

学 位 論 文 題 名

Synthesis of Chitosan Derivatives with Highly Structural Regularities through Multi-Step Modifications

（多段階修飾による高度な構造規則性を有するキトサン誘導体の合成）

学位論文内容の要旨

多糖類は生物が生産する高分子化合物で、構造維持、エネルギー貯蔵あるいは生体内分子との相互作用など重要な役割を果たしている。多くの多糖類は単糖あるいは二糖を繰り返し単位としており、その種類およびグリコシド結合の位置や配向は明確に決定されている。しかし分子量および糖鎖の分岐・修飾の位置・量にばらつきがあることから、多糖類の分子全体の構造は非常に多様なものとなっている。この事が多糖類の物性の違いや生体内における多彩な機能発現の主要因となっている。

天然に豊富に存在する多糖類は様々な素材として利用されているが、有機合成化学的手法により多糖類の分子構造を改変し、天然にない新たな機能発現を目的とした研究も精力的に行われている。キトサンは、セルロースにつく生物資源であるキチンを脱アセチル化して得られる多糖であり、構造規則性、光学不斉、重金属イオン吸着性、生体適合性、および生分解性など多くの魅力的な性質を有することから、最近多くの分野で注目を集めている。その有効利用への期待から、キトサンに関してこれまでに膨大な数の研究がなされており、そして現在も活発に展開されている。

キトサンは分子内に1級アミノ基、1級および2級水酸基を有するため、その反応性の差を利用して官能基および位置選択的な化学修飾を行うことにより構造が制御された誘導体が容易に合成できると考えられている。しかし実際には、キトサンは一般的な有機溶媒に不溶であるために均一な条件で反応を行うことが困難であるうえ、キトサンが溶解性を示す酸性水溶液中で実施できる反応は非常に限定されたものである。さらに複雑なキトサン誘導体を合成するためには多段階の化学修飾を行うことが必要であるが、選択性の低い反応を組み合わせても構造が不明確な生成物を与えるのみである。多段階修飾の実現には各段階で高度に制御された特異的な反応を行うことが要求される。したがって、これまでに行われてきた多くのキトサンの化学修飾に関する研究は簡単な1-2工程の反応にとどまり、多段階の反応で構造の明確な誘導体を合成した報告例は非常に少ない。

このような背景から、本研究はキトサンの多官能性および構造規則性を活用した機能性材料を開発するために必須である多段階からなる精密な化学修飾法の実現を目的として行われた。位置選択的かつ定量的な化学修飾により誘導体の構造規則性を確保することで、多段階の修飾反応において構造が明確な最終生成物を構築することが可能になる。本論文は以上のようなキトサンの多段階修飾の実現を目指して、申請者独自の発想を検討した結果についてまとめたものである。

本論文第1章では、このような本研究の背景としてキトサンの性質、利用法ならびに従来法によるキトサンの化学修飾の問題点について詳細に述べ、本研究を発想した経緯および研究目的を明らかにした。

第2章では、キトサンの官能基の中で最も反応性が高いアミノ基を標的官能基として、均一な系で完全置換する方法について検討した結果について述べた。酸性水溶液中で行う従来法の環状酸無水物によるキトサ

ンの *N*-アシル化では、導入されたアシル基中のカルボキシル基が未置換のアミノ基とイオン対を形成して分子鎖が凝集、不溶化してアシル化の進行が停止する。そこで申請者は酸性条件下で反応を行った後、反応系の pH をイオン対が解離する塩基性に変化させて均一溶液とし反応を継続する手法を考案し、検討した。その結果、塩基性条件下で新たに環状酸無水物を添加することで未反応のアミノ基が円滑にアシル化されることを見出した。フタル酸、4-メチルフタル酸、トリメリット酸、シクロヘキサン-1,2-ジカルボン酸、*cis*-1,2,3,6-テトラヒドロフタル酸、コハク酸、グルタル酸、マレイン酸、およびイタコン酸の9種の環状酸無水物を使用したアシル化で、従来法を大きく上回る置換度 0.85-1.00 の高置換度 *N*-(カルボキシ)アシル化誘導体を得ることに成功した。

第3章では、これらの生成物を有機溶媒可溶性キトサン誘導体へ変換する方法について述べた。高置換度 *N*-(カルボキシ)アシルキトサンの側鎖に含まれる(カルボキシ)アミド構造のイミド環へ簡便に変換する方法として、熱環化反応を検討した。粉末状の試料を減圧下、190 °Cで5時間加熱することで、芳香族アシル基を有する3種の誘導体でほぼ完全なイミド化が進行したことが IR 測定により判明した。このうち *N*-フタロイルおよび *N*-(4-メチルフタロイル)キトサンはジメチルスルホキシドに溶解性を示し、¹³C NMR 測定によりその高い構造規則性が明らかになった。これらのキトサン誘導体は有機溶媒中で効率的に水酸基の修飾反応を行うための合成中間体として非常に有用であると考えられる。

第4章では、水酸基の化学変換における基本反応の一つであり、様々な求核置換反応の基質が得られるデオキシハロゲン化反応について検討した結果を述べた。非プロトン性極性有機溶媒である *N*-メチル-2-ピロリドン中、*N*-ハロコはく酸イミドとトリフェニルホスフィンを用いて1級水酸基の選択的ハロゲン化を行った。その結果、*N*-フタロイルキトサンは *N*-(4-メチルフタロイル)キトサンより置換度が高く、ハロゲンの導入率は塩素>臭素>ヨウ素の順であることが判明した。元素分析の結果から、反応温度 80 °Cで10モル当量の試薬を使用することにより、*N*-フタロイルキトサンのクロロ、プロモ、およびヨード体の置換度がそれぞれ 1.00、0.98、および 0.90 に達することが示された。さらに、¹³C NMR 測定から反応が C-6 位選択的に進行したことが確かめられた。

第5章では、6-クロロ-および6-プロモ-6-デオキシ-*N*-フタロイルキトサンの求核置換反応に対する反応性の確認および新規合成多糖の構築を目的として行った6-アミノ化および6-メルカプト化について述べている。アミノ化では、まずその前駆体を得るためにアジ化ナトリウムによる求核置換反応でC-6位のアジド化を検討した。クロロ体では高置換度のアジド誘導体を得ることができなかったが、プロモ体からは置換度 0.95 のアジド体を得ることに成功した。この結果はプロモ体が求核置換反応に対して有用な基質となることを示している。さらに、このアジド体をトリフェニルホスフィンで処理してホスホイミンとし、さらに生成物を単離することなくヒドラジン-水和物と反応させることにより、アジド基の還元および *N*-フタロイル基の除去を同時に行えることを見出した。生成物が目的とする6-アミノ-6-デオキシキトサンであることは、IR 測定によりアジド基および *N*-フタロイル基の消失していることならびに ¹³C NMR 測定により単糖の規則的繰り返し構造を有することから確認できた。一方、6-メルカプトを得る目的で、まずチオ酢酸カリウムの求核置換反応によるプロモ体のC-6位のチオアセチル化を行い、置換度 0.92 の生成物を得た。しかし、ヒドラジン処理による脱アセチル化および脱フタロイル化を試みたところ、得られた生成物は極性有機溶媒および酸性水溶液に不溶であった。IR 測定によりカルボニル構造の消失から6-デオキシメルカプトキトサンの構造が推定されるが、NMR 等による構造決定までは至っていない。

第6章では本研究の結果について総括している。

本研究では、構造規則性多糖であるキトサンが持っている3種の官能基の反応性の差異を利用して、官能基特異的かつ定量的に化学変換する手法を見出し、その結果として、これまで実現が困難であったキトサンの効率的な多段階反応を達成することができた。このような高度に制御された段階的な化学変換は様々な構造を有するキトサン誘導体の分子設計と合成を可能とし、キトサンの機能化に関する研究の進展に大きく寄与すると期待される。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 坂 入 信 夫

副 査 教 授 西 則 雄

副 査 教 授 西 村 紳一郎 (大学院理学研究科)

副 査 教 授 浦 木 康 光 (大学院農学研究科)

学 位 論 文 題 名

Synthesis of Chitosan Derivatives with Highly Structural Regularities through Multi-Step Modifications

(多段階修飾による高度な構造規則性を有するキトサン誘導体の合成)

多糖類は生物が生産する高分子化合物で、構造維持、エネルギー貯蔵あるいは生体内分子との相互作用など重要な役割を果たしている。多くの多糖類は単糖あるいは二糖を繰り返し単位としており、その種類およびグリコシド結合の位置や配向は明確に決定されている。しかし分子量および糖鎖の分岐・修飾の位置・量にばらつきがあることから、多糖類の分子全体の構造は非常に多様なものとなっている。この事が多糖類の物性の違いや生体内における多彩な機能発現の主要因となっている。

天然に豊富に存在する多糖類は様々な素材として利用されているが、有機合成化学的手法により多糖類の分子構造を改変し、天然にない新たな機能発現を目的とした研究も精力的に行われている。キトサンは、セルロースにつく生物資源であるキチンを脱アセチル化して得られる多糖であり、構造規則性、光学不斉、重金属イオン吸着性、生体適合性、および生分解性など多くの魅力的な性質を有することから、最近多くの分野で注目を集めている。その有効利用への期待から、キトサンに関してこれまでに膨大な数の研究がなされており、そして現在も活発に展開されている。

キトサンは分子内に1級アミノ基、1級および2級水酸基を有するため、その反応性の差を利用して官能基および位置選択的な化学修飾を行うことにより構造が制御された誘導体が容易に合成できると考えられている。しかし実際には、キトサンは一般的な有機溶媒に不溶であるために均一な条件で反応を行うことが困難であるうえ、キトサンが溶解性を示す酸性水溶液中で実施できる反応は非常に限定されたものである。さらに複雑なキトサン誘導体を合成するためには多段階の化学修飾を行うことが必要であるが、選択性の低い反応を組み合わせても構造が不明確な生成物を与えるのみである。多段階修飾の実現には各段階で高度に制御された特異的な反応を行うことが要求される。したがって、これまでに行われてきた多くのキトサンの化学修飾に関する研究は簡単な1-2工程の反応にとどまり、多段階の反応で構造の明確な誘導体を合成した報告例は非常に少ない。本論文は、以上のような背景から、キトサンの多官能性および構造規則性を活用した機能性材料を開発するために必須である多段階からなる精密な化学修飾法の実現を目指し行った申請者独自の研究結果をまとめたものである。

まず始めに、申請者は、キトサンの官能基の中で最も反応性が高いアミノ基を標的官能基として、均一な系で完全置換する方法について検討した。酸性水溶液中で行う従来法の環状酸無水物によるキトサンのN-アシル化では、導入されたアシル基中のカルボキシル基が未置換のアミノ基とイオン対を形成して分子鎖が凝

集、不溶化してアシル化の進行が停止する。そこで申請者は酸性条件下で反応を行った後、反応系の pH をイオン対が解離する塩基性に変化させて均一溶液とし反応を継続する手法を考案し、検討した。その結果、塩基性条件下で新たに環状酸無水物を添加することで未反応のアミノ基が円滑にアシル化されることを見出した。フタル酸、4-メチルフタル酸、トリメリット酸、シクロヘキサン-1,2-ジカルボン酸、*cis*-1,2,3,6-テトラヒドロフタル酸、コハク酸、グルタル酸、マレイン酸、およびイタコン酸の9種の環状酸無水物を使用したアシル化で、従来法を大きく上回る置換度 0.85-1.00 の高置換度 *N*-(カルボキシ)アシル化誘導体を得ることに成功した。

ついで、これらの生成物を有機溶媒可溶なキトサン誘導体へ変換する方法について調べた。高置換度 *N*-(カルボキシ)アシルキトサンの側鎖に含まれる(カルボキシ)アミド構造のイミド環へ簡便に変換する方法として、熱環化反応を検討した。粉末状の試料を減圧下、190 °Cで5時間加熱することで、芳香族アシル基を有する3種の誘導体でほぼ完全なイミド化が進行したことが IR 測定により判明した。このうち *N*-フタロイルおよび *N*-(4-メチルフタロイル)キトサンはジメチルスルホキシドに溶解性を示し、¹³C NMR 測定によりその高い構造規則性が明らかになった。これらのキトサン誘導体は有機溶媒中で効率的に水酸基の修飾反応を行うための合成中間体として非常に有用であると考えられた。

さらに、水酸基の化学変換における基本反応の一つであり、様々な求核置換反応の基質が得られるデオキシハロゲン化反応について検討した。その結果、非プロトン性極性有機溶媒である *N*-メチル-2-ピロリドン中、*N*-ハロこはく酸イミドとトリフェニルホスフィンを用いて1級水酸基の選択的ハロゲン化を行った。その結果、*N*-フタロイルキトサンは *N*-(4-メチルフタロイル)キトサンより置換度が高く、ハロゲンの導入率は塩素>臭素>ヨウ素の順であることが判明した。元素分析の結果から、反応温度 80 °Cで10モル当量の試薬を使用することにより、*N*-フタロイルキトサンのクロロ、プロモ、およびヨード体の置換度がそれぞれ1.00、0.98、および0.90に達することが示された。さらに、¹³C NMR 測定から反応がC-6位選択的に進行したことが確かめられた。

最終工程では、6-クロロ-および6-プロモ-6-デオキシ-*N*-フタロイルキトサンの求核置換反応に対する反応性の確認および新規合成多糖の構築を目的として行った6-アミノ化および6-メルカプト化について述べている。アミノ化では、まずその前駆体を得るためにアジ化ナトリウムによる求核置換反応でC-6位のアジ化を検討した。反応温度 80 °C、試薬量 10モル当量の条件で、クロロ体からは高置換度のアジド誘導体を得ることができなかったが、プロモ体からは置換度 0.95 のアジド体を得ることに成功した。この結果はプロモ体が求核置換反応に対して有用な基質となることを示している。さらに、このアジド体をトリフェニルホスフィンで処理してホスホイミンとし、さらに生成物を単離することなくヒドラジン-水和物と反応させることにより、アジド基の還元および *N*-フタロイル基の除去を同時に行えることを見出した。生成物が目的とする6-アミノ-6-デオキシキトサンであることは、IR 測定によりアジド基および *N*-フタロイル基の消失していることならびに ¹³C NMR 測定により単糖の規則的繰り返し構造を有することから確認できた。一方、6-メルカプトを得る目的で、まずチオ酢酸カリウムの求核置換反応によるプロモ体のC-6位のチオアセチル化を行い、置換度 0.92 の生成物を得た。しかし、ヒドラジン処理による脱アセチル化および脱フタロイル化を行った。得られた生成物は極性有機溶媒および酸性水溶液に不溶であったため NMR 等による構造決定は行っていないが、IR測定によりカルボニル構造の消失から6-デオキシメルカプトキトサンの構造が推定された。

以上、本研究では、構造規則性多糖であるキトサンが持っている3種の官能基の反応性の差異を利用して、官能基特異的かつ定量的に化学変換する手法を見出し、その結果として、これまで実現が困難であったキトサンの効率的な多段階反応を達成することができた。このような高度に制御された段階的な化学変換は様々な構造を有するキトサン誘導体の分子設計と合成を可能とし、キトサンの機能化に関する研究の進展に大きく寄与すると期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、また研究者として誠実かつ熱心であり、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士(地球環境科学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。