水環境で機能を発現する合成高分子

明石 満 Mitsuru AKASHI

鹿児島大学工学部
Mitsuru AKASHI

N-ビニルアセトアミドおよびその誘導体から得られる水溶性高分子あるいはヒドロゲルは、明確な感熱応答性を示す新規材料である。また、種々の水溶性ビニルモノマーから水溶性マクロモノマーを合成し、ポリスチレンミクロスフェア表面にマクロモノマーユニットを集積させる新しい手法を示し、水溶液中で分散し機能する種々の微粒子について解説する。

1. はじめに

多くの機能性高分子が設計・合成され、工業化に至ることも珍しいことではなくなっている。必然的に、生活環境である水環境で用いる高分子を高機能化することがわれわれのひとつの課題となる。天然の高分子のほとんどは水環境で機能している。他方、これまで、合成高分子の多くは有機溶媒系で取り扱われ、開発されてきた水

溶性および親水性合成高分子の種類に限りがあるのが現状である。ここでは、水環境で機能発現するいくつかの合成高分子について紹介する。

2. *N*-ビニルアセトアミドおよびその誘導体から得られる高分子

N-ビニルアセトアミド (NVA) は 1965 年に合成され研究が始められた¹⁾。ノニオン性の水溶性合成高分子としてはアクリルアミドとその誘導体、*N*-ビニルピロリドンなどの重合体がよく知られている。NVA 重合体の加水分解後の構造はポリビニルアミンであり、ポリビニルアルコールと酢酸ビニルの関係と類似している。多くの研究者がモノマー合成から追試し基礎研究を行ったようであるが多くの報告例は見られない。われわれは、スキーム 1 で示される方法で純度の高い NVA が得られるようになったことを受けて、基本的なラジカル重合性から再検討を行った²⁾。その結果、アゾ系の開始剤を用いるとほぼ定量的に重合し、特に水溶液中では高分子量の重合体を得られ、NMR で観測する限りは枝分れもなく、実験室では容易な 95°C、0.2*N*-HCl の条件で 2 昼夜かくはんすることにより定量的に加水分解できることなどが明らかとなった。従来の方法と比較して極めて容易にポリビニルアミンが得られる。NVA は経口毒性が低く、重合体 PolyNVA はアルコールなどの有機溶媒に易溶であり、耐加水分解性に優れ通常の条件では安定である

スキーム 1 NVA 誘導体の合成

Synthetic Polymers Which Reveal Their Functionalities in Aqueous Environment

明石 満 鹿児島大学工学部応用化学工学科) 教授、工博
1972 年阪大工学部応用化学科卒、1978 年大学院博士課程修了、同年より 1979 年まで NIH 博士研究員、1979 年より 1980 年までウォータールー大博士研究員、1981 年鹿児島大助手、1984 年助教授、1989 年より教授。専門は機能性高分子。
〈趣味〉 テニス

図1 1% poly(NVA) の曇点に対する Na_2SO_4 の添加効果

ことも重要である。また、その構造から類推されるように、典型的な非共役型のビニルモノマーの性質を示すことを共重合の際には念頭におく必要がある。

適度な疎水性基を持つ水溶性高分子は水溶液中で曇点をもち、温度上昇により水和構造が崩れ疎水性相互作用が支配的となり不溶化する現象が知られている。ポリ-N-イソプロピルアクリルアミド (polyNIPAM) に曇点があることは1968年に報告されている³⁾。PolyNVAは水溶液中で曇点は示さない。しかし、NaCl 飽和水溶液中では95°C 付近で曇点を示し、硫酸ナトリウム水溶液中では図1に示すように室温近くで曇点を示す系も見出されている⁴⁾。polyNVAの親水基は側鎖のアミド基でありシンプルなタンパク質モデルと見なされ、水溶液中の挙動に興味を持たれ前田らによる基礎研究が進められている。

NVA のメチル基をイソプロピル基に変換した *N*-ビ

ニルイソブチルアミド (NVIB) の重合体は予想されるように、水溶液中、温度に鋭敏にตอบสนองし、25–26°C に曇点を示した (図2a)⁵⁾。ポリマーの精製は低温で水に溶解し、暖めることにより生成する沈澱をろ別することにより可能である。図2bにはNVAとNVIBの共重合体の曇点を示した⁶⁾。NIPAMなどアクリルアミド誘導体の場合、共重合体により32°C から58°C までの曇点の制御が報告されているが、これほど鋭敏ではない⁷⁾。NVAとNVIBはモノマー反応性がほぼ等しいことが予想され、共重合体は理想的なランダム共重合体であろう。このシステムを用いると25°C 以上沸点まで如何なる温度でも鋭敏に感熱応答させることができることになる。また、水溶液中で安定なポリマーを用いていることからこの現象を繰り返すことに何の問題もない。

PolyNVAは無機塩水溶液中で二相系とすることが可能である⁸⁾。また、他の水溶性ポリマーとの組合せでも二相系となる。デキストラン–ポリエチレングリコール (PEG) 系ではよく知られている現象である。図3には典型的なPolyNVA–デキストラン二相系をPEG–デキストラン二相系と比較し示した⁹⁾。分子量も影響するが低濃度で明確な二相系が形成されている。この系にモデルタンパク質としてミオグロビンを加えた結果デキストランが濃縮された下層へ高濃度で分配され、PEG系よりも高濃縮化されることが認められた。二相系形成には親水性–疎水性のバランスが重要であり、今後さまざまな水溶性高分子を用いて調べる必要があろう。PolyNVAは部分的な加水分解によりアミノ基を導入できることから、タンパクにアフィニティーのあるリガンドを導入しアフィニティー二相分配を試みることも興味を持たれる。また、この二相系に感熱応答高分子を用い、濃縮分離後のポリマー分離を容易とすることも重要である。

NVA から得られるヒドロゲルは両親媒性を示し、容

図2(a) ポリ(*N*-ビニルイソブチルアミド)の温度による透過率変化 (波長500nm) ○昇温, ●冷却

(b) *N*-ビニルイソブチルアミド (NVIB) と *N*-ビニルアセトアミド (NVA) の共重合体による透過度の温度依存性

分子量 (PNVA; 17000 ($n=200$), PEG; 9000 ($n=200$), Dextran; 190000)

図3 ポリ(*N*-ビニルアセトアミド)-デキストラン系, ポリエチレングリコール-デキストラン系のバイノーダル曲線比較

易に自重の40倍程度の水を吸収し膨潤する¹⁰⁾。ノニオン性ヒドロゲルであり食塩水中, 広いpHで機能する。このゲルを部分的に加水分解するとアミノ基を有するポリカチオン性ヒドロゲルに誘導することができる。膨潤度はpHに依存し, 最大400倍の水を吸収し, 超吸水性ヒドロゲルとして機能する。

NIPAMから得られる感熱応答ヒドロゲルがよく知られており, 例えば岡野らによりDDSの分野での研究が展開されている¹¹⁾。NVIBから得られるヒドロゲルは両親媒性を示し, PolyNVIBが曇点を持つことから類推されるように感熱応答する。図4に示すように, 室温では

60倍の水を吸収するが, 40℃ではほとんどの水を放出する。例えば, このゲルに水溶性薬物を内包させると温度上昇により放出できることになる。NVA-NVIB共重合体ヒドロゲルを用いると任意の温度で応答可能となる¹²⁾。感熱応答ヒドロゲルは, DDSで用いる薬物担体ヒドロゲルに留まらず, 多くの用途が考えられる。

3. 水溶性マクロモノマーと水分散性高分子マイクロスフェア

マクロモノマーに関する研究が始まってすでに20年経過している^{13), 14)}。水溶性マクロモノマーとしてはポリ

図4 *N*-ビニルイソブチルアミド (NVIB) ゲルの熱応答性

スキーム2 水溶性マクロモノマーの合成

表1 ポリエチレングリコールマクロモノマー (M_1) とスチレン (M_2) との共重合体におけるモノマー反応性比^a

$M_1 (M_n)$	r_2		
	Benzene ^b	DMF ^b	Ethanol/H ₂ O ^b
St-PEG(1000)	1.41	1.39	1.55
St-PEG(3000)	1.68	1.64	1.78
St-PEG(5000)	1.81	1.79	1.90
MMA-PEG(1000)	1.08	1.03	1.28
MMA-PEG(3700)	1.41	1.40	1.52

^a 溶媒: 5ml、反応温度: 60℃

^b 重合開始剤にBPOを用いた

^c 重合開始剤にVA-061を用いた

エチレングリコールが市販され基礎研究も充実してきている。疎水性モノマーを界面活性剤を用いて水溶液中で乳化重合し微粒子を得ることができるが、1985年に、水溶性マクロモノマーと疎水性モノマーの共重合においてミクロスフェアが得られることが見出された¹⁶⁾。この手法で得られるミクロスフェアはマクロモノマー鎖が表面に集積することから、簡便に種々の機能性ミクロスフェア合成が可能となり今日に至っている^{16), 17)}。

スキーム2には水溶性ビニルモノマーから水溶性マクロモノマーを合成する一般的な手法を示した。連鎖移動剤が効率よく働けば、末端に官能基が導入され、ビニル基が導入される。NMR, UV などにより末端基の定量が可能であるが、マクロモノマーの分子量が高くなるほど困難になることは避けられない。疎水性モノマーの多くはイオン重合が可能であり、ビニル基をもつ重合停止剤を用いることにより分子量分布の狭いマクロモノマーが得られている。

マクロモノマーの均一系での重合性、共重合性については多くの知見が得られている^{18), 19)}。ミクロスフェア生成系は、均一系で重合開始される分散重合系であるが、マクロモノマーを M_1 モノマーとしたときの r_2 、すなわち、低分子モノマー由来のポリマー末端ラジカルの低分子の疎水性モノマーとマクロモノマーへの付加反応の比が求められる。低分子モノマーが大過剰との仮定が必要である。表1には、ポリエチレングリコールマクロモノマーを用いた結果を示した²⁰⁾。 r_2 は1より大きく、親水性マクロモノマーの疎水性ポリマーラジカルへの付加は疎水性低分子モノマーに比べると容易ではないことが認められる。スチレンとメチルメタクリレートのラジカル共重合では r_1, r_2 とともにほぼ0.5であることと比較すると理解されやすい。また、ビニルベンジル基由来のラジカルはメチルメタクリレートとメタクリリロイル基由来ラジカルはスチレンと反応しやすく、分散重合系でも各々固有のラジカル反応性を示している。表1では、分子量の効果、DMF およびベンゼンを溶媒に用いた均

図5 P4VBuPBr マクロモノマー ($M_n = 1.0 \times 10^3$) とスチレンの共重合体における粒径と分子量の重合時間依存性

スキーム3 ミクロスフェアの生成機構

一系が示されているが、分散重合系ではミクロスフェアにあるポリマーラジカルへ疎水性モノマーであるスチレンがより容易に反応すると理解される。

これらの共重合挙動と矛盾しないミクロスフェア生成機構をスキーム3に示した。重合初期に疎水性モノマー由来の疎水性の核が形成されるか、グラフトポリマーの疎水部が凝集して核となるかは証明できていないが、いずれにせよマクロモノマー鎖を表面に持つミクロスフェアが生成され、疎水性モノマーを吸収しながら成長する。ミクロスフェアを溶解し分子量を測定すると、均一重合系で得られるものと比較して著しく大きく、ミクロスフェア内の生長ラジカルはリビングラジカル性が高いと考えられる²¹⁾。図5には典型的な、ミクロスフェア粒径および分子量と重合時間との関係を示した²²⁾。重合とともに粒子は生長し、また、分子量の増大が認められ、親水性マクロモノマーを用いるミクロスフェア生成の特徴を顕著に表わしている。

同程度の粒径をもつミクロスフェアはナノパーティクルと呼ばれ、DDSの薬物担体として重視されている²³⁾。経口投与の場合、体外に排出されれば、必ずしも生分解性である必要はない。モデル系として疎水性の制ガン剤や利尿剤を担持させてきたが²⁴⁾、多様な表面機能集積ミ

図6 PEG鎖を表面にもつマイクロスフェアの粒径分布

表2 抗BSA抗体と反応したBSA固定化マイクロスフェアの平均粒径

Sample	dm^1 (nm)	σ^2 (nm)	CV ³ (%)
Original microsphere	106	16	15
Immobilized microsphere	172	bimodal	bimodal
	3560		
Reacted with anti-BSA rate			
0.1		Range over	
1		Range over	
100		Range over	

1: 平均粒径、2: 標準偏差、3: 変動係数

クロスフェアが合成された今、医薬とのコンジュゲート化が広く考えられるようになっていく。

イムノラテックスあるいはイムノマイクロスフェアと呼ばれる医療診断用マイクロスフェアが、PEGマクロモノマー鎖のマイクロスフェア表面集積を応用して合成された²⁵⁾。片末端に水酸基を持つPEGマクロモノマーを出発物質に選び、タンパク質固定化のために水酸基をカルボキシル基へ誘導したあとスチレンとの共重合体とした。得られたマイクロスフェアは図6に示すように単分散性が高く、水溶性カルボジミドを用いると高密度にモデルタンパク質アルブミンが固定された。PEG鎖で表面が覆われたマイクロスフェアにタンパク質の非特異的吸着は見られず、表2に示すように、抗牛血清アルブミン抗体との免疫反応が鋭敏に観測されることが明らかとなっている。

ここで紹介したほかにグルコースを側鎖にもつ水溶性高分子は多糖のビニルアナログと考えられ、高機能である^{26)~28)}。古くから研究例の多いポリビニルアデニンも水溶性の核酸アナログとして機能し、キャピラリーアフィニティーゲル電気泳動に用いられ核酸の塩基識別能を発揮している²⁹⁾。水環境で用いる機能性高分子は廃水処理などのダイナミックな用途からはじまり、日常用いられるヒドロゲル、そして医薬担体などバイオ領域でのファインな利用まで考えられ、まだまだ、未開拓である。

文 献

- 1) D. Ben-Ishai, R. Giger: *Tetrahedron Lett.*, 4525 (1965)
- 2) M. Akashi, E. Yashima, T. Yamashita, N. Miyauchi, S. Sugita, K. Marumo: *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem. Ed.*, 28, 3487 (1990)
- 3) M. Heskins, J. E. Guillet: *J. Macromol. Sci. Chem.*, A2, 1441 (1968)
- 4) 洪 鐘順, 中原辰雄, 前田 悠, 岸田晶夫, 明石 満: 日本化学会九州中国四国支部合同支部大会 (1994)
- 5) 和田好広, 中野史郎, 岸田晶夫, 明石 満: *Polym. Prep.*

- Japan*, 43, 2742 (1993)
- 6) 諏訪一勇, 森下啓太郎, 中野史郎, 岸田晶夫, 明石 満: 日本化学会第68回春季年会発表予定
- 7) J. H. P. Priest, S. A. Murray, R. J. Nelson: *Polym. Prep.*, 27(1), 239 (1986)
- 8) 洪 鐘順, 中原辰雄, 前田 悠, 中野史郎, 岸田晶夫, 明石 満: 日本化学会第67回春季年会講演予稿集 II, 1212 (1994)
- 9) 中野史郎, 岸田晶夫, 明石 満, *Polym. Prep. Japan*, 43, 2283 (1994)
- 10) M. Akashi, S. Saihata, E. Yashima, S. Sugita, K. Marumo: *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem. Ed.*, 31, 1153 (1993)
- 11) T. Okano, Y. H. Bae, H. Jacobs, S. W. Kim: *J. Controlled Release*, 11, 255 (1990)
- 12) 諏訪一勇, 菊永洋久, 森下啓太郎, 中野史郎, 岸田晶夫, 明石 満: 高分子学会第44回年次大会発表予定
- 13) U. S. 3, 786, 916 (1974), Invs.: R. Milkovich, M. T. Chiang
- 14) G. O. Schultz, R. Milkovich: *J. Appl. Polym. Sci.*, 27, 4773 (1982)
- 15) M. Akashi, I. Kirikihira, N. Miyauchi: *Angew. Makromol. Chem.*, 132, 81 (1985)
- 16) 明石 満: 高分子加工, 37, 120 (1988)
- 17) 明石 満: ケミカルエンジニアリング, 39(6) 73 (1994)
- 18) I. Capek, M. Akashi: *J. Macromol. Sci. -Rev. Macromol. Chem. Phys.*, C33(4), 369 (1993)
- 19) Y. Tsukahara: *Macromolecular Design*, M. K. Mishra ed., Polymer Frontiers International, Inc., New York, 161 (1993)
- 20) M. Riza, E. Yashima, M. Akashi: unpublished data.
- 21) M. Akashi, D. Chao, E. Yashima, N. Miyauchi: *J. Appl. Polym. Sci.*, 39, 2027 (1990)
- 22) M. Riza, S. Tokura, A. Kishida, M. Akashi: *New Polym. Mater.*, 4, 189 (1994)
- 23) P. Maincent, J. P. Devissagnet, R. Leverage, P. A. Sado, P. Couvreur: *Appl. Biochem. Biotech.*, 10, 263 (1984)
- 24) M. Akashi, M. Wada, S. Yanase, N. Miyauchi: *J. Polym. Sci. Polym. Lett. Ed.*, 27, 377 (1989)
- 25) 有川清貴, 宇戸哲也, 岸田晶夫, 明石 満: *Polym. Prep. Japan*, 43, 2099 (1994)
- 26) S. Kitazawa, M. Okumura, T. Miyata, K. Nakamae, K. Suzuki, M. Akashi: *Carbohydrates as Organic Raw Materials*, Vol. 2, G. Descptes ed, VCH, 115 (1993)
- 27) N. Fukudome, K. Suzuki, E. Yashima, M. Akashi: *J. Appl. Polym. Sci.*, 52, 1759 (1994)
- 28) 明石 満, 坂元伸行: 化学工業, 45(6), 67 (1994)
- 29) 明石 満, 八島栄次, 馬場嘉信: 化学, 48(3) 216 (1993)