

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 30 日現在

機関番号：13903

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2015

課題番号：25620097

研究課題名(和文) NCA法に代わるポリアミノ酸合成の革新的プラットフォームの開拓

研究課題名(英文) Development of Innovative Platform to Replace NCA Method to Prepare Poly(amino acid)

研究代表者

鈴木 将人 (Suzuki, Masato)

名古屋工業大学・工学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：20179253

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：生体適合材料としての応用が期待できるポリアミノ酸の新規合成法を検討した。従来法(ほぼ唯一)の問題を根本的に解決するために、新たな環状モノマー構造を設計し重合を行った。その結果、1)紫外光照射やニトロキシラジカルを用いたラジカル重合によってポリサルコシンが得られた。2)後者の条件では、サルコシンやアラニンとメタクリル酸メチルとの共重合体が生成した。3)アスパラギン酸やグルタミン酸からフリーのカルボン酸基を持ったモノマーが得られ、塩基触媒によって対応するポリアミノ酸が得られた。

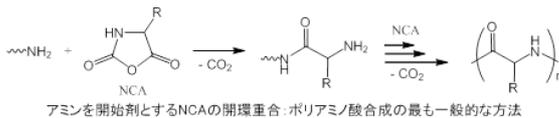
研究成果の概要(英文)：New synthetic methods for poly(amino acid)s, which have the potential as biomaterials, were investigated. In order to resolve the problems of the traditional and exclusive method essentially, the new cyclic monomer structure was designed and studied for the polymerization. The findings are as follows; 1) Polysarcosine was obtained by the radical polymerization using the UV irradiation or the nitroxyl radical mediator; 2) The latter polymerization conditions produced the copolymers of sarcosine or alanine with methyl methacrylate; 3) The monomers having a free carboxy group were obtained from aspartic and glutamic acids and gave poly(amino acid)s with the aid of a base catalyst.

研究分野：高分子合成

キーワード：アミノ酸 ポリアミノ酸 開環重合

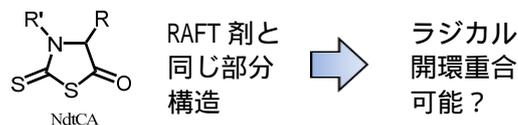
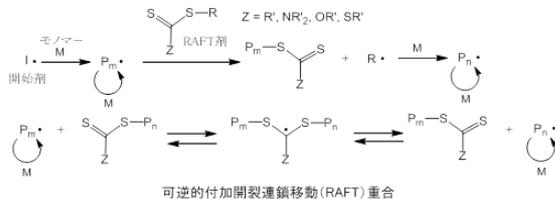
1. 研究開始当初の背景

アミノ酸のホモポリマー（ポリアミノ酸）は、古くから、ポリペプチドの化学とは別に材料応用への展開を意識して非常に多くの研究がなされてきた。その合成は、NCA（N-カルボキシアミノ酸無水物）の脱炭酸開環重合が通常用いられている。この方法は、実に100年前に見出されたものであるが、他に有用な方法がないこともあって、現在に至るまで広範に行われている。



しかし、NCA法には以下のような問題がある。1)モノマー合成に非常に有毒なホスゲンを用いる。2)モノマーが湿気で分解するため、取扱い・精製・保存が困難である。3)重合が限定されており、モノマーの純度の影響が大きく、副反応が起きる場合も多い。そのため、近年、ホスゲンを用いないモノマー合成方法(*J. Polym. Sci., Part A*, **2008**, 46, 2649)や遷移金属を用いる重合法(*Adv. Polym. Sci.*, **2006**, 202, 1)が報告されているが、モノマーの不安定性は本質的な問題である。環境や生体に優しい材料であるポリアミノ酸は従来にも増してその重要性が高まってくると考えられ、その飛躍のためには革新的な合成法の開拓に大胆に取り組む必要がある。

申請者は、長年に渡って開環重合の研究に携わって来ており、今回、NCA法に代わって基軸となる新規重合反応の開拓に挑戦したいとの思いから思索を巡らした。その結果、次ページ下図に示すように制御ラジカル重合のひとつであるRAFT重合法から発想を得て、NCAのジチオ誘導体(NdtCA)のラジカル開環重合に取り組むことにした。NdtCAは空气中で安定に取り扱うことができる上に、ラジカル重合という汎用性・適用性の高い手法は大きな発展性を有している



2. 研究の目的

ポリアミノ酸を合成するための基本的な手法を新たに開拓する。NCA法はポリアミノ酸を合成するほぼ唯一の方法であるが、モノマーの安定性の問題からその都度モノマーを準備する必要があり、また、その重合方

法も極めて限定されている。本研究では、安定な基本構造の環状モノマーを採用し、そのラジカル開環重合によってポリアミノ酸を合成することを提案する。単純なラジカル重合に成功してもその意義と影響は大きい、ビニルモノマーのリビングラジカル重合の知見を活かして重合の制御を達成できる可能性も大きく、その達成は、ポリアミノ酸を基盤とする材料の合成に飛躍的な進展をもたらすことができる。本研究の手法は、NCA法に代わってポリアミノ酸合成の一般的な方法となると期待される。

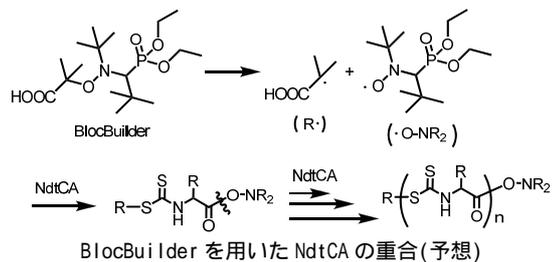
3. 研究の方法

(1)NdtCAの合成

特許(GB2035998A)を参考して反応を行った。アミノ酸の水酸化ナトリウム水溶液に二硫化炭素を加えて反応させた後濃縮し、得られたシロップ状混合物を氷冷下の70%硫酸水溶液に加えることで、NdtCAを得た。貧溶媒と良溶媒の組み合わせで、室温下蒸気拡散法で再結晶を行った。

(2)ラジカル開始剤を用いたNdtCAの重合

AIBNなどのラジカル開始剤を用いて通常の条件で溶液重合の検討だけでなく、ニトロキシドラジカルをメディエーターとする制御ラジカル重合を検討した。このとき、市販のBlocBuilderを活用した。期待される重合を以下に示す。



(3)光を用いたNdtCAの重合

低圧および高圧水銀灯(それぞれ、6W、100W)を用いて室温で反応を行った。溶媒と反応容器(石英、パイレックス)の影響を調べた。

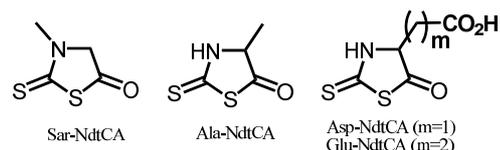
(4)側鎖にカルボキシル基を有するNdtCAの塩基触媒を用いる重合

触媒量のアミン存在下、次項で述べる反応機構によって側鎖のカルボキシル基が重合に関与することを狙って溶液重合を行った。

4. 研究成果

(1)NdtCAの合成

サルコシン(Sar)、D,L-アラニン(Ala)、L-アスパラギン酸(Asp)、D,L-グルタミン酸(Glu)、から、それぞれ目的のNdtCAを合成することができた。特に、Glu-および



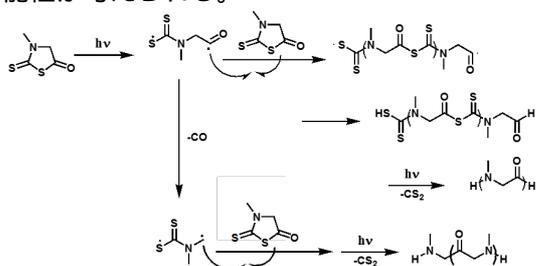
Asp-NdtCA では、フリーのカルボキシル基が環状骨格と共存できることが明らかになった。

以下、それぞれのモノマーの重合反応について順次述べる。

(2) サルコシン(Sar)-NdtCA の重合

トルエン中 AIBN を用いた条件 (60 90) では未反応であったが、BlocBuilder (10 mol%) を開始剤としてトルエン中 90 で重合した。¹H NMR スペクトルから目的のポリサルコシンの生成が確認され、DOSY スペクトルにおいて BlocBuilder の残基由来のシグナルがポリマー由来のシグナルと同じ拡散係数の位置に観測されたことから、BlocBuilder の残基がポリマー中に含まれていることが示唆された。一方で、ESI マススペクトル分析からは、ポリサルコシンの繰り返し単位が明確に観測されたものの、BlocBuilder の残基が末端に結合している分子のピークは確認されず、代わりに両末端に水素が付加したポリサルコシンによるピークのみが観測された。末端基の水素は成長末端アシルラジカルによる水素引き抜き反応によって生成すると考えられることから、ラジカル重合が起こっていることが示唆されるが、結論を出すには追加のデータが必要であり、さらに研究を続けている。

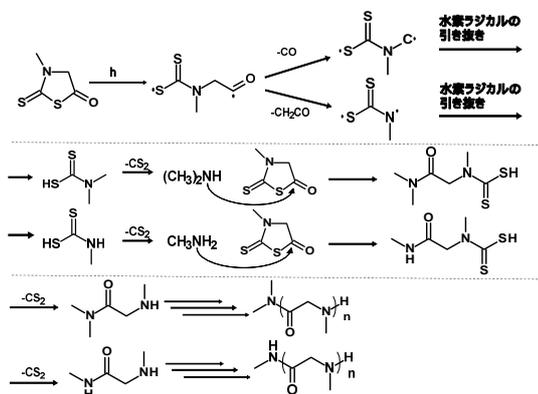
Sar-NdtCA の紫外吸収スペクトルを測定したところ、245 nm と 276 nm に吸収極大 (モル吸光係数 6700、9700) を持つことが分かった。そこで、その吸収領域に主な発光波長を持つ低圧水銀灯を用いて、石英試験管中アセトニトリルを溶媒として光照射 (12 時間) したところ、ポリサルコシンが生成した。¹H NMR スペクトルでは、大きな構造の乱れは観測されなかったが、ESI マススペクトルでは、異なった末端基に由来する多数のピークが観測され、複雑な重合反応が起こっていることが示唆された。多くのピークの中から末端基が帰属されたポリサルコシンの構造から以下のラジカル重合の機構が含まれている可能性が考えられる。



Sar-NdtCA のラジカル機構による光重合

低圧水銀灯の照射では、重合はしたものの複雑な反応であったため、300nm 以上に主な発光波長がある高圧水銀灯を用いてモノマーの吸収端付近に光照射をした。アセトニトリルとリン酸トリメチル中、石英とパイレックス試験管 (290 nm の光透過率 60%) を用いて反応を行ったところ、石英管中の方が速く反応が進行したが、複雑な反応結果となっ

た。一方、パイレックス管中では、アセトニトリル中の方が速くモノマーが消費され、8 時間で数平均分子量 17000 (GPC、溶離液 DMF、ポリスチレン換算) のポリマーが得られた。このポリマーの ¹H NMR と MALDI-TOF マススペクトルからポリサルコシンの構造が確認された。マススペクトルは、低圧水銀灯を用いたときは異なり単純で、末端構造は限定的であった。解析の結果、ポリサルコシンにメチルアミンあるいはジメチルアミンが付加した構造であることが、判明した。これらの末端基は、モノマーへの光照射によって生成したアシルラジカルから一酸化炭素が脱離した後、溶媒等から水素ラジカルを奪うことによって、生成すると予想された。このとき、成長反応に光が必要でない可能性もあるため、15 分間光照射した後に反応系を暗所に放置したところゆっくり重合が進行することが観察された。このことから、光は開始剤として働くアミンの生成に必要なだけで、直接的に成長反応に寄与せず、イオン機構でポリサルコシンが生成したことが考えられた (下記スキーム)。光照射の時間と生成ポリマーの分子量の関係など、更なる検証を行っている。



高圧水銀灯照射時の Sar-NdtCA の予想重合機構

次に、ビニルモノマーとの共重合を検討した。

Sar-NdtCA とスチレンの混合物に AIBN、または、BlocBuilder を添加し、加熱したところ、両モノマーともに重合した (分子量 2000 程度 (GPC))。しかし、DOSY スペクトルでは、ポリサルコシンとポリスチレン由来のシグナルは、別の拡散係数を示し、共重合体ではなく、ホモポリマーの混合物であることが分かった。また、低圧水銀灯を用いた場合には、ポリサルコシンのみが生成しスチレンは未反応であった。

酢酸ビニルをコモノマーとした場合には、AIBN を開始剤とした場合には、両モノマーとも未反応であり、低圧水銀灯照射では Sar-NdtCA のみが重合した。

メタクリル酸メチル (MMA) との共重合も検討した。AIBN 開始剤では MMA のみが重合し、低圧水銀灯照射では、Sar-NdtCA のみが重合した。BlocBuilder を開始剤に用いた場合には、両モノマーの重合が確認され、生成物の

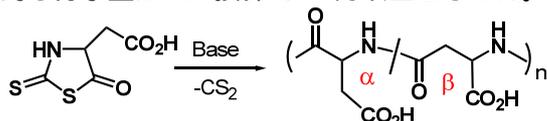
溶解性がホモポリマーとは異なることと、DOSY スペクトルから一部共重合体が得られていることが判った。重合条件と生成物の組成について、さらに詳細に検討を行っている。(2)アラニン(Ala)-NdtCAの重合

ABCNおよびBlocBuilderを開始剤としてクロロベンゼン中(それぞれ90、110)で反応した。生成物をNMRとIRスペクトルで解析したところ、ポリアラニンの生成が確認された。また、Sar-NdtCAと異なり、低圧水銀灯照射では未反応であった。

BlocBuilderを開始剤としてスチレンおよびMMAとの共重合を検討した。NMR、IR、GPCの解析、および、溶解性の変化から共重合体の生成が示唆されたが、更なる検証を行っている。

(2)アスパラギン酸(Asp)およびグルタミン酸(Glu)-NdtCAの重合

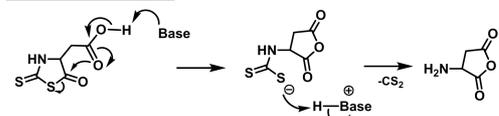
Asp-NdtCAは、ベンジルアミンを開始剤としてN-メチルピロリドン中室温で重合したが、体だけでな体が17%含まれたポリアスパラギン酸が生成していることが判明した。このことから、単純な開環重合だけでなく、側鎖カルボキシル基の重合への関与が示唆された。次に、ベンジルアミンを加えることなくピリジン中で反応を行ったところ、室温48時間で定量的に重合が進行し、体を13%含むポリアスパラギン酸が得られた。GPCを用いて反応を追跡したところ、逐次型の重合が進行していることが示唆され、最終的な分子量はPSt換算で10万以上となった。



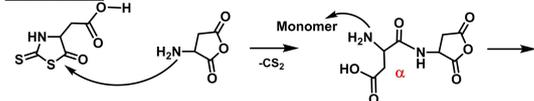
塩基存在下での Asp-NdtCA の重合

以上のことから、この重合反応では、側鎖のカルボキシル基が環のカルボニル基を攻撃することによって、環状酸無水物の骨格と二硫化炭素の脱離によって生じるアミノ基を持った中間体が生成し、それが Asp-NdtCA の重合を開始する連鎖型の重合だけでなく、アミノ基と酸無水物との間の反応が中間体同士やポリマー末端基間で進行する重付加型の重合が起こっていると推察される。

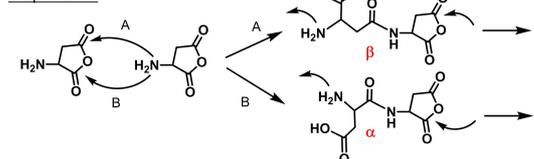
Monomer Isomerization



Chain-Growth

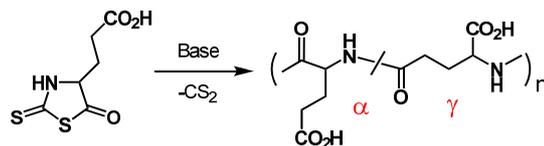


Step-Growth



塩基存在下での Asp-NdtCA の重合機構

Glu-NdtCAもAsp-NdtCAと同様の重合反応を行った。ピリジン中で得られたポリグルタミン酸には体だけでなく体が13%含まれていたことから、この重合でも異性化による環状酸無水物中間体の生成が示唆された。



塩基存在下での Glu-NdtCA の重合

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表](計2件)

近藤 里奈、松岡 真一、高木 幸治、鈴木 将人、無保護のカルボキシル基を持ったジチオNCAの開環重合によるポリ(アスパラギン酸)およびポリ(グルタミン酸)の合成、第64回高分子学会年次大会、2015年5月27日、札幌コンベンションセンター(札幌市)

近藤 里奈、松岡 真一、高木 幸治、鈴木 将人、二硫化炭素とアミノ酸から合成されるジチオNCAの開環重合、第62回高分子討論会、2013年9月13日、金沢大学間キャンパス(金沢市)

6. 研究組織

(1)研究代表者

鈴木 将人 (SUZUKI, Masato)

名古屋工業大学・大学院工学研究科・教授
研究者番号: 20179253