

N-6

pH 応答性高分子ゲル内包中空球状バクテリアセルロースゲルの調製と薬物放出評価

Encapsulation of pH-Responsive Polymer Gel
with a Hollow type Spherical Bacterial Cellulose Gel and Drug Release Evaluation○澤口大輔¹, 星徹², 青柳隆夫²*Daisuke Sawaguchi¹, Toru Hoshi², Takao Aoyagi²

Abstract: In this study, HSBC gels encapsulating Poly (N-methacryloyl Glycine)(PMGly) gel, which is a pH-responsive polymer gel, were prepared. The volume of the encapsulated PMGly gel changed reversibly depending on the pH of the medium. The encapsulated PMGly gels could contain cationic model drugs and the release behavior of the loaded model drugs changed depending on the pH. Under acidic conditions (pH 2.0), the model drug was rapidly released from the PMGly gel, on the other hand, in pure water, the drugs were not released because these drugs were strongly adsorbed on the PMGly gel by electrostatic interaction. The HSBC gel encapsulated with PMGly gels with biocompatibility can be applied to safe drug release materials with clearly controllable release by pH

1. 緒言

バクテリアセルロース(BC)ゲルは酢酸菌などの微生物によって産生され、酸や塩基に強く、高い機械的強度、生体適合性を有する機能性材料である。当研究室では、酢酸菌が好気性条件下において培養液-疎水性界面でBCゲルを産生することに着目し、中空球状バクテリアセルロース(HSBC)ゲルの作製に成功した¹⁾。HSBCゲルは内部に空間を有し、そのゲル膜はセルロースナノファイバーの網目構造で形成されている。そのため、BCゲル膜の網目の細孔サイズより小さい分子は透過し、空間内に様々な物質の充填が可能である。内部に充填された物質はゲル内部-外部の濃度勾配によって素早く放出するが、充填した分子の保持やコントロールリリースは困難である。そこでpH、温度、光などの外部刺激による薬物放出制御のために、刺激応答性高分子に着目した。刺激応答性高分子の一つであるpH応答性高分子は、カルボキシ基やアミノ基を有し、これらの官能基のpH変化によるプロトンの付加もしくは脱離によって、溶解度、立体配位などが可逆的に変化する。先行研究において、 $pK_a = 4.5$ のpH応答性高分子であるPoly(Methacryloyl Glycine)(PMGly)とBCゲルを複合化したPMGly/BC複合膜は、充填した薬物が模擬胃液(pH 2.1)中では薬物放出速度は極めて遅く、模擬腸液(pH 7.4)中では非常に速く放出したことが報告されている²⁾。また、*in vitro*細胞毒性試験では、BCゲルと複合化することで、PMGlyゲルの細胞毒性が低下することが確認された。そこで、HSBCゲルで細胞毒性の高いPMGlyゲルをカプセル化することで、PMGlyゲルと生体が直接接触しない細胞毒性の低い機能性カプセルの調製が期待される。本研究ではPMGlyゲル内包HSBCゲルの調製とPMGlyゲルに充填したモデル薬物の放出挙動の評価を行った。

2. 実験操作

2-1. PMGlyゲル内包HSBCゲルの調製

氷浴中でMGly、架橋剤、開始剤を純水に溶解したものをモノマー溶液とした。U字底96ウェルプレートの各ウェルをシリコーンオイルで満たした後、モノマー溶液15 μ Lを滴下し60°Cで2時間反応させた。得られた球状PMGlyゲルを純水で洗浄した。酢酸菌を含む培養液に球状PMGlyゲルを浸漬し1日溶媒を置換した後、シリコーンオイルで満たしたU字底96ウェルプレートに沈め、5日目に培養中のゲルを上下反転し、合計7日間30°Cで培養した。生成物を純水で洗浄1 wt% NaOHaqで溶菌処理した後、球状PMGlyゲル内包HSBCゲルを得た。

2-2. カチオン性モデル薬物の放出評価

モデル薬物にカチオン性色素であるRhodamine 6Gを選択した。球状PMGlyゲルを1 mg/mL Rhodamine 6G水溶液中に2日間浸した。これを塩酸水溶液(pH = 2.0)または純水を2 mL入れた角型石英セル(光路長1 cm)の中に入れ、UV-Vis装置を用いてRhodamine 6Gの最大吸収波長525 nmの吸光度の経時変化を測定した。

1 : 日大理工・院(前)・応化 2 : 日大理工・教員・応化

3. 結果

3-1. PMGly ゲル内包 HSBC ゲルの調製

従来の培養方法を参考にして、天然由来でないゲルの HSBC ゲルによるカプセル化に成功した(Fig. 1(B)). PMGly ゲルの HSBCゲルによるカプセル化は、HSBCゲルがバリア層となり、細胞毒性の高い PMGly ゲルと生体とを接触させない手法になることが期待される。

架橋剤の添加量の少ない PMGly ゲルを HSBC ゲルでカプセル化した場合、pH = 7.0 の純水中で PMGly ゲルが膨潤することで、HSBCゲルが破裂した。架橋剤をモノマーに対して5wt%まで添加量を増加させると、純水中で PMGly ゲルが膨潤しても HSBCゲルを破裂させずに、カプセル化が可能であった。

カチオン性である Rhodamine 6G を PMGly ゲル内包 HSBC ゲルに充填した状態を Fig. 2 に示す。pH に応答して内部の PMGly ゲルが収縮していることが観察された(Fig.2 (B)). pH 2.0 の環境では、PMGlyゲルのみが収縮し、HSBCゲルの大きさは、pH 7.0 のときとほぼ変化していないことから、PMGly ゲルと HSBC ゲルは相互作用せずに、互いに独立して存在していることを確認した。この収縮した PMGly ゲルを再度、純水に浸漬させても膨潤を示さなかった。これは Rhodamine 6G が PMGly ゲルのカルボン酸と静電相互作用で吸着し、解離が十分に起こらなかったためと考えられる。プロトン濃度やイオン強度によって、Rhodamine 6G を解離させることで、再膨潤することが示唆された。

3-2. カチオン性物質の放出挙動

純水および塩酸(pH = 2.0)どちらの条件においても、Rhodamine 6G の最大吸収波長 525 nm における吸光度は、時間の経過とともに増加し、24 時間後に濃度が平衡に達した(Fig. 3)。24 時間後の最大放出量を比較すると、純水中では 0.0586 μg 、塩酸水溶液中(pH=2.0)では 30.1 μg と大きく異なる結果となった。純水中では充填された Rhodamine 6G は PMGly ゲル中の $-\text{COO}^-$ と静電的相互作用により吸着するが、pH が低下しプロトン濃度が高くなると PMGly ゲルのカルボキシ基はプロトン化するため Rhodamine 6G が脱着し、また PMGly ゲルの収縮による絞り出し効果のため、迅速に多量の Rhodamine 6G の放出が起こったと考えられる。

4. 結言

PMGly ゲル内包 HSBC ゲルは、周囲の pH 環境により PMGly ゲルの膨潤-収縮、カチオン性分子との相互作用の変化により、明確な放出制御が可能かつ HSBC ゲルが保護膜となるため、安全な薬物放出材料の実現が考えられる。

4. 参考文献

- 1) Toru Hoshi *et al.*, *Int. J. Mol. Sci.*, **20**, 4919 (2019)
- 2) Louise, *et al.*, *Carbohydrate Polymers*, **169**, 357-365 (2017)

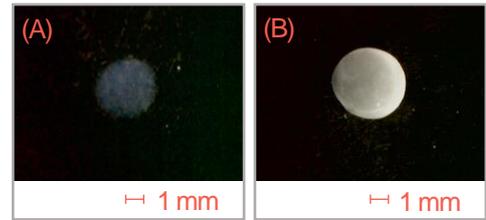


Fig. 1 Photographs of (A) PMGly gel (crosslinker : 5 %), (B) PMGly (5 %) gel encapsulated HSBC gel.

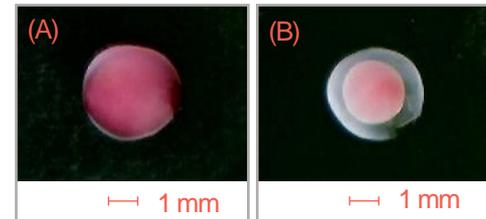


Fig. 2 Images of PMGly (crosslinker : 7 %) encapsulated HSBC gel stained with Rhodamine 6G. (A) swelling of PMGly gel, (B) shrinking of PMGly gel (pH 2.0)

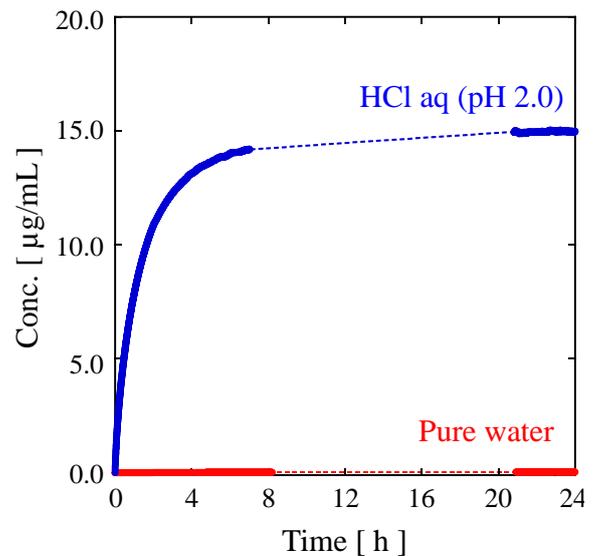


Fig. 3 Time-dependent curves of released Rhodamine 6G concentration from of PMGly gel in pure water or HCl_{aq} (pH = 2.0).