

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 4 月 29 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2012

課題番号：23790040

研究課題名（和文）

新規表面重合法によるマイクロカプセル調製法の確立と刺激応答マイクロカプセルの開発

研究課題名（英文）

Microcapsule preparation by in situ polymerization on surface of micro particles

研究代表者

佐藤 勝彦 (SATO KATSUHIKO)

東北大学・大学院薬学研究科・助教

研究者番号：80400266

研究成果の概要（和文）：CaCO₃（直径 2 μm）粒子の表面でメタクリル酸メチル（モノマー）と N,N'-Methylenebisacrylamide（架橋剤）を重合することで薄膜を被覆し、その後 EDTA 処理によって CaCO₃ を溶解除去することによってマイクロカプセルを調製した。このカプセルの特性評価を、蛍光スペクトル、赤外分光法および顕微鏡、原子間力顕微鏡によって行った。また、RAFT 剤を利用することによっても粒子表面で重合反応を進行させカプセルを調製することができた。

研究成果の概要（英文）：

Poly(methyl methacrylate) microcapsules were prepared by the in situ polymerization of methyl methacrylate and N,N'-methylenebisacrylamide on the surface of CaCO₃ particles, followed by the dissolution of the CaCO₃ core in ethylenediaminetetraacetic acid solution. The microcapsules were characterized using fluorescence microscopy, atomic force microscopy, scanning electron microscopy, and Fourier transform infrared spectroscopy. Similarly, the microcapsules were prepared by RAFT reagent of particles surface.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：物理系薬学・物理化学

キーワード：機能性カプセル、刺激応答カプセル、機能性薄膜、表面重合、ドラックデリバリーシステム

1. 研究開始当初の背景

マイクロカプセルは、液体や固体などを内包した微小な容器であり、内容物の安定性向上、外部環境からの保護、放出制御、反応成分の隔離などの利点があることから、医療、食品、工業、農業、化粧品、日用品などさまざまな分野で利用されている。カプセルの調製には、化学的方法（界面重合法）、物理化学的方法（液中乾燥法、液中硬化法）、機械的方法（噴霧乾燥法、オリフィス法）などが用途に応じて用いられている。しかし、それぞれの方法

において封入できる物質やカプセル膜材料に制限があり、更に優れた方法の確立が求められている。

近年、交互累積膜（LBL）法によるマイクロカプセルの調製方法が開発された。この方法は、カプセルに封入したい物質を含むナノ～マイクロメートルサイズの微粒子の表面に正および負電荷を有するの高分子を静電的相互作用により一層ずつ積層しカプセル膜を被覆する。その後、微粒子を適当な方法で溶解除去することでカプセルとする。LBL 法

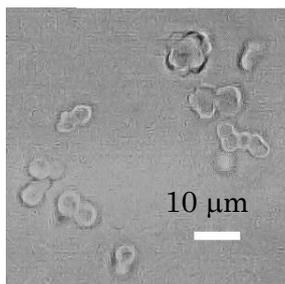


Fig.3 メタクリル酸メチルカプセルの顕微鏡画像

②メタクリル酸メチルカプセルの物性評価

調製したメタクリル酸メチルカプセルをカルシウム定量試薬であるエリオクロム・ブラック T を用いて滴定したところ、色調変化は確認できず EDTA 処理により炭酸カルシウム粒子が溶解除去されていることが示された。

カプセルを構成する物質を調べるために、IR スペクトルの測定を行った。調製したカプセルの IR スペクトルを Fig.4 に示す。カプセルのスペクトルにおいては、 1726 cm^{-1} 、 1659 cm^{-1} および 1525 cm^{-1} に新たな吸収がみられた。これらのバンドは、それぞれエステルの C=O 伸縮、アミド I (主に C=O 伸縮)、アミド II (N-H 変角と C-N 伸縮がカップルした振動) に帰属され、重合反応に用いた MMA および N,N'-MBA の官能基と一致する。したがって、これら二つの物質によってカプセルが形成されていることが示された。また、カプセルの元素分析の結果は H:6.42%、C:48.44%、N:4.24% となった。CN 比より MMA と N,N'-MBA の構成比は 79.7:20.3 (重量比換算 71.9:28.1) と算出された。

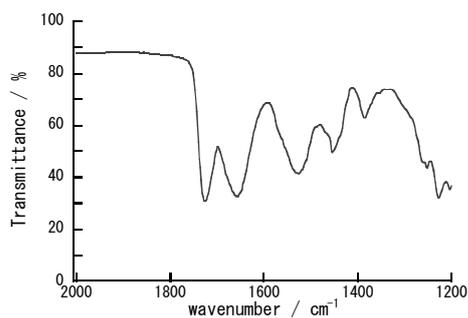


Fig.4 メタクリル酸メチルの IR スペクトル

調製したカプセルをカバーガラス上で乾燥し、AFM による観察を行った (Fig.5)。乾燥状態においても多くの丸いカプセルが確認出来た。またカプセルの断面図では、最も

低い場所の高さは約 160 nm であった。カプセル膜が一様であると仮定すると、この場所はカプセルが乾燥により潰れた際に、上下二枚の膜が重なったところであると考えられ、一枚の厚さは約 80 nm と算出される。測定する場所によって誤差があるが、ナノメートルサイズの膜が形成されたと考えられる。

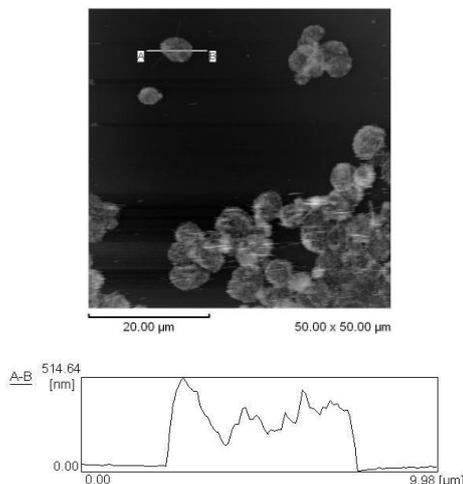


Fig.5 メタクリル酸メチルカプセルの原子間力顕微鏡画像

③機能性モノマーのカプセル膜への導入

機能性モノマーとしてメタクリロキシエチルチオカルボニルローダミン B (MTRB) を添加してカプセルの調製を行った。このカプセルの蛍光顕微鏡画像を Fig.6 に示す。カプセルからローダミン由来の蛍光が観察され共重合によってカプセル膜内に MTRB が導入されたことが示された。これにより、同様に機能性分子を共重合によってカプセル膜内に導入できる可能性が示唆された。

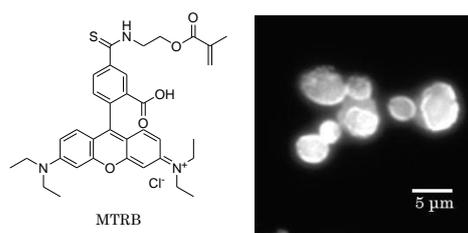


Fig.6 MTRB の構造とカプセルの蛍光顕微鏡画像

④タンパク質のカプセルの封入と放出評価

FITC でラベル化した牛血清アルブミン (FITC-BSA) を内部に含む CaCO_3 粒子を用いて調製したカプセルの蛍光顕微鏡画像を Fig.7 に示す。カプセルから FITC 由来の蛍光が確認でき、FITC-BSA がカプセルに封入されていることがわかる。

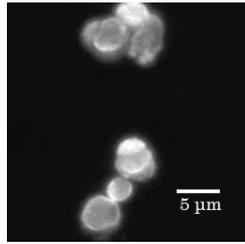


Fig.7 FITC-BSA を内包するカプセルの蛍光顕微鏡画像

カプセルからの FITC-BSA の放出評価を行った。カプセルからの FITC-BSA の放出は 1 時間程度で速やかに進行した。また、架橋剤である N,N'-MBA の添加量の違いにより、放出挙動に差異が認められた。カプセル膜の組成や密度が異なるためだと考えられる。すなわち、架橋剤を多く添加した場合の方が、膜がより密になって FITC-BSA の放出が抑制されたと考えられる。

⑤ その他の粒子に対する検討

モノマーとしてメタクリル酸メチルを用いて CaCO₃ 粒子以外の粒子をもちいて同様のカプセル調製操作を行った。その結果、シリカ粒子、ポリスチレンビーズなどの表面に薄膜の形成を確認した。これら粒子は、それぞれフッ化水素およびテトラヒドロフラン溶液で溶解除去することが可能であるためカプセルを調製できる可能性が示唆された。

(2) 粒子表面に反応の起点を導入する方法

メタクリル酸メチルとアクリル酸メチル以外のモノマーを用いてカプセルを調製するためには、EDTA 処理に耐えうる強度を持つ膜を粒子表面に形成させる必要がある。そのためには、粒子表面に重合反応の起点となるような官能基を導入し、粒子近傍で選択的に重合反応を進行させる方法が挙げられる。

① メタクリロイルクロリドの修飾

粒子の表面にポリアリルアミン (PAH) を被覆した後にメタクリロイルクロリドを反応させることで、CaCO₃ に重合反応の起点を導入することを検討をした (Fig.8)

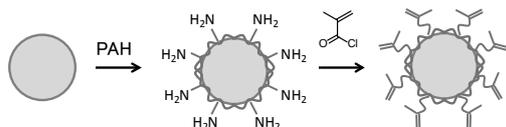


Fig.8 メタクリロイルクロリドの粒子表面への修飾

上記の方法により粒子の表面にメタクリル酸を修飾し①と同様に種々のモノマーや架橋剤をもちいて重合反応を行った。その結果、重合反応の進行は確認できたがカプセル形成、単離には至らなかった。

② RAFT 剤の修飾

次に、粒子表面への RAFT (可逆的付加開裂連鎖移動) 剤の修飾によるカプセル調製を検討した。RAFT 重合はリビングラジカル重合の一種で、1998 年に CSIRO (豪州連邦科学産業研究機構) にて発見された重合法である。一般的なラジカル重合の素反応の他に、RAFT 平衡に関連する反応が加わることで、ポリマー鎖の分子量や構造を制御することが出来る。RAFT 剤として 4-シアノ-4-(フェニルチオカルボニルチオ) ペンタン酸を使用した (Fig.9)。

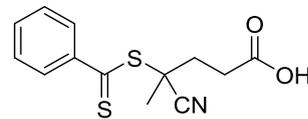


Fig.9 CPPA の構造

CaCO₃ 粒子に PAH を被覆後、アミド結合により CPPA を粒子表面に化学修飾した。調製した CPPA-PAH 被覆粒子 50 mg、モノマーとして 2-ヒドロキシエチル (HEMA) 100 mg、N,N'-MBA 20 mg、および蛍光顕微鏡観察のための MTRB 0.1 mg を蒸留水 30 mL に加え、窒素通気を 20 分間行った。40 mg/mL のペルオキシ二硫酸アンモニウム 0.5 mL を添加し、油浴を用いて溶液を 70°C で 5 時間加熱することで重合反応を行った。その後 EDTA 処理を行い CaCO₃ 粒子を溶解除去した。RAFT 重合においては、理論的にはポリマーが直線状に形成される。このため、重合反応の際に架橋剤を少量添加することで、網目状のポリマーが形成され、カプセル調製が行えると考えた。

モノマーとして HEMA を選択した理由の一つは、先の重合反応の結果から、過剰な重合反応によって粒子の回収を阻害する可能性が小さく、炭酸カルシウム粒子への影響も小さいことが示唆されたためである。もう一つは、RAFT 重合を行う際はモノマーの種類によって適切な RAFT 剤が異なるためである。例えば、CPPA はメタクリル酸骨格やメタクリルアミド骨格を持つ分子と相性が良く、ビニルエステルやビニルアミドとは相性が悪いことが報告されている。

調製操作後の蛍光顕微鏡観察では多数のカプセルが凝集している様子が見られた (Fig.10)。対照実験として、表面未修飾の炭

酸カルシウム粒子などを用いた場合はカプセルが確認されなかったため、CPPA-PAHを被覆したことにより、カプセル調製に至ったと言える。HEMAはこれまでの検討においてカプセル調製に至らなかったモノマーであるため、他のモノマーについても適切なRAFT剤を用いることでカプセルを形成できることが示唆された。

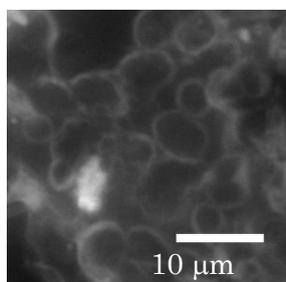


Fig.10 RAFT 修飾 CaCO₃粒子を用いたカプセル

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1件)

1. poly(methyl methacrylate) micro capsules by in situ polymerization on the surface of calcium carbonate particles, Katsuhiko Sato, Nakajima Tatsuya, Jun-ichi Anzai, Journal of Colloid and Interface Science, 387, 123–126 (2012). [査読有り]
DOI:dx.doi.org/10.1016/j.jcis.2012.07.090

[学会発表] (計1件)

1. 表面重合法によるマイクロカプセルの調製, 佐藤勝彦、中島達也、安斉順一、みちのく分析科学シンポジウム 2011、2011年7月23日、米沢

[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

佐藤 勝彦 (SATO KATSUHIKO)
東北大学・大学院薬学研究科・助教
研究者番号：80400266

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：