

ポリ-L-グルタミン酸誘導体薄膜の構造解析と接触角評価

山本 華¹, 川合 涼水², 高倉 克人², 山本 智代², 淀谷 真也^{2*}

¹鈴鹿工業高等専門学校・総合イノベーション工学専攻 (〒510-0294 三重県鈴鹿市白子町官有地)

²鈴鹿工業高等専門学校・生物応用化学科 (〒510-0294 三重県鈴鹿市白子町官有地)

*E-mail: yodoya@chem.suzuka-ct.ac.jp

Structural Analysis and Water Contact Angle Evaluation of Poly-L-Glutamic Acid Derivative Thin Films

Hana Yamamoto¹, Suzumi Kawai², Katsuto Takakura², Chiyo Yamamoto², and Shinya Yodoya²

¹Advanced Engineering Course of Science and Technology for Innovation, National Institute of Technology, Suzuka College.

²Department of Chemistry and Biochemistry, National Institute of Technology, Suzuka College.

Shiroko-cho, Suzuka-shi, Mie 5100294, Japan.

(Received September 1, 2025; Accepted October 10, 2025)

Abstract

Poly-L- α -amino acids are structurally similar to natural proteins and exhibit excellent biocompatibility and biodegradability, making them attractive for biomaterial and eco-friendly applications. In this study, poly(γ -methyl-L-glutamate) (PMLG) and poly(γ -benzyl-L-glutamate) (PBLG) were synthesized from L-glutamic acid derivatives and processed into thin films. The films were characterized using field-emission scanning electron microscopy (FE-SEM) to examine surface and cross-sectional morphologies, and their wettability was assessed via water contact angle measurements. FE-SEM analysis revealed that, while surface morphology was largely unaffected by side-chain variations, internal structures differed significantly: PBLG films exhibited well-defined layered architectures, whereas PMLG films showed less-distinct layering. Contact angle measurements indicated that PMLG surfaces were hydrophilic, while PBLG surfaces were hydrophobic, reflecting the influence of side-chain chemistry on surface wettability. These findings demonstrate that the molecular design of poly-L-glutamic acid derivatives can effectively modulate both internal film structure and surface properties, providing valuable insights for the development of functional thin-film biomaterials.

Keywords: Poly-L-glutamic acid derivatives, thin film morphology, water contact angle, biomaterials

1. 緒言

アミノ酸は光学異性体である D-体および L-体の 2 種類が存在するが、自然界においては主に L-体が生体内に存在しており、天然のタンパク質も L-アミノ酸から構成されている。このため、L-アミノ酸を重合して得られる合成ポリマーは、天然タンパク質と類似した構造を有し、高い生体親和性および生分解性を示すことが知られている。これらの特性から、ポリ-L-アミノ酸は生体材料や環境調和型材料への応用が期待されている。

本研究では、必須アミノ酸の一つである L-グルタミン酸を

基盤としたポリマーに着目した。特に、L-グルタミン酸の γ 位をエステル化したモノマーを重合することで得られる Poly(γ -Methyl-L-glutamate) (PMLG) および Poly(γ -Benzyl-L-glutamate) (PBLG) を用いて薄膜を作製した。これらの薄膜に対して電界放出型走査電子顕微鏡 (FE-SEM) を用いて膜の表面および断面の形状の観察を行い、物性評価として水に対する接触角測定を行った [1,2]。

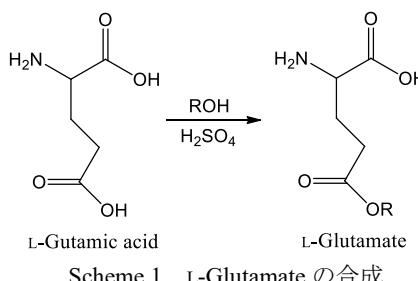
2. 実験方法

2.1 γ -Methyl-L-glutamate の合成

200mL 三角フラスコにメタノール 70 mL を入れ、氷冷下でメタノール量の 10%に相当する塩化アセチルを徐々に加えた。その溶液に L-グルタミン酸 10g を加えて溶解するまで攪拌した。溶液中に残存する微量の不溶物をろ過により除去した後、40°Cで減圧下にて溶媒を蒸発させ、油状の残渣を得た。得られた残渣をメタノールに溶解し、再度 40°Cで減圧下にて蒸発乾固を行った。この操作をもう一度繰り返した後、残渣を最小量のメタノールに溶解し、冷却後にジエチルエーテルを加えて結晶化を行い、 γ -Methyl-L-Glutamate 塩酸塩を得た。得られた塩酸塩をエタノールに溶解し、冷却下で攪拌しながら、溶液が中性になるまでトリエチルアミン (TEA) を滴下した。この混合液を一晩冷蔵庫内に静置した後、生成した結晶をろ取し、エタノールで洗浄した。得られた固体を減圧乾燥し、さらに水/エタノール混合溶媒による再結晶を行うことで γ -Methyl-L-Glutamate(MLG)を得た[2]。収率は 60%であった。(Scheme 1)

2.2 γ -Benzyl-L-glutamate の合成

200mL 三角フラスコに L-グルタミン酸 10.0g をいれ、そこにベンジルアルコールを 10ml 加えて 70°Cで攪拌した。甕上の溶液中に濃硫酸 7.0g 徐々に滴下し、溶液が透明になるまで攪拌した。(Scheme 1)得られた溶液を 70°Cで減圧濃縮し、水飴状になった溶液を炭酸水素ナトリウム 11.4g を含む 35ml の冷水に攪拌しながら注いで中和した。得られた結晶をろ過によって単離し、冷水で数回洗浄した。次に熱水 500ml に溶解させ、不溶物をろ過によって取り除いた後、冷却することで γ -Benzyl-L-glutamate(BLG)を得た[2,3]。収率は 75%であった。

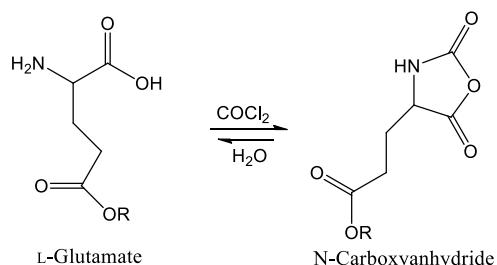


Scheme 1 L-Glutamate の合成

2.3 N-Carboxyanhydride の合成

ベーキング処理を施した三口フラスコに、2.1 節で合成した MLG5.0g を加え、テトラヒドロフラン (THF) 100ml に懸濁した。窒素雰囲気下、75 °Cに加熱しながら、トリホスゲン (5.0g) を数回に分けて添加し、懸濁液が透明な溶液になるまで還流した。(Scheme 2) 反応溶液が淡黄色の場合活性炭を加えてろ過を行った。得られたろ液は減圧濃

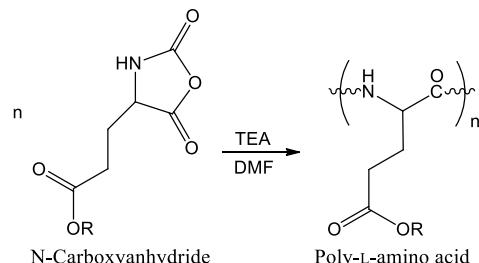
縮し、乾固させた後に、酢酸エチルとヘキサンによる再結晶により精製した。得られた N-Carboxyanhydride(NCA)の結晶はデシケーター内で減圧乾燥し、白色結晶である MLG-NCA を得た。収率は 60%であった。構造の確認は核磁気共鳴分光計(¹H NMR, JEOL, JNM-ECS 400)を用いて行った。また、同様にして 2.2 節で合成した BLG を用いて BLG-NCA の合成を行った[3]。収率は 70%であった。PMLG ; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.35–7.50 (br s, 1H, –NH), 3.95–4.05 (br s, 1H, –CH), 3.55 (s, 3H, –CH₃), 2.20–2.35 (m, 2H, –CH₂–), 2.00–2.15 (m, 2H, –CH₂–) PBLG ; ¹H NMR (400 MHz, CD₂Cl₂) δ 7.30–7.45 (m, 5H, –Ph), 5.10–5.20 (s, 2H, –CH₂–Ph), 3.95–4.05 (br s, 1H, –CH), 2.20–2.40 (m, 2H, –CH₂–), 2.00–2.15 (m, 2H, –CH₂–)



Scheme 2 N-Carboxyanhydride の合成

2.4 N-Carboxyanhydride の重合

ベーキング処理を施した 300 mL 三角フラスコに、乾燥させた NCA2.0 g を加え、N,N-ジメチルホルムアミド (DMF) 40ml に溶解させた。そこに重合開始剤としてトリエチルアミンをモノマーと重合開始剤のモル比が 100:1となるように添加し、所定時間スターラーにより攪拌した。(Scheme 3) 反応終了後、反応溶液を貧溶媒であるメタノールに注ぎ再沈殿を行い、得られた白色沈殿を吸引ろ過し回収した。得られた PMLG、PBLG はシャーレに移し、デシケーター内で減圧乾燥した [3,4]。



Scheme 3 N-Carboxyanhydride の重合

2.5 ポリ-L-アミノ酸薄膜の作製

合成した PMLG および PBLG をジクロロメタンに溶解し、得られた溶液をメンブランフィルターにより加圧ろ過することで不純物を除去した。清澄化した溶液を水平台上

に静置したフラットシャーレに注ぎ、室温下で溶媒を自然蒸発させることにより薄膜を形成した。形成された膜はシャーレから慎重に剥離し、ろ紙に挟んでデシケーター内で保存した[5]。膜の構造確認には、フーリエ変換赤外分光光度計 (FT-IR, 日本分光, FT/IR-4200) を用い、全反射測定法 (ATR 法) により官能基の同定を行った。PMLG 薄膜の測定結果を Fig. 1 に示す。PBLGにおいては、700 cm^{-1} 附近にベンゼン環に起因する C-H 面外変角振動が観測された点を除き、PMLG とほぼ同様のスペクトルが得られた。

FT-IR (ATR) ν/cm^{-1}

PMLG: 3300 (N-H stretch, amide A), 1730 (C=O stretch, γ -methyl ester), 1650 (C=O stretch, amide I), 1250 (C-O stretch, ester), 800 (C-H bend, methyl).

PBLG: 3300 (N-H stretch, amide A), 1730 (C=O stretch, γ -benzyl ester), 1650 (C=O stretch, amide I), 1250 (C-O stretch, ester), 700 (C-H out-of-plane bend, aromatic).

2.6 膜表面および断面の形態観察 (FE-SEM)

各種ポリマーから作製した薄膜の表面および断面構造を評価するため、走査型電子顕微鏡 (FE-SEM, HITACHI S-4300) を用いて観察を行った。試料は膜の一部を切り出し、導電性テープに固定した後、カーボンコーティングを施して測定に用いた。測定条件は作動距離 (W.D.) 5.0 mm、加速電圧 5.0 kV とし、膜表面は倍率 $\times 3500$ 、断面は倍率 $\times 10000$ で撮影した。得られた画像から、膜の均一性、表面粗さ、内部構造の違いを比較した[6]。

2.7 薄膜の水接触角測定

膜表面の親水性・疎水性を評価するため、接触角測定装置 (KYOWA DMo-501) を用いて純水との接触角を測定した。測定には液滴法を採用し、着液量 2.0 μL の純水を膜表面の 10 か所に滴下し、各点の接触角を $\theta/2$ 法により算出した。得られた接触角の平均値を膜の表面特性の指標として用い、ポリマー構造の違いによる膜表面の濡れ性の変化を比較した[5,7]。

3. 結果と考察

3.1 FE-SEM による膜表面および断面の形態観察

膜表面および断面の形態観察結果を Fig.2-4 に示す。Fig.2 は PMLG の膜表面を示し、Fig.3 および Fig.4 はそれぞれ PMLG と PBLG の膜断面を示す。

膜表面に関しては、Fig.2 (PMLG) において亀裂が確認された。これは、溶媒の蒸発過程における膜の収縮により、局所的な応力が集中した結果として形成されたものと考えられる。一方、亀裂以外の領域においては膜表面は滑ら

かで均質性が高く、明瞭な凹凸や粒状構造は認められなかった。PBLG も同様の膜表面であった。この結果から、 γ 位に導入された側鎖の違い (メチルエステル vs. ベンジルエステル) が膜表面形態に与える影響は限定的であり、膜表面の均質性は主に重合条件や成膜プロセスに依存する可能性が示唆された。

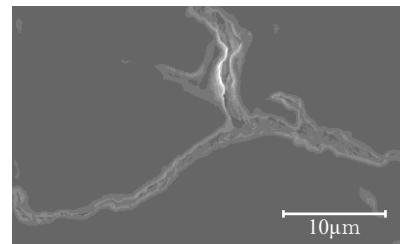


Fig.2 PMLG 薄膜の表面の FE-SEM 像

膜断面に関しては、Fig.3 (PMLG) および Fig.4 (PBLG) ともに積層構造が確認され、ポリマーの成膜過程において層状の配列が形成されていることが示された。特に Fig.4 (PBLG) では、より滑らかで均質な積層構造が観察され、層間の境界も明瞭であった。この結果は、ベンジル基を側鎖に持つ PBLG が分子鎖の剛直性を高め、成膜時に規則的な配列を促進したためと考えられる。一方、Fig.3 (PMLG) では、積層構造は確認されたものの、層の境界が不明瞭であり、局所的な粗さや不均一性が見られた。これは、メチル基を側鎖に持つ PMLG が柔軟性の高い分子鎖を形成し、成膜時に分子配列が乱れやすいことに起因すると考えられる。

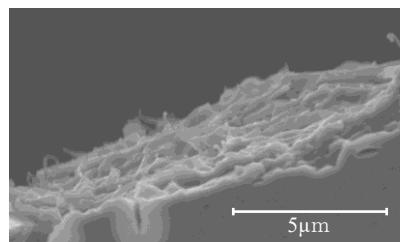


Fig.3 PMLG 薄膜の断面の FE-SEM 像

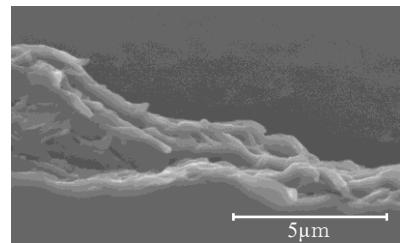


Fig.4 PBLG 薄膜の断面の FE-SEM 像

以上の結果より、膜表面は側鎖構造の違いによる影響

が小さいのに対し、膜断面の高次構造には側鎖の種類が顕著に影響を与えることが明らかとなった。これは、分子設計によって膜の内部構造を制御することで、物性の最適化が可能であることを示唆している[2,6]。

3.2 水接触角測定による膜表面特性の比較

膜表面の濡れ性を評価するため、純水との接触角を測定し、その結果を Fig.5 (PMLG) および Fig.6 (PBLG) に示す。PMLG の接触角は 67° であり、高い親水性を示した。一方、PBLG の接触角は 88° であり、疎水性が顕著であった。この結果は、両ポリマーの側鎖構造の違いが膜表面の濡れ性に大きく影響することを示している。PMLG は γ 位にメチルエステル基を有しており、極性が高く水分子との相互作用が強いため、膜表面において水滴が広がりやすく、接触角が小さくなる傾向がある。一方、PBLG はベンジルエステル基を有しており、疎水性の芳香族構造が水との相互作用を抑制するため、水滴が球状に保たれ、接触角が大きくなる。

これらの知見は、ポリマーの分子設計によって膜表面の濡れ性を制御できる可能性を示しており、用途に応じた表面特性の最適化に有用である[5,7]。

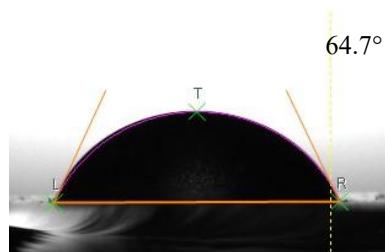


Fig.5 PMLG 薄膜表面の水との接触角

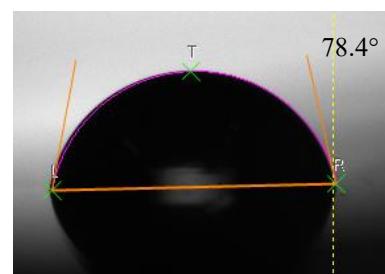


Fig.5 PBLG 薄膜表面の水との接触角

4. まとめ

本研究では、L-グルタミン酸を基盤としたポリ-L-アミノ酸である Poly(γ -Methyl-L-glutamate) (PMLG) および Poly(γ -Benzyl-L-glutamate) (PBLG) を合成し、これらを用いて薄膜を作製した。膜表面および断面の構造を FE-SEM により

観察し、さらに水接触角測定によって濡れ性の評価を行った。

FE-SEM による観察では、膜表面は両試料とも滑らかで均質性が高く、側鎖構造の違いによる形態的な差異は認められなかった。一方、膜断面においては、PBLG がより明瞭で規則的な積層構造を示したのに対し、PMLG は層の境界が不明瞭であり、局所的な粗さや不均一性が見られた。これは、側鎖の剛直性の違いが分子配列に影響を与え、膜内部構造に反映された結果と考えられる。

水接触角測定では、PMLG が 67° と高い親水性を示し、PBLG は 88° と疎水性が顕著であった。この濡れ性の違いは、膜表面の形態ではなく、側鎖の化学構造 (メチル基 vs. ベンジル基) に起因するものであり、分子設計によって膜表面の物性を制御できる可能性が示された。

以上の結果から、ポリ-L-アミノ酸の側鎖構造は膜の内部構造および表面特性に対して異なる影響を及ぼすことが明らかとなった。これにより、ポリマーの分子設計を通じて、膜の構造的・機能的特性を精密に制御することが可能であり、バイオマテリアルや環境適応材料への応用に向けた有用な知見が得られた。

5. 参考文献

- [1] Yuan, H.; Jiang, M.; Fang, H.; Tian, H. Recent Advances in Poly(amino acids), Polypeptides, and Their Derivatives in Drug Delivery. *Nanoscale*, 17, pp.3549–3584 (2025)
- [2] Yodoya, S.; Takagi, T.; Kurotani, M.; Hayashi, T.; Nagata, M.; Oka, M.; Hayashi, T. Immobilization of Bromelain onto Porous Copoly(γ -methyl-L-glutamate/L-leucine) Beads. *Eur. Polym. J.*, 39 (1), pp.173–180 (2003)
- [3] Han, J.; Ding, J.; Wang, Z.; et al. The Synthesis, Deprotection and Properties of Poly(γ -Benzyl-L-glutamate). *Sci. China Chem.*, 56, pp.729–738 (2013)
- [4] Harris, S.; Sulistio, A.; Wong, E. H. H.; et al. Polypeptide Films via N-Carboxyanhydride Ring-Opening Polymerization (NCA-ROP): Past, Present and Future. *Chem. Commun.*, 50, pp.9703–9712 (2014)
- [5] Yodoya, S.; Takagi, T.; Kurotani, M.; Hayashi, T.; Nagata, M.; Oka, M.; Hayashi, T. Preparation and Properties of A-B-A Tri-block Copolymer Membranes Consisting of N-Hydroxypropyl-L-glutamine and L-Alanine. *Eur. Polym. J.*, 39 (10), pp.2059–2067 (2003)
- [6] ASTM D5946-17. Standard Test Method for Corona-Treated Polymer Films Using Water Contact Angle Measurements; ASTM International: West Conshohocken, PA (2017)
- [7] Barron, A. R. SEM and Its Applications for Polymer Science. Chemistry LibreTexts, Rice University. [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Physical_Methods_in_Chemistry_and_Nano_Science_\(Barron\)/09%3A_Surface_Morphology_and_Structure/9.03%3A_SEM_and_its_Applications_for_Polymer_Science](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Physical_Methods_in_Chemistry_and_Nano_Science_(Barron)/09%3A_Surface_Morphology_and_Structure/9.03%3A_SEM_and_its_Applications_for_Polymer_Science)