

機関番号：14301
 研究種目：基盤研究(C)
 研究期間：2008 ～ 2010
 課題番号：20580174
 研究課題名(和文) フェノール類のバイオミメティック重合

研究課題名(英文) Biomimetic polymerization of phenols

研究代表者

高野 俊幸 (TAKANO TOSHIYUKI)
 京都大学・大学院農学研究科・教授
 研究者番号：50335303

研究成果の概要(和文)：

西洋わさびペルオキシダーゼ(HRP)は、代表的なフェノールの酸化酵素の一つであるが、酸性条件では、酸化能力を有していない。そこで、本研究では、HRPの活性部位(酸化能力を発現する部分)の化学構造を木材成分の主要構成成分であるセルロース、およびカニの甲羅の主要成分であるキトサンに導入した人工酵素(バイオミメティック触媒)を調製した。得られた人工酵素は、酸性条件下でも良好なフェノール酸化能を示すと共に、光を電気に変換する性質も有していた。

研究成果の概要(英文)：

Horseradish peroxidase is one of the important enzymes for phenol oxidation, but it has not phenol oxidation ability in the acidic conditions. Then, new artificial enzymes (biomimetic catalyts) were prepared by the introduction of active-site structure of HRP to cellulose and chitosan, which are main chemical component of wood and crab shell, respectively. They had good phenol oxidation abilities in the acidic conditions and photo-current generation abilities.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：木質科学

科研費の分科・細目：リグニン

キーワード：バイオマス、環境技術、バイオミメティック触媒、セルロース誘導体、キトサン誘導体

1. 研究開始当初の背景

研究課題申請時の主な背景としては、下記

の2点があった。

(1)木材の主要構成成分の一つであるリグニ

ンは、3種類のモノリグノール（コニフェリルアルコール、シナピルアルコール、p-クマリルアルコール）の重合物である。シナピルアルコール（S核）は、酵素（西洋わさびペルオキシダーゼ：HRP）による重合反応において、特異な重合挙動を示すことが知られており、これまで、研究者のグループは、その特異な重合挙動（重合物の重合度、収率が低いこと）について研究し、その原因の一つが、キノメタイドと呼ばれる反応中間体の安定化現象にある知見を得ていたが、キノメタイドは、酸性条件下で不安定であるので、シナピルアルコールの酸性条件下における HRP 重合による検証が必要であった。しかしながら、HRP は、酸性条件下では失活するため、酸性条件下で失活しないバイオミメティック触媒が必要であった。

(2) 研究者のグループでは、ポルフィリンセルロース誘導体の光電変換機能について研究を行っていた。HRP の活性センター（酵素機能を発現する部位）は、ポルフィリン骨格であるので、ポルフィリン骨格を有する化合物は、バイオミメティック触媒としての機能以外に、光電変換機能を有することが大いに期待された。

そこで、HRP の活性センターに相当するポルフィリン骨格(Hematin と呼ばれる化合物)を用いて、新しいバイオミメティック触媒、および光電変換材料を調製することを課題とした。

2. 研究の目的

研究課題申請時には、シナピルアルコールの酸性条件下における HRP 重合のための「酸性条件下で失活しないバイオミメティック触媒の調製」を第一の目的とし、さらに、その触媒の光電変換材料への応用展開を第二の目的とした。

3. 研究の方法

HRP の活性センターに相当するポルフィリン骨格化合物（Hematin と呼ばれる化合物）を利用して、Hematin を固定化した単糖・多糖誘導体の調製（新規なバイオミメティック触媒）とそのフェノール重合能および光電変換機能の評価を中心に行った。

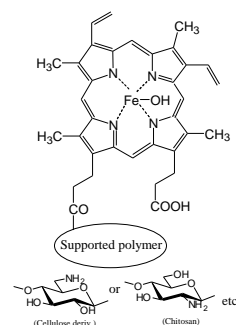


図1 Hematin 固定化多糖の化学構造

4. 研究成果

本研究の主な成果は、下記の通りである。

(1) Hematin 固定化 6-アミノセルロース誘導体(6-ADC-Hematin)

Hematin をセルロース誘導体（6-Amino-6-deoxycellulose(6-ADC)）に固定化を検討し、目的生成物である 6-ADC-Hematin の精製、およびキャラクターゼーションが予想外に困難であったが、不均一反応系で、Hematin の置換度 0.06 であったものの、6-ADC-Hematin)の調製に成功した。

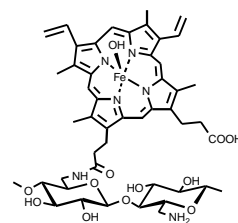
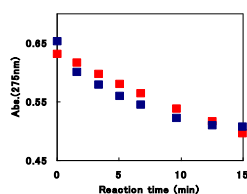


図2 6-ADC-Hematin の化学構造

6-ADC-Hematin は、酸性条件下、あるいは高温領域でもフェノール酸化能を維持し、

HRP と比較して使用範囲の広いバイオミメティック触媒であることが判明した。



凡例: 6-ADC-Hematin のグアイアコール酸化活性 (青色: 加熱処理なし、赤色: 70°Cで加熱処理後)

図3 6-ADC-Hematin の耐熱性試験の一例

シナピルアルコールを酸性条件下で重合すると、特異な重合挙動（重合物の重合度、収率が低いこと）のうち、重合物の重合度の増加は小幅であったものの、収率は大幅に改善され、キノメタイドの安定化現象がシナピルアルコールの特異な重合挙動の一因であることを実験的に証明できた。

モノリグノールの重合に対するセルロースの影響に関しては、シナピルアルコール重合の生成物の一つであるシリンガレジノールの立体配置について検討したが、6-ADC-Hematin のセルロース部分の影響は特に認められなかった。今後、天然の状態に近い重合系の構築が必要であると考えられる。

(2) Hematin 固定化キトサン誘導体 (Chitosan-Hematin)

Chitosan は、2-Amino-2-deoxycellulose であり、6-ADC とアミノ記基の位置が異なる類縁体とみなすことができる。そこで、キトサンに、6-ADC の場合と同様に、不均一系における Hematin の固定化を検討し、目的生成物である Chitosan-Hematin の調製（置換度 0.07 程度）に成功した。Chitosan-Hematin も、6-ADC-hematin と同様にフェノール酸化能を示した。

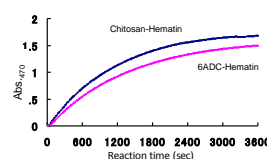


Figure 33. Changes of A_{275} during oxidations of guaiacol catalyzed by 6-ADC-Hematin or Chitosan-Hematin in 60% acetic acid solution

凡例: グアイアコール酸化活性 (青色: Chitosan-hematin、赤色: 6-ADC-hematin)

図4: Chitosan-hematin のフェノール酸化能評価の一例

また、スピコート法で作成した Chitosan-Hematin 薄膜では、予想通り光電変換機能が認められた。言い換えれば、Chitosan-Hematin は、光電変換機能キトサン誘導体であることが判明した。

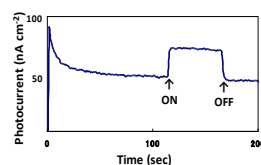


Figure 40 photoelectrochemical response with illumination at 400 nm

注: 光を照射されている間(On-OFF の間)と電流が流れている。

図5: Chitosan-hematin 薄膜の光電変換機能測定の一例

(3) N-Glucosamine-Hematin 誘導体

不均一系で 6-ADC-Hematin、および Chitosan-Hematin の合成に成功したものの、置換度が低いことに問題があったので、置換度の向上を行うために、均一反応系の構築を目指し、多糖誘導体のモデル反応系として、N-Glucosamine-Hematin 誘導体の反応を検討し、Hematin に N-Glucosamine を 2 個導入した誘導体を高収率に合成した。得られた誘導体は、Hematin 単独より溶解性が改善され、フェノール酸化能の点で、良好なバイオミメティック触媒であった。

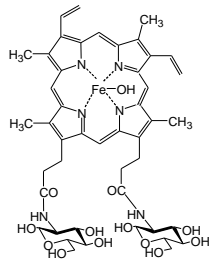


図 6 : N-Glucosamine-Hematin 誘導体の化学構造

(4) Hematin 固定化キトサン誘導体 (Chitosan-Hematin)

(3) の結果を基に、均一系における Chitosan-Hematin の調製も行ったところ、精製が 100% 出来ているわけではないが、置換度 0.4 程度の Chitosan-Hematin が得られた。今後、光電変換機能を中心にその性質を調べる予定である。

(5) フタロシアニン-セルロース誘導体

新たなポルフィリン構造として、フタロシアニン環を選択し、フタロシアニン-セルロース誘導体の合成を行った。合成は、セルロース鎖上での環化反応を行い、置換度 0.5 程度のフタロシアニン-セルロース誘導体の調製に成功した。得られた誘導体は、既知の光電変換セルロース誘導体とは異なる波長領域で、良好な光電変換機能を示した。また、フタロシアニンは、種々の触媒機能が報告されており、新たなバイオミメティック触媒として期待される。

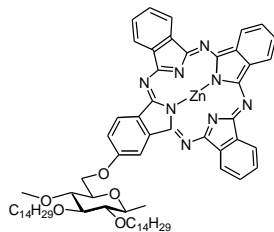


図 7 : フタロシアニン-セルロース誘導体の構造式

現在、4 種類の誘導体 (6-ADC-Hematin、Chitosan-Hematin、N-glucosamine-

Hematin、フタロシアニン-セルロース誘導体) の合成に成功しており、今後、引き続き、(1) 4 種類の誘導体のフェノール酸化能の評価 (特に、フェノール酸化能については、リグニンモノマーの重合反応、および重合物の解析)、(2) 4 種類の誘導体の光電変換機能の評価 (バイオマテリアルベースの太陽電池の検討) (3) 4 種類の誘導体の光触媒反応系の確立 (フェノール酸化能と光電変換機能を組み合わせた新しい反応系の開発)、(4) 4 種類の誘導体のフェノール酸化能と光電変換機能以外の機能性評価 (例えば、フタロシアニンは、消臭機能、抗酸化機能なども報告されているので) を行いたいと考えている。また、4 種類のバイオミメティック触媒について、論文を取りまとめる予定である。

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)

[学会発表] (計 1 件)

- ① 小澤真紀、上高原浩、高野俊幸、中坪文明、「フェノール酸化能を有するバイオミメティック触媒の調製」日本木材学会大会、2010/03/17、宮崎

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高野 俊幸 (TAKANO TOSHIYUKI)
京都大学・大学院農学研究科・教授
研究者番号：50335303

(2) 研究分担者

無し

(3) 連携研究者

上高原 浩 (KAMITAKAHARA HIROSHI)
京都大学・大学院農学研究科・助教
研究者番号：10293911

中坪 文明 (NAKATSUBO FUMIAKI)
京都大学・大学院農学研究科・教授
研究者番号：10027170

(2008 年度のみ)