

---

 総 説
 

---

## 糖の疎水結合クロマトグラフィー

矢野 由起, 田中 敬子\*, 染矢 裕子\*

## The Hydrophobic Chromatography of Sugars

Yuki YANO, Keiko TANAKA and Yuko SOMEYA

## はじめに

この小文は、「疎水性相互作用に基づく糖の分離」と「多糖ゲルの疎水性を利用する疎水性物質の分離」の2つの内容から成るが、先ず始めに「糖の疎水性」について幾つかの実験データを示しておきたい。

## I. 糖の疎水性

筆者らは、一連の実験データから、糖にはその CH 基に基づく疎水性が内在することを示した<sup>1)</sup>。たとえば、(1)糖はその立体配座やコンホメーションのちがいによって、水溶液中のポリスチレン・ゲル (Bio-Beads SM-4) に対してそれぞれ独自の分配係数 ( $K_{av}$ ) を示すこと、更にこの  $K_{av}$  の値が、水の構造形成を促進する NaCl 水溶液中では大きくなり、逆の作用を持つ NaSCN 水溶液中では小さくなること (Table 1)<sup>2)</sup>、(2)糖の水から n-ブタノールへの移行自由エネルギー ( $\Delta F_t$ ) と Bio-Beads に対する親和性または吸着の自由エネルギー ( $-RT \ln [K_{av} - K^{\circ}_{av}] / K^{\circ}_{av}$ , ここで  $K^{\circ}_{av}$  は吸着がない条件下での分配係数) の間に直線関係が成立すること (Fig. 1)<sup>3)</sup>、(3)糖は炭化水素の水溶解度を高める共溶媒効果を示すが<sup>4,5)</sup>、その序列は上記の  $K_{av}$  の序列と概ね一致すること、(4)水溶液中で膨潤さ

せた多糖ゲル中に疎水性物質が高濃度に溶解すること<sup>6-8)</sup>、などがそれである。

糖の Bio-Beads への吸着はわずかに発熱的であり、典型的なエントロピー駆動の過程ではないが、Bio-Beads への吸着自由エネルギーの序列と  $\Delta F_t$  (H<sub>2</sub>O → n-ブタノール) の序列が一致することは、糖の Bio-Beads への吸着にいわゆる疎水性相互作用が関与していることを示唆するものである。そういう意味で、 $K_{av}$  または  $\ln (K_{av} - K^{\circ}_{av}) / K^{\circ}_{av}$  と、水分子が接近可能な CH 基の占める表面積との関係を調べることは糖の疎水性を知る上で必要なことである。宮嶋ら<sup>9)</sup> は、糖の疎水性の指標として CH, CH<sub>2</sub> の占める表面積と OH 及び O の占める表面積の比 (Index A) をとり、それと単糖類の Bio-Beads に対する  $K_{av}$  との関係を調べた。その結果、両者間に密接な相関があることを見出した。筆者らは、単糖類の他にメチル配糖体、グルコ 2 糖類およびデオキシ糖について、 $\ln (K_{av} - K^{\circ}_{av}) / K^{\circ}_{av}$  と CH Index との相関を調べてみた (Fig. 2)<sup>10,11)</sup>。(CH Index は基本的には Index A と同様に定義される量であるが、Index A の計算では OH 基の自由回転が仮定されているのに対し、CH Index は結晶座標のデータ (CAM) をそのまま使って計算されたものである。) Fig. 2 から明らかのように、単糖類については  $\ln (K_{av} - K^{\circ}_{av}) / K^{\circ}_{av}$  と CH Index との間にほぼ直線関係がみられるが、他の糖についてはそうではない。しかし、Fig. 2 は全体としてみれば、これら 2 つのパラメータの間に密接な相関があることを示しており<sup>11)</sup>、従って糖-(Bio-Beads) 間の相互作用に CH 基に基づく疎水性が関与していることは確かと思われる。

皇学館大学文学部教育学科, 伊勢市神田久志本町1704  
Department of Education, Kogakkan University,  
Ise-shi 516

\* 京都女子大学家政学部食物学科栄養学第3研究室,  
京都市東山区今熊野北日吉町35  
Department of Food Science, Kyoto Women's  
University, Higashiyama-ku, Kyoto 605

**Table 1.**  $K_{av}^0$  of Monosaccharides for Polystyrene Gel in Water and Salt Solutions at 25°C<sup>a)</sup>

Monosaccharide	H <sub>2</sub> O	2MNaCl	4MNaCl	2MNaSCN	2MLiSCN
Galactose	0.55	0.61	0.67	0.54	0.51
Glucose	0.56	0.62	0.69	0.54	0.52
Mannose	0.62	0.68	0.74	0.57	0.55
Fucose	0.90	1.33	2.00	—	—
Arabinose	0.68	0.74	0.80	0.60	0.60
Xylose	0.68	0.74	0.80	0.58	0.57
Ribose	0.75	0.88	1.07	0.74	0.63
Deoxyribose	1.07	1.47	—	—	0.82

<sup>a)</sup> Units of  $K_{av}$ : (mol·l<sup>-1</sup>·solvent)<sup>-1</sup>·(mol·l<sup>-1</sup>·gel)<sup>-1</sup>.

ただ、メチル配糖体や2糖類の  $K_{av}$  について、

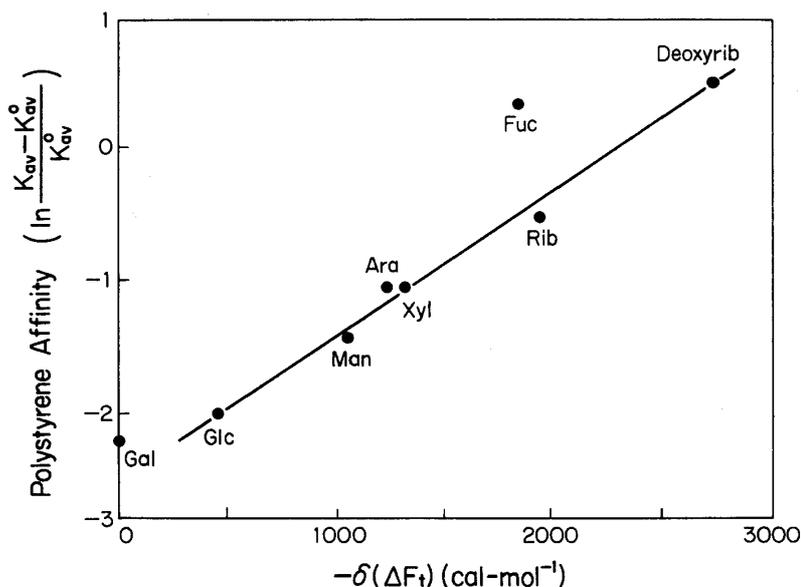
$\alpha$ -methyl D-man  $\gg$   $\alpha$ -methyl D-glc,  $\alpha$ -methyl D-gal  
 $\alpha$ -配糖体  $>$   $\beta$ -配糖体

Laminaribiose ( $\beta$ -1,3)  $\gg$  他のグルコ2糖

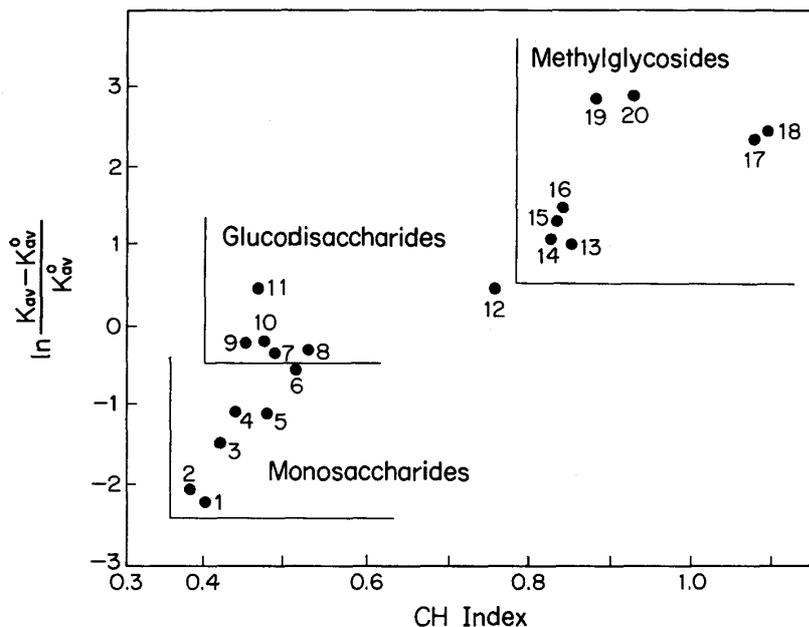
となる結果を CH Index だけで説明することはできない (Fig. 2)。従って、CH 表面積は重要な要素にはちがいないが、それ自体で充分ではないことがわかる。脂肪族アルコールの場合、OH 基に近接した CH<sub>2</sub> 基の疎水性効果は皆無か極めて小さいことが知られている。同様な考え方をメチル配糖体に適応するならば、C-2 の OH から空間的により大きく分離された Methyl  $\alpha$ -D-mannoside の CH<sub>3</sub> 基の疎水性効果が大

きくなるであろうことは容易に予想される (Fig. 3)。また、 $\alpha$  配糖体の O 原子の水接触表面積が  $\beta$  のそれに比して  $\frac{2}{3}$  ~  $\frac{1}{2}$  程度小さいことを考えれば、 $\alpha$ -CH<sub>3</sub> の疎水性効果が  $\beta$ -CH<sub>3</sub> のそれより大きくなることも理解できる。ラミナリビオースは、結晶座標のデータに基づくコンピュータ・グラフィック・イメージによれば、比較的かたい平面構造をとっている。もし、この構造が溶液中でもある程度維持されるとすれば、ポリスチレン鎖との接触面が他と比較して大きく、それだけ相互作用も強くなると考えられる。

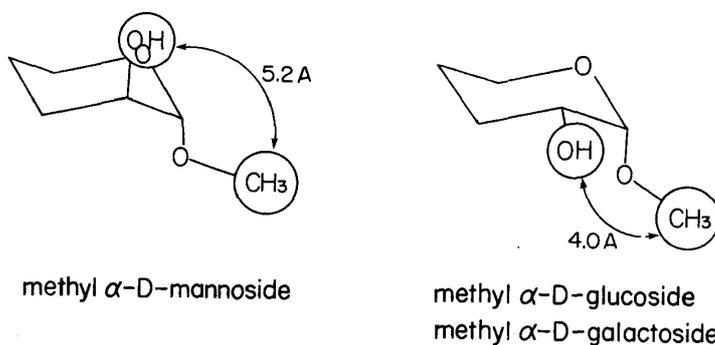
以上のことから、糖と Bio-Beads の相互作用を決める要因は、(1)CH/OH 表面積比、(2)主たる疎水性サイ



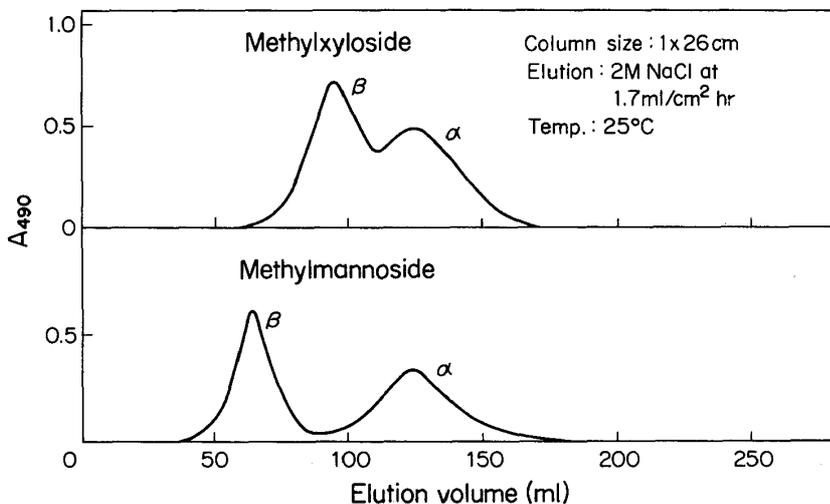
**Fig. 1.** Correlation between the polystyrene affinity and  $\Delta F_t$  (H<sub>2</sub>O/BuOH) for monosaccharides.  $\delta(\Delta F_t)$  refers to the transfer free energy for transfer of sugars from water to n-butanol relative to that of galactose, i. e.,  $\delta(\Delta F_t) = \Delta F_t$  of sugars  $- \Delta F_t$  of galactose.



**Fig. 2.** Correlation between the polystyrene affinity and CH Index.<sup>11)</sup> CH Index = ratio of total surface area of CH, CH<sub>2</sub> and CH<sub>3</sub> groups to total surface area of OH and O groups. 1: galactose, 2: glucose, 3: mannose, 4: xylose, 5: arabinose, 6: ribose, 7: cellobiose, 8: maltose, 9: trehalose, 10: gentiobiose, 11: laminaribiose, 12: deoxyribose, 13: methyl β-D-galactoside, 14: methyl α-D-galactoside, 15: methyl β-D-glucoside, 16: methyl α-D-glucoside, 17: methyl β-D-xyloside, 18: methyl β-D-arabinoside, 19: methyl α-D-mannoside, 20: methyl α-D-xyloside.



**Fig. 3.** The C-2 OH ↔ CH<sub>3</sub> segregation in methyl α-D-glycosides



**Fig. 4.** Separation of α and β anomers on a Bio-Beads SM-4 column<sup>12)</sup>

トまたはグループの近接 OH 基からの空間的分離の  
 度合, (3)分子の平面性やかたさなどであると考えられ  
 る。

**II. 糖の疎水結合クロマトグラフィー**

各糖の疎水性を決定する要素の差異を利用して, 糖  
 を Bio-Beads によって分離することができる。Fig. 4,  
 5 はその 2, 3 の例を示したものである。Fig. 6a 及  
 び 6b には, それぞれシクロデキストリン及びアミロ  
 ースの Octyl-Sepharose CL-4B によるクロマトグラ

ムを示してある。これらの糖の Octyl 基への結合は,  
 Bio-Beads の場合と同様に発熱的であるが, NaCl 中  
 で強められ, 尿素や SCN 塩中では弱められる。

**III. 多糖ゲル (Sephadex, Cellulofine な  
 ど) の疎水性を利用するクロマトグラ  
 フィー**

疎水性の溶質は高濃度のデキストラン・ゲル (Se-  
 phadex G-10, G-25) に対して異常に大きい  $K_{av}$  を示  
 す<sup>6-8)</sup>。疎水性溶質の水溶媒からゲル中への移行は殆

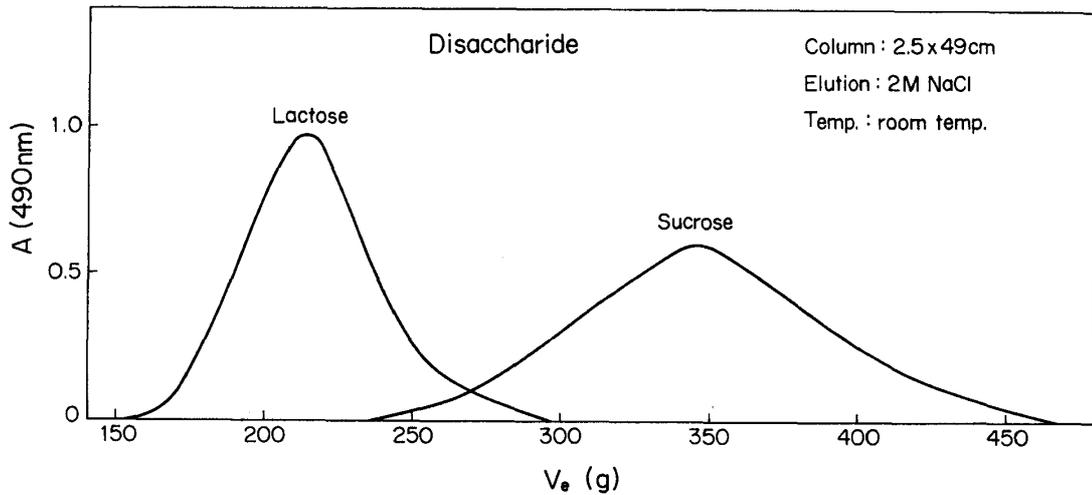


Fig. 5. Separation of lactose and sucrose on a Bio-Beads SM-4 column<sup>12)</sup>.

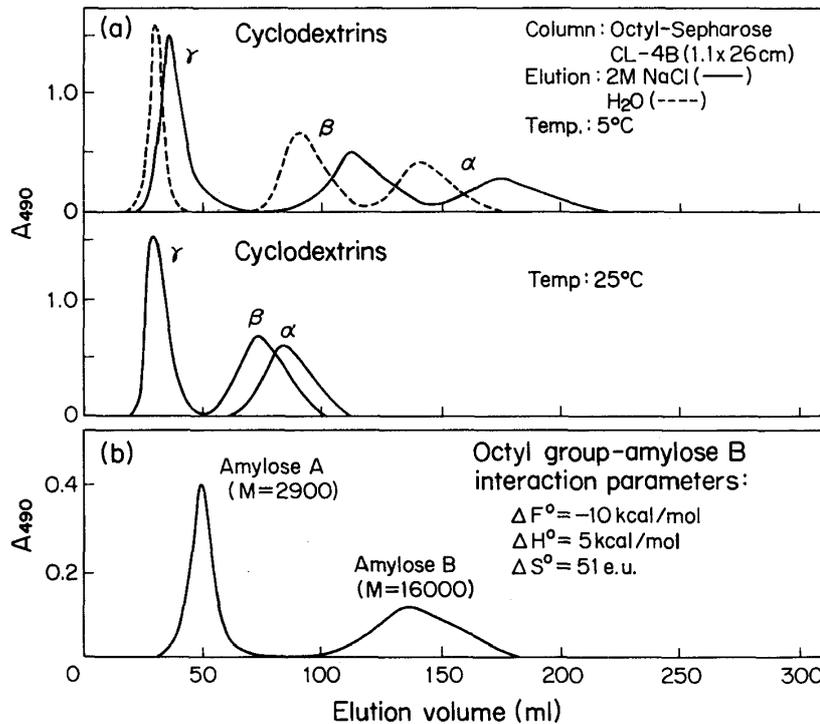
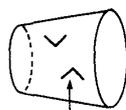
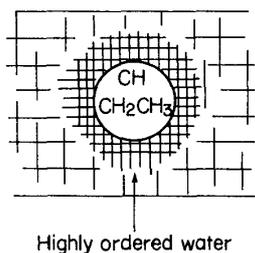


Fig. 6. Separation of  $\alpha$ -,  $\beta$ - and  $\gamma$ -cyclodextrins (a) and amylose fraction (b) on a Octyl-Sepharose CL-4B column<sup>13)</sup>.

a. Entropic Hydrophobicity      b. Enthalpic Hydrophobicity



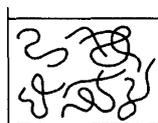
Enthalpy rich water with incomplete complement of H bonding (e.g., Cyclodextrin)

c. Enthalpic Hydrophobicity

Interstices formed by dextran matrices in swollen gel and in dextran solution



(Sephadex G-10)



(Condensed dextran solution)

Fig. 7. Implications of the "Hydrophobicity"

ど例外なくエントロピー有利に基づくものであり、疎水性相互作用の関与を示唆するものであるが、その詳細は明らかにされていない。「疎水結合」や「疎水性」の概念は、近年むしろ、だんだん曖昧になってきたように思われるが、「水の中へ挿入することによって水の自由エネルギーを増加させる溶質を疎水性である」ということが許されるならば、少なくとも2つのケースが考えられる。1つは、いわゆる Entropic な疎水性 (Fig. 7a) であり、いま1つは、環の中に蒸気に近い状態の水分子を取り込んでいると考えられているシクロデキストリンにみられる Enthalpic な疎水性 (Fig. 7b) である。シクロデキストリン環内と似たような状況は高濃度の多糖ゲルや水溶液中 (Fig. 7c) においても容易に生じうることであり (Table 2)<sup>14)</sup>、従ってシクロデキストリンの包接化合物形成を疎水性相互作用

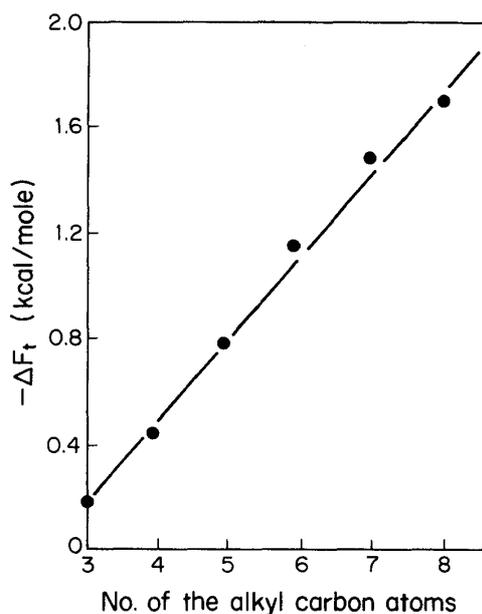


Fig. 8.  $\Delta F_t$  (H<sub>2</sub>O/G-10) of alcohols as the function of the alkyl chain length<sup>9)</sup>.

用に基づくものとするならば、溶質の高濃度多糖ゲルへの移行も同様にみなすことができる。事実、n-アルコールの水溶媒から Sephadex G-10 への移行自由エネルギーは炭素数の増加とともに直線的に減少し (Fig. 8), CH<sub>2</sub> 当たりでは  $\Delta F_t^\circ = -330$  cal/mole ( $\Delta H_t^\circ = 500$  cal/mole,  $\Delta S_t^\circ = 3$  e.u.) である。この値は、炭素4以上の n-アルコールを 1×23 cm 程度のカラムで分離するのに充分であり、溶媒中の NaCl 濃度と温度を上げることによって、更に改善することができる (Fig. 9)。

Sephadex G-10 に対する吸着が更に強い芳香族化合物の場合は、濃度勾配をもたせたメタノール水溶液を溶出溶媒として用いることによって、分離することが可能である (Fig. 10)。

Table 2. Number of Water Molecule per Cavity Glucosidic Oxygen in Cyclodextrins (CA) and in Dextran Gel<sup>14)</sup>

CA	No.	Sephadex	Dextran Concn. (%)	No.
C6A	1	G- 10	57.4	1.87
C7A	1.57	G- 15	45.6	2.66
C8A	2.13	G- 25	29.2	4.50
		G- 50	12.9	14.0
		G-100	5.8	25.4

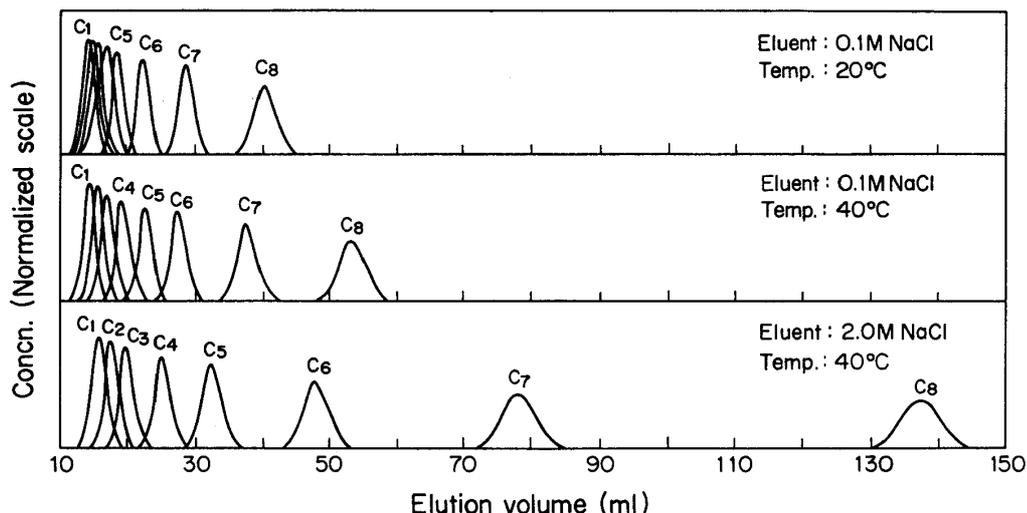


Fig. 9. Effect of temperature and salt on the chromatographic resolution of n-aliphatic alcohols on a Sephadex G-10 column (1×23 cm)<sup>8)</sup>.

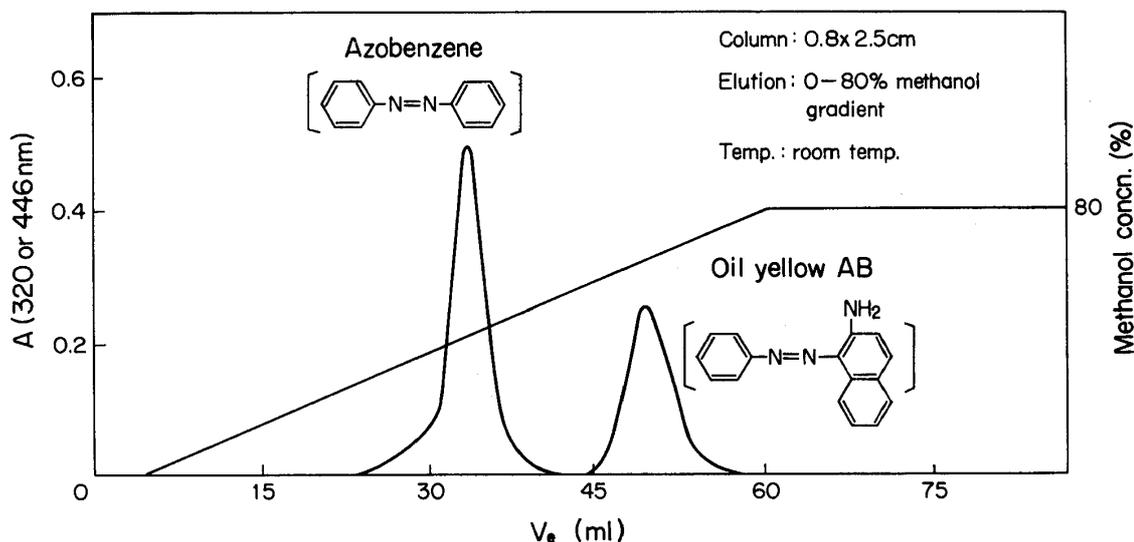


Fig. 10. Separation of hydrophobic dyes on a Sephadex G-10 column<sup>15)</sup>

むすび

ここに示した疎水結合クロマトグラフィーの例は糖の疎水性に基づくものであり、分析手段としての一般的应用は限られているが、原理的には興味深い。さらにメチル配糖体やアルコールの分離の例にみられるように工業的な規模での応用も十分に考えられる。

文 献

- 1) Y. Yano: 本誌, 40, 1 (1985)
- 2) M. Janado: in *Aqueous Size-Exclusion Chromatography*, P. L. Dubin ed., (Elsevier, Amsterdam, 1988), Chap. 2.
- 3) M. Janado and Y. Yano: *J. Solution Chem.*, 14, 891 (1985).
- 4) M. Janado and T. Nishida: *J. Solution Chem.*, 10, 489 (1981).
- 5) M. Janado and Y. Yano: *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 58, 1913 (1985).
- 6) A.C. Haglund and N.V.B. Marsden: *J. Polym. Sci. Polym. Lett. Ed.*, 18, 217 (1980).
- 7) M. Janado, K. Takenaka, H. Nakamori and Y. Yano: *J. Biochem.*, 87, 57 (1980).
- 8) Y. Yano and M. Janado: *J. Chromatogr.*, 200, 125 (1980).
- 9) K. Miyajima, K. Machida and M. Nakagaki:

- Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **58**, 2595 (1985).
- 10) Y. Yano, K. Tanaka, Y. Doi and M. Janado:  
*J. Solution Chem.*, **17**, 347 (1988).
- 11) Y. Yano, K. Tanaka, Y. Doi and M. Janado:  
*Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **61**, 2963 (1988).
- 12) K. Tanaka: 未発表データ
- 13) Y. Someya: 京都女子大学食物学科卒業論文 (昭和62年度)
- 14) R. P. Bywater and N. V. B. Marsden: *Chromatography Library Series*, 22A, (Elsevier, Amsterdam, 1983), Chap. 8.
- 15) Y. Yano: 未発表データ