

メチルグルコシド-HBO₂ 複合体を用いた 3,6-ジ-O-メチルグルコースの合成

(1) 複合体メチル化物の分析

藤原 剛*, Patrick J. BRENNAN**

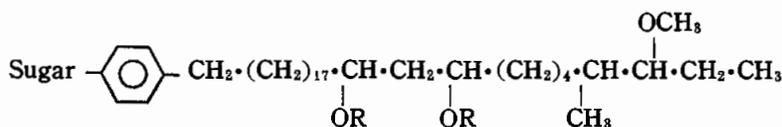
Chemical Synthesis of 3,6-di-O-Methylglucose Using Metaboric Acid-Methyl Glucoside Complex (I) Analysis of Methylation Products of the Complex

Tsuyoshi FUJIWARA* and Patrick J. BRENNAN**

序 言

人らい菌の感染にともなって産生される抗体に対応する抗原物質として現在タンパク性のもの、糖脂質性のものなど数種のもの知られている^{1,2)}。そのうちでフェノール基を含む糖脂質性抗原 (Phen GL I, II 及び III) が単離され、部分メチル化グルコース及び部分メチル化ラムノースからなる三糖類を末端にもつ下記の構造であることが明らかになった^{3,4,5)}。

Phen GL I の構造



Sugar : 3,6-di-O-Me-Glc β (1 $\xrightarrow{\beta}$ 4) 2,3-di-O-Me-Rhap-

(1 $\xrightarrow{\alpha}$ 2) 3-O-Me-Rhap (1 $\xrightarrow{\alpha}$)

R : C₃₀H₆₁CO, C₃₂H₆₅CO 及び C₃₄H₆₇CO の混合物

我々はこれらのフェノール性糖脂質の構造決定につづいて、糖鎖部分の完全化学合成を行ない、糖鎖部分のみでも抗原活性があることを示し、更に類似の構造をもつ糖鎖の化学合成によって、非還元末端の3,6-ジメチルグルコース残基が活性発現に必須の部分であることを明らかにした⁶⁾。これらの事はらい感染の早期診断に用いる診断薬の開発の可能性を示すものである。

phen GL I の三糖類のうち非還元末端にある3,6-ジメチルグルコースは天然には非常に珍しい糖で、その化学合成もかなり難しい。少量の3,6-ジメチルグルコースを合成するにはグルコースから1,2:5,6-ジ-O-イソプロピリデングルコフラノースをへて3-O-メ

* 自然科学教室 (昭和58年9月26日受理)

**Colorado State University, CO, U.S.A.

チルグルコースを合成し、6位をトシル化後ナトリウムメチラートで置換する方法があるが、操作が複雑で収量も悪い。一方メチルβ-グルコシド-HBO₂複合体はメチル化した後ベンゾイル化する事によって、メチル3,6-ジ-*O*-メチル-2,4-ジ-*O*-ベンゾイル-β-グルコシドの結晶を与えるなど大量調製に利点も多い^{7,8)}。しかしながらこのグルコース-HBO₂複合体は種々の構造の複合体を含む混合物であり、そのメチル化物については研究が少ない。この3,6-ジメチルグルコースはβ-グルコシドを出発物質として、合成されるが、より大量に入手できるα-グルコシドについてはほとんど研究がなされていない。そこで本報ではまず第一段階としてメチルβ-及びα-グルコシド-HBO₂複合体のメチル化物について、特にα-グルコシドの場合に重点をおいて、G.l.c.による分析を行なった。

実験方法

1. メチルグルコシド-HBO₂複合体の合成

メチルα-又はβ-グルコシド10gと、細粉化して一晚105°Cで真空乾燥したHBO₂4.8gを150mlの乾燥アセトンに分散し、沸騰浴につけて、3時間還流した。少量の不溶物が残ったのでろ過して除き40~50mlに濃縮した。乾燥ベンゼン100mlを加え、生じた沈澱を集めた。真空乾燥(105°C)後旋光度を測定した。

β-グルコシド $[\alpha]_D^{27} -61.3$ (C3.5, アセトン), 収量 14.6g

α-グルコシド $[\alpha]_D^{27} 83.6$ (C3.3, アセトン), 収量 16.1g

2. 複合体のメチル化^{7,8)}

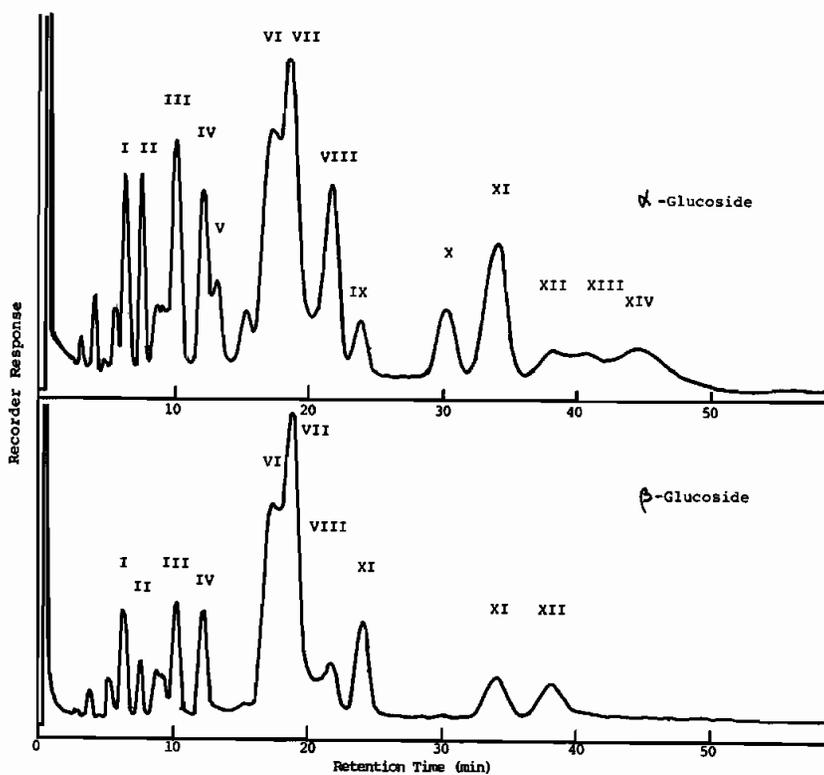
よく乾燥した複合体8.5gを35mlの乾燥アセトンに溶解し、新たに蒸留したヨウ化メチル14.5mlと酸化銀28gを加え40°Cで一晩攪拌をつづけた。酸化銀をろ別し、ロ液を集めた。ろ別した酸化銀はアセトンで充分洗浄し、洗液は上記ロ液とともに濃縮乾固した。少量をとりアルデイトールアセテートに導きG.l.c.で分析した。得られたメチル化体はβ-グルコシドの場合5.1g、α-グルコシドの場合5.2gであった。これを80mlの水に溶解し、クロロホルムで10回洗浄した後、水層に固体のK₂CO₃を加えて比重を1.400に合せ、クロロホルムで抽出し、乾燥後、濃縮乾固した。収量：β-グルコシド、3.8g；α-グルコシド、4.0g。

3. メチル化物の分析

T.l.c.はシリカゲル(0.25mm厚、メルク社製)プレートを用い、クロロホルム-メタノール-水、60:10:1で展開した。G.l.c.による分析は、アルデイトールアセテートを5%OV-225をChromosorb Wにコートした1.5mのカラム及び3%ECNSS-MをGaschrome Qにコートした1.5mのカラムを用いOV-225の場合は200°C、ECNSS-Mの場合は170°Cで行なった。アルデイトールアセテートの試料は2~3mgのメチル化物を1mlの90%ギ酸中で100°C、2時間加熱した後蒸発乾固し、つづいて0.5Nの硫酸で16時間100°Cに加熱、中和後(BaCO₃)生じた沈澱をろ過し、これに5mgのNaBH₄を加えて室温で1時間還元し、アンバーライトIR-120(H⁺)を加えて中和し、更に過剰のアンバーライトIR-120(H⁺)を加えてナトリウムイオンを除き、蒸発乾固した後アセチル化して調製した。相対保持時間(R_T)は1,5-ジ-*O*-アセチル-2,3,4,6-テトラ-*O*-メチルグルシトールの保持時間に対する試料の保持時間で示す。

結果と考察

メチルグルコシド-HBO₂複合体の収量はα-グルコシドの場合、β-グルコシドの場



メチルグリコシド-HBO₂ 複合体メチル化物のガスクロマトグラフィーの流出パターン
 実験条件は本文中実験方法の項参照

メチルグリコシド-HBO₂ 複合体メチル化物の G.l.c. 分析

Peak	R _T (OV-225)			同 定
	実 測 値	文 献 値	標 準 物 質	
I	1.00	1.00	1.00	2, 3, 4, 6-Me ₄ -GLc
II	1.34	—	—	2, 3, 5, 6-Me ₄ -Glc
III	1.83	[1.82 1.83]	—	[2, 4, 6-Me ₃ -Glc 3, 4, 6-Me ₃ -Glc]
IV	2.19	2.22	2.20	2, 3, 4-Me ₃ -Glc
V	2.34	2.32	2.31	2, 3, 6-Me ₃ -GLc
VI	3.15	3.38	3.40	2, 6-Me ₂ -Glc
VII	3.43	3.73	3.43	3, 6-Me ₂ -Glc
VIII	4.05	[4.21 4.26]	—	[2, 4-Me ₂ -Glc 3, 4-Me ₂ -Glc]
IX	4.42	4.50	4.40	2, 3-Me ₂ -Glc
X	5.65	5.0	5.60	6-Me-Glc
XI	9.45	8.6	—	2-Me-Glc
XII	7.25	7.6	7.31	3-Me-Glc
XIII	8.15	8.4	—	4-Me-Glc
XIV	9.75	—	—	?

合に比べてやや多かったが、いずれの場合も良好であった。アセトン中における複合体の酸化銀とヨードメチルによるメチル化物の T.l.c. は少量のテトラメチル体 (5%以下) とモノメチル、ジメチル及びトリメチル体に相当する3つのスポットを与え、その量比はβ-グルコシドの場合 15:70:10 であり、従来の報告⁷⁾ (約50%) よりもジメチル体の割合がかなり多くなっていた。またα-グルコシドの場合はジメチル体の割合はβ-グルコシドの場合に比してやや低く、約18:60:15であった。尚、テトラメチル体の割合は約7%であった。

次に複合体メチル化物の組成を知るために、これをアルディトールアセテートに導き、OV-225 のカラムを用いて G.l.c. による分析を行なった。結果を図及び表に表す。α及びβ-グルコシドのいずれの場合とも T.l.c. の場合とよく一致する結果を与えた。いずれの場合でも主成分のジメチルグルコシドは R_T 3.15 と R_T 3.43 の二つのピークとなって現れた。このうち R_T 3.43 のピークは3,6-ジメチル体の R_T の文献値 3.73¹⁰⁾ とは少しずれていたが、標準として合成した3,6-ジメチルグルコースのアルディトールアセテート誘導体との Co-chromatography では完全に一致し、3,6-ジメチル体と同定された。また、R_T 3.15 のピークは文献値から2,6または4,6-ジメチル体のいずれか、または両者の混合物であるがこのピークは ECNSS-M のカラムでは R_T 3.8 付近にショルダーを示したことから2,6-ジメチル体が主成分となっていると考えられる¹¹⁾。β-グルコシドではジメチル体は主として2,6及び3,6-ジメチル体のピークから成り、その量比は約3,6-ジメチル体3対2,6-ジメチル体2であり、それ以外に少量の2,3-ジメチル体 (2,6-ジメチル体の約1/3) を含むのみであった。従って3,6-ジメチル体の生成量は全メチル化物の約35%であった。一方、α-グルコシドでは3,6及び2,6-ジメチル体の量比はβ体の場合とほとんど同じであったが、それ以外は2,3-ジメチル体は少量であったものの、R_T 3.96 のピーク (2,4または3,4-ジメチル体) が比較的多く2,6-ジメチル体の約1/2であった。従って3,6-ジメチル体の生成量は全メチル化物の約30%となりβ体の場合より少なかった。しかしながら、α体の方がメチルグルコシド-HBO₂ の収量が良いのでこの事を考え合わせると、両者の間には生成量にはほとんど差がないと考えられる。α体でもβ体でもメチル化物をクロロホルム洗浄及び K₂CO₃ を含む溶液からの抽出でモノメチル体、トリメチル体及びテトラメチル体はほとんど完全に除去された。ジメチル体混合物から3,6-ジメチルグルコースを分離する場合、β体の場合はベンゾイル化した後結晶化させることができたが、α体の場合は結晶化しなかった。しかしながら、ベンゾイル化物は T.l.c. の結果等からシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって比較的容易に分離しうるものと考えられる。従って、3,6-ジメチルグルコースをメチル α-グルコシドから合成する場合、カラムクロマトグラフィーを必要とするのでやや操作が増えるが、メチル α-グルコシドが大量安価に入手できることを考え合わせると、メチル β-グルコシドの代わりに出発物質として用いる事が可能である。

ジメチル体以外の成分についてはα体とβ体の間に本質的な差はないと考えられるが、α体の方が HBO₂ の選択性がやや低く、β体には生成しなかった2,3,5,6-テトラメチル体及び6-メチル体が存在した。

ま と め

メチルグルコシド-HBO₂ 複合体メチル化物の成分はα体とβ体の間には大きな差はなく、主成分は3,6-ジメチルグルコース (30~35%) 及び2,6-ジメチルグルコース (20~

22%)であった。メチルグルコシドから考えた3,6-ジメチルグルコース誘導体の生成量は α 体と β 体の間ではほとんど差がなく、メチル α -グルコシドが3,6-ジメチルグルコース合成の出発物質として利用できることが明らかになった。

文 献

1. 阿部正英；らい不顕性感染の血清診断法に関する国際ワークショップ講演要旨，1983年。
2. Fukunishi, Y., Kearney, G.C., Whiting, J., Johnson, F.B., Walsh, G.P., Meyers, W.M., and Binford, C.H., 第56回日本らい学会総会講演集, p. 62, 1983.
3. Hunter, S.W., and Brennan, P. J., *J. Bact.*, 147, 728 (1981).
4. Hunter, S.W., Fujiwara, T., and Brennan, P. J., *J. Biol. Chem.*, 257, 15072 (1982).
5. Hunter, S.W., and Brennan, P. J., *J. Biol. Chem.*, 258, 7556 (1983).
6. Fujiwara, T., Hunter, S.W., Cho, S-N, Aspinall, G.O., and Brennan, P.J., *Infect. Immun.*, 印刷中
7. Bell, D. J., *J. Chem. Soc.*, 175 (1935).
8. Sugihara, J.M., and Petersen, J.C., *J. Am. Chem. Soc.*, 78, 1760 (1955).
9. Bell, D. J., *Biochem. J.*, 26, 590 (1932).
10. Jansson, P. E., Kenne, L., Liedgren, H., Lindberg, B., and Lönnngren, J., *Chem. Commun. Univ. Stockholm*, 8, 21 (1976).
11. Björndal, H., Hellerqvist, G., Lindberg, B., and Svensson, S., *Angew. Chem. Internat. Edit.*, 9, 610 (1970).

Summary

There was little difference on the components of methylation products of methyl glucoside-HBO₂ complex between α - and β -anomers. It was mainly consisted of 3,6-dimethylglucose (30-35%) and 2,6-dimethylglucose (20-22%). The yields of 3,6-dimethylglucose derivative from methyl α - and β -glucoside were almost equal, showing that methyl α -glucoside is useful starting material for the synthesis of 3,6-dimethylglucose.