

全メチル化シクロデキストリンの合成

Danai Sujaiya^{*1} 高橋 圭子^{*2}

Synthesis of permethylated cyclodextrins

Danai Sujaiya^{*1} Keiko Takahashi^{*2}

Cyclodextrins (CyDs) are naturally occurring α -(1,4)-linked cyclic maltooligosaccharides, consisting of six, seven to eight glucopyranosyl residues. Three hydroxyl groups are situated on the rims of the hydrophobic cavity. Treatment with methyl iodide and sodium hydride (NaH) in dry DMF gave permethyl- $O\alpha$ -, γ -CyD and permethyl- O -hydroxypropyl- β -CyD. Purification was carried out with column chromatography and identification were confirmed by NMR and MALDI TOF-MS spectra.

1. 緒言

1.1. メチル化シクロデキストリン

シクロデキストリン (Cyclodextrin; CyD) は、D-グルコースが α -1,4 結合で環状に連なった環状オリゴ糖である。疎水性相互作用を駆動力として、中央の空洞の大きさに応じた分子をゲスト分子として包接するユニークな特性を有しており、包接に伴う分子の安定化や水溶化は食品、医薬品から機能性材料に至るまで、多様な分野で応用展開されている。^{1),2)} CyD の水酸基に修飾を施すと CyD の機能は飛躍的に拡大する。特定の位置に特定の個数の機能性残基を導入するレギオ特異的修飾^{3),5)}と全水酸基修飾に大別される。後者ではメチルエーテル化 CyD (MCyD:メチル化と称することが多いので本論文ではメチル化と表す)、ヒドロキシプロピル化 CyD (HPCyD)、アセチル化 CyD (AcCyD) が報告されている。MCyD の生体機能への応用展開は早く、⁶⁾ 1980 年代に既に百日ワクチン生産に血液培地の代替えとして使用されている。^{7),9)} 当研究室でも、MCyD が大腸菌細胞膜に作用し、 $2\text{ADP}=\text{AMP}+\text{ATP}$ 反応を促進されることを報告している。^{10),11)} MCyD は高水溶性とクロロホルム、四塩化炭素などの有機溶媒溶解性を有し、空洞縁の水酸基間の水素結合が消失するためグリコシド結合が比較的自由に回転するようになる。また、親油性となるため細胞膜標的性が向上し、この性質を利用した抗癌剤への応用なども検討されてきた。¹²⁾⁻¹⁴⁾

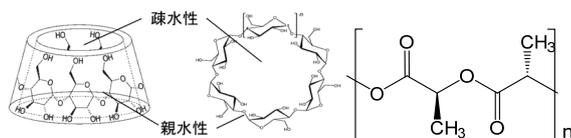
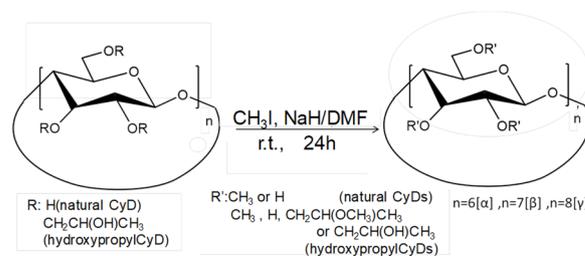


Figure 1. Cyclodextrin(left) and PLLA(right).



Scheme 1. Reaction process.

1.2. シクロデキストリンによる高分子改質

CyD は機能性材料としても注目されるようになった。ポリエチレングリコール (PEG) が約 17 個の α -CyD を包接する「分子のネックレス=疑ポリロタキサン」の発見に端を発し、¹⁵⁾ 多くの CyD を含むゲルや高分子が報告されてきた。超分子材料である。一般に、化学的に架橋された高分子材料では架橋に伴う不均一性の増大のために、外部からの張力が最も短い高分子鎖に集中し、高分子の潜在強度を十分に活かすことなく破断することが多い。架橋された高分子材料に関するこの本質的な問題は、架橋点が自由に動き、高分子鎖の張力が均等になり、ゲル全体の構造および応力の不均一性を分散することを可能とした超分子高分子材料が解決した。¹⁵⁾⁻¹⁹⁾ 最近では繊維や塗料などの液体を含まない高分子材料にも展開され、高分子材料全般において超分子の有効性が拡大展開されつつある。自己修復性を有する材料や非常に強い「タフポリマー」も展開中である。このような材質としてトウモロコシでんぷんを原材料としたシクロデキストリンが「鍵」を握っていることは大変興味深い。

さて、ポリ-L-乳酸 (PLLA) もトウモロコシでんぷんなどから合成されるバイオプラスチックの一つである。^{20),21)} バイオプラスチックは CO_2 を削減し微生物によって分解

*1 東京工芸大学生命環境化学科卒業研究生 *2 生命環境化学科教授
2018年3月26日 受理

されるため石油資源使用量の節約、二酸化炭素排出制御など地球環境の保全に大きく寄与することが期待されている。すでに工業用材料として量産プラントが立ち上がっており、自動車の内装材、食品・化粧品容器、農業用シート、家電品部材として用途が広がっている。比較的剛性、引っ張り強度および透明性も高いが、耐熱性と耐衝撃性が低いことが欠点である。分子レベルで PLLA の結晶構造や分子構造制御の検討がされている。²²⁾

本研究室では PLLA の改質を CyD とのロタキサン形成により実現することを意図し、PLLA と CyD との相互作用について報告してきた。²³⁾ β -CyD と γ -CyD は PLLA と相互作用をし、PLLA を包接することが判明したが、PLLA 乳酸単位と CyD を 1:1 の割合で作成したフィルムはブリトルとなり、改質は実現できなかった。CyD と PLLA の相溶性の問題改善が有効と推定し、Heptakis(2,3,6-O-trimethyl)- β -CyD (PM β CyD) を添加したキャストフィルムを作成したところ、10%添加で最も延伸性・弾性率が高く、透明性を有する PLLA フィルムが得られた。DSC によると、融点の低下、半値幅増加、およびラメラサイズの低下と広分布化が観測された。NMR では PM β CyD と PLLA 混合による有意なシグナル変化は観測されず、PM β CyD の PLLA 包接の証拠は得られていない。おそらく PM β CyD は PLLA の分子運動を制御し、結晶化を妨げ、非晶質と結晶質の分布を制御し、いわゆる「可塑剤」として PLLA 改質に寄与したのであろう (Figure 2)。²⁴⁾

1. 3. 本研究の目的

MeCyD は高分子との相溶性を有し、これまでにはない嵩高い形状を有する可塑剤として機能する可能性がある。現在 PM β CyD だけが市販されて入手可能である。本研究では新規可塑剤として、 β -CyD と違う嵩高さの α -、 γ -CyD、及び HPCyD の全メチル化を既報^{25), 26)}に準じて行った。その結果を報告する。

2. 実験および方法

2. 1. 試薬

溶媒、試薬は特級またはそれに準ずるものを用いた。各種 CyD は日本食品化工(株)製を 50 °C にて 24 時間真空乾燥した物を用いた。水素化ナトリウム(NaH)は関東化学(株)製有機合成用(油 55%含有)をヘキサンにて用いて常法に従い処理し用いた。他はそのまま用いた。なお、ヒドロキシプロピル CyD の平均置換度は 5.4 基/CyD 分子である。

2. 2. 機器および分析

核磁気共鳴スペクトル(NMR)は JEOL NM-ECZ500R を用い、5mm ϕ 試料管で測定した。標準的には約 10 mg の CyD

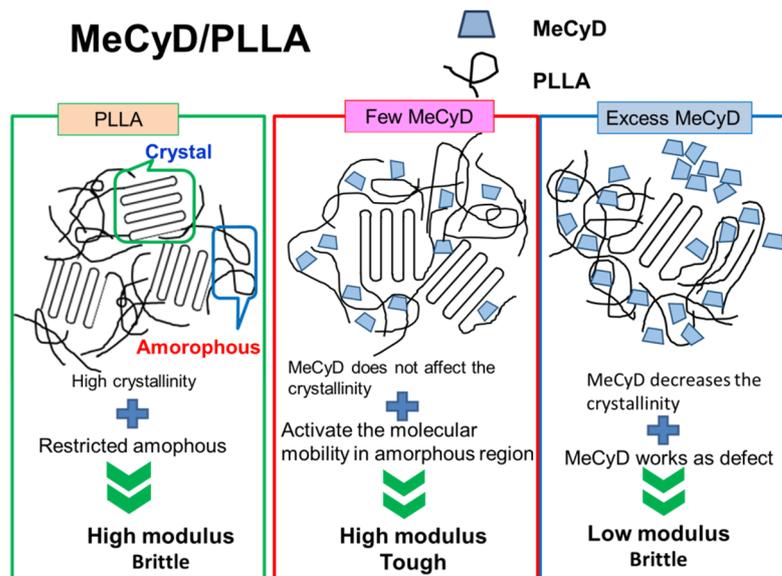


Figure 2. Suggested mechanism of the structure of PLLA with M β CyD.

を重クロロホルム(関東化学株式会社製 99.8%) 0.75 ml に溶かし、30°Cにて測定した。

マトリックス支援レーザー脱離イオン化法飛行時間型質量分析計 (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS)は AB SCIEX 社製 TOF/TOFTM5800 にて、2,5-ジヒドロキシ安息香酸(2,5-dihydroxybenzoic acid; DHB 東京化成工業株式会社製)をマトリックスとし、試料をあらかじめ作成したマトリックス溶液 (20 μ l)に加え、Opti-TOFTM384-Well Inset (123 \times 81 mm)プレートに滴下して測定した。

薄層クロマトグラフィー(Thin Layer Chromatography: TLC) 検出はアニスアルデヒド 1.9 mL, 硫酸 2.5 mL, 酢酸 1.2 mL, エタノール 68 mL を混合したアニスアルデヒド試薬を用いた。

2. 3. 合成

Hexakis(2,3,6-O-trimethyl)- α -CyD: TM α CyD

α -CyD (3.53 g/3.0 mmol)を窒素雰囲気下、滴下ロートを取り付けた 300 mL の三口フラスコにいれ、乾燥 *N,N*-ジメチルホルムアミド (DMF) 200 mL に溶解し、ヘキサン処理した水素化ナトリウム (NaH; 5.37 g/0.129 mol) を氷浴下に加え、さらにヨウ化メチル (CH₃I: 6.00 mL /0.96 mol) を滴下し、室温で 24 時間反応させた。クロロホルム:メタノール=20:1 v/v を展開溶媒とした TLC にて、原料スポットの消失を確認したのち、40 mL のメタノールを添加して反応を停止させた。100 mL のクロロホルムで 3 回抽出した後、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。溶媒を減圧留去して、得られた粗生成物をクロロホルム:メタノール=20 : 1v/v を溶離液としたシリカゲルカラムクロマトグラフィーにて常法に従い精製し、白色固体(1.02 g, 収率 23.0 %)を得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, ppm): δ 3.12 (dd, 6H, H₂), δ 3.38 (s, 18H, CH₃), δ 3.48 (s, 18H, CH₃), δ 3.64 (s, 18H, CH₃), δ 3.49

Table 1. Conditions and results of methylation.

run	conditions						yield /g (%)
	CyD	CyD/g(mmol)	NaH/g(mol)	CH ₃ I/mL(mol)	temp./°C	time/h	
1	α -CyD	6.00 (6.0)	8.20 (0.570)	43.60 (0.700)	r.t. (26)	24	n.d. ^{a)}
2	α -CyD	3.53 (3.0)	5.37 (0.129)	6.00 (0.096)	r.t. (20)	24	1.08(23)
3	γ -CyD	3.53 (2.6)	5.37 (0.129)	6.00 (0.096)	r.t. (15)	48	1.84(41)
4	HP α -yD	3.54 (2.8)	5.39 (0.129)	5.97(0.096)	r.t. (15)	48	— ^{b)}
5	HP β -CyD	4.43 (3.0)	12.26 (0.162)	7.53 (0.121)	r.t. (15)	48	— ^{b)}

a)黄色油状物で収量秤量不能. b)白色固体生成収量未測定

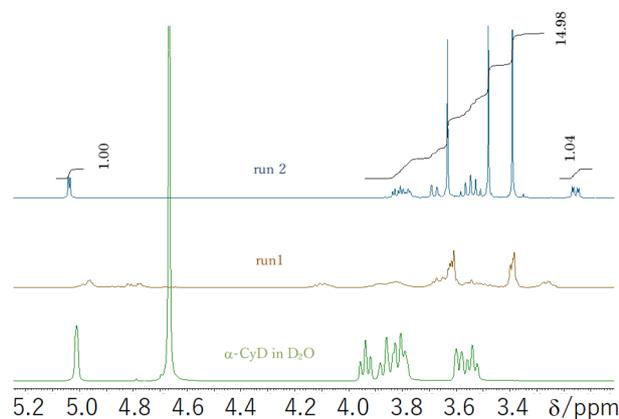
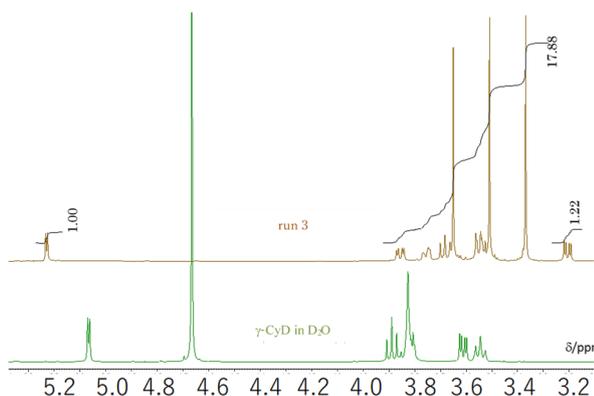
– 3.82 (t, t, m, dd 30H, H3, H4, H5, H6, H6'), δ 5.02 ppm (d, 6H, H1), MALDI TOF-MS: m/z Calcd. for C₅₄H₉₆O₃₀Na⁺: 1247; Found 1247.66.

Octakis(2,3,6-O-trimethyl)- γ -CyD:TM γ CyD

γ -CyD (3.53 g/2.6 mmol)を窒素雰囲気下 200 mL の乾燥 DMF に溶解させ, NaH と CH₃I を用いて, α -CyD と同様に処理し, 白色固体(1.9 g, 収率 41%) を得た. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, ppm): δ 3.19 (dd, 8H, H2), δ 3.35 (s, 24H, CH₃), δ 3.48 (s, 24H, CH₃), δ 3.64 (s, 24H, CH₃), δ 3.50 - 3.85 (40H, H3, H4, H5, H6, H6'), δ 5.23 ppm (d, 8H, H1), MALDI TOF-MS: m/z Calcd. for C₅₄H₉₆O₃₀Na⁺: 1655; Found 1655.26.

PermethylHP-CyD:PMHPCyD

HP- α -CyD (3.54 g/2.8 mmol), HP- β -CyD (4.43 g/ 2.8 mmol)

Figure 3. ¹H NMR spectra of TM- α -CyD in CDCl₃ and α -CyD.Figure 4. ¹H NMR spectra of TM- γ -CyD in CDCl₃.

を乾燥 DMF 200 mL に溶解し, NaH (5.39 g/0.13 mol) CH₃I (5.97 mL, 0.096 mol)にて, α -CyD と同様にして反応, 精製をし, TLC にて 1 スポットの白色固体を得た.

3. 結果と考察

一般にメチル化は水の存在を忌避雰囲気下, 強塩基と共に進行させる. 安定のため石油中保管している NaH そのままでも反応進行する系もあるが, 本反応ではヘキサン未処理 NaH を用いた反応系では, 最終的に油状黄色液体しか得られなかった. 油状黄色液体の NMR スペクトルパターンはブロードで原料であるシクロデキストリン由来と推定されるシグナルも観測された. メチルエーテル基由来の鋭いシグナルは観測されていない. 石油由来のアルカン由来と推定されるシグナルが観測され, この反応では NaH ヘキサン処理は必要であった (Figure 3, run 1). 反応進行に従い, TLC において高い R_f 値のスポットが複数観測され, 最終的には 0.70 単一スポットとなった.

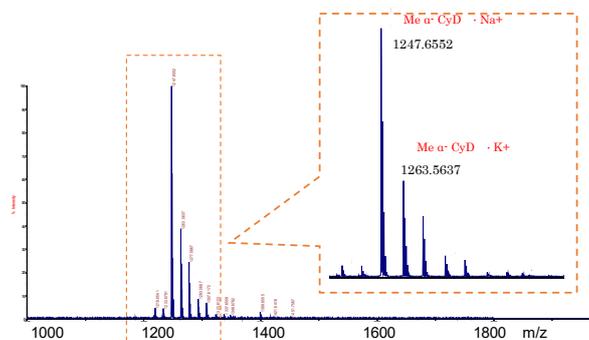


Figure 5. MALDI TOF-MS spectrum of run 2.

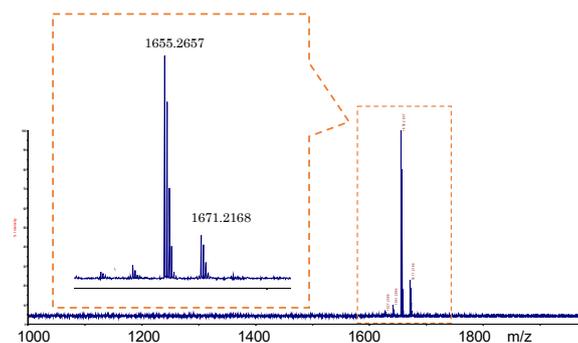


Figure 6. MALDI TOF-MS spectrum of run 3.

反応条件と収率を Table 1 に表す. run 3, 4, 5 は反応温度が低いいため長い反応時間を要した. 各 CyD 誘導体の反応性に起因しているのではないと判断している. MALDI TOF-MS によると,それぞれ 1247.66, 1655.26 のピークを観測し,これはそれぞれの理論値に Na^+ を加えた分子量 $[\text{M}+\text{Na}^+]=1247, 1655$ とほぼ一致した(Figure 5, 6). さらに, ^1H NMR において,メチル基由来のシグナルが, CyD 構成グルコース残基由来のシグナルとともに過不足なく観測され,積分比よりグルコース残基とメチル基の比は 1:9 であることが確認された (Figure 3, 4).

4. 結論

構成グルコースの 2, 3, 6 位水酸基がすべてメチル化した CyD すなわち全メチル化 CyD の合成が達成された. MCyD 合成はこれまでも報告されていたが, 未反応水酸基を有する異性体の混入が報告されていた. 本条件は古典的条件より溶媒も多く, CH_3I の当量数も少ない. MS により全メチル化が確認できたことは全メチル化 CyD 応用展開の一助となろう.

謝辞

本研究にあたり合成について貴重な情報をご教授いただきました同志社大学理工学部准教授北岸宏亮博士に深く感謝いたします.

PLLA 研究の機会をいただき, 高分子評価研究のご教授をいただきました群馬大学大学院理工学府山延健教授に深く感謝いたします.

参考文献

- 1) M. L. Bender and M. Komiyama, "Cyclodextrin Chemistry", Springer-Verlag, New York, 1978.
- 2) ナノマテリアルシクロデキストリン, 日本シクロデキストリン学会編, 米田出版 2005.
- 3) K. Takahashi, K. Hattori and F. Toda, *Tetrahedron Lett.*, **25**, 3331-3334, (1984).
- 4) S. Fujiwara, and K. Takahashi, *Supramol. Chem.*, **23**, 156-159, (2011).
- 5) K. Takahashi, K. Andou, and S. Fujiwara, *Polymer J.*, **44**, 850-854, (2012).
- 6) K. Uekama, F. Hirayama, and T. Irie, *Chem. Rev.*, **98**, 2045 - 2076, (1998)
- 7) Y. Suzuki, A. Imaizumi, H. Sato, and Y. Sato, *Jpn. J. Med. S.*, **36**, 111, (1983).
- 8) A. Imaizumi, Y. Suzuki, S. Ono, H. Sato, and Y. Sato *J. Clinobiol.*, **7**, 781, (1983).
- 9) A. Imaizumi, Y. Suzuki, S. Ono, H. Sato, and Y. Sato *Inf. Immun.*, **41**, 1138, (1983).
- 10) K. Takahashi, H. Sone, T. Shimizu, and K. Hattori, *The Academic Reports of the Faculty of Engineering, Tokyo Institute of Polytechnics*, **14**, 22-26, (1991).
- 11) 高橋圭子, 小泉豊, 服部憲治郎, 東京工芸大学紀要, vol 13, 18-22, (1990).
- 12) R. Onodera, K. Motoyama, H. Arima, *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, **70**, 321-326, (2011).
- 13) R. Onodera, K. Motoyama, T. Higashi, A. Okamatsu, H. Arima, *Sci. Rep.*, **3(1109)**, 1-9, (2013).
- 14) R. Onodera, K. Motoyama, A. Okamatsu, T. Higashi, H. Arima, *Int. J. Pharm.*, **452**, 116-123, (2013).
- 15) A. Harada and M. Kamachi, *Macromolecules*, **23**, 2821- 2823, (1990).
- 16) K. Ito, *Current Opinion in Solid State & Materials Science*, **14(2)**, 28-34, (2010).
- 17) K. Kato, and K. Ito, *Reactive & Functional Polymers*, **73(2)**, 405-412, (2013).
- 18) K. Kato, T. Mizusawa, H. Yokoyama, and K. Ito, *J. Phys. Chem., Lett.*, **6**, 4043-4048, (2015).
- 19) K. Kato, T. Mizusawa, H. Yokoyama, and K. Ito, *J. Phys. Chem. C*, **121(3)**, 1861-1869, (2017).
- 20) W. H. Carothers, G. L. Dorrough, F.S. Van. Natta, *J. Am. Chem. Soc.*, **54**, 761-772, (1932).
- 21) 望月政嗣, 「生分解性ポリマーの話」日刊工業新聞社(1995).
- 22) A. M. El-Hadi, S.D. Mohan, F. J. Davis, G. R. Mitchell, *J. Polym. Res.*, **21: 605**, 1-12, (2014).
- 23) T. Suzuki, A. Ei, Y. Takada, H. Uehara, T. Yamanobe, K. Takahashi, *Beilstein J. Org. Chem.*, **10**, 2997-3006, (2014).
- 24) H. Takeda, Y. Takada, D. Nagai, M. Yoneyama, H. Uehara, T. Yamanobe, K. Takahashi, *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, *submitted*.
- 25) B. Casu, M. Reggiani, *Carbohydr. Res.*, **76**, 59-66, (1979).
- 26) K. Kano, H. Kitagishi, M. Kodera, S. Hirota, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **44**, 435-438, (2005).