

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2011

課題番号：23655055

研究課題名（和文）脂質二重層膜を利用した金属錯体メゾサイズ結晶の制御形成

研究課題名（英文）Controlled Formation of Meso-sized Metal Complex Crystals Using Lipid Bilayer Membrane

研究代表者

大場 正昭 (OHBA MASAOKI)

九州大学・大学院理学研究院・教授

研究者番号：00284480

研究成果の概要（和文）：

リポソームを用いた金属錯体のメゾサイズ結晶の制御形成を目指して、(1) 内水相における金属錯体の合成、(2) 外表面への金属錯体の導入、を推進した。(1) では、リン脂質を用いた逆ミセル法による粒径 200 nm 程度のメゾ結晶の形成、(2) では、配位子にリン脂質部位を導入した親脂質性金属錯体の合成、およびリポソームの外表面への親脂質性金属錯体の選択的な組み込み、に成功した。

研究成果の概要（英文）：

The project aimed to prepare meso-sized crystals of metal complexes by using liposome based on lipid bilayer membrane, which was carried out by two methods: (1) synthesis of metal complexes in the inner sphere of liposome, and (2) fixation of metal complex on the outer surface of liposome. In the case of (1), reverse micelle method using phospholipids was effective to form meso-sized crystals of metal complexes with radius of ca. 200 nm. In the case of (2), novel lipophilic metal complexes were prepared by incorporation of phospholipid in the ligand, and the complexes were fixed on the outer surface selectively.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：基礎化学・無機化学

キーワード：金属錯体、リポソーム、リン脂質、メゾ結晶

1. 研究開始当初の背景

分子結晶のダウンサイズ化は、分子表面が界面と近く、構造揺らぎの許容度が大きくなるため、バルク結晶と比べて外場による高速かつ高効率の機能制御に有効である。我々は、これまでに金属錯体の構造と物性・機能の合理的制御、および外場による構造・電子状態・磁気特性の変換に関する研究を展開してきた。金属錯体結晶において、トップダウンおよびボトムアップ式による化合物のナノサイズ化が試みられていたが、ナノ化によりバルクの物性や機能が劣化することも多かった。

大きさが 5 - 200 nm 程度のメゾ結晶では、バルクの性質を保持しつつ、高速かつ高感度な外場応答性の実現など、ナノ結晶とバルクの長所を併せ持つことが期待される。このメゾサイズ結晶を合理的に制御形成するために、脂質二重層膜のメゾスケール領域に着目した。国内外において、無機物や金属錯体のナノサイズ結晶成長の制御形成の研究が盛んに展開されているが、メゾサイズ結晶に関しては未開拓であった。また、従来の膜と無機物質や金属錯体との複合体では、大多数が親水部の界面を利用しており、膜の特定部位を選択的に利用した例は殆ど無かった。

2. 研究の目的

本研究では、脂質二重層膜を基盤として金属錯体を固定するためのメゾ領域を合理的に作り上げ、メゾサイズ金属錯体結晶の制御形成を目的とした。脂質二重層膜の柔軟かつ異方的なメゾ空間の表面と内部に、機能制御した金属錯体を組み込んだ階層的金属錯体集積空間を制御形成する新技術を開発して、従来の静的なバルクサイズの金属錯体とは異なる、化学反応・物質移動の場として動作する新しい「高機能な化学反応場」の創出につなげる基盤技術の確立を目指した。

3. 研究の方法

リポソームを用いて金属錯体のメゾサイズ結晶を制御形成するために、(1) 内水相における金属錯体の合成、(2) 外表面への金属錯体の導入、による金属錯体メゾ結晶作成の基盤技術を開発した。(1) では、逆ミセル法で金属錯体を合成して逆ミセルをリポソームに変換する手法、(2) では膜親和性金属錯体を合成して逐次的に金属錯体を集積化する手法、を用いた。合成した金属錯体-膜複合体のメゾ~ナノスケールの構造は、共焦点レーザー顕微鏡および TEM を用いて評価する。

4. 研究成果

上記の手法 (1)、(2) を用いて、金属錯体メゾ結晶の合成を進めた。

(1) では、リン脂質 (1-palmitoyl-2-oleoyl-phosphatidylcholine (POPC)) を用いて、水/オクタン分散系の逆ミセル法により、室温付近で磁気双安定性を示す配位高分子 $\{\text{Fe}(\text{pz})[\text{Pt}(\text{CN})_4]\}$ ($\text{pz} = \text{pyrazine}$ (1)) を合成した。オクタンに対する水とリン脂質の濃度比を最適化することで、粒径が 200 nm 程度のメゾサイズ結晶が効率よく得られた (Fig. 1)。さらに水中で逆ミセルに POPC を加えることで、内水相に 1 のメゾサイズ結晶を内包するリポソームの生成に成功した。

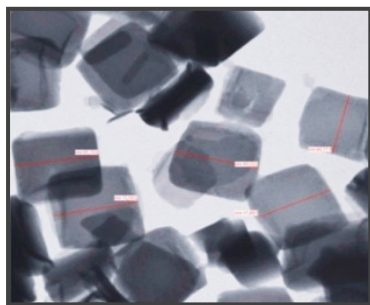


Fig. 1 化合物 1 のメゾサイズ結晶の TEM 像

高輝度放射光を用いた粉末 X 線回折測定により、1 のメゾサイズ結晶 (1-meso) がバルク結晶 (1-bulk) と同じ、シアノ架橋による 2 次元シートを pz が架橋した pillared-layer 型の 3 次元多孔性構造 (Fig. 2) を保持していることを確認した。

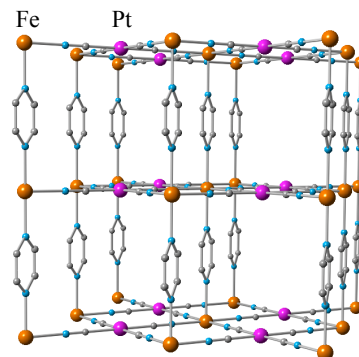


Fig. 2 化合物 1 の 3 次元多孔性構造

1-bulk と 1-meso の磁化率を測定した結果、両サンプルともスピン転移挙動を示し (Fig. 3)、1-bulk ($T_c^{\text{up}} = 304 \text{ K}$, $T_c^{\text{down}} = 284 \text{ K}$) に比べて、1-meso では、スピン転移温度が若干低下して、ヒステリシス幅も減少した ($T_c^{\text{up}} = 288 \text{ K}$, $T_c^{\text{down}} = 275 \text{ K}$)。また、表面の増加により、1-meso では残留高スピン種が増加した。さらに粒径を 50 nm 程度にすると、スピン転移温度は 200 K 以下に低下し、ヒステリシスも消失した。スピン転移現象の協同効果を比較することで、結晶の微細化の影響を明らかにした。

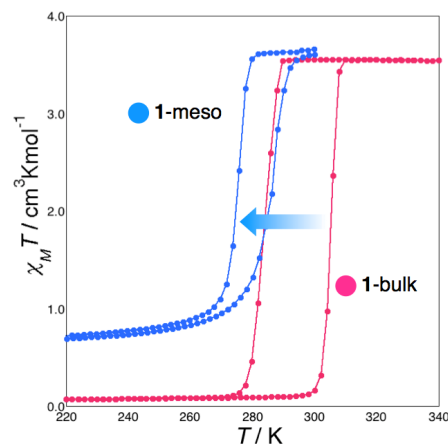


Fig. 3 化合物 1 のバルク結晶 (1-bulk) とメゾサイズ結晶 (1-meso) の磁気挙動

(2) では、亜鉛ポルフィリン誘導体にリン脂質を導入し、リポソームとの複合化を検討した。アミノ基とスクシンイミジル基のカップリング反応を用いて、亜鉛ポルフィリン誘導体のカルボキシル基と 1,2-Dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphor ethanolamine (DPPE) を

反応させて親脂質性の化合物 **2** を合成し、¹H-NMR、MALDI-TOFMS、IR スペクトル、吸収スペクトルにより同定した (Fig. 4)。

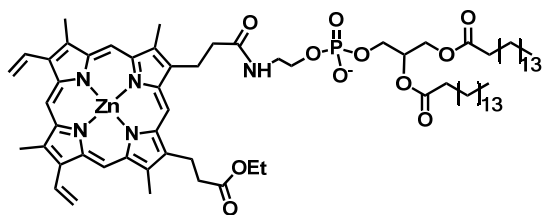


Fig. 4 親脂質性亜鉛ポルフィリン誘導体 **2**

化合物 **2** とリン脂質を直接混合して脂質フィルムを作成し、水和と凍結融解とソニケーションを繰り返した後に、ゲルろ過して細孔膜を通すと、**2** を内表面と外表面に組み込んだリポソームが得られた。また、亜鉛ポルフィリン誘導体を DPPE を組み込んだリポソームと直接反応させることで、外表面への選択的な亜鉛ポルフィリンの固定化に成功した。この外表面への選択的な組み込みは、共焦点レーザー顕微鏡観察において、408 nm のレーザー照射による **2** の発光から確認した (Fig. 5)。

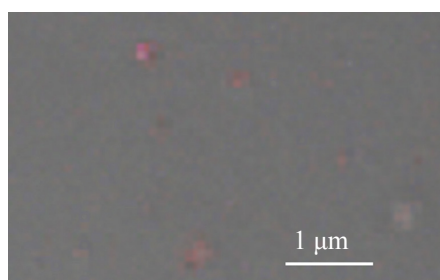


Fig. 5 化合物 **2** とリポソームの複合体の共焦点レーザー顕微鏡像

また、コレステロールの親水部に金属配位部位としてピリジンカルボキシル基を導入した親脂質性配位子 Cholest-5-en-3-yl-4-pyridinecarboxylate (Fig. 6; Cholpy) を合成した。Fig. 7 に示すように、先ず Cholpy をアンカー配位子としてリポソームの外表面に導入して、これを足場として逐次的に配位高分子メゾサイズ結晶を合成する手法を検討した。

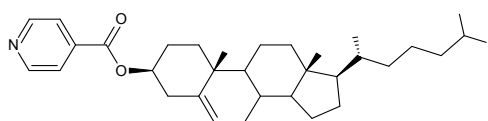


Fig. 6 親脂質性配位子 Cholpy

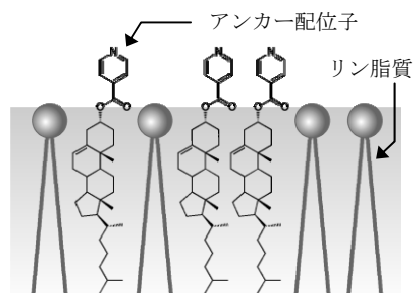


Fig. 7 リポソーム外表面への親脂質性配位子 Cholpy の導入の模式図

Cholpy を導入した POPC リポソームに、NiCl₂·6H₂O と K₂[Pt(CN)₄] の水溶液を順次添加して錯形成反応を行うと、リポソーム表面における金属錯体の形成を示唆する薄い紫色に着色が観測された (Fig. 8)。表面の蛍光 X 線分析では、Ni と Pt の存在が確認された。



Fig. 8 リポソームと親脂質性配位高分子の複合体の顕微鏡写真

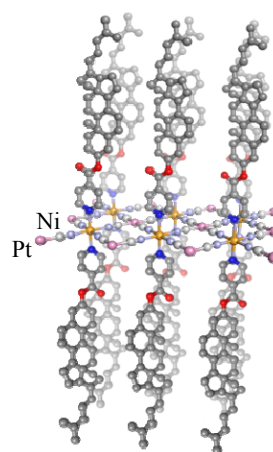


Fig. 9 配位高分子 {Ni(Cholpy)₂}[Pt(CN)₄]₂ の構造の模式図

バルクで Cholpy、NiCl₂·6H₂O と K₂[Pt(CN)₄] を 2: 1: 1 の比率で反応させると、青紫色の粉末が得られた。IR スペクトルにおけるシアノ基の吸収のシフトと Cholpy の吸収の存在、粉末 X 線回折パターン、蛍光 X 線分析および

元素分析の結果から、Pt-CN-Fe 結合が4方向に展開した2次元シート構造を有する配位高分子 $\{Ni(Cholpy)_2[Pt(CN)_4]\}$ の形成が確認された (Fig. 9)。先の結果は、この親脂質性金属錯体の1層がリポソーム外表面に形成されたことを示唆しており、現在詳細な評価を進めている。

以上、本研究において、リポソームの内水相および外表面に部位特異的に金属錯体を導入する技術を確立した。内水相においては、多孔性配位高分子のメソサイズ結晶化に成功した。外表面における親脂質性金属錯体およびアンカー配位子の固定化は、リポソーム表面における Layer-by-layer 法によるメソサイズ結晶の逐次的作成へと展開する。本研究で開発した技術は、外場応答性金属錯体による特定物質の透過制御およびリポソーム内への濃縮や、リポソーム内への反応活性金属錯体の組み込みによる高効率触媒反応の達成など、新しい生体親和性新材料や高効率触媒の開発につながると期待される。

5. 主な発表論文等

[学会発表] (計11件)

- ① 越山友美、梶谷香月、岡村朋哉、波多江達、伊庭聡一、吉田将己、正岡重行、大場正昭、リポソームへの金属錯体集積化による新規反応空間の構築、口頭発表、日本化学会第92春季年会、横浜、2012.3.26.
- ② 波多江達、岡村朋哉、越山友美、大場正昭、電子移動系の構築を目指した親脂質性 Zn ポルフィリン誘導体の合成とリポソームへの複合化、口頭発表、日本化学会第92春季年会、横浜、2012.3.25.
- ③ 梶谷香月、米田 宏、越山友美、大谷 亮、北川 進、大場正昭、二次元型配位高分子への親脂質性配位子の導入とゲスト応答性、口頭発表、日本化学会第92春季年会、横浜、2012.3.25.
- ④ 大場正昭、金属錯体界面システムと放射光ナノアプリケーション、招待講演、第5回放射光連携研究ワークショップ、東京、2012.2.23.
- ⑤ 大場正昭、金属錯体と脂質二重層膜の融合による金属錯体界面システムの構築、招待講演、第5回東北大学 G-COE シンポジウム、仙台、2012.1.20.
- ⑥ 大谷 亮、越山友美、大場正昭、北川 進、膜親和性金属錯体の開発と脂質二重層膜の修飾、ポスター発表、錯体化学会第61回討論会、岡山、2011.9.18.
- ⑦ 越山友美、梶谷香月、岡村朋哉、伊庭聡

一、波多江達、大場正昭、アンカー配位子を用いた金属錯体固定化によるリポソーム機能空間の構築、口頭発表、錯体化学会第61回討論会、岡山、2011.9.18.

- ⑧ 梶谷香月、米田 宏、越山友美、大場正昭、親脂質性金属錯体の組込みによるリポソームの機能化、ポスター発表、錯体化学会第61回討論会、岡山、2011.9.18.
- ⑨ 越山友美、梶谷香月、岡村朋哉、伊庭聡一、波多江達、大場正昭、親脂質性金属錯体の固定化によるリポソーム空間の機能化、ポスター発表、第5回バイオ関連化学シンポジウム、つくば、2011.9.13.
- ⑩ 越山友美、梶谷香月、岡村朋哉、伊庭聡一、波多江達、大場正昭、親脂質性金属錯体のリポソームへの組込みによるメソサイズ機能空間の構築、ポスター発表、第63回コロイドおよび界面化学討論会、京都、2011.9.9.
- ⑪ 梶谷香月、米田 宏、越山友美、大場正昭、コレステロール含有金属錯体の合成と脂質二重層膜への組込み、ポスター発表、第48回化学関連支部合同九州大会、北九州、2011.7.9.

[その他]

ホームページ等

<http://www.scc.kyushu-u.ac.jp/Sakutaibussei/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大場 正昭 (OHBA MASA AKI)
九州大学・大学院理学研究院・教授
研究者番号：00284480

(2) 連携研究者

越山 友美 (KOSHIYAMA TOMOMI)
九州大学・大学院理学研究院・助教
研究者番号：30467279