

公益財団法人 立松財団 御中
様式 2021A1,A2,B

令和 6 年 3 月 21 日

所属:岐阜薬科大学

氏名:土井 直樹



2022 年度 助成 研究終了 報告書

※ゴシック文字で記入下さい。

研究テーマ	ポリアミノ酸の環境低負荷型固相反応による機能性バイオベースポリマー創製技術の確立
研究の結果	<p>本研究では、自然界の <i>Bacillus</i> 属の細菌により産生される、高分子量の Poly-γ-glutamic acid (γPGA) 粉末に機械的エネルギーを与えることで分子量制御すると同時に、発生した主鎖型ラジカルを開始剤とした固体モノマーの重合を行うことにより、溶媒・触媒・開始剤を用いることなく新たな機能性高分子鎖をグラフト鎖として γPGA に導入したバイオベースポリマーを開発した。</p> <p>申請者はこれまで、室温窒素雰囲気下における γPGA 粉末の高速ボールミル振動処理を種々の時間行い、得られた粉碎試料の ESR スペクトル測定とその後の解析によって、γPGA の主鎖切断によって発生したラジカルが、周囲の γPGA の 2 級炭素から水素を引き抜き、安定な第 3 級主鎖型ラジカルが発生することを見出している。そこで、発生したラジカルを開始剤として、本研究では、生体膜を構成するリン脂質の分子構造を模倣した、2-Methacryloyloxyethyl phosphoryl choline (MPC) の固相重合について検討した。(図 1) 各重合時間で得られた生成物の $^1\text{H-NMR}$ 測定を行い、MPC のオレフィン部位のプロトンピークの積分値に基づいた低減率より、MPC から PMPC への転化率を検討したところ、重合初期から 2 時間にかけて時間依存的な転化が認められ、10 時間で 100% に達した。</p> <p>転化率が 100% に達した生成物 200 mg について、γPGA のカルボキシ基の pK_a (~ 4.0) に基づき、pH の異なる緩衝液を用いた分離精製を行うことで、PMPC のホモポリマー 112 mg, γPGA のフラグメント 53 mg, グラフトコポリマー 35 mg が生成していることを見出した。さらに、得られたグラフトコポリマーのサイズ排除クロマトグラフィー (SEC) と $^1\text{H-NMR}$ 測定の結果より、数平均分子量が $25,000 \text{ g mol}^{-1}$、コポリマーを構成する γPGA と PMPC の組成は、それぞれ 2 : 1 であることが明らかとなった。さらに、グラフトコポリマーの水溶液と抗がん剤である Doxorubicin 塩酸塩 (DOX) の水溶液を調整・混和することによって、粒子サイズが 30~210 nm のナノ粒子を調製でき、ナノ粒子内に DOX を 40~60% の割合で内包することが可能であった。</p> <p>以上の研究成果は、環境低負荷型固相反応を通して、溶媒や触媒を一切用いることなく γPGA の利活用により生体適合性ポリマーを導入したバイオベースポリマーを合成し、水のみで抗がん剤を内包したナノ粒子を調製できることを実証したものであり、グリーン社会やカーボンニュートラルを推し進める最新鋭技術として有用であると考えられる。</p> <p>図 1. γPGA のラジカルを起点としたリン脂質モノマーの環境低負荷型固相反応による生体適合性バイオベースポリマーの開発</p>
研究発表 (実績)	<p>(論文) Naoki Doi, Kazuichi Araki, Yoichiro Fukuta, Yudai Kuwagaito, Yukinori Yamauchi, Yasushi Sasai, Shin-ichi Kondo, Masayuki Kuzuya, Anti-glycation and antioxidant effects of Chaga mushroom decoction extracted with a fermentation medium, <i>Food Sci. Technol. Res.</i>, 29(2), 155-161, 2023 Naoki Doi, Yukinori Yamauchi, Yasushi Sasai, Naohiro Yuda, Masayuki Kuzuya, Shin-ichi Kondo, Characterization of well-defined PHEMA-based bottlebrushes with controlled chain length and grafting density, <i>J. Polym. Sci.</i>, 2023 in press (学会発表) ○土井直樹, 平田和巳, 葛谷昌之, 近藤伸一, 天然ポリアミノ酸を主鎖とする生体適合性スルホベタイン型ポトルブラシポリマーの開発, 第 44 回日本バイオマテリアル学会大会 2022 年 11 月 21 日 ○土井直樹, 辻本光, 山岸由佳, 山内行玄, 笹井泰志, 葛谷昌之, 近藤伸一, 癌細胞膜吸着により細胞死を惹起するスルホベタインポリマー型ナノ粒子の開発, 日本薬学会第 143 年会 2023 年 3 月 26 日 ○土井直樹, 鈴木香帆, 山内行玄, 葛谷昌之, 笹井泰志, 近藤伸一, 環境低負荷型固相反応によるグラフト化デキストランの開発, 第 69 回日本薬学会東海支部 総会・大会 2023 年 7 月 9 日</p>