

修士論文

令和 5 年度

異なる分子量から成る PEG 化 PAA を
分散剤に用いた磁性流体の作製と特性評価

三重大学大学院 工学研究科 博士前期課程

機械工学専攻

生体システム工学研究室

中西 信介

目次

1 緒言	・・・1
2 理論	・・・3
2.1 磁性体の理論	・・・3
2.2 磁性流体	・・・11
2.3 コロイドの基礎理論	・・・13
2.4 DDS 技術と PEG の応用	・・・16
3 材料設計と試料作製	・・・29
3.1 PAA と PEG 誘導体の合成に関する材料設計	・・・29
3.2 PAA 被膜 MF に関する材料設計	・・・35
3.3 試料作製方法	・・・37
3.4 合成条件の設定	・・・41
4 評価方法	・・・58
4.1 PEG 誘導体及び PEG 化 PAA	・・・58
4.2 PEG 化 PAA 被膜 MF	・・・60
5 結果	・・・69
5.1 メトキシ PEG アミンの作製	・・・69
5.2 アミド PEG 化 PAA の作製	・・・71
5.3 PEG 化 PAA 被膜 MF の特性	・・・72
6 考察	・・・88
6.1 メトキシ PEG アミンの作製	・・・88
6.2 アミド PEG 化 PAA の作製	・・・90
6.3 PEG 化 PAA 被膜 MF の特性	・・・91
7 結言	・・・100
参考文献	・・・103
謝辞	・・・105

1. 緒言

外部刺激により特定の性質や機能を示し、その性質や機能を工業的に応用できる流体の総称を機能性流体 (smart fluid) と呼ぶ。主な機能性流体として、ER 流体 (electrorheological fluid) や MR 流体 (magneto Rheological fluid)、磁性流体 (magnetic fluid) が挙げられる。ER 流体は、電界を印加・除去することで粘度が可逆的に変化する特性を利用するのに対し、MR 流体や磁性流体は磁場を与えることにより変化する特性を応用する。MR 流体と磁性流体の大きな違いはコア材の粒子サイズであり、MR 流体はマイクロオーダー、磁性流体はナノオーダーサイズの粒子を用いる。この粒子サイズの違いにより、両材料の性質は大きく異なる。

磁性流体 (以下 MF) はコロイド溶液に分類され、3つの材料から構成される。MF の特性に大きな影響を与える磁性微粒子 (コア材)、そのコア材の沈殿・凝集を防ぐ分散剤、そして分散させるための溶媒である¹⁾。MF は 1960 年代に NASA で宇宙服の可動部のシール材や無重力環境での使用を目的として研究・開発された。MF は磁性体と流体の物理的性質をあわせ持った機能性材料であり、現在ではハードディスクドライブの防塵シールや角度センサー、音響スピーカー内部の放熱材などの工業分野において応用されている。

一方で MF は、医療用材料としても応用されている。そのためには生体に対して毒性が低い材料を使用する必要があるため、コア材である磁性微粒子に酸化鉄、分散剤に糖、溶媒に水を使用した糖被膜型 MF が開発された。糖被膜型 MF は生体適合性の高さと超常磁性という特有の磁氣的性質から MRI 用の肝臓造影剤として実用化されている²⁾。当研究室においても、糖被膜型 MF を用いた新たな薬剤キャリアとしての応用を目的に研究を行ってきた。

近年とりわけ注目されているのが新たな薬物投与方法であるドラッグデリバリーシステム (drug delivery system, 以下 DDS) である³⁾。DDS とは薬剤を必要最低限の量で直接患部に送達させることで患部における薬剤濃度を高め、薬剤の効果を最大限に引き出すシステムである。さらに、薬剤が目標としない部位へ流入することなく患部に限局して集中投与できることから、副作用を最小限に抑えることが可能である。近年、DDS の分野でナノ粒子はそのサイズ効果による溶解度の上昇や、生体内における血中滞在期間の延長に伴うターゲティング機能の向上など様々な利点を有していることから、薬剤キャリアとして注目されている^{4), 5)}。

一方で、薬剤キャリアに求められる最も重要な因子として挙げられるのが、生体内、とりわけ血液内において材料が安定的に循環する機能である。通常、生体では外来異物の侵入に対して血漿蛋白質の一群である補体や抗体が非特異的に吸着することで、肝臓に存在する Kupffer 細胞や脾臓に存在する Fixed マクロファージ等を中心とした細網内皮系組織 (reticuloendothelial system, 以下 RES) の貪食作用による捕捉が促進される。このような補体受容体の活性化を促す非特異的吸着反応はオプソニン化と呼ばれ、人工材料である薬剤キャリアに対しても例外なく作用する⁶⁾。糖被膜型 MF を DDS 基材として応用する場合も

同様で、病巣患部へ効率的に投薬するには、一時的であったとしても糖被膜型 MF に体内を安定に循環する機能を与える必要がある。

一方、DDS に用いられる薬剤キャリアの一つにリポソームという材料がある。リポソームは 1965 年にイギリスの Bangham らによって見出された材料で、生体における細胞膜の脂質二分子膜を模して、両親媒性のリン脂質で構成された閉鎖小胞体である。リポソームは閉鎖小胞体の内部に水溶性や脂溶性の薬剤を包含することでキャリアとしての機能を果たすことができる。しかしリポソームも前述の通り、同様体内注入後はクッパー細胞のような RES に貪食されてしまい、容易には目的の部位に集積させることは出来ない。ところが、リポソームの中でも RES を回避するリポソームの研究開発が行われており、これを RES 回避リポソームと呼ぶ⁷⁾。RES 回避リポソームでは表面に水溶性高分子であるポリエチレングリコール (polyethylene glycol, 以下 PEG) 誘導体を修飾 (PEG 化) することで RES からの貪食を防ぐステルス機能が付与されることが判明している⁸⁾⁻¹⁰⁾。RES 回避リポソームでは表面に修飾された PEG 鎖が水相を形成し、立体障害によって補体や抗体の吸着を妨げることによりオプソニン化を防ぐ。そのため、RES による貪食を回避し、肝臓や脾臓による除去を防ぎ安定的に体内を循環することが可能となる。そして PEG 化リポソームに関する先行研究において、1 種類の分子量の PEG から成る PEG 化リポソームより、分子量が大小異なる 2 種類の PEG を混合した PEG 化リポソームのほうが、より体内滞留の有効性が示された¹¹⁾。

近年当研究室でも、RES 回避型の PEG 化リポソームをモデルとして、糖被膜型 MF の応用として PEG 化糖被膜 MF の研究が行われてきた。その際、分子量が 2000 以上の PEG によって糖被膜型 MF の PEG 化を行ってきた。しかし、分子量が 500 程度の低分子量の PEG による PEG 化糖被膜 MF や、前述の先行研究¹¹⁾のような分子量が大小異なる PEG を組み合わせた PEG 化糖被膜 MF を作製した例はない。

そこで本研究では低分子量である平均分子量 550 の PEG による PEG 化糖被膜 MF の作製と、550 と 2000 の異なる分子量の PEG を混合した PEG 化糖被膜 MF の作製を試みた。分散剤にはポリアクリル酸 (以下 PAA) を採用した。PAA は洗剤や食品などに広く使用されており、人体に対する毒性が低いとされる。さらに、磁性微粒子と結合し分散させるためにも必要なカルボキシル基を多く含み、分子鎖が長いと高い磁気特性が期待できる。本研究では PEG 誘導体と PAA をアミド結合によって合成し、PEG 化 PAA を分散剤とした PEG 化 PAA 被膜 MF を作製した。つまり、既存の MF を PEG 化させた訳ではなく、PEG 化した PAA の性質を応用することで事実上、MF の PEG 化を成功させたこととなる。以下の工程で実験を行った。

- ①メトキシ PEG の水酸基をアミノ化したメトキシ PEG アミンの作製
 - ②PAA とメトキシ PEG アミンをアミド結合により合成したアミド PEG 化 PAA の作製
 - ③アミド PEG 化 PAA を分散剤とした PEG 化 PAA 被膜 MF (以下 PEG/PAA/MF) の作製
- また、先行研究¹¹⁾のような大小異なる 550 と 2000 の分子量の PEG によって PEG 化した MF (以下 PEGmix/PAA/MF) も作製し、その材料特性を評価した。

2. 理論

2.1 磁性体の理論

2.1.1 磁性

本研究で作製する糖被膜型磁性流体の重要な性質の一つに磁氣的性質（磁性）がある。磁石や磁気記録装置として広く利用されている磁石は強磁性体であるが、物質の磁性は以下のように分類できる。Fig. 2.1 は磁気モーメントを用いてそれぞれの性質を示した模式図である。

(a) 反磁性 (Diamagnetism)

反磁性物質では磁化率 (Magnetic susceptibility) の値は小さく、負となる。つまり外部磁場が働いたときも磁場の方向とは逆の向きに磁化される。

(b) 常磁性 (Paramagnetism)

外部磁場がないとき、磁気モーメントの配向は熱運動のために無秩序となり互いに打ち消しあい全体としてみると磁化を示さない。外部磁場が作用するときは全体として磁場の方向に磁化される。

(c) フェロ磁性 (Ferromagnetism)

フェロ磁性体では物質中の磁気モーメントが平行に並んでおり、原子の磁気モーメントが互いに強く相互作用して、外部磁場がない場合でも自発的に並んでいる。

(d) フェリ磁性 (Ferrimagnetism)

フェロ磁性とほぼ同じ磁気特性を示すが、フェロ磁性では磁気モーメントが平行に並んでいるが、フェリ磁性では磁気モーメントが逆平行となっている。そのためフェリ磁性の磁気モーメントはその差となり生じる。

(e) 反強磁性 (Antiferromagnetism)

反強磁性体はフェリ磁性と同じく磁気モーメントが逆平行となって、その大きさが等しい物質である。

2.1.2 物質の磁气的特性

(a) 磁石とは

釘は磁石にくっつく。この針をはずして方向磁針に近づけると針がふれる。磁石にくっつける前の釘を方向磁針に近づけても針は動かない。釘を磁石につけたことによって、釘の性質が変わる。磁石を近づけても方向磁針の針が動くから、釘も磁石になったのだと考えることが出来る。このことを釘は磁化されたという。

この現象は次のように説明されている。釘に限らず、常温付近の鉄は、その内部が Fig. 2.2 のようにいくつかの小部分に分かれていて、各小部分は一つの磁石になっている。その小部

分を磁区、境界領域を磁壁と呼ぶ。磁石には N 極と S 極があるが、各磁区の端は、それぞれ、N 極と S 極で、Fig. 2.2 の矢印は、一つの磁区の中で S 極から N 極に向けてひいてある。この Fig. 2.2 のように、磁区ごとに磁石の向きが異なり、Fig. 2.2 (a)の試料では試料の外面に磁極が現れない。従って、この試料からは磁力線が外部にでておらず、方向磁針を近づけてもその針に何の変化もない。Fig. 2.2 (a)の試料に磁石を近づけるなどして外から磁場をかけると、磁壁が動き、磁区は Fig. 2.2 (b), (c)のように変わっていく。この過程で磁場に平行な向きの磁石をもつ磁区が増加し、同時に試料表面に磁極が現れる。こうして現れた S 極は、方向磁針の N 極を、N 極は方向磁針の S 極を引きつける。釘はこのようにして磁化されるのである。磁石を遠ざけて外からの磁場がなくなると、試料の元の Fig. 2.2 (a)の状態に戻ろうとするのであるが、磁壁が移動の途中で試料中の不純物や格子欠陥などにひかかると、完全に元には戻れず、Fig. 2.2 (b)のような状態で止まってしまう。磁石から離れた直後の釘は、この状態になっており、まだ表面に磁極がのこっているため、方向磁針を近づけるとその針が動くのである。このときの試料の磁石の強さを残留磁化という。この試料の磁区構造を Fig. 2.2 (a)の状態にまで戻すには、ある強さの反対向きの磁場をかけて、途中でひっかかっている磁壁を強引にもとの位置へ動かしてやらなくてはならない。このときの磁場の強さを保磁力という。

(b) 磁化曲線

釘を電磁石の磁場の中に入れて、磁場を変えながらその磁化の変化を測ると、それは Fig. 2.3 のようになる。ここで磁化というのは、単位体積中の磁気モーメントのことであるが、要するに釘の磁石の強さのことである。始めに釘は磁石になっていなかったとして A から出発する。

この点は磁場も釘の磁化もゼロの点である。磁場をかけてしだいに強くすると、釘の磁化も増加し、①と記した曲線をたどっていく。やがて、磁場をいくら強くしてもそれ以上釘の磁化は増加しなくなる。このときの釘の磁化を「飽和磁化」という。そこで B まですったところで磁場を弱くしてゆく。このとき、釘の磁化は①に沿ってではなく、②の曲線のように減少していく。したがって磁場の値がゼロになっても、釘はなお磁化をもっている。このときの磁化 M_r が残留磁化である。磁壁がどこかにひっかかっているため、元に戻れないのである。ここから、磁場の向きを逆転して、強くしていくと、保磁力 H_c のところで釘の磁化はなくなり、さらに磁場を強くしていくとやがて、釘の磁化は、先ほどとは反対向きに飽和する。C の点から再び磁場を弱くしていくと、釘の磁化は、今度は③の曲線に沿って変動する。このような曲線を磁気ヒステリシスと呼ぶ。

(c) 軟磁性と硬磁性

磁性材料のなかでも最近、急に利用が盛んになってきたのが、ハードディスクドライブの防塵シールや、キャッシュカード、フロッピーディスク、カセットテープなどの磁気記憶媒体である。そこでは、マグネタイトやマグヘマイトが利用されているが、この場合の有用な磁性体とは、残留磁化が大きく保磁力・飽和磁化の大きいものである。実際、録音済みのカ

セットテープでは、鉄粉は磁化されて残っているのだから、これは残留磁化がテープにはりついているようなものである。再生時はこの残留磁化の信号を電気信号に変えるわけで、出力を大きくするためには残留磁化が強いほどよい。また、磁化された酸化鉄が内部につくる反磁場によって自分の磁化を消してしまわないためには、保磁力の大きいことが必要である。それに、保磁力が強ければ磁気転写もおこりにくい。磁気転写とは、リールにまいた磁気テープのある部分の作る磁場によって、巻き重ねた上下のテープの部分に、その部分の記録が転写されることをいう。

強磁性体は、その材料の種類によって、Fig. 2.3 のような特有のヒステリシスループを描く。保磁力 H_c の大きいものは、硬磁性材料と呼ばれ、永久磁石に用いられる。一方、 H_c の小さいものは軟磁性材料と呼ばれ、普通、透磁率が大きく、電力用変圧器、モータ、発電機に用いられる。

(d) 磁気モーメント

それぞれの磁区の中がどうなっているのか局在スピン模式図を用いて考える。この模式図では各原子が小さな磁石、すなわち磁気モーメントを持っていて、それはその原子に局在した内殻電子が担っていると考えるのである。Fig. 2.4 の丸は、各原子に局在した内殻電子を、矢印はその磁気モーメントを表す。矢印の先端が N 極、尻尾が S 極である。

ある試料の中の内殻電子の磁気モーメントが Fig. 2.4 (a) のように互いに勝手な方向を向いているとき、その試料はまったく磁石の性質をもたない。磁区構造もないのである。それに対し、釘の中ではとなりあう原子の磁気モーメントの間に互いに平行になろうとする力が作用し、大部分の磁気モーメントが Fig. 2.4 (b) に示したように同じ向きに揃うようになる。この Fig. 2.4 (b) では、他の方向を向いている磁気モーメントもあるが、大部分は上を向いている。したがって、この領域は、正味、上向きの磁石になっている。このような磁区の内部の単位体積あたりの磁気モーメントの和を自発磁化という。なお、大多数の磁気モーメントとは違う方向を向く磁気モーメントの数は、温度が下がるにつれて少なくなっていく、絶対零度では一つの磁区の中の磁気モーメントはすべて同じ方向を向いている。このように電子などのもつ磁気モーメントの向きが揃おうとする性質を強磁性といい、強磁性をもつ物質を強磁性体という。また、磁気モーメントを互いに平行にしようとする力を強磁性相互作用という。

(e) 磁区構造

Fig. 2.5 (a) のように、一つの鉄の塊の中ですべての磁気モーメントが全部同じ向きに揃っていたとする。内部で接近している N 極と S 極は、合わせると磁極がないのと同じだから簡単化するために消してしまうと、Fig. 2.5 (b) のように、試料の両端に磁極が残る。こうして残った N 極から磁力線がでて S 極にはいる。このうち、試料の中を通る磁力線と、Fig. 2.5 (a) の各磁気モーメントとは向きが反対である。このような磁場を反磁場という。ところで、ここで考えている内殻電子の磁気モーメントは、いつも磁力線と同じ向きになろうとする性質がある。それなのに、試料の両端から出る磁力線とは反対向きなので、これは大変「居

心地」が悪く、なんとかして、もっと「居心地」をよくしようとして自ら向きをかえて、磁区構造ができるのである。

(f) 超微粒子の単磁区構造

磁壁の両側にある原子の磁気モーメントの間に強磁性相互作用が働いて互いに平行となろうとするのだから、磁壁の中の磁気モーメントは、少しずつ向きを変えているはずである (Fig. 2.6)。強磁性相互作用にとってはこの向きの変更はなるべくゆっくり行われたほうが良い。そのためには、磁壁は厚いほうがよさそうだが、磁壁は厚ければよいというものでもない。それは、固体中では結晶構造の異方性を反映して、磁気モーメントの向きやすい方向（これを磁化容易軸という）と向きにくい方向があるからである。この異方性を磁気異方性という。例えば、Fig. 2.6 において上下方向が磁化容易軸で、磁気モーメントは、上か下を向きやすいとする。すると、磁壁の中の磁気モーメントは、どれも向きたくない方向に向くことを強いられていることになる。このような磁気モーメントの数をなるべく少なくしようとすると、磁壁は薄いほうが良い。

磁壁の厚さというのは、これら二つの相反する要請を妥協させるように決まる。その予想値は研究者により、また研究対象である物質によりばらばらであるが、100nm から、1000nm の間のようなものである。

粒径が磁壁の厚さ程度になると、その中に磁区をしきる磁壁のできる余地がなくなるので、このような微粒子は、単一の磁区をもつことになる。これを単磁区構造という。単磁区構造になった微粒子では、その表面に N 極と S 極が現れることになる。従って超微粒子は、それ自身が一つの小さな磁石であり、磁化された砂鉄と似ている。磁石の上に紙を置き、その上に砂鉄を撒くと砂鉄の一粒一粒が磁石になり、それが磁力線に沿って並ぶ。このとき、一つの粒の N 極はとなりの粒の S 極にくっついて、こうして砂鉄は鎖状に並ぶのである。砂鉄の場合は磁区構造を持つので、磁石を近づけてはじめて磁化された砂鉄が鎖状に並ぶのだが、強磁性体超微粒子の場合は、磁場がなくとも磁石になっているのだから、外から磁場をかけなくても鎖状に並ぶことが期待される。

このような単磁区構造の超微粒子の保磁力は、バルクな物質より大きくなることが期待される。実際、実験によると、150nm の超微粒子の保磁力は、2000 nm の粒子の二倍強もある。ちなみに、鉄の超微粒子は、直径が 200 nm 程度よりも小さくなると単磁区構造になると考えられている。

単磁区構造の磁性体の保磁力が大きいのは、自発磁化の反転が粒子内の磁気モーメントの一斉回転によって起こるからである。反転する前も後も、自発磁化は磁化容易軸を向くのだが、回転の途中で、本来なら向きたくない方向を向かなくてはならない。いわば、磁気モーメントは異方性エネルギーという山を越えなくては行けないわけである。バルクな磁性体の磁化は（磁場が極端に大きくない限り）、磁壁の移動によって起こる。このときも磁壁内部の磁気モーメントは異方性エネルギーの高い方を向いているが、それは磁場をかける前からそうだったのであって、磁壁の移動に際してエネルギーの高い磁気モーメントの数

が増えるわけではない。それに対して、回転磁化の場合は、異方性エネルギーの山を越えるだけの活力を磁気モーメントに与えるために、強い磁場をかけなくてはならないのである。この異方性エネルギーは、回転する磁気モーメントの数に比例するのだから、大きい粒子ほど回転しにくく、保磁力も大きい。逆に保磁力は、粒径が小さくなって磁気モーメントの数が小さくなるほど弱くなる。そうして、あるサイズ以下の微粒子の保磁力の大きさはゼロになる。これは、異方性エネルギーがなくなるからではない。異方性エネルギーの効果は磁気モーメントの向きが熱的ゆらぎによって弱められる。このために、ある大きさより小さい微粒子では絶対零度でない限り、異方性エネルギーの効果より熱的ゆらぎの効果が上回るようになる。したがって、見かけ上異方性エネルギーがなくなり、保磁力はゼロになる。

そこで、単磁区構造の微粒子の、保磁力とサイズの関係を図示すると Fig. 2.7 の実線のようになる。横軸は超微粒子の直径を現し、 D_p は保磁力がゼロになる時の直径である。後で分かるように、 D_p は温度に依存するが、実験によると、常温の鉄の場合には 100 nm 程度で、粒子のサイズが充分大きくなると、今度は保磁力が Fig. 2.7 に点線で示したように減少していく。これは磁区構造が出来て、磁壁の移動による磁化反転が起こるからである。また、強磁性相互作用は、磁場と同じ働きをするという意味である。強磁性体での自発磁化とは、外からの磁場はなくても強磁性相互作用による磁場によって自発的にできた磁化という意味である。

詳しい理論によると、一個のイオンの持つ磁気モーメントを μ 、単位体積中のイオン数を N として、磁化の値 M は、磁化 M として

$$M = N_{\mu} B_s \left(\frac{\mu H}{k_B T} \right)$$

とすると

$$B_s(x) = \frac{2S+1}{2S} \operatorname{ctnh} \left(\frac{(2S+1)x}{2S} \right) - \frac{1}{2S} \operatorname{ctnh} \left(\frac{x}{2S} \right)$$

と定義されるブリルアン関数と呼ばれる関数を用いて表される。全ての磁気モーメントの向きが揃えば、全磁気モーメントの大きさは飽和値 $N\mu$ のなるはずだから、ブリルアン関数は、実際の磁化が飽和値よりどれだけ小さいかを表している。 S は、イオンの持つ電子スピン量子数と呼ばれ、イオンの元素によって $1/2$ 、 1 、 $3/2$ ・・・という整数または奇数の半分の値をとる量である。スピン量子数が S の場合、磁気モーメントは $(2S+1)$ 種類の向きを向くことが出来る。

また、磁化は、磁場と温度に依存するが、この二つの量にばらばらに依存するのではなく、 (H/T) という組み合せたものの関数だということも重要である。また、 $B_s(X)$ という関数は、 $S \rightarrow \infty$ である関数 $L(X)$ に近づく。この関数はランジュバン関数と呼ばれ、磁化を古典

統計力学で計算すると、 B_S の代わりにこの関数が出てくる。

$S \rightarrow \infty$ の時、

$$Bs(x) \rightarrow L(x) = \text{ctnh} \left(\frac{\mu H}{k_B T} \right) - \left(\frac{k_B T}{\mu H} \right)$$

・・・(ランジュバン関数の式)

常磁性体の試料に非常に強い磁場をかけると磁化は飽和し、そのとき試料中の全ての磁気モーメントは同じ方向を向く。磁化を飽和させて磁場を切ると、この試料の磁化は再びゼロとなる。これは、磁場がない時の常磁性体は、磁化のない状態が最も安定しているからである。実は磁化は、一度にゼロになるのではなく、ある一定の時間変化を経てゼロになる。この現象を磁気緩和現象(厳密には縦磁気緩和)という。

$$M(t) = M_o \exp \left(-\frac{t}{\tau} \right)$$

この緩和は、必ずしも磁化が飽和したところから始まる必要はなく、 M_o は磁場をきる直前の、任意の磁化の値である。 τ は緩和時間と呼ばれ、試料の種類や温度に依存する。磁化は、磁気を切ってから τ 秒後に、初期値の $1/e$ となり、その後は、 τ 秒ごとに公比 $1/e$ で等比数列的に減少する。

磁気緩和は、磁気モーメントの熱的ゆらぎによって起こる。たとえば、全ての磁気モーメントを磁場の方向にそろえても、磁場を切ると個々の磁気モーメントは再び自由に向きを変え始める。

(g) 超微粒子の磁気緩和と超常磁性

ここでは、直径がFig. 2.7の D_p より小さい単磁区構造の超微粒子について述べる。常温の鉄なら、数十nmという小さい粒子である。ただし、個々の粒子は多数の磁性イオンを含んでいるが、イオンの持つ磁気モーメントの間の相互作用の影響は熱的なゆらぎに比べて充分強いので、イオンの磁気モーメントはそれぞれの粒子内部では向きが揃っている。すなわちそれぞれの粒子は、飽和値に近い自発磁化を持っている。しかし、これらの超微粒子は互いにある距離を置いていて、粒子同士の磁気的な相互作用はないと考える。すると、Fig. 2.8 (a)のように微粒子ごとに磁気の向きはバラバラになっているであろう。このFig. 2.8 (a)ではイオンの磁気モーメントを矢印で表したが、その代りに各超微粒子のもつ磁気モーメントの和を矢印で示すと、もう少し簡単なFig. 2.8 (b)になる。こうなると、あたかもランダムに配置されたイオンの常磁性状態と同じような図になる。ただし、一つの矢印が意味するのは粒子中の全磁気モーメントであり、粒子中の磁性イオンの数の平均値を N_p 、一個のイ

オンの持つ磁気モーメントを μ として $Np\mu$ 程度の量を表す。いわば、巨大な原子の持つ磁気モーメントが常磁性状態にあるようなもので、超微粒子のこのような磁気状態を超常磁性状態とよぶ。超常磁性は外部から磁場を印加された時のみ各超微粒子の磁気モーメントが磁場方向に配向し磁化を示し、磁場を取り除くと元の常磁性状態に戻る。その為、磁化曲線は Fig. 2.9 に示すように磁気ヒステリシスを示さず、ランジュバン関数で表される一定の曲線にのり、残留磁化も保磁力も有しない。

超常磁性状態にある超微粒子を多数集めて実験試料を作り、磁場をかけると、その試料の磁気モーメントはどのようになるのであろうか。もし Fig. 2.8 (b)の各微粒子の磁気モーメントの向きが、熱的ゆらぎでランダムに方向を変えているのなら、一個のイオンの磁気モーメントの役割を担うのが、微粒子内の全磁気モーメントであるから、式(1)のイオンの磁気モーメント μ を $Np\mu$ で置き換え、イオンの数 N を試料中の粒子数だと思えばよい。ところで、イオンの磁気モーメントが非常に大きくなると、ブリルアン関数はランジュバン関数になる。直径 50 nm の超微粒子でも数千個のイオンを含んでいるから、 $Np\mu$ は非常に大きな数である。だから、超常磁性微粒子の磁化はランジュバン関数で表される。

ここで、これまでは Fig. 2.7 の Dp より小さい粒子の話をしてきた。 Dp より大きい粒子は強磁性を示す。それでは、 Dp はどうやって決めるのか。

磁気モーメントが熱的にゆらいで、絶えずその向きを変えているという事は、常磁性イオンにありふれた現象であるが、それは一個のイオンだから起こりやすかったのである。超常磁性微粒子の磁気モーメントの向きがかわるためには、その構成要素の各イオンの磁気モーメントがほとんど一斉に向きを変えなくてはいけない。しかし、熱的にゆらいでいるのは個々のイオンの磁気モーメントであって、何千個もある磁気モーメントが一斉に向きを変えろということは非常にまれにしか起こらない。現実には起こることは、あるイオンの磁気モーメントが熱的ゆらぎによって下を向き、それがまだ上を向いたままの残りの磁気モーメントにひかれて再び熱的ゆらぎによって上向きに戻る前に、周囲にあるほかの磁気モーメントが下に向きをかえ、それがさらに周囲の磁気モーメントの向きを変えろというように、何段階もの反転が起こり、ついには全磁気モーメントが下向きになるということである。

ところが、ここにイオンの磁気モーメントの向きを妨げるものがある。異方性エネルギーである。Fig. 2.7 の超微粒子の結晶軸は粒子ごとに異なり、そのために容易軸方向も格子ごとに異なるため、磁化の方向も粒子ごとにバラバラなのである。イオンの磁気モーメントが他の容易軸方向へ向きを変えるためには、異方性エネルギーのピークを越えなければならない。回転磁化の場合は、外からの磁場が異方性エネルギーのピークを越すのを助けたが、今度はそれぞれのイオン磁気モーメントは、外部からの助けを借りずに熱的にゆらぎながらこのピークを越えなくてはならない。

これより、熱的ゆらぎにより、全てのイオンの磁気モーメントが異方性エネルギーのピークを越す確率は、異方性エネルギーが大きいほど、また一つの微粒子中の磁気モーメントの数の大きいほど確率は小さくなる。従って、磁気モーメントをたくさん含む微粒子がその磁

気モーメントの向きを変えるまでには、長い時間待たなくてはならない。すなわち、緩和時間が非常に長い。緩和時間は、前述の確率の逆数に比例するからである。緩和時間がどれほど強く微粒子の大きさに依存するかということを知るために、一つの例を示す。鉄微粒子の場合、常温において直径が 115 nm の場合の緩和時間は 10^{-1} 秒程度であるが、直径 150 nm になると 10^9 秒（約 30 年）になる。

超常磁性を観測するためには、タイムスケールに比べて、この緩和時間が短くならなくてはならない。緩和時間が長い微粒子は単磁区構造の強磁性体であり、その間にしばしば向きを変えるような緩和時間の短いものは超常磁性体である。

超常磁性の緩和時間は、粒子のサイズの他に、温度によっても変化する。温度が高いほど磁気モーメントは活性化され、異方性エネルギーのピークを越えやすい。すなわち、緩和時間が短いのである。いいかえれば、 Dp は温度が高いと大きくなり、温度が下がると小さくなる。

なお、これまで緩和時間は粒子のサイズや温度で決まると考えてきたが、粉体では緩和時間の長い粒子でも、液体に分散させコロイドにすると緩和時間を短くすることが出来る。その理由は、液体中では微粒子自体が回転できるからである。液体分子は絶えず超微粒子と衝突し、そのために超微粒子は絶えず動いている。これはブラウン運動と呼ばれる現象であるが、同時に向きも絶えず変わる。だから、磁化容易軸の向きが絶えず変動し、それに伴って超微粒子の自発磁化の向きが絶えず変わるのである。この場合、磁気モーメントの向きの変更に異方性エネルギーのピークを超える必要はないので、比較的大きい微粒子でもコロイドになれば超常磁性を示す¹²⁾。

2.2 磁性流体

磁性流体とは磁性微粒子を界面活性剤などの分散剤で被膜し、溶媒である液相中に安定に分散させたコロイド溶液である。また、磁性微粒子の濃度が高く保たれており、微粒子はブラウン運動により溶媒分子とランダムに衝突している。そのため、この流体に磁場をかけると磁性微粒子に加えられた磁気力は溶媒分子に伝わり巨視的には磁気力が流体に加わったことになり液体全体が磁石に吸引される。

磁性流体は 1960 年代中ごろアメリカ航空宇宙局（NASA）にて宇宙服の可動部分の密閉シールやロケットの液体燃料のパイプ内の移動法に用いられるために開発された。その後、同じく NASA にいた Rosensweig により磁性流体の分散安定性、流体力学など多くの寄与がなされ、また、現在工業分野で用いられている磁性流体シールの開発も行われた。

2.2.1 磁性流体の組成

(a) 磁性微粒子（コア材）

磁性微粒子としては、マグネタイト (Fe_3O_4)、Mn-Zn フェライトなどの強磁性酸化物と鉄、コバルトなどの強磁性金属などが用いられる。前者の強磁性酸化物を用いた磁性流体を酸化物磁性流体、後者の金属を用いた磁性流体を金属磁性流体と呼ぶ。金属は酸化物より高い磁化を示すが、粒子間に生じる吸引磁気エネルギーの大きさも増大するため、粒子サイズを酸化物より小さくする必要がある。酸化物の場合は 10nm 程度、金属の場合は数 nm 程度の粒子径である。また粒子がこの程度の大きさになるとその挙動がブラウン運動に支配されるため重力などによる沈殿が起こらない。磁性流体の構成要素の中で磁性を有する部分は磁性微粒子のみであるため、磁性流体の磁気特性は主に磁性微粒子によって決定される。

(b) 分散剤

分散剤は微粒子表面に吸着し、微粒子と溶媒との親和性が増すように粒子表面を改質する作用と微粒子間に反発力を生じさせて微粒子同士の凝集を防ぐ作用を有する。磁性微粒子の種類、溶媒の種類、求められる性質などに応じて、多種多様な分散剤が用いられている。

最も一般的に用いられる分散剤は界面活性剤で、単一の種類が用いられる場合と複数の種類が用いられる場合とがある。なかでも、オレイン酸に代表される高級脂肪酸は磁性流体が発明された当初より用いられており、現在でも磁性流体の構成上重要な要素となっている界面活性剤である。

(c) 溶媒

通常、溶媒は磁性流体の成分中の 50%以上を占めており、磁性流体の液体としての性質を決定している。溶媒として用いられる液体には、長期間メンテナンスフリーを要求されるような用途では揮発しにくい合成潤滑油、活性ガスにさらされるような用途ではフッ素系油、磁気メディアの磁気パターン観察には揮発しやすい水というように磁性流体の用途に応じて様々な種類がある。水、有機溶剤、エステル系油、炭化水素系油、フッ素系油と用い

る溶媒の種類に応じて、それぞれ、水ベース磁性流体、溶剤ベース磁性流体、エステル系磁性流体、炭化水素系磁性流体、フッ素系磁性流体と呼ばれる。

2.2.2 磁性流体の性質

磁性流体の基本的かつ重要な物理的性質は、その磁性と液体としての性質により特徴づけられる。磁性流体に用いられる磁性微粒子はバルクでは強磁性体であるが、磁性流体の磁氣的性質は超常磁性と言われる性質を示す。磁性流体の磁化曲線は Fig. 2.9 に示すように、磁場が 0 のときは磁化も 0（非磁性）であり、磁場が作用して初めて磁化され、磁場が強くなるにつれてその磁化は飽和する。その後、磁場を取り除くと、磁化は消失し、再び 0 に戻る。すなわち、磁性流体は磁場がなければただの液体で、磁場を印加することで初めて磁性を発揮する。

磁性流体は微粒子の分散系であるから、その流動性は溶媒そのものの性質だけでなく、磁性微粒子の含有量も大きく影響する。磁性微粒子の濃度を高めれば磁化も増加するが、同時に磁性流体の粘性も増大する。このため、流動性を維持できる磁性微粒子濃度には限界がある。また、磁性流体に磁場が作用している場合には、その磁氣的効果により、磁性流体に特有の現象が現れる。例えば、種々の磁性流体に磁場を作用させた場合、磁性流体の有効粘度が磁場の作用で増大し、その割合はせん断速度と磁性流体の種類により異なる。この現象は、磁性微粒子が磁場により磁力線方向に配向することで、磁性微粒子と分散剤の間に働く親和力が抵抗力として働くために発生する。また、磁性流体中の磁性微粒子が磁場中でクラスターを形成することにより、磁気複屈折や磁気 2 色性などの磁気光学効果が発現することも報告されている。

2.2.3 糖被膜型磁性流体

磁性流体とは前述したように磁性微粒子を溶媒である液相中に安定に分散させたコロイド溶液である。磁性微粒子の濃度が高く保たれているため、微粒子はブラウン運動により溶媒分子とランダムに衝突している。そのため、この流体に磁場をかけると磁性微粒子に加えられた磁気力は溶媒分子に伝わり巨視的には磁気力が流体に加わったことになり液体全体が磁石に吸引される。しかし、微粒子を液相中に混合しただけでは磁氣的引力や粒子どうしの界面エネルギーを小さくしようとする働きによって凝集、沈殿を起こしてしまい安定に分散させることができない。そのため、微粒子の表面に界面活性剤などの分散剤を被膜することで微粒子と溶媒との親和性が増すように粒子表面を改質し、微粒子間に反発力を生じさせて微粒子同士の凝集を防いで安定的に分散させている。この分散剤に糖を用いたものが糖被膜型磁性流体である。その模式図を Fig. 2.10 に示す。

用いられる磁性微粒子は酸化鉄の一種であるマグヘマイトが一般的である。粒子の大きさは数 nm と非常に小さく磁性は超常磁性を示すため、磁場がなければただの液体であり磁場を印加することで初めて磁性を発揮する。

2.3 コロイドの基礎理論

2.3.1 極性

固体表面には電子が偏在しているから静電場が生じる。静電場の強さは pH により変化する。これはイオン結合している無機塩や金属酸化物表面は水と接触すると、水和反応により水酸化物を形成するが、このヒドロキシル基 (-OH) の解離が pH によって変化するためである。Fig. 2.11 はアルカリ性水溶液中での解離を示す。金属酸化物表面は、アルカリ性水溶液中では負に、酸性水溶液中では正に帯電する。帯電がゼロとなる pH は金属酸化物の種類によって異なるが、その pH を等電点という。本研究で用いるマグネタイト (Fe_3O_4) の等電点は 6.5 ± 0.2 である。

2.3.2 電気二重層

水溶液と接する粒子表面は、溶液中からのイオンの吸着、あるいは表面の解離反応によって表面電荷を帯びている。表面電荷と反対符号の溶液中の対イオンは静電的に表面電荷に引きつけられ強く吸着しイオン固定層を形成する。しかし、表面電荷が影響を及ぼす範囲には限度があり粒子表面からの距離が遠くなるにつれその影響力が弱まる。そのため対イオンはイオンの熱運動によってバルク溶液中へ拡散しようとする。その結果、固-液界面にはある程度の広がりを持った拡散電気二重層が形成される。粒子表面近傍のイオン固定層を Stern 層と呼び、Stern 層より外側の層を拡散層と呼ぶ。Fig. 2.12 に負に帯電した粒子が形成する電気二重層の模式図を示す。Stern 層と拡散層の境界は Stern 面と呼ばれ、最も表面に接近した対イオンの中心面で表面に化学的親和性を有するイオンが特異吸着を起こす面である。粒子表面から溶液の沖合にかけての電位の変化は Stern 層と拡散層の二つの部分に分けられる。Stern 層内には電荷が存在しないので、電位は直線的に変化し拡散層へと続き、拡散層では指数関数的に変化していく。Fig. 2.13 に Stern 層周辺の拡大図と粒子から十分に離れて電氣的に中性である領域の電位をゼロとした時の電位分布の模式図を示す。

2.3.3 分散剤

分散剤には界面活性剤が多く用いられている。界面活性剤は一つの分子中に極性基（親水基）と非極性基（親油基）の両方を持つような化合物（両親媒性物質）で、親油基の大きさと構造に依存する疎水性の強さと、親水基の数と構造による親水性の強さとのバランスにより界面活性度合が異なる。分子量が数千以上で界面活性機能を有するものを一般に高分子界面活性剤と呼ぶ。

粒子は粒子径が小さくなるにつれてその比表面積は大きくなり、表面自由エネルギーが増大するため不安定となる。そのため、粒子は凝集により見かけの表面積を減じて安定化しようとする。この様な粒子の凝集を防ぐためには、微粒子化した粒子の新しい表面に固体粒子以外の溶媒や分散剤を吸着させて、表面自由エネルギーを低下させなければならない。分

分散剤は、固体粒子の固/液界面に吸着し、固/液の界面エネルギーを低下させて微粒子化を促進する。さらに、微粒子化された粒子どうしの凝集に対してエネルギー障壁をもうけることにより、凝集を妨げ分散安定化をはかる。分散安定化をはかるための粒子どうしの接触に対する斥力には (1) イオン性分散剤が固体表面に吸着することによって生じる静電的斥力、(2) 固体表面に吸着した分散剤の吸着層によって生じる立体障害的斥力の二つが考えられる。これらの斥力がファンデルワールスの引力より大きければ分散は安定化する。

2.3.4 高分子の吸着と分散作用

天然および合成高分子の多くは、コロイド粒子の表面に吸着して厚い吸着層を形成するので、分散系の安定性に大きな影響を与える。高分子吸着層の構造は一般に Fig. 2.14 に示すようなループ・テイル・トレイン構造をとる。すなわち界面に直接付着したセグメント部分 (train 層) と溶液中に広がった部分 (loop 層, tail 層) から成っており微粒子の安定性には loop 層や tail 層の割合やそれらの長さが大きな影響を及ぼすものと考えられている。このような高分子の吸着性は高分子の種類とその分子量、担体表面の性質および溶媒の高分子に対する溶解性に影響される。

吸着担体は高分子吸着の driving force を決定する点で重要である。driving force としては静電気力、疎水結合力、ファンデルワールス引力、および水素結合力等が考えられるが、通常の系では二種類以上の力が同時に作用して高分子吸着が形成される場合が少なくない。一般的に言えることは負に解離した極性基を持つ高分子が明らかに負電荷の固体表面にも吸着することであり、静電気力が疎水性引力や高分子特有のエントロピー効果で打ち消されてしまうことである。そのような現象はタンパク質の固体表面への吸着の際によく見られる。

2.3.5 高分子吸着層の立体障害効果

立体障害効果とは定義に、分子内で互いに接近して存在する原始または原子団の間の交換反発力のために、正常な原子化の方向性をゆがめられたり、結合の周りの自由回転や共鳴現象が妨げられたりすることをいう。

例えば A と B という物質が反応するとする。反応が起こるためには A という攻撃試薬が B の反応点近くまで到達しなければならない。もし仮に反応点の近くの空間をすでに他の原子、または原子団が占有していたとしたら A の接近は妨げられ、反応は起こりにくくなるだろう。逆にその空間が空いていれば、反応がスムーズに行われることを意味する。身近なものにとえば、穴のあいた壁にボールをぶつけることを考えてみよう。穴にボールが入れば成功 (反応が進む) である。この穴が小さければなかなかボールは入らない。ましてやボールが通れないほど小さな穴ならば絶対に成功しない (反応は起こらない)。例えばハロゲン化アルキルの S_N2 反応の場合、反応点の近くに分子量の大きい置換基を導入すると、反応速度が著しく低下する。脱離基に対して背面からの攻撃の際、置換基と試薬の間に大き

なぶつかり合いを生じるからである。

2.3.6 高分子吸着層間の立体反発力

表面が高分子で覆われたコロイド粒子の凝集過程は、まず表面吸着層の接触—交又することから始まるが、吸着層の重なりから生ずる安定化の原因として二つの概念が考えられている。一つは混合効果 (Mixing effect) または浸透圧効果 (Osmotic effect) であり、他は容積制限効果 (Volume restriction effect) である。これら二つの効果を合わせて高分子吸着層の立体反発効果と呼ぶ。混合効果は吸着層の重なりで高分子セグメント間の相互作用が増加し、セグメント - 溶媒分子間の相互作用の数が減少することから生ずる効果で、用いる溶媒の性質で効果が著しく変化する。また、その反発効果は吸着層の厚さと吸着セグメント密度に比例することが知られている。一方の容積制限効果は、粒子の接近で吸着層が圧縮されて吸着高分子鎖の配座エントロピーが減少することにより生ずる反発力である。一般に容積制限効果で生ずる反発力は混合効果が生ずるより近距離で作用するので、現実の系では重要な効果は及ぼさないと考えられている。

2.3.7 立体反発力の大きさ

高分子吸着層の重なり合いで生じる自由エネルギー変化 (ΔG) は大方の場合と同様にエンタルピー項 (ΔH) とエントロピー項 ($-T\Delta S$) より成り立っている。吸着層の重なりで ΔG が負になれば凝集が進行し、正であれば安定効果として作用する。この吸着層間立体反発力の大きさについては、Flory の高分子溶液論の立場から吸着層の重なりによる斥力式が初めて Fischer により導かれた。Fischer は吸着層の重なりにより生ずる化学ポテンシャルの過剰分が吸着層間の立体反発力 ΔV_s として作用すると考え、球状粒子表面間の ΔV_s に対し次の式を導出した。

$$\Delta V_s = \frac{4}{3} \pi k T B C_i^2 \left(\Delta - \frac{H}{2} \right)^2 \left(3a + 2\Delta + \frac{H}{2} \right)$$

ここで C_i は吸着層中のセグメント濃度、 Δ は吸着層厚さ、 H は粒子間距離、 a は粒子の半径をそれぞれ表す。 B は吸着した高分子鎖・溶媒間の第二ビリアル係数で $B > 0$ で ΔV_s は正 (反発力) になるが、 $B < 0$ の貧溶媒中では引力になることが本理論の特徴である。なお、Fig. 2.15 に高分子吸着層による立体安定化効果の模式図を示す。

2.4 DDS 技術と PEG の応用

DDS 技術の開発に用いられる手法は物理化学的手法，化学的手法，生物学的手法の3項目に大別される．そのうち，物理化学的手法とは剤形の形状を利用して薬物を修飾する方法を指しており，薬物の標的指向化や放出制御を目的としたマイクロ・ナノキャリアを応用した製剤はこれに含まれる¹³⁾．一方で，マイクロ・ナノキャリアの開発に際して，最も重要な因子と言われるのがキャリアの体内滞留性であり，この観点に基づいて注目されている材料の一つが PEG である．本節では，マイクロ・ナノ粒子の体内における動態と薬物キャリアの種類，PEG の組成や性質および PEG 化による薬物キャリアの表面改質に関して簡潔に述べる．

2.4.1 マイクロ・ナノ粒子のスケール⁶⁾

マイクロ粒子またはナノ粒子について，一般的にその大きさはそれぞれマイクロメートルオーダー，ナノメートルオーダーのものとして定義される．一方で，分野，研究によっては取り扱うスケールを限定して呼ぶ場合も多く見受けられる．粉体工学においては 1nm～100nm の範囲内にある粒子がナノ粒子とされるのに対して，薬物キャリアを取り扱った多くの研究や文献においては 1nm～1 μ m のサブミクロンサイズまでの範囲内のものが慣例的にナノ粒子と呼ばれている．また，DDS 技術に関連した領域において，マイクロ粒子は数 μ m～数百 μ m の範囲にある粒子を指す場合が多い．本論文では 1nm～1 μ m 程度のものをナノ粒子，1 μ m～100 μ m 程度のものをマイクロ粒子と呼ぶこととする．

2.4.2 薬物キャリアの体内動態

(a) 低分子薬物・ナノ粒子の体内動態⁶⁾

低分子薬物とナノ粒子について一般的な体内での動態を簡略的に述べる．錠剤やカプセル製剤などの市販されている数多くの低分子薬物は，使用者に対して経口摂取により体内へと取り込まれ，胃や腸の消化管から吸収された後，肝臓で代謝を受ける (Fig. 2.16)．脂溶性薬物は肝臓での代謝によって極性化される．そして，腎臓から尿中への排泄によって薬物分子は体外へと排出される．また，静脈投与された薬物については血中を循環した後，腎臓より速やかに排泄される．そのため病巣部位に対して送達される薬物は微量であり，非特異的な体内分布が認められる．

一方で，ナノ粒子から成る薬物・錠剤はその多くが注射剤であり，生体に対して血中に直接ナノ粒子を投与する形態が一般的である (Fig. 2.17)．しかし，生体においては血中に侵入した外来異物に対して自然免疫系が作用する．抗原特異的な免疫機構である後天性免疫に対して，先天性免疫とも呼ばれる自然免疫は対象とする抗原を特定しない非特異的な免疫系であり，受容体を介することで外来異物や異常細胞の迅速な感知，排除を行う生体防御機構である．特に，血中に投与されたナノ粒子は血漿蛋白質である補体によってオプソニン化

され、自然免疫細胞のうち、肝臓の Kupffer 細胞や脾臓の Fixed マクロファージといった細胞を中心に貪食される。RES による貪食作用を受ける一方で、ナノ粒子は低分子薬物に対してある程度の大きさをもって存在するために腎臓からは排泄され難い。そのため、ナノ粒子を生体内に投与した場合、低分子薬物のように腎臓を経由した排泄は容易にされないものの、RES が多数存在する肝臓や脾臓に選択的に分布する。後述するが、PEG 化はこのような自然免疫系によるオプソニン化を効率的に抑制する作用をもたらすことから Fig. 2.18 のような動態をみせる。

(b) PEG 化

(b-i) PEG の組成と構造

PEG は繰り返しのエチレングリコールユニットから構成される飽和炭化水素の直鎖炭素鎖であり、ポリマー中に複数のエーテル構造を有することからポリエーテルに分類される高分子化合物である。PEG と同様にポリマー中の繰り返しユニットがエチレングリコールで構成される化合物としてポリエチレンオキシド (PolyEthylene Oxide, PEO) が存在するが、分子量 2 万程度までのものを PEG、数万以上のものを PEO として区別するのが一般的である (Fig. 2.19)。

(b-ii) 高含水率溶解鎖表面の構築^{6),14),15)}

血中に投与されたナノ粒子の体内滞留時間を決定する重要な因子の一つは 2.4.2 (a) でも述べた通り、自然免疫系における血漿蛋白質である補体や抗体による材料のオプソニン化である。そのため、特定の薬物キャリアの材料表面を改質することでオプソニン化を抑制するという手法が多く試みられている。中でも、汎用的なものが親水性ポリマーによる薬物キャリアの表面修飾であり、選択される親水性ポリマーの主な特徴は次の 3 つである。

- ① 極めて良好な溶媒親和性を示す
- ② 溶媒中において大きな排除体積効果を示す
- ③ 溶媒中において高い運動性を示す

血中において、ナノ粒子あるいは薬物ナノキャリアと蛋白質との間にはファンデルワールス力、静電引力、疎水性相互作用、水素結合といった様々な相互作用が存在する。PEG は上記①～③の特性を併せ持つ高分子材料であるとして、それら相互作用を抑制・阻害することが可能であり、材料の血中滞留時間を延長させるために有用であるとされる。

Flory-Huggins 理論によるとモル数 n_0 とする N_0 個の溶媒分子と全セグメントのモル数 xn_1 とする N_1 個の高分子に対して各体積分率 φ_0 , φ_1 は次式で示される。

$$\varphi_0 = \frac{N_0}{N_0 + xn_1}, \varphi_1 = \frac{xN_1}{N_0 + xn_1}, (\varphi_0 + \varphi_1 = 1)$$

ここで、溶液中におけるエンタルピー変化は溶媒と高分子間の接触によって生じるものと

仮定される。混合の際に生じる体積変化を無視して、溶媒と高分子間の接触によって生じるエネルギー変化を ΔE として、溶媒と高分子間の接触数を q 個とすると、エンタルピー変化 ΔH は $\Delta H = q\Delta E$ として表される。加えて、特定の高分子に近接する座標を z とすると、溶媒中の高分子は $\varphi_0 xz$ 個の溶媒分子に囲まれていると考えられるため、 $kT\chi = z\Delta E$ として混合エンタルピーは次式のように示される。

$$\Delta H = RT\chi\varphi_1n_0$$

したがって、自由エネルギー ΔF は次のように表される。

$$\Delta F = RT(n_0\ln\varphi_0 + n_1\ln\varphi_1 + \chi\varphi_1n_0)$$

ここで、上式における χ は Flory-Huggins 相互作用とも呼ばれ、溶媒分子と高分子との相互作用を示す無次元量のパラメータである。この χ の値が小さいほど良好な溶解性を示す。PEG は χ -パラメータが極めて小さく水溶媒に対して完全相溶性を示す。これは PEG 主鎖エーテル酸素と水との水素結合が極めて強いことに由来するとされる。加えて、溶液中の高分子鎖は排除体積効果と呼ばれる分子間の短距離斥力が働く。Folly の希薄溶液理論において、溶媒の浸透圧 Π 、高分子の分子量 M 、濃度 c の溶液について排除体積効果の大きさは次式の第2ビリアル係数 A_2 によって定められる。

$$\frac{1}{RT} \frac{\Pi}{c} = \frac{1}{M} + A_2c + A_3c^2 + \dots$$

PEG は上式に示した第2ビリアル係数が大きく、他の親水性高分子と比較して大きな排除体積効果を示す。

PEG を含めた親水性ポリマーについて、ここまでに説明された溶媒親和性と排除体積効果が血漿蛋白質によるオプソニン化を抑制するために重要な因子である。加えて、PEG は水溶媒中において高い運動性を示すことから、ナノ粒子または薬物キャリアなどの材料表面に固定されることで Fig. 2.20, Fig. 2.21 に示すような振る舞いをするために生体内において材料のオプソニン化を抑制し、血中滞留時間の延長について効率的に寄与するものとされる。

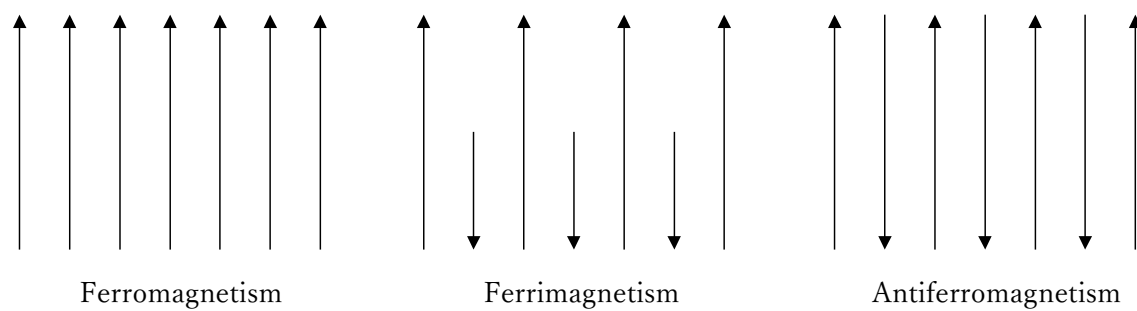


Fig. 2.1 Array of magnetic moment

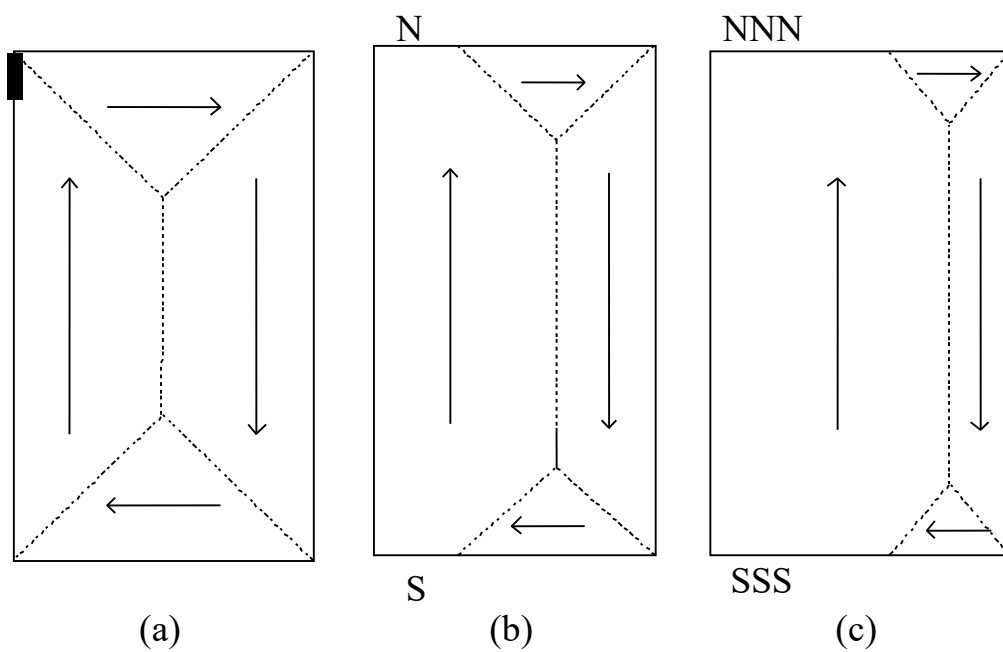


Fig. 2.2 Magnetic domain structure of ferromagnetic body

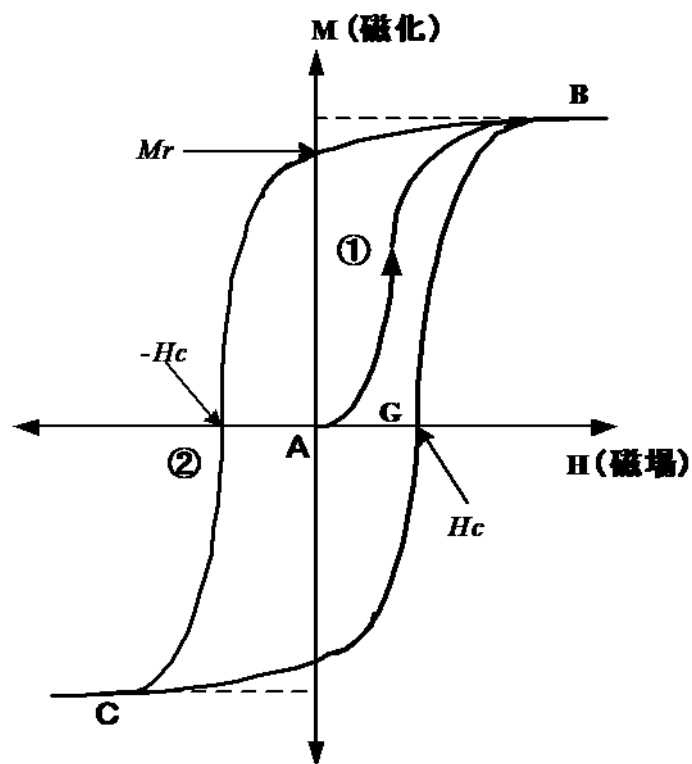


Fig. 2.3 Magnetization curve

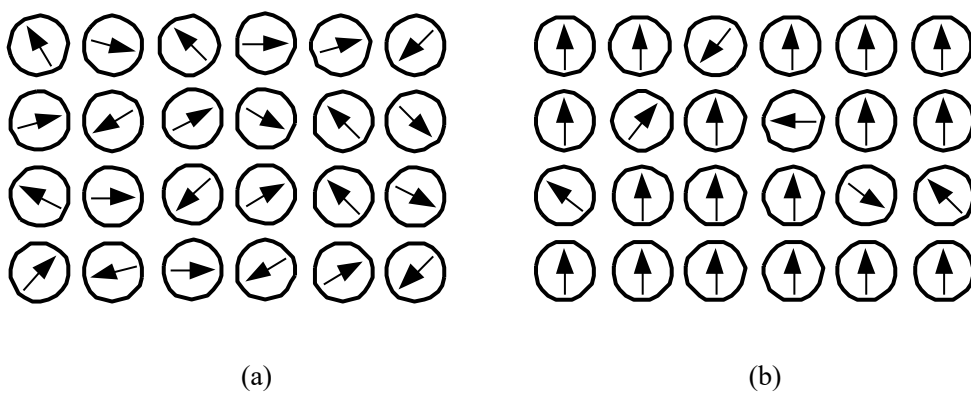


Fig. 2.4 Core electron and magnetic moment in each atom

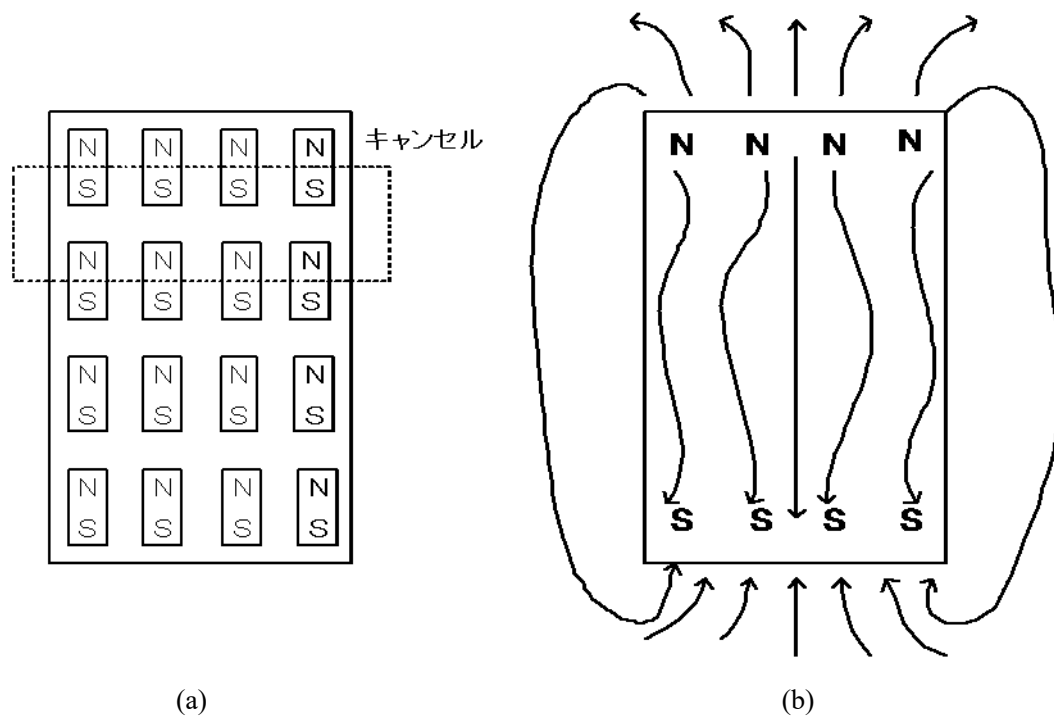


Fig. 2.5 Principle of magnetic domain structure

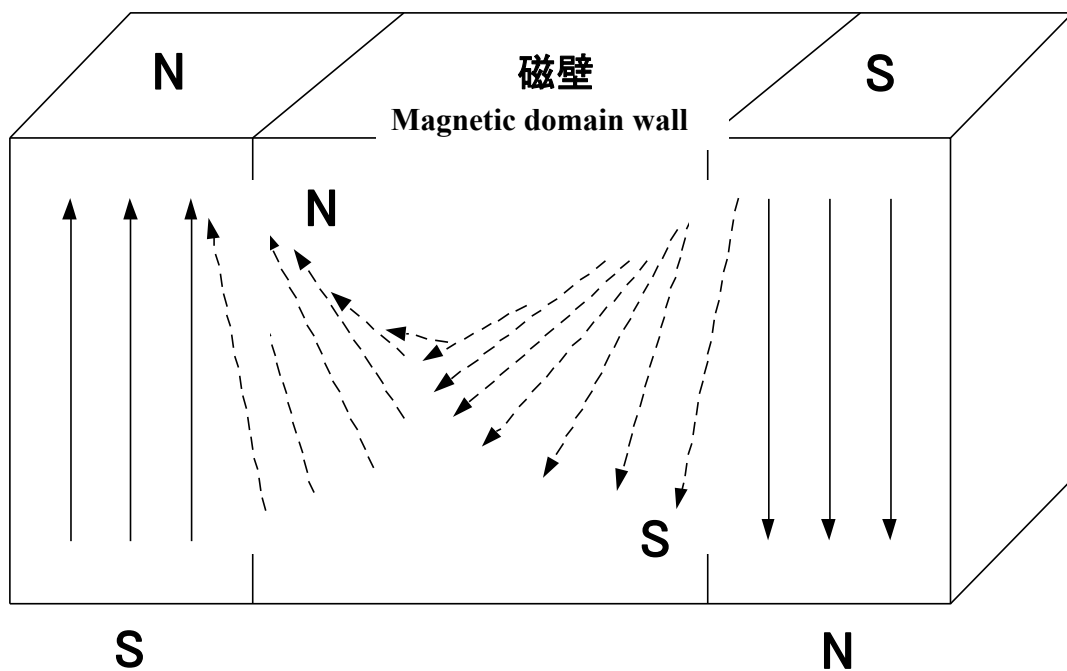


Fig. 2.6 Domain wall and magnetic moment

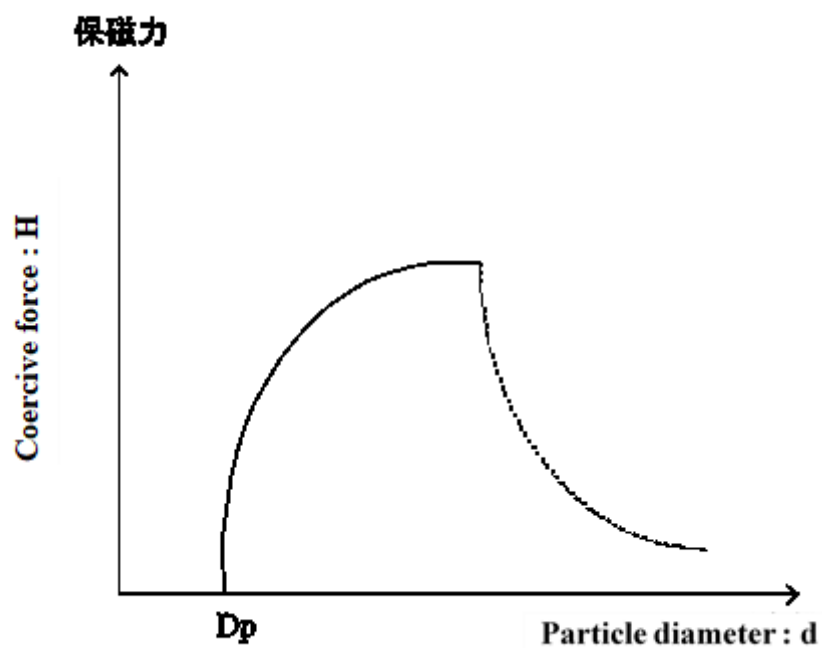


Fig. 2.7 Relation between particle size and coercivity of ferromagnetism particle

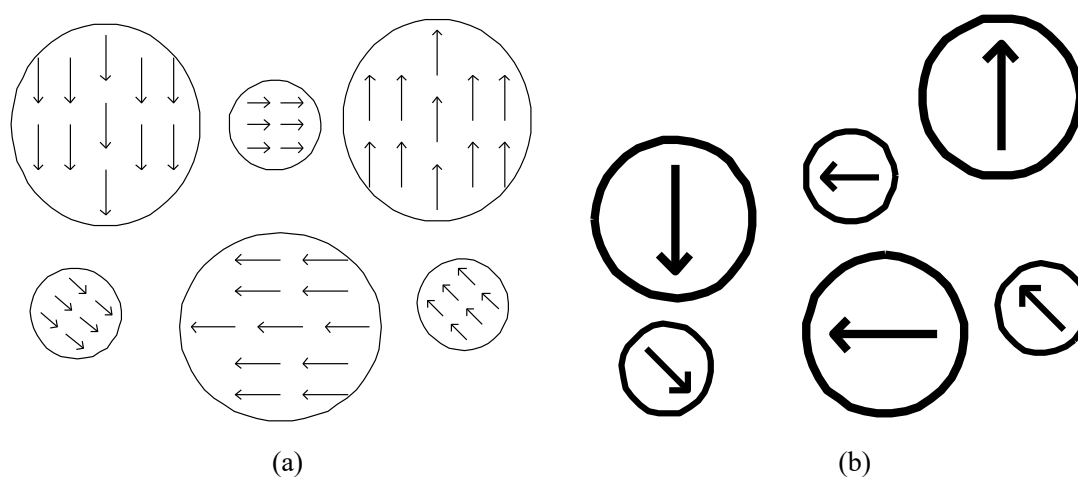


Fig. 2.8 single-domain superfine particle

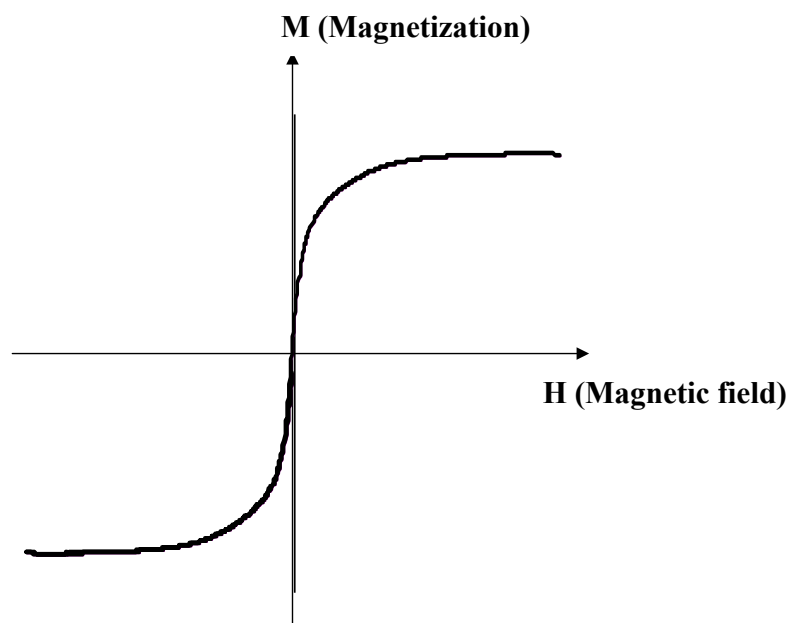


Fig. 2.9 Magnetization curve of superparamagnetic particle

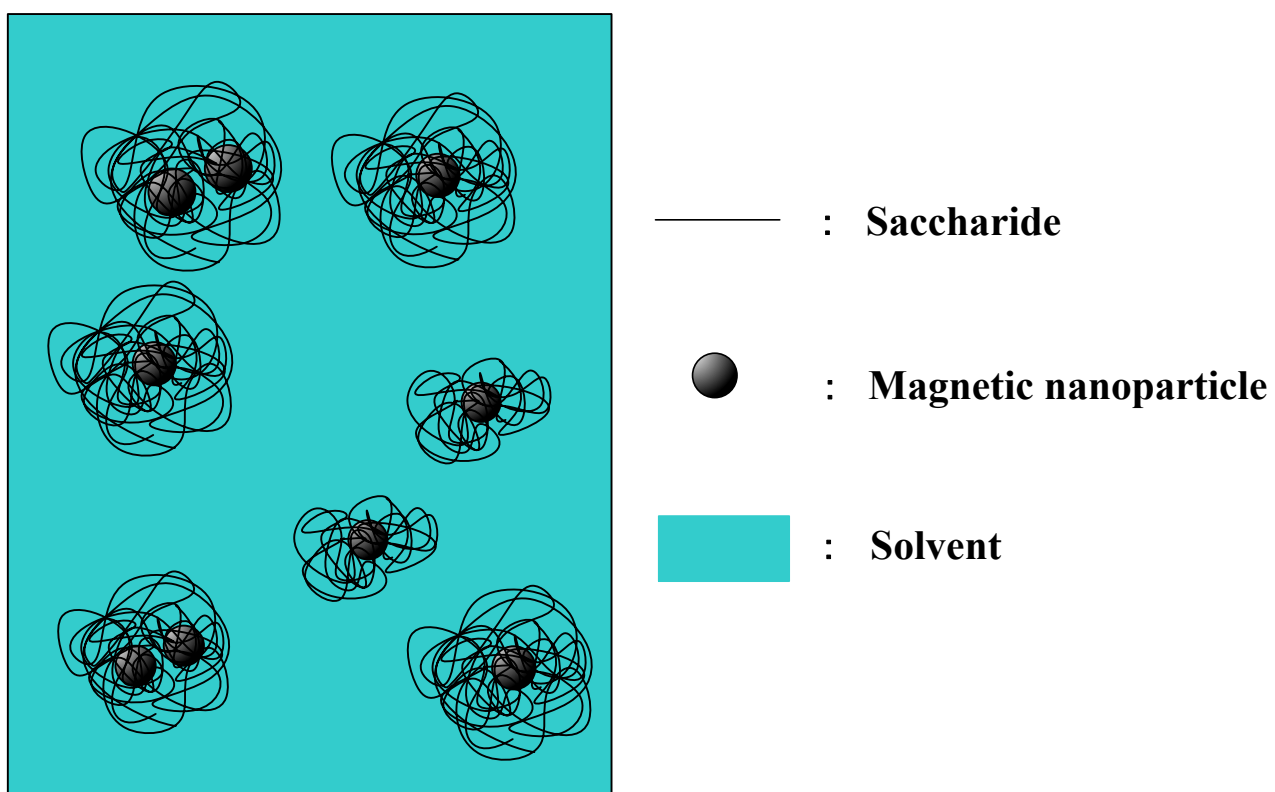


Fig. 2.10 Structure of magnetic nanoparticle coated with saccharide

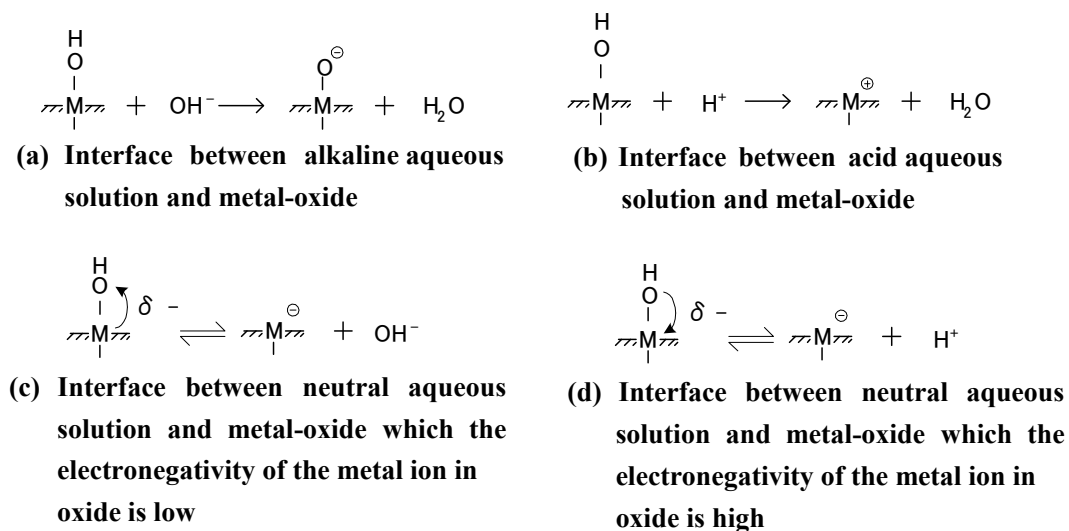


Fig. 2.11 Variation of solution interface

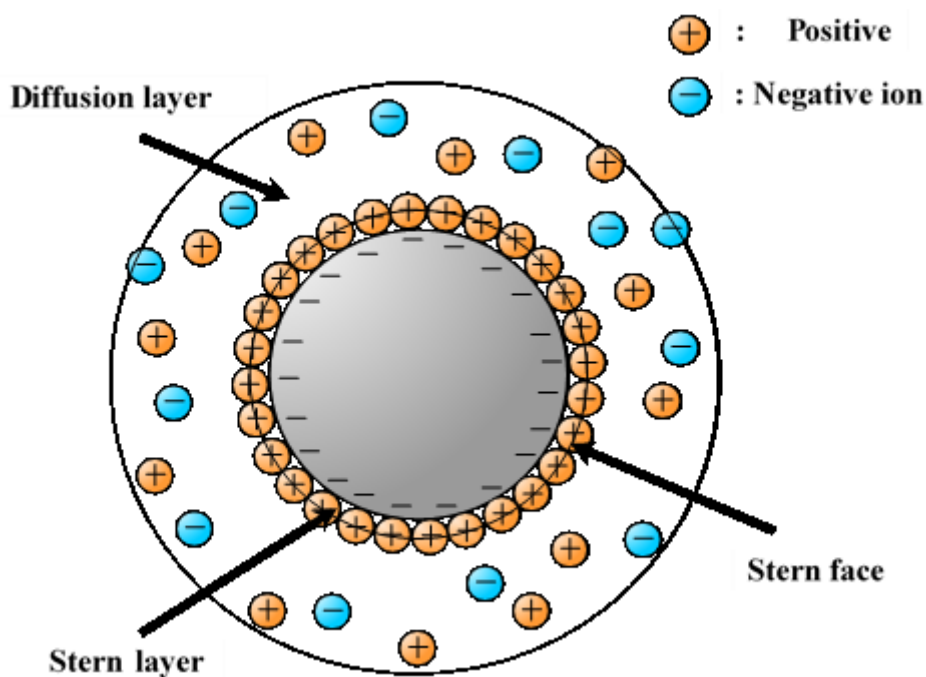


Fig. 2.12 electrical double layer

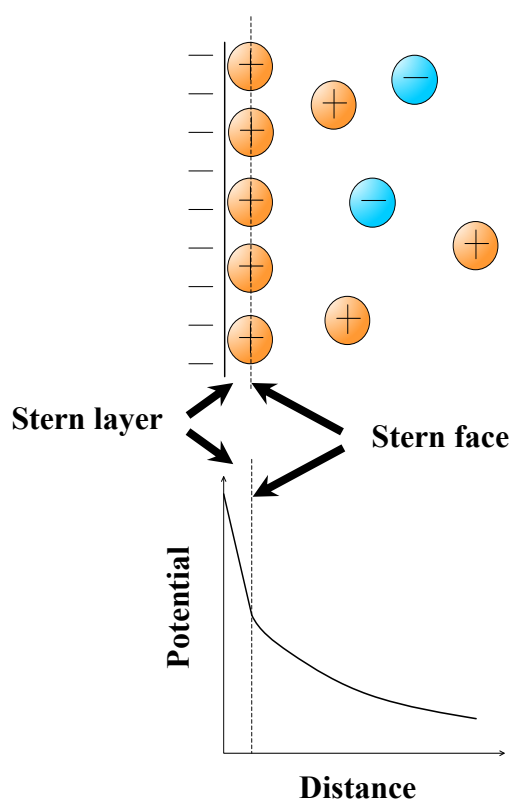


Fig. 2.13 Distribution of potentials of electrical double layer

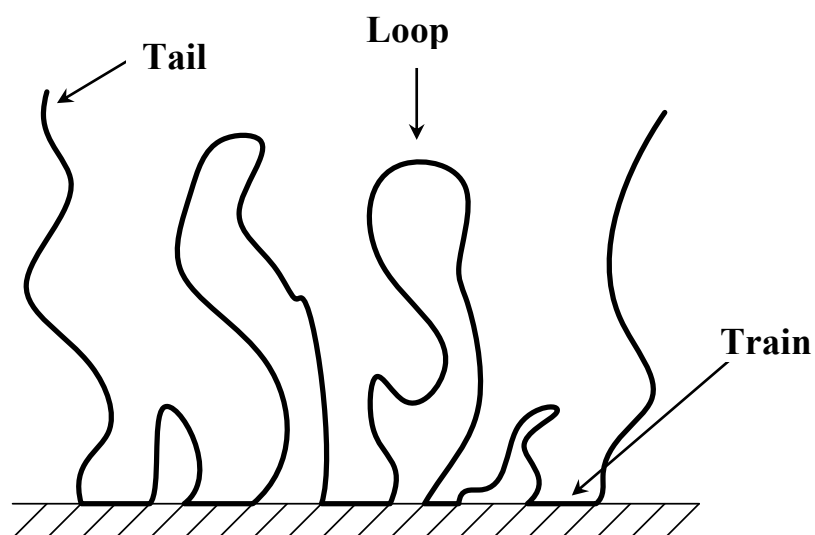


Fig. 2.14 Structure of loop·tail·train

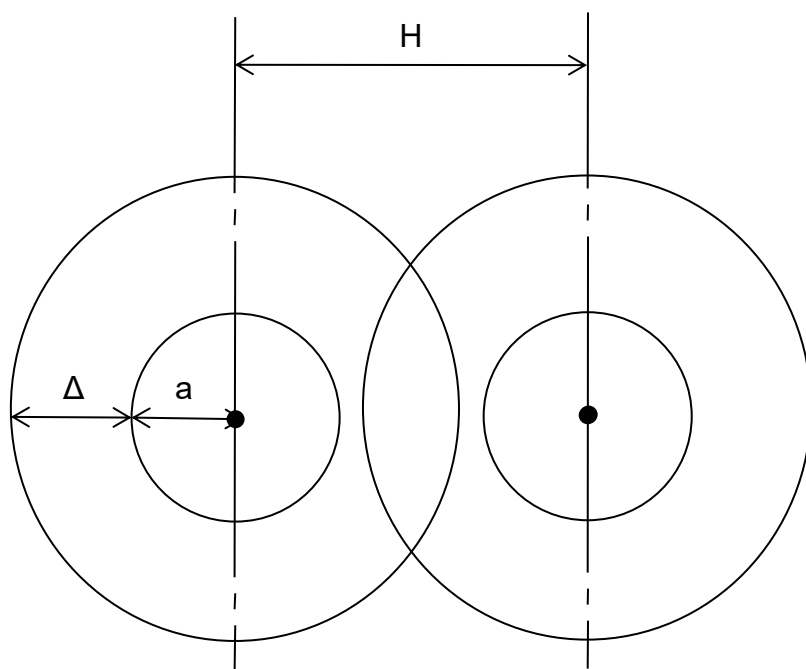


Fig. 2.15 Pattern diagrams of sterical stabilization effect by polymer adsorption layer

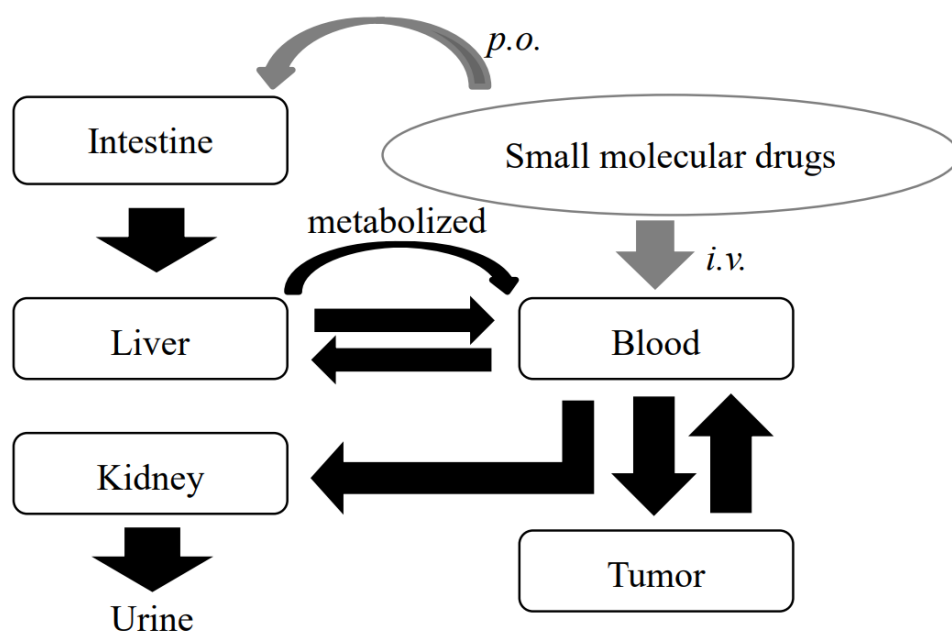


Fig. 2.16 ADME of typical small molecular drugs

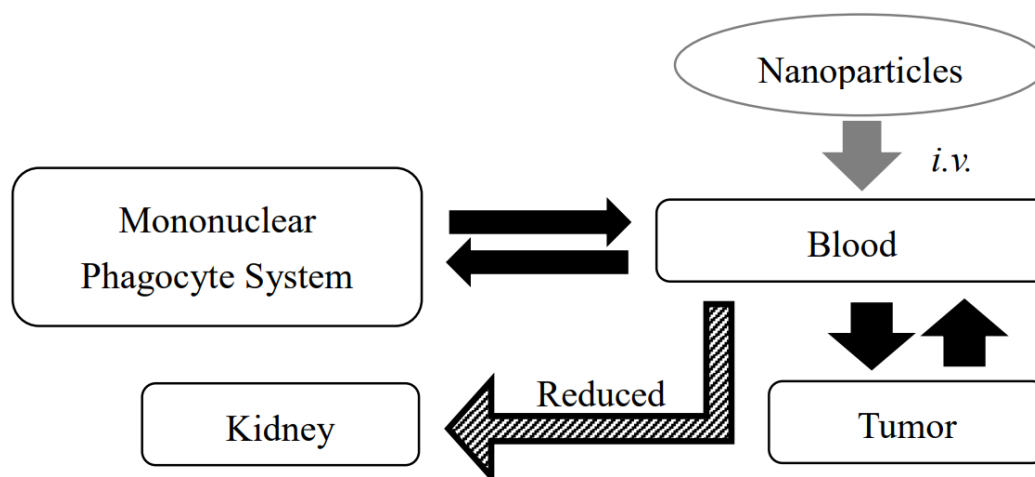


Fig. 2.17 ADME of typical nanoparticles

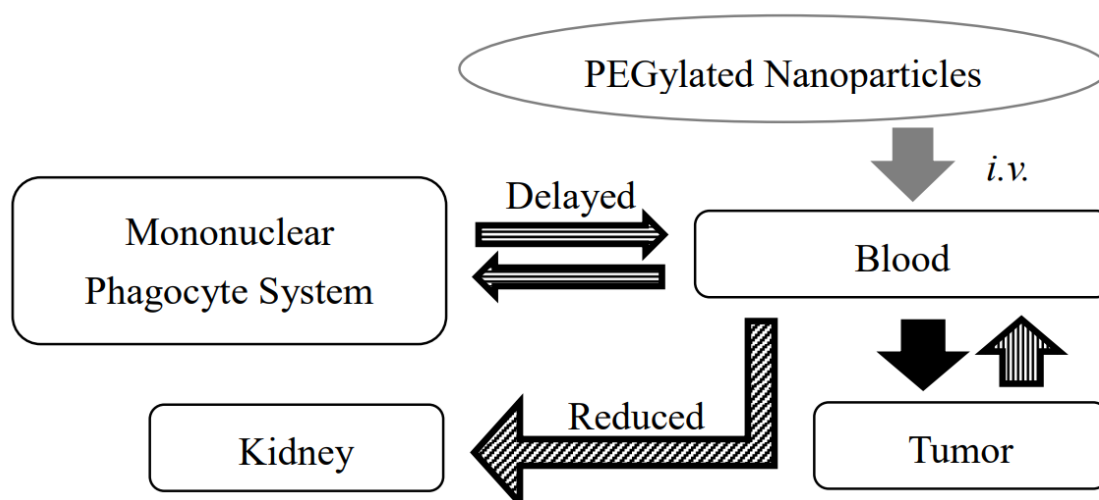


Fig. 2.18 ADME of typical PEGylated nanoparticles

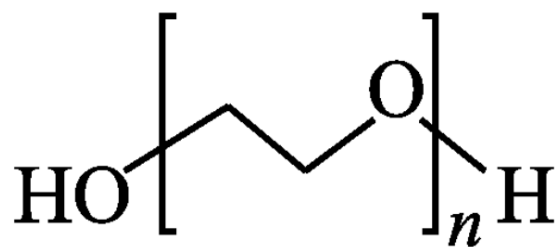


Fig. 2.19 Structural formula of PEG(or PEO)

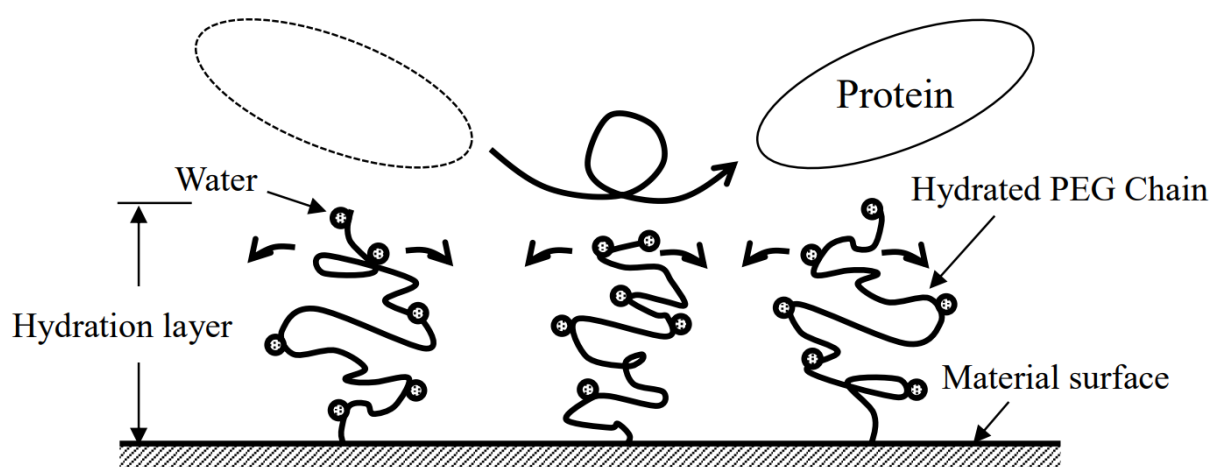


Fig. 2.20 Interaction between proteins

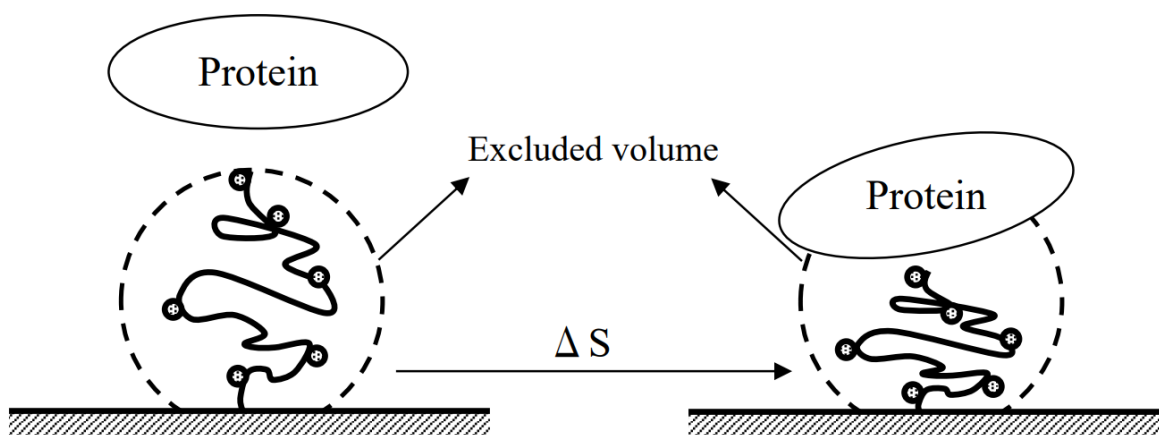


Fig. 2.21 Interaction between surfaces with PEG chains

3. 材料設計と試料作製

3.1 PAA と PEG 誘導体の合成に関する材料設計

本研究では、糖被膜型 MF の生体材料への応用を目的とし、分散剤として用いる PAA の側鎖に対して PEG 鎖を合成した PEG 化 PAA 被膜 MF の作製を試みた。その際、PAA と PEG 誘導体の合成はアミド結合を採用したため、PEG 化に使用する PEG 誘導体に対して固定端となる官能基をアミノ基へと変換していく操作を施した。本節では、PEG 誘導体末端のアミノ化に使用した試薬とその手順、アミド結合による PAA の PEG 化に使用した試薬とその手順について述べる。

3.1.1 メトキシ PEG アミン

アミド結合による PAA の PEG 化を行うためには、従来用いてきたメトキシ PEG（別名 PEG メチルエーテル）の末端にある水酸基（ $-OH$ ）をアミノ基（ $-NH_2$ ）へと置換したメトキシ PEG アミンを得る必要がある。このように、有機化合物にアミノ基を導入する操作をアミノ化（amination）と呼ぶ。また、メトキシ PEG やメトキシ PEG アミンのように PEG の構造の一部が変化した化合物のことを一般に PEG 誘導体と呼ぶ。本研究では三段階にわたる有機合成を行うことにより、メトキシ PEG をメトキシ PEG アミンへとアミノ化した。その具体的な反応機構については 3.2.1 にて述べる。以下にメトキシ PEG アミンを得る際に用いた試薬や溶媒について述べる。

(a) ポリエチレングリコール (Polyethylene glycol)

略称 PEG。エチレングリコールの重合体。飽和炭化水素の直鎖炭素鎖であり、両末端に水酸基を有したポリエーテルである。官能基に水酸基、アルコキシ基を有する。Fig. 3.1 (a)に PEG の構造式を示す。エチレンオキシドのアルカリによるアニオン重合、プロトン開始によるカチオン重合により合成される。分子量 200～400 のものは液体、1000 以上のは固体である。低分子量のものは吸湿性および親水性が大きく水溶性であり、高分子量のものも水溶性である。脂肪族炭化水素に不溶、芳香族炭化水素に可溶。親水性と親油性を備えているので非イオン性界面活性剤として使用することができ、化粧品の乳化剤や中性洗剤などに用いられている。本研究では通常の PEG を使用した場合、PAA と脱水縮合した際に両末端の水酸基が反応を起こし糖鎖どうしが PEG を介して架橋し難溶性となる恐れがあるため、片側末端がメチル基に置換されたメトキシ PEG を用いた。その際、試薬は東京化成工業（株）製の平均分子量 550 のものと、シグマアルドリッチ（株）製の 2000 の二種類を用いた。平均分子量 550 のものは低分子量であるためオイル状の液体で、平均分子量 2000 のものは白色フレーク状の固体である。メトキシ PEG の構造式を Fig. 3.1 (b)に示す。

(b) *p*-トルエンスルホニルクロリド (*p*-Toluenesulfonyl chloride)

分子式 $C_7H_7ClO_2S$, 分子量 190.65. トルエンとクロロスルホン酸の反応によって得られ, メチル基 ($-CH_3$) とスルホニル基 ($-S(=O)_2-$) はベンゼン環に対して対称のパラ (*para*-, *p*-) の位置関係にある. スルホニル基を含む化合物の中には語尾に *-syl* を持つ慣用名が使われるものがある. そのため, 別名として塩化トシル (Tosyl chloride) と呼ばれ, TsCl と略記される. また, (*p*- $H_3CC_6H_4S(=O)_2-$) の 1 価の基をトシル基と呼び, Ts と略記される. TsCl は塩基の存在下にアルコールやフェノールのヒドロキシ基と縮合させ, 求核置換反応や脱離反応に対する反応性を強める目的で用いられる. アルコールと縮合してできるスルホン酸エステルはトシラート (tosylate), トシル基を導入する反応はトシル化 (tosylation) と呼ばれる. 刺激臭を発する白色結晶性粉末であり, アルコールやエーテル, ベンゼンなどの有機溶媒に可溶, 水に不溶. 融点 68°C , 沸点 146°C . TsCl は水との接触により加水分解し有毒なガスを発生させるので, 保管するにあたり湿気は避ける. 本研究では東京化成工業 (株) 製の試薬を用いた. Fig. 3.2 に TsCl の構造式を示す.

(c) テトラヒドロフラン (Tetrahydrofuran)

略称 THF. 分子式 C_4H_8O , 分子量 72.11. フランの水素化や 1,4-ブタンジオールの脱水によって得られる. 飽和の 5 員環に酸素を 1 つ含んだ環状エーテル化合物で, 自由に水と混和し, 多くの有機化合物や高分子を溶解する. そのため, 溶媒として使用されることが多く, 本研究においてもメトキシ PEG をトシル化する際の溶媒として用いた. 芳香を持つ無色の液体であり, 沸点 66°C , 融点 -108.5°C . また, 引火点が -14.5°C と低く, 日本では消防法により危険物第四類 (第一石油類 危険等 2 水溶性) に指定されている. 本研究ではナカライテスク (株) 製の特級試薬を用いた. Fig. 3.3 に THF の構造式を示す.

(d) ジクロロメタン (Dichloromethane)

慣用名は塩化メチレン. 分子式 CH_2Cl_2 , 分子量 84.93. メタンの水素原子 2 つをハロゲン原子に置換したジハロメタンに分類される. 工業的には, メタン (CH_4) やクロロメタン (慣用名は塩化メチル, 以下 CH_3Cl) を $400\sim 500^\circ\text{C}$ の温度条件下において気相で塩素とラジカル反応させることで得られる. CH_3Cl は CH_4 よりも早く塩素化されるため, 本製法では CH_4 の H が Cl で多置換されたハロメタンの混合物が生じる. この混合物から副生成物の塩化水素を除去した後, 蒸留によって CH_2Cl_2 のみを精製する. CH_2Cl_2 は多くの有機化合物を溶解し, 水と混ざらず沸点が低いなどの条件を備えているため, 有機化学においてはクロロホルム ($CHCl_3$) と並んで利用される溶媒である. 本研究では主に抽出操作の有機層の溶媒として使用した. 通常, 有機溶媒は水よりも密度が小さいため, 抽出時の上層が有機層であるが, CH_2Cl_2 や $CHCl_3$ などのハロゲン系溶媒は水よりも比重が大きいため下層となる. また, CH_2Cl_2 は産業用の溶媒やペンキの剥がし剤, 部品の脱脂など広く使われている他, コーヒーのカフェインの除去や風味の抽出にも用いられる. 常温では無色で強く甘い芳香をもつ液体で, 極めて多くの種類の有機化合物を溶解する. 沸点 40°C , 融点 -95.1°C . 本研究ではナカライテスク (株) 製の特級試薬を用いた. Fig. 3.4 に CH_2Cl_2 の構造式を示す.

(e) 硫酸マグネシウム (Magnesium sulfate)

組成式 MgSO_4 , 式量 120.37. エプソム塩 (エプソムソルト) と呼ばれる. 無水物のほかに一, 三, 七水和物も知られている. 天然には七水和物 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ として存在し, 硫苦と呼ばれる. 七水和物は無色粉末で, 70°C で一水和物, 200°C で無水物となり, 1124°C で分解する. 無水物は水と反応して水和物を生成するので, 有機合成の分野において, 乾燥剤として汎用されている. 本研究でも抽出後の有機層に含まれている水分を脱水するために無水物を使用した. その他の用途として, 便秘, 低マグネシウム血症, 子癇, 子宮運動抑制薬などの医薬品や農作物の肥料が挙げられる. 無水物は吸湿性のある白色結晶性粉末で, 水分と反応して発熱する. 水に易溶, エタノールに微溶. 融点 1185°C . 本研究ではナカライテスク (株) 製の特級試薬を用いた.

(f) ジエチルエーテル (Diethyl ether)

分子式 $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$ (示性式 $\text{C}_2\text{H}_5\text{OC}_2\text{H}_5$), 分子量 74.12. しばしば Et_2O と略記される. 単にエーテルというときはこの Et_2O のことを指す場合が多い. 硫酸のような強酸を触媒としたエタノールの脱水縮合で合成できる. ただし, この反応は 150°C 以下の温度条件下で行わなければならない. これは, 高温になるとエタノールが脱水してエチレンが生成してしまうためである. 工業的には, エチレンから気相水とでエタノールを合成する際の副生成物として発生するものが利用されている. またエタノールからアルミナを触媒とした気相脱水でも合成される. Et_2O は有機合成の際に溶媒としてよく用いられる. 本研究では Et_2O に不溶な PEG 誘導体を再沈殿させるために用いた. 特徴的な甘い臭気を持つ無色透明の液体で, 水にやや溶けやすい. 沸点 35°C , 融点 -116°C . 引火点 -45°C であり非常に引火性が高い. 本研究ではナカライテスク (株) 製の特級試薬を用いた. Fig. 3.5 に Et_2O の構造式を示す.

(g) アセトニトリル (Acetonitrile)

分子式 $\text{C}_2\text{H}_3\text{N}$ (示性式 CH_3CN), 分子量 41.05. CH_3CN は一般に $\text{R}-\text{C}\equiv\text{N}$ で表されるニトリルの中でも最も単純な構造をもつ. プロピレンにアンモニアと酸素を金属酸化物触媒の存在下で作用させるとアクリロニトリル (CH_2CHCN) を得られる. この工業的製法をソハイオ法もしくはアンモ酸化と呼ぶが, その際の副産物として CH_3CN が得られる. CH_2CHCN を 100L 製造するとき, 2~4L の CH_3CN が共に得られる. 無機塩の非水溶媒あるいは化学工業製品の原料や分析化学用の溶媒として用いられる. 本研究ではトシル化 PEG から求核置換反応によって PEG フタルイミドを得る際の溶媒として用いた. Et_2O の様な独特の臭気を持つ無色の液体. 水と任意の割合で混合する非プロトン性極性溶媒で EtOH や Et_2O などの多くの有機溶媒にも極めて溶けやすいが, 石油エーテル (ペンタンやヘキサン) などのパラフィン系溶媒とは分離する. 沸点 82°C , 融点 -46°C . 引火点 -12.8°C であり可燃性で, 大きな誘電率 37.5 (20°C) を持つ. 本研究ではナカライテスク (株) 製の特級試薬を用いた. Fig. 3.6 に CH_3CN の構造式を示す.

(h) フタルイミド (Phthalimide)

分子式 $\text{C}_8\text{H}_5\text{NO}_2$, 分子量 147.13. 融点 232°C の昇華性のあるプリズム晶. 無水フタル酸と

アンモニアあるいは炭酸アンモニウムとを加熱して製造する。ヘキサン、エーテル、ベンゼン、 CHCl_3 、水などには溶けにくく、ジメチルホルムアミド、熱時アルコール、酢酸には溶解する。フタルイミドのイミド水素の酸性度は高く、濃いアルカリ水溶液にはよく溶ける。本研究ではフタルイミドのカリウム塩であるフタルイミドカリウム (Phthalimide potassium salt, 分子式 $\text{C}_8\text{H}_4\text{KNO}_2$, 分子量 185.22) を用いた。また、試薬は東京化成工業 (株) 製のものを使用した。フタルイミド塩は求核性が高く、フタルイミドカリウムはアルキルハライド等と反応させるGabriel合成と呼ばれる一置換アミン合成法の原料として有用である。フタルイミドカリウムは水に可溶な白色粉末で融点は 300°C 以上である。Fig. 3.7 にフタルイミドカリウムの構造式を示す。

(i) ヒドラジン (Hydrazine)

分子式 H_4N_2 (示性式 H_2NNH_2)、分子量 32.05。無機化合物の一種であり弱塩基。次亜塩素酸塩を用いてアンモニアを酸化することにより得られる。アンモニアを塩素で気相酸化して H_2NNH_2 を得る製法もある。アンモニアに似た刺激臭を持つ無色の液体で、空気に触れると白煙を生じる。沸点 114°C 、融点 2°C 。水やエタノールに極めて溶けやすく、強い還元性を示し分解しやすい。また、引火性があるのでロケットや航空機、ミサイルの燃料や人工衛星や宇宙探査機の姿勢制御用の燃料など、燃料として幅広く用いられている。さらに、脱酸素剤として高压ボイラーの防食剤として使用されている。毒物であり、気化吸引および皮膚への接触ともに腐食をもたらす。また中毒症状をおこす。自然発火温度はさまざまであり、錆びた鉄の表面では 24°C で自然発火する。通常、化学実験で用いる際にはヒドラジン－水和物 (示性式 $\text{H}_2\text{NNH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 分子量 50.06) が用いられ、本研究でも PEG フタルイミドのフタルイミド基をアミノ基へと還元する際の還元剤として、ナカライテスク (株) 製の特級試薬の $\text{H}_2\text{NNH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ を使用した。Fig. 3.8 に H_2NNH_2 の構造式を示す。

3.1.2 アミド PEG 化 PAA

当研究室ではこれまでにメトキシ PEG を CS に付加させた PEG 化 CS を作製してきた。この際、CS が有するカルボキシル基 ($-\text{C}(=\text{O})-\text{OH}$) とメトキシ PEG が有する水酸基に着目し、エステル化 (esterification) によりメトキシ PEG と CS を縮合した。エステル化とはカルボン酸とアルコールを反応させカルボキシル基一つと水酸基一つから水分子一つがとれて (脱水縮合) エステルを形成させる反応であり、このとき生成する $-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-$ の結合をエステル結合と呼ぶ。Fig. 3.9 (a) に一般的なエステル化の反応式を示す。しかし、エステル化は主に有機溶媒中で用いられる反応であるため、糖被膜型 MF のような水溶媒の生体材料として用いる際にエステル結合部分では加水分解の進行による PEG 誘導体の分離が懸念される。そこで、本研究では PEG 誘導体の結合部分における加水分解が進行しにくい合成方法であるアミド結合を採用した。また、分散剤はポリアクリル酸 (PAA) を採用した。PAA は CS より単純な構造かつ安価であり、磁性流体との合成も比較的容易にできるためである。PAA が有するカルボキシル基と新たに作製したメトキシ PEG アミンが有するア

ミノ基に着目し、アミド化 (amidation) によりメトキシ PEG アミンと PAA を縮合したアミド PEG 化 PAA の作製を試みた。

アミド化とはカルボン酸のカルボキシル基と第一級アミンのアミノ基または第二級アミンのイミノ基 ($-\text{NH}-$, $=\text{NH}$) を脱水縮合してアミドを形成させる反応であり、このとき生成する $-\text{C}(=\text{O})-\text{N}=$ の結合をアミド結合と呼ぶ。Fig. 3.9 (b) にカルボキシル基と第一級アミンの一般的なアミド化の反応式を示す。以下にアミド PEG 化 PAA を得る際に用いた試薬について述べる。

(a) ポリアクリル酸 (Polyacrylic acid)

通称 PAA. アクリル酸の重合体。飽和炭化水素の直鎖炭素鎖であり、官能基にカルボキシル基を有する。アクリル酸に適当な重合開始剤、あるいは酸素を与えることで重合体を得る。カルボキシル基を多く有することから吸湿性及び親水性に優れる。また、水に可溶であり、水溶液はカルボキシル基の存在により負電荷をもつため弱酸性を示す。エタノールに溶け、アセトンにほとんど溶けない。ナトリウム塩の状態では、架橋剤を加えることでゲルを形成し、優れた吸水性を示すため、紙おむつや土壌改善剤などに用いられる。食品添加物や化粧品などにも使用されるため、人体に対する毒性は低い。分子量は数千～数百万と幅広くあるが、本研究では和光純薬 (株) 製の第一級試薬で平均分子量が 5000 の PAA を使用した。Fig. 3.10 に PAA の構造式を示す。

(b) 1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩 (1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride)

分子式 $\text{C}_8\text{H}_{18}\text{ClN}_3$ ($\text{C}_8\text{H}_{17}\text{N}_3 \cdot \text{HCl}$)、分子量 191.70。 $-\text{N}=\text{C}=\text{N}-$ で表される官能基およびそれを含む化学物質の総称をカルボジイミドと呼ぶ。カルボジイミドはエステル、ペプチド、カルボン酸無水物、ラクトンなどの合成における脱水縮合試薬として広く用いられている。本研究で用いた 1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩が水に可溶であることから 1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド (分子式 $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{N}_3$ 、分子量 155.24) は WSCD (Water soluble carbodiimide) とも略される。しかし、塩酸塩でない WSCD は水にほとんど溶けないため、本論文では 1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩を $\text{WSCD} \cdot \text{HCl}$ と表記する。 $\text{WSCD} \cdot \text{HCl}$ の製法を以下 1)～3) に示す。

- 1) 1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)チオ尿素と次亜塩素酸塩を、水と相溶性のない有機溶媒との二相系下で水酸化カリウム存在下に脱硫することにより WSCD を得る。
- 2) 得られた WSCD を芳香族炭化水素やハロゲン化炭化水素、エーテル基を有するアルコール類のどれかを溶媒として、塩化水素ガスを導入する。これにより塩酸塩が生成する。
- 3) 2)の系に脂肪族や脂環式炭化水素の溶媒と、エーテル類やエステル類の溶媒を結晶溶媒として添加することにより、結晶化した $\text{WSCD} \cdot \text{HCl}$ を得る。

$\text{WSCD} \cdot \text{HCl}$ は結晶性固体であり、水に可溶、メタノールやエタノールに微溶、ジメチルホルムアミドや CH_2Cl_2 に可溶。融点 $111\sim 114^\circ\text{C}$ 。反応の過程で有機溶媒に不溶な 1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)尿素を副生する。また、初期に用いられていたカルボジイミド

であるジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC) は人によっては皮膚や粘膜につくと激しい炎症を起こすことがあったが、WSCD・HCl は DCC にみられるアレルギー反応を引き起こしにくい。本研究では (株) ペプチド研究所製の WSCD・HCl を用いた。Fig. 3.11 に WSCD の構造式を示す。

(c) 1-ヒドロキシベンゾトリアゾール (1-Hydroxybenzotriazole)

略称 HOBt. 分子式 $C_6H_5N_3O$, 分子量 135.13. DCC を用いた縮合反応の際に併用することでその反応活性を高める活性剤の役割を担う。o-クロロニトロベンゼンに $H_2NNH_2 \cdot H_2O$ を作用させて合成する。融点 $160^\circ C$, 有機溶媒によく溶け, 水に可溶。無水の HOBt は爆発性があり融点近くまで加熱すると強い爆発を起こすことがある。そのため, HOBt の水和物である 1-ヒドロキシベンゾトリアゾールー水和物 (分子式 $C_6H_5N_3O \cdot H_2O$, 分子量 153.14, 以下 HOBt・ H_2O) がよく用いられている。本研究でも東京化成工業 (株) 製の HOBt・ H_2O を使用した。Fig. 3.12 に HOBt の構造式を示す。

3.2 PAA 被膜 MF に関する材料設計

PEG 化 PAA を分散剤に用いた PEG 化 PAA 被膜 MF を作製するにあたり、磁気特性を決定づける磁性微粒子にはマグヘマイト ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) を用いた。 $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ は酸化鉄の一種であり磁気特性にも優れ安価であるため磁気記録媒体や MF など幅広く利用されている。また、生体に対しても比較的安全とされているため医療分野でも利用されている。結晶構造はスピネルフェライトと呼ばれる構造を持ち、磁性はフェリ磁性となる。また、 $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ はマグネタイト ($\text{FeO} \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$) の欠陥構造をもつ。

スピネルフェライトはフェライトの一種である。フェライトの組成は $\text{M}^{2+}\text{O} \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$ または $\text{M}^{2+} \cdot \text{Fe}_2\text{O}_4$ の一般式で表され、その結晶構造はスピネル型の立方晶系に属する、 M^{2+} には Fe の他に Mn, Co, Ni, Cu, Mg, Zn, Cd, などがある。スピネル型構造の単位胞は 8 分子より成っている。すなわち上記の一般式の 8 倍の個数である 32 個の O^{2-} が面心立方最密充填構造を作り、8 個の M^{2+} と 16 個の Fe^{3+} は O^{2-} の間隙に入っている。これは O^{2-} のイオン半径が約 0.8\AA であり、 O^{2-} の方が大きいためである。Fig. 3.13 にフェライトのスピネル型構造の単位胞を示す。

M^{2+} が Zn^{2+} または Cd^{2+} の時、 M^{2+} は 4 個の酸素に囲まれた格子点位置 (A 位置) を占め、 Fe^{3+} は 6 個の酸素で囲まれた格子点位置 (B 位置) を占める。このような金属イオン分布のフェライトを正スピネル型のフェライトと呼ぶ。

M^{2+} が Mn^{2+} , Fe^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Mg^{2+} , などの場合には、 M^{2+} は B 位置を占め、 Fe^{3+} の半数は B 位置を、残りの半数の Fe^{3+} は A 位置を占める。このようなフェライトを逆スピネル型のフェライトと呼ぶ。

スピネル型フェライトのうちで強磁性を示すのは逆スピネル型で、正スピネル型は常磁性を示す。逆スピネル型フェライトでは、A 位置を占める金属イオンと B 位置を占める金属イオンとの相互間に最も強力な超交換相互作用が働く。すなわち A, B 位置に存在する金

属イオンの磁気モーメントを $\overrightarrow{\text{Fe}^{3+}} \left[\overrightarrow{\text{M}^{2+}} - \overrightarrow{\text{Fe}^{3+}} \right]$ のように互いに反平行に結合する作用であり、その結果両位置にある Fe^{3+} の磁気モーメントは打ち消され、B 位置に残存する M^{2+} だけが差し引きの自発磁化として現れる。これをフェリ磁性 (ferrimagnetism) と呼ぶ。正スピネル型フェライトでは A 位置を非磁性体が占めるため、AB 間の超交換相互作用は存在せず、B 位置の 2 個の Fe^{3+} は $\text{M}^{2+} \left[\overrightarrow{\text{Fe}^{3+}} - \overrightarrow{\text{Fe}^{3+}} \right]$ のように互いに反強磁性結合をするため、磁気モーメントは完全に相殺されて自発磁化を示さない¹⁶⁾。

試料作製方法には共沈法を応用した化学合成を用いた。共沈法は、金属塩溶液から微粒子を生成させる方法の一つで、組成の制御が容易であり、化学的均一性と反応性の高い微粒子が得られる。また、大規模な実験装置を必要とせず比較的簡素な方法で合成を行うことが可能であり、短時間に大量生産が可能であることが挙げられる。また、この合成プロセスは微粒子を

ナノオーダーの粒径に制御して形成することができる。

以下に磁性微粒子の生成に用いた金属塩化物について述べる。

(a) 第一塩化鉄 (FeCl_2 : ferric chloride)

式量 126.75. 無水物のほかに一, 二, 四, 六水和物も知られている. 無水物は, 鉄を乾燥塩化水素中で赤熱するか, 水和物を塩化水素中で脱水すると得られる. 淡緑色の六方晶結晶 (塩化カドミウム型構造). 密度 2.99g/cm^3 屈折率 1.567. 融点 674°C . 水, エタノールに易容, アセトンに可溶, エーテルに不溶. 湿った空気中では色が変わり, 最後には赤褐色となる. 水 100g に 10°C で 64.4g, 100°C で 105.7g 溶ける. 鉄, 水酸化鉄あるいは炭酸鉄 (II) などを, 空気を断って塩酸に溶かすと水和物が得られる. ふつうには四水和物 $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ がえられ, これは淡緑色の単斜晶系晶で, 密度は, 1.926g/cm^3 で潮解性がある. エタノールに可溶. 水 100g に 10°C で 37.6g, 70°C で 45g 溶ける.

(b) 第二塩化鉄 (FeCl_3 : ferrous chloride)

式量 162.21. 無水物のほかに水和物 $\text{FeCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($n=12, 2.5, 5.3, 5.6$) も知られている. 無水物は, 鉄粉を塩素気流中で熱するか, 酸化鉄 (III) を塩化水素, 塩化カルボニル, あるいは四塩化炭素などの中で熱すると得られる. また, 水和物を濃硫酸上で脱水してもよい. 透過光で紫赤色, 反射光では暗緑色の六方晶系晶 (ヨウ化ビスマス (III) 型構造). 密度 2.804g/cm^3 (11°C). 融点 300°C , 沸点 317°C . 溶液は, 赤色, 液体は赤色, 気体は黄褐色. 気体は $322\sim 448^\circ\text{C}$ で Fe_2Cl_6 分子からなる. Fe_2Cl_6 は四面体 Fe_2Cl_4 の稜共有の複核錯体. 750°C 以上では Fe_2Cl_3 となる. エタノール, エーテル, アセトンに易溶. 有機溶媒中では単量体として存在する. 水 100g に 74.4g (0°C), 535.8g (100°C) 溶ける. 酸化鉄 (III) または水和酸化鉄 (III) を塩酸に溶かした溶液に塩化水素を飽和させると六水和物 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ が得られる. 六水和物は黄褐色の斜方晶系柱状晶または単斜晶系板状晶. 潮解性. 融点 36.5°C , 沸点 280°C . 構造は $\text{trans-}[\text{FeCl}_2(\text{H}_2\text{O})_4]\text{-Cl} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. 水 100g に 246g (0°C) 溶ける. 水溶液は強酸性でタンパク質凝固作用がある. その他の水和物として, $\text{FeCl}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: 赤色, 融点 73.5°C . $\text{FeCl}_3 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$: 暗赤褐色, 融点 56°C . $\text{FeCl}_3 \cdot 3.5\text{H}_2\text{O}$: 暗褐色の単斜晶系晶, 融点 32.5°C . 有機反応での酸化剤 (無水物), 写真製版などでの金属腐食剤, 媒染剤, 止血剤などに用いられる.

(c) 塩化亜鉛 (ZnCl_2 : zinc chloride)

式量 136.30. 白色の粉末, または塊状固体. 吸湿性が極めて強い. 無水物は塩化カドミウム型結晶構造の三方晶系晶. 密度 2.9g/cm^3 . 融点 283°C , 沸点 732°C . 亜鉛を塩酸に溶かした溶液を蒸発濃縮して得られる. 塩化水素ガスと亜鉛の反応を無水エーテル中で行わせるか, 28°C 以上の水溶液からは無水物が得られる. 水 100g に 432g (25°C), 615g (100°C) 溶ける. メタノール, エタノール, アセトンなどが酸素有機溶媒や, ピリジン, アニリンにも易溶. 水溶液はわずかに加水分解してクロロヒドロキシ亜鉛酸イオンを生じ, 溶液は酸性を示す. 脱水性, 防腐剤, 乾電池材料, 医薬品など多くの用途がある.

3.3 試料作製方法

前述のように、本研究の試料作製工程は大きく三つの工程に分けられる。

- ①メトキシ PEG の水酸基をアミノ化したメトキシ PEG アミンの作製
- ②PAA とメトキシ PEG アミンをアミド結合により合成したアミド PEG 化 PAA の作製
- ③アミド PEG 化 PAA を分散剤に用いた PEG 化 PAA 被膜 MF（以下 PEG/PAA/MF）の作製である。以下各工程の詳細を述べる。

3.3.1 メトキシ PEG アミン

前述したように、PAA をアミド結合によって PEG 化するためにはアミノ基を有する PEG 誘導体を作製する必要がある。そこで、本研究では片末端が水酸基、もう一方がメチル基であるメトキシ PEG の水酸基にアミノ化処理を施すことにより、片末端がアミノ基、もう一方がメチル基のメトキシ PEG アミンの作製を試みた。その際に三段階にわたる有機合成を行ったので、次の(a)～(c)にメトキシ PEG アミンの作製方法を記す。なお、メトキシ PEG は平均分子量 550, 2000 の二種類を用いた。

(a) メトキシ PEG のトシル化

まず、脱離性の良い置換基であるトシル基を導入するため、メトキシ PEG の水酸基と TsCl を縮合（トシル化, Tosylation）させたトシル化 PEG を作製した。作製手順を以下 1)～4)に記す。また、フローチャートを Fig. 3.14 (a)に、トシル化 PEG の構造式を Fig. 3.14 (b)に示す。

- 1) メトキシ PEG と TsCl を THF 溶媒のもとで混合し、15 [wt%]の水酸化ナトリウム (NaOH) 水溶液を加えてアルカリ性雰囲気にした後、一日間攪拌する。
- 2) 得られた溶液に CH_2Cl_2 を有機層として、炭酸水素ナトリウム (NaHCO_3) の飽和水溶液を水層としてそれぞれ適量加え、分液ロートを用いて下層の有機層を抽出する。
- 3) 得られた有機層に MgSO_4 を適量加えて残存した水分を取り除いた後、濾過して濾液を得る。
- 4) 得られた濾液をエバポレータにかけて溶媒を除いた後、少量の CH_2Cl_2 を加えてから多量の Et_2O を注いで白色固体を再沈殿させ、吸引濾過して濾物を得る。そして、得られた濾物を一日間真空デシケータにて保存することにより溶媒を除去し、トシル化 PEG の白色粉末を得る。ただし、使用したメトキシ PEG の平均分子量が 550 の場合、平均分子量が低く Et_2O による再沈殿がおこらないため、エバポレータにかけた後に得られるオイルをトシル化 PEG とする。

(b) PEG フタルイミドの作製

次に、求核置換反応によりトシル化 PEG のトシル基をフタルイミド基へと置換した PEG フタルイミドを作製した。求核置換反応とは反応の中心となる求電子剤に対して電子豊富な反応種（求核剤）が電子不足の炭素原子を求核攻撃し、脱離基が脱離する反応である。求核置換反応の生成物は求電子剤と求核剤の結合物と脱離した脱離基である。すなわち、本合

成方法では求核剤としてのフタルイミドカリウムがトシル化 PEG のトシルオキシ基 (TsO-) と結合している炭素原子を求核攻撃することにより、トシルオキシ基が脱離してフタルイミド基と置換し PEG フタルイミドが生成する。作製手順を以下 1)~4) に記す。また、フローチャートを Fig. 3.15 (a) に、PEG フタルイミドの構造式を Fig. 3.15 (b) に示す。

- 1) トシル化 PEG とフタルイミドカリウムを CH_3CN 溶媒のもと、353~363 [K] の温度で一日間還流する。
- 2) 得られた溶液をエバポレータにかけて溶媒を除いた後、 CH_2Cl_2 を有機層として、蒸留水を水層としてそれぞれ適量加え、分液ロートを用いて下層の有機層を抽出する。
- 3) 得られた有機層に MgSO_4 を適量加えて残存した水分を取り除いた後、濾過して濾液を得る。
- 4) 得られた濾液をエバポレータにかけて溶媒を除いた後、少量の CH_2Cl_2 を加えてから多量の Et_2O を注いで白色固体を再沈殿させ、吸引濾過して濾物を得る。そして、得られた濾物を一日間真空デシケータにて保存することにより溶媒を除去し、PEG フタルイミドの白色粉末を得る。ただし、使用したメトキシ PEG の平均分子量が 550 の場合、平均分子量が低く Et_2O による再沈殿がおこらないため、エバポレータにかけた後に得られるオイルを PEG フタルイミドとする。

(c) PEG フタルイミドの還元

最後に、PEG フタルイミドを還元してメトキシ PEG アミンを作製した。本合成方法では強い還元性をもつ $\text{H}_2\text{NNH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ を用いた還元を行った。作製手順を以下 1)~5) に記す。また、フローチャートを Fig. 3.16 (a) に、メトキシ PEG アミンの構造式を Fig. 3.16 (b) に示す。

- 1) PEG フタルイミドにエタノール (EtOH) 溶媒のもとで $\text{H}_2\text{NNH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ を加え、353~363 [K] の温度で 2~3 時間還流する。
- 2) 得られた溶液をエバポレータにかけて溶媒を除いた後、 CH_2Cl_2 を有機層として、5 [wt%] の NaOH 水溶液を水層としてそれぞれ適量加え、分液ロートを用いて下層の有機層を抽出する。
- 3) 得られた有機層に MgSO_4 を適量加えて残存した水分を取り除いた後、濾過して濾液を得る。
- 4) 得られた濾液をエバポレータにかけて溶媒を除いた後、少量の CH_2Cl_2 を加えてから多量の Et_2O を注いで白色固体を再沈殿させ、吸引濾過して濾物を得る。そして、得られた濾物を一日間真空デシケータにて保存することにより溶媒を除去し、メトキシ PEG アミンの白色粉末を得る。ただし、使用したメトキシ PEG の平均分子量が 550 の場合、平均分子量が低く Et_2O による再沈殿がおこらないため、エバポレータにかけた後に得られるオイルを真空ポンプでさらに減圧することにより残存した溶媒を完全に除去し、メトキシ PEG アミンとする。

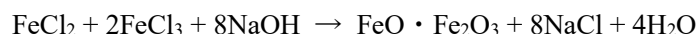
3.3.2 アミド PEG 化 PAA

PAA のカルボキシル基をメトキシ PEG アミンのアミノ基と脱水縮合させて PAA をアミド結合により PEG 化させたアミド PEG 化 PAA を作製した。アミド化を行う方法はいくつかあるが、本研究では脱水縮合剤を用いたアミド化を行った。従来、エステル結合にて PEG 化するには水に不溶な試薬を用いており有機溶媒中で合成していたため、残存する有機溶媒の除去が困難であった。そこで、本合成方法では生体への毒性を低減させるため水溶性の脱水縮合剤や反応活性剤を用いることにより、蒸留水溶媒での合成を行った。Fig. 3.17 に具体的な反応機構を示し、作製手順を以下 1)～3)に記す。また、フローチャートを Fig. 3.18 (a)に、アミド PEG 化 PAA の構造式を Fig. 3.18 (b)に示す。なお、本研究では平均分子量 5000 の PAA と、平均分子量 550, 2000 のメトキシ PEG をアミノ化したメトキシ PEG アミンを使用した。

- 1) PAA と各メトキシ PEG アミンに、蒸留水溶媒のもとで反応活性剤 HOBt・H₂O を混合した後、脱水縮合剤 WSCD・HCl を加え、一日間攪拌する。
- 2) 得られた溶液を透析膜（Seamless cellulose tubing : UC-36-32-100, エーディア（株）製、分画分子量：14000～16000）を用いて 4 日間透析することにより、副生成物である尿素誘導体や未反応物のモノマーを除去する。
- 3) 得られた溶液を濃縮し液体窒素で急冷した後、凍結乾燥装置（ALPHA 2-4LDplus, 久保田商事（株）製）を用いて試料を凍結乾燥する。これにより、アミド PEG 化 PAA の粉末試料を得る。

3.3.3 糖被膜型 MF

以下に、本研究における共沈法の化学反応式を示す。



上記の反応式では 2 つの式に分割されているが、FeO・Fe₂O₃ 微粒子の生成と糖類の吸着は同時に行われている。また、実際は FeO・Fe₂O₃ の欠陥構造をもつ γ-Fe₂O₃ 微粒子が生成していると考えられている¹⁴⁾。この際の溶液温度、鉄塩濃度、アルカリの中和過剰量、反応時間により、コロイドサイズをコントロールすることができる。

以下に糖被膜型 MF の具体的な作製手順を示す。またフローチャートを Fig. 3.19 に、合成装置を Fig. 3.20 に示す。

1) 金属塩溶液の作製

Fe²⁺, Fe³⁺, Zn²⁺の合計が 0.14 mmol となるよう秤量し、酸化防止のために Ar ガスを通付加した蒸留水に溶かす。これにより、Fe²⁺, Fe³⁺, Zn²⁺金属塩混合溶液を得る。

2) 分散剤溶液の作製

アミド PEG 化 PAA を設定した分散剤濃度となるよう秤量し、金属塩と同様に酸化防止のための Ar ガスを通付加した蒸留水に溶かす。これにより、分散剤溶液を得る。

3) 沈殿剤添加

2)で作製した分散剤溶液 20 [ml]に対して沈殿剤として3 規定の NaOH 水溶液を 1 [ml]加える。

4) 合成及び還流加熱

1)で作製した金属塩混合溶液と 3)で作製した分散剤溶液をサーモマグネスター (Thermo magnestir : MGH-110, SHIBATA 社製) を用いて攪拌しながら設定した合成温度に達するまで加熱する。合成温度に達した後に分散剤溶液を金属塩混合溶液に加え、pH を調整するため NaOH 水溶液を適量滴下する。その後、30 分間還流加熱して反応を進ませた後、常温にて徐冷する。

5) 遠心分離

得られた溶液を遠心機 (Centrifuge-5010, KUBOTA 社製) にて 3000 [rpm]で 15 分間遠心分離を行い粗大粒子を除去する。遠心機を Fig. 3.21 に示す。

6) 透析

その後、透析膜を用いて透析を行う。なお、透析は透析膜外の溶液 (蒸留水) を繰り返し交換し糖被膜型 MF の pH が蒸留水と同等になるまで行う。これにより、糖被膜型 MF の液体試料を得る。分散剤として PAA を用いたものを PAA/MF, アミド PEG 化 PAA を用いたものを PEG/PAA/MF とする。得られた液体試料は透過型電子顕微鏡観察の際に用いる。

7) 凍結乾燥

IR 測定や磁気測定, X 線回折用に試料を粉末状にする必要がある。そのため、糖被膜型 MF の液体試料を液体窒素に浸けて凍結し、凍結乾燥装置を用いて試料を粉末状にする。これにより、糖被膜型 MF の粉末試料を得る。凍結乾燥とは水溶液及び水分を含む物質を急速に氷点下の温度で凍結させ、その凍結物の水蒸気圧以下に減圧して水を昇華させて除去し、物質を乾燥させる方法である。凍結の際に急冷することで結晶は微細になる。特に生体試料の乾燥には適しており、凍結乾燥された試料は、形態的・機能的にもその生体試料が本来持っている性質をできるだけ失わずに保存できる利点がある。Fig. 3.22 に水溶液の圧力-温度状態図, Fig. 3.23 に凍結乾燥法の概念図, Fig. 3.24 に凍結乾燥装置を載せる。

3.4 合成条件の設定

3.4.1 アミド PEG 化 CS 合成時の mol 比率

前述のように、本研究では分子量 550, 2000 [g/mol] のメトキシ PEG をアミノ化したメトキシ PEG アミンを用いてアミド PEG 化 PAA を作製したが、その際の PAA 中のカルボキシル基とメトキシ PEG アミン中のアミノ基の mol 比率を設定する必要がある。これは、PAA 中のカルボキシル基は糖被膜型 MF を形成する際に微粒子と吸着する役割を担っているためである。

そこで、PAA 中のカルボキシル基を意図的に残しつつ、PAA のアミド結合による PEG 化を行うため、合成時に仕込む PAA 中のカルボキシル基とメトキシ PEG アミン中のアミノ基の mol 比率を 10:1 とした。

3.4.2 分散剤濃度

PAA/MF の分散剤濃度は 2.00×10^{-2} [g/ml] が最適である。しかし、アミド PEG 化 PAA はアミド化の際にカルボキシル基が反応して変化するため、PAA と比べてカルボキシル基が減少している。3.3.1 で述べたように、カルボキシル基は微粒子との吸着点であるので、PAA/MF とカルボキシル基の濃度を等しくする必要がある。そこで、3.3.1 の条件下でのアミノ化が 100% 進行したものと仮定して計算した 2.2×10^{-2} [g/ml] をアミド PEG 化 PAA の分散剤濃度とした。

3.4.3 合成時温度

従来作製してきた糖被膜 MF の合成時温度は 358 [K] が最適であった。これは、358 [K] より高い合成時温度においても材料特性に有意な差が見られず、コロイド径のばらつきの少ない安定した MF が作製できたためである。また、合成時温度が高すぎると PAA の分解が懸念される。そこで、本研究においても合成時温度を 358 [K] とした。

3.4.4 合成時 pH 雰囲気

過去の研究において、糖被膜型 MF では作製条件を種々変化させるとその特性も種々変化することが判明している。中でも顕著に影響を及ぼすのが合成時の pH 雰囲気である¹⁷⁾。この要因の一つに溶液 pH 環境の変化に伴う微粒子の組成の変化が挙げられる。 $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ と類似した $\text{FeO} \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$ 微粒子において、塩化鉄 (II)、塩化鉄 (III) を用いた場合には、強アルカリによって $\text{Fe}(\text{OH})_2$, $\text{Fe}(\text{OH})_3$ としての段階で、 $\text{Fe}(\text{OH})_2$, $\text{Fe}(\text{OH})_3$ が徐々に酸化されて $\text{FeO} \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$ が生じる。このときの酸化反応の条件により、化学組成や結晶構造が異なる (Fig. 3.25)¹⁸⁾。そのため、 $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 微粒子の合成に関しても合成時の pH 雰囲気によって微粒子の組成や結晶構造に違いが生じ、特性も変化する可能性がある。

もう一つの要因として分散剤の糖が有する官能基の影響が挙げられる。糖を被膜した場合、

糖が有する官能基が変化すると合成時の pH 雰囲気による飽和磁化値や、分散状態の変化に違いが生じることが判明している¹⁷⁾。本研究で新たに作製する PAA 被膜 MF では、分散剤にアミド PEG 化 PAA を用いていることから通常の PAA を用いたものと比べ合成時の pH 雰囲気に対する影響が変化している可能性がある。

そこで、本実験では合成時の pH 雰囲気を変化させた試料を作製し特性の変化を調査した。合成時の pH 雰囲気の調整は分散剤溶液と金属塩溶液を混合した後の NaOH 滴下量を調整して行った。

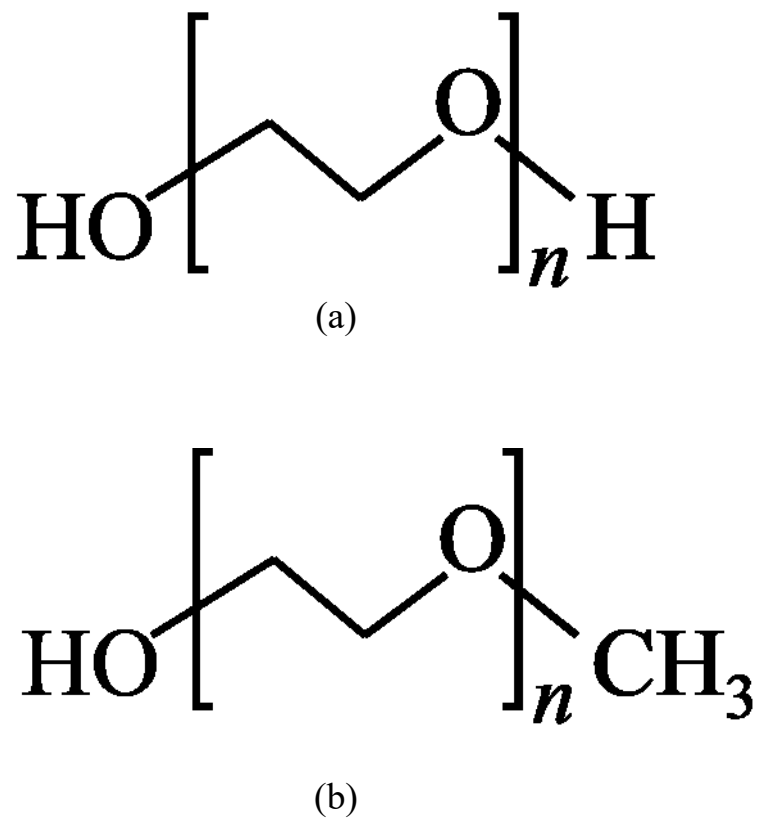


Fig. 3.1 (a) Polyethylene glycol (b) Methoxy polyethylene glycol

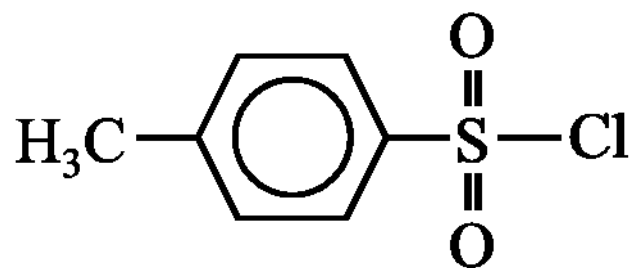


Fig. 3.2 *p*-Toluenesulfonyl chloride

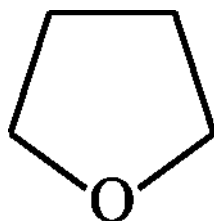


Fig. 3.3 Tetrahydrofuran

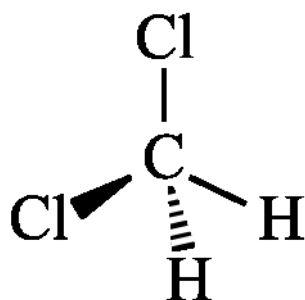


Fig. 3.4 Dichloromethane

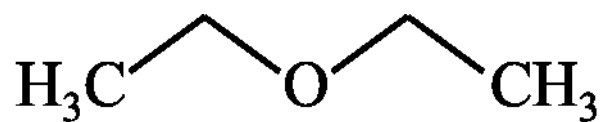


Fig. 3.5 Diethyl ether

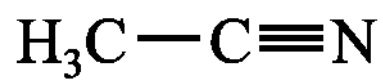


Fig. 3.6 Acetonitrile

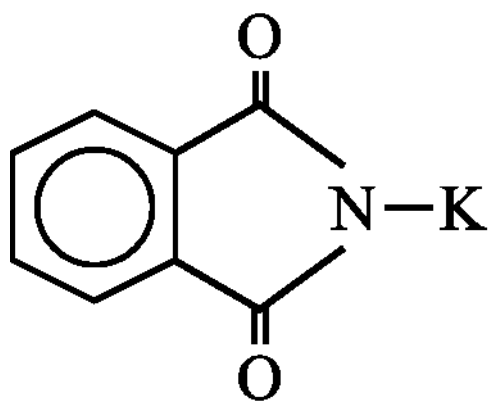


Fig. 3.7 Phthalimide Potassium Salt

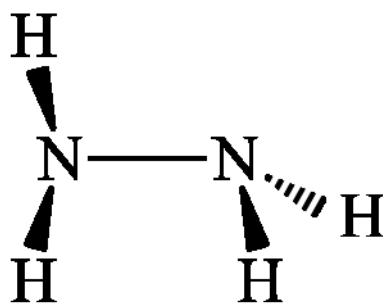
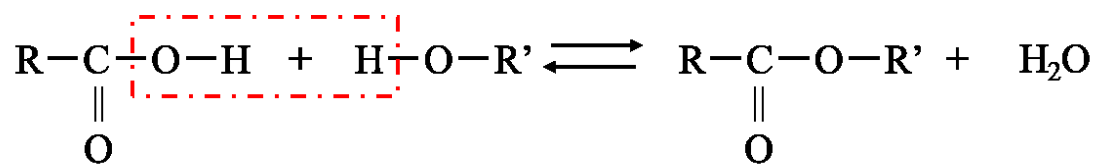
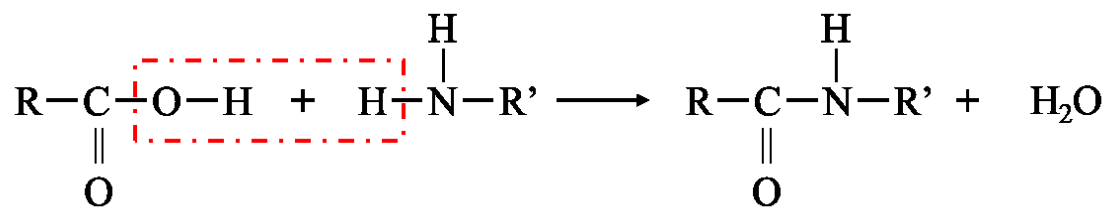


Fig. 3.8 Hydrazine



(a)



(b)

Fig. 3.9 (a) Esterification reaction (b) Amidation reaction

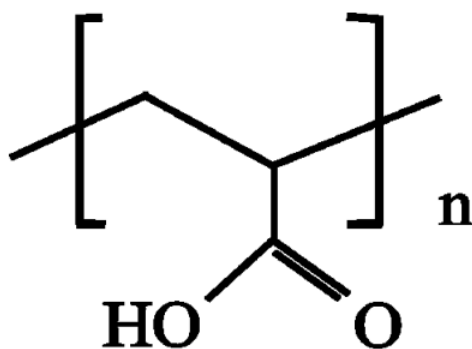


Fig. 3.10 Polyacrylic acid

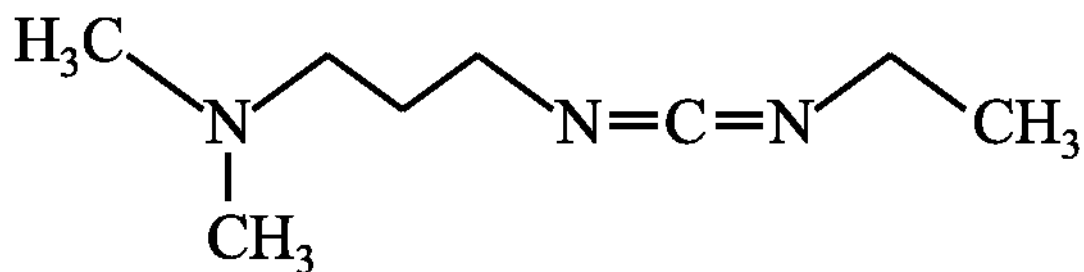


Fig. 3.11 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide

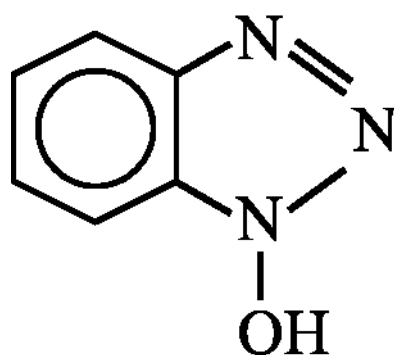


Fig. 3.12 1-Hydroxybenzotriazole

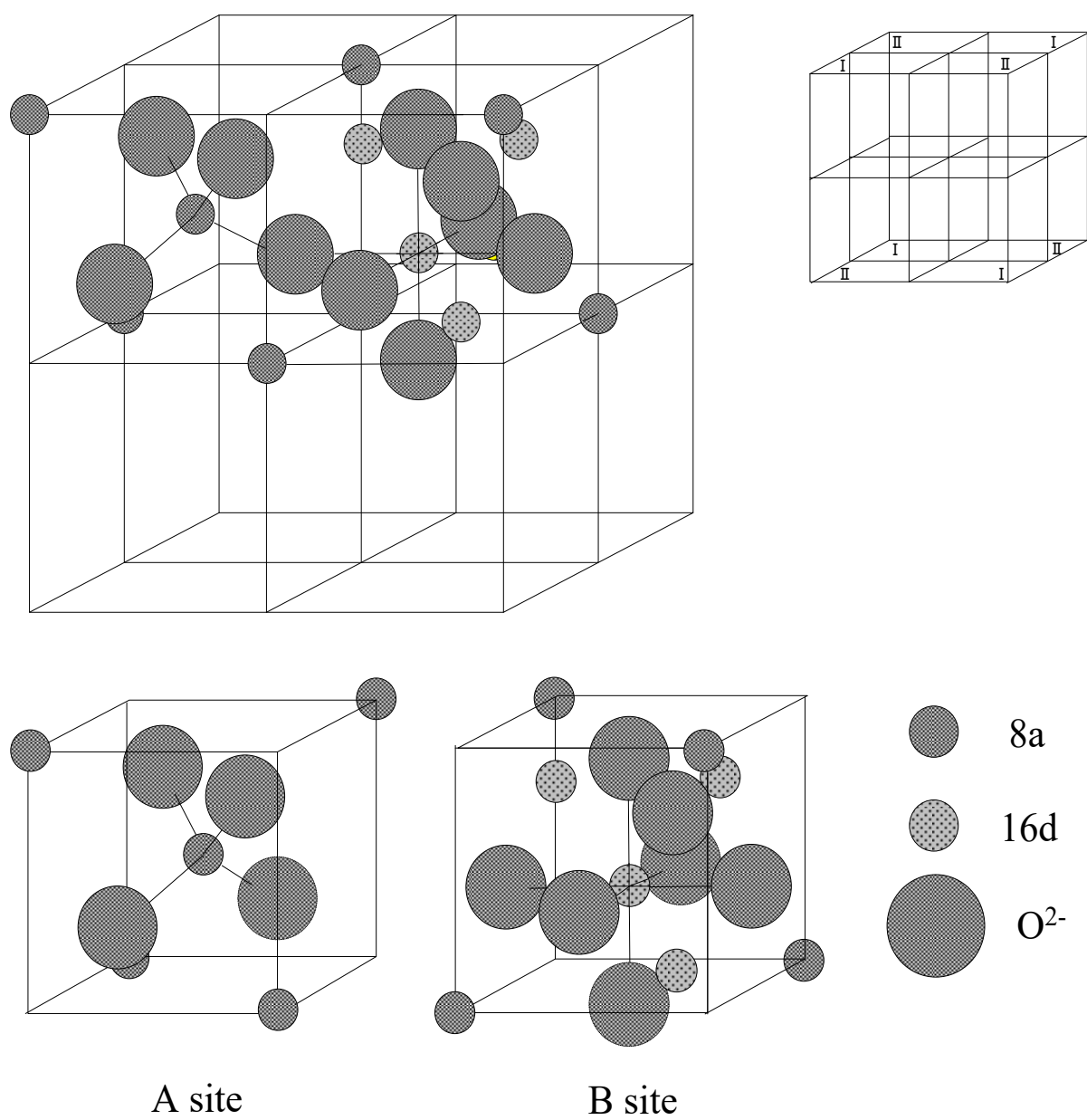


Fig. 3.13 Structure of spinel ferrite

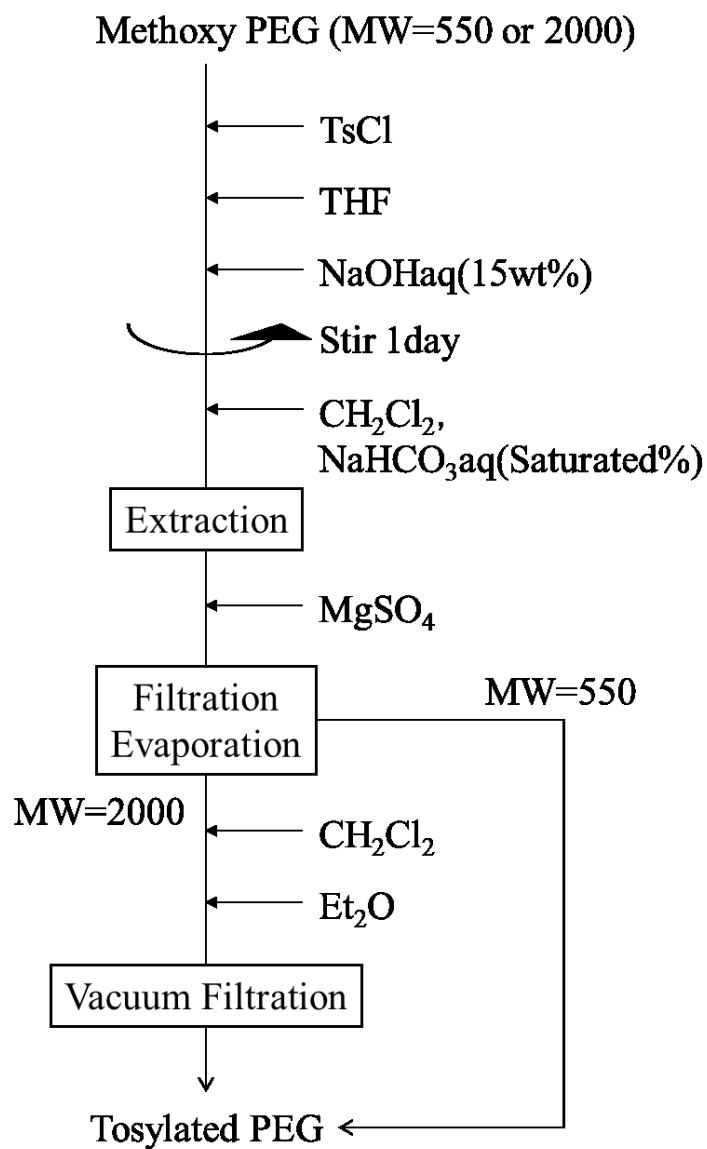


Fig. 3.14 (a) Synthesis process of tosylated PEG

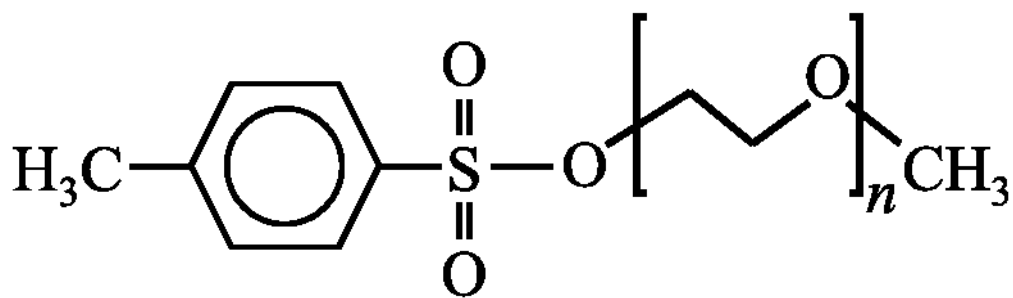


Fig. 3.14 (b) Tosylated PEG

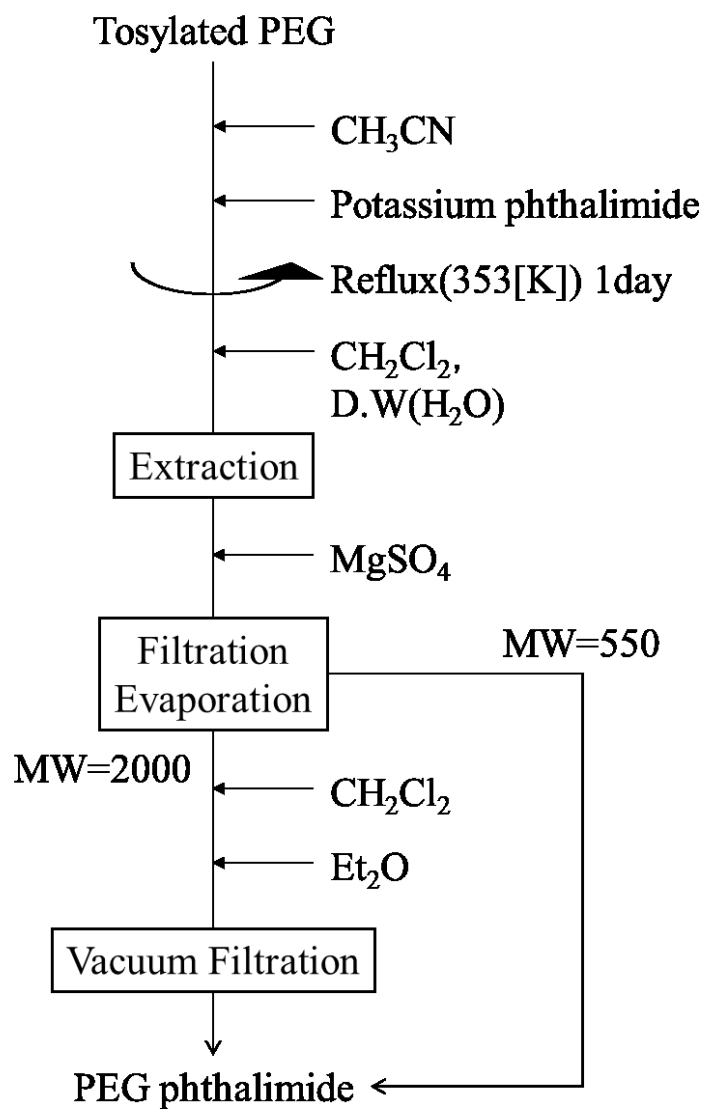


Fig. 3.15 (a) Synthesis process of PEG phthalimide

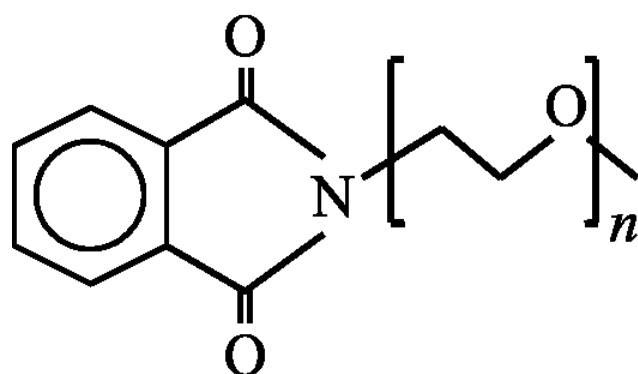


Fig. 3.15 (a) PEG phthalimide

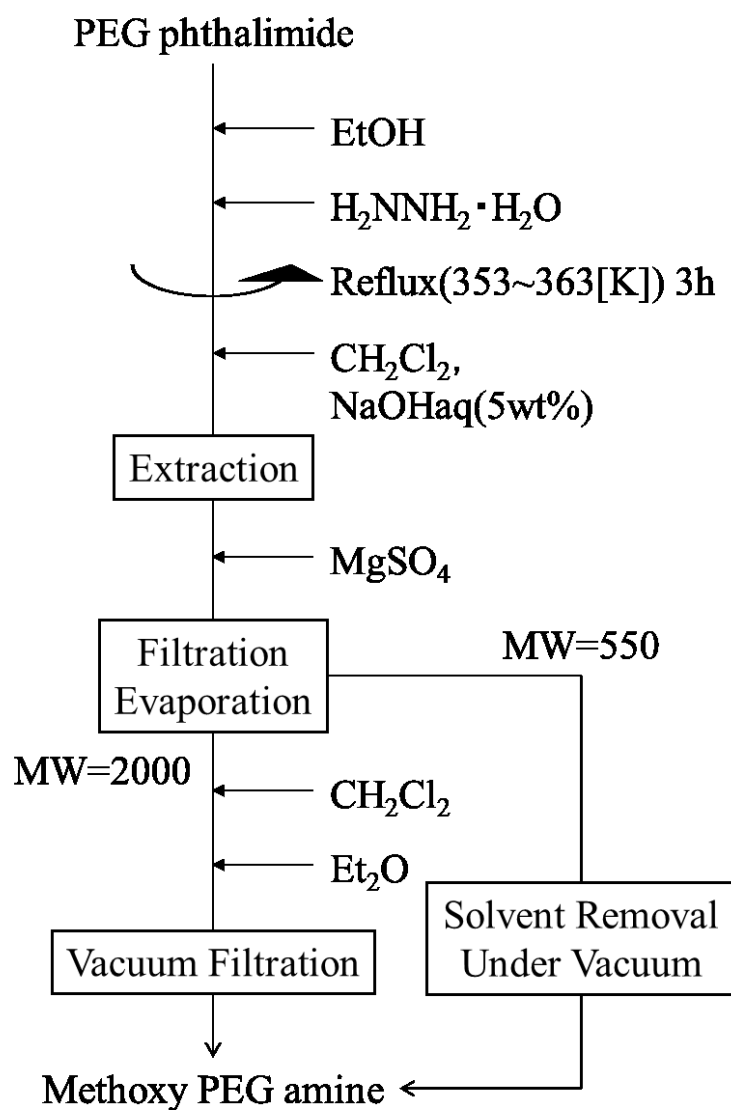


Fig. 3.16 (a) Synthesis process of methoxy PEG amine

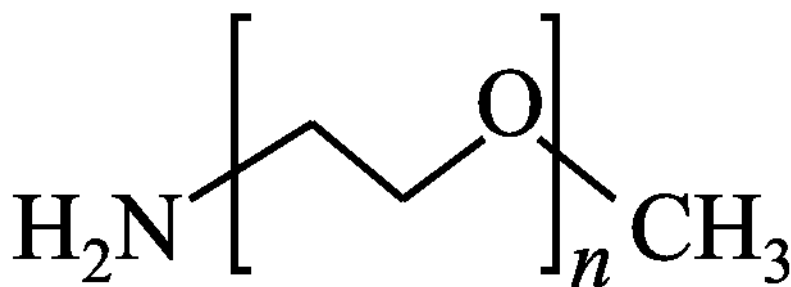


Fig. 3.16 (b) Methoxy PEG amine

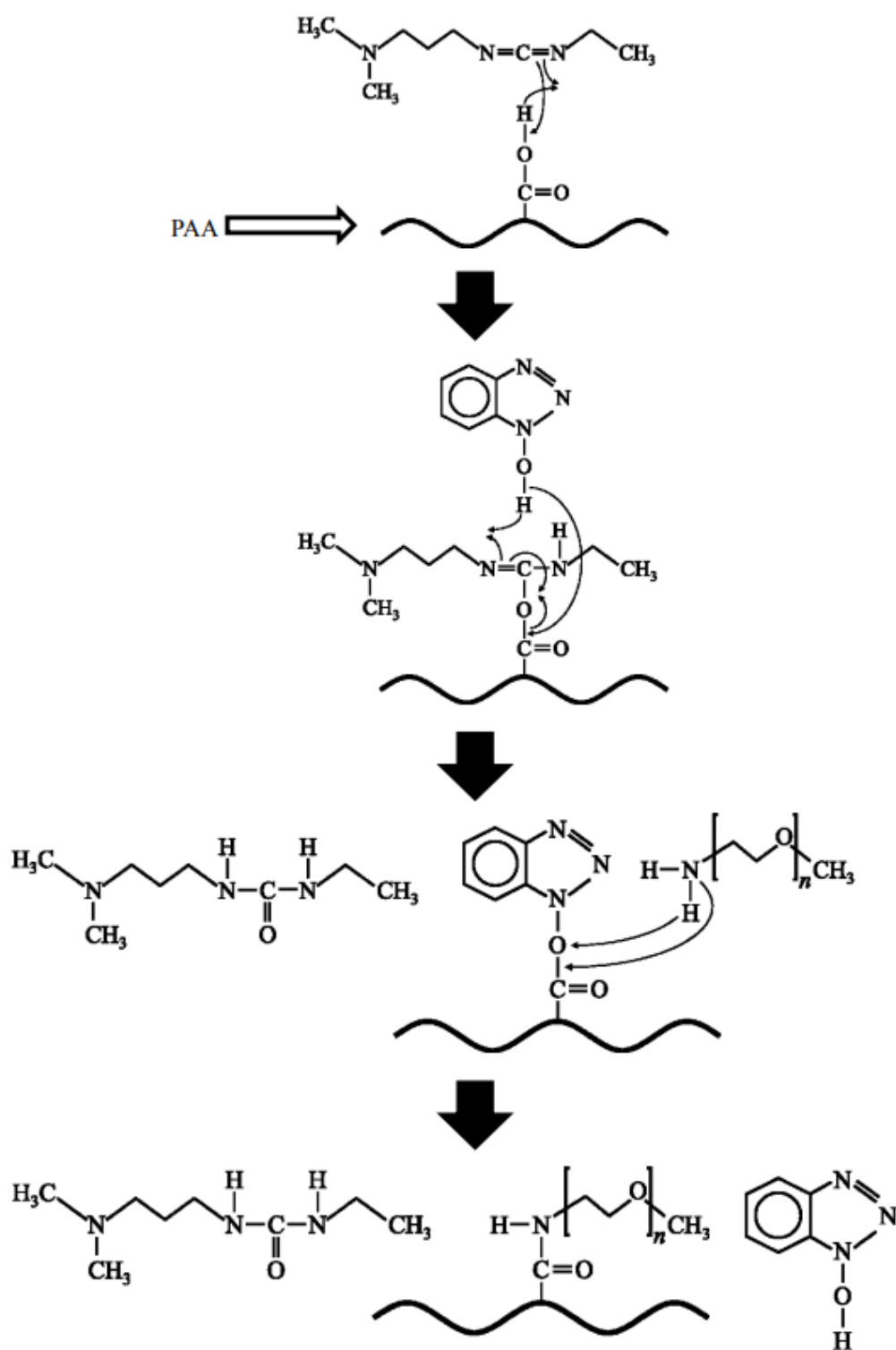


Fig. 3.17 Generative mechanism of amide pegylated PAA

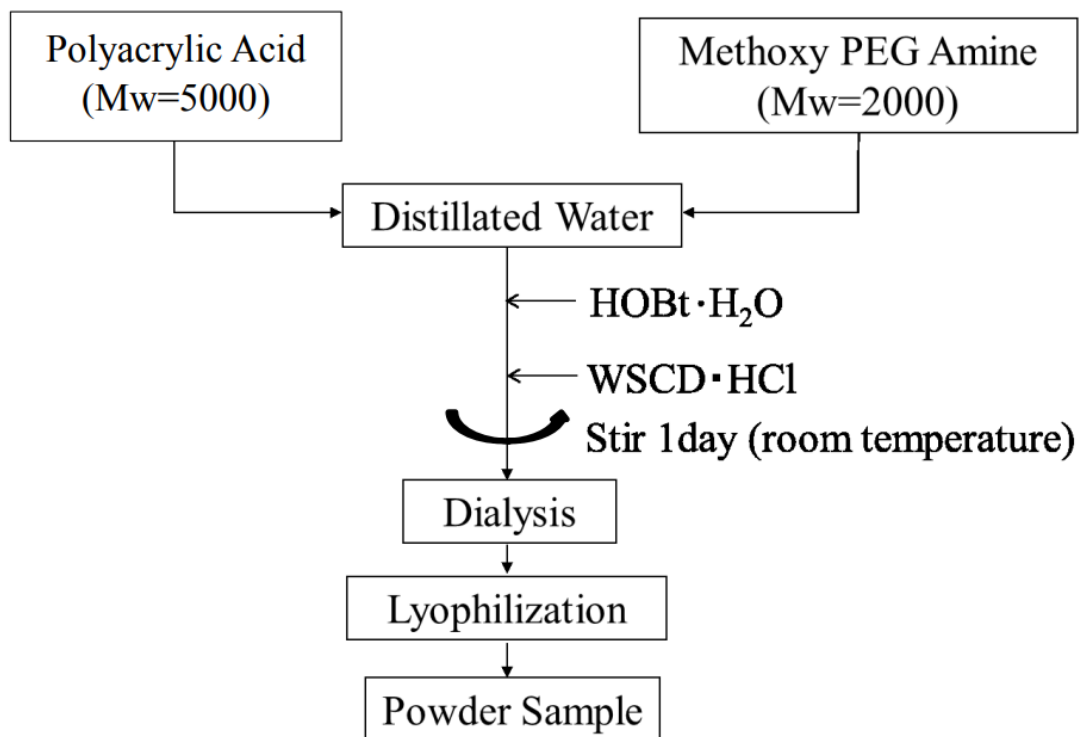


Fig. 3.18 (a) Synthesis process of amide pegylated PAA

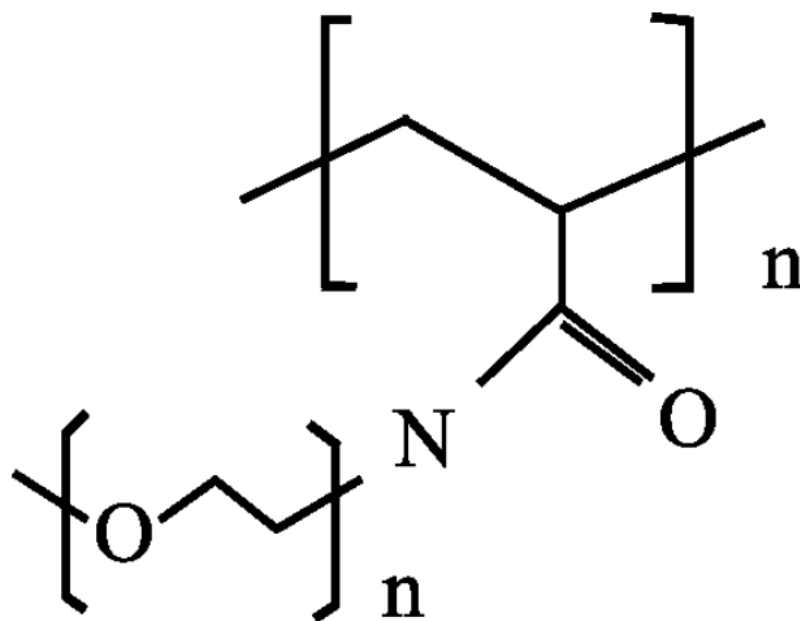


Fig. 3.18 (b) Amide pegylated PAA

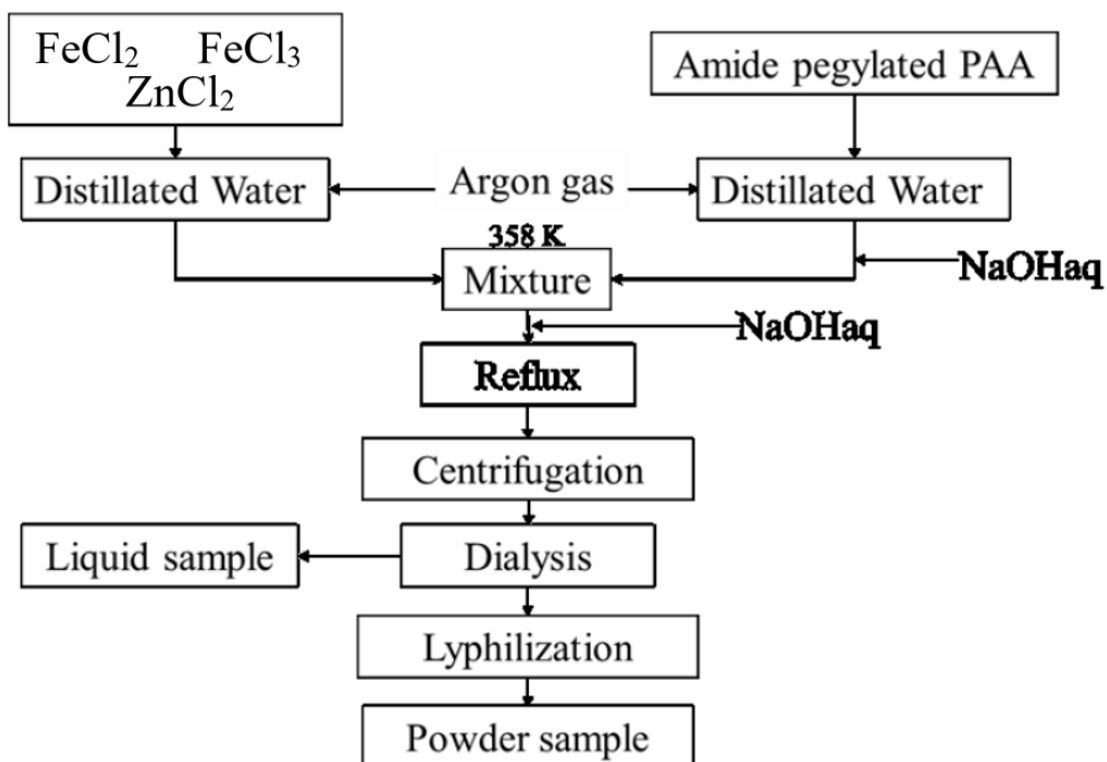


Fig. 3.19 Synthesis process of magnetic particle coated with saccharide

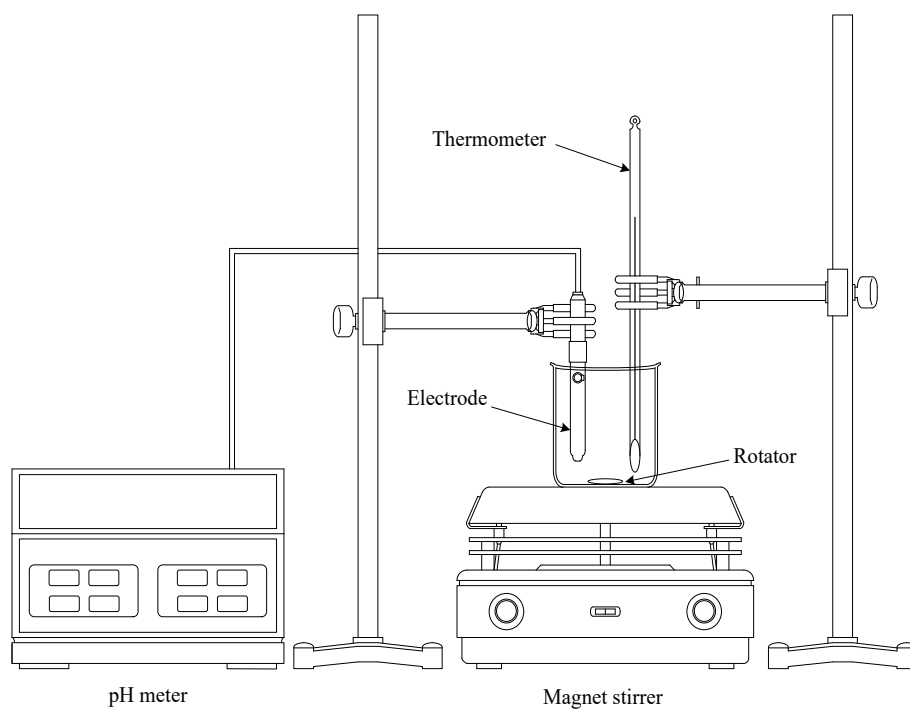


Fig. 3.20 Synthesis device of magnetic particle coated with saccharide

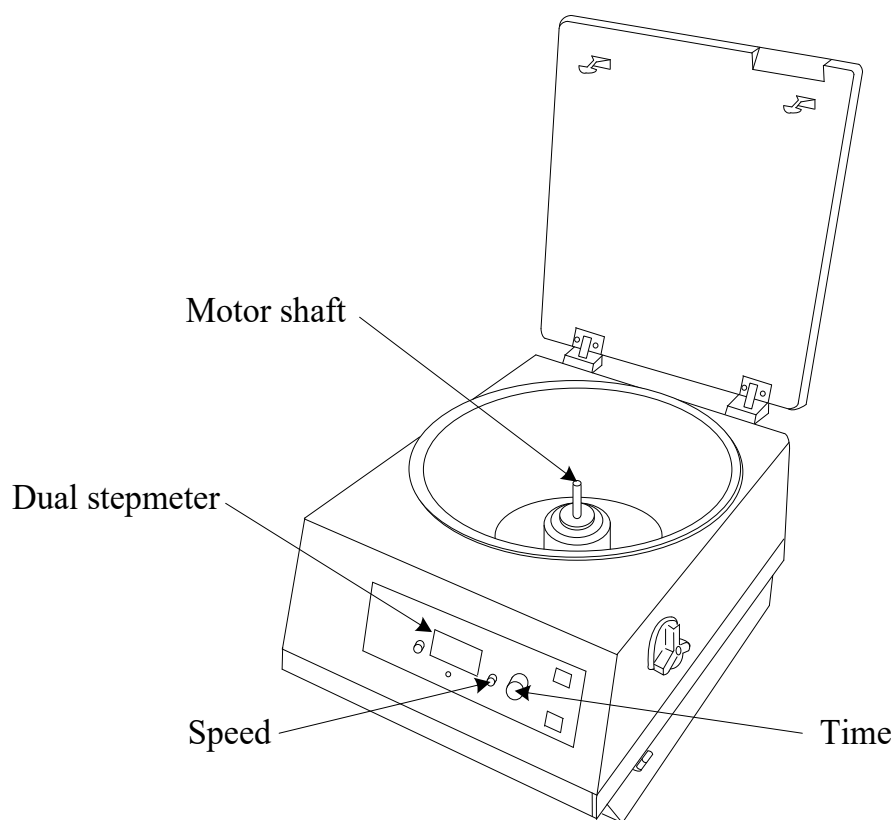


Fig. 3.21 Centrifuge separator

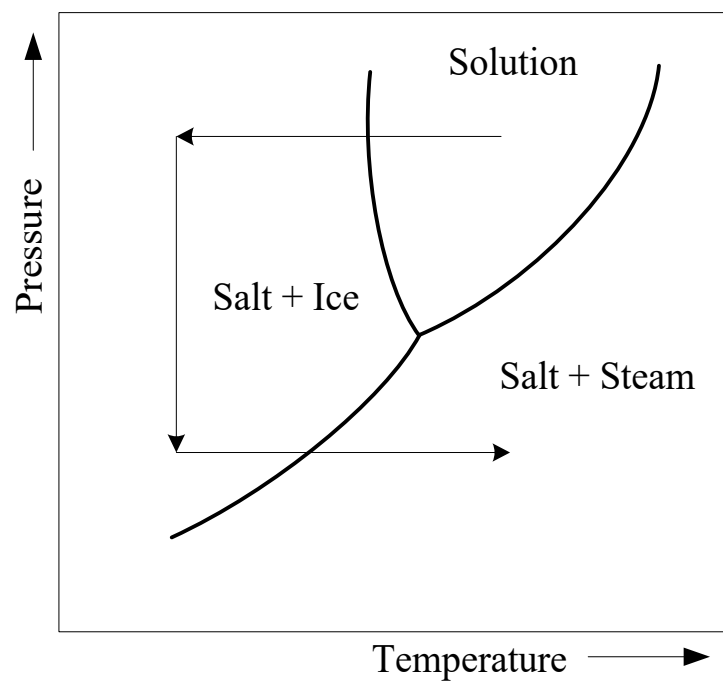


Fig. 3.22 Pressure - temperature diagram of aqueous solution

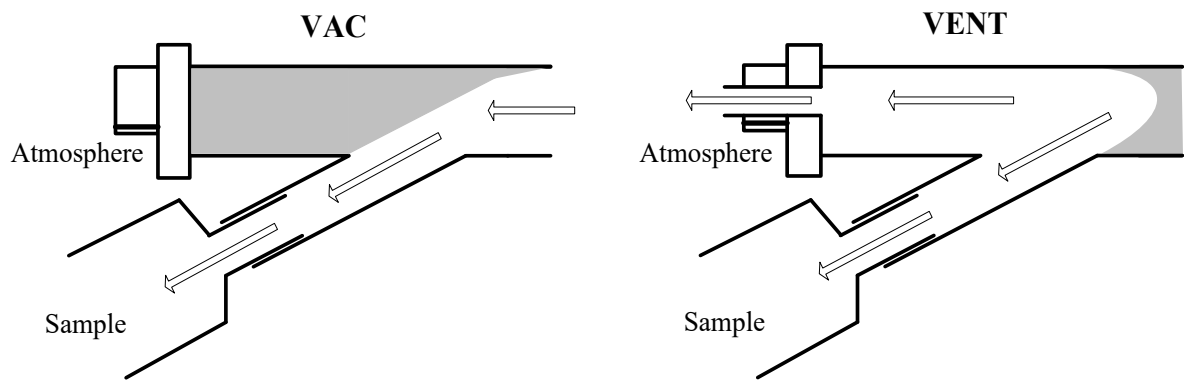


Fig. 3.23 Conceptual diagram of freeze-drying



Fig. 3.24 Freeze drier

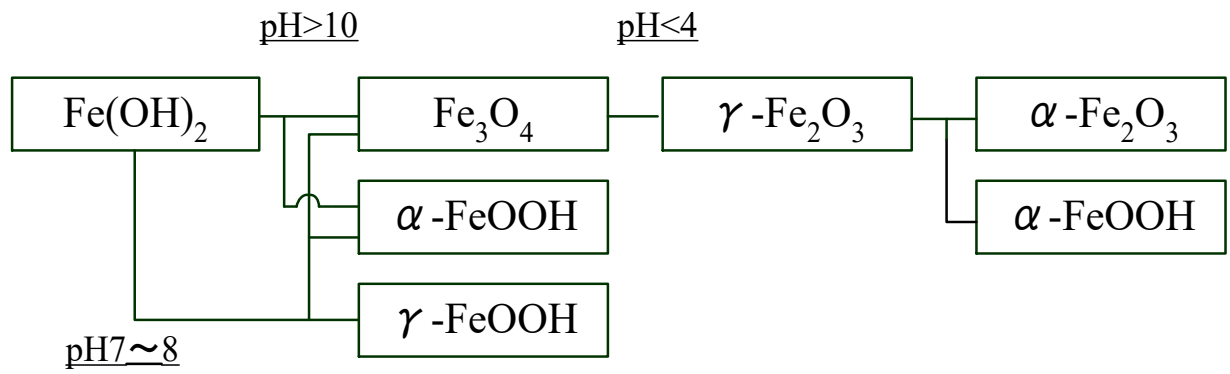


Fig. 3.25 Variation of iron hydroxide

4. 評価方法

4.1 PEG 誘導体及び PEG 化 PAA

プロトン核磁気共鳴分光法（以下 $^1\text{H-NMR}$ ）および赤外分光法（Infrared spectroscopy, 以下 IR）を用いて得られた試料の分析を行い、化学構造の推定を行った。以下に $^1\text{H-NMR}$ と IR について述べる。

4.1.1 プロトン核磁気共鳴分光法 ($^1\text{H-NMR}$)

NMR は静磁場中に晒された試料中の磁性を持つ原子核が、特定の高周波を吸収し共鳴を起こす現象を利用する。吸収シグナルの周波数をシグナルの強度に対してプロットすると NMR スペクトルが得られる。そして、分子中の核は化学的環境によって密度が変化する電子雲によって非常にわずかではあるが遮蔽されており、この遮蔽によって原子核の間に違いが生じるため吸収できる高周波の周波数は原子核により異なる。よって、この NMR スペクトルを解析することで化学構造の同定が可能となる。その為、NMR は有機化合物の同定において、中心的存在となる分析方法である。有機化合物の解析では ^1H 核の NMR スペクトルを測定する方法 ($^1\text{H-NMR}$) が最もよく用いられる。これは、 ^1H 核が $1/2$ のスピンをもつので磁性をもち、また、有機化合物には概ね ^1H が含まれており環境の異なるものも多いからである。つまり、 $^1\text{H-NMR}$ スペクトルからは、対象物質固有の ^1H 核の情報が得られる。

NMR スペクトルは縦軸にシグナル強度をとり、横軸は化学シフトと呼ばれる値をとる。化学シフトとは、ある特定の原子核の吸収位置と、基準となる原子核の吸収位置の差であり、共鳴周波数を外部から加えた周波数で除した値である。 $^1\text{H-NMR}$ では基準物質にテトラメチルシラン (Tetramethylsilane, 化学式 $\text{Si}(\text{CH}_3)_4$, 以下 TMS) がよく用いられる。また、外部から加えた周波数に対して共鳴周波数はおよそ 10^6 のオーダーで小さいため化学シフトの単位は通常 ppm が用いられる。すなわち、外部から加えた周波数が 300 [MHz] の場合 TMS のシグナルを 0 [ppm] とし、共鳴周波数が TMS から 300 [Hz] のところにあるシグナルは 1.00 [ppm] となる。Fig. 4.1 (a) に装置の概念図を示す。

本研究では重クロロホルム (CDCl_3) を溶媒に使い、500 [MHz] の核磁気共鳴にて測定を行った。また、装置は日本電子 (株) 製の JNM-ECZ500R (Fig. 4.1 (b)) を使用し、積算回数を 8 回とした。

4.1.2 赤外分光法 (IR)

フーリエ変換赤外分光光度計 (FT/IR-4100, Jasco 製 [Fig. 4.2 (a)]) を用いて試料の分析を行った。

共有結合をもつほとんどの化合物は赤外光を吸収する。IR はこの赤外領域の光の吸収を

測定することによって、分子の振動を観察し、有機化合物の分子構造を推定する手法である。物質を構成する分子中の原子団（官能基）は熱エネルギーによってたえず振動している。そのため、光が照射されると分子の他の部分の構造とは無関係に原子団の振動数と同一の振動数、またはそれに近い振動数の吸収帯を生じる。これらの特性的な吸収帯の位置は不変であるので得られた赤外スペクトルを解析することで試料の構造を解析することができる。

IR スペクトルは縦軸に透過度を取り、横軸は振動数を $[\text{cm}^{-1}]$ という波数で表す。測定領域は電熱線を赤外光源として $400 [\text{cm}^{-1}]$ から $4000 [\text{cm}^{-1}]$ の波数領域で測定可能である。

IR の測定では試料を薄くする必要があるので、液体試料の場合は岩塩板に試料を薄く塗って測定を行う。固体試料の場合は固体そのものの厚みを薄くすることができないので別の物質を加えて試料を薄めて測定を行う。固体試料の測定法はいくつか存在するが本研究では KBr 錠剤法を用いた。KBr 錠剤法は試料と KBr 結晶を乳鉢で粉末化して混合し、金属製の型に入れて圧縮し、錠剤を形成して測定する方法である。Fig. 4.2 (b), (c) に型および圧縮機を示す。また、Fig. 4.2 (d) に装置の模式図を示す。

4.2 PEG 化 PAA 被膜 MF

本研究で作製した PEG/PAA/MF を IR にて分析することにより，PEG/PAA/MF 中の PEG の化学結合状態を調査した．また，PEG/PAA/MF の磁気特性，結晶構造，コア粒子径およびコロイド粒子径は材料の作製条件により変化するものと考えられる．よって，各測定を行うことにより，各試料の特性挙動について調べ，合成条件との関係を明らかにし，合成条件による材料特性制御を評価した．

4.2.1 磁気測定

測定装置は試料振動型磁力計（Vibrating sample magnetometer（略称 VSM）：VSM-5，東英工業（株）製[Fig. 4.3 (a)]）を用いた．試料を一定の振動数で振動させることにより，試料の持つ磁気能率が空間的に振動し，それが検出コイル内で磁気能率に比例し，振動周波数と同一周波数の信号を誘起することを利用する．この装置は磁気能率を直接測定するので，外磁場は試料を磁化するためのみに用いられるのであって，残留磁気も測定できる．そのほかにも，比較的丈夫で扱いやすいこと，試料を固定して異方的な性質をはかれること，強い磁性から弱い磁性まで電気的な回路の調節のみで数桁の範囲をカバーできること等，多くの特徴を有している．

測定の前準備として凍結乾燥で得られた粉体をシリンダー型のサンプル容器に隙間なく詰め込み，試料の質量を測定する．Ni 標準試料（ $M_s=5.0 [\text{A} \cdot \text{m}^2/\text{kg}]$ ，東英工業（株）製）を用いて装置の校正を行った後，室温中で体試料の測定を行い，M-H 曲線を描く．最大印加磁場 1080～1140 [kA/m]付近における試料の飽和磁化値を求め，あらかじめ求めておいた質量で除することにより，単位質量あたりの飽和磁化を得る．Fig. 4.3 (b)に VSM の概念図を示す．

4.2.2 X 線回折解析による結晶構造の同定

粉末 X 線回折装置（Powder X-ray diffractometer（略称 XRD）：Ultima IV，リガク（株）製[Fig. 4.4 (a)]）を用いて本試料の定性分析を行った．測定に用いた試料は，凍結乾燥により得られた粉末試料である．X 線回折装置は単結晶または粉末試料による単色 X 線の回折角を変えながら回折線の強度を計数管で測定し，強度と角度を自動的に記録する装置である．封入管の X 線管を用い，スリットを組み合わせ，適当な開き角のビームをつくる．試料と計数管を連動するゴニオメーターが試料を Fig. 4.4 (b)のように角運動： ω で回転すると同時に計数管を 2ω で回転し，その回転軸と平行な線焦点を用いて，回折線を計数管の直前で集める．これらの回折ピークからコア粒子の組成を定性的に求めることができる．試料水平型は試料を水平に設置して測定を行うことができ，従来の装置では測定が困難な試料も測定可能である．

4.2.3 コア粒子観察

(a) 観察装置

共沈法により作製した試料を電子顕微鏡観察し、その直径を求める。測定には透過型電子顕微鏡 (Transmission electron microscope (略称 TEM) : H-500, 日立 (株) 製[Fig. 4.5 (a)]および JEM-1011, 日本電子 (株) 製[Fig. 4.5(b)]) を用いた。電子顕微鏡用試料として試料溶液にフォ름バル膜張り銅メッシュを浸漬後、乾燥したものをを用いた。ゾルや沈殿などの粒子懸濁液を顕微鏡観察するときは、支持膜を張ったメッシュ上によく攪拌した試料懸濁液を一滴乗せて乾燥する。そのときに予め減圧濃縮により適当な粒子濃度にしておく必要がある。また、粒子同士の凝集を防ぐために超音波振動装置による分散を行うほか、乾燥時における凝集を防ぐために凍結乾燥することもある。Fig. 4.5 (c)に TEM の構造を示す。

(b) 粒子径測定方法

透過型電子顕微鏡より得られた画像から Fig. 4.6 (d)のように各微粒子の粒子径を測定し、次式のように平均粒子径を算出した。n ≥ 10 とした。

$$d_i = \frac{a_i + b_i}{2} \quad \left(\begin{array}{l} a: \text{長軸径} \\ b: \text{短軸径} \end{array} \right)$$

$$\text{平均粒子径} \quad \bar{d} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n d_i$$

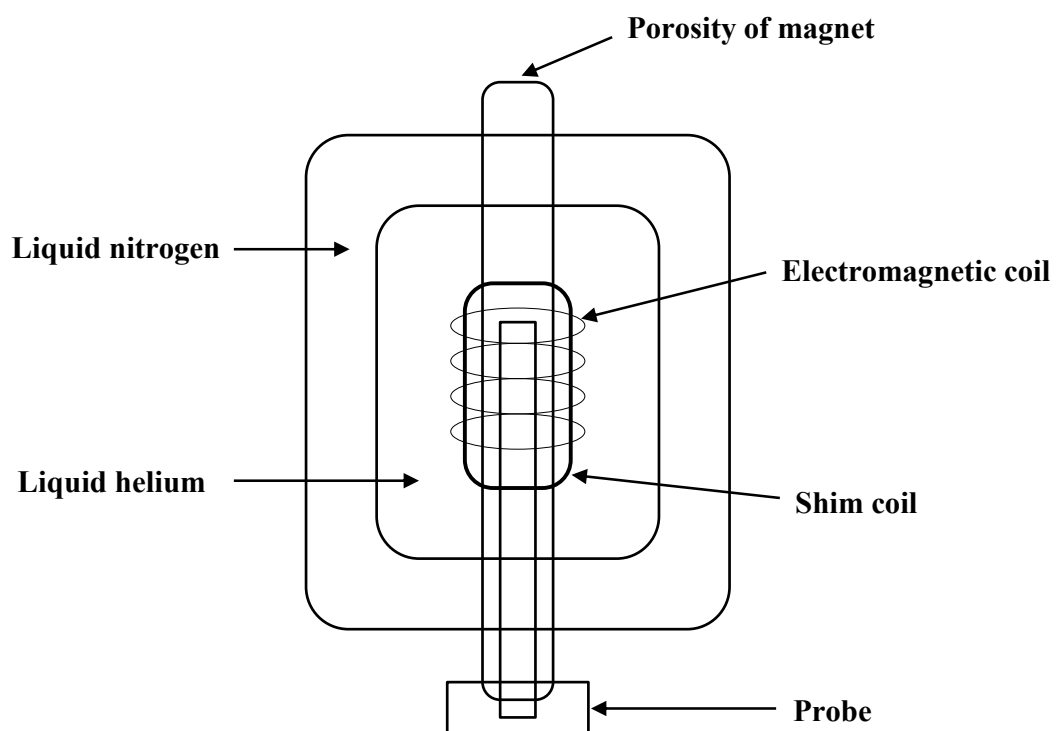


Fig. 4.1 (a) Conceptual diagram of NMR



Fig. 4.1 (b) NMR (JNM-ECZ500R)



Fig. 4.2 (a) IR (FT/IR-4100)

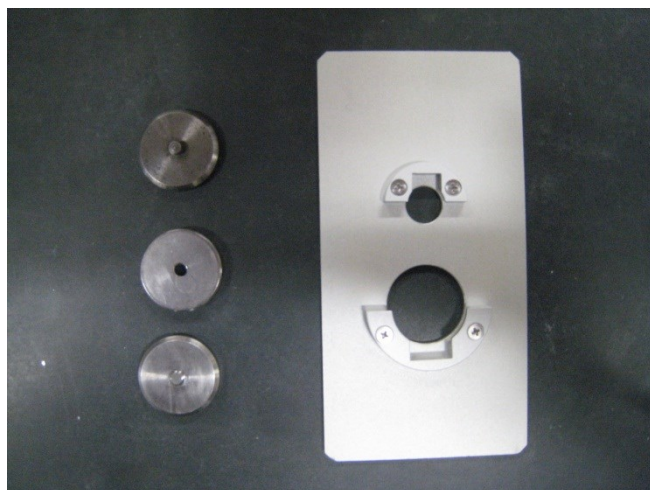


Fig. 4.2 (b) Mold of making pellet

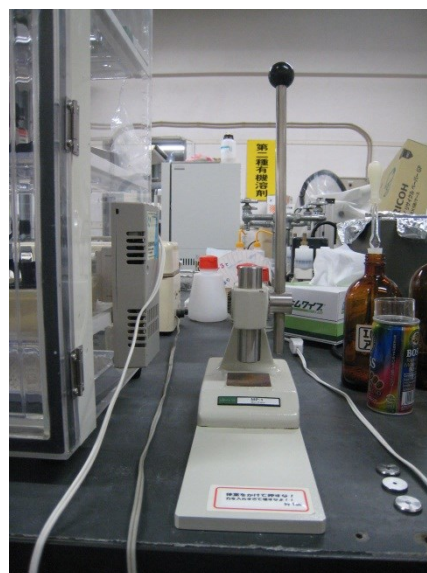


Fig. 4.2 (c) Compactor

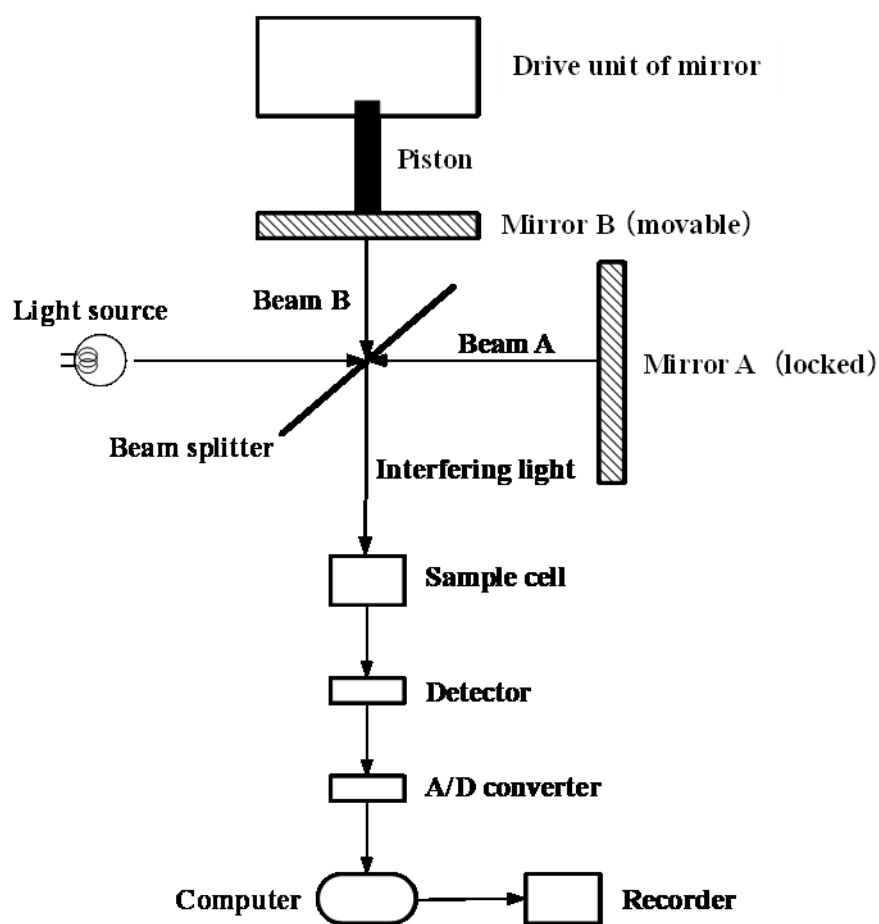


Fig. 4.2 (d) Conceptual diagram of IR



Fig. 4.3 (a) VSM (VSM-5)

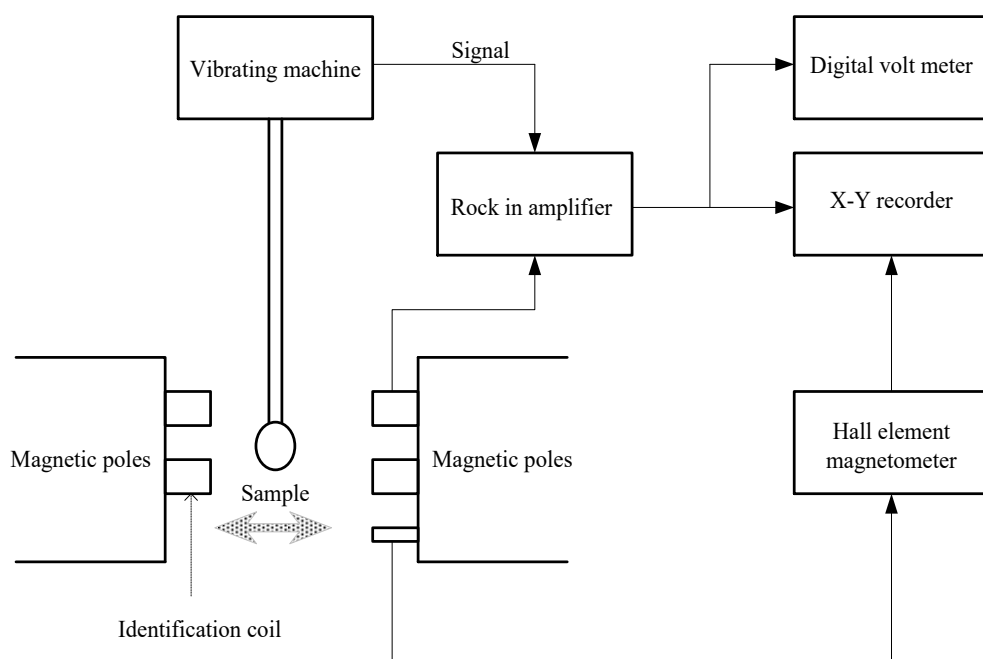


Fig. 4.3 (b) Conceptual diagram of VSM



Fig. 4.4 (a) Powder X-ray diffractometer (Ultima IV)

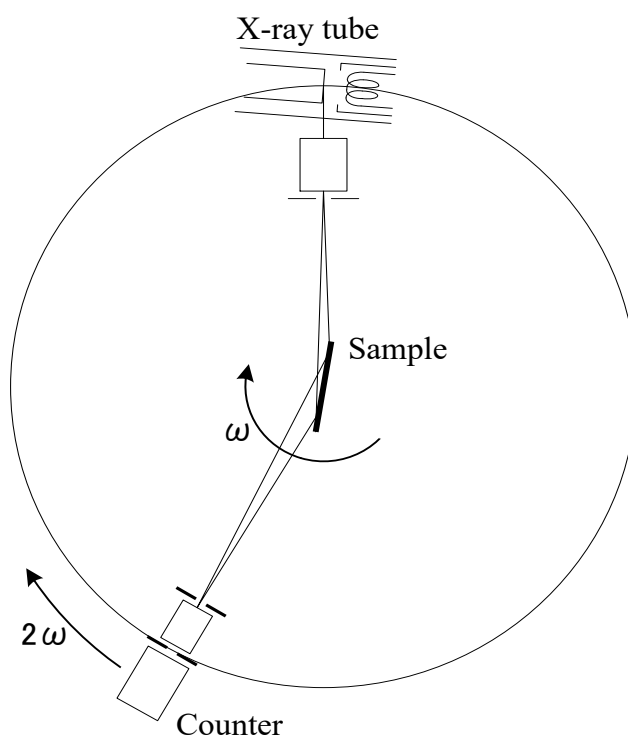


Fig. 4.4 (b) Diffraction of X-ray



Fig. 4.5 (a) TEM (H-500)



Fig. 4.5 (b) TEM (JEM-1011)

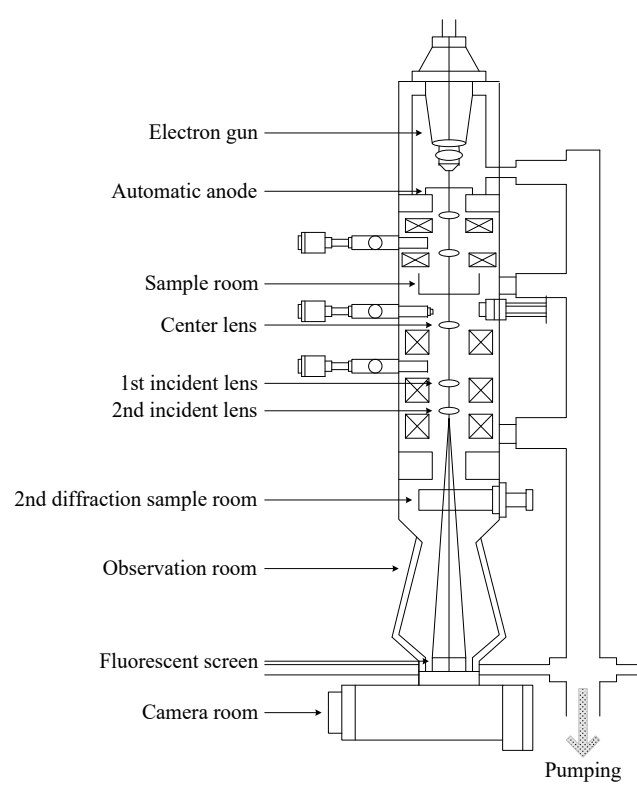


Fig. 4.5 (c) Conceptual diagram of TEM

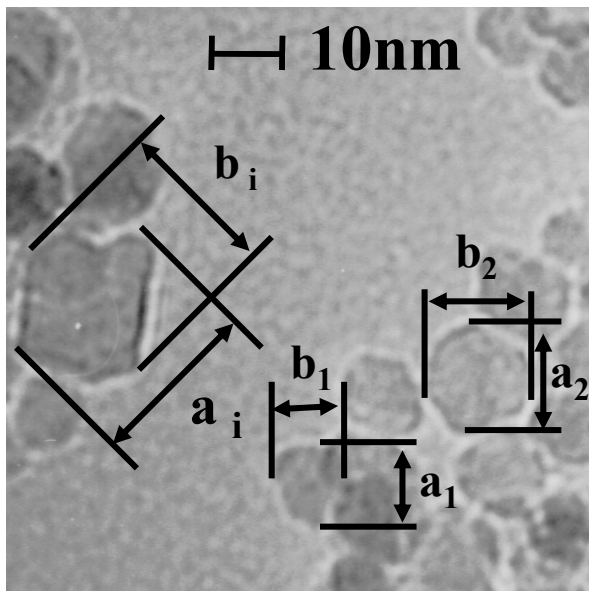


Fig. 4.5 (d) Measure of particle diameter

5. 結果

5.1 メトキシ PEG アミンの作製

PEG 誘導体の合成過程で試料の官能基が変化すると、得られる NMR や IR のスペクトルは変化する。そこで、各試料に対して ^1H -NMR や IR による測定を行い、それぞれを比較することにより、各試料の化学構造の推定を行った。

5.1.1 ^1H -NMR 測定

^1H -NMR スペクトルは縦軸がピーク強度を表し、横軸は化学シフトを表す。化学シフトとは 4.1.1 で述べたとおり測定試料中の ^1H の吸収位置と基準物質の ^1H の吸収位置との差である。吸収が起こりスペクトルにシグナルが現れる化学シフトの値は物質固有の値をとる。なお、0 [ppm]のシグナルを示す基準物質には TMS を用いた。

まず、分子量 550 および 2000 のメトキシ PEG の ^1H -NMR スペクトルを Fig. 5.1, Fig. 5.2 にそれぞれ示す。溶媒は CDCl_3 を用いた。両試料ともに $\delta=3.38$ [ppm]付近と $\delta=3.64$ [ppm]付近にピークが現れていることが分かる。分子量 550 のスペクトルでは $\delta=3.38$ [ppm]付近のシグナルと $\delta=3.64$ [ppm]付近のシグナルが現す ^1H の量比を積分値から算出した結果、末端のメチル基の数と繰り返し単位中のメチレン基 ($-\text{CH}_2-$) の数にほぼ等しくなったため、 $\delta=3.38$ [ppm]付近のシグナルは PEG 末端のメチル基のものであり、 $\delta=3.64$ [ppm]付近のシグナルは PEG 繰り返し単位中のメチレン基のものであると推測される。分子量 2000 のスペクトルでも同様の結果となり、 $\delta=3.38$ [ppm], $\delta=3.64$ [ppm]のシグナルが現す官能基は分子量 550 のものと同様であると思われる。これら二種類がメトキシ PEG の特徴を表すシグナルとなる。なお、 $\delta=7.26$ [ppm]付近の高いシグナルは重溶媒 CDCl_3 中の残留 ^1H によるシグナルであるためメトキシ PEG に関するシグナルではない。

次に、分子量 550 および 2000 のメトキシ PEG を TsCl と反応させた試料の ^1H -NMR スペクトルを Fig. 5.3, Fig. 5.4 にそれぞれ示す。これらの試料を試料 PEG-TsCl-550 および試料 PEG-TsCl-2000 とする。両試料ともに $\delta=3.38$ [ppm], $\delta=3.64$ [ppm]付近にシグナルが検出された。これらは前述の通りメチル基とメチレン基にそれぞれ由来するシグナルである。また、両試料の $\delta=2.45$ [ppm], $\delta=7.35$ [ppm], $\delta=7.80$ [ppm]付近に新たなシグナルが検出された。これらは新たに導入したトシル基に由来するシグナル位置と酷似していた。すなわち、 $\delta=2.45$ [ppm]付近のシグナルはトシル基末端のメチル基由来の、 $\delta=7.35$ [ppm], $\delta=7.80$ [ppm]付近のシグナルはトシル基のベンゼン環由来のシグナルであると思われる。なお、 $\delta=7.20\sim 7.30$ [ppm]付近のシグナルは重溶媒 CDCl_3 中の残留 ^1H によるシグナルであるため得られた試料に関するシグナルではない。

次に、試料 PEG-TsCl-550 および試料 PEG-TsCl-2000 をフタルイミドカリウムと反応させ

た試料の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルを Fig. 5.5, Fig. 5.6 にそれぞれ示す. これらの試料を試料 PEG-P.P.-550 および試料 PEG-P.P.-2000 とする. 測定の際, 溶媒には CDCl_3 を用いた. 両試料ともに $\delta=3.38$ [ppm], $\delta=3.64$ [ppm] 付近にメチル基とメチレン基の存在を示すシグナルが検出された. また, PEG-P.P.-550 の $\delta=7.70\sim 8.10$ [ppm] 付近と, PEG-P.P.-2000 の $\delta=7.70$ [ppm], $\delta=7.83$ [ppm] 付近に新たなシグナルが検出された. これらは新たに導入したフタルイミド基に由来するシグナル位置と酷似していた. すなわち, これらのシグナルはフタルイミド基のベンゼン環由来のものであると思われる. さらに, Fig. 5.3, Fig. 5.4 のトシル化 PEG に検出された $\delta=2.45$ [ppm], $\delta=7.35$ [ppm], $\delta=7.80$ [ppm] 付近のシグナルが消失した.

最後に, 試料 PEG-P.P.-550 および試料 PEG-P.P.-2000 を $\text{H}_2\text{NNH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ と反応させた試料の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルを Fig. 5.7, Fig. 5.8 にそれぞれ示す. これらの試料を試料 PEG-Amine-550 および試料 PEG-Amine-2000 とする. 測定の際, 溶媒には CDCl_3 を用いた. 両試料ともに $\delta=3.38$ [ppm], $\delta=3.64$ [ppm] 付近にメチル基とメチレン基の存在を示すシグナルが検出された. また, 両試料の $\delta=2.87$ [ppm], $\delta=3.53$ [ppm] 付近にシグナルが検出された. これらはそれぞれ新たに導入したアミノ基に隣接するメチレン基とそのメチレン基に隣接するメチレン基由来のシグナルであると思われる. さらに, Fig. 5.5, Fig. 5.6 の PEG フタルイミドに検出された $\delta=7.70\sim 8.10$ [ppm] 付近のシグナルが消失した.

5.1.2 IR 測定

IR スペクトルは 4.1.2 で述べたとおり縦軸に赤外線透過度を取り, 横軸に波数 [cm^{-1}] をとる. このスペクトルの形状は複雑で人間の指紋のように物質固有の形状となり, 吸収が起こる波数や透過度を詳しく解析することで官能基や結合の種類など基本的な構造を解析することができる.

まず, 分子量 550 および 2000 のメトキシ PEG の IR スペクトルを Fig. 5.9, Fig. 5.10 にそれぞれ示す. 両試料ともに 1450 [cm^{-1}], 2900 [cm^{-1}] 付近に吸収がみられる. これは PEG の繰り返し単位中のメチレン基に由来する吸収である. また, 1100 [cm^{-1}] 付近にも吸収が見られる. これは PEG の繰り返し単位中のエーテル基由来の吸収である.

次に, PEG-TsCl-550 及び PEG-TsCl-2000 を Fig. 5.11, Fig. 5.12 に, PEG-P.P.-550 及び PEG-P.P.-2000 を Fig. 5.13, Fig. 5.14 に示す. 各試料において上述の通り, PEG の繰り返し単位中のメチレン基由来の吸収と, エーテル基由来の吸収がみられた. また, PEG-P.P.-550 及び PEG-P.P.-2000 においては 1700 [cm^{-1}] 付近に吸収がみられた. これは, フタルイミド基のカルボニル基 ($-\text{C}(=\text{O})-$) に由来する吸収である.

最後に, PEG-Amine-550 及び PEG-Amine-2000 の IR スペクトルを Fig. 5.15, Fig. 5.16 に示す. 両試料とも PEG の繰り返し単位中に由来する吸収がみられる. また, 1700 [cm^{-1}] 付近におけるカルボニル基由来の吸収が消失していた.

5.2 アミド PEG 化 PAA の作製

PAA と平均分子量 550, 2000 [g/mol] のメトキシ PEG アミンのアミド結合による合成にて得られた試料に対して IR による測定を行い、試料の化学構造の推定を行った。なお、3.4.1 にて述べたように PAA 中のカルボキシル基とメトキシ PEG アミン中のアミノ基の比率を 10:1 とした。

まず、Fig. 5.17 に PAA の IR スペクトルを示す。図より、3400 [cm⁻¹] 付近に広い吸収帯が見られる。これは、水酸基に由来する吸収である。さらに、1600 [cm⁻¹] から 1700 [cm⁻¹] 付近にカルボキシル基に由来する吸収がみられる。

次に、Fig. 5.18 に PEG 化した平均分子量 550 [g/mol] の PAA（以下 PEG550/PAA）を、Fig. 5.19 に PEG 化した平均分子量 2000 [g/mol] の PAA（以下 PEG2000/PAA）を示す。図より、PEG550/PAA と PEG2000/PAA 共に、PAA と同様の水酸基（3400 [cm⁻¹] 付近）およびカルボキシル基（1640 [cm⁻¹] 付近）に由来する吸収がみられた。また、メトキシ PEG アミンにみられた 2900 [cm⁻¹] 付近の PEG 鎖中のメチレン基に由来する吸収と、1100 [cm⁻¹] 付近のエーテル基由来のピークが確認された。そして、両試料とも 1550 [cm⁻¹] 付近に新たな吸収がみられた。

5.3 PEG 化 PAA 被膜 MF の特性

先行研究より、糖被膜型 MF では糖が有する官能基が変化すると合成時の pH 雰囲気による飽和磁化値や、分散状態の変化に違いが生じる。本研究で作製する PEG/PAA/MF では、PAA の官能基が変化したアミド PEG 化 PAA を分散剤に用いている。そのため、PEG/PAA/MF では PAA を分散剤に用いた PAA/MF と比べ合成時の pH 雰囲気に対する影響が変化している可能性がある。

そこで、PEG/PAA/MF の合成時 pH 雰囲気を変化させた試料を作製し特性の変化を調査するとともに、通常の PAA/MF との比較を行った。なお、3.4.1 でも述べたように、アミド PEG 化 PAA は合成時に仕込んだ PAA 中のカルボキシル基とメトキシ PEG アミンの比率は 10:1 である。また、合成時温度は 3.4.3 でも述べたように 358[K]とした。

5.3.1 PEG 誘導体の結合状態の変化

PEG/PAA と、磁性流体に被膜させた場合の PEG/PAA/MF の結合状態を比較するために、PEG/PAA/MF を各 pH 雰囲気にて作製し、IR 測定を行った。PEG/PAA/MF を中性領域の pH=8 付近にて作製した試料の IR スペクトルを Fig. 5.20～Fig. 5.22 に示す。また、PEG/PAA/MF を高 pH 領域の pH=11 付近にて作製した試料の IR スペクトルを Fig. 5.23～Fig. 5.25 に示す。

(a) 中性領域での変化

まず、Fig. 5.20 に中性領域で作製した PEG550/PAA/MF（合成時 pH=8.16）の IR スペクトルを、Fig. 5.21 に PEG2000/PAA/MF（合成時 pH=8.64）、Fig. 5.22 に PEGmix/PAA/MF（合成時 pH=8.00）を示す。各試料の得られた IR スペクトルは分散剤に用いた PEG/PAA の IR スペクトルと概ね合致していたが、580 [cm⁻¹]付近と 1560 [cm⁻¹]付近に PEG/PAA では見られなかった新たな強い吸収が見られた。

(b) 高 pH 領域での変化

Fig. 5.23 に高 pH 領域で作製した PEG550/PAA/MF（合成時 pH=11.10）の IR スペクトルを、Fig. 5.24 に PEG2000/PAA/MF（合成時 pH=10.98）、Fig. 5.25 に PEGmix/PAA/MF（合成時 pH=11.02）を示す。各試料の得られた IR スペクトルは分散剤に用いた PEG/PAA の IR スペクトルと概ね合致していたが、580 [cm⁻¹]付近と 1560 [cm⁻¹]付近に PEG/PAA では見られなかった新たな強い吸収が見られた。

5.3.2 磁気特性の変化

PAA/MF と PEG/PAA/MF について中性領域の pH=8 付近、高 pH 領域の pH=11 付近にて作製した試料の磁化曲線をそれぞれ Fig. 5.26, Fig. 5.27 に示す。これらのグラフは横軸に印加磁場、縦軸に印加磁場を受けた時の試料の磁化値を示す。

(a) 中性領域での合成

Fig. 5.26 よりすべての試料で磁場を印加しても磁化値の顕著な上昇がみられず、最大印加

磁場でも飽和に達しなかった．よって，中性領域で作製した試料は磁化値が小さく，磁化されにくい傾向を示した．

(b) 高 pH 領域での合成

Fig. 5.27 より高 pH 領域で作製した試料において，すべての試料で超常磁性を示した．磁化値は中性領域と異なり，磁場を印加した直後から顕著に上昇し，最大印加磁場まで上昇を続けた．よって高 pH 領域で作製した試料は磁気ヒステリシスが殆どなく磁化されやすいことを示しており，磁化曲線の形状は軟磁性材料特有の磁気特性となった．

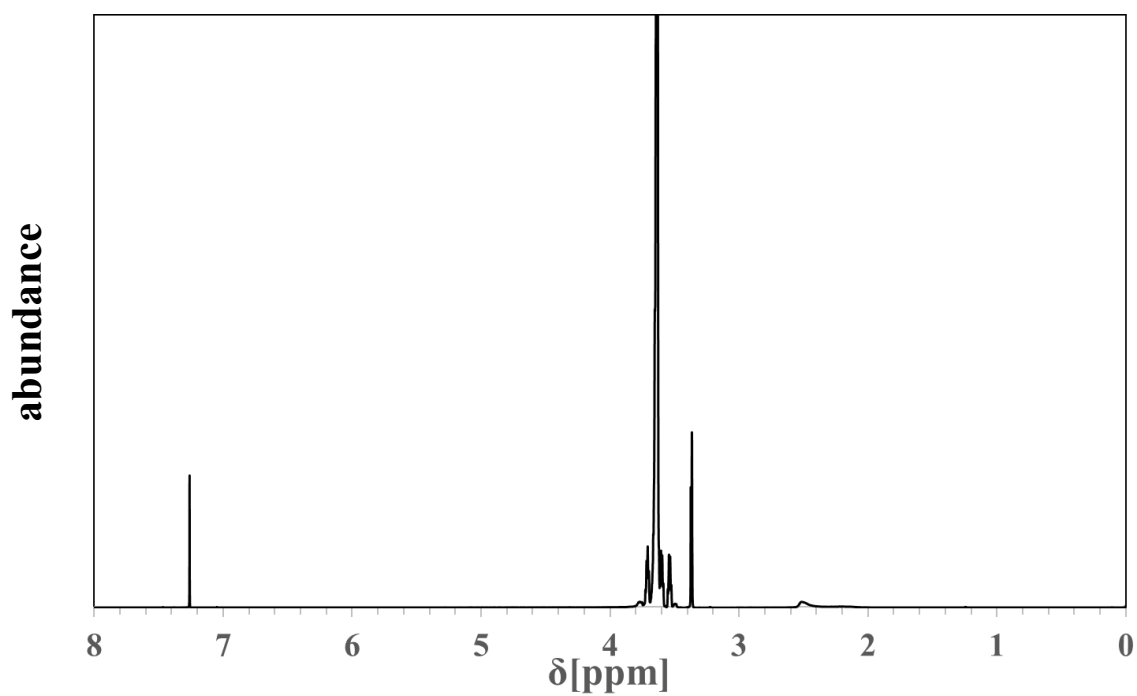


Fig. 5.1 ^1H -NMR spectrum of methoxy PEG (molecular weight : 550)
(Solvent : CDCl_3)

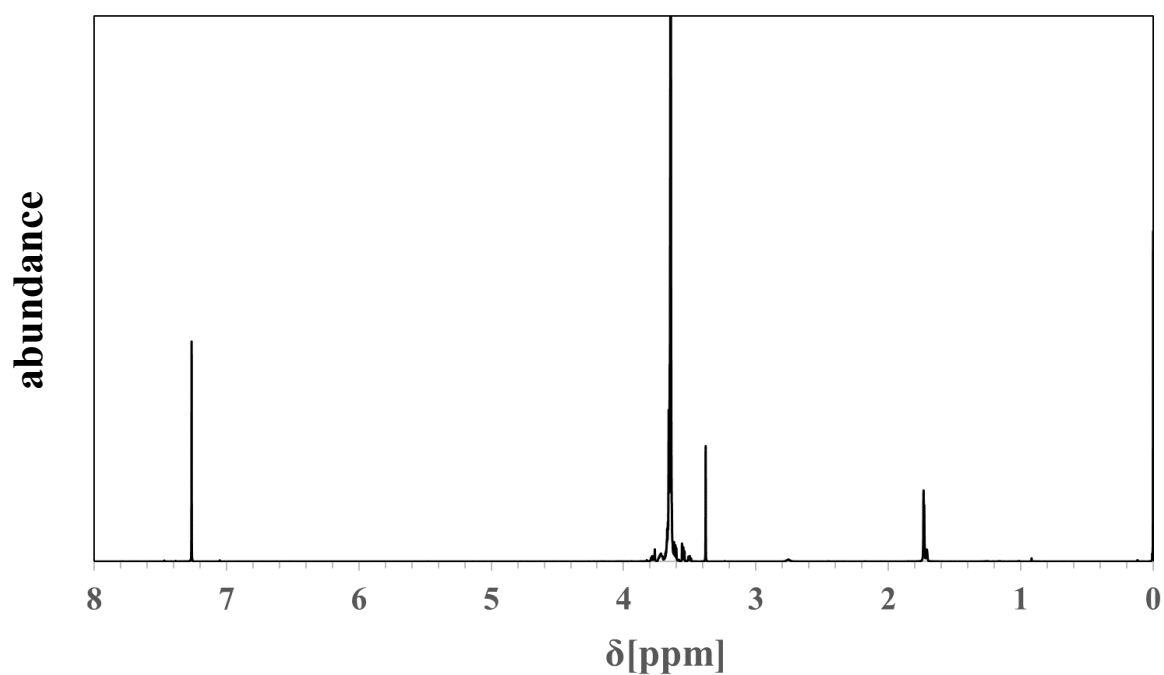
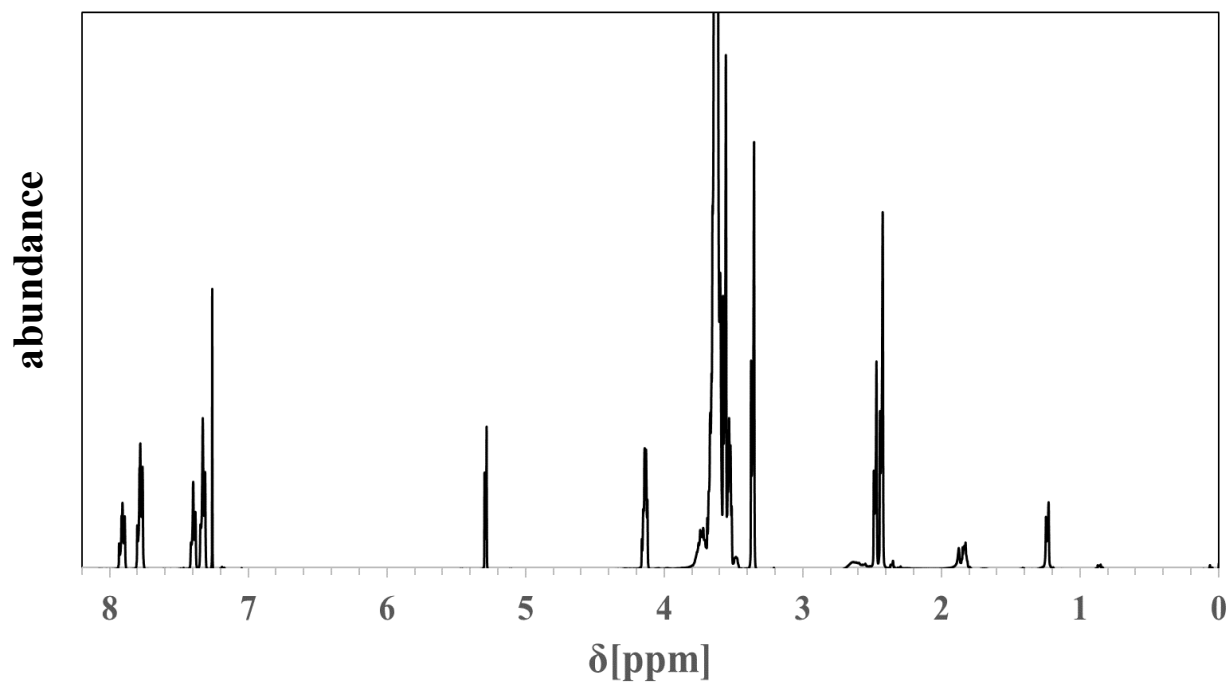
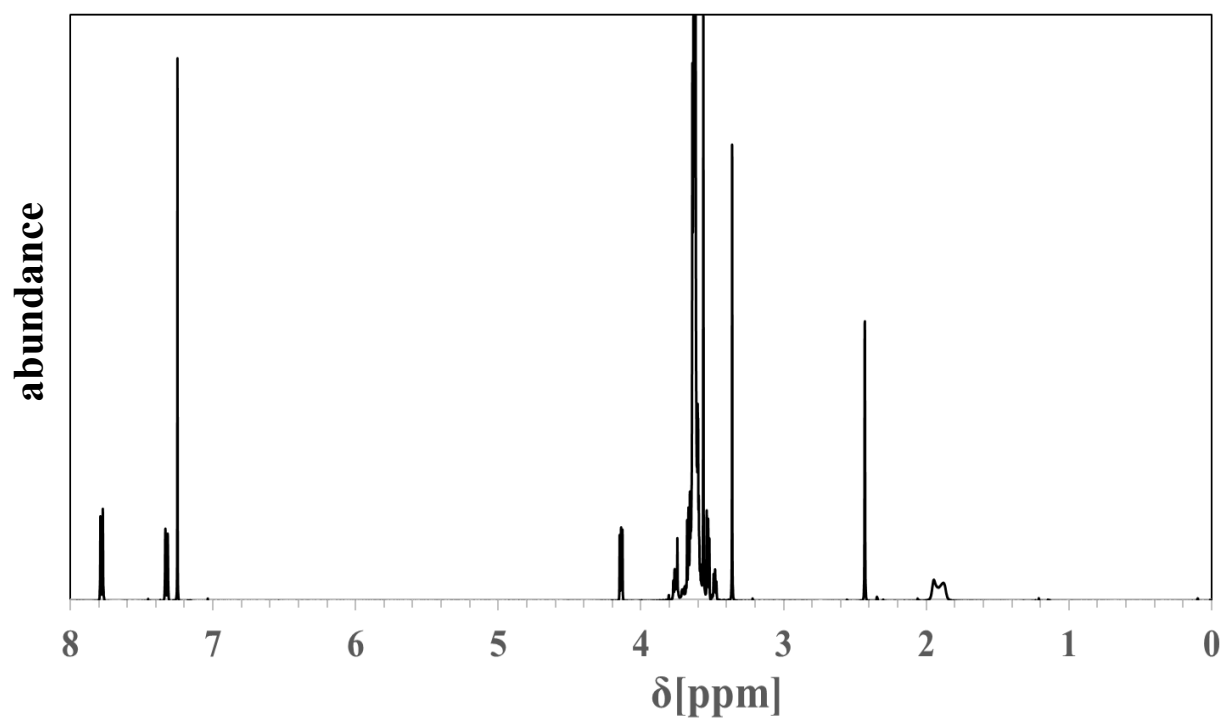


Fig. 5.2 ^1H -NMR spectrum of methoxy PEG (molecular weight : 2000)
(Solvent : CDCl_3)

Fig. 5.3 ^1H -NMR spectrum of sample PEG-TsCl-550 (Solvent : CDCl_3)Fig. 5.4 ^1H -NMR spectrum of sample PEG-TsCl-2000 (Solvent : CDCl_3)

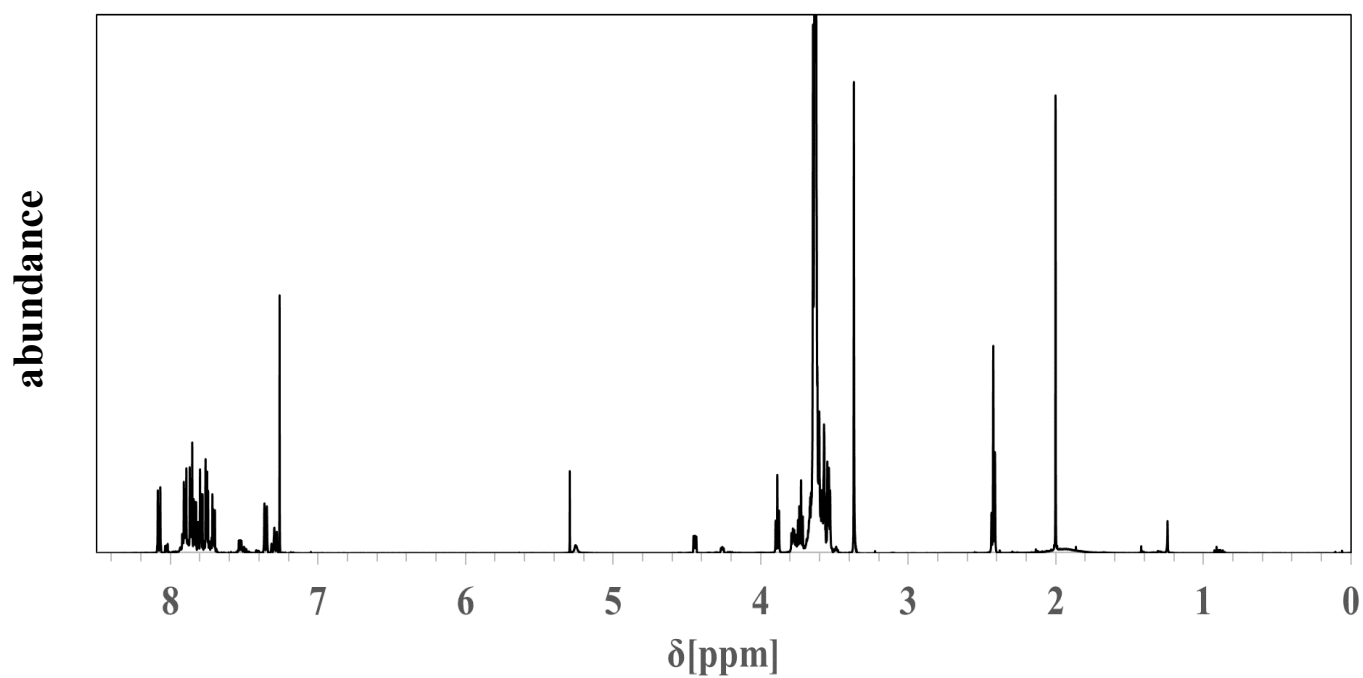


Fig. 5.5 ^1H -NMR spectrum of sample PEG-P.P.-550 (Solvent : CDCl_3)

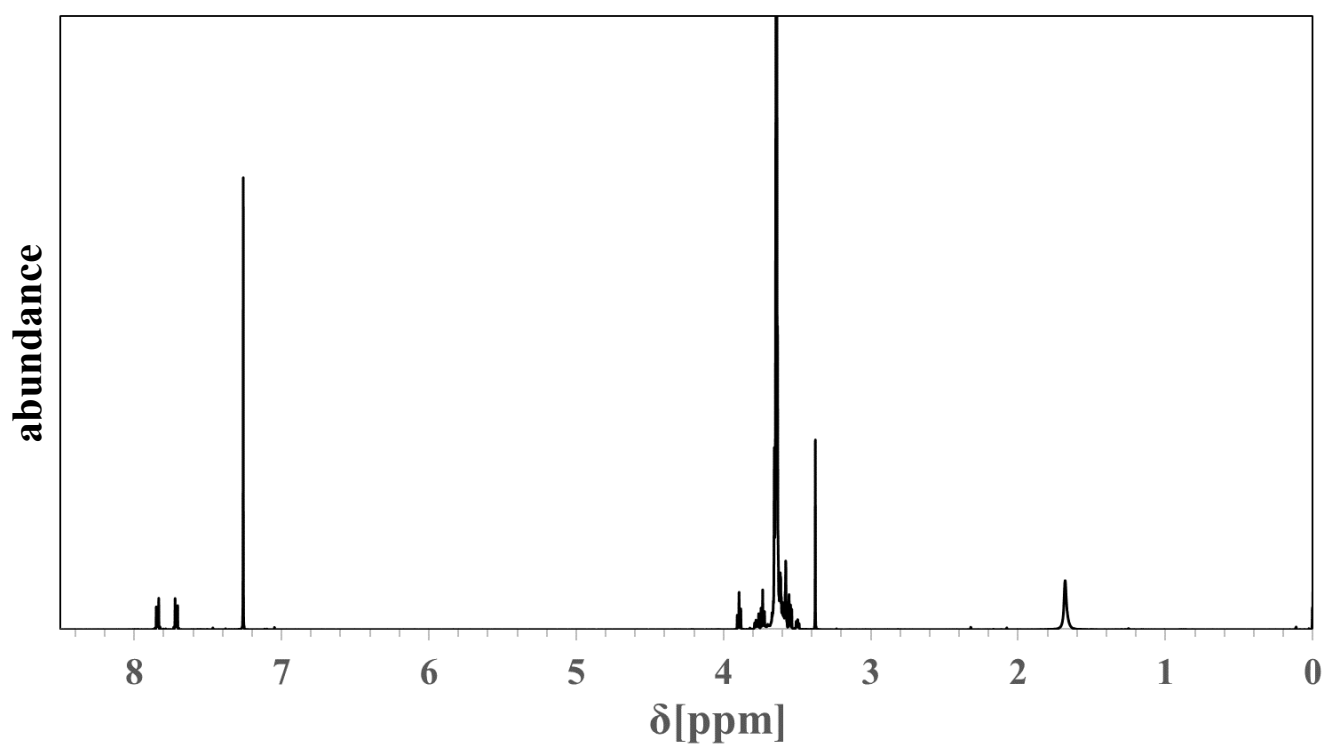
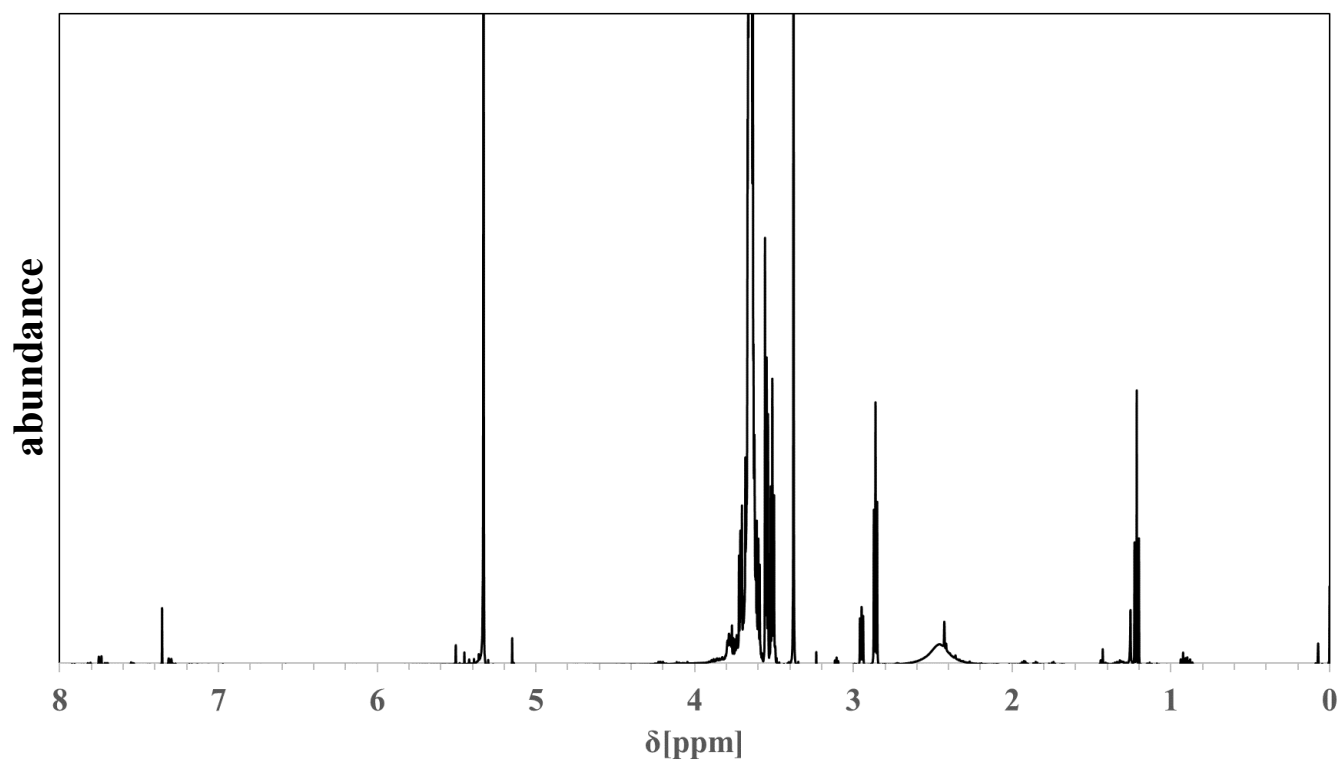
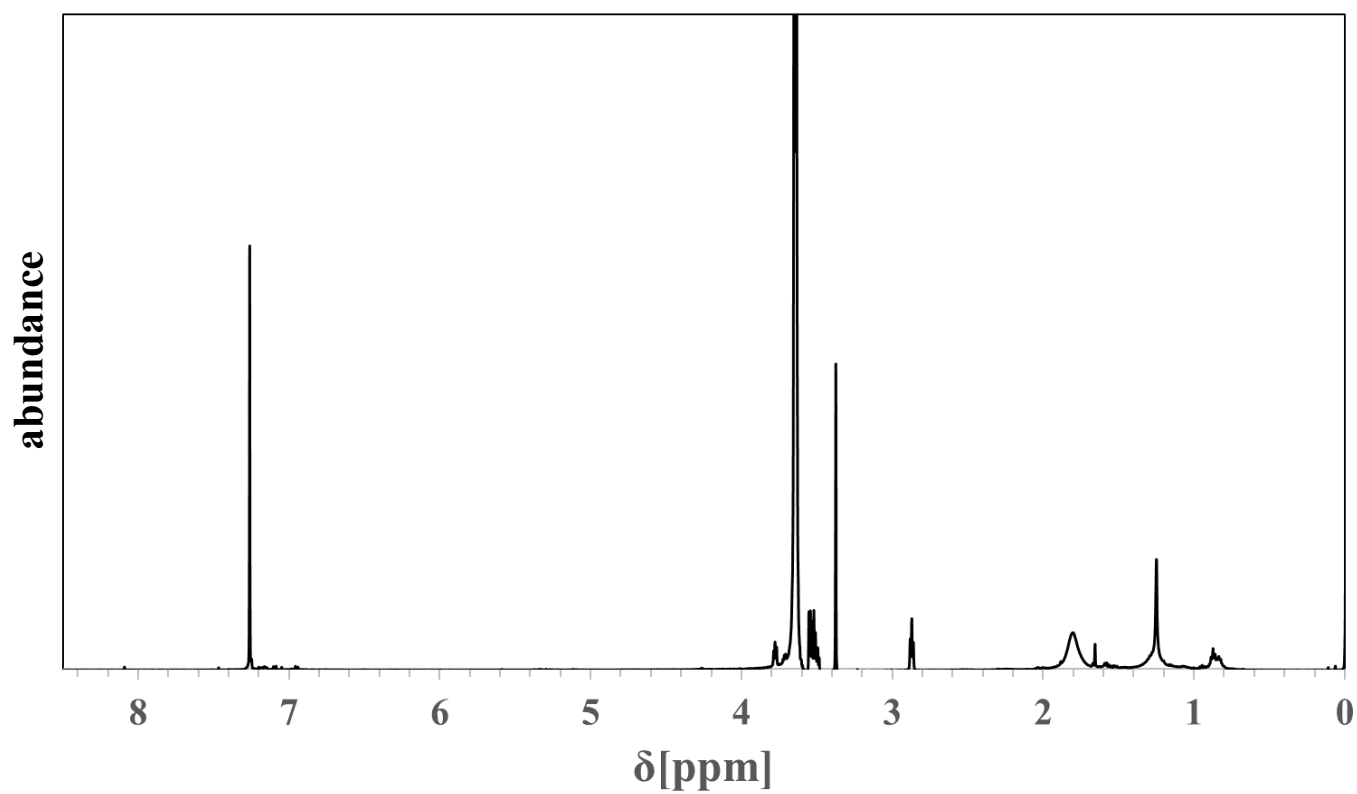


Fig. 5.6 ^1H -NMR spectrum of sample PEG-P.P.-2000 (Solvent : CDCl_3)

Fig. 5.7 ^1H -NMR spectrum of sample PEG-Amine-550 (Solvent : CDCl_3)Fig. 5.8 ^1H -NMR spectrum of sample PEG-Amine-2000 (Solvent : CDCl_3)

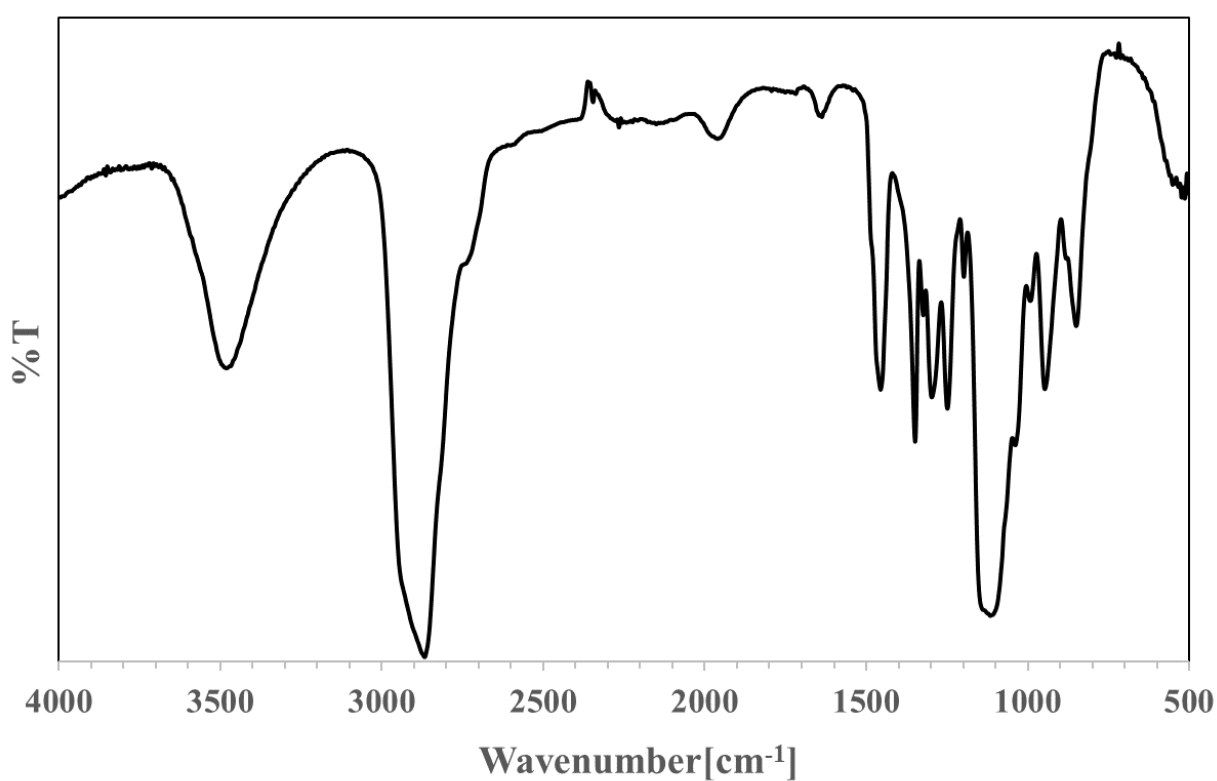


Fig. 5.9 IR spectrum of sample Methoxy PEG-550

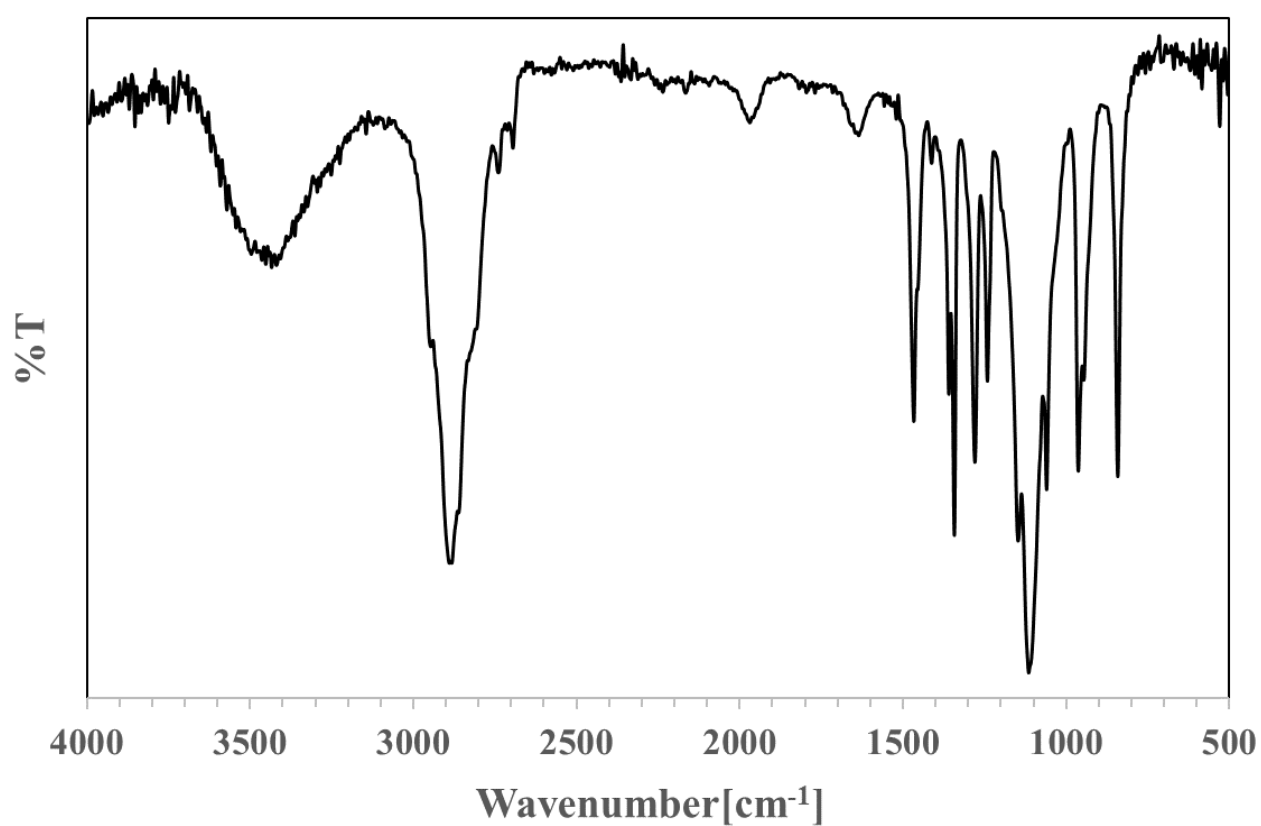


Fig. 5.10 IR spectrum of sample Methoxy PEG-2000

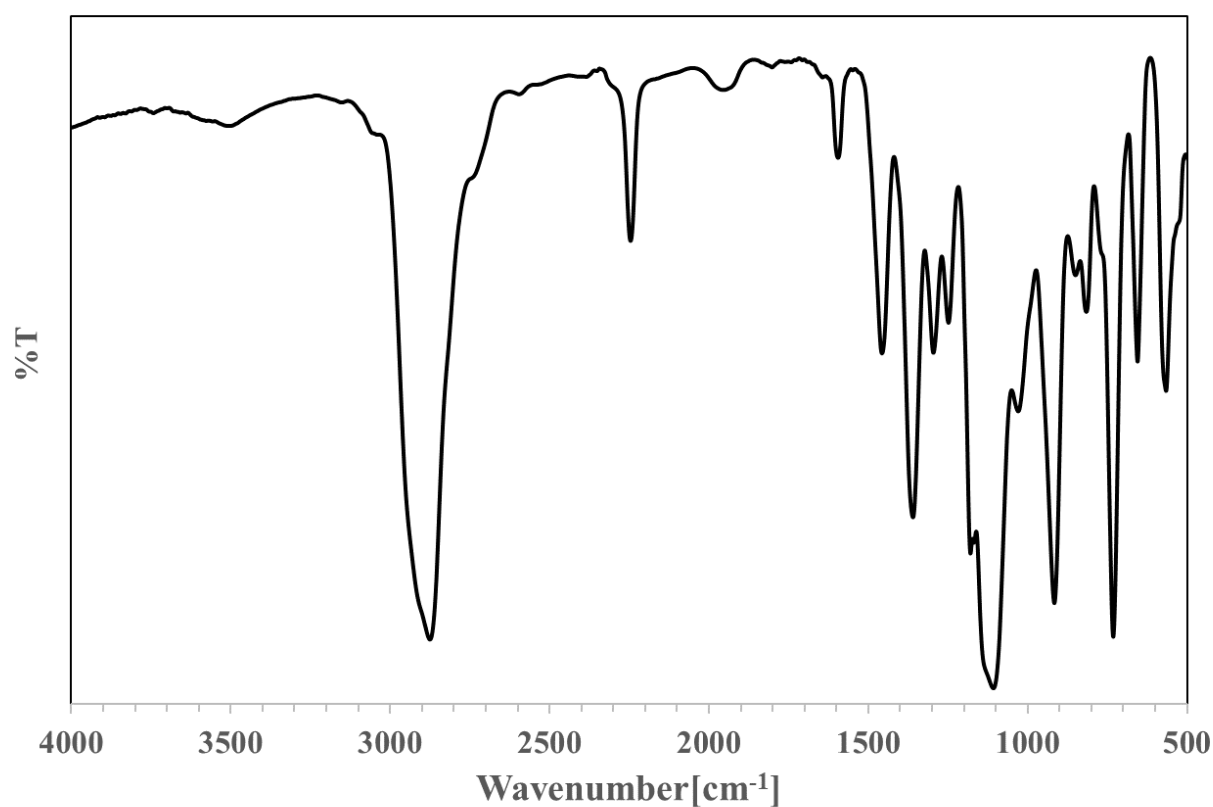


Fig. 5.11 IR spectrum of sample PEG-TsCl-550

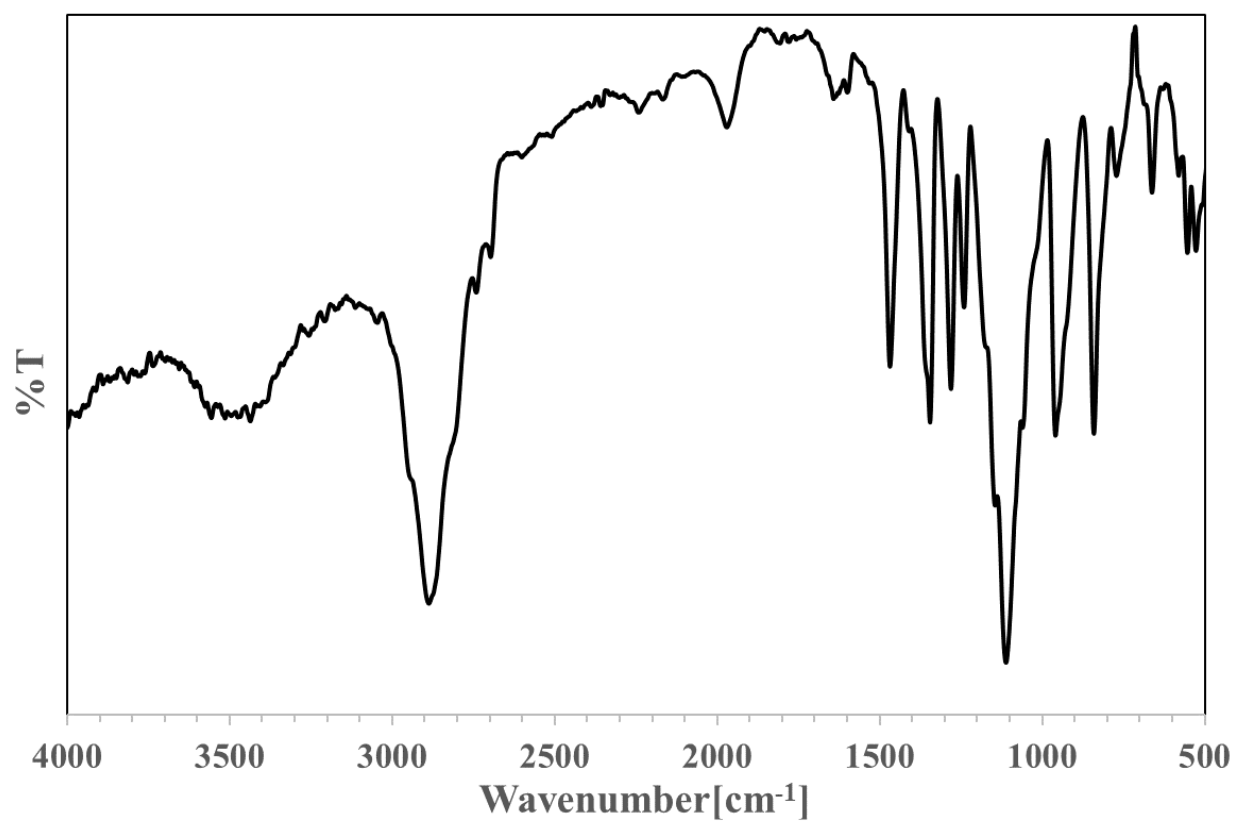


Fig. 5.12 IR spectrum of sample PEG-TsCl-2000

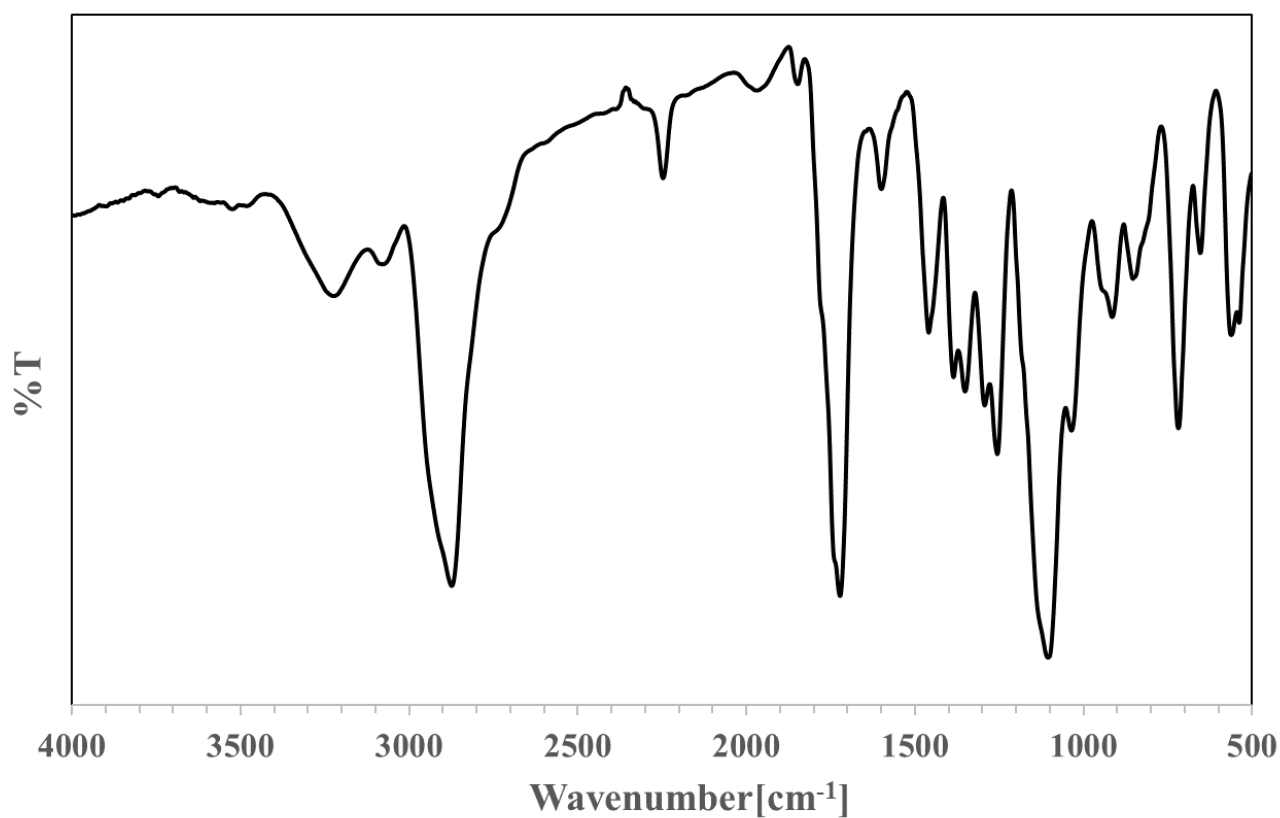


Fig. 5.13 IR spectrum of sample PEG-P.P.-550

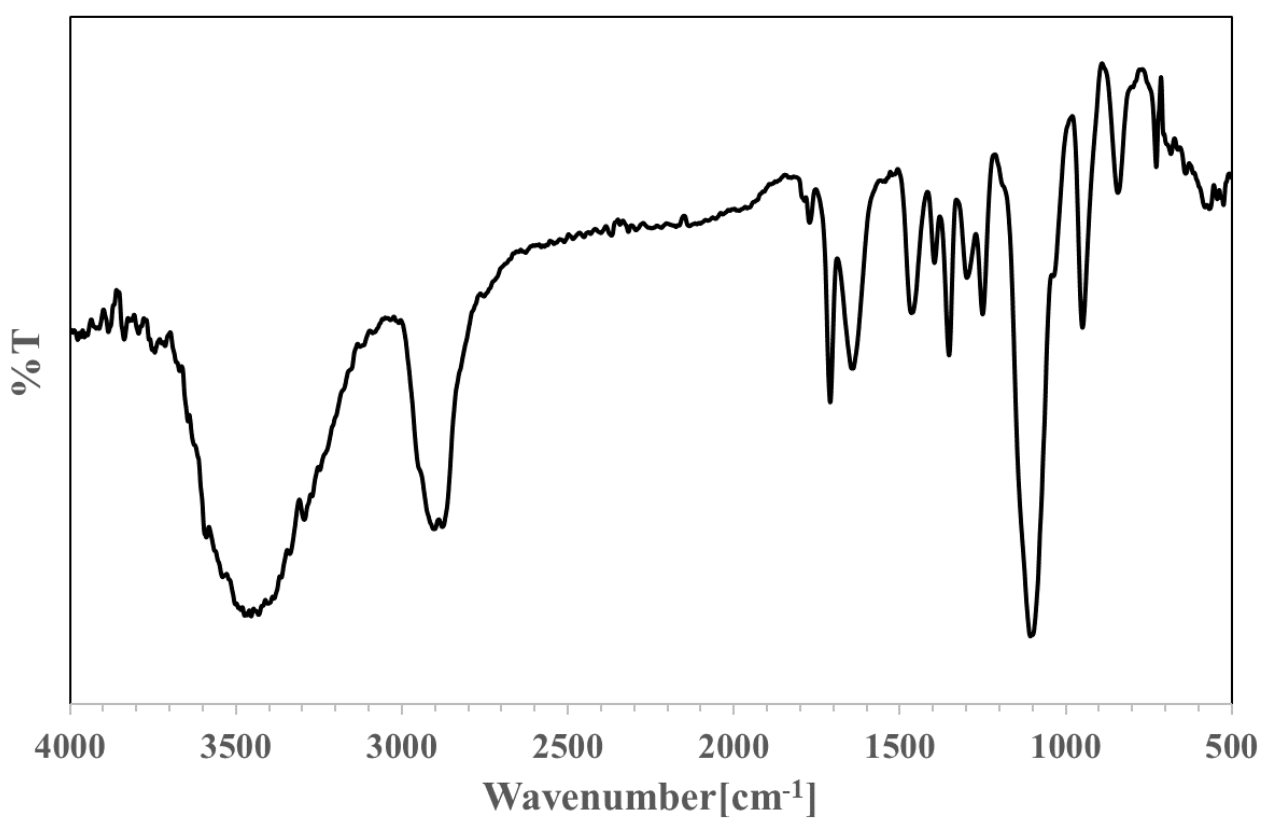


Fig. 5.14 IR spectrum of sample PEG-P.P.-2000

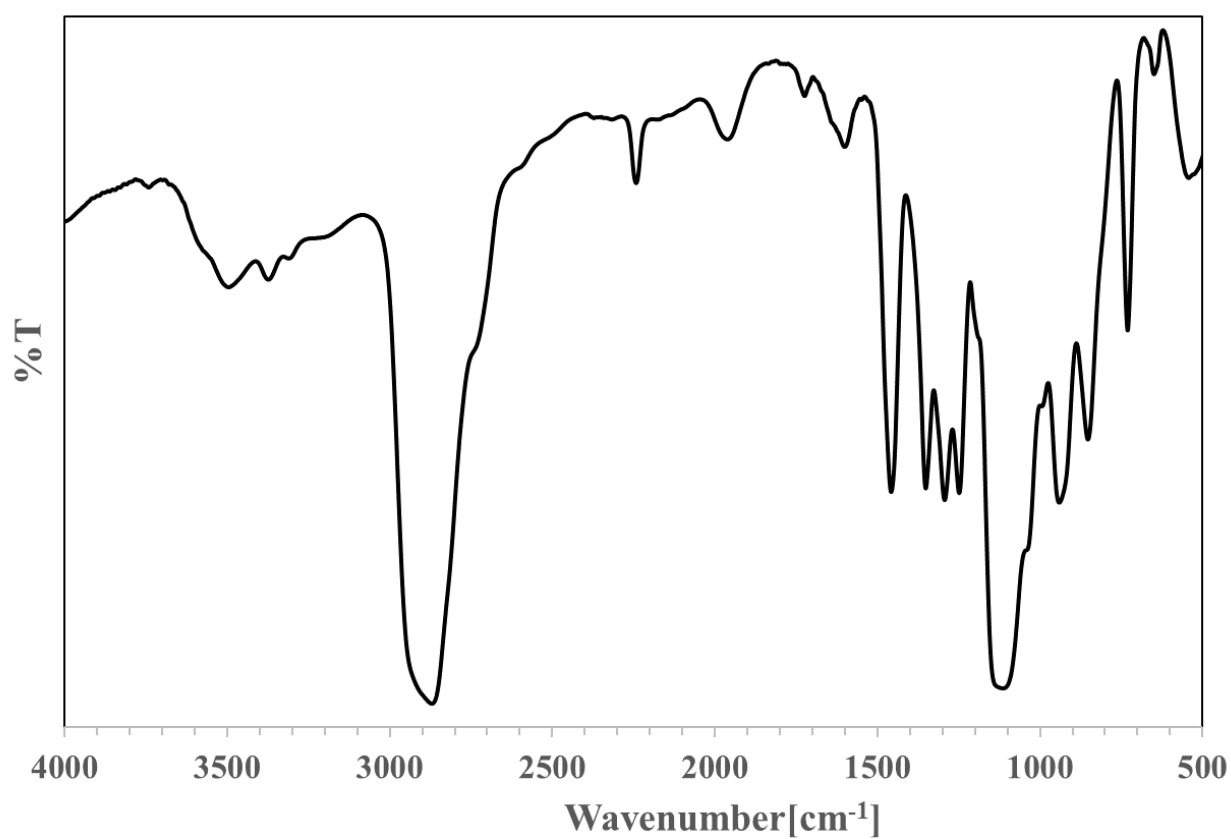


Fig. 5.15 IR spectrum of sample PEG-Amine-550

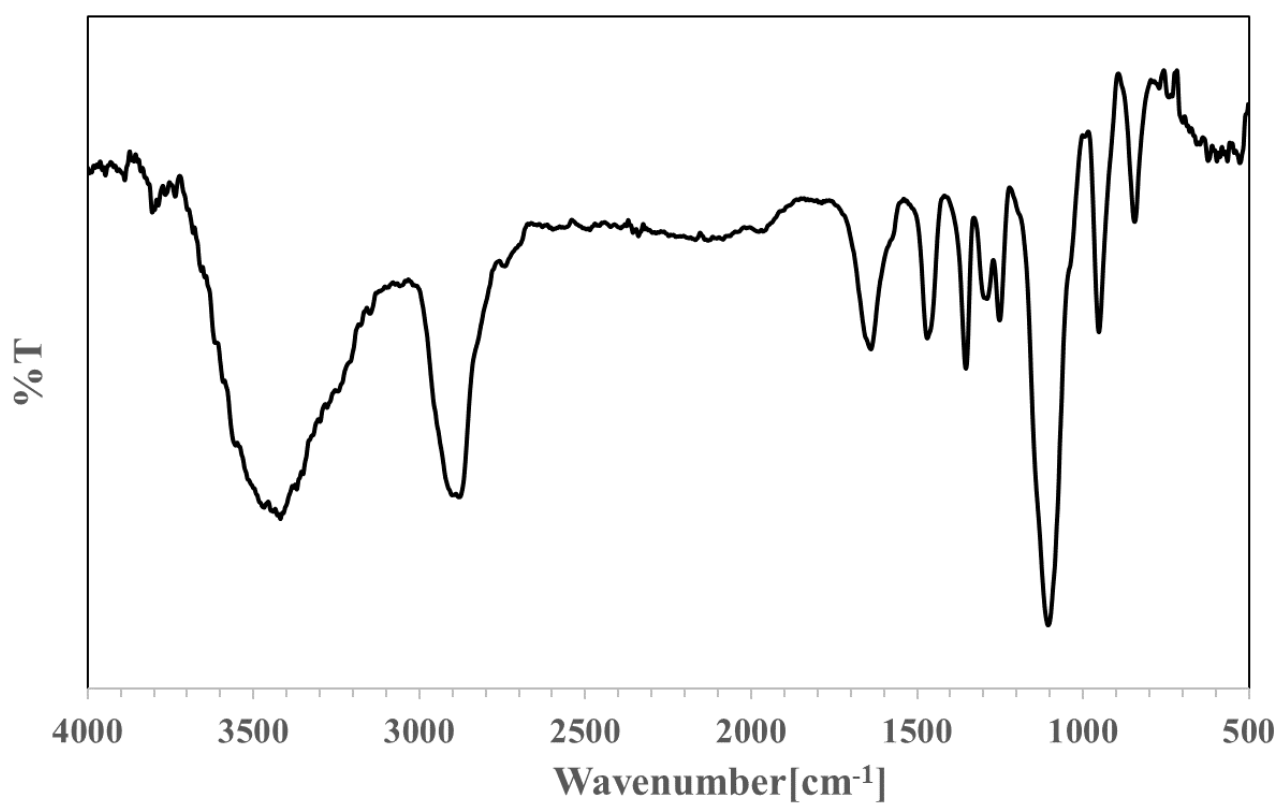


Fig. 5.16 IR spectrum of sample PEG-Amine-2000

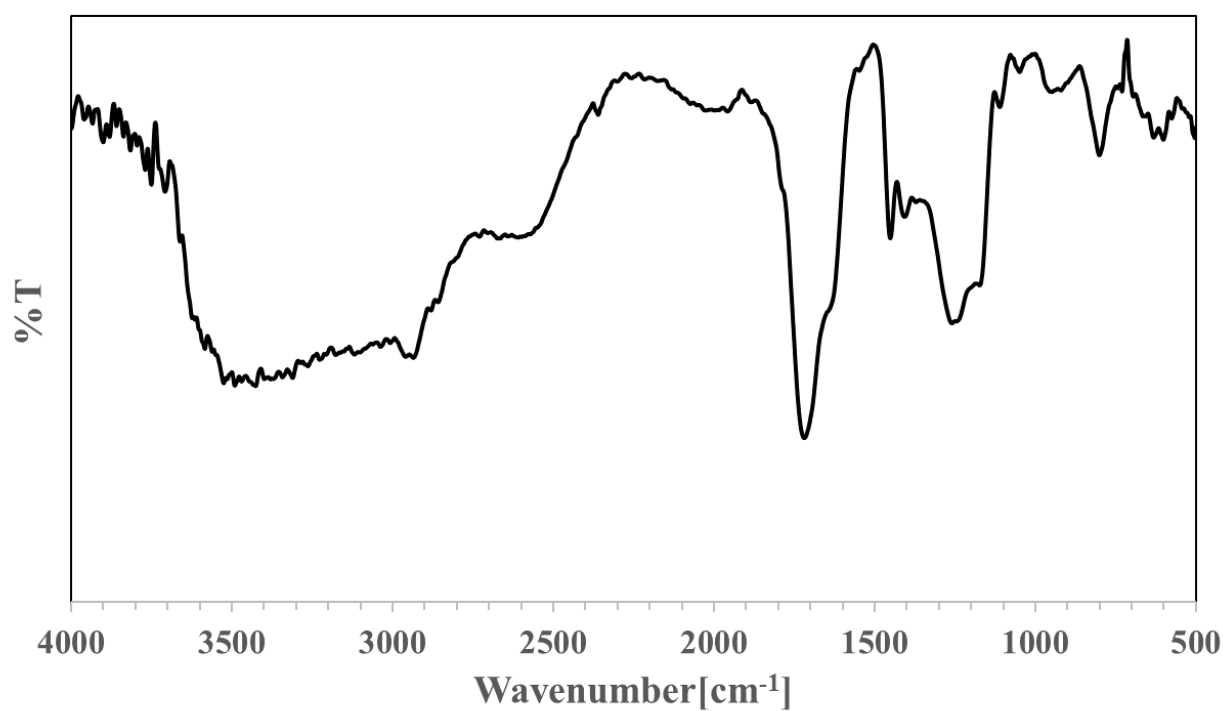


Fig. 5.17 IR spectrum of sample PAA

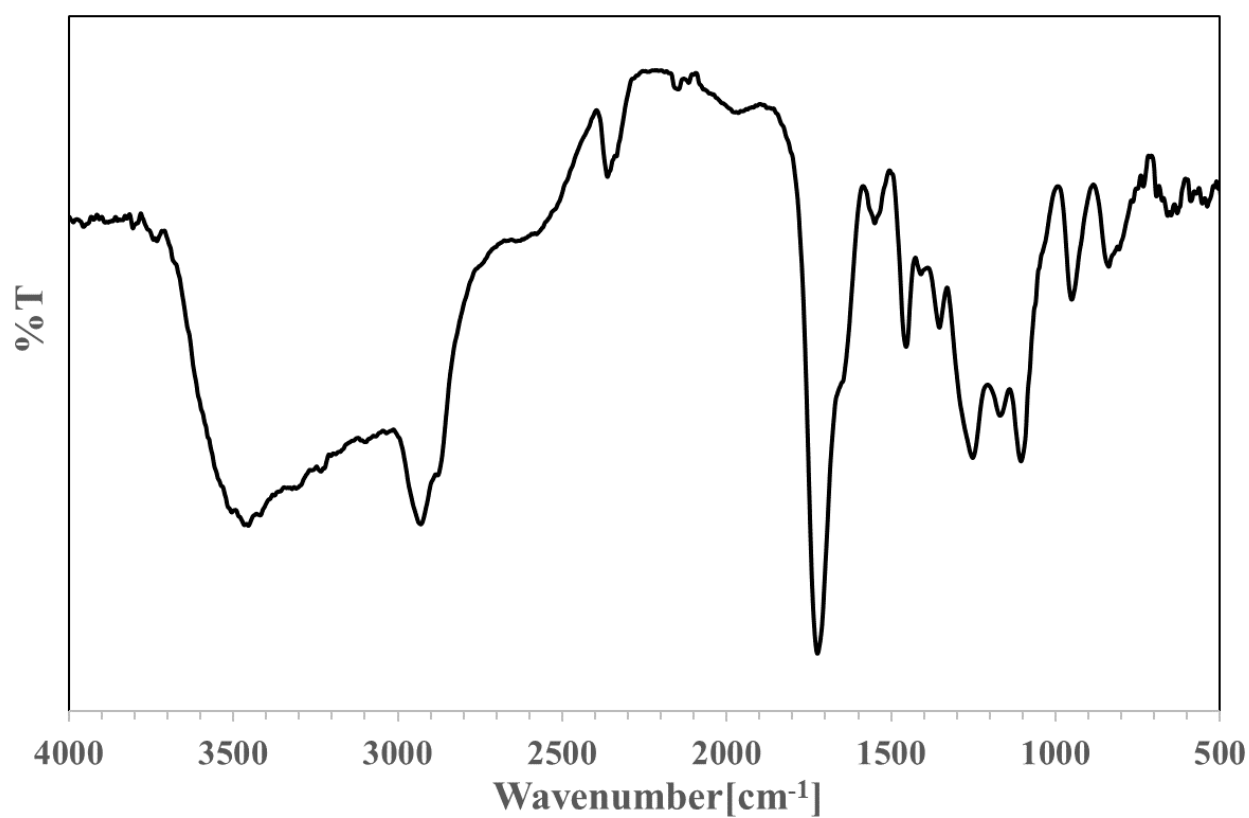


Fig. 5.18 IR spectrum of sample PEG550/PAA

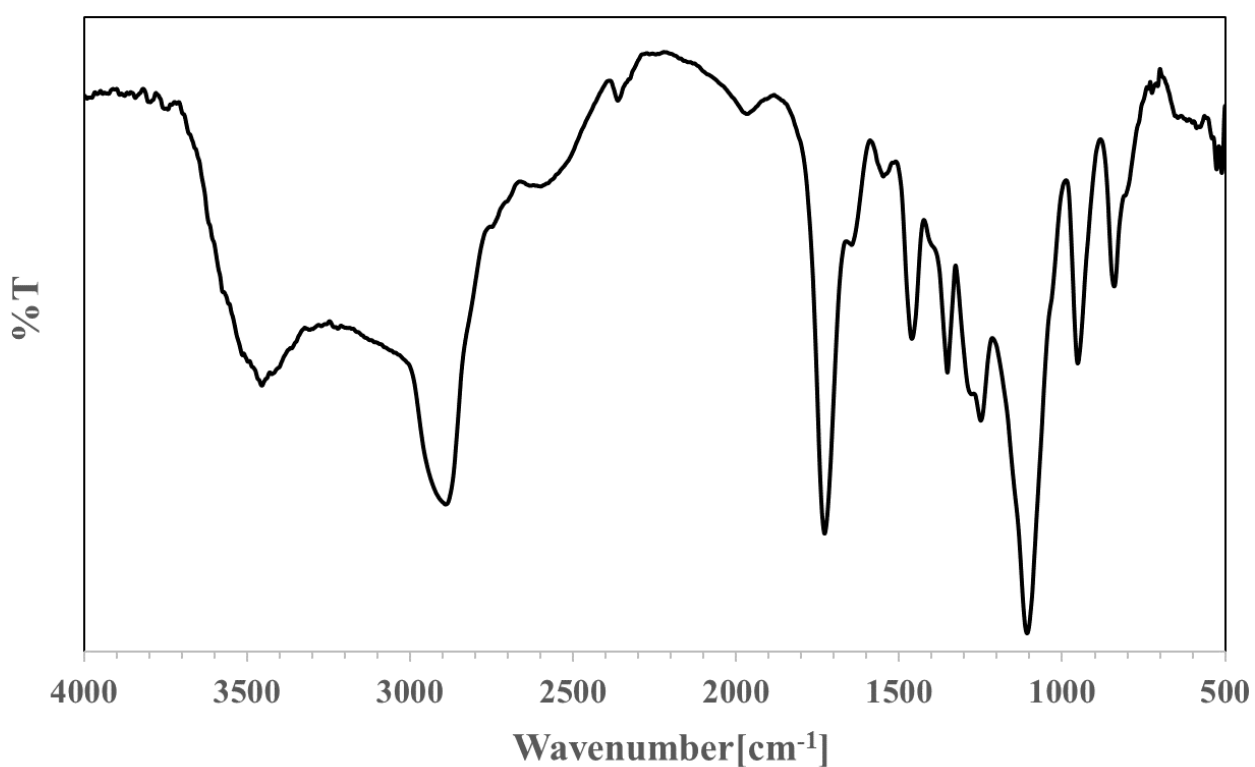


Fig. 5.19 IR spectrum of sample PEG2000/PAA

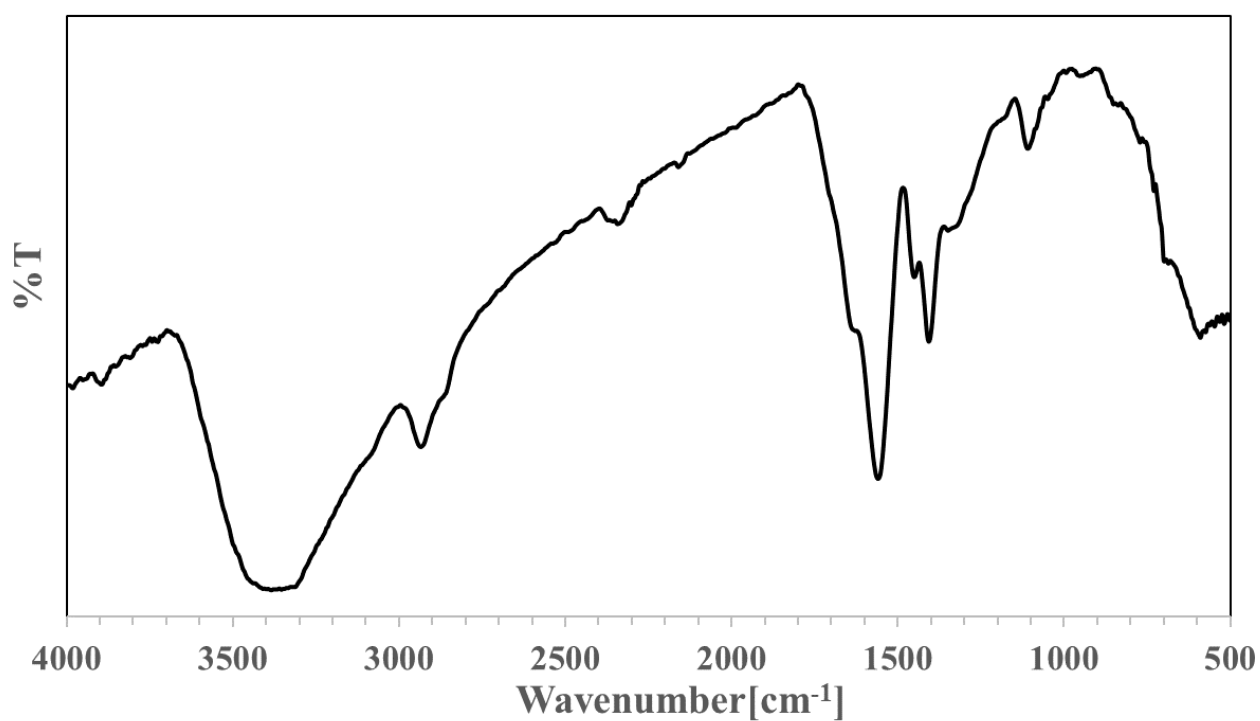


Fig. 5.20 IR spectrum of sample PEG550/PAA/MF(Synthesis pH=8.16)

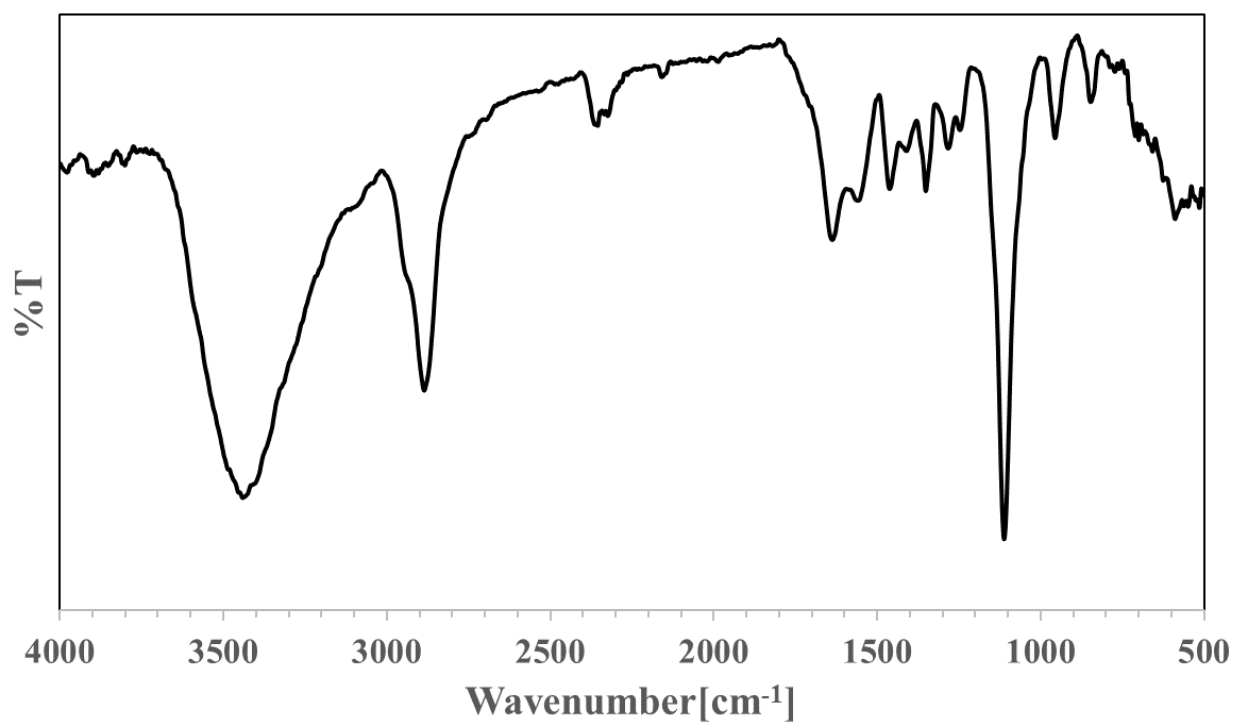


Fig. 5.21 IR spectrum of sample PEG2000/PAA/MF(Synthesis pH=8.64)

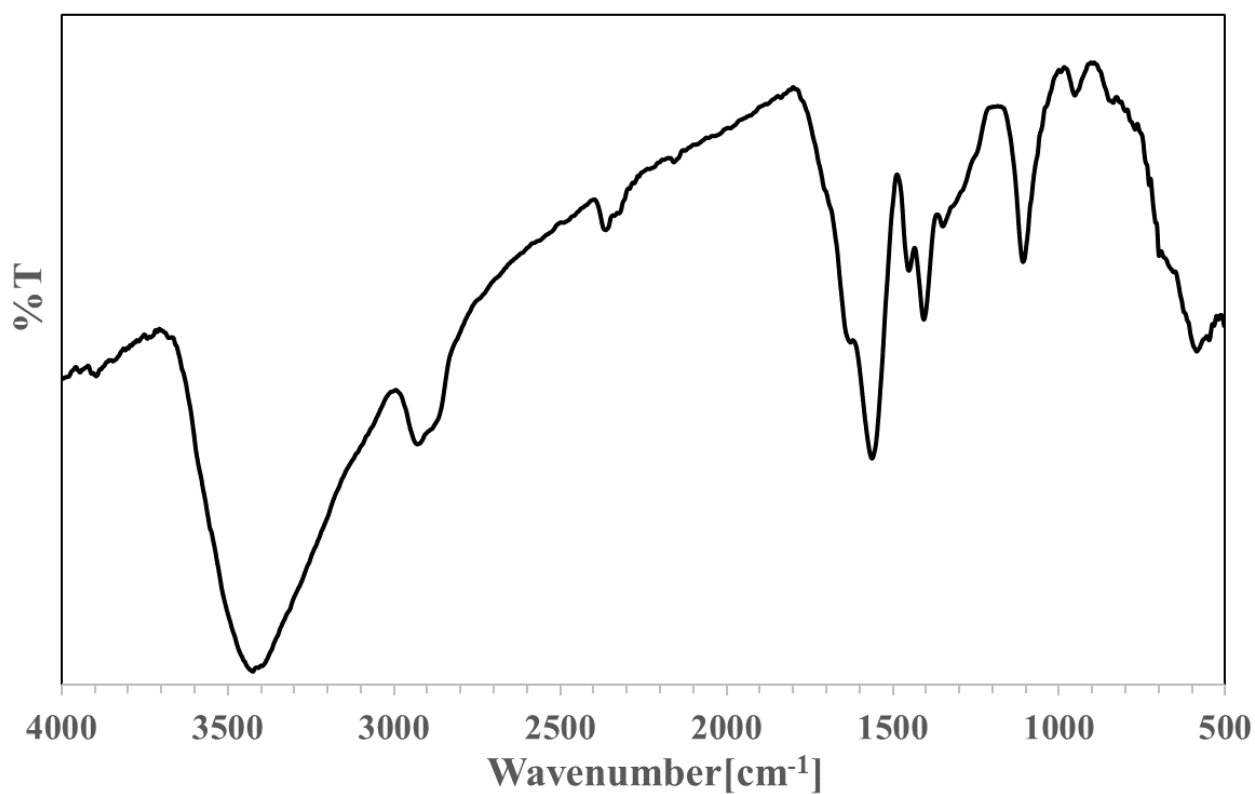


Fig. 5.22 IR spectrum of sample PEGmix/PAA/MF(Synthesis pH=8.00)

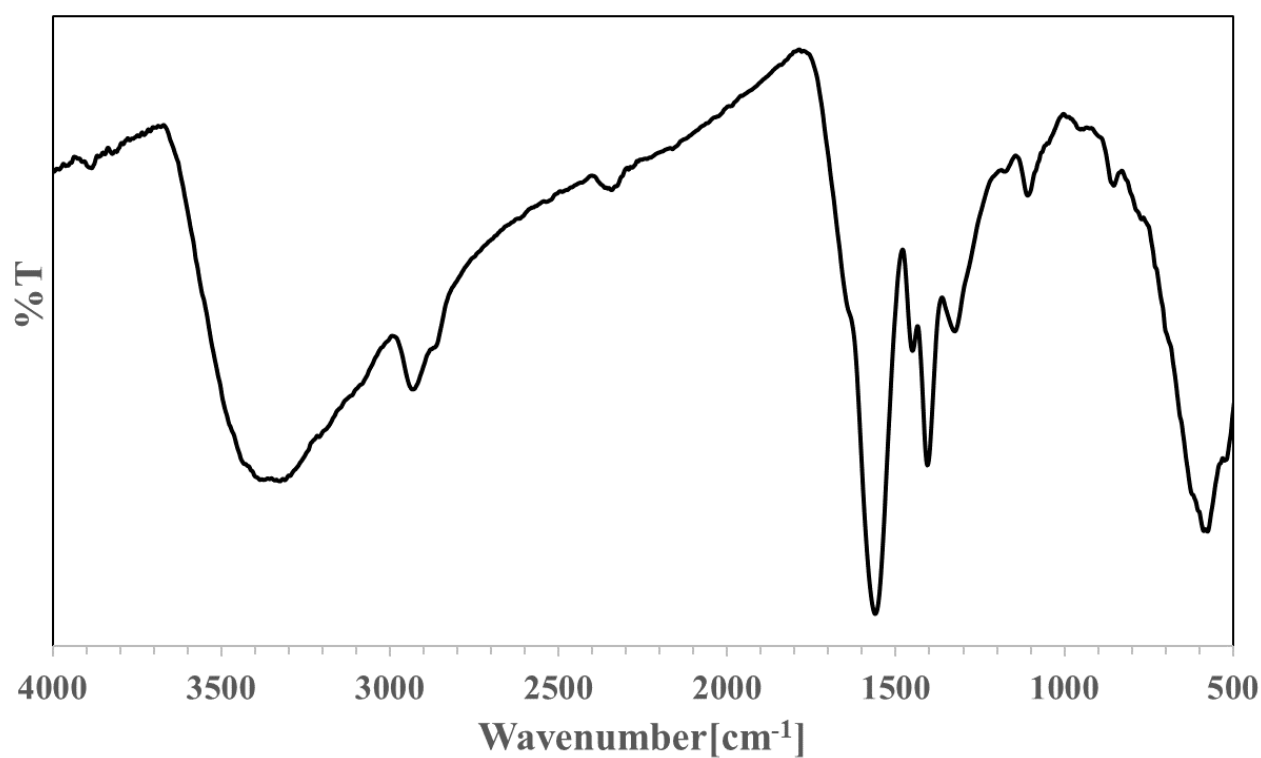


Fig. 5.23 IR spectrum of sample PEG550/PAA/MF(Synthesis pH=11.10)

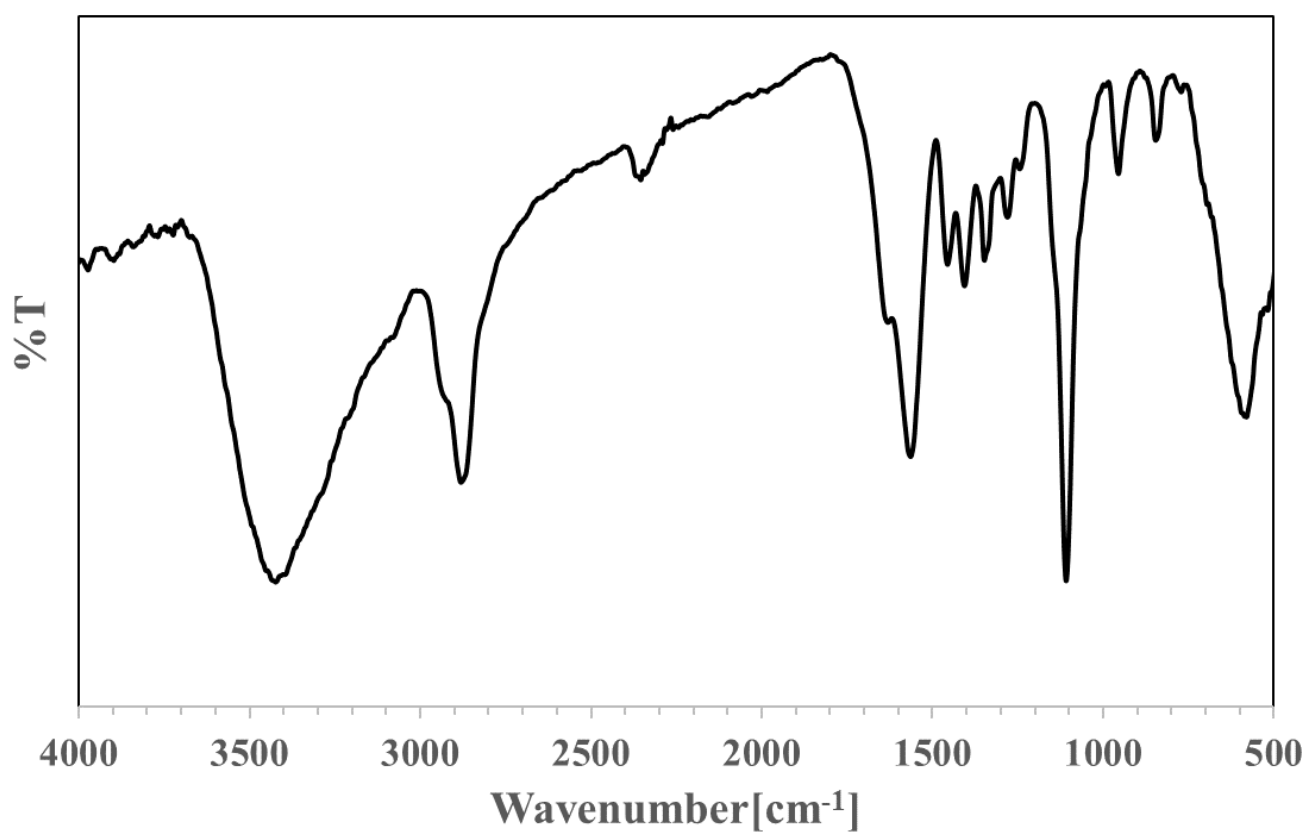


Fig. 5.24 IR spectrum of sample PEG2000/PAA/MF(Synthesis pH=10.98)

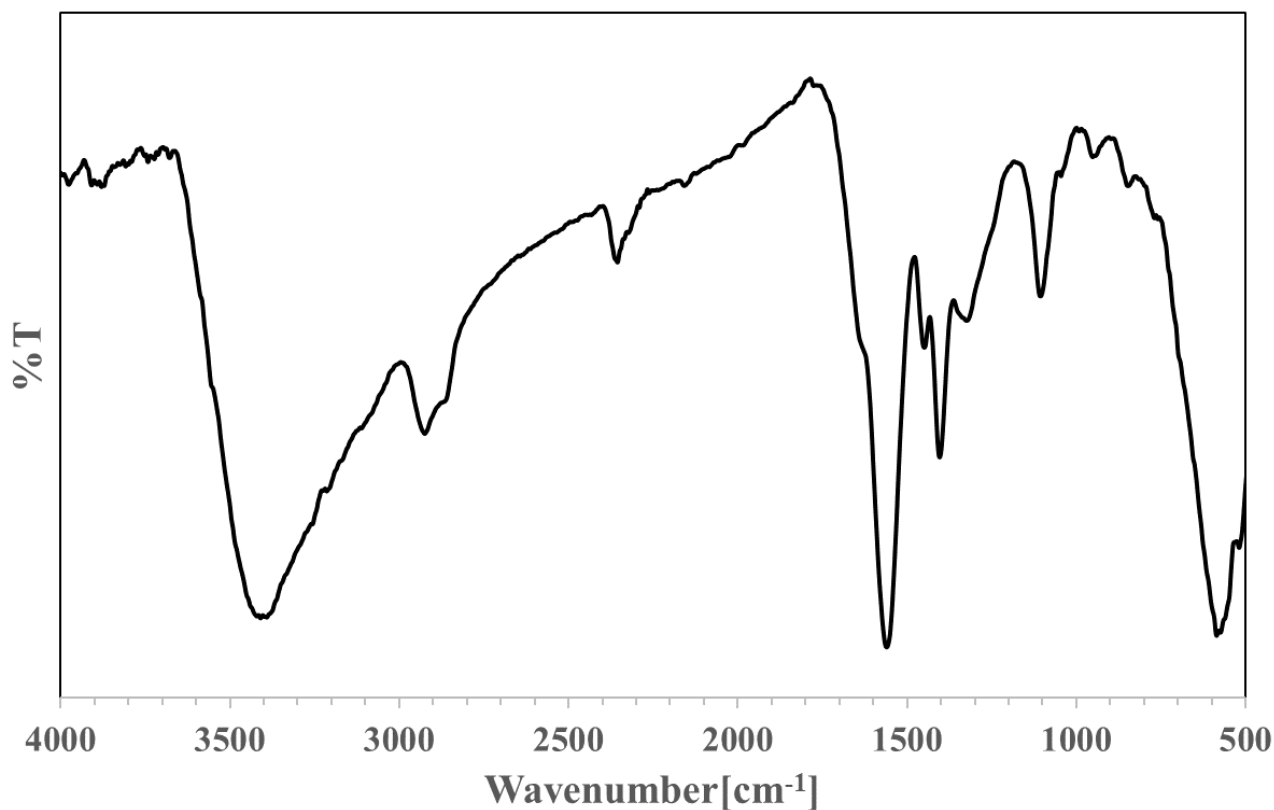


Fig. 5.25 IR spectrum of sample PEGmix/PAA/MF(Synthesis pH=11.02)

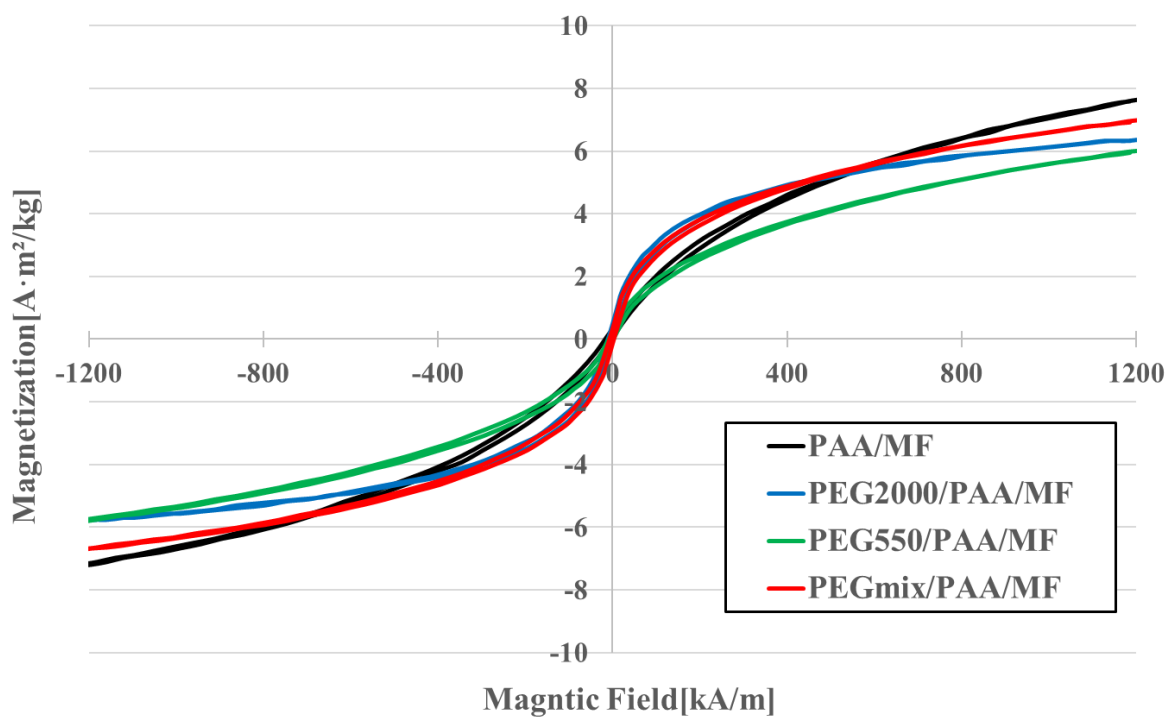


Fig. 5.26 Magnetization curve of four samples at neutral pH

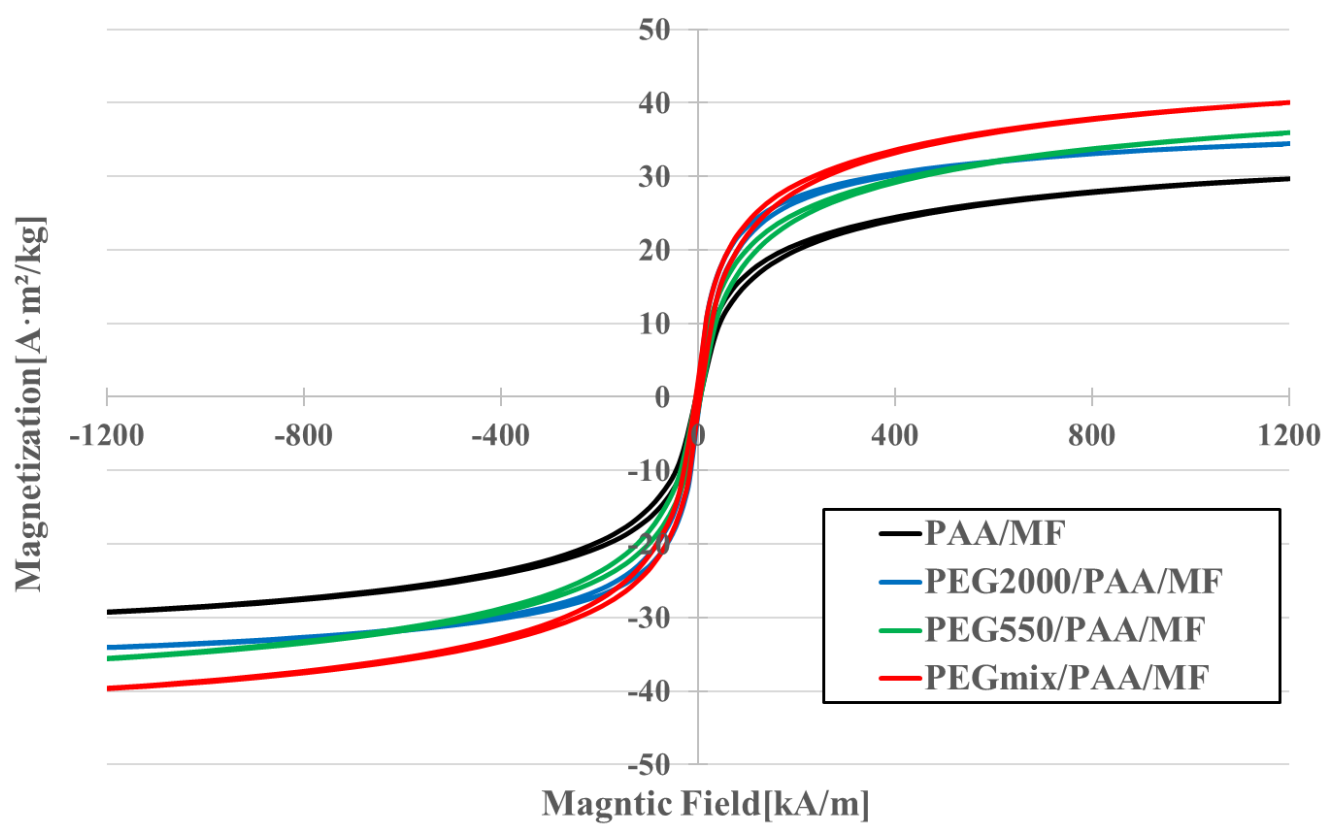


Fig. 5.27 Magnetization curve of four samples at alkali pH

6. 考察

6.1 メトキシ PEG アミンの作製

6.1.1 トシル化 PEG

分子量 550 および 2000 [g/mol] のメトキシ PEG 末端の水酸基を TsCl と縮合することにより、トシル化 PEG の作製をそれぞれ試みた。得られた試料 PEG-TsCl-550, 試料 PEG-TsCl-2000 とともに ^1H -NMR スペクトルから、末端のメチル基 ($\delta=3.38$ [ppm] 付近), PEG 鎖の繰り返し単位中のメチレン基 ($\delta=3.64$ [ppm] 付近) および新たに導入したトシル基 ($\delta=2.45$ [ppm], $\delta=7.35$ [ppm], $\delta=7.80$ [ppm] 付近) に由来するシグナルが発現していた。

TsCl は 3.1.1 (b) に述べたように、水との接触により加水分解し、 Et_2O に可溶である。本合成方法では抽出操作によって必要でない水層側の化合物を除去し、さらに、分子量 2000 の場合は Et_2O による試料の再沈殿を行っている。よって、得られた試料に未反応の TsCl やそれに由来する他の化合物が単体で残存するということは考えにくい。また、もし未反応の TsCl や副生成物が単体で残存しているならば、トシル基に由来する $\delta=2.45$ [ppm], $\delta=7.35$ [ppm], $\delta=7.80$ [ppm] 付近のシグナル位置に乱れが発生するはずである。なぜならば、同じ官能基に由来するどのシグナルも、周囲の化学結合状態が変化すると周辺の電子雲密度が変化するため、NMR スペクトルのシグナル位置にずれが生じるからである。しかし、5.1.1 の Fig. 5.3, Fig. 5.4 には、そのような乱れが生じていなかった。

以上の理由から、得られた試料 PEG-TsCl-550, 試料 PEG-TsCl-2000 はともにトシル化 PEG であり、未反応の TsCl や副生成物はほぼ残存していなかったと考えられる。また、メトキシ PEG およびトシル化 PEG の末端に存在するメチル基 ($\delta=3.38$ [ppm] 付近) とトシル化 PEG のトシル基に存在するメチル基 ($\delta=2.45$ [ppm] 付近) が現す ^1H の量比を積分値から算出した結果、前者の量比の方が大きかった。つまり、得られた試料にはメトキシ PEG が残存している可能性が示唆された。

6.1.2 PEG フタルイミド

得られたトシル化 PEG とフタルイミドカリウムとの求核置換反応により、トシル基をフタルイミド基へと置換した PEG フタルイミドの作製を試みた。得られた試料 PEG-P.P.-550, 試料 PEG-P.P.-2000 とともに ^1H -NMR スペクトルから、末端のメチル基 ($\delta=3.38$ [ppm] 付近), PEG 鎖の繰り返し単位中のメチレン基 ($\delta=3.64$ [ppm] 付近) および新たに導入したフタルイミド基 ($\delta=7.70\sim 8.10$ [ppm] 付近) に由来するシグナルが発現していた。また PEG-P.P.-2000 は、トシル化 PEG のトシル基 ($\delta=2.45$ [ppm], $\delta=7.35$ [ppm], $\delta=7.80$ [ppm] 付近) に由来するシグナルは消失していた。さらに、IR スペクトルから、両試料ともにメチレン基とフタルイミド基の存在を示すピークがみられた。

フタルイミドカリウムは 3.1.1 (h) に述べたように、水に可溶な試薬である。本合成方法では抽出操作によって必要でない水層側の化合物を除去しているため、得られた試料に未反応のフタルイミドカリウムやそれに由来する他の化合物が単体で残存するということは考えにくい。また、5.1.1 の Fig. 5.5, Fig. 5.6 において、NMR スペクトルのシグナル位置がずれることによる乱れは生じていなかった。

以上の理由から、得られた試料 PEG-P.P.-550, 試料 PEG-P.P.-2000 はともに PEG フタルイミドであり、未反応のフタルイミドカリウムや副生成物およびトシル化 PEG はほぼ残存していなかったと考えられる。また、メトキシ PEG および PEG フタルイミドの末端に存在するメチル基 ($\delta=3.38$ [ppm] 付近) と PEG フタルイミドのフタルイミド基に存在するベンゼン環 ($\delta=7.70\sim 8.10$ [ppm] 付近) が現す ^1H の量比を積分値から算出した結果、前者の量比の方がわずかに大きかった。つまり、得られた両試料にはわずかにメトキシ PEG が残存している可能性が示唆された。

6.1.3 メトキシ PEG アミン

得られた PEG フタルイミドを $\text{H}_2\text{NNH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ を用いて還元することにより、メトキシ PEG アミンの作製を試みた。得られた試料 PEG-Amine-550, 試料 PEG-Amine-2000 とともに ^1H -NMR スペクトルから、末端のメチル基 ($\delta=3.38$ [ppm] 付近) と PEG 鎖の繰り返し単位中のメチレン基 ($\delta=3.64$ [ppm] 付近) に由来するシグナル、および新たに導入したアミノ基 ($\delta=2.87$ [ppm], $\delta=3.53$ [ppm] 付近) の存在を示すシグナルが発現していた。また、PEG フタルイミドのフタルイミド基 ($\delta=7.70\sim 8.10$ [ppm] 付近) に由来するシグナルは消失していた。さらに、IR スペクトルから、両試料ともにメチレン基の存在を示すピークみられ、フタルイミド基の存在を示すピークの消失もみられた。

$\text{H}_2\text{NNH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ は 3.1.1 (i) に述べたように、水に可溶で還元性を示すとともに分解しやすい。本合成方法では抽出操作によって必要でない水層側の化合物を除去しているので、得られた試料に未反応の $\text{H}_2\text{NNH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ やそれに由来する他の化合物が単体で残存するということは考えにくい。

よって、得られた試料 PEG-Amine-550, 試料 PEG-Amine-2000 はともにメトキシ PEG アミンであり、未反応の $\text{H}_2\text{NNH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ や副生成物および PEG フタルイミドはほぼ残存していなかったと考えられる。また、メトキシ PEG およびメトキシ PEG アミンの末端に存在するメチル基 ($\delta=3.38$ [ppm] 付近) とメトキシ PEG アミンのアミノ基に隣接するメチレン基 ($\delta=2.87$ [ppm] 付近) が現す ^1H の量比を積分値から算出した結果、前者の量比の方がわずかに大きかった。つまり、得られた両試料には完全に反応しなかったメトキシ PEG がわずかに残存している可能性が示唆された。

6.2 アミド PEG 化 PAA の作製

PEG550/PAA, PEG2000/PAA の両試料から PAA の存在を示す水酸基 ($3400\text{ [cm}^{-1}\text{]}$ 付近) およびカルボキシル基 ($1640\text{ [cm}^{-1}\text{]}$ 付近) に由来する吸収が確認された。また, メトキシ PEG アミンの存在を示すメチレン基 ($2900\text{ [cm}^{-1}\text{]}$, $1450\text{ [cm}^{-1}\text{]}$ 付近) とエーテル基 ($1100\text{ [cm}^{-1}\text{]}$ 付近) に由来する吸収が確認された。また, 両試料で $1550\text{ [cm}^{-1}\text{]}$ 付近に PAA, メトキシ PEG アミンには存在しない新たな吸収がみられた。

一般に, アミド結合 —C(=O)—NH— をもつ化合物は, $1630\sim 1680\text{ [cm}^{-1}\text{]}$ 付近に C=O の伸縮に由来する吸収 (アミドI吸収帯), $1515\sim 1570\text{ [cm}^{-1}\text{]}$ 付近に N—H の変角に由来する吸収 (アミドII吸収帯) および $1250\text{ [cm}^{-1}\text{]}$ 付近に N—H の変角と C—N の伸縮の相互作用に由来する吸収がみられる。よって, 両試料の $1550\text{ [cm}^{-1}\text{]}$ 付近にみられた吸収はアミド結合部分のイミノ基に由来する吸収であると考えられる。また, N—H の変角と C—N の伸縮の相互作用に由来する吸収 ($1250\text{ [cm}^{-1}\text{]}$ 付近) もみられ, アミドI吸収帯 ($1630\sim 1680\text{ [cm}^{-1}\text{]}$ 付近) は $1640\text{ [cm}^{-1}\text{]}$ 付近のカルボキシル基と重なり合っていると同定できる。

さらに, PAA の $1700\text{ [cm}^{-1}\text{]}$ 付近でのカルボキシル基由来の吸収の深さと, $1240\text{ [cm}^{-1}\text{]}$ 付近での吸収深さの比が $1:0.76$ であったのに対し, PEG550/PAA と PEG2000/PAA の両試料での $1700\text{ [cm}^{-1}\text{]}$ 付近での吸収の深さと $1240\text{ [cm}^{-1}\text{]}$ 付近での吸収深さの比は $1:0.87$ となった。このことから, PEG550/PAA と PEG2000/PAA は PAA よりもカルボキシル基に由来する吸収の割合が減少し, アミド結合に由来する吸収の割合が増大していた。よって, IR 分析結果により両試料には予期したアミド結合が形成している可能性が示唆された。

以上の考察から, PEG550/PAA と PEG2000/PAA は PAA と PEG-Amine-550, PEG-Amine-2000 がそれぞれアミド結合により生成した PEG 化 PAA であると推定する。

6.3 PEG 化 PAA 被膜 MF の特性

6.3.1 PEG 誘導体の結合状態の変化

Fig. 5.20～Fig. 5.25 で示した中性領域と高 pH 領域で作製した試料の IR スペクトルから、ともに PEG と PAA の存在が確認できた。しかし、Fig. 5.18, Fig. 5.19 で示したアミド PEG 化 PAA の IR スペクトルでは見られたカルボキシル基のカルボニル基に由来する $1720\text{ [cm}^{-1}\text{]}$ 付近の吸収が Fig. 5.20～Fig. 5.25 ではみられなくなった。また、Fig. 5.18, Fig. 5.19 でみられたカルボキシル基の水酸基に由来する $950\text{ [cm}^{-1}\text{]}$ 付近の吸収が Fig. 5.20～Fig. 5.25 では弱くなっている。そして Fig. 5.20～Fig. 5.25 では $1560\text{ [cm}^{-1}\text{]}$ 付近に新たな強い吸収がみられた。これはカルボキシル基が金属と結合したときにみられる吸収である。今回、酸化鉄微粒子がカルボキシル基と結合したことで水酸基が減少したため $950\text{ [cm}^{-1}\text{]}$ 付近の吸収が微弱になり、さらにカルボニル基が酸化鉄による影響で吸収が $1560\text{ [cm}^{-1}\text{]}$ 付近にシフトして現れたものとする。また、 $580\text{ [cm}^{-1}\text{]}$ 付近に新たな吸収がみられた。これは酸化鉄微粒子由来の吸収が現れた可能性がある。よって、まずアミド PEG 化 PAA が酸化鉄微粒子と結合し、分散剤として機能していることが確認された。

次に、Fig. 5.20～Fig. 5.25 の試料における $1100\text{ [cm}^{-1}\text{]}$ 付近のエーテル基由来の吸収に注目する。エーテル基は PEG の繰り返し中に存在する官能基のため、分子量の大小によって検出される吸収の強さも異なる。分子量の小さい $M_n=550$ の PEG は繰り返し単位の数が少ないため、 $1100\text{ [cm}^{-1}\text{]}$ 付近の吸収が $M_n=2000$ と比較して弱いことがわかる。しかし PEGmix/PAA/MF の $1100\text{ [cm}^{-1}\text{]}$ 付近の吸収は $M_n=550$ より強く、 $M_n=2000$ より弱い新たな吸収を示した。これは $M_n=550$ と $M_n=2000$ の両分子量の PEG が混在していることを示唆していると考えられる。よって、 $M_n=550$ と $M_n=2000$ の異なる分子量の PEG を被膜した磁性流体の作製に成功したと考えられる。

6.3.2 磁気特性の変化

5.3.2 より、合成時 pH の違いに伴い飽和磁化値は高 pH 領域で高い値を示し中性領域では低い値を示した。また、PEG 分子量の違いによって磁化値も変化することが確認された。磁気特性が各条件で変化した要因の一つにコアの変化が挙げられる。磁性流体の磁気特性を決定づける要因はコア材である磁性微粒子であるため、コアの組成、結晶構造、及び粒径などに変化が生じると磁気特性にも大きな影響を与えられと考えられる。そこで、本研究では PEG 化による磁気特性の変化の要因を調査するため、PAA/MF と PEG/PAA/MF について

- (a) X 線回折によるコアの定性分析
- (b) 透過型電子顕微鏡 (TEM) によるコアの観察

を行いそれぞれの試料について比較検討した。

(a) X 線回折によるコアの定性分析

まず、コア材である磁性微粒子の結晶構造を確認するために X 線回折を用いて定性分析を行った。PAA/MF、PEG/PAA/MF のそれぞれについて中性領域の pH=8 付近、高 pH 領域の pH=11 付近の試料の X 線回折による結果を以下に示す。これらのグラフは横軸に回折角 2θ [°] をとり、縦軸は回折強度 [cps] をとったものである。また、グラフ中の◆は γ - Fe_2O_3 の標準ピーク (JCPDS : 25-1402) を表している。

(a)-1 中性領域での分析

PAA/MF および PEG/PAA/MF の X 線回折結果を Fig. 6.1 に示す。グラフより、全試料において回折ピークが γ - Fe_2O_3 の回折ピーク位置の近辺にわずかながら発現していた。すなわち、わずかではあるが γ - Fe_2O_3 がコア材として生成している。しかしながら、その回折強度は後述する高 pH 領域のものと比較すると極めて弱くなっていた。つまり、中性領域で作製した試料では後述する高 pH 領域で作製したものよりもコアの結晶性が低下し非晶質となった可能性がある。よって、中性領域で作製された試料では PAA/MF、PEG/PAA/MF ともに磁化率が極めて低い非晶質の α - Fe_2O_3 が大半のコア材として生成していたと考えられる。そのため、両試料ともに磁化されにくくなり、磁気特性が低下し、外部磁場に対して磁化値が緩やかに上昇するような磁気特性になったと考えられる。

さらに、後述する高 pH 領域と同様に PEG/PAA/MF の X 線回折結果は PAA/MF のものよりも $2\theta=20\sim30$ [°] の範囲にわたってベースラインが高くなっていた。これは、前述したように PEG 修飾によって分散剤分子量および分散剤濃度が増大しているため、それに伴って試料中の高分子濃度が増大したことに起因すると考えられる。

(a)-2 高 pH 領域での分析

PAA/MF および PEG/PAA/MF の X 線回折結果を Fig. 6.2 に示す。グラフより、両試料のピーク位置は γ - Fe_2O_3 のものと一致し、回折強度の高低も γ - Fe_2O_3 のものと酷似しているこ

とが分かる．このことから，全試料のコア材に違いは無く，全試料で $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ が生成していることが確認された．3.2 で述べた通り， $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ は強磁性の一種であるフェリ磁性を示し高い磁化率を有する．すなわち，高 pH 領域で作製した試料ではいずれの試料においてもコアに強磁性体の $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ が生成していたため磁化値は磁場を印加した直後から顕著に上昇する磁気特性になったと考えられる．

そして，PEG/PAA/MF の $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 位置における回折強度は PAA/MF のものよりも高くなる傾向がみられた．特に PEGmix/PAA/MF と PAA/MF を比較すると，PEGmix/PAA/MF の方がより強いピークを示していることがわかる．つまり，PEG 化によって磁性微粒子の生成に何らかの影響を与えていることが判明した．

(b) 透過型電子顕微鏡 (TEM) によるコアの観察

高 pH 領域で作製した試料において，PEG 化条件の違いによるコア材の変化を確認するため TEM にてコア粒子の観察を行った．PAA/MF，PEG/PAA/MF のそれぞれの試料について観察した結果を以下に示す．加速電圧は 80 [kV]とした．

(b)-1 PAA/MF

PAA/MF の TEM による撮像結果を Fig. 6.3 に示す．Fig. 6.3 より，PAA/MF のコア粒子は球形に近い形状であることが確認された．過去の研究において $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 微粒子の観察がされた際は同様の形状が確認されている¹⁹⁾．また，得られた写真から各試料中のコア材の平均粒子径を算出した結果， $5.9\pm 1.3\text{nm}$ であった．一般に $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ は粒子径が 10nm より小さくなると超常磁性を示すことが報告されている¹²⁾．つまり，Fig. 5.27 において PAA/MF が超常磁性を示したことは，試料中のコア粒子径が 10nm 以下であったことに由来している．

(b)-2 PEG2000/PAA/MF

PEG2000/PAA/MF の TEM による撮像結果を Fig. 6.4 に示す．Fig. 6.4 より，PEG2000/PAA/MF のコア粒子は球形に近い形状であることが確認された．また，得られた写真から各試料中のコア材の平均粒子径を算出した結果， $4.3\pm 0.5\text{nm}$ であった．よって，得られた試料は PAA/MF より小さい粒子径を示した．

(b)-3 PEG550/PAA/MF

PEG550/PAA/MF の TEM による撮像結果を Fig. 6.5 に示す．Fig. 6.5 より，PEG550/PAA/MF のコア粒子は球形に近い形状であることが確認された．また，得られた写真から各試料中のコア材の平均粒子径を算出した結果， $3.8\pm 0.4\text{nm}$ であった．よって，得られた試料は PAA/MF，PEG2000/PAA/MF よりも小さい粒子径を示した．

(b)-4 PEGmix/PAA/MF

PEGmix/PAA/MF の TEM による撮像結果を Fig. 6.6 に示す．Fig. 6.6 より，PEGmix/PAA/MF のコア粒子は球形に近い形状であることが確認された．また，得られた写真から各試料中のコア材の平均粒子径を算出した結果， $3.1\pm 0.4\text{nm}$ であった．よって得られた PEGmix/PAA/MF の粒子径が全試料において最も小さい結果となった．

VSM, XRD, TEM の測定結果より, 以下のことが分かった.

- PAA/MF は全試料の中で最も粒子径が大きかったが, 結晶性が低いうえ飽和磁化値も全試料で最も低い値を示した.
- PEGmix/PAA/MF は全試料で最も粒子径が小さかったが, 結晶性が高いうえ飽和磁化値も全試料中で最も高い値を示した.
- PEG2000/PAA/MF, PEG550/PAA/MF とともに PAA/MF より粒子径が小さかったが, 高い飽和磁化値を示した.

これらの結果を踏まえるとまず, PEG を PAA/MF へ複合合成すると分散剤である PAA の被膜を阻害させる可能性が示唆された. 糖被膜型 MF とは, 磁性微粒子の金属イオンと分散剤である糖のカルボキシル基が結合し, 糖表面や内部に微粒子が吸着された状態で溶媒に均一に分散することで磁性流体となる. つまり, 微粒子表面に分散剤が吸着することで微粒子自体の重量が相対的に低下するため, 一般的には微粒子に分散剤を被膜させると結晶性は低下し飽和磁化値も減少する傾向にある. 一方で本研究では PEG 化 PAA を被膜させると結晶性が向上し, 飽和磁化値も高い値を示した. これは, 微粒子と結合するはずであった PAA のカルボキシル基が PEG と結合することによって相対的に外殻被膜の PAA の割合が減少したことにより, 見かけ上のコア材の重量比が増加し磁力の向上に繋がったためと考えられる.

また, TEM の測定結果より PEG の複合合成化にはコア材の成長を抑える作用があることも示唆された. その影響は PEGmix/PAA/MF, PEG550/PAA/MF, PEG2000/PAA/MF の順に傾向が強くみられた. PEG によってコア材の成長が妨げられ, 同時に PAA の被膜も阻害されるが, 結果的に後者の方が微粒子の磁気特性に大きな影響を与えたため, 今回のような粒子径が小さくても高い飽和磁化値を示す結果になったと考えられる.

今回の結果の要因として, 分散剤である PAA の分子量の小ささが挙げられる. 分散剤に分子量 2 万以上の他の材料を用いた先行研究^{20),21)}においては, このような傾向はみられなかった. 今回使用した PAA の分子量は 5000 であり, 従来の多糖類よりも分子量が小さく PEG の分子量に近いので, PEG による阻害の影響を受けやすかったと考えられる. Fig. 6.7 に各条件における結合状態のイメージ図, Fig. 6.8 にコア粒子径と飽和磁化の関係を示す.

以上を踏まえると PAA 被膜磁性流体に PEG を修飾した場合は, PEG の阻害作用によりコア材の成長を抑制すると同時に PAA とコア材の吸着を防ぐことが明らかとなり, 結果的に磁気特性が向上することが確認できた. 特に本研究で作製した 2 種類の分子量の PEG からなる PEGmix/PAA/MF では, よりその傾向が顕著となった. 一方で, この傾向は本研究で用いた PAA ($M_n=5000$) のような低分子量の分散剤を用いた場合である. そのため今後は, 分子量が大きい他の分散剤を用いた場合で比較・検討する必要があると考える.

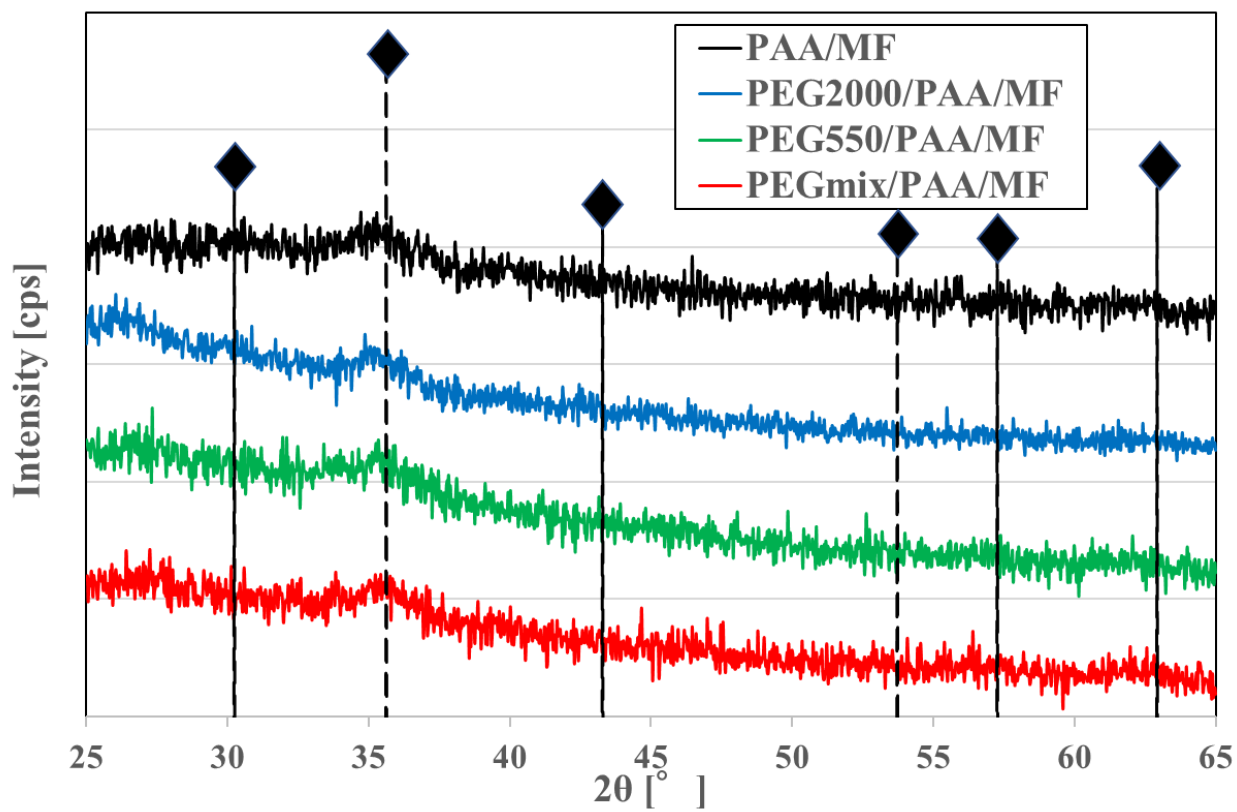


Fig. 6.1 XRD patterns at neutral pH

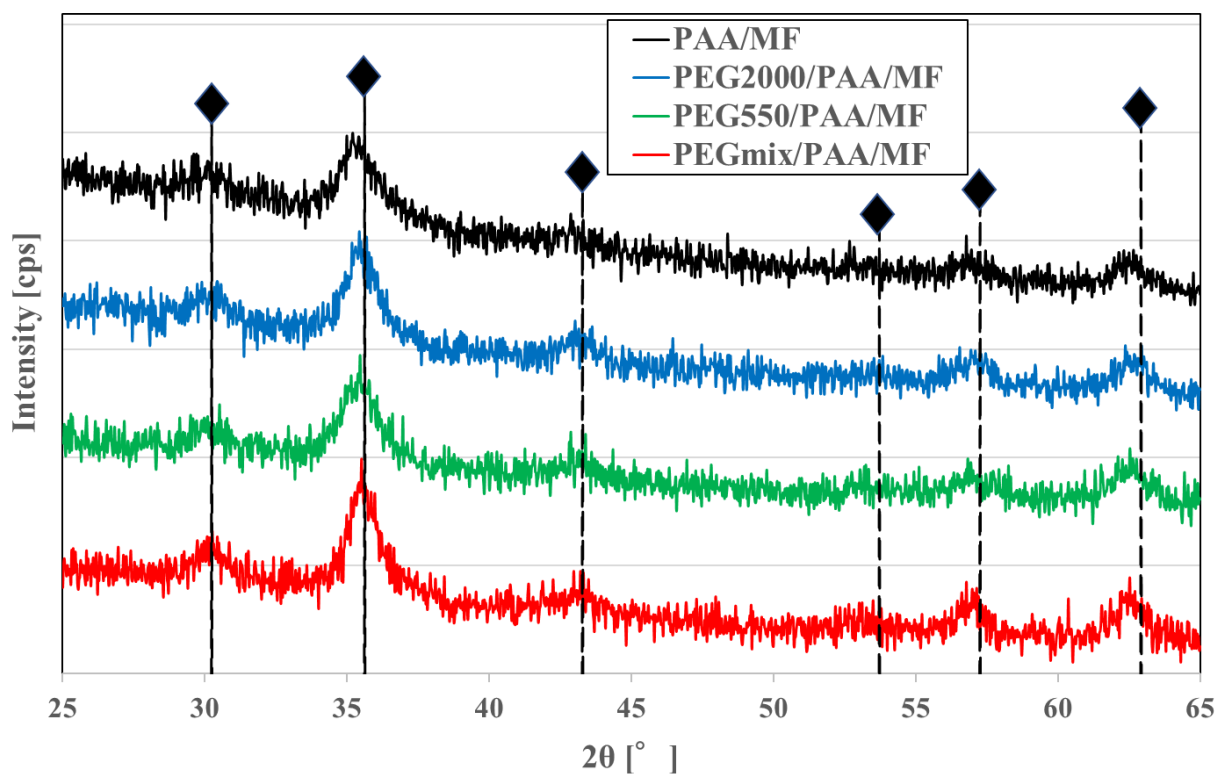


Fig. 6.2 XRD patterns at alkali pH

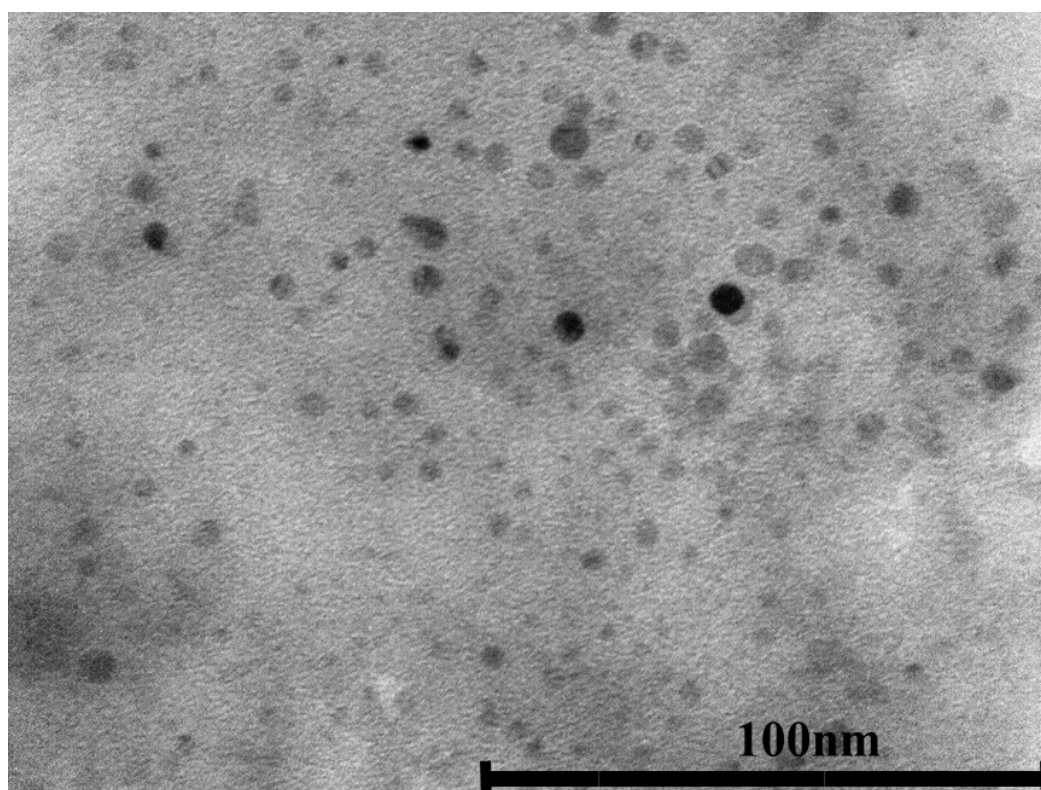


Fig. 6.3 Magnetic particle coated with PAA

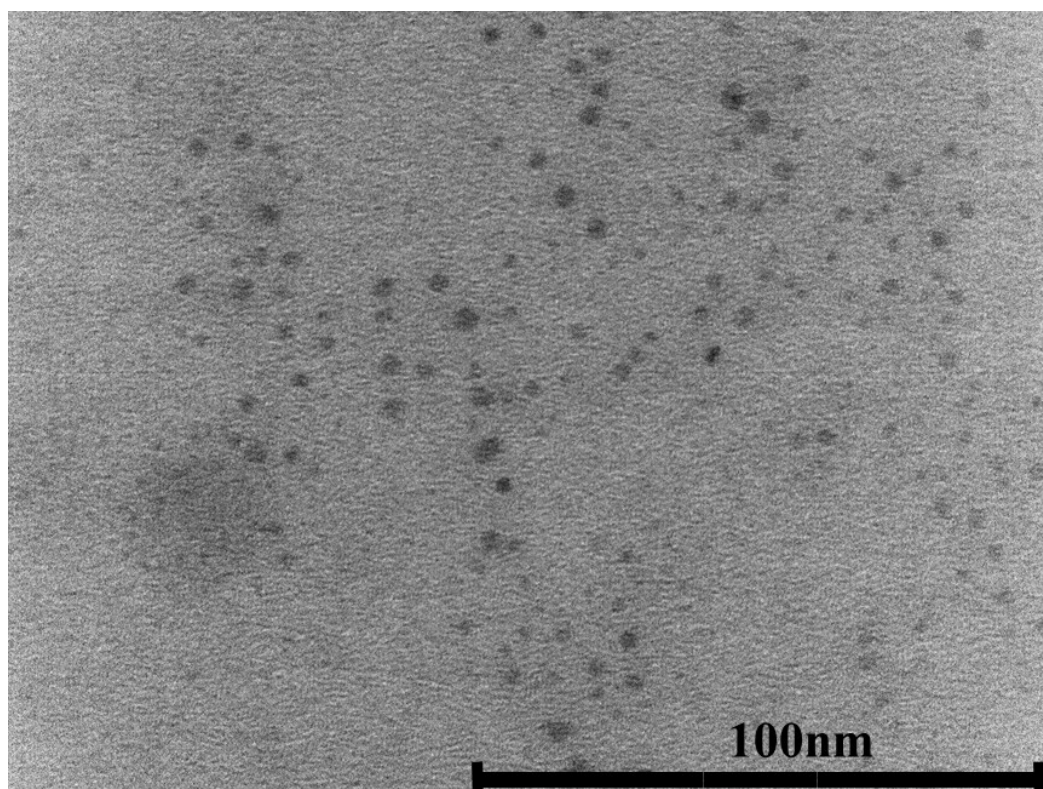


Fig. 6.4 Magnetic particle coated with PEG2000/PAA

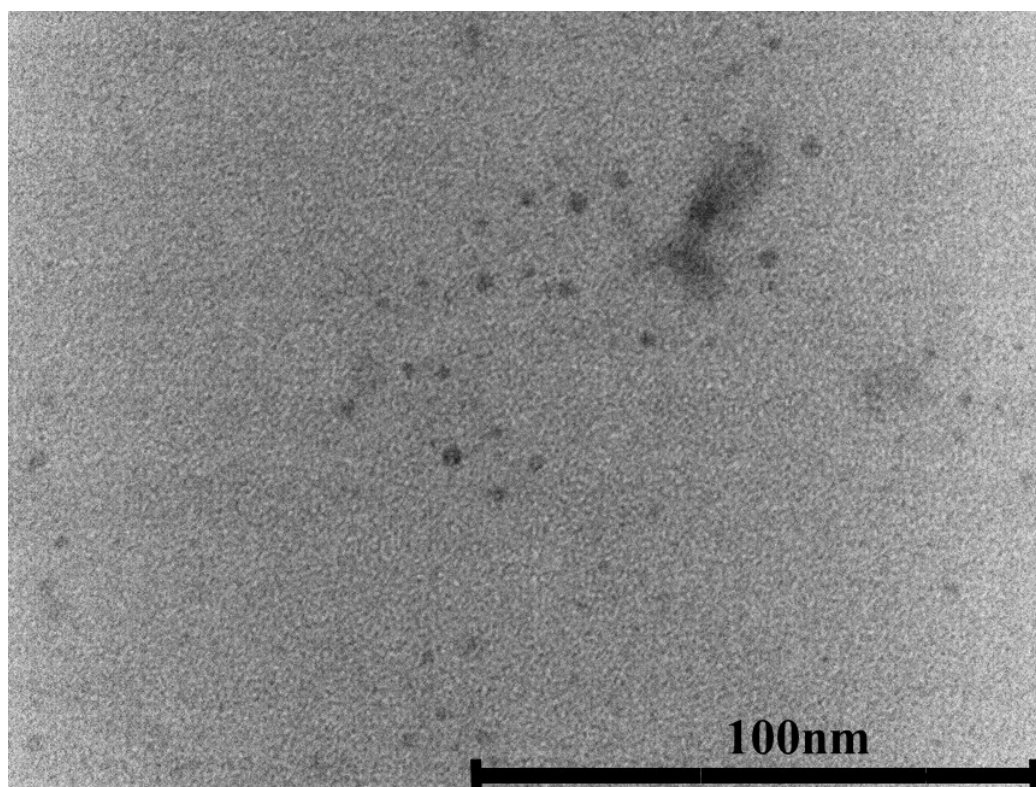


Fig. 6.5 Magnetic particle coated with PEG550/PAA

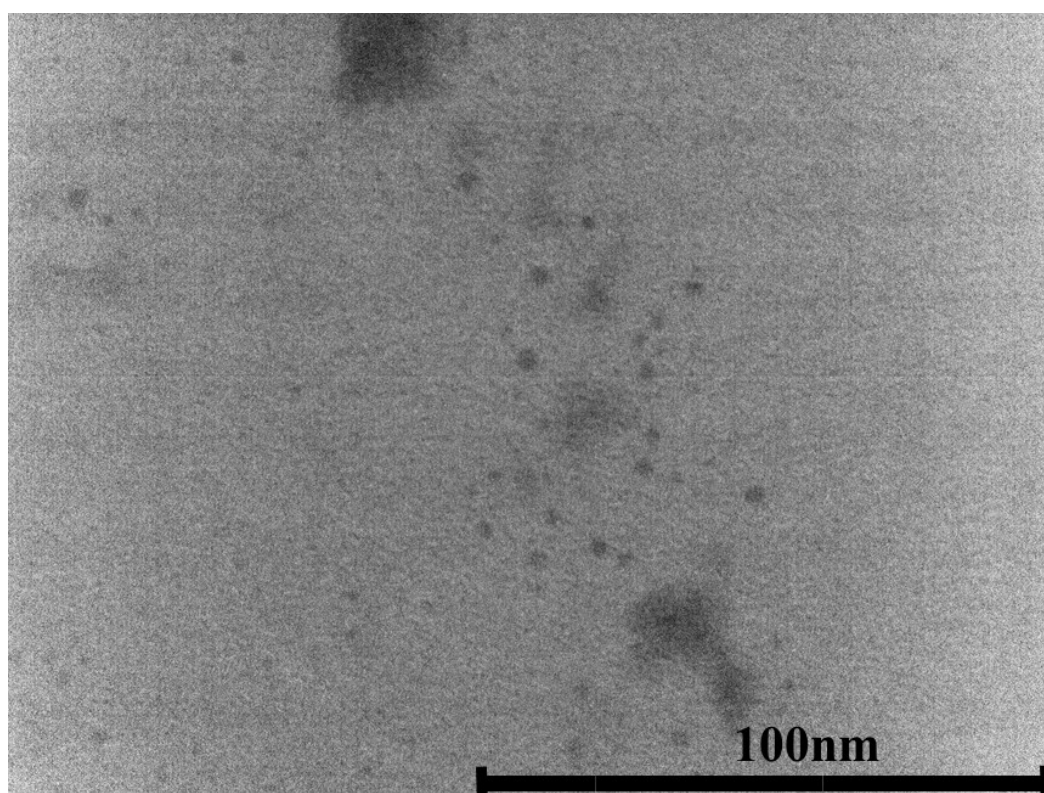


Fig. 6.6 Magnetic particle coated with PEGmix/PAA

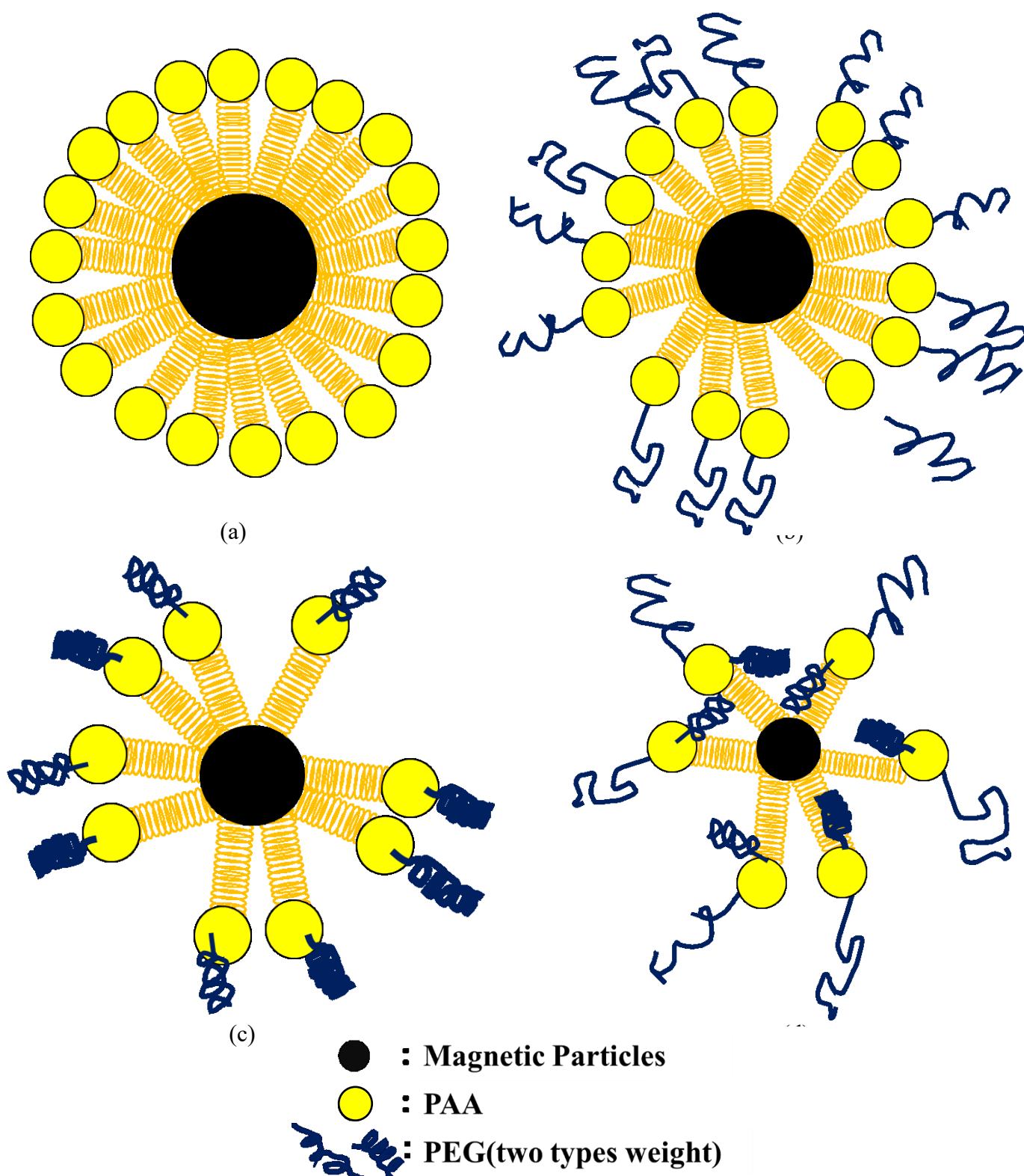


Fig. 6.7 Predicted Binding of Magnetic Particles to Polysaccharides and PEG

- (a) Polysaccharide coated MF (b) Long chain PEGylated PAA coated MF
 (c) Short chain PEGylated PAA coated MF
 (d) PEGylated PAA coated MF with two types of PEG

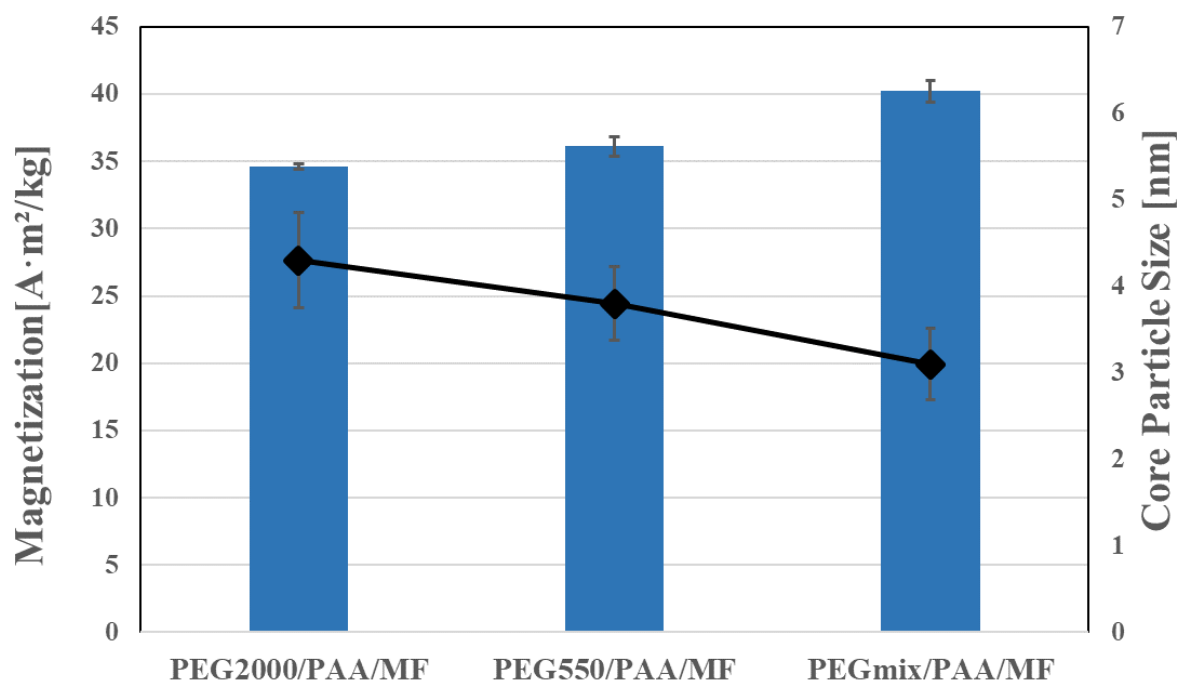


Fig. 6.8 Relationship between Core Particle diameter and saturation Magnetization

7. 結言

本研究では、RES回避リポソームをモデルとした新たな薬剤キャリアの材料設計として、異なる分子量から成るPEGを分散剤に用いた磁性流体を作製した。平均分子量550 [g/mol]、2000 [g/mol]のPEGをモル比率2:1で合成し、PAA被膜磁性流体のPEG化を行った。また、PAAとPEG誘導体の化学結合部分における加水分解を避けるため、アミド結合によるPEG化を試みた。そのために以下の工程で試料作製を進めた。

- ①メトキシPEGの水酸基をアミノ化したメトキシPEGアミンの作製
- ②PAAとメトキシPEGアミンをアミド結合により合成したアミドPEG化PAAの作製
- ③アミドPEG化PAAを分散剤に用いたPEG/PAA/MFの作製

また、過去の研究より糖被膜型磁性流体の諸特性は分散剤が有する官能基の違いやpH条件、PEG分子量の違いによって変化することが明らかとなっている。そこでPEG化されたPEG化PAA被膜磁性流体は通常のPAAを用いて作製したものと比べ諸特性が変化している可能性があるため、両者の比較検討を行った。その結果以下の知見が得られた。

① メトキシPEGアミンの作製

PAAをアミド結合によってPEG化するため、三段階にわたる有機合成を行うことによりメトキシPEGの水酸基にアミノ化処理を施したメトキシPEGアミンの作製を試みた。メトキシPEGは平均分子量550 [g/mol]、2000 [g/mol]の二種類を用いた。

(a) メトキシPEGのトシル化

メトキシPEG末端の水酸基をTsClと縮合することにより、トシル化PEGの作製を試みた。使用したメトキシPEGの平均分子量が550 [g/mol]、2000 [g/mol]の両試料において、トシル基の存在が確認されたため、トシル化PEGの作製に成功した。

(b) PEGフタルイミドの作製

得られたトシル化PEGとフタルイミドカリウムとの求核置換反応により、トシル基をフタルイミド基へと置換したPEGフタルイミドの作製を試みた。使用したメトキシPEGの平均分子量が550 [g/mol]、2000 [g/mol]の両試料において、トシル基の消失とフタルイミド基の存在が確認されたため、PEGフタルイミドの作製に成功した。

(c) PEGフタルイミドの還元

得られたPEGフタルイミドを $\text{H}_2\text{NNH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ を用いて還元することにより、メトキシPEGアミンの作製を試みた。使用したメトキシPEGの平均分子量が550 [g/mol]、2000 [g/mol]の両試料において、フタルイミド基の消失とアミノ基の存在が確認されたため、メトキシPEGアミンの作製に成功した。

② アミド PEG 化 PAA の作製

PAA のカルボキシル基とメトキシ PEG アミンのアミノ基に着目し、両者をアミド結合によって合成したアミド PEG 化 CS の作製を試みた。反応を行う際の溶媒に蒸留水、脱水縮合剤に WSCD・HCl, 反応活性剤に HOBt・H₂O を用いた。また、PAA のカルボキシル基とメトキシ PEG アミンのアミノ基との比率は 10:1 とした。得られた試料において、予期したアミドの形成と PEG 鎖の存在が確認されたため、アミド PEG 化 CS の作製に成功した。

③ PEG 化 PAA 被膜 MF の特性

pH 条件や PEG の分子量の違いによる磁気特性の違いを比較した。なお、合成時温度は 358 [K]とした。

(a) PEG 誘導体の結合状態の変化

PEG550/PAA/MF, PEG2000/PAA/MF の両試料からカルボキシル基のシフトと PEG 鎖の存在が確認されたため、 $M_n=550, 2000$ から成る PEG 化 PAA 被膜 MF の作製に成功した。また、PEGmix/PAA/MF は IR スペクトルの傾向から、 $M_n=550, 2000$ の 2 種類の PEG が混在していることが示唆された。よって、本研究の目的である異なる分子量から成る PEG を分散剤に用いた PAA 被膜磁性流体の作製に成功したと考える。

(b) 磁気特性の変化

(b)-1 中性領域

PAA/MF および PEG/PAA/MF の両試料間に大きな差異は見られなかった。また、両者とも X 線回折結果からコアには磁化率の低い $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ が生成され、磁化されにくい特性となった。

(b)-2 高 pH 領域

PAA/MF および PEG/CS/MF の両試料ともに中性領域での試料と比べて単位質量あたりの飽和磁化値は高くなった。これは、両試料ともに、コアに強磁性体で高い磁化率を有する $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ が生成されており、その結晶性も中性領域での試料と比べて高くなったためである。その中でも、異なる分子量から成る PEG を被膜させた PEGmix/CS/MF が最も結晶性が高くなった。よって PEG 化には PAA の被膜を阻害させる可能性が示唆された。

(c) コロイド径の変化

いずれの試料も超常磁性を示す粒子径 10nm 以下であることが確認できた。最も粒子径が大きかったのは PAA/MF であり、PEGmix/PAA/MF が最も粒子径が小さかった。そのため、磁性流体の PEG による複合合成を行うとコア材の成長を妨げる可能性が示唆された。

本研究ではメトキシPEGアミンの作製, アミドPEG化PAAの作製およびPEGmix/PAA/MFの作製に成功したと考える. PEG550/PAA/MFとPEG2000/PAA/MFにおいては, PEG化していないPAA/MFよりも高い飽和磁化値を示した. また, PEGmix/PAA/MFは $\text{pH}=11$ 付近で作製した場合に最も結晶性に優れ, かつ単位質量あたりの飽和磁化値が最も高くなった.

以上の結果より, PAA/MFへのPEG化には分散剤と微粒子の吸着を阻害させる働きとコア材の成長を抑える作用があることが明らかとなった. また, 分散剤に分子量の小さいPAAを用いると, よりPEGによる微粒子との阻害の影響を受けやすいことが判明した. そのため, 異なる分子量から成るPEGによってPEG化した磁性流体は, 分子量が小さい分散剤を用いた際に磁気特性を向上させることが分かった.

過去の研究では, PEGによる水和層の増大のためにPEG分子量が大きいものを選択していた. その結果, 磁力が低下してしまう傾向がみられたため, PEG分子量と磁化値との間にはトレードオフの関係があると考えられていた. しかし本研究で用いた2種類のPEGを混合するPEGmixという手法は, このトレードオフの問題を解決できる可能性が示唆された.

本研究によって, より高い血中滞留性を示すPEG化リポソームをモデルとしたPEG化磁性流体の創製に成功し, 従来作製してきたPEG化磁性流体の機能を向上させることができたと言える. よって, PEG誘導体による血中滞在期間の延長を視野に入れた機能性材料としての応用範囲拡大が期待できる結果となった. 本研究で得られた結果は, 新材料の提案として今後の医療における診断剤や治療剤の開発の基礎となるデータが含まれている可能性があり, 新材料開発への一助になると考えられる.

参考文献

- (1) 武富 荒, 近角聡信 ; 磁性流体 : 基礎と応用.
- (2) 日本シエーリング株式会社 ; リゾビスト 審査報告書.
- (3) 特許庁 ; 平成 22 年度 特許出願技術動向報告書 ドラッグデリバリーシステム (DDS).
- (4) 青木 伊知男, Rumiana Bakalova , DDS による MR 分子イメージングへ, *Drug Delivery System*, Vol. 23, No.1, pp.61-68, (2008).
- (5) KAWASHIMA, Yoshiaki Design of a Nanocomposite Praticulate Drug Delivery System, 岐阜薬科大学紀要, pp.1-11, (2005).
- (6) 田上 辰秋, 尾関 哲也 ; ナノ・マイクロ粒子の DDS 技術と臨床作用, *Organ Biology*, Vol.24, No.1, (2017).
- (7) 奥 直人 ; リポソームの作成と実験法 廣川書店, pp.72-75, (2000).
- (8) Needham D, McIntosh TJ, Lasic DD, “Repulsive interactions and mechanical stability of polymer-grafted lipid membranes”, *Biochemica et Biophysica Acta*, 1108, pp.40-48, (1992).
- (9) Senior J, Delgado C, Fisher D, Tilcock C, Gregoriadis G, “Influence of surface hydrophilicity of liposomes on their interaction with plasma protein and clearance from the circulation: studies with poly(ethylene glycol)-coated vesicles”, *Biochemica et Biophysica Acta*, 1062, pp.77-82, (1991).
- (10) Klibanov AL, Maruyama K, Beckerleg AM, Torchilin VP, Huang L, “Activity of amphipathic poly(ethylene glycol) 5000 to prolong the circulation time of liposomes depends on the liposome size and is unfavorable for immunoliposome binding to target”, *Biochemica et Biophysica Acta*, 1062, pp142-148, (1991).
- (11) 杉山育美, 佐塚泰之 ; PEG 修飾化リポソームの展開, 日本 DDS 学会 *Drug Delivery System*31(4),275-282, (2016).
- (12) 加藤, 荒井 ; 超微粒子---その化学と機能--- 朝倉書店, (1993).
- (13) 片岡 一則 ; 生命材料工学, 生命工学シリーズIII, (1991).
- (14) 中林 宣男, 石原 一彦, 岩崎 泰彦 ; 日本エム・イー学会編/ME 教科書シリーズ E-1 バイオマテリアル, pp56-65, (1999).
- (15) Takahiro Sato ; Thermodynamic Properties of Polymer Solutions, *Netsu Sokutei*, Vol.30, No.4, pp.173-179, (2003).
- (16) 川村 ; 超微粒子とは何か 丸善, (1992).
- (17) Seiichi Sugimoto, Kazuo Yagi, Masataka Tokuda, ”Effects on Particle Diameter and Magnetic Force of Magnetic Ultra-Fine Particle that Depend on Surface-Active Agents and pH Condition in Its Synthesis”, *IEEE Proceeding of the 2004 International Symposium on Micro-NanoMechatronics and Human Science*, pp.213-218, (2004).

- (18) 大木 道則, 大沢 利昭, 田中 元治, 千原 秀昭 ; 化学辞典 東京化学同人社.
- (19) 杉本 聖一 ; 博士論文 (三重大), 糖類を被膜したスピネル系フェライトナノ微粒子の合成と磁気特性に関する研究.
- (20) 矢頭由裕 ; 修士論文 (三重大), アミド結合による PEG 化コンドロイチン硫酸 C を分散剤に用いた糖被膜型磁性流体に関する研究 (2011).
- (21) 篠田直史 ; 修士論文 (三重大), アミド結合による PEG 化アルギン酸の複合化及び DDS 基材の検討 (2017).

謝辞

本研究を遂行するにあたり、終始懇切丁寧にご指導いただいた東都大学 八木一夫教授に深く感謝致します。八木先生の熱心なご指導なくして本研究の完遂はありえませんでした。本学卒業後も豊富な知識を活かして毎週パソコンの向こうから指導していただいた都立産業技術高等専門学校 杉本聖一准教授に深く感謝致します。幅広い分野から本研究の核心をついた指導をしていただいた稲葉忠司教授に心より感謝致します。実験試薬・器具の購入の際に何度もご協力頂いた吉川高正准教授、馬場創太郎助教に深く感謝いたします。様々な機器の操作についてご助言、ご協力頂いた中村昇二技官に深く感謝します。

本研究の化学の分野を中心にご協力頂いた田村雅史技官に心より感謝致します。田村技官は化学の知識に乏しい私にアドバイスを授けてくださるとともに、他学科の生徒である私に種々の実験器具を提供して頂き、さらには機器についてまでもご助言、ご協力していただきました。加えて、測定機器の相談に乗っていただいた本学分子素材工学科 高分子設計化学研究室の皆様にもこの場をお借りして御礼申し上げます。

本研究は磁気工学や生体材料工学等の境界分野に属し、多くの研究者の方々に協力していただきました。NMR や凍結乾燥機など多岐に渡る実験機器を使用させていただいたオープンイノベーション施設 機器分析部門の皆様には感謝申し上げます。振動試料型磁力計を使用させて頂いた本学物理工学科 ナノエレクトロニクス研究室の皆様には深く感謝致します。透過型電子顕微鏡を使用させて頂き、装置の操作について終始懇切丁寧にご指導いただいた本学大学院医学系研究科医学部電子顕微鏡室の小川覚氏に深く感謝致します。

また、公私ともに私を支えてくれた同期の皆様には深く感謝致します。そして、先輩・後輩をはじめ、本研究室で私と関った全ての人に厚く御礼申し上げます。

令和 6 年如月吉日

中西 信介