

天然物由来高分子を利用した新規サンスクリーンカプセルの創出

大阪公立大学大学院工学研究科物質化学生命系専攻応用化学分野

北山 雄己哉

Sunlight contains harmful ultraviolet light. Sunscreen materials are great important materials for skin protection from sunlight. Herein, hollow/capsule polymer particles possessing ultraviolet absorbance capability were fabricated by the interfacial photoreaction of spherical polymer particles possessing photoreactive cinnamoyl and coumarin groups. In the interfacial photocrosslinking approach, [2+2] photodimerization reaction between two cinnamoyl and coumarin groups proceeds under suitable wavelength lights, but the photodimerization reaction only proceeds at the particle interfacial region. Using this interfacial photocrosslinking approach, shell-crosslinked hollow polymer particles were obtained directly from simple spherical polymer particles via a facile procedure. Encapsulation of various molecules in the hollow polymer particles was achieved by post-introduction based on the solvent exchange procedure.

1. 緒言

サンスクリーン材料は、太陽光に含まれる有害な紫外線 (UV) から皮膚を保護するために用いられる。太陽光には、皮膚炎や光老化の原因となる UVB (280-320 nm)、DNA 損傷や皮膚がんの原因となる UVA (320-400 nm) が特に多く含まれるため、これらを効果的に遮蔽するサンスクリーン材料の開発は重要である。現在は、無機ナノ粒子や芳香族系有機低分子化合物がサンスクリーン材料として用いられている。しかし、前者は皮膚を透過し生細胞に侵入する上に、光触媒機能により活性酸素種を発生させ細胞毒性や老化の原因となる可能性がある。後者は、低分子であることから皮膚への浸透が懸念され炎症が生じる恐れがある。そのため、安全、低毒性かつ効果的に UV 光を遮蔽できるサンスクリーン材料の開発が望まれる。

植物に含まれる天然由来分子である桂皮酸は、UVB 領域 (280 nm) に高いモル吸光係数を有するだけでなく、適切な光照射により $[2\pi+2\pi]$ 二量化反応を示すことが知られている。以前の研究で、桂皮酸から誘導された 2-Cinnamoyl ethyl methacrylate (CEMA) を重合して作製した高分子微粒子に、UV 照射を行うと微粒子界面近傍限定的に Cinnamoyl 基間二量化反応 (ポリマー間架橋反応) が生じる「界面光架橋反応」を見出した¹⁻³⁾。この発見の後、微粒子内部に残存する未架橋ポリマーを洗浄除去することができ、内部に空隙を有する中空粒子が得られることを明らかにした (図 1)。これまでにも、テンプレート法⁴⁻⁵⁾や

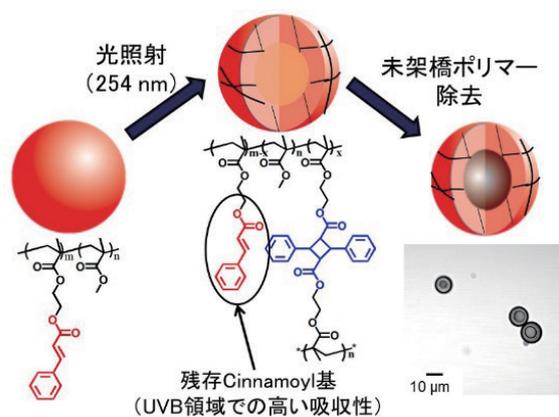


図 1 界面光架橋反応の概要図

相分離自己組織化法⁶⁾など様々な中空粒子調製法が報告されてきた⁷⁻⁸⁾が、本手法では、光照射と微粒子洗浄という簡便かつ安全なステップで中空粒子を作製できることを特徴としている。さらに、得られる中空粒子には、未反応の光反応性基が必ず残存するため非常に高い UVB 吸収を示す。

本研究では、界面光架橋反応を基盤技術とした UVA 領域に吸光を示す機能性サンスクリーンカプセルの創出を目指す。クマリンは植物などの天然に広く存在する芳香成分の一種であり、UVA 領域 ($\lambda_{\max}=320 \sim 330 \text{ nm}$) 以上の波長に光吸収を示す。さらに、光反応性アルケン部位を有するため、光二量化反応が期待できる。そこで本研究では、UVA に光反応性・吸収性を示す新規天然物由来モノマーを創製し、界面光架橋反応を利用して UVA 吸収を示す中空粒子の作製を試みる。さらに、モデル分子として蛍光色素を内包したカプセルを調製できるか検討した。これにより、微粒子の界面光架橋反応を利用して様々な波長の吸収を示す高分子微粒子材料を創ることが出来るか検討した。



Preparation of Sunscreen Capsules Using Photoreactive Polymers Possessing Natural Compounds

Yukiya Kitayama

Department of Applied Chemistry, Graduate School of Engineering, Osaka Metropolitan University

2. 方法

2.1. クマリン誘導体モノマーの合成

UVA領域に吸収を示すクマリン基を光反応性部位としてもつモノマー (COMA) を以下のように合成した (図2)。具体的には、7-ヒドロキシクマリンおよび2-ブロモエタノールを炭酸カリウム存在下、アセトン中で反応させた。その後、シリカゲルクロマトグラフィによって精製し、7-(2-ヒドロキシエトキシ)クマリンを得た。さらに、7-(2-ヒドロキシエトキシ)クマリンをメタクリル酸クロリドとピリジンとを溶解させたテトラヒドロフラン (THF) 中で反応させた。その後、シリカゲルクロマトグラフィで精製することで、目的物である7-(2-メタクリロイルオキシエトキシ)クマリン (COMA) を光反応性モノマーとして得た。

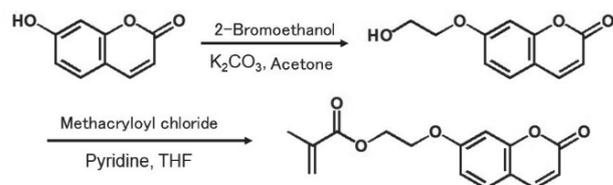


図2 COMAの合成ルート

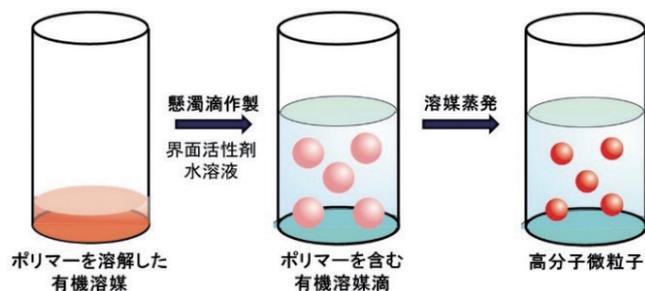


図3 溶媒蒸発法による微粒子合成プロセス

2.2. 桂皮酸誘導体モノマーの合成

リファレンス化合物としてUVB領域に吸収を示す桂皮酸を光反応性部位として有するモノマー (CEMA) を合成した。桂皮酸クロリドと2-ヒドロキシエチルメタクリレートとトリエチルアミン存在下、室温で一晩反応させ、シリカゲルカラムクロマトグラフィを用いて精製した。

2.3. シンナモイル構造およびクマリン構造を側鎖に有する光反応性ポリマーの合成

2,2'-アゾビスイソブチロニトリルを開始剤としたラジカル重合を用いて、CEMAとメタクリル酸メチル (MMA) のランダム共重合体 (P(CEMA-MMA)) をシンナモイル基含有光反応性ポリマーとして合成した。ポリマーは再沈殿により精製・回収した。さらに、2,2'-アゾビスイソブチロニトリルを開始剤としたラジカル重合を用いて、COMAとメタクリル酸メチル (MMA) のランダム共重合体 (P(COMA-MMA)) をクマリン基含有光反応性ポリマーとして合成した。ポリマーは再沈殿により精製・回収した。また合成石英基板上にキャスト法によりP(COMA-MMA) 薄膜を形成し、光照射 ($\lambda=365\text{nm}$) 後のUV-Vis測定を行い、スペクトルの経時変化を調査することでP(COMA-MMA)の光反応性を評価した。

2.4. 中空粒子の合成

得られたP(CEMA-MMA) およびP(COMA-MMA) をクロロホルムに溶解させ、ポリビニルアルコール (けん化度: 88%、重合度: 1000) 水溶液中にホモジナイザーを用いて分散させ、クロロホルムを蒸発させることにより真球状高分子微粒子を調製した (図3)。この真球状粒子に対して、水分散状態で光照射を行うことで界面光架橋反応を行い、THFを用いた遠心洗浄により未架橋ポリマーを除去

し、シェル部が架橋された中空粒子を作製した。

2.5. モデル蛍光分子を内包したカプセル粒子の合成

Rhodamine Bを溶解したTHF/DMSO混合液に中空粒子を分散させ、その後多量の純水に溶媒置換することにより、カプセル粒子の調製を行った。

3. 結果および考察

CEMAおよびCOMAの合成について、核磁気共鳴装置 ($^1\text{H-NMR}$) により評価したところ、それぞれ目的物の単離・精製ができていることを確認した。CEMAの吸収スペクトルを紫外可視分光光度計により測定したところ、極大吸収波長 λ_{max} を約280nmに有しており、UVB領域に吸収を示した。またCOMAの紫外可視分光光度計測定を行ったところ、 λ_{max} を約321nmに有しており、UVA領域に吸収を示すモノマーを得ることができた。

さらに、CEMAおよびCOMAをMMAとともに2,2'-アゾビスイソブチロニトリルを開始剤としたラジカル重合によって共重合体 (P(CEMA-MMA) および P(COMA-MMA)) を合成した。再沈殿精製の後、 $^1\text{H-NMR}$ によるポリマー組成を評価したところ、ほぼ仕込み比通りに各モノマーが共重合されたポリマーであることがわかった。得られたポリマーの紫外可視分光光度計測定から、P(CEMA-MMA) は桂皮酸由来の $\lambda_{\text{max}}=280\text{nm}$ に有しており、P(COMA-MMA) はクマリン由来吸収を $\lambda_{\text{max}}=323\text{nm}$ に有していることがわかった。このことから、両ポリマーはそれぞれシンナモイル構造とクマリン構造を保持していることがわかった。

次に、P(CEMA-MMA) を合成石英基板上に薄膜状に

成形し、 $\lambda=254\text{nm}$ の光照射を行い、経時的な紫外可視分光光度計測定を行った。その結果、光照射時間の増加に伴い、シナモイル基由来の吸収が徐々に減少し、光反応が進行していることが示唆された。また、P (COMA-MMA)を石英基板上で薄膜状に成型し $\lambda=254\text{nm}$ の光照射を行った場合、クマリン由来吸光度の減少は観察されなかった。一方、P (COMA-MMA)に対して $\lambda=365\text{nm}$ の光照射を行った場合、照射時間とともにクマリン基由来の吸光度が減少し、本ポリマーが当該波長に対して光反応性を有していることがわかった(図4)。さらに、両ポリマーともに光照射後に吸光度が一定値に収束することから、一部のシナモイル基およびクマリン基が光照射後も残存していることがわかった。すなわち光反応性部位が、ポリマー光架橋後も光吸収部位として残存することが示唆された。この残存光反応性部位に由来して、中空粒子やカプセルはUVBやUVAに対する吸収を示すと期待できた。

次に、P (CEMA-MMA) およびP (COMA-MMA) 微粒

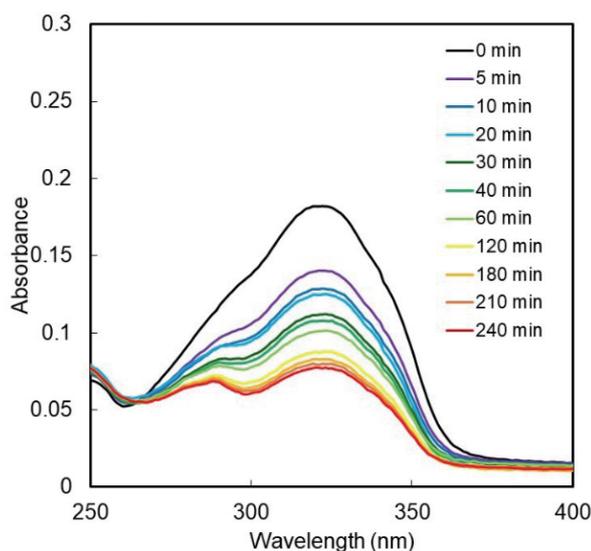


図4 P (COMA-MMA) 薄膜への種々光照射時間ごとの紫外可視分光光度計スペクトル ($\lambda=365\text{nm}$)

子の調製を溶媒蒸発法により実施した。溶媒蒸発法では、ポリマーを水が混和しない有機溶媒に一度溶解し、そのポリマー溶液を分散安定剤水溶液中で分散させた後、有機溶媒を蒸発させることにより真球状高分子微粒子を得ることができる。そこで、各ポリマーの有機溶媒への溶解性を評価した。P (CEMA-MMA) およびP (COMA-MMA) ともにクロロホルムに溶解したことから、クロロホルムを有機溶媒として用いた溶媒蒸発法により、微粒子化を試みた。得られた微粒子分散液を光学顕微鏡で観察したところ、マイクロメートルサイズの真球状高分子微粒子が観察でき、マイクロメートルサイズのP (CEMA-MMA) およびP (COMA-MMA) 微粒子を得ることができた(図5)。

次に、得られた高分子微粒子に対して界面光架橋反応による中空粒子化を試みた。P (CEMA-MMA) 微粒子には、薄膜形態で光反応が進行したことが示唆された $\lambda=254\text{nm}$ の光照射を行った。光照射前後では微粒子モルフォロジーに変化はなく、真球状高分子のままであったが、光照射後の粒子を、THFを良溶媒として用いた遠心洗浄を行ったところ、粒子内部からポリマーが除去された中空粒子が得られたことがわかった(図5)。一方、 $\lambda=365\text{nm}$ の光照射を行ったところ、P (CEMA-MMA) 粒子の架橋反応は進行しなかった。また、P (COMA-MMA) 微粒子には、 $\lambda=365\text{nm}$ の光照射を行ったところ、こちらも光照射前後で粒子形態に変化はなく真球状粒子のままであったが、THF洗浄後に中空粒子が得られていた(図5)。一方、 $\lambda=254\text{nm}$ の光照射を行ったところ、P (COMA-MMA) 粒子の架橋反応は進行しなかった。以上の結果から、シナモイル基やクマリン基を側鎖に有する高分子微粒子に適切な光照射条件による微粒子界面光架橋反応を適用することにより中空粒子を得ることができることが明らかになった。

次に、中空粒子のシェル厚み制御を試みた。微粒子界面光架橋反応は、粒子外部から光反応が進行するため、光照射時間に伴いシェル厚みが増加する可能性がある。そこで、P (COMA-MMA) 粒子に対する界面光架橋反応を異なる

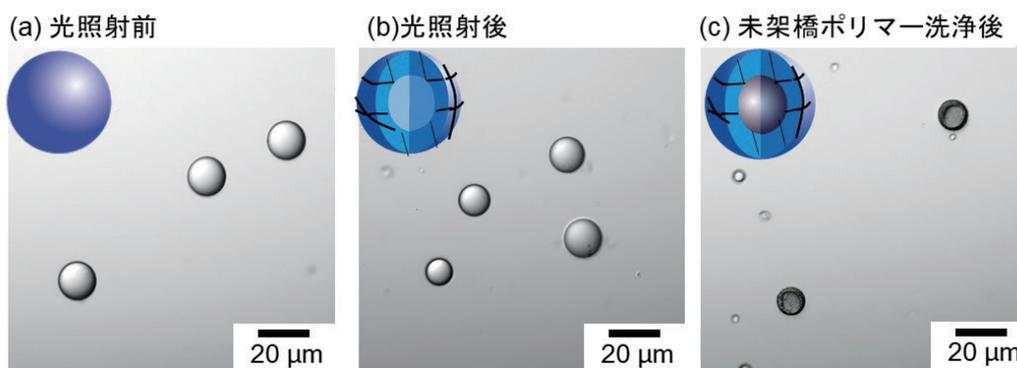


図5 光照射前(a)、光照射後(b) および未架橋ポリマー洗浄後(c)のP (COMA-MMA) 微粒子の光学顕微鏡写真($\lambda=365\text{nm}$)。

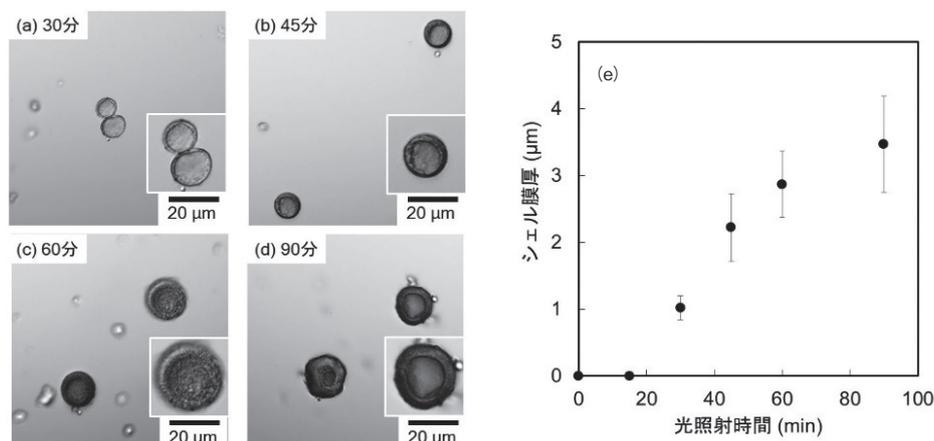


図6 光照射時間を変更した P(COMA-MMA) 中空粒子の光学顕微鏡写真(a-d)とシェル膜厚(e)

光照射時間で実施し、得られた中空粒子のシェル厚み制御を試みた。その結果、予想通り光照射時間の増加に伴い、P(COMA-MMA)粒子のシェル膜厚は増加していた(図6)。結果として、光照射時間で中空粒子のシェル厚みを制御できることが明らかになった。

次に、中空粒子内部への機能性分子内包によるカプセル化を試みた。得られた中空粒子はシェル部が架橋しているために、良溶媒中においても粒子形態を保持できるとともに、シェル部の膨潤と拡散により後天的に薬物等の分子を粒子内部に導入できる。その後、貧溶媒に溶媒を置換することでシェル部を収縮させ、粒子内部に物理的に種々の分子を封入することが可能となる。この溶媒交換法を利用することで、カプセル粒子の作製を試みた。ここでは、モデル分子として蛍光色素である Rhodamine B を用いて検討を進めた。具体的には、界面光架橋反応により調製した中空粒子を、Rhodamine B を溶解した THF/DMSO 混合溶媒中に浸漬しインキュベーション後、溶媒を PVA 水溶液に変更することによりローダミン B の内包を試みた。得られた粒子の共焦点レーザー顕微鏡観察を行ったところ、粒子のコア部に明確なローダミン B 由来蛍光を観察することができた溶媒置換法により作製した粒子の内部から、Rhodamine B 由来の蛍光が観察されたことから、カプセル粒子が得られたことがわかった。

4. 総括

以上のように、UVA 吸収性の Coumarin 基を含むモノマーおよびポリマーの合成に成功し、現在は本ポリマーを利用してサンスクリーン用微粒子材料の合成を引き続き推進している。本研究で得られる微粒子材料は、皮膚浸透性の低いマイクロサイズに調整できるだけでなく、天然物由来化合物の誘導体であり安全性が高い。そのため、本研究を遂行することで新しいサンスクリーン用微粒子材料の創製技術の確立が期待できる。

(引用文献)

- 1) Y., Kitayama, The Interfacial Photoreaction: An Efficient Strategy to Create Functional Polymer Particles. *Polym. J.*, 51 (10), 963-974 (2019)
- 2) Y. Kitayama, K. Yoshikawa, T. Takeuchi, Efficient Pathway for Preparing Hollow Particles: Site-specific Crosslinking of Spherical Polymer Particles with Photoresponsive Groups that Play a Dual Role in Shell Crosslinking and Core Shielding. *Langmuir*, 32 (36), 9245-9253 (2016)
- 3) Y. Kitayama, T. Takeuchi, Fabrication of Redox-Responsive Degradable Capsule Particles by a Shell-Selective Photoinduced Cross-Linking Approach from Spherical Polymer Particles. *Chem, Eur. J.*, 23 (52), 12870-12875 (2017)
- 4) A. P. R. Johnston, C. Cortez, A. S. Angelatos, F. Caruso, Layer-by-layer Engineered Capsules and Their Applications. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, 11 (4), 203-209 (2006)
- 5) X. L. Xu, S. A. Asher, , Synthesis and Utilization of Monodisperse Hollow Polymeric Particles in Photonic Crystals. *J. Am. Chem. Soc.*, 126(25), 7940-7945(2004)
- 6) H. Minami, H. Kobayashi, M. Okubo, Preparation of Hollow Polymer Particles with a Single Hole in the Shell by SaPSeP. *Langmuir*, 21 (13), 5655-5658 (2005)
- 7) Y. Luo, H. Gu, A General Strategy for Nano-Encapsulation via Interfacially Confined Living/Controlled Radical Miniemulsion Polymerization. *Macromol. Rapid. Commun.*, 27 (1), 21-25 (2006)
- 8) F. Ishizuka, R. H. Utama, S. Kim, M. H. Stenzel, P. B. Zetterlund, RAFT Inverse Miniemulsion Periphery Polymerization in Binary Solvent Mixtures for Synthesis of Nanocapsules. *Eur. Polym. J.*, 73, 324-334. (2015)