

PDMAEMA-b-PNIPAM の合成と溶液挙動

TAMURA, Taiga / 田村, 大河

(出版者 / Publisher)

法政大学大学院理工学研究科

(雑誌名 / Journal or Publication Title)

法政大学大学院紀要. 理工学・工学研究科編

(巻 / Volume)

61

(開始ページ / Start Page)

1

(終了ページ / End Page)

2

(発行年 / Year)

2020-03-24

(URL)

<https://doi.org/10.15002/00022772>

PDMAEMA-*b*-PNIPAM の合成と溶液挙動

SYNTHESIS AND SOLUTION BEHAVIOR OF PDMAEMA-*b*-PNIPAM

田村大河

Taiga TAMURA

指導教員 杉山賢次

法政大学大学院理工学研究科応用化学専攻修士課程

The well-defined thermosensitive block copolymer composed of poly[2-(*N,N*-dimethylamino)ethyl methacrylate] and poly(*N*-isopropylacrylamide) (PDMAEMA-*b*-PNIPAM) was synthesized by an atom transfer radical polymerization. Dynamic light scattering and ¹H NMR spectrum clearly indicated that the polymer micelle consists of a hydrophobic PNIPAM core and a hydrophilic PDMAEMA shell in water at 50 °C, i.e. higher temperature than LCST of PNIPAM. High encapsulation efficiency of ibuprofen or fluorescein into polymer micelle was achieved by an ionic bond formation between amino groups in PDMAEMA segment and carboxyl groups in low molecular weight compounds. Furthermore, the encapsulated low molecular weight compounds were rapidly released by ionic bond dissociation under acid conditions.

Key Words : Thermosensitive polymer, LCST, pH-responsive polymer, block copolymer, micelle, ionic bond, encapsulation efficiency.

1. 緒言

本研究室では、疎水性セグメントとして優れた生分解性を示す Polycaprolactone (PCL), 親水性セグメントとして下限臨界溶解温度 (LCST) を約 32 °C に持つ Poly(*N*-isopropylacrylamide) (PNIPAM) を組み合わせたブロック共重合体 PCL-*b*-PNIPAM, PNIPAM-*b*-PCL-*b*-PNIPAM, 及び星型ブロック共重合体 4-star-PCL-PNIPAM の合成と溶液挙動について検討してきた^[1]. これらの両親媒性ブロック共重合体は水中で、PCL をコア、PNIPAM をシェルとする会合体を形成し、疎水性相互作用により低分子化合物をコアに取り込むことが期待されているが、封入率はわずか数%程度である.

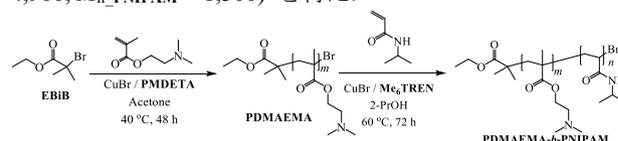
本研究では、疎水性相互作用よりも強いイオン結合を低分子化合物の封入に利用することを考え、3級アミノ基含有ポリマーである Poly[2-(*N,N*-dimethylamino)ethyl methacrylate] (PDMAEMA) と、疎水性でありながらカルボキシル基を含む低分子化合物 ibuprofen, fluorescein の組み合わせを考えた. PDMAEMA は、分子量に加え、pH に依存して LCST が 30 ~ 50 °C を示すことが知られており^[2], pH の変化が低分子化合物を放出するトリガーとなることが考えられる. 更に本研究では、感温性を付与するため PNIPAM の導入を考えた. すなわち、PDMAEMA と PNIPAM から構成されるブロック共重合体 PDMAEMA-*b*-PNIPAM をターゲットポリマーとした. このポリマーが水中で形成するミセルは、感温性と pH 依存性を同時に

示すことから、Drug delivery system (DDS) において二重応答性キャリアとしての利用が期待される.

2. 実験

(1) ブロック共重合体の合成

Ethyl 2-bromoisobutyrate (EBiB) を開始剤とし、Acetone 中、CuBr / *N,N,N',N'',N'''*-Pentamethyldiethylenetriamine (PMDETA) 存在下、40 °C で 48 h, DMAEMA の原子移動ラジカル重合 (ATRP) を行い、PDMAEMA を得た. 次に、PDMAEMA をマクロ開始剤とし、2-PrOH 中、CuBr / Tris[2-(dimethylamino)ethyl]amine (Me₆TREN) 存在下、60 °C で 72 h, NIPAM の ATRP を行い、目的のブロック共重合体である PDMAEMA-*b*-PNIPAM (M_n PDMAEMA = 4,900, M_n PNIPAM = 1,500) を得た.



(2) ポリマー溶液の調製

PDMAEMA-*b*-PNIPAM の 0.2 wt% 水溶液を調製したところ PDMAEMA の側鎖アミノ基により、水溶液は pH = 8 を示した. これに 0.1 M 塩酸を加え、pH = 7 の水溶液を調製した.

(3) 低分子化合物の封入と放出

PDMAEMA-*b*-PNIPAM (20 mg) を精製水 (10 mL) に

溶解させ、低分子化合物 (5 mg) と DMSO (5 mL) を加え透析膜に移した。所定温度の精製水を用いて透析処理を行うことで余剰な低分子化合物を除去した後、UV-vis 測定から封入率を算出した。更に、透析膜内へ 0.1 M 塩酸を滴下することで、UV-vis 測定から放出挙動を観察した。

3. 結果と考察

(1) 溶液挙動

ポリマー水溶液の温度可変 UV-vis 測定 (500 nm) を行った (Fig.1)。pH=7 では、PDMAEMA の側鎖アミノ基のプロトン化による溶解性の向上により、透過率の減少開始温度が約 34 °C に上昇し、その減少は約 40%程度で一定となった。一方、pH=8 では、約 30 °C で明確な透過率の減少が確認された。この結果から、PNIPAM の感温性によるポリマーの相転移挙動が示唆されたため、D₂O 中の ¹H NMR 測定を行った (Fig.2)。25 °C のときに見られた PNIPAM のイソプロピル基由来のメチン基のシグナル (3.9 ppm) が、50 °C の時に消失していたことから、PNIPAM をコア、PDMAEMA をシェルとするミセル形成が示された。

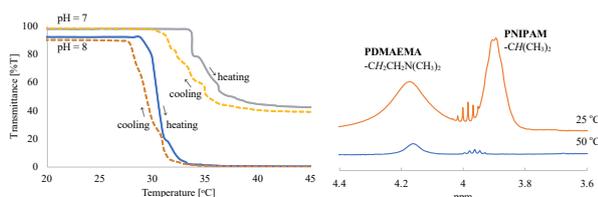


Fig.1. Transmittance of PDMAEMA-*b*-PNIPAM depending on solution temperature.

Fig.2. ¹H NMR spectra of resulting polymer in D₂O observed at 25 °C and 50 °C.

ポリマー水溶液 (0.2 wt%) の DLS 測定を温度・pH を変化させて行った (Table 1)。50 °C・pH=8.5 の時 (Sample 2~5)、DDS に適した 26.4~40.2 nm の粒径を示した。しかし、その粒径分布が広く、PNIPAM をコアとするミセルの他に、複数のミセルが集合したクラスターや、より大きな凝集体が存在することが示唆される。次に、その溶液を 50 °C に保ったまま pH=3~4 に変化させた時 (Sample 3~5)、粒径は 69.5~114 nm に増大した。これは、酸性条件下において、シェルを形成している PDMAEMA の側鎖アミノ基のプロトン化によって生じたカチオン同士の静電反発のためと推定される。

Table1. Diameter of PDMAEMA-*b*-PNIPAM aggregates depending on solution temperature and pH

Sample	Temp.	pH	d_{avg} [nm]	D_n [nm]
1	r.t.	8.5	109.5	146.8 ± 65.5
2			132.2	195.5 ± 102.2
3	50 °C	8.5	27.3	30.4 ± 8.10
4			31.0	40.2 ± 16.8
5			26.4	31.7 ± 10.9
3			40.2	51.0 ± 20.4
4			69.5	70.5 ± 6.90
4	50 °C	3~4	103.2	120.0 ± 38.4
5			114.1	170.0 ± 87.7

(2) 低分子化合物の封入試験及び放出試験

ibuprofen 及び fluorescein の封入試験を行った (Table 2)。ibuprofen の封入率は、r.t. で約 100%，50 °C で 63.7~88.3% であった。同様に、fluorescein は r.t. で 78.5~85.5%，50 °C で 57.0~80.3% であり、いずれの場合も高い値を示した。封入試験後、溶液に低分子化合物の析出や沈殿が見られなかったことを考慮すると、疎水性低分子化合物の高分子鎖中への取り込みが確認された。封入試験後の溶液を回収し、水の減圧留去を行った後、残渣の ¹H NMR 測定 (CDCl₃ 中) を行ったところ、アミノ基に隣接するメチレン基のシグナル (2.27 ppm) が低磁場側にシフト (ibuprofen : 2.30 ppm, fluorescein : 2.32 ppm) していたことから、低分子化合物に含まれるカルボキシル基と、PDMAEMA 鎖のアミノ基間でのイオン結合形成が示唆された。fluorescein とポリマーの DMSO/H₂O 溶液の UV-vis とスペクトルにおいて、fluorescein の最大吸収波長が長波長側にシフト (480 nm → 500 nm) しており、fluorescein と PDMAEMA のイオン結合形成による、カルボキシラートイオンの生成を確かめた。一方、50 °C での封入率が r.t. の時よりやや低いことから、熱によって分子運動性が高くなりイオン結合が解離したと推定される。

また、透析膜内に塩酸を 3~4 回滴下する放出試験を行ったところ、ibuprofen および、fluorescein の放出を確認した。更に、放出試験後の透析膜内の溶液から、高分子鎖中に取り込まれた低分子化合物量を算出したところ、封入試験後の封入量より大きく低下していた (ibuprofen : 81.6% → 29.8%, fluorescein : 71.3% → 30.0%)。これは、PDMAEMA 鎖のプロトン化に伴うカチオン同士の静電反発とイオン結合の解離によって放出されたと考えられる。

Table 2. Encapsulation test of PDMAEMA-*b*-PNIPAM

Low molecular weight compounds	Temp.	Encapsulated low molecular weight compounds					
		1		2		3	
		[mg]	[%]	[mg]	[%]	[mg]	[%]
ibuprofen	r.t.	5.25	105.0	4.67	93.6	4.95	99.0
	50 °C	4.41	88.3	3.95	79.1	3.18	63.7
fluorescein	r.t.	4.28	85.5	4.04	80.8	3.93	78.5
	50 °C	4.02	80.3	2.85	57.0	3.83	76.5

4. 結言

¹H NMR 測定及び UV-vis 測定から、イオン結合による疎水性低分子化合物のミセル中への取り込みが確認された。更に、PDMAEMA 由来の pH 応答性による低分子化合物の放出が確認された。

参考文献

- [1] T. Tamura, K. Sugiyama, *Polym. Prepr. Jpn.*, **2018**, 67, 3Pc009.
 [2] Xia Han et al., *Langmuir*, **29**, 1024-1034, **2013**.