

Accounts of Materials & Surface Research

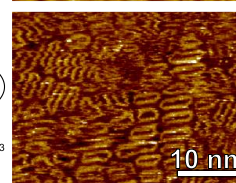
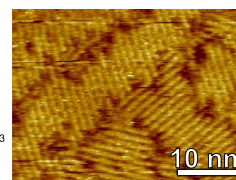
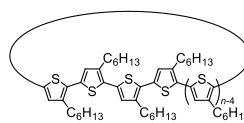
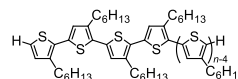
Unique Surfaces Formed with Cyclic Polymers

Yubo Wang¹, Tomohisa Watanabe¹, Takuya Yamamoto^{2*}

¹Graduate School of Chemical Sciences and Engineering, Hokkaido University
Sapporo, Hokkaido 060-8628, Japan

²Division of Applied Chemistry, Faculty of Engineering, Hokkaido University
Sapporo, Hokkaido 060-8628, Japan
yamamoto.t@eng.hokudai.ac.jp

Surfaces made of polymers are of much interest for studying the properties and applications. In this review, surfaces formed with cyclic polymers are discussed. Defect-free cyclic poly(3-hexylthiophene) (P3HT) was visualized by scanning tunneling microscopy (STM). Cyclic alkanedisulfide constructed self-assembled monolayer (SAM). Moreover, the directional arrangement for cyclic stereoblock copolymers of polylactide (PLA) self-assembled at the air-water interface affected the stereocomplexation. Recently, we reported that cyclization of poly(ethylene glycol) (PEG), the most representative biocompatible polymer, enhanced the dispersion stabilization of gold nanoparticle (AuNPs), showing superior properties against freezing, lyophilization, heating, and a physiological condition, which even has a better stability than the traditional gold-sulfur chemisorption. That is to say, the cyclic polymers forming a surface possess great potentials based on the topology.



Keyword: Cyclic Polymer, P3HT, Self-Assembled Monolayer, PLA Stereocomplex, Gold Nanoparticles

Yubo Wang received his BS (2016) degree from Harbin Engineering University of China and MS (2020) degree from Hokkaido University of Japan. He is pursuing his doctoral degree in the Prof. Yamamoto's research group.



Tomohisa Watanabe received his BS degree in 2020 from Hokkaido University under the supervision of Prof. Takuya Yamamoto. He is currently carrying out his master's studies on the self-assembly properties of macrocyclic polymers in the same group.



Takuya Yamamoto received his BS degree in 1999 and PhD degree in 2004 from the University of Utah. He joined the JST ERATO Aida Nanospace Project as a researcher in 2005. From 2008 to 2015, he was an assistant professor in Department of Organic and Polymeric Materials, Tokyo Institute of Technology. Since 2015, he has been an associate professor of the Division of Applied Chemistry, Faculty of Engineering, Hokkaido University. His current research interests include the synthesis and self-assembly of cyclic polymers for the development of functional materials.



環状高分子がつくる特殊な表面

王钰博¹, 渡邊智久¹, 山本拓矢^{2*}

¹ 北海道大学 大学院総合化学院

² 北海道大学 大学院工学研究院 応用化学部門

1. はじめに

高分子で形成された表面は、材料物性を研究する上で大きな関心を集めている¹⁻³。本稿では、環状高分子を用いた表面について述べる。我々は、欠陥のない環状ポリ(3-ヘキシルチオフェン)(P3HT)の合成に成功し、走査型トンネル顕微鏡(STM)で可視化を行った⁴。また、環状アルカンジスルフィドの自己組織化単分子膜(SAM)を構築した⁵。さらに、気液界面でポリ乳酸の環状ステレオブロック共重合体がステレオコンプレックス(SC)を形成すると、その結合方向が膜構造に影響を与えていることを明らかとした⁶。加えて、最近、代表的な生体適合性ポリマーであるポリエチレングリコール(PEG)を環化し、金ナノ粒子(AuNPs)に使用すると分散安定性が向上し、凍結、凍結乾燥、加熱、生理的条件に対して優れた特性を示し、従来の金とチオールの化学吸着よりも安定性に優れることを報告した⁷。これらは、表面を形成する環状高分子がトポロジーに基づいて驚くべき特性を示した結果であり、

その詳細を紹介する。

2. 全π共役系環状 P3HT の合成と環構造の可視化

π共役系大環状分子は、化学構造が明確に定義されているため、理論的にも実験的にも最も興味深い物質の一つである⁸⁻¹⁰。このような分子は、優れた特性を示すことが期待されるため、有機電子デバイスへの応用に非常に興味を持たれている。特に環状ポリオレフィンに積極的に研究が進められており、非線形光学特性や集光特性などのユニークな特性が報告されている¹¹。

著者らは、まず、適切な開始剤を用いた GRIM 重合法により、All Head-to-Tail 型の直鎖状 P3HT を合成した(Figure 1a)⁴。重合時に生成する副生成物の分離は、ホウ酸を担持した樹脂を用いた鈴木カップリングによって行った。次に、SnMe₃ 末端基間の Pd 触媒を用いたカップリング反応による環形成を行った。この際、アミノメ

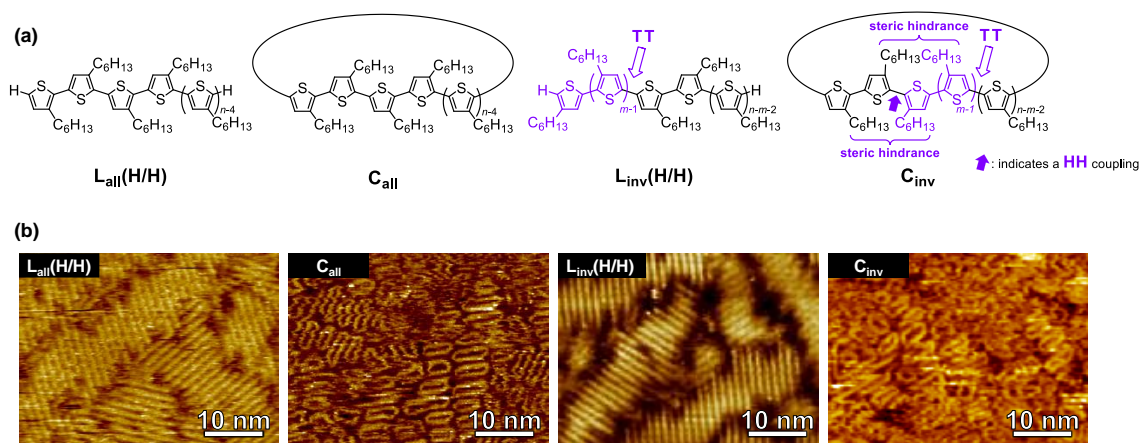


Figure 1. (a) Chemical structures and (b) STM images of all Head-to-Tail linear P3HT ($L_{all}(H/H)$), all Head-to-Tail cyclic P3HT (C_{all}), linear P3HT with inverted units ($L_{inv}(H/H)$), and cyclic P3HT with inverted units ($C_{inv}(H/H)$).

チル樹脂との捕獲反応の結果、未反応の直鎖状前駆体だけでなく、分子間反応生成物も分離し、純粋な全 π 共役系環状 P3HT を得ることができた。同様に、部分的に反転したユニットを有する直鎖状および環状 P3HT を調製した。SEC-MALS-Visco, 吸光・蛍光分光法, FP-TRMC 測定を用いて、環状トポロジーと位置規則性の効果を調べた結果、全 π 共役系環状 P3HT は非局在化された励起子を発生した。さらに、走査型トンネル顕微鏡により単一分子の観察に成功した (Figure 1b)。

3. 環状アルカンジスルフィドの自己組織化単分子膜

自己組織化単分子膜 (Self-Assembled Monolayer, SAM) は、材料表面の改質に非常に有効な手段である¹²。これまで、SAM の形成に用いられる分子は直鎖か分岐状に限定されていたが、本研究では、金基板上に環状アルカンジスルフィドからなるループ状の SAM の構築と物性を検証したところ、荷重が閾値を超えると摩擦応答を示すという現象を見出した⁵。このような摩擦応答の変化は、直鎖アルキル鎖からなる SAM では見られなかった。すなわち、これまでの多くの SAM の研究では、表面特性は分子鎖の末端基に基づいて設計されていたが、本研

究では分子トポロジーによるものである。

まず、1,20-エイコサンジチオール¹³の環化反応により、環状アルカンジスルフィドである 1,2-ジチアシルクロイコサンを新規に合成した (Figure 2e,f)。次に、金基板を環状アルカンジスルフィドのジクロロメタン溶液に浸漬して SAM を形成し、表面プラズモン共鳴 (SPR) 測定によって確認した。得られた基板を多量の純ジクロロメタンで洗浄し、真空下で乾燥した。同様に対応する直鎖状アルカンジスルフィドも調製した (Figure 2a,b)。

Figure 2c,g は、原子間力顕微鏡 (AFM) で得られた直鎖状アルカンジスルフィド SAM (SAM-*l*) および環状アルカンジスルフィド SAM (SAM-*c*) の画像である。両方の単分子膜の二乗平均平方根粗さは、 0.3 ± 0.1 nm であり比較的平坦であった。さらに、水接触角測定により、SAM-*l* および SAM-*c* の表面特性を調査したところ、SAM-*c* の接触角 ($97.0 \pm 1.4^\circ$) は SAM-*l* の接触角 ($105.6 \pm 0.9^\circ$) よりも有為に小さくなった。このような違いを理解するために、Fowkes の理論¹³に基づいてメチレン被覆面とメチル被覆面の水接触角を推定した結果、それぞれ 97° , 106° となり、実験的に観測された値に近いものであった。このことから、SAM-*l* と SAM-*c* の表面は、それぞれメチル基とメチレン基で覆われていると結論できる。

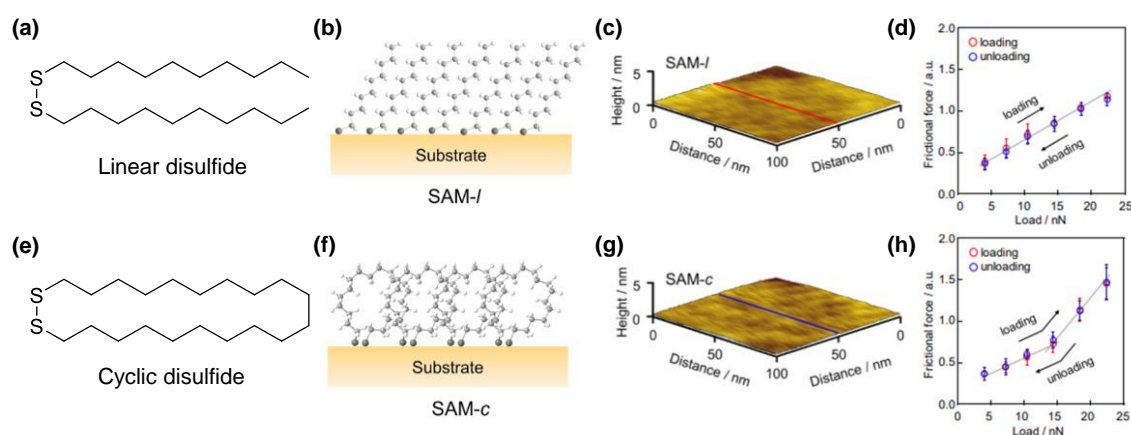


Figure 2. (a) Chemical structures of linear alkanedisulfide, (b) schematic illustration of SAM formed from linear alkanedisulfide (SAM-*l*), (c) AFM image of SAM-*l*, and (d) plot of the load-dependence of frictional force for SAM-*l*. (e) Chemical structures of cyclic alkanedisulfide, (f) schematic illustration of SAM formed from cyclic alkanedisulfide (SAM-*c*), (g) AFM image of SAM-*c*, and (h) plot of the load-dependence of frictional force for SAM-*c*.

次に、SAM-*l*とSAM-*c*の摩擦をLateral Force Microscopy (LFM)を用いて調査した。この測定では、一定荷重でSAM面に接触したカンチレバーの先端を一方向に往復させることで摩擦力を反映したカンチレバーのねじれが検出される。Figure 2d,hは、SAM-*l*とSAM-*c*の摩擦力を荷重に対してプロットしたものである。SAM-*l*は、0.4~22 nNの範囲で荷重に比例した摩擦力が得られ、摩擦係数に相当するプロットの傾きは 4.6×10^{-2} であった。このように摩擦力と荷重との間に直線的な相関関係が見られるのは、金基板上にアルキル鎖が十分に充填された表面を形成したためである¹⁴。一方、SAM-*c*の低負荷時の値(= 3.7×10^{-2})は比較的lowく、SAM-*l*と同程度であったが、荷重が14 nNを超えると、値は急激に増加した(= 0.1)。これは、14 nN以上においてSAM-*c*の摩擦応答が支配的になることを明確に示している。

金基板上に構築した直鎖状アルカンチオールSAMは、高荷重がかかるとアルキル鎖が酸化して塑性変形することが知られている¹⁵。一方、SAM-*c*の摩擦力は、荷重解放後も元の値を示した。これは、荷重によるSAM-*c*の変形が可逆的であることを意味する。さらに、X線光電子分光(XPS)により、ロード-アンロードサイクル後の試料表面は全く酸化していないことが明らかになった。

これらの結果は、官能基を持つ鎖末端以外の手段でも表面特性を制御できることを示している。すなわち、トポロジーの概念は、自己組織化と材料科学分野でのブレークスルーにつながる潜在性を有するといえる。

4. 環状ステレオブロックポリ乳酸が形成するLangmuir膜

Langmuir膜の形成は、高機能材料を作製する上で最も重要なプロセスの一つである¹⁶。ここで、ポリマー鎖が平行または反平行を区別して自己組織化を行い、方向の制御された有用な足場となり得る。本研究で使用した高分子は、ラングミュア単分子膜中の平行・反平行鎖配置を有する直鎖状および環状ポリラクチド(PLA)ステレオブロック共重合体であり、そのステレオコンプレック

ス(SC)形成を利用した。PLA鎖が平行に配置された直鎖および環状のステレオブロック共重合体は圧縮時に第1層および第2層にラメラSCを形成したが、鎖が反平行に配置された直鎖および環状のステレオブロック共重合体は1層のみのラメラを形成せず、必ず2層のラメラを形成した。これらの結果は、エナンチオマーであるPLA鎖が選択的にSC内で反平行方向ではなく平行方向に集合したことで合理的に説明された。

PLA鎖は、繰り返し単位内のエステル連結の方向に依存する。SC内のPLA鎖のパッキングについて、平行^{17,18}、反平行^{19,20}、または統計的な平行と反平行の混合²⁰のいずれが好ましいか未だ議論がある。本研究では、ラングミュア単分子膜における平行・反平行方向のSC形成を区別するために、平行・反平行方向に鎖が配置された直鎖状・環状のステレオブロックPLAを用い、AFMにより結晶化挙動を評価した。

本研究で使用した平行鎖および反平行鎖配置の直鎖および環状のステレオブロックPLAをFigure 3に示す²¹。平行配列の環状ブロックPLAは、反平行配列の環状ブロックPLAよりも融点が高く(220 °C)、平行配列の方がより安定であることが示されている(208 °C)。両末端にアルケンを有する平行・反平行配置の直鎖状ブロック共重合体は、PLLAとPDLAのクリック反応により調製した。次に、これらの両末端をメタセシス反応で結合し、平行・反平行配列の環状ブロックPLAを得た。

Figure 3は、マイカ上に堆積した単分子膜のAFM像である。環状平行ブロック共重合体は、5 mN/mの圧縮速度で厚さ13 nm、高さ約0.5 nmのラメラ結晶(第1層SC)を形成し、7 mN/mの圧縮速度では厚さ11 nm、高さ約1 nmのラメラ結晶(第2層SC)を形成し、第1層の上に積層した。また、ラメラの厚さは、環状ブロック共重合体(13 nm)で期待される値と一致した。右側の高倍率で示されたSCの分子画像の各種値(0.94 nmの鎖鎖間隔、0.81 nmのらせんピッチ、および112°の傾き)は、X線散乱(0.916 nmの鎖鎖間隔、0.870 nmのらせんピッチ、および

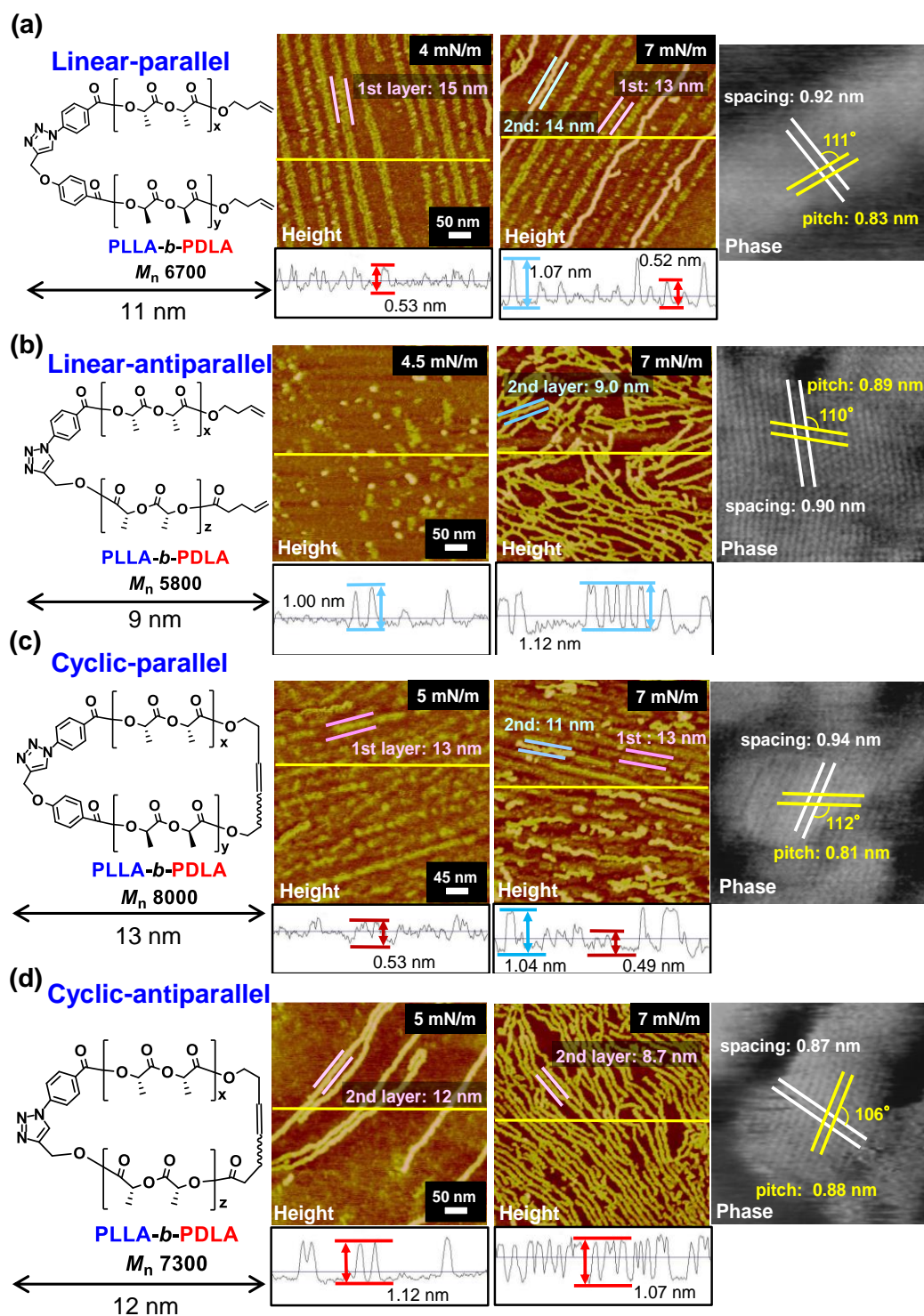


Figure 3. Chemical structures and AFM height images of monolayers deposited on mica at the indicated surface pressure. (a) Linear parallel PLLA-*b*-PDLA, (b) linear antiparallel PLLA-*b*-PDLA, (c) cyclic parallel PLLA-*b*-PDLA, and (d) cyclic antiparallel PLLA-*b*-PDLA.

109 °の傾き)に基づいて報告された PLA SC の結晶構造と良く一致していた¹⁸。すなわち, PLA SC が環状平行ステレオブロック PLA の Langmuir 膜で形成されたことを示す。対して,

環状反平行配列のステレオブロック PLA は第 1 層のラメラを形成せず, 代わりに 5 mN/m で厚さ 12 nm, 高さ 1 nm の 2 層のラメラを形成し, 7 mN/m ではその厚さが 8.7 nm まで減少した。5

mN/m での初期ラメラ厚さは、環状ステレオブロック PLA で予想されるものと一致した。一方、直鎖状平行ステレオブロック PLA は、第 1 層 (高さ 0.53 nm) と第 2 層 (高さ 1.07 nm) が、厚さ 13~15 nm のラメラを形成しており、折り畳まれた直鎖状結晶と同程度であった。これに対して、直鎖状反平行ステレオブロック PLA では、小さな結晶は数個しか形成されず、第 1 層目のラメラ結晶は形成されなかった。さらに、ほとんどが直線状の折りたたみ鎖 SC 結晶に対応する厚さの第 2 層ラメラを形成していた。加えて、直鎖状ブロック共重合体の両方の高倍率画像により、SC の分子構造を確認した。すなわち、平行配列の環状ステレオブロック PLA と直鎖状ステレオブロック PLA は第 1 層と第 2 層の両方のラメラを形成したのに対し、反平行環状ステレオブロック PLA と直鎖状ステレオブロック PLA は、1 層のみのラメラは形成しないが、2 層のラメラを形成した。

結論として、平行・反平行配列を持つ直鎖状・環状のステレオブロック PLA を用いて、SC 内でのパッキングを調べたところ、PLLA と PDLA の平行配列が選択的に発生していると仮定することで、形成される結晶が合理的に説明できた。単位格子内のらせん間の相互作用エネルギーは、平行配置 ($-119 \text{ kcal mol}^{-1}$) と反平行配置 ($-$

$111 \text{ kcal mol}^{-1}$) について以前に計算されており、平行配列がわずかに安定であることが報告されている¹⁹。本研究の結果はこれと合致するものである。

5. 環状 PEG の金ナノ粒子表面への物理吸着

現在、金属ナノ粒子²²⁻²⁵をはじめ数多くのナノ粒子系医薬品が盛んに研究されているが、造影剤や薬物を内包するドラッグデリバリーシステム (DDS) 用のキャリアも含め、それらの多くは粒子表面が生体適合性のポリエチレングリコール (PEG) で覆われたものになる²⁶。この PEG による修飾は PEGylation と呼ばれ、生理的条件下での分散安定性を得るため生物学的応用には必須である。また、PEGylation により生体内での免疫系による検出から保護される。²⁷ しかし、ナノ粒子系医薬品の PEGylation はチオールに代表される化学吸着に基づくため²⁸、対応する PEG 化剤の合成が必要な上、手順が煩雑であり、十分な分散安定性が得られない場合もしばしば存在する。つまり、ナノ粒子の簡便かつ安定した PEGylation は、生物学的応用に限らずナノ粒子を利用する幅広い領域において強く求められる技術である。

我々は、直径約十数 nm の金ナノ粒子の水分散液に対し、両末端に水酸基 (HO-) を持つ直鎖状 HO-PEG-OH (Figure 4a)、両末端にメキシ基 (MeO-) を持つ直鎖状 MeO-PEG-OMe

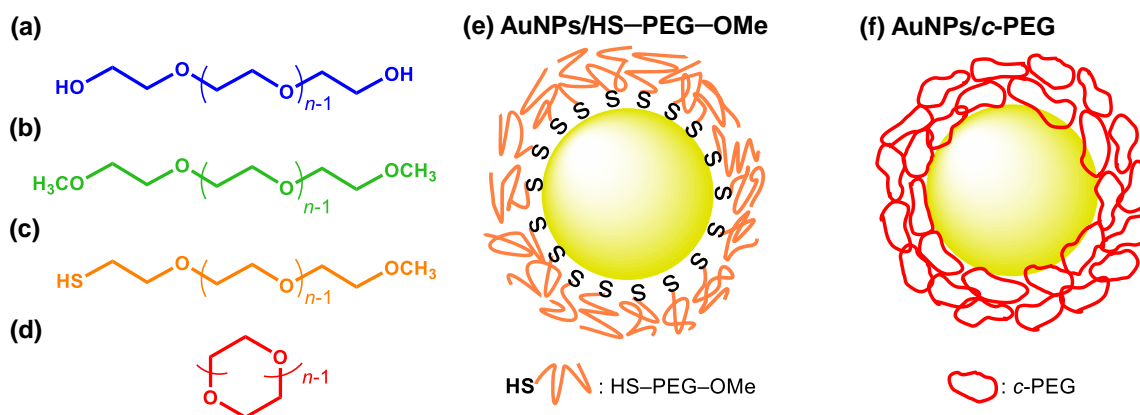


Figure 4. Chemical structures of (a) HO-PEG-OH, (b) MeO-PEG-OMe, (c) HS-PEG-OMe, and (d) cyclic PEG (c-PEG). Schematic illustration of gold nanoparticles (AuNPs) PEGylated by (e) chemisorption of HS-PEG-OMe and (f) physisorption of c-PEG.

(Figure 4b), チオール(HS-)と金属原子の化学反応によりナノ粒子の PEG 化剤として広く利用される直鎖状 HS-PEG-OMe(Figure 4c,e)及び直径数 nm の環状 PEG (Figure 4d,f)をそれぞれ加え、冷凍、加熱、生理条件下での分散安定性を調査した⁷。また、凍結乾燥後の再分散能についても評価した。さらに、マウスを用いた動物実験を行い、生体適合性、血中滞留性及び腫瘍への蓄積性の評価を行った。その結果、HO-PEG-OH や MeO-PEG-OMe では無修飾の金ナノ粒子とほとんど変わらず不可逆的に沈殿したのに対し、環状 PEG を加えた金ナノ粒子は、これらの過酷な条件下でも分散安定性を保持していた(Figure 5)。さらに興味深いことに、HS-PEG-OMe を用いた場合でも、上述の加熱条件には耐えられずほとんど再分散できなかった(Figure 5c)。つまり、環状 PEG は従来の HS-PEG-OMe よりも優れた分散安定剤であることが

示された。さらに、動物実験では環状 PEG 修飾金ナノ粒子の生体適合性、血中滞留性及び腫瘍への蓄積性が確認された。

今回開発した環状 PEG によるナノ粒子の修飾・安定化技術は、シンプルかつ幅広い金属種へ対応可能であることから、バイオの応用分野において革新をもたらす製品開発へとつながると考えられる。例えば、環状 PEG によって修飾された金ナノ粒子、銀ナノ粒子、超微細酸化鉄ナノ粒子は、バイオイメージング素子としての応用の他に腫瘍の光温熱治療の新たなツールとして期待できる。

6. 謝辞

本研究の推進にあたり、九州大学 田中敬二教授、山形大学 熊木治郎教授、および研究室メンバーの皆様に深く感謝申し上げます。また、本稿で述べた研究の一部は、文部科学省博士

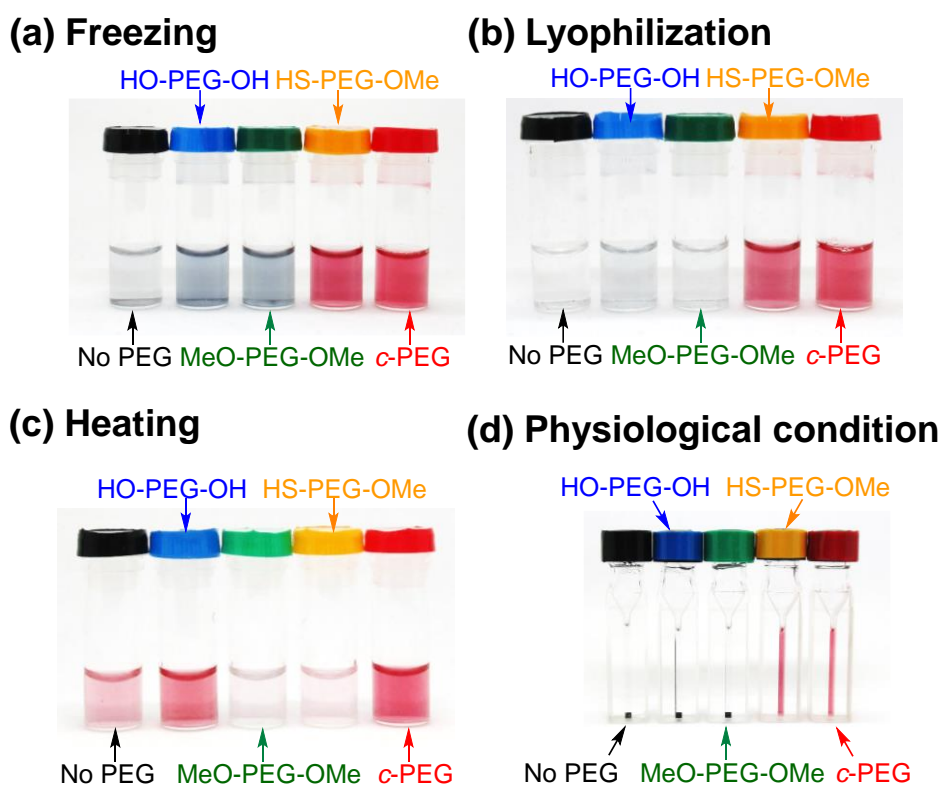


Figure 5. Dispersion stability tests of gold nanoparticles (AuNPs) PEGylated with various types of PEGs under the indicated conditions. Only AuNPs with cyclic PEG (c-PEG) did not dissolve or precipitate under all conditions, and the red color of surface plasmon resonance was confirmed. (a) Freezing and thawing, (b) lyophilization followed by redispersion, (c) heating at 85°C for 4 h, and (d) physiological condition with pH 7.4 and 150 mM of NaCl.

課程教育リーディングプログラム(北海道大学リーディングプログラム)および旭硝子財団の助成により行いました。

参考文献

- 1 S. H. Anastasiadis, *Langmuir* **29**:9277-9290 (2013).
- 2 L. Chen, C. Yan and Z. Zheng, *Mater Today* **21**:38-59 (2018).
- 3 V. V. Tsukruk, *Rubber Chem Technol* **70**:430-467 (1997).
- 4 T. Yamamoto, M. Hosokawa, M. Nakamura, S. Sato, T. Isono, K. Tajima, T. Satoh, M. Sato, Y. Tezuka, A. Saeki and Y. Kikkawa, *Macromolecules* **51**:9284-9293 (2018).
- 5 A. Shundo, K. Hori, Y. Tezuka, T. Yamamoto and K. Tanaka, *Langmuir* **33**:2396-2401 (2017).
- 6 K. Iwashima, T. Yamamoto, Y. Tezuka and J. Kumaki, *Langmuir* **36**:6216-6221 (2020).
- 7 Y. Wang, J. E. Q. Quinsa, T. Ono, M. Maeki, M. Tokeshi, T. Isono, K. Tajima, T. Satoh, S. Sato, Y. Miura and T. Yamamoto, *Nat Commun* **11**:6089 (2020).
- 8 M. Iyoda, J. Yamakawa and M. J. Rahman, *Angew Chem Int Ed* **50**:10522-10553 (2011).
- 9 S. Yamago, Y. Watanabe and T. Iwamoto, *Angew Chem Int Ed* **49**:757-759 (2010).
- 10 H. Omachi, S. Matsuura, Y. Segawa and K. Itami, *Angew Chem, Int Ed* **49**:10202-10205 (2010).
- 11 M. Iyoda and H. Shimizu, *Chem Soc Rev* **44**:6411-6424 (2015).
- 12 K. P. Browne and B. A. Grzybowski, *Langmuir* **27**:1246-1250 (2011).
- 13 F. M. Fowkes, *Ind Eng Chem* **56**:40-& (1964).
- 14 M. T. McDermott, J.-B. D. Green and M. D. Porter, *Langmuir* **13**:2504-2510 (1997).
- 15 J. D. Kiely and J. E. Houston, *Langmuir* **15**:4513-4519 (1999).
- 16 P.-G. de Gennes, *Scaling Concepts in Polymer Physics*, Cornell University Press, Ithaca (1979).
- 17 D. Sawai, Y. Tsugane, M. Tamada, T. Kanamoto, M. Sungil and S. H. Hyon, *J Polym Sci, Part B: Polym Phys* **45**:2632-2639 (2007).
- 18 T. Okihara, M. Tsuji, A. Kawaguchi, K. Katayama, H. Tsuji, S. H. Hyon and Y. Ikada, *J Macromol Sci, Part B: Phys* **B30**:119-140 (1991).
- 19 D. Brizzolara, H.-J. Cantow, K. Diederichs, E. Keller and A. J. Domb, *Macromolecules* **29**:191-197 (1996).
- 20 L. Cartier, T. Okihara and B. Lotz, *Macromolecules* **30**:6313-6322 (1997).
- 21 N. Sugai, T. Yamamoto and Y. Tezuka, *ACS Macro Lett* **1**:902-906 (2012).
- 22 K. L. Kelly, E. Coronado, L. L. Zhao and G. C. Schatz, *J Phys Chem B* **107**:668-677 (2003).
- 23 Y. J. Kim, R. C. Johnson and J. T. Hupp, *Nano Lett* **1**:165-167 (2001).
- 24 J. N. Anker, W. P. Hall, O. Lyandres, N. C. Shah, J. Zhao and R. P. Van Duyne, *Nat Mater* **7**:442-453 (2008).
- 25 T. Hasobe, H. Imahori, P. V. Kamat, T. K. Ahn, S. K. Kim, D. Kim, A. Fujimoto, T. Hirakawa and S. Fukuzumi, *J Am Chem Soc* **127**:1216-1228 (2005).
- 26 G. Zhang, Z. Yang, W. Lu, R. Zhang, Q. Huang, M. Tian, L. Li, D. Liang and C. Li, *Biomaterials* **30**:1928-1936 (2009).
- 27 E. Boisselier and D. Astruc, *Chem Soc Rev* **38**:1759-1782 (2009).
- 28 A. M. Smith, L. E. Marbella, K. A. Johnston, M. J. Hartmann, S. E. Crawford, L. M. Kozycz, D. S. Seferos and J. E. Millstone, *Anal Chem* **87**:2771-2778 (2015).