

平成22年5月27日現在

研究種目： 若手研究 (B)
 研究期間： 2008 ～ 2009
 課題番号： 20750109
 研究課題名 (和文) フッ化炭素鎖をもつデンドリティック多糖ポリマーによるバイオマテリアル創製
 研究課題名 (英文) Development of Biomaterials using Multi-Sugar Modified Dendritic Polymers with Fluorocarbon Chain
 研究代表者 吉村 倫一 (YOSHIMURA TOMOKAZU)
 奈良女子大学・大学院人間文化研究科・准教授
 研究者番号： 10339111

研究成果の概要 (和文) : 本研究では、高い機能をもつバイオマテリアルの創製を目指して、分子のサイズが制御可能なデンドリティックポリマーに着目し、その末端アミノ官能基を糖鎖で修飾し、水中で自己会合させるためにフッ化炭素鎖または炭化水素鎖を1本導入した両親媒性デンドリティックポリマーおよびその多糖ポリマーの開発を行った。これらの物理化学的性質は、デンドリティックポリマーの世代数および水溶液のpHに大きく依存することがわかった。

研究成果の概要 (英文) : The purpose of this study is to develop biomaterials with high performances by using dendritic polymer which is molecular nanoarchitectures of well-defined size and number of terminal groups. We designed and synthesized amphiphilic dendritic polymers with one fluorocarbon or one hydrocarbon chain and their sugar-modified polymers due to be self-assembled in water. It was proved that their physicochemical properties were influenced by the generation number of dendritic polymers and pH in solution.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	800,000	240,000	1,040,000
2009年度	300,000	90,000	390,000
総計	1,100,000	330,000	1,430,000

研究分野：コロイド・界面化学

科研費の分科・細目：複合化学・機能物質化学

キーワード：デンドリティックポリマー、デンドリマー、両親媒性ポリマー、フッ化炭素、ミセル、ナノ構造、表面張力、金ナノ粒子

1. 研究開始当初の背景

(1) 現在に至るまで、生体にやさしく、生体になじみ、生体に適合する材料、すなわち「バイオマテリアル」の創製は、まだ実現しておらず、人類のもつ科学技術以上に、生体は精緻で巧妙な自己防衛機能を有している。また、タンパク質や生体高分子、脂質などのポリマー材料を用いて分子集合体という数十ナノメートルのスケールでの相互作用を理解す

ることは重要であり、バイオテクノロジーの領域であるコロイド・界面化学の知識が求められる。

(2) デンドリティックポリマーは規則正しい枝分かれ構造を有し、従来の多分岐高分子とは異なり、分子量分布をもたず、分子サイズを数～数十ナノメートルの範囲で制御することができる。ナノメートル領域の現象は、生体内の様々な反応と関連して重要である

が、化学的および物理的なアプローチが難しい。本研究では、機能性ナノ材料を構築する上で極めてユニークな有機モチーフとして注目されている dendritic polymer に着目した。

(3) フッ化炭素鎖をもつ両親媒性化合物は、生体を構成している炭化水素系有機化合物と相互作用が小さいため、ほぼ生体不活性物質である。それらによって形成される nano-order の会合体を薬物として適用した場合、各生体器官に対する影響が少ないと考えられる。また、フッ素は高い電気陰性度をもつことから酸素との親和性が高く、米国では手術用の人工血液としての応用が期待されている。本研究では、dendritic polymer に 1 本のフッ化炭素鎖を導入することに注目した。

2. 研究の目的

(1) 本研究では、dendron backbone の dendritic polymer に長鎖フッ化炭素鎖または炭化水素鎖を 1 本導入した両親媒性の dendritic polymer および多糖 polymer を分子設計・合成し、それらの基礎物性ならびに水溶液中で形成する会合体構造について明らかにすることを目的とする。

(2) さらに、dendritic polymer および多糖 polymer の会合体の活性酸素消去活性ならびに酸素の可溶性についても調べ、nano-carrier 機能を有する新しい bio-material 材料としての有用性について検討する。

(3) dendritic polymer 中に疎水性の強いフッ化炭素鎖を 1, 2 本導入することで強い分子間引力が働き、水中で容易に自己会合することが期待され、また、polymer の外部を糖鎖で覆うことで細胞認識をもち、生体や環境にやさしい化合物を創製することができることを確信する。

3. 研究の方法

(1) 分子設計・合成

① 炭化水素鎖含有 dendritic polymer : 1 本の炭化水素鎖と 2 または 3 つの dendron backbone を有する dendritic polymer (C_{12} -2denGn, C_{16} -2denGn, C_{16} -3denGn, n は世代数で 1, 2, 3, 2den および 3den は dendron の数 ; Fig. 1) は、コアにドデシルアミン、ヘキサデシルアミンまたは *N*-ヘキサデシルエチレンジアミンを用いて、アクリル酸メチルによる Michael 付加反応と生成したメチルエステルとエチレンジアミンの反応を繰り返す Divergent 法に従い合成した。構造は、 ^1H NMR および ESI-MS により確認した。

② フッ化炭素鎖含有 dendritic polymer : まず、市販の 3-(perfluoroalkyl)propanol を R. Oda らの方法(Langmuir,

16, 9759 (2000))を参考にして臭素化を行った。この臭化物 3-(perfluoroalkyl)propyl bromide を塩基条件下、過剰量のエチレンジアミンに作用させて、*N*-[3-(perfluoroalkyl)propyl]ethylenediamine を合成した。この化合物をコアとして、①と同様の Michael 付加反応とアミド化反応を繰り返す Divergent 法に従い、1 本のフッ化炭素鎖と 3 つの dendron backbone を有する dendritic polymer (C_8^F -3denGn, $n = 1, 2, 3$) を合成した。構造は、 ^1H および ^{19}F NMR、ESI-MS により確認した。

③ 糖鎖の修飾 : ①で合成した C_{12} -2denGn の末端アミノ基に糖鎖のラクトビオン酸を作用させて、dendritic多糖 polymer (C_{12} -2denGn-Lac) を合成した。構造は、 ^1H NMR および ESI-MS により確認した。

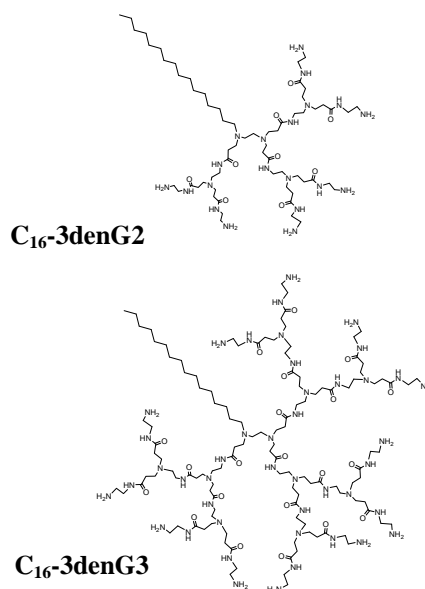


Fig. 1 Structures of C_{16} -3denG₂ and C_{16} -3denG₃.

(2) 物性評価

両親媒性 dendritic polymer および多糖 polymer の物性は、 10 mmol dm^{-3} Tris-HCl 緩衝溶液 (pH 7) および pH 2 と 11 の水溶液を用いて、Wilhelmy 法または Pendant drop 法による平衡表面張力、最大泡圧法による動的表面張力の測定により 25°C で検討した。

(3) 水溶液中で形成する会合体の nano 構造解析

両親媒性 dendritic polymer が水中で形成する会合体の nano 構造は、プローブのピレンによる蛍光、動的光散乱 (DLS)、中性子小角散乱 (SANS)、低温透過型電子顕微鏡 (cryo-TEM) の測定により調べた。

(4) 金 nano 粒子の合成

両親媒性 dendritic polymer の水

溶液に塩化金酸を溶解させた後、還元剤に水素化ホウ素ナトリウムを加えて金イオンを還元することで、金ナノ粒子を合成した。粒子の安定性、形状、大きさは、可視紫外スペクトル (UV)、DLS、TEM の測定により検討した。

4. 研究成果

(1) デンドリティックポリマーの合成

炭化水素鎖またはフッ化炭素鎖を有するデンドリティックポリマーは、いずれの世代においても 90%以上の高収率で合成することができた。

(2) 物性と会合体のナノ構造

① デンドリティックポリマー

表面張力曲線から得られた炭化水素鎖含有のデンドリティックポリマー C_{16} -2denGn ($n = 1, 2, 3$) および C_{16} -3denGn ($n = 1, 2, 3$) の pH 2 水溶液における臨界ミセル濃度 (cmc) は、それぞれ 0.0718、0.132、0.229 と 0.0499、0.216、0.307 mmol dm^{-3} であり、世代の増加とともに cmc は増加した。cmc における表面張力は 35~42 mN m^{-1} であり、親水部の嵩高い構造にも関わらず気/液界面に効率よく吸着していることが示唆される。例として、 C_{16} -2denG1、 C_{16} -3denG1 および C_{16} -3denG2 の表面張力曲線を Fig. 2 に示す。

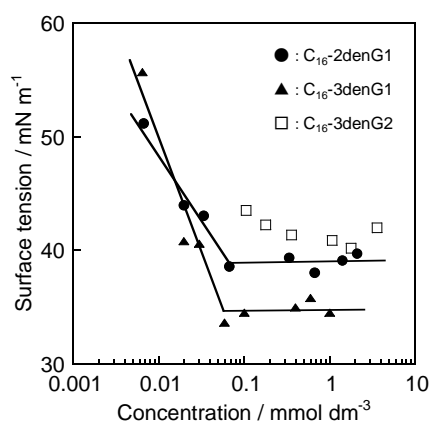


Fig. 2 Surface tension plots for C_{16} -2denGn and C_{16} -3denGn.

水溶液 (pH 2) 中で形成する C_{16} -3denGn の会合体の見かけの流体力学的半径 (R_H) を、DLS で得られた拡散係数から Stokes-Einstein 式を用いて算出した。 C_{16} -3denGn ($n = 1, 2, 3$) の R_H と濃度の関係を Fig. 3 に示す。会合体の大きさは世代および濃度によって著しく異なり、興味深い会合挙動を示した。すなわち、世代 G1 では、濃度の増加とともに見かけの R_H は増加し、cmc の約 30 倍の濃度で 200 nm 前後の大きな会合体を形成した。G2 では濃度の依存は見られず、数 nm の小さなミセルを形成しているのに対し、G3 では広

い分布の粒径をもつ会合体が得られることがわかった。これは、世代増加に伴うデンドリティックポリマー同士の立体障害やアミド基間の水素結合によるものと考えられる。

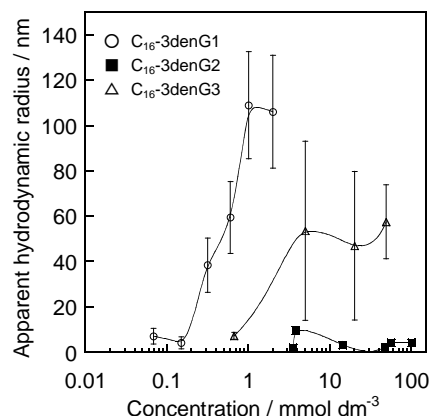


Fig. 3 R_H vs concentration for C_{16} -3denGn.

C_{16} -3denG3 (10 mmol dm^{-3}) が形成する会合体の cryo-TEM の写真を図 4 に示す。

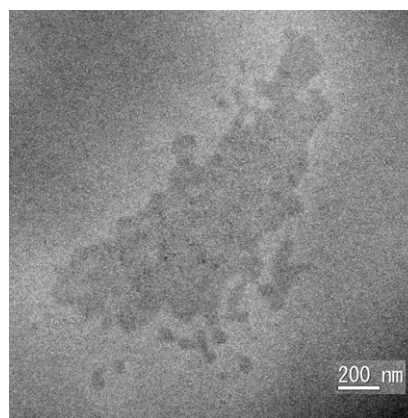


Fig. 4 Cryo-TEM image of C_{16} -3denGn.

cryo-TEM の結果は DLS から得られた粒径の結果と一致せず、何らかの会合体が密に詰まった数 100 nm の大きな会合体を形成していることがわかった。さらに、会合挙動に及ぼすデンドロンの数ならびに水溶液中の pH の影響についても検討した。現在、SANS の測定を行い、会合体のナノ構造について詳しく検討しているところである。

② デンドリティック多糖ポリマー

C_{12} -2denGn および C_{12} -2denGn-Lac の水 (pH 7 Tris-HCl 緩衝溶液) への溶解性は、世代数の増加とともに増大した。 C_{12} -2denGn および C_{12} -2denGn-Lac の表面張力は cmc 以上の濃度で一定にならず、増加あるいは減少する傾向が見られた。これは、 C_{12} -2denGn および C_{12} -2denGn-Lac の気/液界面での吸着状態が濃度増加に伴い変化していることを表し、デンドリティックポリマー骨格の嵩高い構造

が要因の一つと考えられる。 C_{12} -2denGn-Lac の cmc は、 C_{12} -2denGn よりも高く、なかでも世代数が大きくなると cmc の差は顕著に表れた。これは、糖鎖の導入により親水性が増加したためと考えられる。また、超純水および Tris-HCl 緩衝溶液 (pH 7) での C_{12} -2denGn の γ_{cmc} は、それぞれ $29\sim 36 \text{ mN m}^{-1}$ 、 $33\sim 35 \text{ mN m}^{-1}$ であり、従来の低分子界面活性剤と同等の低下能を示した。

気/液界面における C_{12} -2denGn および C_{12} -2denGn-Lac の吸着・配向性は、Gibbs の吸着等温式から算出した分子占有面積 A_{cmc} の値から知ることができ、 A_{cmc} 値が小さいほど、界面への吸着・配向性が優れていることを示す。Tris-HCl 緩衝溶液 (pH 7) における C_{12} -2denGn の A_{cmc} 値は、G1 と G2 はほぼ同じで、世代数が高い G3 はこれらの約 1.6 倍の大きな値を示した。これは、世代数の増大とともに dendrotyclic polymer 骨格の構造が大きくなり、界面における吸着・配向性が低下するためと考えられる。また、糖鎖修飾した C_{12} -2denGn-Lac の A_{cmc} 値は、修飾していない同世代の C_{12} -2denGn と比べて大きくなった。これは、 C_{12} -2denGn-Lac の dendrotyclic polymer 骨格の末端に修飾された糖鎖が嵩高いために、界面での吸着・配向性が低下するためと示唆される。

(4) 金ナノ粒子の合成

両親媒性 dendrotyclic polymer C_{16} -3denG3 を保護剤として、cmc 以上の濃度で粒径のそろった数 nm 程度の小さな金ナノ粒子を合成することができた (Fig. 5)。TEM から得られた粒径は、DLS で測定した流体力学的直径とほぼ一致した。

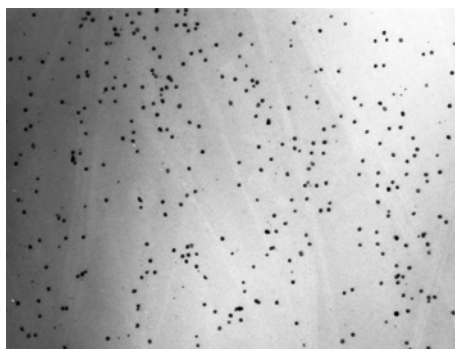


Fig. 5 TEM image of gold nanoparticles stabilized by $-C_{16}$ -3denG3.

今後、世代や構造の違いによって得られる金ナノ粒子の大きさや形状、安定性について検討する。また、調製した金ナノ粒子を用いて、活性酸素消去活性の評価を電子スピン共鳴 (ESR) により検討し、バイオマテリアルとしての有用性を明らかにしていく予定である。

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)

[雑誌論文] (計 4 件)

① 吉村倫一、ヘテロジェミニ型界面活性剤の界面物性と会合挙動、色材協会誌、査読有、82 巻、2009 年、568-575

② 吉村倫一、環境に適した新規界面活性剤の開発、フレグランスジャーナル、査読無、37 巻、2009 年、26-32

③ T. Yoshimura, M. Bon, K. Matsuoka, C. Honda, K. Endo, Surface properties and aggregate morphology of partially fluorinated carboxylate-type anionic gemini surfactants, 339, (2009), 230-235. (査読有)

④ K. Sakai, M. Kaji (ほか 8 名、7 番目), Fluorocarbon - hydrocarbon gemini surfactant mixtures in aqueous solution, 333, (2009), 26-31. (査読有)

[学会発表] (計 8 件)

① 海老原彩、吉村倫一、長鎖アルキル基を有する Tadpole 型両親媒性 dendrotyclic polymer の会合挙動、日本化学会第 90 春季年会、2010 年 3 月 26 日、近畿大学 (大阪府)

② 中谷友香、吉村倫一、長鎖アルキル基を有する両親媒性多糖オリゴマーの合成と物性、日本化学会第 90 春季年会、2010 年 3 月 26 日、近畿大学 (大阪府)

③ 奥田葵、速水美帆、吉村倫一、1 または 2 本のフッ化炭素鎖を有するジェミニ型界面活性剤の界面化学的性質、2009 年度色材研究発表会、2009 年 10 月 22 日、エル・おおさか (大阪府)

④ 海老原彩、雁金知子、吉村倫一、アルキル鎖をコアに導入した両親媒性 dendrotyclic polymer の水溶液物性、第 62 回コロイドおよび界面化学討論会、2009 年 9 月 19 日、岡山理科大学 (岡山県)

⑤ 海老原彩、吉村倫一、長鎖アルキル基を有する Tadpole 型両親媒性 dendrotyclic polymer の合成と物性、日本油化学会第 48 回年会、2009 年 9 月 12 日、名古屋工業大学 (愛知県)

⑥ 吉村倫一、異種の疎水鎖または親水基を有するジェミニ型界面活性剤の合成と物性、日本油化学会第 48 回年会・オレオマテリアルシンポジウム、2009 年 9 月 10 日、名古屋工

業大学（愛知県）

⑦吉村倫一、多鎖多親水基型の次世代界面活性剤－物性と会合挙動－、2009年日本油化学会若手の会サマースクール、2009年7月30日、あいち健康プラザ（愛知県）

⑧吉村倫一、特異な構造を有する新規界面活性剤の合成とその溶液物性、材料技術研究協会 新技術公開セミナー－第一線で活躍している若手研究者による界面活性剤－、2009年2月18日、東京理科大学森戸記念館（東京都）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉村 倫一 (YOSHIMURA TOMOKAZU)
奈良女子大学・大学院人間文化研究科・
准教授
研究者番号：10339111

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者