

令和 5 年 5 月 2 日現在

機関番号：32670

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K05409

研究課題名(和文)徐放性製剤への応用を指向したプルシアンブルーとその類似体の自発形成パターンの研究

研究課題名(英文)A study of self-assembling patterns of Prussian blue and its analogues for their application to pulsatile drug delivery systems

研究代表者

林 久史 (HAYASHI, Hisashi)

日本女子大学・理学部・教授

研究者番号：60250833

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、実験室で利用可能な高分解能・蛍光X線分光器を新たに開発し、これをアガロースゲル中に自発的に形成されるマンガン(Mn)-鉄プルシアンブルー類似体(PBA)沈殿帯の分析に応用、徐放性製剤としての可能性をもつ周期的沈殿帯がもっとも生成しやすい調製条件、その条件におけるPBAの濃度分布、Mnまわりの局所構造、高いセシウム(Cs)の吸着能とそのメカニズムを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、アガロース中で自発的に形成されるマンガン-鉄系のPBA(Mn-Fe PBA)の周期的沈殿現象が、放射性セシウム(Cs)の吸着・除去に有効利用できることをはじめて示した。この成果は、環境科学や放射線医学に貢献するだけでなく、自発的なパターン形成の材料科学への応用としても興味深い。加えて、本研究の中で新たに見いだされた2種類の反応と拡散による新規な沈殿パターン形成現象は、非平衡系の物理学に新たな研究領域を提供した。このように本研究は、基礎・応用両面の様々な研究領域に新たな刺激を与えた。

研究成果の概要(英文)：This research newly developed a laboratory-use high-resolution X-ray fluorescence spectrometer to analyze the precipitation patterns of manganese (Mn)-iron based Prussian-blue analogs (Mn-Fe PBA) that spontaneously formed in agarose gel, clarifying (1) the appropriate preparation conditions to generate periodic precipitation banding of Mn-Fe PBA (which is potentially applicable as Cs adsorbent for oral delivery), (2) the concentration distributions of Mn-Fe PBA in the periodic bands, (3) the local atomic structure around Mn atoms, and (4) their high Cs adsorption and its mechanism.

研究分野：物理化学

キーワード：プルシアンブルー類似体 セシウム吸着剤 リーゼガングバンド 反応-拡散系 徐放性製剤

1. 研究開始当初の背景

プルシアンブルー（PB）は青色顔料として有名だが、放射性セシウム（Cs）や猛毒のタリウム（Tl）に対する、経口投与可能な除去剤としても利用されている。PBによるCs/Tlの除去のメカニズムは以下のように考えられている。人体に侵入したCsやTlは胃や腸から吸収された後、腸管-腸管サイクルという代謝によって、それらの一部が再び腸管に分泌される。PBはCsやTlを吸着しやすい上、腸管壁からほとんど吸収されないため、十分なPBが腸内にあれば、分泌されたCsやTlを捕捉して、これらが吸着したPBごと、便として排出できる。このようにPBが機能するのは腸なので、経口投与した場合には、いかに胃における「無駄な」PBの放出を避けるかが問題となる。これは、近年特に注目されるようになった、薬物輸送（Drug Delivery System：DDS）の問題にほかならない。PBのDDSの研究は近年盛んになりつつある。たとえば最近、アルギン酸のpH依存性を利用したPBのDDSが報告されている。薬剤の伝達性や有効部位は個人差が大きいので、様々なタイプのDDSを検討・準備しておくことは疫学上重要である。

DDSの有効な手法のひとつに「薬剤の徐放化（Pulsatile Drug Delivery: PDD）」がある。一般に、薬物を徐放化することには、通常速放性製剤より投与回数を減じさせ、薬効を長く持続でき、副作用や毒性を低減させられる等、多くの利点がある。PBのPDDはまだ報告されていないが、研究代表者は、これに適用できる可能性を秘めた興味ある現象-プルシアンブルー類似体（PBA）の水ガラスゲル中での離散的な沈殿帯形成を発見し、主にX線分光分析法を用いて、その濃度分布の時間変化や金属元素まわりの局所構造を研究してきた。研究代表者が発見した現象は、「Mn²⁺やCo²⁺を[Fe(CN)₆]³⁻とともに水ガラスゲル中で分散させると、1mm程度の間隔をもった、PBA沈殿の縞模様が自発的に生成する」というものである。ここで、たとえばゲルをアガロースやカラギーナンなど、経口投与可能な有機ゲルに変え、さらにMn²⁺、Co²⁺だけでなくイオンをFe²⁺に変えても類似の縞模様が生成し、それらが顕著なCs/Tl吸着能を示せば、「徐放化されたCs/Tl解毒剤の自発的生成」という、薬学・工学の新しい応用分野が拓けることになる。

ゲル中における沈殿の離散的な縞模様（リーゼガングバンド）形成は100年以上前から知られている現象であるが、PBAがリーゼガングバンドを形成することは研究代表者等が2016年にはじめて見いだしたことである¹⁾。それを「自発的なPDD試薬形成」に応用する研究は皆無であり、研究の独創性・独自性はきわめて高い。

2. 研究の目的

経口投与可能なゲル（アガロースを想定）中にPB、もしくはPBAのリーゼガングバンドを形成させ、その最適な調製条件を見いだすことを第一の目的とする。最適条件で調製したゲル試料内の、PBあるいはPBAの濃度分布と局所構造を調べることを第二の目的とする。こうして状態が明かになったゲル試料におけるCs吸着能の強さと、Csの吸着状態を調べることを第三の目的とする。得られた結果を用いて、PB/PBAゲル試料をさらに改善していき、自発的に形成された沈殿帯パターンを徐放性製剤に役立てることを最終目的とする。

3. 研究の方法

2に示した研究目的を達成するため、以下の5種類の実験を行った。

- (1) PB/PBAのゲル試料の調製と最適な調製条件の探索。
- (2) ゲル試料へのCs吸着試験。
- (3) 蛍光X線分光法による、PB/PBAとCsの濃度分布の*in situ*測定。
- (4) X線吸収微細構造（XAFS）分光法によるCsまわりの局所構造の調査。
- (5) 高分解能・蛍光X線分光器の開発。

以下、概要を述べる。

(1) ゲル試料の調製と最適な調製条件の探索

X線測定ができる試料セル（プラスチックストローを使ったセル²⁾）中に、PBやPBA（特にマンガンと鉄からなるPBA:Mn-Fe PBA）の沈殿帯を、調製条件を様々に変えて、経口投与が可能なアガロースゲル中に生成させ、リーゼガングバンド、あるいはそれに類似した沈殿構造ができる最適な調製条件を探索した。

(2) ゲル試料へのCs吸着試験

(1)を通じて見いだした、リーゼガングバンド形成に最適な調製条件でゲル試料を調製した。そこに適当な濃度のCs溶液を導入し、下部ゲル中に生成しているPB/PBA（主としてMn-Fe PBA）の沈殿帯によるCs吸着について検討した。吸着の度合い（沈殿帯中のCs濃度分布）は蛍光X線強度測定、吸着の化学状態（Csまわりの局所構造）はXAFSを通じて、それぞれ調べた。

(3) 蛍光X線分光法による、PB/PBAとCsの濃度分布の*in situ*測定

PB や PBA、さらにはそこに吸着された Cs の濃度分布を in situ 条件で測定するために、ハンドメイドのエネルギー分散型分光器³⁾を用いて、蛍光 X 線強度分布測定を行った。試料セルを分光器にとりつけ、約 5 cm にわたって、沈殿帯の蛍光 X 線スペクトルを測定した。Mn、Fe、Co、Cs からの蛍光 X 線の強度変化を通じて、ゲル中の沈殿帯における各元素の分布(濃度分布)とその時間変化を追跡した。

(4) XAFS 分光法による Cs まわりの局所構造の推定

アガロースゲル中に生成した Mn-Fe PBA の沈殿帯における Mn まわりの局所構造と、吸着された Cs まわりの局所構造について、XAFS 測定で調べた。あわせて、走査型電子顕微鏡 (SEM) による観察も行った。

(5) 高分解能・蛍光 X 線分光器の開発

放射光利用を前提とする XAFS 測定では、マシンタイムの都合上、試料の調製段階の情報を得にくい。しかし、多少不完全であってもそうした情報は、PB/PBA によるリーゼガングバンド形成に関する深い理解、ひいては、よりよい徐放性製材の開発に必須である。また、応用に不適当な構造ができていたことが途中でわかれば、ただちに条件を変えた調製に着手できることも、無視できぬ利点である。以上をふまえ、ゲル試料からの 3d 金属の高分解能 K スペクトル(実験室で測定でき、金属イオンのスピン状態や配位構造に敏感⁴⁾)を測定する装置を新たに開発し、これを XAFS 測定前の予備的な試料の化学状態のモニターに使った。

4. 研究成果

(1) アガロースゲル中での PBA の離散的な沈殿帯形成

アガロースゲル中での Mn-Fe PBA の沈殿帯形成を網羅的に調べ、Mn²⁺の濃度が 0.50~0.55 M、[Fe(CN)₆]³⁻の濃度が 0.05~0.10 M (以下、最適濃度という)の時にもっとも明瞭なリーゼガングバンドが形成されることがわかった⁵⁾。リーゼガングバンドを構成している Mn-Fe PBA は、大きさが 3 μm 程度の立方体型の微結晶であることもわかった⁵⁾。アガロースゲル中では、銅と鉄からなる PBA (Cu-Fe PBA) は、従来法によってはリーゼガングバンドを形成させられなかったが、電気化学的手法と組み合わせることで、**リーゼガングバンドによく似た縞模様状の沈殿帯を生み出すことに成功した^{6,7)}**。この新しい手法は「**2種類の反応と拡散が結びついた系(反応-拡散-反応系)における構造形成**」という新しい学問領域を生み出しつつあり⁶⁻⁸⁾、今後の展開が期待される。

(2) アガロースゲル中に生成した PB/PBA による Cs 吸着

最適濃度でアガロースゲル中に調製した PB、Mn-Fe PBA、コバルトと鉄からなる PBA (Co-Fe PBA) の Cs 吸着能を蛍光 X 線の強度変化を通じて調べたところ、吸着開始から 2 日くらいまでは PB への Cs 吸着が最も多かったが、**4 日以降は Mn-Fe PBA の吸着量が PB と同等**になることがわかった³⁾。また、Mn-Fe PBA に吸着した Cs は、他と比べて特異的に脱着しにくく、Cs と Mn-Fe PBA 間の強固な結合が示唆された³⁾。さらに約 50 日にわたってアガロースゲル中の Mn-Fe PBA の Cs 吸着を調べたところ、Mn-Fe PBA は時間経過とともに、ゆっくりとだが着実に Cs を吸着し続け、**50 日時点での吸着能は、最新型の PB/PBA ベースの Cs 吸着剤に匹敵するか、それ以上**ということがわかった⁹⁾。これは、Mn-Fe PBA の Cs 吸着剤としての利用をさらに拡大する成果である。こうした「スローな Cs 吸着」にとともに、Mn-Fe PBA の沈殿帯の連続的な部分も一部、**離散的な沈殿帯に変化し、かつ、沈殿帯を形成する微結晶もサイズが 10 μm を超える大型のものだけ**となった⁹⁾。これらの結果は、これまで全く知られていなかったものであり、「**ゲル中での微結晶の熟成(オストヴァルト熟成)が Cs 吸着能の強化と結びついている**」という、今後の Cs 吸着剤開発における新たな可能性を提示している。一方で、Mn-Fe PBA の Cs 吸着には、**Mn イオンの放出が伴う**ことも判明した⁹⁾。神経細胞に損傷を与える Mn イオンの放出は、事前に想定していなかった結果であり、最終目的である「**自発的に形成された沈殿帯パターンを徐放性製剤に役立てること**」について再考を促している。

(3) XAFS 分光法による Cs まわりの局所構造の推定

XAFS 法により、最適濃度でアガロースゲル中に生成した Mn-Fe PBA の沈殿帯における Mn まわりの局所構造と、吸着された Cs まわりの局所構造について調べたところ、**Mn-Fe PBA の欠陥サイトに、周囲の水分子や K⁺イオンを追い出すような形で Cs イオンが吸着する**ことが示唆された¹⁰⁾。こうした欠陥サイトの重要性は、(2)で示唆されたオストヴァルト熟成との関連においても興味深いものであり、今後のさらなる研究が期待される。

(4) 高分解能・蛍光 X 線分光器の開発

Mn-Fe PBA の沈殿帯を含むゲル試料からの高分解能 MnK スペクトルを実験室で測定可能にする波長分散型・高分解能 X 線分光器(分解能~2.6 eV)の新規開発に成功し、高分解能 MnK スペクトルが、溶液やゲル中に存在する Mn イオンまわりの配位子の違いに敏感なことを立証し

た¹¹⁾。本研究においては、この分光器は主として放射光施設（フォトンファクトリー、つくば市）で3の（4）の実験を行うために調製した試料（アガロース中のMn-Fe PBA 沈殿帯）の、溶液状態を含めた調製の様々な段階における、実験室での化学状態分析に使われた。

参考文献

1. H. Hayashi, H. Abe, *J. Anal. At. Spectrom.*, **31**, 1658 (2016).
2. H. Hayashi, M. Takaishi, *Anal. Sci.*, **35**, 651 (2019).
3. H. Hayashi, Y. Sato, S. Aoki, M. Takaishi, *J. Anal. At. Spectrom.*, **34**, 979 (2019).
4. H. Hayashi, "Chemical Effects in Hard X-ray Photon-In Photon-Out Spectra," in R. A. Meyers 編 "Encyclopedia of Analytical Chemistry," (2014) 1, John Wiley: Chichester.
5. H. Hayashi, S. Aoki, T. Suzuki, *RSC. Adv.*, **9**, 36240 (2019).
6. H. Hayashi, T. Suzuki, *Appl. Sci.*, **11**, 5000 (2021).
7. H. Hayashi, *Front. Phys.*, **10**, 828444 (2022).
8. H. Hayashi, *Front. Phys.*, **11**, 1114106 (2023).
9. H. Hayashi, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **24**, 9374 (2022).
10. H. Hayashi, S. Aoki, M. Takaishi, Y. Sato, H. Abe, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **21**, 22553 (2019).
11. H. Hayashi, M. Takaishi, *Anal. Sci.*, **36**, 1197 (2020).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 9件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Hisashi Hayashi	4. 巻 11
2. 論文標題 Periodic Band Formation of Fe(OH) ₃ Precipitate through Reaction-Diffusion-Reaction Processes	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Physics	6. 最初と最後の頁 1114106-1 ~ 15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fphy.2023.1114106	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Hayashi Hisashi	4. 巻 10
2. 論文標題 Precipitation Patterns in Reaction-Diffusion-Reaction Systems of Prussian Blue and Cu-Fe-Based Prussian Blue Analogs	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Physics	6. 最初と最後の頁 828444-1 ~ 10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fphy.2022.828444	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Hayashi Hisashi	4. 巻 24
2. 論文標題 Cs sorption of Mn-Fe based Prussian blue analogs with periodic precipitation banding in agarose gel	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Physical Chemistry Chemical Physics	6. 最初と最後の頁 9374 ~ 9383
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d2cp00654e	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Hayashi Hisashi, Suzuki Tomoko	4. 巻 5
2. 論文標題 A Reaction-Diffusion-Reaction System for Forming Periodic Precipitation Bands of Cu-Fe-Based Prussian Blue Analogues: A Recent Study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 New Innovations in Chemistry and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 18 ~ 36
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.9734/bpi/nicb/v5/14555D	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hayashi Hisashi、Suzuki Tomoko	4. 巻 11
2. 論文標題 A Reaction-Diffusion-Reaction System for Forming Periodic Precipitation Bands of Cu-Fe-Based Prussian Blue Analogues	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Applied Sciences	6. 最初と最後の頁 5000-1 ~ 18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/app11115000	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 HAYASHI Hisashi、TAKAISHI Mao	4. 巻 36
2. 論文標題 Highly Resolved Mn K Emission: A Potential Probe in Laboratory for Analysis of Ligand Coordination around Mn Atoms in Gels and Solutions	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Analytical Sciences	6. 最初と最後の頁 1197 ~ 1202
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.20P088	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hayashi Hisashi、Aoki Saya、Takaishi Mao、Sato Yui、Abe Hitoshi	4. 巻 21
2. 論文標題 An XAFS study of Cs adsorption by the precipitation bands of Mn-Fe-based Prussian blue analogues spontaneously formed in agarose gel	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Physical Chemistry Chemical Physics	6. 最初と最後の頁 22553 ~ 22562
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C9CP03661J	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hayashi Hisashi、Aoki Saya、Suzuki Tomoko	4. 巻 9
2. 論文標題 Spontaneous precipitation pattern formation by crystallites of Mn-Fe-based Prussian blue analogues in agarose gel	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 RSC Advances	6. 最初と最後の頁 36240 ~ 36247
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/c9ra07960b	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 HAYASHI Hisashi、TAKAISHI Mao	4. 巻 35
2. 論文標題 Low-Cost, High-Performance Sample Cell for X-Ray Spectroscopy of Solutions and Gels Made from Plastic Straw	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Analytical Sciences	6. 最初と最後の頁 651 ~ 357
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.18P538	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hayashi Hisashi、Sato Yui、Aoki Saya、Takaishi Mao	4. 巻 34
2. 論文標題 In situ XRF analysis of Cs adsorption by the precipitation bands of Prussian blue analogues formed in agarose gels	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Analytical Atomic Spectrometry	6. 最初と最後の頁 979 ~ 985
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C9JA00025A	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

[学会発表] 計2件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 林 久史
2. 発表標題 ゲル中に生成したMn-Fe プルシアンブルー類似体の特異なCs吸着のX線分析
3. 学会等名 第58回X線分析討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 青木 彩, 佐藤由衣, 高石麻央, 林 久史
2. 発表標題 プルシアンブルー類似体の沈殿帯によるCs吸着のin situ 蛍光X線分析
3. 学会等名 第55回X線分析討論会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------