

氏 名 (本籍)	こ 木 はた かつ のり 木 幡 勝 則
学 位 の 種 類	農 学 博 士
学 位 記 番 号	農 博 第 2 9 3 号
学 位 授 与 年 月 日	昭 和 5 7 年 3 月 2 5 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研 究 科 専 攻	東 北 大 学 大 学 院 農 学 研 究 科 (博 士 課 程) 食 糧 化 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	旋 光 分 散 及 び 円 二 色 性 を 中 心 と す る 各 種 機 器 分 析 法 に よ る 芳 香 族 グ リ コ シ ョ ー ン の 立 体 構 造 解 析 法 の 研 究
論 文 審 査 委 員 (主 査)	教 授 目 黒 熙 教 授 安 元 健 助 教 授 山 内 文 男

論文内容要旨

第1章 序 論

非糖成分（アグリコン）に芳香族化合物を有する配糖体（グリコシド）は、天然界に数多く存在しており、これらの中には甘味を呈する種々のジヒドロカルコングリコシド、苦味を呈する種々のフラバノングリコシド、旨味を呈する核酸関連物質及び植物色素のアントシアングリコシドなど生理活性物質が数多く含まれている。それらグリコシドの生理活性は anomeric configuration に深く関係しており、その意味において anomeric 立体構造解析は食品分析の立場から大変興味のある問題である。

本論文では各種機器分析法の中で、糖を誘導体に導く必要がなく、直接に分析できる方法（HPLC法、FD-マス法、NMR法、ORD法及びCD法）を用い、アグリコンにフェノキシ基、p-ニトロフェニル基及びチオフェニル基を持つ芳香族グリコピラノシド及びフラノシドの anomeric configuration 及び conformation の解析を行い、これら諸法の応用範囲と限界とについて検討した。特に従来発展の遅れていた ORD法、CD法を中心に研究を進めた。

第2章 モデル化合物の調製

本研究に用いたモデル化合物27個（Fig.1）のうち、(II)～(IV)、(VI)、(VII)および(XVIII)～(XXIII)は小川らの方法により、(II)～(IV)、(VI)および(VII)はテトラ-O-アセチルグリコピラノシルブロマイドとトリブチルスズフェニルスルフィドとを塩化第二スズ触媒下で、さらに(XVIII)～(XXIII)は完全アセチル化グリコピラノシドとトリブチルスズフェニルスルフィドとを塩化第二スズ触媒下で各々反応させ調製した。なお、 α と β -アノマーの分離、精製は分取薄層クロマトグラフィー法により行った。(I)と(V)はベンゼンチオールによるジチオアセタール法により調製した。(VIII)～(XI)は半井社のものを、(XII)～(XVII)はSIGMA社のものをそのまま用いた。

第3章 HPLC法による芳香族グリコピラノシドの 立体構造解析

一般に糖の異性体の分離は気液クロマトグラフィー法やイオン交換法により行なわれているが、近年、進歩の著しい HPLC 法に応用した例が最近報告されている。この方法は予め糖を誘導体に導く必要のないこと、容易に分取目的に応用できるなど利点が多い。しかし、系統だって糖部分とアグリコン部との関連性について研究された例はほとんどない。筆者は化合物 (I) ~ (XVII) を用い、逆相 HPLC 法によりそれらの anomeric 異性体の分離、3種のグリコシド (グルコシド、マンノシド、ガラクトシド) の分離を試み立体構造との関連性について検討を行なった。

測定条件 : Apparatus : Jasco FLC-150 equipped with Jasco VL-611 loop injector. Detector : Jasco UV-254-II. Column : Pre column, SV-02 (ODS, 25~35 μ m particle size, 4.6mm i. d. x 25cm). Eluent : Water-Methanol (2:1 or 3:1).
Flow-rate : 1 ml/min.. Pressure : About 65 kg/cm²
Temperature : 23 \pm 2 $^{\circ}$ C. Sample : About 2~10 μ l of each sample (0.3 mg/ml) was injected.

フェニル 1-チオ体を例にとり、その α と β -アノマー分離を Fig.2 に、グリコシド分離を Fig.3 に示した。結果を table 1 にまとめた。

結果の要約

1. 短時間 (5~20分) で、しかも高感度の分離が可能であった (試料注入量 0.3~1.5 μ g)。
2. 溶出液は水-メタノールで極めて安価であり、しかもグラジエントなしで行なうことができた。

保持時間と立体構造との関係については、

1. 全ての化合物において保持時間は β -アノマーの方が α -アノマーより短かく、 β -アノマーがより親水性であることが、またこのことよりアノマー間の区別が可能なが示唆された。
2. 全ての化合物において保持時間はガラクトシド、グルコシド、マンノシドの順に増加した。このとおり C-4位と C-2位の立体配置の相違を区別できる

ことが示された。

- 3 フェニル 1-チオ体がフェニル体または p-ニトロフェニル体より長い保持時間を与えたことより、アグリコンの持つ親水性の差によりグリコシド分離が可能であることが示された。

第4章 FD-マス法による芳香族グリコピラノシドの 立体構造解析

最近の技術的進歩に伴って注目を浴びている FD-マス法は、極性の高い不安定な揮発しにくい化合物に対して化学的修飾を施すことなく、ごく微量でスペクトルが測定できること、またその分裂パターンが単純で解析しやすいことなどの特徴を持っており、糖、ペプチド、ヌクレオシドなどの天然物化学の領域にすぐれた知見をもたらす。特にグリコシドの FD-マススペクトルは安定なはっきりした分子イオン (M)⁺ とプロトン化分子イオン ($M+1$)⁺、アグリコン部分と糖部分のフラグメントイオン ((A)⁺, (G)⁺) とを与えることから、分子量と部分分子量とが決定できる。しかし、系統だって糖の FD-マスを測定し、糖構造と FD-マススペクトルとの関連性を研究した例はほとんどない。

筆者は、(I)~(VI) と (VIII)~(XVII) のモデル化合物を用い、その FD-マスを測定することより分子イオンと糖およびアグリコン部分のフラグメントイオンの検出を試み、同時にスペクトルと構造との関連性について検討を行なった。

測定条件: instrument : JEOL JMS D300 (combined EI/FD ion source)
with JMA 2000 computer. resolution : 1000 (10% Valley definition).
FD emitter : 10 μ m dia. tungsten wire. accelerating voltage : +3kv
for the field anode, -6kv for the soltted cathode. solvent : MeOH
+ H₂O. emitter current: from 10 μ m to about 20 mA at the rate of
0.5mA/min..

ガラクシドを例にとり FD-マススペクトルを Fig.4 に、分子イオン強度を10とした時の各フラグメントイオン強度を table 2 に示した。

結果の要約。

1. 全ての化合物において化学的修飾をすることなくその分子イオンピークがはっきりと確認できた。

2. 開裂パターンは単純で、主な開裂が糖部分とアグリコン部分との間に起ったことが示唆された。
3. ベースピークは p-ニトロフェニル体では 163 の (G)⁺ に、フェニル体とフェニル 1-チオ体では各々 272 と 256 の (M)⁺ に現われた。このことより anomeric 位の開裂は、アグリコンの持つ電気陰性度に依存していることが示唆された。
4. p-ニトロフェニル体において、 α 型は β 型の 3~10 倍強度の (G)⁺, (A)⁺, (G+1)⁺ ピークを与えた。このことより axial 型グリコシド結合が相応する equatorial 型に比較して、より開裂しやすいことが示唆された。しかしこの傾向はフェニル 1-チオ体、フェニル体においては明らかではなかった。

第5章 NMR法による芳香族グリコピラノシド、及びフラノシドの立体構造解析

PMR法において、anomeric水素のシグナルが最も低磁場に、通常2本に分裂して現われるので容易に帰属できること、及び隣接水素間の結合定数が二面角に依存していることを利用して (Karplusの式)、conformation及びconfigurationが決定される。またanomeric水素の化学シフトは、axial配向の方がequatorial配向よりも高磁場シフトすることよりanomeric conformation決定に用いられている。

フーリエ変換法の開発に伴って、最近注目の的となっているCMR法はオリゴ糖及び多糖における糖鎖中の構成糖のconfiguration決定に役立つばかりでなく、その結合様式を指定するのに極めて有用である。また一般に α 型のanomeric炭素は1, 3-ジアクシャル相互作用による立体圧縮のため β 型のそれよりも高磁場に現われることから、anomeric configuration解析にも用いられている。

筆者は、モデル化合物全てのPMRを測定し、通常測定可能な範囲でそれらグリコシドの立体構造解析を行なった。合わせてCMRを測定し、anomeric configurationとの関連性について検討した。得られたPMRデータをtable 3に、CMRデータをtable 4, 5に示した。

その結果、PMR法において、

1. 全ての化合物においてanomeric水素に由来したシグナルがはっきりと観測され、その化学シフトは常に α 型が β 型よりも低磁場シフトしていた。このことよりanomeric水素のconformationは α 型ピラノシドではequatorial配

向, β 型ピラノシドでは axial 配向であると決定され, また α 型フラノシドでは quasi-equatorial 配向, β 型フラノシドでは quasi-axial 配向であると推定された。その結果, 化学シフトを用いての anomeric configuration 推定が可能であることが示された。

2. 結合定数 ($J_{1,2}$) と要約 1 の結果よりピラノシドの ring conformation は全て 4C_1 型であると決定された。しかしフラノシドでは ring conformation が複雑なこと, また環上シフトが複雑であったことより, ring conformation の決定には至らなかった。
3. 五単糖フラノシド型 (XVIII)~(XXVII) の C-5 位水酸基のプロトンは $\delta = 4.5$ ppm 付近に triplet として観測された。五単糖ピラノシド型 (VII) では, このピークは観測されないことより, 五単糖ピラノシド, フラノシドを同定するのに極めて良い方法である。

CMR 法において,

1. C-1 化学シフトだけを用いての anomeric configuration 解析には注意を要する。すなわち, 他のグリコシドにおいては従来通り β 型が α 型より低磁場シフトしていたが, フェニル 1-チオグリコピラノシドにおいては, 反対に α 型が β 型より低磁場シフトしていた。
2. フラノシドの C-1 化学シフトは, 相対するピラノシドのそれよりも低磁場シフトしていたことより, 両者の区別が可能であった。
3. フェニルグリコシドの C-1 化学シフトがフェニル 1-チオグリコシドのそれよりも低磁場シフトしていたことより, glycosidic 酸素原子の方がイオウ原子より電気陰性度が大きいことが実証された。

第 6 章 ORD 及び CD 法による芳香族グリコピラノシド, 及びフラノシドの立体構造解析

大滝らは糖構造と旋光性との関連性について一連の研究を行ない, その中でアルキルまたはアルキルチオグリコシドが 200mm 以下の測定不可能領域に強いコットン効果を与えることを ORD 計算法より見い出した。そのコットン効果は環酸素の $\sigma \rightarrow \sigma^*$ バンドに由来しており, その符号と旋光強度は各々 anomeric conformation, configuration とによく対応すること, すなわち α 型は正の, β 型は負の符号を与え,

axial > quasi-axial, isoclinal, quasi-equatorial > equatorial の順に減少する旋光強度を与えることを見出し、それらの関係を環酸素ヘリシティー則と名づけた (Fig.5)。同則は古くからの $[M]_D$ 則の新しい解釈法として興味深い。

ところで環酸素ヘリシティー則が既存の多くの法則において芳香族バンドの影響によりしばしば例外を示すことが知られている芳香族グリコシドへ拡張できるか否かを検討することは理論的にも実験的にも興味もたれる。本研究は芳香族グリコシドに対して新しい測定法を開発し、通常では測定困難な環酸素由来のコットン効果の実測に成功し、その符号、大きさと anomeric configuration, conformation との関係から、環酸素ヘリシティー則の適用可能性を検討したものである。

(a) フェニル1-チオグリコピラノシド(I)~(VII)の ORD, CD

これらのモデル化合物は、環酸素由来のコットン効果が測定可能領域まで red shift することより用いた。実験的には次の2法を改良した。

- ① CD法……コンピュータを用いて積算を行ない (最高16回)、ノイズを少なくして190nmまで測定を可能にした。
- ② ORD法……芳香族バンドをCDで測定し、そのバンドの旋光強度寄与を算出し original な旋光強度より差し引いた値を用いて ORD 計算法を行なった。

その結果を table 6 に示してある。ここで Band A, B は各々ベンゼン環の α バンド, β バンド由来であり、Band C は環酸素由来のコットン効果である。結果を要約する。

- (i) 198~210nm に、環酸素由来のコットン効果の初めての測定に成功した。このバンドは最も強いバンドであった。
- (ii) α 型は正の、 β 型は負の符号を与えた。また axial型は大きな、equatorial型は小さな旋光強度を与えており、anomeric configuration, conformation とをよく反映していた。
- (iii) CD法, ORD法より得られた波長位置, 符号, 旋光強度はよく一致しており、2法の正統性が示唆された。

(b) フェニルまたは p-ニトロフェニルグリコピラノシド(VIII)~(XVII)の ORD, CD

これらのモデル化合物は環酸素由来のコットン効果を測定可能域に示さないことから、そのようなグリコシドにも改良した ORD法が適用できるかどうかを検討するのに用いた。またフェニル体は通常よく用いられている点を考慮し、p-ニトロフェニル体は芳香族バンドを大きく red shift させ、旋光性に与える影響が大きいものの

代表として各々モデル化合物に用いた。

結果を table 7, 8 に示す。ここで Band B' はベンゼン環の β バンド由来であり、*p*-ニトロフェニル体において初めてピークとして測定された。以上の結果、改良された ORD 法よりフェニル体は 180nm に、*p*-ニトロフェニル体は 180 ± 20 nm に環酸素由来のコットン効果の存在が示されたこと、また符号、旋光強度と anomeric configuration, conformation との関係がフェニル 1-チオ体とほぼ同様であったことより、これら芳香族グリコシドにも同法が拡張できることが示された。*p*-ニトロフェニル体における旋光強度のばらつきは大きく red shift した芳香族バンドの影響と思われるが符号をかえる程大きいものではなかった。

(c) フェニル 1-チオグリコフラノシド (XVIII) ~ (XXIII) とフェニル
グリコフラノシド (XXIV) ~ (XXVII) の ORD, CD

モデル化合物として用いたフラノシドは、ピラノシドと比較検討できるようにアグリコン部にチオフェニル基とフェノキシ基を持つものである。

結果を table 9 に示す。表から明らかなように、得られた結果はピラノシドのそれとよく一致していた。一般にフラノシドの anomeric conformation の解析は困難とされているが、NMR 法においても quasi-axial, quasi-equatorial の差は化学シフト、カップリング定数からでははっきりしない。その点、ORD-CD 法では、Fig. 6, 7 に示すように α 型が正、 β 型が負の符号を与え、axial > quasi-axial > quasi-equatorial > equatorial の順に旋光強度が減少しており、anomeric configuration, conformation との関係が極めてよく環酸素バンドに反映していた。このことはフラノシドの立体構造解析の点からも大いに興味もたれる。

第7章 総 括

本論文では誘導体に導くことなく直接分析できる各種機器分析法による芳香族グリコピラノシド及びフラノシドの立体構造解析法を検討し、その応用範囲と限界とを明らかにした。特に新しい方法として ORD-CD 法を開発した。

- ① HPLC 法により anomeric 異性体、ジアステレオマー、アグリコンの異なるグリコシドの分離・同定を誘導体に導くことなく迅速かつ高感度に行なえることを示した。しかし分子全体の親水性は結合しているアグリコンの相違により大きく影響を受けるため溶出順は常に一定ではなく、従って一般のグリコシド

への応用に際しては十分な注意が必要である。

- ② FD-マス法より糖の構造に無関係にその分子量と、糖部分とアグリコン部の部分分子量を決定できること、またグリコシドの p-ニトロフェニル化は anomeric conformation 決定に応用でき、configuration を推定するのに良い方法であることが示された。しかし、フェニル体及びフェニル 1-チオ体ではフラグメントイオンが非常に小さく、この傾向が明らかではなかった点、一般のグリコシドへの応用には限度がある。
- ③ PMR 法において anomeric 水素の化学シフトよりピラノシド、フラノシドを問わず anomeric conformation が決定できることが、また configuration の推定が可能であることが示された。ピラノシドではその conformation と結合定数 ($J_{1,2}$) より ring conformation が決定できることを示した。しかし、conformation の複雑なフラノシドでは、ring conformation の決定が困難であるばかりでなく、anomeric conformation 決定にも十分な注意が必要であった。

CMR 法において、 β 型の C-1 化学シフトが必ずしも α 型より低磁場シフトしておらず、C-1 化学シフトだけを用いての anomeric configuration 解析には十分な注意が必要である。

- ④ 新たに開発した ORD-CD 法より、環酸素ヘリシティ則、が芳香族グリコシドに拡張できうることを示唆され、このことより、ピラノシド、フラノシドを問わず anomeric configuration, conformation の解析を容易に行えることを示した。

FD-マス法、HPLC 法、NMR 法はその性質上いずれも anomeric conformation が axial 型か、equatorial 型かという違いによって configuration を区別できるという解析法であるが、互いに対掌体であるような空間配置の全く等しいものの区別は不可能である。その点、ORD-CD 法は環酸素バンドの符号より容易に configuration が区別できるという大きな利点を持っている。特に全芳香族グリコシドの ORD 曲線が 400~700nm の可視部領域で測定可能であることから、ORD 法は極めて有用といえよう。しかし、ORD 法より求められた環酸素バンドの旋光強度は、隣接水酸基間の作用による旋光強度をも含んでおり、計算上の誤差とも相まって、必ずしも conformation を正確に反映しているとはいえない。

Table 2. Relative intensities of the fragment ions (aglycon and sugar moiety) formed by the anomeric cleavage to the molecular ions.

p-Nitrophenyl (or α)-D-glycopyranosides									
Compounds	Glycosides	Ions m/z	M ⁺	(M+2) ⁺	(M+1) ⁺	(G+1) ⁺	(G) ⁺	(A+1) ⁺	(A) ⁺
XII	Glucos-	α	10	4.0	11.4	118	14.5	64.5	
XV		β	"	3.6	1.8	16.8	5.2	5.6	
XIII	Manno-	α	"	13.3	20.0	243	25.1	69.6	
XVI		β	"	2.6	2.2	20.4	7.4	3.1	
XIV	Galacto-	α	"	9.2	12.3	138	16.7	48.5	
XVII		β	"	4.4	3.8	42.6	23.6	8.1	
Phenyl 1-thio β(or α)-D-glycopyranosides									
Compounds	Glycosides	Ions m/z	M ⁺	(M+2) ⁺	(M+1) ⁺	(G+1) ⁺	(G) ⁺	(A+1) ⁺	(A) ⁺
I	Glucos-	α	10	0.88	1.68	0.07	0.12	0.05	
IV		β	"	1.09	2.30	0.07	0.04	0.06	
II	Manno-	α	"	1.06	1.85	0.26	0.59	0.20	
V		β	"	0.97	1.69	0.08	0.24	0.11	
III	Galacto-	α	"	1.06	1.97	0.11	0.45	0.25	
VI		β	"	0.98	2.08	0.08	0.11	0.07	
Phenyl (or α)-D-glycopyranosides									
Compounds	Glycosides	Ions m/z	M ⁺	(M+2) ⁺	(M+1) ⁺	(G+1) ⁺	(G) ⁺	(A+1) ⁺	(A) ⁺
VIII	Glucos-	α	10	0.4	1.87	0.24	0.05	0.15	
X		β	"	0.29	1.52	0.06	0.03	0.05	
IX	Galacto-	α	"	0.47	1.93	0.18	0.13	0.16	
XI		β	"	0.40	1.82	0.28	0.14	0.18	

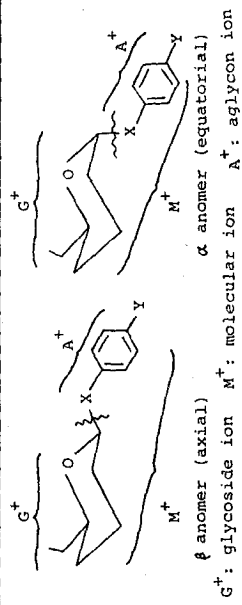


Table 1. High performance liquid chromatography retention values for the aryl glycosides (I) ~ (XVII).

Compounds	Retention times (min) *Eluent I	Capacity factor (k')	Retention times (min) **Eluent II	Retention Capacity	
				factor	times (min)
Phenyl 1-thioglycopyranosides					
VI Galacto-	β	7.2	1.32	11.0	
III	α	8.4	1.71	13.5	
IV	β	8.2	1.65	13.1	
I	α	10.1	2.26	17.5	
V	β	11.1	2.58	19.4	
II	α	18.2	4.87	40.0	
Phenyl glycopyranosides					
XI Galacto-	β	5.4	0.74	7.2	
IX	α	6.1	0.97	8.2	
X	β	6.1	0.97	8.3	
VIII	α	7.1	1.29	10.4	
p-Nitrophenyl glycopyranosides					
XVII Galacto-	β	5.4	0.74	7.2	
XIV	α	5.5	0.77	8.1	
XV	β	6.1	0.97	8.4	
XII	α	6.5	1.10	10.2	
XVI	β	6.1	0.97	8.4	
XIII	α	9.5	2.06	17.0	

*Eluent I (H₂O : MeOH = 2 : 1). **Eluent II (H₂O : MeOH = 3 : 1). All runs were performed at 23 + 2°C at a flow rate of 1.0 ml/min. About 10 μl of sample (0.01 mg/ml ~ 0.3 mg/ml) were injected.

Table 3. ¹H-NMR data of the aromatic glycosides.

Comp.	C.Shifts		C.Const.	R.Conf.	Comp.	C.Shifts		C.Const.	OH at C-5		
	H-1 (ppm)	J _{1,2} (Hz)				H-1 (ppm)	J _{1,2} (Hz)		δ (ppm)	J (Hz)	
Phenyl 1-thioglycopyranosides.					Phenyl 1-thioglycofuranosides.						
I	α	5.44	5.1		XVIII	α	5.62	4.2	4.50	t	5.5
IV	β	4.58	9.5	⁴ C ₁	XXI	β	5.10	2.4	4.50	t	5.5
II	α	5.26	1.3	⁴ C ₁	XIX	α	5.66	4.6	4.67	t	5.6
V	β	4.99	~0		XXII	β	5.12	4.5	4.72	t	5.7
III	α	5.46	5.4		XX	α	5.61	3.9	4.40	t	5.5
VI	β	4.54	9.1	⁴ C ₁	XXIII	β	5.13	1.7	4.90	t	5.7
VII	β	4.60	8.7	⁴ C ₁	Phenyl glycofuranosides.						
Phenyl glycopyranosides.					XXIV	α	5.57	4.0	4.42	t	5.6
VIII	α	5.35	3.5		XXV	β	5.37	~0	4.47	t	5.5
X	β	4.84	5.9	⁴ C ₁	XXVI	β	5.43	~0	4.66	t	5.5
IX	α	5.37	~0		XXVII	β	5.35	~0	4.35	t	5.7
XI	β	4.81	7.1	⁴ C ₁	p-Nitrophenyl glycopyranosides.						
XII	α	5.61	3.4		C.Shifts: Chemical Shifts. C.Const.: Coupling Constants.						
XV	β	5.06	6.6	⁴ C ₁	R.Conf.: Ring Conformation. t: triplet. Solvent: DMSO-d ₆ .						
XIII	α	5.60	1.7	⁴ C ₁							
XVI	β	5.33	~0								
XIV	α	5.64	~0								
XVII	β	5.03	6.9	⁴ C ₁							

Table 4. ¹³C-NMR resonance assignments.

Compounds	Chemical Shifts (δ) in DMSO-d ₆											
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	C-9	C-10		
Phenyl 1-tioglycopyranosides.												
I	Gluco-	α	90.4	72.8	75.2 or 75.1	71.2	75.1 or 75.2	61.8	136.5	129.9 or 131.2	127.7	
IV	Gluco-	β	88.3	73.6	82.1	71.1	79.5	62.3	136.1	129.9 or 131.0	127.5	
II		α	90.0	73.0 or 72.6		68.2	76.3	62.1	135.9	130.3 or 132.3	128.3	
V	Manno-	β	87.8	73.5	75.6	68.1	82.6	62.5	137.9	129.7 or 129.9	127.0	
III	Galacto-	α	90.9	73.6	69.6 or 69.3	69.3	71.8	61.4	136.6	129.9 or 132.4	127.6	
VI	Galacto-	β	89.0	70.4	75.9	69.5	80.3	61.8	136.6	129.8 or 130.7	127.2	
VII	Xylo-	β	89.0	73.5	78.6	70.4	70.0		135.6	129.9 or 131.6	127.8	
Phenyl glycopyranosides.												
VIII	Gluco-	α	99.2	72.8	74.8	71.2	74.2	62.0	158.5	118.2	130.5	123.0
X	Gluco-	β	101.7	74.5	78.3	71.0	77.9	62.0	158.8	117.5	130.5	122.9
IX		α	99.6	73.4	69.8 or 69.3		70.7	61.5	158.7	118.2	130.5	122.9
XI	Galacto-	β	102.3	71.5	74.5	69.4	76.7	61.6	158.8	117.5	130.5	122.8
p-Nitrophenyl glycopyranosides.												
XII		α	99.0	72.5	75.6	71.0	74.1	61.9	163.5	126.9	118.2	142.9
XV	Gluco-	β	101.2	74.3	78.4	70.8	77.4	61.9	163.6	126.8	117.8	142.9
XIII		α	98.5	71.8	70.9	68.0	76.6	62.2	162.6	126.8	118.1	142.9
XVI	Manno-	β	98.6	71.3	74.4	67.9	79.0	62.1	163.3	126.8	117.6	142.8
XIV	Galacyo-	α	99.4	74.1	69.7 or 69.0		70.6	61.5	163.8	126.9	118.2	142.8
XVII	Galacyo-	β	101.8	71.3	74.4	69.3	77.0	61.5	163.8	126.9	117.8	142.9

Table 5. ¹³C-NMR resonance assignments.

Compounds	Chemical Shifts (δ) in DMSO-d ₆											
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	C-9	C-10		
Phenyl 1-thioglycofuranosides.												
XVIII	Xylo-	α	91.9	79.6	77.1	82.4	60.6		138.2	129.9 or 130.7	127.0	
XXI		β	92.8	83.6	76.6	84.6	61.1		138.1	130.1 or 130.3	127.3	
XIX		α	90.8	76.0	72.0	86.8	63.3		136.0	130.2 or 131.6	127.9	
XXII	Ribo-	β	92.2	73.1	71.6	84.6	62.1		138.2	130.7 or 130.0	127.1	
XX		α	92.2	79.4	77.0	81.6	70.1	65.1	138.7	130.0 or 130.7	126.4	
XXIII	Gluco-	β	93.5	82.8	76.4	83.7	70.5	64.9	139.6	130.2 or 130.3	127.3	
Phenyl glycofuranosides.												
XXIV	Xylo-	α	100.9	78.5	75.9	81.1	61.7		158.4	117.9	130.6	122.8
XXV		β	107.9	82.4	76.3	85.0	61.6		158.2	117.5	130.6	122.5
XXVI	Ribo-	β	106.6	75.9	71.9	85.8	64.0		157.9	117.5	130.6	122.7
XXVII	Gluco-	β	108.2	82.2	76.1	83.4	70.7	64.8	158.1	117.3	130.6	122.5

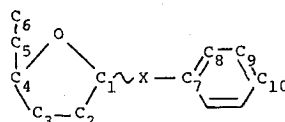
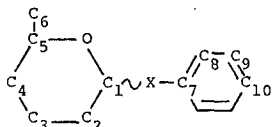


Table 6. Chiroptical Data of Phenyl 1-thio- α (or β)-D-glycopyranosides (I)~(VII).

Comp.	Anom. Con- fig.	Band A			Band B			Band C			U V		Strong C.E.			kc/[M] $\times 10^{-5}$
		λ_{\max} (nm)	Sign	$[\theta_A]$ $\times 10^{-3}$	λ_{\max} (nm)	Sign	$[\theta_B]$ $\times 10^{-3}$	λ_{\max} (nm)	Sign	$[\theta_C]$ $\times 10^{-3}$	λ_{\max} (nm)	(ϵ) $\times 10^{-3}$	λ_{\max} (nm)	Sign	kc $\times 10^{-8}$	
I	α	280	+	2.31	245	-	1.73	198	+	90.0	249	6.97	210	+	2.60	2.83
II	α	278	+	1.71	244	-	4.03	199	+	89.2	247	6.62	210	+	2.22	3.06
III	α	281	+	2.11	245	-	0.42	199	+	111	248	7.62	210	+	2.91	2.99
IV	β	282	-	1.76	248	+	8.33	208.5	-	24.1	248	7.28	210	-	0.70	4.08
V	β	278.5	-	1.89	246	+	7.54	208.5	-	60.2	248	7.79	220	-	0.99	3.31
VI	β	281	-	1.76	249	+	7.19	208	-	25.5	249	7.02	220	-	0.36	5.34
VII	β	282	-	1.63	248	+	6.52	208	-	21.9	249	6.67	200	-	0.73	3.82

Solvent: Ethanol. CD measurements: On a DICHROGRAPH Mark III-J, 1 mm cell, about 6.0×10^{-2} 0.3 mg/ml. UV measurements: On a HITACHI Model 200-100 Spectrophotometer, 1 cm cell, about 6.0×10^{-3} mg/ml. $[M]_D$ measurements: On a Jasco ORD/UV-5, 1 cm cell, about 3.0 mg/ml. C.E.: Cotton Effects below 230 nm.

Table 7. Chiroptical data of phenyl and p-nitrophenyl α (or β)-D-glycopyranosides (VIII)~(XVII).

Comp.	Anom. Con- fig.	Strong Cotton effects			kc/[M] $\times 10^{-5}$
		λ_{\max} (nm)	Sign	kc $\times 10^{-8}$	
VIII	α	180	+	1.09	2.29
IX	α	180	+	1.33	2.46
X	β	180	-	0.26	1.86
XI	β	180	-	0.17	1.42
XII	α	180 \pm 20	+	0.73 \pm 0.07	0.81 \pm 0.08
XIII	α	180 \pm 20	+	0.43 \pm 0.04	0.65 \pm 0.06
XIV	α	180 \pm 20	+	1.22 \pm 0.12	1.24 \pm 0.12
XV	β	180 \pm 20	-	0.66 \pm 0.07	2.50 \pm 0.25
XVI	β	180 \pm 20	-	0.74 \pm 0.07	2.45 \pm 0.24
XVII	β	180 \pm 20	-	0.60 \pm 0.06	2.42 \pm 0.24

Solvent : Ethanol. CD measurements : On a DICHROGRAPH Mark III-J, 1 mm cell, about 0.3 mg/ml. $[M]_D$ measurements : On a Jasco ORD/UV-5, 1 cm cell (about 3.0 mg/ml), 10 cm cell (about 0.3 mg/ml).

Table 8. Chiroptical data of phenyl and p-nitrophenyl β (or α)-D-glycopyranosides (VIII)~(XVII).

Com.	Ano. Con-fig.	Band A			Band B			Band B'			U V	
		λ_{\max} (nm)	Sign	$[\theta]_{\lambda} \times 10^{-3}$	λ_{\max} (nm)	Sign	$[\theta]_{\lambda} \times 10^{-3}$	λ_{\max} (nm)	Sign	$[\theta]_{\lambda}$	λ_{\max} (nm)	$(\epsilon) \times 10^{-3}$
VIII	α	274	+	1.76	216	+	14.1				267 ^s	0.94
		267	+	2.08							216 ^s	7.22
		260	+	1.49							210	
IX	α	274	+	1.81	216	+	15.2				267	0.97
		267	+	2.44							216.5 ^s	7.13
		260	+	1.54							211	
X	β	274	-	2.07	216	-	9.51				267	0.97
		267	-	2.43							216 ^s	6.97
		261	-	1.62							211	
XI	β	274	-	2.24	216	-	10.6				267	0.88
		267	-	2.83							217 ^s	6.40
		260	-	1.92							211	
XII	α	356	+	1.38	298	+	6.95	218	+	2.53	295.5	11.7
											219	11.1
XIII	α	356	+	1.09	298	+	7.65	218	+	3.03	296	11.1
											220.5	7.84
XIV	α	356	+	1.63	298	+	7.08	220	+	3.07	297	11.6
											220	9.08
XV	β	356	-	1.08	300	-	1.63	221	-	4.62	295.5	10.1
											220.5	7.29
XVI	β	340	-	1.15	290	-	2.53	220	-	3.78	297	10.9
											220.5	7.79
XVII	β	346	-	1.51	300	-	2.04	221	-	3.69	296	11.8
											220.5	8.86

Solvent : Ethanol. CD measurements : On a DICHROGRAPH Mark III-J, 1 mm cell, about 0.3 mg/ml. UV measurements : On a HITACHI Model 200-100 Spectrophotometer, 1cm cell, about 6.0×10^{-3} mg/ml.
s : shoulder.

Table 9. Chiroptical data of phenyl 1-thioglycopyranosides (I) and (IV), phenyl 1-thioglycofuranosides (XVIII) (XXIII) and phenyl glycofuranosides (XXIV) (XXVII).

Com.	Anom. Con-fig.	Aromatic Bands						U V	Ring Oxygen Band									
		Band A		Band B		Band C (CD)			Band D (ORD)		Band E		Band F					
λ_{\max} (nm)	Sign	$[\theta]_{\lambda} \times 10^{-3}$	λ_{\max} (nm)	Sign	$[\theta]_{\lambda} \times 10^{-3}$	λ_{\max} (nm)	Sign	$[\theta]_{\lambda} \times 10^{-3}$	λ_{\max} (nm)	Sign	$[\theta]_{\lambda} \times 10^{-3}$	λ_{\max} (nm)	Sign	$[\theta]_{\lambda} \times 10^{-3}$	λ_{\max} (nm)	Sign	$[\theta]_{\lambda} \times 10^{-3}$	
I	α	280	+	2.31	245	-	1.73	249	6.97	198	+	90.0	210	+	2.6			
IV	β	282	-	1.76	248	+	8.33	248	7.28	208.5	-	24.1	210	-	0.7			
XVIII	α	279	+	3.68	244	-	1.64	248	8.44	205	+	59.8	220	+	1.4			
XIV	α	280	+	3.11	243	-	0.38	248.5	8.24	201	+	59.4	220	+	1.7			
XX	α	279	+	4.00	244	-	1.20	248.5	9.38	205	+	66.1	210	+	1.9			
XXI	β	279	-	3.19	249	+	7.75	249.5	7.72	210	-	48.6	220	-	1.7			
XXII	β	279	-	2.26	249	+	9.21	248.5	6.89	209	-	33.7	220	-	1.2			
XXIII	β	280	-	3.00	248.5	+	5.74	248.5	7.88	210	-	47.7	220	-	1.9			
XXIV	α	275	+	2.00	217.5	+	18.5	268 ^a	1.22	180	+	1.2						
		268	+	2.41				216	8.32									
		261.5	+	1.85														
XXV	β	275	-	1.30	218	-	15.7	267 ^a	1.22	180	-	0.77						
		268	-	1.68				217	8.21									
		261.5	-	1.38														
XXVI	β	275	-	1.41	218	-	13.4	267 ^a	1.21	180	-	0.51						
		268	-	1.65				216	8.30									
		261.5	-	1.23														
XXVII	β	275	-	1.46	218	-	16.2	268 ^a	1.23	180	-	0.93						
		268	-	1.85				216.5	8.61									
		261	-	1.49														

a: a series of small peaks.

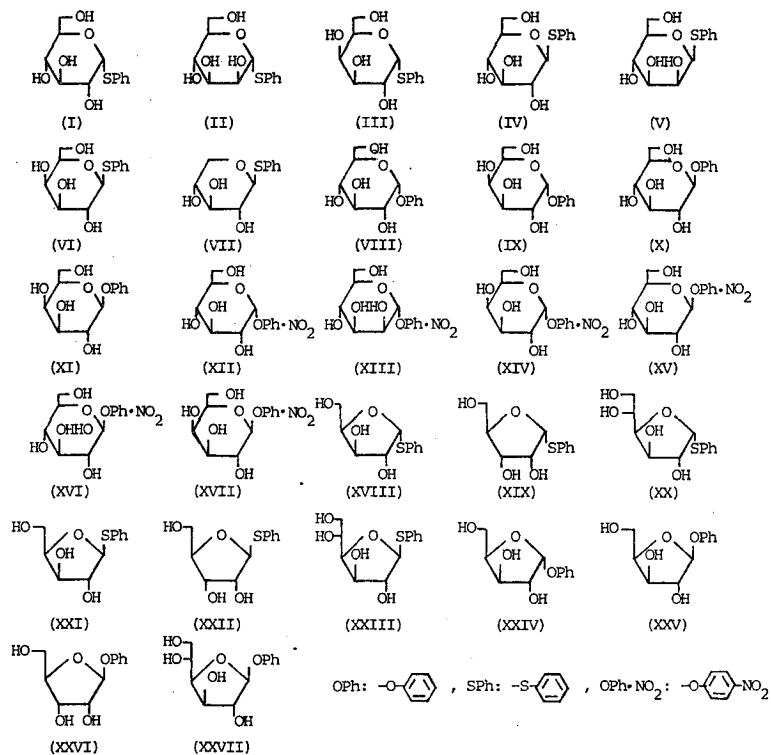


Fig. 1. Model aromatic glycosides.

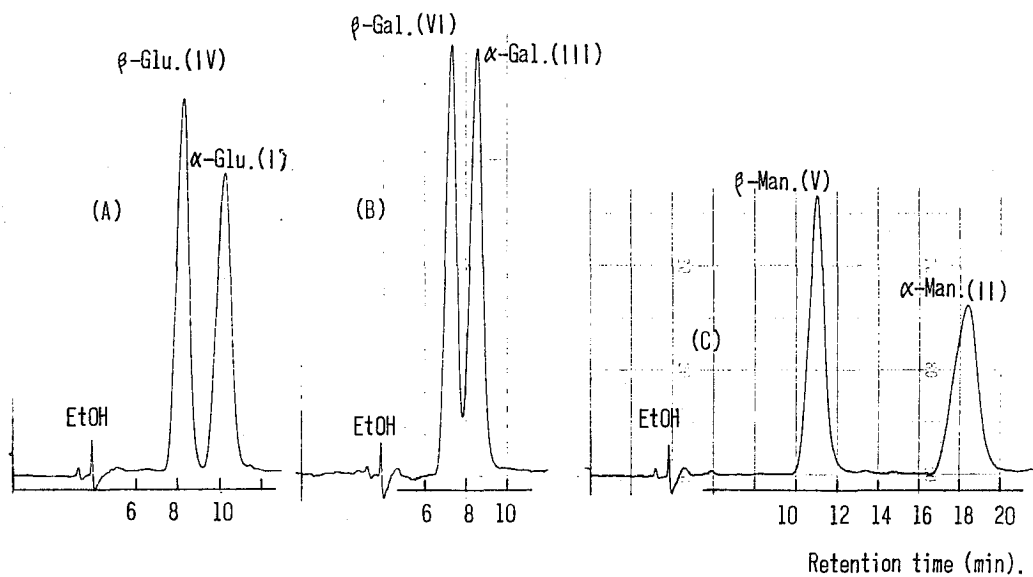


Fig. 2. Chromatograms of phenyl 1-thioglycopyranosides (I)~(VI).

Separation of α - and β -anomers of glucoside (A), galactoside (B) and mannoside (C).
 Eluent, water-methanol (2:1). Flow-rate, 1 ml/min. About 5 μ l of each sample
 (0.3 mg/ml) was injected.

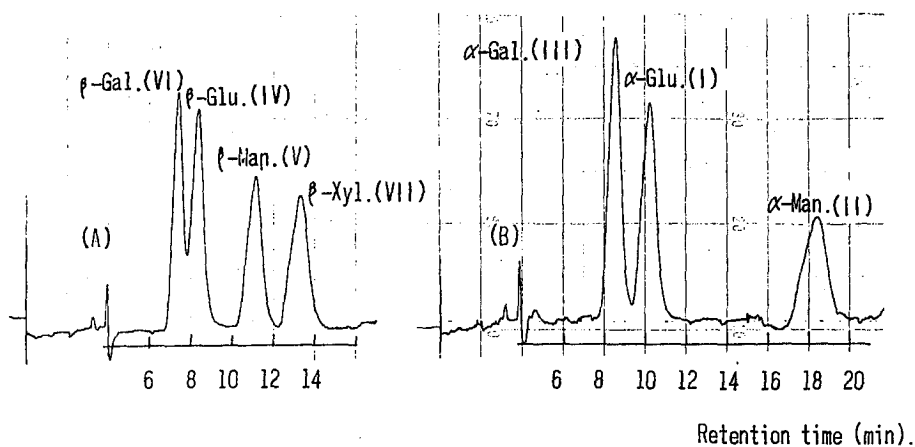


Fig. 3. Chromatograms of phenyl 1-thioglycopyranosides (I)~(VII)
 (A) Separation of β -anomers. (B) Separation of α -anomers.
 Eluent, water-methanol (2 : 1). Flow-rate, 1 ml/min. About 3 μ l of each sample
 (0.3 mg/ml) was injected.

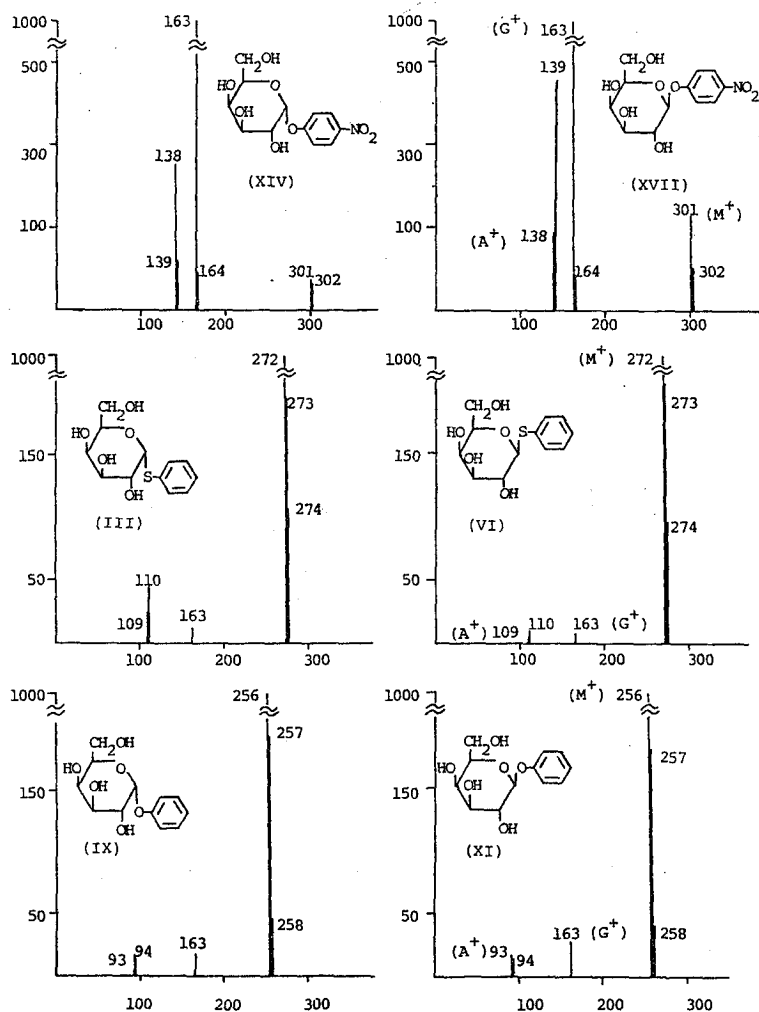
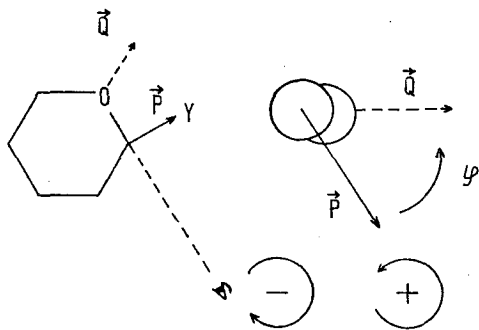


Fig. 4. FD mass spectra of the derivatives of galactopyranosides.



\vec{P} : Direction of glycosidic bond
 \vec{Q} : Direction of permanent dipole moment of the ring heteroatom
 φ : Dihedral angle between \vec{P} and \vec{Q}

Fig. 5. Ring oxygen helicity rule

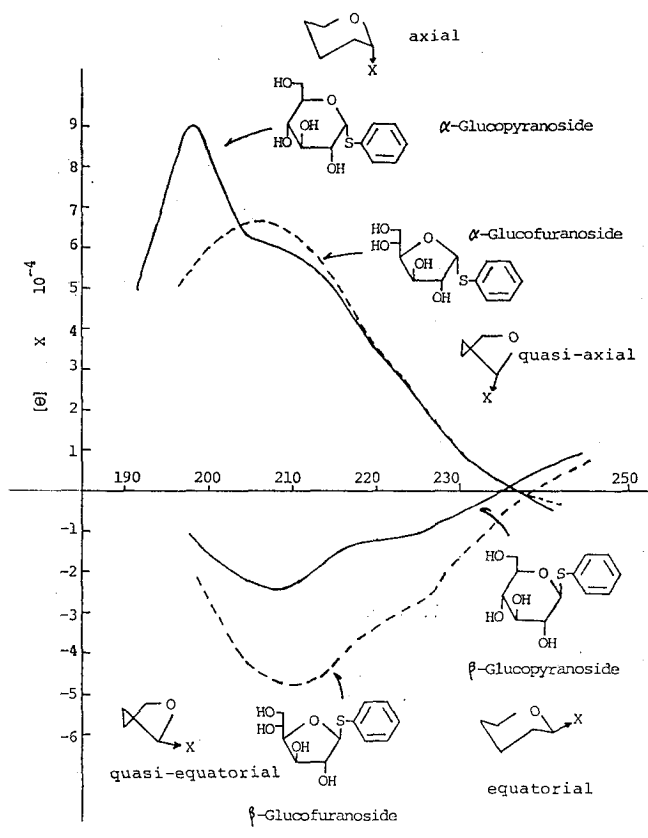


Fig. 6. Ring oxygen bands (Band C) of α - and β -glucopyranosides and glucofuranosides. $X = -S-C_6H_5$

Anomeric Conformation	ax	q-ax	iso	q-eq	eq
$X = -OR, -SR,$ 					
Helicity Projection from C-1					
Anomeric Configuration	$\alpha(+)$	$\alpha(+)$, or $\beta(-)$			$\beta(-)$
Rotational Strength (kc)	strong		medium		weak

Fig. 7. The relationship between the anomeric conformation and configuration and the sign and rotational strength of the ring oxygen band. (ax: axial, q-ax: quasi-axial, iso: isoclinal, q-eq: quasi-equatorial, eq: equatorial, R: alkyl).

審査結果の要旨

糖の芳香族配糖体は動植物中に広く存在し、その立体配置と配座は甘味その他の生理活性に関係し、それらの解析は分析化学的見地から重要である。

本論文は糖の旋光性を利用して、糖の芳香族グリコシドのアノマーの立体配置及び立体配座の解析法について各種機器を用いて検討したものである。モデル化合物としてフェニル、チオフェニル、*p*-ニトロフェニル基をアグリコンにもつ α 及び β のグルコ、マンノ、ガラクトピラノシド及びフラノシドを合成し、これらを用いて(1)高速液体クロマトグラフィー (2)質量分析法 (3)核磁気共鳴吸収法 (PMR 及び CMR) (4)円二色性 (CD) 及び旋光分散 (ORD) の各法について詳細に検討した。

特に、ORD、CDを用いる新しい測定法 (芳香族バンドの影響を差し引いた ORD 曲線を Drude の単項式を用いて計算する 200 nm 以下のコットン効果の測定法) を開発し、これにより環酸のバンドがアノマー解析に有用であること及びアルキルグリコシドで成立した環酸素ヘリシティー則が芳香族グリコシドに拡大できることを示した。

又、上記の各測定法における展望と限界を明らかにし、これにより芳香族配糖体の微量で簡便な立体配置解析法が確立された。

これらの業績は糖化学、分析化学の基礎領域において高く評価され、又、広い応用も期待され、農学博士の学位にふさわしいものと認定した。