

令和 5 年 6 月 26 日現在

機関番号：54101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2022

課題番号：18K05225

研究課題名(和文) 高次構造制御された多糖への位置特異的側鎖導入による高機能化

研究課題名(英文) Functionalization of polysaccharides by introducing regiospecific side chains into polysaccharides with controlled higher-order structure

研究代表者

山本 智代 (Yamamoto, Chiyo)

鈴鹿工業高等専門学校・その他部局等・教授

研究者番号：80314045

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：天然に存在する一方向巻きらせん構造を有するアミロースについて、その構成単位であるグルコース環がもつ3つの水酸基のうち、2位のみをエステル化し、残りの3,6位をカルバメート化した様々な誘導体の合成を行った。得られた誘導体を高速液体クロマトグラフィー用のキラル固定相に用いて鏡像異性体を分割する能力の評価を行ったところ、2位のエステルがかさ高いほど、高い分割能を有することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多糖誘導体は高速液体クロマトグラフィー用キラル固定相として広く様々な分野で用いられており、それらは全てグルコースの3つの水酸基に同じ置換基を導入したものである。一方、水酸基を位置特異的に誘導体化できれば得られる誘導体のバリエーションが広がり、これまでとは異なる能力を有する誘導体の合成が可能になると期待される。本研究で用いたエステル交換によるアミロースの2位のエステル化は、他の水酸基を保護する手間を必要としない有用な誘導体化方法であり、導入する置換基と光学分割能の関係について明らかにすることは、より高い光学分割能を有するキラル固定相の開発につながるものである。

研究成果の概要(英文)：Amylose is a highly conformationally controlled optically active polymer. In this study, various novel amylose derivatives were synthesized by derivatizing the hydroxyl group at 2-position of glucose to esters and the remaining 3 and 6 positions to carbamates. These derivatives were coated on the macroporous silica gel and used as chiral stationary phases of high-performance liquid chromatography to evaluate the separation ability of the enantiomers. The results showed that the bulkier the ester at position 2, the higher the separation ability.

研究分野：機能性高分子化学

キーワード：多糖 光学分割 キラル固定相 HPLC

1. 研究開始当初の背景

高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による光学分割は、鏡像異性体の分取、微量分析の両方に利用可能な方法として発展し、これまでに様々なキラル充填剤の開発が進められてきた。その中でも、特にセルロースやアミロース (図1) などの天然に豊富に存在する多糖を化学的に修飾して得られるフェニルカルバメートやベンゾエート誘導体が高い光学分割能を有することが見いだされている^{1,2)}。現在、これら多糖誘導体型キラルカラムを用いたHPLCによる光学分割は、さまざまな分野で広く実用的に用いられている。さらに、世界中の不斉合成化学者により光学活性化化合物の混合比を求める手法として最も多く利用され、不斉合成の分野の発展に大きく貢献してきた³⁾。

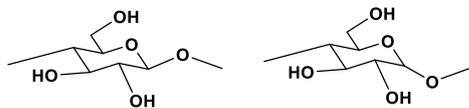


図1 セルロース (左) およびアミロース (右)

このセルロースやアミロースのフェニルカルバメートやベンゾエート誘導体の光学分割能は、フェニル基上の置換基の種類や数を変えることにより、カルバメートおよびエステル部分の極性変化や、置換基の立体的要因などが影響してそれぞれに異なる特徴を有し、これまでに合成、光学分割能の評価を行った数百種類の誘導体はいずれも異なる能力を示すことがわかっている^{1,2)}。現在、市販されている多糖誘導体型カラムはいずれも、グルコースの3つの水酸基に全て同じ置換基を導入したものである。

セルロースやアミロースを位置選択的に修飾した誘導体については、1級アルコールである6位の水酸基をトリチルクロライドにより保護することで、6位と2,3位とを区別することは容易であり (図2(a))、セルロース、アミロースについていくつかの誘導体が合成されその光学分割能が評価された⁴⁾。しかし、反応性のほぼ等しい2,3位の水酸基に異なる側鎖を導入することは従来の合成法では困難であり、合成やその光学分割能の評価は行われていなかったが、2004年、Dickeらがジメチルスルホキシド中、アミロースの2位のみを選択的にエステル化する方法を報告した (図2(b))⁵⁾。そこで我々はこの方法を利用して、アミロースについて初めて2,3位に異なる置換基を導入した誘導体の光学分割能を評価し、それらが高い光学分割能を有することを見出した⁶⁾。

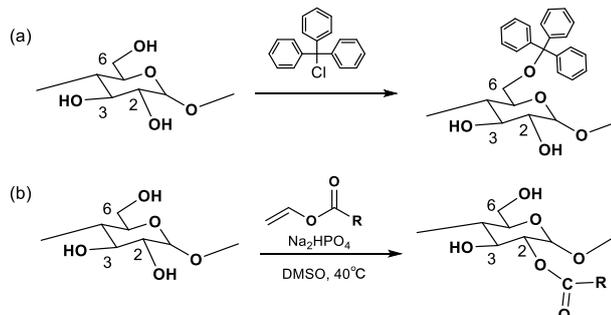


図2 アミロースの位置特異的誘導体化
(a) 6位トリチル化 (b) 2位エステル化

2. 研究の目的

本研究では、高度に高次構造制御された天然の光学活性高分子であるアミロースを出発原料とし、『水酸基を位置特異的に誘導体化した多糖誘導体の合成』と、『導入する置換基の精査による機能発現』に関する研究を目的とした。グルコースの3つの水酸基全てに同じ置換基を有する誘導体は数多く合成されてきたが、3つの水酸基に異なる置換基を位置特異的に導入する方法が確立されれば、調製可能な誘導体の数は飛躍的に増大し、より高い光学分割能を有する誘導体や、特異的な能力を有する誘導体の開発につながるかと期待される。

その目的を達成するため、図2(b)の方法を用いたアミロースの位置特異的誘導体化について、2位に導入するエステルや3,6位に導入するカルバメートについて様々な組み合わせで誘導体を合成してその光学分割能を評価し、導入する置換基の種類と光学分割能との間に傾向が見られるかどうか、詳細に検討を行った。

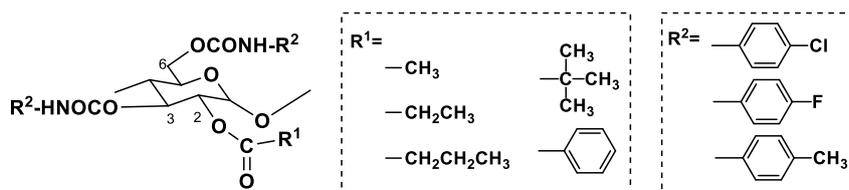


図3 アミロースの位置特異的誘導体

3. 研究の方法

本研究では、図3に示した誘導体をはじめとする、様々な位置特異的誘導体化アミロースを合成し、その光学分割能評価を行った。

(1) 位置特異的誘導化

ジメチルスルホキシド(DMSO)溶媒中、アミロースのグルコース環の2位の水酸基はその隣接グルコース環の3位の水酸基と水素結合しており、ビニルエステルを用いたエステル交換反応により2位の水酸基のみをエステル化することが可能である。

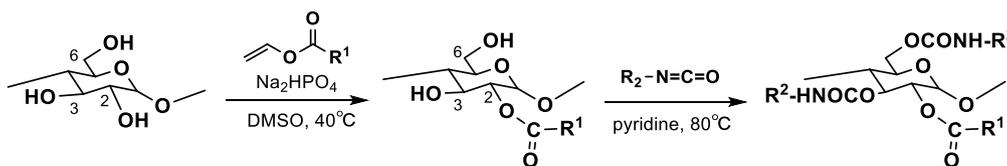


図4 アミロースの位置特異的誘導体合成スキーム

まず初めに、アミロースを DMSO 中、80°C で溶解させ、室温まで放冷した後、ビニルエステル化合物とリン酸水素二ナトリウムを加え、40°C で 48 時間反応させて 2 位のみがエステル化されたアミロース誘導体を得た。2 位の置換率を ^1H NMR 測定により確認後、3,6 位の水酸基とフェニル基上に様々な置換基を有するフェニルイソシアナートを反応させ、3,6 位がフェニルカルバメート化された誘導体を合成した (図 4)。生成物の確認は ^1H NMR の測定により行った。

(2) 光学分割能評価

合成したアミロース誘導体は多孔質シリカゲルに物理的にコーティングしてこれを充填剤とし、スラリー法によりステンレス・スチール製カラムに充填して HPLC 用カラムを作製した。得られたカラムは HPLC に装着し、溶離液にヘキサン/IPA (9:1) を用いて数種類のラセミ体に対する光学分割能の評価を行った。HPLC の検出器には、本研究課題で購入した多波長同時検出可能なマルチフォトダイオードアレイ (PDA) と旋光度検出器を用い、ピークの検出と鏡像異性体の溶出順序の決定を行った。

4. 研究成果

(1) 位置特異的誘導化

高分子系キラル固定相の光学分割能は高分子がとる高次構造に強く依存し、規則的な高次構造により作られる不斉空間において、同じ相互作用が繰り返されることが高い光学分割能の発現に非常に重要な意味を持つ。

図 5 は (a)、(b) とともに、アミロースに安息香酸ビニルを反応させて得られた誘導体の ^1H NMR である。3.5-6.0 ppm に観測されたピークはグルコース環の水素と未反応の水酸基のピークであり、また、7.3-8.0 ppm にみられるピークは導入した安息香酸エステル由来のフェニル基のピークである。図 5 (a) では数多くのブロードなピークが観測されているのに対し、図 5 (b) では (a) のような小さいピークはほとんど見られず、構造から考えられるプロトンの数とピークの本数は一致し、積分曲線から得られる面積比も 9:5 で予想される構造のプロトン比と一致した。これは、図 5 (a) では 2 位のエステル化が位置特異的に進行せず様々な環境のプロトンが存在していることを意味しており、一方、図 5 (b) では誘導体化が位置特異的に進行し、規則的な構造を有していることを意味している。(a)、(b) とともに残りの水酸基にイソシアナートを反応させ、その光学分割能を評価したところ、(b) から導かれた誘導体の方が高い光学分割能を示した。この結果より、最初の 2 位のエステル化の段階で完全に位置特異的に反応させることが、高い光学分割能の発現に必要であることが確かめられた。

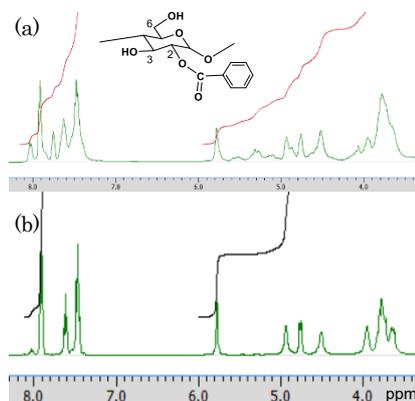


図5 2位をベンゾエート化したアミロース誘導体の ^1H NMR スペクトル

(2) 光学分割能評価

本研究課題では、グルコース環の2位に導入したエステルのかさ高さが光学分割能に与える影響を検討するために、メチル、エチル、プロピル、フェニルと置換基を変化させた誘導体を合成した。また、それぞれについて、3,6位のフェニルカルバメートの構造もパラ位に塩素やフッ素、メチル基を導入し、様々な組み合わせの誘導体を合成して光学分割能を評価した。その結果、2位のエステルがメチルからエチル、プロピルとかさ高くなるほど光学分割能は高くなる傾向がみられ、最終年度の令和4年度に合成したフェニル基を導入した誘導体が高最も高い能力を示すことが分かった。

また、セルロースでは、メチルエステルやベンゾエートの3置換体が高い光学分割能を有することが知られているのに対し、これまでに合成されたアミロースのエステル誘導体はいずれもほとんど光学分割能を示していない。しかしながら、本研究課題で合成したような2位をエステル、3,6位をフェニルカルバメートに変換した誘導体は高い光学分割能を有することが明らか

かとなった。2位のみのエステル化は、他の水酸基を保護するなどの手間を必要とせず位置特異的に行うことができ、またこれまでアミロースでは有用ではないと考えられていたエステル化も、2位のみであれば高い光学分割能を示すことが確かめられ、アミロースから導かれる誘導体のバリエーションがさらに広がり、今後、さらにその組み合わせを検討することで、より高い能力を有する誘導体の合成が可能になると期待できる。また、位置特異的な誘導体化は、光学分割材料以外の新しい機能を有する高分子材料の創製に繋がると期待される。

<引用文献>

- ① T. Ikai and Y. Okamoto, *Chem. Rev.*, **2009**, 109, 6077-6101.
- ② C. Yamamoto and Y. Okamoto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **2004**, 77, 227-257.
- ③ E. Yashima, C. Yamamoto, and Y. Okamoto, *Synlett*, **1998**, 344-360.
- ④ Y. Kaida and Y. Okamoto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1993**, 66, 2225-2232.
- ⑤ R. Dicke, *Cellulose*, **2004**, 11, 255-263.
- ⑥ S. Kondo, C. Yamamoto, M. Kamigaito, and Y. Okamoto, *Chem. Lett.*, **2008**, 37, 558-559.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 西野巧起、山本智代、岡本佳男
2. 発表標題 NMRを用いたセルロースフェニルカルバメート誘導体の不斉識別機構に関する研究
3. 学会等名 第26回高専シンポジウム
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------