

N-1

## 温度応答性高分子をグラフト化した中空球状バクテリアセルロースゲルの調製 Preparation of thermoresponsive Polymer-Grafted Bacterial Cellulose Gels

○船山浩之<sup>1</sup>, 山岸拓馬<sup>2</sup>, 星徹<sup>3</sup>, 青柳隆夫<sup>3</sup>\*Hiroyuki Funayama<sup>1</sup>, Takuma Yamagishi<sup>2</sup>, Toru Hoshi<sup>3</sup>, Takao Aoyagi<sup>3</sup>

Abstract: We have succeeded in the preparation of hollow-spherical bacterial cellulose (HSBC) gel with the thin gelatinous membrane formed by the three-dimensional network structure composed of cellulose nanofibers. Molecules smaller than the pore size of the network could be loaded into the HSBC gel, and these loaded molecules were rapidly released by Fickian diffusion. To control the release behavior of loaded molecule, we carried out the graft polymerization of poly(*N*-isopropylacrylamide) (PNIPAAm) from HSBC gel. Grafting of PNIPAAm was performed by the surface initiated atom to transfer radical polymerization from chloro groups introduced to HSBC gel. Thermo-responsive properties of NIPAAm grafted HSBC gels were evaluated by drug release behavior.

### 1. 緒言

バクテリアセルロース(BC)ゲルとは酢酸菌等のバクテリアが生成する天然の高分子である。当研究室では、直径約2mm程の球状で中身に空間を有する中空球状BC(HSBC)ゲルの調製に成功した<sup>[1][2]</sup>。このHSBCゲルは、生体適合性、生分解性等の特性を有しており、ゲル自体が緻密な三次元網目構造を形成していることから、網目サイズ以下の分子を自由に透過可能である。さらに、HSBCゲルから温度応答性高分子を修飾する事で温度により物質透過性を制御する事が期待される。そこで、生体内温度付近に下限臨界溶解温度(LCST)を有する、Poly(*N*-isopropylacrylamide)(PNIPAAm)によるHSBCゲルの修飾を試みた。

HSBCゲルへのPNIPAAmの修飾は原子移動ラジカル重合(ATRP)を用いた表面開始グラフト重合により行った。ATRPは分子量分布の狭い高分子を重合する事が可能であり、より鎖長の揃ったPNIPAAmをHSBCゲルからグラフトする事が可能である。

本研究では、表面開始ATRPにより、HSBCゲルからNIPAAmのグラフト重合を行い、得られたPNIPAAmグラフト化HSBCゲルの温度によるモデル事物の放出挙動の変化を評価した。

### 2. 実験操作

#### 2.1 HSBC-Clゲルの合成

二口フラスコに脱水THF 30 mL, 4-dimethylaminopyridine(DMAP)を加えた後、Arバブリングを行い、スターラーで攪拌した。DMAPの溶解後、2-Chloropropionyl Chloride, 脱水THFに溶媒置換したHSBCゲル15個を入れ、Ar雰囲気下で24時間反応させた。反応後、HSBC-ClゲルをTHF, メタノールで洗浄した。付加反応の確認は減圧乾燥後のHSBC-ClゲルのATR-IR測定により行った。

#### 2.2 PNIPAAm-g-HSBCゲルの合成

Ar雰囲気下において、シュレンク管に蒸留DMF 5 mL, Tris[2-(dimethylamino)ethyl]amine(Me<sub>6</sub>TREN), 犠牲開始剤として*N*-Chloromethylphthalimideを加えArバブリングを行い、10分間スターラーで攪拌した。これを溶液①とする。別のシュレンク管にAr雰囲気下でCuCl(I), NIPAAmを入れた。その後、シリンジを用いて溶液①及び脱水Dimethylformamide(DMF)に溶媒置換したHSBC-Clゲル10個を加え、反応を開始させた。反応停止後は、HSBCゲルはメタノールで洗浄し、純水に溶媒置換したのち3日間攪拌した。ATR-IR測定は反応後のHSBCゲルをメタノールに再置換し、減圧乾燥後行った。

1 : 日大理工・院(前)応化 2 : 日大理工・学部・応化 3 : 日大理工・教員・応化

### 2.3 PNIPAAm-g-HSBC ゲル薬物放出挙動評価

FITC-dextran(Mw.=ca.10000) 水溶液 (1mg/mL) に PNIPAAm-g-HSBC ゲルを 40 °C で 3 日含浸させた後、純水 3 mL 中に浸漬させ、25 °C および 50 °C で  $\lambda_{Em}=517$  nm における蛍光強度測定を 1 時間行った。

## 3. 結果・考察

### 3.1 PNIPAAm-g-HSBC ゲル合成確認

Figure. 1 に HSBC, HSBC-Cl, PNIPAAm-g-HSBC の ATR-IR スペクトルを示す。HSBC-Cl ゲルはエステル結合の吸収が確認されたことから、HSBC ゲルの水酸基と 2-Chloropropionyl Chloride の脱塩酸反応によってエステル化が進行し、HSBC-Cl ゲルの合成が示唆された。PNIPAAm-g-HSBC ゲルは PNIPAAm 由来の C=O および N-H の吸収が新たに出現した。以上より PNIPAAm-g-HSBC ゲルの合成を確認した。また、GPC 測定より犠牲開始剤から重合した PNIPAAm の数平均分子量は  $2.5 \times 10^4$  [g/mol]、分散度は 1.19 であった。これらの結果より、HSBC ゲルに分散度の低い PNIPAAm 鎖のグラフト化が示唆された。

### 3.2 各 HSBC ゲルの状態変化確認

25 °C の純水中における HSBC, HSBC-Cl, PNIPAAm-g-HSBC の写真を Figure. 2 に示す。HSBC-Cl ゲルは HSBC ゲルと比較して表面が透明化した。これは 2-Chloropropionyl Chloride を付加した事でセルロースの屈折率が純粋なセルロースと比較して水の屈折率と近い値になったためであると考えられる。また、PNIPAAm-g-HSBC ゲルが HSBC ゲルと比較して白色化しているのは、PNIPAAm をグラフト化したことで膜厚が厚くなり、光を透過しにくくなった為、白色に変化したと考えられる。

### 3.3 薬物放出試験結果

水温 25 °C よりも、水温 50 °C の方が FITC-dextran を速く放出している結果となった(Figure. 3)。これは PNIPAAm 鎖が水和する 25 °C の条件下では膨潤した PNIPAAm 鎖によって HSBC ゲルの網目が塞がれ放出を遅延させる一方、脱水している 50 °C の条件下では PNIPAAm 鎖が凝集することで塞がっていた網目が開放されるため、迅速な薬物放出を行う事が示唆された<sup>[3]</sup>。

## 4. 参考文献

- [1] T.Hoshi, *et al.*, *Heliyon*, **4**, e00873 (2018)
- [2] T.Hoshi, *et al.*, *Int. J. Mol. Sci.*, **20**, 4919 (2019)
- [3] Y. Li *et al.*, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **43**, 2634-2649 (2004)

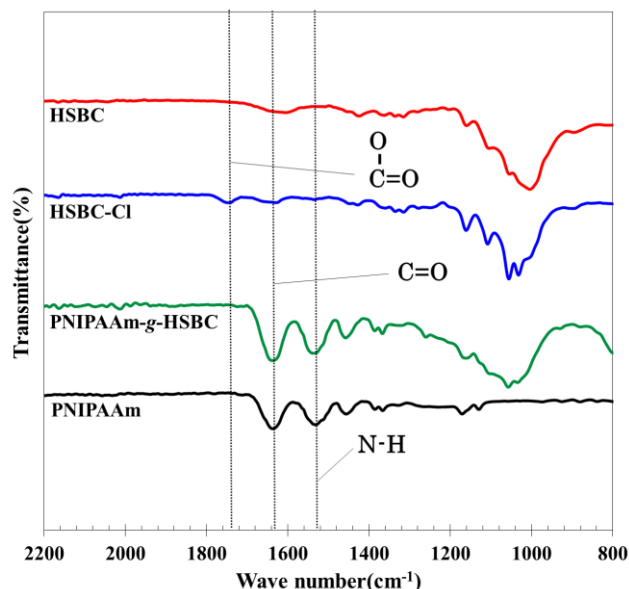


Figure 1. ATR-IR spectra of HSBC gel, and modified HSBC gels, and PNIPAAm.

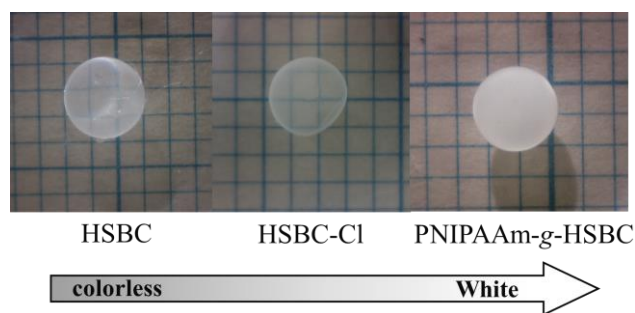


Figure 2. ATR-IR spectra of HSBC gel and modified HSBC gel.

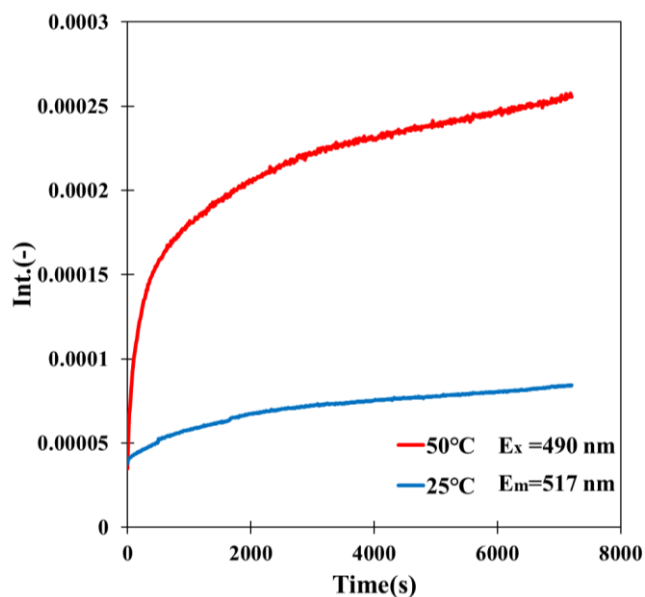


Figure 3. Release behavior of FITC-dextran from PNIPAAm-grafted HSBC gel with fluorescence measurement.