

学位論文題名

Studies on preparation and molecular recognition property of sugar-based anionic surfactant library

(アニオン性糖質界面活性剤ライブラリーの調製と分子認識に関する研究)

学位論文内容の要旨

両親媒性物質は分子内に親水基と疎水基を合わせ持つ化合物で一定以上の濃度で会合して分子集合体を形成する性質を持っている。それらは、生体成分である糖脂質あるいは洗剤や界面活性剤として我々の生活において利用され、古くから注目されてきた化合物である。アルキルグリコシドは分子内に親水基となる糖と疎水基として主にアルキル鎖を有する両親媒性の化合物群であり、その界面活性剤としての機能からタンパク質の可溶化剤をはじめ生化学的、工業的に広く用いられてきた。糖質界面活性剤は再生可能資源より合成可能なこと、生分解性と生体適合性という利点も併せ持つこと、さらに多様な分子構造と生体認識能を有することといった特徴をもつ。糖質界面活性剤については、生体機能をもった糖脂質としての利用から工業的利用まで様々な研究がなされてきた。しかしながら、生体機能に関するものを除いて糖の種類や構造の差異による挙動の違いを網羅的に比較検討したものは少ない。そこで本研究では、類縁体合成が容易であるアルキル *S*-グリコシドを用いて、糖構造の異なるアニオン性糖質界面活性剤ライブラリー構築を行ったうえでミセル系での分子認識機構解明についての基礎的な検討を行った。

第1章では界面活性剤および既存のアルキルグリコシドについて概説するとともにミセル系における分子認識研究に言及し、本研究の目的について述べた。

第2章では、アニオン性糖質界面活性剤の合成について述べた。アルキル *S*-グリコシドはアルキル鎖と糖がチオアセタール結合により連結されたアルキル *O*-グリコシドの類似体である。特にドデシルチオグリコシドは取り扱いやすく有機合成における糖供与体としても有用であり糖鎖合成研究に利用されてきた。またそれらは非イオン性界面活性剤として利用できるが長鎖アルキルグリコシドは水溶性に乏しく活用の幅が狭いという欠点をもっている。そこで本研究ではドデシルチオグリコシドの水溶性を向上させる試みとして硫酸基を導入しアニオン性の界面活性剤とした。常法による *S*-グリコシル化ではほぼ単一のアノマーが得られた。さらにライブラリー構築のために反応条件を若干厳しくすることで両アノマーが得られ、分離精製することも可能であった。硫酸化に際しては3通りの合成経路を糖の構造と導入位置によって適宜活用することで、純粋な目的物を得ることができた。簡便な合成法でありながらそれらの組み合わせにより、多様な構造を有するアニオン性糖質界面活性剤ライブラリーが構築できることが示された。

第3章では、合成した種々のドデシルチオグリコシド硫酸ナトリウムの最も基本的な水溶液

中の挙動のひとつとして臨界ミセル濃度 (CMC) を調べた結果について述べた。硫酸基の導入によりドデシルチオグリコシドは水に可溶となったことから、蛍光光度計を用いた疎水性のピレンを蛍光プローブとする蛍光プローブ法および表面張力計を用いたウィルヘルミの吊り板法による表面張力測定により CMC を求めた。各ドデシルチオグリコシドは類似した CMC を有したが、糖のわずかな構造の差によりいくつかの傾向を示した。アルキル鎖がエクアトリアル配向をとる β -グリコシドはアキシアル配向をとる α -グリコシドよりも CMC が高くなる傾向がみられた。またデオキシ糖では水酸基数の減少により親水性が低下したことにより CMC が低くなった一方で、ヒドロキシメチル基を持たない五炭糖では対応する六炭糖に類似する結果となった。

第4章ではこれらのドデシルチオグリコシド硫酸ナトリウムをミセル動電クロマトグラフィーにおけるキラルセクターとして用い、ダンシル化DL-アミノ酸の光学分割を行った結果について述べた。その結果、用いた全ての界面活性剤はダンシル化DL-アミノ酸に対し相互分離能を示した。アミノ酸はミセルとの相互作用が弱いと考えられる疎水性の低いアミノ酸から順に溶出してきた。また相対的な溶出順序は界面活性剤によらず同一であった。光学分割能に関しては界面活性剤の親水基である糖質の立体構造、特に糖の立体配座およびグリコシド結合の立体配置に強く依存することが判明した。 4C_1 配座をとるD糖の界面活性剤と比較して対応する 1C_4 配座をとるL糖を用いるとアミノ酸の溶出順が逆転した。同様にL糖でも 4C_1 配座をとるL-アラビノースを用いた場合は、D糖と同じで溶出順であったことから、糖の立体配座が分割様に大きな影響を及ぼしていることが示唆された。次に、糖の各不斉炭素における立体構造がダンシル化DL-アミノ酸の光学分割に及ぼす影響について検討した。まずC-1位のアルキル鎖がエクアトリアル配向をとる β -グリコシドに対しアキシアル配向をとる α -グリコシドは光学分割能が著しく乏しかった。C-4位の水酸基の配向は光学分割能に大きな変化をもたらさなかった。またC-5位が不斉中心をもたないグリコシドを用いても光学分割が達成されたことからC-5位の不斉中心が直接光学分割能を左右するほど大きな影響を与えないことが示唆された。さらにC-2位の置換基について検討したところ、水酸基がエクアトリアル配向からアキシアル配向になると光学分割能は著しく低下し、さらにC-2位が不斉を失うと、ついには光学分割能がほぼ失われた。以上の結果からミセル-水相間の分配係数によって移動時間が決定されるミセル動電クロマトグラフィーでは疎水-親水界面付近に位置すると考えられるC-1位とC-2位の立体配置がアミノ酸との相互作用に大きな影響を及ぼすことが示唆された。

第5章では本研究結果を総括している。本研究はアニオン性糖質界面活性剤の合成、水溶液物性の検討およびそれらを用いたアミノ酸の光学分割を通して分子認識機構を検討したものである。このような非常に単純な系で見い出された糖のわずかな構造の違いにより光学分割様が大きく変化するというこれまでに例のない大変興味深い結果は単に分離分析への応用ばかりでなく、糖質界面活性剤により形成される糖脂質ミセルであることを活かした糖鎖-ペプチド、糖鎖-タンパク質の相互作用の解析といった、細胞膜を模倣した生体膜モデルとして生体機能解析などに応用、発展可能であると期待される。

学位論文審査の要旨

主 査	教 授	坂 入 信 夫
副 査	教 授	中 村 博
副 査	教 授	田 中 俊 逸
副 査	准教授	芥 川 智 行

学 位 論 文 題 名

Studies on preparation and molecular recognition property of sugar-based anionic surfactant library

(アニオン性糖質界面活性剤ライブラリーの調製と分子認識に関する研究)

両親媒性物質は、分子内に親水基と疎水基を合わせ持つ化合物で会合して分子集合体を形成する性質を持っており、古くから我々の生活において洗剤などとして利用されてきた化合物である。近年注目されているアルキルグリコシドに代表される糖質界面活性剤は分子内に親水基となる糖と疎水基として主にアルキル鎖を有する両親媒性の化合物群である。それらは、再生可能資源より合成可能であり、また生分解性と生体適合性という利点も併せ持つことから注目されているが、さらに多様な分子構造と生体認識能を有することといった特徴を有している。糖質界面活性剤については、生体機能をもった糖脂質としての利用から工業的利用まで様々な研究がなされてきた。しかしながら、糖の種類や構造の差異による挙動の違いを網羅的に比較検討する研究はほとんど行われていない。本研究は、容易に類縁体が合成できるアルキル S-グリコシドを用いて、アニオン性糖質界面活性剤のライブラリーを構築して、ミセル系での分子認識機構解明についての基礎的な検討を行ったものである。

本研究に用いるアルキル S-グリコシドはアルキル鎖と糖がチオアセタール結合により連結されたアルキル O-グリコシドの類似体である。それらは非イオン性界面活性剤として利用できるが長鎖アルキルグリコシドは水溶性に乏しく活用の幅が狭いという欠点をもっている。そこでドデシルチオグリコシドの水溶性を向上させる試みとして硫酸基の導入を検討した。常法による S-グリコシル化ではほぼ単一のアノマーが得られるが、ライブラリー構築のために反応条件を若干厳しくすることで両アノマーが得られる条件も確立した。硫酸化に際しては、3通りの合成経路を糖の構造と導入位置によって適宜活用することで、純粋な目的物を得ることができた。簡便な合成反応を組み合わせることにより、多様な構造を有するアニオン性糖質界面活性剤ライブラリーが構築できることが示された。

ついで、合成したアニオン性糖質界面活性剤の最も基本的な水溶液中の挙動のひとつとし

て臨界ミセル濃度（CMC）を調べた。硫酸基の導入によりドデシルチオグリコシドは飛躍的に水溶性が向上し、二種類の測定法、すなわちピレンを蛍光プローブとする方法および表面張力法、によりCMCを求めた。各ドデシルチオグリコシドは類似したCMCを有したが、糖のわずかな構造の差によりいくつかの傾向を示した。アルキル鎖がエクアトリアル配向の β -グリコシドは α -体よりもCMCが高くなる傾向がみられた。またデオキシ糖では水酸基数の減少により親水性が低下したことによりCMCが低くなった一方で、ヒドロキシメチル基を持たない五炭糖では対応する六炭糖に類似するなど興味ある知見を見出した。

さらに、これらのアニオン性糖質界面活性剤をミセル動電クロマトグラフィーにおけるキラルセクターとして、ダンシル化DL-アミノ酸（DNS-AA）の光学分割を検討した。DNS-AAはミセルとの相互作用が強い疎水性アミノ酸が遅れて溶出され、完全に相互分離可能であった。また、光学分割能に関しては、界面活性剤の親水基である糖質の立体構造、特に糖の立体配座およびグリコシド結合の立体配置に強く依存することが判明した。 $^4\text{C}_1$ 配座をとる単糖を有する界面活性剤と比較して対応する $^1\text{C}_4$ 配座をとるものでは、D、L-アミノ酸の溶出順が逆転し、糖の立体配座が分割能に大きな影響を及ぼしていることが示唆された。次に、糖のどの不斉中心がDNS-AAの光学分割に及ぼす影響について検討した。その結果、C-1位のアルキル鎖がエクアトリアル配向をとる β -グリコシドが高い分割能を示すのに対し、アキシヤル配向をとる α -体は光学分割能が著しく乏しかった。C-4位の水酸基の配向は光学分割能に大きな変化をもたらさなかった。また、C-5位が不斉中心をもたないグリコシドを用いても光学分割が達成されたことからC-5位の不斉中心が直接光学分割能を左右するほど大きな影響を与えないことが示唆された。これに対し、C-2位の置換基について検討したところ、水酸基がアキシヤル配向になると光学分割能は著しく低下し、さらに2位水酸基を除去すると光学分割能がほぼ失われることを見出した。

以上の結果、糖質界面活性剤ミセル-水相間の分配係数によって移動時間が決定されるミセル動電クロマトグラフィーでは疎水-親水界面付近に位置すると考えられるC-1位とC-2位の立体配置がアミノ酸との相互作用に大きな影響を及ぼすという結論に至った。糖のわずかな構造の違いにより光学分割様が大きく変化するというこれまでに例のない大変興味深い結果は単に分析化学への応用ばかりでなく、糖鎖-ペプチド、糖鎖-タンパク質の相互作用の解析などの生体機能解析などに応用可能であると期待される。

審査委員一同は、これらの成果を高く評価し、また研究者として誠実かつ熱心であり、大学院博士課程における研鑽や修得単位などもあわせ、申請者が博士（環境科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。