

平成 21 年 5 月 27 日現在

研究種目：若手研究 (A)
 研究期間：2006-2008
 課題番号：18688009
 研究課題名 (和文) セロオリゴ糖からなる外部環境応答性ナノ粒子の構築と動的機能制御
 研究課題名 (英文) Preparation of stimuli-responsive nano particles consisting of cello-oligosaccharides and dynamic control of their functions
 研究代表者
 上高原 浩 (KAMITAKAHARA HIROSHI)
 京都大学・大学院農学研究科・助教
 研究者番号：10293911

研究成果の概要：ブロック的にメチル化されたジブロック型、トリブロック型セロオリゴ糖の一般的合成法を確立し、水中での会合構造を明らかにした。すなわち、水中での会合構造は、ブロック的メチル化セロオリゴ糖の一次構造に依存することが判明した。また、温度刺激により粒径が変化することも明らかとなり、その温度依存性もセロオリゴ糖の一次構造に依存することが判った。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	9,700,000	2,910,000	12,610,000
2007年度	4,700,000	1,410,000	6,110,000
2008年度	7,500,000	2,250,000	9,750,000
年度			
年度			
総計	21,900,000	6,570,000	28,470,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：森林学・木質科学

キーワード：セルロース

1. 研究開始当初の背景

セルロースの高度利用法の開発は、石油由来製品に依存する現代社会を再生可能資源を利用する社会に変革する上で意義がある。その開発のためには、既存のセルロース誘導体の構造-物性相関について詳細に検討し学んだ上で新しいアイデアを得ることが重要である。

研究代表者はメチルセルロース(置換度(DS)1.5-2.0)の可逆的な熱ゲル化に興味を持ち、化学合成手法を用いて研究を続けてきた。この現象はセルロース主鎖中に存在するメチル DS3.0 のグルコースユニットが架橋点と

なり系中の水を抱接するためと説明されており、セルロース誘導体の性質はその化学構造上の不均一性に大きく影響されている。化学合成的手法はこの物理現象を解明するための有力な手段である。

研究代表者は一貫してセルロースの化学合成に関連する研究に従事してきた。すなわち、グルコースオルトエステルの開環重合によりセルロース誘導体を合成し、その保護基の除去によりセルロースの有機化学的合成をなし得た。さらに、望みのシークエンスを有するブロック的にメチル化されたセロオリゴ糖誘導体混合物の合成法を確立した。

その結果、全ての水酸基がメチル化された

セロテトラオースの非還元末端側に未修飾のグルコースが数個結合した様々な重合度のセロオリゴ糖誘導体は両親媒性を示し、界面活性を有することが見いだされた。研究代表者はその化合物がミセルを形成し水に溶解していると予測し、その水溶液及び乾燥させた溶液を解析したところ、平均半径約45nm、最大半径約100nmの粒子構造を形成していることが見いだした。

このような研究背景に基づき、セロオリゴ糖からなる新規な外部環境応答性ナノ粒子を構築し、動的な機能制御を行う、すなわち、時間的、空間的な物質移動の手段としてナノ粒子を利用することができれば、再生可能資源であるセルロースの高度かつ高付加価値利用法の開発に繋がると考えた。

2. 研究の目的

上記背景を元に、ブロックタイプセロオリゴ糖誘導体からなるナノ粒子は内側が疎水的であり、難水溶性抗ガン剤などを標的細胞に効率よく作用させる、いわゆるドラッグデリバリーシステム(DDS)に応用できるのではないかと着想するに至った。必要最小限の薬物を必要な場所に供給するDDSは、副作用を抑制し効果的に投薬する技術として注目されている。DDS基材は200nm以下のサイズである必要があるが、研究代表者が見いだした粒子はこのサイズ範囲内である。また、可逆的熱ゲル化を示すメチルセルロースと同様に、ブロックタイプセロオリゴ糖誘導体の自己組織化ナノ粒子にも外部環境(熱)応答性があると予測し、望みの温度で収縮・膨潤し、内部の薬剤を放出するナノ粒子の調製を計画した(標的認識機能)。

3. 研究の方法

これまでに調製を報告したブロック的にメチル化されたセロオリゴ糖誘導体混合物に加え、単分散なブロック的メチル化セロオリゴ糖(AB-ジブロック型、ABA-, BAB-トリブロック型)の合成法の確立を目指した。グリコシルドナーとして数種の化合物を、グリコシルアクセプターとして数種の化合物を選択し合成を計画した。

上記化合物調製の後、化合物の性質は示差操作熱量分析計(DSC)により、水溶液中の粒子構造の熱安定性(熱刺激応答性)を、粒子サイズの温度依存性(熱刺激応答性)を動的光散乱測定装置(DLS)により検討した。さらに、化合物の両親媒性を評価するために、化合物水溶液の界面活性を測定し、市販のメチルセルロース水溶液の界面活性と比較した。

ブロック的メチル化セロオリゴ糖誘導体の一次構造と得られた物性データの相関か

ら、DDSに望ましい化合物を選抜することとした。

4. 研究成果

合成ブロックの調製

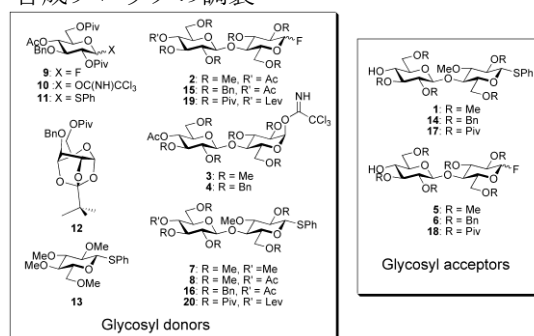


図1 本研究で用いた様々な合成ブロック

図1に示した化合物調製法を確立した(文献1, 2)。これらのグリコシルアクセプター、ドナーの組み合わせを試し、最適な組み合わせを見出した上で、ブロック的メチル化セロオリゴ糖の合成に用いた。

(1) AB-ジブロック型セロオリゴ糖の調製

① グルコースオルトエステルを用いた多分散なジブロック型セロオリゴ糖調製法

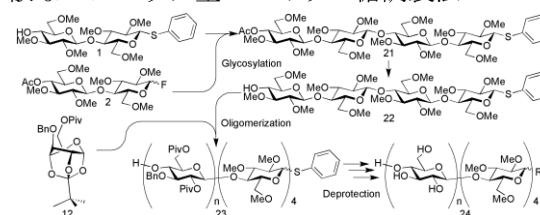


図2 AB-ジブロック型セロオリゴ糖混合物の調製法

セロビオシルフルオリド(グリコシルドナー)とチオフェニルグルコシド(グリコシルアクセプター)を用いて2,3,6位水酸基が全てメチル基で保護されたセロテトラオース誘導体を調製し、グルコースオルトエステル誘導体を反応させることにより、ブロック的メチル化セロオリゴ糖4糖から8糖までの混合物を得る方法を確立した(文献1)。得られた化合物は、水、メタノール、クロロホルムに溶解し、両親媒性を示した。

② グリコシル化法による単分散なジブロック型セロオリゴ糖調製法

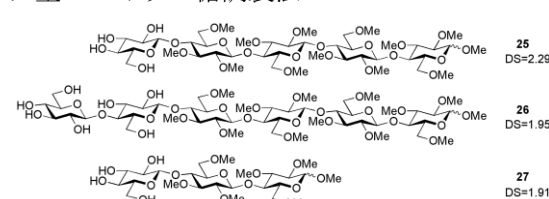


図3 単分散なAB-ジブロック型セロオリゴ糖の調製法

図1中に記載したセロビオースおよびグルコース誘導体を用いて、単分散なAB-ジブロック型セロオリゴ糖の調製法を確立した(文献2)。得られた化合物は、水、メタノール、クロロホルムに溶解し、両親媒性を示した。

(2) ABA-, BAB-トリブロック型セロオリゴ糖の調製

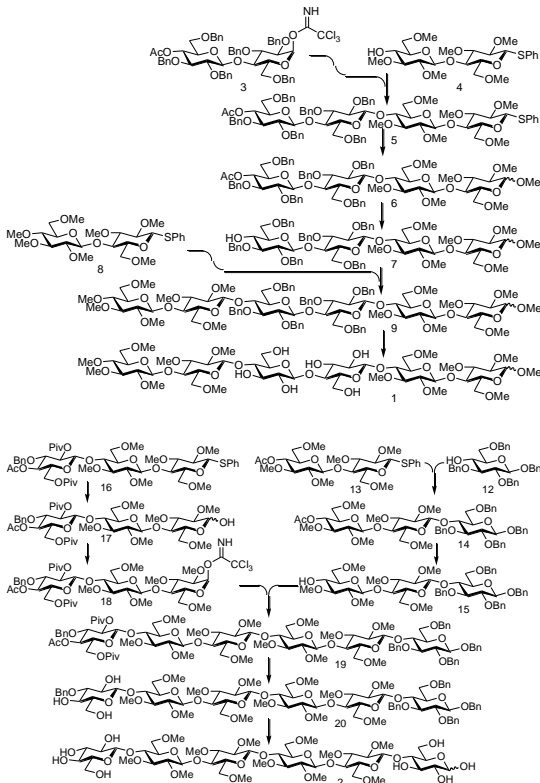


図4 グリコシル化法によるABA-, BAB-トリブロック型セロオリゴ糖(6糖)の調製

これまでに得られた知見を踏まえ、トリブロック型セロオリゴ糖の調製法の確立を目指した。ABA型は分子鎖両末端が疎水的、中央部が親水的であり、BAB型は逆に分子鎖両末端が親水的、中央部が疎水的である。最終的に図4の合成ルートに従って、ABA-, BAB-トリブロック型セロヘキサオースの調製に成功した。興味深いことに、ABA型は水、メタノール、クロロホルムに溶解したが、BAB型は水に溶解したもののクロロホルムに溶解しなかった。このようにブロック構造が溶解性に大きな影響を及ぼすことが合成化学的に立証された(学会発表9, 10)。

(3) ブロック的メチル化セロオリゴ糖の界面活性能

得られた化合物水溶液の界面活性能をメチルセルロース水溶液と比較検討し、化学構造が界面活性に与える影響について考察した。

その結果、ブロック的メチル化セロオリゴ

糖4糖から8糖までの混合物はメチルセルロース(MC SM-4)水溶液と同様に界面活性は45 mN/m以下に下がらなかったが、単分散なAB-ジブロック型セロオリゴ糖5, 6, 3糖は30 mN/m程度まで下がった。よって、ブロック的メチル化セロオリゴ糖水溶液の界面活性能は、化合物の純度に大きく依存することがわかった(文献2)。

(4) ブロック的メチル化セロオリゴ糖からなるナノ粒子構造の評価

ブロック的メチル化セロオリゴ糖4糖から8糖までの混合物は水中で会合体を形成することが判明し、その構造を透過型電子顕微鏡(TEM)観察、静的(SLS)および動的(DLS)光散乱測定により検討した。その結果、粒子は楕円球形であり、長径100 nm、短径50 nm程度であることがわかった。この粒子は極めて疎な構造を有していることも示唆された(文献3)。

(5) ブロック的メチル化セロオリゴ糖からなるナノ粒子のDDS担体としての評価

本研究において調製したセロオリゴ糖からなるナノ粒子の外部環境(熱)応答性をDSC, DLSを用いて検討した。その結果、ブロック的メチル化セロオリゴ糖の一次化学構造が外部環境応答性に大きく影響を与えることがわかった(学会発表10)。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計4件)査読有

(1) Kamitakahara, H.; Nakatsubo, F.; Klemm, D. (2006) Block co-oligomers of tri-*O*-methylated and unmodified cello-oligosaccharides as model compounds for methylcellulose and its dissolution/gelation behavior. *Cellulose*, **13** (4), 375-392.

(2) Kamitakahara H., Nakatsubo F. and Klemm D. (2007). New class of carbohydrate-based nonionic surfactants: Block co-oligomers of tri-*O*-methylated and unmodified cello-oligosaccharides. *Cellulose*, **14** (5) 513-528.

(3) Kamitakahara H., Yoshinaga A., Aono H., Nakatsubo F., Klemm D. and Burchard W. (2008). New approach to unravel the structure-property relationship of methylcellulose. Self-assembly of amphiphilic block-like methylated

cello-oligosaccharides. Cellulose, **15** (6): 797-801.

(4) Enomoto-Rogers, Y.; Kamitakahara, H.; Nakayama K.; Takano, T.; Nakatsubo, F. (2009) Synthesis and thermal properties of poly(methyl methacrylate)- graft -(cellobiosylamine-C15). Cellulose, **16**(3): 519-530.

〔学会発表〕(計 10 件)

(1) 上高原 浩、中坪文明、Dieter Klemm: 「ブロック的にメチル化されたセロオリゴ糖誘導体の構造—物性相関」セルロース学会第 13 回年次大会 (東京) 2006 年 7 月 13-14 日

(2) 上高原 浩: 「自己組織化する両親媒性セロオリゴ糖誘導体の合成とその性質」、第 4 回積水化学 自然に学ぶものづくりフォーラム 2006 年 10 月 12 日

(3) Hiroshi Kamitakahara, Arata Yoshinaga, Hajime Aono, Fumiaki Nakatsubo, Dieter O. Klemm

“Synthesis strategy for functional cello-oligosaccharides to develop innovative cellulosic materials”
233rd ACS meeting in Chicago, USA, Anselme Payen Award Symposium honoring Dr. Charles Buchanan, March 25-29, 2007 (Invited lecture)

(4) 上高原 浩、中坪 文明: 「ブロック的メチル化セロオリゴ糖誘導体水溶液の熱挙動」セルロース学会、2007/7/20、静岡大学 大学会館

(5) 上高原 浩 (代理 ロジャース (榎本) 有希子: 「セルロース系コポリマーの調製とその会合構造」、第 5 回積水化学 自然に学ぶものづくりフォーラム 2007 年 10 月 17 日

(6) Hiroshi Kamitakahara, Fumiaki Nakatsubo: “Thermal behavior of aqueous solutions of blockwise methylated cello-oligosaccharide derivatives”, PD29 p171, 2nd International Cellulose Conference, 2007, October 22-25, 2007, Tower Hall Funabashi, Tokyo, Japan

(7) Hiroshi Kamitakahara, Toshihiro Funakoshi, Shinji Nakai, Toshiyuki Takano, Fumiaki Nakatsubo

“Regioselective functionalization of cellulose with two kinds of alkyl groups and the structure-property relationships”
235th ACS meeting in New Orleans, Anselme Payen Award Symposium honoring Prof.

Fumitaka Horii, New Orleans, USA 2008.04.06 (Invited lecture)

(8) 上高原 浩 セルロース学会奨励賞受賞講演 セルロース学会第 15 回年次大会 2008 Cellulose R&D, 2008 年 7 月 10 日、京都大学桂キャンパスローム記念館

(9) Hiroshi Kamitakahara and Fumiaki Nakatsubo

“Self-assembly of blockwise methylated cello-oligosaccharides in aqueous solution”
8th International Symposium “Alternative Cellulose – Manufacturing, Forming and Properties” 03. - 04. September 2008, Rudolstadt, Germany (Invited lecture)

(10) Hiroshi Kamitakahara and Fumiaki Nakatsubo

“Water-soluble nano capsules based on blockwise methylated cello-oligosaccharides”
237th ACS National Meeting & Exposition, 2009 年 3 月 26 日, Salt Lake City, UT, USA (Invited lecture)

〔図書〕(計 1 件)

上高原 浩 (分担): 磯貝明監修、シーエムシー出版、「セルロース利用技術の最先端」第 6 章、セルロースの化学合成と特徴 2008 年 p 70 – 76、総ページ数 405

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 1 件)

上高原 浩、中坪 文明、Dieter Klemm
「セロオリゴ糖誘導体およびその製造方法」
W02006/067883 A1

〔その他〕

上高原 浩、中坪 文明 (2008) セルロース系ポリマーの FDP 分野への応用の可能性を探る、月刊マテリアルステージ、**8** (6), 43-45.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

上高原 浩 (KAMITAKAHARA HIROSHI)
京都大学・大学院農学研究科・助教
研究者番号: 10293911

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし