

外部刺激による高分子ミセルの特異的形成／崩壊制御とその物質輸送系への応用

京都大学工学研究科高分子化学専攻

松岡 秀樹

By utilizing the special characteristics of "non-surface active" polymers, a novel drug delivery system of polymer micelle has been established. The critical micelle concentration (cmc) of "non-surface active" polymers increases with increasing added salt concentration. Hence, this polymer micelle can be disintegrated by salt addition, which was applied to drug release system with salt addition as a trigger. The system with UV irradiation as a trigger was also investigated.

1. 緒言

一般の低分子界面活性剤水溶液の表面張力は、活性剤濃度の増加と共に減少し、屈曲点を経て、一定値となる(図1)。この屈曲点が、水中でミセルが形成され始める濃度、すなわち、臨界ミセル濃度cmcである。この挙動は、どの教科書にも記述されており普遍現象と信じられてきた。しかしながら、分子が大きな「高分子」となると、必ずしも、このような性質を示さないことが、我々のイオン性両親媒性高分子に関する研究により示された^{1,2)}。図2は、その一例である。試料は、水素化ポリイソプレンを疎水鎖、ポリスチレンスルホン酸を親水鎖とするジブロックコポリマーである。この水溶液の表面張力は、高分子濃度が增大しても変化せず、純水の値(73 mN/m)のまま一定である。しかし、図に示すように、疎水性色素の可溶化実験によりcmcの存在が示され、ある一定以上の濃度で、ミセルが形成されていることが分かる。我々は、この特性を「界面不活性性」と名付けた。そして、10年以上に渡る系統的基礎研究により、その根源は、気水界面における鏡像電荷効果と水中のミセルの非常に高い安定性によりもたらされるものであることを明らかとした^{1,2)}。親水鎖が高分子イオンであるため、鏡像電荷による斥力が非常に強くなる。そのため、気水界面への吸着が起こりにくくなる。一方、水中のミセルは、疎水鎖が高分子のため、非常に安定な疎水性コアを形成する。さらには、親水鎖コロナも高分子であり、これに覆われることもあり、非常に安定なミセルとなる。従って、気水界面に吸着すること無く、ミセルを形成する、という「界面不活性性」が発現することになる(図3)。すなわち、界面不活性性は、ある種の高分子効果なのである。

この界面不活性高分子の特徴(特異性)の一つは、cmcの異常な添加塩濃度依存性である。通常のイオン性低分子界面活性剤のcmcは、塩濃度の増加と共に減少する。これは古くから知られるCorin-Harkins則であり、ミセル中のイオン性頭部間の斥力が添加塩により緩和されることにより説明される。しかるに、界面不活性高分子のcmcは、図4の例のように、塩濃度の増大と共に、増加することが我々の研究により発見された。真逆の傾向である³⁾。これ

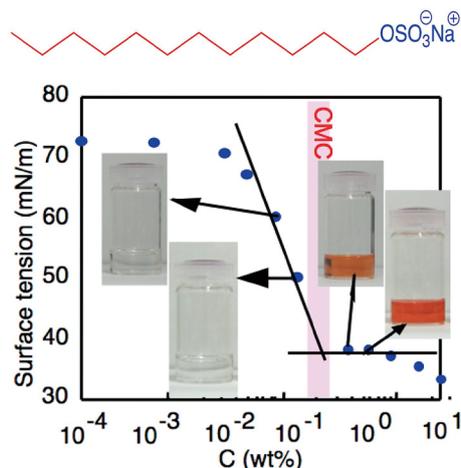


図1 ドデシル硫酸ナトリウム(分子構造:上)水溶液の表面張力の濃度依存性。疎水性色素の可溶化実験の結果(写真)より、cmc 以上でのミセルの形成が確認できる。

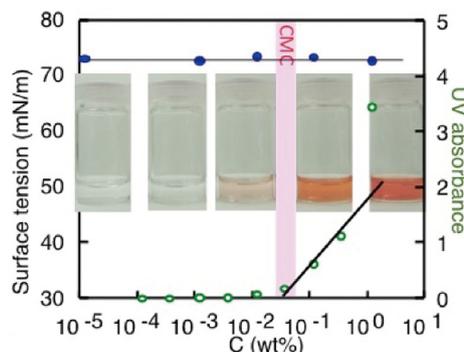


図2 水素化ポリイソプレンとポリスチレンスルホン酸ナトリウムのジブロックコポリマー水溶液の表面張力(青)と可溶化実験の結果(緑および写真)。



Control of unimer/micelle transition of amphiphilic diblock copolymer by external stimuli and its application to drug delivery systems

Hideki Matsuoka

Department of Polymer Chemistry, Kyoto University

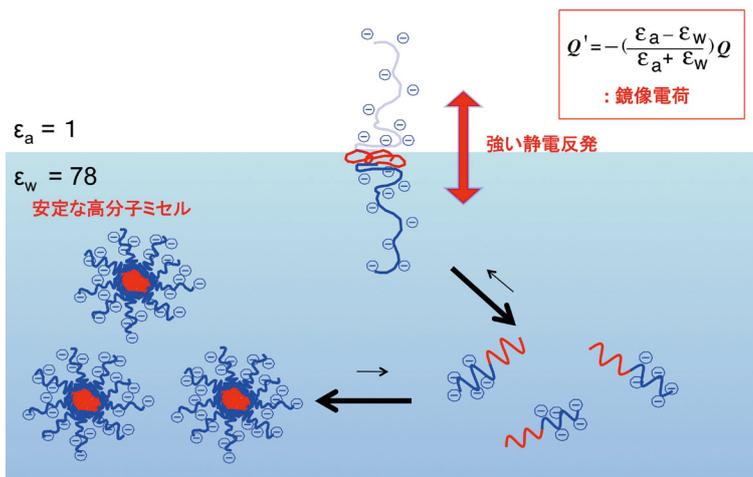


図3 「界面不活性性」発現機構の模式図

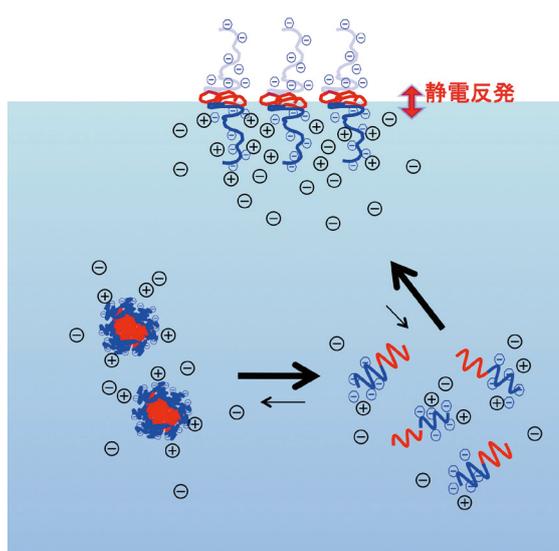


図5 界面不活性高分子水溶液に対する添加塩の効果の模式図

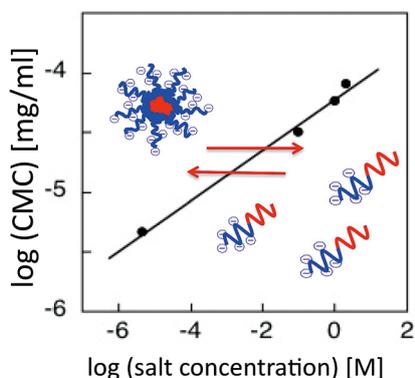


図4 界面不活性高分子のcmcの添加塩濃度依存性
低分子イオン性界面活性剤と真逆に、上昇傾向を示す。

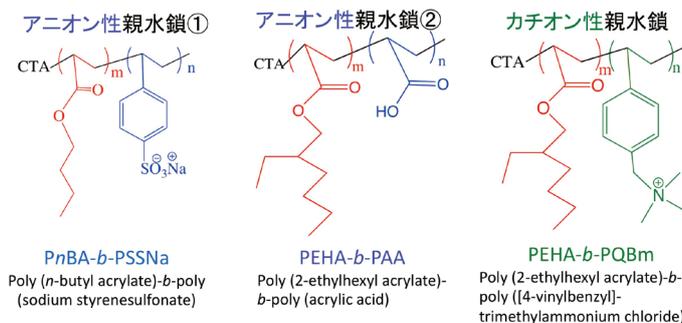


図6 本研究で用いた、3種のイオン性両親媒性ブロックポリマー

は図5に模式的に示すように、鏡像電荷斥力が添加塩により遮蔽され、吸着しやすくなる、平衡が、ミセル側から吸着側へシフトしたためと考えられる。

このcmc増大の特性を利用すると、図4から分かるように、塩を加えることによりcmcを跨ぐことができ、ミセルを「崩壊」させることが可能になると期待される。低分子の場合は、逆向きに跨ぐので、ミセルを「形成」させることはできるが、崩壊は不可能である。よって、このような添加塩によるミセルの崩壊制御は、界面不活性高分子によってのみ達成される、特異機能といえる。

本研究では、図6に示す3種の高分子（親水鎖が、強酸性、弱酸性、およびカチオン性）について、このcmc増加現象の普遍性を確認すると共に、添加塩のイオン種依存性（NaCl, KCl, NaBr など）を調査し、さらには、ミセル内に取り込ませた色素を、塩の添加により放出させることを試みた。さらには、より発展的応用として、光照射により疎水性からイオン性の親水鎖に変化するブロックを有する高分子ミセルを構築し、UVを照射することにより、ミセル内部の色素を放出する系の構築を試みた。

2. 実験

図6に示す3種の高分子は、可逆的付加開裂連鎖移動（RAFT）重合により合成した。近年開発された水溶性の連鎖移動剤を用いることにより、水溶性モノマーを直接重合することが可能となり、100%イオン基を導入した親水鎖の合成が可能となると共に、疎水鎖とのブロック重合も容易に行えるようになっている。

表面張力の測定は、協和界面科学製 FACE CBVP-Zにより行った。試料水溶液は、調製後一晩静置してから測定を行った。cmcの決定は、静的光散乱法により行った。大塚電子製SLS-7000により散乱角度90°方向への静的散乱強度を測定し、ダイレクトとの強度比 I_s/I_0 を濃度に対してプロットし、その屈曲点をcmcとした。ミセルの大きさ（流体力学的半径）は、大塚電子製SLS-7000に光子相関計GC-1000を組み合わせたシステムにより決定した。蛍光強度測定は、日立製F-2500により測定した。照射するUV光には、三永電機社製コンパクトUV光源UV-203Fを用いた。Hg-Xeランプからの波長360nm、強度30mW/cm²のUV光を試料に照射した。

3. 結果と考察

図7は、用いた3試料水溶液の表面張力と I_s/I_0 の濃度依存性である。表面張力は、いずれの試料も高分子濃度に依存しておらず、純水の値、すなわち、73 mN/m附近でほぼ一定である。その一方、静的光散乱強度には、明らかな屈曲点があり、cmcが存在すること、すなわち、ある濃度以上でミセルが形成されていることがわかる。よって、「表面張力が低下せずミセルを形成する」という界面不活性高分子の特性を、今回のいずれの高分子も有することが確認された。弱酸およびカチオン性高分子の場合、高濃度でやや表面張力が低下する傾向が認められる。これは、界面不活性性があまり高くはない高分子に見られる特徴である。

図8には、DLS測定により得られたミセルの流体力学的半径 R_h の添加塩濃度依存性を示す。 R_h はある一定の塩濃度(図では、 10^{-4} M程度)まで R_h は変化していない。これは、ミセル表面を覆うイオン性高分子のコロナ(一種の高分子

ブラシ)の中のイオン濃度が極めて高いために、添加された塩イオンがコロナ内に浸入できず、ミセル構造が添加塩の影響を受けない領域である。同様の傾向は、水面のイオン性高分子ブラシに対しても観察されている⁴⁾。その後、 R_h は減少しているが、これは塩イオンがコロナに浸入し、コロナを形成するイオン性高分子鎖が静電反発により伸張した状態から、それが遮蔽され、収縮していつていることを示している。その後 R_h は一定となっているが、これは完全にイオン鎖が収縮しきった状態と考えられる。

図9と図10は、用いた3種の高分子のcmcに対する添加塩効果のイオン種依存性である。図9は、塩のカチオンを Li^+ , Na^+ , K^+ と変えた場合、図10は、アニオンを、 F^- , Cl^- , Br^- と変えた場合を示している。図9では、親水鎖がカチオンの高分子は、塩のカチオン種を変えて、影響を受けていないが、アニオン性の高分子は、強酸、弱酸、いずれもイオン種によりcmc増大の程度が異なっていることがわかる。塩のカチオンは、アニオン性親水鎖のカウン

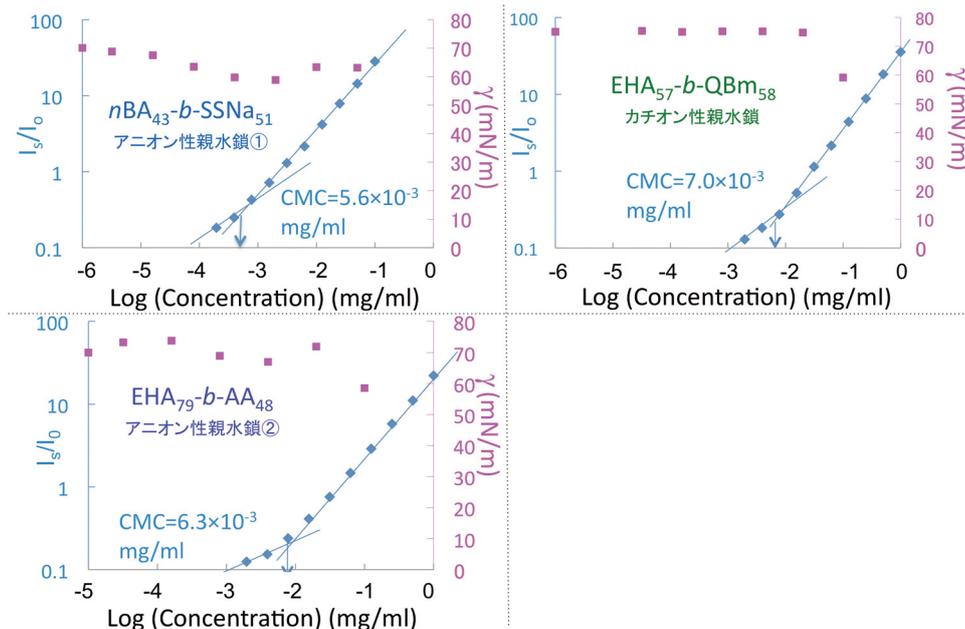


図7 用いた3種のポリマー水溶液の表面張力(赤)と静的光散乱強度(青)の濃度依存性

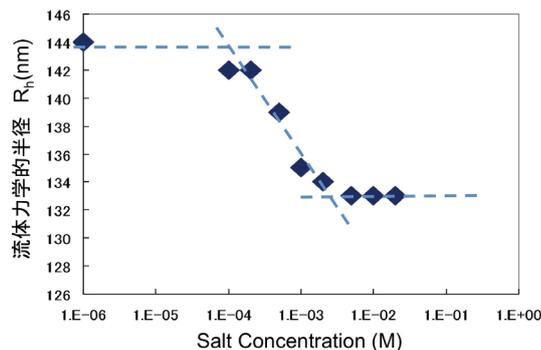


図8 界面不活性高分子ミセルの流体力学的半径(R_h)の塩濃度依存性。サンプルは、PnBA-*b*-PSSNa

ターイオンとなり、ペアを組むため、イオン種依存性が表れるものと考えられる。さらに、効果の程度は、 Li^+ がもっともcmcを増大させる効果が強く、次に Na^+ 、 K^+ の順となっている。この順番は、古典的なHofmeister順列⁵⁾と一致していることが興味深い。 Li^+ は非常に強い水の構造形成イオン、 Na^+ は、やや弱い構造形成イオン、 K^+ は、構造破壊イオンである。この事実は、cmcの変化が、溶媒である水の構造性と何らかの相関を有することを示している可能性がある。今後の課題として興味深い。アニオン種を

変えた図10では、逆にカチオン性親水鎖のポリマーにイオン種依存性が見られ、そのイオン種の順番は、やはりHofmeister順列に従っている。しかしながら、近年になって、Hofmeister順列の起源に異説が唱えられるようになり、必ずしも水の構造性を反映するものではないとの考えが提示されている⁶⁾。このような可能性も念頭に、今後の検討課題としたい。

次に、蛍光色素であるピレンをミセル内部に取り込ませ、塩の添加によりミセルが崩壊し、ピレンが放出される

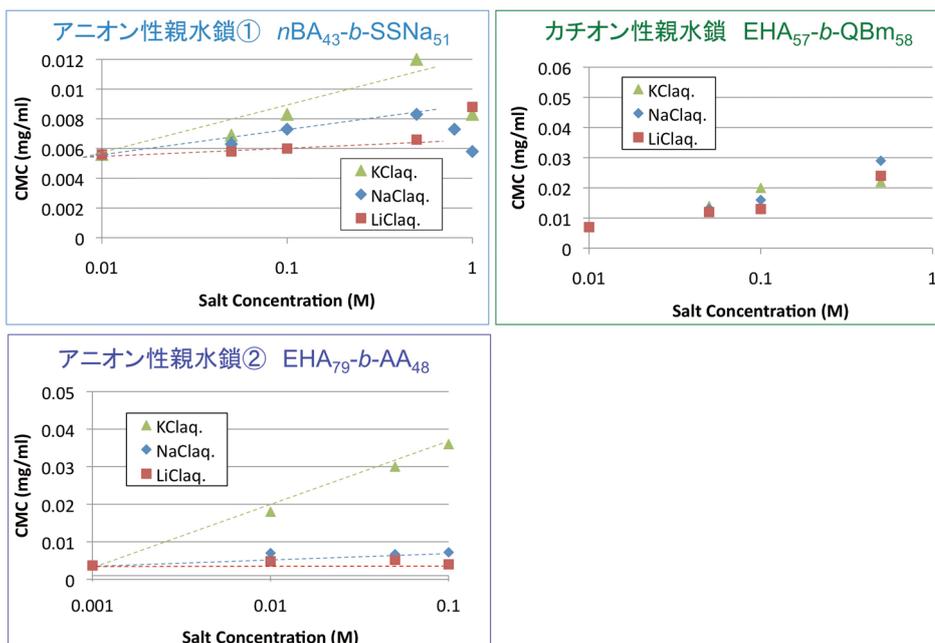


図9 3種のポリマーのcmcに対する添加塩の効果とそのカチオン種依存性

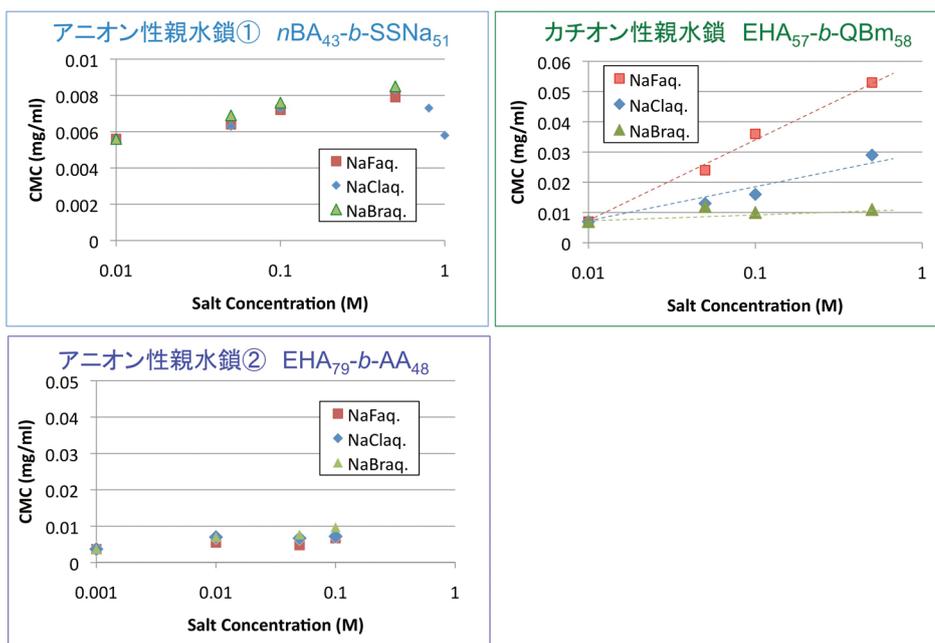


図10 3種のポリマーのcmcに対する添加塩の効果とそのアニオン種依存性

様子を蛍光分光測定により追跡した。強酸性の高分子を試料として用いた。ピレンの蛍光発光の第一ピーク I_1 と第3ピーク I_3 の比, I_1/I_3 は, ピレンが存在する環境の極性を反映することが知られている^{7,8)}。図11は, I_1/I_3 の添加塩濃度依存性である。図中の右上がりの点線は, cmcの塩濃度依存の線である。このように, cmcを跨ぐ前後で, I_1/I_3 が1.50程度から, 1.55程度にジャンプする傾向が確認された。 I_1/I_3 は, 環境の疎水性が高いほど, 小さな値となる。よって, $I_1/I_3 = 1.50$ は, ピレン分子がミセルのコア内に存在することを示し, 1.55とジャンプしたところは, ミセルの崩壊によりピレン分子がミセルコアから放出されたことを示していると考えられる。変化があまり劇的ではないが, これには二つの理由が考えられる。一つは, cmc直前, 直後の状況となっているため, 形成されるミセルもまだ「しっかりした」ミセルではなく, そのコアも緩い状態で, その疎水性もまだ十分高くない状態である可能性がある。二

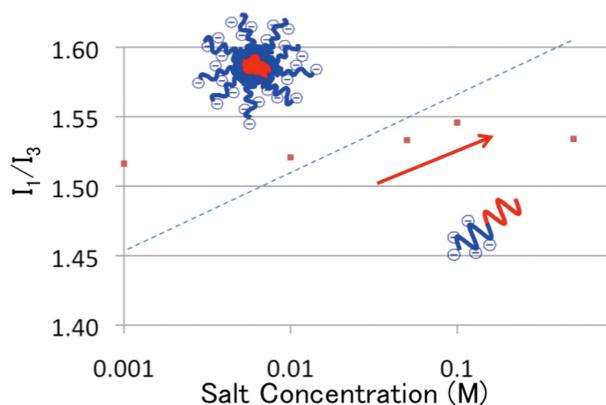


図11 ピレンからの蛍光発光強度の塩濃度依存性と cmc との関係

つ目は, このミセルが高分子であるため, ミセルの形成／崩壊の転移がシャープではないことの影響である。活性剤濃度を変化させての形成／崩壊現象も, 低分子界面活性剤に比べ, 高分子の場合は, そのシャープさがかなり劣っていることが知られている。

次に, 光照射による制御を試みた⁹⁾。用いた高分子は, 図12に示すカルボキシベタインを親水鎖, ポリメタクリル酸のニトロベンゼンエステルを疎水鎖とするものである。このエステル結合は, UV照射により容易に切断され, 高分子鎖は, 親水性のポリメタクリル酸へと転移し, アルデヒドが放出される。

pH7におけるこのミセルの R_h は, 25 nm, 色素(ナイルレッド)を取り込ませたミセルの R_h は, 32 nmとなり, 十分な量を取り込まれていることが確認できた。これにUVを照射し, 吸光度を測定した結果が, 図13である。照射前は,

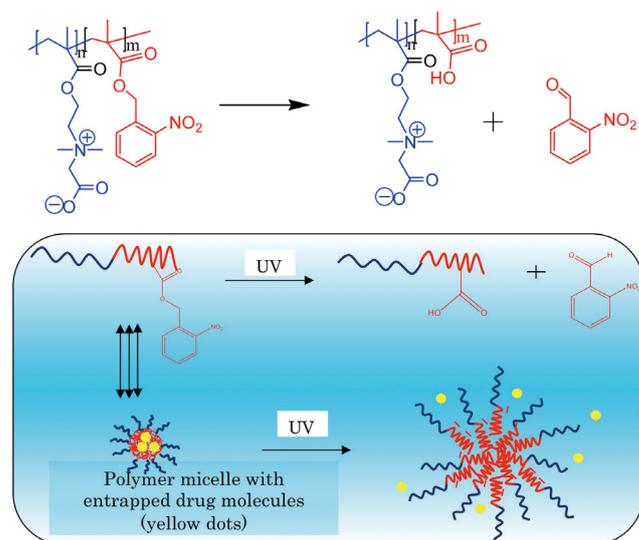


図12 光照射によるミセル崩壊転移に用いたポリマーの分子構造とその反応様式, およびミセル崩壊制御

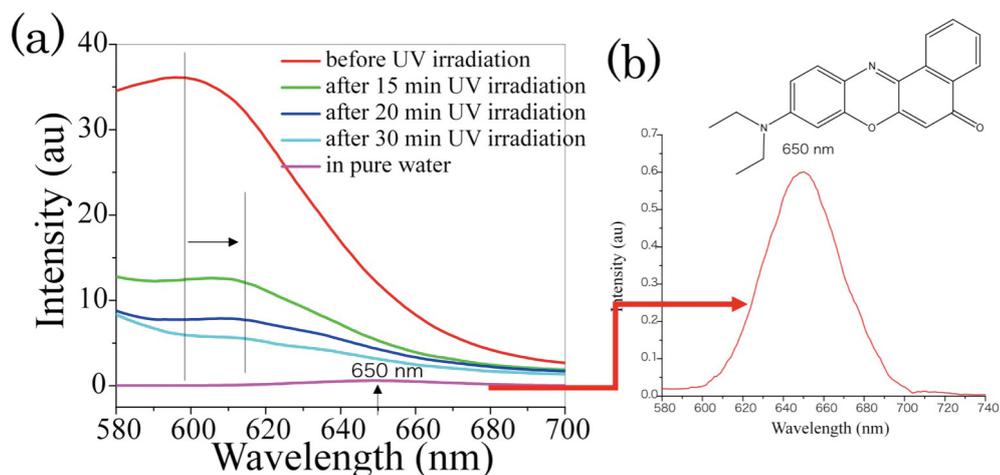


図13 ナイルレッドの発光スペクトル
ポリマー濃度: 0.2 mg/ml, (a) pH7の緩衝液中 (b) 水中(励起波長: 550 nm)

十分強い吸収があり、疎水性で水に不溶なナイルレッドが、ミセルコア内に取り込まれることにより、水中に存在していることが分かる。これにUVを照射すると、照射時間を長くするほど、吸光度は減少し、またピーク位置もレッドシフトし、純水中でのプロファイルに近づいているが、完全に消失はしなかった。これは、UV照射による反応の効率が、70%程度とやや低く、ミセルが完全には崩壊していない可能性が考えられる。実際、DLSによりUV照射後の R_h を測定すると、40 nmと大きな値となった。しかしながら、その時の散乱強度は非常に弱くなっており、この大きな R_h は、大きなミセルが形成されたことを意味するのでは無く、UV照射により疎水鎖の70%が親水鎖に転移したため、疎水性のコアが溶媒である水で膨潤したためと考えられる。今後、反応効率の改善により、完全な崩壊・放出系が構築できると期待される。

4. 総括

添加塩濃度の増加に伴いcmcが増加するという、「界面不活性高分子」が持つ特長を活かして、「塩を添加することにより、薬物が放出される」というdrag deliveryに応用可能な高分子ミセル系の構築に成功した。また、triggerとして光を用いる系についても、検討を行った。添加塩による系は、発汗による香料の放出など、コスメ系材料への応用も期待でき、新しい機能材料開発の可能性が示された。

(引用文献)

- 1) Matsuoka, H.; Chen, H.; Matsumoto, K. "Molecular weight dependence of non-surface activity for ionic amphiphilic diblock copolymers". *Soft Matter*, 8, 9140 – 9146, 2012.
- 2) 松岡秀樹, 「イオン性両親媒性ジブロックコポリマーの「界面不活性」性は何故発現するか?」, *Colloid & Interface Communication* (日本化学会・コロイドおよび界面化学部会ニュースレター), 38 (3), 30 – 33, 2013.
- 3) Kaewsaiha, P.; Matsumoto, K.; Matsuoka, H. "Non-surface activity and micellization of ionic amphiphilic diblock copolymers in water. Hydrophobic chain length dependence and salt effect on surface activity and the critical micelle concentration". *Langmuir*, 21, 9938 – 9945, 2005.
- 4) Kaewsaiha, P.; Matsumoto, K.; Matsuoka, H. "Salt Effect on the Nanostructure of Strong Polyelectrolyte Brushes in Amphiphilic Diblock Copolymer Monolayers on the Water Surface". *Langmuir*, 23 (13), 7065 – 7071, 2007.
- 5) Kunz, W.; Henle, J.; Ninham, B. W. 'Zur Lehre von der Wirkung der Salze' (about the science of the effect of salts): Franz Hofmeister's historical papers. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, 9, 19 – 37, 2004.
- 6) Zhang, Y.; Cremer, P.S., "Interactions between macromolecules and ions: the Hofmeister series", *Curr. Opinion in Chem. Biol.*, 10, 658-668 (2006)
- 7) Kalyanasundaram, K., Thomas, J. K., "Environmental Effects on Vibronic Band Intensities in Pyrene Monomer Fluorescence and Their Application in Studies of Micellar Systems", *J. Amer. Chem. Soc.*, 99(7), 2039-2044, 1977.
- 8) Ananthapadmanabhan, K.P., Goddard, E. D., Turro, N. J., Kuot, P. L., "Fluorescence Probes for Critical Micelle Concentration" *Langmuir*, 1, 352-355, 1985.
- 9) Shrivastava, S., Matsuoka, H., "Photocleavable amphiphilic diblock copolymer micelles bearing a nitrobenzene block", *Coll. Polym. Sci.*, 294, 879-887, 2016.