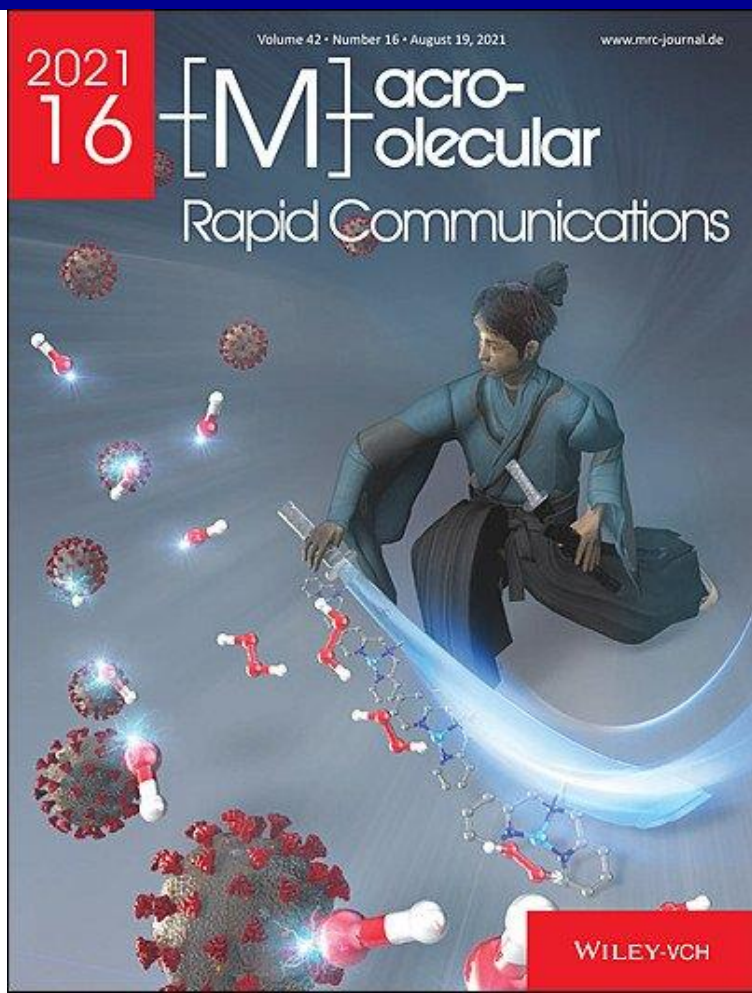


# 高分子鎖上に全集中！ 銅錯体の触媒活性向上



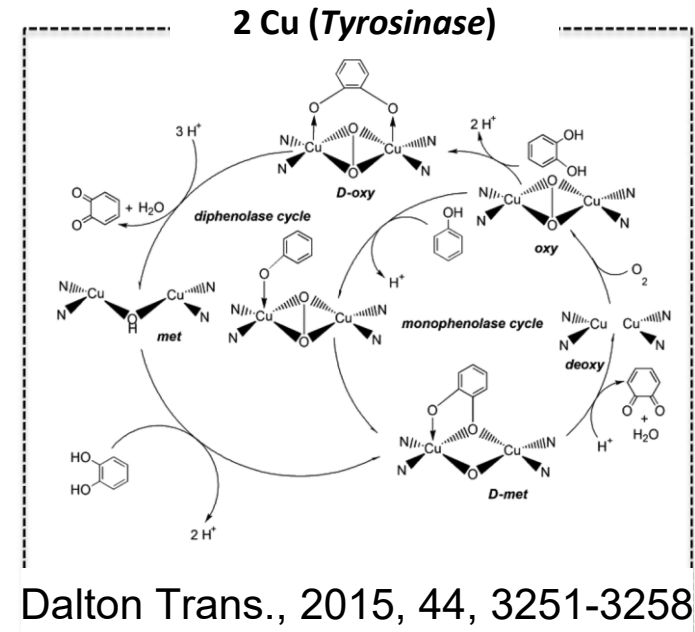
東京理科大学  
理学部第一部  
応用化学科  
嘱託助教 大澤重仁

# 銅触媒

## 生体内での銅→必須な元素

- ヘモグロビンの合成
- 神経機能
- 骨の形成
- 過酸化基からの保護
- 受精と生殖
- 心臓血管システム

銅のほとんどがタンパクと結合した状態で存在する。  
銅酵素が体内における様々な酸化・還元反応の触媒として働く。



## 有機合成分野での触媒利用

→酸化反応、還元反応

Fenton-like reactionなどヒドロキシラジカル生成と利用

# 複核系の活性種

## ■ 銅-活性酸素錯体

: 銅と酸素種との反応における反応中間体であり、単核系と複核系に分類される

ex.) 活性中心に磁氣的に相互作用可能な二核の銅サイトを含むチロシナーゼ

→ 二核の銅-活性酸素錯体 (サイドオン型のペルオキシ種)

➤ 合成銅触媒開発 Humphreys, K. J et al, Targeted strand scission of DNA substrates by a tricopper (II) coordination complex. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 8055– 8066

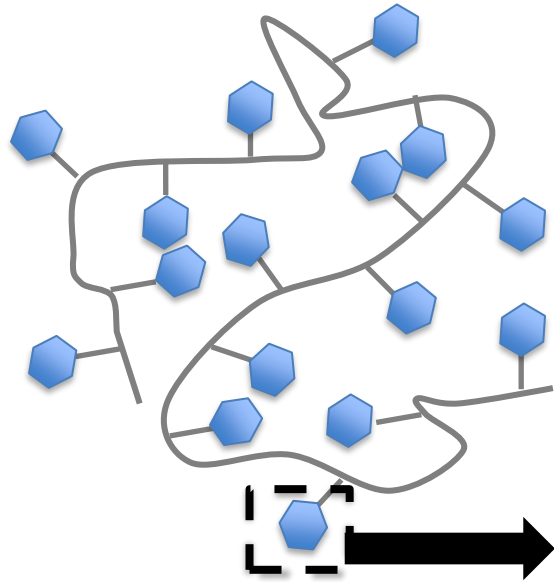
	Cu:O <sub>2</sub> = 1:1		2:1		3:1		4:1		
Cu(II)	<b>ES</b>  $\eta^1$ -superoxo O-O 1.46 Cu-O 1.89	<b>LCu(II)-O-O-H*</b> $\eta^1$ -hydroperoxo O-O 1.46 Cu-O 1.89	<b>TP</b>  $trans-\mu-1,2$ -peroxo Cu---Cu 4.36 O-O 1.43 Cu-O 1.85	 $\eta^1$ -peroxo Cu---Cu 4.36 O-O 1.43 Cu-O 1.85					
	<b>SS</b>  $\eta^2$ -superoxo O-O 1.22 Cu-O 1.84		<b>SP</b>  $\mu-\eta^2:\eta^2$ -peroxo Cu---Cu <sub>avg</sub> 3.51 O-O <sub>avg</sub> 1.42 Cu-O <sub>avg</sub> 1.92	 $\mu-1,1$ -hydroperoxo Cu---Cu <sub>avg</sub> 3.51 O-O <sub>avg</sub> 1.42 Cu-O <sub>avg</sub> 1.92			 $cis-\mu_4-\eta^2:\eta^2$ -peroxo Cu---Cu 2.99 / 3.03 O-O 1.45 Cu-O 1.95		
Cu(III)			<b>MP</b>  $\eta^2$ -peroxo O-O 1.44 Cu-O 1.85						
			<b>O</b>  $bis(\mu-oxo)$ Cu---Cu <sub>avg</sub> 2.80 O---O <sub>avg</sub> 2.32 Cu-O <sub>avg</sub> 1.82		<b>T</b>  $bis(\mu_3-oxo)$ Cu---Cu <sub>avg</sub> 2.65 / 2.71 O---O <sub>avg</sub> 2.32 Cu <sup>II</sup> -O <sub>avg</sub> 1.98 Cu <sup>III</sup> -O <sub>avg</sub> 1.85				

Chem. Rev. 2004, 104, 2, 1013-1046

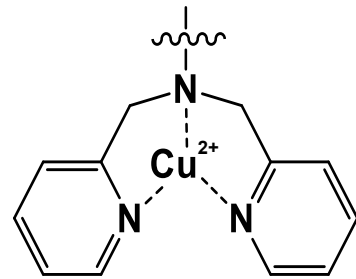
➔ Cu サイト間距離は、酸素原子の結合において重要

# ポリマーへ導入→局所濃縮状態

側鎖に銅錯体を導入したポリマーを設計



→ポリマーのコンフォメーション中に銅錯体の拡散を制限し、局所濃縮効果によって複核系の銅の反応中間体生成を促す。



Dipicolylamine copper(II) complex  
(DPACu(II))

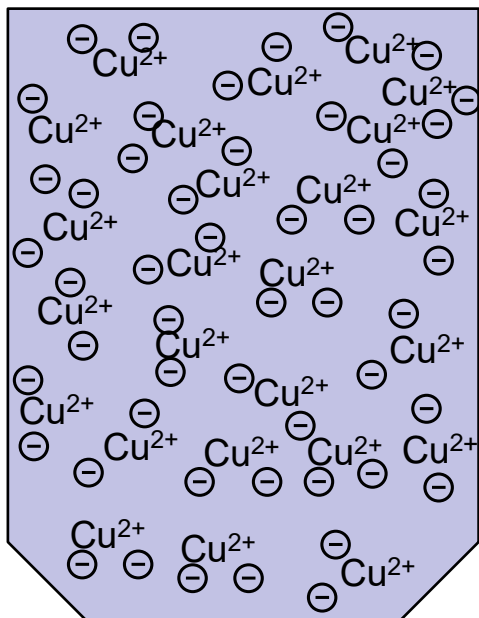
- DPAは3座配位子で、安定な銅錯体を作る。
- DPA誘導体を配位子とした銅錯体は、燃料電池での触媒開発 [*Inorg. Chem.*, 2014, 53 (16), pp 8505–8516]、抗がん剤としての利用 [*Saman Khan et al. August 1, 2017, journal. pone., 0181783*]などで注目度が高い。

# ただ高濃度にするのとは違う！

従来技術とその問題点

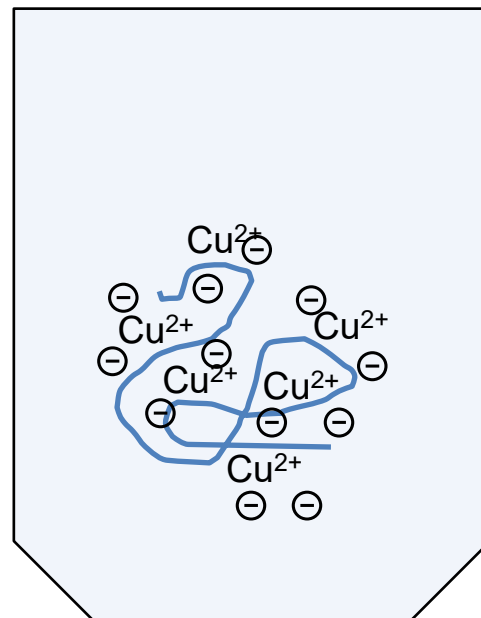
薬剤設計においては生物学的希釈など

低分子銅錯体の  
高濃度反応溶液



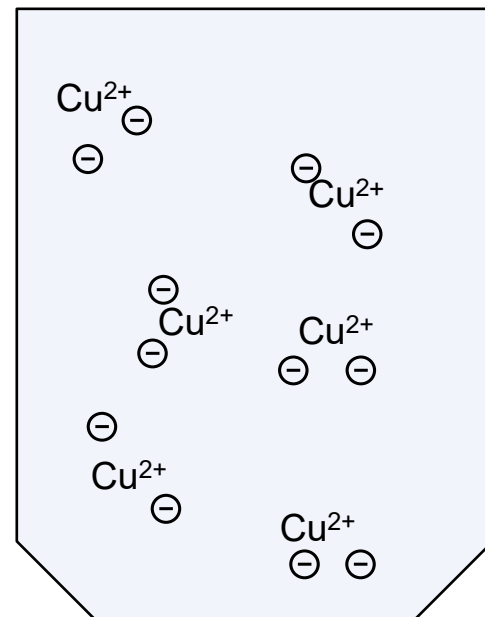
→溶液の塩強度も必然的に高くなる。

高分子銅錯体反応溶液



これまで設計できなかった  
反応溶液条件を実現可能

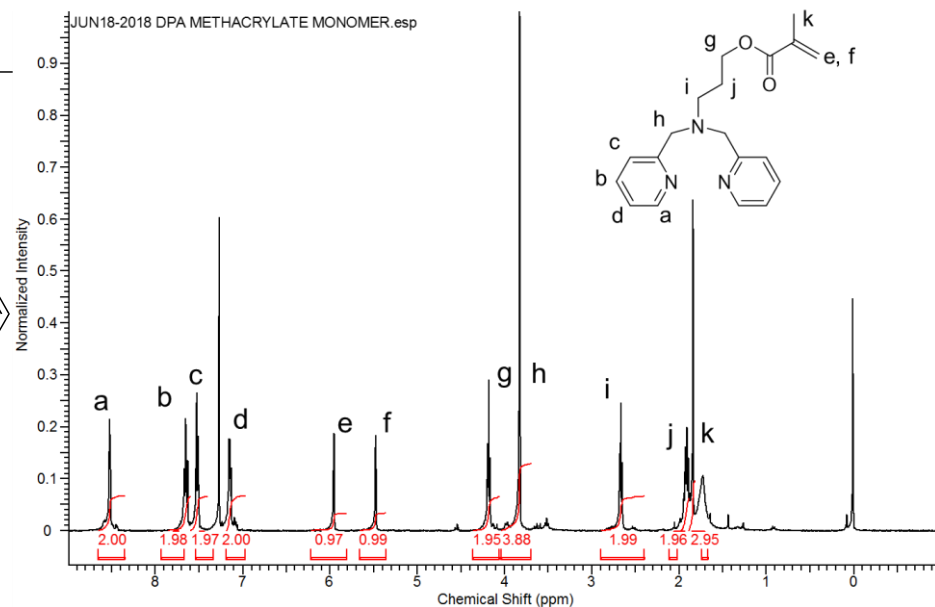
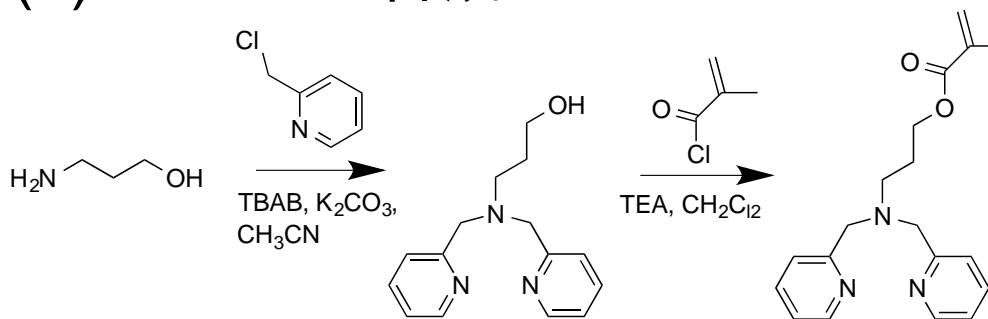
低分子銅錯体の  
低濃度溶液



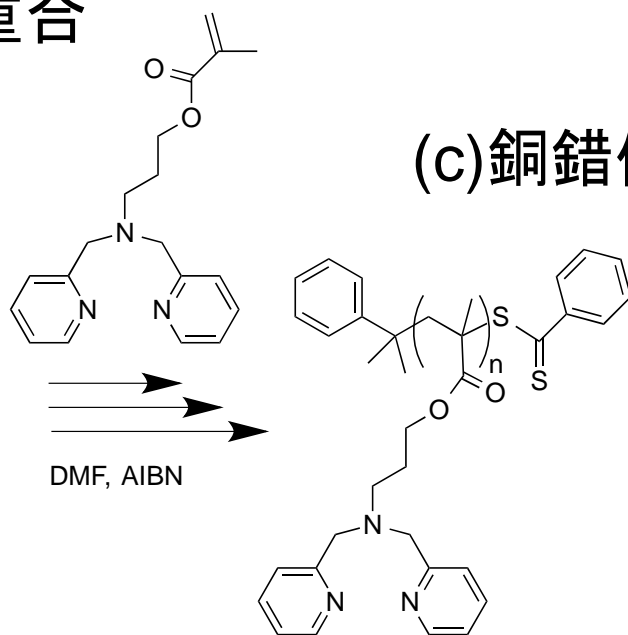
→銅多核系反応中間体  
形成には不利

# 高分子鎖型銅錯体の合成

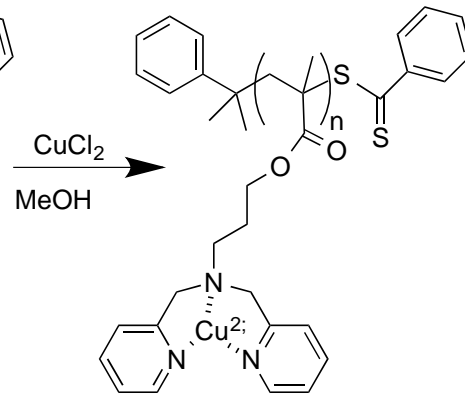
## (a) モノマーの合成



## (b) RAFT重合

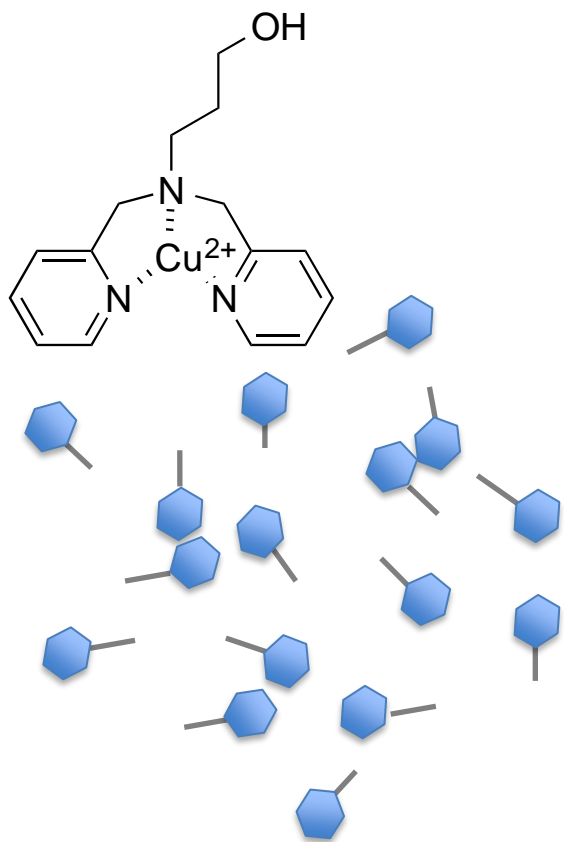


## (c) 銅錯体化

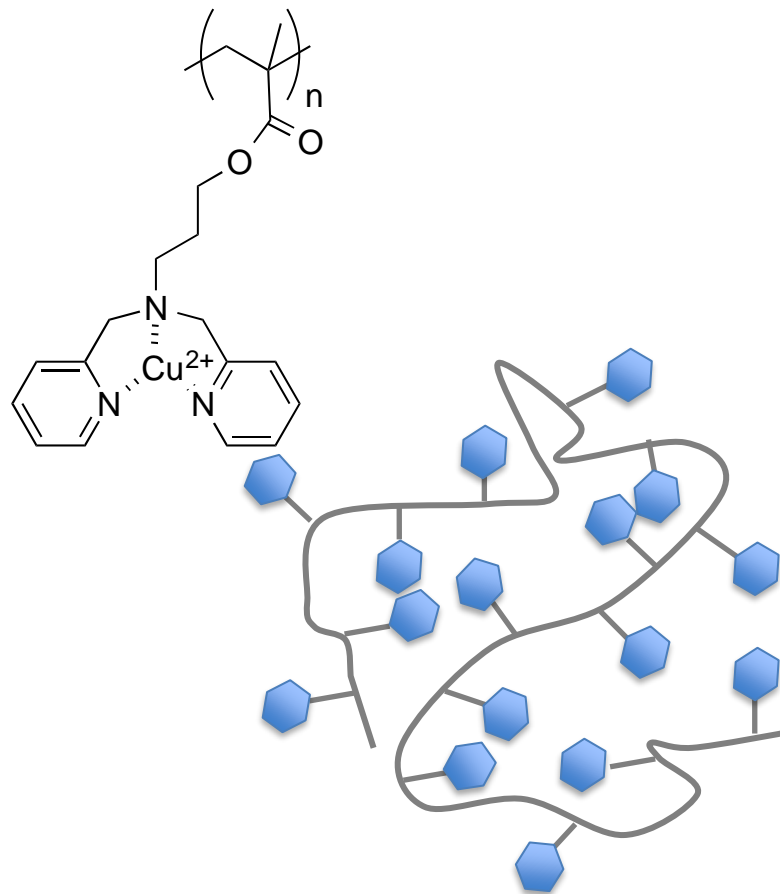


# 酸化還元活性評価

従来型



高分子型

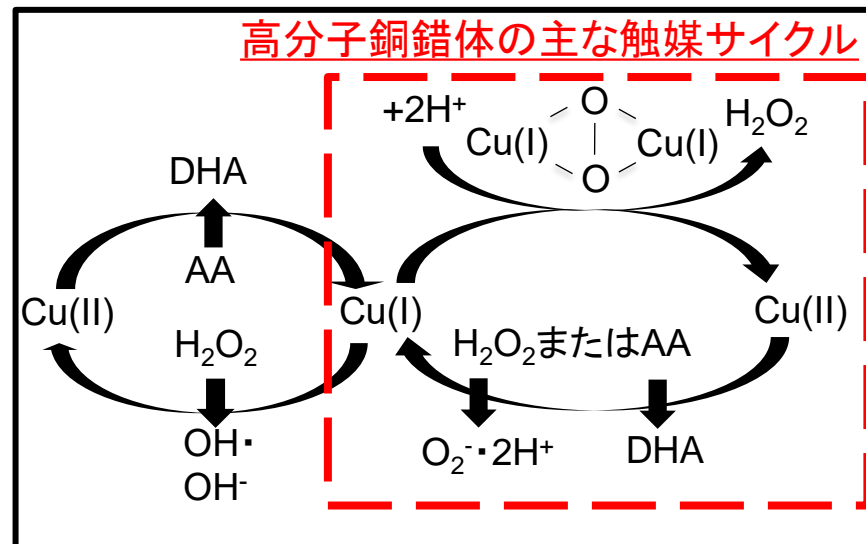
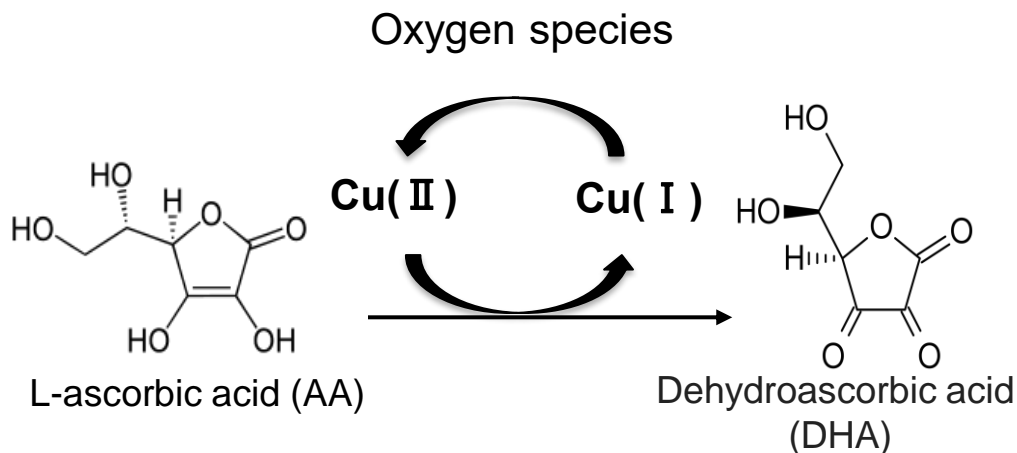


V.S.

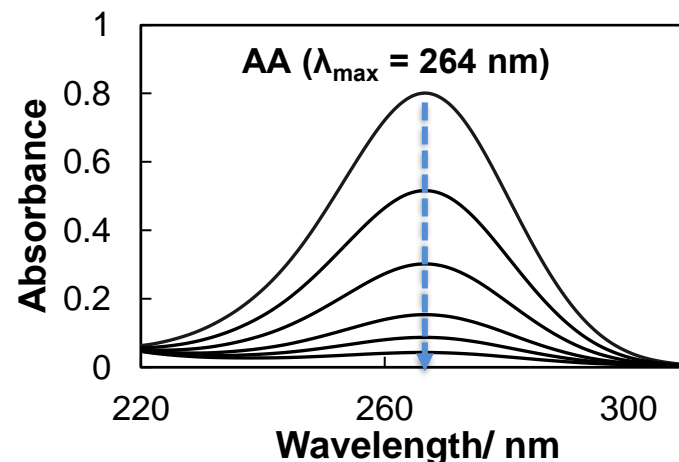
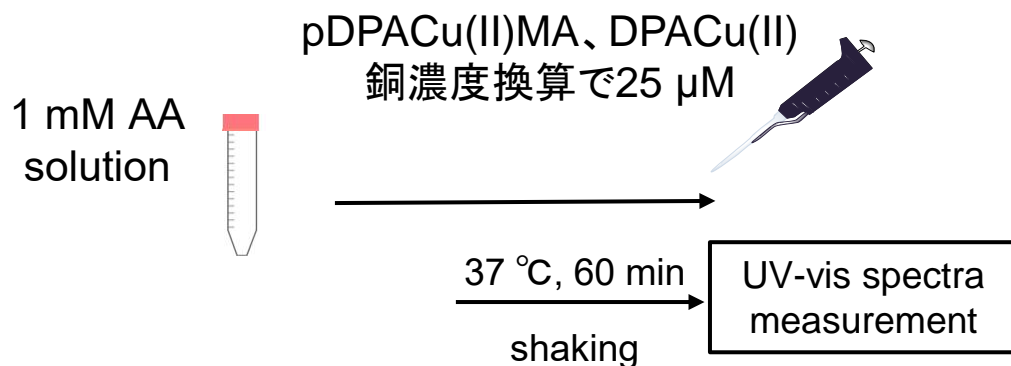
触媒活性部分である、銅錯体の数で濃度表記を行う

# 酸化還元活性評価

## 還元剤アスコルビン酸 (AA) との反応評価



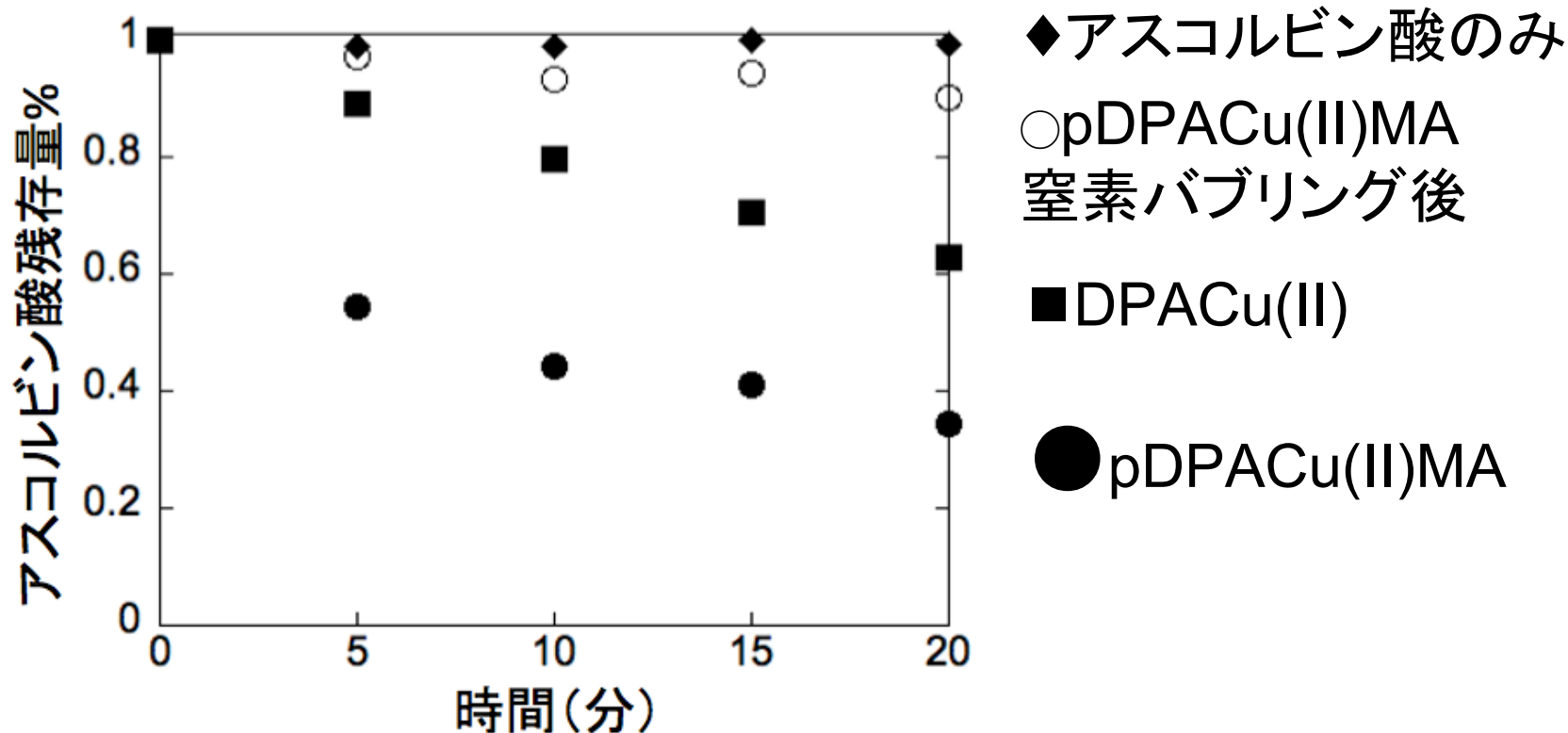
Dalton Trans., 2015, 44, 3251-3258



アスコルビン酸 (AA) に由来する吸光度の時間変化を観察し、銅錯体の触媒活性を比較した



# AAに対する酸化還元活性評価



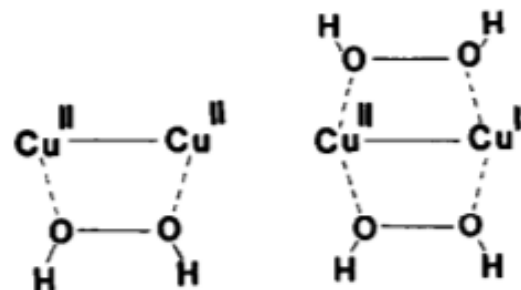
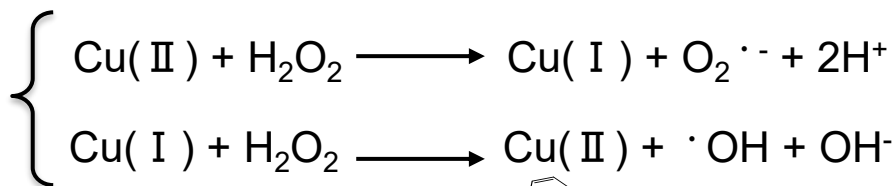
- AAが過剰な条件での消費速度向上  
→高分子鎖とすることでCu(II)→Cu(I)→Cu(II)サイクルの促進。
- 窒素バブリング処理によるpDPACu(II)MAの触媒能低下  
→酸素を使った触媒サイクルであることを示唆。

局所濃縮により、高分子では銅多核型の触媒機構が効率的に働いていると考えられる

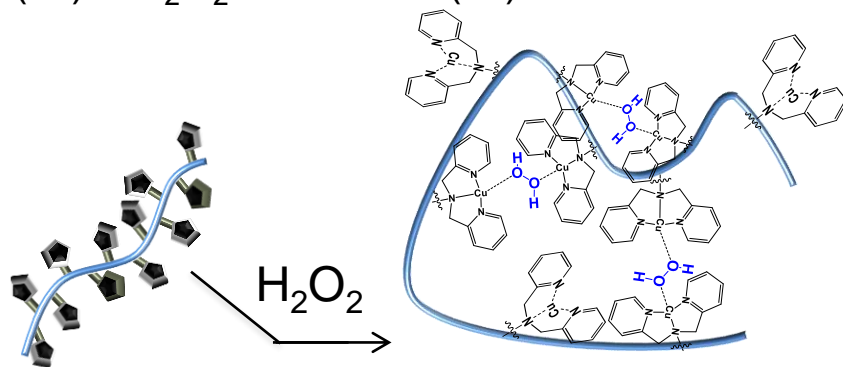
# 酸化還元活性評価

## ■ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>に対する反応

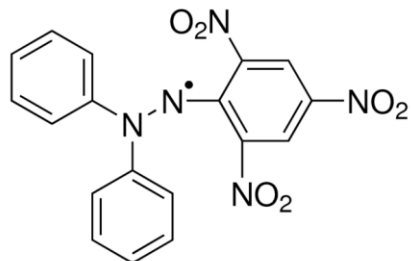
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>は酸化剤としても還元剤としても働く



Polyhedron Vol. 3, No. 2,  
pp. 157-160. 1984

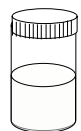


## 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)を用いた活性酸素ラジカル種の発生評価



250 μM DPPH

250 μM  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>



37 °C, 60 min

shaking

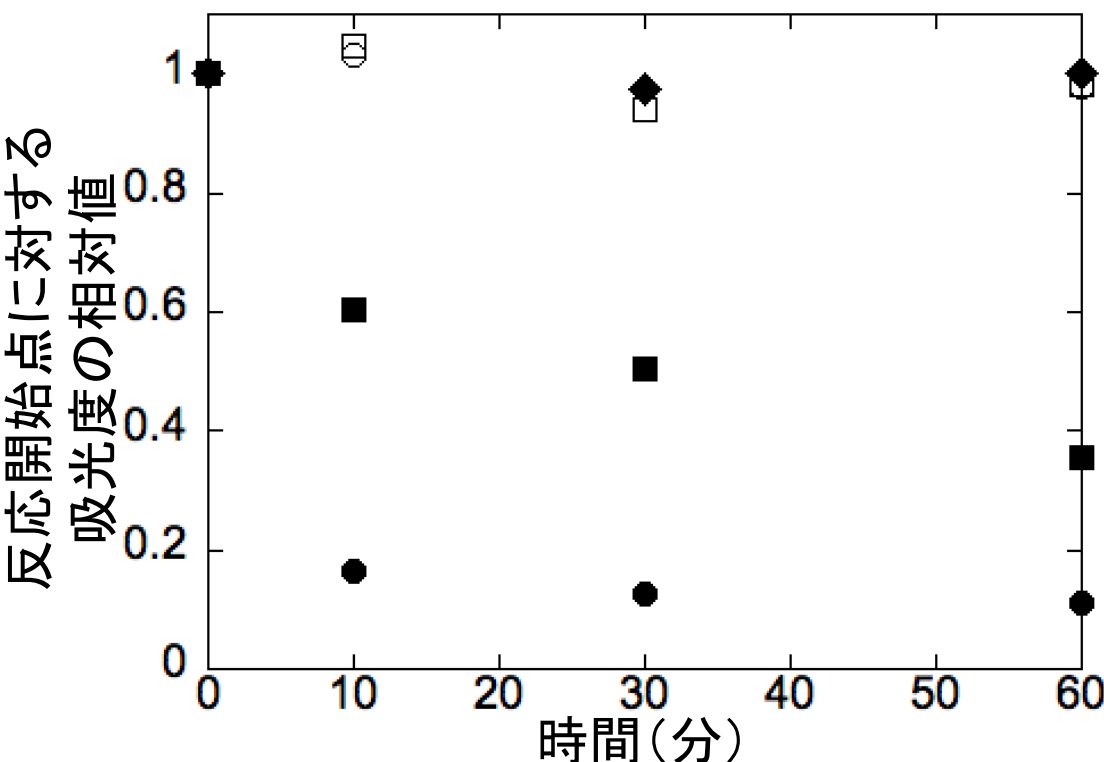
DPACu(II)  
pDPACu(II)MA (銅濃度換算で25 μM)

DPPHが発生した活性酸素ラジカルとの反応で消費される  
→色が変わる

512 nmにおける吸光度測定

# H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>に対する酸化還元活性評価

新技術の特徴、従来技術との比較



◆ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>のみ □ DPACu(II)  
○ pDPACu(II)MAのみ

■ DPACu(II)+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

● pDPACu(II)MA+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

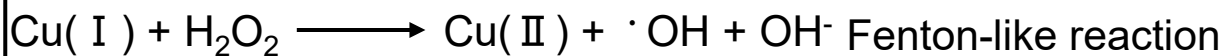
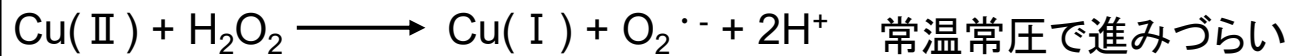
60分後の写真



高分子化によりH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>からの活性酸素ラジカル種発生が向上。

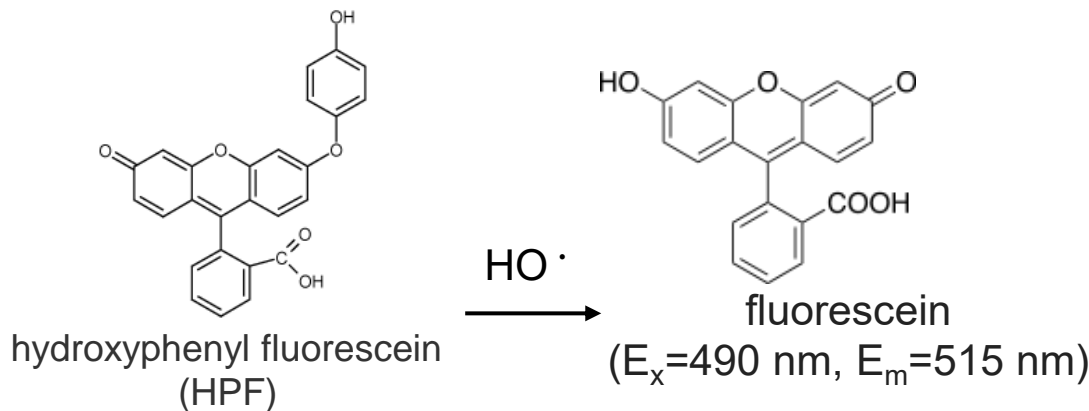
→銅局所濃縮による多核の銅錯体構造の形成が反応促進に貢献することを示唆する。

# H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>に対する酸化還元活性評価



生成したヒドロキシラジカル→有機合成に活用化、制がん剤や、抗菌剤の設計に応用可

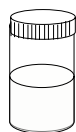
生成したヒドロキシラジカルを使う反応の確認



H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> に銅触媒を加えた際のヒドロキシラジカル生成能を、フルオレセインに由来する蛍光強度の増加から評価。

5 mM HPF

1 mM  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>



37 °C, 60 min  
shaking

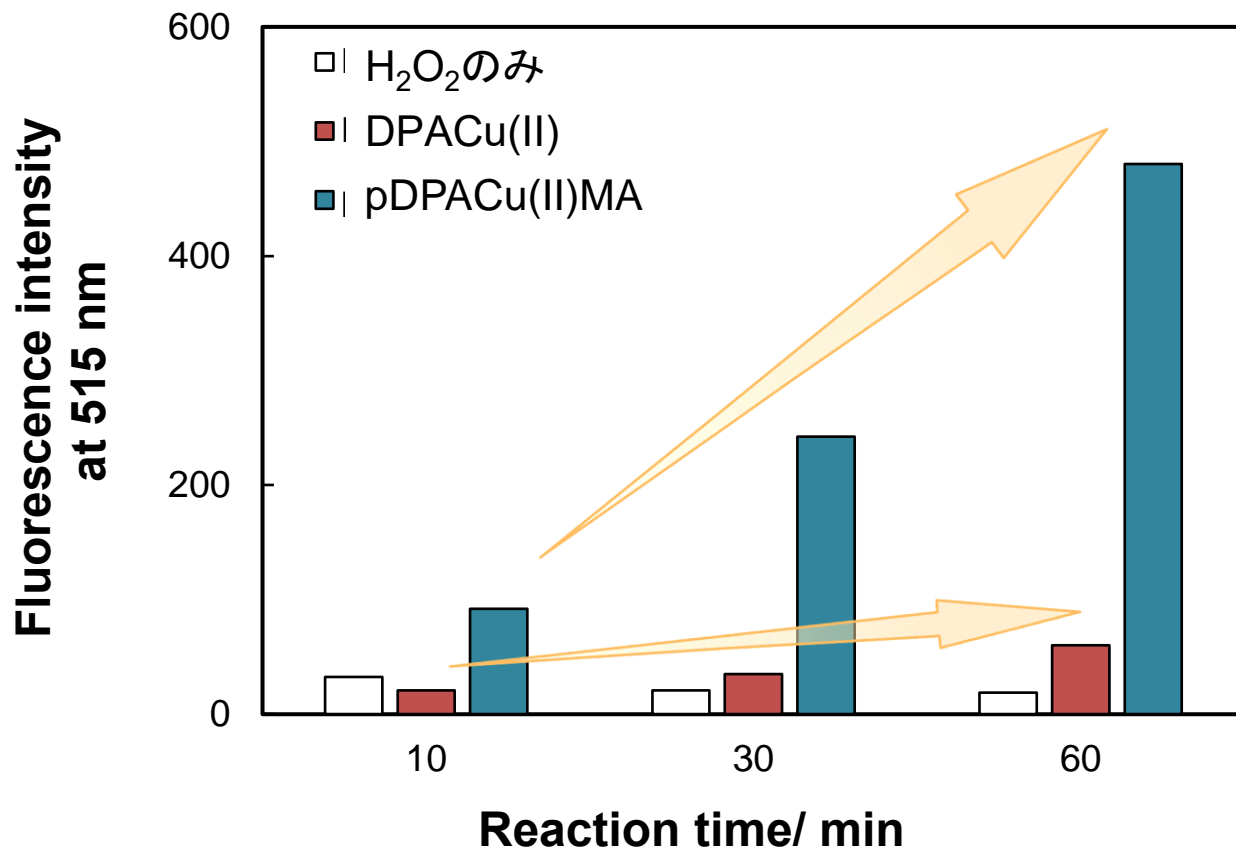


DPACu(II)  
pDPACu(II)MA (銅濃度換算で25 μM)

$E_x=490 \text{ nm}, E_m=515 \text{ nm}$  蛍光測定

# H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>に対する酸化還元活性評価

新技術の特徴、従来技術との比較



高分子化することで、Fenton-like reactionの効率が向上し、ヒドロキシラジカル生成を促進したと考えられる。

# 大腸菌に対する抗菌活性

新技術の特徴、従来技術との比較

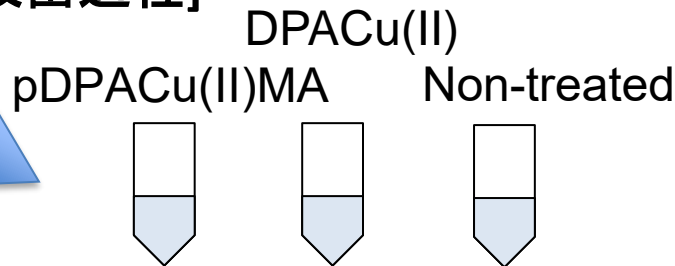
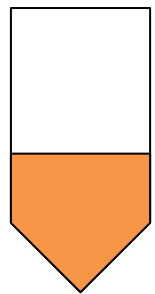
グラム陰性菌にも有効な新規抗菌剤は、近年なかなか見つからない。

Chem. Sci. 2020, 11, 2627.

- グラム陰性菌はペプチドグリカン層とさらに外膜を有する。
- 豊富なカタラーゼにより(特に過酸化水素などの)活性酸素種を無毒化し、特に毒性の高いヒドロキシラジカル産生を抑えている。

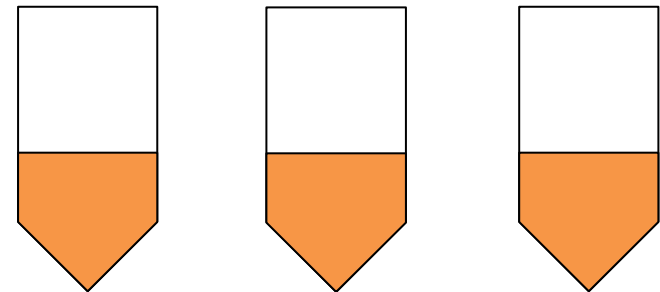
[大腸菌をLB培地で培養]

[殺菌過程]



1ODの大腸菌溶液に銅の量  
換算で種々の濃度の錯体を  
加え、15分間37 °Cで静置

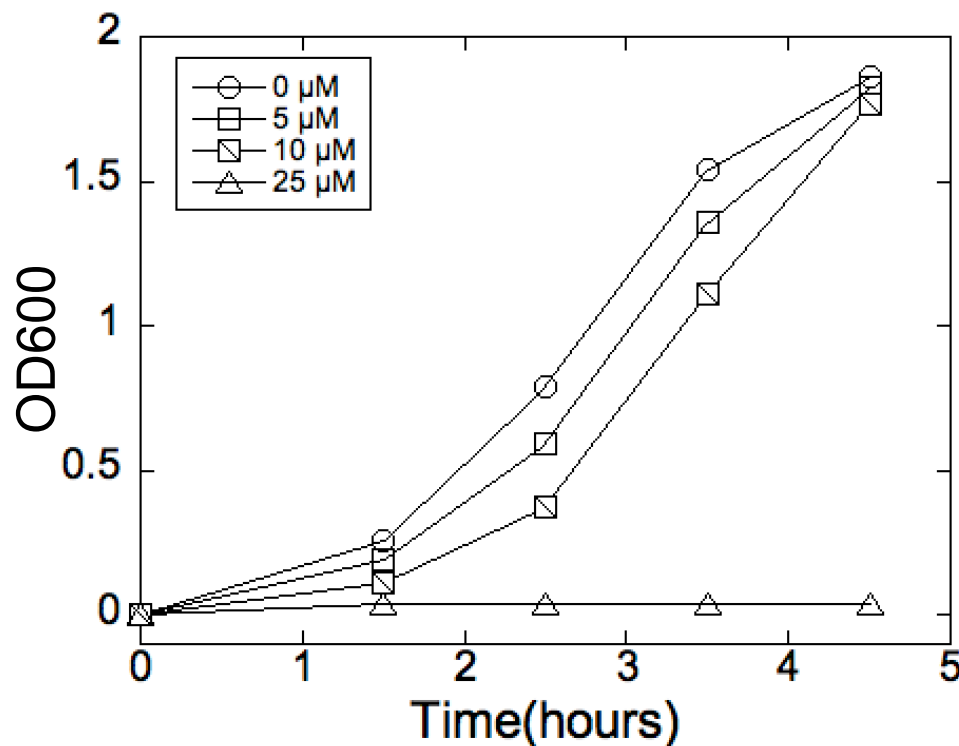
[LB培地で培養]  
再び増殖を見る



OD600の増加から、殺菌過程でど  
れだけ大腸菌が除菌されたか判断

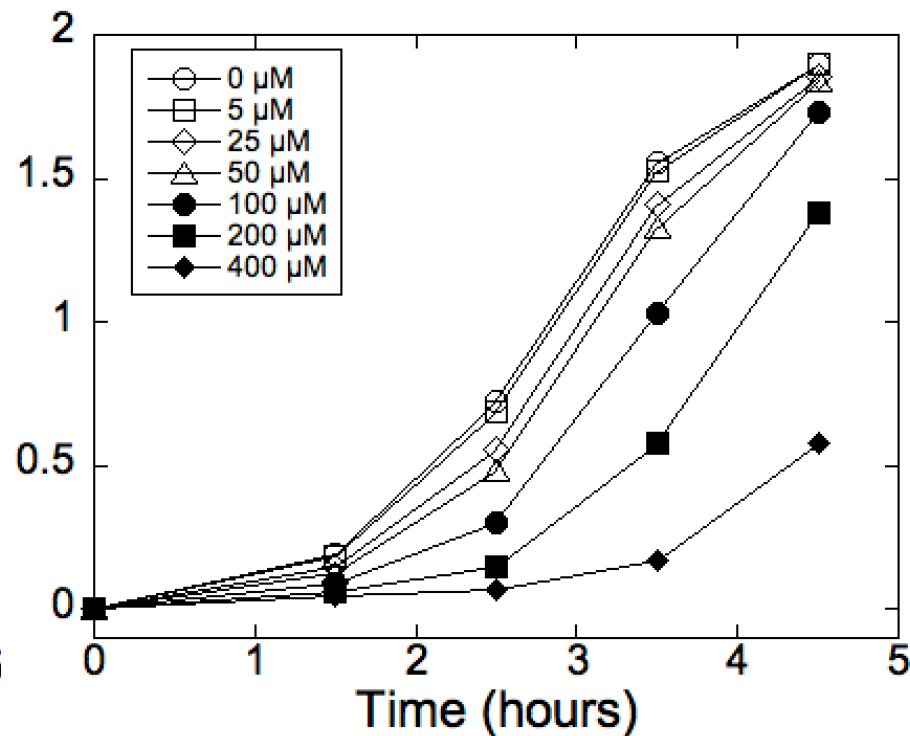
# 大腸菌に対する抗菌作用

pDPACu(II)MA



DPACu(II)

新技術の特徴、従来技術との比較



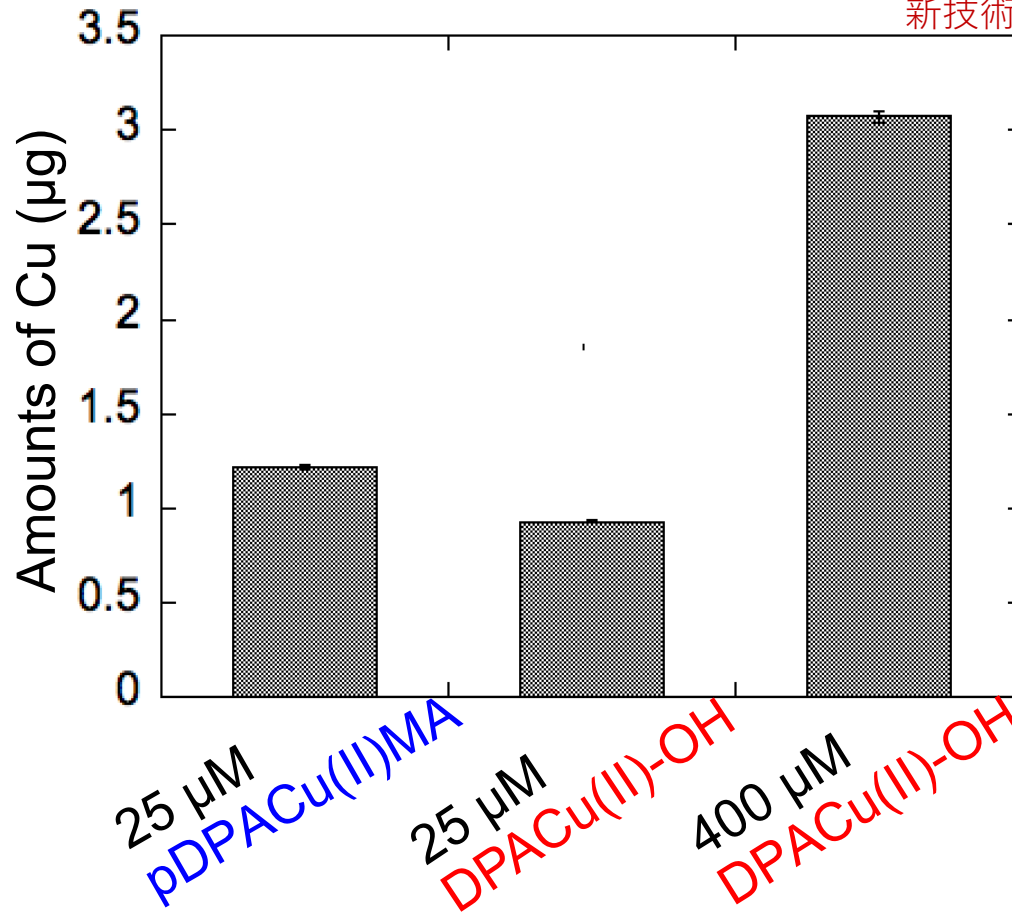
pDPACu(II)MA: 25  $\mu\text{M}$ での殺菌過程で大腸菌が増えなくなった。

DPACu(II): 濃度を増やせば殺菌過程の効果は高まるが、400  $\mu\text{M}$ としても完全ではない。

高分子とすることで、抗菌作用の向上が見られた。

# 大腸菌の銅の取り込み量

新技術の特徴、従来技術との比較



取り込み量

400 μM DPACu(II)-OH >> 25 μM pDPACu(II)MA > 25 μM DPACu(II)

大腸菌への毒性

25 μM pDPACu(II)MA > 400 μM DPACu(II)-OH > 25 μM DPACu(II)

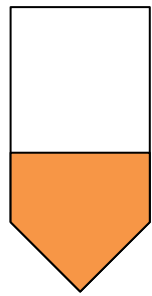


# 大腸菌に対する抗菌作用

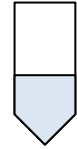
新技術の特徴、従来技術との比較

[大腸菌をLB培地で培養]

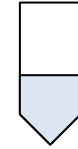
[殺菌過程]



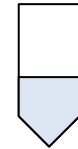
pDPACu(II)MA



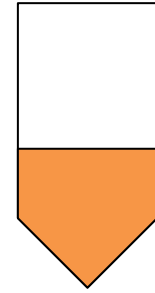
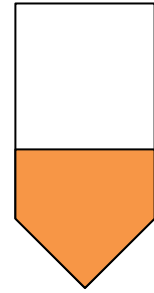
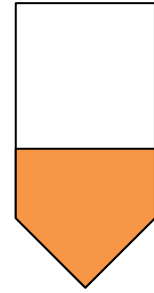
DPACu(II)



Non-treated

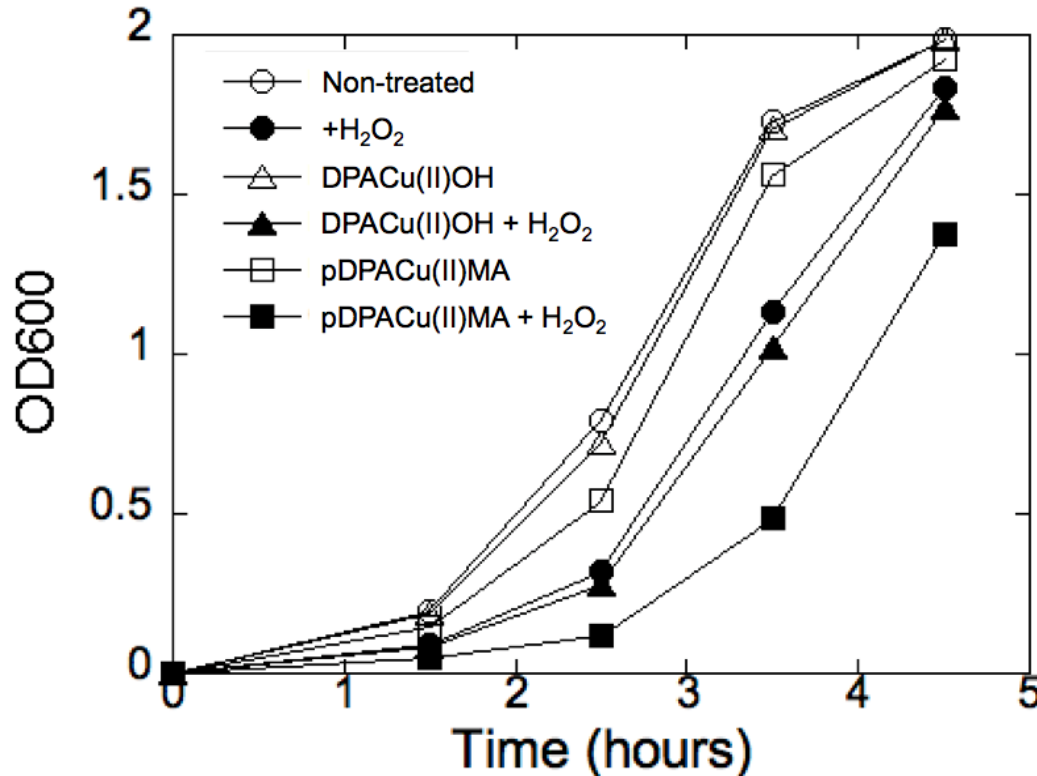


[LB培地で培養+過酸化水素1 mM]  
再び増殖を見る。



Cu濃度 10  $\mu$ M (殺菌が不十分な条件)

OD600の増加から、殺菌過程でどれだけ大腸菌が除菌されたか判断

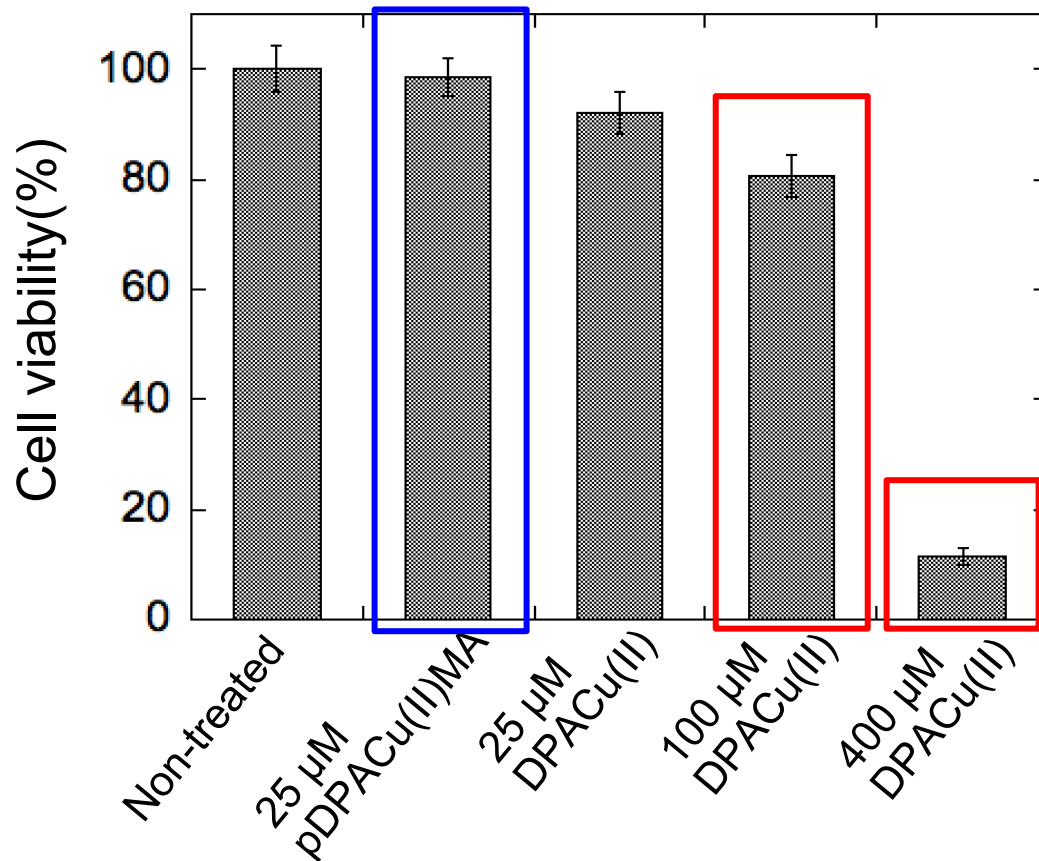


過酸化水素があるとより顕著に  
pDPACu(II)MAで増殖抑制

# ヒト線維芽細胞に対する毒性評価

新技術の特徴、従来技術との比較

Culturing NHDF with copper complexes at varied concentration

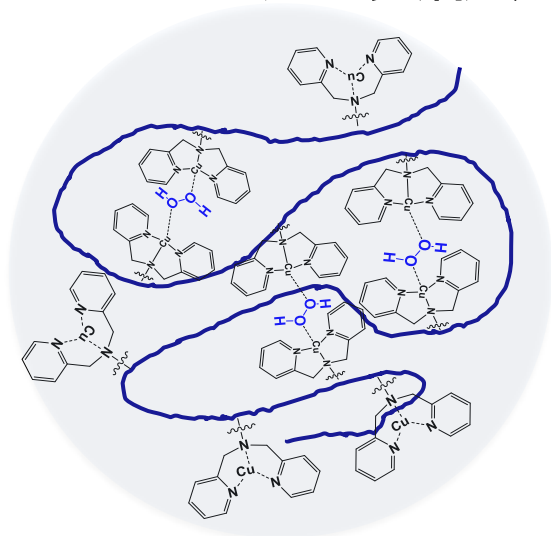


pDPACu(II)MA: 毒性を示さない。

DPACu(II): 毒性を示す。

# 結言

- DPACu(II)の高分子鎖への導入は、DPACu(II)1つあたりの触媒活性向上に有用であることが示唆された。
- 還元剤AAとの反応においては、特にCu(I)→Cu(II)となる場合に銅一酸素複核系の構造が形成しやすいことが反応促進に寄与すると考えられる
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>に対しては、複核系の形成により、常温常圧では進みづらいCu(II)→Cu(I)の還元反応を進めることが全体の触媒サイクル促進につながり、結果、Cu(I)→Cu(II)のfenton-like reactionで、ヒドロキシラジカルの生成に貢献する。



## 想定される用途

→反応触媒、抗菌剤、または、これらの効果付与を見越した添加物

# 実用化に向けた課題

1. 使用できる剤型の選定
2. 本触媒と狭雑可能な化学構造、成分の選別
3. 血中に投与する薬としての抗菌剤、抗ウイルス剤としては、溶血性の確認、溶血性を低下させる更なる分子設計

# 企業への期待

1. 高分子銅錯体を添加することが可能、またこれにより機能向上が見込める製品を有すること。(例えば抗菌、抗ウイルス効果を志向して銀イオンなどを使っている製品)
2. ヒドロキシラジカルを利用した化学反応による製造を行っていること。

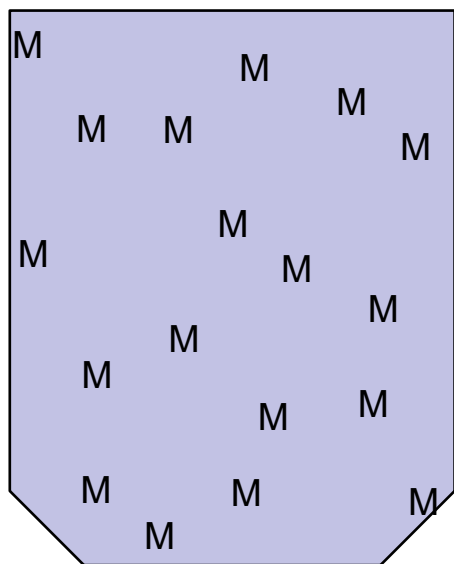
他、今後の公的資金獲得のための共同研究歓迎。

- A. 高分子銅触媒の更なる用途、ニーズの提案
- B. 高分子金属錯体とすることで機能向上が期待されるリード化合物(金属錯体)の提案や提供

# 他の金属錯体でも有用

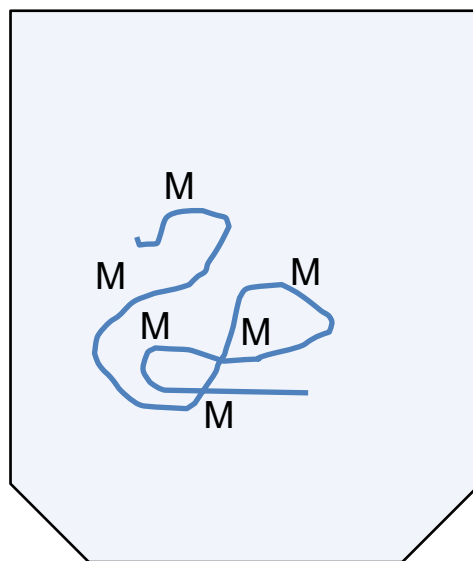
希釈

低分子高濃度反応溶液



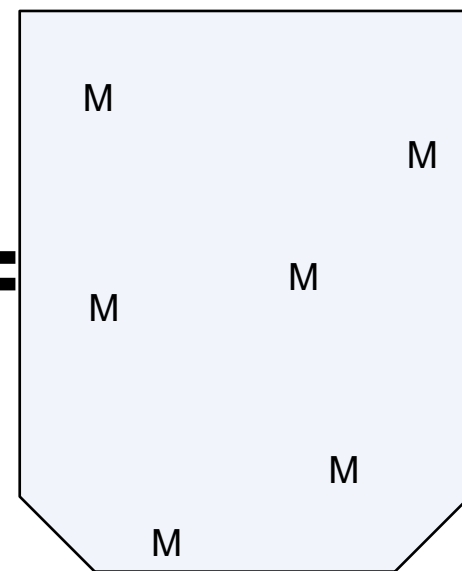
→溶液の塩強度も必然的に高くなる。

高分子反応溶液



これまで設計できなかった  
反応溶液条件を実現可能

低分子低濃度溶液



多核系反応中間体形成には不利

- 複核系の反応中間体は様々報告されており、低濃度では活性減
- 複核サイトがある配位子設計は、溶媒分散性がしばしば不良。

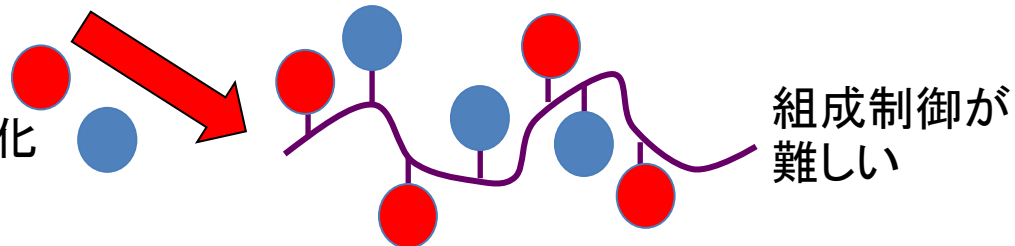
→これらの解決が高分子鎖状錯体設計のメリット

# 異種金属ランダムコポリマーへの展開

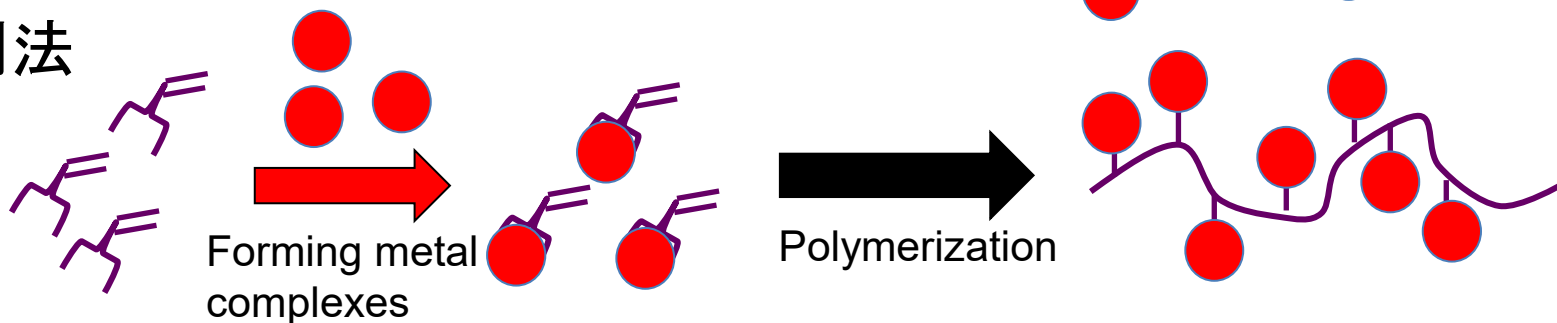
従来



異種金属で錯体化



別法



発展



# 異種金属ランダムコポリマーへの展開

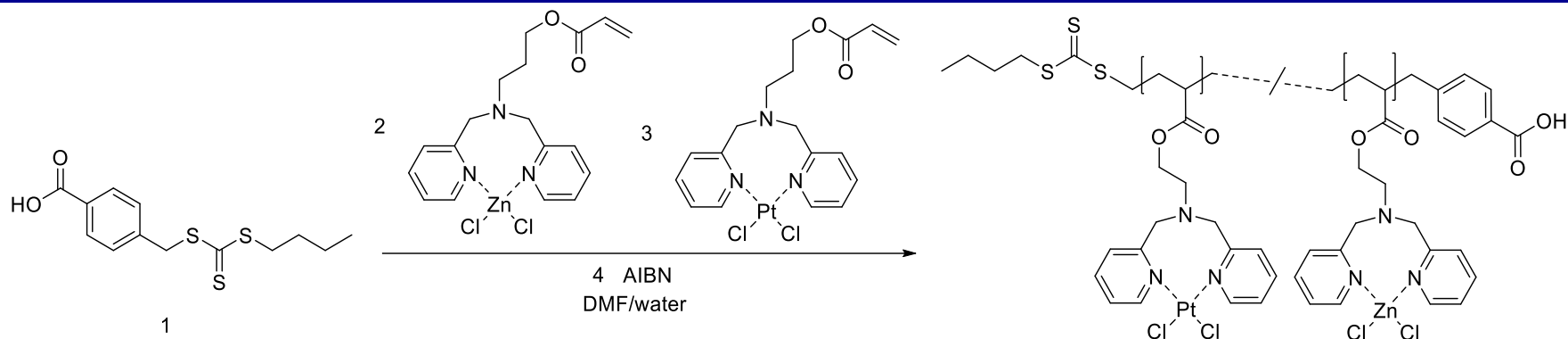


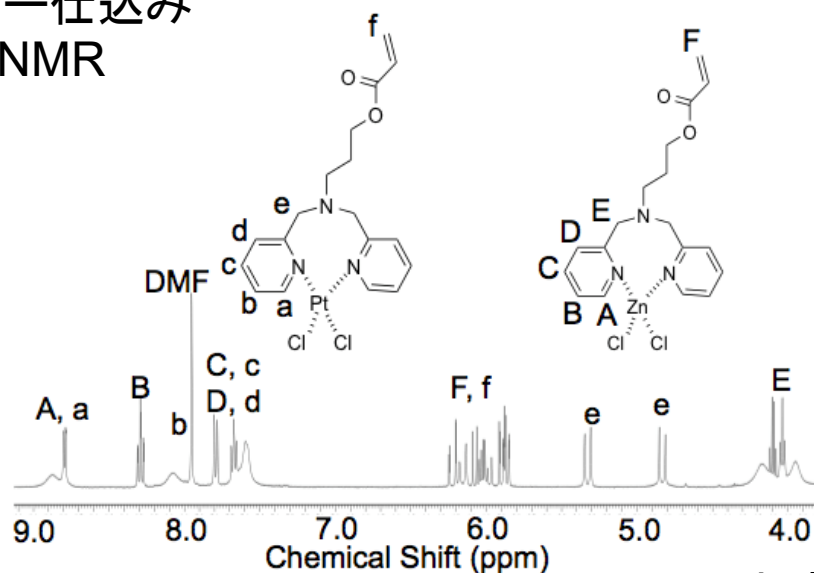
Table 1

Feed ratio		Recovered Polymer Composition		Conversion %
Zn /%	Pt /%	Zn /%	Pt /%	
84.3	15.8	83.8	16.3	16.4
59.3	40.8	58.3	41.8	16.8
36.0	64.0	33.5	66.5	15.7
6.5	93.5	9.5	90.5	12.6

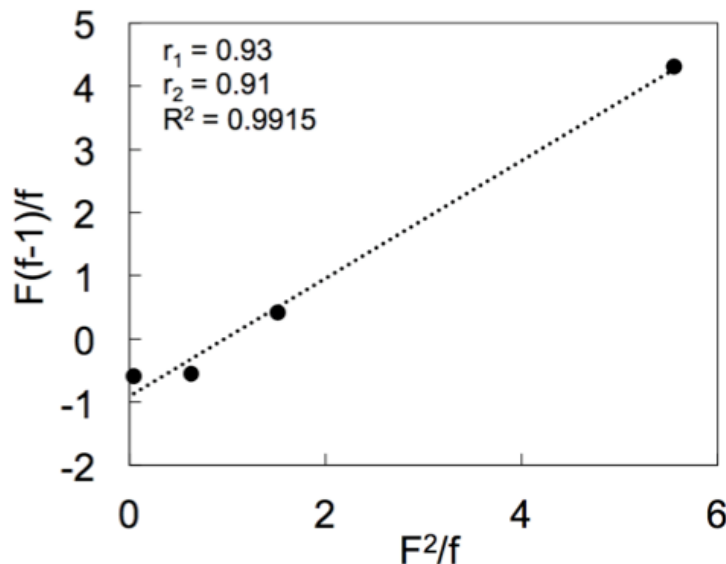


# 異種金属ランダムコポリマーへの展開

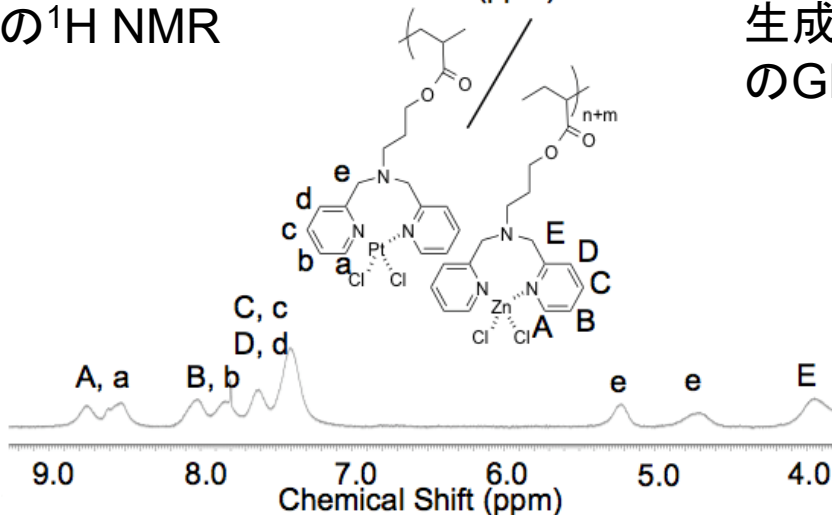
モノマー仕込み  
の<sup>1</sup>H NMR



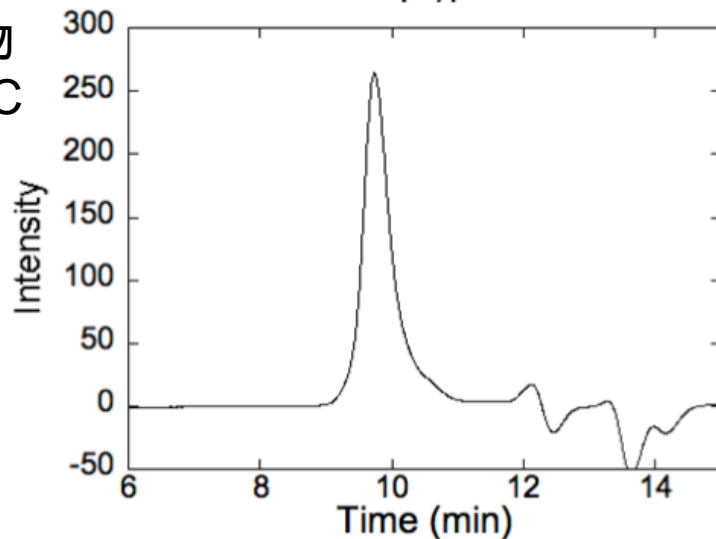
モノマー反応成否の確認



生成物の<sup>1</sup>H NMR



生成物  
のGPC



# 本技術に関する知的財産まとめ

- 特願2021-62725『抗菌・抗ウイルス剤』
- 特開2020-090644『高分子金属錯体及びその製造方法』
- 特許出願人  
学校法人東京理科大学

# 問合せ先

東京理科大学

研究戦略・産学連携センター 是成 幸子

TEL 03-5228-7431

FAX 03-5228-7442

e-mail [ura@admin.tus.ac.jp](mailto:ura@admin.tus.ac.jp)