

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 6 日現在

機関番号：32660

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26870617

研究課題名(和文)新規両親媒性高分子を用いた金属イオンの定量的還元と高機能金属ナノ粒子の創製

研究課題名(英文) Quantitative Reduction of Metal Ions with Structure-regulated Redox-active Amphiphilic Copolymers to Fabricate Functional Metal Nanoparticle

研究代表者

松隈 大輔 (MATSUKUMA, DAISUKE)

東京理科大学・理学部・助教

研究者番号：30569174

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)：本研究は、一次構造限定的に酸化還元活性を発現する両親媒性高分子を用いた、機能発現システムの解明および機能性金属ナノ粒子の創製を目指すものである。申請者が独自に設計・合成した両親媒性高分子は、一次構造限定的に一電子還元型の電子供与体として機能する。この両親媒性高分子は、環境低負荷な水中で、自発的な金属イオン還元反応を誘発した。金属イオンの還元速度は、高分子の構造の違いに応じて変化したことから、還元反応制御による元素比を規定可能な合金ナノ粒子の創製が可能と期待できる。高効率触媒反応や水素貯蔵担体を指向した高機能金属ナノ材料を、低毒性・低コストで合成することが可能と期待できる。

研究成果の概要(英文)：Here, we describe the structural specific redox-activity of synthetic amphiphilic block copolymers (PEG-b-Pys), which consist of hydrophilic poly(ethylene glycol) (PEG) and hydrophobic poly(4-pyridyl propyl acrylate) (Py). Of particular interests is that the redox-activity of copolymer is clearly induced in only block-type polymer conformation. The result of 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) cation radical scavenging assay was strongly suggested the generation of electron species from PEG-b-Pys. There was high correlation with the redox-activity of PEG-b-Pys and auto-reducing behavior of metal ions.

研究分野：高分子化学・コロイド界面化学

キーワード：酸化還元活性 ポリエチレングリコール ピリジン 両親媒性高分子 金属ナノ粒子

1. 研究開始当初の背景

近年の高分子合成技術のめざましい発展により、直鎖状・グラフト状・環状・分岐状など複雑な一次構造を有する高分子の合成が次々に達成されてきた。剛性・摩擦性・伸縮性といった物理機能は、高分子の一次構造に強く依存する一方で、化学機能の発現は、モノマー機能の増幅・複合化に基づく。唯一、アミノ酸を構成モノマー単位とする生体高分子のみが、モノマー単位が持ち合わせない化学機能を一次構造に基づいて発揮する。つまり、生体高分子の化学機能は“モノマー単位の配列”により生み出されていることであり、合成高分子においてこれを達成することは極めて難しい。

最近我々は、Poly(ethylene glycol) (PEG) および Pyridine acrylate モノマー(Py) からなる両親媒性高分子が、PEG と Pyridine がブロック配列した一次構造を有する場合 (PEG-*b*-Pys) においてのみ、酸化還元活性を示すことを見出した。代表的な酸化還元プローブ 1,1Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) のラジカル消去活性試験では、PEG-*b*-Pys においてのみ酸化還元活性が確認された。非常に興味深いことに、PEG-*b*-Py を構成するモノマー単位やその混合物、さらにはランダム共重合体(PEG-*co*-Py)では、酸化還元活性が観察されなかった。これらの結果は、完全合成系の高分子が限定された分子配列においてのみ、構成成分には無い新たな化学機能(“分子の配列機能”)を発現することを示唆している。

2. 研究の目的

本研究では、PEG-*b*-Pys の分子配列依存的に発現する酸化還元活性を、(1)分子構造依存性・(2)酸化還元反応の化学同定・(3)金属イオン還元挙動評価の観点から調査した。さらに、金属イオンの還元挙動制御に基づく異種元素複合金属ナノ粒子の作成を試みた。本研究で得られる知見は、これまでにない高分子機能発現システムの提唱であるとともに、高効率触媒反応や水素貯蔵担体を指向した高機能金属ナノ材料を、低毒性・低コストで提供可能と期待できる。

3. 研究の方法

(1)分子構造依存性評価

PEG-*b*-Pys が発現する酸化還元活性の分子構造性を評価するために、異なる構造を有する計 21 種類の PEG-*b*-Pys を合成した。着目する分子構造は、PEG の分子量・ピリジン部の連鎖数・ピリジン部の主鎖からのアルキル

鎖長とした。全ての PEG-*b*-Pys は、末端に連鎖移動剤を修飾した PEG を用いた可逆的付加開裂連鎖移動(RAFT) 重合により合成した。目的とする高分子の構造は、¹H-NMR 測定により解析した。PEG-*b*-Pys の酸化還元活性は、MeOH 中における DPPH ラジカル消去に基づく UV-vis スペクトル変化から評価した。

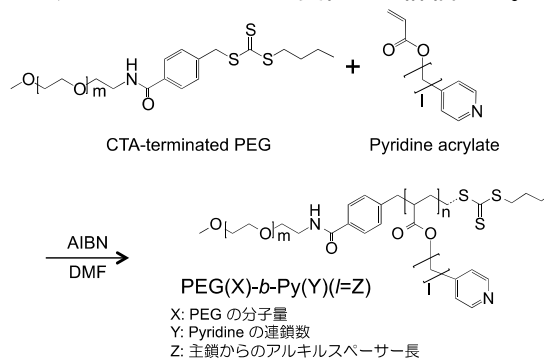


図1 PEG-*b*-Pys の合成と分子構造および構造略称

(2)酸化還元反応の化学同定

化学反応の同定は、水中における 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) を用いたプローブ褪色アッセイおよび、サイクリックボルタンメトリー (CV) 測定から評価した。

(3)金属イオン還元挙動観察

金属イオンの自動還元挙動は、PEG-*b*-Pys 水溶液 0.6 mg/mL と塩化金水溶液(HAuCl₄) または硝酸銀水溶液(AgNO₃) 0.2 mM を 1:1 で混合し(最濃度: PEG-*b*-Pys 0.3 mg/mL, 金属イオン 0.1 mM)、遮光下 40°C で反応させることで観察した。金属ナノ粒子の生成は、所定時間ごとの UV-vis スペクトル測定から、ナノ粒子成長は透過型電子顕微鏡(TEM) 観察より評価した。

4. 研究成果

(1)分子構造依存性評価

DPPH ラジカルに由来する 515 nm の吸光度は、PEG-*b*-Pys の添加濃度の増加に伴って減少し、濃度定量的な酸化還元活性を示した。異なる構造を有する PEG-*b*-Pys を用いた場合の DPPH ラジカル消去活性は、PEG-*b*-Pys のピリジンの連鎖数に強く依存したことから、酸化還元活性発現の構造因子はピリジン部であると推察された。興味深いことに、DPPH のラジカル消去割合は、ピリジン部のアルキルスペーサー長の伸張に伴って向上した。これは、スペーサー長が長くなるにつれてピリジン環の塩基性度が高まり、結果として窒素原子の孤立電子からの電子の放出

が容易になるためと推察できる。実際、アルキル Spacer 長の伸張に伴い、ピリジンの pKa は塩基性側へシフトした (pKa=5.2, 5.55, 5.96, and 6.05 for $l=0, 1, 3,$ and $5,$ respectively)。

さらに、PEG-*b*-Pys の酸化還元活性に対する PEG の分子量依存性では、PEG 分子量の増加に伴って活性が向上する結果が得られた。これは、PEG-*b*-Pys の酸化還元活性発現が PEG とピリジンセグメントの連鎖構造形成を必要条件とすることを示唆し、かつピリジンの化学的機能が PEG に左右されることを意味している。分子構造限定的に起こる PEG-*b*-Pys の酸化還元活性の発現メカニズムは非常に複雑であり、未だ解明には至っていない。現在は、高分子コンフォメーション解析を進めており、PEG-*b*-Pys の溶媒和状態における最安定構造から、メカニズム考察を行っている。

(2)酸化還元反応の化学同定

ABTS は中性状態では無色の液体であるが、一電子酸化状態 (ABTS カチオンラジカル: 酸化還元電位 0.69 V/NHE) では緑色を呈す。この反応は可逆的に起こる。したがって、PEG-*b*-Pys の存在下、ABTS の呈色変化を観察することにより、酸化還元活性種の供与体・受容体を決定することができる。

ABTS カチオンラジカルの緑色は、PEG-*b*-Pys の添加によって無色へと変化した。これに対して、中性 ABTS への PEG-*b*-Pys の添加では、溶液の色彩変化は観察されなかった。この結果は、PEG-*b*-Pys の酸化還元反応は高分子からの電子種の放出に起因することを強く示唆する。つまり、酸化還元反応において PEG-*b*-Pys は一電子還元型の電子受容体として機能することが確認された。

実際、CV 測定では -75 mV 付近に明確な還元応答が観測された。加えて、還元電流値は PEG-*b*-Pys のアルキル Spacer 長の伸張に伴って増大した。これは、ピリジンの塩基性度に依存して異なる酸化還元活性を示すことに基づくと考えられる。

(3)金属イオン還元挙動観察

PEG2k-*b*-Py31($l=3$)/AgNO₃ 混合溶液の UV-vis スペクトル時間追跡において、所定時間後に 422 nm 付近に銀コロイドの生成に由来するプラズモン吸収極大ピークが観察された。時間経過とともに吸光度は上昇し、PEG2k-*b*-Py31($l=3$) による銀イオンの還元反応が示唆された。得られた銀ナノ粒子は長期間にわたって分散安定であったことから、

PEG2k-*b*-Py31($l=3$) が還元剤および分散剤の両方の機能を有していることが確認された。PEG2k-*b*-Py31($l=3$)/HAuCl₄ 混合溶液を用いた場合においても、同様の還元反応が誘発されることを確認している。酸化還元活性の異なる PEG-*b*-Pys を用いた場合、金属ナノ粒子の形成速度は、酸化還元活性の向上に伴って加速したことから、PEG-*b*-Pys の酸化還元活性が金属イオン還元反応の要因であることが示唆された。

PEG2k-*b*-Py31($l=3$)/AgNO₃ 混合溶液の銀ナノ粒子生成過程を元に、ナノ粒子成長過程を解析した。所定の反応時間ごとにサンプリングしたナノ粒子の TEM 画像観察では、微小な核生成・核凝集・粒成長の過程を経る、金属ナノ粒子形成メカニズムであることを確認した。さらに、HAuCl₄/AgNO₃ 混合溶液を用いたナノ粒子調製では、金属イオンの混合比率に依存した UV-vis スペクトル変化が確認できた。この結果は、金銀複合金属ナノ粒子の生成を示唆しており、金属イオンの仕込み濃度依存的に元素組成が制御可能であることを意味している。現在、得られたナノ粒子の物性解析を進めている。

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4件)

1. Michihiro Iijima, David Ulkoski, Shunya Sakuma, Daisuke Matsukuma, Nobuhiro Nishiyama, Hidenori Otsuka, Carmen Scholz “Synthesis of PEGylated poly(amino acid) pentablock copolymers and their self-assembly”, *Polym. Int.* **2016**, in press. DOI: 10.1002/pi.5159
2. Hidenori Otsuka, Yuki Muramatsu, Daisuke Matsukuma “Gold Nanorods Functionalized with Self-assembled Glycopolymers for Ultrasensitive Detection of Proteins”, *Chem. Lett.* **2015**, *44*, 132-134. DOI: 10.1246/cl.140943
3. Daisuke Matsukuma, Hirohmi Watanabe, Aya Fujimoto, Kentaro Uesugi, Akihiisa Takeuchi, Yoshio Suzuki, Hiroshi Jinnai, Atsushi Takahara “X-ray computerized tomography observation of the interfacial structure of liquid marbles”, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2015**, *88*, 84-88. DOI:10.1246/bcsj.20140260
4. Daisuke Matsukuma and Hidenori Otsuka

“Thermo-responsive Reversible Phase-transition of Alginate Based Semi-IPN Gel through Self-assembly of Interpenetrated Elastin-Like Polypeptide”, *Chem. Lett.* **2015**, 44, 26-28. DOI:10.1246/cl.140848

〔学会発表〕(計 17 件)

1. 松隈大輔・前島雪絵・大塚英典「PEG-*block*-Poly(pyridine)の一次構造特異的な酸化還元活性の発現」日本化学会第 96 春季年会、平成 28 年 3 月 25 日、同志社大学(京都府・京田辺市)
2. 久森章史・松隈大輔・大塚英典「酸化還元活性を有する両親媒性高分子を用いた金属イオン還元挙動の観察」日本化学会第 96 春季年会、平成 28 年 3 月 25 日、同志社大学(京都府・京田辺市)
3. 松隈大輔「ポリエチレングリコールとピリジンからなる両親媒性高分子の新奇機能の発現」第 1 回ウォーターフロンティアサイエンス研究部門合同若手研究会(招待講演)、平成 28 年 3 月 14 日、東京理科大学(東京都・新宿区)
4. 松隈大輔・野口周人・前島雪絵・大塚英典「限定的一次構造において発現する PEG-*b*-Poly(pyridine) の特異な酸化還元活性」第 64 回高分子討論会、平成 27 年 9 月 16 日、東北大学(宮城県・仙台市)
5. 松隈大輔・高木あかね・大塚英典「PEG-*b*-Poly(pyridine) の構造特異的な酸化還元活性の発現と貴金属イオンの自動還元」第 66 回コロイドおよび界面化学討論会、平成 27 年 9 月 11 日、鹿児島大学(鹿児島県・鹿児島市)
6. 松隈大輔・前島雪絵・大塚英典「一次構造に依存した PEG-*b*-Poly(pyridine) の特異な酸化還元活性の発現」第 64 回高分子学会年次大会、平成 27 年 5 月 27 日、札幌コンベンションセンター(北海道・札幌市)
7. 松隈大輔・高木あかね・前島雪絵・大塚英典「PEG-*b*-Poly(pyridine) の構造依存的な酸化還元活性」第 95 回日本化学会春季年会、平成 27 年 3 月 26 日、日本大学(千葉県・船橋市)
8. Daisuke Matsukuma, Akane Takagi, Yukie Maejima and Hidenori Otsuka “Structure-dependent Redox-activity of PEG-*b*-Poly(pyridine) and Its Application to Auto-reduction of Noble Metal Ions” The 10th SPSJ International Polymer

Conference (IPC 2014), 2014.12.3, International Congress Center (茨城県・つくば市)

9. 松隈大輔・高木あかね・前島雪絵・大塚英典「PEG-*b*-Poly(pyridine) の分子配列依存的な酸化還元活性と貴金属イオンの自動還元」第 63 回高分子討論会、平成 26 年 9 月 26 日、長崎大学(長崎県・長崎市)

〔図書〕(計 3 件)

1. Daisuke Matsukuma and Hidenori Otsuka, “Strategies of metal nanoparticles for nanobiology”, Hiroyuki Ohshima Eds., Encyclopedia of Biocolloid and Biointerface Science, 1st edition (John Wiley & Sons, Inc.), in press, (2016).
2. Daisuke Matsukuma and Hidenori Otsuka, “PEGylation for biocompatible surface”, Hiroyuki Ohshima and Kimiko Makino Eds., Colloid and Interface Science in Pharmaceutical Research and Development, 1st edition (Elsevier Science Ltd.), 261-284 (Chapter 13), (2014).
3. 松隈大輔 “ポリエチレングリコールとピリジンユニットからなる両親媒性高分子の表面修飾機能” *C & I Commun.* 39, 32-35 (2014)

〔産業財産権〕

出願状況(計 2 件)

1. 名称:細胞内送達用高分子担体
発明者:大塚英典・松隈大輔・村松佑紀
権利者:同上
種類:特許
番号:JP2015/056364
出願年月日:2015/03/04
国内外の別:国外
2. 名称:自己組織化ペプチド修飾キトサンナノ会合体の合成とプロテインデリバリーへの応用
発明者:大塚英典・松隈大輔
権利者:同上
種類:特許
番号:2014-231447
出願年月日:2014/11/14
国内外の別:国内

取得状況(計 1 件)

名称：金属ナノ粒子の調製方法及び金属ナノ
粒子

発明者：大塚英典・松隈大輔

権利者：同上

種類：特許

番号：WO2015/079788

取得年月日：2015/06/04

国内外の別：国外

〔その他〕

ホームページ等

6．研究組織

(1)研究代表者

松隈 大輔 (MATSUKUMA DAISUKE)

東京理科大学・理学部第一部・助教

研究者番号：30569174

(2)研究分担者

該当なし

(3)連携研究者

該当なし