

メチルキシロシッドを出発原料とした 植物成長調節物質の合成研究¹⁾

Synthetic Studies of Xylose Unit of Feruloyl Xyloglucane
Cotrolled Plant Cell Wall Expansibility.
By using Methylxyloside as a Starting Substrate.

北原晴男*

Haruo Kitahara

論文要旨

植物細胞壁の架橋構造に関わる物質の中で特に糖とエステル結合したフェルラ酸は、若い細胞では単体として存在するが、成熟した細胞では二量体化することにより植物の成長を抑制すると考えられており、植物生理学的に注目されている。そこでこれら化学物質と植物生理との相互作用に興味を持ち、メチルキシロシッドを出発原料としたフェルロイルキシログルカンの合成を検討し、若干の知見を得たので報告する。

キーワード：植物成長調節物質、植物細胞壁架橋物質、フェルロイルキシログルカン

I. 背景 (Back Ground)

一般に生物の成長は減数分裂によって起こる。しかし竹の子など急激に成長する植物は細胞壁の拡張によって成長することが知られている (Fig. 1)²⁾。

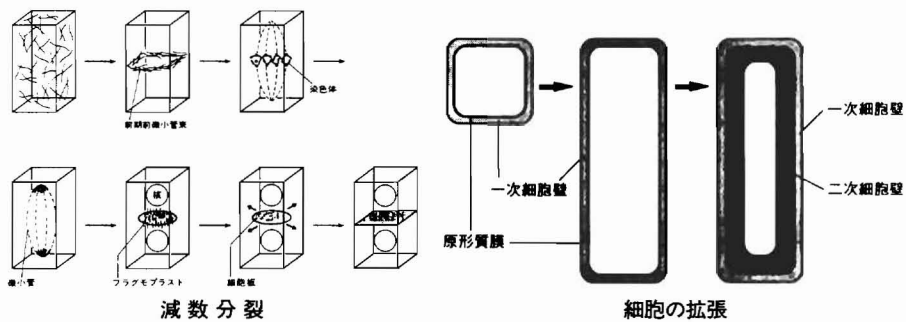


Fig. 1 生物の成長

植物の細胞壁は、セルロース (Cellulose)・アラビノキシラン (Arabinoxylan)・キシログルカン (Xyloglucan) などから構成され、これら多糖同士は水素結合 (Hydrogen-bond) やカルシウムイオン (Calcium bridge) などによって架橋されている (Fig 2)³⁾。

* 弘前大学教育学部自然科学科教室
Department of Natural Science, Faculty of Education, Hirosaki University

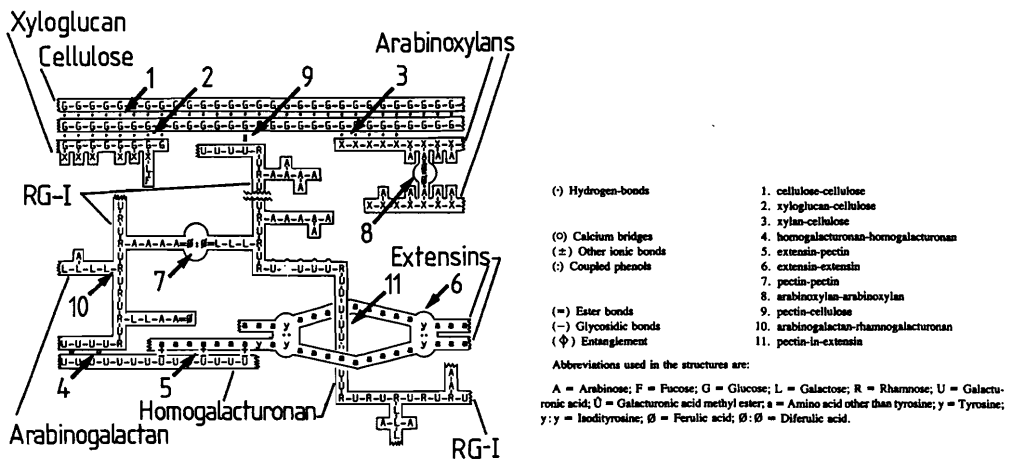


Fig. 2 Representative primary structure and possible cross-links of wall polyeme

この架橋構造に関わる物質の中で特に糖とエステル結合したフェルラ酸などフェノール酸 (1) は、若い細胞では単体として存在するが、成熟した細胞では酵素 (パーオキシダーゼ) と過酸化水素によって酸化され二量体化 (2, Fig 2中の7に相当) することにより植物の成長 (拡張) を物理的に抑止すると考えられており、植物生理学者に注目されている (Fig. 3)³⁾。

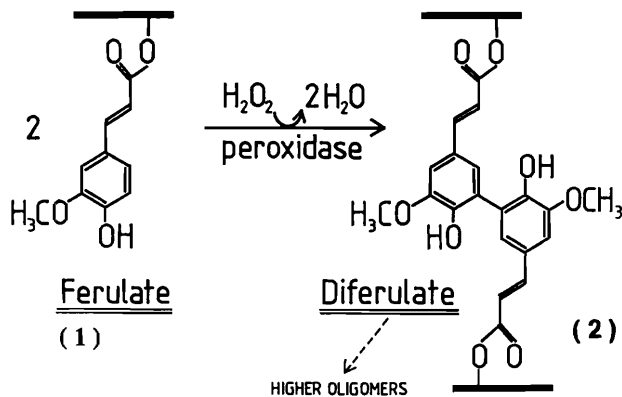


Fig. 3 Oxidative Coupling of ferulate residues to produce diferulate cross-links

種々の成長する植物の細胞壁をドリセラゼ (加水分解酵素) 処理することにより、フェノール酸とオリゴ糖がエステル結合した化合物が単離され、その構造が決定されている。その代表的な化合物を Fig. 4 に掲げた。

オリゴ糖 (3) は M. M. Smith ら⁴⁾, A. Kato ら⁵⁾, Y. Kato ら⁶⁾ によって小麦, サトウキビ及びトウモロコシからそれぞれから単離され、構造が決められた。またオリゴ糖 (4) は S. C. Fry⁷⁾ によってホウレンソウから単離・構造決定された。

これらオリゴ糖の中で、石井ら⁸⁾は化合物 (3) が《坑オーキシン活性》を有するという興味ある報告を行っている。

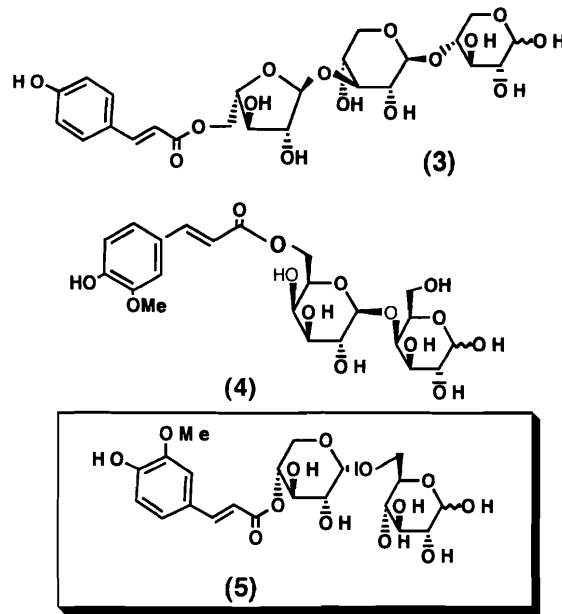


Fig. 4 Structure of Phenolic Oligo-saccharides

また最近石井ら⁹⁾は、若い竹の子を同様に処理してフェルロイルキシログルカン (5) を得ている。オリゴ糖 (3) は、抗オーキシン活性を有しているが、化合物 (5) は天然界からは微量しか得られないために、生物活性試験は行われていない。

合成化学的には、現在まで Fig. 4 に掲げたフェノール酸-オリゴ糖を初め一連の関連化合物の報告は、未だなされていない。

そこで我々は以下の目的で合成研究を行うこととした。

- 1) フェルロイルキシログルカンの化学的合成
- 2) フェルロイルキシログルカンの化学的物性検査
- 3) フェルロイルキシログルカンの抗オーキシン活性など生物活性試験
- 4) フェルラ酸などフェノール酸がエステル結合した単糖やオリゴ糖の合成とその生理活性構造相関

II. 合成計画 (Synthetic Strategy)

糖質合成において最も重要な問題であり、また根幹をなすものはグリコシレーション反応(糖と糖、あるいは糖と様々な分子をつなぐ反応)である。

自然界においては、“one enzyme-one linkage”が基本であり、各結合に特異的な糖転移酵素が存在する。しかし糖の種類、結合様式の多様性から見ると、化学合成がより一般性を持つと考えられている。

これらのことから有機合成化学の分野において、グリコシレーション反応の開発が重要な研究課題の一つとなり、注目されている。

グリコシレーション反応は、糖の種類に大きく左右され、糖供与体の保護基及び脱離基、受容体水酸基の求核性、反応剤、溶媒等の要因が複雑に絡みあうため、反応を予見することは非常に困難である¹⁰⁾。

現在のところ、一般に認められたグリコシレーション反応の了解事項は以下の通りである (Fig. 5)。

- i) グリコシレーション反応の基質は糖供与体 (Glycosyl donor), グリコレーションされる相手 (一般にアルコール) は糖受容体 (Glycosyl acceptor) と呼ぶ。
- ii) 1位 (アノマー位) 以外の水酸基が保護 (PG=Protecting Group) された糖供与体の1位の置換基 (L=Leaving group) を反応剤 (promoter) で活性化する。

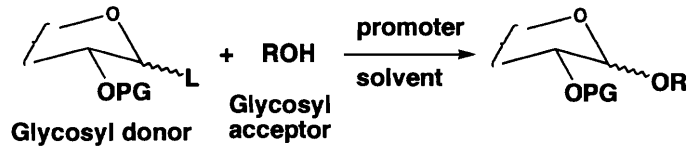


Fig. 5 General Concept of Glycosylation

合成標的化合物であるフェルロイルキシログルカン (5) の結合様式を見ると, キシロースとグルコースの結合は1,2-cis- α -glyco型である。

- そこで了解事項を基に, 標的化合物のグリコシレーション反応を考察すると,
- 1) 糖供与体 (キシロース) の2位の水酸基の保護基をエーテル系保護基とする。
 - 2) 置換基=脱離基 (L) を比較的安定なチオフェニル基とする。
 - 3) キシロースの2位以外とグルコースの保護基は適正・選択する。
- が必要であった。

全体の合成計画を以下の様に立案した。

キシロース (Xylose) から容易に導かれるメチルキシロシッド (6) を出発原料とし, 4位の水酸基に選択的にフェルラ酸を導入した誘導体 (7) に導く。

一方, グルコース (Glucose) から6位以外の水酸基が保護された誘導体 (9) を合成し, 先に得られたフェルラ酸誘導体 (7) とのグリコシレーションによって目的の化合物 (5) を合成する計画を立案した (Fig. 6)。

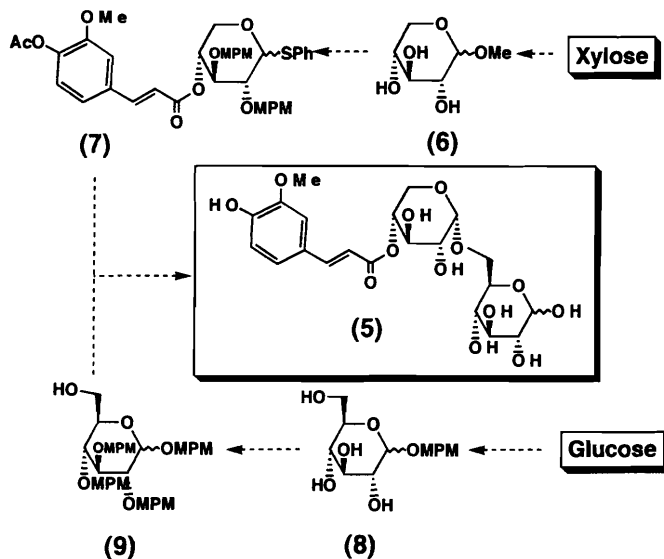


Fig. 6 Synthetic Plan

III. フェルロイルキシロシッド (7) の合成研究

1) ベンゾエートを基質とした水酸基の保護のモデル実験

グリコシレーション反応の原料であるフェルラ酸誘導体(7)の合成のために、4位がベンゾイル化されたジオール体(11)をモデル化合物として、水酸基の保護を行う反応条件を検討した。

文献に従い¹⁰⁾, Bu_2SnO (10) 存在下でキシロース誘導体(6)と PhCOCl (BzCl) を反応させ、4位が位置選択的にベンゾイル化された化合物(11)を71%の収率で得ることができた。そこで、2, 3位の水酸基をベンジル基で保護することとした。

Kanai, K.らの方法¹²⁾に従い、DMF 中 NaH と $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{Cl}$ (BnCl) を Bu_4NI 共存下で、反応させたが、目的のベンジル体(12)を得ることはできなかった (Fig. 7)。

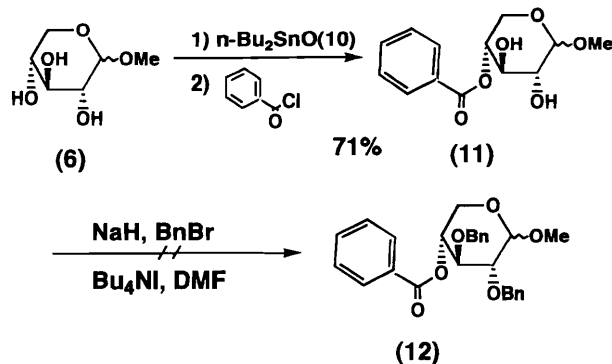


Fig. 7 Model Experiments of Benzoyl Derivatives

これは塩基性条件でベンゾイル基が不安定であるためと考え、弱酸性条件下でのベンジル化すなわち、 Cl_3CCN と PhCH_2OH (BnOH) から合成した $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{O}-\text{C}(=\text{NH})\text{CCl}_3$ を TfOH 存在下で、文献¹³⁾に従いアルコール体(11)と反応させたところ、目的の化合物(12)を75%の好収率で得ることができた (Fig. 8)。

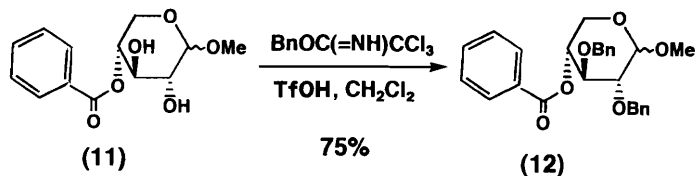


Fig. 8 Model Experiment of Protection

2) フェルラ酸誘導体 (13) の合成

モデル実験が成功したので、この条件を用いて水酸基の保護を行うこととした。

初めに4位にフェルラ酸を選択的に導入することを検討した。選択的なフェルラ酸の導入は、モデル実験と同様に Bu_2SnO を用いることにした。

酸塩化物(13)は文献¹⁴⁾に従い、フェルラ酸 (Ferulic Acid) をアセチル化し、引き続き塩化チオニル (SO_2Cl) で処理することにより85%の高収率で合成した (Fig. 9)。

好結果で酸塩化物(13)が得られたので、モデル実験と同様の条件で、メチルキシロシッド(6)と反応させた。すなわち化合物(6)を Bu_2SnO で処理した後、one pot で酸塩化物(13)

と反応させ、65%の好収率で目的のフェルラ酸誘導体 (14) を得ることができた (Fig.10)。

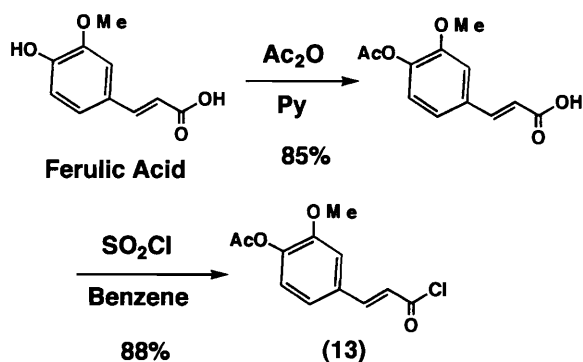


Fig. 9 Synthesis of Acid chloride(13)

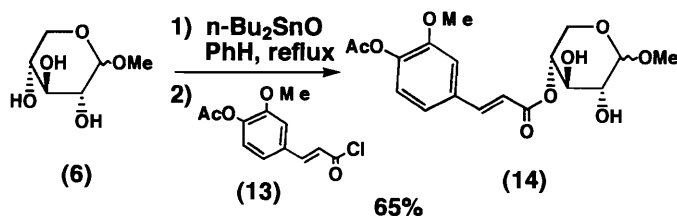


Fig. 10 Synthesis of Feruloyl Derivative(14)

目的の化合物 (14) が合成できたので、いよいよ2, 3位の水酸基をエーテル系置換基で保護することとした。

初めにモデル実験で成功していた条件すなわち TfOH 存在下 $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{OC}(=\text{NH})\text{CCl}_3$ と反応させたが、目的のジベンジルエーテル体 (15a, R=Bn) の収率は23%と低いものであり、改善の必要があった。

そこで新たな保護基として、反応性にも優れ、脱保護基がより容易なエーテル系のメトキシフェニルメチル (MPM) 基¹⁵⁾を選び検討を行った。

文献¹³⁾に従い $p\text{-MeOPhCH}_2\text{O-C}(=\text{NH})\text{-CCl}_3$ を Cl_3CCN と $p\text{-MeOPhCH}_2\text{OH}$ から合成し、O. Yonemitsu らの方法¹⁵⁾に従いカンファースルホン酸 (CSA) 存在下、ジオール体 (14) と反応

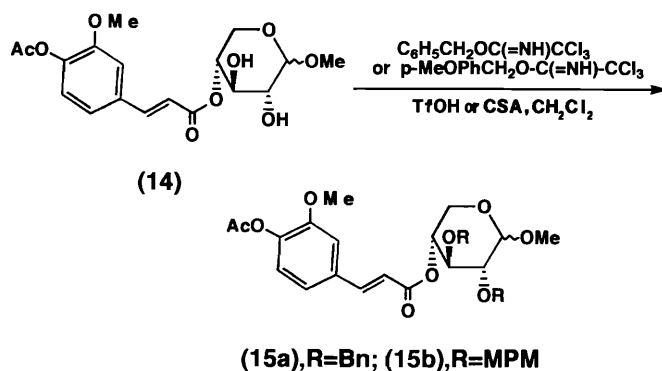


Fig. 11 Synthesis of MPM-ether(15)

させた。CSA など試薬の当量関係など種々の反応条件を検討し、望むジエーテル体(15b, R=MPM) の収率は34%と僅かではあるが改善が見られた。

糖供与体となる基質の2, 3位の水酸基をエーテル基で保護(MPM)できたので、エーテル体(15) の1位のメトキシ基(OMe) をグリコシレーション反応に適した置換基に変換することを試みた。

すなわち、グリコシレーション反応において、糖供与体の1位の脱離基としてフェニルチオ基を用いるために、メトキシ基からフェニルチオ基への変換を試みた。

Trimethyl (phenylthio) silane (PhSSiMe₃) は、文献の方法に従って¹⁶⁾、Imidazole 存在下チオフェノール (PhSH) とヘキサメチルジシラザン(TMS)₂NH から合成した。

メトキシ基からフェニルチオ基への変換は、文献¹⁷⁾ に従い ZnI₂・n-Bu₄NI, PhSSiMe₃の条件下で数回にわたって検討を行ったが、スルフィド体(7) は得られなかった。

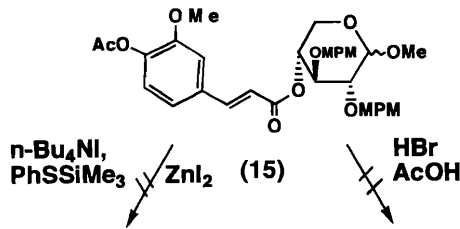


Fig. 12-1

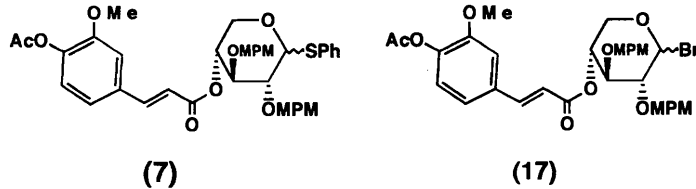


Fig. 12 Synthetic Trial of Glycosylation donor

また脱離基を臭素に変えてグリコシレーション反応を行うために、MPMエーテル体(15) を常法¹⁸⁾ に従い、酢酸中臭化水素で処理したが臭化物(17) を得ることはできなかった。

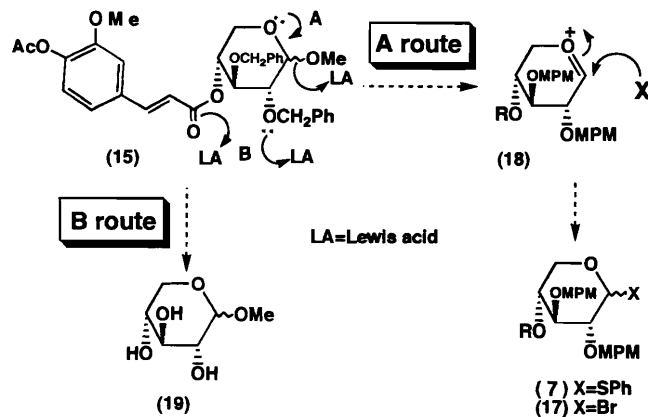


Fig. 13 Reaction Mechanism of Lewis acid

(7), (17) の合成反応は、共に薄層クロマトグラフにおいて複雑な混合物を与えるのみだった。この結果は、フェルロイルキシロシッド (15) の1位のメトキシ基をフェニルチオ基や臭素基に変換することの困難さを表していた。

すなわち

A) グリコシレーション反応の基本概念であるルイス酸 (Lewis acid) が1位の酸素官能基の孤立電子対に配位し、メトキシ基の脱離と共に環上酸素の孤立電子対落ちて来た (18) を経て、望む化合物 (7) や (17) を与える。

B) カルボニル基あるいはエーテル酸素基にルイス酸が配位し、脱エステルや脱保護基反応が起きて化合物 (19) を与える。

上記A, B 2ルートの中で、望むルートであるAでの選択性がなく、AとBのルートが複雑に絡みあった反応が起こったと考えられる (Fig.13)。

以上の実験結果をまとめると

- 1) キシロースの4位にフェルロイル基を選択的に導入できた。
- 2) 糖供与体 (フェルロイルキシロシッド) の1,2-cis- α -glyco 型グリコシレーション反応に必要な不可欠なエーテル系による2位の水酸基の保護は、MPMによって達成できた。
- 3) フェルロイルキシロシッドを糖供与体として用いたグリコシレーション反応は、困難であった。

これらの実験結果を通じて、糖質合成における水酸基の保護や選択的なアシル基導入が達成できたので、新たな戦略の基に標的化合物 (5) の合成を検討している。

IV. 謝 辞

植物細胞壁特にフェノール酸を有するオリゴ糖の興味ある化学構造及び生理活性についてご教授頂いた本学部加藤陽治教授に深謝致します。270MHz-NMRを測定頂いた本学理学部森田直文、高松達典及び猶守尊也事務官に感謝致します。

また本研究を遂行するにあたっては、平成7年度 弘前大学教育研究学内特別経費「生体制御に関わる機能性物質の研究」の交付を受けました。このご援助に感謝致します。

更に、日夜実験を共にし、励ましてくれた有機化学専攻の卒業研究の学生諸君並びに多くの卒業生諸君に深く感謝致します。

引用文献

- 1) 北原晴男, 小野寺良治, 沼田雅子, 元村佳恵, 日本化学会第70春季年会講演予稿集II, p. 1439 (東京, 1996年) における, 北原担当の理論及び実験の部をまとめたものです。
- 2) 桜井直樹, 山本良一, 加藤陽治, 植物細胞壁と多糖類, 培風館, 1991年。
- 3) S. C. Fry, Ann. Rev. Plant Physiol. **1986**, 37, 165.
- 4) M. M. Smith and R. Hartley, Carbohydr. Res., **1983**, 189, 65.
- 5) A. Kato, J. Azuma and T. Koshijima, Chem. Lett., **1983**, 137.
- 6) Y. Kato and D. J. Nevins, Carbohydr. Res., **1985**, 137, 139.
- 7) S. C. Fry, Biochem. J., **1982**, 203, 493 ; S. C. Fry, Planta, **1983**, 157, 111.
- 8) T. Ishii and H. Saka, Plant Cell Physiol., **1992**, 33, 321.

- 9) T. Ishii and T. Hiroi, *Carbohydr. Res.*, **1990**, 206, 297.
- 10) グリコシレーション反応の総説 a) N. K. Kochetkov, *Studies in Natural Products Chemistry*, **1994**, 14, 201. b) K. Toshima and K. Tatsuta, *Chem. Rev.*, **1993**, 93, 1503. c) 橋本俊一, 池上四郎, *糖鎖工学*, p. 477, (株)産業調査会, **1992** 年及び引用文献。
- 11) R. H. Helm and J. Ralph, *J. Org. Chem.*, **1991**, 56, 7015.
- 12) K. Kanai, S. Ogawa, *Bull. chem. Soc. Jpn.*, **1987**, 60, 1529.
- 13) H. P. Wessel, D. R. Bundle, *J. Chem. Soc. Perkin I*, **1985**, 2247.
- 14) R. D. Hatfield, R. F. Helm, and J. Ralph, *Anal. Biochem.*, **1991**, 194, 25
- 15) N. Nakajima, K. Horita, r. Abe, and O. Yonemitsu, *Tetrahedron lett.*, **1988**, 29, 4139.
- 16) R. S. Glass, *J. Organometal. Chem.*, **1973**, 61, 8; I. Ojima, M. Nihonyanagi, and T. Nagai, *Organometal. Chem.*, **1973**, 50, C26.
- 17) T. Matsumoto, H. Maeda, K. Suzuki, and late G. Tsuchihashi, *Tetrahedron Lett.*, **1988**, 29, 3567 ; K. C. Nicolaou, S. P. Seitz, and D. P. Papahatjis, *J. Am. Chem. Soc.*, **1983**, 105, 2430.
- 18) H. G. Fletcher, *Methods Carbohydr. Chem.*, **1963**, 2, 226 and 228.

(1997.1.6受理)