

平成 30 年 9 月 11 日現在

機関番号：27101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K05522

研究課題名(和文) 内包物質の凝集状態とダイナミクス制御に基づく高分子ミセルの時空間機能制御

研究課題名(英文) Time-Space Control of Functions of Polymer Micelles by Tuning Aggregation and Dynamics of Inclusion Materials

研究代表者

秋葉 勇 (Isamu, Akiba)

北九州市立大学・国際環境工学部・教授

研究者番号：80282797

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、高分子ミセルに内包された物質の凝集状態と運動性を制御することにより高分子ミセルの機能を空間的および時間的に制御することを目的とした。まず、この研究目的を達成するために必要となる高分子ミセルな内部構造を可視化する手法として、放射光を利用した異常小角X線散乱法を確立した。これにより、高分子ミセルに内包された物質の空間分布を可視化することが可能になった。更に、ミセルを構成する両親媒性高分子と内包される物質の相互作用を調節することにより凝集状態と分子運動性の調節が可能になり、これにより高分子ミセルに内包された物質の機能を制御することが可能であることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：The aim of this research is time-space control of functions of polymer micelles by tuning aggregation and molecular dynamics of additives that are included in polymer micelles. First of all, anomalous small-angle X-ray scattering (ASAXS) method with synchrotron X-ray to visualize internal structures of polymer micelles was established. By using ASAXS analyses, visualization of spatial distribution of inclusion substances in polymer micelles has become possible. ASAXS revealed that aggregation and molecular dynamics of the substances in polymer micelles can be controlled by tuning interactions between amphiphilic polymers and inclusion substances. Further, it was found that the appearance of function of inclusion substances in polymer micelles can be controlled by tuning the interactions.

研究分野：高分子化学

キーワード：高分子ミセル 小角X線散乱 放射光 異常小角X線散乱

1. 研究開始当初の背景

高分子ミセルは、内部に難水溶性物質を取り込むことができることから、薬物送達システム(DDS)のキャリアーや機能性有機物質の担持体などへの利用が検討されている。このような内部に物質を内包した高分子ミセルは、例えば DDS では、内包物質の安定保持と緩やかな放出、色素を内包した場合には内部での均一分散と安定保持が機能発現には必要となる。すなわち、内包した物質の高分子ミセル内部における凝集状態や運動性をコントロールすることが、高分子ミセルの機能の時間的、空間的制御につながるため、それらを制御することが求められる。

高分子ミセル内に内包された物質の空間分布を制御するためには、まず、それを可視化する必要がある。しかし、高分子ミセルに内包された物質が、ミセルのどこに、どのように、どのくらい存在しているかということの可視化することは難しいため、その手法の確立も重要となる。

2. 研究の目的

上記の背景を鑑み、本研究では、まず、高分子ミセルに内包された物質の空間配置を可視化する手法として、放射光 X 線を利用した異常小角 X 線散乱法による物質の空間分布の可視化法を確立する。この手法を用い、高分子ミセルに内包された物質の凝集状態および分子運動性と分子間相互作用の関係およびそれらの機能の関係を明らかにすることによって、高分子ミセルの時空間機能制御法の構築を目指す。

3. 研究の方法

高分子ミセル内部における内包物質の空間配置の可視化には、放射光 X 線を光源に用いた異常小角 X 線散乱(ASAXS)法を適用する。ASAXS 法とは、標的とする元素の X 線吸収端近傍での異常散乱因子のエネルギー依存性に起因する散乱強度のエネルギー依存性の事であり、これを解析することにより、系全体からの散乱データから標的とする元素の空間分布のみを取り出すことができる手法である。本研究では、マーカー元素として臭素を用い、臭素の K 吸収端近傍での異常散乱により、臭素の空間配置の可視化を行った。臭素ラベルされた種々の極性を持つ疎水性有機化合物を高分子ミセル内部に内包させ、その空間配置および分子運動性と化合物と両親媒性高分子との相互作用の関係を検討した。

4. 研究成果

ASAXS 法で希薄溶液中の高分子ミセル内部における臭素ラベル化疎水性化合物の空間分布を可視化するためには、測定環境を制御し、高感度、低ノイズのデータを得る必要がある。そこで、すべて真空条件下で ASAXS 測定を行ったところ、十分な精度で異常散乱を得るこ

とに成功した。図 1 は、プロモベンジルアルコールを内包したポリエチレングリコール-b-ポリメタクリル酸メチル(PEG-b-PMMA)ミセルに対して、Br の K 吸収端近傍の 3 つの入射 X 線波長を用いて測定して得られた SAXS 曲線である。入射 X 線のエネルギーが Br の K 吸収端に近づくに伴い散乱強度が低下していることが分かる。通常、X 線散乱では、散乱強度は入射 X 線のエネルギーに依存しないが、ここでは、入射 X 線のエネルギーの上昇に伴い散乱強度が低下している。このようなエネルギー依存性は、Br の異常散乱因子のエネルギー依存性に由来するものであり、正しく異常散乱を検出できたことが分かる。このエネルギー依存性は極めて微小ではあるが、十分に解析に耐える精度のデータであり、本研究で行った全真空下での SAXS 測定により、希薄溶液中の微量成分に対しても ASAXS による解析が可能であることが分かった。次に、この手法を種々の化合物を内包した PEG-b-PMMA ミセルに対して行った。

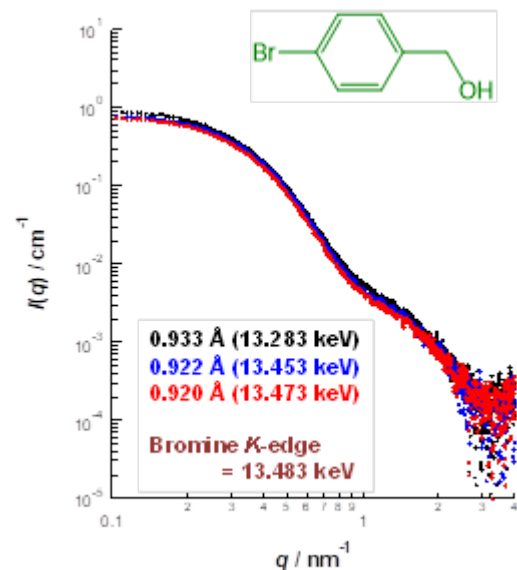


図 1 プロモベンジルアルコールを内包した PEG-b-PMMA ミセルからの SAXS 曲線の入射 X 線のエネルギー依存性

図 2 は、プロモベンゼンおよびプロモベンジルアルコールを内包した PEG-b-PMMA ミセルに対して ASAXS 測定を行って得られた散乱曲線とそれに基づいて得られたミセル内部における各化合物の空間分布を示す。2 つの化合物を比較すると、極性の高いプロモベンジルアルコールはミセルの疎水性コア全体に均一に分布しているが、疎水性の高いプロモベンゼンは疎水性コア内部で凝集していることが分かる。これら 2 つの化合物の水への溶解度はほとんど変わらないことから、この違いは、疎水性化合物と PEG-b-PMMA の間に働く相互作用の違いによるものである。

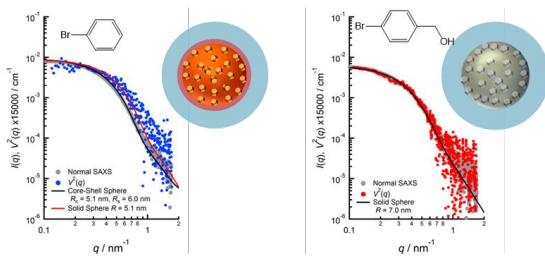


図2 プロモベンゼンまたはプロモベンジルアルコールを内包した PEG-b-PMMA ミセルに対する ASAXS 解析およびそこから得られたミセル内における各化合物の分散状態

種々の極性をもつ疎水性化合物を内包した PEG-b-PMMA ミセルについて同様の検討を行い、可視化された空間分布と分子構造の関係を図3に示す。内包した化合物の極性が高くなるに伴い、ミセルの疎水性コアにより均一に分布し、最も極性の高い化合物は部分的に親水性のコロナ層へにじみ出ていることが分かった。また、凝集力が高い化合物ほど、疎水性コア内で凝集し、微小なドメインを形成していることが明らかになった。これらのことから、高分子ミセル内における内包化合物の空間分布は、化合物の極性や凝集力、両親媒性高分子との相互作用により制御できることが明らかになった。

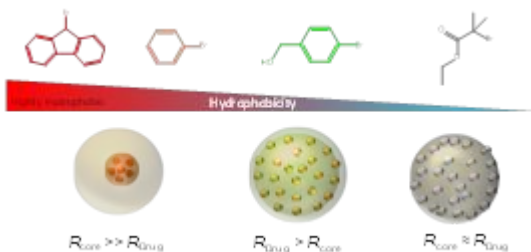


図3 ASAXS 解析から明らかになった、内包化合物の極性と PEG-b-PMMA ミセル内における空間分布の関係

このような内包した化合物の空間分布が異なる PEG-b-PMMA ミセルに対して、内包物質の放出挙動について検討を行った。ミセルの疎水性コア内部で微小なドメインを形成している化合物については、ほとんど漏出が起らず、化合物が安定に保持されていることが分かった。これに対し、コア内部に均一に分布している系および一部がコロナ層ににじみ出ている系については、初期の漏出速度はほぼ同様であるが、平衡に到達した際の化合物の漏出量が、よりコア - コロナ界面付近に多く分布している化合物ほど多いことが明らかとなった。これは、ミセルに内包された化合物の拡散が空間分布と関係していることを示している。すなわち、ミセルに内包された化合物の運動性は、その空間分布に強く依存し、空間分布を調節することで制御可能であることが分かった。更に、ミセルに

安定に保持されることにより発現される機能や漏出に伴って発現される機能など、時間に依存して変化するミセルに内包された化合物の機能は、それらのミセル内における空間分布、すなわち、ミセルを構成する両親媒性ブロック共重合体との相互作用を調節することにより可能であることが分かった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 8件)

S. Sasaki, G. Machida, R. Nakanishi, M. Kinoshita, I. Akiba, Elucidation of Spatial Distribution of Hydrophobic Aromatic Compounds Encapsulated in Polymer Micelles by Anomalous Small-angle X-ray Scattering, *Polymers* (査読有), 2018, 10, 180,

<https://doi.org/10.3390/polym10020180>.

村上大貴、溝口知世、谷口葵、金澤諭史、木下雅貴、秋葉勇、アルコキシアミン骨格を連結点にもつ両親媒性ブロック共重合体ミセルの感熱応答性、*高分子論文集*(査読有), 2017, 74, 278-284.

秋葉勇、放射光 SAXS の特性を活用した高分子分析、*高分子*、2017、66、409-411。(総説)

S. Kitade, H. Kurihara, K. Asuka, S. Katsuno, I. Akiba, K. Sakurai, Oriented Crystallization of Long Chain Branched Polypropylene Induced by Step-shear Deformation in Pre-crystallization Regime, *Polymer* (査読有), 2017, 116, 395-402.

R. Nakanishi, M. Kinoshita, S. Sasaki, I. Akiba, Spatial Distribution of Hydrophobic Compounds in Polymer Micelles as Explored by Anomalous Small-angle X-ray Scattering near Br K-edge, *Euro. Polym. J.* (査読有), 2016, 81, 634-640.

R. Nakanishi, G. Machida, M. Kinoshita, K. Sakurai, I. Akiba, Anomalous Small-angle X-ray Scattering Study on the Spatial Distribution of Hydrophobic Molecules in Polymer Micelles, *Polym. J.* (査読有), 2016, 48, 801-806.

Y. Sanada, T. Shiomi, T. Okobira, M. Tan, M. Nishikawa, I. Akiba, Y. Takakura, K. Sakurai, Polypod-shaped DNAs: Small-angle X-ray Scattering and Immunostimulatory Activity, *Langmuir* (査読有), 2016, 32, 3760-3765.

S. Yamada, Y. Sanada, S. Fujii, I. Kitahara, I. Akiba, T. Ishii, K. Sakurai, Micelle Formation and Red-light Fluorescence Emission of Benzothiazole-triphenylamine Amphiphilic Molecules in Water/Methanol Solutions Explored with Synchrotron Small-angle X-ray Scattering, *Polym. J.* (査

読有) 2016, 48, 973-976.

〔学会発表〕(計 8 件)

佐々木将太、森本康介、秋葉勇、臭素の K-吸収端近傍での異常小角 X 線散乱を利用した DDS 粒子内における薬剤分子の分散状態の解明、第 31 回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム、2018 年 1 月 8-10 日、つくば国際会議場(茨城)。

S. Sasaki, R. Nakanishi, I. Akiba, Study on Relation between Spatial Distribution and Release Rate of Hydrophobic Compounds Incorporated in Polymer Micelles with Anomalous Small Angle X-ray Scattering, Association in Solution IV, July 31-Aug. 4, 2017, St. Johns (Canada).

佐々木将太、中西亮輔、秋葉勇、高分子ミセルによる疎水性化合物の保持安定性と空間分布 - X 線異常小角散乱による疎水性化合物の空間分布の可視化 -、第 30 回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム、2017 年 1 月 7-9 日、神戸芸術センター(兵庫)。

佐々木将太、中西亮輔、秋葉勇、高分子ミセルに内包された疎水性化合物の空間分布と保持安定性、第 65 回高分子討論会、2016 年 9 月 14-16 日、神奈川大学(神奈川)。

佐々木将太、中西亮輔、秋葉勇、ミセルに内包された薬剤模倣化合物の分散状態と保持特性、第 53 回化学関連支部合同九州大会、2016 年 7 月 2 日、北九州国際会議場(福岡)。

佐々木将太、中西亮輔、秋葉勇、高分子ミセルに内包された疎水性化合物の空間分布と保持特性、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(兵庫)。

I. Akiba, R. Nakanishi, Spatial Distribution of Low Molecular Weight Compounds in Polymer Micelles Explored with Anomalous Small-angle X-ray Scattering, 6th Synchrotron Radiation in Polymer Science, Sept. 7-10, 2015, Madrid (Spain).

中西亮輔、町田銀平、木下雅貴、秋葉勇、高分子ミセルに内包された低分子化合物の空間分布と徐放特性、第 52 回化学関連支部合同九州大会、2015 年 7 月 1-2 日、北九州国際会議場(福岡)。

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

秋葉 勇 (AKIBA, Isamu)
北九州市立大学 国際環境工学部 教授
研究者番号: 80282797