

メソポーラスシリカのインテリジェント機能化： 光応答性 DDS への試み

独立行政法人産業技術総合研究所
セルエンジニアリング研究部門人工細胞研究グループ

藤原 正浩

Mesoporous Silica with Intelligent Function: An Approach to Photo-Responsive DDS

Masahiro Fujiwara

Artificial Cell Research Group, Research Institute for Cell Engineering (RICE),
Kansai Center, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST-Kansai)

1. はじめに

シリカ（ゲル）は人類と最もなじみの深い材料の一つであり、ガラス材料、吸着剤等の実用品が多数存在しているにもかかわらず、未だに活発な研究開発の対象となっている特異な素材である。近年シリカ研究が活況な要因の一つとして、界面活性剤や類似体を用いた界面化学の進歩やナノテクノロジーに代表される精密加工技術の進展を挙げることができる。特に、界面活性剤を鋳型として合成されるシリカや類似の無機材料は、構造がナノレベルで制御された新しい素材を提供している。MCM-41 等に代表されるヘキサゴナル・メソポーラスシリカは、この界面活性剤を鋳型として合成されるシリカの代表例である¹⁾。この新しいシリカ系材料の発見当初は、類似の無機化合物の合成や触媒担体への応用について研究がなされていたが、その後は数ナノメートルという特異な空間の利用

に研究が展開している。例えば、有機化合物の重合やナノ微粒子の調製等の反応場²⁾として、あるいは有機基を修飾することによる重金属の選択的捕捉剤³⁾等として応用されるようになった。

化学物質を、必要に応じた形で供給する技術は一般にはコントロール・リリース・システムと呼ばれ、この化学物質が薬物の場合はドラッグデリバリーシステム（DDS）と呼ばれる。当初の DDS は薬物をゆっくりと放出する、すなわち徐放性が研究対象であった。しかしながら、近年は薬物のある特定の部位（例えば癌細胞）にのみ運搬するターゲティング型の DDS が強く求められ、研究開発が急速に進展している。このインテリジェントな DDS についてはすぐれた成書があるので、参照していただきたい⁴⁾。

一方、シリカ（ゲル）もこの DDS の材料として注目され始めている。その理由は例えば、次にあげるようなシリカの特性による⁵⁾。

- 多孔性である（ナノサイズの細孔を持つ）
- 微生物による攻撃を受けづらい

〒563-8577 大阪府池田市緑丘 1-8-31
TEL 072-751-9253（直通）、072-751-8376（代表）
FAX 072-751-9628
E-mail: m-fujiwara@aist.go.jp

- 膨潤による細孔構造の変化を受けない
- 低温合成が可能（生体物質の共存が可能）
- 生体適合性が高い
- 不安定物質（酵素等）の貯蔵性が高い

ゾルゲル法は比較的穏和な条件下（中性に近く室温）で行えるため、薬物やタンパク質等を共存させながらシリカを合成することができる。これにより、薬物はシリカマトリックスに取り込まれ、薬物内包シリカが得られる。この材料による DDS が、初期のシリカによる例である⁶⁾。しかしながらこのシリカでは、徐放性 DDS は実現できても、インテリジェントな DDS は行えない。そこで、規則正しい細孔構造を持つヘキサゴナル・メソポーラスシリカが用いられることとなる。

2. ヘキサゴナル・メソポーラスシリカによる DDS

ヘキサゴナル・メソポーラスシリカは、内部にはほとんどの低分子量化合物を内包でき、その細孔構造が規則正しいため、シリカ材料の中でも、特に高機能な DDS が期待できる。このヘキサゴナル・メソポーラスシリカを用いた DDS の最初の報告は、非修飾の MCM-41 の細孔内部に、解熱剤であるイブプロフェンを内包させた徐放性能に関するものであった⁷⁾。MCM-41 は、数ナノメートルの細孔径に対し、細孔の長さは通常は 100 ナノメートルを越えるものであり、内包物の徐放は十分に期待される。この場合、完全にイブプロフェンを放出するには約 80 時間を要しており、高い徐放機能が確認された。その後、同グループにより細孔内部にアミノプロピル基等を導入することによる徐放速度の制御も検討されている⁸⁾。しかしながら、これらの場合、メソポーラスシリカの細孔には特別な機能は付与されておらず、単なる拡散による徐放だけである。

DDS では、薬物等を放出する場所やタイミングを制御するインテリジェントなシステムが

求められていることはすでに述べた。この仕様に対しても、ヘキサゴナル・メソポーラスシリカの細孔の持つ特徴は、他の材料よりも優れている。すなわち、内包した化学物質の放出を制御するには、何らかの方法で細孔を塞ぐ等の操作が必要であるが、ヘキサゴナル・メソポーラスシリカの場合、細孔の大きさがよく揃っているため、全ての細孔を一つの方法で塞ぐことが可能であると考えられる。普通のシリカ(ゲル)では細孔の大きさが著しく異なるため、一つの方法で全ての細孔を塞ぐことは困難であり、たとえ塞ぐことができて、その塞いだ細孔を効果的に開放させて内包物を放出させることは難しいと考えられるからである。

3. ヘキサゴナル・メソポーラスシリカによる光応答性 DDS

筆者らは、このヘキサゴナル・メソポーラスシリカに内包された化学物質の DDS に、外部からの刺激に可逆的に応答できる機能を付与することを試みた。これにより、単なる徐放ではなく応答性放出が可能になる。そのためには、ヘキサゴナル・メソポーラスシリカの細孔に応答性能を持つ「ドア」を施す必要がある。今回筆者らは、その「ドア」として波長の異なる紫外線の照射で可逆的に二量化するクマリンという化合物を選んだ（図 1）。このクマリン基の二量化反応を細孔の出口で行うことができれば、ヘキサゴナル・メソポーラスシリカの細孔に光で可逆的に開閉する観音開きの分子の「ドア」を施したことになる（図 2）。そして、この分子の「ドア」の開閉により、細孔内の化学

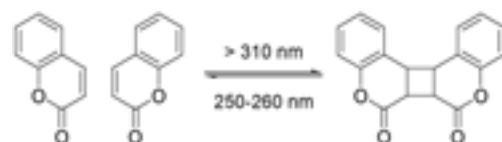


図 1 クマリンの光二量化反応

物質の拡散を光でオン・オフ的に制御できる技術を創出できる。このようなコンセプトのもとで行った筆者らの研究成果を以下に紹介する^{9),10)}。

ヘキサゴナル・メソポーラスシリカの細孔空間を有効に化学物質の内包機能に用い、その内包・貯蔵と放出を効率よく実現するには、クマリン基はできるだけ細孔の出口近傍にのみ修飾して、細孔内部には修飾しない方が有効であると筆者らは考えた。そこで、このクマリン基の修飾方法を種々試みた結果、クマリン基のヘキサゴナル・メソポーラスシリカ上での配置が、その光二量化の反応性を規定し、その結果 DDS 機能に対しても決定的な要因となることがわかった。ヘキサゴナル・メソポーラスシリカは界面活性剤を鋳型として調製されるため、まず細孔内に界面活性剤を内包した as-Synthesized と呼ばれるサンプルが得られることとなる。今回検討した方法で最も良いコントロー

ル・リリース機能を持ったサンプルは、クマリン基を修飾するプロセスを、この界面活性剤を含んだ as-Synthesized の MCM-41 を用い、かつこのプロセスを短時間（15分程度）行って得られるものであった（サンプル1）。図3には、種々のクマリン基含有シラン化合物の MCM-41 表面へのグラフトプロセスを示す。クマリン基含有シラン化合物は、まず MCM-41 の外表面に修飾され、その後、細孔内に詰まっている界面活性剤を細孔出口から徐々に取り除きながら、修飾されるものと考えられる。このプロセスを長時間行うと、用いた溶媒により界面活性剤がほとんど除去されて、クマリン基含有シラン化合物が細孔の奥の方にまで入り込み、結果として細孔内部も修飾されることとなる。短時間での修飾プロセスの場合、界面活性剤は細孔出口近傍のみが除去され、その除かれた場所にクマリン置換基が修飾されると期待される（図4）。比較のため as-Synthesized-MCM-41 を用いながらも、このグラフトプロセスが22時間のもの（サンプル2）、界面活性剤を焼成で除去した MCM-41 を用いて短時間のグラフトで合成したもの（サンプル3）、テトラエトキシシランとクマリン基含有シラン化合物からワンポットで合成されたもの（サンプル4）も調製し、これらのサンプルによる光二量化挙動、ドラッグデリバリー挙動を比較し

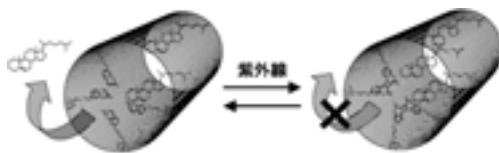


図2 クマリン基を修飾したヘキサゴナル・メソポーラスシリカによる光応答性 DDS の概念図

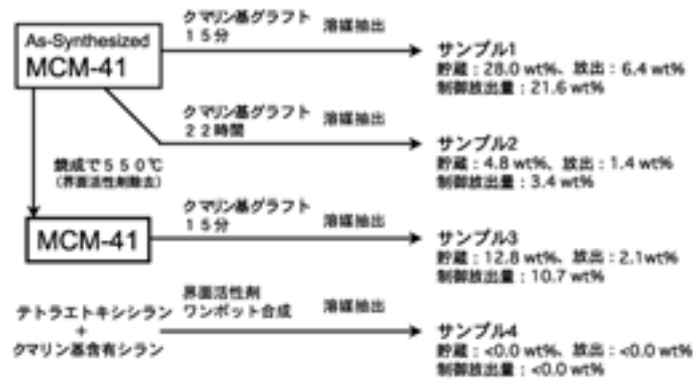


図3 検討した種々のクマリン基のヘキサゴナル・メソポーラスシリカ上への修飾方法

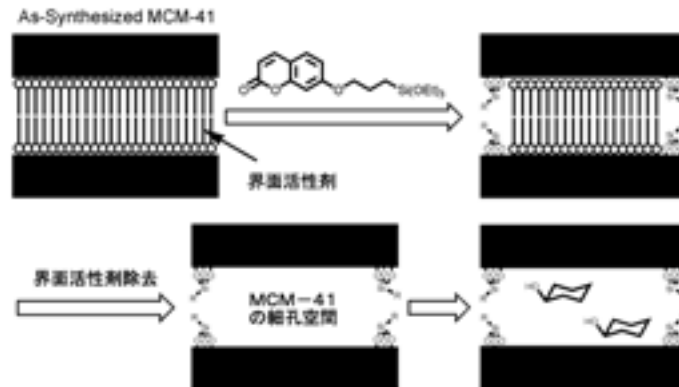


図4 サンプル1で想定されるクマリン基のヘキサゴナル・メソポーラスシリカ上への修飾

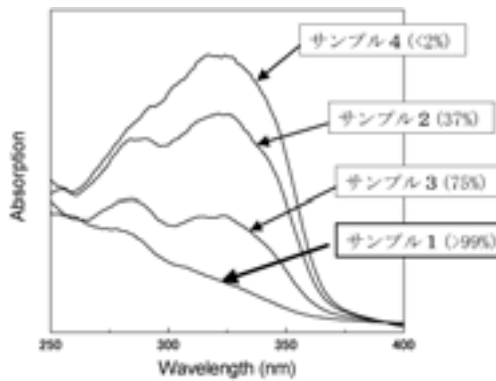


図5 紫外線照射後のサンプル1~4の紫外線吸収スペクトル (括弧内は、光二量化的割合)

た。なお、これらのサンプルでのクマリン基のグラフト量は4~6 wt%である。この4つのサンプルの光二量化、すなわち分子「ドア」の閉まる挙動を、クマリンが光二量化する紫外線を十分な時間(200分)照射した後の紫外線スペクトルと比較した。クマリンのモノマーに由来する320 nmの吸収が減少すれば、それだけ光二量化反応が進行したことになる¹¹⁾。図5に示すように、サンプル1では320 nmの吸収は消失し、完全にクマリンは二量化することが示された。一方、サンプル2や3では、この吸収は完全にはなくならず、二量化反応の進行は抑制されていた。さらに注目すべきことに、サ

ンプル4では320 nmの吸収は減少せず、光二量化反応が全く進行しないことがわかった。このような違いは、以下のように説明できる。すなわち、サンプル1ではクマリン基はMCM-41上に密集して存在しているため、隣のクマリン基との距離が十分に近く、光二量化反応を完全に起こすことができる。サンプル2や3ではクマリン基の密集性は十分ではなく、完全には二量化は起こらない。一方、サンプル4では、全てのクマリン基はMCM-41の表面(細孔内外)に高分散に存在し、隣のクマリン基との距離が離れすぎているため、二量化反応が全く進行しなかったものと考えられる(図6)。

上述の光二量化反応の違いが、化学物質のドラッグデリバリー機能にどのような影響を与えるかを、次に検討した。細孔内に内包・貯蔵され放出される化学物質としては、生体内でホルモン等の重要な役割を持ち、分子の大きさがよく知られているステロイド化合物の一つであるコレステタンを用いた。このドラッグデリバリー実験の概念図を図7に示す。まず、コレステタンをクマリン修飾ヘキサゴナル・メソポーラスシリカ(サンプル1~4)の細孔内に導入し、このサンプルに長波長(310 nm以上)の紫外線を照射して分子の「ドア」を閉めた。その後、十分な溶媒洗浄を行い、「ドア」が閉まった細

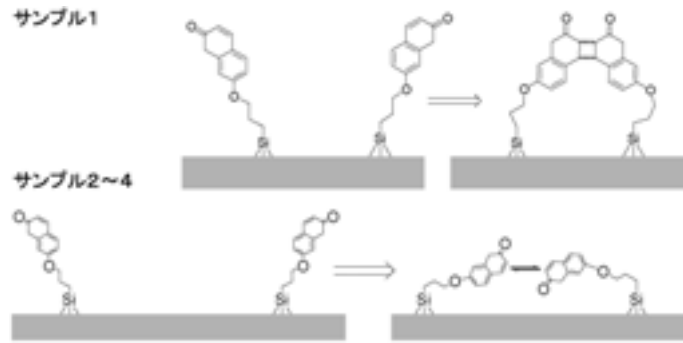


図6 サンプル1~4におけるクマリンの光二量化挙動の違い

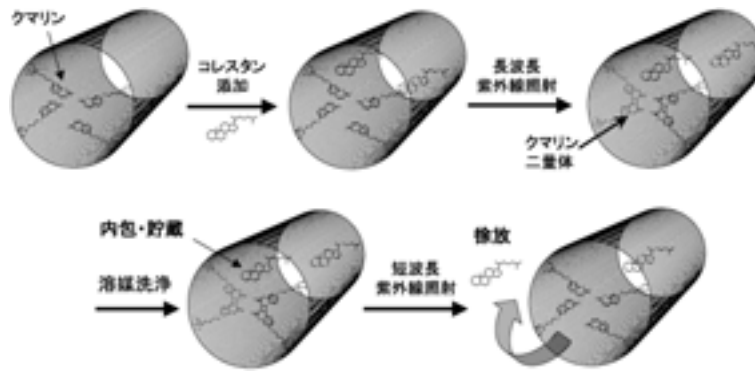


図7 クマリン修飾メソポーラスシリカによる光応答性 DDS

孔内に貯蔵されたコレステロンの量を定量した。サンプル1では、約28 wt%分（全サンプル重量に対し）が細孔内部に残存している計算となった。次に、この材料に短波長の紫外線（250~260 nm）を数分間照射してクマリン二量体を開裂させて分子の「ドア」を開き、十分に溶媒洗浄した後、溶出したコレステロンの量を測定した。サンプル1では内包されていたものの78%（全重量に対し約22 wt%分）が放出されていた。すなわち、この22 wt%分のコレステロンは、照射でクマリンが二量化して細孔出口の分子「ドア」がふさがれたことによりMCM-41細孔内に閉じ込められていたものが、別の光でクマリン二量体が開裂して「ドア」が開くことで外部へと放出されたものと考えら

れる。一方、同様のドラッグデリバリー実験を他のサンプルを用いて行くと、サンプル2では4.8 wt%を貯蔵、照射後3.4 wt%を放出、サンプル3では12.8 wt%を貯蔵、照射後10.7 wt%を放出と、内包・貯蔵できるコレステロンの量が減少し、したがって照射で放出される量も少なくなった。さらに、ワンポット合成で得られたサンプル4では、コレステロンを吸着させた後に紫外線照射し再び溶媒でよく洗浄した場合、コレステロンは全て洗い流されて細孔内に閉じ込めて貯蔵することは全くできなかった。サンプル1ではそれぞれのクマリンは二量化できるため、分子の「ドア」が閉じることができるが、サンプル4では二量化反応は全く進行しないため分子「ドア」は閉じず、

細孔内部にコレスタンを貯蔵できなかったものと考えられる。このように、光二量化するクマリン基の有効なグラフトにより、光応答性の内包化学物質の放出を完全に制御することが可能となった。

4. 今後の展望

筆者らの報告の後、メソポーラスシリカを用いた DDS に関するすぐれた研究報告がなされ始めている。例えば、ある米国の研究グループは、MCM-41 の細孔に硫化カドミウムのナノ微粒子の「フタ」をして内包物を閉じ込めておき、外部からの化学物質の刺激によりこの「フタ」を取り除き、内包物を徐放するという技術を報告した¹²⁾。別のグループは、メソポーラスシリカを温度応答性を持つポリイソプロピルアクリルアミドで包み込むようにグラフトすることで、温度変化の刺激により内包物の放出を制御できる報告をした¹³⁾。また、還元剤に応答した“ナノバルブ”による DDS¹⁴⁾、光制御によりヘキサゴナル・メソポーラスシリカの細孔径を変化させることも試みられている¹⁵⁾。このように、ヘキサゴナル・メソポーラスシリカ類の DDS への応用研究は、急速に発展している。また、今回紹介したシステムは、剛直な構造を持つシリカに、応答性能を持つ有機基を精緻に設計して複合化すれば、これまでにはなかった新しい機能を創出できることを示したことになる。すなわち、MCM-41 の細孔を「ドア枠」とし、クマリン基に分子の「ドア」としての役割を与えた分子・ナノマシンである。今後、このような発想のもと、新たなナノ機能材料が創出されることも期待される。

参考文献

1) C. T. Kresge, M. E. Leonowicz, W. J. Roth, J. C.

- Vartuli, J. S. Beck, *Nature*, **359**, 720 (1992); J. S. Beck, J. C. Vartuli, W. J. Roth, M. E. Leonowicz, C. T. Kresge, K. D. Schmitt, C. T. W. Chu, D. H. Olson, E. W. Sheppard, S. B. McCullen, J. B. Higgins, J. L. Schlenker, *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 10834 (1992).
- 2) K. Moller, T. Bein, *Chem. Mater.*, **10**, 2950 (1998).
- 3) J. Y. Ying, C. P. Mehnert, M. S. Wong, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **38**, 56 (1999).
- 4) インテリジェント材料・システムフォーラム編, “インテリジェント材料・技術の最新開発動向”, シーエムシー出版, 2003年4月.
- 5) T. K. Jain, I. Roy, T. K. De, A. Maitra, *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 11092 (1998).
- 6) E. M. Santos, S. Radin, P. Ducheyne, *Biomaterials*, **20**, 1695 (1999); P. Kortesus, M. Ahola, M. Kangas, I. Kangasniemi, A. Yli-Urpo, J. Kiesvaara, *Int. J. Pharm.*, **200**, 223 (2000).
- 7) M. Vallet-Regi, A. Ramila, R. P. del Real, J. Perez-Pariente, *Chem. Mater.*, **13**, 308 (2001).
- 8) B. Munoz, A. Rimila, J. Pérez-Pariente, I. Dkz, M. Vallet-Regk, *Chem. Mater.*, **15**, 500 (2003).
- 9) N. K. Mal, M. Fujiwara, Y. Tanaka, *Nature*, **421**, 350 (2003).
- 10) N. K. Mal, M. Fujiwara, Y. Tanaka, T. Taguchi, M. Matsukata, *Chem. Mater.*, **15**, 3385 (2003).
- 11) Y. Chujo, K. Sada, T. Saegusa, *Macromolecules*, **23**, 2693 (1990).
- 12) C. Y. Lai, B. G. Trewyn, D. M. Jeftinija, K. Jeftinija, S. Xu, S. Jeftinija, V. S.-Y. Lin, *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 4451 (2003).
- 13) Q. Fu, G. V. R. Rao, L. K. Ista, Y. Wu, B. P. Andrzejewski, L. A. Sklar, T. L. Ward, G. P. López, *Adv. Mater.*, **15**, 1262 (2003).
- 14) R. Hernandez, H.-R. Tseng, J. W. Wong, J. F. Stoddart, J. I. Zink, *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 3370 (2004).
- 15) N. Liu, Z. Chen, D. R. Dunphy, Y.-B. Jiang, R. A. Assink, C. J. Brinker, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **42**, 1731 (2003).