

多分岐ポリアミドからなる両親媒性 Janus 型ジブロック共重合体の合成と自己組織化

太田 佳宏* 實吉 尚郎**

Synthesis and self-assembly of amphiphilic, Janus diblock copolymers consisting of hyperbranched polyamides

Yoshihiro OHTA* Hisao SANEYOSHI**

1. 緒言

親水性デンドロンと疎水性デンドロンから構成される両親媒性 Janus 型デンドリマーは、ナノ医療、蛍光プローブなどへの応用が期待されており、これらを水溶液中で自己組織化すると、ユニークなモルフォロジーを形成する^[1-6]。例えば、Percec らは、両親媒性 Janus デンドリマーを水中で自己組織化すると、棒状、ディスク状、helical ribbon のミセルや、ベシクル (dendrimersome)、棒状のベシクル、cubosome などの様々なモルフォロジーを示すことを見出している^[3, 4]。Sierra らは、両親媒性 Janus デンドリマー中の疎水性デンドロンの世代数より親水性デンドロンの世代数の方が大きい際は、引き伸ばされたミセルが、疎水性デンドロンと親水性デンドロンの世代数が等しい際は、ベシクルやフレキシブルな二分子層がそれぞれ観測されたことを報告している^[5]。Wegner らは、両親媒性 Janus デンドリマーの集合体の構造が、熱変動によって球状からドーナツ状、ボタンのような形状に転移することを報告している^[6]。しかし、構成成分のデンドロンは、保護、脱保護を含めた多段階反応によって合成されるため、各世代の精製を含めると、合成に長い時間を要する。一方、ハイパーブランチポリマーは、 AB_n ($n \geq 2$) 型モノマーの一段階重合によって合成することができる^[7]。これまでに Zhou らは、 β -シクロデキストリン (CD) にグラフトした疎水性ハイパーブランチポリグリセロール (CD-g-HPG) とアゾベンゼン部位を有する親水性ハイパーブランチポリ(3-エチル-3-オキセタンメタノール) との、アゾベンゼンと CD との非共有結合性ホスト-ゲスト相互作用によって結合した超分子 Janus ハイパーブランチポリマーの合成、および、それを自己組織化するとベシクルを形成し、UV 照

射下でアゾベンゼン部位の trans-cis 異性化によってベシクルが分解することを報告している^[8]。一方、Janus 型デンドリマーのように、フォーカルポイント部分が共有結合でつながった Janus 型ハイパーブランチジブロック共重合体に関しては、これまで報告されていない。これは、ハイパーブランチポリマーのフォーカルポイント同士で反応を行うのに必要な官能基をフォーカルポイントに選択的に導入することが難しいためと思われる。例えば、ハイパーブランチポリマーを合成する際に分子内環化によってハイパーブランチポリマーのフォーカルポイント部分が失われると、フォーカルポイントに選択的に官能基を導入することはできない^[9, 10]。

我々はこれまでに AB_2 モノマーの連鎖縮合重合によって分子量および分子量分布の制御された疎水性のハイパーブランチポリアミド (HBPA) が一段階で得られることを明らかにしている^[11, 12]。この重合法は、HBPA のフォーカルポイントであるコア (開始剤ユニット) 部分に官能基を導入することができる。そのため、この重合法はブロック共重合体の合成に利用できる。例えば、ヒドロキシル基を開始剤ユニット部分に持つ HBPA と片末端にカルボキシル基を有するポリエチレングリコール (PEG) との脱水縮合反応によって、両親媒性の PEG-*b*-HBPA が合成されている^[13]。また、疎水性 HBPA だけでなく親水性 HBPA も AB_2 モノマーの連鎖縮合重合で合成できることを報告している^[14, 15]。

そこで本研究では、エステル部位にトリエチレングリコール (TEG) 鎖を有する親水性 HBPA とアミノ基にオクチル基を有する疎水性 HBPA のフォーカルポイントをそれぞれ官能基変換した後、脱水縮合反応を行うことで Janus 型ハイパーブランチポリアミドジブロック共重合体 (HBPA-*b*-HBPA) を合成し、得られたブロック共重合体の水中での自己組織化を検討した。その結果、Janus デンドリマー^[6]のように温度によって集合体の構造が変わったが、Janus デンドリマーでは見られないような樹木状の集合体が観察された。

*特別助教 物質生命化学科

Assistant Professor, Dept. of Materials and Life Chemistry

**特別助教 物質生命化学科

Assistant Professor, Dept. of Materials and Life Chemistry

(現助教 滋賀医科大学 医学科生命科学講座)

Assistant Professor, Dept. of Fundamental Biosciences, Shiga University of Medical Science)

2. 実験・結果と考察

まず、フォーカルポイントにヒドロキシル基またはカルボキシル基を有する HBPA の合成を行った。親水性 HBPA のフォーカルポイントをカルボキシル基にすると、水に溶解しやすいことが予想され、有機溶媒による抽出が大変になると考えられる。そこで、親水性 HBPA のフォーカルポイントをヒドロキシル基に、疎水性 HBPA のフォーカルポイントをカルボキシル基にそれぞれ変換することにした。

フォーカルポイントにヒドロキシル基を有する親水性 HBPA の合成は、以下のように行った (図 1)。

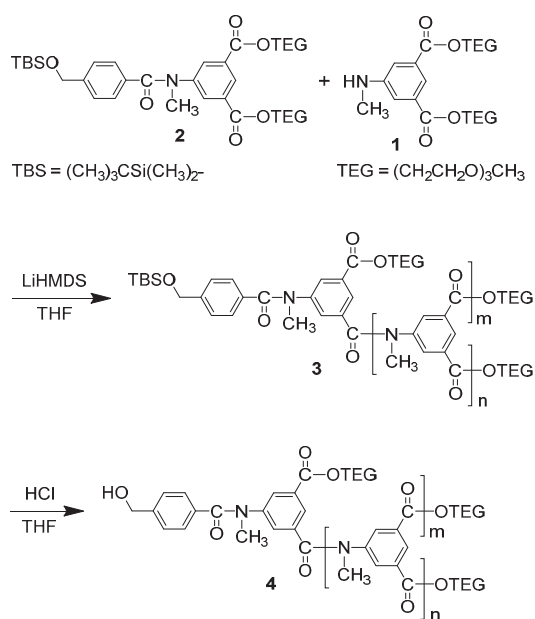


図 1. 親水性ハイパーブランチポリアミドの合成

AB₂ モノマー **1** に対して 1.1 当量のリチウムヘキサメチルジシラジド (LiHMDS) 存在下、*tert*-ブチルジメチルシリル (TBS) 基を有する開始剤 **2** を用いてモノマー **1** の重合を -40 °C で行い、分子量分布の狭いポリマー **3** を得た。続いて、1 M 塩酸を用いて得られたポリマーの TBS 基の脱保護を行い、**4a** を得た ($M_n(\text{MALLS}) = 16400$, $M_w/M_n = 1.19$)。異なる分子量を持つ **4b** ($M_n(\text{MALLS}) = 11800$, $M_w/M_n = 1.15$) も同様の方法で得た。

次に、フォーカルポイントにカルボキシル基を有する疎水性 HBPA の合成を行った (図 2)。AB₂ モノマー **5** に LiHMDS を作用させて、TBS 基を有する開始剤 **6** 存在下で重合を行い、ポリマー **7** を得た。次に、得られた **7** に 1 M 塩酸を作用させて **8** とした。さらに、**8** と無水コハク酸をトリエチルアミンと 4-ジメチルアミノピリジン (DMAP) 存在下で反応させて、カルボキシル基を有する HBPA **9a** を得た ($M_n(\text{MALLS}) = 4900$, $M_w/M_n = 1.07$)。得られた **9a** の ¹H NMR スペクトルより、ベンジルプロトン *a* とカルボニル基に挟まれたメチレンプロトン *b* の比が 2/4 になった。これらの結果より **9a** の生成を確認した。また、異なる分子量を持つ **9b** ($M_n(\text{MALLS}) = 6710$, $M_w/M_n = 1.08$) も同様の方法で得た。

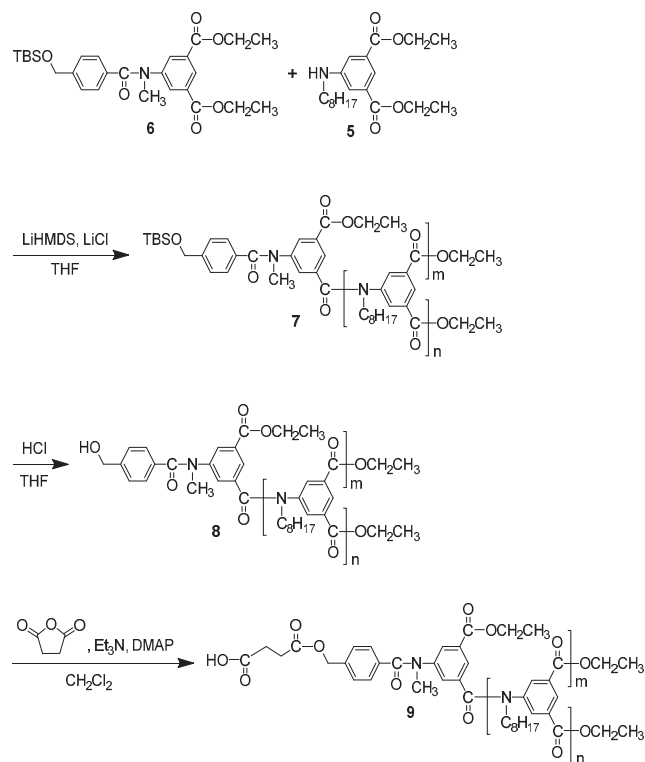


図 2. 疎水性ハイパーブランチポリアミドの合成

次に、**4** と **9** との脱水縮合反応を 1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド (EDCI) 塩酸塩と DMAP 存在下、DMF 中、室温で行った (図 3)。

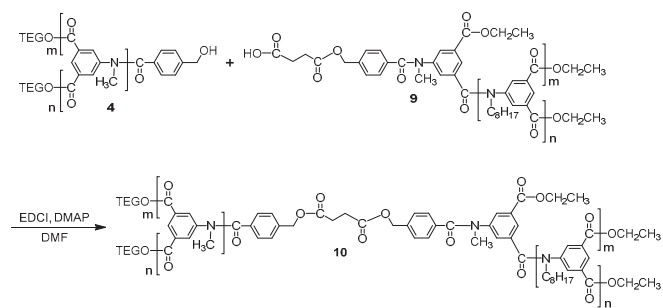


図 3. 両親媒性 Janus 型 HBPA-*b*-HBPA の合成

まず、**4a** と **9a** を用いた脱水縮合反応を行った結果、得られた粗生成物の GPC 溶出曲線は **9a** や **4a** (図 4A, B) より高分子量側に移動した (図 4C)。このポリマーを分取 HPLC (溶離液: クロロホルム) によって精製し、両親媒性ブロック共重合体 **10a** ($M_n(\text{MALLS}) = 22300$, $M_w/M_n = 1.11$) を得た (図 4D)。得られた **10a** の ¹H NMR スペクトルより、ベンジルプロトン *a* とカルボニル基に挟まれたメチレンプロトン *b* との比が 4/4 になった (図 5)。これらの結果より、**4a** と **9a** との脱水縮合反応によって Janus 型 HBPA-*b*-HBPA **10a** が得られたことが示唆された。

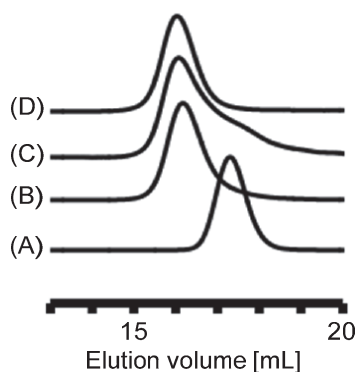


図 4. GPC 溶出曲線: (A) **9a**, (B) **4a**, (C) **10a** (粗生成物),
(D) **10a** (分取 HPLC による精製後)

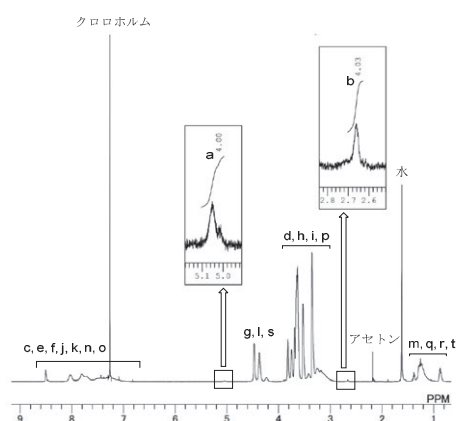
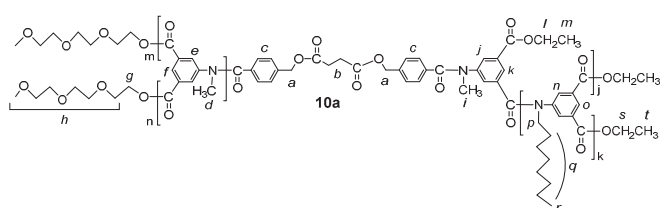


図 5. **10a** の ^1H NMR スペクトル

また、**4b** と **9b** との脱水縮合反応によって、**10a** とは異なる組成比を持つ **10b** ($M_n(\text{MALLS}) = 22100$, $M_w/M_n = 1.07$) も同様に合成した (図 6, 7)。

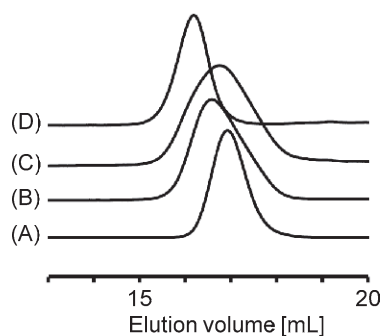


図 6. GPC 溶出曲線: (A) **9b**, (B) **4b**, (C) **10b** (粗生成物),
(D) **10b** (分取 HPLC による精製後)

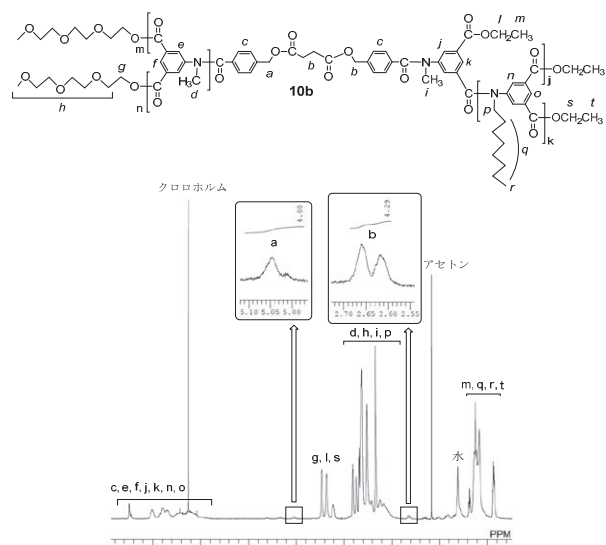


図 7. **10b** の ^1H NMR スペクトル

次に、得られた **10** の水に対する溶解性をそれぞれ調べたところ、疎水鎖/親水の比率が 23/77 の **10a**、36/64 の **10b** 共に水に溶けた。疎水鎖を含むブロック共重合体 **10** が水に溶けていることから、室温では親水鎖を外側 (コロナ)、疎水鎖を内側 (コア) に持つような集合体を形成していると考えられる。さらに、その水溶液を加熱すると白濁し、温度を下げると再び透明な溶液に戻った。そこで、各温度における **10b** の水中での自己組織体の構造を調べるために透過型電子顕微鏡 (TEM) による観察を行った。その結果、25 °C の水溶液から調製したサンプルからは、球状の集合体が観察された (図 8A)。一方、50 °C のサンプルからは棒状の集合体 (図 8B)、70 °C のサンプルからは樹木状の集合体 (図 8C) がそれぞれ観察された。

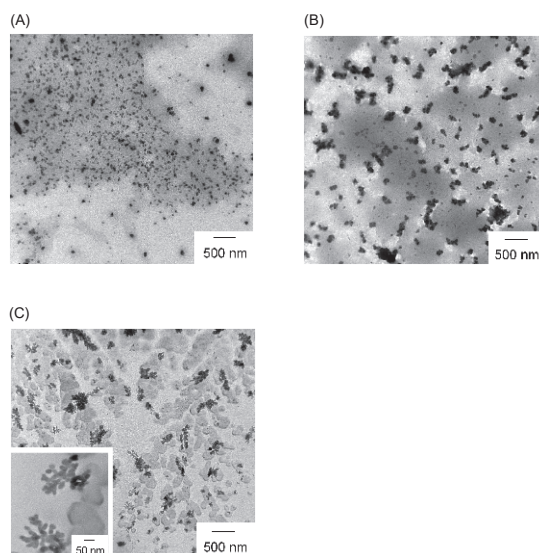


図 8. **10b** の水中での自己組織体の TEM 写真:
(A) 25 °C, (B) 50 °C, (C) 70 °C

また、TEM と動的光散乱 (DLS) から求めた粒形は、ほぼ一致した (図 9)。

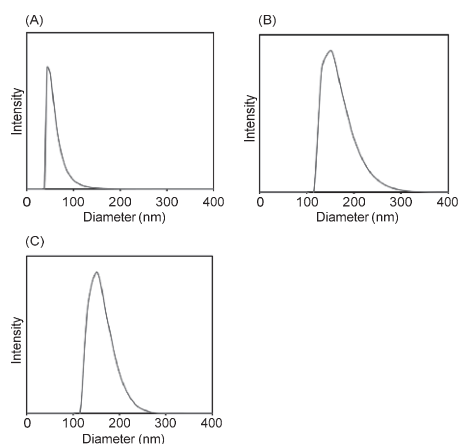


図 9. **10b** の水中での自己組織体の DLS データ：
(A) 25 °C, (B) 50 °C, (C) 70 °C

集合体の構造が温度に応じて変化したのは、以下のように考えている。25 °C において、TEG 鎖を持つ親水性の HBPA は水に溶けるので水中でシェルとなり、疎水性の HBPA をコアとする球状の集合体を形成する。50 °C においては、脱水和によって親水性が低下するので棒状の集合体になる。70 °C にすると、最初は親水性であった HBPA は疎水性になるが、多数ある TEG 鎖で集合体全体を溶かすために集合体の外側には配置される。棒状の集合体は崩壊して、小さなベースユニットができ、それらが集まることで樹木状の集合体になる。おそらく、崩壊した棒状集合体の末端でむき出しになる小さな疎水性領域を減少させることが、樹木状の集合体を形成するための駆動力になっていると思われる^[16]。

3. 結言

AB₂ モノマーの連鎖縮合重合の後に官能基変換することで得られたフォーカルポイントにヒドロキシル基を有する親水性 HBPA **4** とカルボキシル基を有する疎水性 HBPA **9** との脱水縮合反応によって、両親媒性 Janus 型 HBPA-*b*-HBPA **10** が合成できた。得られた **10b** は水に溶解し、25 °C の水中で球状構造を形成した。さらに、水溶液の温度を 50 °C、70 °C に上げると、棒状の集合体、樹木状の集合体になることを見出した。今後、ハイパーブランchedポリマーを含む様々なアーキテクチャーの自己組織化を行い、その挙動について検討する。最後に、TEM 測定にご協力いただいた国立台湾大学の Chi-An Dai 先生と研究室の方々へ厚く御礼申し上げる。

4. 参考文献

[1] B. N. S. Thota, L. H. Urner and R. Haag, Supramolecular Architectures of Dendritic Amphiphiles in Water, *Chem. Rev.*, 116 (4), 2079-2102 (2016).
 [2] S. E. Sherman, Q. Xiao and V. Percec, Mimicking Complex Biological Membranes and Their Programmable Glycan Ligands with Dendrimerosomes and Glycodendrimerosomes, *Chem. Rev.*, 117 (9), 6538-6631 (2017).
 [3] V. Percec, D. A. Wilson, P. Leowanawat, C. J. Wilson, A. D. Hughes, M. S. Kaucher, D. A. Hammer, D. H. Levine, A. J. Kim, F. S. Bates, K. P.

Davis, T. P. Lodge, M. L. Klein, R. H. DeVane, E. Aqad, B. M. Rosen, A. O. Argintaru, M. J. Sienkowska, K. Rissanen, S. Nummelin and J. Ropponen, Self-Assembly of Janus Dendrimers into Uniform Dendrimerosomes and Other Complex Architectures, *Science*, 328 (5981), 1009-1014 (2010).
 [4] M. Peterca, V. Percec, P. Leowanawat and A. Bertin, Predicting the Size and Properties of Dendrimerosomes from the Lamellar Structure of Their Amphiphilic Janus Dendrimers, *J. Am. Chem. Soc.*, 133 (50), 20507-20520 (2011).
 [5] E. Fedeli, A. Lancelot, J. L. Serrano, P. Calvo and T. Sierra, Self-assembling amphiphilic Janus dendrimers: mesomorphic properties and aggregation in water, *New J. Chem.*, 39 (3), 1960-1967 (2015).
 [6] F. Yuan, X. Zhang, M. Yang, W. Wang, B. Minch, G. Lieser and G. Wegner, Topological transformation of aggregates formed by an amphiphilic and truncated-cone-shaped codendrimer, *Soft Matter*, 3 (11), 1372-1376 (2007).
 [7] B. I. Voit and A. Lederer, Hyperbranched and Highly Branched Polymer Architectures—Synthetic Strategies and Major Characterization Aspects, *Chem. Rev.*, 109 (11), 5924-5973 (2009).
 [8] Y. Liu, C. Yu, H. Jin, B. Jiang, X. Zhu, Y. Zhou, Z. Lu and D. Yan, A Supramolecular Janus Hyperbranched Polymer and Its Photoresponsive Self-Assembly of Vesicles with Narrow Size Distribution, *J. Am. Chem. Soc.*, 135 (12), 4765-4770 (2013).
 [9] M. Bednarek, P. Kubisa and S. Penczek, Multihydroxyl Branched Polyethers. 2. Mechanistic Aspects of Cationic Polymerization of 3-Ethyl-3-(hydroxymethyl)oxetane, *Macromolecules*, 34 (15), 5112-5119 (2001).
 [10] M. Rahm, R. Westlund, C. Eldsäter and E. Malmström, Tri-block copolymers of polyethylene glycol and hyperbranched poly-3-ethyl-3-(hydroxymethyl)oxetane through cationic ring opening polymerization, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, 47 (22), 6191-6200 (2009).
 [11] Y. Ohta, S. Fujii, A. Yokoyama, T. Furuyama, M. Uchiyama and T. Yokozawa, Synthesis of Well-Defined Hyperbranched Polyamides by Condensation Polymerization of AB₂ Monomer through Changed Substituent Effects, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 48 (32), 5942-5945 (2009).
 [12] Y. Ohta, Y. Kamijyo, S. Fujii, A. Yokoyama and T. Yokozawa, Synthesis and Properties of a Variety of Well-Defined Hyperbranched N-Alkyl and N-H Polyamides by Chain-Growth Condensation Polymerization of AB₂ Monomers, *Macromolecules*, 44 (13), 5112-5122 (2011).
 [13] Y. Ohta, T. Kanou, A. Yokoyama and T. Yokozawa, Synthesis of well-defined, amphiphilic poly(ethylene glycol)-*b*-hyperbranched polyamide, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, 51 (17), 3762-3766 (2013).
 [14] Y. Ohta, Y. Kamijyo, A. Yokoyama and T. Yokozawa, Synthesis of Well-Defined, Water-Soluble Hyperbranched Polyamides by Chain-Growth Condensation Polymerization of AB₂ Monomer, *Polymers*, 4 (2), 1170-1182 (2012).
 [15] Y. Ohta, K. Sakurai, J. Matsuda and T. Yokozawa, Chain-growth condensation polymerization of 5-aminoisophthalic acid triethylene glycol ester to afford well-defined, water-soluble, thermoresponsive hyperbranched polyamides, *Polymer*, 101, 305-310 (2016).
 [16] Y. Ohta, Y. Abe, K. Hoka, E. Baba, Y.-P. Lee, C.-A. Dai and T. Yokozawa, Synthesis of amphiphilic, Janus diblock hyperbranched copolyamides and their self-assembly in water, *Polym. Chem.*, 10 (31), 4246-4251 (2019).