

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：13601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22526

研究課題名(和文)薬剤徐放化に向けた環境応答性階層化ナノコンポジットゲル微粒子の開発

研究課題名(英文) Synthesis of stimuli-responsive nanocomposite polymer particles for controlling the dispersion of nano-inclusions

研究代表者

湊 遥香 (Minato, Haruka)

信州大学・繊維学部・研究員

研究者番号：80878512

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：外部環境変化により、微粒子内部に取り込んだ内包物の拡散制御が可能なゲル微粒子の開発を目的とし、ゲル微粒子内部に物理的なナノ障壁の導入を検討した。母体となるゲル微粒子の設計に立ち返り、粒子合成条件の精査およびショット法を活用する事で、副産物となる二次粒子を生成する事なく複層化ゲル微粒子の合成を達成した。更に、複層化ゲル微粒子存在下の油溶性モノマーのシード乳化重合により、部位選択的にナノ障壁となる固体成分を複合化したナノコンポジットゲル微粒子を得ることができ、内包物の徐放性を達成した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高分子微粒子を活用したドラッグデリバリーシステムへの応用が期待されている。しかし、微粒子に内包された薬剤などの内包物が瞬時に放出されてしまうバースト現象や、内包物の放出に伴い微粒子が崩壊するなどの課題が残っている。そのような中、本研究では、微粒子内部に外部環境変化に応じて開閉するナノ障壁を導入したナノコンポジット微粒子を開発する事で、微粒子を崩壊させる事なく安定に内包物を放出可能な微粒子を実現できた。本研究は、次世代ドラッグデリバリーシステム開発に向けた基盤技術の構築への貢献が期待される。

研究成果の概要(英文)：We developed a series of functional hydrogel microspheres (microgels) that can control the diffusion of inclusions taken into the microgels by changes in the external stimuli. To design the internal structure of microgels, preparation of the multi-layered microgels was achieved by tuning the preparation conditions and utilizing the shot preparation method. Furthermore, by seed emulsion polymerization in the presence of multi-layered microgels, the solid nano-particles were composited selectively inside the microgels. We revealed that the presence of a physical barrier (composited solid nano-particles) is effective for controlling the release of inclusions.

研究分野：高分子科学

キーワード：高分子微粒子 ゲル微粒子 刺激応答性 コンポジット 微粒子合成

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 高分子微粒子の内、外部環境に応じてその性質を変化させるスマートゲル微粒子に注目が集まっている。外部環境変化にともなって、微粒子内部に取り込んだ物質(薬剤など)の制御が可能となるためである。

(2) 例えば薬剤と内包した場合、有効な治療効果を得るために、微粒子に内包された目的物質を一定期間に渡り一定速度で放出する徐放性が求められる。一般的には、体内での分解速度をコントロールできる生分解性高分子素材の活用等が検討されてきた。

(3) しかし、多くの既報において、内包した薬剤が瞬時に放出されてしまうバースト現象や、内包物の放出に伴う微粒子の崩壊をはじめとする課題が残っている。

2. 研究の目的

(1) 申請者が取り組んできたゲル微粒子の合成技術を発展させ、温度や pH をトリガーとし、シャッターのように開閉可能な複合ナノ粒子層をゲル微粒子内に導入した、新規ナノコンポジットゲル微粒子を開発する。

(2) ゲル微粒子内の複合ナノ粒子層の複層化を達成し、内包物の微粒子外への拡散を物理的に阻み、環境応答に伴う内包物の徐放が可能であることを検討する。

3. 研究の方法

(1) ゲル微粒子の合成：

モノマーとしてアクリルアミド誘導体、架橋剤、共重合モノマーを溶媒中に溶解し、微粒子生成重合を実施した。得られたゲル微粒子は、遠心分離法や透析法によって未反応物等を除去した。得られたゲル微粒子の存在下、油性モノマー(例：スチレン)のシード重合を実施した。重合停止後、コア粒子と同様に未反応物等を除去した。得られた微粒子は、電子顕微鏡等により粒子のモルフォロジーやサイズ分布を評価した。続いて、動的光散乱法により、流体力学的直径を算出した。特に、温度や pH 等の外部環境を変化させた時の粒子サイズの変化を調べた。

(2) 微粒子内包物の徐放制御：

上記(1)で作製した各ゲル微粒子に対し、モデル低分子化合物としてローダミン6Gを内包させ、外部環境変化に伴う物質放出を検討した。物質を内包する際の条件や、環境変化の度合いを調節することで放出制御を試みた。

4. 研究成果

(1) 環境応答性ゲル微粒子の合成：

各種微粒子生成重合法により環境応答性ゲル微粒子の合成を試みた。その中でも特に、各モノマーを水に溶解させ、水溶性重合開始剤によって開始する水系沈殿重合法によって、単分散性の極めて高いゲル微粒子を得る事ができた(図1)。この時、主モノマーと共重合モノマーの共重合反応性比に着目し、階層構造を有するゲル微粒子を合成した。共重合モノマーの種類や共重合量を変えた一連の検討により、*N*-イソプロピルアクリルアミドとアクリル酸を用いた場合、ゲル微粒子内に比較的均一にアクリル酸に由来するカルボキシ基が導入されることを確認した。得られたゲル微粒子は温度と pH 応答性を有する事を確認した。

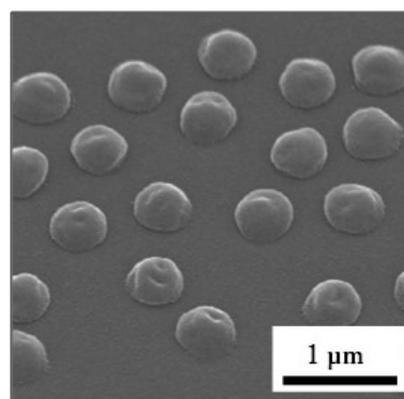


図1 典型的なゲル微粒子の電子顕微鏡像

(2) ショット法による複層化ゲル微粒子の合成：

一般に、水系沈殿重合法において、ゲル微粒子は周囲のモノマーやポリマーを取り込み、同心円状に形成される事が知られている。そのため、重合系内にモノマーを添加し続ければ、複数の層を有する複層化ゲル微粒子が得られると考えた。そこで、ゲル微粒子内部に、高分子電解質層(例：*N*-イソプロピルアクリルアミドとアクリル酸の共重合層)と、ほぼ中性のゲル層(例：ポリ *N*-イソプロピルアクリルアミド層)を交互に導入するために、同一のフラスコでモノマー水溶液を連続的にショットする沈殿重合を行った。

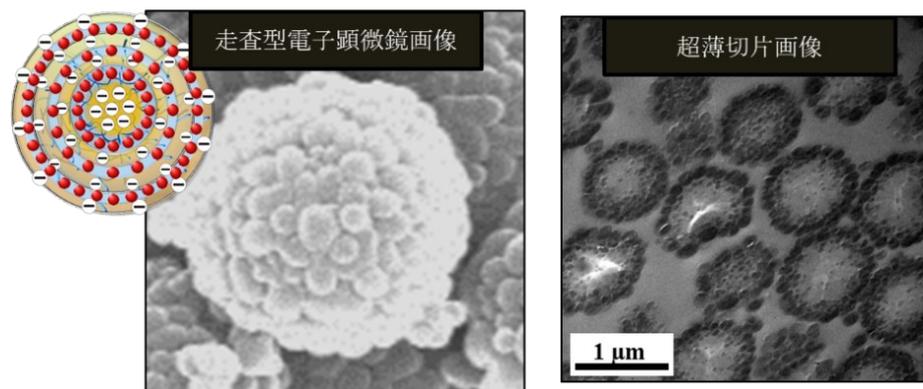
最初に、図1に示したようなゲル微粒子を水に分散させ、続いて外部からモノマー水溶液をショ

ットする事で、コア粒子の表面にシェル層を付与した。この時、モノマー水溶液のショット回数を変える事で、最大7層からなるコアシェル型ゲル微粒子を得る事に成功した。このとき、ショットするモノマー濃度の影響を検討したところ、モノマー濃度の増加に伴い副産物となる二次粒子が形成された事から、各ゲル層の厚さを制御する場合には、ショット回数を変える事が有効であると考えられた。また、連続でモノマー水溶液をショットする場合、ショットの時間間隔が短い場合、先に添加したモノマーが微粒子に導入される前に次のモノマーを添加してしまう事から、各層成分の混合が考えられた。そのため、重合中にサンプリングした微粒子の流体力学的直径を動的光散乱法により評価する事で、流体力学的直径の増加がみられない十分な時間間隔を置くこととした。

以上一連の検討を通じ、ショットするモノマーの時間間隔やモノマー濃度を調節する事で、副産物となる二次粒子を生成する事無く、ゲル微粒子を成長でき、精度よく複層化ゲル微粒子を得る事ができた。

(3) ナノコンポジット化による階層化複層ゲル微粒子の合成：

コアシェル型ゲル微粒子をテンプレートとして、油性モノマー（例：スチレン）の重合を行う事で、ポリスチレンナノ粒子のゲル微粒子内選択的な複合化を行う事ができた。特に、電解質層とほぼ中性のゲル層を交互に導入したゲル微粒子をテンプレートとして用いた場合、高分子電解質を思われる層を避けてポリスチレンが複合化したことを、超薄切片を作成し電子顕微鏡により観察する事で確かめた（図2）。その他にも、共重合モノマーとしてメタクリル酸を用いる事により、各層内で荷電基が局在し、ポリスチレンナノ粒子の複合形態が変化した階層化複層ゲル微粒子を得る事ができた（図3）。階層化を達成する事は出来たが、予想通りの内部構造とはならず、各層の厚さを制御する事は極めて困難であった。おそらく、沈殿重合の機構が影響し、各層が互いに圧縮されているためだと予想される。この事を明らかにする検討を次に行う事で、ゲル微粒子の設計指針がより明確となり、緻密な構造制御が可能になると考えられる。



Code	D_h / nm	Shell layer / nm
NA30	491 ± 19	-
NA30-N	506 ± 9	8
NA30-N-NA30	658 ± 38	76
NA30-N-NA30-N	553 ± 12	48
NA30-N-NA30-N-NA30	744 ± 92	96

図2 ショット法により作製したゲル微粒子をコアに用いて作成した階層化複層ゲル微粒子(左上) 走査型電子顕微鏡 (SEM) により撮影した単一微粒子像、(右上) 超薄切片を透過型電子顕微鏡によって撮影、(下) 各層のを導入した際の流体力学的直径 (D_h) とシェル層

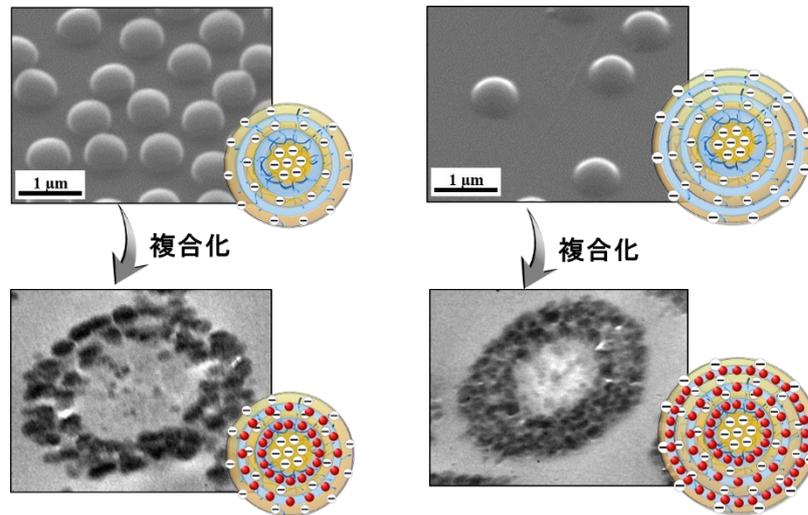


図3 共重合モノマーの反応性比の違いを活用したゲル微粒子をコアに用いて作成した階層化複層ゲル微粒子の超薄切片画像。左と右は、テンプレートとなるゲル微粒子の階層数が異なる例を示している。

(4) ナノコンポジット化する化学種の多様化：

ポリスチレン以外にもポリメチルメタクリレートやポリメトキシスチレンなども、ゲル微粒子をテンプレートとして、その内部に複合化する事が可能であった。ゲル微粒子内部に固定化するナノ粒子の多様化は、内包物の放出制御に重要であると考えている。内包物とナノ粒子との間の相互作用により、不可逆的に吸着し、微粒子内部に分子が残存してしまう系が確認されたためである。ナノ粒子とターゲット分子との相互作用を踏まえた上での粒子設計を行う事が、今後の展望の一つである。

(5) 内包物の放出制御：

ゲル微粒子または複合ゲル微粒子内にモデル分子であるローダミン6G薬剤を受動拡散させ、微粒子内に内包させた。この時、アクリルアミド誘導体から成るゲル微粒子の場合は、体積相転移以上の45 °Cで内包した際に多く分子を取り込む事が分かった。続いて、温度やpHを変化させる事で、微粒子外部へ分子を放出し、分光光度法により放出量を算出した。経時的にサンプルを分取して実験したところ、ゲル微粒子の層数が増えれば増えるほど、徐々に内包物が放出されることが確認された。今後は、取り扱う分子の多様化を実現するために、それぞれの分子に対して最適なナノ構造や化学種の検討を実施する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 牛田吏紀、渡邊拓巳、湊遥香、鈴木大介
2. 発表標題 階層性ナノコンポジットゲル微粒子の構造制御
3. 学会等名 第70回高分子学会年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 牛田吏紀、渡邊拓巳、湊遥香、鈴木大介
2. 発表標題 ナノコンポジットゲル微粒子の階層化検討
3. 学会等名 第52回中部化学関係学協会支部連合秋季大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------