

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 12 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23550160

研究課題名(和文)還元性安定化剤ミセルを用いた金ナノ材料の形状制御合成と機能性分子の配列制御の研究

研究課題名(英文)Size controlled preparation of functional gold nanoparticles using micelles of reductive-stabilizer

研究代表者

岡村 浩昭 (Okamura, Hiroaki)

鹿児島大学・理工学研究科・教授

研究者番号：30244221

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円、(間接経費) 1,080,000円

研究成果の概要(和文)：両親媒性のアミノベンゼンチオール誘導体およびスルファニルアニリン誘導体を用いた、新しい金ナノ粒子の調製法を開発した。これらの分子はミセルを形成し、その内部で金イオンを還元し、金ナノ粒子を生成する。生じる粒子のサイズと安定性は、用いる化合物の構造によって制御可能であった。また、複数種類の化合物を固定化した金ナノ粒子の調製も可能であることを確認した。  
末端に糖を結合したスルファニルアニリン誘導体を用いて、糖を集積化したシュガーボール型金ナノ粒子を調製した。得られたナノ粒子は、糖結合性タンパク質レクチンと特異的かつ可逆的に相互作用しうることを確認した。また、4種類の生理活性糖類縁体の合成も行った。

研究成果の概要(英文)：We have developed a new preparation method of gold nanoparticles (AuNps) using amphiphilic alkylaminobenzenthiois and alkylsulfanylanilines as reductive stabilizers (RS) that reduce Au<sup>3+</sup> to AuNps and spontaneously stabilize the resulting AuNps by coordination with their thiol or amino group. Since the reduction reaction proceeds inside of the micelles of RS, the shape and stability of the resulting AuNp were controlled by the structure of RS. By using a mixture of these compounds, the AuNps covered with different type of compounds can be prepared.  
The AuNps covered with sugar molecules were easily prepared with the sugar-derived RS. The resulting sugar-AuNps showed specific and reversible interaction with concanavalin A, a carbohydrate-binding protein. Asymmetric synthesis of four biologically active sugar mimics has also been accomplished. We are planning to introduce them to the RS to give biologically active AuNps.

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・機能物質化学

キーワード：ナノ粒子 ミセル シュガーボール カルバ糖

1. 研究開始当初の背景

金ナノ粒子は、プラズモン共鳴による特有の発色を示すうえ、チオール基を利用して機能性分子を固定化することができるため、機能性ナノ材料の優れた基盤物質として広く用いられている。

ナノ粒子は、形状やサイズが変化することによって、その物性が大きく変化することがよく知られている。金ナノ粒子については、球状およびロッド状粒子のサイズ制御調製法が確立されているものの、より簡便かつ温和な条件下での調製法の開発が活発に行われている。

また、粒子上への機能性分子の固定化も重要な研究課題である。チオール基を有する様々な機能性分子の固定化方法は、すでに確立されているものの、複数種類の分子を比率、配列を制御しつつ固定化する方法はまだ確立されていない。

2. 研究の目的

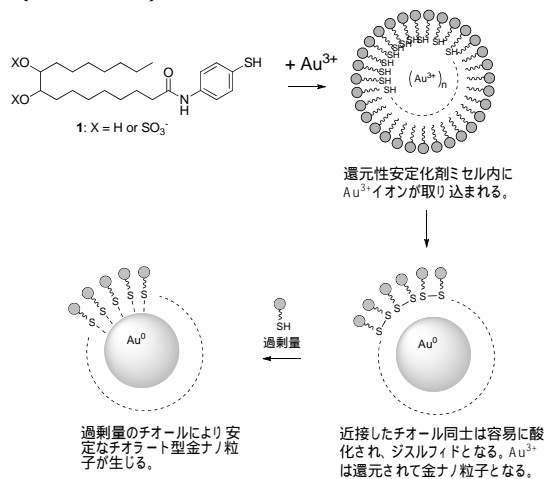
本研究の目的は、次に示す二つである。

- (1) 形状の揃った金ナノ粒子を合成する新しい方法の開発、および金ナノ粒子表面に複数の機能性分子を集積する方法の開発
- (2) 生体関連分子を固定化した金ナノ粒子の簡便な形状制御合成法の開発および、その生理活性の確認

本研究においては、目的(1)の達成を第一とし、その際に確立された方法を利用して、目的(2)の達成を目指すこととした。

3. 研究の方法

金ナノ粒子の調製法としては、2010年に我々の研究グループが開発した、還元性安定化剤(1)を利用した方法を用いることとした。(Scheme 1)



Scheme 1

この方法では、水溶液中の両親媒ベンゼンチオール誘導体ミセルに塩化金酸イオンが取り込まれた後、ミセル内部に密集したチオ

ールにより還元されることで金ナノ粒子が生じていると考えられている。きわめて温和な条件下で反応が進行するため、ミセルのサイズや形によって生じる金ナノ粒子のサイズや形を制御することが可能ではないかと考えた。

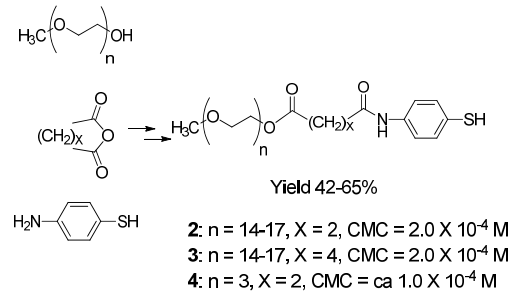
そこで、上記の二つの目的に対して、具体的に以下のような段階をへて研究を進めることとした。

(1) 構造の異なる還元性安定化剤を合成し、これを用いて金ナノ粒子の調製を行う。このとき、反応の速度論的検討から、反応がミセル内部で進行していることを確認する。また、得られた粒子の形状とその表面に固定化された分子の構造と組成を明らかにする。

(2) 糖を含む還元性安定化剤を合成し、表面に等を固定化した「シュガーボール」型金ナノ粒子を調製し、糖結合型のタンパク質であるレクチンとの相互作用を確認する。また、糖類似の構造を持ち、さまざまな生理活性を示すカルバ糖を合成し、これをナノ粒子上に固定化する方法を開発する。

4. 研究成果

(1) 両親媒性還元性安定化剤について、親水性部位と疎水性部位の鎖長が異なる3種類の化合物(2-4)を合成した。



Scheme 2

蛍光プローブ法を用いてこれらの臨界会合濃度(CAC)を測定し、CACと金ナノ粒子生成との関係を検討した。例として化合物2を用いた検討の結果をFig.1に示す。

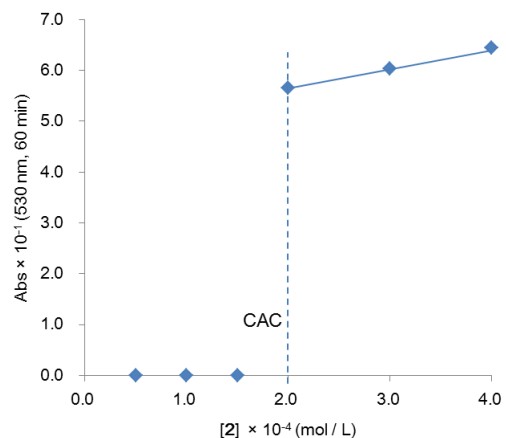


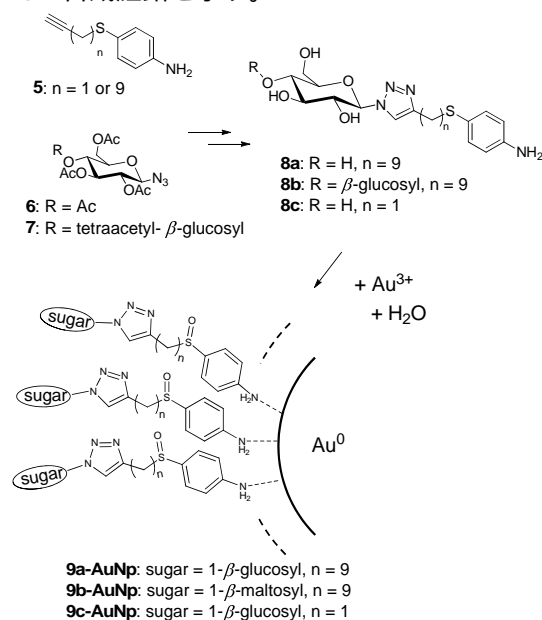
Fig.1 化合物2の濃度と金ナノ粒子生成速度

化合物 2 の濃度が CAC 以下の場合、金ナノ粒子生成を示す 530 nm の吸光度はほぼ 0 であった。ところが、CAC 濃度以上では 60 分以内に金ナノ粒子の生成が確認された。従って、予想通り金ナノ粒子はミセル内部で生成、成長していると結論した。

また、化合物 2 - 4 を任意の割合で混合して金ナノ粒子を生成し、得られたナノ粒子の  $^1\text{H}$  NMR スペクトルを測定した。化合物の構造が類似しているため、個々のシグナルの帰属は不可能であったが、ポリエチレンオキシド部位のプロトンに相当するシグナルの面積と、疎水性のメチレン基に由来するシグナルの面積は、混合比率と良い一致を示した。このことから、ナノ粒子は化合物 2 - 4 からなる混合ミセルを鋳型として形成され、表面に固定化された分子の組成は、混合ミセルを形成する分子の組成比と一致していることが示唆された。

さらに、化合物 2 - 4 を用いて調製した金ナノ粒子の安定性を検討したところ、鎖長の長い化合物 3 からなる粒子が最も安定で、鎖長の短い 4 から得た粒子は、24 時間以内に凝集して沈殿することが確認された。安定なナノ粒子の生成には、十分な鎖長を持った還元性安定化剤を利用する必要があることが示された。

(2) 上で得られた知見を元に、糖を含む還元性安定化剤の合成を検討した。Scheme 3 にその合成経路を示す。



Scheme 3

この方法では、当初予想したベンゼンチオール誘導体ではなく、スルファニルアニリン誘導体が得られた。興味深いことに、この化合物でもベンゼンチオール誘導体の場合と同様に  $\text{Au}^{3+}$  イオンの還元反応が進行し、安定な金ナノ粒子が生成した。これは、スルファ

ニルアニリンがスルフィニルアニリンへと酸化されると同時に、そのアニリン部位で生じた金ナノ粒子上に配位し、粒子の安定化を行っているものと考えられる。また、得られたナノ粒子の  $^1\text{H}$  NMR スペクトルも、スルフィニルアニリン誘導体への変換を支持している。

ナノ粒子の TEM 画像から、この反応では、直径約 5 - 50 nm 程度の粒子が凝集し、直径数百 nm から 1  $\mu\text{m}$  程度の集合体が生じていることが分かった。個々の粒子の粒径を詳細に調査したところ、鎖長の長い化合物 8a および 8b から得られたものは、約 50 - 70 nm であった。一方、鎖長の短い 8c から得られた粒子の直径は、約 20 - 30 nm であったことから、鎖長と粒径には相関関係があることが示唆された。また、化合物 2 - 3 で確認されたとおり、鎖長の短い 8c から得られた粒子は比較的不安定であり、24 時間以内に沈殿を生じた。

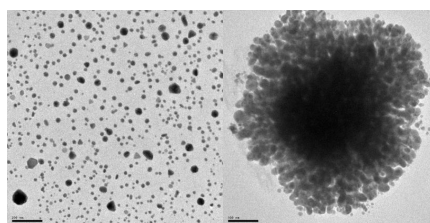


Fig. 2 9a-AuNp の TEM 画像 (左: スケールバー 200 nm、右: スケールバー 100 nm)

化合物 8b および 8c から得られた安定性の高いナノ粒子も、TEM 画像では凝集した状態にあることが確認された (Fig. 2)。これは、ナノ粒子の表面上に集積された糖部位の水酸基間の水素結合によるものと考えられる。この推測は、溶液の色の変化からも支持された。Fig. 3 に示す通り、糖 - 金ナノ粒子はメタノール溶液中では青色を示した。これは、粒子同士が水素結合によって凝集し、光の散乱が起こっているためであると考えられる。一方、水溶液の赤色は、凝集体が解離して、ナノ粒子の表面プラズモン共鳴によって発色したものとして説明できる。

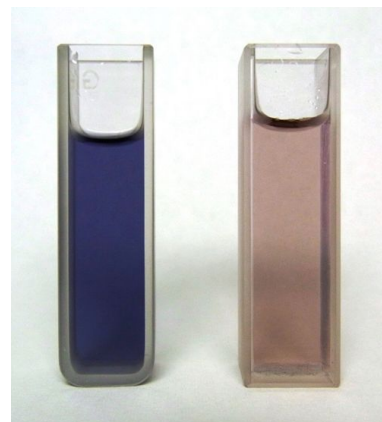


Fig. 3 左: 9a-AuNp のメタノール溶液、  
右: 9a-AuNp の水溶液

ナノ粒子上に糖分子が集積されていることは、糖結合性タンパク質レクチンである Concanavalin A (Con A) との相互作用からも支持された (Fig. 4)。化合物 **8a** から調製された金ナノ粒子の赤橙色水溶液に Con A 水溶液を添加すると、速やかに赤橙色沈殿が生じた (Fig. 4, )。これは、ナノ粒子上に集積化された糖分子と Con A とが相互作用して凝集したためであると考えられる。

さらに、この懸濁液に高濃度 (0.10 M) のマンノース水溶液を添加すると 3 時間以内に沈殿が溶解した (Fig. 4, )。Con A はグルコースよりもマンノースに強く結合することがよく知られていることから、この相互作用が Con A の糖認識部位による特異的かつ可逆的なものであることを示している。

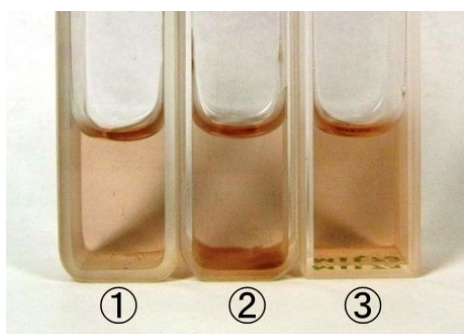
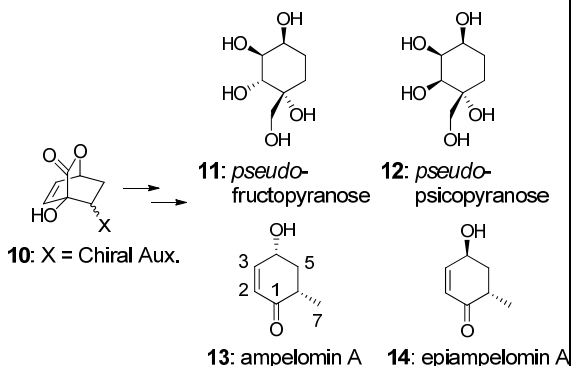


Fig. 4 **9a**-AuNp 水溶液、**9a**-AuNp + Con A 水溶液、**9a**-AuNp + Con A + マンノース水溶液

次に、ナノ粒子上への生理活性分子の固定化を目指して、生理活性を有する糖類縁体の合成について検討した。当研究室で開発した塩基触媒不斉 Diels-Alder 反応を鍵反応として、光学的に純粋な付加体 **10** から以下に示すカルバ糖類 **11** - **14** の合成を行った。カルバ糖は糖と類似した構造を持つため、糖代謝酵素の阻害作用をはじめ、多様な生理活性を示す。現在、これらの化合物からベンゼンチオール誘導体またはスルファニルアニリン誘導体への変換反応を検討中である。



Scheme 4

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 5 件)

T. Ishida, Y. Takahashi, H. Okamura, J. Kurawaki, S. Yamada, Vibrational spectroscopic characterization of 4-acylamidobenzenethiol-stabilized gold nanoparticles, *Vibrational Spectroscopy*, 査読有, 2014, Vol.73, 10-14.

DOI: 10.1016/j.vibspec.2014.04.002

T. Hamada, Y. White, M. Nakashima, Y. Oiso, M. Fujita, H. Okamura, T. Iwagawa, N. Arima, The bioassay-guided isolation of growth inhibitors of adult T-cell leukemia (ATL), from the Jamaican plant *Hyptis verticillata*, and NMR characterization of hyptoside, *Molecules*, 査読有, 2012, Vol. 17, No. 8, 9931-9938

DOI: 10.3390/molecules17089931

J. Kurawaki, T. Ishida, H. Okamura, S. Yamada, One-step synthesis and characterization of benzenethiol derivative-protected gold clusters, *Proceeding of International Conference on the Nanostructure-Enhanced Photo-Energy Conversion*, 査読有, 2012, Vol. 17, 46-47.

H. Okamura, F. Urabe, T. Hamada, and T. Iwagawa, Base-catalyzed Asymmetric Diels-Alder Reaction of 3-Hydroxy-2-Pyrone and Simple Aryl Vinyl Sulfoxide: Asymmetric Synthesis of Carbaketopyranoses, *Bull. Chem. Soc. Jp.*, 査読有, 2012, Vol 85, No. 5, 631 - 633

DOI: 10.1246/bcsj.20110257

岡村浩昭、岩川哲夫、濱田季之  
ジエンの活性化を基盤とする触媒的 Diels-Alder 反応の開発と生理活性シクロヘキセンオキシド類およびカルバ糖類合成への応用、*有機合成化学協会誌*、査読有、2012、Vol. 70、No. 3、227 - 239

DOI:

10.5059/yukigoseikyokaishi.70.227

[学会発表] (計 16 件)

蔵脇淳一、岡村浩昭、高橋幸奈、山田淳、金・銀ナノクラスターの新奇創製と光化学反応、第 32 回固体・表面光化学討論会、2013 年 12 月 11 日、東京

岡村浩昭、塩基触媒 Diels-Alder 反応を利用した有機合成、第 57 回香料・精油・テルペン化学に関する討論会、2013 年 10 月 05 日、埼玉

青木龍太郎, 神長暁子, 岡村浩昭, 蔵脇淳一, グルコース連結ベンゼンチオールを用いて創製した金クラスターに関する分光研究、第7回分子科学討論会、2013年09月24日、京都

蔵脇淳一, 岡村浩昭, 神長暁子、光機能性ベンゼンチオールを用いて創製した金ナノ粒子・金クラスターの分光研究、第7回分子科学討論会、2013年09月24日、京都

青木龍太郎, 神長暁子, 岡村浩昭, 蔵脇淳一, グルコース連結ベンゼンチオールを用いた金クラスター・金ナノ粒子の一段階合成に及ぼす溶媒効果、第30回九州コロイドコロキウム、2013年08月08日、福岡

片岸美保, 岡村浩昭, 蔵脇淳一, 山田 淳、チオール誘導体保護銀クラスターの一段階創製とキャラクタリゼーション、第50回化学関連支部合同九州大会、2013年07月06日、福岡

岡村浩昭, 置鮎佑太, 竹川竜一, 蔵脇淳一, 金ナノ粒子表面上に機能性分子のみを高度に集積する方法の開発、ナノ学会第11回大会、2013年06月06日、東京  
片岸美保, 石田拓也, 岡村浩昭, 神長暁子、チオール誘導体保護銀クラスターの創製とその分光特性、第29回九州コロイドコロキウム、2012年09月10日、熊本

石田拓也, 岡村浩昭, 蔵脇淳一, ベンゼンチオール誘導体保護金ナノ粒子・金クラスターの一段階合成と生成機構の考察、第29回九州コロイドコロキウム、2012年09月10日、熊本

J. Kurawaki, T. Ishida, H. Okamura, S. Yamada, One-step Synthesis and Characterization of Benzenethiol Derivative-protected Gold Clusters, Yamada Conference LXVI, International Conference on the Nanostructure-Enhanced Photo-energy Conversion, 2012年06月03日、東京

蔵脇淳一, 石田拓也, 弟子丸めぐみ, 岡村浩昭, 山田淳, ベンゼンチオール誘導体保護金ナノクラスターの安定化とフォトルミネッセンスの誘起、第72回分析化学討論会、2012年05月19日、鹿児島

石田拓也, 岡村浩昭, 蔵脇淳一, チオール基で保護された金ナノクラスター・金ナノ粒子の生成機構の速度論的考察、第72回分析化学討論会、2012年05月19日、鹿児島

K. Leonard, T. Ishida, H. Okamura, J. Kurawaki, S. Yamada, Facile One-pot Sonochemical Synthesis of Dihydroxy Fatty Acid-based Dendron-stabilized Gold Nanoparticles, International Association of Colloid and Interface

Scientists Conference, 2012年05月13日、宮崎

置鮎佑太, 岡村浩昭, 蔵脇淳一, 濱田季之, 岩川哲夫, 単糖および二糖-金ナノ粒子複合体の一段階調製法の開発、日本化学会第92春季年会、2012年3月27日、神奈川

三原侑一郎, 岡村浩昭, 蔵脇淳一, 濱田季之, 岩川哲夫, EG-ベンゼンチオール界面活性剤のミセル形成を利用した金ナノ粒子の調製、日本化学会第92春季年会、2012年3月27日、神奈川

岡村浩昭, 蔵脇淳一, ベンゼンチオール誘導体を利用した金ナノ粒子の簡便な調製法の開発、ナノ学会第9回大会、2011年6月3日、北海道

〔その他〕

ホームページ等

鹿児島大学産学官連携推進センター  
<http://www.rdc.kagoshima-u.ac.jp/rdc/se/arch/upload/okamura-sci.pdf>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

岡村 浩昭 (OKAMURA Hiroaki)  
鹿児島大学・理工学研究科・教授  
研究者番号：30244221

### (2) 研究分担者

蔵脇 淳一 (KURAWAKI Jun-ichi)  
鹿児島大学・理工学研究科・教授  
研究者番号：10170078