

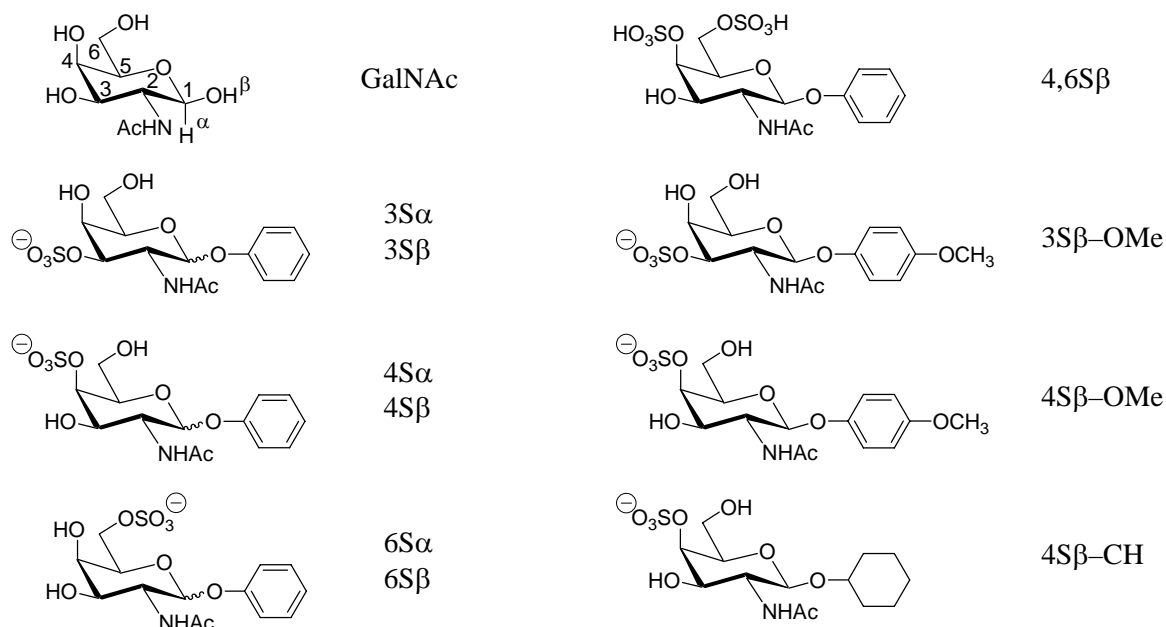
2P162

ESI-MSⁿ分析による硫酸化ガラクトサミンの解離機構

(愛知教育大) 高木秀幸, 山田知加, 開尾憲一, 澤田敏彦, 藤井園子, 大竹しおり,
羽瀧脩躬, 中野博文, 日野和之

【序】動物の細胞・組織・器官をしっかりと結びつけ、その支持・保護・栄養供給を行っている組織を結合組織とよび、その主要成分はムコ多糖類とよばれる粘性物質である。コンドロイチン硫酸は、ムコ多糖類の構成要素の1つで、生体内ではコラーゲンとともに結合組織を形成し、皮膚・関節・各臓器に保水性や弾力性を与えている。コンドロイチン硫酸の構造は、D-グルクロン酸とN-アセチル-D-ガラクトサミンの2糖が繰り返した糖鎖に、硫酸基が結合したものである。単糖残基には硫酸化されうる部位が複数存在し、そのため硫酸基の導入位置の組み合わせによって多数の構造が存在する。この構造の多様性が、生物学的機能の多様性を生み出している。我々は、フェニル置換したガラクトサミン-4-硫酸が、ガラクトサミン-4-硫酸6-硫酸転位酵素の選択的阻害剤として作用することを明らかにしている。本研究では、硫酸基の導入が単糖の幾何・電子構造にどのような影響を与えるかについて検討するために、硫酸化N-アセチル-D-ガラクトサミンのESI-MSⁿ分析を行い、解離機構を考察した。

【実験】(1) 硫酸化ガラクトサミンの合成：対応するグルコサミン誘導体の4位を反転させて、硫酸基を導入し、ガラクトサミン誘導体を得た。フェニル(C₆H₅-)、*p*-メトキシフェニル(*p*-CH₃OC₆H₄-)、シクロヘキシル(C₆H₁₁-)をグリコシドとした各誘導体の3位、4位、または6位を硫酸化した。



(2) ESI-MSⁿ分析：試料溶液をエレクトロスプレーイオン化し、分子イオンを選別した後、衝突誘起解離させ、フラグメントイオンを繰り返し追跡することにより、MSⁿスペクトルを測定した。

【結果と考察】ESI質量スペクトルは、プロトンが脱離した分子イオン[M-H]⁻が支配的であった。MS²フラグメントイオンはアルコールが脱離したものである。フェノール(C₆H₅OH=94)、*p*-メトキシフェノール(CH₃OC₆H₄OH=124)、シクロヘキサノール(C₆H₁₁OH=100)。硫酸基の置換位置の違いはMS³過程に現れた。3-硫酸に特徴的なフラグメントイオンは、*m/z* 208 および 128 である。前者は、前駆体の2位の*N*-アセチル基からケテンが、また4位と5位からメタノールが脱離したイオンである。これからフラン骨格を有する化合物が脱離し、側鎖が結合して後者のイオンを生成すると考えられる(図1)。4-硫酸では、*m/z* 181 および 153 のフラグメントイオンが観測されている。2位と3位の間、および、5位と隣接する酸素原子の間から開裂することにより前者のイオンを与える。引き続いて、一酸化炭素が脱離すると後者のイオンが生成する(図2)。6-硫酸に対しては、*m/z* 181 に加えて、264、184 および 139 のフラグメントイオンが観測されている。*m/z* 264 のイオンからフラン骨格を有する化合物が脱離するとき、側鎖が結合して*m/z* 184 のイオンを与える。一方、1位と隣接する酸素原子の間、および、4位と5位の間から開裂することにより*m/z* 139 のイオンが生成する(図3)。ここで、アノマーのフラグメントパターンはほとんど一致していた。4,6-ジ硫酸では、MS⁴過程で*m/z* 184 および 153 のフラグメントイオンが現れていることから、MS²過程で硫酸基が4位または6位から1つ脱離して、6-硫酸および4-硫酸イオンとして存在していると考えられる。*p*-メトキシフェニル置換体は3-硫酸と4-硫酸とでフェニル置換体と同様の解離過程を示している。しかし、シクロヘキシル置換体はMS²過程でシクロヘキサノールの脱離が選択的ではない。これは、脂肪族分子の脱離が芳香族分子の脱離に比べてより活性化エネルギーを必要とするためと考えられる。発表当日は、以上の結果を理論計算と比較することにより、硫酸化ガラクトサミンの解離機構を議論する。

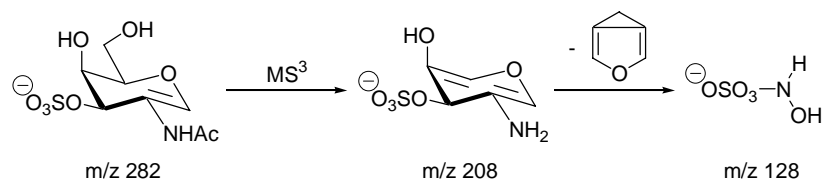


図1 . 3-硫酸の解離過程

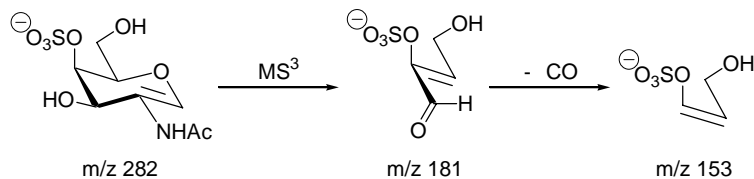


図2 . 4-硫酸の解離過程

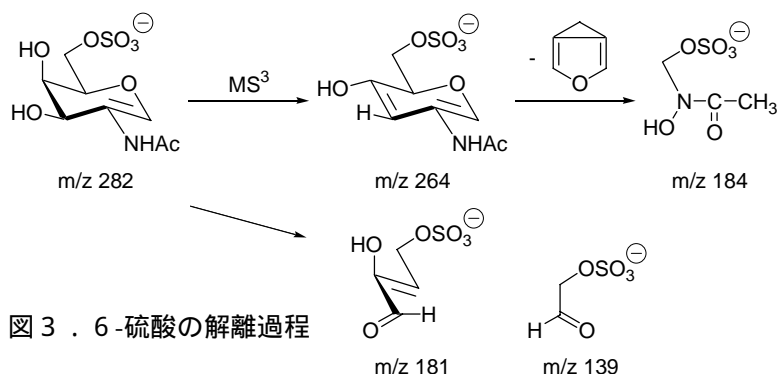


図3 . 6-硫酸の解離過程