

平成 28 年 6 月 15 日現在

機関番号：50102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25410134

研究課題名(和文)新規シクロデキストリンポリマーとバイオゲル複合化による高性能分子認識素子の構築

研究課題名(英文) Construction of a new chemical device using the conjugation of cyclodextrin polymers and polysaccharide-based hydrogels

研究代表者

甲野 裕之 (HIROYUKI, KONO)

苫小牧工業高等専門学校・その他部局等・准教授

研究者番号：70455096

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではセルロース、キチン・キトサン等の「バイオポリマー」とCDの複合化により、優れた分子認識能を有するCDP合成技術の構築とその分子認識能の評価、多糖類または誘導体から構成されたバイオポリマーナノゲルとの構造複合化技術、CDPを分子応答素子とする疎水性分子、電解質応答性バイオナノゲルの構築を行なった。末端エポキシ活性化PEGを用いることで、ゲルネットワークを制御することが可能であり、その結果高いゲスト分子認識能を示すCD/多糖複合ゲルが合成できることが明らかになった。さらにこれらゲルは多糖官能基に応じて、pH等により相応答することが確認できた。以上の結果、当初の目的を達することができた。

研究成果の概要(英文)：In this study, preparation and characterization of the novel polysaccharide-based hydrogels containing cyclodextrin polymers were performed using cellulose, chitin, chitosan, and these derivatives in order to construct new techniques to prepare the functional hydrogels to response the guest molecules and pH of solutions. As a result, it was found that the CD/polysaccharide hydrogels could be prepared by using epoxy functionalized PEG as a crosslinking agent and that the gels showed the high guest molecular recognition ability. In addition, swelling ability of these hydrogels were strongly depended on the pH of the solution due to the functional groups of the polysaccharides used for the gel preparation. From these findings, the CD/polysaccharide-based are expected to be applicable for agricultural and industrial uses as a functional bio-gel.

研究分野：高分子化学

キーワード：水和ゲル シクロデキストリン セルロース キトサン 外部刺激応答 核磁気共鳴

1. 研究開始当初の背景

CD の重合化は CD と複数の反応性官能基を持つ架橋剤との反応によって容易に得られ、主に CD 水酸基との反応性の高いエピクロロヒドリン (ECH) が使用されてきた。しかし、ECH は発がん性の疑いもあり、ECH を用いた CDP の利用は限界がある。また CDP 非晶質構造であり、耐衝撃性が弱く、構造制御による物理特性の改善が必要である。一方、分子認識能については生理活性物質、特にポリフェノール類、フラボノイド類、コレステロール及び誘導体に対する選択的分子認識が数多く報告され、これら物質を高収率で抽出できることから、食品や天然物からの機能性分子、医薬品抽出材料としての応用は期待されている。

2. 研究の目的

代表者は多糖類を分子骨格とした生分解性機能材料の合成および性能評価を実施した中で、セルロース、キチン、キトサンの水酸基やアミド基とポリ酸無水物が架橋結合を形成し、高粘弾性の水和ゲルが得られることを明らかにした。ポリ有機酸は ECH と比較して、温和な条件下で反応が進行し、試薬自体の安全性も高い。ポリ有機酸無水物を用いて不溶性 CDP が合成可能となれば、食品・医薬品分野等への利用展開が可能となる。また、CDP に水溶性多糖のもつレオロジカルな特性を付与することが可能となれば、既存 CDP の弱点であった物理特性を改善することも可能となる。本研究課題ではポリ有機酸無水物を用いた CDP 合成とその分子吸着特性を述べた後、粘弾性付与を目的とした CD とカルボキシメチルセルロース(CMC)複合化ゲル状 CDP の合成を検討した。

3. 研究の方法

(1) ポリ有機酸による CDP 合成

ピリジン中、CD に対して 1、3.5、7 mol 倍量の 1,2,3,4-ブタンテトラカルボン酸二無水物 (BTCA) を添加し、40~150 で加熱還流させた。その後、メタノール/酢酸エチル系にて再結晶し、CDP を合成した。温度条件、反応時間を変化させ、合成の最適条件を検討した。構造解析は溶液、もしくは固体 NMR を用いて実施し、DOSY 法により自己拡散係数を求めることで、重量平均分子量を見積もった。固体分子については DDMS 法で構成成分の定量を実施した。

ゲスト分子認識と分子認識現象の解明は主にビスフェノール A を用いて実施した。接触時間依存性、ゲスト分子初期濃度依存性から、それぞれ反応速度論解析、吸着等温式解析を詳細に実施した。

(2) 多糖類と CD の複合化ゲルの合成

1.5M NaOH 水溶液中、β-CD に対して 3.5、5、7 モル倍の末端エポキシ修飾 PEG (PEGDE) (Mw: 447) を加え、60°C で 5 時間、架橋反応を行なった。得られた固体粉末を洗浄後、

PEGCDP 1-3 を得た。また参照としてエチレングリコールジグリシジルエーテル(EGDE) を 7 モル倍量加え、EGCDP を合成した。構造解析を FTIR、固体 NMR により行い、固体緩和測定により PEGCDP および EGCDP の分子運動性を評価した。

(3) ゲスト分子認識と分子認識現象の解明
ビスフェノール A を用いて、(1)(2) で合成した CDP のゲスト分子認識能を評価した。接触時間依存性、ゲスト分子初期濃度依存性から、それぞれ反応速度論解析、吸着等温式解析を詳細に実施した。

4. 研究成果

(1) ポリ有機酸による CDP 合成

CDP 合成は、CD に対して 1~7 mol 倍量の BTCA にて合成した。収率はいずれも 96% 以上であった。CDP の水溶解性は反応条件、特に架橋剤量と反応温度に依存し、BTCA が 3.5mol 倍量以上、かつ温度 150 以上を満たせば、完全水不溶性 CDP が得られることが明らかになった。¹³C NMR 解析から、上記反応条件以外では、水可溶性 CDP が得られ、BTCA の多くが架橋ではなく、CD とのグラフト化に消費された。また ¹H DOSY 法によって自己拡散係数を求め、重量平均分子量を換算したところ、水可溶性 CDP の分子量は最大で 61kDa となった。よって水不溶性 CDP は 61kDa 以上の分子量を持つと予想される。また水不溶性 CDP はテストした多くの極性および非極性有機溶媒にも不溶性を示した。分子構造を固体 NMR で解析した結果、添加した BTCA 全て CD との重合化に消費され、CD 1mol あたり 2.6~4.9mol の BTCA が反応し、従来にない超分子構造を形成することを立証した。

本 CDP は既存の CDP 同様、ゲスト分子認識能を備えた不溶性固体であり、イオン性界面活性剤や芳香族性有機分子の分離剤や吸着剤としての応用を検討した。環境ホルモン物質であるビスフェノール A を水に溶解し、CDP と不均一状態で接触させた結果、接触直後から吸着し、約 24 時間程度で平衡に達した。また BPA 濃度をパラメーターとして吸着量をプロットしたところ、BPA 平衡濃度と吸着量の関係には良好な相関が得られ、Langmuir の吸着等温式で表されることがわかった。よって、吸着等温式の定義から BPA に対する限界(最大)吸着量 q_m 、解離定数 K_d 、親和定数 K_a を求めた結果、CDP の限界吸着量は最大 0.59mmol/g であり、CD1 分子で BPA を包摂していると仮定すれば、CDP 中の CD のうち、42% が BPA 吸着に寄与していた。また K_a は K_b の $10^2 \sim 10^3$ 高く、BPA と CDP は安定な包摂体として存在した。フラボン、カテキン、アントシアニン等に対しても吸着能が確認され、CDP を用いた混合物からの選択的抽出や、クロマト担体としてのパッケージング化が可能であることを証明した。

(2) 多糖類と CD の複合化ゲルの合成より水と性能の高い CDP を合成するために(1)と同様の手法を用いて、CD と CMC を BTCA にて架橋重合化を行った。しかし BTCA は短鎖かつ立体障害が大きな架橋剤であり CMC との反応は進行しなかった。そこでエチレングリコールジグリシジルエーテル(EGDE)や PEG 両端がエポキシ化したポリエチレングリコールジグリシジルエーテル(PEGE)を用いて CMC と CD を含む系で架橋化を検討した。本ゲルの合成については室温下でも容易に反応し、CD の反応率の観点から、60 程度が最適な反応温度であった。CMC のグルコース-残基あたり 1~7mol 倍量の CD を添加して反応を行ったところ、CD の含有率は CMC のグルコース-残基あたり最大 0.56 mol の CD を含んだ水和ゲルが得られた。

本 CD 含有水和ゲルは水中で自重の 200~70 倍程度に膨潤し、瞬時に透明な水和ゲルに変化した。本ゲルは酸性領域にて水を解離する性能があり、酸性度に応じて脱水 吸水を制御すること、も可能であった。また上記の CDP 同様に BPA に対する吸着を評価した結果、BPA 吸着平衡までの時間は僅か 3 時間であり、吸着効率も含有 CD の 83%以上に達した。BTCA をリンカーとして得られる CDP と比較すると、高い BPA 包摂特性を示した理由は、固体からゲル状態への相転化によるものである。ゲル状になることで、BPA 等のゲスト分子を含む外液との接触が容易となり、分子をより認識しやすくなったと考えられる。さらにこの CD 含有ゲルは CMC 水和ゲルの持つ粘弾性を有しており、CD 含有率に依存するものの、汎用アクリル系吸水性樹脂と同オーダーの G' 、 G'' 値を示した。よって、分離剤や吸着剤としての利用だけでなく、生体への安全性が確認されれば薬物徐放性剤や緩効性剤のキャリアマテリアルとしての応用も期待できることが明らかになった。

以上、本研究成果のインパクトを列挙すると、外部刺激因子に反応して相転移する CDP - 多糖複合ゲル合成系を構築できた。ゲスト分子認識空間とリンカー鎖長には密接な関係があることを明らかにした。従来の CDP の欠点を克服し、優れた物性を発現した。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 16 件) 全て査読有

- [1] H. Kono, K. Oshima, H. Hashimoto, Y. Shimizu, K. Tajima, NMR characterization of sodium carboxymethyl cellulose. 2. Chemical shift assignment and conformation analysis for the substituent groups. *Carbohydrate Polymers*, **150**, 241-249 (2016).
Doi:10.1016/j.carbpol.2016.05.003.
- [2] H. Kono, K. Oshima, H. Hashimoto, Y. Shimizu, K. Tajima, NMR characterization of sodium carboxymethyl cellulose: Substituent distribution and mole fraction of monomers in the polymer chains. *Carbohydrate Polymers*, **146**, 1-9 (2016).
Doi:10.1016/j.carbpol.2016.03.021.
- [3] H. Kono, H. Anai, H. Hashimoto, Y. Shimizu, ^{13}C -Detection two-dimensional NMR approach for cellulose derivatives. *Cellulose*, **22**, 2927-2942 (2015).
Doi:10.1007/s10570-015-0697-9.
- [4] H. Kono, Preparation and characterization of amphoteric cellulose hydrogels as adsorbents for the anionic dyes in aqueous solutions. *Gels*, **1**, 94-116 (2015).
Doi:10.3390/gels1010094.
- [5] H. Kono, R. Kusumoto, Removal of anionic dyes in aqueous solution by flocculation with cellulose ampholytes. *Journal of Water Process Engineering*, **7**, 83-93 (2015).
Doi:10.1016/j.jwpe.2015.05.007.
- [6] H. Kono, T. Nakamura, H. Hashimoto, Y. Shimizu, Characterization, molecular dynamics, and encapsulation ability of β -cyclodextrin polymers crosslinked by polyethylene glycol. *Carbohydrate Polymers*, **128**, 11-23 (2015).
Doi:10.1016/j.carbpol.2015.04.009.
- [7] H. Kono, H. Hashimoto, Y. Shimizu, NMR characterization of cellulose acetate: Chemical shift assignments, substituent effects, and chemical shift additivity. *Carbohydrate Polymers*, **118**, 91-100 (2015).
Doi:10.1016/j.carbpol.2014.11.004.
- [8] H. Kono, H. Hara, H. Hashimoto, Y. Shimizu, Nonionic gelation agents prepared from hydroxypropyl guar gum. *Carbohydrate Polymers*, **117**, 636-643 (2015).
Doi:10.1016/j.carbpol.2014.11.004.
- [9] H. Kono, T. Teshirogi, Cyclodextrin-grafted chitosan hydrogels for controlled drug delivery. *International Journal of Biological Macromolecules*, **72**, 299-308 (2015).
Doi:10.1016/j.ijbiomac.2014.08.030.
- [10] H. Kono, R. Kusumoto, Preparation, structural characterization, and flocculation ability of amphoteric cellulose. *Reactive and Functional Polymers*, **82**, 111-119 (2014).
Doi:10.1016/j.reactfunctpolym.2014.06.009.
- [11] H. Kono, F. Otaka, M. Ozaki, Preparation and characterization of guar gum hydrogels as carrier materials for controlled protein drug delivery. *Carbohydrate Polymers*, **111**, 830-840 (2014).
Doi:10.1016/j.carbpol.2014.05.050.
- [12] H. Kono, Preparation, characterization, and properties of carboxymethyl cellulose hydrogels crosslinked by polyethylene glycol. *Carbohydrate Polymers*, **106**, 84-93 (2014).
Doi:10.1016/j.carbpol.2014.02.020.
- [13] H. Kono, K. Onishi, T. Nakamura,

- Characterization and bisphenol A adsorption capacity of β -cyclodextrin-carboxymethyl cellulose-based hydrogels. *Carbohydrate Polymers*, **98**, 784-792 (2013).
Doi:10.1016/j.carbpol.2013.06.065.
- [14] H. Kono, ^1H and ^{13}C chemical shift assignment of the monomers that comprise carboxymethyl cellulose. *Carbohydrate Polymers*, **97**, 384-390 (2013).
Doi:10.1016/j.carbpol.2013.05.031.
- [15] H. Kono, T. Nakamura, Polymerization of β -cyclodextrin with 1,2,3,4-butanetetracarboxylic dianhydride. Synthesis, structural characterization, and bisphenol A adsorption capacity. *Reactive and Functional Polymers*, **73**, 1096-1102 (2013).
Doi:10.1016/j.reactfunctpolym.2013.04.006
- [16] H. Kono, Chemical shift assignment of monomers comprising cellulose acetate. *Carbohydrate Research*, **375**, 136-144 (2013). Doi:10.1016/j.carres.2013.04.019.
- 〔学会発表〕(計36件)
- [1] 甲野裕之、大島和浩、橋本久穂、清水祐一、田島健次「NMRによるカルボキシメチルセルロースの構造解析～置換基分布とモノマー組成の決定」第65回高分子学会年次大会(神戸)2016年5月
- [2] 甲野裕之「核磁気共鳴法によるセルロース誘導体の構造解析 - 置換基分布と反応機構について - 」セルロース学会北海道・東北支部セミナー「セルロースを中心として木材成分の最新動向」(札幌)2016年2月
- [3] 甲野裕之「多糖類を活用した非イオン性ゲル化剤」北海道地域3大学1高専1公設試 新技術説明会(東京)2016年1月
- [4] 多田あすか、甲野裕之「シクロデキストリン含有ノニオン性ゲルの合成と性能評価」第50回高分子学会北海道支部冬季研究発表会(札幌)2016年1月
- [5] 小笠原康太、佐藤大成、甲野裕之「カチオン化セルロースゲルの合成とアニオン系色素との吸着相互作用」第50回高分子学会北海道支部冬季研究発表会(札幌)2016年1月
- [6] 高橋佳奈、穴井ひかる、甲野裕之、田島健次「セルロースナノファイバー表層へのシクロデキストリングラフト化」第50回高分子学会北海道支部冬季研究発表会(札幌)2016年1月
- [7] 坂口啓祐、甲野裕之「多糖類を用いたイオン液体ゲルとリチウム塩による導電性への影響」第50回高分子学会北海道支部冬季研究発表会(札幌)2016年1月
- [8] 穴井ひかる、高橋佳奈、甲野裕之、田島健次「セルロースナノファイバーの表層疎水改質に関する研究」第50回高分子学会北海道支部冬季研究発表会(札幌)2016年1月
- [9] 甲野裕之「バイオマスの有効利用とその機能化」平成27年度化学工学会北海道支部講演会(苫小牧)2015年11月
- [10] 甲野裕之、中村太一「PEG架橋シクロデキストリンポリマーの合成と性能評価」第64回高分子討論会(仙台)2015年9月
- [11] 甲野裕之、楠元領、北川拳汰「セルロースを用いた両性イオン高分子の合成とアニオン系色素除去能に関する研究」第64回高分子討論会(仙台)2015年9月
- [12] 大場淳矢、田原功太郎、磯野拓也、甲野裕之、佐藤敏文、田島健次「表面修飾によるナノフィブリル化バクテリアセルロースの機能化」第22回セルロース学会年次大会(札幌)2015年7月
- [13] 穴井ひかる、甲野裕之、橋本久穂、清水祐一「 ^{13}C 検出二次元NMR法のセルロース誘導体への適用」第22回セルロース学会年次大会(札幌)2015年7月
- [14] 甲野裕之、橋本久穂、清水祐一「酢酸セルロースのNMR解析～置換基効果と化学シフト加成性」第22回セルロース学会年次大会(札幌)2015年7月
- [15] 甲野裕之、楠元領、橋本久穂、清水祐一「セルロースを用いた両性高分子の合成とその凝集剤特性」第22回セルロース学会年次大会(札幌)2015年7月
- [16] 甲野裕之、橋本久穂、清水祐一「酢酸セルロースのNMR解析～置換基効果と化学シフト加成性」第64回高分子学会年次大会(札幌)2015年5月
- [17] 甲野裕之、穴井ひかる、橋本久穂、清水祐一「 ^{13}C 検出二次元NMR法によるセルロース誘導体の精密解析」第64回高分子学会年次大会(札幌)2015年5月
- [18] 甲野裕之、手代木拓「シクロデキストリン分岐キトサン水和ゲルの合成と薬剤包摂・徐放特性」第64回高分子学会年次大会(札幌)2015年5月
- [19] 甲野裕之「天然資源を活用した機能性材料の開発と高専研究活動の目指すところ」苫小牧テクノフォーラム2015(苫小牧)2015年3月
- [20] 中村太一、甲野裕之、橋本久穂、清水祐一「PEG架橋シクロデキストリンポリマー～分子運動とゲスト認識能に及ぼすPEG鎖長の影響」第49回高分子学会北海道支部冬季研究発表会(札幌)2015年1月
- [21] 坂口啓祐、尾崎雅人、甲野裕之、橋本久穂、清水祐一「イオン液体含有グアガム誘導体ゲルの構造解析とその誘電特性」(札幌)2015年1月26日
- [22] 甲野裕之、原英之、尾崎雅人「グアガムを用いた非イオン性ゲルの合成と包摂水のダイナミクス」第53回NMR討論会(大阪)2014年11月

- [23] 甲野裕之「様々な溶液をゲル化可能な多糖類ゲル化剤」イノベーション・ジャパン 2014～大学見本市&ビジネスマッチング(東京)2014年9月
- [24] 甲野裕之「様々な溶液を対象とした新規ゲル化剤」6次産業化と明日へのものづくり 新技術説明会(札幌)2014年8月
- [25] 甲野裕之、手代木拓「シクロデキストリン分岐キトサン水和ゲルの合成と薬剤包摂・徐放特性」第28回キチンキトサンシンポジウム(東京)2014年8月
- [26] 戸谷一英, 二階堂望, 中川裕子, 二階堂満, 長田光正, 甲野裕之, 伊藤良仁, 高橋亨, 小浜恵子, 古関健一, 石村惣一, 田代勝男, 谷口隆雄, 成廣和枝, 山下和拓「β-キチンナノファイバーの製造と物性評価」第28回キチンキトサンシンポジウム(東京)2014年8月
- [27] 甲野裕之「多糖をマトリックスとした機能性ゲルの構造解析」第55回固体NMR・材料フォーラム(横須賀)2014年5月
- [28] 甲野裕之、尾崎雅人、原英之「非イオン性ゲル化剤の合成と包摂された水の分子運動に関する研究」第55回固体NMR・材料フォーラム(横須賀)2014年5月
- [29] 戸谷一英, 片ヶ瀬峻哉, 古関健一, 中川裕子, 長田光正, 渡邊崇, 二階堂満, 甲野裕之, 伊藤良仁, 高橋亨, 小浜恵子, 谷口隆雄, 成廣和枝, 山下和彦, 石村惣一, 伊藤典久, 田代勝男「三陸のイカ中骨を活用した機能性素材の開発」日本農芸化学会2014年年度大会(東京)2014年3月
- [30] 中村太一、甲野裕之「新規シクロデキストリンポリマーの合成と分子認識能評価」第48回高分子学会北海道支部研究発表会(札幌)2014年1月
- [31] 手代木拓、甲野裕之「β-シクロデキストリン分岐キトサンゲルの合成と薬物包摂・徐放特性」第47回高分子学会北海道支部研究発表会(札幌)2014年1月
- [32] 甲野裕之、楠元領、中村太一、手代木拓、小室 明日翔、大條 郁生「CMC-PEG複合化ゲルの合成と蛋白質吸着徐放性」第48回高分子学会北海道支部研究発表会(札幌)2014年1月
- [33] H. Kono, A novel biodegradable super absorbent polymer (Bio-SAP) derived from cellulose and the advantage of its swelling behavior, International Conference of Global Network for Innovative Technology (IGNITE 2013), Penang, Malaysia, Dec. 2013.
- [34] 甲野裕之「シクロデキストリンを用いた水不溶性およびゲル状高機能分離材料」北海道地域5大学3高専1公設試 新技術説明会(東京)2013年11月
- [35] 甲野裕之「多糖類を活用した生分解性を

有する吸水性マテリアルの開発とその応用例」HiNT セミナー2013-6(札幌)2013年10月

- [36] 甲野裕之「生分解性吸水高分子」イノベーション・ジャパン 2013～大学見本市&ビジネスマッチング(東京)2013年8月

〔図書〕(計3件)

- [1] 甲野裕之、「第1章セルロース2節核磁気共鳴法によるセルロース材料の精密構造技術」農林水産物由来の高機能性材料、(株)エヌティーエス、印刷中(2016年9月発刊予定)
- [2] H. Kono, Chapter 13: Carboxymethyl cellulose hydrogels; Preparation, structural characterization, rheological and swelling properties, and enzyme degradability, I. H. Mondal (Ed.) in Cellulose and Cellulose Derivatives: Synthesis, Modification and Applications, Nova Science Publishers Inc., New York, pp. 243-258, 2015.9.2. (査読有).
- [3] 甲野裕之(分担執筆)「第6節 農業、植物「1」生分解性水和ゲルの合成と農業用途への展開生分解性水和ゲルの合成と農業用途への展開」ゲルの安定化と機能性付与・次世代への応用開発, pp.516～521, (株)技術情報協会、2013年10月31日

〔産業財産権〕

出願状況(計2件)

名称: ゲル化剤
 発明者: 甲野裕之
 権利者: 国立高等専門学校機構
 種類: 特許
 番号: 特願2014-118960
 出願年月日: 2014年6月9日
 国内外の別: 国内

名称: 吸水によりゲル状の形態を呈する複合ポリマー

発明者: 甲野裕之
 権利者: 国立高等専門学校機構
 種類: 特許
 番号: 特願2013-110007
 出願年月日: 2013年5月24日
 国内外の別: 国内

〔その他〕

ホームページ等
<http://www.tomakomai-ct.ac.jp/department/sem/abo/kono/>

6. 研究組織

(1)研究代表者
 甲野 裕之 (HIROYUKI KONO)
 苫小牧工業高等専門学校・准教授
 研究者番号: 70455096

(2)研究分担者

小島洋一郎 (YOUICHIRO KOJIMA)

苫小牧工業高等専門学校・教授

研究者番号：50300504