

N-アセチル-D-グルコサミン誘導体の合成とその性質

Synthesis of Glucosamine Derivatives and These Properties

吉田晋一・木村伸一

Shinichi Yoshida and Shinichi Kimura

電子・有機素材研究所 有機材料科

キチン・キトサンから工業的に製造される *N*-アセチル-D-グルコサミンの新たな用途開発を目的として、新規誘導体を合成し、有機溶媒に対する溶解性や熱的性質について調べた。*N*-アセチル-D-グルコサミンの1位にアルキル鎖を入れた化合物では、鎖が長くなるにつれ水溶性が低下した。また、クロロホルムや酢酸エチルなど水と混和しない溶剤へは溶解しなかった。一方、フッ素鎖の結合したアルキル（セミパーフルオロアルキル）鎖を結合した化合物ではエタノールに対する溶解性が若干良くなるものの、アルキル鎖の場合とほぼ同様の傾向を示した。熱重量分析（TG）分析から、1位にアルキル鎖を結合させた *N*-アセチル-D-グルコサミン誘導体はアルキルグルコース誘導体よりも分解温度が低かったが、アルキル鎖をセミパーフルオロアルキル鎖に変えることで分解温度が上昇することが分かった。偏光顕微鏡を用いて1位にパーフルオロアルキル鎖を入れた *N*-アセチル-D-グルコサミン誘導体を加熱しながら観察したところ、いくつかの化合物で液晶状態が認められ、サーモトロピック液晶としての可能性が示唆された。この結果は、示差走査熱量測定（DSC）による分析結果とも矛盾しなかった。しかしながら、これらの化合物では、液晶発現温度が高いこと（156°C<）、また繰り返し測定をおこなうと褐変を引き起こし、液晶発現の再現性がないことが分かった。熱安定性の改善が今後の課題であることが示された。

To develop new application of *N*-acetyl-D-glucosamine industrially produced by the hydrolysis of chitin and chitosan, novel derivatives of *N*-acetyl-D-glucosamine were synthesized and the solubility and thermal properties are investigated. The water solubility of alkyl 2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucopyranosides decreased with increase of the chain length of alkyl chain. The alkylated compounds showed no solubility for the water-immiscible solvents, such as chloroform and ethyl acetate. Semiperfluoroalkyl 2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucopyranosides showed similar solubility as alkylated compounds, although the ethanol solubility of the semiperfluoroalkylated compounds were slightly better than that of the alkylated compounds. Analysis of the compounds by thermogravimetry (TG) showed that decomposition temperature of alkyl 2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucopyranosides was lower than that of alkyl β -D-glucopyranosides, indicating that alkyl 2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucopyranosides are thermally-unstable. Semiperfluoroalkylation was found to modify thermal stability of *N*-acetyl-D-glucosamine. Several of semiperfluoroalkyl 2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucopyranosides was found to have thermotropic liquid crystalline properties from the observation by thermal polarized light microscopy. These results also supported by the results from the analysis by differential scanning calorimetry (DSC). However, the heating temperature reaching liquid crystalline phase was very high (156°C <) and the compounds thermally decomposed during repeated heating cycle. These results suggested that no semiperfluoroalkyl 2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucopyranosides have enough thermal stability, and we are currently under investigation to improve thermal stability.

1. はじめに

鳥取県で水揚げされ、加工された後に排出されるベニズワイガニの殻のうち、脚の部分のほとんどがキチン・キトサンの製造に使われる。また、キチン

を原料としてさらに D-グルコサミンが製造され、主として健康食品として利用されている。D-グルコサミンはアミノ単糖であり、様々な生理活性が報告さ

れている。例えば、関節軟骨の再生効果¹⁾、ヒアルロン酸合成効果²⁾、美肌効果³⁾などである。カニ殻は鳥取県としての重要なバイオマス資源であり、その有効活用の開拓は地域産業の活性化の観点からも重視されなければならない。近年の傾向として、キチン・キトサンそのものの利用よりも、D-グルコサミンの需要が増えており、全国的にもその知名度は上がっている。また、D-グルコサミンと類似の性質を持つとされる N-アセチル-D-グルコサミンも工業的にキチンから製造されており⁴⁾、本研究では、D-グルコサミンまたは N-アセチル-D-グルコサミンのさらなる用途開発を目指して、新規 N-アセチル-D-グルコサミン誘導体の合成を行い、それらの諸性質を調べたので報告する。

2. 実験方法

2.1 N-アセチル-D-グルコサミン誘導体の合成

N-アセチル-D-グルコサミン誘導体(1-22、図1)は、Nishimura らの方法⁵⁾を参考に合成した(図2)。すなわち、N-アセチル-D-グルコサミンのパーアセチル化物からオキサゾリン誘導体を合成し、対応するアルコール(2, 2, 2-トリフルオロエタノール、2, 2, 3, 3, 3-ペンタフルオロ-1-プロパノール、(トリメチルシリル)メタノール、3-(トリメチルシリル)-1-プロパノール、1*H*,1*H*-パーフルオロ-1-オクタノール、1*H*,1*H*,2*H*,2*H*-パーフルオロ-1-オクタノール、1*H*,1*H*,2*H*,2*H*-パーフルオロ-1-デカノール、1*H*,1*H*,2*H*,2*H*-パーフルオロ-1-ドデカノール、1*H*,1*H*,2*H*,2*H*,3*H*,3*H*-パーフルオロ-1-ノナノール、1*H*,1*H*,2*H*,2*H*,3*H*,3*H*-パーフルオロ-1-ウンデカノール、エチレングリコールモノメチルエーテル、ジエチレングリコールモノメチルエーテル、トリエチレングリコールモノメチルエーテル、エタノール、*n*-プロパノール、*n*-ブタノール、*n*-ペンタノール、*n*-ヘキサノール、*n*-オクタノール、*n*-デカノール、*n*-ドデカノール、コレステロール)を用いて1位をアルコキシドに変え、O-アセチル基を脱保護することでそれぞれの化合物を得た。合成した化合物の化学構造は、¹H-NMR、¹³C-NMR により確認した。*n*-オクチル-β-グルコシドは市販のものを用いた。

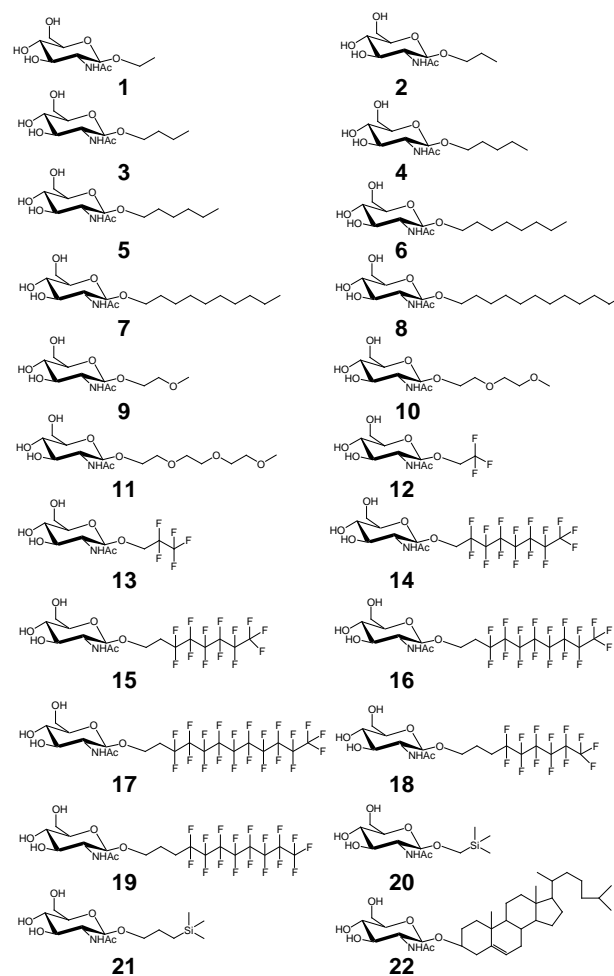


図1 合成した化合物

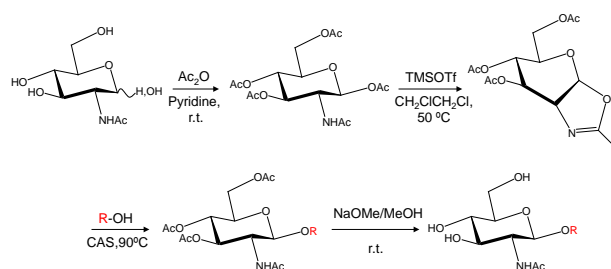


図2 合成ルート

2.2 水および有機溶剤に対する溶解性試験

合成した化合物 1 mg を精秤し、1 mL の水、メタノール、エタノール、クロロホルム、酢酸エチル、アセトンを加え、目視で評価した。溶解性は以下の4段階として表示した：◎，良く溶ける；○，少し時間がかかるが溶ける；△，一部溶け残りあり；×，不溶。

2.3 顕微鏡による観察

合成した化合物を加熱ステージに載せ、10°C/分で温度をかけながら偏光顕微鏡による観察を行った。

2.4 合成した化合物の熱分析

合成した化合物について、熱重量分析 (TG) および熱分析 (示差走査熱量測定 (DSC)) を行った。TG については試料 2.0 mg を用いて、10°C/分で昇温しながら窒素雰囲気下で測定した。DSC については、試料 5.0 mg を精秤し、15°C/分で昇温または冷却しながら同様に窒素雰囲気下において測定した。

3. 結果と考察

3.1 溶解性試験の結果

キチン・キトサンを原料に製造される *N*-アセチル-D-グルコサミンの新たな用途開発を目的として、新規誘導体を合成し、新たな機能性を持つ界面活性剤や生理活性物質としての基礎的なデータとして各種有機溶媒に対する溶解性試験を行った (表 1)。

表 1 合成した化合物の溶解性

化合物	側鎖		溶媒					
	CH	CF	水	MeOH	EtOH	CH ₂ Cl	EtOAc	Me ₂ CO
化合物1	2	0	◎	◎	◎	×	×	△
化合物2	3	0	◎	◎	○	×	×	△
化合物3	4	0	◎	◎	○	×	×	△
化合物4	5	0	○	◎	○	×	×	△
化合物5	6	0	△	◎	○	×	×	△
化合物6	8	0	×	◎	○	×	×	△
化合物7	10	0	×	◎	○	×	×	×
化合物8	12	0	×	◎	○	×	×	×
化合物9	-	-	◎	◎	△	×	×	×
化合物10	-	-	◎	◎	◎	×	×	×
化合物11	-	-	◎	◎	◎	×	×	×
化合物12	1	1	◎	◎	◎	×	×	△
化合物13	1	2	◎	◎	◎	×	×	○
化合物14	1	7	×	◎	◎	×	△	◎
化合物15	2	6	×	◎	◎	×	×	○
化合物16	2	8	×	◎	○	×	×	△
化合物17	2	10	×	○	△	×	×	×
化合物18	3	6	×	◎	○	×	×	×
化合物19	3	8	×	○	△	×	×	○
化合物20	-	-	◎	○	△	×	×	△
化合物21	-	-	○	◎	◎	×	△	△
化合物22	-	-	×	×	△	△	△	×

1 mg/mLの溶液で目視で評価。

◎、良く溶ける; ○、少し時間がかかるが溶ける; △、一部溶け残りあり; ×、不溶。

N-アセチル-D-グルコサミンの 1 位にアルキル鎖を入れたアルキル 2-アセトアミド-2-デオキシ-β-D-グルコピラノシド (化合物 1-8) では、鎖が長くなるにつれ水溶性が低下した。メタノールに対する溶解性は良好であった。水と混和しないクロロホルムや酢酸エチルに対しては全く溶解しなかった。一方、フッ素鎖の結合したアルキル鎖 (パーフルオロアルキル鎖) を入れたセミパーフルオロアルキル 2-アセトアミド-2-デオキシ-β-D-グルコピラノシド (化合物 12-18) もほぼ同様の傾向を示したが、エタノールに対する溶解性が若干良くなった。

アルキル鎖を結合させたもの、フッ素鎖を結合させたものどちらも両親媒性を持つものはなく、溶解性試験の結果からは、界面活性剤としての有効性は見いだせなかった。合成した化合物のうち、水溶性を示すものについては、*N*-アセチル-D-グルコサミンそのものよりもヒト表皮角化細胞にたいするヒアルロン酸生成能促進効果があること見出しており⁶⁾、これについてはすでに報告している。

3.2 偏光顕微鏡観察及び熱分析結果

TG 解析の結果から、1 位にアルキル鎖を結合させたアルキル 2-アセトアミド-2-デオキシ-β-D-グルコピラノシドは、同じ長さの鎖長のアルキル鎖を持つグルコース誘導体よりも分解温度が低く、熱に対する安定性が良くなかった。アルキル鎖をセミパ

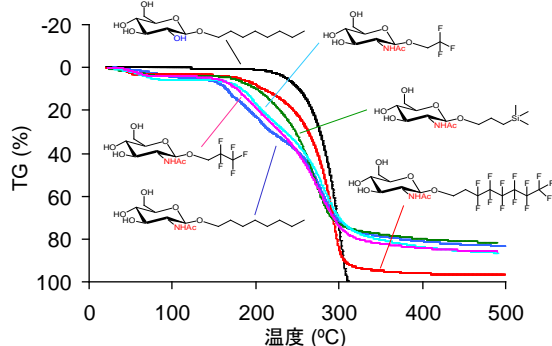


図 3 TG による分析結果

ーフルオロアルキル鎖やシリカの結合したものに変わることによって分解の始まる温度が上昇することが分かった (図 3)。特に、フッ素の存在は熱安定性の向上

に効果的であると考えられた。

キトサンのオリゴ糖であるキトビオースとキトリオースの *O*-および *N*-アシル化誘導体は、サーモトロピック液晶になることが分かっている⁷⁾ 本研究で合成した一連の化合物も液晶性がないかどうかを調べるために、偏光顕微鏡による観察と示差走査熱量測定 (DSC) を行った (表 2、図 4)。

表 2 *N*-アセチル-D-グルコサミン誘導体の熱特性

化合物	側鎖長(炭素数)				温度域(°C)
	CH ₂	CH ₃	CF ₂	CF ₃	
化合物7	9	1	0	0	178-181 (融点)
化合物8	11	1	0	0	189 (融点)
化合物14	1	0	6	1	180-200 (液晶)
化合物15	2	0	5	1	156-198 (液晶)
化合物16	2	0	7	1	186 (融点)
化合物17	2	0	9	1	180-195 (融点)
化合物18	3	0	5	1	195-206 (液晶?)
化合物19	3	0	7	1	185 (融点)
化合物22	-	-	-	-	250 (融点)

1位にフッ素鎖を持つセミパーフルオロアルキル 2-アセトアミド-2-デオキシ-β-D-グルコピラノシドの一つである化合物 14 では、180°Cで溶解し明るい結晶状の模様が観察され、200°Cで完全に溶解し液体となった。化合物 15 では、156°Cから溶解し結晶状の模様が観察され 198°Cで完全に溶解した。これらの現象は、DSC の結果におけるピークとも対応しており、これらの温度間で液晶状態が観察されているものと考えられ、この二つの化合物はサーモトロピック液晶としての可能性を持つことが示唆された。しかしながら、詳細な相構造 (ネマチック、スメスチック等) までの同定には至らなかった。

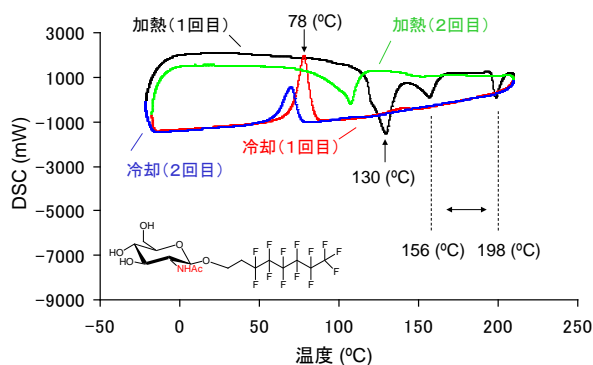
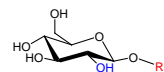


図 4 DSC による分析結果 (化合物 14)

その他の化合物では一度溶けると透明な液体となるだけであり、液晶状態を示さなかった。化合物 16、

17、19 では、溶解し始めてから完全に透明になるまでの温度に幅があるものはっきりとした液晶像が観察されなかったため、液晶性を持つ化合物とは断定できなかった。また、加熱中における褐変も観察された。1位にコレステロールを結合させた化合物 22 も液晶とはならなかった。



- R₁ = (CH₂)₆CH₃ (化合物23)
 (CH₂)₇CH₃ (化合物24)
 (CH₂)₈CH₃ (化合物25)
 (CH₂)₉CH₃ (化合物26)
 (CH₂)₁₁CH₃ (化合物27)
 (CH₂)₂(CF₂)₅CF₃ (化合物28)
 (CH₂)₂(CF₂)₇CF₃ (化合物29)
 (CH₂)₃(CF₂)₅CF₃ (化合物30)
 (CH₂)₃(CF₂)₇CF₃ (化合物31)
 (CH₂)₃(CF₂)₉CF₃ (化合物32)
 (CH₂)₄(CF₂)₃CF₃ (化合物33)
 (CH₂)₄(CF₂)₅CF₃ (化合物34)
 (CH₂)₅(CF₂)₃CF₃ (化合物35)
 (CH₂)₅(CF₂)₅CF₃ (化合物36)
 (CH₂)₆(CF₂)₃CF₃ (化合物37)
 (CH₂)₆(CF₂)₅CF₃ (化合物38)

図 5 D-グルコース誘導体の化学構造 (既報物質)

グルコースの誘導体であるアルキル β-D-グルコピラノシドやフッ素の結合したセミパーフルオロアルキル β-D-グルコピラノシド (図 5) では、サーモトロピック液晶としての報告が多数なされている^{8)~11)}。さらに、D-グルコサミン誘導体 (図 6) でも、アルキル 2-デオキシ-β-D-グルコピラノシドについてサーモトロピック液晶が観察された報告がある¹²⁾。D-グルコース誘導体、D-グルコサミン誘導体についてそれぞれ報告されている文献値を表 3、4 にまとめた。

本研究で合成された *N*-アセチル-D-グルコサミン系誘導体について、同じ長さのアルキル鎖およびセミパーフルオロアルキル鎖を持つ誘導体で比較してみると (例えば、化合物 7 と 26 と 41、化合物 15 と 28)、アルキル鎖を持つ *N*-アセチル-D-グルコサミン系の誘導体ではグルコース系誘導体と同じアルキル鎖長でも液晶を示さなかった。セミパーフルオロアルキル鎖を結合した場合は液晶性を示す化合物も見

られた(化合物 14、15)が、その温度域は高かった。

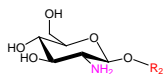
表3 D-グルコース誘導体の熱特性(文献値)

表3 D-グルコース誘導体の液晶形成能および温度域

化合物	側鎖長(炭素数)				温度域(°C)
	CH ₂	CH ₃	CF ₂	CF ₃	
化合物23 ^{a)}	6	1	0	0	59-69 (液晶)
化合物24 ^{a)}	7	1	0	0	68-110 (液晶)
化合物25 ^{a)}	8	1	0	0	68-113 (液晶)
化合物26 ^{a)}	9	1	0	0	72-133 (液晶)
化合物27 ^{b)}	11	1	0	0	80-143 (液晶)
化合物28 ^{c)}	2	0	5	1	138-197 (液晶)
化合物29 ^{c)}	2	0	7	1	148-219 (液晶)
化合物30 ^{d)}	3	0	5	1	155-180 (液晶)
化合物31 ^{d)}	3	0	7	1	164-204 (液晶)
化合物32 ^{d)}	3	0	9	1	175-219 (液晶)
化合物33 ^{c)}	4	0	3	1	104-148 (液晶)
化合物34 ^{c)}	4	0	5	1	118-179 (液晶)
化合物35 ^{c)}	5	0	3	1	114-147 (液晶)
化合物36 ^{c)}	5	0	5	1	124-176 (液晶)
化合物37 ^{c)}	6	0	3	1	91-155 (液晶)
化合物38 ^{c)}	6	0	5	1	76-149 (液晶)

注)a)文献8、b)文献9、c)文献10、d)文献11からのデータ。温度は、原著論文の値を四捨五入して整数値として表記した。

また、本研究で合成した化合物では、昇温・冷却を繰り返しながら、液晶挙動を顕微鏡で観察したと



$R_2 = (\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$ (化合物39)
 $(\text{CH}_2)_8\text{CH}_3$ (化合物40)
 $(\text{CH}_2)_9\text{CH}_3$ (化合物41)
 $(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_3$ (化合物42)
 $(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_3$ (化合物43)
 $(\text{CH}_2)_{17}\text{CH}_3$ (化合物44)

図6 D-グルコサミン誘導体の化学構造(既報物質)

ころ、2回目以降では液晶は観察されず、褐変が観察された。このことはDSCの結果とも一致しており(図4)、本研究で合成した化合物類の熱安定性の改善が今後の課題であることが示された。

表4 D-グルコサミン誘導体の熱特性(文献値)

化合物	側鎖長(炭素数)				温度域(°C)
	CH ₂	CH ₃	CF ₂	CF ₃	
化合物39 ^{a)}	7	1	0	0	93-118 (液晶)
化合物40 ^{a)}	8	1	0	0	98-118 (液晶)
化合物41 ^{a)}	9	1	0	0	95-119 (液晶)
化合物42 ^{a)}	11	1	0	0	98-125 (液晶)
化合物43 ^{a)}	13	1	0	0	80-125 (液晶)
化合物44 ^{a)}	17	1	0	0	100-119 (液晶)

注)a)文献12からのデータ。温度は、原著論文の値を四捨五入して整数値として表記した。

N-アセチル-D-グルコサミンに関して、パーフルオ

ロアルキル鎖とアルキル鎖の比率による液晶性の違いについても考察をしてみたが、単に融点を示すだけの化合物もあり、液晶化温度とフッ素の量との相関関係を見いだすことはできなかった。また、糖部分の構造にかかわらず、フッ素の存在は液晶化温度の低下につながらず、むしろ温度域を引き上げる結果となった。アルキル化した化合物で、例えば化合物7と26と41の液晶温度域を比較してみると、化合物7だけが高い液晶温度域を示しており、液晶発現温度にはN-アセチル基の存在も関与している可能性が推定された。今後、これらの点も含めて検討していく予定である。

4. おわりに

D-グルコサミンは様々な生理作用が報告され、健康食品としての重要性が増し、鳥取県内での製造量も増えている。一方、N-アセチル-D-グルコサミンの生理効果も報告されつつあり、どちらの化合物も関心を集めている。本研究では、これら化合物を健康食品以外にも利用できないかと考えて、N-アセチル-D-グルコサミンの種々の誘導体を合成し、溶解性や熱的特性について調べた。特に、フッ素の結合した化合物を合成することで、界面活性剤や液晶などとして新しい性質を持った化合物が得られないかについて検討を加えた。その結果、両親媒性を示す誘導体を見いだすことはできず、界面活性剤として利用するにはさらに検討が必要と考えられた。また、フッ素を結合させることで熱分解の開始温度が上昇することを見出し、いくつかの化合物では液晶挙動を示すことが分かった。しかしながら、フッ素の存在によりその温度域がさらに上昇する結果となった。界面活性剤や液晶としての利用には依然として問題点が多いが、基礎的な知見が得られたと考えている。今後は、これらの結果を基にさらに改善を進め、また別の用途開発についても検討していく予定である。

参考文献

1) Tamai, T., Miyatake, K., Okamoto, Y., Takamori, Y.,

- Sakamoto, H., Minami, S.; Enhanced healing of cartilaginous injuries by glucosamine hydrochloride, *Carbohydr. Pplym.*, 48 (4), p. 1369-378 (2002).
- 2) 華見, 宮澤敬治, 坂本廣司, 長岡 功; 滑膜細胞によるヒアルロン酸合成に及ぼすグルコサミンの効果, *キチン・キトサン研究*, 13 (3), p. 239-244 (2007).
 - 3) 華見, 橋本 悟, 坂本廣司, 長岡 功; 培養皮膚モデルを用いたグルコサミンの皮膚吸収に関する検討, *キチン・キトサン研究*, 13 (2), p. 37-42 (2007).
 - 4) 坂井和男, 又平芳春; 天然型 *N*-アセチルグルコサミンの量産化・機能性研究及び用途開発, *農林水産技術研究ジャーナル*, 31 (2), p. 40-42 (2008).
 - 5) Nishimura, S., Furuike, T., Matsuoka, K.; Preparation of glycoprotein models: pendant-type oligosaccharide polymers, *Methods in Enzymol.*, 242, p. 235-246 (1994).
 - 6) 吉田晋一、木村伸一、北村圭子、情野治良; ヒト表皮角化細胞のヒアルロン酸産生に及ぼす疎水基を導入したグルコサミン系の誘導体の影響と構造活性, *日本化粧品技術者会誌*, 44 (3), p. 228-232 (2010).
 - 7) Fukuda, T., Sugiura, M., Takada, A., Itoh, T., Ma, Y.-D., Minoda, M., Miyamoto, T.; Thermotropic liquid crystals based on oligosaccharides, *SEN-I GAKKAISI*, 47, p. 452-455 (1991).
 - 8) Jefferey, G. A., Bhattacharjee, S; Carbohydrate liquid-crystals, *Carbohydr. Res.*, 115, p. 53-58 (1983).
 - 9) Goodby, J. W.; Liquid crystal phases exhibited by some monosaccharides, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, 110, p. 205-219 (1984).
 - 10) Nguyen, H. L., Dedier, J.; Synthesis and characterization of thermotropic amphiphilic liquid crystals: semiperfluoroalkyl- β -D-glucopyranosides. *Liq. Cryst.*, 27, p. 1451-1456 (2000).
 - 11) Hein, M., Miethchen, R.; A new group of liquid crystals based on perfluoroalkylated carbohydrates, *Tetrahedron Lett.*, 39, p. 6679-6682 (1998).
 - 12) Stangier, P., Vill, V., Rohde, S., Jeschke, U., Thiem, J.; Mesomorphic amino sugars, *Liq. Crystals*, 17, p.589-595 (1994).