

平成22年 5月 14日現在

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2007 ～ 2009

課題番号：19550126

研究課題名（和文）：アミロース生成重合場での包接錯体形成を利用した高分子の超精密認識分離

研究課題名（英文）：Precise recognition and separation of polymers through the formation of inclusion complexes using amylose-forming polymerization field

研究代表者

門川 淳一 (KADOKAWA JUNICHI)

鹿児島大学・大学院理工学研究科（工学系）・教授

研究者番号：30241722

研究成果の概要（和文）：

既に本研究代表者は、“つる巻き重合”というアミロースを生成する酵素触媒重合を利用したアミロース-合成高分子包接錯体の形成手法を報告している。本研究では、このつる巻き重合においてアミロースが構造の似通った2種類の高分子混合物から、1種類の高分子を選択的に包接することを見出した。さらに、分子量分布の広い高分子をゲストに用いてつる巻き重合を検討したところ、ゲスト高分子の特定の分子量領域をアミロースが選択的に包接することも見出した。

研究成果の概要（英文）：

Amylose, a linear polysaccharide with helical structure linked through (1→4)- $\alpha$ -glycosidic linkages, is a well-known host compound that forms inclusion complexes with relatively lower molecular weight compounds. So far, we have reported the preparation method of the inclusion complexes composed of amylose and the polymeric compounds using phosphorylase-catalyzed polymerization forming amylose in the presence of the guest polymers. This polymerization method is named “vine-twining polymerization”. In this study, we found that amylose selectively included poly(tetrahydrofuran) (PTHF) or poly( $\delta$ -valerolactone) (PVL) from a mixture of two resemblant polyethers, i.e., poly(oxetane) (POXT) and PTHF, or a mixture of two resemblant polyesters, i.e., PVL and poly( $\epsilon$ -caprolactone) (PCL) in vine-twining polymerization. In addition, it was found that amylose selectively included a specific range of molecular weights (MWs) in any PTHFs when the vine-twining polymerization was performed in the presence of some PTHFs with different average MWs.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2005年度			
2006年度			
2007年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2008年度	800,000	240,000	1,040,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：高分子化学

科研費の分科・細目：複合化学・高分子化学

キーワード：アミロース、酵素重合、包接錯体、選択的包接、超分子、高分子混合物

### 1. 研究開始当初の背景

でんぷんの一成分であるアミロースはらせん構造を有するため、脂肪酸などの様々な低分子量化合物をらせん内部に取り込む包接現象を起こすことが知られている。しかし、アミロースが高分子を包接して、アミロース-高分子包接錯体を形成した例はほとんど知られていなかった。アミロースが包接錯体を形成する主な駆動力は、内部空間の疎水性に起因するゲスト分子との疎水性相互作用であると考えられ、アミロースとゲスト高分子の弱い相互作用だけでは、ゲスト高分子の長い分子鎖を取り込むことが困難であるため、アミロース-高分子包接錯体が得られにくいのであろう。

本研究代表者は、アミロース-高分子包接錯体を得る新規な手法として重合反応と結びつけた方法を開拓してきた。この手法のコンセプトは、ホスト高分子となるアミロースを生成する重合反応を適当なゲスト高分子存在下で行うことで、生長反応がゲスト高分子を取り込みながら進行し、アミロースの生成とともに包接錯体が形成するというものである。この場合、ホスト高分子となるアミロースの鎖長が徐々に長くなるため、初めから鎖長が長い場合と比較して包接錯体を形成しやすいと考えられる。本研究者は、このような重合を“つる巻き重合”と名づけ、高分子と高分子から構成される包接錯体形成の新規な手法として提唱してきた。また、このつる巻き重合において、ゲスト高分子の疎水性の強さはアミロースの包接挙動に大きく影響を与えることが分かっている。

### 2. 研究の目的

本研究課題では、高分子を分離する新しい手法の開拓を目的に、つる巻き重合においてゲスト高分子の疎水性の強さがアミロースの包接挙動に影響を与える性質を利用して、アミロースの選択的包接挙動について検討を行った。具体的には、(1) 構造の似通った2種類の高分子混合物からの1種類の高分子の選択的包接、および(2) 分子量分布の広い高分子を用いたつる巻き重合による、特定の分子量領域の選択的包接について検討した。

### 3. 研究の方法

(1) つる巻き重合における高分子混合物に対するアミロースの選択的包接

① ポリエーテル混合物に対する選択的包接

つる巻き重合は、ゲストポリマーの混合物としてポリテトラヒドロフラン (PTHF:  $M_n = \sim 1600$ ) とポリオキセタン (POXT:  $M_n = \sim 1800$ ) を用いて、この混合物 (ユニット比 1:1) を酢酸ナトリウム緩衝液 (pH = 6.2, 0.2 mol/L) 中に超音波処理により分散させ、この分散液中にプライマーであるマルトヘプタオース ( $G_7$ )、モノマーであるグルコース 1-リン酸ナトリウム塩 (G-1-P)、触媒であるホスホリラーゼを加え 40-45°C で 6 時間激しく攪拌することで行った。反応終了後、未反応の G-1-P、ホスホリラーゼ、および未包接の PTHF および POXT を取り除くために水およびアセトンで洗浄を行い、減圧乾燥することで生成物を得た。

② ポリエステル混合物に対する選択的包接

ゲストポリマーの混合物としてポリ  $\epsilon$ -カプロラクトン (PCL:  $M_n = \sim 930$ ) とポリ  $\delta$ -バレロラクトン (PVL:  $M_n = \sim 830$ ) を用いたつる巻き重合を、前述のポリエーテル混合物を用いた場合と同様な方法により行った。

③ 様々なゲスト高分子混合物に対する包接の優先性の検討

PTHF ( $M_n = \sim 970$ )、POXT ( $M_n = \sim 940$ )、PCL ( $M_n = \sim 930$ ) および PVL ( $M_n = \sim 830$ ) の中から2種類のゲスト高分子を全ての組み合わせで選択し、この混合物を用いたつる巻き重合を前述の方法と同様に行った。

(2) つる巻き重合における分子量分布の広い PTHF に対するアミロースの選択的包接

平均分子量の異なる3種類の PTHF (PTHF-1K;  $M_n$  and  $M_w/M_n = 1350$  and 2.86、PTHF-3K;  $M_n$  and  $M_w/M_n = 3040$  and 3.13、PTHF-6K;  $M_n$  and  $M_w/M_n = 6330$  and 2.45) をゲストに用いたつる巻き重合を前述の方法と同様に行った。

得られた包接錯体からの PTHF の抽出は以下の手順で行った。まず、包接錯体をジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し 40°C で 13 時間攪拌した後、大過剰のアセトンに投入して得られた沈殿生成物をろ過により取り除いた。ろ液をエバポレートした後にクロロホルムに溶解し、水で洗浄、エバポレート、減圧乾燥することで PTHF を抽出した。

### 4. 研究成果

(1) つる巻き重合における高分子混合物に対するアミロースの選択的包接

① ポリエーテル混合物に対する選択的包接

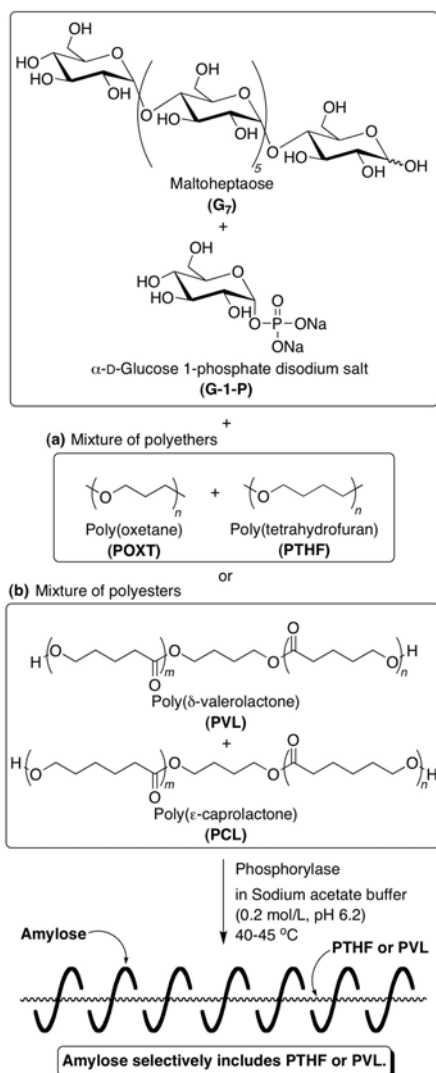


図 1. つる巻き重合におけるアミロースの選択的包接

つる巻き重合により包接錯体の形成が可能であることが既に報告されているゲストポリマーの PTHF と POXT は、メチレン炭素数がそれぞれ 4 と 3 であり構造が類似していることから、各種溶媒に対する溶解性の違いを利用してこれらのポリエーテル混合物からそれぞれを分離することは困難である。そこで、ゲストポリマーの混合物として、PTHF ( $M_n \sim 1600$ ) と POXT ( $M_n \sim 1800$ ) を選択し、これらのポリエーテル混合物存在下で、アミロースを生成するためのホスホリラーゼによる酵素触媒重合 (つる巻き重合) を行った (図 1a)。生成物の XRD 測定の結果より、包接錯体が形成されたことを確認した。そこで、包接錯体中のゲストポリエーテルの存在比を  $^1\text{H NMR}$  測定により検討した。

ゲストであるポリエーテル混合物の  $^1\text{H}$

NMR 測定より、PTHF のメチレンプロトン  $\beta$  由来のピークと POXT のメチレンプロトン  $\beta'$  由来のピークの積分比を求め、この値からポリエーテル混合物のユニット比を算出したところ 1.00 : 0.90 であった (図 2a)。一方、つる巻き重合によって得られた生成物中のこれらのユニット比も同様に算出したところ 1.00 : 0.02 であり (図 2b)、アミロースが PTHF をほぼ選択的に包接していることが分かった。

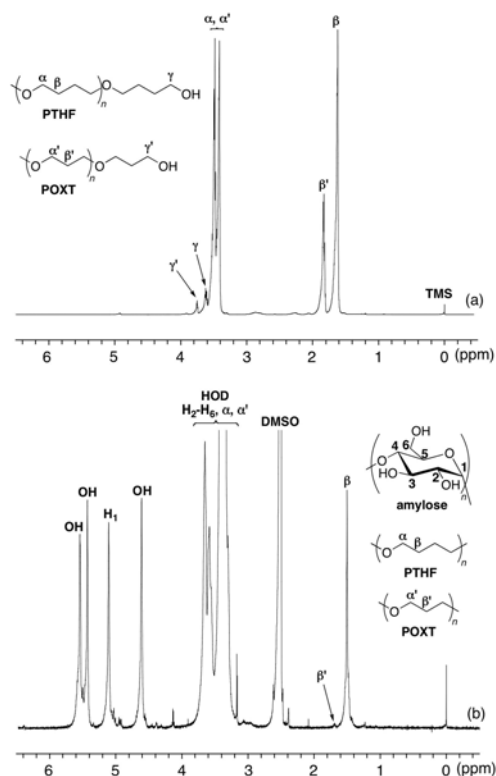


図 2. (a) ゲストポリエーテル混合物 (in  $\text{CDCl}_3$ ) および (b) 生成物 ( $\text{DMSO}-d_6$ ) の  $^1\text{H NMR}$  スペクトル

さらに、つる巻き重合におけるこのような選択的な包接挙動は、アミロース生成のための原料である  $G_7$  と  $G-1-P$  の仕込み濃度に強く依存していることが分かった。例えば、 $G_7$  と  $G-1-P$  の仕込み濃度を前述の条件の 15 倍にしてつる巻き重合を行ったところ、包接錯体中のポリエーテルの存在比 (PTHF : POXT) は 1.00 : 0.21 であり、POXT の包接される割合が増加した。これは、重合の進行に伴う PTHF の優先的な包接のために、分散液中の PTHF 濃度が減少し、その結果、POXT も包接されたためと考えられる。

② ポリエステル混合物に対する選択的包接

前述のつる巻き重合による選択的なアミロースの包接は、ポリエステル混合物に対しても行うことが可能であった。PVL と PCL は、つる巻き重合により包接錯体の形成が可能であることが既に報告されており、また、

メチレン炭素数がそれぞれ4と5であり構造が類似していることから、各種溶媒に対する溶解性の違いを利用してこれらのポリエステル混合物からそれぞれを分離することは困難である。そこで、これらのポリエステル混合物を用いてつる巻き重合を行い、アミロースの包接における選択性を検討した (図 1b)。

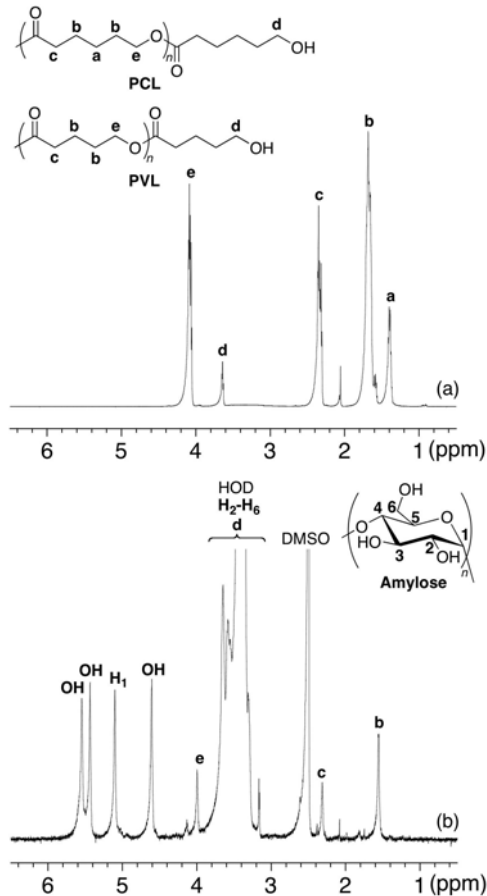


図 3. (a) ゲストポリエステル混合物 (in  $\text{CDCl}_3$ ) および (b) 生成物 ( $\text{DMSO}-d_6$ ) の  $^1\text{H}$  NMR スペクトル

ゲストであるポリエステル混合物の  $^1\text{H}$  NMR 測定より、PVL と PCL のユニット比を算出したところ 1.00 : 0.92 であった (図 3a)。一方、つる巻き重合によって得られた生成物中のこれらのユニット比は 1.00 : 0 であり (図 3b)、アミロースが PVL を選択的に包接していることが分かった。

ポリエーテル混合物を用いた場合と同様に、つる巻き重合におけるこのような選択的な包接挙動は、 $\text{G}_7$  と  $\text{G-1-P}$  の仕込み濃度に強く依存しており、これらの濃度を 30 倍にしてつる巻き重合を行い得られた生成物中の PVL : PCL 比は 1.00 : 0.46 であった。

### ③ 様々なゲスト高分子混合物に対するアミロースの包接の優先性

前述のゲスト高分子 (PTHF、POXT、PCL、PVL) の中から、2 種類のゲスト高分子を全

ての組み合わせで選択し、これらの混合物を用いたつる巻き重合を行い、PTHF、POXT、PCL および PVL に対するアミロースの包接の優先性を検討した。その結果、アミロースは、PTHF > PVL > POXT > PCL の順で包接しやすいことが明らかとなった。

### (2) つる巻き重合における分子量分布の広い PTHF に対するアミロースの選択的包接

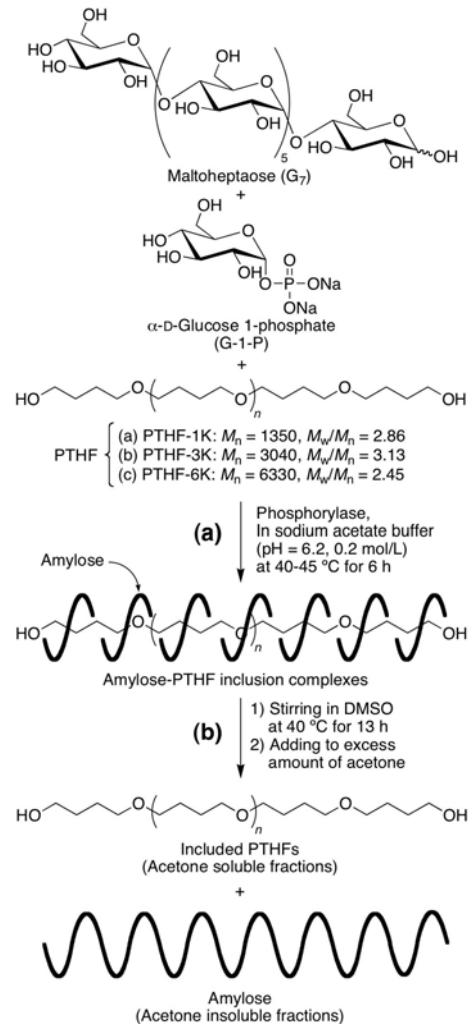


図 4. (a) つる巻き重合におけるアミロースの分子量分布の広い PTHF に対する選択的包接および (b) 包接錯体からの PTHF の抽出

平均分子量の異なる 3 種類の PTHF (PTHF-1K、PTHF-3K、PTHF-6K) をゲストに用いてつる巻き重合を行い (図 4a)、得られた包接錯体中の PTHF の分子量および分子量分布を求めることで、ゲスト高分子の分子量に対するアミロース包接の選択性について検討した。

つる巻き重合で得られた包接錯体を  $\text{DMSO}$  中で加熱攪拌することで、アミロースと PTHF にそれぞれ分離し (図 4b)、PTHF を回収して  $^1\text{H}$  NMR および GPC 測定により

分子量および分子量分布を算出した。

PTHF-1K、PTHF-3K、PTHF-6K を用いて得られた包接錯体中の PTHF の  $M_n$  ( $M_w/M_n$ ) はそれぞれ、3120 (1.41) (図 5a)、3590 (1.46) (図 5b)、3700 (1.74) (図 5c) であり、ゲストに用いた PTHF よりも分子量分布が狭くなっており、さらに PTHF の特定の分子量領域をアミロースが選択的に包接することが分かった。これは、同じユニット構造である PTHF でも、分子量の違いによりわずかに包接能が異なるためと考えられる。

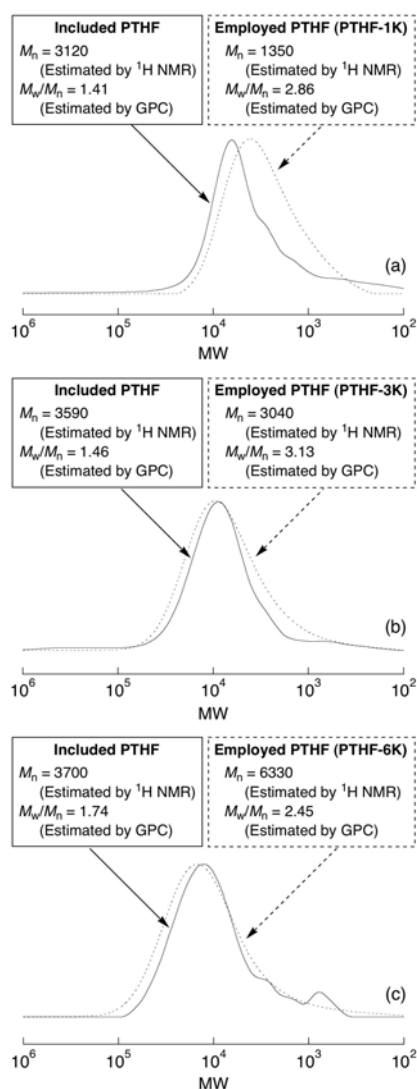


図 5. ゲストに用いた PTHF とつる巻き重合によってアミロース内部に包接された PTHF の GPC 曲線: (a) PTHF-1K、(b) PTHF-3K、(c) PTHF-6K をゲストに使用

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 5 件)

1. Y. Kaneko, K. Beppu, and J. Kadokawa, "Amylose Selectively Includes a Specific Range of Molecular Weights in Poly(tetrahydrofuran)s in Vine-Twining

Polymerization", *Polym. J.*, vol.41, pp. 792-796 (2009), 査読有り.

2. Y. Kaneko, K. Beppu, T. Kyutoku, and J. Kadokawa, "Selectivity and Priority on Inclusion of Amylose toward Guest Polyethers and Polyesters in Vine-Twining Polymerization", *Polym. J.*, vol.41, pp. 279-286 (2009), 査読有り.
3. Y. Kaneko, Y. Saito, A. Nakaya, J. Kadokawa, and H. Tagaya, "Preparation of inclusion complexes composed of amylose and strongly hydrophobic polyesters in parallel enzymatic polymerization system", *Macromolecules*, vol.41, pp.5665-5670 (2008), 査読有り.
4. Y. Kaneko, K. Beppu, and J. Kadokawa, "Preparation of amylose/polycarbonate inclusion complexes by means of vine-twining polymerization", *Macromolecular Chemistry and Physics*, vol.209, pp.1037-1042 (2008), 査読有り.
5. Y. Kaneko, K. Beppu, and J. Kadokawa, "Amylose Selectively Includes One from a Mixture of Two Resemblant Polyethers in Vine-Twining Polymerization", *Biomacromolecules*, vol.8, pp.2983-2985 (2007), 査読有り.

[学会発表] (計 6 件)

1. T. Kyutoku, Y. Kaneko, and J. Kadokawa, "Selectivity and Priority on Inclusion of Amylose toward Guest Polymers in Vine-Twining Polymerization", 2009 Kyushu - Seibu / Busan - Gyeongnam Joint Symposium on High Polymers (14<sup>th</sup>) and Fibers (12<sup>th</sup>), 2009年10月26日, 鹿児島大学郡元キャンパス.
2. 門川淳一, "アミロース生成重合場での包接挙動を利用した機能発現と材料化", 第20回繊維学会西部支部セミナー, 2009年9月29日, 長崎大学文京キャンパス.
3. 久徳剛, 金子芳郎, 門川淳一, "つる巻き重合におけるアミロースの高分子混合物に対する選択的包接", 第46回化学関連支部合同九州大会, 2009年7月11日, 北九州国際会議場.
4. 久徳剛, 別府孝太郎, 金子芳郎, 門川淳一, "つる巻き重合における高分子混合物からのアミロースの選択的包接挙動の検討", 2008 日本化学会西日本大会, 2008年11月15-16日, 長崎大学文教地区キャンパス.
5. 金子芳郎, 別府孝太郎, 門川淳一, "つる巻き重合でのポリ THF ゲストに対するアミロースの包接挙動の検討", 第57回高分子学会年次大会, 2008年5月28-30日, パシフィコ横浜.
6. 門川淳一, "アミロース、セルロースを基

盤とする高分子集合体のナノ構造制御と機能化”，第38回繊維学会夏季セミナー，2007年9月7日，宮崎サンホテルフェニックス。

〔図書〕（計2件）

1. Y. Kaneko and J. Kadokawa, “Preparation of polymers with well-defined nanostructure in the polymerization field”, *Modern Trends in Macromolecular Chemistry*, Editor: J. N. Lee, Nova Science Publishers, chapter 8, pp.199-217 (2009).
2. 金子芳郎, 門川淳一, “糖鎖超分子複合体”，*超分子サイエンス&テクノロジー*, NTS, pp.1049-1057 (2009年).

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www-nano.eng.kagoshima-u.ac.jp/~kadokawa/Kadokawa/frame/index.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

門川 淳一 (KADOKAWA JUNICHI)

鹿児島大学・大学院理工学研究科（工学系）・教授

研究者番号：30241722

(2)研究分担者

金子 芳郎 (KANEKO YOSHIROU)

鹿児島大学・理工学研究科（工学系）・助教

研究者番号：80404474