

## 尿素分子吸着のための分子インプリントポリエチレンイミンビーズの調製と特性評価

日大生産工(院)○丸 駿祐  
日大生産工 高橋 大輔, 山田 和典

## 1. 緒言

老廃物を排出するための臓器である腎臓の働きが低下すると、処理ができなかった老廃物が、体内に蓄積される。老廃物が体内に蓄積されることで、発症する尿毒症は、生命活動に甚大な被害をもたらすため、早急な治療が必要とされる。腎臓の働きの低下の治療法は、現在、人工透析と臓器移植の 2 種類が確立されている。また、人工透析は、透析患者の約 97% が利用する血液透析と透析患者の約 3% が利用する腹膜透析に分けられる。利用者数が多い血液透析の欠点は、老廃物の主成分である尿素と同時に有効成分や必須成分も同時に除去することである。よって、尿素を選択的に血液中から除去する方法について検討する。

現在、活性炭やキトサンなどを吸着材のベースとした尿素的吸着除去に関する研究が行われている[1][2]。尿素と強い相互作用を示すことと生体との高い適合性を有していることがこれらの吸着材に共通しており、尿素的吸着除去に適していることが報告されている。

Fig.1 と Fig.2 より、ポリエチレンイミンは、キトサンよりもアミン含有量が高いことが分かる。尿素は、アミン基と相互作用して吸着をする。そのため、アミン含有量が高いポリエチレンイミンは、これまでのアミン系尿素的吸着材よりも大きな吸着量となる可能性がある。我々は、キトサンと同じアミン基を有しているため、尿素との高い相互作用が期待でき、生物化学の分野で、高い生体適合性が報告されているポリエチレンイミンを尿素的吸着材のベースとして吸着除去を検討する。

尿素を選択的に除去する方法として、我々は、分子インプリントポリマー法に注目した。分子インプリントポリマー法とは、モノマーまたはポリマーを標的分子と共に架橋し、標的分子の鋳型をポリマー中に作る手法である。標的分子の鋳型には、標的分子を認識して選択的に吸着する特性がある。この特性を利用して尿素的選択的な除去について検討する。

本研究では、生体適合性が高く、アミン基に富んだ尿素インプリントポリエチレンイミン

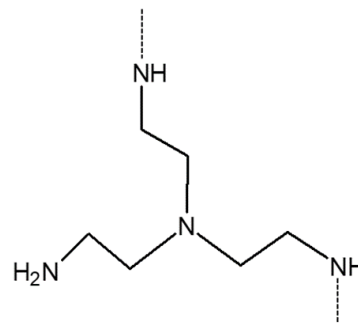


Figure 1. Structure of Polyethyleneimine

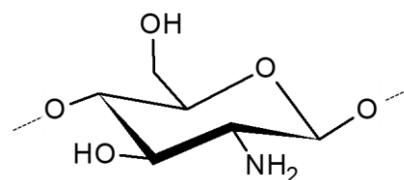


Figure 2. Structure of Chitosan

ビーズ (Urea-MIP) を調製し、Urea-MIP への尿素的吸着量を尿素的残存濃度から決定した。

## 2. 実験方法および測定方法

## 2-1 ポリエチレンイミンビーズの調製

Urea-MIP は、Xingguang らの方法を参考に調製した[3]。メタノール 3.01mL, 尿素 0.0288g, ポリエチレンイミン 2.025g とエピクロロヒドリン 0.067g を 30mL 蓋つきガラス器具内で混合した後、恒温槽 (35℃) で 20 分間反応させた。反応したプレ架橋溶液を 10mL シリンジに充填した。次に、この溶液を、シリンジポンプを用いて流速 3.2mL/h で貧溶媒であるドデカンとナタネ油で満たしたポリエチレンイミンビーズ調製装置に 1.6mL 滴下した。このときポリエチレンイミンビーズ調製装置のガラス管内部をドデカンで満たし、三角フラスコ部分をナタネ油で満たした。反応温度は、200mL 三角フラスコの底部をオイルバスで、装置ガラス管外部を循環型恒温槽で 80℃ に維持した。4時間反応させたビーズをトルエン、エタノール、蒸留水の順序で十分に

Preparation and characterization of molecular imprinted polyethyleneimine beads for urea adsorption

Shunsuke MARU, Daisuke TAKAHASHI and Kazunori YAMADA

洗浄した後、40℃ で 24 時間乾燥させた。乾燥後、デシケーター中にビーズを保存した。

ノンインプリントポリエチレンイミンビーズ (Urea-NIP) を、上記と同様の方法で尿素を添加しない条件で調製した。

## 2-2 尿素濃度の評価方法

尿素の残存濃度を決定するためにインドフェノール法を評価方法として選択し、検量線を作成した。0～2.0mM 尿素溶液 0.1mL にウレアーゼ溶液 0.5mL を加えた。その後、37℃ の恒温槽で 15 分反応させた。反応後、フェノール溶液 2.0mL および次亜塩素酸ナトリウム溶液 2.0mL を添加し、搅拌した。37℃ で 10 分間反応させ、蒸留水で 10mL に定容した。定容後、インドフェノールの吸収波長である 625nm で吸光度を測定し、尿素の検量線を作成した。

## 2-3 尿素の吸着除去量評価

リン酸緩衝液 (pH7.4,  $I=0.009\text{mol/dm}^3$ ) を溶媒として濃度 2.0mM の尿素溶液 50mL を調製した。ポリエチレンイミンビーズ 0.1g に尿素溶液 50mL に加えた後、37℃ に設定した恒温槽中で尿素を吸着させた。1 時間毎に 6 時間まで、尿素溶液をそれぞれ 0.1mL 量り取り、尿素の検量線作成と同様にインドフェノール法を用いて各時間における尿素濃度の吸光度を求めた。得られた吸光度から検量線を用いて尿素の残存濃度を決定した。吸着量  $q_t$  (mg/g) は、以下の式(1)より算出した。

$$q_t = \frac{(C_0 - C_t) \times V \times 60.06}{m} \quad \cdots \text{式(1)}$$

$C_0$  … 吸着開始時の尿素濃度 (mM)

$C_t$  … 時間  $t$  における尿素濃度 (mM)

$V$  … 尿素溶液の体積 (L)

$m$  … ポリエチレンイミンビーズの質量 (g)

## 3. 実験結果および考察

### 3-1 ポリエチレンイミンビーズの様子

得られたポリエチレンイミンビーズの様子は、形状が直径約 0.1～1mm の球体で、色が透明で薄い黄色であった。

### 3-2 尿素の吸着量の評価

各尿素濃度における吸光度から検量線である式 (2) が得られた。

$$ABS = 0.3906C + 0.0221 \quad \cdots \text{式(2)}$$

ここでの  $ABS$  は吸光度 (‐) を示し、 $C$  は尿素の濃度 (mM) を示す。得られた尿素の検量線の相関係数 ( $R^2$  値) は、0.9987 となった。

Fig.3 にポリエチレンイミンビーズへの尿素の吸着量の経時変化を示す。

Fig.3 より Urea-NIP への尿素の吸着量は、0 から3 時間まで増加し、その後吸着量変化は、ほぼなかった。このことから Urea-NIP は、3 時間で吸着量が飽和に達していることが示唆された。

Fig.3 より Urea-MIP への尿素の吸着量は、5 時間まで増加し、その後吸着量変化は、ほぼなかった。このことから Urea-MIP は、5時間で吸着量が飽和に達していることが示唆された。

また、Fig.3 より Urea-NIP と Urea-MIP の尿素の最大吸着量は、それぞれ 2.89[mg/g] と 4.41[mg/g] であった。

Urea-MIP の尿素の最大吸着量は、Urea-NIP の尿素の最大吸着量よりも大きい。この結果から、Urea-MIP は、尿素に対する鋳型が形成され、分子インプリント方が尿素の吸着量の増加において有効であることが示唆された。

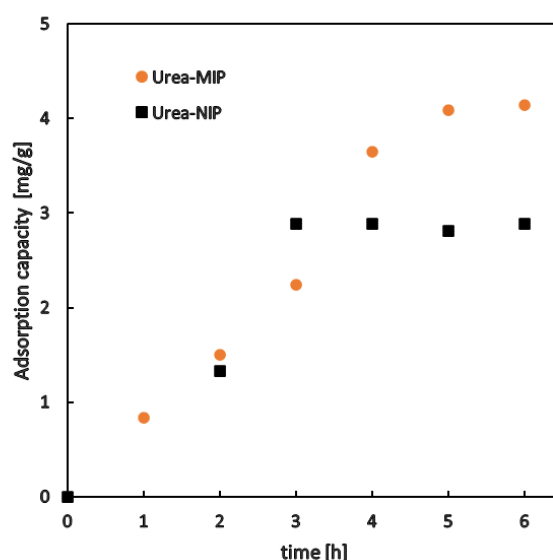


Figure 3. Adsorption capacity of urea on the MIP at over time

### 参考文献

- [1] Tomohito Kameda, Saya Ito, Toshiaki Yoshioka. *Journal of Dispersion Science & Technology*. **2017**, *38*, pp1063-1066.
- [2] Yuan Cheng, Kailin Xu, Hui Li, Yanfang Li. Liang, Bing. *Analytical Letters*. **2014**, *47*, pp1063-1078.
- [3] Xingguang Xu, Bobby Pejic, Charles Heath, Colin D Wood. *JOURNAL OF MATERIALS CHEMISTRY A*; **2018**, *21* pp21468-21474.