

整理番号	2018-J-128	報告者氏名	相樂 隆正
------	------------	-------	-------

研究課題名 酸化還元により高速大振幅の可逆伸縮を起こす紐状およびシート状高分子ヒドロゲル材料の高度化

<代表研究者> 機関名： 長崎大学 職名：教授 氏名：相樂 隆正

<共同研究者> 機関名： 長崎大学 職名：助教 氏名：Bun Chan

機関名： 長崎大学 職名：大学院生 氏名：王 博

機関名： 長崎大学 職名：大学院生 氏名：綾部 達也

機関名： 職名： 氏名：

<研究内容・成果等の要約>

我々は、分子ロボット実現に向けた最重要ターゲットとして、アメーバのように動くアクチュエータの材料開発を大きな目標としている。これまでに、ポリ-L-リジンにビオロゲンをアミド結合によってペンダントしたポリマーをグルタルアルデヒドで架橋したヒドロゲル(PLLV-gel)を合成し、ビオロゲンサイトの酸化還元によってPLLV-gelが伸縮することを見出した(*ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2018に発表)。これを発展させ高伸縮性のヒドロゲルとしてアクチュエータに用いられるようにする必要がある。特に、既に高速な収縮に加え、酸化による再膨張を加速するなどが課題である。

本助成研究では、本研究では、これまでに得たヒドロゲルを格段に改良して、上に述べた動きを高速に行える材料を創製することを目的とした。ポイントは、(1) 動きの高速化、(2) 動きの方向性付与の可能性の検討である。このため、既存の伸縮性イオン性ポリマーや新規なゲル材料のテストも含めて取り組んだ。主な成果は以下の通りである。

- PLLV-gel に、架橋時に混在させることによって金ナノ粒子とグラフェンをフィラーとして取り込ませることに成功したが、電極上で電位制御した PLLV-gel 内での直接合成は困難だった。フィラーは、酸化還元電流を 3~5 倍、還元剤による収縮初速度を 5 倍以上に増大させたが、電極上での巨視的な伸縮加速に直結しなかった。水が出入りする経路に沿ってゲル中で金のフレークを異方的に生成させる方法の更なる検討が求められる。
- 動きの高速化を目指し、ビオロゲンをペンダントしたポリアクリル酸、グアーガム、アラギン酸などをポリマー鎖とした架橋ゲルの合成、並びに、ポリ乳酸との複合化するなどによる一次元の紐状及び二次元シート状ゲル合成を検討したが、含水崩壊その他の困難が障害になった。
- イオン導入でアクチュエータ化するナフィオンにビオロゲンを組み込み、新規合成フルオロビオロゲン (論文として発表済) の異方性あるイオンチャンネル中での電気化学的性質を精査した (論文として投稿中)。異方性ヒドロゲルに求められる挙動に関し有益な情報が得られた。
- PLLV-gel において水と共に出入りするイオンをアニオンからカチオンに転換して収縮を加速する目的で、ポリスチレンスルホン酸を組み込んだところ、ゲルの性質としては興味ある現象が見られたが、収縮率は頭打ちになった。

<研究発表（口頭、ポスター、誌上別）>

○印は登壇者

◆学会口頭発表

○王 博、田原弘宣、相樂隆正：「ビオロゲンの酸化還元で駆動するヒドロゲルの電気化学」、第64回ポーラログラフィーおよび電気分析化学討論会、2S6、壱岐の島ホール（壱岐市）(2018.11.23)

○綾部達也、相樂隆正：「Au 電極/Nafion 膜界面の *in situ* 可視および赤外反射分光を用いたキャラクターゼーション」、電気化学会第 86 回大会、1L12、京都大学吉田キャンパス（京都市）(2019.3.27)

○王 博、田原弘宣、相樂隆正：「高伸縮性ビオロゲン高分子とヒドロゲル：電極/ゲル界面及びゲル内での酸化還元応答」、電気化学会第 86 回大会、2C07、京都大学吉田キャンパス（京都市）(2019.3.28)

○相樂隆正、王 博、輪島礼子、田原弘宣：「ビオロゲンの酸化還元が駆動するヒドロゲルの発動」、第 68 回高分子討論会、2K09、福井大学文教キャンパス（福井市）(2019.9.26)

◆学会ポスター発表

○Ayu Kawano, Hitomi Eguchi Takamasa Sagara, “Electrochemistry of molecules bearing multiple viologen sites”, 第 65 回ポーラログラフィーおよび電気分析化学討論会、2P11、国立台湾大学（台湾・台北市）(2019.11.7)

◆学術誌上発表

Tatsuya Ayabe, Bun Chan, Takamasa Sagara, “Fluorination effect on electrochemistry of dibutyl viologen in aqueous solution”, *J. Electroanal. Chem.*, 印刷中, Web 公表済
[<https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2019.113691>].

他に 1 報が審査中 (題目： Electrochemical and spectroelectrochemical probing of the ionic channel in Nafion films using the redox of perfluoroalkyl viologen)

<研究の目的、経過、結果、考察（5000 字程度、中間報告は 2000 字程度）>

【目的】

周囲の状況を把握するための「感覚」、判断するための「知性」、変形・移動するための「運動能力」を併せ持つ分子組織体を分子ロボットと呼ぶ。分子ロボットは、自立し、駆動力源により自律して動く。その実現は、自動運転技術やスマートグラスの普及に続く、第三の近未来技術革新と位置づけられている。ミリメートルサイズの分子ロボットは、医療技術への応用はもちろん、水中や水際の狭い場所での点検・メンテナンス作業、環境センシング、資源回収などのため、開発が切望されている。

この運動能力を担うのはアクチュエータである。我々の研究では、分子ロボット実現に向けた最重要ターゲットとして、アメーバのように動くアクチュエータの材料開発を大きな目標としている。具体的には、電極に接した状態あるいは酸化剤・還元剤と反応させたとき、酸化還元によって急速に大きく伸縮する水凝胶である。これまでに、ポリ-L-リジンにビオロゲンをアミド結合によってペンダントしたポリマーをグルタルアルデヒド(GA)で架橋したヒドロゲル(PLLV-gel)を合成し、ビオロゲンサイトの酸化還元によって PLLV-gel が伸縮することを見出した(*ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2018 に発表)。水中浮遊状態で、ジチオナイトによる還元によって 100 秒間で 92%もの収縮を起こした。この動きだけなら世界トップクラスである (右図)。

収縮は高速であるものの、再膨張に 20 分を要し、ゲル内での電子移動が遅いなど、材料としては未熟である。また、強靭さに欠け、塊としての伸縮に限られていた。

分子ロボットの駆動に PLLV-gel を用いるためには、単に、収縮-再膨張の高速化だけでは不十分である。三次元的な塊の伸縮だけでなく、一次元的な伸縮 (紐の伸び縮み運動)、二次元的な伸縮 (板の拡張伸縮運動) を達成しなければならない。なぜならば、分子ロボットは、指定した方向に動かなければ、自律型の運動体として不十分だからである。

本研究では、これまでに得たヒドロゲルを格段に改良して、上に述べた動きを高速に繰り返すことができる材料を創製する。そのために不可欠な以下の 2 つを本研究の当初目的とした。

- (1) 動きの徹底的な高速化： グラフェンまたは金ナノ粒子(Au-NP)をフィラーとして導入する。電子移動パス拡張と、還元ビオロゲンの集積プラットフォーム形成のためであり、動きの高速化と大振幅化を図る。
- (2) 一次元的伸縮および二次元的伸縮の発現： 複合ポリマー鎖の一軸配向と、ビオロゲンのダイマー化を薄層内に限定することによって、一次元伸縮を達成する。また、脂質二分子膜を組み込んだ異方的架橋によって板状ゲルを創製し、ビオロゲンのダイマー化方向を、板 (シート) に平行な方向のみに限定することによって、二次元的な伸縮を達成する。

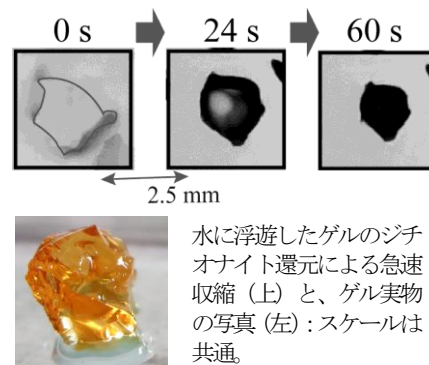
加えて、古典的伸縮材料として知られるナフィオンを題材として、異方性あるナノ環境でのビオロゲンの反応を、本研究のヒドロゲルのモデルとして追究した。

【経過・結果】

1. フィラー導入効果

1-1. ゲル合成時の混在によるグラフェンまたは Au-NP 導入： PLLV-gel 合成過程の GA 架橋段階において、グラフェンナノプレートレット (以下、グラフェン) を前駆体溶液 1 mL に 1 mg 混在させたところ、黒色のヒドロゲルとなった。Au 電極に押し付けて測定したサイクリックボルタモグラムの酸化還元電流はおよそ 3 倍に、水中浮遊状態でジチオナイト還元による収縮初速度は 5 倍に、最大体積収縮率を保ったまま増大した。しかし、再膨張はむしろ阻害された。

PLLV-gel 合成過程の GA 架橋段階において、粒径 6 nm または 11 nm のクエン酸保護 Au-NP を混在させたところ、わずかに暗色化したヒドロゲルが得られた。Au 電極に押し付けて測定した CV の酸



化還元電流はおおよそ 5 倍に、電気化学的可逆性を保ったまま増大した。Au-NP が狙い通り電気伝導経路を形成した可能性がある。そうであれば、電極電位を交流変調すれば、Au-NP が充放電する過程を可視消衰スペクトル変化で検出できると予想し、電位変調紫外・可視反射分光(Electroreflectance, ER)スペクトルを測定したが、充放電は検出できなかった。同時に ER スペクトルは、Au-NP がゲル内で凝集していないことを示した。水中浮遊状態でのジチオナイト還元による収縮初速度は 5.5 倍に増大したが、最大体積収縮率は 6% だけ減少した。Au-NP の親水性が、浸透圧によるイオンを伴った水の動きの障害になることがわかった。しかし、グラフェンと異なり、数分オーダーでの再膨張は加速された。

以上のように、GA 過剰時の導電性フェラー導入は一定の効果をもたらしたが、再膨張の遅さは依然として課題として残った。更に、電極からの電子移動による還元収縮に顕わな加速は、動画解析からも少なくとも巨視的レベルでは確認できなかった。

1-2. ゲル内での Au-NP 合成導入： 上述の結果を踏まえ、水が出入りする経路に沿ってゲル中で Au のフレークを異方的に生成させ、異方性伸縮誘導と電子移動加速の新しい試みを行った。

75% のリジン(Lys)のε-アミノ基が残存している PLLV-gel を、0.2 mM HAuCl₄ 水溶液に 6 時間浸漬した後、0.4 mM NaBH₄ 水溶液に浸漬したところ、ビオロゲンの還元と Au-NP の還元生成とが起こったことが確認できた。しかし予想に反し、還元過程で体積が 19 倍に増大した。これは、ビオロゲンの還元によるスタッキングを通じたポリマー鎖の凝集よりも、Au-NP が生じる過程で導入された多量のイオンがゲル内に留まるための浸透圧差が逆に生じたことを示唆している。還元後の試料ゲルの断面 SEM 像を、エタノールと三級ブタノールで溶媒交換した後に凍結乾燥する方法で観察したところ、Au は数 100 nm より小さい粒径の球形ナノ構造体として生じていて、狙ったフレーク集合体ではないこと、Au-NP は離散的に存在し、その数は、ゲル内部の方がゲル外縁部よりも多かった。

別の方法として、巨視的な Au 電極上に新しい PLLV-gel を押し付けた状態で 0.2 mM HAuCl₄ 水溶液に浸し、直ちに電位掃引を行って Au-NP を還元生成させた。キャパシタンスが増大して Au-NP 生成が目視での色からの確認できたが、ビオロゲンの酸化還元反応量は増大しなかった。

これを改良する方法の一つとして、含浸 HAuCl₄ 水溶液濃度を 20 mM まで高め、電極上その場還元を行ったところ、キャパシタンスとビオロゲン反応量の両方が増大したが、電極表面では巨視的な Au の塊が電極表面とゲルとの間のみで電析し、電極から遠いゲル部分には電気伝導パスとしての Au が生じていないため、ゲルの伸縮制御の遠距離化と増幅も顕わに確認できなかった。

このように、予めゲル化時に既製の Au-NP を混ぜるのではなく、ゲル中で必要な場所に還元を通じて *in situ* 合成するという斬新な方法の試みには、大幅な改善と新しい発想は求められ、更に検討が必要である。

2. 動きの高速化を目指した新規なゲル材料のテスト

単に高速で高伸縮性のゲルだけでなく、巨視的構造と伸縮方向の異方性を導入できるゲルを求め、ポリ-L-リジン以外的高分子をベースとしたゲル材料を実験的に探索した。

ポリアクリル酸の COOH 基に、末端アミノアルキル側鎖をもつビオロゲンをアミド結合し、ヘキサミンで架橋したが、極めて硬いゲルとなり、伸縮性が無く、導入したビオロゲンの還元も部分的であった。

そこで、ポリアクリル酸にビオロゲンをペンダントしたのに続いて、エチレングリコールジグリシジルエーテルによる共有結合架橋を行ったところ、ヒドロゲル化でき、ビオロゲンの還元も確かめられた。しかし、短時間の水中保存でヒドロゲルは含水しすぎて崩壊した。

グアーガムをジグリシジルエーテル架橋したところ、マイクロヒドロゲルが生じたが、ビオロゲンの組み込みができず、酸化還元活性を与えられなかった。

アラギン酸をポリマー鎖としたカルシウムイオン架橋ゲルは、ビオロゲンを主鎖にペンダントした状態で DNA を混入することによりゲルできたが、ビオロゲン含量を増やすと合成過程で試料の粘度が極めて高くなり、次元性ある整形は困難であった。

以上に基づき、次元規制ゲルには PLLV-gel を基体とすることにした。

3. 異方性導入すなわち一次元性伸縮および二次元性伸縮の発現を目指した試み

PLLV-gel (ビオロゲンペンダント率 25%) に絞り、整形ゲル化 (一次元の紐状及び二次元シート状) を様々な方法で試みた。

ポリ乳酸ファイバーの延伸体サンプルを、エッペンドルフチューブの切り込みに固定し、PLLV-gel 前駆体溶液をチューブに入れてサンプルを含浸させた。これに適量の GA を架橋剤とした反応を様々な条件で試みたが、中性～弱アルカリ性では、ファイバーを撥くように微小なヒドロゲル粒が生じるのみで、全体としてファイバー状複合ビオロゲンヒドロゲルとなる条件は見いだせなかった。GA を大量に入れて強アルカリ化で架橋した場合のみ全体としてのゲル化に成功したが含水崩壊を防げなかった。赤外分光は、アミド結合の解離分解の部分的進行を示した。

当初計画した、ビオロゲンゲル内に脂質二分子膜を一軸配向で形成させる方法を、本研究室で経験のあったジオクタデシルジメチルアンモニウムをポリアニオンと共に用いて複合ゲル化する手法で試みたが、不均一なゲル断片のみが得られた。異方的次元性があれば観測できるはずの可視光の複屈折も見られなかった。

以上のように、次元性材料の開発進捗には、新たな戦略性が不可欠であることがわかった。

4. 古典的アクチュエータ材料ポリマーであるナフィオンを用いた相制御ビオロゲン導入

4.1. ナフィオン中の状態を見るためのプローブ分子の設計と性質評価: ナフィオンの水相チャンネルに沿ったビオロゲンの導入経路は、ヒドロゲルへの異方性導入のテストケースになり得るものと考えた。そのため、新たな検討を追加し、電極上のナフィオンフィルム中に、パーフルオロ領域とも相互作用する *N,N'*-di-(1H,1H,2H,2H-perfluorobutyl)-4,4'-bipyridinium dichloride を新たに合成した。このビオロゲンは新規化合物であったため、その基本的な電気化学的性質を正確に測定するとともに、パーフルオロ化の効果を DFT 計算とも照合して議論した。この詳細は論文として発表した (*J. Electroanal. Chem.*印刷中を参照)

4.2. プローブ分子のナフィオン中での動的挙動と酸化還元反応: Au 電極上に被覆したナフィオン膜に、前項のビオロゲンを取り込ませた。様々な濃度の溶液からの含浸過程を、CV と ER 法で実時間追跡した。その結果、濃度が高いと、初期には急速に取り込まれるものの、応答は急激に消失し、取り込まれたビオロゲンの凝集そのものが自らの反応を強く阻害する現象が見出された。一方、凝集しない低濃度であれば、準可逆な酸化還元反応が持続した。これらの結果は、高伸縮性ヒドロゲルに酸化還元中心としてビオロゲンを組み込む際、還元ダイマー化が遠距離からの移動でスムーズに起こる一方で、局所的に凝集しない構造にすること、収縮・再膨張を繰り返し高速で起こすために必須であることが見えてきた。この検討の詳細は国際誌に既に投稿し、論文審査中である。

5. 移動イオンの、アニオンからカチオンへの転換

ビオロゲンが還元するとジカチオンからモノカチオンになり、余分なアニオンは浸透圧差も相俟って大量の水と共にヒドロゲル外に滲出する。しかし、ビオロゲンの対アニオンは種々あるが、ゲルを出入りできるイオンはフッ素イオン以外、カチオンに比べて軟らかいイオンである。そのため、出入りするイオンをカチオンに転換するテストは材料高度化に不可欠である。この目的のため、PLLV-gel

中の対アニオンをポリスチレンスルホン酸(PSS)に代え、これによって出入りするイオンを Br⁻から K⁺に転換した。その結果、CV 応答が、PSS への置換量が大きいほど増大し、アニオン量としてビオロゲンの過剰量になった時には応答は2.5 倍に増大した。

水中浮遊状態でのジチオナイト還元でも、収縮飽和に至る時間が半分に短縮できたが、収縮率は80%未満で頭打ちとなった。一方、最大の課題である再酸化速度は、PSS 量が小過剰の時に Br⁻のみが出入りする場合より加速されたが3 倍程度にとどまった。

この材料特性転換では、PSS がゲルから漏出するのを完全に防ぐために大きな分子量としたため、カチオン移動の高速性を活かせなかった可能性、一部のビオロゲンサイトの動きを妨害していた可能性が指摘できる。そのため、ポリアニオンの工夫で、アニオンからカチオンへの転換は一定の効果があると予見できた。

【考察】

以上の研究結果を要約し、まとめて展望すると以下のようなものである。

- ・フィラー導入による高度化には、導入方法に2 通りある。ゲル化時の共存化は一定の効果はあったが、電極上での急速収縮膨張には十分結びつかなかった。*in situ* ゲル内合成法は、本研究で着手した斬新な方法ではあるが、未熟である。
- ・現在、基本材料としている PLLV-gel を、力学的特性、伸縮性（高速性、振幅）、大量の高速な水の出入りの観点で明らかに超えるゲルは見い出せなかった。一方、本研究で狙った異方性導入は、PLLV-gel を用いている限りは困難であることがわかってきた。
- ・ゲルの基本的特性把握のモデルとして用いた電極/ナフィオン系での検討は、論文 2 報に相当する新しく興味深い結果を得たが、プローブとして用いたビオロゲンは、最も知りたかったビオロゲン分布の理想化、水相チャンネルによる異方性の効果向上などの観点に迫れるものとは言い難かった。
- ・出入りするイオンの転換には部分的に成功したが、この効果を高伸縮性に繋げる新しい要素の付加が求められる。

以上を要するに、必ずしも当初目標を超える水準のヒドロゲル創製までは到達できなかったが、そのために必要な検討事項が多数具体化したことは非常に重要である。現在、次のステップへの戦略立案を検討中である。

以上