

論文の内容の要旨

生物材料科学 専攻
平成23年度博士課程 進学
氏名 中川 明彦
指導教員名 松本 雄二

論文題目 酸素漂白条件下における炭水化物と活性酸素種との反応に関する研究

1. 緒言

酸素漂白過程において解決すべき課題である炭水化物の分解は、酸素分子によってではなく、主にリグニン中のフェノール性ユニットと酸素分子との反応によって生成する様々な活性酸素種 (active oxygen species, AOS) によって、引き起こされる。この炭水化物の分解機構の解明を目的とする既往の研究は、通常酸素漂白とは大きく異なる条件下で、AOS の 1 つであるヒドロキシラジカル ($\text{HO}\cdot$) のみに注目し、これとグリコシド結合を有する糖モデル化合物との反応を検討したものがほとんどであるため、知見が非常に不足しているのが現状である。小西は、既往の研究とは異なり、多種類の AOS が生成する実際の酸素漂白に近い条件下で、AOS と糖モデル化合物である methyl α - および β -D-glucopyranoside ($\text{MGP}\alpha$ および MGP , Fig. 1) との反応を検討した結果として、アノマー位の立体配置の相違が AOS との反応に影響を及ぼすこと、そして、少なくとも MGP のアノマー位で AOS による水素引き抜き反応が実際に起きていること、を明らかにした。また、このアノマー位の水素を引き抜く AOS として、炭水化物の分解を引き起こす主要な化学種であるオキシルアニオンラジカル ($\text{O}\cdot^-$, $\text{HO}\cdot$ の共役塩基) 以外のものが存在することを、示唆した。

本研究では、実際の酸素漂白に近い条件下において、AOS による糖モデル化合物 MGP の分解反応を詳しく検討することによって、酸素漂白過程における炭水化物の分解機構の解明に寄与することを目的として、以下の実験を行った。まず、 $\text{MGP}\alpha$ と MGP とは立体配置の異なる糖モデル化合物を用いて、立体配置の相違が AOS と糖モデル化合物との反

応に及ぼす影響について検討した。続いて、MGP と MGP の一部の水素が重水素に置換された重水素化 MGP を用いて反応を行い、速度論的同位体効果が観測されるかどうかを検討することによって、酸素漂白条件下で AOS によって攻撃されやすい部位の特定を試みた。なお本研究では、実際の酸素漂白に近い条件下で糖モデル化合物と AOS との反応を検討するため、酸素と反応して AOS を生成するフェノール性化合物 2,4,6-trimethylphenol (TMPH, Fig. 1) または 4-hydroxy-3-methoxybenzyl alcohol (vanillyl alcohol, VA, Fig. 1) を糖モデル化合物と共存させて、酸素-アルカリ処理を行った。

2. 糖モデル化合物と活性酸素種との反応に対する糖モデル化合物の立体配置の影響

糖モデル化合物の立体配置の相違が AOS との反応に及ぼす影響を検討するため、MGP の各炭素における立体配置が異なり、MGP のエピマーとなる 4 種類の糖モデル化合物 MGP α 、methyl β -D-mannopyranoside (MMP, Fig. 1)、methyl β -D-allopyranoside (MAP, Fig. 1) または methyl β -D-galactopyranoside (MGaP, Fig. 1) を用いて、酸素漂白に近い条件下で、TMPH または VA と酸素との反応で生成する AOS との反応に供した。

AOS 生成源となる TMPH または VA が存在しない場合、MGP、MGP α 、MAP、および MGaP は極めて安定であることが確認されたが、MMP は少し分解された。MMP は、酸素ではなく窒素を用いたアルカリ処理中では安定であったため、C-2 位の立体配置は、酸素との反応に影響を及ぼし、この水酸基がアキシャル位に存在することによって、酸素によって少し酸化されやすくなることが示唆された。しかし、MMP の分解は少量であったので、以下の AOS との反応においては、酸素による分解は重要ではないと考えられた。

TMPH を AOS 生成源とし、糖モデル化合物 1 種類を用いて酸素-アルカリ処理を行った結果、AOS との反応性は、MAP が一番高く、次いで MGaP、MMP、MGP、そして MGP α の順であった。なお、MAP は非常に激しく分解された。したがって、糖モデル化合物の各炭素における立体配置の相違が AOS との反応に影響を及ぼすこと、そして、C-3 位の水酸基がアキシャル位に存在すると、AOS によって非常に攻撃されやすくなること、が示唆された。

MGP 以外の糖モデル化合物の共存が MGP の分解に及ぼす影響について検討するため、MGP を含む糖モデル化合物 2 種類を用いて、TMPH を

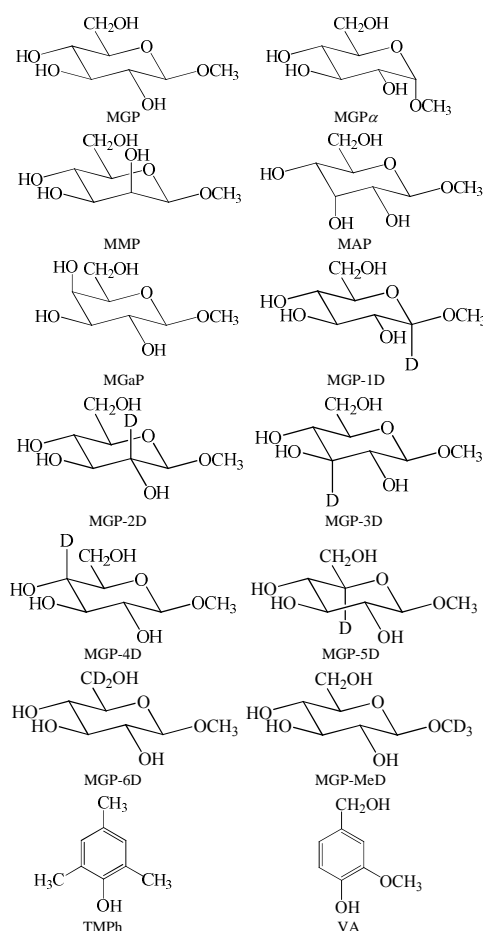


Fig. 1 Chemical structure of model compounds used in this study

AOS 生成源とした酸素-アルカリ処理を行い、MGP を単独で処理した場合と比較した。その結果、MGP と MMP を共に反応させた場合にのみ、MGP を単独で反応させた場合よりも MGP の分解が促進された。その他の糖モデル化合物の共存は MGP の分解を抑制した。したがって、MMP が存在すると、TMPh 由来の AOS だけでなく、MMP の分解に由来する AOS も生成し、後者の AOS が糖モデル化合物の分解を促進させる可能性が示唆された。

VA を AOS 生成源とした酸素-アルカリ処理における MGP を含む糖モデル化合物 2 種類の分解挙動と、TMPh を AOS 生成源とした系でのそれを比較すると、これらのフェノール性化合物の消失までは VA 共存系の方が、そして、フェノール性化合物の消失後においては TMPh 共存系の方が、糖モデル化合物がより分解された。TMPh 共存系および VA 共存系での糖モデル化合物の分解挙動の相違から、AOS 生成源の種類により、生成する AOS の種類や量比が異なることが示唆された。

3. MGP の被攻撃部位の特定

MGP のどの水素が AOS によって引き抜かれやすいのかを特定することを目的として、MGP と MGP の一部の水素を重水素に置換したモデル化合物 2 種類を、TMPh または VA と共に酸素-アルカリ処理に供し、速度論的同位体効果が観測されるかどうかを検討した。重水素化 MGP として、methyl β -D-(1- 2 H)glucopyranoside (MGP-1D, Fig. 1)、methyl β -D-(2- 2 H)glucopyranoside (MGP-2D, Fig. 1)、methyl β -D-(3- 2 H)glucopyranoside (MGP-3D, Fig. 1)、methyl β -D-(4- 2 H)glucopyranoside (MGP-4D, Fig. 1)、methyl β -D-(5- 2 H)glucopyranoside (MGP-5D, Fig. 1)、methyl β -D-(6,6- 2 H₂)glucopyranoside (MGP-6D, Fig. 1)または(2 H₃)methyl β -D-glucopyranoside (MGP-MeD, Fig. 1) を用いた。

TMPh 共存系では、MGP/MGP-MeD の場合を除くと、いずれの場合も重水素化 MGP よりも MGP の方がより分解された。中でも、MGP/MGP-1D および MGP/MGP-2D の場合に、分解量の差が顕著であり、速度論的同位体効果が明瞭に観測された。MGP と重水素化 MGP の分解量の差が大きい程、重水素化部位の水素が AOS によって高頻度に引き抜かれていると仮定すれば、TMPh 由来の AOS は、C-2 位>アノマー位>C-3 位 \approx C-4 位>C-5 位 \approx C-6 位の順に優先的に水素を引き抜く、と考えられた (Fig. 2 (A))。

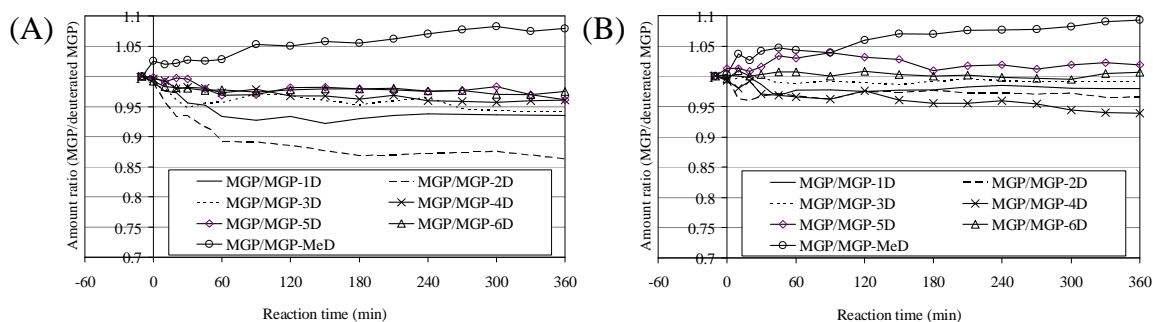


Fig. 2 Change in the ratio of the amounts of residual MGP to residual deuterated MGP when these compounds were treated with oxygen-alkali in the presence of (A): TMPh or (B): VA

一方、VA 共存系では、MGP/MGP-4D の場合にのみ明瞭な速度論的同位体効果が観測されたが、全般に TPh 共存系の場合よりも MGP と重水素化 MGP との分解量の差が小さかった。上記の仮定を基にすると、VA 共存系の場合は TPh 共存系の場合とは異なり、C-4 位>アノマー位≒C-2 位>C-3 位≒C-6 位>C-5 位の順に、AOS が優先的に水素を引き抜くと考えられた (Fig. 2 (B))。

しかし、観測される速度論的同位体効果の大小は、対象素反応の反応座標系において遷移状態がどこに位置するのかで決定され、この位置が原系および生成系に近い場合には小さく、真中で最大となることが知られている。本実験における水素引き抜き反応では、水素を引き抜く AOS の反応性が高い場合に、あるいは、低い場合に、そして、対象となる C-H 結合が水素引き抜き反応に対して抵抗性が低い場合に、あるいは、高い場合に、それぞれ遷移状態が反応座標の原系に、あるいは、生成系に近い位置に現れる、と考えられよう。一方、H₂O₂ を AOS 生成源として、すなわち、AOS を O[•] のみに限定して上記と同様の重水素化 MGP を用いた反応を行った場合、MGP と重水素化 MGP の分解量の差は、VA 系での差と同じ傾向であった。この結果から、VA 系では非常に高い反応性を持つ O[•] が、主要な AOS として働いていることが予想された。これらから、VA 系における水素引き抜き反応の遷移状態は、TPh 系においてよりも原系側に位置すると仮定されよう。この仮定を基にして、TPh 系および VA 系における MGP と重水素化 MGP の分解量の差から AOS による各水素の引き抜きの頻度を考察すると、C-3 位>アノマー位≒C-2 位>C-4 位>C-6 位>C-5 位と解釈することも、可能であった。

MGP の水素引き抜き反応において、TPh または VA 由来のフェノキシラジカル (I in Fig. 3) と酸素が結合して生成するペルオキシラジカル (II in Fig. 3) が、MGP の水素引き抜き反応に関与する AOS の 1 候補であると考えられた。そこで、低い酸素圧下で酸素-アルカリ処理を行い、上記の結合反応を抑制可能な系で MGP と重水素化 MGP の分解の差を検討した。その結果、MGP と重水素化 MGP との分解差が TPh 共存系では消失したが、VA 共存系では変化しなかった。

このため、TPh 共存系においては、MGP の水素引き抜き反応に関与する AOS の 1 つは、TPh の酸素による一電子酸化によって生成するフェノキシラジカル (I) と酸素との結合で生成するペルオキシラジカル (II) である可能性が、示唆された。VA の場合には、酸素による一電子酸化によって生成するフェノキシラジカル (I) が、酸素と結合し難いのかも知れない。

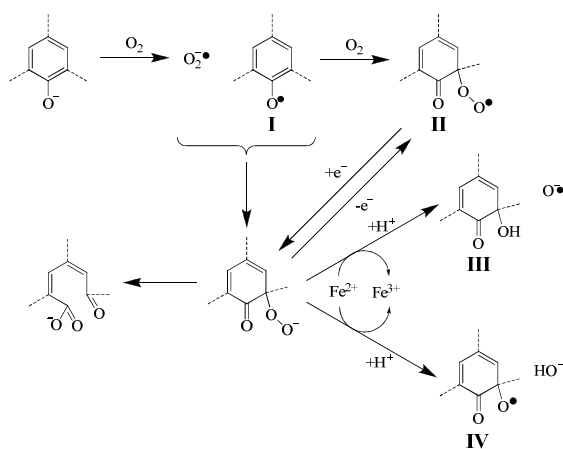


Fig. 3 Possible AOS produced from phenolic compounds under oxygen bleaching conditions