環状高分子ミセルをキャリアとする温度応答型DDSの開発

東京工業大学 大学院理工学研究科 有機･高分子物質専攻 助教　　山本 拓矢

1. 研究の目的

環状高分子は、対応する直鎖状高分子とは『かたち』の違いから物性が異なることが知られており、学術的関心から近年様々な研究が行われている。しかし、実際のところ、『かたち』の違いによる多少の物性差（例えば、流体力学的半径比はおよそ 0.9）は現れるものの、この程度の僅かな物性差異を材料分野の応用として展開するのは難しいと考えられていた。ところが一方、自然界に目をやると『環状』の高分子構造に基づく様々な機能が進化の過程で培われ、プラスミド DNA をはじめ、環状タンパク質、環状アミロースなどが、その『かたち』に基づく特異的な効果を発現することが知られている。これは、生体物質が単一分子で機能するのではなく組織を形成していることに由来する。

我々は、好熱菌と呼ばれる一部の単細胞性の古細菌がその細胞膜に環状の脂質分子を有することで海底火山や温泉など熱水環境で生息できることに着想を得、両親媒性の直鎖状ブロック共重合体を環状化し、直鎖・環それぞれの自己組織化体の特性を比較検討した。すると驚くべきことに、環状高分子ミセルは、直鎖のものと比べて構造崩壊温度（曇点）が飛躍的に上昇（24 °C → 74 °C）することを見出した。つまり、直鎖から環へのトポロジー変換によって、高分子の組成・化学構造や分子量およびミセルの形状やサイズに一切影響を与えることなく熱安定性が大幅に向上した。それまでの報告によれば曇点の上昇は 5 °C 程度が限界であったが、前述の研究において 50 °C もの熱安定性の改善という非常に顕著な『トポロジー効果』を初めて発表した。さらに、直鎖状・環状高分子の混合比調整により、その広い範囲でのミセルの崩壊温度制御にも成功した。この現象は多岐の分野から強い興味が持たれ、化学的には同じ物質を使用しているにもかかわらず広範囲での崩壊温度制御機能は、温度応答性ドラッグデリバリーシステム（DDS）をはじめとする様々な機能材料開発につながる新技術として産業界からも注目された。

本研究課題は、上述の研究成果を発展させ高分子の『かたち』（高分子トポロジー科学）と自己組織化（超分子化学）の融合による新規複合分野の開拓を目指し、この着想に基づく分子システムの応用を探究するものである。

2. 研究の内容（手法、経過、評価など。）

まず、種々のセグメントによる耐熱性効果を調査するため直鎖状 polystyrene-*b*-poly(ethylene oxide)-*b*-polystyrene (PS-PEO-PS) および環状 polystyrene-*b*-poly(ethylene oxide) (PS-PEO) を合成した。両末端に臭化アルキル基をもつ分子量 2000 の PEO マクロイニシエーター(1)を開始剤としたスチレンの ATRP により、両親媒性直鎖状 ABA 型 PS_5-PEO_{46}-PS_5 ブロック共重合体(2)を合成した(図 1)。次に、得られた 2 の臭素ベンジル基末端を四塩化チタン存在下においてアリルトリメチルシランを作用させ、両末端アリル化ブロック共重合体 3 を得た。さらに、希釈条件において分子内メタセシス環化を行うことにより両親媒性環状 AB 型 PS_{10}-PEO_{46} ブロック共重合体(4)を合成した。次いで、ブロック共重合体 3 および 4 (10 mg) をそれぞれ THF (2 mL) に溶解し、純水 10 mL をゆっくりと滴下した後、減圧留去により THF を除去し、液量を 10 mL とすることで 1.0 mg/mL のミセル溶液を調製した。3 および 4 はいずれもおよそ 20 nm 程度の球状のミセル構造を形成することが原子間力顕微鏡(AFM) 観察および、動的光散乱(DLS) 測定により示された。さらに、これらのミセル溶液の曇点を紫外–可視分光光度計を用いた濁度測定により求めたところ、直鎖状ブロック共重合体 3 は 33 °C、環状ブロック共重合体 4 では 72 °C となった(図 2) 。この結果、今回の両親媒性環状 PS-PEO ブロック共重合体から成るミセルでも、環状構造に起因するトポロジー効果によって 40 °C に及ぶ耐熱性の向上が示された。

2. 研究の内容（続き）（書ききれない場合には、同一形態のページを追加しても結構です。）

次に、耐塩性に対するトポロジー効果を評価するために、電解質を用いて塩析挙動を評価した。塩化ナトリウムをミセル溶液に添加し、UV により塩析濃度を評価したところ、直鎖状 poly(butyl acrylate)-*b*-poly(ethylene oxide)-*b*-poly(butyl acrylate) (Linear)から成る L-micelle は 110 mg/mL、一方で環状 poly(butyl acrylate)-*b*-poly(ethylene oxide) (Cyclic)からなる C-micelle では 240 mg/mL であり、それぞれ塩析に伴う透過率の減少が認められた。すなわち、『トポロジー効果』により耐塩性が二倍以上に向上することが示された。DLS 測定からも塩濃度の上昇に伴いミセルの流体力学的直径の増加が確認され、UV 測定と一致する結果が得られた。また、Linear 及び Cyclic の混合による耐塩性の制御を検討した。

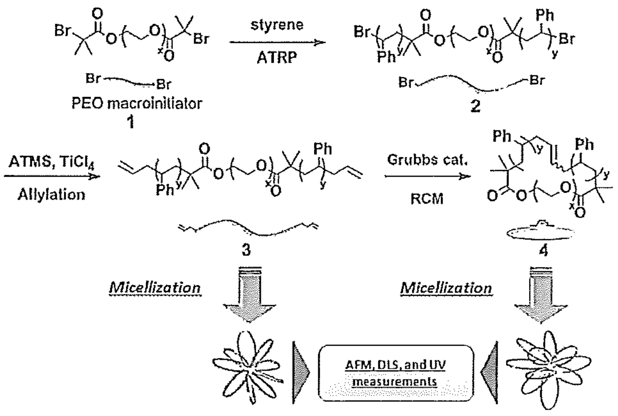

図 1　直鎖および環状 PS-PEO の合成と自己組織化

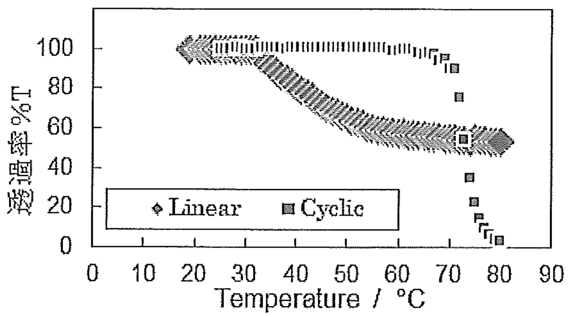

図 2　UV による濁度測定

続いて、Linear (10 mg)および Cyclic (10 mg)に対して水溶性蛍光分子である fluorescein sodium salt 水溶液(FSS, 1.0 mg/mL, 30 μL)を加え、80 °C に加熱して均一に混合することにより、FSS の包摂されたヒドロゲル(L-gel, C-gel, 25wt%)を作製した。得られたヒドロゲルの水中(30 °C)における FSS 放出挙動を UV により評価したところ、興味深いことに L-gel では FSS 由来の 490 nm における吸収が時間の経過に伴い増加したのに対し、C-gel では吸収の増加はほとんど見られなかった(図 3)。すなわち、高分子トポロジーの差異に起因して、ヒドロゲル中に担持されたゲスト分子の放出が強く抑制されるという効果が見出された。また、温度依存性を調査したところ 50 °C においてそれぞれ放出速度の増加が観測された一方で、実験温度範囲において常に C-gel は FSS の放出を強く抑制していた。

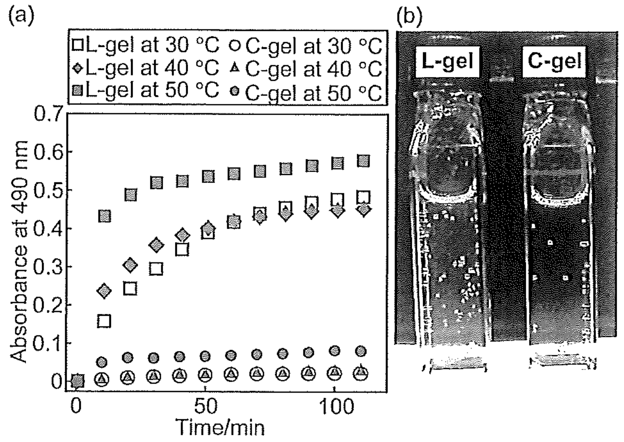

図 3 (a) FSS 放出の時間依存性測定　(b) 40°C, 180 分後の直鎖状および環状高分子ゲルの写真

3. 研究の結論、今後の課題

環状高分子は、主鎖末端が存在しないため、同一の組成・分子量であっても『かたち』（トポロジー）の違いから直鎖状高分子とは異なった物性を示す。しかし、『かたち』に基づく物性差異（トポロジー効果）は微少なものであり、特定の分野の学術的興味の範疇を超えないと考えられてきた。そこで、本研究は直鎖状および環状の高分子を自己組織化することで分子集合体とし、トポロジー効果の増幅によって機能材料の開発を行った。また、その増幅メカニズムの解明を行い、高分子トポロジー科学と超分子化学の融合による新規複合分野の開拓を目指した。

我々が発見したトポロジー効果は学術的にも産業的にも非常興味深く、様々な領域において応用展開が期待される現象ではあるが、現在のところその具体的なメカニズムは解明されていない。そこで、まず速度論的要因および熱力学的要因の調査からメカニズムの解明を行い、本方法論の基盤となる知見を蓄えることで新規融合分野の基礎の確立を行う。そして、分子量、親水・疎水セグメント比およびポリマー主鎖の変更を行い、棒状ミセルやベシクルなどの複雑な自己組織化構造を構築し、それらにおける『トポロジー効果』を調査する。

また、本新規分子システムのアプリケーションの探索として環状高分子が形成するミセルの特性を活かし、ドラッグデリバリーシステムに向けた温度応答型のゲスト分子放出およびミセル触媒としての応用を試みる。

4. **成果の価値**(とくに判りやすく書いてください。)

1. 社会的価値

環状高分子は、主鎖末端が存在しないため、同一の組成・分子量であっても「かたち」(トポロジー)の違いから直鎖状高分子とは異なった物性を示す。本研究は、高分子トポロジーに基づく物性に着目した新規材料の開発を行うものである。

一般に高分子材料の物性制御行う場合、分子構造の改変による物性変化を基盤とし、ポリマー鎖を形成する大多数のユニットに対して期待される性質が得られるまで、数多くの化学修飾を施す必要がある。これは、個々の修飾された官能基が直接素材の物性に反映されるものであり、化学変化の割合に応じた物性変化という線形的な結果しか得られない。それに対し本研究は、高分子の「かたち」という新たな概念の導入によって1ヵ所の化学反応で直鎖・環構造を切り替え、高分子全体の物性を一変するという、材料科学分野のブレイクスルーとなり得る。

2. 学術的価値

生命活動を司る生体高分子は、『かたち』(トポロジー)に基づく優れた機能が進化の過程で創出されてきた。とりわけ、高温、高塩濃度、強酸性などの極限環境に生息する古細菌の細胞膜からは環状の脂質分子群が発見されており、特異な生物学的機能を発現している。本研究は、この環状脂質分子の構造特性を環状両親媒性ブロック共重合体により模倣・再現することにより新規機能性材料を創出し、その学術的価値を見出す。

3. 成果論文(本研究で得られた論文等を年代順に書いてください。未発表のものは公表予定を書いてください。)

1) Sugai, N.; Yamamoto, T.; Tezuka, Y. Synthesis of Orientationally Isomeric Cyclic Stereoblock Polylactides with Head-to-Head and Head-to-Tail Linkages of the Enantiomeric Segments, ACS Macro Lett, 1, 902-906, 2012.

2) Baba, E.; Honda, S.; Yamamoto, T.; Tezuka, Y. ATRP-RCM Polymer Cyclization: Synthesis of Amphiphilic Cyclic Polystyrene-b-Poly(Ethylene Oxide) Copolymers, Polym. Chem., 3, 1903-1909, 2012.

3) Sugai, N.; Heguri, H.; Yamamoto, T.; Tezuka, Y. A Programmed Polymer Folding: Click and Clip Construction of Doubly Fused Tricyclic and Triply Fused Tetracyclic Polymer Topologies, J. Am. Chem. Soc., 133, 19694-19697, 2011.

4) Yamamoto, T.; Tezuka, Y. Topological Polymer Chemistry: A Cyclic Approach Toward Novel Polymer Properties and Functions, Polym. Chem., 2, 1930-1941, 2011.