

学位論文

様々な界面で安定化したカプセルの調製

平成 29 年 3 月

中井啓太

目次

第 1 章	序論	4
1.1	研究背景	
1.2	目的と構成	
第 2 章	ホスホリルコリンシエルを有するポリイオンコンプレックスミセルの調製と特性評価	12
2.1	緒言	
2.2	実験	
2.3	結果と考察	
2.4	結論	
第 3 章	反対電荷を持つジブロックコポリマーにより形成される脂質シエルを有するポリイオンコンプレックスベシクル (PICsome)	34
3.1	緒言	
3.2	実験	
3.3	結果と考察	
3.4	結論	
第 4 章	カチオン性界面活性剤とアニオン性ジブロックコポリマーの混合で形成されるホスホリルコリン基で覆われたコンプレックスの調製	59
4.1	緒言	
4.2	実験	
4.3	結果と考察	
4.4	結論	

第 5 章	外部刺激で親-疎水性を制御できる疎水性粉末を用いたリキッドマーズの作製 84
5.1	緒言
5.2	紫外光応答性リキッドマーズ
5.3	近赤外光応答性リキッドマーズ
5.4	温度応答性リキッドマーズ
5.5	結論
第 6 章	総括 103
	謝辞 104
	研究業績 105

第1章 序論

1.1 研究背景

1.1.1 高分子電解質

高分子電解質は、高分子鎖に多数の解離基を持つ高分子の総称で、一般的に水溶性を示し水中で高分子イオンと低分子の対イオンに解離する。これらの高分子イオンは解離基の解離で強い電場を生じるため、周囲に対イオンが凝集する[1, 2]。高分子電解質としてポリアクリル酸ナトリウム (PAA) やポリスチレンスルホン酸ナトリウム (PSS) などがある (Figure 1.1)。側鎖に強電解質のスルホネート基を有する PSS は水中で、高分子イオンのスルホネートイオンと対イオンのナトリウムイオンに完全に解離するが、側鎖に弱電解質のカルボキシレート基を持つ PAA は部分的な解離にとどまる。これらの高分子電解質は主に、有機溶媒より経済的で不燃性、無毒性の水中で簡便に取り扱えるため問題が少ない。

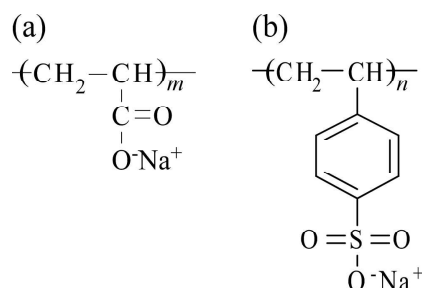


Figure 1.1. Chemical structures for (a) PAA and (b) PSS.

1.1.2 ポリイオンコンプレックス

一般的に、反対電荷を持つ高分子電解質同士を水中で混合すると、それぞれの高分子鎖内のカチオンとアニオンが静電相互作用で凝集し、水に不溶なポリイオンコンプレックス (PIC) を自発的に形成して沈殿する (Figure 1.2a) [3, 4]。しかし、反対電荷を持つ高分子電解質の少なくとも一方に非電荷で親水性のポリエチレングリコール (PEG) などのポリマーをブロック共重合すると、水中での混合で PIC の周囲を親水性の PEG シェルが覆うことでコロイド安定化した PIC ミセルを形成する (Figure 1.2b)。この PIC ミセルは 1995 年に Kavanov 等[5]や片岡等[6]により報告されてから、現在に至るまで数多く報告されてきた。PIC ミセルは、反対電荷を持つブロック共重合体を水中で混合するのみで簡便に調製でき、PIC コアに電荷を持つ薬剤[7]やタンパク質[8]、DNA[9]などを取り込めるため、これらを体内の腫瘍組織に運搬するためのドラッグデリバリーシステム (DDS) のキャリアとして注目されている。

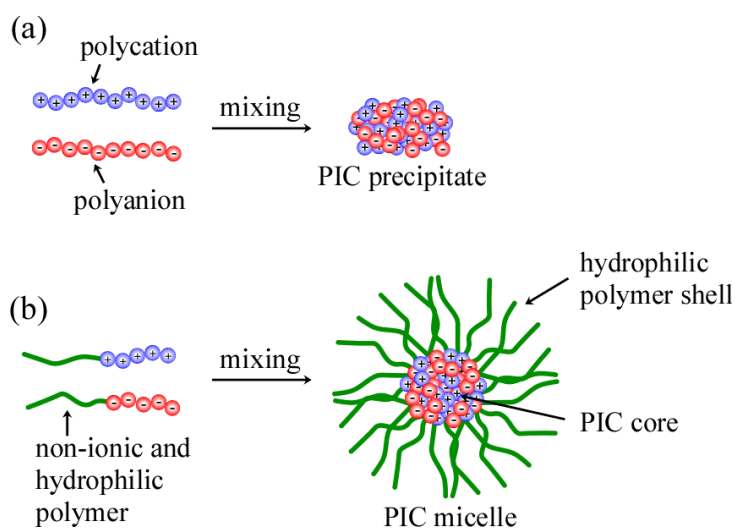


Figure 1.2. Conceptual illustrations of aggregation behavior of (a) oppositely charged homopolymers and (b) oppositely charged diblock copolymers containing non-ionic hydrophilic polymer in water.

1.1.3 両親媒性ジブロック共重合体の会合挙動

疎水性および親水性ブロックからなる両親媒性ジブロック共重合体の水中での自己会合挙動は、疎水性ブロックと親水性ブロックの鎖長の比に依存して変化することが知られている。これは、両親媒性ジブロック共重合体中の疎水性ブロックと親水性ブロックが占める体積比に依存して変化し、疎水性ブロックの体積が親水性ブロックに比べて小さいときはブロック共重合体の曲率が高くなるためミセルなどの球状の会合体が形成される。一方、疎水性部が占める体積の増加に伴って、曲率が小さくなるため棒状、ベシクルに形態変化する[10, 11]。この会合挙動は、無次元数のパッキングパラメーター (P) で議論され、会合体の形態について重要な指針を示す (Figure 1.3) [12, 13]。

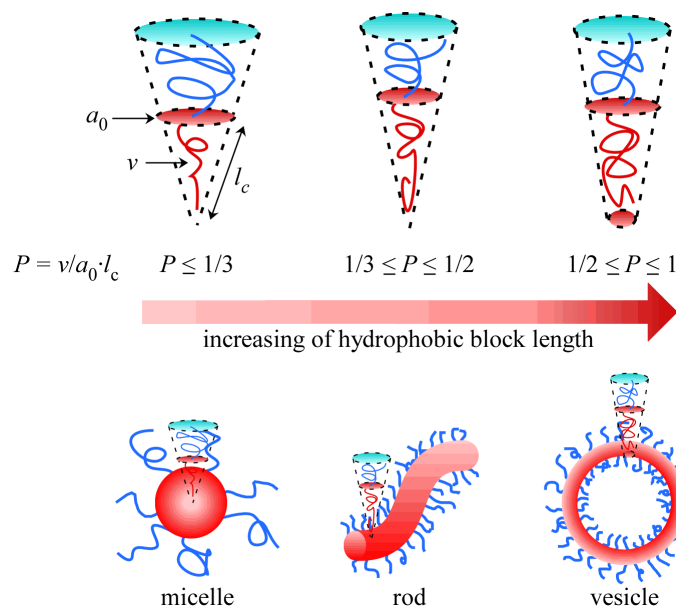


Figure 1.3. Schematic diagram showing the effect of hydrophobic block length on the formation of self-assembled morphologies of amphiphilic diblock copolymer in water. Equation in the figure ($P = v/a_0 l_c$), where P is the packing parameter, v is the volume of the hydrophobic segment, a_0 is the contact area of hydrophilic chains, and l_c is the length of the hydrophobic segment.

1.1.4 リキッドマーブル

気-液界面で疎水性粒子が液滴に吸着して安定化したリキッドマーブルは、化粧品や医薬品、塗料などに応用できるため注目が集まっている[14-17]。これまでにシリカなどの無機粒子[18-21]やグラファイト[22]、合成高分子粒子[23-26]などがリキッドマーブルを安定化する疎水性粒子に利用できることが報告された。この疎水性粒子で覆われたリキッドマーブルは、水の表面やガラス上に置くことができる (Figure 1.4)。近年、気-液界面で安定化できるリキッドマーブルは液滴の操作や運搬、保存などといった新たな手法としても注目されている[27-29]。これらのリキッドマーブルを作製するための疎水性粉末に外部刺激で濡れ性を親水化できる粒子を用いることで、外部刺激に応じて崩壊する刺激応答性リキッドマーブルを作製できる [30, 31]。

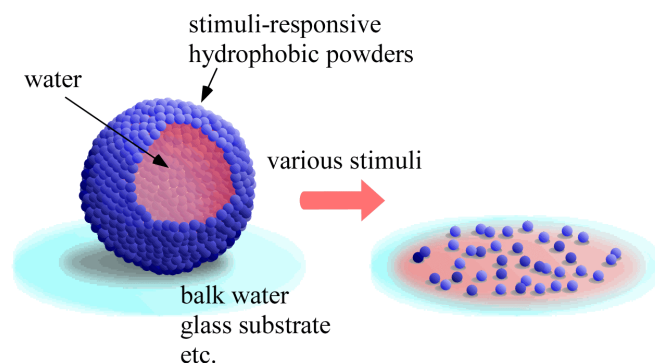


Figure 1.4. Conceptual illustration of disintegration of stimuli-responsive liquid marble formed with water droplet and various stimuli-responsive hydrophobic powders onto bulk water or glass substrate.

1.1.5 光応答

光は波長や照射時間、強度などの幅広いパラメーターを調節できる。光応答性分子として、光でシス-トランス異性化するアズベンゼンや[32, 33]、光照射で可逆的に環が開閉するスピロピラン (SP) [34-36]、光でイオン化して電解質となるマラカイトグリーン[37]などが知られている。中でも光でイオン化する分子は元の状態に比べて親水的となるので、水への親和性が上がる。光応答性の SP は、紫外光照射で化学構造が開環してイオン化したメロシアニン (MC) 型となり、可視光照射で閉環し、脱イオン化した SP 型となる (Figure 1.5) [38]。したがって疎水性の SP 粉末でリキッドマーブルを作製すると、紫外光照射で SP がイオン化して親水性の MC に構造変化するため崩壊する。

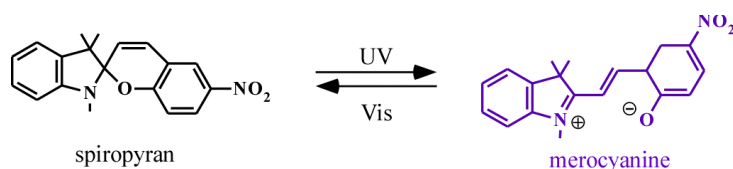


Figure 1.5. Photochromic behavior of spiropyran.

1.1.6 温度応答

光以外の外部刺激として、pH[39]やイオン強度[40]、温度[41]などに応じて水への溶解性が変化するポリマーが数多く存在する。中でも、温度に応じて親-疎水性を切り替え可能なポリ (N-イソプロピルアクリルアミド) (PNIPAM) は、生体温度に近い約 32 度に下限臨界溶液温度 (LCST) と呼ばれる相転移温度を持つため、スマートマテリアル開発において非常に有用なポリマーとして広く研究されている[42, 43]。PNIPAM は LCST 以下の温度で水分子と側鎖のアミド結合が水素結合して水に溶解するが、LCST 以上の温度で水素結合が切断され PNIPAM が分子内、分子間で相互作用し水に不溶となる (Figure 1.6) [44]。また PNIPAM の LCST は親水性ポリマーや疎水性ポリマーと共

重合することで調節可能である[45, 46]。これらの利点から DDS[47]や細胞シート[48]などの医学分野での応用が期待されている。また LCST 型の温度応答性を示す PNIPAM 粉末は LCST 以上の温度で粉末表面が疎水性となるのでリキッドマーブルが作製できる[49]。PNIPAM 粉末で覆われたリキッドマーブルは LCST 以上の温度のバルク水表面上に浮かび、バルク水を LCST 以下に冷却すると崩壊する。したがって温度で相転移する疎水性粉末は、リキッドマーブルを安定化するために利用できる。

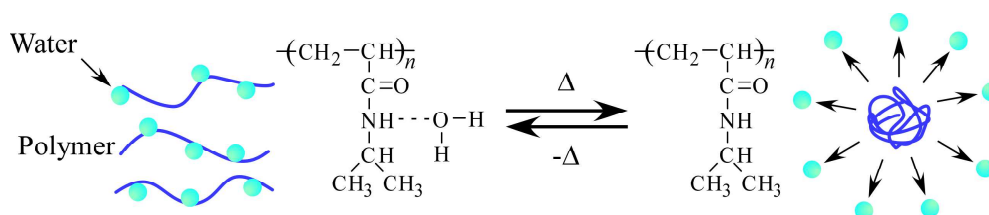


Figure 1.6. Thermo-responsive behavior of PNIPAM in water.

1.2 目的と構成

1.2.1 目的

本論文ではナノからミリスケールの液-液、気-液界面で安定化するカプセルの調製を目的とした。

液-液界面において、非電荷で親水性ブロックとカチオンもしくはアニオン性の高分子電解質ブロックからなるジブロック共重合体を水中で混合することで、静電相互作用によりポリオンコンプレックス (PIC) 会合体を形成する。そこで親水性ブロックに双性イオンを有するベタイン構造の生体適合性高分子を用いて、このブロックをシェルに持つ PIC ミセルやベシクルが調製可能か調査した。また PIC を安定化するシェルを形成するブロックと、コアを形成する高分子電解質ブロックの鎖長によって PIC 会合体の会合挙動が制御できるか調べた。さらにカチオン性高分子電解質に替わりカチオン性の低分子界面活性剤を用いて、静電相互作用で形成される会合挙動をミセルとベシクルに制御可能か確かめた。

気-液界面では、疎水性粉末が液滴表面に吸着することで安定化するリキッドマーブルに着目した。リキッドマーブルを安定化する疎水性粉末表面の濡れ性を、外部刺激によって親水化することで崩壊に導くことができるが、これらの刺激応答性を持つ疎水性粉末の調製は複雑である。そこで刺激応答性リキッドマーブルを作製するための疎水性粉末を簡便に調製し、様々な刺激に応じたリキッドマーブルの崩壊挙動を調査した。

これらの様々な界面で安定化するカプセルの調製法や安定性の評価、またこれらの崩壊挙動について調査し、これらのカプセルの応用について論じた。

1.2.2 構成

本論文は5章で構成されており、それぞれの章で様々な界面で安定化したカプセルの調製方法や安定性、崩壊挙動などを調査した。

第1章の序論では、本論の研究背景、従来研究、目的、全体の構成を述べている。

第2章では、生体適合性で双性イオンを有するポリ((2-メタクリロイルオキシ)エチルホスホリルコリン)(PMPC)ブロックとカチオン性のポリ(((3-メタクリルアミノ)プロピル)トリメチルアンモニウムクロライド)(PMAPTAC)およびアニオン性のポリ(2-(アクリルアミド)-2-メチルプロパンスルホン酸ナトリウム)(PAMPS)からなる反対電荷を持つジブロック共重合体を可逆的付加-開裂連鎖移動(RAFT)制御ラジカル重合で合成し、両者を水中でイオン性ブロックの電荷を中和するように混合することで静電相互作用によりPMPCシェルとポリイオンコンプレックス(PIC)コアからなるコア-シェル型のPICミセルを形成することを示した。

第3章では、PMPCブロックとイオン性ブロックの鎖長の制御によるPIC会合体の形状の切り替えを検討した。PMPCブロックとイオン性ブロックの重合度がそれぞれ約100量体ではミセルを形成した。一方PMPCブロックとイオン性ブロックの重合度が、それぞれ約20、200量体となるようにRAFT重合した反対電荷を持つジブロック共重合体を水中で混合すると、中空構造のPICベシクル(PICsome)を形成した。またPICsome内水相へ親水性ゲスト分子の取り込めることを提示した。

第4章では、PMPCブロックとPMAPTACからなるカチオン性ジブロック共重合体に替わり、カチオン性低分子界面活性剤のセチルトリメチルアンモニウムブロマイド(CTAB)を用いて、PMPCブロックとPAMPSブロックからなるアニオン性ジブロック共重合体との静電相互作用で、水中で安定分散可能なコンプレックスの形成を調査した。またPMPCブロックとPAMPSブロックの鎖長に応じて、コンプレックスの形態をミセルとベシクルに調製できることを示した。

第5章では、紫外(UV)、近赤外(NIR)光および温度に応答して表面の濡れ性を切り替え可能な刺激応答性疎水性粒子を用いて、気-液界面で水滴が安定化したリキッドマーブルを作製した。これらの刺激応答性疎水性粉末で覆われたリキッドマーブルはそれぞれの刺激に応じて崩壊した。またこれらのリキッドマーブルは外部刺激をトリガーとする化学反応場となることを提示した。

第6章は、第2章から第5章までに得られた結果について総括を行った。

参考文献

- [1] F. Oosawa, "Polyelectrolytes," M. Dekker, (1971)
- [2] G. S. Manning, *J. Chem. Phys.*, **51** (1969) 924-933
- [3] A. S. Michaels, R. G. Miekka, *J. Phys. Chem.*, **65** (1961) 1765-1773
- [4] A. Kudlay, M. O. de la Cruz, *J. Chem. Phys.*, **120** (2004) 404-412
- [5] A. V. Kabanov, S. V. Vinogradov, Y. G. Suzdaltseva, V. Y. Alakhov, *Bioconjugate Chem.*, **6** (1995) 639-643
- [6] A. Harada, K. Kataoka, *Macromolecules*, **23** (1996) 5294-5299
- [7] F. Wang, X. Li, Y. Zhou, Y. Zhang, X. Chen, J. Yang, Y. Huang, Y. Liu, *Mol. Pharmaceutics*, **7** (2010) 718-726
- [8] J. Ren, Y. Zhang, J. Zhang, H. Gao, G. Liu, R. Ma, Y. An, D. Kong, L. Shi, *Biomacromolecules*, **14** (2013) 3434-3443
- [9] K. Kataoka, H. Togawa, A. Harada, K. Yasugi, T. Matsumoto, S. Katayose, *Macromolecules*, **29** (1996) 8556-8557
- [10] A. Walther, A. S. Goldmann, R. S. Yelamanchili, M. Drechsler, H. Schmalz, A. Eisenberg, A. H. E. Müller, *Macromolecules*, **41** (2008) 3254-3260
- [11] J. Huang, C. Bonduelle, J. Thévenot, S. Lecommandoux, A. Heise, *J. Am. Chem. Soc.*, **134** (2012) 119-122
- [12] Y. Mai, A. Eisenberg, *Chem. Soc. Rev.*, **41** (2012) 5969-5985
- [13] A. Blanazs, S. P. Armes, A. J. Ryan, *Macromol. Rapid Commun.*, **30** (2009) 267-277
- [14] P. Aussillous, D. Quere, *Proc. R. Soc. London, Ser. A*, **426** (2006) 973-999
- [15] S. Fujii, R. Murakami, *KONA*, **26** (2008) 153-166
- [16] B. P. Binks, R. Murakami, *Nat. Mater.*, **5** (2006) 865-869
- [17] L. Mahadevan, Y. Pomeau, *Phys. Fluids*, **11** (1999) 2449-2454
- [18] P. Aussillous, D. Quéré, *Nature*, **411** (2001) 924-927
- [19] A. V. Rao, M. M. Kulkarni, S. D. Bhagat, *J. Colloid Interface Sci.*, **285** (2005) 413-418
- [20] W. Wang, C. L. Bray, D. J. Adams, A. I. Cooper, *J. Am. Chem. Soc.*, **130** (2008) 11608-11609
- [21] P. S. Bhosale, M. V. Panchagnula, H. A. Stretz, *Appl. Phys. Lett.*, **93** (2008) 034109-1-3
- [22] M. Dandan, H. Y. Erbil, *Langmuir*, **25** (2009) 8362-8367
- [23] E. Bormashenko, R. Pogreb, Y. Bormashenko, A. Musin, T. Stein, *Langmuir*, **24** (2008) 12119-12122
- [24] E. Bormashenko, R. Pogreb, G. Whyman, A. Musin, Y. Bormashenko, *Langmuir*, **25** (2009) 1893-1896
- [25] L. Gao, T. J. McCarthy, *Langmuir*, **23** (2007) 10445-10447
- [26] D. Matsukuma, H. Watanabe, H. Yamaguchi, A. Takahara, *Langmuir*, **27** (2011)

1269-1274

- [27] M. D. Doganci, B. U. Sesli, H. Y. Erbil, B. P. Binks, I. E. Salama, *Colloids Surf., A*, **384** (2011) 417-426
- [28] E. Bormashenko, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, **16** (2011) 266-271
- [29] G. McHale, M. I. Newton, *Soft Matter*, **11** (2015) 2530-2546
- [30] D. Dubin, S. P. Armes, S. Fujii, *J. Am. Chem. Soc.*, **131** (2009) 5386-5387
- [31] T. T. Y. Tan, A. Ahsan, M. R. Reithofer, S. W. Tay, S. Y. Tan, T. S. A. Hor, J. M. Chin, B. K. J. Chew, X. Wang, *Langmuir*, **30** (2014) 3448-3454
- [32] M. Irie, D. Kunwatchakun, *Macromolecules*, **19** (1986) 2476-2480
- [33] G. Moller, M. Harke, H. Motschmann, D. Prescher, *Langmuir*, **14** (1998) 4955-4957
- [34] A. A. Garcia, S. Cherian, J. Park, D. Gust, F. Jahnke, R. Rosario, *J. Phys. Chem. A*, **104** (2000) 6103-6107
- [35] S. Hayashida, H. Sato, S. Sugawara, *Polym. J.*, **18** (1986) 227-235
- [36] R. Rosario, D. Gust, M. Hayes, F. Jahnke, J. Springer, A. A. Garcia, *Langmuir*, **18** (2002) 8062-8069
- [37] K. Sumaru, M. Kameda, T. Kanamori, T. Shinbo, *Macromolecules*, **37** (2004) 4949-4955
- [38] O. Pieroni, A. Fissi, N. Angelini, F. Lenci, *Acc. Chem. Res.*, **34** (2001) 9-17
- [39] A. Blanazs, R. Verber, O. O. Mykhaylyk, A. J. Ryan, J. Z. Heath, *J. Am. Chem. Soc.*, **134** (2012) 9741-9748
- [40] J. P. Magnusson, A. Khan, G. Pasparakis, A. O. Saeed, W. Wang, C. Alexander, *J. Am. Chem. Soc.*, **130** (2008) 10852-10853
- [41] G. Wang, X. Tong, Y. Zhao, *Macromolecules*, **37** (2004) 8911-8917
- [42] D. Schmaljohann, *Adv. Drug Delivery Rev.*, **58** (2006) 1655-1670
- [43] N. Matsuzaka, M. Nakayama, H. Takahashi, M. Yamato, A. Kikuchi, T. Okano, *Biomacromolecules*, **14** (2013) 3164-3171
- [44] M. Hirose, O. H. Kwon, M. Yamato, A. Kikuchi, T. Okano, *Biomacromolecules*, **1** (2008) 377-381
- [45] I. C. Barker, J. M. G. Cowie, T. N. Huckerby, D. A. Shaw, I. Soutar, L. Swanson, *Macromolecules*, **36** (2003) 7765-7770
- [46] A. Hashidzume, A. Matsumoto, T. Mori, T. Shikata, T. Sato, *Langmuir*, **28** (2012) 5522-5526
- [47] X. Wan, T. Liu, S. Liu, *Biomacromolecules*, **12** (2011) 1146-1154
- [48] Y. Xia, X. He, M. Cao, C. Chen, H. Xu, F. Pan, J. R. Lu, *Biomacromolecules*, **14** (2013) 3615-3625
- [49] S. Yusa, M. Morihara, K. Nakai, S. Fujii, Y. Nakamura, A. Maruyama, N. Shimada, *Polym. J.*, **46** (2014) 145-148

第2章 ホスホリルコリンシェルを有するポリイオンコンプレックスミセルの調製と特性評価

2.1 緒言

両親媒性ジブロック共重合体の水中での自己会合体は、球状やひも状、棒状、円環状、ベシクル状のポリマーベースのナノ構造体を調製できることが知られている[1-3]。またブロック共重合体の自己会合体は疎水性、水素結合、ファンデルワールス力、静電相互作用などの非共有結合性の相互作用により引き起こされる。特に、水中で両親媒性ジブロック共重合体から形成される球状のコア-シェル型のポリマーミセルは、分離[4]や運搬システム[5]を含む多くの応用の可能性から広く研究されている。

反対電荷を持つポリアニオンとポリカチオンの水中での混合でポリイオンコンプレックス (PICs) が自発的に形成する[6]。PICs は電荷の組成が相互に中和しているため静電的に中和している。したがって、PICs はコロイド的な安定性を失い溶液中で沈殿する[7]。PICs の沈殿は、親水性で非電荷性ブロックのポリ(エチレングリコール) (PEG) が高分子電解質の少なくとも一つに付属されていると防止することができる[8-10]。PEG 鎖を含む反対電荷をもつ高分子電解質からなる凝集体は PIC コアと非電荷性ブロックで構築される親水性シェルを備えた単分散でコア-シェル構造の PIC ミセルとなる。片岡や原田は反対電荷を持つポリ(アミノ酸) ペアと PEG からなるブロック共重合体で調製された PIC ミセルを報告した[11-13]。PEG-ブロック-ポリ(L-リシン) と PEG-ブロック-ポリ(α,β -アスパラギン酸) の混合により PIC ミセルを形成した。

PIC ミセルは金属イオン[14]や酵素[15]、RNA[16]、DNA[17]などを含む様々な用途に応用できる有望な候補である。特に、PIC ミセルは、サイズや特徴的なコア-シェル構造から人遺伝子治療のためのオリゴヌクレオチドやプラスミド DNA のキャリアーとして役立つ可能性がある[18]。多くの PIC ミセルは親水性でノニオン性の PEG シェルを有している。一方、報告は少ないが PEG 鎖以外のシェルを持つ PIC ミセルが報告されている。Liu 等[19]は温度応答性のポリ(N-イソプロピルアクリルアミド) をグラフトした PIC ミセルの作製と特性評価について報告した。さらに、親水性でノニオン性ブロックのポリ(N,N-ジメチルアクリルアミド) [20]やポリ(エチレンオキシド) メチルエチルメタクリレート[21]、ポリアクリルアミド[22]なども PIC シェルとして用いられた。Cohen-Stuart 等はシェルに交じり合わない水溶性で中性ポリマーのポリアクリルアミドとポリエチレンオキシドを用いて、ヤヌス型 PIC ミセルの作製を報告した[23]。

2-(メタクリロイルオキシ)エチルホスホリルコリン (MPC) モノマーのホスホリルコリン基は細胞膜の構成成分である[24, 25]。水溶性の MPC はその他のビニル化合物と重合でき、適切なコモノマーの選択によりポリマーの特性や機能を制御できる。MPC ユニットを持つポリマーは非常に高い生体適合性と抗血栓性を示す。MPC ポリマー (PMPC) はホスホリルコリン基が静電荷と負電荷の両方を結合したポリアンフォライ

トである。PIC シェルがポリアンフォライトで構成される PIC ミセルの報告は無い。生体適合性の PMPC シェルに覆われた PIC ミセルは遺伝子や薬物を運搬するシステムのための有用な候補となりえる。したがって、我々は PIC ミセルの形成において、ポリアンフォライトの PMPC シェルが与える影響について調査した。

ミセルの安定性とミセル化挙動はポリマーの濃度や化学構造などの様々な要因に依存する。PIC ミセルは両親媒性ブロックコポリマーで構成される一般的なミセルと同様に臨界会合濃度[26]を持つため、PIC ミセルはブロックコポリマーがミセルとバルクの水相間で交換され平衡状態で存在する。さらに、電荷をもつブロック間での静電相互作用が塩の添加によって遮蔽されるため塩濃度は PIC ミセルの安定性に影響を及ぼす重要なパラメーターである。

本研究では、我々はポリアンフォライトの PMPC ブロックと電荷をもつブロックからなる反対電荷をもつジブロックコポリマーのポリ (2- (メタクリロイルオキシ) エチルホスホリルコリン) -ブロック-ポリ ((3-メタクリルアミノ) プロピル) トリメチルアンモニウムクロライド) (PMPC₁₀₀-*b*-PMAPTAC_{*m*}) とポリ (2- (メタクリロイルオキシ) エチルホスホリルコリン) -ブロック-ポリ (2- (アクリルアミド) -2-メチルプロパンスルホン酸ナトリウム) (PMPC₁₀₀-*b*-PAMPS_{*n*}) を数平均重合度 (DP) が 100 の PMPC ベースのマクロ連鎖移動材 (CTA) を用いた可逆的付加-開裂連鎖移動 (RAFT) 重合で調製した。我々はブロック鎖が制御された PMAPTAC {DP (*m*) = 27, 48, 96} と PAMPS {DP (*n*) = 27, 45, 99} のジブロックコポリマーを合成した。反対電荷のジブロックコポリマーの水溶液を混合した時、PIC 分離コアと PMPC シェルをもつ球状の PIC ミセルを形成した。¹H NMR の緩和時間や自己拡散係数配列分光法 (DOSY)、静的光散乱 (SLS)、動的光散乱 (DLS)、透過型電子顕微鏡 (TEM) で PIC ミセルの特性を評価した。ミセルのサイズは PMPC₁₀₀-*b*-PMAPTAC_{*m*} と PMPC₁₀₀-*b*-PAMPS_{*n*} の混合比に依存し、最大のサイズは混合比が化学量論的に電荷を中和したときに得られた。PIC ミセルの動的な特性を調査するために、塩の添加が PIC ミセルの安定性に与える影響を光散乱法を用いて調べた。

た。反応溶液を純水に対して5日間透析し、ホモポリマー (PMPC₁₀₀-CTA) を凍結乾燥で回収した (12.2 g, 80.5 %)。数平均分子量 ($M_n(\text{GPC})$) と分子量分布 (M_w/M_n) を算出するためにゲルろ過クロマトグラフィー (GPC) を行い、それぞれ 1.91×10^4 と 1.05 であることを確認した。PMPC₁₀₀-CTA の $M_n(\text{NMR})$ と DP は ¹H NMR 測定で算出し、それぞれ 2.98×10^4 と 100 だった。MPC ホモポリマーはブロックコポリマーを合成するための CTA として使用した。

2.2.3 カチオン性ジブロックコポリマーの合成 (PMPC₁₀₀-*b*-PMAPTAC_{*m*})

PMPC と PMAPTAC からなるジブロックコポリマーの代表的な合成例を下記に示す。MAPTAC (1.09 g, 4.96 mmol)、V-501 (7.00 mg, 0.0250 mmol)、PMPC₁₀₀-CTA (1.00 g, 0.0496 mmol, $M_n(\text{NMR}) = 2.98 \times 10^4$, $M_w/M_n = 1.05$) を 10 mL の水に溶解した。混合溶液を 30 分間 Ar ガスで脱気した。重合は 70 °C で 6 時間行った。反応溶液を純水に対して 2 日間透析した。ジブロックコポリマー (PMPC₁₀₀-*b*-PMAPTAC₉₆) を凍結乾燥で回収した (1.79 g, 85.6 %)。 $M_n(\text{GPC})$ と M_w/M_n は GPC から算出し、それぞれ 9.91×10^4 と 1.11 だった。PMAPTAC ブロックの $M_n(\text{NMR})$ と DP は ¹H NMR から算出し、それぞれ 4.99×10^4 と 96 だった。

2.2.4 アニオン性ジブロックコポリマーの合成 (PMPC₁₀₀-*b*-PAMPS_{*n*})

PMPC と PAMPS からなるジブロックコポリマーの代表的な合成を以下に示す。所定量の AMPS (0.487 g, 2.35 mmol) を NaOH 水溶液で中和した。この溶液に所定量の V-501 (3.27 mg, 0.0117 mmol)、PMPC₁₀₀-CTA (0.700 g, 0.0231 mmol, $M_n(\text{NMR}) = 2.98 \times 10^4$, $M_w/M_n = 1.05$) を加えた。この溶液を 30 分間 Ar ガスで脱気した。重合は 70 °C で 2 時間行った。反応溶液を 2 日間純水に対して透析した。ポリマー (PMPC₁₀₀-*b*-PAMPS₉₉) を凍結乾燥で回収した (0.794 g, 66.9 %)。 $M_n(\text{GPC})$ と M_w/M_n は GPC から算出し、それぞれ 3.07×10^4 と 1.11 だった。PAMPS ブロックの $M_n(\text{NMR})$ と DP は ¹H NMR から算出し、それぞれ 5.03×10^4 と 99 だった。

2.2.5 重水中での PMPC₁₀₀-CTA を用いたブロック共重合

MAPTAC (0.557 g, 2.52 mmol)、PMPC₁₀₀-CTA (0.752 g, 0.0248 mmol)、V-501 (3.54 mg, 0.0126 mmol) を 5.0 mL の重水 (D₂O) に溶解した。この溶液を別々に NMR チューブに移して、それぞれ 30 分間 Ar ガスで脱気した。封をして様々な反応時間で 70 °C のオイルバスで加熱した。重合を氷水で冷やすことで停止した。¹H NMR で算出したモノマーの消費量を反応時間に対してモニターした。 M_n と M_w/M_n を算出するために反応溶液の GPC を測定した。D₂O 中での PMPC₁₀₀-CTA を用いた AMPS の重合も同様の方法で行った。

2.2.6 PIC ミセルの作製方法

PMPC₁₀₀-*b*-PMAPTAC_{*m*} と PMPC₁₀₀-*b*-PAMPS_{*n*} を別々に、完全に溶解するために室温で一晩静置した。この溶液は、特に記述しない限り 0.1 M の NaCl を含む。PIC ミセルを作製するために PMPC₁₀₀-*b*-PMAPTAC_{*m*} 溶液を PMPC₁₀₀-*b*-PAMPS_{*n*} 溶液に攪拌しながら 5 分以上かけて滴下で加え、一日放置した。溶液中の二つのブロックコポリマーの混合比を、電荷をもつユニットの総量に対するカチオンユニットのモル分率 ($f^+ = [\text{MAPTAC}]/([\text{AMPS}] + [\text{MAPTAC}])$) で表し、 $f^+ = 0.5$ は完全に電荷が中和した状態を示す。PIC ミセルは特に記述しない限り $f^+ = 0.5$ で調製した。

2.2.7 測定

¹H NMR スペクトルは 20 °C で 500.13 MHz の Bruker DRX-500 で測定した。¹H NMR 測定用ポリマーのサンプル溶液は 0.1 M の NaCl を含む D₂O で調製した。¹H NMR のスピン-スピン緩和時間 (T_2) は Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG) パルスシーケンスを用いて測定した[29]。 T_2 測定のために、D₂O 溶液を含む NMR チューブを Ar ガスで 30 分間脱気した。13.85 μs の 90° パルスを測定に使用した。180° パルスの 12 の異なるエコーピーク強度を測定した。プロトンスピン-格子緩和時間 (T_1) は反転回復シーケンス (180° - t_r -90°) を用い、回復時間 (t_r) の 50 ms から 10 s までの間で 12 点測定した。 T_1 値は反転回復曲線の一次指数関数フィッティングで計算した[30]。

プロトン NMR の自己拡散実験は Bruker DRX500 を用いて 20 °C で行った。サンプル溶液は 0.1 M の NaCl を含む D₂O で作製した。拡散測定のための二次元シーケンスは水のシグナルを抑制するために 3-9-19 パルスシーケンス (WATERGATE) による標準パルスプログラム (stebpgp1s19, Bruker TopSpin 1.3) を用いた[31]。¹H NMR スペクトル (I) の選択された共鳴ピークの強度変化は以下の式で合わせる。

$$\frac{I}{I_0} = \exp\left[-D_{\text{NMR}}(\gamma\delta g)^2\left(\Delta - \frac{\delta}{3}\right)\right] \quad (2.1)$$

γ はプロトンの磁気回転比、 δ は勾配パルスの長さ、 g は勾配強度、 Δ は勾配の midpoint での遅延時間、 I_0 は $\Delta = 0$ の時の初期強度、 D_{NMR} は DOSY 実験から算出した自己拡散係数である。溶質のピークに関連した良好なシグナル対ノイズ (S/N) 比を得るために、ひとつのスペクトルを得るための積算回数は 128 回で行った。2D DOSY 測定する前に、拡散実験のために 1D シーケンス (stebpgp1s191d) を用いてそれぞれの δ 、 Δ 値を最適化した[32]。全ての実験は、 $\delta = 3.5 - 4.5$ ms と $\Delta = 250 - 400$ ms を用いた。データは TopSpin 1.3 で解析し、直接 D_{NMR} を得た。DOSY から算出した流体力学的半径 ($R_{\text{h,NMR}}$) はアインシュタイン-ストークスの式 ($R_{\text{h,NMR}} = k_{\text{B}}T/(6\pi\eta D_{\text{NMR}})$) から得た。この式の k_{B} はボルツマン定数、 T は絶対温度、 η は溶媒の粘度を示す。

カチオン性ポリマーの GPC 測定は 40 °C で Shodex Ohpak SB-G ガードカラムと 10 μm のビーズサイズの SB-804 HQ カラム (排除限界, ~10⁷) を備えた屈折率 (RI) 検出器を用いて 0.6 mL/min の溶出速度で行った。0.5 M の酢酸を含む 0.3 M の Na₂SO₄ 水溶液を展開溶媒として用いた。カチオン性ポリマーの M_n と M_w/M_n は 5.70×10^3 から 3.16×10^5 の 6 つの異なる分子量の標準ポリ (2-ビニルピリジン) で校正した。PMPC ホモポリマーとアニオン性ポリマーの GPC 測定は 40 °C で Shodex Asahipak GF-1G ガードカラムと 7.0 μm のビーズサイズの GF-7 M HQ カラム (排除限界, ~10⁷) を備えた RI 検出器を用いて 0.6 mL/min の溶出速度で行った。10 vol% のアセトニトリルを含むリン酸バッファ (pH 9) を展開溶媒に用いた。アニオン性ポリマーの M_n と M_w/M_n は 1.37×10^3 から 2.16×10^6 の 11 の異なる分子量の標準ポリスチレンスルホン酸ナトリウムで校正した。

光散乱測定は 25 °C でマルチ- τ デジタルタイムコレレーター (ALV-5000) を備えた大塚電子 DLS7000HL 光散乱測定装置を用いて行った。光源として He-Ne レーザー (10.0 mW at 632.8 nm) を用いた。光散乱測定のサンプル溶液は 0.2 μm のポアサイズのフィルターでろ過した。SLS 測定は、重量平均分子量 (M_w)、回転二乗半径 (R_g)、第二ビリアル係数 (A_2) が以下の関係式から算出される。

$$\frac{KC_p}{R_\theta} = \frac{1}{M_w} \left(1 + \frac{1}{3} R_g^2 q^2 \right) + 2A_2 C_p \quad (2.2)$$

ここでは R_θ は溶液と溶媒のレイリー比の差、 q は散乱ベクトルの大きさ、 $K = 4\pi^2 n^2 (dn/dC_p)^2 / N_A \lambda^4$ 、 dn/dC_p はポリマー濃度 (C_p) に対する屈折率増分、 N_A はアボガドロ数である。 q は $q = (4\pi n / \lambda) \sin(\theta/2)$ で算出され、 n は溶媒の RI、 λ は光源の波長 (= 632.8 nm)、 θ は散乱角である。 C_p と θ をセットし R_θ を測定することによって Zimm プロットから M_w 、 R_g 、 A_2 を算出した。既知のトルエンのレイリー比で装置を校正した。633 nm の dn/dC_p は 25 °C で大塚電子 DRM-3000 示差屈折率計を用いて決定した。DLS 測定は緩和時間分布 $\tau A(\tau)$ を得るために、REPES アルゴリズムを用いて逆ラプラス変換解析を行った[33]。

$$g^{(1)}(t) = \int \tau A(\tau) \exp(-t/\tau) d \ln \tau \quad (2.3)$$

ここで、 τ は緩和時間、 $g^{(1)}(t)$ は規格化自己相関関数である。減衰速度 ($\Gamma = \tau^{-1}$) は θ の関数である[34]。拡散係数 (D) は $D = (\Gamma/q^2)_{q \rightarrow 0}$ から計算した。流体力学的半径 (R_h) はアインシュタイン-ストークスの式 ($R_h = k_B T / (6\pi\eta D)$) から得られた。DLS 装置の詳細と理論は文献中に記載されている[35]。

ζ電位は He-Ne レーザー光源 (4 mW at 632.8 nm) を備えた Malvern Zetasizer Nano-ZS

ZEN3600 を用いて 25 °C で測定した。ζ電位はスモルコフスキーの関係式 $\zeta = \eta\mu/\varepsilon(\kappa a \gg 1)$ を用いて電気移動度 (μ) から算出した。ここで ε は溶媒の誘電率、 κ と a はそれぞれ Debye-Hückel パラメーターと粒子の半径である[36]。

TEM 観察は 200 kV の加速電圧を用いた JEOL JEM-2100 で行った。TEM のサンプルはフォルムバー薄膜がコートされた銅グリッド上に水溶液を一滴滴下して、余分な水をろ紙で吸い取った。サンプルをリンタングステン酸ナトリウムで染色し、一日減圧下で乾燥した。

2.3 結果と考察

2.3.1 ジブロックコポリマーの合成

PMPC₁₀₀-*b*-PMAPTAC_{*m*} のジブロックコポリマーは PMPC₁₀₀-CTA ($M_n(\text{NMR}) = 2.98 \times 10^4$, $M_w/M_n = 1.05$) をマクロ連鎖移動剤として用いて合成した。Figure 2.2a に PMAPTAC の重合における時間とコンバージョンの関係および一次反応プロットを示す。モノマーの消費量であるコンバージョンは重合時間に対して ¹H NMR スペクトルからモニターした。McCormick らによって報告されたように 4-シアノペンタン酸ラジカル断片の形成の速度が遅いため約 10 分間の誘導期があった。モノマーのコンバージョンは 300 分間で 96.0 % に達した[37]。一次反応速度は重合中のラジカルの濃度が一定のままだった事を示唆する。Figure 2.2b は PMPC₁₀₀-CTA 存在下での PMAPTAC の重合の GPC 溶出曲線を示す。MAPTAC の重合でブロックコポリマーの PMPC₁₀₀-*b*-PMAPTAC_{*m*} の形成を示唆する分子量の増加が観測された。MAPTAC のホモポリマーと考えられるシオルダーなどは確認されなかった。Figure 2.2c はポリマーの GPC によって算出した M_n と M_w/M_n を、¹H NMR によって決定した MAPTAC のコンバージョンに対してプロットした。 M_n はコンバージョンとともに増加したが M_w/M_n はコンバージョンに依存せず一定 ($M_w/M_n < 1.05$) だった。重合がリビング的に進行すると、理論的な数平均分子量 ($M_n(\text{theo})$) は次のように算出できる。

$$M_n(\text{theo}) = \frac{[\text{monomer}]_0}{[\text{CTA}]_0} \frac{x_m}{100} M_m + M_{\text{CTA}} \quad (2.4)$$

ここで $[\text{monomer}]_0$ は初期モノマー濃度、 $[\text{CTA}]_0$ は初期の PMPC₁₀₀-CTA の濃度、 x_m はモノマーのコンバージョン、 M_m はモノマーの分子量、 M_{CTA} は PMPC₁₀₀-CTA の分子量である。GPC で算出した $M_n(\text{GPC})$ の測定値は式 2.4 で算出した $M_n(\text{theo})$ の理論値からずれていた。このずれに関して考えられる理由は、 M_n 値を校正する標準ポリマーとして PMPC₁₀₀-*b*-PMAPTAC_{*m*} と体積質量比が大幅に異なるポリ (2-ビニルピリジン) を使用したためだと考えられる[38]。PMPC₁₀₀-*b*-PMAPTAC_{*m*} サンプルの数平均分子量 ($M_n(\text{NMR})$) は ¹H NMR データから算出した。Table 2.1 に記したように、PMPC₁₀₀-*b*-PMAPTAC_{*m*} の $M_n(\text{NMR})$ 値は $M_n(\text{theo})$ 値とほぼ一致した。

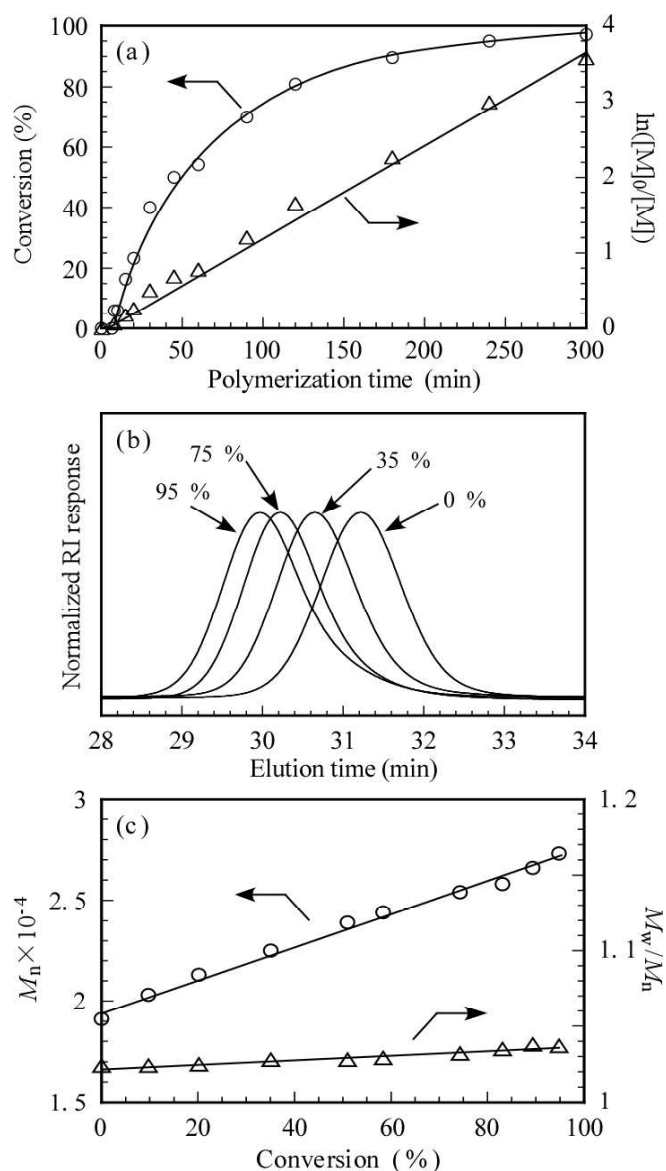


Figure 2.2. (a) Time–conversion (\circ) and first-order kinetic plots (\triangle) for the polymerization of MAPTAC in the presence of PMPC₁₀₀-CTA in D₂O at 70 °C. $[M]_0$ and $[M]$ are the concentrations of the monomer at polymerization time 0 and corresponding time, respectively. (b) GPC elution curves demonstrating evolution of molecular weight during synthesis of PMPC₁₀₀-*b*-PMAPTAC_{*m*}. Conversions are shown for each peak. (c) Dependence of M_n (\circ) and M_w/M_n (\triangle) on monomer conversion during polymerization of MAPTAC.

PMPC₁₀₀-CTA 存在下での AMPS の重合は Figure 2.3 に示すように制御されて進行した。Figure 2.3a に時間と消費量の関係および一次反応速度プロットを示す。重合は約 8 分の誘導期を経て開始し、モノマーのコンバージョンは 60 分で 95.8 % に達した。Figure 2.3b に示した GPC の溶出曲線からブロックコポリマーの PMPC₁₀₀-*b*-PAMPS_{*n*} の分子量が

モノマーのコンバージョンの増加に伴い増加し、分子量分布はユニモーダルだった。GPC から算出した M_n と M_w/M_n 値をコンバージョンに対してプロットし、Figure 2.3c に示した。 M_n 値はコンバージョンの増加に伴い直線的に増加したが、 M_w/M_n はコンバージョンに依存せずに 1.05 から 1.10 の狭い領域で一定だった。PMPC₁₀₀-*b*-PAMPS_{*n*} の M_n (GPC)は M_n (theo)からずれていたが、 M_n (NMR)は M_n (theo)と近かった。

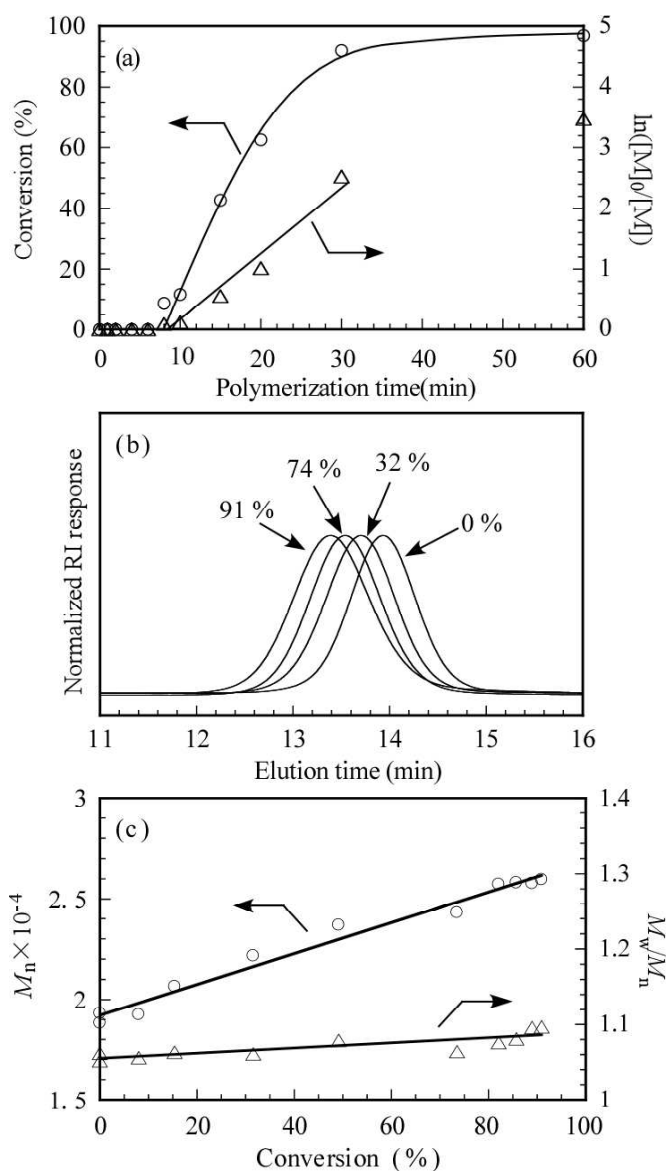


Figure 2.3. (a) Time–conversion (○) and first-order kinetic plots (△) for the polymerization of AMPS in the presence of PMPC₁₀₀-CTA in D₂O at 70 °C. $[M]_0$ and $[M]$ are the concentrations of the monomer at polymerization time 0 and corresponding time, respectively. (b) GPC elution curves demonstrating evolution of molecular weight during synthesis of PMPC₁₀₀-*b*-PAMPS_{*n*}. Conversions are shown for each peak. (c) Dependence of M_n (○) and M_w/M_n (△) on monomer conversion during polymerization of AMPS.

本研究ではポリアンフォライト PMPC ブロック ($M_n(\text{NMR}) = 2.98 \times 10^4$, $\text{DP} = 100$) の鎖長が等しく、カチオンおよびアニオン性ブロックの鎖長の異なる $\text{PMPC}_{100}\text{-}b\text{-PMAPTAC}_m$ と $\text{PMPC}_{100}\text{-}b\text{-PAMPS}_n$ を合成した。全てのブロックコポリマーの M_n と M_w/M_n は Table 2.1 にまとめた。ブロックコポリマーの $\text{PMPC}_{100}\text{-}b\text{-PMAPTAC}_m$ と $\text{PMPC}_{100}\text{-}b\text{-PAMPS}_n$ は P_{100}M_m と P_{100}A_n に略し、P、M、A、はそれぞれ PMPC、PMAPTAC、PAMPS ブロックを示し、下付文字は各ブロックの DP を示す。

Table 2.1. Number-Average Molecular Weight (M_n), Molecular Weight Distribution (M_w/M_n), and Hydrodynamic Radius (R_h) of the Block Copolymers

Samples	$M_n(\text{theo})^a$	$M_n(\text{GPC})^b$	$M_n(\text{NMR})^c$	M_w/M_n^b	R_h^d	
	$\times 10^{-4}$	$\times 10^{-4}$	$\times 10^{-4}$	(GPC)	(nm)	
$\text{PMPC}_{100}\text{-}b\text{-PMAPTAC}_m$	$\text{P}_{100}\text{M}_{27}$	3.63	7.48	3.58	1.08	2.3
	$\text{P}_{100}\text{M}_{48}$	4.07	8.20	4.09	1.08	2.6
	$\text{P}_{100}\text{M}_{96}$	5.04	9.91	4.99	1.11	3.6
$\text{PMPC}_{100}\text{-}b\text{-PAMPS}_n$	$\text{P}_{100}\text{A}_{27}$	3.59	2.29	3.59	1.06	1.5
	$\text{P}_{100}\text{A}_{45}$	3.81	2.47	3.91	1.06	2.9
	$\text{P}_{100}\text{A}_{99}$	5.03	3.07	5.03	1.11	3.1

^aCalculated from eq 2.4. ^bEstimated from GPC. ^cEstimated from ¹H NMR for the purified diblock copolymers. ^dDetermined by DLS at 25 °C in 0.1 M NaCl aqueous solution at $C_p = 1.0$ g/L.

2.3.2 ¹H NMR

$\text{P}_{100}\text{M}_{96}$ と $\text{P}_{100}\text{A}_{99}$ のプロトン NMR スペクトルを Figure 2.4a と b で比較した。Figure 2.4a に示すように、0.8 から 1.1 ppm と 1.8 ppm に観測された共鳴バンドはそれぞれ、 α -メチルプロトンと主鎖のメチレンプロトンに帰属された。 P_{100}M_m の PMAPTAC ブロックの DP (= m) と $M_n(\text{NMR})$ は、それぞれ 3.1 と 3.2 ppm に帰属した PMAPTAC と PMPC ブロックの側鎖のメチレンプロトン由来の共鳴ピークの積分強度比から決定した。Figure 2.4b に示した P_{100}A_n の 0.8 から 2.2 ppm に観測された共鳴ピークは PAMPS ブロック中の側鎖のメチレン基と主鎖を足し合わせたピークとして帰属した。 P_{100}A_n 中の PAMPS ブロックの DP (= n) と $M_n(\text{NMR})$ はそれぞれ 3.4 と 3.2 ppm に帰属される PAMPS と PMPC ブロックの側鎖のメチレンプロトンの積分強度比から算出した。

Figure 2.4c に、0.1 M NaCl を含む重水中で $C_p = 1.0$ g/L の P_{100}A_n に P_{100}M_m の溶液を添加して作製した $\text{P}_{100}\text{M}_{96}$ と $\text{P}_{100}\text{A}_{99}$ のカチオンユニットの成分のモル比が 0.5 ($f^+ = 0.5$) の混合溶液の ¹H NMR スペクトルを示す。 P_{100}M_m と P_{100}A_n の混合溶液はコア-シェルミセルを形成すると期待される。Figure 2.4c に示すように、PMAPTAC と PAMPS ブロッ

クに関する共鳴バンドの強度は PMPC ブロックに関するものに比べてかなり弱くなった。シグナルのブロード化はスピン-スピン緩和時間 (T_2) と分子運動の減少を示唆している[39]。PMAPTAC と PAMPS ブロックの運動性は反対電荷をもつブロック鎖が PIC ミセルのコア中に閉じ込められるため大幅に抑制されたと考えられる。

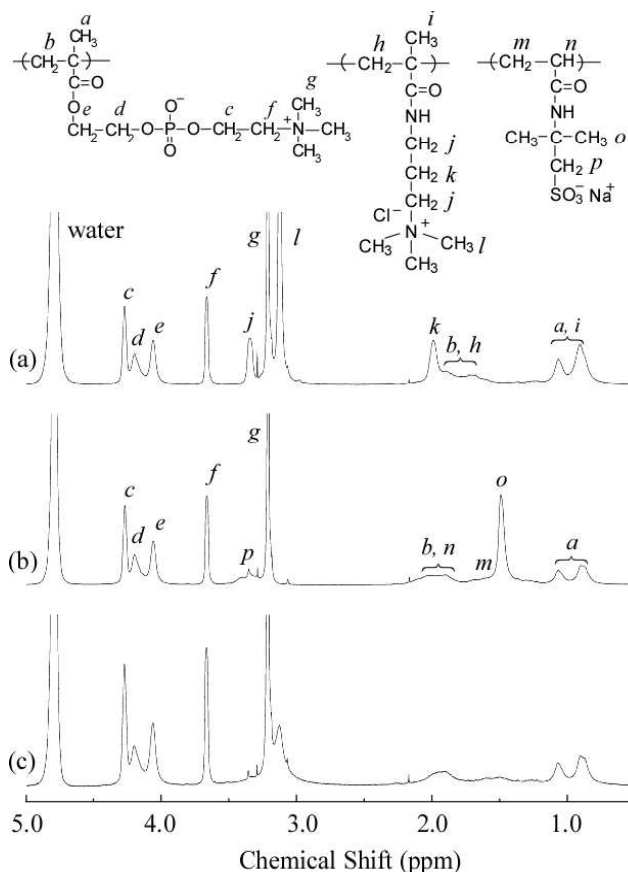


Figure 2.4. ^1H NMR spectra measured for (a) PMPC₁₀₀-*b*-PMAPTAC₉₆ ($\text{P}_{100}\text{M}_{96}$), (b) PMPC₁₀₀-*b*-PAMPS₉₉ ($\text{P}_{100}\text{A}_{99}$), and (c) PIC micelle of $\text{P}_{100}\text{M}_{96}/\text{P}_{100}\text{A}_{99}$ with $f^+ = 0.5$ at $C_p = 1.0$ g/L in D_2O containing 0.1 M NaCl. Assignments are indicated for the resonance peaks.

PIC ミセルを形成した時の PMAPTAC と PAMPS、PMPC ブロックの運動性の抑制について更なる情報を得るために、 P_{100}M_m と P_{100}A_n 、 $\text{P}_{100}\text{M}_m/\text{P}_{100}\text{A}_n$ PIC ミセルの T_2 値を 0.1 M NaCl を含む重水中で測定した[40, 41]。PIC ミセルを作製するために反対電荷をもつジブロックコポリマーのイオン性ブロックの DP が近いペア ($\text{P}_{100}\text{M}_{27}/\text{P}_{100}\text{A}_{27}$, $\text{P}_{100}\text{M}_{48}/\text{P}_{100}\text{A}_{45}$, $\text{P}_{100}\text{M}_{96}/\text{P}_{100}\text{A}_{99}$) をそれぞれ選択した。ブロックの運動性の抑制を調べるために、それぞれ 3.1 と 1.5、3.2 ppm の PMAPTAC と PAMPS、PMPC のメチレンプロトンに関するピークの緩和時間を解析した。Table 2.2 はユニマーと PIC ミセル状態の PMAPTAC と PAMPS、PMPC ブロックの T_2 を比較した。ユニマー状態では、 $\text{P}_{100}\text{M}_{27}$ 中の PMAPTAC と $\text{P}_{100}\text{A}_{27}$ 中の PAMPS の T_2 はそれぞれ 123、40.4 ms だった。 $\text{P}_{100}\text{M}_{27}$ と $\text{P}_{100}\text{A}_{27}$ が PIC ミセルを形成すると、PMAPTAC と PAMPS の T_2 はそれぞれ 36.6、8.6 ms

に減少した。 T_2 の減少は PIC ミセル中の電荷を持つブロックの運動性が抑制されたことを示唆する。電荷を持つブロックがさらに長いブロックコポリマーを用いて作製した PIC ミセルでは、 T_2 値がさらに減少すると考えられる。ユニマー状態では、 $P_{100}M_{96}$ 中の PMAPTAC と $P_{100}A_{99}$ 中の PAMPS の T_2 はそれぞれ 98.3、32.5 ms だった。 $P_{100}M_{96}/P_{100}A_{99}$ PIC ミセルを形成すると、 $P_{100}M_{96}$ と $P_{100}A_{99}$ の T_2 はそれぞれ 5.3 と 3.5 ms になった。これは、鎖長が長いイオン性ブロックのペアから形成された PIC ミセルは、イオン性ブロックの運動性がイオン性ブロックの短いペアで形成した PIC ミセルに比べて抑制されたことを示唆する。

PIC ミセルを形成した際の PMPC ブロックの T_2 はフリーの $P_{100}M_{27}$ と $P_{100}A_{27}$ がそれぞれ 267 と 273 ms だったのに対して PIC ミセルを形成するとわずかに減少し 262 ms だった。しかしながら、電荷を持つブロックが長い PMPC ブロックの T_2 はユニマー状態の $P_{100}M_{96}$ と $P_{100}A_{99}$ がそれぞれ 237 と 238 ms だったのに対して PIC ミセルを形成するとに 189 ms でさらに減少した。側鎖に電荷を持つホスホリルコリン基は、単一ポリマー鎖中で電荷が中和されているため PMPC ブロックは PIC ミセルのシェルを形成する。しかしながら T_2 データから、長い PMAPTAC と PAMPS ブロックから形成された PIC ミセル中の PMPC シェルの運動性はわずかに抑制された。特に、鎖長の長い PMAPTAC と PAMPS ブロックが形成する運動性が極端に抑制された PIC コアに影響されるため、コアとシェルの界面での PMPC シェルの運動性が抑制された可能性がある。さらに PMPC 鎖は PMPC シェル中の限られた空間で込み合っていたため運動性が抑制された可能性も考えられる。

さらに運動性の詳細な情報を得るためにスピン-格子緩和時間 (T_1) を調べた。スピン-格子緩和は NMR 周波数と同程度の分子運動の周波数で最も効率的に起こる。したがって、 T_1 は分子運動の減少を示す T_2 と同時に減少する。 T_1 は最小値に達した後に分子運動の減少に伴って増加するが、 T_2 は最小値のままである。ユニマー状態の $P_{100}M_{96}$ と $P_{100}A_{99}$ の T_1 値はそれぞれ 439 と 570 ms だった。反対電荷をもつジブロックコポリマーで PIC ミセルを形成すると、PMAPTAC と PAMPS ブロックの T_1 値はそれぞれ 558 と 1059 ms に増加した。PIC ミセルの PMAPTAC と PAMPS の T_1 の増加と T_2 の減少はそれぞれ、PIC コア中の電荷をもつ成分の運動性が抑制されたことを示唆する。ユニマー状態の PMPC ブロックの T_1 値は、PIC ミセルを形成してもほとんど同じだった。しかしながら PIC ミセル中の PMPC ブロックの T_2 値はユニマー状態の値よりも僅かに減少した。これは PMPC ブロックの運動性が PIC シェル内で部分的に抑制されていることを示唆する。

Table 2.2. Spin–Spin (T_2) and Spin–Lattice Relaxation Times (T_1) for Protons in the PMPC, PMAPTAC, and PAMPS Blocks in D₂O Containing 0.1 M NaCl

Samples	T_2 (ms)			T_1 (ms)		
	3.2 ppm ^a	3.1 ppm ^b	1.5 ppm ^c	3.2 ppm ^a	3.1 ppm ^b	1.5 ppm ^c
P ₁₀₀ M ₂₇ ^d	267	123	-	481	416	-
P ₁₀₀ A ₂₇ ^d	273	-	40.4	477	-	516
P ₁₀₀ M ₂₇ /P ₁₀₀ A ₂₇ ^e	262	36.6	8.6	483	482	670
P ₁₀₀ M ₄₈ ^d	259	101	-	487	436	-
P ₁₀₀ A ₄₅ ^d	262	-	37.3	482	-	566
P ₁₀₀ M ₄₈ /P ₁₀₀ A ₄₅ ^e	234	13.9	5.5	481	575	923
P ₁₀₀ M ₉₆ ^d	237	98.3	-	486	439	-
P ₁₀₀ A ₉₉ ^d	238	-	32.5	484	-	570
P ₁₀₀ M ₉₆ /P ₁₀₀ A ₉₉ ^e	189	5.3	3.5	493	558	1059

^aPMPC pendant methyl protons. ^bPMAPTAC pendant methyl protons. ^cPAMPS pendant methyl protons. ^dFree unimer state. ^ePIC micelles.

我々は ¹H NMR DOSY 測定を流体力学的半径 ($R_{h,NMR}$) を得るために行った。水のシグナルは WATERGATE パルスシーケンスを用いて抑制した。他のピークと重ならず良好な S/N 比を示したため 3.2 ppm に観測された PMPC 由来のメチレンプロトンの共鳴バンドを $R_{h,NMR}$ の算出に使用した。0.1 M NaCl 存在下での P₁₀₀M₂₇/P₁₀₀A₂₇、P₁₀₀M₄₈/P₁₀₀A₄₅、P₁₀₀M₉₆/P₁₀₀A₉₉ の PIC ミセルの D_{NMR} 値はそれぞれ 2.43×10^{-11} 、 1.56×10^{-11} 、 9.61×10^{-12} m²/s でアインシュタイン-ストークスの式を用いて $R_{h,NMR}$ に変換することができる。PIC ミセルの $R_{h,NMR}$ 値を Table 2.3 にまとめた。

2.3.3 SLS

SLS 測定で算出した PIC ミセルの見かけの重量平均分子量 ($M_w(SLS)$)、回転二乗半径 (R_g)、第二ビリアル係数 (A_2) を Table 2.3 にまとめた。PIC ミセルの 633 nm の dn/dC_p 値は示唆屈折率計を用いて決定し、Table 2.3 にまとめた。Figure 2.5 に 25 °C で 2 から 10 g/L の濃度範囲での P₁₀₀M₉₆/P₁₀₀A₉₉ PIC ミセルの Zimm プロットを示した。Table 2.3 で提示した R_g と $M_w(SLS)$ は、電荷をもつブロック (PMAPTAC、PAMPS) の長さに強く依存し、電荷をもつブロックの鎖長が長い方が大きくなった。P₁₀₀M₉₆/P₁₀₀A₉₉ PIC ミセルの $M_w(SLS)$ 値は P₁₀₀M₂₇/P₁₀₀A₂₇ PIC ミセルよりもおよそ 9 倍大きくなった。

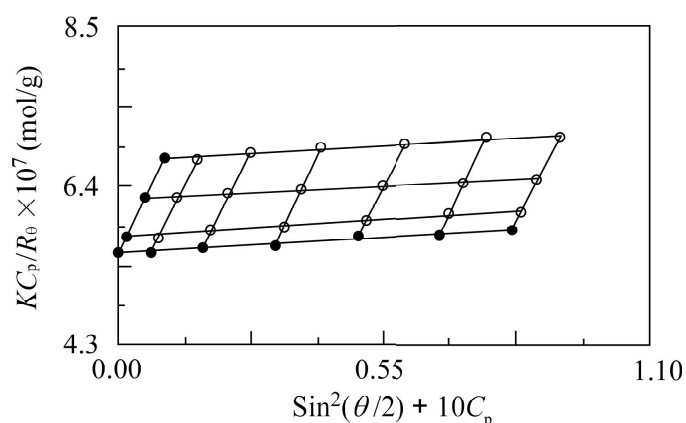


Figure 2.5. Typical example of Zimm plots for $P_{100}M_{96}/P_{100}A_{99}$ PIC micelles with $f^+ = 0.5$ in 0.1 M NaCl aqueous solution at angles from 30° to 130° with an increment of 20° . The polymer concentrations (C_p) were 2, 5, and 10 g/L, respectively.

DP が 100 量体の PMPC ブロックが完全に伸びきっている場合の末端間距離 (L_{PMPC}) は 25.0 nm と計算できた。 $P_{100}M_{96}/P_{100}A_{99}$ PIC ミセルの R_g は 17.5 nm で $P_{100}M_{96}$ と $P_{100}A_{99}$ の伸びきり鎖長 (約 50 nm) よりも小さかった。 $P_{100}M_{27}/P_{100}A_{27}$ PIC ミセルの R_g は 10.2 nm で $P_{100}M_{27}$ と $P_{100}A_{27}$ の伸びきり鎖長 (約 31.8 nm) よりも小さかった。これらの観測から PIC ミセルはミセル間での凝集のない単純なコア-シェル構造であることが示唆された。

PIC ミセルの会合数 (N_{agg}) はひとつの PIC ミセルを形成する PMPC ポリマーの総数として定義され、SLS から計算した PIC ミセルの $M_w(SLS)$ と単一ポリマー鎖 (ユニマー) の 1H NMR から計算した $M_n(NMR)$ と GPC の M_w/M_n から算出した M_w を用いて計算できる。 $P_{100}M_{96}/P_{100}A_{99}$ PIC ミセルの N_{agg} 値は 37 で $P_{100}M_{27}/P_{100}A_{27}$ PIC ミセル ($N_{agg} = 6$) よりもかなり大きくなった。

Table 2.3 に示したポリマーミセルの小さな A_2 値は溶媒への低い溶解性を示唆する[42, 43]。0.1 M NaCl 水溶液中での $P_{100}M_{96}/P_{100}A_{99}$ の溶解性は水に不溶の PIC コアの体積 (V_c) が $P_{100}M_{27}/P_{100}A_{27}$ より大きいため低くなったと考えられる。この点の詳細を後に説明する。

Table 2.3. Diffusion-Ordered NMR Spectroscopy (DOSY), Dynamic Light Scattering (DLS), and Static Light Scattering (SLS) Data for PIC Micelles in 0.1 M NaCl

Samples	$R_{h,NMR}^a$ (nm)	R_h^b (nm)	$M_w^c \times 10^{-5}$	R_g^c (nm)	$A_2^c \times 10^4$ (mol mL/g ²)	R_g/R_h	N_{agg}^d	dn/dC_p (mL/g)
P ₁₀₀ M ₂₇ /P ₁₀₀ A ₂₇	7.0	8.6	2.01	10.2	2.01	1.23	6	0.141
P ₁₀₀ M ₄₈ /P ₁₀₀ A ₄₅	11.0	16.2	5.40	19.5	0.30	1.11	14	0.139
P ₁₀₀ M ₉₆ /P ₁₀₀ A ₉₉	17.8	18.5	18.1	17.5	0.065	0.97	37	0.150

^aEstimated by ¹H NMR DOSY using PMPC pendant methyl proton signal at 3.2 ppm.

^bEstimated by DLS. ^cEstimated by SLS. ^dAggregation number of PIC micelles calculated from M_w of the micelles determined by SLS and M_w of the corresponding unimers.

2.3.4 DLS

ジブロックコポリマーの流体力学的半径 (R_h) の値は $C_p = 1.0$ g/L で 0.1 M NaCl 水溶液中 25 °C の条件での DLS 測定で決定し、Table 2.1 にまとめた。Figure 2.6a は f^* に対する P₁₀₀M₂₇/P₁₀₀A₂₇、P₁₀₀M₄₈/P₁₀₀A₄₅、P₁₀₀M₉₆/P₁₀₀A₉₉ PIC ミセルの R_h 値を示す。この実験ではポリマー濃度は 1.0 g/L で固定した。 R_h の増加は PIC ミセルのサイズの増加を示唆する。 R_h の最大値が $f^* = 0.5$ で観測された。Figure 2.6b は 0.1 M 食塩水中での 3 種類の鎖長の異なるイオン性ブロックペアで作製した PIC ミセルの f^* に対する散乱光強度を示す。散乱光強度は粒子の分子量に依存する。したがって散乱光強度の増加は PIC ミセルの N_{agg} の増加を示唆する。これらの結果は二つの反対電荷をもつジブロックコポリマーの混合は、化学量論的に電荷を中和することで最大のサイズと N_{agg} の PIC ミセルが形成したことを示唆する。

$f^* = 0.5$ で PIC ミセルの中和をすることを確認するために f^* と ζ 電位の関係を調べた (Figure 2.6c)。PAMPS ブロックは側鎖にアニオン性のスルホン酸基を持つため、 $f^* = 0$ では P₁₀₀A₂₇、P₁₀₀A₄₅、P₁₀₀A₉₉ 水溶液は負の ζ 電位を示した。また $f^* = 1$ では、PMAPTAC ブロックは側鎖にカチオン性の四級アミノ基を持つため P₁₀₀M₂₇、P₁₀₀M₄₈、P₁₀₀M₉₆ 水溶液は正の ζ 電位を示した。 $f^* = 0.5$ では PAMPS と PMAPTAC が化学量論的に中和するため ζ 電位はゼロになった。PIC ミセルは PIC コアと PMPC シェルを形成した。PMPC シェル中のホスホリルコリン基はアニオン性のリン酸基とカチオン性の四級アミノ基をもつ。しかしながら、PMPC ホモポリマーの ζ 電位は側鎖のアニオンとカチオンが単一の PMPC 鎖内で中和されているのでゼロとなった。

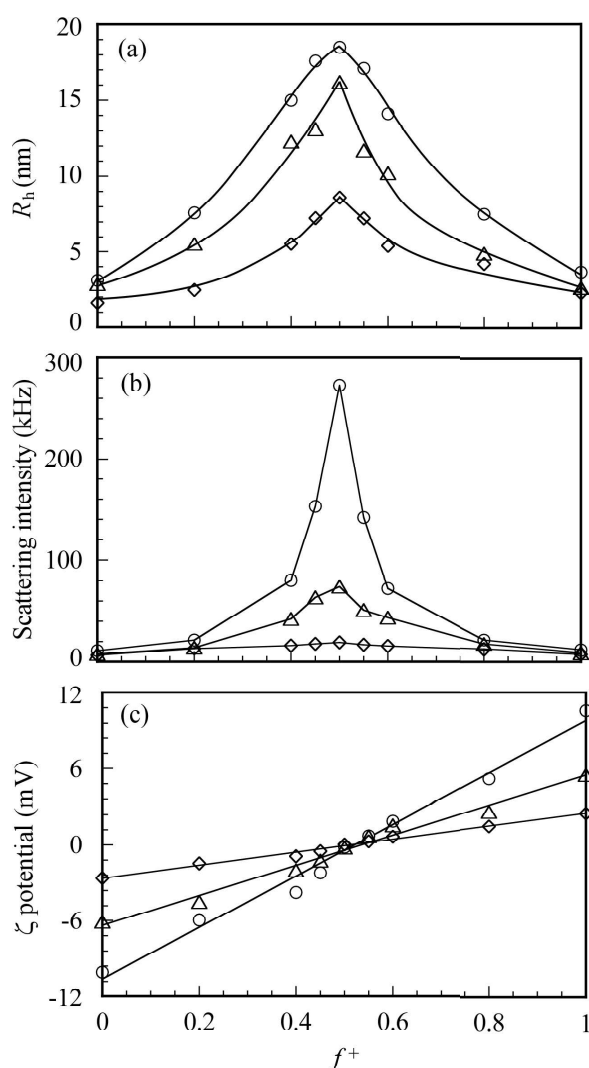


Figure 2.6. (a) Hydrodynamic radius (R_h), (b) light scattering intensity, and (c) ζ potential for PIC micelles as a function of f^+ ($= [\text{MAPTAC}]/([\text{MAPTAC}] + [\text{AMPS}])$) in 0.1 M NaCl aqueous solutions at 25 °C: $\text{P}_{100}\text{M}_{27}/\text{P}_{100}\text{A}_{27}$ (◇), $\text{P}_{100}\text{M}_{48}/\text{P}_{100}\text{A}_{45}$ (△), and $\text{P}_{100}\text{M}_{96}/\text{P}_{100}\text{A}_{99}$ (○). The total concentration of block copolymers was fixed at 1.0 g/L.

これらのブロックコポリマーの R_h 値は 1.5 から 3.6 nm で一般的なユニマー状態であることを表した。Figure 2.7a に $\theta = 90^\circ$ で $f^+ = 0.5$ の 3 つの鎖長の異なるイオン性ブロックペアからなる PIC ミセルの R_h の分布を示す。 R_h の分布は全てユニモーダルだった。 $\text{P}_{100}\text{M}_{27}/\text{P}_{100}\text{A}_{27}$ 、 $\text{P}_{100}\text{M}_{48}/\text{P}_{100}\text{A}_{45}$ 、 $\text{P}_{100}\text{M}_{96}/\text{P}_{100}\text{A}_{99}$ ミセルの R_h 値はそれぞれ 8.6、 16.2、 18.5 nm と算出され、 $R_{h,\text{NMR}}$ 値と近かった (Table 2.3)。これらの PIC ミセルの R_h 値は完全に伸びきったブロックコポリマーの長さよりも小さかったことから、これらの PIC 凝集体が単純なコア-シェル構造であることを支持していた。

Figure 2.7b に C_p に対する PIC ミセルの R_h 値をプロットした。 R_h 値はポリマー濃度が 0.5 から 10 g/L の範囲でほとんど一定だった。緩和速度 (Γ) を異なる散乱角で測定し

、散乱ベクトルの二乗 (q^2) に対して Figure 2.7c にプロットした。原点を通る直線のプロットなので、全ての緩和モードは単純な拡散だった[44]。 Γ - q^2 プロットのスロープから算出した拡散係数 (D) は、 $\theta = 90^\circ$ で得られた緩和時間 (τ) の分布のピークでの Γ から算出した D と一致した。角度依存性は無視できるため、 θ を 90° で固定して R_h 値を算出し、 Table 2.3 にまとめた。

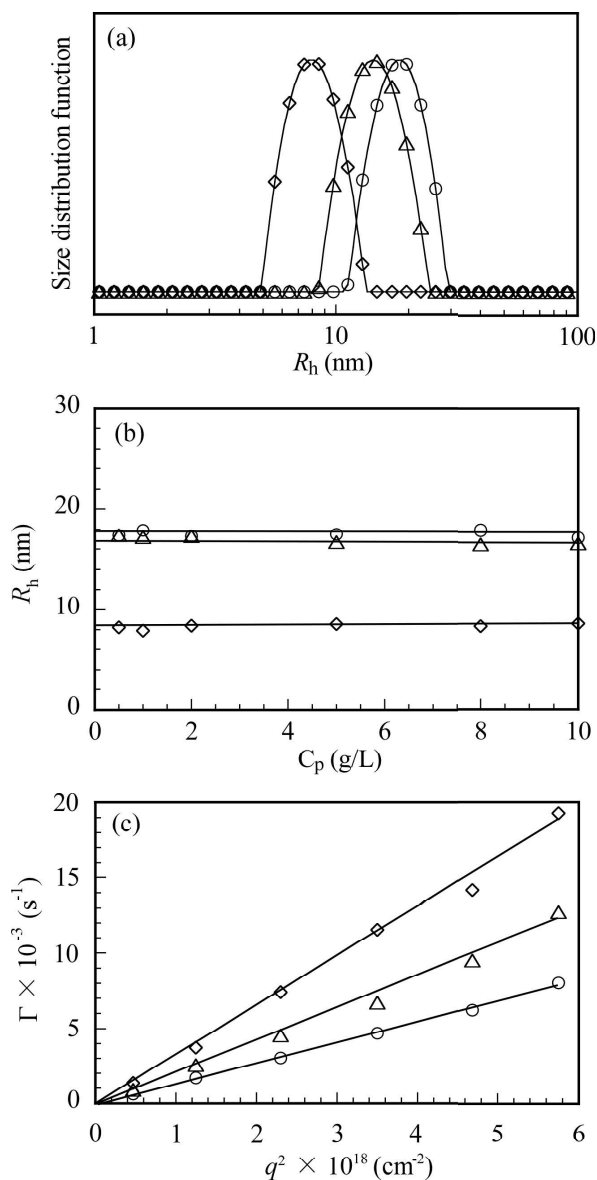


Figure 2.7. (a) Typical examples of hydrodynamic radius (R_h) distributions for PIC micelles with $f^+ = 0.5$ at $C_p = 1.0$ g/L in 0.1 M NaCl aqueous solutions, (b) relationship between R_h and C_p for PIC micelles, and (c) relationship between the relaxation rate (Γ) and square of the magnitude of the scattering vector (q^2) for PIC micelles at $C_p = 1.0$ g/L: P₁₀₀M₂₇/P₁₀₀A₂₇ (\diamond), P₁₀₀M₄₈/P₁₀₀A₄₅ (\triangle), and P₁₀₀M₉₆/P₁₀₀A₉₉ (\circ).

R_g/R_h 比は分子集合体の形状の評価に役立つ。均質な剛体球の R_g/R_h の理論値は 0.778 で、緻密な構造の低下と混合溶液の多分散によって R_g/R_h は増加する。たとえば、 R_g/R_h は 1.5 から 1.7 で良溶媒中でのフレキシブルな直鎖で、 R_g/R_h は 2 以上で棒状である [45-47]。Table 2.3 にまとめた $P_{100}M_{27}/P_{100}A_{27}$ 、 $P_{100}M_{48}/P_{100}A_{45}$ 、 $P_{100}M_{96}/P_{100}A_{99}$ ミセルの R_g/R_h (それぞれ 1.23、1.11、0.97) はこれらの形状が単分散の球状に近いことを示唆した。

$f^* = 0.5$ で単純なコア-シェル構造の PIC ミセルのコアの半径は (R_c) それぞれの電荷を持つブロックの体積から以下の式を用いて計算出来る。

$$R_c = \left(\frac{3V_c}{4\pi} \right)^{1/3} = \left(\frac{3}{4\pi N_A} \left(\frac{M_{n,PMAPTAC}}{\rho_{PMAPTAC}} + \frac{M_{n,PAMPS}}{\rho_{PAMPS}} \right) \times \frac{N_{agg}}{2} \right)^{1/3} \quad (2.5)$$

ここでは V_c は PIC ミセルの体積、 $M_{n,PMAPTAC}$ と $M_{n,PAMPS}$ は PMAPTAC と PAMPS ブロックの数平均分子量、 $\rho_{PMAPTAC}$ と ρ_{PAMPS} はそれぞれ PMAPTAC と PAMPS ブロックの密度を示す。 R_c を計算するために、PMAPTAC ($\rho_{PMAPTAC}$) と PAMPS (ρ_{PAMPS}) モノマーのバルク密度である 1.05 と 1.21 g/cm³ をそれぞれ使用した。 R_h と R_c からシェルの厚み (L_s) は $L_s = R_h - R_c$ で計算できる。3つの鎖長の異なるイオン性ブロックペアからなる PIC ミセルの R_c と L_s 、 d_{PIC} 、 Φ_{PIC} 値を Table 2.4 にまとめた。

Table 2.4. Core Radius (R_c), Shell Thickness (L_s), Counter Length of PMAPTAC ($L_{PMAPTAC}$) and PAMPS (L_{PAMPS}), Density (d_{PIC}), and Polymer Density at Core-Shell Interface (Φ_{PIC}) for PIC Micelles in 0.1 M NaCl

Samples	R_c^a (nm)	L_s^b (nm)	$L_{PMAPTAC}^c$ (nm)	L_{PAMPS}^c (nm)	d_{PIC}^d (g/cm ³)	Φ_{PIC}^e (chains/nm ²)
$P_{100}M_{27}/P_{100}A_{27}$	2.3	6.3	6.8	6.8	0.125	0.090
$P_{100}M_{48}/P_{100}A_{45}$	3.7	12.5	12.0	11.3	0.050	0.081
$P_{100}M_{96}/P_{100}A_{99}$	6.6	11.9	24.0	24.8	0.113	0.068

^aEstimated from eq 5. ^bEstimated from $L_s = R_h - R_c$. ^cCounter length of the repeating unit is 0.25 nm for the polymer chains. ^dEstimated from eq 2.6. ^eEstimated from eq 2.7.

PIC ミセルの密度 (d_{PIC}) は以下の式で計算できる。

$$d_{PIC} = \frac{3M_{w,PIC}}{4\pi N_A R_h^3} \quad (2.6)$$

ここで $M_{w,PIC}$ は PIC ミセルの重量平均分子量 (= $M_w(SLS)$) である。 $P_{100}M_{27}/P_{100}A_{27}$ 、

$P_{100}M_{48}/P_{100}A_{45}$ 、 $P_{100}M_{96}/P_{100}A_{99}$ PIC ミセルの d_{PIC} 値はそれぞれ 0.125、0.050、0.113 g/cm³ だった。 d_{PIC} 値は $P_{100}M_{48}/P_{100}A_{45}$ PIC ミセルが一番小さいためミセルが水和しており、その他の 2 つのミセルより PMPC シェル中に多くの水分子が存在している示唆していた。

PIC ミセルのコア-シェル界面でのポリマー密度 (Φ_{PIC}) は以下の式で計算できる。

$$\Phi_{PIC} = \frac{N_{agg}}{S_c} = \frac{N_{agg}}{4\pi \times R_c^2} \quad (2.7)$$

ここで S_c はコアの表面積である。 Φ_{PIC} 値は PIC ミセルの R_h の増加に伴い減少した。

2.3.5 TEM 観察

PIC ミセルの構造を TEM 観察でさらに確認し、Figure 2.8 に示した。全てのミセルは球形であることが観察できた。 $P_{100}M_{27}/P_{100}A_{27}$ 、 $P_{100}M_{48}/P_{100}A_{45}$ 、 $P_{100}M_{96}/P_{100}A_{99}$ PIC ミセルの直径は TEM 画像からそれぞれ 17、32、37 nm と観測され、DLS 測定で決定した R_h の 2 倍とほぼ等しかった。

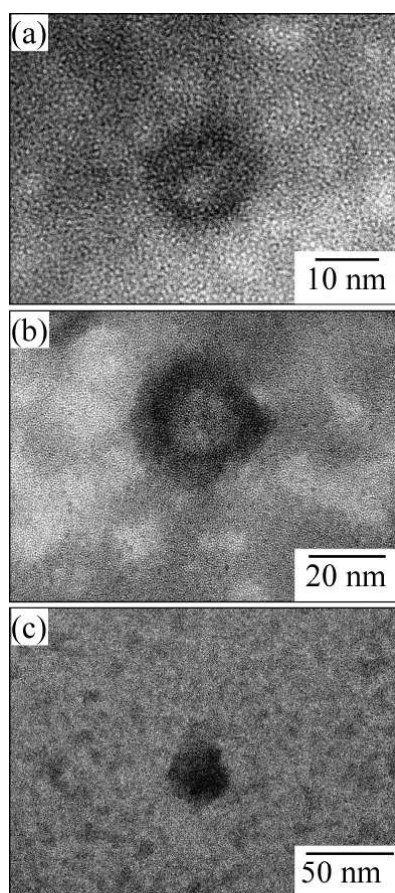


Figure 2.8. Typical examples of TEM images of (a) $P_{100}M_{27}/P_{100}A_{27}$, (b) $P_{100}M_{48}/P_{100}A_{45}$, and (c) $P_{100}M_{96}/P_{100}A_{99}$ PIC micelles.

2.3.6 添加塩の効果

塩の添加で反対電荷をもつブロック間での静電相互作用が遮蔽できるため、PIC ミセルを解離できる[48]。Figure 2.9 に NaCl 濃度 ($[\text{NaCl}]$) に対する $f^+ = 0.5$ での PIC ミセルの R_h を示す。カチオン性とアニオン性ブロックコポリマーのペアを水に溶解し PIC ミセルを調製するために $f^+ = 0.5$ で混合した。さらに $[\text{NaCl}]$ を調節するために所定量の NaCl を添加した。 $[\text{NaCl}]$ が 0.3 M 以下では $\text{P}_{100}\text{M}_{96}/\text{P}_{100}\text{A}_{99}$ PIC ミセルの R_h 値は一定で 18 nm だった。 $\text{P}_{100}\text{M}_{48}/\text{P}_{100}\text{A}_{45}$ PIC ミセルの R_h は $[\text{NaCl}]$ が 0.2 M まで一定で 15 nm だった。さらに $\text{P}_{100}\text{M}_{27}/\text{P}_{100}\text{A}_{27}$ PIC ミセルの R_h は $[\text{NaCl}]$ が 0.1 M まで一定で 9 nm だった。これは NaCl 濃度が低い場合は PIC ミセルの構造が保たれていることを示唆した。一方、 $[\text{NaCl}]$ が 0.8 M 以上で、臨界濃度以上に $[\text{NaCl}]$ を増加すると全てのミセルは R_h が約 3 nm で一定だったことからミセルが完全にユニマー状態に解離したと考えられる。したがって、 $[\text{NaCl}]$ の増加により PIC の静電相互作用が遮蔽され、反対電荷を持つユニマーへ解離した[49, 50]。

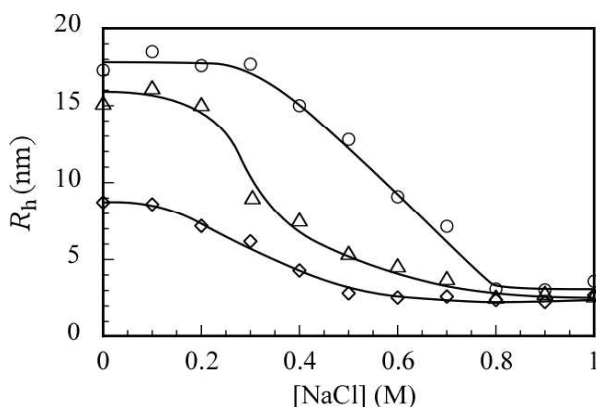


Figure 2.9. Hydrodynamic radius (R_h) for PIC micelles with $f^+ = 0.5$ at $C_p = 1.0$ g/L in 0.1 M NaCl aqueous solutions as a function of sodium chloride concentration ($[\text{NaCl}]$): $\text{P}_{100}\text{M}_{27}/\text{P}_{100}\text{A}_{27}$ (◇), $\text{P}_{100}\text{M}_{48}/\text{P}_{100}\text{A}_{45}$ (△), and $\text{P}_{100}\text{M}_{96}/\text{P}_{100}\text{A}_{99}$ (○).

2.4 結論

ブロック鎖長の制御されたジブロックコポリマーの $\text{PMPC}_{100}\text{-}b\text{-PMAPTAC}_m$ と $\text{PMPC}_{100}\text{-}b\text{-PAMPS}_n$ を PMPC マクロ CTA を用いた RAFT 型制御ラジカル重合で合成した。0.1 M 食塩水中で反対電荷を持つジブロックコポリマーのペアは PIC ミセルを形成した。PIC ミセル中の MAPTAC/AMPS ユニットのモル比である f^+ が 0.5 の時、 $\text{PMPC}_{100}\text{-}b\text{-PMAPTAC}_m$ と $\text{PMPC}_{100}\text{-}b\text{-PAMPS}_n$ からなる PIC ミセルは最大のサイズと散乱光強度を示した。 $^1\text{H NMR}$ で得られた PIC ミセルコアの T_2 値は小さく、PIC コアの運動性が非常に抑制されていた。光散乱と TEM データは PIC ミセルが球形であることを示した。 $\text{P}_{100}\text{M}_{96}/\text{P}_{100}\text{A}_{99}$ PIC ミセルの N_{agg} と R_h は $\text{P}_{100}\text{M}_{27}/\text{P}_{100}\text{A}_{27}$ PIC ミセルよりもかなり大きくなった。また PIC ミセルは NaCl の添加で崩壊してユニマー状態になった。

参考文献

- [1] H. Cui, Z. Chen, S. Zhong, K. L. Wooley, D. J. Pochan, *Science*, **317** (2007) 647-650
- [2] L. Zhang, A. Eisenberg, *Science*, **268** (1995) 1728-1731
- [3] L. Zhang, A. Eisenberg, *J. Am. Chem. Soc.*, **118** (1996) 3168-3181
- [4] K. Kataoka, G. S. Kwon, M. Yokoyama, T. Okano, Y. Sakurai, *J. Controlled Release*, **24** (1993) 119-132
- [5] P. N. Hurter, T. A. Hatton, *Langmuir*, **8** (1992) 1291-1299
- [6] A. S. Michaels, R. G. Miekka, *J. Phys. Chem.*, **65** (1961) 1765-1773
- [7] A. Kudlay, M. O. de la Cruz, *J. Chem. Phys.*, **120** (2004) 404-412
- [8] M. A. Cohen Stuart, N. A. M. Besseling, R. G. Fokkink, *Langmuir*, **14** (1998) 6846-6849
- [9] A. V. Kabanov, T. K. Bronich, V. A. Kabanov, K. Yu, A. Eisenberg, *Macromolecules*, **29** (1996) 6797-6802
- [10] J. F. Gohy, S. K. Varshney, R. Jérôme, *Macromolecules*, **34** (2001) 2745-2747
- [11] K. Kataoka, H. Togawa, A. Harada, K. Yagusi, T. Matsumoto, S. Katayose, *Macromolecules*, **29** (1996) 8556-8557
- [12] A. Harada, K. Kataoka, *Macromolecules*, **31** (1998) 288-294
- [13] A. Harada, K. Kataoka, *Science*, **283** (1999) 65-67
- [14] N. Sanson, F. Bouyer, M. Destarac, M. In, *Langmuir*, **28** (2012) 3773-3782
- [15] S. Lindhoud, W. Norde, M. A. Cohen Stuart, *Langmuir*, **26** (2010) 9802-9808
- [16] M. Oishi, Y. Nagasaki, K. Itaka, N. Nishiyama, K. Kataoka, *J. Am. Chem. Soc.*, **127** (2005) 1624-1625
- [17] W. Kim, Y. Yamasaki, W. D. Jang, K. Kataoka, *Biomacromolecules*, **11** (2010) 1180-1186
- [18] S. Katayose, K. Kataoka, *Bioconjugate Chem.*, **8** (1997) 702-707
- [19] J. Zhang, Y. Zhou, Z. Ge, S. Liu, *Macromolecules*, **41** (2008) 1444-1454
- [20] M. Sotiropoulou, C. Cincu, G. Bokias, G. Staikos, *Polymer*, **45** (2004) 1563-1568
- [21] A. Shovskiy, I. Varga, R. Makuška, P. M. Claesson, *Langmuir*, **25** (2009) 6113-6121
- [22] S. Lindhoud, W. Norde, M. A. C. Stuart, *J. Phys. Chem. B*, **113** (2009) 5431-5439
- [23] I. K. Voets, R. Fokkink, T. Hellweg, S. M. King, P. de Waard, A. de Keizer, M. A. Cohen-Stuart, *Soft Matter*, **5** (2009) 999-1005
- [24] Y. Iwasaki, K. Ishihara, *Sci. Technol. Adv. Mater.*, **13** (2012) 064101
- [25] K. Ishihara, T. Ueda, N. Nakabayasi, *Polym. J.*, **22** (1990) 355-360
- [26] Y. Kakizawa, A. Harada, K. Kataoka, *J. Am. Chem. Soc.*, **121** (1999) 11247-11248
- [27] Y. Mitsukami, M. S. Donovan, A. B. Lowe, C. L. McCormick, *Macromolecules*, **34** (2001) 2248-2256
- [28] S. Yusa, K. Fukuda, T. Yamamoto, K. Ishihara, Y. Morishima, *Biomacromolecules*, **6** (2005) 663-670

- [29] S. Meiboom, D. Gill, *Rev. Sci. Instrum.*, **29** (1958) 688-691
- [30] M. Seki, Y. Morishima, M. Kamachi, *Macromolecules*, **25** (1992) 6540-6546
- [31] M. Piotto, V. Saudek, V. Sklenář, *J. Biomol. NMR*, **2** (1992) 661-665
- [32] O. Söderman, P. Stilbs, W. S. Price, *Concepts Magn. Res. Part A*, **23A** (2004) 121-135
- [33] J. Jakes, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **60** (1995) 1781-1797
- [34] M. H. Stockmayer, M. Schmidt, *Pure Appl. Chem.*, **54** (1982) 407-414
- [35] G. D. J. Phillies, *Anal. Chem.*, **62** (1990) 1049A-1057A
- [36] S. I. Ali, J. P. A. Heuts, A. M. van Herk, *Langmuir*, **26** (2010) 7848-7858
- [37] M. S. Donovan, A. B. Lowe, B. S. Sumerlin, C. L. McCormick, *Macromolecules*, **35** (2002) 4123-4132
- [38] S. Yusa, Y. Konishi, Y. Mitsukami, T. Yamamoto, Y. Morishima, *Polym. J.*, **37** (2005) 480-488
- [39] T. Wu, Q. Wu, S. Guan, H. Su, Z. Cai, *Biomacromolecules*, **8** (2007) 1899-1906
- [40] S. Yusa, Y. Shimada, Y. Mitsukami, T. Yamamoto, Y. Morishima, *Macromolecules*, **36** (2003) 4208-4215
- [41] S. Yusa, Y. Yokoyama, Y. Morishima, *Macromolecules*, **42** (2009) 376-383
- [42] J. R. Quintana, M. D. Jánez, M. Villacampa, I. Katime, *Macromolecules*, **28** (1995) 4139-4143
- [43] M. Villacampa, E. D. Apodaca, J. R. Quintana, I. Katime, *Macromolecules*, **28** (1995) 4144-4149
- [44] R. Xu, M. A. Winnik, F. R. Hallett, G. Riess, M. D. Croucher, *Macromolecules*, **24** (1991) 87-93
- [45] K. Huber, S. Bantle, P. Lutz, W. Buechard, *Macromolecules*, **18** (1985) 1461-1467
- [46] A. Z. Akcasu, C. C. Han, *Macromolecules*, **12** (1979) 276-280
- [47] T. Konishi, T. Yoshizaki, H. Yamakawa, *Macromolecules*, **24** (1991) 5614-5622
- [48] S. De Santis, R. D. Ladogana, M. Diociaiuti, G. Masci, *Macromolecules*, **43** (2010) 1992-2001
- [49] S. V. Solomatin, T. K. Bronich, A. Eisenberg, V. A. Kabanov, A. V. Kabanov, *Langmuir*, **20** (2004) 2066-2068
- [50] J. S. Park, Y. Akiyama, Y. Yamasaki, K. Kataoka, *Langmuir*, **23** (2007) 138-146

第3章 反対電荷を持つジブロックコポリマーにより形成されるリン脂質シェルを有するポリイオンコンプレックスベシクル (PICsome)

3.1 緒言

ブロックコポリマーの自己会合で形成されるポリマーベシクルは中空でナノサイズの球状構造で、化学や生化学マテリアルとして幅広い分野へ応用できる可能性を持つため関心が高まっている。両親媒性ブロックコポリマーの自己会合によりポリマーベシクルを作製するために2つの方法が一般的に用いられている。一つは溶媒交換法[1, 2]で、もう一方は有機溶媒フリー法[3]である。溶媒交換法では、両親媒性ジブロックコポリマーは初め水と交じるジメチルスルホキシド (DMSO) や *N,N*-ジメチルホルムアミド (DMF)、テトラヒドロフラン (THF)、1,4-ジオキサンなどの有機溶媒を用いて均一なポリマー溶液を調製する。その後有機溶媒に水を徐々に加える。親水性ブロック鎖はポリマーベシクルを安定化するためのシェルを形成するが、疎水性ブロックはベシクル膜を形成するために会合する。この方法では、自己会合過程が溶媒の混合比などに強く依存するため、ベシクルのサイズ制御が困難である。さらに透析による精製で残存有機溶媒を除く必要がある。この操作は時間がかかるため経済的にも不利である。さらに、初期ポリマー濃度や有機溶媒の性質、温度、添加物など、多くの因子がポリマー会合体の形態に影響する[4]。水中で、有機溶媒フリー法でポリマーベシクルを形成するためには、ジブロックコポリマーを水に直接溶解する。ブロックコポリマーが完全に水和するためには通常、長い時間と激しい攪拌が必要である。この方法ではサイズの分布が広がる[5, 6]。

近年、片岡と岸村[7]はカチオン性のポリ(エチレングリコール)-ブロック-ポリ((5-アミノプロピル)- α,β -アスパルトアミド) (PEG-P(Asp-AP)) とアニオン性のポリ(エチレングリコール)-ブロック-ポリ(α,β -アスパラギン酸) (PEG-P(Asp)) の反対電荷を持つジブロックコポリマーから形成されるポリイオンコンプレックスベシクル (PICsomes) を報告した。PEG と P(Asp-AP)、PAsp の重合度 (DP) はそれぞれ 45、75、75 だった。PEG-P(Asp-AP) と PEG-PAsp の水溶液をそれぞれ別に調製し、PICsomes を作製するために混合した。PEG は、溶媒親和性と大きな排除体積効果、高い運動性からタンパク質の非特異的な吸着を抑制するため、生体適合性材料の親水部として広く用いられている。したがって PEG-P(Asp-AP) と PEG-PAsp で構成される PICsome は、表面を生体適合性の PEG シェルで囲まれているため、ドラッグデリバリーシステム (DDS) のキャリアとして応用が期待される。PICsome 調製は P(Asp-AP) や PAsp を合成するために、保護や脱保護が必要なため時間のかかる工程を含んでいる。PICsome を形成する反対電荷を持つジブロックコポリマーのペアをビニルモノマーで合成できれば、PICsome は様々なアプリケーションに応用できる。

我々は反対電荷を持つ親水性ジブロックコポリマーのペアとして PEG-ブロック-ポ

リ ((3-メタクリロイルアミノ) プロピルトリメチルアンモニウムクロライド) (PEG-*b*-PMAPTAC) と PEG-ブロック-ポリ (2- (アクリルアミド) -2-メチルプロパン スルホン酸ナトリウム) (PEG-*b*-PAMPS) を PEG のマクロ連鎖移動剤 (CTA) を用いた 可逆的付加-開裂連鎖移動 (RAFT) ラジカル重合で合成した[8]。水中でこれらの反対電 荷を持つジブロックコポリマーの電荷を化学量論的に中和して混合すると PIC ミセル を形成する。さらに、我々は DP=100 のポリ (2- (メタクリロイルオキシ) エチルホス ホリルコリン) (PMPC) マクロ CTA を用いた RAFT 重合で PMPC-*b*-PMAPTAC と PMPC-*b*-PAMPS を合成した[9]。我々は制御された、異なる鎖長の PMAPTAC (DP=27, 48, 96) と PAMPS (DP=27, 45, 99) からなるジブロックコポリマーを合成した。PMPC はホスホリルコリン基内に正と負の電荷を結合したポリアンフォライトであるため生 体適合性を示す[10]。PMPC-*b*-PMAPTAC と PMPC-*b*-PAMPS の水溶液の混合で PIC コア と PMPC シェルからなる単純なコア-シェル PIC ミセルを自発的に形成した。

水中での両親媒性ブロックコポリマーから形成される自己会合体の形状は、親水性と 疎水性ブロックのバランスに影響される。分子集合体の形状は疎水性ブロックの分子量 増加に伴って球状ミセルや紐状ミセル、ベシクルに変化する[11, 12]。我々は前述の研究 で PMPC ブロックの DP が PMAPTAC と PAMPS の DP に比べて長い場合、 PMPC-*b*-PMAPTAC と PMPC-*b*-PAMPS の混合で PIC ミセルが形成することを報告した [9]。そこで本研究では、両親媒性ジブロック共重合体の水中での会合挙動に習い、 PMPC ブロックをイオン性ブロックに比べて極端に短くすることで PICsome を形成す ることを目的とした。DP が 20 量体の鎖長の短い PMPC マクロ CTA を用いた RAFT ラ ジカル重合で反対電荷をもつジブロックコポリマーのペアを得るために、カチオン性の PMAPTAC とアニオン性の PAMPS をそれぞれ重合した。得られたジブロックコポリマ ーは短い鎖長の PMPC ブロックと長い鎖長の電解質ブロック (PMAPTAC もしくは PAMPS) で構成される。電荷をもつブロックの DP は PMPC ブロックの約 10 倍だった。 これらの反対電荷をもつジブロックコポリマーの混合により形成されたポリマーベシ クル (PICsome) を ^1H NMR や光散乱、TEM、蛍光などを用いて調べた。Figure 3.1 に PICsome の構造を示す。水和した PMPC シェルは PMAPTAC と PAMPS ブロックから構 成される PICsome の PIC 膜の外側と内側を覆っている。したがって、PICsome は非電荷 の水溶性ゲスト分子をその中空コア内に取り込めると期待される。

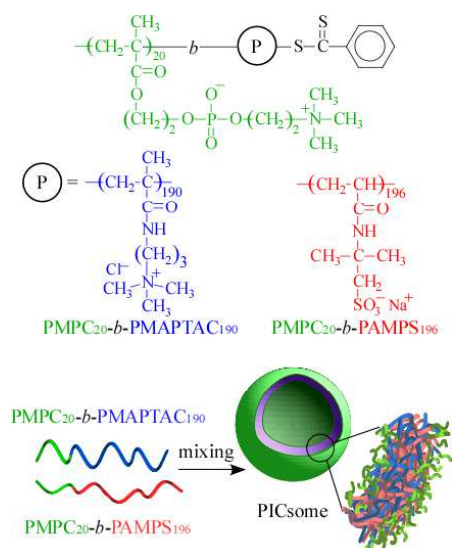


Figure 3.1. (a) Chemical structures of oppositely charged diblock copolymers, $\text{PMPC}_{20}\text{-}b\text{-PMAPTAC}_{190}$ ($\text{P}_{20}\text{M}_{190}$) and $\text{PMPC}_{20}\text{-}b\text{-PAMPS}_{196}$ ($\text{P}_{20}\text{A}_{196}$). (b) Conceptual illustration of a polyion complex vesicle (PICsome) composed of stoichiometric charge neutralized mixture of $\text{P}_{20}\text{M}_{190}$ and $\text{P}_{20}\text{A}_{196}$.

3.2 実験

3.2.1 試薬

2-(メタクリロイルオキシ)エチルホスホリルコリン (MPC) は合成し、アセトニトリルで再結晶した[13]。4-シアノペンタン酸ジチオベンゾエート (CPD) は McCormick 等の報告にしたがって合成した[14]。メタノールは 4 Å のモレキュラーシーブスで乾燥した後蒸留した。PBS タブレット (シグマアルドリッチ) はタブレット一つにつき 200 mL の純水に溶解した。(3-(メタクリルアミノ)プロピル)トリメチルアンモニウムクロライド (MAPTAC, 96%)、2-(アクリルアミド)-2-メチルプロパンスルホン酸 (AMPS, 95%)、4,4'-アゾビス(4-シアノペンタン酸) (V-501, 98%) は和光純薬工業から、テキサスレッドでラベル化されたデキストラン (Dex, $M_w = 70000$, 中性) はライフテクノロジーズから購入しそのまま使用した。水はイオン交換カラムシステムで精製した。その他の試薬は購入したまま使用した。

3.2.2 PMPC の作製

PMPC マクロ連鎖移動剤 (PMPC マクロ CTA) は報告された方法にしたがって合成した[15]。MPC (6.03 g, 20.4 mmol) を 38.8 mL のメタノールと水の混合溶媒 (7/5, v/v) に溶解し、CPD (423 mg, 1.38 mmol) と V-501 (48.0 mg, 0.171 mmol) を溶液に加えた。その溶液を Ar ガスで 30 分間脱気した。重合は 70 °C で 6 時間行った。反応溶液を純水に対して 2 日間透析した。その後凍結乾燥で PMPC を回収した (6.05 g, 93.8%)。数平均

分子量 (M_n (NMR)) と重合度 (DP) を ^1H NMR から、分子量分布 (M_w/M_n) をゲルろ過クロマトグラフィー (GPC) で算出するとそれぞれ、 6.21×10^3 と 20、1.03 だった。

3.2.3 PMPC₂₀-*b*-PMAPTAC₁₉₀ (P₂₀M₁₉₀) の合成

PMPC マクロ CTA (345 mg, 56.6 μmol , M_n (NMR) = 6.21×10^3 , M_w/M_n = 1.03) と MAPTAC (2.50 g, 11.3 mmol)、V-501 (7.90 mg, 28.2 μmol) を 22.6 mL の水に溶解した。溶液を Ar ガスで 30 分間脱気した。ブロック共重合は 70 °C で 6 時間行った。ジブロックコポリマーを 2 日間水に対して透析した。カチオン性ジブロックコポリマー (P₂₀M₁₉₀) を凍結乾燥で回収した (2.46 g, 85.9%, M_n (NMR) = 4.95×10^4 , M_w/M_n = 1.05)。

重合時間とコンバージョンの関係を調べるため、PMPC マクロ CTA (70.7 mg, 11.4 μmol) と MAPTAC (500 mg, 2.27 mmol)、V-501 (2.60 mg, 9.28 μmol) を 4.53 mL の D₂O に溶解した。このストック溶液を NMR チューブに移し、30 分間 Ar ガスで脱気した。その後蓋をし、溶液を 70 °C で様々な時間加熱した。コンバージョンを 5.4 と 5.7 ppm の MAPTAC 由来のビニルプロトンと 3.7 ppm の PMPC マクロ CTA の側鎖のメチレンプロトンのピークの積分強度比から算出した。

3.2.4 PMPC₂₀-*b*-PAMPS₁₉₆ (P₂₀A₁₉₆) の合成

AMPS (2.00 g, 9.67 mmol) を水に溶解した後 1 M NaOH 水溶液で中和した。最終的な水の量は 9.65 mL だった。この溶液に PMPC マクロ CTA (300 mg, 48.3 μmol , M_n (NMR) = 6.21×10^3 , M_w/M_n = 1.03) と V-501 (10.7 mg, 38.2 μmol) を加えた。その後 30 分間 Ar ガスで脱気し、70 °C で 3 時間ブロック共重合を行った。ジブロックコポリマーは 2 日間水に対して透析した。アニオン性ジブロックコポリマー (P₂₀A₁₉₆) を凍結乾燥で回収した (2.25 g, 97.0%, M_n (NMR) = 4.85×10^4 , M_w/M_n = 1.07)。

重合時間とコンバージョンの関係を確認するために、AMPS (1.00 g, 4.83 mmol) を 4.80 mL の 1 M NaOD 溶液で中和した。その後 PMPC マクロ CTA (150 mg, 24.1 μmol) と V-501 (5.60 mg, 20.0 μmol) を先ほどの溶液に加えた。ストック溶液を NMR チューブに移してそれぞれ 30 分間 Ar ガスで脱気した。その後蓋をして、溶液を 70 °C で様々な時間加熱した。コンバージョンを 5.7 と 6.2 ppm の AMPS 由来のビニルプロトンと 3.7 ppm の PMPC マクロ CTA の側鎖のメチレンプロトンのピークの積分強度比から算出した。

3.2.5 ポリオンコンプレックスベシクル (PICsome) の作製

P₂₀M₁₉₀ と P₂₀A₁₉₆ を水、もしくは食塩水にそれぞれ別々にポリマー濃度 (C_p) が 0.5 g/L となるように溶解し、室温で一晩静置した。PIC ベシクル (PICsome) 作製のために P₂₀M₁₉₀ 溶液を攪拌しながら P₂₀A₁₉₆ 溶液に対して室温で滴下し、混合溶液を測定前に少なくとも 1 時間は静置した。二つのジブロックコポリマーの溶液の混合比は正電荷ユ

ニットのモル分率 ($f^+ = [\text{MAPTAC}] / ([\text{AMPS}] + [\text{MAPTAC}])$) で表し、 $f^+ = 0.5$ で完全に溶液中のイオン性ブロックの電荷が中和される。

3.2.6 透析によるポリイオンコンプレックスベシクル (PICsome) の作製

$\text{P}_{20}\text{M}_{190}$ と $\text{P}_{20}\text{A}_{196}$ を 1.5 M の食塩水にそれぞれ別に $C_p = 0.5 \text{ g/L}$ で溶解した。その後 $f^+ = 0.5$ となるように $\text{P}_{20}\text{M}_{190}$ と $\text{P}_{20}\text{A}_{196}$ を攪拌しながら混合し、溶液を平衡化するために室温で一晩放置した。この混合溶液 10 mL を分限分子量が 14000 Da の透析膜に加えた。混合溶液の入った透析膜を 400 mL の純水に対して 2 日透析した。透析の水は 12 時間ごとに新たな水に交換した。2 日後に透析膜内の溶液を回収して、溶液の重量を測定することで最終的なポリマー濃度を算出した ($C_p = 0.418 \text{ g/L}$)。

3.2.7 テキサスレッドでラベル化されたデキストラン (Dex) の取り込み

4 mL の PBS バッファーに Dex (0.040 mg, $5.71 \times 10^{-10} \text{ mol}$) を溶解した。 $\text{P}_{20}\text{M}_{190}$ ($C_p = 0.5 \text{ g/L}$) と $\text{P}_{20}\text{A}_{196}$ ($C_p = 0.5 \text{ g/L}$) を Dex を溶解した PBS バッファーでそれぞれ別々に溶解し、それぞれの溶液を室温で一晩放置した。PICsome 内に Dex を取り込ませるために $\text{P}_{20}\text{M}_{190}$ 溶液を $\text{P}_{20}\text{A}_{196}$ 溶液に対して攪拌しながら加えた。 f^+ は 0.5 で固定した。PICsome 溶液 (4 mL) を 100 nm のポアサイズのポリカーボネート製の透析膜 (ハーバードアパレイタス) を備えたダイヤライザー内に加えて、PICsome の中空コア内に取り込まれていないフリーの Dex を除くために 18 時間 PBS バッファーに対して透析した。透析後、ダイヤライザー内の PBS バッファーの蛍光を測定した。対照実験として、PICsome 非存在下で同様に透析した Dex の PBS バッファー溶液の蛍光を測定した。PICsome 内に取り込まれた Dex の重量は検量線を用いて算出した。Dex の取り込み効率 (LE) と取り込み容量 (LC) はそれぞれ以下に示す式を用いて算出した。

$$\text{LE} (\%) = \frac{\text{Weight of encapsulated Dex}}{\text{Weight of total Dex}} \times 100 \quad (3.1)$$

$$\text{LC} (\%) = \frac{\text{Weight of encapsulated Dex}}{\text{Weight of polymer}} \times 100 \quad (3.2)$$

3.2.8 測定

カチオン性ポリマーの GPC 測定は 40 °C で Jasco RI-2031 Plus 屈折率 (RI) 検出器を備えた Jasco PU-8020 ポンプと Shodex Ohpak SB-804 HQ カラム (排除限界, $\sim 10^7$) を用いて 0.6 mL/min の溶出速度で行った。0.5 M の酢酸を含む 0.3 M の Na_2SO_4 水溶液を展開溶媒として用いた。カチオン性ポリマーの $M_n(\text{GPC})$ と M_w/M_n は標準ポリ (2-ビニルピリジン) で校正した。アニオン性ポリマーの GPC 測定は 40 °C で Tosoh RI-8020 屈折率

計を備えた 7.0 μm のビーズサイズの Shodex GF-7 M HQ カラム (排除限界, $\sim 10^7$) を用いて 0.6 mL/min の溶出速度で行った。10 vol% のアセトニトリルを含むリン酸バッファー (pH 9) を展開溶媒に用いた。アニオン性ポリマーの M_n (GPC) と M_w/M_n は標準ポリスチレンスルホン酸ナトリウムで校正した。

^1H NMR スペクトルは 20 $^\circ\text{C}$ で 500.13 MHz の Bruker DRX-500 で測定した。 ^1H NMR 測定用ポリマーのサンプル溶液は 0.1 M の NaCl を含む D_2O で $C_p = 0.5$ g/L に調製した。 ^1H NMR のスピン-スピン緩和時間 (T_2) は Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG) パルスシーケンスを用いて測定した[16, 17]。 T_2 測定のために、 D_2O 溶液を含む NMR チューブを Ar ガスで 30 分間脱気した。13.85 μs の 90° パルスを用いて測定した。エコーピーク強度を 12 の異なる 180° パルス値で測定した。プロトンスピン-格子緩和時間 (T_1) は反転-回復シーケンス ($180^\circ - t_r - 90^\circ$) を用い、回復時間 (t_r) を 50 ms から 10 s の間に 12 点測定した。

光散乱測定は 25 $^\circ\text{C}$ でマルチ- τ デジタルタイムコレレーター (ALV-5000) を備えた大塚電子 DLS7000HL 光散乱測定装置を用いて行った。光源として He-Ne レーザー (10.0 mW at 632.8 nm) を用いた。光散乱測定のサンプル溶液は 0.45 μm のポアサイズのフィルターでろ過した。静的光散乱 (SLS) 測定は、重量平均分子量 (M_w)、回転二乗半径 (R_g)、第二ビリアル係数 (A_2) が以下の関係式から算出される。

$$\frac{KC_p}{R_\theta} = \frac{1}{M_w} \left(1 + \frac{1}{3} R_g^2 q^2 \right) + 2A_2 C_p \quad (3.3)$$

ここでは R_θ は溶液と溶媒のレイリー比の差、 $K = 4\pi^2 n^2 (\text{dn}/\text{d}C_p)^2 / N_A \lambda^4$ 、 $\text{dn}/\text{d}C_p$ はポリマー濃度 (C_p) に対する屈折率増分、 N_A はアボガドロ数である。散乱ベクトルの大きさである q は $q = (4\pi n/\lambda) \sin(\theta/2)$ で算出され、 n は溶媒の RI、 λ は光源の波長 (= 632.8 nm)、 θ は散乱角である。Zimm プロットから M_w 、 R_g 、 A_2 を算出した。レイリー比が既知のトルエンで装置を校正した。633 nm の $\text{dn}/\text{d}C_p$ は 25 $^\circ\text{C}$ で大塚電子 DRM-3000 示差屈折率計で決定した。DLS 測定は緩和時間 (τ) 分布を得るために、REPES アルゴリズムを用いて逆ラプラス変換解析を行った[18-20]。減衰速度 ($\Gamma = \tau^{-1}$) は θ の関数である[21]。拡散係数 (D) は $D = (\Gamma/q^2)_{q \rightarrow 0}$ から計算した。流体力学的半径 (R_h) はアインシュタイン-ストークスの式 ($R_h = k_B T / (6\pi\eta D)$) から得た。ここで k_B はボルツマン定数、 T は絶対温度、 η は溶媒の粘度である。

ζ 電位は He-Ne レーザー光源 (4 mW at 632.8 nm) を備えた Malvern Zetasizer Nano-ZS ZEN3600 を用いて 25 $^\circ\text{C}$ で測定した。 ζ 電位はスモルコフスキーの関係式 $\zeta = \eta\mu/\epsilon(\kappa a \gg 1)$ を用いて電気移動度 (μ) から算出した。ここで ϵ は溶媒の誘電率、 κ と a はそれぞれ Debye-Hückel パラメーターと粒子の半径である[22]。

TEM 観察は 200 kV の加速電圧で JEOL JEM-2100 で行った。TEM のサンプルはフォ

ルムバー薄膜がコートされた銅グリッド上に水溶液を一滴滴下して、余分な水をろしで吸い取って調製した。サンプルをリンタングステン酸ナトリウムで染色し、一日減圧下で乾燥した。

蛍光スペクトルは日立 F-2500 蛍光分光計を用いて測定した。Dex の蛍光スペクトルは 550 nm を励起して測定した。励起側と蛍光側のスリット幅はそれぞれ 10 nm で固定した。

AFM 観察は JPK Nano Wizard 3 顕微鏡で行った。PICsome のサンプルをマイカ表面上に滴下した。過剰の水をろ紙を用いて吸い取り、25 °C で 10 分間乾燥した。測定はシリコン AFM プローブ (バネ定数 $k = 42$ N/m、共振周波数 約 300 kHz、チップ径 < 10 nm) で OMCLAC 160 TN-W2 カンチレバーを用いたタッピングモードで行った。高さやサイズの情報は JPK データプロセッシングソフトウェアで解析した。

3.3 結果と考察

反対電荷を持つジブロックコポリマーの $P_{20}M_{190}$ と $P_{20}A_{196}$ を得るために DP = 20 の PMPC マクロ CTA を用いた RAFT ラジカル重合を行った。Figure 3.2 に Ar 雰囲気下で PMPC マクロ CTA 存在下での MAPTAC と AMPS のブロック共重合における時間とコンバージョンの関係と、一次反応速度プロットを示した。モノマーの消費量は各重合時間の ^1H NMR から算出したそれぞれのモノマーのビニルプロトンの積分強度の減少から求めた。MAPTAC と AMPS のコンバージョンはそれぞれ 170 分で 93 %、70 分で 95 % に達した。MAPTAC と AMPS の重合における初期段階での一次反応プロットはほぼ直線だったため成長ラジカル濃度は一定だった。

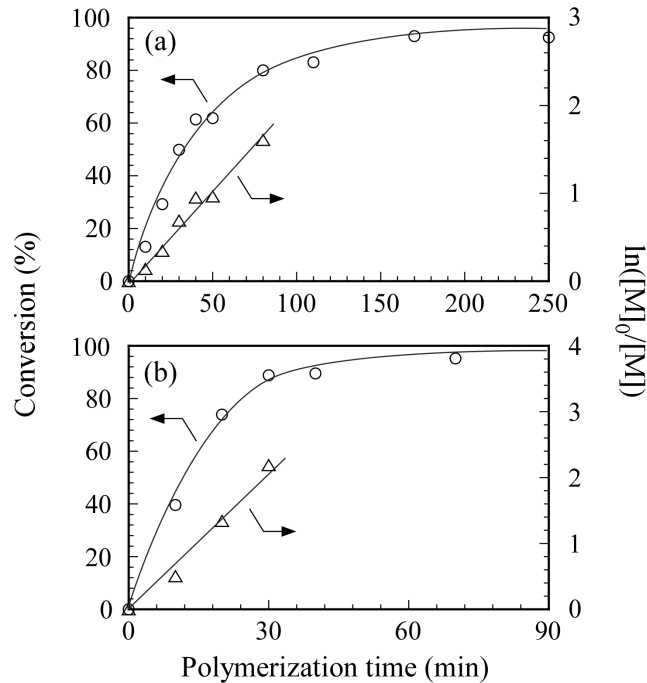


Figure 3.2. Time-conversion (○) and the first-order kinetic plots (△) for the polymerization of (a) MAPTAC and (b) AMPS in the presence of PMPC macro-CTA in D₂O at 70 °C under an Ar atmosphere. [M]₀ and [M] are the concentrations of the monomer at polymerization time = 0 and corresponding time, respectively.

Figure 3.3 に PMPC と P₂₀M₁₉₀、P₂₀A₁₉₆ の GPC 溶出曲線を示す。P₂₀M₁₉₀ と P₂₀A₁₉₆ の GPC の保持時間は PMPC の保持時間よりも短くなったため、高分子量のポリマーが得られた。PMPC と P₂₀M₁₉₀、P₂₀A₁₉₆ の分子特性を Table 3.1 にまとめた。数平均分子量の理論値 ($M_n(\text{theo})$) は以下の式で算出した。

$$M_n(\text{theo}) = \frac{[M]_0}{[CTA]_0} x_m M_m + M_{CTA} \quad (3.4)$$

ここで [M]₀ は初期モノマー濃度、[CTA]₀ は初期の PMPC マクロ CTA の濃度、 x_m はモノマーのコンバージョン、 M_m はモノマーの分子量、 M_{CTA} は PMPC マクロ CTA の分子量である。PMPC の $M_n(\text{NMR})$ と $M_n(\text{GPC})$ は $M_n(\text{theo})$ に近く、分子量分布 (M_w/M_n) は 1.03 で狭かったため重合がリビング的に進行したことを示唆する。P₂₀M₁₉₀ と P₂₀A₁₉₆ の $M_n(\text{GPC})$ は $M_n(\text{theo})$ と著しくずれていた。これは GPC によって算出される $M_n(\text{GPC})$ 値が見かけの値で、GPC データを校正するための標準サンプルとしてポリ(2-ビニルピリジン) とポリ(スチレンスルホン酸ナトリウム) を用いたことによる誤差だと考えられる。一方、¹H NMR 測定から算出した P₂₀M₁₉₀ と P₂₀A₁₉₆ の $M_n(\text{NMR})$ はそれぞれ 4.95×10^4

と 4.85×10^4 だったため、 $P_{20}M_{190}$ と $P_{20}A_{196}$ の $M_n(\text{theo})$ である 4.82×10^4 と 4.68×10^4 にほぼ一致した。

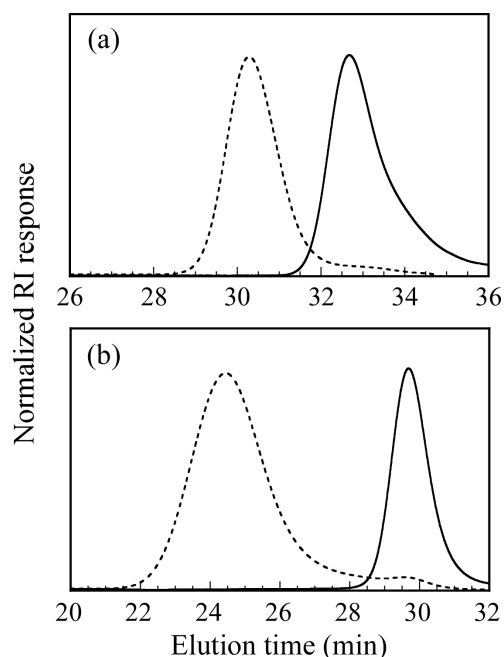


Figure 3.3. GPC elution curves for (a) PMPC (—) and $P_{20}M_{190}$ (----) using a 0.3-M Na_2SO_4 aqueous solution containing a 0.5-M acetic acid as eluent and (b) PMPC (—) and $P_{20}A_{196}$ (----) using phosphate buffer (50 mM, pH 9) containing 10 vol % acetonitrile as eluent at 40 °C detected by refractive index (RI).

Table 3.1. Number-average Molecular Weight (M_n), Number-average Degree of Polymerization (DP), and Molecular Weight Distribution (M_w/M_n)

Sample	$M_n(\text{theo})^a$ $\times 10^4$	$M_n(\text{NMR})$ $\times 10^4$	DP (NMR)	$M_n(\text{GPC})$ $\times 10^4$	M_w/M_n
PMPC	0.613	0.621	20	0.735 ^b	1.03 ^b
$P_{20}M_{190}$	4.82	4.95	190	2.40 ^c	1.05 ^c
$P_{20}A_{196}$	4.68	4.85	196	2.77 ^b	1.07 ^b

^aCalculated from eq (2). ^bEstimated from GPC using phosphate buffer (50 mM, pH 9) containing 10 vol % acetonitrile as eluent. ^cEstimated from GPC using a 0.3-M Na_2SO_4 aqueous solution containing a 0.5-M acetic acid as eluent.

Figure 3.4a と b に $P_{20}M_{190}$ と $P_{20}A_{196}$ の ^1H NMR スペクトルを示す。Figure 3.4a の 0.8-1.2 ppm と 1.8 ppm に観測された共鳴ピークはそれぞれ α -メチルプロトンと主鎖のメチレンプロトンに帰属された。 $P_{20}M_{190}$ の PMAPTAC ブロックの DP と $M_n(\text{NMR})$ 値は、3.1 ppm 付近の PMAPTAC ブロック側鎖のメチレンプロトンと 3.7 ppm の PMPC ブロック側鎖の共鳴ピークの積分強度比からそれぞれ 190、 4.95×10^4 だった。また Figure 3.4b から

$P_{20}A_{196}$ の 1.2-2.2 ppm に観測された共鳴ピークは、PAMPS ブロックの主鎖のメチレンプロトンと側鎖のメチルプロトンが重なっている。 $P_{20}A_{196}$ の PAMPS ブロックの DP と M_n (NMR)値は 3.3 ppm 付近の PAMPS ブロック側鎖のメチレンプロトンと 3.7 ppm の PMPC ブロック側鎖の共鳴ピークの積分強度比からそれぞれ 196、 4.85×10^4 だった

Figure 3.4c は 0.1 M NaCl を含む D_2O 中で $P_{20}M_{190}$ と $P_{20}A_{196}$ からなる $f^+ = 0.5$ のポリオンコンプレックスベシクル (PICsome) の 1H NMR スペクトルを示す。Figure 3.4c から PMAPTAC と PAMPS ブロックに関する共鳴ピークの積分強度が PMPC ブロックに比べて著しく弱くなった。これは PMAPTAC と PAMPS ブロックの静電相互作用で PIC が形成されるため、運動性が強く抑制されていることを示唆する。一方、PMPC 鎖の運動性は PMAPTAC と PAMPS 鎖に比べて高いため、PMPC 鎖が PIC を覆っているシェルを形成していると考えられる。

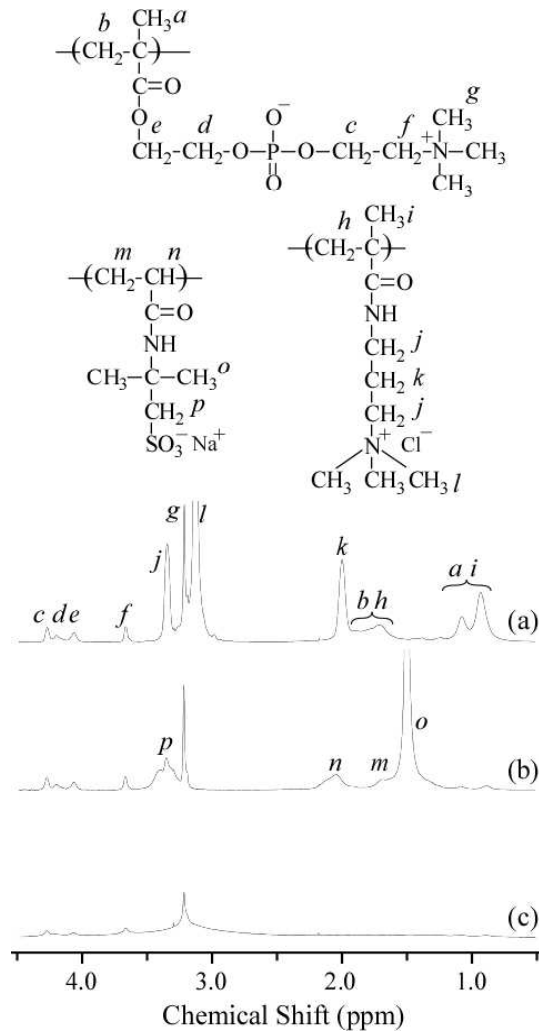


Figure 3.4. 1H NMR spectra for (a) $P_{20}M_{190}$, (b) $P_{20}A_{196}$, and (c) PICsome composed of $P_{20}M_{190}$ and $P_{20}A_{196}$ with $f^+ = 0.5$ at $C_p = 0.5$ g/L in 0.1 M NaCl-containing D_2O . Assignments are indicated for the resonance peaks.

PICsome を形成した時の、ジブロックコポリマーの運動性の抑制についてさらに情報を得るために、0.1 M NaCl を含む D₂O 中での P₂₀M₁₉₀ と P₂₀A₁₉₆ および $f^* = 0.5$ の PICsome の ¹H NMR のスピン-スピン緩和時間 (T_2) を測定した。 T_2 値は分子の運動性の減少により減少する[23, 24]。Table 3.2 にそれぞれユニマー状態と PICsome の 3.2、3.1、1.5 ppm に帰属される PMPC と PMAPTAC および PAMPS ブロックの側鎖のメチルプロトンの T_2 をまとめた。ユニマー状態での P₂₀M₁₉₀ と P₂₀A₁₉₆ の PMAPTAC 由来の 3.1 ppm および PAMPS 由来の 1.5 ppm の T_2 値はそれぞれ 98.6 と 26.4 ms だった。PICsome を形成すると、PMAPTAC と PAMPS ブロックのピークが T_2 値を算出できないほど小さくなった。このピーク強度の減少は PICsome 中の電荷をもつブロックの運動性が低いことを示唆する。ユニマー状態の P₂₀M₁₉₀ と P₂₀A₁₉₆ の PMPC ブロックの 3.2 ppm のメチルプロトンの T_2 値はそれぞれ 127 と 123 ms だった。PICsome を形成すると、電荷をもつブロックの T_2 と対照的に PMPC ブロックの T_2 は観測できたが 5.5 ms と小さかった。PICsome のシェルを形成すると考えられる PMPC ブロックは側鎖のホスホリルコリン基が単独ポリマー鎖内で電荷が中和されている。しかしながら、 T_2 のデータから PMPC シェルの運動性は抑制されていた。これは PMPC ブロック鎖長が DP = 20 と短く、コアとシェルの界面の PMPC シェルが、運動性が極端に抑制された PIC 会合体を構成する PMAPTAC と PAMPS ブロックに強い影響を受けたと考えられる。

Table 3.2. Spin-spin Relaxation Time (T_2) for Protons in the PMPC, PMAPTAC, and PAMPS Blocks in 0.1 M NaCl-containing D₂O

Sample	3.2 ppm ^a (ms)	3.1 ppm ^b (ms)	1.5 ppm ^c (ms)
P ₂₀ M ₁₉₀ ^d	127	98.6	-
P ₂₀ A ₁₉₆ ^d	123	-	26.4
PICsome ^e	5.5	ND ^f	ND ^f

^aPMPC pendent methyl protons. ^bPMAPTAC pendent methyl protons. ^cPAMPS pendent methyl protons. ^dFree polymer in unimer state. ^ePICsome composed of P₂₀M₁₉₀ and P₂₀A₁₉₆ with $f^* = 0.5$. ^f T_2 cannot be determined because of low peak intensity.

Figure 3.5a に散乱角 (θ) = 90° での P₂₀M₁₉₀ と P₂₀A₁₉₆ および $C_p = 0.5$ の P₂₀M₁₉₀ と P₂₀A₁₉₆ で作製された $f^* = 0.5$ の PICsome の R_h の分布を示す。すべての R_h の分布はユニモーダルだった。P₂₀M₁₉₀ と P₂₀A₁₉₆、PICsome の R_h はそれぞれ 4.3、4.4、78.0 nm だった。4.3、4.4 nm の R_h 範囲はこれらのブロックコポリマーがユニマー状態であることを表す。P₂₀M₁₉₀ と P₂₀A₁₉₆ の伸びきり鎖長の末端間距離はそれぞれ 52.5 と 54.0 nm だった。 R_h 値が 78.0 nm の PICsome は、P₂₀M₁₉₀ と P₂₀A₁₉₆ の伸びきり鎖長よりも大きかった。これら

の結果は PICsome の形状は単純なコア-シェル型の球状ミセルではないことを示唆する。 $P_{20}M_{190}$ と $P_{20}A_{196}$ の混合溶液中で化学量論的に電荷を中和することによって、大きな凝集体もしくはベシクルが形成されたと考えられる。減衰速度 (Γ) を散乱ベクトルの二乗 (q^2) に対して Figure 3.5b にプロットした。原点を通る直線関係は、すべての緩和モードが均一拡散モードであることを示す[25]。

PICsome のサイズ安定性を確認するために、様々な静置時間での PICsome 溶液の R_h を測定した。PICsome の R_h は 150 時間まで時間に依存せずほとんど一定だったことから、PICsome の構造は時間に依存せず安定だった。

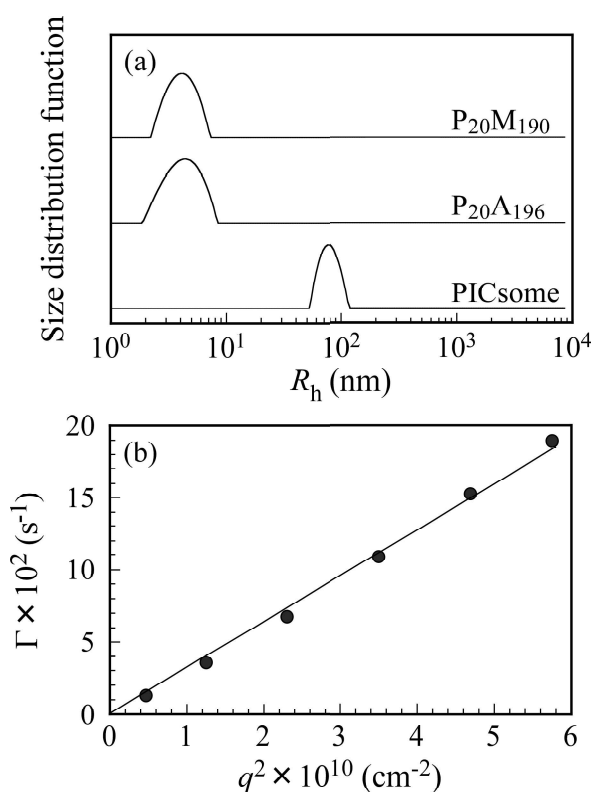


Figure 3.5. (a) Hydrodynamic radius (R_h) distributions for $P_{20}M_{190}$, $P_{20}A_{196}$, and PICsome with $f^+ = 0.5$ in 0.1M NaCl aqueous solutions at $C_p = 0.5$ g/L and at scattering angle (θ) = 90°. (b) Relationship between the relaxation rate (Γ) and square of the magnitude of the scattering vector (q^2) for PICsome with $f^+ = 0.5$ at $C_p = 0.5$ g/L.

さらに PICsome の特性を評価するために、 θ を 30 から 130°まで 20°間隔で増加して SLS 測定を行った。0.1 M NaCl 水溶液中での $P_{20}M_{190}$ と $P_{20}A_{196}$ 、PICsome の示差屈折率増分 (dn/dC_p) は別に測定した。また Figure 3.6 に $P_{20}M_{190}$ と $P_{20}A_{196}$ および PICsome の Zimm プロットを示す。見かけの重量平均分子量 ($M_w(\text{SLS})$) と R_g と A_2 は Zimm プロットから算出した。一つの PICsome を形成するポリマーの数である会合数 (N_{agg}) は PICsome の $M_w(\text{SLS})$ をユニマーの $M_w(\text{SLS})$ で割ることで算出した。PICsome の構造を

DLS と SLS を組み合わせることで計算できる R_g/R_h 比から評価した。P₂₀M₁₉₀ と P₂₀A₁₉₆ および PICsome の密度 (d) は以下の式で計算できる。

$$d = \frac{M_w(\text{SLS})}{N_A \times V} \quad (3.5)$$

ここで、 $4/3\pi R_h^3$ で計算できる V はポリマーもしくは PICsome の体積を示す。P₂₀M₁₉₀ と P₂₀A₁₉₆、PICsome の $M_w(\text{SLS})$ 、 N_{agg} 、 R_g 、 R_h 、 R_g/R_h 、 A_2 、 dn/dC_p 、 d を Table 3.3 にまとめた。P₂₀M₁₉₀ と P₂₀A₁₉₆ の $M_w(\text{SLS})$ は Table 3.1 にまとめた $M_n(\text{theo})$ と $M_n(\text{NMR})$ 値に近かった。SLS から算出した PICsome の $M_w(\text{SLS})$ は 4.50×10^8 だった。また PICsome の N_{agg} は 7770 だった。 R_g/R_h 比は粒子形態や粒子の密度や分布を表すパラメーターである[26, 27]。 R_g/R_h 比は 0.775 で剛体球、1.0 付近でベシクルなどの球状となる。内部運動モードが存在しないとすると広い分布をもつ大きな分子は R_h よりも R_g が寄与するため、 R_g/R_h の増加に伴い密度が低く多分散となる[28]。PICsome の R_g/R_h は PIC 膜の密度や厚みに依存することで 1.0 よりも大きくなる[29]。PICsome の R_g/R_h は 1.12 でこれまで報告された値に近かったため、我々は PICsome はベシクルと結論付けた[30]。PICsome の A_2 値は P₂₀M₁₉₀ と P₂₀A₁₉₆ よりも小さくなったため、ユニマーに比べて 0.1 M NaCl 水溶液中への PICsome の溶解性は減少した。P₂₀M₁₉₀ と P₂₀A₁₉₆ および PICsome の d 値はそれぞれ 0.286、0.273、0.376 g/cm³ だった。PICsome の d 値はユニマーの P₂₀M₁₉₀ と P₂₀A₁₉₆ に比べてわずかに大きくなったため、PICsome 中のポリマー鎖はユニマーより密にパッキングされたことを示唆した。P₂₀M₁₉₀ と P₂₀A₁₉₆ のポリマー鎖は 0.1 M NaCl 水溶液中で側鎖のイオン性基の静電反発で伸びきるため、P₂₀M₁₉₀ と P₂₀A₁₉₆ の R_g/R_h は大きくなった。反対に、PICsome のベシクル膜はコンパクトで緻密なコンフォーメーションだった。

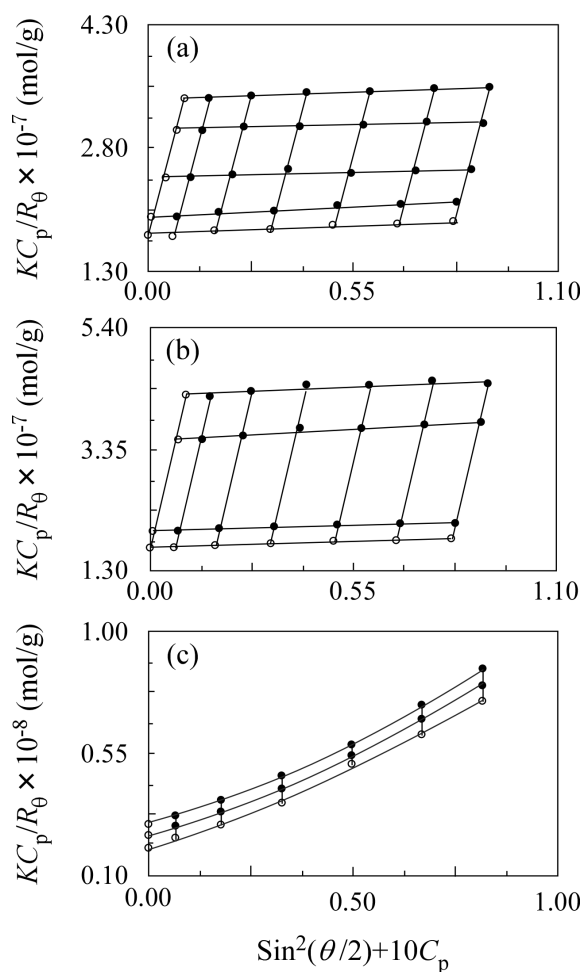


Figure 3.6. Typical examples of Zimm plots for (a) P₂₀M₁₉₀, (b) P₂₀A₁₉₆, and (c) PICsome with $f^+ = 0.5$ in 0.1 M NaCl aqueous solutions at 25 °C.

Table 3.3. Dynamic and Static Light Scattering Data for P₂₀M₁₉₀, P₂₀A₁₉₆, and PICsome

Sample	$M_w(\text{SLS})^a$ $\times 10^{-4}$	N_{agg}^b	R_g^c (nm)	R_h^d (nm)	R_g/R_h	A_2^e ($\text{cm}^3 \text{mol}/\text{g}^2$) $\times 10^4$	dn/dC_p^f (mL/g)	d^g (g/cm^3)
P ₂₀ M ₁₉₀	5.73	1	22.2	4.3	5.14	8.13	0.166	0.286
P ₂₀ A ₁₉₆	5.86	1	21.1	4.4	4.83	12.4	0.141	0.273
PICsome ^h	45000	7770	87.0	78.0	1.12	2.34	0.161	0.376

^aApparent weight-average molecular weight estimated from SLS. ^bAggregation number of PICsome calculated by dividing $M_w(\text{SLS})$ by that of unimers. ^cRadius of gyration estimated from SLS. ^dHydrodynamic radius estimated from DLS. ^eThe second virial coefficient estimated from SLS. ^fRefractive index increment. ^gDensity of polymers and PICsome calculated from eq (3.5). ^hPICsome composed of P₂₀M₁₉₀ and P₂₀A₁₉₆ with $f^+ = 0.5$.

PICsome の構造を TEM 観察でさらに確認し、Figure 3.7 に示した。PICsome は球状で中空のベシクル構造がはっきりと観察できた。したがって会合に無関係な PMPC ブロックの DP を会合性ブロックの反対電荷を持つイオン性ブロックの DP に比べて極端に短くすることで、両親媒性ブロックの水中での自己会合挙動[11, 12]と同様にミセル[9]からベシクルに調製できた。TEM 測定で確認されたベシクル構造はサンプル調製時の乾燥過程で縮む可能性がある。TEM 画像から PICsome の直径は 116 から 260 nm で平均は 171 nm だった。この値は散乱光から得られたデータに近かった。また AFM から得られた高さ画像を Figure 3.8 に示す。PICsome は球状構造であることが確認できた。AFM 画像から PICsome の高さは約 100 nm だった。

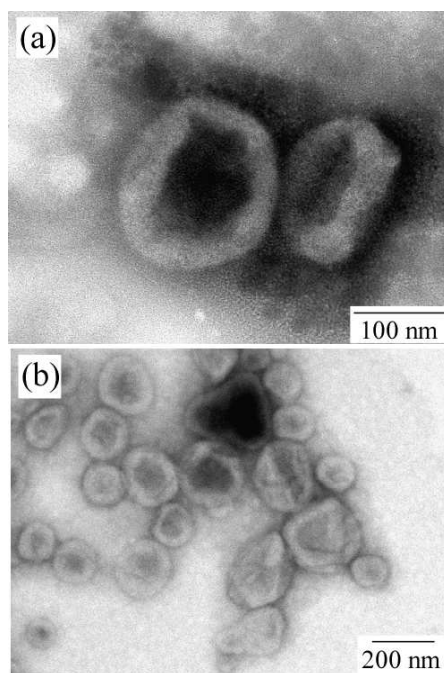


Figure 3.7. TEM images for PICsome composed of $P_{20}M_{190}$ and $P_{20}A_{196}$ with $f^+ = 0.5$. The scale bars are (a) 100 and (b) 200 nm.

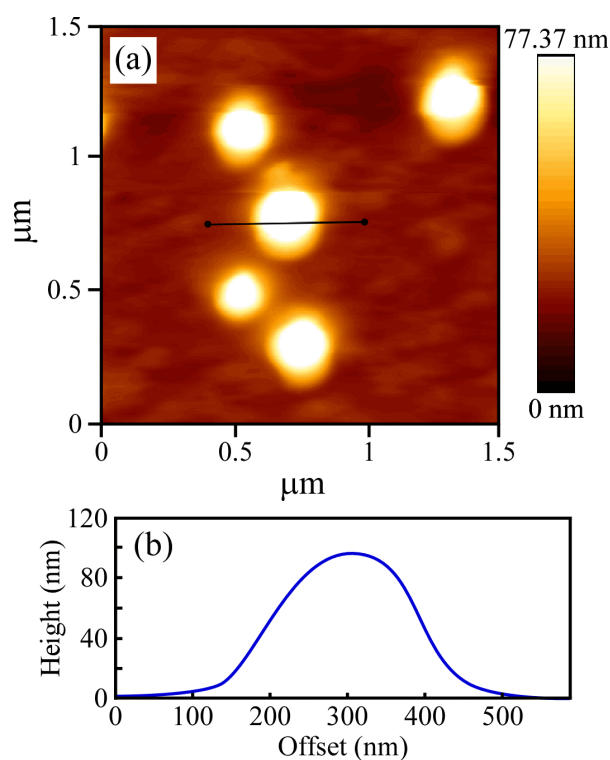


Figure 3.8. (a) AFM height image and (b) corresponding height cross section for PICsome with $f^* = 0.5$.

Figure 3.9a に 0.1 M NaCl 水溶液中での f^* に対する PICsome の R_h と散乱光強度を示す。本実験で、溶液中のポリマー濃度 (C_p) は 0.5 g/L に固定した。最大の R_h 値は $f^* = 0.5$ で観測された。散乱光強度は粒子の分子量に依存する。従って、散乱光強度の増加は PICsome の N_{agg} の増加を示す。これらの結果は、反対電荷をもつ $P_{20}M_{190}$ と $P_{20}A_{196}$ の混合溶液の化学量論的な電荷の中和で最大のサイズと会合数をもつ PICsome を形成したことを示す。

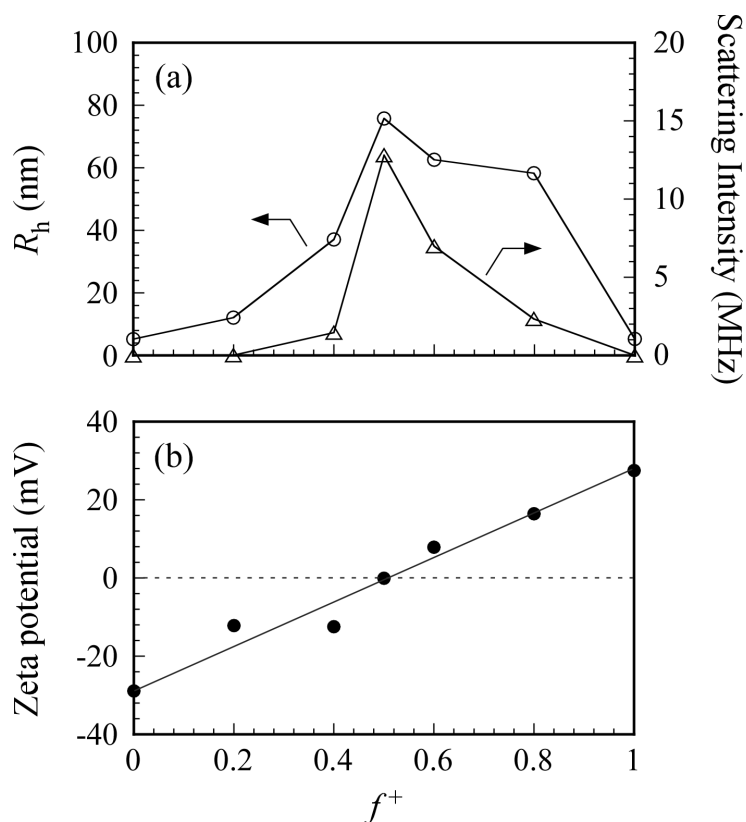


Figure 3.9. (a) Hydrodynamic radius (R_h , \circ) and scattering intensity (\triangle) for PICsome composed of $P_{20}M_{190}$ and $P_{20}A_{196}$ as a function of f^+ ($= [\text{MAPTAC}]/([\text{MAPTAC}] + [\text{AMPS}])$) in 0.1 M NaCl aqueous solutions. (b) ζ -potential for PICsome as a function of f^+ in 0.1 M NaCl aqueous solutions. The concentration of the total block copolymers was fixed at 0.5 g/L.

R_h と f^+ の関係のプロットは左右非対称だった。すなわち、 $f^+ = 0.6$ 、 0.8 の PIC 会合体 R_h と散乱光強度は $f^+ = 0.4$ のときよりも大きくなった。 $f^+ = 0.4$ 、 0.6 、 0.8 での PIC 会合体の構造を確かめるために TEM 観察を行い Figure 3.10 に示した。 $f^+ = 0.4$ の PIC 会合体はミセルのような球状の粒子が観測された。一方、 $f^+ = 0.6$ 、 0.8 の会合体は中空構造をもつベシクルがはっきり観測された。PMAPTAC ブロックが過剰の $P_{20}M_{190}$ と $P_{20}A_{196}$ から構成され、PIC 会合体はベシクルが形成される傾向があった。これは PMAPTAC ブロック側鎖のメチル基に囲まれた 4 級アミノ基は PAMPS ブロック側鎖のスルホン酸基に比べて疎水性が高いためだと考えられる。0.5 よりも f^+ が大きくなると、会合体中の PMAPTAC ブロックが過剰に存在するため PIC 会合体の脱水和が促進され、 $f^+ < 0.5$ の PIC 会合体よりも溶解性が小さいと考えられる。従来の両親媒性ジブロックコポリマーの水中で形成される会合体の場合、会合性部分の疎水性が高くなると球状のコア-シェルミセルよりもベシクルが形成されやすい[31]。したがって、 f^+ が 0.5 よりも大きな PIC 会合体はベシクルを形成したと考えられる。

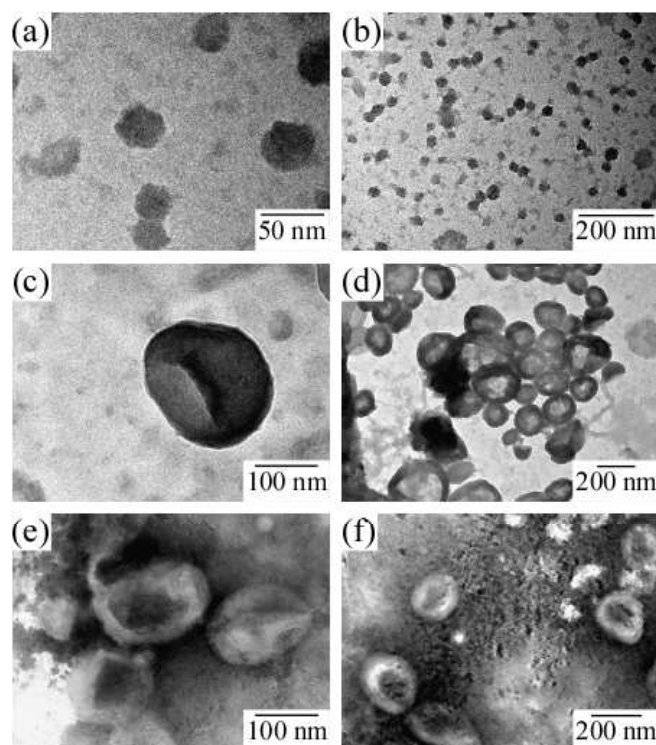


Figure 3.10. TEM images for PIC aggregates with $f^* = 0.4$ (a, b), 0.6 (c, d), and 0.8 (e, f).

$f^* = 0.5$ での PICsome の中和を確かめるために、 f^* に対する ζ 電位を測定し Figure 3.9b に示した。P₂₀A₁₉₆ のみの $f^* = 0$ では PAMPS ブロックがアニオン性のスルホン酸基を側鎖結合しているため -29 mV の負の ζ 電位を示した。また P₂₀M₁₉₀ のみの $f^* = 1$ では PMAPTAC ブロックがカチオン性の 4 級アミノ基を側鎖結合しているため 27 mV の正の ζ 電位を示した。一方、 $f^* = 0.5$ の場合は ζ 電位がゼロだったため、PIC コアと PMPC シェルで構成された PICsome は PMAPTAC と PAMPS ブロックの電荷が中和されている。PMPC ブロック側鎖のホスホリルコリン基はアニオン性のリン酸基とカチオン性の 4 級アミノ基を持つ。しかし、PMPC ホモポリマーの ζ 電位はゼロなので、単独ポリマー鎖内でアニオンとカチオンのペアの電荷が中和されている。したがって $f^* = 0.5$ での PICsome の ζ 電位はゼロとなった。

$f^* = 0.5$ での PICsome が平衡状態か動学的な凍結状態かを確認するために、 $f^* = 0.5$ の PICsome に過剰量の P₂₀A₁₉₆ を加えた。動学的な凍結状態は会合体からポリマー鎖が解離しないことを意味する。もし PICsome が凍結状態なら $f^* = 0.5$ での PICsome のサイズは過剰量の P₂₀A₁₉₆ の添加により影響を受けないと考えられる。一方、平衡状態の PICsome の場合、過剰量の P₂₀A₁₉₆ の添加で PICsome のサイズは減少すると予想される。Figure 3.11 に $f^* = 0.5$ での PICsome と $f^* = 0.5$ での PICsome に過剰量の P₂₀A₁₉₆ 水溶液を添加して溶液の f^* を 0.4 、 0.2 に調製した PIC 会合体の R_h の分布を示す。C_p = 0.5 g/L

で $f^+ = 0.5$ での PICsome の R_h は 78.0 nm だった。 $C_p = 0.5$ g/L の $P_{20}A_{196}$ 溶液を PICsome 溶液に加えて f^+ を 0.4、0.2 に変えると PIC 会合体の R_h はそれぞれ 49.0 と 7.9 nm に減少した。これは反対電荷をもつジブロックコポリマーの混合で形成された PICsome は水中で平衡状態であることが示唆された。反対電荷をもつジブロックコポリマーの小さなペアが PICsome から解離と再会合を繰り返していると考えられる[32]。

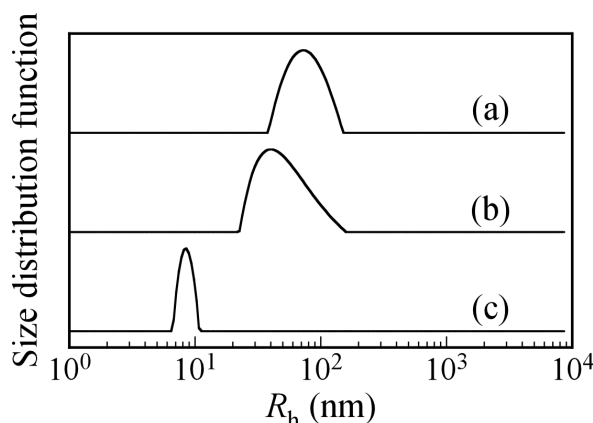


Figure 3.11. Hydrodynamic radius (R_h) distributions for PICsome with $f^+ = 0.5$ (a), and PIC aggregates with $f^+ = 0.4$ (b), and 0.2 (c) formed by addition of $P_{20}A_{196}$ solution to PICsome with $f^+ = 0.5$ in 0.1 M aqueous solutions at $C_p = 0.5$ g/L.

0.1 M NaCl 水溶液中での PICsome のサイズと C_p の関係を Figure 3.12 に示した。サンプル溶液は二つの方法で調製した。一つは、混合前の反対電荷をもつジブロックコポリマーのペアである $P_{20}M_{190}$ と $P_{20}A_{196}$ 水溶液の C_p を 0.001 から 1 g/L の範囲で調製した。それぞれ、同じ濃度の反対電荷をもつジブロックコポリマーのペアを PICsome を形成するために混合した。二つ目は $C_p = 1, 0.5, 0.01$ g/L の $P_{20}M_{190}$ と $P_{20}A_{196}$ 水溶液を混合して PICsome を作製し、その後 0.1 M NaCl 水溶液で目的の C_p となるように希釈した。これらの二つの方法で作製した様々な C_p の PICsome 溶液の R_h を DLS 測定で調べた。PICsome の R_h は PICsome を形成するための混合を行う前の $P_{20}M_{190}$ と $P_{20}A_{196}$ 水溶液の C_p に依存した。それぞれのポリマー水溶液を $C_p = 1$ g/L で調製した場合、これらの水溶液の混合によって形成された PICsome の R_h は約 100 nm だった。一方、それぞれのポリマー水溶液を $C_p = 0.01$ g/L で調製した場合、PICsome の R_h は約 38 nm だった。したがって PICsome のサイズは混合前の反対電荷を持つジブロックコポリマーの C_p に依存して制御可能だった。また PICsome 溶液を 0.1 M NaCl 水溶液で希釈して様々な C_p に調製すると、PICsome の R_h は C_p に依存せず一定だった。これらの結果は一度作製された PICsome の構造は希釈されても維持できることを示す。一般的にベシクルのサイズを制御するためには超音波などが用いられる[33]。しかし、これらの方法は手間と調製技術が必要なため、単純な方法でのポリマーソームのサイズの制御は重要である。 $P_{20}M_{190}$ と $P_{20}A_{196}$ の反対電荷をもつジブロックコポリマーペアの混合のみで形成される

PICsome は、混合前の C_p で PICsome のサイズを簡単に制御できるため有用である。

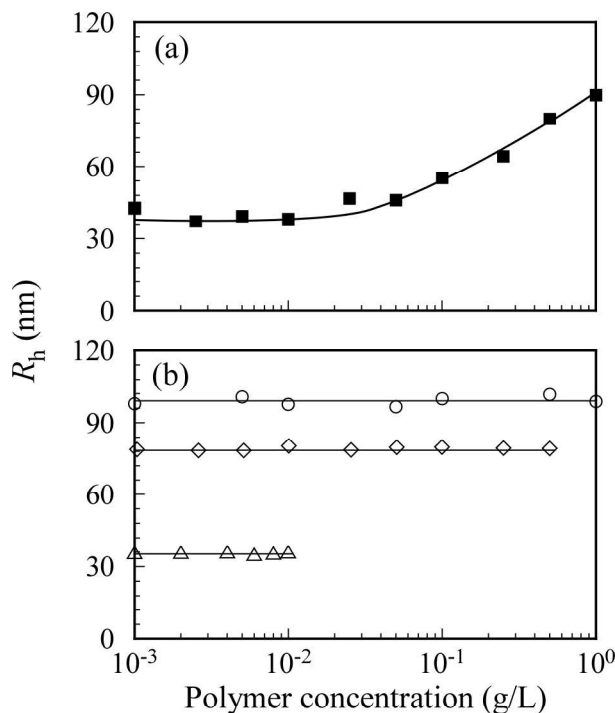


Figure 3.12. (a) Hydrodynamic radius (R_h) for PICsome with $f^+ = 0.5$ as a function of polymer concentrations of $P_{20}M_{190}$ and $P_{20}A_{196}$ before mixing of both block copolymers in 0.1 M NaCl. (b) R_h for PICsome with $f^+ = 0.5$ as a function of polymer concentrations after mixing $P_{20}M_{190}$ and $P_{20}A_{196}$. The PICsome aqueous solutions at 1 (○), 0.5 (◇), and 0.01 g/L (△) were diluted with 0.1 M NaCl continuously.

一般的に PIC の安定性は、反対電荷をもつ高分子電解質間での相互作用が低分子量の塩と置き換わるため、NaCl などの塩濃度に依存する[34]。塩の添加は反対電荷をもつジブロックコポリマー間での静電相互作用を遮蔽できるため、PIC ミセルを解離する[9]。Figure 3.13a に NaCl 濃度 ($[NaCl]$) に対する $f^+ = 0.5$ の PICsome の R_h の変化を示す。 $[NaCl] = 0$ M の水中で $P_{20}M_{190}$ と $P_{20}A_{196}$ を混合して $f^+ = 0.5$ の PICsome を作製したのち、所定量の NaCl を添加して溶液中の $[NaCl]$ を調節した。 $[NaCl]$ が 0.5 M 以下の場合、PICsome の R_h は約 74 nm で一定だったため、PICsome の構造は保たれた。一方、 $0.6 < [NaCl] < 0.9$ M の場合、DLS によって R_h を得ることが出来なかった。これは大きな凝集体が形成されたためだと考えられる。これらの大きな凝集体のサイズは調製後の経過時間の増加に伴って増加した。 $[NaCl] = 0.8$ M の PICsome 水溶液を一晩静置すると、溶液はコアセルベートと考えられる液-液相分離を起こした。Figure 3.13b と c から $0.6 < [NaCl] < 0.9$ M で液-液相分離が起こったことが確認された。これは液状のコアセルベートが形成されたことを示す。1.0 M 以上の $[NaCl]$ では、 $[NaCl]$ の増加に伴って PIC 会合体の R_h は減少した。さらに 1.3 以上の $[NaCl]$ で、 R_h 値は約 4 nm だったため、PICsome が完全にユニマー

状態の $P_{20}M_{190}$ と $P_{20}A_{196}$ に解離した。これらの結果から、 $[NaCl]$ の増加が静電相互作用を遮蔽して、PIC はコアセルベートを形成するために膨潤し、最終的に反対電荷を持つユニマーのペアに解離した[35, 36]。

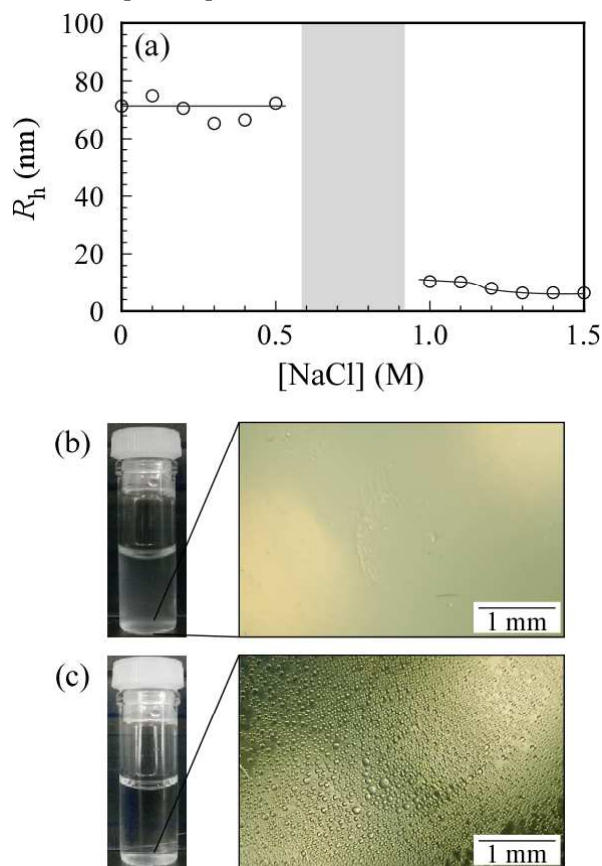


Figure 3.13. (a) Hydrodynamic radius (R_h) for PICsome with $f^* = 0.5$ at $C_p = 0.5$ g/L as a function of sodium chloride concentration ($[NaCl]$). Digital photographs of the sample tube and microscopic images at bottom of the sample tube for PICsome in 0.8 M NaCl aqueous solution prepared immediately (b) and after one day (c).

作製方法による PICsome のサイズ制御を確かめた。PICsome は塩濃度が 1.5 M で、イオン性ブロックの静電相互作用が遮蔽されるためユニマー状の $P_{20}M_{190}$ と $P_{20}A_{196}$ に解離する。したがって 1.5 M 食塩水中で、 $P_{20}M_{190}$ と $P_{20}A_{196}$ は会合しない。1.5 M 食塩水に溶解した $P_{20}M_{190}$ と $P_{20}A_{196}$ を $f^* = 0.5$ で混合した溶液を透析膜に加えて、純水に対して透析すると、透析膜内の溶液は白濁した。これは、透析により透析膜の分隔分子量よりも小さな NaCl が透析膜外に放出されたため、混合溶液の塩濃度が低下した。溶液の塩濃度が低下すると、過剰量の塩により遮蔽されていた $P_{20}M_{190}$ と $P_{20}A_{196}$ 間の静電相互作用が働くことで、PIC が形成した。透析により作製した PIC 会合体の DLS 測定から算出した R_h は約 600 nm だった。また Figure 3.14 に示すように、TEM 画像から、透析により作製した会合体は中空構造が確認されたため、透析によって溶液の塩濃度を徐々

に低下させることでマイクロメートルサイズの PICsome が調製できた。混合により形成した PICsome 溶液に塩を添加すると、塩濃度が 0.6 から 0.9 M で、 $P_{20}M_{190}$ と $P_{20}A_{196}$ の混合溶液はコアセルベートを形成した。したがって、塩濃度を 1.5 M から低下させると 0.6 から 0.9 M の塩濃度範囲でコアセルベートにより大きな凝集体を形成すると考えられる。したがって溶液中で、部分的なポリマー濃度の濃縮がおきた。さらに塩濃度が低下すると、部分的に濃縮されたポリマー間で相互作用してベシクルを形成したため PICsome のサイズが大きくなった。

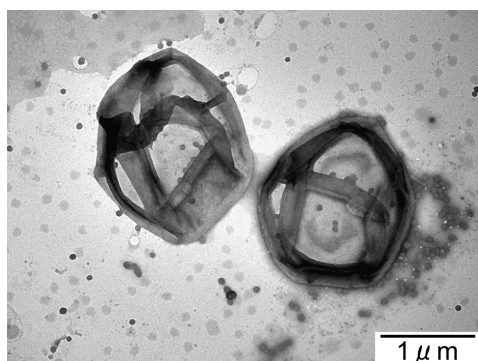


Figure 3.14. TEM image for PICsome prepared by dialysis against water with $f^* = 0.5$ at $C_p = 0.418$ g/L.

PICsome の内水相中への親水性ゲスト分子の取り込みを確認するために、テキサスレッドをラベル化した Dex を用いて蛍光実験を行った。使用した親水性ゲスト分子は電荷を持っていない。 $P_{20}M_{190}$ と $P_{20}A_{196}$ をそれぞれ別々に Dex を含む PBS バッファー溶液に溶解し、その後 PICsome を形成するために混合した。PICsome 内に取り込まれていない Dex 分子を PBS バッファーに対して 18 時間透析して除いた。透析後ダイヤライザー内部の溶液の蛍光スペクトルを測定した (Figure 3.15)。PICsome 溶液の蛍光スペクトルにおける Dex の極大蛍光波長が 610 nm に観測された。PICsome を含まない対照実験では、サイズの小さな Dex がポアサイズが 100 nm のダイヤライザー内部から除かれたため Dex の蛍光は観測されなかった。この結果から PICsome は Dex ゲスト分子を PICsome の空孔内に取り込み可能である。PICsome 内部に取り込まれた Dex の重量を検量線から算出すると 0.00315 mg だった。したがって PICsome への Dex の取り込み効率 (LE) と取り込み容量 (LC) を式 3.1 と 3.2 を用いて算出すると、それぞれ 7.88 と 0.158 % だった。

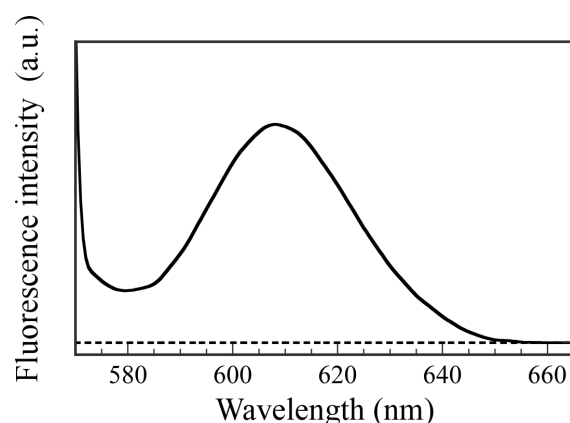


Figure 3.15. Fluorescence emission spectra for Dex after dialysis against PBS buffer for 18 h excited at 550 nm in the presence (—) and absence (---) of PICsome in PBS buffer solutions.

3.4 結論

我々は構造の制御された $P_{20}M_{190}$ と $P_{20}A_{196}$ を、それぞれ PMPC マクロ CTA を用いた RAFT 法で合成した。ポリオンコンプレックスベシクル (PICsome) は $P_{20}M_{190}$ と $P_{20}A_{196}$ 水溶液の混合により、反対電荷を持つ PMAPTAC と PAMPS ブロックの電荷を化学量論的に中和することで形成した。PICsome の表面は生体適合性の PMPC シェルで覆われていた。また PICsome のサイズを、PICsome を作製するための混合を行う前の $P_{20}M_{190}$ と $P_{20}A_{196}$ のポリマー濃度によってある程度制御可能だった。さらに PICsome は電荷を持たない水溶性のゲスト分子を PICsome 内水相に取り込み可能だったため、ドラッグデリバリーシステムの薬剤のキャリアとして応用できると期待される。

参考文献

- [1] L. Zhang, A. Eisenberg, *Science*, **268** (1995) 1728-1731
- [2] B. M. Discher, Y. Won, D. S. Ege, J. C. M. Lee, F. S. Bates, D. E. Discher, D. A. Hammer, *Science*, **284** (1999) 1143-1146
- [3] K. Kita-Tokarczyk, J. Grumelard, T. Haefele, W. Meier, *Polymer*, **46** (2005) 3540-3563
- [4] P. L. Soo, A. Eisenberg, *J. Polym. Sci Polym. Phys.*, **42** (2004) 923-938
- [5] H. Kukula, H. Schlaad, M. Antonietti, S. Förster, *J. Am. Chem. Soc.*, **124** (2002) 1658-1663
- [6] A. Wittemann, T. Azzam, A. Eisenberg, *Langmuir*, **23** (2007) 2224-2230
- [7] A. Kishimura, S. Liamsuwan, H. Matsuda, W. F. Dong, K. Osada, Y. Yamasaki, K. Kataoka, *Soft Matter*, **5** (2009) 529-532
- [8] S. Yusa, Y. Yokoyama, Y. Morishima, *Macromolecules*, **42** (2009) 376-383
- [9] K. Nakai, M. Nishiuchi, M. Inoue, K. Ishihara, Y. Sanada, K. Sakurai, S. Yusa, *Langmuir*, **29** (2013) 9651-9661
- [10] T. Konno, K. Kurita, Y. Iwasaki, N. Nakabayashi, K. Ishihara, *Biomaterials*, **22** (2001) 1883-1889
- [11] A. Walther, A. S. Goldmann, R. S. Yelamanchili, M. Drechsler, H. Schmalz, A. Eisenberg, A. H. E. Müller, *Macromolecules*, **41** (2008) 3254-3260
- [12] J. Huang, C. Bonduelle, J. Thévenot, S. Lecommandoux, A. Heise, *J. Am. Chem. Soc.*, **134** (2012) 119-122
- [13] K. Ishihara, T. Ueda, N. Nakabayashi, *Polym. J.*, **22** (1990) 355-360
- [14] Y. Mitsukami, M. S. Donovan, A. B. Lowe, C. L. McCormick, *Macromolecules*, **34** (2001) 2248-2256
- [15] S. Yusa, K. Fukuda, T. Yamamoto, K. Ishihara, Y. Morishima, *Biomacromolecules*, **6** (2005) 663-670
- [16] S. Meiboom, D. Gill, *Rev. Sci. Instrum.*, **29** (1958) 688-691
- [17] S. J. Mears, T. Cosgrove, L. Thompson, I. Howell, *Langmuir*, **14** (1998) 997-1001
- [18] T. Nicolai, W. Brown, R. M. Johnsen, P. Stepanek, *Macromolecules*, **23** (1990) 1165-1174
- [19] J. Jakeš, *Czech. J. Phys.*, **38** (1988) 1305-1316
- [20] S. E. Harding, D. B. Sattelle, V. A. Bloomfield, The Royal Society of Chemistry: Cambridge, U.K., p 81 (1992)
- [21] M. H. Stockmayer, M. Schmidt, *Pure Appl. Chem.*, **54** (1982) 407-414
- [22] S. I. Ali, J. P. A. Heuts, A. M. van Herk, *Langmuir*, **26** (2010) 7848-7858
- [23] S. Yusa, Y. Shimada, Y. Mitsukami, T. Yamamoto, Y. Morishima, *Macromolecules*, **36** (2003) 4208-4215
- [24] S. Yusa, Y. Yokoyama, Y. Morishima, *Macromolecules*, **42** (2009) 376-383
- [25] R. Xu, M. A. Winnik, F. R. Hallett, G. Riess, M. D. Croucher, *Macromolecules*, **24** (1991)

87-93

- [26] W. Burchard, *Adv. Polym. Sci.*, **48** (1983) 1-124
- [27] T. Konishi, T. Yoshizaki, H. Yamakawa, *Macromolecules*, **24** (1991) 5614-5622
- [28] W. Burchard, M. Schmidt, W. H. Stockmayer, *Macromolecules*, **13** (1980) 1265-1272
- [29] J. Li, Y. Ping, *Langmuir*, **25** (2009) 6385-6391
- [30] C. Burger, J. Hao, Q. Ying, H. Isobe, M. Sawamura, E. Nakamura, B. Chu, *J. Colloid Interface Sci.*, **275** (2004) 632-641
- [31] D. E. Discher, F. Ahmed, *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, **8** (2006) 323-341
- [32] Y. Anraku, A. Kishimura, Y. Yamasaki, K. Kataoka, *J. Am. Chem. Soc.*, **135** (2013) 1423-1429
- [33] M. M. Lapinski, A. Castro-Forero, A. J. Greiner, R. Y. Ofoli, G. J. Blanchard, *Langmuir*, **23** (2007) 11677-11683
- [34] S. De Santis, R. D. Ladogana, M. Diociaiuti, G. Masci, *Macromolecules*, **43** (2010) 1992-2001
- [35] S. V. Solomatin, T. K. Bronich, A. Eisenberg, V. A. Kabanov, A. V. Kabanov, *Langmuir*, **20** (2004) 2066-2068
- [36] J. S. Park, Y. Akiyama, Y. Yamasaki, K. Kataoka, *Langmuir*, **23** (2007) 138-146

第4章 カチオン性界面活性剤とアニオン性ジブロックコポリマーの混合で形成されるホスホリルコリン基で覆われたコンプレックスの調製

4.1 緒言

ポリマーと界面活性剤の相互作用が過去数十年間調べられてきたが[1-3]、両者の混合による超分子の組織化や複合化への関心が持たれている[4, 5]。ポリマーと界面活性剤の混合系は化粧品、塗液、塗料、洗剤、食品技術、ドラッグデリバリーシステム等の工業・医療分野で非常に実用的であること[6, 7]。ポリマーと界面活性剤の混合系のなかで、高分子電解質と反対電荷を有する界面活性剤間の静電相互作用を利用した研究が実用的観点から広く行われている。高分子電解質と反対電荷を有する界面活性剤の混合で得られる会合体の形状は高分子電解質や界面活性剤の濃度[8]、分子量[8]、電荷密度[9]、界面活性剤のヘッドグループの極性やアルキル鎖の長さ[10]など多くのファクターが重要である。Fundin 等[11]はアニオン性のポリ（スチレンスルホン酸ナトリウム）（PSSNa）とカチオン性界面活性剤のセチルトリメチルアンモニウムブロミド（CTAB）の混合で、水中で分散可能なコンプレックスの形成を報告した。この PSSNa/CTAB コンプレックスは溶液中の PSSNa と CTAB の重量比や溶液中の塩濃度により異なるサイズのコンプレックスを形成した。また Mezei 等[12]はカチオン性ポリマーのハイパーブランチポリエチレンイミンとアニオン性界面活性剤のドデシル硫酸ナトリウム（SDS）の混合で形成されたコンプレックスに対する pH やイオン強度の影響を報告した。しかし、これらの高分子電解質と反対電荷をもつ界面活性剤間でのコンプレックスは、電荷の中和点では二相に分離する[13-17]。

高分子電解質ブロックと中性で水溶性のブロックからなるジブロック共重合体と、反対電荷の界面活性剤と混合することで、相分離しなくなることが報告された[18-22]。Berret 等はアニオン性高分子電解質のポリアクリル酸ナトリウム（PANa）とノニオン性で親水性のポリアクリルアミド（PAM）からなるアニオン性ジブロック共重合体とカチオン性界面活性剤のドデシルトリメチルアンモニウムブロマイド（DTAB）との混合で有限のサイズをもつコンプレックスを形成した。また光散乱や小角中性子散乱測定により、形成したコンプレックスがコア-シェル構造を持つことが示された[23]。しかし、これらのコンプレックスは、使用するジブロック共重合体の親水性で非会合性ブロックと会合に関与するイオン性ブロックの組み合わせやブロックの鎖長、コンプレックスの作製方法などでコンプレックスの形状が変化するため、その詳細は不明である。

我々はこれまで、親水性でベタイン構造のポリ（（メタクリロイルオキシ）エチルホスホリルコリン）（PMPC）ブロックとカチオン性高分子電解質のポリ（（3-メタクリロイルアミノ）プロピルトリメチルアンモニウムクロライド）（PMAPTAC）もしくはアニオン性高分子電解質のポリ（（2-アクリルアミド）-2-メチルプロパンスルホン酸ナトリウム）（PAMPS）からなるカチオン性およびアニオン性ジブロック共重合体

(PMPC_m-b-PMAPTAC_n, PMPC_m-b-PAMPS_n) を、水中でイオン性ブロックの電荷を中和するように混合したときに形成されるポリオンコンプレックス (PIC) の会合挙動について報告した[24]。PMPC とイオン性ブロックの重合度 (DP) m と n がどちらも約 100 量体の場合、PMPC シェルに覆われたコア-シェル型の PIC ミセルを形成した。また m と n がそれぞれ約 20、200 量体の場合は、PIC ベシクルを形成し、PIC ベシクル内部にテキサスレッドでラベル化したデキストラン (分子量 70000) を取り込めた。したがってコンプレックスを安定化する PMPC ブロックと反対電荷を持つ会合性の高分子電解質ブロックの鎖長によって会合体の形態をミセルやベシクルに調製できることを見出した。

本研究では、PMPC ブロックと反対電荷のイオン性ブロックからなるジブロック共重合体の混合で形成される PIC 会合体の会合挙動が各ブロックの DP によりミセルとベシクルに調製できることに着目し、可逆的付加-開裂連鎖移動 (RAFT) 型ラジカル重合で合成したアニオン性ジブロック共重合体の PMPC_m-b-PAMPS_n (P_mA_n) とカチオン性の低分子界面活性剤の CTAB との混合で形成されるコンプレックス (P_mA_n/CTAB) の会合挙動について調べた。DP の異なる 2 種類のアニオン性ジブロック共重合体の P₂₄A₂₁₇ と P₁₀₀A₉₉ を合成した。P_mA_n/CTAB の系でも PIC 会合体と同様の会合挙動を示すと期待されるため、P₂₄A₂₁₇/CTAB はベシクルを、P₁₀₀A₉₉/CTAB はミセルを形成すると予想される (Figure 4.1)。我々は P_mA_n/CTAB の会合挙動を動的、静的光散乱、¹H NMR、透過型電子顕微鏡で確認した。またこれらのコンプレックスを形成するための混合時の P_mA_n 濃度がコンプレックスのサイズに与える影響を調べた。さらに P₂₄A₂₁₇/CTAB が形成するベシクル内水相への親水性ゲスト分子の取り込み挙動についても確認した。これらの P_mA_n/CTAB コンプレックスは表面を生体適合性を示す PMPC シェルで覆われていると考えられるため生体適合性材料への応用が期待される。

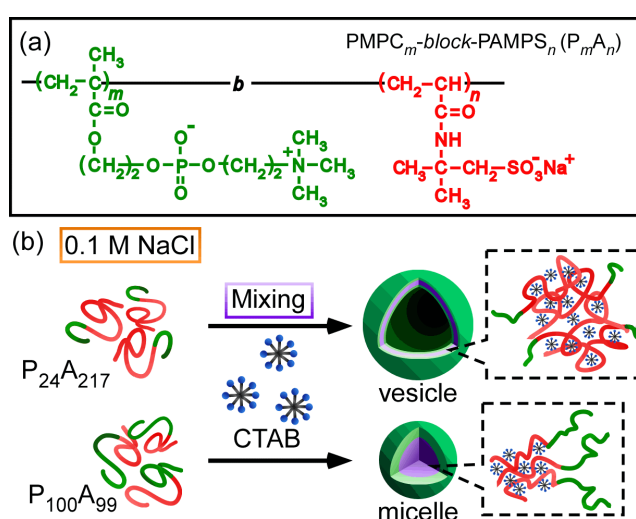


Figure 4.1. (a) Chemical structure of anionic diblock copolymers and (b) conceptual illustration of P_mA_n/CTAB complexes in 0.1 M NaCl aqueous solutions.

4.2 実験

4.2.1 試薬

MPC は NOF 社から購入し、文献にしたがって精製した[25]。連鎖移動剤として使用した 4-シアノペンタン酸ジチオベンゾエート (CPD) は McCormick 等の報告にしたがって合成した[26]。2-(アクリルアミド)-2-メチルプロパンスルホン酸 (AMPS, 95%)、4,4'-アゾビス(4-シアノペンタン酸) (V-501, 98%)、セチルトリメチルアンモニウムブロマイド (CTAB, 98%)、ピレン (97%) は和光純薬工業から、テキサスレッドでラベル化されたデキストラン (TD70, $M_w = 70000$, 中性) はライフテクノロジーズから購入し、そのまま使用した。PBS タブレット (シグマアルドリッチ) はタブレット一つにつき 200 mL の純水に溶解した。メタノールは 4 Å のモレキュラーシーブスで乾燥した後蒸留した。水はメルクミリポアの Milli-Q システムで精製した。その他の試薬は購入したまま使用した。

4.2.2 PMPC_m の合成

PMPC₂₄ は文献に従い合成した[27]。MPC (5.02 g, 17.0 mmol)、CPD (237 mg, 0.847 mmol)、V-501 (94.9 mg, 0.339 mmol) を 16.9 mL の水に溶解した。この水溶液を 30 分間 Ar ガスでパージした後、70 °C で 2 時間重合した。反応溶液を 2 日間純水に対して透析した。PMPC₂₄ を凍結乾燥で回収した (4.72 g, 88.2%)。数平均分子量 ($M_n(\text{NMR})$)、重合度 (DP) を ¹H NMR、分子量分布 (M_w/M_n) をゲルろ過クロマトグラフィー (GPC) からそれぞれ 7.50×10^3 、24、1.04 と算出した。PMPC₁₀₀ は上記と同様の操作で合成した (7.28 g, 98.8%)。 $M_n(\text{NMR})$ と DP を ¹H NMR、 M_w/M_n を GPC から算出すると、それぞれ 2.98×10^4 、100、1.14 だった。

4.2.3 アニオン性ジブロックコポリマーの合成 (P_mA_n)

AMPS (4.22 g, 20.4 mmol) を 20.5 mL の 1 M NaOH 水溶液で中和した。この溶液に PMPC₂₄ (0.751 g, 0.100 mmol, $M_n(\text{NMR}) = 7.50 \times 10^3$, $M_w/M_n = 1.04$) と V-501 (11.4 mg, 0.0407 mmol) を加えた。この溶液を Ar ガスで 30 分間脱気した。70 °C で 4 時間ブロック共重合を行った。ジブロックコポリマーを 2 日間純水に対して透析した。アニオン性ジブロックコポリマー (P₂₄A₂₁₇) を凍結乾燥で回収した (5.19 g, 95.4%, $M_n(\text{NMR}) = 5.73 \times 10^4$, $M_w/M_n = 1.19$)。また上記と同様の方法で P₁₀₀A₉₉ を合成した (1.17 g, 91.2%, $M_n(\text{NMR}) = 5.25 \times 10^4$, $M_w/M_n = 1.23$)。

4.2.4 P_mA_n/CTAB コンプレックスの作製

アニオン性ジブロックコポリマーの P_mA_n とカチオン性界面活性剤の CTAB をそれぞれ別々に 0.1 M NaCl 水溶液に溶解した。P_mA_n と CTAB の濃度 (C_p , C_s) はそれぞれ 0.5

、1 g/L で調製した。P_mA_n/CTAB コンプレックスを作製するために CTAB 水溶液を P_mA_n 水溶液に攪拌しながら加えた。その後、5 分間混合溶液を攪拌した。P_mA_n と CTAB の混合比は溶液中の全イオンユニットに対するカチオン電荷ユニットのモル分率 ($f^+ = [\text{CTAB}]/([\text{AMPS}] + [\text{CTAB}])$) で表す。コンプレックスの電荷が $f^+ = 0.5$ で溶液中の電荷が中和する。 $f^+ = 0.5$ での最終的な P₂₄A₂₁₇/CTAB コンプレックス溶液中の C_P と C_S はそれぞれ 0.296 g/L (1.12 mmol/L) と 0.408 g/L (1.12 mmol/L) だった。また $f^+ = 0.5$ での最終的な P₁₀₀A₉₉/CTAB コンプレックス溶液中の C_P と C_S はそれぞれ 0.372 g/L (0.702 mmol/L) と 0.256 g/L (0.702 mmol/L) だった。

4.2.5 P₂₄A₂₁₇/CTAB コンプレックスへの TD70 の取り込み

テキサスレッドをラベル化した (TD70, 0.0237 mg, 3.39×10^{-10} mol) を 2.37 mL の PBS バッファーに溶解した。P₂₄A₂₁₇ (1.19 mg, 4.49 μmol of AMSP units) を TD70 の PBS 溶液 (2.37 mL) に溶解した (C_P = 0.5 g/L)。別に CTAB (1.63 mg, 4.47 μmol) を PBS バッファー (1.63 mL) に溶解した (C_S = 1 g/L)。P₂₄A₂₁₇ 溶液 (2.37 mL) に対して CTAB 溶液 (1.63 mL) を攪拌しながら室温で加えた。 f^+ は 0.5 で固定した。混合後の溶液中の TD70 濃度は 0.00593 g/L (0.0847 μmol) だった。この溶液 (4 mL) をポアサイズが 50 nm の PC 製の透析膜を備えたダイヤライザー (ハーバード) を用いて 400 mL の PBS バッファーに対して 120 時間透析して、P₂₄A₂₁₇/CTAB コンプレックス内に取り込まれていないフリーの TD70 を除いた。120 時間の透析中、新たな 400 mL の PBS バッファーに 5 回交換した。120 時間透析後、TD70 を取り込んだ P₂₄A₂₁₇/CTAB 溶液の NaCl 濃度が 1.5 M となるように所定量の NaCl を加えて P₂₄A₂₁₇/CTAB を解離した。その溶液の TD70 の蛍光強度を測定した。P₂₄A₂₁₇/CTAB コンプレックス内への TD70 の取り込み効率 (LE) と取り込み容量 (LC) は以下の式で算出した。

$$\text{LE (\%)} = \frac{\text{Weight of encapsulated Dex}}{\text{Weight of total Dex}} \times 100 \quad (4.1)$$

$$\text{LC (\%)} = \frac{\text{Weight of encapsulated Dex}}{\text{Weight of polymer}} \times 100 \quad (4.2)$$

4.2.6 測定

アニオン性ポリマーの GPC 測定は 40 °C で Tosoh RI-8020 屈折率計を備えた 7.0 μm のビーズサイズの Shodex GF-7 M HQ カラム (排除限界, $\sim 10^7$) を用いて 0.6 mL/min の溶出速度で行った。10 vol% のアセトニトリルを含むリン酸バッファー (pH 9) を展開溶媒に用いた。アニオン性ポリマーの $M_n(\text{GPC})$ と M_w/M_n は標準ポリスチレンスルホン酸ナトリウムで校正した。

^1H NMR スペクトルは $20\text{ }^\circ\text{C}$ で 500.13 MHz の Bruker DRX-500 で測定した。 ^1H NMR 測定用のポリマー ($C_p = 0.5\text{ g/L}$) と CTAB ($C_s = 1\text{ g/L}$) は 0.1 M の NaCl を含む D_2O で調製した。 ^1H NMR のスピン-スピン緩和時間 (T_2) は Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG) パルスシーケンスを用いて測定した[28, 29]。 T_2 測定のために、 D_2O 溶液を含む NMR チューブを Ar ガスで 30 分間脱気した。 $13.85\text{ }\mu\text{s}$ の 90° パルスで測定した。エコーピーク強度を 12 の異なる 180° パルスで測定した。プロトンスピン-格子緩和時間 (T_1) は反転-回復シーケンス ($180^\circ - t_r - 90^\circ$) を用い、回復時間 (t_r) を 50 ms から 10 s の間に 12 点測定した。

光散乱測定は大塚電子のマルチ- τ デジタルタイムコレレーター (ALV-5000) を備えた DLS-7000HL 光散乱測定装置を用いて行った。光源として He-Ne レーザー (10.0 mW at 632.8 nm) を用いた。サンプル溶液はポアサイズが $0.2\text{ }\mu\text{m}$ の透析膜でろ過した。静的光散乱 (SLS) 測定により得られる $P_m A_n$ とコンプレックスの Zimm プロットから、重量平均分子量 (M_w)、回転二乗半径 (R_g)、第二ビリアル係数 (A_2) を算出した。トルエンのレイリー比を装置の校正に使用した。 633 nm の dn/dC_p は $25\text{ }^\circ\text{C}$ で大塚電子 DRM-3000 示差屈折率計を用いて決定した[30]。動的光散乱 (DLS) 測定は、緩和時間 (τ) 分布を得るために REPES アルゴリズムを用いて逆ラプラス変換 (ILT) 解析した[31-33]。減衰速度 ($\Gamma = \tau^{-1}$) は θ の関数である[34]。拡散係数 (D) は $D = (\Gamma/q^2)_{q \rightarrow 0}$ から計算した。流体力学的半径 (R_h) はアインシュタイン-ストークスの式 ($R_h = k_B T / (6\pi\eta D)$) から得た。ここで k_B はボルツマン定数、 T は絶対温度、 η は溶媒の粘度である[35]。

ζ 電位は He-Ne レーザー光源 (4 mW at 632.8 nm) を備えたマルバーン Zetasizer Nano-ZS ZEN3600 を用いて測定した。 ζ 電位はスモルコフスキーの関係式 $\zeta = \eta\mu/\epsilon$ ($\kappa a \gg 1$) を用いて電気移動度 (μ) から算出した。ここで ϵ は溶媒の誘電率、 κ と a はそれぞれ Debye-Hückel パラメーターと粒子の半径である[36]。

TEM 観察は 200 kV の加速電圧で JEOL JEM-2100 で行った。TEM のサンプルはフォルムバー薄膜がコートされた銅グリッド上に水溶液を一滴滴下した。余分な水をろしで吸い取って調製した。サンプルをリンタングステン酸ナトリウムで染色し、一日減圧下で乾燥した。

蛍光スペクトルは日立 F-2500 蛍光分光計を用いて測定した。TD70 の蛍光スペクトルは 550 nm の励起波長を用いて獲得した。TD70 を用いた場合の励起と蛍光側のスリット幅はそれぞれ 10 nm で固定した。またピレンを疎水性蛍光プローブとして用いた。ピレンの励起スペクトルは 390 nm の蛍光波長で測定した。励起と蛍光側のスリット幅はそれぞれ 2.5 nm で固定した。 $\text{P}_{24}\text{A}_{217}/\text{CTAB}$ コンプレックスを含むサンプル溶液は 0.1 M NaCl を含むピレン飽和水溶液 ($6.0 \times 10^{-7}\text{ M}$) で調製し、 0.1 M NaCl を含むピレン水溶液で希釈した。

4.3 結果と考察

アニオン性ジブロック共重合体の $P_{24}A_{217}$ と $P_{100}A_{99}$ を RAFT 重合で合成した。水溶性のベタイン構造の PMPC ブロックとカチオン性の CTAB に相互作用は無い。アニオン性の PAMPS ブロックとカチオン性の CTAC は静電的に相互作用して P_mA_n /CTAB コンプレックスを形成する。したがって親水性の PMPC ブロックが安定化剤として働き、水に可溶性なコンプレックスを形成する。各ポリマーの略称は PMPC ブロックと PAMPS ブロックをそれぞれ P、A と表記した。また下付き文字の m と n は $^1\text{H NMR}$ の積分強度から求めた各ブロックの DP を表す。Figure 4.2 に $PMPC_m$ と P_mA_n の GPC 溶出曲線を示す。 $P_{24}A_{217}$ と $P_{100}A_{99}$ の GPC の保持時間は $PMPC_m$ の保持時間よりも短くなったため、 $PMPC_m$ よりもブロックコポリマーの分子量が増加したことを示す。またどちらの P_mA_n も溶出曲線はユニモーダルだった。

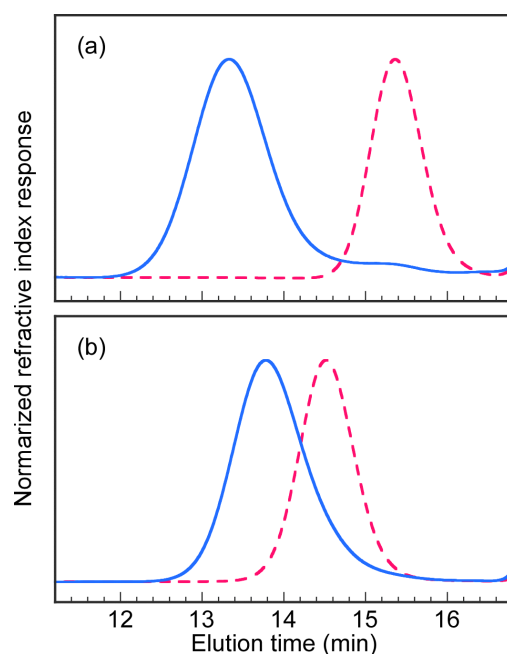


Figure 4.2. GPC elution curves for (a) $PMPC_{24}$ (----) and $P_{24}A_{217}$ (—), and (b) $PMPC_{100}$ (----) and $P_{100}A_{99}$ (—) using phosphate buffer (50 mM, pH 9) containing 10 vol % acetonitrile as eluent at 40°C detected by refractive index.

P_mA_n のジブロック共重合における理論的な数平均分子量 ($M_n(\text{theo})$) は以下の式で計算した。

$$M_n(\text{theo}) = \frac{[M]_0}{[CTA]_0} x_m M_m + M_{CTA} \quad (4.3)$$

$[M]_0$ は初期のモノマー濃度、 $[CTA]_0$ は初期 CTA 濃度、 x_m はモノマーのコンバージョン

、 M_n はモノマーの分子量、 M_{CTA} はCTAの分子量である。Table 4.1に合成したポリマーの組成をまとめた。PMPC_mの M_n (NMR)はメチレンプロトンと末端のフェニルプロトンの積分強度比から算出した。PMPC_mの M_n (NMR)は理論的な M_n (theo)に近く、 M_w/M_n 値(1.04 から 1.14)は狭かったため、重合は制御されて進行した。従って、PMPC_mをジブロックコポリマー合成のためのマクロCTAとして使用した。PMPC_mをマクロ連鎖移動剤として用いたPAMPSのジブロック共重合で M_w/M_n の狭い(1.19 から 1.23) P_mA_n が合成された。

Table 4.1. Degree of polymerization (DP), Number-average Molecular Weight (M_n), and Molecular Weight Distribution (M_w/M_n) of PMPC_m and P_mA_n

sample	M_n (theory) $\times 10^{-4}$	DP (NMR)	M_n (NMR) $\times 10^{-4}$	M_n (GPC) $\times 10^{-4}$	M_w/M_n
PMPC ₂₄	0.621	24	0.750	0.496	1.04
PMPC ₁₀₀	2.98	100	2.98	1.58	1.14
P ₂₄ A ₂₁₇	5.17	217 ^a	5.73	5.29	1.19
P ₁₀₀ A ₉₉	5.25	99 ^a	5.25	3.15	1.23

^aDP of PAMPS block estimated from ¹H NMR.

Figure 4.3b, cに0.1 M NaClを含む重水中での P_mA_n ($C_p = 0.5$ g/L)の¹H NMRスペクトルを示す。 P_mA_n のPAMPSの重合度(n)は、3.7 ppm付近のPMPC側鎖のメチレンプロトン由来のピーク*l*と3.3 ppm付近のPAMPS側鎖のメチレンプロトン由来のピーク*q*の積分強度比からそれぞれ算出した。P₂₄A₂₁₇とP₁₀₀A₉₉の¹H NMR測定から算出した M_n (NMR)値はそれぞれ 5.73×10^4 と 5.25×10^4 だった。 P_mA_n の M_n (NMR)値は M_n (theo)値と近く、 M_w/M_n 値(1.19~1.23)は狭かったため、重合機構は制御されている。GPCで得られた M_n (GPC)値は理論値や¹H NMRから得られた分子量よりも小さかった。これは M_n (GPC)は相対値で、校正のための標準ポリマーとしてポリ(スチレンスルホン酸ナトリウム)を用いているためだと考えられる。Figure 4.3d, eに $f = 0.5$ で作製した0.1 M NaClを含む重水中での P_mA_n /CTABの¹H NMRスペクトルを示す。P₂₄A₂₁₇/CTABは全てのピークがブロードになった。PAMPSブロックのピーク*p*はCTABとの混合で消失した。したがってPAMPSのプロトンの運動性が非常に低く、静電相互作用でコンプレックスを形成したことを示唆する。一方PMPCのメチレンプロトン由来のピーク(*i, j, k, l*)は極めて小さいが観測された。これはPMPCのDPが24で、コンプレックスを形成するPAMPSのDPに対して約10分の1と短いので、運動性の低いPAMPSの影響を受けてPMPCの運動性がかなり抑制されたと考えられる。一方、CTABのピークは観測されているため、CTABの運動性はP₂₄A₂₁₇ほど抑制されていない。P₁₀₀A₉₉/CTABもP₂₄A₂₁₇/CTABと同様にPAMPS側鎖のメチルプロトン由来のピーク*p*が消失したため、

静電相互作用でコンプレックスを形成した。しかし、PMPC 側鎖由来のメチレンプロトン由来のピークは PAMPS ほど変化しなかった。したがって PMPC ブロックの運動性は PAMPS ブロックに比べて抑制されていないため、PMPC ブロックがシェルを形成したことを示唆する。これらの ^1H NMR スペクトルから、 $\text{P}_m\text{A}_n/\text{CTAB}$ コンプレックスは静電相互作用により表面を PMPC シェルに覆われた会合体だと考えられる。

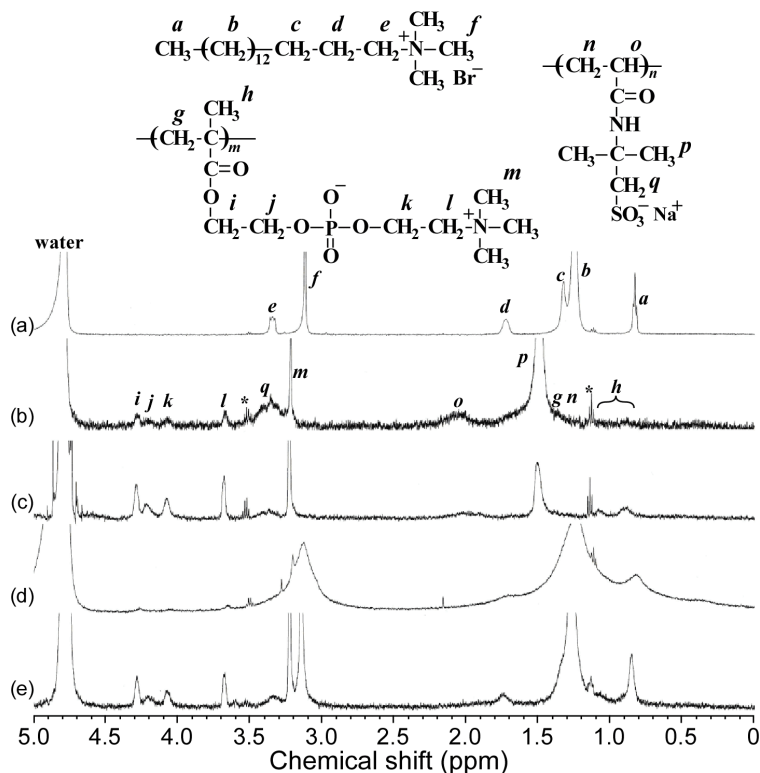


Figure 4.3. ^1H NMR spectra for (a) CTAB, (b) $\text{P}_{24}\text{A}_{217}$, (c) $\text{P}_{100}\text{A}_{99}$, (d) $\text{P}_{24}\text{A}_{217}/\text{CTAB}$, and (e) $\text{P}_{100}\text{A}_{99}/\text{CTAB}$ complexes with $f = 0.5$ in 0.1 M NaCl containing D_2O . Assignments are indicated for the resonance peaks.

$\text{P}_m\text{A}_n/\text{CTAB}$ コンプレックスを形成したときの PMPC、PAMPS ブロックおよび CTAB の運動性に関する情報をさらに得るために、フリーの CTAB とユニマー状態の P_mA_n および $\text{P}_m\text{A}_n/\text{CTAB}$ コンプレックスのスピン-スピン緩和 (T_2) 時間、スピン-格子緩和 (T_1) 時間の値を 0.1 M 食塩を含む重水中で測定し、Table 4.2 にまとめた [37, 38]。 ^1H NMR スペクトルのシグナルの幅の増大は、分子運動の低下によるスピン-スピン緩和時間 (T_2) の減少を示す [39]。CTAB ミセルの 3.14 と 1.31 ppm のメチルとメチレン基に由来するピークの T_2 はそれぞれ 309 と 148 unit だった。またユニマー状態の $\text{P}_{24}\text{A}_{217}$ と $\text{P}_{100}\text{A}_{99}$ の PMPC 由来の 3.31 ppm のメチレンプロトン由来のピークの T_2 はそれぞれ 307 と 370 unit だった。コンプレックスを形成したときの PAMPS 由来のピークは完全に消失していたため、ユニマーとコンプレックスで PAMPS のプロトンの緩和時間は比較できなかった。 $\text{P}_{24}\text{A}_{217}/\text{CTAB}$ コンプレックスを形成すると CTAB 由来 (3.14 ppm) のピークは 2.49

unit に減少した。これは PAMPS と CTAB が静電相互作用でコンプレックスを形成することで運動性が抑制されたことを示唆する。また、 $P_{24}A_{217}/CTAB$ コンプレックスの PMPC (3.14 ppm) の T_2 は 2.55 unit に減少した。したがって $P_{24}A_{217}/CTAB$ のシェルを形成する PMPC の運動性は、コアを形成する PAMPS の CTAB と同程度に減少した。一方、 $P_{100}A_{99}/CTAB$ の PMPC と CTAB (3.14 ppm) の T_2 はそれぞれ 266 と 27.0 unit に減少した。 $P_{100}A_{99}/CTAB$ の PMPC の運動性は $P_{24}A_{217}/CTAB$ に比べて抑制されていなかった。また CTAB の運動性は $P_{24}A_{217}/CTAB$ の方が会合性の PAMPS ブロックの鎖長が長いから、 $P_{100}A_{99}/CTAB$ に比べて運動性が低下した。この結果から CTAB ミセルが PAMPS ブロックとの静電相互作用で会合体を形成し、 $P_{100}A_{99}/CTAB$ は PMPC シェルに覆われている。

またスピン-格子緩和時間 (T_1) は T_2 と同様に分子の運動性を示す。ユニマー状態での $P_{24}A_{217}$ 、 $P_{100}A_{99}$ の T_1 の値はそれぞれ 514 と 559 unit だった。一方 $P_{24}A_{217}/CTAB$ と $P_{100}A_{99}/CTAB$ の、コンプレックス中の PMPC ブロックの T_1 はそれぞれ 593 と 533 unit であまり変わらなかった。PMPC はコンプレックスのシェルとして機能している。また CTAB ミセルの 1.31 ppm のメチレンと 3.14 ppm のメチルの T_1 はそれぞれ 576 と 590 unit だった。 $P_{24}A_{217}/CTAB$ 、 $P_{100}A_{99}/CTAB$ 中の CTAB のメチレン (1.31 ppm) の T_1 はほとんど変化がなかった (568 と 576 ms) がメチル基 (3.14 ppm) の T_1 はそれぞれ減少した (501 と 516 ms)。したがって CTAB の 4 級アミンに隣接するメチル基の運動性が抑制されているため、静電相互作用で $P_mA_n/CTAB$ コンプレックスは形成される。

Table 4.2. Spin-Spin (T_2) and Spin-Lattice Relaxation (T_1) for Protons in the PMPC Blocks and CTAB in D_2O Containing 0.1 M NaCl

Sample	T_2 (ms)			T_1 (ms)		
	3.31 ^a ppm	3.14 ^b ppm	1.31 ^c ppm	3.31 ^a ppm	3.14 ^b ppm	1.31 ^c ppm
CTAB ^d	-	309	148	-	590	576
$P_{24}A_{217}$ ^e	317	-	-	514	-	-
$P_{100}A_{99}$ ^e	370	-	-	559	-	-
$P_{24}A_{217}/CTAB$ ^f	2.55	2.49	1.06	593	501	568
$P_{100}A_{99}/CTAB$ ^f	266	27.0	9.19	533	516	576

^aPMPC pendent methyl protons. ^bCTAB pendent methyl protons. ^cCTAB pendent methylene protons. ^dCTAB micelles. ^eFree unimer state. ^f $P_mA_n/CTAB$ complexes.

0.1 M 食塩水中での CTAB ミセル、 P_mA_n 、 $f = 0.5$ で作製した $P_mA_n/CTAB$ コンプレックスの R_h の分布を Figure 4.4 に示す。すべての粒径分布はユニモーダルだった。CTAB の臨界ミセル濃度 (cmc) は 0.328 g/L なので[40]、DLS の測定を行った 10 g/L の $R_h = 2.8$ nm はミセルのサイズを示している。 $P_{24}A_{217}$ と $P_{100}A_{99}$ の R_h はそれぞれ 4.3 と 4.4 nm と

小さな値で、ユニマー状態で溶解していることを示す。 $P_{24}A_{217}/CTAB$ コンプレックスと $P_{100}A_{99}/CTAB$ コンプレックスの R_h はそれぞれ 45.6 と 22.7 nm だった。 $P_{100}A_{99}/CTAB$ の R_h に比べて $P_{24}A_{217}/CTAB$ の方が大きくなったことは、2つの要因が考えられる。一つ目は $P_{100}A_{99}$ に比べて $P_{24}A_{217}$ のアニオン性の PAMPS ブロックの DP が約 2 倍大きいため、CTAB との静電相互作用で $P_{24}A_{217}/CTAB$ の方が $P_{100}A_{99}/CTAB$ よりも大きな会合体を形成した。次に $P_{24}A_{217}/CTAB$ コンプレックスを安定化するための PMPC ブロックの DP は、 $P_{100}A_{99}/CTAB$ に比べて 4 分の 1 と短い。したがって $P_{24}A_{217}/CTAB$ 中の、水に不溶性な PAMPS ブロックと CTAB のコンプレックスの水への可溶化度が低下してコンプレックスが凝集しやすくなったと考えられる。

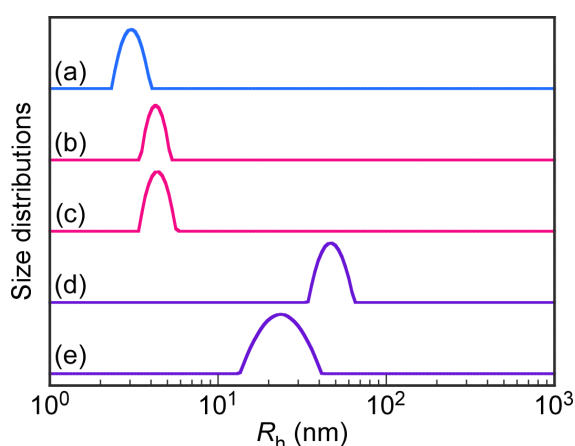


Figure 4.4. Hydrodynamic radius (R_h) distributions of (a) CTAB micelle at 10 g/L, (b) $P_{24}A_{217}$ at 5 g/L, (c) $P_{100}A_{99}$ at 5 g/L, (d) $P_{24}A_{217}/CTAB$ complex with $f^* = 0.5$, and (e) $P_{100}A_{99}/CTAB$ complex with $f^* = 0.5$ in 0.1 M NaCl aqueous solutions.

コンプレックスの形状を確認するため、 $P_mA_n/CTAB$ コンプレックスの TEM 観察を行った (Figure 4.5)。TEM 画像から、 $P_mA_n/CTAB$ コンプレックスは球状の会合体を形成していた。また $P_{24}A_{217}/CTAB$ コンプレックスは、中央のコントラストが低いため、ベシクル構造だと考えられる。一方 $P_{100}A_{99}/CTAB$ の場合、均一なコントラストが観測されたため、ミセルを形成した。また TEM から見積もった $P_{24}A_{217}/CTAB$ と $P_{100}A_{99}/CTAB$ の平均の半径は 46 と 22 nm だった。この値は DLS から得られた R_h と一致した。したがって CTAB ミセルと P_mA_n の混合で作製した会合体の会合状態は PMPC ブロックとアニオン性の PAMPS ブロックの DP に応じてミセルまたはベシクルに調製可能だった。

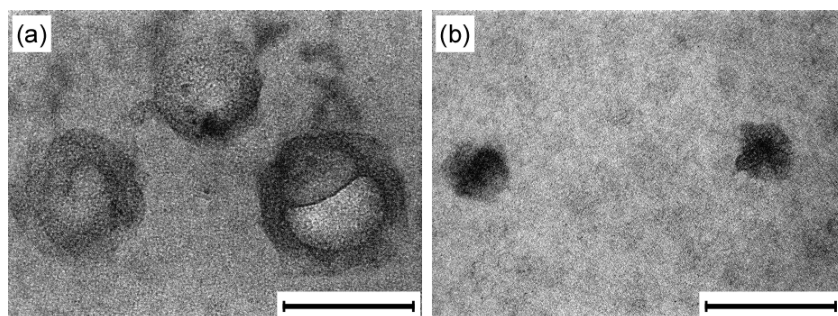


Figure 4.5. TEM images for (a) P100A99/CTAB and (b) P24A217/CTAB complexes with $f^+ = 0.5$ in 0.1 M NaCl aqueous solution. Each scale bars were 100 nm.

Figure 4.6 に $P_m A_n$ /CTAB コンプレックスの 0.1 M 食塩水中での時間に対する R_h の変化をプロットした。 $P_{24}A_{217}$ /CTAB を作製した直後の R_h は 48.7 nm だったが、48 時間後に R_h は 54.1 nm に増加した。 $P_{100}A_{99}$ /CTAB は作製直後の R_h は 21.8 nm だったが、48 時間後に R_h は 22.5 nm に増加した。48 時間より後の $P_m A_n$ /CTAB の R_h は、200 時間後までほぼ一定だった。さらに 2 ヶ月後も R_h は変化しなかった。 $P_m A_n$ /CTAB の 0.1 M 食塩水への分散性は良く、経時的な凝集の進行は観測されなかった。

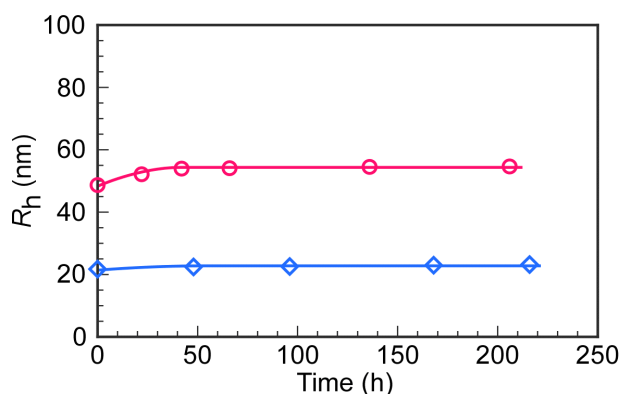


Figure 4.6. Time dependence on hydrodynamic radius (R_h) for $P_{24}A_{217}$ /CTAB (○) and $P_{100}A_{99}$ /CTAB (◇) with $f^+ = 0.5$ in 0.1 M NaCl aqueous solutions.

ユニマーの $P_m A_n$ および $P_m A_n$ /CTAB コンプレックスの 0.1 M 食塩水中での SLS 測定を行った。Figure 4.7 に $P_m A_n$ と $P_m A_n$ /CTAB コンプレックスの SLS から得られた Zimm プロットを示す。SLS と DLS 測定で得られた $P_m A_n$ と $P_m A_n$ /CTAB の M_w (SLS)、 N_{Pagg} 、 N_{Sagg} 、 R_g 、 R_h 、 R_g/R_h 、 A_2 、 dn/dC_p 、 d を Table 4.3 にまとめた。 $P_{24}A_{217}$ と $P_{100}A_{99}$ の M_w (SLS) はそれぞれ、 9.55×10^4 と 6.54×10^4 で、どちらの値も Table 4.1 に示した M_n (theo) および M_n (NMR) に近い値だった。

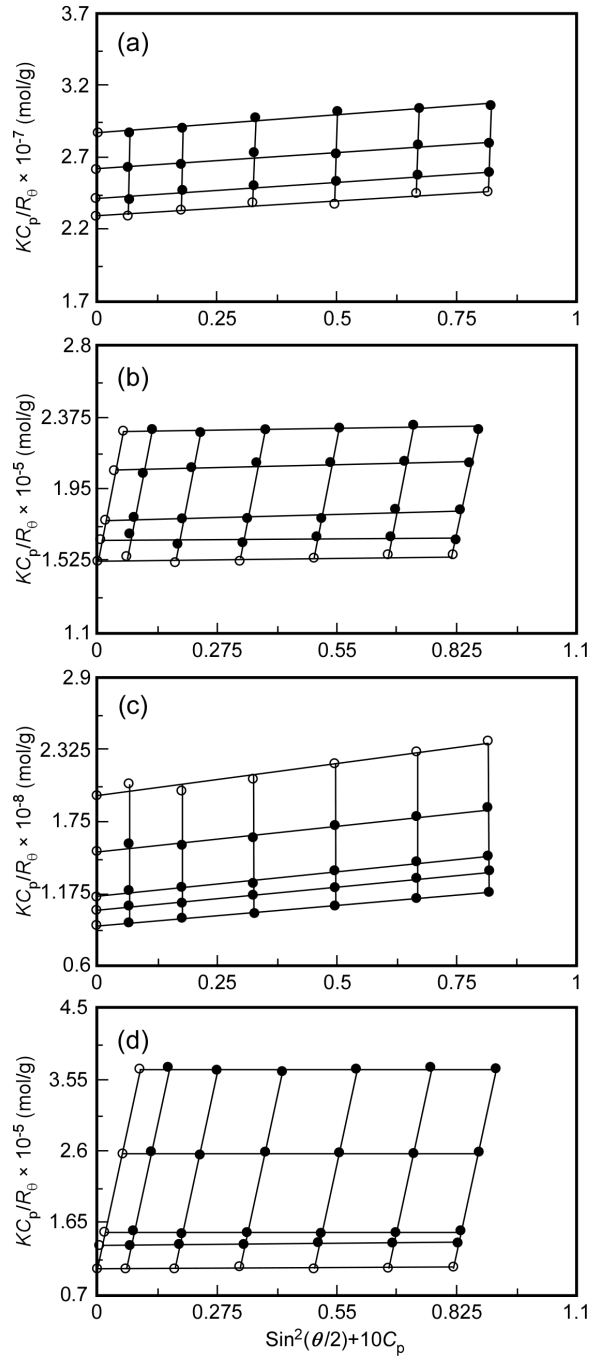


Figure 4.7. Typical examples of Zimm plots for (a) $P_{24}A_{217}$, (b) $P_{100}A_{99}$, (c) $P_{24}A_{217}/CTAB$, and (d) $P_{100}A_{99}/CTAB$ in 0.1 M NaCl aqueous solutions at scattering angles from 30 to 130° with a 20° increment.

SLS から得られた $P_{24}A_{217}/CTAB$ と $P_{100}A_{99}/CTAB$ コンプレックスの $M_w(SLS)$ はそれぞれ 5.08×10^7 と 4.35×10^6 だった。1つの $P_m A_n / CTAB$ コンプレックスを形成する $P_m A_n$ の数 (N_{Pagg}) と、CTAB の数 (N_{Sagg}) は以下の式で計算した。

$$N_{\text{Pagg}} = \frac{M_{\text{wC}}}{M_{\text{wP}} + n \times MW_{\text{S}}} \quad (4.5)$$

$$N_{\text{Sagg}} = N_{\text{Pagg}} \times n \quad (4.6)$$

ここで M_{wC} はコンプレックスの $M_{\text{w}}(\text{SLS})$ 、 M_{wP} はコンプレックスを構成する P_mA_n の $M_{\text{w}}(\text{SLS})$ 、 n は PAMPS ブロックの DP、 MW_{S} は CTAB の分子量 (= 364.45 g/mol)、 N_{Sagg} はコンプレックス中の CTAB の会合数を示す。コンプレックス中の N_{Pagg} は、使用した P_mA_n の分子量 (M_{wP}) と CTAB の分子量 (MW_{S}) に使用した P_mA_n の AMPS の DP (n) をかけた分子量の和を、コンプレックスを構成する一つの分子の分子量と仮定して、 M_{wC} をこの値でわることで算出した。 $\text{P}_{24}\text{A}_{217}/\text{CTAB}$ の N_{Pagg} と N_{Sagg} は、それぞれ 344 と 74600 だった。一方 $\text{P}_{100}\text{A}_{99}/\text{CTAB}$ の N_{Pagg} と N_{Sagg} は、それぞれ 43 と 4380 だった。 $\text{P}_{100}\text{A}_{99}/\text{CTAB}$ に比べ $\text{P}_{24}\text{A}_{217}/\text{CTAB}$ の N_{Pagg} および N_{Sagg} は、それぞれ 8 倍および 17 倍に増加した。 N_{Sagg} の増加は $\text{P}_{24}\text{A}_{217}$ の PAMPS ブロックの DP が $\text{P}_{100}\text{A}_{99}$ に比べて大きいため溶液中の電荷を中和するために必要な CTAB 分子の数が増加したと考えられる。また N_{Pagg} の増加は非会合性ブロックの PMPC が 5 分の 1 しかないため、コンプレックスのコアを安定化させるために必要な $\text{P}_{24}\text{A}_{217}$ の数が増加したと考えられる。 $R_{\text{g}}/R_{\text{h}}$ は粒子の密度や多分散度、形状を現すパラメーターである[41, 42]。 $R_{\text{g}}/R_{\text{h}}$ が 1 より小さいと剛体球、1 に近いと球状、2 以上で棒状であることが知られている。 $\text{P}_{24}\text{A}_{217}$ と $\text{P}_{100}\text{A}_{99}$ の $R_{\text{g}}/R_{\text{h}}$ はそれぞれ 2.26 と 2.21 だったため、溶液中で棒状に近い形状だった。これは PAMPS ブロックが静電反発で伸びきっていると考えられる。 $\text{P}_{24}\text{A}_{217}/\text{CTAB}$ と $\text{P}_{100}\text{A}_{99}/\text{CTAB}$ コンプレックスの $R_{\text{g}}/R_{\text{h}}$ はそれぞれ 0.731 と 0.888 だった。これは $\text{P}_m\text{A}_n/\text{CTAB}$ コンプレックスはどちらも球状であることを示唆する。また A_2 は溶媒への溶解度や分散性を示し、大きくなると分散性が向上し、小さいほど分散性は低い[43-45]。 $\text{P}_{24}\text{A}_{217}$ の A_2 は $\text{P}_{100}\text{A}_{99}$ に比べて大きくなったため、0.1 M 食塩水に対するユニマー状態の $\text{P}_{24}\text{A}_{217}$ の溶解性は $\text{P}_{100}\text{A}_{99}$ に比べて高かった。一方、CTAB と混合してコンプレックスを形成すると、 $\text{P}_{24}\text{A}_{217}/\text{CTAB}$ と $\text{P}_{100}\text{A}_{99}/\text{CTAB}$ の A_2 はそれぞれ -0.443×10^{-4} と 0.495×10^{-4} に低下した。 $\text{P}_{24}\text{A}_{217}/\text{CTAB}$ の A_2 が $\text{P}_{100}\text{A}_{99}/\text{CTAB}$ に比べて大幅に低下したのは、 $\text{P}_{24}\text{A}_{217}/\text{CTAB}$ の水溶性シェルを形成する PMPC ブロックが $\text{P}_{100}\text{A}_{99}/\text{CTAB}$ に比べて短いため、溶媒への溶解性が極端に低くなったためだと考えられる。 P_mA_n と $\text{P}_m\text{A}_n/\text{CTAB}$ コンプレックスの密度 (d) を以下の式で計算した。

$$d = \frac{M_{\text{w}}(\text{SLS})}{N_{\text{A}} \times V} \quad (4.7)$$

V は $4/3\pi R_h^3$ から計算した体積を示す。P₂₄A₂₁₇ の d は 0.147 g/cm³ だったのに対して P₂₄A₂₁₇/CTAB は 0.212 g/cm³ に増加した。これは CTAB との混合により CTAB が P₂₄A₂₁₇ により密にパッキングされたコアが形成したためだと考えられる。同様に P₁₀₀A₉₉ の d は 0.304 g/cm³ だったのに対して P₁₀₀A₉₉/CTAB は 0.476 g/cm³ に増加した。P₁₀₀A₉₉/CTAB の d の方が P₂₄A₂₁₇/CTAB に比べて大きくなったことから P₁₀₀A₉₉/CTAB はコアがより密にパッキングされたコンプレックスを形成したと考えられる。

Table 4.3. Dynamic and Static Light Scattering Data for P_mA_n and P_mA_n/CTAB

Samples	$M_w(\text{SLS})^a$ $\times 10^{-4}$	N_{Pagg}^b	N_{Sagg}^c	$A_2^d \times 10^4$ (cm ³ g ⁻² mol)	R_g^e (nm)	R_h^f (nm)	R_g/R_h	dn/dC^g (mg/L)	d^h (g/cm ³)
P ₂₄ A ₂₁₇	9.55	1	-	13.1	9.7	4.3	2.26	0.134	0.147
P ₁₀₀ A ₉₉	6.54	1	-	6.45	9.7	4.4	2.21	0.137	0.304
P ₂₄ A ₂₁₇ /CTAB	5080	344	74600	-0.443	33.4	45.6	0.731	0.126	0.212
P ₁₀₀ A ₉₉ /CTAB	435	43	4280	0.495	20.1	22.7	0.888	0.149	0.476

^aApparent weight-average molecular weight estimated from SLS. ^bAggregation number of P_mA_n calculated from eq 4.5. ^cAggregation number of CTAB calculated from eq 4.6. ^dThe second virial coefficient estimated from SLS. ^eRadius of gyration estimated from SLS. ^fHydrodynamic radius estimated from DLS. ^gRefractive index increment against concentration. ^hDensity calculated from eq 4.7.

P_mA_n/CTAB コンプレックス作製前の C_p が、コンプレックスの R_h に及ぼす影響を調べた。Figure 4.8 に C_p を変化させて作製した P₂₄A₂₁₇/CTAB の R_h の分布を示す。 $C_p = 0.1$ 、0.5、5 g/L の P₂₄A₂₁₇ 溶液に対して $C_s = 1$ g/L の CTAB 溶液を、 $f = 0.5$ となるように攪拌しながら滴下して P₂₄A₂₁₇/CTAB コンプレックスを作製した。P₂₄A₂₁₇/CTAB コンプレックスの R_h は P₂₄A₂₁₇ 濃度の増加に伴って 40.8 nm から 60.1 nm に増加した。これは C_p の増加に伴って、PAMPS と CTAB の接触頻度が増加して、コンプレックスの会合数が増加したと考えられる。Table 4.4 に P₂₄A₂₁₇/CTAB コンプレックス溶液中の最終的な P₂₄A₂₁₇ の C_p と CTAB の C_s をまとめた。混合前の C_p が 0.1、0.5、5 g/L の P₂₄A₂₁₇ 水溶液を用いて作製した P₂₄A₂₁₇/CTAB コンプレックスはすべて 1 週間後も R_h の変化はほとんど観測されなかった。したがって P₂₄A₂₁₇/CTAB コンプレックス作製時の P₂₄A₂₁₇ の初期濃度によってベシクルの R_h をある程度制御できた。

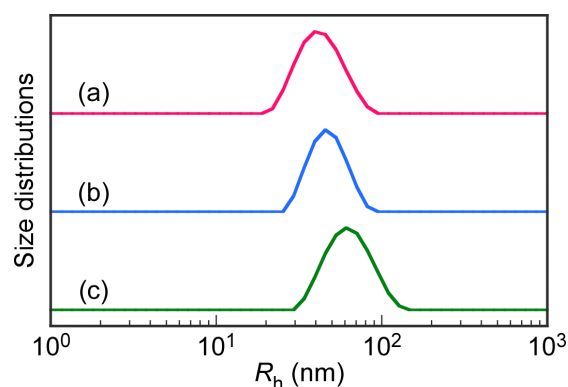


Figure 4.8. R_h distributions for $P_{24}A_{217}/CTAB$ complex changing the $P_{24}A_{217}$ concentration before mixing of CTAB solution in the 0.1 M NaCl aqueous solution. The $P_{24}A_{217}$ concentration was (a) 0.1, (b) 0.5, and (c) 5 g/L and CTAB concentration was fixed to 1 g/L.

Table 4.4. R_h Values of the $P_{24}A_{217}/CTAB$ Using Various Concentrations of $P_{24}A_{217}$ before Mixing of the CTAB Solution and Final Concentration of $P_{24}A_{217}$ and CTAB (C_p and C_s) in the Solution

Initial C_p before mixing (g/L)		R_h (nm)	Final C_p and C_s in the solution (g/L)	
			$P_{24}A_{217}$	CTAB
0.1		40.8	0.0879	0.121
0.5		45.7	0.296	0.408
5		60.1	0.631	0.874

Figure 4.9 に混合前の $P_{100}A_{99}$ の C_p を 0.1、0.5、5 g/L に変化させて作製した $P_{100}A_{99}/CTAB$ コンプレックスの R_h の分布を示す。 $P_{100}A_{99}/CTAB$ コンプレックスの作製時の C_p を変化しても R_h はそれぞれ 21.6、21.5、20.5 nm でほとんど変化しなかった。Table 4.5 に $P_{100}A_{99}/CTAB$ コンプレックス溶液中の最終的な $P_{100}A_{99}$ の C_p と CTAB の C_s をまとめた。混合前の $P_{100}A_{99}$ の C_p の増加に伴って $P_{100}A_{99}/CTAB$ コンプレックスの R_h は変わらないが、溶液の散乱光強度は増加した。散乱光強度の増加はコンプレックスのサイズや会合数の増加を示している。したがってミセルを形成する $P_{100}A_{99}/CTAB$ コンプレックスは作製前の初期 C_p を変化しても R_h は一定だった。

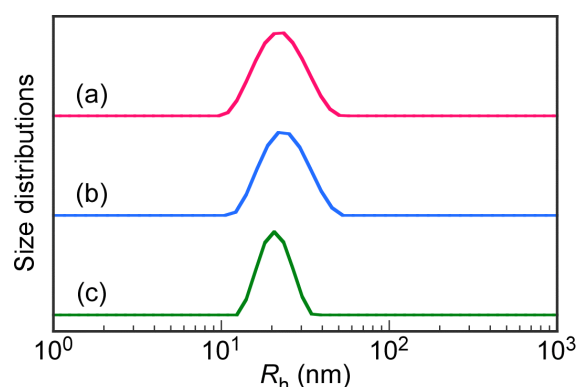


Figure 4.9. R_h distributions for $P_{100}A_{99}$ /CTAB complex changing the $P_{100}A_{99}$ concentration before mixing of CTAB solution in the 0.1 M NaCl aqueous solution. The $P_{100}A_{99}$ concentration was (a) 0.1, (b) 0.5, and (c) 5 g/L and CTAB concentration was fixed to 1 g/L.

Table 4.5. R_h Values of the $P_{100}A_{99}$ /CTAB Using Various Concentrations of $P_{100}A_{99}$ before Mixing of the CTAB Solution and Final Concentration of $P_{100}A_{99}$ and CTAB (C_p and C_s) in the Solution

Initial C_p before mixing (g/L)		R_h (nm)	Final C_p and C_s in the solution (g/L)	
			$P_{100}A_{99}$	CTAB
0.1		21.6	0.0939	0.0645
0.5		21.5	0.372	0.256
5		20.5	1.13	0.774

Figure 10 に P_mA_n /CTAB コンプレックスの f^* に対する R_h 、散乱光強度 (SI) およびゼータ電位 (ζ) を示す。 f^* は溶液中の全イオン濃度中のカチオンの濃度の割合を示す。混合前の P_mA_n と CTAB の濃度はそれぞれ 0.5、1 g/L に固定しているため、 f^* は P_mA_n と CTAB 水溶液の液量で調節した。 P_mA_n /CTAB コンプレックスはどちらも $f^* = 0.2$ では、溶液の散乱光強度が低すぎて正しく測定できていない可能性があるか、粒径分布はバイモーダルだった。 f^* が 0.3 から 0.7 の $P_{24}A_{217}$ /CTAB の R_h は 38.5 から 168 nm に増加した。一方 SI は $f^* = 0.6$ で最大値となった。また $P_{24}A_{217}$ /CTAB の ζ は $f^* = 0.5$ では負電荷を示し、 $f^* = 0.6$ でゼロに近づいた。これは $f^* = 0.5$ では CTAB ミセルが $P_{24}A_{217}$ とコンプレックスを形成する際に、CTAB ミセルが解離せずにコンプレックス内部に取り込まれ、PAMPS ブロックの負電荷が余ったと考えられる。しかし $f^* = 0.6$ で余った負電荷を打ち消すように CTAB が相互作用したため R_h が増加し、電荷が中和されたことを示す ζ 値のゼロが観測された。 $f^* = 0.7$ では PMPC シェルが短いためコンプレックス形成時に覆いきれなかった CTAB がコンプレックス間で架橋し R_h がさらに増加したと考えられる。しかし、 $f^* = 0.8$ では CTAB 濃度の増加に伴い $P_{24}A_{217}$ が減少して、溶液中のコンプレックス

の数が減少したため R_h が減少した。また CTAB 濃度の増加で、コンプレックスに関与しない CTAB ミセルが溶液中で共存する。しかし、 $P_{24}A_{217}/CTAB$ よりも散乱光強度が小さい CTAB ミセルは光散乱測定で観測されなかったため、溶液の ζ は $f^* = 0.7$ と等しくなった。

$P_{100}A_{99}/CTAB$ コンプレックスの場合、 f^* を 0.3 から 0.8 まで変化しても R_h はほとんど変化しなかった。しかし $P_{100}A_{99}/CTAB$ の SI は f^* が 0.3 から 0.5 までは徐々に増加し、それ以降変化しなかった。また $P_{100}A_{99}/CTAB$ の ζ は $f^* = 0.5$ でゼロとなったため、電荷が中和されたことを示唆した。したがって f^* が 0.5 まで f^* の増加に伴ってコアの密度が増加したと考えられる。しかし、 f^* が 0.5 以上の $P_{100}A_{99}/CTAB$ コンプレックス ζ はゼロのまま一定だった。これは f^* の増加により溶液中の $P_{100}A_{99}/CTAB$ コンプレックスに関与しない CTAB ミセルが増加したと考えられる。したがって表面電荷がゼロの $P_{100}A_{99}/CTAB$ に比べて散乱光強度が極端に小さい CTAB ミセルは ζ が観測されなかったため、 $f^* = 0.8$ でも ζ がゼロだった。 $f^* = 1$ で CTAB の ζ が観測されたのは、測定時の CTAB 濃度が 10 g/L だったため散乱光強度が増加したと考えられる。

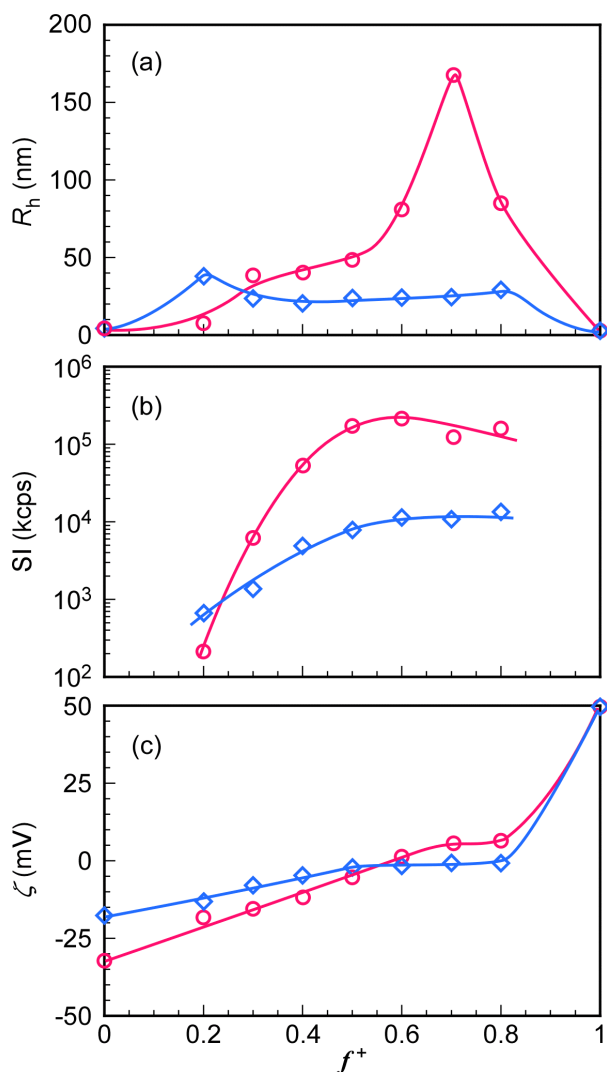


Figure 4.10. (a) R_h , (b) SI and (c) ζ values for (○) P24A217/CTAB and (◇) P100A99/CTAB against f^+ in 0.1 M NaCl aqueous solution.

Figure 4.11 に溶液中の NaCl 濃度 ($[\text{NaCl}]$) に対する P_mA_n/CTAB コンプレックスの R_h 、800 nm の透過率 ($\%T$)、散乱光強度 (SI) の変化を示す。各 $[\text{NaCl}]$ の P_mA_n/CTAB 溶液の調製は、0.1 M 食塩水中で作製した $P_{24}A_{217}/\text{CTAB}$ コンプレックスに NaCl を添加した。 $[\text{NaCl}]$ を 0.75 M 程度まで増加させると、 $P_{24}A_{217}/\text{CTAB}$ の R_h は 52.3 nm から 61.1 nm に徐々に増加した。また $P_{24}A_{217}/\text{CTAB}$ の SI はほとんど変化しなかったが、 $\%T$ は徐々に低下した。このことからこの $[\text{NaCl}]$ 範囲では $P_{24}A_{217}/\text{CTAB}$ は $[\text{NaCl}]$ の増加によりコンプレックスのコアに溶媒を取り込んで膨潤した。一方 $P_{24}A_{217}/\text{CTAB}$ は 0.8 M から 1.3 M の $[\text{NaCl}]$ では溶液の散乱が増加して $\%T$ が大幅に減少した。またこの $[\text{NaCl}]$ 範囲では Figure 4.12 に示すように溶液の濁りが強く DLS 測定を行えなかった。これは $P_{24}A_{217}/\text{CTAB}$ が $[\text{NaCl}]$ の増加で塩析して、コアセルベートのような液-液相分離により大きな会合体を形成し

たためだと考えられる[46, 47]。しかし、1.3 M の[NaCl]を超えると、溶液は完全に透明になったため[NaCl]の増加で PAMPS と CTAB 間での静電相互作用が遮蔽され、コンプレックスが P₂₄A₂₁₇ のユニマーと CTAB ミセルに解離したと考えられる。

また P₁₀₀A₉₉/CTAB の %*T* は測定した[NaCl]範囲でほぼ 100 % だった。P₁₀₀A₉₉/CTAB の *R_h* は 0.1 から 1.0 M までの[NaCl]範囲で 23.2 nm から 30.9 nm に増加した。その後、[NaCl]の添加で *R_h* が急激に増加した。一方 SI は[NaCl]が 0.1 から 0.8 M までは徐々に増加したがその後低下した。これは 0.1 から 0.8 M の[NaCl]で P₁₀₀A₉₉/CTAB コンプレックスの会合数が増加し、その後の塩の添加で PAMPS と CTAB 間での静電相互作用が遮蔽されコンプレックスが解離したと考えられる。しかし P₁₀₀A₉₉/CTAB コンプレックスは[NaCl]が高くてもユニマー由来の *R_h* 値は得られなかった。P₁₀₀A₉₉/CTAB コンプレックスは P₂₄A₂₁₇/CTAB とは異なり 0.8 M 以上の[NaCl]で相分離しなかった。これは P₂₄A₂₁₇/CTAB に比べて PMPC シェルが長いためだと考えられる。これらの結果から、P₂₄A₂₁₇/CTAB ベシクルに比べて PMPC シェルの長い P₁₀₀A₉₉/CTAB ミセルの方が[NaCl]に対する安定性が高かった。

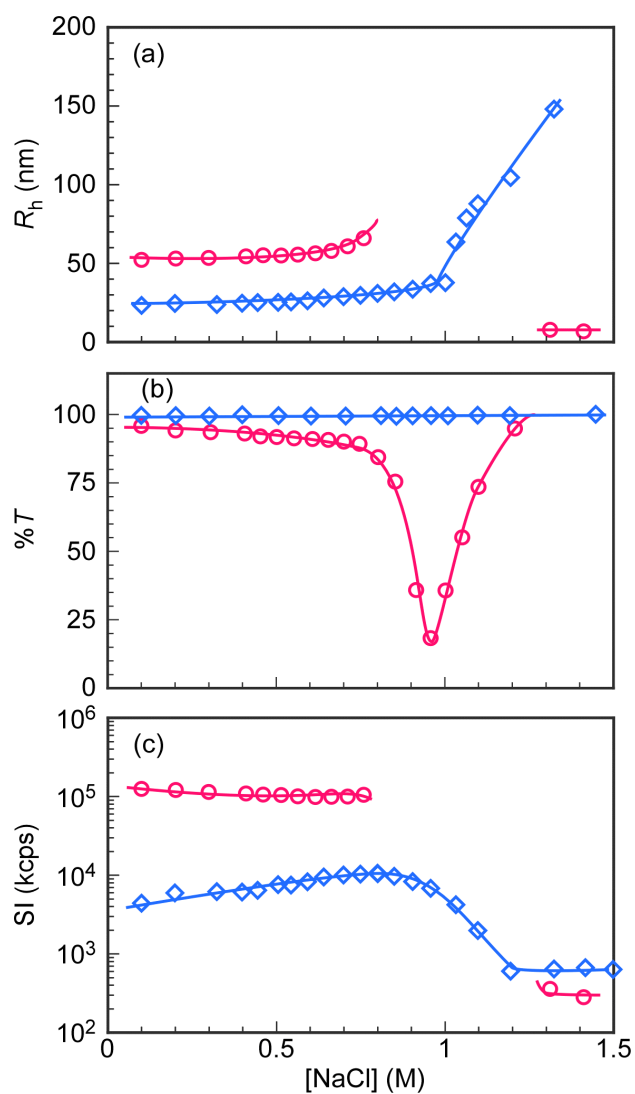


Figure 4.11. (a) R_h , (b) %T at 800 nm, and (c) SI for $P_{24}A_{217}/CTAB$ (\circ) and $P_{100}A_{99}/CTAB$ (\diamond) as a function of NaCl concentration ($[NaCl]$) in water.

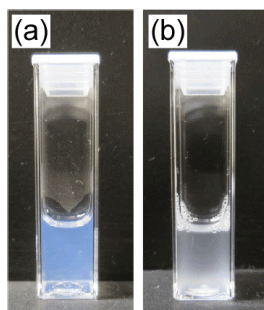


Figure 4.12. Digital photographs for $P_{24}A_{217}/CTAB$ complex solution with $[NaCl] =$ (a) 0.1 M and (b) 0.9 M. At $[NaCl] = 0.9$, we cannot carry out the DLS measurement.

Figure 4.13a に f が 0.5 で調製した P_mA_n /CTAB コンプレックス水溶液を希釈したときの、溶液中の C_S に対する R_h を示す。 $P_{24}A_{217}$ /CTAB 中の C_P と C_S はそれぞれ 0.296 と 0.408 g/L で、 $P_{100}A_{99}$ /CTAB 中の C_P と C_S は 0.372 と 0.256 g/L だった。これらのコンプレックス溶液を 0.1 M 食塩水で希釈して各 C_S になるように調製した。各コンプレックスの R_h は C_S に関わらず、DLS の測定限界の散乱光強度まで希釈しても一定だった。

ピレン周りの微極性の変化に伴い、ピレンの励起スペクトルにおける 0-0 バンドの極大波長がシフトすることが知られている[48]。水中でのピレンの 0-0 バンドの極大波長は 335 nm だが、ピレンが疎水場に取り込まれると 338 nm に長波長シフトする。したがって、ピレンの励起スペクトルにおける 338 nm と 335 nm の強度比 (I_{338}/I_{335}) はピレンが水相に存在すると小さな値を示し、ピレンが疎水的な環境に存在する大きくなる。Figure 4.13b に CTAB およびコンプレックス溶液の C_S に対する I_{338}/I_{335} のプロットを示す。 P_mA_n 非存在下で C_S が低いときの I_{338}/I_{335} は 0.58 だった。 C_S を増加すると 0.019 g/L 以上で I_{338}/I_{335} の増加が観測された。これは CTAB ミセルが形成され、ミセルの疎水性コア中にピレンが取り込まれたと考えられる。したがってこの C_S を臨界ミセル濃度 (cmc) と定義した。

P_mA_n が CTAB の会合に対してどのような影響を与えるのか調べるため、 P_mA_n 存在下での CTAB ミセルの cmc を調べた。 $P_{24}A_{217}$ /CTAB および $P_{100}A_{99}$ /CTAB の cmc は、それぞれ 0.00097 および 0.0019 g/L だった。ミセルを形成する系に比べてベシクルを形成する場合の方が cac は小さくなった。これはベシクルの方がミセルに比べて CTAB 分子の運動性がアニオン性ジブロック共重合体によって制限されているためだと考えられる。これは P_mA_n /CTAB コンプレックスの R_g/R_h や 1H NMR の結果と一致した。 R_g/R_h から $P_{24}A_{217}$ /CTAB の方が $P_{100}A_{99}$ /CTAB に比べて密度が高かった。また 1H NMR の T_1 や T_2 から、 $P_{24}A_{217}$ /CTAB の方が $P_{100}A_{99}$ /CTAB に比べて CTAB の運動性の抑制が観測された。これらの結果から、 P_mA_n /CTAB コンプレックスは CTAB の cmc 以上濃度で、CTAB ミセルと PAMPS によって形成したコアの CTAB ミセル内部に疎水性ゲスト分子を取り込めた。

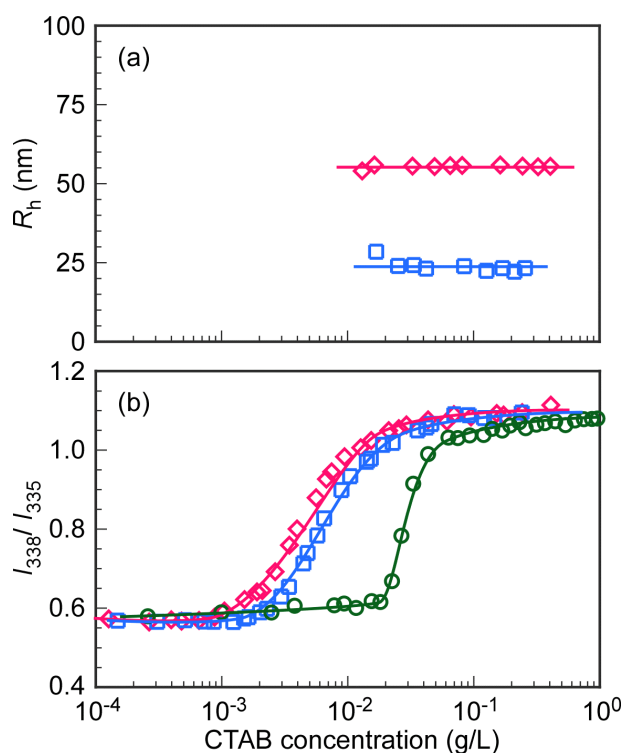


Figure 4.13. (a) R_h for $P_mA_n/CTAB$ and (b) pyrene emission intensity ratio (I_{338}/I_{335}) in the presence of CTAB and $P_mA_n/CTAB$ as a function of CTAB concentrations in 0.1 M NaCl aqueous solution: CTAB (○), $P_{24}A_{217}/CTAB$ (◇), and $P_{100}A_{99}/CTAB$ (□).

$P_{24}A_{217}/CTAB$ コンプレックスのベシクル内水相へ親水性で高分子量のゲスト分子を取り込み可能か確かめるために、蛍光プローブとしてテキサスレッドをラベル化した分子量 70000 のデキストラン (TD70) を用いた蛍光実験を行った。親水性のデキストランは電荷を持っていないゲスト分子である。TD70 を溶解した PBS バッファーに $P_{24}A_{217}$ を溶解した。この $P_{24}A_{217}$ 溶液に対して PBS バッファーに溶解した CTAB 溶液を混合することで $P_{24}A_{217}/CTAB$ コンプレックスを作製し、作製したベシクル内部に TD70 を取り込んだ。ベシクル内部に取り込まれていない TD70 を除くために PBS バッファーに対して 120 時間透析した。その後、透析した溶液の $P_{24}A_{217}/CTAB$ コンプレックスを解離するために NaCl を添加した。 $P_{24}A_{217}/CTAB$ コンプレックスを壊した後の溶液の蛍光スペクトルを測定し Figure 4.14 に示した。610 nm に観測される TD70 の蛍光ピークが観測されたため、 $P_{24}A_{217}/CTAB$ コンプレックス中の中空コアに TD70 が取り込まれたと考えられる。比較として TD70 のみを PBS バッファーに対して 120 時間透析すると TD70 の蛍光ピークは観測されなかったため、透析膜に使用したポアサイズ (50 nm) より小さい TD70 がダイアライザー内部から除かれたと考えられる。したがって $P_{24}A_{217}/CTAB$ コンプレックスの空孔内に親水性ゲスト分子である TD70 が取り込むことができた。また $P_{24}A_{217}/CTAB$ 内部に取り込まれた TD70 の重量を検量線から算出すると 0.00280 mg だっ

た。この値から $P_{24}A_{217}/CTAB$ のベシクル内水相への TD70 の取り込み効率 (LE) と取り込み容量 (LC) はそれぞれ 9.45、0.189 % だった。以上の結果から $P_{24}A_{217}/CTAB$ コンプレックスが形成するベシクル内水相に非電荷の親水性ゲスト分子を取り込めた。

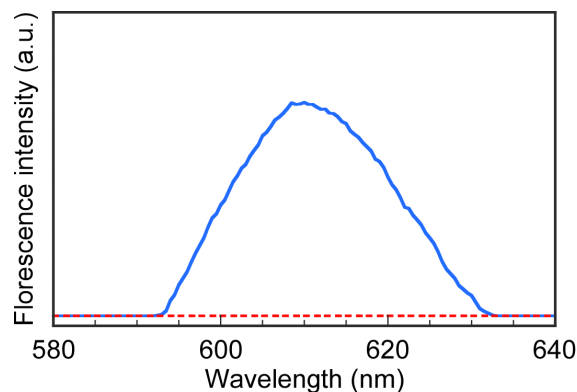


Figure 4.14. Fluorescence emission spectra for TD70 after dialysis against PBS buffer for 120 h excited at 550 nm in the presence (—) and absence (----) of $P_{24}A_{217}/CTAB$ complex in PBS buffer solutions.

4.4 結論

本研究ではアニオン性ジブロックコポリマーとカチオン性低分子界面活性剤間での相互作用により形成されるコンプレックスの会合挙動の制御について報告した。アニオン性ジブロックコポリマーの $PMPC_m-b-PAMPS_n$ (P_mA_n) はそれぞれ PMPC マクロ CTA を用いた RAFT 制御ラジカル重合で合成した。カチオン性界面活性剤の CTAB とアニオン性ジブロックコポリマーの P_mA_n のポリマー濃度 (C_p) がそれぞれ 1.0、0.5 g/L の 0.1 M NaCl 水溶液を調製し、両者を電荷が中和する $f^* = 0.5$ で混合すると、アニオン性ジブロックコポリマーとして $P_{24}A_{217}$ を用いた場合はベシクルを、 $P_{100}A_{99}$ を用いた場合はミセルを形成した。ベシクルはコンプレックス作製前の初期 C_p によってサイズがある程度制御可能だったのに対して、ミセルのサイズは初期 C_p に依存しなかった。さらに作製したベシクル内水相に親水性で電荷を持たないゲスト分子が取り込めた。これらの P_mA_n と CTAB の混合で形成されるベシクルとミセルは表面を生体適合性ポリマーの PMPC で覆われているためドラッグデリバリーシステムのキャリア分子として利用できる可能性がある。

参考文献

- [1] E. D. Goddard, K. P. Ananathapadmanabhan, Eds.; CRC Press: Boca Raton, FL (1993)
- [2] F. M. Winnik, S. T. A. Regismond, *Colloids Surf. A*, **118** (1996) 1-39
- [3] D. Langevin, *Adv. Colloid Interface Sci.*, **90** (2001) 467 – 484
- [4] L. Piculell, B. Lindman, *Adv. Colloid Interface Sci.*, **41** (1992) 149-178
- [5] I. K. Voets, A. de Keizer, M. A. C. Stuart, *Adv. Colloid Interface Sci.*, **147-148** (2009) 300-308
- [6] D. Langevin, *Adv. Colloid Interface Sci.*, **147-148** (2009) 170-177
- [7] S. Zhou, B. Chu, *Adv. Mater.*, **12** (2000) 545-556
- [8] Y. Li, J. Xia, P. L. Dubin, *Macromolecules*, **27** (1994) 7049-7055
- [9] I. Hoffmann, P. Heunemann, S. Prévost, R. Schweins, N. J. Wagner, M. Gradzielski, *Langmuir*, **27** (2011) 4386-4396
- [10] S. B. Mahendra, D. Surekha, *Adv. Colloid Interface Sci.*, **123-126** (2006) 387-399
- [11] J. Fundin, W. Brown, *Macromolecular*, **27** (1994) 5024-5031
- [12] A. Mezei, R. Mészáros, I. Varga, T. Gilányi, *Langmuir*, **23** (2007) 4237-4247
- [13] P. Hansson, *Langmuir*, **17** (2001) 4167-4180
- [14] R. J. Allen, P. B. Warren, *Langmuir*, **20** (2004) 1997-2009
- [15] T. T. Nguyen, B. I. Shklovski, *J. Chem. Phys.*, **114** (2001) 5905-5916
- [16] H. Schiessel, R. F. Bruinsma, W. M. Gelbart, *J. Chem. Phys.*, **115** (2001) 7245-7252
- [17] M. Skeepö, P. Linse, *Macromolecules*, **36** (2003) 508-519
- [18] T. K. Bronich, A. V. Kabanov, V. A. Kabanov, K. Yui, A. Eisenberg, *Macromolecules*, **30** (1997) 3519-3525
- [19] T. K. Bronich, T. Cherry, S. Vinogradov, A. Eisenberg, V. A. Kabanov, A. V. Kabanov, *Langmuir*, **14** (1998) 6101-6106
- [20] A. V. Kabanov, T. K. Bronich, V. A. Kabanov, K. Yu, A. Eisenberg, *J. Am. Chem. Soc.*, **120** (1998) 9941-9942
- [21] T. K. Bronich, A. M. Popov, A. Eisenberg, V. A. Kabanov, A. V. Kabanov, *Langmuir*, **16** (2000) 481-489
- [22] P. Hervé, M. Destarac, J.-F. Berret, J. Lal, J. Oberdisse, I. Grillo, *Europhys. Lett.*, **58** (2002) 912-917
- [23] J.-F. Berret, G. Cristobal, P. Hervé, J. Oberdisse, I. Grillo, *Eur. J. Phys. E*, **9** (2002) 301-311
- [24] K. Nakai, M. Nishiuchi, M. Inoue, K. Ishihara, Y. Sanada, K. Sakurai, S. Yusa, *Langmuir*, **29** (2013) 9651-9661
- [25] K. Ishihara, T. Ueda, N. Nakabayashi, *Polym. J.*, **22** (1990) 335-360
- [26] Y. Mitsukami, M. S. Donovan, A. B. Lowe, C. L. McCormick, *Macromolecules*, **34** (2001) 2248-2256

- [27] S. Yusa, K. Fukuda, T. Yamamoto, K. Ishihara, Y. Morishima, *Biomacromolecules*, **6** (2005) 663-670
- [28] S. Meiboom, D. Gill, *Rev. Sci. Instrum.*, **29** (1958) 688-691
- [29] S. J. Mears, T. Cosgrove, L. Thompson, I. Howell, *Langmuir*, **14** (1998) 997-1001
- [30] B. H. Zimm, *J. Chem. Phys.*, **16** (1948) 1099-1116
- [31] J. Jakes, *Czech. J. Phys.*, **B38** (1988) 1035
- [32] W. Brown, T. Nicolai, S. Hvidt, P. Stepanek, *Macromolecules*, **23** (1990) 375-377
- [33] J. Jakes, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **60** (1995) 1781-1797
- [34] M. H. Stockmayer, M. Schmidt, *Pure Appl. Chem.*, **54** (1982) 407-414
- [35] G. D. J. Phillies, *Anal. Chem.*, **62** (1990) 1049A-1057A
- [36] S. I. Ali, J. P. A. Heuts, A. M. van Herk, *Langmuir*, **26** (2010) 7848-7858
- [37] S. Yusa, Y. Shimada, Y. Mitsukami, T. Yamamoto, Y. Morishima, *Macromolecules*, **36** (2003) 4208-4215
- [38] S. Yusa, Y. Yokoyama, Y. Morishima, *Macromolecules*, **42** (2009) 376-383
- [39] T. Wu, Q. Wu, S. Guan, H. Su, Z. Cai, *Biomacromolecules*, **8** (2007) 1899-1906
- [40] H. Per, J. Bengt, S. Cecilia, S. Olle, *J. Phys. Chem. B*, **104** (2000) 3496-3506
- [41] K. Huber, S. Bantle, P. Lutz, W. Burchard, *Macromolecules*, **18** (1985) 1461-1467
- [42] T. Konishi, T. Yoshizaki, H. Yamakawa, *Macromolecules*, **24** (1991) 5614-5622
- [43] M. Kikuchi, Y. Terayama, T. Ishikawa, T. Hoshino, M. Kobayashi, N. Ohta, H. Jinnai, A. Takahara, *Macromolecules*, **48** (2015) 7194-7204
- [44] T. M. Scherer, J. Liu, S. J. Shire, A. P. Minton, *J. Phys. Chem. B*, **114** (2010) 12948-12957
- [45] M. Nuopponen, K. Kalliomäki, V. Aseyev, H. Tenhu, *Macromolecules*, **41** (2008) 4881-4886
- [46] S. V. Solomatin, T. K. Bronich, A. Eisenberg, V. A. Kabanov, A. V. Kabanov, *Langmuir*, **20** (2004) 2066-2068
- [47] J. S. Park, Y. Akiyama, Y. Yamasaki, Y. Kataoka, *Langmuir*, **23** (2007) 138-146
- [48] M. Wilhelm, C. Zhao, Y. Wang, R. Xu, M. A. Winnik, J. Mura, G. Riess, M. D. Croucher, *Macromolecules*, **24** (1991) 1033-1040

第5章 外部刺激で親-疎水性を制御できる疎水性粉末を用いたリキッドマーブルの作製

5.1 緒言

液-液、気-液、気-固界面での固体粒子の吸着に対する関心が高まっている。エマルジョンはオイル-水の界面で固体粒子が吸着し安定化でき、ピッカリングエマルジョンとして知られる[1-3]。このようなエマルジョンは過去十年間で広く研究されてきた[4, 5]。さらに気-液界面で固体粒子が吸着することで安定化したリキッドマーブルは、化粧品や医薬品、塗料などに応用できるため注目が集まっている[6-9]。リキッドインガス分散システムのリキッドマーブルは、気-液界面に疎水性粒子が吸着することで作製される。これまでに疎水化したシリカなどの無機粒子[10-13]やグラファイト[14]、合成高分子粒子[15-18]などがリキッドマーブルを安定化する疎水性粒子として利用できることが報告された。この疎水性粒子で覆われたリキッドマーブルは水の表面やガラス上に置ける。

近年、気-液界面で安定化できるリキッドマーブルは液滴の操作や運搬、保存などといった新たな手法としても注目されている[19-21]。例えば、水滴に吸着した疎水性粒子表面の濡れ性を切り替えることで、刺激応答性リキッドマーブルの安定性を制御できる[22, 23]。藤井らは[24]、分散重合で作製した4級アミノ基を含むポリ(2-(*N,N*-ジエチルアミノ)エチルメタクリレート)(pDEA, $pK_a = ca. 7.0$)ヘアで機能化されたポリスチレンラテックスを用いてpH応答性リキッドマーブルの作製を報告した。pDEAが表面に修飾されたポリスチレン粒子で作製されたpH応答性リキッドマーブルは、塩基性のバルク水上ではpDEAヘアの4級アミノ基の脱プロトン化で疎水性となるため表面に浮かべる事ができる。反対に、このリキッドマーブルを酸性の蒸気に曝すと、pDEAヘアのプロトン化でイオン化することでポリスチレン粒子表面が親水化することでリキッドマーブルはすぐに崩壊した。また我々は、上に記したpH応答性リキッドマーブルと逆の崩壊挙動を示すpH応答性リキッドマーブルを表面にポリ(6-アクリルアミド)ヘキサノ酸(pAaH)を修飾したシリカゲル粒子を用いて作製した[25]。pAaHは酸性から中性では側鎖のカルボン酸のプロトン化で疎水性を示すが、塩基性条件下ではカルボン酸の脱プロトン化によってカルボキシレートイオンを生じて親水性となる。したがって、pAaHで表面を修飾したシリカゲル粒子で作製されたリキッドマーブルは酸性もしくは中性のバルク水上で安定だが、バルク水へのNaOHの添加で塩基性に切り替えることで崩壊した。

またリキッドマーブルを崩壊させるための刺激としてpH以外にも用いる事ができる。Wangら[26]は、ポリ(2-ビニルピリジン)(p2VP)と光酸生成物(PAG)を含むpH応答性ブロック共重合体をもつ Fe_3O_4/SiO_2 粒子を用いて、磁性とUV光に応答するリキッドマーブルの作製を報告した。これらの粒子を用いて作製した水滴を含むリキッドマーブルは、磁場の印加によってそれらの動きを制御できた。また紫外(UV)光を照射す

ると、PAG が酸を生成し、粒子表面の p2VP 鎖のプロトン化が誘起され、粒子表面が親水性になることでリキッドマーブルは崩壊した。刺激応答性リキッドマーブルは様々な刺激に敏感に応答して安定性を制御できるため、マイクロリアクターや、pH やガスのセンサーなどへの応用が期待される[20]。しかし、これらの刺激応答性リキッドマーブルを作製するための疎水性粒子の合成は多段階で、複雑な合成プロセスを含むため手間と時間、合成のための専門知識が必要である。

そこで本研究では、様々な刺激に応答するリキッドマーブルを作製するための疎水性粒子を、複雑な合成プロセスを経ることなく、簡便に刺激応答性リキッドマーブルを調製することを目的とした。リキッドマーブルを崩壊するための刺激として、UV 光、近赤外 (NIR) 光、温度の 3 種類に着目した。我々はこれらの刺激に応答する疎水性粉末と水滴を用いてリキッドマーブルを作製し、それぞれの刺激に応じた疎水性粉末の親水化によるリキッドマーブルの崩壊挙動を調べた。また NIR 光および温度応答性リキッドマーブルを用いて、刺激をトリガーとした化学反応を実証した。

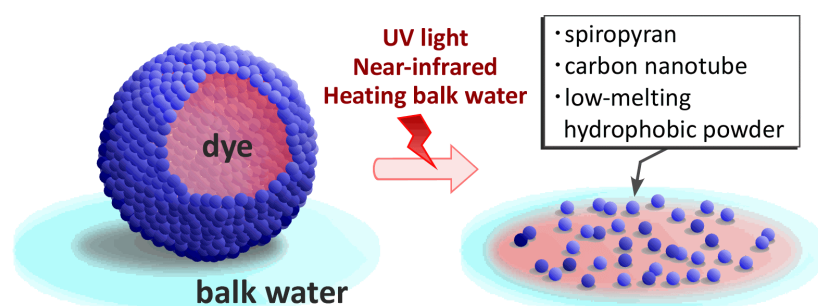


Figure 5.1. Schematic graphic of disintegration of various-stimuli-responsive liquid marbles stabilized by stimuli-responsive hydrophobic powders at air-water interface on the bulk water surface.

5.2 紫外光応答性リキッドマーブル

紫外光 (UV) 光応答性リキッドマーブルを作製するために、外部からの刺激で水への濡れ性を切り替え可能なスピロピラン (SP) 粉末を用いた (Figure 5.2.1)。SP は UV 光の照射でイオン化しメロシアン (MC) に構造が変化する。スピロピラン粉末 (>98.0%) は東京化成工業株式会社から購入しそのまま使用した。このリキッドマーブルは、UV 光非照射時は固体や水などの表面で安定だが、UV 光照射で SP がイオン化することで親水的な MC へ構造変化し崩壊する。

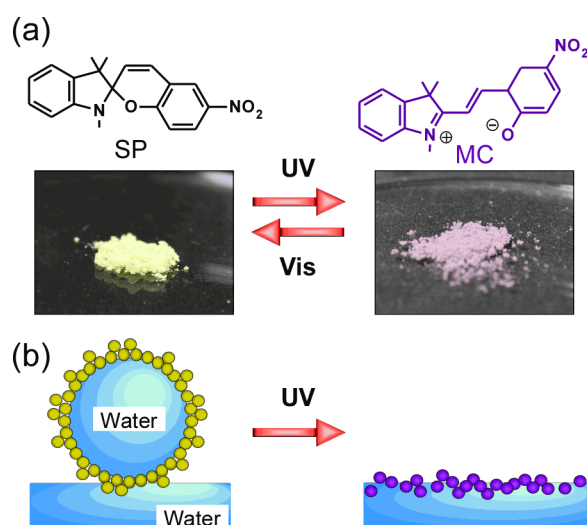


Figure 5.2.1. (a) Light-induced isomerization between spiroopyran (SP) and the corresponding merocyanine (MC) by alternating irradiation with ultraviolet (UV) and visible light. Also shown are digital photographs of SP and MC powder. (b) Schematic illustration of a liquid marble prepared using SP powder on the surface of a pool of water, and subsequent disintegration upon exposure to UV light.

SP の UV 光に応答した異性化を溶液中での紫外-可視吸収スペクトルから確認した。10 分間の UV 光照射を行った際の酢酸エチル中での SP の紫外-可視吸収スペクトルの変化を調べた。UV 光照射前は、580 nm の MC 由来の吸収ピークは観測されなかったが、UV 光を照射すると MC の形成を示唆する 580 nm の吸収が増加した。溶液の色は UV 光照射で透明な紫色に変化した。

Figure 5.2.2a に UV 光照射による SP 粉末の拡散反射率スペクトルの変化を示す。UV 光を照射すると、SP から MC 異性体への光異性化で約 590 nm の反射率が減少した。UV 光照射時間 t に対する MC 異性体のフラクシオン (f_{MC}) は以下の式を用いることで反射率から計算できる。

$$f_{MC} = \frac{[MC]_t}{[SP]_0} = 1 - \left(\frac{R(t) - R_\infty}{R(0) - R_\infty} \right) \quad (5.2.1)$$

$$-\ln \left(\frac{R(t) - R_\infty}{R(0) - R_\infty} \right) = kt \quad (5.2.2)$$

ここで $[MC]_t$ は時間 t での MC 異性体の量を、 $[SP]_0$ は SP 異性体の初期量、 $R(t)$ と $R(0)$ はそれぞれ、時間 t と着色過程の起こり始めで示された 590 nm の反射率、 R_∞ は光定常状態に達した後の 590 nm の反射率を示す。MC のフラクシオンは UV 光照射時間に対

してプロットした (Figure 5.2.2b)。約 80 % の SP 粉末は 10 秒の UV 光照射で MC に変化した。粉末状態での SP から MC への一次反応速度定数 (k) は、SP から MC への光異性化の一次反応速度プロット (Figure 5.2.2c) の初期勾配から式 5.2.2[28]を用いて算出すると $5.31 \times 10^{-1} \text{ s}^{-1}$ だった。

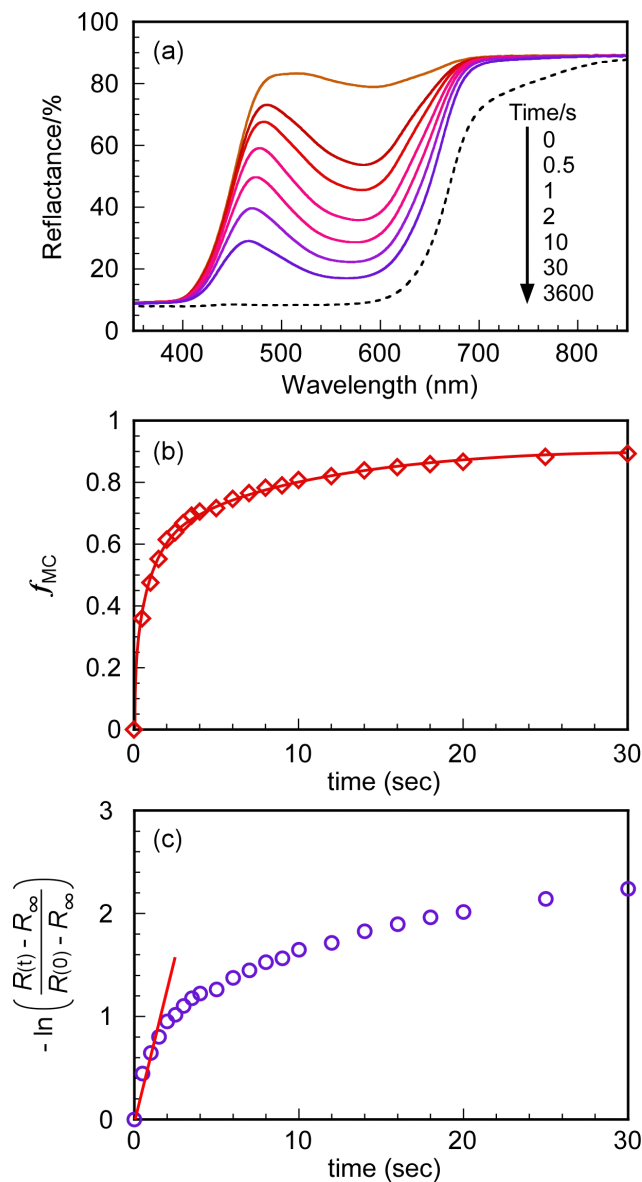


Figure 5.2.2. Changes in the diffuse reflectance spectrum of SP powder upon UV irradiation. The irradiation times are indicated in the figure. (b) Changes in the MC fraction (f_{MC}) of the powder as a function of irradiation time upon photoisomerization of SP to MC. (c) First-order kinetic plot for photoisomerization of SP to MC in the powder state.

Figure 5.2.3 に UV 照射前後での SP ペレット表面の水の接触角の様子を示す。UV 光照射前の SP ペレット表面の純水に対する接触角は 85° だったのに対して、UV 照射で

MC に構造変化すると 64° に低下した。UV 照射後は親水性の MC に変化したため、元の SP ペレットのよりもペレット表面が親水性になった。これは UV 光照射で MC 成分の増加に伴い粉末表面の極性が増加したことを示す。これは Rosario 等により報告された SP 分子を共有結合したガラス表面上での水の接触角の光に応答した変化と同様の挙動だった[27]。



Figure 5.2.3. Water contact angles of the pellet surface of (a) SP before UV irradiation and (b) MC after UV irradiation.

リキッドマーブルは SP 粉末上で水の液滴を転がすことで作製した。これらのリキッドマーブルはガラス上 (Figure 5.2.4a) やバルク水の表面 (Figure 4.2.5) に移しても壊れずに安定だった。SP 粉末で作製したリキッドマーブルは表面がかなり粗かった。これはリキッドマーブルを覆っている SP 粉末がかなり不揃いなクラスターであることが示唆された[22, 29]。不揃いな SP 粉末の形状は SEM によって観察できた (Figure 5.2.3c)。これらの粉末状のクラスターは、液滴とクラスター界面でキャシー-バクスターの濡れ性に基づいてリキッドマーブルを形成する際に空気をトラップしたと予想される[16]。

リキッドマーブルをさらに調査するために蛍光顕微鏡観察を行った (Figure 5.2.4b)。10 μL の 0.01 wt% のフルオレセインを溶解した 20 wt% ゼラチン水溶液と SP 粉末を用いて 60°C でリキッドマーブルを作製した。作製したリキッドマーブルを室温に冷却した後、リキッドマーブルをメスで切断した。これは 60°C で流動性水溶液だが室温でゲルを形成するゼラチンを用いたため可能だった。その後 SP を、蛍光を発する MC に変換するために UV 光を 10 分間照射した[30, 31]。ゲル中のフルオレセインは黄色を生じ、その周囲を 180 から $5\ \mu\text{m}$ の範囲でオレンジ色の MC 粉末の、クラスターの凝集体が覆っていた。二層の蛍光画像は、SP 粉末がリキッドマーブルの安定剤として機能し、水滴の表面上にのみ存在することをはっきりと示した。

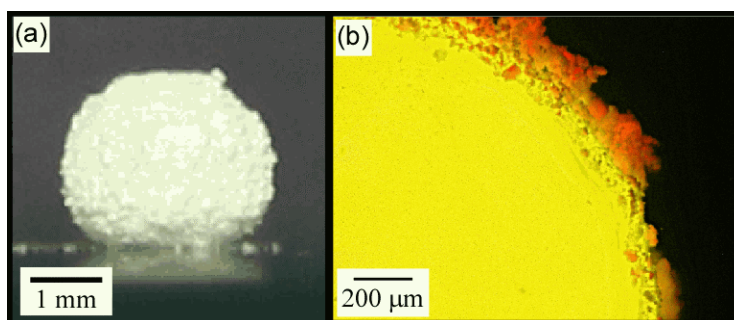


Figure 5.2.4. (a) Digital photograph showing a liquid marble containing 10- μ L of water covered with SP powder on a glass slide. (b) Fluorescence microscopic image of a liquid marble prepared using SP powder and a 10- μ L aqueous solution containing gelatin (20 wt%) and fluorescein (0.01 wt%) at 60 °C. After cooling to room temperature, UV irradiation was applied for 10 min to transform SP to MC, which emits fluorescence. The liquid marble was sectioned with a scalpel, and one of the hemispheres was placed on a glass slide. Note the yellow region due to fluorescein and the orange powder aggregates.

7 μ L の水滴を SP 粉末上で転がしてリキッドマール作製した。UV 照射による崩壊のために、石英ペトリ皿に加えた水の表面にリキッドマールを移し、UV 光を皿の下から照射した。SP 粉末は十分な疎水性を持つため、暗所で安定だった。リキッドマールは湿度が高い条件でも UV 照射がない場合は水の表面で一週間以上安定だった。しかし、水上でのリキッドマールは UV 光照射で不安定化し、すぐに崩壊した。その崩壊時間は、UV 光の照射後にリキッドマールが壊れるために必要な時間として定義して測定した。5 回測定した後、7 μ L の水を含むリキッドマールの平均の崩壊時間を計算すると 14.5 秒だった。UV 光を照射すると、疎水性の SP はイオン化した MC に変換された。MC 粉末は自発的に濡れて、それに続いてリキッドマールが崩壊した。

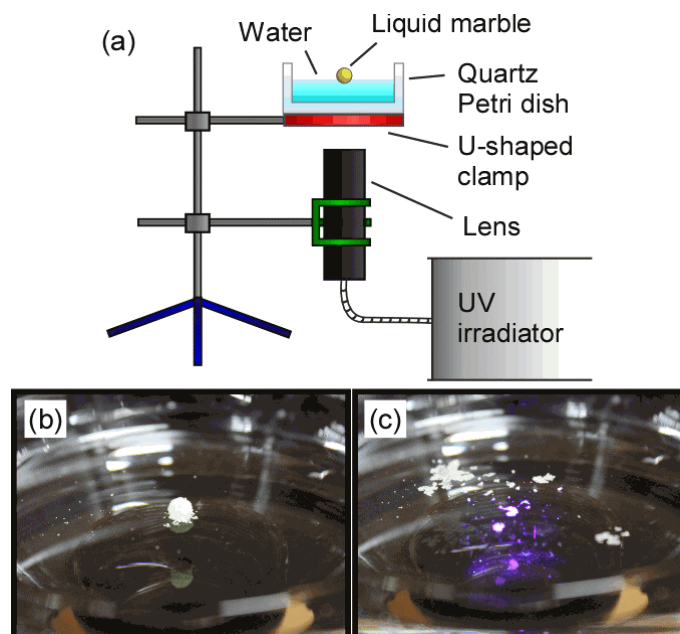


Figure 5.2.5. (a) Experimental setup for measuring light-induced disintegration of the liquid marble, and photographs of a floatable liquid marble containing 7- μL of water covered with SP powder on the surface of water in a quartz Petri dish (b) before and (c) after UV irradiation for 20 s from below.

近年、Wang 等はシリカで覆われた磁性コアとシリカシェルにグラフトされた pH 応答性ブロック共重合体のポリ (2-ビニルピリジン-*b*-ジメチルシロキサン) (P2VP-*b*-PDMS) から構成されるコア-シェル構造の pH 応答性磁性粒子 (RMPs) を用いた UV 応答性リキッドマーブルの作製を報告した[26]。このシリカシェルに光酸発生剤 (PAG) を取り込んでいる。水滴を含むリキッドマーブルは RMPs を用いることで作製できる。UV 光の照射で PAG は水素イオンを発生し、粒子表面の P2VP 鎖のプロトン化を引き起こし、RMPs が親水化することでリキッドマーブルの崩壊を導いた。本研究では、SP 粉末で作製された UV 応答性リキッドマーブルは PAG の添加は必要なく、リキッドマーブルの崩壊は SP 分子の光異性化に応じた変化のみで引き起こすことが出来た。

リキッドマーブル内の水の体積と UV 光照射による水の上に浮かべたリキッドマーブルの平均崩壊時間の関係を調べた。50 μL の水を含むリキッドマーブルを作製し、水の上に移した。50 μL の水を含むリキッドマーブルの UV 光照射による平均崩壊時間は約 10 秒で、使用した水の体積にほとんど依存しなかった。これは約 80 % の SP 粉末が 10 秒間の UV 光照射で MC に光異性化し、疎水性の SP 粉末がバルクの水と接している表面が親水性の MC に変化することから、水の含有量がリキッドマーブルの崩壊時間に影響を与えなかったと考えられる。

我々は SP 粉末と水滴を用いた光応答性リキッドマーブルの作製を提示した。疎水性の SP 粉末で作製されたリキッドマーブルはバルクの水表面に移す事ができ、湿度の高い暗所で一週間は安定だった。このリキッドマーブルは UV 光の照射ですぐに崩壊した。

5.3 近赤外光応答性リキッドマーブル

近赤外 (NIR) 領域 (750-1000 nm) の光は生物学的組織の“光透過窓”と言われ、組織内深くまで光浸透できるため、生物医学的なバイオセンシング、イメージングなどの分野で応用が期待されている[32-34]。この研究では近赤外 (NIR) に応答するリキッドマーブルを得るために、我々は NIR 領域に高い吸収を持つ、カーボンナノチューブ (CNTs) [12]とフラーレン (C₆₀) [35]を用いてリキッドマーブルを作製した。化学蒸着法で作製した多層 CNTs は昭和電工 K.K から頂いて使用した。CNT は精製を行わずにそのまま使用した。C₆₀ とポリ (ビニリデンフルオライド) (PVDF) はシグマアルドリッチから購入した。PVDF の重量平均分子量 (M_w) は 534000 だった。

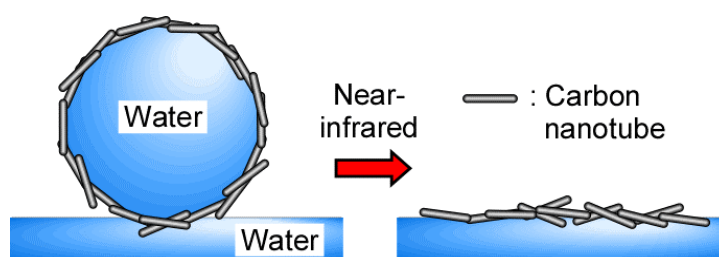


Figure 5.3.1. Conceptual illustration of a liquid marble composed of a water droplet covered with carbon nanotubes on the surface of bulk water.

CNT と C₆₀、PVDF の NIR 照射による発熱を赤外カメラを用いて直接観察した (Figure 5.3.2a)。サンプルの赤外面像はチノーの CPA-8000 を用いて 0.03 から 1 Hz で記録した。NIR レーザー光の四角いスポットの平均サイズは 1 cm × 1 cm だった。レーザーは 808 nm の波長で 1 W の照射強度を用いたため、結果として 1 W cm⁻² の出力強度だった。サンプルとレーザーの距離は 18 cm に調節した。NIR 光を照射した際の CNT 粉末の赤外面像は広がりのある加熱パターンを示した。NIR 照射前は、CNT 粉末の温度はほとんど室温である 27 °C に近かった。赤外面像中のスポットの明るい領域は熱く、暗いスポットは温度がより低いことを示している。NIR 照射前は CNT 粉末の存在が赤外カメラで観察されなかった (Figure 5.3.2b)。NIR を照射している間は赤外カメラで記録可能な領域の限界値である 500 °C 以上の最大温度となった (Figure 5.3.2c)。

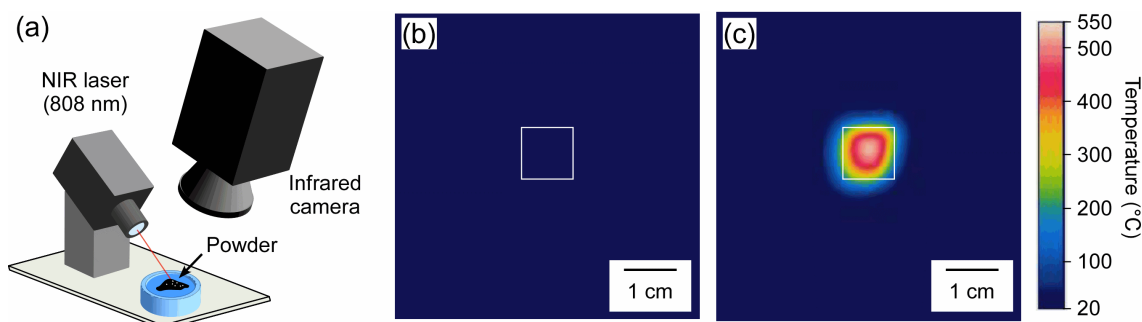


Figure 5.3.2. (a) Experimental setup for measuring heat induced by a NIR laser (1 W cm^{-2} at 808 nm) in the powders using an infrared camera. Infrared images for CNT powder (b) before and (c) after NIR irradiation for 5 sec. White squares indicate the area of NIR irradiation.

CNT と C_{60} 、対照実験として用いた PVDF の表面温度を NIR 照射時間に対して測定した。実験で得られたデータは、NIR レーザーを照射している間 CNT と C_{60} の熱の発生挙動がはっきりと示された。CNT と C_{60} の温度はどちらもすばやく増加する傾向があった。CNT と C_{60} の温度はそれぞれ 3 秒で $>500 \text{ }^\circ\text{C}$ 、24 秒で $468 \text{ }^\circ\text{C}$ に増加した。したがって、CNT 粉末は C_{60} 粉末よりも効率的に NIR レーザーのエネルギーを熱に変換した。一方、PVDF 粉末の温度は、PVDF が NIR 波長領域の光を吸収しないので NIR の照射時間に依存せずに $27 \text{ }^\circ\text{C}$ で一定だった。

CNT、 C_{60} 、PVDF 粉末は疎水性なのでリキッドマーブルが作製可能だった (Figure 5.3.3)。その作製方法を以下に示す。まず始めに、CNT、 C_{60} 、PVDF でそれぞれのパウダーベッドをポリテトラフルオロエチレン (PTFE) 皿上に作製した。10 μL の水をパウダーベッドの上にシリンジを用いて正確に置いた。パウダーベッド上で水滴を転がすと、リキッドマーブルを形成した。それぞれの粉末で作製したリキッドマーブルは明らかに単層ではなく、表面は粗かった。疎水性粉末や粉末の凝集体は空気をトラップしていると、粉末とリキッドマーブル内部の液滴界面でキャシー-バクスターの濡れ性が働く [36]。CNT と C_{60} 、PVDF 粉末の走査型電子顕微鏡 (SEM) 画像から不規則な凝集体が確認されたので、粉末の凝集体と水滴間の界面でキャシー-バクスターの濡れ性が働いていることを示した。

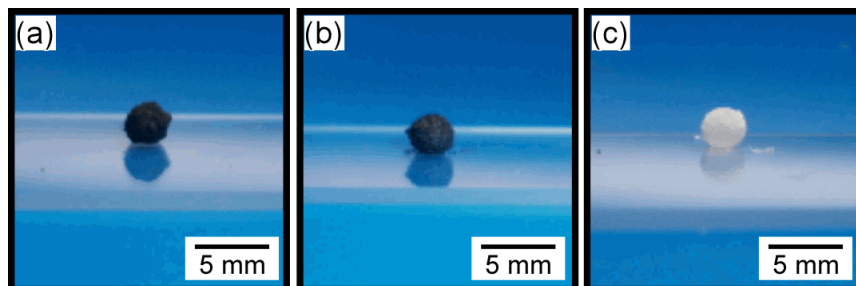


Figure 5.3.3. Digital photographs of a liquid marble containing pure water (10- μL) covered with (a) CNT, (b) C_{60} , and (c) PVDF powder on a glass substrate.

リキッドマーブルは安定で、スライドガラス (Figure 5.3.3) やバルク水表面 (Figure 5.3.4a) で形状を保つ事が可能だった。10 μL の水を内包した CNT、 C_{60} 、PVDF 粉末で構成されたリキッドマーブルは湿度が高い状態で 1 日以上水の上で安定で、内包した水滴の蒸発を防いだ。CNT や C_{60} のような近赤外領域に高い吸収をもち NIR 光エネルギーを熱に変換できる物質の使用で、光で生じた熱的な表面張力差 (マランゴニ効果) を生成するため、バルク水表面上でリキッドマーブルが動いた[37, 38]。CNT で作製したリキッドマーブルはバルク水上で NIR 照射を受けると、すぐに動き崩壊した (Figure 5.3.4b)。その崩壊時間は NIR 照射後にリキッドマーブルが破裂した時間と定義した。測定は 5 回行い、10 μL の純水と CNT で作製したリキッドマーブルの平均の崩壊時間は 4.1 秒だった。 C_{60} で作製したリキッドマーブルはバルク水上で NIR 照射を受けると 7 回のうち 5 回が 1 分以内に崩壊した。NIR 照射で破裂しなかった C_{60} で作製したリキッドマーブルはサイズがかなり減少したことから、リキッドマーブル内部の水滴が加熱により蒸発したと考えられる。1 分以内に破裂した C_{60} リキッドマーブルの平均崩壊時間は 18 秒だった。

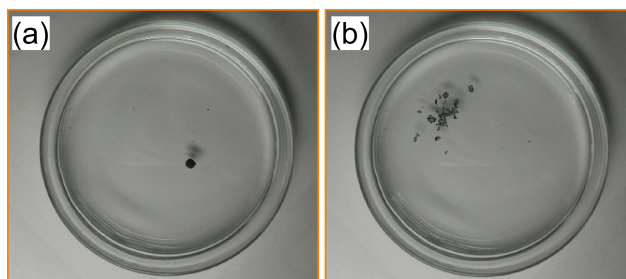


Figure 5.3.4. Digital photographs of a liquid marble containing of pure water covered with CNT floating on the surface of bulk water in a Petri dish (a) before and (b) after NIR irradiation for 4 sec.

Figure 5.3.5 に NIR 照射時間に対する、バルク水表面上の 10 μL の純水を内包したそれぞれの粉末で作製したリキッドマーブルの最大表面温度の典型的な例を示す。CNT リキッドマーブルの表面温度は C_{60} リキッドマーブルよりもすばやく増加した。CNT と C_{60} リキッドマーブルの崩壊前の最大表面温度はそれぞれ 88 と 72 $^{\circ}\text{C}$ だった。これらの観測は C_{60} に比べて CNT は NIR 光エネルギーを効率よく熱に変換していることを示唆する。 C_{60} の場合、表面温度は NIR 照射で徐々に増加したが、CNT の温度はすばやく増加した。CNT で作製したリキッドマーブル内の水滴は NIR 照射で素早く気化して、蒸気の体積膨張によってリキッドマーブルが崩壊したと考えられる。さらに、バルク水上のリキッドマーブルの表面は、温度増加に伴って水の表面張力が減少したため、濡れ性が向上したことも崩壊の要因の一つと考えられる[39]。一方、PVDF で構成されたリキッドマーブルの表面温度は NIR 照射にかかわらず 27 $^{\circ}\text{C}$ で一定だった。

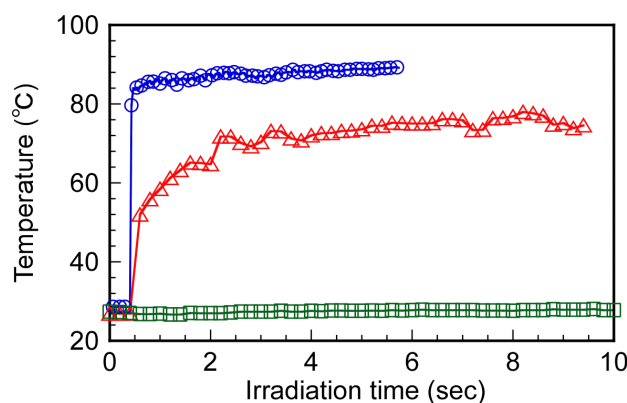
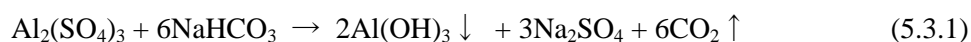


Figure 5.3.5. A typical example of maximum surface temperatures for liquid marbles containing of 10- μ L pure water covered with CNT (\circ), C₆₀ (\triangle), and PVDF powder (\square) as a function of NIR irradiation time on the surface of bulk water. The plots for the CNT and C₆₀ liquid marbles end at the time of rupture.

崩壊を NIR 光の照射によって遠隔操作できる NIR 応答性リキッドマーブルは、内部にひとつの反応物を含むリキッドマーブルを別の反応物を含むバルク水に浮かべることによって、NIR に無関係な化学反応を誘起できる。遠隔操作の NIR 照射でリキッドマーブルは破裂し、二つの反応物が接触し反応が引き起こされる。我々は NIR をトリガーとした化学反応を二例実証した。ひとつ目は、NIR をトリガーとした化学反応を実証するために、CNT 粉末で覆われた NaOH (1 M) を含む水溶液を用いて作製したリキッドマーブルをエルレンマイヤーフラスコ中のクレゾールレッド (24.5 μ M) を含むバルク水表面に浮かべた (Figure 5.3.6a)。クレゾールレッドはトリアクリルメタン色素で pH をモニターするために頻繁に使用される[40]。その色は、pH 7.2 で黄色で、pH が 8.8 を超えると紫色に変化する。リキッドマーブルが NIR 照射を受けると、NaOH 水溶液がリキッドマーブルから漏れ出し、クレゾールレッドとの反応が始まった。バルク水の色は NIR 照射で黄色から紫色に変化した (Figure 5.3.6b)。二つ目は、Al₂(SO₄)₃ と NaHCO₃ 水溶液の反応を行った。この反応は以下に示すように、Al(OH)₃ の沈殿と CO₂ ガスの生成する[41]。



CNT 粉末で覆われた Al₂(SO₄)₃ 水溶液からなるリキッドマーブルを、ペトリ皿中の NaHCO₃ を含むバルク水表面に浮かべた (Figure 5.3.6c)。NIR を照射するとリキッドマーブルは内部から Al₂(SO₄)₃ 水溶液が漏れ出し、NaHCO₃ 水溶液と反応し始めた。CO₂ ガスの気泡と Al(OH)₃ の白色沈殿が観測できた (figure 5.3.6d)。

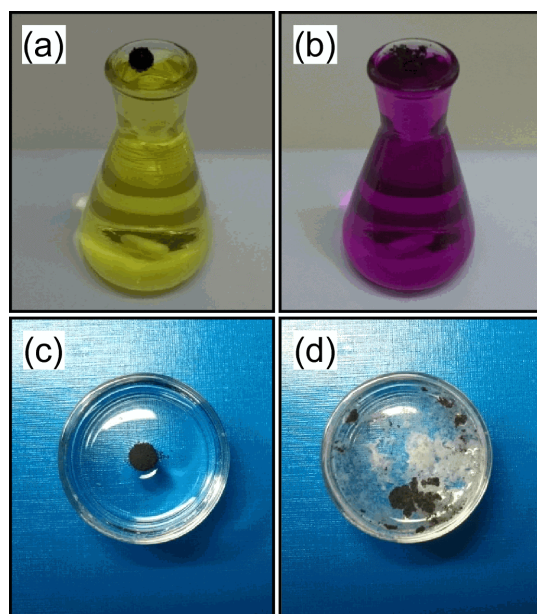


Figure 5.3.6. Digital photographs of NIR-triggered chemical reactions using the CNT liquid marble. (a) A liquid marble composed of an aqueous solution containing NaOH covered with CNT on bulk water containing Cresol Red in an Erlenmeyer flask before and (b) after NIR irradiation. (c) A liquid marble composed of an aqueous solution containing $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ covered with CNT on bulk water containing NaHCO_3 in a Petri dish before and (d) after NIR irradiation.

我々は CNT と C_{60} で形成される NIR 応答性リキッドマーブルを作製し、NIR 照射を用いることで遠隔操作でリキッドマーブルの崩壊を達成した。生体は低 NIR 吸収であるため、これらのリキッドマーブルの遠隔制御は、生物医学分野での潜在的な応用のための有望な候補である。

5.4 温度応答性リキッドマーブル

我々はこれまでに、下限臨界溶液温度 (LCST) をもつ温度応答性ポリマーのポリ (N-イソプロピルアクリルアミド) (pNIPAM) 粉末を用いた温度応答性リキッドマーブルの作製について報告した[42]。pNIPAM は LCST 以下の水中で側鎖のアミド基と水分子との間で水素結合することで分子的に水和するが、LCST 以上で水素結合の崩壊で疎水性となる[43-45]。pNIPAM 粉末で覆われた水を内包したリキッドマーブルは LCST 以上のバルク水上に 1 日以上浮かべることができた。しかし LCST 以下にバルク水を冷却すると、リキッドマーブルは pNIPAM の水和で崩壊した。このことから pNIPAM 粉末で形成した温度応答性リキッドマーブルは冷却で不安定化した。また Xu 等は赤外光の照射で誘起される熱に応答するリキッドマーブルを報告した[46]。しかし、融点以上に加熱することで不安定化する温度応答性リキッドマーブルの報告はない。そこで我々は温度応答性リキッドマーブルを作製するための疎水性粉末として低融点の疎水性物質に着

目した。低融点の疎水性粉末を用いてリキッドマーブルを作製すると、リキッドマーブルは融点以上に加温することで崩壊すると予想される。これらの温度応答性リキッドマーブルは疎水性粉末の融点によって崩壊温度を制御できるため非常に有用である。

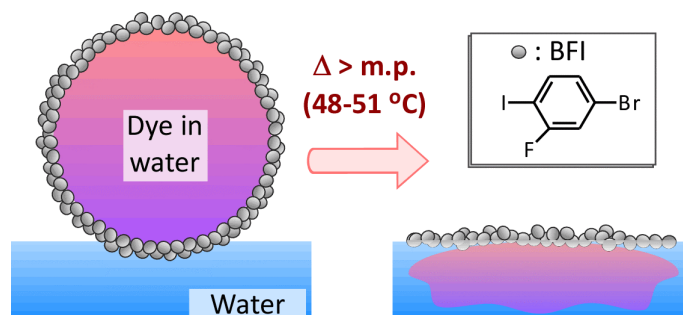


Figure 5.4.1. Conceptual illustration of a thermoresponsive liquid marble composed of a water droplet containing dye covered with 1-bromo-3-fluoro-4-iodobenzene (BFI) powder with a melting point of 46.5 °C on the surface of bulk water.

本研究では、水と低融点の疎水性粉末の1-ブロモ-3-フルオロ-4-ヨードベンゼン (BFI, 97 +%, 和光純薬工業) を用いて温度応答性リキッドマーブルを作製した。BFI の融点はヤナコ MP-3S 融点測定装置と S II DSC SSC/5200 示差走査熱量測定からそれぞれ 46.5、45.7 °C と算出した。リキッドマーブル作製前に、瑪瑙乳鉢を用いて 5 分間 BFI 粉末をすりつぶした。すりつぶした後の BFI 粉末のサイズと形状を確認するために、オリンパス SZ61 実体顕微鏡で粉末を観察した。様々なサイズと形の凝集体が観測された。

BFI 粉末を敷き詰めたポリテトラフルオロエチレン (PTFE) 皿を用意した。5 から 500 μL の水滴をパウダーベッド上にシリンジを用いて置いた。リキッドマーブルを作製するために、水滴をパウダーベッド上で優しく転がして BFI 粉末で覆った。リキッドマーブルの崩壊を確認するためにサフラニン色素を含む水滴を用いてリキッドマーブルを作製した。このリキッドマーブルはガラス基板上に安定に置くことができた。Figure 5.4.2 にリキッドマーブルとガラス基板との接触長 (L)、リキッドマーブルの高さ (H) および幅 (W) をリキッドマーブル作製時の水量に対してプロットした。30 μL 以下の水量で作製したリキッドマーブルは、ほぼ球状だったが 30 μL 以上の水では楕円形に変形した。また 30 μL までの水量では H は一定だったが、水量の増加に伴って L と W は増加した。これは BFI と水の間での表面張力がそれほど高くないため、リキッドマーブルは重力によって球形を保てなくなったことを示唆する。

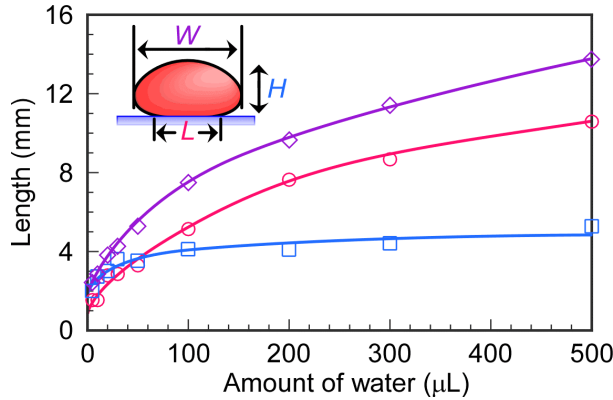


Figure 5.4.2. The contact length (L , \circ), height (H , \square), and width (W , \diamond) of the liquid marbles containing various amounts of water placed on a planar glass substrate.

リキッドマーブルは 1.0 mL の水を用いて作製可能だった。しかし、500 μL 以下の水量で作製したリキッドマーブルは容易にパウダーベッドからガラス基板に移すことができたが、それ以上の水量ではガラス基板に移す間に崩壊してしまった。表面張力 (γ) を以下の式で計算した[47, 48]。

$$\gamma = \frac{\rho_w g H_{\max}^2}{4} \quad (5.4.1)$$

ρ_w は水の密度 (1.00 g cm^{-3})、 g は重力加速度 (9.81 m s^{-2})、 H_{MAX} はリキッドマーブル内の水量を無限に増やした時の最大の高さ (5.29 mm) を示した。 γ を式 5.4.1 から計算すると 68.6 mN m^{-1} だった。このリキッドマーブルの表面張力値は見かけの値である[49]。

また水量と水と空気との界面に吸着した BFI 粉末の厚み (l) をプロットした (Figure 5.4.3)。BFI 粉末の重量 (W_p) は様々な水量で作製したリキッドマーブルを、それぞれの水量で 5 回測定した平均値を用いた。水滴は水の体積にかかわらず完全な球状であると仮定して、以下の式から l を算出するために平均の W_p 値を使用した。

$$V_{\text{LM}} = \frac{W_w}{\rho_w} + \frac{W_p}{\rho_p} \quad (5.4.2)$$

$$r_{\text{LM}} = \left(\frac{3V_{\text{LM}}}{4\pi} \right)^{1/3} \quad (5.4.3)$$

$$l = r_{\text{LM}} - r_w \quad (5.4.4)$$

W_w は水の重量、 V_{LM} はリキッドマーブルの体積、 ρ_p はBFI粉末の密度 (2.28 g cm^{-3})、 V_w は水滴の体積、 r_{LM} はリキッドマーブルの半径、 r_w は水滴の半径である。5 から $200 \mu\text{L}$ の水で作製したリキッドマーブルの l は水の量に依存せずに $83 \mu\text{m}$ でほとんど一定だった。

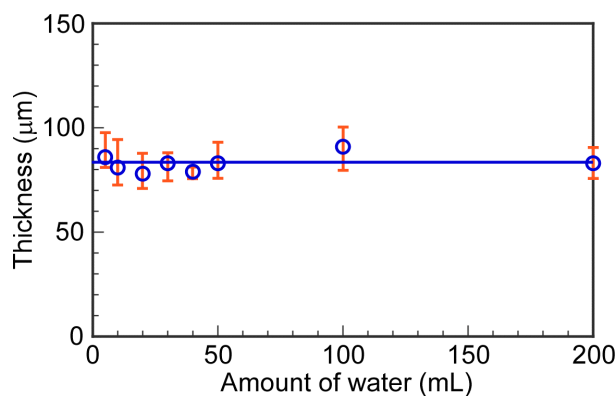


Figure 5.4.3. Thickness (l) of BFI powder stabilized water droplet as a function of amount of water.

BFI と水で作製したリキッドマーブルは $25 \text{ }^\circ\text{C}$ のバルク水表面に浮かべることができた (Figure 5.4.4a)。このリキッドマーブルは室温でバルク水表面に 2 日間は安定に存在した。二日後、BFI 粉末が昇華したためリキッドマーブルは崩壊した。アズワン NINOS ND-1 デジタルホットプレート上に置いたペトリ皿に 6 mL の水を加えて、その上に浮かべたリキッドマーブルを $65 \text{ }^\circ\text{C}$ に加熱した。バルク水の温度を BFI の融点以上に増加すると、リキッドマーブル内のサフラニン色素を含む水がバルク水に漏れ出した (Figure 5.4.4b)。

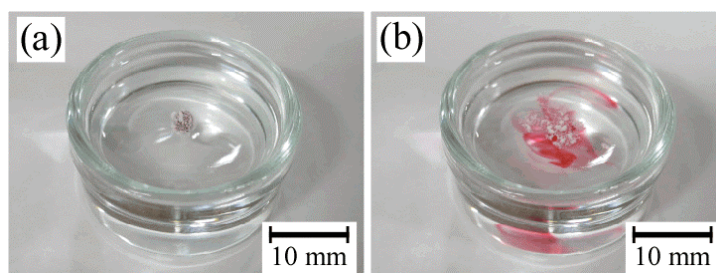


Figure 5.4.4. Digital photographs of (a) liquid marble containing water droplet ($10\text{-}\mu\text{L}$) with dissolved safranin dye on the surface of bulk water and (b) leaked safranin dye from the liquid marble upon heating of bulk water above the melting point of BFI.

次に BFI 粉末で作製したリキッドマーブルの崩壊温度を詳細に調べた。ペトリ皿のバルク水上にリキッドマーブルを置き、 $65 \text{ }^\circ\text{C}$ のホットプレート上に置いた。リキッドマーブルが崩壊する時の、バルク水の表面温度をチノーCPA-8000 赤外カメラで測定した。

崩壊温度の測定は5回行い平均値を得た。バルク水の表面温度は450秒で28から60℃に増加し、その間にリキッドマーブルに内包された水がバルク水に漏れ出した。この時のバルク水の表面温度を赤外カメラで検出すると49.9℃だった。この温度をリキッドマーブルの崩壊温度と定義した。この温度はBFIの融点に近かった。

低融点の粉末を用いて作製した温度応答性リキッドマーブルは、リキッドマーブルに一つの反応物を、リキッドマーブルを浮かべるバルク水に他の反応物を用いると化学反応のトリガーとして応用できる。バルク水の温度を増加すると、リキッドマーブルは崩壊し内包している反応物がバルク水中に漏れ出した。二つの反応物が接触する事で化学反応が始まる。これを確かめるために、温度応答性リキッドマーブルを $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ と NaHCO_3 の水溶液の温度をトリガーとした化学反応に応用した。これらの試薬の反応で以下の式のように $\text{Al}(\text{OH})_3$ の沈殿と CO_2 ガスを生じる[41]。



10 μL の $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ (19 wt%) の水溶液を内包したBFI粉末で覆われたリキッドマーブルをペトリ皿中にいれた NaHCO_3 (9 wt%) を含むバルク水表面に浮かべた (Figure 5.4.5a)。ペトリ皿をホットプレートを用いてBFIの融点以上に加熱した。リキッドマーブルが崩壊すると、 NaHCO_3 を含むバルク水にリキッドマーブル内から $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ 水溶液が漏れ出した。 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ と NaHCO_3 間の反応が $\text{Al}(\text{OH})_3$ の沈殿と CO_2 ガスの生成から容易に確認できた (Figure 5.4.5b)。二つの溶液の混合による化学反応は、加熱によりリキッドマーブルを崩壊させることで誘起した。

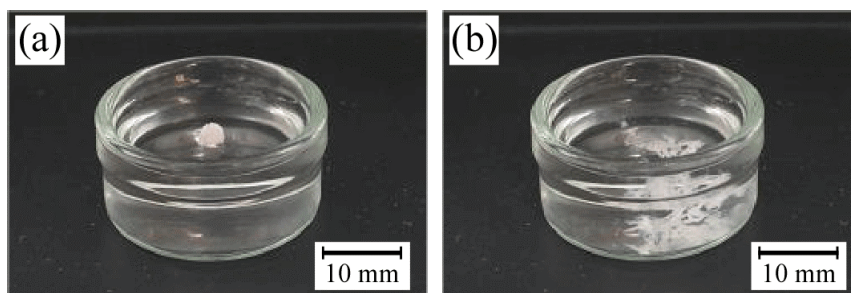


Figure 5.4.5. Digital photographs of a heat-triggered chemical reaction using a liquid marble covered with BFI powder containing 10- μL aqueous solution of $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ (19 wt%) floating on the surface of bulk water containing NaHCO_3 (9 wt%) in a Petri dish at room temperature (a) and after heating on a hot plate at 65 °C for 150 s (b).

我々はBFI粉末で作製した温度応答性リキッドマーブルの調製と、それらを加熱することで誘起されるリキッドマーブルの崩壊による熱をトリガーとした化学反応を実証した。この低融点の疎水性粉末を用いた温度応答性リキッドマーブルの崩壊温度はリキ

ッドマーブルを形成する疎水性粉末の融点に依存するため、使用する疎水性粉末の融点で制御可能だと期待される。

5.5 結論

我々は紫外 (UV) 光、近赤外 (NIR) 光および温度の 3 種類の刺激にそれぞれ応答して親-疎水性を切り替えることができる疎水性粉末を用いた刺激応答性リキッドマーブルの調製と、それぞれの刺激に応じた崩壊を調べた。これらの疎水性粉末は複雑な調製プロセスを経ることなく得られる。UV 光応答性リキッドマーブルは、UV 光によって光異性化し両性イオンを有するメロシアニン (MC) に構造変化するスピロピラン (SP) 粉末を用いて調製した。また NIR 光応答性リキッドマーブルは NIR 領域に吸収をもつカーボンナノチューブ (CNT) とフラーレン (C₆₀) を用いて調製した。温度応答性リキッドマーブルは、融点が 46.5 °C と低い疎水性粉末の 1-ブロモ-3-フルオロ-4-ヨードベンゼン (BFI) を用いて調製した。これらのリキッドマーブルはそれぞれに対応する刺激に応じて崩壊した。さらにこれらの刺激応答性リキッドマーブルを用いることで刺激をトリガーとする化学反応の誘起を達成したことから、遠隔操作できる化学反応場などへの応用が期待される。

参考文献

- [1] W. Ramsden, *Proc. R. Soc. London* **72** (1903) 156-164
- [2] S. U. Pickering, *J. Chem. Soc., Trans.*, **91** (1907) 2001-2021
- [3] J. I. Amalvy, S. P. Armes, B. P. Binks, J. A. Rodrigues, G. F. Unali, *Chem. Commun.*, (2003) 1826-1827
- [4] B. P. Binks, S. O. Lumsdon, *Langmuir*, **17** (2001) 4540-4547
- [5] J. Li, H. D. H. Stöver, *Langmuir*, **24** (2008) 13237-13240
- [6] P. Aussillous, D. Quere, *Proc. R. Soc. London, Ser. A*, **426** (2006) 973-999
- [7] S. Fujii, R. Murakami, *KONA*, **26** (2008) 153-166
- [8] B. P. Binks, R. Murakami, *Nat. Mater.*, **5** (2006) 865-869
- [9] L. Mahadevan, Y. Pomeau, *Phys. Fluids*, **11** (1999) 2449-2454
- [10] P. Aussillous, D. Quéré, *Nature*, **411** (2001) 924-927
- [11] A. V. Rao, M. M. Kulkarni, S. D. Bhagat, *J. Colloid Interface Sci.*, **285** (2005) 413-418
- [12] W. Wang, C. L. Bray, D. J. Adams, A. I. Cooper, *J. Am. Chem. Soc.*, **130** (2008) 11608-11609
- [13] P. S. Bhosale, M. V. Panchagnula, H. A. Stretz, *Appl. Phys. Lett.*, **93** (2008) 034109-1-3
- [14] M. Dandan, H. Y. Erbil, *Langmuir*, **25** (2009) 8362-8367
- [15] E. Bormashenko, R. Pogreb, Y. Bormashenko, A. Musin, T. Stein, *Langmuir*, **24** (2008) 12119-12122
- [16] E. Bormashenko, R. Pogreb, G. Whyman, A. Musin, Y. Bormashenko, *Langmuir*, **25** (2009) 1893-1896
- [17] L. Gao, T. J. McCarthy, *Langmuir*, **23** (2007) 10445-10447
- [18] D. Matsukuma, H. Watanabe, H. Yamaguchi, A. Takahara, *Langmuir*, **27** (2011) 1269-1274
- [19] M. D. Doganci, B. U. Sesli, H. Y. Erbil, B. P. Binks, I. E. Salama, *Colloids Surf., A*, **384** (2011) 417-426
- [20] E. Bormashenko, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, **16** (2011) 266-271
- [21] G. McHale, M. I. Newton, *Soft Matter*, **11** (2015) 2530-2546
- [22] D. Dubin, S. P. Armes, S. Fujii, *J. Am. Chem. Soc.*, **131** (2009) 5386-5387
- [23] T. T. Y. Tan, A. Ahsan, M. R. Reithofer, S. W. Tay, S. Y. Tan, T. S. A. Hor, J. M. Chin, B. K. J. Chew, X. Wang, *Langmuir*, **30** (2014) 3448-3454
- [24] S. Fujii, K. Aono, M. Suzaki, S. Hamasaki, S. Yusa, Y. Nakamura, *Macromolecules*, **45** (2012) 2863-2873
- [25] M. Inoue, S. Fujii, Y. Nakamura, Y. Iwasaki, S.-i Yusa, *Polym. J.*, **43** (2011) 778-784
- [26] L. Zhang, D. Cha, P. Wang, *Adv. Mater.*, **24** (2012) 4756-4760
- [27] R. Rosario, D. Gust, M. Hayes, F. Jahnke, J. Springer, A. A. Garcia, *Langmuir*, **18** (2002)

8062-8069

- [28] J. B. Flannery Jr., *J. Am. Chem. Soc.*, **90** (1968) 5660-5671
- [29] S. Fujii, S. Kameyama, S. P. Armes, D. Dubin, M. Suzaki, Y. Nakamura, *Soft Matter*, **6** (2010) 635-640
- [30] S.-K. Lee, O. Valdes-Aguilera, D. C. Neckers, *J. Photochem. Photobiol., A*, **67** (1992) 319-328
- [31] Q. Jin, G. Liu, J. Ji, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, **48** (2010) 2855-2861
- [32] P. N. Prasad, *Introduction to Biophotonics*, Wiley-Interscience, New York, (2003) p. 593
- [33] R. Weissleder, *Nat. Biotechnol.*, **19** (2001) 316-317
- [34] M. Nyk, R. Kumar, T. Y. Ohulchanskyy, E. J. Bergey, P. N. Prasad, *Nano Lett.*, **8** (2008) 3834-3838
- [35] V. Krishna, N. Stevens, B. Koopman, B. Moudgil, *Nat. Nanotechnol.*, **5** (2010) 330-334
- [36] E. Bormashenko, R. Pogreb, A. Musin, R. Balter, G. Whyman, D. Aurbach, *Powder Technol.*, **203** (2010) 529-533
- [37] D. Okawa, S. J. Pastin, A. Zettl, J. M. J. Fréchet, *J. Am. Chem. Soc.*, **131** (2009) 5396-5398
- [38] G. Zhao, M. Pumera, *Chem.—Asian J.*, **7** (2012) 1994-2002
- [39] N. K. Adam, *The Physics and Chemistry of Surface*, Dover, New York, (1968) p. 158
- [40] D. Heger, J. Klánová, P. Klán, *J. Phys. Chem. B*, **110** (2006) 1277-1287
- [41] J. Basu, P. K. Singh, J.-J. Huang, Y.-H. Wang, *J. Electrochem. Soc.*, **154** (2007) H1041-H1046
- [42] S. Yusa, M. Morihara, K. Nakai, S. Fujii, Y. Nakamura, A. Maruyama, N. Shimada, *Polym. J.*, **46** (2014) 145-148
- [43] S. Fujishige, K. Kubota, I. Ando, *J. Phys. Chem.*, **93** (1989) 3311-3313
- [44] T. Saitoh, T. Ohyama, T. Sakurai, T. Kaise, K. Takamura, Y. Suzuki, C. Matsubara, *Talanta*, **46** (1998) 541-550
- [45] Y. Zhang, S. Furyk, D. E. Bergbreiter, P. S. Cremer, *J. Am. Chem. Soc.*, **127** (2005) 14505-14510
- [46] Z. Xu, Y. Zhao, L. Dai, T. Lin, *Part. Part. Syst. Character.*, **31** (2014) 839-842
- [47] S. Fujii, M. Suzaki, S. P. Armes, D. Dubin, S. Hamasaki, K. Aono, Y. Nakamura, *Langmuir*, **27** (2011) 8067-8074
- [48] E. Bormashenko, R. Pogreb, G. Whyman, A. Musin, *Colloids Surf., A*, **351** (2009) 78-82
- [49] E. Bormashenko, A. Musin, G. Whyman, Z. Barkay, A. Starostin, V. Valtsifer, V. Stelnikov, *Colloids Surf., A*, **425** (2013) 15-23

第6章 総括

本論では様々な界面で安定化したカプセルの調製やその特性評価、カプセル内部への物質の取り込み、さらにその崩壊挙動について論じた。

第2章から4章で液-液界面で安定化したカプセルについて示した。第2章では、RAFT重合で合成された分子内に双性イオンを有するポリアンホライトの PMPC ブロックとカチオン性およびアニオン性のイオン性ブロックからなる反対電荷を持つジブロックを水中で混合することで、イオン性ブロック間の静電相互作用によって PMPC シェルで覆われた PIC コアからなる PIC ミセルを新規に調製した。これらの知見を基に、第3章ではシェルを形成する PMPC ブロックと PIC を形成するイオン性ブロックの鎖長を調節することで中空構造を有する PICsome を作製し、PICsome 内部に親水性ゲスト分子が取り込めることを示した。PIC ミセルは PMPC ブロックとイオン性ブロックの鎖長が 1:1 もしくは PMPC ブロックの方が長い場合作製され、それぞれのブロックの鎖長が 1:10 の時に PICsome を形成した。このように PMPC シェルを持つ PIC 会合体の会合挙動を、PMPC ブロックとイオン性ブロックの鎖長によって制御できることを提示した。また第4章では、カチオン性ジブロック共重合体に替わり、カチオン性界面活性剤を用いても PMPC ブロックとアニオン性ブロックの鎖長によって、PMPC シェルで覆われたミセルとベシクルへ会合状態を制御できることを新たに見出した。これらのミセルやベシクルは高い生体適合性を示す PMPC シェルに覆われており、PIC コアに DNA や電荷を持つ薬剤を、ベシクル内水相に電荷を持たない親水性の高分子を取り込み可能なので、汎用性の高い DDS のキャリアとしての可能性を示した。

第5章では気-液界面で、疎水性粒子が液滴に吸着して安定化したリキッドマーブルについて示した。リキッドマーブルは、外部刺激で粒子表面の濡れ性を切り替えることができる疎水性粒子を用いて作製すると、外部刺激によって崩壊を制御できる。本論では UV 光、NIR 光、温度に応答して濡れ性が変化するスピロピラン、CNT、BFI 粉末を用いてリキッドマーブルを作製し、それぞれの刺激に応じた崩壊を示した。さらに、これらの刺激応答性リキッドマーブルを用いて、それぞれの外部刺激をトリガーとした化学反応の例を提示した。

これらの様々な界面で安定化するカプセルの調製は全て水系で行われているため、近年の環境負荷低減化社会の実現に向けて大きく貢献する。これらのカプセルは従来のバイオマテリアル設計や微小反応場システムなどに重要な指針を与える。

謝辞

本研究は、著者が兵庫県立大学大学院 工学研究科 博士後期課程在学中に、同大学院 応用化学工学科 遊佐真一准教授の指導のもとに行われました。終始丁寧かつ熱心なご指導とご鞭撻を賜りました遊佐真一准教授には深甚なる敬意と感謝をここに表します。

また、論文を精読いただく山名一成教授、今高寛晃教授、ならびに岸肇教授に深く感謝申しあげます。

本研究の実験を行うにあたり、快く試薬を提供くださいました東京大学大学院 工学研究科 石原一彦教授に心より感謝致します。

大阪工業大学大学院 工学研究科 藤井秀司准教授には、ドイツのマックスプランク研究所ポリマーリサーチへの留学に際し、甚大なるご助力を頂きました。また同研究所で著者の研究内容を発表する機会をいただき、様々な分野の研究者と議論することで多くの刺激と示差を賜りました。さらに、リキッドマーブルの第一人者である藤井秀司准教授には、リキッドマーブルの作製やその崩壊挙動の調査に関する実験結果の解釈や考察など、細部にわたるご指導や示唆を頂戴いたしました。厚く御礼申し上げます。

また、ドイツのマックスプランク研究所ポリマーリサーチの Hans-Juergen Butt ディレクターおよび Michael Kappl グループリーダーには、著者が同研究所で AFM 測定を行うにあたり親身にご指導いただき、多大なるご助言とご討論をいただきました。さらに同研究所への留学にあたり、滞在期間中の生活などにおいても丁寧かつ親身にご助力いただきました。心より感謝致します。

ポリイオンコンプレックス会合体の会合挙動を調査するために、会合体の SAXS や FFF-MALS 測定を実施していただいた、北九州市立大学大学院 国際環境工学研究科 櫻井和朗教授ならびに研究グループの皆様に感謝致します。

またポーランドのヤギェウォ大学 化学工学科 Kapczyn Mariusz 博士や研究グループの皆様には、PICsome のコアセルベートに関する実験の実施やデータ解析、それらの考察においてご尽力頂きました。御礼申し上げます。

最後に、本論文の諸実験を行うにあたり、ご指導や助言、多くの示唆をいただきました本学 同研究室の先輩である井上正理氏、西内翠氏に感謝致します。また、本学 応用化学工学科 高分子研究グループの卒業生ならびに在校生の皆様との研究討論や様々な協力なくして本論をまとめることは出来ませんでした。この場をお借りして感謝の意を表すとともに謝辞にかえさせていただきます。

研究業績 論文リスト

1. **Ultraviolet light responsive Liquid Marbles**
Keita Nakai, Syuji Fujii, Yoshinobu Nakamura, and Shin-ichi Yusa
Chem.Lett., **42** (2013) 586-588
Web 掲載 : 2013.5.3
2. **Near-infrared-responsive Liquid Marbles Stabilized with Carbon Nanotubes**
Keita Nakai, Hinari Nakagawa, Keita Kuroda, Syuji Fujii, Yoshinobu Nakamura, and Shin-ichi Yusa
Chem.Lett., **42** (2013) 719-721
Web 掲載 : 2013.5.28
3. **Preparation and Characterization of Polyion Complex Micelles with Phosphobetaine Shells**
Keita Nakai, Midori Nishiuchi, Masamichi Inoue, Kazuhiko Ishihara, Yusuke Sanada, Kazuo Sakurai, and Shin-ichi Yusa
Langmuir, **29** (2013) 9651-9661
Publication on the Web: 2013.07.11
4. **Thermo-responsive liquid marbles**
Shin-ichi Yusa, Masashi Morihara, Keita Nakai, Syuji Fujii, Yoshinobu Nakamura, and Naohiko Shimada(東工大、生命理工)
Polymer Journal, **46** (2014) 145-148
Published online: 2013.10.23
5. **Chain-length dependence of polyion complex architecture bearing phosphobetaine block explored using SAXS and FFF-MALS**
Shunsuke Sakamoto, Yusuke Sanada, Mizuha Sakashita, Koichi Nishina, Keita Nakai, Shin-ichi Yusa, and Kazuo Sakurai
Polymer Journal, **46** (2014) 617-622
Published online: 2014.5.28

6. **Preparation of upper critical solution temperature (UCST) responsive diblock copolymers bearing pendent ureido groups and their micelle formation behavior in water**
Ami Fijihara, Naohiko Shimada, Atsushi Maruyama, Kazuhiko Ishihara, Keita Nakai, and Shin-ichi Yusa
Soft Matter, **11** (2015) 5204-5213
First Publication online: 2015.05.07

7. **Thermoresponsive Liquid Marbles Prepared with Low Melting Point Powder**
Keita Nakai, Syuji Fujii, Yoshinobu Nakamura, and Shin-ichi Yusa
Chem.Lett., **44** (2015) 1077-1079
Web released: 2015.5.19

8. **Fluorescence Correlation Spectroscopy Monitors the Hydrophobic Collapse of pH-Responsive Hairy Nanoparticles at the Individual Particle Level**
Jing Xie, Keita Nakai, Sayaka Ohno, Hans-Juergen Butt, Kaloian Koynov, and Shin-ichi Yusa
Macromolecules, **48** (2015), 7237-7244
Publication Data (web): 2015.9.29

9. **pH-responsive Liquid Marbles Prepared by Fluorinated Fatty Acid**
Sayaka Ohno, Yoshihiro Tsuda, Keita Nakai, Syuji Fujii, Yoshinobu Nakamura, and Shin-ichi Yusa
Chem.Lett., **45** (2016) 547-549
Web released: 2016.3.3

10. **Polyion Complex Vesicles (PICsomes) Having Solvated Phospholipid Shells Formed from a Pair of Oppositely Charged Diblock Copolymers**
Keita Nakai, Mariusz Kepczynski, Kazuhiko Ishihara, Yusuke Sanada, Kazuo Sakurai, Michael Kappl, Hans-Juergen Butt, Syuji Fujii, Yoshinobu Nakamura, and Shin-ichi Yusa
(投稿準備中)

11. **Reversible Polymersome-to-Coacervate Transformation**
Keita Nakai, Kwolek Urszula, Bender Jan, Zatorska Maria, Mariusz Kepczynski, and Shin-ichi Yusa
(投稿中)

学会発表リスト

1. ホスホリルコリン基と反対電荷を持つジブロック共重合体の混合により形成されるベシクル
中井啓太、遊佐真一、石原一彦
第 61 回高分子学会年次大会、2012 年 5 月 29～31 日、パシフィコ横浜
2. ベシクル構造を持つナノバイオマテリアル
中井啓太、遊佐真一、石原一彦
日本バイオマテリアル学会第 7 回関西若手研究発表会、2012 年 8 月 2 日、甲南大学
3. 静電相互作用により形成される生体適合性ベシクル
中井啓太、遊佐真一、石原一彦
第 61 回高分子討論会、2012 年 9 月 19～21 日
4. ホスホリルコリン基を持つ反対電荷のジブロック共重合体によるピクソーム形成
中井啓太、遊佐真一、石原一彦
新学術領域合同研究発表会、2012 年 10 月 5 日、関西大学
5. Development of Biocompatible Polyion Complex Vesicle
Keita Nakai, Shin-ichi Yusa, Kazuhiko Ishihara
9th International Gel Symposium 2012, 9-12 Oct. 2012, つくば国際会議場
6. ホスホリルコリン基で覆われたポリイオンコンプレックスベシクル
中井啓太、遊佐真一、石原一彦
第 62 回高分子学会年次大会、2013 年 5 月 29～31 日、京都国際会館
7. 生体適合性ベシクルの作製法によるサイズ制御
中井啓太、遊佐真一、石原一彦
日本バイオマテリアル学会第 8 回関西若手研究発表会、2013 年 8 月 31 日、大阪大学
8. ポリイオンコンプレックスにより形成されるベシクルのサイズ制御
中井啓太、遊佐真一、石原一彦
第 62 回高分子討論会、2013 年 9 月 11～13 日、金沢大学

9. MPIP での生活
中井啓太
新学術領域 4 研究室合同研究発表会、2013 年 11 月 6 日、I-site なんば
10. ホスホリルコリン基で覆われたポリオンコンプレックスベシクルの調製とサイズ制御
中井啓太、遊佐真一、石原一彦
第 63 回高分子学会年次大会、2014 年 5 月 28～30 日、名古屋国際会議場
11. Preparation of Size Controllable and Biocompatible Polyion Complex Vesicle
Keita Nakai, Shin-ichi Yusa, Kazuhiko Ishihara
The 15th IUMRS International Conference in Asia 2014, 24-30 Aug. 2014, 福岡大学
12. Creation of near-infrared-responsive liquid marbles
Keita Nakai, Hinari Nakagawa, Keita Kuroda, Syuji Fujii, Yoshinobu Nakamura, Shin-ichi Yusa
The 5th World Congress on Adhesion and Related Phenomena, 7-11 Sep. 2014, 奈良県新公会堂
13. Preparation of Thermo-responsive Liquid Marbles
Keita Nakai, Keita Kuroda, Hinari Nakagawa, Masashi Morihara, Syuji Fujii, Yoshinobu Nakamura, Shin-ichi Yusa
The 20th Ostwald Colloquium, 17-19 Sep. 2014, Max Planck Institute for Polymer Research, Germany
14. 刺激応答性リキッドマーブルの調製と崩壊
中井啓太、藤井秀司、中村吉伸、遊佐真一
第 63 回高分子討論会、2014 年 9 月 24～26 日、長崎大学
15. Biocompatible Polyion Complex Vesicles Covered with Phosphorylcholine Groups
Keita Nakai, Shin-ichi Yusa, Kazuhiko Ishihara
The 10th SPSJ International Polymer Conference 2014, 2-5 Dec. 2014, つくば国際会議場

16. ポリイオンコンプレックスベシクルによるゲスト分子の内包
中井啓太、遊佐真一、石原一彦
第 64 回高分子学会年次大会、2015 年 5 月 27～29 日、札幌コンベンションセンター
17. Uptake of Guest Molecules into Size Controlled Polyion Complex Vesicles Covered with Phosphobetaine Shells
Keita Nakai, Shin-ichi Yusa, Kazuhiko Ishihara
The Minisymposium in Honor of Professor Paul Dubin, 12 Jul. 2015, 大阪大学
18. ホスホベタインで覆われたベシクルのサイズ制御とゲスト分子の内包
中井啓太、遊佐真一、石原一彦
第 61 回高分子研究発表会神戸、2015 年 7 月 17 日、兵庫県民会館
19. 温度応答性リキッドマーブル
中井啓太、藤井秀司、中村吉伸、遊佐真一
合同研究発表会、2015 年 11 月 11 日、じばさんビル
20. Encapsulation of Guest Molecules and Size Control by preparation methods for Biocompatible Vesicles
Keita Nakai, Shin-ichi Yusa, Kazuhiko Ishihara
The Asian Conference on Colloid and Interface Science 2015, 25-27 Nov. 2015, アルカス佐世保
21. 反対電荷を持つジブロック共重合体で構成された生体適合性ベシクルの調製
中井啓太、遊佐真一、石原一彦
第 25 回日本 MRS 学会年次大会、2015 年 12 月 8～10 日、横浜市開港記念会館
22. Size Control of Polyion Complex Vesicles Covered with Phosphobetaine and Their Uptake of Guest Molecules
Keita Nakai, Shin-ichi Yusa, Kazuhiko Ishihara
The 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, 15-20 Dec. 2015, Hawaii Convention Center, USA

23. 外部刺激で化学反応を誘起するリキッドマーブルの開発
中井啓太、遊佐真一
平成 27 年度地域連携大学院特別研究成果発表会、2016 年 3 月 7 日、姫路商工会議所
24. アニオン性ジブロック共重合体とカチオン性界面活性によるコンプレックス形成
中井啓太、遊佐真一、石原一彦
第 65 回高分子学会年次大会、2016 年 5 月 25～27 日、神戸国際会議場
25. 界面活性剤とジブロックコポリマーの混合による生体適合性ナノコンプレックスの調製
中井啓太、遊佐真一、石原一彦
日本バイオマテリアル学会第 11 回関西若手研究発表会、2016 年 8 月 6 日、神戸大学
26. カチオン性低分子界面活性剤とアニオン性ジブロック共重合体の混合で形成したコンプレックスの形態制御
中井啓太、遊佐真一、石原一彦
第 65 回高分子討論会、2016 年 9 月 14～16 日、神奈川大学
27. Complex with phosphobetaine surface formed from mixture of low molecular weight cationic surfactant and anionic diblock copolymer
The 11th SPSJ International Polymer Conference 2016, 13-16 Dec. 2016, 福岡国際会議場