

令和元年6月4日現在

機関番号：34408

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K11232

研究課題名(和文) ナノカプセル型MRイメージング剤の開発

研究課題名(英文) Development of nano capsules toward MR imaging agent

研究代表者

牧田 佳真 (MAKITA, Yoshimasa)

大阪歯科大学・歯学部・講師

研究者番号：30454573

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：ガドリニウム内包ナノカプセルを合成し、構造決定を行った。得られたナノカプセルはGd-DTPAやガドリニウムの単核錯体や副核錯体に比べ、水の緩和度が向上することを明らかにした。また、トリアミド基を有するナノカプセルを合成し、構造決定を行った。そのナノカプセルの空孔内部にアセチルコリンが包接されることを明らかにした。ビフェニル基をリンカーとしたナノカプセルを合成し、構造決定を行った。ビフェニル基を有するナノカプセルはコバルトイオン、クロロホルム、アセトニトリルの三成分を同時に空孔内部に包接できることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ガドリニウムMRI造影剤は、遊離のガドリニウムイオンが組織に沈着し肝臓・骨髄などに毒性を持つことが報告されていることから、ガドリニウムイオンの濃度を増やすことなく高感度化することが望まれている。本研究成果で得られたガドリニウム内包ナノカプセルは、ガドリニウムイオンを分子状のカプセル内部に導入した初めての例であり、水の緩和度がガドリニウムイオンの内包化により向上することを示した初めての例である。本手法がガドリニウムMRI造影剤を高感度化するための新たな選択肢となると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Gadolinium-containing nano-capsules were synthesized and determined their structure. The obtained nano-capsules were revealed to improve the relaxivity of water compared to Gd-DTPA, mono and dinuclear gadolinium complexes. In addition, a nano-capsule bearing a tri-amide group was synthesized and determined the structure. It was clarified that an acetylcholine was encapsulated inside the cavity of nano-capsule. A nano-capsule having biphenyl linkers was synthesized and performed structure determination. It was revealed that the nano-capsule was simultaneously encapsulated three components of cobalt ion, chloroform and acetonitrile inside the cavity.

研究分野：有機合成化学

キーワード：ヘミクリプトファン ナノカプセル ガドリニウム MRI 造影剤

1. 研究開始当初の背景

生体深部のがん検出法として、X線を利用するCT、ガンマ線を利用するPETなどが挙げられる。その一つであるMRI (magnetic resonance imaging) は、磁場中の原子核や電子が特定の周波数の電波のエネルギーを吸収するNMR現象を利用して生体の断層画像を撮影する方法である。MRIは、ラジオ波を用いるため放射線被曝がなく、良好な組織コントラストで任意の断層画像が得られる。さらに、MRイメージング剤を用いることで精細な血流の情報や生体の機能や代謝の情報を得ることが可能になっている。MRIは日本の医療現場では人口当たりの普及率がとても高い水準にあり、有用な画像診断法の一つとして広く用いられている。しかし、現在のところMRIによって検出できるがんの大きさは1cm程度で、微小がん部位の精密検出法で求められている数mmサイズを見つけることは難しい状況であるため、微小がん部位を検出するための高感度なMRイメージング剤の開発が求められている。

MR イメージング剤の代表例としてガドリニウムイオンのキレート錯体が知られている。ガドリニウムイオンによる MR イメージング剤の高感度化のためには、単純に単位分子当たりのガドリニウムイオンの数を増やせば良い。しかし、遊離のガドリニウムイオン自体は組織に沈着し肝臓・骨髄などに毒性を持つことが報告されており、ガドリニウムイオンを増やし高感度化することとトレードオフの関係にある。つまり、実用的なガドリニウムイオンを含むイメージング剤を開発するためにはガドリニウムイオンを増やさずに緩和能を増やさなければならない。

我々はこれまでに直径およそ1ナノメートルの極めて小さな空孔を有するヘミクリプトファンと呼ばれるナノカプセル(図1)を開発した。また、ナノカプセルに導入した金属および配位した小分子はナノカプセルの内側に位置することを明らかにしている。また、このナノカプセル内部にリン原子を導入したリン原子内包カプセルによるプロアザホスファトランの安定化、ナノカプセル内部に垂鉛イオンを導入した垂鉛金属内包カプセルによる加水分解反応の触媒への応用など、ナノカプセル特有の知見を見いだしていた。そこで、ナノカプセル内にガドリニウムを導入した造影剤を合成することができれば、ガドリニウムに配位した水分子は空孔内部に位置するため、これまでの MRI 造影剤には緩和効果の発現することが期待されていた。

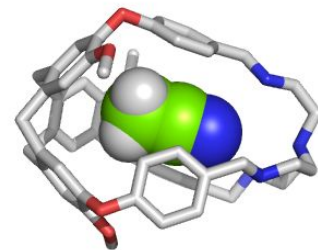


図1. ナノカプセル

2. 研究の目的

MRI 活性を有するガドリニウムイオンを内包したナノカプセルを新規に作成し、ガドリニウム内包カプセルの構造および、ガドリニウムによる水素核の緩和効果を明らかにすることで、これまでに無い方法で高感度化された MR イメージング剤の創出を目的とした。

3. 研究の方法

ガドリニウム内包ナノカプセルの合成と構造決定を行なった。ナノカプセルはバニリルアルコールを出発原料として既報に従い合成を行なった。得られたガドリニウム内包ナノカプセルの水素核の緩和効果を明らかにするために、カプセル化していない半球状のガドリニウム錯体および MRI 造影剤として知られる Gd-DTPA (マグネビスト) を合成し、NMR によるプロトンの緩和測定から、ナノカプセルの MR イメージング能の比較検討を

おこなった。

4. 研究成果

(1) まず、キレート型配位子 **1** を用いてカプセル化していない半球状のガドリニウム錯体 **2** の合成を行った (図 2)。キレート型配位子 **1** はトリス(2-ベンジルアミノエチル)アミンをプロモ酢酸エチルでアルキル化した後、脱保護することにより合成した。これを MeOH 溶媒中塩化ガドリニウムと配位子交換することにより、単核のガドリニウム錯体 **2** を得た (収率 90%)。一方、DMSO 溶媒中塩化ガドリニウムと配位子交換することにより、副核のガドリニウム錯体 **3** を得た (収率 53%)。ガドリニウム錯体 **3** は単結晶 X 線結晶構造解析により構造決定を行ったところ、カルボキシル基で橋かけ構造を形成したガドリニウムの複核錯体を形成していることが明らかとなった。

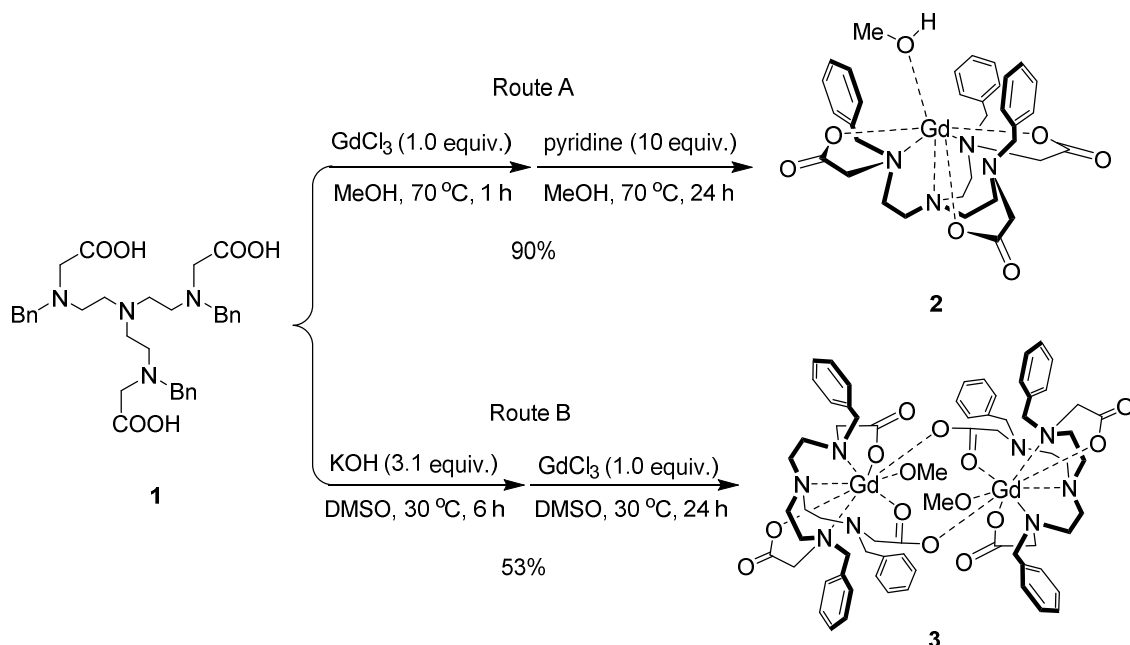


図 2. ガドリニウム錯体の合成

(2) ガドリニウム内包ナノカプセルを合成した (図 3)。まず、我々が既に合成経路を確立しているヘミクリプトファン **4** を出発原料として、プロモ酢酸エチルでアルキル化後、**5** を強酸により脱保護することでトリカルボン酸 **6** を得た。合成した **6** に塩化ガドリニウムとピリジンを加えることでガドリニウム内包ナノカプセル **7** を合成した。得られた錯体 **7** を NMR、質量分析装置を用いて構造決定を行った。NMR により各 Gd 錯体の縦緩和時間 T_1 を測定したところ、Gd 複核錯体の濃度に比例して $1/T_1$ が増加しており、それぞれ緩和効果を示すことが明らかとなった。それらの重 DMSO 溶媒中における水のプロトンの緩和度を表 1 に示す。どの錯体も Gd-DTPA よりも緩和度が向上することが明らかとなった。Gd-DTPA および **3** はそれぞれガドリニウムに対し、配位する水分子が 1 分子であることが明らかとなっているので、**2** および **7** がそれぞれそれよりも倍近く大きな緩和度を示すことから、**2** および **7** は 2 つの水分子が配位していると現在のところ考えている。また単核錯体 **2** よりも **7** の緩和度が高くなったことから、ガドリニウムイオンがカプセル内に内包されたことにより緩和度が向上することが示唆された。

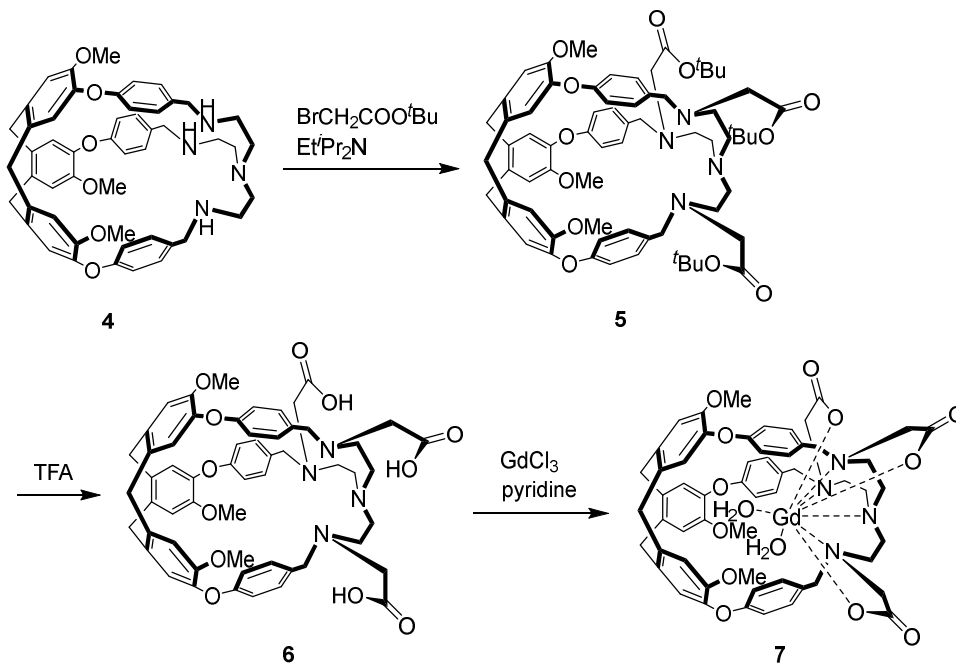


図3. ガドリニウム内包カプセルの合成

表1. 水のプロトンの緩和度 (DMSO with 1% H₂O)

	Gd-DTPA	2	3	7
Relaxivity (s ⁻¹)	23.7	46.4	27.0	54.8

(3) 空孔内部に水素結合を導入可能なトリアミド基とリンカーにエチル基を有する新規トリアミドナノカプセル9をトリ Boc 体8から合成した。得られた9は各種 NMR スペクトルおよび X 線結晶構造解析によりその構造を明らかにした。9はクロロホルムとメタノールの混合溶媒中に可溶であり、様々な4級アンモニウム塩をその空孔内部に包接することが明らかにした。特に、生理活性物質のアセチルコリンでは、4級アンモニウム塩部位はカプセル内部に包接されるのに対し、アセチル基は空孔の外側に包接される部分包接現象を初めて見出した。本知見により、ナノカプセルが緩和度や錯体の安定性に寄与するだけでなく、特定の物質を認識し、基質特異的に造影能をスイッチングしていく MR イメージング剤への応用が期待される。

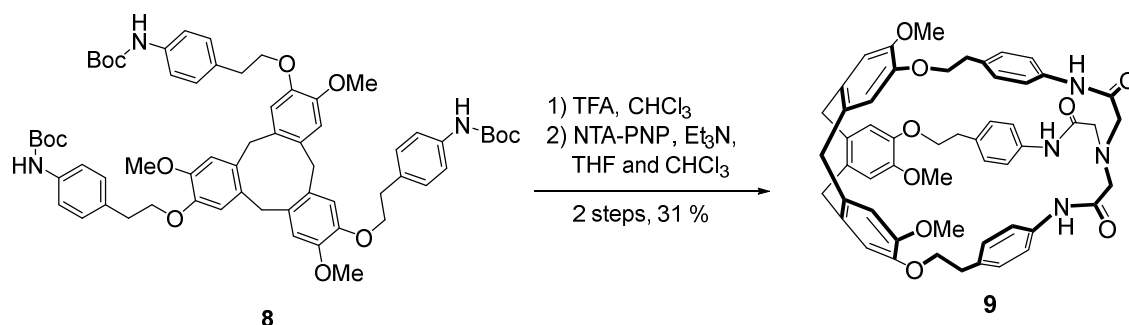
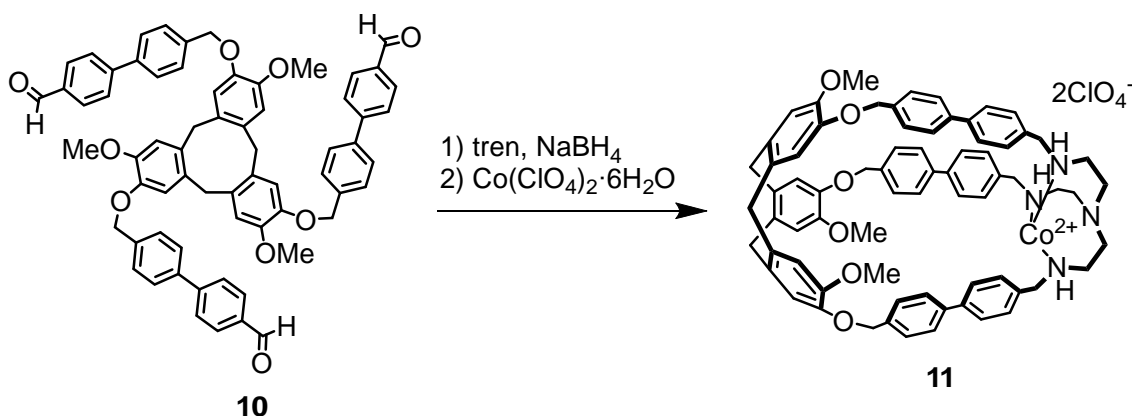


図4. トリアミド基を有するナノカプセルの合成

(4) ビフェニル基をリンカーに有しコバルトイオンを内包した新規ナノカプセル **11** をトリアルデヒド体 **10** から合成した。得られた新規ナノカプセルは各種 NMR スペクトルおよび X 線結晶構造解析によりその構造を明らかにした。**11** はこれまでに合成したナノカプセルと比べリンカー部位が拡張されているため、空孔内部にアセトニトリル、クロロホルム、コバルトイオンの三成分を同時に内包することが明らかとなった。本知見により、ナノカプセルの構造が緩和度や錯体の安定性に寄与するだけでなく、特定の物質を認識し、基質特異的に造影能をスイッチングしていく MR イメージング剤への応用が期待される。



ガドリニウム内包ナノカプセルの合成および構造決定に成功した。得られたガドリニウム内包ナノカプセルはカプセル化していないガドリニウム錯体と比べ水の緩和度が向上することを明らかにした。さらに、トリアミド基を有するナノカプセルでは、ナノカプセル内にアセチルコリンを包接できること、ビフェニル基を有するナノカプセルでは、コバルトイオン、クロロホルム、アセトニトリルの三成分を同時に内包できることを明らかにした。これらの新規ナノカプセルは当初の計画には無かったものだが、いずれもガドリニウム錯体に応用可能であり、MRI 造影剤の緩和度を基質特異的に制御可能なスマート MRI 造影剤に向けた重要な知見が得られたと考えている。

< 引用文献 >

Yoshimasa Makita, Kazuya Sugimoto, Kenta Furuyoshi, Keisuke Ikeda, Shin-ichi Fujiwara, Tsutomu Shin-ike, Akiya Ogawa, A zinc (II)-included hemicycphane: facile synthesis, characterization, and catalytic activity, *Inorganic Chemistry*, 49, 2010, 7220-7222.

Yoshimasa Makita, Kenta Furuyoshi, Keisuke Ikeda, Tomoyuki Fujita, Shin-ichi Fujiwara, Masahiro Ehara, Akiya Ogawa, Synthesis and characterization of a cyclotrimeratrylene-capped azaphosphatane, *Tetrahedron Letters*, 2011, 52, 4129-4131.

Yoshimasa Makita, Keisuke Ikeda, Kazuya Sugimoto, Tomoyuki Fujita, Tomofumi Danno, Karan Bobuatong, Masahiro Ehara, Shin-ichi Fujiwara, Akiya Ogawa, Enhancement of catalytic reactivity of zinc (II) complex by a cyclotrimeratrylene-capped structure, *Journal of Organometallic Chemistry*, 2012, 706, 26-29.

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 3 件)

Yoshimasa Makita, Tomofumi Danno, Keisuke Ikeda, Hsien-Han Lee, Taro Abe, Kento Sogawa, Akihiro Nomoto, Shin-ichi Fujiwara, Akiya Ogawa, Synthesis and characterization of a biphenyl-linked hemicycphane and an endohedral cobalt (II) complex, *Tetrahedron Letters*, 査読有, 58, 2017, 4507-4509. DOI: 10.1016/j.tetlet.2017.10.039

Yoshimasa Makita, Natsuki Katayama, Hsien-Han Lee, Taro Abe, Kento Sogawa, Akihiro Nomoto, Shin-ichi Fujiwara, Akiya Ogawa, A tri-aromatic amide hemicryptophane host: synthesis and acetylcholine binding, *Tetrahedron Letters*, 査読有, 57, 2016, 5112-5115. DOI:10.1016/j.tetlet.2016.10.017

Yoshimasa Makita, Masashi Inoue, Natsuki Katayama, Hsien-Han Lee, Taro Abe, Chizuko Inui-Yamamoto, Yuki Mori, Yoshichika Yoshioka, Yoshitomo Honda, Shoko Gamoh, Kimishige Shimizutani, Shin-ichi Fujiwara, Akiya Ogawa, mono- and dinuclear gadolinium (III) complexes of tris (4-carboxy-3-benzyl-3-azabutyl) amine: Synthesis and relaxation properties, *Polyhedron*, 査読有, 107, 2016, 148-152. DOI: 10.1016/j.poly.2015.12.064

[学会発表](計3件)

Yoshimasa Makita, Yoshitomo Honda, Shoko Gamoh, Kimishige Shimizutani, Shin-ichi Fujiwara, Gd 内包ナノカプセル型 MRI 造影剤の開発, 第23回日本歯科医学会総会, 2016.

Yoshimasa Makita, Shin-ichi Fujiwara, Akiya Ogawa, Synthesis of Gd-MRI contrast agents bearing TTTA ligands and their structure-MRI properties relationship, The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2015.

Natsuki Katayama, Yoshimasa Makita, Akiya Ogawa, Structure and synthesis of a heteroditopic hemicryptophane host, The 3rd OPU-TKU International Symposium on Frontier Chemistry and Materials for 21st Century, 2015.

6 . 研究組織

(1)研究協力者

研究協力者氏名：小川 昭弥

ローマ字氏名：OGAWA, Akiya

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。