎-化學選擇性醣基化策略於

低濃度醣基化反應條件之測試

(1) Application of TsOH in Carbohydrate Chemistry: a Greener method
for glycosyl building block synthesis

(2) Low Concentration 1,2-*trans* β -glycosylation in Nitrile System
and its Mechanism Study

(3) Test of Orthogonal Glycosylation and Reactivity Based-
Chemoselective Glycosylation Strategies in Low Concentration
Glycosylation Condition

指導教授：蒙國光 博士 (Dr. Kwok-Kong, Tony, Mong)

研究生：9425805 趙晉陞 (Chin-Sheng, Chao)

中華民國九十九年三月

- 謝 誌 -

五年前，帶著簡單的行李，隻身乘著客運巴士從台北到新竹，踏入博士學位的追尋。猶記那年夏天，颱風來襲，交大小七前的樹倒得亂七八糟，垃圾子母車翻倒一地，科二的排氣管也被吹落。同年冬夜，第一次嘗到新竹的冷風冷雨、刮面刺心。這番一步一腳印，如此幾次夏冬交替，正當我已然習慣眼前的晨昏作息，忽地發現：竟不再是我送人走，卻是人送我去。

學生生涯的最後，學位紅袍下滿滿的是感謝的心情。

首先感謝指導教授蒙國光老師，不單給我一個良好的工作環境，更是悉心的指導照顧、充分的討論與自由的發展，在在培養我研究與處事的態度。感謝洪上程教授、林俊成教授、孫仲銘教授在百忙之中抽空前來參加我的口試，感謝碩士指導老師陳焜銘教授引領我進入研究大門，更不辭辛勞擔任口試委員，感謝李耀坤教授在年前撥冗擔任 oral proposal 的評審，感謝幾位老師不吝給予我諸多建議與指正，使我能再修正研究方向，讓這本論文得以更加完整。

感謝實驗室所有工作夥伴：感謝張智為博士的支持、討論、幫助與分享，感謝李振瑋先生在合成 Gb₃ 與 iso-Gb₃ 的努力，感謝陳敏君小姐在乙醯化反應的合作與 LCG 計畫的起始研究，感謝張世聖博士與賴坤章先生在 LCG 計畫中的協力，感謝林士哲先生在乙醯化反應

與 oxazolidinone 計畫的合作與分享，感謝顏鈺芳小姐與洪偉晟先生在 chemoselective glycosylation 的合作與工作延續，感謝木翔亦先生 (Shaheen) 在 acteoside 計畫的交流與平日的討論，感謝盧劭儒先生與賴彥勳先生在 Alpha selectivity inducement 計畫的交流與合作，感謝實驗室所有同學在生活或實驗上的照應與幫助，使我能順利完成這些研究，能與你們共事是我的榮幸。並期待新進人員一切順利。

感謝大學摯友明宗的協助與砥礪，讓我能堅持走到這一步。

感謝交大貴儀中心張秋景小姐在核磁共振光譜分析上的諸多協助，感謝吳宗益老師、陳月枝老師、鄭偉杰老師、林俊宏老師等在實驗與質譜分析上的幫助。

感謝國科會、教育部與交通大學給予這些計畫的支持與經費幫助，使得這些研究可以順利進行。

感謝所有關心我的朋友。

最後感謝我的家人：爸爸，媽媽，弟弟，美淑，沒有你們一直以來的支持相挺，我沒有辦法達到這個階段。這本論文是獻給你們的。

Brief Profile

Name Chin-Sheng Chao, Alex
Sexual Male
Date of Birth November, 29th, 1978
Nationality Taiwan, Republic of China, R.O.C.
Martial Status Married



Contact **Current address:**
NO. 228, 6F-3, Ta-Hsueh Rd, Hsinchu City, 30080, Taiwan, R.O.C.
Lab address:
NO. 1001, 532R, Chiao-Tung University, Ta-Hsueh Rd, Hsinchu City,
30010, Taiwan, R.O.C.
Email: alexchao1129@gmail.com
Phone: +88635166066; +886937602979

Education

- 2005/09 ~ 2010/06 Ph.D student, Department of Applied Chemistry, National Chiao-Tung University, Hsinchu, Taiwan, R.O.C.
Advisor: Prof. Kwok-Kong T. Mong
- 2003/09 ~ 2005/07 M.Sc, Department of Chemistry, National Taiwan Normal University, Taiwan, R.O.C.
Advisor: Prof. Kwunmin Chen
- 1998/09 ~ 2002/06 B.Sc, Department of Chemistry, National Taiwan Normal University, Taiwan, R.O.C.
-

Teaching Experience

1. Intern teacher in senior high school. (2002~2003)
 2. Teaching assistant of general chemistry experiments. (2008)
 3. Teaching assistant of organic chemistry. (2009)
-

List of Publications

1. C.-S. Chao, M.-C. Chen, S.-C. Lin, K.-K. T. Mong, *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 957-964.
2. K.-K. T. Mong, C.-S. Chao, M.-C. Chen, C.-W. Lin, *SynLett* **2009**, *4*, 603-606.
3. C.-S. Chao, C.-K. Cheng, S.-H. Li, K. Chen, *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 333-337.
4. C.-W. Chang, S.-S. Chang, C.-S. Chao, K.-K. T. Mong, *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 4536-4540.
5. C.-S. Chao, C.-W. Li, M.-C. Chen, S.-S. Chang, K.-K. T. Mong, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 10972-10982.
6. C.-W. Chang, C.-S. Chao, C.-C. Lin, K.-K. T. Mong, "Preparation of glycosyl chlorides from glycosyl hemiacetals under mild conditions" in *Carbohydrate*

Chemistry: Proven Methods, P. Kovac; CRC, accepted for publication.

7. S.-C. Lin, C.-S. Chao, K.-K. T. Mong, *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 1910-1913
8. C.-S. Chao, Y.-F. Yen, W.-C. Hung, K.-K. T. Mong, **2010**, *manuscript in preparation*.

Presentations

1. C.-S. Chao, and K. Chen, **2004** Annual Chinese Chemical Society. (poster)
2. C.-S. Chao, M.-C. Chen, S.-C. Lin, and K.-K. T. Mong, **2007** Annual Chinese Chemical Society & ICCT **2007** Joint Conference. (poster)
3. C.-S. Chao, K.-K. T. Mong, **2009** Annual Chinese Chemical Society. (poster)
4. C.-S. Chao, K.-K. T. Mong, **2009** Singapore International Chemistry Conference 6 (SICC-6). (poster)
5. C.-S. Chao, Y.-F. Yen, K.-K. T. Mong, **2010** International Carbohydrate Symposium (ICS). (poster)

Reference

1. Prof. Kwok-kong T. Mong; Department of Applied Chemistry, Nation Chiao-Tung University, NO. 1001, Ta Hsueh Rd, Hsinchu City, 30010, Taiwan, R.O.C.; Tel: (+886)35712121#56585; Email: tmong@mail.nctu.edu.tw
 2. Prof. Kwunmin Chen; Department of Chemistry, National Taiwan Normal University, No. 88, Sec. 4, Ting-Chow Rd, Taipei City, Taiwan, 11677, R.O.C.; Tel: (+886)277346124; Email: kchen@scc.ntnu.edu.tw
-

Abstract

The dissertation is discussed about the synthesis methods of carbohydrates. There are three parts in the thesis:

Chapter 1:

p-Tolyl sulfonic acid (TsOH) is used as acid catalyst to modify the natural carbohydrate substrates into glycosyl building blocks. We first probe in the peracetylation of both non-amino sugars and amino sugars. The peracetylation is carried out in good or excellent yield with catalytic amount of TsOH, near stoichiometric amount of acetic anhydride, and minimum solvent. Moreover, the accompanying furanoside product in peracetylation is suppressed by lower reaction temperature condition. We then apply TsOH-catalyzed acetylation to establish the one-pot acetylation-thioglycosidation and one-pot acetalation-acetylation to accelerate the sugar unit modification.

Chapter 2:

The second part in the thesis explores concentration effect in glycosylation, and then develop a practical low concentration glycosylation method (LCG) for construct 1,2-*trans* β -glycosidic bond. Several glycosyl donors and acceptors are tested to give high stereoselectivity and good yield. The useful condition is then applied to synthesis three oligosaccharides: $\beta(1\rightarrow6)$ glucan, Gb₃, and isoGb₃ in excellent yield. Besides, with the results of the experiments in changing amount of reaction component, observation in VT-NMR study, and

intermediate trapping experiment encourage us to hypothesis the plausible mechanism of glycosylation in the mixed nitrile solvent system.

Chapter 3:

The low concentration condition is applied for two important oligosaccharides synthesis strategies: orthogonal glycosylation strategy, and reactivity-based chemo-selective glycosylation strategy. After testing with several glycosyl blocks, glycosyl phosphate is chosen as glycosyl donor to demonstrate the orthogonal glycosylation strategy with thioglycoside glycosyl acceptor. Consequently, desired trisaccharide is obtained under one-pot two-steps process. On the other hand, we use thioglycosides to grope for the feasibility of reactivity-based glycosylation strategy in low concentration glycosylation. As a preliminary result, expected trisaccharide product is carried out under one-pot two-steps manner.

中文摘要

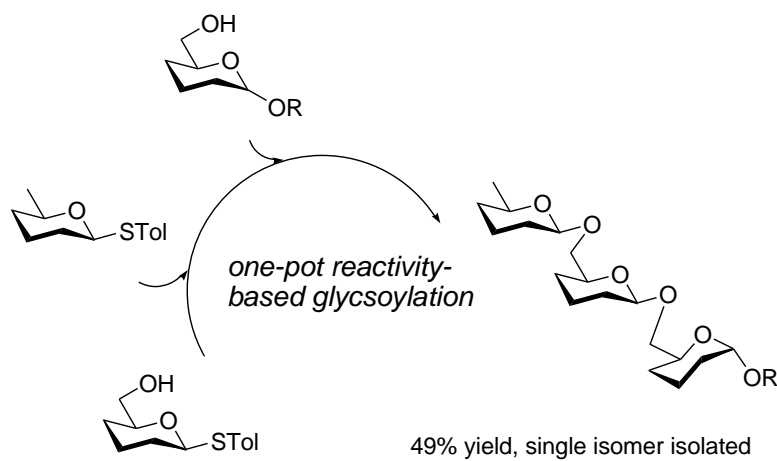
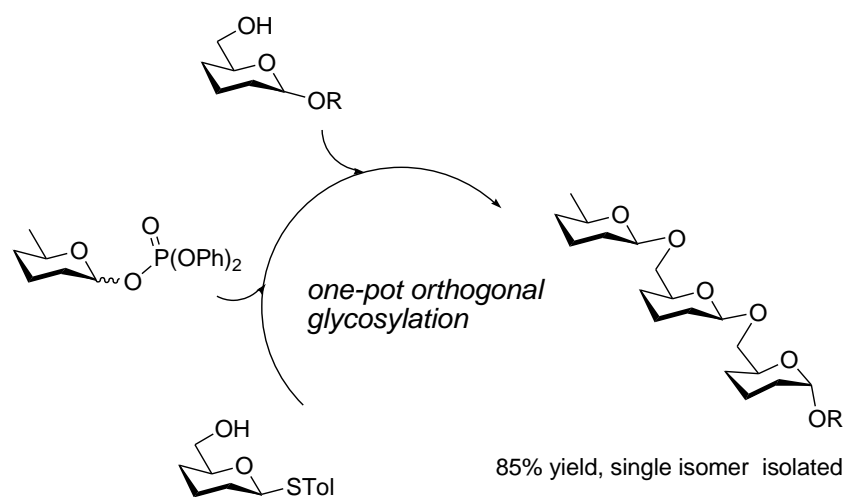
本論文旨在探討醣分子的相關合成，內容分為三個部份：

第一章. 利用對甲苯磺酸 (TsOH) 作為催化劑以修飾天然醣分子為醣基建構單元。首先探討非胺基糖與糖胺分子的全乙醴化反應。以催化量的 TsOH、近當量的醋酸酐、與不使用或極少量溶劑下得到極佳的反應效率，並利用反應溫度消除五員環產物的發生。接著再以 TsOH 催化劑建立了一鍋化全乙醴化-硫醇化與一鍋化縮醛化-乙醴化的合成方法，簡化醣基建構單元的合成。

第二章. 我們嘗試探討醣基化反應濃度效應，並開發了實用的低濃度醣基化反應方法以建立 1,2-反式 β -醣苷鍵。(此方法)在多種醣予體與醣受體的搭配測試中均得到很好的選擇性與產率；並被應用於三個寡醣分子： $\beta(1\rightarrow6)$ glucan、Gb₃、與 isoGb₃ 的合成上。接著我們進行計量變化實驗、變溫核磁共振實驗與反應中間體的補捉實驗，嘗試重新探討低濃度腈類溶劑系統的醣基化反應非傳統性的機構。

第三章. 將低濃度醣基化反應延伸應用於正交醣基化反應策略與反應活性基礎之化學選擇性醣基化反應策略。在正交醣基化反應中以醣

基磷酸酯為醣予體，與硫糖分子進行一鍋二步醣基化反應，並順利得到三醣分子。在活性基礎醣基化反應中則以硫糖分子進行一鍋二步醣基化反應，得到三醣分子。



謝誌 Acknowledgement	I
作者簡介 Profile of Author	III
英文摘要 Abstract- English	V
中文摘要 Abstract- Chinese	VII
目錄 List of content	IX
縮寫對照表 Abbreviations	XIII
附圖目錄 List of figure	XVI
流程圖目錄 List of scheme	XVII
附表目錄 List of Table	XX

目錄

第一章 磺酸與碳水化合物：一個較環保的糖基建構單元合成方法	
1.1 續論	1
1.1.1 糖分子全乙醯化反應簡介	1
1.1.2 乙醯化反應的方法與研究動機	5
1.2 結果與討論	6
1.2.1 全乙醯化反應的探討	6
1.2.2 一鍋化全乙醯化-硫醇化反應	13
1.2.3 一鍋化縮醛基化-乙醯化反應	17

1.3	結論	24
1.4	實驗部份	25
1.4.1	一般實驗方法敘述	25
1.4.2	化合物的製備方法與各項物理數據	28
1.5	參考文獻	49
1.6	附錄	
1.6.1	刊登文獻	57
1.6.2	核磁共振圖譜	69
第二章	低濃度腈類溶劑系統醣基化反應建構 1,2-反式 β -醣苷鍵與其反應機構探討	
2.1	緒論	112
2.1.1	醣基化反應簡介	112
2.1.2	腈類溶劑影響反應立體選擇性	113
2.1.3	研究動機與設計	125
2.2	結果與討論	127
2.2.1	醣基化反應條件優化	127
2.2.2	測試低濃度醣基化反應的廣泛性	132
2.2.2.1	不同醣予體的測試	132

2.2.2.2	不同醣受體與醣予體的配對測試	138
2.2.2.3	醣基化反應效果較差的配對	140
2.2.3	寡糖合成的應用	141
2.2.4	低濃度醣基化反應的劑量影響探討	144
2.2.5	變溫核磁共振實驗	147
2.2.6	低濃度醣基化的反應機構推測	153
2.2.7	針對丙腈與乙腈的比較	162
2.3	結論	163
2.4	實驗部份	164
2.5	參考文獻	224
2.6	附錄	
2.6.1	刊登文獻	221
2.6.2	核磁共振圖譜	232
第三章 正交醣基化反應與反應活性基礎-化學選擇性醣基化策略於		
低濃度醣基化反應條件之測試		
3.1	寡糖合成策略之介紹	285
3.1.1	正交醣基化反應策略：不同離去基團活化系統的搭 配	288
3.1.2	化學選擇醣基化反應策略：改變建構單元活性	290

3.1.2.1	修飾醣基單元的保護基團	290
3.1.2.2	利用保護基團影響醣分子構型改變醣予體活性	292
3.1.2.3	針對離去基團進行修飾	293
3.1.2.4	利用醣基受體親核性差異進行寡糖合成	297
3.1.3	預先活化 (preactivation) 與連續式醣基化反應策略 (iterative glycosylation strategy)	298
3.1.4	研究動機與實驗設計	302
3.2	結果與討論	
3.2.1	正交醣基化反應的測試	307
3.2.1.1	醣基氯化物的測試	307
3.2.1.2	醣基三氯乙醯胺酯的測試	309
3.2.1.3	醣基磷酸酯予體的測試	311
3.2.2	化學選擇醣基化反應的測試	315
3.3	結論	316
3.4	實驗部份	317
3.5	參考文獻	325
3.6	附錄 (核磁共振圖譜)	332
	附錄: 刊登文章	342

縮寫對照表

Ac	acetyl
Ac ₂ O	acetic anhydride
AcCl	acetic chloride
AgOTf	silver trifluoromethanesulfonate
All	allyl
aq	aqueous
Bn	benzyl
br	broad (¹ H NMR)
Bz	benzoyl
Bu	butyl
Cbz	carboxybenzyl
CH ₃ CN	acetonitrile
cat.	catalytic amount
CSA	camphor sulfonic acid
δ	chemical shift
d	doublet
DBU	1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-ene
DCE	1,2-dichloroethane
DDQ	2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone
DMF	<i>N,N</i> -dimethyl formaldehyde
DCC	<i>N,N'</i> -dicyclohexylcarbodiimide
ESI	electrospray ionization
EtCN	propionitrile
FAB	fast-atom bombardment

Fmoc	fluoren-9-ylmethoxycarbonyl
Hex	hexanes
HPLC	high performance liquid chromatography
HRMS	high resolution mass spectrometry
HSTol	<i>p</i> -thiocresol
Hz	Hertz
J	coupling constant
Lev	levulinoyl
m	multipet
Me	methyl
min	minute
mL	mini liter
μL	micro liter
mM	mini molarity, mini molar concentration
MS	molecule sieves
NANA	<i>N</i> -acetylneuraminic acid
1-Nap	1-naphthylmethyl
2-Nap	2-naphthylmethyl
NBS	<i>N</i> -bromosuccinimide
NIS	<i>N</i> -iodosuccinimide
N ₃	azido
NMR	nuclear magnetic resonance
Ph	phenyl
PMB	<i>p</i> -methoxybenzyl
RT	room temperature

s	singlet
S _N 2	substitution nucleophilic bimolecular
t	triplet
TBAB	tetra-n-butyl ammonium bromide
TBAF	tetra-n-butyl ammonium flouride
TBAI	tetra-n-butyl ammonium iodide
^t Bu	<i>tert</i> -butyl
TCA	trichloroacetyl
TCT	2,4,6-trichloro-1,3,5-triazine
TES	triethylsilane
Tf	trifluomethanesulfonyl
Tf ₂ O	trifluomethanesulfonic anhydride
TFA	trifluoroacetic acid
THF	tetrahydrofuran
TLC	thin layer chromatography
TMEDA	tetramethylethylene diamine
TMS	trimethylsilyl
TMSOTf	trimethylsilyl trifluomethanesulfonate
t.o.f	turn over frequency
Troc	2,2,2-trichloroethylcarbonyl
TsOH	<i>p</i> -toluenesulfonic acid
VT-NMR	variable temperature NMR experiment

附圖目錄

圖 1.1 一些與人體相關的天然寡糖分子.....	1
圖 1.2 較普遍的糖基化反應機構.....	2
圖 1.3 乙醯基在糖分子修飾上的應用.....	4
圖 1.4 乙醯基在核磁共振上的 down field 效果.....	5
圖 1.5 縮醛化與乙醯化的產物.....	20
圖 2.1 決定 D-式葡萄糖的 α -或 β -異構物.....	112
圖 2.2 決定 D-式糖的 α -或 β -異構物與 1,2-順反鍵結的關係.....	113
圖 2.3 低溫核磁共振實驗推測 glycosyl α -nitrilium 的存在證據...	123
圖 2.4 變溫核磁共振氫譜.....	149
圖 2.5 10 mM 化合物 58 於 CD_2Cl_2 、 CD_3CN 與 EtCN 混合溶劑的氫 譜.....	150
圖 2.6 化合物 57 活化後的部份擷取圖譜.....	151
圖 3.1 由還原端開始的寡糖合成策略.....	285
圖 3.2 Two stage：糖基氟化物的獨立活化.....	286
圖 3.3 正交糖基化反應：不同離去基系統的寡糖合成策略.....	289
圖 3.4 活性基礎一鍋化糖基化反應策略.....	292

流程圖目錄

流程 1.1 縮醛基在醣化學的應用舉例.....	18
流程 1.2 甘露醣在縮醛化反應時的副反應.....	20
流程 1.3 半乳糖分子進行 isopropylidination 的可能產物.....	23
流程 1.4 一鍋化合成唾液酸半縮醛 56	23
流程 2.1 C2-羰基保護基的鄰基效應可能機構.....	114
流程 2.2 C2-異原子的鄰基效應.....	115
流程 2.3 醣受體當量數對選擇性的影響.....	116
流程 2.4 葡萄糖基乙醯胺酯與鄰氯苯甲酸的反應機構推測.....	116
流程 2.5 Schmidt 教授在乙腈中的醣基化反應與中間體推測.....	117
流程 2.6 Lemieux 教授預測 glycosyl α -nitrilium 中間體.....	118
流程 2.7 Pavia 教授推測 glycosyl α -nitrilium 的存在.....	118
流程 2.8 摘錄不同醣予體在腈類溶劑中的醣基化反應結果.....	120
流程 2.9 Fraser-Reid 教授的驗證實驗步驟.....	121
流程 2.10 Schmidt 教授對醣基化反應立體選擇性的解釋.....	122
流程 2.11 Nitrile 溶劑效應對唾液酸醣基化反應的影響.....	123
流程 2.12 溶劑效應對硫醣的醣基化反應探討.....	124
流程 2.13 不同離去基的醣予體於腈類溶劑系統中的醣基化反應..	125
流程 2.14 C2-保護基鄰基效應的旁反應.....	126

流程 2.15 NHAc 官能基在醣基化反應中潛在的問題.....	135
流程 2.16 β (1 \rightarrow 6) glucan 衍生物的合 成.....	142
流程 2.17 逆合成拆解 Gb ₃ 衍生物.....	142
流程 2.18 三糖分子 Gb ₃ 109 的合成.....	143
流程 2.19 三糖分子 isoGb ₃ 111 的合成.....	144
流程 2.20 化合物 57-α 的醣基化反應測試.....	147
流程 2.21 於低濃度腈類溶劑系統預先活化測試.....	152
流程 2.22 低濃度醣基化反應的機構推測.....	157
流程 2.23 乙腈混合溶劑中得到 α -6,5 氮氧雜環化合物.....	160
流程 2.24 β -C2 異原子的醣基化反應機構推測.....	161
流程 2.25 C2-deoxy sugar 的醣基化反應機構推測.....	161
流程 3.1 Takahashi's 正交醣基化反應合成策略.....	287
流程 3.2 非醣基轉移反應推測機構.....	290
流程 3.3 Armed-disarmed 策略與電子效應解釋.....	291
流程 3.4 扭轉張力效應降低醣予體活性與其合成應用.....	293
流程 3.5 super-armed donor 與 armed donor 的寡糖合成應用.....	293
流程 3.6 「Active-latent」寡糖合成策略.....	294
流程 3.7 離去基的立體障礙對活性影響與其合成應用.....	295

流程 3.8 利用離去基的立障減少非糖基轉移.....	296
流程 3.9 離去基位向影響糖予體活性.....	296
流程 3.10 醣基乙亞胺酸酯類予體的正交醣基化反應.....	297
流程 3.11 化學選擇性合成 core-2 黏蛋白抗原.....	298
流程 3.12 葡萄糖基氯化物的預先活化醣基化反應.....	299
流程 3.13 Crich 實驗室建議存在 α -glycosyl triflate.....	300
流程 3.14 Gin 教授的連續式脫水醣基化反應策略.....	300
流程 3.15 兩種離去基的一鍋化連續式醣基化反應.....	301
流程 3.16 一鍋化連續式醣基化反應.....	302
流程 3.17 林俊成教授的唾液酸寡糖合成.....	303
流程 3.18 Fukase 實驗室的微型反應器合成唾液酸寡醣.....	304
流程 3.19 Hashimoto 教授觀察到的副產物與推測的反應機構....	305
流程 3.20 醣基磷酸酯利用 C2-鄰基效應的正交醣基化反應.....	306
流程 3.21 一鍋二步合成 β 1 \rightarrow 6 鍵結三糖分子 122	312
流程 3.22 化學選擇性醣基化反應測試.....	315
流程 3.23 一鍋二步三聚糖合成測試.....	316

附表目錄

表 1.1 催化劑的酸度與乙醯化反應速率關係.....	7
表 1.2 以 TsOH 對不同結構的醣分子進行全乙醯化測試.....	9
表 1.3 針對活性較大的糖分子的全乙醯化反應測試.....	10
表 1.4 比較不同路易氏酸對糖胺進行乙醯化反應.....	11
表 1.5 一鍋化製備全乙醯化非胺基硫糖分子.....	14
表 1.6 一鍋化製備全乙醯化硫糖分子.....	15
表 1.7 縮醛基化與乙醯化的一鍋化測試.....	19
表 1.8 縮醛化與乙醯化的一鍋化測試.....	22
表 2.1 Fraser-Reid 教授的驗證實驗數據.....	121
表 2.2 部份文獻記載的醣基化反應濃度.....	127
表 2.3 單一溶劑成份系統的探討:起始觀察、濃度效應、溫度效應...	128
表 2.4 混和溶劑系統的測試.....	131
表 2.5 不同醣予體的測試.....	134
表 2.6 胺醣與雙糖醣予體的測試.....	137
表 2.7 不同醣予體與醣受體的測試.....	139
表 2.8 醣基化反應效果較差的配對.....	140
表 2.9 改變劑量對醣基化反應的影響.....	145
表 2.10 文獻比對可能物種訊號.....	153

表 2.11 文獻比對可能物種訊號.....	154
表 2.12 文獻比對可能物種訊號.....	155
表 2.13 丙腈與乙腈混合溶劑的測試.....	162
表 3.1 醣基氯化物的測試.....	308
表 3.2 醣基三氯乙醯胺酯的測試.....	309
表 3.3 旁產物判定.....	310
表 3.4 醣基磷酸酯對應一級羥基受體的測試.....	311
表 3.5 對二級羥基糖受體的測試.....	313