

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：54101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2013

課題番号：21750224

研究課題名(和文)多糖の位置特異的誘導体化と高機能性付与に関する研究

研究課題名(英文) Studies on synthesis and evaluation of regioselectively substituted polysaccharide derivatives

研究代表者

山本 智代 (Yamamoto, Chiyo)

鈴鹿工業高等専門学校・生物応用化学科・准教授

研究者番号：80314045

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：天然に豊富に存在するらせん高分子であるセルロースやアミロースを出発原料とし、水酸基を高度に位置特異的誘導体化することで、優れた機能を有する多糖誘導体を創製することを目的として本研究を行った。セルロース、アミロースはともに繰り返し単位であるグルコース環が多数つながってできた高分子であり、グルコース環には3つの水酸基がついている。この水酸基にエステルやカルバメートなど異なる置換基を位置特異的に導入したところ、得られた誘導体は高速液体クロマトグラフィー(HPLC)用の固定相として高い光学分割能(鏡像の関係にある異性体を識別する能力)を示した。

研究成果の概要(英文)：Polysaccharides such as cellulose and amylose are some of the most readily available optically active polymers. Although these polymers have stereoregular sequences consisting of D-glucose, their chiral recognition abilities are not large. However, these polysaccharides have hydroxyl groups which can be readily converted to esters and carbamates. In this study, the novel regioselectively substituted cellulose and amylose have been synthesized, and their abilities of enantiomer resolution in high-performance liquid chromatography (HPLC) have been evaluated. These derivatives exhibited the relatively high chiral recognition abilities comparable or better to the derivatives with the same substituent at all hydroxyl groups.

研究分野：化学

科研費の分科・細目：材料化学・高分子・繊維材料

キーワード：多糖 光学分割 セルロース アミロース HPLC 位置特異的

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、光学活性物質の分取、微量分析の両方に利用可能な方法として発展し、これまでに低分子系、高分子系、それぞれ様々なキラル充填剤の開発が進められてきた。その数あるキラル充填剤の中でも、特に、アミロースやセルロースのカルバメート及びエステル誘導体は優れた光学分割能を有することが明らかになっており、これら多糖誘導体をキラル固定相とする HPLC カラムが、現在、様々な分野で広く実用的に用いられている。しかし、これまでに合成されてきた高い光学分割能をもつ誘導体は全て、グルコース環の3つの水酸基に同じ置換基を導入したものであった。この3つの水酸基に位置特異的に異なる置換基を導入することができれば、調製可能な誘導体数は飛躍的に増大し、より優れた光学分割材の創製が可能になると考えられる。

2. 研究の目的

アミロースやセルロースのフェニルカルバメート誘導体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する。そのため、これまでに200を超える様々な誘導体が合成され、その能力が確かめられてきた。しかし、多糖の位置選択的な修飾は従来の合成法では困難とされているため、そのほとんどは、グルコース環が有する3つの水酸基が全て同じ置換基に変換されたものであり、3つの水酸基を位置特異的に置換した誘導体の合成や、その光学分割能の評価は、反応性の異なる6位に異なる置換基を有する誘導体についてのみ行われているだけであった。

高分子系キラル固定相の開発では、光学分割能が高分子のとり高次構造に強く依存するため、高次構造をいかに制御するかが重要な課題となるが、天然に存在し、きわめて規則的な高次構造を有する多糖を用い、さらに、位置特異的に3つの水酸基を別々の置換基へと規則的に変換できれば、調製可能な誘導体の数は飛躍的に増大し、高分子主鎖まわりには、新たな規則的な空間が形成される。また、性質の異なる様々な機能性部位を一つの多糖の分子鎖に位置特異的に導入することができれば、これまでにない光学分割能を有する多糖誘導体の調製が可能になるだけでなく、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。

本研究は、高度に高次構造制御された光学活性高分子であるセルロースや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手法の確立』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するものである。

3. 研究の方法

アミロース、セルロースはともに繰り返し単位である D-グルコースが多数つながってできた高分子であるが、前者は -1,4 結合、後者は -1,4 結合と結合様式が異なっている。そのため、アミロースとセルロースとは異なる高次構造をとり、グルコース環の2,3,6位の3つの水酸基の反応性は両者では異なっている。この3つの水酸基のうち、一級の水酸基である6位は、他の二つの水酸基と異なる反応性を有しているため、6位のみ異なる置換基を有する誘導体はこれまでも合成されている。そこで本研究では、2,3位に異なる置換基を導入する方法について、アミロース、セルロースそれぞれ詳細に検討を行った。

(1) アミロース誘導体の位置特異的誘導体化

アミロースはジメチルスルホキシド (DMSO) に可溶であり、DMSO 溶媒中ではグルコース環の2位の水酸基と隣接グルコース環の3位の水酸基とが水素結合している。そのため、適当な触媒存在下でビニルエステルと反応させると、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 (R. Dicke, *Cellulose* 2004, 255.)。ビニルエステルの種類により2位のエステル化の反応条件や置換率は変わるため、光学分割に適した誘導体の調製を目的として、アセチルおよびプロピオニル基を2位の水酸基に導入し (誘導体 1)、次いで3,6位の水酸基に様々なフェニルカルバメート 2 を位置特異的に導入することを検討した (図1)。

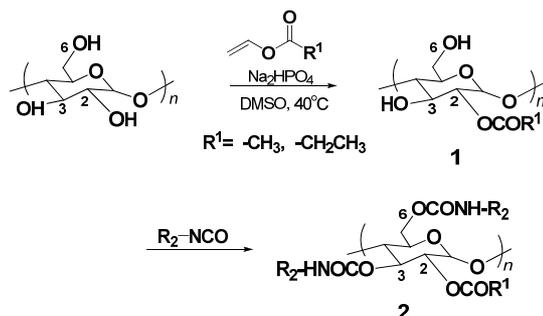
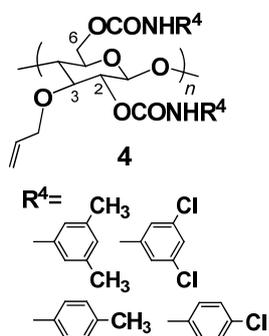


図1 アミロースの位置特異的誘導体化

(2) セルロース誘導体の合成

セルロースは、かさ高いシリルクロライドであるテキシルジメチルシリルクロライド (TDMSC) を用いることで、2,6位を選択的にシリル化した誘導体 3 を合成することができる (A. Koschella, T. Heinze, D. Klemm, *Macromol. Biosci.* 2001, 1, 49-54.)。そこで、この方法を利用して2,6位を保護した後、誘導体 3 の3位の水酸基に NaH およびアリルクロライドを反応させてアリルエーテルを導入し、2,6位をテトラブチルアンモニウムフルオライド (TBAF) を用いて水酸基に戻したのち、メチルおよびクロロフェニルイソシ

アナートを反応させて数種類の誘導体 **4** を得た。



また、誘導体 **3** の3位にフェニルイソシアナートまたはベンゾイルクロライドを反応させてカルバメート化またはベンゾエート化を行い(誘導体 **5**)、TBAF で保護基を外し(誘導体 **6**)、最後に、2,6位の水酸基に3位とは異なるフェニルイソシアナートまたはベンゾイルクロライドを反応させることで3位と2,6位に異なる側鎖を有する様々な誘導体(誘導体 **7**)の合成を検討した。

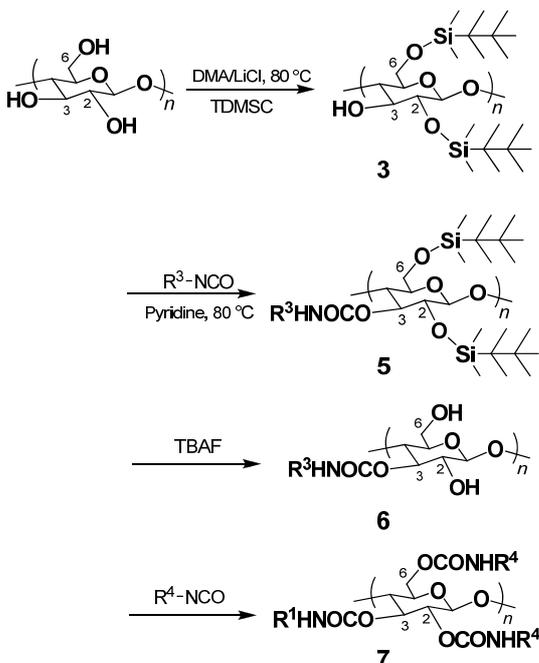


図2 セルロースの位置特異的誘導体化

(3) 光学分割能の評価

合成したアミロースおよびセルロース誘導体は、NMR と IR 測定により構造を確認した後、アミノプロピルトリエトキシシランにより表面処理を行った多孔性シリカゲル上に、25 wt%の割合で物理的に吸着させて充填剤を調製した。得られた充填剤は、HPLC用のカラム(250 mm x 4.6 mm(i.d.) または 250 mm x 2 mm(i.d.)) にスラリー法により充填し、ヘキサン/イソプロピルアルコール(9/1)を溶離液に用いて数種類のラセミ体に対する分

離係数値を測定することで光学分割能の評価を行った。

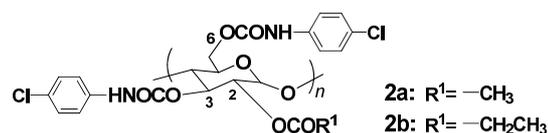
4. 研究成果

(1) アミロース誘導体

まず初めに、グルコース環の2位の水酸基に酢酸ビニルとリン酸水素二ナトリウムを加え40℃で48時間反応させた。反応後、ジプロピルアルコール不溶部を回収し、NMRにより構造解析を行ったところ2位に位置特異的にメチルエステルが導入されていることが確認できた。次いで、残りの3,6位の水酸基には3,5-ジクロロおよび4-クロロフェニルカルバメート基を導入し、得られた誘導体をHPLC用のキラル固定相に用いてその光学分割能の評価を行った。その結果、4-クロロフェニルカルバメートへと変換した誘導体が高い光学分割能を示すことが明らかとなった。アミロースの場合、3つの水酸基全てをエステルに変換した誘導体は光学分割能を示さず、また2位のみをエステルに、3,6位を3,5-ジメチルフェニルカルバメートを導入した誘導体では、エステルの嵩が小さい場合、高い光学分割能を示さないというデータがこれまでに得られていたが、本実験より、アミロースについては2位にエステルを有していても、3,6位にフェニルカルバメートを導入し、またその構造を検討することで高い光学分割能を示す誘導体を得られることが分かった。

そこで次に、3,6位に導入するフェニルカルバメート上の置換基について、クロロ基より電子吸引性の高いフルオロ基を導入することで光学分割能が向上するかどうか調べた。3-フルオロ、4-フルオロ、および3-トリフルオロメチルフェニルカルバメート化を行った結果、得られた誘導体の分割能は比較的高かったものの、その能力は4-クロロフェニルカルバメート基を導入した誘導体には及ばず、またクロロ基を導入したものよりも誘導体の溶解性が高くなり、使用できる溶離液に制限が出るということが明らかとなった。

よって、3,6位のカルバメートは4-クロロフェニルカルバメートとし、2位に導入するエステルをアセチルからプロピオニル基へと変えた誘導体 **2b** を合成した。その結果、光学分割を試したいいくつかのラセミ体で分離係数値に向上がみられ、2位のエステル部位の構造もまた、光学分割能に大きく影響を与えることを見出した。



(2) セルロース誘導体

セルロースへのテキシルジメチルシリル基の導入と光学分割能

まずセルロースを *N,N'*-ジメチルアセトアミド中で加熱膨潤させ、その後、室温まで冷却してからリチウムクロライドを加えて溶解させた後、イミダゾールとテキシルジメチルシリルクロライド (TDMSC) を加えることで位置特異的誘導体化を行った。得られた誘導体 **3** は NMR を用いて構造解析を行い、2,6 位に位置特異的に TDMS 基が導入されていることを確認した。この誘導体 **3** は 3 位にまだ未反応の水酸基を有しているが、周りを疎水性の高いテキシルジメチルシリル基が取り囲んでいることから、相互作用部位としての水酸基と疎水部から成る興味深い不斉空間が形成されていることが考えられたため、この誘導体 **3** の光学分割能について評価を行った。その結果、溶離液にヘキサン/イソプロピルアルコールを用いる順相系では誘導体が全く光学分割能を示さずラセミ体も固定相と相互作用しないのに対して、メタノール/水の逆相系では特異的な光学分割能を示すことを見出し、*trans*-スチルベンオキサイドについては高い分離係数値 ($k'_1=1.84$) で完全分割することができた (図 4)。この結果より、誘導体 **3** では、かさ高いテキシルジメチルシリル (TDMS) 基が作り出す疎水性空間が有効な不斉識別空間として機能することを明らかにした。

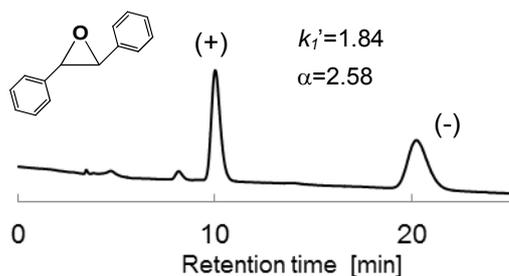


図3 セルロース誘導体 **3** による *trans*-スチルベンオキサイドの光学分割
(溶離液: MeOH/水 (8/2), 流速: 1ml/min)

3 位にアリルエーテルを有するカルバメート誘導体と光学分割能

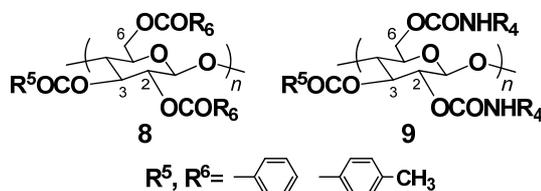
誘導体 **3** を THF 中で NaH およびアリルクロライドと反応させて 3 位にアリルエーテルを、また 2,6 位にメチルおよびクロロフェニルカルバメートを導入した誘導体 **4** は THF に溶かしてシリカゲル上に担持し、HPLC 用キラル固定相に用いて光学分割能の評価を行った。その結果、得られた誘導体は位置特異的に合成できたものの高い光学分割能は示さなかった。その原因としては、3 位に導入したアリル基のかさ高さが低く、またフレキシブルであることから、有効な不斉識別空間が形成されていないことが考えられた。

3 位と 2,6 位で異なるカルバメート基を有する誘導体と光学分割能

次に、TDMS 基で 2,6 位を保護したセルロースの 3 位の水酸基にイソシアナートを反応させた後、2,6 位を脱保護し、3 位とは異なるイソシアナートを反応させることで 2,6 位と 3 位とは異なるカルバメート部位を有する誘導体 **7** を合成した。その結果、3 位にアリル基を有する誘導体とは異なり TDMS 基の完全な脱保護が達成できず、一部、2,6 位に導入したカルバメート基の切断も確認されたため完全な位置特異的誘導体の合成が行えなかった。しかしながら、光学分割能評価では、高い能力を持つことが確認され、3 位にはかさ高さの高い側鎖の導入が必要であることがわかった。

3 位にベンゾエートを有する誘導体と光学分割能

3 位にカルバメートを導入すると、TDMS 基脱保護時にカルバメート基の切断もみられたことから、3 位をベンゾエート化した誘導体について検討を行った。誘導体 **3** にベンゾイルクロライドを反応させることで、3 位はベンゾエートまたは 4-メチルベンゾエートへと変換し、2,6 位はベンゾエートもしくはフェニルカルバメートへと変換することで、全てがベンゾエートで 3 位と 2,6 位とはその種類が異なる誘導体 (**8**) と、3 位はベンゾエート、2,6 位はカルバメートに変換した誘導体 (**9**) の 2 種類の誘導体の合成を行った。その結果、2,6 位と 3 位に異なるベンゾエートを有する誘導体を導入した誘導体は完全な位置特異的へと変換することができず、光学分割能も低かった。一方、3 位にベンゾエート、2,6 位にフェニルカルバメート基を有する誘導体については、完全な位置特異的誘導体は得られなかったものの、2,6 位に 3,5-ジクロロフェニルカルバメートを導入した誘導体が高い光学分割能を示すことが明らかになった。また、この誘導体を用いることにより、3 つの水酸基全てに 3,5-ジクロロフェニルカルバメートを導入した誘導体よりも高い分離係数値で光学分割できるラセミ体もあり、部分的にでもベンゾエートを導入した効果が見られた。



以上、本研究では、アミロースやセルロースの位置特異的誘導体化の反応を利用することで、これまで得られなかった 2,3 位に異なる置換基を有するアミロースおよびセルロースのベンゾエートおよびカルバメート誘導体の合成と HPLC 用キラル固定相への応用について詳細に検討を行った。現在、光学

分割で広く利用されている多糖誘導体はいずれもアミロースやセルロースの2,3,6位に同じ置換基を有する3置換体であるが、本研究で示した合成法を利用することで、合成できる誘導体の数は飛躍的に増大する。また、アミロースについては、これまでエステル誘導体は高い光学分割能を示さないことが明らかになっているが、本手法により2位のみをエステル、3,6位をカルバメートにすることで高い光学分割能を有する誘導体を合成することが可能であることも明らかになった。今後、導入する置換基をさらに検討することでより高い光学分割能を有する誘導体の合成が可能になると同時に、カルバメートやエステル以外にも導入する置換基を精査することで、高度に高次構造制御されたアミロースやセルロースにこれまでにない性質や機能を付与した高機能性高分子の調製が可能になるものと期待される。

5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計 1件)

1. 岡田和士 山本智代 岡本佳男、かさ高い保護基を用いたセルロースの位置特異的誘導体化と光学分割能評価、第17回日本高専学会年会講演会、2011年8月27日、鈴鹿工業高等専門学校