

平成 30 年 5 月 31 日現在

機関番号：32689

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2016～2017

課題番号：16H07292

研究課題名(和文)電荷移動錯体の高感度力学プローブを有する高分子材料の創製とメカノバイオロジー応用

研究課題名(英文)Development of polymeric materials with a highly sensitive mechanoprobe based on charge-transfer interaction and application to mechanobiology

研究代表者

今任 景一 (Imato, Keiichi)

早稲田大学・理工学術院・助教

研究者番号：80777970

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、可逆的に解離・結合する蛍光性分子間の電荷移動(CT)相互作用を用いて、高感度なメカノプローブを開発し、高分子鎖に化学的に導入することで、高分子材料における微小応力を可逆的に検出することを目的として研究を実施した。設計したプローブとそれを有する高分子材料を合成したが、目的とする微小応力の可逆的検出は達成できなかった。一方、CT相互作用を可逆的な物理架橋点として高分子材料(エラストマー)中に導入した場合に、材料が穏和な環境下で自己修復性を示し、細胞培養足場としても利用可能であることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：In this study, we tried to develop a highly sensitive mechanoprobe based on charge transfer (CT) interaction between fluorescent molecules that reversibly dissociate and associate, and incorporate it into polymer chains, in order to reversibly detect microstress in polymeric materials. The designed probe and polymeric materials with it were successfully synthesized, but the reversible detection of microstress could not be achieved. On the other hand, when CT interaction was utilized as reversible physical cross-linking points in polymeric materials (elastomers), the elastomers showed self-healing in mild environments and could be used as cell culture scaffolds.

研究分野：高分子化学

キーワード：高分子材料 メカノケミストリー メカノクロミズム メカノバイオロジー 自己修復 電荷移動相互作用

1. 研究開始当初の背景

柔軟なゴムから高強度な樹脂まで幅広い用途で利用される高分子材料は、金属やセラミックスと比較して極めて軽量であることから、今後の低炭素社会の実現に向けて、特に自動車や航空機の燃料費が向上する構造材料などへの用途の拡大と需要の増大が見込まれている。そのため、高分子材料の耐久性・安全性・信頼性の向上は必須の課題であるが、高分子材料の歴史は金属などと比較して浅く、破壊・劣化・疲労機構には未解明な部分が多く残されている。材料に生じた応力集中や損傷を視覚的に検出することができれば上記機構解明に繋がり、また致命的な破壊が生じる前に材料の修繕や取り替えも可能となる。

これを目的に、これまでに様々なアプローチで高分子材料の応力・損傷を可視化する試みが行われてきた¹⁻³。それらは構造色の利用と分子の相互作用・化学反応の利用に大別できる。前者は、可視光波長レベルの規則的な構造による光の干渉に由来し、その原理と異方性から材料の構造や用途は極めて限られる¹。一方、後者では、メカノプローブ(応力により相互作用が変化、あるいは化学反応を起こして色調や蛍光性が変化する)を高分子鎖に化学的に導入する方法が主に用いられ、材料物性を損なわずに分子レベルで応力・損傷を効率的に検出することができる^{2,3}。後者の方法により、これまでに様々な高分子材料において応力の検出が実現されてきた。しかし、その多くは大きな応力の一度限りの検出、あるいは材料破壊前や大変形時の不可逆な検出であった。これまでに微小応力の可逆的検出に着目した研究例はなく、そのため、応力緩和や経時変化などを含め、破壊・劣化・疲労機構をより詳細に評価できるシステムもない。これは、既報のメカノプローブが「室温不可逆性の強い相互作用や結合の解離に基づいて応力を検出する」という機構のためである。柔軟な高分子鎖はプローブへの応力伝搬を妨げ、周辺高分子鎖が伸びきった後ようやくプローブの解離が始まる。また、室温不可逆性のプローブは解離しても再結合できない。

そこで、研究代表者は過去に、室温において解離・結合の平衡状態にある極めて弱い炭素-炭素の共有結合を有するメカノプローブを開発し⁴、高分子材料に加わる応力を色調変化として可逆的に検出した⁵。しかし、この系においても色調変化に大きな変形(材料寸法の倍以上の歪み)を要し、色調と材料形状の復元には数時間かかった。これらは、「色調変化の低感度」が原因と考えられる。プローブが解離しても、十分な分子運動性があれば室温可逆性により素早く再結合するため、低感度の色調変化では解離を検出できない。

2. 研究の目的

このような背景から、本研究では、可逆的

に解離・結合する蛍光性分子間の電荷移動(CT)相互作用を用いて、高感度なメカノプローブを開発し、高分子鎖に化学的に導入することで、高分子材料における微小応力を可逆的に検出することを目的とした(図1)。弱いCT錯体が可逆性を与え、解離に伴い生じる蛍光は高い検出感度を示す。一般的に弱い分子間相互作用は低い結合定数を示すが、本研究の分子内CT錯体は近接効果により低い結合解離エネルギーを維持したまま高い結合定数が期待できる。特に高分子材料中では、高分子鎖の大きな立体障害によりこの効果が顕著に表れると考えられる。また、このような微小応力を高感度・可逆的に検出できるメカノプローブは、近年注目を集める「細胞・組織内外に生じる微小な応力と細胞・組織挙動との関係」に関する学問、メカノバイオロジーにおいても開発が望まれている。

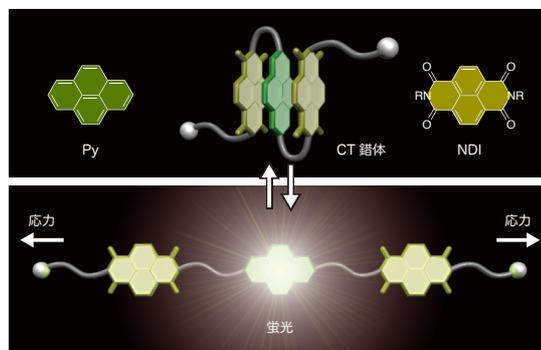


図1. 微小応力の高感度・可逆的な検出を目指して設計したメカノプローブ。

さらに、CT錯体は可逆的な物理架橋として架橋高分子に導入することで、生じた損傷を材料自らが治癒する「自己修復性高分子材料」への応用も期待できる(図2)。材料への自己修復性付与は、廃棄物削減による低炭素社会の実現と、人の手による修復が困難な用途(生体内や宇宙開発)への利用が考えられる。特に、CT錯体は他の相互作用と異なり水中でも機能することから、生体内での自己修復に適している。そこで本研究では、CT錯体を物理架橋点とした自己修復性エラストマーの開発と細胞培養足場への応用も検討した。将来的には、本システムを用いてCT相互作用に基づく高分子材料の修復の高精度評価も目指したい。

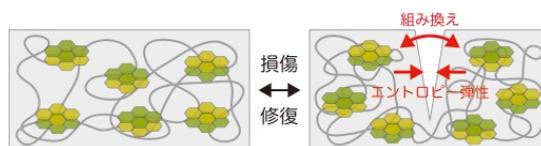


図2. CT錯体を物理架橋点を持つエラストマーの自己修復機構。

3. 研究の方法

本研究では、高分子材料における微小応力

の可逆的検出を研究期間終了までの達成目標とし、次の3点をマイルストーンに設定した。(1) 高感度・可逆的に機能するメカノプローブ (CT 錯体) の合成、(2) プローブを有する高分子の合成、(3) 高分子材料における微小応力の可逆的検出の検証。さらに、CT 錯体の自己修復応用として、(4) 自己修復性エラストマーの合成と細胞培養足場への実装も達成目標に設定した。以降、各項目について成果と達成状況について述べる。

4. 研究成果

(1) 高感度・可逆的に機能するメカノプローブ (CT 錯体) の合成

図3の経路で目的のメカノプローブを設計・合成した。各分子の同定は¹H NMR測定と質量分析により行った。しかし、最終目的物**3** (**1/2** = 1/2の組成)の単離は難しく、副生成物 (**1/2** = 1/1の組成)を含む混合物として、特性評価を実施した。

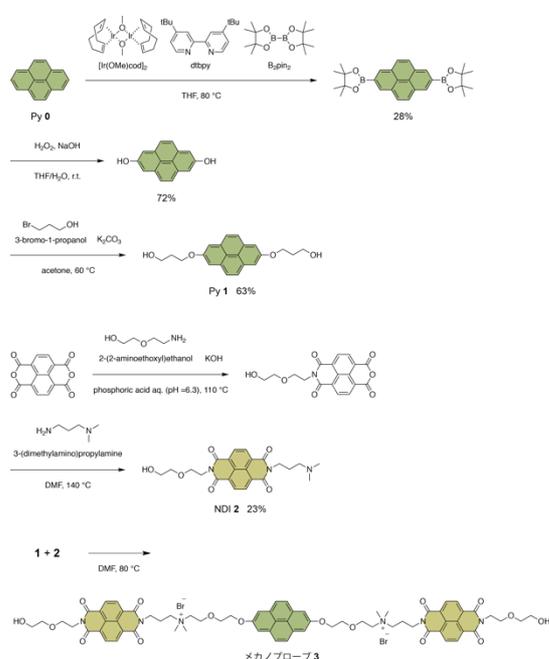


図3. 目的のメカノプローブの合成経路。

まずはPyとNDIの分子間CT錯体の評価を目的に、**0**と**2**の混合溶液 (**0/2** = 1/2)のUV-vis吸収測定を行った。CT錯体を形成すると可視光長波長域に特徴的な吸収を示すが、低濃度の混合溶液では観測されず、100倍濃度において小さな吸収が現れた(図4a)。次にPy由来の蛍光を評価した。高濃度においてNDI**2**との混合により強度は大きく減少したが、僅かに蛍光を示した(図5)。これらの結果から**0**と**2**は分子間CT錯体を形成するものの、Py蛍光を消失させるほど十分でないことがわかった。一方、合成したプローブ**3**は、低濃度であってもCT錯体由来の吸収を示した(図4b)。また、比較的低濃度においてPy蛍光の完全な消失も確認した(図5b)。以上の結果から、設計・合成した**3**が期待通

りPyとNDIの近接により効果的にCT錯体を形成することを見出した。また、この現象には疎水性相互作用も寄与すると考えられる。**0**と**2**は非水溶性だが、水中は水溶性**3**の疎水性PyとNDIがCT錯体を形成し易い環境となる。

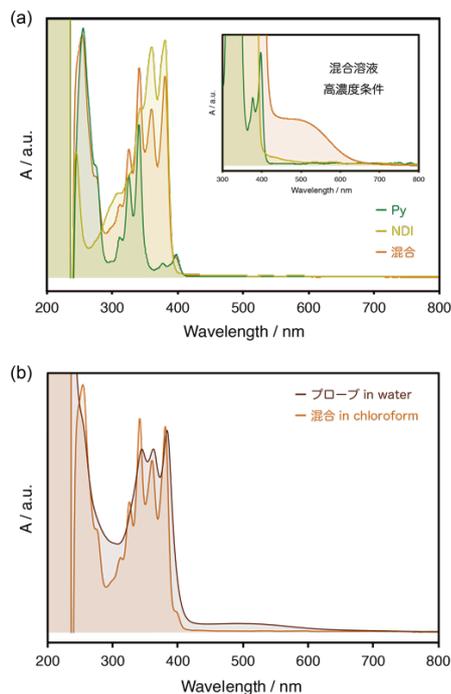


図4. (a) Py **0**とNDI **2**, 混合溶液 (**0/2** = 1/2)のUV-vis吸収スペクトル (3.33×10^{-2} mM in chloroform). 挿絵は高濃度条件 (3.33 mM). (b) 混合溶液 (3.33×10^{-2} mM in chloroform)とメカノプローブ**3** (3.33×10^{-2} mM in water)のUV-vis吸収スペクトル。

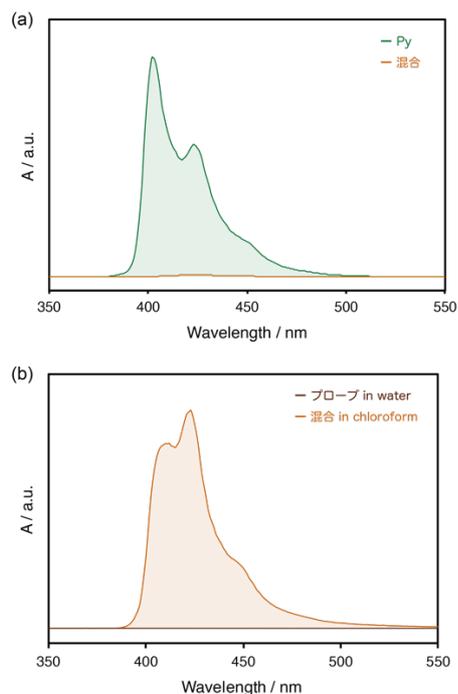


図5. (a) Py **0**と混合溶液 (**0/2** = 1/2)の蛍光スペクトル (3.33 mM in chloroform, 励起波長 320 nm). (b)

混合溶液 (3.33 mM in chloroform, 図 5a の拡大図) とメカノプローブ **3** の (0.5 mM in water) の蛍光スペクトル (励起波長 320 nm) .

(2) CT 錯体を有する高分子の合成

得られたメカノプローブ (混合物) を用いて、プローブを高分子鎖中央に 1 つだけ有するポリ (ϵ -カプロラクトン) (PCL) **P4** を合成した (図 6)。高分子構造は、高分子鎖を介したプローブへの効率的な応力伝搬と、分子間 CT 錯体形成による活性化プローブの蛍光消光の抑制を意図して設計した。合成した PCL のサイズ排除クロマトグラフィー (SEC) 測定では、2 つの高分子量成分 ($M_{top} = 60100, 33000$) が観測された。各成分はそれぞれ、目的のプローブ ($1/2 = 1/2$) を有する PCL と副生成物 ($1/2 = 1/1$) を有する PC が考えられる。励起波長 365 nm の UV ランプを照射したところ、Py 蛍光の消失が目視にて確認できた。同様に、高分子中央に 1 つだけ Py あるいは NDI を有する PCL (**P5, P6**) も合成して (図 6)、両者を混合したところ、Py 蛍光強度があまり低下しないことが明らかとなった。これらの結果は、分子間 CT 錯体が高分子鎖の立体障害により形成し難いこと、また本研究の高分子設計が有効であることを示している。

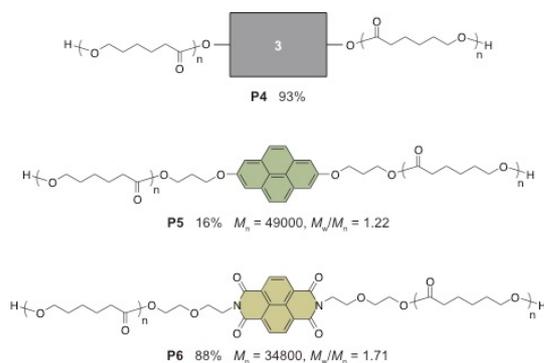


図 6. 各高分子 **P4-6**.

(3) 作製した高分子材料における微小応力の可逆的検出の検証

合成した **P4** の応力応答性を検証するため、溶媒キャスト法によりフィルムを作製し、引っ張りや圧縮、せん断応力を加えたが、極めて脆く、蛍光特性の変化は観察されなかった。応力応答性を示さなかった原因の 1 つに PCL の結晶性が考えられる。PCL 結晶成分が材料を脆弱にし、十分な応力がプローブに伝わる前に破壊が生じた恐れがある。活性化プローブの再結合が速いために観測できなかった可能性もある。今後、高分子設計を再考する。

(4) 自己修復性エラストマーの合成と細胞培養足場への応用

CT 錯体を物理架橋点とした自己修復性エラストマーを開発するため、図 7a に示した Py あるいは NDI を繰り返し単位に有するポ

リウレタンを合成した。各高分子を溶液にて 1/1 の割合で混合し、フィルムを作製した。混合により Py 蛍光は消失し、CT 錯体に由来する赤黒色を示した (図 7b)。また引っ張り試験では、混合フィルムは混合前の各フィルムと比較して良好な力学特性を示した。示差走査熱量測定において、 -77°C に主鎖 PTMG のガラス転移温度 (T_g)、 16°C に PTMG 結晶成分の融解温度、 76°C に剛直な分子鎖が凝集したハードドメインに由来すると思われる T_g を観測し、混合フィルムは室温においてエラストマー (ゴム状態) であることが確認できた。

作製したエラストマーの自己修復性を評価するため、3 mm 幅の短冊試験片に 1 mm の切り込みを入れた後、素早く切断面同士を接合し、種々の温度にて 24 時間静置して引っ張り試験を行った。各温度で修復した試験片の破断歪みと最大応力を図 7c に示す。作製したエラストマーは、 T_g 以下の 30°C や 70°C においてもある程度の修復性を示した。 T_g 以上の 100°C でも試験片は形状を維持し、CT 錯体の物理架橋形成が示唆された。また、 100°C では全ての試験片が切り込み以外の箇所で破断したことから、ほぼ元の物性に戻っていることが明らかとなった。

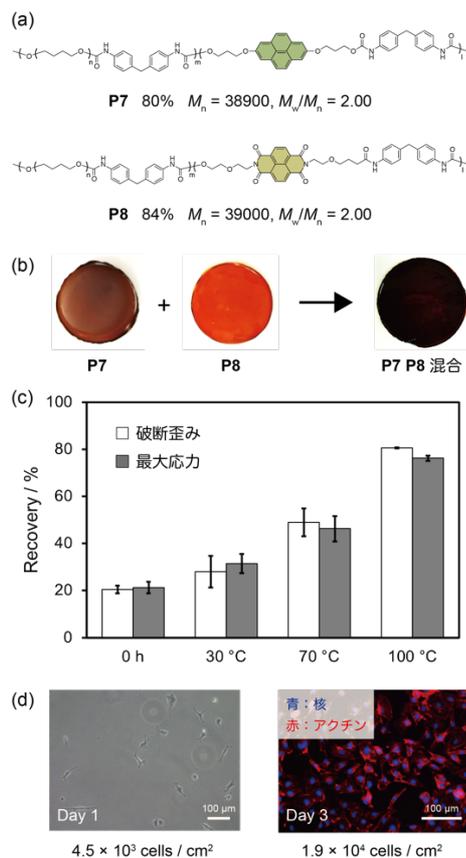


図 7. (a) 各高分子 **P7, 8** の化学構造. (b) **P7, P8**, 混合フィルム. (c) 修復率の温度依存性. (d) 自己修復性エラストマー薄膜上での BAEC の位相差顕微鏡像 (培養 1 日目) と蛍光染色像 (培養 3 日目) .

最後に細胞培養足場としての利用を検討

した。自己修復性エラストマーのスピンキャスト薄膜上では、ウシ大動脈血管内皮細胞 (BAEC) は良好に接着して汎用培養皿上と同程度の増殖速度を示し、自己修復性細胞培養足場としての利用可能であることを見出した (図 7d)。現在は予備検討の段階であるが、今後、最終的な応用先 (細胞接着性の足場や細胞非接着性のコーティングなど) を設定して、適切な高分子設計を行う。

<引用文献>

- ① S. A. Asher, J. Holtz, L. Liu, Z. Wu, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 4997–4998.
- ② S. R. White, J. S. Moore, N. R. Sottos et al., *Nature* **2009**, *459*, 68–72.
- ③ E. W. Meijer, R. P. Sijbesma et al., *Nat. Chem.* **2012**, *4*, 559–562.
- ④ K. Imato, A. Takahara, H. Otsuka et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 6168–6172.
- ⑤ K. Imato, A. Takahara, H. Otsuka et al., *Chem. Commun.* **2016**, *52*, 10482–10485.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 0 件)

〔学会発表〕 (計 3 件)

- ① 中島英和, 今任景一, 武田直也, 「電荷移動錯体を架橋点に用いた自己修復性エラストマーの培養基材応用」, 第 27 回インテリジェント材料・システムシンポジウム, 2018 年 1 月.
- ② 中島英和, 今任景一, 武田直也, 「電荷移動相互作用で自己修復する室温駆動性エラストマーの設計」, 第 7 回 CSJ 化学フェスタ 2017, 2017 年 10 月.
- ③ 中島英和, 今任景一, 武田直也, 「電荷移動相互作用を基盤とした生体温度で機能する自己修復性高分子材料の設計」, 第 66 回高分子討論会, 2017 年 9 月.

〔図書〕 (計 1 件)

- ① 今任景一, 武田直也, シーエムシー出版, チップ基材の表面形状および性状が細胞に与える影響, 臓器チップの技術と開発動向, 2018, 48-56.

〔産業財産権〕

- 出願状況 (計 0 件)
- 取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

- (1) 個人ホームページ
<https://kimato.info>

(2) 受賞

- ① JXTG エネルギー優秀研究賞
- ② 第 66 回高分子年次大会 優秀ポスター賞

6. 研究組織

- (1) 研究代表者
今任 景一 (IMATO, Keiichi)

早稲田大学・理工学術院先進理工学部・助教
研究者番号: 80777970

(2) 研究分担者
なし

(3) 連携研究者
武田 直也 (TAKEDA, Naoya)
早稲田大学・理工学術院先進理工学部・教授
研究者番号: 60338978

(4) 研究協力者
中島 英和 (NAKAJIMA, Hidekazu)