

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 1 日現在

機関番号	11301
研究種目	挑戦的萌芽研究
研究期間	2011~2012
課題番号	23655060
研究課題名（和文）	超分子戦略による磁気共鳴-ランタニド発光 デュアルイメージングプローブの創製
研究課題名（英文）	Design of Dual Imaging Probes for Magnetic Resonance and Luminescence via Self-assembly of Lanthanide and Thiacalixarene
研究代表者	壹岐 伸彦 (IKI NOBUHIKO)
	東北大学・大学院環境科学研究科・准教授
	研究者番号：50282108

研究成果の概要（和文）：

生体画像診断法の感度や分解能の限界を打破すべく、磁気共鳴イメージング(MRI)とランタニド(Ln)発光イメージングとの重畳を実現するデュアルイメージングプローブ(DIP)を開発する。本研究では Ln のチアカリックスアレーン錯体を基体にその要件である、(1) 単一組成副核錯体生成条件、(2) 速度論的安定性、(3) 磁気緩和特性、(4) Ln 発光機能を精査し、DIP 実現に足る十分な性能を得ることに成功した。

研究成果の概要（英文）：

The study is aimed at a developing dual imaging probe (DIP) for magnetic resonance imaging (MRI) and luminescence imaging to enhance the sensitivity and resolution of the current imaging techniques. Here we used thiacalixarene as a clustering ligand for multi-lanthanide core enabling both magnetic relaxation and luminescence. We have successfully elucidated that the multi-nuclear complex fulfill prerequisites for DIP such as (1) formation of single species, (2) high kinetic stability, (3) relaxivity, and (4) luminescence functions.

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	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・分析化学

キーワード：イメージングプローブ、発光イメージング、磁気共鳴イメージング、ランタニド、チアカリックスアレーン

1. 研究開始当初の背景

バイオイメージングの領域で、磁気共鳴イメージング(MRI)はその高分解能のため実用医療画像診断手法としての地位を確立して久しい。一方 MRI を上回る高感度性から最近、蛍光イメージングが注目を浴びているが、こ

れは光透過性の制限により空間分解能が低い欠点を有する。このように MRI や蛍光イメージングには一長一短があり、各手法の長所を兼備した“デュアルイメージング”の実現こそ、この領域のブレイクスルーとなる。これを実現するのが DIP である。これは例えば

MRIによる悪性腫瘍部位の特定と、術中の目視確認を可能にし、治療の確度を格段に向上させる。このような背景からDIP創製の報告が増加している。しかし多くは(i) Gd^{III} 錯体と蛍光性分子の連結、(ii) ナノ粒子の化学修飾に分類され(N. J. Long, *Chem. Comm.*, **2009**, 3511), いずれも共有結合形成を利用する共有結合戦略に依存している。

2. 研究の目的

上記の共有結合戦略に対し本研究の目的は超分子戦略に立脚し、磁気共鳴-Ln 発光 DIP を創製し、バイオイメージング法の長足の進展に寄与することにある。我々はランタニド Ln^{III} -チアカリックス[4]アレーン(TCA)錯体を近年集中的に研究し、超長寿命性発光 Tb^{III} 錯体(Iki, *Chem. Asian J.*, **3**, 849 (2008))および NIR 発光性 Nd^{III} 錯体を創製することに成功している。一方、複数の配位水分子を有する Gd^{III} 錯体の創製にも成功した。本研究はこれらの成果を踏まえ、 Gd^{III} と Tb^{III} もしくは Nd^{III} との双方を有する TCA 異核副核錯体を生成・分離し、それぞれの金属由来の磁気的特性・発光特性を比較評価し、今までに全く例のないDIPを創製し、その設計指針を得る(図1)。

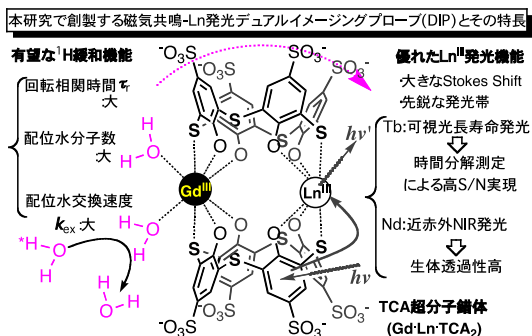


図1 本研究で創製するDIPの概念

3. 研究の方法

プローブの発光中心としては可視領域(Vis)に発光を示す Tb^{III} および近赤外領域(NIR)に発光を示す Nd^{III} を、MRIの¹H緩和機能については Gd^{III} (f^7 電子配置)を検討する。

本DIPの要件は、(1)単一組成の異核副核錯体である、(2)速度論的に安定性である、(3)磁気緩和特性を有する、(4) Ln 発光を与える、(5)必要に応じバイオコンジュゲート可能である(ターゲティング能付与)、(6)生体毒性がない、等である。本研究ではこれらのうち(1)~(4)を検討する。具体的には(1)錯体をイオン交換分離・分取し、ESI-MS等により構造を確定する。(2)速度論的安定性の数値的指標として加溶媒分解反応速度定数 k_d を決定する。(3)DIPの磁気的特性として¹H核の緩和時間 T_1 やこれに関わる水交換速度 k_{ex} をNMRにより測定する。(4)DIPの発光特性として、発光量子収率や発光寿命を評価する。以上を総合し超分子型DIP設計指針を得る。

4. 研究成果

要件(1)~(4)に応じて成果をまとめ、最後に(5)として総括を述べる。

(1)単一組成副核錯体

異核副核錯体の単離を想定し、その前段階として $Ln_n \cdot TCA_m$ の単一生成条件を精査した(n, m : 整数)。その結果、 Tb^{III} -TCA二元系溶液では、 $Tb_1 \cdot TCA_1$ 錯体が生成した後、pH 7.4では $Tb_3 \cdot TCA_2$ および $Tb_4 \cdot TCA_2$ 錯体、pH 9.5では $Tb_3 \cdot TCA_2$ および $Tb_2 \cdot TCA_2$ 錯体を生成することを解明した。 Yb^{III} -TCA二元系溶液では $Yb_1 \cdot TCA_1$ 錯体が生成した後に $Yb_3 \cdot TCA_2$ 錯体のみ生成することが判明した。 Nd^{III} -TCA二元系溶液では、 $Nd_1 \cdot TCA_1$ 錯体が生成した後にpHによらず $Nd_3 \cdot TCA_2$ および $Nd_4 \cdot TCA_2$ 錯体を生成することを解明した(図2)。さらに他の Ln^{III} と TCA との自己組織化挙動を調査した結果、 Ce^{III} から Nd^{III} は Nd^{III} -TCA系、 Sm^{III} から Er^{III} は Tb^{III} -TCA系、 Tm^{III} から Lu^{III} は Yb^{III} -TCA系と同様のサンドイッチ型錯体を生成し、錯体の構造と Ln^{III} の原子番号(イオン半径)の間に規則性があることが判明した。

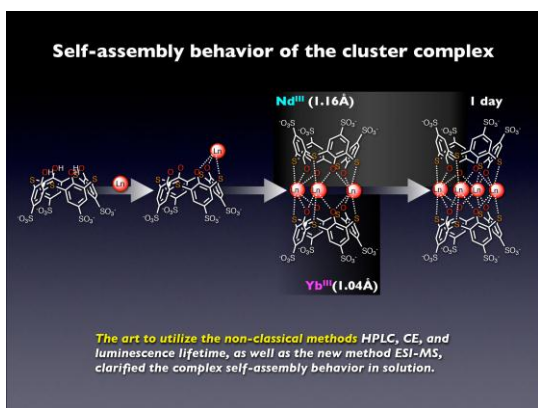


図2 Yb^{III}およびNd^{III}のクラスタリング-副核錯体生成挙動

(2)速度論的安定性

Tb₃·TCA₂について多座配位子 DTPA による配位子置換反応を試みたが、2時間以内で解離せず、高安定性が示唆された。そこで Gd₃·TCA₂ について酸触媒解離反応から見かけの解離反応速度 k_{obs} を測定し、次いでそのプロトン濃度依存性から加溶媒分解反応速度定数 k_d を算出した (表1)。また、 k_d から半減期を求めたところ $t_{1/2} = 7 \text{ h}$ となった。Gd-DTPA 錯体の体外排出速度 ($t_{1/2} = 1.6 \text{ h}$) に照らして、速度論的に安定であるといえる。なお、比較のため Eu₃·TCA₂ および Yb₃·TCA₂ についても k_d を算出した (表1)。中心 Ln^{III} のイオン半径が小さくなるにつれ、速度論的に安定であることが示唆された。

表1 Ln₃TCAS₂の加溶媒分解反応速度定数と半減期

Ln ₃ TCAS ₂	$k_d / 10^{-5} \text{ s}^{-1}$	$t_{1/2} / \text{h}^{\text{a}}$
Eu ₃ TCAS ₂	38.2	0.50
Gd ₃ TCAS ₂	2.73	7.1
Yb ₃ TCAS ₂	0.49	39.6

a) Half-life of the complex calculated from the k_d value.

(3) 磁気緩和特性

MRI プローブとしての性能の指標である ¹H 緩和能 r_1 を評価したところ、21 mM⁻¹s⁻¹ となり、Gd-DTPA など市販コントラスト剤を大きく上回る性能を得た。一方、HSA 結合時、予想に反して r_1 は増大しなかった。これは Gd^{III} 中心の配位水交換速度 k_{ex} が小さいこと

が示唆された。実際これを ¹⁷O NMR で測定したところ $4.8 \times 10^4 \text{ s}^{-1}$ となり、異常に遅いことがわかった。これは k_d が小さいことと同根であり、クラスター化した Gd₃·TCA₂ 錯体の構造に基づく rigid な配位環境に基づくためと考えた。

(4) Ln 発光性能

発光プローブ機能評価のため、生体透過性の高い近赤外領域に発光を示す Nd₃·TCA₂ および Yb₃·TCA₂ について発光量子収率を決定した。それぞれ $1.7, 2.3 \times 10^{-4}$ となり、既報のランタニド錯体のものに比べ遜色ない発光機能であった。

(5)総括

Ln と TCA をベースに副核錯体の自己組織化挙動を解明し、異核副核錯体生成の可能性を見いだした。また副核錯体の速度論的安定性や緩和能、発光機能を評価し、磁気共鳴-発光 DIP 実現に大きな道筋をつけた

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5件)

- ① The role of cadmium(II) bridges in the self-assembly with lanthanide(III) and thiacalix[4]arene (TCAS) to selectively form a luminescent ternary Cd^{II}·Tb^{III}₂·TCAS₂ complex, Nobuhiko Iki, Teppei Tanaka, Hitoshi Hoshino, *Inorg. Chim. Acta*, 397, 42–47 (2013). DOI: 10.1016/j.ica.2012.11.016 (査読有り)
- ② Kinetically Stable Ln^{III} Complexes Comprising a Trinuclear Core Sandwiched between Two Thiacalix[4]arene Ligands Self-assembled in Water (Ln^{III} = Nd^{III}, Yb^{III}) Nobuhiko Iki, Shouichi Hiro-oka, Mami Nakamura, Teppei Tanaka, Hitoshi Hoshino, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2012, 3541–3545. DOI: 10.1002/ejic.201200464 (査読有り)
- ③ Development of a Near Infrared

Fluorescence Labeling Reagent: Synthesis of Indole-Functionalized Indocyanine Green Derivatives, Takayuki Doi, Koya Oikawa, Jun Suzuki, Masahito Yoshida, and Nobuhiko Iki, *Syn. Lett.*, 2012, 306–310. DOI: 10.1055/S-0031-1290139 (査読有り)

- ④ Highly Efficient Near-Infrared-Emitting Lanthanide(III) Complexes Formed by Heterogeneous Self-Assembly of Ag^{I} , Ln^{III} , and Thiocalix[4]arene-*p*-tetrasulfonate in Aqueous Solution ($\text{Ln}^{\text{III}} = \text{Nd}^{\text{III}}$, Yb^{III}), Nobuhiko Iki, Shouichi Hiro-oka, Teppei Tanaka, Chizuko Kabuto, and Hitoshi Hoshino, *Inorg. Chem.*, **51**(3), 1648–1656 (2012). DOI: 10.1021/ic2019583 (査読有り)
- ⑤ pH-Responsive Switching of Near-Infrared Absorption of a Diradical Complex of Pt^{II} and 3,4-Diaminobenzoate Formed in Aqueous Solutions, Kousaku Tamura, Atsuko Masuya, Nobuhiko Iki, Yasunori Ohba, Seigo Yamauchi, and Hitoshi Hoshino, *Inorg. Chim. Acta*, **378**, 81–86 (2011). DOI: 10.1016/J.Ica.2011.08.018 (査読有り)

[学会発表] (計 8 件)

- ① 中村真実, 壹岐伸彦, Eszter Boros, Peter Caravan, ガドリニウム-チアカリックスアレーン多核錯体の速度論的安定性と1H磁気緩和能の評価, 日本化学会第93春季年会, 2013年03月22日, 立命館大学
- ② 壹岐伸彦, 中村真実, 星野仁, 水溶液中におけるチアカリックスアレーン-ランタニド(III)多核錯体の自己組織化と速度論的安定性, 錯体化学会第62回討論会, 2012年09月22日, 富山大学
- ③ 中村真実, 壹岐伸彦, 星野仁, 高安定性を有するランタニド-チアカリックスアレーン錯体の自己組織化と速度論的安定性の評価, 日本分析化学会第61年会, 2012年09月21日, 金沢大学

- ④ Nobuhiko Iki, Shouichi Hiro-oka, Mami Nakamura, Teppei Tanaka, Hitoshi Hoshino, Self-assembly of Thiocalix[4]arene and Ln^{III} to Kinetically Stable Complexes, 40 International Conference on Coordination Chemistry, 2012年09月09日～2012年09月13日, Valencia, Spain
- ⑤ 壹岐伸彦, 田中鉄兵, 中村真実, 廣岡祥一, 星野仁, 水溶液を反応場とする多元金属複核錯体の自己組織化挙動を解き明かす, 第72回分析化学討論会, 2012年05月19日, 鹿児島大学

[図書] (計 1 件)

- ① Toru Takahashi, Nobuhiko Iki, Wiley, Capillary Electrophoresis and Microchip Capillary Electrophoresis: Principles, Applications, and Limitations, 2013, 127-143.

[その他]

ホームページ等

<https://sites.google.com/site/hoshlab/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

壹岐伸彦 (IKI NOBUHIKO)
東北大学・大学院環境科学研究科・准教授
研究者番号：50282108

(2)研究分担者

星野仁 (HOSHINO HITOSHI)
東北大学・大学院環境科学研究科・教授
研究者番号：20124620

高橋透 (TAKAHASHI TORU)
福井大学・大学院工学研究科・講師
研究者番号：30361166

(3)連携研究者

なし