

平成 30 年 6 月 13 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K17869

研究課題名(和文) 金属錯体ナノ空間を利用した糖鎖構造の制御

研究課題名(英文) Controlled Synthesis of Polysaccharides in Porous Coordination Polymers

研究代表者

小林 裕一郎 (Kobayashi, Yuichiro)

大阪大学・理学研究科・特任助教(常勤)

研究者番号：10739676

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：糖鎖の機能性向上のため、より精密な糖鎖構造の構築が求められ、有機化学をベースとした保護・脱保護反応を繰り返す手法や、単糖モノマーからの酵素重合法などが開発されてきた。しかし、糖が有する複数の水酸基を適切に反応させ、望みの糖鎖構造に連結していくことは極めて困難であり、迅速・大量かつアトムエコノミーに糖鎖を精密合成できる手法の開発が望まれている。本研究では無水グルコースの開環重合を多孔性金属錯体の一次元や三次元細孔中で行うことで、多数の反応性水酸基を有する糖鎖の成長反応における次元性を制御し、分岐構造の少ない糖鎖や多孔性糖鎖材料を得ることが出来た。

研究成果の概要(英文)：Polysaccharides find their applications in pharmaceuticals and functional foods because of a variety of physiological functions. However, controlled synthesis of polysaccharides in vitro is very difficult because monosaccharides have many reactive hydroxyl groups. The development of efficient synthetic methodologies for their preparation has therefore been in high demand. Here we demonstrate a feasible method for providing polysaccharides with controlled structures, where polymerization of saccharides without protective groups was performed in nanochannels of porous coordination polymers (PCPs). A ring-opening polymerization of anhydrous glucose (AGlc) in solution gave a polymer with branched and cross-linked structures, whereas a less-branched polyglucose and mesoporous polysaccharide materials could be prepared in one- and three-dimensional nanochannels of a PCP, respectively.

研究分野：高分子

キーワード：多孔性金属錯体 多糖 糖鎖高分子 制御合成 多孔性糖鎖材料 開環重合

1. 研究開始当初の背景

ヒトゲノムの解読が完了し、生命現象を理解するための DNA、タンパク質に続くターゲットとして糖鎖に注目が集まっている。糖鎖とはブドウ糖や果糖など各種の糖がグリコシド結合によって繋がった化合物を指す。糖鎖はタンパク質や脂質などと結合して、糖タンパク質、糖脂質となり、これらを安定させたり、細胞表面に発現して細胞間の情報伝達に重要な役割を果たしている。しかし、何故そのような機能を発現できるかの詳細はほとんど解明されておらず、その解明のために有機合成法によって構造がコントロールされた糖鎖が合成されているが、この方法は多大な時間と労力がかかる。そのため、望んだ構造の糖鎖を簡便に合成する手法が求められている。

糖鎖構造のコントロールを困難にしているのは、単糖が多数のヒドロキシ基を持つために容易に枝分かれ構造を形成し、グリコシド結合の α ・ β 異性体も存在する点である。糖鎖を合成する手法として最も簡便な無保護の単糖の脱水重縮合では、前述の理由からランダムな構造になってしまう。生体内では酵素のナノ空間を用いることで望んだヒドロキシ基のみを連結し、精密な構造の糖鎖を合成している。これを利用して酵素を用いて糖鎖を合成する手法が提案されている。しかし、酵素は既存の糖鎖を産み出すには適しているが、望んだ構造の糖鎖を産み出すためには酵素の機能改変を行わなければならない。結局は手間と時間がかかる。ここで、申請者はこの2つの方法を組み合わせ酵素のような適切なナノ空間を人工的に構築し、その空間内で重合することで望んだ構造の糖鎖が簡便に合成できると考えた。

適切なナノスケールの空間を与える人工物として多孔性金属錯体(MOF/PCP)に着目した。MOF/PCP は金属イオンと有機配位子との自己集合によりナノ空間を有する材料である。この材料は金属イオンと有機配位子の組み合わせが無限に存在することから極めて高い設計性を有する。また、有機配位子に官能基を導入することも可能なことから触媒として用いることも出来る。そして外部刺激によってこの構造を崩壊させることも出来る。つまり、自分の欲しい空間構造や機能を自由に設計出来る上、その空間で合成された材料を自在に取り出すことが可能である。

2. 研究の目的

研究全体の構想は、まず1次元チャンネルのMOFを用いて糖鎖の一次構造(分子量・反応位置など)の制御を行うことに始まり、ゴールは2、3次元チャンネルのMOFを用いてその次元性を反映した糖鎖シートや多孔性糖鎖材料などを合成することにある。

3. 研究の方法

単糖の重合を MOF/PCP の一次元や三次

元細孔中で行うことで、多数の反応性水酸基を有する糖鎖の成長反応における次元性を制御し、分岐構造の少ない糖鎖や多孔性糖鎖材料を得ることに挑戦する。

4. 研究成果

当研究室ではこれまでに MOF/PCP のナノ空間で重合するだけで、合成高分子の構造が制御できることを報告している。また、多次元の MOF/PCP を用いると、その次元性に応じた材料を合成でき、この手法を糖鎖に応用すると、糖鎖構造の制御や多孔性糖鎖材料の創製が可能になると考えた。

(1)一次元細孔の MOF/PCP 中での糖鎖合成

我々はまず、糖鎖の一次構造の制御を目的に、単糖の大きさ(0.7 nm)に近い一次元のナノ細孔(1.1 nm)を持つ多孔性金属錯体を合成し、その細孔内で単糖の重合を試みた。まず最も一般的であるグルコースの脱水重縮合を試みたが、糖鎖は得られなかった。この原因は細孔内での分子運動性にあると考えられる。グルコースの脱水重縮合は逐次重合であるため、最終的にポリマー形成をするためにはオリゴマー同士が結合する必要があるが、細孔内では分子運動性が著しく制限されるため、この結合が行えず、糖鎖として得られなかったのだと考えられる。そこで重合方法を連鎖重合に変更した。連鎖重合はモノマーがオリゴマーやポリマーに反応することで成長することから、細孔内でも十分反応が進行すると考えた。連鎖重合である無水糖の開環重合を行った。無水糖と開始剤をメタノールに溶解し、その溶液へ MOF/PCP を浸漬し、メタノールを除去することで MOF/PCP の細孔内へ無水糖と開始剤を導入した。得られたサンプルを加熱し、重合を誘起した。加熱後、エチレンジアミン四酢酸ナトリウム水溶液へ浸漬することによって MOF/PCP を崩壊させ、メタノールに再沈殿することで糖鎖を得た。糖鎖の合成は MALDI-TOF MS 測定にて単糖の分子量を繰り返しユニットとするピークが観測され、¹H NMR 測定においても糖鎖由来のピークが観測されたことから確かめた。一般的な溶液やバルク中での重合により得られる糖鎖は、架橋構造を形成するためにあらゆる溶媒に不溶となるが、細孔内で合成した糖鎖は架橋構造が形成せず、水や DMF など、一般的な溶媒に完全に溶解した。更にこの糖鎖の分子量を測定したところ、分子量の分布が溶液重合のモノよりも狭く、更に分子量も反応時間によりコントロール可能であることが分かった。加えて、この糖鎖の熱安定性を調べたところ、その直線性により溶液やバルク中で合成した糖鎖よりも高い熱安定性を示した。通常、糖鎖の重合において、得られる糖鎖の構造を制御することは難しいが、本法が新しい糖鎖の構造制御法としての有用であることが分かった。

(2) 三次元細孔の MOF/PCP 中をテンプレートとした多孔性糖鎖材料の合成

MOF/PCP の細孔が糖鎖の構造に影響を与えることが分かったため、次に成長反応における次元制御を行った。具体的には三次元の細孔を有する MOF/PCP 内で無水糖の開環重合を行った。重合の後に MOF/PCP を除去することにより得られた糖鎖は溶液重合やバルク重合より得られる糖鎖よりも広い比表面積を有していた。この多孔性糖鎖の細孔サイズや比表面積は重合時間によりコントロール可能であった。また、重合する MOF/PCP のサイズにより、得られる多孔性糖鎖材料の粒径サイズも制御できることが分かり、粒径サイズ・細孔サイズ・比表面積を自在にコントロールできる本法は、多孔性糖鎖材料作製において有用であることが分かった。

糖鎖は高い生体適合性を有することから、本法で得られた多孔性糖鎖材料は薬剤送達材料としての利用が可能である。PCP/MOF より合成した多孔性糖鎖材料内に鎮痛剤の一種であるイブプロフェンを導入すると、その導入量は溶液重合より合成した糖鎖材料と比較して 280 倍も多かった。この高い薬剤導入量は広い比表面積に由来すると考えられる。また、薬剤放出能について評価を行うと、PCP/MOF より合成した多孔性糖鎖材料内のイブプロフェンは、そのままイブプロフェンを PBS バッファー中に溶解するよりも早く溶解した。薬剤はアモルファス状態にすることで溶解速度が向上することが知られており、粉末 X 線回折測定により多孔性糖鎖材料中に導入された薬剤はアモルファス状態であることが確認されている。イブプロフェンは疎水性が強く、水への溶解性が低いことから、鎮痛効果を早めるために水への溶解速度の向上が求められており、本材料は薬剤送達材料として有用であることが示された。

薬剤としては、低分子では無く、たんぱく質も近年注目されている。PCP/MOF から作製した多孔性糖鎖材料の細孔サイズはたんぱく質も導入できる大きさを持っているため、たんぱく質送達材料としても利用できる可能性がある。たんぱく質導入量を溶液重合から得られた糖鎖材料と比較すると、イブプロフェンの時と同様、MOF/PCP から得られた糖鎖材料の方が多くのタンパク質を導入可能であった。その放出挙動を調べると、粒径が大きく、細孔サイズが小さい程放出速度が遅くなった。これは細孔が小さい方が拡散が抑制され、粒径が大きい方がその細孔の長さが大きくなることに加え、同様の量を用いた際の比表面積も減少するために放出速度が遅くなったのだと考えられる。これらの結果から、三次元細孔を持つ PCP/MOF 中で合成した多孔性糖鎖材料は薬剤やたんぱく質送達材料として有用であることが示された。

研究成果のまとめ

糖の重合を MOF/PCP の細孔中で行うこと

で、糖鎖の制御合成における新たな手法を開発した。例えば無水糖の開環重合を一次元の細孔を有する MOF/PCP 中で行うことで、架橋構造の無い糖鎖が得られ、その糖鎖は溶液重合から得られる糖鎖よりも高い加工性、熱安定性を示した。また、重合の反応場として三次元細孔を有する MOF/PCP を用いると多孔性の糖鎖材料が得られ、この糖鎖はその広い比表面積から、多量の薬剤が導入可能且つその放出速度も自在にコントロール出来ることから、薬剤送達材料として有用であることが分かった。

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 3 件)

1. Y. Kobayashi, K. Honjo, S. Kitagawa, J. Gwyther, I. Manners, T. Uemura, *Chem. Commun.*, **2017**, 53, 6945-6948. 査読有
2. Y. Kobayashi, K. Honjo, S. Kitagawa, T. Uemura, *ACS. Appl. Mater. Interface* **2017**, 9, 11373-11379. 査読有
3. Y. Kobayashi, Y. Horie, K. Honjo, T. Uemura, S. Kitagawa, *Chem. Commun.* **2016**, 52, 5156-5159. 査読有

[学会発表](計 6 件)

1. 本庄かや子、小林裕一郎、植村卓史、北川進 “錯体ナノ空間を利用した糖鎖の制御合成” 第 66 回高分子討論会、愛媛(愛媛大学)、(2017.9)
2. 小林裕一郎、堀江悠希、本庄かや子、植村卓史、北川進 “多孔性金属錯体を利用した糖鎖の制御合成” 第 5 回 JACI/GSC シンポジウム、兵庫(ANA クラウンプラザホテル神戸)、(2016.6)
3. 小林裕一郎、堀江悠希、本庄かや子、植村卓史、北川進 “多孔性金属錯体を利用した糖鎖の制御合成” 第 65 回高分子年次大会、兵庫(神戸国際会議場・展示場)、(2016.5)
4. Y. Kobayashi, Yuki Horie, K. Honjo, T. Uemura, S. Kitagawa “Controlled synthesis of polyglucose in one-dimensional coordination nanochannels” 日本化学会第 96 春季年会、京都(同支社大学)、(2016.3) 優秀講演賞(学術)
5. Y. Kobayashi, Y. Horie, K. Honjo, T. Uemura, S. Kitagawa “Controlled synthesis of polyglucose in one-dimensional coordination nanochannels” 錯体化学会第 65 回討論会、奈良(奈良女子大学)、(2015.9)
6. 小林裕一郎、堀江悠希、本庄かや子、植村卓史、北川進 “多孔性金属錯体を利用した糖鎖の制御合成” 第 64 回高分子討論会、宮城(東北大学)、(2015.9)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況（計 0 件）

〔その他〕
ホームページ等

6．研究組織

(1)研究代表者

小林 裕一郎（Yuichiro, Kobayashi）
大阪大学・大学院理学研究科・特任助教
研究者番号：10739676