

氏名	ユ-メン YU MENG
学位の種類	博士(工学)
学位記番号	博第960号
学位授与の日付	平成26年9月3日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項該当 課程博士
学位論文題目	Study on Molecular Assemblies Composed of Dual-stimuli Responsive Polymers and Applications for Chiral Separation Systems (多重刺激応答性高分子よりなる分子集合体の構築と、その光学分離システムへの応用に関する研究)
論文審査委員	主査 教授 樋口 真弘 教授 猪股 克弘 准教授 高須 昭則 教授 楊 万泰 (北京化工大学)

## 論文内容の要旨

Stimuli-responsive polymers are defined as polymers that undergo relatively large and abrupt, physical or chemical changes in response to small external changes in the environmental conditions. These polymer systems might recognize a stimulus as a signal, judge the magnitude of this signal, and then change their chain conformation in direct response. The application of stimuli-responsive polymer has undergone tremendous progress in the past few decades. In this thesis, we use the widely studied temperature-sensitive monomer *N*-isopropylacrylamide and the peptides, whose conformation could be changed induced by pH conditions, to synthesis a novel dual-responsive polymer. Chapter 1 introduced the background of stimuli-responsive polymers and their applications. We also proposed the purpose and methods for our research.

In the Chapter 2 we prepared three kinds of amphiphilic peptide (Leu-Lys)<sub>8</sub>-vinyl, (Leu-Lys-Leu-Gln)<sub>4</sub>-vinyl and (Leu-Glu-Leu-Lys)<sub>4</sub>-vinyl. Characterize the conformational changes of peptides by Circular Dichroism (CD) under different pH conditions. According to result we chose peptide (Leu-Lys)<sub>8</sub>-vinyl which sensitive to pH condition as the pH responsive monomer for next experiment.

In the Chapter 3, we synthesized a pH-responsive amphiphilic peptide, (Leu-Lys)<sub>8</sub>, grafted poly(*N*-isopropylacrylamide). The graft chain content of the copolymer was 12 mol%. We investigated pH- and thermo- induced conformational and morphological changes of the graft copolymer. The graft copolymer formed small globular aggregates below and above coil to globule transition temperature of the main chain under the acidic condition. On the other hand, under the basic condition, the peptide graft chains took a stable  $\beta$ -sheet structure above the transition temperature. Under this condition (basic and high temperature), the main chains formed globule conformation and the deprotonated graft peptide formed inter-molecular hydrogen bonding among the copolymers. This pH- and thermo- induced conformational transition resulted in the formation of large aggregated bodies. The result implies that the morphology of the graft copolymer can be controlled by multi-stimuli.

Chapter 4 is the application of this peptide grafted PNIPAm polymer. We prepared amphiphilic peptide, (L-Leu-L-Lys)<sub>8</sub>, grafted poly(*N*-isopropylacrylamide) crosslinked membranes which have the pH and thermo-responses in the MF-Millipore support films. We investigated the influence of the crosslinking degree on the pH and thermo-induced permeability and permselectivity of L- and D-Phe through the membranes. Under the neutral condition (pH 6.5, at 20 °C), the maximum permselectivity ( $\alpha=2.6$ ) and relatively high permeability ( $P=2.86 \times 10^{-7} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ) were achieved in the high crosslinking degree membrane (16%). Meanwhile, the low crosslinking degree membrane showed very high permeability ( $P=3.2 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ) under this condition.

In the Chapter 5 we investigated the chiral selective release process from the polymer gels for the application of dual-responsive polymer. The results show the different release rate between D-Phe and L-Phe under same conditions and thermal-induced release speed changes. The reasons for the difference could be explained by the structure changes of the peptide grafted PNIPAm that mentioned above.

We draw the conclusion in Chapter 6 that the amphiphilic copolymer, (Leu-Lys)<sub>8</sub> grafted poly(*N*-isopropylacrylamide) shows the pH- and thermo- induced conformational and morphological transition in aqueous solution. And this polymer could use in chiral separation and drug release with different property under various pH and temperature conditions.

## 論文審査結果の要旨

本論文は、下限臨界共溶温度 LCST を有するポリ (N-イソプロピルアクリルアミド) 側鎖に、pH 応答性の両親媒性ペプチド鎖を導入した、多重刺激応答性グラフト型両親媒性ペプチドの分子集合体形成および、その構造の pH および熱による制御に関して検討したものである。加えて、同分子集合体を用いた、アミノ酸の光学分離への応用に関して検討を行った物である。論文は以下の 6 章よりなる。

第 1 章は、序論であり、刺激応答性高分子に関する研究報告を紹介し、その医用材料などの工学的応用に関して述べている。

第 2 章は、本研究で用いるグラフト型両親媒性ペプチドの分子設計と合成手法に関し記述し、同ペプチド鎖の pH 刺激による二次構造変化に関する検討を行っている。

第 3 章では、リジンとロイシンの交互シーケンスよりなるペプチドグラフト鎖を有するポリ (N-イソプロピルアクリルアミド) の、水溶液中における会合体構造の pH および温度による制御を検討している。側鎖ペプチドグラフト鎖は pH に応答し可逆的に塩基性領域において  $\beta$ -シート構造を形成するとともに、主鎖ポリ (N-イソプロピルアクリルアミド) は温度変化に伴い、コイル-グロビュル転移を示し、塩基性領域で形成される側鎖グラフト鎖の  $\beta$ -シート構造が物理架橋点として機能して、高温・塩基性条件下で、凝集したグロビュル構造を取るポリ (N-イソプロピルアクリルアミド) 主鎖が、 $\beta$ -シート構造を取る側鎖ペプチドグラフト鎖間の分子間水素結合により、より大きな凝集体構造を形成することを見出した。

第 4 章では、第 3 章の知見をもとに、上記、多重刺激応答性グラフト型両親媒性ペプチド膜によるアミノ酸の光学分離について述べている。多重刺激応答性グラフト型両親媒性ペプチドの化学架橋膜を多孔性支持膜中に形成して、同膜を介する L および D 体 Phe の透過性の pH および温度依存性について検討している。同膜は高い透過性を有するとともに、特に中性・低温条件下、L-Phe に対して高い選択透過性を有し、これは、 $\beta$ -シート構造を有する側鎖ペプチドグラフト鎖ドメインが L-Phe に対する結合サイトとして機能するとともに、膜と、透過物質との静電相互作用、主鎖ポリ (N-イソプロピルアクリルアミド) 鎖の二次構造に依存することを見出した。

第 5 章では、多重刺激応答性グラフト型両親媒性ペプチドゲルを用いて、薬物の除放担体としての可能性を検討している、ゲル中に形成される、 $\beta$ -シート構造を有する側鎖ペプチドグラフト鎖ドメインが L-Phe に対する結合サイトとして機能することで、L-Phe の放出速度が、D-Phe に対して抑制されることを見出した。

第 6 章は、総括であり、本研究で明らかとなった成果を纏めている。

以上のように、多重刺激応答性グラフト型両親媒性ペプチドより形成される集合体構造を pH および温度により制御することで、アミノ酸の光学分離能および、徐放性の制御を可能とした。本論文の成果は、学術雑誌 3 篇の論文 (すべて審査有) に掲載されており、学術的な価値を有すると判断される。したがって、本論文は博士 (工学) の学位論文としてふさわしいものと認められる。