

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2009年1月29日 (29.01.2009)

PCT

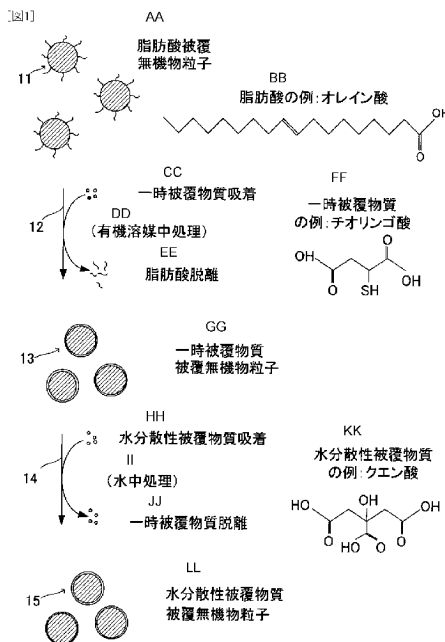
(10) 国際公開番号
WO 2009/014201 A1

- (51) 国際特許分類:
C01G 49/00 (2006.01) *H01F 1/20* (2006.01)
A61K 49/00 (2006.01) *H01F 1/34* (2006.01)
B22F 1/02 (2006.01) *H01F 1/36* (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2008/063361
- (22) 国際出願日: 2008年7月25日 (25.07.2008)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
 特願2007-194233 2007年7月26日 (26.07.2007) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 国立大学法人東京工業大学 (TOKYO INSTITUTE OF TECHNOLOGY) [JP/JP]; 〒1528550 東京都目黒区大岡山 2-12-1 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
 (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 半田 宏 (HANDA, Hiroshi) [JP/JP]; 〒2268503 神奈川県横浜市緑区長津田町4-2-59 国立大学法人東京工業大学内 Kanagawa (JP). 畠山 士 (HATAKEYAMA, Mamoru) [JP/JP]; 〒2268503 神奈川県横浜市緑区長津田町4-2-59 国立大学法人東京工業大学内 Kanagawa (JP). 阿部 正紀 (ABE, Masanori) [JP/JP]; 〒1528550 東京都目黒区大岡山 2-12-1 国立大学法人東京工業大学内 Tokyo (JP). 坂本 聡 (SAKAMOTO, Satoshi) [JP/JP]; 〒2268503 神奈川県横浜市緑区長津田町4-2-59 国立大学法人東京工業大学内 Kanagawa (JP). 政池 由佳 (MASAIKE, Yuka) [JP/JP]; 〒2268503 神奈川県横浜市緑区長津田町4-2-59 国立大学法人東京工業大学内 Kanagawa (JP). 西尾 広介 (NISHIO, Kosuke) [JP/JP]; 〒2268503 神奈川県横浜市緑区長津田町4-2-59 国立大学法人東京工業大学内 Kanagawa (JP). 北 善紀 (KITA, Yoshinori) [JP/JP]; 〒2268503 神奈川県横浜市緑区長津田町4-2-59 国立大学法人東京工業大

[続葉有]

(54) Title: PROCESS FOR PRODUCTION OF SURFACE-COATED INORGANIC PARTICLES

(54) 発明の名称: 表面被覆無機物粒子の製造方法



- AA FATTY ACID COATED INORGANIC PARTICLES
 BB EXAMPLE OF FATTY ACID: OLEIC ACID
 CC ADSORPTION OF TEMPORARY COATING SUBSTANCE
 DD (TREATMENT IN ORGANIC SOLVENT)
 EE DESORPTION OF FATTY ACID
 FF EXAMPLE OF TEMPORARY COATING SUBSTANCE: THIOMALIC ACID
 GG INORGANIC PARTICLES COATED WITH TEMPORARY COATING SUBSTANCE
 HH ADSORPTION OF WATER-DISPERSIBLE COATING SUBSTANCE
 II (TREATMENT IN WATER)
 JJ DESORPTION OF TEMPORARY COATING SUBSTANCE
 KK EXAMPLE OF WATER-DISPERSIBLE COATING SUBSTANCE: CITRIC ACID
 LL INORGANIC PARTICLES COATED WITH WATER-DISPERSIBLE COATING SUBSTANCE

(57) Abstract: Nano-sized inorganic particles having uniform particle sizes and precisely controlled particle diameters have already been produced by synthesis in an organic solvent, but these nano-sized inorganic particles are hindered from dispersing in a polar solvent because of the adsorption of a long-chain fatty acid on the surfaces of the particles. Further, it was difficult to form nano-sized inorganic particles dispersible in a polar solvent by replacing the long-chain fatty acid coats. According to the invention, various surface-coated inorganic particles dispersible in polar solvents can be produced from fatty acid-coated inorganic particles by adding a temporary coating substance such as thiomalic acid to a nonpolar solvent containing fatty acid-coated inorganic particles dispersed therein

[続葉有]

WO 2009/014201 A1



学内 Kanagawa (JP). 岸 寛 (KISHI, Hiroshi) [JP/JP]; 〒2268503 神奈川県横浜市緑区長津田町4 2 5 9 国立大学法人東京工業大学内 Kanagawa (JP).

NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(74) 代理人: 須山 佐一 (SUYAMA, Saichi); 〒1010046 東京都千代田区神田多町2丁目1番地 神田東山ビル Tokyo (JP).

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI,

添付公開書類:
— 国際調査報告書

to replace the fatty acid coats by the temporary coating substance, dispersing the inorganic particles coated with the temporary coating substance in a polar solvent, and then adding a coating substance dispersible in a polar solvent, e.g., citric acid to the obtained dispersion to replace the temporary coating substance coats covering the inorganic particles by the coating substance dispersible in a polar solvent.

(57) 要約: 粒子サイズがよく揃い粒径が精密に制御されたナノサイズの無機物粒子が有機溶媒中での合成によって得られるようになったものの、その無機物粒子には長鎖の脂肪酸が粒子表面に吸着しているため極性溶媒中での分散が阻害されており、しかもこの表面被覆を置換して極性溶媒中で分散するナノサイズの無機物粒子を得ることが困難であった。脂肪酸で被覆された無機物粒子が分散している非極性溶媒中に、チオリンゴ酸などの一時被覆物質を添加して粒子の脂肪酸被覆をまずこの一時被覆物質被覆で置換し、次にこの一時被覆物質で被覆された無機物粒子を極性溶媒に分散し、この分散液にクエン酸などの極性溶媒分散性被覆物質を添加し、無機物粒子を被覆している一時被覆物質被覆をこの極性溶媒分散性被覆物質で置換することによって、脂肪酸で被覆された無機物粒子から極性溶媒中で分散するさまざまな表面被覆無機物粒子を得ることができるようになった。

明 細 書

表面被覆無機物粒子の製造方法

技術分野

[0001] 本発明は、表面被覆無機物粒子の製造方法及び表面被覆無機物粒子に関し、特に脂肪酸で被覆された疎水性無機物粒子表面の脂肪酸被覆を置換することにより、表面が親水性の無機物粒子を得る表面被覆無機物粒子の製造方法、及びこの製造方法によって製造される表面被覆無機物粒子に関する。

背景技術

[0002] 粒子の大きさが数nmから数100nmのいわゆるナノ結晶粒子を作製する技術が発達し、さまざまな物質のナノ結晶が単粒子分散の状態にて作製できるようになった。それらの中で、金属酸化物の無機物粒子は有機溶媒中で合成することにより、粒子サイズが精密に制御され粒径が非常によく揃い、ナノ結晶の単粒子分散の状態で得られるようになった。こうしたナノ結晶についての基礎研究は盛んに進められていて、その成果はさまざまな分野への応用が期待されている。

[0003] 非特許文献1(J. Am. Chem. Soc. 2004, 126, p. 273-279)には、このような例としてオレイン酸とオレイルアミン含有の1,2ヘキサデカンジオールに3価鉄のアセチルアセトン錯塩を高沸点溶媒に溶解し、高い温度で反応させる方法によって、粒子サイズが精密に制御され、粒径が極めてよく揃ったナノメートルサイズの Fe_3O_4 粒子の作製方法が報告されている。この文献には、3価鉄のアセチルアセトン錯塩にコバルトやマンガンのアセチルアセトン錯塩を含有させることにより、 Fe_3O_4 ナノ結晶粒子の鉄(Fe)の一部をコバルト(Co)やマンガン(Mn)で置換したナノサイズの粒子の作製についても報告されている。これらの方法により、有機溶媒中でナノ結晶の粒子サイズが精密に制御される。粒径がよく揃うのは、核がほぼ同時に発生し、互いに独立してほぼ等しい条件下で粒子が成長するためと考えられる。

[0004] 非特許文献2(Nat. Mater. 2004, 3, p. 891-895)には、塩化鉄とオレイン酸ナトリウムとを反応させてオレイン酸鉄錯体を得て、このオレイン酸鉄錯体をオレイン酸含有の1-オクタデセンに溶かし、320°Cまでゆっくり昇温し、320°Cを所定

時間保持することにより、 Fe_3O_4 のナノ結晶粒子を多量に合成できることが報告されている。このようにして得られる Fe_3O_4 のナノ結晶粒子はオレイン酸によって被覆されており、ヘキサンやトルエンなどの非極性溶媒中にてよく分散する。

[0005] これら有機溶媒を利用した方法で合成されるナノサイズの結晶粒子は、粒子サイズが精密に制御され、粒径がよく揃い、しかも単分散の状態のナノ結晶粒子であることから、例えば特許文献1(特開平10-503281号公報)、特許文献2(特開2000-507197公報)、及び特許文献3(特開2006-502572公報)に記載されているように、医療やバイオテクノロジーの分野での応用が期待される。ところが、医療やバイオテクノロジーで用いられる粒子は、通常、水などの極性溶媒中に分散させて用いられるのに対し、これらの方法で作られた粒子は、いずれも表面がオレイン酸などの長鎖のアルキル鎖を有する脂肪酸で被覆されているため、非極性溶媒中ではよく分散するものの、水系などの極性溶媒中では分散が困難であるという問題点があった。

[0006] このような粒子表面の脂肪酸被覆を、水中での分散に適した物質による表面被覆に置換する方法として、上記非特許文献1には、ヘキサン中にオレイン酸で被覆された疎水性の Fe_3O_4 のナノ粒子を分散させた溶液に、両親媒性の分子であるアミノウンデカン酸テトラメチルアンモニウムを加えて攪拌することにより、オレイン酸を粒子表面から離脱させて親水化した Fe_3O_4 のナノ粒子を得る方法が記載されている。

[0007] このようにして、非極性溶媒中で脂肪酸被覆粒子と新たな表面被覆物質とを混合し攪拌することによって粒子表面の被覆を新しい被覆に変えるには、新しい被覆剤として用いる物質が非極性溶媒に溶解するという条件と、粒子表面において脂肪酸から新たな被覆物質への置換反応が起るといふ条件の2つの条件を、共に満たすことが必要となる。特にこのような粒子を医療やバイオテクノロジーで用いる場合には、生体適合性を考慮して粒子の表面を被覆する物質を選択する必要がある。このため、生体適合性を有し、粒子表面を被覆する物質として好ましい物質があっても、上記の2つの条件を満たしていない場合には、そのような物質による被覆を得ることができないという問題点があった。例えば特許文献4(特開2006-282582公報)に記載されているように、粒子をクエン酸で被覆することが非常に好ましいものの、非特許文献1に記載の方法で作製した粒子の被覆をクエン酸などの被覆に変える方法が知られて

いなかった。

[0008] また、非特許文献3(J. Am. Chem. Soc. 2005, 127, p. 5732-5733)には、有機溶媒中での鉄のアセチルアセトン錯塩の熱分解によって作製された疎水性の表面被覆を有するフェライトのナノ結晶粒子の表面被覆を、親水性のジメルカプトコハク酸被覆に置換することにより、生体中での用途に適した親水性表面被覆フェライト粒子が得られるとの報告がなされている。非特許文献3では、上記非極性溶媒に溶解するという条件と、粒子表面で脂肪酸から新たな被覆への置換反応が起こるといった条件との2つの条件を共に満たすことのできる物質として、ジメルカプトコハク酸が選ばれている。しかしながら、このようにしてフェライトのナノ結晶粒子を被覆している脂肪酸被覆を親水性のジメルカプトコハク酸の被覆に置換する処理を、実際に試みた結果、この被覆粒子においては、被覆物質のジメルカプトコハク酸がフェライト粒子を少しずつ溶解するということがわかった。すなわち、この被覆粒子には化学的不安定性の問題点を有していることがわかった。

特許文献1:特開平10-503281号公報

特許文献2:特開2000-507197公報

特許文献3:特開2006-502572公報

特許文献4:特開2006-282582公報

非特許文献1:J. Am. Chem. Soc. 2004, 126, p. 273-279

非特許文献2:Nat. Mater. 2004, 3, p. 891-895

非特許文献3:J. Am. Chem. Soc. 2005, 127, p. 2732-5733

発明の開示

[0009] (発明が解決しようとする課題)

上記のように、有機溶媒中で合成され、粒径の精密に制御されたフェライト粒子などの無機物粒子は、粒子の表面が脂肪酸で被覆されていて疎水性を示すために、水などの極性溶媒中での分散には適さない。このため、これら粒子の表面の脂肪酸被覆を極性溶媒中での分散に適したさまざまな表面被覆物質に置換することが望まれるものの、これまでは、そのような被覆の置換には大きな制約があるため、そうしたさまざまな表面被覆物質によって被覆の置換を行って安定な被覆粒子を得ることは

できなかった。

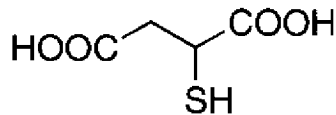
[0010] 本発明は、脂肪酸で被覆された無機物粒子の脂肪酸被覆を、極性溶媒中での分散に適した各種の表面被覆物質で置換し、極性溶媒中での分散に適した各種の表面被覆無機物粒子を製造する方法を提供し、さらにこのような製造方法で製造することのできる表面被覆無機物粒子を提供することを目的とする。

[0011] (課題を解決するための手段)

本発明者らは、これまでの粒子表面被覆を置換する方法においては脂肪酸の脱離と極性溶媒中での分散に適した表面被覆物質による被覆とが、非極性溶媒中にて同時に行われている点に着目した。そこで本発明者らは、脂肪酸の脱離工程と新しい表面被覆物質の被覆工程とを分離することによって、これまで問題とされていた課題を解決できる可能性について追求し、さまざまな観点から検討した。

[0012] こうした観点から詳細な検討を進めた結果、チオリンゴ酸

[化1]



に代表される一連の物質が、非極性溶媒中にて粒子表面の脂肪酸被覆と置換して粒子表面をよく被覆する一方で、水などの極性溶媒中では粒子表面から容易に脱離できることを見出した。そこで、目的とする表面被覆粒子を得る工程を、脂肪酸を脱離する工程と、目的の表面被覆物質を被覆する工程とに分け、まずこのチオリンゴ酸に代表されるこれら一連の物質を一時被覆物質として用いて粒子表面から脂肪酸を脱離するとともに粒子表面をこれら一連の一時被覆物質で被覆する被覆の置換を行い、続いてこの被覆を目的とする被覆物質でさらに置換することによって課題を解決するという着想を得て、この着想のもとにさらに研究を進めた。

[0013] その結果、非極性溶媒中に分散した脂肪酸被覆無機物粒子の分散液に、この一時被覆物質を添加して反応させることによって、無機物粒子の表面から脂肪酸を脱離させ、脂肪酸に代わる一時被覆物質による無機物粒子被覆が得られることがわかった。次に、この一時被覆物質で被覆された無機物粒子を水などの極性溶媒中に分

散させ、これにクエン酸などの目的とする極性溶媒分散性被覆物質を添加し反応させれば、無機物粒子に対して目的の表面被覆を有する無機物粒子を得ることができることを見出し、本発明をなすに至った。

[0014] 本発明の表面被覆無機物粒子の製造方法は、脂肪酸で被覆された無機物粒子が非極性溶媒中に分散している分散液に、非極性溶媒中にて粒子表面の脂肪酸被覆を置換して粒子表面に吸着する一方で極性溶媒中にて極性溶媒分散性被覆物質に置換されて脱離する一時被覆物質を添加し、無機物粒子から脂肪酸被覆を脱離させて一時被覆物質で被覆する一時被覆物質被覆工程と、この一時被覆物質で被覆された無機物粒子を極性溶媒中に分散させ、極性溶媒中において分散性を示す極性溶媒分散性被覆物質をこの極性溶媒分散液に添加し、無機物粒子から一時被覆物質被覆を脱離させ、無機物粒子を極性溶媒分散性被覆物質で被覆する極性溶媒分散性被覆物質被覆工程とを備えたことを特徴とする。

[0015] 本発明の表面被覆無機物粒子の製造方法によれば、無機物粒子の脂肪酸被覆を非極性溶媒中にてまず一時被覆物質に置換し、次にこの一時被覆物質を極性溶媒中にて目的とする表面被覆物質に置換する工程を経ることにより、脂肪酸で被覆された無機物粒子から、目的の表面被覆を有する無機物粒子を得ることができる。この方法によれば、脂肪酸で表面被覆された無機物粒子の脂肪酸被覆を、非極性溶媒中にてまず一時被覆物質に置換し、この被覆をさらに親水性の溶媒中で置換するので、たとえば疎水性の溶媒に対して親和性のない表面被覆物質であっても、結果的に無機物粒子の脂肪酸被覆を置換してこの物質による被覆にすることを容易に行えるようになった。この方法により、たとえば、目的の表面被覆を有し平均粒径が3nm以上40nm以下で粒径のよく揃った表面被覆無機物粒子を得ることができる。

[0016] 本発明の表面被覆無機物粒子は、脂肪酸で被覆された無機物粒子が非極性溶媒中に分散している分散液に、非極性溶媒中にて粒子表面の脂肪酸被覆を置換して粒子表面に吸着する一方で極性溶媒中にて極性溶媒分散性被覆物質に置換されて脱離する一時被覆物質を添加し、無機物粒子から脂肪酸被覆を脱離させて一時被覆物質で被覆し、次に一時被覆物質で被覆した無機物粒子を極性溶媒中に分散させ、極性溶媒中において分散性を示す極性溶媒分散性被覆物質をこの極性溶媒

分散液に添加し、無機物粒子から一時被覆物質被覆を脱離させ、無機物粒子を前記極性溶媒分散性被覆物質で被覆することによって製造でき、平均粒径が3nm以上40nm以下の無機物粒子の周囲が極性溶媒分散性被覆物質によって被覆されることを特徴とする。

[0017] 本発明の表面被覆無機物粒子は、脂肪酸共存下の有機溶媒中での作製により粒子サイズが精密に制御され、粒径が非常によく揃った無機物粒子の脂肪酸被覆を、一時被覆物質による被覆を経由して、目的とする極性溶媒分散性被覆物質被覆にすることによって得ることのできる粒子である。このように粒子サイズが精密に制御され、粒径が非常によく揃い、しかも極性溶媒分散性物質で粒子表面が被覆された無機物粒子を作製することは、これまでは困難であった。本発明により、こうした表面被覆無機物粒子が製造できるようになった結果、これらの粒子の活用により、各応用分野における粒子の果す機能を著しく高めることができ、また、これまで実現できなかったさまざまな応用展開が可能になった。

[0018] たとえば、粒径3～10nmの磁性粒子を表面被覆した本発明に係る表面被覆無機物粒子を用いれば、磁気共鳴診断装置(MRI)の陽性造影剤として、従来に比べ高いコントラストが得られるなど特性の優れたものが得られる。他方で、粒径10～40nmの磁性粒子を表面被覆した本発明に係る表面被覆無機物粒子を用いれば、MRIの陰性造影剤として従来に比べ優れた特性を有するものを得ることができる。また磁性粒子を表面被覆した本発明に係る表面被覆無機物粒子を用いれば、磁気ハイパーサーミア(温熱療法)担体および磁気分離担体としてそれぞれに優れた特性を有するものを得ることができる。さらに本発明に係る表面被覆無機物粒子はバイオセンサ担体として優れた性能を有するものを得ることができる。なお、この表面被覆無機物粒子は、その使用目的により適した被覆をさらに行った上で、それぞれの用途に用いることができる。

[0019] 本発明の一時被覆物質で被覆された無機物粒子は、脂肪酸で被覆された無機物粒子が非極性溶媒に分散した分散液に、非極性溶媒中にて粒子表面の脂肪酸被覆を置換して粒子表面に結合するとともに、極性溶媒中にて極性溶媒分散性被覆物質に置換されて脱離する一時被覆物質で被覆されたことを特徴とする。

[0020] この一時被覆物質で被覆された無機物粒子を用いれば、この粒子を極性溶媒に分散させ、この被覆をクエン酸などの所要の極性溶媒分散性被覆物質によってさらに置換被覆することができ、これによって所要の被覆を有する表面被覆無機物粒子を得ることができる。

[0021] (発明の効果)

本発明の表面被覆無機物粒子の製造方法により、脂肪酸で被覆された無機物粒子の被覆を、さまざまな極性溶媒分散性被覆に置換することができ、極性溶媒中にて単粒子分散状態の粒子が製造可能となった。また本発明の表面被覆無機物粒子は、粒径が精密に制御され、かつ極性溶媒分散性の物質で表面被覆されており、このような表面被覆無機物粒子は、化学工業、産業分野で有用であるほか、医療やバイオテクノロジーなどのさまざまな分野への応用において優れた性能を示す。

図面の簡単な説明

[0022] [図1]本発明の表面被覆された磁性粒子の製造方法の一実施形態を示す図である。

[図2]クエン酸で表面被覆されたフェライト粒子に対し、テトラエトキシシランの加水分解で生じたシリカの被覆された実施例8-1のフェライト粒子のTEM写真である。

[図3]クエン酸で表面被覆されたフェライト粒子に対し、テトラエトキシシランの加水分解で生じたシリカの被覆された実施例8-2のフェライト粒子のTEM写真である。

[図4]クエン酸で表面被覆されたフェライト粒子に対し、テトラエトキシシランの加水分解で生じたシリカの被覆された実施例8-3のフェライト粒子のTEM写真である。

[図5]クエン酸で表面被覆されたフェライト粒子に対し、テトラエトキシシランの加水分解で生じたシリカの被覆された実施例8-4のフェライト粒子のTEM写真である。

符号の説明

[0023] 11…脂肪酸被覆磁性粒子、12…非極性溶媒中での粒子表面のリガンド交換反応、13…一時被覆物質で被覆された無機物子、14…極性溶媒中での粒子表面のリガンド交換反応、15…表面被覆磁性粒子。

発明を実施するための最良の形態

[0024] 次に本発明の実施の形態を、図面を参照しながら説明することで、本発明のさらなる詳細について述べる。

[0025] 1) 置換被覆工程

図1は本発明に係る表面被覆無機物粒子の製造方法の一実施形態を示す図である。図1において、まず、オレイン酸などの長鎖の脂肪酸で被覆された脂肪酸被覆無機物粒子11を、トルエンなどの非極性溶媒中に分散させる。この分散液にチオリンゴ酸などの一時被覆物質を添加し、無機物粒子表面にて、非極性溶媒である非極性溶媒中での粒子表面の被覆物質交換反応12によって、脂肪酸が脱離し一時被覆物質が吸着する。その後、洗浄によって非極性溶媒と脱離した脂肪酸と無機物粒子に吸着されずに残った一時被覆物質とを除去し、一時被覆物質で被覆された無機物粒子13を得る。

[0026] 次に、クエン酸などの極性溶媒分散性被覆物質を極性溶媒(例えばミリポア社の超純水装置を用いてイオン交換樹脂を通し逆浸透法と限外濾過法を用いて精製された超純水であるMilliQ水など)に溶解し、この極性溶媒に一時被覆物質で被覆された無機物粒子13を分散させ、図に示した極性溶媒中での粒子表面の被覆物質交換反応14により、この無機物粒子13から一時被覆物質を脱離し、クエン酸などの極性溶媒分散性被覆物質を吸着させる。その後、洗浄操作を行って、極性溶媒分散性被覆物質により表面被覆された表面被覆無機物粒子15を得ることができる。

[0027] また、こうして得られる表面被覆無機物粒子15に対し、必要に応じて付加的な極性溶媒分散性被覆物質被覆工程(図示せず)をさら設け、付加的にさまざまな極性溶媒分散性被覆物質による被覆を行えば、使用目的により適した表面の性質を備えた表面被覆無機物粒子を得ることができる。

[0028] なお、本発明における粒子の表面被覆は、被覆物質が粒子全体を被覆している場合だけでなく、粒子を部分的に被覆している場合や、表面修飾物質によって表面が修飾された場合をも含む。

[0029] 2) 無機物粒子

脂肪酸が被覆された状態で作製される無機物粒子は、マグネタイトやマグヘマイトなどの鉄フェライト、およびこれらの鉄(Fe)の一部がマンガン(Mn)、コバルト(Co)、ニッケル(Ni)、亜鉛(Zn)などの金属元素で置換された各種複合フェライト粒子のほか、金属鉄などの金属粒子、ZnO、CdS、CdSeなどの半導体粒子や誘電体粒子な

どの各種微粒子である。これらの微粒子は、粒径が精密に制御されており、これらのび粒子表面の脂肪酸被覆を、上記の被覆物質交換反応によって、極性溶媒分散性被覆物質で置換することにより、水などの極性溶媒に分散する表面被覆無機物粒子を得ることができる。

[0030] こうした粒径の精密に制御された無機物粒子は、上記非特許文献1あるいは非特許文献2などに記載されている方法によって作製できる。例えばトリアセチルアセトン鉄錯塩($\text{Fe}(\text{acac})_3$)をオレイン酸およびオレイルアミンを含有するフェニルエーテルまたはベンジルエーテルと混合し、200–300°Cに加熱することにより、無機物粒子の核生成がよく制御されてほぼ同時に生成し、互いに独立な結晶成長が同時に進行することによって、粒径のよく揃ったナノメートルサイズの Fe_3O_4 粒子が得られる。また、 CoFe_2O_4 や MnFe_2O_4 などの複合フェライト粒子は、この作製方法において、アセチルアセトン鉄錯塩の一部をビスアセチルアセトンコバルト錯塩($\text{Co}(\text{acac})_2$)やビスアセチルアセトンマンガン錯塩($\text{Mn}(\text{acac})_2$)に変えることによって作製できる。このような方法で作製される粒子の平均粒径は3nm以上30nm以下に制御できるとともに、粒径分布の標準偏差を平均粒径の15%以下に抑えることもできる。この粒径分布における標準偏差は、粒子成長の条件により制御でき、平均粒径の10%以下、あるいは5%以下にすることもできる。

[0031] 3) 極性溶媒

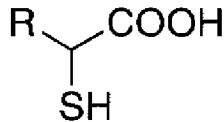
本発明における極性溶媒として水、特に表面被覆無機物粒子のバイオテクノロジーなどの主要な用途を考慮すれば超純水(例えばMilliQ水など)をその代表に挙げることができる。このほか、アルコール類、N,N-dimethylformamide(DMF)、およびdimethylsulfoxide(DMSO)などを挙げることができ、これらを単独、または複数種を混合して用いることができる。

[0032] 4) 一時被覆物質

本発明の表面被覆無機物粒子の製造方法において使用する一時被覆物質は、非極性媒体に対し親和性を有し、脂肪酸で被覆された無機微粒子の脂肪酸被覆を置換して無機微粒子を被覆する一方で、極性媒体中でこの被覆が目的とする被覆物質によって置換されて脱離するものである。このような一時被覆物質として、分子中に

チオール基とカルボキシル基とが共に結合している有機物質が好ましく、その中でも1つの炭素原子にチオール基とカルボキシル基が結合している化合物

[化2]

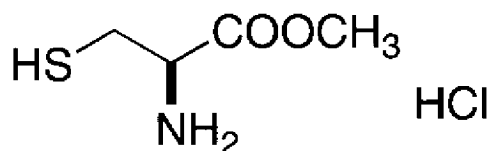


が特に好ましい。ここでRは、 $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}$ (n=0~10)で与えられるアルキル基、官能基で置換された置換アルキル基、アリール基、および官能基で置換された置換アリール基のいずれかである。なお、一時被覆物質としてより優れた機能を得る上で、nは0~6の範囲のものがより好ましい。ここに、アルキル基またはアリール基を置換する官能基としては、例えばアミノ基、カルボキシル基、チオール基、スルホン酸基、リン酸基、亜リン酸基、および水酸基を挙げることができる。このような化合物として、チオリンゴ酸が特に好ましく用いることができるほか、チオ酢酸、チオ乳酸を好ましく用いることができる。

[0033] チオリンゴ酸を一時被覆物質として用いると、非極性溶媒中にて無機物粒子表面の脂肪酸被覆が十分に脱離されて、粒子表面がチオリンゴ酸で被覆された無機物粒子が得られる。このチオリンゴ酸による粒子表面の一時的被覆は極性溶媒中にて容易に置換でき、粒子表面をクエン酸などの極性溶媒分散性被覆物質で置換した表面被覆無機物粒子を得ることができる。

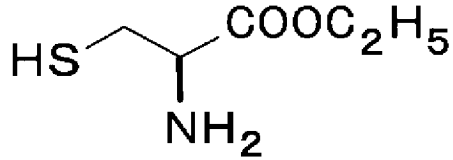
[0034] 本発明の表面被覆無機物粒子の製造方法における一時被覆物質として、アミノ基を有し、さらにチオール基とエステル基を有する化合物、またはアミノ基を有し、さらにスルホン酸基とカルボキシル基を有する化合物を用いることができる。そのような物質として、L-システインメチルエステル塩酸塩、

[化3]



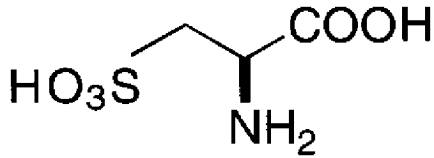
L-システインエチルエステル塩酸塩

[化4]



およびL-システイン酸

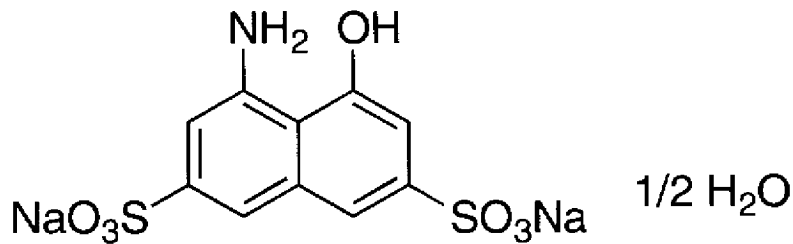
[化5]



から選ばれる少なくとも一種を用いることができる。また、1分子中に2個のチオール基と2個の水酸基を有するジチオスレイトールを用いることができる。

[0035] また本発明の表面被覆無機物粒子の製造方法における一時被覆物質として、スルホン酸塩、あるいは硫酸塩を有する芳香族単環または縮合多環炭化水素を用いることができる。このような化合物として、1-アミノ-8-ナフトール-3, 6-ジスルホン酸ナトリウム

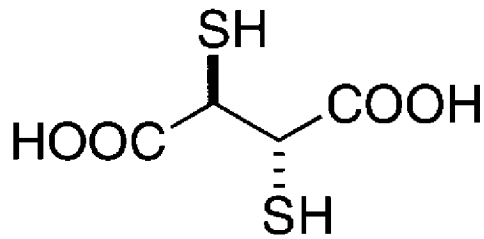
[化6]



などの塩が好ましく用いられる。特に1-アミノ-8-ナフトール-3, 6-ジスルホン酸ナトリウムは、無機物粒子表面の脂肪酸被覆を十分に置換して粒子を被覆することができるので、極性溶媒中にて単粒子分散状態の表面被覆無機物粒子を得る上で特に好ましい一時被覆物質である。

[0036] またチオール基を有する化合物であるmeso-2, 3-ジメルカプトコハク酸

[化7]



も、一時被覆物質として使用することができる。この物質を一時被覆物質として使用する場合には、この物質によって被覆されている時間を制限し、この被覆を目的とする極性溶媒分散性被覆物質被覆に置換することによって、この一時被覆物質による無機物粒子の溶解は抑制できる。

[0037] 5) 極性溶媒分散性被覆物質

本発明の表面被覆無機物粒子の製造方法において、極性溶媒分散性被覆物質は、極性溶媒中において、一時被覆物質による被覆を置換して無機物粒子を被覆し、無機物粒子を親水性にする物質である。このような極性溶媒分散性被覆物質には、無機物粒子の用途に応じ、様々な極性溶媒分散性被覆物質を用いることができる。特に医療やバイオテクノロジー分野で用いる場合には、生体適合性の考慮された各種の物質を用いることができる。例えば水酸基を有するポリカルボン酸として、リンゴ酸、クエン酸、および酒石酸などを用いることができ、アミノ基を有するポリカルボン酸として、アスパラギン酸およびグルタミン酸などを用いることができる。

[0038] これらの極性溶媒分散性被覆物質の中で、分子量の小さいクエン酸は、無機物粒子の表面への吸着性が優れており、ナノメートルサイズの粒子表面の被覆に特に適した化合物の1つであって、この被覆のままの形で様々な用途に用いることができる。またクエン酸で被覆された無機物粒子を得てから、これに対し目的に応じた各種の物質をさらに被覆して用いることもできる。

[0039] 本発明における極性溶媒分散性被覆物質としては、カルボキシル基、水酸基、スルホン酸基、チオール基、リン酸基、カルボン酸塩、水酸化物塩、スルホン酸塩、チオール塩、リン酸塩、シランジオールおよびシラントリオールからなる群から選ばれる少なくとも一種の官能基を有する有機物質を用いることができる。また、水酸基、スル

ホン酸基、カルボキシル基、リン酸基からなる群から選ばれる少なくとも一種の官能基を有する高分子を用いることができる。こうした物質として、カテコール、サリチル酸などのフェノール性水酸基を有する化合物およびその誘導体を用いることができる。またアミノ酸を含む化合物として、比較的分子量の小さいオリゴペプチドのほか、ポリペプチド、さらにはタンパク質などの巨大分子を用いることができる。またシステインなどのチオール基を有する化合物、システイン酸などのスルホン酸基を有する化合物、リン酸基を有する化合物、シラントリオールを有する化合物などを用いることができる。さらに核酸及びその誘導体、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリアクリル酸、ポリアスパラギン酸、ポリグルタミン酸、ポリリジン、アルギン酸、ヒアルロン酸、コラーゲン及びその誘導体を用いることができる。

[0040] 6)さらなる表面被覆

本発明においては、例えば上記クエン酸のような物質で被覆した無機物粒子を得た上で、これに適切な被覆物質を付加的な極性溶媒分散性被覆物質をさらに被覆することにより、その使用目的に応じた表面被覆を有する無機物粒子を得ることができる。例えばこのようにしてポリエチレングリコールや一方の末端にアミノ基やチオール基などの官能基を有するポリエチレングリコール、あるいはポリプロピレングリコールや一方の末端にアミノ基やチオール基などの官能基を有するポリプロピレングリコールなどによって粒子表面を被覆することができる。このようなポリエチレングリコールやポリプロピレングリコールなどの化合物の末端がアミノ基などの官能基を有する化合物は、例えばアミノ基がクエン酸のカルボキシル基と反応してアミド結合を形成することにより、水などの極性溶媒中にて電荷を持たなくなるので、これらの被覆により、細網内皮系組織 (reticuloendothelium system, RES) において、電荷によって粒子が捕捉されるという問題点が解消できる。

[0041] また、例えば上記のようにクエン酸などで粒子表面を被覆した上で、その粒子表面にテトラエトキシシランを反応させてシリカを粒子の表面に形成し、シリカ被覆の無機物粒子を得ることもできる。

[0042] また、こうした無機物粒子の表面被覆は、クエン酸などの無機物粒子の表面被覆物質を適切な化合物によって置換することによって粒子表面を被覆してもよい。こうした

方法を用いることにより、粒子の均一性を高めることや、高い分散性を持たせることができる。また、粒子表面上に生理活性機能を付与することにより、例えばMRI造影剤やバイオセンサのキャリアなどでの使用において、より好ましい性質を示す表面被覆無機物粒子を得ることができる。

[0043] ポリエチレングリコールやポリプロピレングリコールなどの化合物の両末端にアミノ基などの官能基を有する化合物の場合は、一方の末端のアミノ基がクエン酸のカルボキシル基と反応しても、もう一方の末端にアミノ基などの官能基が残り、その部分は水中で電荷を示す。ポリエチレングリコールやポリプロピレングリコールなどの化合物の両末端にアミノ基などの官能基を有する化合物を被覆物質として用いる場合には、一方の末端にクエン酸のカルボキシル基などと反応させてアミド結合を形成させ、残る一方の官能基に生理活性物質などを結合させることができる。

[0044] 7) 表面被覆無機物粒子の応用

本発明に従って作製される生体適合性有機物質によって表面被覆された無機微粒子は、その特徴を生かしたさまざまな用途に用いることができる。

[0045] 本発明によって作製が可能になった粒子サイズがよく揃っていて極性溶媒分散性の被覆物質で被覆された分散性の良好な磁性粒子は、MRI造影剤として優れた特性を示す。特に本発明によって作製できるようになった平均粒径が10nm以下の磁性粒子、例えば3nm以上10nm以下で粒径分布の標準偏差が平均粒径の15%以下の磁性粒子を被覆したものは、MRIの縦緩和時間 T_1 および横緩和時間 T_2 の逆数で表される緩和定数 R_1 および R_2 の値が従来の磁性粒子に比べて大きく、しかも R_2/R_1 の値が1に近い。このため、本発明によって作製される平均粒径が10nm未満の磁性粒子を用いることによって、MRIにおいて従来に比べ高シグナルの陽性造影が可能になった。他方、本発明によって作製が可能になった平均粒径が10nm以上40nm以下で粒径分布の標準偏差が平均粒径の15%以下の磁性粒子は、 R_2 の値が非常に大きいので、陰性造影剤として用いることにより、優れた特性を得ることができる。なお、こうして作製される磁性粒子は、単粒子分散状態でポリエチレングリコールなどの生体適合性有機物質で被覆されていると、RESによる粒子の捕捉が回避される。このように、本発明によって作製したフェライト微粒子をポリエチレングリコールで

表面被覆したものは、核磁気共鳴診断におけるMRI造影剤として特に有用である。

[0046] 本発明によって作製が可能になった粒子サイズがよく揃っていて極性溶媒分散性の被覆物質で被覆された分散性の良好な磁性粒子は、磁気ハイパーサーミア担体として有用である。磁気ハイパーサーミアでは、高周波加熱による磁気発熱量が一次粒子径に依存することが知られており、粒子の凝集サイズを大きくせずに磁気発熱量を確保するには、単粒子分散状態に近い状態であることが好ましい。本発明によって作製される平均粒径が3nm以上40nm以下であり、例えば粒径分布の標準偏差が平均粒径の15%以下の表面被覆磁性粒子は、分散液中の粒子のサイズが比較的小さいにもかかわらず、電磁波のエネルギーをよく吸収して発熱し、しかもRESによる粒子の捕捉を回避できるので、磁気ハイパーサーミア担体として特に好ましい。このときの磁性粒子の大きさとしては、平均粒径が10nm以上30nm以下であることが、良好なハイパーサーミア特性を得る上で特に好ましい。

[0047] 本発明によって作製される表面被覆無機物粒子を極性溶媒分散性被覆物質で被覆した磁性粒子は、粒子表面上に物質認識基質を固定することでバイオセンサ担体として用いることができる。センサ機能を有する物質認識基質は、極性溶媒分散性被覆物質を介して無機物粒子に固定した形でもよいし、無機物粒子を直接被覆する形であってもよい。また、本発明における無機物粒子としてフェライトなどの磁性体を用いることにより、磁気応答バイオセンサの担体を得ることができる。また例えばZnOなどの無機物粒子をポリエチレングリコールなどの生体適合物質で表面被覆した量子ドットは、蛍光担体として有用である。

[0048] 本発明によって作製される表面被覆無機物粒子上には、生理活性物質として、核酸(DNA, RNA, PNA)、ペプチドおよびこれらの誘導体を結合させることができる。これらが結合された無機物粒子は各種の診断や治療に用いることができる。また、無機物粒子にフェライトなどの磁性体を用いることにより、磁気分離担体、磁気センサープローブ、MRI造影剤、磁気ハイパーサーミア担体などの磁性を利用した様々な用途に用いることができる。

実施例

[0049] <実施例1 チオリンゴ酸を一時被覆物質として使用>

平均粒径が約8nmで粒径がよく揃ったオレイン酸被覆フェライト粒子のオクタデセン懸濁液180mgに、2-プロパノール(キシダ化学製)を5ml以上加えて粒子を凝集させた後、磁気回収して上清を捨てた。さらに2-プロパノール10mlを用いてこの操作を3回行った。なお、ここで用いたオレイン酸被覆フェライト粒子のオクタデセン懸濁液は、塩化鉄とオレイン酸ナトリウムを反応させて鉄-オレイン酸錯塩を調製し、これとオレイン酸とを混合したものを、室温でオクタデセンに溶かし、90分間一定の速度で320°Cまで昇温させ、320°Cで30分間反応させた後、室温まで冷却することによって得たものである。

- [0050] 2-プロパノールを取り除き、トルエンを16ml加えて粒子を分散させた。0.324gのチオリンゴ酸(東京化成工業製、Mw=150.15)をジメチルスルホキシド4mlに溶かし、これを上記粒子のトルエン分散液に加え、4時間ソニケーション(超音波処理)した。
- [0051] 2-メトキシエタノール(キシダ化学製)を10ml以上加えて粒子を凝集させた後、磁気回収して上清を捨て、2-メトキシエタノールで洗浄して、遊離したオレイン酸と過剰のチオリンゴ酸を取り除くことにより、チオリンゴ酸被覆フェライト粒子を得た。
- [0052] クエン酸(無水、キシダ化学製、Mw=192.13)0.415gをMilliQ水に溶解させ、6MNaOH水溶液でクエン酸水溶液をpH7に調整して終体積を20mlにし、これを上記チオリンゴ酸被覆フェライト粒子に加え、4時間ソニケーションした。
- [0053] 1,4-ジオキサン(キシダ化学製)を10ml加えて粒子を凝集させた後、磁気回収して上清を捨て、1,4-ジオキサン10mlで3回洗浄し、遊離したチオリンゴ酸と過剰のクエン酸を取り除いた。
- [0054] 1,4-ジオキサンを加えて粒子を凝集させた後、磁気回収して上清を捨て、MilliQ水10mlを加えて粒子を分散させ、この分散液をMilliQ水にて12時間以上透析した。得られた粒子分散液をフィルター(MILLIPORE製Millex GP Filter unit 0.22 μ m)に通し、クエン酸被覆フェライト粒子分散液を得た。
- [0055] 得られた粒子の分散液の水中粒径を動的光散乱法によって測定した結果、水中粒径として 10.5 ± 1.3 nmを得た。また得られた粒子を透過型電子顕微鏡(TEM)で観察し、平均粒径を求めた結果、約8nmの値を得た。また、この粒子分散液の粒子

重量換算分布は8nm付近で最大であった。得られた粒子の分散液は、単粒子分散の状態にある約8nmの粒子が最多であり、そのような粒子が水中に分散していることがわかった。

[0056] <実施例2 1-アミノ-8-ナフトール-3, 6-ジスルホン酸ナトリウムを使用>

実施例1における一時被覆物質として1-アミノ-8-ナフトール-3, 6-ジスルホン酸ナトリウム(東京化成工業製、 $M_w=341.29$)を0.737g用いたほかは実施例1と同様の操作で粒子表面被覆を置換し、クエン被覆フェライト粒子分散液を得た。

[0057] 一時被覆物質として1-アミノ-8-ナフトール-3, 6-ジスルホン酸ナトリウムを用

いた際に得られた粒子分散液の水中粒径を動的光散乱法によって測定し、水中に分散した粒子のサイズを求めた結果、水中粒径として 8.0 ± 0.9 nmを得た。TEMを用いて得られた粒子を観察し、その平均粒径を求めた結果、約8nmの値を得た。

この粒子分散液は、粒子重量換算分布において8nm付近で最大であり、実施例1の場合と同様、水中において約8nmの粒子が単粒子分散状態にあることがわかった。

[0058] <実施例3 meso-2, 3-ジメルカプトコハク酸を一時被覆物質として使用>

実施例1における一時被覆物質としてmeso-2, 3-ジメルカプトコハク酸(東京化成工業製、 $M_w=182.22$)を0.394g用いたほかは実施例1と同様の操作で粒子表面被覆を置換し、クエン被覆フェライト粒子分散液を得た。なお、一時被覆物質としてこのmeso-2, 3-ジメルカプトコハク酸で被覆されたフェライト粒子分散液の段階では、分散液が着色し、フェライト粒子の鉄イオンの一部の溶解がみられた。

[0059] 一時被覆物質としてmeso-2, 3-ジメルカプトコハク酸を用いた際に得られた粒

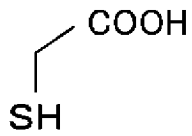
子分散液の水中粒径を動的光散乱法によって測定し、水中に分散した粒子のサイズを求めた結果、水中粒径として 9.0 ± 4.6 nmを得た。TEMを用いて得られた粒子を観察し、その平均粒径を求めた結果、約8nmの値を得た。この粒子分散液は、粒子重量換算分布において8nm付近で最大であり、実施例1の場合と同様、水中において約8nmの粒子が単粒子分散状態にあることがわかった。

[0060] <実施例4 このほかの数種の物質を一時被覆物質として使用>

実施例1における一時被覆物質として、チオリンゴ酸の代わりに、化8に示すチオグ

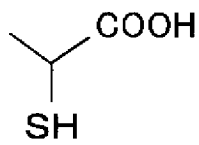
リコール酸(東京化成工業製)、

[化8]



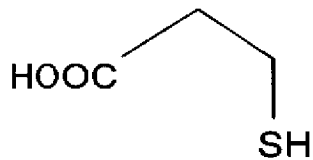
化9に示すチオ乳酸(東京化成工業製)、

[化9]



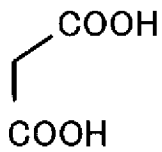
化10に示す3-メルカプトプロピオン酸(東京化成工業製)、

[化10]



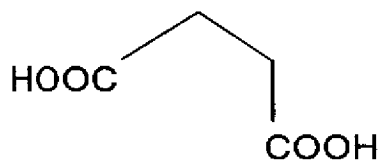
化11に示すマロン酸(東京化成工業製)、

[化11]



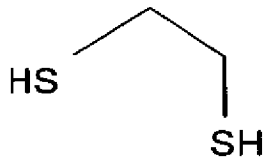
化12に示すコハク酸(東京化成工業製)、

[化12]



および化13に示す1-2エタンジチオール(東京化成工業製)(比較例)

[化13]



を用いたほかは、実施例1と同様の操作で粒子表面被覆を置換し、クエン酸被覆フェライト粒子分散液を得た。

[0061] 一時被覆物質としてこれらの物質を用いて得られたクエン被覆フェライト粒子分散液の水中粒径を動的光散乱法によって測定した結果、水中粒径として、チオグリコール酸、チオ乳酸、3-メルカプトプロピオン酸、マロン酸、コハク酸、およびエタンジチオール(比較例)についてそれぞれ、 10.1 ± 5.7 nm、 9.2 ± 5.5 nm、 8.1 ± 4.2 nm、 16.3 ± 6.9 nm、 47.1 ± 11.8 nm、 22.5 ± 12.7 nm、および 199.6 ± 31.8 nmを得た。この結果から、チオリンゴ酸と同様に1つの炭素原子にチオール基とカルボキシル基とが共に結合しているチオグリコール酸、チオ乳酸、およびmeso-2,3-ジメルカプトコハク酸を一時被覆物質として用いた場合には、元のフェライト粒子に近い水中粒径が得られることがわかり、チオリンゴ酸と同様に一時被覆物質として利用できることがわかった。

[0062] <実施例5 L-システイン酸を一時被覆物質として使用>

実施例1における一時被覆物質としてL-システイン酸(ナカライテスク製、 $M_w = 169.16$)を0.365g用いたほかは実施例1と同様の操作で粒子表面被覆を置換し、クエン被覆フェライト粒子分散液を得た。

[0063] 一時被覆物質としてL-システイン酸を用いた際に得られた粒子分散液の水中粒径を動的光散乱法によって測定し、水中に分散した粒子のサイズを求めた結果、水中粒径として 57.4 ± 10.4 nmを得た。TEMを用いて得られた粒子を観察したところ、粒子の一次粒径は約8nmであった。粒子重量換算分布から、粒子の分散液中では複数の粒子が集合体になって水中に分散していることがわかった。

[0064] <実施例6 L-システインメチルエステル塩酸塩を一時被覆物質として使用>

実施例1における一時被覆物質としてL-システインメチルエステル塩酸塩(東京

化成工業製、 $M_w=171.65$)を0.371g用いたほかは実施例1と同様の操作で粒子表面被覆を置換し、クエン被覆フェライト粒子分散液を得た。

[0065] 一時被覆物質としてL-システインメチルエステル塩酸塩を用いた際に得られた粒子分散液の水中粒径を動的光散乱法によって測定し、水中に分散した粒子のサイズを求めた結果、水中粒径として 43.4 ± 7.8 nmを得た。TEMを用いて得られた粒子を観察したところ、粒子の一次粒径は約8nmであった。粒子重量換算分布から、粒子の分散液中では複数の粒子が集合体になって水中に分散していることがわかった。

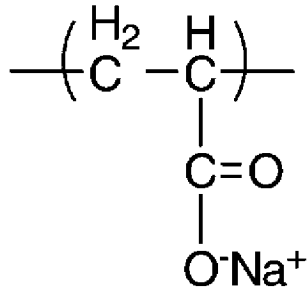
[0066] <実施例7 L-システインエチルエステル塩酸塩を一時被覆物質として使用>
実施例1における一時被覆物質としてL-システインエチルエステル塩酸塩(東京化成工業製、 $M_w=185.67$)を0.401g用いたほかは実施例1と同様の操作で粒子表面被覆を置換し、クエン酸被覆フェライト粒子分散液を得た。

[0067] 一時被覆物質としてL-システインエチルエステル塩酸塩を用いた際に得られた粒子分散液の水中粒径を動的光散乱法によって測定し、水中に分散した粒子のサイズを求めた結果、水中粒径として 53.4 ± 8.9 nmを得た。TEMを用いて得られた粒子を観察したところ、粒子の一次粒径は約8nmであった。粒子重量換算分布から、粒子の分散液中では複数の粒子が集合体になって水中に分散していることがわかった。

[0068] このようにして、脂肪酸で被覆された無機物粒子の脂肪酸被覆を一時被覆物質でまず置換し、続いてクエン酸などの極性溶媒分散性被覆物質による被覆に置換することにより、水などの極性溶媒に分散する表面被覆粒子を得ることができるようになった。

[0069] <実施例8 プロトン性溶媒分散性被覆物質としてポリアクリル酸を使用>
無機物粒子として平均粒径が4nmで粒径がよく揃ったオレイン酸被覆フェライト粒子を用い、一時被覆物質としてチオリンゴ酸を用い、さらにプロトン性溶媒分散性被覆物質にポリアクリル酸

[化14]



を用いたほかは上記実施例1と同様の操作により、ポリアクリル酸被覆フェライト粒子分散体を得た。得られた粒子分散液の水中粒径を動的光散乱法によって測定した結果、水中粒径として $7.8 \pm 1.0 \text{ nm}$ を得た。TEMを用いて得られた粒子を観察したところ、粒子の一次粒径は約 4 nm であった。粒子重量換算分布から、粒子の分散液中では複数の粒子が集合体になって水中に分散していることがわかった。

[0070] これら実施例1～7で得られた被覆粒子分散液についての結果を一覧表として表1にまとめた。

[0071] [表1]

一時被覆物質	極性溶媒分散性被覆物質	一次粒径 (TEM)	水中粒径 (動的光散乱法)
チオリンゴ酸	クエン酸	8 nm	$8.1 \pm 4.2 \text{ nm}$
1-アミノ-8-ナフトール-3,6-ジスルホン酸ナトリウム	クエン酸	8 nm	$8.0 \pm 0.9 \text{ nm}$
Meso-2,3-ジメルカプトコハク酸	クエン酸	8 nm	$9.0 \pm 4.6 \text{ nm}$
チオグリコール酸	クエン酸	8 nm	$10.1 \pm 5.7 \text{ nm}$
チオ乳酸	クエン酸	8 nm	$9.2 \pm 5.5 \text{ nm}$
3-MPA	クエン酸	8 nm	$16.3 \pm 6.9 \text{ nm}$
マロン酸	クエン酸	8 nm	$47.1 \pm 11.8 \text{ nm}$
コハク酸	クエン酸	8 nm	$22.5 \pm 12.7 \text{ nm}$
1,2-エタンジチオール (比較例)	クエン酸	8 nm	$199.6 \pm 31.8 \text{ nm}$
L-システイン酸	クエン酸	8 nm	$57.4 \pm 10.4 \text{ nm}$
L-システインメチルエステル塩酸塩	クエン酸	8 nm	$43.4 \pm 7.8 \text{ nm}$
L-システインエチルエステル塩酸塩	クエン酸	8 nm	$53.4 \pm 8.9 \text{ nm}$
チオリンゴ酸	ポリアクリル酸	4 nm	$7.8 \pm 1.0 \text{ nm}$

[0072] <実施例9 テトラエトキシシラン被覆粒子の作製>

実施例1に示されているクエン酸被覆フェライト粒子を調製し、エタノール:水=1:1 (体積比)の混合液中にフェライト粒子を単粒子分散になるように分散させた。

[0073] 上記分散液にテトラエトキシシラン (TEOS, $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$) を添加し、続いて28%アンモニア水溶液を加えて室温で反応させて、クエン酸被覆されたフェライト粒子表面をTEOSの加水分解で生じたシリカで被覆した。反応条件を変えることにより、TEOSの加水分解で生じたシリカの被覆量が異なる4種のクエン酸被覆のフェライト粒子を作製した。これらの被覆反応の条件である磁性粒子量とTEOS量とアンモニア量および反応時間について、得られたシリカ被覆フェライト粒子の被覆結果とともに表2にまとめた。

[0074] [表2]

	磁性粒子量(Fe換算)	TEOS量	アンモニア量	反応時間	被覆膜厚
実施例8-1	3.6 μmol	5 μmol	1.5 mmol	7 時間	5 nm
実施例8-2	3.6 μmol	5.0 μmol	1.5 mmol	7 時間	1.0 nm
実施例8-3	3.6 μmol	2.0 μmol	6.0 mmol	2 時間	2.0 nm
実施例8-4	3.6 μmol	20.0 μmol	6.0 mmol	2 時間	4.5 nm

[0075] 作製したシリカ被覆クエン酸被覆フェライト粒子を回収し、TEMで粒子の被覆状態を評価した。

[0076] 図2～5は、クエン酸被覆フェライト粒子に実施例8-1～8-4にてそれぞれシリカ被覆したフェライト微粒子のTEM写真である。これらのTEM写真から、粒子が球状を示していること、粒子径がよく揃っていること、粒子の内部には球状で単一のフェライト粒子がみられ、単一のフェライト粒子の周囲には均一な厚さにてシリカ被覆が形成されている状況がよくみられる。また、この結果から、被覆反応の条件を選ぶことによって、TEOSの加水分解で生じたシリカシリカ被覆の厚さを詳細に制御することができることが示された。

[0077] 得られた粒子分散液の水中粒径を動的光散乱法によって測定した結果、また表2には、被覆反応の条件と対比させて、顕微鏡観察によって求めたシリカ被覆膜厚を示した。

[0078] <実施例10 MRI造影剤としての造影効果>

実施例1と同様の方法で、平均粒径4nm、8nmおよび20nmの磁性粒子としてクエン酸被覆鉄フェライトナノ粒子を作製し、核磁気共鳴診断のMRI造影剤としての造

影効果を調べ、臨床用陰性造影剤として用いられているリゾビストと比較した。測定装置としてNMR analyzer minispec 0.47T(Bruker Optics Inc.)を用い、上記ナノ粒子をMilliQ水に分散させて、縦緩和時間 T_1 および横緩和時間 T_2 をそれぞれIR(inversion recovery)法およびCPMG(Carr-Purcell-Meiboom-Gill)法によって測定した。得られた縦緩和時間 T_1 および横緩和時間 T_2 からそれらの逆数 R_1 、 R_2 およびこれらの比 R_2/R_1 を求めた。

[0079] 平均粒径の異なる上記3種のクエン酸被覆鉄フェライトナノ粒子について、プロトン核磁気共鳴緩和性を測定した結果を表3に示す。比較のため、臨床用陰性造影剤として用いられているリゾビストの測定結果についても表3に示した。

[0080] [表3]

	R_1 値	R_2 値	R_2/R_1 値	平均1次粒径 (nm)	水中粒径(nm)
4 nm クエン酸被覆粒子	10.5	18.3	1.74	4.0	4.2
8 nm クエン酸被覆粒子	36.2	80.4	2.22	8.0	8.4
20 nm クエン酸被覆粒子	43.9	380	8.67	20.0	21
比較：リゾビスト	10.5	220	21.0	8.0	60

[0081] MRIの陽性あるいは陰性造影剤の指標として、 R_2/R_1 値が用いられている。一般に R_2/R_1 値が1に近いと、正のコントラストが得られる陽性造影剤として用いることができる。

[0082] 臨床用造影剤であるリゾビストはMRI画像において負のコントラストが得られる陰性造影剤として使用されており、血中に投与すると速やかに肝臓に取り込まれるので、肝臓における腫瘍の可視化に用いられている。通常、腫瘍部分にはリゾビストなどの造影剤が取り込まれないので、MRI画像において正常部分のみが負のコントラストで見える。また、臨床用造影剤のGd-DTPAは、MRI画像において正のコントラストが得られる陽性造影剤であり、血中に投与すると肝臓やほかの臓器に取り込まれずに血管内を循環するため、主に血管造影に用いられている。しかし、Gd-DTPAは時間経過とともに血管から組織へ滲み出すという問題がある。このため、血管から組織への滲み出しがなく、血管と組織とのコントラストを鮮明にする血管造影用のMRI造影剤が望まれている。鉄系造影剤はGd系造影剤に比べ、少ない物質量で造影効果

を発揮することが知られているので、正のコントラストが得られる鉄系造影剤はGd系造影剤に比べ優位である。

[0083] 上記表3から、鉄フェライト粒子の R_2/R_1 値はいずれの場合もリゾビストの値と比較して小さいので、本発明で作製したクエン酸被覆鉄フェライト粒子はリゾビストに比べ、陽性造影剤として利用できる可能性が示唆される。特に、平均粒径が4nmおよび8nmのクエン酸被覆鉄フェライト粒子は R_2/R_1 値がきわめて1に近いので、陽性造影剤の可能性を大いに秘めている。また、これらのクエン酸被覆鉄フェライト粒子はほぼ単粒子分散状態であることから、肝臓に取り込まれずに血中に滞留させることができるので、血管造影に用いることができる。他方、平均粒径が20nmのクエン酸被覆鉄フェライト粒子は R_1 、 R_2 値がともに非常に大きいので、きわめて効果的な造影剤として利用できることが示されている。

[0084] <実施例11 磁気ハイパーサーミア担体としての応用>

本発明によって作製される表面被覆磁性粒子を極性溶媒分散性被覆物質で被覆した磁性粒子は、磁気ハイパーサーミア担体として用いることにより、優れた特性を得ることができる。なお、ハイパーサーミアは、温熱により、がん細胞を選択的に死滅させる温熱療法である。その加温手段として、従来は高周波電極により高周波電界を印加して誘電加熱を行う方法が用いられてきたが、この方法では正常組織にも誘電損失があり加温されるという問題点がある。これに対し磁気ハイパーサーミアでは、高周波磁場を用い、加温する個所に磁性粒子を付与し、高周波磁場を印加し、磁性粒子の磁気損失により加温を行う。特に加温する個所であるがん細胞に特異的に結合する抗体を磁性粒子被覆において結合させることにより、ガン細胞に選択的に磁性粒子を付与することができる。このようにして、磁性粒子の付与された個所だけを選択的に加温し、それ以外の正常な細胞の加温を避けることができるという、磁気ハイパーサーミアの利点を得られる。

[0085] 磁性粒子として平均粒径が3nm以上40nm以下のマグネタイト粒子をクエン酸被覆し、さらにポリエチレングリコール処理したもの、あるいはこれに上記抗体を結合させた粒子の分散液を加温する個所に付与し、高周波励磁コイルに例えば900kHzの高周波電流を流して50Oe(3980A/m)程度の高周波磁場を発生させることによ

って、効果的にマグネタイト粒子に磁気損失を発生させることができる。このようにして、従来に比べ優れた磁気ハイパーサーミアが実施できる。

[0086] <実施例12 バイオセンサ担体としての応用>

本発明における無機物粒子の被覆に、物質認識基質を利用することによって、バイオセンサ担体として用いることができる。また被覆物質に生理活性機能を付与すれば、バイオセンサのキャリアとして好ましい表面被覆無機物粒子が得られる。この物質認識基質は、極性溶媒分散性被覆物質を介して無機物粒子上に固定化されても、無機物粒子を直接被覆するものであってもよい。また、無機物粒子として磁性体であるフェライトを用いることによって、磁気応答性バイオセンサのキャリアを得ることができる。

[0087] 特に表面被覆無機物粒子に生理活性物質として核酸(DNA, RNA, PNA)、ペプチドおよびこれらの誘導体を結合させたものは、抗原検出を行うことができる。表面被覆された無機物粒子あるいはフェライト粒子であれば、この粒子に対して選択的に抗原を結合させ、磁気マーカ信号を計測する方法で、抗原の検出を行うことができる。このときの磁気マーカ信号の計測には、半導体ホールセンサが使用できるほか、超電導量子干渉素子(Superconducting Quantum Interference Devices, SQUID)を用いれば高感度な磁気検出ができる。

[0088] <実施例13>

表面被覆無機物粒子が表面被覆された無機物粒子あるいはフェライト粒子であり、特に平均粒径が3nm以上40nm以下で粒径分布の標準偏差が平均粒径の15%以下に制御された粒子は、磁気分離担体として特に優れた性質を示す。このような粒子で特定の抗体を結合して有するものが、特定の抗原と特異的に結合する性質を利用することによって、抗原の分離抽出に用いることができる。

[0089] 抗体を結合させた上記の表面被覆フェライト粒子を、抗原を含有する液に浸漬し、特定の抗原を結合させた後、この粒子に対し磁場勾配を用いた磁気分離操作を用いて分離と洗浄を行う。こうして分離と洗浄を行った磁性粒子から抗原を分離する操作により、非常に効率よく抗原物質を分離し抽出することができる。

産業上の利用可能性

[0090] 本発明により、脂肪酸被覆無機物粒子の被覆を極性溶媒分散性物質によって置換することで、極性溶媒中にてよく分散する表面被覆無機物粒子を得ることができる。特に粒径が精密に制御された脂肪酸被覆無機物粒子の被覆を極性溶媒分散性物質によって置換し、極性溶媒中にてよく分散する表面被覆無機物粒子を得ることができるので、医療やバイオテクノロジーなどさまざまな分野において、本発明に係る粒子が広く活用されるものと期待される。

請求の範囲

- [1] 脂肪酸で被覆されて非極性溶媒中に分散した無機物粒子に対し、非極性溶媒中で脂肪酸の被覆を置換して結合する一方で分散性被覆物質に置換されて脱離する一時被覆物質を添加し、粒子表面の脂肪酸の被覆を前記一時被覆物質で置換することにより、前記一時被覆物質で被覆された無機物粒子を得る一時被覆物質被覆工程と、
- 前記一時被覆物質で被覆された無機物粒子を極性溶媒中に分散し、極性溶媒中で分散性を示す極性溶媒分散性被覆物質を添加し、この無機物粒子の一時被覆物質を前記極性溶媒分散性被覆物質で置換することにより、前記極性溶媒分散性被覆物質で被覆された無機物粒子を得る極性溶媒分散性被覆物質被覆工程と、
- を備えたことを特徴とする表面被覆無機物粒子の製造方法。
- [2] 前記一時被覆物質が、1つの炭素原子にチオール基の結合とカルボキシル基の結合とを有する化合物であることを特徴とする請求項1に記載の表面被覆無機物粒子の製造方法。
- [3] 前記の1つの炭素原子にチオール基の結合とカルボキシル基の結合とを有する化合物が、1つの炭素原子に結合している化合物が、チオリンゴ酸、チオ乳酸及びチオ酢酸からなる群より選ばれる少なくとも一種であることを特徴とする請求項2に記載の表面被覆無機物粒子の製造方法。
- [4] 前記一時被覆物質が、L-システインメチルエステル、L-システインエチルエステル、システイン酸及びそれらの塩からなる群より選ばれる少なくとも一種であることを特徴とする請求項1に記載の表面被覆無機物粒子の製造方法。
- [5] 前記一時被覆物質が、ジチオスレイトールであることを特徴とする請求項1に記載の表面被覆無機物粒子の製造方法。
- [6] 前記一時被覆物質が、スルホン酸基、スルホン酸塩、硫酸基、および硫酸塩からなる群より選ばれる少なくとも一種の官能基を持つ芳香族単環または縮合多環炭化水素であることを特徴とする請求項1に記載の表面被覆無機物粒子の製造方法。
- [7] 前記芳香族単環または縮合多環炭化水素が、1-アミノ-8-ナフトール-3, 6-ジスルホン酸またはその塩であることを特徴とする請求項6に記載の表面被覆無機物

粒子の製造方法。

- [8] 前記極性溶媒分散性被覆物質が、クエン酸であることを特徴とする請求項1に記載の表面被覆無機物粒子の製造方法。
- [9] 前記極性溶媒分散性被覆物質が、フェノール性水酸基を有する化合物またはその誘導体であることを特徴とする請求項1に記載の表面被覆無機物粒子の製造方法。
- [10] 前記極性溶媒分散性被覆物質が、オリゴペプチドまたはポリペプチドであることを特徴とする請求項1に記載の表面被覆無機物粒子の製造方法。
- [11] 前記極性溶媒分散性被覆物質が、カルボキシル基、水酸基、スルホン酸基、チオール基、リン酸基、カルボン酸塩、水酸化物塩、スルホン酸塩、チオール塩、リン酸塩、シランジオールおよびシラントリオールからなる群から選ばれる少なくとも一種の官能基を有する有機物質であることを特徴とする請求項1に記載の表面被覆無機物粒子の製造方法。
- [12] 前記極性溶媒分散性被覆物質が、核酸または核酸誘導体であることを特徴とする請求項1に記載の表面被覆無機物粒子の製造方法。
- [13] 前記極性溶媒分散性被覆物質が、水酸基、スルホン酸基、カルボキシル基、リン酸基からなる群から選ばれる少なくとも一種の官能基を有する高分子であることを特徴とする請求項1に記載の表面被覆無機物粒子の製造方法。
- [14] 前記極性溶媒分散性被覆物質が、水酸基を持つ芳香族物質を用いることを特徴とする請求項13に記載の表面被覆無機物粒子の製造方法。
- [15] 前記極性溶媒分散性被覆物質で被覆された無機物粒子に対し、付加的に極性溶媒分散性被覆物質で被覆を行う付加的極性溶媒分散性被覆物質被覆工程をさらに兼ね備えたことを特徴とする請求項1に記載の表面被覆無機物粒子の製造方法。
- [16] 前記付加的極性溶媒分散性被覆物質が、テトラエトキシシランを加水分解して生成されるシリカであることを特徴とする請求項15に記載の表面被覆無機物粒子の製造方法。
- [17] 前記無機物粒子が、磁性粒子であることを特徴とする請求項1に記載の表面被覆無機物粒子の製造方法。
- [18] 前記極性溶媒が水であることを特徴とする請求項1に記載の表面被覆無機物粒子

の製造方法。

- [19] 脂肪酸で被覆された無機物粒子が非極性溶媒に分散した分散液に、非極性溶媒中にて粒子表面の脂肪酸被覆を置換して粒子表面に結合するとともに、極性溶媒中にて極性溶媒分散性被覆物質に置換されて脱離する一時被覆物質で被覆されたことを特徴とする一時被覆物質で被覆された無機物粒子。
- [20] 前記一時被覆物質が1個の炭素原子にカルボキシル基の結合とチオール基の結合とを有する物質であることを特徴とする請求項19に記載の一時被覆物質で被覆された無機物粒子。
- [21] 脂肪酸で被覆された無機物粒子が非極性溶媒に分散した分散液に、非極性溶媒中にて粒子表面の脂肪酸被覆を置換して粒子表面に吸着する一方で極性溶媒中にて極性溶媒分散性被覆物質に置換されて脱離する一時被覆物質を添加し、前記無機物粒子から前記脂肪酸被覆を脱離させて前記一時被覆物質で被覆し、次に前記一時被覆物質で被覆した無機物粒子を極性溶媒に分散させ、極性溶媒中において分散性を示す被覆表面を形成する極性溶媒分散性被覆物質を前記極性溶媒分散液に添加し、前記無機物粒子から前記一時被覆物質被覆を脱離させ、前記無機物粒子を前記極性溶媒分散性被覆物質で被覆することによって製造でき、無機物粒子が極性溶媒分散性被覆物質によって被覆されていることを特徴とする表面被覆無機物粒子。
- [22] 極性溶媒中にて単粒子分散状態を示すことを特徴とする請求項21に記載の表面被覆無機物粒子。
- [23] 前記極性溶媒分散性被覆物質による被覆のほか、さらに付加的極性溶媒分散性被覆物質による被覆がされてなることを特徴とする請求項21に記載の表面被覆無機物粒子。
- [24] 前記無機物粒子が、平均粒径が3nm以上40nm以下の磁性粒子であることを特徴とする請求項21に記載の表面被覆無機物粒子。
- [25] 脂肪酸で被覆された無機物粒子が非極性溶媒に分散した分散液に、非極性溶媒中にて粒子表面の脂肪酸被覆を置換して粒子表面に吸着する一方で極性溶媒中にて極性溶媒分散性被覆物質に置換されて脱離する一時被覆物質を添加し、前記

無機物粒子から前記脂肪酸被覆を脱離させて前記一時被覆物質で被覆し、次に前記一時被覆物質で被覆された無機物粒子を極性溶媒に分散させ、極性溶媒中において分散性を示す被覆表面を形成する極性溶媒分散性被覆物質を前記極性溶媒分散液に添加し、前記無機物粒子から前記一時被覆物質被覆を脱離させ、前記磁性粒子を前記極性溶媒分散性被覆物質で被覆する方法によって製造でき、平均粒径が3nm以上40nm以下で粒径分布の標準偏差が平均粒径の15%以下に制御された磁性粒子の周囲が極性溶媒分散性被覆物質によって被覆されていることを特徴とするMRI造影剤。

[26] 脂肪酸で被覆された無機物粒子が非極性溶媒に分散した分散液に、非極性溶媒中にて粒子表面の脂肪酸被覆を置換して粒子表面に吸着する一方で極性溶媒中にて極性溶媒分散性被覆物質に置換されて脱離する一時被覆物質を添加し、前記無機物粒子から前記脂肪酸被覆を脱離させて前記一時被覆物質で被覆し、次に前記一時被覆物質で被覆された無機物粒子を極性溶媒に分散させ、極性溶媒中において分散性を示す被覆表面を形成する極性溶媒分散性被覆物質を前記極性溶媒分散液に添加し、前記無機物粒子から前記一時被覆物質被覆を脱離させ、前記無機物粒子を前記極性溶媒分散性被覆物質で被覆する方法によって製造でき、平均粒径が3nm以上10nm以下で粒径分布の標準偏差が平均粒径の15%以下に制御された磁性粒子の周囲が極性溶媒分散性被覆物質によって被覆されていることを特徴とするMRI陽性造影剤。

[27] 脂肪酸で被覆された無機物粒子が非極性溶媒に分散した分散液に、非極性溶媒中にて粒子表面の脂肪酸被覆を置換して粒子表面に吸着する一方で極性溶媒中にて極性溶媒分散性被覆物質に置換されて脱離する一時被覆物質を添加し、前記無機物粒子から前記脂肪酸被覆を脱離させて前記一時被覆物質で被覆し、次に前記一時被覆物質で被覆された無機物粒子を極性溶媒に分散させ、極性溶媒中において分散性を示す被覆表面を形成する極性溶媒分散性被覆物質を前記極性溶媒分散液に添加し、前記無機物粒子から前記一時被覆物質被覆を脱離させ、前記無機物粒子を前記極性溶媒分散性被覆物質で被覆する方法によって製造でき、平均粒径が10nm以上40nm以下で粒径分布の標準偏差が平均粒径の15%以下に制

御された磁性粒子の周囲が極性溶媒分散性被覆物質によって被覆されていることを特徴とするMRI陰性造影剤。

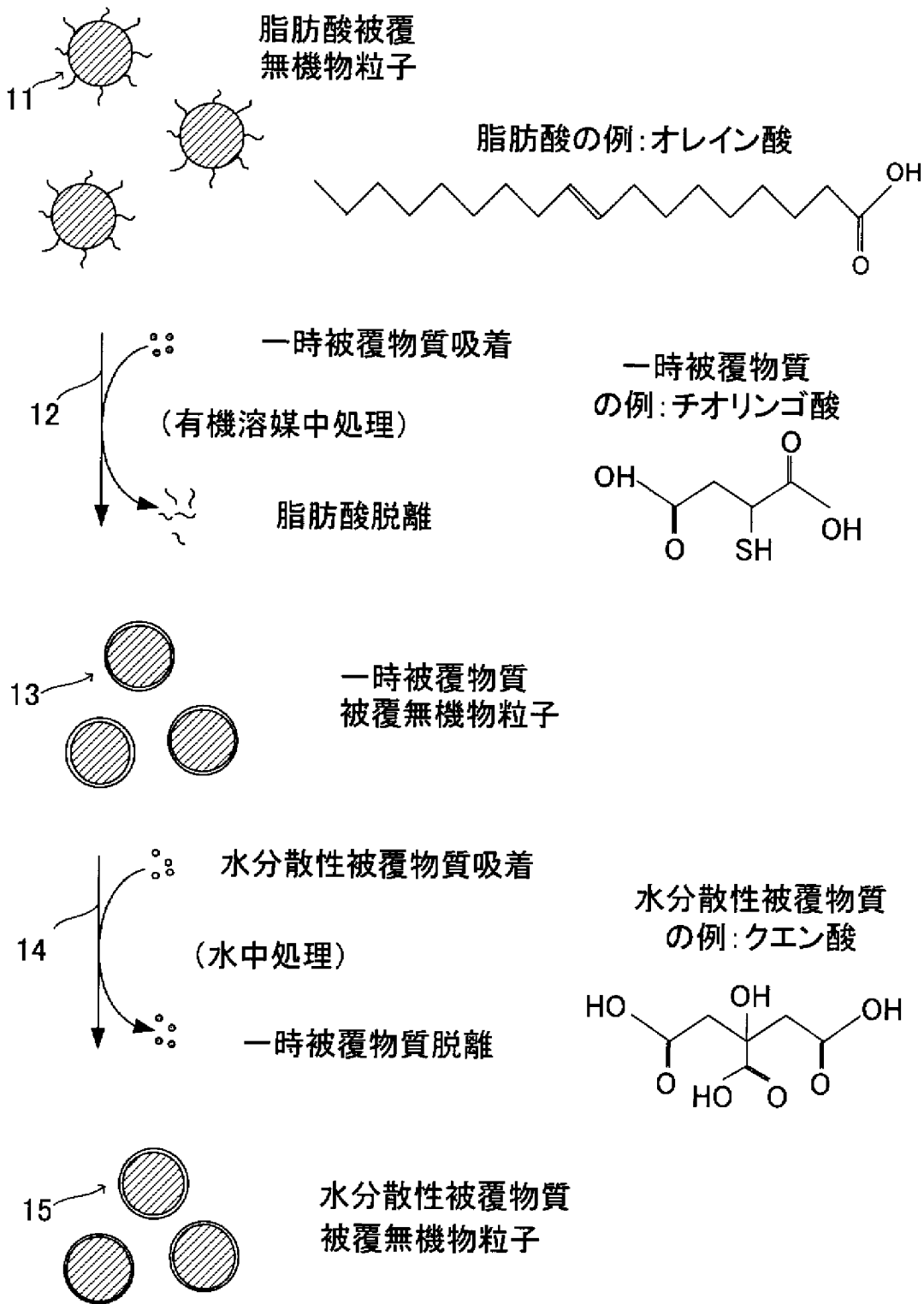
[28] 脂肪酸で被覆された無機物粒子が非極性溶媒に分散した分散液に、非極性溶媒中にて粒子表面の脂肪酸被覆を置換して粒子表面に吸着する一方で極性溶媒中にて極性溶媒分散性被覆物質に置換されて脱離する一時被覆物質を添加し、前記無機物粒子から前記脂肪酸被覆を脱離させて前記一時被覆物質で被覆し、次に前記一時被覆物質で被覆された無機物粒子を極性溶媒に分散させ、極性溶媒中において分散性を示す被覆表面を形成する極性溶媒分散性被覆物質を前記極性溶媒分散液に添加し、前記無機物粒子から前記一時被覆物質被覆を脱離させ、前記磁性粒子を前記極性溶媒分散性被覆物質で被覆する方法によって製造でき、3nm以上40nm以下で粒径分布の標準偏差が平均粒径の15%以下に制御された磁性粒子であることを特徴とする磁気ハイパーサーミア担体。

[29] 脂肪酸で被覆された無機物粒子が非極性溶媒に分散した分散液に、非極性溶媒中にて粒子表面の脂肪酸被覆を置換して粒子表面に吸着する一方で極性溶媒中にて極性溶媒分散性被覆物質に置換されて脱離する一時被覆物質を添加し、前記無機物粒子から前記脂肪酸被覆を脱離させて前記一時被覆物質で被覆し、次に前記一時被覆物質で被覆された無機物粒子を極性溶媒に分散させ、極性溶媒中において分散性を示す被覆表面を形成する極性溶媒分散性被覆物質を前記極性溶媒分散液に添加し、前記無機物粒子から前記一時被覆物質被覆を脱離させ、前記無機物粒子を前記極性溶媒分散性被覆物質で被覆する方法によって製造でき、3nm以上40nm以下で粒径分布の標準偏差が平均粒径の15%以下に制御された磁性粒子であることを特徴とする磁気分離担体。

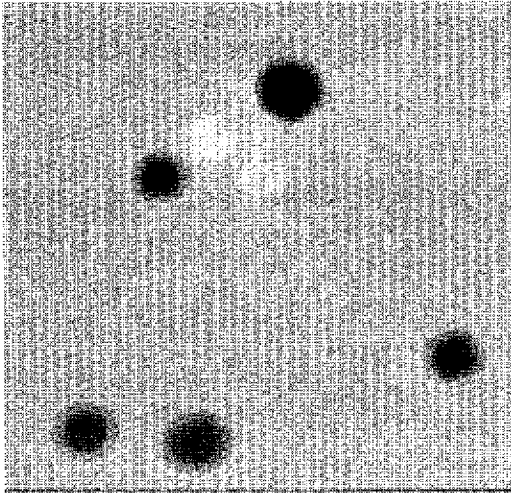
[30] 脂肪酸で被覆された無機物粒子が非極性溶媒に分散した分散液に、非極性溶媒中にて粒子表面の脂肪酸被覆を置換して粒子表面に吸着する一方で極性溶媒中にて極性溶媒分散性被覆物質に置換されて脱離する一時被覆物質を添加し、前記無機物粒子から前記脂肪酸被覆を脱離させて前記一時被覆物質で被覆し、次に前記一時被覆物質で被覆された無機物粒子を極性溶媒に分散させ、極性溶媒中において分散性を示す被覆表面を形成する極性溶媒分散性被覆物質を前記極性溶媒

分散液に添加し、前記無機物粒子から前記一時被覆物質被覆を脱離させ、前記無機物粒子を前記極性溶媒分散性被覆物質で被覆することによって製造できる表面被覆無機物粒子に対し、物質を認識する基質を固定してなることを特徴とするバイオセンサ担体。

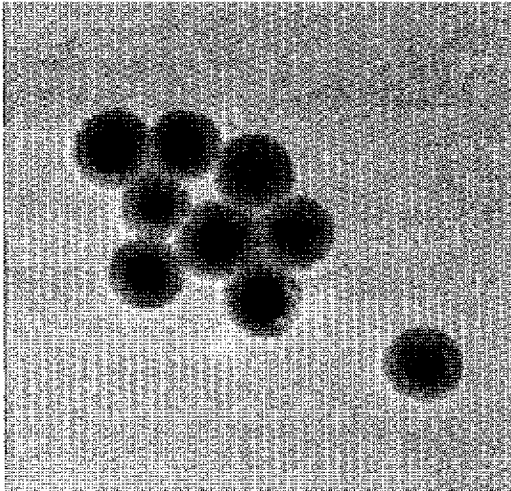
[図1]



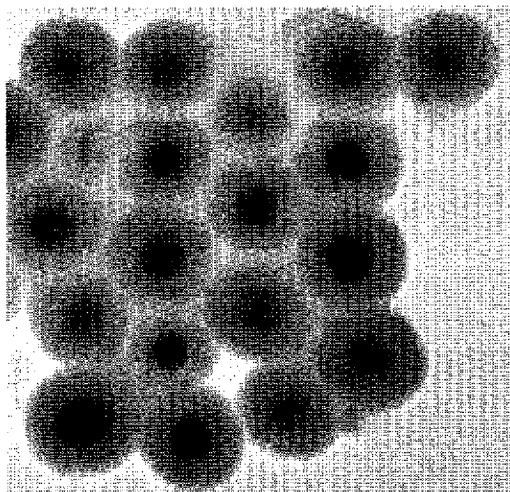
[図2]



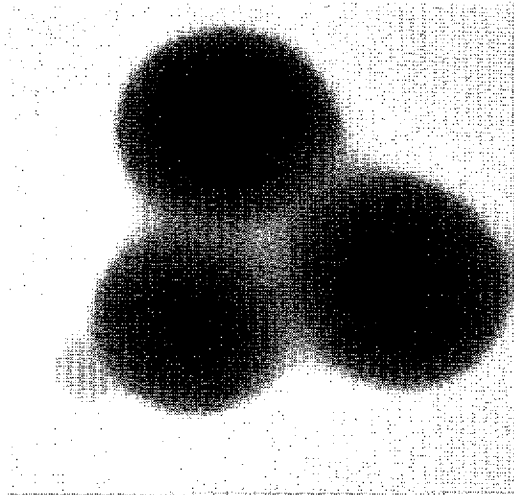
[図3]



[図4]



[図5]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2008/063361

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
C01G49/00(2006.01)i, A61K49/00(2006.01)i, B22F1/02(2006.01)i, H01F1/20(2006.01)i, H01F1/34(2006.01)i, H01F1/36(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C01G49/00, A61K49/00, B22F1/02, H01F1/20, H01F1/34, H01F1/36

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2008
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2008	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2008

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	JP 2006-502572 A (Ferropharm GmbH Forschungslabor), 09 January, 2006 (09.01.06), Claims; example 1 & US 2006/0024235 A1 & EP 1554734 A1 & WO 2004/034411 A1	21, 22, 24-30 1-20, 23
X A	WO 2006/025627 A1 (YONSEI UNIVERSITY), 09 March, 2006 (09.03.06), Examples; drawings & JP 2008-511461 A & EP 1789361 A1 & US 2008/0038361 A1	19-22, 24-30 1-18, 23
X A	LATTUADA Marco et al., Functionalization of Monodisperse Magnetic Nanoparticles, Langmuir, 2007.02.13, Vol.23, page.2158-2168	21, 22, 24 1-20, 23, 25-30

Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 21 October, 2008 (21.10.08)	Date of mailing of the international search report 11 November, 2008 (11.11.08)
--	--

Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2008/063361

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	SUN Yongkang et al., An improved way to prepare superparamagnetic magnetite-silica core-shell nanoparticles for possible biological application, Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2005, Vol.285, page.65-70	21-24 1-20,25-30
X A	JP 2004-075530 A (General Electric Co.), 11 March, 2004 (11.03.04), Claims; Par. No. [0041]; example 3; drawings & US 6797380 B2 & EP 1386886 A1	25-29 1-24,30
A	JUN Young-wook et al., Nanoscale Size Effect of Magnetic Nanocrystals and Their Utilization for Cancer Diagnosis via Magnetic Resonance Imaging, J.AM.CHEM.SOC., 2005, Vol.127, No.16, page.5732-5733	1-30
A	JIANG Wanquan et al., Preparaiton and properties of superparamagnetic nanoparticles with narrow size distribution and biocompatible, Jounal of Magnetism and Magnetic Materials, 2004, Vol.283, page.210-214	1-30

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. C01G49/00(2006.01)i, A61K49/00(2006.01)i, B22F1/02(2006.01)i, H01F1/20(2006.01)i, H01F1/34(2006.01)i, H01F1/36(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. C01G49/00, A61K49/00, B22F1/02, H01F1/20, H01F1/34, H01F1/36

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2008年
日本国実用新案登録公報	1996-2008年
日本国登録実用新案公報	1994-2008年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X A	JP 2006-502572 A (フェロファーマ ゲーエムベーハー フォルシ ュングスラボア) 2006.01.09, 特許請求の範囲, 実施例 1 & US 2006/0024235 A1 & EP 1554734 A1 & WO 2004/034411 A1	21, 22, 24-30 1-20, 23
X A	WO 2006/025627 A1 (YONSEI UNIVERSITY) 2006.03.09, 実施例, 図 面 & JP 2008-511461 A & EP 1789361 A1 & US 2008/0038361 A1	19-22, 24-30 1-18, 23

C欄の続きにも文献が列挙されている。

パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献
 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
 「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

21. 10. 2008

国際調査報告の発送日

11. 11. 2008

国際調査機関の名称及びあて先
 日本国特許庁 (ISA/J P)
 郵便番号100-8915
 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)	4G	8926
後藤 政博		
電話番号 03-3581-1101 内線	3416	

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X A	LATTUADA Marco et al., Functionalization of Monodisperse Magnetic Nanoparticles, Langmuir, 2007.02.13, Vol.23, page.2158-2168	21, 22, 24 1-20, 23, 25-30
X A	SUN Yongkang et al., An improved way to prepare superparamagnetic magnetite-silica core-shell nanoparticles for possible biological application, Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2005, Vol.285, page.65-70	21-24 1-20, 25-30
X A	JP 2004-075530 A (ゼネラル・エレクトリック・カンパニー) 2004.03.11, 特許請求の範囲, 【0041】, 実施例3, 図面 & US 6797380 B2 & EP 1386886 A1	25-29 1-24, 30
A	JUN Young-wook et al., Nanoscale Size Effect of Magnetic Nanocrystals and Their Utilization for Cancer Diagnosis via Magnetic Resonance Imaging, J. AM. CHEM. SOC., 2005, Vol.127, No. 16, page. 5732-5733	1-30
A	JIANG Wanquan et al., Preparaiton and properties of superparamagnetic nanoparticles with narrow size distribution and biocompatible, Jounal of Magnetism and Magnetic Materials, 2004, Vol.283, page.210-214	1-30