

令和 5 年 5 月 12 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K05105

研究課題名(和文)多糖類エアロゲルを用いた生分解性高分子新材料の調製

研究課題名(英文)Preparation of new biodegradable polymeric materials with polysaccharide aerogels

研究代表者

青柳 隆夫 (AOYAGI, Takao)

日本大学・理工学部・教授

研究者番号：40277132

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：多糖類と脂肪族ポリエステルとの複合材料の調製において、エアロゲルの調製を経由するという新規な方法を検討し、得られた試料の分析を行なった。多糖類のエアロゲルがネットワーク構造を維持し、その表面には多数の水酸基が存在できることにより、ラクトンの直接重合反応が可能であったと考えられた。アガロースまたはグルコマンナンを用いてカプロラクトン(PCL)をグラフトした複合材料を調製し、これを10重量%混合したPCLの熱重量分析を行なったところ、PCL単独に比べ、分解温度が低下することが確認できた。さらに同試料の示差走査型熱分析を行なった結果、PCL単独とほぼ同一の融点を示すことが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生分解性材料においては、化学合成系、天然物系、微生物生産系などに大別される。天然物由来の生分解性材料では高い分解性や高い強度が特徴であるが、その成形性が問題になることが多く、例えばセルロースの場合においては化学修飾や再生化反応後でないと成型加工性に問題がある。一方、化学合成系の特徴はその重合反応のしやすさであり、天然物系とのハイブリッド化で高強度な材料調製が期待されている。これらの材料は、環境問題を解決するための代替プラスチックとしてはかりでなく、材質に基づく高い生体適合性と分解性ゆえの疾病治療に用いるバイオマテリアルとしての応用が期待できる。

研究成果の概要(英文)：In the preparation of composite materials of polysaccharides and aliphatic polyesters, a novel method of preparing aerogel was investigated, and the obtained samples were analyzed. It was thought that the direct polymerization of lactone was possible because polysaccharide aerogel maintains a network structure and a large number of hydroxyl groups can exist on its surface. A composite materials grafted with caprolactone (PCL) were prepared using agarose or glucomannan, and thermogravimetric analysis of PCL, which was mixed with 10% by weight of this material, confirmed that the decomposition temperature was lower than that of PCL alone. Furthermore, as a result of differential scanning thermal analysis of the same sample, it was found that the melting point was almost the same as that of PCL alone. These results suggested that the composite materials would be miscible completely and they could be used for filler.

研究分野：高分子材料

キーワード：生分解性材料 多糖類 アガロース グルコマンナン ポリカプロラクトン 複合材料

### 1. 研究開始当初の背景

生分解性材料においては、化学合成系、天然物系、微生物生産系などに大別される。多糖類などの天然物由来の生分解性材料では、材料化のために精製操作が必要である。例えば植物由来のセルロースの場合においては、リグニンやヘミセルロースを除去した後、いくつかの段階を経てセルロースナノファイバーとして得られ、多くの応用研究が進められている。また、純粋なセルロースとして知られる微生物生産系のバクテリアセルロース(BC)においては、その純度の高さにおいて優れていることが植物系セルロースにはない特徴であり、培養によって生産されることからヒドロゲルとして回収される。豊富な海洋資源の海藻から得られるアガロースは寒天の成分であり、通常はヒドロゲルとして応用されることが多い。1,3結合-D-ガラクトースと1,4結合3,6-アンヒドロ-L-ガラクトースの交互結合からなり、分子が構成するネットワーク構造の形成は水素結合によるものであるが、セルロースのように結晶を作るほどの高い水素結合ではなく、“加熱すれば溶解する”という程度のものであり、熱可逆性を有している。融解温度とゲル化温度の差(ヒステリシス)は他の親水コロイドと比べてもより大きく、またイオン性基が存在しないためにゲルは中性である特徴を有する。グルコマンナンは、グルコースとマンノースから構成され、食物繊維として有名であり、アガロースよりも比較的硬いヒドロゲルを形成している。

天然物由来の生分解性材料では高い分解性や高い強度が特徴であるが、その成形性が問題になることが多く、例えばセルロースの場合においては化学修飾や再生化反応後でないと成型加工性に問題がある。一方、化学合成系の特徴はその重合反応のしやすさであり、天然物系とのハイブリッド化で高強度な材料調製が期待されている。これらの材料は、環境問題を解決するための代替プラスチックとしてはばかりでなく、材質に基づく高い生体適合性と分解性ゆえの疾病治療に用いる薬物長期徐放担体としても極めて有望である。

### 2. 研究の目的

そこで本研究では、バイオマスなどを有効利用した新たな生分解性を有する環境低負荷材料を開発する。具体的には、海洋バイオマスであるアガロースや植物系バイオマスのグルコマンナンなどの多糖類と異構造の生分解性ポリエステルを複合させた新生分解性材料の合成研究を遂行し、得られた材料の物性評価を行う。さらに、これらを複合化分散剤として用いることにより、力学的特性に優れた多成分からなる新複合材料を調製する。この材料は、特に環境中での分解を期待するだけでなく、生体内での分解も生起することから、生体への利用を目的としたバイオマテリアルとしての利用に関しても有望である。

我々の研究室では、これまでに、ヒドロゲル状のバクテリアセルロースを超臨界二酸化炭素中で乾燥させることにより、乾燥前の形状を維持することができることを見出しカプロラクトングラフト重合に成功している<sup>1)</sup>。その様子を図1に示した。アガロースおよびグルコマンナンにこの手法を適用することにより、新複合材料の作成を検討する。ポリカプロラクトンに関しては、以前より合成系の生分解性材料の特徴として、材料の結晶-融解に基づく形状記憶性についても研究を進めており<sup>2)</sup>、材料の温度変化にตอบสนองした細胞の接着性に関する成果も発表している<sup>3)</sup>。この形状記憶性を有するポリエステルと、多糖類との化学合成系複合材料の構造と機能との関連をさらに追求するために、その詳細な物性の解析と、この材料のさらなる応用先を検討する必要があると考え、本研究を遂行した。

### 3. 研究の方法

既往研究の報告<sup>1)</sup>に従って、アガロースおよびグルコマンナンのエアロゲルを調製した。更にこのエアロゲルを用いてカプロラクトンのグラフト重合を行った。以下の説明では、重複を避けるためにアガロースゲルに絞ってその調製法を示す。

#### (1)アガロース-ポリカプロラクトンフィルムの調製

グラフト重合後のアガロース-ポリカプロラクトンを N,N ジメチルホルムアミド (DMF)20mL 中で、9日間 900~1000rpm で攪拌を行い、アガロース-ポリカプロラクトン分散液を調製した。こ

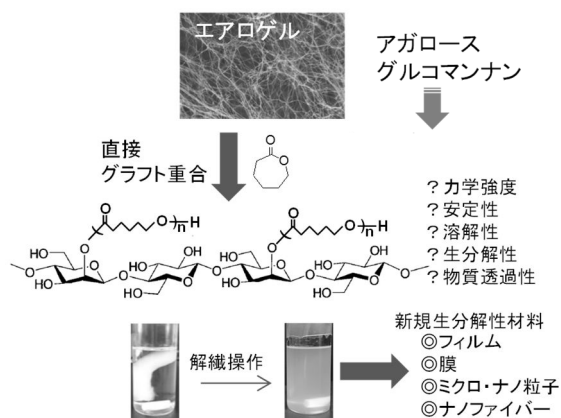


図1 多糖類エアロゲルへのポリマーグラフト化による新生分解性材料の合成

の分散液中の解繊しきれなかった沈殿を取り除き、80 の減圧乾燥機内で静置させてフィルムを調製した。

## (2) 分解性評価加速試験

0.5 mol/L の NaOH 水溶液を調製し、直径 35mm の円柱状ガラス管に 40mL を分注した。調製したアガロース-ポリカプロラクトンフィルムまたは比較サンプルのポリカプロラクトンフィルムを入れ、その上にテフロンフィルムを乗せ 25 の恒温槽内のプレートシェイカー上で 6、24、96 時間インキュベートした。その後、サンプルを取り出し、表面を純水で洗浄後十分に乾燥させて重量減少率を求めた。

## (3) 試料の構造および表面分析

得られた試料の元素分析は elemental analyzer (ジェイ・サイエンス・ラボ製、CORDER JM10)、化学構造の確認は FT-IR (Perkin-Elmer、Spectrum One) により行った。また、示差走査型熱分析は DSC (TA インストルメント製、Q2000) により行った。更に表面の濡れ性に関しては、接触角測定装置 (OCA、WCA データフィジック製) を用いて評価した。

# 4. 研究成果

## (1) 糖類エアロゲルの調製とカプロラクトンのグラフト重合

一般的に多糖類は、水にしか溶解せず、一方で脂肪族ポリエステルは有機溶媒にしか溶解しない、相反する性質をそれぞれ有する。従って多糖類にエチレンオキシドやプロピレンオキシドといった化合物との反応による化学修飾を施し、有機溶媒に可溶化させ、それにポリエステルの原料となるラクトンを反応させることにより複合材料を調製する。この方法では、多糖類本来の化学構造に改変を加えることになり、その性質は変化せざるを得ない。そこで当研究室で多糖類と直接ポリエステルを複合化させる方法を検討し、多糖類のエアロゲルの調製を経由した方法を着想した。エアロゲルは、媒体を空気とするゲルの意味であり、ゲル特有のネットワーク構造を再現しつつ、水や有機溶媒に膨潤しているわけではない。その表面は分子本来の構造を維持していると考えられ、多糖類の特徴である水酸基を利用した脂肪族ポリエステルのグラフト化が可能であると推察した。そこでバクテリアセルロースエアロゲルを調製後、環状モノマーであるカプロラクトンの開環重合を行い複合化に成功した。得られた精製物を有機溶媒中で激しく攪拌すると解繊現象が生じ、複合材料の懸濁液が調製できた。この懸濁液を用いてキャスト膜を調製することに成功した。この方法に沿って、バクテリアセルロースの代わりに、アガロース、およびグルコマンナンを用いて同様の手法により多糖類へポリカプロラクトンがグラフトした複合材料の調製に成功した。

## (2) 多糖類-ポリカプロラクトン複合材料のバルク物性

ワルシャワ工科大学との共同研究により、この複合材料の特徴を明らかにするとともに、その応用に関する検討を行った。ポリカプロラクトンに関しては、先方の研究室で多くの使用実績があり、その目的は主に、3D プリンティング装置を用いた再生医療用の足場材料の製造である。その調製とともに、多くの機器分析によって詳細な物性解析を進めている。本研究で調製した材料の特徴は多糖類と複合化させることで親水性の構造の向上が期待でき、また、通常のポリカプロラクトンとしての特徴も併せ持つことができる。ポリカプロラクトンを足場材料に利用する問題点として、疎水性が高いため接着性のタンパク質の吸着性に劣る点がある。今回の多糖類との複合材料では親水性が向上することが期待できることから、これらの材料の添加は、より高性能の足場材料になると考えられた。そこで、通常のポリカプロラクトンと複合材料を混合し 3D プリンティングにより、メッシュ状の足場材料の試作を目指すこととした。

本研究の試料と市販のポリカプロラクトンを重量比 10 : 90 の割合で共通溶媒のヘキサフルオロイソプロパノールに溶解させ、キャストフィルムを調製し DSC 測定を行った。結果を図 2 に示す。上図は 1 回目のスキャンを、数は 2 回目のスキャンを示す。ポリカプロラクトン由来の結晶-融解に基づくピークを追跡した結果、

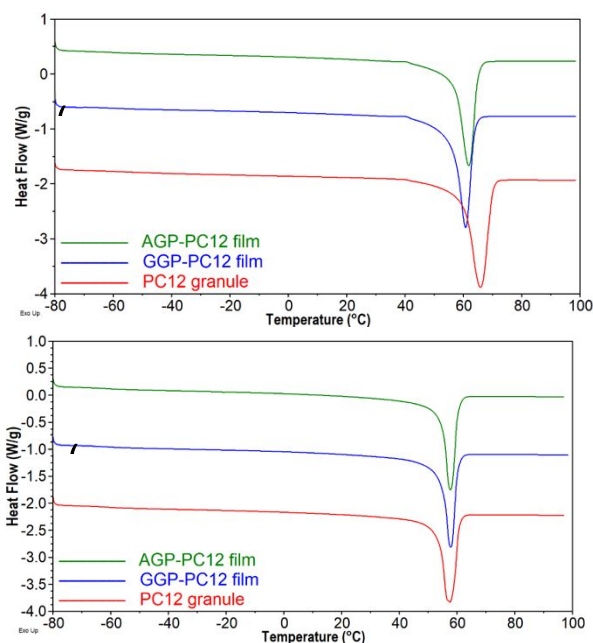


図2 多糖類-ポリカプロラクトン複合材料の DSC 測定  
AGP-PC12、GGP-PC12 はそれぞれ、アガロース、グルコマンナンとポリカプロラクトンとの複合材料とポリカプロラクトンとの混合物を表す。PC12 はポリカプロラクトンのみ

1回目のスキャンにおいては、複合材料を混合した試料においては、融点の低温側へのシフトが観察されたが、2回目のスキャンでは複合材料を含まないポリカプロラクトンと同じエンタルピー変化量、融点が観察された。これは、融解の履歴を経ることによって、連鎖が均質化することを示唆しており、アガロースやグルコマンナンといった多糖類が、構造の全く異なるポリカプロラクトンマトリックスに均一に存在できると考えられた。

### (3) 多糖類-ポリプロラクトン複合材料の表面性質

さらに、この複合材料を含むキャストフィルム表面の性質を評価するために、接触角測定を行った。その結果を図3に示す。複合材料の10%添加によって、水の接触角は優位に低下しており、複合材料中の多糖類の重量比が約50%であることを考慮すると、全体としてわずか5%の多糖類の存在によって親水性を向上させることができることを意味している。そこで、このキャストフィルム(混合試料)を用いて3Dプリンティングを試みた。この際、通常のポリカプロラクトン単独での造形用の条件で行った。しかし複合材料添加によって大きく粘性が増大しており、ニードルからの溶出が困難であった。そこで、通常よりも高温での造形を試みたが、この場合も困難であった。わずか10%の複合材料の添加によって粘性が大きく増大する原因については多糖類の水酸基とポリカプロラクトン連鎖中のエステル基と水素結合による物理的な架橋構造の生成が考えられた。

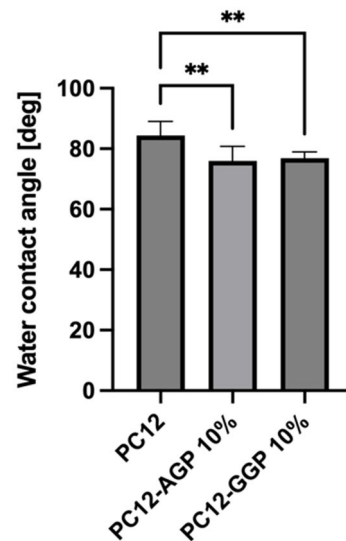


図3 接触角測定  
サンプル名は図2に準ずる

### (4) 生分解性評価

アガロース-ポリカプロラクトン複合材料フィルムと PCL フィルムの分解試験の結果を図4に示す。PCL フィルムは96時間後でも重量減少率が約0.75%だった。それに対してアガロース-ポリカプロラクトンフィルムは6時間後で約38%程度、24時間後で約63%、96時間後で約79%と高い分解性を示した。水中ではアガロース-ポリカプロラクトンはアガロースの高い親水性のため、水分子がアクセスしやすくなり、加水分解性が高まったためであると考えられる。

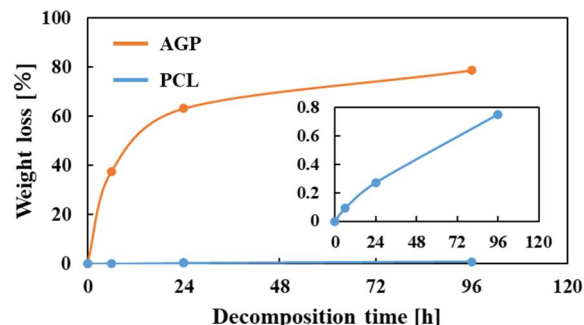


図4 アガロース-ポリカプロラクトン複合材料の分解性評価

以上より、本研究で得られた多糖類とポリカプロラクトン複合材料が、ポリプロラクトンとの融解混合によって均一な材料になり得ること、さらに多糖類構造が均一に存在していること、混合によって強度の上昇が見込まれることが明らかになった。たとえば、脂肪族系ポリエステルに添加剤として用いることにより、分解性の向上と強度の増加が期待できると考えられる。

### 参考文献

- 1) Y. Kida, T. Hoshi, T. Aoyagi, "Defibrillation of Bacterial Cellulose Gel by Grafting Poly( $\epsilon$ -Caprolactone) and Preparation of its Suspension for Easy Manufacturing", SciFed Journal of Polymer Science, 2 (1), 1000011 (2018)
- 2) K. Uto, T. Aoyagi, C. A. DeForest, A. S. Hoffman, M. Ebara, "A Combinational Effect of "Bulk" and "Surface" Shape-Memory Transitions on the Regulation of Cell Alignment", Advanced Healthcare Materials, 1601439, (2017)
- 3) K. Iwamatsu, K. Uto, Y. Takeuchi, T. Hoshi, T. Aoyagi, "Preparation of Temperature Responsive, Cationized, Poly( $\epsilon$ -Caprolactone)-based, Cross-linked Material by Macromonomer Design and Positive Charge Control at Surface", Polymer Journal, 50, 447-454 (2018)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 古川真理、星徹、青柳隆夫
2. 発表標題 新規生分解性材料としてのagarose-grafted-PCLの調製と物性評価
3. 学会等名 第70回高分子討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤野裕、古川真理、星徹、青柳隆夫
2. 発表標題 多糖類エアロゲルへのPCLのグラフト重合による新規生分解性材料の調製
3. 学会等名 第71回高分子討論会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	星 徹  (HOSHI Toru)  (30513973)	日本大学・理工学部・准教授   (32665)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------

ポーランド	ワルシャワ工科大学			
-------	-----------	--	--	--