

平成 30 年 5 月 18 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K17440

研究課題名(和文)ポリフェノール模倣高分子の精密重合と天然を超える機能創出

研究課題名(英文)Controlled radical polymerisation of polyphenol-inspired polymers and their functional properties

研究代表者

江島 広貴(Ejima, Hirotaka)

東京大学・大学院工学系研究科(工学部)・准教授

研究者番号：00724543

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ポリフェノールは植物の葉、茎、樹皮、果皮、種子などに多く含まれているバイオマス由来の化合物であり、抗酸化作用、抗炎症性、抗菌作用といった優れた生理活性を持つ。植物性ポリフェノールの化学構造をみるとガロール基をもっている場合が多い。そこでこのガロール基を側鎖にもつ、ポリフェノール模倣高分子、ポリビニルガロールを新たに設計、合成した。ポリビニルガロールの抗酸化活性を評価したところ、一部の天然のポリフェノールよりも強い抗酸化活性を示した。よって、ポリビニルガロールは化粧品分野や医薬品分野で有用な新規高分子材料であることがわかった。

研究成果の概要(英文)：Polyphenols are plant-derived chemicals with more than or equal to two phenolic hydroxy groups by the Quideau definition. These molecules usually have gallol groups in their chemical structures, that play key roles in their antioxidant activities. Inspired by this, I synthesized gallol-functionalized polymers via controlled radical polymerization for the first time. These newly synthesized polymers exhibit greater antioxidant activities than some natural polyphenols. Given this high antioxidant property, the effective use of gallol-functionalized polymers in cosmetic and biomedical fields is expected.

研究分野：Polymer Materials

キーワード：Polyphenol Antioxidant

## 1. 研究開始当初の背景

持続型社会への転換要請から、バイオマス由来の素材を用いた機能性材料開発が強く求められている。ポリフェノールは植物の葉、茎、樹皮、果皮、種子などに多く含まれているバイオマス由来の化合物である。Quideau の定義によれば、ポリフェノールとは分子内に2つ以上のフェノール性ヒドロキシ基を持つ植物成分の総称である。抗酸化作用、抗炎症性、抗菌作用といった優れた生理活性を持つものが多く、人類はその長い歴史の上で、伝統的にポリフェノールを活用してきた。例えば、薬や食品添加物としての例は数多く、革なめし工程におけるタンニン、ワインにおけるタンパク質系澱下剤、漆塗りやお歯黒における利用など、枚挙にいとまがない。ポリフェノールの抗菌作用は抗生物質と比べると弱いものの、環境と生体に優しい抗菌物質として近年再び注目を集めている。また、ポリフェノールの一種である没食子酸プロピルは化粧品に抗酸化物質として既に配合されている。ところで、有機化学で用いられる‘ポリ’は2つ以上をさすため、フェノール性水酸基を2つ以上分子内に持てば‘ポリ’フェノールである。一方、高分子科学で用いられる‘ポリ’は通常10以上をさし、‘ポリ’フェノールはいわゆる‘ポリ’マーではない。

## 2. 研究の目的

本研究ではポリフェノールの化学構造から着想を得て、そのシンプルかつ普遍的なビルディングブロックであるガロール基に着目し、これを側鎖に持つ新規ポリマー、ポリビニルガロール (PVGal) をリビングラジカル重合によって合成することを目的とした (図1)。これまで、有機低分子化合物として用いられてきた‘ポリ’フェノールをポリマー化することによって、優れた加工性、多価効果が発現し、また自己集合を利用すればナ

ノ粒子化も可能になるからである。それによって、優れた抗酸化機能材料として、化粧品・医薬品分野での応用展開が期待できる。

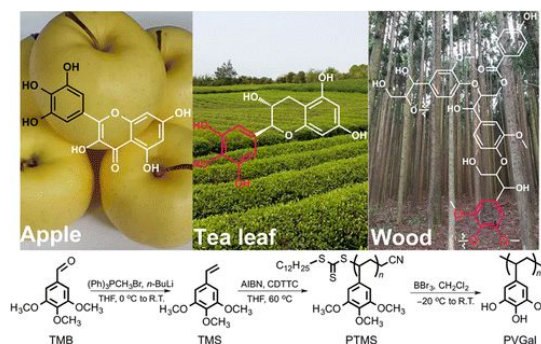


図1. ポリフェノールの化学構造にヒントを得たポリビニルガロールの合成スキーム

## 3. 研究の方法

### Wittig 反応による 3,4,5-トリメトキシスチレン (TMS) の合成

窒素雰囲気下でメチルトリフェニルホスホニウムプロミド (26.2 g, 74.9 mmol) を無水 THF (180 mL) に懸濁し、 $-78\text{ }^\circ\text{C}$  に冷却して  $n$ -ブチルリチウム (1.6 M ヘキサン溶液を 47 mL, 75.2 mmol) を加えた。反応混合物を室温まで昇温させた後、3,4,5-トリメトキシベンズアルデヒド (TMB, 11.0 g, 55.3 mmol) を加え、一晩攪拌した。反応溶液を 100 mL の蒸留水に注ぎ、ジエチルエーテルで抽出した。硫酸マグネシウムで乾燥し、濾過後、溶媒を減圧留去した。残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカ, ヘキサン/酢酸エチル=4/1) で精製し、目的物を得た (収率 64%)。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): ( $\delta$ , ppm) 6.7 (2H, s, Ar-H), 6.7–6.6 (1H, m,  $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.7–5.1 (2H, m,  $\text{CH}_2=\text{CH}$ ), 3.9 (6H, s,  $\text{OCH}_3$ ), 3.8 (3H, s,  $\text{OCH}_3$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): ( $\delta$ , ppm) 152.7, 135.5, 104.4, 60.7, 55.8, 31.9.

### RAFT 重合によるポリトリメトキシスチレン (PTMS) の合成

シュレンク管に TMS (2 g, 10.3 mmol),

cyanomethyl dodecyl trithiocarbonate (CDTTC), 重合開始剤 azobisisobutyronitrile (AIBN), THF (4 mL) を入れ, 凍結脱気を 3 回繰り返した後, 窒素を充填した. オイルバス中で 60 °C に加熱することで RAFT 重合を開始した. この時のモノマー TMS に対する CDTTC と AIBN のモル比 ([TMS]:[CDTTC]:[AIBN]) を変えることで, 様々な分子量の PTMS を合成した. 重合後, 反応溶液を 0 °C に冷却した. THF (10 mL) を添加することでポリマーをよく溶解させ, これをヘキサンで再沈殿することで PTMS を得た (収率 90%). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): (δ, ppm) 6.3–5.5 (Ar-H), 4.0–3.4 (OCH<sub>3</sub>), 3.3–3.1 (CH<sub>2</sub>-S), 2.4–2.2 (CH<sub>2</sub>-CN), 1.2–0.7 (C<sub>10</sub>H<sub>20</sub>-CH<sub>3</sub>), 2.1–1.0 (CH(Ar)-CH<sub>2</sub>). <sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): (δ, ppm) 152.7, 135.5, 104.4, 60.7, 55.8, 41.2, 31.7, 29.7, 22.9, 14.4.

#### 抗酸化能の測定

抗酸化能は 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl ラジカル消去活性法 (DPPH アッセイ) によって評価した. 36 mg の DPPH を 100 mL のメタノールに溶かしてストック溶液とした. このストック溶液と抗酸化物質のメタノール溶液を適切な量希釈し混ぜることで, DPPH の終濃度が 91 μM, 抗酸化物の終濃度が 250, 100, 50, 25, 10, 5, 2.5, 1, 0.5, 0.25 mM となるように溶液を調製した. その後すぐに, 515 nm における吸光度を 0.2 秒ごとに 12 分にわたって測定した. 抗酸化能は以下の式より計算した.

$$\text{Radical scavenging effect (\%)} = \left[ \frac{\text{Control Abs.} - \text{Sample Abs.}}{\text{Control Abs.}} \right] \times 100$$

#### 測定機器

<sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C-NMR 測定は, 日本電子社製の NMR 分光測定装置 (JNM-AL400) を用いた. 紫外可視分光光度計は日立社製の U-3010 を使用

した. フーリエ変換赤外分光装置は Thermo Scientific 社製の Nicolet iS10 FT-IR に Smart iTR attenuated total reflectance apparatus を装着したものを用いた. 数平均分子量 ( $M_n$ ), 重量平均分子量 ( $M_w$ ) は絶対分子量測定マルチ検出器システム (示唆屈折計検出器, 粘度検出器, 光散乱検出器) を備えた東ソー社製の GPC (HLC-8320) に TSKgel GMHHR-M カラムを装着したものを用いて求めた. クロロホルムの流速は 1 mL min<sup>-1</sup>, 相対分子量を求める際はポリスチレンを標準物質として作成した検量線を使用した. 絶対分子量を求める際に必要な屈折率濃度増分 (dn/dc) は 0.104 mL g<sup>-1</sup> であった.

#### 4. 研究成果

RAFT 重合 (可逆的付加開裂連鎖移動重合) の際に使用する連鎖移動剤 (CTA) は, 分子量の制御に重要である. CTA は成長ポリマー鎖からラジカルを受け取り, ポリマーの伸長を止めるが, ラジカルを受け取った CTA はモノマーを攻撃して再び重合を開始させる. この平衡反応の存在によりラジカル活性種の濃度が反応溶液中で低く抑えられるため, 停止反応などの副反応が起こりにくい. そのため RAFT 重合では通常のラジカル重合と比べて分子量分布の狭いポリマーを合成することができる. しかしながら, 用いるモノマー種によって適する CTA と適さない CTA が存在するため, 最適な CTA を探索する必要がある.

本研究では, 4 種類の CTA, 2-(dodecylthiocarbonothioylthio)-2-methylpropionic acid (DDMAT), cyanomethyl dodecyl trithiocarbonate (CDTTC), 2-cyano-2-propyl dodecyl trithiocarbonate (CPDTTC), 4-cyano-4-[(dodecylsulfanyl-thiocarbonyl)sulfanyl] pentanoic acid (CDSPA) を用いて, RAFT 重合条件の最適化を行った. [TMS]:[CTA]=30:1

の条件で(標的重合度 30)重合したところ, 得られたポリマーの重合度は DDMAT, CDTTC, CPDTTC, CDSPA の場合, それぞれ 16, 29, 18, 18 であった. また多分散度( $M_w/M_n$ ) は 1.4, 1.2, 1.2, 1.6 であった. CTA を用いないフリーラジカル重合では, 得られたポリマーの重合度は 80 で  $M_w/M_n$  は 2.3 であった. 最も標的重合度に近く, 分子量分布も狭いポリマーが得られた CDTTC を最適な CTA と結論づけた.

次に CTA と重合開始剤の比を [CDTTC]:[AIBN]=1:1 に固定し, モノマーと CTA の比を [TMS]:[CDTTC]=20:1, 30:1, 50:1, 100:1, 200:1, 300:1 で重合したところ, 26, 35, 53, 115, 185, 276 量体の PTMS が得られた. すなわち  $M_n$  にすると 5–50 kg mol<sup>-1</sup> の範囲で分子量を良好に調節できた. どの分子量の PTMS も  $M_w/M_n$  は 1.3 以下であり, 分子量が揃った均一なポリマーを得ることができた. 最後に, PTMS のメトキシ基を三臭化ホウ素によって脱保護することで PVGal を得た. 脱保護反応の進行は <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR, FT-IR によって, メトキシ基ピークの消失およびヒドロキシ基ピークの出現から確認した.

フェノール性水酸基をそれぞれ 1 つ, 2 つ, 3 つ持つ, PVPh, PVCat, PVGal の抗酸化活性を DPPH を用いた抗酸化能アッセイによって調べた. フェノール性水酸基の数が多くなるほど高い抗酸化活性を示した. PVGal は PVPh と比べると 60 倍以上, PVCat と比べても 2 倍程度の高い抗酸化活性を示した. この際, 用いたフェノール性ポリマーの重合度は約 100 に揃えてある. 低分子のピロガロールとピロカテコールは, ポリマーである PVGal と PVCat よりも同じ重量濃度で比べると高い抗酸化活性を示したが, モル濃度で比べるとポリマーの方が高い抗酸化活性を示した. DPPH ラジカルの消去速度は PVGal>PVCat>PVPh という順番であった.

PVGal は約 2 分で DPPH をほぼ全て退色させたが, PVCat は 10 分以上を要した. また測定した 12 分という時間内において PVPh では退色はほとんどみられなかった. 使用したポリマーの重合度は約 110 量体で揃えてあるため, 溶液中での拡散速度に大きな差はないと考えられる. そのため PVGal の高い DPPH ラジカル消去活性はその化学構造に由来すると結論づけた. PVGal の TEAC 値は約 1.5 となり, Trolox よりも大きな値となった. 一方で天然のポリフェノールであるエピガロカテキンガレート (EGCG) の TEAC 値を ABTS アッセイで求めたところ 4.2 であり, PVGal はその値に及ばなかった. しかしながら, 分子量の違いを考慮にいれた IC<sub>50</sub> 値では EGCG の 3.5 μM に対し, PVGal は 0.3 μM と一桁低い値を示した. IC<sub>50</sub> 値は酸化を 50% 阻害する濃度であるから, その値は小さい方が少ない濃度で酸化を阻害できることを示しており, 抗酸化活性が高い. 今回合成した新規ポリマーである PVGal はこのように高い抗酸化活性を示した.

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 1 件)

(1) Kan Zhan, Hiroataka Ejima, Naoko Yoshie  
Antioxidant and adsorption properties of bio-inspired phenolic polymers: a comparative study of catechol and gallol  
*ACS Sustainable Chem. Eng.*, 4, 3857–3863 (2016)

[学会発表](計 10 件)

(1) Hiroataka Ejima, Kan Zhan, Naoko Yoshie  
Controlled radical polymerisation of polyphenol-inspired polymers and their antioxidant properties

The 5th International Conference on Bio-based Polymers (ICBP2015), PO-3033, the National University of Singapore, Singapore (June 24–27, 2015)

(2) Kan Zhan, Hiroataka Ejima, Naoko Yoshie  
Controlled radical polymerisation and antioxidant activity of polyphenol-inspired polymers  
IUPAC 11th International Conference on Advanced Polymers via Macromolecular Engineering (APME2015), 2P-037, Pacifico Yokohama, Japan (October 18–22, 2015)

(3) Hiroataka Ejima, Kan Zhan, Naoko Yoshie  
RAFT polymerization of polyphenol-inspired antioxidant polymers  
The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2015 (Pacifichem2015), MACR 214, Hawaii Convention Center, USA (December 15–20, 2015)

(4) 江島広貴、チャン カン、吉江尚子  
ポリフェノール模倣高分子の合成とその抗酸化活性評価  
第 64 回高分子討論会、2Y02、東北大学川内キャンパス、2015 年 9 月 15–17 日

(5) 江島広貴、侃 詹、吉江尚子  
ポリフェノール模倣高分子の RAFT 重合と抗酸化活性評価  
日本化学会第 96 春季年会、1B5-42、同志社大学京田辺キャンパス、2016 年 3 月 24–27 日

(6) チャン カン、江島広貴、吉江尚子  
Antioxidant and adsorption properties of polyphenol-mimetic polymers: a comparative study of catechol and gallol  
第 65 回高分子討論会、2ESA13、神奈川大学横浜キャンパス、2016 年 9 月 14–16 日

(7) 江島広貴、チャン カン、吉江尚子  
ポリフェノール模倣高分子の抗酸化活性と吸着特性評価  
平成 28 年度繊維学会年次大会、3E15、タワーホール船堀、2016 年 6 月 8–10 日

(8) チャン カン、江島広貴、吉江尚子  
Antioxidant and adhesive properties of polyphenol-mimetic polymers: a comparative study of catechol and gallol  
16-3 エコマテリアル研究会、P08、理化学研究所和光キャンパス

(9) チャン カン、江島広貴、吉江尚子  
ポリフェノール模倣高分子の抗酸化性と接着性評価：カテコール基 vs ガロール基  
第 66 回高分子学会年次大会、1Pe131、幕張メッセ、2017 年 5 月 29–31 日

(10) Kan Zhan, Hiroataka Ejima, Naoko Yoshie  
Antioxidant and adhesive properties of polyphenol-inspired polymers: a comparative study of catechol and gallol  
The 6th International Conference on Bio-based Polymers (ICBP2017), PD-119, Yuan Ze University, Taiwan (May 14–17, 2017)

【その他】  
ホームページ等  
<http://biomacro.t.u-tokyo.ac.jp>

## 6 . 研究組織

(1) 研究代表者  
江島 広貴 (EJIMA, Hiroataka)  
東京大学・大学院工学系研究科・准教授  
研究者番号：00724543