

緩衝溶液中における両親媒性交互共重合ポリイミドの分子集合形態

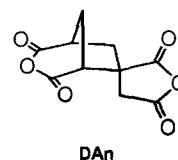
東大生研 ○濱田崇・大塚安成・坂本清志・高山俊雄・工藤一秋

要旨

脂環式スピロ二酸無水物 **DAn** の位置特異的反応性を利用して、主鎖型両親媒性交互共重合ポリイミドを合成した。この両親媒性ポリイミドは pH=7.0 の緩衝液中で集合体を形成することがわかり、その集合形態について詳細に調べた。またスルホン酸基とエチレンオキシ基を主鎖に導入した交互共重合ポリイミドは、緩衝液中、濃度のわずかな違いで集合形態が変化することを見出した。

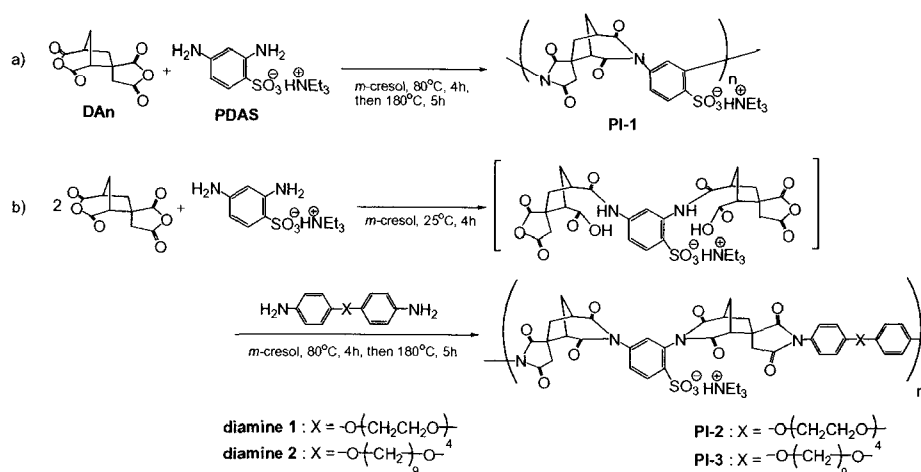
1. 緒言

次世代のナノテクノロジー用材料として、分子集合体や dendrimer などのナノスケール物質¹⁾が注目されており、ナノメートルオーダで構造と組成を精密設計することで、様々な機能、特性が期待される。分子集合体を構築する手法の一つに、両親媒性高分子を用いる方法が挙げられる。両親媒性高分子は、水中でミセルやベシクルといった集合体を形成することが知られており^{2, 3)}、ドラッグデリバリーシステム⁴⁾や金属ナノ粒子の調製⁵⁾などへの応用が期待されている。これまでに報告されている集合体形成能のある両親媒性高分子のほとんどは、親水ブロックと疎水ブロックからなるジないしトリブロック共重合体である。一方、当研究室ではこれまでに、脂環式スピロ二酸無水物 **DAn** が芳香族ジアミンに対して位置特異的な反応性を示すこと、ならびに、その性質を利用して one-pot で頭-頭型定序性ポリイミド、さらには交互共重合ポリイミドを容易に合成できることを報告してきている⁶⁾。我々は今回、**DAn** の反応性を利用して、先例のない主鎖型両親媒性交互共重合ポリイミドを合成し、このポリイミドの分子集合体形成能の有無を調べた。その結果、水中においてミセルやベシクルなどの集合体を形成することを見出した。また、一部のものについては、水中でわずかな濃度の違いで、ミセルとベシクルを作りわけることに成功したので、あわせて報告する。



2. 方法

両親媒性交互共重合ポリイミドは Scheme 1 に従って合成した。**PI-1** は、**DAn** (1.0 eq.) と **PDAS** (1.0 eq.) 及びトリエチルアミンを 80 °C で 4 h, 180 °C で 5 h 反応させ、再沈殿することにより得た。また **PI-2** および **PI-3** は、まず **DAn** (1.0 eq.) と **PDAS** (0.5 eq.) 及びトリエチルアミンを *m*-クレゾール中、25 °C で反応させた後、0.5 eq. の **1** ないしは **2** を加え、80 °C で 4 h, 180 °C で 5 h 反応を行って、酢酸エチルにあげて再沈殿させることにより得た。



Scheme 1. Synthesis of PI-1 (a), PI-2 and PI-3 (b).

3. 結果および考察

ポリイミドの合成結果を Table 1 に示す. 5%及び 10%熱重量減少温度はポリイミドとしては低い値であるが, これはスルホン酸基の脱離によるものと考えられ, ホモポリイミドと交互共重合ポリイミドの間で大きな違いは見られなかった. 溶解性を調べたところ, 可溶性ポリイミドの一般的な溶媒である DMF や DMSO のみでなく, メタノールや Tris HCl 緩衝液にも溶解した.

Table 1. Results on the synthesis of polyimides

Polyimide	Yield/ % ^{a)}	M_w ^{b)}	M_w/M_n ^{b)}	T_g / °C ^{c)}	T_{d5} / °C ^{c)}	T_{d10} / °C ^{c)}
PI-1	76	6100	3.2	ND ^{d)}	227	274
PI-2	80	7000	2.6	ND	246	290
PI-3	58	5300	2.0	ND	232	286

a) Reprecipitation with ethyl acetate.

b) Measured by GPC in DMF (LiCl 0.05 M) relative to polystyrene standards.

c) Glass transition temperature by DSC at heating rate of 10 °C/ min.

d) Not detectable.

e) Onset temperature for 5% and 10% weight loss measured by TGA at heating rate of 10 °C/ min.

ポリイミドの集合体形成能を調べるため, プロープとして Pinacyanol chloride (PC)を用いて, pH = 7.0 の緩衝液中で, UV 測定を行った^{7,8)}. PC は水中において, 550 nm と 600 nm に吸収を持つが, **PI-1** 存在下では, PC に由来する 549 nm と 602 nm の吸収は, それぞれ 571 nm と 618 nm にレッドシフトした. また他の二つのポリイミドを用いた場合でも同様なレッドシフトが観測された. これは疎水的な環境の存在を意味しており, 集合体形成が示唆された. また緩衝液中におけるポリイミドの臨界ミセル濃度 (CMC) を算出するために, プロープとしてピレンを用いて蛍光測定を行った^{9,10)}. Figure 1 にピレンのモノマー発光である $I_1=372$ nm と $I_3=383$ nm の比をポリマー濃度に対してプロットした結果を示す. **PI-2** においては, I_1/I_3 の比は 0.005 wt%付近で急激に減少し始め

たことから、CMCは0.005 wt%付近であることがわかる。メチレン鎖を導入した **PI-3** は I_1/I_3 の比が0.001 wt%付近から減少しはじめており、より疎水的なセグメントが導入されることにより CMC が小さくなったものと考えられる。動的光散乱測定により緩衝液中での分子集合体のサイズを測定した。Table 2 にポリイミドの緩衝液中における CMC と平均粒子径を示す。ホモポリイミドの平均粒子径が 44 nm であるのに対してエチレンオキシ鎖やメチレン鎖が

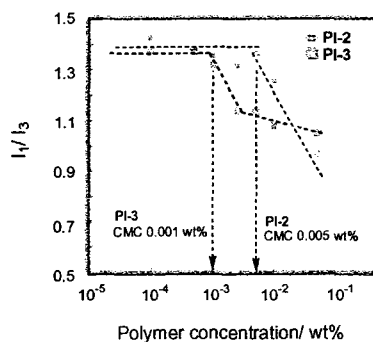


Figure 1. Concentration dependence of I_1/I_3 .

導入された **PI-2** と **PI-3** はやや大きなサイズの粒子となった。また **PI-2** においては、濃度が 0.01 wt% では、平均粒子径が 53 nm であるのに対して、濃度を 0.04 wt% にすると、平均粒子径は 179 nm と大きく変化した。一般に、ポリマーミセルは溶媒組成、温度、あるいは濃度などを変化させることにより、その大きさや形状が変化することが知られている。本ポリマーも濃度変化により集合形態が変化したものと考えられる。

PI-2, **PI-3** とも、ピレンの蛍光スペクトルから算出された CMC 以上の濃度でのみ動的光散乱測定が有意な測定結果を与えたことから、上で求めた CMC が正しいことが裏付けられた。**PI-2** では、濃度変化により粒子径が大きく変化したことから、2 種の濃度の溶液についてフリーズレプリカ法による TEM 観察を行った(Figure 2)。濃度 0.01 wt% のポリイミド溶液においては、50 nm 程度の球状構造が確認され、DLS 測定の結果と一致した。一方で、濃度 0.04 wt% のものでは、DLS 測定で確認した粒子径よりもさらに大きな球状構造体を確認した。

Table 2. Particle size of polyimide

Polyimide	CMC	Particle size/ nm
PI-1	—	44 (0.04 wt%)
PI-2	0.005 wt%	53 (0.01 wt%) 179 (0.04 wt%)
PI-3	0.001 wt%	157 (0.02 wt%)

a) Determined by DLS in 20 mM Tris HCl buffer (pH=7.0).

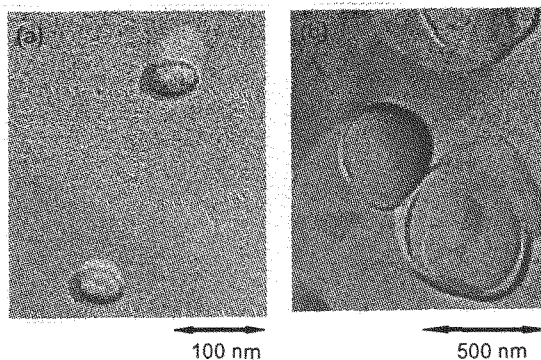


Figure 2. Freeze-replica TEM micrographs of **PI-2**: the sample were prepared from (a) 0.01 wt% and (b) 0.04 wt% solution in 20 mM Tris HCl buffer (pH 7.0).

我々はこの大きな球状構造体をベシクルと考え、色素導入実験により内水相の存在確認を試みた¹¹⁾。緩衝液中に蛍光色素であるカルセインを溶解させておき、これに対して濃度が 0.01 wt% および 0.04 wt% となるように **PI-2** を加えて集合体を形成させ、その後、

過剰のカルセインを透析により除いた。0.01 wt%のポリイミド溶液では、取り込まれたカルセインの発光が $\lambda_{\max}=546$ nmに観測された。それに対して、0.04 wt%のポリイミド溶液では、上記の波長の他に緩衝液中のフリーのカルセインと同じ $\lambda=518$ nmにも発光極大を示した。これは、0.04 wt% PI-2 より形成される集合体は内水相をもつことを示唆しており、ベシクルの形成が確認された。

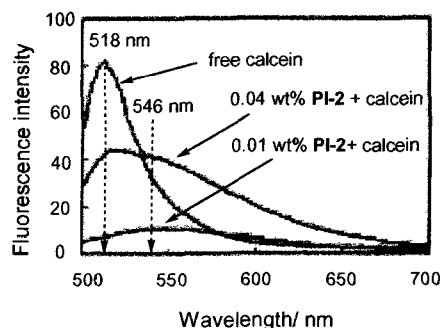


Figure 3. Fluorescence spectra of calcein (excited at 490 nm) in the presence of PI-2 in 20 mM Tris HCl buffer (pH 7.0).

4. 結論

主鎖に親水基と疎水基を持つ交互共重合ポリイミドが水中で分子集合体を形成することを見出した。またテトラエチレングリコールビス(4-アミノフェニル)エーテルと1,3-フェニレンジアミン-4-スルホン酸とを用いたポリイミドでは、わずかな濃度の違いによりミセルとベシクルを作り分けることに成功した。

謝辞

動的散乱ならびに TEM 測定にご協力いただきました東京理科大学の酒井秀樹助教授ならびに土屋好司博士に感謝いたします。

参考文献

- 1) J. M. Fréchet *Science* **1994**, *263*, 1710.
- 2) J. Selb, Y. Gallot *Makromol. Chem.* **1980**, *181*, 809.
- 3) P. L. Valint, Jr., and J. Bock *Macromolecules* **1988**, *21*, 175.
- 4) G. S. Kwon, K. Kataoka, *Adv. Drug Deliv. Reviews* **1995**, *16*, 295.
- 5) S. Förster, M. Antonietti, *Adv. Mater.* **1998**, *10*, 195.
- 6) K. Kudo, J. Li, D. Nonokawa, T. Yoshizawa, Y. Kishida, T. Takayama, S. Shiraishi *J. Photopolym. Sci. Technol.* **2002**, *15*, 215.
- 7) K. Takeda, N. Tatsumoto and T. Yasunaga *J. Colloid Interface Sci.* **1974**, *47*, 128.
- 8) K. R. Gopidas, J. K. Whitesell and M. A. Fox *J. Am Chem. Soc.* **2003**, *125*, 14168.
- 9) S. Dai, P. Ravi, C. Y. Leong, K. C. Tam and L. H. Gan *Langmuir* **2004**, *20*, 1597.
- 10) M. Wilhelm, C.-L. Zhao, Y. Wang, R. Xu and M. A. Winnik *Macromolecules* **1991**, *24*, 1033.
- 11) M. Hara, M. Miyake, S. Iijima, Q. Yang, T. Arai, H. Yuan and J. Miyake *Supramolecular Sci.* **1998**, *5*, 777.