



Title	Micellar Structure of Hydrophobically Modified Pullulan in Aqueous Solution
Author(s)	Yang, Jia
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/77595
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

Abstract of Thesis

Name (JIA YANG)	
Title	<p>Micellar Structure of Hydrophobically Modified Pullulan in Aqueous Solution</p> <p>(疎水化されたプルランの水溶液中でのミセル構造)</p>
<p>Abstract of Thesis</p> <p>Amphiphilic polysaccharides are more suitable for biomedical applications, e.g., drug delivery systems for novel nanoparticle therapeutics, than synthetic polymers, structural studies of their self-assemblies reported so far are still limited. Akiyoshi et al. investigated the self-assembly of cholesterol-bearing pullulan in water by static and dynamic light scattering, fluorescence probe method as well as small-angle neutron scattering, and concluded that the self-assembly is a (aggregating) hydrogel nanoparticle, in which pullulan chains are cross-linked non-covalently by associating cholesteryl moieties. However, the inner structure of the hydrogel nanoparticle could not be revealed only by light scattering and fluorescence.</p> <p>While amphiphilic vinyl copolymers can be synthesized by random and alternating copolymerizations of hydrophilic and hydrophobic monomers, amphiphilic polysaccharides must be synthesized by the polymer reaction with reagents bearing a hydrophobic group.</p> <p>In this thesis, I have chosen the hydrophobically modified pullulan of which chemical structure is illustrated in Chart I-3 to study the micellar structure of the amphiphilic polysaccharide in aqueous solution. This octenyl succinic anhydride (OSA)-modified pullulan (PUL-OSA) has substituents bearing both octenyl hydrophobe and hydrophilic carboxy group, so that its primary chemical structure is characterized by the single degree of substitution DS as well as the degree of polymerization (number of glucose residues) n of the pullulan chain. The OSA substitution reaction was performed under the mild alkaline conditions at room temperature, using the method of Eenschooten et al. where the pullulan chain little degraded during the substitution reaction. I prepared PUL-OSA samples by reacting six narrow distribution pullulan samples with n ranging from</p>	

142–4540 with OSA. Thus, PUL-OSA samples used in this study possess narrow distributions in n .

Prior to the investigation of the micellar structure of PUL-OSA in aqueous solution, the local and global chain conformation of pullulan (PUL) with $DS = 0$ in aqueous solution was studied by small-angle X-ray scattering (SAXS) in Chapter II. It was found that SAXS results could be fitted by the wormlike chain model perturbed by the excluded volume effect, and the pullulan chain took a local conformation being different from the amylose chain.

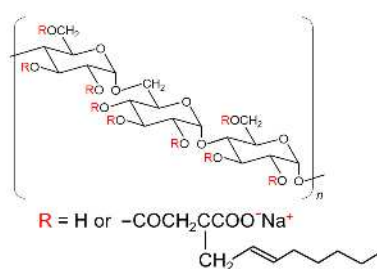


Chart I-3. Chemical structure of pullulan modified by octenyl succinic anhydride (PUL-OSA).

In Chapter III, the micellar structure of the PUL-OSA with relatively high DS and six PUL-OSA samples with different n in aqueous solution was studied by SAXS and fluorescence probe methods. Both SAXS and fluorescence data were analyzed consistently by using the flower necklace model originally proposed for amphiphilic vinyl copolymers (cf. Section I-3). Parameters characterizing the flower necklace of PUL-OSA were compared with those of amphiphilic vinyl copolymers. It was found that the chemical structure of the amphiphilic copolymer backbone chain strongly affected the micellar structure formed in aqueous solution.

In Chapter IV, the micellar structural analysis was extended to PUL-OSA samples with lower DS to investigate the transformation from the flexible wormlike chain conformation to the flower necklace by increasing DS from zero. Both SAXS profile and fluorescence from solubilized pyrene changed smoothly with DS , and they were consistently analyzed in terms of the loose flower necklace model, interpolating the flexible wormlike chain conformation and the full flower necklace.

Chapter V summarized the results and conclusions obtained in this thesis.

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (Jia Yang)		
論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 査	教 授 佐藤 尚弘
	副 査	教 授 今田 勝巳
	副 査	教 授 橋爪 章仁
	副 査	准教授 寺尾 憲

論文審査の結果の要旨

多糖は、その生体適合性と生分解性により、様々な生体医学材料として利用されている。特に最近は、制癌剤をがん細胞に集中的に送達させる目的のナノ粒子医薬材料として疎水化多糖を利用することが期待されている。ナノ粒子医薬材料として利用するうえで、疎水化多糖の水溶液中でのミセル構造は、基本的に重要な情報であるが、現在に至るまでそのミセル構造に関する研究は少なく、効率的なナノ粒子医薬材料の開発の妨げになっている。

本論文では、疎水化多糖としてオクテニルコハク酸無水物により疎水化されたプルラン（PUL-OSA）を選び、置換度と重合度の異なる試料の水溶液中でのミセル構造を小角 X 線散乱法（SAXS）とピレンを添加した蛍光測定により詳細に調べた。プルランは、水によく溶ける D-グルコースを構成糖とする多糖で、重合度分布の狭い標準試料が入手可能であり、オクテニル基を疎水基として持つオクテニルコハク酸無水物と弱アルカリ水溶液中の温和な条件下で、プルラン主鎖の切断を起こさずに置換反応を進行させることができ、PUL-OSA はミセル構造研究に適した試料である。

まず、置換度（グルコース単位当たりの置換基数）が 0.9 以上の高置換度 PUL-OSA 試料に対して SAXS と蛍光測定を行った。得られた SAXS 散乱関数は高散乱角度域に特徴的な極小を有し、水溶液中で PUL-OSA のオクテニル疎水基が凝集して疎水性コアを形成していることが判明した。また、可溶化させたピレンの蛍光スペクトルにおいて、第 3 ピークと第 1 ピークの強度比が水溶液中での対応する比の値よりもずっと大きく、やはり水溶液中で疎水性コアが存在していることが示唆された。さらに、実験で得られた SAXS 散乱関数とピレンの蛍光寿命曲線から、PUL-OSA が水溶液中で多核のフラワーネックレスを形成していること、またそのフラワーネックレス構造が、これまでに報告されているビニル主鎖からなる合成の両親媒性交互共重合体のフラワーネックレス構造とはずいぶん異なっていることが示された。

次に、PUL-OSA の置換度を 0.9 以下に下げた試料に対して、やはり SAXS と可溶化ピレンからの蛍光測定を行い、フラワーネックレスからランダムコイルへの転移を詳細に調べた。置換度の減少に伴い、フラワーネックレスの構成単位である花形ミセルの数が次第に減り、ランダムコイル部分が増える転移挙動を明らかにした。また、置換度を 0.5 以下に減少させると、PUL-OSA 水溶液に可溶化されたピレンが溶媒である水中にも分布するようになることも見出した。

以上のように、本論文は両親媒性ランダム共重合体である PUL-OSA が水溶液中で形成するフラワーネックレス構造を、SAXS と蛍光実験により詳細に調べ、疎水化多糖のナノ粒子医薬材料開発のための基礎的知見を与えた。この論文の内容は新規かつ学術的に重要で、博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。