

生体適合性超薄膜の吸水および保湿特性の評価

東北大学大学院 薬学研究科

安 齊 順 一

Polyelectrolyte multilayer films were prepared using polysaccharides as materials to elucidate the wetting properties of the thin films. Glycogen was successfully assembled into multilayer films using poly (ethyleneimine) (PEI) as a counterpart of the alternating deposition, probably through hydrogen bonding as driving force. On the other hand, anionic polysaccharides including dextran sulfate (SD), chondroitin sulfuric acid (SC), alginic acid (Alg), and sulfonated α - and β -cyclodextrins (α -SCD and β -SCD) can be assembled into thin films using PEI as a cationic component of the films. The kinetics of evaporation of water from the swelled films was studied using quartz crystal microbalance (QCM). The kinetics are composed of an initial fast evaporation and consecutive slow process. Thus, it is speculated that water is entrapped in the two different kinds of environment in the films.

1. 緒 言

各種の高分子化合物は薄膜形成が可能であり材料の表面処理などに幅広く利用されている。また、生体適合材料の開発という観点から、生体類似高分子や生体親和性高分子で材料表面に処理を施すことも行われている。生体適合材料は、人工臓器や生体センサーの開発など広範囲な利用分野があり、高機能材料の開発はきわめて重要な課題である。生体適合材料としては生体高分子を用いることが最も容易であるが、製膜特性などの性質が必ずしも好適であるとはかぎらない。特に、薄膜として利用する場合には、良好な物性の薄膜を得るためには製膜方法などに工夫が必要である。とりわけ、膜厚や膜構造を精密に制御することが、膜物性を向上させるためには重要である。

本研究では、生体適合性超薄膜を作製するために交互累積膜法を採用し、高分子材料として多糖類を用いた際の超薄膜の吸水および保湿特性について検討した。交互累積膜法は約10年前に Decher 教授らにより確立された超薄膜作製法で、正および負の電荷を持つ高分子化合物の希薄溶液にガラスや金属の基板を交互に浸すことにより、基板表面に正負の高分子化合物を静電的引力により交互に吸着固定化する方法である¹⁾。ナノメートル程度の厚さの超薄膜が作製できることや、累積回数を加減して膜厚を任意に制御できることなどの利点があり、簡便な薄膜作製技術として注目されている。Decher らの方法は、正負の電荷による静電的引力に基づくものであったが、その他の相互

作用による引力を利用する方法も確立されており、水素結合や生物的特異結合なども利用できる。この方法により、タンパク質やDNAなどを利用した超薄膜の研究も進んでいる²⁻⁵⁾。これまでに、種々の材料がこの方法により薄膜に形成されて物性が研究されているが、吸水特性や保湿性に関する検討は行われていない。良好な吸水および保湿特性の生体適合性交互累積膜が開発されれば、皮膚保護材料としての利用も可能であろう。

2. 実 験

2-1 材料

ポリエチレンイミン 30%水溶液 (PEI、分子量 60,000-80,000) およびポリアリルアミン 20%水溶液 (PAA、分子量 10,000) は市販品を所定の濃度に希釈して用いた。グリコーゲン (Gly)、デキストラン (Dex)、デキストラン硫酸 (SD)、コンドロイチン硫酸 (SC)、アルギン酸 (Alg)、 α -, β -, γ -シクロデキストリン (α -, β -, γ -CD)、および硫酸化シクロデキストリン (α -SCD, β -SCD) は市販品を精製することなくそのまま使用した。実験に用いた材料の化学構造を図1にまとめて示した。これらの材料の水溶液は精製水を使用した緩衝液で作製した。

2-2 装置

交互累積膜の評価と水分含量の測定には、水晶振動子マイクロバランス (QCA920、セイコー EG & G) を用いた。プローブとして用いた水晶振動子は、基準振動数 9MHz の AT カット素子で表面に直径 0.4mm の円盤状に白金が薄く被覆してある。このプローブでは、水晶振動子への物質 1ng の吸着量を約 0.9Hz の振動数変化として検出することができる。

2-3 超薄膜の作製と吸水量および保湿特性の評価

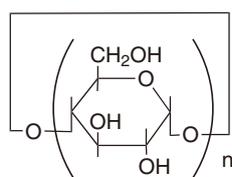
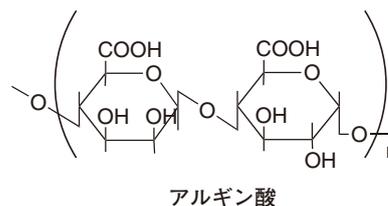
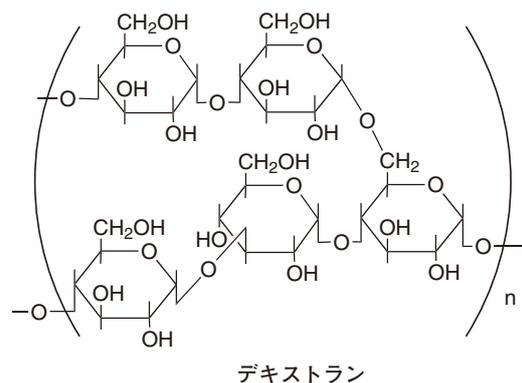
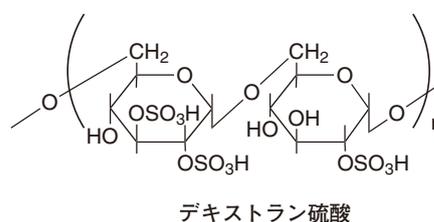
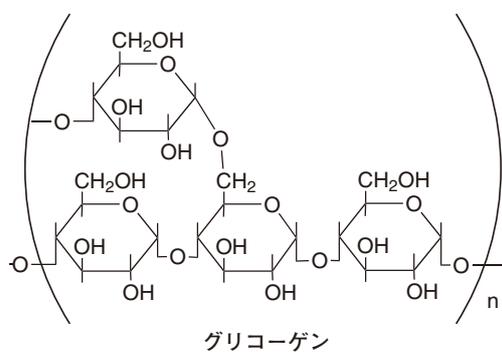
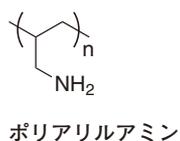
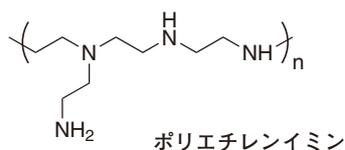
本研究では、交互累積膜の作製には2種類の異なる駆動力を用いた。すなわち、正負の静電的引力による吸着によ



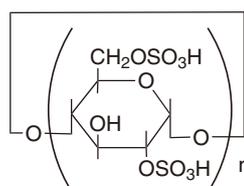
Evaluation of wetting and dewetting properties of biocompatible thin films

Jun-ichi Anzai

Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Tohoku University



n=6 α -シクロデキストリン
 n=7 β -シクロデキストリン
 n=8 γ -シクロデキストリン



n=6 α -硫酸シクロデキストリン
 n=7 β -硫酸シクロデキストリン

図1 本研究に用いた多糖類など高分子材料の化学構造

る方法と水素結合による方法である。前者には、多糖類として Gly、Dex、 α -、 β -、および γ -CD を用いて PEI と交互累積膜とした。この際には、これらの膜材料は 2 mg mL^{-1} の濃度のリン酸緩衝液 (pH7) として累積膜作製に用いた。また、後者には、SD、SC、Alg、 α -SCD および β -SCD を負電荷を有する多糖類とし、正電荷を持つ PAA と累積膜を作製した。この場合には、溶液濃度は 0.1 mg mL^{-1} とした。

表面を水でよく洗浄した水晶振動子を、はじめ PEI または PAA 溶液に 30 分間浸して吸着させ、つづいて蒸留水で 10 分間洗浄した。次に、多糖類の溶液に 30 分間浸して吸着させた後同様に洗浄した。この操作をくり返して任意の総数の交互累積膜を作製した。水晶振動子に上述の材料を吸着させた後に乾燥して QCM による振動数の測定を行った。表面に累積膜を被覆した水晶振動子を蒸留水に浸して充

分に吸水させてから空気中に引き上げて、そのまま風乾して水を蒸発させた。この過程の振動数変化を QCM により追跡した。

3. 結果

3-1 多糖類の累積膜の調製

はじめに、電荷を持たない多糖類と PEI を用いて交互累積膜を作製することを試みた。Gly と PEI を用いて交互累積膜を作製した際の QCM における振動数変化を図 2 に示した。縦軸に Gly と PEI を吸着させた後に乾燥させて測定した振動数を、横軸には累積膜の層数を示した。図から明らかなように、Gly および PEI を吸着させるたびに振動数が減少することがわかった。QCM の振動数変化 ($\Delta F / \text{Hz}$) と吸着物質の質量には式 (1) の関係があるので、振動数が減少したことは、水晶振動子表面に Gly と PEI が交互に吸着していることを示している。振動数変化は、5 層の累積膜、5 (Gly / PEI) 膜、で $-10,700\text{Hz}$ 、10 (Gly / PEI) 膜で $-25,100\text{Hz}$ であった。質量に換算するとそれぞれ 12mg および 28mg の (Gly / PEI) が累積膜として吸着したことを示している。

$$\text{振動数変化}(\Delta F / \text{Hz}) = -0.91 \times \text{吸着質量}(\text{M} / \text{ng}) \quad (1)$$

同様に、Dex、 α -、 β -、および γ -CD 用いた累積膜の調製を試みた。5 層の累積膜を作製したときの振動数変化は、 -550Hz (Dex)、 -730Hz (α -CD)、 -760Hz (β -CD)、および -430Hz (γ -CD) であった。これらの値は、同条件で累積膜を作製したにもかかわらず Gly に比べて 10% 以下であり著しく低いものであった。すなわち、PEI とこれらの多糖類は良好な交互累積膜になりにくいことを示している。

次に、正負の電荷の静電的引力を利用して多糖類累積膜を作製するために、SD、SC、Alg、 α -SCD、および β -SCD を用いた。これらの多糖類はどれも分子中にスルホン酸またはカルボン酸に基づく負電荷を有している。正電荷をもつ高分子材料として PAA を用いた。上記の 5 種の負電荷多糖類と PAA から交互累積膜を作製した際の QCM における振動数変化を図 3 にまとめて示した。いずれの場合にも、累積操作を重ねるに伴って振動数の減少が観察された。これは、良好に交互累積膜が作製できたことを示している。それぞれ 5 層の交互累積膜としたときの振動数変化は、 $-4,200\text{Hz}$ (SD)、 $-6,800\text{Hz}$ (SC)、 $-4,600\text{Hz}$ (Alg)、 $-6,200\text{Hz}$ (α -SCD)、および $-4,200\text{Hz}$ (β -SCD) であった。重量に換算すると、 $4,700\text{ng}$ (SD)、 $7,500\text{ng}$ (SC)、 $5,100\text{ng}$ (Alg)、 $6,900\text{ng}$ (α -SCD)、および $4,700\text{ng}$ (β -SCD) であった。これらの値は、静電的引力を利用しないで作製を試みた累積膜に比べてかなり大きな値であり、良好な累積膜が形成されていると判断できる。

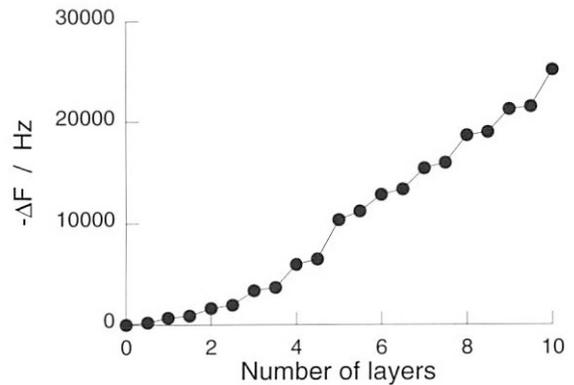


図2 PEI/Gly 交互累積膜の調製：水晶振動子マイクロバランスによる評価

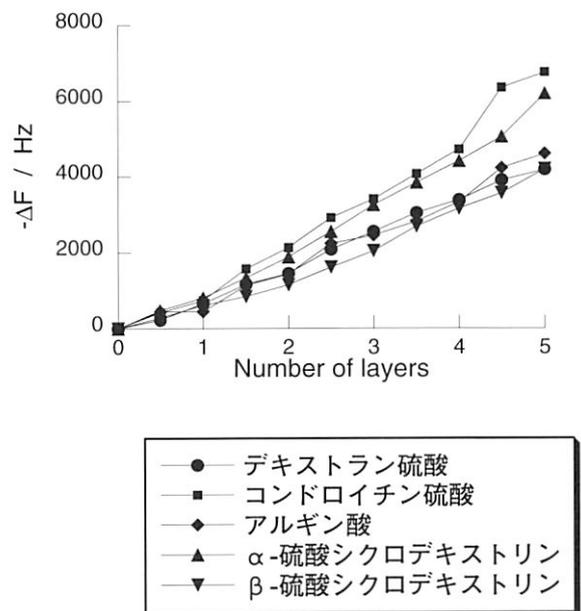


図3 種々の多糖類の累積膜の調製

3-2 多糖類交互累積膜の吸水量および保湿特性

PEI と Gly を用いて作製した 5 層の累積膜を蒸留水に浸して十分に吸水させた後に、空气中で自然乾燥したときの QCM の振動数の経時変化を図 4 に示す。はじめの 1 分程度で振動数の急激な増大がみられ、引き続いて振動数は徐々に増大して約 20 分後にはほぼ一定の値になった。この過程の振動数変化は、急激な変化は約 $10,000\text{Hz}$ 、後続の遅い過程の変化量は約 $8,500\text{Hz}$ であった。振動数が増大したことは、水晶振動子表面に形成された多糖類累積膜中から水が蒸発したために、振動子表面の質量が減少したことを示している。累積膜中から蒸発したと考えられる水の量は、それぞれの過程で 11mg および 9.4mg と計算される。既に述べたようにこの累積膜の重量は 28mg なので、膜重量にほぼ匹敵する水が累積膜の中に含まれていたと思われる。他の多糖類を用いた累積膜を用いた実験結果も、振動

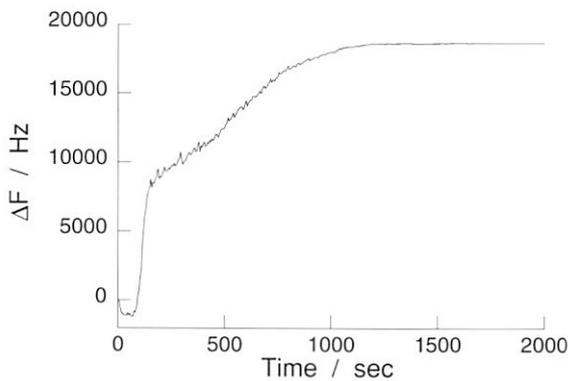


図4 PEI/Gly 交互累積膜からの水の蒸発過程

数変化の値は異なるが Gly と同様に振動数変化の早い過程と遅い過程が観察された。

次に、SD、SC、Alg、 α -SCD、および β -SCD を用いて作製した累積膜についても同様の検討を行った。QCM による結果を図5にまとめて示した。いずれの累積膜でも、図4に示した(Gly/PEI)累積膜と同様の挙動が観察された。水の蒸発に伴う振動数変化果から、これらの累積膜中に含まれていた水の重量は、7,800ng (SD)、8,800ng (SC)、10,000ng (Alg)、5,000ng (a-SCD)、および 7,800ng (b-SCD) と計算される。

4. 考察

図2の結果は、PEIとGlyを用いると交互累積膜を作製できることを示している。PEIは中性付近のpHでアミノ基の一部は水素イオンが付加して正電荷を有していると考えられるが、Glyは電荷をもたないので、この両者はアミノ基と水酸基の水素結合を介して結合したのではないかと考えられる。また、Dex、 α -CD、 β -CD、および γ -CDでも僅かの振動数変化が観察され、これらの物質が吸着していることが示唆されたが、吸着量はGlyを用いた場合に比べて非常に少なかった。これは、水素結合は弱い結合であり、結合点間の距離や配向に依存する性質をもっていることから理解できる。換言すれば、用いる材料間の構造的な相補性がよくないと良好な累積膜は形成されないことを示唆している。

一方、正負の電荷の間に作用する静電的引力を利用する累積膜では、材料の構造に著しく依存することなく概ね良好な累積膜が作製できた。各種の合成高分子を用いた交互累積膜の作製条件は詳細に検討されており、多糖類を材料として用いる場合にもこれらの条件は適用できるものと思われる。したがって、多糖類の累積膜を作製する場合には、水素結合などによって吸着させるよりも静電的相互作用による方が汎用性に富むものと思われる。なお、今回用いた多糖類材料の中には、SD、SC、Algのような鎖状多糖類とともに α -SCDおよび β -SCDのような環状オ

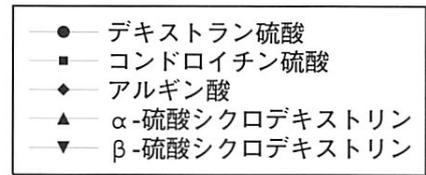
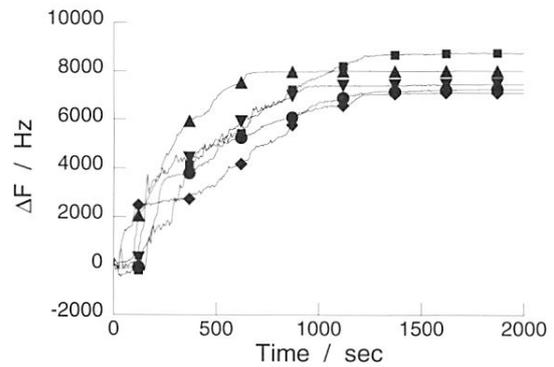


図5 種々の多糖類累積膜からの水の蒸発過程

リゴ糖も含まれ、これらも静電的引力により薄膜となることは興味深い。今回の研究目的からは逸脱するが、CD化合物は溶解補助や除放の目的で食品や医薬品の広く利用されており、CD含有超薄膜として新たな用途が広がるかも知れない^{6,7)}。

作製した多糖類累積膜の吸水過程については本研究では明らかにすることはできなかったが、累積膜中に含まれる水が蒸発する過程に関して興味ある現象が観察された。すなわち、QCMにより累積膜からの水の蒸発を追跡した結果、急激に振動数変化が起きる初期の過程と後続する緩慢な過程が、いずれの累積膜でも観察された。これは、累積膜の表面付近に存在する水の蒸発と累積膜内部に存在する水の蒸発過程に対応するのではないかと推定される。本研究で使用した多糖類累積膜の厚さは、用いた材料の密度を 1.2 g cm^{-3} と仮定すると⁸⁾、例えば10層の10 (Gly / PEI) 膜で約700ナノメートル程度、5層の5 (Alg / PEI) 膜では約130ナノメートルと計算されるが、このように薄い膜においても膜表面と膜内部に存在する水の蒸発過程(保湿特性)に差異があることは興味深い。これは、内部の水が蒸発する過程は水の膜表面までの拡散速度も蒸発速度に影響する重要な因子であり、膜表面と内部では蒸発速度を決める過程が異なることに起因するものと推定される。

本研究では、多糖類高分子として合計10種の材料を用いたが、吸水および保湿特性に関しては、材料の構造による明確な相違を明らかにすることはできなかった。また、多糖類累積膜の膜厚を変えて実験を行ったが、厚い膜には多量の吸水が観察された以外、蒸発速度に関しては膜厚の影響は観察されなかった。これらの点に関しては今後の検討課題として残った。

(参考文献)

- 1) G. Decher, J. D. Hong, Buildup of Ultrathin Multilayer Films by a Self-Assembly Process: II. Consecutive Adsorption of Anionic and Cationic Bipolar Amphiphiles and Polyelectrolytes on Charged Surfaces, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.*, 95, 1430-1434, 1991.
- 2) Y. Lvov, G. Decher, G. Sukhorukov, Assembly of Thin Films by Means of Successive Deposition of Alternate Layers of DNA and Poly (allylamine) , *Macromolecules*, 26, 5396-5399, 1993
- 3) J. Anzai, Y. Kobayashi, N. Nakamura, M. Nishimura, T. Hoshi, Layer-by-layer Construction of Multilayer Thin Films Composed of Avidin and Biotin-labeled Poly (amine) s, *Langmuir*, 15, 221-226, 1999.
- 4) J. Anzai, Y. Kobayashi, Construction of Multilayer Thin Films of Enzymes by Means of Sugar-Lectin Interactions, *Langmuir*, 16, 2851-2856, 2000.
- 5) J. Anzai, T. Hoshi, N. Nakamura, Construction of Multilayer Thin Films Containing Avidin by a Layer-by-layer Deposition of Avidin and Poly (anion) s, *Langmuir*, 16, 6306-6311, 2000.
- 6) K. Sato, I. Suzuki, J. Anzai, Preparation of Polyelectrolyte-Layered Assemblies Containing Cyclodextrin and Their Binding Properties, *Langmuir*, 19, 7406-7412, 2003.
- 7) K. Sato, I. Suzuki, J. Anzai, Layered Seemblies Composed of Sulfonated Cyclodextrin and Poly (allylamine) , *Colloid Polym. Sci.*, 282, 287-290, 2004.