

平成 21 年 3 月 31 日現在

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2006～2008

課題番号：18350079

研究課題名（和文） 環境低負荷型新規グリーンサーファクタントの創成と機能創造

研究課題名（英文） Creation of environmentally benign green surfactant

研究代表者

松村 秀一 (MATSUMURA SHUICHI)

慶應義塾大学・理工学部・教授

研究者番号：30051874

研究成果の概要：

バイオマスリファイナリー産物を酵素や固体酸など環境低負荷な触媒を活用して、新規循環型グリーンサーファクタントの創成を図った。脂肪酸、コハク酸やフマル酸とその還元体であるジオール類、およびジメチルカーボネートを基本原料とした。具体的には、生分解性とケミカルリサイクル性を有する新規ジェミニ型カチオン界面活性剤の開発、多糖のアシル化、長鎖スルフィド含有ポリカルボン酸塩のサーファクタントビルダーへなどを中心に展開を図った。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	7,200,000	2,160,000	9,360,000
2007年度	4,900,000	1,470,000	6,370,000
2008年度	3,000,000	900,000	3,900,000
年度			
年度			
総計	15,100,000	4,530,000	19,630,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・環境関連化学

キーワード：低環境負荷物質、サーファクタント、カチオニクス、バイオマス、酵素、生分解

1. 研究開始当初の背景

地球環境保全と社会の持続的発展が急務であり、このためには枯渇性化石資源を利用する有機工業化学体系から再生可能資源を利用する工業体系への転換が求められている。つまり、循環型社会構築のためには、新素材の開発に当たっては再生可能資源の利用、環境低負荷な合成（分子変換）プロセス（グリーンプロセス）、さらに使用後の回収が困難な水溶性化合物においては完全な生分解性、回収が可能な固形物質においては分子レベルでの完全なリサイクル性が求められる。特に水溶性のサーファクタント（界面

活性剤）は、一般に回収とリサイクルが困難であることから、使用量を減ずることができない高機能化、優れた生分解性、それに新たな観点からのケミカルリサイクル性が求められる。

サーファクタントに関する研究はこれまで分子集合体の物性など界面科学や物理化学的なものが主流であり、グリーンケミストリーの観点から系統的に取り組んだ研究は今後の課題となっていた。本研究の位置付けは、次世代の生物化学コンビナートの構築を睨んだ、グリーンサーファクタント創成と高機能性新素材創成にある。石油製品の需給バ

ランスの逼迫傾向と温暖化の問題から、この分野も早急な研究・開発が求められている。

2. 研究の目的

本研究では、バイオマス由来の各種バイオマスリファイナリー産物を酵素や粘土鉱物など環境低負荷な触媒を活用して、循環型社会構築に資する高性能かつ利便性の高い新規グリーンサーファクタントの創成を目的とする。バイオマスリファイナリー産物としてコハク酸、フマル酸、マレイン酸、イタコン酸およびアコニット酸は現在大量生産可能な域に入っており、本研究でも基本原料として活用する。また、C1 グリーンケミストリーとして近年ジメチルカーボネートが工業化されており、酵素触媒を利用することでカーボネート結合を導入する有力なツールとなっている。具体的には、生分解性とケミカルリサイクル性を有するカーボネート結合含有新規界面活性剤の開発、多糖のグリーンプロセスによるアシル化と機能創造、生分解性を有するポリカルボン酸塩型サーファクタントビルダーの合成、化学—酵素法による新規両親媒性高分子バイオマテリアルの創成などを主要なターゲットとする。

3. 研究の方法

原料に用いた試薬類は市販のものを純度を確認し、必要に応じて精製したうえで使用した。化合物のキャラクタリゼーションは ^1H NMR、 ^{13}C NMR、SEC、HPLC、LC-MS、MALDI-TOF MS、FT-IR、TLC および元素分析によった。酵素類は市販のものを所定の条件で乾燥し、使用した。得られた界面活性剤については、アニオン性のは相当するナトリウム塩とし、Wilhelmy 法による表面張力測定、起泡力や泡安定性、乳化力など基本的な界面科学的評価、表面張力—濃度曲線から臨界ミセル濃度 (cmc) および分子占有面積 (A_{min}) の決定、イオン電極を用いた Ca イオン封鎖能の測定とビルダー機能の評価、BOD 法による生分解性、各種微生物に対する抗菌性などの性能評価を行った。

4. 研究成果

(1) 生分解性を有する新規 4 級アンモニウム塩型カチオン界面活性剤の開発

N,N-ジメチル-*n*-ドデシルアミンとリンカー一部分にカーボネート結合を有するジヨージドを作用させることで、4 級化とジェミニ化を同時に行い、一連のカチオン性界面活性剤 (GmC) を合成した (図 1)。ジェミニ型界面活性剤 GmC は、相当する一鎖型界面活性剤 DTAI と比べて cmc は十分の一以下に低

下した。表面張力低下能はメチレン鎖が 2 個少ない G2C の方が G3C に比べて大きかった (表 1)。抗菌性については一鎖型とジェミニ型に顕著な差異は認められず、ジェミニ型も一鎖型と同等の優れた抗菌性が認められた (表 2)。また、G2C は DTAI と同じく活性汚泥により生分解されたが、G3C は生分解されなかった。一方、G2C はリパーゼにより容易に加水分解され、相当する 4 級アンモニウム塩を含むアルコールに変換された。これにジフェニルカーボネートを作用させることで G2C が再生した。このことから、カーボネート結合含有界面活性剤 G2C はケミカルリサイクルが可能であることが示された。

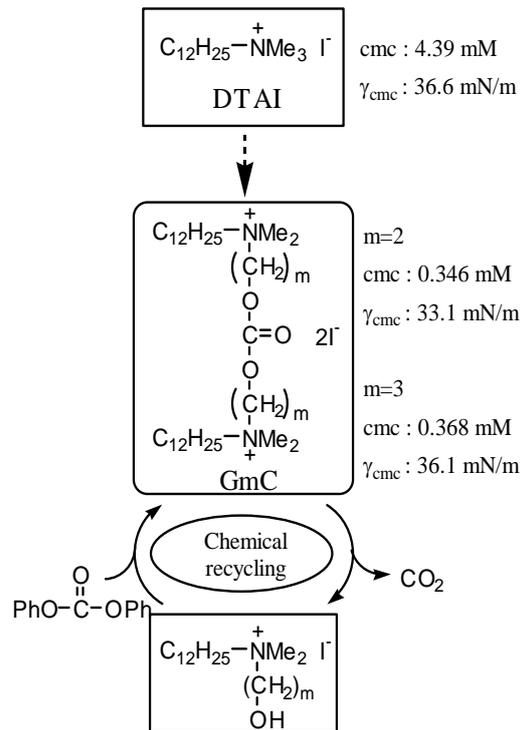


図 1 ジェミニ型界面活性剤の合成とケミカルリサイクル

表 1 スルフィド結合を有するポリアニオン系界面活性剤の界面特性

	cmc (mM)	γ _{cmc} (mN/m)	A _{min} (nm ²)
G2C	0.290	36.7	97.3
G3C	0.172	43.1	117.7
DTAI	5.37	34.6	53.9

(2) カーボネート結合を有する非イオン性グリーンサーファクタントの合成と性質
エステルと比べて水中安定性の高いカー

表2 ジェミニ型界面活性剤の抗菌性

Strain	MIC (μM)		
	G2C	G3C	DTAI
<i>S. aureus</i>	31	6	70
<i>B. subtilis</i>	13	6	14
<i>E. coli</i>	31	12	70
<i>S. typhimurium</i>	130	120	280
<i>C. albicans</i>	500	490	280
<i>S. cerevisiae</i>	500	>490	280
<i>M. gypseum</i>	31	490	28
<i>A. niger</i>	500	>490	560

ボネート結合を導入したポリオキシエチレン=アルキル=カーボネート型界面活性剤を合成した。合成は二段階反応で行い、まず、ジフェニルカーボネートに1-ドデカノールおよびトリエチルアミン (TEA) を加え反応させることで、ドデシル=フェニル=カーボネートを収率 87% で得た。これにテトラエチレングリコールを反応させ、ドデシル=テトラエチレングリコール=カーボネート

(DTC) を収率 64% で得た (図2)。得られたカーボネート型界面活性剤は相当するエーテル型界面活性剤と同等の優れた界面活性性を発揮した。また、これらの易生分解性が確認された。さらに、DTC 水溶液にリパーゼを作用させたところ、カーボネート結合は容易に加水分解と脱炭酸を受け、1-ドデカノールとテトラエチレングリコールが生成した。これらにジフェニルカーボネートを作用させることでDTCに戻せることから、ケミカルリサイクル性を有すると言える。

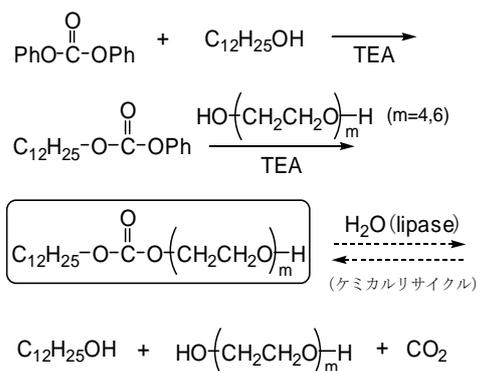


図2 カーボネート結合を有する非イオン性グリーンサーファクタントの合成

(3) 13員環ラクトン構造を有する新規グリーンサーファクタントの合成と性質

リシノール酸メチルに3-メルカプトプロピオン酸を作用させることでLRA-Naを得た。ついでLRAにリパーゼを作用させることで

ラクトン化を行い、CRA-Naを得た (図3)。界面活性剤の溶液挙動の解析は、動的光散乱 (DLS) 法および逆染色 TEM 法によった。CRA-Na および LRA-Na 水溶液の界面特性を表3に示す。疎水基基部近傍に13員環ラクトン構造を有するCRA-Naは、相当する開環型のLRA-Naと比較してcmcや γ_{cmc} に若干の低下が認められたのに対し、界面での分子占有面積(A)は、相当する開環型界面活性剤(LRA-Na)と比べ顕著に拡大することが見出された。CRA-Naは、水溶液中cmc付近の濃度では8~10 nmの球状ミセルを、10 mmol/L以上の濃度では40 nm程度の球状ベシクルを形成することが認められた。CRA-Naの生分解率は28日で68%となり易分解性が確認された。

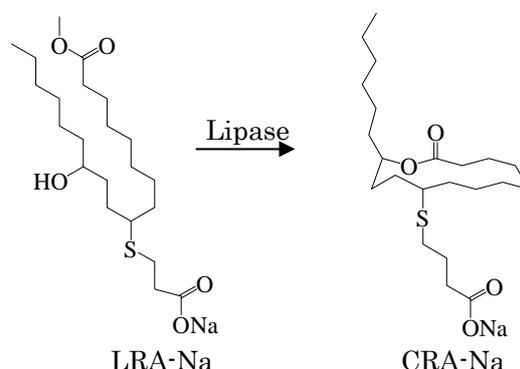


図3 13員環ラクトン構造を有する新規グリーンサーファクタントの合成

表3 ラクトン環を有する界面活性剤の界面特性

	cmc (mM)	γ_{cmc} (mN/m)	A_{min} (nm ²)
CRA-Na	6.9	34.0	1.92
LRA-Na	10.2	38.8	0.64
Na laurate	22.4	36.8	0.47

(4) 生分解性を有するポリカルボン酸塩型グリーンサーファクタントの合成

天然物由来の有機酸を親水基として用い、複数のカルボキシル基を分子内に有する界面活性剤を合成し、その機能評価を行った。複数のカルボキシル基を有するフマル酸、イタコン酸およびアコニット酸に疎水基として長鎖メルカプタンを炭酸カリウム触媒存在下、付加させ、ついでケン化することにより一連の界面活性剤を得た (図4)。これらの水溶液の界面特性を表4に示す。スルフィド基を有する界面活性剤のcmcおよび γ_{cmc} は

一般的なアニオン界面活性剤であるラウリン酸ナトリウムと比べて低い cmc と高い表面張力低下能を示し、優れた界面活性を有すると言える。スルフィド基を有するアコンニト酸誘導体型界面活性剤 (SA-n) の Ca イオン封鎖能は、相当するエーテル結合含有界面活性剤であるオキシジ酢酸二ナトリウム (ODA-2Na) とモルベースで同等の優れた値を示した (表 5)。また、これらはいずれも良好な生分解性を示した。

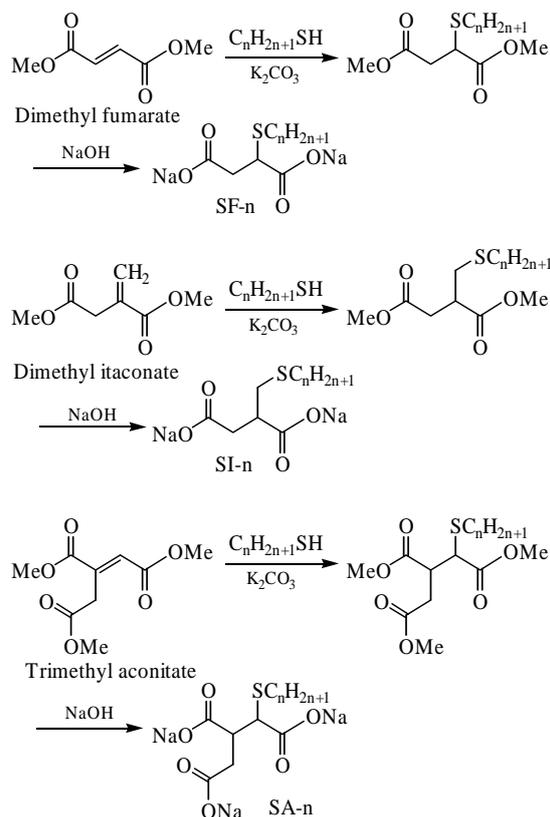


図4 スルフィド基を有するフマル酸塩、イタコン酸塩、アコンニト酸塩型界面活性剤

表4 スルフィド基含有ポリアニオン型界面活性剤の界面特性

Surfactant	cmc (mM)	γ_{cmc} (mN/m)	A_{min} (nm^2)
SF-12	8.61	36.8	1.26
SF-14	3.05	33.2	1.16
SF-16	0.153	32.2	0.95
SI-12	9.48	36.3	1.42
SI-14	0.683	33.1	1.48
SI-16	0.0532	33.5	1.41
SA-12	11.9	41.4	1.95
SA-14	5.65	45.2	1.89
SA-16	1.43	43.1	1.71
NF-12	3.80	27.0	0.88
NaL	22.4	37.0	0.47

NaL: sodium laurate

表5 Ca イオン封鎖能 (pH 9.0)

	Ca ion sequestration capacity (mol Ca /1 mol sample)
SF-12	0.27
SI-12	0.33
SA-12	0.45
ODA-2Na	0.47

(5) フマル酸オリゴマーを親水基とするグリーンサーファクタントビルダーの合成

フマル酸オリゴマーを親水基に用い、長鎖アルキル基を導入することにより、金属イオン封鎖能と生分解性を併せ持つ界面活性剤を、グリーンなプロセスにより得た。得られた界面活性剤の界面活性能や金属イオン封鎖能および生分解性について評価を行った。フマル酸オリゴマーを親水基とする界面活性剤を図5に示す方法により合成した。フマル酸ジエチルを含水エタノール中、カワラタケ由来ラッカーゼと過酸化水素水を用いて反応させることで、末端に二重結合を有し、数量体からなるフマル酸ジエチルオリゴマーを収率 68% で得た。ついで、重合度により分別を行い、末端二重結合に長鎖メルカプタン、および長鎖アミンを付加したのち、 $NaOH$ によりケン化し、一連の界面活性剤 $SDF-n$ 及び $SDFI-n$ を得た。生分解性の評価は、活性汚泥を菌体に用い、 BOD 法により行った。その結果、基本構造である $SDF-1$ 及び $SDFI-1$ の cmc は典型的なアニオン性界面活性剤である SDS より低い値を示した。また、生分解性試験の結果、易分解性であることが確認された。 Ca^{2+} イオン封鎖能は疎水基を導入することで向上することが認められた。長鎖アルキル基とフマル酸オリゴマーの連結基であるスルフィドおよびイミノ結合により、界面活性及び Ca^{2+} イオン封鎖能の向上が認められた。

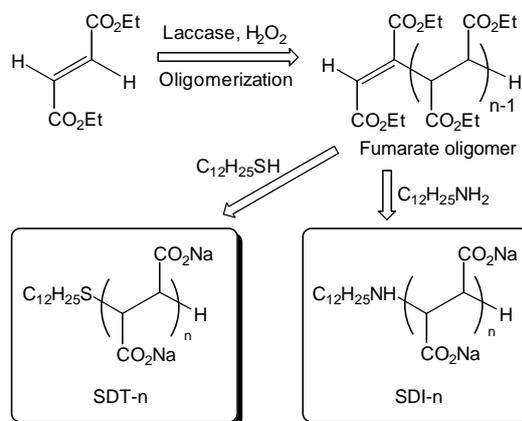


図5 フマル酸オリゴマー型新規界面活性剤の合成

(6) オリゴ糖系非イオン界面活性剤の合成と評価

糖部分にマルトオリゴ糖やガラクトサンなど水溶性のものを選り、リパーゼおよび固体塩基触媒を用いることで位置選択的アシル化を行った(図6)。具体的には、単糖から三糖のモノアシル化を、*tert*-ブチルアルコール-ピリジン混合溶媒中、固定化リパーゼ存在下、長鎖脂肪酸ビニルとのエステル交換反応により行った。三糖のジアシル化には、ピリジン中プロテアーゼ(subtilisin)を用いた。一方、アミロースのアシル化は、DMSO中、固体塩基であるモレキュラーシーブス 4A (MS4A)を触媒に用い、長鎖脂肪酸ビニルを作用させることにより行った。単糖から三糖にリパーゼ存在下長鎖脂肪酸ビニルを作用させた場合、6位選択的にアシル化が進行した。また、三糖にプロテアーゼ存在下ビニルエステルを作用させることで、1位および6"位が選択的にアシル化された。一方、アミロースに対し、MS4Aを触媒に用いてアシル化を行うと、2位水酸基が高選択的にアシル化されたアミロースが高収率で得られた。得られたアシル化糖の溶液物性の一部を表6に示した。モノアシル化二糖および三糖は多糖と比較して若干高い表面張力低下能、起泡力、泡安定性および同程度の乳化能を示した。また、いずれのアシル化糖も良好な生分解性を示した。

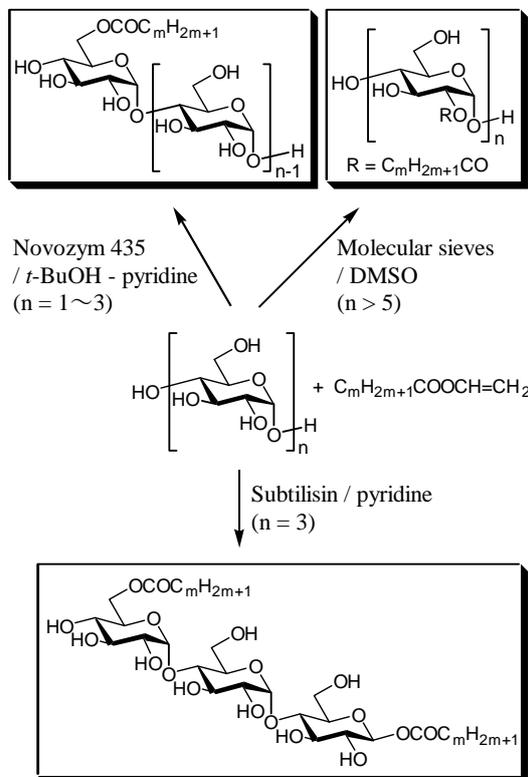


図6 オリゴ糖系非イオン界面活性剤の合成

表6 アシル化オリゴ糖および多糖の cmc と生分解性

Surfactant	cmc (g/L)	Biodegradation (% for 28 days)
6'- <i>O</i> -Lauroylmaltose	0.153	68
6"- <i>O</i> -Lauroylmaltotriose	0.135	92
1,6"- <i>O</i> -Dilauroyl- β -maltotriose	n.d. ^a	54
2- <i>O</i> -Lauroylamylose ^b	0.184	78

a. cmc was not determined because of water-insolubility.

b. Degree of substitution was 0.1.

(7) 化学-酵素法による新規両親媒性高分子バイオマテリアルの創成

新規高分子材料として、環状アセタール含有高分子ミセルの合成とドラッグデリバリー担体への応用を目指した機能評価を行った。環状アセタールの pH 依存的分解性を利用して、pH 応答型両親媒性高分子ミセルを化学-酵素合成し、薬物内包特性や放出挙動を解析した。環状アセタールは分解により酸性化合物を生成しないため、周辺組織の酸性度に影響を与えないことが確認されている。本研究では、親水基に環状アセタール含有 poly(ethylene glycol) (PEG)、疎水基に poly(trimethylene carbonate) (PTMC)を有するトリブロックコポリマーを酵素触媒を用いた重合により合成し、DDS 担体としての機能評価を行った(図7)。種々の組成比のコポリマーからミセルを作製したところ、粒径は 50~200 nm 程度であった(図8)。作製したミセルの分解挙動を解析したところ、コポリマーは酸性条件下で容易に分解し、その速度は温度と pH に依存した。さらに、抗腫瘍薬の一種である Methotrexate を用いて薬物放出速度の測定を行ったところ、pH の上昇と共に放出速度が低下した。これはミセル中の環状アセタールの分解速度の違いが薬物の放出速度に影響を与えたためであると考えられる。このことから、合成したブロックコポリマーは pH 依存的分解性を有する高分子ミセルとしての性質を示し、特異的な薬物放出能を有する DDS 担体としての有用性が見出された。

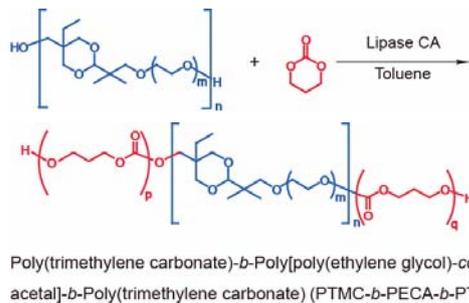


図7 疎水部に TMC を有するトリブロックコポリマーの合成

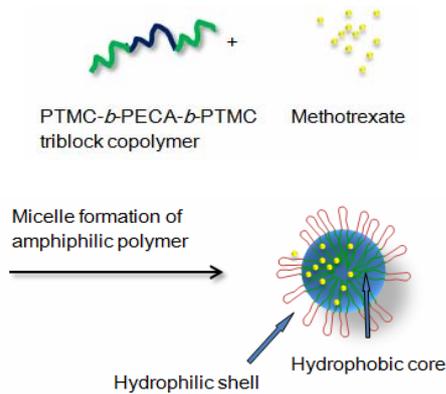


図8 薬物内包ミセルのモデル

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 7 件)

- ① T. Banno, K. Toshima, K. Kawada, S. Matsumura, Synthesis and Properties of Gemini-type Cationic Surfactants Containing Carbonate Linkages in the Linker Moiety Directed towards Green and Sustainable Chemistry, *Journal of Surfactants and Detergents*, **12**, 掲載決定(2009) 査読 有
- ② Y. Okada, T. Banno, K. Toshima, S. Matsumura, Synthesis and Properties of Polycarboxylate-type Green Surfactants with S- or N-Linkages, *Journal of Oleo Science*, **58**, 掲載決定 (2009) 査読 有
- ③ S. Kaihara, J. P. Fisher, S. Matsumura, Chemo-enzymatic Synthesis of Degradable PTMC-*b*-PECA-*b*-PTMC Triblock Copolymers and Their Micelle Formation for pH-Dependent Controlled Release, *Macromolecular Bioscience*, **9**, 掲載決定 (2009) 査読 有
- ④ S. Kaihara, S. Matsumura, J. P. Fisher, Synthesis and Characterization of Cyclic Acetal Based Degradable Hydrogels, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **68** (1), 67-73 (2008) 査読 有
- ⑤ H. Ebata, K. Toshima, S. Matsumura, Lipase-catalyzed Synthesis and Properties of Poly(12-hydroxydodecanoate-co-12-hydroxystearate) Directed Towards Novel Green and Sustainable Elastomer, *Macromolecular Bioscience*, **8** (1), 38-45 (2008) 査読 有
- ⑥ H. Ebata, K. Toshima, S. Matsumura, Lipase-catalyzed Synthesis and Curing of

High-molecular-weight Polyricinoleate, *Macromolecular Bioscience*, **7** (6), 798-803 (2007) 査読 有

- ⑦ T. Banno, K. Toshima, K. Kawada, S. Matsumura, Synthesis and Properties of Biodegradable and Chemically Recyclable Cationic Surfactants Containing Carbonate linkages. *Journal of Oleo Science*, **56**, 493-499 (2007) 査読 有

[学会発表] (計 16 件)

- ① 貝原祥子, John Fisher, 松村秀一, 環状アセタール含有新規分解性高分子ミセルの化学 - 酵素合成と機能評価、日本バイオマテリアル学会シンポジウム、東京、2008年11月17日
- ② 伴野太祐, 戸嶋一敦, 河田和雄, 松村秀一, カーボネート結合を有する生分解性ジェミニ型カチオン性界面活性剤の合成と性質、第47回日本油化学会年会、東京、2008年9月17日
- ③ 岡田悠, 伴野太祐, 戸嶋一敦, 松村秀一, 天然物由来の有機酸を親水基とするグリーンサーファクタントの合成と機能、第47回日本油化学会年会、東京、2008年9月17日
- ④ 加藤有亮, 戸嶋一敦, 松村秀一, 13員環ラクトン構造を有する新規グリーンサーファクタントの合成と性質、第47回日本油化学会年会、東京、2008年9月17日
- ⑤ 伴野太祐, 戸嶋一敦, 河田和雄, 松村秀一, 新規ジェミニ型カチオン性グリーンサーファクタントの合成と性質、第9回GSCシンポジウム、東京、2008年3月9日
- ⑥ 岡田悠, 伴野太祐, 戸嶋一敦, 松村秀一, フマル酸オリゴマーを親水基とするグリーンサーファクタントビルダーの合成と機能、第46回日本油化学会年会、京都、2007年9月7日
- ⑦ 伴野太祐, 戸嶋一敦, 松村秀一, 生分解性とケミカルリサイクル性を有するジェミニ型カチオン性界面活性剤の合成と機能、第46回日本油化学会年会、京都、2007年9月6日

6. 研究組織

- (1) 研究代表者
松村 秀一 (MATSUMURA SHUICHI)
慶應義塾大学・理工学部・教授
研究者番号：30051874
- (2) 研究分担者
該当なし
- (3) 連携研究者
該当なし