

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3947391号

(P3947391)

(45) 発行日 平成19年7月18日(2007.7.18)

(24) 登録日 平成19年4月20日(2007.4.20)

(51) Int. Cl.	F I	
<b>CO8B 37/08 (2006.01)</b>	CO8B 37/08	A
<b>A61K 31/722 (2006.01)</b>	A61K 31/722	
<b>A61P 17/02 (2006.01)</b>	A61P 17/02	
<b>A61P 31/04 (2006.01)</b>	A61P 31/04	
<b>CO8J 3/28 (2006.01)</b>	CO8J 3/28	CEP
請求項の数 7 (全 8 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2001-362131 (P2001-362131)	(73) 特許権者	505374783
(22) 出願日	平成13年11月28日(2001.11.28)		独立行政法人 日本原子力研究開発機構
(65) 公開番号	特開2003-160602 (P2003-160602A)		茨城県那珂郡東海村村松4番地49
(43) 公開日	平成15年6月3日(2003.6.3)	(74) 代理人	100089705
審査請求日	平成15年3月11日(2003.3.11)		弁理士 社本 一夫
		(74) 代理人	100140109
			弁理士 小野 新次郎
		(74) 代理人	100075270
			弁理士 小林 泰
		(74) 代理人	100080137
			弁理士 千葉 昭男
		(74) 代理人	100096013
			弁理士 富田 博行
		(74) 代理人	100092015
			弁理士 桜井 周矩
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 橋かけ構造を有するキチン誘導体及び／又はキトサン誘導体の製造方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

原料は、グルコサミン及び／又はN - アセチルグルコサミン単位当たり少なくとも一つのヒドロキシ基又はカルボキシル基を有する、カルボキシアシルキルキチン、カルボキシアシルキトサン、ヒドロキシアシルキルキチン、ヒドロキシアシルキトサン、アルキルキチン、アルキルキトサン又はこれらの混合物であるキチン誘導体及び／又はキトサン誘導体であり、その原料100重量部に対して精製水3 1,000重量部からなるペースト状混合物に放射線を照射することにより、橋かけ構造を有するキチン誘導体及び／又はキトサン誘導体を得、橋かけ構造を有するキトサン誘導体が抗菌活性を有するハイドロゲルであることを特徴とする、橋かけ構造を有するキチン誘導体及び／又はキトサン誘導体の製造方法。

【請求項2】

原料のキチン誘導体及びキトサン誘導体のヒドロキシ基とカルボキシル基の合計の20以上がアルカリ金属塩、アンモニウム塩又はアミン塩であることを特徴とする請求項1記載の方法。

【請求項3】

キチン誘導体及びキトサン誘導体の平均置換度は0.01以上であることを特徴とする請求項1記載の方法。

【請求項4】

照射前の粘度を1.0とすると、それ以上の粘度増加を伴うことを特徴とする請求項1記載の方法。

10

20

**【請求項 5】**

電離性放射線の照射線量は0.5kGy以上であることを特徴とする請求項 1 記載の方法。

**【請求項 6】**

上記ハイドロゲルの精製水の吸水率は自重に対し5重量倍以上であることを特徴とする請求項 1 記載の方法。

**【請求項 7】**

橋かけ構造を有するキトサン誘導体のハイドロゲル及び乾燥フィルムは抗菌活性を有することを特徴とする請求項 1 記載の方法。

**【発明の詳細な説明】****【0001】**

10

**【発明の属する技術分野】**

本発明は、キチン誘導体及び/又はキトサン誘導体に精製水を加え良く練り電離性放射線を照射して得られる橋かけ構造を有するキチン誘導体及び/又はキトサン誘導体の製造方法であり、橋かけ構造を有するキチン誘導体はハイドロゲルであり、橋かけ構造を有するキトサン誘導体は抗菌活性を有したハイドロゲルである。

**【0002】**

ハイドロゲルは放射線橋かけにより生成した三次元の網目構造に多量の水を保持できる。その水は少しくらいの圧力では滲み出さないものである。このようなハイドロゲルは使い捨てオムツや化粧品の保湿材としてすでに使われている。

**【0003】**

20

カルボキシメチルキチン(CM-キチン)及びカルボキシメチルキトサン(CM-キトサン)は固体状及び5%以下の濃度の低い水溶液で照射を行った場合は分解が優先的に起きハイドロゲルは得られない。これを高濃度のペースト状(容器を傾けても流れない)で照射を行うと橋かけ構造が導入でき、水に漬けると吸水し、ハイドロゲルとなる。CM-キトサンハイドロゲルの場合はハイドロゲルでありながら抗菌活性を有しているという新しい機能をもっていることを発見した。

**【0004】****【従来の技術】**

放射線技術によりハイドロゲルを製造する技術には、ポリエチレンオキサイド、ポリビニルアルコール、ポリアクリルアミド、ポリビニルピロリドなどの水溶液を電離性放射線で照射により容易に得られる。ハイドロゲルは水を多量に吸収し保持できるため、使い捨てオムツなどの衛生用品や保湿材として医療、化粧品の分野で使用されている。これらにはポリアクリル酸ソーダをベースとした材料が主に使われている。しかし、使用後のこれらは焼却により処分されているため、多量に処理した場合は焼却炉の温度が下がりダイオキシンの発生の恐れもある。

30

**【0005】**

そのため、照射橋かけにより得られるポリグルタミン酸ソーダやポリアスパラギンソーダのように土壤中で分解する環境に負荷を与えないハイドロゲルの応用が試みられている。

**【0006】****【発明が解決しようとする課題】**

40

キチン及びキトサンの化学的な橋かけには、ホルマリンやグルタルアルデヒドが使われている。この方法ではアルデヒドが作業環境を汚染したり、残留したアルデヒドが皮膚を刺激することがあるため安全な橋かけ法が求められている。

**【0007】**

水溶性ポリマーを橋かけして得られるハイドロゲルは多量に吸水するため、使い捨てオムツなどの衛生用品に使われているが、抗菌剤として銀などの抗菌物質を包含したゼオライトなどを添加している。銀の蓄積は健康状好ましいとは言えない。このため高分子自身に抗菌活性を有したものが求められてきている。

**【0008】**

キトサンはプラスの電荷を持っているため、マイナスに帯電している菌と結合し、菌の増

50

殖を阻止する抗菌活性がある。このようにキチン及びキトサンを安全に橋かけする方法とそれ自身が抗菌活性をもったものが得られれば、応用範囲が拡がり捨てられているキチンの付加価値を一層高めることになる。しかし、キチン及びキトサンには有効な溶媒がないため、固体状態で照射を行うと著しく分解が起きる。したがって、キチン及びキトサンはフィルムや繊維状に加工することが難しく、放射線による橋かけも困難である。

#### 【0009】

キチン及びキトサンは水酸基の水素をヒドロキシル基やカルボキシル基で置換すると、分子間の水素結合が弱まり水に溶解するようになる。そこで鋭意研究を重ねた結果、カルボキシメチル化したキチン及びキトサン（キチン及びキトサン誘導体）を用い、高濃度のペースト状で照射を行ったところ橋かけが起きることを見出し、本発明を達成した。さらに

10

#### 【0010】

##### 【課題を解決するための手段】

水溶性のキチン及びキトサン誘導体は固体状態や希薄水溶液（5%以下の濃度）の放射線照射では分解が優先して起こるため、放射線橋かけによる加工は困難であった。本発明では、キチン及びキトサン誘導体に精製水を加え良く練り高濃度のペーストを調製し、電離性放射線を照射することにより橋かけに成功した。また、橋かけによって得られるCM-キトサンのハイドロゲルについては、抗菌活性を有する。

#### 【0011】

本発明で製造されるキチン及びキトサン誘導体のハイドロゲルは次のようにして合成される。

20

置換度の異なるキチン及びキトサン誘導体を精製水と良く練り容器を傾けても流れない高濃度のペーストを得る。これをポリ塩化ビニリデン製の袋に入れ、真空脱気の後熱シールを行い電子線により照射した。照射前は柔らかいペーストであるが、照射によりゴム状を呈し弾力のあるゲルが得られる。放射線橋かけを行うためには、ペーストの濃度は10%以上を要し、好ましい濃度は30%から50%である。固体状態及び10%以下の濃度では分解が優先的に起き橋かけによるゲルの生成は認められない。水との溶解性は置換度により異なり、置換度が高いほど高濃度のペーストを短時間で調製できる。

#### 【0012】

電離性放射線は、 $\gamma$ 線、電子線及びX線であり、橋かけの線量は0.5 ~ 1,000 kGyである。好ましい橋かけの線量は5 ~ 300 kGy である。

30

本発明で用いるキチン及びキトサン誘導体は水に溶解するものであればいずれでも良い。置換度が高いほど水との親和性が増し、高濃度のペーストが得られるため好ましい。最も好ましい置換度は0.3 ~ 0.9である。キチンはエビや蟹の殻から脱タンパク質を行うことにより抽出され、キトサンはそれを脱アセチル化して得られる。これらの材料が比較的安価であるため、誘導体合成に好ましい。

#### 【0013】

本発明のキチン誘導体は、CM-キチン、カルボキシエチルキチン、メチルキチン、エチルキチン、ヒドロキシエチルキチン、ヒドロキシプロピルキチン、酸化キチン、アセチルキチン、アミノアルキルキチン、アリルキチンなどである。また、キトサン誘導体は、CM-キトサン、カルボキシエチルキトサン、メチルキトサン、エチルキトサン、ヒドロキシエチルキトサン、ヒドロキシプロピルキトサン、酸化キトサン、アセチルキトサン、アミノアルキルキトサン、アリルキトサンなどである。

40

#### 【0014】

電離性放射線は、工業的生産のため、コバルト-60からの  $\gamma$ 線と加速器による電子線が好ましい。電子加速器は厚物の照射ができる加速電圧1 MeV以上の中エネルギーから高エネルギー電子加速器が最も好ましい。照射前の試料に圧力をかけフィルム状に加工すれば1 MeV以下の低エネルギー電子加速器でも電子線が透過するため放射線橋かけによりゲルを得ることができる。照射中の酸素による橋かけへの影響はほとんどないが、照射中の水分

50

の蒸発防止及び橋かけ密度の低下を抑制するため、ポリエステルなどのプラスチックフィルムなどにより上面をカバーして照射するのが望ましい。

【0015】

【発明の実施の形態】

ゲル分率は、次のようにして求めた。照射後得られたゲルを凍結乾燥し、50 真空乾燥器中で恒量になるまで乾燥する。乾燥した試料を200メッシュのステンレス網に入れ、多量の水に48時間浸漬する。橋かけしてない溶解成分は水側に移るため、ゲル成分のみが金網中に残る。ゲル分を包含したステンレス網をメタノール中に1時間浸漬し、その後50で24時間乾燥する。ゲル分率は次式により算出する。

【0016】

ゲル分率(%) = (溶解成分を除いたゲル重量/初期乾燥重量) × 100

膨潤率は、ペースト状照射を行った試料を多量の水に48時間漬け、得られたゲルを凍結乾燥し、それを精製水に漬け1グラムのドライゲルが吸水した精製水のグラム数で表した。

【0017】

ハイドロゲルの抗菌性は、次のようにして求めた。ペースト状照射により得たゲルは橋かけしていないゾルを除くため48時間精製水に漬ける。このゲルのみを所定の大きさに切り、大腸菌の一種であるE. coliを含む寒天培地の入ったシャーレに入れる。時間とともにE. coliが増殖してくるが、ハイドロゲルの回りにクリアゾーンが観察できればE. coliの増殖を阻止できたことになり、ハイドロゲルに抗菌性を有すると評価できる。

【0018】

キトサンは抗菌活性を有し、放射線照射により低分子化したものは活性が増す。しかしキトサンは希薄な酸のみしか溶解しないため、ハイドロゲルやシートに加工することは困難である。本発明ではキトサンの誘導体を放射線橋かけ技術により抗菌性を有したハイドロゲルの製造に成功した。このハイドロゲルは照射橋かけによりブロック状やシート状の様々な形状のものが得られ、次のような応用が期待できる。

【0019】

医療分野では、ケガや火傷でできた傷をキトサン誘導体ハイドロゲル又は他のハイドロゲルとのブレンドハイドロゲルでカバーし、傷の治癒を促進する創傷被覆材がある。最近火傷や老人の床ずれなどの傷を湿潤環境で治療すると、治癒が早く、しかも治癒後の創面が平滑であるため湿潤型の創傷被覆材が市販されてきた。本発明では従来の湿潤型創傷被覆材とは異なりハイドロゲルが抗菌活性を有した創傷被覆材であるため、抗菌剤の添加を要しない新しい創傷被覆材の製造が期待できる。

【0020】

抗菌性ハイドロゲルはゲル紡糸により、抗菌活性をもった繊維が得られる。さらに、得られたハイドロゲルの水を蒸発させ得たフィルムは、種々の材料の表面に貼り合わせるにより、カビなどの発生を防止する抗菌資材を得ることができる。このように抗菌性を有したハイドロゲルは種々の分野での応用が期待できる。以下、本発明を実施例及び比較例に基づいて説明する。

【0021】

【実施例】

(実施例1)

用いたCM-キチンの置換度は0.49、分子量は $2.82 \times 10^4$ 、脱アセチル化度は17.7%である。これを精製水と良く練り10、20、30、40、50%の濃度の異なるペースト(グリース状)を造り電子線により50 kGy照射した。表1で明らかのようにペースト状照射により水に不溶性ゲルが生成し橋かけが起きる。これを多量の水に漬けると膨潤しハイドロゲルとなる。CM-キチンの橋かけには20-40%の濃度が好ましい。

【0022】

【表1】

10

20

30

40

表1 濃度の異なるCM-キチン(置換度、0.49)を電子線により50 kGyの照射を行った場合のゲル分率と膨潤率。

CM-キチン濃度 (%)	10	20	30	40	50
ゲル分率 (%)	31	48	50	52	28
膨潤率(g水/1gドライゲル)	111	56	34	21	93

【0023】

(実施例2)

用いたCM-キチンの置換度は0.83、分子量は $2.93 \times 10^4$ 、脱アセチル化度は31.4%である。これを精製水と良く練り10、20、30、40、50%の濃度の異なるペースト(グリース状)を造り電子線により50 kGy照射した。表2で明らかなようにペースト状照射により水に不溶なゲルが生成し橋かけが起きる。これは多量の水に漬けると吸水しハイドロゲルとなる。CM-キチンの橋かけには20-40%の濃度が好ましい。

10

【0024】

【表2】

表2 濃度の異なるCM-キチン(置換度、0.83)を電子線により50 kGyの照射を行った場合のゲル分率と膨潤率。

CM-キチン濃度 (%)	10	20	30	40	50
ゲル分率 (%)	41	52	59	61	46
膨潤率(g水/1gドライゲル)	148	58	20	14	120

20

【0025】

(比較例1)

用いたCM-キチンは2種類である。置換度0.49、分子量 $2.82 \times 10^4$ 、脱アセチル化度17.7%と置換度0.83、分子量は $2.93 \times 10^4$ 、脱アセチル化度31.4%である。これらを室温の固体状態と5%以下の水溶液とで加速器からの電子線により200 kGyまで照射を行った。分子量が低下し水に容易に溶解するようになるが、水に不溶なゲル成分は生成しないことから、このような条件では橋かけが起こらない。

【0026】

(実施例3)

用いたCM-キトサンの置換度は0.91、分子量は $3.1 \times 10^4$ 、脱アセチル化度は84.0%である。これを精製水と良く練り20、25、35、50%の濃度の異なるペースト(グリース状)を造り電子線により100kGy照射した。表3で明らかなようにペースト状照射により水に不溶なゲルが生成し橋かけが起きる。これは多量の水に漬けると吸水しハイドロゲルとなる。CM-キトサンの橋かけには25-35%の濃度が好ましい。

30

【0027】

さらに、CM-キトサンハイドロゲルの抗菌性を評価した。CM-キトサンのハイドロゲルは35%のペースト状で150kGy放射線照射することにより得た。この試料を48時間精製水に漬けて溶解成分のゾルを除いたゲル分率35%のCM-キトサンハイドロゲルを調製した。

【0028】

これを径が10mmの大きさに裁断し、大腸菌のE. coliが $1 \times 10^6$  cell/ml含む寒天培地上に置き37℃で培養した。図1(b)に示されるように、ハイドロゲル周辺に約5mmほどがE. coliの増殖が抑制されクリアゾーンが観察されることから、CM-キトサンハイドロゲルに抗菌活性があることが明かである。

40

【0029】

【表3】

表3 濃度の異なる CM-キトサンを電子線により 100 kGy の照射を行った場合のゲル分率と膨潤率。

CM-キトサン濃度 (%)	20	25	35	50
ゲル分率 (%)	36	40	41	43
膨潤率(g 水/1g ドライゲル)	126	86	58	117

【0030】

(実施例4)

用いたCM-キトサンは脱アセチル化度84.0%、置換度(カルボキシメチル化度)0.91、粘度平均分子量 $3.1 \times 10^4$ である。CM-キトサンハイドロゲルは、35%のペースト状で80kGy放射線照射することにより得た。この試料を48時間精製水に漬けて溶解成分のゾルを除いたゲル分率25%のCM-キトサンハイドロゲルを調製した。

10

【0031】

これも実施例1と同様に径が10mmの大きさに裁断し、大腸菌のE. coliが $1 \times 10^6$  cell/ml含む寒天培地上に置き37℃で培養した。図1(c)に示されるように、ハイドロゲル周辺に約5mmほどがE. coliの増殖が抑制されクリアゾーンが観察された。ハイドロゲル周辺以外の白地にはE. coliが増殖した。

【0032】

(比較例2)

用いたCM-キトサンは置換度0.91、分子量 $3.1 \times 10^4$ 、脱アセチル化度84.0%である。これらを室温の固体状態と10%以下の水溶液とで加速器からの電子線により300 kGyまで照射を行った。分子量が低下し水に容易に溶解するようになるが水に不溶なゲル成分は生成しないことから、このような条件では橋かけが起こらない。

20

【0033】

(比較例3)

抗菌性試験には10%のポリビニルアルコール(PVA)水溶液を照射して得たハイドロゲルを用いた。大腸菌E. coliを $1 \times 10^6$  cell/ml含む寒天培地の上に径が10mmのPVAハイドロゲルを置き37℃で培養を行った。図1(a)に示されるように、培養時間とともにE. coliがハイドロゲル周辺に均一に増殖した。ハイドロゲルによるクリアゾーンが観察されず、このハイドロゲルには抗菌活性がないことが明らかである。中央部の線状の白い部分は透明なハイドロゲルのため、撮影時のライトの反射によるものである。

30

【0034】

【発明の効果】

本発明の応用分野としては、CM-キチンはアセチル基をもっているため、放射線橋かけの後この官能基と反応させ新しい性質をもったハイドロゲルを得ることができると期待できる。CM-キトサンハイドロゲルはそれ自身が抗菌活性を持っている特異なゲルである。医療分野では傷口に貼り外からの雑菌の混入を防ぎ治癒を促進する創傷被覆材への応用が期待できる。さらに、水の腐敗防止、抗菌繊維の製造などへの応用も期待できる。

【図面の簡単な説明】

【図1】 CM-キトサンハイドロゲルの大腸菌E-coliを用いた抗菌活性を示す図である。

40

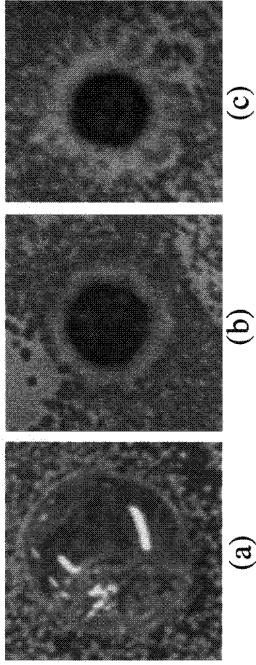
【符号の説明】

(a) : PVAハイドロゲル

(b) : CM-キトサンハイドロゲル、ゲル分率、40%

(c) : CM-キトサンハイドロゲル、ゲル分率、25%

【図 1】



写真の説明  
CM-キトサンハイドロゲルの大腸菌 *E.coli* を用いた抗菌活性  
(a) : PYA ハイドロゲル、ゲル分率、40%  
(b) : CM-キトサンハイドロゲル、ゲル分率、25%  
(c) : CM-キトサンハイドロゲル、ゲル分率、25%

## フロントページの続き

(51) Int.Cl. F I  
C 0 8 L 5/08 (2006.01) C 0 8 L 5:08

(74)代理人 100093713

弁理士 神田 藤博

(74)代理人 100091063

弁理士 田中 英夫

(74)代理人 100102727

弁理士 細川 伸哉

(74)代理人 100117813

弁理士 深澤 憲広

(74)代理人 100123548

弁理士 平山 晃二

(72)発明者 吉井 文男

群馬県高崎市綿貫町1 2 3 3 番地 日本原子力研究所高崎研究所内

(72)発明者 長澤 尚胤

群馬県高崎市綿貫町1 2 3 3 番地 日本原子力研究所高崎研究所内

(72)発明者 久米 民和

群馬県高崎市綿貫町1 2 3 3 番地 日本原子力研究所高崎研究所内

(72)発明者 三友 宏志

群馬県桐生市天神町1 丁目5 番地の1 群馬大学工学部生物化学工学科内

審査官 原田 隆興

(56)参考文献 特開平08 - 301903 (JP, A)

特開平03 - 167201 (JP, A)

特開2002 - 253663 (JP, A)

特開平01 - 259084 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C08B 37/08

A61K 31/722

A61P 17/02

A61P 31/04

C08J 3/28

C08L 5/08