

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 29 日現在

機関番号：24302

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2011～2014

課題番号：23580233

研究課題名(和文)セルロース・ナノファイバー固体表面反応による新規交互共重合セルロース誘導体の調製

研究課題名(英文)Preparation of new alternating co-polymerized cellulose derivatives by surface reaction of cellulose nanofiber

研究代表者

川田 俊成 (KAWADA, Toshinari)

京都府立大学・生命環境科学研究科(系)・教授

研究者番号：40214655

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：ホヤから均一なセルロースナノファイバー(CNF)を調製する方法を詳細に検討して2種類のCNFを調製した。これらを用いて、表面一層のみに固液反応を行って、交互共重合セルロースと考えられる部分を調製できる可能性を示すことができた。一方、今回調製したCNFであっても、表面は単一の層ではなく、目的化合物以外にも複雑な反応生成物を与えた。また、表面一層を剥離する過程で解重合反応が惹起することも判明した。一方、交互的置換オリゴ糖誘導体の調製について、合成戦略を確立し、グルコサミン/N-アセチルグルコサミンが交互に縮合したキトヘテロ六糖の合成を達成した。

研究成果の概要(英文)：Manufacturing method of cellulose-nano-fiber (CNF) from Tunicate (Halocynthia roretzi) was established and produced two kinds of CNF's. It was shown that surface solid-liquid reactions conducted on the skin one layer have possibility to prepare the expected alternating co-polysaccharides in part of CNF surface. In the same time it would suggested that even CNF's carefully prepared for this research still have single surface but rather have complex surface with many fluffing, which might cause to be given many types of products except for the target. De-polymerization was observed during a reaction for peeling the reacted surface of CNF. On the other hand, the synthetic strategy for alternating co-polymerized oligosaccharides was successively established to prepare chito-heterohexasaccharide with repeating disaccharide unit glucosamine / N-acetyl-glucosamine.

研究分野：糖質化学

キーワード：交互共重合セルロース誘導体 セルロース誘導体 セルロースナノファイバー 固体表面反応 キトヘテロオリゴ糖

1. 研究開始当初の背景

(1) 持続可能社会の構築に向けて、再生産可能資源の有効かつ高度な利用法の開発は今日の重要な課題である。再生産可能なバイオマスとして最大の生産量を有するものはセルロースである。特に、セルロースの微小繊維であるセルロースナノファイバーの製造が可能となり、これを素材として用いる用途開発が有望視されている。セルロースナノファイバーの特性を生かした新規素材として新規セルロース誘導体の開発が期待されていた。

2. 研究の目的

(1) 新規交互共重合セルロース誘導体調製法の確立を行う。セルロースナノファイバーの結晶構造を崩壊させず、表面一層の水酸基のみを置換する反応(固相-液相反応)を行い、水酸基が置換された表面一層のみの分子をはぎ取る方法を確立する。

(2) 新規交互共重合セルロース誘導体の分析を行う際の標準物質として利用するため、新規交互共重合セルロース誘導体の低分子化合物である残基間特異的置換セロオリゴ糖誘導体の調製法を確立し、これを調製する。

3. 研究の方法

(1) 新規交互共重合セルロース誘導体調製
ホヤ・セルロースナノファイバーの調製：マボヤ(*Halocynthia roretzi*)を原料として、新規交互共重合セルロース誘導体を調製する原料として用いるセルロースナノファイバーの調製を行った。表面に「毛羽立ち」などが無く、均一な表面一層を有するセルロースナノファイバーの調製を目指した。マボヤ外套部を常法にて処理し、マボヤ・パルプを得た。その後、TEMPO 酸化/NaOH 処理、グラインダー処理、ミル処理、ホモジナイザー処理について、複数の組み合わせの処理を実施し、様々なセルロースナノファイバー(HoCNF)およびそのTEMPO 酸化処理物(HoCNF-COOH)を得た。

新規交互共重合セルロース誘導体調製：得られたHoCNF - COOH に対して、種々のエステル化反応、アミド化反応を試みた。その際、後述するモデル化合物を用いて最適化した反応条件を適用した。得られた化合物(HoCNF-COOR, および HoCNF-CONHR)の構造解析を行った。

表面一層の剥離：

得られたHoCNF-COOR について、表面一層を剥離させる方法を種々試み、交互共重合セルロース誘導体の調製を実施した。

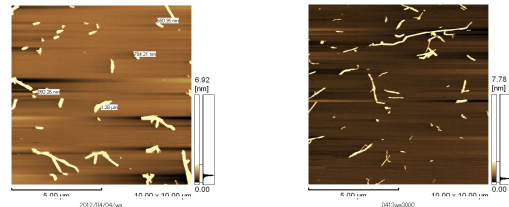
(2) 新規交互共重合セルロース誘導体の分析モデルとなる残基間特異的置換セロオリゴ糖誘導体の調製

グルクロン酸誘導体・セロピオウロン酸誘導体の合成：グルコース、セロピオースを原料として、 α -および β -メチルグルクロン酸および α -メチルセロピオウロン酸の合成を行う。

交互特異置換オリゴ糖誘導体の調製：2種類の単糖単位が交互に重縮合した交互共重合セルロース誘導体は、二次元的には1残基おきと同じ化学構造が繰り返される。このような化合物を簡便に分析するためのスペクトル的な特徴を把握するため、モデルとなる化合物(単糖残基1つおきに置換様式の異なるオリゴ糖類)の調製を行った。

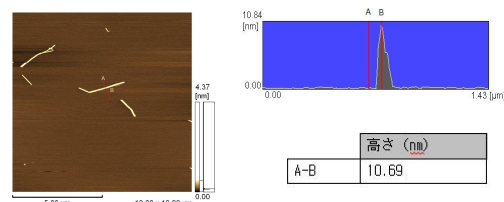
4. 研究成果

(1) 新規交互共重合セルロース誘導体調製
ホヤ・セルロースナノファイバーの調製：様々な組み合わせの処理を試み、まとめると次のような結果を得た。即ち、先ず物理的処理(グラインダー処理、ミル処理、ホモジナイザー処理)について、グラインダー処理は、ホヤ原料(乾燥、湿潤とも)の場合には解繊効果が小さかった。ミル処理では、主に繊維の切断が惹起し、長さの短いHoCNFが得られる傾向があった(図1a)。ホモジナイザー処理では縦方向のせん断により、細いHoCNFが生成した(図1b)。



TEMPO 酸化(TEMPO, NaBr, NaClO, pH 9-12)/NaOH 処理(1 M NaOH aq., 105 °C, 16 h)は、解繊前に行うと分散の良いHoCNFが得られる傾向があり、また、1回以上解繊したHoCNFに処理を行うとサイズが揃いやすいことが判った。

これらより、ミル処理 ホモジナイザー処理 TEMPO 酸化/ NaOH 処理 ホモジナイザー処理の順序で処理を行い、遠心分離による精製(1000 rpm, 10 sec)ことにより、幅約11 nmのHoCNFを調製した。

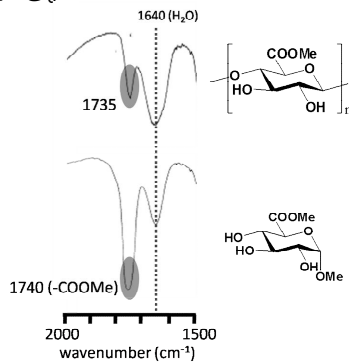


なお、この他にも数種類のHoCNFを調製し、実験に用いた。

新規交互共重合セルロース誘導体調製：

後述の低分子モデル化合物を用いた実験で最適化した反応条件を用いて、調製した HoCNF をメチルエステル化した。前処理として HCl 処理 (pH 2, 室温, 1 h) 後、MeOH-0.5 N HCl 処理 (70 °C, 13 h) 後、洗浄して新規交互共重合セルロース誘導体 (HoCNF-COOMe) を得た。

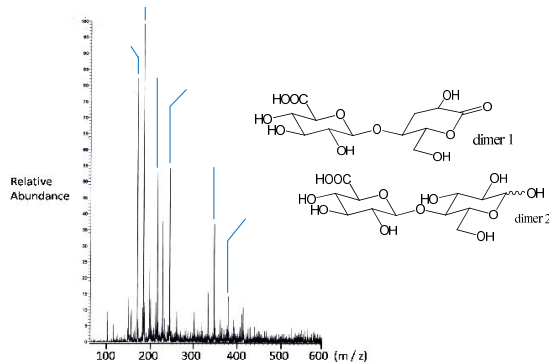
得られた HoCNF-COOMe の FT-IR スペクトラは 1735 cm⁻¹ に強いメチルエステルの特性吸収を与え、遊離カルボニル基の特性吸収 (1730 cm⁻¹ 付近) は観測されなかった。この結果は、HoCNF 結晶の表面のカルボニル基は全てメチルエステル化したことを示唆している。



メチルエステル以外のエステル化を目指しフェノール、ピレンブタノールなど、あるいはアミド化をメチルアミン、グリシンなどのアミンとの反応条件を多数検索したが良好な結果は得られなかった。

表面一層の剥離

HoCNF-COOMe の表面一層を剥離させるため、NaOHaq. 処理条件について検討したが、満足できる条件を見出すことが出来なかった。一例として、図 4 に 1 M NaOH, 105 °C, 6-14 h で剥離した化合物類の ESI-MS スペクトラを示す。



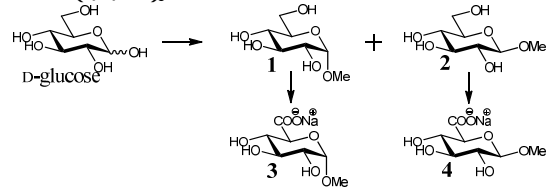
この結果は剥離によって解重合が惹起し、単糖および二糖が得られ、高分子のまま単離できていないことを示唆している。m/z 171.0, 185.0, 217.0, 244.9 は、単糖由来であり、それぞれペントン酸ラクトン、メタサッカリン酸ラクトン、グルクロン酸、グルクロン酸メチルのメチルグルコシドにそれぞれ由来する。m/z 347.1, 379.2 は二糖由来であり、それぞれ dimer 1, dimer 2 と一致する。dimer 1 はセロピオース由来であり、dimer 2 はグルコース/グルクロン酸が交互縮合した二糖由来である。

一方、剥離による解重合以前に存在していた表面一層分子の化学構造として、目的とする新規交互共重合セルロース誘導体の部分 (dimer 2 の縮合体) は確実に存在していたことが実証された。その反面、ホモ重合体 (dimer 1 の縮合体) の存在も示唆された。この不均一性は、調製した HoCNF の表面が厳密な一分子層になっていないことに起因すると考えられる。

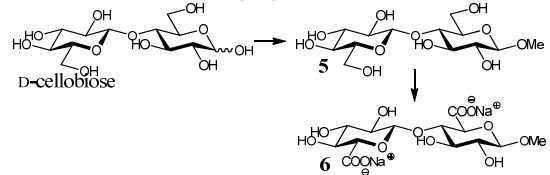
この他、モデル化合物を用いて酸加水分解条件による剥離の可能性も検討したが、期待通りの結果は得られなかった。

(2) 残基間特異的置換セロオリゴ糖誘導体の調製

グルクロン酸誘導体・セロピオウロン酸誘導体の合成：グルコースを原料として、 α -および β -メチルグルクロン酸 (3, 4) を合成した (図 5)。



また、セロピオースを原料として β -メチルセロピオウロン酸 (6) を合成した。



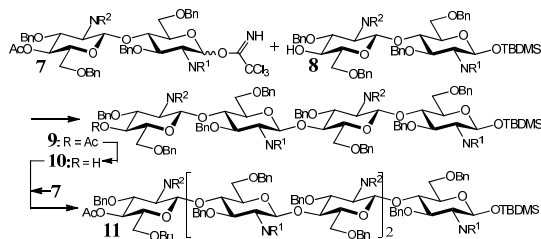
合成した化合物を用いて、各種スペクトルにおける特徴的ピークを抽出した。例えば、FT-IR では 1730 cm⁻¹ (-COOH), 1600 cm⁻¹ (-COONa), 1735~1742 cm⁻¹ (-COOMe) など微妙な判定に有為なシグナルを識別できた。

また、表面反応に有効なフッ素化糖の合成を行った。

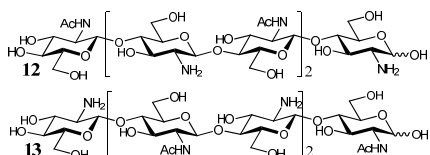
交互特異置換オリゴ糖誘導体の調製：

グルコサミン塩酸塩を出発原料として、キトヘテロオリゴ糖を標的化合物とした有機合成を行った。

先ず、アミノ基にそれぞれ異なる保護基 (R^1 , R^2) を導入したグルコサミン誘導体の縮合反応 (グリコシル化反応) により、二糖誘導体を得た。次に、これから二糖ドナー7 および二糖アクセプター8 をそれぞれ誘導し、この両者のグリコシル化反応により四糖誘導体9とした。さらに、9から誘導される四糖アクセプター10と二糖ドナー7との反応により、六糖誘導体11を収率40%で合成した (図7)。



最後に、六糖誘導体11からの脱保護工程を検討した。この際、11から二種類の保護基 (R^1 , R^2) を逆に外す合成戦略を確立することに成功した。これによって、一種類の誘導体11から二種類の交互共重合オリゴ糖 (12, 13) を得ることが可能となった。このような合成戦略は新規かつ有用性が大きい。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

米田夕子、川田俊成、キチン質のオリゴ糖、キトヘテロオリゴ糖化学合成のこれまで、応用糖質科学、査読有、4 巻、2014、127 - 132 ISSN 2185-6427

Michaela Braitsch, Hanspeter Kaehlig, Georg Kontaxis, Michael Fischer, Toshinari Kawada, Robert Konrat, Walther Schmid, Synthesis of fluorinated maltose derivatives for monitoring protein interaction by ^{19}F NMR, *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 査読有, 2012 (8), 2012, 448 - 455 DOI: 10.3762/bioc.8.51

Yuko Yoneda, Toshinari Kawada, Synthetic Strategy of Chito-Heterooligo=saccharides, *Advances in Chitin Sciences*, 査読有, Vol. 13, 2011, 131 - 137 ISBN 978-4253-0133-8

〔学会発表〕(計 4 件)

米田夕子、河合真吾、西達也、川田俊成、表裏区別可能セルロース誘導体の調製、第 63 回日本木材学会、3 月 27 - 29 日、盛岡市

Yuko Yoneda, Shingo Kawai, Tomoaki Nishida, Toshinari Kawada, Substituent effects on acid hydrolysis of methyl cellulose model compounds, 3rd International Cellulose Conference, Oct. 10 - 12, 2012, Sapporo, Japan

川田俊成、キトヘテロオリゴ糖の合成戦略、第 25 回キチン・キトサンシンポジウム、8 月 30 - 31 日、2011 年、奈良市

Yuko Yoneda, Toshinari Kawada, Synthetic strategy of Chito-heterooligo=saccharides, 10th International Conference of the European Chitin Society, May 20 - 24, 2011, Sankt Petersburg, Russia

6. 研究組織

(1) 研究代表者

川田俊成 (KAWADA, Toshinari)

京都府立大学・生命環境科学研究科・教授
研究者番号：4 0 2 1 4 6 5 5