

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 栗田 侑典

キチンは、エビやカニなどの甲殻類、イカ、貝など、多様な生物によって生産される構造多糖の一種である。地球上での生産量は、最大のバイオマスであるセルロースに匹敵するが、セルロースは産業レベルでの利用が拡大してきたが、キチンの利用はほとんど進んでいない。キトサンは天然にも存在するが、一般的にはキチンの C2 位にアミド結合しているアセチル基を濃アルカリ水溶液で加熱処理して切断し、グルコサミン残基が全体の約 70～80%以上となって希酸に可溶なヘテロ多糖と定義できる。キトサンは他の天然多糖と異なり、大部分の C2 位に 1 級アミノ基を有しているため、特有の化学反応により C3 位、C6 位の水酸基と区別して、位置選択的な誘導体化の可能性を有している。そこで、本研究では反応の効率と位置選択性、環境負荷の観点から、水系でのキトサンの *N* アルキル化反応に関する基礎的知見を得ることを目的とし、更に反応生成物の構造および特性解析を通じて *N* アルキル化キトサンの医療分野への利用について検討した。

まず、アセトンとレブリン酸によるキトサンへの還元的 *N* アルキル化反応による *N* イソプロピルキトサンおよび *N* カルボキシブチルキトサン調製における反応条件について検討し、最大置換度を与える初期 pH が 4.5～5.0 であることが明らかにした。また、C2-アミノ基に対して 5 倍量のアセトンを添加することで、キトサン中の全てのアミノ基を *N* イソプロピル化することができた。これらの結果に基づき、還元的 *N* アルキル化によりキトサンに TEMPO を導入することで、有機ラジカルポリマーの調製とその有機ラジカル電池への適用について検討した。完全に脱アセチル化したキトサンと 4-oxo-TEMPO を還元的 *N* アルキル化反応により結合させ、置換度 0.89 の *N* (2,2,6,6-テトラメチルピペリジノキシ)キトサンが得られた。このキトサン誘導体は、サイクリック・ボルタンメトリーにより繰り返し酸化還元することが可能であった。しかし、酸化過程でのキトサンのアミノ基による副反応が避けられず、繰り返して安定な充放電が必要とされる二次電池としての使用は困難であった。

続いて、キトサン中の C2 アミノ基と、C3 / C6 水酸基間の反応性の差異に着目し、ハロゲン化アルキルと炭酸水素ナトリウムを用いて中～弱塩基性の水中での *N* アルキル化反応を検討した。その結果、C2 アミノ基のみを選択的にアルキル化可能であることを見出した。特に *N* カルボキシメチルキトサンと *N* ベンジルキトサンについては、本反応により 1 つのアミノ基に 2 つのアルキル基が導入可能で、前述の還元的 *N* アルキル化反応よりも、高い効率で *N* カルボキシメチルキトサンが調製でき、更に反応条件を最適化選択することで、均一な化学構造を有する *N,N* ジカルボキシメチルキトサンが得られた。

本法で調製した *N* あるいは *N,N* ジカルボキシメチルキトサンは広い pH で水可溶化したが、一部の狭い pH 領域で白濁あるいは沈殿した。この挙動は *N* カルボキシメチルキトサン中の電離したカルボキシル基由来のアニオン性部分と、プロトン付加によってカチオン性となった C 2 位の

アンモニウムイオン部分の荷電バランスで説明でき、等電点付近で分子間あるいは分子内での静電反発を失うためである。また、この等電点の pH 付近では肉眼では認められないが、*N* カルボキシメチルキトサン 1 分子が分子内でポリオン錯体を形成し、10 nm 未満の分子単位のナノ粒子を形成していることが明らかになった。このような 1 分子でのナノ粒子形成は *N* カルボキシメチルキトサンに特有な挙動である。

上記のような pH 応答性の *N* カルボキシメチルキトサンナノ粒子は選択的薬物輸送(ドラッグデリバリーシステム)への利用の可能性がある。そこで、抗がん剤の一種であるマイトマイシン C を *N* カルボキシメチルキトサンナノ粒子に担持させたところ、マイトマイシン C の放出速度は pH 10 で最も高く、等電点付近の pH2 では最も低い結果となった。すなわち、pH に依存して薬剤放出速度を制御できることから、ドラッグデリバリーシステムに適用できる条件を満たしていることが判明した。一方、課題としては薬剤の担持比率を上げることなどである。

単離精製したキチンは、その高結晶性のマイクロフィブリル表面に比較的高密度で C2 アミノ基を有している。そこで、上記の炭酸水素ナトリウムを助剤とする *N* アルキル化反応を単離精製した固体キチンの表面化学修飾に適用した。その結果、キチンの結晶構造、結晶化度、結晶サイズを変化させることなく、フィブリル表面の C2 アミノ基に電離によりマイナス荷電を有するカルボキシメチル基を導入することができた。得られた *N* カルボキシメチル化キチンを水中で超音波による解繊処理したところ、キチンの由来によって異なる形態のナノファイバーあるいはナノウィスカーの水分散液を得ることができた。しかし、固体のキチンに対する不均一な反応であるため、*N* カルボキシメチル基をアミノ基量に対して 1:1 以上導入量することは困難であり、ナノファイバー化収率が低いという課題があった。しかし、最適な *N* アルキル化反応条件を見出すことで、本方法により高結晶性キチンフィブリルの水中あるいは有機溶剤中でのナノ分散化が可能であると考えられる。

以上のように、キトサンおよびキチン結晶表面の *N* アルキル化の反応条件の検討と、得られた反応生成物の構造および特性解析により、キトサンの新規誘導体化法を明らかにした。また、得られた新規反応生成物は pH 応答性の 1 分子型のナノ粒子形成が可能であった。更に、*N* アルキル化反応を適用することでキチンの結晶表面の C2 アミノ基に対する選択的な化学改質などを提案できた。これらの研究成果は、学術的にも技術的にも貴重であり、キチンおよびキトサンの基礎科学はもとより、新規バイオ系ナノ材料開発分野等の観点からも高く評価される。従って、審査委員一同は、本論文が博士(農学)の学位論文として価値あるものと認めた。