

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 22 日現在

機関番号：32660

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K15346

研究課題名(和文)高分子ミセルコアを反応場とする白金-亜鉛コロイド合成と抗酸化剤としての展開

研究課題名(英文)A Controlled Synthesis of Platinum-Zinc Colloid Using Polymer Micellar Core as a Reaction Field toward the Optimized Antioxidant Effect

研究代表者

大澤 重仁 (Shigehito, Osawa)

東京理科大学・理学部第一部応用化学科・助教

研究者番号：30780663

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：亜鉛錯体化、また白金錯体化を含むアクリレートモノマーを可逆的付加開裂連鎖移動重合することで、亜鉛錯体と白金錯体を含むランダム共重合体を得た。得られた共重合体をpDNAと混合したところ、平均粒径31 nm、74 nmのナノ粒子が得られた。得られた粒子を、走査型透過電子顕微鏡観察において元素マッピングをしたところ、会合中にpDNA由来のリンと、共重合体由来の亜鉛、白金の元素が含まれていることが分かり、DNAをテンプレートとして亜鉛、白金を含むナノ粒子が形成されたことが実証された。得られたナノ粒子はヒト線維芽細胞に対して毒性を示さず、また過酸化水素の分解を促進することを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

白金や白金錯体をナノ粒子化することによるクラスター効果で触媒活性が向上することはよく報告されているが、本技術では、ナノ粒子中で亜鉛がスペーサーとして白金の間に存在することで、さらに白金の有効な触媒面が大きくなり、白金グラムあたりの触媒活性を高めることが期待される。白金、白金錯体は様々な場面で貴重な触媒成分となるが、白金自体は貴金属である。白金の使用量削減につながると期待される本技術は、種々の場面で持続可能な開発目標の達成にも貢献すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Random copolymers containing zinc and platinum complexes were synthesized by reversible addition-fragmentation chain transfer polymerization of acrylate monomers having zinc- and platinum-complexed structures. We obtained two copolymers termed as Zn2/Pt1 and Zn1/Pt1; degree of polymerization of the zinc/platinum complexes monomers are 24/12 and 16/15 in Zn2/Pt1 and Zn1/Pt1, respectively. When Zn2/Pt1 and Zn1/Pt1 were mixed with pDNA, nanoparticles were obtained with 31 nm and 74 nm in average hydrodynamic diameter. Elemental analysis of the obtained particles during scanning transmission electron microscopy observation revealed that the particles contained phosphorus derived from pDNA and the zinc and platinum derived from the copolymer, verifying that nanoparticles were formed from the copolymers using DNA as the template. The obtained nanoparticles showed no toxicity to the cultured normal human dermal fibroblasts and accelerated the decomposition of hydrogen peroxide.

研究分野：高分子化学

キーワード：白金錯体 亜鉛錯体 ジピコリルアミン DNA ナノ粒子

## 1. 研究開始当初の背景

水中で安定に分散する白金コロイドは、その酸化還元特性より、反応触媒、バイオ関連、エレクトロニクス分野で有用であるのだが、白金は貴金属であるため使用量を減らす工夫は重要である。白金単位量あたりの酸化還元活性を変化させる戦略としては、他の金属とハイブリッド材料とすることが挙げられる。例えば、よりイオン化傾向の高い金属と複合化することで、白金の持つ酸化還元挙動を調節することができる<sup>①</sup>。一方白金コロイドの合成法としては、液相中に存在する白金イオンに対して、還元剤及び分散剤を加えることが主流であるのだが<sup>②</sup>、同様の手法で白金コロイドに他の金属をハイブリッドすることを想定するならば、白金イオンと異種の金属イオンを混合した溶液に還元剤及び分散剤を加えることになる。しかしながらギブスの相律によれば、二種類の金属イオンが存在する場合、取り得る金属コロイド中の相は複数通り考えられるため、液中で自由に金属コロイドを形成するとコロイド粒子間やコロイド粒子内で組成の異なる部分が生じる。コロイド成長を激しい還元条件下で急速に行えば、得られる金属コロイドの組成は添加した金属イオンの組成に忠実になるであろうが、金属コロイドの物性決定に重要である粒径の制御が問題となる。このようなジレンマより、異種の金属をハイブリッドした白金コロイドの合成は難しい。本研究における学術的な問いは、熱力学的に制御が難しい複数種金属からなるコロイドの形成を液相中で安定に行う手法が確立可能であるか否かである。

## 2. 研究の目的

研究では、白金コロイドに、よりイオン化傾向の高い亜鉛を様々な比率でハイブリッドした Pt/Zn コロイドを作成し、単位 Pt 量あたりの抗酸化作用が高くなる Pt/Zn の比率を検討、既存の白金コロイドよりも経済的かつ機能が高い材料を創発することを目的とする。またライフサイエンスへの展開を考え、酸化ストレスに対する細胞の応答を比率の異なる Pt/Zn コロイド添加時と比較し、より有用な組成を見出す。

## 3. 研究の方法

申請者らが創発してきた高分子合成法に基づき、親水性鎖と二種の金属錯体を有する高分子鎖からなる両親媒性高分子を合成し、これを水中でミセル化、または pDNA をテンプレートとして凝集させ、粒径と組成が制御された金属コロイドを調製することを試みた。

### (1) Pt と Zn 錯体をグラフトした高分子鎖から成るランダム共重合体の合成

1-アミノプロパノールに 2-(クロロメチル)-ピリジン塩酸塩を反応させ、続いて、塩化アクリロイルと縮合させることで、ジピコリルアミン(DPA)構造を持つアクリルモノマー (DPAAc) を合成する。DPAAc に Pt 塩、Zn 塩を添加してそれぞれ錯形成を行うことで、2 種のモノマー、DPA(Pt)Ac 及び DPA(Zn)Ac を調製する。これら二つのモノマーの仕込み比を変えて、連鎖移動 (RAFT) 剤を用いて制御ラジカル重合することで、種々の Pt/Zn 組成を持つランダム共重合体を合成する。

### (2) Pt と Zn 錯体をコアとした Pt/Zn コロイド形成

1.項で得られたランダム共重合体をメタノール中に分散させ、水環境に置換することで、PEG をシェル、Pt と Zn の錯体をコアに持つ高分子ミセルの調製を試みた。また、得られた高分子を pDNA と会合させて、粒子化を試みた。得られた粒子は、動的光散乱測定や、走査型顕微鏡(SEM)で粒径を確認し、SEM-EDS 測定により、Pt、Zn 組成が粒子間でも一定であることを確認する。

### (3) Pt/Zn コロイドの活性酸素消去能の比較

各種金属組成を持つ Pt/Zn コロイドに対して、様々な濃度の過酸化水素水を混合する。所定時間静置したのち、この溶液にシュウ酸ジエステルとピレンを加え、ルミノメーターにより化学発光を観察し、過酸化水素の残存量の時間変化を評価する。そして、各 Pt/Zn コロイドの Pt 単位量あたりの過酸化水素消去能を比較する。

### (4) 培養細胞に対する影響の確認

ヒト線維芽細胞に対して Pt/Zn コロイドを添加し、細胞毒性および細胞増殖の様子を観察した。

## 4. 研究成果

<sup>1</sup>H-NMR 測定、および LC-MS により、DPAAc の合成、またこれの亜鉛錯体化、白金錯体化によって DPA(Zn)Ac、DPA(Pt)Ac をそれぞれ得られたことを確認した。可逆的付加開裂連鎖移動 (RAFT) 重合により、これら二つのモノマーの共重合を行ったところ、反応は理想共重合として進行し、ランダム共重合体を形成することが確認された。また実際に粒子形成に用いるポリマーを得るため、DPA(Zn)Ac と DPA(Pt)Ac の共重合反応を行うことで、DPA(Zn)Ac と DPA(Pt)Ac の重合度が 24 と 12 であるポリマー Zn<sub>2</sub>/Pt<sub>1</sub>、16 と 15 であるポリマー Zn<sub>1</sub>/Pt<sub>1</sub> を得た。

得られた Zn2/Pt1, Zn1/Pt1 は水中で 1 mg/mL としても、おそらく錯体の電荷反発の作用であろう、安定に分散して存在していた。よって、水中でポリマーの両親媒性を利用してナノ粒子形成は、効率が悪いことが示唆された。そこで、白金錯体と亜鉛錯体がそれぞれ相互作用して結合する DNA をテンプレートとして用いて竜牛を形成することを着想した。Zn2/Pt1, Zn1/Pt1 を pDNA と混合したところ、これらは pDNA と会合し、それぞれ、平均粒径 31 nm, 74 nm のナノ粒子が得られたことを 動的な光散乱測定より確認した (図.1a)。一般的には透過型電子顕微鏡での DNA 内包ナノ粒子の観察は、原子量の高い元素を含む塩を染色剤として用いなければ像が見えないのであるが、得られた粒子は、染色剤なしで観察することができた (図 1b)。これは、白金が会合体形成に関与していることの間接的な証明である。また、走査型透過電子顕微鏡観察において、エネルギー分散型 X 線分光法による元素マッピングをしたところ、会合体中にはリン、亜鉛、白金の元素を含んでいることが分かり、DNA をテンプレートとして亜鉛、白金を含むナノ粒子が形成されたことを実証した (図 1c) ③。今回、日本電子社製のハイエンドの装置を用いたのであるが、残念ながら、各ナノ粒子の中の金属比率がポリマー中の金属比率と同じになっていないことを実証するには至らなかった。

得られたナノ粒子はどちらもヒト線維芽細胞に対して毒性を示さなかった。また過酸化水素水溶液に分散させると、Zn1/Pt1, Zn2/Pt1 のナノ粒子間で有意な差は見られなかったが、ナノ粒子を添加することで過酸化水素の分解が促進されることを確認した。他に特筆すべき現象として、Zn2/Pt1 と DNA からなる会合体については、会合体内外で DNA 間での Zn2/Pt1 の結合交換が起こることを確認し、この現象は Zn1/Pt1 では確認されなかった。これは Zn2/Pt1 と Zn1/Pt1 が DNA と作る会合体は全く別物であることを示唆しており、ポリマーの金属比率によって違うナノ粒子が形成されていることを示している。

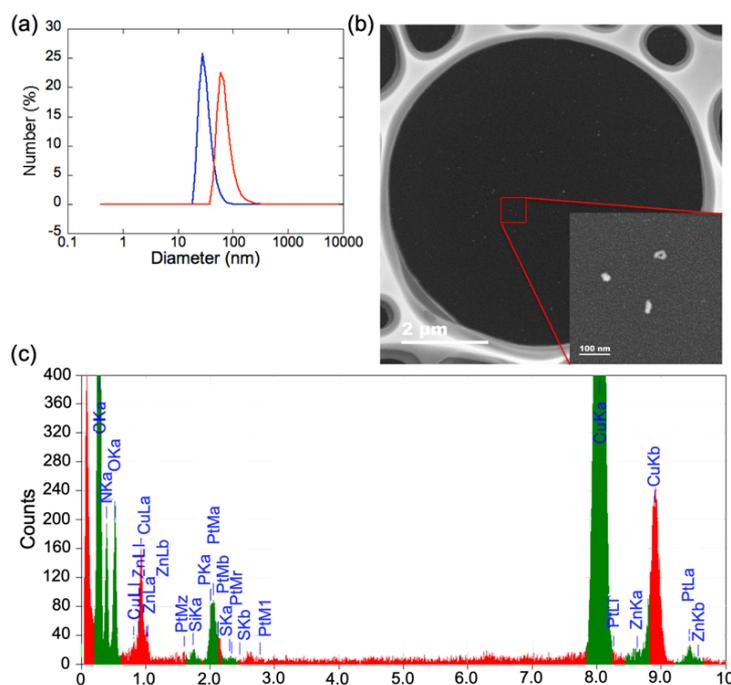


図. 1 DNA とポリマーから形成された粒子の評価 (a) 動的な光散乱測定による粒径分布の評価。青: pDNA と Zn2/Pt1 からなる会合体。赤: pDNA と Zn1/Pt1 からなる会合体 (b) 透過型電子顕微鏡による pDNA と Zn1/Pt1 からなる会合体の観察と (c) エネルギー分散型 X 線分光法による粒子中の元素分析。

<引用文献>

- ① Y. Kang *et al.*, *ACS Nano*, **2012**, 6(6), 5642-5647
- ② T. Hamasaki *et al.*, *Langmuir*, **2008**, 24(14), 7354-7364.
- ③ S. Osawa *et al.*, *Chemical Communications*, **2022**, 58(34), 5273-5276.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Osawa Shigehito, Kurokawa Sosuke, Otsuka Hidenori	4. 巻 58
2. 論文標題 Controlled polymerization of metal complex monomers - fabricating random copolymers comprising different metal species and nano-colloids	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chemical Communications	6. 最初と最後の頁 5273 ~ 5276
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D1CC07265J	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Osawa Shigehito, Kitanishi Kenichi, Kiuchi Maho, Shimonaka Motoyuki, Otsuka Hidenori	4. 巻 42
2. 論文標題 Accelerated Redox Reaction of Hydrogen Peroxide by Employing Locally Concentrated State of Copper Catalysts on Polymer Chain	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Macromolecular Rapid Communications	6. 最初と最後の頁 2100274 ~ 2100274
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/marc.202100274	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 大澤重仁、渡部玲巳、黒川颯介、大塚英典
2. 発表標題 高分子金属錯体の調製と金属種が決定づけるDNA結合性と遺伝子発現制御の評価
3. 学会等名 第71回高分子討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大澤重仁、渡部玲巳、黒川颯介、大塚英典
2. 発表標題 高分子金属錯体の設計とDNA結合分子としての機能評価
3. 学会等名 第32回バイオ・高分子シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shigehito Osawa, Remi Watanabe, Hidenori Otsuka
2. 発表標題 Polymer having complexes with different metal species in sidechains as DNA binding macromolecules; Investigation on metal species-dependent function for regulating the gene expression
3. 学会等名 第70回高分子年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 那須会里香、久保明香、渡部玲巳、大澤重仁、大塚英典
2. 発表標題 亜鉛錯体とオリゴエチレングリコールを側鎖にもつ高分子鎖と核酸との配位結合からなるPolyplexs の設計及び遺伝子キャリアとしての機能評価
3. 学会等名 第70回高分子年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大澤重仁、北西健一、木内真穂、下仲基之、大塚英典
2. 発表標題 ポリマー側鎖へ導入した銅錯体の局所濃縮効果が促進する酸化還元活性
3. 学会等名 第70回高分子討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 那須 会里香・久保 明香・渡部 玲巳・下仲 基之・北西 健一・大澤 重仁・大塚 英典
2. 発表標題 核酸送達を志向した亜鉛錯体とオリゴエチレングリコール鎖を含むメタクリレート共重合体と核酸の配位結合性会合体の設計
3. 学会等名 第11回CSJ化学フェスタ
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大澤重仁、大塚英典
2. 発表標題 金属錯体を含むグラフトコポリマーの合成とバイオマテリアルへの展開
3. 学会等名 第69回高分子年次大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 渡部玲巳、黒川颯介、久保明香、大澤重仁、大塚英典
2. 発表標題 DNA 結合性高分子による遺伝子発現制御：中心金属がDNA 結合様式を決定する高分子鎖型錯体の比較評価
3. 学会等名 第30回バイオ・高分子シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大澤 重仁、木内真穂、大塚英典
2. 発表標題 高分子鎖型銅錯体の設計と局所濃縮効果による一錯体あたりの酸化還元活性の向上
3. 学会等名 第30回バイオ・高分子シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 渡部玲巳、黒川颯介、久保明香、大澤重仁、大塚英典
2. 発表標題 高分子型金属錯体の配位金属および分子構造の違いが核酸結合様式と遺伝子発現機能に及ぼす影響
3. 学会等名 第69回高分子討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shigehito Osawa, Maho Kiuchi, Hidenori Otsuka
2. 発表標題 Installing copper complexes into polymer sidechain toward forming locally concentrated state to promote redox activity
3. 学会等名 第69回高分子討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 久保明香、大澤重仁、大塚英典
2. 発表標題 ジビコリルアミン亜鉛錯体とOEGユニットを含むランダム共重合体からなる核酸キャリアの機能評価
3. 学会等名 第69回高分子討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shigehito Osawa, Maho Kiuchi, Kenichi Kitanishi, Hidenori Otsuka
2. 発表標題 Promoted Copper Catalyzed Redox Activity through Constructing Locally Concentrated State of Copper Complexes on a Polymer Chain
3. 学会等名 3rd GLowing Polymer Symposium in KANTO (GPS-K2020) (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------