

酵素触媒重合による新規機能性高分子の創製

Synthesis of New Functional Polymers by Enzymatic Polymerization

研究代表者 東北大学工学部助手

宇山 浩

Research Associate, Faculty of Engineering, Tohoku University
Hiroshi UYAMA

New polymerization reactions catalyzed by enzymes have been developed. Enzymatic oxidative polymerization of cresols using peroxidase catalyst has been carried out in two types of the solvent, an aqueous organic solution and a reverse micellar system to produce polymeric materials. TG analysis showed that the resulting polymers have high thermal stability. Polymerization of divinyl adipate with glycols catalyzed by *Pseudomonas fluorescens* lipase has been performed in *i*-propyl ether. The divinyl ester was very reactive toward the lipase catalyst to afford the aliphatic polyester under mild reaction conditions.

研究目的

天然高分子（巨大分子）である多糖類、タンパク質、核酸などはすべて酵素作用により作られる。近年、微生物や酵素などの生体触媒系を利用した有機反応の開発、応用研究が活発に行われるようになった。生体反応そのものを用いる微生物細胞内（*in vivo*）高分子合成反応は生分解性高分子の合成法として注目されている。一方、酵素触媒作用を利用する *in vitro* 高分子合成（「酵素触媒重合」）の研究例はほとんどなく、特に酵素触媒の特徴を活かした高分子の合成は皆無に近い。本研究の目的は、酵素を触媒に用いる新しい高分子合成反応を開拓し、機能性高分子の創製に導くことにある。具体的にはペルオキシダーゼ触媒によるクレゾールの重合及びリパーゼ触媒によるアジピン酸ジビニルとグリコールの重合を検討した。

研究経過

実験に用いたモノマー、溶媒等は市販品を精製せずに用いた。西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP）は和光純薬、大豆ペルオキシダーゼ（SBP）はシグ

マ、*Pseudomonas fluorescens*由来のリパーゼ（リパーゼPF）はバイオキャタリストより購入した。ポリマーの構造はNMR、IRにより推定した。ポリマーの分子量はGPC、熱的性質はDSCとTG-DTAを用いて測定した。

クレゾール類の重合は1、4-ジオキササンとリン酸緩衝液（pH7）（80：20 vol%）の混合溶媒及び逆相ミセル系（界面活性剤：エアゾールOT、有機溶媒：イソオクタン、水/界面活性剤=約15）で行った。重合混合物をメタノールと水で洗浄することにより、ポリマーを精製した。アジピン酸ジビニルとグリコールの重合はイソプロピルエーテル中、45℃で行った。ポリマーはメタノールからの再沈殿により単離した。

研究成果

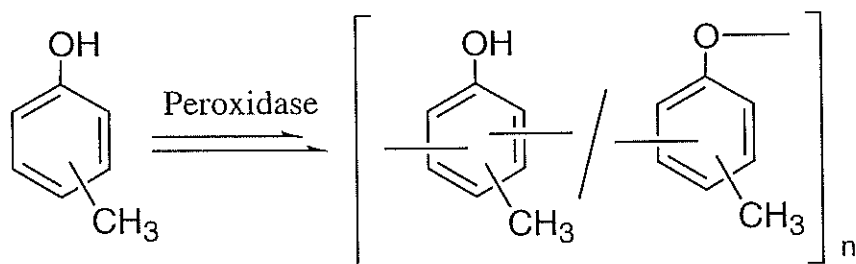
・クレゾールの酵素触媒重合

これまでHRP触媒によるフェノール、アニリン類の重合は有機溶媒と水の混合溶媒中で行ってきた。本研究では1、4-ジオキササンとリン酸緩衝液の混合溶媒中でクレゾールの重合を検討した。全てのクレゾール異性体から

HRP、SBPいずれの触媒を用いてもポリマーが得られた。HRP触媒による*p*-クレゾールの重合ではモノマーはほぼ全て消失したが、ポリマー収率はわずか6%であった。これはダイマー副成物であるプーメラケトンの生成によるものと考えられる。SBP触媒を用いることにより、収率が35%に向上した。HRP触媒による*m*-クレゾールの重合

では収率72%でポリマーが得られた。

生成ポリマーはいずれも溶解性が乏しく、DMF、DMSOに部分的に溶解するかあるいは全ての有機溶媒に不溶であった。DMF可溶部の分子量をGPCで測定したところ、数千であった。IR分析によりポリマーはフェニレンユニットとオキシフェニレンユニットの混合体と推定された(スキーム1)。



Scheme 1

フェノール類は逆相ミセル系でも重合することが知られている。ここではAOTを界面活性剤に用いるアニオン性逆相ミセル系でクレゾール類の重合を検討した。いずれのモノマーも重合し(収率12~48%)、分子量数千のポリマーを与えた。生成ポリマーは1,4-ジオキサンと水の混合溶媒で重合したポリマーより高い溶解性を示した。

DSC分析により生成ポリマーは明確なガラス転移温度、融点を示さないことがわかった。熱的安定性はTG分析により評価した。図1にHRP触媒により合成した*p*-クレゾール重合体のTGチャートを示す。窒素下ではポリマーの10%重量損失時の温度が277℃で、空気下(263℃)よりも高い安定性を示した。空気下では544℃で全て消失した

が、窒素下では1000℃で40%が残存した。残留物はグラファイトなどの炭化ポリマーと思われる。

熱的安定性はモノマー構造とポリマーの合成条件に依存した。*o*-、*m*-クレゾール重合体の10%重量損失は300℃以上であり、パラ体よりも良好な熱的安定性を示した。

・アジピン酸とグリコールの酵素触媒重合

エノールエステルであるビニルエステルはリパーゼ触媒により高い反応性を示すことが知られている。これは脱離するビニルアルコールがアルデヒドに異性化し、反応が非可逆的に進行するためである。本研究ではビスエノールエステルであるジビニルエステルを酵素触媒重合モノマーとして初めて取り上げ、グリコー

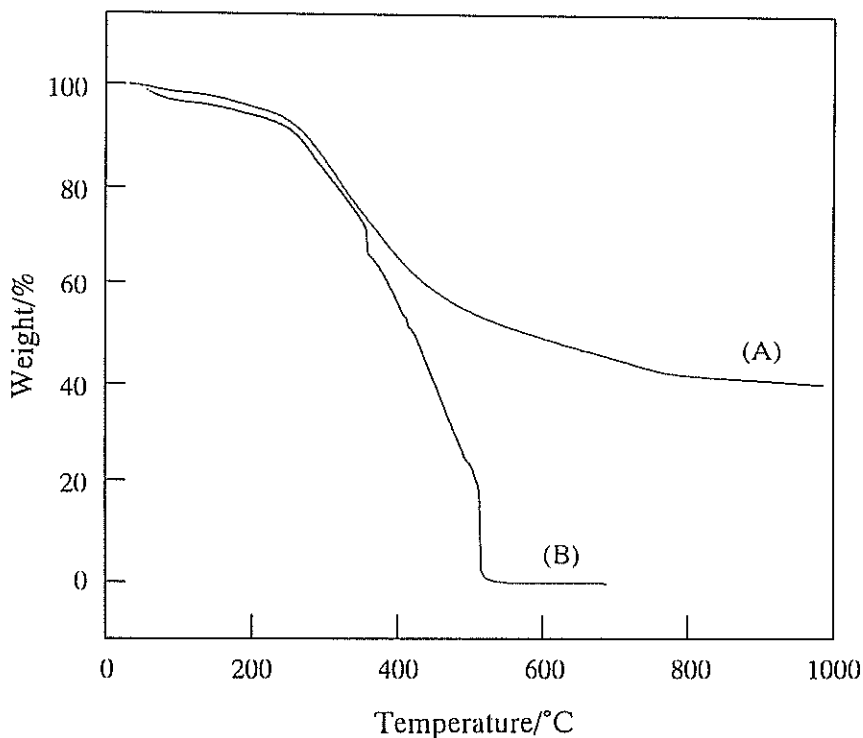
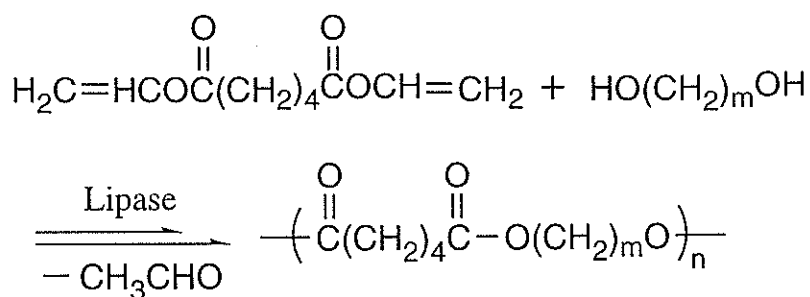


Figure 1. TG traces of poly(*p*-cresol) obtained by HRP-catalyzed polymerization in aqueous 1,4-dioxane: (A) under nitrogen; (B) under air.



Scheme 2

ルとの重合を検討した (スキーム 2)。

重合は触媒にリパーゼPF、溶媒にイソプロピルエーテルを用い、45℃で120時間行った。グリコールにはエチレングリコール、1、4-ブタンジオール、1、6-ヘキサジオール、1、

10-デカンジオールを用いた。1、4-ブタンジオールを用いた場合、収率50%で分子量6700のポリマーが得られた。他のグリコールからもポリマーが得られたが、分子量が低下した (表1)。

同様の条件下で他のリパーゼ

Table 1. Enzymatic Polymerization of Divinyl Adipate with Glycol^{a)}

Glycol	Yield(%) ^{b)}	M_n ^{c)}	M_w/M_n ^{c)}
Ethylene Glycol	34 ^{d)}	2000	1.9
1,4-Butanediol	50	6700	1.9
1,6-Hexanediol	50	3900	1.9
1,10-Decanediol	46	2400	1.5

a) Polymerization using lipase PF in *i*-propyl ether for 48 h at 45 °C. b) Methanol insoluble part. c) By GPC. d) Ethyl ether insoluble part.

(*Candida cylindracea* リパーゼ、porcine pancreas リパーゼ) を用いたところ、ポリマーが得られなかった。また、酵素を用いないコントロール実験ではモノマーが未反応で回収された。よって、本重合が酵素作用により進行し、重合挙動が酵素種に依存することがわかった。

アジピン酸ジビニルを用いる代わりに、アジピン酸及びアジピン酸ジエチルをモノマーに用いたところ、ポリマーの生成は認められなかった。よって、ジビニルエステルの酵素触媒重合のモノマーとしての有用性が示された。

今後の課題と発展

本研究では酵素触媒重合の新規モノマーとしてクレゾール類とジビニルエステル化合物を取り上げた。いずれも酵素作用により重合し、新規ポリマーを与えた。クレゾールの重合では、収率、溶解性に改良の余地があると思われるが、ポリマーは優れた耐熱性を有していた。今

後、一層の重合条件の検討が必要と思われる。同時に生成ポリマーの性質・物性を評価し、用途開発を行いたい。

ジビニルエステルからは穏和な条件下で脂肪族ポリエステルが得られた。脂肪族ポリエステルは生分解性を有していることから、環境にやさしい新材料として注目されている。今後、高分子量体の合成条件を探索し、材料として用いることのできるポリマーの合成を目指したい。

発表論文リスト

- 1 Lipase-Catalyzed Polymerization of Divinyl Adipate with Glycols to Polyesters, H. Uyama and S. Kobayashi, *Chem. Lett.*, 1687-1690 (1994).
- 2 Peroxidase-Catalyzed Oxidative Polymerization of Cresols to New Family of Polyphenols, H. Uyama, H. Kurioka, J. Sugahra, I. Komatsu, and S. Kobayashi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, in press.