

フラボノイド化合物を結合させた球状金ナノ粒子の合成と分散・凝集状態の制御

愛知教育大

○日野 和之, 角田 恵理, 西尾 ふみね, 藤田 あおい, 柴田 るり子

Preparation of gold nanoparticles coated with a flavonoid compound and dispersibility controls of them

○Kazuyuki Hino, Eri Tsunoda, Fumine Nishio, Aoi Fujita, Ruriko Shibata
Department of Chemistry, Aichi University of Education, Japan

【Abstract】 We have prepared gold nanoparticles (diameter of 2, 5, 20 nm) coated with a flavonoid compound (alkyl chain length of C3~C10). Fluorescence spectra of them show stronger quenching with larger particle diameter and shorter chain length. On the other hand, under pH 3, 7, and 11, absorption spectra of them show a red shift of ~100 nm because of aggregation. We confirmed the reversibility of dispersion and aggregation by changing the pH.

【序】 直径が約 3 nm 以上の貴金属ナノ粒子は, 自由電子の表面プラズモン振動に由来する特徴的な吸収を紫外光から近赤外光の領域に示す. 金ナノ粒子の場合, 粒子サイズが 5 nm では吸収極大が 520 nm, サイズが 30 nm では吸収極大が 560 nm である. この表面プラズモンによる電場は, 近傍にある蛍光性分子と相互作用し, その発光効率を増大させる性質をもつ[1, 2]. しかし, より一般的には蛍光性分子の励起エネルギーが金属ナノ粒子に移動して, 消光現象が多く観測される.

一方で, 金ナノ粒子表面へ外部刺激応答性もつ配位子を付加させたときに, 配位子の性質を保持し続けることが報告されている[3]. 中でも, pH 応答性の振る舞いは, 複合体の周囲環境を探るセンサーや, 薬効成分を患部をねらって受け渡すドラッグデリバリーへの応用が期待されている.

我々は, 蛍光発色団としてフラボノイド化合物を選択し, 金ナノ粒子と結合させることを計画した. フラボノイド化合物にアルキル鎖を導入し, 末端をチオールとすることで金ナノ粒子に結合させる. アルキル鎖長を変えることで, 金ナノ粒子と蛍光発色団の間の距離を制御できる. そこで, サイズが数 nm から数 10 nm の金ナノ粒子を調製することで, 粒子サイズとスペーサー距離の 2 つのパラメーターを組み合わせることで蛍光挙動を調べることができる. 一方で, 今回対象とするフラボノイド化合物にはジエチルアミノ基が結合しており, pH を変化させることでプロトンの脱着が期待される. このことにより, 粒子表面のもつ電荷が影響を受けて粒子の分散・凝集状態がスイッチできる. pH 依存性を詳細に明らかにするために, 複数の緩衝溶液を用いて吸収スペクトルを測定する.

【実験】 4'-ジエチルアミノ-3-ヒドロキシフラボンのヒドロキシ基とジブromoアルカン (炭素鎖長 C3~C10) を縮合させ, チオアセチル化し, 最後に脱保護してチオールとした (図 1). 金ナノ粒子の調製は, 3 つの方法で行った. i) 塩化金酸とチオールを DMF に溶解した

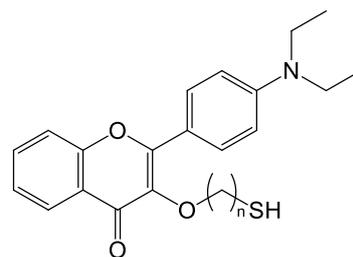


Fig. 1. Molecular Structure of Thiol.

溶液をヒドリド還元して粒径が 2 nm のフラボノイド結合ナノ粒子を得た. ii) 塩化金酸とドデシル硫酸ナトリウム (SDS) を溶解した水溶液をヒドリド還元して粒径が 5 nm のナノ粒子を得た. iii) 塩化金酸水溶液にクエン酸を加えて, 加熱還元して粒径が 20~30 nm のナノ粒子を得た. 硝酸銀も加えた条件で, 粒径が 80 nm 以上のナノ粒子を得た. ii)と iii)の場合には, その後チオールを溶解したアセトニトリル溶液と作用させることで, 配位子置換し, それぞれフラボノイド結合ナノ粒子を作製した. 得られた複合体ナノ粒子を DMF に溶解して吸収および蛍光スペクトルを観測した. このとき, 蛍光強度を比較するためにフラボノイド由来の吸収の吸光度をそろえた. 一方, 分散・凝集状態の調査については, 複合体ナノ粒子をエタノールに溶解して, そこに緩衝溶液を加えて吸収スペクトルの変化を調べることで行った.

【結果・考察】複合体ナノ粒子の溶媒への溶解度は, 粒子サイズに依存した. すべてのサイズの粒子は DMF に溶解したため, DMF 溶液で蛍光測定を行った. 図 2 に粒径 2 nm, 5 nm, 20 nm の粒子に C8 チオールを結合した複合体ナノ粒子の 380 nm 励起の蛍光スペクトルを示す. 蛍光極大は 480 nm に現れた. C8 チオール単体に対して, 蛍光強度は粒径が 2 nm, 5 nm, 20 nm の順に大きく減少することが分かった. また, 粒径 2 nm の粒子にそれぞれ C5, C8, C10 チオールを結合した複合体ナノ粒子の蛍光スペクトルから, 蛍光強度はアルキル鎖長が C10, C8, C5 の順に大きく減少することが分かった. このことから, 粒子サイズがより大きくなるほど, また, スペーサー距離がより小さいほど, 蛍光強度が大きく減少する. これは, 粒子と蛍光発色団がより接近するほど励起エネルギー移動や重原子効果が大きくなるためと考えられるが, 柔軟である炭素鎖の折れ曲がり, 凝集の可能性も考えられる.

一方, 複合体ナノ粒子の DMF 溶液に緩衝溶液を少量加えると粒子の沈殿や塩の析出が見られた. それに対して, エタノール溶液では緩衝溶液を加えても十分に溶解したままであった. そこで, 今回は粒径 20 nm 以上の粒子について pH による分散・凝集状態の調査を行うことにした. 図 3 に粒径 20~30 nm の複合体粒子のエタノール溶液の吸収スペクトルと 5 種類の緩衝溶液を加えた場合の吸収スペクトルを示す. エタノール溶液の吸収極大は約 580 nm であるのに対して, pH3, pH7, pH11 の溶液の場合には, 吸収極大が約 680 nm まで長波長シフトした. これらの溶液を TEM 観察すると, 粒子同士が凝集していることが確認できた. また, 凝集状態に塩酸や水酸化ナトリウム水溶液を加えることで吸収ピークが短波長シフトして, 再び分散状態に変化することを確認できた. この分散・凝集状態の変化の起源は, フラボノイド分子のアミノ基やカルボニル基にプロトンが脱着することで金ナノ粒子表面の電荷のバランスが崩れて, 粒子間に引力が働いて凝集すると考えている.

図 2 に粒径 2 nm, 5 nm, 20 nm の粒子に C8 チオールを結合した複合体ナノ粒子の 380 nm 励起の蛍光スペクトルを示す. 蛍光極大は 480 nm に現れた. C8 チオール単体に対して, 蛍光強度は粒径が 2 nm, 5 nm, 20 nm の順に大きく減少することが分かった. また, 粒径 2 nm の粒子にそれぞれ C5, C8, C10 チオールを結合した複合体ナノ粒子の蛍光スペクトルから, 蛍光強度はアルキル鎖長が C10, C8, C5 の順に大きく減少することが分かった. このことから, 粒子サイズがより大きくなるほど, また, スペーサー距離がより小さいほど, 蛍光強度が大きく減少する. これは, 粒子と蛍光発色団がより接近するほど励起エネルギー移動や重原子効果が大きくなるためと考えられるが, 柔軟である炭素鎖の折れ曲がり, 凝集の可能性も考えられる.

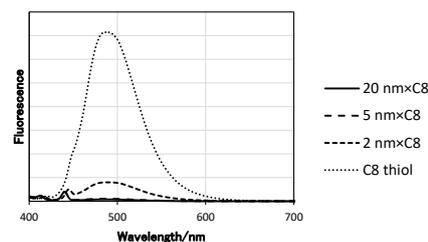


Fig. 2. Fluorescence spectra of the C8 thiol-capped gold nanoparticles.

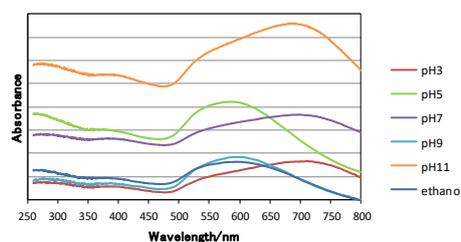


Fig. 3. Absorption spectra of the C3 thiol-capped gold nanoparticles.

【参考文献】

[1] P. Reineck *et al.* *ACS Nano* **7**, 6636 (2013). [2] S. Damm *et al.* *Appl. Phys. Lett.* **106**, 183109-1 (2015). [3] M. D'Souza-Mathew *et al.* *J. Col. Int. Sci.* **407**, 187 (2013).