

N-11

アニオン性 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からの薬物放出挙動

Drug release behavior from hollow spherical bacterial cellulose gels encapsulating anionic pH-responsive polymer gels

○堀叶佑¹, 星徹², 青柳隆夫²*Kyosuke Hori¹, Toru Hoshi, Takao Aoyagi²

In this study, we prepared HSBC gels encapsulating pH-responsive polymer hydrogels. The pH-responsive gels carried cationic model drugs, and they were released only at low pH condition and not released at neutral condition. Encapsulation of pH-responsive hydrogel is expected to control the release of the loaded drugs while preventing from adsorption onto the inner wall of the gastrointestinal tract.

1. 緒言

バクテリアセルロース(BC)ゲルは、酢酸菌がグルコースを代謝することによって産生される高純度のセルロースナノファイバーから成るゲルであり、高い機械的強度を持ち、pH 耐性や、生体適合性を有していることから機能性材料として幅広い分野で注目されている。当研究室では、酢酸菌が培養液-疎水性界面で BC ゲルを産生することに着目し、酸素透過性の高いシリコンオイル中で培養液を球状に保ちながら培養することで、内部に空間を有する中空球状 BC(HSBC)ゲルの調製に成功した¹⁾。HSBC ゲルは、薬剤カプセルなどへの応用が期待されている。BC ゲルの網目細孔サイズより小さい薬物を HSBC ゲルに充填させると、濃度勾配に依存した拡散放出が起こる。HSBC ゲルの薬剤カプセルとしての応用を考えたとき、充填された薬物の放出制御が課題となる。薬剤カプセルは、胃液や腸液などの pH 変化のある環境での使用が想定されることから、薬物の放出を制御する要素として pH を取り上げ、pH 応答性高分子と HSBC ゲルの複合化を検討した。

pH 応答性高分子とは、側鎖にカルボキシ基やアミノ基などのイオン性官能基を有している高分子である。アニオン性とカチオン性の高分子があり、pH 変化に伴いイオン性官能基のプロトンの解離状態が変化する。この pH 応答により、電荷を持つ薬物の放出制御が可能になると考えられる。先行研究では、アニオン性 pH 応答性高分子である Poly(N-methacryloyl glycine)(PMGly) (pKa=3.5)ゲルを内包した HSBC ゲルを調製し、pH 変化による薬物放出挙動の評価を行った。その結果、カチオン性のモデル薬剤である Rhodamine 6G (R6G)(pKa=6.13)の pH 変化による放出制御に成功した²⁾。本研究では、PMGly ゲルと比較して合成が簡便であり、薬物放出制御の再現性を評価しやすい Poly(methacrylic acid)(PMAA)ゲルを内包した HSBC ゲルを調製し、カチオン性モデル薬物の薬物放出挙動を評価する。

2. 実験操作

2-1. 架橋剤濃度を変更した PMAA 球状ゲルの調製

Methacrylic acid(MAA: モノマー), *N, N'*-Methylene Bisacryl Amide(MBA: 架橋剤)および 2,2'-Azobis(2-methyl propionamide)dihydrochloride(V-50: 開始剤)を純水に溶解した混合溶液をモノマー溶液とした。モノマーと開始剤のモル比を、100:5 の条件で調製し、架橋剤の量を 5 通り(2, 3, 4, 5, 6, 7%)の条件で行った。シリコンオイル(KF-56A)を丸底 96 ウェルプレート(PTFE 製)に各 150 μ L ずつ滴下し、各ウェルへモノマー溶液を 15 μ L 滴下した。60 $^{\circ}$ C の恒温槽中で 2 時間加熱した後、ゲルを回収し純水で洗浄を行った。また、モノマー溶液 1 mL を直径 2 cm ポリプロピレン製容器に分取し、PMAA 円盤状ゲルの調製を行った。

2-2. PMAA 内包 HSBC ゲルの調製および BC ゲル膜の確認

直径 2 mm の PMAA 球状ゲル(MBA : 5 %)を、酢酸菌を植菌した培養液(母液)に 1 日浸漬し、球状ゲルに母液を含ませた後、シリコンオイル(KF-56A)で満たした PS 製丸底 96 ウェルプレートの各ウェルに沈めた。その後、ゲルの表面に付着するように母液を 1.5 μ L 滴下し、30 $^{\circ}$ C で培養を開始した。培養開始 5 日目にスパチュラを用いてゲルを上下

1 : 日大理工・学(後)・応化 2 : 日大理工・教員・応化

反転させた。ゲルの反転後、培養開始時と同様に母液を 1.5 μL 滴下した後、PMAA ゲル表面を母液が覆うようにプレートシェイカーで1分間振動させた。培養終了後に 1 wt% NaOH_{aq} を用いて溶菌処理を行い、PMAA 内包 HSBC ゲルの回収を行った。BC ゲル膜の確認は、ATR-FTIR 測定および光学顕微鏡(ZEISS Axio Scope.AI 検査用正立顕微鏡)観察により行った。

2-3. PMAA 球状ゲルを用いた R6G の充填・放出挙動評価

直径 2 mm の PMAA 球状ゲル(MBA : 5 %)を、洗浄のため塩酸(pH 2.0)に 2 日浸漬させた後、純水に 2 日以上浸漬させた。その後、PMAA 球状ゲルを 1.00 mg/mL R6G 水溶液(pH 6.1)に 2 日浸漬させ R6G の充填を行った。R6G 充填後の PMAA 球状ゲルは、表面を純水で洗浄した後、各 20 mL の塩酸(pH 2.0)または純水にそれぞれ加えた。所定時間経過後、200 μL ずつ分取し、各時間の吸光度より R6G の放出量を評価した。

3. 結果・考察

3-1. 架橋剤濃度を変更した PMAA 球状ゲルの調製

架橋剤濃度の増加に伴い、得られるゲルが球形に近づく傾向が見られた。低い架橋剤濃度では架橋点が少なく、球状を維持できなかったと考えられる。

3-2. PMAA 内包 HSBC ゲルの調製および BC ゲル膜の確認

光学顕微鏡の画像を Fig.1, 2 に示す。PMAA 球状ゲルの周りに半透明の層が確認された。培養液疎水性界面で産生された BC ゲル膜であると予測される。

次に ATR-FTIR 測定結果を Fig.3 に示す。898, 1162, および 1428 cm^{-1} に I 型結晶セルロース由来の吸収が確認された^{3,4)}。また 1660 cm^{-1} において PMAA のカルボン酸由来の吸収が確認されたことから、BC と PMAA の複合体が得られたと考えられる。

これらの結果から、PMAA 内包 HSBC ゲルの調製に成功したことを確認した。

3-3. PMAA 球状ゲルを用いた R6G の放出挙動評価

PMAA に充填した R6G は、塩酸中で放出し、純水ではほとんど放出されないことが確認された(Fig. 4)。PMAA 球状ゲル 1 個当たりの最大放出量は、塩酸(pH 2.0)中で 8.2 μg であった。これは、PMAA ゲルのカルボキシ基が、イオン型から分子型に変化し R6G との静電的相互作用が切れ、放出量が増加したと考えられる。これらの結果より、pH に応答した R6G の放出に成功した。

4. 参考文献

- [1] T. Hoshi *et al.*, *Heliyon*, 4(10), e00873 (2018)
- [2] 日本大学大学院理工学研究科 令和3年度修士論文 澤口 大輔
- [3] 日本大学大学院理工学研究科 令和元年度修士論文 遠藤 眞仁
- [4] Yue *et al.*, *BioResources*, 8(4), 6469-6471 (2013)

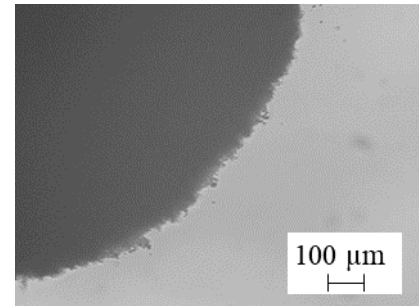


Fig.1 Photograph of PMAA gel.

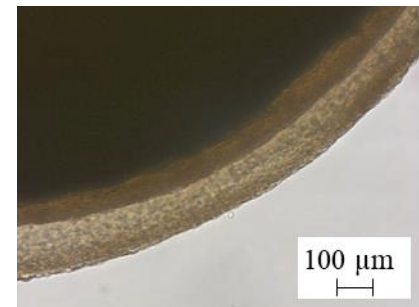


Fig.2 Photograph of PMAA encapsulated HSBC gel.

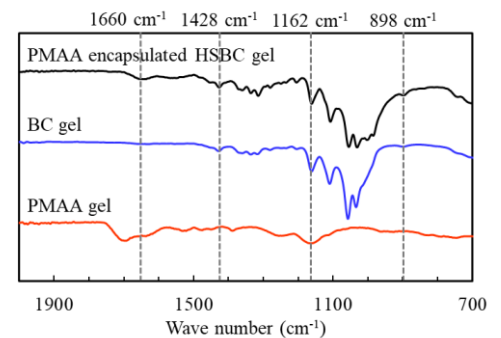


Fig. 3 ATR-FTIR spectra of PMAA encapsulated HSBC gel, BC gel and PMAA gel.

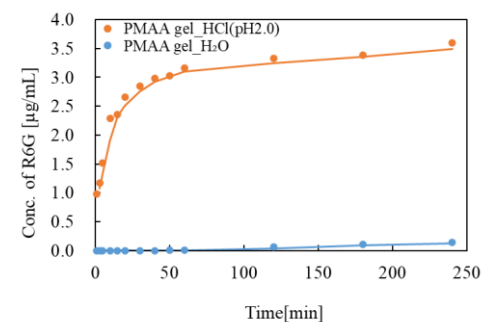


Fig.4 Time-dependent curves of released R6G concentration from of PMAA gel in pure water or HCl_{aq}(pH=2.0).