

学位論文 博士（工学）

カーボネート結合を有する
新規グリーンサーファクタントの創成

平成 22 年度

慶應義塾大学大学院理工学研究科

伴野 太祐

目次

第1章	序論	1
1.1	はじめに	1
1.2	グリーンケミストリー	2
1.3	グリーンサーファクタントの創成	2
1.4	再生可能資源を原料に用いた界面活性剤	4
1.5	生分解性を有する界面活性剤	4
1.6	高機能性界面活性剤	5
1.7	カーボネート結合を有する界面活性剤の合成と性質	6
1.8	本論文の構成	7
第2章	生分解性とケミカルリサイクル性を有するカーボネート型カチオン界面活性剤の合成と性質	9
2.1	緒言	9
2.1.1	はじめに	9
2.1.2	生分解性を有するカチオン界面活性剤	10
2.1.3	カーボネート結合を有する界面活性剤の特徴	11
2.1.4	新規カーボネート型カチオン界面活性剤の分子設計	12
2.2	実験方法	15
2.2.1	酵素	15
2.2.2	試薬	15
2.2.3	機器	17
2.2.4	カーボネート型カチオン界面活性剤の合成	18
2.2.5	従来型カチオン界面活性剤の合成	26
2.2.6	S12X 由来加水分解物の化学合成	28
2.2.7	水中安定性	30
2.2.8	界面活性	31
2.2.9	抗菌性	33
2.2.10	S12Pr のケミカルリサイクル	34
2.2.11	生分解性	37
2.3	結果と考察	40
2.3.1	CnX の合成	40
2.3.2	カーボネート型カチオン界面活性剤 SnX の合成	44
2.3.3	水中安定性	48

2.3.4	界面活性	49
2.3.5	抗菌性	52
2.3.6	ケミカルリサイクル	54
2.3.7	生分解性	60
2.4	結言	62
第3章	新規ジェミニ型カチオン性グリーンサーファクタントの創成	63
3.1	緒言	63
3.1.1	はじめに	63
3.1.2	ジェミニ型カチオン界面活性剤の合成法	64
3.1.3	生分解性を有するジェミニ型カチオン界面活性剤	65
3.1.4	カーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤の分子設計	67
3.2	実験方法	69
3.2.1	酵素	69
3.2.2	試薬	70
3.2.3	機器	71
3.2.4	カーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤の合成	72
3.2.5	従来型のジェミニ型カチオン界面活性剤の合成	84
3.2.6	ジェミニ型カチオン界面活性剤由来の加水分解物の化学合成	85
3.2.7	水中安定性	89
3.2.8	界面活性	90
3.2.9	ケミカルリサイクル	91
3.2.10	生分解性	95
3.2.11	抗菌性	95
3.3	結果と考察	96
3.3.1	リンカー部にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤の合成	96
3.3.2	疎水基基部にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤の合成	104
3.3.3	水中安定性	106
3.3.4	界面活性	110
3.3.5	ケミカルリサイクル	115
3.3.6	生分解性	126
3.3.7	抗菌性	130
3.4	結言	132

第4章	光学活性カーボネート型カチオン界面活性剤の化学—酵素合成と性質	135
4.1	緒言	135
4.1.1	はじめに	135
4.1.2	光学活性界面活性剤の合成と性質	136
4.1.3	光学活性カーボネート型カチオン界面活性剤の分子設計	138
4.2	実験方法	140
4.2.1	酵素	140
4.2.2	試薬	141
4.2.3	機器	142
4.2.4	酵素触媒による 1-(<i>N,N</i> -ジメチルアミノ)-2-プロパノールの光学分割	143
4.2.5	光学活性カーボネート型カチオン界面活性剤の合成	146
4.2.6	S12iPr 由来加水分解物の化学合成	152
4.2.7	リパーゼによる <i>rac</i> - S12iPr のエナンチオ選択的加水分解	154
4.2.8	MOE を利用した基質認識性の評価	155
4.2.9	水中安定性	156
4.2.10	表面張力低下能	156
4.2.11	抗菌性	157
4.2.12	生分解性	157
4.3	結果と考察	158
4.3.1	リパーゼを用いた 1-(<i>N,N</i> -ジメチルアミノ)-2-プロパノールの光学分割	158
4.3.2	光学活性カーボネート型カチオン界面活性剤の合成	165
4.3.3	リパーゼを用いた <i>rac</i> - S12iPr のエナンチオ選択的加水分解	166
4.3.4	水中安定性	177
4.3.5	表面張力低下能	178
4.3.6	抗菌性	180
4.3.7	生分解性	181
4.4	結言	183
第5章	カーボネート型非イオン性グリーンサーファクタントの合成と性質	185
5.1	緒言	185
5.1.1	はじめに	185
5.1.2	加水分解性結合を有する非イオン界面活性剤の特徴	186
5.1.3	カーボネート型非イオン界面活性剤のグリーンプロセスによる合成	187
5.2	実験方法	189
5.2.1	酵素	189
5.2.2	試薬	190
5.2.3	機器	191

5.2.4	カーボネート型非イオン界面活性剤の合成	192
5.2.5	エステル型非イオン界面活性剤の合成	196
5.2.6	水中安定性	197
5.2.7	界面活性	198
5.2.8	生分解性	199
5.2.9	ケミカルリサイクル	199
5.3	結果と考察	203
5.3.1	ジメチルカーボネートを原料に用いた 12C-4EG の合成	203
5.3.2	ジフェニルカーボネートを原料に用いた mC-nEG の合成	209
5.3.3	水中安定性	212
5.3.4	界面活性	213
5.3.5	生分解性	216
5.3.6	ケミカルリサイクル	217
5.4	結言	219
第 6 章	総括	221
	参考文献	225
	本論文に関する研究発表	231
	謝辞	235

略号

本論文で用いた略号を以下にまとめる。

BOD	Biochemical oxygen demand
cmc	Critical micelle concentration
Lipase CA	Lipase from <i>Candida antarctica</i>
Lipase CR	Lipase from <i>Candida rugosa</i>
Lipase PS	Lipase from <i>Burkholderia cepacia</i>
Lipase RM	Lipase from <i>Rizomucor miehei</i>
mp	Melting point
NMR	Nuclear magnetic resonance
PPL	Lipase from porcine pancreas
SEC	Size exclusion chromatography
ThOD	Theoretical oxygen demand
TLC	Thin layer chromatography
γ_{cmc}	Surface tension at the cmc values
A_{min}	Occupation area of a molecule at a surface

第1章

序論

1.1 はじめに

18世紀から19世紀にかけて起こった産業革命以後、人類は大量生産・大量消費・大量廃棄を繰り返すことによって、モノに溢れた豊かな社会を築き上げてきた。この流れは20世紀になるとさらに顕著になる。20世紀は、化学技術の進歩に伴う、物質文明の急成長の時代であった。界面活性剤の開発においても、当然のようにこの流れが継承された。界面活性剤の研究開発は1920年頃から盛んに行われており、それを通じて優れた機能を発現するものが数多く創出されている。界面活性剤は、一分子内に親水基と疎水基という、性質の異なる官能基を兼ね備えた特徴的な化学構造をしており、これによって洗浄、乳化、分散、可溶化、湿潤、起泡などの機能を発現する。我が国における界面活性剤の生産量は年々増加しており、現在では年間100万トンを超えている^[1]。使用用途は、洗剤などの家庭用品をはじめとして、化粧品、食品、医薬品、農薬、塗料、プラスチック、土木分野など多岐に渡っており、日常生活と密接に結びついた身近な材料の一つと言える。

しかし、大量生産・大量消費・大量廃棄がもたらした豊かな物質社会は、深刻な環境汚染問題や有限化石資源の枯渇などを引き起こしたことも事実である。21世紀は「環境の時代」と呼称されており、近年、地球規模で環境保全への関心が高まっている。それに伴い、持続可能な発展が望める社会の構築が求められるようになった。持続可能な発展とは、「現代の世代が、将来の世代の利益や要求を充足する能力を損なわない範囲で環境を利用し、要求を満たしていこうとする発展」を意味する^[2]。これを実現するためには、あらゆる社会の構図を循環型へと変換する必要がある。

このような背景から、界面活性剤には利便性だけでなく、環境調和性も強く求められるようになった。すなわち、次世代型界面活性剤には、再生可能資源を原料に用いた環境低負荷なプロセスによる合成が望まれる。また、使用量の削減につながる高機能性を発揮する界面活性剤や、環境微生物により速やかに生分解される界面活性剤、さらにケミカルリサイクルが可能な界面活性剤の開発が求められる。

界面活性剤に求められる環境調和性は、優れた生分解性を有することのみならず、原料や合成プロセスにまで向けられており、「グリーンケミストリー」の概念に則った新規界面活性剤の創成が強く望まれている。

1.2 グリーンケミストリー

20世紀の急速な化学技術の進歩に伴って顕在化した様々な環境問題を克服し、持続可能な循環型社会の構築を達成するべく、化学産業界ではグリーンケミストリー概念に基づいた研究開発が推進されている^[3]。グリーンケミストリーとは、「環境にやさしいモノづくりの化学」を指す。具体的には、「全ライフサイクルを通して資源とエネルギーの消費および人・生態系への負荷が最小限になるような製品を設計し、かつ経済的・効率的にモノづくりをする化学」を意味する。また、廃棄物や環境負荷物質を出してから処理するのではなく、出さない・使わないといった予防にも配慮したプロセスの必要性も今後増していくものと考えられる。

1.3 グリーンサーファクタントの創成

界面活性剤分野にもグリーンケミストリー概念は確実に浸透している。これまでに、天然に豊富に存在するアミノ酸や有機酸を利用した界面活性剤が環境に適合した材料として合成されてきた。再生可能資源を使用する点と高い環境適合性を有する点がグリーンケミストリー概念に当てはまることから、これらの界面活性剤は「グリーンサーファクタント」と呼称される^[4-6]。また、バイオテクノロジーの応用による植物油の増産、分離精製技術の発展による高純度脂質のコスト低下などを背景として、天然油脂を原料とする界面活性剤が環境にやさしい材料として開発されている。特に、微生物により生産されるバイオサーファクタントは他の天然系界面活性剤に比べて、原料に対する依存性が少なく、機能性や生産の効率性に優れているため、盛んに研究が進められている^[7]。グリーンケミストリーの観点は再生可能資源を利用することだけでなく、合成法、使用量の削減につながる高機能化、さらには生分解性にいたる全ライフサイクルに向けられている。再生・再利用可能な触媒である酵素を利用した環境低負荷型プロセスによって合成される界面活性剤^[8,9]、使用量を著しく低減することができる高機能界面活性剤^[10,11]および環境微生物により速やかに生分解される界面活性剤^[12,13]もグリーンケミストリー概念に当てはまることから、グリーンサーファクタントの一種と言える。

グリーンサーファクタントの要件を以下にまとめる。また、その概念図を Fig. 1.1 に示す。

- ・原料として再生可能資源を利用
- ・温和な反応条件による合成（有機溶媒の使用量削減、環境負荷物質の排出抑制など）
- ・使用量の削減につながる高機能性を発揮
- ・優れた生分解性、ケミカルリサイクル性の付与

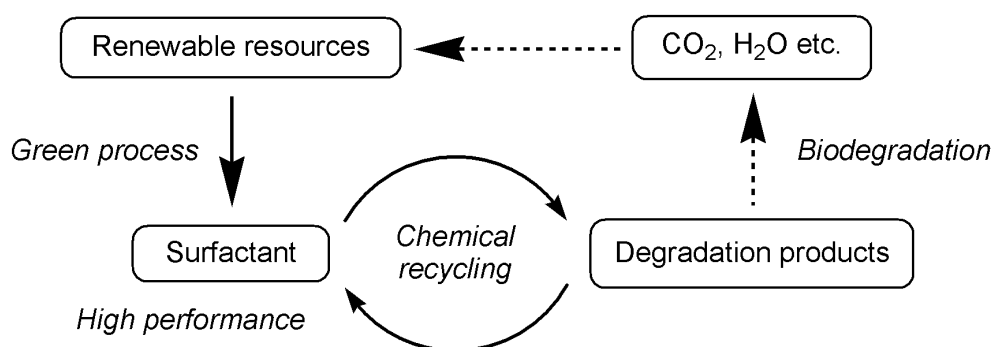


Fig. 1.1 Simplified concepts of the synthesis, chemical recycling and biodegradation of green surfactants.

再生可能資源を原料とした界面活性剤の開発は、深刻な有限化石資源枯渇問題解決への有用な手段となる。また、界面活性剤の合成は、環境汚染物質の排出量削減、環境低負荷型触媒の利用などを念頭においたグリーンプロセスによって達成されるべきである。界面活性剤の機能の多くはミセル形成によって発現されることから、この濃度をできるだけ小さくすることで界面活性剤の使用量を削減できる。これは、環境へ排出される界面活性剤量の削減を意味し、結果として環境負荷の低減につながることになる。さらに、工業分野で利用される界面活性剤がケミカルリサイクル可能であれば、資源の循環型使用と環境汚染問題の解決に貢献できるものと考えられる。その際、現行の高分子材料に見られるような高圧・高温条件などの莫大なエネルギーを必要とする方法ではなく、酵素などの生体触媒を利用した、省エネルギーな環境低負荷型プロセスによるケミカルリサイクルが望ましいと言える。

このように、再生可能資源から合成される高機能性界面活性剤に生分解性およびケミカルリサイクル性を付与することによって、理想的な次世代型グリーンサーファクタントが創成される。全ての条件を満たすことは困難であるが、再生可能資源を利用した界面活性剤、グリーンプロセスにより合成される界面活性剤および生分解性を有する界面活性剤について、それぞれで研究開発が活発に行われている。これらの研究領域の発展と融合により、次世代型グリーンサーファクタント創成に向けた更なる進展が期待される。

このようなグリーンサーファクタントの要件を念頭に、一般的な加水分解酵素により開裂されるカーボネート結合を分子内に導入した新規グリーンサーファクタントの創成を目的に研究を行った。以下に、再生可能資源を原料に用いた界面活性剤、生分解性を有する界面活性剤、高機能性界面活性剤およびカーボネート結合を有する界面活性剤の合成と性質について記す。

1.4 再生可能資源を原料に用いた界面活性剤

現在使用されている大部分の界面活性剤は有限化石資源である石油由来であり、それによって深刻な資源枯渇問題が引き起こされた。循環型社会構築の観点から、次世代型界面活性剤の合成には、バイオマス由来の再生可能資源を原料として利用することが求められる。

植物由来のレシチン（リン脂質）やサポニン（糖脂質）、動物由来の胆汁酸やカゼインなど、天然に存在する界面活性剤は古くから生活のなかで利用されている。また、バイオマス資源である糖やアミノ酸を原料とした界面活性剤も盛んに合成されており、様々な分野で幅広く利用されている。糖を親水基としたアルキルグルコシドは今から100年以上前に、Fischerによってはじめて合成された^[14]。それ以後、多くの研究者によって様々な糖を親水基とする界面活性剤が合成され、現在では洗剤、乳化剤、化粧品などに利用されている^[15,16]。また、アルギニン^[17,18]、トリプトファン^[19]、リジン^[20]、グルタミン酸およびアスパラギン酸^[21]などのアミノ酸を利用したアニオン、カチオンおよび両性界面活性剤も合成されており、これらはいずれも人や生態系に対する刺激性や毒性が低く、優れた生分解性を有することが報告されている。このような天然系界面活性剤のうち、特に微生物によって生産されるものはバイオサーファクタントと呼ばれ、他の天然系（植物系、動物系）界面活性剤に比べて、原料に対する依存性が少なく、機能性や生産の効率性に優れるという特徴を持つ。近年、ソホロリピッドやサーファクチンなどの糖脂質型バイオサーファクタントが相次いで実用化された。さらに、2010年には、産業技術総合研究所と東洋紡（株）の共同開発により、酵母と植物油を利用した、天然の保湿剤であるセラミドと同様の保湿効果を持つバイオサーファクタントが新たに実用化された^[22]。バイオサーファクタントについては多くの研究者によって盛んに研究が進められており、今後もその実用化の例は増えていくものと期待される。

1.5 生分解性を有する界面活性剤

分子内にエステル結合やアミド結合を有する界面活性剤は優れた生分解性を有することが知られている^[12,13]。これは、エステル結合およびアミド結合が微生物酵素によって容易に加水分解され、生成する加水分解物（脂肪酸、長鎖アルコールなど）が環境微生物により生分解されやすいことによるものと考えられる。しかし、エステル結合含有界面活性剤は、水中での加水分解性が高く、界面活性剤としての安定性に劣る点で難を抱えている。より高い水中安定性を有し、なおかつ優れた生分解性を有する界面活性剤の開発が強く求められている。

また、製品として使う際には優れた界面活性を發揮し、使用後には化学的な処理により界面活性を失わせた小分子に変換することが可能な「反応性（分解性）界面活性剤」も、生分解性を有する界面活性剤として注目されている^[23,24]。これは、界面活性を失わせた小分子が

環境微生物により速やかに生分解されることによるものと考えられる。このような界面活性剤の合成は、1990年ごろから活発に行われている。これまでに最も多く合成されている反応性界面活性剤はアセタール骨格を有するものである^[25,26]。また、環状アセタールを有するアニオン界面活性剤も合成されており、これらは酸処理により分解可能であることが報告されている^[27-29]。さらに、塩基処理によって分解される界面活性剤として、エステル結合を有するカチオン界面活性剤がこれまでに合成されている^[30]。この他に、紫外線照射により分解されるスルホン酸塩型界面活性剤^[31]、オゾン処理により分解される界面活性剤^[32]、熱処理により分解されるアニオン界面活性剤^[33]などが報告されている。

1.6 高機能性界面活性剤

より少量で十分な機能を発現する界面活性剤の開発は、総使用量の削減などの資源・環境的側面のみならず、界面活性剤を利用する様々な工業プロセスの生産性向上にも資する点で、重要な意味を持っている。また、技術開発のベクトルの1つはファイン化の方向にあり、その意味でも界面活性剤に高付加価値や複合機能を付与することは重要である。

界面活性剤の一般的な構造は、1つずつの親水基・疎水基を持つ「一鎖一親水基型」である。界面活性を向上・改良するためには、既存の一鎖一親水基という枠内だけでは限界があり、基本概念に捉われない斬新な分子設計が必要となる。その考え方から創出された高機能界面活性剤の1つが「二鎖二親水基型」界面活性剤である。この分子構造は、見かけ上2つの「一鎖一親水基型」界面活性剤を束ねた構造であったため、これらは「Gemini surfactants (ジェミニ型界面活性剤)」と命名された^[34]。その特徴を以下に挙げる。

- (1) 相当する一鎖一親水基型界面活性剤と比べて臨界ミセル濃度 cmc がかなり小さい (1/10 ~ 1/1000)。
- (2) 優れた表面張力低下能を発揮する。
- (3) 湿潤力、浸透力、乳化力、分散力、金属イオンに対する耐性、起泡特性、抗菌力など、洗浄剤としての特性に優れるものが多い。
- (4) 比較的簡便な構造変換により、二分子膜ベシクルなどミセル以外の高次分子集合体を形成させることができる。

このような特徴は、一鎖一親水基型界面活性剤では達成されない、強い分子内および分子間相互作用が働くことにより発現されるものと考えられる (Fig. 1.2)。

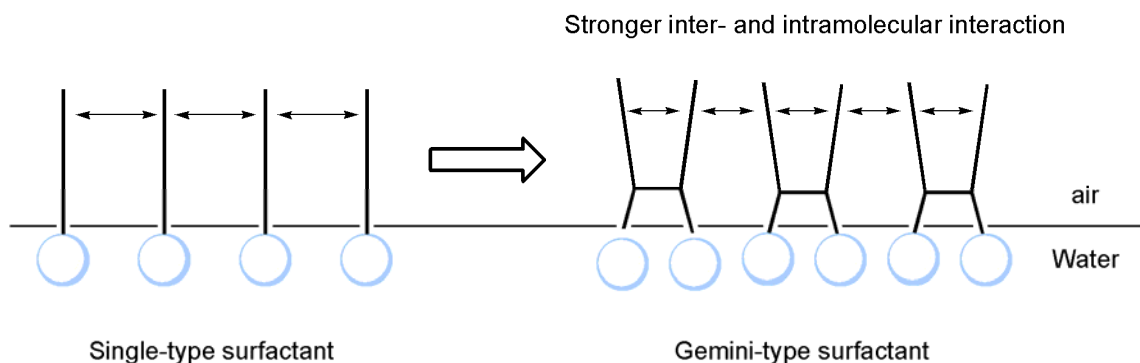


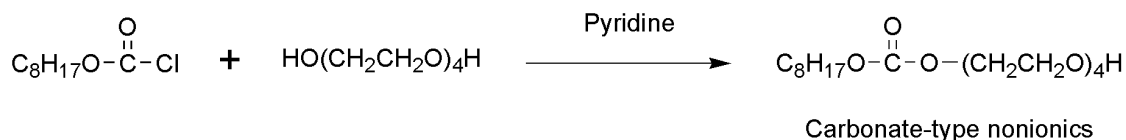
Fig. 1.2 Schematic representation of single-type and gemini-type surfactants at air-water interface.

有限化石資源枯渇の観点から、糖^[35,36]、アミノ酸^[18]、コハク酸^[37]、酒石酸^[38]などの再生可能資源を原料に用いたジェミニ型界面活性剤の合成が盛んに行われている。しかし、それらは一般に保護・脱保護を必要とする煩雑なものであるため、効率的な反応プロセスとは言い難い。また、これまでに合成されたジェミニ型界面活性剤は一般に、環境微生物による生分解を受けにくいことが難点である。この原因として、ジェミニ型界面活性剤は2量体構造であるため立体的に嵩高く、環境微生物に取り込まれにくいことが挙げられる。グリーンケミストリーの観点から、環境低負荷型プロセスによる生分解性ジェミニ型界面活性剤の合成が強く求められている。

さらに、三鎖三親水基型、四鎖四親水基型などのオリゴマー型界面活性剤も合成されており、これらはジェミニ型界面活性剤と同等、若しくはそれ以上に優れた物性を発揮することが報告されている^[39-41]。しかし、その合成は更に煩雑なものとなるため、報告例は数種類に限られている。

1.7 カーボネート結合を有する界面活性剤の合成と性質

2005年に Stjerndahl らは、カーボネート結合を有する非イオン界面活性剤の合成と性質について報告した^[42]。合成スキームを Scheme 1.1 に示す。



Scheme 1.1 Synthesis of the polyoxyethylene-type nonionics containing carbonate linkages.

テトラオキシエチレン鎖を親水基とするカーボネート型非イオン界面活性剤は、ピリジン存在下、クロロギ酸オクチル/テトラエチレングリコール = 1/20 (mol/mol) の条件で反応させることにより得られる。グリーンケミストリーの推進から、酸物質の排出抑制が求められており、次世代型界面活性剤は環境汚染物質を排出しない、ハロゲンフリープロセスにより合成されるのが望ましいと言える。

また、カーボネート型非イオン界面活性剤は、活性汚泥によって速やかに生分解され、なおかつエステル結合を有するものよりも酸・塩基性条件下で安定であることが報告されている^[42]。このことから、カーボネート結合を有する界面活性剤は優れた生分解性と、高い水中安定性を有することが期待される。

1.8 本論文の構成

本研究では、カチオン界面活性剤および非イオン界面活性剤に生分解性およびケミカルリサイクル性を付与することを目的に、分子内に一般的な加水分解酵素により開裂されるカーボネート結合の導入を行った。酵素による加水分解性結合としてはエステル結合が一般的であるが、エステル結合は水中での加水分解性が高く、界面活性剤としての安定性に劣る。そこで、水中でより安定なカーボネート結合を選択した。このような新規界面活性剤のグリーンプロセスによる合成、界面活性、生分解性およびケミカルリサイクル性について検討を行った。これらの検討を通じて、グリーンサーファクタントの創成に向けた研究開発を行った。

第2章から第4章では、抗菌性を有する洗浄剤として幅広く利用されている第四級アンモニウム塩型カチオン界面活性剤に生分解性を付与する目的で、カーボネート結合を有する一鎖一親水基型カチオン界面活性剤およびジェミニ型カチオン界面活性剤を分子設計し、その合成および特性について検討を行った。第5章では、洗浄剤、分散剤および乳化剤などに利用されている非イオン界面活性剤について研究を行い、カーボネート型非イオン界面活性剤の環境低負荷な合成について検討を行った。

各章の概要を以下にまとめた。

第2章 生分解性とケミカルリサイクル性を有するカーボネート型カチオン界面活性剤の合成と性質

代表的なカチオン界面活性剤である第四級アンモニウム塩型カチオン界面活性剤は、界面活性と抗菌性を併せ持つことから、様々な分野で利用されている。しかし、現行のものはその毒性が指摘されており、生態系への悪影響が懸念されている。本章では、第四級アンモニウム塩型カチオン界面活性剤に生分解性およびケミカルリサイクル性を付与することを目的に、一般的な加水分解酵素によって開裂されるカーボネート結合を分子内に導入した新規一

鎖一親水基型カチオン界面活性剤を分子設計し、そのグリーンプロセスによる合成について検討を行った。また、その界面活性、抗菌性、ケミカルリサイクル性および生分解性の評価を行った。

第3章 新規ジェミニ型カチオン性グリーンサーファクタントの創成

ジェミニ型カチオン界面活性剤は、相当する一鎖一親水基型カチオン界面活性剤と比較して使用量の削減につながる優れた界面活性を發揮し、また、高い抗菌性を有することが知られている。しかし、これまでに合成されたジェミニ型カチオン界面活性剤は一般に、環境微生物による生分解を受けにくいことが難点である。本章では、ジェミニ型カチオン界面活性剤に生分解性およびケミカルリサイクル性を付与することを目的に、分子内にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤を分子設計し、そのグリーンプロセスによる合成、界面活性、抗菌性、ケミカルリサイクル性および生分解性について検討を行った。

第4章 光学活性カーボネート型カチオン界面活性剤の化学—酵素合成と性質

光学活性界面活性剤は、ラセミ体あるいはジアステレオマー混合物のものと比較して優れた界面活性を發揮することが知られている。本章では、カーボネート型カチオン界面活性剤の立体化学が界面活性、抗菌性および生分解性に与える影響を明らかにすることを目的に、疎水基に不斉中心を有するカーボネート型カチオン界面活性剤を分子設計し、そのグリーンプロセスによる合成および特性について検討を行った。

第5章 カーボネート型非イオン性グリーンサーファクタントの合成と性質

ポリオキシエチレン鎖を親水基とするカーボネート型非イオン界面活性剤のグリーンプロセスによる合成および特性について検討を行った。酵素あるいは化学触媒存在下、ジフェニルカーボネートに長鎖アルコールおよびポリエチレングリコールを作用させることにより、カーボネート型非イオン界面活性剤を合成した。このようにして得られたものの水中安定性、界面活性、生分解性および酵素分解性について検討を行った。

第6章 総括

本研究で得られた結果をまとめ、今後の展望について記した。

第2章

生分解性とケミカルリサイクル性を有するカーボネート型カチオン界面活性剤の合成と性質

2.1 緒言

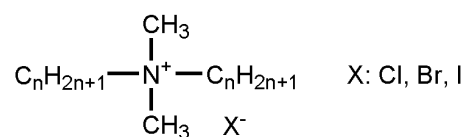
2.1.1 はじめに

カチオン界面活性剤は、水に溶解したときに親水基がカチオン性を示す界面活性剤の総称である。石ケンに代表されるアニオン界面活性剤と比べて洗浄能力は劣るものの、表面が負に帯電したタンパク質や金属などに対する吸着性、殺菌性、脱臭性などの特長がある。その殺菌性や脱臭効果を利用して多様な製品に応用されており、その種類と消費量は年々急速に増加している。2005年時点での世界の年間消費量は70万トンを超えている。

現在生産されているカチオン界面活性剤は、アミン塩型と第四級アンモニウム塩型に大別される。後者は前者に比べ、水溶性が高く、pH、多価金属イオンおよび電解質の影響を受けにくい。また、第四級アンモニウム塩型はアミン塩型よりも殺菌効果や静菌効果が大きいことも知られている。現行の第四級アンモニウム塩型カチオン界面活性剤の製法には、高級脂肪酸からニトリルを経て長鎖アミンとし、ハロゲン化メチルでアルキル化する方法や、長鎖ハロゲン化アルキルとトリアルキルアミンとの反応により製造する方法がある。

第四級アンモニウム塩型カチオン界面活性剤の中でも特に、ジアルキルジメチルアンモニウム塩 (Fig. 2.1) は、優れた界面活性と高い抗菌性を発現することから、欧米を中心に様々な分野で利用されている^[43]。また、ベンザルコニウム塩化物は高い抗菌・殺菌効果を発現することから、抗菌剤・殺菌剤として用いられている。一方で、それらの生分解が非常に遅いこと、また、水棲生物に対する毒性が高いことも指摘されており、改善が求められている^[44-47]。近年、地球規模で環境保全への関心が高まっていることもあり、優れた生分解性を有し、なおかつ人や生態系への毒性が低いカチオン界面活性剤の開発が強く望まれている。

本章では、生分解性セグメントとして期待されるカーボネート結合を分子内に導入した第四級アンモニウム塩型カチオン界面活性剤の合成および特性について検討を行った。以下に、生分解性を有するカチオン界面活性剤、カーボネート結合を有する界面活性剤の特徴および



Dialkyl dimethyl quaternary ammonium-type cationics

Fig. 2.1 Molecular structure of dialkyl quaternary ammonium-type cationics.

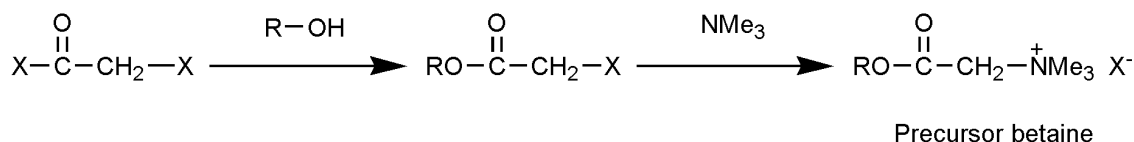
新規カーボネート型カチオン界面活性剤の分子設計について記す。

2.1.2 生分解性を有するカチオン界面活性剤

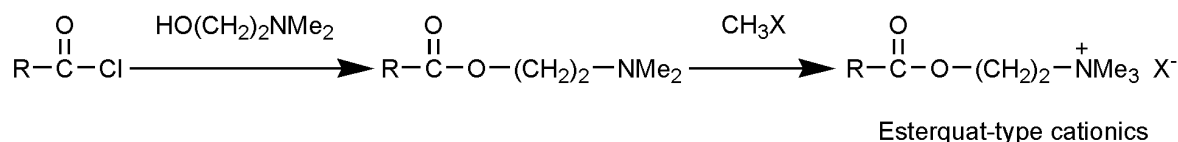
分子内にエステル結合およびアミド結合を有するカチオン界面活性剤は優れた生分解性を有することが報告されている。これは、エステル結合およびアミド結合が環境微生物によって容易に加水分解され、生成する脂肪酸や第四級アンモニウム塩を含む加水分解物が生分解されやすいことによるものと考えられる。

生分解性を有するエステル型カチオン界面活性剤としては、ベタインの前駆体および esterquat 型がこれまでに合成されている。これらの一般的な合成スキームを Scheme 2.1 に示す。ベタインの前駆体は、例えばプロモアセチルブロミドと長鎖アルコールを反応させてエステルを有するハロゲン化物を得、ついでこれをトリメチルアミンに作用させてアミノ基を四級化することで合成される(A)^[48-51]。また、esterquat 型は、酸ハロゲン化物とアミノアルコールを反応させてアミノ基を有するエステルを得、ついでハロゲン化メチルを作用させてアミノ基を四級化することで合成される(B)^[51-54]。このように、両者はいずれも出発原料にハロゲン化物を利用して合成される。グリーンケミストリーの観点から酸物質排出の抑制が求められており、次世代型カチオン界面活性剤は環境汚染物質を排出しない、ハロゲンフリープロセスにより合成されるのが望ましいと言える。また、エステル結合を有するカチオン界面活性剤（特に esterquat 型）は水中での安定性が低いことが指摘されており、より高い水中安定性を有し、なおかつ速やかに生分解されるカチオン界面活性剤の開発が求められる。

(A)



(B)



X: Cl, Br, I

Scheme 2.1 Synthesis of precursor betaine (A) and esterquat-type cationics (B).

ヨーロッパでは早期から環境問題の解決に向けた取り組みが積極的になされており、その一環として、先に挙げた esterquat 型が優れた生分解性を有するカチオン界面活性剤として家庭用繊維柔軟剤や毛髪用リンスなどに利用されている^[54-58]。また、近年ではアミド結合を有する第三級アミン塩型カチオン界面活性剤 AMIDET[®] APA-22 (Fig. 2.2) が花王 (株) で開発され、優れた生分解性と水棲生物への毒性が従来のカチオン界面活性剤よりも低いという特徴を有することから、今後市場価値が高まっていくものと予想される^[59,60]。

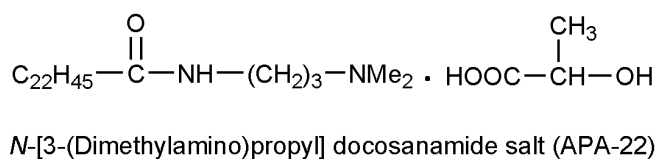
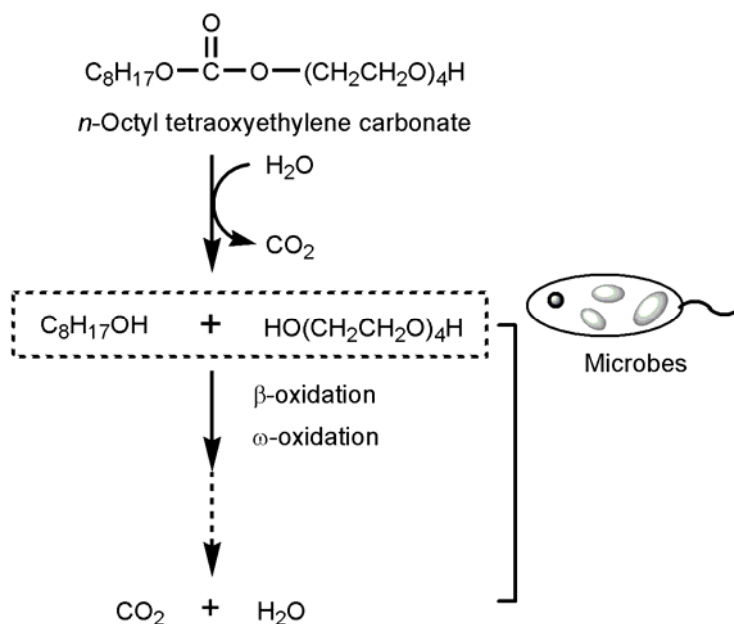


Fig. 2.2 Molecular structure of APA-22.

2.1.3 カーボネート結合を有する界面活性剤の特徴

カーボネート型界面活性剤は、高い水中安定性と優れた生分解性を有することが期待される。典型的カーボネート型非イオン界面活性剤である *n*-オクチル=テトラオキシエチレン=カーボネートの推定生分解機構を Scheme 2.2 に示す。このものの生分解は他の加水分解性セグメントを有する界面活性剤と同様に、微生物酵素（菌体外酵素）によるカーボネート結合の開裂（加水分解と脱炭酸）から開始するものと想定される。これにより生成した長鎖アルコールおよびポリエチレングリコールは、微生物に栄養源として取り込まれて酸化分解（ β -酸化および ω -酸化）され、最終的に二酸化炭素と水になる。このような推定分解機構から、カーボネート結合は生分解性セグメントとして有効であると考えられる。



Scheme 2.2 Proposed mechanism for the biodegradation of the carbonate-type nonionics.

また、水溶性という性質のために回収・再利用が困難な界面活性剤についても、工業分野で利用されるものがケミカルリサイクル可能であれば、資源の循環型使用と環境汚染問題の解決に貢献できるものと考えられる。その際、現行の高分子材料に見られるような高温・高圧条件などの莫大なエネルギーを必要とする方法ではなく、酵素などの生体触媒を利用した省エネルギー型プロセスによるケミカルリサイクルが望ましい。脂肪族ポリカーボネートは、リパーゼを利用したケミカルリサイクルが可能であることが報告されている^[61]。これは、リパーゼによるカーボネート交換反応の可逆的な性質を利用することで、環状オリゴマー \leftrightarrow ポリマー間の重合と分解が制御可能であることに起因する。このことから、カーボネート結合を有する界面活性剤は、リパーゼを利用したケミカルリサイクルが可能であることが期待される。リパーゼの触媒としての特徴を以下に挙げる^[62,63]。

- (1) 高温・高圧条件を必要とする現行法よりも穏やかな反応条件：省エネルギー型
- (2) リパーゼ自体が環境低負荷型、非毒性
- (3) リパーゼ自体が再生可能かつ再利用可能
- (4) 高触媒活性および高選択性を発現

このような特徴から、リパーゼを触媒に利用したケミカルリサイクルは環境低負荷型プロセスとして期待される。

2.1.4 新規カーボネート型カチオン界面活性剤の分子設計

以上のような背景から、第四級アンモニウム塩型カチオン界面活性剤に生分解性およびケミカルリサイクル性を付与する目的で、分子内にカーボネート結合を導入した新規カチオン界面活性剤の分子設計を行った。本化合物に期待される特徴を Fig. 2.3 に示す。

(1) グリーンプロセスによる合成

カーボネート結合の導入には、従来は副生成物として塩化水素を発生する有毒なホスゲンが用いられてきたが、本研究ではグリーン試薬としてジフェニルカーボネートを使用した。ジフェニルカーボネートを利用する合成ではフェノールが副生するが、ジメチルカーボネートと反応させることでジフェニルカーボネートに戻すリサイクルプロセスが工業的に確立している。また、ジメチルカーボネートは二酸化炭素とメタノールを、比較的穏やかな条件下で反応させることにより合成可能であることが報告されている^[64-67]。これらのことから、新規カチオン界面活性剤は環境汚染物質を排出しない、グリーンプロセスによる合成が達成できるものと考えられる。

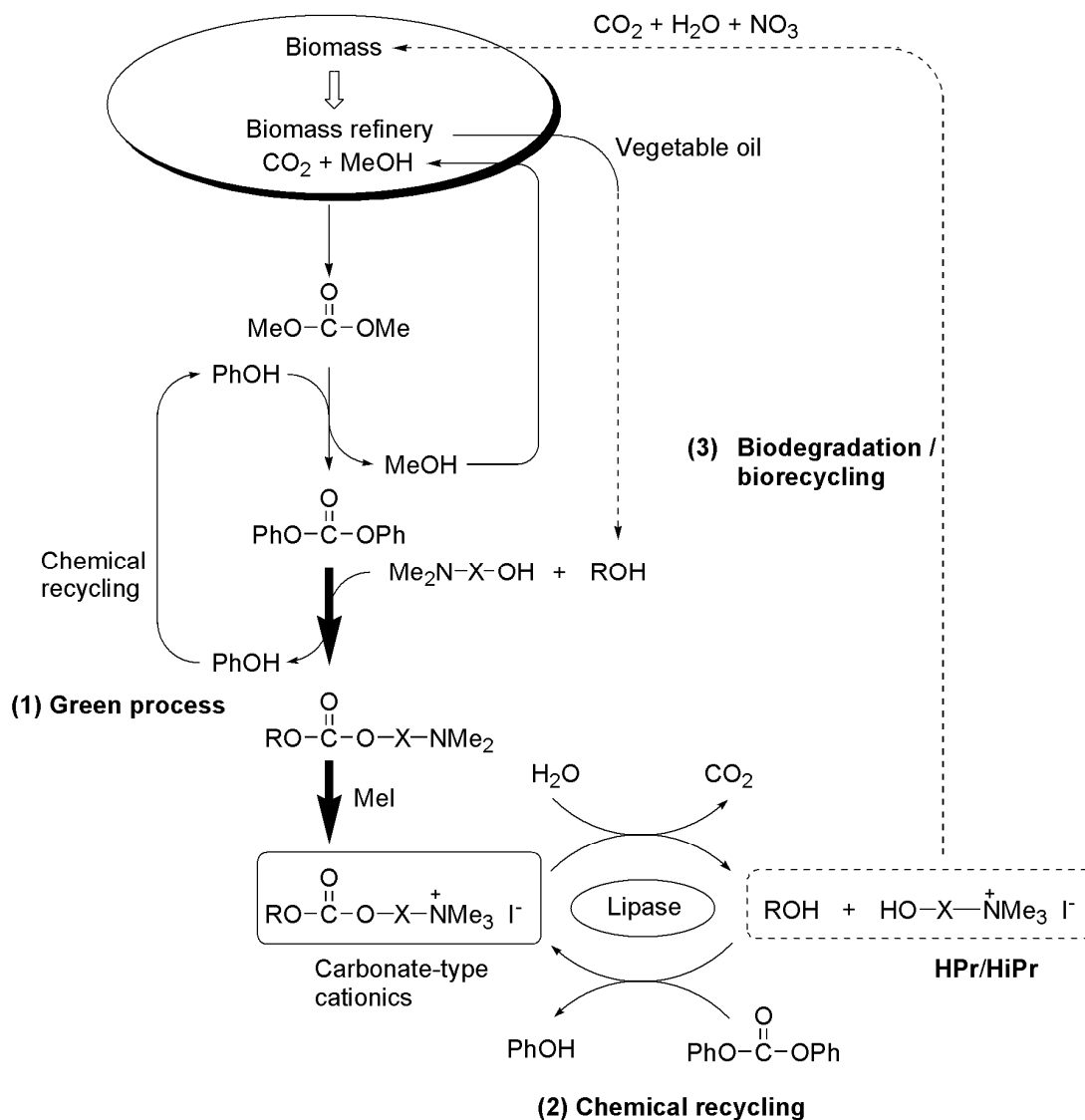


Fig. 2.3 Simplified concepts of the synthesis, chemical recycling and biodegradation of novel cationics containing carbonate linkages.

(2) ケミカルリサイクル

環境汚染および資源枯渇問題から、工業分野で使用される界面活性剤にはリサイクル性が求められる。カーボネート結合を有するカチオン界面活性剤には、酵素（リパーゼ）を用いたケミカルリサイクルが可能であることが期待される。このような界面活性剤を工業分野に応用することで、資源の循環型使用と環境汚染問題の解決に貢献できるものと考えられる。

(3) 生分解

カーボネート型非イオン界面活性剤と同様に、新規カチオン界面活性剤は優れた生分解性を有することが期待される。したがって、カーボネート型カチオン界面活性剤は環境微生物によって二酸化炭素、水および三酸化窒素にまで分解され、最終的にはバイオマスに取り込まれるものと考えられる。

本章では、以上のような特徴を有することが期待されるカーボネート型カチオン界面活性剤のグリーンプロセスによる合成、界面活性、抗菌性、ケミカルリサイクル性および生分解性について検討を行った。

2.2 実験方法

2.2.1 酵素

酵素は五酸化ニリン存在下、常温で2時間減圧乾燥（3 mmHg）させてから用いた。

Table 2.1 List of enzyme.

Enzyme origin	Abbreviation	Manufacturer
Immobilized lipase from <i>Candida antarctica</i> B (Novozym 435 [®]) Specific activity = 10,000 PLU/g ^(a)	CA	Novozymes

^(a) Lipase (lipase B) from *Candida antarctica* produced by submerged fermentation of a genetically engineered *Aspergillus oryzae* and adsorbed on a macroporous acrylic resin, having 10,000 PLU/g (propyl laurate units: activity based on ester synthesis)].

2.2.2 試薬

3-(<i>N,N</i> -ジメチルアミノ)-1-プロパノール	東京化成工業 (株)
1-(<i>N,N</i> -ジメチルアミノ)-2-プロパノール	東京化成工業 (株)
ジフェニルカーボネート	東京化成工業 (株)
1-デカノール	東京化成工業 (株)
1-ドデカノール	東京化成工業 (株)
1-テトラデカノール	東京化成工業 (株)
<i>N,N</i> -ジメチル- <i>n</i> -ドデシルアミン	東京化成工業 (株)
<i>N,N</i> -ジメチル- <i>n</i> -テトラデシルアミン	東京化成工業 (株)
ヨウ化メチル	東京化成工業 (株)
テトラデシル- <i>N,N,N</i> -トリメチルアンモニウム=クロリド	東京化成工業 (株)
トリエチルアミン	和光純薬工業 (株)
クロロホルム (脱水)	関東化学 (株)
アセトニトリル (脱水)	関東化学 (株)
トルエン (脱水)	関東化学 (株)
<i>n</i> -ヘキサン	和光純薬工業 (株)
クロロホルム	和光純薬工業 (株)

酢酸エチル	和光純薬工業 (株)	
アセトン	和光純薬工業 (株)	
トルエン	和光純薬工業 (株)	
メタノール	和光純薬工業 (株)	
エタノール	関東化学 (株)	鹿特級
ジエチルエーテル	純正化学 (株)	業務用
シリカゲル (青) 5~10 メッシュ	純正化学 (株)	
シリカゲル C-60	関東化学 (株)	
セライト 545	関東化学 (株)	
TLC シリカゲル 60 F ₂₅₄	Merck	
重クロロホルム-d ₁	ISOTEC Inc.	
重メタノール-d ₄	ISOTEC Inc.	
重水	ISOTEC Inc.	
アニリン	和光純薬工業 (株)	試薬特級
リン酸水素二ナトリウム・二水和物	和光純薬工業 (株)	試薬特級
リン酸二水素ナトリウム・二水和物	和光純薬工業 (株)	試薬特級
リン酸二水素カリウム	関東化学 (株)	試薬特級
リン酸水素二カリウム	関東化学 (株)	試薬特級
リン酸水素二ナトリウム・十二水和物	和光純薬工業 (株)	試薬特級
塩化アンモニウム	関東化学 (株)	鹿一級
硫酸マグネシウム・七水和物	関東化学 (株)	鹿一級
塩化カルシウム無水和物	関東化学 (株)	鹿特級
塩化鉄 (III)・六水和物	和光純薬工業 (株)	試薬特級
水酸化ナトリウム	関東化学 (株)	鹿一級
炭酸水素ナトリウム	純正化学 (株)	純正一級
蒸留水	大和商店 (有)	

2.2.3 機器

核磁気共鳴スペクトル：Varian MERCURY plus 300

JEOL Lambda 300

表面張力計：CBVP-Z

起泡力計：半微量改良 TK 法測定装置

BOD センサーシステム

インキュベーター：LTI-1001SD

ガラス電極式水素イオン濃度計：HM-20J

電子天秤：AG204、PB3002-S

オイルバス：OSM-1

マグネチックスターラー：EG

ロータリーエバポレーター：EYELA-1000

ウォーターバス：FWB-24S

Varian Inc.

日本電子（株）

協和界面化学（株）

三陽理化学器械製作所（株）

アクタック（株）

東京理化学器械（株）

東亜電波工業（株）

メトラートレド（株）

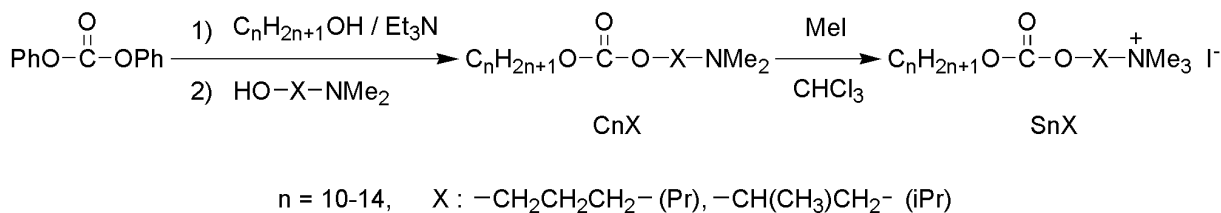
石井商店（株）

石井商店（株）

東京理化学器械（株）

東京硝子器械（株）

2.2.4 カーボネート型カチオン界面活性剤の合成

Scheme 2.3 Synthesis of **CnX** and **SnX**.

Scheme 2.3 に示したように、トリエチルアミン存在下、ジフェニルカーボネートに長鎖アルコールおよびアミノアルコールをワンポットで作用させることで *n*-アルキル=*N,N*-ジメチルアミノアルキル=カーボネート (**CnX**) を得、ついで、ヨウ化メチルを作用させてアミノ基の四級化を行うことで一連のカーボネート型カチオン界面活性剤 (**SnX**) を得た。以下に合成法の詳細を記す。

2.2.4.1 **CnX** の合成

攪拌子を付した 10 mL ナスフラスコに、ジフェニルカーボネート (3.5 mmol)、長鎖アルコール (3.5 mmol) およびトリエチルアミン (3.5 mmol) をはかり取り、アルゴン雰囲気下、オイルバス中 80 °C で 8 時間攪拌反応を行った。ついで、*N,N*-ジメチルアミノアルコール (7.0 mmol) を反応系内に加え、引き続きオイルバス中 80 °C で 21 時間攪拌反応を行った。

反応終了後、トリエチルアミンを減圧留去して粗生成物を得た。精製はシリカゲルカラムクロマトグラフィー [クロロホルム/メタノール = 4/1 (v/v)] により行い、 $R_f = 0.76$ のフラクションを分取、溶媒を減圧留去することで、淡黄色シロップ状に **CnX** を収率 74-91% で得た。 $^1\text{H NMR}$ スペクトルおよび元素分析により生成物の同定を行った。Table 2.2 に **CnX** の収率および元素分析の結果を示す。また、**C12Pr** および **C12iPr** の $^1\text{H NMR}$ スペクトルとその同定結果を Fig. 2.4 および 2.5 に示す。

Table 2.2 Yield and elemental analysis of **CnX**.

Compound	Yield (%)	C%		H%		N%	
		Found	Calcd.	Found	Calcd.	Found	Calcd.
C10Pr	85	66.68	66.86	11.27	11.57	4.96	4.87
C12Pr	91	68.36	68.53	11.69	11.82	4.40	4.44
C14Pr	87	69.80	69.92	12.04	12.03	4.50	4.08
C12iPr	74	68.49	68.53	11.78	11.82	4.41	4.44

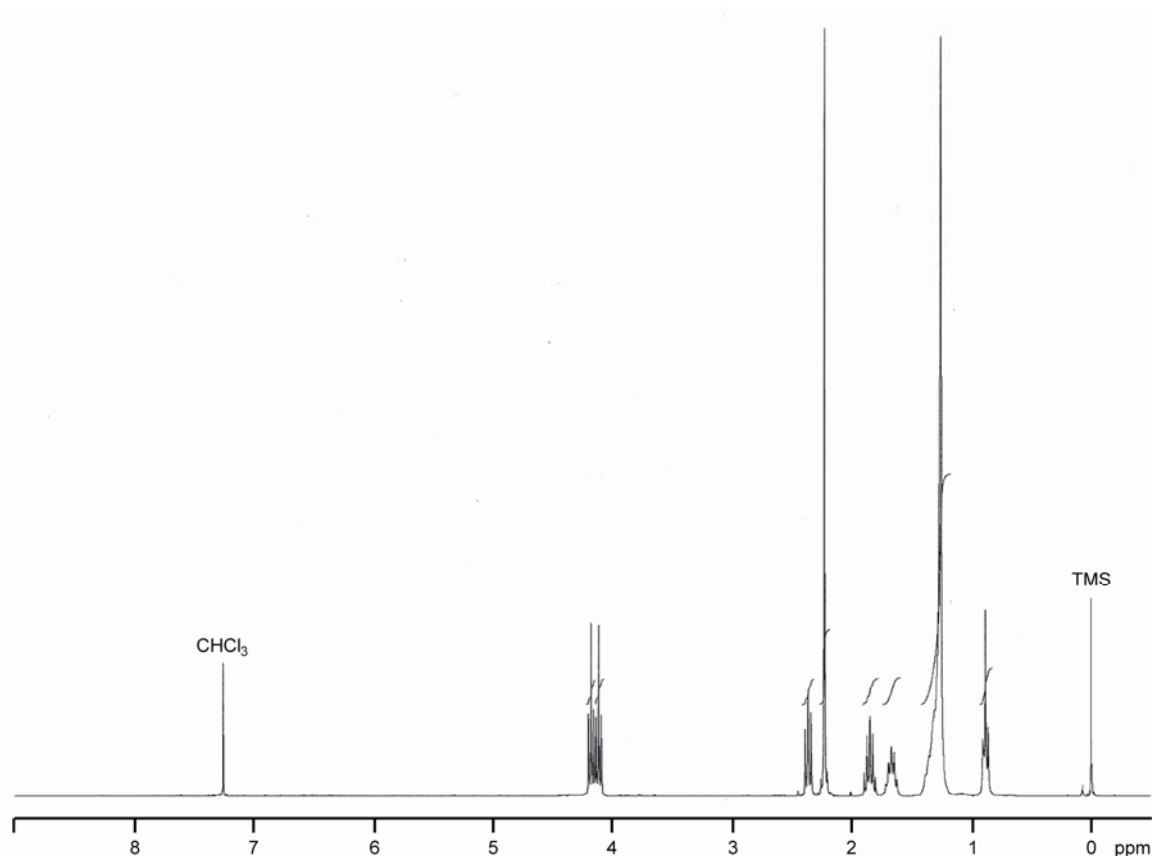


Fig. 2.4 ^1H NMR spectrum of **C12Pr** (300 MHz, CDCl_3).

C12Pr

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : δ = 0.88 (3H, t, J = 6.9 Hz, CH_3^-), 1.17-1.41 (18H, m, $-(\text{CH}_2)_9^-$), 1.66 (2H, tt, J = 7.5, 7.5 Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})^-$), 1.84 (2H, tt, J = 7.2, 7.5 Hz, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 2.23 (6H, s, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 2.36 (2H, t, J = 7.5 Hz, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 4.12 (2H, t, J = 7.5 Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})^-$), 4.18 (2H, t, J = 7.2 Hz, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$).

C10Pr

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : δ = 0.88 (3H, t, J = 6.9 Hz, CH_3^-), 1.18-1.42 (14H, m, $-(\text{CH}_2)_7^-$), 1.66 (2H, tt, J = 7.5, 7.5 Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})^-$), 1.84 (2H, tt, J = 7.2, 7.5 Hz, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 2.22 (6H, s, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 2.36 (2H, t, J = 7.5 Hz, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 4.12 (2H, t, J = 7.5 Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})^-$), 4.18 (2H, t, J = 7.2 Hz, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$).

C14Pr

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : δ = 0.88 (3H, t, J = 6.9 Hz, CH_3^-), 1.17-1.43 (22H, m, $-(\text{CH}_2)_{11}^-$), 1.66 (2H, tt, J = 7.5, 7.5 Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})^-$), 1.84 (2H, tt, J = 7.2, 7.5 Hz, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 2.22 (6H, s, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 2.36 (2H, t, J = 7.5 Hz, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 4.12 (2H, t, J = 7.5 Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})^-$), 4.18 (2H, t, J = 7.2 Hz, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$).

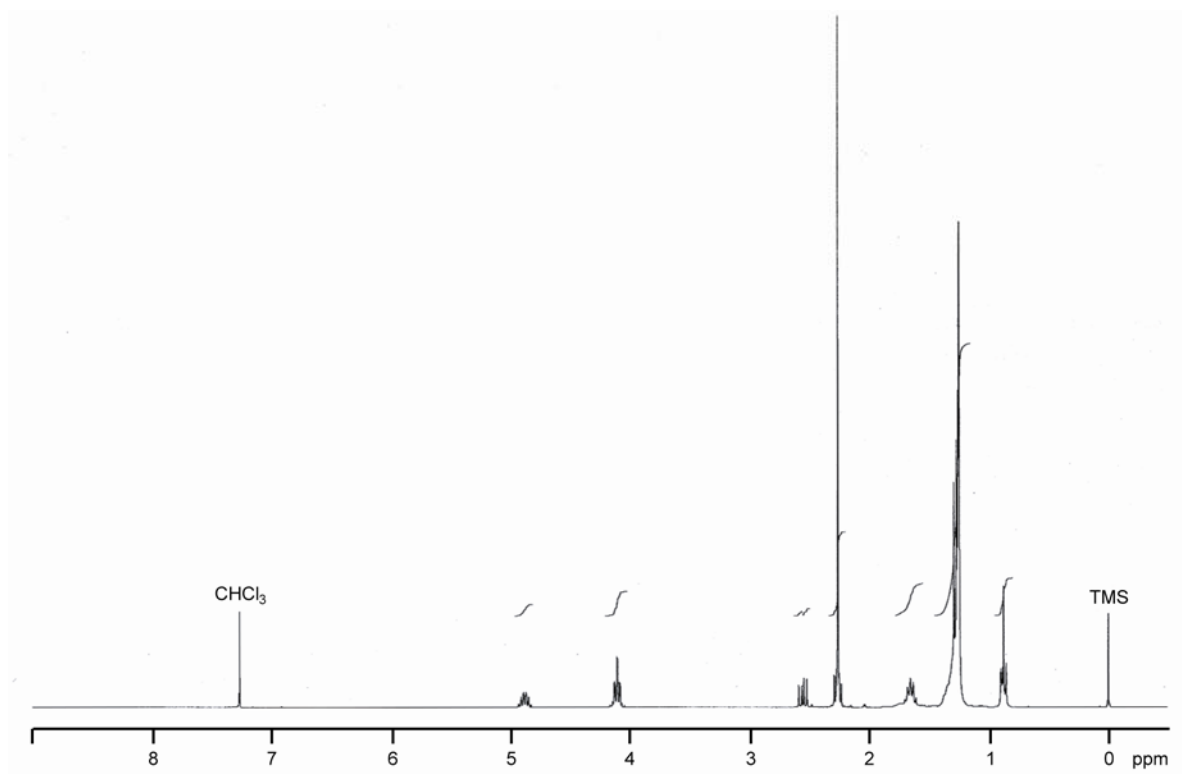


Fig. 2.5 ^1H NMR spectrum of **C12iPr** (300 MHz, CDCl_3).

C12iPr

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : δ = 0.88 (3H, t, J = 6.6 Hz, CH_3 -), 1.18-1.43 (21H, m, $-(\text{CH}_2)_9$ - and $\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_A\text{H}_B\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 1.66 (2H, tt, J = 6.9, 7.5 Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.22-2.32 (7H, m, $\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_A\text{H}_B\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 2.56 (1H, dd, J = 7.4, 13.1 Hz, $\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_A\text{H}_B\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 4.04-4.19 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.82-4.95 (1H, m, $\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_A\text{H}_B\text{N}(\text{CH}_3)_2$).

2.2.4.2 ヨウ化メチルによる **CnX** の四級化反応

撹拌子を付した 10 mL ナスフラスコに、**CnX** (1.0 mmol) をはかり取り、ついで溶媒としてクロロホルム (1.0 mL) を加えた。さらに、四級化剤としてヨウ化メチル (1.2 mmol) を氷浴中徐々に添加し、アルゴン雰囲気下、室温にて 30 分間撹拌反応を行った。

反応終了後、溶媒および未反応のヨウ化メチルを減圧留去し、粗生成物を得た。精製は酢酸エチル (1.0 mL) を用いた再結晶操作により行い、ろ過により得られた結晶を十分に減圧乾燥させることで、白色粉末状に *n*-アルキル=*N,N,N*-トリメチルアミノアルキル=カーボネート=ヨージド (**SnX**) を収率 65-86% で得た。¹H NMR および ¹³C NMR スペクトル、元素分析により生成物の同定を行った。**SnX** の収率、融点および元素分析の結果を Table 2.3 に示す。また、**S12Pr** および **S12iPr** の ¹H NMR スペクトルおよび ¹³C NMR スペクトルとその同定結果を Fig. 2.6-2.9 にそれぞれ示す。

Table 2.3 Yield, mp and elemental analysis of carbonate-type cationics.

Cationics	Yield (%)	mp (°C)	C%		H%		N%	
			Found	Calcd.	Found	Calcd.	Found	Calcd.
S10Pr	86	110-111	47.40	47.55	8.33	8.45	3.27	3.26
S12Pr	85	115-117	49.76	49.89	8.68	8.81	3.07	3.06
S14Pr	85	124-125	51.95	51.95	9.07	9.14	2.93	2.89
S12iPr	65	141-142	49.73	49.89	8.74	8.81	2.93	3.06

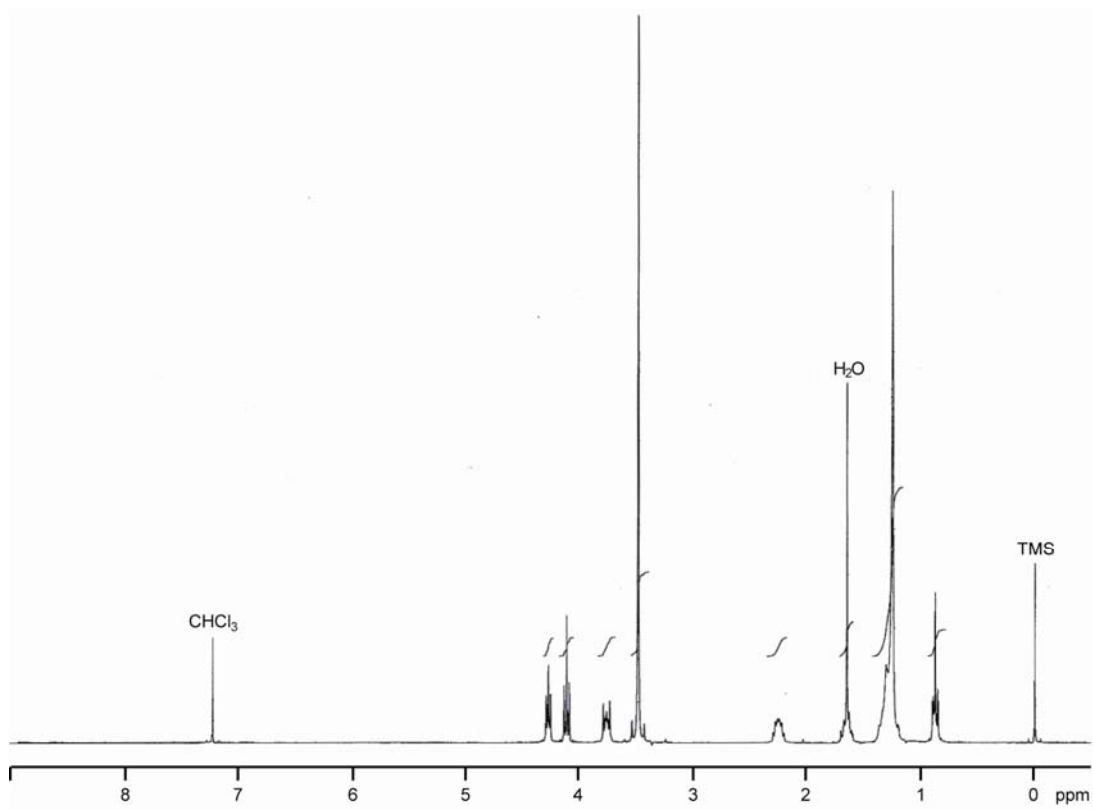


Fig. 2.6 ^1H NMR spectrum of S12Pr (300 MHz, CDCl_3).

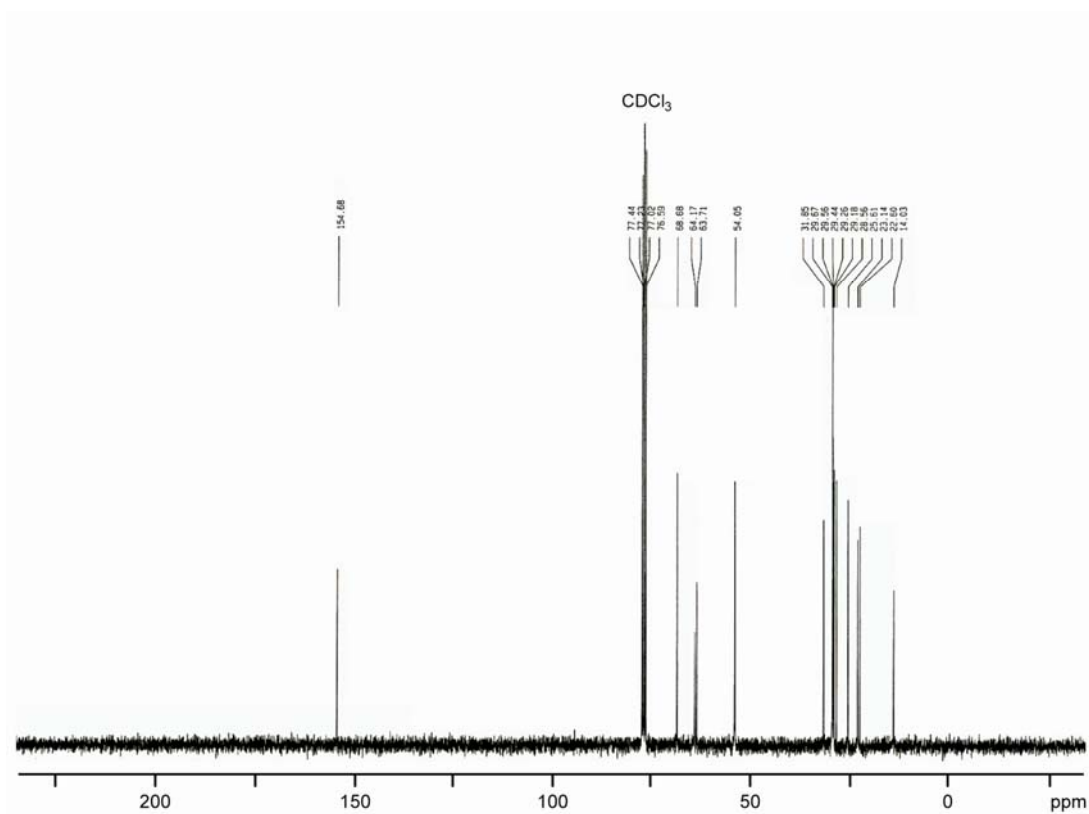


Fig. 2.7 ^{13}C NMR spectrum of S12Pr (75 MHz, CDCl_3).

S12Pr

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : δ = 0.88 (3H, t, J = 6.9 Hz, CH_3^-), 1.17-1.41 (18H, m, $-(\text{CH}_2)_9^-$), 1.67 (2H, tt, J = 7.5, 7.5 Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})^-$), 2.27 (2H, tt, J = 5.7, 7.4 Hz, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.53 (9H, s, $\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 3.73-3.84 (2H, m, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 4.14 (2H, t, J = 7.5 Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})^-$), 4.30 (2H, t, J = 7.5 Hz, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) : δ = 14.0 (CH_3^-), 22.6, 23.1, 25.6, 28.6, 29.2, 29.3, 29.4, 29.6, 29.7, 31.9 ($-\text{CH}_2^-$ and $\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 54.1 ($\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 63.7 ($\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 64.2 ($\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 68.7 ($\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 154.7 ($\text{OC}(=\text{O})\text{O}$).

S10Pr

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : δ = 0.88 (3H, t, J = 6.9 Hz, CH_3^-), 1.18-1.42 (14H, m, $-(\text{CH}_2)_7^-$), 1.67 (2H, tt, J = 7.2, 7.2 Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})^-$), 2.27 (2H, tt, J = 5.7, 7.1 Hz, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.51 (9H, s, $\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 3.74-3.83 (2H, m, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 4.14 (2H, t, J = 7.2 Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})^-$), 4.30 (2H, t, J = 7.2 Hz, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) : δ = 14.4 (CH_3^-), 23.0, 23.5, 26.0, 29.0, 29.6, 29.6, 29.9, 32.2 ($-\text{CH}_2^-$ and $\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 54.5 ($\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 64.1 ($\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 64.6 ($\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 69.1 ($\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 155.1 ($\text{OC}(=\text{O})\text{O}$).

S14Pr

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : δ = 0.88 (3H, t, J = 6.6 Hz, CH_3^-), 1.17-1.41 (22H, m, $-(\text{CH}_2)_{11}^-$), 1.67 (2H, tt, J = 7.2, 7.2 Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})^-$), 2.21-2.33 (2H, m, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.54 (9H, s, $\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 3.74-3.85 (2H, m, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 4.14 (2H, t, J = 7.2 Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})^-$), 4.30 (2H, t, J = 7.2 Hz, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) : δ = 14.1 (CH_3^-), 22.6, 23.1, 25.6, 28.6, 29.2, 29.3, 29.5, 29.5, 29.6, 31.9 ($-\text{CH}_2^-$ and $\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 54.1 ($\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 63.7 ($\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 64.2 ($\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 68.7 ($\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 154.7 ($\text{OC}(=\text{O})\text{O}$).

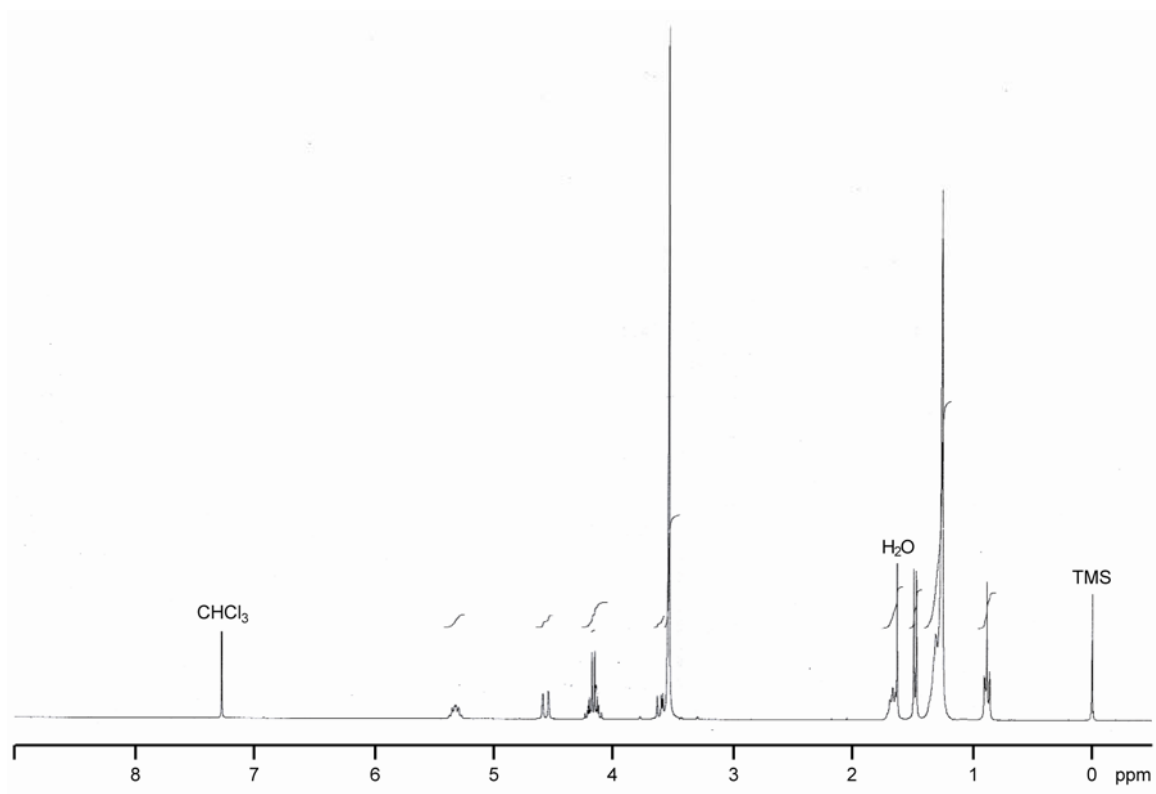


Fig. 2.8 ^1H NMR spectrum of S12iPr (300 MHz, CDCl_3).

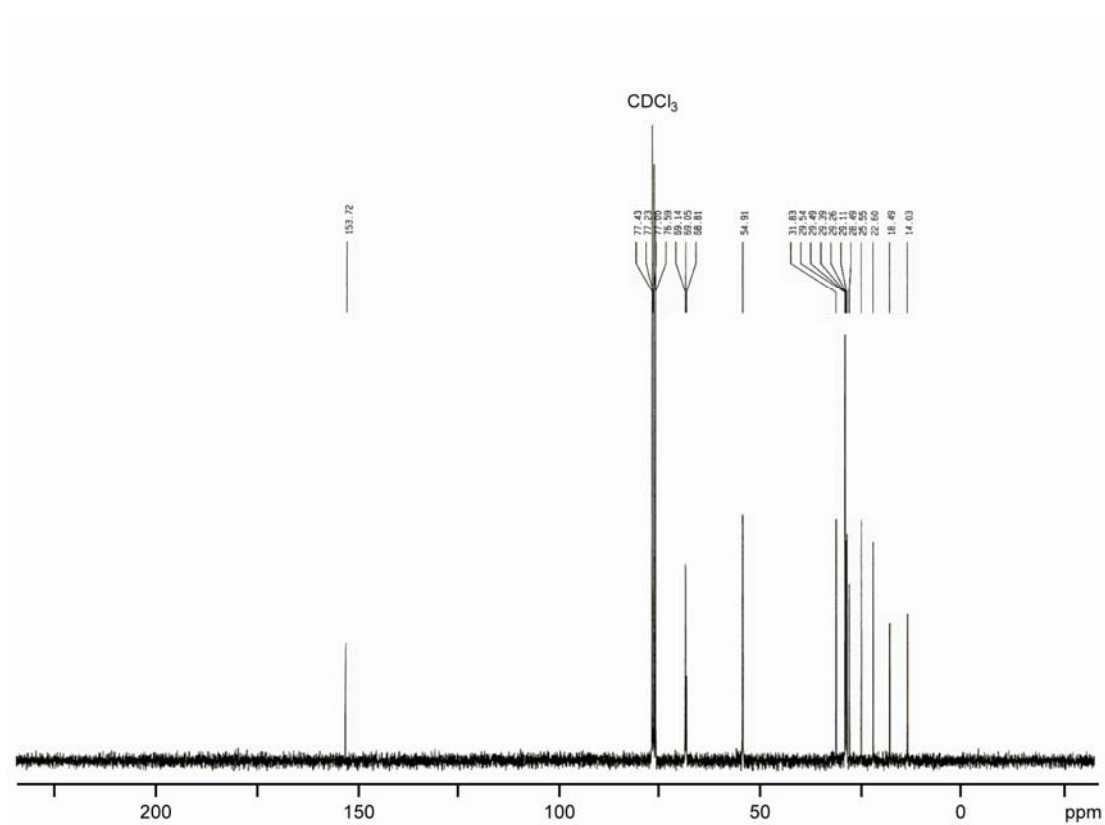


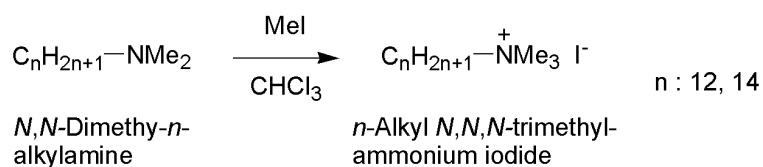
Fig. 2.9 ^{13}C NMR spectrum of S12iPr (75 MHz, CDCl_3).

S12iPr

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : δ = 0.88 (3H, t, J = 6.6 Hz, CH_3^-), 1.18-1.41 (18H, m, $-(\text{CH}_2)_9^-$), 1.48 (3H, d, J = 6.6 Hz, $\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 1.67 (2H, tt, J = 6.9, 6.9 Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.54 (9H, s, $\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 3.59 (1H, dd, J = 9.9, 14.4 Hz, $\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 4.08-4.26 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.56 (1H, dd, J = 1.8, 14.4 Hz, $\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 5.25-5.38 (1H, m, $\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) : δ = 14.0 (CH_3^-), 18.5 ($\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 22.6, 25.6, 28.5, 29.1, 29.3, 29.4, 29.5, 29.5, 31.8 ($-\text{CH}_2^-$ and $\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 54.9 ($\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 68.8 ($\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 69.0 ($\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 69.1 ($\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 153.7 ($\text{OC}(=\text{O})\text{O}$).

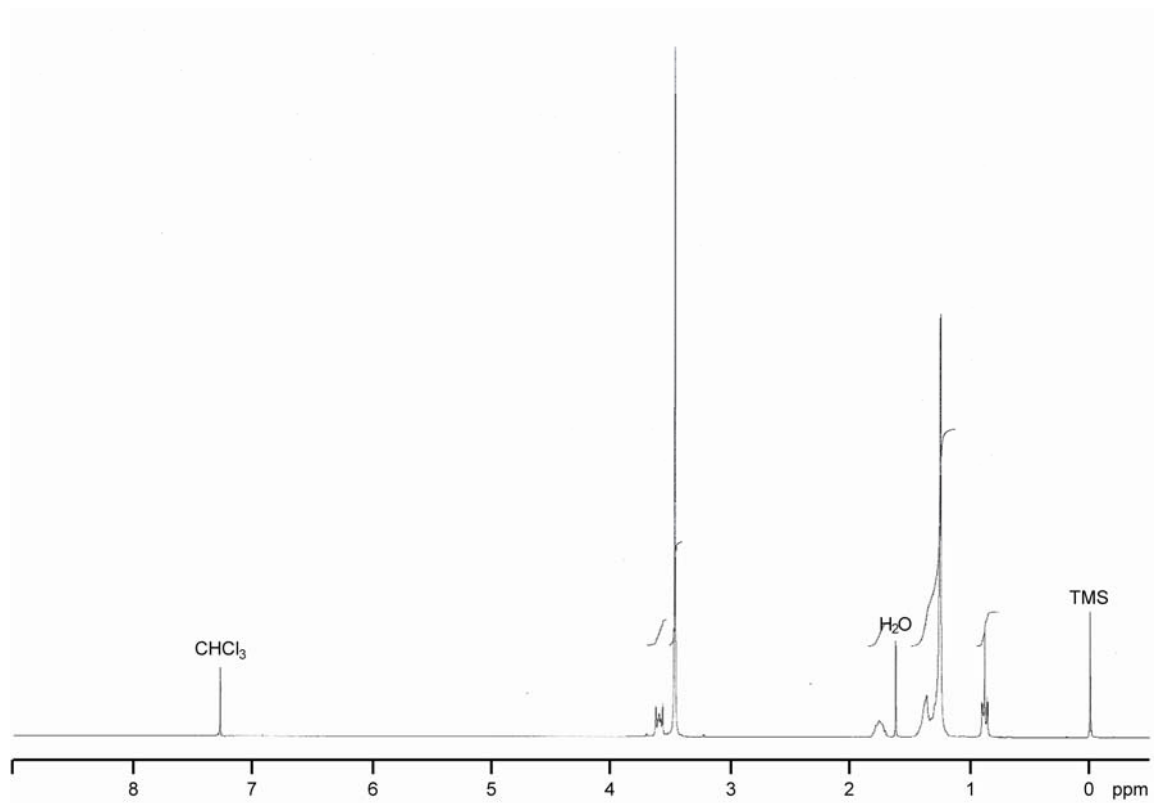
2.2.5 従来型カチオン界面活性剤の合成



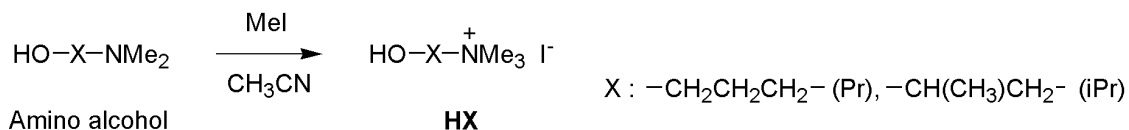
Scheme 2.4 Synthesis of conventional cationics.

攪拌子を付した 10 mL ナスフラスコに、*N,N*-ジメチル-*n*-アルキルアミン (1.0 mmol) をはかり取り、ついで溶媒としてクロロホルム (0.8 mL) を加えた。さらに、四級化剤としてヨウ化メチル (1.2 mmol) を氷浴中徐々に添加し、アルゴン雰囲気下、室温にて 2 時間攪拌反応を行った (Scheme 2.4)。

反応終了後、溶媒および未反応のヨウ化メチルを減圧留去し、粗生成物を得た。精製は良溶媒としてクロロホルム (1.0 mL)、貧溶媒として酢酸エチル (2.5 mL) を用いた再沈殿法により行い、ろ過により得られた結晶を十分に減圧乾燥させることで、白色粉末状に *n*-アルキル-*N,N,N*-トリメチルアンモニウム=ヨージド (**DTAI** および **TTAI**) を収率 94-96% で得た。¹H NMR および ¹³C NMR スペクトル、元素分析により生成物の同定を行った。**DTAI** の ¹H NMR スペクトルおよび ¹³C NMR スペクトルとその同定結果を Fig. 2.10 および Fig. 2.11 に示す。

Fig. 2.10 ¹H NMR spectrum of DTAI (300 MHz, CDCl₃).

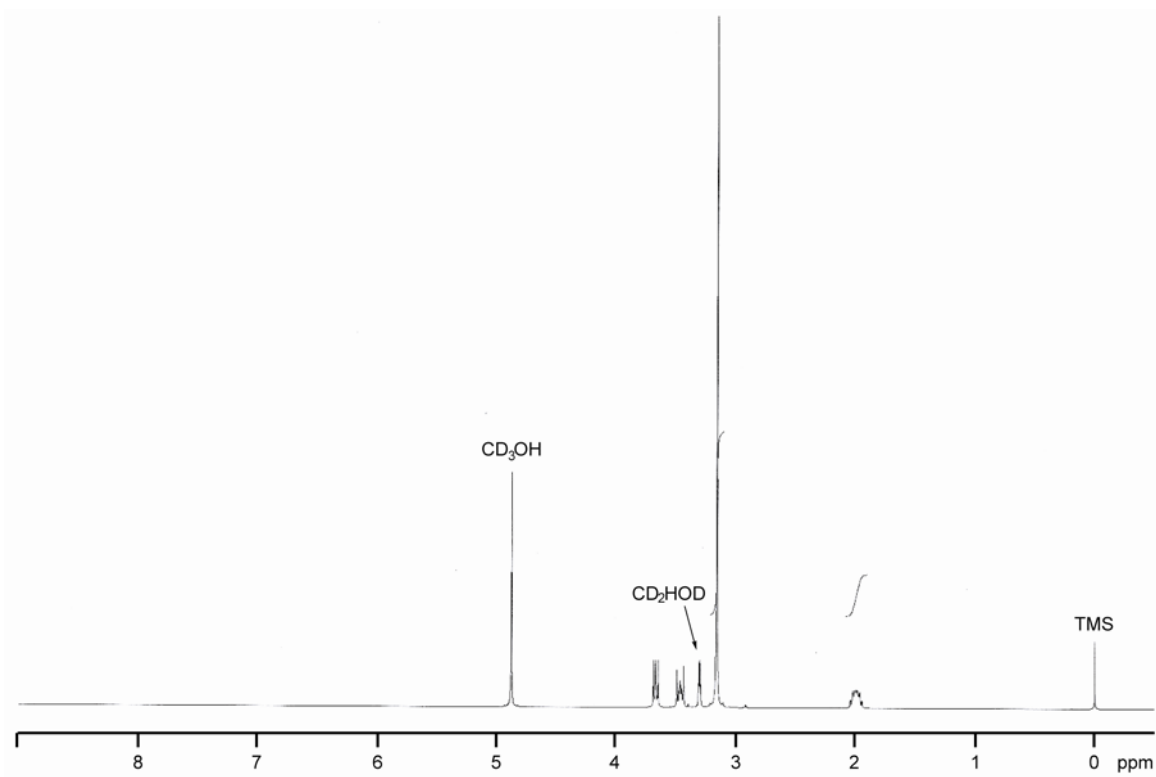
2.2.6 S12X 由来加水分解物の化学合成



Scheme 2.5 Synthesis of the S12X-derived degradation product HX.

攪拌子を付した 10 mL ナスフラスコに、*N,N*-ジメチルアミノアルコール (103.2 mg, 1.0 mmol) をはかり取り、ついで溶媒としてアセトニトリル (1.0 mL) を加えた。さらに、四級化剤としてヨウ化メチル (170.3 mg, 1.2 mmol) を氷浴中徐々に添加し、アルゴン雰囲気下、室温にて 1 時間攪拌反応を行った (Scheme 2.5)。

反応終了後、溶媒および未反応のヨウ化メチルを減圧留去し、粗生成物を得た。精製は良溶媒としてメタノール (1.0 mL)、貧溶媒として酢酸エチル (2.0 mL) を用いた再沈殿法により行い、ろ過により得られた結晶を十分に減圧乾燥させることで、白色粉末状に第四級アンモニウム塩を含むアルコール **HX** を収率 84-88% で得た。 $^1\text{H NMR}$ スペクトルにより生成物の同定を行った。**HPr** および **HiPr** の $^1\text{H NMR}$ スペクトルとその同定結果を Fig. 2.12 および Fig. 2.13 に示す。

Fig. 2.12 $^1\text{H NMR}$ spectrum of **HPr** (300 MHz, CD_3OD).

HPr

Yield 88%. ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) : $\delta = 1.93\text{--}2.07$ (2H, m, $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 3.15 (9H, s, $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 3.43-3.53 (2H, m, $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 3.65 (2H, t, $J = 6.6$ Hz, $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$).

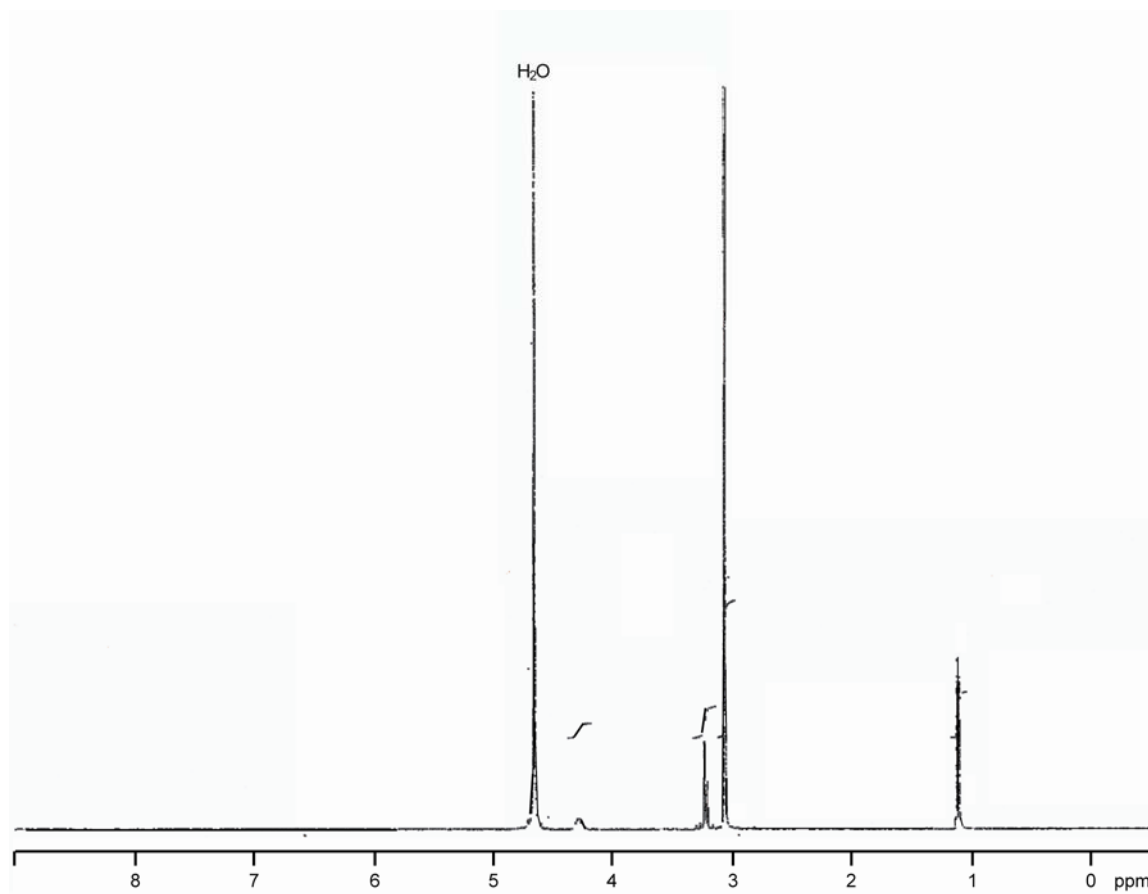


Fig. 2.13 ^1H NMR spectrum of **HPr** (300 MHz, D_2O).

HiPr

Yield 84%. ^1H NMR (300 MHz, D_2O) : $\delta = 1.10$ (3H, d, $J = 6.3$ Hz, $\text{HOCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 3.05 (9H, s, $\text{HOCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 3.13-3.28 (2H, m, $\text{HOCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 4.21-4.36 (1H, m, $\text{HOCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$).

2.2.7 水中安定性

カチオン界面活性剤 **S12Pr** および **S12iPr** のリン酸緩衝液 (pH 7.0) 中における水中安定性を評価した。

2.2.7.1 リン酸緩衝液の調製

文献の方法^[68]に従い、pH 7.0 のリン酸緩衝液を調製した。まず、以下のリン酸塩溶液 **A**, **B** を調製した。

溶液 A リン酸水素二ナトリウム・二水和物 ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 35.6 g を 1 L の蒸留水に溶解

溶液 B リン酸二水素ナトリウム・二水和物 ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 31.2 g を 1 L の蒸留水に溶解

溶液 A 30.5 mL、**溶液 B** 19.5 mL をそれぞれはかり取り、これを 100 mL にメスアップした後、1 N 塩酸水溶液を用いて pH を 7.0 に調整した。

2.2.7.2 水中安定性の評価

攪拌子を付したネジキャップ付き小試験管 (13×100 mm) に、カチオン界面活性剤 (10 mg) をはかり取り、リン酸緩衝液 1 mL を加えた。ネジ部分にパラフィルムを巻くことで容器を密閉し、25 °C および 40 °C で 28 日間の加水分解試験を行った。

反応終了後、凍結乾燥を行うことにより水分を完全に除去した。ついでアセトニトリル (5.0 mL) を加え、不溶のリン酸塩をろ別した。ろ液を減圧濃縮し、得られた結晶を十分に減圧乾燥させ、これを測定用のサンプルとした。¹H NMR スペクトルからカチオン界面活性剤の残存率を算出した。重溶媒として CD_3OD を用い、 $\delta = 0.88$ の CH_3^- のプロトン数を 3 とし、カーボネート結合に隣接するメチレン ($\delta = 4.25$) のプロトン数から **S12Pr** の残存率を、また、カーボネート結合に隣接するメチン ($\delta = 5.21\text{-}5.37$) のプロトン数から **S12iPr** の残存率をそれぞれ算出した。

2.2.8 界面活性

2.2.8.1 表面張力低下能

適当な濃度に調製したカチオン界面活性剤水溶液の 25 °C での表面張力を Wilhelmy 法により測定した。種々の濃度により測定を行い、表面張力と濃度の対数の関係をプロットした。このグラフの屈曲点から臨界ミセル濃度 cmc および cmc での表面張力 (γ_{cmc}) を求めた。なお、表面張力の値は、1 時間変化しなかったときの値を採用した。また、1 プロットについて 2 回測定を行い、その平均値を表面張力値とした。

また、Gibbs の吸着式 [(2.1)および(2.2)式] を用いてカチオン界面活性剤の表面過剰濃度 Γ (mol/m^2) および分子占有面積 A_{\min} (nm^2) を算出した。

$$\Gamma = \frac{-1}{2.30nRT} \left(\frac{d\gamma}{d \log C} \right) \quad (2.1)$$

$$A_{\min} = \frac{10^{18}}{N_A \Gamma} \quad (2.2)$$

n : 界面活性剤を構成する分子の数（一鎖一親水基型カチオン界面活性剤にはカチオン分子およびその対アニオンが 1 つずつ存在する。このとき、 $n=2$ となる^[69]）

R: 気体定数 (= 8.31 J/mol K)

T: 絶対温度 (K)

γ : 表面張力 (mN/m)

$d\gamma/d \log C$: cmc 以下の濃度における表面張力-濃度曲線の接線の傾き

N_A : アボガドロ数 (= 6.02×10^{23})

2.2.8.2 起泡力および泡安定性

カチオン界面活性剤水溶液 5 mM を調製し、半微量改良 TK 法により泡体積を測定することで、起泡力および泡安定性を評価した^[70]。測定装置の模式図を Fig. 2.14 に示す。

容器 A の活栓 a を閉じ、試料溶液 5 mL を、容器全体を湿らすように器壁に沿って静かに注入した。次に、アスピレーター B のピンチコック b を開いて c を閉じ、B に水道水 250 mL を注いだ。b を閉じて c を開き、B の水道水 250 mL を 1 分間かけて流下させ、水溶液に空気を送り込んだ直後と 5 分後の泡体積を測定した。なお、1 試料について 5 回測定を行い、最大・最小を除く 3 回の平均値を泡体積とした。

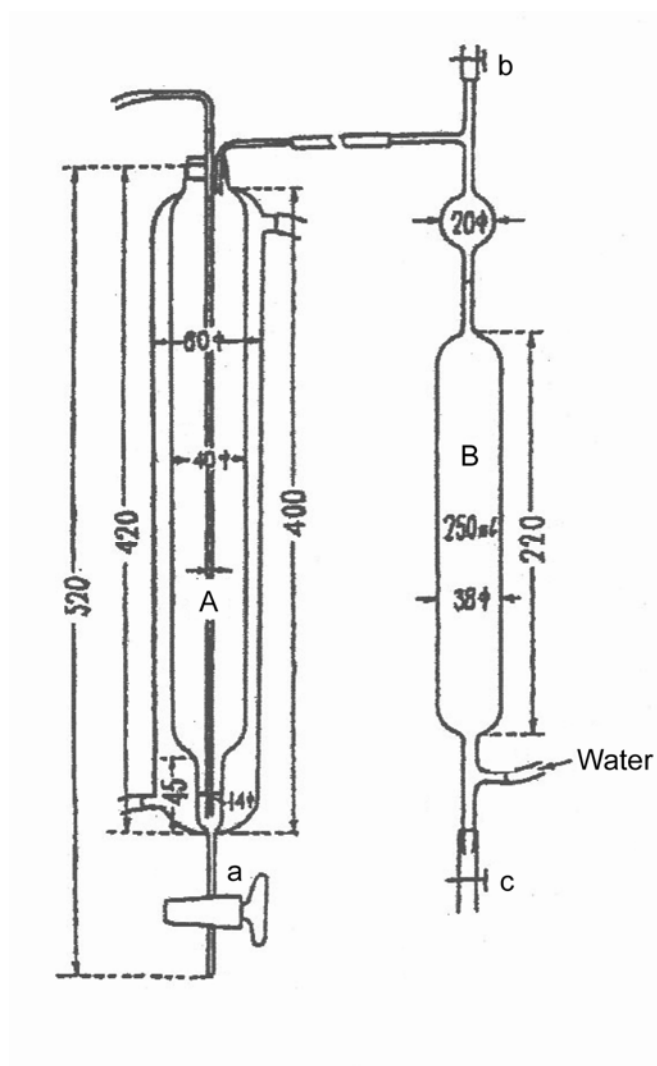


Fig. 2.14 Schematic diagram of the apparatus for semi-micro TK method.

2.2.9 抗菌性

最小発育阻止濃度 MIC (minimum inhibitory concentration, $\mu\text{g}/\text{mL}$) を指標として、カチオン界面活性剤の抗菌性を評価した。以下に示す供試菌体について、菌株の発育状態を肉眼で確認し、細胞増殖が完全に停止した最低濃度を MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$) とした^[71]。

[供試菌体]

細菌類

グラム陽性菌

<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> KB210	: 表皮ブドウ球菌
<i>B. subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i> KB211	: 枯草菌
<i>M. luteus</i>	<i>Micrococcus luteus</i> KB212	: 八連球菌

グラム陰性菌

<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i> KB213	: 大腸菌
<i>S. typhimurium</i>	<i>Salmonella typhimurium</i> KB20	: チフス菌
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KB115	: 緑膿菌

pH 7.0, 37 °C の条件下、2 日間培養を行った。

真菌類

酵母

<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i> KF1	: 鵞口瘡菌
<i>S. cerevisiae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> KF237	: ビール酵母

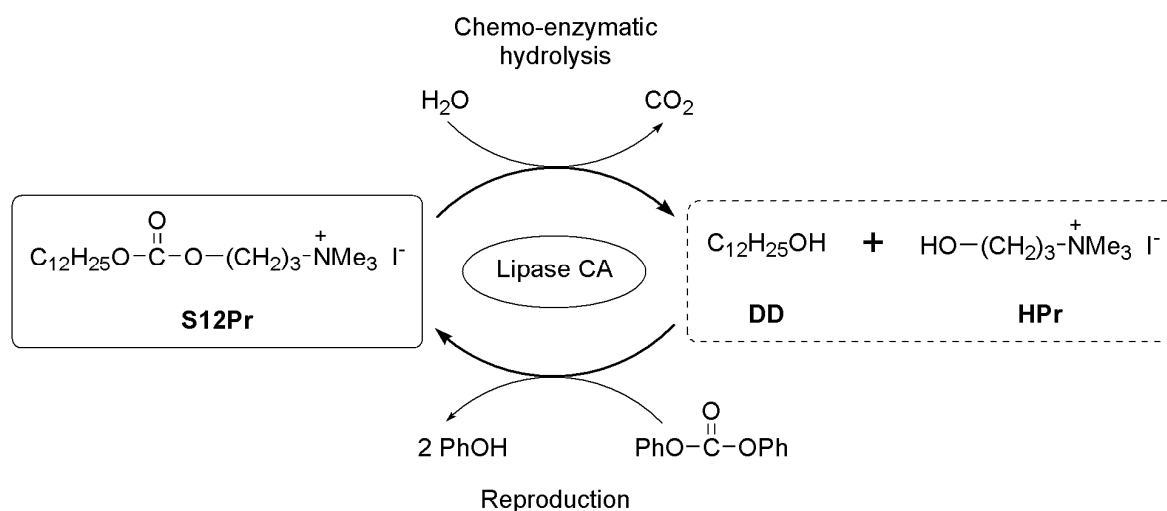
カビ

<i>T. mentagrophytes</i>	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> KF213	: 白癬菌
<i>M. gypseum</i>	<i>Microsporium gypseum</i> KF64	: 石膏状白癬菌
<i>P. chrysogenum</i>	<i>Penicillium chrysogenum</i> KF425	: 青カビ
<i>A. niger</i>	<i>Aspergillus niger</i> KF103	: 黒カビ

pH 6.0, 25 °C の条件下、5 日間培養を行った。

2.2.10 S12Pr のケミカルリサイクル

触媒として *Candida antarctica* 由来の固定化リパーゼ (lipase CA) を用いた **S12Pr** のケミカルリサイクルについて検討を行った (Scheme 2.6)。



Scheme 2.6 Chemo-enzymatic hydrolysis and reproduction as the chemical recycling of **S12Pr** using immobilized lipase CA.

2.2.10.1 化学-酵素加水分解

攪拌子を付した 10 mL ナスフラスコに、**S12Pr** (50 mg) をはかり取り、ついでトルエン (1.0 mL) および蒸留水 (10 μL , トルエンに対して 1.0 vol%) を加えた。さらに、触媒として lipase CA (50 mg, 100 wt%) を加え、アルゴン雰囲気下、オイルバス中 65 $^{\circ}\text{C}$ で 24 時間攪拌反応を行った。

反応終了後、反応物にアセトニトリル (5.0 mL) を加え、ついでセライトろ過により不溶の酵素をろ別し、溶媒を減圧留去することで粗生成物を得た。精製は良溶媒としてメタノール (0.5 mL)、貧溶媒として酢酸エチル (1.5 mL) を用いた再沈殿法により行い、ろ過により得られた結晶を十分に減圧乾燥させることで **HPr** を収率 95% で得た。 $^1\text{H NMR}$ スペクトルにより生成物の同定を行った。 $^1\text{H NMR}$ スペクトルは Fig 2.12 と一致した。以下に同定結果を示す。

HPr

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CD_3OD) : $\delta = 1.93\text{--}2.07$ (2H, m, $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 3.15 (9H, s, $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 3.43-3.53 (2H, m, $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 3.65 (2H, t, $J = 6.6$ Hz, $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$).

2.2.10.2 再合成

(1) *n*-ドデシル=フェニル=カーボネート (*n*-DPC) の合成

攪拌子を付したネジキャップ付小試験管に、ジフェニルカーボネート (107.1 mg, 0.5 mmol)、1-ドデカノール (93.2 mg, 0.5 mmol) およびトリエチルアミン (51.0 mg, 0.5 mmol) をはかり取り、オイルバス中 80 °C で 8 時間攪拌反応を行った。

反応終了後、トリエチルアミンを減圧留去して粗生成物を得た。[*n*-ヘキサン/酢酸エチル/アセトン = 20/1/1 (vol)] により行い、 $R_f = 0.50$ のフラクションを分取、溶媒を減圧留去することで、無色シロップ状に *n*-DPC を収率 87% で得た。¹H NMR スペクトルおよび元素分析により生成物の同定を行った。*n*-DPC の ¹H NMR スペクトルとその同定結果を Fig. 2.15 に示す。

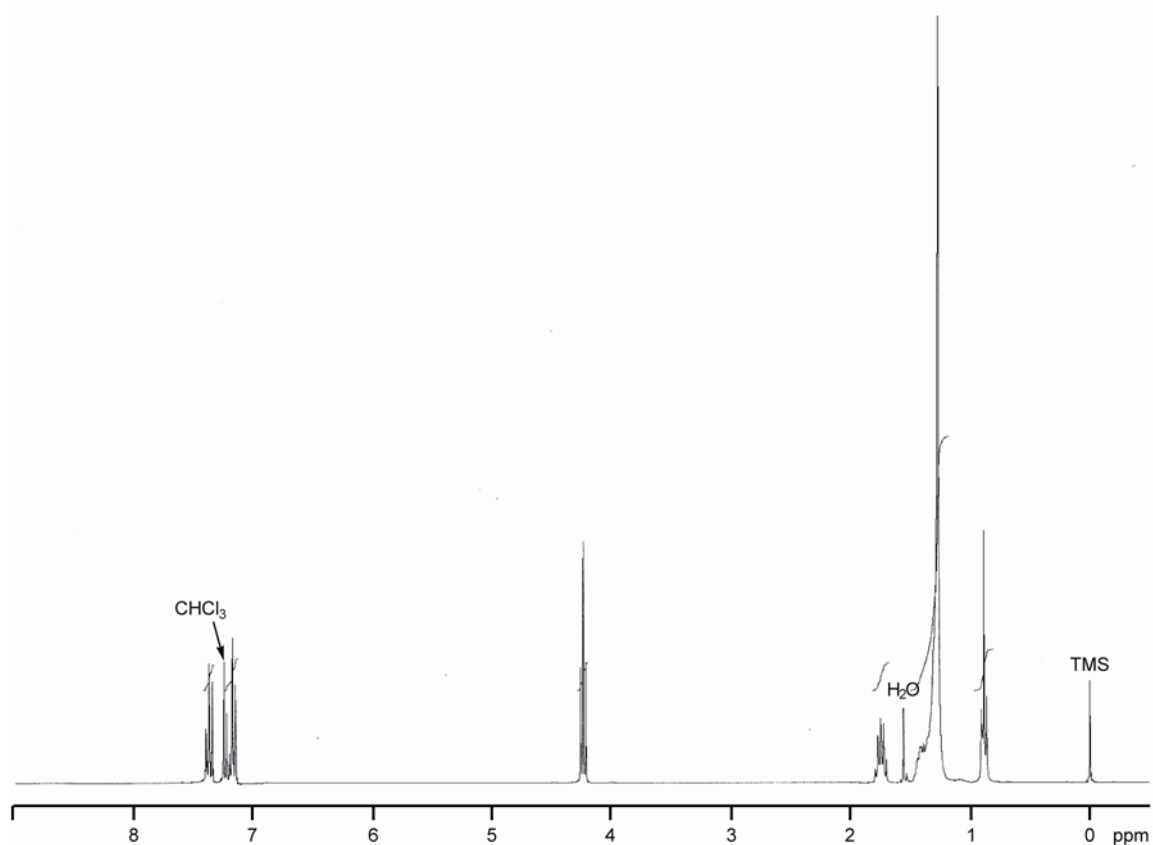


Fig. 2.15 ¹H NMR spectrum of *n*-DPC (300 MHz, CDCl₃).

***n*-DPC**

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : $\delta = 0.88$ (3H, t, $J = 7.2$ Hz, CH₃-), 1.18-1.52 (18H, m, -(CH₂)₉-), 1.74 (2H, tt, $J = 7.1, 7.1$ Hz, -CH₂CH₂O-), 4.25 (2H, t, $J = 7.1$ Hz, -CH₂CH₂O-), 7.15-7.45 (5H, m, Ph-).

Anal. Calcd. for C₁₉H₃₀O₃ : C, 74.47; H, 9.87. Found: C, 74.42; H, 9.90.

(2) S12Pr の合成

撹拌子を付した 10 mL ナスフラスコに、*n*-DPC (61.2 mg, 0.2 mmol) および HPr (24.5 mg, 0.1 mmol) をはかり取り、アセトニトリル (2.0 mL) を加えた。さらに、触媒として lipase CA (6.1 mg, *n*-DPC に対して 10 wt%) を加え、アルゴン雰囲気下、オイルバス中 40 °C で 4 日間撹拌反応を行った。

反応終了後、反応物にアセトニトリル (5.0 mL) を加え、ついでセライトろ過により不溶の酵素をろ別し、溶媒を減圧留去した。さらに、クロロホルム (3.0 mL) を加えて未反応の HPr をろ別し、溶媒を減圧留去することで粗生成物を得た。精製は酢酸エチル (0.5 mL) を用いた再結晶法により行い、ろ過により得られた結晶を十分に減圧乾燥させることで、S12Pr を収率 69% で得た。¹H NMR スペクトルにより生成物の同定を行った。¹H NMR スペクトルは Fig. 2.6 と一致した。以下に同定結果を示す。

S12Pr

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : δ = 0.88 (3H, t, *J* = 6.9 Hz, CH₃-), 1.17-1.41 (18H, m, -(CH₂)₉-), 1.67 (2H, tt, *J* = 7.5, 7.5 Hz, -CH₂CH₂CH₂CH₂OC(=O)-), 2.27 (2H, tt, *J* = 5.7, 7.4 Hz, -OCH₂CH₂CH₂N⁺), 3.53 (9H, s, N⁺(CH₃)₃), 3.73-3.84 (2H, m, -OCH₂CH₂CH₂N⁺), 4.14 (2H, t, *J* = 7.5 Hz, -CH₂CH₂CH₂CH₂OC(=O)-), 4.30 (2H, t, *J* = 7.5 Hz, -OCH₂CH₂CH₂N⁺).

2.2.11 生分解性

活性汚泥を用いた生分解性試験 [OECD テストガイドライン 301 C (試験名：Modified MITI (I))]によりカチオン界面活性剤の生分解性の評価を行った^[72]。

2.2.11.1 測定原理

(2.3)式に示すように、生物化学的酸素要求量 (BOD)と理論酸素要求量 (ThOD) の比から生分解率を算出した。

$$\text{Biodegradation (\%)} = \frac{\text{BOD}}{\text{ThOD}} \times 100 \quad (2.3)$$

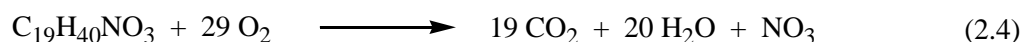
BOD：有機化合物が水中で好氣的生物酸化されることによって消費される溶存酸素の質量濃度。試験物質 1 mg あるいは 1 g あたりの mgO_2 として表される。

ThOD：有機化合物が完全に酸化されるために必要な酸素の質量濃度。試験物質 1 mg あるいは 1 g あたりに必要とされる mgO_2 として表される。

[ThOD 値の算出]

試験物質の ThOD 値の計算法を、**S12Pr** を例に以下に示す。このとき、アンモニウム塩 N^+ を N として扱い、また、 I は酸化反応に関与しないものとして計算を行った。

(2.4)式より、**S12Pr** (分子式: $\text{C}_{19}\text{H}_{40}\text{NO}_3\text{I}$, 分子量: 457.4) が完全に酸化分解されるには 29 当量の酸素が必要である。したがって、(2.5)式より、**S12Pr** の ThOD 値は $2.0 (\text{mgO}_2/\text{mg})$ と計算される。



$$\text{ThOD (mgO}_2/\text{mg)} = \frac{1}{457.4} \times 29 \times 32 = 2.0 \quad (2.5)$$

[BOD システムの原理]

BOD センサーシステムの模式図を Fig. 2.16 に示す。培養液中の有機物が活性汚泥中の微生物によって酸化される際には酸素が消費され、それに伴って放出される二酸化炭素は培養容器上部に取り付けたキャップ内の水酸化ナトリウムによって吸収される。閉鎖空間では、消費された酸素量に相当する分、内部圧力が低下することになる。圧力センサーは培養開始直後の内部圧力と一定時間後の内部圧力との差を測定し、この圧力差から培養液 1 L あたりに消費された酸素量 (mgO_2/L) を算出して表示する。BOD 値は試料 1 mg あたりに消費された

酸素量 (mgO_2/mg) であるので、圧力センサーが表示する値は BOD 値と培養液 1 L あたりに仕込んだ試料濃度 x (mg/L) との積に等しいことになる。したがって、(2.3)式において、分子に BOD を x 倍した値、分母に ThOD を x 倍した値を代入することにより生分解率を算出することができる。ただし、培養で消費される酸素量は、菌体が試料を酸化するのに要した酸素量と、呼吸に要した酸素量との総和であるため、生分解率の算出の際には試料溶液の値からブランク試験の値を引いた値を用いる必要がある。

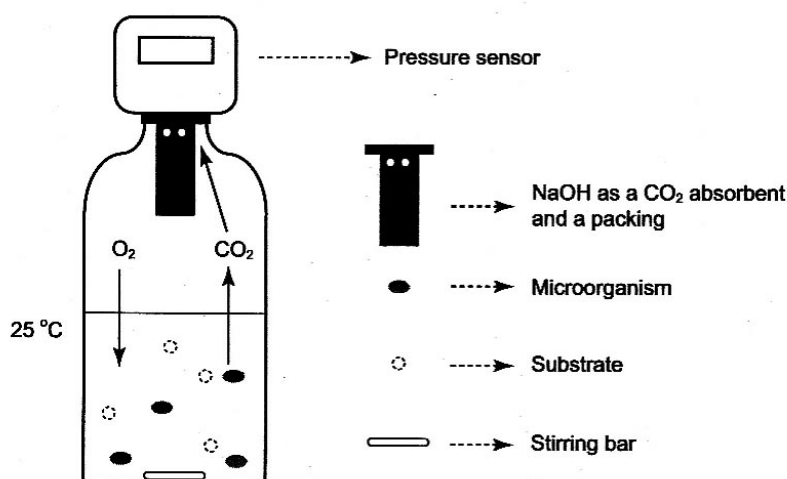


Fig. 2.16 System of BOD sensor.

2.2.11.2 測定方法

カーボネート型カチオン界面活性剤およびその加水分解物を試験物質として生分解性試験 (BOD 試験) を行った。BOD 試験に用いる無機塩培地および植種液の調製法を以下に示す。

[植種液]

横浜市環境創造局港北水再生センターより採取した返送汚泥 (活性汚泥) を 3 時間曝気した。活性汚泥中の固形物濃度を求めるために活性汚泥 10 mL をろ紙上に滴下し、ろ紙上に残った固形物を減圧下 $110\text{ }^\circ\text{C}$ で乾燥させることにより固形物 27 mg を得た。これより、活性汚泥中の固形物濃度は 2.7 mg/mL であることを確認した。培養液を調製する際には培養液中の固形物濃度が 30 mg/L になるように活性汚泥を添加した。

[無機塩培地の調製]

エアープンプを用いて 3 時間曝気した蒸留水を 1 L メスシリンダーに 200 mL 程度とり、以下に示す溶液 A, B, C, D をそれぞれ 3 mL ずつ添加し、攪拌した。これに蒸留水を加えて 1 L にメスアップした後、1 N 塩酸水溶液を用いて pH を 7.0 に調整した。

溶液 A～D それぞれの無機塩培地成分を蒸留水に溶解し、1 L に定容した。

溶液 A	リン酸二水素一カリウム (KH_2PO_4)	8.50 g
	リン酸水素二カリウム (K_2HPO_4)	21.75 g
	リン酸水素二ナトリウム十二水和物 ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	44.60 g
	塩化アンモニウム (NH_4Cl)	1.70 g
3 時間曝気した蒸留水に溶解し、1 L に定容した。		
溶液 B	硫酸マグネシウム七水和物 ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	22.50 g
	3 時間曝気した蒸留水に溶解し、1 L に定容した。	
溶液 C	塩化カルシウム無水物 (CaCl_2)	36.40 g
	3 時間曝気した蒸留水に溶解し、1 L に定容した。	
溶液 D	塩化鉄 (III)・六水和物 ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	0.25 g
	3 時間曝気した蒸留水に溶解し、1 L に定容した。	

次に、あらかじめはかり取った **S12Pr** 10.0 mg を、攪拌子を付した培養容器に入れ、そこへ植種液濃度 30 mg/L の培養液 250 mL を添加した。各試料の ThOD が 20 mgO₂/250 mL になるように仕込み量を決定した。BOD 試験を行ったカーボネート型カチオン界面活性剤およびその加水分解物 [**HPr**, **HiPr** および 1-ドデカノール (**DD**)] の仕込み量を Table 2.4 に示す。

水酸化ナトリウム 4 粒を入れた小カップを付したキャップを培養容器の上部に取り付けた後、その上から圧力センサーを装着することで培養容器を密閉した。これを 25 °C に設定したインキュベーター内に静置し、BOD 値の測定を開始した。また、試験が有効であるかを検定する標準物質としてアニリンを用いた。あらかじめ減圧蒸留したアニリン 12.9 mg (相当する ThOD は 40 mgO₂/250 mL) を培養容器にはかり取り、試験物質と同様にして BOD 試験を行った。なお、各試料について試験を 3 本ずつ行い、その平均値を BOD 値とした。

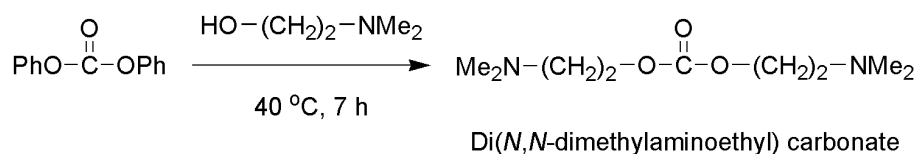
Table 2.4 Sample weight of carbonate-type cationics and the degradation intermediates for BOD test.

Compound	Molecular formula	Molecular weight (g/mol)	ThOD (mgO ₂ /mg)	Sample weight (mg)
S10Pr	C ₁₇ H ₃₆ NO ₃ l	429.4	1.9	10.5
S12Pr	C ₁₉ H ₄₀ NO ₃ l	457.4	2.0	10.0
S14Pr	C ₂₁ H ₄₄ NO ₃ l	485.5	2.1	9.5
S12iPr	C ₁₉ H ₄₀ NO ₃ l	457.4	2.0	10.0
HPr	C ₆ H ₁₆ NOl	245.1	1.4	14.3
HiPr	C ₆ H ₁₆ NOl	245.1	1.4	14.3
DD	C ₁₂ H ₂₆ O	186.3	2.1	9.5

2.3 結果と考察

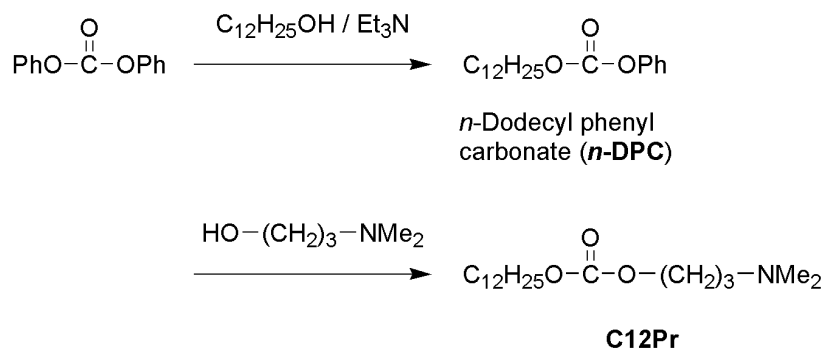
2.3.1 CnX の合成

ジフェニルカーボネートに 1-ドデカノール (**DD**) およびアミノアルコールを順次作用させることで **C12Pr** を合成した。ジフェニルカーボネートとアルコールのカーボネート交換反応では、フェノキシドの脱離能が高いためジアルキルカーボネートが比較的容易に副生するものと考えられる。当研究室ではこれまでに、*N,N*-ジメチルアミノエタノールとジフェニルカーボネートによる *N,N*-ジメチルアミノエチル=フェニル=カーボネートの合成が検討されており、*N,N*-ジメチルアミノエタノール/ジフェニルカーボネート = 1/1 (mol/mol)、40 °C で反応を行ったところ、7 時間後にはジ(*N,N*-ジメチルアミノエチル)カーボネートのみを得たことが報告されている (Scheme 2.7)^[73]。



Scheme 2.7 Reaction of diphenyl carbonate and *N,N*-dimethylaminoethanol.

これは、一次生成物の求電子性が比較的高いことによるものと考えられる。この結果から、目的物である *N,N*-ジメチルアミノアルキル=フェニル=カーボネートのみを高収率で得ることは困難であると判断し、ジフェニルカーボネートと **DD** の反応をはじめに行い、ついでアミノアルコールを作用させることで **C12Pr** の合成を行うこととした (Scheme 2.8)。



Scheme 2.8 Synthesis of *n*-DPC and **C12Pr**.

2.3.1.1 *n*-ドデシル=フェニル=カーボネート (*n*-DPC) の合成

トリエチルアミン存在下でのジフェニルカーボネートと **DD** の反応について、反応温度および反応時間が **DD** の転化率に与える影響を調べた。

(1) 反応温度

ジフェニルカーボネート/**DD**/トリエチルアミン = 1.0 (mol) として、40, 60, 80 °C で 5 時間反応を行った。反応終了後、トリエチルアミンを減圧留去することにより反応混合物を得た。**DD** の転化率は ¹H NMR スペクトルより算出した。**DD** の転化率は、重溶媒として CDCl₃ を用い、 $\delta = 0.88$ (CH₃-) のプロトン数を 3 として、 $\delta = 3.61$ (-CH₂OH) のプロトン数より算出した。

その結果、40, 60, 80 °C での **DD** の転化率はそれぞれ 26, 77, 84% となり、80 °C で最大となったため、以降の反応は 80 °C で行った。

(2) 反応時間

反応時間が **DD** の転化率に与える影響を調べた。結果を Fig. 2.17 に示す。

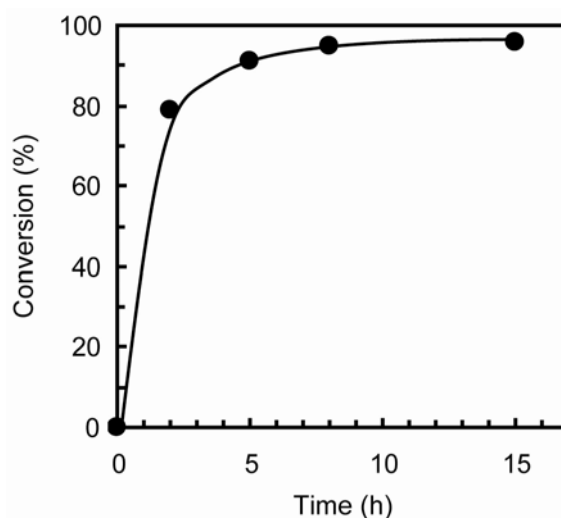


Fig. 2.17 Time course of the conversion of **DD** in the carbonate exchange reaction of diphenyl carbonate and **DD** in the presence of Et₃N. Reaction conditions: diphenyl carbonate (107.1 mg, 0.5 mmol), **DD** (93.2 mg, 0.5 mmol) and Et₃N (51.0 mg, 0.5 mmol) were stirred at 80 °C.

DD の転化率は時間とともに上昇し、8 時間でほぼ一定となった。以上の結果を踏まえて、ジフェニルカーボネート/**DD**/トリエチルアミン = 1/1/1 (mol)、80 °C、8 時間の条件で反応を行った。反応混合物の精製はシリカゲルカラムクロマトグラフィー [*n*-ヘキサン/酢酸エチル/アセトン = 20/1/1 (vol), *R_f* = 0.50] により行い、*n*-DPC を収率 87% で得た。

2.3.1.2 CnX の合成

ついで、*n*-DPC と 3-(*N,N*-ジメチルアミノ)-1-プロパノールの反応を行った。本反応においてアミノアルコールが自触媒として作用することを考慮し、3-(*N,N*-ジメチルアミノ)-1-プロパノールを *n*-DPC に対して 2 当量使用した。反応温度を *n*-DPC 合成に最適であった 80 °C とし、反応時間が *n*-DPC の転化率に与える影響を調べた。これにより得られた反応混合物の ¹H NMR スペクトルより *n*-DPC の転化率を算出した。*n*-DPC の転化率は重溶媒として CDCl₃ を用い、 $\delta = 0.88$ (CH₃-) のプロトン数を 3 とし、 $\delta = 4.25$ (CH₂OC(=O)OPh) のプロトン数より算出した。結果を Fig. 2.18 に示す。

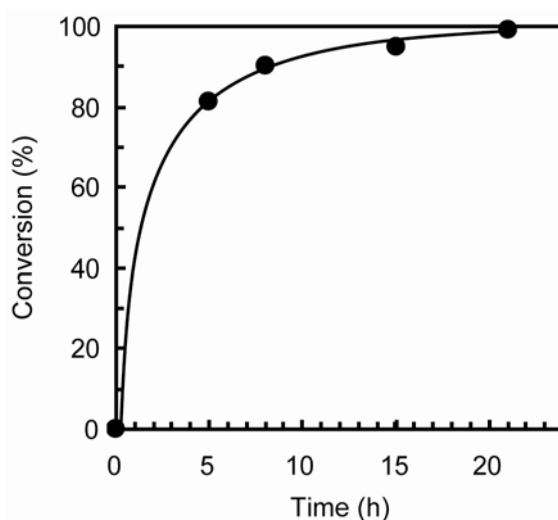


Fig. 2.18 Time course of the conversion of *n*-DPC in the carbonate exchange reaction of *n*-DPC and 3-(*N,N*-dimethylamino)-1-propanol. Reaction conditions: *n*-DPC (153.2 mg, 0.5 mmol) and 3-(*N,N*-dimethylamino)-1-propanol (103.2 mg, 1.0 mmol) were stirred at 80 °C.

n-DPC 転化率は時間とともに上昇し、反応開始 21 時間でほぼ 100% に達した。

グリーンケミストリーの観点から、有機材料合成の際には揮発性有機溶媒量の削減が求められる^[74]。このことを念頭に、途中で精製操作を必要としない、ワンポット反応による **CnX** の合成を試みた。これまでに得られた結果を踏まえ、下記の条件で **C12Pr** のワンポット反応による合成を行った。

1 段階目

ジフェニルカーボネート/DD/トリエチルアミン = 1/1/1 (mol), 80 °C, 8 時間

2 段階目

3-(*N,N*-ジメチルアミノ)-1-プロパノール/ジフェニルカーボネート = 2/1 (mol/mol), 80 °C, 21 時間

得られた反応混合物の精製をシリカゲルカラムクロマトグラフィー [クロロホルム/メタノール = 4/1 (v/v)] により行うことで、**C12Pr** を収率 91% で得た。同様にして、一連の **CnX** を収率 74-91% で得た。**C12Pr** と **C12iPr** の収率を比較すると、後者の方が若干低かった。これは、**C12iPr** 合成の際に用いた第二級アルコール (1-(*N,N*-ジメチルアミノ)-2-プロパノール) の求核性が、**C12Pr** 合成に用いた第一級アルコール (3-(*N,N*-ジメチルアミノ)-1-プロパノール) よりも低いことが原因として挙げられる。

2.3.2 カーボネート型カチオン界面活性剤 SnX の合成

CnX のアミノ基をヨウ化メチルにより四級化することで **SnX** を合成した。その際、比較的揮発性の高いヨウ化メチルを **CnX** に対して過剰量加えることにより反応を完全に進行させられるものと考え、1.2 当量として反応を行った。この反応により得られた粗生成物の精製法について検討を行った。目的物は親水性の高い結晶であるため、再結晶法あるいは再沈殿法による精製が適当と考え、はじめに各溶媒に対する粗生成物の溶解性の確認を行った。**S12Pr** および **S12iPr** 粗生成物の各溶媒に対する溶解性を Table 2.5 に示す。

Table 2.5 Solubility of carbonate-type cationics at room temperature.

S12Pr		S12iPr	
Solvent	Result	Solvent	Result
<i>n</i> -Hexane	Insoluble	<i>n</i> -Hexane	Insoluble
Diethyl ether	Insoluble	Diethyl ether	Insoluble
Acetone	Partially soluble	Acetone	Partially soluble
Ethyl acetate	Insoluble	Ethyl acetate	Partially soluble
Chloroform	Soluble	Chloroform	Soluble
Methanol	Soluble	Methanol	Soluble

この結果を踏まえ、良溶媒としてメタノール、貧溶媒としてジエチルエーテルを用いた再沈殿法により粗生成物の精製を行った。ろ過により得られた結晶を減圧乾燥させたところ、**S12iPr** は収率 90% で得られた。一方、**S12Pr** は全く得られなかった。そこで、ろ過操作により得られた結晶およびろ液の同定を試みた。ろ液の TLC スケッチ [*n*-ヘキサン/酢酸エチル = 4/1 (v/v)] を Fig. 2.19 に示す。 $R_f = 0.37$ に **DD**、 $R_f = 0.70$ にそれ以外の生成物の存在が認められた。そこで、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより $R_f = 0.70$ のフラクションを分取し、 $^1\text{H NMR}$ スペクトルにより解析を行った。ろ過操作により得られた結晶およびろ液に含まれる $R_f = 0.70$ の生成物の $^1\text{H NMR}$ スペクトルとその同定結果を Fig. 2.20 および Fig. 2.21 にそれぞれ示す。

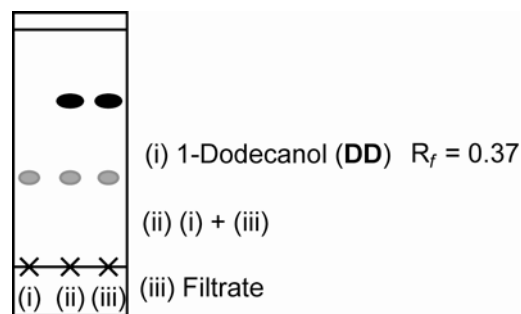


Fig. 2.19 Schematic representation of TLC [*n*-Hexane/ethyl acetate = 4/1 (v/v)].

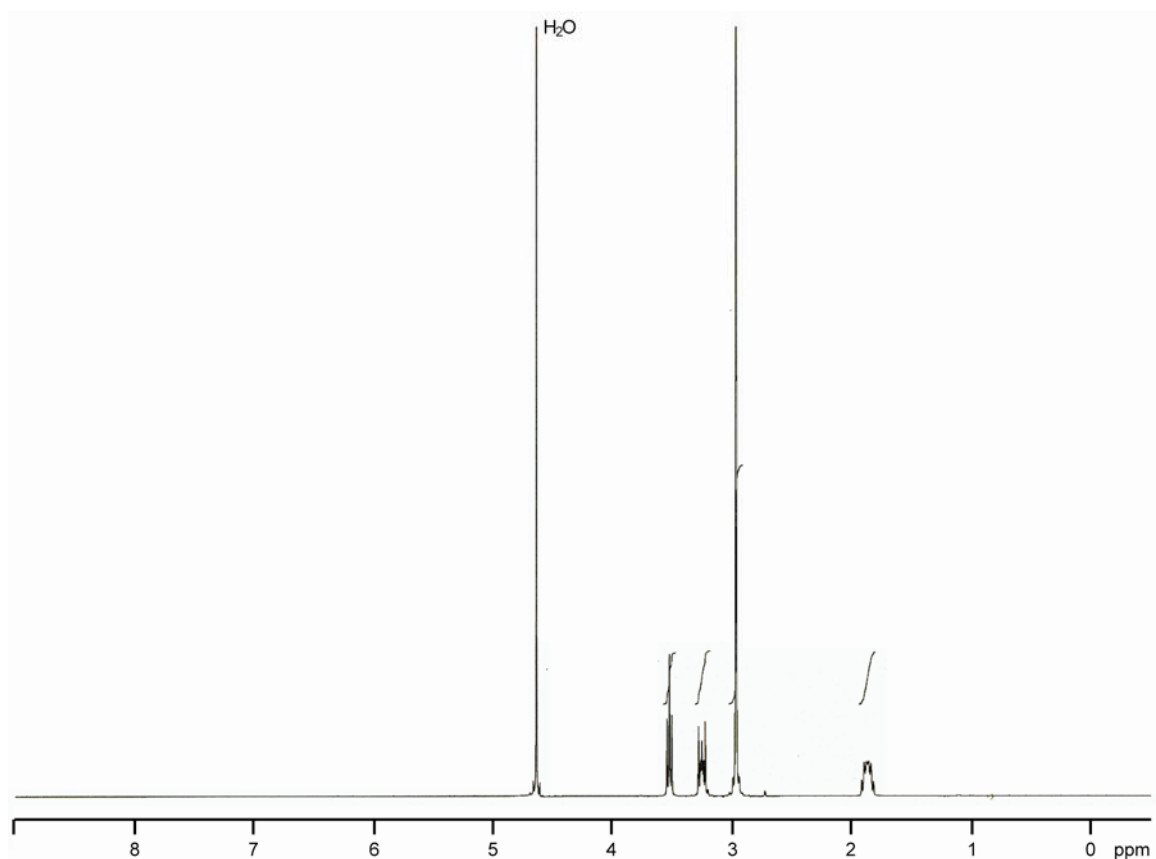


Fig. 2.20 ^1H NMR spectrum of the crystal (300 MHz, D_2O).

HPr

^1H NMR (300 MHz, D_2O) : $\delta = 1.81\text{-}1.94$ (2H, m, $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 2.98 (9H, s, $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 3.26-3.36 (2H, m, $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 3.55 (2H, t, $J = 6.6$ Hz, $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$).

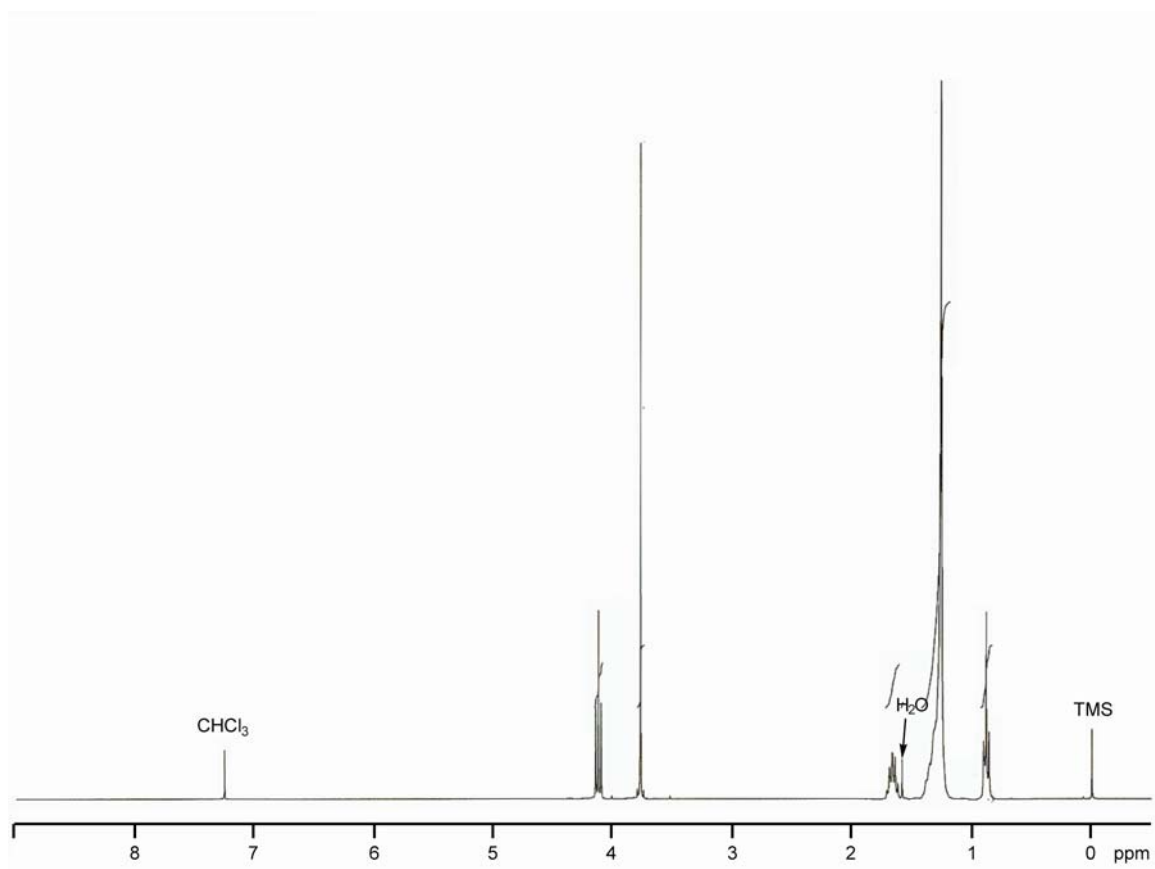


Fig. 2.21 ^1H NMR spectrum of the filtrate (300 MHz, CDCl_3).

n-Dodecyl methyl carbonate

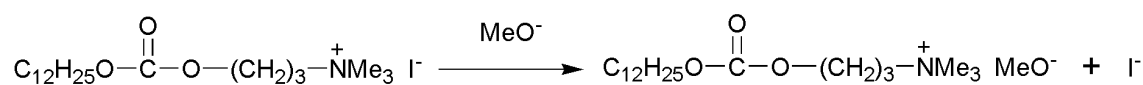
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : $\delta = 0.88$ (3H, t, $J = 6.9$ Hz, CH_3 -), 1.18-1.42 (18H, m, $-(\text{CH}_2)_9$ -), 1.66 (2H, tt, $J = 7.2, 7.2$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_3$), 3.78 (3H, s, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_3$), 4.14 (2H, t, $J = 7.2$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_3$).

TLC および ^1H NMR スペクトルによる同定結果から、**HPr**、**DD** および *n*-ドデシル=メチル=カーボネートの生成が認められた。これは、**S12Pr** 粗生成物の精製操作（良溶媒にメタノール、貧溶媒にジエチルエーテルを用いた再沈殿操作）でカーボネート結合の分解が起こったことを示している。**S12Pr** にメタノールを加えただけでは、加溶媒分解の進行は認められなかった（溶液は無色透明）。しかし、ジエチルエーテルを加えると溶液はすぐに淡黄色に変化し、その後、結晶の析出とともに溶液は無色透明となった。淡黄色溶液および無色透明溶液の TLC を観察したところ、前者ではカーボネート結合の分解は認められなかったが、後者ではそれが認められた。以上の結果から、**S12Pr** の分解は、ジエチルエーテルを加えることでヨウ化水素（酸）が生じ、系内が酸性となったことによるものと推測される (Scheme 2.9)。

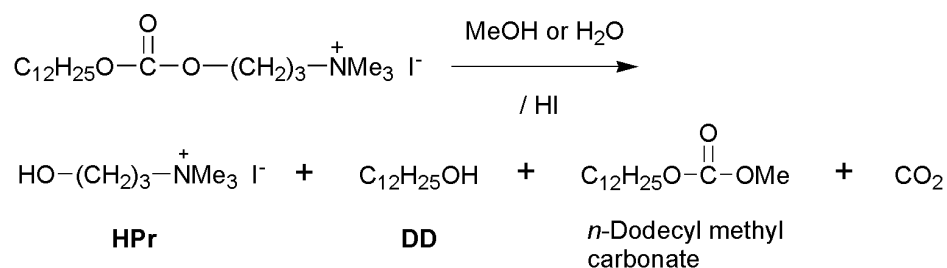
まず、ジエチルエーテルの作用（ルイス塩基性、水素結合受容性）によりメタノールからメトキシドアニオン (CH_3O^-) が生じる。これが **S12Pr** の対イオンであるヨウ化物イオン (I^-) とおき換わることで I^- が遊離し、これによりヨウ化水素（酸）が生じたことが予想される（溶液が淡黄色に変化）。このようにして系内が酸性となり、**S12Pr** は容易に加溶媒分解（加水分解）されたものと考えられる。その際、メチル=*N,N,N*-トリメチルアンモニウム=カーボネート=ヨージドの生成も予想されたが、それは認められなかった。これは、**S12Pr** の第四級アンモニウム塩側のカーボネート結合に隣接するメチレン炭素の方がドデシル基側のものよりも電子密度が低いことによるものと考えられる。 ^1H NMR スペクトルにおいて、前者のピークは $\delta = 4.30$ 、後者のものは $\delta = 4.14$ に位置している。ケミカルシフトが低磁場側に位置するということは、そのメチレン炭素の電子密度がより低いことを意味する。第四級アンモニウム塩の正電荷がカーボネート結合周辺の電子を引き付けるという誘起効果によりカーボネート結合に隣接するメチレン炭素の電子密度が低下したため、この部分が脱離しやすくなったものと思われる。これにより、**HPr** の生成が優先されたものと考えられる。

一方、**S12iPr** は、電子供与基である側鎖メチル基の存在により **S12Pr** と比べてカーボネート結合周辺の電子密度が高いために、カーボネート結合の分解が起こらなかったものと考えられる。

(1) Production of I^-



(2) Degradation of **S12Pr**



Scheme 2.9 Proposed mechanism for the degradation of the carbonate linkage.

S12Pr の収率を増加させるため、酢酸エチルを用いた再結晶法により粗生成物の精製を行った。**S12Pr** 粗生成物に酢酸エチルを加え、60 °C に加温したところ完全に溶解した。その後、室温で放冷すると結晶の析出が認められた。ろ過により得られた結晶を減圧乾燥させたところ、**S12Pr** が収率 85% で得られた。同様にして **S10Pr** は収率 86%、**S14Pr** は収率 85% で得られた。一方、**S12iPr** の収率は 65% に止まった。これは、酢酸エチルへの **S12iPr** 粗生成物の溶解性が **S12Pr** よりも高いことによるものと考えられる。

2.3.3 水中安定性

S12Pr および **S12iPr** はいずれも、純水中、25 °C、28 日間の条件では全く分解が認められなかった。一方、リン酸緩衝液中では、いずれにも 10%程度の分解が認められた。これは、リン酸塩が触媒的な役割を果たしていることによるものと考えられる。そこで、**S12Pr** および **S12iPr** の水中安定性を精査するためにリン酸緩衝液中、25 °C および 40 °C での加水分解試験を行った。結果を Fig. 2.22 に示す。

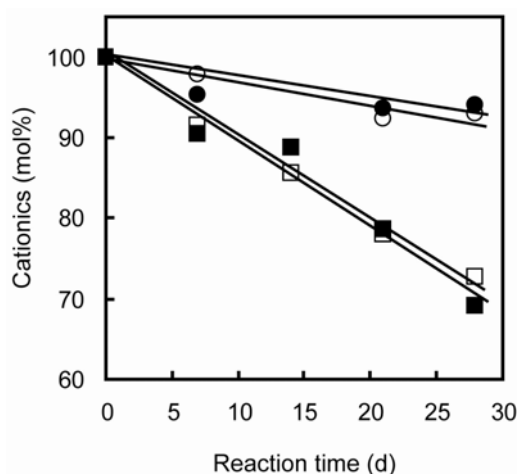


Fig. 2.22 Time course of the hydrolysis of **S12Pr** and **S12iPr** in phosphate buffer. **S12Pr**, 25 °C (○); **S12iPr**, 25 °C (●); **S12Pr**, 40 °C (□); **S12iPr**, 40 °C (■). Sample concentration: 10 g/L, pH 7.0.

試験を行った条件では、**S12Pr** および **S12iPr** の加水分解性に顕著な差異は認められなかった。**S12Pr** および **S12iPr** はいずれも、40 °C、28 日間で 30%程度の分解が認められた。一方、ドデカノイル基を有する esterquat 型カチオン界面活性剤はリン酸緩衝液中、39 °C、18 日間の反応で 60%以上分解することが報告されている^[51]。以上のことから、**S12Pr** および **S12iPr** は、エステル型カチオン界面活性剤よりも高い水中安定性を有することが確認された。

2.3.4 界面活性

2.3.4.1 表面張力低下能

カーボネート型カチオン界面活性剤の表面張力-濃度曲線を Fig. 2.23 に示す。この結果から、水の表面張力 (25 °C で 72 mN/m) を 20 mN/m 下げるのに必要な界面活性剤モル濃度 (C_{20}) の負の対数値 ($pC_{20} = -\log C_{20}$) を算出した^[75]。カチオン界面活性剤の cmc、 γ_{cmc} 、 pC_{20} および A_{min} 値を Table 2.6 にまとめた。

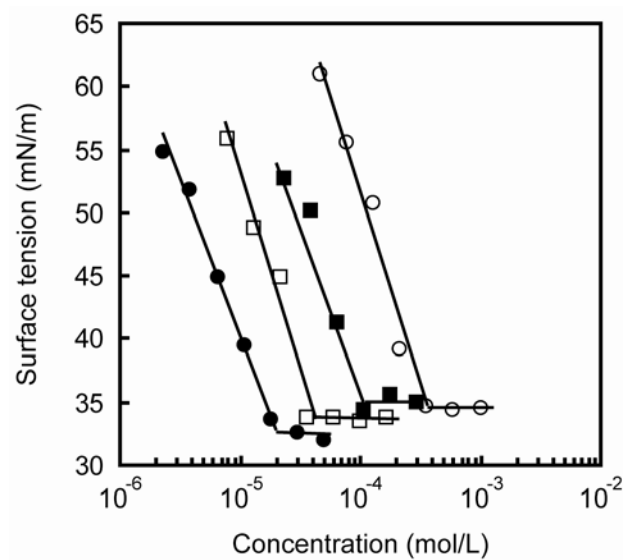


Fig. 2.23 Surface tension vs. concentration of carbonate-type cationics in aqueous solution at 25 °C. **S10Pr** (○), **S12Pr** (□), **S14Pr** (●), **S12iPr** (■).

Table 2.6 Surfactant properties of cationics in aqueous solution at 25 °C.

Cationics	cmc (mM)	γ_{cmc} (mN/m)	pC_{20}	$10^2 A_{min}$ (nm ²)
S10Pr	3.5	34	3.0	57
S12Pr	0.41	34	4.0	60
S14Pr	0.19	33	4.5	77
S12iPr	1.3	35	3.6	74
DTAI	5.4	35	2.8	54
TTAI	0.81	37	3.5	55

(1) カーボネート型カチオン界面活性剤と従来型カチオン界面活性剤の cmc の比較

Menger らは、モノエステル型およびジエステル型カチオン界面活性剤 (Fig. 2.24) では、メチレン鎖数 [(p, q)あるいは(x, y, z)] が cmc に与える影響は殆どないものの、それがミセルのサイズや形に与える影響は非常に大きいことを報告している^[76]。cmc 値は単にミセルを形成する最低濃度を示しており、ミセルの大きさ、形、凝集数（ミセルを形成するのに必要な界面活性剤分子の数）などを示すものではない。そのため、界面活性剤の構造が分子間相互作用に与える影響について議論する際には、cmc だけでなく、ミセルの大きさや凝集数なども比較することが望ましい。しかし、カーボネート型カチオン界面活性剤では、そのミセルが小さすぎるためか、動的光散乱法によりミセルサイズおよび凝集数（会合体の分子量を測定し、これを界面活性剤 1 分子の分子量で除すことにより算出）を測定することができなかった。そこで、cmc の比較のみから界面活性剤の構造が分子間相互作用に与える影響を考察した。

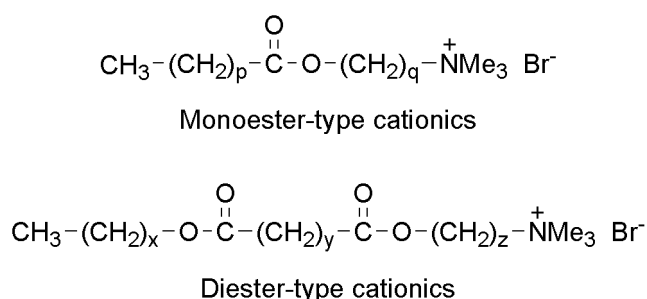


Fig. 2.24 Molecular structure of ester-type cationics.

S10Pr と **TTAI** の総炭素数は同数であるが、**S10Pr** の cmc は **TTAI** の約 4 倍だった。このことは、カーボネート結合には水中での界面活性剤分子の集合を阻害する効果があることを示唆している。カーボネート結合は極性基であるため、その周辺には水分子が多く存在していることが予想される。それにより分子間に働く疎水的な相互作用が弱まって分子同士が集合しにくくなり、結果として **S10Pr** の cmc は **TTAI** よりも大きくなったものと考えられる。一方、Fig. 2.24 のモノエステル型 (10, 3) およびそれと同数のメチレン数を有する *N*-テトラデシル-*N,N,N*-トリメチルアンモニウム=ブロミド (**TTAB**) の cmc はそれぞれ 4.6 mM、3.3 mM であり^[76]、**S10Pr** と **TTAI** ほどの差異は認められていない。エステル結合はカーボネート結合よりも酸素原子が 1 つ少なく、分子間相互作用の阻害効果がカーボネート結合ほど大きくないことによるものと考えられる。

また、カーボネート結合を有する **S12Pr** および **S12iPr** は、同じドデシル基を有する **DTAI** よりも cmc が小さかった。これは、第四級アンモニウム塩とカーボネート結合の間のプロピレン部およびイソプロピレン部が分子間疎水性相互作用に寄与していることによるものと考えられる。

(2) **S12Pr** と **S12iPr** の cmc の比較

S12Pr の cmc は **S12iPr** よりも小さかった。これは、**S12iPr** の疎水性が **S12Pr** よりも低いことを示している。疎水基の炭素数が同数の場合、疎水基が分岐構造になっている界面活性剤は、直鎖構造のものよりも cmc が大きくなることが知られている^[77]。これは、分岐構造の側鎖部分が分子間疎水性相互作用に寄与しないことによるものと考えられる。その結果、直鎖構造のものよりも分子間相互作用が弱まり、界面活性剤分子が集合しにくくなったと言える。

また、**SnPr** には炭素鎖が長くなる (=疎水性が増す) につれて cmc が低下するという、一般的な界面活性剤と同様の傾向が認められた。

(3) γ_{cmc} , pC_{20} および A_{min}

γ_{cmc} 値が小さいことは気-液界面に並んだ界面活性剤分子間の相互作用が大きいことを意味する。また、 pC_{20} が大きいことは水の表面張力を 20 mN/m 下げるのに必要な界面活性剤量が少ないことを示し、 A_{min} が小さいことは一分子辺りの表面積が小さく、単位面積当たりにより多くの界面活性剤分子が存在することをそれぞれ意味している。

同炭素数の **S10Pr** と **TTAI** の A_{min} の比較では、両者に顕著な差異は認められなかった。このことから、両者の分子間相互作用はほぼ同等と考えられる。

S12Pr の γ_{cmc} 値は、**S12iPr** よりも僅かに小さかった。また、 pC_{20} については **S12Pr** の方が僅かに大きく、 A_{min} については **S12iPr** の方が大きかった。これらの差異は cmc に現れた差ほど大きいものではないが、これらの結果はいずれも、**S12Pr** の分子間疎水性相互作用が **S12iPr** よりも強いことを示している。**S12iPr** の分子間相互作用は、側鎖メチル基同士の立体反発によって弱められているものと考えられる。

2.3.4.2 起泡力および泡安定性

250 mL の空気を界面活性剤水溶液に吹き込んだ直後の泡体積を起泡力、5 分後のものを泡安定性として評価を行った。カーボネート型カチオン界面活性剤および典型的なカチオン界面活性剤である *N*-テトラデシル-*N,N,N*-トリメチルアンモニウム=クロリド (TTAC) の起泡力および泡安定性の結果を Fig. 2.25 に示す。プロピレン部を有する S12Pr は高い起泡力および泡安定性を示した。一方、イソプロピレン部を有する S12iPr は高い起泡力を示したものの、泡安定性は低かった。S12Pr の A_{\min} が S12iPr に比べて小さいために、S12Pr の方がより安定な泡膜を形成しやすいものと考えられる。

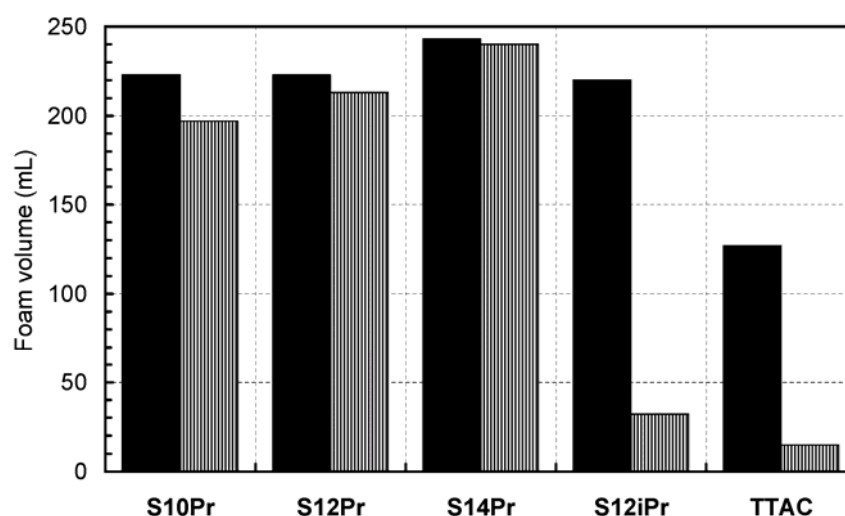


Fig. 2.25 Foam production and stability of cationics by semi-micro TK method in aqueous solution (sample concentration: 5 mM, temp.: 25 °C). Black: 0 min, stripe: 5 min.

2.3.5 抗菌性

最小発育阻止濃度 MIC を指標としてカチオン界面活性剤の抗菌性を評価した。MIC は菌体細胞増殖の抑止が肉眼で確認されたときの最小濃度であるため、この値が小さいほどそれぞれの菌株に対して高い抗菌性を発現すると評価できる。本研究では、グラム陽性およびグラム陰性細菌、カビおよび酵母など真菌に対する MIC を測定した。結果を Table 2.7 に示す。

Table 2.7 Antimicrobial activities of cationics and **SnPr**-derived **HPr**.

Strain	MIC ($\mu\text{g/mL}$)					
	S10Pr	S12Pr	S14Pr	S12iPr	DTAI	HPr
<i>S. aureus</i>	25	2.5	2.5	2.5	10	>400
<i>B. subtilis</i>	50	2.5	2.5	5	10	>400
<i>M. luteus</i>	100	5	2.5	2.5	25	>400
<i>E. coli</i>	20	10	>400	10	25	>400
<i>S. typhimurium</i>	200	200	>400	200	100	>400
<i>P. aeruginosa</i>	100	100	100	400	50	>400
<i>C. albicans</i>	>400	>400	>400	400	200	>400
<i>S. cerevisiae</i>	400	400	400	400	100	>400
<i>T. mentagrophytes</i>	200	50	100	400	50	100
<i>M. gypseum</i>	25	10	10	5	25	200
<i>P. chrysogenum</i>	400	200	400	100	100	>400
<i>A. niger</i>	>400	>400	>400	>400	100	>400

カチオン界面活性剤による抗菌作用は次のような機構で起こっているものと考えられる^[78]。

- (1) 菌体表面へ吸着後、菌体内部へ侵入
- (2) 細胞壁を通過
- (3) 細胞膜との結合→細胞膜の破壊
- (4) 細胞内部まで入り込むことで細胞増殖を抑制

カーボネート結合を有する界面活性剤はこの抗菌作用発現までの過程で、菌体酵素による加水分解と脱炭酸を受けて、相当する第四級アンモニウム塩を含むアルコールおよび長鎖アルコールが生成することが予想される。そこで、**SnPr** 由来の第四級アンモニウム塩を含む加水分解物 **HPr** の MIC の評価を同様に行った。**HPr** は殆どの試験菌株に対して抗菌活性を発現しなかったのに対し、**SnPr** は種々の菌株に対して高い活性を発現した。このことから、培養試験中、**SnPr** のカーボネート結合は開裂していないものと考えられる。

ドデシル基を有するカーボネート型カチオン界面活性剤 **S12Pr** および **S12iPr** は、従来型の **DTAI** よりも抗菌性が高く、特に、*S. aureus* および *E. coli* に対して高い活性を示した。また、**S12Pr** は **S12iPr** と同等の抗菌性を示した。このことは、第四級アンモニウム塩とカーボネート結合の間の構造が抗菌性に与える影響は殆どないことを示している。

2.3.6 ケミカルリサイクル

Candida antarctica 由来の固定化リパーゼ (lipase CA) を触媒として利用した **S12Pr** のケミカルリサイクルについて検討を行った。具体的には、**S12Pr** の化学-酵素加水分解と、その分解物とジフェニルカーボネートとの反応による元の界面活性剤への再合成について検討を行った。

2.3.6.1 化学-酵素加水分解

(1) トルエン中での分解

Lipase CA によるトルエン中での **S12Pr** の分解について、反応時間が分解率に与える影響を調べた。**S12Pr** の残存率を ^1H NMR スペクトルから算出した。**S12Pr** の残存率は、重溶媒として CD_3OD を用い、 $\delta = 0.88$ の CH_3 -のプロトン数を3として、カーボネート結合に隣接するメチレン ($\delta = 4.25$) のプロトン数から算出した。結果を Fig. 2.26 に示す。

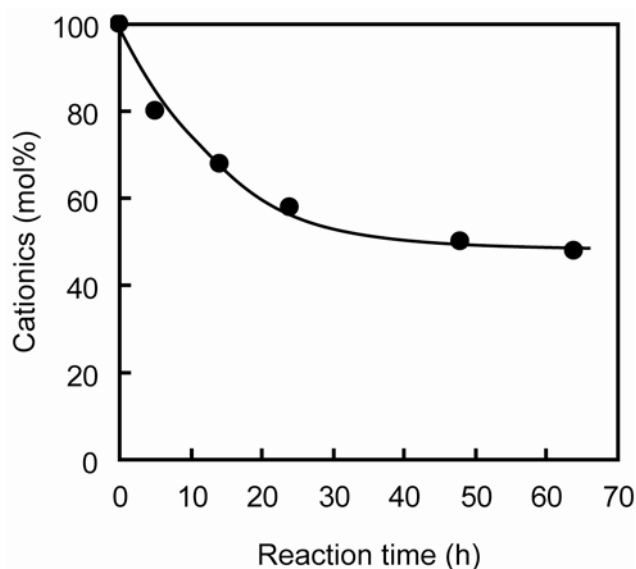
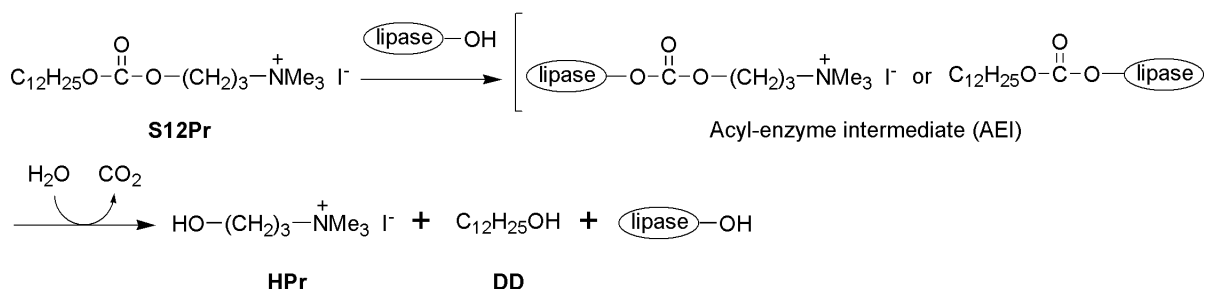


Fig. 2.26 Time course of the enzymatic hydrolysis of **S12Pr** in toluene. Reaction conditions: **S12Pr** (10 mg) and lipase CA (10 mg) were stirred in toluene (0.2 mL) at 65 °C.

S12Pr は時間とともに減少したが、24 時間以降では顕著な減少は認められなかった。これは、24 時間後には系内の水が殆ど存在しないことを示している。本反応の推定反応機構を Scheme 2.10 に示す。したがって、系内から水がなくなると **S12Pr** の加水分解は停止するものと考えられる。本反応で用いた酵素および **S12Pr** はあらかじめ五酸化二リン存在下、常温で 2 時間乾燥させているため、酵素に含まれる自由水は殆どないものと考えられる。五酸化二

リン存在下、常温で2時間乾燥させた酵素に含まれる水分は0.4 wt%程度であると報告されている^[79]。仮にこの水分が全て自由水であるとする、酵素 (10 mg) には 40 mg (2.2 mmol) 存在していたことになる。これは、**S12Pr** (0.022 mmol) を完全に分解するのに化学量論的に十分であるにもかかわらず、分解は途中で停止した。このことから、酵素に含まれる水は一部しか反応に利用されず、その量では分解を完全に進行させることができなかつたと言える。このことは、**S12Pr** を完全に分解するためには系内への水の添加が必要であることを示唆している。



Scheme 2.10 Proposed mechanism for the lipase-catalyzed hydrolysis of **S12Pr**.

系内への水の添加が必要であることを明らかにするため、反応生成物の同定を行った。Fig. 2.27 に反応時間 64 時間後の ¹H NMR スペクトルを示す。

カーボネート結合の開裂（加水分解と脱炭酸）のみが起きたならば、¹H NMR スペクトルに **DD** 由来のピークが確認できるはずである。しかし、 $\delta = 1.57$ に **DD** 由来のピーク ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$) は認められなかった。このことは、**S12Pr** の開裂により生じた **DD** が消費されたことを示している。

また、カーボネート結合が開裂した際には、第四級アンモニウム塩側のカーボネート結合に隣接するメチレン [$\delta = 4.25$ ($\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$)] と疎水基側のカーボネート結合に隣接するメチレン [$\delta = 4.07\text{-}4.18$ ($\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$)] のプロトン数は同数となるはずである。しかし、前者のプロトン数は 0.96 であったのに対し、後者のものは 1.93 であった。これは、**DD** がドデシル基を有する AEI に求核攻撃し、ジドデシルカーボネートが生成されたことによるものと考えられる。2.3.2 に記したように、**S12Pr** の第四級アンモニウム塩を含む部分はドデシル基を有する部分よりも脱離しやすいため、**S12Pr** が Ser¹⁰⁵ (lipase CA の活性中心) の求核攻撃を受ける段階で、**HPr** が生成するものと考えられる。したがって、系内にはドデシル基を有する AEI が多く存在することが予想される。

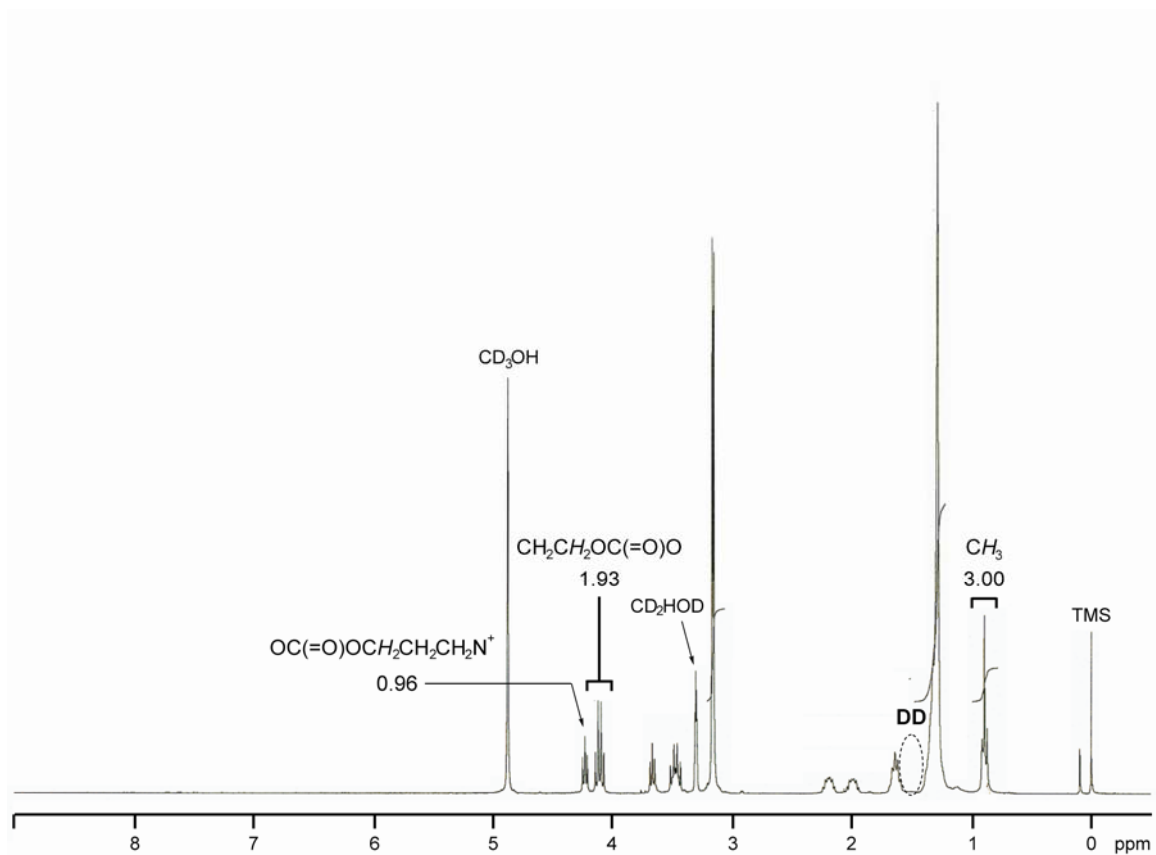
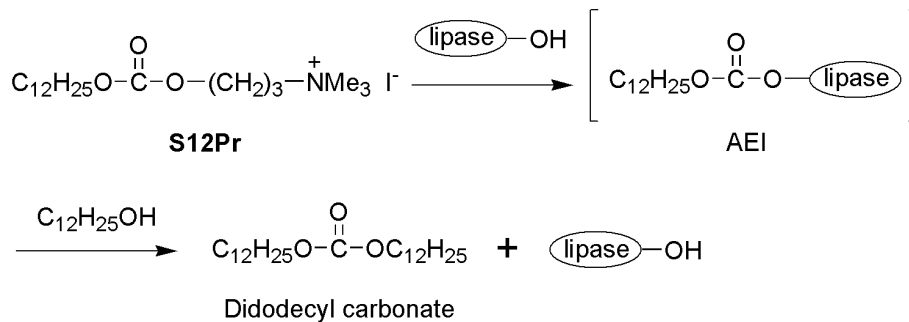


Fig. 2.27 ^1H NMR spectrum of the crude product (300 MHz, CD_3OD). Reaction conditions: **S12Pr** (10 mg) and lipase CA (10 mg) were stirred in toluene (0.2 mL) at 65 °C for 64 h.

以上のことをまとめると次のようになる。まず、系内に微量に存在する水によって **S12Pr** は加水分解と脱炭酸を受け、**HPr** および **DD** が生成する。酵素の活性ポケットは比較的疎水性が高いため、長鎖基を有する **DD** は比較的容易にポケット内に入ることができる。**DD** がドデシル基を有する **AEI** へ求核攻撃することにより、ジドデシルカーボネートが生成する (Scheme 2.11)。



Scheme 2.11 Production of didodecyl carbonate.

この推定反応機構から、系内に水がなくなると **DD** が生成されなくなるため、**S12Pr** の分解は途中で停止するものと考えられる。実際に、分解率は 50%程度で頭打ちとなったことから (Fig. 2.26)、**S12Pr** を完全に分解させるためには水の添加が必要と言える。

(2) トルエン+水中での分解

S12Pr の分解を完全に進行させるため、水を微量 (トルエンに対して 1.0 vol%) 加え、65 °C で 24 時間攪拌反応を行った。この反応混合物の ^1H NMR スペクトルを Fig. 2.28 に示す。

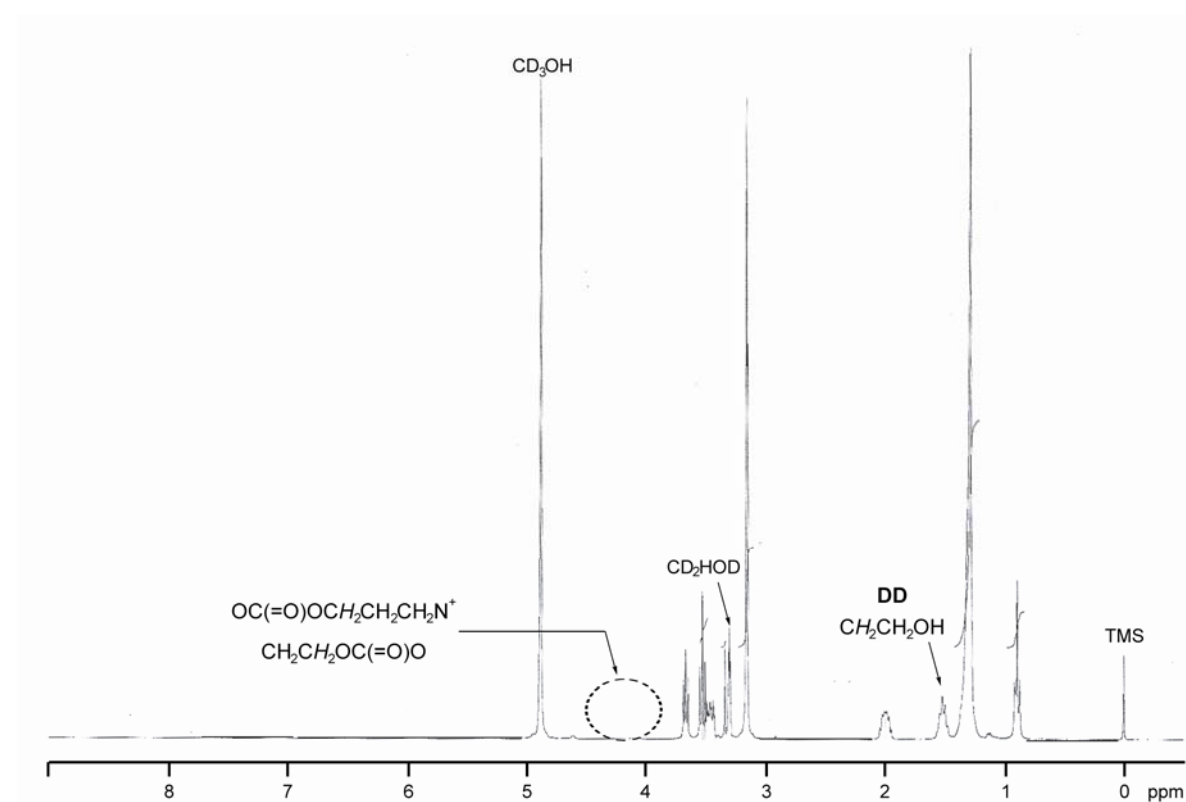


Fig. 2.28 ^1H NMR spectrum of the crude product (300 MHz, CD_3OD). Reaction conditions: **S12Pr** (50 mg) and lipase CA (50 mg) were stirred in toluene (1.0 mL) containing a small amount of water (10 μL) at 65 °C for 24 h.

カーボネート結合に隣接するメチレンピーク ($\delta = 4.07\text{-}4.25$) が消失したこと、また、**DD** 由来のピーク ($\delta = 1.57$) が認められたことから、**S12Pr** は加水分解と脱炭酸を受け、**HPr** および **DD** が生成したと言える。

得られた粗生成物の精製を良溶媒としてメタノール、貧溶媒として酢酸エチルを用いた再沈殿法により行い、ろ過により得られた結晶を十分に減圧乾燥させることで **HPr** を収率 95%

で得た。

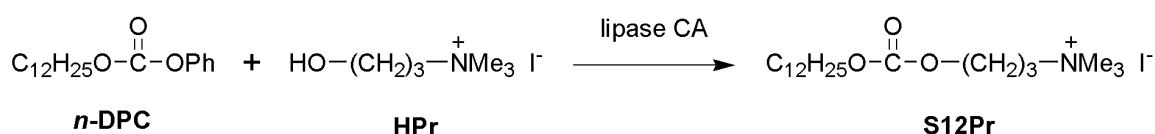
S12Pr の化学-酵素加水分解の最適条件をまとめると次のようになる。

100 wt% lipase CA (**S12Pr** に対して)、トルエン (**S12Pr** 濃度 : 50 mg/mL)、
水 (トルエンに対して 1.0 vol%)、65 °C、24 時間

この条件で反応を行うことにより、**S12Pr** のカーボネート結合は加水分解と脱炭酸を受け、
相当する **HPr** および **DD** が生成した。

2.3.6.2 再合成

Lipase CA を触媒に用いた **n-DPC** と **HPr** の反応による **S12Pr** の再合成について検討を行った (Scheme 2.12)。なお、**n-DPC** は 2.3.1 で合成したものをを用いた。



Scheme 2.12 Reproduction of **S12Pr**.

Lozano らは、塩化コリンとビニルブチレートとのエステル交換反応が、lipase CA 存在下、アセトニトリル中、40 °C で効率的に進行することを報告している^[80]。これを参考に、**S12Pr** 再合成における酵素量、**n-DPC** 濃度および反応時間が与える影響を調べた。反応中、**n-DPC** は lipase CA により加水分解と脱炭酸を受けることが予想されたため、**n-DPC/HPr** = 2/1 (mol/mol) として反応を行った。結果を Table 2.8 に示す。

(1) 酵素量

Entry 1 の lipase CA 非存在下では反応が進行しなかったのに対し、entries 2-4 の lipase CA 存在下では **S12Pr** の生成が認められたことから、本反応は lipase CA の触媒作用によって進行することが確認された。酵素量増加による収率の顕著な増加は認められなかったことから、lipase CA を **n-DPC** に対して 10 wt% とした。

(2) **n-DPC** 濃度

Entry 3, 5, 6 の結果から、**n-DPC** 濃度が希薄になるにつれて **S12Pr** の収率は増加する傾向が認められた。これは、**HPr** のアセトニトリルへの溶解性がそれほど高くないことによるもの

と考えられる。*n*-DPC 濃度 40 mg/mL (entry 5) と 30 mg/mL (entry 6) では収率の顕著な差異が認められなかったことから、これ以上の希薄条件では反応を行わなかった。

(3) 反応時間

Entries 6-8 より、収率は反応時間と共に増加する傾向が認められ、反応時間 4 日で最大収率 69%となった。反応時間 4 日までは TLC 上に **DD** は認められなかったが、6 日ではその存在が認められたため、これ以上の長時間反応は行わなかった。

Table 2.8 Lipase-catalyzed carbonate exchange reaction of *n*-DPC and **HPr**.

Entry	Lipase concentration (wt%)	<i>n</i> -DPC concentration (mg/mL)	Time (d)	Yield (%)
1	0	50	2	no reaction
2	10	50	2	34
3	20	50	2	31
4	30	50	2	32
5	10	40	2	50
6	10	30	2	54
7	10	30	4	69
8	10	30	6	62

Reaction conditions: *n*-DPC (30.6 mg, 0.10 mmol), **HPr** (12.3 mg, 0.05 mmol) and lipase CA were stirred in acetonitrile at 40 °C.

Lipase CA 存在下での *n*-DPC と **HPr** の反応の最適条件を以下にまとめる。

n-DPC/**HPr** = 2/1 (mol/mol)、10 wt% lipase CA (*n*-DPC に対して)、
アセトニトリル (*n*-DPC 濃度 : 30 mg/mL)、40 °C、4 日間

この条件で反応を行い、酢酸エチルを用いた再結晶操作により精製を行うことで **S12Pr** が収率 69%で得られた。2.3.1 で述べたように *n*-DPC は収率 87%で得られていることから、**S12Pr** の再合成は 2 段階総収率 60%で達成されたことになる。

以上の結果をまとめると次のようになる。微量の水を添加したトルエン溶液中、**S12Pr** に lipase CA を作用させることで、相当する第四級アンモニウム塩を含むアルコール **HPr** および **DD** が生成した。これらとジフェニルカーボネートを lipase CA 存在下で反応させることで **S12Pr** が再生した。以上のことから、**S12Pr** は lipase CA を利用したケミカルリサイクルが可能であることが認められた。

2.3.7 生分解性

2.3.7.1 試料濃度が生分解率へ与える影響

S12Pr 濃度を 20, 40, 60, 80 ppm [相当する ThOD は、それぞれ 40, 80, 120, 160 (mgO₂/L)] として 28 日間の BOD 試験を行った。それらの生分解率の経時変化を Fig. 2.29 に示す。

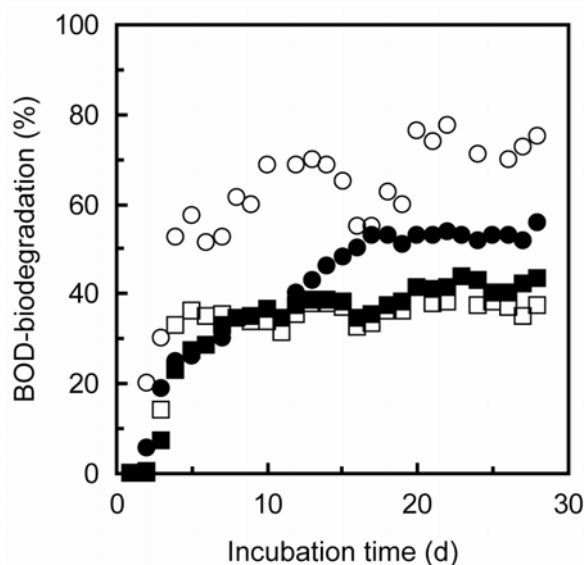


Fig. 2.29 Time course of BOD-biodegradation of carbonate-type **S12Pr** at 25 °C for 28 days. **S12Pr** concentration: 20 ppm (○), 40 ppm (●), 60 ppm (□), 80 ppm (■), activated sludge: 30 ppm.

S12Pr 濃度 20~60 ppm の範囲では、**S12Pr** 濃度を希薄にするにしたがって生分解率は増加する傾向が認められた。これは、Table 2.7 に示したように **S12Pr** が種々の菌株に対して高い抗菌活性を発現することが原因として挙げられる。**S12Pr** 濃度が高いほど、活性汚泥に含まれる菌体の生育を妨げやすくなることが予想される。

S12Pr 濃度 20 ppm では、生分解率は最大で 78% に達した。しかし、その値は一定値に収束することではなく、ばらつく結果となった。生分解率は BOD/ThOD から算出される。このうち、BOD 値は測定値、ThOD 値は一定値である。したがって、ThOD (mgO₂/250 mL) 値が小さいほど生分解率は変動しやすくなる。このような理由から、**S12Pr** 濃度 20 ppm では生分解率がばらつく結果になったと言える。一方、**S12Pr** 濃度 40 ppm 以上においては、それぞれの生分解率が一定値に収束する傾向が認められた。**S12Pr** 濃度 40 ppm の 28 日後の生分解率は 57% だったが、培養期間を 45 日まで延長したところ 61% に達した。BOD 試験では生分解率が 60% を越えると、その試料は環境中でも容易に分解する（易分解性）と見なされる。

以上の結果から、ThOD = 80 mgO₂/L に相当する量を仕込み、各試料の生分解性を評価することとした。

2.3.7.2 カーボネート型カチオン界面活性剤の生分解性

カーボネート型カチオン界面活性剤の生分解は、微生物酵素（菌体外酵素）によりカーボネート結合が加水分解と脱炭酸を受け、第四級アンモニウム塩を含むアルコールおよび長鎖アルコールが生成することによって開始するものと予想される。これにより生成した加水分解物は微生物体内に取り込まれ、 β -酸化および ω -酸化によって分解されるものと考えられる。このような推定生分解機構から、カーボネート型カチオン界面活性剤の加水分解物が速やかに生分解されれば、元の界面活性剤も優れた生分解性を有するものと見なされる。

SnPr 由来の第四級アンモニウム塩を含む加水分解物 **HPr**、**S12iPr** 由来の **HiPr** および 1-ドデカノール (**DD**) についても同様にして BOD 試験を行った。カーボネート型カチオン界面活性剤およびその加水分解物の生分解率を Fig. 2.30 に示す。

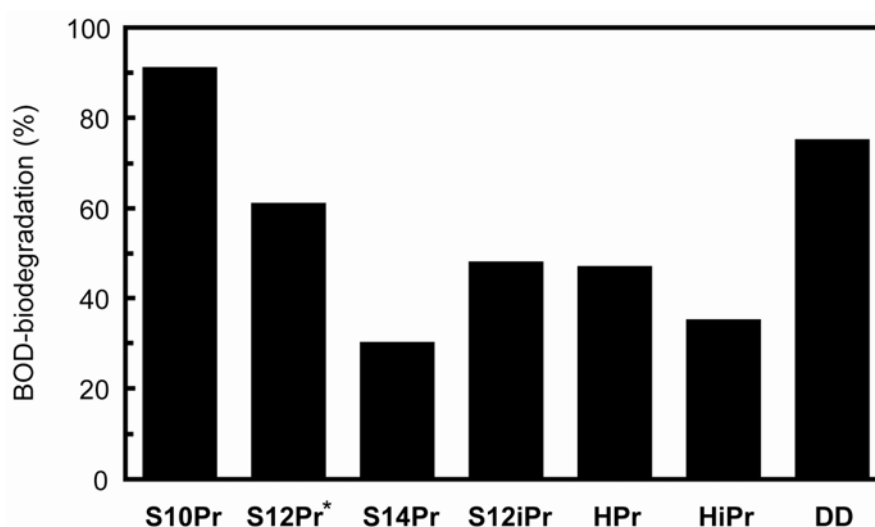


Fig. 2.30 BOD-biodegradation of carbonate-type cationics and degradation intermediate (**HPr**, **HiPr** and **DD**) at 25 °C for 28 days (*45 days). Activated sludge: 30 ppm, carbonate-type cationics: ca. 40 ppm, **HPr** and **HiPr**: 57 ppm, **DD**: 38 ppm.

SnPr の生分解率は、疎水基が長くなるにつれて低下する傾向が認められた。これは、疎水基が長くなるにつれて水溶性が低下することによるものと考えられる。**S12Pr** は **S12iPr** よりも生分解性に優れた。推定生分解機構から、カーボネート結合の加水分解性の違い、あるいは、第四級アンモニウム塩を含む加水分解物の生分解性の違いという 2 点が原因として挙げられる。2.3.3 に記したように、**S12Pr** と **S12iPr** の加水分解性に顕著な差異は認められなかった。一方、第四級アンモニウム塩を含む加水分解物の生分解性には若干の差異が認められた。すなわち、**S12Pr** 由来の **HPr** の方が **S12iPr** 由来の **HiPr** よりも生分解性が僅かに高かった。したがって、**S12Pr** の生分解性が **S12iPr** よりも優れたのは、**S12Pr** 由来の **HPr** の方が **S12iPr** 由来の **HiPr** よりも生分解性に優れたことによるものと考えられる。

2.4 結言

界面活性と抗菌性を併せ持つ第四級アンモニウム塩型カチオン界面活性剤に生分解性およびケミカルリサイクル性を付与することを目的に、分子内にカーボネート結合を導入した新規カチオン界面活性剤を分子設計し、そのグリーンプロセスによる合成、界面活性、抗菌性、ケミカルリサイクル性および生分解性について検討を行った。

トリエチルアミン存在下、ジフェニルカーボネートに長鎖アルコールおよびアミノアルコールをワンポットで作用させることで、*n*-アルキル=*N,N*-ジメチルアミノアルキル=カーボネートを収率 74-91% で得た。ついでアミノ基をヨウ化メチルにより四級化することで、カーボネート型カチオン界面活性剤を収率 65-86% で得た。

カーボネート型カチオン界面活性剤は優れた界面活性を發揮した。特に、表面張力低下能は、全炭素数が同数の従来型カチオン界面活性剤よりも高かった。また、カーボネート型カチオン界面活性剤は、エステル型のものよりも高い水中安定性を有することが認められた。ドデシル基を有するものは種々の菌に対して高い活性を示し、なおかつ活性汚泥により速やかに生分解された。微量の水を添加したトルエン溶液中、カーボネート型カチオン界面活性剤にリパーゼを作用させると、カーボネート結合が加水分解と脱炭酸を受け、相当する第四級アンモニウム塩を含むアルコールおよび長鎖アルコールが生成した。これらとジフェニルカーボネートをリパーゼ存在下で反応させることで、元の界面活性剤が再生した。これらのことから、カーボネート型カチオン界面活性剤はケミカルリサイクル性を有することが認められた。以上のことから、カチオン界面活性剤のカーボネート結合は、生分解性およびケミカルリサイクル性セグメントとして有効であることが認められた。

第3章

新規ジェミニ型カチオン性グリーンサーファクタントの創成

3.1 緒言

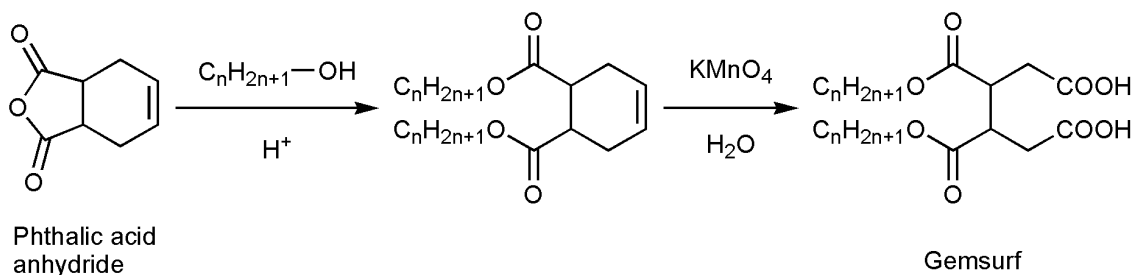
3.1.1 はじめに

ジェミニ型界面活性剤は、一鎖一親水基型界面活性剤の親水基付近をリンカーで連結させた構造をしており、分子内に2つずつの親水基および疎水基を有する。この構造の界面活性剤は、1960年代から特許に登場する。1971年にBuntonらは、ジェミニ型カチオン界面活性剤の形成するミセルがエステル加水分解反応の触媒に利用可能であることを報告した^[81]。それ以降、世界中の研究者によってジェミニ型界面活性剤に関する研究が活発に行われている。

ジェミニ型界面活性剤の特徴として、相当する一鎖一親水基型界面活性剤と比べて、使用量の削減につながる優れた界面活性を発揮することが挙げられる^[10,11,82-88]。この特徴から、ジェミニ型界面活性剤はしばしば「次世代型界面活性剤」と呼称される。しかし、ジェミニ型界面活性剤の構造と物性との関係については、従来の一鎖一親水基型界面活性剤の概念では理解できないところも多く、その解明が今後の課題とされている。

近年では、ジェミニ型界面活性剤の工業的利用も試みられている。例えば、ドイツ Sasol 社は、ジェミニ型アニオン界面活性剤を配合した Ceralution[®]を開発し、可溶化剤、乳化剤および分散剤としての使用を実現させた。また、国内でも、中京油脂が二鎖ビスカルボン酸塩型化合物の低コスト製造法の開発に成功し、Gemsurf[®]という商品名で利用展開を図っている。その合成スキームを Scheme 3.1 に示す。出発原料はフタル酸無水物の誘導体であり、2段階反応によってビスカルボン酸が純度良く得られている。そのナトリウム塩は、優れた界面活性を示すだけでなく、乳化性改良剤や濡れ剤として顕著な効能を発揮するため、特に洗浄剤や化粧品分野において注目を集めている^[89]。しかし、これまでに実用化されているジェミニ型界面活性剤は、この2種類のもとビス第四級アンモニウム塩型カチオン界面活性剤に限られる。これは、ジェミニ型界面活性剤の合成が多段階に渡り、合成コストが高いことによるものと考えられる。より効率的かつ低コストでのジェミニ型カチオン界面活性剤の合成が強く望まれている。

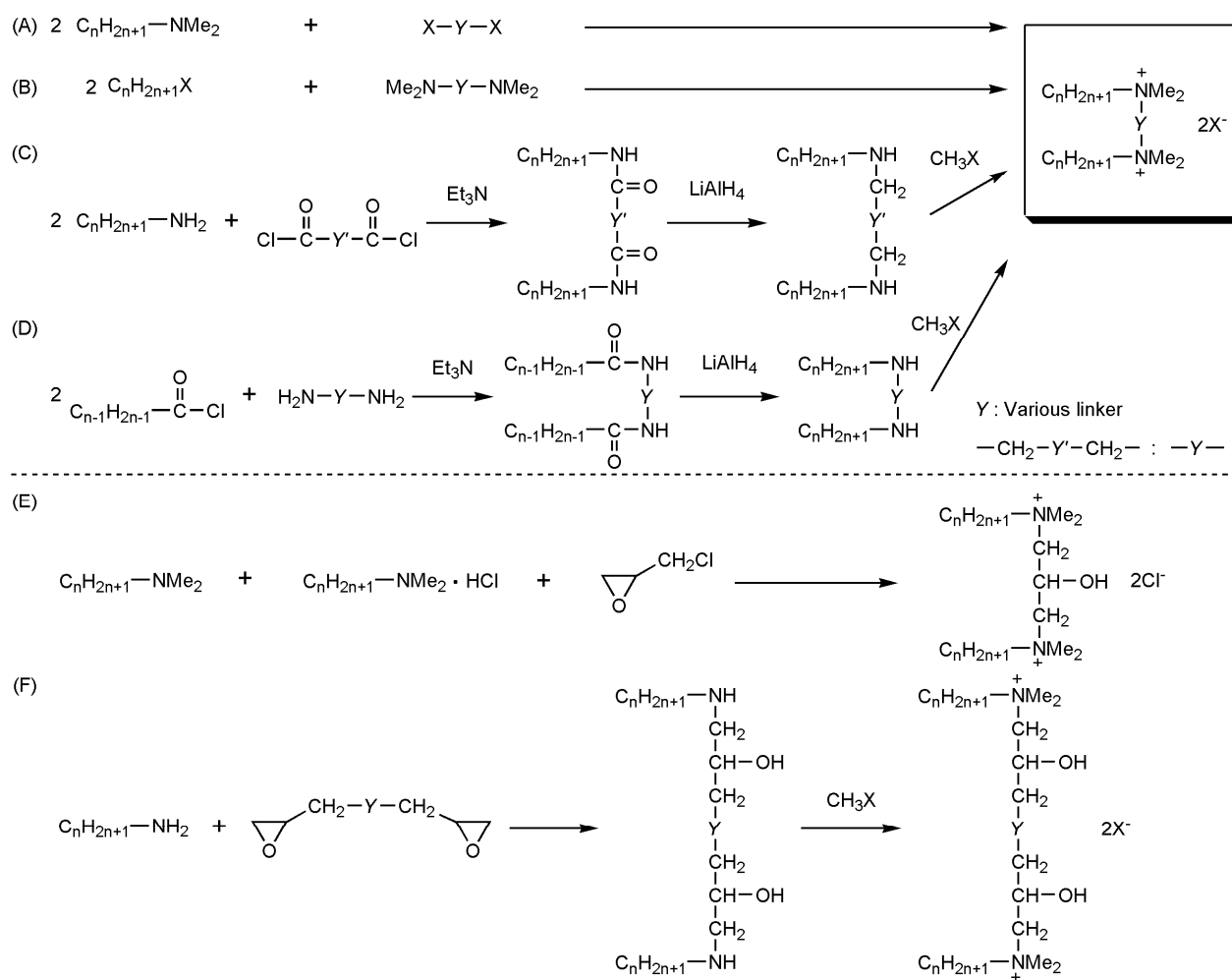
本章では、ジェミニ型カチオン界面活性剤に生分解性およびケミカルリサイクル性を付与することを目的に、分子内にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤を分子設計し、その合成および特性について検討を行った。以下に、ジェミニ型カチオン界面活性剤の合成法、生分解性を有するジェミニ型カチオン界面活性剤およびカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤の分子設計について記す。



Scheme 3.1 Synthesis of Gemsurf.

3.1.2 ジェミニ型カチオン界面活性剤の合成法

ジェミニ型カチオン界面活性剤の合成は、非イオン性やアニオン性のものに比べて比較的容易であるため、その報告例は圧倒的に多い。ジェミニ型カチオン界面活性剤の主な合成スキームを Scheme 3.2 に示す。



Scheme 3.2 Synthesis of gemini-type cationics.

(A)～(D)法により得られるものが最も代表的なジェミニ型カチオン界面活性剤である。(A)法および(B)法は第三級アミンとハロゲン化アルキルの組み合わせによる反応で最も容易な方法であるが、反応に長時間を要し、目的物の単離精製が困難である場合が多い。より高純度のジェミニ型カチオン界面活性剤を得たい場合には、酸塩化物を出発物質とする(C)法または(D)法が推奨される^[90]。(E)法^[91]および(F)法^[75]は、連結基部分に水酸基を有する化合物の合成法である。この他に、疎水基が非対称のもの^[92]や、連結基部分に不斉中心を有するもの^[93]もこれまでに合成されている。

ジェミニ型カチオン界面活性剤は、相当する一鎖一親水基型カチオン界面活性剤と比較して使用量の削減につながる優れた界面活性を發揮し、また、種々の菌株に対して高い抗菌性を発現することが知られている^[18,94,95]。カチオン界面活性剤は高分子電解質の一種であるDNAやタンパク質に静電的な相互作用によって吸着し、それらの変性を引き起こすことが知られている。そして、ジェミニ型とすることでその吸着能は更に強まり、より低濃度でDNAやタンパク質の変性を引き起こすことが報告されている^[96,97]。このような性質から、ジェミニ型カチオン界面活性剤は遺伝子治療剤や化粧品などへの応用が検討されている。

このような特徴を有する一方で、これまでに合成されたジェミニ型カチオン界面活性剤は一般に、環境微生物により生分解されにくいことが指摘されている。グリーンケミストリーの観点から、ジェミニ型カチオン界面活性剤は、使用量の削減につながる高機能を發揮することはもとより、優れた生分解性、さらに使用形態によってはケミカルリサイクル性を有することが強く望まれている。

3.1.3 生分解性を有するジェミニ型カチオン界面活性剤

生分解性を有するジェミニ型カチオン界面活性剤の報告例はそれほど多くないのが現状である。これは、ジェミニ型カチオン界面活性剤が2量体構造であるため立体的に嵩高く、環境微生物に取り込まれにくいことや、高い抗菌性を発現することが原因として挙げられる。

分子内にエステル結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤は、生分解性を有することが報告されている^[51,53,98]。これは、エステル結合が微生物酵素(菌体外酵素)により容易に加水分解され、それによって生成する低分子量体化合物(カルボン酸およびアルコール)が微生物体内に取り込まれやすいことによるものと考えられる。エステル結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤の分子構造と活性汚泥を用いた生分解性試験(BOD試験)による生分解率の結果をTable 3.1に示す。

Table 3.1 Biodegradation of gemini-type cationics.

Entry	Molecular structure	Methylene unit	Biodegradation (%) (day)
1	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C}_n\text{H}_{2n+1}\text{O}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{NMe}_2^+ \\ \\ (\text{CH}_2)_p \\ \\ \text{C}_n\text{H}_{2n+1}\text{O}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{NMe}_2^+ \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	2Br ⁻ (n, p) = (12, 2)	62 (42) ^[51]
2	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C}_{n-1}\text{H}_{2n-1}-\text{C}-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{NMe}_2^+ \\ \\ (\text{CH}_2)_q \\ \\ \text{C}_{n-1}\text{H}_{2n-1}-\text{C}-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{NMe}_2^+ \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	2Br ⁻ (n, q) = (10, 3) (10, 6) (12, 3)	49 (56) ^[53] 39 (56) ^[53] 63 (42) ^[53]
3	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C}_{n-1}\text{H}_{2n-1}-\text{C}-\text{O}-(\text{CH}_2)_r-\text{NMe}_2^+ \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_{n-1}\text{H}_{2n-1}-\text{C}-\text{O}-(\text{CH}_2)_r-\text{NMe}_2^+ \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	2Cl ⁻ (n, r) = (12, 2) (10, 4) (8, 6)	59 (14) ^[98] 48 (14) ^[98] 42 (14) ^[98]

Table 3.1 の entry 3 のジェミニ型カチオン界面活性剤には、エステル結合と第四級アンモニウム塩の間のメチレン鎖数が少ないほど生分解性に優れる傾向が認められる。これは、そのメチレン鎖数が少ないほどエステル結合が加水分解されやすいことによるものと考えられる。しかし、entry 2 の (12, 3) や entry 3 の (12, 2) は水中での加水分解性が高く、界面活性剤としての安定性に劣る点で難を抱えている。

酵素により分解され得る加水分解性結合としてアミド結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤もこれまでに合成されているが、それは全く生分解されないことが報告されている^[99]。これは、このアミド結合が微生物酵素により全く加水分解されないことによるものと考えられる。水中で高い安定性を有し、なおかつ速やかに生分解されるジェミニ型カチオン界面活性剤の開発が強く求められている。

3.1.4 カーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤の分子設計

ジェミニ型カチオン界面活性剤に生分解性およびケミカルリサイクル性を付与する目的で、分子内にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤の分子設計を行った (Fig. 3.1)。本化合物に期待される特徴を以下に記す。

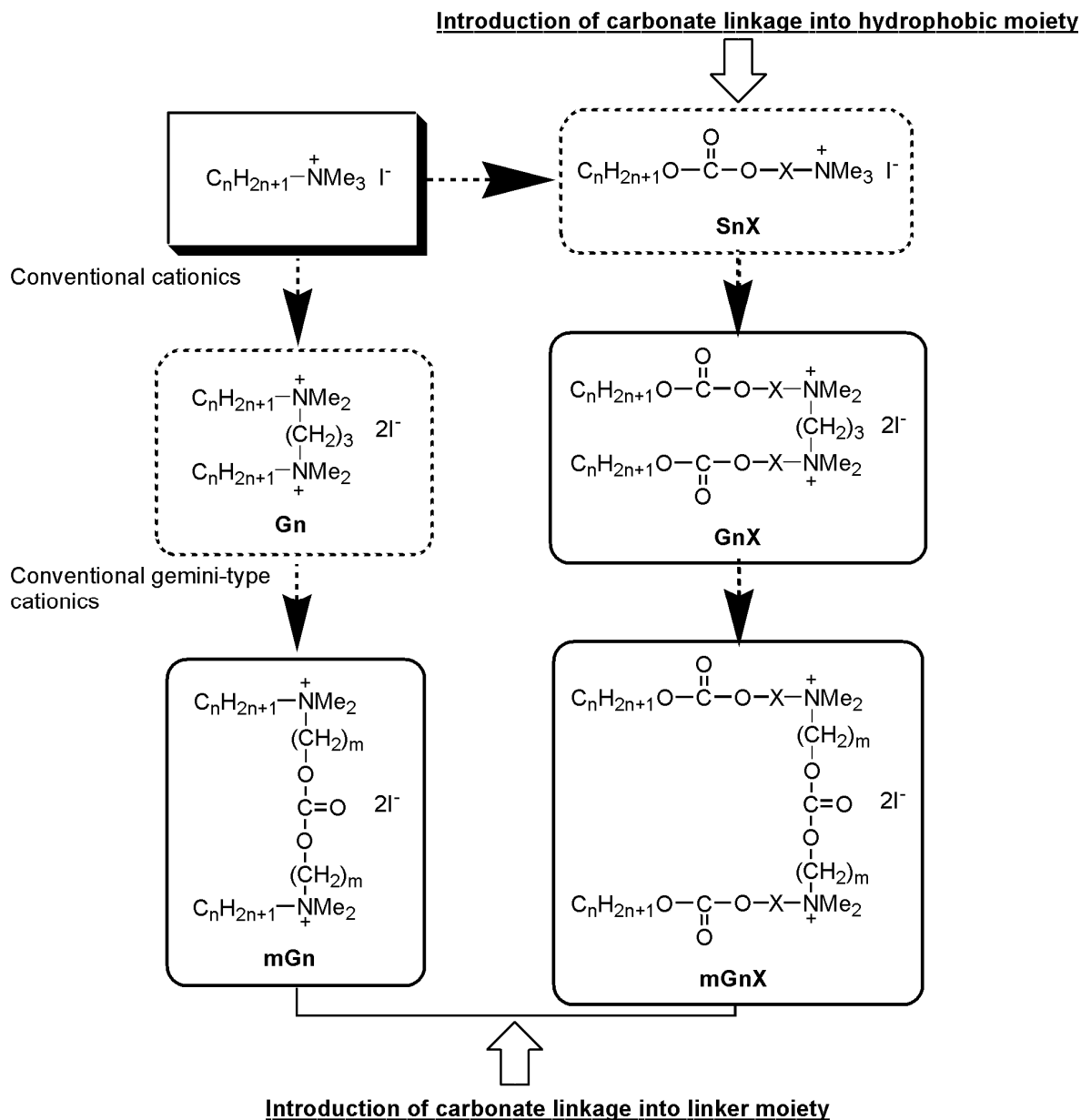


Fig. 3.1 Design of biodegradable and chemically recyclable gemini-type cationics containing carbonate linkages.

(1) グリーンプロセスによる合成

カーボネート結合の導入には、従来は有毒なホスゲンが用いられてきたが、本研究ではグリーン試薬としてジフェニルカーボネートを使用した。ジフェニルカーボネートを用いる合成ではフェノールが副生成物として生じるが、ジメチルカーボネートと反応させることでジフェニルカーボネートに戻す工業的リサイクルプロセスが確立されている。これにより、環境汚染物質を排出しない、グリーンプロセスによる合成が実現できるものと考えられる。

(2) ケミカルリサイクル

環境汚染および資源枯渇問題から、工業分野で使用される界面活性剤にはリサイクル性が求められる。カーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤には、酵素触媒を用いたケミカルリサイクルが可能であることが期待される。このようなケミカルリサイクル性を有する界面活性剤を工業分野に応用することで、資源の循環型使用と環境問題の解決に貢献できるものと考えられる。

(3) 生分解性を有するジェミニ型カチオン界面活性剤

カーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤の生分解は、微生物酵素によりカーボネート結合が加水分解と脱炭酸を受けることではじまるものと予想される。これにより生成した2分子のアルコールは微生物体内に取り込まれ、 β -酸化および ω -酸化によって分解されるものと考えられる。そのため、カーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤は、従来のジェミニ型カチオン界面活性剤が示す界面活性と抗菌性に加えて、優れた生分解性を併せ持つことが期待される。

本章では、以上のような特徴を有することが期待される新規ジェミニ型カチオン界面活性剤のグリーンプロセスによる合成、界面活性、ケミカルリサイクル性、生分解性および抗菌性について検討を行った。

3.2 実験方法

3.2.1 酵素

酵素はいずれも五酸化ニリン存在下、常温で2時間減圧乾燥(3 mmHg)させてから用いた。

Table 3.2 List of enzymes.

Enzyme origin	Abbreviation	Manufacturer
Immobilized lipase from <i>Candida antarctica</i> B (Novozym 435 [®]) Specific activity = 10,000 PLU/g ^(a)	CA	Novozymes
Immobilized lipase from <i>Rizomucor miehei</i> (Lipozyme RM IM [®]) Specific activity = 5-6 BAUN/g ^(b)	RM	Novozymes
Immobilized lipase from <i>Burkholderia cepacia</i> (Lipase PS-C, Amano I immobilized on ceramic) Specific activity = 1,000 PLU/g ^(c)	PS-C	Amanoenzyme Co., Ltd.
Immobilized lipase from <i>Candida rugosa</i> (Lipase CR immobilized macroporous acrylic beads) Specific activity = 518 units/g solid ^(d)	CR	Aldrich Co., Inc.

^(a) Lipase (lipase B) from *Candida antarctica* produced by submerged fermentation of a genetically engineered *Aspergillus oryzae* and adsorbed on a macroporous acrylic resin, having 10,000 PLU/g (propyl laurate units: activity based on ester synthesis)].

Lot number of Novozym 435[®]: LC200207

^(b) The interesterification activity of Lipozyme RM IM[®] is expressed in batch acidolysis units Novo (BUAN/g). Lipozyme RM IM[®] is immobilized on a macroporous anion-exchange resin.

^(c) One unit produces 1.0 micromole of 1-phenethyl alcohol to 1-phenethyl acetate per min at 25 °C in the presence of vinyl acetate.

^(d) One unit hydrolyzes 1.0 microequivalent of fatty acid from olive oil in one hour at pH 7.2 at 37 °C. One g solid yields approximately 2.4 mL packed gel.

3.2.2 試薬

ジフェニルカーボネート	東京化成工業 (株)	
<i>N,N</i> -ジメチル- <i>n</i> -デシルアミン	東京化成工業 (株)	
<i>N,N</i> -ジメチル- <i>n</i> -ドデシルアミン	東京化成工業 (株)	
<i>N,N</i> -ジメチル- <i>n</i> -テトラデシルアミン	東京化成工業 (株)	
3-(<i>N,N</i> -ジメチルアミノ)-1-プロパノール	東京化成工業 (株)	
1-(<i>N,N</i> -ジメチルアミノ)-2-プロパノール	東京化成工業 (株)	
1-オクタノール	東京化成工業 (株)	
1-デカノール	東京化成工業 (株)	
1-ドデカノール	東京化成工業 (株)	
2-ヨードエタノール	東京化成工業 (株)	
3-ヨードプロパノール	東京化成工業 (株)	
炭酸カリウム	Aldrich Inc.	
トリエチルアミン	関東化学 (株)	
1,3-ジヨードプロパン	和光純薬工業 (株)	
クロロホルム (脱水)	和光純薬工業 (株)	
アセトニトリル (脱水)	関東化学 (株)	
トルエン (脱水)	関東化学 (株)	
<i>n</i> -ヘキサン	和光純薬工業 (株)	
クロロホルム	和光純薬工業 (株)	
酢酸エチル	和光純薬工業 (株)	
アセトン	和光純薬工業 (株)	
トルエン	関東化学 (株)	
メタノール	和光純薬工業 (株)	
エタノール	関東化学 (株)	鹿特級
ジエチルエーテル	純正化学 (株)	業務用
シリカゲル (青) 5~10 メッシュ	純正化学 (株)	
シリカゲル C-60	和光純薬工業 (株)	
セライト 545	関東化学 (株)	
TLC シリカゲル 60 F ₂₅₄	Merck	
重クロロホルム-d ₁	ISOTEC Inc.	
重メタノール-d ₄	ISOTEC Inc.	
重水	ISOTEC Inc.	
アニリン	和光純薬工業 (株)	試薬特級
リン酸水素二ナトリウム・二水和物	和光純薬工業 (株)	試薬特級
リン酸二水素ナトリウム・二水和物	和光純薬工業 (株)	試薬特級

3.2 実験方法

リン酸二水素カリウム	関東化学 (株)	試薬特級
リン酸水素二カリウム	関東化学 (株)	試薬特級
リン酸水素二ナトリウム・十二水和物	和光純薬工業 (株)	試薬特級
塩化アンモニウム	関東化学 (株)	鹿一級
硫酸マグネシウム・七水和物	関東化学 (株)	鹿一級
塩化カルシウム無水和物	関東化学 (株)	鹿特級
塩化鉄 (III)・六水和物	和光純薬工業 (株)	試薬特級
水酸化ナトリウム	関東化学 (株)	鹿一級
炭酸水素ナトリウム	純正化学 (株)	純正一級
蒸留水	大和商店 (有)	

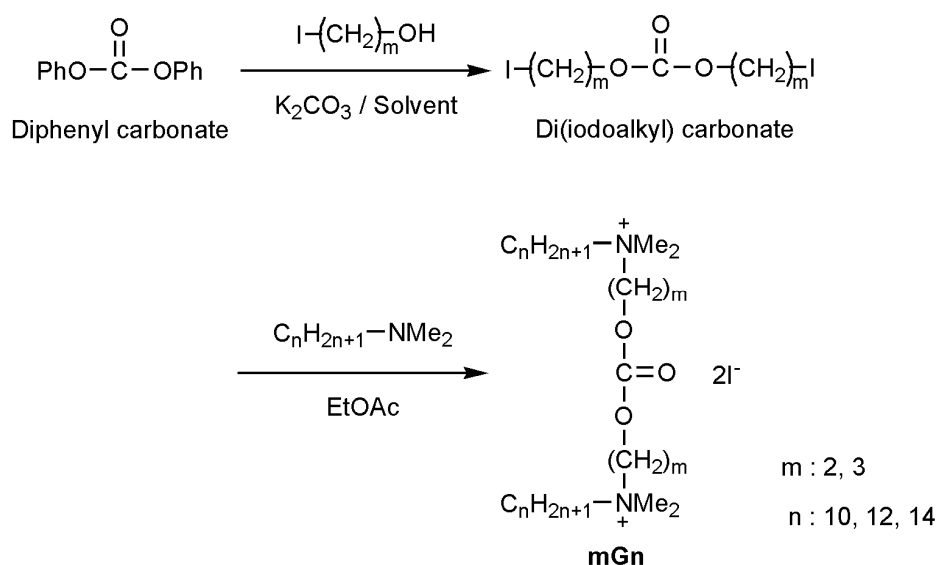
3.2.3 機器

核磁気共鳴スペクトル : Varian MERCURY plus 300 JEOL Lambda 300	Varian Inc. 日本電子 (株)
表面張力計 : CBVP-Z	協和界面化学 (株)
起泡力計 : 半微量改良 TK 法測定装置	三陽理化学器械製作所 (株)
BOD センサーシステム	アクタック (株)
インキュベーター : LTI-1001SD	東京理化学器械 (株)
ガラス電極式水素イオン濃度計 : HM-20J	東亜電波工業 (株)
電子天秤 : AG204、PB3002-S	メトラートレド (株)
オイルバス : OSM-1	石井商店 (株)
マグネチックスターラー : EG	石井商店 (株)
ロータリーエバポレーター : EYELA-1000	東京理化学器械 (株)
ウォーターバス : FWB-24S	東京硝子器械 (株)
耐圧反応管	耐圧硝子工業 (株)

3.2.4 カーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤の合成

3.2.4.1 リンカー部にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤の合成

リンカー部にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤 (**mGn**) の合成を Scheme 3.3 に示す。炭酸カリウム存在下、ジフェニルカーボネートとヨードアルカノールを反応させることでカーボネート結合を有するリンカー部分を合成した。これを *N,N*-ジメチル-*n*-アルキルアミンに作用させ、アミノ基の四級化とジェミニ化を同時に行うことで **mGn** を得た。以下に合成法の詳細を記す。



Scheme 3.3 Synthesis of di(iodoalkyl) carbonate as a linker moiety and gemini-type cationics.

(1) ジ(ヨードアルキル)カーボネートの合成

攪拌子を付した 20 mL ナスフラスコに、ジフェニルカーボネート (321.3 mg, 1.5 mmol) および炭酸カリウム (642.6 mg) をはかり取り、溶媒としてアセトン (5.0 mL) を加えた。さらに、2-ヨードエタノール (980.2 mg, 5.7 mmol) を氷浴中徐々に添加し、アルゴン雰囲気下、室温にて 2 日間攪拌反応を行った。

反応終了後、炭酸カリウムをセライトろ過により除去し、ろ液を減圧濃縮することで粗生成物を得た。精製はシリカゲルカラムクロマトグラフィー [*n*-ヘキサン/クロロホルム = 2/3 (v/v)] により行い、 $R_f = 0.58$ のフラクションを分取、溶媒を減圧留去することで、淡黄色シロップ状にジ(2-ヨードエチル)カーボネートを収率 79% で得た。 $^1\text{H NMR}$ スペクトルにより生成物の同定を行った。また、THF を用いて同様にして反応を行うことで、ジ(3-ヨードプロピル)カーボネートを収率 71% で得た。ジ(2-ヨードエチル)カーボネートおよびジ(3-ヨードプロピ

ル)カーボネートの ^1H NMR スペクトルとその同定結果を Fig. 3.2 および Fig. 3.3 に示す。

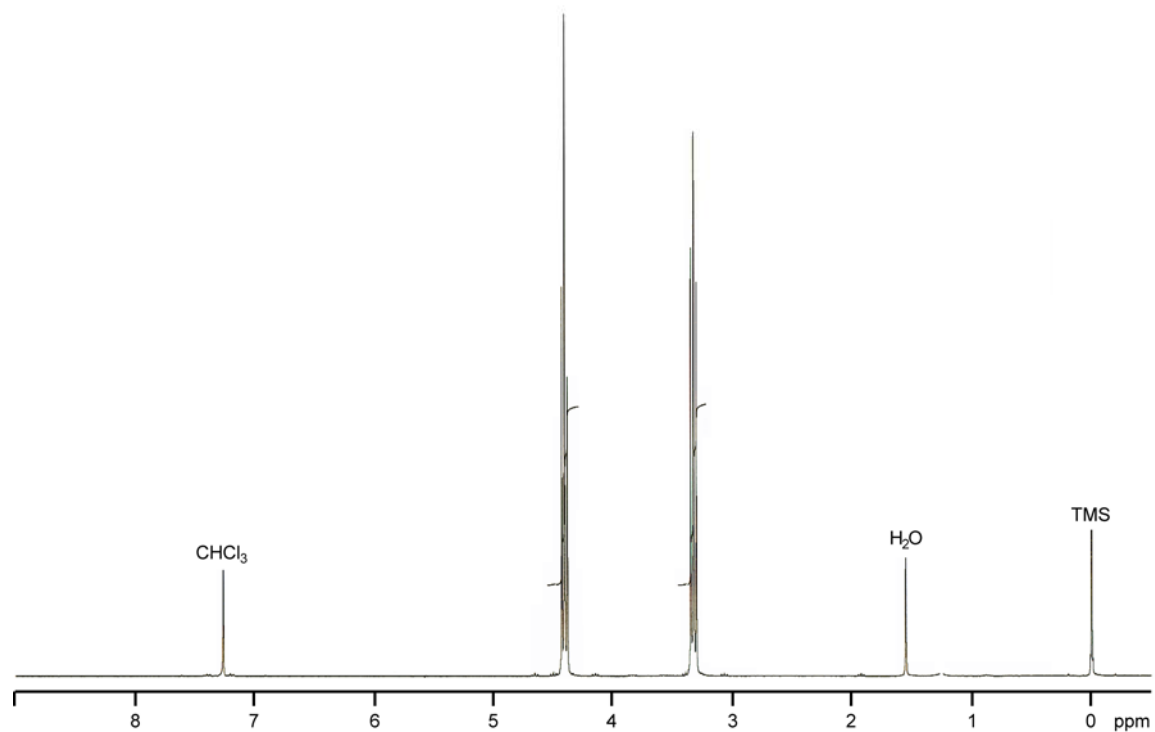


Fig. 3.2 ^1H NMR spectrum of di(2-iodoethyl) carbonate (300 MHz, CDCl_3).

Di(2-iodoethyl) carbonate

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : $\delta = 3.33$ (4H, t, $J = 7.1$ Hz, $2\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{I}$), 4.41 (4H, t, $J = 7.1$ Hz, $2\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{I}$).

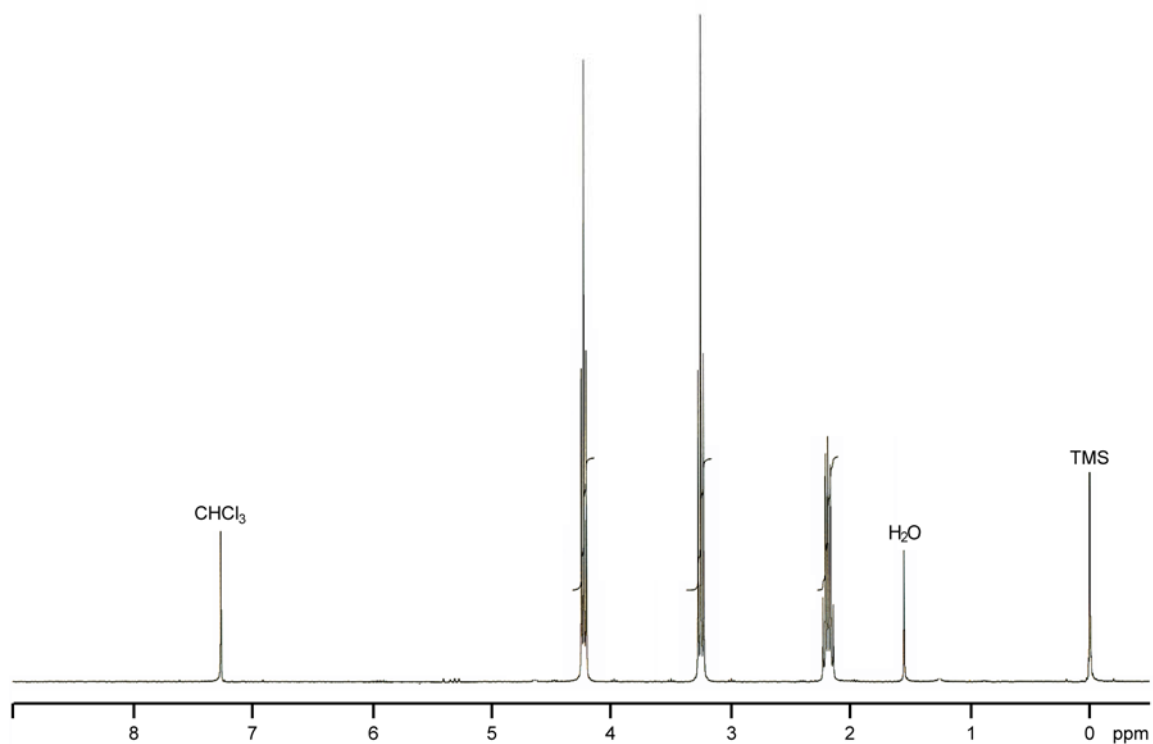


Fig. 3.3 ^1H NMR spectrum of di(3-iodopropyl) carbonate (300 MHz, CDCl_3).

Di(3-iodopropyl) carbonate

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 2.19$ (4H, tt, $J = 6.0, 6.9$ Hz, $2\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{I}$), 3.25 (4H, t, $J = 6.9$ Hz, $2\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{I}$), 4.23 (4H, t, $J = 6.0$ Hz, $2\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{I}$).

(2) **mGn** の合成

攪拌子を付した耐圧反応管に、*N,N*-ジメチル-*n*-アルキルアミン (0.33 mmol) およびジ(ヨードアルキル)カーボネート (0.15 mmol) をはかり取り、さらに溶媒として酢酸エチル (1.5 mL) を加えた。反応容器を完全に密閉した後、オイルバス中 80 °C で 3 日間攪拌反応を行った。

反応終了後、溶媒を減圧留去することで粗生成物を得た。精製は良溶媒としてクロロホルム (0.5 mL)、貧溶媒として酢酸エチル (1.5 mL) を用いた再沈殿法により行い、ろ過により得られた結晶を十分に減圧乾燥させることで、白色粉末状に **mGn** を収率 80-89% で得た。¹H NMR スペクトルおよび元素分析により生成物の同定を行った。**mGn** の収率、融点および元素分析の結果を Table 3.3 に示す。また、**2G12** および **3G12** の ¹H NMR スペクトルとその同定結果を Fig. 3.4 および Fig. 3.5 に示す。

Table 3.3 Yield, mp and elemental analysis of **mGn**.

Cationics	Yield (%)	mp (°C)	C%		H%		N%	
			Found	Calcd.	Found	Calcd.	Found	Calcd.
2G10	80	184-185	46.78	47.03	8.42	8.44	3.80	3.78
2G12	87	196-197	49.51	49.75	8.67	8.86	3.48	3.52
2G14	82	195-197	51.91	52.11	9.23	9.22	3.17	3.28
3G10	82	174-175	48.24	48.44	8.63	8.65	3.66	3.64
3G12	89	184-187	50.82	50.97	8.96	9.04	3.35	3.40
3G14	88	193-196	53.10	53.18	9.43	9.38	3.06	3.18

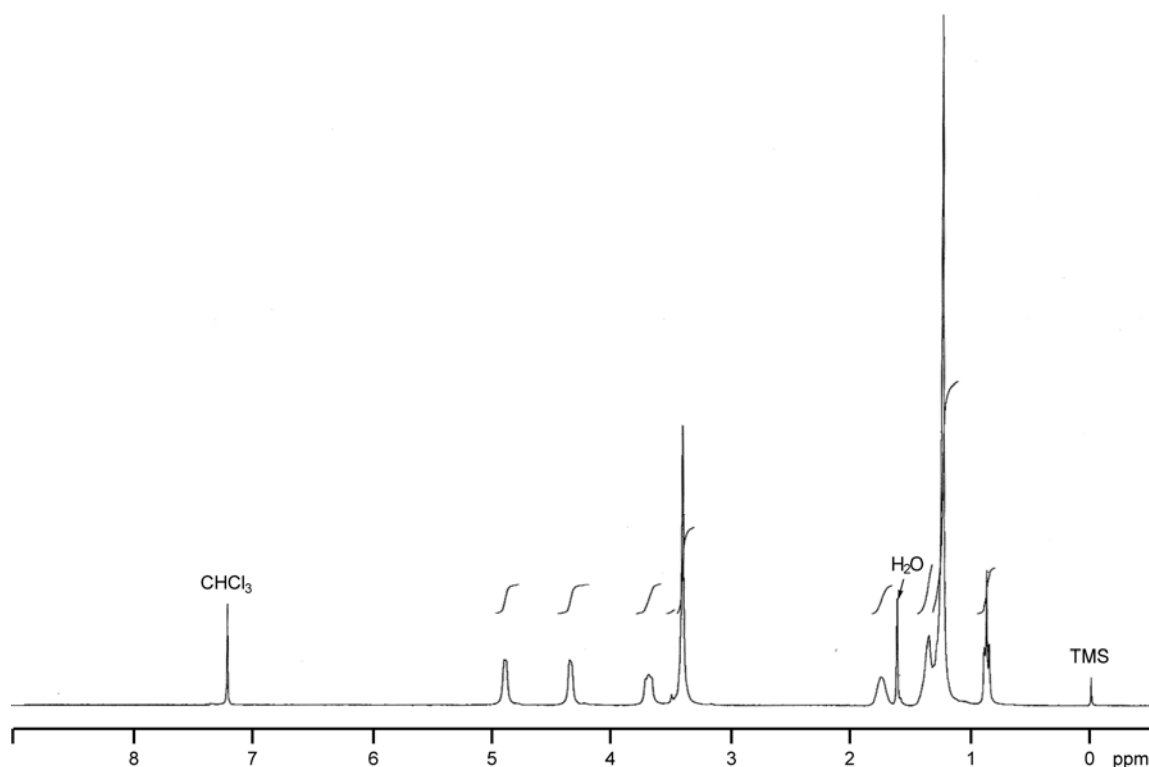


Fig. 3.4 ^1H NMR spectrum of **2G12** (300 MHz, CDCl_3).

2G12

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : $\delta = 0.88$ (6H, t, $J = 6.6$ Hz, 2CH_3^-), 1.17-1.48 (36H, m, $2-(\text{CH}_2)_9^-$), 1.68-1.85 (4H, m, $2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.44 (12H, s, $2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$), 3.66-3.80 (4H, m, $2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 4.32-4.45 (4H, m, $2-\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 4.87-5.00 (4H, m, $2-\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$).

2G10

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : $\delta = 0.88$ (6H, t, $J = 6.6$ Hz, 2CH_3^-), 1.18-1.48 (28H, m, $2-(\text{CH}_2)_7^-$), 1.69-1.84 (4H, m, $2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.45 (12H, s, $2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$), 3.66-3.80 (4H, m, $2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 4.32-4.44 (4H, m, $2-\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 4.88-4.99 (4H, m, $2-\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$).

2G14

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : $\delta = 0.88$ (6H, t, $J = 6.8$ Hz, 2CH_3^-), 1.14-1.46 (44H, m, $2-(\text{CH}_2)_{11}^-$), 1.68-1.84 (4H, m, $2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.44 (12H, s, $2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$), 3.65-3.80 (4H, m, $2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 4.31-4.44 (4H, m, $2-\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 4.86-5.00 (4H, m, $2-\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$).

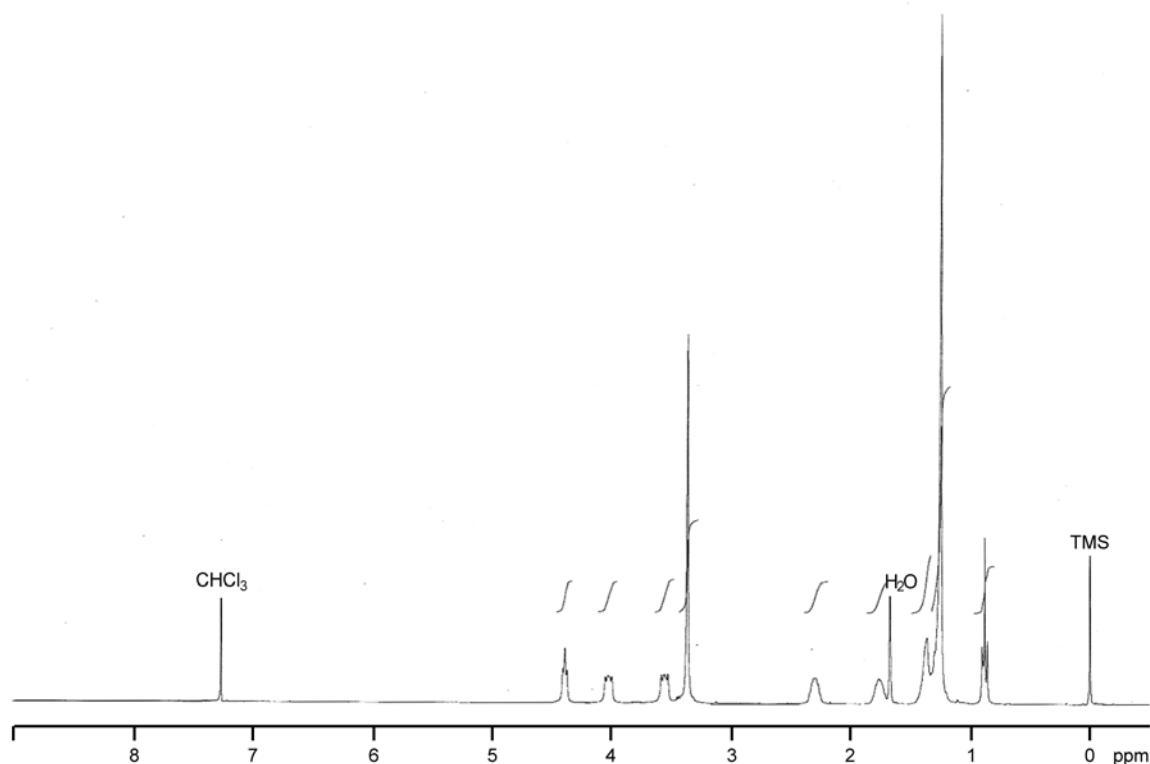


Fig. 3.5 ^1H NMR spectrum of **3G12** (300 MHz, CDCl_3).

3G12

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : δ = 0.89 (6H, t, J = 6.5 Hz, 2CH_3^-), 1.18-1.45 (36H, m, $2-(\text{CH}_2)_9^-$), 1.70-1.83 (4H, m, $2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 2.23-2.36 (4H, m, $2-\text{C}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.37 (12H, s, $2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$), 3.50-3.63 (4H, m, $2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.97-4.10 (4H, m, $2-\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 4.40 (4H, t, J = 6.2 Hz, $2-\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$).

3G10

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : δ = 0.88 (6H, t, J = 6.8 Hz, 2CH_3^-), 1.18-1.48 (28H, m, $2-(\text{CH}_2)_7^-$), 1.69-1.84 (4H, m, $2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 2.22-2.38 (4H, m, $2-\text{C}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.37 (12H, s, $2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$), 3.50-3.63 (4H, m, $2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.96-4.10 (4H, m, $2-\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 4.39 (4H, t, J = 5.4 Hz, $2-\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$).

3G14

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : δ = 0.88 (6H, t, J = 6.8 Hz, 2CH_3^-), 1.20-1.44 (44H, m, $2-(\text{CH}_2)_{11}^-$), 1.70-1.84 (4H, m, $2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 2.24-2.38 (4H, m, $2-\text{C}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.37 (12H, s, $2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$), 3.50-3.62 (4H, m, $2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.98-4.10 (4H, m, $2-\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 4.40 (4H, t, J = 5.4 Hz, $2-\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$).

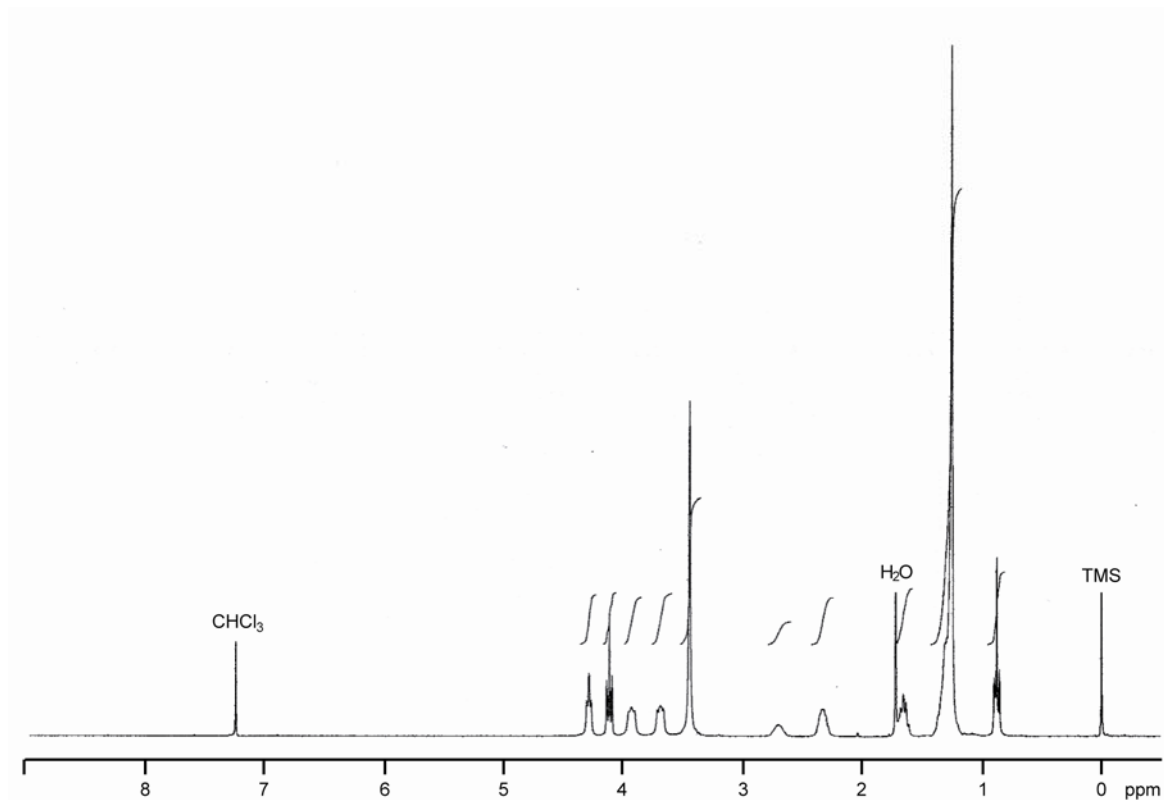


Fig. 3.6 ^1H NMR spectrum of **G12Pr** (300 MHz, CDCl_3).

G12Pr

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : δ = 0.88 (6H, t, J = 6.6 Hz, 2CH_3^-), 1.18-1.43 (36H, m, $2-(\text{CH}_2)_9^-$), 1.67 (4H, tt, J = 7.2, 7.2 Hz, $2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{O}$), 2.26-2.42 (4H, m, $2-\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 2.62-2.80 (2H, m, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.46 (12H, s, $2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$), 3.65-3.76 (4H, m, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.89-4.01 (4H, m, $2-\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 4.13 (4H, t, J = 7.2 Hz, $2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{O}$), 4.30 (4H, t, J = 5.9 Hz, $2-\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$).

G8Pr

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : δ = 0.88 (6H, t, J = 6.6 Hz, 2CH_3^-), 1.16-1.42 (20H, m, $2-(\text{CH}_2)_5^-$), 1.67 (4H, tt, J = 6.9, 7.2 Hz, $2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{O}$), 2.26-2.42 (4H, m, $2-\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 2.62-2.80 (2H, m, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.47 (12H, s, $2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$), 3.64-3.78 (4H, m, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.88-4.01 (4H, m, $2-\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 4.13 (4H, t, J = 6.9 Hz, $2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{O}$), 4.30 (4H, t, J = 5.7 Hz, $2-\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$).

G10Pr

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : δ = 0.88 (6H, t, J = 6.6 Hz, 2CH_3^-), 1.18-1.42 (28H, m, $2-(\text{CH}_2)_7^-$), 1.67 (4H, tt, J = 6.9, 7.2 Hz, $2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{O}$), 2.25-2.43 (4H, m, $2-\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 2.62-2.80 (2H, m, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.46 (12H, s, $2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$), 3.63-3.78 (4H, m,

$N^+CH_2CH_2CH_2N^+$), 3.89-4.02 (4H, m, 2-OC(=O)OCH₂CH₂CH₂N⁺), 4.13 (4H, t, $J = 6.9$ Hz, 2-CH₂CH₂CH₂CH₂OC(=O)O), 4.30 (4H, t, $J = 5.9$ Hz, 2-OC(=O)OCH₂CH₂CH₂N⁺).

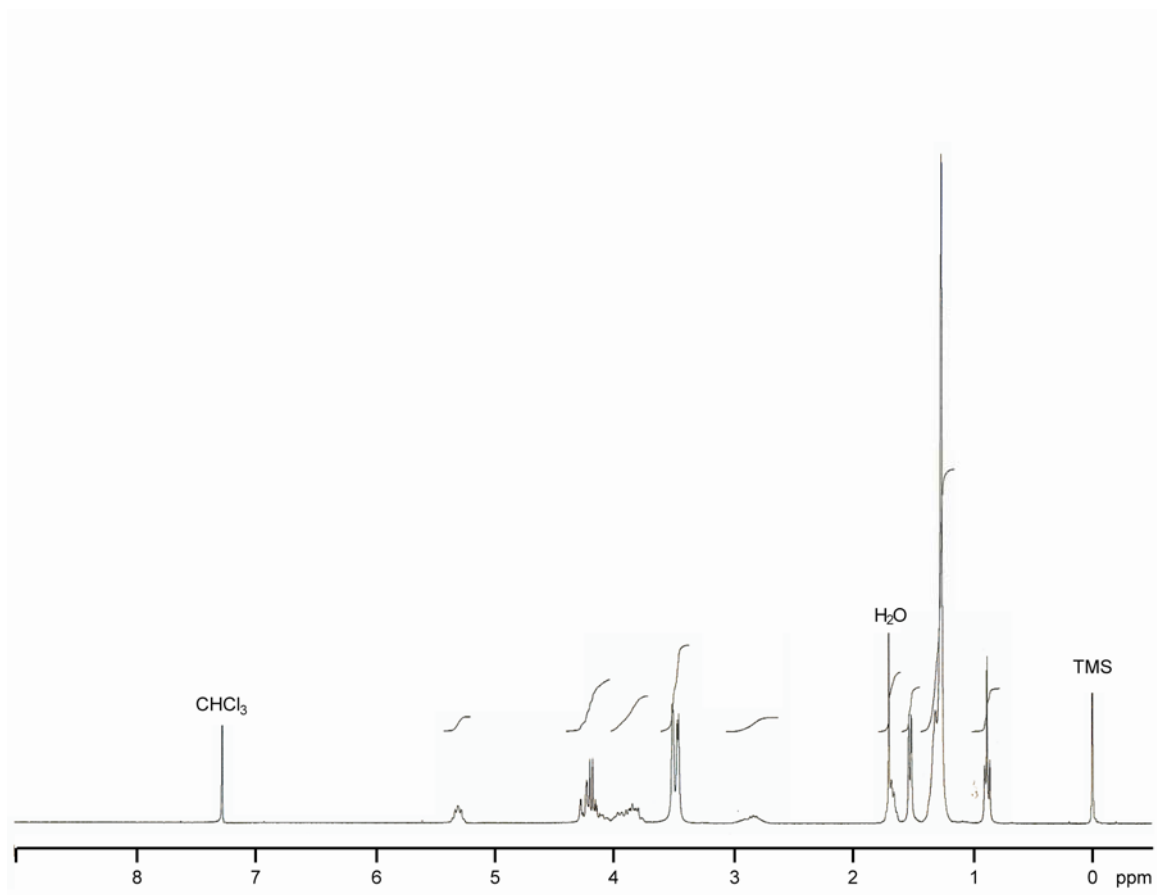


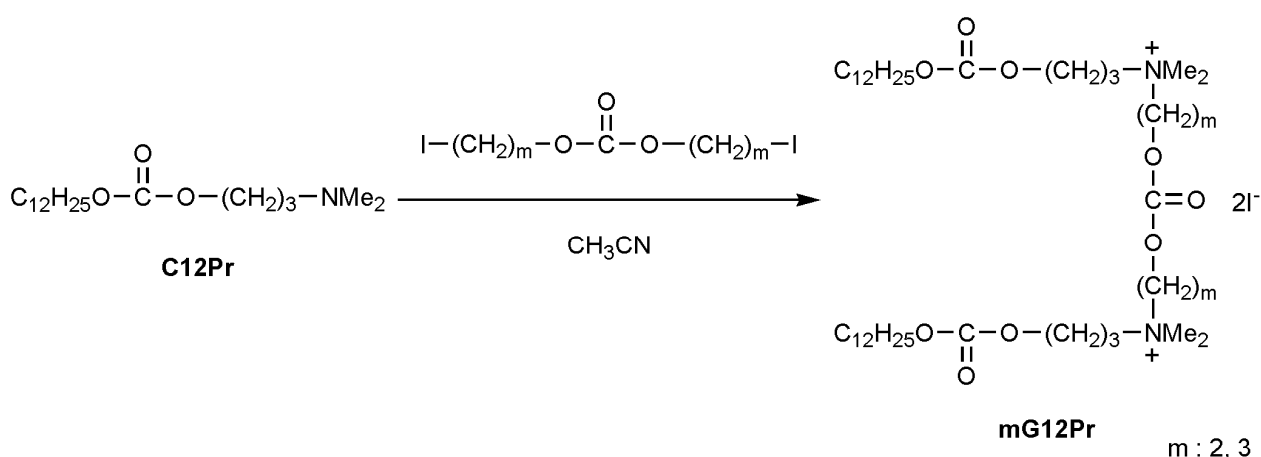
Fig. 3.7 ¹H NMR spectrum of **G12Pr** (300 MHz, CDCl₃).

G12iPr

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : $\delta = 0.88$ (6H, t, $J = 6.6$ Hz, 2CH₃-), 1.18-1.43 (36H, m, 2-(CH₂)₉-), 1.52 (6H, d, $J = 6.0$ Hz, 2-OC(=O)OCH(CH₃)CH₂N⁺), 1.60-1.76 (4H, m, 2-CH₂CH₂CH₂OC(=O)O), 2.68-3.02 (2H, m, N⁺CH₂CH₂CH₂N⁺), 3.38-3.62 (12H, m, 2-N⁺(CH₃)₂), 3.72-4.34 (12H, m, 4-N⁺CH₂- and 2-CH₂CH₂CH₂OC(=O)O), 5.21-5.38 (2H, m, 2-OC(=O)OCH(CH₃)CH₂).

3.2.4.3 リンカー部および疎水基基部にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤の合成

リンカー部および疎水基基部の両方にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤 (**mG12Pr**) の合成を Scheme 3.5 に示す。**C12Pr** にカーボネート結合を有するジヨードを作用させ、アミノ基の四級化とジェミニニ化を同時に行うことで **mG12Pr** を得た。以下に合成法の詳細を記す。



Scheme 3.5 Synthesis of gemini-type cationics containing carbonate linkages in both the linker and hydrophobic moieties.

攪拌子を付した耐圧反応管に、**C12Pr** (0.22 mmol) およびジ(ヨードアルキル)カーボネート (0.10 mmol) をはかり取り、さらに溶媒としてアセトニトリル (1.0 mL) を加え、反応容器を完全に密閉した後、オイルバス中 80 °C で 3 日間攪拌反応を行った。

反応終了後、溶媒を減圧留去することで粗生成物を得た。精製は酢酸エチル (1.0 mL) を用いた再結晶操作により行い、ろ過により得られた結晶を十分に減圧乾燥させることで、白色粉末状に **mG12Pr** を収率 68-74% で得た。¹H NMR スペクトルおよび元素分析により生成物の同定を行った。**mG12Pr** の収率、融点および元素分析の結果を Table 3.5 に示す。また、**2G12Pr** および **3G12Pr** の ¹H NMR スペクトルとその同定結果を Fig. 3.8 および Fig. 3.9 に示す。

Table 3.5 Yield, mp and elemental analysis of **mG12Pr**.

Cationics	Yield (%)	mp (°C)	C%		H%		N%	
			Found	Calcd.	Found	Calcd.	Found	Calcd.
2G12Pr	74	131-133	49.27	49.20	8.40	8.26	2.81	2.80
3G12Pr	68	158-159	49.88	50.19	8.44	8.42	2.67	2.72

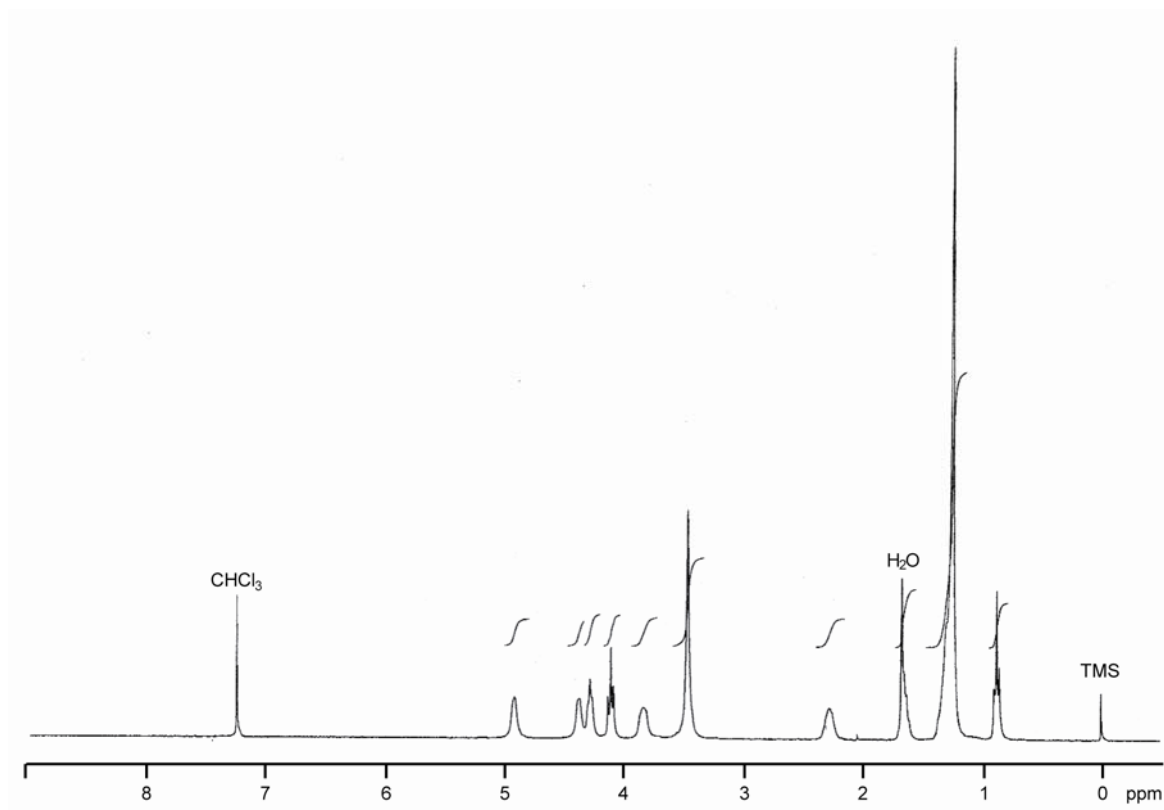


Fig. 3.8 ¹H NMR spectrum of **2G12Pr** (300 MHz, CDCl₃).

2G12Pr

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : δ = 0.88 (6H, t, J = 6.6 Hz, 2CH₃-), 1.18-1.41 (36H, m, 2-(CH₂)₉-), 1.58-1.72 (4H, m, 2-CH₂CH₂CH₂CH₂OC(=O)O), 2.20-2.36 (4H, m, 2-CH₂CH₂CH₂N⁺), 3.48 (12H, s, 2-N⁺(CH₃)₂), 3.78-3.91 (4H, m, 2-OC(=O)OCH₂CH₂CH₂N⁺), 4.12 (4H, t, J = 6.8 Hz, 2-CH₂CH₂CH₂CH₂OC(=O)O), 4.30 (4H, t, J = 5.6 Hz, 2-OC(=O)OCH₂CH₂CH₂N⁺), 4.34-4.46 (4H, m, N⁺CH₂CH₂OC(=O)OCH₂CH₂N⁺), 4.86-5.00 (4H, m, N⁺CH₂CH₂OC(=O)OCH₂CH₂N⁺).

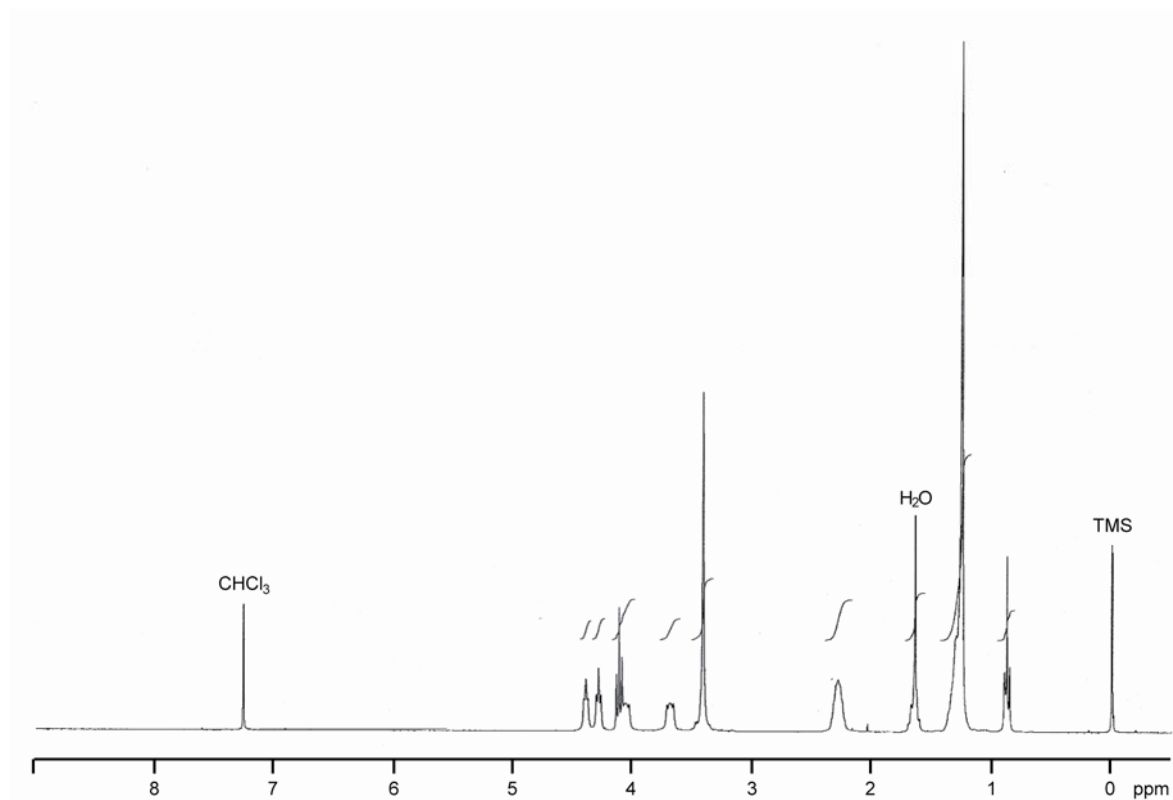
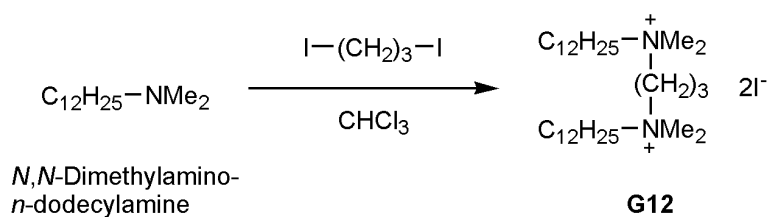


Fig. 3.9 ^1H NMR spectrum of **3G12Pr** (300 MHz, CDCl_3).

3G12Pr

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : δ = 0.88 (6H, t, J = 6.6 Hz, 2CH_3^-), 1.20-1.42 (36H, m, $2-(\text{CH}_2)_9^-$), 1.60-1.72 (4H, m, $2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{O}$), 2.22-2.37 (8H, m, $4-\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.42 (12H, s, $2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$), 3.64-3.76 (4H, m, $2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 4.01-4.12 (4H, m, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 4.13 (4H, t, J = 7.1 Hz, $2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{O}$), 4.30 (4H, t, J = 6.0 Hz, $2-\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 4.40 (4H, t, J = 5.3 Hz, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$).

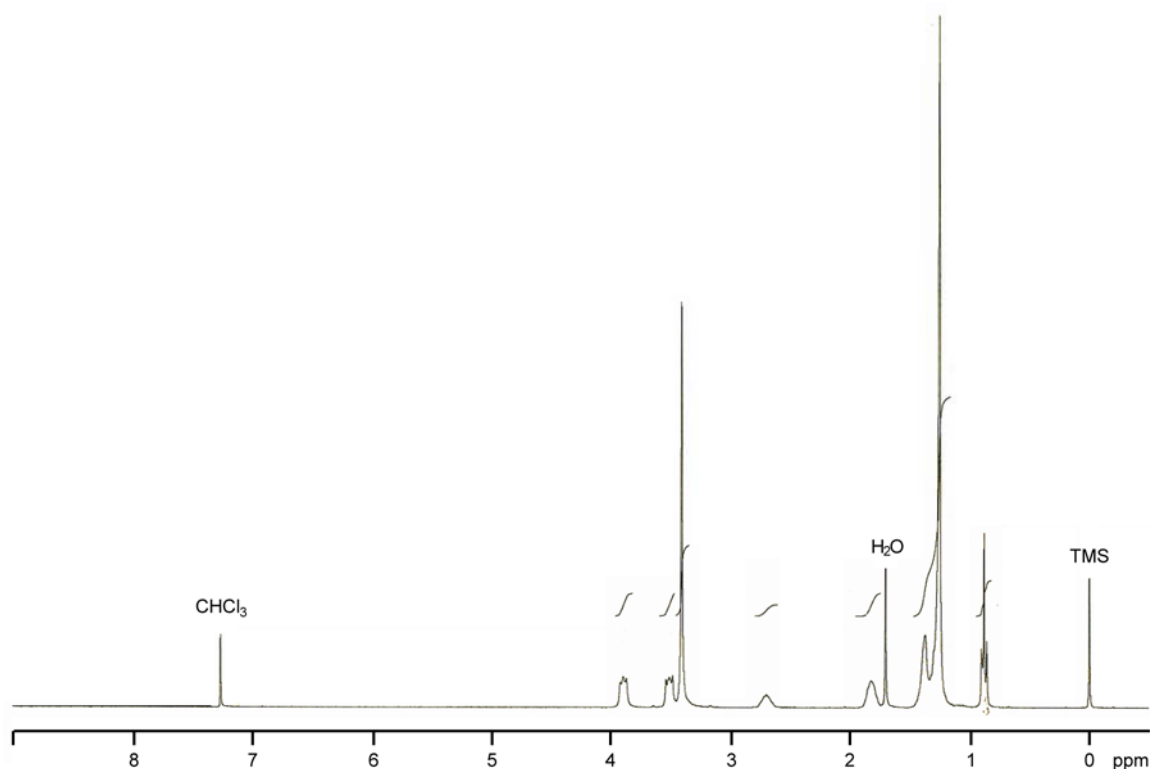
3.2.5 従来型のジェミニ型カチオン界面活性剤の合成



Scheme 3.6 Synthesis of conventional gemini-type cationics.

攪拌子を付した耐圧反応管に、*N,N*-ジメチル-*n*-ドデシルアミン (0.66 mmol) をはかり取り、ついで溶媒としてクロロホルム (1.5 mL) を加えた。さらに、1,3-ジヨードプロパン (0.30 mmol) を氷浴中徐々に添加し、反応容器を完全に密閉した後、オイルバス中 60 °C で1日間攪拌反応を行った (Scheme 3.6)。

反応終了後、溶媒を減圧留去することで粗生成物を得た。精製は良溶媒としてクロロホルム (1.0 mL)、貧溶媒として酢酸エチル (2.5 mL) を用いた再沈殿法により行い、ろ過により得られた結晶を十分に減圧乾燥させることで、白色粉末状に **G12** を収率 91% で得た。¹H NMR スペクトルおよび元素分析により生成物の同定を行った。**G12** の ¹H NMR スペクトルとその同定結果を Fig. 3.10 に示す。

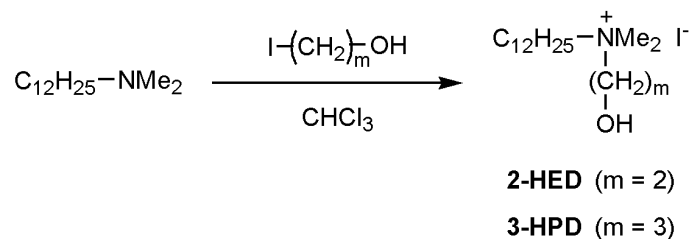
Fig. 3.10 ¹H NMR spectrum of **G12** (300 MHz, CDCl₃).

G12

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) : δ = 0.89 (6H, t, J = 6.9 Hz, 2CH_3 -), 1.18-1.46 (36H, m, $2-(\text{CH}_2)_9$ -), 1.75-1.89 (4H, m, $2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 2.62-2.80 (2H, m, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.42 (12H, s, $2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$), 3.46-3.57 (4H, m, $2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.85-3.97 (4H, m, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$).

Anal. Calc. for $\text{C}_{31}\text{H}_{68}\text{N}_2\text{I}_2$: C, 51.52; H, 9.48; N, 3.88. Found: C, 51.46; H, 9.43; N, 3.95.

mp 182-184 °C.

3.2.6 ジェミニ型カチオン界面活性剤由来の加水分解物の化学合成**3.2.6.1 mG12 由来の加水分解物**

Scheme 3.7 Synthesis of the **mG12**-derived degradation product.

攪拌子を付した 10 mL ナスフラスコに、*N,N*-ジメチルアミノ-*n*-ドデシルアミン (1.0 mmol) をはかり取り、ついで溶媒としてクロロホルム (1.0 mL) を加えた。さらに、四級化剤としてヨードアルカノール (1.2 mmol) を氷浴中徐々に添加し、アルゴン雰囲気下、室温にて 24 時間攪拌反応を行った (Scheme 3.7)。

反応終了後、溶媒を減圧留去し、粗生成物を得た。精製は良溶媒としてクロロホルム (1.0 mL)、貧溶媒として酢酸エチル (2.0 mL) を用いた再沈殿法により行い、ろ過により得られた結晶を十分に減圧乾燥させることで、白色粉末状に *N*-ヒドロキシアルキル-*N,N*-ジメチル-*n*-ドデシルアンモニウム=ヨードを収率 78-81% で得た。 $^1\text{H NMR}$ スペクトルにより生成物の同定を行った。**2-HED** および **3-HPD** の $^1\text{H NMR}$ スペクトルとその同定結果を Fig. 3.11 および Fig. 3.12 に示す。

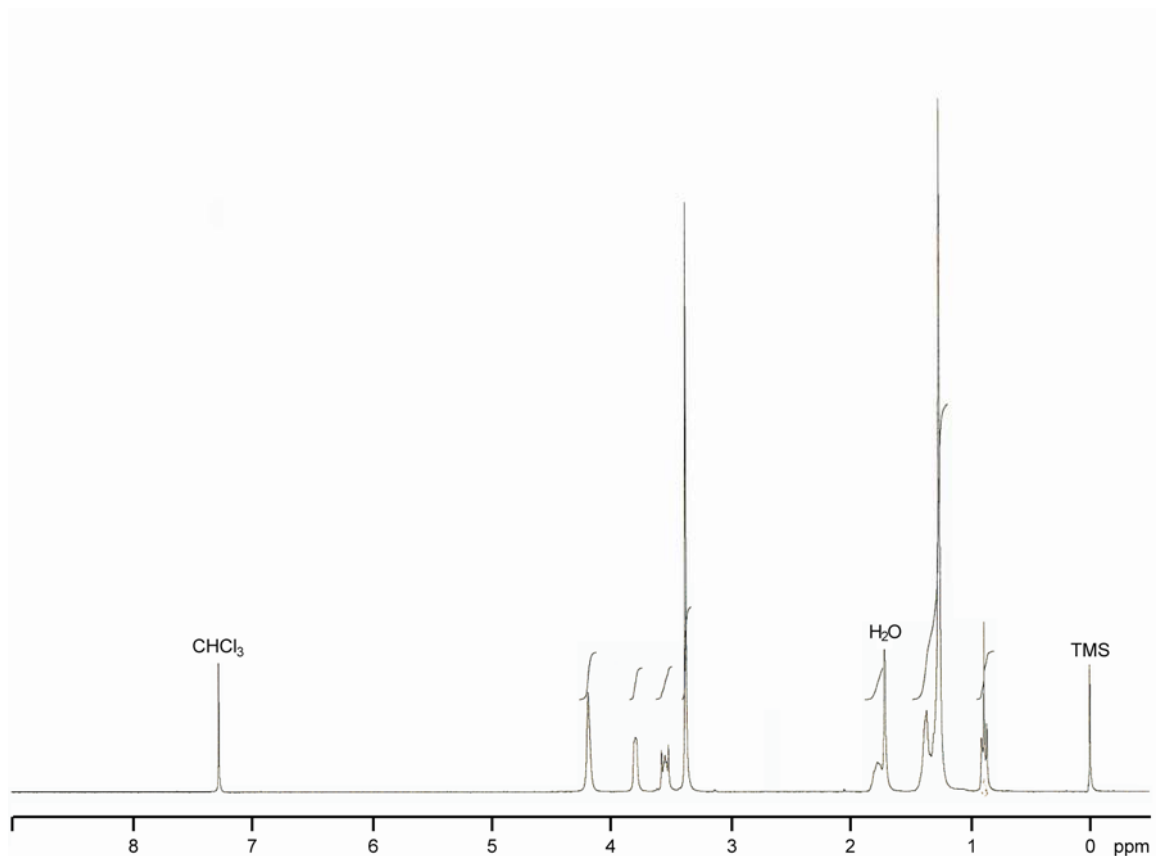


Fig. 3.11 ^1H NMR spectrum of **2-HED** (300 MHz, CDCl_3).

2-HED

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : δ = 0.88 (3H, t, J = 6.6 Hz, CH_3 -), 1.17-1.43 (18H, m, $-(\text{CH}_2)_9$ -), 1.70-1.84 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.39 (6H, s, $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$), 3.49-3.61 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.75-3.84 (2H, m, $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 4.14-4.23 (3H, m, $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$).

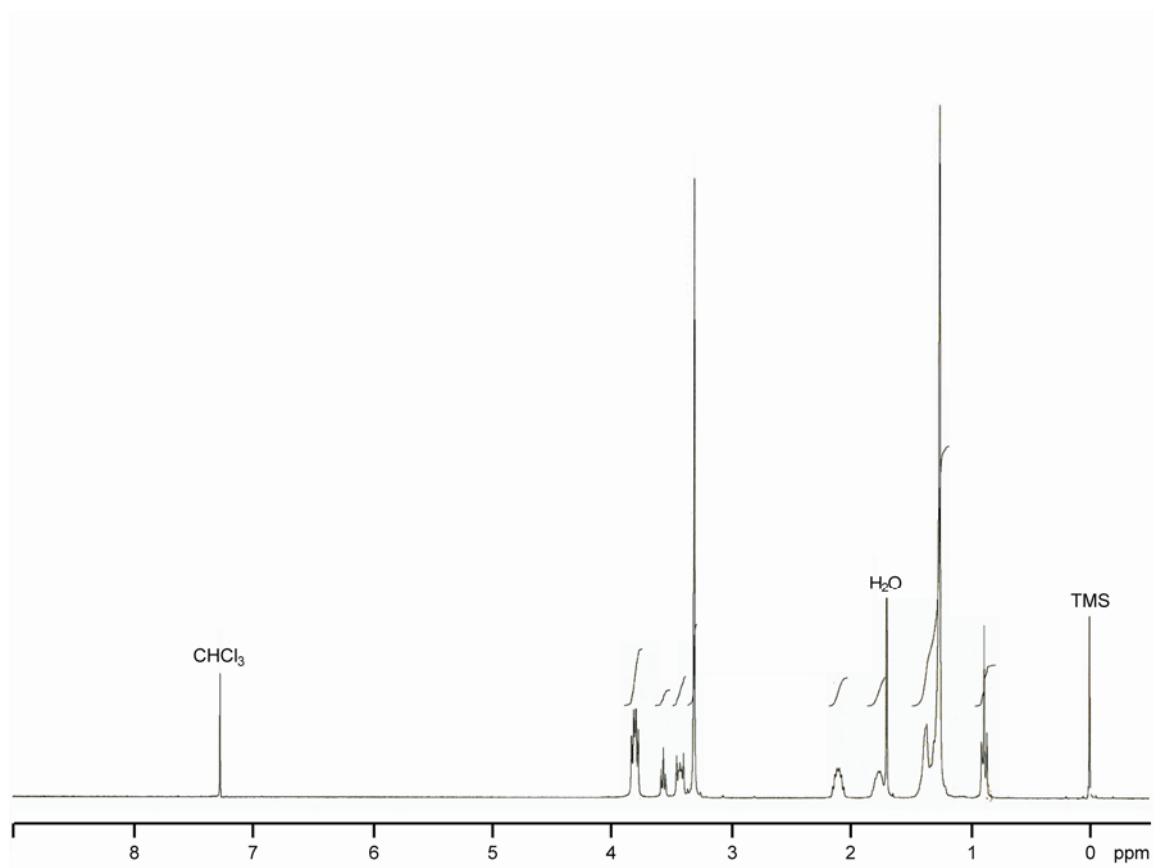
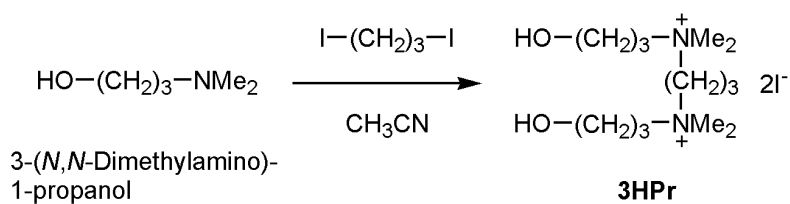


Fig. 3.12 ^1H NMR spectrum of **3-HPD** (300 MHz, CDCl_3).

3-HPD

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : δ = 0.88 (3H, t, J = 6.8 Hz, CH_3 -), 1.18-1.46 (18H, m, $-(\text{CH}_2)_9$ -), 1.71-1.84 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 2.10 (2H, tt, J = 5.4, 5.4 Hz, $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$) 3.31 (6H, s, $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$), 3.38-3.49 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.57 (1H, t, J = 5.9 Hz, $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.74-3.91 (4H, m, $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$).

3.2.6.2 **G12Pr** 由来の第四級アンモニウム塩を含む加水分解物



Scheme 3.8 Synthesis of **G12Pr**-derived **3HPr**.

攪拌子を付した耐圧反応管に、3-*N,N*-ジメチルアミノ-1-プロパノール (113.5 mg, 1.1 mmol) をはかり取り、ついで溶媒としてアセトニトリル (1.0 mL) を加えた。さらに、四級化剤として 1,3-ジヨードプロパン (148.0 mg, 0.5 mmol) を氷浴中徐々に添加し、反応容器を完全に密閉した後、オイルバス中 80 °C で 1 日間攪拌反応を行った (Scheme 3.8)。

反応終了後、溶媒を減圧留去することで粗生成物を得た。精製は良溶媒としてメタノール (1.0 mL)、貧溶媒として酢酸エチル (3.0 mL) を用いた再沈殿法により行い、ろ過により得られた結晶を十分に減圧乾燥させることで、白色粉末状にプロパン-1,3-ビス(*N*-3-ヒドロキシプロピル-*N,N*-ジメチルアンモニウム)=ジヨージド (**3HPr**) を収率 83% で得た。¹H NMR スペクトルおよび元素分析により生成物の同定を行った。**3HPr** の ¹H NMR スペクトルとその同定結果を Fig. 3.13 に示す。

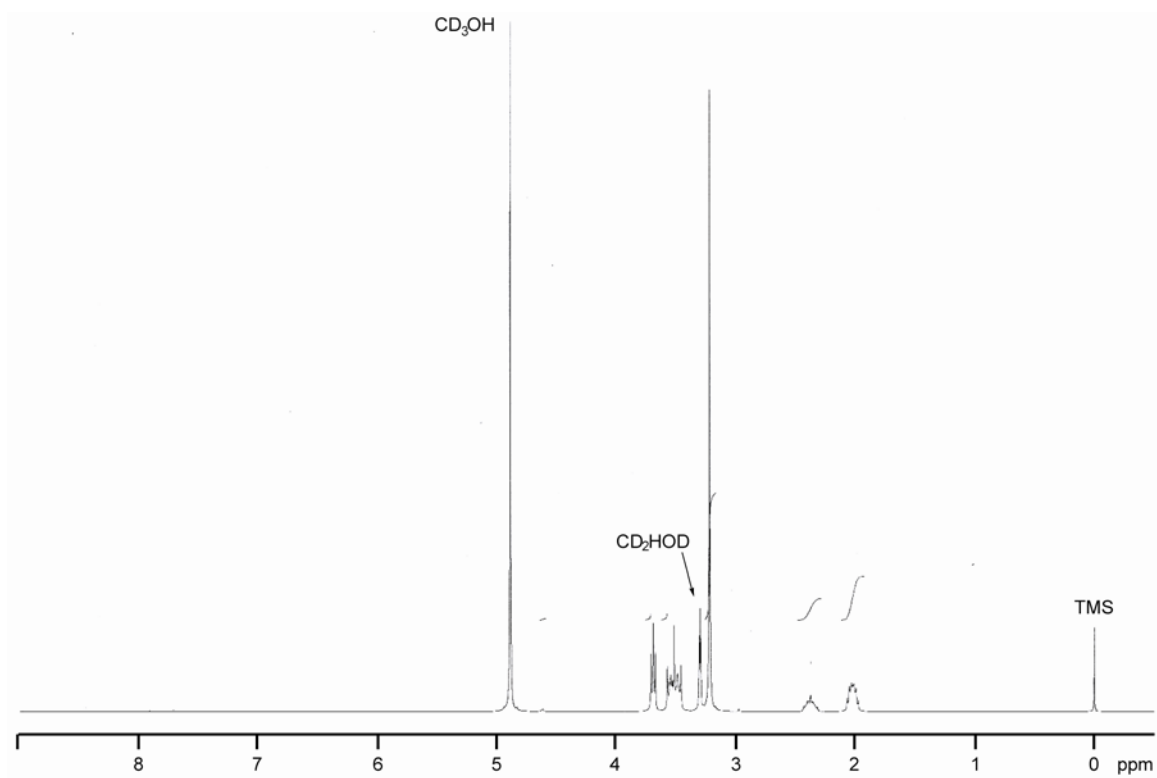


Fig. 3.13 ¹H NMR spectrum of **3HPr** (300 MHz, CD₃OD).

3HPr

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) : δ = 1.94-2.10 (4H, m, 2 HOCH₂CH₂CH₂N⁺), 2.30-2.46 (2H, m, N⁺CH₂CH₂CH₂N⁺), 3.23 (12H, s, 2-N⁺(CH₃)₂), 3.44-3.61 (8H, m, 4-N⁺CH₂CH₂CH₂), 3.70 (4H, t, J = 6.6 Hz, 2 HOCH₂CH₂CH₂N⁺).

Anal. Calc. for C₁₃H₃₂N₂O₂I₂ : C, 31.09; H, 6.42; N, 5.58. Found: C, 31.31; H, 6.55; N, 5.52.

mp 150-151 °C.

3.2.7 水中安定性

リンカー部にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤 **mG12** および疎水基基部にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤 **G12X** のリン酸緩衝液 (pH 7.0) 中における水中安定性を評価した。

[実験方法]

攪拌子を付したネジキャップ付き小試験管 (13×100 mm) に、カーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤 (10 mg) をはかり取り、リン酸緩衝液 2 mL を加えた。ネジ部分にパラフィルムを巻くことで容器を密閉し、25 °C および 40 °C で 20 日間攪拌反応を行った。

反応終了後、凍結乾燥を行うことにより水分を完全に除去した。ついでアセトニトリル (5.0 mL) を反応物に加え、不溶のリン酸塩をろ別した。ろ液を減圧濃縮し、得られた結晶を十分に減圧乾燥させ、これを測定用のサンプルとした。¹H NMR スペクトルからジェミニ型カチオン界面活性剤の残存率を算出した。**mG12** については溶媒に CDCl₃ を使い、 $\delta = 0.88$ の CH₃-のプロトン数を 6 とし、カーボネート結合に隣接するメチレン $\delta = 4.87\text{-}5.00$ のプロトン数から **2G12** の残存率を、 $\delta = 4.40$ のプロトン数から **3G12** の残存率をそれぞれ算出した。また、**G12X** については溶媒に CD₃OD を使い、 $\delta = 0.88$ の CH₃-のプロトン数を 6 とし、カーボネート結合に隣接するメチレン $\delta = 4.25$ のプロトン数から **G12Pr** の残存率を、カーボネート結合に隣接するメチン $\delta = 5.25\text{-}5.38$ のプロトン数から **G12iPr** の残存率をそれぞれ算出した。

3.2.8 界面活性

3.2.8.1 表面張力低下能

2.2.8.1 に記した方法と同様にしてジェミニ型カチオン界面活性剤の表面張力を測定した。また、Gibbs の吸着式 [(3.1)および(3.2)式] を用いてジェミニ型カチオン界面活性剤の表面過剰濃度 Γ (mol/m²) および分子占有面積 A_{\min} (nm²)を算出した。

$$\Gamma = \frac{-1}{2.30nRT} \left(\frac{d\gamma}{d \log C} \right) \quad (3.1)$$

$$A_{\min} = \frac{10^{18}}{N_A \Gamma} \quad (3.2)$$

n : 界面活性剤を構成する分子の数 (ジェミニ型カチオン界面活性剤は水中で完全に電離すると、カチオン分子1つと対アニオン2つになる。このとき、 $n=3$ となる^[69,100]。)

R : 気体定数 (= 8.31 J/mol K)

T : 絶対温度 (K)

γ : 表面張力 (mN/m)

$d\gamma/d \log C$: cmc 以下の濃度における表面張力-濃度曲線の接線の傾き

N_A : アボガドロ数 (= 6.02×10^{23})

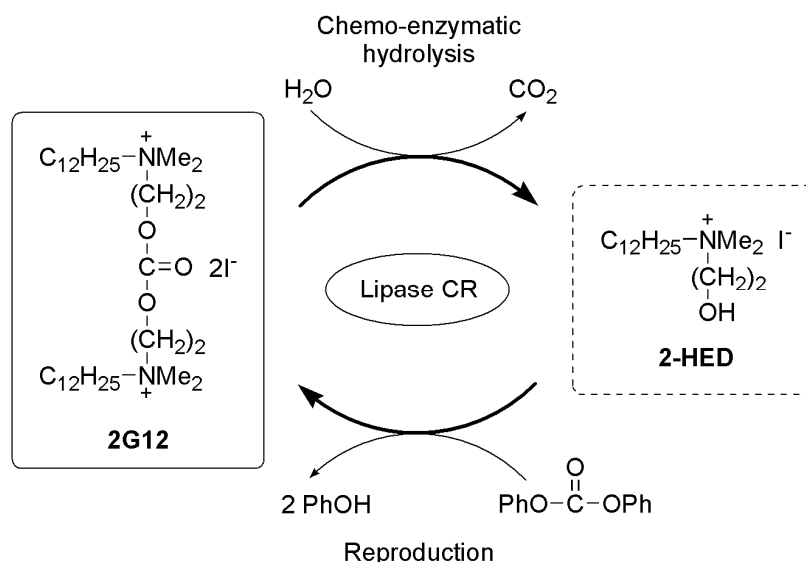
3.2.8.2 起泡力および泡安定性

2.2.8.2 に記した方法と同様にしてジェミニ型カチオン界面活性剤濃度 0.5 mM 水溶液の泡体積を測定し、起泡力および泡安定性を評価した。

3.2.9 ケミカルリサイクル

3.2.9.1 2G12 のケミカルリサイクル

触媒として *Candida rugosa* 由来の固定化リパーゼ (lipase CR) を用いて、**2G12** のケミカルリサイクルについて検討を行った (Scheme 3.9)。



Scheme 3.9 Chemo-enzymatic hydrolysis and reproduction as the chemical recycling of the **2G12** using immobilized lipase CR.

(1) 化学-酵素加水分解

攪拌子を付した 10 mL ナスプラスチックに **2G12** (50 mg) をはかり取り、アセトニトリル (1.0 mL) および蒸留水 (50 μL, アセトニトリルに対して 5.0 vol%) を加えた。さらに、触媒として lipase CR (25 mg, 50 wt%) を加え、アルゴン雰囲気下、オイルバス中 70 °C で 3 日間攪拌反応を行った。

反応終了後、反応物にアセトニトリル (5.0 mL) を加え、ついでセライトろ過により不溶の酵素をろ別し、ろ液を減圧濃縮した。これに酢酸エチル (0.5 mL) を加えて熱時ろ過を行うことで不溶の結晶 (未反応の **2G12**) をろ別し、溶媒を減圧留去することで粗生成物を得た。精製は良溶媒としてクロロホルム (0.3 mL)、貧溶媒として酢酸エチル (1.5 mL) を用いた再沈殿法により行い、ろ過により得られた結晶を十分に減圧乾燥させることで **2-HED** を収率 84% で得た。¹H NMR スペクトルにより生成物の同定を行った。¹H NMR スペクトルは Fig. 3.11 と一致した。以下に同定結果を示す。

2-HED

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : δ = 0.88 (3H, t, J = 6.6 Hz, CH_3 -), 1.17-1.43 (18H, m, $-(\text{CH}_2)_9$ -), 1.70-1.84 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.39 (6H, s, $\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$), 3.49-3.61 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.75-3.84 (2H, m, $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 4.14-4.23 (3H, m, $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$).

(2) 再合成

攪拌子を付した 10 mL ナスフラスコに、ジフェニルカーボネート (10.0 mg, 0.05 mmol) および **2-HED** (36.0 mg, 0.10 mmol) をはかり取り、アセトニトリル (0.5 mL) を加えた。さらに、触媒として lipase CR (10.0 mg、ジフェニルカーボネートに対して 100 wt%) を加え、アルゴン雰囲気下、オイルバス中 60°C で 1 日間攪拌反応を行った。

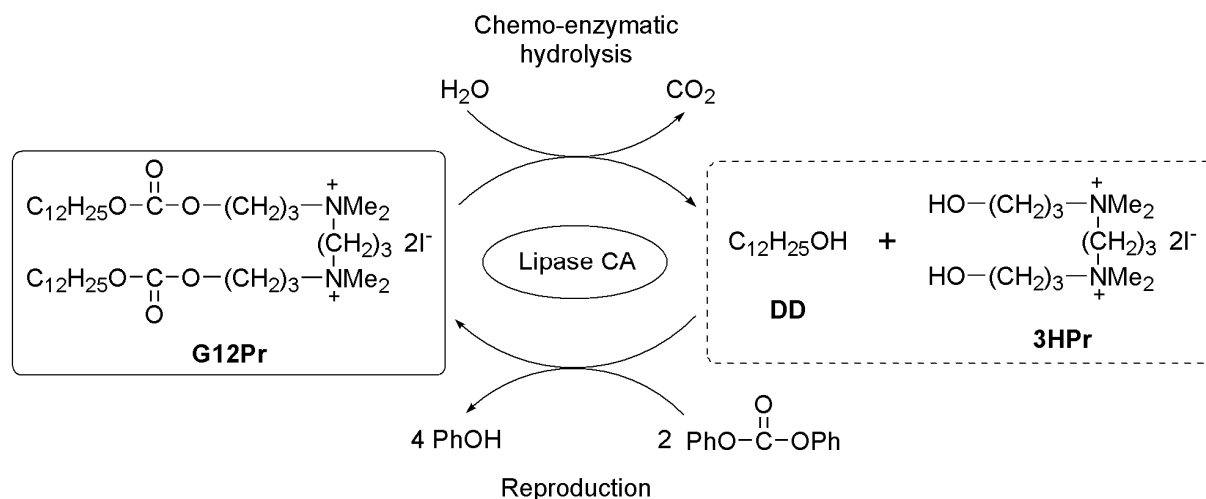
反応終了後、反応物にアセトニトリル (5.0 mL) を加え、ついでセライトろ過により不溶の酵素をろ別し、ろ液を減圧濃縮した。これに酢酸エチル (0.5 mL) を加えて熱時ろ過を行うことで不溶の結晶 (**2-HED**) をろ別し、ろ液を減圧濃縮することで粗生成物を得た。精製は良溶媒としてクロロホルム (0.2 mL)、貧溶媒として酢酸エチル (1.0 mL) を用いた再沈殿法により行い、ろ過により得られた結晶を十分に減圧乾燥させることで **2G12** を収率 47% で得た。 ^1H NMR スペクトルにより生成物の同定を行った。 ^1H NMR スペクトルは Fig. 3.4 と一致した。以下に同定結果を示す。

2G12

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : δ = 0.88 (6H, t, J = 6.6 Hz, 2CH_3 -), 1.17-1.48 (36H, m, $2-(\text{CH}_2)_9$ -), 1.68-1.85 (4H, m, $2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.44 (12H, s, $2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$), 3.66-3.80 (4H, m, $2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 4.32-4.45 (4H, m, $2-\text{C}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 4.87-5.00 (4H, m, $2-\text{C}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$).

3.2.9.2 G12Pr のケミカルリサイクル

触媒として *Candida antarctica* 由来の固定化リパーゼ (lipase CA) を用いて、G12Pr のケミカルリサイクルについて検討を行った (Scheme 3.10)。



Scheme 3.10 Chemo-enzymatic hydrolysis and reproduction as the chemical recycling of the G12Pr using immobilized lipase CA.

(1) 化学-酵素加水分解

攪拌子を付した 10 mL ナスフラスコに、G12Pr (50 mg) をはかり取り、トルエン (1.0 mL) および蒸留水 (10 μ L, トルエンに対して 1.0 vol%) を加えた。さらに、触媒として lipase CA (50 mg, 100 wt%) を加え、アルゴン雰囲気下、オイルバス中 65 $^{\circ}$ C で 3 日間攪拌反応を行った。

反応終了後、反応物にアセトニトリル (5.0 mL) を加え、ついでセライトろ過により不溶の酵素をろ別し、ろ液を減圧濃縮することで粗生成物を得た。精製は良溶媒としてメタノール (0.2 mL)、貧溶媒として酢酸エチル (1.0 mL) を用いた再沈殿法により行い、ろ過により得られた結晶を十分に減圧乾燥することで 3HPr を収率 92% で得た。¹H NMR スペクトルにより生成物の同定を行った。¹H NMR スペクトルは Fig. 3.13 と一致した。以下に同定結果を示す。

3HPr

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) : δ = 1.94-2.10 (4H, m, 2 HOCH₂CH₂CH₂N⁺), 2.30-2.46 (2H, m, N⁺CH₂CH₂CH₂N⁺), 3.23 (12H, s, 2-N⁺(CH₃)₂), 3.44-3.61 (8H, m, 4-N⁺CH₂CH₂CH₂), 3.70 (4H, t, J = 6.6 Hz, 2 HOCH₂CH₂CH₂N⁺).

(2) 再合成

[*n*-ドデシル=フェニル=カーボネート (***n*-DPC**) の合成]

撹拌子を付したネジキャップ付小試験管に、ジフェニルカーボネート (107.1 mg, 0.5 mmol)、1-ドデカノール (93.2 mg, 0.5 mmol) およびトリエチルアミン (51.0 mg, 0.5 mmol) をはかり取り、オイルバス中 80 °C で 8 時間撹拌反応を行った。

反応終了後、トリエチルアミンを減圧留去して粗生成物を得た。精製はシリカゲルカラムクロマトグラフィー [*n*-ヘキサン/酢酸エチル/アセトン = 20/1/1 (vol)] により行い、 $R_f = 0.50$ のフラクションを分取、溶媒を減圧留去することで、無色シロップ状に ***n*-DPC** を収率 87% で得た。¹H NMR スペクトルにより生成物の同定を行った。¹H NMR スペクトルは Fig. 2.15 と一致した。以下に同定結果を示す。

***n*-DPC**

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : $\delta = 0.88$ (3H, t, $J = 7.2$ Hz, CH₃-), 1.18-1.52 (18H, m, -(CH₂)₉-), 1.74 (2H, tt, $J = 7.1, 7.1$ Hz, -CH₂CH₂O-), 4.25 (2H, t, $J = 7.1$ Hz, -CH₂CH₂O-), 7.15-7.45 (5H, m, Ph-).

[**G12Pr** の合成]

撹拌子を付した 10 mL ナスフラスコに、***n*-DPC** (50.0 mg, 0.16 mmol) および **3HPr** (20.5 mg, 0.04 mmol) をはかり取り、アセトニトリル (1.0 mL) を加えた。さらに、触媒として lipase CA (5.0 mg, ***n*-DPC** に対して 10 wt%) を加え、アルゴン雰囲気下、オイルバス中 40 °C で 4 日間撹拌反応を行った。

反応終了後、反応物にアセトニトリル (5.0 mL) を加え、ついでセライトろ過により不溶の酵素をろ別し、ろ液を減圧濃縮した。これに酢酸エチル (0.5 mL) を加えて熱時ろ過を行うことで不溶の結晶 (**3HPr**) をろ別し、ろ液を減圧濃縮することで粗生成物を得た。精製は酢酸エチル (1.0 mL) を用いた再結晶操作により行い、ろ過により得られた結晶を十分に減圧乾燥させることで **G12Pr** を収率 35% で得た。¹H NMR スペクトルにより生成物の同定を行った。¹H NMR スペクトルは Fig. 3.6 と一致した。以下に同定結果を示す。

G12Pr

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : $\delta = 0.88$ (6H, t, $J = 6.6$ Hz, 2CH₃-), 1.18-1.43 (36H, m, 2-(CH₂)₉-), 1.67 (4H, tt, $J = 7.2, 7.2$ Hz, 2-CH₂CH₂CH₂CH₂OC(=O)O), 2.26-2.42 (4H, m, 2-OC(=O)OCH₂CH₂CH₂N⁺), 2.62-2.80 (2H, m, N⁺CH₂CH₂CH₂N⁺), 3.46 (12H, s, 2-N⁺(CH₃)₂), 3.65-3.76 (4H, m, N⁺CH₂CH₂CH₂N⁺), 3.89-4.01 (4H, m, 2-OC(=O)OCH₂CH₂CH₂N⁺), 4.13 (4H, t, $J = 7.2$ Hz, 2-CH₂CH₂CH₂CH₂OC(=O)O), 4.30 (4H, t, $J = 5.9$ Hz, 2-OC(=O)OCH₂CH₂CH₂N⁺).

3.2.10 生分解性

2.2.11 に記した方法と同様に活性汚泥を用いた BOD 試験を行うことでジェミニ型カチオン界面活性剤の生分解性を評価した。BOD 試験を行ったジェミニ型カチオン界面活性剤およびその加水分解物 (**2-HED**、**3-HPD** および **3HPr**) の仕込み量を Table 3.6 に示す。

Table 3.6 Sample weight of gemini-type cationics and the degradation intermediates for BOD test.

Compound	Molecular formula	Molecular weight (g/mol)	ThOD (mgO ₂ /mg)	Sample weight (mg)
2G10	C ₂₉ H ₆₂ N ₂ O ₃ I ₂	740.6	2.0	10.1
2G12	C ₃₃ H ₇₀ N ₂ O ₃ I ₂	796.7	2.1	9.6
2G14	C ₃₇ H ₇₈ N ₂ O ₃ I ₂	852.8	2.2	9.2
3G10	C ₃₁ H ₆₆ N ₂ O ₃ I ₂	768.7	2.0	9.8
3G12	C ₃₅ H ₇₄ N ₂ O ₃ I ₂	824.8	2.1	9.4
3G14	C ₃₉ H ₈₂ N ₂ O ₃ I ₂	880.9	2.2	9.0
2-HED	C ₁₆ H ₃₅ NOI	385.4	2.1	9.4
3-HPD	C ₁₇ H ₃₇ NOI	399.4	2.2	9.2
G12Pr	C ₃₉ H ₈₀ N ₂ O ₆ I ₂	926.4	2.0	9.8
G12iPr	C ₃₉ H ₈₀ N ₂ O ₆ I ₂	926.4	2.0	9.8
2G12Pr	C ₄₁ H ₈₂ N ₂ O ₉ I ₂	1000.9	1.9	10.4
3G12Pr	C ₄₃ H ₈₆ N ₂ O ₉ I ₂	1028.9	2.0	10.2
3HPr	C ₁₃ H ₃₂ N ₂ O ₂ I ₂	502.2	1.5	13.6
G12	C ₃₁ H ₆₈ N ₂ I ₂	722.7	2.3	8.9

3.2.11 抗菌性

2.2.9 に記した方法と同様にして最小発育阻止濃度 MIC (minimum inhibitory concentration, μg/mL) の測定を行い、ジェミニ型カチオン界面活性剤の抗菌性を評価した。

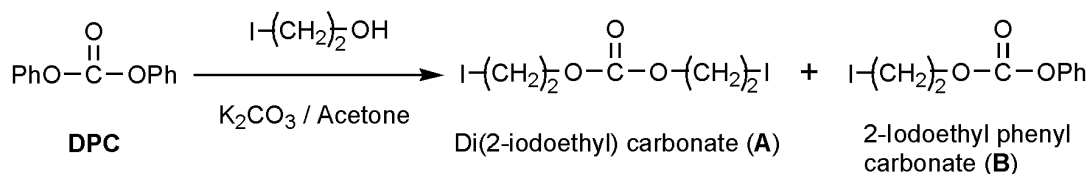
3.3 結果と考察

3.3.1 リンカー部にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤の合成

ジェミニ型カチオン界面活性剤の合成には様々な方法があるが、最も典型的なものは第三級アミンにハロゲン化アルキルを作用させてアミノ基の四級化とジェミニ化を同時に行うものである。本研究では、まず、ジフェニルカーボネートとヨードアルカノールを反応させることでカーボネート結合を有するジヨージドを合成した。これを *N,N*-ジメチル-*n*-アルキルアミンに作用させてアミノ基の四級化とジェミニ化を同時に行うことで、リンカー部にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤 **mGn** を得た。

3.3.1.1 ジ(2-ヨードエチル)カーボネートの合成

炭酸カリウム存在下でのジフェニルカーボネート (**DPC**) と 2-ヨードエタノールの反応について検討を行った。合成スキームを Scheme 3.11 に示す。



Scheme 3.11 Carbonate exchange reaction of **DPC** and 2-iodoethanol.

均一系（溶液系）反応では比較的反応制御が容易であるが、不均一系（固-液系）反応では系内混合状態が反応速度および収率に顕著な影響を与えるため、反応メカニズムを考慮に入れた制御を行わなければならない^[101,102]。Hayashi らは、炭酸カリウムを触媒に用いたジクロロメタン中でのアリール基を有するエステル (allyl (5-chloro-2-oxo-1,3-benzothiazol-3(2*H*)-yl) acetate) とメタノールとのエステル交換反応について検討を行っており、これは炭酸カリウム表面上でほぼ独占的に進行することを明らかにしている^[103]。**DPC** と 2-ヨードエタノールの反応で極性の高いプロトン性溶媒を用いた場合、2-ヨードエタノールのヨウ素が脱離することが予想される。このことを考慮し、非プロトン性溶媒であるアセトンを用いて反応を行った。

本反応では、中間体として 2-ヨードエチルフェニルカーボネート (**B**) の生成が予想される。そこで、目的物であるジ(2-ヨードエチル)カーボネート (**A**) と **B** の生成比率を ¹H NMR スペクトルより算出し、種々の反応条件がその生成比率に与える影響を調べた。まず、**DPC**/2-

ヨードエタノール = 1.0/2.2 (mol/mol) の条件で反応を行った。これにより得られた粗生成物の ^1H NMR スペクトルを Fig. 3.14 に示す。

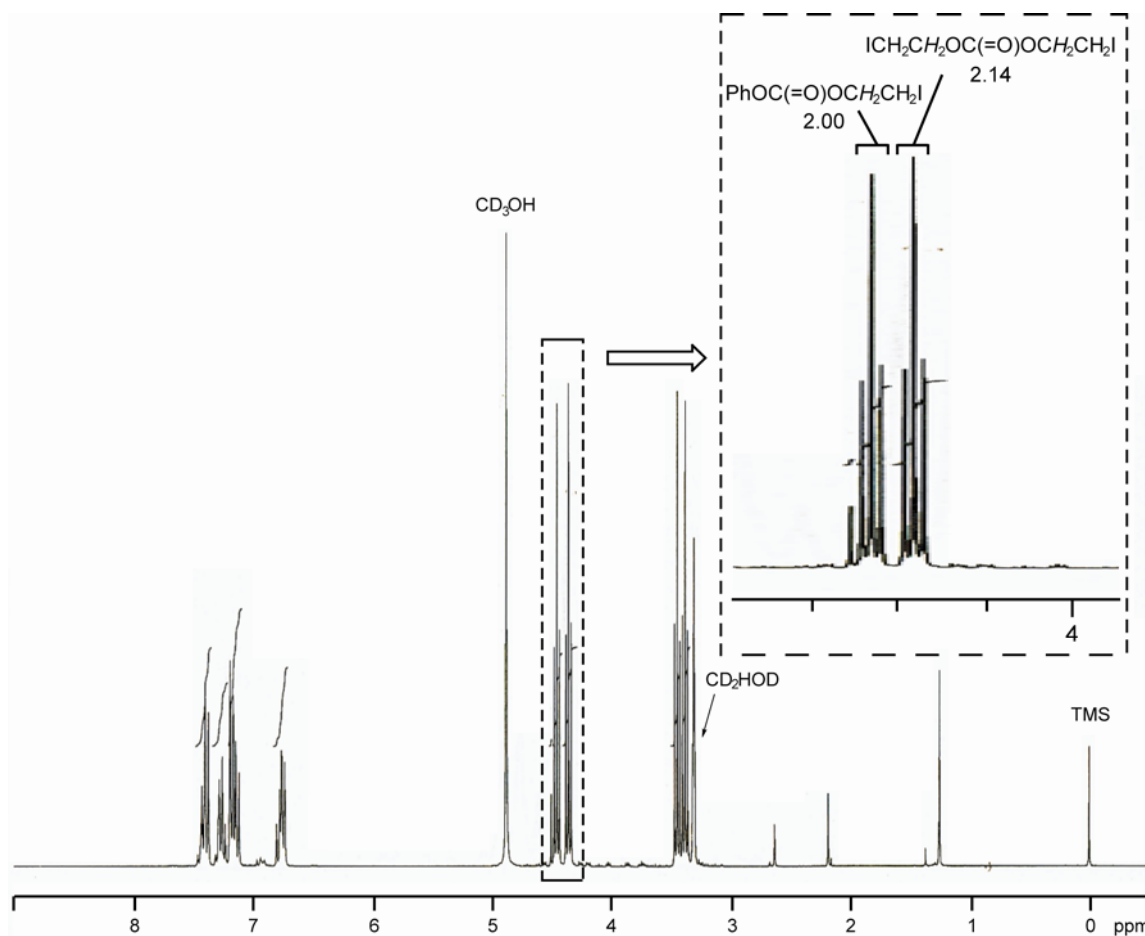


Fig. 3.14 ^1H NMR spectrum of the crude product (300 MHz, CD_3OD). Reaction conditions: **DPC** (107.1 mg, 0.5 mmol), 2-iodoethanol (189.0 mg, 1.1 mmol) and K_2CO_3 (107.1 mg) were stirred in acetone (3.0 mL) at room temperature for 1 day.

B の $\delta = 4.44$ のプロトン数を 2.00 としたとき、相当する **A** の $\delta = 4.36$ のプロトン数は 2.14 であった。これらのプロトン数から、**A** および **B** の生成比率を算出した。**A** ($\delta = 4.36$) のプロトン数はメチレン鎖 2 つ分に相当するのに対し、**B** ($\delta = 4.44$) のプロトン数はメチレン鎖 1 つ分に相当するので、**A** と **B** の生成比率は次のように算出される。

$$\mathbf{A} : \mathbf{B} = \frac{2.14/4}{2.00/2 + 2.14/4} : \frac{2.00/2}{2.00/2 + 2.14/4} = 0.34 : 0.66 \quad (3.3)$$

同様にして種々の反応条件での **A** と **B** の混合物の収率および **A** と **B** の生成比率を算出した。具体的には、2-ヨードエタノール量、炭酸カリウム量、基質濃度および反応時間が **A** と **B** の生成比率に与える影響を調べた。結果を Table 3.7 に示す。

Table 3.7 K_2CO_3 -catalyzed carbonate exchange reaction of **DPC** and 2-iodoethanol.

Entry	2-Iodoethanol (eq.)	K_2CO_3 (wt%)	DPC concentration (mol/L)	Time (d)	Result	
					Yield (%)	A/B (mol%/mol%)
1	2.2	100	0.17	1	68	34/66
2	3.0	100	0.17	1	71	46/54
3	3.8	100	0.17	1	79	67/33
4	3.8	200	0.17	1	78	80/20
5	3.8	250	0.17	1	82	77/23
6	3.8	200	0.20	1	78	83/17
7	3.8	200	0.25	1	81	91/9
8	3.8	200	0.30	1	80	98/2
9	3.8	200	0.30	2	79	100/0

Reaction conditions: **DPC** (107.1 mg, 0.5 mmol), 2-iodoethanol and K_2CO_3 were stirred in acetone at room temperature.

(1) 2-ヨードエタノール量

2-ヨードエタノール量を **DPC** に対して 2.2 当量として反応を行ったが、**A** の生成比率は 34 mol% に止まった (entry 1)。Entry 2 および 3 では、それぞれ 3.0, 3.8 当量として反応を行ったところ、**A** の生成比率の顕著な増加が認められた。このことは、2-ヨードエタノールの求核性が比較的低いことを示している。ヨウ素原子がヒドロキシ基の電子を引き付けるために、2-ヨードエタノールの求核性は低くなっているものと考えられる。したがって、2-ヨードエタノール量を更に増加させることで **A** の生成比率の上昇が期待される。しかし、本研究では原子効率を考慮し^[104,105]、2-ヨードエタノールをこれ以上増やさず、**DPC** に対して 3.8 当量を最適とした。

(2) 炭酸カリウム量

Entry 3-5 から、**A** の生成比率は炭酸カリウム量の増加と共に上昇する傾向が認められ、200 wt% の際に最大となった。

(3) **DPC** 濃度

Entry 4, 6-8 の結果から、**DPC** 濃度が高くなるにつれて **A** の生成比率は増加する傾向が認められた。

(4) 反応時間

反応時間を2日に延ばすことで、**A**のみが得られた (entry 8, 9)。

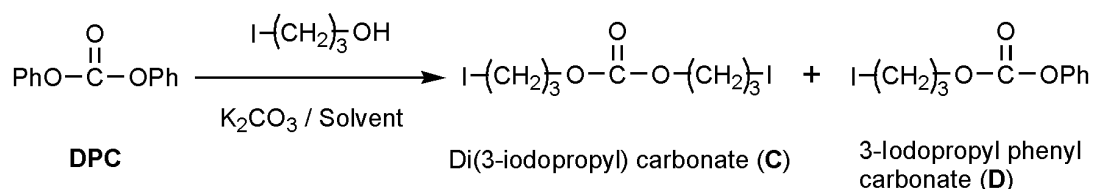
DPC と 2-ヨードエタノールの反応によるジ(2-ヨードエチル)カーボネート合成の最適条件を以下にまとめる。

DPC/2-ヨードエタノール = 1.0/3.8 (mol/mol)、200 wt% 炭酸カリウム (**DPC** に対して)、アセトン (**DPC** 濃度 : 0.3 mol/L)、室温、1 日

この条件で反応を行い、得られた粗生成物の精製をシリカゲルカラムクロマトグラフィー [*n*-ヘキサン/クロロホルム = 2/3 (v/v)、 $R_f = 0.58$] により行うことで、ジ(2-ヨードエチル)カーボネートを収率 79%で得た。

3.3.1.2 ジ(3-ヨードプロピル)カーボネートの合成

炭酸カリウム存在下での **DPC** と 3-ヨードプロパノールの反応について検討を行った。合成スキームを Scheme 3.12 に示す。



Scheme 3.12 Carbonate exchange reaction of **DPC** and 3-iodopropanol.

まず、ジ(2-ヨードエチル)カーボネート合成における Table 3.7 の entry 6 の条件で反応を行った。これにより得られたジ(3-ヨードプロピル)カーボネート (**C**) および 3-ヨードエチル=フェニル=カーボネート (**D**) の混合物の $^1\text{H NMR}$ スペクトルを Fig. 3.15 に示す。

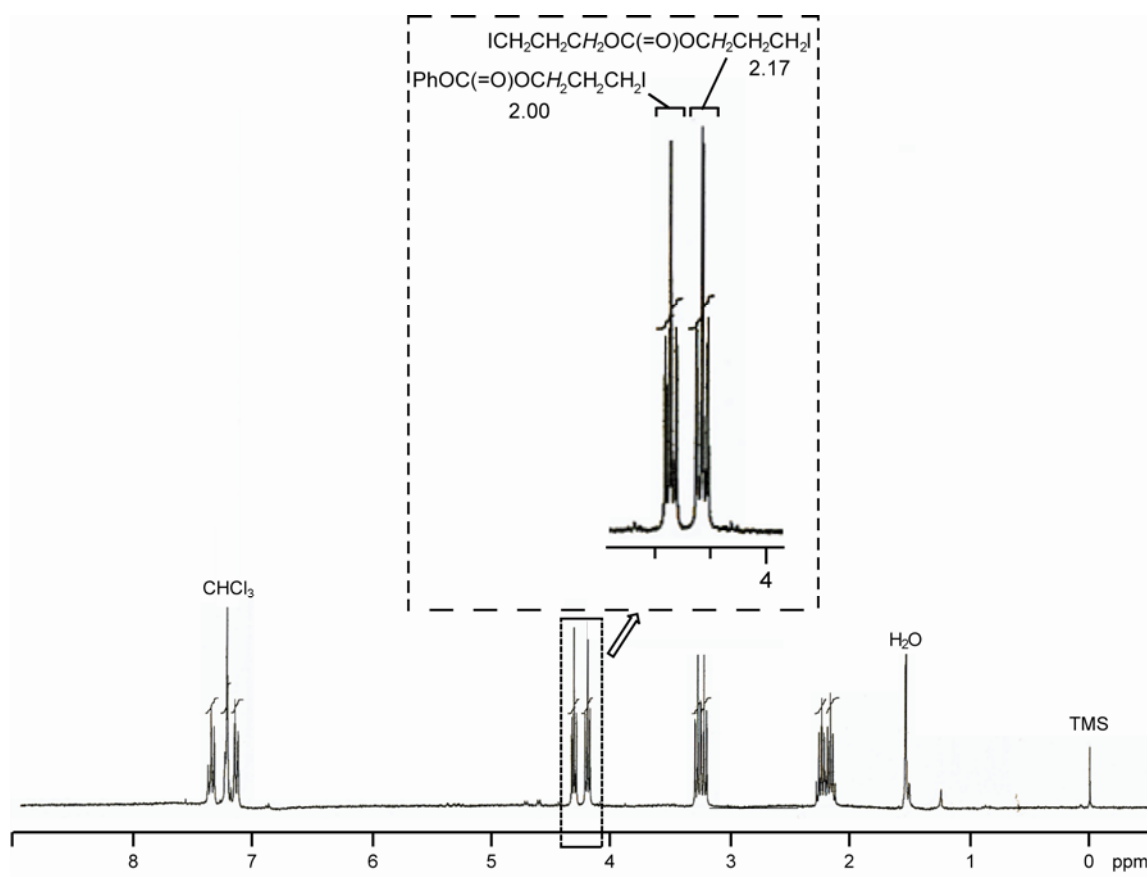


Fig. 3.15 ^1H NMR spectrum of di(3-iodopropyl) carbonate and 3-iodopropyl phenyl carbonate (300 MHz, CDCl_3). Reaction conditions: **DPC** (107.1 mg, 0.5 mmol), 3-iodopropanol (335.4 mg, 1.9 mmol) and K_2CO_3 (214.2 mg) were stirred in acetone (1.7 mL) at room temperature for 1 day.

Fig. 3.15 のプロトン数の比から、(3.3)式と同様にして **C** ($\delta = 4.23$) および **D** ($\delta = 4.35$) の生成比率を算出した。その結果、**C/D** = 35/65 (mol%/mol%)となった。

DPC と 3-ヨードプロパノールの反応において、炭酸カリウム量、溶媒種および **DPC** 濃度が **C** および **D** の生成比率に与える影響を調べた。結果を Table 3.8 に示す。

Table 3.8 K₂CO₃-catalyzed carbonate exchange reaction of **DPC** and 3-iodopropanol.

Entry	K ₂ CO ₃ (wt%)	Solvent	DPC concentration (mol/L)	Time (d)	Result	
					Yield (%)	C/D (mol%/mol%)
1	200	Acetone	0.20	1	59	35/65
2	400	Acetone	0.20	1	61	51/49
3	200	THF	0.20	1	78	89/11
4	200	THF	0.30	1	77	96/4
5	200	THF	0.30	2	71	100/0

Reaction conditions: **DPC** (107.1 mg, 0.5 mmol), 3-iodopropanol (335.4 mg, 1.9 mmol) and K₂CO₃ were stirred in solvent at room temperature.

炭酸カリウム量を **DPC** に対して 400 wt%としたところ、**C** の生成比率は若干上昇した (entry 2)。それでも約半分が中間体となっており、高効率的反応プロセスとは言い難い。これは、アセトンに対する 3-ヨードプロパノールの溶解性が比較的低いことによるものと考えられる。そこで、entry 3 では溶媒をアセトンから THF に変更したところ、**C** の生成比率の顕著な増加が認められた。

DPC 濃度を 0.2 mol/L から 0.3 mol/L に変更することで、**C** の生成比率は増加した。さらに、反応時間を 2 日にすることで **C** のみが得られた (entries 3-5)。

DPC と 3-ヨードプロパノールの反応の最適条件を以下にまとめる。

DPC/3-ヨードプロパノール = 1.0/3.8 (mol/mol)、200 wt% 炭酸カリウム (**DPC** に対して)、THF (**DPC** 濃度 : 0.3 mol/L)、室温、2 日

この条件で反応を行い、得られた粗生成物の精製をシリカゲルカラムクロマトグラフィー [*n*-ヘキサン/クロロホルム = 2/3 (v/v)、R_f = 0.57] により行うことで、ジ(3-ヨードプロピル)カーボネートを収率 71%で得た。

3.3.1.3 ジェミニ型カチオン界面活性剤 **mGn** の合成

長鎖アミンにジハライドを作用させてアミノ基の四級化とジェミニ化を同時に行う反応は、リンカー部分となるジハライドに対して長鎖アミンを大過剰 (5 当量程度) 加え、還流条件で行われるのが一般的である。本研究では、耐圧反応管を用いてジ(2-ヨードエチル)カーボネートと *N,N*-ジメチル-*n*-ドデシルアミンとの反応を行った。この反応において、反応時間およびジ(2-ヨードエチル)カーボネート濃度が与える影響を調べた。より原子効率の高い合成プロセスを目指し、ジ(2-ヨードエチル)カーボネート/*N,N*-ジメチル-*n*-ドデシルアミン = 1.0/2.2 (mol/mol) とした。

(1) 反応時間

反応時間が **2G12** の収率に与える影響を調べた。結果を Fig. 3.16 に示す。その結果、**2G12** の収率は時間とともにゆっくりと上昇し、72 時間でほぼ一定となった。

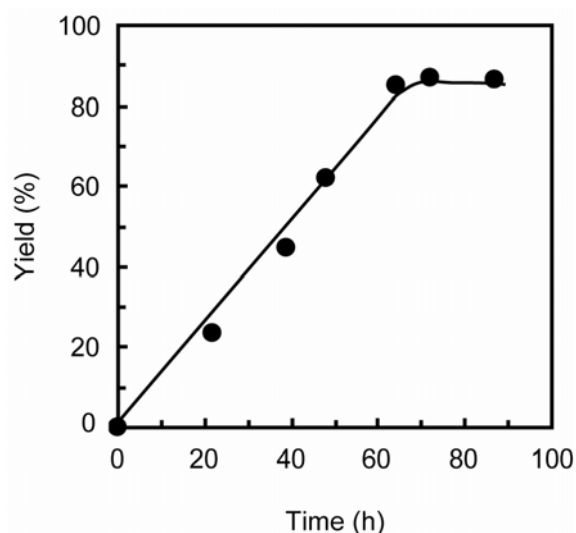


Fig. 3.16 Time course of the yield of **2G12** in the quaternarization and gemini formation of *N,N*-dimethyl-*n*-dodecylamine using di(2-iodoethyl) carbonate. Reaction conditions: *N,N*-dimethyl-*n*-dodecylamine (46.9 mg, 0.22 mmol) and di(2-iodoethyl) carbonate (37.0 mg, 0.10 mmol) were stirred in ethyl acetate (1.0 mL) at 80 °C.

(2) ジ(2-ヨードエチル)カーボネート濃度

ジ(2-ヨードエチル)カーボネート濃度が **2G12** の収率に与える影響を調べた。結果を Fig. 3.17 に示す。

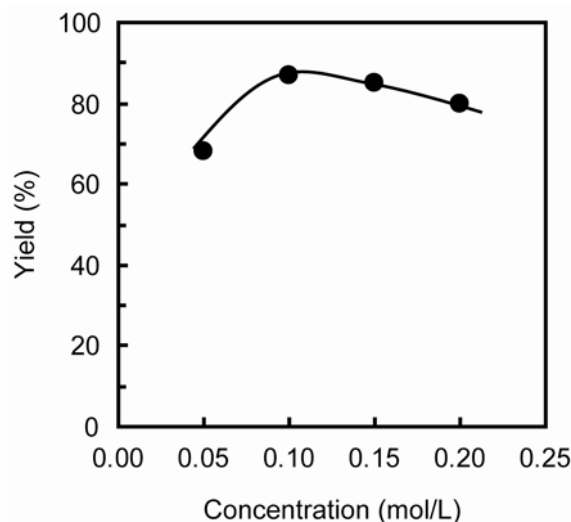


Fig. 3.17 Effect of concentration of di(2-iodoethyl) carbonate on the yield of **2G12** in ethyl acetate. Reaction conditions: *N,N*-dimethyl-*n*-dodecylamine (46.9 mg, 0.22 mmol) and di(2-iodoethyl) carbonate (37.0 mg, 0.10 mmol) were stirred in ethyl acetate at 80 °C for 72 h.

ジ(2-ヨードエチル)カーボネート濃度 0.1 mol/L のときに、最大収率 87% で **2G12** が得られた。ジ(2-ヨードエチル)カーボネート濃度を濃厚にすると、若干ではあるが収率が低下する傾向が認められた。これは、酢酸エチルに対する **2G12** の溶解性がそれほど高くないことによるものと考えられる。

ジ(2-ヨードエチル)カーボネートと *N,N*-ジメチル-*n*-ドデシルアミンの反応による **2G12** 合成の最適条件を以下にまとめる。

ジ(2-ヨードエチル)カーボネート/*N,N*-ジメチル-*n*-ドデシルアミン = 1.0/2.2 (mol/mol)、
酢酸エチル (ジ(2-ヨードエチル)カーボネート濃度 : 0.1 mol/L)、80 °C、72 時間

この条件で反応を行うことにより、**2G12** を収率 87% で得た。同様にして、一連の **mGn** を収率 80-89% で得た。**2G12** と **3G12** の収率に顕著な差異は認められなかった。このことは、リンカー部分となる四級化剤のサイズが反応性に与える影響は殆どないことを示している。

3.3.2 疎水基基部にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤の合成

3.3.2.1 GnX の合成

n-ドデシル=*N,N*-ジメチルアミノプロピル=カーボネート (**C12Pr**) に 1,3-ジヨードプロパンを作用させ、アミノ基の四級化とジェミニ化を同時に行うことで **G12Pr** を合成した。この反応における溶媒種および 1,3-ジヨードプロパン濃度が収率に与える影響を調べた。なお、**G12Pr** 粗生成物の精製は酢酸エチルを用いた再結晶法により行った。結果を Table 3.9 に示す。

Table 3.9 Synthesis of **G12Pr**.

Entry	Solvent	1,3-Diiodopropane (mol/L)	Yield (%)
1	Ethyl acetate	0.10	58
2	Acetonitrile	0.10	85
3	Acetonitrile	0.20	66

Reaction conditions: **C12Pr** (69.4 mg, 0.22 mmol) and 1,3-diiodopropane (29.6 mg, 0.10 mmol) were stirred in solvent at 80 °C for 24 h.

溶媒にアセトニトリルを用いた方が酢酸エチルを用いたときよりも **G12Pr** の収率は高かった (entry 1,2)。これは、**G12Pr** のアセトニトリルへの溶解性が酢酸エチルよりも高いことによるものと考えられる。また、アセトニトリル中、1,3-ジヨードプロパン濃度 0.1 mol/L の方が 0.2 mol/L のときよりも **G12Pr** の収率は高かった (entry 2,3)。このことから、**G12Pr** のアセトニトリルへの溶解性もそれほど高くないと言える。

1,3-ジヨードプロパンと **C12Pr** の反応による **G12Pr** 合成の最適条件を以下にまとめる。

1,3-ジヨードプロパン/**C12Pr** = 1.0/2.2 (mol/mol)、アセトニトリル
(1,3-ジヨードプロパン濃度 : 0.1 mol/L)、80 °C、24 時間

この条件で反応を行うことで、**G12Pr** が収率 85%で得られた。同様にして、**GnX** は収率 68-86%で得られた。**G12Pr** と **G12iPr** の収率を比較すると、後者の方が低かった。**G12iPr** の合成では、**C12iPr** の側鎖メチル基によりアミノ基の四級化が進行しにくくなっているものと考えられる。

3.3.2.2 mG12Pr の合成

C12Pr にジ(2-ヨードエチル)カーボネートを作用させ、アミノ基の四級化とジェミニ化を同時に行うことで疎水基基部およびリンカー部の両方にカーボネート結合を有する **2G12Pr** を合成した。3.3.1.3 および 3.3.2.1 の結果を踏まえ、以下の条件で反応を行った。

ジ(2-ヨードエチル)カーボネート/**C12Pr** = 1.0/2.2 (mol/mol)、アセトニトリル
(ジ(2-ヨードエチル)カーボネート濃度 : 0.1 mol/L)、80 °C、72 時間

酢酸エチルを用いた再結晶法により粗生成物の精製を行うことで、**2G12Pr** を収率 74% で得た。同様にして、**3G12Pr** を収率 68% で得た。リンカー部分となる四級化剤の分子サイズによる収率への顕著な影響は認められなかった。

3.3.3 水中安定性

3.3.3.1 リンカー部にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤

純水中、25 °C、10 日間の条件では、**2G12** の残存率は 91%、**3G12** の残存率は 99%であり、いずれにも殆ど分解が認められなかった。両者の水中安定性の差異を明らかにするため、リン酸緩衝液中で加水分解試験を行ったところ、顕著な差異が認められた。これは、リン酸塩が触媒的な役割を果たしていることによるものと考えられる。リン酸緩衝液中、25 °C および 40 °C の条件で **2G12** および **3G12** の加水分解試験を行った。結果を Fig. 3.18 に示す。

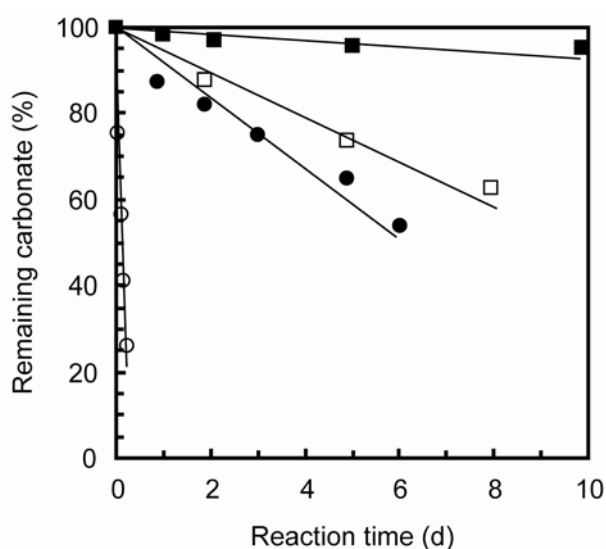


Fig. 3.18 Time course of hydrolytic degradation of the **2G12** and **3G12** in phosphate buffer. **2G12**, 25 °C (●); **2G12**, 40 °C (○); **3G12**, 25 °C (■); **3G12**, 40 °C (□). Sample concentration: 5 g/L, pH: 7.0.

リン酸緩衝液中において、**2G12** は 40 °C で急激に分解し、25 °C では徐々に分解した。**3G12** でも同様の傾向が認められたが、その分解速度は **2G12** よりもはるかに遅かった。特に、25 °C では **3G12** は殆ど分解されなかった。エステル結合含有カチオン界面活性剤は、エステル結合と第四級アンモニウム塩の間の距離が短いほど加水分解を受けやすいことが報告されている^[51]。**2G12** および **3G12** の加水分解性にも同様の傾向が認められた。すなわち、第四級アンモニウム塩とカーボネート結合の間のメチレン鎖が 2 個の **2G12** は、それが 3 個の **3G12** よりも加水分解を受けやすかった。これは、**2G12** のカーボネート結合周辺の電子密度が低いことによるものと考えられる。**2G12** および **3G12** の ¹H NMR スペクトルを Fig. 3.19 に示す。**2G12** および **3G12** のカーボネート結合に隣接するメチレン鎖のケミカルシフトには顕著な差異が認められた。すなわち、前者は $\delta = 4.87\text{-}5.00$ ppm、後者は $\delta = 4.40$ ppm にそれぞれ位置している。ケミカルシフトが低磁場側に位置することは、そのメチレン炭素の電子密度が低いこ

とを意味する。このことは同時に、カルボニル炭素の求電子性が高いことを示している。第四級アンモニウム塩とカーボネート結合の間のメチレン鎖が **3G12** よりも1個少ない **2G12** では、第四級アンモニウム塩の正電荷がカーボネート結合周辺の電子をより引き付けやすいものと考えられる。これにより、カルボニル炭素の求電子性が増し、水の求核攻撃を受けやすくなったものと考えられる。

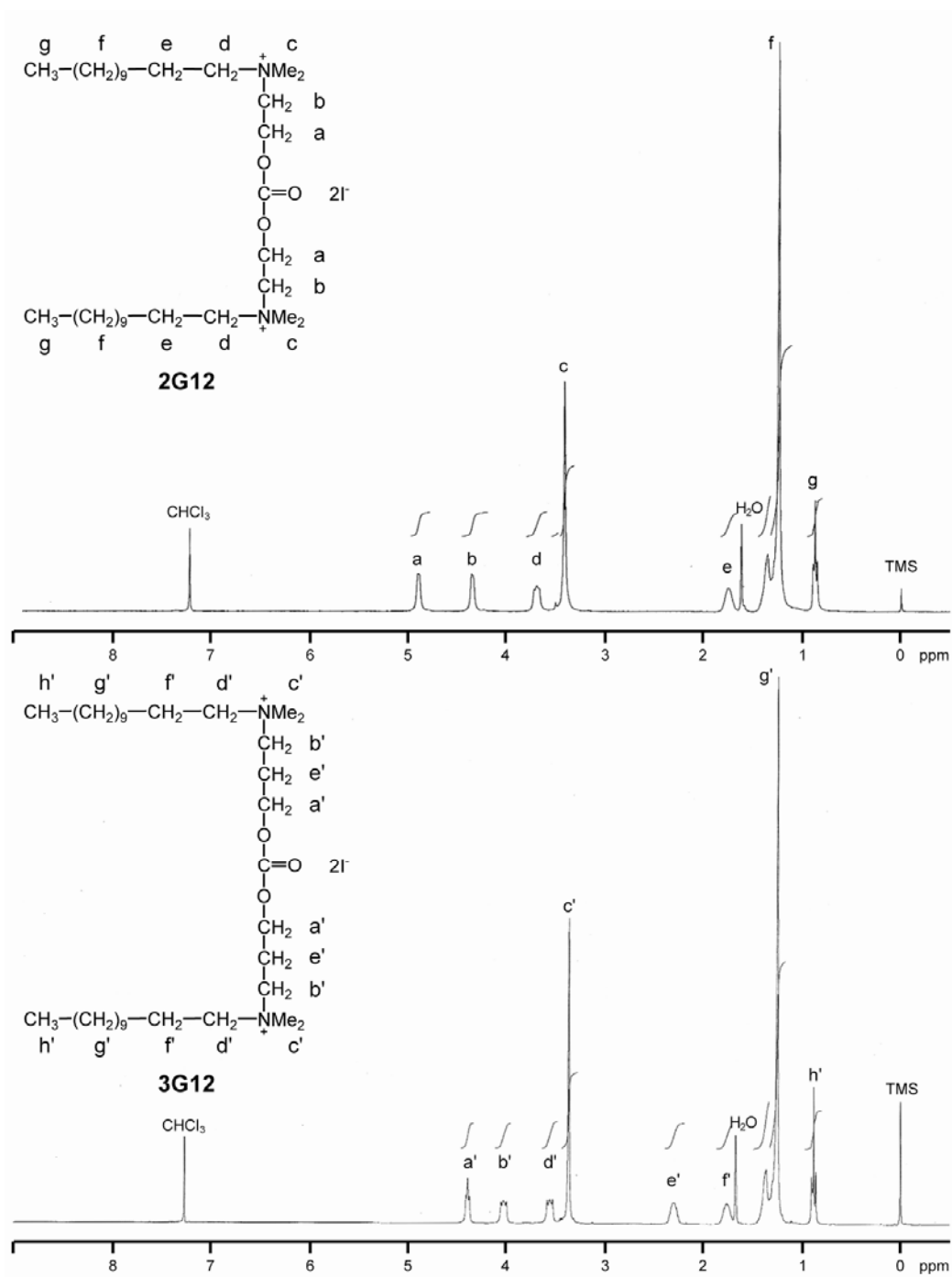


Fig. 3.19 ^1H NMR spectra of **2G12** and **3G12** (300 MHz, CDCl_3).

3.3.3.2 疎水基基部にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤

純水中、25 °C、20 日間の条件では、**G12Pr** の残存率は 98%、**G12iPr** の残存率は 97%であり、いずれも殆ど分解が認められなかった。そこで、両者の水中安定性の差異を明らかにするため、リン酸緩衝液中で **G12Pr** および **G12iPr** の加水分解試験を行った。結果を Fig. 3.20 に示す。

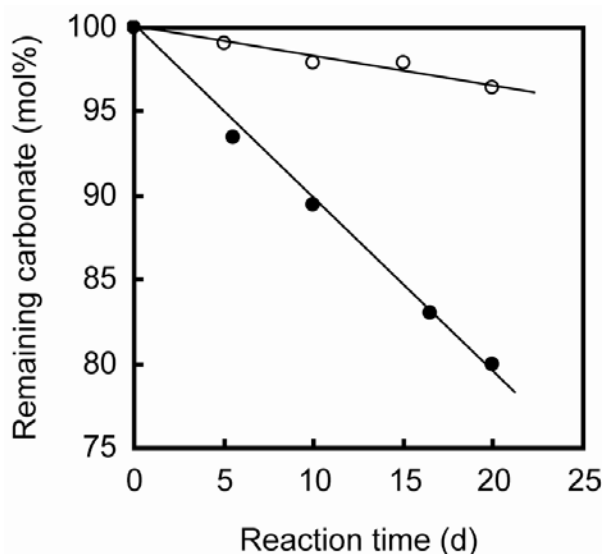


Fig. 3.20 Time course of hydrolytic degradation of the **G12Pr** (○) and **G12iPr** (●) in phosphate buffer at 25 °C. Sample concentration: 5 g/L, pH: 7.0.

G12iPr は 20 日間で 20%の分解が認められた。一方、**G12Pr** は 3%の分解しか認められず、**G12iPr** よりも水中安定性が高かった。この差異は、カルボニル炭素の求電子性の違いによるものと考えられる。**G12Pr** および **G12iPr** の ^1H NMR スペクトルを Fig. 3.21 に示す。**G12Pr** および **G12iPr** のカーボネート結合に隣接するメチレンおよびメチンのケミカルシフトには顕著な差異が認められた。すなわち、前者のピークは $\delta = 4.30$ ppm、後者のものは $\delta = 5.21\text{-}5.38$ ppm にそれぞれ位置している。このことは、**G12iPr** のカルボニル炭素の電子密度が **G12Pr** よりも低いことを示している。**G12iPr** の第四級アンモニウム塩とカーボネート結合の間の距離は **G12Pr** よりもメチレン鎖 1 個分短い。したがって、**G12iPr** のカーボネート結合は **G12Pr** よりも第四級アンモニウム塩の正荷電の影響を受けやすいと言える。これにより、**G12iPr** のカルボニル炭素の求電子性が増し、水の求核攻撃を受けやすくなったものと考えられる。

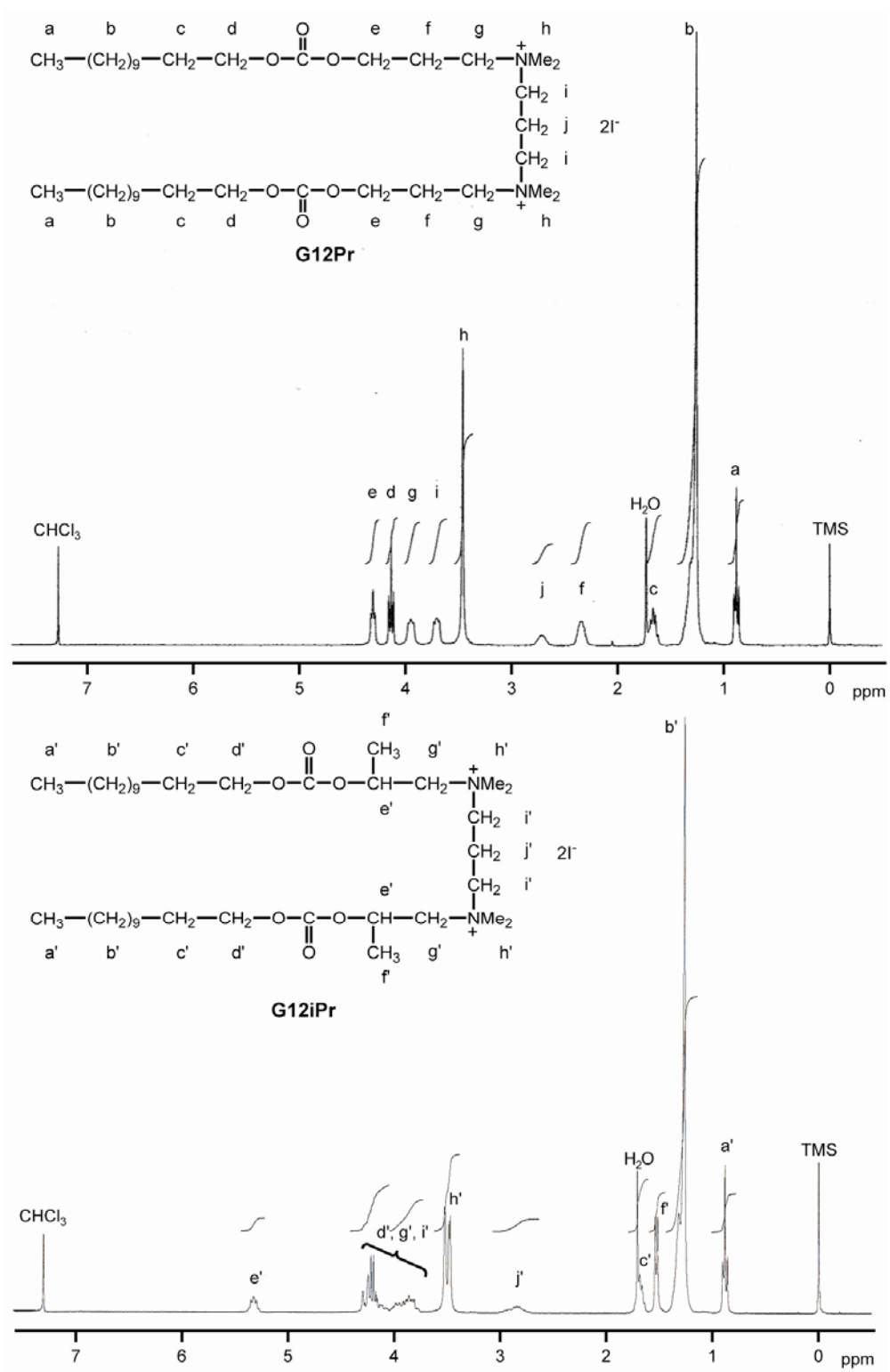


Fig. 3.21 ^1H NMR spectra of G12Pr and G12iPr (300 MHz, CDCl_3).

3.3.4 界面活性

3.3.4.1 リンカー部にカーボネート結合を有する mGn の表面張力低下能

mGn の表面張力-濃度曲線を Fig. 3.22 に示す。この結果から、水の表面張力 (25 °C で 72 mN/m) を 20 mN/m 下げるのに必要な界面活性剤モル濃度 (C_{20}) の負の対数值 ($pC_{20} = -\log C_{20}$) を算出した。また、従来型のジェミニ型カチオン界面活性剤 **G12** および一鎖一親水基型カチオン界面活性剤 **DTAI** についても同様の測定を行い、各パラメーターを算出した。カチオン界面活性剤の cmc、 γ_{cmc} 、 pC_{20} および A_{min} 値を Table 3.10 にまとめた。

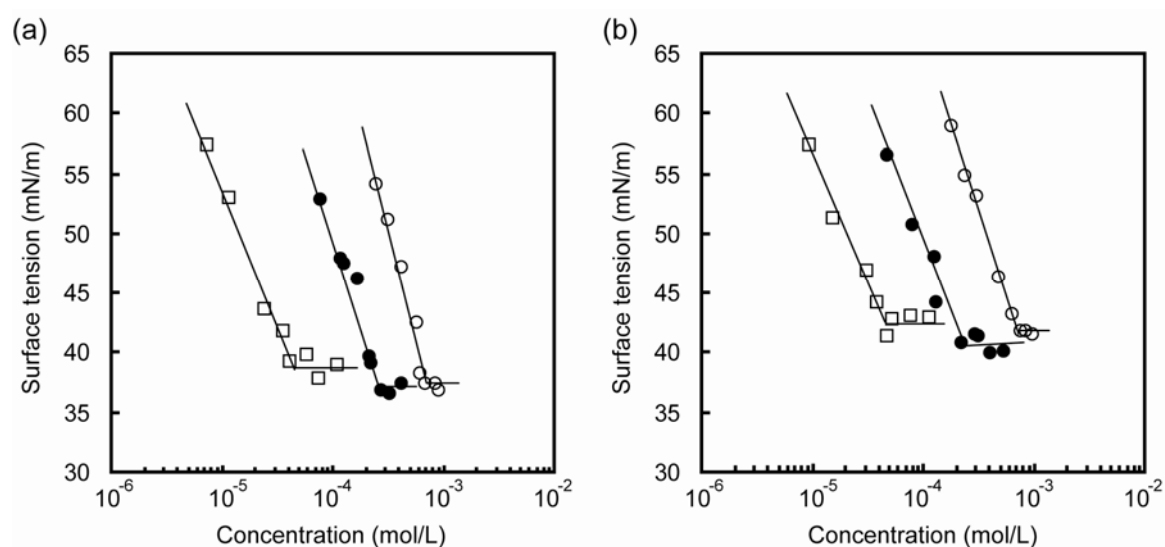


Fig. 3.22 Surface tension vs. concentration of gemini-type cationics in aqueous solution at 25 °C. (a) **2G10** (○); **2G12** (●); **2G14** (□). (b) **3G10** (○); **3G12** (●); **3G14** (□).

Table 3.10 Surfactant properties of cationics in aqueous solution at 25 °C.

Cationics	cmc (mM)	γ_{cmc} (mN/m)	pC_{20}	$10^2 A_{min}$ (nm ²)
2G10	0.75	37	3.5	89
2G12	0.29	37	4.1	97
2G14	0.047	39	4.9	128
3G10	0.71	42	3.5	99
3G12	0.17	43	4.2	118
3G14	0.043	43	4.8	137
G12	0.17	31	4.3	67
DTAI	5.4	35	2.8	54

(1) cmc

リンカー部にカーボネート結合を有する **mGn** には、疎水基の炭素鎖が長くなるにつれて cmc が低下するという、一般的な界面活性剤と同様の傾向が認められた。ドデシル基を有する **mG12** および **G12** の cmc は、相当する一鎖一親水基型 **DTAI** の 1/20 以下であった。ジェミニ型界面活性剤では分子間および分子内で疎水性相互作用が働くため、一鎖一親水基型よりも分子が集合しやすくなったものと思われる。この結果として、cmc が低下したものと考えられる^[106,107]。

疎水的なポリメチレン鎖をリンカーとするジェミニ型カチオン界面活性剤 (Fig. 3.23) では、リンカー部分のメチレン鎖長が cmc に与える影響は大きく、 $x = 6$ を境に cmc は顕著に小さくなることが知られている^[108]。これは、界面活性剤分子の配座が変化することによるものと考えられる。 $x = 6$ 以下では 2 本の疎水基はゴーシュあるいはトランス配座になるが、 $x = 7$ 以上ではその関係がシス配座になる。2 本の疎水基がシス配座の関係になることで、分子内の疎水性相互作用はより強くなると言える。これにより、cmc は顕著に減少するものと考えられる。**2G12**、**3G12** および **G12** の cmc には顕著な差異は認められなかった。このことから、**2G12** および **3G12** は **G12** と同じく 2 本の疎水基の関係がトランス配座になっているものと考えられる。

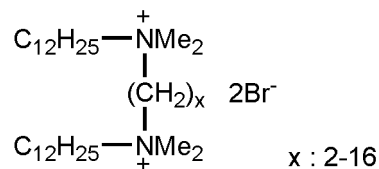


Fig. 3.23 Molecular structure of conventional gemini-type cationics.

(2) γ_{cmc} , pC_{20} および A_{min}

2Gn および **3Gn** の γ_{cmc} には顕著な差異が認められた。すなわち、リンカー部のメチレン鎖が 2 個少ない **2Gn** の方が **3Gn** よりも表面張力が小さかった。これは、**2Gn** の分子内および分子間での疎水性相互作用が **3Gn** よりも強く働くことによるものと考えられる。このことは、**2Gn** の A_{min} が **3Gn** よりも小さいことから支持される。疎水的なポリメチレン鎖をリンカーとするジェミニ型カチオン界面活性剤では、 $x = 2 \sim 12$ の範囲ではポリメチレン鎖が長いほど A_{min} は大きくなり、 x がそれ以上長くなると A_{min} は小さくなることが知られている^[100]。 $x = 2 \sim 12$ の範囲ではリンカー部は疎水基として機能しないが、それ以上の長さになるとリンカー部も疎水基として機能するようになり、気-液界面から遠ざかろうとする。これにより、 A_{min} は小さくなるものと考えられる。カーボネート結合は比較的堅固な結合であるため、**mGn** のリンカー部分は疎水基として機能しないものと予想される。以上のことから、リンカー部のメチレン鎖が 2 個少ない **2Gn** の方が **3Gn** よりも A_{min} が小さくなったものと考えられる。

また、**2G12** および **3G12** の pC_{20} は、相当する一鎖一親水基型カチオン界面活性剤 **DTAI** よりも大きかった。このことから、**2G12** および **3G12** は **DTAI** よりも効率的に気-液界面に並んでいると言える。

3.3.4.2 リンカー部にカーボネート結合を有する **mG12** の起泡力および泡安定性

250 mL の空気を界面活性剤水溶液に吹き込んだ直後の泡体積を起泡力、5 分後のものを泡安定性として評価を行った。ジェミニ型カチオン界面活性剤 **mG12** および **G12** の起泡力および泡安定性の結果を Fig. 3.24 に示す。従来型のジェミニ型カチオン界面活性剤 **G12** は高い起泡力および泡安定性を示した。リンカー部の構造は起泡力に顕著な影響を与えた。すなわち、リンカー部のメチレン鎖が 2 個少ない **2G12** は **3G12** よりも起泡力が高かった。**2G12** の A_{\min} は **3G12** に比べて小さいために、**2G12** の方がより安定な泡膜を形成しやすいものと考えられる。

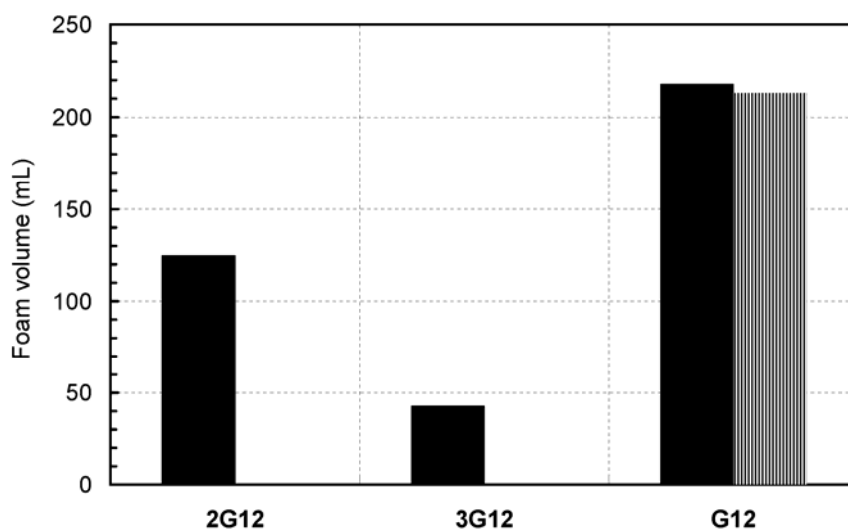


Fig. 3.24 Foam production and stability of gemini-type cationics by semi-micro TK method in aqueous solution (sample concentration: 0.5 mM, temp.: 25 °C). Black: 0 min, stripe: 5 min.

3.3.4.3 疎水基基部にカーボネート結合を有する **G12X** および **mG12Pr** の表面張力低下能

GnX および **mG12Pr** の表面張力-濃度曲線を Fig. 3.25 に示す。この結果から、 pC_{20} を算出した。一連のジェミニ型カチオン界面活性剤および相当する一鎖一親水基型カチオン界面活性剤 **S12X** の cmc 、 γ_{cmc} 、 pC_{20} および A_{\min} 値を Table 3.11 にまとめた。

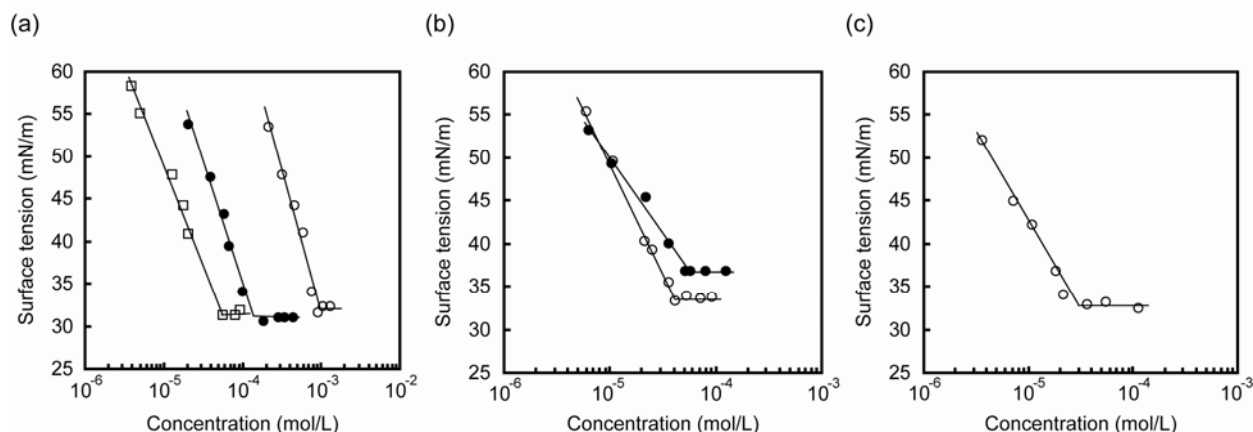


Fig. 3.25 Surface tension vs. concentration of gemini-type cationics in aqueous solution at 25 °C. (a) **G8Pr** (○); **G10Pr** (●); **G12Pr** (□). (b) **2G12Pr** (○); **3G12Pr** (●). (c) **G12iPr** (○).

Table 3.11 Surfactant properties of cationics in aqueous solution at 25 °C.

Cationics	cmc (mM)	γ_{cmc} (mN/m)	pC ₂₀	$10^2 A_{min}$ (nm ²)
G8Pr	0.95	32	3.6	81
G10Pr	0.15	30	4.6	100
G12Pr	0.058	31	5.2	118
2G12Pr	0.040	34	5.1	107
3G12Pr	0.057	37	5.2	162
G12iPr	0.025	33	5.5	127
G12	0.17	31	4.3	67
S12Pr	0.43	33	4.0	60
S12iPr	1.3	35	3.6	74

(1) cmc

プロピレン部を有する **GnPr** には、疎水基の炭素鎖が長くなるにつれて cmc が低下するという、一般的な界面活性剤と同様の傾向が認められた。カーボネート結合およびドデシル基を有するジェミニ型カチオン界面活性剤 **G12X** および **mG12Pr** はいずれも、従来型の **G12** よりも cmc が小さかった。これは、疎水基基部のカーボネート結合と第四級アンモニウム塩の間のプロピレン部およびイソプロピレン部が分子内および分子間疎水性相互作用に寄与していることによるものと考えられる。また、**G12Pr**, **2G12Pr**, **3G12Pr** および **G12iPr** の cmc に顕著な差異は認められなかった。このことは、これらの界面活性剤分子の疎水基が同様の配座になっていることを示唆している。

G8Pr と **G12** の総炭素数は同数であるが、**G8Pr** の cmc は **G12** よりも大きかった。カーボネート結合は極性基であるため、その周辺には水分子が多く存在していることが予想される。これにより分子内および分子間に働く疎水的な相互作用が弱まって分子同士が集合しにくく

なり、結果として **G8Pr** の cmc は **G12** よりも大きくなったものと考えられる。

一鎖一親水基型 **S12Pr** の cmc は **S12iPr** よりも小さかった。これは、**S12iPr** の分子間相互作用が側鎖メチル基同士の立体反発によって弱められていることによるものと考えられる。一方、ジェミニ型 **G12iPr** の cmc は **G12Pr** と同等であった。このことは、ジェミニ型界面活性剤とすることで分子内および分子間での相互作用を阻害する効果が弱くなったことを示唆している。具体的には、側鎖メチル基同士の立体反発および第四級アンモニウム塩同士の静電反発が弱くなったものと考えられる (Fig. 3.26)。分子間での側鎖メチル基による立体反発および第四級アンモニウム塩同士の静電的反発が起こる箇所が少なくなったことで、**G12iPr** 分子はより集合しやすくなったものと考えられる。

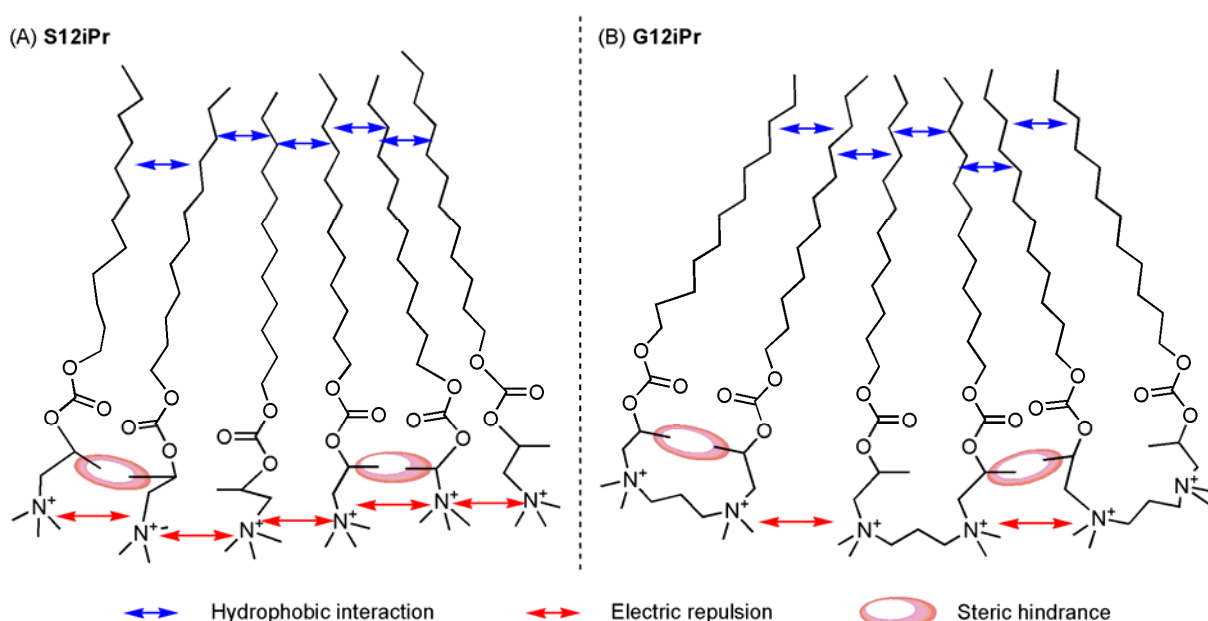


Fig. 3.26 Interactions of **S12iPr** (A) and **G12iPr** (B) in water.

(2) γ_{cmc} , pC_{20} および A_{min}

G12X の γ_{cmc} は、相当する一鎖一親水基型 **S12X** よりも小さかった。ジェミニ型界面活性剤とすることで、分子内および分子間での相互作用が強くなり（疎水性相互作用）、より効率的に気-液界面に並ぶことができるものと考えられる。また、**2G12Pr** の γ_{cmc} は **3G12Pr** よりも小さかった。**2G12Pr** は **3G12Pr** よりもリンカー部のメチレン鎖が2個少ないため、分子内および分子間相互作用がより強いものと考えられる。このことは、**2G12Pr** の A_{min} が **3G12Pr** より小さいことから支持される。

また、カーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤 **G12X** および **mG12Pr** は、相当する一鎖一親水基型 **S12X** に比べて、 pC_{20} が大きかった。このことは、**G12X** および **mG12Pr** が **S12X** よりも効率的に気-液界面に並んでいることを示している。

3.3.5 ケミカルリサイクル

3.3.5.1 リンカー部にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤

リパーゼを触媒として利用した **mG12** のケミカルリサイクルについて検討を行った。具体的には、**mG12** の化学-酵素加水分解と、その分解物とジフェニルカーボネートの反応による元の界面活性剤への再合成について検討を行った。

(1) 化学-酵素加水分解

リパーゼによる **2G12** の分解について、酵素起源、反応温度、水分量、反応時間および酵素量が与える影響を調べた。**2G12** の残存率を ^1H NMR スペクトルから算出した。**2G12** の残存率は、溶媒として CDCl_3 を使い、 $\delta = 0.88$ の CH_3 -のプロトン数を 6 とし、カーボネート結合に隣接するメチレン ($\delta = 4.87\text{-}5.00$) のプロトン数から算出した。

(i) 酵素スクリーニング

各リパーゼを触媒として用いた際の **2G12** の残存率を Table 3.12 に示す。

Table 3.12 Hydrolysis of **2G12** using various lipases at 70 °C.

Entry	Lipase	2G12 (mol%)
1	<i>Candida antarctica</i> (CA)	87
2	<i>Rhizomucor miehei</i> (RM)	86
3	<i>Burkholderia cepacia</i> (PS-C)	92
4	<i>Candida rugosa</i> (CR)	21
5	Blank	89

Reaction conditions: **2G12** (10 mg) and lipase (5 mg) were stirred in acetonitrile (0.2 mL) containing a small amount of water (10 μL) at 70 °C for 24 h.

Entry 5 の酵素非存在下でも若干の分解が認められた。使用したリパーゼのうち、entry 4 の lipase CR が最も高い活性を示した。Lipase CR は、アリアル基など立体的に嵩高い置換基を有するエステルを立体選択的に分解するのに有効であることが知られている^[109,110]。**2G12** のカーボネート結合の近くには比較的立体的に嵩高い第四級アンモニウム塩が存在する。このため、lipase CR の活性が最も高かったものと予想される。以降の検討では、lipase CR を触媒に用いた。

(ii) 反応温度および水分量

Lipase CR を触媒に用いて、反応温度および水分量が与える影響を調べた。結果を Table 3.13 に示す。

Table 3.13 Lipase CR-catalyzed hydrolysis of **2G12**.

Entry	Temperature (°C)	Water (vol% relative to acetonitrile)	2G12 (mol%)
1	50	5	87
2	60	5	82
3	70	5	21
4	70	0	60
5	70	2	58
6	70	10	16

Reaction conditions: **2G12** (10 mg) and lipase CR (5 mg) were stirred in acetonitrile (0.2 mL) containing a small amount of water for 24 h.

反応温度 70 °C で **2G12** の残存率は最小となった (entries 1-3)。アセトニトリルの沸点 (82 °C) を考慮し、これ以上の高温条件では反応を行わなかった。

水を添加しない系においても 40% の分解が認められた (entry 4)。これは、酵素に含まれる自由水によるものと考えられる。外部からの水の添加量を増やすにつれて、**2G12** の残存率は減少した (entries 3-6)。水分量 5 vol% および 10 vol% では残存率に顕著な差異は認められなかったため、以降では 5 vol% として反応を行った。

(iii) 反応時間および酵素量

反応時間および酵素量が **2G12** の分解率に与える影響を調べた。結果を Fig. 3.27 に示す。

時間とともに **2G12** の残存率は減少し、24 時間でほぼ一定となった (Fig. 3.27(a))。また、酵素量増加とともに **2G12** の残存率は減少することが認められ、酵素量 150 wt% の際に最小残存率 12% となった (Fig. 3.27(b))。

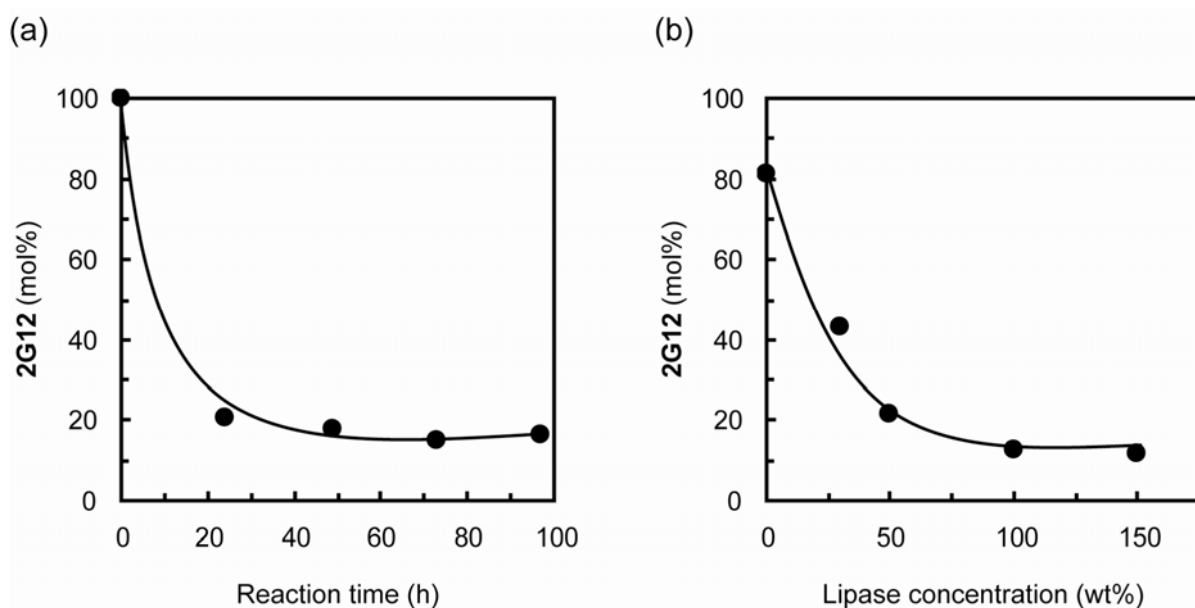


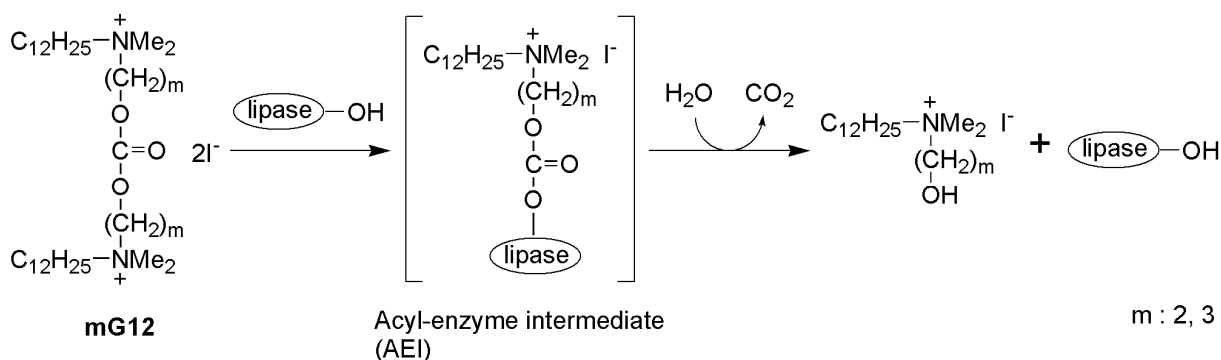
Fig. 3.27 The effect of reaction time (a) and lipase concentration (b) on the hydrolysis of **2G12**. Reaction conditions: **2G12** (10 mg) and lipase CR were stirred in acetonitrile (0.2 mL) containing a small amount of water (10 μ L) at 70 $^{\circ}$ C.

2G12 の化学-酵素加水分解の最適条件をまとめると次のようになる。

150 wt% lipase CR (**2G12** に対して)、アセトニトリル (**2G12** 濃度: 50 mg/mL)、
水 (アセトニトリルに対して 5 vol%)、70 $^{\circ}$ C、24 時間

この条件で反応を行うことで、**2G12** のカーボネート結合は加水分解と脱炭酸を受け、相当する **2-HED** が生成した (収率 84%)。一方、同様の条件で、**3G12** の残存率は 5% だった。Scheme 3.13 に **mG12** の化学-酵素加水分解の推定反応機構を示す。 ^1H NMR スペクトルにおいて **2G12** および **3G12** のカーボネート結合に隣接するメチレンピークのケミカルシフトには顕著な差異があり、前者の方が低磁場側に位置している (Fig. 3.19)。このことから、**2G12** のカルボニル炭素の方が **3G12** よりも求電子性が高く、求核分子による求核攻撃を受けやすいものと思われる。すなわち、**2G12** は **3G12** よりも酵素の Ser 残基による求核攻撃を受けやすく、

アシル-酵素複合体 (AEI) を形成しやすいものと考えられる。

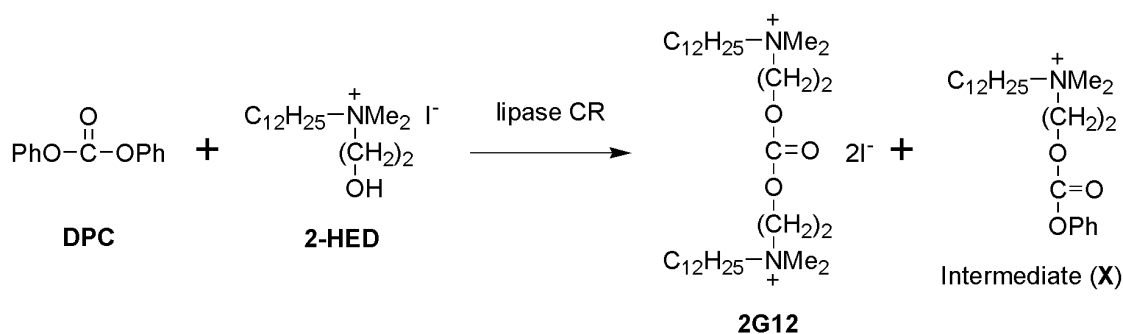


Scheme 3.13 Proposed mechanism for the lipase-catalyzed hydrolysis of **mG12**.

リパーゼによる環状カーボネートダイマーの開環重合では、その律速段階がアシル-酵素複合体への水の求核攻撃であることが報告されている^[111]。このことから、**2G12** は **3G12** よりも水の求核攻撃を受けやすいものと考えられる。したがって、**2G12** が **3G12** よりもリパーゼにより分解されやすかったのは、リパーゼおよび水両方の求核攻撃を受けやすいことによるものと考えられる。

(2) 再合成

Lipase CR を触媒に用いた **DPC** と **2-HED** の反応による **2G12** の再合成について検討を行った (Scheme 3.14)。



Scheme 3.14 Carbonate exchange reaction of **DPC** and **2-HED**.

DPC/2-HED = 1/2 (mol/mol)、50 wt% lipase CR (**DPC** に対して)、60 °C、24 時間の条件で反応を行った。精製は良溶媒としてクロロホルム、貧溶媒として酢酸エチルを用いた再沈殿法により行った。ろ過により得られた結晶の ¹H NMR スペクトルを Fig. 3.28 に示す。

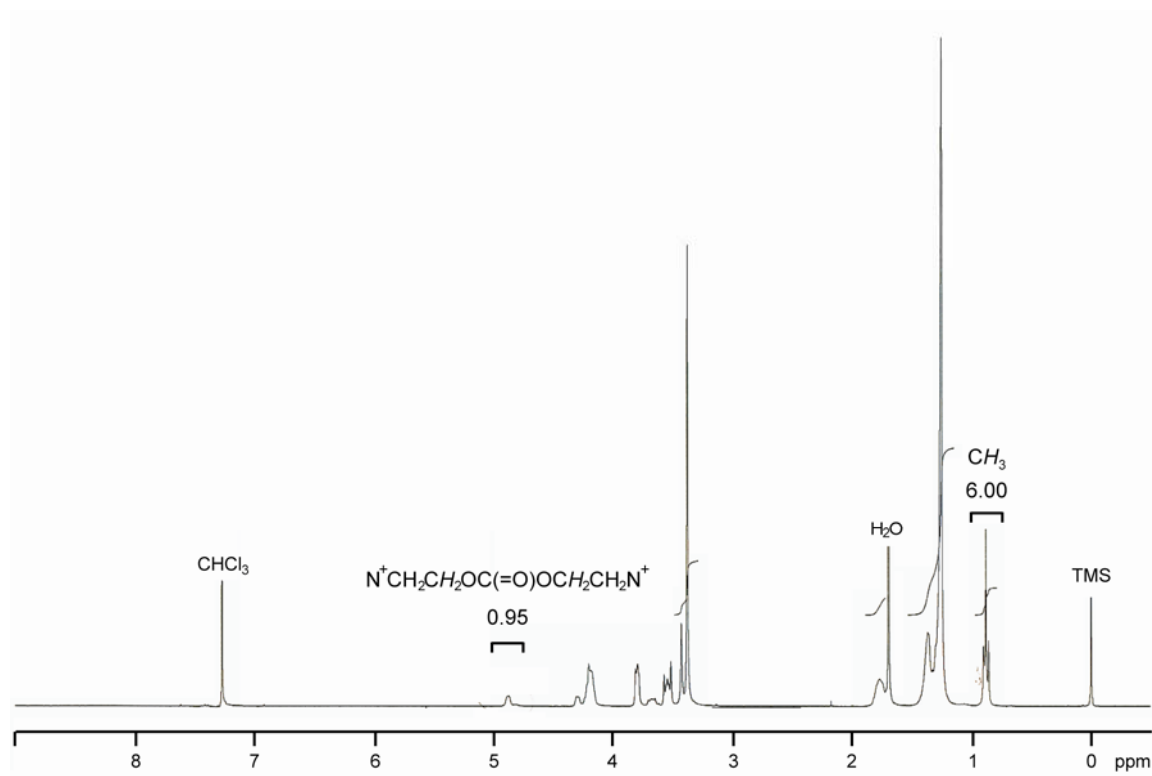


Fig. 3.28 ^1H NMR spectrum of **2G12** and **2-HED** (300 MHz, CDCl_3). Reaction conditions: **DPC** (4.0 mg, 0.02 mmol) and **2-HED** (14.4 mg, 0.04 mmol) and lipase CR (2.0 mg) were stirred in acetonitrile (0.2 mL) at 60 °C for 1 day.

Fig. 3.28 の ^1H NMR スペクトルにおいて、 $\delta = 7.15\text{-}7.45$ の Ph 由来のピークが認められなかった。このことから、ろ過により得られた結晶中には **DPC** および中間体 **X** は存在しないと言える。Fig. 3.28 の ^1H NMR スペクトルから **2G12** の純度を算出した。 $\delta = 0.88$ の CH_3 -のプロトン数を 6 とすると、相当する **2G12** のカーボネート結合に隣接するメチレン $\delta = 4.87\text{-}5.00$ のプロトン数は 4 となる。Fig. 3.28 では、そのメチレンのプロトン数が 0.95 であったため、**2G12** の純度は 24 mol% と算出される。

Lipase CR によるアセトニトリル中での **2G12** の再合成について、反応温度、酵素量および反応時間が **2G12** の純度に与える影響を調べた。結果を Fig. 3.29 に示す。

24 時間反応を行うことで酵素量の影響を調べた。Fig. 3.29(b)で最適であった 48 時間反応では、酵素量 100 wt%で **2G12** の純度は 7 mol%となり、150 wt%では **2G12** は殆ど生成していない結果となった。これは、生成した中間体 **X** や **2G12** が酵素由来の自由水により分解されたことによるものと考えられる。

100 wt%までは酵素量の増加とともに **2G12** の純度は上昇したが、それ以降では徐々に減少する傾向が認められた (Fig. 3.29(c))。酵素には自由水が含まれているため、酵素量が多いほど系内に水は多く存在することになる。この水によって、中間体 **X** や生成した **2G12** は分解されたものと考えられる。このため、酵素量 100 wt%以上では **2G12** の純度が減少したものと考えられる。

2-HED と **DPC** の反応による **2G12** の再合成の最適条件を以下にまとめる。この条件で反応を行い、酢酸エチルによる熱時ろ過、良溶媒としてクロロホルム、貧溶媒として酢酸エチルを用いた再沈殿法により精製を行うことで、**2G12** を収率 47%で得た。

DPC/2-HED = 1/2 (mol/mol)、100 wt% lipase CR (**DPC** に対して)、
アセトニトリル (**DPC** 濃度 : 20 mg/mL)、60 °C、24 時間

以上の結果をまとめると次のようになる。微量の水を添加したアセトニトリル溶液中、**2G12** に lipase CR を作用させることで、相当する第四級アンモニウム塩を含むアルコール **2-HED** が生成した。これとジフェニルカーボネートを lipase CR 存在下で反応させることで **2G12** が再生した。以上のことから、**2G12** は lipase CR を利用したケミカルリサイクルが可能であることが認められた。

3.3.5.2 疎水基基部にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤

Candida antarctica 由来の固定化リパーゼ (lipase CA) を触媒として利用した **G12Pr** のケミカルリサイクルについて検討を行った。

(1) 化学-酵素加水分解

Lipase CA による **G12Pr** の分解反応を、一鎖一親水基型 **S12Pr** の化学-酵素加水分解の最適条件で行った。これにより得られた粗生成物の ^1H NMR スペクトルを Fig. 3.30 に示す。

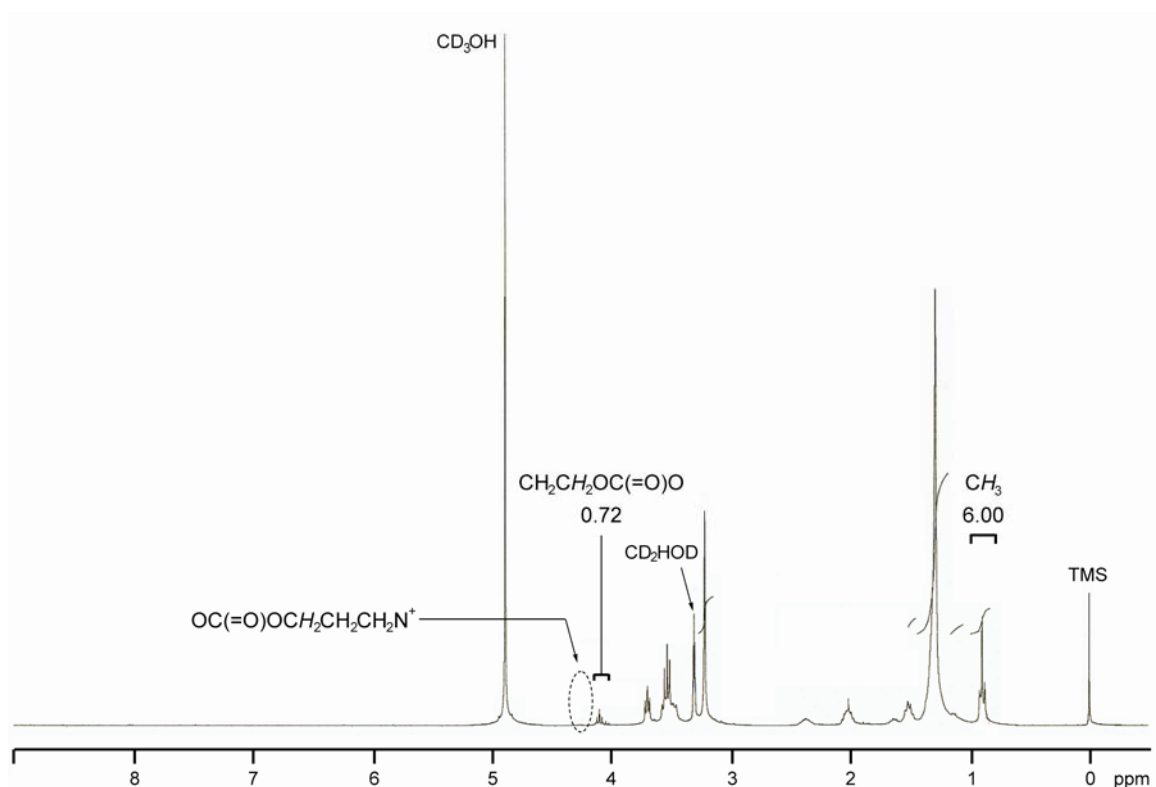


Fig. 3.30 ^1H NMR spectrum of the crude product (300 MHz, CD_3OD). Reaction conditions: **G12Pr** (10 mg) and lipase CA (10 mg) were stirred in toluene (0.2 mL) containing a small amount of water (2.0 μL) at 65 $^\circ\text{C}$ for 24 h.

第四級アンモニウム塩側のカーボネート結合に隣接するメチレンピーク ($\delta = 4.25$) は認められなかったが、疎水基側のメチレン ($\delta = 4.10$) は 18 mol% 残存していた。**G12Pr** の分解により生成したドデカノール (**DD**) が AEI へ求核攻撃することで、ジドデシルカーボネートが生成したものと考えられる (Scheme 3.16)。

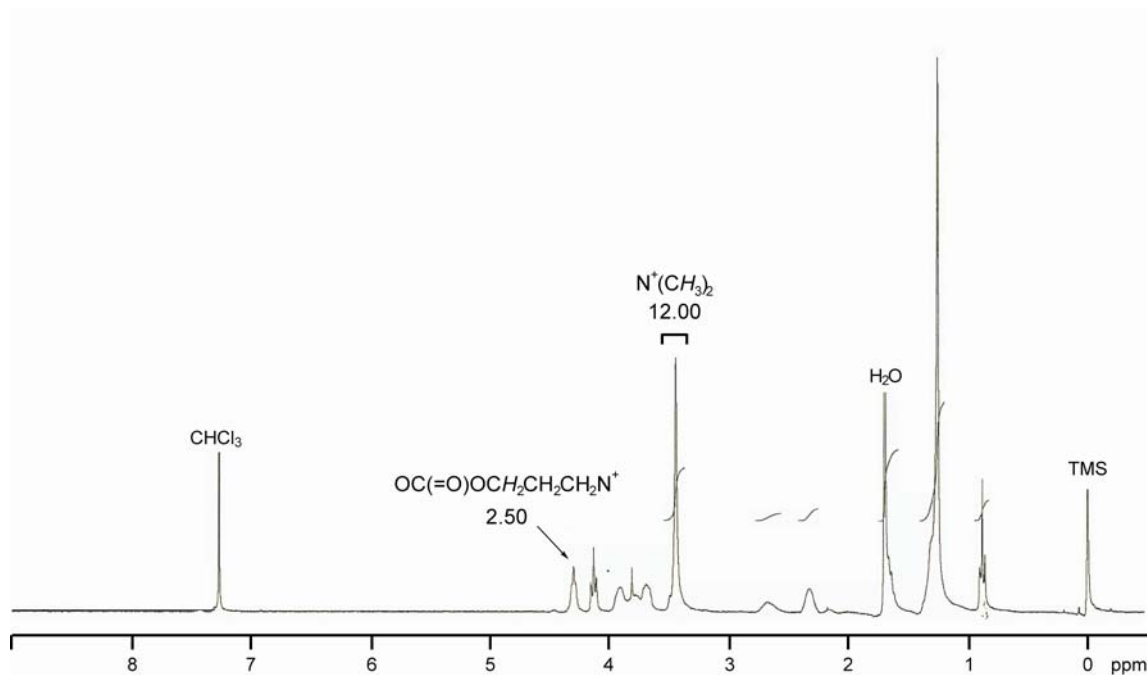


Fig. 3.31 ^1H NMR spectrum of **G12Pr** and intermediate **Y** (300 MHz, CDCl_3). Reaction conditions: **n-DPC** (24.5 mg, 0.08 mmol), **3HPr** (10.0 mg, 0.02 mmol) and lipase CA (2.5 mg) were stirred in acetonitrile (0.8 mL) at 40 °C for 4 days.

第四級アンモニウム塩のジメチルピーク ($\delta = 3.42$) のプロトン数を 12 としたとき、第四級アンモニウム塩側のカーボネート結合に隣接するメチレン ($\delta = 4.30$) のプロトン数は 2.50 であった。 $\delta = 4.30$ のプロトン数は **G12Pr** と **Y** の総和であり、前者がメチレン鎖 2 つ分に相当するのに対し、後者は 1 つ分に相当する。したがって、生成比率は **G12Pr** 25 mol%、**Y** 75 mol% と算出される。

G12Pr の生成比率を上昇させるため、**n-DPC** 濃度および反応時間が **G12Pr** および **Y** の生成比率に与える影響を調べた。結果を Table 3.14 に示す。

Table 3.14 Lipase-catalyzed reproduction of **G12Pr**.

Entry	n-DPC concentration (mg/mL)	Time (d)	Result	
			Yield (%)	G12Pr / Y (mol/mol)
1	30	4	77	25/75
2	50	4	91	45/55
3	50	6	81	43/57

Reaction conditions: **n-DPC** (24.5 mg, 0.08 mmol), **3HPr** (10.0 mg, 0.02 mmol) and lipase CA (2.5 mg) were stirred in acetonitrile at 40 °C.

n-DPC 濃度を 50 mg/mL とすることで、**G12Pr** の生成比率は上昇した。しかし、entry 2 の反応条件では **3HPr** が完全に溶解しなかったため、これ以上の濃厚条件では反応を行わなかった。Entry 3 では反応時間を 6 日まで延長したが、**G12Pr** の生成比率に顕著な差異は認められなかった。**Y** は **3HPr** よりも立体的に嵩高く、酵素の活性ポケットに入りにくいことが原因として考えられる。

n-DPC と **3HPr** の反応による **G12Pr** の再合成の最適条件を以下にまとめる。

n-DPC /**3HPr** = 4/1 (mol/mol)、10 wt% lipase CR (**n-DPC** に対して)、
アセトニトリル (**n-DPC** 濃度 : 50 mg/mL)、40 °C、4 日間

得られた反応混合物に酢酸エチルを加えて熟時ろ過を行い、不溶の結晶 (**3HPr** および **Y**) をろ別、溶媒を減圧留去した。粗生成物の精製は酢酸エチルを用いた再沈殿法により行い、得られた結晶を十分に乾燥させることで **G12Pr** を収率 35% で得た。2.3.1n に記したように **n-DPC** は収率 87% で得られていることから、**G12Pr** の再合成を 2 段階総収率 30% で達成したことになる。

以上の結果をまとめると次のようになる。微量の水を添加したトルエン溶液中、**G12Pr** に lipase CA を作用させることで、相当する第四級アンモニウム塩を含むアルコール **3HPr** および **DD** が生成した。これらとジフェニルカーボネートを lipase CA 存在下で反応させることで **G12Pr** が再生した。以上のことから、**G12Pr** は lipase CA を利用したケミカルリサイクルが可能であることが認められた。

3.3.6 生分解性

カーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤の生分解は、微生物酵素（菌体外酵素）によるカーボネート結合の開裂（加水分解と脱炭酸）から開始するものと思われる。これにより生成した加水分解物は微生物体内に取り込まれ、 β -酸化および ω -酸化によって分解されるものと考えられる。このような推定生分解機構から、カーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤の加水分解物が生分解されれば、元の界面活性剤も優れた生分解性を有するものと見なされる。

3.3.6.1 リンカー部にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤

mG12 由来の第四級アンモニウム塩を含む加水分解物 **2-HED** (*N*-2-ヒドロキシエチル-*N,N*-ジメチル-*n*-ドデシルアンモニウム=ヨージド) および **3-HPD** (*N*-3-ヒドロキシプロピル-*N,N*-ジメチル-*n*-ドデシルアンモニウム=ヨージド) についても同様にして BOD 試験を行った。一連の化合物の生分解率を Fig. 3.32 に示す。

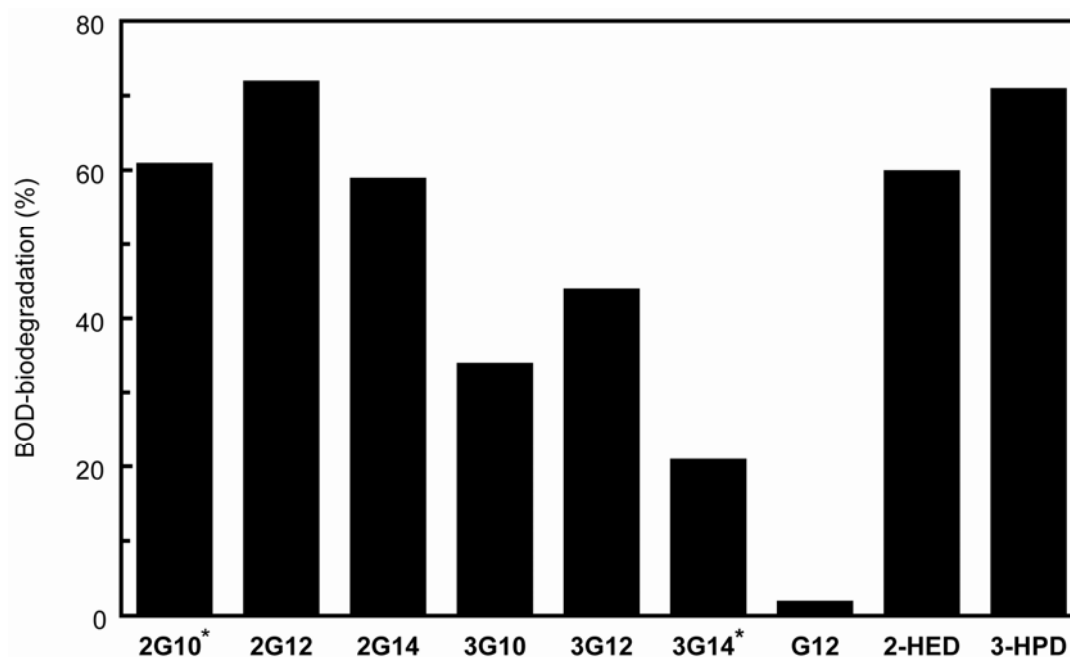


Fig. 3.32 BOD-biodegradation of gemini-type cationics and **mG12**-derived degradation products, **2-HED** and **3-HPD**, at 25 °C for 28 d (*48 d). Activated sludge: 30 ppm, sample concentration: ca. 40 ppm.

加水分解性結合を有さない従来型のジェミニ型カチオン界面活性剤 **G12** は活性汚泥により全く生分解されなかったのに対し、カーボネート結合を有する **mGn** は活性汚泥により生分解された。このことから、リンカー部のカーボネート結合は生分解性セグメントとして有効であることが認められた。

mGn において、リンカー部の構造は生分解性に顕著な影響を与えた。すなわち、**2Gn** と **3Gn** は殆ど同等の分子構造であるが、偶数のメチレン鎖を持つ **2Gn** の方が奇数のメチレン鎖を持つ **3Gn** よりも生分解性に優れた。これの原因として、リンカー部のカーボネート結合の加水分解性の違い、あるいは、第四級アンモニウム塩を含む加水分解物の生分解性の違いという 2 点が挙げられる。まず、両者の加水分解性を明らかにする目的で、BOD 試験で用いた培地水溶液中での **2G12** および **3G12** の加水分解試験を行った。試験方法を以下に示す。

[試験方法]

攪拌子を付した茶褐色の 500 mL フラン瓶に、カーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤 (10 mg) をはかり取り、培地水溶液 (250 mL) を加えた。プラスチック蓋のネジ部分にパラフィルムを巻くことで容器を密閉し、25 °C、8 日間の加水分解試験を行った。試験終了後、凍結乾燥を行うことにより水分を完全に除去した。ついでアセトニトリル (5.0 mL) を反応物に加え、不溶の塩をろ別した。ろ液を減圧濃縮し、得られた結晶を十分に減圧乾燥させ、これを測定用のサンプルとした。¹H NMR スペクトルからジェミニ型カチオン界面活性剤の残存率を算出した。溶媒として CDCl₃ を用い、 $\delta = 0.88$ の CH₃-のプロトン数を 6 とし、カーボネート結合に隣接するメチレン $\delta = 4.87\text{-}5.00$ のプロトン数から **2G12** の残存率を、 $\delta = 4.40$ のプロトン数から **3G12** の残存率をそれぞれ算出した。

2G12 の残存率は 17% だったのに対し、**3G12** の残存率は 82% だった。このことから、**2G12** は **3G12** よりも加水分解されやすいと言える。一方、**2G12** 由来の加水分解物 **2-HED** および **3G12** 由来の **3-HPD** はいずれも、28 日間の培養で 60% 以上の生分解率を示した。BOD 試験では生分解率が 60% を超えると、その試料は環境中でも容易に生分解される (易分解性) と見なされる。以上の結果から、**2G12** の開裂は酵素的にも非酵素的にも起こるために、**2G12** は **3G12** よりも生分解性に優れたものと考えられる。

3.3.6.2 疎水基基部にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤

G12Pr 由来の第四級アンモニウム塩を含む加水分解物 **3HPr** (プロパン-1,3-ビス(*N*-3-ヒドロキシプロピル-*N,N*-ジメチルアンモニウム)=ジジョージド) および **DD** (1-ドデカノール) についても同様にして BOD 試験を行った。一連の化合物の生分解率を Fig. 3.33 に示す。

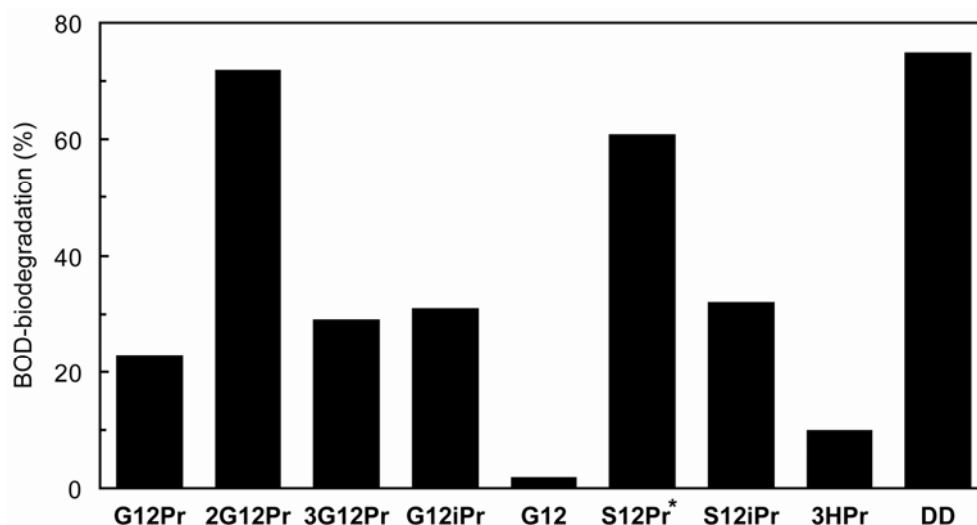


Fig. 3.33 BOD-biodegradation of gemini-type and single-type cationics and **G12Pr**-derived degradation products, **3HPr** and **DD**, at 25 °C for 28 d (*45 d). Activated sludge: 30 ppm, cationics: ca. 40 ppm, **3HPr**: 52 ppm, **DD**: 38 ppm.

(1) **G12X** の生分解性

疎水基基部にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤 **G12Pr** および **G12iPr** は、従来型の **G12** よりも生分解性に優れた。このことから、疎水基基部へカーボネート結合を導入することで生分解性は向上したと言える。しかし、**G12Pr** の生分解率は 23%、**G12iPr** は 31%に止まっており、両者とも易分解性とは言えない。**G12Pr** 由来の第四級アンモニウム塩を含む加水分解物 **3HPr** の生分解率は 10%だったが、一方、**DD** の生分解率は 70%を超えた。これらの結果から、**G12Pr** の生分解性が比較的低かったのは、カーボネート結合の開裂により生じる **3HPr** が殆ど生分解されないことによるものと考えられる。

(2) **mG12Pr** の生分解性

mGn と同様に、**mG12Pr** についてもリンカー部の構造は生分解性に顕著な影響を与えた。すなわち、**2G12Pr** は **3G12Pr** よりも生分解性に優れ、その生分解率は 70%を越えた。これは、カーボネート結合の開裂後に生じる加水分解物の違いによるものと考えられる。**2G12Pr** および **3G12Pr** の加水分解性の差異を明らかにするため、純水中での加水分解試験を行った。試験方法を以下に示す。

[試験方法]

攪拌子を付したネジキャップ付き小試験管に、ジェミニ型カチオン界面活性剤 (10 mg) をはかり取り、純水 2 mL を加えた。ネジ部分にパラフィルムを巻くことで容器を密閉し、60 °C

(反応促進条件)、9時間の加水分解試験を行った。試験終了後、凍結乾燥を行うことにより水分を完全に除去、得られた結晶を十分に減圧乾燥させ、これを測定用のサンプルとした。 ^1H NMR スペクトルからジェミニニ型カチオン界面活性剤の残存率を算出した。溶媒として CDCl_3 を用い、 $\delta = 0.88$ の CH_3 -のプロトン数を6として、**2G12Pr** についてはカーボネート結合に隣接するメチレン $\delta = 4.86\text{-}5.00$ のプロトン数からリンカー部の残存率を、 $\delta = 4.30$ から疎水基基部の残存率を算出した。また、**3G12Pr** については、 $\delta = 4.40$ のプロトン数からリンカー部の残存率を、 $\delta = 4.30$ から疎水基基部の残存率をそれぞれ算出した。結果を Fig. 3.34 に示す。

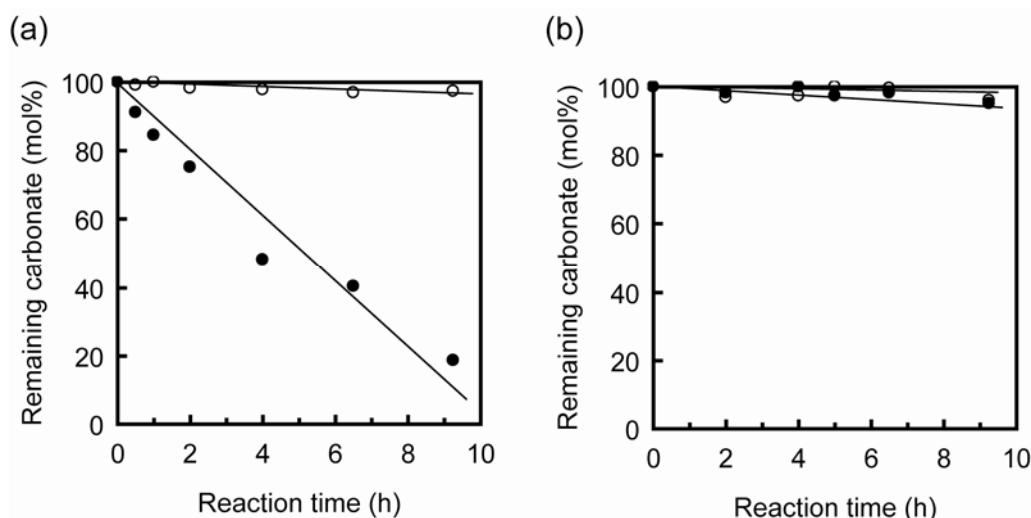


Fig. 3.34 Time course of hydrolytic degradation of **mG12Pr** in distilled water at 60 °C. (a) Remaining carbonate in the hydrophobic moiety (○) and linker moiety (●) of **2G12Pr**. (b) Remaining carbonate in the hydrophobic moiety (○) and linker moiety (●) of **3G12Pr**. Concentration: 5 g/L.

2G12Pr のリンカー部および疎水基基部のカーボネート結合の分解性には顕著な差異が認められた。リンカー部のカーボネート結合は水中で徐々に分解し、9時間後の残存率は18%であった。一方、疎水基基部のカーボネート結合は殆ど分解されず、9時間後でも97%が残存していた。これらの結果は、リンカー部のカーボネート結合が疎水基基部のものよりも開裂しやすいことを示している。リンカー部のカーボネート結合のみが加水分解されることにより、**2G12Pr** は **S12Pr** に分子構造が類似の加水分解物に変換されるものと考えられる。これは、**S12Pr** と同様に優れた生分解性を有することが予想される。

一方、**3G12Pr** については、リンカー部および疎水基基部いずれのカーボネート結合も殆ど分解されず、95%以上が残存していた。このことから、**3G12Pr** のリンカー部のカーボネート結合は **2G12Pr** よりも水中で安定であると言える。

以上のことから、**2G12Pr** はリンカー部で速やかに加水分解され、優れた生分解性を有する分子に変換されるために、**3G12Pr** よりも生分解性に優れたものと考えられる。

3.3.7 抗菌性

3.3.7.1 リンカー部にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤

最小発育阻止濃度 MIC を指標として **mG12**、**G12** および **mG12** 由来の加水分解物 (**2-HED** および **3-HPD**) の抗菌性を評価した。グラム陽性およびグラム陰性細菌、酵母およびカビなど真菌に対する MIC を Table 3.15 に示す。

Table 3.15 Antimicrobial activities of cationics and **mG12**-derived intermediate.

Strain	MIC ($\mu\text{g/mL}$)					
	2G12	3G12	G12	2-HED	3-HPD	DTAI
<i>S. aureus</i>	25	5	25	25	25	10
<i>B. subtilis</i>	10	5	10	10	25	10
<i>M. luteus</i>	50	5	25	100	100	25
<i>E. coli</i>	25	10	100	25	50	25
<i>S. typhimurium</i>	100	100	100	100	100	100
<i>P. aeruginosa</i>	400	200	100	400	400	50
<i>C. albicans</i>	400	400	>400	25	25	200
<i>S. cerevisiae</i>	400	>400	>400	10	50	100
<i>T. mentagrophytes</i>	50	200	100	5	10	50
<i>M. gypseum</i>	25	400	50	5	10	25
<i>P. chrysogenum</i>	400	>400	400	50	100	100
<i>A. niger</i>	400	>400	>400	400	>400	100

3G12 のグラム陽性菌に対する抗菌性は、相当する一鎖一親水基型カチオン界面活性剤 **DTAI** よりも高かった。複数の親水基を有するカチオン界面活性剤は、一親水基のものに比べて高い抗菌性および殺菌性を発現することが報告されている^[78,112]。これは、複数親水基型の方が一親水基型よりも電荷密度が高く、菌体表面により強く吸着できることによるものと考えられる。一方、**2G12** の抗菌性は **3G12** よりも僅かに低かった。3.3.3.1 および 3.3.5.1 に記したように、**2G12** は **3G12** よりも非酵素的および酵素的に分解しやすいことが認められている。このことから、**2G12** が菌体酵素により加水分解と脱炭酸を受け、相当する加水分解物に変換されたことが予想される。この結果として、**2G12** の抗菌性は **3G12** よりも低くなったものと考えられる。但し、MIC の単位をモル濃度に換算した場合、**2G12** の抗菌性は相当する加水分解物 **2-HED** よりも高いことから、**2G12** は完全には分解されていないものと考えられる。

3.3.7.2 疎水基基部にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤

カーボネート結合を有するカチオン界面活性剤および **G12Pr** 由来の加水分解物 **3HPr** の各菌株に対する MIC を Table 3.16 に示す。

Table 3.16 Antimicrobial activities of cationics and **G12Pr**-derived **3HPr**.

Strain	MIC ($\mu\text{g/mL}$)							
	G12Pr	2G12Pr	3G12Pr	G12iPr	G12	S12Pr	S12iPr	3HPr
<i>S. aureus</i>	200	5	100	100	25	2.5	2.5	>400
<i>B. subtilis</i>	200	10	50	100	10	2.5	5	>400
<i>M. luteus</i>	400	25	100	100	25	5	2.5	>400
<i>E. coli</i>	400	200	200	200	100	10	10	>400
<i>S. typhimurium</i>	>400	400	>200	>400	100	200	200	>400
<i>P. aeruginosa</i>	400	200	>200	>400	100	100	400	>400
<i>C. albicans</i>	>400	400	>200	>400	>400	>400	400	>400
<i>S. cerevisiae</i>	>400	400	>200	>400	>400	400	400	>400
<i>T. mentagrophytes</i>	>400	100	>200	200	100	50	400	100
<i>M. gypseum</i>	400	25	100	400	50	10	5	200
<i>P. chrysogenum</i>	>400	400	>200	>400	400	200	100	>400
<i>A. niger</i>	>400	>400	>200	>400	400	>400	>400	>400

カーボネート結合を有する **G12Pr** は、相当する一鎖一親水基型カチオン界面活性剤 **S12Pr** よりも抗菌性が低かった。これは、**G12Pr** が分解され、抗菌性を有さない加水分解物 **3HPr** が生成することによるものと考えられる。ジェミニ型界面活性剤は一鎖一親水基型界面活性剤よりも立体的に嵩高く菌体内部に侵入するのに時間を要するため、その分菌体外酵素による分解を受けやすいことが予想される。

リンカー部および疎水基基部の両方にカーボネート結合を有する **2G12Pr** および **3G12Pr** の抗菌性には顕著な差異が認められた。すなわち、**2G12Pr** の方が **3G12Pr** よりも抗菌性が高かった。3.3.6.2 に記したように、**2G12Pr** のリンカー部のカーボネート結合は疎水基基部のものよりも分解されやすい。このため、**2G12Pr** は菌体外酵素によりリンカー部で速やかに分解され、**S12Pr** に分子構造が類似した化合物に変換されるものと考えられる。これは、**S12Pr** と同様に高い抗菌性を有することが予想される。一方、**3G12Pr** はリンカー部および疎水基基部のカーボネート結合の分解性に顕著な差異は認められなかった。このため、その両方のカーボネート結合が分解されるものと考えられる。これにより、**3G12Pr** は抗菌性を有さない化合物に変換されたものと予想される。

3.4 結言

優れた生分解性を有し、ケミカルリサイクルが可能な新規ジェミニ型カチオン性グリーンサーファクタントの創成を目的に、分子内にカーボネート結合を導入したジェミニ型カチオン界面活性剤を分子設計し、そのグリーンプロセスによる合成、界面活性、ケミカルリサイクル性、生分解性および抗菌性について検討を行った。

(1) リンカー部にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤

炭酸カリウム存在下、ジフェニルカーボネートとヨードアルカノールを反応させることでジ(ヨードアルキル)カーボネートを得た。これを *N,N*-ジメチルアルキルアミンに作用させてアミノ基の四級化とジェミニ化を同時に行うことで、リンカー部にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤を総収率 60~70% で得た。

カーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤は、相当する一鎖一親水基型界面活性剤よりも使用量の削減につながる優れた界面活性を發揮した。また、それらは従来型のジェミニ型カチオン界面活性剤と同等の高い抗菌性を発現した。リンカー部にカーボネート結合を有するジェミニ型界面活性剤は活性汚泥により生分解されたが、一方、従来型のジェミニ型界面活性剤は全く生分解されなかった。このことから、ジェミニ型カチオン界面活性剤リンカー部のカーボネート結合が生分解性セグメントとして有効であることが認められた。カーボネート結合を有するジェミニ型界面活性剤水溶液にリパーゼを作用させると、カーボネート結合が加水分解と脱炭酸を受け、相当する第四級アンモニウム塩を含むアルコールが生成した。これとジフェニルカーボネートをリパーゼ存在下で反応させることで元の界面活性剤が再生した。これらの結果から、カーボネート結合を有するジェミニ型界面活性剤は、生分解性とケミカルリサイクル性を併せ持つ新規なジェミニ型カチオン界面活性剤であることが認められた。

(2) 疎水基基部にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤

n-アルキル=*N,N*-ジメチルアミノアルキル=カーボネートに 1,3-ジヨードプロパンおよびカーボネート結合を有するジヨージドを作用させてアミノ基の四級化とジェミニ化を同時に行うことで、疎水基基部にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤と、リンカー部および疎水基基部の両方にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤を総収率 55~75% で得た。

カーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤は、相当する一鎖一親水基型のものよりも優れた界面活性を發揮した。特に、cmc は相当する一鎖一親水基型カチオン界面活性剤の 1/10 以下となった。リンカー部および疎水基基部の両方にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤は、疎水基基部のみにカーボネート結合を有するものより

も抗菌性が高く、また、活性汚泥により速やかに生分解された。このことから、ジェミニ型カチオン界面活性剤のリンカー部にカーボネート結合を導入することによって、抗菌性および生分解性は向上することが認められた。微量の水を添加したトルエン溶液中、疎水基基部にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤にリパーゼを作用させることで、第四級アンモニウム塩を含むアルコールおよび長鎖アルコールが生成した。これらとジフェニルカーボネートをリパーゼ存在下で反応させることで元のジェミニ型カチオン界面活性剤が再生した。以上のことから、ジェミニ型カチオン界面活性剤疎水基基部のカーボネート結合は、ケミカルリサイクル性セグメントとして有効であることが認められた。

第4章

光学活性カーボネート型カチオン界面活性剤の化学—酵素合成と性質

4.1 緒言

4.1.1 はじめに

不斉中心を有する界面活性剤の立体化学は、種々の物性に顕著な影響を与えることが知られている。*N*-アシルアミノ酸型界面活性剤のように、不斉中心が親水基に隣接している界面活性剤の cmc は、そのラセミ体あるいはジアステレオマー混合物のものよりも、小さいことが報告されている^[113]。また、*N*-アシルアミノ酸型界面活性剤分子が気-液界面に形成する単分子膜は、ラセミ体よりも安定であることが知られている^[114-117]。これらのことは、光学活性界面活性剤の分子間に働く相互作用がラセミ体やジアステレオマー混合物よりも強く、分子同士がパッキングしやすいことによるものと考えられる (Fig. 4.1)。

また、光学活性界面活性剤が形成する分子集合体は、有機反応の触媒として有効であることが知られている。例えば、光学活性 *n*-ヘキサデシル-*N*- α -メチルベンジル-*N,N*-ジメチルアンモニウム=ブロミドが水中で形成するミセルは、光学活性エステルの加水分解反応の触媒として機能することが報告されている^[118-120]。その立体選択性は、ラセミ体が形成するミセルよりも高いことから、光学活性界面活性剤が水中で形成する分子集合体は酵素のような触媒活性を有しているものと考えられる。このような有機溶媒を必要としない有機反応は、環境低負荷なプロセスとして期待される。なお、光学活性界面活性剤が有機溶媒中で形成する逆ミセルについても、上記と同様の傾向が認められている^[121,122]。

本章では、生分解性セグメントとして有効であるカーボネート結合を導入した光学活性カチオン界面活性剤を合成し、その立体化学が界面活性、抗菌性および生分解性に与える影響について検討を行った。以下に、これまでに報告されている光学活性界面活性剤の合成と性質および光学活性カーボネート型カチオン界面活性剤の分子設計について記す。

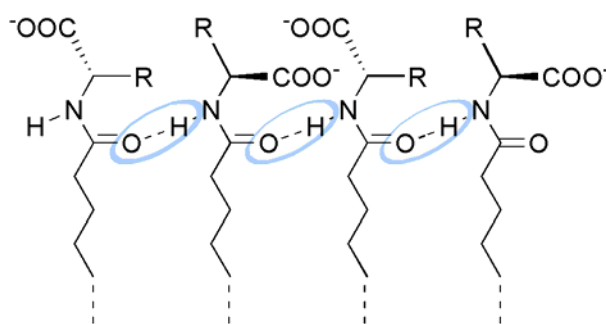
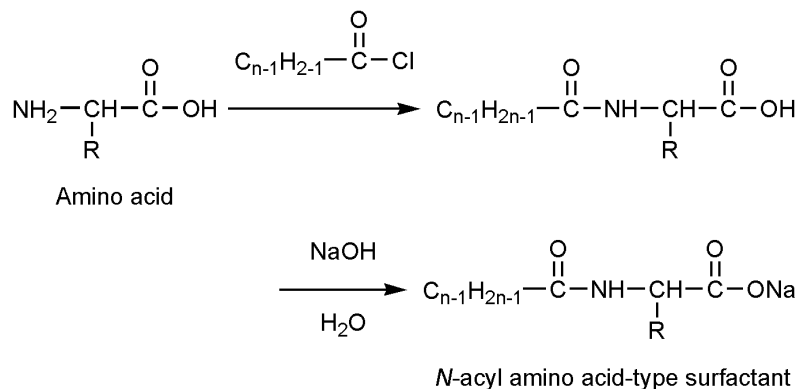


Fig. 4.1 Intermolecular interaction of *N*-acyl amino acid-based surfactant.

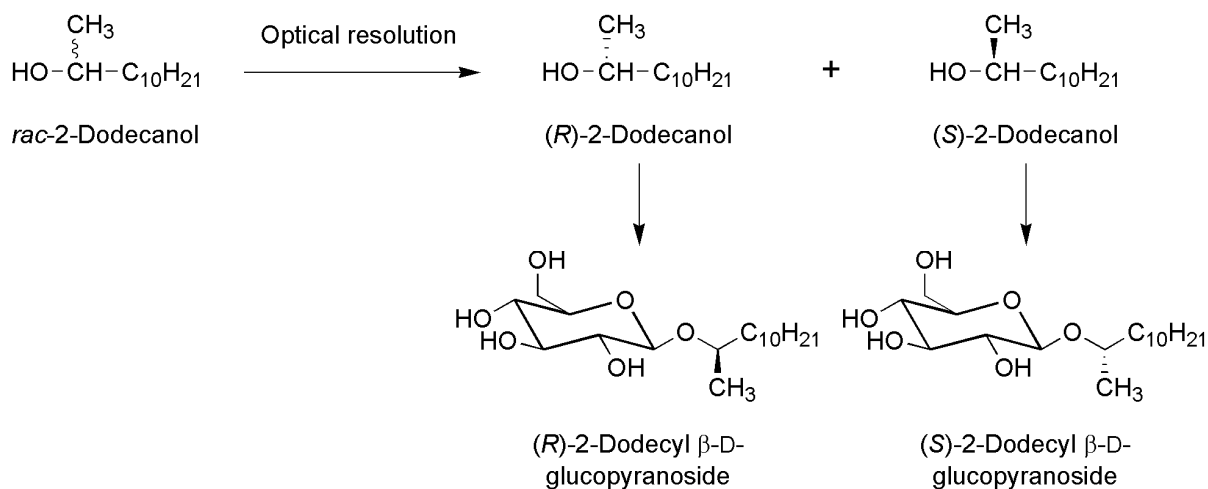
4.1.2 光学活性界面活性剤の合成と性質

N-アシルアミノ酸型界面活性剤は比較的簡便に合成できるため、その特徴に関する報告は多い。*N*-アシルアミノ酸型界面活性剤は、酸クロリドとアミノ酸を反応させ、ついで、そのカルボン酸部分を水酸化ナトリウムによりナトリウム塩とすることで合成される (Scheme 4.1)^[123]。



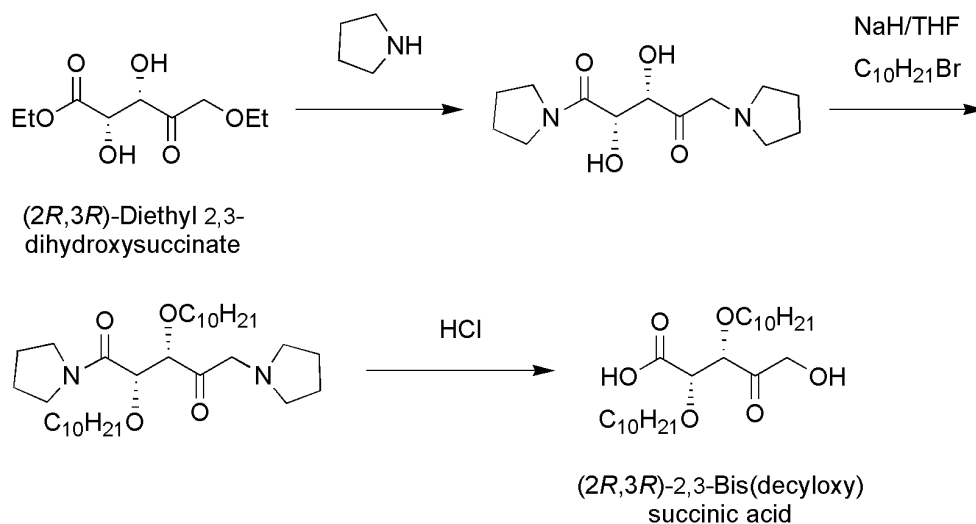
Scheme 4.1 Synthesis of *N*-acyl amino acid-type surfactant.

光学活性界面活性剤として、糖^[124,125]やビタミンCとして知られるアスコルビン酸^[126,127]など、バイオマスあるいは生体由来の原料を親水基としたものもこれまでに合成されている。Scheme 4.2に疎水基に不斉中心を有する糖型非イオン界面活性剤の合成を示す^[128]。まず、ラセミ体-2-ドデカノールを結晶化法により光学分割することで、(*R*)-2-ドデカノールおよび(*S*)-2-ドデカノールを調製する。これと β -D-グルコピラノースのKoenigs-Knorrグリコシル化反応により、疎水基に不斉中心を有するドデシル β -D-グルコシドが得られる(総収率3%)。この糖型界面活性剤が形成する液晶の熱特性は、疎水基部の立体化学により顕著に異なることが報告されている^[128]。



Scheme 4.2 Synthesis of dodecyl β -D-glucopyranoside containing a chiral center in the hydrophobic moiety.

近年、ジェミニ型界面活性剤の立体化学が物性に与える影響についても検討されている。例えば、リンカー部に不斉中心を2つ有するジェミニ型カチオン界面活性剤は、その立体化学によって水中で形成する凝集体の大きさや形が異なることが報告されている^[129,130]。また、システインから誘導したジェミニ型アニオン界面活性剤による牛血清アルブミンの変性作用は、その立体化学によって顕著に異なることが報告されている^[131]。さらに、Aisakaらは、コハク酸骨格を有するジェミニ型界面活性剤の *syn*-型と *anti*-型では、後者の表面張力が前者よりも小さいことを報告している^[37,132]。これは、*anti*-型の疎水基が相互作用しやすい配座で気-液界面に並んでいることによるものと考えられる。Scheme 4.3 にコハク酸骨格を有するジェミニ型界面活性剤の合成を示す^[37]。ジェミニ型界面活性剤の合成は反応工程が多く、立体化学の制御は困難になる。このため、立体化学的に純粋なジェミニ型界面活性剤の収率は比較的低い。



Scheme 4.3 Synthesis of succinic acid-type gemini surfactant.

このように、光学活性界面活性剤はラセミ体あるいはジアステレオマー混合物のものよりも優れた機能を発現するものが多い。しかし、その合成には立体化学の制御という問題が付きまとうため、報告例があまり多くないのが現状である。グリーンケミストリーの観点から、高効率かつ簡便なプロセスによる光学活性界面活性剤の合成が求められている。

4.1.3 光学活性カーボネート型カチオン界面活性剤の分子設計

本章では、カーボネート型カチオン界面活性剤の立体化学が界面活性、抗菌性および生分解性に与える影響を明らかにするため、疎水基部に不斉中心を有するカーボネート型カチオン界面活性剤の分子設計を行った (Fig. 4.2)。本化合物に期待される性質を以下に示す。

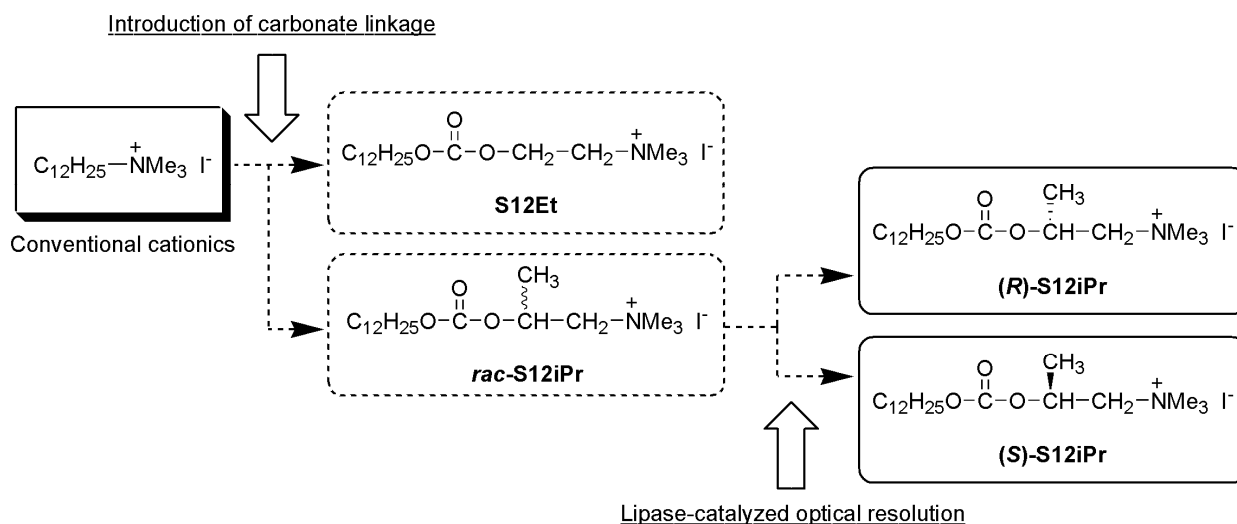
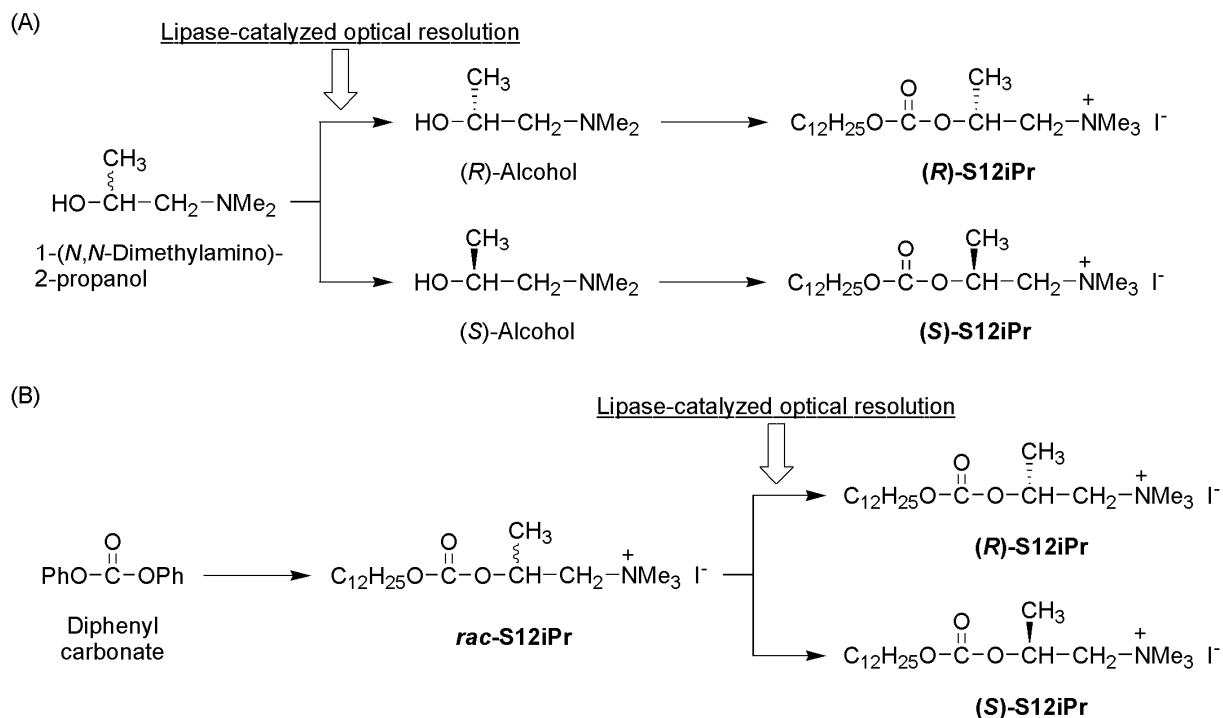


Fig. 4.2 Design of optically active carbonate-type cationics.

(1) リパーゼによる光学分割

本研究では、光学活性カーボネート型カチオン界面活性剤の合成について2通りの方法を検討した (Scheme 4.4)。すなわち、ラセミ体のアミノアルコールを光学分割することで(*R*)-アルコールおよび(*S*)-アルコールを調製し、それを用いて光学活性カチオン界面活性剤を合成する方法(A)と、*rac*-**S12iPr** にリパーゼを作用させてエナンチオ選択的に加水分解することで光学活性体を得る方法(B)である。リパーゼは再生可能かつ再利用可能な環境調和型触媒であり、高触媒活性および高立体選択性を有している。このような特徴から、リパーゼを酵素触媒に利用した光学分割は環境低負荷なプロセスとして注目されており、ラセミ体あるいはジアステレオマー混合物のエステルやアルコールの光学分割に広く用いられている^[133-135]。



Scheme 4.4 Lipase-catalyzed optical resolution of 1-(*N,N*-dimethylamino)-2-propanol (A) and *rac*-S12iPr (B).

(2) 高い水中安定性

S12Et および **S12iPr** のカーボネート結合周辺の電子は、第四級アンモニウム塩によって引き付けられる（誘起効果）。**S12iPr** は、電子供与基である側鎖メチル基の存在により **S12Et** と比べてカーボネート結合周辺の電子密度が高いことが予想される。このことから、**S12iPr** は **S12Et** よりも水中安定性が高いものと期待される。

(3) 優れた生分解性

光学活性カーボネート型カチオン界面活性剤の生分解は、微生物酵素によりカーボネート結合が加水分解と脱炭酸を受けることではじまるものと考えられる。これにより生成した 2 分子のアルコールは微生物体内に取り込まれ、 β -酸化および ω -酸化によって分解されるものと考えられる。このような推定生分解機構から、カーボネート型カチオン界面活性剤の立体化学が生分解性に与える影響は大きいものと予想される。

本章では、以上のような特徴を有することが期待される光学活性カーボネート型カチオン界面活性剤のグリーンプロセスによる合成、界面活性、抗菌性および生分解性について検討を行った。

4.2 実験方法

4.2.1 酵素

酵素はいずれも五酸化ニリン存在下、常温で2時間減圧乾燥(3 mmHg)させてから用いた。

Table 4.1 List of enzymes.

Enzyme origin	Abbreviation	Manufacturer
Immobilized lipase from <i>Candida antarctica</i> B (Novozym 435 [®]) Specific activity = 10,000 PLU/g ^(a)	CA	Novozymes
Immobilized lipase from <i>Rizomucor miehei</i> (Lipozyme RM IM [®]) Specific activity = 5-6 BAUN/g ^(b)	RM	Novozymes
Immobilized lipase from <i>Burkholderia cepacia</i> (Lipase PS-C, Amano I immobilized on ceramic) Specific activity = 1,000 PLU/g ^(c)	PS-C	Amanoenzyme Co., Ltd.
Immobilized lipase from <i>Burkholderia cepacia</i> (Lipase PS-D, immobilized on diatomaceous earth). Specific activity = 0.5 units/mg	PS-D	Amanoenzyme Co., Ltd.
Immobilized lipase from <i>Candida rugosa</i> (Lipase CR immobilized macroporous acrylic beads) Specific activity = 518 units/g solid ^(d)	CR	Aldrich Co., Inc.

^(a) Lipase (lipase B) from *Candida antarctica* produced by submerged fermentation of a genetically engineered *Aspergillus oryzae* and adsorbed on a macroporous acrylic resin, having 10,000 PLU/g (propyl laurate units: activity based on ester synthesis)].

Lot number of Novozym 435[®]: LC200229

^(b) The interesterification activity of Lipozyme RM IM[®] is expressed in batch acidolysis units Novo (BAUN/g). Lipozyme RM IM[®] is immobilized on a macroporous anion-exchange resin.

^(c) One unit produces 1.0 micromole of 1-phenethyl alcohol to 1-phenethyl acetate per min at 25 °C in the presence of vinyl acetate.

^(d) One unit hydrolyzes 1.0 microequivalent of fatty acid from olive oil in one hour at pH 7.2 at 37 °C.

One g solid yields approximately 2.4 mL packed gel.

4.2.2 試薬

ジフェニルカーボネート	東京化成工業 (株)	
1-(<i>N,N</i> -ジメチルアミノ)-2-プロパノール	東京化成工業 (株)	
1-ドデカノール	東京化成工業 (株)	
プロピオン酸ビニル	東京化成工業 (株)	
ヨウ化メチル	東京化成工業 (株)	
トリエチルアミン	和光純薬工業 (株)	
ナトリウムメトキシド 28%メタノール溶液	和光純薬工業 (株)	
炭酸カリウム	関東化学 (株)	
メタノール (脱水)	関東化学 (株)	
アセトニトリル (脱水)	関東化学 (株)	
トルエン (脱水)	関東化学 (株)	
<i>n</i> -ヘキサン	和光純薬工業 (株)	
クロロホルム	和光純薬工業 (株)	
酢酸エチル	和光純薬工業 (株)	
アセトン	和光純薬工業 (株)	
トルエン	関東化学 (株)	
メタノール	和光純薬工業 (株)	
エタノール	和光純薬工業 (株)	特級
シリカゲル (青) 5~10 メッシュ	純正化学 (株)	
シリカゲル C-60	和光純薬工業 (株)	
セライト 545	関東化学 (株)	
TLC シリカゲル 60 F ₂₅₄	Merck	
重クロロホルム-d ₁	ISOTEC Inc.	
重メタノール-d ₄	ISOTEC Inc.	
重水	ISOTEC Inc.	
アニリン	和光純薬工業 (株)	試薬特級
リン酸水素二ナトリウム・二水和物	和光純薬工業 (株)	試薬特級
リン酸二水素ナトリウム・二水和物	和光純薬工業 (株)	試薬特級
リン酸二水素カリウム	関東化学 (株)	試薬特級
リン酸水素二カリウム	関東化学 (株)	試薬特級
リン酸水素二ナトリウム・十二水和物	和光純薬工業 (株)	試薬特級
塩化アンモニウム	関東化学 (株)	鹿一級

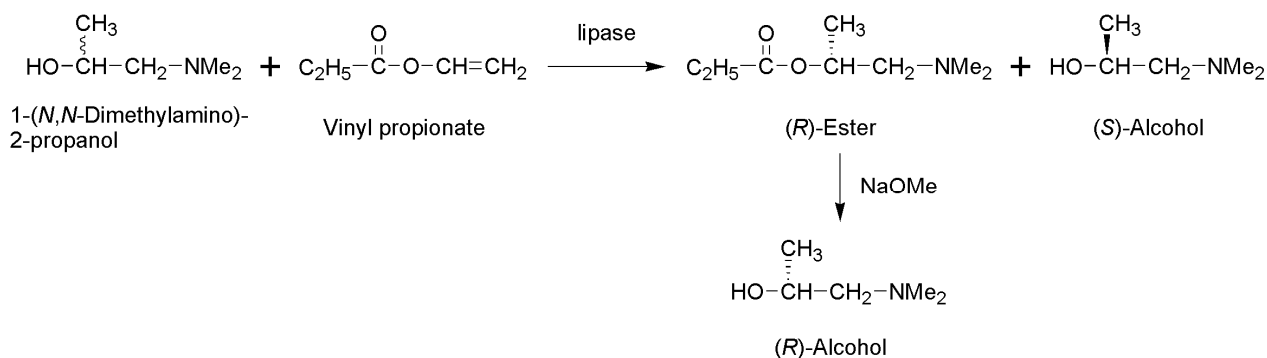
硫酸マグネシウム・七水和物	関東化学 (株)	鹿一級
塩化カルシウム無水和物	関東化学 (株)	鹿特級
塩化鉄 (III)・六水和物	和光純薬工業 (株)	試薬特級
水酸化ナトリウム	関東化学 (株)	鹿一級
硫酸ナトリウム	関東化学 (株)	鹿一級
炭酸水素ナトリウム	純正化学 (株)	純正一級
蒸留水	大和商店 (有)	

4.2.3 機器

核磁気共鳴スペクトル : Varian MERCURY plus 300 JEOL Lambda 300	Varian Inc. 日本電子 (株)
旋光計 : P-1010 digital polarimeter	日本分光 (株)
表面張力計 : CBVP-Z	協和界面化学 (株)
起泡力計 : 半微量改良 TK 法測定装置	三陽理化学器械製作所 (株)
BOD センサーシステム	アクタック (株)
インキュベーター : LTI-1001SD	東京理化学器械 (株)
凍結乾燥機 : FDU-830	東京理化学器械 (株)
ロータリーエバポレーター : EYELA-1000	東京理化学器械 (株)
ガラス電極式水素イオン濃度計 : HM-20J	東亜電波工業 (株)
電子天秤 : AG204、PB3002-S	メトラートレド (株)
オイルバス : OSM-1	石井商店 (株)
マグネチックスターラー : EG	石井商店 (株)
ウォーターバス : FWB-24S	東京硝子器械 (株)

4.2.4 酵素触媒による 1-(*N,N*-ジメチルアミノ)-2-プロパノールの光学分割

Hull らの方法に従い、リパーゼを触媒に用いて 1-(*N,N*-ジメチルアミノ)-2-プロパノールの光学分割を行った (Scheme 4.5)^[136]。まず、リパーゼ存在下、プロピオン酸ビニルと 1-(*N,N*-ジメチルアミノ)-2-プロパノールを反応させ、(*R*)-エステルと未反応の(*S*)-アルコールを得た。ついで、ナトリウムメトキシド存在下、(*R*)-エステルを加溶媒分解することで、(*R*)-アルコールを得た。以下に調製法の詳細を記す。



Scheme 4.5 Separation of (*R*)-alcohol and (*S*)-alcohol.

4.2.4.1 (*R*)-エステルの調製

攪拌子を付した 20 mL ナスフラスコに、1-(*N,N*-ジメチルアミノ)-2-プロパノール (40 mmol) およびプロピオン酸ビニル (20 mmol) をはかり取り、さらに、触媒として lipase PS-D (100 mg) を加え、アルゴン雰囲気下、室温にて 15 時間攪拌反応を行った。

反応終了後、反応物にクロロホルム (20 mL) を加え、セライトろ過により不溶の酵素をろ別、ろ液を減圧濃縮することで粗生成物を得た。精製はシリカゲルカラムクロマトグラフィー [クロロホルム/メタノール = 9/1 (v/v)] により行い、 $R_f = 0.30$ のフラクションを分取、溶媒を減圧留去することで、淡黄色シロップ状に(*R*)-エステルを収率 53% で得た。¹H NMR スペクトルにより生成物の同定を行った。(*R*)-エステルの¹H NMR スペクトルとその同定結果を Fig. 4.3 に示す。

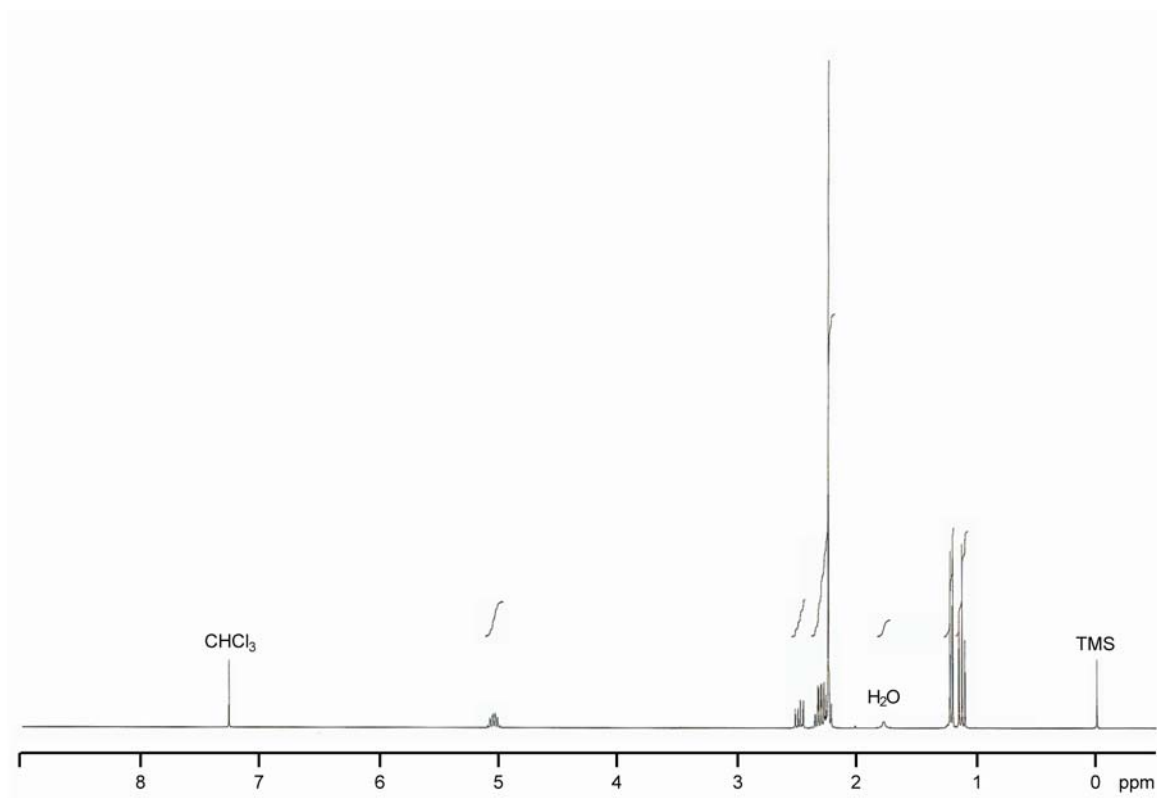


Fig. 4.3 ^1H NMR spectrum of (*R*)-ester (300 MHz, CDCl_3).

(*R*)-Ester

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : δ = 1.13 (3H, t, J = 7.5 Hz, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_A\text{H}_B\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 1.22 (3H, d, J = 6.3 Hz, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_A\text{H}_B\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 2.19-2.39 (9H, m, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_A\text{H}_B\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 2.50 (1H, dd, J = 7.4, 12.8 Hz, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_A\text{H}_B\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 4.98-5.12 (1H, m, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_A\text{H}_B\text{N}(\text{CH}_3)_2$). $[\alpha]_D^{27}$ -5.7° (*c* 2.0 in CHCl_3).

4.2.4.2 (*R*)-エステルの加溶媒分解

撹拌子を付した 10 mL ナスフラスコに、(*R*)-エステル (10 mmol) をはかり取り、溶媒としてメタノール (5 mL) を加えた。さらに、ナトリウムメトキシド (2 mmol) を徐々に加え、アルゴン雰囲気下、室温にて 15 時間撹拌反応を行った。

反応終了後、メタノールを減圧留去することで、粗生成物を得た。精製は抽出操作により行った。粗生成物をクロロホルム (30 mL) により溶解させ、水 (10 mL) および飽和食塩水 (10 mL) により洗浄、回収した有機層に硫酸ナトリウムを加えることで乾燥した。硫酸ナトリウムをろ別、ろ液を減圧濃縮することで、濃黄色シロップ状に(*R*)-アルコールを収率 81% で得た。 ^1H NMR スペクトルにより生成物の同定を行った。(*R*)-アルコールの ^1H NMR スペク

トルとその同定結果を Fig. 4.4 に示す。

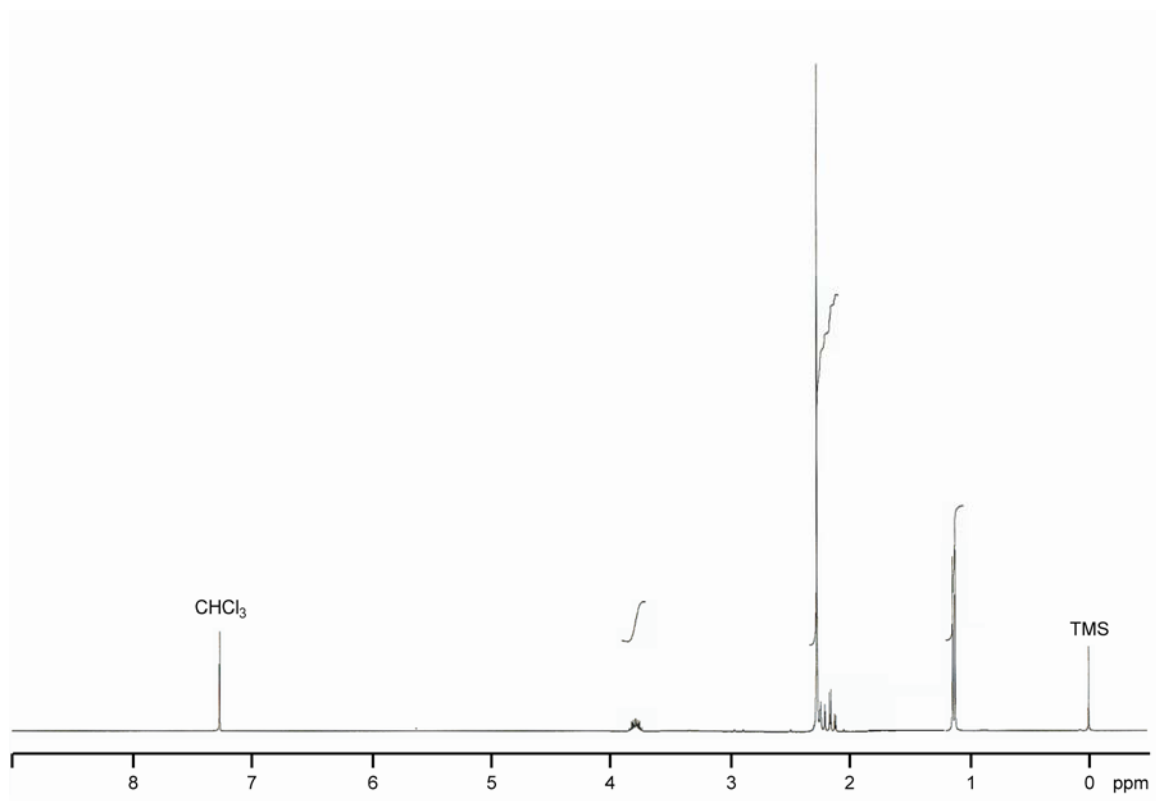


Fig. 4.4 ^1H NMR spectrum of (*R*)-alcohol (300 MHz, CDCl_3).

(*R*)-Alcohol

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.13$ (3H, d, $J = 6.3$ Hz, $\text{HOCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 2.14 (1H, dd, $J = 3.2, 12.2$, $\text{HOCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 2.19-2.35 (7H, m, $\text{HOCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 3.72-3.86 (1H, m, $\text{HOCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{N}(\text{CH}_3)_2$).

$[\alpha]_\text{D}^{26} -23.7^\circ$ (c 2.0 in MeOH; lit., $[\alpha]_\text{D}^{22} -23.7^\circ$ (c 1.1 in MeOH)^[137]).

4.2.4.3 (*S*)-アルコールの調製

攪拌子を付した 10 mL ナスフラスコに、1-(*N,N*-ジメチルアミノ)-2-プロパノール (10 mmol) およびプロピオン酸ビニル (10 mmol) をはかり取り、さらに、触媒として lipase PS-D (50 mg) を加え、アルゴン雰囲気下、室温にて 24 時間攪拌反応を行った。

反応終了後、反応物にクロロホルム (20 mL) を加え、ついでセライトろ過により不溶の酵素をろ別、ろ液を減圧濃縮することで粗生成物を得た。精製はシリカゲルカラムクロマトグラフィー [クロロホルム/メタノール = 9/1 (v/v)] により行い、 $R_f = 0.05$ のフラクションを分取、溶媒を減圧留去することで、淡黄色シロップ状に(*S*)-アルコールを収率 18% で得た。 ^1H NMR

スペクトルにより生成物の同定を行った。¹H NMR スペクトルは Fig. 4.4 と一致した。以下に同定結果を示す。

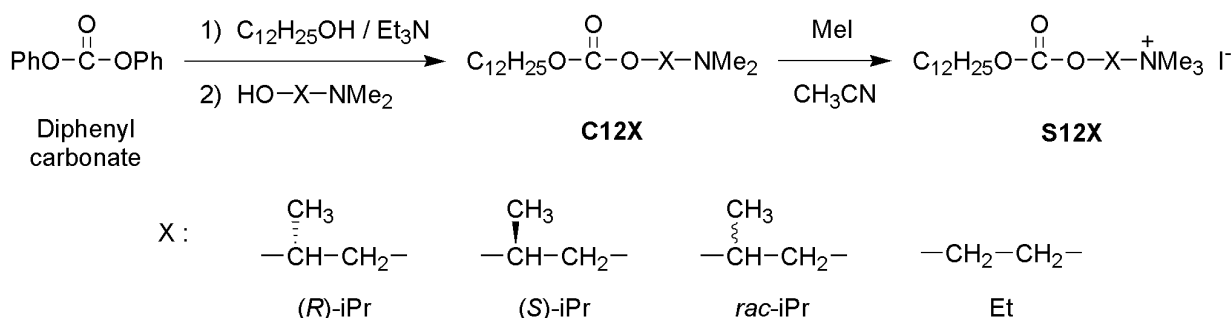
(S)-Alcohol

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.13 (3H, d, *J* = 6.3 Hz, HOCH(CH₃)CH_AH_BN(CH₃)₂), 2.12 (1H, dd, *J* = 3.0, 12.0, HOCH(CH₃)CH_AH_BN(CH₃)₂), 2.18-2.33 (7H, m, HOCH(CH₃)CH_AH_BN(CH₃)₂), 3.71-3.85 (1H, m, HOCH(CH₃)CH_AH_BN(CH₃)₂).

[α]_D²⁶ +23.2° (c 2.0 in MeOH; lit., [α]_D²² +22.9° (c 1.0 in MeOH)^[137]).

4.2.5 光学活性カーボネート型カチオン界面活性剤の合成

2.2.4 に記した方法と同様にして、光学活性カーボネート型カチオン界面活性剤 (**S12X**) を合成した (Scheme 4.6)。トリエチルアミン存在下、ジフェニルカーボネートに 1-ドデカノールおよびアミノアルコールをワンポットで作用させることで *n*-ドデシル=*N,N*-ジメチルアミノアルキル=カーボネート (**C12X**) を得、ついで、ヨウ化メチルを作用させてアミノ基の四級化を行うことで **S12X** を得た。以下に合成法の詳細を記す。



Scheme 4.6 Synthesis of **C12X** and **S12X**.

4.2.5.1 **C12X** の合成

攪拌子を付した 10 mL ナスフラスコに、ジフェニルカーボネート (2.0 mmol)、1-ドデカノール (2.0 mmol) およびトリエチルアミン (2.0 mmol) をはかり取り、アルゴン雰囲気下、オイルバス中 80 °C で 8 時間攪拌反応を行った。ついで、*N,N*-ジメチルアミノアルコール (4.0 mmol) を反応系内に加え、引き続きオイルバス中 80 °C で 21 時間攪拌反応を行った。

反応終了後、トリエチルアミンを減圧留去して粗生成物を得た。精製はシリカゲルカラムクロマトグラフィー [クロロホルム/メタノール = 4/1 (v/v)] により行い、*R_f* = 0.76 のフラクションを分取、溶媒を減圧留去することで、淡黄色シロップ状に **C12X** を収率 66-75% で得た。

^1H NMR スペクトルにより生成物の同定を行った。**(R)-C12Pr** および **C12Et** の ^1H NMR スペクトルとその同定結果を Fig. 4.5 および Fig. 4.6 に示す。

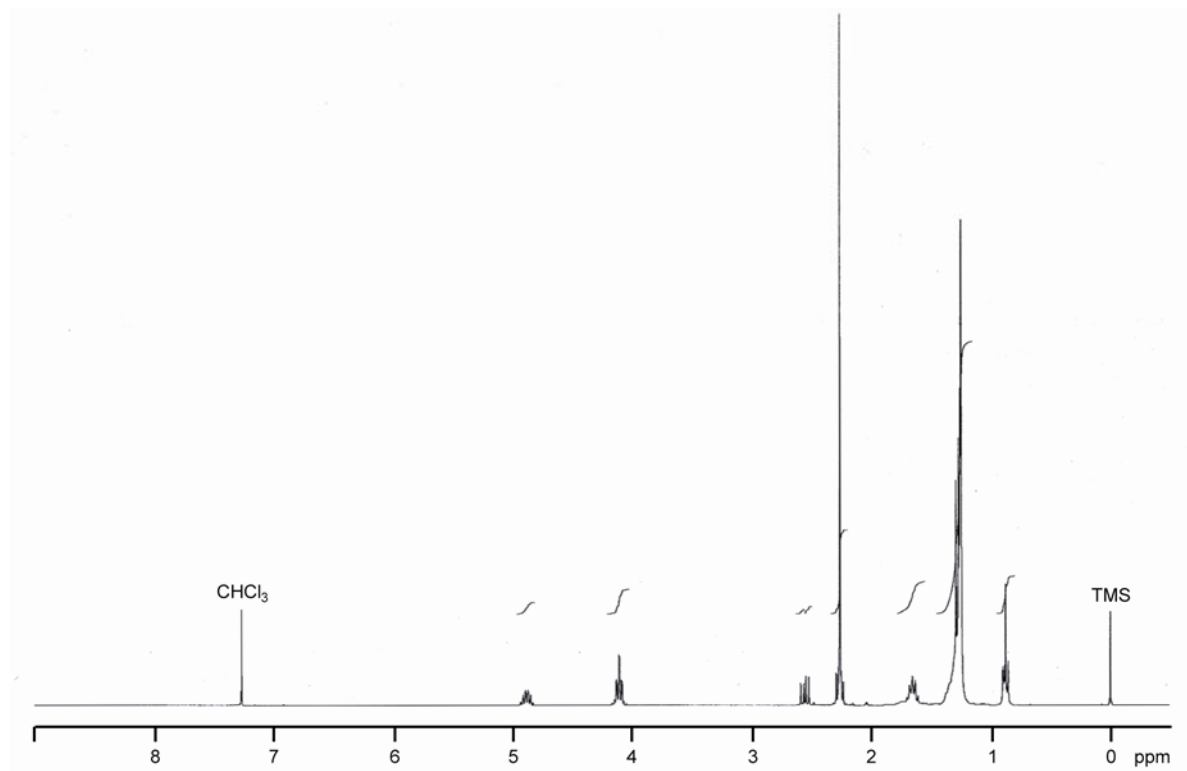


Fig. 4.5 ^1H NMR spectrum of **(R)-C12iPr** (300 MHz, CDCl_3).

(R)-C12iPr

Yield 74%. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : δ = 0.88 (3H, t, J = 6.8 Hz, CH_3 -), 1.17-1.41 (21H, m, $-(\text{CH}_2)_9$ - and $\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 1.66 (2H, tt, J = 7.2, 7.5 Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.20-2.32 (7H, m, $\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 2.56 (1H, dd, J = 7.5, 12.9 Hz, $\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 4.04-4.19 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.82-4.95 (1H, m, $\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{N}(\text{CH}_3)_2$).

$[\alpha]_\text{D}^{26}$ -9.0° (c 2.0 in EtOH).

(S)-C12iPr

Yield 66%. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : δ = 0.88 (3H, t, J = 6.8 Hz, CH_3 -), 1.16-1.42 (21H, m, $-(\text{CH}_2)_9$ - and $\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 1.66 (2H, tt, J = 6.8, 7.2 Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.22-2.32 (7H, m, $\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 2.56 (1H, dd, J = 7.5, 12.9 Hz, $\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 4.04-4.18 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.82-4.95 (1H, m, $\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{N}(\text{CH}_3)_2$).

$[\alpha]_\text{D}^{26}$ $+9.1^\circ$ (c 2.2 in EtOH).

rac-C12iPr

Yield 75%. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : δ = 0.88 (3H, t, J = 6.6 Hz, CH_3 -), 1.18-1.43 (21H, m, $-(\text{CH}_2)_9$ - and $\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_A\text{H}_B\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 1.66 (2H, tt, J = 6.9, 7.5 Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.22-2.32 (7H, m, $\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_A\text{H}_B\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 2.56 (1H, dd, J = 7.4, 13.1 Hz, $\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_A\text{H}_B\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 4.04-4.19 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.82-4.95 (1H, m, $\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_A\text{H}_B\text{N}(\text{CH}_3)_2$).

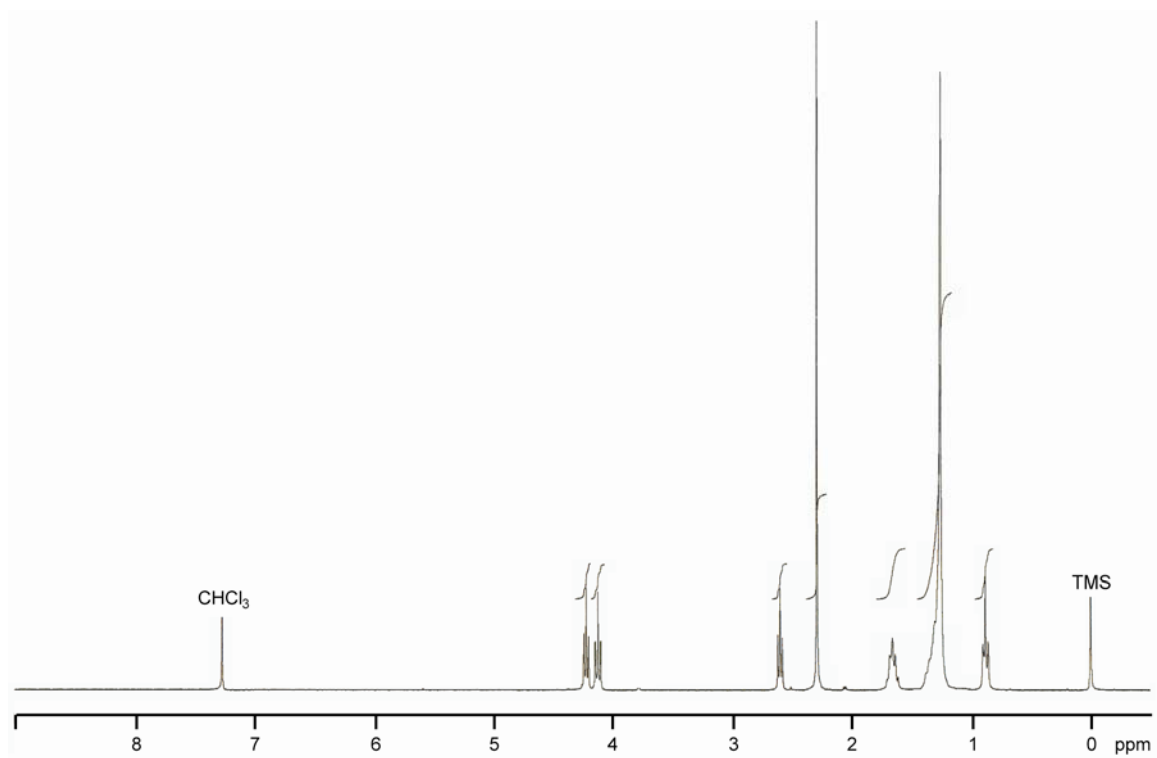


Fig. 4.6 ^1H NMR spectrum of **C12Et** (300 MHz, CDCl_3).

C12Et

Yield 74%. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : δ = 0.88 (3H, t, J = 6.6 Hz, CH_3 -), 1.18-1.42 (18H, m, $-(\text{CH}_2)_9$ -), 1.66 (2H, tt, J = 6.6, 7.2 Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.29 (6H, s, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 2.60 (2H, t, J = 5.8 Hz, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 4.12 (2H, t, J = 6.8 Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.22 (2H, t, J = 5.7 Hz, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$).

4.2.5.2 ヨウ化メチルによる **C12X** の四級化反応

撹拌子を付した 10 mL ナスフラスコに、**C12X** (1.0 mmol) をはかり取り、ついで溶媒としてアセトニトリル (1.0 mL) を加えた。さらに、四級化剤としてヨウ化メチル (1.2 mmol) を氷浴中徐々に添加し、アルゴン雰囲気下、室温にて 30 分間撹拌反応を行った。

反応終了後、溶媒および未反応のヨウ化メチルを減圧留去し、粗生成物を得た。精製は酢酸エチル (3.0 mL) を用いた再結晶操作により行い、ろ過により得られた結晶を十分に減圧乾燥させることで、白色粉末状に **S12X** を収率 85-90% で得た。¹H NMR スペクトルおよび元素分析により生成物の同定を行った。**S12X** の収率、融点および元素分析の結果を Table 4.2 に示す。また、(*R*)-**S12Pr** および **S12Et** の ¹H NMR スペクトルとその同定結果を Fig. 4.7 および Fig. 4.8 に示す。

Table 4.2 Yield, mp and elemental analysis of carbonate-type cationics.

Cationics	Yield (%)	mp (°C)	C%		H%		N%	
			Found	Calcd.	Found	Calcd.	Found	Calcd.
(R)-S12iPr	86	165-167	49.69	49.89	8.89	8.81	2.93	3.06
(S)-S12iPr	85	165-166	50.20	49.89	8.97	8.81	3.04	3.06
rac-S12iPr	87	141-142	49.73	49.89	8.74	8.81	2.93	3.06
S12Et	90	126-127	48.54	48.76	8.54	8.64	3.15	3.16

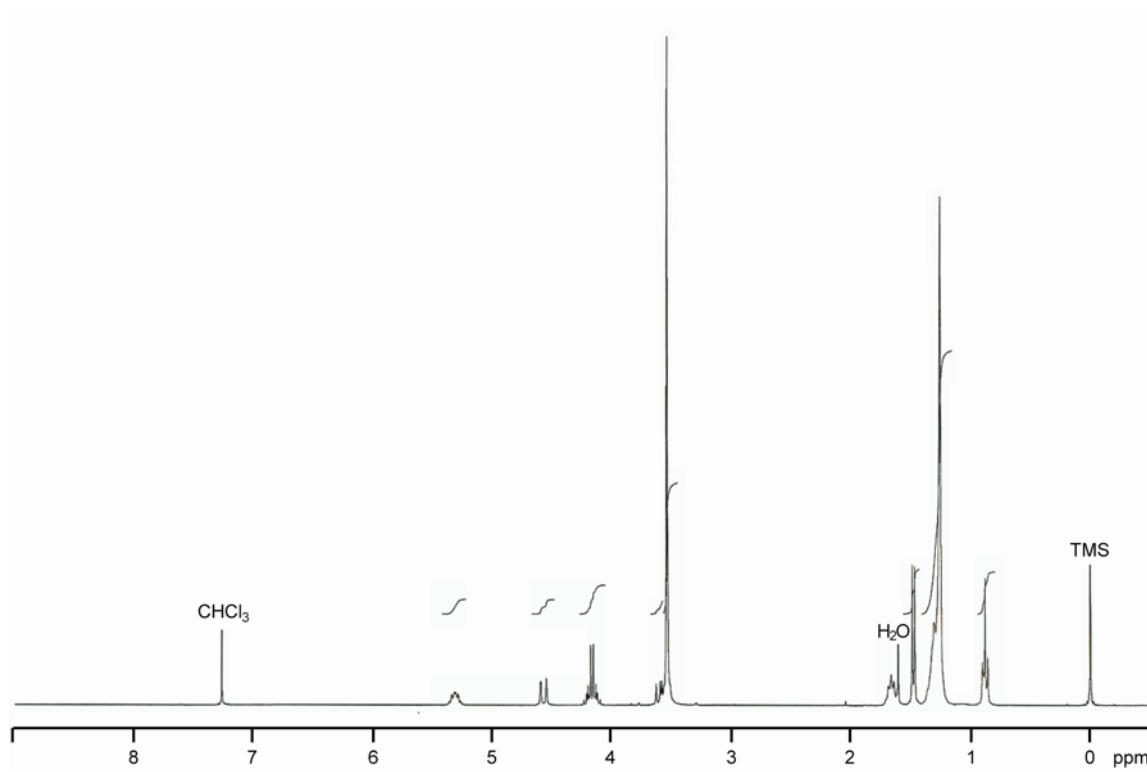


Fig. 4.7 ^1H NMR spectrum of (*R*)-S12iPr (300 MHz, CDCl_3).

(*R*)-S12iPr

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : δ = 0.88 (3H, t, J = 6.8 Hz, CH_3^-), 1.17-1.42 (18H, m, $-(\text{CH}_2)_9^-$), 1.48 (3H, d, J = 6.3 Hz, $\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 1.67 (2H, tt, J = 6.6, 6.9 Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.54 (9H, s, $\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 3.59 (1H, dd, J = 10.2, 14.1 Hz, $\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 4.08-4.25 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.58 (1H, dd, J = 1.5, 14.1 Hz, $\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 5.24-5.38 (1H, m, $\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$).

$[\alpha]_\text{D}^{27}$ -17.3° (c 1.0 in MeOH).

(*S*)-S12iPr

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : δ = 0.88 (3H, t, J = 6.8 Hz, CH_3^-), 1.17-1.42 (18H, m, $-(\text{CH}_2)_9^-$), 1.48 (3H, d, J = 6.3 Hz, $\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 1.67 (2H, tt, J = 6.6, 6.9 Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.54 (9H, s, $\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 3.59 (1H, dd, J = 9.9, 14.4 Hz, $\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 4.09-4.26 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.57 (1H, dd, J = 1.5, 14.4 Hz, $\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 5.24-5.39 (1H, m, $\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$).

$[\alpha]_\text{D}^{27}$ $+17.2^\circ$ (c 1.0 in MeOH).

rac-S12iPr

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : δ = 0.88 (3H, t, J = 6.6 Hz, CH_3^-), 1.18-1.41 (18H, m, $-(\text{CH}_2)_9^-$), 1.48 (3H, d, J = 6.6 Hz, $\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 1.67 (2H, tt, J = 6.9, 6.9 Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.54 (9H, s, $\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 3.59 (1H, dd, J = 9.9, 14.4 Hz, $\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 4.08-4.26 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.56 (1H, dd, J = 1.8, 14.4 Hz, $\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 5.25-5.38 (1H, m, $\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$).

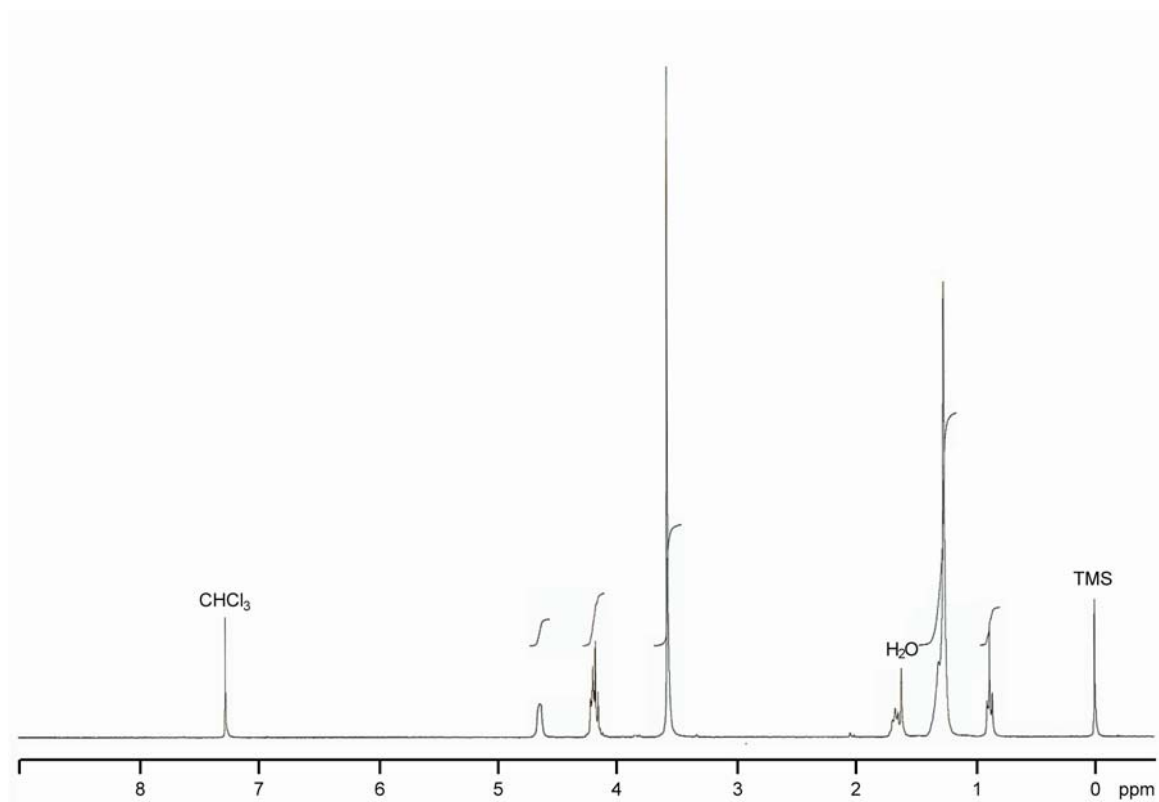
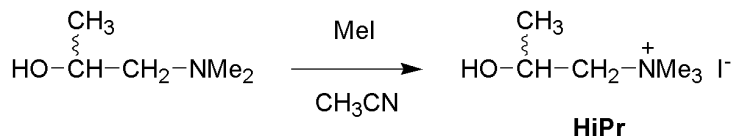


Fig. 4.8 ^1H NMR spectrum of **S12Et** (300 MHz, CDCl_3).

S12Et

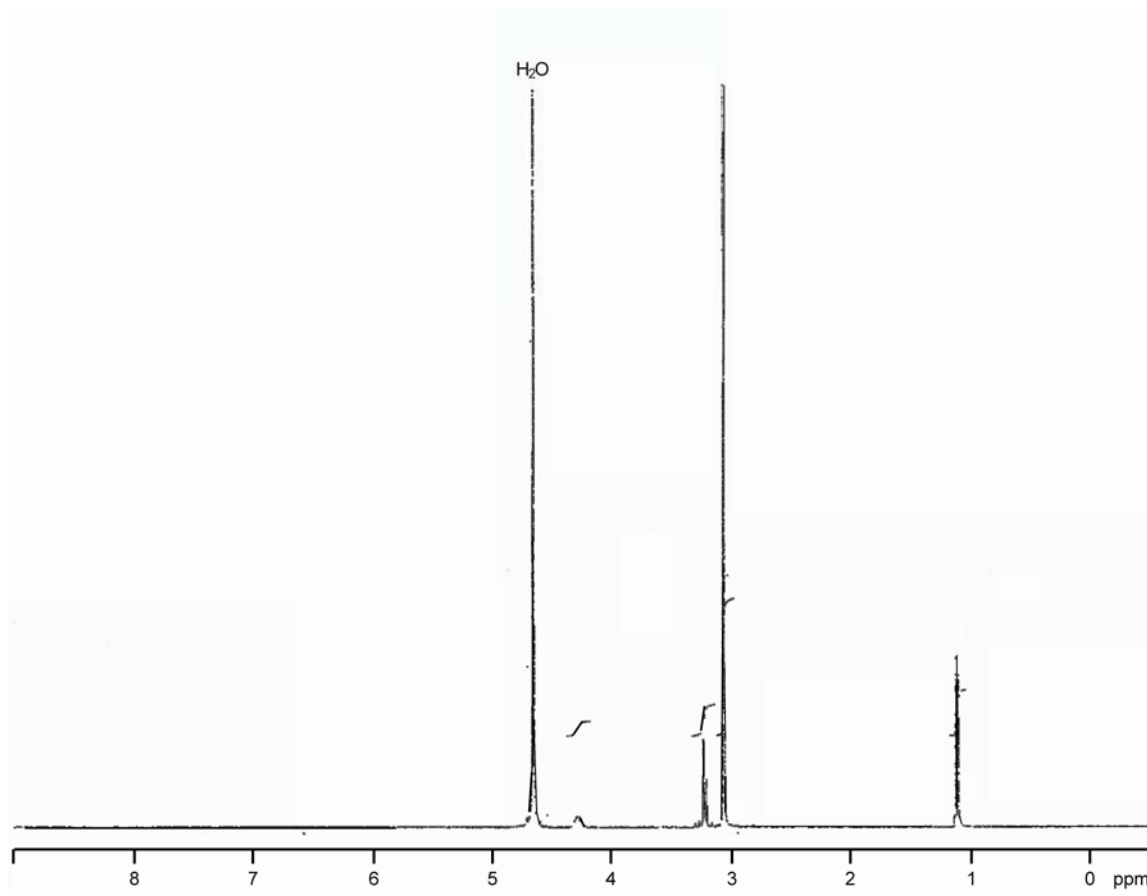
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : δ = 0.88 (3H, t, J = 6.8 Hz, CH_3^-), 1.16-1.42 (18H, m, $-(\text{CH}_2)_9^-$), 1.67 (2H, tt, J = 6.6, 7.2 Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.57 (9H, s, $\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 4.08-4.28 (4H, m, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ and $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.58-4.71 (2H, m, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$).

4.2.6 S12iPr 由来加水分解物の化学合成

Scheme 4.7 Synthesis of the degradation product **HiPr** from **S12iPr**.

攪拌子を付した 10 mL ナスフラスコに、1-(*N,N*-ジメチルアミノ)-2-プロパノール (103.2 mg, 1.0 mmol) をはかり取り、ついで溶媒としてアセトニトリル (1.0 mL) を加えた。さらに、四級化剤としてヨウ化メチル (170.3 mg, 1.2 mmol) を氷浴中徐々に添加し、アルゴン雰囲気下、室温にて 1 時間攪拌反応を行った (Scheme 4.7)。

反応終了後、溶媒および未反応のヨウ化メチルを減圧留去し、粗生成物を得た。精製は良溶媒としてメタノール (1.0 mL)、貧溶媒として酢酸エチル (3.0 mL) を用いた再沈殿法により行い、ろ過により得られた結晶を十分に減圧乾燥させることで、白色粉末状に第四級アンモニウム塩を含むアルコール **HiPr** を収率 80-89% で得た。¹H NMR スペクトルにより生成物の同定を行った。**(R)-HiPr** の ¹H NMR スペクトルとその同定結果を Fig. 4.9 に示す。

Fig. 4.9 ¹H NMR spectrum of **(R)-HiPr** (300 MHz, D₂O).

(R)-HiPr

Yield 80%. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, D_2O) : $\delta = 1.10$ (3H, d, $J = 6.3$ Hz, $\text{HOCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 3.05 (9H, s, $\text{HOCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 3.12-3.28 (2H, m, $\text{HOCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 4.20-4.36 (1H, m, $\text{HOCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$).

$[\alpha]_{\text{D}}^{27} -24.6^\circ$ (c 1.0 in H_2O).

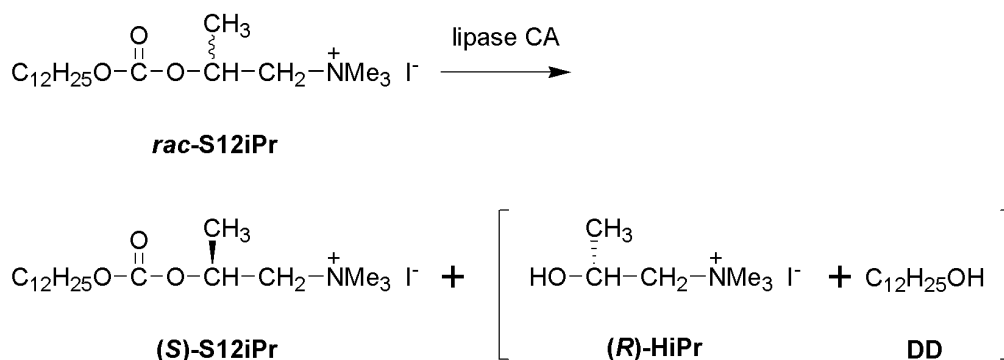
(S)-HiPr

Yield 89%. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, D_2O) : $\delta = 1.10$ (3H, d, $J = 6.3$ Hz, $\text{HOCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 3.05 (9H, s, $\text{HOCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 3.13-3.30 (2H, m, $\text{HOCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 4.21-4.35 (1H, m, $\text{HOCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$).

$[\alpha]_{\text{D}}^{27} +25.0^\circ$ (c 1.0 in H_2O).

rac-HiPr

Yield 84%. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, D_2O) : $\delta = 1.10$ (3H, d, $J = 6.3$ Hz, $\text{HOCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 3.05 (9H, s, $\text{HOCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 3.13-3.28 (2H, m, $\text{HOCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 4.21-4.36 (1H, m, $\text{HOCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$).

4.2.7 リパーゼによる *rac*-S12iPr のエナンチオ選択的加水分解Scheme 4.8 Lipase-catalyzed hydrolysis of *rac*-S12iPr.

攪拌子を付した 10 mL ナスフラスコに、*rac*-S12iPr (100 mg) をはかり取り、ついで溶媒としてトルエン (2.0 mL) および蒸留水 (0.1 mL) を加えた。さらに、触媒として lipase CA (100 mg) を加え、アルゴン雰囲気下、オイルバス中 65 °C で 4 日間攪拌反応を行った (Scheme 4.8)。

反応終了後、反応物にクロロホルム (5.0 mL) を加え、セライトろ過により不溶の酵素および結晶 (*(R)*-HiPr) をろ別、ろ液を減圧濃縮することで粗生成物を得た。精製は酢酸エチル (1.0 mL) を用いた再結晶操作により行い、ろ過により得られた結晶を十分に減圧乾燥させることで、白色粉末状に (*(S)*-S12iPr を収率 27% (理論最大収率 50%) で得た。¹H NMR スペクトルにより生成物の同定を行った。¹H NMR スペクトルは Fig. 4.7 と一致した。以下に同定結果を示す。

(S)-S12iPr

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : δ = 0.88 (3H, t, *J* = 6.8 Hz, CH₃-), 1.17-1.42 (18H, m, -(CH₂)₉-), 1.48 (3H, d, *J* = 6.3 Hz, OCH(CH₃)CH_AH_BN⁺(CH₃)₃), 1.67 (2H, tt, *J* = 6.6, 6.9 Hz, CH₂CH₂CH₂O), 3.54 (9H, s, N⁺(CH₃)₃), 3.59 (1H, dd, *J* = 9.9, 14.4 Hz, OCH(CH₃)CH_AH_BN⁺(CH₃)₃), 4.09-4.26 (2H, m, CH₂CH₂CH₂O), 4.57 (1H, dd, *J* = 1.5, 14.4 Hz, OCH(CH₃)CH_AH_BN⁺(CH₃)₃), 5.24-5.39 (1H, m, OCH(CH₃)CH_AH_BN⁺(CH₃)₃).

[α]_D²⁷ +16.8° (c 0.5 in MeOH).

4.2.8 MOE を利用した基質認識性の評価

MOE (Molecular Operating Environment)^[138]を利用して酵素 (lipase CA) と基質 (光学活性カーボネート型カチオン界面活性剤分子) とのドッキングシミュレーションを行うことで lipase CA の基質認識性を評価した。

(1) 分子の構築と最安定構造の探索

Molecule Builder を用いて光学活性カーボネート型界面活性剤分子を構築した。分子力場を "MMFF94x"、Solvation を "Distance" に設定した。この条件で分子に電荷を割り付け、"Stochastic Conformational Search"により界面活性剤分子の最安定構造を探索した。また、その配座エネルギー (E_{stable}) を求めた。

(2) Lipase CA の構造最適化

Protein Data Bank (PDB)^[139]より lipase CA (PDB code: 1TCA) の結晶構造を呼び出し、(1)と同様にして最安定構造を探索した。

(3) 界面活性剤分子と lipase CA のドッキング

Site Finder により lipase CA の活性部位の検出を行った。いくつかの活性部位が表示されたなかで Ser¹⁰⁵, Asp¹³⁴ および His²²⁴ が含まれているものを選択した。その活性部位付近にダミー原子を設置することで、基質と lipase CA をドッキングさせる位置を決定した。Dock ウィンドウの各パラメーターを以下のように設定した。

- | | |
|-------------------------------|--------------------------------|
| • Receptor : "Receptor Atoms" | • Site : "Dummy Atoms" |
| • Ligand : "Ligand Atoms" | • Placement : "Alpha Triangle" |
| • ReScoring 1 : "London dG" | • Refinement : "GridMin" |

このような条件で、(1)の界面活性剤分子と酵素をドッキングさせた。これにより、酵素-基質間の相互作用エネルギー (E) および基質の配座エネルギー (E_{conf}) を求めた。

4.2.9 水中安定性

攪拌子を付したネジキャップ付き小試験管 (13 × 100 mm) に、カーボネート型カチオン界面活性剤 (10 mg) をはかり取り、純水 2 mL を加えた。ネジ部分にパラフィルムを巻くことで容器を密閉し、オイルバス中 60 °C (反応促進条件) で加水分解試験を行った。

試験終了後、凍結乾燥を行うことにより水分を完全に除去し、クロロホルム (1.0 mL) を加えて不溶の結晶 (**HiPr**) をろ別した。ろ液を減圧濃縮することで測定用のサンプルを得た。¹H NMR スペクトルからカーボネート型カチオン界面活性剤の残存率を算出した。溶媒に CDCl₃ を用い、 $\delta = 0.88$ の CH₃-のプロトン数を 3 として、カーボネート結合に隣接するメチン $\delta = 5.25\text{-}5.38$ のプロトン数から **S12iPr** の残存率を、カーボネート結合に隣接するメチレン $\delta = 4.58\text{-}4.71$ のプロトン数から **S12Et** の残存率を算出した。

4.2.10 表面張力低下能

2.2.8.1 に記した方法と同様にしてカーボネート型カチオン界面活性剤の表面張力を測定した。また、Gibbs の吸着式 [(4.1)および(4.2)式] を用いてカーボネート型カチオン界面活性剤の表面過剰濃度 Γ (mol/m²) および分子占有面積 A_{\min} (nm²) を算出した。

$$\Gamma = \frac{-1}{2.30nRT} \left(\frac{d\gamma}{d \log C} \right) \quad (4.1)$$

$$A_{\min} = \frac{10^{18}}{N_A \Gamma} \quad (4.2)$$

n : 界面活性剤を構成する分子の数 (一鎖一親水基型カチオン界面活性剤にはカチオン分子およびその対アニオンが 1 つずつ存在する。このとき、 $n = 2$ となる^[69]。)

R : 気体定数 (= 8.31 J/mol K)

T : 絶対温度 (K)

γ : 表面張力 (mN/m)

$dy/d \log C$: cmc 以下の濃度における表面張力—濃度曲線の接線の傾き

N_A : アボガドロ数 (= 6.02×10^{23})

4.2.11 抗菌性

2.2.9 に記した方法と同様にして、最小発育阻止濃度 MIC (minimum inhibitory concentration, $\mu\text{g/mL}$) の測定を行い、カーボネート型カチオン界面活性剤の抗菌性を評価した。

4.2.12 生分解性

2.2.11 に記した方法と同様にして、活性汚泥を用いた BOD 試験を行うことでカーボネート型カチオン界面活性剤の生分解性を評価した。BOD 試験を行ったカーボネート型カチオン界面活性剤およびその加水分解物 (**HiPr** および **DD**) の仕込み量を Table 4.3 に示す。

Table 4.3 Sample weight of carbonate-type cationics and the degradation intermediates for BOD test.

Compound	Molecular formula	Molecular weight (g/mol)	ThOD (mgO_2/mg)	Sample weight (mg)
(R)-S12iPr	$\text{C}_{19}\text{H}_{40}\text{NO}_3\text{I}$	457.4	2.0	10.0
(S)-S12iPr	$\text{C}_{19}\text{H}_{40}\text{NO}_3\text{I}$	457.4	2.0	10.0
rac-S12iPr	$\text{C}_{19}\text{H}_{40}\text{NO}_3\text{I}$	457.4	2.0	10.0
S12Et	$\text{C}_{18}\text{H}_{38}\text{NO}_3\text{I}$	443.4	2.0	10.2
(R)-HiPr	$\text{C}_6\text{H}_{16}\text{NOI}$	245.1	1.4	14.3
(S)-HiPr	$\text{C}_6\text{H}_{16}\text{NOI}$	245.1	1.4	14.3
rac-HiPr	$\text{C}_6\text{H}_{16}\text{NOI}$	245.1	1.4	14.3
DD	$\text{C}_{12}\text{H}_{26}\text{O}$	186.3	2.1	9.5

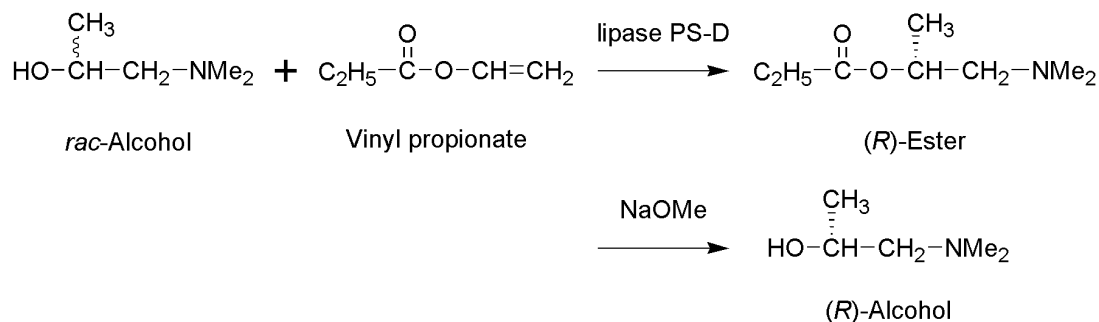
4.3 結果と考察

4.3.1 リパーゼを用いた 1-(*N,N*-ジメチルアミノ)-2-プロパノールの光学分割

Chan らは、*D*-酒石酸および *L*-酒石酸を用いた結晶化法により 1-(*N,N*-ジメチルアミノ)-2-プロパノール (*rac*-アルコール) の光学分割を行った^[137]。これにより、(*R*)-1-(*N,N*-ジメチルアミノ)-2-プロパノール ((*R*)-アルコール) および(*S*)-1-(*N,N*-ジメチルアミノ)-2-プロパノール ((*S*)-アルコール) が収率 7%で得られている。低収率に止まった理由としては、ジアステレオマー塩の精製の際に 20 回以上もの再結晶操作を必要とすることが挙げられる。本研究では、より効率の高いプロセスを目指し、Hull らの報告に従ってリパーゼを触媒に用いたエナンチオ選択的な(*R*)-アルコールのエステル化により *rac*-アルコールの光学分割を行った^[136]。

4.3.1.1 (*R*)-アルコールの調製

リパーゼ存在下、*rac*-アルコールとプロピオン酸ビニルを反応させて(*R*)-アルコールのみをエナンチオ選択的にエステル化することで、(*R*)-エステルを合成した。次いで、ナトリウムメトキシド存在下、(*R*)-エステルを加溶媒分解することで(*R*)-アルコールを得た。合成スキームを Scheme 4.9 に示す。



Scheme 4.9 Synthesis of (*R*)-ester and (*R*)-alcohol.

このエステル交換反応において、酵素起源、酵素濃度および反応時間が *rac*-アルコールのエステル化率と(*R*)-アルコールの光学純度に与える影響を調べた。*rac*-アルコールのエステル化率は ¹H NMR スペクトルより算出した。溶媒に CDCl₃ を用い、(*R*)-エステルのエステル結合に隣接したメチン [$\delta = 4.98\text{-}5.12$ (CH₃CH₂COOCH(CH₃)CH_AH_BN(CH₃)₂)] のプロトン数と、未反応の *rac*-アルコールのヒドロキシ基に隣接したメチン [$\delta = 3.72\text{-}3.86$ (HOCH(CH₃)CH_AH_BN(CH₃)₂)] のプロトン数の比から *rac*-アルコールのエステル化率を算出し

た。まず、lipase CA を触媒に用いて *rac*-アルコールとプロピオン酸ビニルのエステル交換反応を行った。これにより得られた反応混合物の ^1H NMR スペクトルを Fig. 4.10 に示す。

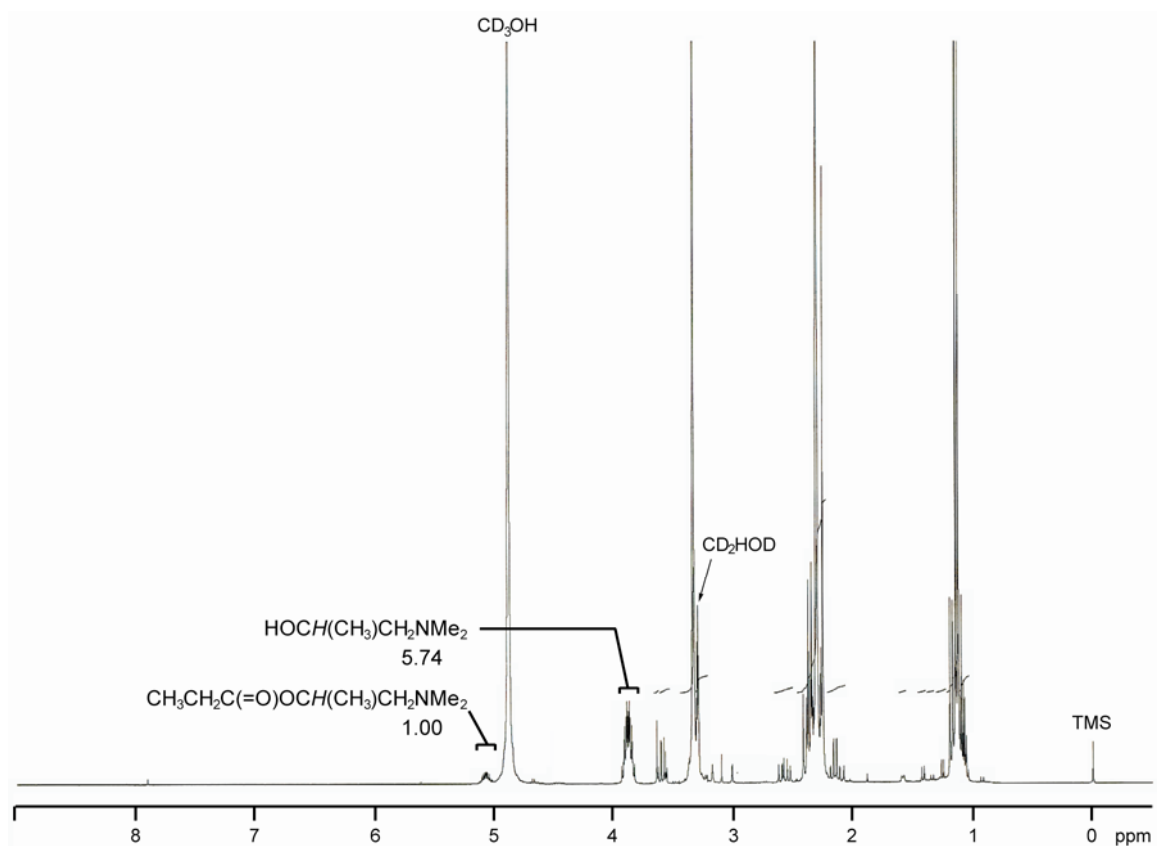


Fig. 4.10 ^1H NMR spectrum of the crude product (300 MHz, CD_3OD). Reaction conditions: *rac*-alcohol (309.6 mg, 3.0 mmol), vinyl propionate (150.2 mg, 1.5 mmol) and lipase CA (15.0 mg) were stirred at room temperature for 15 h.

Fig. 4.10 のプロトン数から、*rac*-アルコールのエステル化率を算出すると次のようになる。

$$\text{Esterification(\%)} = \frac{1.00}{1.00 + 5.74} \times 100 = 15 \quad (4.3)$$

また、(*R*)-アルコールの光学純度は、メタノール中での旋光度から算出した。(*R*)-エステルを加溶媒分解することで得られた(*R*)-アルコールの旋光度を測定し、文献値^[137]との比から(*R*)-アルコールの光学純度を算出した。

(1) 酵素スクリーニング

各リパーゼを触媒に用いて反応を行い、*rac*-アルコールのエステル化率および(*R*)-アルコールの光学純度を算出した。なお、lipase CA を用いた際の *rac*-アルコールのエステル化率は15%に止まったため、温度を 50 °C として反応を行った。結果を Table 4.4 に示す。

Table 4.4 Esterification of the *rac*-alcohol and vinyl propionate using various lipases.

Entry	Lipase	Esterification of <i>rac</i> -alcohol (%)	Optical purity of (<i>R</i>)-alcohol (%)
1*	<i>Candida antarctica</i> (CA)	40	81
2	<i>Rhizomucor miehei</i> (RM)	No reaction	
3	<i>Burkholderia cepacia</i> (PS-C)	49	75
4	<i>Burkholderia cepacia</i> (PS-D)	37	91
5	<i>Candida rugosa</i> (CR)	No reaction	
6	Blank	No reaction	

Reaction conditions: *rac*-alcohol (309.6 mg, 3.0 mmol) and vinyl propionate (150.2 mg, 1.5 mmol) and lipase (15.0 mg) were stirred at room temperature (*50 °C) for 15 h.

Entry 6 のリパーゼ非存在下では反応が進行しなかったのに対し、リパーゼ存在下では反応の進行が認められたことから、本反応はリパーゼの触媒作用によって進行することが確認された。反応を行ったリパーゼのうち、entry 4 の lipase PS-D を用いた際に、(*R*)-アルコールの光学純度は最大となった。*Burkholderia cepacia* 由来の固定化リパーゼは、第二級のヒドロキシ基を有するリシノール酸や 12-ヒドロキシステアリン酸などの酵素触媒重合に有効であることが報告されている^[135,140,141]。以後の検討では、lipase PS-D を触媒に用いた。

(2) 酵素濃度および反応時間

酵素濃度および反応時間が *rac*-アルコールのエステル化率および(*R*)-アルコールの光学純度に与える影響を調べた。結果を Fig. 4.11 に示す。

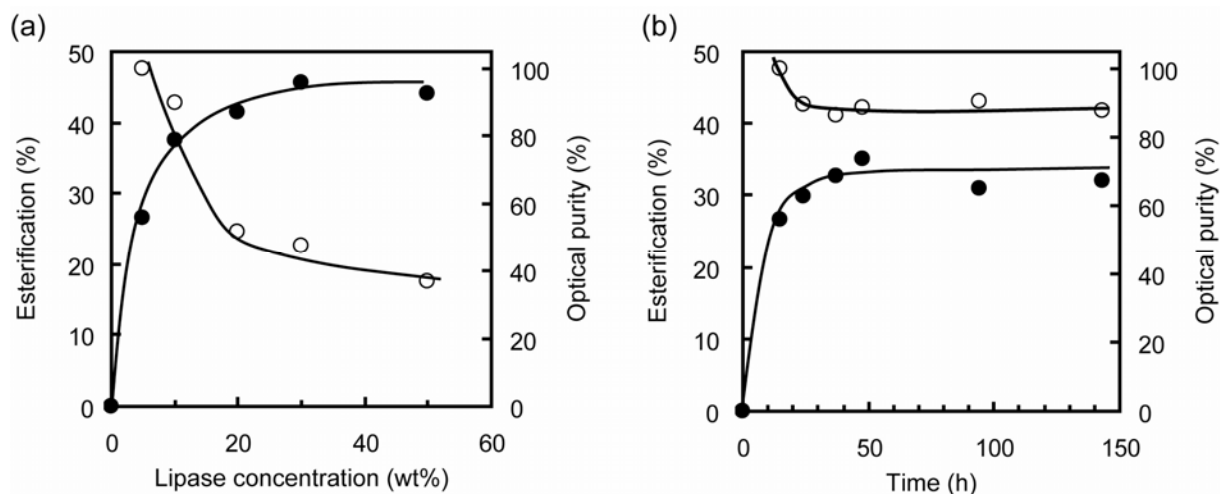


Fig. 4.11 Effect of lipase concentration (a) and reaction time (b) on the esterification of the *rac*-alcohol (●) and the optical purity of the obtained (*R*)-alcohol (○). Reaction conditions: *rac*-alcohol (309.6 mg, 3.0 mmol), vinyl propionate (150.2 mg, 1.5 mmol) and lipase PS-D were stirred at room temperature.

(*R*)-アルコールの光学純度は、酵素量に強く影響を受けた。酵素量がプロピオン酸ビニルに対して 5 wt% のときに、(*R*)-アルコールの光学純度は最大となった (Fig. 4.11(a))。酵素量の増加と共に *rac*-アルコールのエステル化率は上昇したが、一方、(*R*)-アルコールの光学純度は低下した。この結果から、鏡像体選択比 *E* 値を次の(4.4)式を用いて求めた^[142]。

$$E = \frac{\ln[1 - c\{1 + ee(R)\}]}{\ln[1 - c\{1 - ee(R)\}]} \quad (4.4)$$

c は *rac*-アルコールの転化率、*ee*(*R*)は(*R*)-アルコールの光学純度を表す。酵素量と *E* 値の関係を Fig. 4.12 に示す。

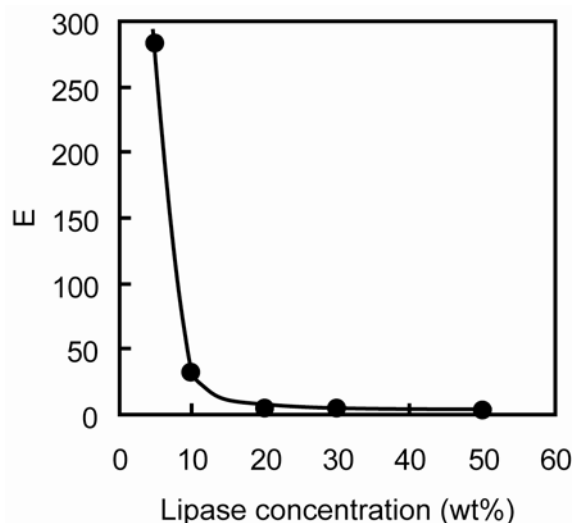
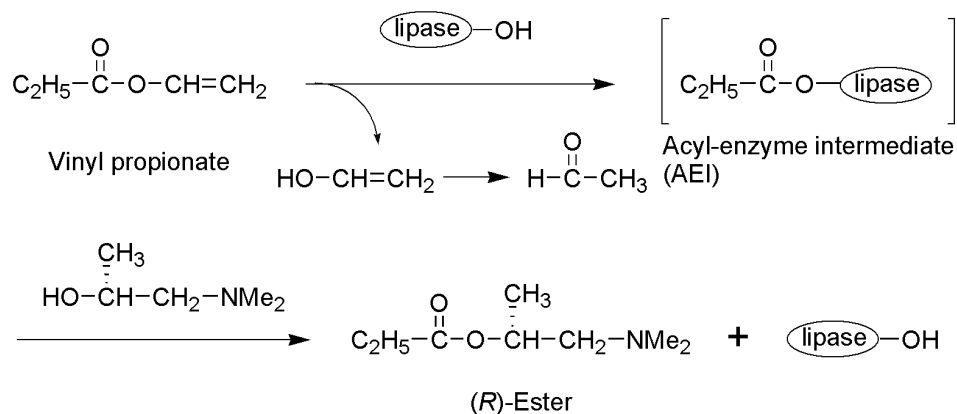


Fig. 4.12 Relationship between E value and lipase concentration.

E 値は、酵素量 5 wt%から 10 wt%にかけて急激に低下し、それ以上ではほぼ一定となった。E 値が大きいほど、(R)-アルコールの反応性が(S)-アルコールに比べて大きいことを意味する。したがって、酵素量が増えることで(S)-アルコールが反応し、その結果として加溶媒分解後の(R)-アルコールの光学純度が減少したものと予想される。以上のことから、本反応は Kazlauskas の経験則に従って進行したと言える^[143,144]。Kazlauskas の経験則とは、リパーゼを触媒に用いた第二級アルコールとエステル反応において、(S)-アルコールは(R)-アルコールよりも反応性が低いというものである。これは、両者の k_{cat} (アシル—酵素中間体にアミノアルコールが求核攻撃して生成物を生じる反応速度) の違いによるものと考えられる^[145,146]。

rac-アルコールのエステル化率は時間と共に上昇し、24 時間以降ではほぼ一定となった (Fig. 4.11(b))。一方、(R)-アルコールの光学純度は 15 時間後に最大となった。その後、光学純度は僅かに減少し、24 時間以降ではほぼ一定となった。これらの結果は、*rac*-アルコールとビニルエステルのエステル交換反応が 24 時間で停止したことを示している。(R)-エステル合成の推定反応機構を Scheme 4.10 に示す。本反応は、ビニルエステルのカルボニル炭素が酵素による求核攻撃を受けることで開始するものと推測され、これによってビニルアルコールが副生する。ビニルアルコールはケト—エノール互変異性により、すぐにアセトアルデヒドとなり系内から除去されるため、反応中にプロピオン酸ビニルは再生しないと言える。また、酵素には自由水が含まれており、これがアシル—酵素複合体 (AEI) に求核攻撃することでもプロピオン酸ビニルは消費されることになる。以上のことから、24 時間後の系内にプロピオン酸ビニルは全く存在しないことが予想される。これにより、本反応は 24 時間で停止したものと考えられる。



Scheme 4.10 Proposed mechanism for the lipase-catalyzed transesterification of (*R*)-alcohol and vinyl propionate.

rac-アルコールとプロピオン酸ビニルの反応による(*R*)-エステル合成の最適条件を以下にまとめる。

rac-アルコール/プロピオン酸ビニル = 2/1 (mol/mol)、5 wt% lipase PS-D
(プロピオン酸ビニルに対して)、室温、15 時間

この条件で反応を行うことで(*R*)-エステルが収率 53%で得られた。また、(*R*)-エステルを加溶媒分解することで光学純度 100%の(*R*)-アルコールが収率 81% (2 段階総収率 43%) で得られた。

4.3.1.2 (S)-アルコールの調製

rac-アルコールとプロピオン酸ビニルのエステル交換反応を行い、未反応のアルコールとして(S)-アルコールを得た。*rac*-アルコール/プロピオン酸ビニル = 1/1 (mol/mol) として、*rac*-アルコールのエステル化率の経時変化を調べた。結果を Fig. 4.13 に示す。

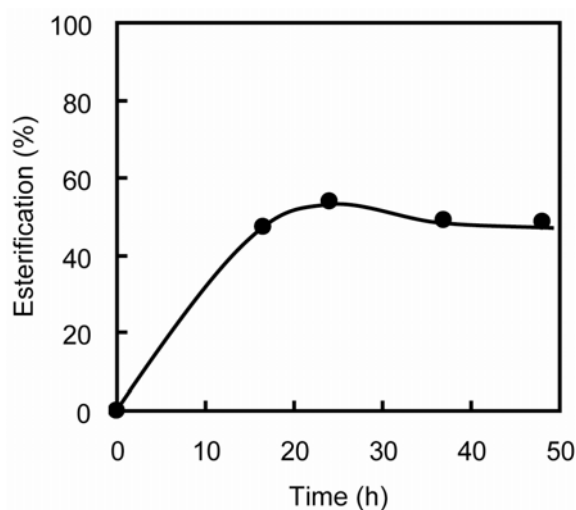


Fig. 4.13 Time course of the esterification of the *rac*-alcohol. Reaction conditions: *rac*-alcohol (309.6 mg, 3.0 mmol), vinyl propionate (300.3 mg, 3.0 mg) and lipase PS-D (15.0 mg) were stirred at room temperature.

rac-アルコールのエステル化率は時間と共に上昇し、24 時間後に最大となった。この粗生成物の精製をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより行うことで、(S)-アルコールが得られた。この光学純度は 76%であった。リパーゼを用いたラセミ体化合物の光学分割では、同じ反応を繰り返すことでエナンチオマーの光学純度を向上させることができる^[147]。そこで、光学純度 76%の(S)-アルコールとプロピオン酸ビニルとの反応を同様の条件で行った。これにより、光学純度 98%の純粋な(S)-アルコールが収率 18%で得られた。

4.3.2 光学活性カーボネート型カチオン界面活性剤の合成

2.2.4 に記した方法と同様にして光学活性カーボネート型カチオン界面活性剤を合成した。トリエチルアミン存在下、ジフェニルカーボネートと 1-ドデカノールおよび光学活性アミノアルコールをワンポットで作用させ、**C12X** を収率 66-75%で得た。ついで、**C12X** にヨウ化メチルを作用させアミノ基の四級化を行うことで一連のカーボネート型カチオン界面活性剤 **S12X** を収率 85-90%で得た。X による **C12X** および **S12X** の収率に顕著な差異は認められなかった。

rac-アルコールを光学分割することで(*R*)-アルコールおよび(*S*)-アルコールを調製し、それらを用いて光学活性カーボネート型カチオン界面活性剤を合成することにより、(*R*)-**S12iPr** を総収率 28%、(*S*)-**S12iPr** を総収率 10%で得た。(*S*)-**S12iPr** の収率が低いのは、(*S*)-アルコールの収率が(*R*)-アルコールよりも低いことに起因する。グリーンケミストリーの観点から、より効率的なプロセスの開発が求められる。

4.3.3 リパーゼを用いた *rac*-S12iPr のエナンチオ選択的加水分解

光学活性カーボネート型カチオン界面活性剤の収率向上のために、*rac*-S12iPr にリパーゼを作用させてエナンチオ選択的に加水分解することで光学活性体を得ることとした。また、リパーゼのエナンチオ選択性について MOE (Molecular Operating Environment) を用いたドッキングシミュレーションを行い、基質認識性の評価を行った。

4.3.3.1 リパーゼを用いた *rac*-S12iPr の加水分解

リパーゼを用いた *rac*-S12iPr の加水分解反応について、酵素スクリーニングを行った。微量の水分を添加したトルエン溶液中、各リパーゼを触媒に用いて *rac*-S12iPr の加水分解反応を行った。¹H NMR スペクトルより *rac*-S12iPr の転化率を求めた。溶媒に CDCl₃ を用い、 $\delta = 0.88$ の CH₃-のプロトン数を 3 として、カーボネート結合に隣接するメチン ($\delta = 5.25$ -5.38) のプロトン数から *rac*-S12iPr の転化率を算出した。結果を Table 4.5 に示す。

Table 4.5 Hydrolysis of *rac*-S12iPr using various lipases.

Entry	Lipase	Conversion (%)
1	<i>Candida antarctica</i> (CA)	49
2	<i>Rhizomucor miehei</i> (RM)	8.7
3	<i>Burkholderia cepacia</i> (PS-C)	12
4	<i>Burkholderia cepacia</i> (PS-D)	8.7
5	<i>Candida rugosa</i> (CR)	10
6	Blank	8.7

The *rac*-S12iPr (10 mg) and lipase (10 mg) were stirred in toluene (0.2 mL) and H₂O (10 μ L) at 65 °C for 2 days.

反応を行ったリパーゼのうち、entry 1 の lipase CA が最も高い活性を示した。Entry 6 のリパーゼ非存在下では反応が殆ど進行しなかったのに対し、lipase CA 存在下では *rac*-S12iPr の転化率は顕著に上昇した。このことから、本反応は lipase CA の触媒作用によって進行することが確認された。

Lipase CA を触媒に用いて、反応時間が (*R*)-S12iPr、(*S*)-S12iPr および *rac*-S12iPr の転化率に与える影響を調べた。結果を Fig. 4.14 に示す。

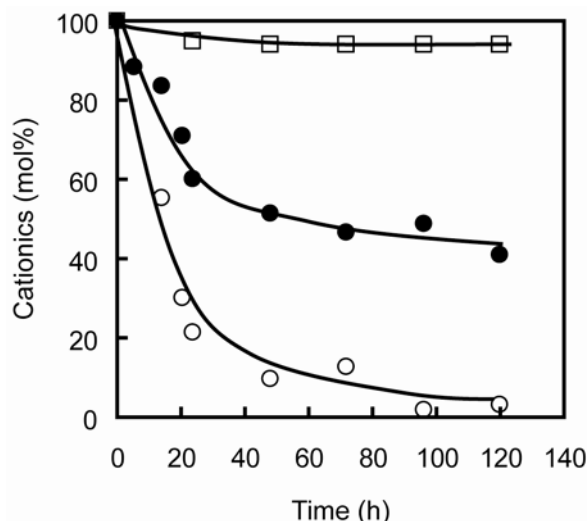


Fig. 4.14 Time course of the enzymatic hydrolysis of (*R*)-S12iPr (○), (*S*)-S12iPr (□) and *rac*-S12iPr (●) in toluene containing a small amount of water. Reaction conditions: cationics (10 mg) and lipase CA (10 mg) were stirred in toluene (0.2 mL) and H₂O (10 μL) at 65 °C.

Lipase CA を用いた S12iPr の加水分解挙動は、立体化学に強く影響を受けた。*(R)*-S12iPr は速やかに分解され、120 時間後の残存率は僅か 3%であった。一方、*(S)*-S12iPr は殆ど分解されず、120 時間後でも 90%以上が残存していた。また、*rac*-S12iPr の残存率は時間とともに減少し、72 時間後には 48%となった。これらの結果から、*rac*-S12iPr の分解では、*(R)*-S12iPr のみが lipase CA により選択的に分解され、未反応物として*(S)*-S12iPr が得られるものと考えられる。実際に、lipase CA を触媒に用いて *rac*-S12iPr の加水分解反応を行うことで光学純度 98%の*(S)*-S12iPr が収率 27% (理論最大収率 50%) で得られた。この結果から、本反応の鏡像体選択比 E 値を次の(4.5)式を用いて求めた^[142]。

$$E = \frac{\ln[(1-c)\{1-ee(S)\}]}{\ln[(1-c)\{1+ee(S)\}]} \quad (4.5)$$

c は *rac*-S12iPr の転化率、ee(*S*)は*(S)*-S12iPr の光学純度を表す。この結果、E 値は 380 と算出され、*rac*-アルコール分割の最適条件よりも大きかった。したがって、*rac*-S12iPr の分割は、*rac*-アルコールの分割よりも鏡像選択性の高い、高効率的なプロセスであると言える。

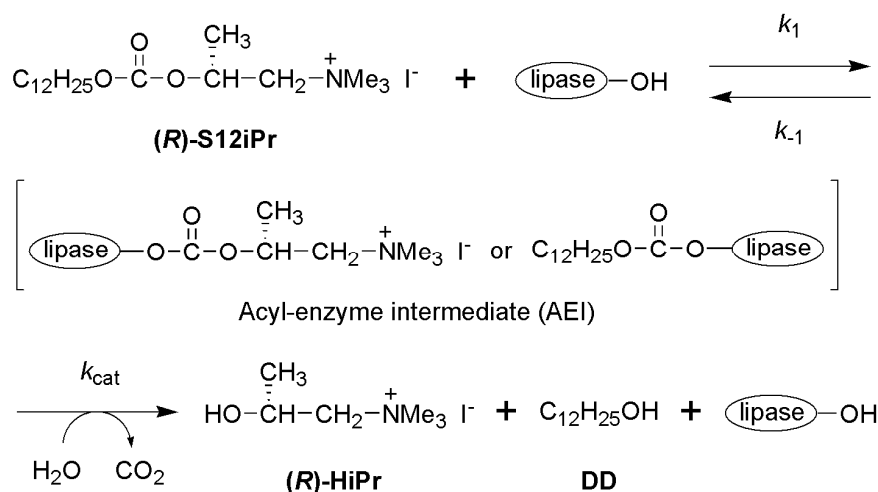
4.3.3.2 MOE による基質認識性の評価

MOE によるドッキングシミュレーションを行うことで、標的受容体のリガンド結合部位中で低分子化合物がどのような結合状態を取りうるのかを予測することができる。これにより、リガンドの結合様式の理解やバーチャルスクリーニングなどが可能となり、タンパク質の立体構造情報に基づいた薬剤設計が容易になるものと考えられる。近年、MOE を利用した新規薬剤の分子設計およびその合成が活発に行われている^[148-150]。また、Buijtenen らは、lipase CA による ω -メチルラク톤の開環重合において、そのエナンチオ選択性が MOE を用いたドッキングシミュレーション結果によって支持されることを報告している^[151]。本研究では、MOE を用いることにより、lipase CA の(R)-選択的な加水分解挙動について考察を行った。また、MOE による解析結果の妥当性を検証するために、*rac*-S12iPr の加水分解が殆ど進行しなかった *Burkholderia cepacia* 由来リパーゼの基質認識性の評価も併せて行った (Table 4.5)。

(1) Lipase CA の基質認識性

最初に、(R)-S12iPr および(S)-S12iPr 分子の安定化を行った。分子力場として低分子化合物の解析に適した"MMFF94x"を選択した。この条件で、界面活性剤分子の最安定構造を Stochastic Conformational Search により探索した。

次いで、lipase CA (PDB code: 1TCA) の構造を最安定化し、Ser¹⁰⁵、Asp¹³⁴ および His²²⁴ の活性部位^[152]に上記の界面活性剤分子をドッキングさせた。リパーゼによるカーボネート型カチオン界面活性剤の加水分解機構は、エステル結合含有化合物と同様であるものと考えられる^[153]。(R)-S12iPr 加水分解の反応機構を Scheme 4.11 に示す。まず、Ser¹⁰⁵ が界面活性剤のカーボネート結合に求核攻撃することでアシル—酵素複合体 (AEI) を形成する。次いで、AEI のカルボニル炭素に水が求核攻撃することで、カーボネート結合が加水分解と脱炭酸を受け、相当する HiPr および DD が生成するものと考えられる。



Scheme 4.11 Proposed mechanism for the lipase-catalyzed hydrolysis of (R)-S12iPr.

MOE では、酵素と基質が AEI を形成する平衡反応において、Ser¹⁰⁵ と界面活性剤分子のカルボニル基との距離が近い状態にある段階 (反応速度定数 k_1 の段階) をシミュレーションしているものと考えられる。そのときの相互作用エネルギー (E 、酵素と基質の間に働くファンデルワールス力や静電エネルギーなどの総和) および界面活性剤分子の配座エネルギー (E_{conf}) を求め、**(R)-S12iPr** および**(S)-S12iPr** の両エネルギー値を比較した。Lipase CA の活性部位と**(R)-S12iPr** 分子および**(S)-S12iPr** 分子をドッキングさせた結果を Fig. 4.15 および Fig. 4.16 に示す。

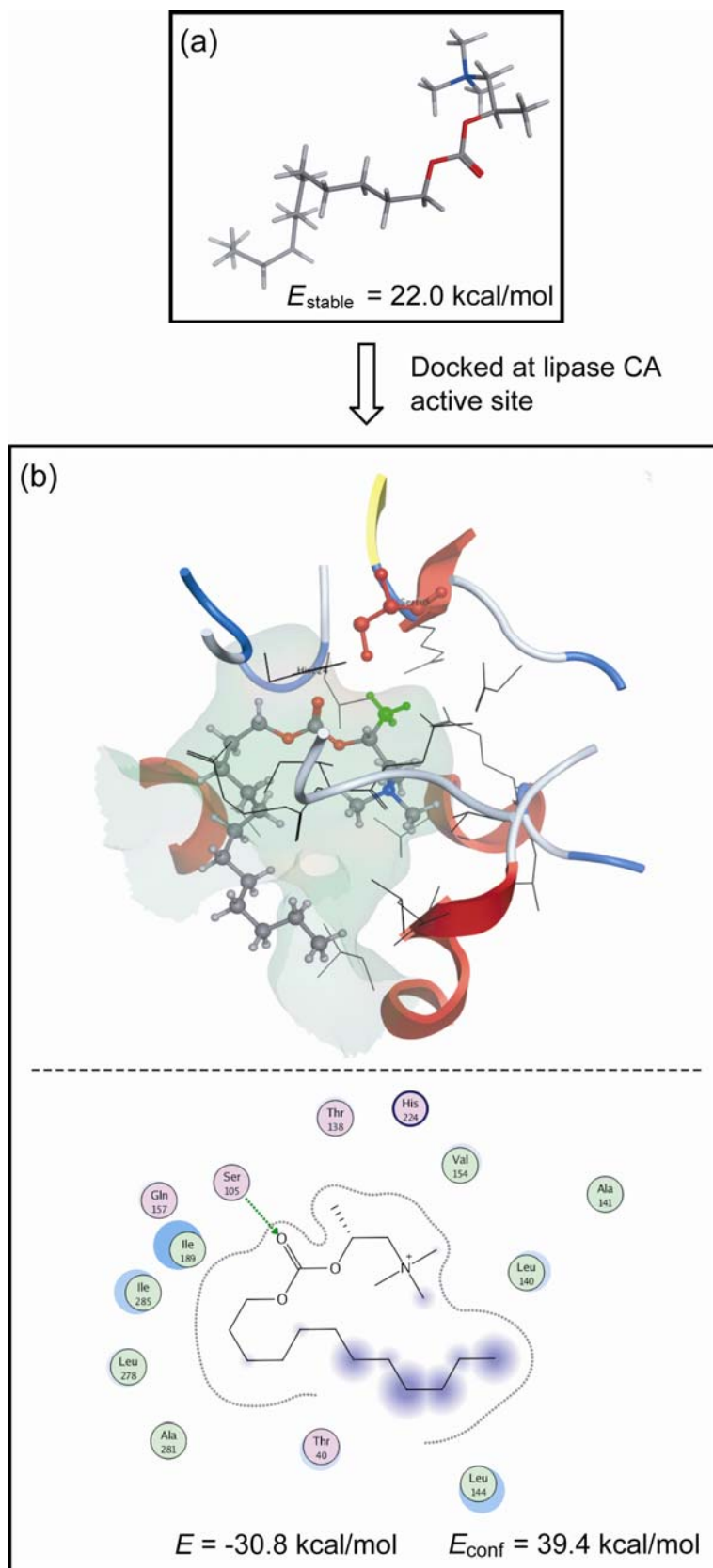


Fig. 4.15 Most stable conformational structure of (*R*)-S12iPr (a) and simplified structure of (*R*)-S12iPr docked at lipase CA active site (b).

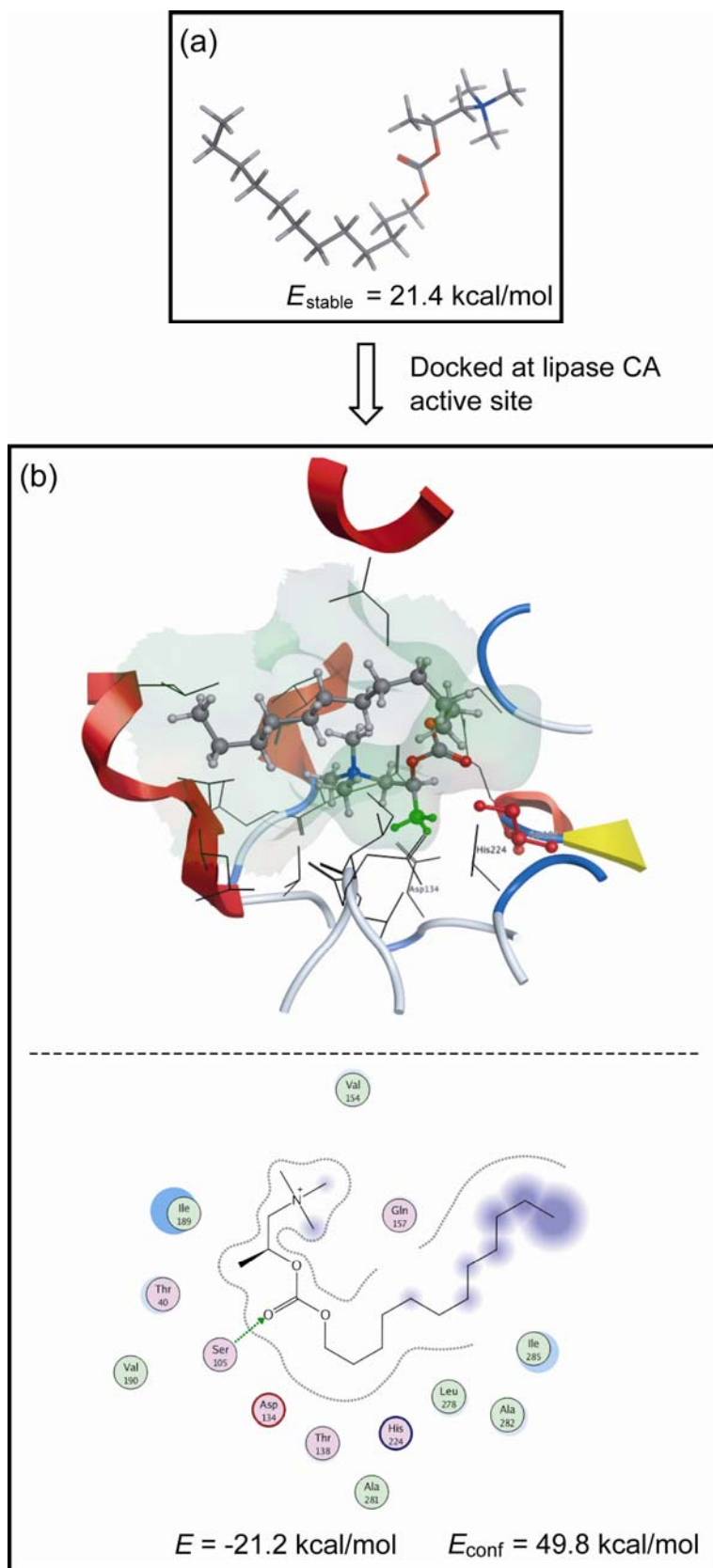


Fig. 4.16 Most stable conformational structure of (*S*)-**S12iPr** (a) and simplified structure of (*S*)-**S12iPr** docked at lipase CA active site (b).

それぞれの E_{conf} と E_{stable} の差から、 ΔE_{conf} を算出した。この値は、最安定な界面活性剤分子の配座が、酵素の活性部位と相互作用する配座に変換されるために必要なエネルギー量を示す。一連のエネルギー値を Table 4.6 にまとめた。

Table 4.6 Calculated energy values of **(R)-S12iPr** and **(S)-S12iPr** using lipase CA.

Cationics	E (kcal/mol)	E_{conf} (kcal/mol)	E_{stable} (kcal/mol)	ΔE_{conf} (kcal/mol)
(R)-S12iPr	-30.8	39.4	22.0	17.4
(S)-S12iPr	-21.2	49.8	21.4	28.4

(4.4)式および(4.5)式の E 値は次式のように変換することができる^[154]。

$$E = \frac{\frac{V_{\text{max}(R)}}{K_{\text{m}(R)}}}{\frac{V_{\text{max}(S)}}{K_{\text{m}(S)}}} \quad (4.6)$$

K_{m} は AEI が酵素と基質に分解する平衡を考えた際の解離定数 (酵素と基質の親和性)、 V_{max} は生成物が生じる反応速度、添え字の **(R)**、**(S)** は **(R)-S12iPr**、**(S)-S12iPr** を表す。上記のように、**rac-S12iPr** の酵素分解における E 値は 380 と比較的大きな値であったことから、(4.6)式の分子は分母に比べて顕著に大きいと言える。

Table 4.6 から、**(R)-S12iPr** の E および ΔE_{conf} のいずれも、**(S)-S12iPr** より 10 kcal/mol 程度小さかった。MOE により求められたエネルギー値の違いは Scheme 4.11 の k_1 に影響するものと考えられ、結果から $k_{1(R)} < k_{1(S)}$ であることが予想される。さらに、(4.6)式における K_{m} は k_1 、 k_{-1} 、 k_{cat} を用いて次のように示される。

$$K_{\text{m}} = \frac{k_{-1} + k_{\text{cat}}}{k_1} \quad (4.7)$$

したがって、MOE の結果から、 $K_{\text{m}(R)} < K_{\text{m}(S)}$ の関係にあることが示唆される。リパーゼによる環状カーボネートダイマーの開環重合において、その律速段階は AEI への水の求核攻撃であることが報告されている^[111]。このことから、**(R)-S12iPr** は **(S)-S12iPr** よりも水の求核攻撃を受けやすい、すなわち、 $V_{\text{max}(R)} > V_{\text{max}(S)}$ であることが予想される。したがって、**(R)-S12iPr** は lipase CA の Ser¹⁰⁵ および水両方の求核攻撃を受けやすいために、**(S)-S12iPr** よりも分解されやすかったものと考えられる。

(2) *Burkholderia cepacia* 由来リパーゼの基質認識性

(1)の解析結果の妥当性を検証するため、*Burkholderia cepacia* 由来リパーゼ (PDB code: 2NW6) と光学活性カーボネート型カチオン界面活性剤分子とのドッキングシミュレーションを行った。Table 4.5 に示したように、**rac-S12iPr** は *Burkholderia cepacia* 由来リパーゼを触媒に用いた際に殆ど分解されなかった (entry 3, 4)。したがって、MOEにより求まるエネルギー値は、**(R)-S12iPr** と lipase CA をドッキングさせたときのものよりも大きくなることが予想される。

(1)と同様に、*Burkholderia cepacia* 由来リパーゼの活性中心である Ser⁸⁷ が光学活性カチオン界面活性剤分子のカルボニル基を認識している状態での相互作用エネルギー E および配座エネルギー E_{conf} を求めた。*Burkholderia cepacia* 由来リパーゼの活性部位 (Ser⁸⁷、Asp²⁶⁴ および His²⁸⁶)^[155] と **(R)-S12iPr** 分子および **(S)-S12iPr** 分子をドッキングさせた結果を Fig. 4.17 および Fig. 4.18 に示す。

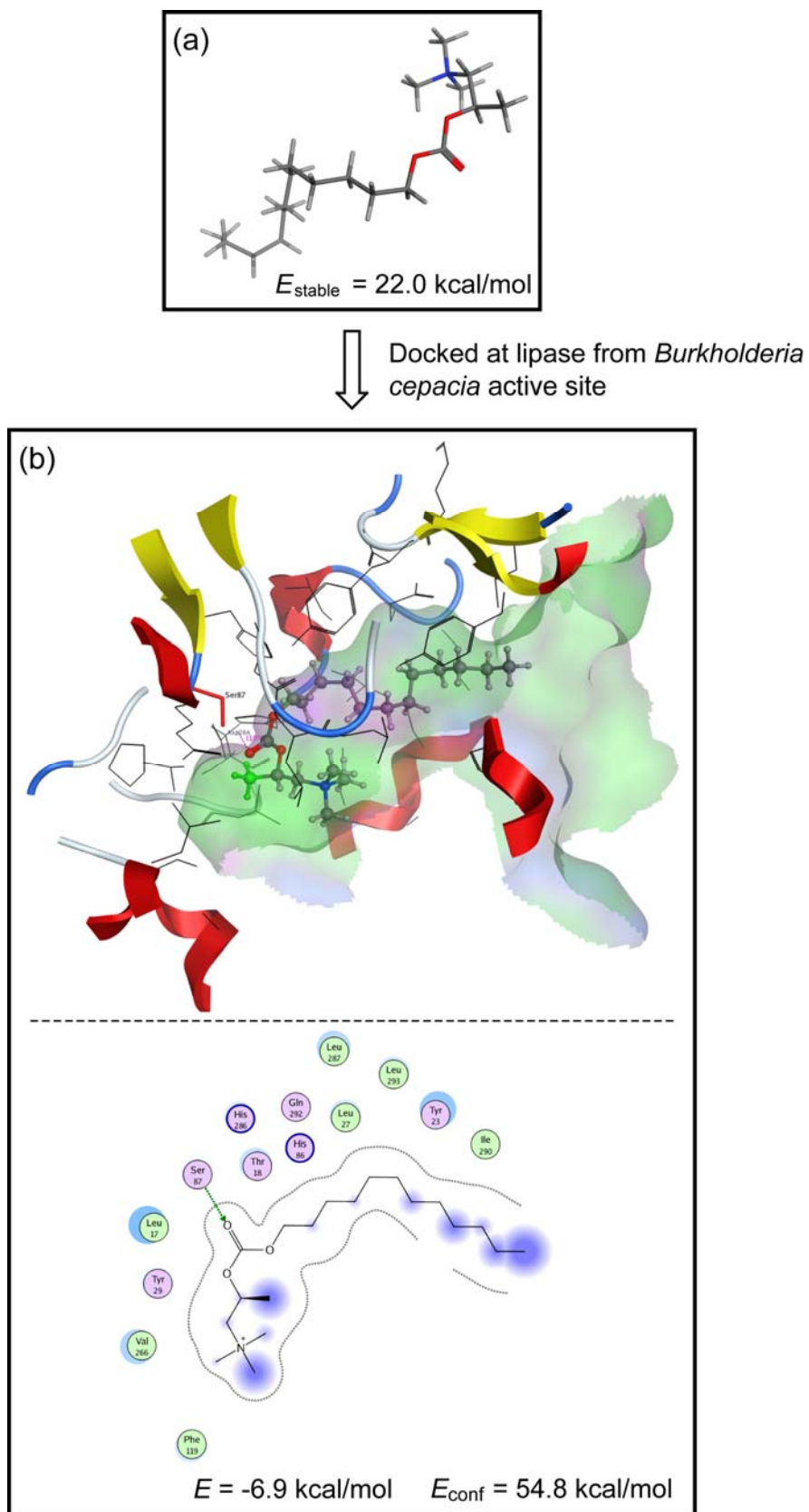


Fig. 4.17 Most stable conformational structure of (*R*)-S12iPr (a) and simplified structure of (*R*)-S12iPr docked at lipase from *Burkholderia cepacia* active site (b).

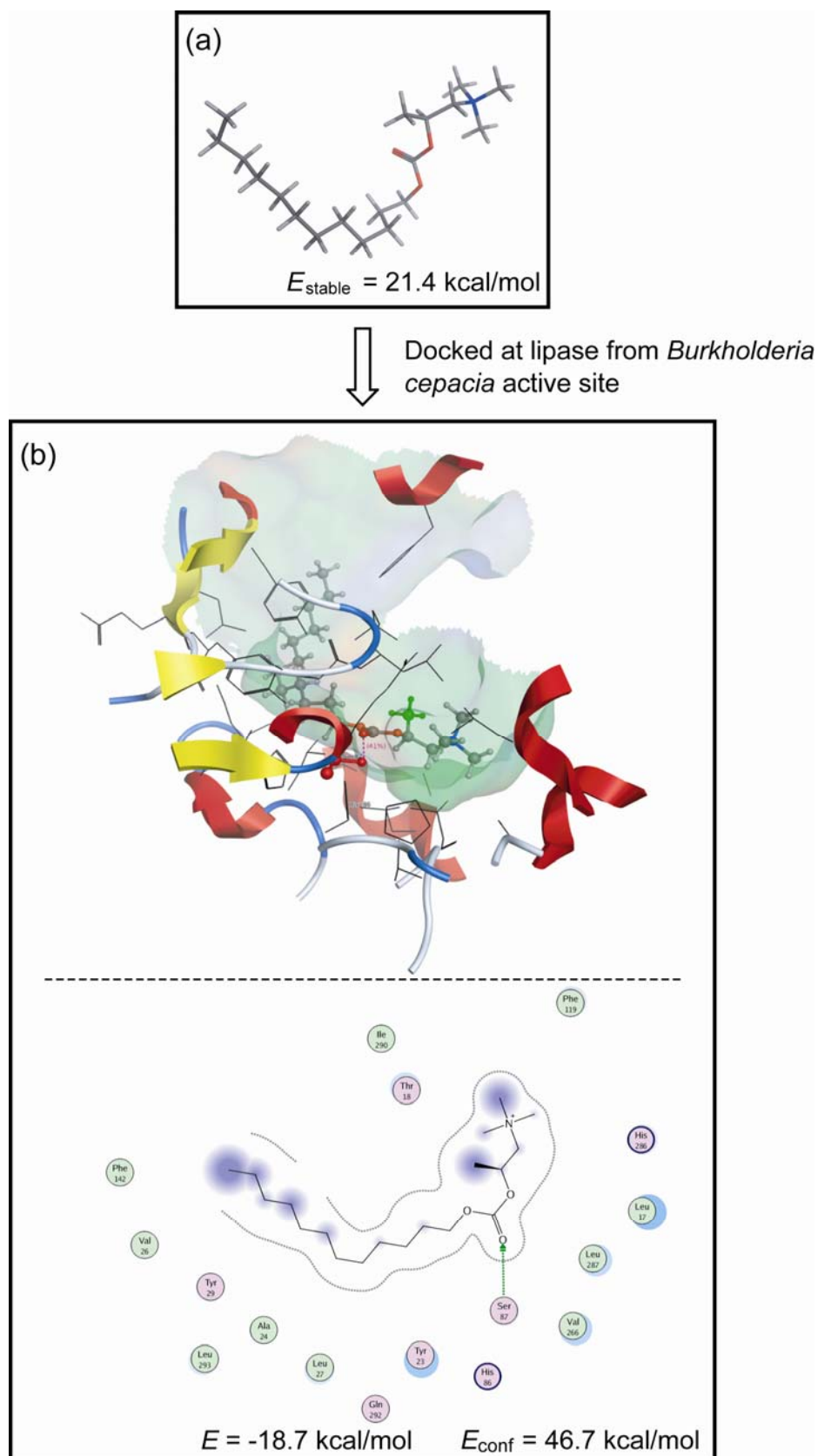


Fig. 4.18 Most stable conformational structure of (*S*)-S12iPr (a) and simplified structure of (*S*)-S12iPr docked at lipase from *Burkholderia cepacia* active site (b).

Fig. 4.17 および Fig. 4.18 の E_{conf} と E_{stable} の差から、 ΔE_{conf} を算出した。一連のエネルギー値を Table 4.7 にまとめた。

Table 4.7 Calculated energy values of **(R)-S12iPr** and **(S)-S12iPr** using lipase from *Burkholderia cepacia*.

Cationics	E (kcal/mol)	E_{conf} (kcal/mol)	E_{stable} (kcal/mol)	ΔE_{conf} (kcal/mol)
(R)-S12iPr	-6.9	54.8	22.0	32.8
(S)-S12iPr	-18.7	46.7	21.4	25.3

Burkholderia cepacia 由来リパーゼと光学活性カーボネート型カチオン界面活性剤分子とのドッキングシミュレーションから求めた E および ΔE_{conf} はいずれも、lipase CA と **(R)-S12iPr** をドッキングさせたときの値よりも 10 kcal/mol 程度大きかった。このことから、*Burkholderia cepacia* 由来リパーゼを触媒に用いた反応では、**(R)-S12iPr** および **(S)-S12iPr** のいずれも Ser⁸⁷ による求核攻撃を受けにくいものと考えられる。これにより、**rac-S12iPr** は *Burkholderia cepacia* 由来リパーゼにより殆ど分解されなかったものと考えられる。

以上のことから、lipase CA を用いた光学活性カチオン界面活性剤の加水分解挙動は MOE による解析結果から支持されたと言える。このことは、MOE により求まるエネルギー値を相対的に比較することで、その酵素反応の立体選択性が予測可能であることを示している。したがって、MOE のドッキングシミュレーションを行うことは、酵素反応のアシル—酵素複合体形成段階を理解する上で有効なツールになるものと考えられる。

4.3.4 水中安定性

純水中、25 °C、10 日間の条件では、いずれのカーボネート型カチオン界面活性剤も殆ど分解が認められなかった。そこで、温度を 60 °C とし加水分解試験を行った (分解促進条件)。結果を Fig. 4.19 に示す。

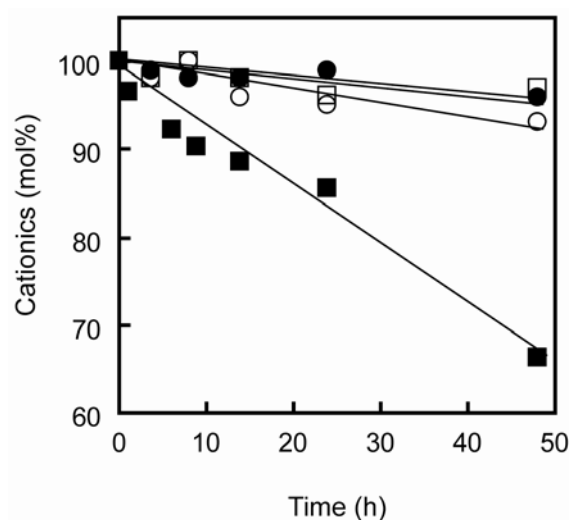


Fig. 4.19 Time course of hydrolysis of carbonate-type cationics in distilled water at 60 °C. (R)-S12iPr (○), (S)-S12iPr (□), *rac*-S12iPr (●) and S12Et (■). Sample concentration: 5 g/L.

S12Et は純水中で徐々に分解されたが、一方、**S12iPr** は殆ど分解されなかった。エステル結合含有カチオン界面活性剤の水中安定性は、第四級アンモニウム塩とエステル結合の間の構造によって大きく異なることが報告されている^[51]。これは、誘起効果の差によるものと考えられる。**S12Et** では、誘起効果 (第四級アンモニウム塩がカーボネート結合の電子を引き付ける) により、カーボネート結合周辺の電子密度が比較的低くなっていることが予想される。これによってカルボニル炭素の求電子性が高まり、水による求核攻撃を受けやすくなったものと考えられる。一方、**S12iPr** は、電子供与基である側鎖メチル基の存在により **S12Et** よりもカーボネート結合周辺の電子密度が高くなっており、結果として殆ど加水分解されなかったものと考えられる。

4.3.5 表面張力低下能

カーボネート型カチオン界面活性剤の表面張力-濃度曲線を Fig. 4.20 に示す。この結果から、cmc、 γ_{cmc} および A_{min} 値を算出した。また、従来型のカチオン界面活性剤 **DTAI** についても同様の測定を行い、各パラメーターを算出した。カチオン界面活性剤の cmc、 γ_{cmc} および A_{min} 値を Table 4.8 にまとめた。

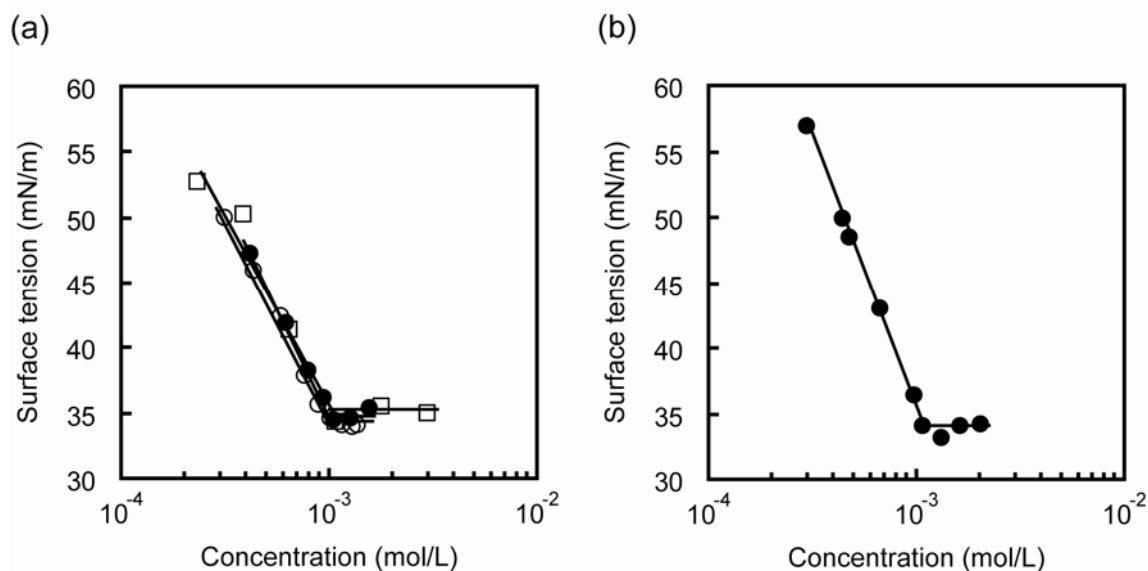


Fig. 4.20 Surface tension vs. concentration of carbonate-type cationics in aqueous solution at 25 °C. (a) (*R*)-S12iPr (●), (*S*)-S12iPr (○), *rac*-S12iPr (□). (b) S12Et (●).

Table 4.8 Surfactant properties of cationics in aqueous solution at 25 °C.

Cationics	cmc (mM)	γ_{cmc} (mN/m)	$10^2 A_{\text{min}}$ (nm ²)
(<i>R</i>)-S12iPr	1.0	34	60
(<i>S</i>)-S12iPr	1.1	34	61
<i>rac</i> -S12iPr	1.3	35	74
S12Et	1.3	32	47
DTAI	5.4	35	54

(1) cmc

S12X の cmc は、従来型のカチオン界面活性剤 **DTAI** よりも小さかった。これは、第四級アンモニウム塩とカーボネート結合の間のイソプロピレン部およびエチレン部が分子間疎水性相互作用に寄与していることによるものと考えられる。また、**S12Et** および **S12iPr** の cmc に顕著な差異は認められなかった。このことは、両者の分子間疎水性相互作用が同等であることを示している。したがって、**S12iPr** の側鎖メチル基同士の立体反発は殆ど生じていないものと考えられる。

疎水基部に不斉中心を有する界面活性剤の cmc に、その光学活性体とラセミ体あるいはジアステレオマー混合物とで顕著な差異はないことが報告されている^[118,156,157]。**S12iPr** の cmc は、これと同様の傾向にあり、ラセミ体と光学活性体の cmc に顕著な差異は認められなかった。

(2) γ_{cmc} および A_{min}

S12iPr の γ_{cmc} および A_{min} は **S12Et** よりも大きかった。これらの結果は、**S12iPr** の分子間相互作用が **S12Et** よりも弱いことを示している。**S12iPr** の側鎖メチル基同士の立体反発により、分子間相互作用が弱められているものと考えられる。

不斉中心を有するカーボネート型カチオン界面活性剤の A_{min} には、*N*-アシルアミノ酸型界面活性剤と同様の傾向が認められた^[114-117]。すなわち、**(R)-S12iPr** および **(S)-S12iPr** の A_{min} は、**rac-S12iPr** よりも僅かに小さかった。このことは、光学活性体の分子間相互作用がラセミ体よりも強いことを示している。**S12iPr** が気-液界面に並ぶ際には、側鎖メチル基による立体反発が生じるものと考えられる。光学活性体**(R)-S12iPr** および **(S)-S12iPr** は、**rac-S12iPr** よりも側鎖メチル基が同一方向に揃いやすく、分子間での立体反発が生じにくいものと思われる。この結果として、**(R)-S12iPr** および **(S)-S12iPr** の分子間相互作用は **rac-S12iPr** よりも強くなったものと考えられる。

4.3.6 抗菌性

最小発育阻止濃度 MIC を指標としてカーボネート型カチオン界面活性剤の抗菌性を評価した。グラム陽性およびグラム陰性細菌、酵母およびカビなど真菌に対する MIC を Table 4.9 に示す。

Table 4.9 Antimicrobial activities of carbonate-type cationics and DTAI.

Strain	MIC ($\mu\text{g/mL}$)				
	(R)-S12iPr	(S)-S12iPr	rac-S12iPr	S12Et	DTAI
<i>S. aureus</i>	2.5	2.5	2.5	5	10
<i>B. subtilis</i>	5	2.5	5	2.5	10
<i>M. luteus</i>	2.5	2.5	2.5	10	25
<i>E. coli</i>	10	10	10	25	25
<i>S. typhimurium</i>	200	200	200	200	100
<i>P. aeruginosa</i>	400	400	400	400	50
<i>C. albicans</i>	100	100	400	100	200
<i>S. cerevisiae</i>	100	100	400	100	100
<i>T. mentagrophytes</i>	50	50	400	50	50
<i>M. gypseum</i>	50	50	5	50	25
<i>P. chrysogenum</i>	100	100	100	100	100
<i>A. niger</i>	400	400	>400	400	200

S12Et の抗菌性は **S12iPr** よりも若干低かった。4.3.4 に記したように、**S12Et** は **S12iPr** よりも加水分解されやすいことが認められている。このことから、**S12Et** の一部は菌体外酵素により加水分解と脱炭酸を受け、抗菌性を有さない化合物に変換されたことが予想される。これにより、**S12Et** は **S12iPr** よりも抗菌性が低かったものと考えられる。また、**S12iPr** の立体化学による抗菌性に顕著な差異は認められなかった。

4.3.7 生分解性

カーボネート型カチオン界面活性剤の生分解は、微生物酵素（菌体外酵素）によりカーボネート結合が加水分解と脱炭酸を受け、第四級アンモニウム塩を含むアルコールおよび1-ドデカノールが生成することによって開始するものと予想される。これにより生成した加水分解物は微生物の菌体内に取り込まれ、 β -酸化および ω -酸化により分解されるものと考えられる。このような推定生分解機構から、カーボネート型カチオン界面活性剤の加水分解物が速やかに生分解されれば、元の界面活性剤も優れた生分解性を有するものと見なされる。

S12iPr 由来の第四級アンモニウム塩を含む加水分解物 **HiPr** および 1-ドデカノール (**DD**) についても同様にして BOD 試験を行った。カーボネート型カチオン界面活性剤およびその加水分解物の生分解率を Fig. 4.21 に示す。

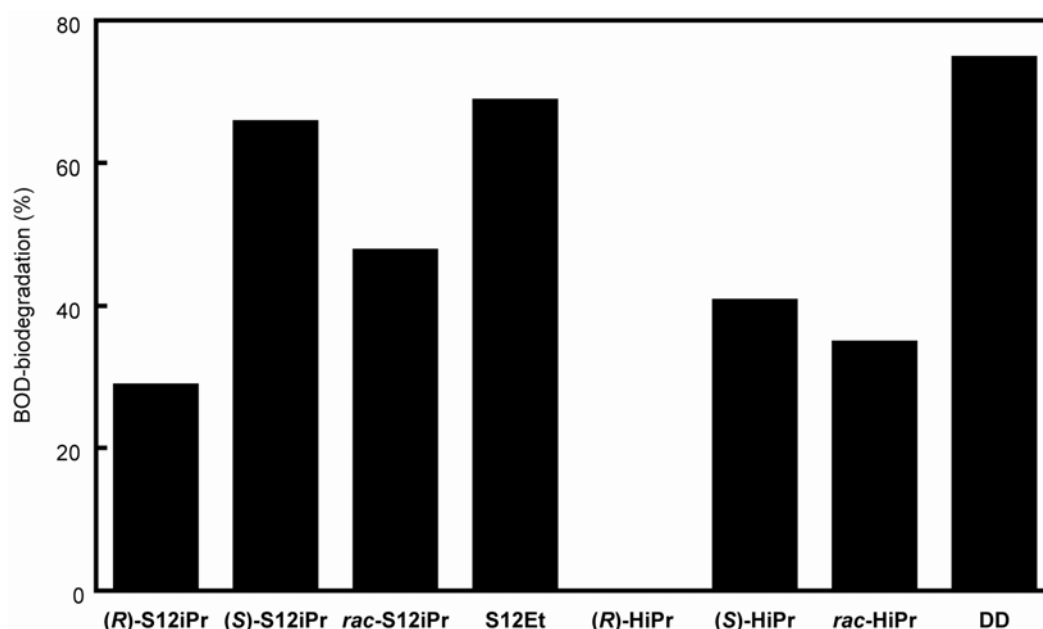


Fig. 4.21 BOD-biodegradation of cationics and degradation intermediates, **HiPr** and **DD**, at 25 °C for 28 d. Activated sludge: 30 ppm, cationics: ca. 40 ppm, **HiPr**: 57 ppm, **DD**: 38 ppm.

BOD 試験では生分解率が 60%を越えると、その試料は環境中でも容易に分解する（易分解性）と見なされる。**S12Et** は活性汚泥により速やかに生分解され、易分解性であることが認められた。

疎水基部の立体化学により **S12iPr** の生分解性には顕著な差異が認められた。**(S)-S12iPr** は活性汚泥により速やかに生分解され、易分解性であることが認められた。一方、**(R)-S12iPr** の生分解率は 30%に止まった。この原因としては、カーボネート結合の加水分解性の違い、あるいは、加水分解後に生成する分解物の生分解性の違いという 2 点が挙げられる。4.3.4 に記したように、**(R)-S12iPr** および**(S)-S12iPr** の加水分解性に顕著な差異は認められなかった。

一方、第四級アンモニウム塩を含むアルコールの生分解性は立体化学の影響を強く受けた。**(S)-S12iPr** 由来の**(S)-HiPr** は活性汚泥により生分解されたが、**(R)-S12iPr** 由来の**(R)-HiPr** は全く生分解されなかった。また、**DD** の生分解率は 70%を超えており、易分解性であると認められた。これらの結果から、**(S)-HiPr** の生分解性が**(R)-HiPr** より高いために、**(S)-S12iPr** は**(R)-S12iPr** よりも生分解性に優れたものと考えられる。**rac-S12iPr** 由来の **rac-HiPr** は活性汚泥により生分解されたが、その生分解率は**(S)-HiPr** よりも低かった。このため、**rac-S12iPr** の生分解率は**(S)-S12iPr** より低く、**(R)-S12iPr** より高かったものと考えられる。

4.3.3 に記したように、lipase CA を触媒に用いた加水分解では、**(R)**-選択的に反応が進行した。しかし、上記の結果から、BOD 試験用の培養液中では**(R)-S12iPr** および**(S)-S12iPr** のいずれも、微生物酵素によって加水分解されたものと考えられる。

4.4 結言

カチオン界面活性剤の立体化学が界面活性、抗菌性および生分解性に与える影響を明らかにすることを目的に、疎水基部に不斉中心を有するカーボネート型カチオン界面活性剤を分子設計し、そのグリーンプロセスによる合成、界面活性、抗菌性および生分解性について検討を行った。

リパーゼを用いたエナンチオ選択的なエステル化により、不斉中心を有するアミノアルコールの光学分割を行った。トリエチルアミン存在下、ジフェニルカーボネートに 1-ドデカノールおよび光学活性アミノアルコールをワンポットで作用させることで、*n*-ドデシル=*N,N*-ジメチルアミノアルキル=カーボネートを収率 66-75% で得た。ついで、ヨウ化メチルを作用させアミノ基を四級化することで、光学活性カーボネート型カチオン界面活性剤を収率 85-86% で得た。これにより、(*R*)-カチオン界面活性剤を総収率 28%、(*S*)-カチオン界面活性剤を総収率 10% で得た。

光学活性カーボネート型カチオン界面活性剤の収率向上のために、リパーゼを用いた *rac*-カチオン界面活性剤のエナンチオ選択的な加水分解反応を行った。*rac*-カーボネート型カチオン界面活性剤に lipase CA を作用させると、(*R*)体のみが選択的に加水分解され、未反応物として(*S*)-カチオン界面活性剤が収率 27% (理論収率 50%) で得られた。このことは、MOE を利用したドッキングシミュレーションの結果からも支持された。

光学活性カーボネート型カチオン界面活性剤は、水中で安定であることが認められた。光学活性カーボネート型カチオン界面活性剤の立体化学は、界面活性および抗菌性に顕著な影響を与えなかった。一方、生分解性には立体化学により顕著な差異が認められた。(*S*)-カチオン界面活性剤は、(*R*)-カチオン界面活性剤よりも生分解性に優れ、易分解性であることが認められた。(*S*)-カチオン界面活性剤由来の第四級アンモニウム塩を有する加水分解物が活性汚泥により生分解されたのに対し、(*R*)-カチオン界面活性剤由来のものは全く生分解されなかったことと関連があるものと考えられる。以上の結果から、*rac*-カーボネート型カチオン界面活性剤を光学分割することによって、生分解性は向上することが認められた。

第5章

カーボネート型非イオン性グリーンサーファクタントの合成と性質

5.1 緒言

5.1.1 はじめに

非イオン界面活性剤は、水酸基やポリエーテルなどを親水基とする界面活性剤の総称であり、水に溶解したときにイオン化しないので、他の界面活性剤と併用可能である。また、非イオン界面活性剤は浸透性、乳化性、分散性などに優れているため、多様な製品に応用されている。我が国における非イオン界面活性剤の年間生産量は、50万トンにも達している。

現在生産されている非イオン界面活性剤は親水基の種類により、ポリエーテル型と多価アルコール型に大別される。それぞれの代表的な界面活性剤の分子構造を Fig. 5.1 に示す。ポリエーテル型のは、ポリオキシエチレン鎖長を変えることにより、水溶性、沸点、曇点および屈折率などを調節することができる。そのため、ポリオキシエチレン鎖長により用途は様々になる。例えば、疎水基の炭素数 12 の界面活性剤では、 $n = 7 \sim 9$ のものが湿潤剤および乳化剤、 $n = 10 \sim 15$ のものが洗浄剤および乳化剤、 $n = 15$ のものが可溶化剤として利用されている。一方、ポリグリセリンエステルに代表される多価アルコール型界面活性剤は、安全性が高く、優れた生分解性を有するため、その多くが食品用乳化剤として利用されている [158,159]。

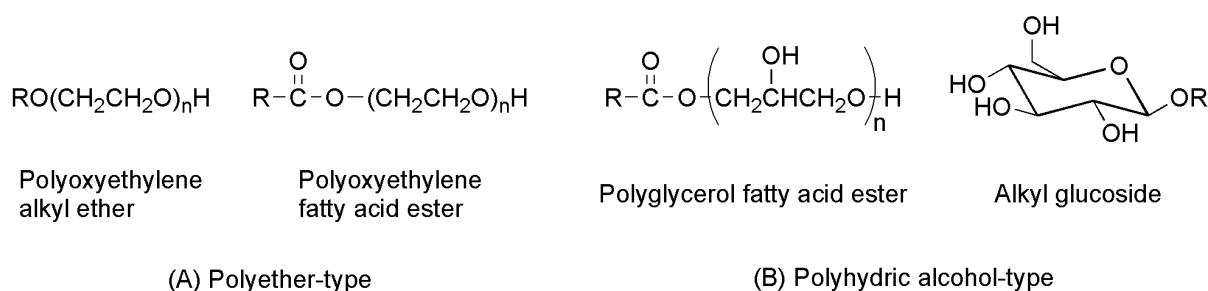


Fig. 5.1 Molecular structures of polyether-type (A) and polyhydric alcohol-type (B) nonionics.

また、親水基をオキシエチレン、疎水基をオキシプロピレンとしたトリブロック共重合体であるプルロニック型非イオン界面活性剤もこれまでに合成されている [160-162]。その分子構造を Fig. 5.2 に示す。プルロニック系界面活性剤は、プロピレングリコールの重合によって得られるポリプロピレングリコールにエチレンオキシドを付加重合して合成することができ、

親水基部と疎水基部の重合度を調節することにより、異なる界面化学的性質を有するものが得られる。また、高分子量のプルロニック型界面活性剤には生体適合型材料としての利用が検討されている^[163-165]。

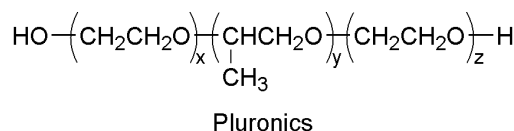


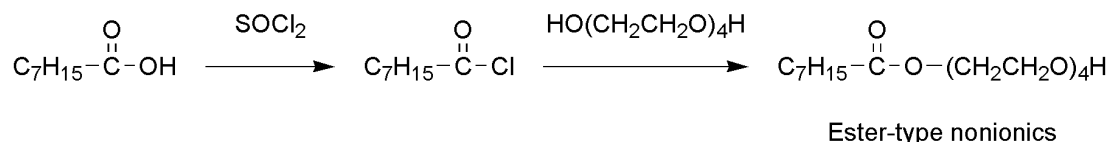
Fig. 5.2 Molecular structure of Pluronics.

本章では、ポリオキシエチレン鎖を親水基とするカーボネート型非イオン界面活性剤を分子設計し、そのグリーンプロセスによる合成および特性について検討を行った。以下に、加水分解性結合を有する非イオン界面活性剤の特徴およびカーボネート型非イオン界面活性剤のグリーンプロセスによる合成について記す。

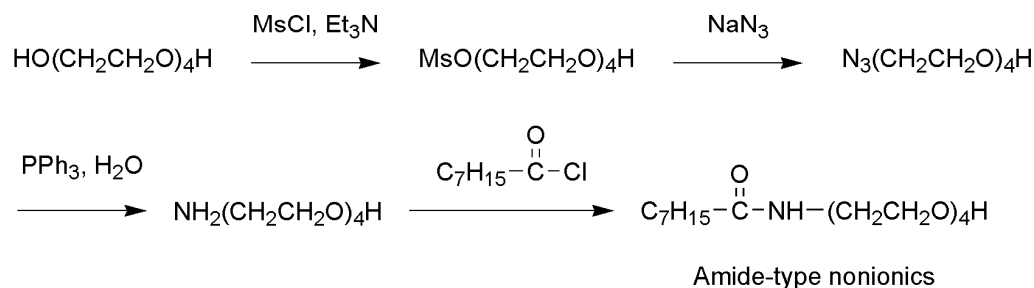
5.1.2 加水分解性結合を有する非イオン界面活性剤の特徴

ポリオキシエチレン鎖を親水基とする非イオン界面活性剤は親水基と疎水基間の結合により、エーテル型、エステル型、アミド型などと呼称される。Stjerndahlらは、エステル型およびアミド型のものが活性汚泥により速やかに生分解されることを報告している^[12,13,166]。これは、エステル結合およびアミド結合が環境微生物によって容易に加水分解され、生成する脂肪酸やポリエチレングリコールなどの加水分解物が生分解されやすいことによるものと考えられる。これらの合成スキームを Scheme 5.1 に示す。

(A) Ester-type nonionics



(B) Amide-type nonionics

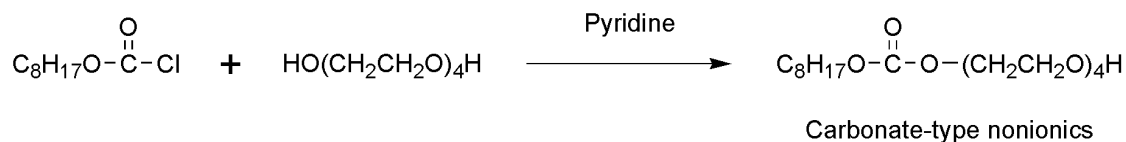


Scheme 5.1 Synthesis of ester-type (A) and amide-type (B) nonionics.

エステル結合を有する非イオン界面活性剤は、ピリジン存在下、カプリル酸クロリド/テトラエチレングリコール = 1/20 (mol/mol) で反応を行うことにより、収率 90% で得られる^[166]。また、アミド結合を有するものは、4 段階反応により、総収率 23% で得られる。4 段階目で

は、カプリル酸クロリド/アミン = 1/1 (mol/mol) で反応を行っており、この段階での収率は25%に止まっている^[13]。

また、Stjern Dahl らは、カーボネート結合を有するポリエーテル型非イオン界面活性剤が活性汚泥によって速やかに生分解され、なおかつエステル結合を有するものより酸・塩基性条件下で安定であることを報告している^[42]。合成スキームを Scheme 5.2 に示す。

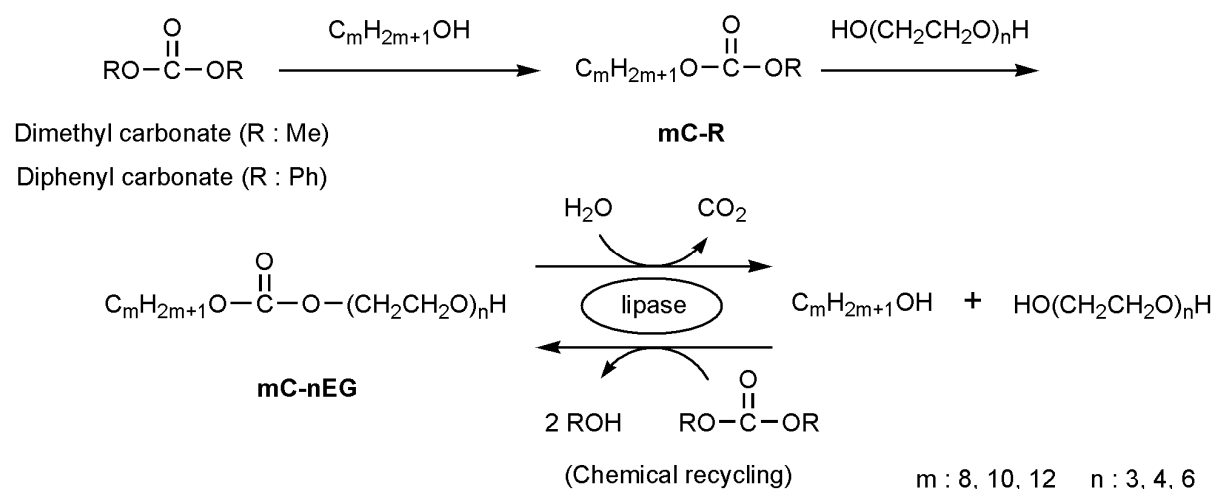


Scheme 5.2 Synthesis of carbonate-type nonionics.

ポリオキシエチレン鎖を親水基とするカーボネート型非イオン界面活性剤は、ピリジン存在下、クロロギ酸オクチル/テトラエチレングリコール = 1/20 (mol/mol) の条件で反応させることにより、収率79%で得られる^[42]。グリーンケミストリーの推進から、次世代型界面活性剤は環境汚染物質を排出しない、ハロゲンフリープロセスにより合成されるのが望ましい。また、より原子効率の高い反応プロセスの開発が強く求められている。

5.1.3 カーボネート型非イオン界面活性剤のグリーンプロセスによる合成

本章では、ポリオキシエチレン鎖を親水基とするカーボネート型非イオン界面活性剤のグリーンプロセスによる合成について検討を行った (Scheme 5.3)。本化合物に期待される性質を以下に示す。



Scheme 5.3 Synthesis and chemical recycling of **mC-nEG**.

(1) グリーンプロセスによる合成

カーボネート結合の導入には、従来は有毒なホスゲンが用いられてきたが、本研究ではグリーン試薬としてジメチルカーボネートおよびジフェニルカーボネートを使用した。ジフェニルカーボネートを利用する合成ではフェノールが副生するが、ジメチルカーボネートと反応させることでジフェニルカーボネートに戻すリサイクルプロセスが工業的に確立している。また、ジメチルカーボネートは二酸化炭素とメタノールを、比較的穏やかな条件で反応させることにより合成可能であることが報告されている^[64-67]。したがって、ジメチルカーボネートおよびジフェニルカーボネートを用いることで、環境汚染物質を排出しない、グリーンプロセスによる合成が達成できるものと考えられる。

(2) ケミカルリサイクル

環境汚染および資源枯渇問題から、工業分野で使用される界面活性剤にはリサイクル性が求められる。カーボネート型非イオン界面活性剤には、酵素触媒を用いたケミカルリサイクルが可能であることが期待される。このような界面活性剤を工業分野に応用することで、資源の循環型使用と環境汚染問題の解決に貢献できるものと考えられる。

(3) 優れた生分解性

カーボネート型非イオン界面活性剤の生分解は、微生物酵素によりカーボネート結合が加水分解と脱炭酸を受けることではじまるものと予想される。これにより生成した2分子のアルコール（ポリエチレングリコールおよび長鎖アルコール）は微生物体内に取り込まれ、 β -酸化および ω -酸化によって分解されるものと考えられる。したがって、カーボネート型非イオン界面活性剤は優れた生分解性を有することが期待される。

本章では、以上のような特徴を有することが期待されるカーボネート型非イオン界面活性剤のグリーンプロセスによる合成、界面活性、生分解性およびケミカルリサイクル性について検討を行った。

5.2 実験方法

5.2.1 酵素

酵素はいずれも五酸化ニリン存在下、常温で2時間減圧乾燥(3 mmHg)させてから用いた。

Table 5.1 List of enzymes.

Enzyme origin	Abbreviation	Manufacturer
Immobilized lipase from <i>Candida antarctica</i> B (Novozym 435 [®]) Specific activity = 10,000 PLU/g ^(a)	CA	Novozymes
Immobilized lipase from <i>Candida rugosa</i> (Lipase CR immobilized macroporous acrylic beads) Specific activity = 518 units/g solid ^(b)	CR	Aldrich Co., Inc.
Porcine pancreas lipase (PPL). Specific activity = 41 U/mg prot ^(c)	PPL	Aldrich Co., Inc.
Immobilized lipase from <i>Burkholderia cepacia</i> (Lipase PS, Amano I immobilized on ceramic) Specific activity = 1,000 PLU/g ^(d)	PS	Amanoenzyme Co., Ltd.

^(a) Lipase (lipase B) from *Candida antarctica* produced by submerged fermentation of a genetically engineered *Aspergillus oryzae* and adsorbed on a macroporous acrylic resin, having 10,000 PLU/g (propyl laurate units: activity based on ester synthesis)].

Lot number of Novozym 435[®]: LC200229

^(b) One unit hydrolyzes 1.0 microequivalent of fatty acid from olive oil in one hour at pH 7.2 at 37 °C. One g solid yields approximately 2.4 mL packed gel.

^(c) One unit hydrolyzes 1.0 microequivalent of fatty acid from a triglyceride in one hour at pH 7.7 at 37 °C (this is equivalent to approximately 10 microliters of CO₂ in 30 min).

^(d) One unit produces 1.0 micromole of 1-phenethyl alcohol to 1-phenethyl acetate per min at 25 °C in the presence of vinyl acetate.

熱失活 lipase CA (thermally deactivated lipase CA) は、以下の手順で調製した。攪拌子を付した 100 mL ナスフラスコに、lipase CA (100 mg) をはかり取り、蒸留水 (50 mL) を加え、還流

条件で5時間攪拌反応を行った。反応終了後、凍結乾燥により水を除去することで熱失活 lipase CA を得た。

5.2.2 試薬

ジメチルカーボネート	東京化成工業 (株)	
ジフェニルカーボネート	東京化成工業 (株)	
1-オクタノール	東京化成工業 (株)	
1-デカノール	東京化成工業 (株)	
1-ドデカノール	東京化成工業 (株)	
ラウリン酸クロリド	東京化成工業 (株)	
トリエチレングリコール	純正化学 (株)	
テトラエチレングリコール	純正化学 (株)	
ヘキサエチレングリコール	純正化学 (株)	
トリエチルアミン	和光純薬工業 (株)	
ドデシル=テトラオキシエチレン=エーテル	和光純薬工業 (株)	
ドデシル=ヘキサオキシエチレン=エーテル	和光純薬工業 (株)	
炭酸カリウム	関東化学 (株)	
アセトン (脱水)	関東化学 (株)	
トルエン (脱水)	関東化学 (株)	
<i>n</i> -ヘキサン	和光純薬工業 (株)	
クロロホルム	和光純薬工業 (株)	
酢酸エチル	和光純薬工業 (株)	
アセトン	和光純薬工業 (株)	
メタノール	和光純薬工業 (株)	
トルエン	関東化学 (株)	
エタノール	和光純薬工業 (株)	特級
シリカゲル (青) 5~10 メッシュ	純正化学 (株)	
シリカゲル C-60	和光純薬工業 (株)	
セライト 545	関東化学 (株)	
TLC シリカゲル 60 F ₂₅₄	Merck	
重クロロホルム-d ₁	ISOTEC Inc.	
アニリン	和光純薬工業 (株)	試薬特級
リン酸水素ナトリウム・二水和物	和光純薬工業 (株)	試薬特級
リン酸二水素ナトリウム・二水和物	和光純薬工業 (株)	試薬特級
リン酸二水素カリウム	関東化学 (株)	試薬特級

リン酸水素二カリウム	関東化学 (株)	試薬特級
リン酸水素二ナトリウム・十二水和物	和光純薬工業 (株)	試薬特級
塩化アンモニウム	関東化学 (株)	鹿一級
硫酸マグネシウム・七水和物	関東化学 (株)	鹿一級
塩化カルシウム無水和物	関東化学 (株)	鹿特級
塩化鉄 (Ⅲ)・六水和物	和光純薬工業 (株)	試薬特級
水酸化ナトリウム	関東化学 (株)	鹿一級
蒸留水	大和商店 (有)	

5.2.3 機器

核磁気共鳴スペクトル : Varian MERCURY plus 300	Varian Inc.
JEOL Lambda 300	日本電子 (株)
サイズ排除クロマトグラフィー (SEC) (低分子用)	
ポンプ : PU-980	日本分光 (株)
カラム : Showdex K-G, K-800D, K-801 (8 × 300 mm)	昭和電工 (株)
検出器 : RI-1530	日本分光 (株)
デガッサー : DG-980-50	日本分光 (株)
レコーダー : 807-IT	日本分光 (株)
溶離液 : 1 vol%エタノール含有クロロホルム	
流速 : 1.0 mL/min	
試料注入量 : 20 μL	
測定温度 : 室温	
表面張力計 : CBVP-Z	協和界面化学 (株)
起泡力計 : 半微量改良 TK 法測定装置	三陽理化学器械製作所 (株)
BOD センサーシステム	アクタック (株)
インキュベーター : LTI-1001SD	東京理化学器械 (株)
凍結乾燥機 : FDU-830	東京理化学器械 (株)
ロータリーエバポレーター : EYELA-1000	東京理化学器械 (株)
ガラス電極式水素イオン濃度計 : HM-20J	東亜電波工業 (株)
電子天秤 : AG204、PB3002-S	メトラートレド (株)
オイルバス : OSM-1	石井商店 (株)
マグネチックスターラー : EG	石井商店 (株)
ウォーターバス : FWB-24S	東京硝子器械 (株)

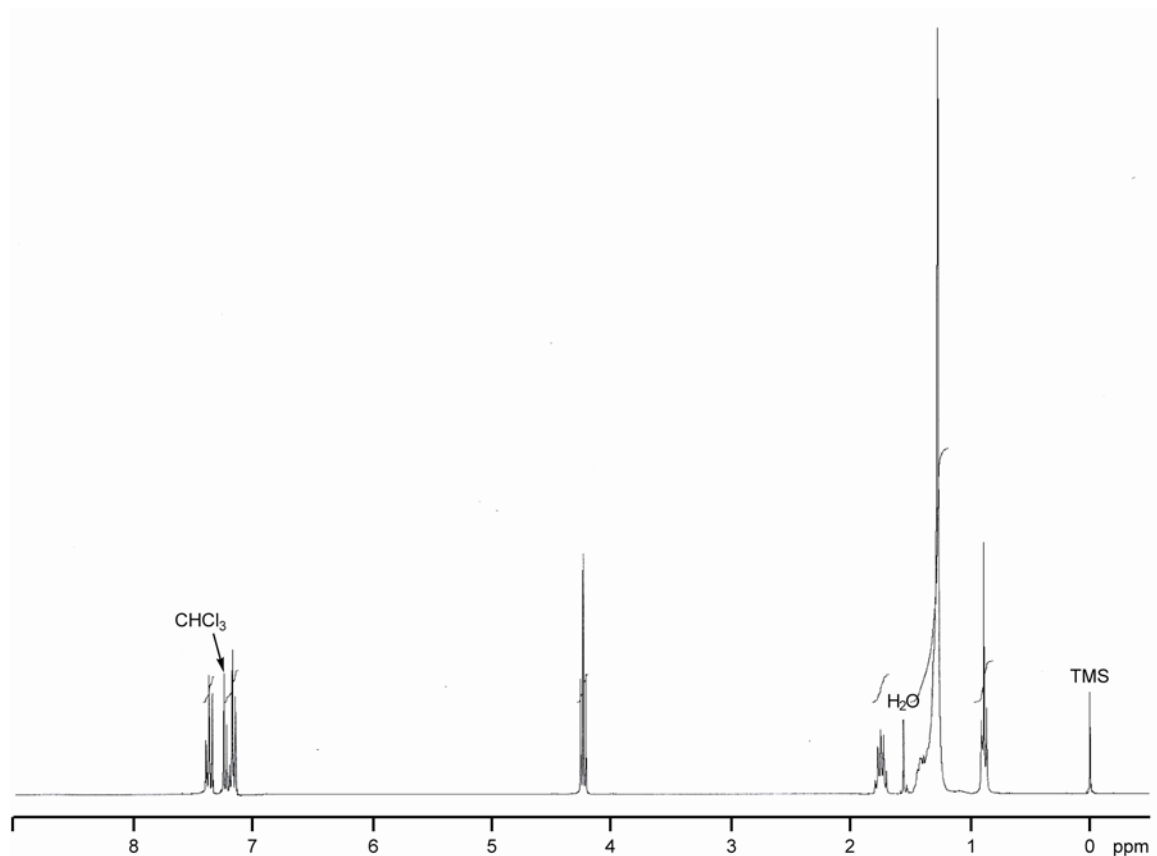


Fig. 5.3 ^1H NMR spectrum of **12C-Ph** (300 MHz, CDCl_3).

12C-Ph

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : $\delta = 0.88$ (3H, t, $J = 7.2$ Hz, CH_3 -), 1.18-1.52 (18H, m, $-(\text{CH}_2)_9$ -), 1.74 (2H, tt, $J = 7.1, 7.1$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{O}$), 4.25 (2H, t, $J = 7.1$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{O}$), 7.15-7.45 (5H, m, Ph-).

8C-Ph

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : $\delta = 0.88$ (3H, t, $J = 7.2$ Hz, CH_3 -), 1.18-1.50 (10H, m, $-(\text{CH}_2)_5$ -), 1.74 (2H, tt, $J = 7.1, 7.1$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{O}$), 4.24 (2H, t, $J = 7.1$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{O}$), 7.12-7.52 (5H, m, Ph-).

10C-Ph

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : $\delta = 0.88$ (3H, t, $J = 7.2$ Hz, CH_3 -), 1.16-1.50 (14H, m, $-(\text{CH}_2)_7$ -), 1.74 (2H, tt, $J = 7.1, 7.1$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{O}$), 4.24 (2H, t, $J = 7.1$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{O}$), 7.12-7.44 (5H, m, Ph-).

5.2.4.2 mC-nEG の合成

攪拌子を付した 10 mL ナスフラスコに、**mC-Ph** (1.5 mmol)、ポリエチレングリコール (3.0 mmol) および炭酸カリウム (**mC-Ph** に対して 20 wt%) をはかり取り、溶媒としてアセトン (3.0 mL) を加え、アルゴン雰囲気下、室温にて 24 時間攪拌反応を行った。

反応終了後、炭酸カリウムをセライトろ過により除去し、ろ液を減圧濃縮することで粗生成物を得た。精製はシリカゲルカラムクロマトグラフィー [*n*-ヘキサン/アセトン = 4/1 (v/v)] により行い、 $R_f = 0.15$ のフラクションを分取、溶媒を減圧留去することで、無色シロップ状に **mC-nEG** を収率 66-80% で得た。¹H NMR スペクトルおよび元素分析により生成物の同定を行った。Table 5.3 に **mC-nEG** の収率および元素分析の結果を示す。また、**12C-4EG** の ¹H NMR スペクトルとその同定結果を Fig. 5.4 に示す。

Table 5.3 Yield and elemental analysis of **mC-nEG**.

Surfactant	C_mH_{2m+1}	$HO(CH_2CH_2O)_nH$	Yield (%)	C%		H%	
	m	n		Found	Calcd.	Found	Calcd.
8C-4EG	8	4	72	58.03	58.26	9.74	9.78
10C-4EG	10	4	66	59.91	60.29	10.05	10.12
12C-4EG	12	4	70	61.75	62.04	10.41	10.41
12C-3EG	12	3	74	62.63	62.95	10.48	10.57
12C-6EG	12	6	80	60.45	60.70	10.13	10.19

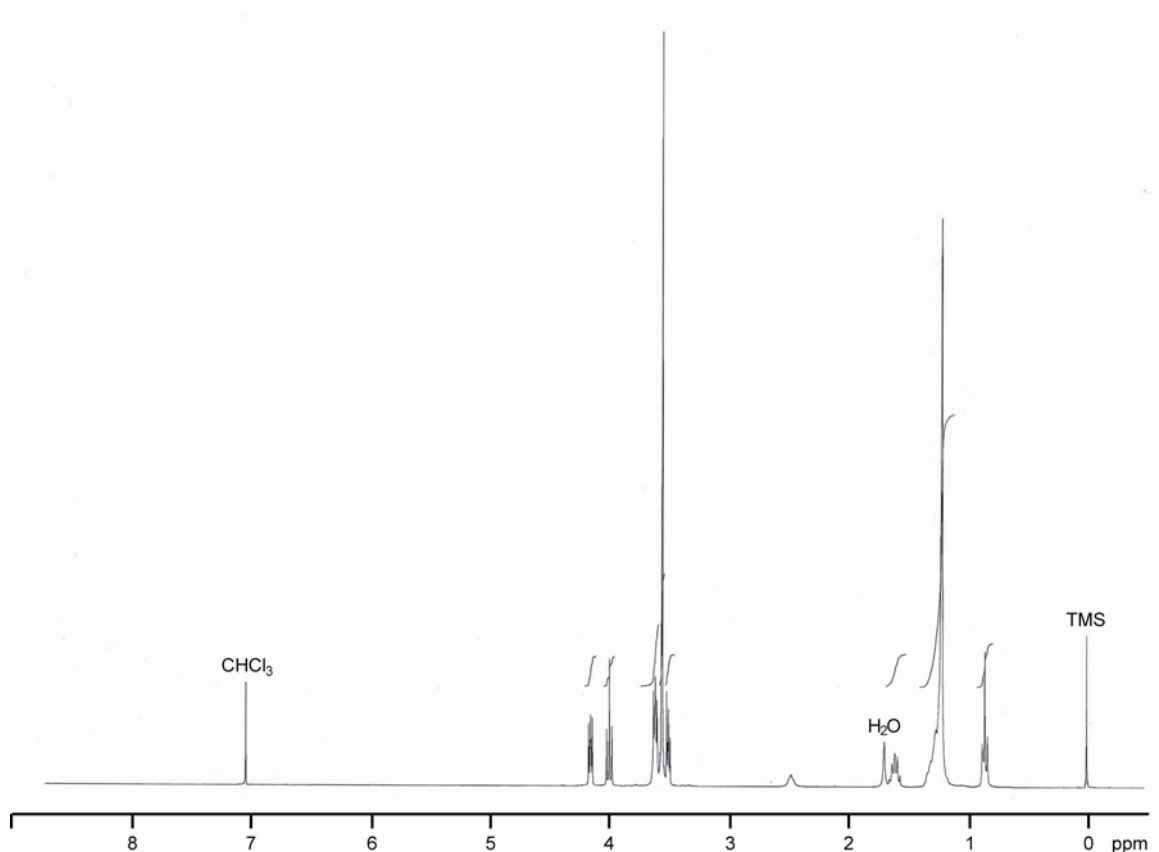


Fig. 5.4 ^1H NMR spectrum of **12C-4EG** (300 MHz, CDCl_3).

12C-4EG

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : δ = 0.88 (3H, t, J = 6.8 Hz, CH_3 -), 1.18-1.48 (18H, m, $-(\text{CH}_2)_9$ -), 1.66 (2H, tt, J = 7.1, 7.1 Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.58-3.78 (14H, m, $7\text{-CH}_2\text{O}$ -), 4.13 (2H, t, J = 7.1 Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.22-4.36 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$).

8C-4EG

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : δ = 0.86 (3H, t, J = 6.8 Hz, CH_3 -), 1.21-1.42 (10H, m, $-(\text{CH}_2)_5$ -), 1.64 (2H, tt, J = 6.8, 6.8 Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.58-3.80 (14H, m, $7\text{-CH}_2\text{O}$ -), 4.14 (2H, t, J = 6.8 Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.24-4.34 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$).

10C-4EG

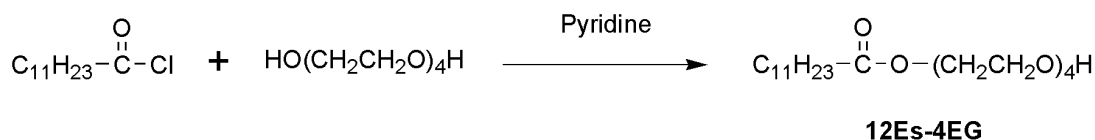
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : δ = 0.88 (3H, t, J = 6.8 Hz, CH_3 -), 1.20-1.44 (14H, m, $-(\text{CH}_2)_7$ -), 1.64 (2H, tt, J = 6.8, 6.8 Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.58-3.80 (14H, m, $7\text{-CH}_2\text{O}$ -), 4.14 (2H, t, J = 6.8 Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.24-4.36 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$).

12C-3EG

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 0.88$ (3H, t, $J = 6.8$ Hz, CH_3 -), 1.18-1.48 (18H, m, $-(\text{CH}_2)_9$ -), 1.66 (2H, tt, $J = 7.1, 7.1$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.58-3.80 (10H, m, 5- CH_2O -), 4.15 (2H, t, $J = 7.1$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.25-4.36 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$).

12C-6EG

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 0.86$ (3H, t, $J = 6.7$ Hz, CH_3 -), 1.14-1.52 (18H, m, $-(\text{CH}_2)_9$ -), 1.66 (2H, tt, $J = 7.1, 7.1$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.54-3.80 (22H, m, 11- CH_2O -), 4.14 (2H, t, $J = 7.1$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.22-4.32 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$).

5.2.5 エステル型非イオン界面活性剤の合成**Scheme 5.5** Synthesis of **12Es-4EG**.

攪拌子を付した 200 mL ナスフラスコに、ラウリン酸クロリド (6.0 mmol) およびテトラエチレングリコール (3.0 mmol) をはかり取り、ついでピリジン (36 mL) を氷浴中徐々に加え、アルゴン雰囲気下、0 °C で 30 分間攪拌反応を行った。さらに、室温で 2 時間攪拌反応を行った (Scheme 5.5)。

反応終了後、溶媒を減圧留去し、粗生成物を得た。精製はシリカゲルカラムクロマトグラフィー [n -ヘキサン/アセトン = 1/1 (v/v)] により行い、 $R_f = 0.45$ のフラクションを分取、溶媒を減圧留去することで、無色シロップ状にテトラオキシエチレン=ドデカノエート (**12Es-4EG**) を収率 82% で得た。 $^1\text{H NMR}$ スペクトルにより生成物の同定を行った。**12Es-4EG** の $^1\text{H NMR}$ スペクトルとその同定結果を Fig. 5.5 に示す。

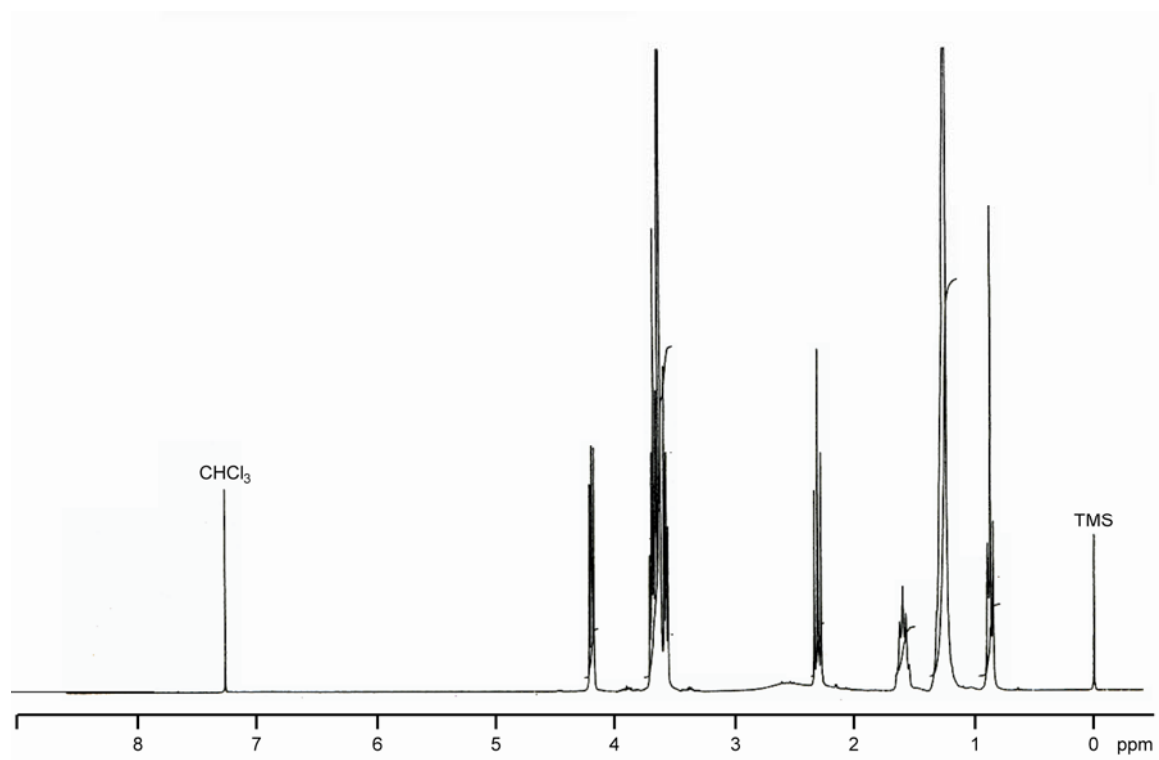


Fig. 5.5 ^1H NMR spectrum of **12Es-4EG** (300 MHz, CDCl_3).

12Es-4EG

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : δ = 0.88 (3H, t, J = 6.6 Hz, CH_3 -), 1.17-1.39 (16H, m, $-(\text{CH}_2)_8$ -), 1.54-1.68 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{O}$), 2.32 (2H, t, J = 7.6 Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{O}$), 3.55-3.78 (14H, m, 7- CH_2O -), 4.18-4.27 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$).

5.2.6 水中安定性

攪拌子を付した 50 mL ナスフラスコに、**12C-4EG** および **12Es-4EG** (10 mg) をはかり取り、純水 (20 mL) を加え、アルゴン雰囲気下、30 °C で 21 日間の加水分解試験を行った。

反応終了後、凍結乾燥により水分を完全に除去することで SEC 用のサンプルを得た。これにクロロホルムを加えて、界面活性剤濃度 3 mg/mL の溶液を調製した。この SEC チャートのピーク面積から事前に作成した検量線を用いて、**12C-4EG** および **12Es-4EG** の残存率を求めた。

5.2.7 界面活性

5.2.7.1 表面張力低下能

2.2.8.1 に記した方法と同様にして非イオン界面活性剤の表面張力を測定した。また、Gibbs の吸着式 [(5.1)および(5.2)式] を用いて非イオン界面活性剤の表面過剰濃度 Γ (mol/m²) および分子占有面積 A_{\min} (nm²)を算出した^[167]。

$$\Gamma = \frac{-1}{2.30RT} \left(\frac{d\gamma}{d\log C} \right) \quad (5.1)$$

$$A_{\min} = \frac{10^{18}}{N_A \Gamma} \quad (5.2)$$

R: 気体定数 (= 8.31 J/mol K)

T: 絶対温度 (K)

γ : 表面張力 (mN/m)

$d\gamma/d \log C$: cmc 以下の濃度における表面張力-濃度曲線の接線の傾き

N_A : アボガドロ数 (= 6.02×10^{23})

5.2.7.2 起泡力および泡安定性

2.2.8.2 に記した方法と同様にして非イオン界面活性剤濃度 2.5 mM 水溶液の泡体積を測定し、起泡力および泡安定性を評価した。

5.2.8 生分解性

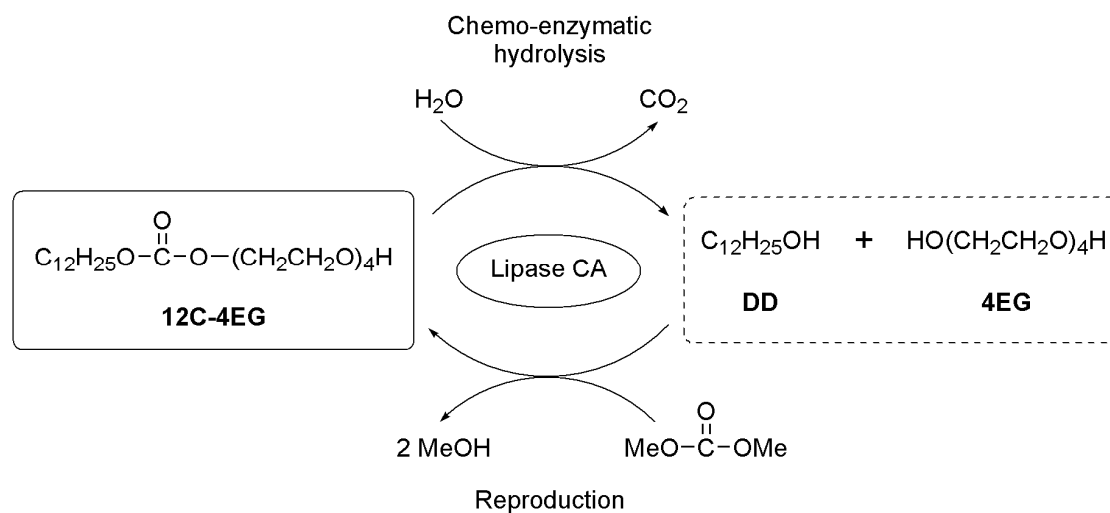
2.2.11 に記した方法と同様に活性汚泥を用いて BOD 試験を行うことで非イオン界面活性剤の生分解性を評価した。非イオン界面活性剤の ThOD が $40 \text{ mgO}_2/250 \text{ mL}$ になるように仕込み量を決定した。BOD 試験を行ったカーボネート型非イオン界面活性剤の仕込み量を Table 5.4 に示す。

Table 5.4 Sample weight of carbonate-type nonionics for BOD test.

Compound	Molecular formula	Molecular weight (g/mol)	ThOD (mgO_2/mg)	Sample weight (mg)
12C-4EG	$\text{C}_{21}\text{H}_{42}\text{O}_7$	406.6	2.2	18.2
12C-6EG	$\text{C}_{25}\text{H}_{50}\text{O}_9$	494.7	2.1	18.7

5.2.9 ケミカルリサイクル

触媒として *Candida antarctica* 由来の固定化リパーゼ (lipase CA) を用いて、**12C-4EG** のケミカルリサイクルについて検討を行った (Scheme 5.6)。



Scheme 5.6 Chemo-enzymatic hydrolysis and reproduction as the chemical recycling of **12C-4EG** using immobilized lipase CA.

5.2.9.1 化学—酵素加水分解

攪拌子を付した 10 mL ナスフラスコに、**12C-4EG** (150 mg) をはかり取り、ついでトルエン (1.5 mL) および蒸留水 (15 μ L, トルエンに対して 1.0 vol%) を加えた。さらに、触媒として lipase CA (150 mg, 100 wt%) を加え、アルゴン雰囲気下、オイルバス中 50 $^{\circ}$ C で 5 日間攪拌反応を行った。

反応終了後、反応物にアセトン (5.0 mL) を加え、ついでセライトろ過により不溶の酵素をろ別し、ろ液を減圧濃縮することで粗生成物を得た。精製はシリカゲルカラムクロマトグラフィー [*n*-ヘキサン/アセトン = 3/1 (v/v)] により行い、 $R_f = 0.50$ のフラクションを分取、溶媒を減圧留去することで、無色シロップ状に 1-ドデカノールを収率 89% で得た。 ^1H NMR スペクトルにより生成物の同定を行った。1-ドデカノールの ^1H NMR スペクトルとその同定結果を Fig. 5.6 に示す。

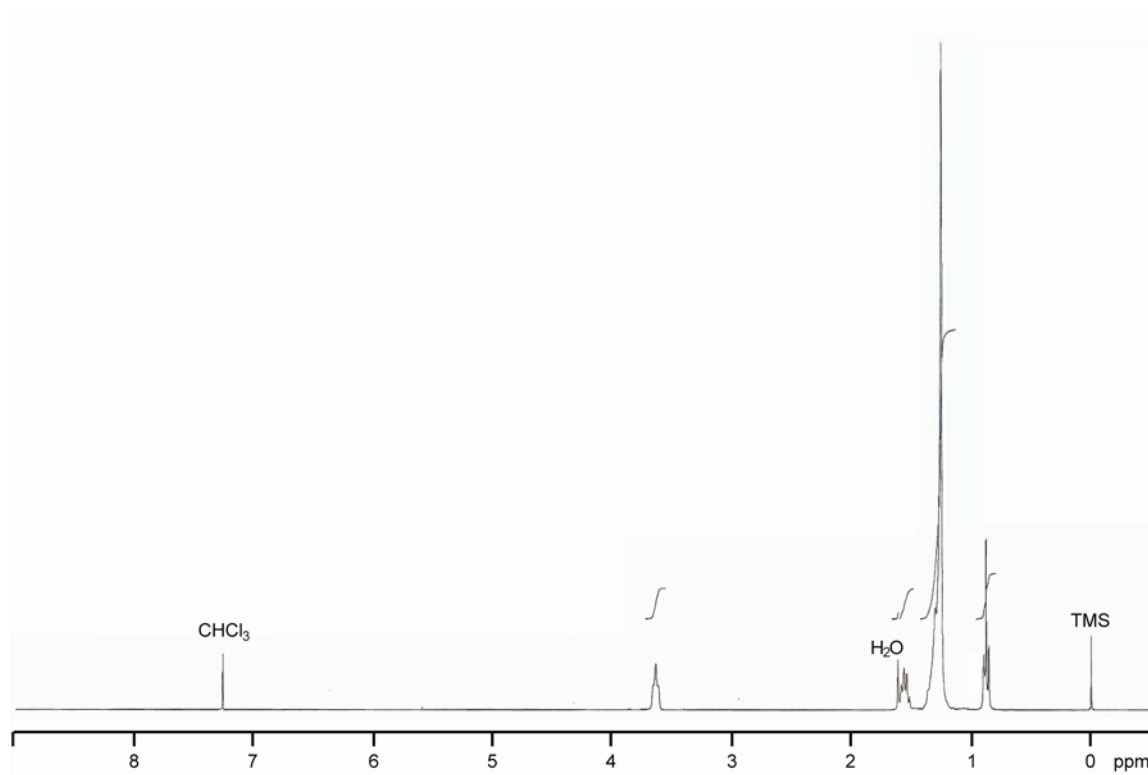


Fig. 5.6 ^1H NMR spectrum of 1-dodecanol (300 MHz, CDCl_3).

1-Dodecanol

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) : $\delta = 0.88$ (3H, t, $J = 6.6$ Hz, CH_3 -), 1.17-1.39 (18H, m, $-(\text{CH}_2)_9$ -), 1.54-1.68 (2H, tt, $J = 7.1, 7.1$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 3.59-3.72 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$).

5.2.9.2 再合成

(1) *n*-ドデシル=メチル=カーボネートの合成

攪拌子を付した 10 mL ナスフラスコに、ジメチルカーボネート (54.1 mg, 0.6 mmol) および 1-ドデカノール (37.3 mg, 0.2 mmol) をはかり取り、ついで、触媒として lipase CA (9.1 mg, ジメチルカーボネートおよび 1-ドデカノールの合計量に対して 10 wt%) を加え、オイルバス中 70 °C で 24 時間攪拌反応を行った。

反応終了後、反応物にクロロホルム (1.0 mL) を加え、セライトろ過により不溶の酵素をろ別し、ろ液を減圧濃縮することで粗生成物を得た。精製はシリカゲルカラムクロマトグラフィー [*n*-ヘキサン/クロロホルム = 3/1 (v/v)] により行い、 $R_f = 0.65$ のフラクションを分取、溶媒を減圧留去することで、無色シロップ状に *n*-ドデシル=メチル=カーボネート (**12C-Me**) を収率 81% で得た。¹H NMR スペクトルにより生成物の同定を行った。¹H NMR スペクトルにより生成物の同定を行った。**12C-Me** の ¹H NMR スペクトルとその同定結果を Fig. 5.7 に示す。

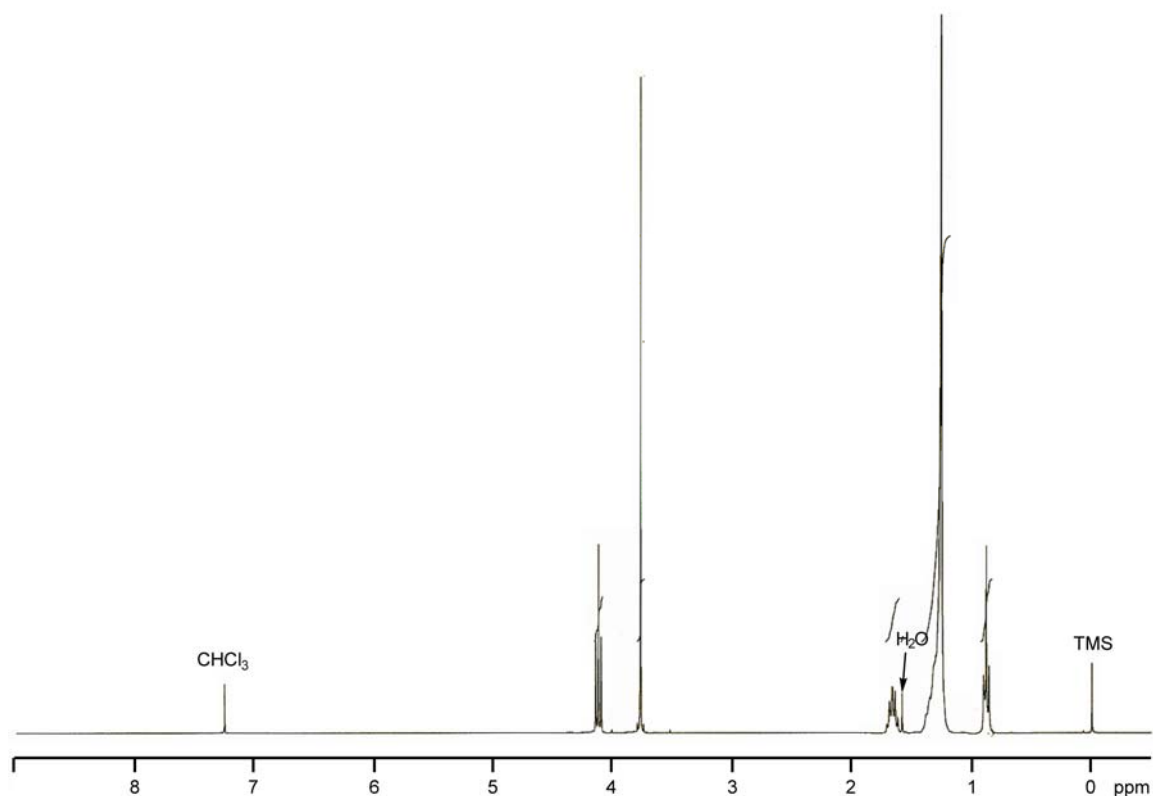


Fig. 5.7 ¹H NMR spectrum of **12C-Me** (300 MHz, CDCl₃).

12C-Me

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) : δ = 0.88 (3H, t, J = 6.9 Hz, CH_3 -), 1.18-1.42 (18H, m, $-(\text{CH}_2)_9$ -), 1.66 (2H, tt, J = 7.2, 7.2 Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_3$), 3.78 (3H, s, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_3$), 4.14 (2H, t, J = 7.2 Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_3$).

(2) 12C-4EG の合成

攪拌子を付した 10 mL ナスフラスコに、**12C-Me** (48.8 mg, 0.2 mmol) およびテトラエチレングリコール (77.7 mg, 0.4 mmol) をはかり取り、ついで、触媒として lipase CA (12.7 mg, **12C-Me** およびテトラエチレングリコールの合計量に対して 10 wt%) を加え、オイルバス中 60 °C、常圧で 16 時間攪拌反応を行った。さらに、圧力を 5 mmHg にして、オイルバス中 60 °C で 8 時間攪拌反応を行った。

反応終了後、反応物にアセトン (5.0 mL) を加え、セライトろ過により不溶の酵素をろ別し、ろ液を減圧濃縮することで粗生成物を得た。精製はシリカゲルカラムクロマトグラフィー [n -ヘキサン/アセトン = 1/1 (v/v)] により行い、 R_f = 0.55 のフラクションを分取、溶媒を減圧留去することで、無色シロップ状に **12C-4EG** を収率 30% で得た。 $^1\text{H NMR}$ スペクトルにより生成物の同定を行った。 $^1\text{H NMR}$ スペクトルは Fig. 5.4 と一致した。以下に同定結果を示す。

12C-4EG

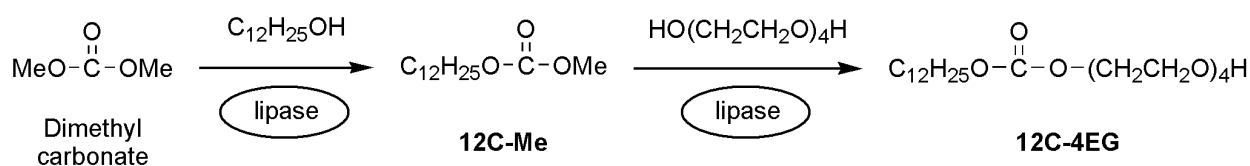
$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) : δ = 0.88 (3H, t, J = 6.8 Hz, CH_3 -), 1.18-1.48 (18H, m, $-(\text{CH}_2)_9$ -), 1.66 (2H, tt, J = 7.1, 7.1 Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.58-3.78 (14H, m, 7- CH_2O -), 4.13 (2H, t, J = 7.1 Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.22-4.36 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$).

5.3 結果と考察

5.3.1 ジメチルカーボネートを原料に用いた 12C-4EG の合成

カーボネート結合を有する化合物の合成には、一般にホスゲンや酸クロリドなどのハロゲン化合物が用いられる。グリーンケミストリーの観点から、次世代型界面活性剤の合成には、酸性物質を副生しない、ハロゲンフリープロセスによる合成が求められる。

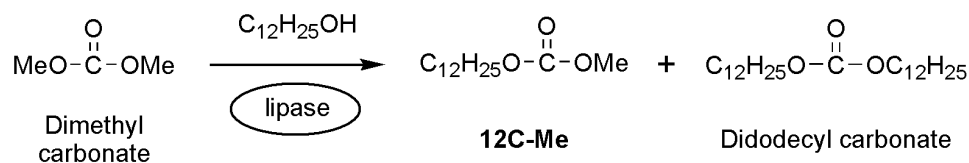
本項では、ジメチルカーボネートを原料に、リパーゼを触媒に用いた **12C-4EG** の合成について検討を行った。具体的には、リパーゼ存在下、ジメチルカーボネートに 1-ドデカノール (**DD**) を作用させ、*n*-ドデシル=メチル=カーボネート (**12C-Me**) を得、次いで、**12C-Me** とテトラエチレングリコール (**4EG**) をリパーゼ存在下で反応させることで **12C-4EG** を合成した (Scheme 5.7)。リパーゼは再生・再利用可能であり、高触媒活性および高選択性を有する環境調和型触媒である。このような特徴から、リパーゼを触媒に用いた反応は環境低負荷なプロセスとして期待される。



Scheme 5.7 Lipase-catalyzed synthesis of **12C-4EG** using dimethyl carbonate.

5.3.1.1 12C-Me の合成

リパーゼを触媒に用いたジメチルカーボネートと **DD** の反応について、酵素起源、反応温度およびジメチルカーボネートと **DD** の仕込み比が反応混合物の組成比に与える影響を調べた。合成スキームを Scheme 5.8 に示す。



Scheme 5.8 Lipase-catalyzed synthesis of **12C-Me**.

種々の条件で反応を行い、未反応のジメチルカーボネートを除くことで、**12C-Me**、ジドデシルカーボネートおよび **DD** の混合物を得た。これの ^1H NMR スペクトルよりそれぞれの組成比を求めた。溶媒に CDCl_3 を使い、 $\delta = 0.88$ の CH_3 -のプロトン数を 3 として、メチルカーボネートピーク a [$\delta = 3.78$ ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_3$)]、カーボネート結合に隣接したメチレンピーク b [$\delta = 4.07$ - 4.20 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_3$, $\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2$)] およびヒドロキシ基に隣接したメチレンピーク c [$\delta = 3.62$ ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$)] のプロトン数から、**12C-Me**、ジドデシルカーボネートおよび **DD** の組成比を算出した。一例として、lipase CA を触媒に用いた際に得られた反応混合物の ^1H NMR スペクトルを Fig. 5.8 に示す。

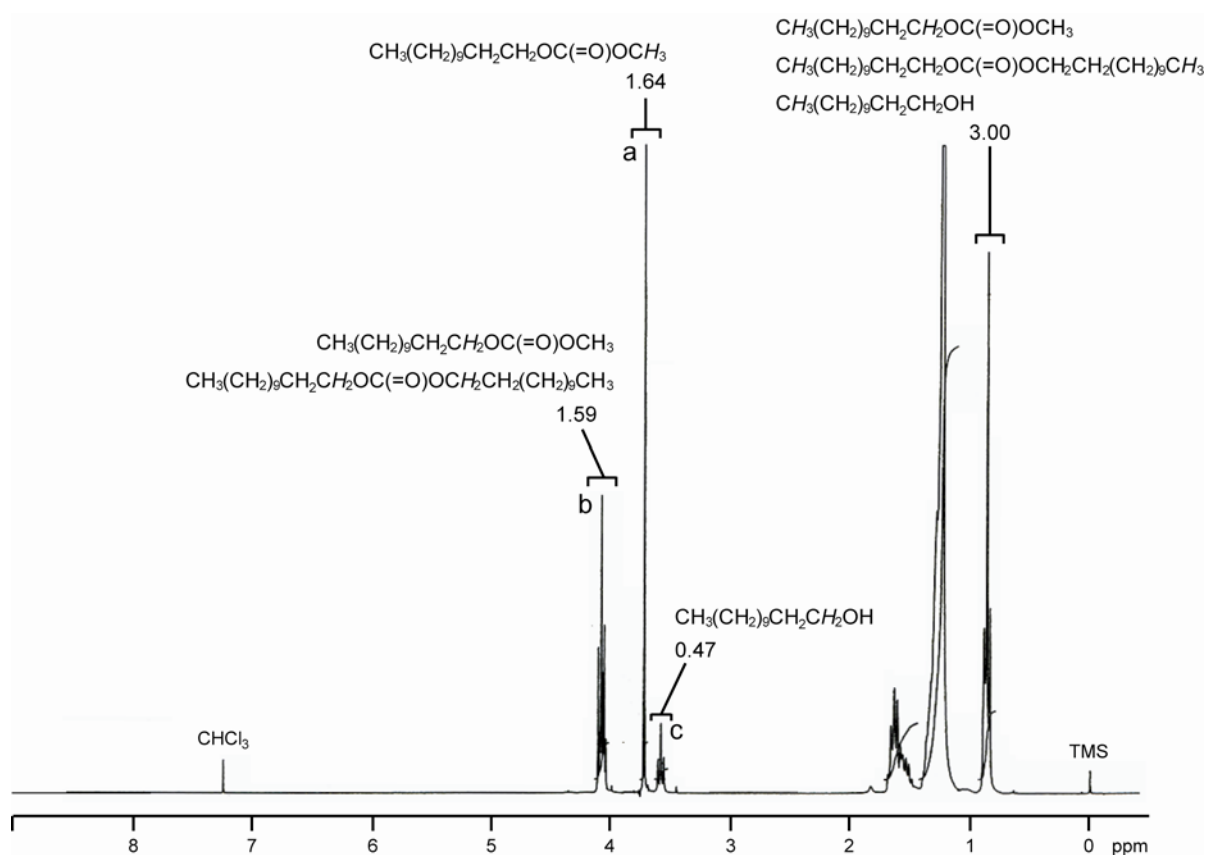


Fig. 5.8 ^1H NMR spectrum of the crude product (270 MHz, CDCl_3). Reaction conditions: dimethyl carbonate (90.0 mg, 1.0 mmol), **DD** (93.2 mg, 0.5 mmol) and lipase CA (18.3 mg) were stirred at 40°C for 24 h.

12C-Me、ジドデシルカーボネートおよび **DD** の反応混合物中のモル数を p 、 q 、 r とすると、 a 、 b 、 c のプロトン数は、それぞれ以下の式で表せる。

$$a = 3p, b = 2p + 4q, c = 2r \quad (5.3)$$

これらを p 、 q 、 r に関して解くと次のようになる。

$$p = a/3, q = b/4 - a/6, r = c/2 \quad (5.4)$$

したがって、**12C-Me**、ジドデシルカーボネートおよび **DD** の組成比 (P 、 Q 、 R) は、以下の式から求められる。

$$P = p/(p+q+r) = 4a/(2a+3b+6c), Q = q/(p+q+r) = (3b-2a)/(2a+3b+6c), R = r/(p+q+r) = 6c/(2a+3b+6c) \quad (5.5)$$

(5.5)式より、Fig. 5.7における **12C-Me**、ジドデシルカーボネートおよび **DD** の組成比は、60, 14, 26 mol%と求められる。

(1) 酵素スクリーニング

各リパーゼを触媒として用いた際の **12C-Me**、ジドデシルカーボネートおよび **DD** の組成比を Table 5.5 に示す。

Table 5.5 Carbonate exchange reaction using various lipases.

Entry	Lipase	Composition		
		12C-Me (mol%)	Didodecyl carbonate (mol%)	Unreacted DD (mol%)
1	<i>Candida antarctica</i> (CA)	60	14	26
2	Porcine pancreas lipase (PPL)	5	0	95
3	<i>Candida rugosa</i> (CR)	2	0	98
4	<i>Burkholderia cepacia</i> (PS-C)	0	0	100
5	Thermally deactivated lipase CA	0	0	100
6	Blank	0	0	100

Reaction conditions: dimethyl carbonate (90.0 mg, 1.0 mmol), **DD** (93.2 mg, 0.5 mmol) and lipase (18.3 mg) were stirred at 40 °C for 24 h.

反応を行ったリパーゼのうち、entry 1 の lipase CA を用いた際に最も高い活性が認められた。Entry 5 の熱失活 lipase CA および entry 6 のリパーゼ非存在下では、反応が全く進行しなかったことから、本反応は lipase CA の触媒作用によって進行することが確認された。以後の検討では、lipase CA を触媒に用いた。

(2) 反応温度

反応温度が **12C-Me**、ジドデシルカーボネートおよび **DD** の組成比に与える影響を調べた。結果を Fig. 5.9 に示す。

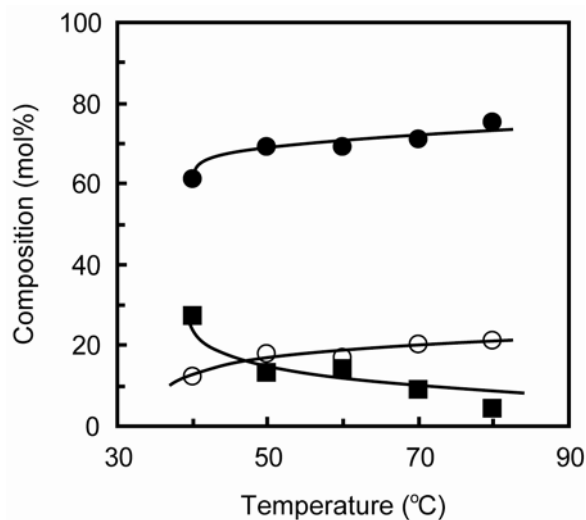


Fig. 5.9 Effects of temperature on the composition of **12C-Me** (●), didodecyl carbonate (○) and **DD** (■). Reaction conditions: dimethyl carbonate (2.0 mmol, 180.2 mg), **DD** (1.0 mmol, 186.3 mg) and lipase CA (36.6 mg) were stirred for 24 h.

12C-Me およびジドデシルカーボネートの組成比は、温度が高くなるにつれて徐々に増加した。一方、**DD** の組成比は減少した。ジメチルカーボネートの沸点 (90 °C) を考慮し、最適温度を 70 °C とした。

(3) ジメチルカーボネートと DD の仕込み比

ジメチルカーボネートと DD の仕込み比が **12C-Me**、ジドデシルカーボネートおよび DD の組成比に与える影響を調べた。結果を Fig. 5.10 に示す。

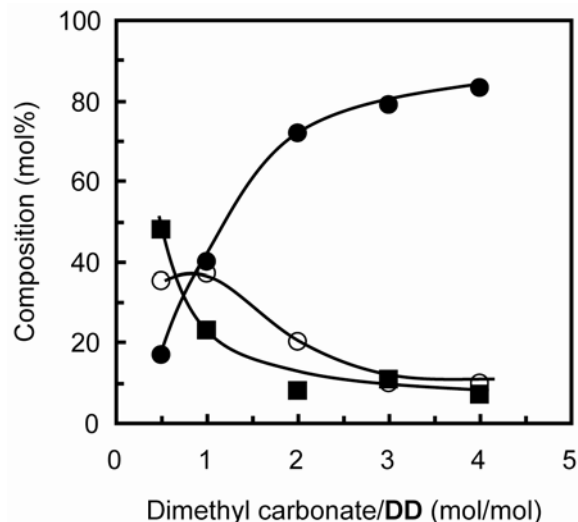
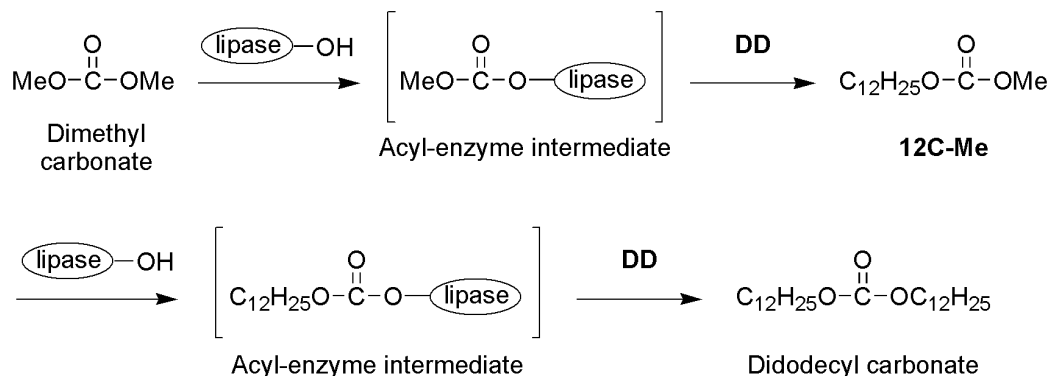


Fig. 5.10 Effects of molar ratio between dimethyl carbonate and DD on the composition of **12C-Me** (●), didodecyl carbonate (○) and DD (■). Reaction conditions: dimethyl carbonate, DD (93.2 mg, 0.5 mmol) and lipase CA (10 wt% relative to both dimethyl carbonate and DD) were stirred at 70 °C for 24 h.

ジドデシルカーボネートの組成比は、ジメチルカーボネート/DD の増加と共に減少したが、一方、**12C-Me** の組成比は増加した。ジドデシルカーボネートは、**12C-Me** と DD が反応することで生成する (Scheme 5.9)。ジメチルカーボネートは、酵素に含まれる水分によって加水分解と脱炭酸を受けることが予想される。このために、ジメチルカーボネート/DD = 1/1 (mol/mol) では、ジメチルカーボネートよりも DD の存在量が多くなり、その結果としてジドデシルカーボネートが生成しやすくなったものと考えられる。



Scheme 5.9 Proposed mechanism for the lipase-catalyzed carbonate exchange reaction of dimethyl carbonate and DD.

ジメチルカーボネートと **DD** の反応による **12C-Me** 合成の最適条件を以下にまとめる。

ジメチルカーボネート/**DD** = 3/1 (mol/mol)、10 wt% lipase CA (ジメチルカーボネートおよび **DD** の合計量に対して)、70 °C、24 時間

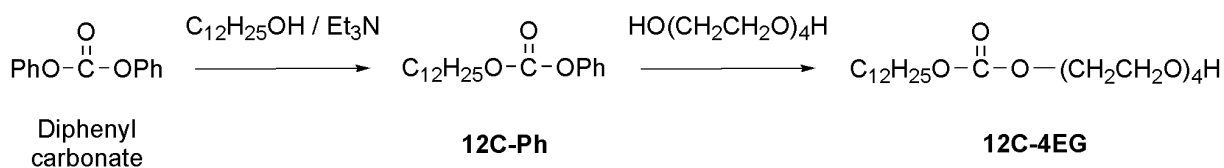
この条件で反応を行い、粗生成物の精製をシリカゲルカラムクロマトグラフィー [*n*-ヘキサン/クロロホルム = 3/1 (v/v), $R_f = 0.65$] により行うことで、**12C-Me** を収率 81% で得た。

5.3.1.2 **12C-4EG** の合成

Lipase CA 存在下、**12C-Me** と **4EG** を反応させることで **12C-4EG** を合成した。まず、**12C-Me** (25 mmol)、**4EG** (50 mmol) および lipase CA (1.6 g) をはかり取り、60 °C、常圧で 16 時間反応を行った。さらに、縮合物であるメタノールを系内から除くために圧力を 5 mmHg にして 8 時間反応を行った。得られた反応混合物の精製をシリカゲルカラムクロマトグラフィー [*n*-ヘキサン/アセトン = 1/1 (v/v), $R_f = 0.55$] により行うことで、**12C-4EG** を収率 30% で得た。比較的 low 収率に止まった理由としては、反応中に **12C-Me** および **12C-4EG** のカーボネート結合が lipase CA に含まれる水分によって加水分解と脱炭酸を受けたことが挙げられる。

5.3.2 ジフェニルカーボネートを原料に用いた mC-nEG の合成

12C-4EG の収率向上のために、ジフェニルカーボネートを原料に用いた反応について検討を行った (Scheme 5.10)。トリエチルアミン存在下、ジフェニルカーボネートと **DD** を反応させることで **12C-Ph** を合成し、これと **4EG** を反応させることで **12C-4EG** を得た。なお、**12C-Ph** は、2.3.1 に記した方法と同様にして合成した。**12C-Ph** と **4EG** の反応について種々の反応条件が **12C-4EG** の収率に与える影響を調べた。



Scheme 5.10 Synthesis of **12C-Ph** and **12C-4EG**.

5.3.2.1 トリエチルアミンを触媒に用いた反応

トリエチルアミンを触媒に用いた **12C-Ph** と **4EG** の反応について、反応時間および **4EG** と **12C-Ph** の仕込み比が **12C-4EG** の収率に与える影響を調べた。

(1) 反応時間

4EG / **12C-Ph** / トリエチルアミン = 2/1/1 (mol)、80 °C の条件で 24, 48, 72 時間反応を行った。その結果、**12C-4EG** の収率は 39, 64, 62% となった。48 時間で収率が最大となったため、最適反応時間を 48 時間とした。

(2) **4EG** と **12C-Ph** の仕込み比

4EG と **12C-Ph** の仕込み比が **12C-4EG** の収率に与える影響を調べた。結果を Fig. 5.11 に示す。**12C-4EG** の収率は、**4EG** / **12C-Ph** = 2/1 (mol/mol) のときに最大となった。

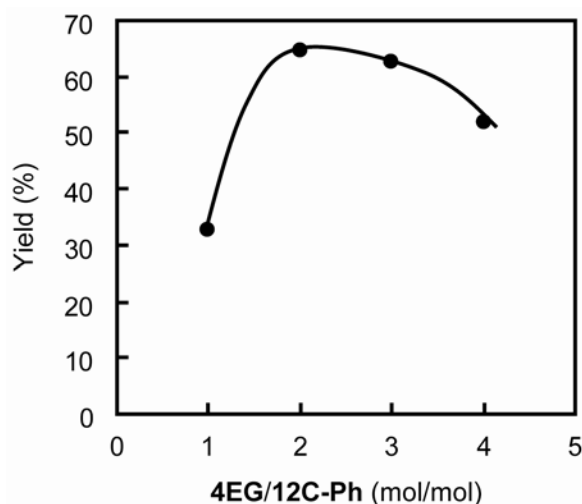


Fig. 5.11 Effects of molar ratio of **4EG** and **12C-Ph** on the yield of **12C-4EG**. Reaction conditions: **4EG**, **12C-Ph** (153.2 mg, 0.5 mmol) and Et_3N (50.6 mg, 0.5 mmol) were stirred at 80 °C for 48 h.

トリエチルアミンを触媒に用いた **12C-Ph** と **4EG** の反応による **12C-4EG** 合成の最適条件を以下にまとめる。

4EG/12C-Ph/トリエチルアミン = 2/1/1 (mol)、80 °C、48 時間

この条件で反応を行い、粗生成物の精製をシリカゲルカラムクロマトグラフィー [*n*-ヘキサン/アセトン = 4/1 (v/v), $R_f = 0.15$] により行うことで **12C-4EG** を収率 64% で得た。

5.3.2.2 リパーゼおよび炭酸カリウムを触媒に用いた反応

12C-4EG の更なる収率向上のために、lipase CA および炭酸カリウムを触媒に用いて **12C-Ph** と **4EG** の反応を行った。結果を Table 5.6 に示す。

Table 5.6 Carbonate exchange reaction of **4EG** and **12C-Ph** using lipase CA and K_2CO_3 .

Entry	Catalyst	4EG/12C-Ph (mol/mol)	Yield (%)
1	Lipase CA	1/1	30
2	Lipase CA	2/1	44
3	K_2CO_3	1/1	34
4	K_2CO_3	2/1	53

Reaction conditions: **4EG**, **12C-Ph** (153.2 mg, 0.5 mmol) and catalyst (30.6 mg) were stirred at room temperature for 24 h.

12C-4EG の収率は、lipase CA を触媒に用いた場合の方が炭酸カリウムを用いた場合よりも僅かに低かった。これは、反応中に **12C-Ph** および **12C-4EG** のカーボネート結合が lipase CA に含まれる水分によって加水分解と脱炭酸を受けたことによるものと考えられる。

触媒に炭酸カリウムを用いて **4EG** と **12C-Ph** の仕込み比が **12C-4EG** の収率に与える影響を調べた。結果を Fig. 5.12 に示す。

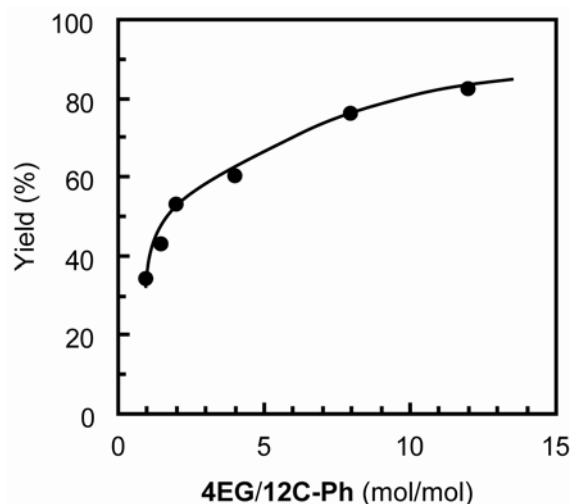


Fig. 5.12 Effects of molar ratio of **4EG** and **12C-Ph** on the yield of **12C-4EG** in bulk. Reaction conditions: **4EG**, **12C-Ph** (153.2 mg, 0.5 mmol) and K_2CO_3 (30.6 mg) were stirred at room temperature for 24 h.

4EG と **12C-Ph** の仕込み比の増加と共に **12C-4EG** の収率は上昇した。**4EG/12C-Ph** = 12/1 (mol/mol) のときに **12C-4EG** の収率は 81% となった。このことは、**4EG** の求核性がそれほど高くないことを示している。本研究では、原子効率を考慮し、**4EG/12C-Ph** = 2/1 (mol/mol) を最適条件とした^[104,105]。

次いで、アセトンを溶媒として加えて、**12C-Ph** と **4EG** の反応を行った (**12C-Ph** 濃度 : 300 mg/mL)。無溶媒条件下では、**12C-4EG** の収率は 53% であったのに対し、アセトンを用いた際には 70% となった。溶媒を加えることで比較的粘性の高い **12C-Ph** および **4EG** が混和し、反応が進行しやすくなったものと考えられる。

12C-Ph と **4EG** の反応による **12C-4EG** 合成の最適条件を以下にまとめる。

4EG/12C-Ph = 2/1 (mol/mol)、20 wt% 炭酸カリウム (**12C-Ph** に対して)、アセトン (**12C-Ph** 濃度 : 300 mg/mL)、室温、24 時間

この条件で反応を行い、得られた粗生成物の精製をシリカゲルカラムクロマトグラフィー [*n*-ヘキサン/アセトン = 4/1 (v/v), $R_f = 0.15$] により行うことで **12C-4EG** を収率 70% で得た。同様の条件で反応を行うことにより、**mC-nEG** を収率 66-80% で得た。疎水基鎖長および親水基のポリオキシエチレン鎖長による収率の顕著な差異は認められなかった。

5.3.3 水中安定性

純水中、30 °C の条件で **12C-4EG** および **12Es-4EG** の加水分解試験を行った。結果を Fig. 5.13 に示す。

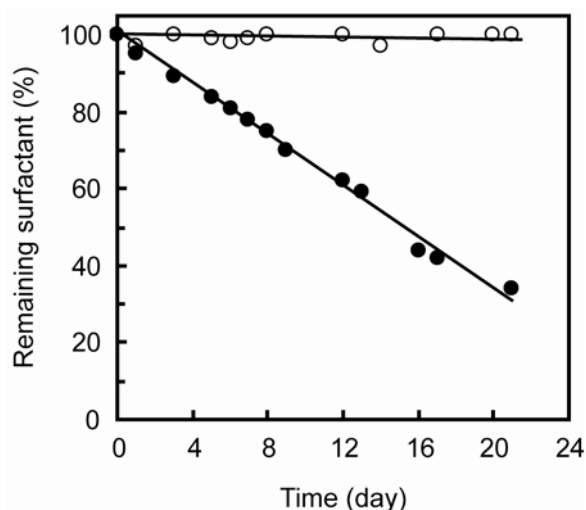


Fig. 5.13 Time course of hydrolytic degradation of carbonate-type **12C-4EG** (○) and ester-type **12Es-4EG** (●) at 0.5 g/L in distilled water at 30 °C for 21 d.

カーボネート結合を有する **12C-4EG** は殆ど分解されず、21 日後でも 99% が残存していた。一方、エステル結合を有する **12Es-4EG** は時間と共に徐々に分解され、21 日後の残存率は 35% となった。**12Es-4EG** が加水分解されるとカルボン酸を生成するため、系内は酸性となる。この自触媒作用により、**12Es-4EG** は分解されたものと考えられる。以上の結果から、**12C-4EG** は **12Es-4EG** よりも高い水中安定性を有することが確認された。

5.3.4 界面活性

5.3.4.1 表面張力低下能

カーボネート結合を有する **mC-nEG** の表面張力-濃度曲線を Fig. 5.14 に示す。この結果から、cmc、 γ_{cmc} および A_{min} 値を算出した。また、エステル型非イオン界面活性剤 **12Es-4EG**、エーテル型非イオン界面活性剤ドデシル=テトラオキシエチレン=エーテル (**12Et-4EG**) およびドデシル=ヘキサオキシエチレン=エーテル (**12Et-6EG**) についても同様の測定を行い、各パラメーターを算出した。非イオン界面活性剤の cmc、 γ_{cmc} および A_{min} を Table 5.7 にまとめた。

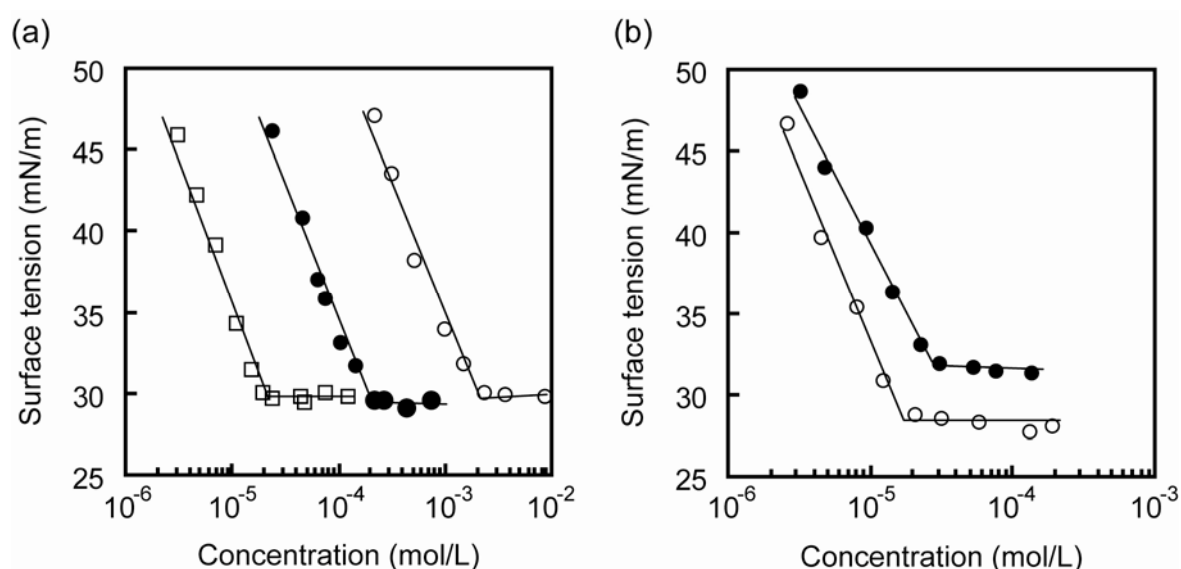


Fig. 5.14 Surface tension vs. concentration of **mC-nEG** in aqueous solution at 25 °C. (a) **8C-4EG** (○); **10C-4EG** (●); **12C-4EG** (□). (b) **12C-3EG** (○); **12C-6EG** (●).

Table 5.7 Surfactant properties of nonionics in aqueous solution at 25 °C.

Surfactant	cmc (mM)	γ_{cmc} (mN/m)	$10^2 A_{min}$ (nm ²)
8C-4EG	1.6	30	51
10C-4EG	0.17	30	49
12C-4EG	0.019	30	45
12C-3EG	0.015	29	42
12C-6EG	0.029	32	56

12Es-4EG	0.074	29	42
12Et-4EG	0.055	29	48
12Et-6EG ^[125]	0.11	31	67

(1) cmc

エステル型 **12Es-4EG** とエーテル型 **12Et-4EG** の cmc に顕著な差異は認められなかった。モノエステル型およびジエステル型のカチオン界面活性剤のエステル結合は、疎水基の一部として分子間疎水性相互作用に寄与することが報告されている^[76,168]。このことから、**12Es-4EG** のカルボニル部分と **12Et-4EG** のメチレン鎖1つ分の疎水性は同等であると考えられる。

カーボネート型 **12C-4EG** の cmc は、エーテル型 **12Et-4EG** の 1/3 程度であった。ポリオキシエチレン鎖を親水基とする非イオン界面活性剤の cmc は、疎水基のメチレン鎖が1つ増えると 1/3 になることが報告されている^[42]。したがって、カーボネート結合のオキシカルボニル部分はメチレン鎖1つ分に相当しているものと考えられる。これにより、**12C-4EG** の分子間疎水性相互作用は **12Et-4EG** よりも強くなり、その結果として **12C-4EG** の cmc は **12Et-4EG** の 1/3 程度になったものと考えられる。

(2) γ_{cmc} および A_{min}

カーボネート型 **12C-4EG**、エステル型 **12Es-4EG** およびエーテル型 **12Et-4EG** の γ_{cmc} および A_{min} に顕著な差異は認められなかった。このことから、親水基と疎水基の間の結合は分子間相互作用に殆ど影響を与えないものと考えられる。

ドデシル基を有するカーボネート型界面活性剤 (**12C-3EG**, **12C-4EG**, **12C-6EG**) の γ_{cmc} は、ポリオキシエチレン鎖が短いほど小さくなり、**12C-3EG** の γ_{cmc} が最も小さかった。これは、**12C-3EG** の分子間に働く相互作用が最も強いことを示している。このことは、**12C-3EG** の A_{min} が最も小さいことから支持される。

5.3.4.2 起泡力および泡安定性

250 mL の空気を界面活性剤水溶液に吹き込んだ直後の泡体積を起泡力、5 分後のものを泡安定性として評価を行った。ドデシル基を有する **12C-4EG**、**12Es-4EG** および **12Et-4EG** の起泡力および泡安定性の結果を Fig. 5.15 に示す。**12C-4EG**、**12Es-4EG** および **12Et-4EG** の起泡力および泡安定性に顕著な差異は認められなかった。これは、**12C-4EG**、**12Es-4EG** および **12Et-4EG** の A_{\min} に殆ど差異がないことによるものと考えられる。

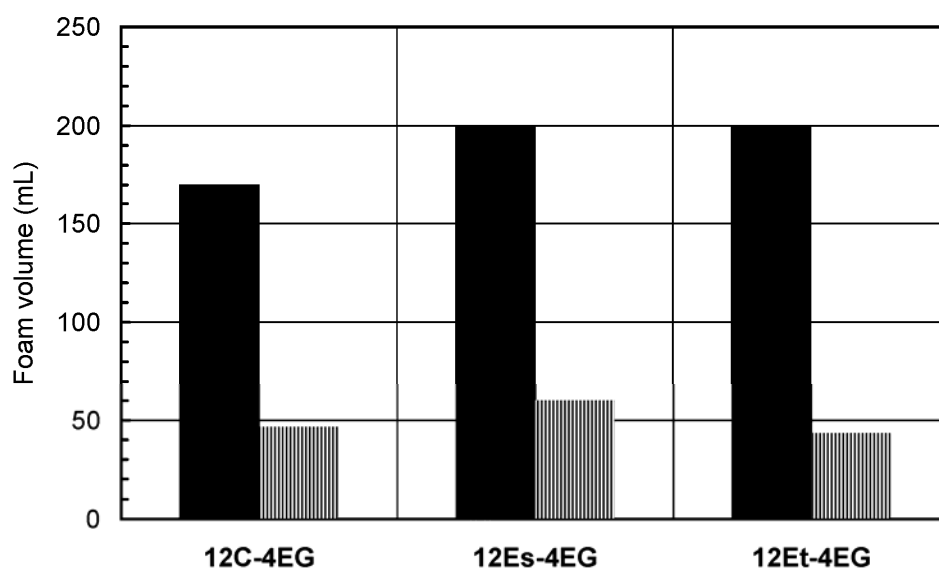


Fig. 5.15 Foam production and stability of **12C-4EG**, **12Es-4EG** and **12Et-4EG** by semi-micro TK method in aqueous solution (sample concentration: 2.5 mM, temp.: 25 °C). Black: 0 min, stripe: 5 min.

5.3.5 生分解性

カーボネート結合を有する非イオン界面活性剤の生分解は、微生物酵素（菌体外酵素）によりカーボネート結合が加水分解と脱炭酸を受け、ポリエチレングリコールおよび長鎖アルコールが生成することによって開始するものと想定される。これらは微生物体内に取り込まれ、 β -酸化および ω -酸化によって分解されるものと考えられる。

12C-4EG および **12C-6EG** を被験物質として 28 日間の BOD 試験を行った。それらの生分解率の経時変化を Fig. 5.16 に示す。なお、試験の有効性の確認のため、アニリンについても同様にして BOD 試験を行った。

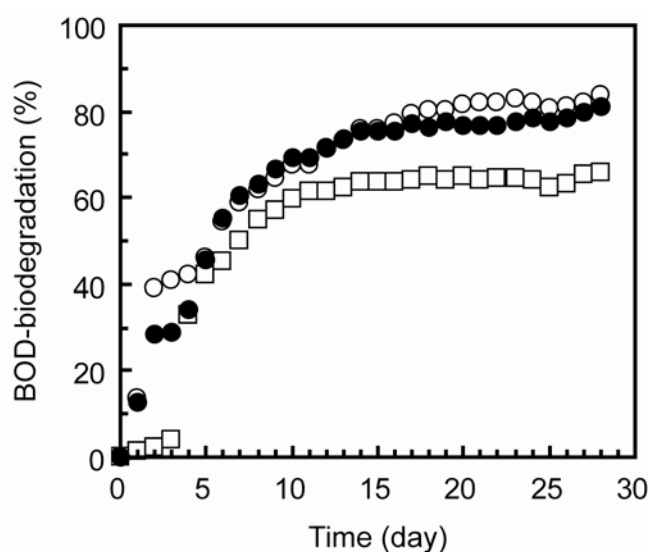


Fig. 5.16 Time courses of BOD-biodegradation of **12C-4EG** (\circ), **12C-6EG** (\bullet) and aniline (\square) as a reference at 25 °C for 28 d. Activated sludge: 30 ppm, nonionics: 80 ppm, aniline: 52 ppm.

12C-4EG および **12C-6EG** はいずれも活性汚泥により速やかに生分解され、28 日後の生分解率は 80%に達した。BOD 試験では生分解率が 60%を越えると、その試料は環境中でも容易に分解する（易分解性）と見なされる。この結果から、非イオン界面活性剤のカーボネート結合は生分解性セグメントとして有効であることが認められた。

5.3.6 ケミカルリサイクル

Lipase CA を触媒に用いた **12C-4EG** の加水分解反応を 50 °C、1 日の条件で行った。これにより得られた粗生成物の ^1H NMR スペクトルを Fig. 5.17 に示す。

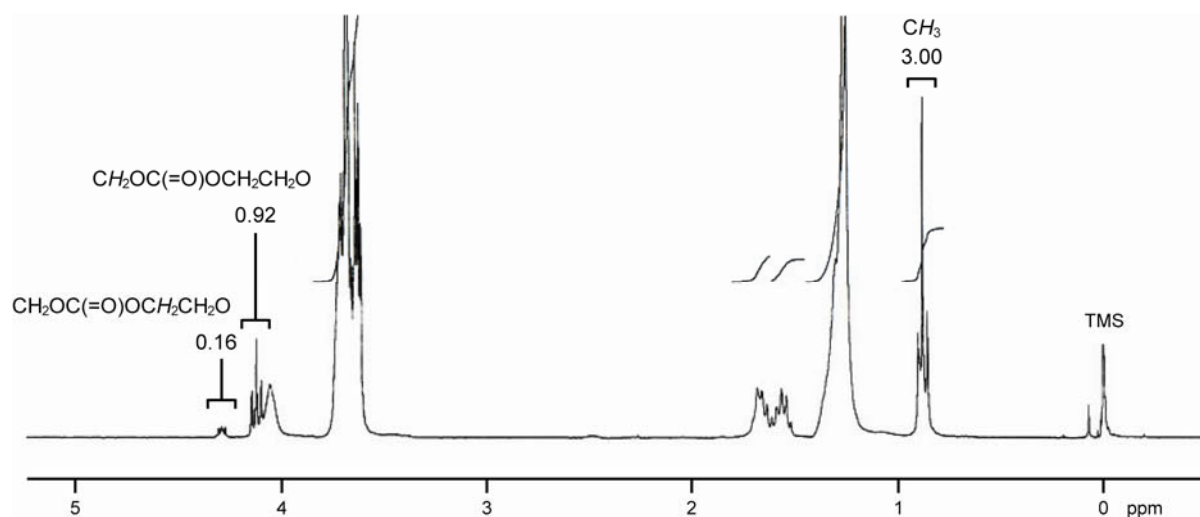


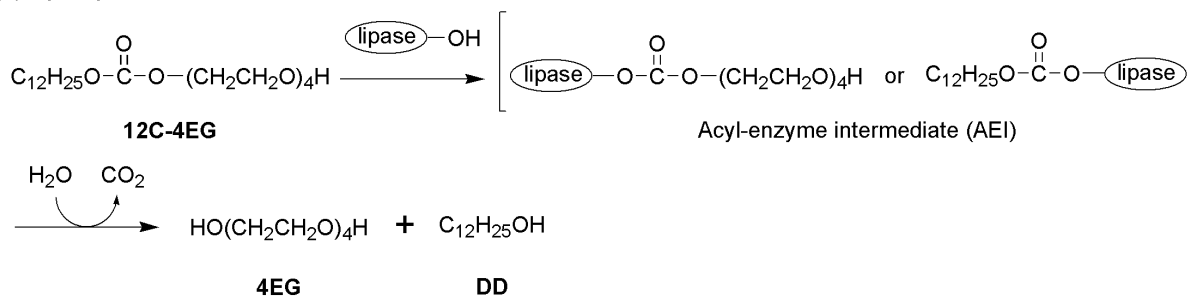
Fig. 5.17 ^1H NMR spectrum of the crude product (300 MHz, CDCl_3). Reaction conditions: **12C-4EG** (50 mg) and lipase CA (50 mg) were stirred in toluene (0.5 mL) containing a small amount of water (5.0 μL) at 50 °C for 1 day.

$\delta = 0.88$ の CH_3 -のプロトン数を 3 とすると、**12C-4EG** のカーボネート結合に隣接するオキシエチレン鎖側のメチレンピーク ($\delta = 4.22\text{-}4.36$) のプロトン数は 2 となる。Fig. 5.17 では、そのプロトン数が 0.16 であったことから、**12C-4EG** の残存率は 8 mol%と求められる。**12C-4EG** のカーボネート結合が開裂した際には、オキシエチレン鎖側のメチレンピーク ($\delta = 4.22\text{-}4.36$) のプロトン数と疎水基側のメチレンピーク ($\delta = 4.06\text{-}4.20$) のプロトン数は同数となるはずである。しかし、後者のプロトン数は 0.92 であった。これは、**12C-4EG** の分解により生じた **DD** がドデシル基を有するアシル-酵素複合体 (AEI) に求核攻撃し、ジドデシルカーボネートが生成されたことによるものと考えられる (Scheme 5.11)。

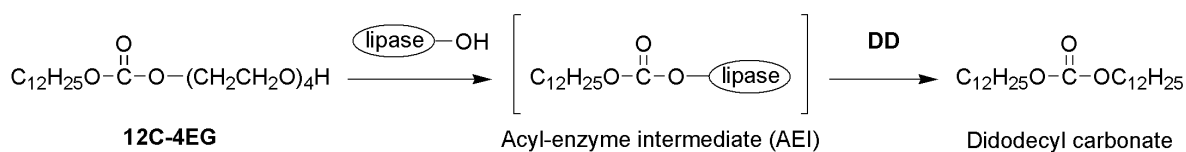
^1H NMR スペクトルにおいて、**12C-4EG** のオキシエチレン鎖側のメチレンピークは、疎水基側のメチレンピークよりも低磁場側に位置している。このことは、前者の方が後者よりも電子密度が低いことを示している。したがって、カーボネート結合が求核分子による攻撃を受ける際には、オキシエチレン鎖側は疎水基側よりも脱離しやすいと言える。このことから、**12C-4EG** が Ser^{105} (lipase CA の活性中心) の求核攻撃を受ける段階で、**4EG** が生成するものと考えられる。以上のことから、系内にはドデシル基を有する AEI が多く存在することが予想され、これに **DD** が求核攻撃することでジドデシルカーボネートが生成したものと考えら

れる。

(A) Hydrolysis of **12C-4EG**



(B) Production of didodecyl carbonate



Scheme 5.11 Proposed mechanism for the lipase-catalyzed hydrolysis of **12C-4EG** (A) and production of didodecyl carbonate (B).

反応時間を5日に延長したところ、 $\delta = 4.22\text{-}4.36$ のメチレンピークは完全に消失した。このことから、**12C-4EG** は加水分解と脱炭酸を受け、**DD** および **4EG** が生成したと言える。得られた粗生成物の精製をシリカゲルカラムクロマトグラフィー [*n*-ヘキサン/アセトン = 3/1 (v/v), $R_f = 0.50$] により行うことで、**DD** を収率 89% で得た。

12C-4EG の化学-酵素加水分解の最適条件をまとめると次のようになる。

100 wt% lipase CA (**12C-4EG** に対して)、トルエン (**12C-4EG** 濃度: 100 mg/mL)、
水 (トルエンに対して 1.0 vol%)、50 °C、5 日間

この条件で反応を行うことにより、**12C-4EG** のカーボネート結合は加水分解と脱炭酸を受け、相当する **DD** および **4EG** が生成した。

5.3.1 に記したように、**12C-4EG** はジメチルカーボネートを原料に、lipase CA を触媒に用いた2段階のカーボネート交換反応により合成できる。以上の結果から、**12C-4EG** は lipase CA を用いたケミカルリサイクルが可能であることが示された。

5.4 結言

生分解性およびケミカルリサイクル性を併せ持つ非イオン界面活性剤の創成を目的に、分子内にカーボネート結合を導入した非イオン界面活性剤を分子設計し、そのグリーンプロセスによる合成、界面活性、生分解性およびケミカルリサイクル性について検討を行った。

カーボネート結合を有する非イオン界面活性剤のハロゲンフリープロセスによる合成を達成するために、グリーン試薬としてジフェニルカーボネートを用いた。トリエチルアミン存在下、ジフェニルカーボネートと長鎖アルコールを反応させることで、*n*-アルキル=フェニル=カーボネートを収率 74-87% で合成した。次いで、炭酸カリウム存在下、アセトン中で *n*-アルキル=フェニル=カーボネートとポリエチレングリコールを反応させることでカーボネート結合を有する非イオン界面活性剤を収率 66-80% で得た。

カーボネート結合を有する非イオン界面活性剤は、エステル型のものより高い水中安定性を有することが認められた。また、カーボネート型非イオン界面活性剤は、相当するエステル型およびエーテル型のものよりも cmc が低かった。これは、カーボネート結合のオキシカルボニル基が疎水基の一部として機能していることによるものと考えられる。カーボネート型、エステル型およびエーテル型非イオン界面活性剤の起泡力および泡安定性には顕著な差異は認められなかった。また、カーボネート結合を有する非イオン界面活性剤は活性汚泥により速やかに生分解され、易分解性であることが認められた。微量の水を添加したトルエン溶液中、カーボネート結合を有する非イオン界面活性剤にリパーゼを作用させると、カーボネート結合が加水分解と脱炭酸を受け、相当するポリエチレングリコールおよび長鎖アルコールが生成した。これらとジメチルカーボネートをリパーゼ存在下で反応させることで、元の界面活性剤が再生した。以上のことから、非イオン界面活性剤のカーボネート結合は、生分解性およびケミカルリサイクル性セグメントとして有効であることが認められた。

第6章

総括

界面活性剤は、洗剤などの家庭用品をはじめとして、化粧品、医薬品、農薬、塗料など様々な分野で大量に使用されている。近年、地球規模で環境保全への関心が高まりつつあるなか、界面活性剤には利便性だけでなく、環境調和性も強く求められるようになった。すなわち、次世代型界面活性剤には、再生可能資源を原料に用いた環境低負荷なプロセスによる合成が望まれている。また、使用量の削減につながる高機能性、優れた生分解性、さらに使用形態によってはケミカルリサイクル性が求められる。それらを通じて、資源とエネルギーの消費および人・生態系への負荷が最小限になるような新規グリーンサーファクタントの創成が強く望まれている。有限炭素資源の有効利用と環境負荷物質低減の観点から、様々なグリーンサーファクタントの創成に向けた研究開発が盛んに行われている。

本研究では、カチオン界面活性剤および非イオン界面活性剤に生分解性およびケミカルリサイクル性を付与することを目的に、一般的な加水分解酵素により開裂されるカーボネート結合を分子内に導入した新規界面活性剤を分子設計し、そのグリーンプロセスによる合成、界面活性、生分解性およびケミカルリサイクル性について検討を行った。これらの検討を通じて、グリーンサーファクタントの創成に向けた研究開発を行った。本研究で得られた結果を以下にまとめる。

第2章 生分解性とケミカルリサイクル性を有するカーボネート型カチオン界面活性剤の合成と性質

界面活性と抗菌性を併せ持つ第四級アンモニウム塩型カチオン界面活性剤に生分解性およびケミカルリサイクル性を付与することを目的に、分子内にカーボネート結合を導入した新規カチオン界面活性剤を分子設計し、そのグリーンプロセスによる合成、界面活性、抗菌性、ケミカルリサイクル性および生分解性について検討を行った。

トリエチルアミン存在下、ジフェニルカーボネートに長鎖アルコールおよびアミノアルコールをワンポットで作用させることで、*n*-アルキル=*N,N*-ジメチルアミノアルキル=カーボネートを収率 74-91% で得た。ついでアミノ基をヨウ化メチルにより四級化することで、カーボネート型カチオン界面活性剤を収率 65-86% で得た。

カーボネート型カチオン界面活性剤は優れた界面活性を發揮した。特に、表面張力低下能は、全炭素数が同数の従来型カチオン界面活性剤よりも高かった。また、カーボネート型カチオン界面活性剤は、エステル型のものよりも高い水中安定性を有することが認められた。ドデシル基を有するものは種々の菌に対して高い活性を示し、なおかつ活性汚泥により速やかに生分解された。微量の水を添加したトルエン溶液中、カーボネート型カチオン界面活性剤にリパーゼを作用させると、カーボネート結合が加水分解と脱炭酸を受け、相当する第四

級アンモニウム塩を含むアルコールおよび長鎖アルコールが生成した。これらとジフェニルカーボネートをリパーゼ存在下で反応させることで、元の界面活性剤が再生した。これらのことから、カーボネート型カチオン界面活性剤はケミカルリサイクル性を有することが認められた。以上のことから、カチオン界面活性剤のカーボネート結合は、生分解性およびケミカルリサイクル性セグメントとして有効であることが認められた。

第3章 新規ジェミニ型カチオン性グリーンサーファクタントの創成

優れた生分解性を有し、ケミカルリサイクルが可能な新規ジェミニ型カチオン性グリーンサーファクタントの創成を目的に、分子内にカーボネート結合を導入したジェミニ型カチオン界面活性剤を分子設計し、そのグリーンプロセスによる合成、界面活性、ケミカルリサイクル性、生分解性および抗菌性について検討を行った。

(1) リンカー部にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤

炭酸カリウム存在下、ジフェニルカーボネートとヨードアルカノールを反応させることでジ(ヨードアルキル)カーボネートを得た。これを *N,N*-ジメチルアルキルアミンに作用させてアミノ基の四級化とジェミニ化を同時に行うことで、リンカー部にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤を総収率 60~70% で得た。

カーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤は、相当する一鎖一親水基型界面活性剤よりも使用量の削減につながる優れた界面活性を發揮した。また、それらは従来型のジェミニ型カチオン界面活性剤と同等の高い抗菌性を発現した。リンカー部にカーボネート結合を有するジェミニ型界面活性剤は活性汚泥により生分解されたが、一方、従来型のジェミニ型界面活性剤は全く生分解されなかった。このことから、ジェミニ型カチオン界面活性剤リンカー部のカーボネート結合が生分解性セグメントとして有効であることが認められた。カーボネート結合を有するジェミニ型界面活性剤水溶液にリパーゼを作用させると、カーボネート結合が加水分解と脱炭酸を受け、相当する第四級アンモニウム塩を含むアルコールが生成した。これとジフェニルカーボネートをリパーゼ存在下で反応させることで元の界面活性剤が再生した。これらの結果から、カーボネート結合を有するジェミニ型界面活性剤は、生分解性とケミカルリサイクル性を併せ持つ新規なジェミニ型カチオン界面活性剤であることが認められた。

(2) 疎水基基部にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤

n-アルキル=*N,N*-ジメチルアミノアルキル=カーボネートに 1,3-ジヨードプロパンおよびカーボネート結合を有するジヨージドを作用させてアミノ基の四級化とジェミニ化を同時に行うことで、疎水基基部にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤と、リンカー部および疎水基基部の両方にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤を総収率 55~75% で得た。

カーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤は、相当する一鎖一親水基型の

ものよりも優れた界面活性を發揮した。特に、cmc は相当する一鎖一親水基型カチオン界面活性剤の 1/10 以下となった。リンカー部および疎水基基部の両方にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤は、疎水基基部にカーボネート結合を有するものよりも抗菌性が高く、また、活性汚泥により速やかに生分解された。このことから、ジェミニ型カチオン界面活性剤のリンカー部にカーボネート結合を導入することによって、抗菌性および生分解性は向上することが認められた。微量の水を添加したトルエン溶液中、疎水基基部にカーボネート結合を有するジェミニ型カチオン界面活性剤にリパーゼを作用させることで、第四級アンモニウム塩を含むアルコールおよび長鎖アルコールが生成した。これらとジフェニルカーボネートをリパーゼ存在下で反応させることで元のジェミニ型カチオン界面活性剤が再生した。以上のことから、ジェミニ型カチオン界面活性剤疎水基基部のカーボネート結合は、ケミカルリサイクル性セグメントとして有効であることが認められた。

第 4 章 光学活性カーボネート型カチオン界面活性剤の化学—酵素合成と性質

カーボネート型カチオン界面活性剤の立体化学が界面活性、抗菌性および生分解性に与える影響を明らかにすることを目的に、疎水基基部に不斉中心を有するカーボネート型カチオン界面活性剤を分子設計し、そのグリーンプロセスによる合成、界面活性、抗菌性および生分解性について検討を行った。

リパーゼを用いたエナンチオ選択的なエステル化により、不斉中心を有するアミノアルコールの光学分割を行った。トリエチルアミン存在下、ジフェニルカーボネートに 1-ドデカノールおよび光学活性アミノアルコールをワンポットで作用させることで、*n*-ドデシル=*N,N*-ジメチルアミノアルキル=カーボネートを収率 66-75% で得た。ついで、ヨウ化メチルを作用させアミノ基を四級化することで、光学活性カーボネート型カチオン界面活性剤を収率 85-86% で得た。これにより、(*R*)-カチオン界面活性剤を総収率 28%、(*S*)-カチオン界面活性剤を総収率 10% で得た。

光学活性カーボネート型カチオン界面活性剤の収率向上のために、リパーゼを用いた *rac*-カチオン界面活性剤のエナンチオ選択的な加水分解反応を行った。*rac*-カーボネート型カチオン界面活性剤に lipase CA を作用させると、(*R*)体のみが選択的に加水分解され、未反応物として(*S*)-カチオン界面活性剤が収率 27% (理論収率 50%) で得られた。このことは、MOE を利用したドッキングシミュレーションの結果からも支持された。

光学活性カーボネート型カチオン界面活性剤は、水中で安定であることが認められた。光学活性カーボネート型カチオン界面活性剤の立体化学は、界面活性および抗菌性に顕著な影響を与えなかった。一方、生分解性には立体化学により顕著な差異が認められた。(*S*)-カチオン界面活性剤は、(*R*)-カチオン界面活性剤よりも生分解性に優れ、易分解性であることが認められた。(*S*)-カチオン界面活性剤由来の第四級アンモニウム塩を有する加水分解物が生分解されたのに対し、(*R*)-カチオン界面活性剤由来のものは全く生分解されなかったことと関連があるものと考えられる。以上の結果から、*rac*-カーボネート型カチオン界面活性剤を光学分割することによって、生分解性は向上することが認められた。

第5章 カーボネート型非イオン性グリーンサーファクタントの合成と性質

生分解性およびケミカルリサイクル性を併せ持つ非イオン界面活性剤の創成を目的に、分子内にカーボネート結合を導入した非イオン界面活性剤を分子設計し、そのグリーンプロセスによる合成、界面活性、生分解性およびケミカルリサイクル性について検討を行った。

カーボネート結合を有する非イオン界面活性剤のハロゲンフリープロセスによる合成を達成するために、グリーン試薬としてジフェニルカーボネートを用いた。トリエチルアミン存在下、ジフェニルカーボネートと長鎖アルコールを反応させることで、*n*-アルキル=フェニル=カーボネートを収率 74-87% で合成した。次いで、炭酸カリウム存在下、アセトン中で *n*-アルキル=フェニル=カーボネートとポリエチレングリコールを反応させることでカーボネート結合を有する非イオン界面活性剤を収率 66-80% で得た。

カーボネート結合を有する非イオン界面活性剤は、エステル型のものより高い水中安定性を有することが認められた。また、カーボネート型非イオン界面活性剤は、相当するエステル型およびエーテル型のものよりも cmc が低かった。これは、カーボネート結合のオキシカルボニル基が疎水基の一部として機能していることによるものと考えられる。カーボネート型、エステル型およびエーテル型非イオン界面活性剤の起泡力および泡安定性には顕著な差異は認められなかった。また、カーボネート結合を有する非イオン界面活性剤は活性汚泥により速やかに生分解され、易分解性であることが認められた。微量の水を添加したトルエン溶液中、カーボネート結合を有する非イオン界面活性剤にリパーゼを作用させると、カーボネート結合が加水分解と脱炭酸を受け、相当するポリエチレングリコールおよび長鎖アルコールが生成した。これらとジメチルカーボネートをリパーゼ存在下で反応させることで、元の界面活性剤が再生した。以上のことから、非イオン界面活性剤のカーボネート結合は、生分解性およびケミカルリサイクル性セグメントとして有効であることが認められた。

本研究では、次世代型グリーンサーファクタントの創成を目指し、カーボネート結合を有するカチオン界面活性剤および非イオン界面活性剤を合成した。それらのカーボネート結合は、生分解性およびケミカルリサイクル性セグメントとして有効であることが認められた。特に、環境微生物により全く生分解されないジェミニ型カチオン界面活性剤では、そのリンカー部へのカーボネート結合の導入が生分解性の向上に有効であることを明らかにした。これにより、界面活性、抗菌性および生分解性に優れ、なおかつケミカルリサイクルが可能な新規ジェミニ型カチオン界面活性剤の創成に成功した。このように、界面活性剤に高機能性、生分解性およびケミカルリサイクル性を付与することにより、次世代型グリーンサーファクタントを提案した。

本研究の成果が生分解性界面活性剤を基盤にしたグリーンサーファクタント創成のための新たな知見となれば幸いである。

参考文献

- [1] 角田光雄監修、「界面活性剤の機能と利用技術」、シーエムシー出版 (2000).
- [2] 宮元純之監訳、「グリーンケミストリー 化学フロンティア 第4巻」、化学同人 (2001).
- [3] 御園生誠、村橋俊一、「グリーンケミストリー 持続社会のための化学」、講談社 (2001).
- [4] Morán, C.; Pinazo, A.; Pérez, L.; Clapés, P.; Angelet, M.; García, T.; Vinardell, P.; Infante, R. *Green Chem.* **6**, 233 (2004).
- [5] Goursaud, F.; Berchel, M.; Guilbot, J.; Legros, N.; Lemiègre, L.; Marcilloux, J.; Plusquellec, D.; Benvegna, T. *Green Chem.* **10**, 310 (2008).
- [6] Okada, Y.; Banno, T.; Toshima, K.; Matsumura, S. *J. Oleo Sci.* **58**, 519 (2009).
- [7] 北本大、*オレオサイエンス* **1**, 839 (2001).
- [8] Morán, C.; Infante, M.R.; Clapés, P. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1**, 2063 (2001).
- [9] Nagao, A.; Kito, M. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **66**, 710 (1989).
- [10] Rosen, M.J.; Tracy, D.J. *J. Surfact. Deterg.* **1**, 547 (1998).
- [11] Menger, F.M.; Keiper, J.S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **39**, 1906 (2000).
- [12] Stjerndahl, M.; Ginkel, C.G.; Holmberg, K. *J. Surfact. Deterg.* **6**, 319 (2003).
- [13] Stjerndahl, M.; Holmberg, K. *J. Surfact. Deterg.* **8**, 331 (2005).
- [14] Fischer, E. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **26**, 2400 (1893).
- [15] von Rybinski, W.; Hill, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **37**, 1328 (1998).
- [16] Gassama, A.; Ernenwein, C.; Hofmann, N. *ChemSusChem* **2**, 1130 (2009).
- [17] Morán, C.; Clapés, P.; Comelles, F.; Garcia, T.; Pérez, L.; Vinardell, P.; Mitjans, M.; Infante, M.R. *Langmuir* **17**, 5071 (2001).
- [18] Pérez, L.; Torres, J.L.; Manresa, A.; Solans, C.; Infante, M.R. *Langmuir* **12**, 5296 (1996).
- [19] Pegiadou, S.; Pérez, L.; Infante, M.R. *J. Surfact. Deterg.* **3**, 517 (2000).
- [20] Seguer, J.; Infante, M.R.; Allouch, M.; Mansuy, L.; Selve, C.; Vinardell, P. *New J. Chem.* **18**, 765 (1994).
- [21] Allouch, M.; Infante, M.R.; Seguer, J.; Stebe, M.J.; Selve, C. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **73**, 87 (1996).
- [22] 北本大、*薬学雑誌* **128**, 695 (2008).
- [23] Hellberg, P.-E.; Bergström, K.; Holmberg, K. *J. Surfact. Deterg.* **3**, 81 (2000).
- [24] Tehrani-Bagha, A.R.; Holmberg, K. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **12**, 81 (2007).
- [25] Ono, D.; Masuyama, A.; Tanaka, T.; Okahara, M. *Tenside Surf. Det.* **29**, 412 (1992).
- [26] Ono, D.; Masuyama, A.; Okahara, M. *J. Org. Chem.* **55**, 4461 (1990).
- [27] Jaeger, D.A. *Supramol. Chem.* **5**, 27 (1995).
- [28] Masuyama, A.; Ono, D.; Yamamoto, T.; Kida, T.; Nakatsuji, Y.; Takeda, T. *J. Jpn. Oil Chem. Soc.* **44**, 446 (1995).

- [29] Ono, D.; Yamamura, S.; Nakamura, M.; Takeda, T.; Masuyama, A.; Nakatsuji, Y. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **72**, 853 (1995).
- [30] Kruger, G.; Boltersdorf, D.; Lewandowski, H. *Esterquats in Novel Surfactants*, Holmberg, K., Ed., Marcel Dekker: New York, p. 115 (1998).
- [31] Epstein, W.W.; Jones, D.S.; Bruenger, E.; Rilling, H.C. *Anal. Biochem.* **119**, 304 (1982).
- [32] Masuyama, A.; Endo, C.; Takeda, S.; Nojima, M.; Ono, D.; Takeda, T. *Langmuir* **16**, 368 (2000).
- [33] McElhanon, J.R.; Zifer, T.; Kline, S.R.; Wheeler, D.R.; Loy, D.A.; Jamison, G.M.; Long, T.M.; Rahimian K.; Simmons, B.A. *Langmuir* **21**, 3259 (2005).
- [34] Rosen, M.J. *Chem. Tech.* **23**, 30 (1993).
- [35] Wilk, K.A.; Syper, L.; Domagalska, B.W.; Komorek, U.; Maliszewska, I.; Gancarz, R. *J. Surfact. Deterg.* **5**, 235 (2002).
- [36] Laska, U.; Wilk, K.A.; Maliszewska, I.; Syper, L. *J. Surfact. Deterg.* **9**, 115 (2006).
- [37] Shankar, B.V.; Patnaik, A. *Langmuir* **23**, 3523 (2007).
- [38] Ono, D.; Yamamura, S.; Nakamura, M.; Takeda, T. *J. Oleo Sci.* **54**, 51 (2005).
- [39] Laschewsky, A.; Wattebled, L.; Arotcaréna, M.; Habib-Jiwan, J.L.; Rakotoaly, R.H. *Langmuir* **21**, 7170 (2005).
- [40] Zana, R.; In, M.; Levy, H. *Langmuir* **13**, 5552 (1996).
- [41] Zhu, Y.; Masuyama, A.; Kirito, Y.; Okahara, M.; Rosen, M.J. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **69**, 626 (1992).
- [42] Stjerndahl, M.; Holmberg, K. *J. Colloid Interface Sci.* **291**, 570 (2005).
- [43] Swisher, R.D. *Surfactant Biodegradation*, Marcel Decker: New York (1970).
- [44] Fernández, P.; Valls, M.; Bayona, J.M.; Albalgés, J. *Environ. Sci. Technol.* **25**, 547 (1991).
- [45] Lewis, M.A. *Environ. Sci. Safe.* **20**, 123 (1990).
- [46] Games, L.M.; King, J.E.; Larson, R.J. *Environ. Sci. Technol.* **16**, 483 (1982).
- [47] Ventullo, R.M.; Larson, R.J. *Appl. Environ. Microbiology* **51**, 356 (1986).
- [48] Thomson, R.A.; Allenmark, S. *J. Colloid Interface Sci.* **148**, 241 (1992).
- [49] Lundberg, D.; Holmberg, K. *J. Surfact. Deterg.* **7**, 239 (2004).
- [50] Lundberg, D.; Ljusberg-Wahren, H.; Norlin, A.; Holmberg, K. *J. Colloid Interface Sci.* **278**, 478 (2004).
- [51] Tehrani-Bagha, A.R.; Oskarsson, H.; van Ginkel, C.G.; Holmberg, K. *J. Colloid Interface Sci.* **312**, 444 (2007).
- [52] Miaoa, Z.; Yanga, J.; Wang, L.; Liub, Y.; Zhanga, L.; Lia, X.; Penga, L. *Mater. Lett.* **62**, 3450 (2008).
- [53] Tehrani-Bagha, A.R.; Holmberg, K. *Langmuir* **26**, 9276 (2010).
- [54] Giolando, S.T.; Rapaport, R.A.; Larson, R.J.; Federle, T.W. *Chemosphere* **30**, 1067 (1995).
- [55] Overkempe, C.; Annerling, A.; van Ginkel, C.G.; Thomas, P.C.; Boltersdorf, D.; Speelman, J. *Esterquats in Novel Surfactants: Preparation, Applications, and Biodegradability*, Holmberg, K.,

- Ed. Marcel Dekker: New York, p. 347 (2003).
- [56] Waters, J.; Kleiser, H.H.; How, M.J.; Barratt, M.D.; Birth, R.R.; Fletcher, R.J.; Haigh, S.D.; Hales, S.G.; Marshall, S.J.; Pestell, T.C. *Tenside Surf. Deterg.* **28**, 460 (1991).
- [57] Puchta, R.; Krings, P.; Sandkuhler, P.A. *Tenside Surf. Deterg.* **30**, 186 (1993).
- [58] Toshima, Y.; Katoh, T.; Nishiyama, N.; Tsugukuni, T.; Saito, F. *Environ. Sci. Safe.* **29**, 113 (1993).
- [59] Sakai, T.; Inoue, K.; Yamane, M.; Toyo, T.; Nishiyama, N.; Kaneko, Y. *J. Oleo Sci.* **57**, 521 (2008).
- [60] Yamane, M.; Toyo, T.; Inoue, K.; Sakai, T.; Kaneko, Y.; Nishiyama, N. *J. Oleo Sci.* **57**, 529 (2008).
- [61] 山本喜雄、慶應義塾大学大学院修士論文 (2009).
- [62] Kobayashi, S.; Litter, H.; Kaplan, D. Eds. *Enzyme-catalyzed synthesis of polymers, Advances in Polymer Science* **194**, Springer: Heidelberg (2006).
- [63] Varma, I.K.; Albertsson, A.-C.; Rajkhowa, R.; Srivastava, R.K. *Prog. Polymer Sci.* **30**, 949 (2005).
- [64] Sakakura, T.; Choi, J.C.; Saito, Y.; Sako, T. *Polyhedron* **19**, 573 (2000).
- [65] Choi, J.; He, L.; Yasuda, H.; Sakakura, T. *Green Chem.* **4**, 230 (2002).
- [66] Hou, Z.; Han, B.; Liu, Z.; Jiang, T.; Yang, G. *Green Chem.* **4**, 467 (2002).
- [67] Fujita, S.; Bhanage, B.; Ikushima, Y.; Arai, M. *Green Chem.* **3**, 87 (2001).
- [68] 辻啓一訳、「緩衝液の選択と応用：水素イオン・金属イオン」、講談社 (1981).
- [69] Esumi, K.; Taguma, K.; Koide, Y. *Langmuir* **12**, 4039 (1996).
- [70] Yano, W.; Kimura, W. *Yukagaku* **11**, 138 (1962).
- [71] Bristline Jr, R.G.; Maurer, E.W.; Smith, F.D.; Linfield, W.M. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **57**, 98 (1980).
- [72] OECD guidelines for testing of chemicals, 301C, modified MITI test, Organization for Economic Cooperation and Development (OECD), Paris (1981).
- [73] 安部紀宏、慶應義塾大学大学院修士論文 (2003).
- [74] Anastas, P.T.; Warnar, J.C. *Green Chemistry: Theory and Practice*, Oxford University Press: New York (1998).
- [75] Zhu, Y.P.; Ishihara, K.; Masuyama, A.; Nakatsuji, Y.; Okahara, M. *Yukagaku* **42**, 161 (1993).
- [76] Menger, F.M.; Galloway, A.L. *J. Am. Chem. Soc.* **126**, 15883 (2004).
- [77] Patist, A. *Determining Critical Micelle Concentration, in Handbook of Applied Surface and Colloid Chemistry*, Holmberg, K. Ed. John Wiley & Sons: Chichester, Vol. 2, p.245 (2002).
- [78] Haldar, J.; Kondaiah, P.; Bhattacharya, S. *J. Med. Chem.* **48**, 3823 (2005).
- [79] 加藤誠、慶應義塾大学大学院博士論文 (2009).
- [80] Lozano, P.; Daz, M.; Diego, T.; Iborra, J.L. *Biotechnol. Bioeng.* **82**, 352 (2003).
- [81] Bunton, C.A.; Robinson, L.; Schaak, J.; Stam, M.F. *J. Org. Chem.* **36**, 2346 (1971).

- [82] Menger, F.M.; Littau, C.A. *J. Am. Chem. Soc.* **113**, 1451 (1991).
- [83] Menger, F.M.; Littau, C.A. *J. Am. Chem. Soc.* **115**, 10083 (1993).
- [84] Zana, R.; Talmon, Y. *Nature* **362**, 228 (1993).
- [85] Zana, R. *J. Colloid Interface Sci.* **248**, 203 (2002).
- [86] Zana, R. *Adv. Colloid Interface Sci.* **97**, 205 (2002).
- [87] Devínsky, F.; Masárová, L.; Lacko, I. *J. Colloid Interface Sci.* **105**, 235 (1985).
- [88] Devínsky, F.; Lacko, I.; Bittererová, F.; Tomečková, L. *J. Colloid Interface Sci.* **114**, 314 (1986).
- [89] 國枝博信、坂本一民監修、「界面活性剤・両親媒性高分子の最新機能」、シーエムシー出版 (2005).
- [90] Ikeda, I. in “*Gemini Surfactants*”, Zana, R.; Xia, J. Eds. Marcel Dekker: New York (2004).
- [91] Kim, T.S.; Hirao, T.; Ikeda, I. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **73**, 67 (1996).
- [92] Oda, R.; Huc, I.; Candau, S.J. *Chem. Commun.* **21**, 2105 (1997).
- [93] Cerichelli, G.; Luchetti, L.; Mancini, G.; Savelli, G. *Langmuir* **15**, 2631 (1999).
- [94] Tsatsaroni, E.; Pegiadou-Koemtjopoulou, S.; Demertzis, G. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **64**, 1444 (1987).
- [95] Tatsumi, T.; Zhang, W.; Nakatsuji, Y.; Miyake, K.; Matsushima, K.; Tanaka, M.; Furuta, T.; Ikeda, I. *J. Surfact. Deterg.* **4**, 271 (2001).
- [96] Zhao, X.; Shang, Y.; Liu, H.; Hu, Y. *J. Colloid Interface Sci.* **314**, 478 (2007).
- [97] Wu, D.; Xu, G.; Sun, Y.; Zhang, H.; Mao, H.; Feng, Y. *Biomacromolecules* **8**, 708 (2007).
- [98] Tatsumi, T.; Zhang, W.; Kida, T.; Nakatsuji, Y.; Ono, D.; Takeda, T.; Ikeda, I. *J. Surfact. Deterg.* **3**, 167 (2000).
- [99] Kim, T.S.; Tatsumi, T.; Kida, T.; Nakatsuji, Y.; Ikeda, I. *Jpn. Oil Chem. Soc. (Yukagaku)* **46**, 747 (1997).
- [100] Alami, E.; Beinert, G.; Marie, P.; Zana, R. *Langmuir* **9**, 1465 (1993).
- [101] 古家義朗、富山昌美、藤沢公志、*薬学雑誌* **103**, 906 (1983).
- [102] Jeczalíc, J.; Martynow, H. *React. Kinet. Catal. Lett.* **48**, 217 (1992).
- [103] 林勝、平田雄志、*化学工学論文集* **28**, 733 (2002).
- [104] Trost, B.M. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **34**, 259 (1995).
- [105] Trost, B.M. *Science* **254**, 1471 (1991).
- [106] Zana, R. *Langmuir* **12**, 1208 (1996).
- [107] Camesano, T.A.; Nagarajan, R. *Colloids Surf.* **167**, 165 (2000).
- [108] Maiti, P.K.; Chowdhury, D. *J. Chem. Phys.* **109**, 5126 (1998).
- [109] Garcia, M.; Gradillas, A.; del Campo, C.; Llama, E.F.; Sánchez-Montero, J.M.; Sinisterra, J.V. *Biotechnol. Lett.* **19**, 999 (1997).
- [110] Wu, S.-H.; Guo, Z.-W.; Sih, C.-J. *J. Am. Chem. Soc.* **112**, 1990 (1990).
- [111] Yamamoto, Y.; Kaihara, S.; Toshima, K.; Matsumura, S. *Macromol. Biosci.* **9**, 968 (2009).
- [112] Willemen, H.M.; de Smet, L.C.P.M.; Koudijs, A.; Stuart, M.C.A.; Heikamp-de Jong, I.G.A.M.;

- Marcelis, A.T.M.; Sudhölter, E.J.R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **41**, 4275 (2002).
- [113] Shintzky, M.; Haimovitz, R. *J. Am. Chem. Soc.* **115**, 12545 (1993).
- [114] Harvey, N.G.; Mirajovsky, D.; Rode, P.L.; Verbiar, R.; Arnett, E.M. *J. Am. Chem. Soc.* **111**, 1115 (1989).
- [115] Stine, K.J.; Uang, J.Y.-J.; Dingman, S.D. *Langmuir* **9**, 2112 (1993).
- [116] Gericke, A.; Hühnerfuss, H. *Langmuir* **10**, 3782 (1994).
- [117] Zhang, Y.J.; Song, Y.; Zhao, Y.; Li, T.J.; Jiang, L.; Zhu, D. *Langmuir* **17**, 1317 (2001).
- [118] Moss, R.A.; Sunshine, W.L. *J. Org. Chem.* **39**, 1083 (1974).
- [119] Zhang, Y.M.; Fan, W.; Lu, P.; Wang, W. *Synth. Commun.* **18**, 1495 (1988).
- [120] Andriamanampisoa, R.; Boyer, B.; Lamaty, G.; Roque, J.P. *Tetrahedron* **43**, 77 (1987).
- [121] Jursic, B. *Tetrahedron* **44**, 6677 (1988).
- [122] Tang, S.S.; Chang, G.G. *J. Org. Chem.* **60**, 6183 (1995).
- [123] Miyagishi, S.; Nishida, M. *J. Colloid Interface Sci.* **65**, 380 (1978).
- [124] Boyd, B.J.; Drummond, C.J.; Krodkiewska, I.; Weerawardena, A.; Furlong, D.N.; Grieser, F. *Langmuir* **17**, 6100 (2001).
- [125] Sagoh, T.; Toshima, K.; Kawada, K.; Matsumura, S. *J. Oleo Sci.* **52**, 597 (2003).
- [126] Capuzzi, G.; Lo Nostro, P.; Kulkarni, K.; Fernandez, J.F. *Langmuir* **12**, 3957 (1996).
- [127] Ambrost, M.; Lo Nostro, P.; Fratini, E.; Giustini, L.; Ninham, B.W.; Baglioni, P. *J. Phys. Chem. B* **113**, 1404 (2009).
- [128] Boyd, B.J.; Krodkiewska, I.; Drummond, C.J.; Grieser, F. *Langmuir* **18**, 597 (2002).
- [129] Bello, C.; Bombelli, C.; Borocci, S.; di Profio, P.; Mancini, G. *Langmuir* **22**, 9333 (2006).
- [130] Caracciolo, G.; Pozzi, D.; Mancini, G.; Caminiti, R. *Langmuir* **27**, 10040 (2007).
- [131] Faustino, C.M.C.; Calado, A.R.T.; Garcia-Rio, L. *Biomacromolecules* **10**, 2508 (2009).
- [132] Aisaka, T.; Oida, T.; Kawase, T. *J. Oleo Sci.* **56**, 633 (2007).
- [133] Schmid, R.D.; Verger, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **37**, 1608 (1998).
- [134] Ghanem, A.; Aboul-Enein, H.Y. *Tetrahedron Asymmetry* **15**, 3331 (2004).
- [135] Busto, E.; Gotor-Fernández, V.; Gotor, V. *Nat. Protoc.* **1**, 2061 (2006).
- [136] Hull, J.D.; Scheinmann, F.; Turner, N.J. *Tetrahedron Asymmetry* **14**, 567 (2003).
- [137] Chan, M.M.L.; Robinson, J.B. *J. Med. Chem.* **17**, 1057 (1974).
- [138] Molecular Operating Environment (MOE) Version 2009.10, software available from Chemical Computing Group Inc., 1010 Sherbrooke Street West, Suite 910, Montreal, Canada H3A 2R7.
- [139] Berman, H.M.; Westbrook, J.; Feng, Z.; Gilliland, G.; Bhat, T.N.; Weissig, H.; Shindyalov, I.N.; Bourne, P.E. *Nucleic Acids Res.* **28**, 235 (2000).
- [140] Ebata, H.; Toshima, K.; Matsumura, S. *Macromol. Biosci.* **7**, 798 (2007).
- [141] 安田真弓、慶應義塾大学大学院修士論文 (2010).
- [142] Chen, C.-S.; Fujimoto, Y.; Girdaukas, G.; Sih, C.J. *J. Am. Chem. Soc.* **104**, 7294 (1982).
- [143] Kazlauskas, R.J.; Weissfloch, A.N.E. *J. Mol. Catal. B: Enzymatic* **3**, 65 (1997).

- [144] Kazlauskas, R.J.; Weissfloch, A.N.E.; Rappaport, A.T.; Cuccia, L.A. *J. Org. Chem.* **56**, 2656 (1991).
- [145] Ema, T.; Kobayashi, J.; Maeno, S.; Sakai, T.; Utaka, M. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **71**, 443 (1998).
- [146] Ema, T.; Jittani, M.; Sakai, T.; Utaka, M. *Tetrahedron Lett.* **39**, 6311 (1998).
- [147] 太田博道、「生体反応論」、三共出版、p. 127 (1996).
- [148] Abdel-Hamid, M.K.; Abdel-Hafez, A.A.; El-Koussi, N.A.; Mahfouz, N.M.; Innocenti, A.; Supuran, C.T. *Bioorg. Med. Chem.* **15**, 6975 (2007).
- [149] Gupta, M.K.; Prabhakar, Y.S. *Eur. J. Med. Chem.* **43**, 2751 (2008).
- [150] Abdel-Aal, W.S.; Hassan, H.Y.; Aboul-Fadl, T.; Youssef, A.F. *Eur. J. Med. Chem.* **45**, 1098 (2010).
- [151] van Buijtenen, J.; van As, B.A.C.; Verbruggen, M.; Roumen, L.; Vekemans, J.A.J.M.; Pieterse, K.; Hilbers, P.A.J.; Hulshof, L.A.; Palmans, A.R.A.; Meijer, E.W. *J. Am. Chem. Soc.* **129**, 7393 (2007).
- [152] Uppenberg, J.; Hansen, M.T.; Patkar, S.; Jones, T.A. *Structure* **2**, 293 (1994).
- [153] Kondo, A.; Sugihara, S.; Kuwahara, M.; Toshima, K.; Matsumura, S. *Macromol. Biosci.* **8**, 533 (2008).
- [154] 21 世紀 COE プログラム慶應義塾大学ライフコンジュゲートケミストリー編、「ライフコンジュゲートケミストリー」、三共出版、p. 25 (2006).
- [155] Bellucci, L.; Laino, T.; Tafi, A.; Botta, M. *J. Chem. Theory Comput.* **6**, 1145 (2010).
- [156] Moss, R.A.; Sunshine, W.L. *J. Org. Chem.* **35**, 3581 (1970).
- [157] Larpent, C.; Chasseray, X. *Tetrahedron* **48**, 3903 (1992).
- [158] 「界面と界面活性剤」編集委員会編、「界面と界面活性剤—基礎から応用まで—」、(社)日本油化学会、p.42 (2005).
- [159] 界面活性剤評価・試験法編集委員会編、「界面活性剤評価・試験法—製法・物性・応用・分析・環境—」、(社)日本油化学会、p.19 (2002).
- [160] Vaughn, T.H.; Suter, H.R.; Lundsted, L.G.; Kramer, M.G. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **28**, 294 (1951).
- [161] Alexandridis, T.; Hatton, T.A. *Colloids Surf. A* **96**, 1 (1995).
- [162] Nace, V.M. "Nonionic Surfactants", Surfactants Science Series **60**, Marcel Dekker: New York (1996).
- [163] Zhu, K.J.; Bihai, S.; Shilin, Y. *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **27**, 2151 (1989).
- [164] Yamaoka, T.; Takahashi, Y.; Ohta, T.; Miyamoto, M.; Murakami, A.; Kimura, Y. *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **37**, 1513 (1999).
- [165] Huang, K.; Lee, B.P.; Ingram, D.R.; Messersmith, P.B. *Biomacromolecules* **3**, 397 (2002).
- [166] Stjerndahl, M.; Ginkel, C.G.; Holmberg, K. *J. Surfact. Deterg.* **6**, 311 (2003).
- [167] Kwan, C.C.; Rosen, M.J. *J. Phys. Chem.* **84**, 547 (1980).
- [168] Rozycka-Roszak, B.; Przystalski, S.; Witek, S. *J. Colloid Interface Sci.* **125**, 80 (1988).

本論文に関する研究発表

主論文に関する原著論文

- [1] Taisuke Banno, Kazunobu Toshima, Kazuo Kawada, Shuichi Matsumura. “Synthesis and properties of biodegradable and chemically recyclable cationic surfactants containing carbonate linkages”, *Journal of Oleo Science* **56**, 493-499 (2007).
- [2] Taisuke Banno, Kazunobu Toshima, Kazuo Kawada, Shuichi Matsumura. “Synthesis and properties of gemini-type cationic surfactants containing carbonate linkages in the linker moiety directed toward green and sustainable chemistry”, *Journal of Surfactants and Detergents* **12**, 249-259 (2009).
- [3] Taisuke Banno, Kazuo Kawada, Shuichi Matsumura. “Creation of novel green and sustainable gemini-type cationics containing carbonate linkages”, *Journal of Surfactants and Detergents* **13**, 387-398 (2010).
- [4] Taisuke Banno, Hiroshi Sato, Takayuki Tsuda, Shuichi Matsumura. “Synthesis and properties of green and sustainable carbonate-type nonionics containing polyoxyethylene chain”, *Journal of Oleo Science*, accepted.
- [5] Taisuke Banno, Kazuo Kawada, Shuichi Matsumura. “Chemo-enzymatic synthesis and properties of novel optically active cationics containing carbonate linkages”, *Journal of Oleo Science*, accepted.

その他の論文

- [1] Yuu Okada, Taisuke Banno, Kazunobu Toshima, Shuichi Matsumura. “Synthesis and properties of polycarboxylate-type green surfactants with *S*- or *N*-linkages”, *Journal of Oleo Science* **58**, 519-528 (2010).

国際会議発表

- [1] Taisuke Banno, Kazunobu Toshima, Kazuo Kawada, Shuichi Matsumura, “Synthesis and properties of biodegradable cationic surfactants having carbonate linkages”, Joint Meeting of The 1st Asian-Oceanian Conference on Green and Sustainable Chemistry and The 7th Annual Green and Sustainable Chemistry Symposium, Tokyo, Japan, 6-9 March 2007.
- [2] Taisuke Banno, Kazunobu Toshima, Kazuo Kawada, Shuichi Matsumura. “Creation of novel gemini-type cationic green surfactants”, Joint Conference of the 4th International Conference on Green and Sustainable Chemistry [GSC-4] and The 2nd Asian-Oceanian Conference on Green and Sustainable Chemistry [AOC-2], Beijing, China, 20-24 August 2009.
- [3] Taisuke Banno, Kazuo Kawada, Shuichi Matsumura. “Synthesis and properties of novel cationics containing carbonate linkages directed towards green and sustainable chemistry”, 101st American Oil Chemists’ Society Annual Meeting & Expo, Phoenix, Arizona, USA, 16-19 May 2010.

国内学会発表

- [1] 伴野太祐、木村真司、江口和行、戸嶋一敦、河田和雄、松村秀一、「新規カーボネート型第四級カチオン界面活性剤の合成と性質」、第44回日本油化学会年会、横浜、2005年9月14-16日
- [2] 伴野太祐、戸嶋一敦、河田和雄、松村秀一、「カーボネート結合を有する新規カチオン性グリーンサーファクタントの合成と性質」、第45回日本油化学会年会、野田、2006年9月8-10日
- [3] 岡田悠、伴野太祐、戸嶋一敦、松村秀一、「フマル酸オリゴマーを親水基とするグリーンサーファクタントビルダーの合成と機能」、第46回日本油化学会年会、京都、2007年9月6-8日
- [4] 伴野太祐、戸嶋一敦、河田和雄、松村秀一、「生分解性とケミカルリサイクル性を有するジェミニ型カチオン性界面活性剤の合成と機能」、第46回日本油化学会年会、京都、2007年9月6-8日
- [5] 伴野太祐、戸嶋一敦、河田和雄、松村秀一、「ケミカルリサイクル性を有するカチオン性界面活性剤の合成と性質」、第8回グリーン・サステイナブルケミストリーシンポジウム、東京、2008年3月6、7日
- [6] 岡田悠、伴野太祐、戸嶋一敦、松村秀一、「天然物由来の有機酸を親水基とするグリーンサーファクタントの合成と機能」、第47回日本油化学会年会、東京、2008年9月17-19日

-
- [7] 伴野太祐、戸嶋一敦、河田和雄、松村秀一、「カーボネート結合を有する生分解性ジェミニ型カチオン界面活性剤の合成と性質」、第47回日本油化学会年会、東京、2008年9月17-19日
- [8] 伴野太祐、戸嶋一敦、河田和雄、松村秀一、「新規ジェミニ型カチオン性グリーンサーファクタントの合成と性質」、第9回グリーン・サステイナブルケミストリーシンポジウム、東京、2009年3月9、10日
- [9] 佐藤拓、伴野太祐、戸嶋一敦、松村秀一、「カーボネート結合を有する非イオン性グリーンサーファクタントの合成と性質」、第9回グリーン・サステイナブルケミストリーシンポジウム、東京、2009年3月9、10日
- [10] 伴野太祐、戸嶋一敦、河田和雄、松村秀一、「カーボネート結合を有する新規ジェミニ型カチオン性グリーンサーファクタントの合成と性質」、第48回日本油化学会年会、名古屋、2009年9月10-12日
- [11] 伴野太祐、河田和雄、松村秀一、「新規カーボネート型カチオン性グリーンサーファクタントの合成と性質」、第10回グリーン・サステイナブルケミストリーシンポジウム、東京、2010年3月4、5日
- [12] 伴野太祐、河田和雄、松村秀一、「光学活性なカーボネート型カチオン性グリーンサーファクタントの合成と性質」、第49回日本油化学会年会、函館、2010年9月15-17日

謝辞

本研究を行うにあたり、終始にわたって御懇篤なる御指導、御鞭撻を賜り、多くの学会に参加する機会を与えて下さいました慶應義塾大学理工学部 松村秀一教授に心より感謝し、深く御礼申し上げます。

本研究を行うにあたり、中間報告会等で数々の貴重な御意見を賜り、研究の進捗状況についても気にかけて下さいました慶應義塾大学理工学部 戸嶋一敦教授に心より感謝致します。

本論文の作成にあたり、数々の有益な御意見、御指導を賜りました慶應義塾大学理工学部 西山繁教授、慶應義塾大学薬学部 須貝威教授に深く御礼申し上げます。

カチオン界面活性剤の抗菌性試験をして下さり、多大なる御意見、御指導を賜りました北里大学理学部 河田和雄講師に心より感謝申し上げます。

日頃から研究の進捗状況を気にかけて下さり、多くの相談にも乗って下さいました慶應義塾大学理工学部 高橋大介助教、貝原祥子助教に深く感謝致します。

研究の進め方について貴重な御意見を賜り、度々のディスカッションに付き合ってくださいました江端洋樹博士、佐々木要博士、加藤誠博士に深く感謝致します。また、松村研究室・戸嶋研究室の先輩、同輩、後輩の皆様のおかげで有意義な研究室生活を過ごすことができました。深く感謝致します。

なお、本研究の一部は、日本学術振興会特別研究員奨励費 (21・4882) の助成によって行われました。また、研究生活には田村淳記念大学院特別奨学金の援助を頂きました。謹んで感謝の意を表します。

最後に、後期博士課程への進学を快く認めて下さり、長い学生生活を温かく見守って頂きました両親、多くの相談に乗って頂きました兄に心より感謝し、深く御礼申し上げます。

2011年2月
慶應義塾大学大学院理工学研究科