

# クラウンエーテルグラフト樹状高分子を用いたイオン認識ナノ粒子の創製と新規膜分離システムへの応用

伊藤 大知

東京大学大学院医学系研究科

**概要** 本研究では、Poly(NIPAM-co-BCAm) を用いた  $K^+$  応答性コロイド粒子システムの創製を目的とした。この目的のため、コアとして生体適合性・親水性の高いハイパーブランチポリマーである Polyglycerol (PG) を用い、その末端から  $K^+$  イオン応答を示す Poly(NIPAM-co-BCAm) を伸展させたスターコポリマー PG-g-NIPAM-co-BCAm を合成した。このポリマーは水溶液中において  $K^+$  が存在する場合は BCAm が  $K^+$  を捕捉して親水性となり、水に溶解して分散状態をとると考えられる。そして  $K^+$  が存在しない場合は、ポリマー鎖が疎水性を示し疎水性相互作用によりポリマーが凝集体を形成すると考えられる。このため、このスターコポリマーは  $K^+$  に応答して分散/凝集挙動を可逆的に示すコロイド粒子システムとして期待される。また、凝集/分散挙動が可視化できるよう蛍光修飾も施し、 $K^+$  に応答して蛍光強度が減弱するシステムへと発展することを試みた。

実際に重合条件を最適化することによって、PG-g-NIPAM-co-BCAm を得ることに成功した。またその凝集分散挙動は、PG へのグラフト鎖密度によって大きく変わることが示され、8.5 polymers/nm<sup>2</sup> 以上の時は、LCST 以下の親水条件でもポリマーが凝集する一方で、5.0 polymers/nm<sup>2</sup> の時は、LCST より温度が高い疎水性時に凝集し、LCST 以下の膨潤時には 50 nm 程度の単分散となることが示された。この検討を基に、グラフト鎖密度を最適化した結果、40°C でカリウムイオンにのみ応答して分散凝集する PG-g-NIPAM-co-BCAm 系が構築された。

イオン認識ナノ粒子のコアは、様々な低分子を選択的に吸着するポケットとなるために、細孔ふるい効果をもつ限外濾過膜と組み合わせた、新たな膜分離技術の創製が期待できる。すなわち  $Ca^{2+}$  存在下凝集状態で、回収したい希薄分子をイオン認識ナノ粒子のコア中に選択吸着し、 $K^+$  添加によってこの粒子が膜を透過するので回収後、コアから目的分子を脱着・濃縮する。低濃度の生理活性低分子のアフィニティ回収等への展開が期待できる。

## 1. 研究目的

本研究では、Poly(NIPAM-co-BCAm) を用いた  $K^+$  応

答性コロイド粒子システムの創製を目的とした(図 1)。この目的のため、コアとして生体適合性・親水性の高いハイパ

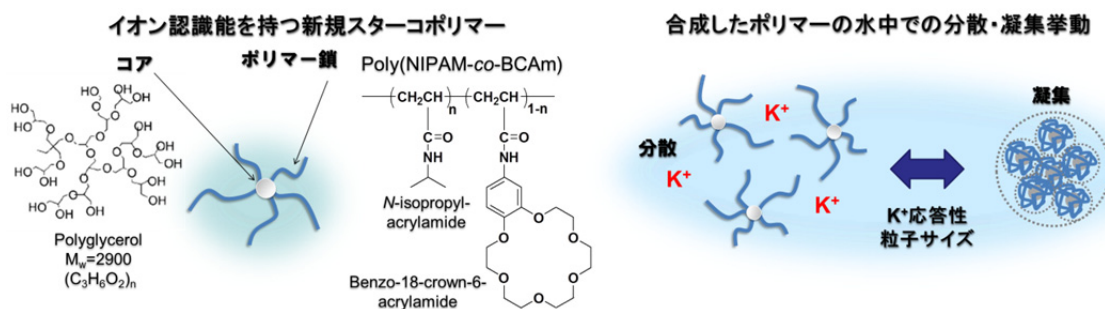


図 1. 本研究のコンセプト

ーブランチポリマーである Polyglycerol (PG) を用い、その末端から  $K^+$  イオン応答を示す Poly(NIPAM-co-BCAm) を伸展させたスターコポリマー PG-g-NIPAM-co-BCAm を合成した。このポリマーは水溶液中において  $K^+$  が存在する場合は BcAm が  $K^+$  を捕捉して親水性となり、水に溶解して分散状態をとると考えられる。そして  $K^+$  が存在しない場合は、ポリマー鎖が疎水性を示し疎水性相互作用によりポリマーが凝集体を形成すると考えられる。このため、このスターコポリマーは  $K^+$  に応答して分散/凝集挙動を可逆的に示すコロイド粒子システムとして期待される。また、凝集/分散挙動が可視化できるよう蛍光修飾も施し、 $K^+$  に応答して蛍光強度が減弱するシステムへと発展することを試みた。

イオン認識ナノ粒子のコアは、様々な低分子を選択的に吸着するポケットとなるために、細孔ふり効果をもつ限外濾過膜と組み合わせた、新たな膜分離技術の創製が期待できる。すなわち  $Ca^{2+}$  存在下凝集状態で、回収したい希薄分子をイオン認識ナノ粒子のコア中に選択吸着し、 $K^+$  添加によってこの粒子が膜を透過するので回収後、コアから目的分子を脱着・濃縮する。低濃度の生理活性低分子のアフィニティ回収等への展開が期待できる。

## 2. 研究方法

### 2. 1 合成実験

#### 2. 1. 1 Polyglycerol の末端 OH 基の定量

Polyglycerol の末端に ATRP (Atom transfer radical polymerization; 原子移動ラジカル重合) の重合開始基を導入するために、Polyglycerol に含有されている OH 基量の定量を行った。OH 基の数の定量には、末端基分析法 (無水酢酸・ピリジン法; 図 2) を適用した。この手法では、OH 基を無水酢酸によってアセチル化し、これと同時に生成された等量の酢酸を水酸化ナトリウムにより滴定して OH 基を算出する。ポリグリセリンの水酸基価を算出して重合度と分子量を決定する際に用いられている国際的な手法である。

#### 2. 1. 2 重合開始基の導入

2. 1. 1 で決定された末端 OH 基 40 個/1 分子に対し 0.25、0.50、0.75、1.00 当量の 2-bromoisobutyrylbromide を反応させ、末端開始基数の異なる開始剤 PG-Br を合成した (図 3)。実験手順は既報によった<sup>[1]</sup>。以下には 1.00 当量反応させた場合の手順を示す。

#### 2. 1. 3 リガンド $Me_6TREN$ (tris[2-(dimethylamino)ethyl] amine) の合成

リガンド  $Me_6TREN$  の合成は既報により<sup>[2,3]</sup>、図 4 のスキームで合成した。

#### 2. 1. 4 モノマー BcAm の合成

BcAm は市販の Benzo [18] crown-6 (Aldrich) から 3 ステップで合成できる。図 5 のステップで合成を行った。

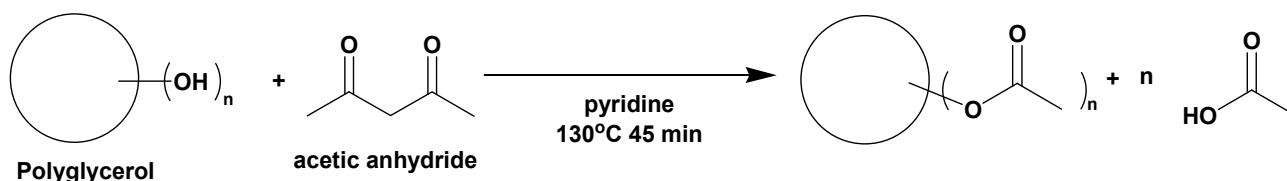


図 2. 合成スキーム 1: 滴定

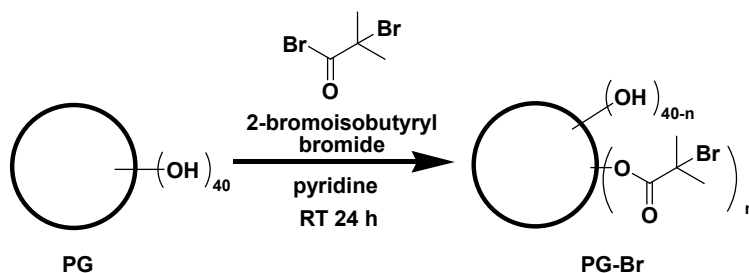


図 3. 合成スキーム 2: 開始剤合成

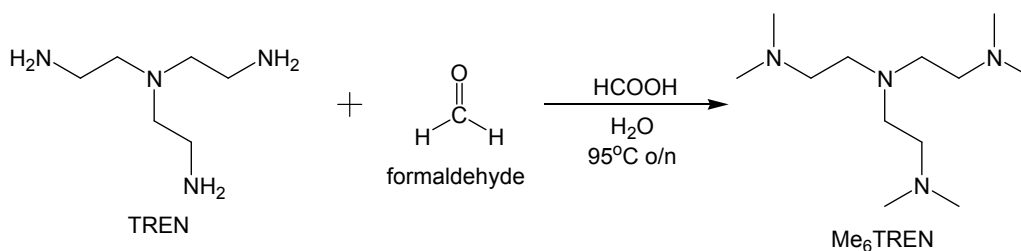


図 4. 合成スキーム 3:リガンド合成

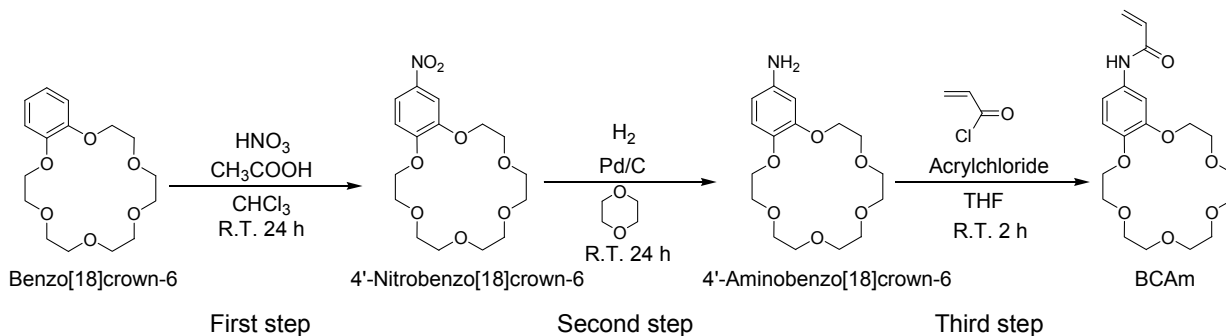


図 5. 合成スキーム 4:BCAm 合成

### 2. 1. 5 PG-g-NIPAM-co-BCAm の合成

作製した dendritic polymer の合成条件 (表 1) と、合成スキーム (図 6)、及び手順を以下に示す。

#### [試薬]

PG-Br	
NIPAM	
BCAm	
FMA	Aldrich より購入
Me <sub>6</sub> TREN	
Cu(I)Br	和光純薬工業より購入
THF (安定剤不含有)	4 ml
H <sub>2</sub> O	1 ml

ただし、PG-g-NIPAM-co-BCAm については他のポリマー合成の 1/3 スケールであるため、THF 1.3 ml、H<sub>2</sub>O 0.3 ml で行った。

#### [手順]

- ① NIPAM 約 15 g をトルエン/ヘキサン=7:3 溶媒 200 ml に溶解し、再結晶することで精製を行った。得られた NIPAM は遮光して冷蔵保存した。
- ② PG-Br 0.0076 g ( $3.25 \times 10^{-5}$  mol, 0.4 eq) を秤量して THF 4 ml に溶解し、50 ml シュレンクにうつした。

- ③ ②に NIPAM 0.890 g ( $7.87 \times 10^{-3}$  mol, 100 eq)、BCAm 0.450 g ( $1.18 \times 10^{-3}$  mol, 15 eq)、FMA 0.0130 g ( $7.87 \times 10^{-3}$  mol, 1 eq)、Me<sub>6</sub>TREN 20  $\mu\text{l}$  ( $7.87 \times 10^{-5}$  mol, 1 eq)、H<sub>2</sub>O 1 ml を加えた。
- ④ フリーゾンにより脱気を 3 回行い、さらに 1 回凍結した。
- ⑤ CuBr 0.0113 g ( $7.87 \times 10^{-5}$  mol, 1 eq) を加え、撹拌子を入れ、脱気を行った。
- ⑥ 常温まで温度を戻し、24 時間撹拌した。
- ⑦ ふたを開けて O<sub>2</sub> を導入することで反応を停止した。
- ⑧ 反応溶媒をエバポレーターにより除去した。THF 10 ml を加えて再び溶解し揮発させることを 3 回繰り返し、H<sub>2</sub>O を共沸させ除去した。
- ⑨ 一部を DMSO-d<sub>6</sub> に溶解して <sup>1</sup>H NMR 測定を行った。
- ⑩ ⑧を RO 水に溶解して 3 日間透析し、3 日間凍結乾燥した。

### 2. 2 キャラクターゼーション

合成したポリマーは IR 測定、<sup>1</sup>H NMR スペクトル測定、元素分析による解析を行った。NIPAM および BCAm のモノマーの転化率を <sup>1</sup>H NMR スペクトルから算出して、重合度、共重合比を決定した。

表 1. Reaction conditions of ATRP

ポリマー	開始剤	反応量					
		PG-Br	NIPAM	BCAm	FMA	Me <sub>6</sub> TREN	Cu(I)Br
PG-g-NIPAM	PG-Br(4)	7.6 mg	0.890 g	-	-	20 μl	11.3 mg
		(0.033 mmol)	(7.88 mmol)				(0.0788 mmol)
PG(1)-g-NIPAM	PG-Br(1)	11.1 mg	0.890 g	-	-	20 μl	11.3 mg
		(0.0325 mmol)	(7.88 mmol)				(0.0788 mmol)
PG(2)-g-NIPAM	PG-Br(2)	11.4 mg	0.890 g	-	-	20 μl	11.3 mg
		(0.0325 mmol)	(7.88 mmol)				(0.0788 mmol)
PG(3)-g-NIPAM	PG-Br(3)	9.1 mg	0.890 g	-	-	20 μl	11.3 mg
		(0.0325 mmol)	(7.88 mmol)				(0.0788 mmol)
PG(4)-g-NIPAM	PG-Br(4)	7.6 mg	0.890 g	-	-	20 μl	11.3 mg
		(0.0325 mmol)	(7.88 mmol)				(0.0788 mmol)
PG-g-NIPAM-co-BCAm	PG-Br(4)	2.5 mg	0.297 g	0.100 g	-	7 μl	3.8 mg
		(0.011 mmol)	(2.62 mmol)	(0.262 mmol)			(0.026 mmol)
PG-g-NIPAM-co-BCAm(3)	PG-Br(4)	7.6 mg	0.890 g	0.089 g	-	20 μl	11.3 mg
		(0.033 mmol)	(7.88 mmol)	(0.233 mmol)			(0.0788 mmol)
PG-g-NIPAM-co-BCAm(6)	PG-Br(4)	7.6 mg	0.890 g	0.150 g	-	20 μl	11.3 mg
		(0.033 mmol)	(7.88 mmol)	(0.394 mmol)			(0.0788 mmol)
PG-g-NIPAM-co-BCAm(12)	PG-Br(4)	7.6 mg	0.890 g	0.330 g	-	20 μl	11.3 mg
		(0.033 mmol)	(7.88 mmol)	(0.866 mmol)			(0.0788 mmol)
PG-g-NIPAM-co-BCAm(16)	PG-Br(4)	7.6 mg	0.890 g	0.445 g	-	20 μl	11.3 mg
		(0.033 mmol)	(7.88 mmol)	(0.117 mmol)			(0.0788 mmol)
PG-g-NIPAM-co-BCAm(19)	PG-Br(4)	7.6 mg	0.890 g	0.600 g	-	20 μl	11.3 mg
		(0.032 mmol)	(7.88 mmol)	(0.127 mmol)			(0.0788 mmol)
PG-g-NIPAM-co-FMA	PG-Br(4)	7.6 mg	0.890 g	-	13.0 mg	20 μl	11.3 mg
		(0.033 mmol)	(7.88 mmol)		(0.0325 mmol)		(0.0788 mmol)
PG-g-NIPAM-co-BCAm-co-FMA	PG-Br(2)	11.4 mg	0.890 g	0.0445 g	13.0 mg	20 μl	11.3 mg
		(0.0325 mmol)	(7.88 mmol)	(0.117 mmol)	(0.0325 mmol)		(0.0788 mmol)

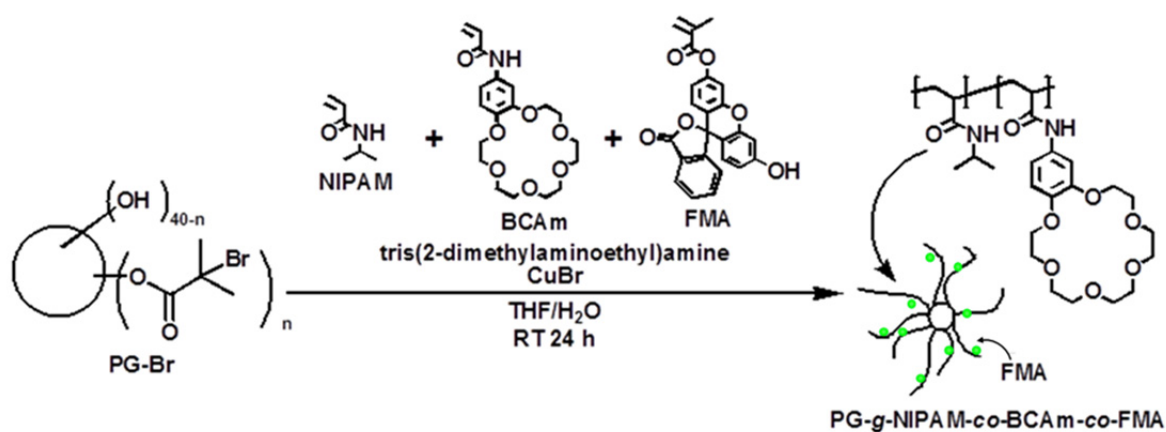


図 6. 合成スキーム: ATRP

ポリマーの相転移挙動を観測するために、ポリマーを H<sub>2</sub>O に溶解して紫外可視分光光度計 (UV-vis) により各温度に対するポリマー水溶液の濁度を測定した。LCST を濁度曲線から決定した。LCST の算出は濁度曲線の立ち上

がった直線の中点を取る手法、曲線の立ち上がりの直線部分と水平線との交点を取る手法などが挙げられる。本研究での濁度曲線は比較的なだらかであったため、相転移の起こり始めを比較できるように後者を採用した。

[装置]

日本分光(株)社製 紫外可視分光光度計 V-630BIO

[測定条件]

測定ポリマー濃度 0.1 mg/mL および 1.0 mg/mL  
 測定波長  $\lambda=500$  nm、FMA 含有ポリマーの場合は  
 $\lambda=420$  nm  
 測定温度 20~50°C、昇温速度 1 °C/min  
 また、粒径測定を DLS (Dynamic Laser Scattering) で行  
 った。

[装置]

堀場製作所(株)製 動的散乱式粒径分布測定装置  
 LB-500

[測定条件]

ポリマー濃度 1.0 mg/mL、測定温度 20°C・40°C

### 3. 研究結果

#### 3.1 OH 基の定量

Polyglycerol 1 分子あたりの OH 基数は以下の式より算  
 出した。

$$\text{OH 基} = \frac{(B - S) \times 0.55 \times 10^{-3}}{x} \quad \text{mol/g}$$

$$\text{OH 基} = \frac{(B - S) \times 0.55 \times 10^{-3}}{x} \times M_w \quad \text{mol/mol}$$

B: ブランクテストにおける NaOH 水溶液滴定量 [ml]

S: サンプルにおける NaOH 水溶液滴定量 [ml]

x: 加えたサンプル量 [g]

$M_w$ : 平均分子量 [g/mol] (販売業者により測定済み)

Polyglycerol の末端 OH 基の定量結果を表 2 に示す。  
 サンプル 1 g あたり 0.014 mol の OH 基が、分子あたりに変  
 換すると 40 個の OH 基が存在することが分かった。以降の  
 合成過程の計算では、0.014 mol/g の値を用いて行ってい  
 る。

#### 3.2 重合開始基の導入

重合開始基導入条件を表 3 に示す。ここで、target  $n$  と  
 は 2-bromoisobutyrylbromide がすべて反応したと仮定し  
 たときの PG 1 分子あたりの重合開始基の個数である。  
 PG-Br(4) の FT-IR スペクトルを図 7 に、また、PG および  
 PG-Br(4) の  $^1\text{H}$  NMR スペクトルを図 8 に示す。FT-IR ス  
 ペクトルでは  $1,736 \text{ cm}^{-1}$  にエステル結合からなるピークが  
 観測された。また、 $^1\text{H}$  NMR スペクトルでは 2.0 ppm に開  
 始基のメチル基のプロトン由来のブロードなピークが観測  
 された。ブロードになっているのは、Polyglycerol の非対称  
 性によるものである。また、Polyglycerol のポリグリセロール  
 骨格を形成しているプロトンの一部が、低磁場側へシフト  
 した。開始基に存在する Br 原子の導入により電子密度が  
 低くなった Polyglycerol の末端よりのプロトンがシフトして  
 いる結果だといえる。以上より、開始基の導入が確認され  
 た。

表 2. Polyglycerol の末端 OH 基の定量結果

B	S	x	$M_w$	OH 基 [mol/g]	OH 基 [mol/mol]
45.8 ml	32.4 ml	0.532 g	$2.89 \times 10^3$	0.014	40

表 3. Synthesis of initiator PG-Br

	Target $n$	Element assay Br amount [wt%]	Conversion [%]	$n$ [mol]
PG-Br(1)	10/40	24.42	156	15.6
PG-Br(2)	20/40	23.62	73.6	14.7
PG-Br(3)	30/40	28.99	75.6	22.7
PG-Br(4)	40/40	34.21	96.0	38.4

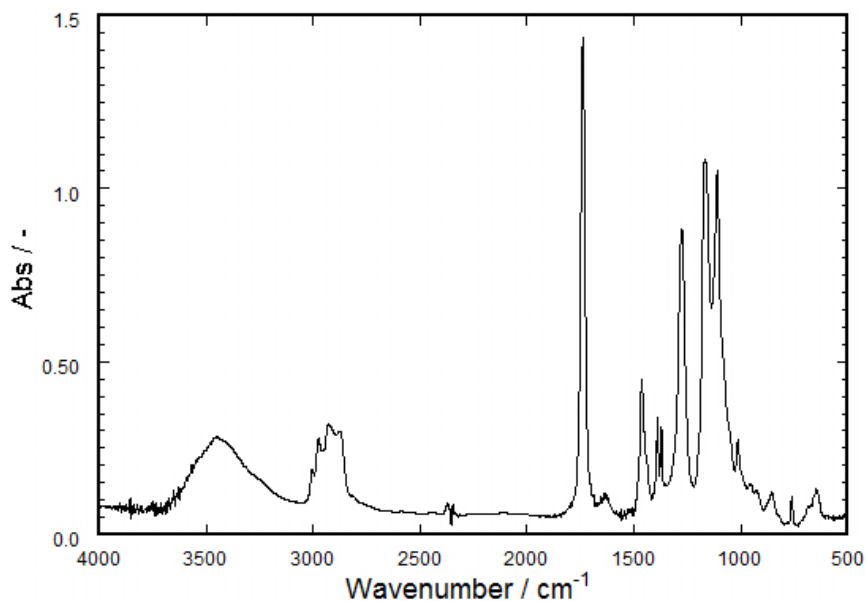


図 7. T-IR spectrum of initiator PG-Br

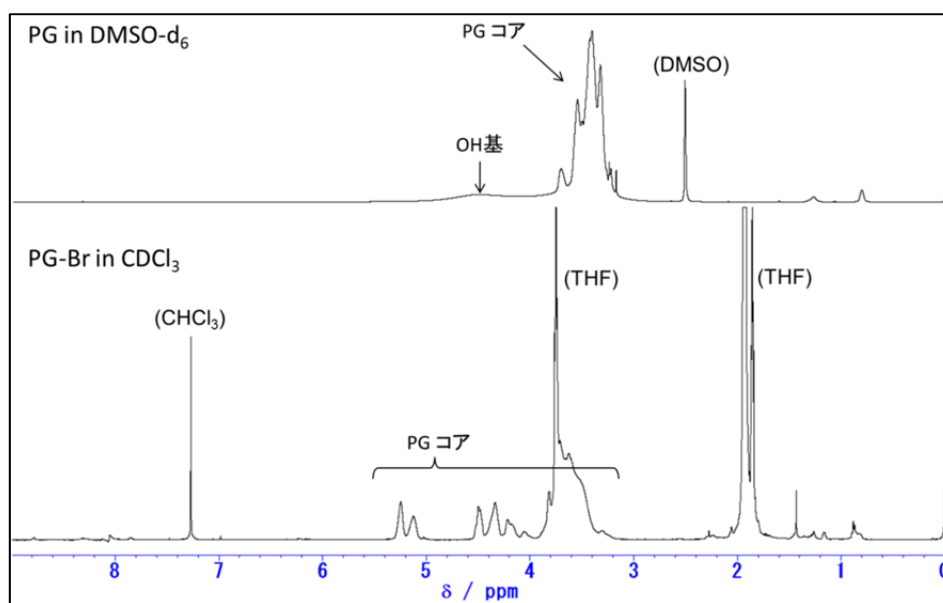


図 8.  $^1\text{H}$  NMR spectra of polyglycerol and initiator PG-Br

PG-Br(1)~(4)において実際に導入された開始基の量は、元素分析で得られた Br 量 [wt%]から算出した。図 8 からわかるように合成された PG-Br はわずかながらピリジン臭化水素酸塩が含まれており、元素分析結果にも反映されている可能性がある。PG 1 分子あたりの開始基  $n$  [mol/PG mol]、ピリジン臭化水素酸塩  $m$  [mol/PG mol]とし、 $^1\text{H}$  NMR スペクトルにおけるピリジニウム塩 (H 2 個分) にあたる 7.98 ppm 付近のピークの面積 =  $A_{\text{pyridine}}$ 、開始基 (H 6

個分)にあたる 1.89 ppm 付近のピークの面積 =  $A_{\text{initiator}}$  とすると、式 1 が成り立つ。

また、元素分析の結果  $X\%$  とすると 式 2 のように  $X$  は  $n$ 、 $m$  で表される。

以上の2式を両立して解くと

$$n = \frac{2889X}{7990(1 + A) - (149 + 160A)X}$$

得られた開始基導入量は表 3 に同様に記してある。

PG-Br(2)~(4)では70%以上の開始基が導入された。一方、PG-Br(1)では想定された開始基の量以上のBrが含有されている結果となった。過剰にBr量が見積もられた要因としては、反応中に生じたピリジン臭化水素酸塩が完全に除去されず残っていたことが考えられる。

これらの結果から、PG-Br(2) (3) (4) 特に、PG-Br(2) を中心にして、重合を行った。

### 3. 3 PG-g-NIPAM-co-BCAm 及び PG-g-NIPAM-co-BCAm-co-FMA の重合結果

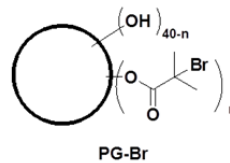
本研究で合成したスターポリマーの合成条件と結果を表4に示す。

PG-g-NIPAM-co-BCAm の FTIR スペクトルを図9に示す。1,388 cm<sup>-1</sup>がNIPAMのイソプロピル基、1,262 cm<sup>-1</sup>がBCAmの芳香環エーテル、1,133 cm<sup>-1</sup>がBCAmのエーテル結合、1,650 cm<sup>-1</sup>および1,550 cm<sup>-1</sup>がBCAmのアジド結合によるピークであり、共重合が行われていることが確認できた。

また、PG-g-NIPAM および PG-g-NIPAM-co-BCAm の

$$6n : 2m = A_{\text{initiator}} : A_{\text{pyridine}}$$

$$m = \frac{3A_{\text{initiator}}}{A_{\text{pyridine}}}n = An \quad (\text{式1})$$



$$X = \frac{Mw(\text{Br}) \times (n + m)}{Mw(\text{PGcore}) + Mw(\text{initiator}) \times n + Mw(\text{pyridinium salt}) \times m} \times 100$$

$$= \frac{79.90 \times (n + m)}{2998 - 1.01 \times n + 150.0 \times n + 160.0 \times m} \times 100$$

$$= \frac{7990(n + m)}{2889 + 149n + 160m} \quad (\text{式2})$$

表4. Synthesized polymer

ポリマー	開始剤	重合度		共重合比
		NIPAM	BCAm	
PG-g-NIPAM	PG-Br(1)	171	-	
PG(1)-g-NIPAM	PG-Br(1)	212	-	-
PG(2)-g-NIPAM	PG-Br(2)	164	-	-
PG(3)-g-NIPAM	PG-Br(3)	184	-	-
PG(4)-g-NIPAM	PG-Br(4)	165	-	-
PG-g-NIPAM-co-BCAm	PG-Br(1)	nd	nd	nd
PG-g-NIPAM-co-BCAm(3)	PG-Br(1)	81.9	2.76	3.25
PG-g-NIPAM-co-BCAm(6)	PG-Br(1)	74.8	4.58	5.77
PG-g-NIPAM-co-BCAm(12)	PG-Br(1)	65.8	8.77	11.7
PG-g-NIPAM-co-BCAm(16)	PG-Br(1)	73.4	13.4	15.5
PG-g-NIPAM-co-BCAm(19)	PG-Br(1)	86.9	19.7	18.5
PG-g-NIPAM-co-FMA	PG-Br(1)	132	-	-
PG-g-NIPAM-co-BCAm-co-FMA	PG-Br(1)	81.2	24.6	23.2

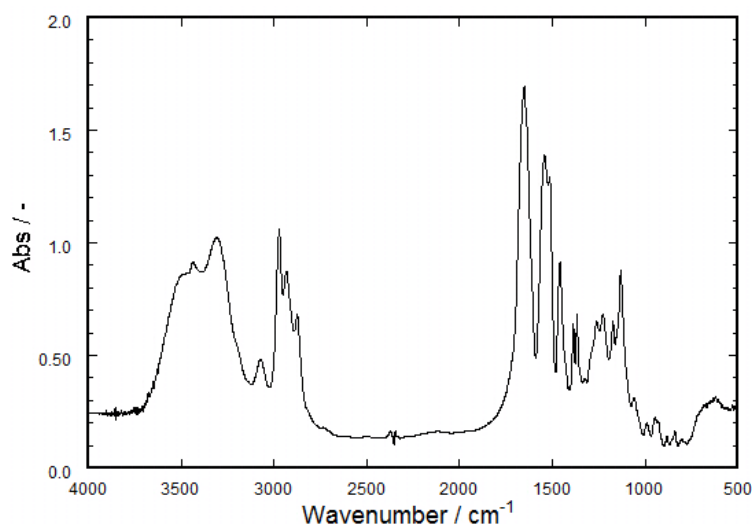


図 9. FTIR spectrum of PG-g-NIPAM-co-BCAm

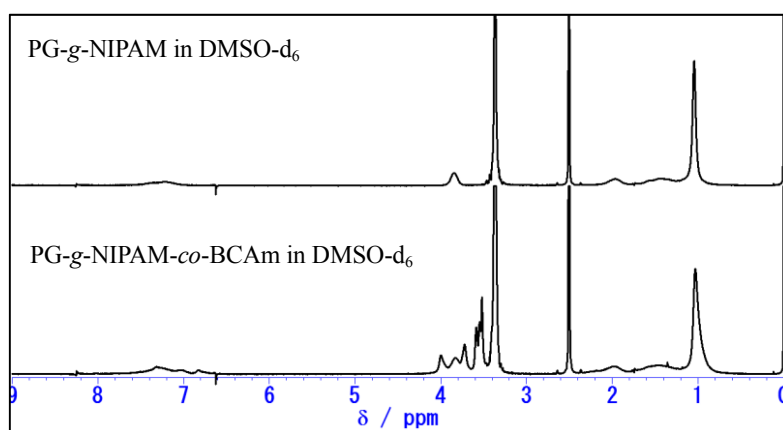


図 10. <sup>1</sup>H NMR spectra of PG-g-NIPAM and PG-g-NIPAM-co-BCAm

<sup>1</sup>H NMR スペクトルを図 10 に示す。図 10 に示すように、6.6-7.6 ppm、4.0 ppm、1.2-2.2 ppm、1.0 ppm に NIPAM のそれぞれ NH(H<sub>c</sub>)、イソプロピル基の CH(H<sub>d</sub>)、ポリマー骨格の CH-CH<sub>2</sub>(H<sub>a</sub>・H<sub>b</sub>)、メチル基(H<sub>e</sub>)、また、3.5-3.8 ppm に BCAm クラウンエーテル環由来のピークが帰属され、共重合が行われていることが確認できた。

NIPAM および BCAm のモノマー転化率は反応直後の反応溶液の <sup>1</sup>H NMR スペクトルから算出した。PG-g-NIPAM は 5.6 ppm のモノマーの H<sub>b</sub> にあたるピークと 3.7-4.0 ppm のポリマーの H<sub>c</sub> にあたるピーク面積から算出した。PG-g-NIPAM-co-BCAm は、反応溶液に溶解したモノマーのモル数  $M_{NIPAM}$ 、 $M_{BCAm}$  および、3.4-4.1 ppm の面積  $A$ 、5.6 ppm の NIPAM のモノマーの H<sub>b</sub> にあたるピークの面積  $A_{NIPAM}$ 、5.7 ppm の BCAm のモノマーのピークにあ

たる面積  $A_{BCAm}$  および、1.7 ppm の THF の 2 個分の CH<sub>2</sub> にあたる面積  $A_{THF}$  から、以下のように算出した。

$$\text{NIPAM 転化率} = \frac{X - A_{NIPAM}}{X} \times 100$$

$$\text{ただし } X = \frac{(A - A_{THF}) \times M_{NIPAM}}{M_{NIPAM} + 20M_{BCAm}}$$

$$\text{BCAm 転化率} = \frac{\frac{Y}{20}}{\frac{Y}{20} + A_{BCAm}} \times 100$$

$$\text{ただし } Y = \frac{(A - A_{THF}) \times 20M_{BCAm}}{M_{NIPAM} + 20M_{BCAm}}$$

表 4 に記した重合度は、開始基すべてから重合が進んだと仮定してモノマーの転化率から算出したものである。

以上の検討で、PG-g-NIPAM-co-BCAm の合成、及び



BCAm 共重合比率の制御に成功した。

### 3. 4 PG-g-NIPAM を用いた LCST 以下での分散性の制御

しかしながら、PG-Br(4)を用いて作製した PG-g-NIPAM-co-BCAm は、LCST での相転移は示すものの(図 11)、LCST 以下での膨潤状態でも、DLS 測定では常に 1 μm 以上の凝集体を生じることが明らかになった(データ省略)。

PolyNIPAM 鎖を dendrimer やハイパーブランチポリマーの末端から伸展させて得られたスターポリマーにおいて、LCST 以下で単分散でなかったという報告は我々の知る限りでは無い。LLS (Laser light scattering) や DLS を用いて算出された LCST 以下の平均粒径は 10 nm から分子量の多いものでは 120 nm 程度<sup>[4,5,6]</sup> であるが、いずれも水溶液中に溶解し溶液は透明である。

今回合成された PG-g-NIPAM において LCST 以下でも白濁した溶液となった要因としては、ポリマー鎖のグラフト密度や分子量など分子構造に起因することが考えられる。既往の研究における樹状ポリエステルから 64 本の PolyNIPAM 鎖を伸展させたポリマーの分子量は  $2.42 \times 10^6$  g/mol であるが、LCST 以下におけるポリマー濃度 1 mg/mL 水溶液中における透過率は 100% であり、完全に溶解している。重合度から換算した PG-g-NIPAM の分子量は 9,500 程度でありこれと比較しても小さく、濁度測定の同じポリマー濃度で行っているため、分子量が多いことによるとは考えられない。一方、PG-g-NIPAM のグラフト密度に関して、すべての末端基から重合が進行しているとしてグラフト密度[nm<sup>2</sup>/本]を算出し、表 5 のように既往の報告と比較したところ、開始基の個数の少ない開始剤である PG-Br(2) を用いて重合した PG(2)-g-NIPAm のグラフト密

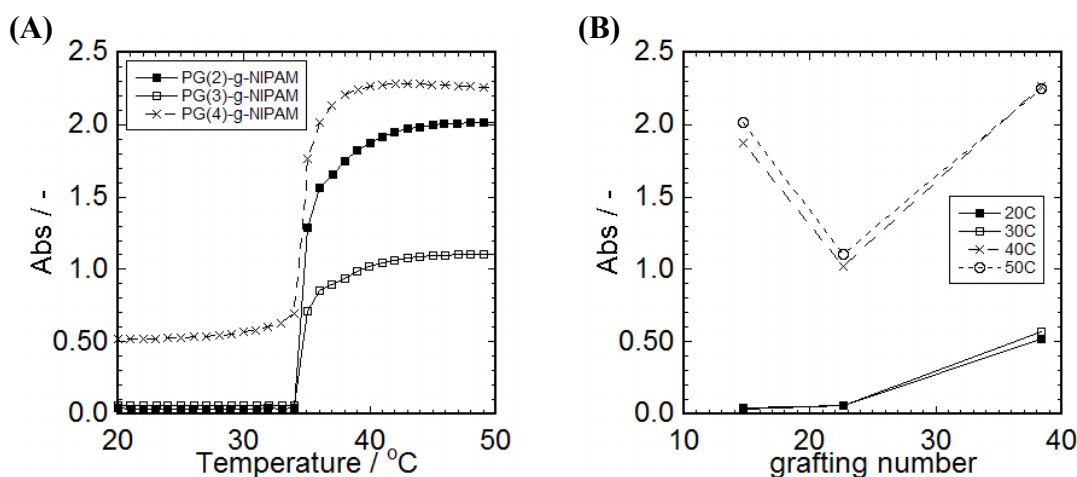


図 11. PG-g-NIPAM の相転移挙動

(A) LCST measurement and (B) comparison of absorbance at each temperature of PG-g-(2) ~ (4)-NIPAM

表 5. グラフト密度の比較

ポリマー or 文献	コア	コアの粒径	末端基の個数	グラフト密度
PG(2)-g-NIPAM	Polyglycerol	1.2 nm	14.7	0.308 nm <sup>2</sup> /本
PG(3)-g-NIPAM	Polyglycerol	1.2 nm	22.7	0.199 nm <sup>2</sup> /本
PG(4)-g-NIPAM	Polyglycerol	1.2 nm	38.4	0.118 nm <sup>2</sup> /本
Ref. [4]	Hyperbranched polyester	3.6 nm	64	0.64 nm <sup>2</sup> /本
Ref. [5]	β-cyclodextrin	外径 1.53 nm 内径 0.65 nm	14	0.43 nm <sup>2</sup> /本
Ref. [6]	Poly-(propyleneimine) dendrimer	1.9 nm	14	0.35 nm <sup>2</sup> /本

度は既往の報告と近いが、開始剤 PG-Br(4)を用いて重合した PG-g-NIPAM (PG(4)-g-NIPAM と同じグラフト密度)では、既往の報告に比べて3倍程度高くなっていることが分かった。そこで、LCST 以下におけるポリマーの凝集は高いグラフト密度による疎水効果であると仮定し、PG-Br から NIPAM のみを重合させた PG(2)~(4)-g-NIPAM を合成した所、グラフト密度の少ないポリマーは水溶液中で単分散な粒子となっていることが確認された。(図 12)

### 3. 5 PG-g-NIPAM-co-BCAm-co-FMA のイオン応答分散性の制御

以上の検討を踏まえて、PG-Br(2)を開始剤にして合成した PG-g-NIPAM-co-BCAm-co-FMA は、図 13 に DLS の測定結果を示すように、 $K^+$ イオン濃度に応答して、50 nm 程度の単分散状態と1  $\mu\text{m}$  以上の凝集状態を、可逆的に往復することが明らかになった。

## 4. 結論

リガンド、有機溶媒等の ATRP 条件の最適化を行い、PG-g-NIPAM-co-BCAm を合成する手法を確立した。

さらに Polyglycerol 1 分子あたりの PolyNIPAM 鎖の本数の異なるスターコポリマー PG-g-NIPAM において、ポリマー鎖の本数の違いにより LCST 以下での分散度が異なることを示した。これはグラフト鎖密度が異常に高くなる、樹状高分子を開始剤に用いた時に生じる特有な現象であ

ると思われる。さらに PG-g-NIPAM-co-BCAm を新たに合成し、共重合比を制御することにより LCST を制御することが可能であることを示した。以上の検討を基に、グラフト鎖密度や共重合比率を最適化して、PG-g-NIPAM-co-BCAm-co-FMA を新たに合成し、 $K^+$ 濃度に対応した分散/凝集挙動および蛍光スペクトル変化を示すことを明らかにした。

## 5. 今後の課題

今後は本分散凝集系を、分離システムや細胞内  $K^+$ 可視化蛍光プローブとして応用開発し、ソルトサイエンスの一層の発展に資するものと期待される。

## 参考文献

- [1] C. Liu *et al.*, J. Appl. Polym. Sci. 108 (2008) 777-784
- [2] J. Queffelec *et al.*, Macromolecules 33 (2000) 8629-8639
- [3] J. P. George *et al.*, Inorg. Chem. 44 (2005) 8125-8134
- [4] S. Luo *et al.*, Polym. Int. 60 (2011) 714-724
- [5] Y.Y. Liu *et al.*, Macromolecules 43 (2010) 10221-10230
- [6] M. Kimura *et al.*, Macromolecules 33 (2000) 1117-1119

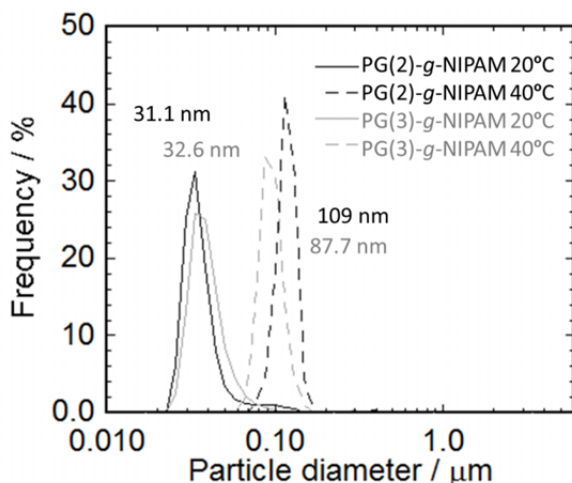


図 12. Particle diameter distribution of PG-g-(2), (3)-NIPAM

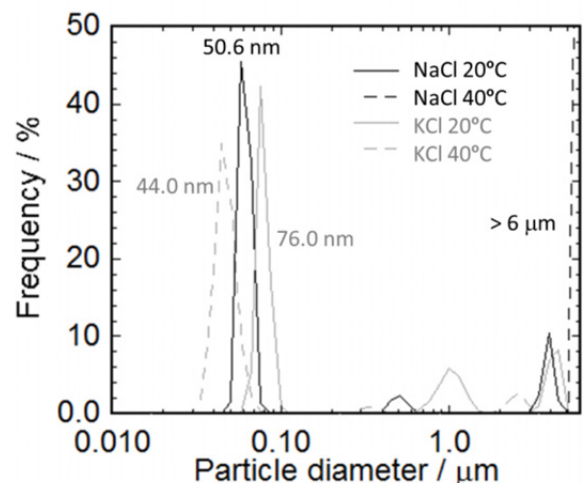


図 13. Particle diameter distribution of PG-g-NIPAM-co-BCAm-co-FMA in KCl or NaCl aqueous solution

## Fabrication of Ion Recognition Nano-Sized Particles Using Graft Polymerization of Crown Ether and Its Application to a New Membrane Separation System

Taichi Ito

School of Medicine, The University of Tokyo

### Summary

We aimed to fabricate an ion recognition nano-sized particle system, which aggregates or disperses in response to  $K^+$  concentration in a molecular recognition manner. In this study, we utilized polyglycerol (PG) as a core initiator, from which poly(NIPAM-*co*-BCAm) was graft copolymerized via ATRP (atom transfer radical polymerization). This copolymer showed a star-like shape, and it was expected to be soluble and disperses as a single molecule when its crown ether receptors capture  $K^+$  ions. On the other hand, the copolymers is expected to gather and aggregate when only  $Na^+$  ions exist, due to its increasing of hydrophobicity of grafted chains composed of NIPAM and BCAM.

In fact, we toughly investigated the polymerization conditions, and chose  $Me_6TREN$  as a ligand and mixture of water and organic solvents, and succeeded to prepare PG-*g*-NIPAM-*co*-BCAM. Interestingly, phase transition phenomena depended greatly on the graft density of PG. When the grafting density was high as 8.5 polymers/nm<sup>2</sup>, the copolymers always aggregated even below LCST (Lower critical solution temperature). On the other hand, they showed reversible aggregation and dispersion when the grafting density was lower than 5.0 polymers/nm<sup>2</sup>. By optimizing graft density and copolymerization ratio of BCAM to NIPAM, we successfully showed the ion recognition aggregation and dispersion of star-shaped PG-*g*-NIPAM-*co*-BCAM.

In future, the core of PG can adsorb various low molecules. Thus, it will be expected as a new membrane separation system by combining with ultrafiltration. Also, it can be expected as a new  $K^+$  sensing probe in a bioengineering field by adding florescent control functions.