

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月18日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2009～2011

課題番号：21651055

研究課題名（和文） 超常磁性酸化ナノパーティクルを用いた反応の磁場制御

研究課題名（英文） Magnetic Control of Reactions by Using of SPIONs

研究代表者

秋田 健行（AKITA TAKEYUKI）

九州大学・薬学研究院・准助教

研究者番号：50294963

研究成果の概要（和文）：

超常磁性鉄酸化ナノパーティクル（SPION）を用いて、化学反応を磁場によりコントロールするため、機能分子を導入したCarrier SPIONと機能分子をSPIONから切り離すための触媒を導入したCatalyst SPIONを合成し、その反応を非磁場下および磁場下で検討を行った。その結果、磁場下と非磁場下で反応速度の有意な差は見いだされなかったが、非磁場下においても機能分子の放出反応が進行することがわかった。この反応はDDSや生体イメージングの分野に応用が期待される。

研究成果の概要（英文）：

In order to control chemical reactions under magnetic field by using of super-paramagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs), Carrier SPIONs introduced with functional molecules and Catalyst SPIONs attached with Pd complex to disconnect the functional molecules from the Carrier SPIONs were prepared, and their reactivity under magnetic and non-magnetic fields was investigated. A significant difference of reaction rate between magnetic and non-magnetic conditions has not been observed, but release reaction of functional molecules was observed even under non-magnetic conditions. This type of reaction is promising to be applied for DDS, bio-imaging and so on.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,500,000	0	1,500,000
2010年度	600,000	0	600,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	2,800,000	210,000	3,010,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：ナノ・マイクロ科学 ・ ナノ材料・ナノバイオサイエンス

キーワード：超常磁性鉄酸化ナノパーティクル・SPION・ナノパーティクル・ドラッグデリバリーシステム・DDS・反応の磁場制御・生体イメージング

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

1. 研究開始当初の背景

これまで、様々な化学反応を光や電場、pH や他の化学物質の存在等の外部刺激によりコントロールし、望む反応を必要な「時と場所」で進行させる研究が数多く行われてきた。その中で磁場に関しては、磁気共鳴画像診断（MRI）や電子スピン共鳴画像法（ESRI）などに利用されていることからわかるように、生体内において、吸収や反射が少なく体内奥深くまで透過し、生体の機能に大きな悪影響を与えることなく、「非侵襲」で利用できる点で、ドラッグデリバリーシステム（DDS）等の生体内での応用が大きく期待される。

しかし、これまでに、反応の磁場効果は理論的に存在が予測され、実際に存在が確認されているものの、その効果は非常に小さく、非常に強い磁場を必要とする、あるいは、ラジカルや三重項励起状態の関係する一部の反応に限られる等、生体内環境で利用するなど一般的に応用できる方法については全く確立していない。

一方で、近年のナノレベルでの構造制御の手法や、高分解能透過型電顕（TEM）等の観測手段の発達に伴い、金や酸化鉄などの金属、金属酸化物のクラスターをコアとしたナノパーティクルの研究が盛んになっている。こういった中で、ナノパーティクルの大きさの制御や、表面置換基の修飾方法などに関しても数多くの知見が見いだされ、DDSのキャリアーとしても有望視されている。

また近年、ある大きさを持つ超常磁性酸化鉄ナノパーティクル（SPION）が、ガン細胞に特異的に集積されることが見いだされている。さらに最近、Y. Yinらにより、超常磁性酸化鉄からなるコロイド性ナノ結晶クラスターにおいて、凝集状態のパーティクル間の距離を、一般的な希土類磁石の作る磁場によって、広い範囲でコントロールできることが報告された。そこで今回、これを用いて反応の磁場制御が可能になるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

一般的な反応に適用できる反応の磁場制御が実現できれば、様々な環境、様々な反応に応用が可能である。例えばDDSにおいて、これまでは薬剤分子の放出機構が目的組織の持つ環境による、いわば受動的な放出機構が主であったが、この方法を用いることにより、集積された組織や細胞の環境に左右されない、いわば能動的な放出を行うことが可能となる。また生体内に限らず、様々な溶媒系や様々な触媒反応に応用できるため、光や電場、熱

などの利用できない様々な場面で利用が可能で、非常に有用であると考えられる。本研究では超常磁性酸化鉄ナノパーティクル（SPION）の表面保護材中にそれぞれ機能分子および触媒ユニットを担持させた、二種類のナノパーティクルを合成し、二種類のナノパーティクルをあわせて凝集させた状態で、磁場によりパーティクル間の距離をコントロールし、機能分子のリンカー部分と触媒を接近させ機能分子のパーティクルへの結合を切断し、溶媒中へ放出させる、反応の磁場制御のモデルおよび方法論を確立することを目的とする。

3. 研究の方法

一般的に磁場が化学反応に及ぼす効果は熱や圧力に比べ、非常に小さいが、SPIONにおいては、その超常磁性コアの磁化が一般の常磁性金属イオン等に比較して非常に大きく、熱や圧力が及ぼす効果に匹敵する効果を及ぼす可能性があると考えられる。

ナノパーティクルの分散・凝集および凝集状態におけるパーティクル間の距離は、表面電荷による静電的反発力と、凝集力とのバランスで決まる。そこで、このバランスを適切に設計したSPIONに薬剤分子を想定した機能分子を結合した、機能分子担持ナノパーティクル（Carrier SPION）と、この機能分子とSPIONとの結合を切断する反応を触媒するユニットを結合した触媒担持ナノパーティクル（Catalyst SPION）を合成し、二つをあわせた状態で凝集させたとき、磁場のない状態では、表面電荷の静電反発により、触媒と機能分子が接触できず、反応は進行しないが、磁場をかけたとき、SPIONのコアが磁化されることにより、磁力線方向にCarrier SPIONとCatalyst SPIONが接近し、触媒と放出分子が接触し、機能分子とSPIONとの結合が切れ、機能分子が溶媒中へと放出される系が実現できると考えた。（図1）

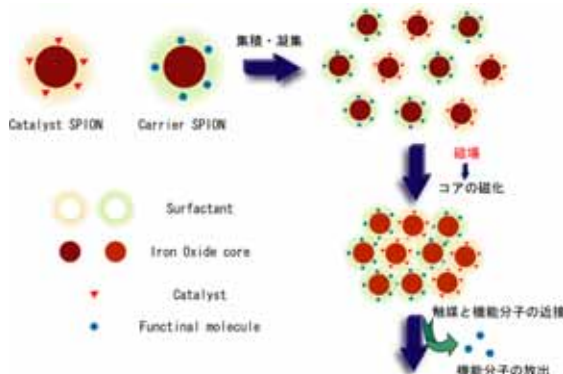


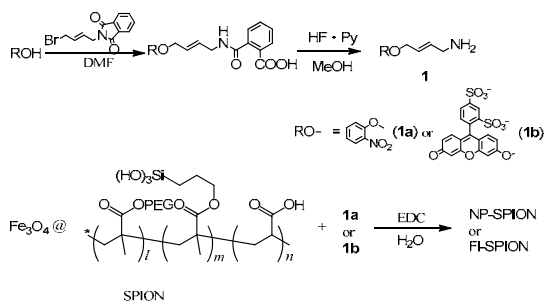
図1 SPIONを用いた、反応の磁場制御の概略

そこで、以下のような方法で研究を行った。

### (1) 機能分子担持ナノパーティクル (Carrier SPION) の合成

SPIONの表面保護層に機能分子モデルとしてo-ニトロフェノキシ基およびフルオレsein誘導基をブテニルエーテルを介して導入したFI-SPIONおよびNP-SPIONをスキーム1に従って合成した。

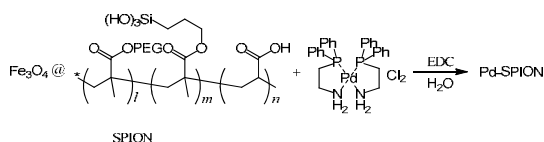
#### スキーム1 Carrier SPIONの合成



### (2) 触媒担持ナノパーティクル (Catalyst SPION) の合成

Carrier SPIONから機能分子を切断するためのCatalyst SPIONとしてパラジウム触媒を表面に導入したPd-SPIONを、表面にカルボキシル基を持つSPIONの水溶液にEDC存在下、ビス(ジフェニルホスフィノエチルアミン)パラジウムジクロリドを反応させることにより合成した。(スキーム2)

#### スキーム2 Catalyst SPIONの合成



### (3) 反応の磁場効果の検討

合成したCarrier SPIONおよびCatalyst SPIONを用いて、SPIONからの機能分子の放出反応の速度を蛍光スペクトルを用いて、非磁場下および磁場下において比較・検討を行った。

### (4) 凝集・分散力のバランスの検討

反応の磁場による制御を実現するのに適切な凝集・分散力のバランスを検討するため、SPIONの表面保護部にタウリンを導入し、静電反発力の調整を試みた。

## 4. 研究成果

合成したSPION, FI-SPION, Pd-SPIONのTEM観察およびDLS測定により、水溶液中での粒径は

3つのSPIONとも約20~30 nmと見積もられ、表面保護部への置換基の導入によって、ナノパーティクルの粒径は大きく変化しないことが明らかとなった。(図2、表1)

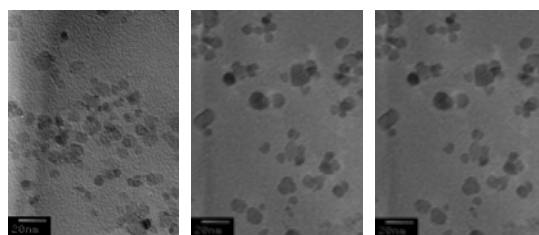


図2 SPION, FI-SPION, Pd-SPIONのTEM像

表1 DLSによるSPION, FI-SPION, Pd-SPIONの粒径分布

	数値分布	重量分布	体積分布	P.I.
SPION	53.1 ± 20.9 nm	36.0 ± 12.4 nm	28.8 ± 7.1 nm	0.168
FI-SPION(1)	61.1 ± 24.6 nm	41.2 ± 14.0 nm	33.8 ± 7.6 nm	0.148
Pd-SPION(2)	52.4 ± 21.8 nm	35.0 ± 12.0 nm	28.3 ± 6.7 nm	0.204

次にCarrier SPIONからの機能分子の放出を検討するため、NP-SPIONおよびFI-SPIONの水溶液にPd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>のDMSO溶液を加え、ニトロフェノールまたはフルオレsein誘導体の放出をNMRスペクトル、UV-visスペクトル、蛍光スペクトルを用いて検討したところ、Pd(0)によりブテニルエーテル部が切断され、フリーの機能分子を放出することが明らかとなった。(図3)

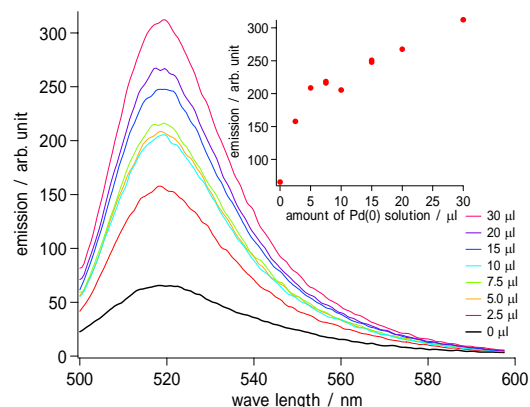


図3 FI-SPION水溶液にPd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>のDMSO溶液を加えた時の蛍光スペクトルの変化

そこで、Pd-SPIONによるFI-SPIONからの機能分子の放出を検討するため、Pd-SPIONの水溶液にNaBH<sub>4</sub>を加え、Pd(II)をPd(0)に変換した後、FI-SPION水溶液を加え、Pd-SPIONによるブテニルエーテル部位の切断反応を蛍光スペクトルを用いて追跡した。その結果、反応時間の進行に伴い、フルオレsein誘導体に帰属される  $\lambda_{max} = 510$  nmの蛍光強度が増大し、FI-SPIONからフリーのフルオレsein誘導体が放出されることが確認された。(図4)

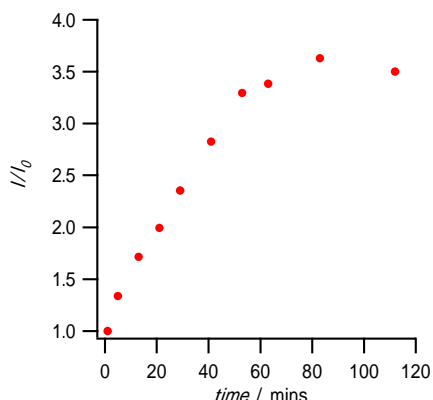


図4 Pd(0)-SPION水溶液にFI-SPION水溶液を加えたときの510 nmの発光強度の時間変化

さらにこの反応を非磁場下(0.6 mT)および磁場下(600 mT)で行い、蛍光強度の増加速度を比較したが、磁場下と非磁場下では反応速度に有意の差は見られなかった。磁場下の反応では明らかにSPIONの凝集が見られたため、非磁場下でも反応の進行に伴いPd(0)がPd(II)に変化するに従い、Pd-SPIONの表面電荷が正に傾き、表面に負電荷を持つFI-SPIONとの静電反発が減少し、非磁場下でも磁場下と同様に反応が進行したと考え、それぞれのSPIONの表面にさらに負電荷を導入することとした。

そこでSPIONの表面保護層のカルボキシル基にタウリンを導入したSPIONを設計し、タウリンの導入比率と凝集挙動について検討を行った。

これらの結果は本研究の目的であるSPIONを用いた反応の磁場制御の実現に向けて、重要な知見となるとともに、Pd-SPIONとFI-SPIONの反応により、機能分子を放出する機構は、二段階DDSへの応用も考えられる。

## 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)

〔学会発表〕(計2件)

秋田 健行・古賀 登、超常磁性酸化鉄ナノパーティクル表面への蛍光性物質の導入と放出反応の検討、第22回基礎有機化学討論会、2011年9月22日、つくば市 つくば国際会議場

秋田 健行・古賀 登、Pd触媒を導入したSPIONを用いたSPIONからの機能分子の放出反応の検討、日本化学会第92春季年会、2012年3月27日、横浜市 慶應義塾大学日吉キャンパス

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

秋田 健行 (AKITA TAKEYUKI)  
九州大学・薬学研究院・准助教  
研究者番号：50294963

### (2)研究分担者

( )

研究者番号：

### (3)連携研究者

( )

研究者番号：