

平成22年3月26日現在

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2007～2009

課題番号：19500404

研究課題名（和文） ステレオコンプレックス化ポリ乳酸を用いた再生足場材料の開発

研究課題名（英文） Preparation of Poly(lactic acid) Stereocomplex Scaffold Materials

研究代表者

辻 秀人 (TSUJI HIDETO)

豊橋技術科学大学・工学部・教授

研究者番号：60227395

研究成果の概要（和文）：光学活性ポリ乳酸および置換型ポリ乳酸を合成し、それらのホモ-およびヘテロ-ステレオコンプレックス形成挙動を検討し、その形成条件を最適化するとともに、*in vitro* 加水分解挙動を検討し、再生足場材料の開発に不可欠な基礎的知見を得た。

研究成果の概要（英文）：Optically active poly(lactic acid)s and substituted poly(lactic acid)s were synthesized and their homo- and hetero-stereocomplexation behavior, the optimal conditions for stereocomplexation, and the hydrolytic degradation behavior of stereocomplexed blends were investigated. The basic and crucial information for the preparation of poly(lactic acid) stereocomplex scaffold materials has been accumulated in this study.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,400,000	720,000	3,120,000
2008年度	600,000	180,000	780,000
2009年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：生分解性高分子材料

科研費の分科・細目：人間医工学・医用生体工学・生体材料

キーワード：ポリ乳酸／ポリラクチド／ステレオコンプレックス／再生医療／再生足場材料／医用材料／生分解性高分子／生分解性ポリエステル

## 1. 研究開始当初の背景

ポリ乳酸(PLA)を高強度化する方法として、種々の複合法が行われているが、フィラーが非生分解性である場合には、PLA 分解後にそれが残留するという問題が生じる。PLA の鏡像異性体であるポリ(L-乳酸)(PLLA)とポリ(D-乳酸)(PDLA)を用いたステレオコンプレックス(SC)化法は、PLA 材料を高強度化する有効な方法である。この材料にお

いては、非生分解性の無機フィラーなどを用いた複合材料と異なり、PLLA と PDLA は生分解性であるため、医療・環境用途において、残留成分が存在しないという利点がある。しかしながら、SC 形成のための最適条件は、十分に検討されておらず、特に置換型 PLA に関しては、全く検討されていない。また、良好に SC 化した PLA の長期加水分解挙動を検討した結果は、医療用途の

みならず、環境用途においても重要であるにも拘らず、報告されていない。

## 2. 研究の目的

本研究では、光学純度の高い無置換型および置換型 PLLA と PDLA を合成し、これらを種々のプロセスおよび条件で混合することにより、ブレンド試料を作製する。得られたブレンド試料に対して、熱処理および延伸などのプロセスを行うことにより、SC のみが形成される条件を、ブレンドやプロセスごとに最適化する。得られた結果から最適なプロセスおよび条件において、SC 化材料を作製し、再生足場材料での使用を想定して、*in vitro* における長期加水分解挙動を検討する。

## 3. 研究の方法

光学活性無置換型および置換型 PLA を環状モノマー（ラクチド）の開環重合および置換型乳酸の縮合重合により合成し、それらのホモ-およびヘテロ-SC 形成挙動を广角 X 線回折(WAXS)および示差走査熱量分析(DSC)により検討した。さらに、良好に SC 化した PLA 材料のリン酸緩衝液における *in vitro* 長期加水分解挙動を、ゲル・パーミエーション・クロマトグラフィー(GPC)による分子量分布評価、DSC による結晶化度および融点の評価、および WAXS による結晶種評価を行なうことにより検討した。

## 4. 研究成果

本研究により、以下の研究成果が得られた。

- (1) 高分子量 PLLA と PDLA をアセトニトリルを溶媒として用いて、結晶化することにより、良好に SC 結晶化した材料と非ブレンド結晶化材料を作製し、その長期 *in vitro* 長期加水分解挙動を 70, 85, および 97°C において検討した。GPC 測定の結果

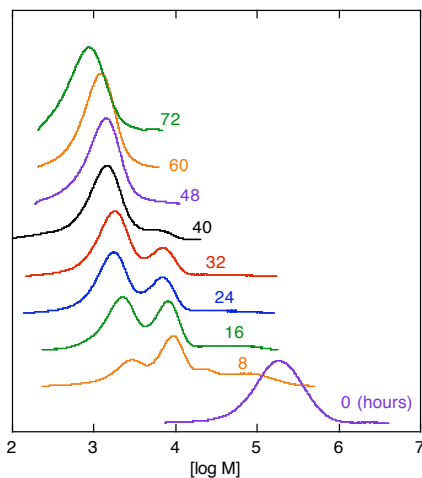


図 1. PLA の SC のリン酸緩衝液(pH 7.4, 97°C)における GPC 曲線の経時変化。

(図 1) より、SC 結晶化した材料として、初めて残存結晶領域の生成を確認した。ホモ-SC 結晶化試料においてもホモ結晶化試料と同様に、非晶領域の加水分解される初期において、加水分解速度が高く、残存結晶領域の加水分解される後期において、加水分解速度が低下することが示された。ホモ-SC 結晶領域の加水分解の活性化エネルギーは  $90.6 \text{ kJ mol}^{-1}$  であり、過去に報告されている PLLA のホモ結晶領域の加水分解の活性化エネルギーの  $75.2 \text{ kJ mol}^{-1}$  よりも高い値を示し、ホモ-SC 結晶の加水分解に対する耐性が、ホモ結晶よりも高いことが分かった。

- (2) PLLA および PDLA のメチル基がエチル基に置換したポリ[(S)-2-ヒドロキシブタン酸][P(S-2HB)] およびポリ[(R)-2-ヒドロキシブタン酸][P(R-2HB)]を、それぞれ(S)-2-ヒドロキシブタン酸および(R)-2-ヒドロキシブタン酸の縮合重合により合成し、これらをブレンドし、WAXS (図 2) および DSC により、ホモ-SC 形成の可否を検討した。その結果、PLLA および PDLA の場合と同様に、世界で初めて、溶液結晶化においても、溶融結晶化においても置換型 PLA であるポリ(2-ヒドロキシブタン酸)[P(2HB)]のホモ-SC が形成されることを確認した。また、ホモ-SC を形成したブレンド試料の融点( $T_m$ )は、非ブレンド試料と比較して、 $100^\circ\text{C}$ 程度高くなった。P(2HB)のかさ高いエチル基のため、PLA のホモ-SC と比較して、P(2HB)のホモ-SC の結晶格子の面間隔は増大した。P(S-2HB) および P(R-2HB)は、PLLA および PDLA よりも疎水性であり、加水分解速度が低いいため、より加水分解耐性の高い生分解性ポリエステル医用材料の作製の可能性を示唆している。

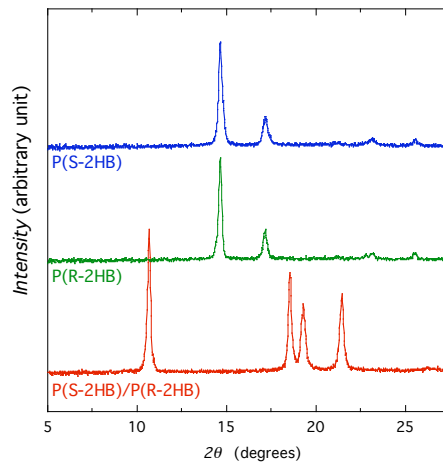


図 2. 非ブレンド P(S-2HB), P(R-2HB), および P(S-2HB)/P(R-2HB)ブレンドの WAXS プロファイル。

(3) PDLA のメチル基がエチル基に置換された P(R-2HB) を、PLLA および PDLA とブレンドし、ヘテロ-SC 形成の可否を WAXS (図 3) および DSC により、検討した。その結果、PLLA および PDLA の場合と同様に、溶液結晶化においても、熔融結晶化においても、ヘテロ-SC 形成が確認された。ヘテロ-SC の  $T_m$  は、PDLA よりも 5-17°C 高くなり、ヘテロ-SC の結晶面間隔は、PLA のホモ-SC および P(2HB) のホモ-SC の中間の値となった。本研究は、生分解性高分子としては、世界で初めての研究報告であり、両ポリマーの組み合わせを変えることにより、多種多様の物性と分解性を有する生分解性ポリエステル医用材料の作製が可能であることを示唆している。

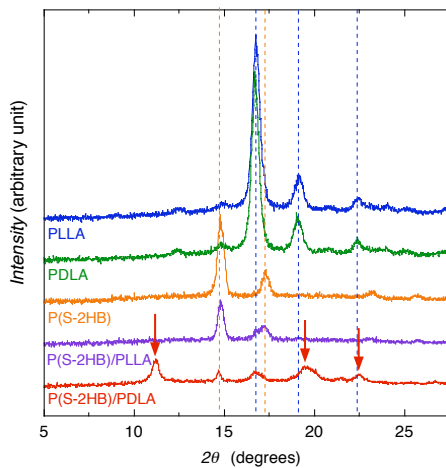


図 3. 非ブレンド PLLA, PDLA, P(S-2HB)、およびそれらのブレンドの WAXS プロファイル。

(4) 低分子量 PLLA/PDLA ブレンドのバルク状態における、熔融状態からの 130°C 以上での定温結晶化および非晶化試料の昇温結晶化を、WAXS および DSC に

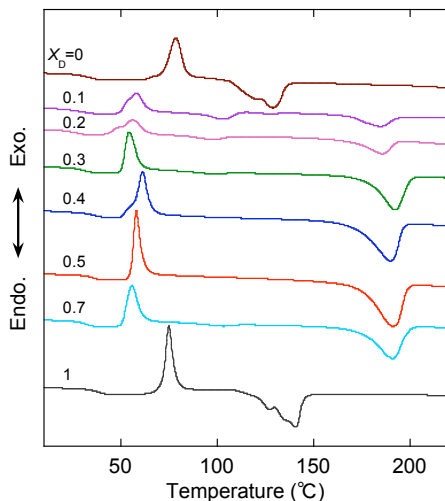


図 4. 急冷非晶化 PLLA/PDLA ブレンドの昇温時の DSC 曲線。

より検討した。その結果、130°C 以上の定温結晶化では、ホモ-SC 結晶のみが形成され、ブレンド比 [ $X_D$ =PDLA の重量/(PLLA と PDLA の重量)] が 0.5 から離れるに従い、球晶成長速度と結晶化度は低下すること、ブレンド試料においては、 $X_D$  に拘わらず、結晶化のメカニズムが変わらないこと、および非晶化試料の昇温結晶化は、ホモ-SC の形成により極めて速く起こる (図 4) ことが、明らかとなった。これらの結果は、PLA のホモ-SC 化医用材料を作製する際の重要な情報となる。

(5) PLLA および PDLA のメチル基がベンジル基に置換されたフェニル PLLA (Ph-PLLA) およびフェニル PDLA (Ph-PDLA) を合成し、これらと PDLA とのブレンドを作製し、昇温および降温時の結晶化挙動を DSC を用いて評価することにより、立体配置の異なるフェニル置換 PLA と PDLA との相互作用の違いを検討した。その結果、Ph-PLLA および Ph-PDLA は結晶化能を有しないが、PDLA の DSC 測定中の結晶化挙動は、反対の立体配置を持つポリマー間のブレンドにおいて、同一の立体配置を有するポリマー間のブレンドより抑制された (図 5)。このことは、PDLA はフェニル置換 PLA とは、ヘテロ-SC を形成しないが、反対の立体配置を持つポリマー間の相互作用の方が、同一の立体配置を有するポリマー間の相互作用よりも強いことを示している。

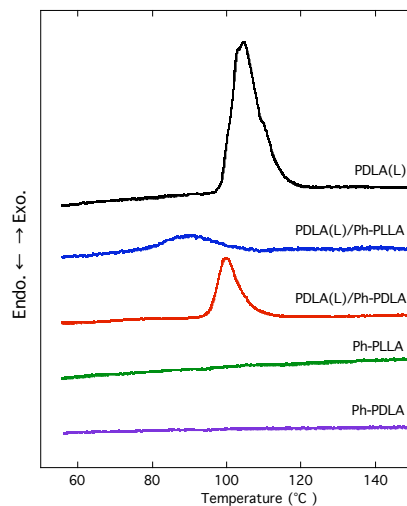


図 5. 非ブレンド低分子量 PDLA [PDLA(L)]、フェニル置換 PLA、およびそれらのブレンドの降温時の DSC 曲線。

(6) 置換型 PLA の SC 形成を検討するために必要な置換型乳酸の縮合重合の触媒 (p-トルエンスルホン酸) 濃度と重合時間を最適化するため、種々の触媒濃度における重合時の置換型 PLA の経時変化を検討した

(図6)。その結果、触媒濃度が2.5wt%において、24時間における置換型 PLLA の分子量が最も高くなった。また、フェニル置換された PLLA(Ph-PLLA)の比旋光度 ( $[a]_{589}^{25}$ ) は、 $-38 \text{ deg dm}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ cm}^3$  であり、同程度の分子量を有する PLLA の $-150 \text{ deg dm}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ cm}^3$  よりも絶対値が大幅に低くなった。このことは、かさ高いフェニル基の存在が、ヘリックス構造を取りにくくしていることを示唆している。PLLA に 4 mol%のフェニル乳酸単位が入ることにより、PLLA は熔融結晶化の際に結晶化能を失うことが、明らかとなった。また、Ph-PLLA の熱分解の活性化エネルギーは、 $200 \text{ kJ mol}^{-1}$  であり、無置換 PLLA の  $158 \text{ kJ mol}^{-1}$  よりも高かった。このことは、フェニル置換されることにより、耐熱性が上昇することを示している。

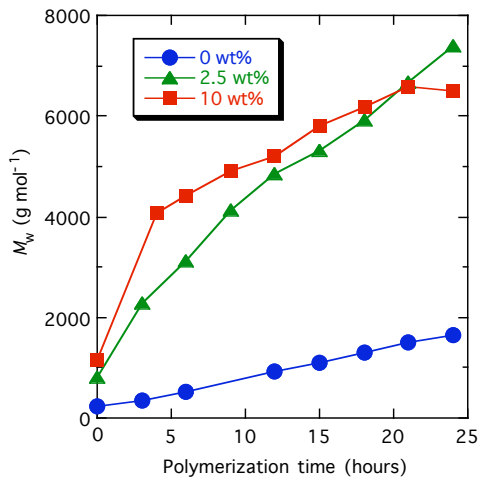


図6. 常圧下5時間経過後のフェニル置換 PLLA をさらに減圧下で反応した場合の重量分子量( $M_w$ )の経時変化。

(7) 高分子量 PLLA/PDLA ブレンドの昇温に伴う結晶種の遷移を WAXS/DSC 同時測定装置により検討した。その結果、図7に示すように、室温においては、ホモ-SC 結晶、PLLA および PDLA のホモ結晶( $\alpha'$  晶)が共存するが、 $120^\circ\text{C}$  以上に昇温すると、秩序性の低い $\alpha'$  晶が秩序性の高い $\alpha$  晶へと遷移する。さらに、ホモ結晶の  $T_m$  以上に昇温すると、ホモ結晶は融解し、そのまま熱処理を継続すると、融解した PLLA と PDLA は、

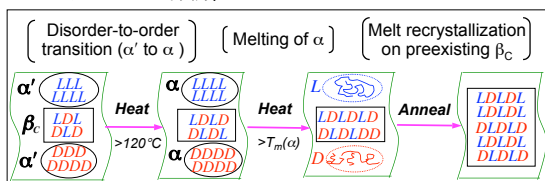


図7. 高分子量 PLLA/PDLA ブレンドの昇温に伴う結晶種の遷移。

ホモ-SC 晶を形成する。これらの結果は、ホモ結晶の  $T_m$  以上での熱処理により、ホモ-SC 結晶のみを結晶種として有する生分解性医用材料の作製が可能であることを示している。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計7件)

- (1) Hideto Tsuji, Tomonori Tsuruno; Accelerated Hydrolytic Degradation of Poly(L-lactide)/Poly(D-lactide) Stereocomplex upto Late Stage, Polymer Degradation and Stability, 査読有、vol. 95, No. 4, pp. 477-484 (2010).
- (2) Hideto Tsuji, Satomi Yamamoto, Ayaka Okumura, Yu Sugiura; Hetero-Stereocomplexation between Biodegradable and Optically Active Polyesters as a Versatile Preparation Method for Biodegradable Materials, Biomacromolecules, 査読有、Vol. 11, No. 1, pp.252-258 (2010).
- (3) Hideto Tsuji, Ayaka Okumura; Stereocomplex Formation between Enantiomeric Substituted Poly(lactide)s: Blends of Poly[(S)-2-hydroxybutyrate] and Poly[(R)-2-hydroxybutyrate], Macromolecules, 査読有、Vol. 42, No. 19, pp. 7263-7266 (2009).
- (4) Leevameng Bouapao, Hideto Tsuji; Stereocomplex Crystallization and Spherulite Growth of Low-Molecular-Weight Poly(L-lactide) and Poly(D-lactide) from the Melt, Macromolecular Chemistry and Physics, 査読有、Vol. 210, No.12, pp. 993-1002 (2009).
- (5) Hideto Tsuji, Hiroshi Matsuoka; Stereoselective Interaction between Isotactic and Optically Active Poly(lactic acid) and Phenyl-Substituted Poly(lactic acid), Macromolecular Rapid Communications, 査読有、Vol. 29, No. 16, pp.1372-1377 (2008).
- (6) Hideto Tsuji, Hiroshi Matsuoka, Shinichi Itsuno; Synthesis, Physical Properties, and Crystallization of Optically Active Poly(L-phenyllactic acid) and Poly(L-phenyllactic acid-co-L-lactic acid), Journal of Applied Polymer Science, 査読有、Vol. 110, No. 6, pp. 3954-3962 (2008).
- (7) Jianming Zhang, Kohji Tashiro, Hideto Tsuji, Abraham J. Domb; Investigation of Phase Transitional Behavior of Poly(L-lactide)/Poly(D-lactide) Blend Used to Prepare the Highly-Oriented Stereocomplex,

Macromolecules, 査読有、Vol. 40, No. 4,  
pp. 1049-1054 (2007).

[学会発表] (計 7 件)

- (1) 西野孝、小寺 賢、木本真之、辻 秀人、若木裕之、成田淳一、「ポリ乳酸およびそのステレオコンプレックスの結晶弾性率」、高分子学会年次大会、高分子学会予稿集、57 巻、p.768 (2008).
- (2) 山本聡美、辻 秀人、「反復キャスト法による高分子量ポリ乳酸のステレオコンプレックス形成の促進」、高分子学会年次大会、高分子学会予稿集、57 巻、p.2067 (2008).
- (3) 辻 秀人、松岡浩史、伊津野真一、「光学活性ポリ(フェニル乳酸)とポリ(フェニル乳酸-乳酸)の合成・特性および光学活性ポリ乳酸との立体特異的相互作用」、高分子学会予稿集、57 巻、p.5265 (2008).
- (4) 辻 秀人、「高性能化ポリ乳酸繊維およびフィルム」、繊維学会予稿集、62 巻 3 号、p.133(2007).
- (5) 田代 孝二、辻 秀人、張 建明、「ポリ乳酸ステレオコンプレックスにおける分子鎖間相互作用の検討」、高分子討論会予稿集、56 巻、p.5648 (2007).
- (6) Bouapao Leevameng, 田代 孝二、辻 秀人、Zhang Jianming、「高分子量ポリ(L-ラクチド)/ポリ(D-ラクチド)ブレンドにおけるホモ結晶化および球晶成長挙動」、高分子討論会予稿集、56 巻、p.5716 (2007).
- (7) 鶴野 智徳、辻 秀人、「ポリ乳酸ステレオコンプレックスの水蒸気透過性」、高分子学会年次大会、高分子学会予稿集、56 巻、p.2273 (2007).

[図書] (計 3 件)

- (1) Hideto Tsuji, "Hydrolytic Degradation", in "Poly(lactic acid): Synthesis, structures, properties, processing and applications, Eds. R. Auras, L-T, Lim, S. Selke, H. Tsuji, Wiley, in press.
- (2) 辻 秀人、「ポリ乳酸－植物由来プラスチックの基礎と応用－」(全 232 ページ、全 10 章)、米田出版、2008 年.
- (3) Hideto Tsuji, Yoshito Ikada, "Stereocomplex between Enantiomeric Poly(lactide)s", in "Biodegradable Polymer Blends and Composites from Renewable Resources", L. Yu, Ed., Wiley, 2008, Chapter 7, pp.165-190.

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称：ステレオコンプレックスポリエステル

発明者：辻 秀人、奥村彩香、山本聡美

権利者：国立大学法人豊橋技術科学大学

種類：特許

番号：特願 2009-200772

出願年月日：2009 年 8 月 31 日

国内外の別：国内

6. 研究組織

(1)研究代表者

辻 秀人 (TSUJI HIDETO)

研究者番号：60227395

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし