Accounts of **Materials & Surface** Research

Fabrication and Functionalization of Composite Films from Polyion Complexes of Polysaccharides

Takuya Sagawa and Mineo Hashizume*

Department of Industrial Chemistry, Faculty of Engineering, Tokyo University of Science 6-3-1 Niijuku, Katsushika-ku, Tokyo, 125-8585, Japan. mhashizu@ci.tus.ac.jp

Structural materials made of polysaccharides have attracted attention because of their high biocompatibility and biodegradability. Our group has reported that free-standing polysaccharide composite films can be obtained from polyion complexes consisting of anionic polysaccharides such as chondroitin sulfate C and chitosan, a cationic polysaccharide by hot-press techniques. The films possess sufficient mechanical strength and swelling property, indicating their potential use as wound dressings and carriers for drug delivery systems. Here, the fabrication and basic physical and functional properties of the films are firstly described. After that, evaluation of the molecular

permeability of polysaccharide composite films with cationic and anionic permeable molecules is demonstrated as a further application development of the films. The kinetic analysis of the permeation of methylene blue through the polysaccharide composite films and cellulose dialysis membranes in buffer solutions at different pH showed that the permeation behaviors of these films were different. Furthermore, a molecular imprinting approach was applied to the films to control their molecular permeability.

Keyword: Free-standing film, Polysaccharide, Polyion complex, Chitosan, Permeability

Takuya Sagawa received his Ph.D. in Engineering from Tokyo University of Science under the guidance of Prof. Takahiro Gunji in 2018. Then he joined the group of Prof. Atsushi Fukuoka at Hokkaido University as a postdoctoral researcher in 2018. Then he moved to the group of Prof. Mineo Hashizume at Tokyo University of Science in 2020 and has been an assistant professor. His research interests are the fabrication of composite materials composed of polysaccharides and the conversion of chitinderived amide sugar alcohol.

Mineo Hashizume is currently a professor in Tokyo University of Science. He was received his Ph.D. in 1999 from Tokyo Institute of Technology under the supervision of Associate Prof. Toshinori Sato and Prof. Yoshio Okahata. After one-year of postdoctoral research experience in University of Texas at Austin (Prof. Eric. V. Anslyn), he joined in RIKEN as a frontier researcher (Prof. Toyoki Kunitake). In 2002, he moved to Nara Institute of Science and Technology as an Assistant Professor (Prof. Jun-ichi Kikuchi). In 2008, he became a junior associate professor and started his own research group at Tokyo University of Science. Following an associate

professor (2012), he was promoted to a professor (2017). His research interests include creation of organic-inorganic hybrid materials using biomimetic processes, surface functionalization of engineering plastics, and utilization of biomass as structural materials.



stirrer

stirre

Donor chamber

(permeant solution)

CS/CHI film

Sampling port

Receptor chamber

(solvent)





多糖ポリイオンコンプレックスによるフィルム材料の作製と機能開拓

佐川 拓矢,橋詰 峰雄* 東京理科大学工学部工業化学科

1. はじめに

天然高分子からなる材料は生体適合性、生分 解性を有するため盛んに研究が行われている。 特に多糖は天然賦存量が多く、太古より木材や 紙、布などの材料として利用されてきた。近年で はその生体適合性の高さからドラッグデリバリー システムや組織工学への応用、創傷被覆材や 癒着防止剤の原料など、バイオマテリアルへの 展開が多く行われている。これらバイオマテリア ルは、バルク体やゲル、フィルム、ファイバーな どの構造材料として利用するため、成型加工性 は重要なファクターである。多糖は水不溶性と 水可溶性のものの2種類に分けられる。地球上 でもっとも天然賦存量が多い多糖であるセルロ ースや海洋中で最も多く存在するキチンは細胞 膜や外骨格の構成物質であり、水不溶性である (Figure 1)。セルロースは古くからガーゼ、包帯、 脱脂綿などとして用いられてきた。また、キチン は抗菌性、創傷治癒効果が報告されており、創 傷被覆材として利用されている。しかしながらこ れらの多糖は水不溶性であるがために成型加 工性に乏しく、材料製作時の取り扱いが困難な ものとなってしまう問題点がある。一方、水可溶 性の多糖として、キトサン(CHI)、ヒアルロン酸 (HYA)、コンドロイチン硫酸 C ナトリウム(CS)、 アルギン酸ナトリウム(ALG)などが挙げられる (Figure 1)。これらは水不溶性の多糖と比べて 取り扱いや成型加工が容易である³⁾。中でも、 電荷を有する多糖は無機イオン、タンパク質、 反対電荷を有する多糖と静電相互作用を示す ことが知られている。この性質を利用すると、バ ルク体だけでなくゲル状、フィルム状、ファイバ ー状の構造材料の作製が可能となる。

水可溶性多糖の一つである CHI は、D-グルコ サミンと N-アセチル-D-グルコサミンがランダム に重合した構造を有しており、キチンのアセトア

Acc. Mater. Surf. Res. 2022, Vol.7 No.4, 169-177.

ミド基の脱アセチル化により得られる。CHI は希 塩酸や酢酸水溶液に可溶なため取り扱いが容 易である。また、アミノ基を有するため、生体由 来の多糖の中でも数少ない塩基性高分子であ ることから様々な生体材料の作製に広く利用さ れている。一方、HYA、CS、ALG は分子の中に カルボキシ基または硫酸基を有する酸性高分 子であり、これらについてもさまざまな生体材料 への応用が検討されている4-6)。

Water-insoluble polysaccharides





Water-soluble polysaccharides



Figure 1. Structure of polysaccharides and the polysaccharide composite film.

生体高分子など生体適合性を有する高分子 からなるフィルムは二次元の構造材料であり、

細胞足場材料や創傷被覆材のようなバイオマ テリアルや食品包装フィルムなどへの応用が期 待されている。それら高分子フィルムの作製に は溶液キャスト法、交互積層(layer-by-layer (LbL))法などが利用されている⁷⁻¹⁶⁾。原料として 水溶性多糖を用いた場合も多く報告されている が、通常のキャスト法では均質に膜厚を制御す ることや緻密なフィルムを得ることが困難であり、 また LbL 法で作製されたフィルムは数十 nm と 薄く、成膜後に基板から取り外した場合フィルム 形状は保持できるが自立性はもたない。また、 水溶性であるため水不溶化の手法の一つとして 架橋剤や化学修飾を利用しているものも多いが、 これらは多糖本来が有する生体適合性や機能 性を損ねてしまう恐れがある^{1,2)}。

水溶性多糖の不溶化手法の一つとして、高分 子電解質複合体(ポリイオンコンプレックス、PIC) の形成が挙げられる。高分子鎖上に水溶液中 で解離しうる官能基を多数有しているものを高 分子電解質という。多糖の中で、塩基性高分子 である CHI は酸性溶液中でプラス電荷を、HYA、 CS、ALG など酸性高分子は水溶液中でマイナ ス電荷を有している。これらのような電荷を有す る多糖は高分子電解質のため、反対符号の電 荷を有する高分子と遭遇すると静電相互作用を 生じ、物理架橋によって速やかに水不溶性の 複合体である PIC を形成する 16-19)。この方法の 利点として、水不溶性のゲルの生成において架 橋剤や化学修飾が必要ない点が挙げられ、多 糖本来の性質、機能を失うことなく材料に成型 加工することができる。また、PIC は成分の種類、 成分の混合比、溶液のpHを調節することで、目

的に合った膨潤度、弾性率のゲルを得ることが できる。

著者の研究グループでは、アニオン性多糖の CSとカチオン性多糖の CHI とからなる PIC を熱 プレス法により成形することで多糖複合フィルム (CS/CHI フィルム)の作製を報告している^{17,18)}。 上述の LbL 法も積層型の PIC 形成と解釈する ことができ、筆者らが研究を始めた当時同手法 を用いて相反する電荷をもった多糖による自己 支持性フィルムの報告もされていたが¹³⁻¹⁵⁾、ナノ 材料開発の視点からのアプローチが中心であ った。自立膜として扱えるほどの十分な膜厚をも ったフィルムの作製も報告されていたが、積層 過程に多くの時間を必要とした。一方筆者らは 簡便な手法を用い、手で自在に扱えるほどの自 立性をもつフィルムの作製を目的とした。

2. 多糖複合フィルムの作製とその性質

PIC ゲル、多糖複合フィルムの作製の概要図 を Figure 2 に示す。具体的な作製過程の例を 以下に述べる。CHI の希酢酸溶液に対して CS 水溶液を少量ずつ混合し、都度振とうした。さら なる PIC の生成が見られなくなるまで CS 溶液を 加えた。生成した PIC ゲルを遠心分離により単 離し、さらに超純水を加え再び遠心分離をする ことで洗浄した。その後、研究用機器として市販 されている小型熱プレス機を使用して熱プレス 操作を行った。得られた PIC ゲルをポリテトラフ ルオロエチレン(PTFE)シート2枚で挟み、さらに その上下から暑さ 100 μm のポリエチレンテレフ タラート(PET)シートを設置した。まず、プレス機 の上下のステンレス板を 10 秒間接触させること



Figure 2. Schematic illustration of the fabrication of CS/CHI composite films.

でゲル中の水分を蒸発させた。その後、1 cm 四 方に折りたたんだゲルを 20 MPa でプレスした。 その際、ゲルを5×5 cm に切り取った PTFE シ ート2枚で挟み、さらにその上下に厚さ100 um の PET シートで挟み、PTFE シートの間にスペ ーサーとして中心部を4×4 cm に切り抜いた厚 さ100 µmの PET シートを入れ、3 分間プレスし た。熱プレス機から取り出した後、10 分程度常 温で放冷することで CS/CHI フィルムを得た。こ の手法で得られるフィルムは厚さが 80 µm 程度 となり自立性を有していた。この手法であれば PET スペーサーの厚さを変更することでフィル ムの膜厚を制御可能である。熱プレス法で得ら れた多糖複合フィルムは、巨視的には緻密で均 質であり、わずかに黄色みを帯びていた(Figure 3(A))。この着色は熱プレス温度が高いほど顕 著になることから、メイラード反応によるフミン質 の生成によるものと考えている 20)。実際により低 温(100 ℃以下)でのフィルム作製にも成功して いるが、その場合黄色はほとんど見られていな い。走査型電子顕微鏡による観察ではフィルム は微視的に見ても均一で平滑な表面をもち、断 面についても緻密な構造であった(Figure 3 (B))。同様の手法により、他のアニオン性多糖 と CHI との複合フィルムの作製にも成功してい る。いずれも CS/CHI フィルムと同様の巨視的、 微視的形態を示し、本手法の手法としての汎用 性を示している。



Figure 3. (A) A photograph and (B) a SEM image of CS/CHI films.

このような緻密な構造に基づき、これらフィル ムは高い機械的強度を示し、特に CS/CHI フィ ルムの場合、約80 MPa の最大点応力を示す。 また、本フィルムは不溶であるものの、水中で膨 潤する。膨潤率は多糖の種類、溶液のpH に依 存することを見出している^{18,21)}。いずれの多糖に ついても超純水中に浸漬させると30分以内で 膨潤し、その後膨潤率が安定する。多糖の分子 量の効果についても HYA と CHI との複合フィ ルム(HYA/CHI フィルム)の系で検討しており、

Acc. Mater. Surf. Res. 2022, Vol.7 No.4, 169-177.

ある程度の分子量以上となると分子量の効果は フィルムの物性にあまり反映されないことを明ら かにしている²¹⁾。

筆者らは熱プレス以外の手法でのフィルム作 製についても検討を進めており、たとえば加熱 延伸法を用いると力学的異方性をもつフィルム が作製できることを見出している(論文投稿中)。 また界面紡糸によるファイバー作製²²⁾や、マイク ロ流路を利用したファイバーやチューブの作製 ^{23,24)}が可能であることも示しており、多糖 PIC は 種々の形態に成形加工であるといえる。一連の 検討において、多糖 PICを凍結乾燥した状態で 用いると成形性が悪く、ある程度の水分が PIC 中に含まれた状態で成形することが重要である ことがわかっている。

これら多糖複合フィルムの機能面での評価に ついても検討を進めてきた。たとえば CS/CHIフ ィルムは水溶性低分子薬物の担持および放出 が可能であり、媒体の pH 環境に応じて分子の 放出速度が変化することを見出している²⁵⁾。これ は各 pH におけるフィルムの膨潤状態や構成多 糖の電離状態と関連づけて考察することが可能 である。本フィルムは対象分子の形状や荷電状 態に応じて CS および CHI が分子を3 次元的に 取り囲むように集積させることが可能であるため、 種々の分子の担持が可能と考えられる。また上 記1. で述べたようなバイオマテリアルとしての利 用可能性として、フィルムやファイバー上での細 胞培養についても検討しており19,24)、用いる多 糖の組み合わせにより細胞活性が変化すること を支持する結果を得ている。膨潤状態でのフィ ルムは非常に柔らかくなるため様々な形状の物 体(臓器など)への密着性が高まる一方、力学 的強度は低下する。そのためフィルムの構造強 化についての検討なども行っている 26,27)。フィル ムの構造強化はバイオ分野への応用に限らず、 生分解性の構造材料として汎用高分子基材の 代替としての可能性を考えた際にも重要である。

以降では多糖複合フィルムの機能化に関する 検討の一つとして、分子選択的透過膜としての 評価および高機能化について詳しく述べる。

3. 多糖複合フィルムの分子透過性

フィルム材料における重要な性質の一つとして分子透過性が挙げられる。分子がフィルム材

料を通り抜けるのは、①透過分子のフィルムへ の浸透 ②フィルム中の拡散 ③フィルムからの 放出 という三つのステップからなり、速度論解 析から詳細な機構の解明が報告されている。こ こでは作製した CS/CHI フィルムについて、電 荷の異なる 2 つの透過分子(Figure 4(A))を透 過させたときの透過挙動を速度論解析により詳 細に評価した結果について紹介する²⁸⁾。

実験は膜透過試験用水平拡散セルを用いて 行った(Figure 4(B))。 作製した CS/CHI フィルム を1.5×1.5 cm のサイズに切り出し、使用する溶 媒で 15 分膨潤したのち装置に固定した。左側 のセル(アクセプターセル)には0.40 mMの透過 分子溶液を、右側のセル(レセプターセル)には 溶媒をそれぞれ3mL加え、攪拌子を回した。こ の時間を開始時間とし、一定時間ごとに溶液を 取り出してその UV-Vis 吸収スペクトルを測定し た。さらに、この結果について速度論的解析を 行うことで透過挙動を評価した29,30)。溶液の間に 断面積 [S/m²]の仮想的な平面を考え、この平 面を単位時間 dt 当たりに通過する分子の数 を流束 Jと定義する。流束 Jの単位は [mol/m²・s]となり、透過した溶質の物質量を dM mol とすると、式(1)の最初の等式のように表され る。さらに、透過の初期段階では高濃度側(ドナ ー)に比べて低濃度側(レセプター)側の濃度が



Figure 4. (A) Chemical structures of methylene blue (MB) and orange II (OR). (B) Schematic illustration of the diffusion apparatus used in this study.

小さいため、近似式が成り立つ。ドナーの濃度 を C_1 (0.40 mM)、膜透過係数をP[m/min]とす ると、

$$J = \frac{dM}{s \cdot dt} \approx \frac{D \cdot K \cdot C_1}{l} \approx P \cdot C_1 \tag{1}$$

となる。一般に Pは(長さ/時間)の次元を有し、 濃度や膜面積に依存せず膜透過性を評価でき るパラメータとして広く用いてられている。さらに、 透過の遅れ時間を θ [min]、フィルムの膜厚を 1 [m]としたとき、以下の式(2)より拡散係数 D [m²/min]を求めることができる。

$$D = \frac{l^2}{6\theta} \tag{2}$$

また、求めた PとD、および式(3)より、分配係数 K[-]を算出することができる。透過分子は、ドナ ー側での溶液と膜との境界面で膜に入り込み、 膜内をレセプター側まで拡散し、境界面からレ セプター溶液に出ていくといった動きをする。こ のときの膜への取り込まれやすさを示したものが 分配係数 K、膜内部での拡散しやすさを示した ものが拡散係数 Dである。

$$K = \frac{P \cdot l}{D} \tag{3}$$

透過実験は膨潤時の膜厚約 150 µm の CS/CHI フィルムを使用して行った。まず、透過 分子としてカチオン性色素である methylene blue (MB)を用い、超純水または pH の異なる 100 mMリン酸緩衝溶液 (pH 5.8, 7.4, 8.0) 中で フィルムを透過させた。また、比較としてセルロ ース透析膜(膨潤時の膜厚約80 µm)についても 評価を行った。各溶液中のセルロース透析膜お よび CS/CHI フィルムに対する MB の透過挙動 を Fig. 5(A), (B)に、 膜透過係数を Figure 5(C)に それぞれ示す。セルロース透析膜の場合、透過 挙動は超純水を用いたときに最も速くなり、どの pH の緩衝溶液中で透過を行っても大きな差は 現れなかった。フィルム中の分子の透過では以 下の二つのメカニズムが考えられる 31)。一つは 透析フィルムに代表されるフィルム中の細孔や チャンネルを通り透過する機構(細孔モデル³²⁾)



Figure 5. Permeating behaviors of MB with (A) the dialysis membrane and (B) CS/CHI films in ultrapure water and 100 mM phosphate buffer (PB) with different pH, and (C) permeation coefficient *P* obtained from the results of (A) and (B).

で、もう一つは脂質二重層に代表されるフィル ム中で溶解、拡散する機構((溶解)拡散モデル ³³⁾)であり、セルロース透過膜は前者に相当する。 一方、CS/CHI フィルムを使用すると、PB 中に おける透過の方が超純水中と比べて顕著に速 かった。PB の中で比べると、pH が大きいほど速 かった。また、透過実験後の CS/CHI フィルムに は MBに由来する着色が確認された。このことか ら、このフィルム中の MB の透過はセルロースの 細孔モデルと異なり拡散モデルであることが示 唆された。

透過挙動の詳細を調査するために、異なる pH、イオン強度の溶液において、モノカチオン であるMBとモノアニオンである orange II (OR)の CS/CHI フィルムへの透過を行った。溶液は超 純水, pH 5.7, 7.4, 8.0 の PB, pH 7.4 のリン酸緩 衝生理食塩水 (PBS)を用いた。Figure 6(A), 6(B)に MB、OR の各溶液における透過曲線を 示す。この透過曲線をもとに、式(1)を用いて透 過係数 Pを求めた(Figure 6(D))。MBとOR はと もに、透過係数 Pの大きさは超純水 < pH 5.8 の PB < pH 7.4 の PB < pH 8.0 の PB < PBS の 順に大きくなり、イオン強度、pH が高いほど大き いことが確認できた。また、この序列は各フィル ムの膨潤率の高さと相関することを確認した (Figure 6(C))。

次に、膨潤率と透過挙動、フィルムからの放出 挙動の相関を考えるために、拡散係数 Dと分配 数 Kを算出した(Figure 6(E), (F))。拡散係数 D は超純水を除き、PB および PBS を用いるといず れも同程度となった。そのため、分配係数 K は 透過係数 Pと同様の傾向となった。理想的には、



Figure 6. Permeation behaviors of CS/CHI films in ultrapure water, 100 mM PB with different pH, and PBS (pH 7.4) using (A) MB and (B) orange II (OR) as permeants. (C) degrees of swelling of CS/CHI films. (D) Permeability coefficients P, (E) diffusion coefficients D, and (F) partition coefficients K calculated from the results of (A) and (B).

PIC の正味の電荷は各ポリイオンの電荷同士が 静電相互作用するため、ほぼ 0 となるはずであ る。一方、我々が使用している CHI のアミノ基の 共役酸であるアンモニウム基の pKaは 6.5³⁴⁾で、 CS のカルボキシ基の pKa が 3.8³⁵⁾であるため、 電荷のバランスは溶液の pH に依存することが 考えられる。pH が 5.8 のとき、ほとんどのカルボ キシ基のプロトンは脱離してイオン化している。 一方、CHI のアミノ基は約 80%イオン化している ため、フィルム内はわずかにアニオン性を帯び ていることが考えられる。pH を 5.8 から 7.4 さら には 8.0 に変えると、アンモニウムイオンの割合 が大きく減少する。一方、CS の硫酸基とカルボ キシ基はいずれも脱プロトン化したままである。 このことから、pH を大きくすると静電相互作用の 数は減少し、CS 分子同士の静電反発による斥 力が働く。この効果によりフィルムの膨潤率とア ニオン性はより高くなることが考えられる。また、 イオン強度の増加は CS および CHI のイオン性 官能基に対する対イオンの増加に対応する。し たがって静電相互作用が減少(糖鎖間でのイオ ンコンプレックスの数が減少)し、結果としてフィ ルムの膨潤率は増加する。以上の効果と今回 得られた結果を考慮すると、フィルムの膨潤は 透過分子のフィルムへの拡散および放出の駆 動力ではないことを示している。これは、フィル ム中の空孔と比べて透過分子が十分に小さい ためと考えられる。つまり、フィルム内の自由体 積は、ある程度膨潤するとフィルム中の拡散に 影響を与える体積よりも顕著に大きくなることが 考えられる。一方、pH やイオン強度の変化はフ ィルムの膨潤挙動、透過分子の浸透、放出に大 きな影響を与えるものの、MBとOR の透過係数、 拡散係数、分配係数に違いは見られなかった。 これは、拡散モデルのみを考慮するとうまく説明

ができず、細孔モデルとを組み合わせることで つじつまが合う。つまり、低いpHのときは拡散モ デルにより透過し、高いpHになると糖鎖間の自 由体積が大きくなるため、細孔モデルのように 浸透することが考えられる。

4. 分子インプリント効果

分子インプリント法とは、抗体や受容体などの 自然認識機能を模倣する物質の分子認識部位 を設計するアプローチである^{36,37)}。ターゲットと なる分子やその誘導体をテンプレートとして用 いて作製する点が特徴である。この手法を適用 することで、CS/CHI フィルムの分子透過性をコ ントロールすることを考えた。電荷を持つ分子を テンプレートとして CS/CHI フィルムに添加する と、その反対電荷の多糖と静電相互作用する。 その後、担持された分子を放出すると、分子の 大きさと同程度の空孔が生成し、さらに放出した 分子が持つ電荷と反対の電荷がその空孔近傍 に残るはずである。これらは、フィルム中の分子 の透過に大きな影響を与えることが考えられる。 ここでは、MB をインプリントしたフィルム(MB-IF)



Figure 7. Permeation behaviors of MB and OR for MB-IF and non-IF in PBS (pH 7.4).

	permeant	<i>P</i> / 10⁻⁵ m min⁻¹ i	<i>D</i> / 10 ⁻¹⁰ m ² min ^{-1 ii}	K / - ⁱⁱⁱ
MB-IF	MB	3.80 ± 0.03	17.47 ± 5.86	2.86 ± 2.01
non-IF	MB	3.69 ± 0.28	4.18 ± 0.37	14.88 ± 0.46
MB-IF	OR	3.63 ± 0.26	4.28 ± 0.24	16.20 ± 0.23
non-IF	OR	3.38 ± 0.28	3.86 ± 2.01	16.75 ± 1.13

ⁱ obtained from Eq. (1), ⁱⁱ obtained from Eq. (2), and ⁱⁱⁱ obtained from Eq. (3)

Acc. Mater. Surf. Res. 2022, Vol.7 No.4, 169-177.

を作製し、各透過分子について非インプリントフ イルム(non-IF)との比較を行った³⁸⁾。

MB-IF を作製するために、MB を CS/CHI フィ ルムに MB を担持した MB 担持フィルムを作製 した。PIC ゲル作製時の CS 溶液に MB を加え、 混合した。この MB を含む CS と CHI からなる PIC ゲルを熱プレスにより濃青色のフィルムを得 た。このフィルムを 60 分間 PBS (pH 7.4) 中に浸 漬することでフィルム内のほとんど全ての MB が 放出され、薄黄色の MB-IF を得た。

MB-IF に対する MB の透過挙動を評価し、non-IF と比較した。各フィルムについて、MB 透過に おける経時変化を Figure 7 に示す。MB-IF は non-IF とくらべてより多くの MB を透過すること が確認できた。また、式(1)-(3)を用いて透過係 数 P、拡散係数 D、分配係数 Kを求めた(Table 1)。透過係数 Pは MB-IF と non-IF でほぼ同じ 値となった。一方、拡散係数はMB-IF の方が大 きくなったが、分配係数は小さくなった。これは、 MB の放出により形成したインプリントフィルム内 の負電荷および空孔によるものと考えられる。 っまり、透過分子はフィルム内を拡散しやすくな る一方で、濃度勾配が減少した結果、同程度の 透過係数になったと考えられる。

以上の結果が MB 特有のものかどうか調べる ために、透過分子として OR を使用して透過挙 動を評価した。MB-IF に対する OR の透過挙動 を確認すると、MB の場合とほとんど変わらなか った。つまり、MBのインプリントにより形成した負 電荷と細孔は MB の透過にのみ影響を与え、 OR の透過には重要ではないことがわかった。 MB-IF に形成した細孔は、(1)サイズと形状が 適合した透過分子が通過することによる透過の 加速、と(2) 選択的に透過分子が捕捉されること による拡散の減速、という2 つの効果が期待さ れる。MB 透過性の結果より、CS と CHI との PIC からなる本フィルムでは(1)の効果が有利に働 いていると考えられる。多糖複合フィルムにおけ る分子インプリント効果をより詳細に理解するた め、インプリント分子として分子サイズのより大き なものや分子内に複数電荷を持つものなどを用 いて現在も継続して検討を進めている。

5. まとめ

当研究グループで開発した多糖複合フィルム は、水に可溶な多糖から作製しているため成形 加工が容易であり、様々な構造材料への応用も 期待できる素材である。化学的に未修飾である ため多糖本来の性質を引き継いでおり、多糖の 組み合わせを変更することで所望の機能性を 付与することが可能であることも利点である。こ れまでの検討結果から、多糖複合フィルムは薬 物担体や創傷被覆材としての用途が期待でき る。いわゆるバイオ分野にとどまらず、現在工業 的に大量生産されている汎用高分子フィルムに 代わる生分解性フィルム材料としての可能性も 期待される。特に分子の内包に関しては、カチ オン、アニオン、そして水素結合部位を持った 多糖分子が集積してフィルムを形成するため、 同じ組成の原料(多糖)からさまざまなサイズや 電荷の分子を内包した複合フィルムを容易に作 製することができる。これは汎用高分子フィルム には無い特徴である。今回検討した分子透過 性に関しては、セルロース透析膜とは異なりフィ ルム内の多糖中の静電相互作用に依存するた め、pH 応答性が確認された。さらに、分子イン プリント法を適用することで、形成される電荷と 細孔が分子透過性に影響を与えることも見出し た。これらの成果は分離膜などさらなる用途開 拓を実証できるものと期待される。

6. 謝辞

本稿で紹介した研究に関して筆者のグループ および多くの共同研究者に謝意を表する。研究 の一部は日本学術振興会科学研究費補助金 (基盤研究(C)16K05799, 19K05588 (M. H.))の 支援のもと実施した。

参考文献

- 1) 古薗勉, 岡田正弘, 第3版 ヴィジュアル でわかるバイオマテリアル, 秀潤社, 2018.
- 山岡哲二,大矢裕一,中野貴由,石原一彦, バイオマテリアルサイエンス 基礎から 臨床まで 第2 版,東京化学同人,2018.

Acc. Mater. Surf. Res.

- 3) 筏義人 編, *生分解性高分子*, 高分子刊行 会, 1994.
- 4) F. L. Mi, S. S. Shyu, Y. B. Wu, S. T. Lee, J. Y. Shyong, R. N. Huang, *Biomaterials*, 2001, 22, 165–173.
- Z. Li, H. R. Ramay, K. D. Hauch, D. Xiao, M. Zhang, *Biomaterials*, 2005, 26, 3919–3928.
- M. V. Risbud, A. A. Hardikar, S. V. Bhat, R. R. Bhonde, J. Control. Release, 2000, 68, 23–30.
- S. Chattopadhyay, R. T. Raines, *Biopolymers*, 2014, 101, 821–833.
- M. Ramos, A. Valdés, A. Beltrán, M. C. Carrigós, *Coatings*, 2016, 6, 41.
- 9) K. Iijima, M. Hashizume, *Trends Glycosci. Glycotechnol.*, **2015**, *27*, 67–79.
- 10) N. M. L. Hansen, D. Plackett, *Biomacromolecules*, **2008**, *9*, 1493–1505.
- 11) V. Gribova, R. Auzely-Velty, and C. Picart, *Chem. Mater.*, **2012**, *24*, 854–869.
- 12) C. J. Detzel, A. L. Larkin, and P. Rajagopalan, *Tissue Eng. Part B Rev.*, **2011**, *17*, 101–113.
- S. G. Caridade, C. Monge, F. Gilde, T. Boudou, and J. F. Mano, C. Picart, *Biomacromolecules*, 2013, 14, 1653–1660.
- 14) M. N. Rodrigues, M. B. Oliveira, R. R. Costa, and J. F. Mano, *Biomacromolecules*, **2016**, *17*, 2178–2188.
- T. Fujie, Y. Okamura, S. Takeoka, *Adv. Mater.*, 2007, *19*, 3549-3553.
- M. Yamazaki, K. Iijima, *Polymers*, **2020**, *12*, 435.
- M. Hashizume, H. Kobayashi, M. Ohashi, *Colloids. Surf., B.*, 2011, 88, 534-538.
- M. Hashizume, M. Ohashi, H. Kobayashi, Y. Tsuji, K. Iijima, *Colloids Surf.*, A 2015, 483, 18–24.
- K. Iijima, Y. Tsuji, I. Kuriki, A. Kakimoto, Y. Nikaido, R. Ninomiya, T. Iyoda, F. Fukai, M. Hashizume, *Colloids Surf., B* 2017, *160*, 228–237.
- S. I. F. S. Martins, W. M. F. Jongen, M. A. J. S. van Boekel, *Trends Food Sci. Technol.*, 2000, 11, 364–373.

- T. Sagawa, M. Sakakibara, K. Iijima, T. Yataka, M. Hashizume, *Polymer*, 2022, 253, 125033.
- 22) 飯島一智,湯山和也,朝稲香太朗,入江 貫太,橋詰峰雄,高分子論文集 2014,71, 11-16.
- 23) K. Iijima, S. Ohyama, K. Yuyama, A. Shono,
 M. Hashizume, *Polym. J.*, **2018**, *50*, 1187–1198.
- 24) K. Iijima, S. Ichikawa, S. Ishikawa, D. Matsukuma, Y. Yataka, H. Otsuka, M. Hashizume, *ACS Biomater. Sci. Eng.*, 2019, *5*, 5688–5697.
- 25) M. Hashizume, Y. Murata, K. Iijima, T. Shibata, *Polym. J.*, **2016**, *48*, 545–550.
- 26) 飯島一智, 鈴木彩未, 橋詰峰雄, 高分子 *論文集*, 2018, 75, 195-202.
- 27) Y. Yataka, A. Suzuki, K. Iijima, M. Hashizume, *Polum. J.*, **2020**, *52*, 645–653.
- 28) K. Iijima, T. Kimura, R. Sato, T. Takahashi, M. Hashizume, *Macromol. Chem. Phys.*, 2017, 218, 1600391.
- 29) S. Nakatsuka, A. L. Andrady, J. Appl. Polym. Sci., 1992, 44, 17–28.
- Y. Chen, Y. Zhang, X. Feng, *Chem. Eng. Sci.*, 2010, 65, 5921–5928.
- 31) G. M. Zentner, J. R. Cardinal, S. W. Kim, J. Pharm. Sci., 1978, 67, 1352–1355.
- 32) K. Sakai, J. Biomater. Appl. 1989, 4, 71-101.
- 33) S. Paula, A. G. Volkov, D. W. Deamer, *Biophys. J.*, **1998**, 74, 319-327.
- 34) A. Domard, Int. J. Biol. Macromol., 1987, 9, 98–104.
- 35) J. W. Park, B. Chakrabarti, *Biochim. Biophys.* Acta, 1978, 54, 667-675.
- 36) G. Wuff, A. Sarhan, Angew Chem. Int. Ed., 1972, 11, 341–345.
- 37) R. I. Boysen, L. J. Schwarz, D. V. Nicolau, M. T. W. Hearn, *J Sep. Sci.*, **2017**, *40*, 314–355.
- 38) T. Sagawa, M. Oishi, Y. Yataka, R. Sato, K. Iijima, M. Hashizume, *Polym. J.*, **2022**, *54*, 571–579.

Acc. Mater. Surf. Res. 2022, Vol.7 No.4, 169-177.