

Title	Degradation control of polysaccharide by Malaprade oxidation for tissue engineering
Author(s)	CHIMPIBUL, WICHCHULADA
Citation	
Issue Date	2016-06
Type	Thesis or Dissertation
Text version	ETD
URL	http://hdl.handle.net/10119/13725
Rights	
Description	Supervisor: 松村 和明, マテリアルサイエンス研究科, 博士

氏名	CHIMPIBUL WICHCHULADA		
学位の種類	博士(マテリアルサイエンス)		
学位記番号	博材第 406 号		
学位授与年月日	平成 28 年 6 月 24 日		
論文題目	Degradation control of polysaccharide by Malaprade oxidation for tissue engineering (組織工学応用に向けた多糖類のマラプラード酸化による分解性制御)		
論文審査委員	主査	松村 和明	北陸先端科学技術大学院大学 准教授
		海老谷幸喜	同 教授
		金子 達雄	同 教授
		山口 政之	同 教授
		Supason Wanichwecharungruang	
		チュラロンコン大学	准教授

論文の内容の要旨

Polysaccharide is one of the biopolymers which has been attracted by tissue engineering application due to biodegradability, low toxicity, low manufacture costs [1]. Polysaccharide comprises a numerous of hydroxylic group which are suitable for derivatization and subsequent chemical and physical crosslinking. Malaprade oxidation is glycol cleavage reaction of vicinal diol by periodate ion. The carbon-carbon bond in a vicinal diol (glycol) is cleaved and replaced with two carbon-oxygen double bonds. Depending on the substitution pattern in the diol, either ketones or aldehydes may be formed [2]. In this thesis, I focused on oxidizing dextran and cellulose. Dextran is a bacterial polysaccharide, consisting of α 1-,6 linked D-glucopyranose residue. For several years, dextran was oxidized with sodium periodate to investigation the degradation but no report about the mechanism of degradation or how oxidized dextran and other polysaccharide were degrade by Malaprade and Schiff base reaction. In chapter2, I reveal the degradation mechanism of oxidized dextran using 2D NMR technique and gel permeation chromatography. The results showed that the oxidation of polysaccharide was controlled by varying the concentration of periodate and primary amino acid. The degradation was started after adding amino acid which related which Schiff base reaction. Moreover, the degradation of oxidized polysaccharide is related with Maillard reaction due to the appearance of methyl group which is one component of deoxyosone in Maillard pathway. A second aspect of partially oxidized polysaccharides is the chemical properties of the oxidized residues, and in particular the hydrolytic ability, which may provide a basis for biomaterials with increased biodegradability. In chapter 3, I used the cellulose as non-soluble polysaccharide for fabricating the tissue engineering scaffold using NaCl leaching technique. The results indicated that the degradation of oxidized polysaccharide scaffold was controlled by varying the concentration of periodate. Furthermore, the degradation was initially started by

adding the primary amino acid which correlated with oxidized dextran degradation in chapter 2. To further investigate the suitability of these scaffolds for tissue engineering applications, biocompatibility was checked using CCK-8 kit assay. In addition, scanning electron microscopy and in vivo experiment were demonstrated to show the ability of cells to attach to scaffold surfaces and a biocompatibility of matrices with cells, respectively. The result indicated that the oxidized cellulose scaffold showed good biocompatibility, cell viability and degradation which are important properties of scaffold for tissue engineering. In this thesis, I can explore the mechanism of oxidized polysaccharide by Malaprade oxidation via oxidized dextran which directly related with Schiff base and Maillard reaction. In addition, I use this mechanism for controlling the oxidized polysaccharide scaffold via cellulose scaffold for tissue engineering.

Keywords: polysaccharide, Malaprade oxidation, Schiff base reaction, Maillard reaction, tissue engineering.

References

1. Khan, F. and S.R. Ahmad, Polysaccharides and their derivatives for versatile tissue engineering application. *Macromol Biosci*, 2013. 13(4): p. 395-421.
2. Singh, M., A.R. Ray, and P. Vasudevan, Biodegradation studies on periodate oxidized cellulose. *Biomaterials*, 1982. 3(1): p. 16-20.

論文審査の結果の要旨

本論文は、多糖類の主鎖切断を伴う新規分解手法の解明とその組織工学への応用に関する研究である。多糖類は、生体適合性や安定性、化学修飾の容易さ等から、手術用の接着剤や止血剤など医用材料として多く研究されている。多糖類の一種であるデキストランを過ヨウ素酸で酸化する（マラプラード酸化）ことで得られるアルデヒド導入デキストランが、ポリアミンと混合することでゲル化することが報告されている。これはアミノ基とアルデヒドとの多点間のシッフ塩基形成によるものであるが、このゲルは再溶液化することが知られている。この機序が、分子切断によるものであることを明らかにし、多糖類の分解性を制御することで組織工学へ応用する事を試みた。

過ヨウ素酸の濃度および反応時間をコントロールすることでアルデヒドの導入量を制御した種々の酸化デキストラン溶液に、モノアミンであるアミノ酸を添加すると、酸化デキストランの分子量が低下することをゲルパーミエーションクロマトグラフィー(GPC)から確認した。その低下度合いは、アルデヒド導入量、アミノ酸の濃度および添加後の経過時間に大きく依存することが示された。より詳細な分子メカニズムを調べるため、二次元 NMR を用いて酸化デキストランの構造を解析したところ、ヘミアセタール構造をとる 4 つの部分構造が確認された。¹H-NMR をアミノ酸投与後時間経過に沿って測定したところ、多くの部分構造のプロトンピークに時間依存的な強度の低下が見られ、還元末端プロトンのピーク強度上昇から、部分構造の破壊に伴う分子鎖の切断が示唆された。この分子鎖切断はアミノ基の非存在下では起こらない事、反応中のデオキシオゾン分子の出現などから、アミノ基とアルデヒドの反応を引き金としたメイラード反応

の進行に伴う主鎖切断が起こっていると結論づけた。

今回明らかにした酸化デキストランのシッフ塩基形成反応を引き金とした主鎖分解機構を、生体内での分解性のみられないセルロースにも応用した。その結果、スポンジ状に加工したアルデヒド導入セルロースが、アミノ酸の存在下で重量減少を伴い、最終的に分解し消失することを確認した。このセルローススポンジは、細胞親和性も高く、動物実験の結果、炎症を低く保ったまま生体内で分解挙動を示す事も確認した。本材料は、生分解性の細胞培養用の足場材料としての応用が期待出来る。以上、本論文は、酸化した多糖類が、アミノ基との反応を引き金に主鎖分解を起こすことを初めて明らかにし、セルロースに対して生体内分解性を与えることを可能とすることで組織工学的応用への可能性を示した点で、学術的に貢献するところが大きい。よって博士（マテリアルサイエンス）の学位論文として十分価値あるものと認めた。