メソポーラスシリカを用いた光応答性ドラッグデリバリー

藤原 正浩

国立研究開発法人産業技術総合研究所 化学プロセス研究部門 (〒983-8551 宮城県仙台市宮城野区苫竹4-2-1)

Photo Responsive Drug Delivery System (DDS) Using Mesoporous Silica

Masahiro FUJIWARA

National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (RICPT), 4-2-1 Nigatake, Miyagino-ku, Sendai, Miyagi 983-8551

(Received June 9, 2017)

Targeted drug delivery system (DDS) triggered by photo irradiation is described in this paper. A mesoporous silica with a coumarin substituent grafted to the outlet region can store a drug molecule in its mesopore, when the coumarin is dimerized by the irradiation of longer wavelength UV light to close the gate of the mesopore. The drug molecule carried to target part can be released from the mesopore by the cleavage of the coumarin dimer triggered by the irradiation of shorter wavelength UV light. The continuous photo isomerization of azobenzene induced by the simultaneous irradiation of UV and visible light promotes the release of a drug molecule from the mesopore. Double modified mesoporous silica with the coumarin and the azobenzene substituents realizes an advanced targeted drug delivery. Using this silica, both the release and the release rate of drug molecule in the mesopore can be controlled by photo irradiations.

Key Words: Targeted drug delivery, Mesoporous silica, Photo chromism, Coumarin, Azobenzene

1. はじめに

物質の拡散や輸送を任意に制御する技術として「コントロールドリリリース」という概念が定着しつつある。化学物質の拡散制御を通じて使用量やリスクを軽減し、その有用性を高める技術である。このコントロールドリリリースの対象物質を薬物・薬剤にした技術がドラッグデリバリーシステム、DDSである。すなわち、体外から投入された薬物の体内での薬効を十分に発揮させつつ、使用量の軽減や副作用の抑制等をもたらす技術である。このDDSは、深刻な副作用により使用が禁止されるような薬物も、使用ができるようにする可能性を持っている。

一般にDDSは、「放出制御型」と「標的型」に大別することができる¹⁾。前者の代表的な機能は、薬効は発現しつつ副作用は起きない程度に体内での薬物の濃度を調節するものであり、その方策として薬物の放出速度を徐放的に制御する。一方、後者の標的型DDSは、薬物を必要とする部位にのみ選択的に送達する技術である。この薬物デリバリーの標的化には主に二つの手法がある。一つは、目的とする部位までは薬物を運搬キャリア中に保持して放出せず、目的部位に送達した後は自動的に放出する機能である。例えば、抗がん剤をがん細胞までキャリア等で運び、がん細胞中で始めて放出するというものである²⁾。もう一つは、薬物をキャリア内部に閉じ込めて

おき、外部からの何らかの指示・刺激により薬物を放出させる機能である³⁾。この方法は、薬物を体内に注入した後においても薬物の放出場所やタイミングを任意に制御できるため、薬物利用の自由度が高い。外部からの刺激(トリガー)としては、光、熱や磁場等が研究されているが、その中でも光のトリガーは、照射を行う時間(タイミングや長さ)、場所や面積を自在に制御できる特徴がある。しかも、照射時間は1秒以下で、照射する場所や面積もミリメートル以下で厳密にコントロールすることもできる。このように、標的型DDSに光照射をトリガーとして利用することの有効性は高い。

筆者らは、シリカ等の多孔性材料の細孔内に薬物を含む種々の化学物質を充填し、この化学物質の細孔外部への拡散・放出を制御する技術を研究してきた^{4,5)}。一例として、ゼオライトのサイズ1 nm以下の細孔出口を閉塞することで、水素や酸素を細孔内に閉じ込めて貯蔵できることを見出している^{6,7)}。ゼオライトの細孔は薬物等の比較的大きな分子を充填するには小さすぎるが、細孔径が2 nm以上のメソポーラス材料内への導入は可能であり、DDSへの利用も期待できる。本稿では、このメソポーラス材料内に充填した薬物等化学物質の細孔外への放出を、光照射によって制御する技術に関し、筆者らの研究成果を中心に解説する。

2. メソポーラスシリカを用いたDDS

物質内部に形成される微小空間である細孔は、そのサイズを元にIUPAC(国際純正・応用化学連合)によって分類されている。サイズが2-50 nmの細孔はメソ孔と定義されており、多くのモノマー分子より大きいサイズであるため内部にそれらを充填することが可能である。シリカも一般に細孔を持つ多孔性材料であり、内部の微小空間に様々な化学物質を包含できるため、DDSキャリアとしての可能性を持つ。特に規則性の高いメソ細孔を有するシリカ材料は、細孔内や細孔内外間での物質拡散や輸送の制御に適しており、精緻なDDSが実現できる可能性が高い。この細孔に高い規則性を有するシリカ材料としては、界面活性剤ミセルを鋳型として細孔を構築するメソポーラスシリカが知られている^{8,9)}。その合成法は界面活性剤共存下でシリカを形成させるもので、まず界面活性剤とシリカとのナノ複合体(As-Synthesized体)を得る。この際、界面活性剤はミセル状態でシリカ中に存在し、シリカの構造を維持しながら界面活性剤を除去して得られる空間はミセルの痕跡となるため、サイズ、構造や配置は規則性を持ったものになる。例えば、界面活性剤の直径約3 nmの円柱棒状ミセルが2Dヘキサゴナルで配列したシリカとの複合体からミセルを除去すると、界面活性剤ミセルに由来した蜂の巣のように配列した径サイズも良く揃った細孔を持つメソポーラスシリカを合成することができる。その代表例がMCM-41^{6,7)}であり、細孔径約3 nmのほぼ独立した筒状細孔が規則正しく配列している。この一次元で規則性の高い微小空間は、化学物質の放出や拡散を精緻に制御できると期待できる。

メソポーラスシリカをDDSに応用した研究の最初の例として、MCM-41の細孔内に導入したイブプロフェンの水溶液中への徐放挙動が報告されている¹⁰⁾。細孔内に導入されたイブプロフェンの完全な放出には約80時間を要し、薬物を緩慢に放出する徐放性能が確認された。ここに用いたMCM-41の細孔径は、イブプロフェン分子(1.0 × 0.6 nm)と比較しても狭隘な約2.5 nmで、一次元の筒状構造である。細孔内部にイブプロフェン分子が入ることで細孔は一定程度閉塞され、細孔内での自由な分子運動はかなり制約される。この効果によりイブプロフェンの細孔外への放出が緩慢なものになったと考えられる。MCM-41の表面にアミノ基を持つ置換基を修飾すると、徐放速度は上述の非修飾体と比べさらに遅くなることも見出され¹¹⁾、メソポーラスシリカの徐放型DDSへの可能性とシリカ表面への置換基の修飾による放出制御への効果も認められている。

3. メソポーラスシリカによる光応答性DDS

アゾベンゼン化合物は、波長の短い光(主に紫外線)によりトランス体がシス体へ、波長の長い光(主に可視光)によりシス体がトランス体へと光異性化する(Fig. 1)。この反応は可逆的に起こり、応答性もピコ秒スケールと極めて速い。アゾベンゼンのトランス体とシス体間で

Fig. 1 Photo isomerization of azobenzene.

は、分子長がシス体の方が約0.3-0.4 nm短い。この差はわずかではあるが、メソポーラスシリカの細孔のような数 nmレベルの微小空間内では意味のあるものとなる。この分子長変化を用いての、メソポーラスシリカからの化学物質の放出挙動を制御する研究が報告されている¹²⁻¹⁴⁾。メソポーラスシリカ全面にアゾベンゼン基を有する置換基を修飾し、モニターする化学物質を細孔内に導入後、アゾベンゼン基の状態を光照射でトランス体あるいはシス体に固定し、その際のモニター物質の放出挙動が分析された¹²⁾。その結果、紫外線照射下での物質放出速度は、光照射のない場合と比べ速くなることが観測された。紫外線照射でアゾベンゼンがシス体に固定され、アゾベンゼン部の分子長を短くし、細孔の実質的なサイズを狭げることによって細孔内の拡散速度が向上したためと考えられる。可視光照射でアゾベンゼンをトランス体に戻すと放出速度は遅くなり、再び紫外線を照射すると放出は速くなる。この放出速度の変化は何度も繰り返し起こすことができる¹³⁾。このように、シリカ表面に修飾された有機分子の形態を光で変化させることで、細孔からの物質放出が制御できることも確認された。

4. クマリン・ゲートを修飾したメソポーラスシリカによる標的型DDS

上述のアゾベンゼン修飾メソポーラスシリカの細孔出口は開け放たれた状態である。そのため、薬物の放出速度を変化させることはできるものの、放出そのものを停止させることはできない。標的型DDSでは、目的部位へ送達するまでは薬物は放出しない必要があり、そのためには細孔出口を何らかの方法で閉塞することが必要となる。サイズが数 nm以上の大きなメソ細孔を全て塞ぐことは容易ではないが、細孔サイズが十分に揃っているメソポーラスシリカの場合、一種類の有機分子の「フタ」で全細孔の出口を塞ぐことができ、細孔内からの薬物の放出を完全に停止できると考えられる。

筆者らは、このメソポーラスシリカ細孔出口に有機基の架橋構造を構築することが細孔の「フタ」として機能し、この架橋構造の有無で薬物の放出を決めることができると考えた。そしてこの架橋構造の形成を光照射で可逆的に制御できれば、細孔を「開閉」する光応答性の「ゲート」となる。このメソポーラスシリカ細孔に光応答性の可逆的な架橋構造・ゲートを作るため、光二量性化のクマリン化合物に注目した。クマリン化合物はFig. 2に示すように、長波長の紫外線により二量化し、短波長の紫外線で二量体が開裂して単量体になる。この反応は可逆的に起きる。そこで、このクマリン基を含有

Fig. 2 Photo dimerization of coumarin.

する置換基をメソポーラスシリカに修飾し、細孔に内包された化学物質の放出停止(貯蔵)と放出開始を光で制御する材料の創出を試みた。この材料では、クマリン基が二量化して架橋構造を作った場合には細孔は「閉」になり、細孔内の薬物は外部に放出されず貯蔵される。一方、クマリン基が二量化しておらず架橋構造がない場合には細孔は「開」になり、細孔内薬物は外部へと放出される。すなわち、Fig. 3に示すような光照射をトリガーとした標的型DDSが実現されるのである^{15,16)}。

ところで、メソポーラスシリカ中の薬物充填量を多くするためには、クマリン基のゲートは細孔出口部分にのみ修飾し、細孔内部は薬物充填に利用する方が望ましい。また、クマリン基が細孔出口に密集することで、光二量化も起きやすくなる。クマリン基を細孔出口に修飾するためには、修飾に用いるクマリン化合物のメソポーラスシリカ細孔内への進入を抑制する必要がある。そこで筆者らは、界面活性剤が充填されている複合体(As-Synthesized体)を用い、さらに、この複合体のクマリン化合物修飾用溶液への浸漬時間を極力短くし(約15分)、溶媒を留去した粉体を加熱処理することでクマリン基を修飾することにした。こうして得られたクマリン修飾メソポーラスシリカに、クマリン基が光二量化を起こす波長310 nm以上の紫外線を約200分間照射するとクマリンに由来する320 nmの吸収がほぼ消失し、クマリンの二量化反応が進行した(Fig. 4)。しかしながら、界面活性剤を除去したメソポーラスシリカを用いて合成した、あるいはクマリン化合物溶液の浸漬時間を長くして(22時間)合成した材料では、クマリンの二量化反応は十分には進行しなかった。これは、クマリン置換基がメソポーラスシリカ表面上に分散して修飾され、光二量化できなかったためと考えられる。

上記の光二量化が完全に進行するメソポーラスシリカにモデル薬物としてコレスタン(ステロイド化合物の一つ)を導入し、その後波長310 nm以上の紫外線を照射し

Fig. 3 Concept of photo responsive DDS with coumarin-modified mesoporous silica.

Fig. 4 Diffused reflection UV-Vis spectra of coumarin-modified mesoporous silica under UV irradiation (> 310 nm).

た。クマリンは完全に光二量化し、細孔出口のクマリン・ゲートを「閉」状態にした。このクマリン修飾メソポーラスシリカを十分量の溶媒で洗浄し、コレスタンの除去を行った。コレスタンの溶媒への溶解、脱離はあるものの、全サンプル重量に対し約28%のコレスタンは除去されず、材料内に残留した。この除去出来ないコレスタンは、クマリン・ゲートが閉じたことで細孔内に貯蔵されたものと考えられる(Fig. 3 左)。このコレスタン貯蔵クマリン修飾メソポーラスシリカに、クマリン二量体が開裂する短波長紫外線(250–260 nm)を照射し、その後もう一度溶媒洗浄すると、細孔内に貯蔵されたと考えられるコレスタンの約78%が外部へと放出された(Fig. 3 右)。短波長紫外線の照射によりクマリン・ゲートが「開」状態になり、細孔内に貯蔵されたコレスタンを放出できるようになったのである。これらの結果から、メソポーラスシリカの細孔出口に修飾したクマリン・ゲートを光照射で開閉することによって、細孔内の薬物の「貯蔵」と「放出」を制御できることを見出した。この機能は、紫外線照射を薬物放出のトリガーとした標的型DDSを可能にするものである。

5. メソポーラスシリカ細孔からの薬物放出の光照射による促進

上記のように、メソポーラスシリカの細孔出口に修飾したクマリン基のゲート作用によって、細孔内部の薬物の貯蔵と放出を光照射によって制御できることがわかった。しかしながら、ゲートが開いた後の細孔からの薬物の放出は濃度勾配による拡散であり、その速度を調節することはできていない。高性能な標的型DDSでは、薬物を目的とする部位まで放出しないと共に、目的部位に送達後の薬物放出挙動も同時に制御されるべきであろう。

筆者らはその後の研究により、薬物の放出速度の制御に対し、アゾベンゼンの光異性化が有効であることを見

出した。すでに述べたように、メソポーラスシリカに修飾したアゾベンゼン基に、アゾベンゼンをシス体に固定する光を照射することで、メソポーラスシリカの実質的な細孔を拡げて放出性を良くすることはできる。しかし、この場合の放出も依然濃度勾配による拡散で起こるものでしかない。一方、筆者らは、アゾベンゼンのトランス体からシス体、シス体からトランス体への正逆両方の光異性化を起こす紫外線と可視光を同時に照射することで、薬物の放出速度を著しく向上させることができることを見出した¹⁷⁾。細孔内部も含めた全表面にアゾベンゼン基を修飾したメソポーラスシリカへモデル薬物であるコレステロールを細孔内に導入し、様々な光照射下でのコレステロールの放出挙動を分析した。このコレステロール放出の経時変化をFig. 5に示す。光を照射しない場合、コレステロールの放出はかなり緩慢であり、500分後においても20%以上のコレステロールが細孔内に残留していた。細孔全面に修飾されたアゾベンゼン基によって拡散は阻害され、細孔からの放出が大幅に制限されたものと考えられる。アゾベンゼンをトランス体へ異性化する可視光照射の場合、光非照射と比べ一定程度の放出速度の増加が見られたものの放出速度は依然遅い。次に、アゾベンゼンをシス体に異性化する紫外線を照射した場合、コレステロールの放出速度の増加が見られた。これはすでに述べた、アゾベンゼン基を紫外線照射によってシス体へ異性化して実質的な細孔サイズを拡げ拡散を起きやすくした効果によると考えられる。しかしながら、200分後においてもコレステロールの放出は完了していない。

一方、このアゾベンゼン修飾メソポーラスシリカに紫外線から可視光の光を照射すると、コレステロールの放出は迅速になり、50分後にはほぼ全てのコレステロールが放出された。紫外線から可視光までの光がアゾベンゼンに同時に照射されることにより、メソポーラスシリカの細孔内ではアゾベンゼンのトランス体・シス体間の連続的な光異性化反応に伴う激しい分子運動が起きることに

Fig. 5 Release profiles of cholesterol from azobenzene-modified mesoporous silica under various photo irradiations.

なる。このアゾベンゼンの分子運動は、近傍に存在するコレステロールの拡散を促し、細孔外への放出を大幅に向上させたものと考えられる。ここではアゾベンゼン基は分子の「ほうき」のように作用し、細孔内のコレステロールを細孔外へと掃き出したということになる (Fig. 6)。アゾベンゼン基の分子運動が空間的にどの範囲にまで影響を及ぼすかはわからないが、直径が3 nm程度の微小空間内では、十分な効果を持つと考えられる。

クマリンの「ゲート」とアゾベンゼンの「ほうき」を併せ持ったメソポーラスシリカも合成することができる。まずクマリンのゲートを界面活性剤含有の複合体を用いてメソポーラスシリカの細孔出口に修飾し、その後、界面活性剤を除去する。このシリカ材料の細孔表面全面にアゾベンゼン基を修飾するのである。この二重に機能化されたメソポーラスシリカを用いれば、薬物の放出開始と放出速度を制御できる標的型DDSが実現できる。薬物を充填したメソポーラスシリカは、目的部位まではクマリンのゲートを閉じて細孔内に薬物を貯蔵して放出しない。そして目的部位にメソポーラスシリカが到達すると、短波長の紫外線によりクマリン・ゲートを開き、内部の薬物を放出可能にする。患部へ薬物を迅速に放出したい場合は、紫外線から可視光までの光を照射する。一方、緩慢な放出が適切な場合は光を照射せず徐放させる。筆者らの二重機能メソポーラスシリカはクマリン基とアゾベンゼン基を用いたが、同様な二重機能化メソポーラスシリカをアゾベンゼンのみを用いて合成することもできる¹⁸⁾。この場合、メソポーラスシリカ細孔のゲートとしては巨大な置換基を持ったアゾベンゼン基を用い、細孔内には比較的小さな置換基を持ったアゾベンゼン基を修飾する。巨大な置換基はトランス体では細孔を塞いで内部の化学物質を放出させないが、光照射でシス体へ異性化させることで、細孔を開放する。開放された細孔からの化学物質の放出速度は、細孔内にあるアゾベンゼンの連続的な光異性化によって制御するのである。

アゾベンゼンの光異性化は様々な分野で活発に応用されているが、そのほぼ全てがアゾベンゼン基をトランス体あるいはシス体に固定して用いるものである。一方、ここで紹介した結果は、アゾベンゼンのトランス体・シス体間の光異性化による「運動」を応用した例であり、アゾベンゼンの光異性化の新しい技術を提供するものである。筆者らはその後、このアゾベンゼンの連続的な光異性

Fig. 6 Image of cholesterol release promoted with azobenzene molecular broom under UV and visible light irradiation.

化の分子運動を、溶媒の流通速度の促進¹⁹⁾、水の膜透過²⁰⁾、および海水淡水化²¹⁾にも応用できることを見出している。詳細は、文献を参照されたい。

6. 最後に

光によって構造を変化する分子は様々な機能を発現することができ、その研究分野は多岐にわたる。光は、照射する時間、場所、面積を自在に制御することができる点で、優れた外部刺激になる。近年は、これらの分子が起こす挙動を「分子マシン」としてとらえ、将来の技術革新の核になるものとして注目されている。本稿で紹介した内容は、その可能性の一端を示しているのかもしれない。このような光で動くナノサイズの機械の、今後のますますの発展が期待される。

謝 辞

本稿に紹介した筆者の成果は、ナワル・キシヨール・マル博士や祝 迎春博士を始め、多くの共同研究者の協力の元、様々な機関からの資金的支援を受けて行ったものである。この場を借りて感謝の意を表す。

参考文献

- 1) 平成22年度特許出願技術動向調査報告書「ドラッグデリバリーシステム(DDS)」, (特許庁, 2011)。
- 2) 原島 秀吉, 秋田 英万, 加藤 くみ子, 石井 武彦, 松村 保広, 片岡 一則: *Drug Delivery System* **29** (2014) 217.
- 3) S. Mura, J. Nicolas, and P. Couvreur: *Nature Mater.* **12** (2013) 991.
- 4) 藤原 正浩: *触媒* **50** (2008) 270.
- 5) 藤原 正浩: *高分子論文集* **67** (2010) 357.
- 6) M. Fujiwara, Y. Fujio, H. Sakurai, H. Senoh, and T. Kiyobayashi: *Chem. Eng. Process. Process Intensif.* **79** (2014) 1.
- 7) M. Fujiwara, Y. Fujio, Y. Sato, H. Sakurai, and I. Kumakiri: *Microporous Mesoporous Mater.* **155** (2012) 34.
- 8) C. T. Kresge, M. E. Leonowicz, W. J. Roth, J. C. Vartuli, and J. S. Beck: *Nature* **359** (1992) 710.
- 9) 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, et al.: *J. Am. Chem. Soc.* **114** (1992) 10834.
- 10) M. Vallet-Regí, A. Ramila, R. P. del Real, and J. Perez-Pariente: *Chem. Mater.* **13** (2001) 308.
- 11) B. Muñoz, A. Rámila, J. Pérez-Pariente, I. Díaz, and M. Vallet-Regí: *Chem. Mater.* **15** (2003) 500.
- 12) N. Liu, Z. Chen, D. R. Dunphy, Y.-B. Jiang, R. A. Assink, and C. J. Brinker: *Angew. Chem. Int. Ed.* **42** (2003) 1731.
- 13) N. G. Liu, D. R. Dunphy, P. Atanassov, S. D. Bunge, Z. Chen, G. P. Lopez, T. J. Boyle, and C. J. Brinker: *Nano Lett.* **4** (2004) 551.
- 14) T. Tanaka, H. Ogino, and M. Iwamoto: *Langmuir* **23** (2007) 11417.
- 15) N. K. Mal, M. Fujiwara, and Y. Tanaka: *Nature* **421** (2003) 350.
- 16) N. K. Mal, M. Fujiwara, Y. Tanaka, T. Taguchi, and M. Matsukata: *Chem. Mater.* **15** (2003) 3385.
- 17) Y. Zhu and M. Fujiwara: *Angew. Chem. Int. Ed.* **46** (2007) 2241.
- 18) S. Angelos, E. Choi, F. Vogtle, L. De Cola, and J. I. Zink: *J. Phys. Chem. C* **111** (2007) 6589.
- 19) M. Fujiwara, M. Akiyama, M. Hata, K. Shiokawa, and R. Nomura: *ACS Nano* **2** (2008) 1671.
- 20) M. Fujiwara and T. Imura: *ACS Nano* **9** (2015) 5705.
- 21) M. Fujiwara: *Desalination* **404** (2017) 79.