

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年6月1日現在

機関番号：10106

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2012

課題番号：21550110

研究課題名（和文）開環重合を利用した主鎖が二単位ずつ伸長する多糖の合成法

研究課題名（英文）Synthesis of Polysaccharides Elongating Main Chain by Two Repeating Units by Means of Ring-Opening Polymerization

研究代表者

服部 和幸 (HATTORI KAZUYUKI)

北見工業大学・工学部・准教授

研究者番号：20333669

研究成果の概要（和文）：セロビオースの1位と4'位の水酸基はそのまま、他の水酸基を全てベンジル基で保護したセロビオース誘導体を合成した。これの1位と4'位の水酸基間で分子内環化を試み、異なる糖残基間で無水環を有する新規な環状二糖誘導体を合成した。これを五フッ化リンを開始剤としてカチオン開環重合したところ、数平均分子量が1万4千の高分子が得られた。生成したポリマーは低収率であったため構造は未解明であるが、新規な環状二糖を開環重合することで、主鎖が二単位ずつ伸長する多糖の合成法を開発した。

研究成果の概要（英文）：A cellobiose derivative whose C1 and C4' hydroxyl groups are free and others are protected with benzyl groups was synthesized. It was cyclized between the C1 and C4' hydroxyl groups to give a new cyclic disaccharide derivative bearing an anhydro ring bridged over different sugar residues in one disaccharide. The cyclic cellobiose derivative was polymerized cationically with pentafluoride as an initiator to give a polymer with a number-average molecular weight of  $1.4 \times 10^4$ . Currently, chemical structure of the resulting polymer is still unclear because of low conversion. This work provided a new synthetic method of polysaccharides by ring-opening polymerization of unique cyclic disaccharides, which elongates the repeating sugar residue by two units.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
2012年度	600,000	180,000	780,000
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・高分子化学

キーワード：開環重合、無水糖

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 多糖は、タンパク質、核酸と並ぶ生体高分子の1つであるが、後者らに比べて自在に合成できないのが欠点である。この原因は、基本単位である単糖が複数の水酸基を持つため結合点が1箇所ではないこと、および結

合のときに生じる一对の立体異性体を片方に限定することが必要であるためである。2つを完全に制御できて初めて意味のある糖鎖となる。現在までにいくつかの合成法が考案されているが、万能なものはない。

(2) その中で無水糖の開環重合法は最も適用範囲が広く、多くの規則性多糖が得られるようになった。しかし、 $\beta$ 結合型の多糖は原理的に難しく、合成例はわずかである。このような背景の下、セロビオースのような二糖を用い、異なる糖残基間で無水環を形成させて開環重合すると、糖鎖が二糖単位で伸長できるという新しい重合法を考えた。この際、無水環を $\alpha$ 型で形成させると、開環すれば結合の立体配置が変わるため、得られる多糖は $\beta$ 型となる筈である。

## 2. 研究の目的

(1) 上記の環状二糖の開環重合が優れる点は、①二糖単位で糖鎖が伸長できる、②これまで合成できなかった $\beta$ 型の結合様式が比較的簡便に得られる、③異なる糖残基から成る二糖を使えば、異なる糖単位が完全に交互に配列した複合多糖が得られることなどが挙げられる。まず、最も代表的な二糖であるセロビオースを用い、その環状1,4'-無水物を合成できるか、そしてそれを開環重合することで、セロビオースが1,4- $\beta$ 結合した多糖、すなわちセルロースができるかを検討する。

(2) この目的が達成されたら、セロビオースの代わりに、キトビオースやアミノ基およびカルボキシル基を持つ1,4'-無水二糖を合成し、開環重合する。これらは天然のキトサンやグリコサミノグリカンとよばれ、生理活性を担う生体内で重要な多糖となる。

## 3. 研究の方法

(1) 市販のセロビオースを出発原料に、先ず1位の水酸基をメチル基で保護し、4'位および6'位の水酸基にベンジリデン基を導入する。他の水酸基を全てベンジル基で保護後、ベンジリデン基の4'位のみを還元的に開裂し、4'位のみを水酸基に戻す。1位のメチル基を酸で除去し、得られた1,4'-ジヒドロキシ-セロビオース誘導体を分子内脱水反応で環化し、1,4'-無水セロビオース誘導体へと導く。HPLCで高純度に生成後、構造をNMR等で確認し、これを重合モノマーの1つとする。

高真空中で、塩化メチレンに溶解した上記モノマーを五フッ化リンを開始剤に用いてカチオン開環重合する。開始剤濃度や温度、重合時間を検討しながらポリマーの生成率を最適化し、なるべく高分子量のポリマーが得られるようにする。メタノールによる再沈殿にてポリマーを精製した後、NMR、比旋光度、X線回折によってその化学構造、立体規則性などを解析する。

(2) (1)でセルロースが得られれば、アミノ基を有するキトビオースでも同様の合成を試みる。ただし、アミノ基はカチオン触媒と

反応して重合を妨害するため、アミノ基の適切な保護の方法を検討事項に加える。

## 4. 研究成果

(1) セロビオースの1位と4'位の水酸基間で分子内脱水した環状二糖の合成を計画した。まず、このような環状構造が立体的に成立するかをSpartan'08ソフトウェアを用いて量子化学計算シミュレーションした結果、図1のように、理論的には合成可能であることが分かった。

セロビオースの全ての水酸基をアセチル化し、Koenigs-Knorr法に従い炭酸銀を活性化剤として1位をメトキシル化



図1. Spartan'08を用いて量子化学計算した1,4'-無水セロビオースの立体構造。

した後、他のアセチル基をナトリウムメトキシドで全て除去した。1位にメチル基を導入したのは、最終的に1位と4'位以外の水酸基は全てベンジル基で保護するため、1位の水酸基を他と区別したいこと、および、経由する各段階の生成物の構造を解析し易くするためである。続いて、4'位と6'位の水酸基にベンジリデン基を導入し、他の5つの水酸基は全てベンジル保護した。各工程では、クロマトグラフィーや再結晶による精製を繰り返し、全ての生成物をNMRスペクトルで構造確認した。ベンジリデン基をヨウ素/水素化シアノホウ素ナトリウムで選択的に開裂し、4'位のみが水酸基のセロビオース誘導体を得た。THF/ジオキササン中、塩酸を用いて1位の脱メチル化し、同時に1位と4'位の水酸基間で環化を試みた。しかし、目的物は得られず、反応条件を強くすると脱メチルが進行する前にグリコシド結合が切断されることが分かった。

この問題を解決するには、メチル基を他の保護基に替えるしかないと判断した。出発物のセロビオースをアセチル化し、メタノールに代えてアリルアルコールでKoenigs-Knorr法を行い、上記と同様の操作を繰り返して1位がアリル基、4位が水酸基、他の水酸基は全てベンジル基で保護したセロビオースを得た。アリル基をロジウム錯体で常法に従って除去し、1位と4位のみが水酸基のセロビオースを収率よく得ることができた。これをトルエンに溶解し、高度に希薄な溶液中で10-カンファースルホン酸を触媒にして1位と4'位の水酸基間で脱水を試みた。希薄な溶液としたのは、分子間での反応・二量化を防ぐためである。予想した通り、目的物の収率は低く、酸濃度や温度を高くするなど条件を強くすると、複数の生成物が認められた。反応の性格上、規模を大きくすることは困難なため、少量で繰り返し反応を行

い生成物の収量を確保し、HPLCによる精製を行って目的物を得た。低収率を改善するために、1位の水酸基をトリクロロアセトイミデート化し、4'位の水酸基と分子内グリコシル化反応を試みたが、著しい改善にはならなかった。

得られたベンジル化1,4'-無水セロピオースを、塩化メチレン中、窒素雰囲気下で多糖へと導いた。-60℃で8時間攪拌したが、予想した高分子量物は得られなかった。数平均分子量は14000で、これは、環状二糖の精製が不十分で高純度のモノマーが多量に得られなかったため、さらなる検討で改善されると考える。環化反応の収率を向上できれば純度の良いモノマーが供給でき、重合条件が最適化できるであろう。NMRでポリマーの構造を解析したところ、1位の炭素に由来する吸収が1本であったことから、生成ポリマーは立体規則性の多糖であることが予想された。特に、その化学シフトが103 ppm付近であることから、過去の文献値と比較して(1→4)-β結合型のグルカン、すなわちセルロース型の多糖が得られたと推定された。このように、合成化学的に困難であった(1→4)-β結合型の多糖を構築する手法を確立することができた。

(2) 一方、この無水糖の重合挙動を別の観点から予想するために、他の無水糖の開環重合性について調べた。2位にアミノ基を持つ1,6-無水糖を合成し、その重合性を他の無水糖と比較した結果、2位のアミノ基の立体配置が重合に大きな影響を及ぼすという重要な知見を得た。このことから、2位にアミノ基を有する二糖の環状無水物を重合すれば、天然のグリコサミノグリカン様の多糖が得られることが分かった。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計5件)

- ① K. Hattori and T. Yoshida, "Synthesis of a New 2-Amino-glycan, Poly-(1→6)- $\alpha$ -D-mannosamine, by Ring-Opening Polymerization of 1,6-Anhydro-mannosamine Derivatives", *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.*, **50**, 4524–4531 (2012). 査読有  
DOI: 10.1002/pola.26262
- ② T. Suzuki, D. Kawakami, K. Suzuki, and K. Hattori, "Iron-Catalyzed Carbonization of Wood Biomass for Coproduction of Liquid Fuels and Functional Carbon", *J. Japan Inst. Energy.*, **90**, 541–546 (2011). 査読有  
[http://www.jie.or.jp/journal/journal\\_list.htm](http://www.jie.or.jp/journal/journal_list.htm)
- ③ K. Hattori and T. Yoshida, "Ring-Opening Polymerization of a Benzylated 1,6-Anhydro- $\beta$ -D-talopyranose and Synthesis of a New Polysaccharide, (1→6)- $\alpha$ -D-Talopyranan", *Macromolecules*, **42**, 6044–6049 (2009). 査読有  
DOI: 10.1021/ma9009577
- ④ M. Okimoto, T. Yoshida, M. Hoshi, K. Hattori, M. Komata, and T. Chiba, "Novel Application of an Electrooxidative Method for the Formation of a Tetrahydrofuran Ring from 5-Hydroxy-2-pentanone Phenyl hydrazone", *Heterocycles*, **78**, 1427–1432 (2009). 査読有  
DOI: 10.3987/COM-09-11640
- ⑤ S. Han, Y. Kanematsu, K. Hattori, H. Nakashima, and T. Yoshida, "Ring-Opening Polymerization of Benzylated 1,6-Anhydro- $\beta$ -D-lactose and Specific Biological Activities of Sulfated (1→6)- $\alpha$ -D-Lactopyranans", *J. Polym. Sci.: Part A: Polym. Chem.*, **47**, 913–924 (2009). 査読有  
DOI: 10.1002/pola.23210

〔学会発表〕(計5件)

- ① 荒井亜梨沙、服部和幸、"セルロース/アミン/無機塩溶液から再生される固体セルロースの特異な性質"、第62回高分子学会、2013年5月30日(京都市)。
- ② 荒井亜梨沙、服部和幸、"セルロース/アミン/無機塩溶液から再生される固体セルロースの特異な性質"、大雪シンポジウム、2012年12月15日(旭川市)。
- ③ 日野真琴、服部和幸、"(1→4)- $\beta$ 型多糖の構築に向けた二糖性シントンの設計と合成"、北見工業大学-明治大学第3回大学院研究交流プログラム、2011年9月6日(北見市)。
- ④ Kazuyuki Hattori and Takashi Yoshida, "Synthesis of New Polysaccharides and Carbohydrate-based Star Polymers", 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, Dec. 18, 2010 (Honolulu, USA).
- ⑤ 服部和幸、吉田 孝、"無水糖の開環重合によるキチン・キトサン類縁体の合成"、第59回高分子討論会、2010年9月16日(札幌市)。

[図書] (計1件)

- ① 服部和幸, "アミン/無機塩系を用いたセルロースの溶解とその利用", *WEB Journal*, **98**, 35-38 (2009).

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

服部 和幸 (HATTORI KAZUYUKI)

北見工業大学・工学部・准教授

研究者番号：20333669