

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18550193
 研究課題名（和文） 水溶性ポリペプチドゲルの形状記憶能と膨潤・収縮挙動に関する研究
 研究課題名（英文） Study on Shape-memory Ability and Swelling-Shrinking Behavior for Polypeptide Hydrogels
 研究代表者
 猪股克弘（INOMATA KATSUHIRO）
 名古屋工業大学・大学院工学研究科・教授
 研究者番号：80232578

研究成果の概要：水溶性の非イオン性ポリペプチドに結晶性のアルキル側鎖を導入し、架橋剤により化学架橋したポリペプチドゲルを調製した。このゲルは、60℃の温度で軟化して変形させた後に冷却すると、一時的な変形の状態に固定化するが、再び昇温して軟化すると、調製時の形状に自発的に復元する、形状記憶能を有することが分かった。一次構造の異なる試料を各種調製し、形状記憶のメカニズムについて検討した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,200,000	0	1,200,000
2007年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	690,000	4,190,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：材料化学、高分子・繊維材料

キーワード：ポリペプチド、形状記憶、ゲル、結晶化

1. 研究開始当初の背景

非イオン性の水溶性ポリペプチドであるポリ[N^ε-(2-ヒドロキシエチル) L-グルタミン] (PHEG) は、溶媒組成に依存して、その二次構造が剛直な α -ヘリックス状態や柔軟なランダムコイル状態などをとることが知られている。筆者らは、このヘリックス-コイル転移に着目し、PHEG鎖を成分鎖とする会合性高分子の調製と、その会合構造について検討してきている。

一方、水溶性高分子の側鎖に疎水性長鎖アルキル基を導入させた化学架橋型のゲルでは、加工・調製時の形状を記憶している、形

状記憶能を持つことが、長田らによって報告されている。この系では、アルキル鎖の結晶化によりマクロスコピックな変形が凍結され、昇温により結晶が融解すると元のゲルの形に復元する機構で、形状記憶能が発現されていると考えられている。

2. 研究の目的

本研究課題では、結晶化を起こすような長鎖アルキル基 C_n を PHEG の側鎖に導入した PHEG-g-C_n の、化学架橋型のゲルを研究の対象とする。この化学架橋ゲルに期待される、

温度変化による側鎖アルキル基の結晶化に由来する一時的変形の保持能力ならびに再昇温時の自発的な形状回復能、すなわち形状記憶能について、系統的に研究を行う。得られた結果を、PHEG-g-Cn の架橋ゲルの化学構造から分子論的に考察することを目的とする。

3. 研究の方法

研究に用いた形状記憶ポリペプチドゲルは、次の二種類の方法で合成・調製した。なお、出発物質となるポリ(L-ベンジル L-グルタメート) (PBLG) は、重量平均分子量 (GPC、標準ポリスチレン換算、溶媒 N,N-ジメチルホルムアミド (DMF) /LiBr) が 20 万程度のもを用いた。

PHEG-g-C18gel-I: PBLG (0.1g) を DMF (0.6ml) に溶解した溶液に、オクタデシルアミン (ODA) と架橋剤ヘキサメチレンジアミン (HMDA)、反応促進剤である 2-ヒドロキシピリジン (2-HP) を加え加熱して、結晶性鎖を導入したゲルを調製した。DMF に浸漬し未反応物質を除いた後、2-アミノエタノール (2-AE) と 2-HP を加えて、ベンジルエステル基を全てヒドロキシエチルアミド基に置換した。得られたゲル (*PHEG-g-C18gel-I*、図 1) は、DMF で膨潤させて不純物を除去した後、水で膨潤させた。

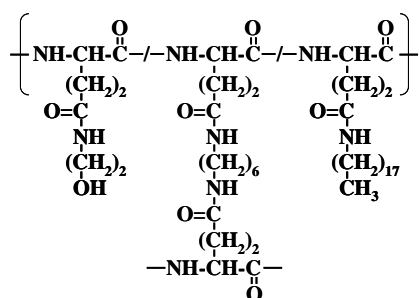


図 1. PHEG-g-C18gel-I の化学構造

PHEG-g-C18gel-II: PBLG を DMF 中で、2-HP を触媒として 2-AE と反応させることで、PHEG ホモポリマーを得る。N,N-ジメチルアセトアミド (DMAc) に PHEG とトリエチルアミンを溶解し、オクタデカノイルクロライド (ODC) を加えることで、PHEG の一部の側鎖の末端に長鎖アルキル基を導入した。この PHEG-g-C18 の濃度 10wt% のジメチルスルホキシド (DMSO) 溶液を調製し、架橋剤ドデカンジオイルジクロライド (DDDC) を加え攪拌後、50°C にてゲル化させた。反応容器からゲルを取り出し、DMSO に浸漬させ不純物を除き、さらに水で膨潤させることで、最終的なゲル (*PHEG-g-C18gel-II*、図 2) を得た。

これらの試料を、60°C 程度の温水中で軟化させた後に応力を加えて変形し、その状態で 5°C 以下に冷却する。変形した形状のまま応力をゼロにし、形状を保持するかどうかを調べる。その後、再び昇温し、一時的に変形・固定化した形状から、もともとの記憶している形状へ自発的に回復する、形状記憶能について調べる。

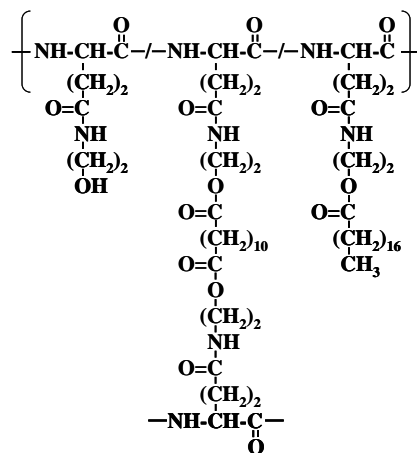


図 2. PHEG-g-C18gel-II の化学構造

さらに、これらの形状記憶能が何に由来するのかを検討するため、長鎖アルキル基を導入していない試料を調製し、それぞれの形状記憶能について検討した。また、試料の軟化や結晶化についての知見を得るために、線形動的粘弾性、広角 X 線回折、示差走査熱量計などの測定を行った。

4. 研究成果

(1) PHEG-g-C18gel-I の調製と形状記憶能

まず、PBLG に対する側鎖の導入と架橋を同時に行うことで調製する、*PHEG-g-C18gel-I* について検討した。

最初に PBLG/DMF 溶液に HMDA や ODA を加えてゲル化を行うが、この時の HMDA や ODA の仕込み量を変化させて、ゲル化が起こるかどうかを確認した。架橋剤 HMDA の PBLG 残基に対するモル比が大きい方がゲル化は起こりやすいが、結晶性鎖の ODA が多すぎると、PBLG 濃度が減少してしまうために、ゲル化は起こらなかった。

最も再現性良くゲル化試料を調製できたのは、HMDA と ODA を PBLG の残基モル数に対して各々 3 当量加えて反応させた場合であった。しかし、この試料の元素分析を行ったところ、結晶性 ODA の導入率はわずか 5mol% 程度で、PBLG 残基が約 45mol%、HMDA が結合した残基が約 50mol% であった。すなわちこの系では、結晶性鎖の導入量の大きなゲル化試料の調製は難しいことが分かった。

表1には、ODAとHMDAの仕込み量を変えてゲル化させた後、ベンジル側鎖を2-AEで置換して得た、最終的なPHEG-g-C18gel-Iの吸水率を示す。比較のため、ODAを仕込まずに調製したゲル、PHEGgel-Iの結果も示す。なお、“-”は調製しなかったもの、“×”は調製したがゲル化しなかった試料を示している。なお吸水率は、ゲル中の水の重量を乾燥重量で割った値とした。

表1 PHEG-g-C18gel-IおよびPHEGgel-Iの吸水率(%)

ODA 仕込み量	HMDA 仕込み量			
	1.0	2.0	3.0	4.0
0	1725	408	154	76
2.0	×	×	—	—
2.5	×	3294	2379	5912
3.0	—	—	4511	7524
3.5	—	—	×	4200
4.0	×	—	×	×

上述したように、ODAとHMDAを3等量の仕込みで調製した場合が最も試料調製の再現性が良かった。そこで、このゲルを用いて、形状記憶試験を行った。結果を図3に示す。具体的には、直径 r_0 の円柱状のゲル(図3a)を60°Cに昇温し、この温度で直径方向に力を加え r_1 mmまで変形した(図3b)。この時の、次式で定義される圧縮率は約30%であった。

$$\text{圧縮率} = (r_0 - r_1) / r_0$$

変形させたまま5°Cに冷却すると、荷重を除いた後も変形した形状のまま固定化された(図3c)。徐荷後に r_1 から r_2 まで回復した時の回復率を次式で定義すると、5°Cで除荷後30分の回復率は約7%で、ほぼ一時的な形状は保持されていた。

$$\text{回復率} = (r_2 - r_1) / (r_0 - r_1)$$

ただし、5°Cで1時間経過後は、回復率は41%に達し、高い形状保持能は短い時間でのみ見られることが分かった。このゲルを再び30°Cまで昇温すると、自発的に回復率95%、すなわちほぼ元の形状まで回復した(図3d)。

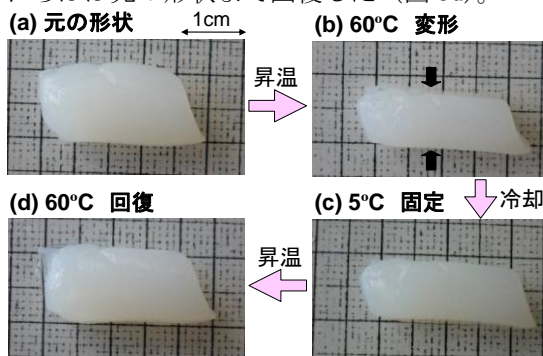


図3. PHEG-g-C18gel-Iの形状記憶試験
以上のことから、この手法により調製したPHEG-g-C18gel-Iは、温度変化に対して形状

記憶能を示すポリペプチドゲルであることが分かった。

比較のために、結晶性C18鎖を含まないPHEGgel-I(HMDA仕込み量は3等量)に関して、同様の形状記憶試験を行った。60°Cで圧縮率38%に変形後5°Cに冷却し除荷したところ、直後には一時的変形が保持されていたが、30分後では回復率66%となり、PHEG-g-C18gel-Iとは異なり、短い時間においても元の形状に戻ってしまった。昇温すると30°Cでは84%、50°Cでは95%まで回復したことから、形状回復能はあるものの、形状保持能が十分ではないことが分かった。すなわちPHEG-g-C18gel-Iでは、C18基を導入することにより形状保持能が増加し、形状記憶挙動を示すようになったと指摘することが出来る。

図3の試料と同じ組成(HMDA、ODAともに3等量仕込み)で調製したフィルム状のPHEG-g-C18gel-Iについて、線形動的粘弾性測定を行った。図4には、10°C、30°C、50°Cで測定した貯蔵(G')および損失剛性率(G'')の周波数(ω)依存性を示している。各温度とも、 G' と G'' の ω 依存性は小さく、また測定範囲内で $G' > G''$ である、典型的なゲルの粘弾性挙動を示している。各温度の $\omega = 10$ rad/secにおける G' の値を比較すると、50°Cから30°Cに冷却することで約1.5倍に増加しているのに対し、30°Cから10°Cに冷却時には約2.2倍に増加していた。

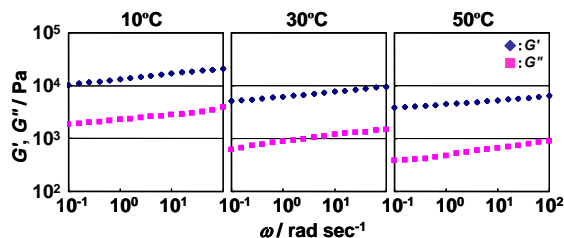


図4. PHEG-g-C18gel-Iの各温度における動的粘弾性測定結果

同様の実験を、C18鎖を含まないPHEGgel-I(HMDA仕込み3等量)についても行った結果を図5に示す。PHEG-g-C18gel-Iと比較すると、吸水率が低い(表1参照)分、弾性率が大きくなっている。 $\omega = 10$ rad/secにおける G' の温度依存性は、50°Cから30°Cへ、あるいは30°Cから10°Cへの冷却時とも、約1.1倍程度しか増加していなかった。以上の結果から、C18側鎖が存在するPHEG-g-C18gel-Iでは、10°C~30°Cの間に、弾性率が急激に変化するような、何かしらの構造変化が起きており、そのことが形状記憶能、すなわち低温での形状保持能と高温での形状回復能を示す要因になっていると推測できる。

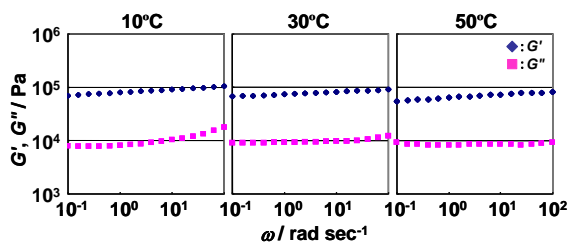


図5. PHEGgel-I の各温度における動的粘弾性測定結果

そこで、形状記憶能を示した PHEG-g-C18gel-I の C18 側鎖の結晶化の有無を確認するために、低温での広角 X 線回折測定および示差走査熱量測定を行ったが、ともに、C18 側鎖の結晶化が起こっていることを示すような結果は得られなかった。

これらの結果より、形状記憶挙動を示すには結晶性側鎖の存在が必要であり、導入率が低くかつ吸水率が高いために実験的に確認することはできなかったが、側鎖である C18 鎖はおそらくは結晶化し、それにより弾性率が增加し、変形された状態を保持する役割を果たしていると推測している。

(2) PHEG-g-C18gel-II の調製と形状記憶能

PHEG-g-C18gel-I では、合成法の都合で、結晶性側鎖の導入率が高い試料を得ることができず、かつ、側鎖導入率を正確に決めることも困難であった。そこで、まずアルキル側鎖を導入した PHEG-g-C18 を調製し、その濃厚溶液を架橋する方法により、PHEG-g-C18gel-II の調製を試み、形状記憶能について検討した。

まず、PHEG ホモポリマーを合成し、その側鎖末端のヒドロキシル基と長鎖脂肪酸の酸塩化物である ODC を反応させることで、側鎖導入率が 5mol%、26mol% の二種類の PHEG-g-C18 を得た。これらの試料を用いてゲル化を行ったところ、架橋剤が PBLG 残基に対してそれぞれ 0.5 等量以上、0.6 等量以上の時にゲル化が起こった。ただし、5mol% の PHEG-g-C18 を用いた場合のゲルは非常に柔らかく、また 26mol% の試料に架橋剤を 86mol% 加えた場合はゲルがもろくなってしまい、形状記憶試験を行うことが困難であった。そこで形状記憶試験は、側鎖導入率が 26mol%、架橋剤の仕込み量が 60mol%、吸水率が 296% の PHEG-g-C18gel-II を用いて行った。

キャピラリーを用いてロッド状に調製したゲルは、図 6a に示すように、初期状態で L 字型に変形していた。これは、キャピラリー管からゲルを取り出すときに力が加わったためである。これを 60°C に昇温し、ピンセットで両端をつまんで約 30% 延伸 (元の長さ 15mm から 20mm に延伸) した (図 6b)。力を

加えたまま 2°C に冷却し 5 分経過後に除荷したところ、10 分後にも延伸した形状は保持されていた (図 6c)。この試料を 60°C に昇温すると、自発的に元の L 字型の形状に回復した (図 6d)。以上の結果から、PBLG-g-C18gel-II においても、形状記憶能を示すことがわかった。

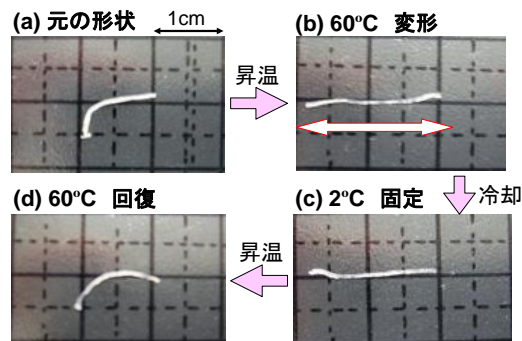


図6. PHEG-g-C18gel-II の形状記憶試験

以上、PHEG-g-C18gel-I と PHEG-g-C18gel-II の結果より、水溶性のポリペプチド PHEG の側鎖に結晶性鎖を導入し、化学的に架橋させた水溶性ゲルは、60°C において与えた一時的な変形を、5°C 以下に冷却することで固定化することが可能で、再び 60°C 近くに昇温することで自発的に元の形状に回復する、形状記憶能を有することが分かった。

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 5 件)

- ① K. Inomata, T. Takai, N. Ohno, Y. Yamaji, E. Yamada, H. Sugimoto, E. Nakanishi, "Helix-Coil Transition and Association Behavior of Water-Soluble Polypeptides Having Hydrophobic Alkyl Side Chains", *Prog. Colloid Polym. Sci.*, 印刷中, 査読有.
- ② K. Inomata, S. Shimomura, H. Hasegawa, M. Ogiso, H. Sugimoto, E. Nakanishi, "Structural Study on Aromatic Poly(amic n-alkyl ester)s and Their Derivatives by Solid-State Imidization II. Effect of Unremoved Alkyl Chains Attached by Ether Linkage", *繊維学会誌*, **64**(10), 279-283 (2008), 査読有.
- ③ K. Inomata, S. Shimomura, M. Ogiso, H. Hasegawa, H. Sugimoto, E. Nakanishi, "Structural Study on Aromatic Poly(amic n-alkyl ester)s and Their Derivatives by Solid-State Imidization

I. Effect of Alkyl Chains on the Structure Change”, *繊維学会誌*, **64**(10), 273-278 (2008), 査読有.

- ④ K. Inomata, R. Doi, E. Yamada, H. Sugimoto, E. Nakanishi, “Association Behavior of One-End Hydrophobically-Modified Poly[N^ε-(2-hydroxyethyl) L-glutamine] in Water/Ethylene Glycol Mixed Solvent”, *Colloid Polym. Sci.*, **285**(10), 1129-1137 (2007), 査読有.
- ⑤ 猪股克弘, 坂野愛, 佐藤永二郎, 杉本英樹, 中西英二, “ABA トリブロック共重合体溶液の組み替え網目構造とその変形・回復挙動”, *高分子論文集*, **64**(5), 309-316 (2007), 査読有.

[学会発表] (計 4 件)

- ① 世古口怜奈, 寺濱田美子, 猪股克弘, 杉本英樹, 中西英二, “水溶性ポリペプチドゲルの調製と形状記憶能の発現”, 第 3 回日本レオロジー学会中部支部修士論文発表会, 2009 年 3 月 6 日, 三重大学工学部.
- ② 世古口怜奈, 寺濱田美子, 猪股克弘, 杉本英樹, 中西英二, “結晶性鎖を有するポリペプチドゲルの調製と形状記憶能の発現”, 第 57 回高分子討論会, 2008 年 9 月 24 日, 大阪市立大学.
- ③ K. Inomata, T. Takai, H. Sugimoto, E. Nakanishi, “Viscoelastic behavior of aqueous solutions of hydrophobically-modified water-soluble polypeptides”, The XVth International Congress on Rheology, 2008 年 8 月 5 日, Monterey Conference Center, Monterey, CA, USA.
- ④ 世古口怜奈, 寺濱田美子, 猪股克弘, “水溶性ポリペプチドゲルの調製と形状記憶能の発現”, 第 6 回産官学接着若手フォーラム, 2007 年 12 月 7 日, 岐阜大学工学部.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

猪股 克弘 (INOMATA KATSUHIRO)

名古屋工業大学・大学院工学研究科・教授
研究者番号：80232578

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし