

平成 30 年 5 月 8 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26288023

研究課題名(和文) N-heterocyclic carbene-modified gold nanoparticles for biosensing

研究課題名(英文) N-heterocyclic carbene-modified gold nanoparticles for biosensing

研究代表者

CRUDDEN Cathleen (Crudden, Cathleen)

名古屋大学・トランスフォーマティブ生命分子研究所・客員教授

研究者番号：10721029

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではバイオイメージングとして応用を志向した安定金ナノ粒子の創製を行なった。カルボキシル基を有するN-ヘテロサイクリックカルベンで修飾された金ナノ粒子の合成に成功した。得られたナノ粒子は生体擬似環境下で安定であり、光音響効果を示した。また長鎖アルキル基を導入した二座NHC配位子で修飾された金ナノ粒子が熱やチオールに対しても高い安定性を示すことを見出した。

研究成果の概要(英文)：The goal of this grant was to prepare and test stable gold nanoparticles for potential biosensing applications. We have prepared new gold nanoparticles that were protected by carboxylate-functionalized N-heterocyclic carbenes (NHCs) to be water-soluble. The resulting gold particles were stable in the presence of electrolytes and gave photoacoustic signals. In addition, we successfully increased stability of gold nanoparticles against thiols by employing bidentate NHC ligands functionalized with long alkyl chains.

研究分野：有機金属化学

キーワード：ナノ材料 金ナノ粒子 N-ヘテロサイクリックカルベン バイオイメージング 安定性 二座配位子

1. 研究開始当初の背景

金ナノ粒子は生体親和性が高く、癌治療のためのドラッグデリバリーや生体イメージングなどの医療にむけた材料としての応用に注目が集まっている。これまでに金ナノ粒子を用いた *in vitro* での応用研究は広く進んでいるものの、*in vivo* での活用例は極めて限定的である。金ナノ粒子表面に分子を固定する手法としてチオールをアンカー部位として金表面に結合させるのが一般的であるが、グルタチオンやシステインなどの生体チオール分子との交換が起こるために目的の機能が損なわれてしまうことが想定される。例えば、ドラッグデリバリーへの応用を想定した場合、細胞内に薬物を導入する前に細胞外に存在するグルタチオンと反応してしまうことが課題となる。したがって、既存のチオール修飾金ナノ粒子では *in vivo* での応用は困難であることを示しており、生体内でも極めて安定な金ナノ粒子の開発が望まれている。

2014年に我々の研究グループでは金表面を *N*-ヘテロサイクリックカルベン(NHC)で修飾することで極めて高い安定性を示すことを見出している[1]。得られた金表面上のNHCはドデカンチオールとの配位子交換は全く起こらない。またpH変化や加熱、加熱した有機溶媒や水、1%の過酸化水素に対しても変化はみられない。一般的なチオールで修飾された単分子膜では空気中で徐々に酸化されることから極めて安定な金表面であるといえる。このNHCを用いた表面修飾法を金ナノ粒子に適用することで極めて安定なNHC-金ナノ粒子が得られると確信し、本着想に至った。

[1] a) Crudden, C. M., Horton, J. H. *et. al. Nat. Chem.* **2014**, *6*, 409. b) Crudden, C. M., Horton, J. H. *et. al. Nat. Commun.* **2016**, *7*, 12654.

2. 研究の目的

本研究ではNHCで修飾された安定金ナノ粒子の合成法を確立し、生体イメージングに有用なナノ材料の創製を目的とする。グルタチオンやシステインなどの生体チオール分子との交換が起こることが知られている既存のチオール修飾金ナノ粒子は *in vivo* での応用が課題とされており、これに代わる新たな材料としての可能性を検証する。

3. 研究の方法

(1) カルボン酸部位を導入したNHCを有する金錯体を合成し、還元することでNHC-金ナノ粒子の調製を行なった。得られたナノ粒子の安定性をpH変化や電解質溶液中で紫外可視分光法(UV-Vis)変化から評価した。
 (2) 生体イメージングへの応用例として、得られたナノ粒子の光音響効果を調査した。
 (3) 2座のNHC配位子を用い、チオール-金ナノ粒子とNHCの配位子交換(top-down合成)

と金-NHC錯体からの還元(bottom-up合成)を試み、金ナノ粒子の安定性の比較を行なった。

4. 研究成果

(1) カルボン酸部位を導入したNHCを用いることで水溶性NHC-金ナノ粒子の創製を行なった。まずカルボン酸部位を導入したNHCのOTf塩前駆体と塩化金(1)-ジメチルスルフィド錯体を反応させ、対応するNHC-塩化金(1)錯体(1)を合成した。その際(NHC)₂Au(1)OTf(2)も副生することが分かった。

得られた2つのNHC-金錯体を用いてナノ粒子の調製を行なった。NaBH₄を加えて錯体1の還元を行なったところ、即座に反応が進行しナノ粒子が得られた。それに対し、錯体2ではナノ粒子の形成に1時間以上を要した。おそらくナノ粒子の形成過程で強固な金-炭素結合の切断が関与しているためと考えられる。一方で錯体2にHAuCl₄を添加することで反応時間の短縮させることができた。ナノ粒子はカルボン酸塩として安定に単離することが可能であった。

ポリアクリルアミド電気泳動(PAGE)と透過電子顕微鏡(TEM)から粒子のサイズを比較したところ、錯体1, 2, 2+HAuCl₄それぞれから得られたナノ粒子は同程度の大きさであることが分かった(図1)。また熱重量測定から2つ異なる条件で調製を行なっても、NHCとAuの比は同程度であり、同程度の表面被覆率であることを示唆している。またPAGEの結果は得られた金ナノ粒子が非常に高い単分散性を有することを示している。興味深いことに反応時間を変えることで粒子サイズをコントロールすることに成功した。すなわち、反応時間を長くすることで粒子サイズは大きくなり、短くすると小さいサイズの粒子が粒径分布を維持したまま得られた。

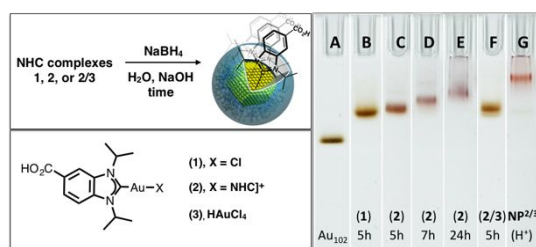


図1.

次にUV-Visを用いてナノ粒子の安定性を評価した。ナノ粒子は高pHまたは中性条件下では大気中2ヶ月以上安定であった。また高濃度の電解質溶液中(150 mM食塩水)でも7日以上安定であり、*in vivo*での応用に耐える安定性を示した。しかしながら、チオール存在下ではナノ粒子の分解が確認され、安定性に課題が残る結果となった。

(2) 得られたナノ粒子を用いて光音響効果を調査した。光音響イメージングは優れた空間分解能と深部の情報が得られることから近年注目されているイメージング手法である。生体親和性の高い金ナノ粒子は有用なイ

メーキング材料として期待されており、本研究で得られた金ナノ粒子の水溶液を用いて光音響効果の測定を行なった。パルスレーザーを照射したところ超音波が観測され、金ナノ粒子の濃度に対して良い直線関係が得られた。この結果から我々の金ナノ粒子自体が光音響効果を有することを実証することができた。

(3) (1)で課題となっていたチオールに対する安定性の向上を目指し、我々は長鎖アルキル基を導入した二座 NHC 配位子を開発した。この配位子を用いることでナノ粒子表面が強固にブロックされ、安定性が向上することを期待した。二座 NHC 配位子の効果を明確に比較するために、長鎖アルキル基の有無、単座配位子、配位子の架橋部位の長さが異なるものを合成した(図2)。

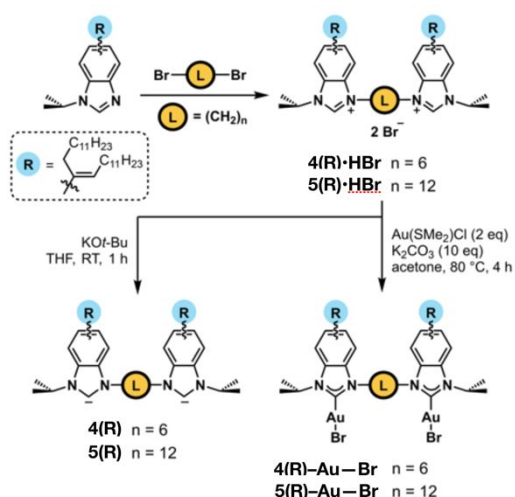


図 2.

ナノ粒子の調製にはチオール-金ナノ粒子とNHCの配位子交換(top-down合成)と金-NHC錯体からの還元(bottom-up合成)の2つのアプローチを試みた。top-down合成においては、ドデシルスルフィドで修飾された金ナノ粒子をNHC(4(R), 5(R))と反応させることで、二座NHCで置換された金ナノ粒子を得た。TEMから反応の前後で粒子のサイズに目立った変化はみられなかったことから、反応中にナノ粒子のエッチングは起こっていないと考えられる(図3)。一方bottom-up合成に関しては、臭化金(I)NHC錯体を合成し(4(R)-Au-Br, 5(R)-Au-Br)、これらをエタノール中でNaBH₄を用いる還元によって得られた。

得られた金ナノ粒子の安定性の比較を行った。長鎖アルキル基を持たないNHC配位子を用いたすべての金ナノ粒子で溶液中1週間以内に凝集が見られた。一方、長鎖アルキル基を導入したNHC配位子の場合はキシレン中130°C、24時間加熱しても凝集はみられなかった。

図4に示したように、熱、チオールに対する安定性を比較したところtop-down合成で得られたすべての金ナノ粒子はbottom-up合

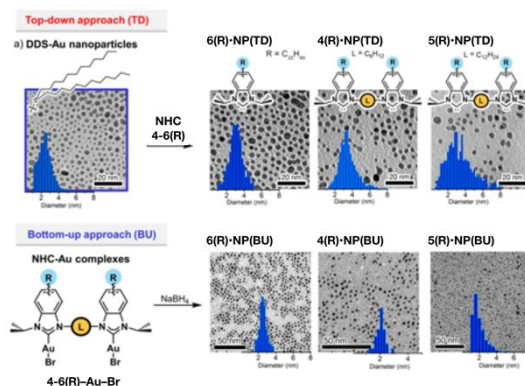


図 3.

成で得られたものよりもより安定であった。実際単座配位子(6R)を用いてtop-down合成で得られたナノ粒子は二座配位子を用いてbottom-up合成で得られたものよりも安定であった。top-down合成によって得られた金ナノ粒子の高い安定性はNHCが密に粒子表面の存在しているためと考えられる。

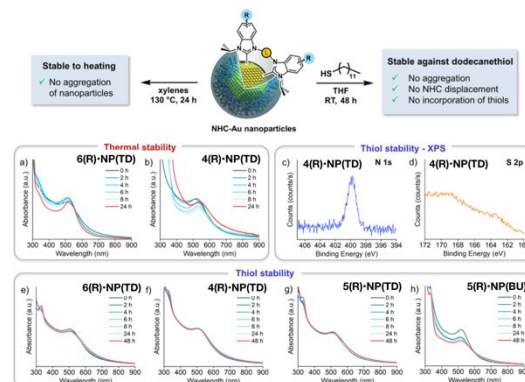


図 4.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 24 件)

(1) "Hydrogenations at Room Temperature and Atmospheric Pressure with Mesoionic Carbene-Stabilized Borenic Catalysts" Patrick Eisenberger, Brian P. Bestvater, Eric C. Keske, Cathleen M. Crudden, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 2467-2471.

(2) "Recent Advances in the Synthesis of Triarylmethanes by Transition Metal Catalysis" Masakazu Nambo, Cathleen M. Crudden, *ACS Catal.* **2015**, *5*, 4734-4742.

(3) "Highly Selective Functionalization of the Mesopores of SBA-15" J. D. Webb, T. Seki, J.F. Goldston, M. Pruski, C.M. Crudden *Microporous and Mesoporous Mater.* **2015**, *203*, 123-131.

(4) "Chirality in Ordered Organosilica Hybrid Materials" M.W.A. MacLean, L.M. Reid, X. Wu, C.M. Crudden, *Chem. Asian J.* **2015**, *10*, 70-82.

- (5) "Iterative protecting group-free cross-coupling leading to chiral multiply arylated structures" Cathleen M. Crudden, Christopher Ziebenhaus, Jason P. G. Rygus, Kazem Ghozati, Phillip J. Unsworth, Masakazu Nambo, Samantha Both, Marieke Hutchinson, Veronique S. Laberge, Yuuki Maekawa, Daisuke Imao, *Nature Commun.* **2016**, *7*, 11065.
- (6) "Chiral periodic mesoporous organosilica in a smectic-A liquid crystal: source of the electrooptic response" Ian R. Nemitza, Kevin McEleneyb, Cathleen M. Crudden, Robert P. Lemieuxc, Rolfe G. Petscheka, Charles Rosenblatta, *Liquid Crystals*, **2016**, *43*, 497-504.
- (7) "Arylative Desulfonation of Diarylmethyl Phenyl Sulfones with Arenes Catalyzed by Scandium Triflate" Masakazu Nambo, Zachary T. Ariki, Daniel Canseco-Gonzalez, D. Dawson Beattie, Cathleen M. Crudden, *Org. Lett.* **2016**, *18*, 2339-2342.
- (8) "Accessible bidentate diol functionality within highly ordered composite periodic mesoporous organosilicas" Lacey M. Reid, Gang Wu, Cathleen M. Crudden, *New J. Chem.* **2016**, *40*, 6487-6497.
- (9) "Chiral carbene-borane adducts: precursors for borenium catalysts for asymmetric FLP hydrogenations" Jolie Lam, Benjamin A. R. Gunther, Jeffrey M. Farrell, Patrick Eisenberger, Brian P. Bestvater, Paul D. Newman, Rebecca L. Melen, Cathleen M. Crudden, Douglas W. Stephan, *Dalton Trans.* **2016**, *45*, 15303-15316.
- (10) "Simple direct formation of self-assembled N-heterocyclic carbene monolayers on gold and their application in biosensing" C. M. Crudden, J. H. Horton, M. R. Narouz, Z. Li, C. A. Smith, K. Munro, C. J. Baddeley, C. R. Larrea, B. Drevniok, B. Thanabalasingam, A. B. McLean, O. V. Zenkina, I. I. Ebralidze, Z. She, H.-B. Kraatz, N. J. Mosey, L. N. Saunders, A. Yagi, *Nature Commun.* **2016**, *7*, 12654.
- (11) "Installing Stable Molecular Chirality within the Walls of Periodic Mesoporous Organosilicas via Self-Assembly" Lacey M. Reid, Cathleen M. Crudden, *Chem. Mar.* **2016**, *28*, 7605-7612.
- (12) "Development of Versatile Sulfone Electrophiles for Suzuki-Miyaura Cross-Coupling Reactions" Masakazu Nambo, Eric C. Keske, Jason P. G. Rygus, Jacky, C.-H. Yim, Cathleen M. Crudden, *ACS Catal.* **2017**, *7*, 1108-1112.
- (13) "Borocation catalysis" Patrick Eisenberger, Cathleen M. Crudden, *Dalton Trans.* **2017**, *46*, 4874-48887.
- (14) "Water-Soluble N-Heterocyclic Carbene-Protected Gold Nanoparticles: Size- Controlled Synthesis, Stability, and Optical Properties" Kirsi Salorinne, Renee W. Y. Man, Chien-Hung Li, Masayasu Taki, Masakazu Nambo, Cathleen M. Crudden, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 6198-6202.
- (15) "Pd-Catalyzed Desulfonative Cross-Coupling of Benzylic Sulfone Derivatives with 1,3-Oxazoles" Yim Jacky C.-H., Nambo Masakazu, Crudden Cathleen M., *Org. Lett.* **2017**, *19*, 3715-3718.
- (16) "Synthesis of Tetraarylmethanes by the Triflic Acid-Promoted Formal Cross-Dehydrogenative Coupling of Triarylmethanes with Arenes" Nambo Masakazu, Yim Jacky, Fowler Kevin, Crudden Cathleen, *SynLett.* **2017**, *28*, 2936-2940.
- (17) "Carboxymethylated Dextran-Modified N-Heterocyclic Carbene Self-Assembled Monolayers on Gold for Use in Surface Plasmon Resonance Biosensing" Li Zhijun, Narouz Mina R., Munro Kim, Hao Bin, Crudden Cathleen M., Horton J. Hugh, Hao Hongxia, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2017**, *9*, 39223-39234.
- (18) "N-Heterocyclic Carbene Self-Assembled Monolayers on Gold as Surface Plasmon Resonance Biosensors" Li Zhijun, Munro Kim, Ebralize Iraklli I., Narouz Mina R., Padmos J. Daniel, Hao Hongxia, Crudden Cathleen M., Horton J. Hugh, *Langmuir*, **2017**, *33*, 13936-13944.
- (19) "Amphiphilic N-Heterocyclic Carbene-Stabilized Gold Nanoparticles and Their Self-Assembly in Polar Solvents" Narouz Mina R., Li Chien-Hung, Nazemi Ali, Crudden Cathleen M. *Langmuir*, **2017**, *33*, 14211-14219.
- (20) "Enantiospecific and Iterative Suzuki-Miyaura Cross-Couplings" Rygus Jason P. G., Crudden Cathleen M. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 18124-18137.
- (21) "Azaborines: synthesis and use in the generation of stabilized boron-substituted carbocations" Clarke J. J., Eisenberger P., Piotrkowski S. S., Crudden C. M. *Dalton Trans.* **2017**, *47*, 1791-1795.
- (22) "Preparation of Quaternary Centers via Nickel-Catalyzed Suzuki-Miyaura Cross-Coupling of Tertiary Sulfones" Ariki Zachary T., Maekawa Yuuki, Nambo Masakazu, Crudden Cathleen M. *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 78-81.
- (23) "Ultrastable Gold Nanoparticles Modified by Bidentate N-Heterocyclic Carbene Ligands" Man Renee W. Y., Li Chien-Hung, MacLean Michael W. A., Zenkina

Olena V., Zamora Matthew T., Saunders Lisa N., Rousina-Webb Alexander, Nambo Masakazu, Crudden Cathleen M. *J. Am. Chem. Soc.*, **2018**, *140*, 1576-1579.

(24) "N-Heterocyclic Carbene Self-assembled Monolayers on Copper and Gold: Dramatic Effect of Wingtip Groups on Binding, Orientation and Assembly" Larrea Christian R., Baddeley Christopher J., Narouz Mina R., Mosey Nicholas J., Horton J. Hugh, Crudden Cathleen M. *ChemPhyChem* **2018**, *18*, 3536-3539.

[学会発表](計 21 件)

(1) Cathleen M. Crudden, "Mild, Easy Deposition Method for the Production of Highly Ordered, Ultra Stable NHC-based Films on Gold" 98th Canadian Society for Chemistry conference, 平成 27 年、Ottawa, Canada

(2) Crudden CM, Keske EC, Zenkina OV, Moore BD, "Development of Rh-NHC Catalysts for the CH Borylation Reaction" 98th Canadian Society for Chemistry conference, 平成 27 年、Ottawa, Canada

(3) Cathleen M. Crudden, "N-Heterocyclic Carbenes as Novel Ligands for High Stability Self-Assembled Monolayers on Gold" International Symposium on Monolayer Protected Clusters, 平成 27 年、Hakone, Japan

(4) Cathleen M. Crudden, "Advances in the catalytic functionalization of organoboron compounds and the application of organoboranes as catalysts" 18th Organometallic Chemistry Directed Towards Organic Synthesis, 平成 27 年、Sitges, Spain

(5) Cathleen M. Crudden, "N-Heterocyclic Carbenes as Novel Ligands for High Stability Self-Assembled Monolayers on Gold" American Vacuum Society 62nd International Symposium & Exhibition, 平成 27 年、San Jose, California

(6) Cathleen M. Crudden, "Challenges and Strategies for increasing participation of women and girls in STEM fields" Pacifichem 2015, 平成 27 年、Honolulu, Hawaii

(7) Cathleen M. Crudden, "Selectivity in Suzuki-Miyaura cross-coupling reactions" Pacifichem 2015, 平成 27 年、Honolulu, Hawaii

(8) Cathleen M. Crudden, "Organometallic chemistry at the interfaces: Preparation of biologically active molecules using enantiospecific cross coupling and the design of novel carbon-based monolayers on gold" 4th International Symposium on New Frontiers in Materials Science, 平成

28 年、Hokkaido, Japan.

(9) Cathleen M. Crudden, "Catalysis from Molecules to Materials" Connaught Industry Alliance Symposium, 平成 28 年、Toronto, Canada

(10) Cathleen M. Crudden, "New Trends in Organometallic Chemistry leading to Organic Synthesis" American Chemical Society Conference, 平成 28 年、Philadelphia, United States

(11) Cathleen M. Crudden, "Organometallic chemistry for the preparation of biologically important molecules and for the design of novel self assembled monolayers on gold" Centre in Green Chemistry and Catalysis annual meeting, 平成 28 年、Montreal, Canada

(12) Cathleen M. Crudden, "Organometallic chemistry: Surfaces and Catalysts" IRTG Symposium, 平成 28 年、Muenster, Germany

(13) Cathleen M. Crudden, "N-Heterocyclic carbenes as valuable supporting ligands in catalysis: From cross-coupling to borenium catalysis to materials chemistry" Catalysis Division Conference, 平成 28 年、Ottawa, Canada

(14) Cathleen M. Crudden, "Metal catalysts, clusters and surfaces: From the synthesis of chiral bio-molecules to carbon-based self assembled monolayers" 12th International Conference for Heteroatom Chemistry, 平成 29 年

(15) Cathleen M. Crudden, "Chirality in Coupling Reactions: Stereoentive Suzuki-Miyaura Cross-couplings and the Development of New Electrophiles for Cross-coupling Chemistry" 100th Canadian Society for Chemistry conference, 平成 29 年

(16) Cathleen M. Crudden, "N-Heterocyclic Carbenes as Supporting Ligands for Borenium-based Catalysts and on Metal Surfaces" 100th Canadian Society for Chemistry conference, 平成 29 年

(17) Cathleen M. Crudden, "Metal catalysts, clusters and surfaces: From the synthesis of chiral bio-molecules to carbon-based self assembled monolayers" 12th International Conference on Heteroatom Chemistry, 平成 29 年

(18) Cathleen M. Crudden, "Metal catalysts, clusters and surfaces: From the synthesis of chiral bio-molecules to carbon-based self assembled monolayers" International Symposium on Monolayer Protected Clusters, 平成 29 年

(19) Cathleen M. Crudden, "Impact of Research on Training of Highly Qualified Personnel (HQP)" 9th Canadian Science

Policy Conference, 平成 29 年
(20) Cathleen M. Crudden,
“N-heterocyclic carbenes as ligands for
metal surfaces” and “Organoboron
compounds in cross coupling chemistry and
as catalysts for FLP reductions” 255th ACS
National Meeting, 平成 29 年
(21) Cathleen M. Crudden, “Metal
catalysts, clusters and surfaces from
carbon-based self assembled monolayers ”
Southern Ontario Undergraduate Student
Chemistry Conference, 平成 29 年

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

クラッデン キャサリン M.

(CRUDDEN, Cathleen M.)

クイーンズ大学(カナダ) 教授

名古屋大学トランスフォーマティブ生命
分子研究所 客員教授

研究者番号：10721029

(2) 連携研究者

東山 哲也

(HIGASHIYAMA, Tetsuya)

名古屋大学トランスフォーマティブ生命
分子研究所 教授

研究者番号：00313205

南保 正和

(NAMBO, Masakazu)

名古屋大学トランスフォーマティブ生命
分子研究所 特任講師

研究者番号：10705528