

平成 22 年 6 月 25 日現在

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2007～2009

課題番号：19300173

研究課題名 (和文) 刺激応答性コアセルベートによるキラル認識場の構築

研究課題名 (英文) Fabrication of chiral recognition by stimuli-responsive coacervate

研究代表者

青柳 隆夫 (AOYAGI TAKAO)

独立行政法人物質・材料研究機構・生体材料センター・領域コーディネーター

研究者番号：40277132

研究成果の概要 (和文)：分子設計された水酸基またはカルボキシル基を有する 2 種類のイソプロピルアクリルアミド型モノマーを合成し、それらとイソプロピルアクリルアミドとの共重合体を調製した。得られたコポリマーの温度応答性挙動に及ぼすモノマー組成、塩濃度、pH の影響を詳細に追究した。さらにこれらの 2 種類のポリマーのコアセルベート形成を検討した。その結果、それぞれのコポリマーの曇点以上に加熱すると、連鎖同士が均一に混合したコアセルベート滴が形成されることを確認した。さらに、水酸基を利用して架橋反応を行い、相互侵入網目構造を有するマイクロゲルの合成に成功した。得られたマイクロゲルの温度応答挙動、pH 応答挙動を詳細に検討した。その結果、構成する 2 種類の温度応答性、pH 応答性に反映した極めて興味深い性質を発現することが明らかとなった。

研究成果の概要 (英文)：We newly designed isopropylacrylamide(IPAAm)-based copolymers randomly containing carboxyl or hydroxyl groups. Their temperature-responsive behavior on comonomer composition, salt concentration and pH of the solution was precisely investigated. Furthermore, we studied coacervate droplet formation and corresponding micrometer-sized hydrogel by effective cross-linking reaction. Using the two kinds of IPAAm-based copolymer with different functional moieties, the obtained coacervate was completely fusion-type and the hydrogel showed semi-interpenetrating polymer network structure. Furthermore, the obtained hydrogel showed very sensitive temperature-and pH-responsive properties.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	6,700,000	2,010,000	8,710,000
2008 年度	5,000,000	1,500,000	6,500,000
2009 年度	2,600,000	780,000	3,380,000
年度			
年度			
総計	14,300,000	4,290,000	18,590,000

研究分野：バイオマテリアル

科研費の分科・細目：人間医工学・医用生体工学・生体材料学

キーワード：バイオマテリアル、ハイドロゲル、刺激応答性、温度応答性

### 1. 研究開始当初の背景

申請者は、官能基を有しながらも敏感な温度応答性を発現するイソプロピルアクリルアミドベースの温度応答性高分子の開発研究を行ってきている (Aoyagi ら, *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.*, 11, 101 (2000), Yoshida ら, *J. Polym. Sci. Polym. Chem.*, 41(6) 779(2003), Maeda ら, *Biomacromolecules*, 7, 545-549(2006)など)。得られた高分子材料は理想共重合体であり、官能基がランダムに配置され、なおかつ連鎖長が異なってもその均一なモノマー組成を有していることを明らかにしている。温度応答性高分子に関しては、このモノマー組成依存的な相転移/相分離現象を示差走査型熱分析および光散乱測定装置等を用いて明らかにしてきている。通常のアクリル酸との共重合体のようなこれまで多くの研究者が用いてきた材料とは一線を画す、構造明確な新材料である。系統的な研究を推進する中で、水酸基を有する共重合体が、これまでにない、ナノレベルのサイズを有し、また均一なサイズ分布のコアセルベートの形成が可能であることを見いだした (図1)。(T. Maeda ら, *Biomacromolecules*, 7, 545 (2006), T. Maeda ら, *Biomacromolecules*, 7, 2230 (2006))。

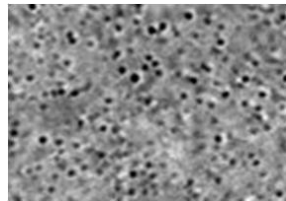


図1 形成されるコアセルベート

### 2. 研究の目的

本研究ではナノレベルのサイズと均一な分布を有したコアセルベート形成を詳細に検討し、光学活性なモノマーを設計・合成して重合体に供することにより、光学分割が可能なコアセルベートへと発展させ、最終的には不斉反応場を提供することにより、不斉有機合成へ応用出来る新しいコアセルベート応用概念を確立させることを目的とした。

### 3. 研究の方法

研究期間内では、まず、上述のアニオン性 (カルボキシル基) および非イオン性 (水酸基) のモノマーを用いて、イソプロピルアクリルアミドとの共重合体を調製し、イソプロピルアクリルアミドとの共重合体を調製し、次に、不斉炭素を持ったモノマーを用いて、不斉環境を有するコアセルベートの調製を行う。我々のこれまでの予備検討から、アルキル型の不斉炭素を有するモノマーが有力

候補となることがわかった。アルキル型の不斉炭素を有するモノマーに関しては、現在協力関係にある京都工芸繊維大学の青木助教教授が一連の研究を進めており、得られたポリマーとゲスト分子との相互作用が異なること、それによって相転移現象に違いが出ることを世界に先駆けて発表している (T. Aoki ら, *Macromolecules*, 34, 3118(2001), T. Aoki ら, *Macromol. Biosci.*, 4, 943(2004)など)。我々が開発したモノマーを用いて共重合体を調製することにより、認識出来る分子の範囲が格段に増加し、コアセルベート形成を利用した新たな光学分割システムが共同研究を実施する。

### 4. 研究成果

(1) はじめに、2-カルボキシイソプロピルアクリルアミド (4mol%) および 2-ヒドロキシイソプロピルアクリルアミド (50mol%) を含むイソプロピルアクリルアミドとの共重合体を作成した。カルボキシル基を含む共重合体には、それぞれ共重合体の混合の有無を確認するために、蛍光物質 (フルオレセイン) を化学的に担持させた。両ポリマーを 60°C に加熱させてコアセルベートを作成後、ジビニルスルホンを用いて水酸基同士の反応による架橋をおこなった。

有する温度応答性高分子のコアセルベート形成を利用してハイドロゲル微粒子の作製を行った。この高分子の水溶液を加熱し

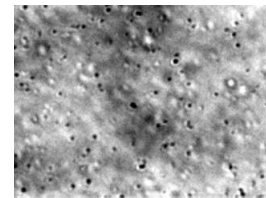


図2 2種の混合コアセルベートから誘導されるマイクロゲル

てコアセルベート滴を形成後、ジビニルスルホン架橋剤として反応させる行うことによりハイドロゲル微粒子が得られた (図2参照)。

我々は、これまで、敏感な温度応答性と化学反応性を併せ持つ刺激応答性高分子材料の設計に取り組んできており、今回の結果は、2種の高分子の化学構造が極めて類似していることと、カルボキシル基および水酸基がそれぞれランダムに配置されているために起こった現象であると考えている。

(2) さらに、この完全な混合コアセルベート形成を裏付けるために、得られるコアセルベート滴の粒径を詳細に調べた。その結果、混合コアセルベートの粒径は、カルボキシル基を有するコアセルベートと水酸基を有す

るもののそれぞれ単独のものの中間の粒径を示した。これも混合による安定なコアセルベート形成を示唆している。

(3) 次に、得られたハイドロゲルの刺激応答性を評価した。

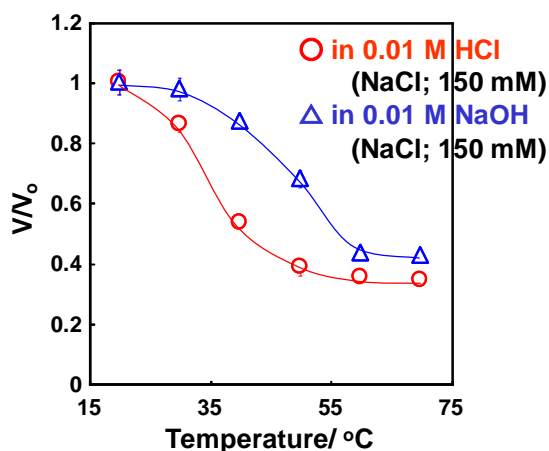


図3 塩基性および酸性条件下でのマイクロハイドロゲルの膨潤・収縮挙動

図3に0.01MのNaOHまたはHCl水溶液中でのマイクロハイドロゲルの膨潤・収縮挙動を示した。図から明らかなように、酸性条件下では収縮挙動が低温側で始まるのに対して、塩基性条件下では、PIPAAmの転移温度以上で収縮がスタートするのがわかる。さらに、塩基性条件下では、酸性条件と比較して、膨潤度が高い結果となった。これは、ハイドロゲル内の2カルボキシル基が、pH応答性の役割を担っており、ハイドロゲル全体として、そのモル分率は数%であるにもかかわらずハイドロゲル全体の、体積変化に大きく影響することがわかった。また、この現象は、カルボキシル基を有するIPAAmコポリマーが、相互侵入網目構造(IPN)構造のネットワーク部分ではなく、絡み合う方の連鎖であるために、その運動性が高く、効果的にネットワーク全体の体積変化に影響を与えたものと考えられる。

(4) 図4には、pHを変化させた時の膨潤挙動変化を示した。低pH側では、ほぼ膨潤度が一定であり、だんだんとpH値を上昇させていくと、pHが6付近で急激に膨潤度が上昇した。さらにほぼ中性領域では一定の膨潤度に達して、一定となった。このpH6付近はまさに、カルボキシル基を有するIPAAmコポリマーの見かけのpKa付近である。すなわち、先の実験でも述べたように、カルボキシル基を有するコポリマーがpH応答性を発揮し、ハイドロゲル全体の体積変化を駆動したものと考えられる。

(5) キラル認識について、我々は、R, S体2アミノプロパノールとアクリロイルクロリドを反応させて、水酸基型のキラルモノマー

## pH-Responsive Behavior

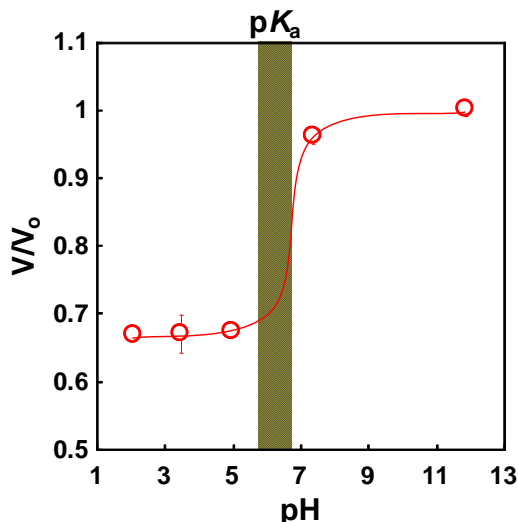


図4 ミクロハイドロゲルのpH応答挙動 (150mMのNaCl存在下)

を合成し、キラルなゲスト分子存在下での、相転移挙動を追跡したが、両者には、差が観察されなかった。

### 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6件)

- ① T. Maeda, M. Takenouchi, K. Yamamoto, T. Aoyagi, Coil-Globule Transition and/or Coacervation of Temperature and pH Dual-Responsive Carboxylated Poly(N-isopropylacrylamide), *Polymer Journal*, 41, 181-188 (2009), 査読有
- ② T. Maeda, Y. Akasaki, K. Yamamoto, T. Aoyagi, "Stimuli-Responsive Coacervate Induced in Binary Functionalized Poly(N-isopropylacrylamide) Aqueous System and Novel Method for Preparing Semi-IPN Microgel Using the Coacervate", *Langmuir*, 25, 9510-9517 (2009), 査読有

[学会発表] (計10件)

- ① 児玉 祐季, 前田 智広, 赤崎 祐介, 山元 和哉, 青柳 隆夫, "コアセルベーションを引き起こす高分子二成分系から作製したsemi-IPNマイクロゲルの刺激応答性評価", 第21回高分子ゲル研究討論会, 2010年1月14日, 東京都, 東京大学山上会館
- ② 前田 智広, 赤崎 祐介, 山元 和哉, 青柳 隆

夫, “コアセルベーションを引き起こす刺激応答性高分子二成分系の相分離挙動及び Semi-IPN マイクロゲルの作製”, 第 57 回高分子討論会, 2008 年 9 月 26 日, 大阪市, 大阪市立大学

- ③ 赤崎 祐介, 前田 智広, 山元 和哉, 青柳 隆夫, “アクリルアミド型機能性高分子のコアセルベートから調製したハイドロゲル微粒子の刺激応答評価”, 日本化学会第 88 春季年会, 2008 年 3 月 27 日, 東京都, 立教大学
- ④ 前田 智広, 赤崎 祐介, 山元 和哉, 青柳 隆夫, “二種の機能性アクリルアミド型高分子混合系から形成される刺激応答型コアセルベート及びそのゲル化”, 第 56 回高分子討論会, 2007 年 9 月 21 日, 名古屋市, 名古屋工業大学
- ⑤ T. Maeda, M. Takenouchi, Y. Akasaki, K. Yamamoto, T. Aoyagi, “Characterization and Application of the Stimuli-Responsive Coacervate Induced in the Poly(N-isopropylacrylamide)-Based Functional Polymers”, Gel Sympo 2007, Aug. 6, 2007, Tokyo, 東京大学

[図書] (計 1 件)

- ① 青柳 隆夫, “バイオマテリアルとしての刺激応答性ポリマー・ゲル”, 高分子学会編, “ポリマーフロンティア 21 シリーズ 31 「ゲル・イノベーションー分子設計による新機能創出とその応用」 エヌティーエス, pp. 165-207 (総ページ 246 ページ), 2008 年 4 月

[その他]

ホームページ等

<http://www.nims.go.jp/bmc/group/smartbiomaterials/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

青柳 隆夫 (AOYAGI TAKAO)

独立行政法人物質・材料研究機構・生体材料センター・領域コーディネーター

研究者番号: 40277132

### (2) 研究分担者

山元 和哉 (YAMAMOTO KAZUYA)

鹿児島大学・大学院理工学研究科・助教

研究者番号: 40347084

青木 隆史 (AOKI TAKASHI)

京都工芸繊維大学・大学院工芸科学研究科・准教授

研究者番号: 80231760

(3) 連携研究者 ( )

研究者番号: