

論文目録

1. "Synthesis and Thermo-responsiveness of Double Hydrophilic Block Copolymers with PNIPAM Coils and Poly(methyloxazoline) /Poly(ethyleneimine) Combs"
Haruka Takebuchi, Hiroki Kubosawa and Ren-Hua Jin, *Chem. Lett.*, 2019, **48**, 647–650.
2. "A Unique Nano-Capsule Possessing Inner Thermo-Responsive Surface Prepared from a Toothbrush-Like Comb–Coil Block Copolymer"
Haruka Takebuchi and Ren-Hua Jin, *Macromol. Chem. Phys.*, 2021, **222**, 2100174. (Selected as front cover page)
3. "Photoluminescent Polymer Micelle with Thermo-/pH-/Metal Responsibility and Its Feature in Selective Optical Sensing of Pd(II) Cation"
Haruka Takebuchi and Ren-Hua Jin, *RSC advances*, 2022, **12**, 5720-5731.

両親媒性多元高分子と多重刺激応答性材料

神奈川大学大学院博士課程
工学研究科工学専攻 金研究室

竹淵はるか

この 20 年で高分子化学は従来の構造制御がされていなかった汎用性高分子材料のイメージを根底から覆し、精密重合の開発を皮切りにナノメートルレベルで制御された素材を生み出すようになった。このナノテクノロジーの波に乗ると、時代の潮流は先端的な電子材料、光学材料、生体材料、ソフトマテリアルへと舵を取り、多くの新しい可能性が日進月歩で発見されている。生体材料またはソフトマテリアルへの展開において両親媒性高分子は欠かせない一つの分子素材である。シンプルに言うと、両親媒性高分子は界面活性剤として働く機能性高分子でもある。一般に、界面活性剤は極性が高く水に溶解する親水性部と溶解しない疎水部で構成されている。両親媒性高分子は臨界ミセル濃度を超えると疎水的な会合力によって互いに配列し自己組織化する。自己組織化は非共有結合性相互作用（ファンデルワールス力、疎水性、 π - π 、静電的相互作用、水素結合）が駆動力となり球状、シリンダー状、ベシクル（中空）状などの様々な形状の凝集体を形成する。ナノスケールで構造を制御できる両親媒性高分子は新たな機能性材料の開発のために長らく探求されてきた。多くの研究では直鎖状高分子が選択されているが、複雑な構造組成やトポロジーを検討することによる性質の変化は未知の領域が多い。

また組成によらず自己組織化の”ON”、”OFF”を制御する手段として刺激応答性高分子が注目されている。特に環境刺激により親水性から疎水性（あるいはその逆）へと変化する高分子は潜在的に両親媒性高分子だと言える。刺激応答性高分子は物理的（熱、光、磁場）あるいは化学的（pH、酸化還元、イオン強度）な環境刺激により化学的性質が変化する。合成された高分子は基板、ナノ粒子表面あるいは組織体そのものとして薬物送達、低濃度分析に用いられるセンサー、触媒としての用途に利用されている。特にサンプルへ他分子添加が必要ない熱刺激は好まれる傾向にあ

る。もっとも一般的な熱応答性高分子である Poly(*N*-isopropylacrylamide) (PNIPAM) は低温で水に溶解するが 30 °C 付近で脱水和して疎水性へと変化する性質をもつ。この熱挙動は下限臨界溶液温度 (Lower critical solution temperature; LCST) と呼ばれ、加熱することで溶媒への溶解度が増す上限臨界溶液温度 (Upper critical solution temperature; UCST) と対をなす性質である。特に 20 °C から 40 °C の範囲で熱応答する高分子は薬物送達や組織工学材料など生物学的用途への展開が期待されている。PNIPAM の場合、重合度あるいは直鎖状、環状、くし型と高分子構造を変えることで LCST が変化する。PNIPAM の応用において他の高分子と組み合わせた多元高分子における物性についてはいまだ謎に満ちている。またくし構造など複雑な構造を導入した場合、それぞれの高分子が互いにどのような相互作用を起こすのかは解明されていない。刺激応答性高分子の機能を拡張するための手段としては多元的な構造設計が有効である。

直鎖状 Polyethyleneimine (LPEI) は第 2 級アミンを持つカチオン性高分子である。PEI は 2-oxazoline のカチオン開環重合によって得られる Poly(2-oxazoline) (POZ) を酸あるいは塩基加水分解することによって得られ、室温下の水中で結晶性を示しファイバー状の結晶を形成する。この結晶は分散液を 60 °C 以上に加熱すると溶解するため PEI は UCST 型熱応答性高分子のひとつである。Jin らは PEI 結晶構造が濃度によりバンドル状、フィルム状と変化し、これらがシリカ複合化のための塩基性触媒となることを報告している。また高密度のアミンが示す pH 応答や高い金属吸着能を利用して遺伝子送達やナノデバイスに向けた応用が盛んに研究されている。さらに反応性に富むアミンを構造中に有する PEI はエポキシやアクリルアミド、酸性物質と効率的に反応するので、多様な後修飾が可能となる。しかしこれらの多くはハイパーブランチ型 PEI を用いており、精密重合が可能な LPEI の応用は少ない。当研究室では Poly(2-methyl-2-oxazoline) (PMOZ) を加水分解して得られる LPEI のポリアミン構造に起因する結晶性や反応基質としての機能に注目し、PEI 骨格を持つ様々な多次元高分子を報告してきた。

本論文では PNIPAM を有する多元高分子設計を中心に、構造組成とトポロジーに起因する両親媒性高分子の基礎物性、自己組織化、環境応答性について詳細に検討し、種々のマルチ刺激応答性共重合体に関する新しい体系確立を試みた。基本骨格となるのは Poly(4-vinylbenzyl chloride)

(PVBC) と PNIPAM からなるジブロック共重合体である。このジブロック共重合体にくし構造 PMOZ や PEI を有する歯ブラシ型ポリマーの合成や発光性側鎖導入反応を行い、新規の多元高分子が生み出すマルチな刺激応答性材料を探求した。

はじめに PNIPAM 主鎖とくし構造の Poly(2-methyl-2-oxazoline) (PMOZ) あるいは Polyethyleneimine (PEI) を組み合わせた二重親水性かつ熱応答性の歯ブラシ型共重合体を合成した。PNIPAM と PMOZ の組み合わせでは水中で LCST 以上に加熱するとミセルを形成するが、室温下でもくし構造 PMOZ ブロックと PNIPAM の間で生じる競争的水素結合により特異的なミセル形成能を示す現象を明らかにした。また PEI と組み合わせることで共重合体は二重熱応答性と pH 応答性を獲得し、刺激応答によりファイバー状あるいは球状に自己組織化する。

さらに PEI 系歯ブラシ型共重合体の熱応答によって形成するミセルをもとに、架橋反応を介して構造固定されたナノカプセルを合成した。ナノカプセルは親水性架橋剤 *N,N'*-Methylenebis(acrylamide) (MA) あるいは疎水性架橋剤 Resorcinol Diglycidyl Ether (RCGE) を用いて構造固定され、いずれも内層に残る PNIPAM が広い温度範囲で傾斜的に熱応答する挙動が見られた。またこれらは有機色素 Nile Red (NR) の閉じ込め効果を発揮し、カプセル内でナノ結晶を形成したことから分子担体としてのポテンシャルを秘めている。

最後に共役系を必要としない新たな非共役系発光材料としてテオフィリン側鎖を含むジブロック共重合体を合成した。PVBC-*b*-PNIPAM マクロ開始剤の側鎖にテオフィリン (T) とイミダゾール (I) の比率を変えて導入すると顕著な青色発光が見られた。テオフィリンとイミダゾールが分子内で電荷移動錯体を形成し発光特性を見せることを明らかにした。またこれらは金属イオンセンサーとして、特にパラジウムイオンを選択的に検出することを明らかにした。

本研究では熱応答性 PNIPAM を有する多元両親媒性高分子を合成し、マルチ刺激応答性材料への新たな分子設計アプローチと知見を提案した。合成された新規のナノ構造材料はいずれも薬物送達、金属センサーや触媒への応用が期待できる。

Multiple Stimuli-Responsive Nanomaterials Comprised from Amphiphilic Block Copolymers

Kanagawa University
Graduate School of Engineering
Haruka Takebuchi

Amphiphilic macromolecules have great potential for accessing functional nanomaterials, because their hydrophilic and hydrophobic components prefer self-organization in aqueous media affording to nanostructured entities such as spherical micelles, rod, worms, vesicles and more higher-level hierarchical structure. Amphiphilic macromolecules used in stimuli-responsive nanomaterials are also called smart polymers which can response to heat, pH, light, solvents. Such smart polymers can be applied in the fields of nanosensors, bioimaging, catalysts etc. Among them, the temperature-responsive copolymers with the lower critical solution temperature (LCST) and the upper critical solution temperature (UCST) were studied most widely. As well-known, poly(*N*-isopropylacrylamide) (PNIPAM) is often used as the LCST type polymer which shows a sharp coil-globule phase transition near temperature at 32 °C. Design of copolymers possessing PNIPAM block or segment in different structural dimensions is very attractive and desirable process to approach thermo-responsive materials with accompanying the other responsibilities.

In this work, we were targeting three multiple stimuli-responsive materials comprised from PNIPAM component. First, we found that the comb-coil block copolymers with poly(methyl oxazoline) (PMOZ) comb and PNIPAM coil show well thermo-responsive behavior in the aqueous solution to form stable nanomicelles when heated. Unexpectedly, we also found that the copolymers with PMOZ comb and PNIPAM coil endowed PNIPAM coil with hydrophobicity and thus the copolymers play as like as amphiphilic copolymers to form micelles when the polymer concentrations increased to CMC value. This is an interesting knowledge because PNIPAM can become hydrophobic not only under heating but also via intramolecular interactions with hydrophilic PMOZ.

Second, we synthesized a comb-coil block copolymer with PNIPAM coil and polyethyleneimine (PEI) brushes. Self-organization of the copolymer into micelle by heating and subsequent cross-linking of the part of PEI corona resulted in a unique nanocapsule (i-CLM) with hydrophilic cross-linked PEI outer shell and thermo-responsive PNIPAM inner brush. The nanocapsule appeared as vesicle-like hollow at room temperature but did into micelle-like spheres when heated. And the feature is cycled reversibly with gradual fashion under wide-range of temperature responding. The hollow of the nanocapsule is a good nano pocket to promote the growth of nano crystals of Nile red as hydrophobic fluorophore.

Finally, we found a new photoluminescent amphiphilic block copolymer comprising theophylline (T) and imidazole (I) residues in the suitable ratio in the side chains on usual polystyrenic block (PVBT/I). We synthesized block copolymer consisted of hydrophobic PVBT/I and hydrophilic PNIPAM and investigated its self-assembly into micelles and the micellar features such as thermo-responsibility, fluorescence-emission, pH, metal ion-depended photoluminescence in detail. Especially, the micelle showed intrinsic blue emission which was emitted from charge transfer association between T/I residues in the intra-chains. Very interestingly, among many metal cations, only Pd²⁺, which can chelate strongly with theophylline, quenched relentlessly the photoluminescence from micelles.

Our finding from the multiple stimuli-responsive nanomaterials comprised from amphiphilic block copolymer is a new insight into propose new macromolecular design for spherical micelles and capsules for functional nanomaterials by thermo-responsive PNIPAM and stimuli-responsive segments.

神奈川大学大学院 博士課程

博士論文

両親媒性多元高分子と多重刺激応答性材料

Multiple Stimuli-Responsive Nanomaterials Comprised from Amphiphilic Block Copolymers

2022年1月13日提出

工学研究科工学専攻

応用化学領域

金仁華研究室

竹渕 はるか

目次

第1章 序論

1.1 両親媒性高分子と自己組織化	1
1.2 刺激応答性高分子 Poly(<i>N</i> -isopropylacrylamide) (PNIPAM)	4
1.3 刺激応答性高分子 Polyethyleneimine (PEI)	9
1.4 本研究の目的と論文構成	11
1.5 参考文献	13

第2章 PNIPAM とポリメチルオキサゾリン/ポリエチレンイミンからなる熱応答性かつ二重親水性のくし-コイル型ブロックコポリマー

2.1 緒言	16
2.2 実験	20
2.2.1 試薬および溶媒	20
2.2.2 測定装置	20
2.2.3 熱応答性かつ二重親水性くし-コイル型ブロック共重合体の合成	21
2.2.4 親水性くし-コイル型ポリマー[PVBC- <i>g</i> -(PEI)]- <i>b</i> -PNIPAM の自己組織化	22
2.2.5 二重親水性くし-コイル型ポリマーの熱応答挙動の調査	23
2.2.6 二重親水性 [PVBC- <i>g</i> -(PMOZ)]- <i>b</i> -PNIPAM の無機電解質応答	23
2.3 結果と考察	24
2.3.1 熱応答性ジブロック共重合体の合成と基礎物性	24
2.3.2 くし-コイル型ブロック共重合体の熱応答による自己組織化	30
2.3.3 二重熱応答性 [PVBC- <i>g</i> -(PEI)]- <i>b</i> -PNIPAM の触媒的テンプレートとしての利用	39
2.4 総括	41
2.5 Support information	42
2.6 参考文献	45

第3章 架橋反応による熱応答性ナノオブジェクトの合成

3.1 緒言	47
3.2 実験	51
3.2.1 試薬および溶媒	51
3.2.2 測定装置	51
3.2.3 二重親水性ポリマー[PVBC- <i>g</i> -(PEI)]- <i>b</i> -PNIPAM の合成	52
3.2.4 熱応答によるミセルを利用した親水性ナノカプセル (i-CLM) の合成	53
3.2.5 ナノカプセル溶液の調製	54
3.3 結果と考察	55
3.3.1 親水性中空ナノカプセル i-CLM-MA の合成と物性	55
3.3.2 親水性カプセル i-CLM-MA のモルフォロジー	58
3.3.3 親水性カプセル i-CLM-MA の熱応答性	59
3.3.4 ナノカプセル i-CLM-MA の色素担持性能	61
3.3.5 疎水性架橋剤を用いた熱応答性ナノカプセル i-CLM-RC の合成と熱応答性	64
3.4 総括	70
3.5 Support information	71
3.6 参考文献	74

第4章 温度/pH/金属イオン応答かつ選択的 Pd(II)カチオンセンサーとしての蛍光性高分子ミセル

4.1 緒言	78
4.2 実験	82
4.2.1 試薬および溶媒	82
4.2.2 測定装置	82
4.2.3 RAFT 重合による PVBC-CMB の合成	83

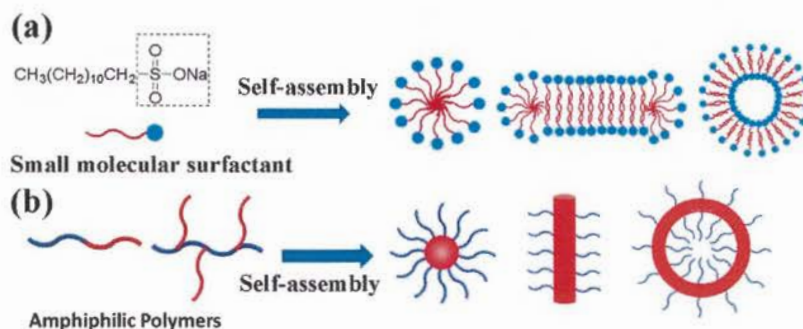
4.2.4 PVBC- <i>b</i> -PNIPAM ジブロック共重合体の合成と末端処理	83
4.2.5 テオフィリン残基を導入した PVBT/I- <i>b</i> -PNIPAM の合成	84
4.2.6 ポリマーミセル溶液の調製	85
4.3 結果と考察	86
4.3.1 熱応答性ジブロック共重合体の合成と物性	86
4.3.2 ミセル自己組織化と熱応答	90
4.3.3 両親媒性共重合体の蛍光および pH 応答	93
4.3.4 パラジウム選択センサーとしての役割	96
4.4 総括	100
4.5 Support information	101
4.6 参考文献	110
第 5 章 総括	114
本研究に関する論文	116
謝辞	117

第 1 章

序論

1.1 両親媒性高分子と自己組織化

この 20 年で高分子化学は従来の構造制御がされていなかった汎用性高分子材料のイメージを根底から覆し、精密重合の開発を皮切りにナノメートルレベルで制御された素材を生み出すようになった。このナノテクノロジーの波に乗ると、時代の潮流は先端的な電子材料、光学材料、生体材料、ソフトマテリアルへと舵を取り、多くの新しい可能性が日進月歩で発見されている。生体材料またはソフトマテリアルへの展開において両親媒性高分子は欠かせない一つの分子素材である。シンプルに言うと、両親媒性高分子は界面活性剤として働く機能性高分子でもある。一般に、界面活性剤は極性が高く水に溶解する親水性部と溶解しない疎水部で構成されている。両親媒性高分子はこの 2 つの非混和性要素によって独特な界面特性や基盤上での表面特性を示す。例えば、水性媒体中での場合、臨界ミセル濃度 (CMC) を超えた濃度では疎水部の凝集を特徴とする自己組織化が進行し、独特の会合構造体を形成する。2 つの相反する構造ユニットが共有結合で繋がる両親媒性高分子は大きなスケールでのマクロ相分離することはできず、高分子鎖内あるいはいくつかの高分子同士でのマイクロ相分離を起こす。自己組織化ではファンデルワールス力、疎水性、 π - π 、静電的相互作用、水素結合などの弱い相互作用が駆動力となり球状、シリンダー状、ベシクル (中空) 状などの様々な形状の凝集体を形成する。ナノスケールで構造を制御できる両親媒性高分子は新たな機能性材料の開発のために探求されてきた (Scheme 1-1)^{1a-e}。



Scheme 1-1. Surfactant Behavior of (a) Small-Molecular Surfactants and (b) Amphiphilic Polymers.

両親媒性高分子はジブロック共重合体やグラフト共重合体、ランダム共重合体なども含めた総称である。これらは界面活性剤と同じような性質を持つが、より大きなサイズでミセルなどの集合体を形成する。精密重合の発展に伴ってより分子量・構造ともに制御された繊細な分子設計が可能となったことで、複雑な分子設計による共重合体の物性に注目が集まっている^{1a,1f,1h}。両親媒性高分子は低分子界面活性剤と比べて低い臨界ミセル濃度(CMC)を示し、その自己組織化挙動は組成による化学的性質のみならずトポロジーにも影響を受ける。

制御された高分子は同時に制御された自己組織体を形成する。一般的に、両親媒性高分子の自己組織化形状は溶液の濃度、温度によって決まり、その条件によって2つのブロック間で最も自由エネルギーが低下し最小面積となる形状をとる。このときの両親媒性高分子の組成と自己組織体との関係は臨界充填パラメータ p (critical packing parameter; CPP) である $p = v / (a_0 l_c)$ 関係式によって予測できる (Figure 1-1)²⁻⁴。式中 v は両親媒性高分子の疎水ブロックの体積、 a_0 は高分子占有面積、 l_c は疎水ブロックの臨界鎖長を表す。この関係式によれば共重合体の自己組織化形状は親水ブロックと疎水ブロックの比率によって決定される。しかし単純な直鎖状ジブロック共重合体だけでなく、くし構造や樹状構造、星型構造など複雑化した高分子の自己組織化はいまだ未知の部分が多い。例えば、くし構造高分子は密に生長した側鎖を有するため単一分子内でも分子鎖密度にバラつきが生じる。加えてこれら側鎖間の立体反発や絡まり合いにより同じ組成の直鎖型高分子とは異なる分子立体構造を形成する。そのためナノ構造材料研究において注目されている構造である。くし構造などあらゆる組成の組み合わせやトポロジーを試すことは精密構造高分子が持つポテンシャルを引き出す有効な手段となる。また組成によらず自己組織化の ON/OFF を制御する手段として刺激応答性高分子が注目されている。特に環境

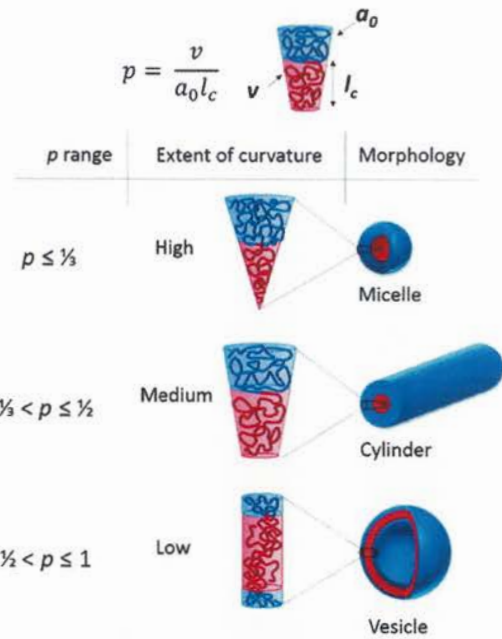


Figure 1-1. The different morphologies obtained by targeting different packing parameters, p .

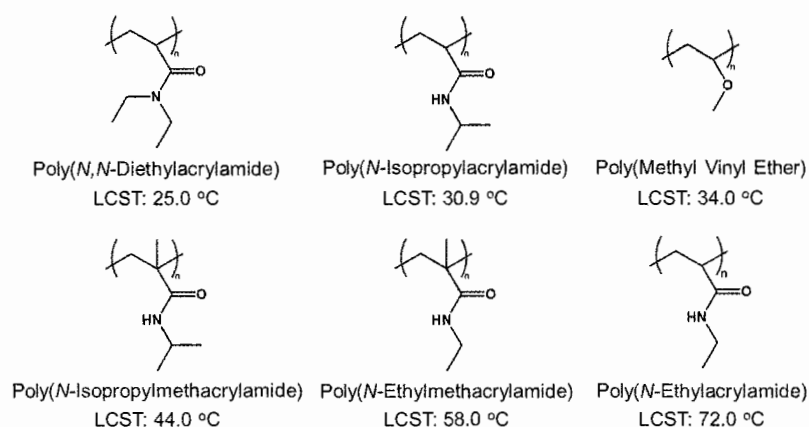
刺激により親水性 (溶解性) から疎水性 (凝集性) (あるいはその逆) へと変化する高分子は潜在的に両親媒性高分子だと言える。

1.2 刺激応答性高分子 Poly(*N*-isopropylacrylamide) (PNIPAM)

本研究で対象とする刺激応答性高分子は高度に制御されたナノマテリアル材料開発において欠かせない構成要素のひとつである。原子移動ラジカル重合 (Atom Transfer Radical Polymerization; ATRP) や可逆的付加開裂連鎖移動重合 (Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer; RAFT) をはじめとしたリビングラジカル重合の発展により、高度な精密構造の高分子設計が可能となり、これにより様々な性質を持つ高分子が合成されている。

刺激応答性高分子は物理的 (熱⁵、光⁶、磁場⁷) あるいは化学的 (pH⁸、酸化還元⁹、イオン強度) な環境刺激により物理的・化学的性質が変化する。合成された高分子は基板、ナノ粒子表面あるいは組織体そのものとして機能し、薬物や化学分子の制御放出や分子送達、低濃度分析に用いられるセンサー、反応触媒、吸着フィルターとして利用されている。特に熱刺激はサンプル溶液へ他分子の添加が必要なく、迅速に刺激の有無をコントロールできる。このとき高分子鎖は温度変化に従ってその立体構造、分子間相互作用が大きく変化する。

熱応答性高分子である Poly(*N*-isopropylacrylamide) (PNIPAM) は 1968 年に Guillet らによって低温では水に安定して溶解するが 30 °C 付近で脱水和して疎水性へと変化的ことが発見された¹⁰。この熱挙動は下限臨界溶液温度 (Lower critical solution temperature; LCST) と呼ばれ¹¹、加熱することで溶媒への溶解度が増す上限臨界溶液温度 (Upper critical solution temperature; UCST) と対をなす性質である¹²。一般的な LCST 型高分子は水系溶媒との水素結合が可能な極性置換基と疎水性置換基を併せ持った構造を持つ (Scheme 1-2)。



Scheme 1-2. Example of LCST polymers.

PNIPAM の熱応答は溶媒との水素結合が可能なアミド基 (-CONH-) と疎水性イソプロピル基の絶妙なバランスによって成り立っている。LCST 以下では、アミド基と水の相互作用によって PNIPAM はランダムコイル状となり溶解するが、LCST 以上になると水素結合が不安定になるとともに、ポリマー鎖の脱水和が始まり、その結果 PNIPAM 鎖は凝集してグロビュール転移を生じる。疎水化した PNIPAM 同士の疎水性相互作用によって分子間で会合すると、最終的にはマイクロ相分離を起こす (Figure 1-2a,c)。通常であれば、このときの PNIPAM 水溶液は無色透明から白濁した分散液へと変化する。しかしこの熱応答は可逆的であり冷却すると再び無色透明溶液へと戻る (Figure 1-2b)。熱挙動の観測には透過率測定のほか、動的光散乱法 (DLS) を用いた粒径測定や核磁気共鳴 (NMR) スペクトル、示唆走査熱量測定 (DSC) などが用いられる。

20 °C から 40 °C の範囲で熱応答する高分子は薬物送達や組織工学材料など生物学的用途への展開が期待できる。いくつかの研究例においても複合的な構造設計が熱応答性と機能性に大きな影響を及ぼすことについて言及している。例えば、PNIPAM をはじめとした熱応答性高分子を共重合体に組み込むことで、全親水性の共重合体を後天的に両親媒性高分子にすることも可能となる。Zschoche らは PNIPAM と親水性の Poly(oligo ethylene glycol methyl ether acrylate) (POEGA) からなる共重合体が室温状態では水に完全溶解するのに対し、PNIPAM の LCST 以

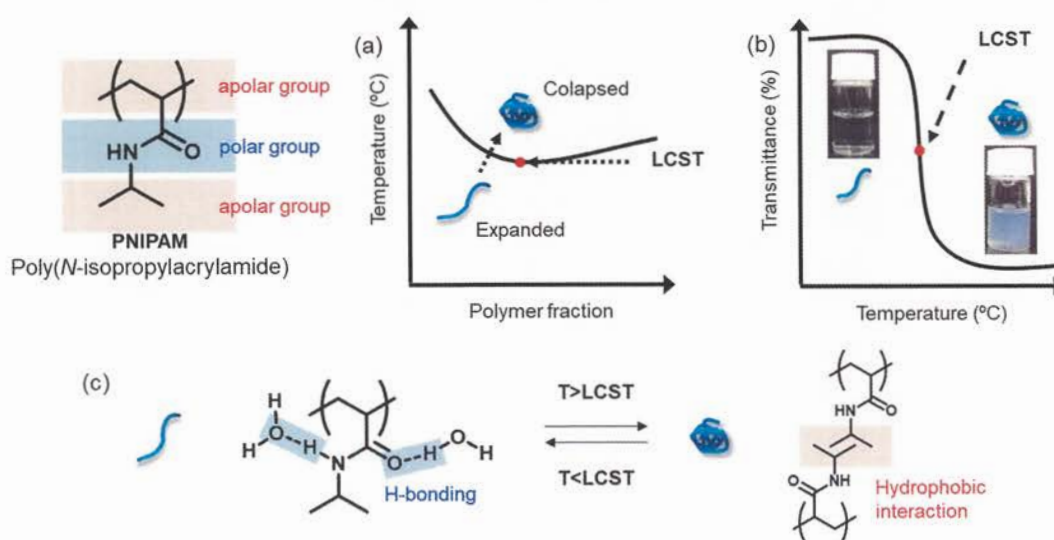


Figure 1-2. a) binodal diagrams for LCST polymers depending on polymer fraction. b) and a typical diagram of transmittance vs. temperature of an aqueous PNIPAM sample. c) Schematic showing the volume phase transition between coil and globular conformations.

上に加熱することで PNIPAM コアのみセルを形成することを報告している¹³。この二重親水性共重合体は加熱による相転移で疎水性 PNIPAM と親水性 POEGA からなる両親媒性高分子へと変換する。このように刺激によって相反する性質へと変化することから PNIPAM は潜在的な両親媒性高分子と呼ぶことができる。

熱応答性高分子 PNIPAM の LCST は主に 3 つのファクターに左右される。それらは①分子量(重合度)、②高分子多次元トポロジーの設計(くし構造、環状構造、星型構造など)、③共重合による高分子要素の設計である。多くの研究はいずれかの要素を軸に設計されているが、3 つの要素を複合的に組み合わせた研究例は数が限られている。

① 分子量(重合度)

設計の上でもっとも基本的な要素である重合度は LCST も変化させる¹⁴。Won らは直鎖状 PNIPAM の重合度を RAFT 重合によって制御し、それぞれ重合度 $n = 25, 50, 100$ となるように合成した¹⁵。これらの LCST は $33\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $36\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $38\text{ }^{\circ}\text{C}$ となり高分子鎖長に依存しているが、一般的に直鎖状 PNIPAM はいかなる重合度でも $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ から $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ の範囲で相転移する。

② 高分子多次元トポロジーの設計(くし構造、環状構造、星型構造など)

精密重合の発展によって高分子設計の自由度は飛躍的に進歩した。特に一般的な直鎖状高分子や無秩序な樹状高分子に対して、くし型、環状、星型構造は独特な自己組織化挙動や物性を示す¹⁶。Xu らの合成した環状 PNIPAM と直鎖状 PNIPAM では同一条件で直鎖状 PNIPAM₇₆ が $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ で LCST を示すのに対して環状 PNIPAM₆₆ は $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ となる¹⁷。また星型 PNIPAM との比較ではアーム鎖である PNIPAM₁₁₈ が $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、4 本のアームを持つ星型 (PNIPAM₁₂₂)₄ では $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ の LCST となることが報告されている¹⁸。いずれも PNIPAM 鎖の混雑さが熱応答時の疎水性会合を円滑にし、より低い LCST を示すためであると考察されている。

③ 共重合による高分子要素の設計

LCST 型熱応答高分子を親水性高分子と共重合すると LCST は上昇し、疎水性高分子を導入すると LCST が低下する^{19a,b}。この両者の割合を変化させることで LCST をチューニングできる。

例えば PNIPAM と親水性高分子を共重合すると加熱による脱水和が親水性ブロックによって阻害され、LCST が上昇する。Zhou らは PNIPAM と親水性の poly(2-isopropyl-2-oxazoline) (PiPOx) からなる二重親水性ジブロック共重合体が PNIPAM ホモポリマーに比べてより高温側に LCST を示すことを報告している (Figure 1-3)²¹。PiPOx は PNIPAM に比べて高温側の 40 °C 付近で LCST を示すより親水的な高分子である。PNIPAM₄₀ ホモポリマーでは 33.3 °C であった LCST は PiPOx₁₅ と共重合することで 35.7 °C まで上昇する。ここでは PNIPAM (N-H) と PiPOx (C=O) ユニット間でも水素結合が生じ、また PiPOx の高い水分子保持能力によって PNIPAM の完全な脱水和が阻害されたことで LCST 上昇へと作用した。また PiPOx の重合度が 15 から 46 まで延長されると LCST は 36.5 °C まで上昇することから、LCST は重合度にも依存していることが示唆された。このように PNIPAM の熱応答はそのポリマー鎖だけが起こすのではなく、共重合された他の高分子ブロックにも強く影響を受ける。二重親水性構造の利点は自己組織化や熱応答過程で有機溶媒を使用することがないため生体材料などへの利用が期待できることである。一方で疎水性部を有する両親媒性高分子では自己組織の際に良溶媒として有機溶剤を使用する溶媒置換法が多く用いられる。毒性の強い有機溶剤の使用は生体材料では避けられるが、二重親水性ではこの心配がない。この有用性が認められながらも二重親水性材料の研究例

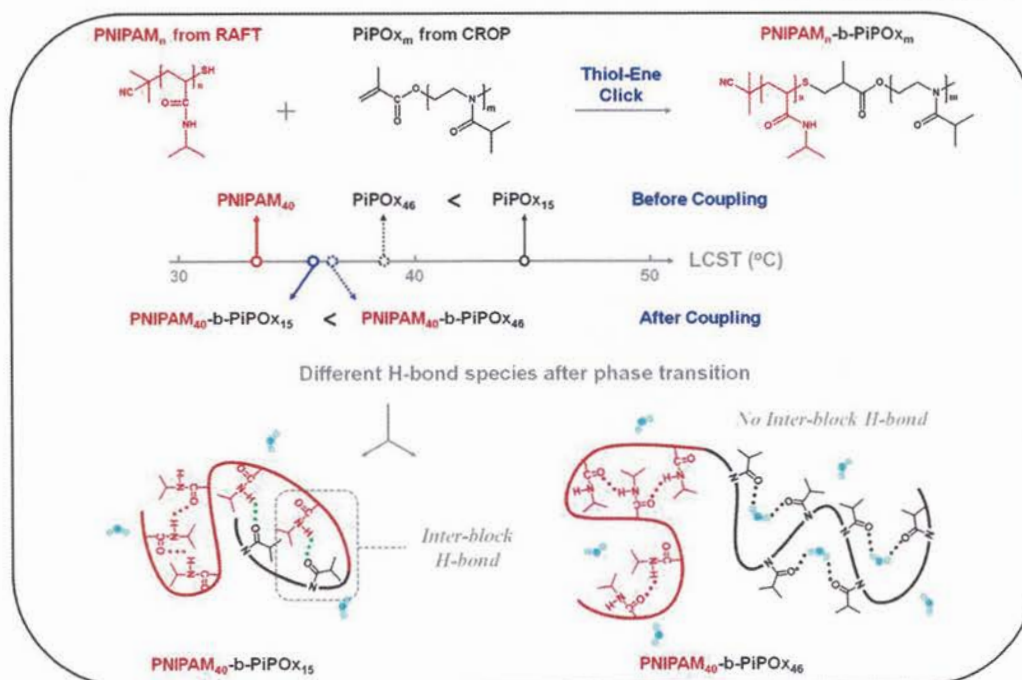


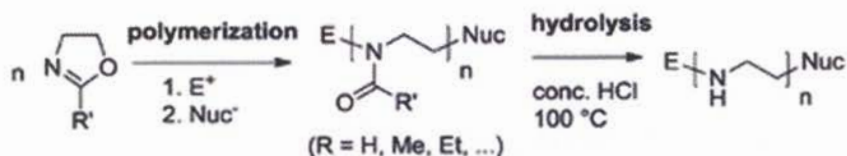
Figure 1-3. Graphical abstract of Poly(*N*-isopropylacrylamide)-*b*-Poly(2-isopropyl-2-oxazoline) diblock copolymers (PNIPAM-*b*-PiPOx).

はいまだ数が限られている。

PNIPAM と疎水性高分子との共重合では前述の例とは逆に LCST が低下する。疎水性ブロックは水中における自己組織化の駆動力となり LCST 型高分子の脱水和に伴う凝集をよりスムーズにさせる。Lai らは凝集誘起発光 (AIE) 分子であるテトラフェニルチオフェン (TP) ブロックを中心に両端に PNIPAM ブロックを導入した両親媒性トリブロック共重合体を合成し、これらが 29 °C で LCST を示すことを報告している (Figure 1-4)²²。AIE 分子は自由回転可能なフェニル基を有しており分子同士が近接し自由回転運動が制限されると発光する濃度応答分子である。ここでは水に分散させることでトリブロックの中心に導入された TP をコア、PNIPAM がコロナ層となるミセルを形成し、それぞれが TP の凝集に由来する発光を示す。PNIPAM の LCST 以上に加熱すると凝集した PNIPAM が TP との強い相互作用を引き起こすことで TP コア崩壊を誘発し蛍光強度は著しく低下した。この時 PNIPAM はミセルの外層でありながら蛍光性高分子の発光の"ON"、"OFF"のトリガーの役割も担っている。この結果は熱応答性高分子が自己組織化の駆動力になるだけでなく、他の刺激応答高分子の機能を制御するスイッチとしても利用できることを示唆している。いずれの例も刺激応答性高分子の機能を拡張するための手段として、多元的な構造設計が有効であることを示している。

PNIPAM の熱応答は上記 3 つの要素の他、溶媒、高分子末端²³や塩²⁴、ポリマー濃度²⁵などにも左右される。機能性の拡張にはこれらの要素を複合的に組み合わせることが望まれる。しかしこのような複合的な多次元構造を持たせた刺激応答高分子の適切な選定は難しく、これまでに解明された特性または確立された知見は熱応答性機能の一部に過ぎない。

1.3 刺激応答性高分子 Polyethyleneimine (PEI)



Scheme 1-3. Linear PEI via substituted 2-oxazolines.

直鎖状 Polyethyleneimine (LPEI) は高密度の第 2 級アミンを持つカチオン性高分子である。PEI は 2-oxazoline のカチオン開環重合によって得られる Poly(2-oxazoline) (POZ) を酸あるいは塩基加水分解することによって得られ、室温下の水中で結晶性を示しファイバー状の結晶を形成する (Scheme 1-3)²⁶。EI ユニットあたりに配位する水和度によって結晶形は変化する。この結晶は分散液を 60 °C 以上に加熱すると溶解するため PEI は UCST 型熱応答性高分子のひとつであるといえる。Jin らは PEI 結晶構造が溶液濃度によりバンドル状、フィルム状と変化する、これらがシリカ複合化のための塩基性触媒となることを報告している^{27,28}。また高密度のアミンが示す pH 応答や高い金属吸着能を利用して遺伝子送達やナノデバイスに向けた応用が盛んに研究されている。さらに反応性に富むアミンを構造中に有する PEI はエポキシやアクリルアミド、酸性物質と効率的に反応するので、多様な後修飾が可能となる。例えば、二官能性アクリルアミドによるマイケル付加反応を用いて PEI の架橋化を行い、ヒドロゲルを作製することができる²⁹。PEI から合成される親水性球状ヒドロゲルはその高い保水能力と密なネットワーク構造から薬物分子をはじめとした有機分子の担持体としての機能が期待できる。架橋反応によって得られるヒドロゲルネットワークの密度は架橋剤の濃度により調整され、LPEI は架橋反応後結晶性を失い親水性シェルへと変化する。現在報告されている PEI ヒドロゲルの多くが非晶性で水への溶解度が高いハイパーブランチ型 PEI (h-PEI) を利用している^{30a,b}。第 1 級、第 2 級、第 3 級アミンのすべてを構造中に含む h-PEI では構造の制御が容易ではないため、より小さなスケールの架橋ゲルを合成することは困難である^{30c}。Figure 1-5 に示した TEM 画像は分岐型 PEI から合成した PEI/PNIPAM ヒドロゲルである。これは分岐型 PEI と NIPAM モノマーと架橋剤である *N,N*-methylenebisacrylamide (BIS) を同時に反応させて合成し、直径約 300 nm の球状粒子となっている^{30d}。そのため制御されたナノ構造体の作製には精密重合が可能な

LPEI による合成が望ましい。ひとつのユニットでこれほど多くの応用化が臨める高分子は PEI の他に類を見ない。しかし PEI のみでは構造体の制御は難しいため、他の高分子要素を加えた共重合体による構造制御が任意の構造体を形成させる鍵となる。

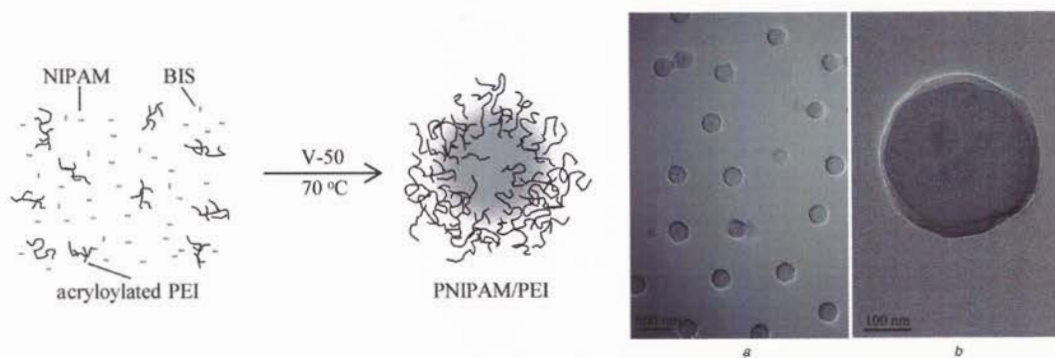


Figure 1-5. Schematic representation for the synthesis of PNIPAM/PEI microgels and TEM micrographs of microgels at different resolutions^{29d}.

1.4 本研究の目的と論文構成

ここまで述べたように刺激応答機能の発現には単純な重合度や構造だけではなく、組み合わせられる高分子同士の組成によって熱挙動に大きな変化をもたらす。しかしくし構造など複雑な組成をもつ共重合体の機能性評価は未知の領域が多数存在する。本研究では熱応答性 PNIPAM を構造単位に組み込んだ多次元ブロック共重合体を設計し、重合度、トポロジーを変化させることで発現する機能性について調査した。

当研究室では Poly(2-methyl-2-oxazoline) (PMOZ) を加水分解して得られる Polyethyleneimine (PEI) のポリアミン構造に起因する結晶性や反応基質としての機能に注目し、PEI 骨格を持つ様々な多次元高分子について報告している^{31,32}。本研究ではRAFT 重合により Poly(4-vinylbenzyl chloride) (PVBC) 主鎖を合成し、続いて RAFT 末端から NIPAM モノマーの共重合を行った。このジブロック共重合体を基本骨格として、くし構造 PMOZ や PEI を有する歯ブラシ型ポリマーの合成や発光性側鎖導入反応を行った。

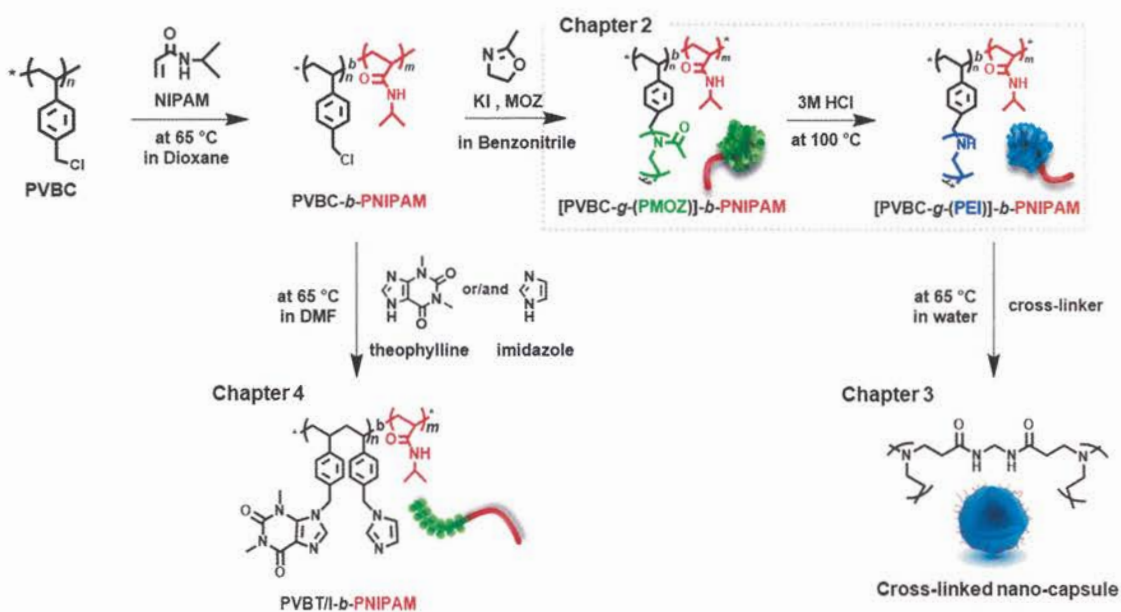
本論文は主に 3 つのテーマによって構成されている (Scheme 1-4)。

第 2 章では PNIPAM 主鎖とくし構造の Poly(2-methyl-2-oxazoline) (PMOZ) あるいは Polyethyleneimine (PEI) を組み合わせた二重親水性かつ熱応答性の歯ブラシ型共重合体を合成し、これらの熱応答挙動、特にくし型 PMOZ 系での特異的な濃度応答の他、塩や pH などマルチな刺激応答性について詳細に調査した (Scheme 1-4 Chapter 2)。PNIPAM と PMOZ の組み合わせでは水中で LCST 型熱応答性を示しミセルを形成するが、室温下でもくし構造を持つ PNIPAM ブロックが濃度の影響を受けて特異的なミセル形成能を示す現象を明らかにした。また PEI と組み合わせることで現れる二重熱応答性と pH 応答性について検討した。

第 3 章では第 2 章で合成した PEI 系歯ブラシ型共重合体から熱応答によって形成するミセルをもとに架橋反応を介して構造固定された親水性ナノカプセルについて述べた。PEI からなるミセルシェル層は後修飾の足場となる。ナノカプセルはミセルシェル層を親水性架橋剤 *N,N'*-Methylenebis(acrylamide) (MA) あるいは疎水性架橋剤 Resorcinol Diglycidyl Ether (RCGE) で構造固定し、それぞれが示す熱応答挙動やカプセル構造への効果を検討した (Scheme 1-4 Chapter 3)。またこれらが色素分子の担持に有効か有機色素 Nile Red (NR) を用いて調査した。

第4章では、Scheme 1-4, Chapter 4 で示したように、共役系を必要としない新たな非共役系発光材料としてテオフィリン側鎖を含む熱応答性ジブロック共重合体を合成した。PVBC-*b*-PNIPAM マクロ開始剤の側鎖にテオフィリン (T) とイミダゾール (I) を導入し、これらが示す発光特性を調査した。T/I 比による蛍光特性への効果を検討し、PNIPAM の熱応答性への影響を明らかにした。またテオフィリンの高度なパラジウム感知能を利用し、金属イオンセンサーとしての性能を調査した。

第5章では本研究を総括し、今後の展望について述べた。



Scheme 1-4. Scheme of the amphiphilic stimuli-responsive copolymer series. double

1.5 参考文献

- [1] a) Y. Zhang and H. Zhao, *Langmuir*, 2016, **32**, 3567–3579
- b) J. Chen, M. Liu, H. Gong, Y. Huang, and C. Chen, *J. Phys. Chem. B*, 2011, **115**, 14947–14955
- c) Y. Kim, E. D. Liemmawal, M. H. Pourgholami, D. L. Morris and M. H. Stenzel, *Macromolecules*, 2012, **45**, 5451–5462
- d) L. Wu, I-C. Wu, C. C. DuFort, M. A. Carlson, X. Wu, L. Chen, C.-T. Kuo, Y. Qin, J. Yu, S. R. Hingorani, and D. T. Chiu, *J. Am. Chem. Soc.*, 2017, **139**, 6911–6918
- e) Y. Dong, X. Ma, H. Huo, Q. Zhang, F. Qu, F. Chen, *J. Appl. Polym. Sci.*, 2018, **46675**
- f) L. Sun, Y. Zhou, X. Zhou, Q. Fu, S. Zhao, X. Tu, X. Zhang, L. Ma, M. Liu and H. Wei, *Polym. Chem.*, 2017, **8**, 500–504.
- g) N. A. Nakeeb, J. Willersinn, and B. V. K. J. Schmidt, *Biomacromolecules*, 2017, **18**, 3695-3705.
- h) S. Liu, C. Zheng, Z. Ye, B. Blanc, X. Zhi, L. Shi, and Z. Zhang, *Macromolecules*, 2018, **51**, 8013–8026.
- [2] J. N. Israelachvili, D. J. Mitchell, B. W. Ninham, *Biophys. Acta Biomembr.*, 1977, **470**, 185.
- [3] A. Blanazs, S. P. Armes and A. J. Ryan, *Macromol. Rapid Commun.*, 2009, **30**, 267–277.
- [4] M. Karayianni and S. Pispas, *J Polym Sci.*, 2021, **59**, 1874–1898.
- [5] W. Agut, A. Brûlet, C. Schatz, D. Taton, and S. Lecommandoux, *Langmuir*, 2010, **26**, 10546–10554
- [6] O. Bertrand and J.-F. Gohy, *Polym. Chem.*, 2017, **8**, 52
- [7] T. Kubo, K. Tachibana, T. Naito, S. Mukai, K. Akiyoshi, J. Balachandran and K. Otsuka, *ACS Biomater. Sci. Eng.*, 2019, **5**, 759–767
- [8] C. Yang, J. Xiao, W. Xiao, W. Lin, J. Chen, Q. Chen, L. Zhang, C. Zhang and J. Guo, *RSC Adv.*, 2017, **7**, 27564
- [9] H. Yuan, H. Chi and W. Yuan, *Polym. Chem.*, 2016, **7**, 4901
- [10] M. Heskins and J. E. Guillet, *J. Macromol. Sci.-Chem.*, 1968, **2**, 1441-1455
- [11] G. Pasparakis and C. Tsitsilianis, *Polymer*, 2020, **211**, 123146
- [12] H. Zhang, X. Tong, and Y. Zhao, *Langmuir*, 2014, **30**, 11433–11441
- [13] D. Giaouzi and S. Pispas, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.*, 2019, **57**, 1467–1477

- [14] G. L.-Barcenas, D. G. Gromov, J. C. Meredith, I. C. Sanchez, J. J. de Pablo, K. P. Johnston, *Chemical Physics Letters*, 1997, **278**, 302-306
- [15] S. Won, D. J. Phillips, M. Walker and M. I. Gibson, *J. Mater. Chem. B*, 2016, **4**, 5673
- [16] G. Riess, *Prog. Polym. Sci.*, 2003, **28**, 1107–1170
- [17] J. Xu, J. Ye, and S. Liu, *Macromolecules*, 2007, **40**, 9103–9110
- [18] Y. Qu, X. Chang, S. Chen and W. Zhang, *Polym. Chem.*, 2017, **8**, 3485-3496
- [19] a) S. Cammas, K. Suzuki, C. Sone, Y. Sakurai, K. Kataoka and T. Okano, *Journal of Controlled Release*, 1997, **48**, 157–164
- b) Y. Zhou, K. Jiang, Q. Song and S. Liu, *Langmuir*, 2007, **23**, 13076-13084
- [21] Y. Zhou and P. Wu, *Polymer*, 2018, **153**, 250-261
- [22] C.-T. Lai, R.-H. Chien, S.-W. Kuo, and J.-L. Hong, *Macromolecules*, 2011, **44**, 6546-6556
- [23] Y. Xia, Xi. Yin, N. A. D. Burke and H. D. H. Stöver, *Macromolecules*, 2005, **38**, 5937–5943
- [24] R. Freitag and F. G.-Flaudy, *Langmuir*, 2002, **18**, 3434-3440
- [25] S. Wang, C. Liu, H. Zhou, C. Gao and W. Zhang, *Polym. Chem.*, 2017, **8**, 1932-1942
- [26] M. Jäger, S. Schubert, S. Ochrimenko, D. Fischer and U. S. Schubert. *Chem. Soc. Rev.*, 2012, **41**, 4755
- [27] J.-J. Yuan and R.-H. Jin, *Langmuir*, 2005, **21**, 3136-3145
- [28] R.-H. Jin and J.-J. Yuan, *Chem. Mater.*, 2006, **18**, 3390-3396
- [29] N. C. Dubey, B. P. Tripathi, M. Müller, M. Stamm and L. Ionov, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2015, **7**, 1500–1507
- [30] a) A. B. Cook, R. Peltier, J. Zhang, P. Gurnani, J. Tanaka, J. A. Burns, R. Dallmann, M. Hartlieb and S. Perrier, *Polym. Chem.*, 2019, **10**, 1202-1212.
- b) H. Zhang, X. Dong, J. Wang, R. Guan, D. Cao and Q. Chen, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2019, **11**, 32489–32499
- c) N. C. Dubey, B. P. Tripathi, M. Müller, M. Stamm and Leonid Ionov, *Biomacromolecules*, 2016, **17**, 1610–1620

d) T. Wang, Y. Song, J. Hu, J. Li, S. Shi, *Micro & Nano Letters*, 2019, **14**, 404-408

[31] W.-L. Wang, R.-H. Jin, *Polymer*, 2021, **212**, 123239

[32] W.-L. Wang, R.-H. Jin, *Adv. Mater. Interfaces*, 2021, **8**, 2002001

第 2 章

PNIPAM とポリメチルオキサゾリン/ポリエチレンイミンからなる熱応答性かつ二重親水性のくし-コイル型ブロックコポリマー

2.1 緒言

光 (UV)¹、酸化還元²、pH^{3,4}、塩^{5,6}、熱⁷などの外部刺激に応答する刺激応答高分子はそのマルチな機能性をソフトマテリアルに還元できることから長きにわたり分野を問わず科学者の注目を集めてきた。高分子材料における刺激応答は一般に高分子溶液や高分子ゲル状態で発現する。前者の場合、溶液中で溶解していた高分子が外部刺激により自己組織化を起こす。後者の場合、刺激によってゲル体積の膨張と収縮を制御し等方性材料あるいは異方性材料としての性質を付与することが可能となる。pH 応答、熱応答やイオン応答をもつ刺激応答高分子の多くは水性媒体中で機能を発揮するため、水溶性あるいは親水性性質を有する高分子は刺激応答高分子の設計に不可欠である。

刺激応答性高分子の中でも扱いが容易な熱応答性を持つ高分子は二つの特性に大別される。ひとつは上限臨界溶液温度 (UCST) 型と呼ばれ、溶液温度の高まりとともに高分子の水溶性が増す⁸⁻¹⁰。対して下限臨界溶液温度 (LCST) 型と呼ばれる高分子は温度の高まりとともに水溶性が著しく低下する¹¹⁻¹⁴。最も知られた LCST 型高分子は 1968 年に発見された Poly(*N*-isopropylacrylamide) (PNIPAM) である¹⁵。PNIPAM ホモポリマーの水中における LCST は 32 °C 付近で示され、可逆的にコイル-グロビュール転移を伴う熱応答を示す。興味深いのは共重合による組成の混成や PNIPAM 自体の設計 (重合度や構造など) により LCST を自在に制御できる点である。そのため PNIPAM を組み込んだ関連材料は材料化学、医学、組織工学の分野から注目を集めている^{16 a-d}。

Schubert らは poly(2-ethyl-oxazoline) (PEtOx) と PNIPAM を組み合わせた LCST 型の熱応答を二重で示すジブロック共重合体 PEtOx-*b*-PNIPAM を報告している^{17a}。PEtOx-*b*-PNIPAM は PEtOx が 45-55 °C、PNIPAM が 39-45 °C で LCST 型熱応答を示す。この二重の熱応答では明確

に2段階のモルフォロジーの変化が見られ、はじめに高重合度の PNIPAM による 39-45 °C での変化が、次いで PEtOx による 45-55 °C での変化が起こるがこの温度はポリマー組成により繊細に制御できる。Hietala らは親水性の PNIPAM、poly(ethylene oxide) (PEO)、poly(*N*-acryloylglycinamide) (PNAGA) を組み合わせた UCST-LCST 型二重熱応答性トリブロック高分子を報告している¹¹。トリブロック共重合体の

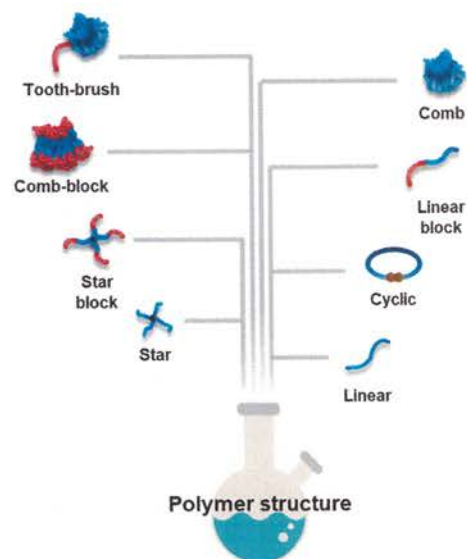


Figure I2-1. Example of polymer architectures.

PEO-*b*-PNIPAM-*b*-PNAGA は約 35 °C で LCST を、15 °C で UCST を示す。単一の熱応答を示す研究例は多数報告されているが、LCST と UCST の組み合わせによる 2 つあるいは複数の応答性高分子の例は少なく、活発な議論はまだまだ発展途上である^{10,18,19}。

直鎖^{20,23,27}、環状²¹、星型²²、櫛型²³、樹状²⁴のように異なる構造を持った共重合体は精密重合によって簡便に合成できる (Figure I2-1)。櫛型高分子は多数の側鎖が直鎖状主鎖に結合した構造を持ち、分子鎖内で独特な密度分布を持つことから科学者たちの関心を長きにわたり集めてきた。この特徴的な密度分布は櫛型高分子独特の自己組織化を達成させることができる。同じ組成の高分子鎖でもグラフト密度で性質は大きく異なる。例えばくし型 PNIPAM は直鎖状 PNIPAM に比べて、密にグラフト化された PNIPAM 側鎖間での立体反発により LCST がより高温側へとシフトすることが示されている (Figure I2-2)²³。

当研究室ではこれまでポリスチレン主鎖にポリオキサゾリン (PMOZ) あるいはポリエチレンイミン (PEI) 側鎖を組み合わせた櫛型高分子²⁵や樹状マイクロゲル²⁶を報告し、それぞれの自己組織化とその組織体をシリカテンプレートとすることで異なるモルフォロジーのシリカ合成に成功している²⁵。

直鎖型ブロック構造^{17a,17b}やランダムグラフト^{17c}の PNIPAM と PMOZ を組み合わせた二重親水性の報告は非常に数が少ない。しかし PNIPAM コイルと櫛型の POZ と PEI を有するくし-コイル型ブロック共重合体に関する考察はいまだない。本研究では PNIPAM コイルと PMOZ

あるいは PEI の楕型構造を有する二重熱応答性高分子を設計し、化学的性質を詳細に調査した。

PMOZ と PEI は共に親水性かつ水に溶解するが、後者の PEI は室温下の水性溶媒中では結晶性を示す²⁷。くし-コイル型ブロック共重合体では 4-vinylbenzyl chloride と NIPAM の RAFT 重合や 2-methyl-2-oxazoline のカチオン開環重合を組み合わせる合成を行った。はじめに行う Poly(4-vinylbenzyl chloride)-*b*-poly(*N*-isopropylacrylamide)

(PVBC-*b*-PNIPAM) の合成ではベンゾジチオエート基を有する RAFT 剤の存在下で VBC の重合を行い、次いで RAFT 末端で修飾された PVBC をマクロ連鎖移動剤として

NIPAM 重合を行った。その上で重合度の異なる PVBC-*b*-PNIPAM のそれぞれにオキサゾリンを重合した。このとき PVBC の CH₂-Cl 基がカチオン開環重合の開始部位となり、楕型の PMOZ を含むくし-コイル型ブロック共重合体 [PVBC-*g*-(PMOZ)]-*b*-PNIPAM が合成された。この共重合体中の PMOZ を塩酸による選択的に加水分解することで楕型の PEI へと変換した [PVBC-*g*-(PEI)]-*b*-PNIPAM が得られた。[PVBC-*g*-(PMOZ)]-*b*-PNIPAM と [PVBC-*g*-(PEI)]-*b*-PNIPAM 系の熱応答性は UV-vis 測定および ¹H NMR 測定により追跡し、PMOZ 系では 32 °C 付近で PNIPAM 鎖のグローブユール転移によりポリマーミセル形成を伴う自己組織化を行うことが示唆された (Figure I2-3)。対して PEI 系ではくし型 PEI とコイル状 PNIPAM による UCST-LCST の二重応答が発現した。このときの自己組織化は 65 °C の UCST 以上でポリマーミセルを形成し、ここから 35 °C の LCST 以下まで冷却すると PEI の結晶性を駆動力としたファイバー状結晶が形成した。LCST-UCST 型二重熱応答高分子は熱に応答した ON-OFF により制御された異なる形状の

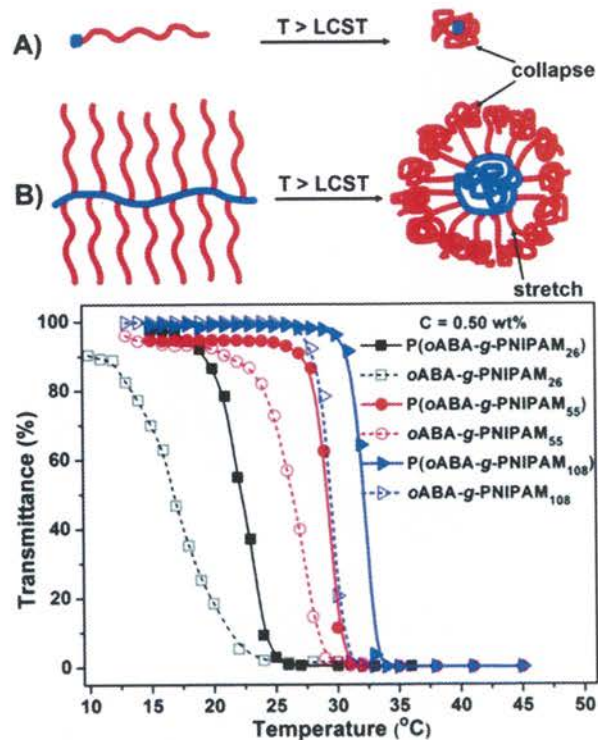


Figure I2-2. Image of thermoresponsive molecular bottlebrushes of poly[o-aminobenzyl alcohol-graft-PNIPAM]. Temperature-dependent transmittance of the 0.50 wt% aqueous solutions of the P(oABA-*g*-PNIPAM) bottlebrushes (solid line) and the oABA-*g*-PNIPAM macromonomers (dotted line).

シリカテンプレートとなる。

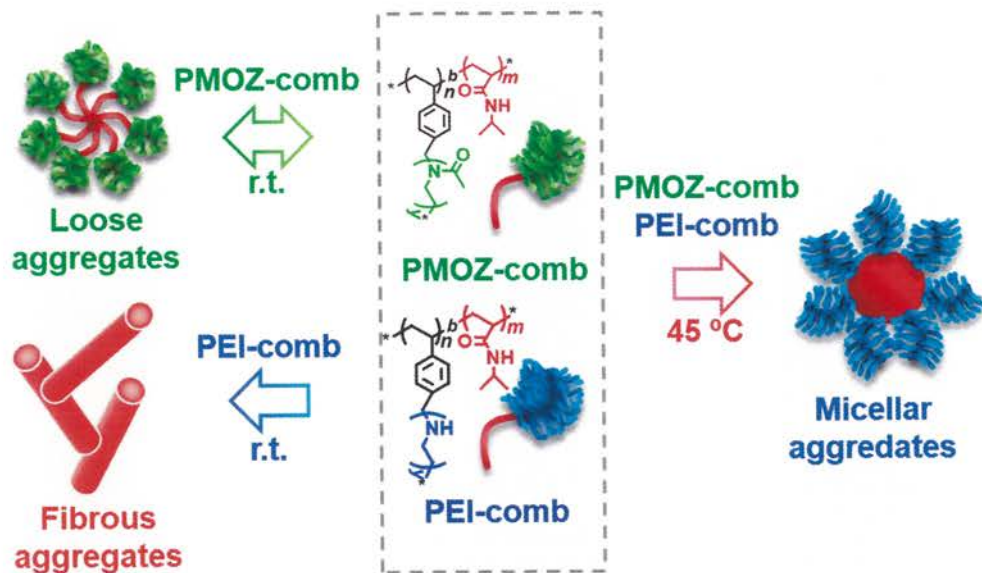


Figure I2-3. Graphical abstract of [PVBC-*g*-(PMOZ)]-*b*-PNIPAM and [PVBC-*g*-(PEI)]-*b*-PNIPAM block copolymers.

2.2 実験

2.2.1 試薬および溶媒

N-isopropylacrylamide (NIPAM, 98%, Tokyo Kasei Kogyo Co.) は *n*-hexane で再結晶したものを使用した。4-(Chloromethyl)styrene (VBC, 90%, Tokyo Chemical Industry Co.) は重合禁止剤を活性アルミナ (SIGMA-ALDRICH, neutral, Brockmann) によって除去したものを使用した。2, 2'-Azobis(isobutyronitrile) (AIBN, 98%, Tokyo Kasei Kogyo Co.) はエタノールにより再結晶したものを使用した。Benzonitrile (99%, Tokyo Chemical Industry Co.) は減圧蒸留により精製したものを利用した。2-methyl-2-oxazoline (98%, SIGMA-ALDRICH) は常圧蒸留に寄より精製したものを使用した。

以下の試薬は市販のものをそのまま使用した。

2-Phenyl-2-propyl benzodithioate (CDB, 99%, SIGMA-ALDRICH), benzoyl peroxide (BPO, 75%+wetted with ca. 25% water, Tokyo Chemical Industry Co.), tetramethoxysilane (TMOS, 99%, Tokyo Chemical Industry Co.), Pyrene (>97.0%, Tokyo Chemical Industry Co.)

2.2.2 測定装置

The Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR): FT-IR 4600 (JASCO)、KBr 錠剤法を用いた。

Nuclear magnetic resonance (NMR): JEOL JNM-ECA-600 MHz、CDCl₃、D₂O、内部標準物として tetramethylsilane を利用した。

Gel permeation chromatography (GPC): HLC-8320 (Tosoh, Japan)、カラム : Shodex asahipak GF-510 HQ + GF-1G 7B、分離液 : DMF with 10mM LiB、流速 : 0.6 mL min⁻¹

Scanning electron microscope (SEM): Hitachi SU-8010 (Japan)、サンプルはポリマー分散液をシリコンウエハーに分散させ作製した。

Fluorescence spectrophotometer (PL): FP-8300 (JASCO)

Dynamic Light Scattering spectroscopy (DLS): FPAR-1000 (大塚電子)

UV-vis spectra (UV): UV-2600 spectrometer (SHIMADZU) ペルチェ式温調装置 (CPS-100) を用いて温度調整を行った。

2.2.3 熱応答性かつ二重親水性くし-コイル型ブロック共重合体の合成

RAFT 重合による PVBC-CDB の合成

マクロ RAFT 開始剤となる PVBC-CDB は以下の RAFT 重合法により合成した。まずモノマーの VBC (12.0 g, 78.6 mmol)、RAFT 剤の CDB (0.21 g, 0.77 mmol)、ラジカル開始剤の AIBN (32.4 mg, 0.2 mmol) をシュレンク管に量り取り、溶媒の 1,4-dioxane (5.24 g, 30wt%) に完全溶解させた。続いて凍結・脱気・融解による脱酸素操作を 3 回繰り返したあと、この溶液を 80 °C で加熱して 21 時間の重合反応を行った。反応後は THF で希釈し、過剰なメタノールに滴下することで再沈殿精製を 3 回行った。精製後は 40 °C で加熱減圧乾燥し、桃色粉末を得た。(Yield: 8.1 g. GPC: $M_n = 0.93$ kg/mol, PDI= 1.13, degree of polymerization (DP) = 89)

PVBC-*b*-PNIPAM ジブロック共重合体の合成と末端処理

熱応答性ブロックの PNIPAM を第二ブロックとして導入した PVBC-*b*-PNIPAM の合成とチオカルボニルチオ基の除去法を以下に記す。マクロ開始剤として PVBC₈₉-CDB (1.00 g, 0.1 mmol)、ラジカル開始剤として AIBN (4.9 mg, 30.0 μmol)、モノマーの *N*-isopropylacrylamide (NIPAM) (11.0 g, 97.2 mmol) をシュレンク管に量り取り、溶媒の 1,4-dioxane (18.0 g, 60 wt%) で完全溶解させた。続いて凍結・脱気・融解による脱酸素操作を 3 回繰り返したあと、この溶液を 65 °C で加熱して 7 時間の重合反応を行った。反応後は THF で希釈し、過剰なヘキサンあるいはジエチルエーテルに滴下することで再沈殿精製を 4 回行った。精製後は 40 °C で加熱減圧乾燥し、桃色粉末を得た。(Yield: 5.100 g. GPC: $M_n = 79$ kg/mol, PDI: 1.35, DP = 890)

チオカルボニルチオ基の除去のためジブロック共重合体の末端処理を行った。100 mL ナスフラスコに前述の PVBC₈₉-*b*-PNIPAM₈₉₀-CMB (M_n (NMR) = 112 kg mol⁻¹) (2.5 g, 29 μmol of CDB end group) と過剰な BPO (0.187 g, 0.77 mmol) を量り取り、溶媒の 1,4-dioxane (60 mL) を加えて完全溶解させた。反応溶液を室温で 1 時間の窒素バブリングを行ったのち、薄桃色の溶液が無色になるまで還流を 80 °C で 1 時間行った。反応後は THF で希釈し、過剰なヘキサンに滴下して再沈殿精製を 4 回行った。精製後は 40 °C で加熱減圧乾燥し、白色粉末を得た。(Yield: 1.842

g. GPC: $M_n = 81$ kg/mol, PDI = 1.40)

歯ブラシ型ポリマー[PVBC-*g*-(PMOZ)]-*b*-PNIPAM の合成

歯ブラシ型ポリマー [PVBC-*g*-(PMOZ)]-*b*-PNIPAM は PVBC の Cl 基を反応点としたメチルオキサゾリンのカチオン開環重合を用いて合成した。PVBC₈₉-*b*-PNIPAM₈₉₀ (1.5 g, 17 μ mol) と KI (0.49 g, 3.0 mmol) を 100 mL ナスフラスコに量りとり、フラスコ内の窒素置換を行った後に混合物を溶媒の benzonitrile (45 mL) に溶解させた。さらにモノマーの 2-methyl-2-oxazoline (15 mL, 170 mmol) を加え、120 °C で 21 時間反応を行った。反応物は CHCl₃ で希釈し、diethyl ether に滴下して再沈殿精製を 3 回行った。精製したポリマーは減圧乾燥させ黄色固体を回収した。さらに反応物を透析膜 (cutoff 1000 Da) で 4 日間、外液をメタノールあるいは脱イオン水に交換しながら精製を行い凍結乾燥によって回収した。(Yield: 7.836 g, M_n (NMR): 934 kg/mol, DP_{PEI}: 126)。

選択的加水分解による二重親水性ポリマー[PVBC-*g*-(PEI)]-*b*-PNIPAM の合成

PMOZ から PEI への構造変換は PNIPAM の加水分解を伴わない選択的な加水分解により行った。精製後の [PVBC-*g*-(PMOZ₁₂₆)]₈₉-*b*-PNIPAM₈₉₀ (0.80 g, 2.8 μ mol) と 3M 塩酸 (24 mL) を 100 mL ナスフラスコに量り取り、この溶液を 60 °C のオイルバスで 1 時間還流させて溶液内のポリマーをミセル状態へと自己組織化させた。さらに 100 °C まで加温し 5 時間の加水分解反応を行った。反応後は溶液を透析膜に全量移し、外液を脱イオン水にして透析膜 (cutoff 1000 Da) で一日精製した。さらに塩酸を除去するため アンモニア水溶液 (28vol%) 中で一日、最後に溶液が中性になるまで脱イオン水中で三日間、透析を行った。凍結乾燥により最終生成物である白色粉末を回収した。

2.2.4 親水性くし-コイル型ポリマー[PVBC-*g*-(PEI)]-*b*-PNIPAM の自己組織化

くし-コイル型高分子の自己組織化について以下に記す。[PVBC-*g*-(PEI)]-*b*-PNIPAM を 20 mg 量り取り 4 mL の脱イオン水に加えた後、65 °C までオイルバスで加熱した。さらに溶液を空冷後、24 時間静置して自己組織化させた。この自己組織体の分散液にシリカソースである

tetramethoxysilane (TMOS) を加えて 1 時間攪拌することでシリカ複合化を行った。また加熱条件下 (65 °C) でも同様の反応を 5 分間行い、反応後は沈殿物を遠心分離 (10000rpm, 5min) で分取した。さらにこれを脱イオン水、アセトンで洗浄して白色粉末を回収した。

2.2.5 二重親水性くし-コイル型ポリマーの熱応答挙動の調査

二重親水性である [PVBC-*g*-(PMOZ)]-*b*-PNIPAM と加水分解後の [PVBC-*g*-(PEI)]-*b*-PNIPAM を脱イオン水で 1 g/L になるように水溶液を調製した。この溶液でそれぞれの下限臨界溶液温度 (LCST) と上限臨界溶液温度 (UCST) を調べるため 25-70 °C の範囲で溶液温度を変化させ UV-vis 測定により透過率を追跡した。結果は透過率と温度でプロットし、透過率変化の始点と終点を結んだ中点を LCST と UCST とした。

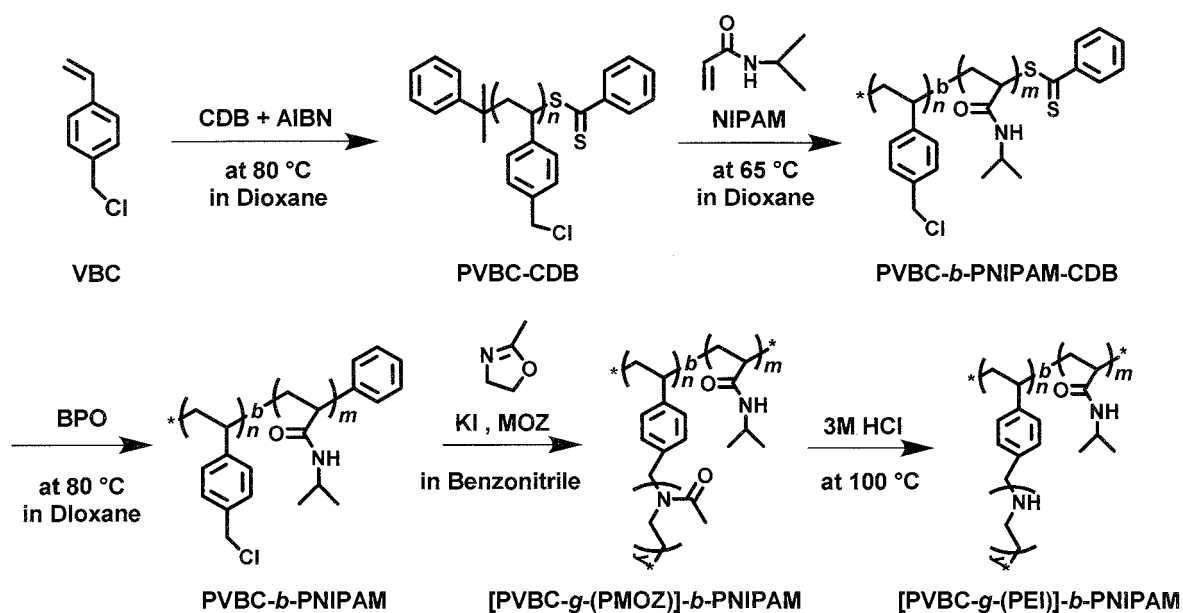
2.2.6 二重親水性 [PVBC-*g*-(PMOZ)]-*b*-PNIPAM の無機電解質応答

KOH、KCl、KBr をそれぞれ 1 M、2 M の濃度で水溶液を調製した。また歯ブラシ型ポリマー溶液を 2 g/L に調製し、塩溶液とポリマー溶液の重量比が 1:1 になるように混合したものを UV 測定によって透過率の温度依存性を評価し、塩がもたらす LCST への影響を調べた。

2.3 結果と考察

2.3.1 熱応答性ジブロック共重合体の合成と基礎物性

PNIPAM コイルとくし型 PEI からなるくし-コイル型ブロック共重合体 [PVBC-*g*-(PEI)]-*b*-PNIPAM は 5 つのステップにより合成できる (Scheme 2-1)。PVBC-CDB は CDB 連鎖移動剤、AIBN 開始剤の存在下で 4-vinylbenzyl chloride (VBC) の RAFT 重合により合成した。続いて NIPAM との共重合により PVBC-*b*-PNIPAM-CDB が重合され、さらに RAFT 末端の除去を経て PVBC-*b*-PNIPAM を合成した。くし-コイル型共重合体とするため、PVBC-*b*-PNIPAM をマクロ開始剤として VBC の Cl 基を反応点に MOZ のカチオン開環重合を行った。最後にくし型 PMOZ を選択的に加水分解し PEI へと構造変換を行うことで (PVBC-*g*-(PEI)]-*b*-PNIPAM を得た。



Scheme 2-1. Representation of Synthesis of [PVBC-*g*-(PEI)]-*b*-PNIPAM block copolymers.

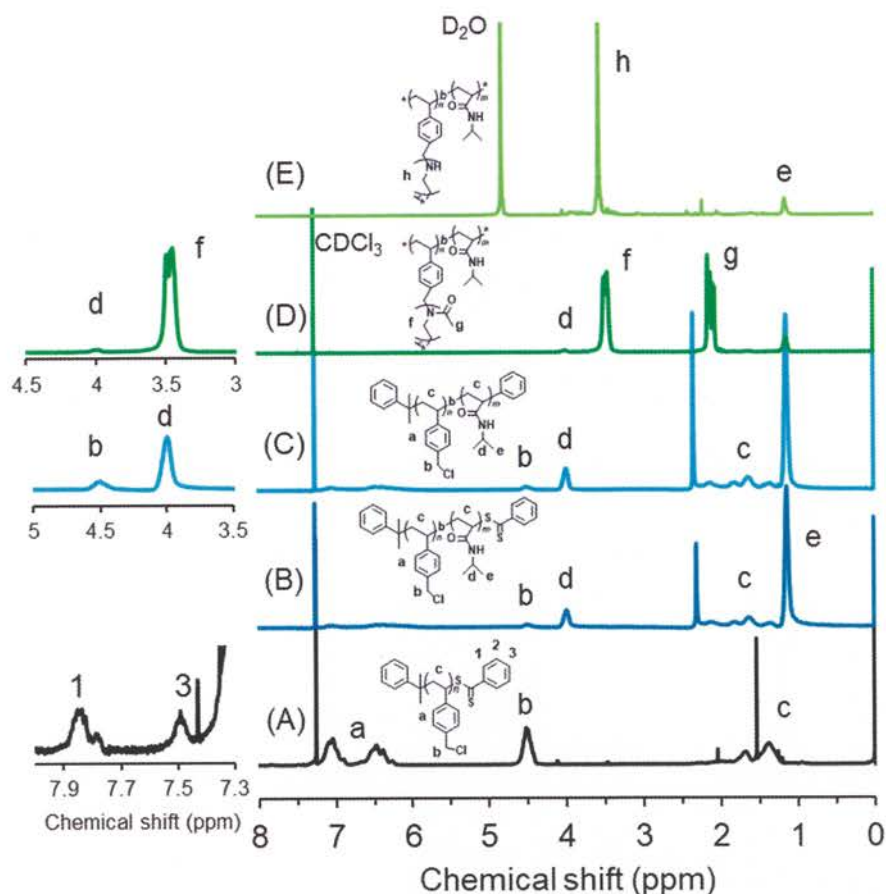


Figure 2-1. ^1H NMR spectra of (A) PVBC₈₉-CMB (V-1), (B) PVBC₈₉-*b*-PNIPAM₈₉₀-CMB (N-1), (C) PVBC₈₉-*b*-PNIPAM₈₉₀ as macromonomer (N-4), (D) [PVBC-*g*-(PMOZ)₁₂₆]₈₉-*b*-PNIPAM₈₉₀ (O-1) in CDCl_3 at 25 °C and (E) [PVBC-*g*-(PEI)₁₂₆]₈₉-*b*-PNIPAM₈₉₀ (E-1) in D_2O at 25 °C.

はじめの反応である VBC の RAFT 重合では CDB と AIBN とのモル比を 1000:1:0.25 とし、1,4-dioxane 中で 80 °C・21 時間の重合反応を行った。反応溶液を過剰なメタノールに滴下することで目的物であるピンク色固体 PVBC-CDB を回収した。このときモノマーの転化率を ^1H NMR 測定の積分値から算出すると 89%と求められた (Figure 2-1, Support information を参照)。RAFT 末端のフェニル基より CDB (1H at 7.25-6.20 ppm) と PVBC 側鎖の CH_2Cl (2H at 4.50 ppm) 基の積分値の比から末端法を用いて見積もった重合度 (DP) は 89 であった。この方法では PVBC-CDB の転化率は 89%、数平均分子量 M_n は 14 kg/mol であった。一方で、GPC から求められる M_n と重量平均分子量 M_w はそれぞれ 0.93 kg/mol と 1.05 kg/mol、分子量分布 M_w/M_n は 1.13 であった。(Figure 2-2A)。重合度 89 の PVBC-CDB をマクロ連鎖移動剤として NIPAM のブロック共重合を同様の条件で行い、PNIPAM の重合度が異なる 3 種のサンプルを合成した。

Table 2-1 Synthesis and characterization data of diblock copolymers

Run	Sample	Feed ratio	R time (h)	Mn(NMR) (kg mol ⁻¹) ^{a)}	Mn(GPC) (kg mol ⁻¹)	Mw/Mn ^{b)}	yield (g)
V-1	PVBC ₈₉ -CDB	[monomer]/[RAFT]/[AIBN] = 1000/1/0.25	20	14	0.93	1.13	8.1
N-1	PVBC ₈₉ -b-PNIPAM ₈₉₀ -CDB	[monomer]/[CTA]/[AIBN] = 1000/1/0.3	7	112	79	1.35	5.100
N-2	PVBC ₈₉ -b-PNIPAM ₃₂₄ -CDB	[monomer]/[CTA]/[AIBN] = 600/1/0.3	7	52	40	1.30	2.719
N-3	PVBC ₈₉ -b-PNIPAM ₇₄ -CDB	[monomer]/[CTA]/[AIBN] = 200/1/0.3	7	22	15	1.20	2.315
N-4	PVBC ₈₉ -b-PNIPAM ₈₉₀	[PVBC-b-PNIPAM-CDB]/[BPO] = 1/20	1	-	81	1.40	1.842
N-5	PVBC ₈₉ -b-PNIPAM ₃₂₄	[PVBC-b-PNIPAM-CDB]/[BPO] = 1/20	1	-	42	1.43	1.995
N-6	PVBC ₈₉ -b-PNIPAM ₇₄	[PVBC-b-PNIPAM-CDB]/[BPO] = 1/20	1	-	20	1.26	1.740

a) Calculated by using the ¹H NMR data. (The integral value)

b) As determined by GPC.

Table 2-2 Synthesis and characterization of tooth-blush like PMOZ and PEI polymers

Run	Sample	Feed weight (g)	Mn(NMR) (kg mol ⁻¹)	yield ^{b)} (g)
		PVBC-b-PNIPAM ^{a)}		
O-1	[PVBC-g-(PMOZ) ₁₂₆] ₈₉ -b-PNIPAM ₈₉₀	1.501	934	7.836
O-2	[PVBC-g-(PMOZ) ₉₁] ₈₉ -b-PNIPAM ₃₂₄	0.3002	831	2.465
O-3	[PVBC-g-(PMOZ) ₆₅] ₈₉ -b-PNIPAM ₃₂₄	0.5040	551	2.996
O-4	[PVBC-g-(PMOZ) ₂₁] ₈₉ -b-PNIPAM ₃₂₄	0.7037	203	2.02
O-5	[PVBC-g-(PMOZ) ₉₁] ₈₉ -b-PNIPAM ₇₄	0.1527	651	1.761

a) Feed ratio :

PVBC-b-PNIPAM / KI / OZ = 1 / 2 / 89 × y. y: (O-1, O-2, O-5: 150, O-3: 100, O-4, 50)

b) Reaction time : 22 hours

Run	Sample	H.N ^{a)}	PEI ratio (%)	Mn(NMR) (kg/mol)
E-1	[PVBC-g-(PEI) ₁₂₆] ₈₉ -b-PNIPAM ₈₉₀	1.5	85	790
E-2	[PVBC-g-(PEI) ₉₁] ₈₉ -b-PNIPAM ₃₂₄	0.5	90	528
E-3	[PVBC-g-(PEI) ₆₅] ₈₉ -b-PNIPAM ₃₂₄	0.5	86	357
E-4	[PVBC-g-(PEI) ₂₁] ₈₉ -b-PNIPAM ₃₂₄	1	68	160
E-5	[PVBC-g-(PEI) ₉₁] ₈₉ -b-PNIPAM ₇₄	1	95	473

a) Hydration numbers : As determined by XRD patterns.

Figure 2-2A では GPC 測定による共重合体 N-1、N-2、N-3 の分子量分布を示している。PVBC-CDB と比べてそれぞれの溶出ピークは NIPAM 導入比が高まるにつれて高分子量側に現れた。この結果から PVBC の RAFT 末端から効果的に NIPAM 重合が起こり、組成の異なる PVBC と PNIPAM のブロック重合体が合成されたことが示唆される。Figure 2-1B は N-1 の ¹H NMR 測定の結果を示しており、2 種のブロックに由来して PVBC ブロックの methylene 基 (-CH₂Cl) に由来して 4.5 ppm に、また PNIPAM ブロックの methine 基 (N-CHMe₂) に由来して 4.0 ppm にピークが見られた。このふたつのピークの積分比から PNIPAM の重合度が求められる (Support information を参照)。Table S2-1 では N-1 から N-3 の PNIPAM 重合度がそれぞれ 890、324、74 であったことをまとめた。続く 2-methyl-2-oxazoline のカチオン開環重合において CDB 末端の存在は反応中にゲル化を起こすため、過剰な過酸化ベンゾイル (BPO) で N-1 から N-3 ポリマーの CDB 末端の除去を行った。CDB 末端除去後のポリマーを N4、N5、N6 として Table 2-1 に

示した。UV-vis 測定によりそれぞれ 450-550 nm の吸収が消失し、サンプルもピンク色粉末から白色粉末へと変化した (Figure S2-1)。

PVBC ブロックの側鎖である CH_2Cl 基を反応点として 2-methyl-2-oxazoline のカチオン開環重合を行い、くし構造の poly(methyloxazoline) (PMOZ) を有する N-4 から N-6 のサンプルを合成した (Table 2-2)。反応溶液は脱イオン水で透析精製を行い、固体の [PVBC-g-(PMOZ)]-b-PNIPAM は凍結乾燥によって回収した。PMOZ 重合では少量のマクロ開始剤 (1.501 g) から 5.2 倍量の生成物を得ることができる。Figure 2-1C に示した O-2 の ^1H NMR 測定では新たに PMOZ 主鎖 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$) に由来して 3.25 - 3.60- ppm にブロードピークが、methyl 基 ($-\text{N}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_3$) からは 1.92-2.21 ppm にピークが現れた。PVBC の側鎖にくし型 PMOZ が生長したことから methylene 基 (CH_2Cl) を表す 4.5 ppm のピークは消失した。加えて FT-IR 測定では C-Cl 基に由来する $672, 1263 \text{ cm}^{-1}$ の吸収が消失した (Figure 2-2B)。[PVBC-g-(PMOZ)]-b-PNIPAM は組成の異なる O-1 から O-5 の 5 種類が合成された。O-1 を例にすると PMOZ 重合度は 3.25-3.60 ppm ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}-$ on PMOZ block) と 1.1 ppm ($-\text{CH}_3$ on PNIPAM block) の積分値の比から算出し、重合度は 126 と求められた (Support information を参照)。5 つのサンプルのうち最も PMOZ の重合度が短いもので約 20、最も長いもので 120 以上となり、GPC 測定ではカラムからの溶出が困難となったため測定を行わなかった。一般に PMOZ は結晶性を持たないが、本サンプルのうち PNIPAM の重合度が 324 である O-2 から O-4 では XRD 測定により結晶性を示す回折ピークが $15^\circ, 20^\circ, 24^\circ, 30^\circ$ に観測された (Figure S2-2)。対して PNIPAM の長さの異なる O-1、O-5 では結晶性を示さなかった。PNIPAM が 324 であれば PMOZ の重合度に関わらず示された結晶性が発現するが、その性質は PNIPAM/PMOZ の比率だけに因らず PNIPAM の重合度にも大きく依存していることが示唆された。

PMOZ は側鎖にアセチル基を含むポリアミド構造を有することから多種の有機溶媒や水に容易に溶解することができる。PMOZ の加水分解は塩酸や水酸化ナトリウム水溶液によって容易に行うことができ、最終的に polyethyleneimine (PEI) へと構造変換される^{26, 27}。同様に PNIPAM も側鎖にアミド基を有するポリアミドの一種であるが、ここでは PMOZ を選択的に加

水分解した。先行研究では親水性 PMOZ と疎水性 poly(phenyloxazoline) (PPOZ) からなる両親媒性ブロック共重合体の PMOZ の選択的加水分解を PPOZ コア、PMOZ シェルの高分子ミセル状態で行った例を報告している²⁸。ここでは LCST 以上の温度で PNIPAM が疎水化する性質を利用し、PNIPAM コアのミセルを形成させることで選択的加水分解を実現した。実際には [PVBC-*g*-(PMOZ)]-*b*-PNIPAM の 3M 塩酸溶液を 100 °C で 5 時間攪拌することで加水分解を行った。PNIPAM に反応を起こすことなく、PMOZ ブロックのみの完全な加水分解によって E-1 から E-5 までのくし-コイル型共重合体 [PVBC-*g*-(PEI)]-*b*-PNIPAM が合成されることは ¹H NMR 測定のチャートが証明している。例えば、PMOZ のメチル基 (C(O)CH₃) に由来した 1.92-2.21 ppm のピークは消失しているが PNIPAM のイソプロピル基 (NC(CH₃)₂) に由来する 1.12 ppm のピークに変化はなかった (Figure 2-1E)。さらに加水分解後の FT-IR 測定では 3275 cm⁻¹ に第二級アミン (CH₂NHCH₂) に由来する振動が確認された。この同じアミド結合を有しながら PMOZ のみを加水分解する選択性は単に PNIPAM の熱応答性に因るミセル構造だけではなく、PNIPAM のアミド基の耐加水分解性にも由来している。比較として RAFT 重合によって合成した PNIPAM ホモポリマーの加水分解を 100 °C に加熱した 3M 塩酸と室温の 5M 塩酸条件下で行った。しかしいずれの酸性条件でも PNIPAM は加水分解されなかった (Figure S2-3)。それゆえにくし構造 PMOZ から PEI への構造変換は選択的に達成され、[PVBC-*g*-(PEI)]-*b*-PNIPAM を得ることができる。

直鎖状 PEI (LPEI) が遊離塩基状態で高分子結晶となるのはよく知られている。さらにこの結晶状態は水和状態によっても変化し、エチレンイミン (EI) ユニットごとに半水和 (0.5)、一水和、セスキ水和 (1.5)、二水和とそれぞれで異なる結晶性を示す²⁹。PEI 系高分子の結晶状態を粉末 XRD 測定によって評価した。Figure 2-3 に示した XRD 測定の結果で E-1 から E-5 それぞれの回折パターンが確認できる。E-1 サンプルでは EI ユニットに対してセスキ水和状態の LPEI と同じ 18、24、26、32°における回折パターンが見られた。同様に E-2、E-3 では半水和、E-4、E-5 では一水和状態である。水和数はサンプル回収時の凍結乾燥のように減圧状態にさらされることで水和数は減少する。これらの結果は E-1 から E-5 のすべてのくし-コイル型ブロック共

重合体が長短の異なる PEI 鎖を持ちながら同様に固体状態で結晶状態となることを示唆している。

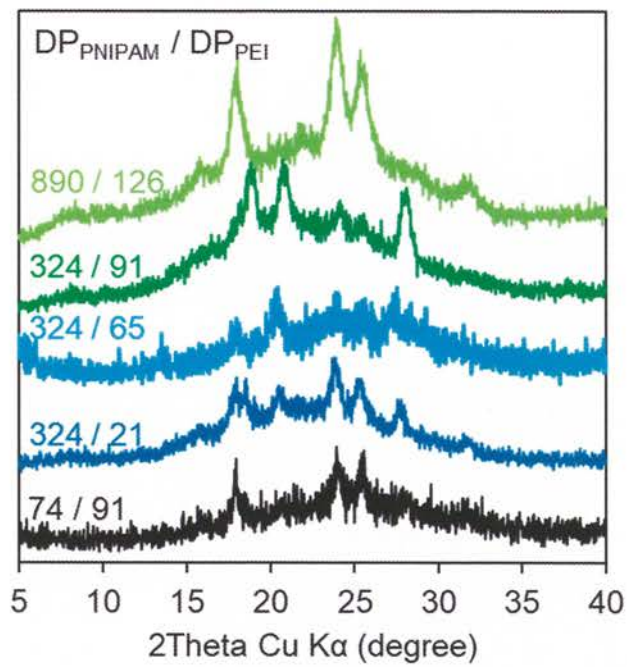


Figure 2-3. Powder XRD patterns of [PVBC-g-(PEI)_z]₈₉-b-PNIPAM_m (m/z).

2.3.2 くし-コイル型ブロック共重合体の熱応答による自己組織化

二重親水性のくし-コイル型ブロック共重合体 [PVBC-*g*-(PMOZ)]-*b*-PNIPAM と [PVBC-*g*-(PEI)]-*b*-PNIPAM は水中での溶解性を示す。[PVBC-*g*-(PEI)]-*b*-PNIPAM はその遊離塩基状態のくし構造 PEI が室温下の水中で結晶化するのに対して酸性水溶液では溶解することができる。2種の共重合体の熱応答性を ^1H NMR と UV-vis 測定によって調査し、各温度における高分子鎖の挙動について考察した。

[PVBC-*g*-(PMOZ)]-*b*-PNIPAM の LCST 型温度応答

O-1 に焦点を当て、 ^1H NMR 測定を D_2O 溶媒中で行った結果を Figure 2-4A に示した。25 °C では PNIPAM のイソプロピル基と PMOZ のアセチル基に由来したふたつの methyl 基のピークが 1.2 ppm と 2.1 ppm に現れた。測定温度を 35、40、45、50 °C に加熱していくとイソプロピル基の 1.2 ppm のピークが消失した。対してアセチル基の methyl ピークには変化がなかった。これは加熱により親水性シェル層と疎水性コアからなるポリマーミセルを形成していることを示す。つまり、溶媒和したシェル層がピークとして検出されるのに対してグローブユール転移後のコアはその固体特性により検出されなくなる。50 °C から 25 °C に冷却するとイソプロピルピークは再び現れた。このサイクルは 40 °C 付近で LCST 型の熱応答性をもつことを示唆している。

一方、1.0 g/L の濃度で O-1 から O-5 の水溶液を調製し透過率の温度変化を追跡した。波長 500 nm の透過率でプロットしたグラフを Figure 2-4B で示した。O-5 を除いた 4 つのサンプルが温度上昇に伴って透過率が低下し、異なる温度で LCST を示すことが観察された。PNIPAM (コイル部) の重合度 PD_m が 890、PMOZ (くし部) の PD_y が 126 の O-1 は 34 °C で LCST を示した。またコイル部の PD が 324、くし部が 21 の O-4 は LCST が 35 °C であった。LCST を比較するとくし部の PD が長い O-2、O-3 では LCST が 37~38 °C で現れ、くし型 PMOZ の PD が PNIPAM コイル部の LCST を制御できることを示唆している。しかし PNIPAM の PD が 74 と短い場合は PMOZ くし部の分子量割合が大きすぎるために明確な熱応答を示さなかった。これらの結果からくし-コイル型ブロック共重合体が熱応答性を持つか否かは 2 つの親水性成分

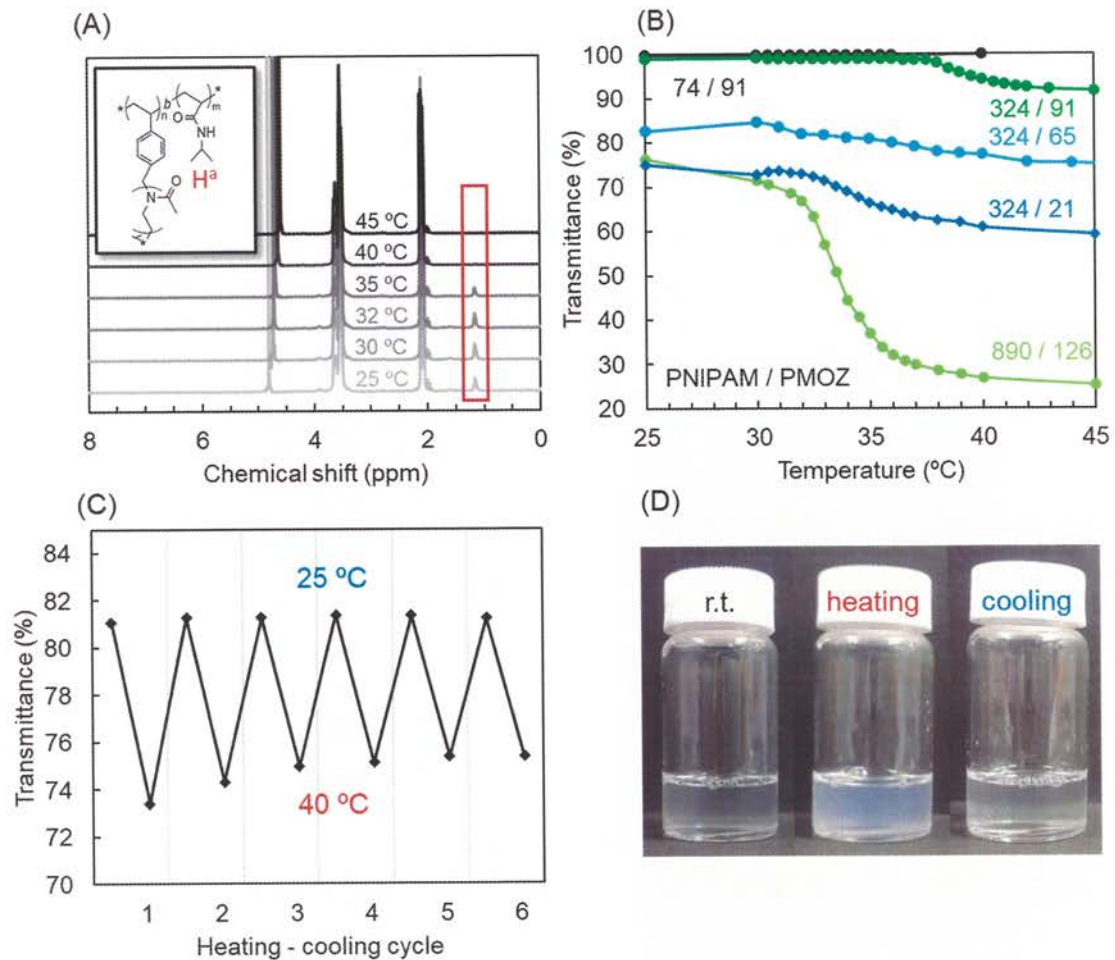


Figure 2-4. (A) ¹H NMR spectra of [PVBC-g-(PMOZ)₁₂₆]₈₉-b-PNIPAM₈₉₀ in D₂O conducted at different temperature. (B) Transmittance dependence of [PVBC-g-(PMOZ)_y]₈₉-b-PNIPAM_m on temperature at $\lambda = 500\text{nm}$ for aqueous dispersion (1 g/L). (C) Transmittance variation depending on heating-cooling cycle between 25°C and 40°C at $\lambda = 500\text{ nm}$ for the 1 g/L of aqueous solution of sample O-1. (D) Photographs of the 1 g/L of solution of O-1 at different temperature.

PNIPAM と PMOZ の PD (m と y) の比率 $m/89y$ に大きく左右されると考えられる。今回の場合は比率が 0.04 を超えると PNIPAM の熱応答を明確に示すことが明らかとなった。さらに O-1 の水溶液 (1.0 g/L) を用い、5 回の加熱-冷却を繰り返す透過率測定 (40 °C–25 °C) により温度応答の可逆性について調査したところ、一定の保持時間において測定すればはっきりと温度応答の on-off が見られることが分かった (Figure 2-4C)。

この温度と透過率の変化は PNIPAM の LCST と相関関係にあり、水溶液を加熱すれば PNIPAM コイルが脱水して疎水性へと転移するため Figure 2-4D に示すように溶液は白濁する。ここで重要なのはくし型 PMOZ が凝集した PNIPAM コイルを覆うようにして PNIPAM コ

ア/PMOZ シェル層からなるポリマーミセルを形成するということである。

上記の温度に伴うポリマーミセルの形成をもとに、室温および 45 °C における O-2 の臨界ミセル濃度 (CMC) を評価することで各温度における高分子周辺の親水性・疎水性環境について調査した³⁰。測定では蛍光プローブとしてピレンを採用し、異なる濃度に調製された O-2 水溶液 ($0.2 \times 10^{-3} \sim 5.0$ g/L) とピレン (2 mM) を混合し、温度条件を変えながら蛍光・励起スペクトルの測定を行った。Figure 2-5A-C はそれぞれのポリマー濃度における蛍光測定の結果とその蛍光強度比 I_3/I_1 (第一ピーク [372 nm] と第三ピーク [382 nm] の蛍光強度) をプロットしたグラフである。意外なことにピレンプローブを用いた蛍光測定の結果、室温でも加熱状態 (45 °C) でもほとんど同様の挙動を見せていることが判明した。蛍光ピークは濃度が 0.1 g/L 以上になるとより長波長側へとシフトし、さらに強度比 I_3/I_1 の値は急激に上昇した (Figure 2-5C)。この変化はピレンが疎水性環境となるミセルコアへと封入され近接したピレン同士がエキシマー発光することに起因している。強度比 I_3/I_1 は 0.1 g/L から急激に変化し、この CMC を境にミセル状態へと変化したと考えられる。しかしながら本実験における PNIPAM を有する二重親水性くし-コイル型ブロック共重合体が加熱をしていない条件でもミセル転移を起こすことは興味深い事実である。ピレンは水中における疎水性 (局所的) 環境を調査するためには非常に便利な分子である。疎水性分子であるピレンは疎水性ドメインにトラップされると近接した分子同士でエキシマー (excimer) を形成し励起・蛍光波長がシフトする性質がある³¹。PNIPAM とピレンの相互作用を理解するために、PMOZ (PD = 147) と PNIPAM (PD = 334) ホモポリマーを O-2 と同じ比率になるように混合した水溶液を 0.05 ~ 5 g/L で調製し同様の蛍光測定を行った。Figure 2-5E-F と Figure S2-4 に示した通り PMOZ/PNIPAM 混合液におけるピレンの蛍光スペクトルは 5 g/L まで濃度を高めても変化が見られなかった (PNIPAM₃₃₄ ホモポリマーのみで同様の実験を行った場合にも同様であった)。それゆえ PMOZ と PNIPAM、あるいは PNIPAM ホモポリマーのみの場合いずれも室温下ではピレンをトラップするような疎水性ドメインを持たない完全な親水性であることを示唆している。以上の結果を加味するとくし-コイル構造からなる O-2 のようなポリマーの場合、PNIPAM の水和度が親水性くし型 PMOZ の影響を大きく受けていることが示唆される。PMOZ のユニット単位は *N,N*-dimethylacetamide の構造に類似

しているためその強い双極子モーメントにより水素分子と強く結合することが可能であるとされている³²。したがって、ポリマー濃度が増加するとくし型 PMOZ が分子鎖内の PNIPAM コイルの周辺から水分子を奪う、あるいは PNIPAM と水分子との相互作用を阻害した結果、PNIPAM 主鎖が疎水性を帯びピレンをトラップすると考えられる。室温下、加熱時ともに同じ CMC の値を示すが、ミセル中に封入されたピレンの蛍光強度は異なる。特に蛍光強度は室温化よりも加熱条件下で劇的に低下する。これは少量のポリマー分子で構成されるミセル凝集体が室温化では比較的ゆるやかな相互作用で寄り集まっているのに対し、加熱条件下では PNIPAM の熱応答に伴う収縮により密に凝集していることに起因していると考えられる。このミセル内の密度によってピレンの自己消光が加熱時には大きく、室温下では最小限に抑えられていると示唆される。

ピレンの存在がもたらすミセルの流体力学半径 D_h への影響を加熱条件と室温条件の双方で比較した。Figure 2-5D ではピレンの有無に関わらずミセルの直径が 25 °C (D_h : 20 ~ 30 nm) よりも 45 °C (80 ~ 140 nm) の方が大きく、少量のポリマーから形成するミセルから加熱によりミセル同士の凝集も生じることが示された。

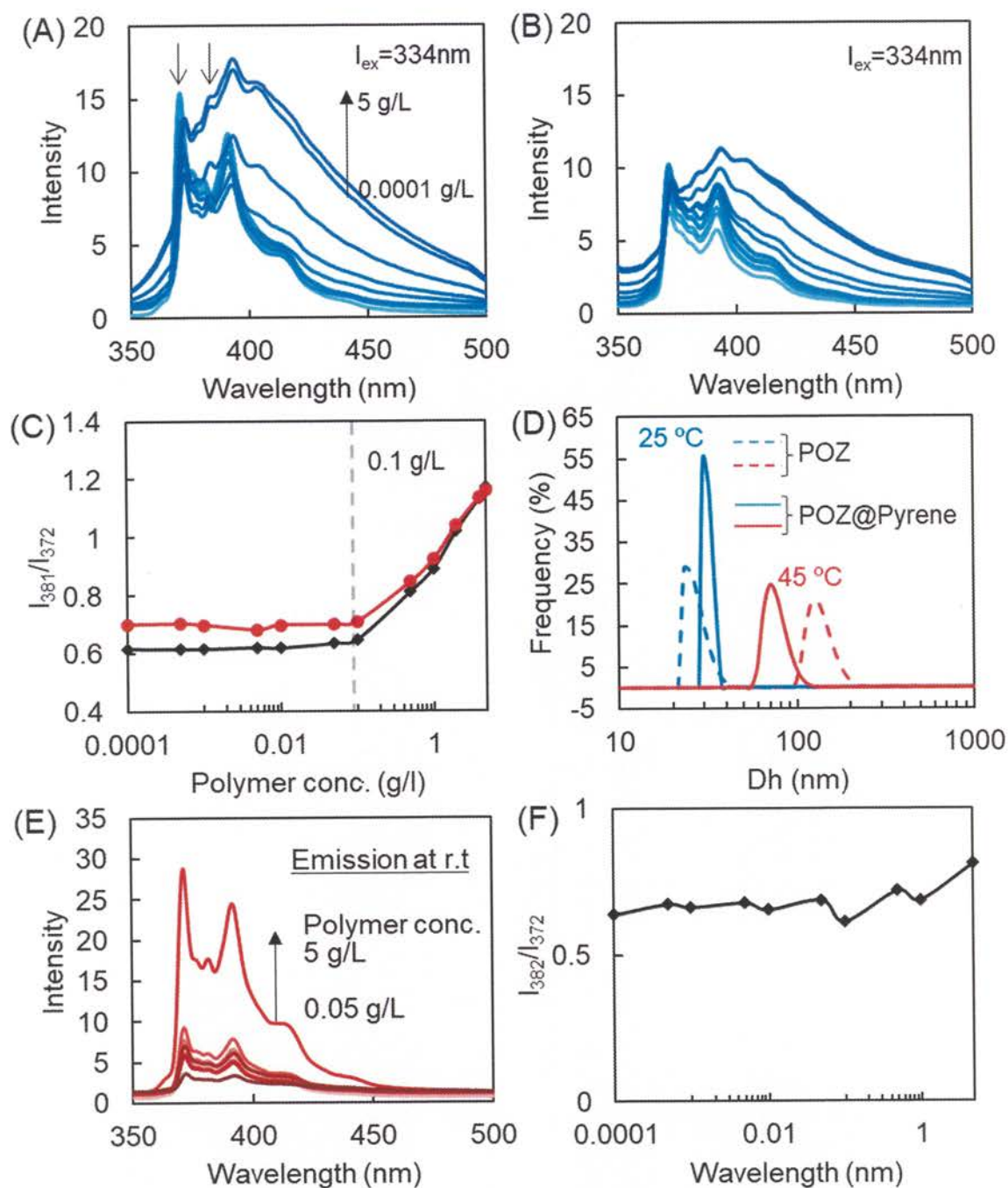


Figure 2-5. Fluorescence emission spectra of pyrene in the aqueous solution of O-2 [PVBC-g-(PMOZ)₉₁]₈₉-b-PNIPAM₃₂₄ at (A) r.t. and (B) 50 °C (polymer concentration: 0.05 ~ 5 g/L). (C) Plots of the fluorescence intensity ratios I_{382}/I_{372} vs polymer concentrations. (D) Dh of polymeric micelles from O-2 in the presence and absence of pyrene (the polymer concentration: 0.1 g/L). (E) Fluorescence emission spectra of pyrene in the solution containing two homo polymers PNIPAM₃₃₄ and PMOZ₁₄₇ (the feeding ratio is equal to the composition of the copolymer O-2). (F) Plot of the fluorescence intensity ratios I_{383}/I_{372} vs the concentrations of the mixture polymers.

LCST 型熱応答性 [PVBC-*g*-(PMOZ)]-*b*-PNIPAM の無機電解質応答

イオン性物質の添加による水溶液中での PNIPAM の LCST 変化はよく知られているが、本研究でもカリウム塩の添加による LCST への影響について [PVBC-*g*-(PMOZ)]-*b*-PNIPAM に焦点を当てて考察した。ポリマー (O-1) 水溶液が 1 g/L、無機塩 (KOH、KCl、KBr) 水溶液が 0.5 M になるような混合液を調製し、透過率測定によりそれぞれの LCST の変化を評価した。そのほか無機塩濃度をより高濃度の 1 M に調整し、無機塩濃度の変化がもたらす熱応答の変化も調査した。測定の結果、塩の添加により PNIPAM の LCST が低下した (Figure 2-6)。アニオンが Br⁻、Cl⁻ の順に 29 °C、27.5 °C と LCST は小さくなり、KOH の添加では室温以下の 22 °C で曇点を示した (Table 2-3)。さらに KBr 濃度を 0.5 M、1 M と高めることで LCST が 27.5 °C、25 °C と低下した。この傾向は塩濃度の高まりによって直線関数的に LCST が低下するという報告と一致する。これは塩濃度が高まるということが、水分子を奪う役割にあるイオン濃度が高まるということと同義だからである。強い水和能力をもつ構造形成イオンが PNIPAM の疎水性相互作用

Table 2-3 Cloud point temperature of [PVBC-*g*-(PMOZ)]-*b*-PNIPAM (O-1) aqueous solution with potassium salts

C_{salt} (mol/L)	KBr	KCl	KOH
0		34 °C	
0.5	29 °C	27.5 °C	22 °C
1.0	24.5 °C	-	-

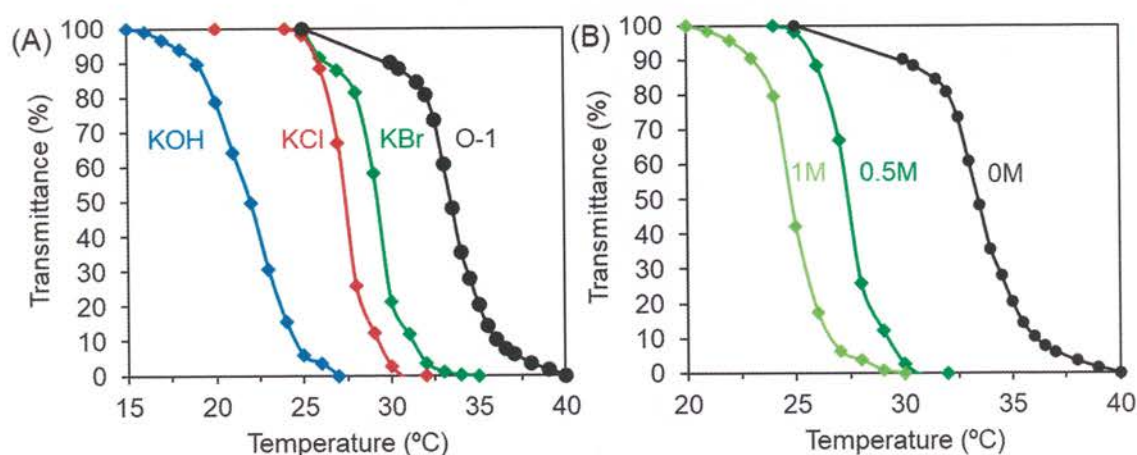


Figure 2-6. Cloud point temperature of 1 g/L [PVBC-*g*-(PMOZ)]-*b*-PNIPAM (O-1) aqueous solution as a function of added potassium salts (salt concentration: 0 ~ 1 M).

を高め、脱水和を促進する。今回用いたアニオン (Br⁻, Cl⁻, OH⁻) も代表的な構造形成イオンで、LCST を下げるそれぞれの塩析効果はホフマイスター系列に対応して上昇する傾向を見せた。

二重熱応答性 [PVBC-*g*-(PEI)]-*b*-PNIPAM の LCST-UCST 型温度応答

Figure 2-4 の XRD に見られるように PMOZ から加水分解により構造変換されたくし型 PEI は遊離塩基状態の E-1 から E-5 のすべてで結晶構造をとっていることが特徴のひとつである。PEI の魅力的な特徴のひとつがこの結晶性を駆動力とした自己組織化である。加熱された水溶液中で一度溶解した PEI が冷却するだけで条件により様々なモルフォロジーをもつナノサイズの結晶を得ることができる^{27,33}。生体模倣型のミネラル化の一種として PEI のナノ結晶体を触媒的テンプレートとしてシリカや酸化チタン複合体を作製する研究例がある³³。

相反する特性を持つ PEI と PNIPAM を組み合わせた分子設計により、マルチな応答性を持つことが期待できる。PEI は加熱した水溶液に可溶であるが、室温下ではその結晶化により不溶性になる。つまり PNIPAM とは反対の熱物性 (UCST) を持ち、さらに PEI は酸性媒体に溶解するが中性または塩基性の状態では結晶化するために溶解しない。

本項では水溶液中の [PVBC-*g*-(PEI)]-*b*-PNIPAM の LCST-UCST 二重熱応答性を調査した。

Figure 2-6 は、PNIPAM コイルの DP が 324、くし型 PEI の PD が 65 である E-3 を遊離塩基状態

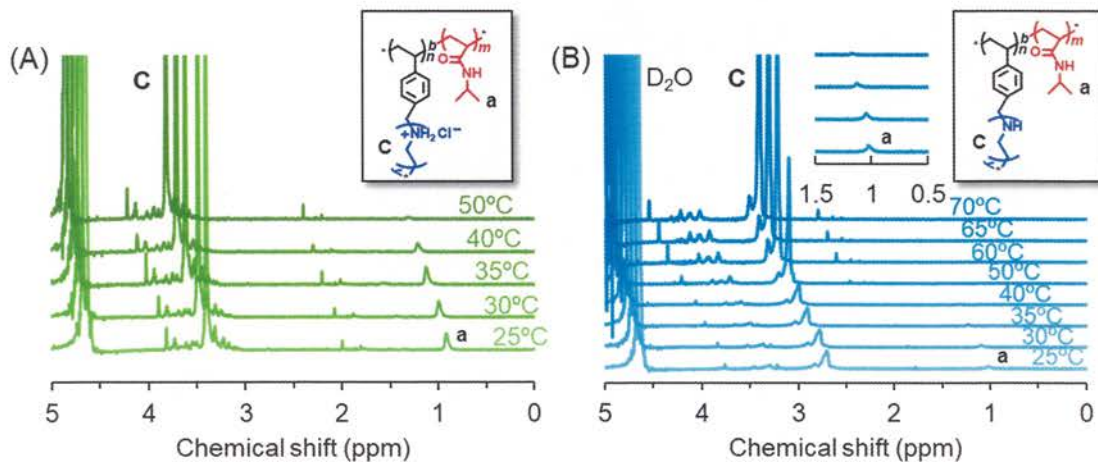


Figure 2-6. ¹H NMR spectra of (A) protonated form of [PVBC-*g*-(PEI)₆₅]₈₉-*b*-PNIPAM₃₂₄ and (B) free base form of [PVBC-*g*-(PEI)₆₅]₈₉-*b*-PNIPAM₃₂₄ conducted at different temperatures in D₂O.

(pH8) およびプロトン化状態 (pH3) で測定した ^1H NMR スペクトルを示している。遊離塩基状態のミセルサンプルを D_2O 中で 70°C に加熱しながら調製し、次いで室温まで冷却した。調製したサンプルを ^1H NMR 測定により各温度に対する構造の変化を追跡すると Figure 2-6B に示すように、 25°C では現れていた PNIPAM のメチル基に由来する 1.0 ppm のピークが 40°C では非常に弱くなった。溶液温度が 40°C を超えると、ピークが完全に消失し PNIPAM が脱水和し疎水性へと転じたことを示している。さらに温度が 50°C まで上昇すると PEI 主鎖の CH_2CH_2 に起因する 2.53 ppm のピークである C の強度が増大した。温度がさらに 70°C に上昇すると、ピークは顕著に強くなった。これは PEI が加熱された水に溶解するためである。これらの結果は、PNIPAM コイルが依然として LCST を維持し、くし型 PEI が UCST を示すという二重の熱応答性を示している。くし型 PEI が塩酸を加えプロトン化された状態の場合、PEI 上の CH_2CH_2 によるピークは、 $30\sim 50^\circ\text{C}$ 付近で 3.3 ppm に現れる。また PNIPAM のメチル基 CH_3 による 0.92 ppm のピークは、温度が 25°C から 50°C に上昇するにつれて、非常に弱くなった (Figure 2-6A)。

E-3 の遊離塩基型とプロトン化型の熱応答性を比較するために、同じ濃度 1.0 g/L で pH3 (塩酸でプロトン化状態) と pH8 (遊離塩基状態) の 2 つの E-2 水溶液を調製した。これらの各温度における波長 500 nm での透過率を測定した。Figure 2-7A に示すように、 30°C 未満での pH3 の水溶液は透過率が 98% 以上で透明であるのに対し、 35°C では透過率が 90% まで低下し、さら

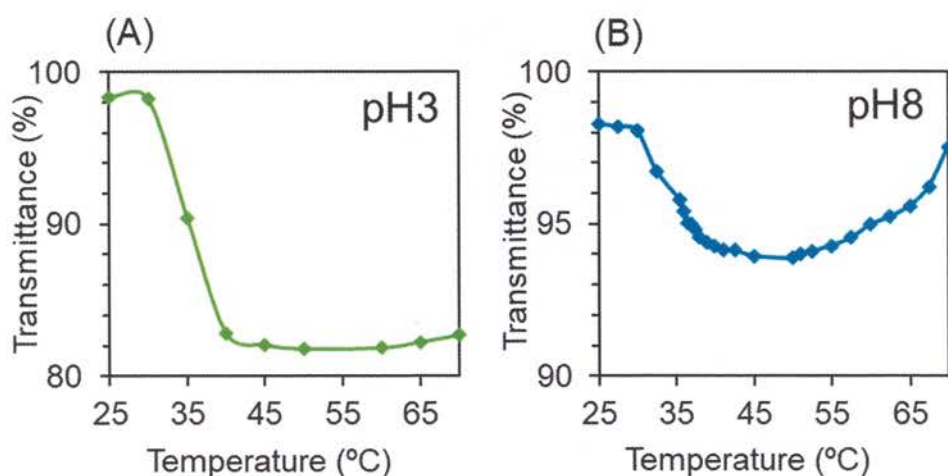


Figure 2-7. Turbidity curves for the aqueous solutions of (A) protonated and (B) free base forms of [PVBC-g-(PEI)₆₅]₈₉-b-PNIPAM₃₂₄ (E-1) solution at $\lambda = 500\text{ nm}$ (1 g/L)

に 40 °C まで上昇すると 80%に低下した。その後は 70 °C まで加熱しても透過率がほとんど変化しなかった。これは PNIPAM コイルが 35 °C を超えるとミセルコアとして凝集しミセルが形成することを示している。pH8 の水溶液の場合は pH3 とは大きく異なり複雑に熱応答している (Figure 2-7B)。pH8 の E-3 水溶液 (1.0 g/L、加熱条件で調製したのちに冷却) は 25 °C で透過率 98%とほぼ透明であり、この濃度ではくし型 PEI の結晶が十分に成長しなかったことを示している。溶液温度が 30 °C を超えると透過率は徐々に低下し、45~50 °C 付近で最小である 93%に達した。その後も加熱を続けると透過率は増加傾向へと転じ 70 °C では 98%になり、くし型 PEI 部が完全に水和した状態で親水性シェルを形成し、PNIPAM コイル部が疎水性となって疎水性コアを形成したことを示唆している。ここで両者の室温と 70 °C での透明度は、実際にはさまざまな要因による。前者は室温での PNIPAM コイルの溶解性に起因するものであり、後者は 70 °C でのくし型 PEI の溶解性によるものである。したがって、PNIPAM コイルとくし型 PEI からなるくし-コイル型ブロック共重合体は二重熱応答性を有するだけでなく、pH にも応答するといえる。

2.3.3 二重熱応答性 [PVBC-*g*-(PEI)]-*b*-PNIPAM の触媒的テンプレートとしての利用

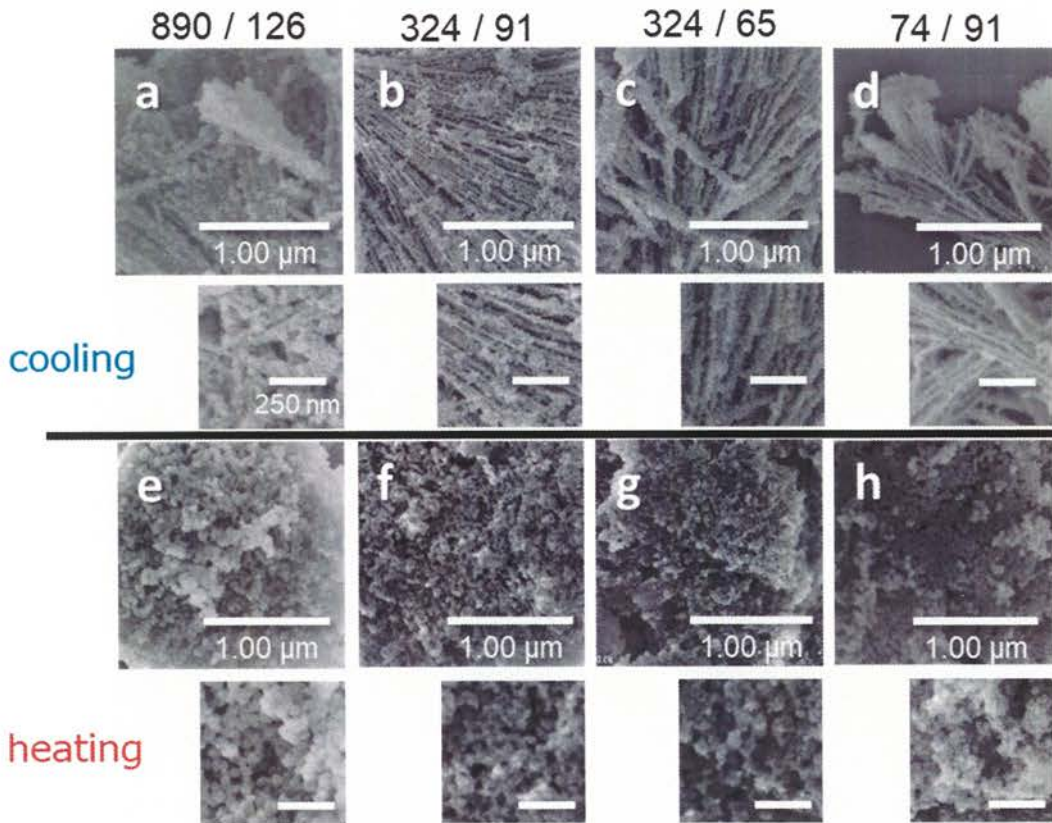


Figure 2-8. SEM images of silica hybrids obtained in the presence of aggregates formed by cooling or heating process of the different the [PVBC-*g*-(PEI)_z]₈₉-*b*-PNIPAM_m (*m/z*) polymers in water.

二重親水性共重合体におけるくし型PEIの二重の熱応答性挙動と触媒的役割を検証するために、異なる温度での一連の4つの共重合体E1、E2、E3、およびE5を使用してシリカ複合化を行った。まず、濃度が2.0 wt%になるように加熱状態で共重合体水溶液を調製した。溶液を自然に室温まで冷却し自己組織化させた後、この白濁した溶液にTMOSを添加し、2時間攪拌した。洗浄後に回収された沈殿物をSEM観察にかけた (Figure 2-8 A-D)。室温で異なる成分の共重合体を塩基性触媒として、その表面で反応させたシリカは同じ束の形態を持っていることがわかる。これは熱水に溶解後冷却した共重合体が自己組織化して結晶性の束になり、シリカに転写されたことを示している。比較すると同じ共重合体でも、65 °Cでわずか5分間後にはナノ粒子の凝集体となった。くし型PEIとPNIPAMコイルを備えたすべての共重合体が加熱条件下で球状ミセル構造を形成し、室温では結晶のバンドルを形成する。熱応答した際のこれらの形態はPEIの塩基性触媒としての働きを経てシリカに転写されたものである^{25-27,33}。これらの

結果は結晶性高分子と熱応答性高分子を組み合わせることにより、温度変化だけで自己組織化体のモルフォロジーを制御できることを示している。

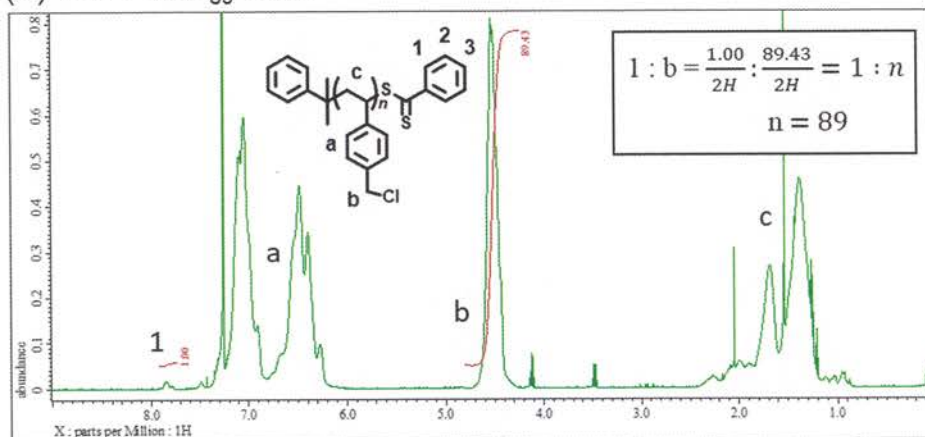
2.4 総括

PNIPAM コイルとくし型 PMOZ あるいは PEI を有する二重親水性くし-コイルブロック共重合体は 4-vinylbenzyl chloride と *N*-isopropylacrylamide の RAFT 重合、2-methyl-2-oxazoline のカチオン開環重合、および PMOZ の選択的酸性加水分解の組み合わせによって合成された。くし型 PMOZ と PNIPAM コイルを有するくし-コイルブロック共重合体は、水溶液中で PNIPAM に由来する良好な熱応答性を示し、加熱すると安定したナノミセルを形成する。珍しい特徴として、くし型 PMOZ と PNIPAM コイルを備えた [PVBC-*g*-(PMOZ)]-*b*-PNIPAM は水中においてそれぞれのブロックが分子内で競争的な水素結合が起こし、結果的に PNIPAM コイルに疎水性質を与える。したがって、ポリマー濃度が CMC に達すると、共重合体は両親媒性高分子のようにコア-シェルミセルを形成する。PNIPAM は加熱下だけでなく、親水性 PMOZ との分子内相互作用によっても疎水性になる可能性があるというのは興味深い知見である。この性質は分子鎖密度の高くし構造とコイル構造の組み合わせという高分子設計が強く影響している。さらに PNIPAM による LCST の値は、PNIPAM および PMOZ の組成比あるいは重合度によって異なる。加水分解後の PEI/PNIPAM (くし/コイル) 系では、ポリアミンである PEI コイルは室温で結晶性を示し、共重合体は LCST および UCST の二重熱応答性と pH 応答性を示した。ポリアミンである PEI と熱応答性 PNIPAM をくし-コイル型に組み合わせることで複数の刺激応答性を有するマルチ応答性高分子となる。高分子構造と組成の設計が共重合体の機能に大きな付加価値をもたらすことは明らかである。PEI の結晶性は自己組織化によるファイバー結晶の形成に、PNIPAM の熱応答はコアシェル球状ミセルの形成に寄与する。これらの特性は、溶液温度によりテンプレート構造を ON-Off させる機能を持つため、ソフトおよび/またはハイブリッドナノ材料の調製に対して利用価値がある。

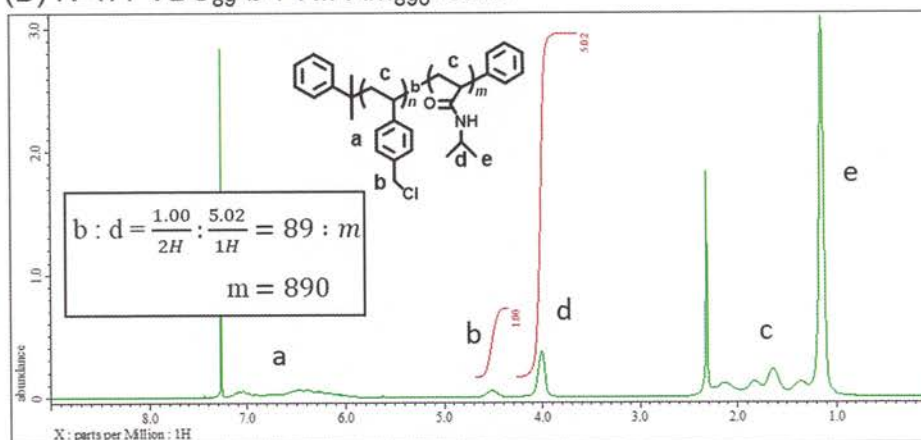
2.5 Support information

CMB を RAFT 剤とした poly(chloromethylstyrene) の合成および続く PNIPAM の共重合における重合度の計算法を V-1、N-1 を例に以下に記す。計算には末端法を用い、RAFT 末端のピークを基準に繰り返し単位数を算出した (A, B)。また PMOZ の重合度計算は PNIPAM ピークを基準として PVBC 主鎖で生長した PMOZ の繰り返し単位数を算出した (C)。

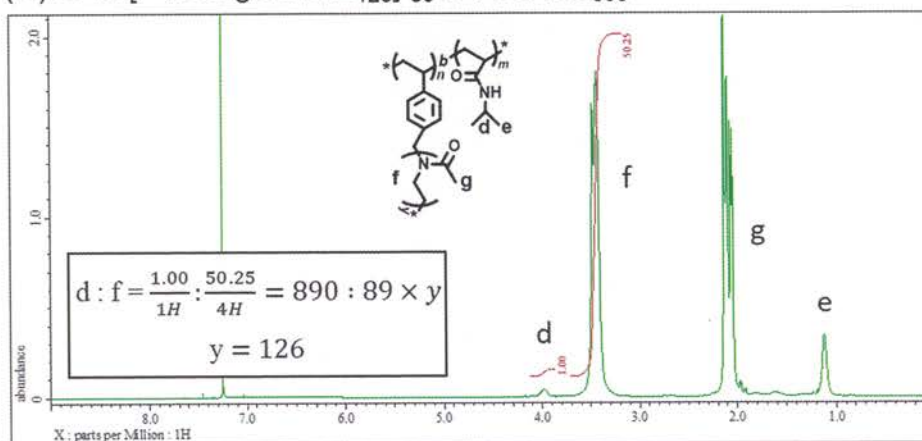
(A) V-1: PVBC₈₉-CMB



(B) N-1: PVBC₈₉-*b*-PNIPAM₈₉₀-CMB



(C) O-1: [PVBC-*g*-PMOZ₁₂₆]₈₉-*b*-PNIPAM₈₉₀



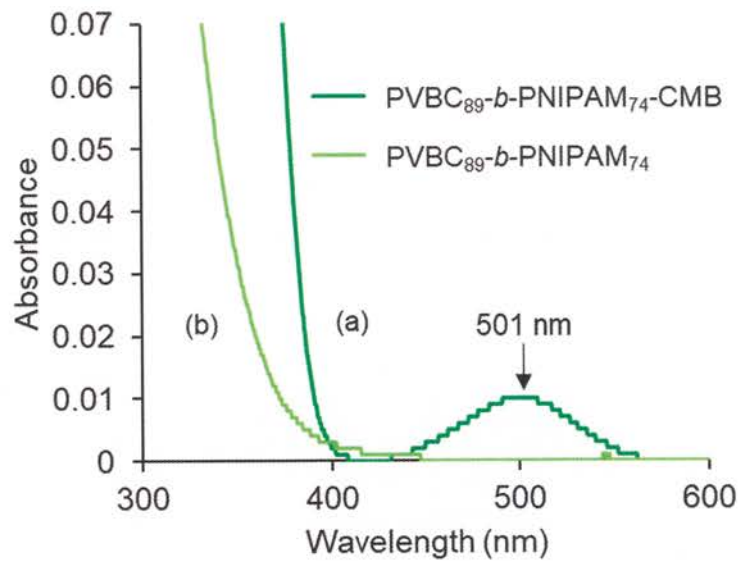


Figure S2-1. UV-vis spectra of (a) PVBC₈₉-*b*-PNIPAM₇₄-CMB (N-3) and (b) PVBC₈₉-*b*-PNIPAM₇₄ as macroinitiators (N-6).

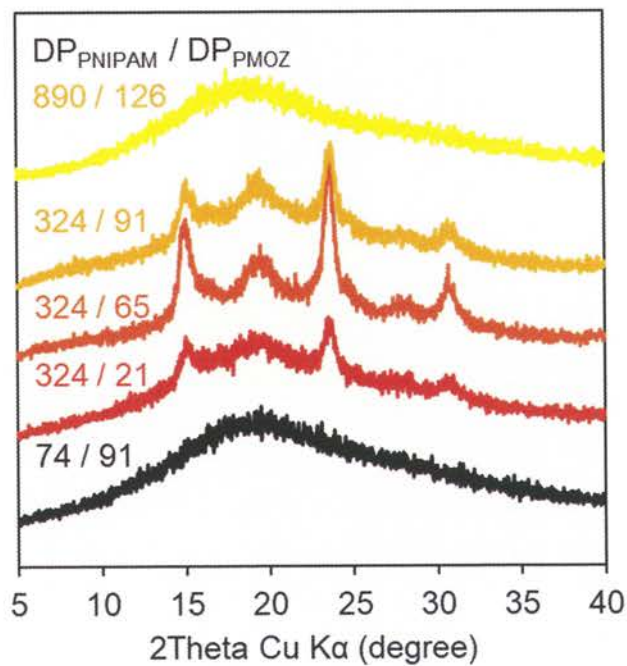


Figure S2-2. Powder XRD patterns of [PVBC-*g*-(PMOZ)_z]₈₉-*b*-PNIPAM_m (m/z).

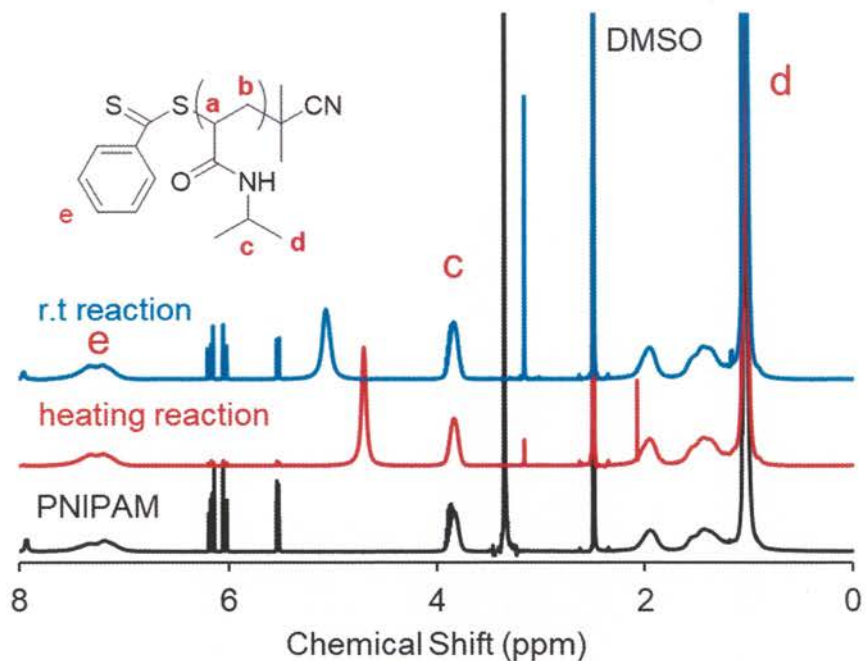


Figure S2-3. ^1H NMR spectra for PNIPAM (1g) before (a) and after treated by 3M HCl (25 mL) at 100 °C for 3h (b) and treated by 5M HCl (30 mL) at room temperature for 24h (c). There were no changes in spectral and integration ratio especially in methine (N-CHMe₂) in the three cases indicating that no hydrolyzation took place.

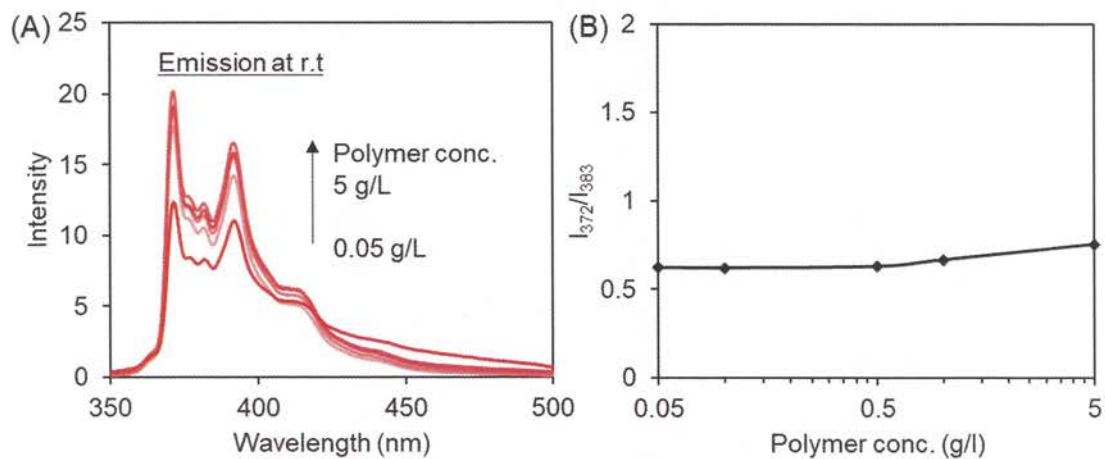


Figure S2-4. A) Fluorescence emission spectra of pyrene-loaded PNIPAM334 solution. (Polymer concentration: 0.05 ~ 5 g/L); B) plot of the emission ratio of I₃₇₂/I₃₈₃.

2.6 参考文献

- [1] Y. Dong, X. Ma, H. Huo, Q. Zhang, F. Qu and F. Chen, *J. Appl. Polym. Sci.*, 2018, **135**, 46675.
- [2] Y. Kitayama and T Takeuchi, *Chem. Eur. J.*, 2017, **23**, 12870-12875.
- [3] S. Wu, L. Zheng W. Zhou, C. Li, Y. Xiao and W. Zhu, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, 2016, **54**, 1259-1267.
- [4] J. Herzberger, D. Kurzbach, M. Werre, K. Fischer, D. Hinderberger and H. Frey, *Macromolecules*, 2014, **47**, 7679-7690
- [5] Z. Zhang, S. Maji, A. B. F. Antunes, R. D. Rycke, Q. Zhang, R. Hoogenboom and B. G. D. Geest, *Chem. Mater.*, 2013, **25**, 4297-4303.
- [6] R. Freitag, and F. G.-Flaudy, *Langmuir*, 2002, **18**, 3434-3440.
- [7] W. Yuan and X. Chen, *RSC Adv.*, 2016, **6**, 6802-6810.
- [8] S. Lin, J. Shang and P. Theato, *Polym. Chem.*, 2017, **8**, 2619-2629.
- [9] M. Qi, K. Li, Y. Zheng, T. Rasheed and Y. Zhou, *Langmuir*, 2018, **34**, 3058-3067.
- [10] H. Zhang, X. Tong, and Y. Zhao, *Langmuir*, 2014, **30**, 11433-11441.
- [11] L. Makinen, D. Varadharajan, H. Tenhu, and Sami Hietala, *Macromolecules*, 2016, **49**, 986-993.
- [12] M. Sahn, T. Yildirim, M. Dirauf, C. Weber, P. Sungur, S. Hoepfener and U. S. Schubert, *Macromolecules*, 2016, **49**, 7257-7267.
- [13] W. Sun, Z. An and P. Wu, *Macromolecules*, 2017, **50**, 2175-2182.
- [14] Q. Wu, D. Zhou, R. Kang, X. Tang, Q. Yang, X. Song and G. Zhang, *Chem. Asian J.*, 2014, **9**, 2850-2858.
- [15] M. Heskins and J. E. Guillet, *J. Macromol. Sci. Part A*, 1968, **2**, 1441-1455.
- [16] (a) A. Rahikkala, V. Aseyev, H. Tenhu, E. I. Kauppinen and J. Raula, *Biomacromolecules*, 2015, **16**, 2750-2756; (b) F. Liu, V. Kozlovskaya, S. Medipelli, B. Xue, F. Ahmad, M. Saeed, D. Cropek and E. Kharlampieva, *Chem. Mater.*, 2015, **27**, 7945-7956; (c) J. C. Garbern, A. S. Hoffman and P. S. Stayton, *Biomacromolecules*, 2010, **11**, 1833-1839; (d) M. K. Gupta, J. R. Martin, T. A. Werfel, T. Shen, J. M. Page and C. L. Duvall, *J. Am. Chem. Soc.*, 2014, **136**, 14896-14902.

- [17] (a) M. Sahn, L. M. Stafast, M. Dirauf, D. Bandelli, C. Weber and U. S. Schubert, *Eur. Polym. J.*, 2018, **100**, 57-66; (b) M. Sahn, T. Yildirim, M. Dirauf, C. Weber, Pelin Sungur, S. Hoepfener and U. S. Schubert, *Macromolecules*, 2016, **49**, 7257–7267; (c) J. Rueda, S. Zschoche, H. Komber, D. Schmaljohann and B. Voit, *Macromolecules*, 2005, **38**, 7330–7336.
- [18] H. Yuan, H. Chi and W. Yuan, *Polym. Chem.*, 2016, **7**, 4901-4911.
- [19] W. Yuan and X. Chen, *RSC Adv.*, 2016, **6**, 6802-6810.
- [20] Y. Huang, P. Yong, Y. Chen, Y. Gao, W. Xu, Y. Lv, L. Yang, R. L. Reis, R. P. Pirraco and J. Chen, *RSC Adv.*, 2017, **7**, 28711-28722. 21 H. Zhang, W. Wu, X. Zhao and Y. Zhao, *Macromolecules*, 2017, **50**, 3411-3423.
- [22] Y.-Y. Liu, Y.-B. Zhong, J.-K. Nan and W. Tian, *Macromolecules*, 2010, **43**, 10221- 10230.
- [23] S. Wang, C. Liu, H. Zhou, C. Gao and W. Zhang, *Polym. Chem.*, 2017, **8**, 1932–1942.
- [24] V. F. Korolovych, A. Erwin, A. Stryutsky, H. Lee, W. T. Heller, Valery V. Shevchenko, L. A. Bulavin, and V. V. Tsukruk, *Macromolecules*, 2018, **51**, 4923-4937.
- [25] D.-D. Yao, H. Kubosawa, D. Souma and R.-H. Jin, *Polymer*, 2016, **86**, 120-128.
- [26] D.-D. Yao and R.-H. Jin, *Polym. Chem.*, 2015, **6**, 2255-2263; D. Souma and R.-H. Jin, *RSC Advances*, 2017, **7**, 36302-36312.
- [27] J.-J. Yuan and R.-H. Jin, *Langmuir*, 2005, **21**, 3136-3145; J.-J. Yuan and R.-H. Jin, *Chem. Commun.*, 2005, 1399-1401.
- [28] R.-H. Jin, *Chem. Phys. Chem.*, 2003, **4**, 1118-1121; R.-H. Jin, *Adv. Mater.*, 2002, **14**, 889-892.
- [29] Y. Chatani, T. Kobatake and H. Tadokoro, *Macromolecules*, 1983, **16**, 199-204.
- [30] K. Kalyanasundaram and J. K. Thomas, *J. Am. Chem. Soc.*, 1977, **99**, 2039–2044.
- [31] Z. Zhu and S. A. Sukhishvili, *ACS Nano*, 2009, **3**, 3595-3605.
- [32] R.-H. Jin, *J. Mater. Chem.*, 2004, **14**, 320-327. 33 R.-H. Jin, D.-D. Yao, R. Levi, *Chem. Eur. J.*, 2014, **20**, 7196–7214.

第3章

架橋反応による熱応答性ナノオブジェクトの合成

3.1 緒言

刺激応答ナノ構造材料はナノテクノロジーの開発において重要なアプローチ法のひとつであり、有機材料のみならず無機材料、有機-無機ハイブリッド材料分野でも注目を集めている¹。刺激応答性は特にセンサー機能を発現させるために重要なエッセンスである。ベシクル^{2,4}、コア-シェルミセル⁵⁻⁷、ポリマーソーム⁸、ヤヌス型^{9,10}といった様々なモルフォロジーを持ったソフトマテリアル設計の研究例が数えきれないほど存在する。これらはUV¹¹、酸化還元¹²、pH^{13,14}、塩^{15,16}、熱¹⁷などの外部刺激によって凝集、膨潤、崩壊といった形で応答する機能性部位を有し、イメージング材料^{18,19}、触媒^{20,21}やセンサーとしての応用が期待されている。モルフォロジーの制御と機能の制御は密接に関係しているため、材料設計においてはどちらも考慮に入れるべき重要な課題である。機能性の付与を

目的とした温度応答性高分子についての興味深い報告例は多く、最も一般的な刺激応答方法といえる。温度応答に伴う相転移の方法は2つに大別される。ひとつは上限臨界溶液温度 (UCST) と呼ばれ、溶液温度が

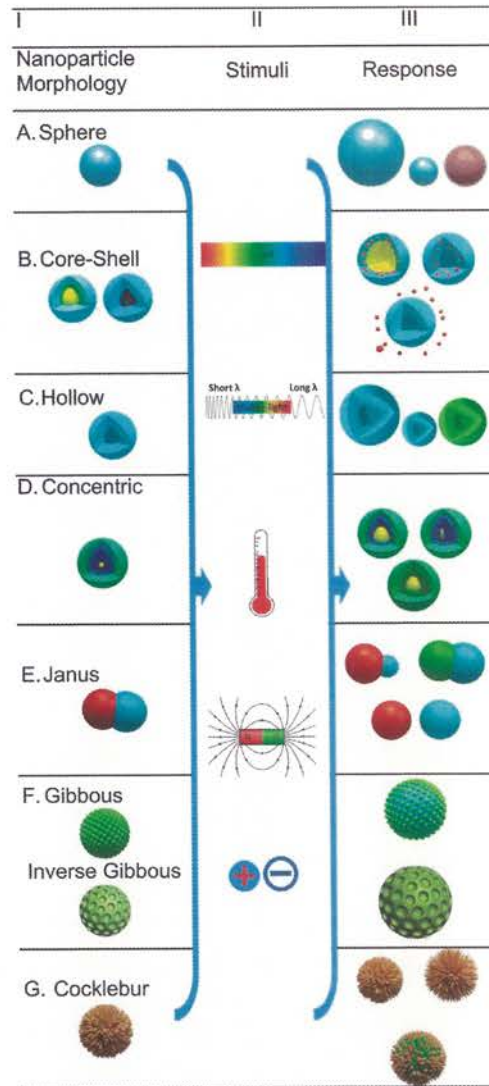


Fig. I3-1. Selected examples of Stimuli-Responsiveness polymeric nanoparticle morphologies (column I), physical/chemical stimuli (column II), common responses manifested by shape, color, and dimensional changes (column III).

(dimethylamino)ethylmethacrylate] (PDMAEMA)^{29,30}、poly(2-isopropyl-2-oxazoline) (PIOx)^{31,32}などが LCST 型の高分子として挙げられる。その中でも PNIPAM は室温下の水中で良好な溶解性を持ちながら 32 °C 付近で LCST 挙動を示す。PNIPAM は加熱に伴う脱水和によってグロビュール転移し、水に不溶となる。PNIPAM のように鋭敏で迅速な相転移を叶える熱応答スマートポリマーは広く用いられ、これらの LCST はポリマー組成や重合度の変化によって簡単に制御することが出来る³³⁻³⁷。PNIPAM を含む熱応答性ポリマーの自己組織化例は多数存在するが、その中でも他の親水性外層によって挟まれた PNIPAM 層あるいは PNIPAM 層に挟まれた疎水性インナー層によって形成されるポリマーソームの例は少なく³⁸⁻⁴²、特に中空構造を有する PNIPAM 含有ポリマーソームの研究例で中空の内壁のみに PNIPAM 鎖を付与した例は報告されてない。

高分子の自己組織化によって形成された組織体のモルフォロジーを半永久的に固定化するには、組織体内部にて架橋反応を起こすのが効果的な方法である^{38,39,43,44}。環境刺激をトリガーとした自己組織化体の形成は一般的に可逆的な応答であり、環境要因が排除されれば高分子はもとの状態へ戻る。その

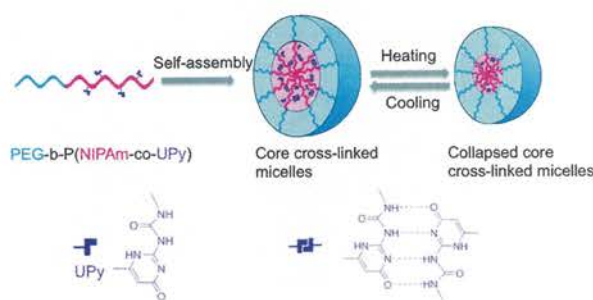


Figure I3-2. Core cross-linked double hydrophilic block copolymer micelles based on multiple hydrogen-bonding interactions.

ためモルフォロジーの維持には環境刺激が常に”Switch ON”の状態にしなければならない。熱応答性かつ全親水性コア-シェルナノ粒子の合成には熱応答により形成したミセルのコアを架橋化させる方法がある。架橋化ポリマーミセルは未架橋のミセルに類似した可逆的な熱応答と粒子サイズを保つことが出来る。例えば Chen らは Upy (2-ureido-4[1H]-pyrimidinone) 側鎖を持つことで PEG-b-P (NIPAM-co-UPy) の熱応答コア-シェルミセルを架橋化させた全親水性架橋ポリマー粒子を報告している (Figure I3-2)⁴⁵。ここではミセルコアを架橋することで熱応答挙動を維持しながらミセル構造を安定させた。架橋後のミセルは疑似薬物であるピレン分子の担持、放出が可能となり、薬物送達材料としての潜在能力を示している。加えて二重親水性という構造が生体材料との親和性を高めている。ミセルの形成や機能化時に有機溶剤を使用しない

二重親水性材料は魅力的な性質を持つが、一方で報告例は少ない。

直鎖状 poly(ethyleneimine) (PEI) は UCST 型の熱応答を有した高分子のひとつである。PNIPAM と異なり PEI は 60 °C 以上の水に溶解し、またそこから室温まで冷却することで結晶化する。PEI は主鎖に高い密度で第二級

アミンが存在しているポリアミンの一種で、化学的用途としてマイケル付加反応やエポキシの開環反応、アルデヒドや求核性置換基の還元的アルキル化による構造変換の足場となる (Figure I3-3)⁴⁶。また PEI は二官能性の架橋剤との反応によるゲル化が可能である。例えば PNIPAM と樹状 PEI からなる熱応答性ナノゲルを PEI 部とビスアクリルアミド架橋剤を反応させることで合成した例がある⁴⁷。機能性材料、とくにバイオメディカル分野においての応用には 200 nm 以下の粒径のものが望ましいが、この場合は約 500 nm の大きな粒子を形成している。このほか刺激応答性ポリマーから合成される架橋オブジェの報告はあるが、架橋剤によって応答チューニングを行う例はほとんどない。

本研究では LCST をもつ PNIPAM コイルと UCST をもつ PEI くし構造をもつ二重熱応答性歯ブラシ型ポリマーに焦点を当てた⁴⁸。さらに歯ブラシ型ポリマーは加熱することで高い密度の PEI 外層と PNIPAM コアによるポリマーミセルを形成する。この性質を利用すれば PEI を架橋化させることで熱応答ナノカプセルを得ることができる。本研究では架橋剤として親水性 *N,N'*-methylenebisacrylamide (MA) と疎水性 Resorcinol diglycidyl ether (RCGE) を選択し架橋剤と PEI との間で架橋反応を行い、ポリマーミセルのシェル層を固定させた (Figure I3-4)。この反応によって得られる親水性ナノ粒子の PEI は架橋反応により結晶性を失い、水への溶解性を示す。本章ではポリマーミセルから変換した熱応答性架橋ナノカプセル中空の内側に PNIPAM 鎖が inner brush の状態に存在することに由来する熱応答挙動について報告する。熱応答により中空構造からコア-シェルミセルへと変換されるナノカプセルはナイルレッドを蛍光プローブとした実験でキャリアとしての役割を果たす。またカプセルとしての性質が架橋剤の (MA と

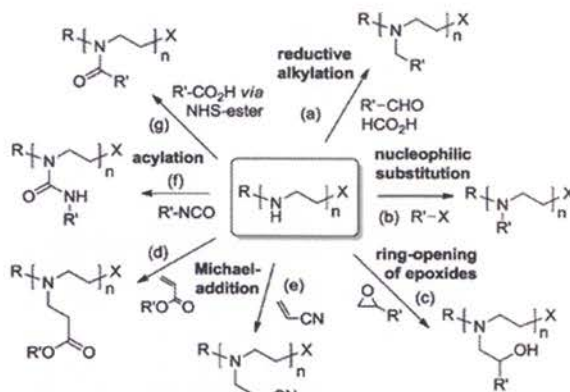
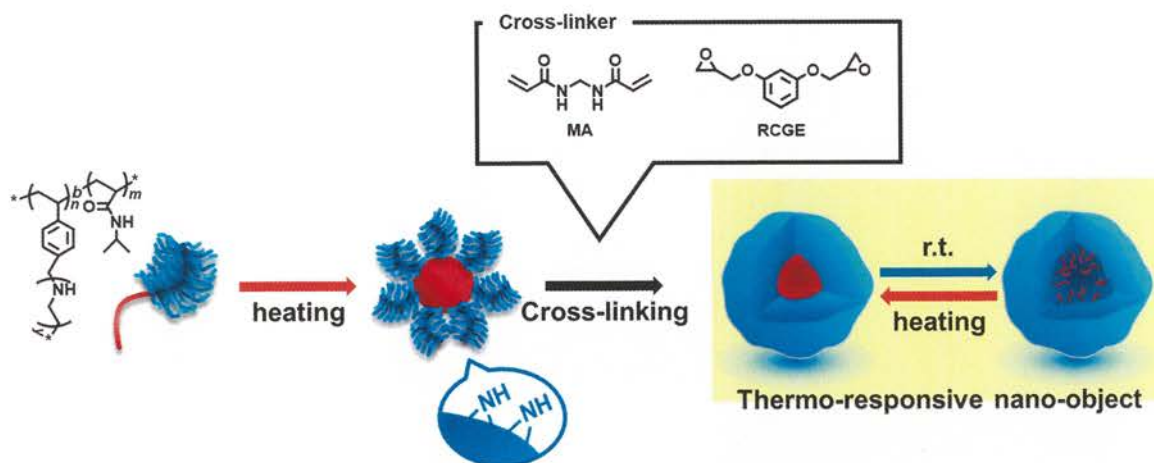


Figure I3-3. Chemical transformation of the amino groups of PEI.

RCGE) 種類により変化することについて詳細に検討する。



Scheme I3-4. Graphical abstract of double hydrophilic capsule of polymeric micelle self-assembled from thermo-responsive comb-coil block copolymer.

3.2 実験

3.2.1 試薬および溶媒

N-isopropylacrylamide (NIPAM, 98%, Tokyo Kasei Kogyo Co.) は *n*-hexane で再結晶したものを使用した。4-(Chloromethyl)styrene (VBC, 90%, Tokyo Chemical Industry Co.) は重合禁止剤を活性アルミナ (SIGMA-ALDRICH, neutral, Brockmann) によって除去したものを使用した。2,2'-Azobis(isobutyronitrile) (AIBN, 98%, Tokyo Kasei Kogyo Co.) はエタノールにより再結晶したものを使用した。Benzonitrile (99%, Tokyo Chemical Industry Co.) は減圧蒸留により精製したものを利用した。2-methyl-2-oxazoline (98%, SIGMA-ALDRICH) は常圧蒸留により精製したものを使用した。

以下の試薬は市販のものをそのまま使用した。

2-Phenyl-2-propyl benzodithioate (CDB, 99%, SIGMA-ALDRICH)、benzoyl peroxide (BPO, 75%+wetted with ca. 25% water, Tokyo Chemical Industry Co.)、*N,N'*-methylenebisacrylamide (MA, >98.0%, Tokyo Chemical Industry Co.)、Resorcinol diglycidyl ether (RCGE, >98.0%, Tokyo Chemical Industry Co.)、NileRed (9-(Diethylamino)-5H-benzo[a]phenoxazin-5-one, Tokyo Chemical Industry Co.)

3.2.2 測定装置

The Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR): FT-IR 4600 (JASCO)、KBr 錠剤法を用いた。

Nuclear magnetic resonance (NMR): JEOL JNM-ECA-600 MHz、CDCl₃、D₂O、内部標準物として tetramethylsilane を利用した。

Gel permeation chromatography (GPC): HLC-8320 (Tosoh, Japan)、カラム : Shodex asahipak GF-510 HQ + GF-1G 7B、分離液 : DMF with 10mM LiBr、流速 : 0.6 mL min⁻¹

Scanning electron microscope (SEM): Hitachi SU-8010 (Japan)、サンプルはポリマー分散液をシリコンウエハーに分散させ作製した。

Fluorescence spectrophotometer (PL): FP-8300 (JASCO)

Dynamic Light Scattering spectroscopy (DLS): FPAR-1000 (大塚電子)

UV-vis spectra (UV): UV-2600 spectrometer (SHIMADZU) ペルチェ式温調装置 (CPS-100) を用いて温度調整を行った。

Transmission electron microscope (TEM): JEM-2010 (JEOL) 加速電圧は 200 kV で観察した。

3.2.3 二重親水性ポリマー[PVBC-*g*-(PEI)]-*b*-PNIPAM の合成

1) PVBC-*b*-PNIPAM ジブロック共重合体の合成と末端処理

熱応答性ブロックの PNIPAM を第二ブロックとして導入した PVBC-*b*-PNIPAM の合成とチオカルボニルチオ基の除去法を以下に記す。マクロ開始剤として PVBC₈₉-CDB (V-1, 1.00 g, 0.1 mmol)、ラジカル開始剤として AIBN (4.8 mg, 30.0 μmol)、モノマーの *N*-isopropylacrylamide (NIPAM) (6.58 g, 58.3 mmol) をシュレンク管に量り取り、溶媒の 1,4-dioxane (11.0 g, 60 wt%) で完全溶解させた。続いて凍結・脱気・融解による脱酸素操作を 3 回繰り返したあと、この溶液を 65 °C で加熱して 7 時間の重合反応を行った。反応後は THF で希釈し、過剰なヘキサンあるいはジエチルエーテルに滴下することで再沈殿精製を 4 回行った。精製後は 40 °C で加熱減圧乾燥し、桃色粉末を得た。(N-2, Yield: 3.4 g, GPC: $M_n = 40,000$, PDI: 1.13, DP = 324)

ジブロック共重合体末端のチオカルボニルチオ基の除去を以下の通り行った。100 mL ナスフラスコに前述の VBC₈₉-*b*-PNIPAM₃₂₄-CDB (M_n (NMR) = 52 kg mol⁻¹) (1.0 g, 0.2 μmol of CDB end group) と過剰な BPO (0.124 g, 0.39 mmol) を量り取り、溶媒の 1,4-dioxane (60 mL) を加えて完全溶解させた。反応溶液を室温で 1 時間の窒素バブリングを行ったのち、薄桃色の溶液が無色になるまで還流を 80 °C で 1 時間行った。反応後は THF で希釈し、過剰なヘキサンに滴下して再沈殿精製を 4 回行った。精製後は 40 °C で加熱減圧乾燥し、白色粉末を得た (E-3, Yield: 0.82 g, GPC: $M_n = 42,000$, PDI = 1.43)。

2) 歯ブラシ型ポリマー[PVBC-*g*-(PMOZ)]-*b*-PNIPAM の合成

歯ブラシ型ポリマー[PVBC-*g*-(PMOZ)]-*b*-PNIPAM はオキサゾリンのカチオン開環重合を用いて合成した。PVBC₈₉-*b*-PNIPAM₈₉₀ (0.504 g, Cl: 12.8 μmol) と KI (0.29 g, 1.74 mmol) を 100

mL ナスフラスコに量りとり、フラスコ内の窒素置換を行った後に混合物を benzonitrile 40 mL に溶かした。さらに 2-methyl-2-oxazoline (7.5 mL、87.3 mmol) を加え、21 時間、120 °C で反応を行った。反応物は CDCl_3 で希釈し、3 回 diethyl ether に再沈殿させた。精製したポリマーは減圧乾燥し無色固体を回収した。反応物を透析膜 (cutoff 1000 Da) で 4 日間、外液はメタノールあるいは脱イオン水に交換しながら精製を行った。歯ブラシ型ポリマー [PVBC-g-(PMOZ)₆₅]₈₉-b-PNIPAM₃₂₄ は凍結乾燥により回収した (収量 : 2.996 g)。重合度 (Dp) は ¹HNMR (CDCl_3) の積分値により計算した。

3) 選択的加水分解による二重親水性ポリマー[PVBC-g-(PEI)]-b-PNIPAM の合成

精製後の[PVBC-g-(PMOZ)₆₅]₈₉-b-PNIPAM₃₂₄ (1.5 g) と 3M HCl 24 mL を 100 mL ナスフラスコに加えた。溶液を 1 時間、60 °C のオイルバスで reflux し、さらに 5 時間、100 °C で加水分解を行った。反応溶液は外液を脱イオン水にして透析膜 (cutoff 1000 Da) で一日精製した。さらに塩酸を除去するため アンモニア水溶液 (28vol%) 中で一日、最後に溶液が中性に近づくまで脱イオン水中で三日間、透析を行った。最終生成物である白色固体は凍結乾燥により回収した (Yield: 1.149 g)。

3.2.4 熱応答によるミセルを利用した親水性ナノカプセル (i-CLM) の合成

熱応答により自己組織化した歯ブラシ型ポリマー [PVBC-g-(PEI)]-b-PNIPAM (E-3) とメチレンビスアクリルアミドを官能基モル比 (NH/CH₂=CH-) 2 : 1 で混合し、ミセル状態でシェル層の架橋を以下の通り行った。100 mL ナスフラスコに E-3 ポリマー 50 mg を量り取り、これを脱イオン水 25 mL に分散させ、65 °C のオイルバスで加熱することで PNIPAM コア、PEI シェル層のミセル形状へと自己組織化させた。ここに *N,N'*-methylenebisacrylamide 水溶液 (56 mg (0.36 mmol) を脱イオン水 3 mL に溶解) を加えた後、65 °C で 24 時間反応させた。反応終了後、室温になった反応溶液を透析膜に入れ 3 日間水中で透析精製を行った。精製後凍結乾燥により固体を回収した (i-CLM-MA: 43 mg)。

同様に疎水性架橋剤 RCGE を用いた場合の合成法を以下に述べる。E-3 と RCGE との架橋反応を i-CLM-MA 系と同様に、官能基モル比 (NH/epoxy) が 2 : 1 になるように混合し、以下の通り行った。100 mL ナスフラスコに E-3 ポリマー 50 mg を量り取り、脱イオン水 25 mL に分散させ、65 °C のオイルバスで加熱することでミセル形状へと自己組織化させた。ここに Resorcinol diglycidyl ether 溶液 (0.080 g (0.36 mmol) をメタノール 0.3 mL に溶解) を加えた後、65 °C で 24 時間反応させた。反応終了後、室温になった反応溶液を透析膜に入れ、3 日間水中で透析精製を行った。精製後凍結乾燥により固体を回収した (**i-CLM-RC**: 49 mg)。

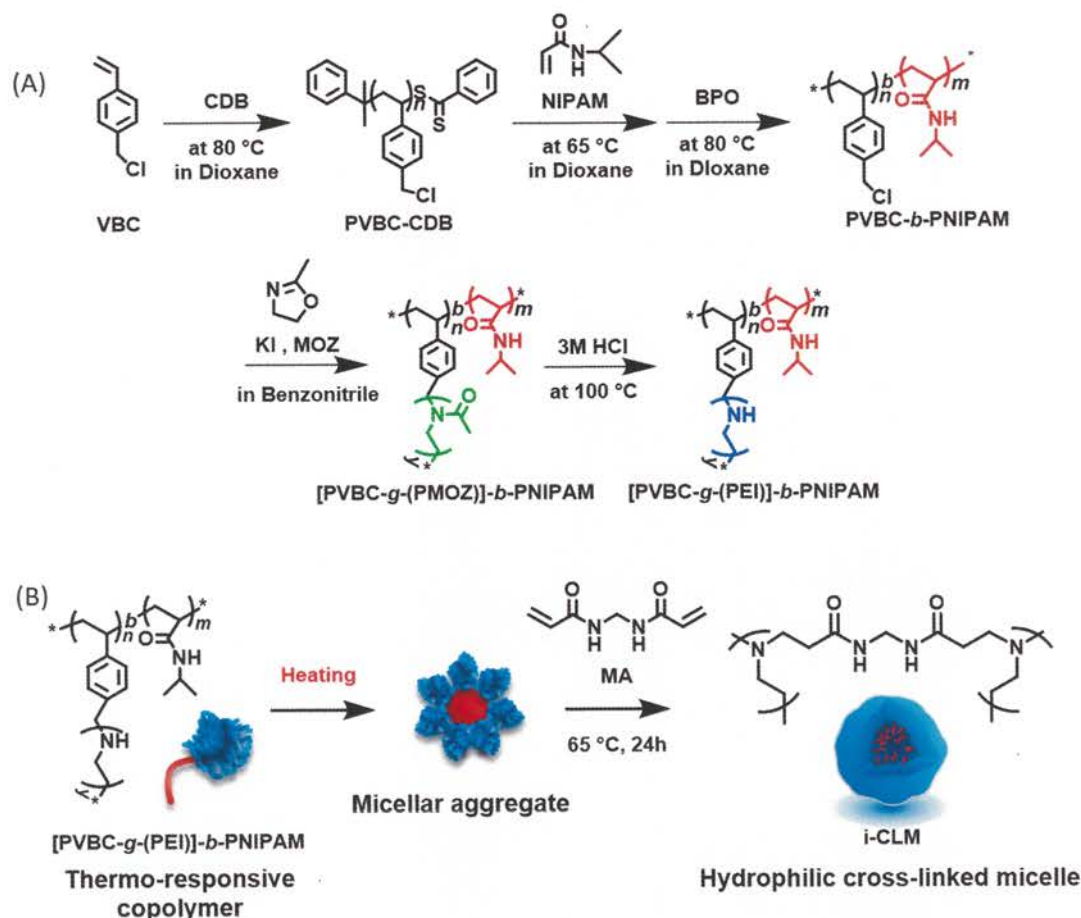
3.2.5 ナノカプセル溶液の調製

i-CLM の LCST 評価は脱イオン水により 1 g/L の溶液を調製して行った。粒径の評価は 25-70 °C の範囲で測定した DLS により行った。

i-CLM へ疎水性色素であるナイルレッド (NR) の充填は以下の操作で行った。ナノカプセル (**i-CLM**) 水溶液 (1 g/L, 2 mL) と NR 溶液 (3.8 mM, 50 μ L, MeOH) を混合し、これを混合溶液 (**NR/i-CLM**) とした。これを蛍光測定することにより 25、45、65 °C における **i-CLM** の疎水性環境を評価した。

3.3 結果と考察

3.3.1 親水性中空ナノカプセル i-CLM-MA の合成と物性



Scheme 3-1. Schematic representation of A) synthesis of double hydrophilic comb-coil block copolymer and B) capsulation of polymeric micelle self-assembled from thermo-responsive comb-coil block copolymer.

RAFT 重合により合成した PVBC-*b*-PNIPAM マクロ開始剤 (PDI<1.40) を用いて、PVBC 主鎖の Cl 基を反応点として 2-methyl-2-oxazoline (MOZ) のカチオン開環重合を行い、さらに 3M 塩酸を用いた加水分解により PMOZ が PEI へと選択的に変換される (Scheme 3-1A)。第 2 章で述べた通り、加水分解後の (PVBC-*g*-PEI)-*b*-PNIPAM は水中で加熱することにより PNIPAM コアを PEI シェルで覆う形で高分子ミセルを形成する。このときミセル表面には架橋反応に最適なアミン基 (-NH-) を持つ PEI が多数存在する。そこで Scheme 3-1B のように前章で合成した E-3 サンプルを用いてポリマーミセルのシェル層で *N,N'*-methylenebisacrylamide (MA) を用いた架橋によりミセルの固定化を行った。反応後、バルク状のゲル化は起こらず、冷却後も半透明の分散液状態を保ったままであった。これはミセル間の架橋反応が起こらないことを示唆する。

透析精製と凍結乾燥を経て得られた生成物は XRD、 $^1\text{H NMR}$ 、FT-IR 測定により構造決定した。架橋反応前の歯ブラシ型構造ポリマーは PEI くし構造に由来する結晶性を示し、XRD 測定では $15^\circ \sim 30^\circ$ に回折ピークが現れる。しかし架橋反応後は明確なピークは現れず、アモルファス構造であることが示された (Figure 3-1A)。PEI はその 2 級アミン (CH_2NHCH_2) と結晶水との相互作用により結晶性を発現するが、マイケル付加反応による架橋反応では PEI 鎖の 2 級アミンにビスアクリルアミド (MA) 部が導入されることで PEI 鎖の折り畳みによる結晶性が失われたと考えられる。FT-IR 測定による構造同定では PEI 中の第二級アミン ($-\text{NH}-$) 伸縮振動を示す 3251 cm^{-1} の吸収が架橋後は消失し、 3030 、 3291 、 1383 、 1521 と 1671 cm^{-1} に架橋剤 MA のアミド基に由来する振動ピークが新たに現れた (Figure 3-1B)。

架橋反応により MA は PEI にのみ導入され、PNIPAM には反応しない。この事実は Figure 3-2 に示した $^1\text{H NMR}$ 測定から架橋前後のピーク変化により確認することができる。Figure 3-2D と Figure 3-2C は架橋前の PEI 系歯ブラシ型高分子のチャートである。それぞれ 25°C と 65°C における D_2O 中のスペクトルを示しているが PNIPAM に由来するイソプロピル基 (CH_3CHCH_3) のメチル基を示す 1 ppm のピークに変化が現れる。 25°C では 1.02 ppm (H_e) に現れている小さなピークだが、溶液を 65°C まで加熱することで PNIPAM コイルの脱水和に伴う疎水化によりピークが消失する。対して 25°C に冷却すると PEI 主鎖のメチレン基 (CH_2NHCH_2) を表す 2.8 ppm (H_h) のピークは 65°C に加熱することで結晶性 PEI の溶解が加速し、ピーク強

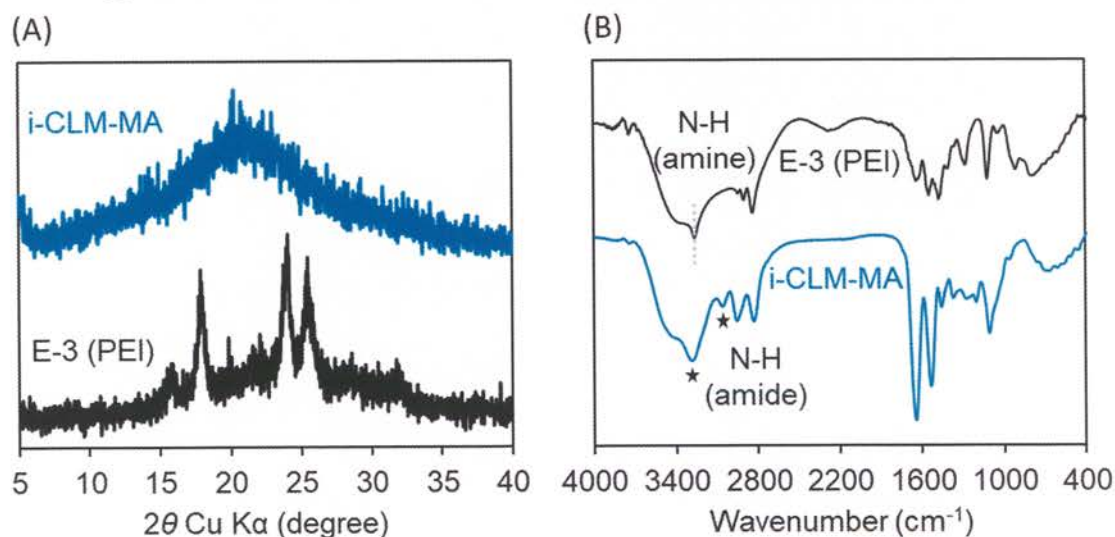


Figure 3-1. A) Powder XRD patterns of [PVBC-g-(PEI)]-b-PNIPAM (E-3) and its derivative of i-CLM. B) FT-IR spectra of E-3 and i-CLM-MA.

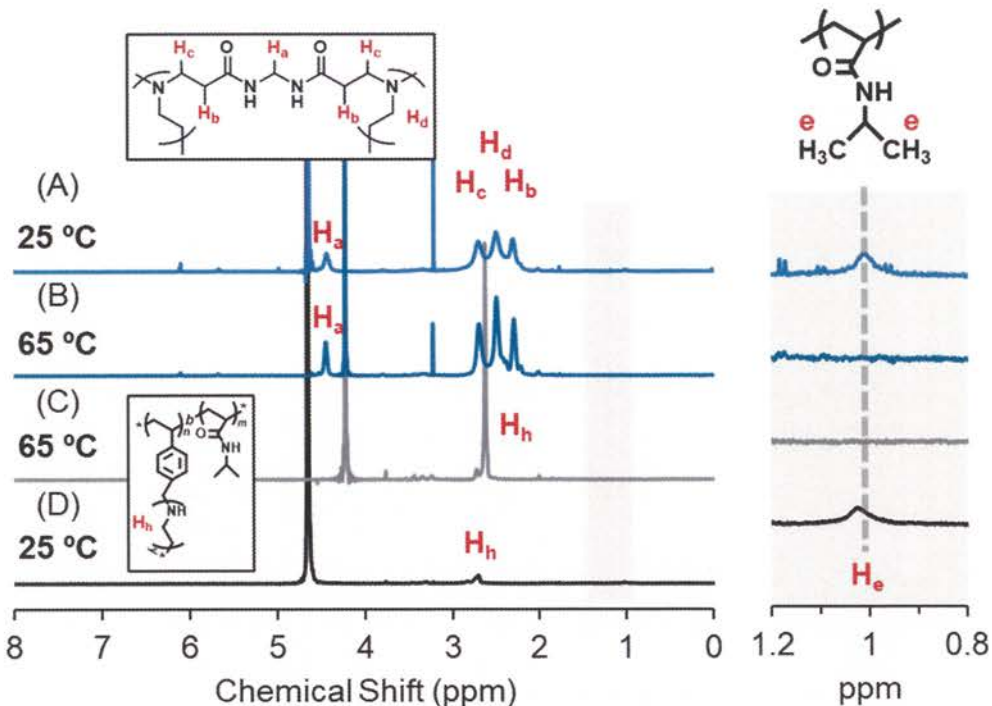


Figure 3-2. Temperature-dependent ^1H NMR spectra of reaction tracking of *i*-CLM-MA in D_2O . A) [PVBC-*g*-PEI]-*b*-PNIPAM at 25 °C, B) [PVBC-*g*-PEI]-*b*-PNIPAM at 65 °C, C) *i*-CLM-MA at 65 °C, and D) *i*-CLM-MA at 25 °C. The spectra were recorded against the external standard of 3-(trimethylsilyl)propionic-2,2,3,3- d_4 acid sodium salt in D_2O .

度が増大した (3.0 ppm)。ここから PNIPAM コアと PEI シェル層をもつ高分子ミセルの形成が示唆される。架橋反応はこの加熱状態で行われ、反応後 65 °C における ^1H NMR では新たに PEI に導入された MA のメチレン基 ($-\text{CH}_2-$, 2H) のピークが 4.4 ppm (H_a) に現れた (Figure 3-2B)。一方で 25 °C に冷却後は PNIPAM のメチル基 (1 ppm) が再び現れた (Figure 3-2A)。架橋ミセル (*i*-CLM-MA) 溶液を加熱すると PEI 状態と同じように PNIPAM ピークは消失した。このことから架橋反応後も PNIPAM 由来の熱応答性が維持されることが明らかになった。加えて 2.2-2.8 ppm に新たなピークが出現したが、これは PEI の $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$ 主鎖と架橋剤の CH_2CH_2 を表している。架橋度は H_a と H_b 、 H_c 、 H_d の積分値の比から 63% であると見積もった (Figure S3-1 参照)。同様の条件で反応時間を 72 時間まで延長すると 81% まで架橋度が上がるが架橋カプセルの水への分散性は低下する (グラフ未掲載)。反応時、ミセルのコアとなっていた PNIPAM は架橋ミセルの内側に存在し、その周りを架橋された PEI-MA のソフトなゲル層が覆っていることが推測される。

3.3.2 親水性カプセル i-CLM-MA のモルフォロジー

合成されたカプセル (i-CLM) は加熱条件下のミセル状態で架橋されている。この i-CLM-MA のモルフォロジーを観察するため、サンプルの水分散液をシリコンウエハー基板あるいは Cu グリッドに滴下し乾燥させたのちに SEM、TEM 観察を行った。SEM 画像では凝集による凹凸のあるシート状として観察されたため明確な球状粒子というものは見られなかった (Figure 3-3A)。しかし TEM 画像ではこれらシートが直径 35-40 nm、膜厚約 11 nm の中空粒子が多量に凝集して膜を形成していることが観察された (Figure 3-3B)。さらに i-CLM-MA の分散液を 60 °C に加熱して Cu グリッドに滴下した場合、このサンプルは中実構造を取ることが示された (Figure 3-3C)。このことは、1) 加熱状態にて形成したミセルのシェル層が架橋された際に、ミセルコアとして閉じ込められた PNIPAM コイルが、i-CLM-MA の室温下ではカプセルの内側にて水和状態で存在し、2) カプセルが水中で再び加熱されると内側 PNIPAM が脱水和され、中空粒子から中実粒子へと変化したことを示唆する。

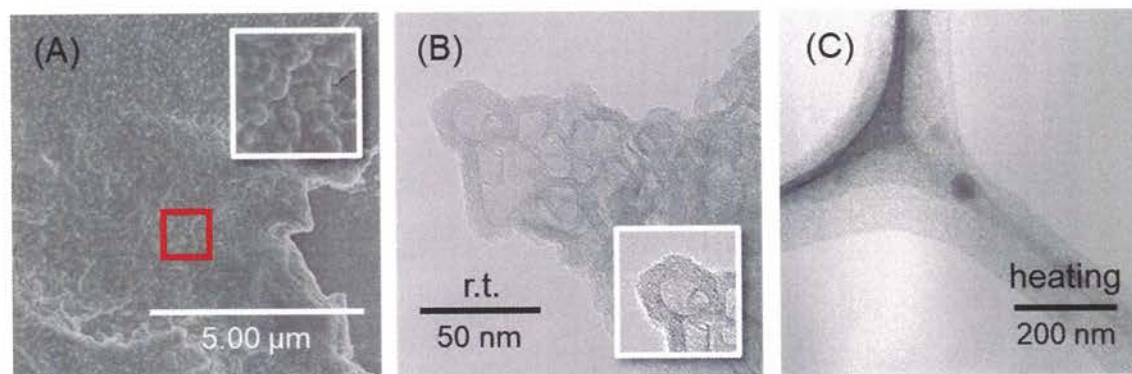


Figure 3-3. A) SEM image of the capsule (i-CLM-MA) on a silicon wafer and TEM images of the capsule sample loaded at B) r.t. and C) 60 °C on the copper grids.

3.3.3 親水性カプセル i-CLM-MA の熱応答性

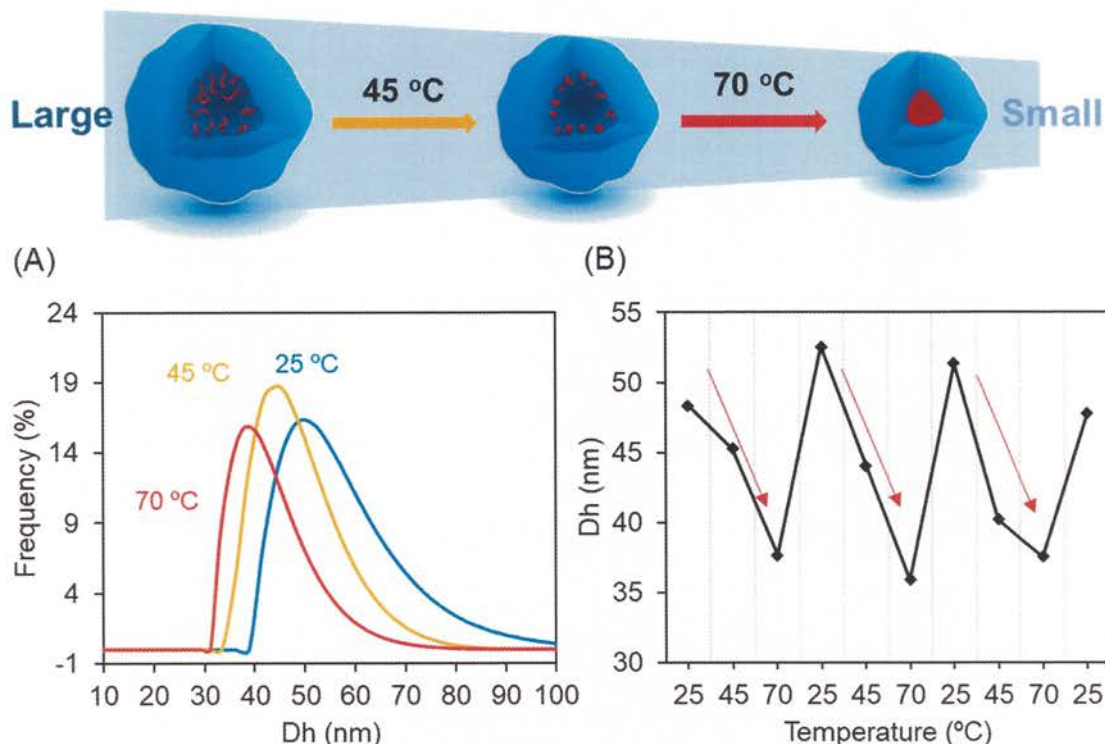


Figure 3-4. Thermo-responsibility of the capsule **i-CLM-MA** in water (1 gL^{-1}). A) Temperature-dependent DLS curve. B) Size variation depending on a heating- cooling cycle between $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ to $70 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

前述したように PEI シェル層を架橋化したナノカプセルは中空カプセルの内壁に密に存在する PNIPAM 鎖によって熱応答性を明確に示すことが確実であるといえる。そこで熱応答性能を調査するため水を溶媒に **i-CLM-MA** 溶液 (1 mg/mL) を調製し、測定温度を変えながら動的光散乱 (DLS) 測定と透過率測定を行った。Figure 3-4A は DLS 測定により判明した流体力学直径 Dh の温度による変化を示している。25 $^{\circ}\text{C}$ での Dh は 48 nm で、45 $^{\circ}\text{C}$ に加熱することで 45 nm に、さらに 70 $^{\circ}\text{C}$ に加熱すると 38 nm までカプセルが収縮した。このようにナノカプセルは段階的に加熱することでだんだん収縮することが示された。興味深いことに再び 25 $^{\circ}\text{C}$ に冷却することで粒径はもとのサイズまで膨潤する。Figure 3-4B に示したように 25、45、70 $^{\circ}\text{C}$ と 20 分間の保持時間を持たせながら段階的に加熱-冷却を繰り返すのに合わせてカプセルサイズが可逆的に変化した。カプセルサイズと各ユニットの重合度は相関関係にある。Table S3-1 に示すように PEI の重合度が約 100 であり PNIPAM 重合度の異なる E-1、E-2、E-5 を用いた **i-CLM-MA** の室温下での粒径を比較すると PNIPAM 重合度が大きい順に 85.9 nm、30.1 nm、18.0 nm と

粒径が小さくなる。架橋反応時にコアとなる PNIPAM はその重合度がコアサイズを決めるため反応後もナノカプセルのサイズを左右すると考えられる。コアに存在する水和した PNIPAM 鎖長がミセルの粒径を変える一方で、PNIPAM 重合度が 324 で固定され、PEI 重合度が異なる E-2、E-3、E-4 を用いた **i-CLM-MA** のそれぞれの粒径を比べると、PEI 重合度が大きい順に 30.1 nm、48.3 nm、159.6 nm と粒径が大きくなった。PEI 鎖の結合された PVBC 主鎖の重合度はすべて 89 で一定のため、シェル層の密度は PEI 側鎖の重合度に比例する。より側鎖間の密度の高くなる E-2 ($DP_{PEI} = 91$) では架橋層の厚みが大きくなり、対して E-4 ($DP_{PEI} = 21$) では架橋層の厚みが小さくなると考えられる。

i-CLM-MA 溶液の波長 500 nm における透過率を追跡すると、25 °C から 70 °C へと段階的に加熱することで 90% から 100% へと変化した (Figure S3-2)。これはカプセルの粒子直径が 40 nm 以下まで小さくなったことで可視光が透過し、光が散乱しなくなったためである。内側に存在する PNIPAM 鎖の (70 °C までの) 広い温度範囲での熱的挙動は PNIPAM ホモポリマーが見せる 32 °C での鋭敏な応答とはまったく異なり、PNIPAM の周辺環境や位置が及ぼす LCST への影響は無視できないことが示唆された。LCST や熱挙動が周辺環境に左右される事実は PNIPAM の LCST や熱応答をデザインする上で重要なファクターとなる。広い範囲での傾斜的な LCST 挙動を示す PNIPAM 含有ナノオブジェの報告例は LCST を制御する研究のなかでも大変珍しい。数多く存在する LCST の制御に関する多くの研究例では PNIPAM に隣接する親水性⁴⁹あるいはかつ疎水性⁵⁰ブロックを設計することで LCST が上昇あるいは下降させることが可能であるということが知られている^{51,52}。ここでは隣接するブロックの設計というよりもカプセルのモルフォロジーを設計することによる温度応答挙動の制御についての可能性を示唆している。

3.3.4 ナノカプセル i-CLM-MA の色素担持性能

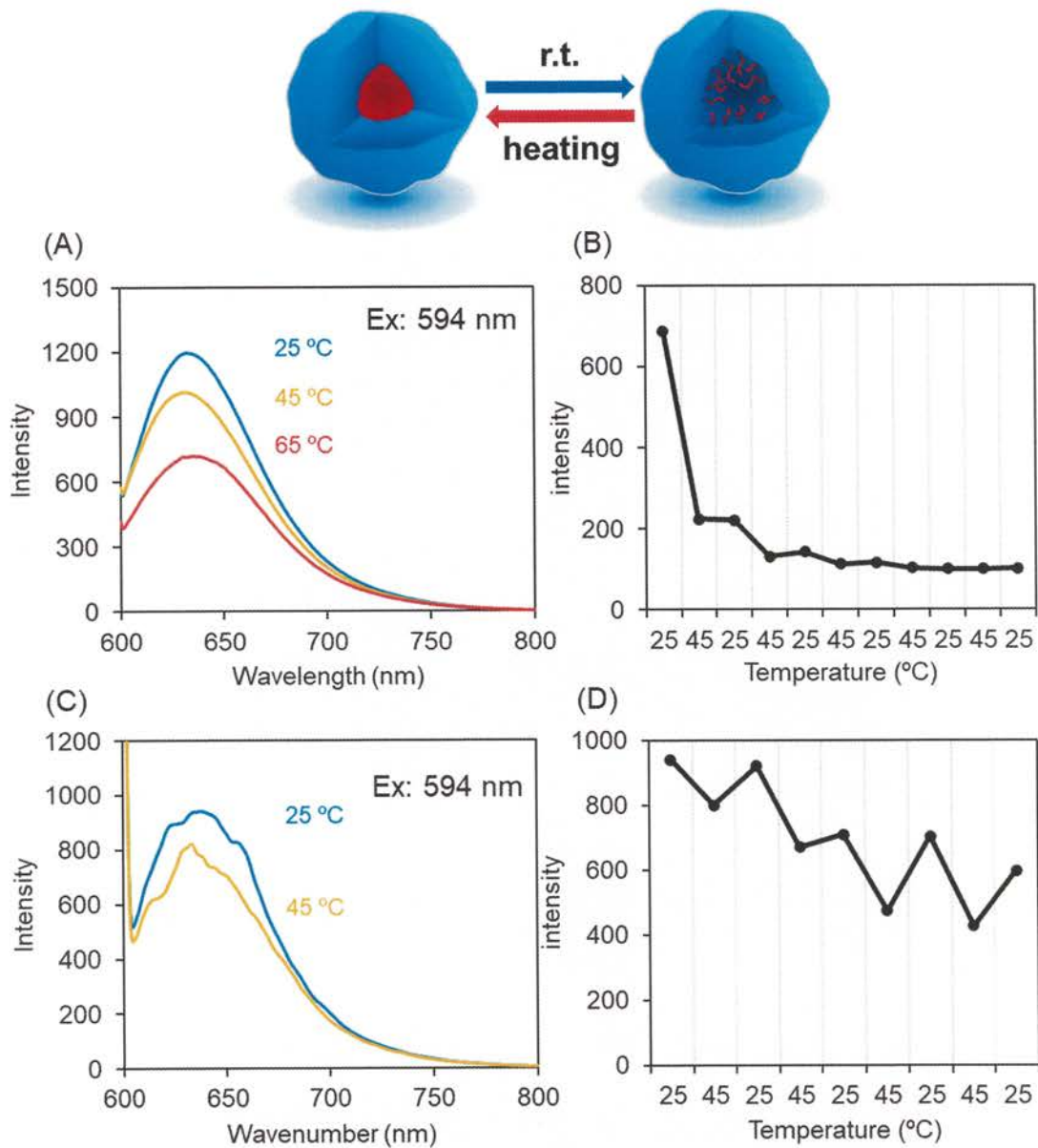


Figure 3-5. Fluorescence spectra of NR probe in the A) capsule (i-CLM-MA) and in the C) copolymer(E-3) at different temperatures and plot of NR fluorescence emission intensity (at 650 nm, excited at 594 nm) against heating-cooling cycle in the presence of B) i-CLM-MA and D) toothbrush copolymer

ナノカプセル **i-CLM-MA** はカプセルの外壁 (PEI-MA) の化学的特徴を変化させずに、内壁 (PNIPAM) を熱応答によって親水性あるいは疎水性へと変化させることが可能となる。そのため **i-CLM-MA** はコンテナあるいは送達のための手段となりうる。疎水性蛍光色素であるナイルレッド (NR) は溶媒応答色素であり、溶媒の極性や存在するマトリックスによってその発光性が変化することで知られている。そのため水性媒体中における化学的あるいは物理的環境の

評価のために用いられる他、疑似薬物分子や細胞のイメージング剤としても利用される⁵³。ナノカプセルの担体としての性質を調べるため **i-CLM-MA** へ水中における疎水性分子の取り込みを NR で評価した。ごく少量の NR メタノール溶液 (50 μ L, NR: 3.8 mM) を 2 mL の脱イオン水、あるいは 2 mL の親水性熱応答カプセル水溶液 (1 g/L) に滴下して 2 種の NR 含有水溶液を調製し、これらの NR による蛍光強度を評価した。サンプル溶液 (NR/**i-CLM-MA**) の発光は **i-CLM-MA** を含まない水溶液に比べて 1.5 倍の強度とピークトップのブルーシフト (26 nm) を示した (Figure S3-3)。これは NR を取り巻く微小環境の極性が水に比べて低く、NR と PNIPAM の間の相互作用がより優先されることから NR がカプセルに充填されたことを示唆している⁵⁴。サンプル溶液を 25 $^{\circ}$ C から 65 $^{\circ}$ C まで段階的に加熱するに連れて NR の蛍光強度は低下する (Figure 3-5A)。これは温度上昇とともに PNIPAM が脱水和し、カプセルの内側が疎水化していくことでカプセルコア内の NR の凝集が進行し、濃度消光を起こしたためと考えられる。温度変化に呼応する NR の発光を 25 $^{\circ}$ C から 45 $^{\circ}$ C までの加熱-冷却サイクル測定で追跡すると、一度目のサイクルでは 25 $^{\circ}$ C から 45 $^{\circ}$ C に昇温することで蛍光強度が 700 から 200 まで低下する。再び 25 $^{\circ}$ C に戻すも蛍光強度はもとに戻らない (Figure 3-5B)。この状態から 6 度のサイクルを経ても NR の蛍光強度は上昇の兆しを見せず、カプセルから放出されることはなかった。また加熱後の溶液を室温下で放置した場合の蛍光強度の変化を 30 分毎に測定し追跡したところ、5 時間後には 100 から 50 まで蛍光強度が低下した (Figure S3-4A)。さらに加熱後の溶液に塩酸を加えて同様に室温下で放置したところ蛍光強度は低いまま変化がほとんど見られなかった (Figure S3-4B)。そのためカプセルコア内に入った NR は局所空間で強固に固定されていると考えられる。比較として NR を内包させ加熱-冷却を繰り返す同様の実験を架橋以前の熱応答性くし-コイル型高分子 E-3 で行った。溶液温度を 25 $^{\circ}$ C から 45 $^{\circ}$ C まで上昇させると **i-CLM-MA** と同様に NR 由来の蛍光は消光した (Figure 3-5C)。しかし加熱-冷却サイクル測定では蛍光強度が温度に比例して明確に上昇と下降を繰り返したが元の蛍光強度までは戻らなかった。この挙動は加熱に伴い疎水性 PNIPAM コアの高分子ミセルを形成すると同時に NR をコアに閉じ込めたことに起因している。また冷却した際には親水性へと転移するポリマーに伴い NR が放出されることで蛍光強度が上昇したと考えられる。この比較から **i-CLM-MA** カプセルは水中で疎

水性NRを隔離することのできるナノポケットを持つといえる。

NRを閉じ込めたナノカプセルのイメージを得るためNR/i-CLM-MAサンプルを一晩乾燥させたものをTEM観察した。画像からは約20nmのNRナノ粒子が暗い影として観察された(Figure 3-6A)。このスポット上にははっきりと格子縞が見られ、NR粒子がナノカプセル内で結晶を形成していることが示唆された。対してカプセルを含まないNRのみをTEMで観察すると100nm以上の大きな結晶が見られナノ粒子の形成はなかった(Figure 3-6B)。これらの結果からポケット状のナノカプセルは疎水性分子を効果的に濃縮し、有機ナノ結晶へ成長させる機能を有することが示唆された。

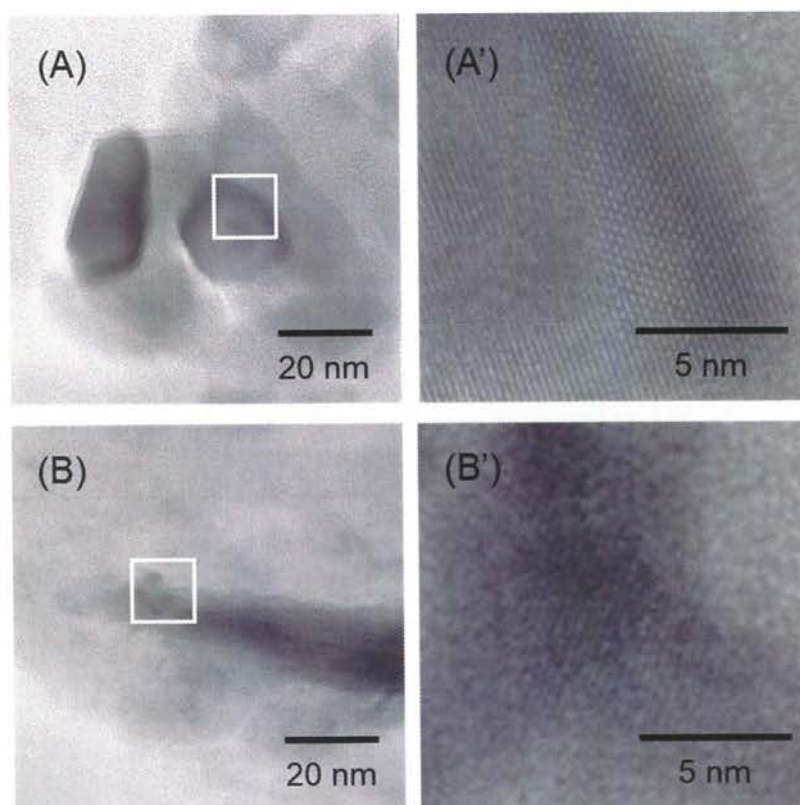
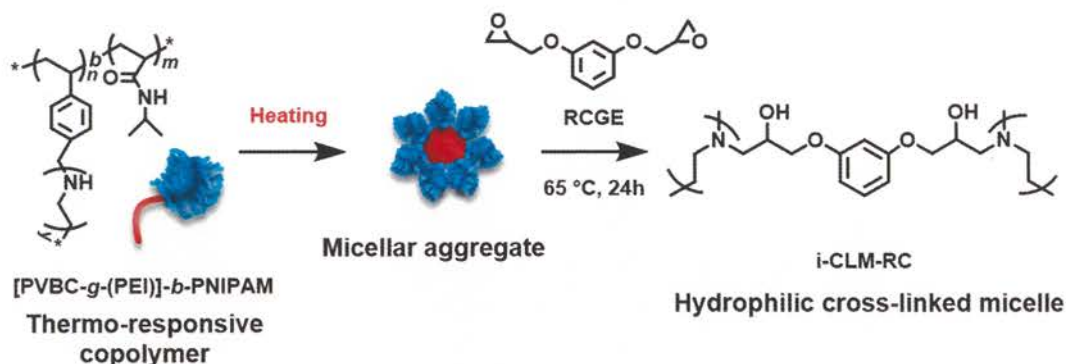


Figure 3-6. TEM images of the samples of A, A') NR/i-CLM-MA and B, B') NR without i-CLM.

3.3.5 疎水性架橋剤を用いた熱応答性ナノカプセル i-CLM-RC の合成と熱応答性



Scheme 3-2. Schematic representation of capsulation of polymeric micelle self-assembled from thermo-responsive comb-coil block copolymer.

高分子ナノカプセルの合成において架橋剤の重要度は決して高くない。カプセルの構造、性質はそのポリマー組成が支配すると考えるのが定説である。ここでは架橋剤の極性がおよぼすナノカプセルの性質への影響を調査するため MA ではなく疎水性架橋剤 RCGE を用いて i-CLM を合成した。親水性架橋剤である MA に対して RCGE はベンゼン環とメチル基を有する疎水性架橋剤である。反応性の高いエポキシ基を両末端に持つ二官能性架橋剤でもある。本項では親水性架橋剤 MA との比較のため RCGE を架橋剤として PEI シェルを固定化させ、架橋剤の構造による架橋ミセルの性質への影響を調査した (Scheme 3-2)。PEI の第二級アミンに対してエポキシ基が等量になるように仕込んだ場合、MA と同じ反応温度・反応時間では架橋度は 50% に留まる。架橋度が 63%であった MA と比べると水系・親水性 PEI に反応させるという点で疎水性 RCGE では反応効率が下がると考えられる。

RCGE を用いた架橋反応後の ^1H NMR 測定より、RCGE 架橋剤に由来するフェニレン基プロトン (6.43、7.05 ppm、4H)、エチレンプロトン (3.79 ppm、3H) の新たなピークが現れ、主鎖ピークは高磁場側 (2.2 – 2.8 ppm) へとシフトした (Figure 3-7A)。FT-IR においては、i-CLM-RC ではベンゼン環に由来した 1447, 1489, 1590 cm^{-1} に新たな吸収が出現し、PEI のアミン基 (-NH-) に由来する 3200 cm^{-1} 付近の吸収が消失したことから架橋反応による構造変化が確認できた (Figure 3-7B)。また XRD により結晶性の評価を行うと架橋反応後では PEI 由来の結晶性ピークが観察されずブロードしたハローパターンとなったことから架橋後はアモルファス構造へと変化したことが示唆された (Figure 3-7C)。これは PEI 鎖の折り畳みによる秩序が架橋反応によ

り乱れるためだと考えられる。合成したナノオブジェの巨視的構造を SEM・TEM 観察を行ったところ、SEM 画像から **i-CLM-RC** は融着せず分散した直径約 50 nm の球状粒子であることが確認された (Figure 3-7D-a)。また TEM 画像からは **i-CLM-RC** は約 50 nm の中実粒子であることが分かった (Figure 3-7D-b)。**i-CLM-MA** では中空構造だったのに対し中実粒子となったのは架橋剤の極性の違いによるものと考えられる。親水性の **i-CLM-MA** は水中において膨潤してゆるいネットワークを形成するのに対し、疎水性の RCGE では水中での架橋反応時点で強く

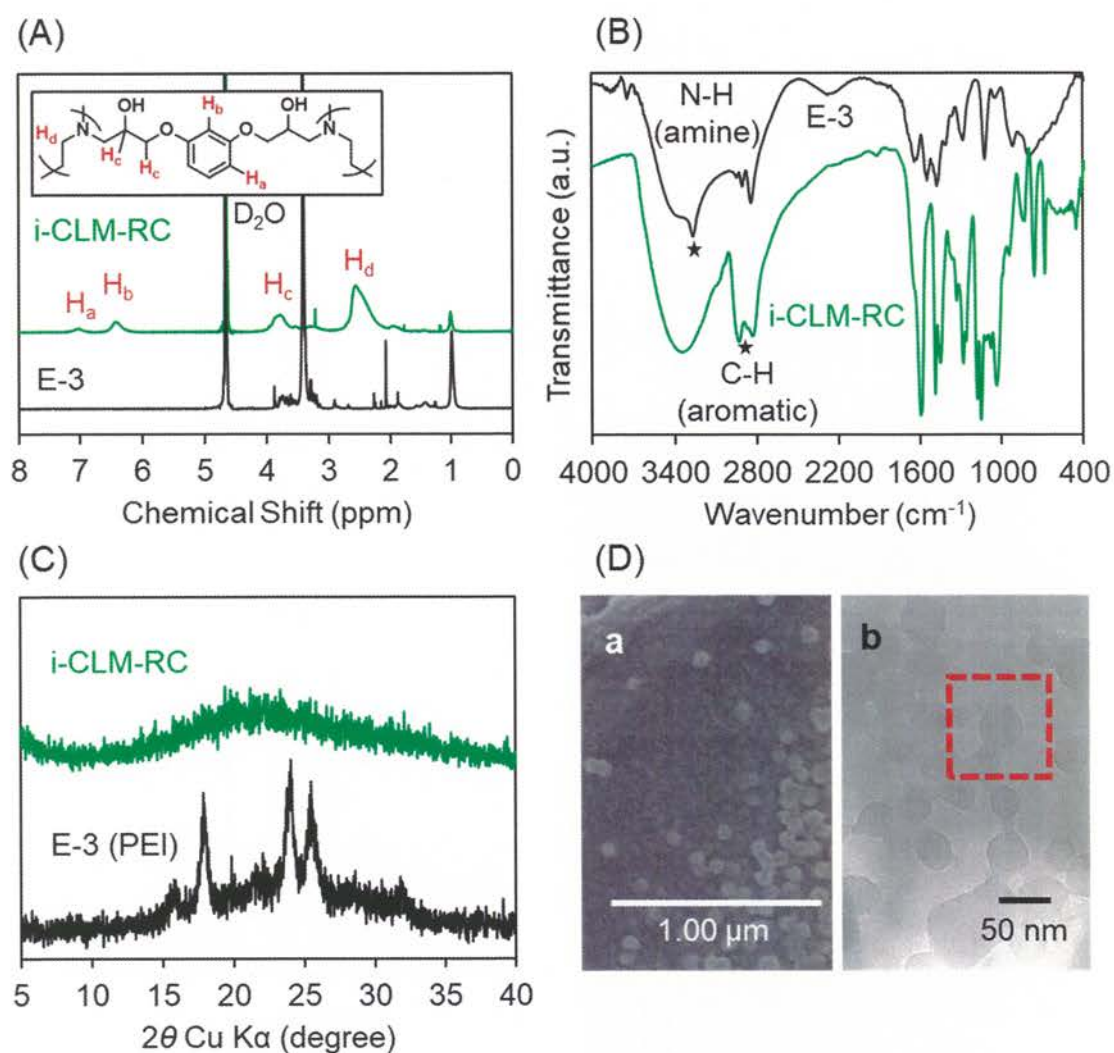


Figure 3-7. A) Temperature-dependent $^1\text{H NMR}$ spectra of reaction tracking of **i-CLM-RC** in D_2O at 25 °C. The spectra were recorded against the external standard of 3-(trimethylsilyl)propionic-2,2,3,3-d4 acid sodium salt. B) FT-IR spectra of E-3 and **i-CLM-RC**. C) Powder XRD patterns of [PVBC-*g*-(PEI)]-*b*-PNIPAM (E-3) and its derivative of **i-CLM-RC**. D) SEM image of the capsule (**i-CLM-RC**) on a silicon wafer (a) and TEM images of the capsule sample loaded at r.t. on the copper grids (b).

凝集傾向があり、それを乾燥させると架橋シェル層が崩れて凹み、中身の詰まった粒子のように観察されたものと考えられる。親水性、疎水性いずれの架橋剤を用いた系でも反応は効率的に進行し、架橋剤によって構造の異なるナノオブジェを合成することができた。このようにナノカプセルの作製において架橋剤がモルフォロジーに大きく影響することは明らかである。

ポリマーミセルの PEI シェルを選択的に架橋させたナノオブジェのシェル内層には、多くの PNIPAM 鎖が紐のようにぶら下がっている。この自由な PNIPAM 鎖の LCST を利用したナノオブジェ **i-CLM-RC** の熱応答評価を行った。親水性、疎水性ナノオブジェそれぞれを D₂O に分散させ、¹H NMR で温度変化を見てみると 45 °C で PNIPAM のメチル基 (1.01 ppm) ピークが消失した (Figure 3-8A)。そのため架橋後も架橋ネットワークに阻まれることなく PNIPAM の熱応答が維持できることが分かる。さらに 1 g/L の架橋ミセル水溶液を調整し、動的光散乱 (DLS) 測定により任意の温度での粒径を調べた。疎水性架橋剤である RCGE を用いた架橋ミセルでは加熱により **i-CLM-MA** と同じく粒径が小さくなる様子が見られた (Figure 3-8B)。25 °C、45 °C、70 °C と加熱するに従い、ナノカプセルは 56 nm、38 nm、29 nm と収縮した。しかし、同じ溶液を室温に戻し、各温度 20 分間の保持時間を持ちながら再度加熱を行うと同様の粒子の縮小が見られたが、再冷却後は初期粒径の 56 nm まで戻れないということが分かった (Figure 3-8C)。これは熱応答により疎水性のシェルに取り込まれた PNIPAM 鎖が室温に戻っても再びルーズなコイル状に戻れずにカプセルの変形を強く抑制していることを示唆している。これは時間依存性の現象だと考えられる。測定時の各温度保持時間は 20 分であったため、比較として E-1 ミセルを RCGE で架橋させた **i-CLM-RC** を用いてさらに保持時間を長くして粒径の経時変化を追跡した (Figure 3-8D)。E-1 ミセルを用いた **i-CLM-RC** の場合、室温から 2 段階の加熱により粒径は 709 nm から、560 nm、143 nm と収縮した (Figure S3-5)。この溶液を静置し、粒径の経時変化を追うと保持時間が 90 分の時点で初期の粒径である約 700 nm まで膨潤した。**i-CLM-MA** では保持時間 20 分で初期の粒径まで戻ったため、より剛直な構造になった疎水性架橋ミセルは、芳香環のパッキングによって安定化された密な内部空間を形成し、それが容易にゆるまずに温度応答の遅延を示すと考えられる。ナノカプセルの壁膜の性質が内部の PNIPAM の熱

応答の時間に大きく影響することは実に興味深いことであり、ある刺激に応答した効果を目的に合わせて時限的に記憶させることにつながる。

前項 **i-CLM-MA** への疎水性色素 NR の導入実験との比較として、**i-CLM-RC** でも同様の実験を行い、担体としての性能を評価した。疎水性 NR は疎水性架橋剤が表層に現れている **i-CLM-RC** に近づくと芳香環豊富な表面に接するように吸着すると考えられる。**i-CLM-RC** と NR を混合し、蛍光測定を行ったところ、**i-CLM-MA** と比べて強度が高くなった (Figure 3-9A)。NR は水中では溶解せず強い蛍光を発しないが、疎水性 **i-CLM-RC** では NR が疎水性表面に吸着し分散した状態へと変化するため、大きく蛍光強度が変化したと考えられる。加熱により強度が 30%程低下したのは **i-CLM-MA** と同様にカプセルの収縮、凝集により NR が消光したためである。続いて架橋ミセル内に封入した NR が繰り返す熱応答によりどのような変化を見せるかを調査した。加熱-冷却サイクルを 5 回繰り返したところ、**i-CLM-RC** でも温度変化により室温では増大、加熱により消光が観察された (Figure 3-9B)。MA の場合と異なり明確に可逆的な発光強度の増大、減少を繰り返すのは **i-CLM-RC** では NR がカプセルの壁膜にも存在していることに起因していると考えられる。MA 架橋ではミセルコア側に閉じ込められた NR は加熱による凝集で結晶を形成していたが、RCGE 架橋では疎水性残基が存在する壁膜に吸着した NR が、加熱によるカプセルの凝集・膨潤に合わせて凝集と分散を繰り返すことができるために蛍光強度が増減する。これら一連の結果から熱応答性質は変わらなくとも、架橋剤の性質により担体としての性質が大きく変わることが示唆される。

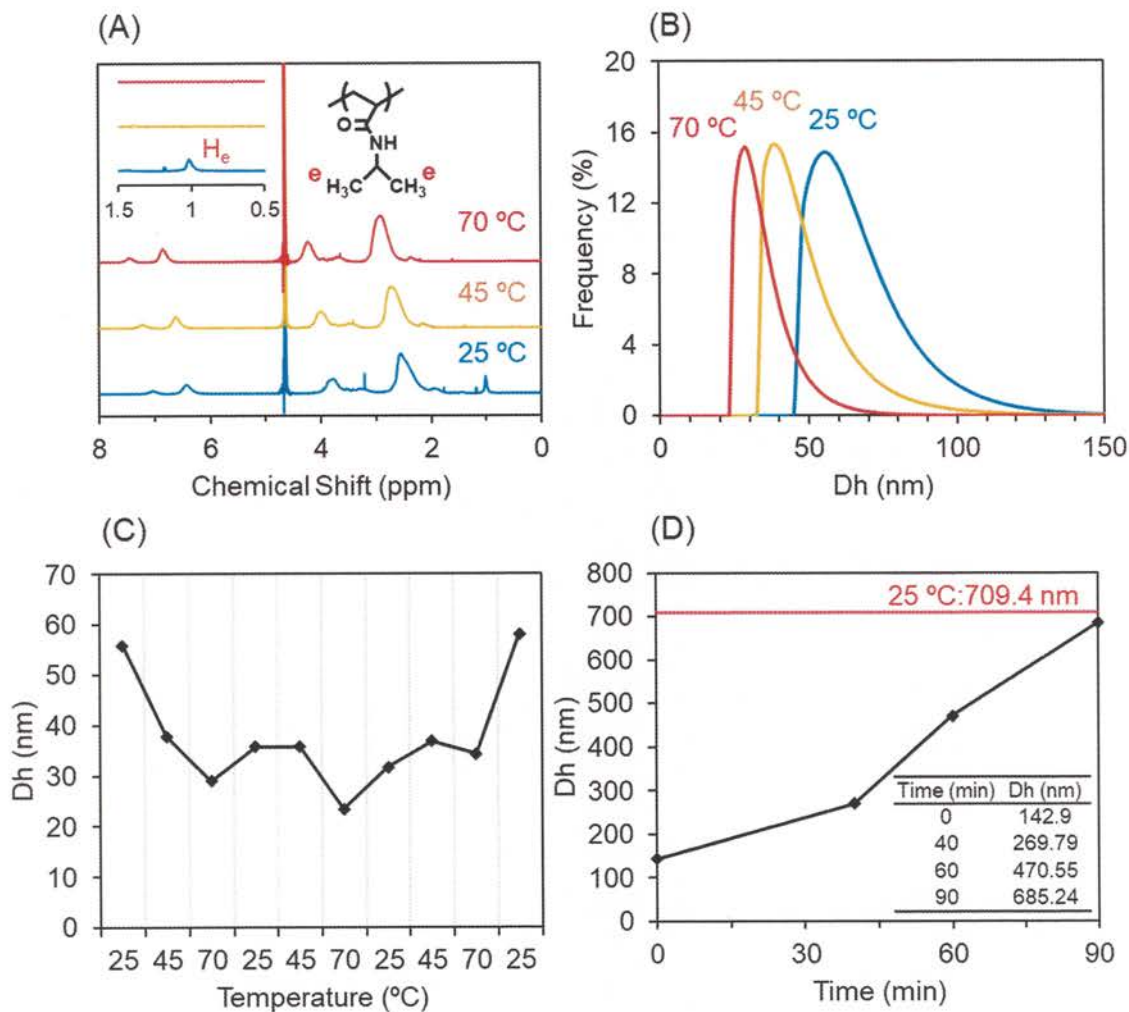


Figure 3-8. Temperature-dependent ^1H NMR spectra of *i*-CLM-RC in D_2O at different temperature. Thermo-responsibility of the capsule *i*-CLM-RC in water (1 gL^{-1}). B) Temperature-dependent DLS curve. C) Size variation depending on a heating- cooling cycle between 25 °C to 70 °C. D) DLS size of nanoobjects size change with time at room temperature from 70 °C.

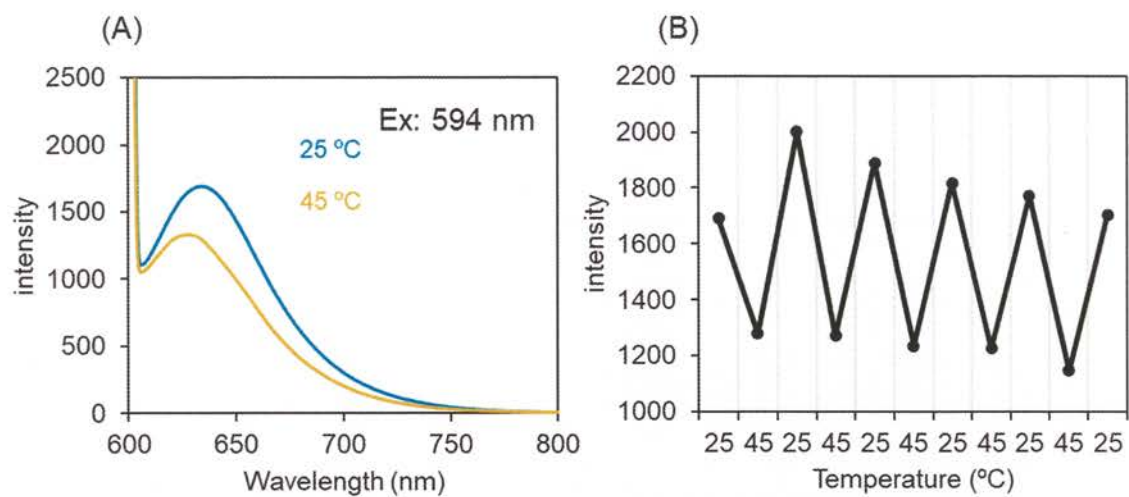
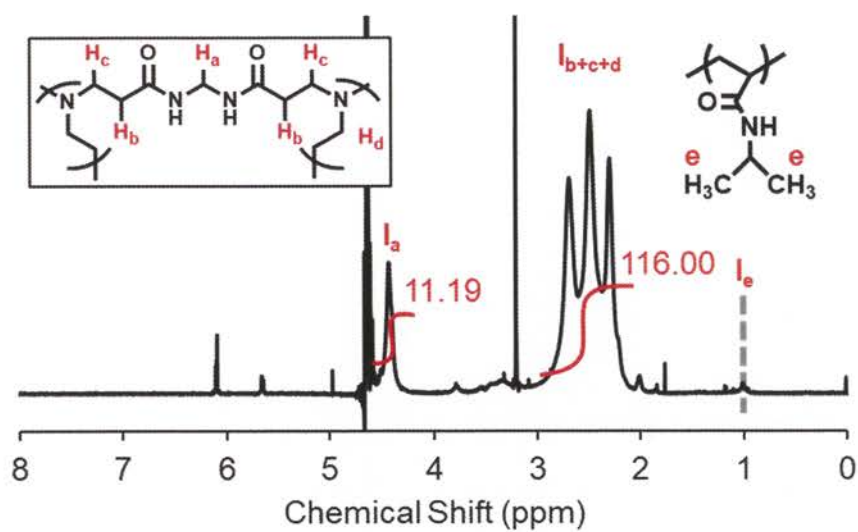


Figure 3-9. A) Fluorescence spectra of NR probe in the capsule (**i-CLM-RC**) at different temperatures and B) plot of NR fluorescence emission intensity (at 650 nm, excited at 594 nm) against heating-cooling cycle in the presence of **i-CLM-RC**.

3.4 総括

本項では LCST (PNIPAM コイル) と UCST (くし型 PEI) の性質を示す二重熱応答性歯ブラシ型高分子の自己組織化ミセルを反応物として、そのシェル層での架橋反応による親水性熱応答性ナノカプセルの作製及び機能について述べた。加熱状態ではくし型 PEI が完全に水和し、PNIPAM コイルは脱水和して水に不溶となる。この性質により熱応答による疎水性を駆動力として PNIPAM コア、PEI コロナ層をもつコア-コロナミセルが形成する。加熱状態を維持しながら *N,N'*-methylenebisacrylamide (MA) あるいは Resorcinol diglycidyl ether (RCGE) を架橋剤として PEI シェル層を架橋化させてナノカプセルを作製した。興味深いことに架橋時コアに存在していた PNIPAM は架橋後もカプセル内に留まり、室温になればカプセル内壁に PNIPAM 鎖が水和した状態で存在する。これを加熱すれば中実なナノボールとなる。これまで多くの研究では PNIPAM ブロックを有し、鋭敏に短時間で熱応答する LCST 型高分子が主流であったが、PNIPAM 鎖が内側に存在する本項のナノカプセルでは広い温度領域で傾斜的な LCST 型の熱応答を示す。ナノカプセル溶液を段階的に加熱することで粒子は約 15 nm までだんだんと収縮する。加熱していたナノカプセルを室温まで冷却するともとのサイズまで膨張する。この熱応答は可逆的に行われるが、この性質は疎水性架橋剤 RCGE を用いた場合でも同様に観察されるが、時間依存の動力学過程が顕著に現れた。ナノカプセルは容器として使うこともでき、**i-CLM-MA** では疎水性色素の NR を内包後に 20 nm より小さな NR 結晶がカプセル内で形成した。対して **i-CLM-RC** では疎水性表面に NR が担持されていることが示唆された。このようにナノカプセル **i-CLM** の性質は架橋剤の種類により変化し、ナノリアクターやコンテナ、センサーやテンプレートなどのアプリケーションへの期待が持てるといえる。

3.5 Support information



$$I_{(\text{PEI all})} = I_{b+c+d} - \frac{I_a}{2H} \times 8H$$

$$I_{(\text{cross-linking})} = \frac{I_a}{2H} \times 8H$$

$$\%_{(\text{cross-linking})} = \frac{I_{(\text{cross-linking})}}{I_{(\text{PEI all})}} \times 100$$

Figure. S3-1. Calculation of Cross-linking degrees from the integration ratio of the characteristic peaks.

Table S3-1 Dh data of **i-CLM-MA** Cross-linked micelle

PNIPAM/PEI		Dh (nm)		
		r.t	45 °C	70 °C
E-1	890 / 126	85.9	64.9	66.3
E-2	324 / 91	30.1	15.6	12.6
E-3	324 / 65	48.3	45.3	37.7
E-4	324 / 21	159.6	111.8	98.5
E-5	74 / 91	18.0	14.2	10.7

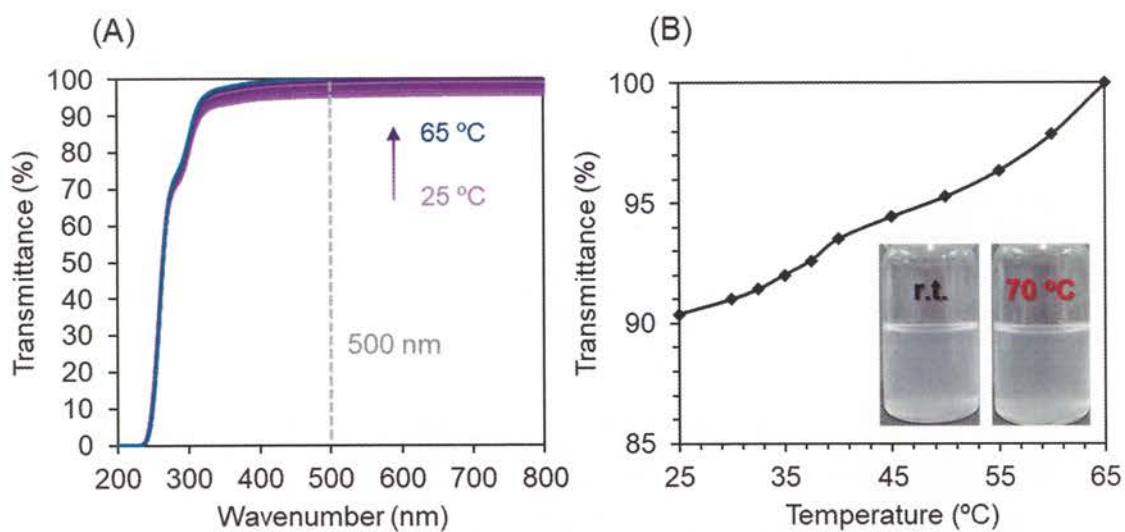


Figure. S3-2. (A) UV-vis transmittance spectra and (B) temperature-dependent turbidity for the aqueous solutions of i-CLM at $\lambda = 500$ nm (1 g/L).

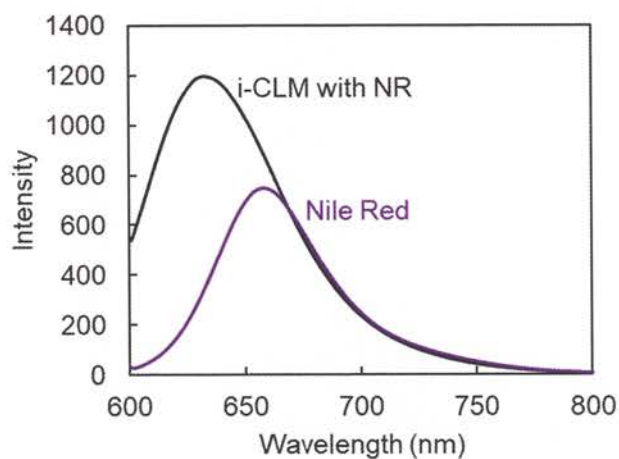


Figure S3-3. Fluorescence spectra of the cross-linked micelle i-CLM Nile Red (NR) probe solution and NR solution at 25 °C.

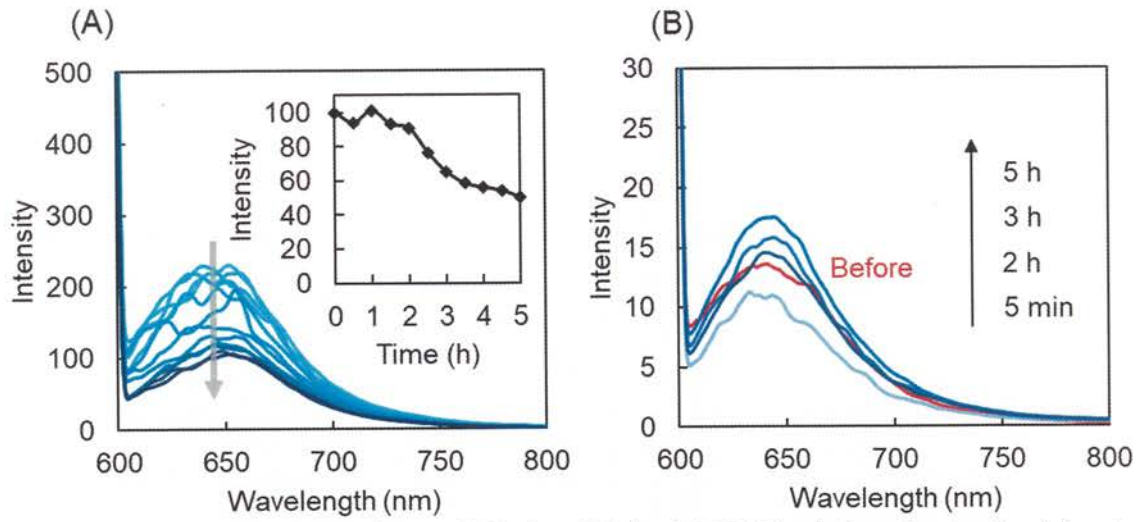


Figure S3-4. Time-dependent release of NR from NR-loaded E-MA solution after heating (a) and addition of HCl (b).

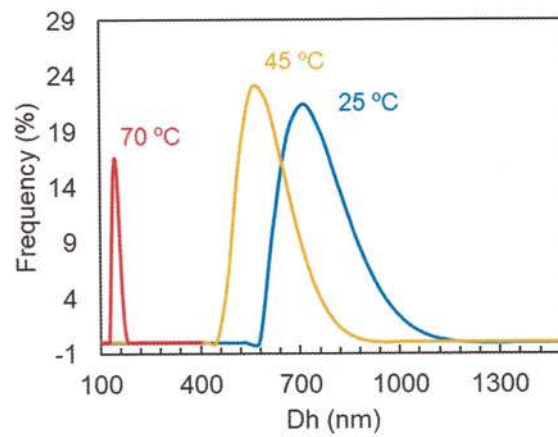


Fig. S3-5. DLS size of nanoobjects i-CLM-RC in different temperatures (1 g/L).

3.6 参考文献

- [1] a) M. A. C. Stuart, W. T. S. Huck, J. Genzer, M. Muller, C. Ober, M. Stamm, G. B. Sukhorukov, I. Szleifer, V. V. Tsukruk, M. Urban, F. Winnik, S. Zauscher, I. Iuzinov and S. Minko, *Nature Mater.* 2010, **9**, 101-113; b) A. P. Blum, J. K. Kammeyer, A. M. Rush, C. E. Callmann, M. E. Hahn, and N. C. Gianneschi, *J. Am. Chem. Soc.* 2015, **137**, 2140-2154; c) M. Wei, Y. Gao, X. Li and M.J. Serpe, *Polym. Chem.* **2017**, *8*, 127-143; d) J. M. Korde and B. Kandasubramanian, *Ind. Eng. Chem. Res.* 2019, **58**, 9709-9757.
- [2] C. Hu, N. Ma, F. Li, Y. Fang, Y. Liu, L. Zhao, S. Qiao, X. Li, X. Jiang, T. Li, F. Shen, Y. Huang, Q. Luo, and J. Liu, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2018, **10**, 4603-4613.
- [3] S. M. Rajput, S. Kumar, V. K. Aswal, O. A. El Seoud, N. I. Malek, S. K. Kailasa, *Chem. Phys. Chem.* 2018, **19**, 865-872.
- [4] S. J. Byard, M. Williams, B. E. McKenzie, A. Blanzs, and S. P. Armes, *Macromolecules* 2017, **50**, 1482-1493.
- [5] Y. Kim, E. D. Liemmawal, M. H. Pourgholami, D. L. Morris, and M. H. Stenzel, *Macromolecules* 2012, **45**, 5451-5462.
- [6] J. Chen, J. Ouyang, J. Kong, W. Zhong, and M. M. Xing, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2013, **5**, 3108-3117.
- [7] Q. Jin, G. Liu, and J. Ji, *Euro. Poly. J.* 2010, **46**, 2120-2128.
- [8] F. Liu, V. Kozlovskaya, S. Medipelli, B. Xue, F. Ahmad, M. Saeed, D. Cropek, and E. Kharlampieva, *Chem. Mater.* 2015, **27**, 7945-7956.
- [9] S. Berger, A. Synytska, L. Ionov, K.-J. Eichhorn and M. Stamm, *Macromolecules* 2008, **41**, 9669-9676.
- [10] Y. Ji, X. Lin, H. Zhang, Y. Wu, J. Li, and Q. He, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2019, **58**, 4184-4188.
- [11] Y. Dong, X. Ma, H. Huo, Q. Zhang, F. Qu, F. Chen, *J. Appl. Polym. Sci.* 2018, **135**, 46675.
- [12] L. Jiang, M. E. Messing, L. Ye, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2017, **9**, 8985-8995.
- [13] S. Wu, L. Zheng, W. Zhou, C. Li, Y. Xiao, W. Zhu, *J. Polym. Sci. Part A. Polym. Chem.* 2016, **54**,

1259-1267.

- [14] J. Herzberger, D. Kurzbach, M. Werre, K. Fischer, D. Hinderberger, H. Frey, *Macromolecules* 2014, **47**, 7679-7690.
- [15] Z. Zhang, S. Maji, A. B. Fonseca Antunes, Riet De Rycke, Qilu Zhang, Richard Hoogenboom, and Bruno G. D. Geest, *Chem. Mater.* 2013, **25**, 4297-4303.
- [16] R. Freitag, F. G.-Flaudy, *Langmuir* 2002, **18**, 3434-3440.
- [17] W. Yuan and X. Chen, *RSC Adv.* 2016, **6**, 6802-6810.
- [18] C. Pietsch, U. S. Schubert, R. Hoogenboom, *Chem. Commun.* 2011, **47**, 8750-8765.
- [19] K. Paek, H. Yang, J. Lee, J. Park, and B. J. Kim, *ACS Nano* 2014, **8**, 2848-2856.
- [20] S. Ghasemi, Z. Andami, *Chem. Select* 2017, **2**, 5864-5870.
- [21] G. Marcelo, M. Lopez-Gonzalez, F. Mendicuti, M. P. Tarazona, M. Valiente, *Macromolecules* 2014, **47**, 6028-6036.
- [22] S. Lin, J. Shang, P. Theato, *Polym. Chem.* 2017, **8**, 2619-2629.
- [23] M. Qi, K. Li, Y. Zheng, T. Rasheed, Y. Zhou, *Langmuir* 2018, **34**, 3058-3067.
- [24] H. Zhang, X. Tong, Y. Zhao, *Langmuir* 2014, **30**, 11433-11441.
- [25] L. Mäkinen, D. Varadharajan, H. Tenhu, S. Hietala, *Macromolecules* 2016, **49**, 986-993.
- [26] M. Sahn, T. Yildirim, M. Dirauf, C. Weber, P. Sungur, S. Hoepfener U. S. Schubert, *Macromolecules* 2016, **49**, 7257-7267.
- [27] W. Sun, Z. An P. Wu, *Macromolecules* 2017, **50**, 2175-2182.
- [28] Q. Wu, D. Zhou, R. Kang, X. Tang, Q. Yang, X. Song, G. Zhang, *Chem. Asian J.* 2014, **9**, 2850-2858.
- [29] H. Zou, C. Wang, W. Yuan, S. Wang, and M. Li, *Polym. Chem.* 2017, **8**, 4869-4877.
- [30] P. Flemming, A. Janke, F. Simon, A. Fery, A. S. Münch, P. Uhlmann, *Langmuir* 2020, **36**, 15283-15295.
- [31] W. Chen, L. Su, P. Zhang, C. Li, D. Zhang, W. Wu and X. Jiang, *Polym. Chem.* 2017, **8**, 6886-6894.
- [32] R. Hoogenboom, H. Schlaad, *Polym. Chem.* 2017, **8**, 24-40.
- [33] M. Heskins and J. E. Guillet, *J. Macromol. Sci.-Chem.* 1968, **8**, 1441-1455.

- [34] A. Rahikkala, V. Aseyev, H. Tenhu, E. I. Kauppinen, J. Raula, *Biomacromolecules* 2015, **16**, 2750–2756.
- [35] F. Liu, V. Kozlovskaya, S. Medipelli, B. Xue, F. Ahmad, M. Saeed, D. Cropek, E. Kharlampieva, *Chem. Mater.* 2015, **27**, 7945-7956.
- [36] J. C. Garbern, A. S. Hoffman, P. S. Stayton, *Biomacromolecules* 2010, **11**, 1833-1839.
- [37] M. K. Gupta, J. R. Martin, T. A. Werfel, T. Shen, J. M. Page. C. L. Duvall, *J. Am. Chem. Soc.* 2014, **136**, 14896-14902.
- [38] E. Amstad, S.-H. Kim, D. A. Weitz, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2012, **51**, 12499-12503.
- [39] C. Wong, A. J. Laos, A. H. Soeriyadi, J. Wiedenmann, P.M. G. Curmi, J. J. Gooding, C. P. Marquis, M. H. Stenzel, P. Thordarson, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2015, **127**, 5407-5412.
- [40] F. Oroojaliana, M. Babaeia, S. M. Taghdisc, K. Abnousa, M. Ramezania, M. Alibolandi, *J. Controlled Release* 2018, **288**, 45-61.
- [41] P. Pramanik, S. Ghosh, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* 2015, **53**, 2444-2451.
- [42] J. Sun, S. J. Rijpkema, J. Luan, S. Zhang, D. A. Wilson, *Nature Commun.* 2021, **12**, 2235.
- [43] C. Legros, A.-L. Wirotius, M.-C. D. Pauw-Gillet, K. C. Tam, D. Taton, S. Lecommandoux, *Biomacromolecules* 2015, **16**, 183-191.
- [44] J. Yin, J. Hu, G. Zhang and S. Liu, *Langmuir* 2014, **30**, 2551-2558.
- [45] J. Chen, B. Yan, X. Wang, Q. Huang, T. Thundata, H. Zeng, *Polym. Chem.* 2017, **8**, 3066-3073.
- [46] M. Jäger, S. Schubert, S. Ochrimenko, D. Fischer, U. S. Schubert, *Chem. Soc. Rev.* 2012, **41**, 4755-4767.
- [47] N. P. B. Tan, C. H. Lee, P. Li, *Data in Brief* 2015, **5**, 434-438.
- [48] H. Takebuchi, H. Kubosawa, R.-H. Jin, *Chem. Lett.* 2019, **48**, 647-650.
- [49] D. Giaouzi, S. Pispas, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* 2019, **57**, 1467-1477.
- [50] Q. Li, C. Gao, S. Li, F. Huo, W. Zhang, *Polym. Chem.* 2014, **5**, 2961-2972.
- [51] M. Cao, H. Nie, Y. Hou, G. Han, W. Zhang, *Polym. Chem.* 2019, **10**, 403-411.
- [52] S. Wang, C. Liu, H. Zhou, C. Gao, W. Zhang, *Polym. Chem.* 2017, **8**, 1932–1942.

[53] Y. Chen, W. Wei, Y. Zhu, J. Luo, R. Liu, X. Liu, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2020, **12**, 4821–4832.

[54] R. Plenderleith, T. Swift, S. Rimmer, *RSC Adv.* 2014, **4**, 50932–50937.

第4章

温度/pH/金属イオン応答かつ選択的 Pd(II)カチオンセンサーとしての蛍光性高分子ミセル

4.1 緒言

両親媒性高分子はその親水性と疎水性を併せ持つ構造組成のゆえに水性溶媒中では自己組織化挙動を示す。自己組織化した高分子はベシクル、ワーム、ロッド、球状ミセルなど高度な階層構造をもった構造体を形成することから、特に機能性ナノ構造材料への優れた潜在能力があるとされる^{1a-e}。機能性ナノ構造材料に用いられる両親媒性高分子のなかでも熱²⁻⁵、pH⁶⁻⁸、光⁹⁻¹³あるいは溶媒¹⁴⁻¹⁶に応答するようなものを刺激応答性 (スマート) 高分子と呼ぶ。このような高分子は周辺環境に応じた任意の機能を材料に付与することが出来るためナノセンサー、バイオイメージング、触媒などの分野での応用が期待できる。LCST 型²⁻⁵または UCST 型^{17, 18}いずれかの熱応答を有する高分子は最も研究されている刺激応答性高分子のひとつである。よく知られた LCST 型ポリマーの Poly(*N*-isopropylacrylamide) (PNIPAM) は 32 °C 付近で鋭敏なコイル-グロビュール転移を起こす¹⁹⁻²³。組成の一部に PNIPAM ブロックを有する共重合体は熱とそれ以外の刺激応答を組み合わせた機能性材料を設計する上でも重要な位置を占める¹⁹。LCST 型熱応答と UCST 型熱応答や pH 応答など複数の応答性を有するマルチ応答型共重合体は多いが、そのなかでも熱刺激と同様に溶液の外部から刺激を与えることのできる光応答ポリマーは熱応答ポリマーと組み合わせることで興味深い物性を発現する。

ポリマー鎖の末端あるいは側鎖にピレン^{24,25}、ポルフィリン²⁶、ローダミン^{27,28}のような π -共役系置換基²⁴⁻³¹を持つ発光高分子の研究例は多い。このような発光性高分子はイメージング材料や蛍光プローブ、センサーとしての機能が期待できるが、分子自体の高い疎水性から水性媒体中では凝集しやすいという欠点がある。そこで水性媒体中に適応できる発光性高分子が注目されている。これらは機能性親水性部と疎水性の発光部位を組み合わせることで、水性媒体中での分散性を叶えるだけでなく pH や熱といった環境変化に応じて性質を変化させることが出来る³²⁻³⁹。このような機能性部位を複数導入したデザインのポリマーは蛍光発光の効果を強

化させ、かつセンサーとしての駆動力の ON/OFF を環境変化によって制御することが可能である。疎水部となる発光部位は水中での自己組織化を促進させ、親水部をシェル層とするポリマーミセルを形成する。

例えば疎水ブロック中に凝集誘起発光 (AIE) 部位を導入した場合、その両親媒性ポリマーは AIE 部位同士の

疎水性相互作用によって水性媒体中で自己組織化することにより蛍光特性が強化される (Figure I4-1)^{40a,b}。AIE 分子は希薄溶液では発光しないにも関わらず、凝集状態または固体状態で強く発光する。貧溶媒との混合、あるいは高濃度溶液になると AIE 分子はより発光強度が増大する。AIE 分子は自由回転可能なフェニル基を有するプロペラ構造を持つ。希薄溶液中ではフェニル基の自由回転により励起エネルギーが消費され消光するが、高濃度になると自由回転が抑制されるため蛍光が増強される。また AIE 特性と対極をなすのが凝集消光 (ACQ) である。ACQ の応用として poly[fluorenyl-alt-p-phenyleneethynylene] (PFPE) 主鎖にカルボン酸残基を持つ π 共役系ポリマーの場合、水性媒体中で芳香族アミンと脂肪族アミンを区別する蛍光センサーとして働く例がある。脂肪族アミンの場合、カルボン酸残基との相互作用によってポリマー鎖内の π 共役系の拡大によって ACQ は起こらないが、芳香族アミンと π 共役高分子の接近により生じた π - π 相互作用によって ACQ が起こる³¹。

光活性材料においてイミダゾール含有構造をもつ π -共役高分子を組み込むことが効果的に働く⁴¹。イミダゾールは複素環式化合物のひとつで芳香環内にプロトンドナーとなるアミン基とプロトンアクセプターとなるイミン基をもち、金属イオンや pH に敏感である。イミダゾール置換基を π -電子系共役高分子に導入し、銅イオンセンサーの配位子として利用する例がある^{41a}。また π -電子系共役高分子の組成中に含まれるイミダゾール環は電荷移動発色団として分子内あるいは分子間で励起状態において分子内プロトン移動 (ESIPT) による光物理過程を起こ

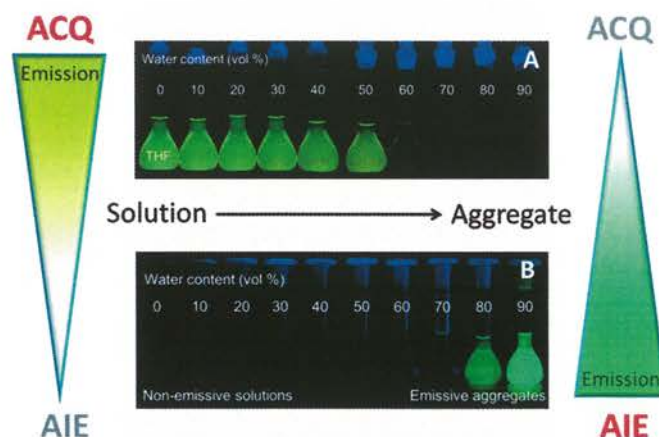


Figure I4-1. The Graphical Image of aggregation-caused quenching (ACQ) and aggregation-induced emission (AIE) of (A) DDPD and (B) HPS in THF–water mixtures with different water contents^{40b}.

すことが知られている⁴²⁻⁴⁴。プロトドナーとなるフェノール置換基で修飾されたイミダゾール含有高分子はフェノールとイミダゾール間で分子内水素結合が生じたときに光励起を起しESIPT現象が観察される (Figure I4-2)⁴⁵。この過程では (イミダゾール置換基上の) 電子ドナーと電子アクセプターとなる部位

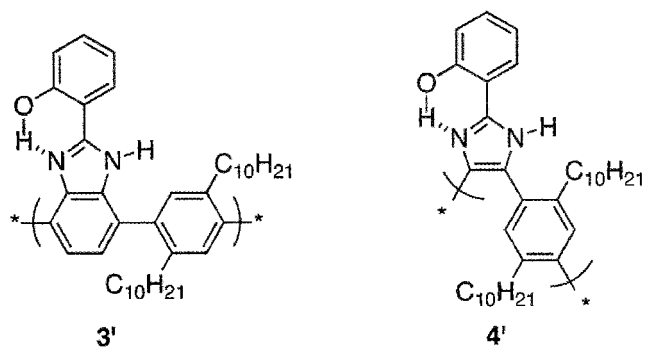


Figure I4-2. Structure of (benz)imidazole-containing conjugated polymers bearing phenol unit as side group with intramolecular proton transfer-mediated fluorescence⁴⁵.

間での共有結合が欠かせない。ポリチオフェンやポリカルバゾールなどの光活性な主鎖の側鎖にイミダゾール環を修飾した高分子設計による発光性材料は多く報告されているが、 π -共役系主鎖をもたない構造設計でのイミダゾール環含有発光ポリマーはまれである。

π -共役系を持たない非従来型の蛍光物質の報告例もいくつか存在する⁴⁶⁻⁴⁸。その中でも水溶性のハイパーブランチ型ポリエチレンイミン (h-PEI) は特に興味深い物性を示している。Luoらはアルデヒドと反応させた h-PEI がシッフ塩基構造を形成し蛍光高分子としての機能を獲得することを報告している⁴⁹⁻⁵¹。このハイパーブランチ構造体ではシッフ塩基結合が AIE 分子のように密集してクラスターとなり、これが励起された際の熱放射崩壊を増大させると考えられている⁵⁰⁻⁵¹。彼らはシッフ塩基をもつ h-PEI の蛍光挙動が水性媒体中で金属イオンや酸性分子、pH に応答することを明らかにしている⁴⁹。上記の例を鑑みれば実際に明確な発色団を持たない (例えばシアノ基、イミン基、カルボニル基、第三級アミンのみをもつ) 多くの高分子が凝集することにより空間経由の電子共役を形成できるため、潜在的には蛍光高分子となるポテンシャルを有していると言える⁵²。ポリアクリロニトリル (PAN) は発色団を持たない非従来型の発光性高分子で、UV 照射によって励起された固体状態で青色に発光することが知られている⁵³。PAN は分子鎖内で形成するシアノ基同士のクラスターが空間を介して重なり合うことで電子共役系が拡張し、顕著な発光挙動を示すと考察されている。

イミダゾール構造を有するキサンチン誘導体であるテオフィリンは Pd(II) の強力な配位子となり非常に安定した複合体を形成できる⁵⁴⁻⁵⁵。本研究では両親媒性ブロック共重合体からな

るマルチ刺激応答性に焦点を当て、熱応答性かつ親水性の PNIPAM ブロックとテオフィリンあるいはイミダゾールで修飾された pH/光応答性の非共役系疎水性ポリスチレンブロックを設計した。ポリビニルベンジルクロライド (PVBC) と PNIPAM のブロック共重合体を RAFT 重合により合成し、ここにテオフィリンとイミダゾールをペンダント基として導入した。テオフィリン (T) とイミダゾール (I) の導入比 T/I を 100/0、77/23、0/100 と変えることで PVB(T/I)-b-PNIPAM を合成した。両親媒性構造である PVB**T**-b-PNIPAM (**P1**, T/I=100/0)と PVB**T/I**-b-PNIPAM (**P2**, T/I=77/23) は水性媒体中で PNIPAM をシェル層としたポリマーミセルを形成し、PVB**I**-b-PNIPAM (**P3**, T/I=0/100) は水中で完全溶解する二重親水性高分子となる。いずれの共重合体でも PNIPAM に由来の応答性を発現し、またテオフィリンを導入した **P1**、**P2** では明確な蛍光特性が示された。これはポリマー鎖内でテオフィリン同士あるいはテオフィリン-イミダゾールの間で電荷移動を可能とするエキシマーやエキシプレックスが形成することで発光したと考えられる。そのため T/I 比は親疎水性を制御すると同時に蛍光特性のコントロールに繋がる。加えてテオフィリンが選択的に Pd イオンとのキレート化を起こすことで急激に消光することから Pd(II) イオンセンサーとしての応用が期待できる (Figure I4-2)。本章ではこのようにテオフィリンに由来する興味深い蛍光特性を示し、さらに熱応答性、金属応答性など多岐にわたる機能性を有する PVB(T/I)-b-PNIPAM について詳細に述べる。

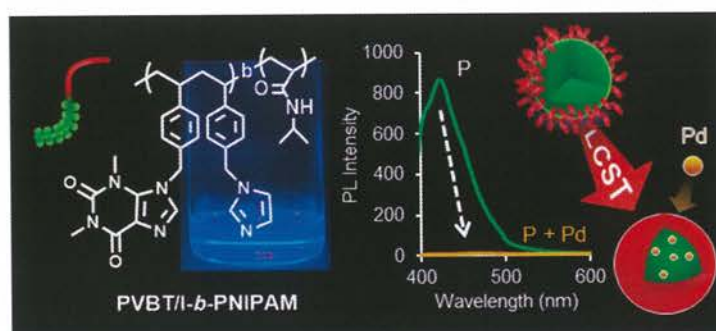


Figure I4-2. The Graphical Abstract of “Smart Polymer Micelle with Thermo-/pH-/Photo-Responsibility and Its Feature in Selective Optical Sensing of Pd(II) Cation.

4.2 実験

4.2.1 試薬および溶媒

N-isopropylacrylamide (NIPAM, 98%, Tokyo Kasei Kogyo Co.) は *n*-hexane で再結晶したものを使用した。4-(Chloromethyl)styrene (VBC, 90%, Tokyo Chemical Industry Co.) は重合禁止剤を活性アルミナ (SIGMA-ALDRICH, neutral, Brockmann) によって除去したものを使用した。2, 2'-Azobis(isobutyronitrile) (AIBN, 98%, Tokyo Kasei Kogyo Co.) はエタノールにより再結晶したものを使用した。

以下の試薬は市販のものをそのまま使用した。

Cyanomethyl benzodithioate (CMB, 99%, SIGMA-ALDRICH), benzoyl peroxide (BPO, 75%+wetted with ca. 25% water, Tokyo Chemical Industry Co.), Theophylline (99.0+%, FUJIFILM Wako Pure Chemical Co.), Imidazole (98.0+%, FUJIFILM Wako Pure Chemical Co.), *N,N*-dimethylformamide (GODO Co.), 1,4-dioxane (99.5+%, FUJIFILM Wako Pure Chemical Co.), dimethyl sulfoxide (99.5+%, FUJIFILM Wako Pure Chemical Co.), methanol (99.5+%, FUJIFILM Wako Pure Chemical Co.), metal acetates (palladium, silver, barium, zinc, copper) (FUJIFILM Wako Pure Chemical Co.)

4.2.2 測定装置

The Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR): FT-IR 4600 (JASCO)、KBr 錠剤法を用いた。

Nuclear magnetic resonance (NMR): JEOL JNM-ECA-600 MHz、CDCl₃、D₂O、内部標準物として tetramethylsilane を利用した。

Gel permeation chromatography (GPC): HLC-8320 (Tosoh, Japan)、カラム : Shodex asahipak GF-510 HQ + GF-1G 7B、分離液 : DMF with 10mM LiB、流速 : 0.6 mL min⁻¹

Scanning electron microscope (SEM): Hitachi SU-8010 (Japan)、サンプルはポリマー分散液をシリコンウエハーに分散させ作製した。

Fluorescence spectrophotometer (PL): FP-8300 (JASCO)

Dynamic Light Scattering spectroscopy (DLS): FPAR-1000 (大塚電子)

Differential scanning calorimetry (DSC): X-DSC-7000 (HITACHI)、Al パンを用いた。

UV-vis spectra (UV): UV-2600 spectrometer (SHIMADZU) ペルチェ式温調装置 (CPS-100) を用いて温度調整を行った。

4.2.3 RAFT 重合による PVBC-CMB の合成

マクロ RAFT 開始剤となる PVBC-CMB は以下の RAFT 重合法により合成した。まずモノマーの VBC (10.0 g, 65.5 mmol)、RAFT 剤の CMB (0.12 g, 0.66 mmol)、ラジカル開始剤の AIBN (27 mg, 0.16 mmol) をシュレンク管に量り取り、溶媒の 1,4-dioxane (4.35 g, 30 wt%) に完全溶解させた。続いて凍結・脱気・融解による脱酸素操作を 3 回繰り返したあと、この溶液を 80 °C で加熱して 21 時間の重合反応を行った。反応後は THF で希釈し、過剰なメタノールに滴下することで再沈殿精製を 3 回行った。精製後は 40 °C で加熱減圧乾燥し、桃色粉末を得た。(Yield: 7.3 g. GPC: $M_n = 10471$, $M_w = 11998$, PDI= 1.146, degree of polymerization (DP) = 74)

4.2.4 PVBC-*b*-PNIPAM ジブロック共重合体の合成と末端処理

熱応答性ブロックの PNIPAM を第二ブロックとして導入した PVBC-*b*-PNIPAM の合成とチオカルボニルチオ基の除去法を以下に記す。マクロ開始剤として PVBC₇₄-CMB (1.00 g, 87.1 μmol)、ラジカル開始剤として AIBN (4.3 mg, 26 μmol)、モノマーの *N*-isopropylacrylamide (NIPAM) (9.84 g, 87.1 mmol) をシュレンク管に量り取り、溶媒の 1,4-dioxane (16.3 g, 60 wt%) で完全溶解させた。続いて凍結・脱気・融解による脱酸素操作を 3 回繰り返したあと、この溶液を 65 °C で加熱して 6 時間の重合反応を行った。反応後は THF で希釈し、過剰なヘキサンあるいはジエチルエーテルに滴下することで再沈殿精製を 4 回行った。精製後は 40 °C で加熱減圧乾燥し、桃色粉末を得た。(Yield: 4.3 g. GPC: $M_n = 60,022$, $M_w = 75,649$, PDI: 1.260, DP = 383)

チオカルボニルチオ基の除去のためジブロック共重合体の末端処理を行った。100 mL ナスフラスコに前述の PVBC₇₄-*b*-PNIPAM₃₈₃-CMB (M_n (NMR) = 55 kg mol⁻¹) (2.0 g, 37 μmol of CMB end group) と過剰な BPO (0.177 g, 0.73 mmol) を量り取り、溶媒の 1,4-dioxane (60 mL) を加えて完全溶解させた。反応溶液を室温で 1 時間の窒素バブリングを行ったのち、薄桃色の溶液が無

色になるまで還流を 80 °C で 1 時間行った。反応後は THF で希釈し、過剰なヘキサンに滴下して再沈殿精製を 4 回行った。精製後は 40 °C で加熱減圧乾燥し、白色粉末を得た。(Yield: 1.8 g, GPC: $M_n = 61,177$, $M_w = 98,649$, PDI = 1.61)

4.2.5 テオフィリン残基を導入した **PVBT/I-*b*-PNIPAM** の合成

テオフィリン残基を導入したジブロック共重合体 **P1** の合成を以下に記す。30 mL ナスフラスコに PVBC_{74-*b*}-PNIPAM₃₈₃ (0.09 g, M_w : 54600, Number of mol_{Cl}: 0.13 mmol)、theophylline (24 mg, 0.14 mmol)、塩基として K₂CO₃ (37 mg, 0.27 mmol)、KI (45 mg, 0.27 mmol) を量り取り、溶媒の DMF (10 mL) を加えて 80 °C で 24 時間反応させた。空冷後、水/メタノール混合溶媒 (v/v=1/1) に沈殿させ、遠心分離により沈殿物を回収した。同様の操作を 3 回繰り返して精製を行い、最終的に白色粉末を得た。(Yield: 91 mg, Theo: 99%, $M_{w(NMR)}$: 68000)

テオフィリンとイミダゾール残基を同時に導入した **P2** の合成法を以下に記す。30 mL ナスフラスコに PVBC_{74-*b*}-PNIPAM₃₈₃ (0.09 g, M_w : 54600, number of mol_{Cl}: 0.13 mmol)、theophylline (17 mg, 0.094mmol)、imidazole (3 mg, 0.041 mmol)、K₂CO₃ (23 mg, 0.14 mmol)、KI (19 mg, 0.14 mmol) を量り取り、溶媒の DMF (10 mL) を加えて 80 °C で 24 時間反応させた。室温になるまで空冷した後、透析精製 (外液: 脱イオン水) を行った。精製後は凍結乾燥を行い、白色粉末を回収した。(Yield: 105 mg, T: 77%, I: 23%, $M_{w(NMR)}$: 66100)

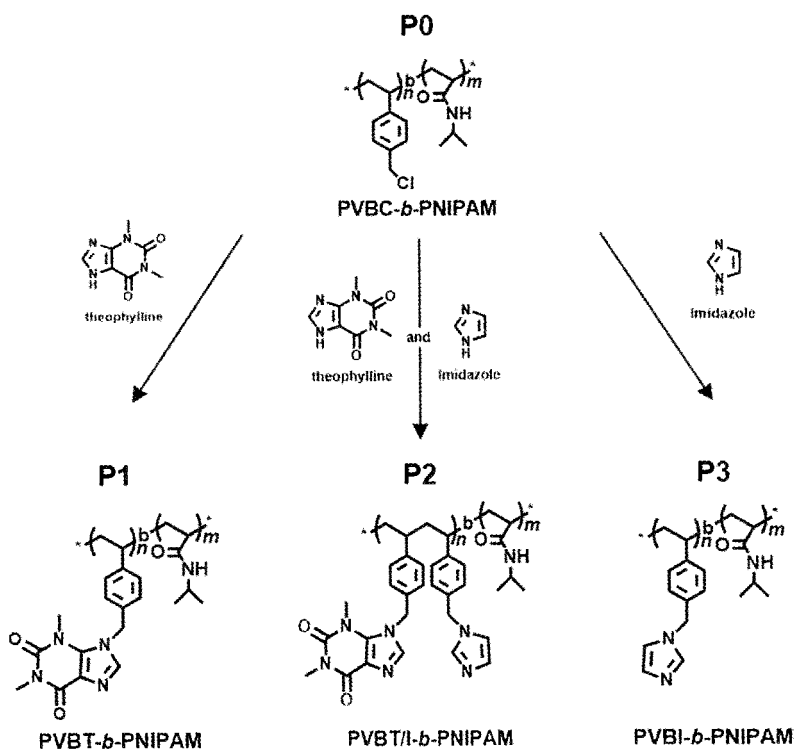
イミダゾール残基を導入した全親水性 **P3** の合成法を以下に記す。30 mL ナスフラスコに PVBC_{74-*b*}-PNIPAM₃₈₃ (0.09 g, M_w : 54600, number of mol_{Cl}: 0.13 mmol)、imidazole (9 mg, 0.14 mmol)、K₂CO₃ (23 mg, 0.14 mmol)、KI (19 mg, 0.14 mmol) を量り取り、溶媒の DMF (10 mL) を加えて 80 °C で 24 時間反応させた。室温になるまで空冷した後、透析精製 (外液: 脱イオン水) を行った。精製後は凍結乾燥を行い、白色粉末を回収した。(Yield: 89 mg, I: 99%, $M_{w(NMR)}$: 59700)

4.2.6 ポリマーミセル溶液の調製

ポリマーミセル分散液の調製は以下の溶媒交換法により行った。スクリー管に 4 mg のポリマー (P1、P2、P3) を量り取り、ここに溶媒の DMSO を 0.2 mL 加えた。これをホットスターラーで加熱することで完全溶解させ、1.8 mL の蒸留水に攪拌しながら滴下し 2 mg/mL の溶液とした。pH の異なる溶液を調製する際には事前に塩酸で pH2.2、あるいはアンモニア水で pH10.2 に調整した蒸留水に滴下した。また金属酢酸塩溶液を調製する場合は同様に最終的に金属塩が 2.5 mM あるいは 0.025 mM になるように調整した溶液に滴下した。以上の操作で 2 mg/mL のポリマー溶液が調製される。調製後は DLS、透過率測定により特性を評価した。

4.3 結果と考察

4.3.1 熱応答性ジブロック共重合体の合成と物性



Scheme 4-1. Representation of Synthesis of PVB(T/I)-b-PNIPAM block copolymers.

PVB(T/I)-b-PNIPAM は熱応答性 PNIPAM からなる親水性ブロックとポリスチレン主鎖にテオフィリンあるいはイミダゾールを導入した疎水ブロックからなる両親媒性高分子である (Scheme 4-1)。PVBC-b-PNIPAM は RAFT 重合を用いた 3 ステップで合成され、特に PVBC 主鎖は Cl 基を反応点として容易にアミン基有するテオフィリンとイミダゾールを導入することが出来る。Scheme S4-1 に示す通り、疎水性 VBC の重合、親水性 PNIPAM との共重合、そして RAFT 末端の除去を経て基質となる高分子を合成した。まず RAFT 剤として Cyanomethyl benzodithioate (CMB)、ラジカル発生剤として AIBN を選択し VBC モノマーの重合を行った。得られた重合度 74 の PVBC をマクロ連鎖移動剤として NIPAM の重合を行い、重合度 383 の親水性 PNIPAM 鎖を有する両親媒性高分子を合成した。最後に $\text{PVBC}_n\text{-b-PNIPAM}_m\text{-SC(=S)Ph}$ のチオエート末端を除去し、これを PVBC-b-PNIPAM (P0) とした。 $^1\text{H NMR}$ による構造解析では合成にあたり新たに表れたすべてのケミカルシフトを帰属し、それぞれのブロックの重合度は末端法を用いた積分値比により計算した (Figure S4-1)。GPC 測定から、RAFT 重合を用いる

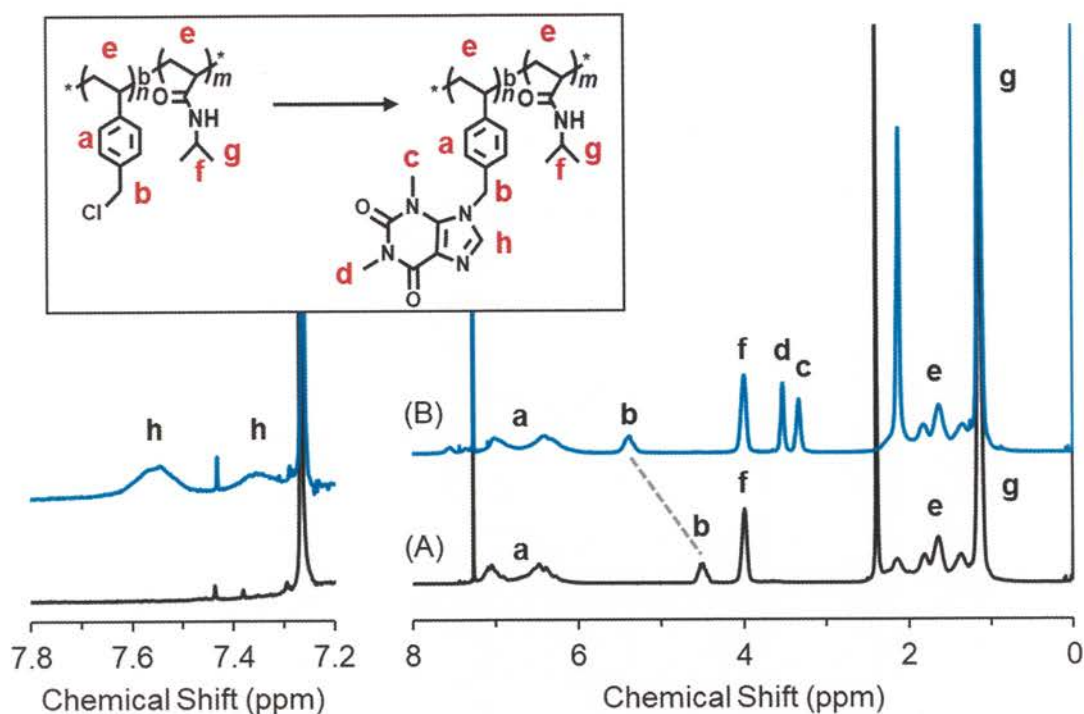


Figure 4-1. ^1H NMR spectra of (A) PVBC₇₄-*b*-PNIPAM₃₈₃ (**P0**), (B) **P1** in CDCl_3 at 25 °C.

ことで分子量分布が 1.61 の制御された構造の **P0** を得たことが示された (Table S4-1, Figure S4-2)。

続いて合成した **P0** の Cl 基にテオフィリンあるいはイミダゾールを置換することで新規の発光特性を有する両親媒性かつ熱応答性高分子 **P1~P3** を合成した。仕込み量は Table 4-1 に記載の通り、**P0** にテオフィリンまたはイミダゾールを DMF 中で 24 時間、80 °C で反応させ、**P1**、**P2**、**P3** を得た。これら **P1**、**P2**、**P3** はクロロホルムに対して良好な溶解性を示す。したがって、 CDCl_3 を溶媒として ^1H NMR 測定によって構造解析を行ったところ、合成後はテオフィリンに由来する新たな 4 つのピークが現れた (Figure 4-1)。テオフィリンの 2 つのメチル基に由来す

Table 4-1 Synthesis and Characterization Data of Diblock Copolymers

PVB(T/I)- <i>b</i> -PNIPAM	Feed ratio Polymer (-Cl)/T/I	Conv. ^a		$MW_{(\text{NMR})}$ (kg/mol)	LCST ^b (°C)	Tg ^c (°C)	Dh (nm) ^d	
		T	I				25 °C	45 °C
P1	1/1/-	99%	-	65	31.5	141.2	89	380
P2	1/0.7/0.3	77%	23%	63	33.5	141.8	71	24
P3	1/-/1	-	99%	57	36.5	145.4	-	200

^a Conversion of Theo/Imi residue calculated from the corresponding ^1H NMR (Figure S-5) ^b LCST measured by transmittance change determined at a wavelength of 500 nm. ^c The glass transition calculated by DSC curves. ^d The size of polymer micelles determined by DLS.

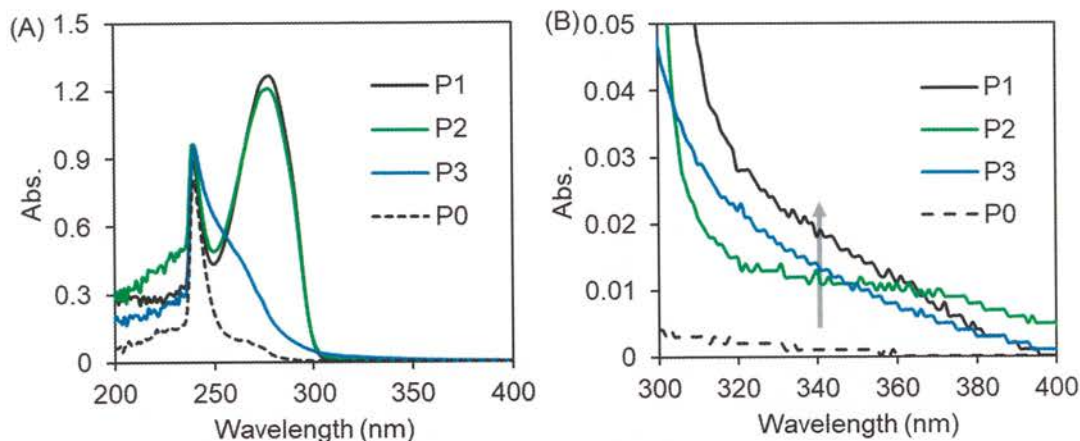


Figure 4-2. (A) UV-vis spectra of PVB(T/I)-*b*-PNIPAM in CHCl₃ measured at 25 °C. (B) is the focused area around 300-400 nm of the (A).

る 3.33 ppm と 3.53 ppm のピークとイミダゾール環のメチレンプロトンに由来して 7.35 ppm と 7.55 ppm に微弱なピークが出現した。イソプロピル基に由来した PNIPAM の methine (N-CHMe₂) の 4.00 ppm、2 つのメチル基を示す 1.34 ppm のピークには反応前後で変化はなかった。対して、PVBC ブロックの methylene (-CH₂Cl) ピーク (4.48 ppm) は反応後に 5.39 ppm まで低磁場シフトした。**P1** の場合、テオフィリンの導入率をテオフィリンのメチル基 (-NCH₃) と PVBC ブロックの methylene (-CH₂N) の積分値の比から算出したところ 99% であった (Figure S4-3)。また **P2** と **P3** の ¹H NMR 解析の結果は Figure S4-4 に示した。**P0** と T/I (モル比 : 70:30) を反応させた **P2** では実際の T/I 比は 77/23 であることが積分値の比から判明した。Table 4-1 にまとめたようにいずれのサンプルでもテオフィリン、イミダゾールともに定量的に Cl 基へと導入された。

構造変化に従って現れる新たな吸収を UV-vis スペクトルにより確認した (Figure 4-2A)。低分子状態のテオフィリンとイミダゾールを 2 g/L の濃度でクロロホルムに溶解させて測定を行うとそれぞれ 273 nm と 241 nm で鋭い吸収が現れた (Figure S4-5)。またテオフィリンに限っては 340 nm 付近で極小さな吸収もみられた。この参考データをもとに、それぞれ置換基を導入する前後の高分子 **P0**~**P3** の解析を行ったところ、テオフィリン残基が導入されていない **P0** と **P3** では 273 nm に吸収を示さなかった。対して **P1** と **P2** は 273 nm にテオフィリンペンダント由来の吸収が現れた。300 から 400 nm の範囲においてはイミダゾールのみを導入した **P3** では吸収のテーリングが見られ、テオフィリンあるいはイミダゾールを共に導入した **P1** と **P2** では

360 nm でショルダーピークが観察された (Figure 4-2B)。P0 ではこの範囲に吸収は現れなかった。

P0~P3 (Figure 4-3A) およびホモポリマー-PVBC₇₄、PNIPAM₃₃₄ (Figure 4-3B) の熱物性の評価を DSC 測定によって行った。ホモポリマー-PVBC₇₄ と PNIPAM₃₃₄ がそれぞれ 89.2 °C と 124.8 °C にガラス転移温度 (T_g) を持つ (Figure 4-3B)。PVBC₇₄ にテオフィリン残基を導入した後はポリマー鎖同士の相互作用が強まり、剛直さを増すことで T_g は 180.3 °C まで上昇する。対して PNIPAM₃₈₃ ブロックとポリスチレン系主鎖からなる P0~P3 では、ホモポリマーよりも高温側でいずれもよく似た 140~145 °C の範囲に T_g が現れた。興味深いことにポリスチレン系主鎖 (重合度: 74) と PNIPAM (重合度: 383) のふたつのブロックにおいて相分離は見られなかった。両ブロックの高い相溶性がポリマー鎖同士の絡み合いを強化し T_g の増大を招いたと考えられる。

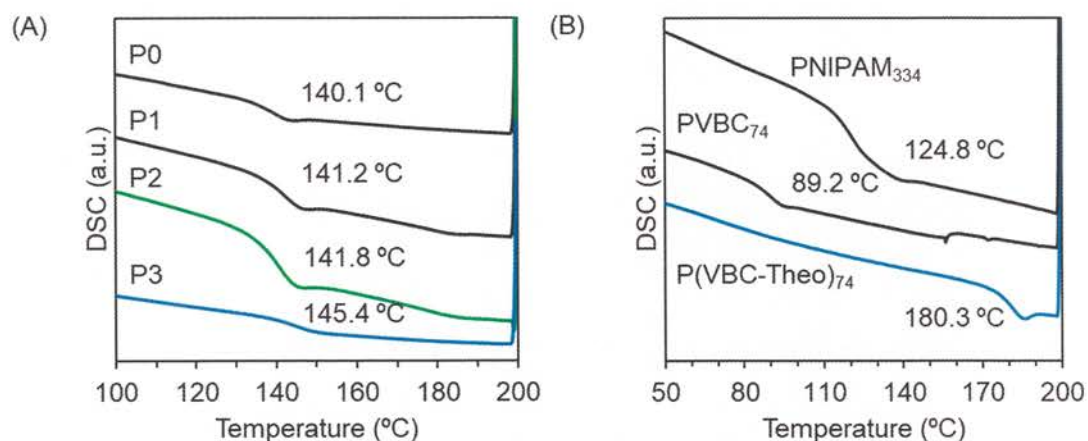


Figure 4-3. DSC curves of the second heating of (A) block copolymers and (B) homopolymers.

4.3.2 ミセル自己組織化と熱応答

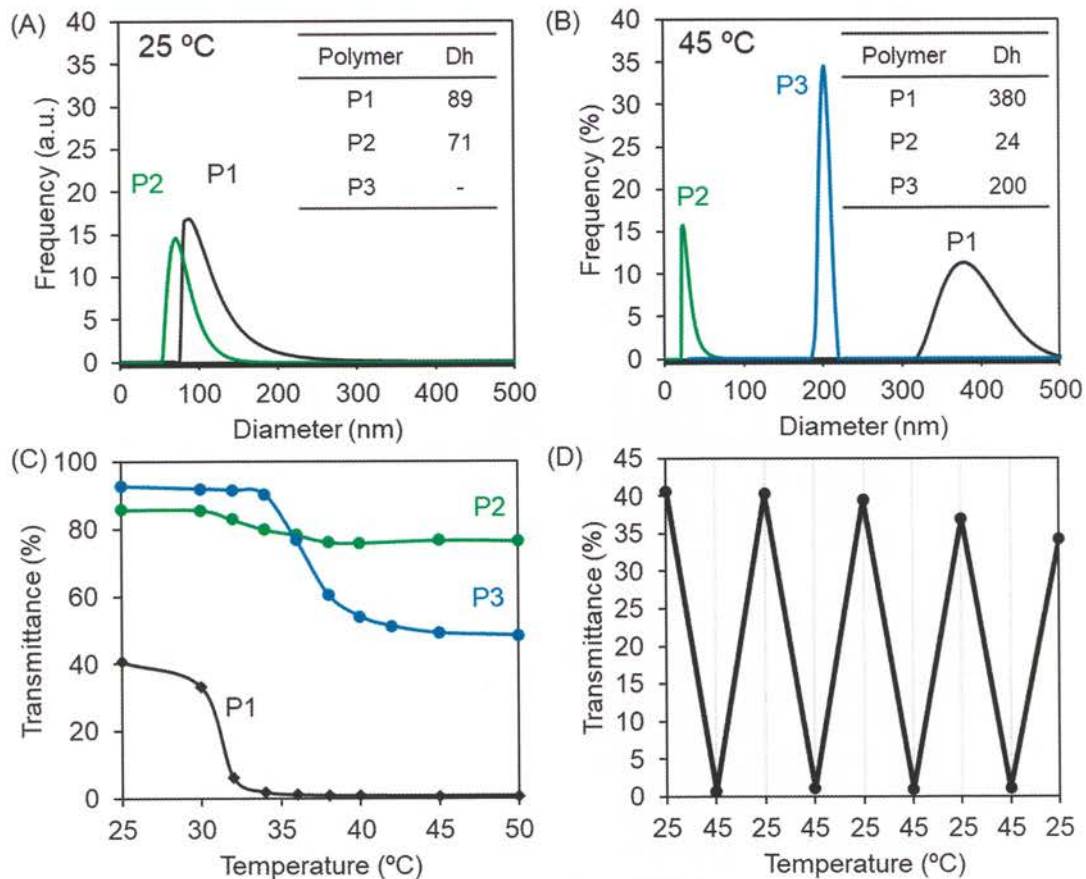


Figure 4-4. DLS traces of aqueous dispersions of P1~P3 (concentration: 2 g/L) at (A) 25 °C and (B) 45 °C. (C) Temperature depended on transmittance of the aqueous dispersion P1~P3 (2 g/L) at $\lambda = 500$ nm. (D) Transmittance variation for the dispersion of P1 (2 g/L) depending on heating-cooling cycle between 25 °C and 45 °C at $\lambda = 500$ nm.

テオフィリン分子はメタノールと水に溶解する。しかし、テオフィリンペンダントを導入したホモポリマー-PVBT₇₄は 100 °C に加熱した水にさえ溶解することはない。それだけでなくメタノールや DMF にも溶けにくい。ただクロロホルムと加熱した DMSO には良い溶解性を示す。このことからテオフィリンペンダントを導入した系では、側鎖のフェニル基とテオフィリン残基の間に分子内・分子間で π - π 相互作用が働き先述の特性が現れたと推測できる。この推測により水系溶媒中におけるブロック共重合体の挙動の理解を深めることができる。例えば、疎水性 PVBC ブロックより長い親水性の PNIPAM ブロックを有する **P1** と **P2** だが、実際には疎水性を示し、DMSO やクロロホルムに良く溶解する。対して **P3** は水に高い溶解性を示す。つまり **P1** と **P2** は両親媒性の性質、**P3** は二重親水性性質を示しているといえる。

ここで溶媒選択法による **P0** から **P2** のミセル化実験を行った。過剰量の蒸留水に **P0** から **P2** それぞれの DMSO 溶液を滴下させ 2 g/L の分散液を調製した。しかし **P0** では同じ濃度でも即座に白色沈殿が生成した。また親水性を示す **P3** は完全に溶解し無色透明な水溶液となった。

長い PNIPAM 鎖を持つブロック共重合体は水性溶媒中で熱応答性を示す。**P1** から **P3** の水溶液あるいは水分散液の熱応答性を UV-vis 測定と DLS で追跡した。DLS において室温の **P1** と **P2** 分散液はそれぞれ粒径 89 nm と 71 nm のミセル形態をとっているが、**P3** では分子溶液のために光散乱シグナルは観察されなかった (Figure 4-4A)。対して Figure 4-4B では 45 °C に加熱した溶液における粒度分布を示している。このときの **P1** における流体力学直径は 380 nm まで増大し、反対に **P2** では 24 nm まで収縮した。**P3** では加熱による PNIPAM の脱水和による疎水部をコアとしてミセル形成が始まり、流体力学直径は 200 nm を示した。一方で波長 500 nm における濁度測定の結果を Figure 4-4C に示した。30 °C での **P1** は 30%以上の透過率だが、35 °C まで加熱すると 0%近くまで急激に透過率が低下した。**P3** では 50 °C への加熱で 92%から 50%まで透過率が低下し、**P2** では 50 °C までに 87%から 77%まで低下した。いずれのサンプルも同じ重合度の PNIPAM ブロックを持ちながら **P1**、**P2**、**P3** の LCST はそれぞれ 32、33、37 °C であった。**P1** のミセル分散液における透過率の加熱/冷却サイクル測定を行い、熱応答性の可逆性を評価した。測定は 25 °C と 45 °C の範囲で行い、それぞれの温度で安定まで各温度 10 分間の保持時間を持たせた。Figure 4-4D に示した結果は **P1** の可逆的熱応答を明確に示している。この性質は **P2** と **P3** でも同様であった。

続いて **P1** の熱応答を D₂O 中で ¹H NMR 測定によって評価した (Figure S4-6)。25 °C においては PNIPAM のイソプロピルピークのみが現れる。これは **P1** がコア-シェルミセル構造を取っていることに起因し、このときテオフィリン残基を含むポリスチレン主鎖はコア (不溶状態)、PNIPAM ブロックがシェル (コイル状態) を取っているため ¹H NMR では PNIPAM ピークのみが検出されたと考えられる。また測定温度が 45 °C まで上昇すると、PNIPAM 鎖の親水性コイル状態から脱水和したグロビュール状態への相転移により PNIPAM のケミカルシフトを示すピークは消失した。

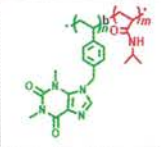
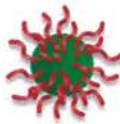

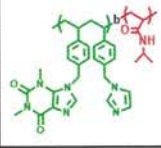

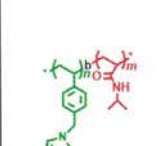


Polymers		Temp.<LCST	Temp.>LCST
P1		 Micelle	 Aggregation
P2		Core: [PVBT PVBT/Im] Shell: PNIPAM	 Micelle Collapsing
P3		 Coil phase	 Micelle Core: PNIPAM Shell: PVBI

Figure 4-5. Schematic representation for the self-assembly of the temperature-responsive PVB(T/I)-*b*-PNIPAM series in water.

ここまでの熱挙動の結果から推測される PVBT/I-*b*-PNIPAM 系ポリマーのミセル形成能を Figure 4-5 にまとめた。LCST 以下の温度で **P1** と **P2** は PNIPAM シェルと PVBT コアからなるコア-シェルミセルを形成している。LCST 以上では **P1** ミセルのシェルは PNIPAM が脱水和を起こすことから疎水性へと転じ、よりミセル間の疎水性相互作用が増大し大きなミセル同士の凝集を生じる。この変化は加熱-冷却過程によって可逆的に起こる。**P2** の場合ではミセル間での凝集は生じず LCST 以上の温度でより小さなミセル直径を示す。この現象はミセル内の凝集によって生じる。すなわち、PNIPAM シェルが脱水和により崩壊し、ミセル内のコア表面に存在する疎水性テオフィリン/イミダゾールと疎水性 PNIPAM 鎖の相互作用が強化されることで生じる。**P1** と比較してイミダゾールを含む **P2** ミセルの熱応答ではミセル内に変化が留まっている。これら熱応答による凝集がミセル間あるいはミセル内で起こるかを決めるのはコアの組成であると考えられる。例えばコアがテオフィリンのみで成る **P1** では加熱によってミセル間の大きな凝集を誘発し、対してイミダゾールとテオフィリンが混合された **P2** ではミセル内に熱応答は収まる。このように熱応答挙動は両親媒性共重合体 **P1** と **P2** の双方で異なるが、二重親水性ブロック共重合体である **P3** の場合は LCST 以下ではユニマーコイル状態、LCST 以上では PNIPAM がコア、PVBI がシェル層となるコア-シェルミセルになることが示唆された。

4.3.3 両親媒性共重合体の蛍光および pH 応答

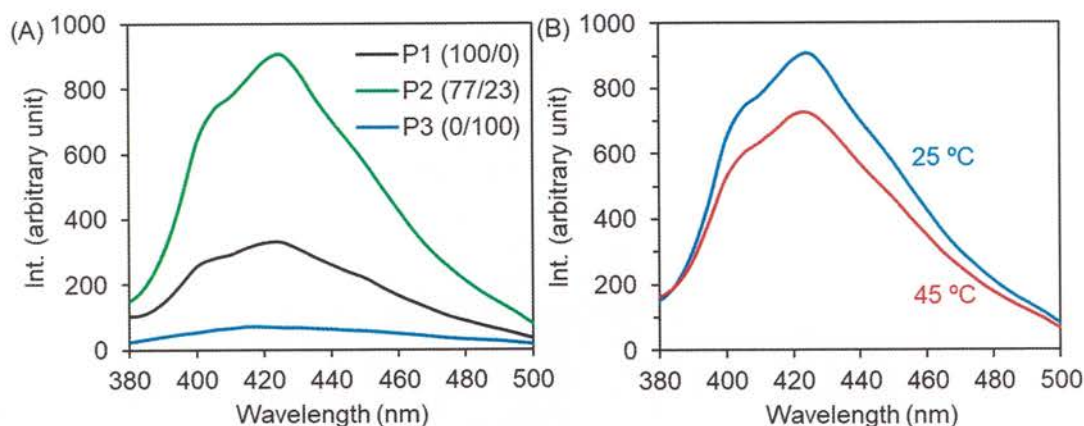


Figure 4-6. Fluorescence emission spectra ($\lambda_{\text{exc}} = 365 \text{ nm}$) of the micellar and unimer solutions of **P1**~**P3** (2 g/L) at room temperature (A) and at 45 °C (B).

通常、テオフィリンは発光分子として認識されていないが、実際には 340 nm の波長で微弱な吸収を持ち、固体状態、溶液状態の双方で可視蛍光特性を示す (Figure S4-7)。これはテオフィリン分子同士が電子供与体と受容体の役割を果たすことによってエキシマーが生成したことに起因すると考えられる。Figure 4-2B に示すようにテオフィリンとイミダゾールペンダントを導入した **P2** はクロロホルム溶液中で 300 nm 以上に吸収を持つ。この事実はテオフィリンとイミダゾール間での電荷移動的な会合を意味していると推測できるため、ポリマーが発色団として働く可能性が考えられる。そこで **P1** から **P3** までのミセルあるいはユニマー溶液の蛍光測定を行った。Figure 4-6A に示したように励起波長を 365 nm に設定したとき **P2** はテオフィリン分子の場合よりも長波長側の 425 nm で明確に極大蛍光を発した。対して **P1** は **P2** の強度の半分程度、**P3** はかすかな発光しか見られず、蛍光特性は示さなかった。**P2** のミセル溶液の場合、45 °C に加熱すると蛍光強度は 905 から 726 まで低下した (Figure 4-6B)。これは加熱によりミセルコア上で PNIPAM シェルが崩壊・凝集した際に、表面のテオフィリン/イミダゾール残基の相互作用を阻害したことに起因したものと考えられる。比較として合成した T/I 比が 29/71、13/87 のものでは顕著な蛍光発光は見られなかった (Figure S4-8A)。T/I 比が 77/23 の **P2** が最も良い発光特性を示したことは特筆すべきことである。同じ濃度のクロロホルム溶液中でも **P2** は蛍光発光を示すが、その強度はミセル状態よりも弱まる (Figure S4-8C)。しかし興味深いことに、同じ条件で DMSO または DMAc 中で測定した場合は強い発光強度を示した (Figure S4-

8-B)。このテオフィリンとイミダゾールを同時に導入した系で蛍光強度がより高まる傾向は PNIPAM ブロックを持たない PVBC ホモポリマー (PVB(T/I)) においても同様であった (Figure S4-9A)。PVB_{T74} の蛍光強度に比べ、T/I 比が 77/23 である PVB(T/I)₇₄ の強度は約 1.5 倍の値を示し、イミダゾールとの同時導入の効果を示唆している。比較として固体状態での **P1**、**P2** の蛍光測定を行うと、ミセル状態、分子溶液状態の蛍光強度に比べた蛍光強度は著しく低下した (Figure S4-9B)。

P2 による蛍光発光機構の理解を深めるため 2 種の水溶液を作製し蛍光測定を行った。ひとつはテオフィリンとイミダゾール分子を 77/23 のモル比になるように混合した溶液、一方はテオフィリンのみ含有の **P1** とイミダゾールのみ **P3** を 77/23 のモル比になるように混合した溶液である。前者は **P2** 溶液中のテオフィリンとイミダゾールの存在量に合わせ、それぞれ 3.4 mmol、1.03 mmol になるように調製したがほとんど蛍光発光を示さなかった。後者の **P1** と **P3** の混合溶液でも蛍光発光の増大は示さなかった (Figure S4-8D, F)。さらにイミダゾール分子と **P1** ミセルを T/I 比が 7/3 あるいは 5/5 になるように混合した場合も蛍光発光の増大は観察されなかった (Figure S4-8E)。これらの結果はテオフィリンとイミダゾールを含む混合物からは低分子であっても高分子ペンダント状態であっても蛍光発光の強化は見られないことを証明している。**P2** だけがテオフィリンとイミダゾールのランダム共重合構造であり、イミダゾールが適切な割合で配合されているといえる。**P2** による蛍光特性はテオフィリンとイミダゾール置換基の分子鎖内相互作用による会合がエキシプレックスを形成したものであり、主鎖内での一定割合の T/I 交互性が一因であると考えられる。キサンチンと類似した構造をもつテオフィリン平面がイミダゾールとともに鎖内で凝縮されるとイミダゾール環に比べ電子不足になる。その結果イミダゾール平面が電子ドナーとなりテオフィリンとの π - π 相互作用は電荷移動的な効果をもたらす。また **P2** は UV-vis 測定 (Figure 4-2B) によりこれら π - π 相互作用によって 340 nm 周辺に吸収を持つことが示されている。さらに **P2** の励起スペクトルから、クロロホルム溶液中でもミセル分散液中でも 365 nm での吸収が極大励起波長になると判明した。この吸収はポリマー側鎖中に密に導入されたテオフィリン-イミダゾールによる電荷移動会合の発光に大きく寄与していることが示唆されている。

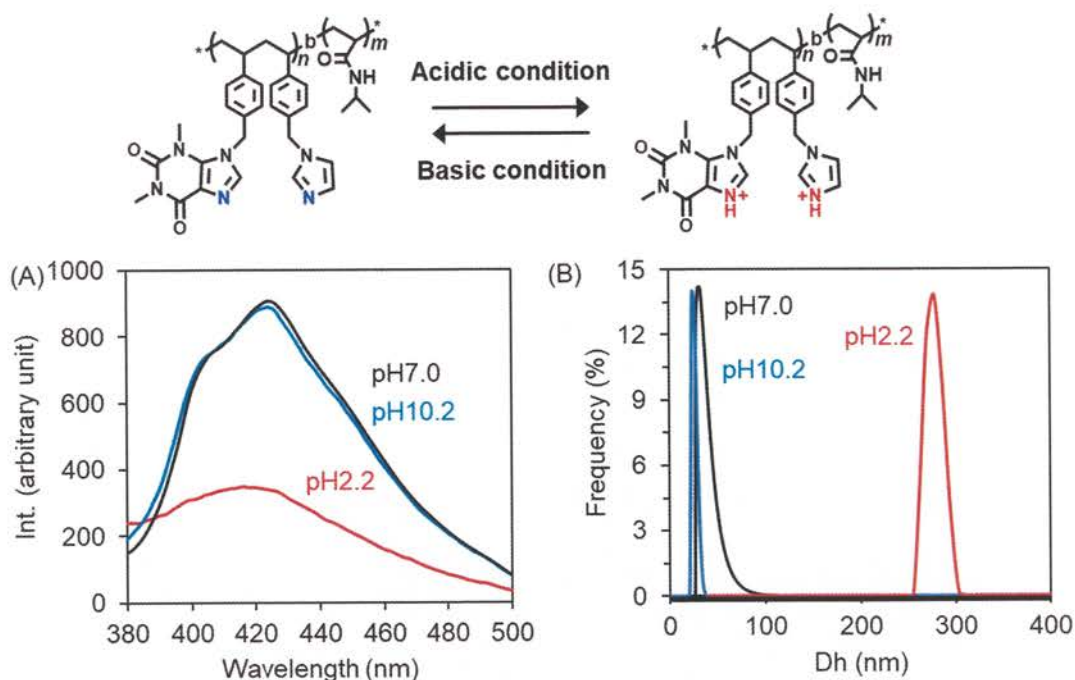


Figure 4-7. (A) Fluorescence emission spectra ($\lambda_{\text{exc}} = 365 \text{ nm}$) of P2 dispersion in different pH at 25 °C. (B) DLS traces of P2 dispersion in different pH at 25 °C (the polymer concentration: 2 g/L).

前述のようにテオフィリン環あるいはイミダゾールのイミン基 $-\text{C}=\text{N}-$ が塩基性として、金属カチオンへのリガンドかつあるいはプロトンアクセプターとして働く。それゆえイミン基 $-\text{C}=\text{N}-$ はプロトンを受容あるいは金属イオンとキレート化できるためこれら会合による蛍光発光は pH や金属イオンに応答すると考えられる。

そこで pH の異なる **P2** ミセル分散液を調製し蛍光挙動の変化を追った。あらかじめ HCl あるいは NH_3 で pH を調整した水に DMSO に溶解させた **P2** を滴下させ、それぞれ pH2.2 と pH10.2 の溶液を調製した。Figure 4-7A に示したように、蛍光強度は pH7.0 と pH10.2 で同じ値であったが、pH2.2 では著しく消光した。これは明らかにイミン基 $-\text{C}=\text{N}-$ のプロトン化により発光に寄与していたテオフィリンとイミダゾール間の $\pi-\pi$ 相互作用が弱まったためである。また同時に pH の異なる溶液中でのミセルの流体力学直径を DLS 測定により評価した。ミセル直径は中性 (pH7.0) と塩基性 (pH10.2) ではそれぞれ 33 nm と 25 nm とほとんど変化がなかったのに対して、酸性条件 (pH2.2) で 278 nm まで増大した。この変化はコア-シェルミセル中において、疎水性ブロック内のプロトン化された $-\text{N}=\text{C}-$ 基が疎水性ブロック同士の $\pi-\pi$ 相互作用と疎水性を弱めたことに起因していると考えられる。また、コア部分のプロトン化による荷電反発がコ

ア密度を低下させ、結果的に直径の増大を起こしたと考えられる。このような pH 条件の異なる中での **P2** の熱応答は Figure S4-10A のように酸性条件で大きな変化が現れた。pH2.2 の溶液における 500 nm での透過率の変化をみると、室温の時点ですでに 15% と大変低い値を示している。対して室温における pH7.0 と pH10.2 条件では、ともに約 90% の高い透過率を示した。加熱すると pH2.2 では 31 °C で完全に白濁し、pH7.0 では 38 °C で 74% まで少し透過率が低下した。また pH10.2 では 36 °C で 84% まで透過率が低下した。このように溶液を LCST 以上に加熱した場合は、高い pH でより小さなミセルに、低い pH ではより大きなミセルになったが PNIPAM ホモポリマーではこのような pH 応答による熱応答の変化は見られなかった。加えて励起スペクトルでは極大励起波長が pH2.2 で pH7.0 と pH10.2 より低下した (Figure S4-10B)。この点でも pH による影響が見て取れる。疎水性ブロックの側鎖にランダムにテオフィリン/イミダゾールが導入された **P2** は π 共役ポリマー鎖を持たないながらも pH と熱に応答する発光性高分子であると結論付けられる。これらのフォトルミネッセンスは隣接したテオフィリンとイミダゾール間における電荷移動に類似した π - π 相互作用によって発生し、このイミン基 -C=N- 同士の密集によるクラスターが発光の中心的役割を担っている^{49, 52}。イミン -C=N- がプロトン化するとテオフィリンとイミダゾール間の π - π 相互作用を阻害し発光強度が弱くなる。これらは明らかにイミダゾール側鎖を有する光発光性材料としてはイミダゾール系共役高分子鎖をもたない新たな例であり、塩基性 -C=N- によってプロトンだけでなく金属カチオンとの相互作用を持てることから金属イオンとのセンサー機能に期待が持たれる。

4.3.4 パラジウム選択センサーとしての役割

テオフィリン-Pd 錯体含有のさまざまなナノ/マクロ高分子材料が報告されてきた^{54, 56}。イミダゾールとは異なり、テオフィリン (T) は強酸性条件下であっても Pd(II) とキレートを形成することができるため T-Pd-T からなる安定した複合体の形成が可能となる。またテオフィリンを有することで複数の金属イオンを混合させた場合でも選択的にパラジウムを吸着できる材料が作製できる。**P2** の発光性能と金属カチオンとの関係を調査するため、少量の **P2**-DMSO 溶液を過剰な 2.5 mM 酢酸金属水溶液 (Ag^+ , Ba^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Pd^{2+}) に滴下することにより **P2** ミ

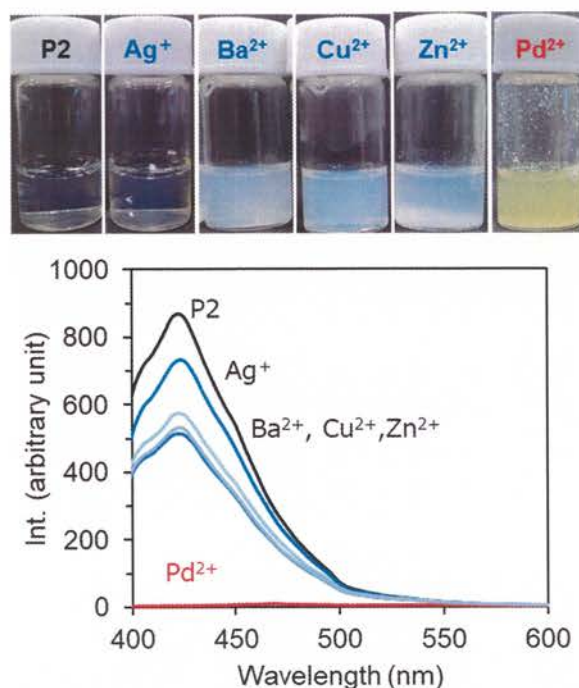


Figure 4-8. (A) Fluorescence emission spectra ($\lambda_{\text{ex}} = 365 \text{ nm}$) of micellar dispersion of P2 (2 g/L) in the presence of 2.5 mM metal acetate at room temperature. (B) Photographs of the dispersions.

セル分散液を調製した。Figure 4-8 に示したのは **P2** と金属の混合液における蛍光測定の結果である。ここでは Ag^+ , Ba^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} だとやや消光する様子が見られるが、特に Pd^{2+} では完全に消光した。 Ag^+ , Ba^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} が含まれるミセル分散液は長時間放置しても濁度がほとんど変わらず、沈殿もしない (Figure 4-8B)。しかし、 Pd^{2+} と混合した場合、液中では即座に黄色沈殿が形成し、これらを $45 \text{ }^\circ\text{C}$ まで加熱するとゲルに類似した凝集体が形成する (Figure S4-11A)。金属イオンと錯化した後の PNIPAM シェル層は変わらず素早い熱応答性を発現することが出来る。 Pd^{2+} と混合したときの **P2** はすぐに沈殿を生じるが、この時の沈殿物を SEM で観察すると直径が 200 nm 程度のロッド状構造を取っていることが示された (Figure S4-11B)。これはテオフィリン残基と相互作用する Pd がミセル同士の架橋剤の役割を担うことで形成したと考えられる。言い換えれば、**P2** は Pd^{2+} 応答と熱応答を兼ね備えているといえる。**P2** と Pd イオンを混合するタイミングは **P2** の自己組織化プロセスに大きな影響を与え、**P2** の自己組織化後に Pd^{2+} を添加すると T-Pd-T 架橋がポリマー鎖内およびポリマー鎖間で生じミセル間の架橋も誘起する可能性がある。いずれの経路を経たとしても、テオフィリンとイミダゾール間の π - π 相互作用を弱めたり阻害したりするためフォトルミネッセンスは消光する。

この **P2** の金属感知能は Pd イオンセンサーとして利用できる可能性を示唆している。特に **P2** ミセル分散液は低濃度の Pd(II) (0.025 mM, 5.6 ppm) をも感知することが判明した。この希薄な濃度では **P2**/Pd 分散液に沈殿は生じず、透明性を示すミセル分散液を維持した。**P2** (2 mg/mL)/Pd (0.025 mM) 溶液中のミセルを SEM により観察すると、溶液をキャストした基板表面では膜が形成し、直径 100 nm の大量のミセルが分散していることが分かる (Figure S4-11C)。**P2** のみの例に比べて **P2** (2 mg/mL)/Pd (0.025 mM) ミセル溶液の蛍光強度は 20%程度まで低下する。このように両親媒性ブロック共重合体 **P2** の蛍光は Pd(II) が存在しなければ”ON”に、Pd(II) が添加されれば”OFF”となる”ON/OFF”機能を持つため、水中における Pd イオンのセンサーとしての良い選択肢のひとつになると考えられる (Figure S4-11D)。

P2 ミセルの挙動のなかで、Pd イオンの前添加と後添加という添加の順は大きな意味を持つ。Figure S4-12A では Pd イオンの後添加によるミセル分散液の変化を写真と SEM 画像で示した。Pd イオンの後添加による **P2**/Pd ミセル溶液はあらかじめ調整した **P2** 分散液に Pd イオン (2.5 mM) を滴下することで得られ、即座にオレンジ色の沈殿が生成した。この着色は theophylline /Pd(II)錯体の生成による可視光域 (400-500 nm) での吸収である⁵⁵。この沈殿を SEM により観察すると、ファイバー状のネットワークが観察され、このファイバーは球状ミセル同士が融着

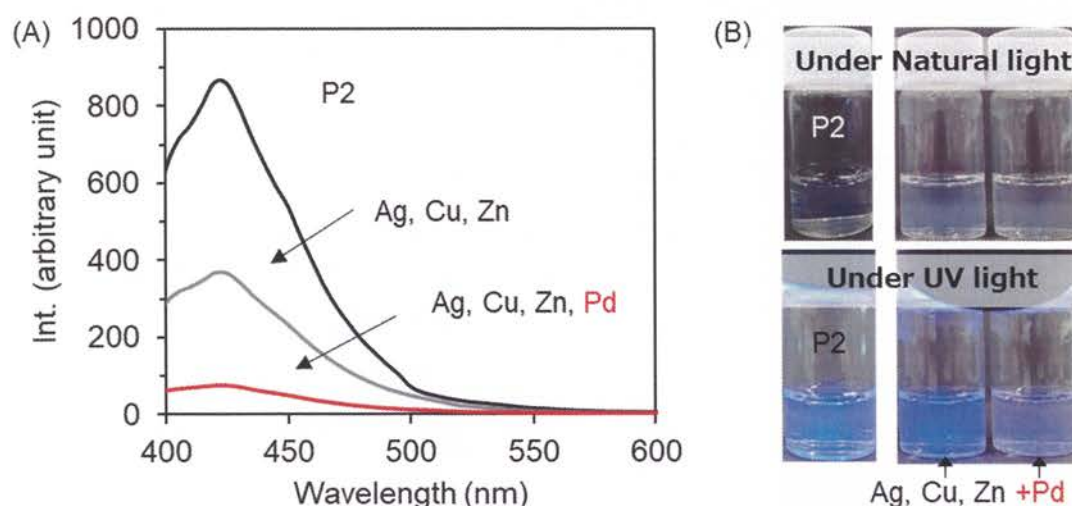


Figure 4-9. (A) Fluorescence emission spectra ($\lambda_{ex} = 365$ nm) of micellar dispersions **P2** (2 g/L) containing mixed metal acetates (Ag^+ , Zn^{2+} , Cu^{2+} and Pd^{2+} , each ion is 0.025 mM) at room temperature. (B) photographs of the dispersions of **P2** with and without metal acetates under ambient (top) and under UV light irradiation (bottom).

する形で共連続構造を取っている。おそらく、この構造ではミセル表面に存在するテオフィリンやイミダゾールとキレート化することでミセル間の融着を起こすが、この変化がミセルを破壊することはない。また Pd イオン濃度を希薄にした 0.025 mM (5.6 ppm) の条件では **P2** ミセル分散液に添加した後も沈殿は生成しなかった (Figure S4-12B)。しかし、ミセル表面のテオフィリン/イミダゾール置換基が Pd イオンとキレート化することで、蛍光強度は **P2** のみのものに比べて 9%まで低下した (Figure S4-12C)。**P2** ポリマーの Pd 選択性の評価を行うため各種金属イオンを混合した溶液での蛍光強度の変化を観察した。Figure 4-9A に示す通り、Ag⁺、Zn²⁺、Cu²⁺を混合した金属溶液の場合は **P2** の蛍光強度は 44%まで低下した。対してこの 3 種の金属イオン加えて、Pd²⁺ (0.025 mM) を混合させて蛍光測定を行うと 8.7%まで蛍光強度が低下した。この消光の効果は明らかに Pd イオンを添加したことによる影響である。Pd²⁺を Ag⁺、Zn²⁺、Cu²⁺と混合した際、**P2** は選択的に Pd を認識して消光している。Figure 4-9B に示した写真では Pd²⁺を加えた場合と加えてない場合で UV 照射による発光の度合いが Pd²⁺を含む方が肉眼でも大きく消光していることが分かる。

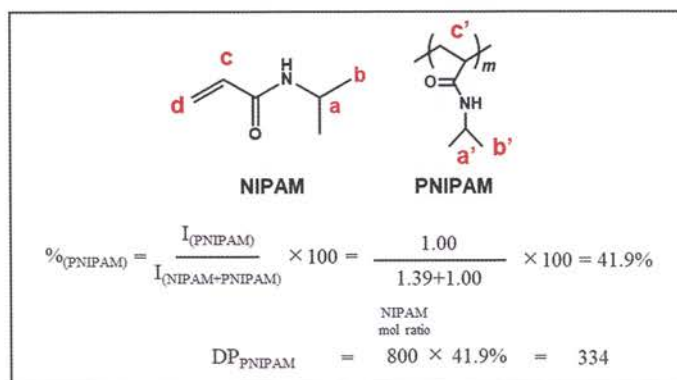
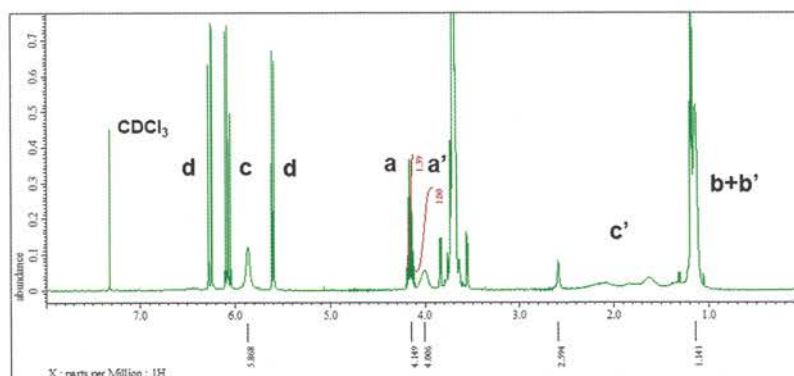
4.4 総括

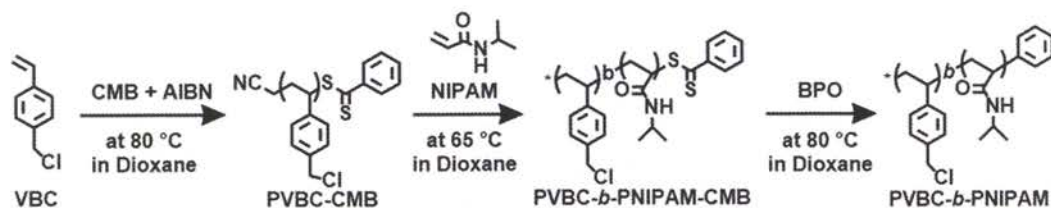
本章では新規の光発光性両親媒性ブロック共重合体 PVB(T/I)-*b*-PNIPAM が水中で熱/pH 応答を有し、かつ鋭敏にパラジウムイオンに応答することを報告した。このブロック共重合体は従来の π -共役系ではなく、疎水性のテオフィリンあるいはイミダゾールとのランダム分子側鎖からなる非共役系発色団が青色の発光を示す。同一高分子鎖内のテオフィリンとイミダゾール間で生じる π - π 相互作用は電荷移動錯体に類似した効果を示し、UV 照射下で青色に発光する。この両親媒性ブロック共重合体は疎水性発光ブロックと親水性の熱応答性 PNIPAM からなり、水性媒体中でコア-シェルミセルへと自己組織化する。コアは pH と金属イオンにも応答する蛍光発光性ブロックで構成され、シェル層は熱応答性 PNIPAM で成る。したがって、このミセルは光、熱、pH、金属イオンとマルチに応答することができる。ここで重要なのはミセルが金属イオン混合溶液中に存在した場合、特に Pd イオンセンサーとして働き UV 照射下では著しく消光という特異性である。この消光はテオフィリン残基が並外れたパラジウムへの配位能力を有していることに由来し、それによりテオフィリン/イミダゾールの発光部位 (発色団) が解離するためである。ここで述べられた発見は非 π 共役イミダゾール誘導体をポリマー側鎖に導入することで蛍光発光性を強化させた初めての例である。PVB(T/I)-*b*-PNIPAM 系の高分子は熱応答性を維持したまま、担体、触媒、センサーなどのアプリケーションへの応用を容易にかなえることのできるスマート材料のひとつといえる。

4.5 Support information

PVBT₇₄ の合成: PVBC₇₄ (0.10 g, Mw: 11300, molCl: 0.66 mmol)、 theophylline (119 mg, 0.66 mmol)、 K₂CO₃ (91 mg, 0.66 mmol)、 KI (109 mg, 0.66 mmol) を 30 mL ナスフラスコに量り取り DMF (10 mL) に溶解させた後、80 °C で 24 時間反応させた。室温まで空冷後に脱イオン水/メタノール混合液 (v/v = 1/1) に沈殿させ遠心で沈殿物を回収した。同じ操作を 3 回繰り返して精製した後は減圧乾燥させ白色粉末を得た。 (yield: 189 mg, 97%, Conv.: Theo = 97%)

PNIPAM₃₃₄ の合成: NIPAM (6.00 g, 53.0 mmol)、 2-(2-Cyanopropyl)dithiobenzoate (14.5 mg, 68 μmol)、 AIBN (2.9 mg, 18 μmol) と 1,4-dioxane (18.0 g, 75wt%) をシュレンク管に量り取り完全溶解するまで攪拌した。凍結-脱気-融解操作を 3 回繰り返して脱酸素を行ったのちに 70 °C で 21 時間の反応を行った。反応液は THF で希釈し過剰な n-ヘキサンに滴下した。同様の再沈殿精製を 3 回行ったのちに固体を 40 °C で加熱減圧乾燥させ桃色粉末を得た。 (Yield: 2.2 g, PDI: 1.392) また NIPAM の重合度は沈殿精製前の溶液を ¹H NMR 測定して得た結果から、以下の転化率法により求めた。



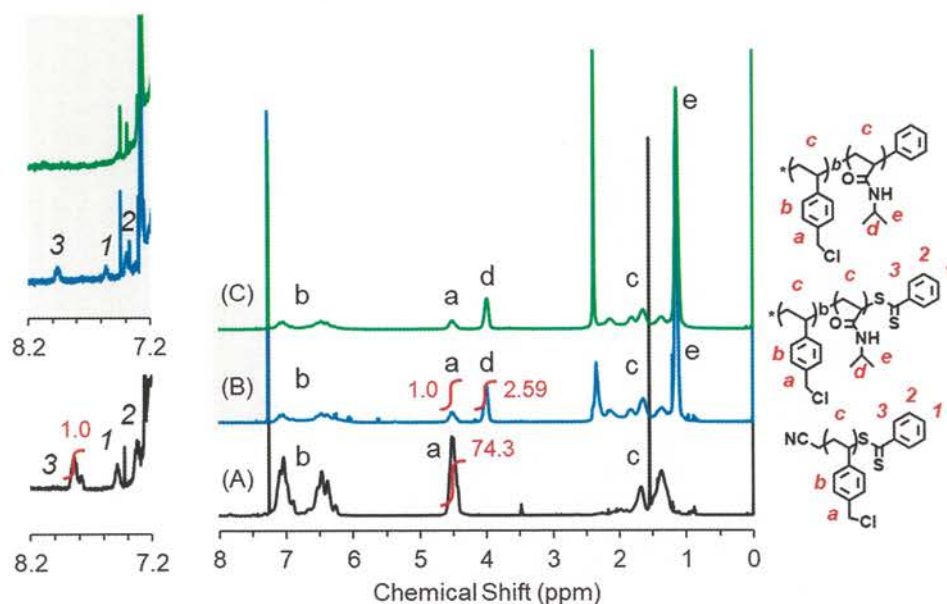


Scheme S4-1. Synthesis of diblock copolymers

Table S4-1 Synthesis and characterization data of diblock copolymers

Sample	Feed ratio	R time (h)	Mn(NMR) (kg/mol)	Mn(GPC) (kg/mol)	Mw/Mn ^{a)}	Conv. ^{b)} (%)
PVBC ₇₄ -CMB	[VBC]/[CMB]/[AIBN] = 100/1/0.25	21	11	12	1.15	74
PVBC ₇₄ - <i>b</i> -PNIPAM ₃₈₃ -CMB	[NIPAM]/[CTA]/[AIBN] = 1000/1/0.3	6	55	76	1.26	38
PVBC ₇₄ - <i>b</i> -PNIPAM ₃₈₃	[PVBC- <i>b</i> -PNIPAM-CMB]/[BPO] = 1/20	1	55	99	1.61	-

a) As determined by GPC. b) Calculated by using the ¹H NMR data.



DP of PVBC _n	$\frac{1.0}{2H}$:	$\frac{74.3}{2H}$	=	$1 : n$
DP of PNIPAM _m	$\frac{1.0}{2H}$:	$\frac{2.59}{1H}$	=	$74 : m$

Figure S4-1. ¹H NMR spectra of (A) PVBC₇₄-CMB, (B) PVBC₇₄-*b*-PNIPAM₃₈₃-CMB, (C) PVBC₇₄-*b*-PNIPAM₃₈₃ in CDCl₃ at 25 °C, and calculation of DP of the polymers by integrated ratio of the selected protons.

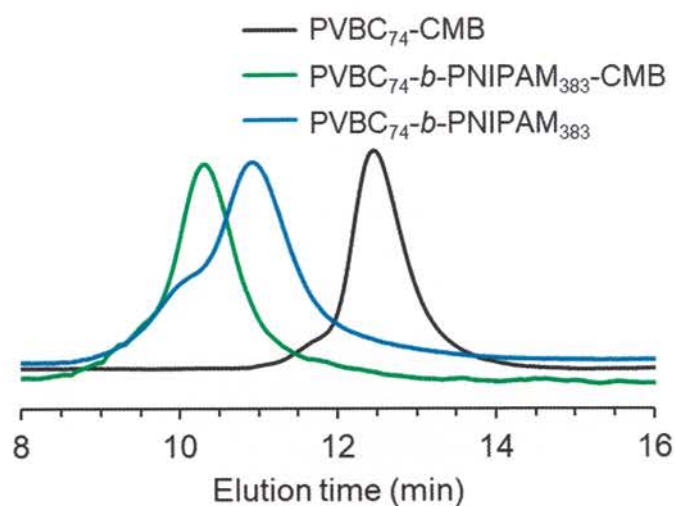
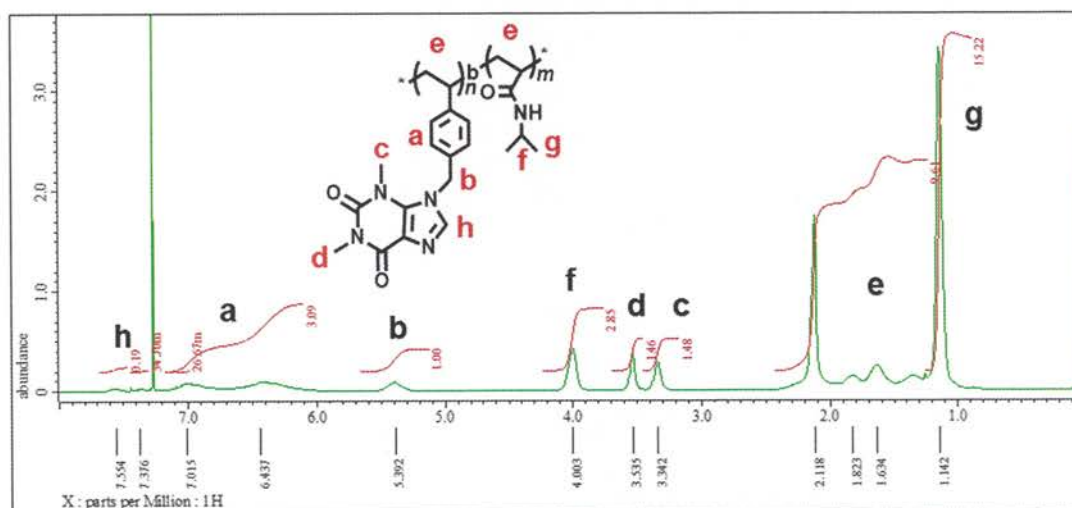


Figure S4-2. GPC profiles of the PVBC₇₄-CMB homopolymer and the PVBC₇₄-*b*-PNIPAM₃₈₃ (P0) block copolymer.



$$I_{(\text{PVBC})} = \frac{I_b}{2H \times 74} \quad I = \text{integral value}$$

$$I_{(\text{Theo})} = \frac{I_c}{3H \times 74}$$

$$\%_{(\text{Theo})} = \frac{I_{(\text{Theo})}}{I_{(\text{PVBC})}} \times 100 = \frac{\frac{1.48}{3H \times 74}}{\frac{1.00}{2H \times 74}} \times 100 = 98.6\%$$

Figure S4-3. Calculation of introduction ratio of theophylline (P1) by integrated ratio analysis method from the characteristic peaks.

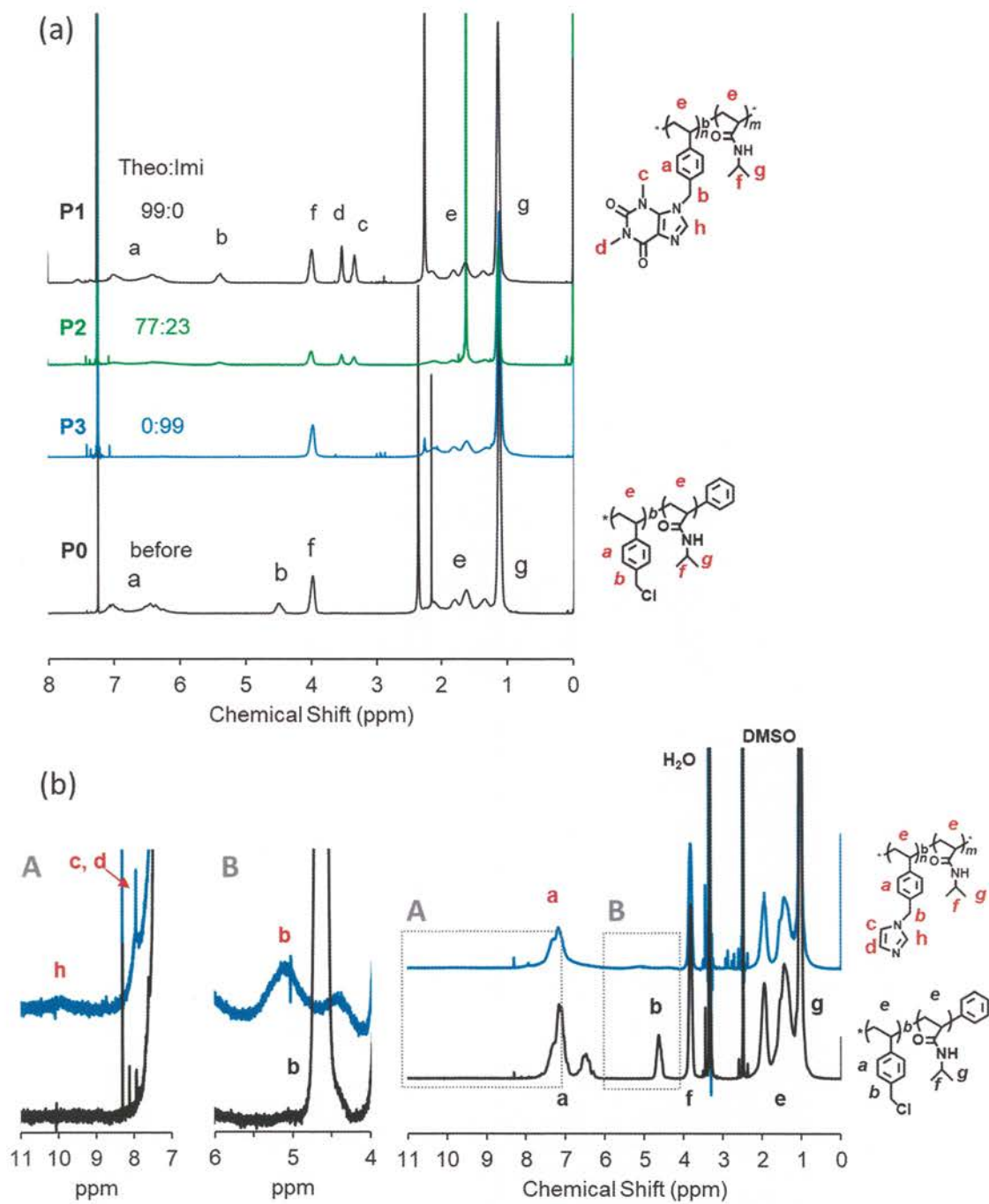


Figure S4-4. ^1H NMR spectra of (a) **P0** ~ **P3** in CDCl_3 and (b) **P3** (blue line) and **P0** (black line) in DMSO-d_6 at 25 °C.

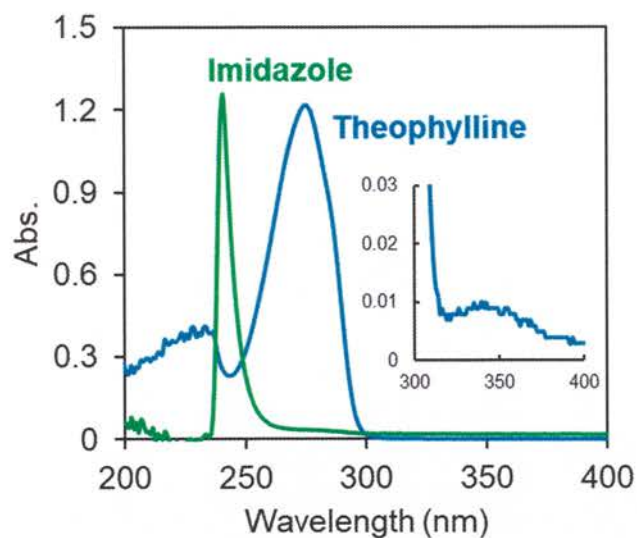


Figure S4-5. UV-vis spectra of theophylline and imidazole in CHCl_3 at 25 °C.

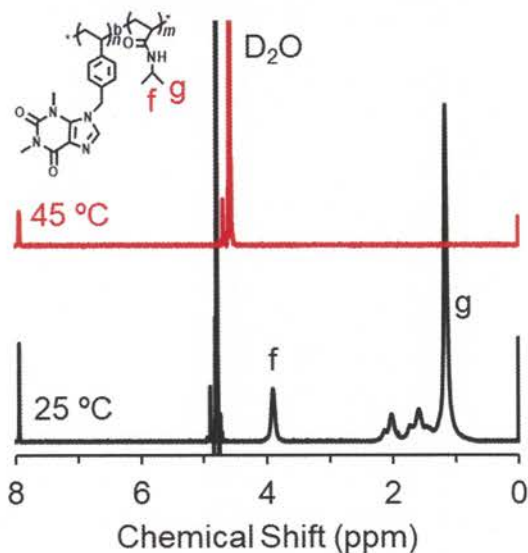


Figure S4-6. ^1H NMR spectra of **P1** in D_2O conducted at different temperature.

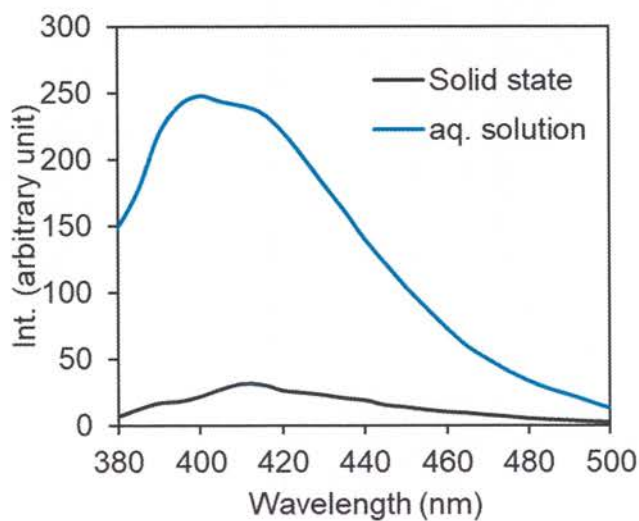


Figure S4-7. PL spectra ($\lambda_{\text{ex}} = 345 \text{ nm}$) of theophylline (solid state and aqueous solution, 2 g/L).

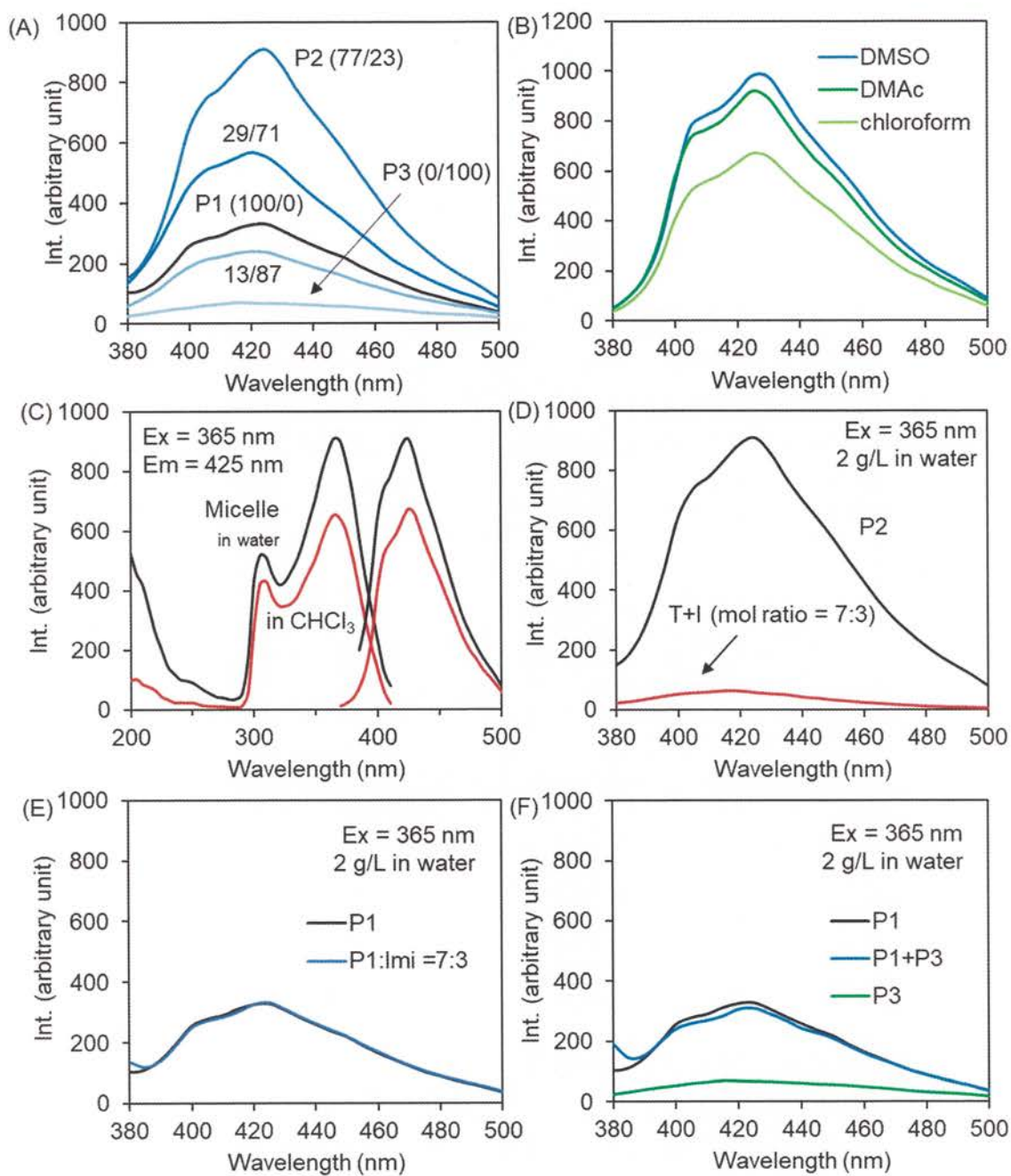


Figure S4-8. Fluorescence and excitation spectra of (A) PVB(T/I)-*b*-PNIPAM series solution (in water, 2 g/L), (B) **P2** in different solvent (2 g/L) and (C) **P2** in aqueous dispersion (2 g/L) and in CHCl₃ solution at rt. Fluorescence spectra of (D) **P2** in aqueous dispersion (2 g/L) and the solution of theophylline-imidazole mixture (mol ratio = 7:3), (E) **P1** dispersion containing imidazole in different concentration and (F) **P1** and **P3** mixed aqueous dispersion (2 g/L).

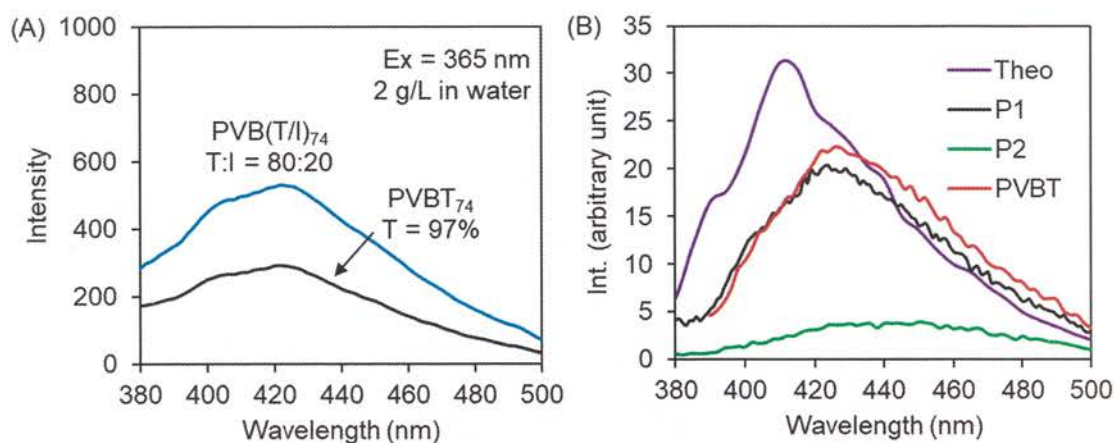


Figure S4-9. (A) Fluorescence and excitation spectra of PVB(T/I)₇₄ series solution (in water, 2 g/L), (B) Solid-state UV/Vis spectra of **P1**, **P2**, PVB(T/I)₇₄ and theophylline molecule.

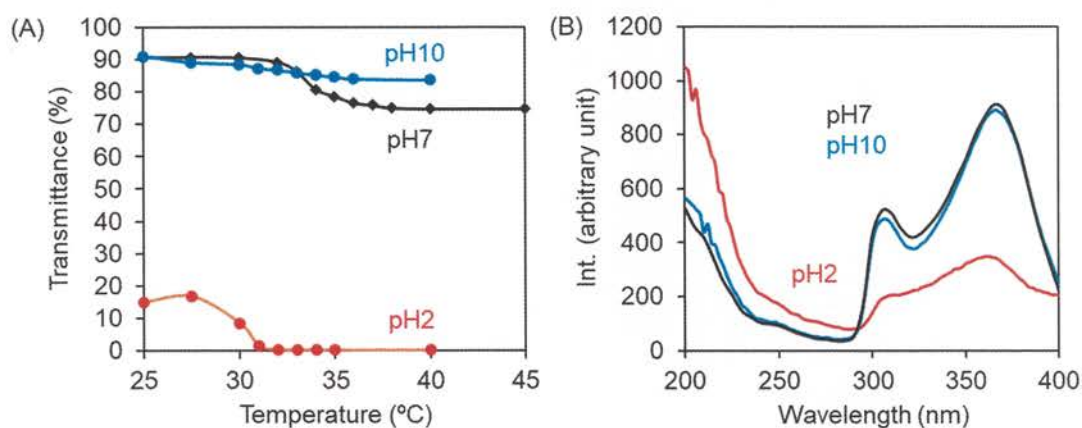


Figure S4-10. (A) The relationship between transmittance of aqueous dispersion of **P2** (2 g/L) at different pH and temperature at $\lambda = 500$ nm. (B) Excitation spectra of aqueous dispersion of **P2** (2 g/L) at different pH.

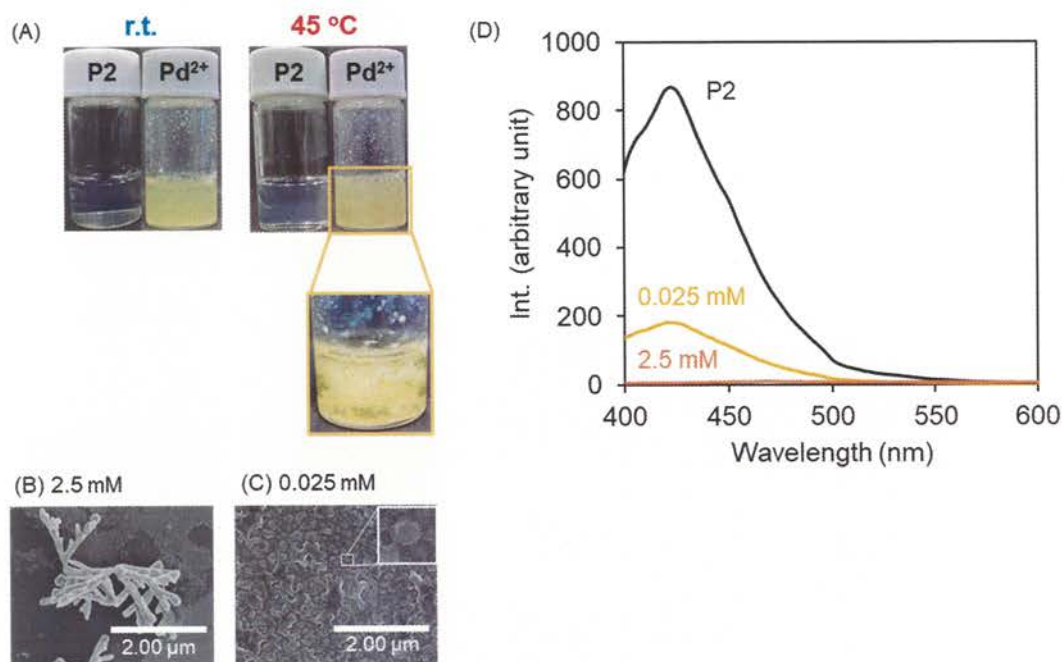


Figure S4-11. (A) Photographs of aqueous dispersion of **P2**/ Pd^{2+} (2.5 mM) at different temperature. SEM images of **P2**/ Pd^{2+} (B: Pd^{2+} =2.5 mM, C: Pd^{2+} =0.025 mM) prepared at room temperature. (D) Fluorescence emission spectra ($\lambda_{\text{ex}} = 365 \text{ nm}$) of aqueous dispersion **P2**(2 g/L)/ Pd^{2+} containing 2.5 mM or 0.025 mM palladium acetate at rt.

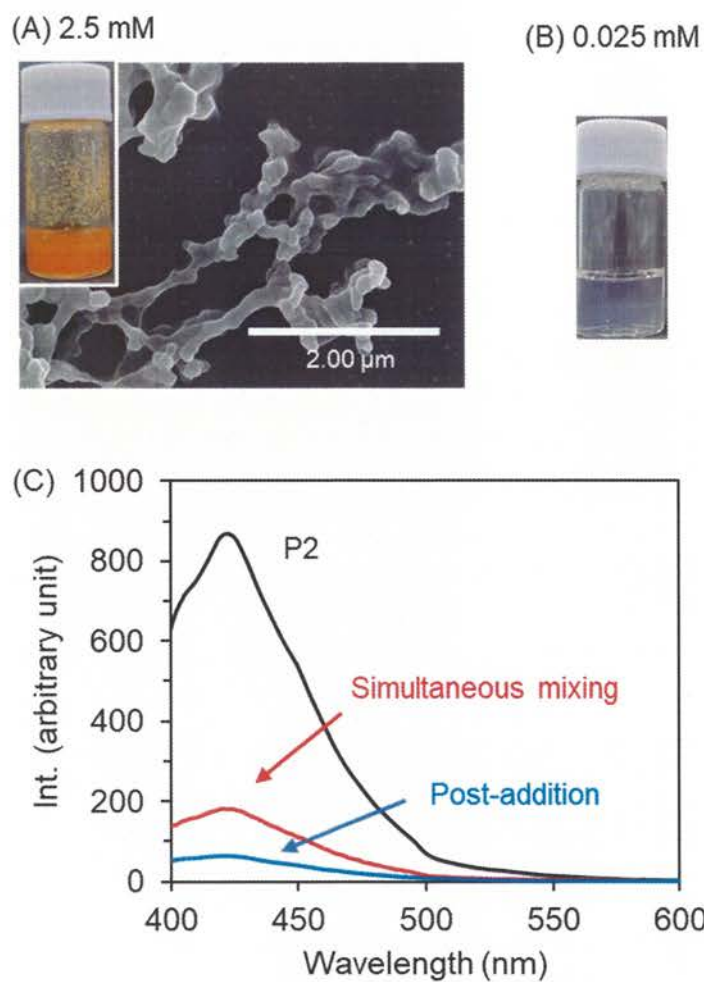


Figure S4-12. SEM image and photographs of **P2** dispersion after post-addition of Pd^{2+} (A: 2.5 mM, B: 0.025 mM) at room temperature. (C) Fluorescence emission spectra ($\lambda_{\text{ex}} = 365 \text{ nm}$) of **P2** dispersions (2 g/L) containing 0.025 mM palladium acetate at rt.

4.6 参考文献

- [1] a) Y. Mai, A. Eisenberg, *Acc. Chem. Res.* 2012, **45**, 1657-1666; b) I. Dewald, A. Fery, *Adv. Mater. Interfaces* 2017, **4**, 1600317; c) B. T. Mai, S. Fernandes, P. B. Balakrishnan, T. Pellegrino, *Acc. Chem. Res.* 2018, **51**, 999-1013; d) J. Gaitzsch, X. Huang, B. Voit, *Chem. Rev.* 2016, **116**, 1053-1093; e) Y. Lu, J. Lin, L. Wang, L. Zhang, C. Cai, *Chem. Rev.* 2020, **120**, 4111-4140.
- [2] W. Chen, L. Su, P. Zhang, C. Li, D. Zhang, W. Wu, X. J., *Polym. Chem.* 2017, **8**, 6886-6894.
- [3] S. Osawa, K. Osada, S. Hiki, A. Dirisala, T. Ishii, K. Kataoka, *Biomacromolecules* 2016, **17**, 354-361.
- [4] M. Karesoja, E. Karjalainen, S. Hietala, H. Tenhu, *J. Phys. Chem. B* 2014, **118**, 10776-10784.
- [5] B. Hazer1, E. Ayyıldız1, F. Bahadır, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 2017, **94**, 1141-1151.
- [6] J. Herzberger, D. Kurzbach, M. Werre, K. Fischer, D. Hinderberger, H. Frey, *Macromolecules* 2014, **47**, 7679-7690.
- [7] M. Rabyk, A. Destephen, A. Lapp, S. King, L. Noirez, L. Billon, M. Hruby, O. Borisov, P. Stepanek, E. Deniau, *Macromolecules* 2018, **51**, 5219-5233.
- [8] C. Yang, J. Xiao, W. Xiao, W. Lin, J. Chen, Q. Chen, L. Zhang, C. Zhang, J. Guo, *RSC Adv.* 2017, **7**, 27564-27573.
- [9] C. Sun, X. Jiang, B. Li, S. Li, X. Z. Kong, *ACS Sustainable Chem. Eng.* 2021, **9**, 5166-5178.
- [10] S. Jana, A. Bose, A. Saha, T. K. Mandal, *J. Polym. Sci., A, Polym. Chem.* 2017, **55**, 1714- 1729.
- [11] Z. Sun, G. Liu, J. Hu, S. Liu, *Biomacromolecules* 2018, **19**, 2071-2081.
- [12] J. Zhang, Z.-H. Zhou, L. Li, Y.-L. Luo, F. Xu, Y. Chen, *Mol. Pharmaceutics* 2020, **17**, 1100-1113.
- [13] J. He, L. Tremblay, S. Lacelle, Y. Zhao, *Polym. Chem.* 2014, **5**, 5403-5411.
- [14] J. Jiang, Q. Shu, X. Chen, Y. Yang, C. Yi, X. Song, X. Liu, M. Chen, *Langmuir* 2010, **26**, 14247-14254.
- [15] M.-C. Tu, J. A. Cheema, U. H. Yildiz, A. Palaniappan, B. Liedberg, *J. Mater. Chem. C* 2017, **5**, 1803-1809.
- [16] V. Y. Grinberg, T. V. Burova, N. V. Grinberg, A. P. Moskalets, A. S. Dubovik, I. G. Plashchina, A. R. Khokhlov, *Macromolecules* 2020, **53**, 10765-10772.

- [17] M. Qi, K. Li, Y. Zheng, T. Rasheed, Y. Zhou, *Langmuir* 2018, **34**, 3058-3067.
- [18] M. Tamaki, D. Fukushima, C. Kojima, *RSC Adv.* 2018, **8**, 28147-28151.
- [19] J. S. Scarpa, D. D. Mueller, I. M. Klotz, *J. Am. Chem. Soc.* 1967, **89**, 6024-6030.
- [20] S. Zhou, S. Fan, S. C. F. Au-Yeung, C. Wu, *Polymer* 1995, **36**, 1341-1346.
- [21] Y. Qu, X. Chang, S. Chen, W. Zhang, *Polym. Chem.* 2017, **8**, 3485-3496.
- [22] S. Won, D. J. Phillips, M. Walker, M. I. Gibson, *J. Mater. Chem. B* 2016, **4**, 5673-5682.
- [23] J. Xu, J. Ye, S. Liu, *Macromolecules* 2007, **40**, 9103-9110.
- [24] G. Wu, S.-C. Chen, C.-L. Liu, Y.-Z. Wang, *ACS Nano* 2015, **9**, 4649-4659.
- [25] Y. Niko, G. Konishi, *Macromolecules* 2012, **45**, 2327-2337.
- [26] J. Tian, L. Xu, Y. Xue, X. Jiang, W. Zhang, *Biomacromolecules* 2017, **18**, 3992-4001.
- [27] L. Yan, X. Gu, Z. Wang, Z. Qi, *Chem. Select* 2018, **3**, 3406-3410.
- [28] J. Lee, H. Yang, C. H. Park, H.-H. Cho, H. Yun, B. J. Kim, *Chem. Mater.* 2016, **28**, 3446- 3453.
- [29] J. Li, K. Liu, H. Chen, R. Li, M. Drechsler, F. Bai, J. Huang, B. Z. Tang, Y. Yan, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2017, **9**, 21706-21714.
- [30] J. D. Harris, C. Mallet, C. Mueller, C. Fischer, K. R. Carter, *Macromolecules* 2014, **47**, 2915-2920.
- [31] Y.-J. Zhao, K. Miao, Z. Zhu, L.-J. Fan, *ACS Sens.* 2017, **2**, 842-847.
- [32] P. Tzeng, C.-C. Kuo, S.-T. Lin, Y.-C. Chiu, W.-C. Chen, *Macromol. Chem. Phys.* 2010, **211**, 1408-1416.
- [33] J. Wu, B. Xu, Z. Liu, Y. Yao, Q. Zhuang, S. Lin, *Polym. Chem.* 2019, **10**, 4025-4030.
- [34] M. Wang, L. Xu, M. Lin, Z. Li, J. Sun, *Polym. Chem.* 2021, **12**, 2825-2831.
- [35] P. Kumari, M. K. Bera, S. Malik, B. K. Kuila, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2015, **7**, 12348- 12354.
- [36] Y. Zhao, C. Shi, X. Yang, B. Shen, Y. Sun, Y. Chen, X. Xu, H. Sun, K. Yu, B. Yang, Q. Lin, *ACS Nano* 2016, **10**, 5856-5863.
- [37] Y. Zhao, Y. Wu, S. Chen, H. Deng, X. Zhu, *Macromolecules* 2018, **51**, 5234-5244.
- [38] C. C. Yang, Y. Tian, A. K.Y. Jen, W. C. Chen, *J. Polym. Sci., A, Polym. Chem.* 2006, **10**, 5495-5504.
- [39] J. Chen, D. Wang, A. Turshatov, R. Munoz-Espi, U. Ziener, K. Koynov, K. Landfester, *Polym. Chem.*

2013, **4**, 773-781.

[40-a] H. Chen, Y. Fan, N. Zhang, S. Trepout, B. Ptissam, Annie Brulet, B. Z. Tang, M.-H. Li, *Chem. Sci.* 2021, **12**, 5495-5504.

[40-b] R. Hu, N. L. C. Leungb and B. Z. Tang, *Chem. Soc. Rev.*, 2014, **43**, 4494.

[41-a] D. Giri and S. K. Patra, *RSC Adv.*, 2015, **5**, 79011–79021.

[41-b] P. Yu, Y. Xiao, *Materials* 2021, **14**, 2349.

[42] J. Kulhánek, F. B. Beilstein, *J. Org. Chem.* 2012, **8**, 25-49.

[43] S. Saxer, C. Marestin, R. Merciera, J. Dupuy, *Polym. Chem.* 2018, **9**, 1927-1933.

[44] S. Somasundaram, E. Kamaraj, S. J. Hwang, S. Park, *Spectrochim. Acta Part A* 2018, **191**, 325.

[45] K. Takagi, K. Sugihara, T. Isomura, *J. Polym. Sci., A, Polym. Chem.* 2009, **47**, 4822-4829.

[46] M. Sun, C.-Y. Hong, C.-Y. Pan, *J. Am. Chem. Soc.* 2012, **134**, 20581-20584.

[47] W. Z. Yuan, Y. Zhang, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* 2017, **55**, 560-574.

[48] Q. Zeng, T. Feng, S. Tao, S. Zhu, B. Yang, *Light: Sci. & Appl.* 2021, **10**, 142.

[49] S. G. Liu, N. Li, Y. Ling, B. H. Kang, S. Geng, N. B. Li, H. Q. Luo, *Langmuir* 2016, **32**, 1881-1889.

[50] S. G. Liu, D. Luo, N. Li, W. Zhang, J. L. Lei, N. B. Li, H. Q. Luo, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2016, **8**, 21700-21709.

[51] S. G. Liu, T. Liu, N. Li, S. Geng, J. L. Lei, N. B. Li, H. Q. Luo, *J. Phys. Chem. C* 2017, **121**, 6874-6883.

[52] Z. He, C. Ke, B. Z. Tang, *ACS Omega*, 2018, **3**, 3267-3277.

[53] Q. Zhou, B. Cao, C. Zhu, S. Xu, Y. Gong, W. Z. Yuan, Y. Zhang, *Small*, 2016, **12**, 6586- 6592.

[54] K. Kaikake, M. Takada, D. Soma, R.-H. Jin, *RSC Adv.* 2018, **8**, 34505-34513.

[55] K. Kaikake, Naoki Jou, Go Shitara, R.-H. Jin, *RSC Adv.* 2021, **11**, 35311-35320.

[56] H. Takebuchi, H. Kubosawa, R.-H. Jin, *Chem. Lett.* 2019, **48**, 647-650.

[57] H. Takebuchi, R.-H. Jin, *Macromol. Chem. Phys.* 2021, **222**, 2100174.

[58] D. T. Quang, J. S. Kim, *Chem. Rev.* 2010, **110**, 6280-6301.

[59] M. Wang, X. Liu, H. Lu, H. Wang, Z. Qin, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2015, **7**, 1284- 1289.

- [60] J. Xiang, C. Liu, L. Zhou, X. Yang, Y. Li, Y. Jiang, T. Mahmood, P. Zhang, P. Gong, L. Cai, *Anal. Chem.* 2020, **92**, 4721-4725.
- [61] M. H. Chua, H. Zhou, Q. Zhu, B. Z. Tang, J. W. Xu, *Mater. Chem. Front.* 2021, **5**, 659- 708.
- [62] P. Kumar, V. Kumar, R. Gupta, *RSC Adv.* 2017, **7**, 7734-7741.
- [63] F. Liu, J. Du, M. Xu, G. Sun, *Chem. Asian J.* 2016, **11**, 43-48.
- [64] A. Ren, Y. Zhang, W. Yu, K. Zhao, Z. Hu, Z. Zhang, G. Feng, Z. Song, *J. Indus. Eng. Chem.* 2021, **99**, 292–298.
- [65] J. R. Matthews, F. Goldoni, H. Kooijman, A. L. Spek, A. P. H. J. Schenning, E. W. Meijer, *Macromol. Rapid Commun.* 2007, **28**, 1809–1815.

第 5 章

総括

本論文では PNIPAM を有する多元高分子設計を中心に、構造組成とトポロジーに起因する両親媒性高分子の基礎物性、自己組織化、環境応答性の変化について詳細に検討し、種々のマルチ刺激応答性共重合体に関する新しい体系の確立を試みた。

第 2 章ではくし構造高分子に注目して、PNIPAM 主鎖と組み合わせることで歯ブラシ型共重合体を合成し構造に由来して変化する熱応答性や特異的な濃度応答などマルチな刺激応答を明らかにした。またこれらの自己組織化とシリカ複合化を行い、温度によって明確にモルフォロジーの変化が起こっていることを発見した。くし型 PMOZ と PNIPAM からなる歯ブラシ型共重合体は室温では水溶液中で PNIPAM に由来する良好な熱応答性を示し、加熱すると安定したコア-シェルミセルを形成する。しかし室温下でもポリマー濃度が CMC を越えると PMOZ と PNIPAM の競争的水素結合を引き起こし、PNIPAM が疎水性へと転じミセルを形成する。これはくし構造を組み込むことによる副次的効果による挙動である。また PMOZ の加水分解により PEI へと構造変換した後は、室温では PEI の結晶性を駆動力とするファイバー結晶を、LCST 以上に昇温すると PNIPAM をコアとしたナノミセルを形成する。さらにこの結晶およびミセルはシリカ化の触媒的テンプレートとなるためナノスケールで任意の形状のシリカ構造体を作製することができる。

第 3 章では前章で合成した PEI/PNIPAM 複合歯ブラシ型高分子の自己組織化を利用して架橋反応により親水性ナノカプセルの合成を行い、例の少ない全親水性ナノカプセルの機能性について検討した。また架橋剤の種類を変えることで発現する熱応答性への影響を比較した。加熱状態でミセルシェル層となる反応性アミンを有する PEI を架橋反応の足場として用いて構造固定を行った。親水性架橋剤 MA を用いた場合、反応後はミセルコアであった PNIPAM をカプセル内壁に残した状態で中空カプセルとなった。PEI が固定されたナノカプセルでは熱応答によ

る収縮が段階的に起こり、本来鋭敏な PNIPAM の熱応答を阻害する働きを見せた。疎水性色素 NR をカプセルに吸着させて加熱するとカプセル内で NR が結晶化したことが判明した。対して疎水性架橋剤 RCGE を用いた場合は中実カプセルが形成する。こちらも PNIPAM の熱応答には遅延が見られ、豊富なフェニル基同士のパッキングによって MA よりもさらにゆっくりと熱応答した。架橋反応による全親水性のカプセルは有機ナノ結晶作製のためのテンプレートとして、また有機分子送達のための容器としての応用が期待できる。

第4章ではテオフィリンの蛍光特性に着目して、PVBC の側鎖にテオフィリンを導入することで非 π 共役系蛍光高分子を合成した。側鎖にはよく似た構造を持つテオフィリンとイミダゾールの比率を変えて同時に導入した。イミダゾールが約 20% 混合されているときにそれぞれがプロトドナーとアクセプターの役割を担い発光強度が増大されることが明らかとなった。PV 高分子鎖内に密に導入されたテオフィリンとイミダゾール間で生じる π - π 相互作用は電荷移動錯体に類似した効果を示し、UV 照射下で青色に発光する。側鎖を導入した PVBT/I は疎水性を示し、室温下では隣り合う PNIPAM をシェル層としたコア-シェルミセルへと自己組織化する。PNIPAM は LCST 挙動を維持しており、ミセルは加熱前後でも安定して水中に分散することができる。さらにこのミセルを複数の金属イオンが含まれた溶液と混合するとパラジウムを検知して著しく消光するセンサーとして働く。蛍光強度は T/I の相互作用を金属イオンや酸によって阻害した場合に消光する。これはイミダゾール誘導体を用いた非 π 共役系蛍光高分子の初めての例である。この発光性質を用いれば触媒、センサーなどのアプリケーションへの展開を目指すことができる。

以上のように本研究では多元的に構成要素を組み込むことでマルチ刺激応答性を持つ高分子設計に対するアプローチを提案した。また組み合わせられる高分子のトポロジー、重合度、官能基によって刺激応答性は自在に変化できることを明らかにした。今回合成された種々の高分子はセンサー、薬物担体、ナノ触媒などさらなる機能の拡張が期待できる。

本研究に関する論文

第2章

“Synthesis and Thermo-responsiveness of Double Hydrophilic Block Copolymers with PNIPAM Coils and Poly(methyloxazoline) /Poly(ethyleneimine) Combs”

Haruka Takebuchi, Hiroki Kubosawa and Ren-Hua Jin, *Chem. Lett.*, 2019, **48**, 647–650.

第3章

"A Unique Nano-Capsule Possessing Inner Thermo-Responsive Surface Prepared from a Toothbrush-Like Comb-Coil Block Copolymer"

Haruka Takebuchi and Ren-Hua Jin, *Macromol. Chem. Phys.*, 2021, **222**, 2100174. (Selected as front cover page)

第4章

"Photoluminescent Polymer Micelle with Thermo-/pH-/Metal Responsibility and Its Feature in Selective Optical Sensing of Pd(II) Cation"

Haruka Takebuchi and Ren-Hua Jin, *RSC advances*, 2022, **12**, 5720–5731.

謝辞

高分子化学の魅力をご教示頂いた学部生時代から博士課程を経た現在まで、知識と研究の心構えを説いて下さった神奈川大学工学部教授 金仁華先生に心より御礼申し上げます。おぼつかない研究の足取りを支え、導いて頂いたことへの感謝は言葉で言い尽くせません。

研究生生活を過ごすにあたり、研究環境を整えて頂いた神奈川大学工学部教務技術職員 貝掛勝也先生に深く御礼申し上げます。丁寧な研究は、丁寧に挑めた研究環境から生まれることは先生の立ち振る舞いから学びました。

ご多忙のなか、本論文の審査にご協力くださいました神奈川大学工学部教授 横澤勉先生、亀山敦先生、岡本専太郎先生、小野晶先生に厚くお礼申し上げます。

研究生生活や学会活動、私生活に至るまで常に親身に支えてくださいました原口佳子氏に感謝御礼申し上げます。

本研究の基礎を築き、実験のいろはを教えて頂いた窪澤弘樹氏に深く感謝いたします。

本研究に際し、王文立博士とのディスカッションや助言が発想の原動力となりました。心より感謝いたします。

研究室の円滑な運営にご協力いただきました糸賀稜氏、重光大晃氏、茂木駿弥氏、菅野綾華氏に心から感謝いたします。

また、大変過ごしやすい環境であったのは同期の横澤研究室 加藤顕禎氏、親切な先輩や頼もしい同期、良き後輩に恵まれたおかげです。有難く感謝いたします。

最後に、同じ研究の道を志した兄、日ごろから愛情深く支えてくれた母、そして研究を続けると言った私を見守り続けてくれた亡き父に心から、深く感謝いたします。

令和4年 1月吉日