

[原著論文]

## シクロデキストリンポリマーを保護剤とした 金ナノクラスターの創製と包接機能

<sup>1)2)</sup>白石 幸英、<sup>1)</sup>深津 大介、<sup>1)</sup>戸嶋 直樹

1) 山口東京理科大学 基礎工学部 素材基礎工学科

2) 山陽小野田市立山口東京理科大学 工学部 応用化学科

### Preparation and Inclusion Function of Poly(cyclodextrin)-Protected Gold Nanoclusters

Yukihide SHIRAISHI, Daisuke FUKAZU, and Naoki TOSHIMA

Department of Applied Chemistry, Tokyo University of Science, Yamaguchi

#### Abstract

Metal nanoclusters are promising advanced materials with novel optical, electronic and biological functions. Many biological phenomena are mainly governed by specific recognition for a stimulus. This study is aimed to construct organized systems in the order of nanometer and to develop novel stimuli-responsive materials with molecular synchronization. We have prepared various kinds of metal nanoclusters stabilized by linear polymers, surfactants, organic ligands, etc. Stabilizers are often used to prevent metal nanoclusters from aggregation, and to promote some special properties of metal nanoclusters. Cyclodextrins are cyclic oligomers of glucose units, linked by  $\alpha(1-4)$  bonds with a central cavity. While the outside of cyclodextrin molecule is hydrophilic, the cavity inside is a hydrophobic medium such as diethyl ether, and various hydrophobic substances in aqueous medium can be included therein as the guest, when they are spatially fitted in the cavity. Gold nanoclusters protected by poly(beta-cyclodextrin) (PCyD) were prepared by UV irradiation of an alcohol-water solution of tetrachloroauric acid. Colloidal dispersions of PCyD-protected Au nanoclusters were very stable at room temperature for months. The color of colloidal dispersion of PCyD-protected Au nanoclusters suddenly changed from red to purple by addition of mercaptocarboxylic acid, suggesting the inclusion complex formation of the PCyD protecting Au nanoclusters with mercaptocarboxylic acid. A reversible response of the plasmon absorption peak depending on pH was observable in this dispersion. This reversibility can be attributed to synchronized changes between dispersion and ordering of PCyD-protected Au nanoclusters, which is supported by the observation in transmission electron microscopy.

**KEY WORDS** : Nanoclusters, Gold, Cyclodextrin, Inclusion Complex, Colloid

キーワード : ナノクラスター, 金, シクロデキストリン, 包接錯体, コロイド

## 1. はじめに

金属ナノクラスター（金属ナノ粒子）は、古くて新しい研究分野である。金属ナノクラスターのコロイド分散液を作って、学問的に始めて研究を行ったのは、電磁気学のファラデーの法則や電気分解におけるファラデー定数で知られる英国のファラデー（Michael Faraday）である。ファラデーは、1857年に塩化金（Ⅲ）酸ナトリウムを黄リンで還元して、金のコロイド溶液を合成した<sup>1)</sup>。しかし、人類はファラデーよりも以前から金ナノクラスターを利用してきた。例えば、教会のステンドグラスや295年～325年にローマで作られたとされる「リュクルゴスの聖杯」（大英博物館所蔵）<sup>2)</sup>である。これらの透き通った赤色は、金ナノクラスターの色であり、金のコロイド粒子がガラスの中に分散して金特有の吸収により綺麗なワインレッドを示したものである。

1971年、Faulk、Taylorらは、透過型電子顕微鏡用のマーカーとして金ナノクラスターを利用した<sup>3)</sup>。また、金属ナノクラスターの応用は、自動車排ガス浄化用の環境触媒や燃料電池用の高機能触媒はもとより、次世代のテラビットメモリーのための磁性材料、化粧品、薬品、サプリメントなどへも様々進められている<sup>4, 5)</sup>。この金属ナノクラスターの高機能化・高付加価値化を図るために、サイズや形状の制御、コア・シェル構造の構築、保護剤の機能化などが研究されている。筆者らは、これまで水溶性高分子の存在下、貴金属塩のアルコール溶液を加熱還流することにより、高分子で安定に保護された種々の貴金属ナノクラスターを調製し報告してきた<sup>6)</sup>。

近年、外界の変化を検知・判断し、適切な刺激応答性を示す生体系類似のインテリジェント材料が注目されている。生命現象においては、ミクロな変化が同調（シンクロナイズ）し、自律的、ドミノ的、カスケード的に、マクロな機能や運動システムを制御している。人工系において、弱い相互作用のネットワークからなる分子やその集合体というようなミクロな機能団が相互に同調し、その結果が積算されマクロな機能や材料システムを構築することを、分子シンクロナイズと呼ぶ。本研究は、金属ナノクラスターを囲んでいる保護剤の層（コロナ層）に微少な外部刺激を与えると、弱い相互作用がバランスしたネットワーク系を形成している金属ナノクラスターの分散・配列系を通して、その刺激が増巾変換されて、情報変換と伝達の機能を発現するような分子シンクロナ

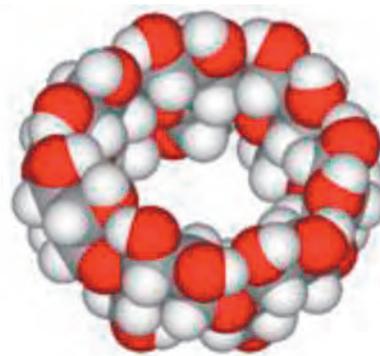


図1 シクロデキストリンの分子モデル

イズ系の構築を目的としている。具体的には、コロナ層にその分子認識能により人工酵素のモデル化合物として幾多の研究対象とされてきたシクロデキストリン（図1）を用いる<sup>7)</sup>。これまでシクロデキストリンを金属ナノクラスターのコロナ層に用いた報告はあるが、その数はまだわずかであり<sup>8, 9)</sup>、分子シンクロナイズ材料としての応用研究は皆無である。本報では、シクロデキストリンをコロナ層とする金ナノクラスターを創製し、微少な外部刺激に応答するコロイド分散/シンクロナイズ系の構築について報告する。

## 2. 実験

### 2.1 PCyD-Au ナノクラスターの調製

光還元法による金ナノクラスターの調製は、100mL 石英製シュレンク管に、エピクロロヒドリンで架橋したポリ（ $\beta$ -シクロデキストリン）（PCyD 東京化成工業（株）製、132  $\mu\text{mol}$ ）とテトラクロロ金（Ⅲ）酸四水和物（和光純薬工業（株）製、3.3  $\mu\text{mol}$ ）を含む水/エタノール（1/1）5mL 溶液を加え、反応器内を窒素置換して還元雰囲気とした。磁気攪拌機を用いて十分に攪拌した後、500 W 超高压水銀灯にて1時間室温で紫外線照射して、ポリ（ $\beta$ -シクロデキストリン）で安定化した金（PCyD-Au）ナノクラスター分散液を得た。また、天然の $\alpha$ CyD、 $\beta$ CyDおよび $\gamma$ CyDをコロナ層とした金ナノクラスターの調製も同様の手順で行った。

### 2.2 PCyD-Au ナノクラスターのキャラクタリゼーション

還元前の前駆体溶液および、還元後のPCyD-Au ナノクラスター分散液を、（株）島津製作所製 UV-2500PC 紫外可視吸光光度計を用い、紫外・可視（UV-Vis）吸収スペクトルを測定した。得られたPCyD-Au ナノ

クラスター分散液をカーボン支持銅メッシュ上にキャストし真空乾燥したものを、(株)日立製作所 H-7000 透過型電子顕微鏡 (TEM) により、加速電圧 100 kV、10 万倍で観察し、写真を撮影した。

### 2.3 PCyD-Au ナノクラスターの刺激応答性

PCyD-Au ナノクラスター分散液に、各種チオール化合物 (3-メルカプトプロピオン酸、3-メルカプトイソ酪酸および、4-メルカプト安息香酸) を添加して、磁気攪拌機を用いて十分に攪拌し、シクロデキストリンとの包接錯体を形成した。この分散液に HCl および NaOH を加えて、UV-Vis 吸収スペクトルの変化を観察し、刺激応答性を評価した。

## 3. 結果と考察

### 3.1 PCyD-Au ナノクラスターの調製

テトラクロロ金 (III) 酸四水和物および PCyD の水/エタノールを 1 時間紫外光照射すると、溶液の色は黄色から赤色に変化した。この PCyD-Au ナノクラスター分散液は、空気中でも劣化せず、密栓して室温で 6 ヶ月保存後も金の沈殿は生成せず、安定であった。PCyD-Au ナノクラスター分散液の UV-Vis 吸収スペクトルを測定したところ、テトラクロロ金 (III) 酸溶液が示す 300 nm の吸収が、紫外光照射 1 時間後には観察されず、523 nm 付近に金由来の表面プラズモンが観察された。Au ナノクラスターと光との相互作用は、環境や大きさ、物理的形狀に大きく影響される。ナノクラスターの近傍に伝搬する光の振動電場が自由電子と相互作用し、可視光周波数と共鳴するような協奏的振動を電荷に引き起こす。この共鳴振動は、表面プラズモン共鳴として知られている。この結果は、金 (III) イオンが完全に金属にまで還元され、PCyD-Au ナノクラスター分散液が生成したことを示唆している。TEM 観察より (図 2)、PCyD-Au

ナノクラスターは平均粒径 5.6 nm、標準偏差 1.5 nm で、比較的均一であった。PCyD の代わりにコロナ層に  $\alpha$  CyD、 $\beta$  CyD、および  $\gamma$  CyD を用いた場合、安定なナノクラスター分散液は得られず、調製直後に凝集した。PCyD で安定な Au ナノクラスターが得られたのは、高分子保護金属ナノクラスターにおいては、高分子の疎水部がトレイン部として金属表面に、親水部がグループ部、テール部として水溶液中に安定に広がり、金属を保護するとされている<sup>10)</sup>。PCyD では、エピクロロヒドリン架橋部が保護高分子のトレイン部と類似的作用をすることにより、Au ナノクラスターを安定に保護しているものと思われる。また、一般に高分子溶液を固体表面に接触させると、高分子は固体表面に強く吸着することが知られている。高分子の濃度が極めて低い領域でも吸着は速やかに進行し、高分子の吸着等温線は鋭い立ち上がりを示す。高分子の吸着力が強いのは、1 分子あたりの吸着点が多いためである。よって、PCyD を用いて安定な Au ナノクラスターが得られたのは、PCyD が Au 表面と多点で相互作用し保護・安定化する高分子効果によるものと考えられる。Kaifer らは<sup>11)</sup>、シクロデキストリンの弱い保護能を補完するため、シクロデキストリンの一級水酸基をチオールで修飾することを報告しているが、我々は高分子化することで安定な Au ナノクラスター分散液を得ることに成功した。

### 3.2 PCyD-Au ナノクラスターの包接機能

PCyD-Au ナノクラスターの刺激応答性を、種々のチオール化合物を添加し評価した。図 3 に、調製した PCyD-Au ナノクラスター分散液に、ゲスト分子として 3-メルカプトイソ酪酸 (MIBA) を添加した際の分散液の色変化と UV-Vis 吸収スペクトルを示す。MIBA を  $5.0 \times 10^{-2} \mu\text{mol}$  添加すると Au ナノクラスター分散液の色は赤から赤紫へ、さらに添加量を増やすと青紫、青へと変化した。金ナノクラスター分散液は、金粒子の粒径によって赤～青色を示す。このような金ナノクラスターの発色は、「カシウスの紫」として、17 世紀後半から知られている<sup>12)</sup>。Turkevich らは<sup>13)</sup>、様々な金ナノクラスターの調製について、核生成と粒子成長過程に関する詳細な研究を報告している。UV-Vis 吸収スペクトルの結果より、MIBA 無添加の場合、PCyD-Au ナノクラスターの最大吸収波長は 523 nm 付近に現れるが、MIBA を  $5.0 \times 10^{-2} \mu\text{mol}$  添加すると吸収波長は 527 nm にシフトし、さらに  $10 \times 10^{-2} \mu\text{mol}$  (532 nm)、 $15 \times 10^{-2} \mu\text{mol}$  (552 nm)、

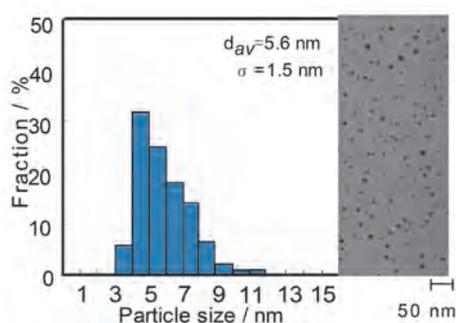


図2 PCyD-Au ナノクラスターの TEM 写真と粒径分布図

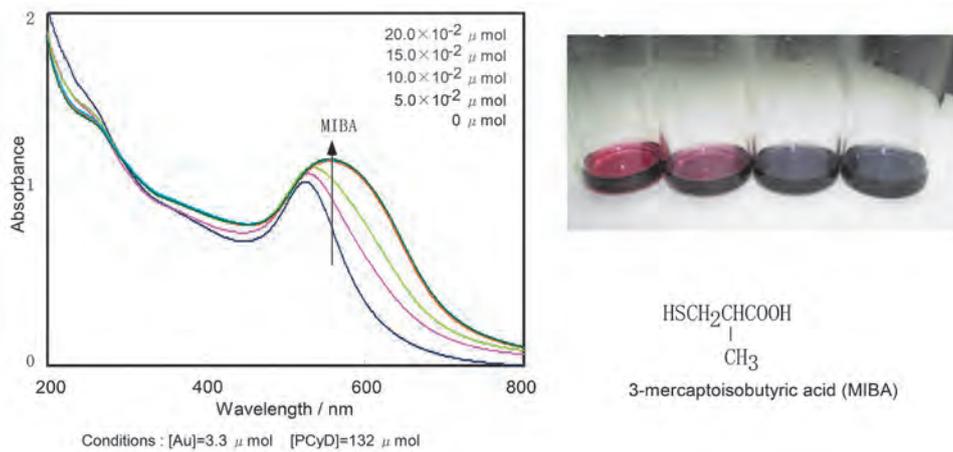


図3 3-メルカプトイソ酪酸 (MIBA) を添加した PCyD-Au ナノクラスターの色変化と UV-Vis 吸収スペクトル

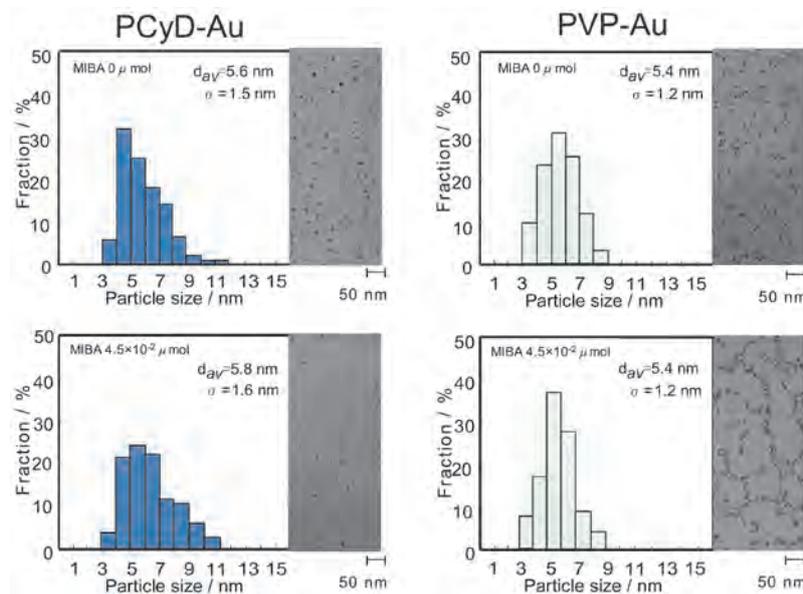


図4 3-メルカプトイソ酪酸 (MIBA) を添加した PCyD-Au および PVP-Au ナノクラスターの TEM 写真

$20 \times 10^{-2} \mu\text{mol}$  (567 nm) とピークは大きくレッドシフトした。対照実験として、ポリ (*N*-ビニル-2-ピロリドン) (PVP) 保護 Au ナノクラスター作成し、同様に MIBA を添加した。しかしながら、MIBA の添加量に依存せず PVP-Au ナノクラスターの最大吸収波長は変化しなかった。図4に MIBA を添加した PCyD-Au および、PVP-Au ナノクラスターの TEM 写真と粒径分布図を示す。PCyD-Au ナノクラスターは、MIBA の添加で、平均粒子径が5.6 nm から5.8 nm に増大した。一方、PVP-Au ナノクラスターでは、MIBA を添加しても平均粒子径は5.4 nm のままで、粒子径に変化は見られなかった。この結果は、上述の UV-Vis 吸収スペクトルの結果と一致する。これより、MIBA の添加による PCyD-Au ナノクラスターの変化は、MIBA が PCyD の空洞内へ包接され、

MIBA のメルカプト基が金表面と相互作用することによる。一方、PVP-Au ナノクラスターは、PVP に MIBA を包接する部分が無く、Au と S との相互作用が起こらず変化しなかったものと考えられる。

MIBA が PCyD の空洞内へ包接されたことを確認するため、次の実験を行った。PCyD のモノマー骨格である  $\beta$  CyD に強く包接される1-アダマンタンカルボン酸 (AC) を<sup>14)</sup>、PCyD と等量を予め添加しておき、その後 MIBA を添加し UV-Vis 吸収スペクトルを測定した (図5左)。PCyD-Au ナノクラスターに AC を添加しても最大吸収波長は殆ど変化しなかった。この AC を添加した PCyD-Au ナノクラスターに MIBA を添加した際の最大吸収波長は、MIBA  $15 \times 10^{-2} \mu\text{mol}$  の添加で529 nm であった。このように、AC を予め添加した系の MIBA の効果は極めて僅か

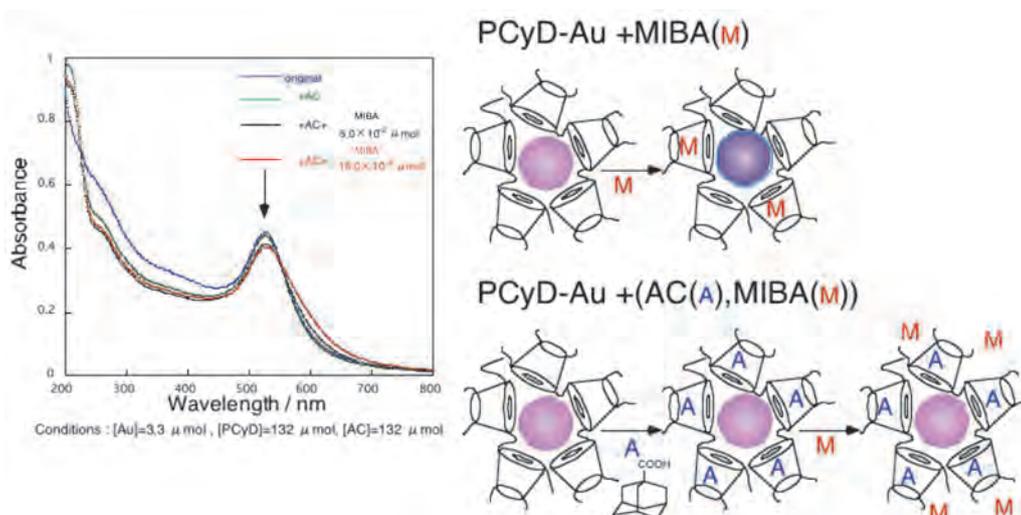


図5 PCyD-Au ナノクラスターに1-アダマンタンカルボン酸 (AC) および3-メルカプトイソ酪酸 (MIBA) を添加した UV-Vis 吸収スペクトルとモデル図

であった。一方、上述の AC を予め添加しない場合の最大吸収波長は523 nm に対し、MIBA ( $15 \times 10^{-2} \mu\text{mol}$ ) 添加の波長は552 nm で29 nm レッドシフトした。一般に、シクロデキストリンは、次のような作用：(1) 難溶性物質の可溶化、(2) 中間体の保護、(3) コンフォメーション効果、(4) 微視的溶媒効果および、(5) 分子の大きさのコントロールを示すと報告がある<sup>15)</sup>。本系においては、まず PCyD の空洞径に適合する AC が (5) の作用により強くシクロデキストリンの空洞内に包接される (図5右下)。先に強く包接された AC により PCyD の空洞は塞がれ、次に添加された MIBA を包接できるナノ空間が存在しなくなり、そのため MIBA は PCyD に包接されず、UV-Vis 吸収スペクトルにおいてピークシフトしなかった。Otsuka らは<sup>16)</sup>、特異的分子認識として知られている糖とレクチン、あるいはビオチンとアビジンなどを用いて Au ナノクラスターの機能化を報告しているが、我々は、シクロデキストリン用いた Au ナノクラスターの簡便な分子認識系の構築に成功した。

### 3.3 PCyD-Au ナノクラスターの刺激応答性

金属ナノクラスターの色調はコロナ層の種類や状態、金属ナノクラスター粒子の分散と凝集の工合、粒子間距離と配列の様子などにより変化する。刺激応答性を示す金ナノクラスター分散系の構築を検討した。PCyD-Au ナノクラスター分散液に、3-メルカプトプロピオン酸、3-メルカプトイソ酪酸および、4-メルカプト安息香酸の各種チオール化合物を添加した際、MBA のレッドシフトが最も大きかった。これ

は、MBA と PCyD との包接錯体係数が大きいと思われる。そこで刺激応答性分子として MBA を選択し、pH 刺激による変化を観察した。MBA を添加した PCyD-Au ナノクラスター分散液は、pH 2.9 で、525 nm に表面プラズモン吸収を持ち、TEM 観察から広範囲に粒子の集合体が形成され、大きな粒子も確認された (図6 a))。この PCyD-Au ナノクラスター分散液に NaOH を添加すると、pH は10.2 になり、最大吸収波長は522 nm にブルーシフトし、TEM 写真では粒子の集合体は観察されなかった (図6 b))。この溶液にさらに HCl を添加すると最大吸収波長は525 nm に戻り、粒子の集合体が再び形成された (図6 c))。ナノクラスターは、自己組織的に階層構造を形成することが報告されている<sup>6)</sup>。この階層構造は、最も小さい「elementary clusters」から「fundamental clusters」、「superstructure」そして「higher order organization of superstructure」と段階的に大きくなり、「superstructure」は、平均粒径2.0~4.0 nm の「fundamental clusters」から形成される。よって、図6 a および図6 c の TEM 写真にみられた粒子の集合体は、PCyD-Au ナノクラスターのコロナ層が自己組織的にシクロし、「superstructure」や「higher order organization of superstructure」を形成したものである。このモデルを図7に示す。PCyD-Au ナノクラスターに4-メルカプト安息香酸を添加すると4-メルカプト安息香酸が PCyD に包接され、4-メルカプト安息香酸間の水素結合により superstructure が形成される。これに、さらに NaOH を添加することで水素結合は弱まり、元の状態に可逆的に戻る。この

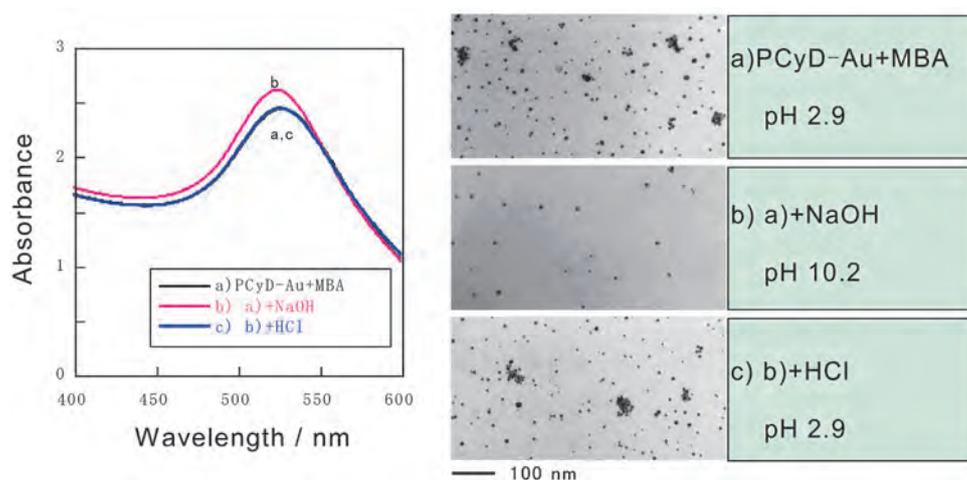


図6 PCyD-Au ナノクラスターに4-メルカプト安息香酸 (MBA) を添加し pH を変化した際の UV-Vis 吸収スペクトルと TEM 写真

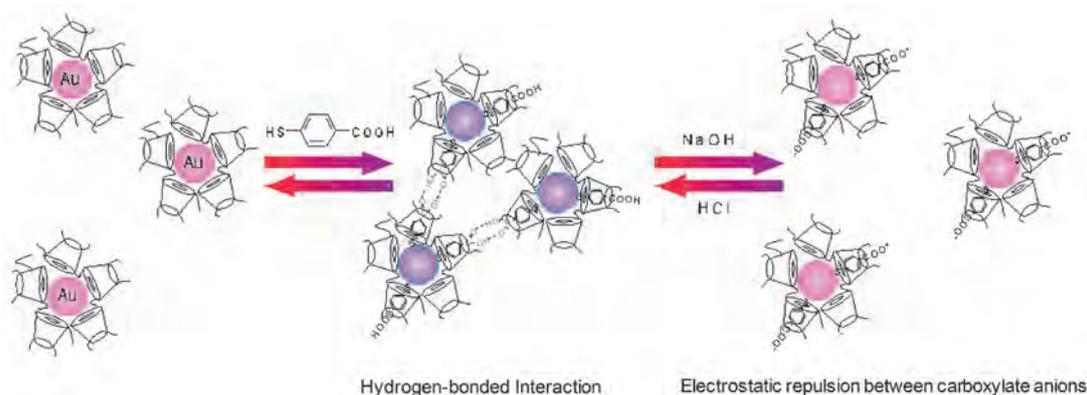


図7 PCyD-Au ナノクラスターに4-メルカプト安息香酸 (MBA) を添加し pH を変化したモデル図

現象は、チオール化合物保護 Au ナノクラスターでも確認され、可逆的なサイクルを安定に示した<sup>17)</sup>。このように本研究で見出した PCyD-Au ナノクラスターの刺激応答性は、センシング材料として期待される。

Au ナノクラスターを用いる応用研究は、現在、質・量共に拡大の一途にあり、特に医療技術、バイオセンサーの開発が著しい。本稿では、PCyD-Au ナノクラスターがゲスト分子とのシンクロナイゼーションによるセンシング材料に有効であることを明らかにした。シクロデキストリンは、グルコース単位が6個の $\alpha$ CyD、7個の $\beta$ CyD および、8個の $\gamma$ CyD が上市され流通しているが、大環状シクロデキストリンとしてグルコース単位が50個以上のものまで知られている。そのため、ターゲットとする分子にフィットするシクロデキストリンを選定することで、テーラーメイドの分子センサーの構築が可能となると思われる。最近、紙にマイクロ流路を作成した分析デバイスであるマイクロ流路ペーパーデバイス (Microfluidic Paper-

based Analytical Device:  $\mu$ PAD) が注目されている。Asano らは<sup>18)</sup>、フォトリソグラフィーの手法によって作成した  $\mu$ PAD をユビキタスデバイスとして有用性を示し、本紀要に「pH 応答性金ナノ粒子を用いたマルチチャンネル  $\mu$ PAD の開発」を寄稿している。本稿が、この分野の発展に寄与することを願う。

## 謝 辞

本研究は、文部科学省科学研究費補助金 特定領域研究 (A) 「分子シンクロ」(戸嶋、No. 11167281)、奨励研究 (A) (白石、No. 11750738) および、基盤研究 (C) (白石、No. 15K04613) などの援助を受けて行われた。

## 引用文献

- 1) M. Faraday, The bakerian lecture: experimental relations of gold (and other metals) to light, *Philos. Trans. R. Soc. London*, 147, 145-181 (1857).
- 2) [http://www.britishmuseum.org/research/collect ion\\_online/collection\\_object\\_details.aspx?objectI d=61219&partId=1&searchText=lycurgus+cup &page=1](http://www.britishmuseum.org/research/collect ion_online/collection_object_details.aspx?objectI d=61219&partId=1&searchText=lycurgus+cup &page=1).
- 3) W. P. Faulk and G. M. Taylor, An immunocolloid method for the electron microscope, *Immunochemistry*, 8(11), 1081-1083 (1971).
- 4) J. H. Fendler, "Nanoparticles and Nanostructured Films", Wiley-VCH, Weinheim (1998).
- 5) B. Corain, G. Schmid and N. Toshima, "Metal Nanoclusters in Catalysis and Materials Science: The Issue of Size Control", Elsevier, Amsterdam (2008).
- 6) N. Toshima and Y. Shiraishi, Catalysis by metallic colloids, *Encyclopedia of Surface and Colloid Science*, P. Somasundaran ed., Marcel Dekker Inc., New York (2002).
- 7) J. Szejtli and T. Osa, *Cyclodextrin*, Elsevier, Pergamon (1999).
- 8) M. Komiyama and H. Hirai, Colloidal rhodium dispersions protected by cyclodextrins, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 56, 2833-2834 (1983).
- 9) H. Sakurai, T. Hirao, Y. Negishi, H. Tsunakawa, and T. Tsukuda, Palladium clusters stabilized by cyclodextrins catalyze Suzuki-Miyaura coupling reactions in water, *Trans. MRS-J*, 27, 185-188 (2002).
- 10) T. F. Tadros, "Polymer Colloids", R. Buscall ed., Elsevier, Essex (1985).
- 11) J. Alvarez, J. Liu, E. Roman, and A. E. Kaifer, Water-soluble platinum and palladium nanoparticles modified with thiolated  $\beta$ -cyclodextrin, *Chem. Commun.*, 1151-1152 (2000).
- 12) K. Ogino, M. Ohta, J. Matsui, Application of colloidal gold to cosmetics, *J. Soc. Cosmet. Chem. Jpn.*, 32(2), 158-166 (1997).
- 13) J. Turkevich, P. C. Stevenson, and J. Hiller, A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold, *Discuss. Faraday Soc.*, 11, 55-75 (1951).
- 14) M. Komiyama and M. L. Bender, Importance of apolar binding in complex formation of cyclodextrins with adamantanecarboxylate, *J. Am. Chem. Soc.*, 100(11), 2259-2260 (1978).
- 15) H. Hirai and Y. Shiraishi, Regioselective carboxylation of aromatic compounds using cyclodextrin as mediator, *React. Funct. Polym.*, 67, 1115-1128 (2007).
- 16) H. Otsuka, Y. Akiyama, Y. Nagasaki, and K. Kataoka, Quantitative and reversible lectin-induced association of gold nanoparticles modified with  $\alpha$ -lactosyl- $\omega$ -mercapto-poly (ethylene glycol), *J. Am. Chem. Soc.*, 123(34), 8226-8230 (2001).
- 17) Y. Shiraishi, D. Arakawa, and N. Toshima, pH-Dependent color change of colloidal dispersions of gold nanoclusters: Effect of stabilizer, *Eur. Phys. J. E*, 8, 377-383 (2002).
- 18) H. Asano and Y. Shiraishi, Development of paper-based microfluidic analytical device for iron assay using photomask printed with 3D printer for fabrication of hydrophilic and hydrophobic zones on paper by photolithography, *Anal. Chim. Acta*, 883(9), 55-60 (2015).