

令和元年6月4日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K14002

研究課題名(和文) UCST型温度応答性高分子の機能制御と分子論理ゲートへの応用

研究課題名(英文) Functional control of thermo-responsive polymers with an upper critical solution temperature

研究代表者

内山 聖一 (UCHIYAMA, SEIICHI)

東京大学・大学院薬学系研究科(薬学部)・助教

研究者番号：10401225

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：アクリルアミド-アクリロニトリル共重合体、およびウラシル誘導体-アクリルアミド共重合体を合成し、さらに蛍光団としてベンゾフラザンをごく微量含む共重合体を合成した。得られた高分子のキャラクタリゼーションを行ったのち、温度応答挙動を種々の測定条件下によって確認した。蛍光ラベルした共重合体の温度依存的な蛍光スペクトル、蛍光寿命、時間分解蛍光偏光異方性、消光現象より、これらUCST(上限臨界溶液温度)型感温性高分子の機能メカニズムを解明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

UCST型感温性高分子の機能メカニズムの解明において、蛍光法を利用した例はなく、得られた実験データとしてはこの点に特色がある。また、個々の高分子を各論的に捉えるのではなく、化学構造に基づいて一般的な機能メカニズムを明らかにした点、およびLCST型感温性高分子との比較によって検討を進めた点にも本課題ならではの特色がある。さらに実用化を視野に入れた新規高分子の開発もっており、当該分野の進展に直接貢献しただけではなく、UCST型感温性高分子によるドラッグデリバリーシステムの開発など、関連する応用分野への今後の影響も大きいと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Copolymers of acrylamide and acrylonitrile, and those of an uracil derivative and acrylamide were prepared with and without fluorescent labeling with a benzofurazan structure. Their responses to a temperature variation were monitored under various conditions (i.e., solvent, concentration, coexisting ion and coexisting surfactant). Based on the temperature-dependent fluorescence spectra, fluorescence lifetime, time-resolved fluorescence anisotropy, quenching titration of the fluorescent thermo-responsive polymers, their functional mechanisms were clarified.

研究分野：高分子化学、分析化学、光化学

キーワード：高分子 温度 刺激応答 水素結合

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

研究代表者はこれまでに、LCST (下限臨界溶液温度) 型感温性高分子を利用した細胞内温度計測用蛍光プローブを開発し (例えば *Nat. Commun.*, **2012**, 3, 705)、世界の市販化を通して (フナコシ株式会社製品番号 FDV-0002~0005)、汎用性の高い有用な機能性材料の普及を行ってきた。この研究活動の中、化粧品メーカーの研究者と議論をした際に、化粧品材料には UCST (上限臨界溶液温度) 型感温性高分子が有効であることを学んだ。そこで当該分野の現状を調査したところ、ここ数年で UCST 型感温性高分子の研究が国内外とも盛んになりつつあること (例えば *Macromol. Rapid Commun.*, **2012**, 33, 1898; *Soft Matter*, **2015**, 11, 7059)、UCST 型感温性高分子は LCST 型感温性高分子と比較して機能の制御が難しいこと (*ACS Macro Lett.*, **2013**, 2, 597)、そもそもそれらの機能メカニズムが大きく異なること (予備実験による) が分かってきた。一方で、研究代表者は、蛍光測定、ナノ DSC (示差走査熱量) 測定、重水を用いた測定など独自の実験技術・環境を備えており、高い好奇心をもって、この UCST 型感温性高分子の機能メカニズムを明らかにできるのではないかと考えた。さらに化粧品としての実用化には、より高度な環境応答機能を示す分子論理ゲートの開発が有効である。研究代表者は、この分子論理ゲートの分野にも精通しており (*Nat. Nanotechnol.*, **2007**, 2, 399; 『分子論理ゲート』 **2014**, 講談社サイエンティフィク)、本課題の円滑な遂行が期待できることから、本企画に至った。

### 2. 研究の目的

低温の水には溶解せず、ある温度 (UCST) 以上で急激に溶解性が増す、いわゆる UCST 型感温性高分子は、温度変化に応じて親疎水性をはじめとする物理的性質が大幅に変化することから、機能性材料として最近注目を集め始めている。ところが、逆の性質、すなわち高温の水に溶解しない LCST 型感温性高分子と比較すると、感温性の制御が難しく応用への課題が残っている。本課題では「UCST 型感温性高分子と LCST 型感温性高分子の機能メカニズムは似て非なるものである」という仮説に基づき、網羅的な機器計測を通して UCST 型感温性高分子の機能メカニズムを明らかにする。さらに、UCST 型感温性高分子に pH 感受性部位を導入し、特定の温度・pH 環境下でのみ応答する分子論理ゲートを開発する。新しい化粧品材料として、開発した分子論理ゲートの有用性を評価し、商品としての実用化を目指す。

### 3. 研究の方法

#### UCST 型温度応答性高分子 (ランダム共重合体) の合成

UCST 型温度応答性高分子として報告されているアクリルアミド (AAm) - アクリロニトリル (AN) 共重合体 (*Macromolecules*, **2012**, 45, 3910)、ベタイン誘導体 (ADPS) - ベンジルアクリルアミド (BzAm) 共重合体 (*Macromolecules*, **2014**, 47, 750) およびゲルの性質のみが報告されているウラシル誘導体 (AU) - AAm 共重合体 (*Proceed. Intern. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.*, **1996**, 23, 767) について、各構成ユニット比を変化させた高分子を、ランダム共重合体として合成する。また、これらの原料 AAm, AN, ADPS, BzAm, AU に加えて、蛍光団としてベンゾフラザンモノマー (DBD) およびベンゾクマリンモノマー (BC) をごく微量原料に含む高分子を同様に合成する。UCST 型温度応答性高分子は、その温度応答性が安定しない (ロット間差が大きい) ことが知られているため、必要に応じて同一の原料による高分子合成を複数回行う。得られた高分子のキャラクタリゼーションを、NMR, IR, GPC, UV-vis の各種機器測定により行う。

#### 合成した UCST 型感温性高分子 (ランダム共重合体) の機能評価

合成した高分子の温度応答挙動を、様々な測定条件下において種々の測定装置を用いて確認する。変化させる測定条件としては、溶媒 (水および重水)、高分子の濃度、共存するイオンの種類と濃度、共存する界面活性剤の種類と濃度、昇温高温速度を、用いる測定装置としては UV-Vis (透過率変化による機能の確認)、ナノ DSC (機能に関連する熱力学パラメータの決定)、DLS (動的光散乱法: 機能に伴うサイズ変化の確認)、蛍光、蛍光寿命および蛍光偏光異方性 (機能に伴う高分子鎖近傍の微環境変化の確認) を用いる。

#### UCST 型温度応答性高分子 (RAFT 重合体) の合成

UCST 型温度応答性高分子の機能 (感温性) が安定しない要因の一つとして、その機能が分子量に大きく依存している可能性が示唆されている (*Biomacromolecules*, **2011**, 12, 3418; *Macromol. Chem. Phys.*, **2015**, 216, 1014)。そこで、AAm, AN, ADPS, AU を用い、RAFT 重合法により分子量を制御した高分子を合成する。さらに、得られた知見を活かしつつ、合成した高分子の機能評価を進める。

#### UCST 型温度応答性高分子の機能メカニズムの解明

以上の機能評価によって得られた測定データを解析し、UCST 型温度応答性高分子の機能メカニズムを解明する。

#### 4. 研究成果

##### UCST 型感温性高分子である AAm-AN 共重合体の機能メカニズムの解明

AAm-AN 共重合体について、各構成ユニット比を変化させた高分子をランダム共重合体として合成した。また、蛍光団として DBD, BC をごく微量含む AAm-AN 共重合体を合成した。得られた高分子のキャラクタリゼーションを NMR, IR, GPC, UV-Vis の各種機器測定により行ったのち、温度応答挙動を種々の測定条件下によって確認した。なお、変化させた測定条件は、溶媒（水および重水）、高分子の濃度、共存するイオンの種類と濃度、共存する界面活性剤の種類である。各々の高分子の温度応答挙動は非常に再現性が高く、また合成時のロット間差による挙動の差もほとんど認められなかった。既報の通り、AAm-AN 共重合体では AN ユニットの比が大きくなるほど水溶液の相転移温度（UCST 温度）が高くなるという、明確な傾向が認められ、その一般性が確認された。さらに蛍光団を含む AAm-AN 共重合体の水溶液に対して温度を変化させながら、蛍光スペクトル、蛍光寿命、時間分解蛍光偏光異方性の測定、ならびにヨウ化カリウムを用いた消光実験を行った。その結果、AAm-AN 共重合体では相転移の前後で、高分子差近傍の微環境はほとんど変化せず、その UCST 温度以下においては、各高分子鎖が緩やかに会合し、相転移を引き起こしていることが分かった。また、その駆動力は従来提唱されている、AAm ユニット間の水素結合や、AN ユニット間の疎水性相互作用ではなく、AN ユニット間の双極子 - 双極子相互作用であると結論づけた。

これらの結果を、第 56 回高分子学会年次大会、第 65 回高分子討論会、日本薬学会第 138 年会、World Polymer Congress Macro 2018（オーストラリア、ケアンズ）、256th ACS National Meeting & Exposition（アメリカ、ボストン）において学会発表した。また、これらの成果をまとめた原著論文を *Macromolecules* 誌に投稿中であり、現在、審査意見を考慮した改訂稿を作成している。

##### 新規 UCST 型感温性高分子である UA-AAm 共重合体の開発

UA-AAm 共重合体について、各構成ユニット比を変化させた高分子をランダム共重合体として合成した。この際、合成溶媒の最適化を行い、高温にて水に完全に溶解する AU-AAm 共重合体を得ることに成功した。この共重合体は新規であることから、新しい機能性感温材料として特許申請を行ったほか、第 67 回高分子討論会にて学会発表を行った。

現在、引き続き蛍光団として DBD をごく微量含む UA-AAm 共重合体を合成し、に記載した AAm-AN 共重合体に対して用いた手法を再度採用し、その機能メカニズムの解明に取り組んでいる。

##### UCST 型感温性高分子の高感度化

AAm-AN 共重合体および AU-AAm 共重合体を RAFT 重合法により合成し、その温度応答挙動を確認した。その結果、RAFT 重合体の温度応答は、およびで合成した同じ組成比のランダム共重合体より、いずれも温度応答が鋭敏であり、UCST 型温度応答性高分子の感度は、ユニット比が一樣であるかどうかによって大きく影響を受けることが判明した。一方、分子量の違いは温度応答の感度にそれほど影響を与えないことも分かった。

これらの結果を、第 66 回高分子学会年次大会、第 66 回高分子討論会にて学会発表した。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 0 件）

〔学会発表〕（計 11 件）

Chie Otsuka, Masaki Okuyama, Akinobu Hayashi, Hidetoshi Tokuyama, Seiichi Uchiyama, “Fluorescent labeling method reveals the functional mechanism of thermoresponsive poly(acrylamide-co-acrylonitrile)s with upper critical solution temperature”, 1st Glowing Polymer Symposium in KANTO, 2018.

Chie Otsuka, Hidetoshi Tokuyama, Seiichi Uchiyama, “Fluorescent labeling method reveals the functional mechanism of thermo-responsive poly(acrylamide-co-acrylonitrile)s with upper critical solution temperature”, 12th SPSJ International Polymer Conference (IPC2018), 2018.

大塚 千恵、青木 隆史、若原 祐子、坂田 樹理、奥山 雅樹、林 昭伸、徳山 英利、内山 聖一、「核酸塩基構造を有する新規 UCST 型温度応答性高分子の応答挙動」、第 67 回高分子討論会、2018.

Seiichi Uchiyama, Chie Otsuka, Hidetoshi Tokuyama, Akinobu Hayashi, “Fluorescent labeling method reveals the functional mechanism of poly(acrylamide-co-acrylonitrile)s with upper critical solution temperature”, 256th ACS National Meeting & Exposition,

2018.

Chie Otsuka, Shinji Kobayashi, Akinobu Hayashi, Hidetoshi Tokuyama, Seiichi Uchiyama, Fluorescent labeling method reveals the functional mechanism of poly(acrylamide-co-acrylonitrile)s with upper critical solution temperature”, World Polymer Congress Macro2018, 2018.

大塚 千恵、麻見 安雄、林 昭伸、徳山 英利、内山 聖一、「熱量測定ならびに蛍光異方性測定を用いた温度応答性高分子の機能メカニズムの解析」、第 67 回高分子学会年次大会、2018 .

大塚 千恵、小林 伸次、林 昭伸、徳山 英利、内山 聖一、「蛍光ラベル法による UCST 型温度応答性高分子の微環境解析と機能メカニズムの解明」、日本薬学会第 138 年会、2018 .

大塚 千恵、小林 伸次、林 昭伸、徳山 英利、内山 聖一、「RAFT 重合による温度応答性高分子の高感度化」、第 66 回高分子討論会、2017 .

大塚 千恵、小林 伸次、林 昭伸、徳山 英利、内山 聖一、「アクリロアミドユニット及びアクリロニトリルユニットからなる UCST 型温度応答性高分子の高感度化」、第 66 回高分子学会年次大会、2017 .

大塚 千恵、小林 伸次、奥山 雅樹、林 昭伸、徳山 英利、内山 聖一、「蛍光ラベル法による UCST 型温度応答性高分子の微環境解析」、第 65 回高分子討論会、2016 .

大塚 千恵、奥山 雅樹、林 昭伸、徳山 英利、内山 聖一、「アクリルアミド及びアクリロニトリルからなる共重合体の UCST 挙動」、第 56 回高分子学会年次大会、2016 .

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

出願状況（計 2 件）

名称：核酸塩基構造を有する上限臨界溶液温度型温度応答性高分子

発明者：大塚千恵、内山聖一

権利者：株式会社コーセー、国立大学法人東京大学

種類：特許

番号：特願 2018-158426

出願年：2018 年

国内外の別： 国内

名称：上限臨界溶液温度を有する組成物

発明者：大塚千恵、奥山雅樹、内山聖一

権利者：株式会社コーセー、国立大学法人東京大学

種類：特許

番号：特願 2016-094038

出願年：2016 年

国内外の別： 国内

取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：大塚 千恵

ローマ字氏名：(OTSUKA, Chie)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。