

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 田村 直之

---

(1→3)- $\beta$ -グルカンは天然に広く存在し、抗ガン作用や抗ウィルス作用等の生理活性や、結晶では三重らせんという特徴的な構造を持つ多糖として知られている。そのため、医薬品などへの応用が期待される物質として研究が行われている。直鎖状(1→3)- $\beta$ -グルカンとしてカードラン（低結晶性）やパラミロン（高結晶性）が挙げられるが、水不溶性のため化学改質により水溶性を付与することが必要となる。そこで、多糖の化学改質法として 2,2,6,6-テトラメチルピペリジン-1-オキシラジカル（TEMPO）を触媒量用いた 1 級水酸基の酸化法に着目した。TEMPO 触媒酸化の特徴として、水系かつ温和な反応条件で、1 級水酸基を位置選択的にカルボキシル基へと酸化可能であることが挙げられる。この反応を多糖類に適用すると、多糖の 1 級水酸基である C6 位の水酸基のみが選択的に酸化されることが報告されている。

一方、これまでの TEMPO 触媒酸化は得られる反応生成物が著しく低分子化してしまうことが課題であった。これは、弱アルカリ性条件での酸化反応であるため、再生セルロースやデンプン等の多糖類に適用した場合には、反応中間体として生成するアルデヒド基による $\beta$ 脱離反応や反応中に生成する活性ラジカル種などの副反応により、グリコシド結合の開裂が起こるためと考えられている。これまでも、低分子化を抑えるために様々な酸化反応条件を検討されたが、いずれも多糖の低分子化の抑制には成功していない。このことから、弱アルカリ性条件が低分子化の主原因であると考えた。

そこで本研究では、近年有機溶剤系で報告された弱酸性下での TEMPO 触媒酸化反応を水系で適用した。反応条件を中性から弱酸性とすることで、弱アルカリ性条件による副反応が抑制されることが期待される。これまで TEMPO を用いた多糖類の酸化において、分子量が 100000 を超えるような高分子量のポリグルクロン酸を調製した報告例はない。本研究においては、弱酸性下での TEMPO 触媒酸化を完全水系で(1→3)- $\beta$ -グルカンに適用し、得られた生成物の分析を行うことにより、反応条件と生成物の分子量や化学構造との関連について、従来の弱アルカリ下での反応と比較検討した。また、(1→3)- $\beta$ -グルカンの三重らせん構造に着目し、高結晶性のパラミロンから三重らせん構造を有した構造体の単離を検討した。

弱アルカリ性 TEMPO 触媒酸化を水不溶性のパラミロン及びカードランに適用し、得られた生成物の  $^{13}\text{C}$ -NMR スペクトル及び重合度測定を行った。その結果、C6 位の 1 級水酸基がほぼすべてカルボキシル基へと酸化された水可溶性のポリグルクロン酸を得ることができた。また、重合度測定から、元のパラミロン及びカードランの重合度 1670、6790 に対

し、酸化後では、68、86 となってしまった。

続いて、低結晶性のカードランに弱酸性 TEMPO 触媒酸化を適用し、得られた生成物の化学構造及び重合度測定から反応最適条件の検討を行った。その結果、C6 位の 1 級水酸基がほぼすべてカルボキシル基へと酸化され、かつ重合度が 1000 を超えるポリグルクロン酸（カーデュロン酸）を調製可能な条件を見出した。

弱酸性 TEMPO 触媒酸化をカードランに適用することで調製されたカーデュロン酸は、これまで TEMPO 触媒酸化を用いて調製されたポリグルクロン酸の中で最も高重合度であった。カーデュロン酸と類似した化学構造を持つアルギン酸ナトリウムやカルボキシメチルセルロース（CMC）が一般に増粘剤として用いられていることを踏まえ、カーデュロン酸水溶液の粘弾性を検討した。その結果、カーデュロン酸水溶液は、アルギン酸ナトリウムや CMC 水溶液と比較すると、同濃度において低粘度であり、高濃度までゲル化せずに分子分散状態を保つことが明らかになった。また、二価金属イオンを少量添加することで、効率的に分子間架橋を形成しゲル化することが示された。

高結晶性のパラミロンに弱酸性 TEMPO 触媒酸化を適用し、三重らせん構造体の単離を検討した。その結果、パラミロンでは 72 時間の反応においても TEMPO 酸化パラミロンの水不溶成分が約 80%存在していた。また、水不溶成分の回収率は、反応に用いる緩衝液の濃度を高くすることで向上可能なことが示された。TEMPO 酸化パラミロンの水不溶成分を水中で超音波処理を行うことで、ナノフィブリルに分散可能なことが見出された。調製した TEMPO 酸化パラミロンナノフィブリルの幅を評価したところ、X 線回折により得られた三重らせん構造の直径と同程度の幅であったことから、TEMPO 酸化パラミロンナノフィブリルはパラミロンの三重らせん構造体を単離したものであることが示唆された。

以上のように、弱酸性 TEMPO 触媒酸化という手法を用いることにより、高重合度ポリグルクロン酸の調製と水溶液中での金属イオンとの複合材料化、パラミロンの三重らせん構造体の単離などを明らかにすることができ、学術的にも応用技術としても貴重な成果を得ることができた。これらの研究成果は、(1→3)- $\beta$ -グルカンの基礎科学はもとより、新規バイオ系材料開発分野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。