

PEG 修飾された機能性高分子ミセルの合成およびミセル形成評価

日大生産工(院) ○塩沢 周作 日大生産工 柏田 歩

1 緒言

病気を発症した人への医学的治療法のひとつとして、薬剤の直接投与がある。しかし、薬剤の直接投与は目的の患部のみではなく正常な組織や細胞にも影響を及ぼす恐れがあり、副作用などの問題があった。そこで効果的な治療を目的とした、薬物送達系 (Drug Delivery System : DDS)の研究がさかんに行われている。

DDS に用いられる医療用ナノキャリアとして知られている高分子ミセルは、主として親水鎖と疎水鎖とを連結したブロック共重合体から形成されており、疎水鎖を核として高分子が会合することで形成される。そして、内核に疎水性薬物や生理活性物質を封入できる。また、刺激応答性を付与させ、特定の患部に送達させるなど目的に応じた設計が可能であるが、粒径の制御など、高度な設計技術が必要な一面を持つ。

従来の研究では、ポリ乳酸(PLA)を疎水鎖として、生体毒性を示さないポリエチレングリコール(PEG)などの親水性高分子を共重合することで、薬物徐放機能を有する両親媒性の担体を作製された。現在、PLA と PEG の共重合体 poly(ethylene glycol)-*block*-poly(D,L-lactic acid) (PEG-*b*-PLA)は、高分子ミセルやゾル-ゲル転移を利用した温度応答型インジェクタブルポリマー(IP)として数多く研究されている¹⁾。

本研究では、pH応答性などの機能性を付与した高分子ミセルの設計を目的としている。そこで、はじめにアミド結合²⁾による容易なブロック共重合体の合成および薬物放出速度制御を目指したmethoxy poly(ethylene glycol)-*block*-

poly(D,L-lactic acid) (mPEG-*b*-PLA)によるミセル形成評価を行った。

すなわち、D,L-ラクチド(①)片末端アミノ化PEG(②)、および反応触媒であるオクチル酸スズ(③)を原料としてアミド結合型mPEG-*b*-PLAを合成し、臨界ミセル濃度(CMC)測定、粒径測定および薬物担持量の測定などから、高分子ミセルの特性評価を行った。

2 実験方法

PLA の重合度が異なる mPEG-*b*-PLA を得るため、原料比(①:②:③)が 23 : 1 : 2(m_a)および 35 : 1 : 2(m_b)の 2 種類について、Dean-Stark 装置により N₂ 雰囲気下 (40℃, 8 時間) 反応し、生成物は ¹H-NMR により同定した。

生成した mPEG-*b*-PLA を適当な濃度に調製し、ミセル粒径を DLS 装置により測定した。

ミセルのCMCはピレンによる蛍光プローブ法により求めた。ピレンとmPEG-*b*-PLAの最終濃度がそれぞれ 6.0×10^{-7} M, $1.0 \times 10^{-4} \sim 1.0$ mg/mLとなるよう調製した。励起スペクトルの 335 nmと337 nmの強度比 I_{337}/I_{335} の共重合体濃度に対する変化を蛍光分光光度計により測定し、CMCを求めた。

m_a , m_b と疎水性薬物であるニフェジピン(NFD)を混合(m-NFD)させ、ミセル溶液を調製した。紫外可視分光光度計により、ミセル中の積載量(LC)および積載率(EE)を求めた。

3 実験結果および考察

生成物の¹H-NMR測定の結果、共重合体に特徴的なアミド結合由来のNHやPLA末端のCH₃, CH, OH等の化学シフトより、mPEG-*b*-PLAの合成が確認できた。

Synthesis of PEG Modified Functional Polymer Micelle and Characterization of Micelle Formation

Shusaku SHIOZAWA and Ayumi KASHIWADA

また、得られた2種類の共重合体の¹H-NMRスペクトルをFigure 1に示す。

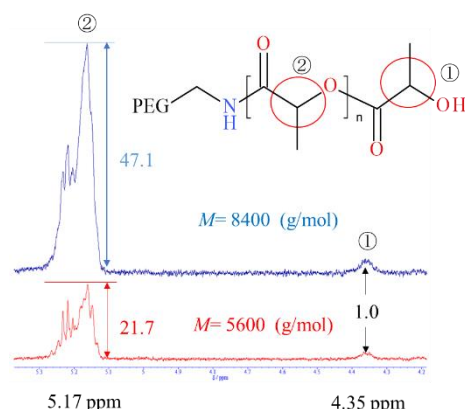


Figure 1 Comparison of chemical shift of mPEG-*b*-PLA (m_a and m_b).

それぞれの共重合体のスペクトルから末端CHと末端以外のCH($\text{CH}^{\delta 5.17}$)との比 $\text{CH}_3^{\delta 4.35}:\text{CH}_3^{\delta 5.17}$ を求めることにより、 m_a 、 m_b の重合度はそれぞれおよそ22、48と決定され、 m_b は m_a に対して2倍程度の重合度であるとわかる。また、水溶液中において形成したミセル粒径は m_a が200 nm、 m_b が150 nm、分散度はどちらも0.6程度であり、いずれも安定なミセルを形成していることがわかった。

次に、蛍光励起スペクトルにより得られたCMC測定結果をFigure 2に示す。

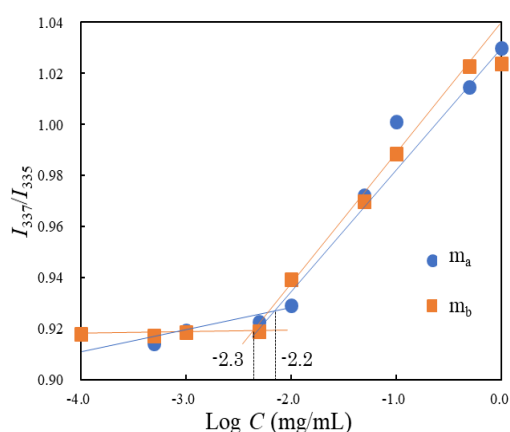


Figure 2 Changes in I_{337} / I_{335} versus concentration of mPEG-*b*-PLA.

ピレンの励起波長のシフトから求めたCMCは m_a および m_b それぞれ 6.3×10^{-3} mg/mL、 5.0×10^{-3} mg/mLであった。

さらに、紫外可視分光光度計により m_a および m_b それぞれから形成されたミセル中のNFD濃

度を求め、LCおよびEEの平均値を算出した (Table 1)。

Table 1 Average values of LC and EE of NFD at mPEG-*b*-PLA micelle.

	LC(%)	EE(%)
m_a	4.3	22.5
m_b	6.8	35.9

LCおよびEEいずれにおいても m_a 、 m_b ミセル間で明確な差が出ており、重合度に依存した結果が得られたと考えられる。また、上述のNFD担持能は、既往の報告と矛盾しておらず妥当な結果と言える³⁾。

4 結言

本研究では、アミド結合型mPEG-*b*-PLAの合成法の確立、およびCMC測定によりミセル形成が確認できた。これまで、仕込み量条件を変えた2種類の共重合体について検討してきたが、粒径やCMCなどはミセル内核である疎水鎖の重合度や構造に依存することがわかった。

本研究では、放出速度制御を目的としたDDS担体として応用するための検討事項は多々あるが、合成法の確立およびミセル存在の確認により、その基盤を固めることができたと考えられる。

今後の課題として、ポリイオンコンプレックス⁴⁾などを介したpH応答性を有する高分子ミセルの設計など、より高度なDDS担体の設計が求められる。

5 参考文献

- 1) D. G. Abebe and T. Fujiwara, *Biomacromolecules*, **2012**, *13*, 1828-1836.
- 2) S. J. Buwalda, P. J. Dijkstra, L. Calucci, C. Forte, J. Feijen, *Biomacromolecules*, **2010**, *11*, 224-232.
- 3) Y. Q. Yang, W. J. Lin, B. Zhao, X. F. Wen, X. D. Guo, L. J. Zhang, *Langmuir*, **2012**, *28*, 8251-8259.
- 4) Y. Huang, Z. Tang, X. Zhang, H. Yu, H. Sun, X. Pang, X. Chen, *Biomacromolecules*, **2013**, *14*, 2023-2032.