

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	凹多面体型Au-Agナノ粒子の成長機構の解明および化学温熱併用がん治療法への展開
Title(English)	
著者(和文)	會田雄大
Author(English)	Yuta Aida
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京科学大学, 報告番号:甲第293号, 授与年月日:2025年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:生駒 俊之,矢野 哲司,宮内 雅浩,保科 拓也,安楽 泰孝,吉富 徹
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Institute of Science Tokyo, Report number:甲第293号, Conferred date:2025/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Type(English)	Doctoral Thesis

令和6年度 博士論文

研究題目

凹多面体型 Au-Ag ナノ粒子の成長機構の解明および化学温
熱併用がん治療法への展開

提出日 令和7年2月21日

東京科学大学 物質理工学院 材料系 材料コース

會田 雄大

指導教官 生駒 俊之 教授

Abstract

In Chapter 1, the history of morphology control of Au nanoparticles and methods for controlling their morphology were outlined as background. The morphology of nanoparticles was broadly classified into convex polyhedral nanoparticles, which can be described in Euclidean space as, "a polyhedron in which any two internal points are connected by straight lines that do not pass through the exterior," and concave polyhedral nanoparticles, which can be described as, "a polyhedron in which any two internal points pass through the exterior," and the superiority of concave polyhedral nanoparticles was demonstrated in terms of photothermal conversion efficiency. In addition, drug delivery systems using plasmonic nanoparticles and combined chemo-hyperthermia cancer treatment were outlined, and the objectives of this study were presented.

In Chapter 2, the element distribution, crystal planes, and growth direction of spines of Au-Ag nanostars (AuAgNS), classified as concave polyhedral nanoparticles, synthesized by the reduction of Au^{3+} with ascorbic acid in the presence of Ag^+ were clarified, and the growth mechanism was examined from the perspective of underpotential deposition (UPD). Elemental analysis revealed that Ag forms mono- and multi-atomic layers only on the top surface of AuAgNS by UPD, and the thickness of the Ag mono- and multi-atomic layers could be changed by changing the Au/Ag ratio from 20/2 to 18/4. Scanning transmission electron microscopy revealed that the growth direction of the spines was $\langle 110 \rangle$, the sides of the spines were $\{711\}$, and the tips of the spines were $\{111\}$, revealing the formation of icosahedrons with twin boundaries and the epitaxial growth mechanism of $\{111\}$ in the $\langle 110 \rangle$ direction from the vertices.

In Chapter 3, Au-Ag nanoparticles were morphologically controlled to have absorption in the near-infrared (NIR)-II (1000-1700 nm) region by UPD and seed-mediated growth. The effects of seed morphology, seed concentration, Au/Ag ratio, and Au and Ag concentrations on the morphology of the nanoparticles during morphology control were examined. The use of seeds allowed the nanoparticles to be morphologically controlled to have a concave polyhedral shape. The nanoparticles synthesized using nanopolyhedrons as seeds had a morphology similar to AuAgNS at low concentrations of Au and Ag, confirming the formation of icosahedrons with twin boundaries as explained in the growth mechanism in Chapter 2. By synthesizing nanocubes as seeds, it was possible to control the morphology of Au-Ag nanoflower (AuAgNF) in which flat structures grew from the seeds. The AuAgNF had high optical density in the NIR-II region, suggesting that the flat structures were involved in localized surface plasmon resonance in the NIR region.

In Chapter 4, a computational model was constructed based on the growth mechanism clarified in Chapters 2 and 3, and the average structure of the synthesized concave polyhedral nanoparticles was evaluated by calculating the absorption and extinction efficiencies using the discrete dipole approximation. The accuracy of the calculation was evaluated from the coefficient of determination with the absorption spectrum of AuAgNS, and the number of spines and aspect ratio of the model in which the optical spectra and λ_{max} matched were clarified.

In Chapter 5, AuAgNS was coated with silica (SiO_2) by the Stöber method (AuAg_SiO_2). AuAgNS aggregated when left at 37°C and 60°C due to its high surface area, but the SiO_2 coating suppressed the aggregation of nanoparticles. The optical density of the AuAg_SiO_2 was maintained even during laser irradiation, suggesting

that the SiO₂ coating is effective in suppressing the aggregation of nanoparticles in photothermal therapy. Furthermore, a cytotoxicity test revealed that Au₂₀Ag₂ showed almost no toxicity even at a high concentration of 500 µg/mL, and the toxicity was further reduced by SiO₂ coating.

In Chapter 6, the antitumor effect of nanoparticles in which maleimide-functionalized Dox was modified on the AuAg-SiO₂ surface by the Diels-Alder reaction was investigated. The amount of 3-aminopropyltriethoxysilane modified on the AuAg-SiO₂ surface and the amount of 2-furan carboxylic acid bound to the amino group were maximized by analyzing the electrokinetic phenomenon. The thermal and laser responsiveness of the drug release behavior via the retro Diels-Alder reaction was evaluated, and it was demonstrated that AuAgNS are excellent nanoheaters. The synergistic effect of the heat generated by AuAgNS upon laser irradiation and the Dox released by the retro Diels-Alder reaction reduced the cell viability of A549 cells to 2.8%, exhibiting high antitumor effect.

The findings of this study allow the synthesis of concave polyhedral nanoparticles with high photothermal conversion efficiency in the NIR by UPD, and load drugs via the Diels-Alder reaction, thereby enabling a combinational chemo-hyperthermal cancer therapy with high antitumor effects.

12/27/2024

目 次

第 1 章 序論	1
1.1 研究背景	1
1.1.1 金ナノ粒子の形態制御の歴史と概要	1
1.1.1.1 凸多面体型ナノ粒子	1
1.1.1.2 凹多面体型ナノ粒子	4
1.1.1.2.1 凹多面体型ナノ粒子の概説	4
1.1.1.2.2 凹多面体型ナノ粒子の合成	6
1.1.1.2.3 星型 Au-Ag ナノ粒子の既往の成長機構	8
1.1.1.3 光熱変換効率	10
1.1.2 薬物送達システム	12
1.1.2.1 薬物送達システムに利用される刺激	12
1.1.2.2 化学温熱併用がん治療	15
1.2 研究の目的	16
1.3 本論文の構成	16
第 2 章 星型 Au-Ag ナノ粒子の新奇成長機構の解明	24
2.1 緒言	24
2.1.1 低電位析出によるナノ粒子の形態制御	24
2.1.2 プラズモンナノ粒子の三次元特性評価	26
2.1.3 第 2 章の目的	26
2.2 実験方法	27
2.2.1 試薬	27
2.2.2 星型 Au-Ag ナノ粒子の合成	27
2.2.3 星型 Au-Ag ナノ粒子の評価方法	27
2.3 結果と考察	29
2.3.1 星型 Au-Ag ナノ粒子の形成と構造	29
2.3.2 星型 Au-Ag ナノ粒子の成長機構	40
2.4 結言	41
第 3 章 低電位析出とシード媒介成長法による Au-Ag ナノ粒子の形態制御	45
3.1 緒言	45
3.1.1 シード媒介成長法を利用した形態制御による吸収波長の制御	45
3.1.2 コアシェルナノ粒子	46
3.1.3 第 3 章の目的	47
3.2 実験方法	48
3.2.1 試薬	48
3.2.2 Au ナノキューブと Au ナノ多面体の合成	48
3.2.3 Au ナノキューブ/多面体を用いた Au-Ag ナノ粒子の合成	48

3.2.4 星型 Au-Ag ナノ粒子の評価方法	49
3.3 結果と考察	51
3.3.1 シード媒介成長法と UPD の複合による Au-Ag ナノ粒子の形態制御	51
3.3.2 レーザー照射による光熱変換効率の算出	59
3.4 結言	60
第 4 章 離散双極子近似によって算出した光吸収および光散乱による Au-Ag ナノ粒子の形態評価	66
4.1 緒言	66
4.1.1 計算科学による Au ナノ粒子の吸収スペクトル解析	66
4.1.2 離散双極子近似	69
4.1.3 凹多面体型 Au ナノ粒子の計算科学的解析	70
4.1.4 第 4 章の目的	71
4.2 実験方法	72
4.2.1 離散双極子近似による計算	72
4.2.1.1 星型 Au ナノ粒子のモデリング	72
4.2.1.2 花型 Au ナノ粒子のモデリング	74
4.2.1.3 離散双極子近似の計算条件	76
4.2.2 凹多面体型 Au-Ag ナノ粒子の合成	77
4.2.2.1 試薬	77
4.2.2.2 星型 Au-Ag ナノ粒子の合成	77
4.2.2.3 花型 Au-Ag ナノ粒子の合成	77
4.2.2.4 凹多面体型 Au-Ag ナノ粒子の評価方法	77
4.3 結果と考察	79
4.3.1 計算条件および計算モデルの決定	79
4.3.2 棘の本数とアスペクト比が及ぼす吸収波長への影響	85
4.3.3 異なる Au/Ag 比で合成された星型 Au-Ag ナノ粒子の分析	89
4.3.4 離散双極子近似による星型 Au-Ag ナノ粒子の形態評価	95
4.3.5 離散双極子近似による花型 Au-Ag ナノ粒子の形態評価	99
4.4 結言	104
第 5 章 星型 Au-Ag ナノ粒子へのシリカ被覆	107
5.1 緒言	107
5.1.1 Au ナノ粒子の生物医学的用途における課題	107
5.1.2 ナノ粒子へのシリカ被覆	108
5.1.3 第 5 章の目的	108
5.2 実験方法	109
5.2.1 試薬	109
5.2.2 シリカ被覆星型 Au-Ag ナノ粒子の合成	109
5.2.3 シリカ被覆星型 Au-Ag ナノ粒子の評価方法	110
5.2.4 安定性評価	110

5.2.5 レーザー照射時の安定性評価	110
5.2.6 細胞毒性試験	111
5.3 結果と考察	112
5.3.1 シリカ被覆の条件決定	112
5.3.2 37°C と 60°C の溶液中での安定性	118
5.3.3 レーザー照射時の安定性	121
5.3.4 細胞毒性評価	123
5.4 結言	125
第 6 章 化学温熱併用がん治療法への展開	128
6.1 緒言	128
6.1.1 Diels-Alder 反応	128
6.1.2 Diels-Alder 反応を応用した薬物送達システム	131
6.1.3 第 6 章の目的	131
6.2 実験方法	132
6.2.1 試薬	132
6.2.2 シリカ被覆星型 Au-Ag ナノ粒子の合成	132
6.2.3 シリカ被覆星型 Au-Ag ナノ粒子への Dox 修飾	132
6.2.4 評価方法	135
6.2.4.1 光散乱電気泳動法による表面修飾の評価	135
6.2.4.2 核磁気共鳴分光法による Dox-Mal の評価	137
6.2.4.3 温度応答性の評価	137
6.2.4.4 レーザー応答性の評価	137
6.2.4.5 細胞実験方法	138
6.3 結果と考察	139
6.3.1 APTES 修飾条件の検討	139
6.3.2 Fran 修飾条件の検討	140
6.3.3 Dox-Mal の精製	142
6.3.4 温度/レーザー応答性の評価	145
6.3.5 抗腫瘍効果	149
6.4 結言	155
第 7 章 総括	159
謝辞	

第1章 序論

1.1 研究背景

1.1.1 金ナノ粒子の形態制御の歴史と概要

1.1.1.1 凸多面体型ナノ粒子

励起光の波長よりも小さいサイズの金 (Au) 及び銀 (Ag) のナノ粒子は、局在表面プラズモン共鳴 (LSPR ; localized surface plasmon resonance) として知られる優れた光学特性をもつ。LSPR による吸収スペクトルは、ナノ粒子のサイズや形態、凝集、組成と強い相関がある [1]。近年、吸収波長を調整するために、ロッド、立方体、八面体、十二面体、二十面体、双角錐、プリズムなど、さまざまな形態の Au または Ag ナノ粒子が合成されている [2, 3]。これらのナノ粒子は、ユークリッド空間において「内部のどの二点間も、外部を通らない線でまっすぐつなげる多面体」として説明される凸多面体型ナノ粒子に分類される。

Au ナノ粒子の形態制御への関心は 1996 年にコロラド州立大学の Martin によるロッド状ナノ粒子の合成法の開発によって高まり始めた [4]。Martin はアルミナナノ多孔質膜を鋳型として用いるテンプレート法を報告した [4]。翌年の 1997 年に国立中正大学の Yu らは、ヘキサデシルトリメチルアンモニウムブロミド (CTAB) を含有する電解液中で電気化学的酸化還元反応による溶液中に分散した Au ナノロッドの合成を報告した [5]。この手法によって合成された Au ナノロッドの吸収スペクトルは最大吸収波長 ($\lambda_{\max}$) のアスペクト比依存性を証明し、今日の Au ナノロッド研究の礎となっている。

ナノ粒子の合成プロセスにおいて収率や均質性の改善が広く研究されてきた。シード媒介成長法が主要な形態制御法の一つである。シード媒介成長法とは、金属前駆体、還元剤、キャッピング剤を含む成長溶液に事前に形成された金属ナノ粒子をシードとして分散させることでシード上での二次成長により形態制御する手法である。2001 年にサウスカロライナ大学の Jana らは、少量の銀イオン (Ag^+) と CTAB の存在下で L(+)-アスコルビン酸 (AA) による Au イオン (Au^{3+}) の還元反応により 3–4 nm の Au ナノシードを成長させ Au ナノロッドを合成した [6]。2003 年にはジョージア工科大学の Nikoobakht らは、同様の手法によって合成された Au ナノロッドのアスペクト比が溶液中の CTAB とベンジルジメチルアンモニウムクロリド (BDAC) の混合比と Ag^+ の濃度に依存することを報告した [7]。Nikoobakht らが報告した手法により合成された Au ナノロッドは近年でも光熱療法をはじめとする研究に応用されている [8–10]。

シード媒介成長法によって合成される粒子の形態はナノロッドに限定されない。2005 年にノースウェスタン大学の Millstone らは、CTAB を含有する溶液中で Au シードを三段階で成長させることで Au ナノプリズムを合成した [11]。Au ナノプリズムの合成法の確立によりコロイド溶液における LSPR の四重極共鳴を実験的に証明した [11]。さらに、合成される形態は Au^{3+} や AA、CTAB の濃度に加えてシード粒子の濃度に依存することが、2004 年にサウスカロライナ大学の Murphy らによって報告された [12]。Murphy らは、条件の最適化によってナノロッドやナノプリズムに加えてナノキューブとナノヘキサゴナルの合成にも成功した [12]。

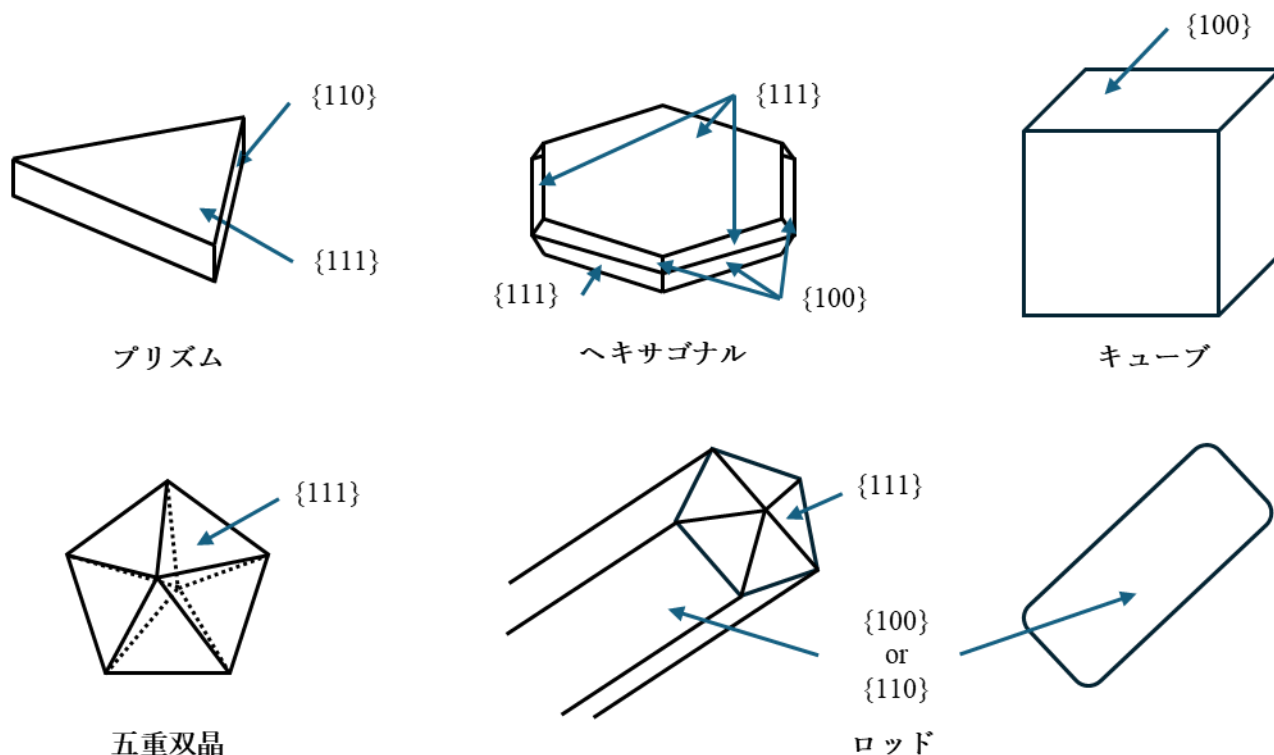


Figure 1-1 ナノ粒子の形態と結晶面

合成されたナノ粒子の表面構造は透過型電子顕微鏡（TEM）観察によって明らかになった。形態と結晶面の関係を Figure 1-1 に示す。プリズムは上面と下面は $\{111\}$ であり側面は $\{110\}$ によって構成される [11, 13, 14]。ヘキサゴナルは上面と下面はプリズムと同様 $\{111\}$ であるが、その側面は $\{111\}$ と $\{100\}$ が互い違いの二層構造であることが報告された [13]。一方でキューブは $\{100\}$ のみで構成される形態である [15–17]。AuやAgなどの面心立方（fcc）構造の結晶では双晶境界エネルギーが低く、 $\{111\}$ を双晶面として双晶を形成することが報告されている [13, 18]。双晶とは二つの同種の結晶が特定の面または軸に関して対称に配列している結晶状態であり、双晶として代表的な形態が五重双晶である。五重双晶は $\{111\}$ によって構成され5回回転軸を持つ形態である [14, 15]。ロッド成長溶液中の Ag^+ の有無によって五重双晶ロッドと単結晶ロッドが合成されることが報告されている [14]。五重双晶ロッドは先端が五重双晶によって構成され、その側面は $\{100\}$ または $\{110\}$ であることが報告されている [14, 19]。単結晶ロッドは $[011]$ と $[001]$ に配向が確認できたことからその側面は五重双晶ロッドと同様に $\{100\}$ または $\{110\}$ であることが報告されている [19]。

Table 1-1 原子埋め込み法によって計算された Au 結晶面の表面エネルギー

Au 結晶面	表面エネルギー mJ/m^2
(111)	1194
(100)	1261
(110)	1321

興味深いことに先述した単純な形態は全て{100}、{110}または{111}によって構成される。観測される結晶面が限定されることは結晶面の表面エネルギーによって説明することができる。Table 1-1 に原子埋め込み法によって計算された Au 結晶面の表面エネルギーを示す [20]。Au 結晶面の表面エネルギーは(111)、(100)、(110)がそれぞれ 1194、1261、1321 mJ/m²であり結晶面の安定性は(111) > (100) > (110)であることが報告された [20]。従って外的要因がない条件では{111} が露出した構造をとりやすく、高次の結晶面と比較してこれら（低次）の結晶面は安定して存在する。

様々な形態を有するナノ粒子の結晶面の理解と共に成長機構が議論されてきた。以下ではロッドの成長機構を概説する。Au ナノロッドは成長溶液中の Ag⁺有無によって結晶の形態が異なるため、成長機構も各合成条件で議論されている。Ag⁺を含有しない溶液中での成長機構として、Murphy らは 2003 年にナノロッドの成長機構は結晶面に対するトリメチルアンモニウム系界面活性剤（C_nTAB）のヘッドグループの結晶面への吸着選択性と C_nTAB 同士のファンデルワールス力による Au ナノロッドの長軸の安定化という機構を提案した [21]。C_nTAB は大きな頭部基と長いアルキル鎖により、原子が最密で充填されている{111}より{100}に組み込まれ、結晶表面に C_nTAB 分子の二重層を形成する。アルキル鎖が長いほど結晶表面の C_nTAB の二重層は安定し、結果として高アスペクト比のナノロッドへと成長する。2004 年にビーゴ大学の Liz-Marzan らは Au³⁺や Au⁺は CTAB ミセルと複合体を形成することを示し、ミセルの存在により成長速度が数桁遅くなることに加え、ロッドを模した金属楕円体の表面電荷分布特性を計算することにより Au⁺の還元はロッド先端で選択的に生じることを提案した [22]。この二つの理論はともにロッドへの成長に非対称なシードを必要とし、双晶面や積層欠陥の形で存在すると指摘している [21, 22]。

Ag⁺存在下での成長機構はその銀種の性質について議論されている。その一つは CTAB 銀錯体（CTASB）が重要な役割を果たしているというものである。2008 年に IRAMIS-SCM-LIONS の Hubert らは、CTASB 形成の証明と CTASB の Au 吸着量が CTAB の 1.5 倍であることを証明し、CTAB 単体よりも効果的に形態を制御可能であることを報告した [23]。しかし、他の研究者は CTASB では成長異方性を説明できないとし、Au ナノロッド表面への低電位析出（UPD ; underpotential deposition）による Ag 単原子層または多原子層の形成が寄与しているとしている。シカゴ大学の Guyot-Sionnest らは Ag の低電位析出は{111}や{100}よりも{110}で優先的に発生すると提案した。このモデルでは Ag 単分子層により{110}上での Au の成長速度が大きく低下し、他の面の成長とロッドへの形態制御を可能とする [19]。さらに、成長に対するハロゲン化物イオン吸着の役割も議論されている[24]。2016 年にヨハネス・ゲーテンベルク大学の Meena らは分子動力学計算によりハロゲン化物イオンの Au 結晶面に対する吸着特性を明らかにし、特に臭化物が結晶面依存的にカチオン界面活性剤分子の接着を媒介すると報告した。Au ナノロッドの成長機構において界面活性剤、Ag⁺、ハロゲン化物イオンの役割は大きなテーマであり、未だ議論の対象となっている [25]。

1.1.1.2 凹多面体型ナノ粒子

1.1.1.2.1 凹多面体型ナノ粒子の概説

凸多面体型ナノ粒子の対となる形態が凹多面体型ナノ粒子である。凹多面体とは凸多面体ではない多面体であり、ユークリッド空間において「内部のいずれかの二点間が外部を通る多面体」として説明される。凹多面体型ナノ粒子について棘状構造と平板構造を円柱によって近似した模式図を Figure 1-2 に示す。凹多面体型ナノ粒子には棘状構造が 2 次元的に成長した分岐型、3 次元的に成長した星型、平板状の構造が組み合わさった花型などの形態が含まれる。凹多面体型ナノ粒子の合成は 2004 年には既にサウスカロライナ大学の Murphy らによってナノロッドやナノプリズム、ナノキューブと共にシード媒介成長法によって合成できることが報告された [12]。

凹多面体型ナノ粒子の合成報告と共にそれらの示す光学特性が明らかになった。2006 年にライス大学の Nehl らは星型 Au ナノ粒子の LSPR が周囲の誘電率に対して大きく変化し、鋭い近赤外 (NIR) 共鳴を示すことから LSPR センサーの優れた材料となることを明らかにした [26]。2008 年にはデューク大学の Khoury らによってサイズを変更した星型 Au ナノ粒子の表面増強ラマン散乱 (SERS) 基板としての性能が初めて報告された [26, 27]。報告された SERS 増強係数は最大で 5.00×10^3 であり星型 Au ナノ粒子が優れた SERS 基板であることが実証された [27]。2013 年にはワシントン大学の Wang らが 800 nm に $\lambda_{\max}$ を有する星型 Au ナノ粒子、Au ナノロッド、Au ナノケージの光熱変換効率は同程度であることを報告した。Au ナノロッドは 15 mW/cm^2 のパルスレーザーを照射時に LSPR ピークのシフトが確認されたが、Au ナノロッドと Au ナノケージの LSPR ピークシフトは確認されず、星型 Au ナノ粒子は Au ナノロッドよりも光熱的に安定であることを報告し、星型 Au ナノ粒子ががんの光熱療法をはじめとする生物医学用途において有望であると結論付けた [28]。

星型 Au ナノ粒子の優れた光学特性がその棘状構造に依存することは計算化学的、実験的に明らかになっている。2007 年にライス大学の Hao らは時間領域差分法とプラズモン混成法を複合することによって、星型 Au ナノ粒子のコア部と棘状構造それぞれのプラズモンモードの混成により励起断面積と電場増強の両方が増大することを報告した [29]。更に LSPR によって誘起される電場は棘状構造の先端で強力に増強されることを明らかにし、凹多面体型ナノ粒子のプラズモン共鳴の微視的な洞察が得られることを実証した [29]。2011 年にルートビヒマクシミリアン大学の Hrelescu らは光電子放射顕微鏡 (PEEM)、低エネルギー電子顕微鏡、走査型電子顕微鏡、暗視野顕微鏡の結果を解析することにより星型 Au ナノ粒子の光励起ホットスポットについて調査した [30]。レーザー波長、偏光を調整して観察された PEEM 像と各顕微鏡観察結果を相関させることで、光励起ホットスポットが棘状構造の先端に位置していることを明らかにし、LSPR ピークと星型 Au ナノ粒子の構造の関係性を解明することに成功した [30]。

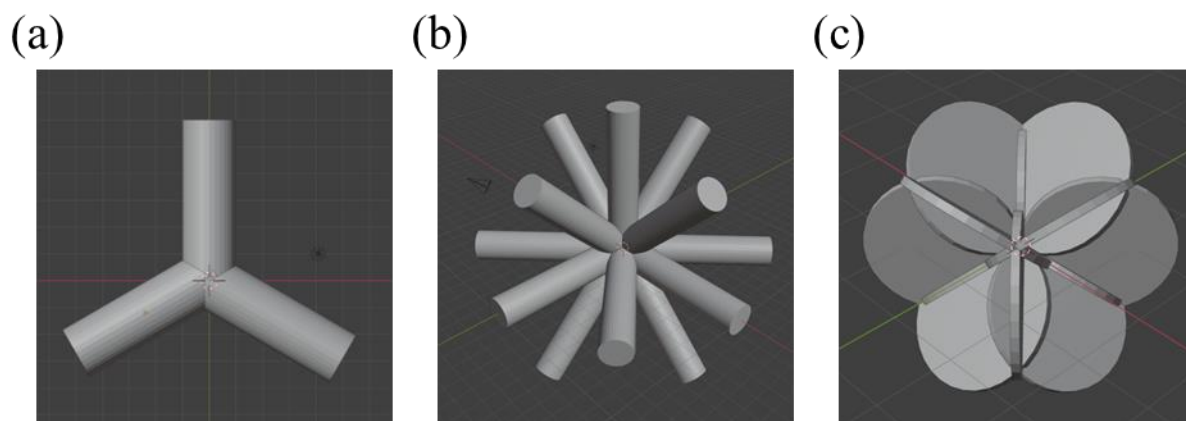


Figure 1-2 棘状構造が (a) 二次元的に成長した分岐型ナノ粒子と (b) 三次元的に成長した星型構造および (c) 平板状の構造が三次元的に成長した花型ナノ粒子の模式図

1.1.1.2.2 凹多面体型ナノ粒子の合成

凹多面体型ナノ粒子を代表する星型 Au ナノ粒子と分岐型 Au ナノ粒子の合成法について概説する。凹多面体型の Au ナノ粒子の合成法は、シード媒介成長法とシードレス合成に大別され、Table1-2 に各 Au ナノ粒子を合成するのに用いる還元剤、キャッピング剤、添加剤をそれぞれ示す。添加剤は AA の還元速度の調整や Au ナノ粒子内への欠陥生成、Au ナノ粒子の異方的な成長のために加えられた。

シード媒介成長法では CTAB [12, 26]やセチルトリメチルアンモニウムクロリド (CTAC) [31]、クエン酸三ナトリウム (TC) [32]、ドデシル硫酸ナトリウム (SDS) [33]、ポリビニルピロリドン (PVP) [27, 34]でキャッピングされたシードを成長溶液に加え、AA や *N,N*-ジメチルホルムアミド (DMF) [27, 34]によって Au^{3+} を還元することで合成される。このとき硝酸銀 (AgNO_3) [12, 26, 31]、臭化ナトリウム (NaBr) [31]や水酸化ナトリウム (NaOH) [35]を添加することで形態の制御が可能である。キャッピング剤は特定の結晶面に吸着し成長速度を変化させることで Au ナノ粒子を異方的に成長させることが報告されている [33]。添加剤として AgNO_3 を使用することで五重双晶シードの形成と棘状構造の成長が促進されることが明らかになっている [31]。同様に Br^- の影響も議論されており、特定の濃度の Br^- と AgNO_3 の存在下で合成することで星型ナノ粒子が合成可能であることが報告された [31]。 Br^- と AgNO_3 の存在下での異方的な成長は CTASB の形成と Au ナノ粒子への吸着によると考えられる。添加剤としての NaOH は反応溶液の pH 変化による AA の還元力の変更に用いられる [35]。AA の還元力は反応溶液の pH に依存し、pH を上げると大幅に向上することが報告されている [36]。 NaOH 添加前に形成された Au^+ および/または Au 錯体を NaOH 添加によって強制的に還元することで分岐型 Au ナノ粒子へと形態制御された [35]。形態制御プロセスは未解明であるが、同じ成長溶液に強い還元剤であるテトラヒドロほう酸ナトリウムを含むシードを添加すると球状またはロッド状のナノ粒子が合成されたことから、還元力や還元速度が形態に影響を与えることが示唆されている [35]。

シードレス合成法では CTAB [37, 38]やビス(*p*-スルホナトフェニル)フェニルホスフィン二水和物二カリウム (BSPP) [39]を界面活性剤として添加し、TC と過酸化水素水 (H_2O_2) [39]、AA や 2-[4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジニル]エタンスルホン酸 (HEPES) [40]によって還元することで星型や分岐型の粒子を合成できる。凹多面体型ナノ粒子の生物医学用途へ向けた研究の需要と共に細胞毒性を示す CTAB [41]等のキャッピング剤を必要としない合成手法が報告されている [42, 43]。2005 年にテキサス大学の Burt らにより Au^{3+} に対して 32 倍の AA を添加し還元することで大星型十二面体に類似した構造の星型ナノ粒子の合成が報告された [42]。さらに 2012 年には国立台湾大学の Cheng らによって Ag^+ の存在下で AA によって Au^{3+} を還元することで棘状構造のアスペクト比や本数を制御可能であることが報告された [43]。

Table 1-2 異なる形態のナノ粒子の合成条件

合成法	還元剤	キャッピング剤	添加剤	形態	文献
シード媒介成長法	AA	CTAB	AgNO ₃	星型、分岐型	[12,26]
		CTAB	NaOH	分岐型	[35]
		CTAB、TC	AgNO ₃	星型	[32]
		CTAC	NaBr、AgNO ₃	星型	[31]
		SDS、TC		星型、分岐型	[33]
	DMF	PVP、CTAB		星型、分岐型	[27,34]
シードレス成長法	AA	CTAB	NaOH	分岐型	[37]
			NaOH、PdCl ₆	星型	[38]
			AgNO ₃	星型	[42]
				星型	[43]
		TC、H ₂ O ₂	BSPP	分岐型	[39]
		HEPES		星型	[40]

AA : アスコルビン酸、CTAB : ヘキサデシルトリメチルアンモニウムブロミド、AgNO₃ : 硝酸銀、NaOH : 水酸化ナトリウム、TC : クエン酸三ナトリウム、CTAC : セチルトリメチルアンモニウムクロリド、NaBr : 臭化ナトリウム、SDS : ドデシル硫酸ナトリウム、DMF : *N, N*-ジメチルホルムアミド、PVP : ポリビニルピロリドン、PdCl₆ : ヘキサクロロパラジウム酸、H₂O₂ : 過酸化水素、BSPP : ビス(*p*-スルホナトフェニル)フェニルホスフィン二水和物二カリウム、HEPES : 2-[4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジニル]エタンスルホン酸

1.1.1.2.3 星型 Au-Ag ナノ粒子の既往の成長機構

Au^{3+} と Ag^+ の共存下で AA を添加することで合成される星型 Au-Ag ナノ粒子 (AuAgNS) は溶液の Au / Ag 比を変更することで λ_{max} を変更することがきる。Cheng らは混合溶液の Au / Ag 比と TEM の結果から Figure 1-3 に示す成長機構を提唱している [43]。Au と Ag の標準還元電位は $\text{AuCl}^- / \text{Au}$ が 0.99 V (vs. 標準水素電極 (SHE : the standard hydrogen electrode))、 Ag^+ / Ag が 0.80 V (vs. SHE) であり、先に Au が還元され Au 球ができる。Ag はアスコルビン酸では還元されないが、Au 表面上では還元されることが報告されている [44]。したがって、作製された Au 球の表面に UPD によって Ag が沈着する。その後、Ag の触媒効果により、沈着した Ag が活性部位となり棘状構造が成長する。この時、Au / Ag 比が棘の本数と長さを決定する。Au / Ag 比が大きいとき、少ない活性部位を起点に棘が成長するため鈍い棘が成長する。Au / Ag 比が小さくなるにつれて活性部位が増えて鋭い棘が成長する。しかし、Au / Ag 比がある値を超えると溶液中の Au 量が減少して棘の長さは小さくなる。

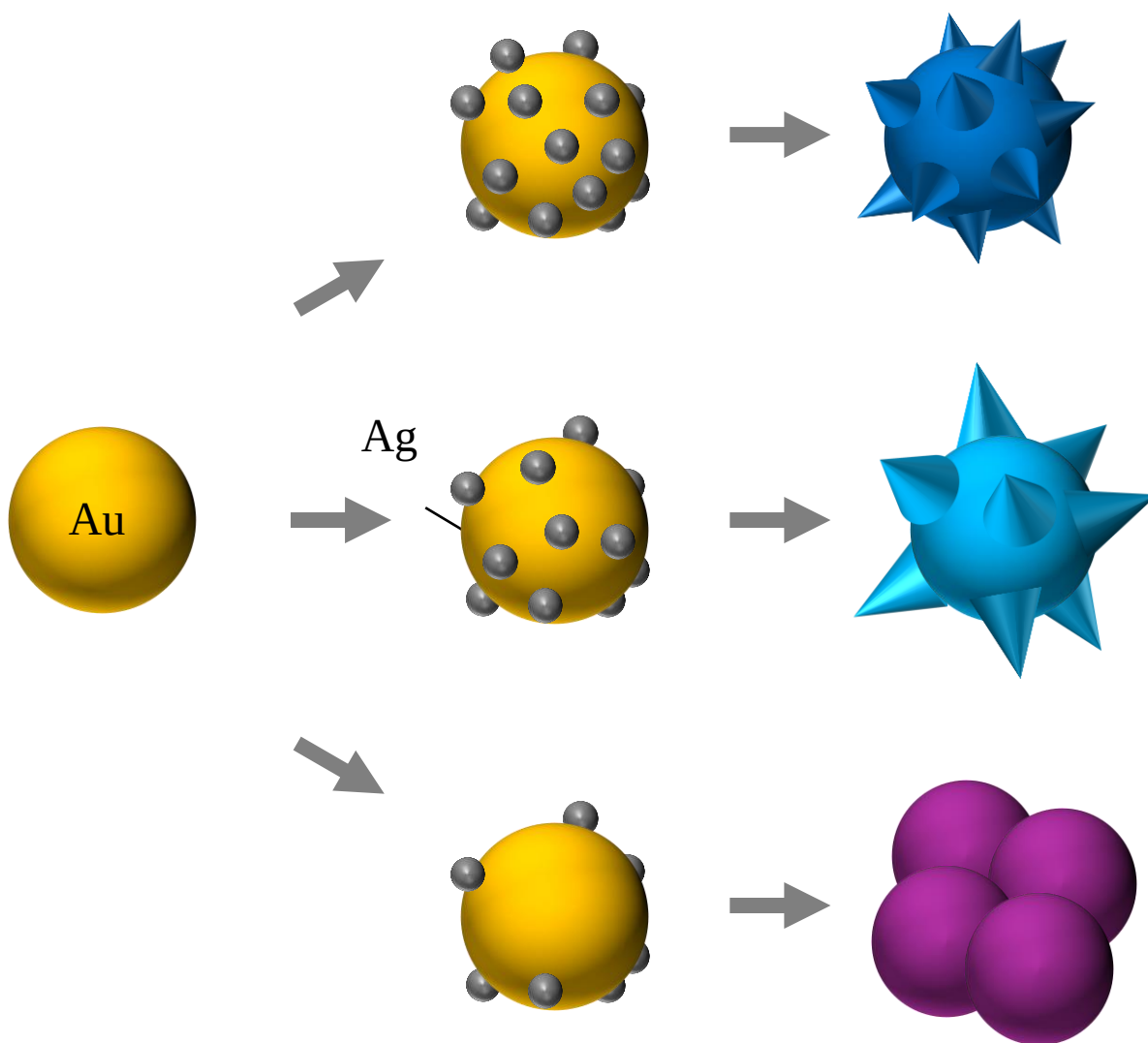


Figure 1-3 Cheng らが提唱した成長機構

Kumagai らは、さらにガルバニック置換反応にも言及し、棘の成長機構を詳細に報告している [45]。ガルバニック置換反応とは標準還元電位の差により Au^{3+} と Ag の間で式 (1-1) に示す反応が生じることで構造をある程度維持したまま元素が置換される反応である。



Figure 1-4 に Kumagai らによって提案された成長機構を示す。この機構は Au 球の前駆体は形成されず、急激な成長に起因する Au と Ag のモザイク状のファセットが表面に形成された前駆体が初めにできるとしている。この前駆体の表面では Au ファセット上でのみ AA が Ag を還元する。さらに還元された Ag 膜はガルバニック置換反応により急速に Au と置換することになる。置換した Au 上では再度 Ag の還元とガルバニック置換反応が生じる。このようにして AA による Au イオンの還元反応とガルバニック置換反応を繰り返すことで棘状に成長する。

Kumagai らは円錐状への成長は、金の沈着量の段階的な減少と成長が自動的に止まることを示唆しているが、円錐状へと成長する機構を完全には説明していない。さらに、 Ag の Au 表面への低電位析出の原理を考慮すると溶液中の Au^{3+} が完全に還元された後にその表面に対して Ag が沈着することが考えられるが、 Ag の分布は明らかになっていない。このように AuAgNS の成長機構は未解明な部分が残されている。

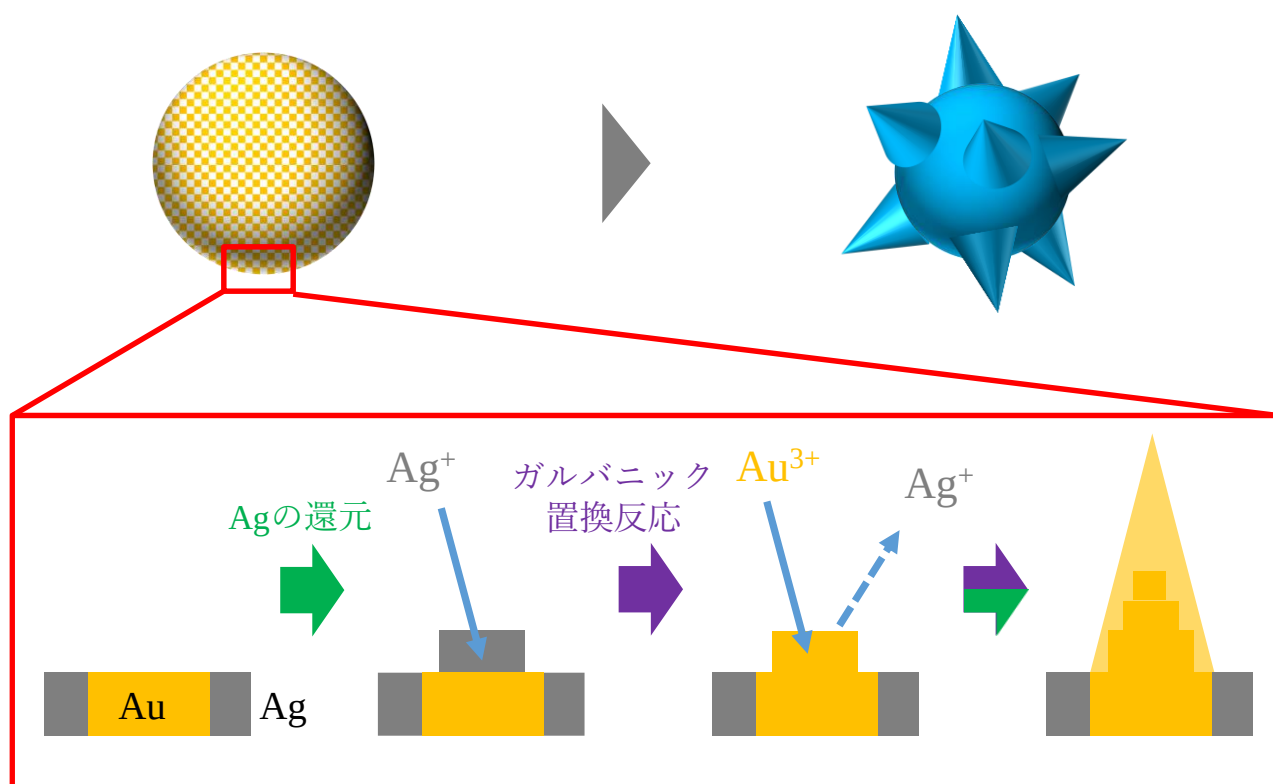


Figure 1-4 Kumagai らが提唱した成長機構

1.1.1.3 光熱変換効率

プラズモニクナノ粒子の特性の一つが光熱変換機能である。光熱変換機能は光エネルギーの吸収と高効率での光熱変換を原理とする [46]。Au ナノ粒子に対して LSPR ピーク波長の光を照射することで電子が励起され、高エネルギーをもつホットエレクトロンとホットホールを形成する。ホットエレクトロンは電子-電子衝突により熱平衡化して電子温度が決まり、熱平衡化した電子は電子-格子衝突によって粒子温度を上昇させる。そのため、レーザー加熱とは異なる。このとき、電子と格子間のエネルギー移動によりそれぞれの温度は平衡状態に至り粒子の温度上昇を引き起こす [46]。

ナノ粒子の形態制御により高光熱変換効率を有するナノ粒子の創出が試みられてきた。2007 年にユタ大学の Roper らは熱伝達係数 h 、系の表面積 S 、最高温度 T_{max} 、系の周囲の温度 T_{sur} 、系からの発熱量 Q_0 、レーザー出力 I 、ナノ粒子懸濁液の吸光度 A から光熱変換効率 η を求める式を導出し、実測値から光熱変換効率を求めることに成功した [47]。

$$\sum_i m_i C_{p,i} \frac{dT}{dt} = \sum_j Q_j \quad \text{式 (1-2)}$$

$$Q_l = I(1 - 10^{-A})\eta \quad \text{式 (1-3)}$$

$$Q_{ext} = hS(T - T_{sur}) \quad \text{式 (1-4)}$$

$$\sum_i m_i C_{p,i} \frac{dT}{dt} = Q_l + Q_0 - Q_{ext} \quad \text{式 (1-5)}$$

$$Q_l + Q_0 = hS(T_{max} - T_{sur}) \quad \text{式 (1-6)}$$

$$\eta = \frac{hS(T_{max} - T_{sur}) - Q_0}{I(1 - 10^{-A})} \quad \text{式 (1-7)}$$

m : 系の構成要素の質量

C_p : 熱容量

Q_l : レーザー照射時の溶液からの発熱量

Q_0 : レーザー照射時の系からの発熱量

Q_{ext} : 外部熱流束

h : 熱伝達係数

S : 系の表面積

T_{max} : 最高温度

T_{sur} : 系の周囲の温度

A : 溶液の吸光度

レーザー照射時の Au ナノ粒子懸濁液のエネルギーバランスは式 (1-2) で表される。 i の項は系の構成要素の質量 m と熱容量 C_p の積の和であり、 j の項はレーザー照射時の発熱量の和である。レーザー照射時のナノ粒子懸濁液からの発熱量 Q_l と外部熱流束 Q_{ext} はそれぞれ式 (1-3) と式 (1-4) で表される。これらの式を用いることで式 (1-2) は式 (1-5) へと簡略化される。レーザー照射時の $Q_l + Q_0$ は有限であるため式 (1-6) で表される。これらの式を整理することで光熱変換効率 h を求める式 (1-7) が導出される。この式を利用することで出力と濃度の影響を最小限にした形態の違いによる比較が可能である。

Table 1-3 に式 (1-7) を利用して求められた光熱変換効率の形態依存性を示す。808 nm のレーザー照射時、凸多面体型ナノ粒子である Au ナノプリズム [48] や Au-Ag ナノケージ [49] の光熱変換効率はそれぞれ 51.2%、31.2% であるが、凹多面体型ナノ粒子である AuAgNS[50] と Au ナノフラワー [51] の光熱変換効率はそれぞれ 80.4% と 33.9% であった。一方で Au コアと Au シェル間にシリカ層を形成することでレッドシフトした LSPR ピークを持つナノ粒子 (Au@SiO₂@Au) の光熱変換効率は 47.6% であった [52]。980 nm のレーザー照射時 Au ナノスフィア [53] と Au ナノロッド [53] の光熱変換効率はそれぞれ 33% と 46% であった。Au ナノスターの光熱変換効率は合成された形態の違いにより 60% と 78.8% である [53, 54] ことが報告されている。1064 nm のレーザー照射時にはナノ粒子の骨格だけを有する Au ナノフレームワークの光熱変換効率が報告されており、その値は 23.9% であった [55]。808 nm と 980 nm のどちらの波長においても星型ナノ粒子は 80% 程度の光熱変換効率を有し、凸多面体型ナノ粒子に対する凹多面体型ナノ粒子の優位性が示唆された。

Table 1-3 異なる形態のナノ粒子の光熱変換効率

形態	波長 nm	光熱変換効率 %	文献	
凸多面体型ナノ粒子	Au ナノプリズム	808	51.2	[48]
	Au-Ag ナノケージ	808	31.2	[49]
	Au@SiO ₂ @Au	808	47.6	[52]
	Au ナノスフィア	980	33	[53]
	Au ナノロッド	980	46	[53]
	Au ナノフレームワーク	1064	23.9	[55]
凹多面体型ナノ粒子	Au-Ag ナノスター	808	80.4	[50]
	Au ナノフラワー	808	33.9	[51]
	Au ナノスター	980	60, 78.8	[53, 54]

1.1.2 薬物送達システム

1.1.2.1 薬物送達システムに利用される刺激

薬物送達システム（DDS）とは薬物を必要な量・場所・時間に送達する技術であり薬物の副作用を低減することができる。薬物放出を引き起こす刺激は Figure 1-5 に示すエンドトリガーとエキソトリガーの二つに分類される [56]。エンドトリガーとは腫瘍組織と正常組織の環境の違いを利用した放出である。エンドトリガーには pH、腫瘍組織における酸化還元反応、低酸素状態、特定の酵素の存在、等が含まれる。正常組織の pH は 7.4 であるが腫瘍の細胞外環境の pH は 6.5~7.2 であり、多くの DDS がこの僅かな違いによって薬物が放出されるよう設計されている [57]。還元剤として機能するグルタチオン（GSH）はがん細胞内の濃度が血中や正常組織中の濃度よりもそれぞれ 100~1000 倍、100 倍高い [58]。炎症組織や大腸癌の粘膜における活性酸素種（ROS）の濃度は正常組織の 10~100 倍高い [59]。腫瘍組織に高濃度で存在する GSH や ROS による酸化還元反応をエンドトリガーとして利用する DDS が構築された。腫瘍組織ではいくつかの酵素が過剰発現していることが確認されている [56]。マトリックスメタロプロテアーゼ（MMP）は血管周囲の基底膜を分解することにより腫瘍組織での血管新生を促進する。特に MNP2 応答性のナノキャリアはがん細胞への標的化と細胞取り込み量の向上が達成された [60]。腫瘍組織が通常の体温（37℃）から 40 ~ 42℃ に局所的に加熱されることで材料特性が非線形的に変化することで薬物放出を達成する機構も検討されている [56]。

エンドトリガーを利用した DDS は正常組織への毒性を低減し、腫瘍組織に特異的に作用することが期待されるが、循環血中での放出や正常組織環境での放出による損失が課題となっている。

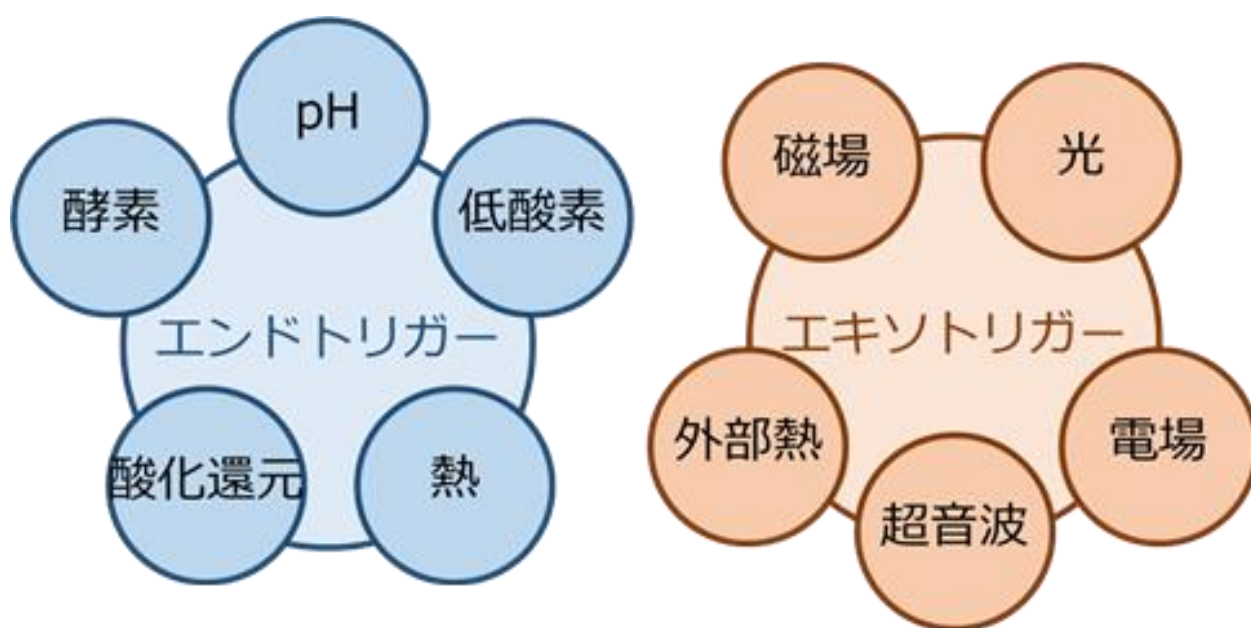


Figure 1-5 DDS に利用されるトリガー

エキソトリガーによる DDS は薬物放出の時空間的操作が可能である。エキソトリガーには磁場、光、電場、超音波、外部熱が含まれる。永久磁場を印加した際の磁気誘導による薬物送達と、交流磁場を印加した際の発熱による薬物放出により DDS が達成されている [57]。磁場は低侵襲であり体心部への薬物送達が原理的に可能な一方で、三次元的に精密な薬物送達を可能とする磁石システムは未だ基礎研究段階である [61]。超音波は非侵襲性であり、高精度で標的部位に照射可能であるため DDS において有望な刺激である。超音波マイクロバブルを介したキャビテーションは血管壁に一時的または永続的な孔を開け血管外送達量を向上させる [62]。電場は細胞に作用し膜透過性を誘発することが報告されており、DDS としては導電性ポリマーベースのフィルムまたはナノ粒子からの薬物放出を達成することが期待されている [63]。一方で、組織への侵入深さや組織損傷の課題がある。

これらの刺激と比較して光は時空間的分解能に優れた刺激である。特に、光は波長、強度、照射範囲、照射時間、偏向などの複数のパラメータによる制御が可能であり DDS を実現するうえで独自の利点を有している [64, 65]。多くの光応答性 DDS は紫外線または可視光照射によって薬物を放出する。親水鎖と疎水鎖からなる両新媒性ブロック共重合体 (BPC) ミセルは光応答性 DDS のナノキャリアとして最も多く利用されている [66]。光応答性 DDS の BPC には疎水基にアゾベンゼン、ピレン、ニトロベンゼンなどの色素が組み込まれる [67]。組み込まれた色素の光反応によって親水鎖と疎水鎖のバランスが崩れミセルが不安定化し薬物が放出される。紫外線及び可視光は生体への侵入深さが浅く、直接照射可能な目や皮膚などの部位に適用が制限されている。

現在、光応答性 DDS の研究の多くが NIR 照射による治療を目的としている。NIR は生体による光吸収を防ぐために選択されている。生体による吸収は主にヘモグロビンと水に起因する。Figure 1-6 にヘモグロビン濃度が血中ヘモグロビン濃度と同じ 16 g/dL のヘモグロビン溶液と酸素化ヘモグロビン溶液および水の吸光度の波長依存性を示す [68, 69]。ヘモグロビンは 274、344、555 および 915 nm にピークトップを示すことが明らかになっている。酸素化ヘモグロビンは 600 から 800 nm の範囲でヘモグロビンよりも吸光度が低い。1130 nm 以降は水の吸収が支配的となり長波長になるにつれて吸光度は大きくなる。ヘモグロビンと水の吸光度が低い波長領域は「生体の光学窓」[70]と呼ばれている。さらに、「生体の光学窓」には、第一の窓（700 ～ 950 nm）、第二の窓（1000 ～ 1350 nm）と第三の窓（1550 nm ～ 1870 nm）がある。可視光から NIR へと照射する波長を変えることで、体表から数 cm までの深部組織の治療に適応範囲を拡張できることが期待されている。

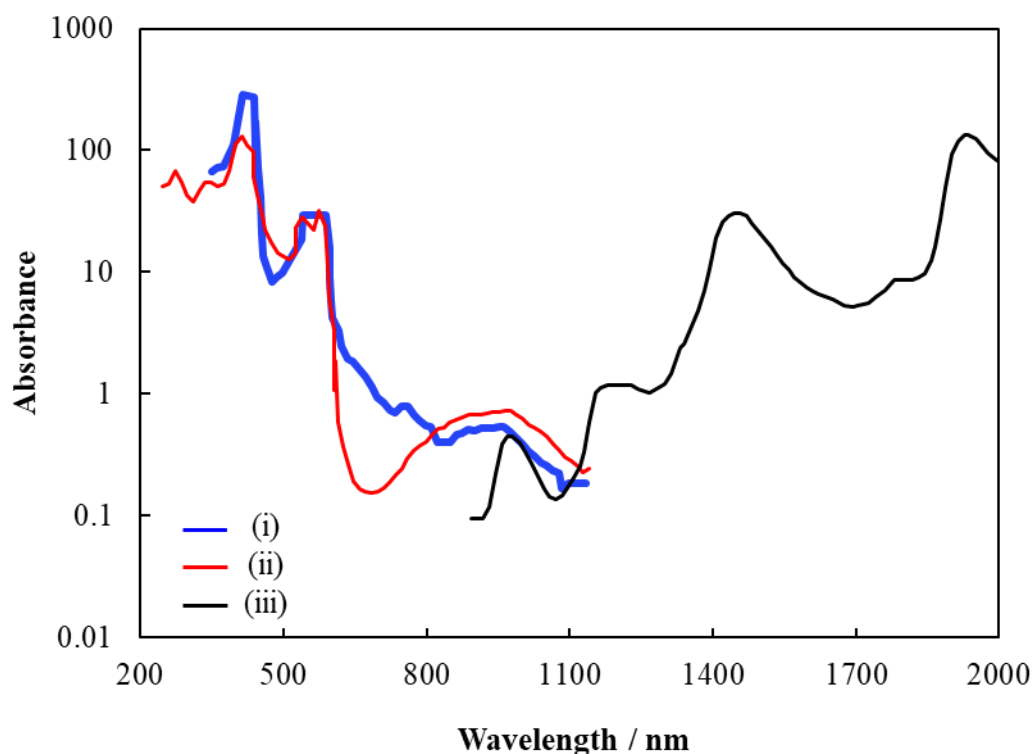


Figure 1-6 (i) ヘモグロビンと (ii) 酸素化ヘモグロビンおよび (iii) 水の吸光度の波長依存性

1.1.2.2 化学温熱併用がん治療

体深部への薬物送達を可能とする NIR 応答 DDS として NIR 吸収プラズモン材料の利用が検討されている。NIR 吸収プラズモン材料と温度応答性高分子を複合することで NIR 照射時のプラズモン材料の光熱変換機能を利用した薬物放出を達成することができる。プラズモン材料と薬物の複合化は NIR を利用可能にするだけでなく、化学温熱併用がん治療として有効である。温熱療法は化学療法の治療効果を向上させる補助療法として有望である [71]。温熱療法の効果として特定のキャリアや薬剤の送達量の向上に加えて、多剤耐性を回復させ治療効果を高めることが報告されている [72, 73]。更に温熱療法は DNA の修復を阻害する効果をもつ [74]。従って化学温熱併用がん治療は低侵襲性かつ高治療効果の治療法であることが期待されるが、腫瘍組織への選択制の向上や侵襲性の低減が課題となっている [75]。

薬物担体として利用される高分子の一つがポリ (*N* - イソプロピルアクリルアミド) (NIPAAm) とアクリルアミド (AAm) の共重合体である。ライス大学の Ser-shen らにより 2000 年に、硫化金 (Au_2S) - Au コアシェルナノ粒子とモデル分子としてメチレンブルーを含む、NIPAAm と AAm の共重合体のハイドロゲルが作製された [76]。この共重合体の下限臨界溶液温度 (LCST) は僅かに体温より高い。1064 nm、164 mJ/pulse、パルス長 7 nsec.、10 Hz のパルスレーザー照射によりこのハイドロゲルは崩壊し、メチレンブルーの放出に成功した [76]。

2010 年にテキサス大学の You らは中空 Au ナノ粒子と抗がん剤としてパクリタキセル (PTX) を封入した乳酸グリコール酸共重合体 (PLGA) マイクロ粒子の合成を報告した [77]。808 nm、3.0 W/cm² 以上の出力でレーザー照射した際の局所加熱による PLGA 粒子の不安定化によって PTX の放出が達成された。

薬物担体として有望な材料として高分子電解質多層膜マイクロカプセルも報告されている。2012 年にフィリップ大学マールブルクの Carregal-Romero らは緑色蛍光タンパク質 (GFP) を含む炭酸カルシウムと Au ナノ粒子を含むポリ(4-スチレンスルホン酸ナトリウム)とポリ(アリルアミン塩酸塩)からなる高分子電解質多層膜マイクロカプセルを合成した [78]。830 nm、3.8 mW/μm² のレーザー照射によってカプセルからの GFP 放出が確認された。

レーザー照射温度による放出機構は前述したように相転移や局所熱による構造の変化を利用したものほとんどであり、共有結合の切断による放出機構はほとんど報告されていない。共有結合の切断による DDS としてはアゾ重合開始剤の利用が検討されている [79]。

1.2 研究の目的

本論文の目的は NIR に高光熱変換効率をもつプラズモンナノ粒子の合成のために、 Ag^+ の存在下で AA の還元反応によって合成される凹多面体型ナノ粒子の成長機構を明らかにすることである。まず、シードレス合成法で合成された AuAgNS の成長機構を解明し、凹多面体型ナノ粒子の成長機構と形態制御に展開する。さらに AuAgNS に対して Diels–Alder 反応を利用して薬物を修飾し、レーザー照射によるがん細胞の死滅率を評価することで NIR を利用した化学温熱併用がん治療の抗腫瘍効果を検討する。

1.3 本論文の構成

第 1 章では本研究の背景となる Au ナノ粒子の形態制御の歴史と形態制御法を概説した。さらにプラズモンを利用した DDS の効果と研究例を示し、本研究の目的について述べている

第 2 章では星型 AuAg ナノ粒子の元素分布および棘状構造の成長方向、結晶面を明らかにした。さらに Ag の低電位析出を原理とする成長機構を明らかにした。

第 3 章では第 2 章で明らかにした成長機構とシード媒介成長法を複合しナノ粒子を形態制御した。形態制御の際に 1) シードの添加量、2) Au / Ag 比、3) Au^{3+} および Ag^+ の濃度を最適化することで花型 Au-Ag ナノ粒子を合成した。合成した花型 Au-Ag ナノ粒子のレーザー応答性を調査し光熱変換効率を算出した。

第 4 章では球状の中心体と円錐状の棘からなる対称性の高いモデルのシミュレーションを行い、棘の本数及びアスペクト比と λ_{max} の関係を明らかにした。作製したナノ粒子の吸収スペクトルと計算で求めた吸収効率を比較することで λ_{max} が一致する形態を明らかにした。さらに平板上の構造が組み合わさったモデルを考案し吸収効率を比較することで花型 Au-Ag ナノ粒子の成長機構を検討した。

第 5 章では AuAgNS に対してシリカ被覆し形態の安定性への寄与を明らかにした。がん細胞による毒性試験によって、生体適合性へのシリカの寄与を明らかにした。

第 6 章では Diels–Alder 反応を利用してドキソルビシンを修飾した。レーザー照射時の光応答性と温度応答性を評価し、がん細胞の死滅率を評価することで、化学温熱併用がん治療への有用性を検討した。

第 7 章では本研究の総括を述べた。

- [1] Amendola, V., Pilot, R., Frascioni, M., Maragò, O. M., & Iati, M. A. Surface plasmon resonance in gold nanoparticles: A review. *Journal of Physics Condensed Matter*, **29**(20). (2017). <https://doi.org/10.1088/1361-648X/aa60f3>
- [2] Xiong, Y., & Xia, Y. Shape-controlled synthesis of metal nanostructures: The case of palladium. *Advanced Materials*, **19**(20), 3385–3391. (2007). <https://doi.org/10.1002/adma.200701301>
- [3] Zheng, X., Zhao, X., Guo, D., Tang, B., Xu, S., Zhao, B., ... Lombardi, J. R. Photochemical formation of silver nanodecahedra: structural selection by the excitation wavelength. *Langmuir*, **25**(6), 3802–3807. (2009). <https://doi.org/10.1021/la803814j>
- [4] Martin, C. R. Membrane-Based Synthesis of Nanomaterials. *Chemistry of Materials*, **8**(8), 1739–1746. (1996). <https://doi.org/10.1021/cm960166s>
- [5] Yu, Chang, S.-S., Lee, C.-L., & Wang, C. R. C. Gold Nanorods: Electrochemical Synthesis and Optical Properties. *The Journal of Physical Chemistry B*, **101**(34), 6661–6664. (1997). <https://doi.org/10.1021/jp971656q>
- [6] Jana, N. R., Gearheart, L., & Murphy, C. J. Seed-mediated growth approach for shape-controlled synthesis of spheroidal and rod-like gold nanoparticles using a surfactant template. *Advanced Materials*, **13**(18), 1389–1393. (2001). [https://doi.org/10.1002/1521-4095\(200109\)13:18<1389::AID-ADMA1389>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/1521-4095(200109)13:18<1389::AID-ADMA1389>3.0.CO;2-F)
- [7] Nikoobakht, B., & El-Sayed, M. A. Preparation and growth mechanism of gold nanorods (NRs) using seed-mediated growth method. *Chemistry of Materials*, **15**(10), 1957–1962. (2003). <https://doi.org/10.1021/cm020732l>
- [8] Liu, Y., Liu, D., Li, T., & Liang, Y. Anisotropic Growth of Gold Nanorods Using Custom-Designed Quaternary Ammonium Salts: Implications for Photothermal Therapy. *ACS Applied Nano Materials*, **6**(22), 21312–21321. (2023). <https://doi.org/10.1021/acsanm.3c04680>
- [9] Lin, Z., Nie, F., Zhang, Z., Gong, X., Zhang, J., Xu, J., & Guo, Y. Construction of Natural Polysaccharide-Based pH-Responsive Gold Nanorods for Combined Photothermal Therapy and Immunotherapy. *ACS Applied Nano Materials*, **7**(9), 10466–10478. (2024). <https://doi.org/10.1021/acsanm.4c00856>
- [10] Deinavizadeh, M., Kiasat, A. R., Hooshmand, N., Shafiei, M., Sabaeian, M., Mirzajani, R., ... El-Sayed, M. A. NIR/pH Dual-Responsive DOX-Loaded AuNRs@S-β-CD Nanocomposite for Highly Effective Chemo-photothermal Synergistic Therapy against Lung Cancer Cells. *Journal of Physical Chemistry C*, **126**(44), 18754–18766. (2022). <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.2c05254>
- [11] Millstone, J. E., Park, S., Shuford, K. L., Qin, L., Schatz, G. C., & Mirkin, C. A. Observation of a quadrupole plasmon mode for a colloidal solution of gold nanoprisms. *Journal of the American Chemical Society*, **127**(15), 5312–5313. (2005). <https://doi.org/10.1021/ja043245a>
- [12] Sau, T. K., & Murphy, C. J. Room temperature, high-yield synthesis of multiple shapes of gold nanoparticles in aqueous solution. *Journal of the American Chemical Society*, **126**(28), 8648–8649. (2004). <https://doi.org/10.1021/ja047846d>
- [13] Aherne, D., Ledwith, D. M., Gara, M., & Kelly, J. M. Optical properties and growth aspects of silver nanoprisms produced by a highly reproducible and rapid synthesis at room temperature. *Advanced*

- Functional Materials*, **18**(14), 2005–2016. (2008). <https://doi.org/10.1002/adfm.200800233>
- [14] Ha, T. H., Koo, H. J., & Chung, B. H. Shape-controlled syntheses of gold nanoprisms and nanorods influenced by specific adsorption of halide ions. *Journal of Physical Chemistry C*, **111**(3), 1123–1130. (2007). <https://doi.org/10.1021/jp066454l>
- [15] Sun, J., Guan, M., Shang, T., Gao, C., Xu, Z., & Zhu, J. Selective synthesis of gold cuboid and decahedral nanoparticles regulated and controlled by Cu²⁺ ions. *Crystal Growth and Design*, **8**(3), 906–910. (2008). <https://doi.org/10.1021/cg070635a>
- [16] Seo, D., Ji, C. P., & Song, H. Polyhedral gold nanocrystals with Oh symmetry: From octahedra to cubes. *Journal of the American Chemical Society*, **128**(46), 14863–14870. (2006). <https://doi.org/10.1021/ja062892u>
- [17] Niu, W., Li, Z. Y., Shi, L., Liu, X., Li, H., Han, S., ... Xu, G. Seed-mediated growth of nearly monodisperse palladium nanocubes with controllable sizes. In *Crystal Growth and Design* (Vol. 8, pp. 4440–4444). (2008). <https://doi.org/10.1021/cg8002433>
- [18] Rosengard, N. M., & Skriver, H. L. *Calculated stacking-fault energies of elemental metals. PHYSICAL REVIEW B* (Vol. 47). (n.d.).
- [19] Liu, M., & Guyot-Sionnest, P. Mechanism of silver(I)-assisted growth of gold nanorods and bipyramids. *Journal of Physical Chemistry B*, **109**(47), 22192–22200. (2005). <https://doi.org/10.1021/jp054808n>
- [20] Sheng, H. W., Kramer, M. J., Cadien, A., Fujita, T., & Chen, M. W. Highly optimized embedded-atom-method potentials for fourteen FCC metals. *Physical Review B - Condensed Matter and Materials Physics*, **83**(13), 1–20. (2011). <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.83.134118>
- [21] Gao, J., Bender, C. M., & Murphy, C. J. Dependence of the Gold Nanorod Aspect Ratio on the Nature of the Directing Surfactant in Aqueous Solution. *Langmuir*, **19**(21), 9065–9070. (2003). <https://doi.org/10.1021/la034919i>
- [22] Pérez-Juste, J., Liz-Marzán, L. M., Carnie, S., Chan, D. Y. C., & Mulvaney, P. Electric-field-directed growth of gold nanorods in aqueous surfactant solutions. *Advanced Functional Materials*, **14**(6), 571–579. (2004). <https://doi.org/10.1002/adfm.200305068>
- [23] Hubert, F., Testard, F., & Spalla, O. Cetyltrimethylammonium bromide silver bromide complex as the capping agent of gold nanorods. *Langmuir*, **24**(17), 9219–9222. (2008). <https://doi.org/10.1021/la801711q>
- [24] Meena, S. K., Celiksoy, S., Schäfer, P., Henkel, A., Sönnichsen, C., & Sulpizi, M. The role of halide ions in the anisotropic growth of gold nanoparticles: A microscopic, atomistic perspective. *Physical Chemistry Chemical Physics*, **18**(19), 13246–13254. (2016). <https://doi.org/10.1039/c6cp01076h>
- [25] Murphy, C. J., Thompson, L. B., Chernak, D. J., Yang, J. A., Sivapalan, S. T., Boulos, S. P., ... Sisco, P. N. Gold nanorod crystal growth: From seed-mediated synthesis to nanoscale sculpting. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*. (2011, April). <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2011.01.001>
- [26] Nehl, C. L., Liao, H., & Hafner, J. H. Optical properties of star-shaped gold nanoparticles. *Nano Letters*, **6**(4), 683–688. (2006). <https://doi.org/10.1021/nl052409y>
- [27] Khoury, C. G., & Vo-Dinh, T. Gold nanostars for surface-enhanced Raman scattering: synthesis,

- characterization and optimization. *Journal of Physical Chemistry C*, **112**(48), 18849–18859. (2008). <https://doi.org/10.1021/jp8054747>
- [28] Wang, Y., Black, K. C. L., Luehmann, H., Li, W., Zhang, Y., Cai, X., ... Xia, Y. Comparison study of gold nanohexapods, nanorods, and nanocages for photothermal cancer treatment. *ACS Nano*, **7**(3), 2068–2077. (2013). <https://doi.org/10.1021/nn304332s>
- [29] Hao, F., Nehl, C. L., Hafner, J. H., & Nordlander, P. Plasmon resonances of a gold nanostar. *Nano Letters*, **7**(3), 729–732. (2007). <https://doi.org/10.1021/nl062969c>
- [30] Hrelescu, C., Sau, T. K., Rogach, A. L., Jäckel, F., Laurent, G., Douillard, L., & Charra, F. Selective excitation of individual plasmonic hotspots at the tips of single gold nanostars. *Nano Letters*, **11**(2), 402–407. (2011). <https://doi.org/10.1021/nl103007m>
- [31] Wu, H. L., Chen, C. H., & Huang, M. H. Seed-mediated synthesis of branched gold nanocrystals derived from the side growth of pentagonal bipyramids and the formation of gold nanostars. *Chemistry of Materials*, **21**(1), 110–114. (2009). <https://doi.org/10.1021/cm802257e>
- [32] Kawamura, G., & Nogami, M. Application of a conproportionation reaction to a synthesis of shape-controlled gold nanoparticles. *Journal of Crystal Growth*, **311**(19), 4462–4466. (2009). <https://doi.org/10.1016/j.jcrysgro.2009.08.002>
- [33] Kuo, C. H., & Huang, M. H. Synthesis of branched gold nanocrystals by a seeding growth approach. *Langmuir*, **21**(5), 2012–2016. (2005). <https://doi.org/10.1021/la0476332>
- [34] Barbosa, S., Agrawal, A., Rodríguez-Lorenzo, L., Pastoriza-Santos, I., Alvarez-Puebla, R. A., Kornowski, A., ... Liz-Marzán, L. M. Tuning size and sensing properties in colloidal gold nanostars. *Langmuir*, **26**(18), 14943–14950. (2010). <https://doi.org/10.1021/la102559e>
- [35] Chen, S., Wang, Z. L., Ballato, J., Foulger, S. H., & Carroll, D. L. Monopod, Bipod, Tripod, and Tetrapod Gold Nanocrystals. *Journal of the American Chemical Society*, **125**(52), 16186–16187. (2003). <https://doi.org/10.1021/ja038927x>
- [36] Luty-Błocho, M., Paclawski, K., Wojnicki, M., & Fitzner, K. The kinetics of redox reaction of gold(III) chloride complex ions with l-ascorbic acid. *Inorganica Chimica Acta*, **395**, 189–196. (2013). <https://doi.org/10.1016/j.ica.2012.10.031>
- [37] Wu, H. Y., Liu, M., & Huang, M. H. Direct synthesis of branched gold nanocrystals and their transformation into spherical nanoparticles. *Journal of Physical Chemistry B*, **110**(39), 19291–19294. (2006). <https://doi.org/10.1021/jp063711d>
- [38] Krichevski, O., & Markovich, G. Growth of colloidal gold nanostars and nanowires induced by palladium doping. *Langmuir*, **23**(3), 1496–1499. (2007). <https://doi.org/10.1021/la062500x>
- [39] Hao, E., Bailey, R. C., Schatz, G. C., Hupp, J. T., & Li, S. Synthesis and Optical Properties of “Branched” Gold Nanocrystals. *Nano Letters*, **4**(2), 327–330. (2004). <https://doi.org/10.1021/nl0351542>
- [40] Xie, J., Lee, J. Y., & Wang, D. I. C. Seedless, surfactantless, high-yield synthesis of branched gold nanocrystals in HEPES buffer solution. *Chemistry of Materials*, **19**(11), 2823–2830. (2007). <https://doi.org/10.1021/cm0700100>
- [41] Jia, Y. P., Shi, K., Liao, J. F., Peng, J. R., Hao, Y., Qu, Y., Wei, X. W. Effects of Cetyltrimethylammonium

- Bromide on the Toxicity of Gold Nanorods Both In Vitro and In Vivo: Molecular Origin of Cytotoxicity and Inflammation. *Small Methods*, **4**(3). (2020). <https://doi.org/10.1002/smtd.201900799>
- [42] Burt, J. L., Elechiguerra, J. L., Reyes-Gasga, J., Montejano-Carrizales, J. M., & Jose-Yacaman, M. Beyond Archimedean solids: Star polyhedral gold nanocrystals. *Journal of Crystal Growth*, **285**(4), 681–691. (2005). <https://doi.org/10.1016/j.jcrysgro.2005.09.060>
- [43] Cheng, L. C., Huang, J. H., Chen, H. M., Lai, T. C., Yang, K. Y., Liu, R. S., ... Tsai, D. P. Seedless, silver-induced synthesis of star-shaped gold/silver bimetallic nanoparticles as high efficiency photothermal therapy reagent. *Journal of Materials Chemistry*, **22**(5), 2244–2253. (2012). <https://doi.org/10.1039/c1jm13937a>
- [44] Yang, Y., Liu, J., Fu, Z. W., & Qin, D. Galvanic replacement-free deposition of au on ag for core-shell nanocubes with enhanced chemical stability and SERS activity. *Journal of the American Chemical Society*, **136**(23), 8153–8156. (2014). <https://doi.org/10.1021/ja502472x>
- [45] K.Kumagai, & A.Ishida. Synthesis and optical properties of flower- and spiky-ball -like silver gold nanoparticles. *CSJ*, **87**(7), 780–791. (2014). <https://doi.org/10.1246/bcsj.20140043>
- [46] Hu, M., & Hartland, G. V. Heat Dissipation for Au Particles in Aqueous Solution: Relaxation Time versus Size. (2002). <https://doi.org/10.1021/jp020581>
- [47] Roper, D. K., Ahn, W., & Hoepfner, M. Microscale heat transfer transduced by surface plasmon resonant gold nanoparticles. *Journal of Physical Chemistry C*, **111**(9), 3636–3641. (2007). <https://doi.org/10.1021/jp064341w>
- [48] Otero, C. M., Simal, G. B., Scocozza, M. F., Rubert, A., Grillo, C. A., Hannibal, L., ... Vericat, C. Optimized Biocompatible Gold Nanotriangles with NIR Absorption for Photothermal Applications. *ACS Applied Nano Materials*, **5**(1), 341–350. (2022). <https://doi.org/10.1021/acsanm.1c03148>
- [49] Jiang, T., Song, J., Zhang, W., Wang, H., Li, X., Xia, R., ... Xu, X. Au-Ag@Au Hollow Nanostructure with Enhanced Chemical Stability and Improved Photothermal Transduction Efficiency for Cancer Treatment. *ACS Applied Materials and Interfaces*, **7**(39), 21985–21994. (2015). <https://doi.org/10.1021/acsami.5b08305>
- [50] Liu, Z., Cheng, L., Zhang, L., Yang, Z., Liu, Z., & Fang, J. Sub-100nm hollow Au-Ag alloy urchin-shaped nanostructure with ultrahigh density of nanotips for photothermal cancer therapy. *Biomaterials*, **35**(13), 4099–4107. (2014). <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.01.053>
- [51] He, J., Yu, S., Ma, Z., Sun, H., Yang, Q., Liu, Z., ... Wang, L. Polymyxin E biomineralized and doxorubicin-loaded gold nanoflowers nanodrug for chemo-photothermal therapy. *International Journal of Pharmaceutics*, **625**(July), 122082. (2022). <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2022.122082>
- [52] Wang, R., Du, N., Jin, L., Chen, W., Ma, Z., Zhang, T., ... Li, M. Hyaluronic Acid Modified Au@SiO₂@Au Nanoparticles for Photothermal Therapy of Genitourinary Tumors. *Polymers*, **14**(21). (2022). <https://doi.org/10.3390/polym14214772>
- [53] Zhu, D., Liu, Y., Liu, M., Liu, X., Prasad, P. N., & Swihart, M. T. Galvanic replacement synthesis of multi-branched gold nanocrystals for photothermal cancer therapy. *Journal of Materials Chemistry B*, **8**(25), 5491–5499. (2020). <https://doi.org/10.1039/d0tb00748j>

- [54] Bi, C., Chen, J., Chen, Y., Song, Y., Li, A., Li, S., ... Xia, H. Realizing a Record Photothermal Conversion Efficiency of Spiky Gold Nanoparticles in the Second Near-Infrared Window by Structure-Based Rational Design. *Chemistry of Materials*, **30**(8), 2709–2718. (2018). <https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.8b00312>
- [55] Wang, J., Sun, J., Wang, Y., Chou, T., Zhang, Q., Zhang, B., ... Wang, H. Gold Nanoframeworks with Mesopores for Raman–Photoacoustic Imaging and Photo-Chemo Tumor Therapy in the Second Near-Infrared Biowindow. *Advanced Functional Materials*, **30**(9), 1–13. (2020). <https://doi.org/10.1002/adfm.201908825>
- [56] El-Sawy, H. S., Al-Abd, A. M., Ahmed, T. A., El-Say, K. M., & Torchilin, V. P. Stimuli-Responsive Nano-Architecture Drug-Delivery Systems to Solid Tumor Micromilieu: Past, Present, and Future Perspectives. *ACS Nano*, **12**(11), 10636–10664. (2018). <https://doi.org/10.1021/acsnano.8b06104>
- [57] Mura, S., Nicolas, J., & Couvreur, P. Stimuli-responsive nanocarriers for drug delivery. *Nature Materials*. (2013, November). <https://doi.org/10.1038/nmat3776>
- [58] Cheng, R., Feng, F., Meng, F., Deng, C., Feijen, J., & Zhong, Z. Glutathione-responsive nano-vehicles as a promising platform for targeted intracellular drug and gene delivery. *Journal of Controlled Release*, **152**(1), 2–12. (2011). <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2011.01.030>
- [59] Liu, D., Yang, F., Xiong, F., & Gu, N. The smart drug delivery system and its clinical potential. *Theranostics*. Ivyspring International Publisher. (2016). <https://doi.org/10.7150/thno.14858>
- [60] Zhu, L., Kate, P., & Torchilin, V. P. Matrix metalloprotease 2-responsive multifunctional liposomal nanocarrier for enhanced tumor targeting. *ACS Nano*, **6**(4), 3491–3498. (2012). <https://doi.org/10.1021/nn300524f>
- [61] Liu, Y. L., Chen, D., Shang, P., & Yin, D. C. A review of magnet systems for targeted drug delivery. *Journal of Controlled Release*. Elsevier B.V. (2019, May 28). <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.03.031>
- [62] Chowdhury, S. M., Lee, T., & Willmann, J. K. Ultrasound-guided drug delivery in cancer. *Ultrasonography*. Korean Society of Ultrasound in Medicine. (2017, July 1). <https://doi.org/10.14366/usg.17021>
- [63] Kolosnjaj-Tabi, J., Gibot, L., Fourquaux, I., Golzio, M., & Rols, M. P. Electric field-responsive nanoparticles and electric fields: physical, chemical, biological mechanisms and therapeutic prospects. *Advanced Drug Delivery Reviews*. Elsevier B.V. (2019, January 1). <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.10.017>
- [64] Wang, X., Xuan, Z., Zhu, X., Sun, H., Li, J., & Xie, Z. Near-infrared photoresponsive drug delivery nanosystems for cancer photo-chemotherapy. *Journal of Nanobiotechnology*. BioMed Central. (2020, August 3). <https://doi.org/10.1186/s12951-020-00668-5>
- [65] Zhao, W., Zhao, Y., Wang, Q., Liu, T., Sun, J., & Zhang, R. Remote Light-Responsive Nanocarriers for Controlled Drug Delivery: Advances and Perspectives. *Small*. Wiley-VCH Verlag. (2019, November 1). <https://doi.org/10.1002/smll.201903060>
- [66] Alvarez-Lorenzo, C., Bromberg, L., & Concheiro, A. Light-sensitive intelligent drug delivery systems.

- Photochemistry and Photobiology*, **85**(4), 848–860. (2009). <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2008.00530.x>
- [67] Zhao, Y. Rational design of light-controllable polymer micelles. *Chemical Record*, **7**(5), 286–294. (2007). <https://doi.org/10.1002/tcr.20127>
- [68] Friebe, M., & Meinke, M. Determination of the complex refractive index of highly concentrated hemoglobin solutions using transmittance and reflectance measurements. *Journal of Biomedical Optics*, **10**(6), 064019. (2005). <https://doi.org/10.1117/1.2138027>
- [69] Friebe, M., Helfmann, J., Netz, U., & Meinke, M. Influence of oxygen saturation on the optical scattering properties of human red blood cells in the spectral range 250 to 2000 nm. *Journal of Biomedical Optics*, **14**(3), 034001. (2009). <https://doi.org/10.1117/1.3127200>
- [70] Hemmer, E., Benayas, A., Légaré, F., & Vetrone, F. Exploiting the biological windows: Current perspectives on fluorescent bioprobes emitting above 1000 nm. *Nanoscale Horizons*, **1**(3), 168–184. (2016). <https://doi.org/10.1039/c5nh00073d>
- [71] Hildebrandt, B. The cellular and molecular basis of hyperthermia. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, **43**(1), 33–56. (2002). [https://doi.org/10.1016/S1040-8428\(01\)00179-2](https://doi.org/10.1016/S1040-8428(01)00179-2)
- [72] Yuan, Y., Wang, Z., Cai, P., Liu, J., Liao, L., Hong, M., ... Liu, B. Conjugated polymer and drug co-encapsulated nanoparticles for Chemo- and Photo-thermal Combination Therapy with two-photon regulated fast drug release, 3067–3076. (2015). <https://doi.org/10.1039/c4nr06420h>
- [73] Wang, C., Xu, H., Liang, C., Liu, Y., Li, Z., Yang, G., ... Liu, Z. Iron Oxide @ Polypyrrole Nanoparticles as a Multifunctional Drug Carrier for Remotely Controlled Cancer Therapy with Synergistic Antitumor Effect. *ACS Nano*, **7**(8), 6782–6795. (2013). <https://doi.org/10.1021/nn4017179>
- [74] Koning, G. A., Eggermont, A. M. M., Lindner, L. H., & Ten Hagen, T. L. M. Hyperthermia and thermosensitive liposomes for improved delivery of chemotherapeutic drugs to solid tumors. *Pharmaceutical Research*. (2010, August). <https://doi.org/10.1007/s11095-010-0154-2>
- [75] Frazier, N., & Ghandehari, H. Hyperthermia Approaches for Enhanced Delivery of Nanomedicines to Solid Tumors. *Biotechnol. Bioeng*, **112**, 1967–1983. (2015). <https://doi.org/10.1002/bit.25653/abstract>
- [76] Sershen, S. R., Westcott, S. L., Halas, N. J., & West, J. L. Temperature-sensitive polymer-nanoshell composites for photothermally modulated drug delivery. *Journal of Biomedical Materials Research*, **51**(3), 293–298. (2000). [https://doi.org/10.1002/1097-4636\(20000905\)51:3<293::AID-JBM1>3.0.CO;2-T](https://doi.org/10.1002/1097-4636(20000905)51:3<293::AID-JBM1>3.0.CO;2-T)
- [77] You, J., Shao, R., Wei, X., Gupta, S., & Li, C. Near-infrared light triggers release of paclitaxel from biodegradable microspheres: Photothermal effect and enhanced antitumor activity. *Small*, **6**(9), 1022–1031. (2010). <https://doi.org/10.1002/smll.201000028>
- [78] Carregal-Romero, S., Ochs, M., Rivera-Gil, P., Ganas, C., Pavlov, A. M., Sukhorukov, G. B., & Parak, W. J. NIR-light triggered delivery of macromolecules into the cytosol. *Journal of Controlled Release*, **159**(1), 120–127. (2012). <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2011.12.013>
- [79] Riedinger, A., Guardia, P., Curcio, A., Garcia, M. A., Cingolani, R., Manna, L., & Pellegrino, T. Subnanometer local temperature probing and remotely controlled drug release based on Azo-functionalized iron oxide nanoparticles. *Nano Letters*, **13**(6), 2399–2406. (2013).

<https://doi.org/10.1021/nl400188q>

第2章 星型 Au-Ag ナノ粒子の新奇成長機構の解明

2.1 緒言

2.1.1 低電位析出によるナノ粒子の形態制御

金属ナノ粒子の成長機構として低電位析出 (UPD) が議論されている。UPD とは、溶液中の金属イオンが析出の際に異種金属上では同種金属上よりも大幅に低い電位で単 (多) 原子層の金属として析出する現象である。UPD プロセスの研究とその応用は主に電気化学の領域で発展してきたが、現在では化学、物理学、材料科学の分野へと展開されている [1]。

銀 (Ag) の UPD によるプラズモンナノ粒子の形態制御が報告されている [2–4]。2019 年にイリノイ大学の Satyavolu らによって Ag の UPD によるパラジウム (Pd) ナノ粒子の形態制御が報告された [2]。Satyavolu らは Pd ナノキューブを塩化 Pd とアスコルビン酸 (AA)、硝酸銀 (AgNO_3)、ヘキサデシルトリメチルアンモニウムブロミド (CTAB) を含む成長溶液に加えることでシード媒介成長法によってナノ粒子を合成した [2]。合成条件を最適化することで Figure 2-1 に示す高い表面エネルギーをもつ 24 の $\{730\}$ と 8 つの $\{111\}$ からなる Pd ナノ粒子が得られている [2]。さらに、銀イオン (Ag^+) の非存在下では Pd ナノキューブのみが形成されることから、高次の面指数をもつ結晶面の形成には Ag^+ が不可欠であることが実証された [2]。

シンガポール国立大学の Tran らと浙江大学の Qin らはポリ (ジアリルジメチルアンモニウム) と AgNO_3 を含む成長溶液に還元剤としてエチレングリコールを添加することで異なる形態の Au ナノ粒子を合成した [3,4]。 Ag^+ の非存在下では $\{111\}$ で構成される正八面体型のナノ粒子が合成されるが、 Ag^+ 濃度の上昇と共に正八面体の辺上に $\{110\}$ や $\{210\}$ が露出した形態が合成され、最も Ag^+ 濃度が高い条件では 12 の $\{310\}$ で構成された八角柱様の形態が合成された。

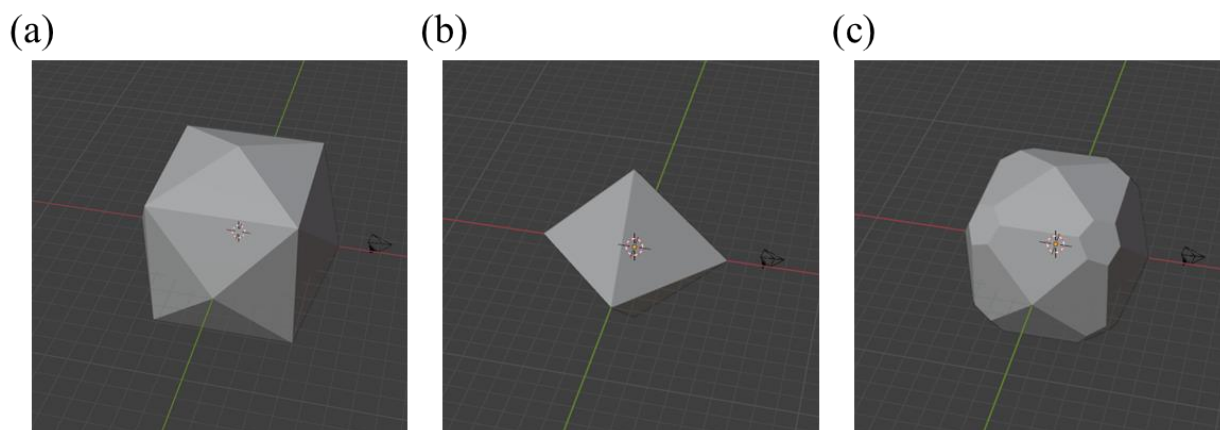


Figure 2-1 (a) $\{710\}$ 、(b) $\{111\}$ および (c) $\{710\}$ と $\{111\}$ で構成される形態

面心立方構造（fcc）をとる金属の結晶面の表面エネルギーは2007年に安康大学のWenらによって修正分析型原子埋め込み法（MAEAM；modified analytical embedded atom method）によって計算された[5]。Table 2-1にAu、AgおよびPdの結晶面の表面エネルギーと各結晶面と（111）とのなす角の関係を示す。全てのfcc金属における低次の指数の結晶面の表面エネルギーの大きさは $\{111\} < \{100\} < \{110\}$ であった。さらに、 $\{h10\}$ の表面エネルギーは $\{h11\}$ の表面エネルギーよりも大きい傾向が明らかになった。各結晶面の表面エネルギーは $\{111\}$ とのなす角に依存しており、 40° 程度までは殆ど直線的に増加し、 40° より大きくなると減少することが報告された。したがって、 $\{111\}$ とのなす角は表面エネルギーの推定に有効である。

低電位析出を応用したプラズモンナノ粒子の形態制御と結晶面の解析による成長機構はいくつか報告されているが、AuAgNSの結晶面に対するUPDの効果はこれまで議論されていない。本章では、AuAgNS表面の結晶面を明らかにし、結晶面と表面エネルギーとの関係を考察することでUPDの効果を検討した成長機構を議論する。

Table 2-1 MAEAMによって算出されたAu、Ag、Pdの結晶面の表面エネルギーと各結晶面と（111）とのなす角

	(111)とのなす角 °	Au ergs/cm ²	Ag ergs/cm ²	Pd ergs/cm ²
{100}	54.74	713.20	752.33	1018.14
{110}	35.26	793.98	833.48	1118.93
{111}	0.00	639.79	713.44	926.31
{210}	39.23	841.24	870.84	1177.62
{211}	19.47	761.68	818.12	1083.88
{310}	43.09	820.94	853.88	1155.06
{311}	29.50	790.96	835.86	1117.26
{410}	45.56	802.61	837.36	1132.82
{411}	35.26	786.43	830.78	1113.38
{510}	42.80	788.87	824.64	1115.68
{511}	38.94	779.37	823.09	1105.01

2.1.2 プラズモンナノ粒子の三次元特性評価

結晶の明視野像のコントラストはブラッグ散乱に依存するため電子線トモグラフィーの使用は生物学の分野へと限定されてきた [6]。近年では、透過電子顕微鏡 (TEM) 像におけるブラッグ散乱の寄与を減らす技術の開発と共に材料分野へと電子線トモグラフィーが普及した。高角度散乱暗視野走査透過電子顕微鏡 (HAADF-STEM) 像やエネルギーフィルター透過電子顕微鏡像がブラッグ散乱の影響を排除することができ、結晶の特性を反映した三次元 (3D) 像を得ることができると実証されている [6]。

電子線トモグラフィーによってナノ粒子の結晶面、組成、成長機構が解析されている。2012 年にアントワープ大学の Goris らは 3D へと再構成された Au ナノロッドの原子構造から結晶面を原子スケールで決定する手法を報告した [7]。HAADF-STEM 像を再構成することで Au ナノロッドの面心立方構造が再現され、CTAB と Ag^+ の存在下で合成される Au ナノロッドは側面として {520} を含む丸みを帯びた断面をもつナノ粒子であることが報告された [7]。2014 年には、アントワープ大学の Goris らがエネルギー散乱型 X 線分光法 (EDS) による 3D 元素マッピングと電子線トモグラフィーによって再構成された 3D 像を比較することで、Ag ナノキューブのガルバニック置換反応中の形態変化と元素組成を明確に決定できることを報告した [8]。2016 年にバイオナノプラズモニクス研究所の Polavarapu らもガルバニック置換反応に焦点を当てた EDS トモグラフィーの解析により、単結晶 Au ナノロッドから八面体型のナノ粒子に成長する機構を明らかにした [9]。

2019 年にアントワープ大学の Skorikov らは、Au コアと Ag シェルからなるナノロッドとナノプリズムに対して HAADF-STEM 像から 3D 像を再構成させる (3D-HAADF-STEM 像) ことで、熱誘起合金化プロセスのその場観察を報告している [10]。従来の EDS トモグラフィーが長時間の測定を必要とする一方で HAADF-STEM トモグラフィーは比較的短時間での測定が可能であり、電子線損傷の影響を最小限にすることができる。3D-HAADF-STEM 像の定量分析により 3D 元素分布を信頼性高く決定できることを報告し、合金化プロセスの理解に貢献した [10]。

電子線トモグラフィーによって単純な形態のナノ粒子の組成や結晶構造の理解が進んでいるが、複雑な構造をもつナノ粒子の三次元 (3D) 形態についての研究は少ない。そのため、凹多面体型ナノ粒子に分類される AuAgNS の三次元形態を解析し、元素分布を明らかにすることで UPD を考慮した成長機構を検討した。

2.1.3 第 2 章の目的

本章では、 Ag^+ の存在下で AA の Au^{3+} の還元反応によって合成される AuAgNS の成長機構を UPD の観点から検討した。本章の目的は、これまで明らかにされていなかった AuAgNS の元素分布と成長方向、結晶面を明らかにし、三次元的な分析と組み合わせることで新奇成長機構を考案することである。

2.2 実験方法

2.2.1 試薬

合成にはテトラクロロ金 (III) 酸四水和物 (HAuCl_4 ; 和光純薬工業、試薬特級)、硝酸銀 (AgNO_3 ; 和光純薬工業、試薬特級)、 $\text{L}(+)$ -アスコルビン酸 (AA; 和光純薬工業、試薬特級)、オルトケイ酸テトラエチル (TEOS; 信越化学工業)、25%アンモニア水 ($\text{NH}_3 \text{ aq.}$; 和光純薬工業、試薬特級)、ポリビニルピロリドン K25 (PVP; 和光純薬工業、試薬特級)、エタノール (99.5) (和光純薬工業、試薬特級)、超純水 ($18 \text{ M}\Omega\text{cm}$, Millipore) を用いた。

2.2.2 星型 Au-Ag ナノ粒子の合成

AuAgNS は、Cheng らによって提案された方法 [11] に若干の変更を加えて合成した。10 mM HAuCl_4 溶液と 10 mM AgNO_3 溶液とを所定量だけ、10 mL の超純水に添加した。この時、Au と Ag の合計モル濃度は 220 mM に固定した。その後、100 mM の AA 溶液を 40 μL 加え 1 分間攪拌した。Au / Ag 比が 200 / 20 の試料を Au20Ag2、180 / 40 の試料を Au18Ag4 と略す。

2.2.3 星型 Au-Ag ナノ粒子の評価方法

合成したナノ粒子溶液の 400 nm から 900 nm までの光吸収スペクトルを、紫外可視分光光度計 (UV-vis、UV-2450、SHIMADZU) を使用して測定した。測定セルはディスポセル (Asone) を使用した。超純水でバックグラウンドをとり、ダブルビームで測定した。

結晶相解析用の試料合成のため AuAgNS 溶液 10 mL を 10 回繰り返し合成し 100 mL の溶液を作製した。100 mL の AuAgNS 溶液に対して、TEOS と $\text{NH}_3 \text{ aq.}$ を用いて Stöber 法によって合成したシリカ粒子を 100 mg 混合し作成した。さらに、1 wt% PVP 400 μL を加えて $9,390 \times \text{g}$ で 15 分間遠心分離を行い、上澄み除去後にエタノールを 10 mL 添加した。最終的に検体濃縮装置 (コンビニ・エバポ C1、BioChromato) で 60°C の条件でエタノールを完全に蒸発させシリカ表面に AuAgNS を物理的に吸着させた。結晶相は、加速電圧 40 kV、30 mA で $\text{CuK}\alpha$ 線 ($\lambda = 0.15418 \text{ nm}$) を使用した X 線回折計 (XRD、X'pert-MPD、PANalytical) で同定した。 2θ 範囲を、 0.02° のステップサイズで $0.6^\circ / \text{min}$ の速度で 30° から 80° まで連続的に測定した。配向度を評価するために、XRD プロファイルをローレンツ関数でフィッティングして得られた強度から Lotgering ファクターを計算した [12]。Lotgering ファクターを計算する際には、JSPDS-ICDD: 4-0784 の強度データを参照試料 (無配向試料) として使用した。

ナノ粒子の形態と制限視野電子線回折 (SAED)、元素分布は冷陰極電界放出型電子銃と二つの EDS 用のシリコンドリフト検出器を備えた球面収差補正透過型電子顕微鏡 (JEM-ARM200F、JEOL) を用いて加速電圧 200 kV の条件で観察した。測定試料は超純水に分散させた試料をマイクログリッド上に 2 μL 滴下し空気中で完全に乾燥させた後、5 μL の超純水をグリッド上に滴下しろ紙で除去することで余分な有機成分を洗浄し作製した。撮影した SAED 像は ReciPro (ver. 4.831) によって計算した電子回折像と比較し、晶帯軸を決定した。

高傾斜試料台 (EM-21311HTR、JEOL) と単傾斜試料台 (EM-21010、JEOL) を組み合わせることによって -72° から 72° まで 4° 毎に HAADF-STEM 像を撮影した。STEM 像を TEMography© (SYSTEM IN FRONTIER INC) を用いて撮影した画像を再構成することで、三次元 (3D) トモグラフィーを合成した。

Au₁₈Ag₄ の合成過程の粒子形態による吸収スペクトルの変化は、水冷ベルチェセルホルダー付属紫外可視分光光度計（UV-vis、v-570、JASCO）を用いてマグネチックスターラーで攪拌しながら 500 nm から 700 nm の範囲を 18 秒毎に 100 回測定し追跡した。この時、超純水 2 mL に対して Au、Ag および AA の濃度は Au₁₈Ag₄ の合成条件と同じとなるよう添加量を調整した。測定は AA 添加直後に開始した。

2.3 結果と考察

2.3.1 星型 Au-Ag ナノ粒子の形成と構造

Figure 2-2 に合成したナノ粒子の溶液の外観とその吸収スペクトルを示す。溶液の色はどちらも青紫色であり、Au20Ag2 の $\lambda_{\max}$ は 650 nm、Au18Ag4 の $\lambda_{\max}$ は 633 nm であった。Au と Ag のコアシェルナノ粒子は Au コアサイズに対して Ag シェルが厚くなると $\lambda_{\max}$ はブルーシフトシフトすることが報告されている [13]。AA は Ag^+ を還元しない [14] ため、Ag は AuNS の表面に UPD によって析出しシェルを形成していると考えられる。したがって、Au18Ag4 の $\lambda_{\max}$ が Au20Ag2 の $\lambda_{\max}$ よりも小さいことは、Au20Ag2 と比較して Au18Ag4 の Ag 層が厚いことを示唆している。さらに、二つの試料の $\lambda_{\max}$ における光学密度にほとんど差がないことが確認され、光学密度が Au と Ag の総量に依存することが示された。このことから Au18Ag4 の Ag 層は Au20Ag2 よりも厚いことが考えられる。

Figure 2-3 に Au20Ag2 と Au18Ag4 の XRD パターンを示す。JSPDS-ICDD: 4-0784 と合致する、Au に帰属される回折線がすべての試料で確認された。111、200、220、311 のピーク位置は Au20Ag2 では 38.18° 、 44.36° 、 64.62° 、 77.59° であり、Au18Ag4 では 38.19° 、 44.36° 、 64.62° 、 77.60° であった。ピーク位置の違いは確認できなかった。Au と Ag の格子定数は 0.40788 nm と 0.40857 nm である [5] ため、ピーク位置による組成の評価は困難であることが考えられる。また、回折強度から計算された Au_{111} の Lotgering ファクターは、Au20Ag2 では 0.25、Au18Ag4 では 0.24 であり、両方のサンプルがわずかに 111 に配向しており、Au {111} がエピタキシャルに成長することにより棘が成長していることを示唆している。

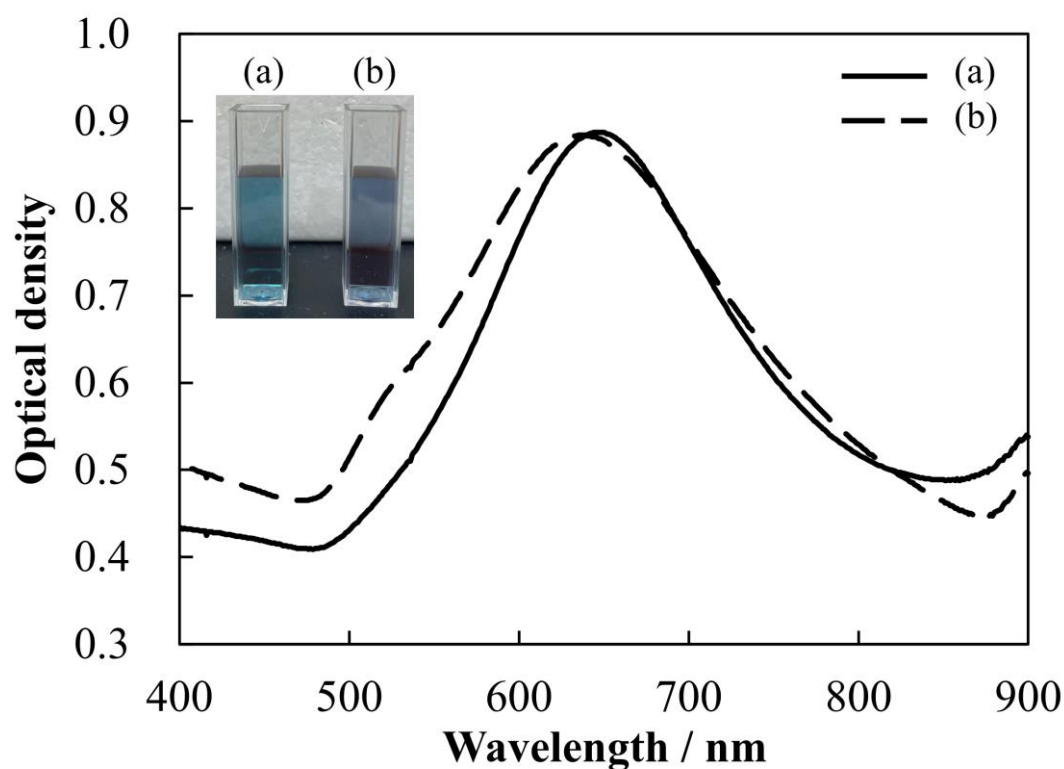


Figure 2-2 (a) Au20Ag2 と (b) Au18Ag4 溶液の外観と吸収スペクトル

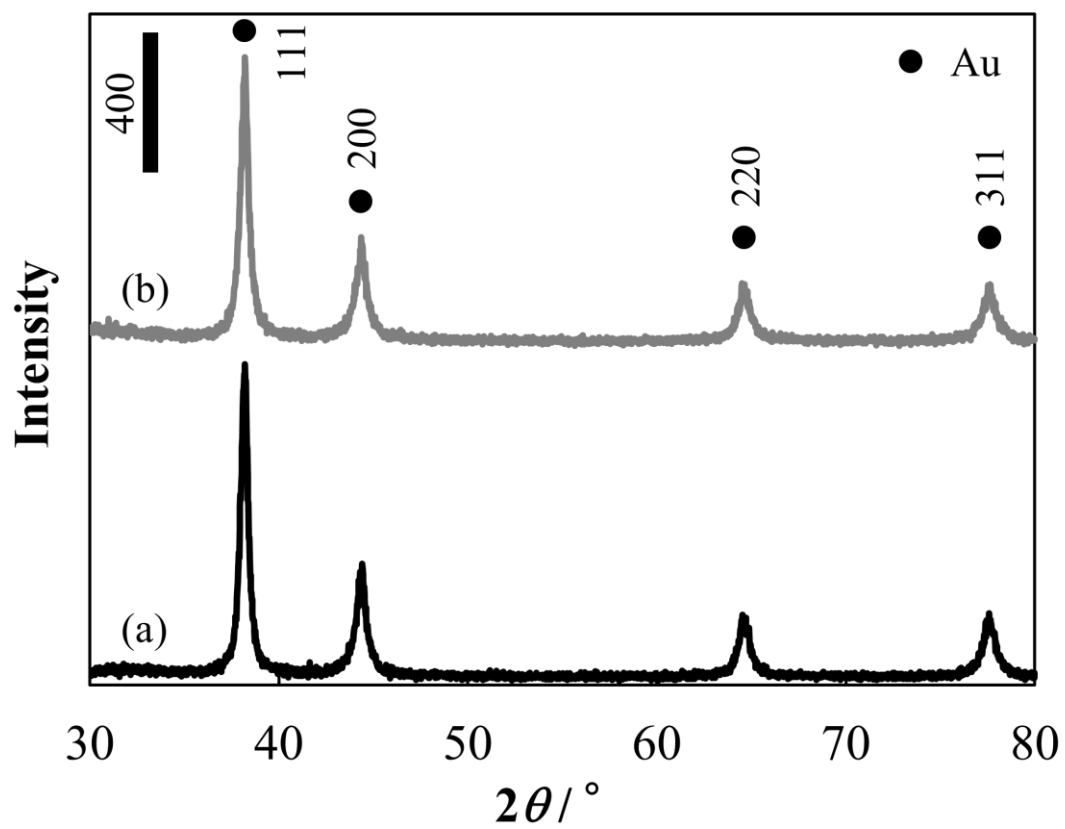


Figure 2-3 (a) Au₂₀Ag₂ と (b) Au₁₈Ag₄ の XRD パターン

Figure 2-4 に STEM-EDS で分析した $\text{Au}_{20}\text{Ag}_2$ と $\text{Au}_{18}\text{Ag}_4$ との元素分布と EDS スペクトルを示す。 Au 分布から判断すると、両方の試料の形態はコア（中心体）のサイズが約 50 nm で高アスペクト比の棘をもつ星型ナノ粒子であり、その構造は以前の報告と一致していた [11,15,16]。 $\text{Au}_{20}\text{Ag}_2$ の元素マッピングからは、中心体と棘の両方で Au のみが検出された。EDS スペクトルでは、2.19 keV に $\text{AuM}\alpha$ のピークが確認されたが、合成時に Ag を含有するにもかかわらず Ag のピークは検出されず、 Ag 含有量が EDS 検出限界以下であった。一方、 $\text{Au}_{18}\text{Ag}_4$ は、棘の径が 10 nm 未満の $\text{Au}_{20}\text{Ag}_2$ に類似した構造を示し、3.02 keV に $\text{AgL}\alpha$ のピークが確認された。元素マッピングの結果、 Ag は AuAgNS の最表面のみに存在することが明らかとなった。

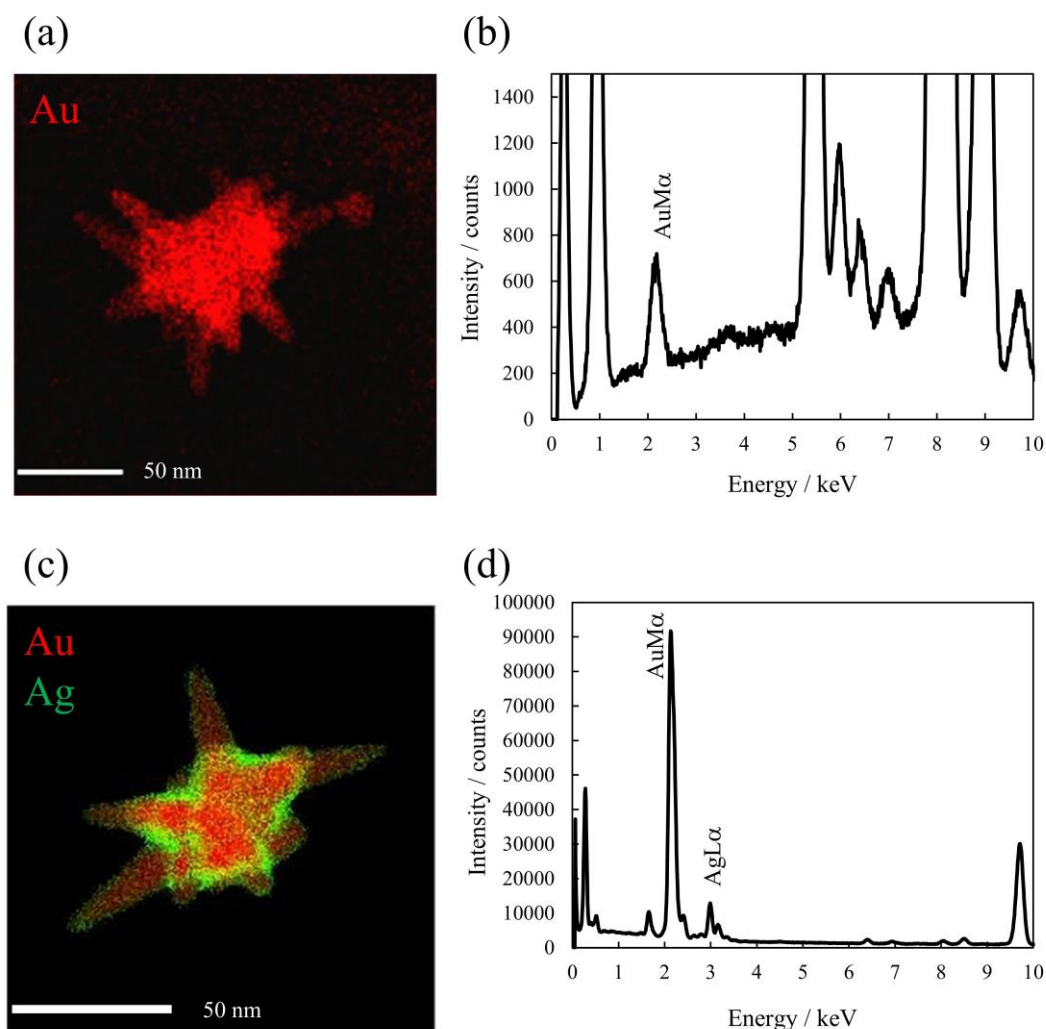


Figure 2-4 $\text{Au}_{20}\text{Ag}_2$ の (a) 元素分布と (b) EDS スペクトルおよび $\text{Au}_{18}\text{Ag}_4$ の (c) 元素分布と (d) EDS スペクトル

棘における Ag 層の厚さは、Figure 2-5 に示す Au18Ag4 の棘の元素マッピングから分析した。Figure 2-5 (a) には、Au と Ag の元素マッピングを示す。長辺が棘の傾斜 (y 方向) に平行な挿入された黄色の長方形のボックスは、Au と Ag の特性 X 線強度の分析領域を示している。Au と Ag の強度は、短辺 (x 方向) の各距離で y 方向に沿って積算された。Figure 2-5 (b) には、距離に対する Au と Ag の強度プロットを示している。興味深いことに、Ag と Au の強度曲線はわずかにずれており、Au は収束して中心 (6 nm) 付近で最大値を示し、Ag は 3.2 nm で最大値を示して減衰していた。これは、棘がエピタキシャル成長のように中心体から円錐状に成長することを示唆している。棘の最表面の Ag の厚さを分析するために、Figure 2-5 (b) に示すように、半径 r_{Au} の Au 円と、外側に Ag が被覆された半径 r_{Ag} の円を棘の断面として仮定した。各距離での線分の長さを計算し、EDS で測定した強度プロットにフィッティングして規格化した。Au と Ag の EDS シグナル強度は、 r_{Au} が 3.92 nm、 r_{Ag} が 4.89 nm の円のモデルとほぼ一致し、スパインの表面の Ag の厚さは 0.97 nm であることが明らかとなった。

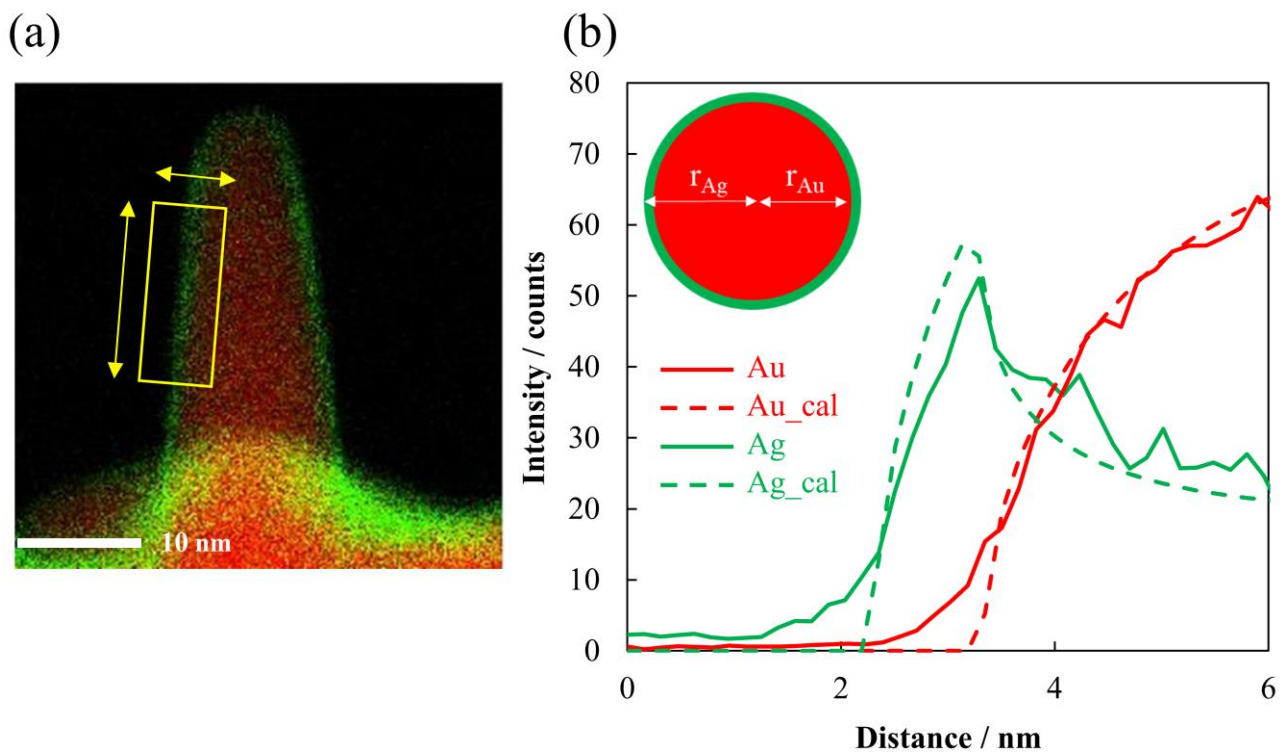


Figure 2-5 (a) Au18Ag4 の棘の元素分布と (b) 分析領域における EDS シグナル強度

Figure 2-6 に Au18Ag4 の合成中に 18 秒ごとに 30 分間連続的に測定した吸収スペクトルの変化を示す。溶解した Au^{3+} と Ag^+ の水溶液に AA を加えた直後に棘のない Au ナノ粒子の形成に関連する 570 nm の λ_{max} をもつスペクトルが観察された。18 秒後、棘の形成により λ_{max} は約 610 nm の長波長側に急速にシフトし、その後、30 分間の攪拌後には Ag の UPD により λ_{max} は徐々に 590 nm にシフトした。約 20 nm の青方シフトは、ナノ粒子表面への Ag の堆積がゆっくりと進行していることを示している。AA は通常 Ag を還元できないが、Au 表面の Ag は UPD によって還元できることが示唆された [17,18]。水溶液中の Ag^+ イオンは、異種金属である Au 表面に単原子層のように金属 Ag 原子として析出した。つまり、Au の星型ナノ粒子の形成と同時に、Au の特定の面上で Ag の析出が進行し、Ag 単原子層が形成されると考えられる。

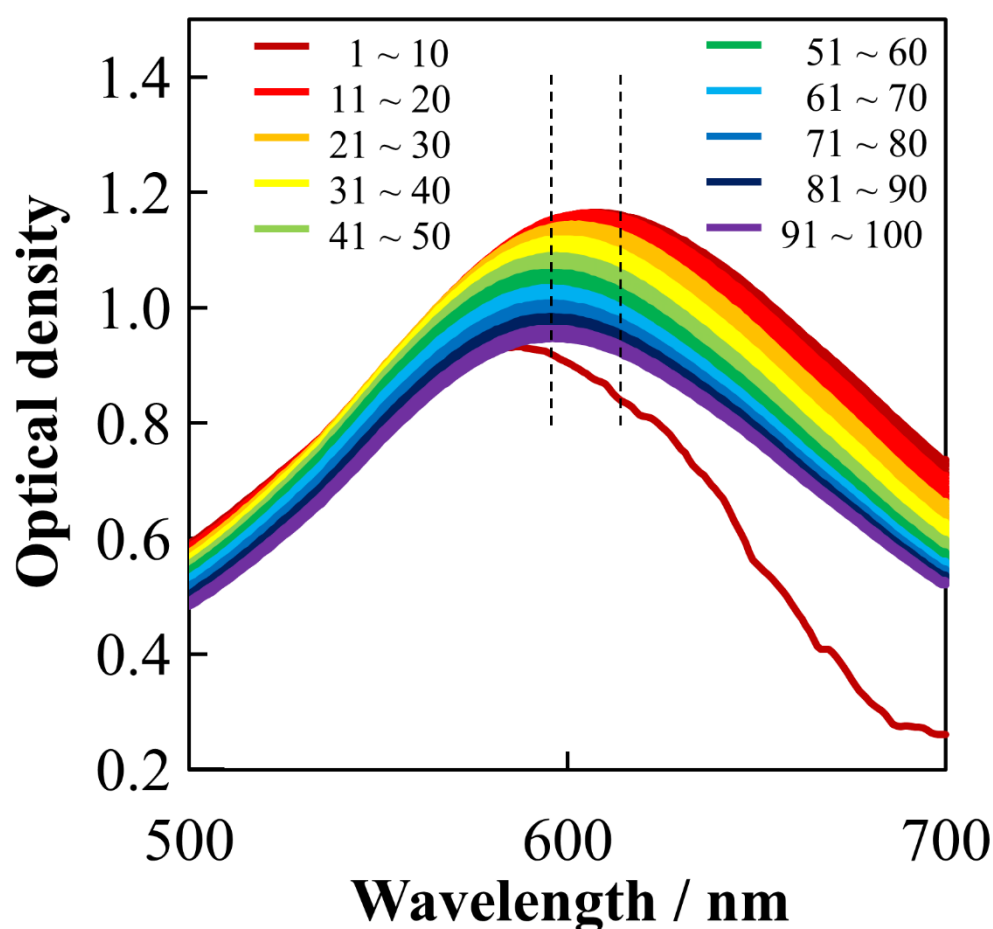


Figure 2-6 Au18Ag4 合成時、18 秒毎の吸収スペクトルの変化

Figure 2-7 に Au₁₈Ag₄ 全体像と棘の STEM 像を示す。ナノ粒子は星型構造をしており、中心体から放射状に棘が成長していた。高解像度 STEM 像は、これまでの報告と同様に Au の双晶境界が棘の成長方向に暗い線として観察されることを示した [11]。棘の中央部に双晶境界が明瞭に観察されたため、4 本の棘において双晶境界の両側に電子線を照射し、SAED を測定した。電子線照射位置は例えば最初のスパインから左側に 1l、右側に 1r として示されている。Figure 2-8 に各棘に対する SAED 像を示す。TEM ホルダーの傾きを変えて晶帯軸に沿って SAED 像を撮影したが、棘が五重双晶として成長していると考えられるため、晶帯軸を完全に合わせることは困難であった。そのため、一部の領域では 2つの回折スポットが重なって観察された。図中の赤い円はデバイリングであり、回折スポットの内側から 111、200、220 にそれぞれ帰属され、すべての SAED 像から同じデバイリングが確認された。このデバイリングは、Figure 2-9 に示す ReciPro で計算された晶帯軸 $\langle 110 \rangle$ をもつ Au のデバイリングと一致するため、観察された晶帯軸は $\langle 110 \rangle$ であると考えられる。全ての SAED 像が一致したことから、棘はすべて同様の成長様式で放射状に成長したと考えられる。

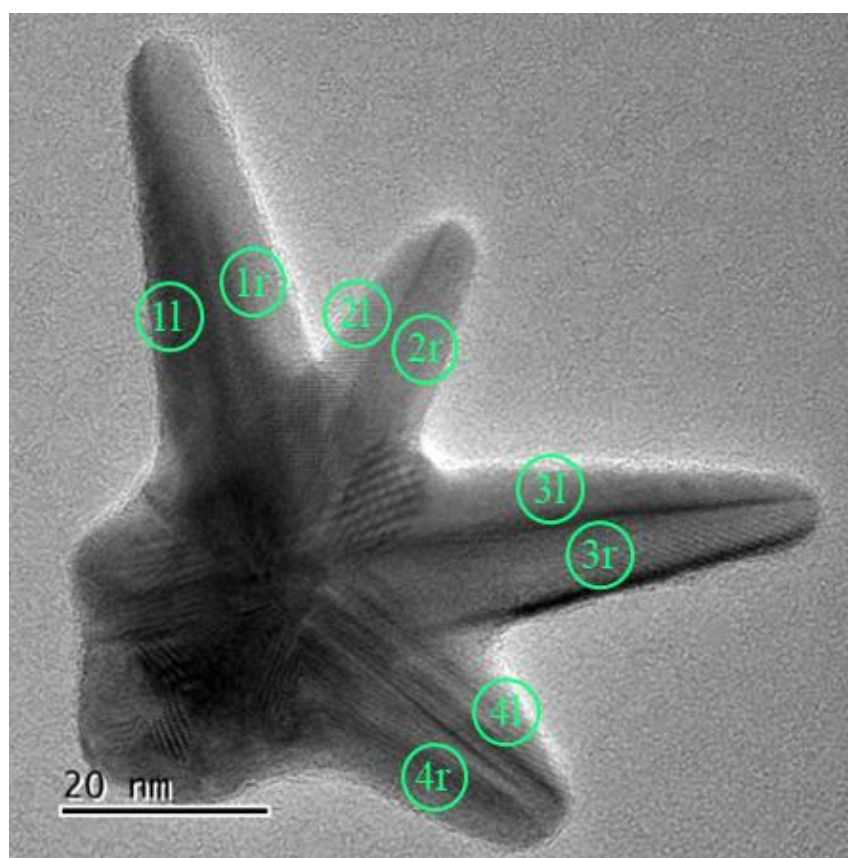


Figure 2-7 Au₁₈Ag₄ の STE 像と電子線照射位置

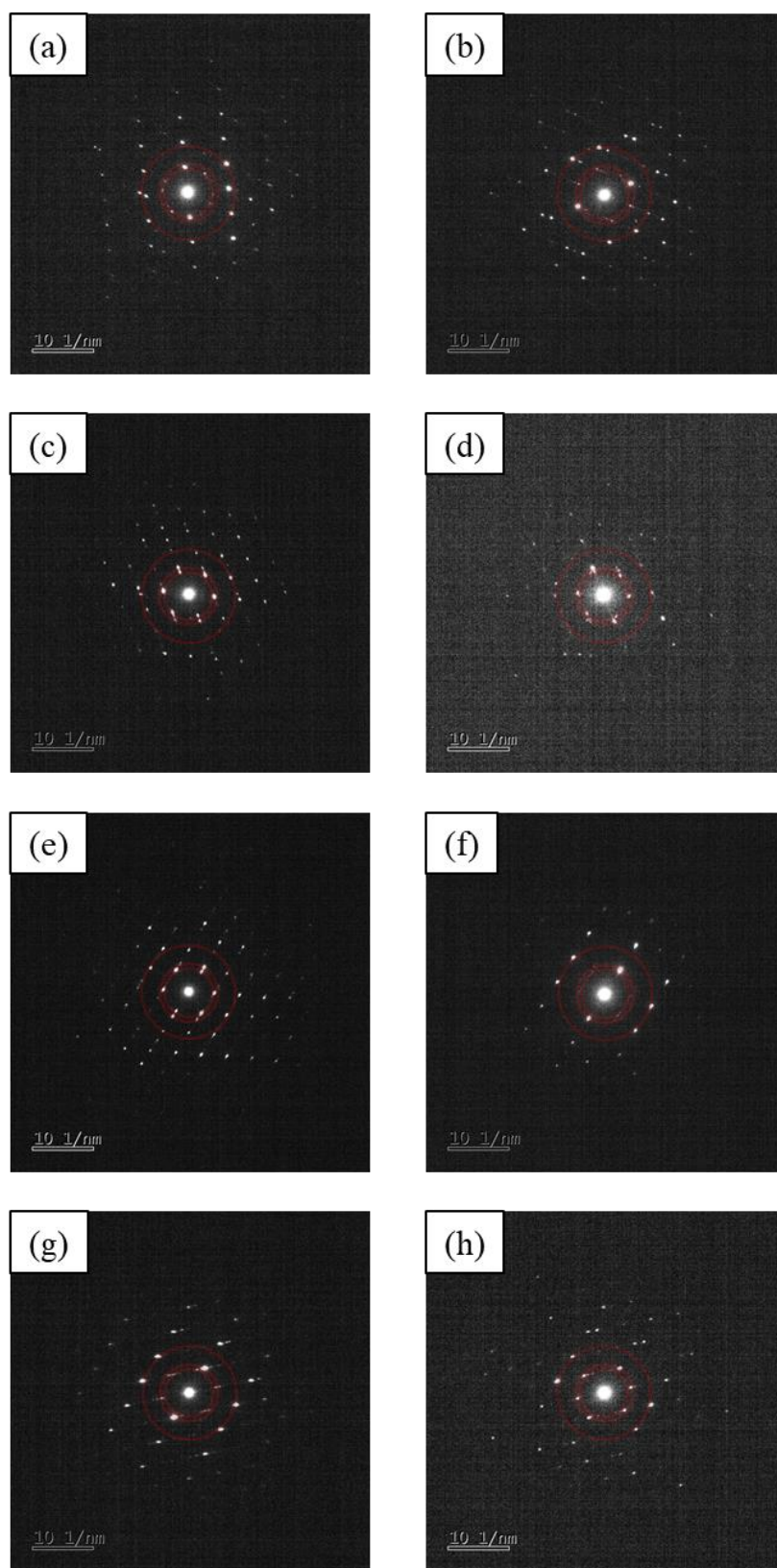


Figure 2-8 棘の SAED 像; (a) 1l, (b) 1r, (c) 2l, (d) 2r, (e) 3l, (f) 3r, (g) 4l, (g) 4r

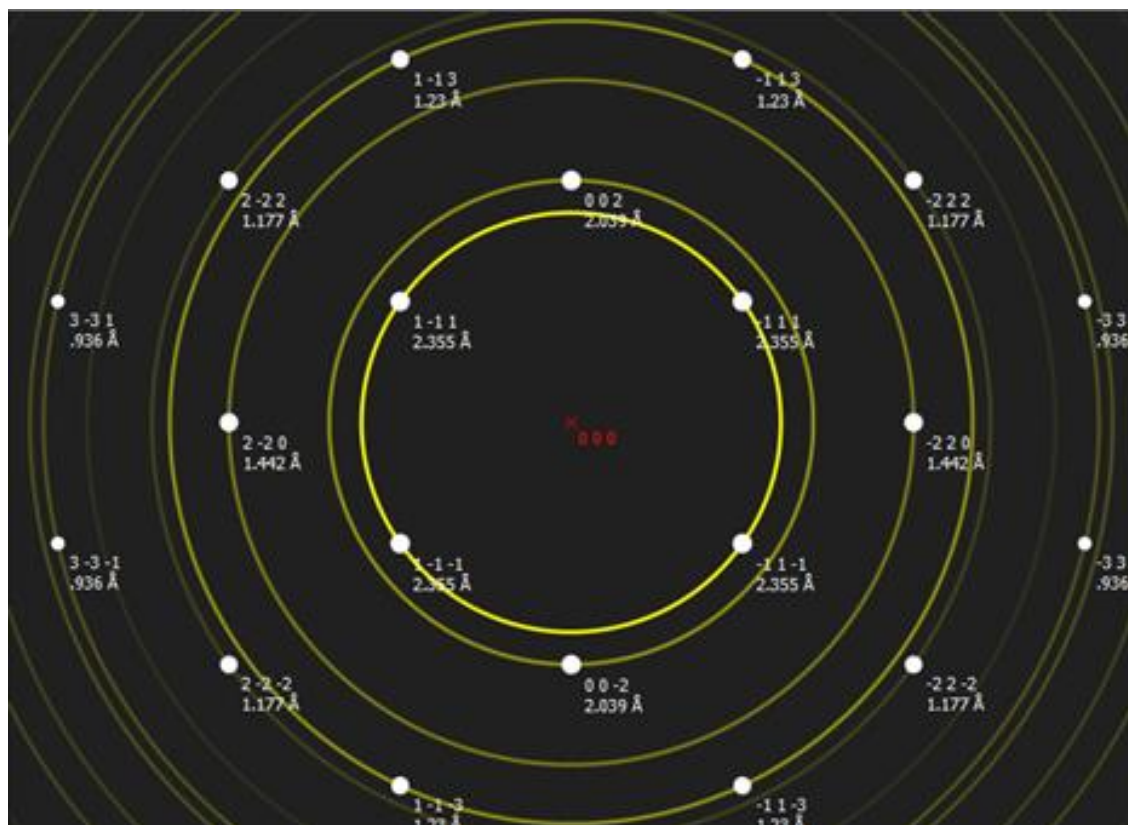


Figure 2-9 晶帯軸を $\langle 110 \rangle$ として計算した Au の電子線回折像

Figure 2-10 に棘の STEM 像を示す。双晶境界の上下で確認された格子縞から計算された d 値は 0.2355 nm で、面心立方格子の金単位胞の $\{111\}$ に相当した。上部と下部の領域における $\{111\}$ のなす角は 108° と計算され、正五角形の内角と一致していた。これまでに、Au はジエチレングリコール中や水溶液中の反応により五重双晶を形成することが報告されている [19–21]。さらに、 3 nm を超えるナノ粒子を調整すると十面体（五重双晶）や二十面体（二十重双晶）が支配的になることが明らかになっている [22]。ブラベー格子の対称操作に存在しない五重回転軸を持つ五重双晶や二十重双晶が安定して存在することは非常に興味深く、その安定性は構造中に双晶境界が存在することで向上すると考えられてきた [22]。双晶の形成メカニズムは複数報告されているが、Ferrando らは分子動力学計算により (i) $\{111\}$ で構成される四面体から五重双晶が形成される経路、(ii) 四面体から直接二十重双晶が形成される経路、(iii) 四面体から中間体として五重双晶を経由し二十重双晶が形成される経路の三つの経路があることを明らかにした [23]。双晶境界の上下の $\{111\}$ のなす角が 108° ということは中心体としての二十面体の形成とその 5 つの三角形の面で構成される五重双晶上の頂点における棘の成長を示唆している。この時、五重双晶の五重回転軸は $\langle 110 \rangle$ であり、棘は $\langle 110 \rangle$ に成長する。

STEM 像から得られる棘上部の原子配列は明瞭であることから棘上部は $\langle 110 \rangle$ の晶帯軸に沿って観察できていると考えられる。棘上部に対して結晶面と成長方向を解析した。SAED の議論と二つの $\{111\}$ が確認できていることから結晶内の白線で示す結晶面は $\{200\}$ である。赤線はナノ粒子の輪郭を示している。ナノ粒子表面のミラー指数は、最表面の原子数を分析することによって報告されている [24–26]が、本研究では STEM 像の最表面が不明瞭であることから角度に基づいて議論する。 $\{200\}$ と側面のなす角は 11° であり、これは (200) と (711) のなす角の 11.42° とほぼ一致する。また、 $\{200\}$ と先端のなす角は 54° で、これは (200) と (111) のなす角 54.74° と一致する。したがって、棘は側面が $\{711\}$ 、先端が $\{111\}$ の構造であると考えられる。これは、UPD による Ag の析出が、表面エネルギーの高い高指数結晶面の安定化に寄与していることを示唆している。一方で、Au と Ag 間の反応の一つとして、ガルバニック置換反応も報告されている [17,27,28]。しかし、ガルバニック置換反応は、イオン化傾向により中心体の Ag が Au に置換される反応であり、中空構造の合成に応用されているが、比表面積への寄与は報告されていない。これらの結果とガルバニック置換反応の議論から、形態制御は UPD によるものであると考えられる。

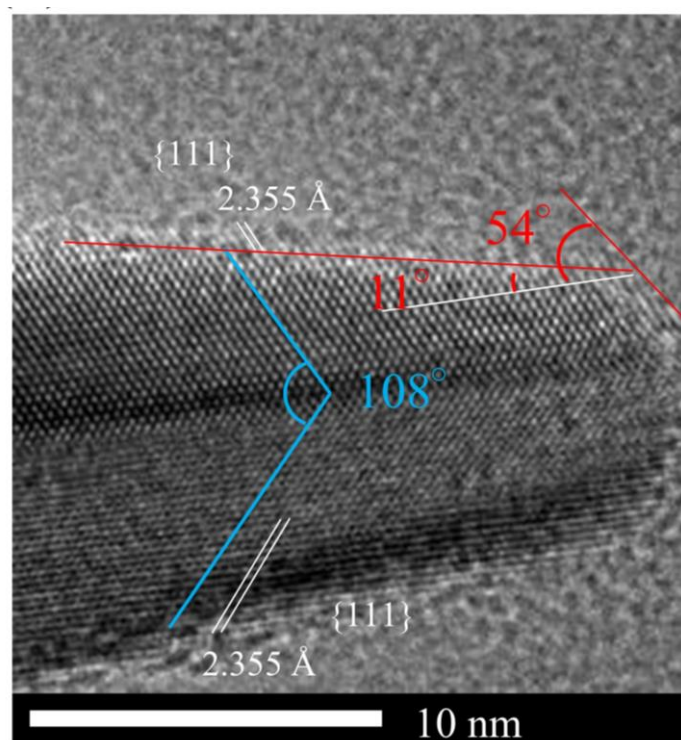
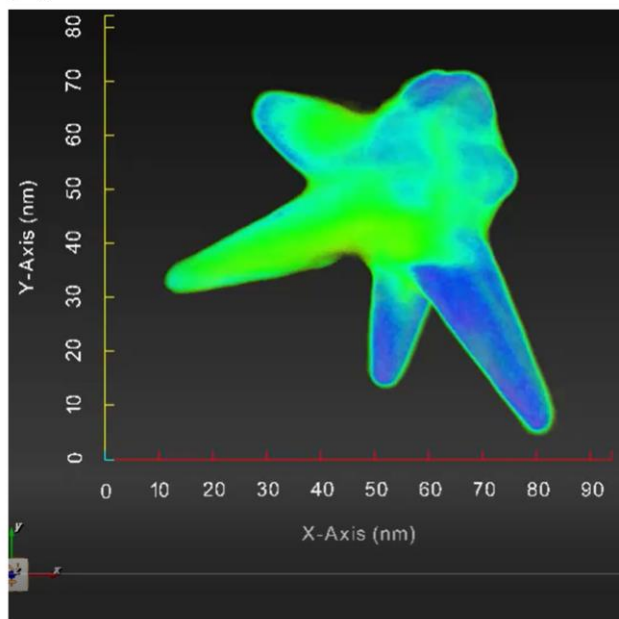


Figure 2-10 Au18Ag4 棘の STEM 像

Au20Ag2 および Au18Ag4 の 3D 像は、HAADF-STEM トモグラフィーによって構築された。Figure 2-11 に Au18Ag4 の 3D 像の一部を示す。3D 像により、Au20Ag2 および Au18Ag4 は 3D に成長した棘をもつナノ粒子であることが確認された。3D 像の色は、HAADF-STEM 像の信号強度を示しており、青い領域は緑の領域よりも信号強度が高い。Figure 2-11 (a) は青い領域の表面に緑の層が存在することを示している。HAADF-STEM の信号強度は原子番号の 1.7 から 2.0 乗に比例する [29–31]。従って、3D 像の青で示された領域は Au、緑で示された領域は Ag であると考えられる。Figure 2-11 (b) は信号強度の低い領域のみを示しており、Figure 2-11 (a) と Figure 2-11 (b) の画像ではほとんど変化が確認できないことから、ナノ粒子の最表面に Ag が存在することを示唆している。この結果は EDS の結果とよく一致した。

ナノ粒子の形態において対称性が議論される。作製した Au20Ag2 と Au18Ag4 は共に異なる長さの棘を複数有する構造であり、対称性が失われた構造として観察された。対称性が失われた構造である理由として合成の反応速度が考えられる。これまでに報告された双晶から分岐型構造へと成長する機構として、単結晶粒子の形成と単結晶粒子同士の吸着と成長が繰り返される機構がある [32]。この報告では 48 時間の熟成により単結晶粒子が徐々に吸着し、{111} が再表面に現れることで対称性の高い構造が合成された。一方で、本研究の AA の還元反応による AuAgNS の成長は Au の還元と Ag の UPD による結晶面の安定化が短時間で同時に進行する。AuAgNS の成長では熟成による特定の結晶面が形成されないため、棘の成長に差が生じることが考えられる。反応速度を低下させることで対称性が向上することが考えられるが、棘の側面として {111} の形成が予測されるため棘のアスペクトは低くなることが考えられる。

(a)



(b)

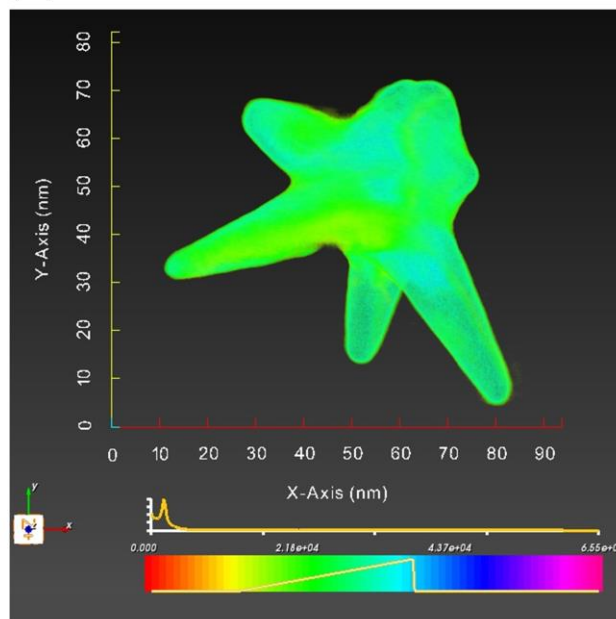
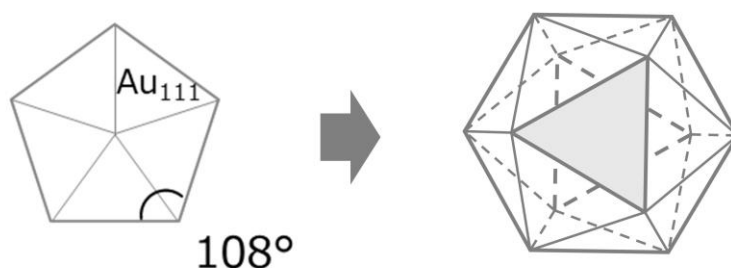


Figure 2-11 Au18Ag4 のトモグラフィーの (a) 全シグナル像と (b) 低シグナル像

2.3.2 星型 Au-Ag ナノ粒子の成長機構

Figure 2-12 に、AuAgNS の新奇成長機構の模式図を示す。Au³⁺と Ag⁺の両方を含む水溶液に AA を加えると、第一段階として Au³⁺が還元されて Au 中心体が形成される。Ag⁺の存在下での Au³⁺の急速な還元は、Au の 5 回対称の双晶を形成する可能性がある [33]。第二段階で Au 中心体が二十面体に成長した後、第三段階で Au {111} は双晶の中心から三角形の頂点に向かって成長する。その後、ナノ粒子は AA の還元反応と UPD により星型に成長する。具体的には、UPD によって Ag が Au {711} の特定の結晶面に析出し、Au {711} を安定化させ、Au を円錐状に成長させる。{111} 先端と {711} 側部の構造は、これまでに報告されている {111} の先端と {100} または {110} の側面を持つナノロッドの構造と類似している。UPD によるナノ粒子の形態制御は提案されているが、特定のファセットに析出した Ag の画像はこれまで報告されていない。本研究では、EDS および HAADF-STEM トモグラフィを含む STEM 画像により、Au の表面エネルギーが高い結晶面、つまり Au {711} の側面に Ag が析出していることが初めて示された。

① Au五重双晶の形成 ② Au二十面体の形成



③ 棘の成長

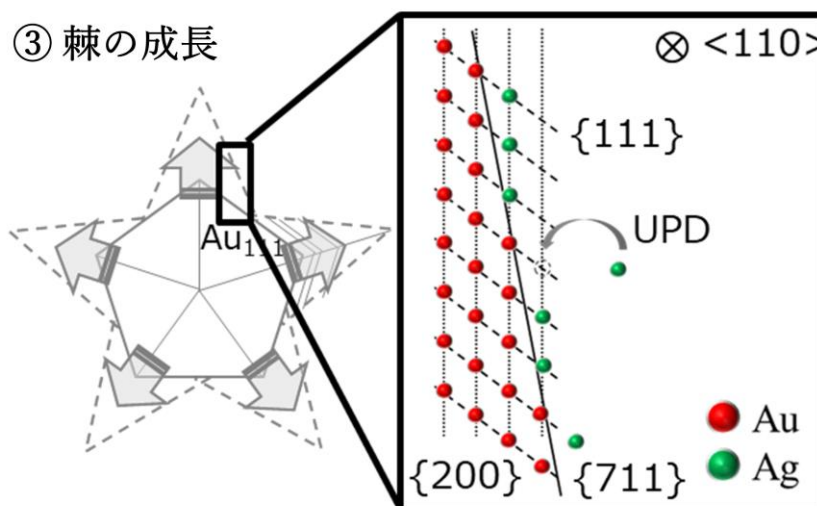


Figure 2-12 AuAgNS の成長機構

2.4 結言

本章では Au^{3+} と Ag^+ の両方を含む溶液に還元剤の AA を添加することで、Au / Ag 比の異なる AuAgNS を合成した。ナノ粒子の成長機構としては、双晶における $\{111\}$ の角度が 108° であることから、双晶境界を持つ二十面体の Au 中心体が形成され、二十面体の頂点から棘が $\langle 110 \rangle$ にエピタキシャル成長した。STEM、EDS、SAED、HAADF-STEM トモグラフィーの結果から、UPD によってナノ粒子の最表面に Ag が析出した像が初めて観察された。UPD によって Ag が特定の Au 結晶面に析出し、高表面エネルギーの高指数面を安定化し、厚さ 1 nm 未満の Ag ナノレイヤーを形成することが明らかになった。

- [1] [1] Herrero, E., Buller, L. J., & Abruña, H. D. Underpotential deposition at single crystal surfaces of Au, Pt, Ag and other materials. *Chemical Reviews*, **101**(7), 1897–1930. (2001). <https://doi.org/10.1021/cr9600363>
- [2] Satyavolu, N. S. R., Peinetti, A. S., Wang, Y., Ali, A. S., Lin, J. W., & Lu, Y. Silver-Assisted Synthesis of High-Indexed Palladium Tetrahedral Nanoparticles and Their Morphological Variants. *Chemistry of Materials*, **31**(8), 2923–2929. (2019). <https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.9b00275>
- [3] Tran, T. T., & Lu, X. Synergistic effect of Ag and Pd ions on shape-selective growth of polyhedral Au nanocrystals with high-index facets. *Journal of Physical Chemistry C*, **115**(9), 3638–3645. (2011). <https://doi.org/10.1021/jp111997s>
- [4] Qin, Y., Lu, Y., Yu, D., & Zhou, J. Controllable synthesis of Au nanocrystals with systematic shape evolution from an octahedron to a truncated ditetragonal prism and rhombic dodecahedron. *CrystEngComm*, **21**(37), 5602–5609. (2019). <https://doi.org/10.1039/c9ce01022j>
- [5] Wen, Y. N., & Zhang, J. M. Surface energy calculation of the fcc metals by using the MAEAM. *Solid State Communications*, **144**(3–4), 163–167. (2007). <https://doi.org/10.1016/j.ssc.2007.07.012>
- [6] Van Tendeloo, G., Bals, S., Van Aert, S., Verbeeck, J., & Van Dyck, D. Advanced electron microscopy for advanced materials. *Advanced Materials*. Wiley-VCH Verlag. (2012, November 8). <https://doi.org/10.1002/adma.201202107>
- [7] Goris, B., Bals, S., Van Den Broek, W., Carbó-Argibay, E., Gómez-Graña, S., Liz-Marzán, L. M., & Van Tendeloo, G. Atomic-scale determination of surface facets in gold nanorods. *Nature Materials*, **11**(11), 930–935. (2012). <https://doi.org/10.1038/nmat3462>
- [8] Goris, B., Polavarapu, L., Bals, S., Van Tendeloo, G., & Liz-Marzán, L. M. Monitoring galvanic replacement through three-dimensional morphological and chemical mapping. *Nano Letters*, **14**(6), 3220–3226. (2014). <https://doi.org/10.1021/nl500593j>
- [9] Polavarapu, L., Zanaga, D., Altantzis, T., Rodal-Cedeira, S., Pastoriza-Santos, I., Pérez-Juste, J., ... Liz-Marzán, L. M. Galvanic Replacement Coupled to Seeded Growth as a Route for Shape-Controlled Synthesis of Plasmonic Nanorattles. *Journal of the American Chemical Society*, **138**(36), 11453–11456. (2016). <https://doi.org/10.1021/jacs.6b06706>
- [10] Skorikov, A., Albrecht, W., Bladt, E., Xie, X., Van Der Hoeven, J. E. S., Van Blaaderen, A., ... Bals, S. Quantitative 3D Characterization of Elemental Diffusion Dynamics in Individual Ag@Au Nanoparticles with Different Shapes. *ACS Nano*, **13**(11), 13421–13429. (2019). <https://doi.org/10.1021/acsnano.9b06848>
- [11] Cheng, L. C., Huang, J. H., Chen, H. M., Lai, T. C., Yang, K. Y., Liu, R. S., ... Tsai, D. P. Seedless, silver-induced synthesis of star-shaped gold/silver bimetallic nanoparticles as high efficiency photothermal therapy reagent. *Journal of Materials Chemistry*, **22**(5), 2244–2253. (2012). <https://doi.org/10.1039/c1jm13937a>
- [12] Lotgering, F. K. Topotactical reactions with ferrimagnetic oxides having hexagonal crystal structures-I. *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry*, **9**(2), 113–123. (1959). [https://doi.org/10.1016/0022-1902\(59\)80070-1](https://doi.org/10.1016/0022-1902(59)80070-1)

- [13] Haldar, K. K., Kundu, S., & Patra, A. Core-size-dependent catalytic properties of bimetallic Au/Ag core-shell nanoparticles. *ACS Applied Materials and Interfaces*, **6**(24), 21946–21953. (2014). <https://doi.org/10.1021/am507391d>
- [14] Yang, Y., Liu, J., Fu, Z. W., & Qin, D. Galvanic replacement-free deposition of au on ag for core-shell nanocubes with enhanced chemical stability and SERS activity. *Journal of the American Chemical Society*, **136**(23), 8153–8156. (2014). <https://doi.org/10.1021/ja502472x>
- [15] Krajczewski, J., Kołataj, K., Pietrasik, S., & Kudelski, A. Silica-covered star-shaped Au-Ag nanoparticles as new electromagnetic nanoresonators for Raman characterisation of surfaces. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **193**, 1–7. (2018). <https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.11.060>
- [16] K.Kumagai, & A.Ishida. Synthesis and optical properties of flower- and spiky-ball -like silver gold nanoparticles. *CSJ*, **87**(7), 780–791. (2014). <https://doi.org/10.1246/bcsj.20140043>
- [17] Yang, Y., Liu, J., Fu, Z. W., & Qin, D. Galvanic replacement-free deposition of au on ag for core-shell nanocubes with enhanced chemical stability and SERS activity. *Journal of the American Chemical Society*, **136**(23), 8153–8156. (2014). <https://doi.org/10.1021/ja502472x>
- [18] He, W., Wu, X., Liu, J., Hu, X., Zhang, K., Hou, S., ... Xie, S. Design of AgM bimetallic alloy nanostructures (M = Au, Pd, Pt) with tunable morphology and peroxidase-like activity. *Chemistry of Materials*, **22**(9), 2988–2994. (2010). <https://doi.org/10.1021/cm100393v>
- [19] Ha, T. H., Koo, H. J., & Chung, B. H. Shape-controlled syntheses of gold nanoprisms and nanorods influenced by specific adsorption of halide ions. *Journal of Physical Chemistry C*, **111**(3), 1123–1130. (2007). <https://doi.org/10.1021/jp066454l>
- [20] Liu, M., & Guyot-Sionnest, P. Mechanism of silver(I)-assisted growth of gold nanorods and bipyramids. *Journal of Physical Chemistry B*, **109**(47), 22192–22200. (2005). <https://doi.org/10.1021/jp054808n>
- [21] Liang, X., Yang, Y., Zou, C., Chen, W., Zou, H. X., & Yang, Y. Au decahedra with High yield for the improved synthesis of Au nanobipyramids. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, **597**(March), 124749. (2020). <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2020.124749>
- [22] Rogers, B., Lehr, A., Velázquez-Salazar, J. J., Whetten, R., Mendoza-Cruz, R., Bazan-Diaz, L., ... José Yacaman, M. Decahedra and Icosahedra Everywhere: The Anomalous Crystallization of Au and Other Metals at the Nanoscale. *Crystal Research and Technology*. John Wiley and Sons Inc. (2023, April 1). <https://doi.org/10.1002/crat.202200259>
- [23] El koraychy, E. yakout, Roncaglia, C., Nelli, D., Cerbelaud, M., & Ferrando, R. Growth mechanisms from tetrahedral seeds to multiply twinned Au nanoparticles revealed by atomistic simulations. *Nanoscale Horizons*, **7**(8), 883–889. (2022). <https://doi.org/10.1039/d1nh00599e>
- [24] Lee, H. E., Yang, K. D., Yoon, S. M., Ahn, H. Y., Lee, Y. Y., Chang, H., ... Nam, K. T. Concave Rhombic Dodecahedral Au Nanocatalyst with Multiple High-Index Facets for CO₂ Reduction. *ACS Nano*, **9**(8), 8384–8393. (2015). <https://doi.org/10.1021/acs.nano.5b03065>
- [25] Li, L., Peng, Y., Yue, Y., Hu, Y., Liang, X., Yin, P., & Guo, L. Synthesis of concave gold nanocuboids with high-index facets and their enhanced catalytic activity. *Chemical Communications*, **51**(58), 11591–11594.

- (2015). <https://doi.org/10.1039/c5cc02106e>
- [26] Song, Y., Miao, T., Zhang, P., Bi, C., Xia, H., Wang, D., & Tao, X. {331}-Faceted trisoctahedral gold nanocrystals: Synthesis, superior electrocatalytic performance and highly efficient SERS activity. *Nanoscale*, **7**(18), 8405–8415. (2015). <https://doi.org/10.1039/c5nr01049g>
- [27] Sun, Y., & Xia, Y. Mechanistic study on the replacement reaction between silver nanostructures and chloroauric acid in aqueous medium. *Journal of the American Chemical Society*, **126**(12), 3892–3901. (2004). <https://doi.org/10.1021/ja039734c>
- [28] Chen, J., Saeki, F., Wiley, B. J., Cang, H., Cobb, M. J., Li, Z. Y., ... Xia, Y. Gold nanocages: Bioconjugation and their potential use as optical imaging contrast agents. *Nano Letters*, **5**(3), 473–477. (2005). <https://doi.org/10.1021/nl047950t>
- [29] Abe, E. Atomic-Scale Characterization of Nanostructured Metallic Materials by HAADF/Z-contrast STEM. *Materials Transactions*, **44**(10), 2035–2041. (2003). <https://doi.org/10.2320/matertrans.44.2035>
- [30] Voyles, P. M. Imaging single atoms with Z-contrast scanning transmission electron microscopy in two and three dimensions. *Microchimica Acta*, **155**(1–2), 5–10. (2006). <https://doi.org/10.1007/s00604-006-0500-6>
- [31] Sader, K., Brown, A., Brydson, R., & Bleloch, A. Quantitative analysis of image contrast in phase contrast STEM for low dose imaging. *Ultramicroscopy*, **110**(10), 1324–1331. (2010). <https://doi.org/10.1016/j.ultramic.2010.06.008>
- [32] Jin, B., Yan, F., Qi, X., Cai, B., Tao, J., Fu, X., ... Chen, C. L. Peptoid-Directed Formation of Five-Fold Twinned Au Nanostars through Particle Attachment and Facet Stabilization. *Angewandte Chemie - International Edition*, **61**(14). (2022). <https://doi.org/10.1002/anie.202201980>
- [33] Li, X., Lin, X., Zhao, X., Wang, H., Liu, Y., Lin, S., ... Cong, S. Self-assembled monolayer film of concave star-shaped Au nanocrystals as highly efficient SERS substrates. *Applied Surface Science*, **518**(March), 146217. (2020). <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2020.146217>

第3章 低電位析出とシード媒介成長法による Au-Ag ナノ粒子の形態制御

3.1 緒言

3.1.1 シード媒介成長法を利用した形態制御による吸収波長の制御

バイオメディカル分野では、近赤外（NIR）光で局所表面プラズモン共鳴（LSPR）を励起するプラズモンナノ粒子が、光熱療法 [1–3] や薬物送達システム [4–6] への応用を目的としたナノヒーターとして広く研究されている。現在、NIR-II 光（1000–1700 nm）は、NIR-I 光（650–900 nm）よりも生体による光吸収が少なく、組織への浸透深度が NIR-I が約 1 ～ 3 mm に対して、NIR-II が約 5 ～ 20 mm と深い [7] ため、バイオメディカル用途にはより効果的であることが報告されている [8–11]。さらに、米国国家規格で定められる最大許容露光量は NIR-I の 808 nm は 0.33 W/cm² である一方で、NIR-II の 1064 nm は 1.0 W/cm² である [12]。NIR-II の最大許容露光量は NIR-I に対して数倍高く、NIR-II を利用する利点となっている。

シード媒介成長法はプラズモンナノ粒子の形態制御法として基本的な戦略である。Table 3-1 に形態と最大吸収波長（ λ_{max} ）の相関関係を示す。金ナノロッド（AuNR）はアスペクト比が 1.5 から 4.0 の範囲で λ_{max} が 650 nm から 800 nm であることが報告された [13]。辺の長さが 56 nm の立方体の λ_{max} は 580 nm、辺の長さが 60 nm の八面体の λ_{max} は 570 nm である [14]。辺の長さが 48 ～ 88 nm の五重双晶は、660 ～ 700 nm で吸収を示し、二十面体は同じ直径の球と同じ 560 nm で吸収を示す [15]。さらに、銀（Ag）ナノ粒子の場合、辺の長さが 38 ～ 120 nm のプリズムは、490–850 nm で最大吸収を示し [16]、エッジ長が 12–14 nm の双角錐は、500 ～ 800 nm で吸収を示し [17]、辺の長さが 40 nm の十面体は 490–500 nm で吸収される [18]。したがって、これらの金属ナノ粒子の形態制御や異方性成長は、LSPR の λ_{max} を制御するために重要である。

Table 3-1 形態と $\lambda_{\max}$ の相関関係

材質	形態	辺の長さ nm	$\lambda_{\max}$ nm	参考文献
Au	ロッド		650 ~ 800	[13]
	立方体	56	580	[14]
	八面体	60	570	[14]
	五重双晶	48 ~ 88	600 ~ 700	[15]
	二十面体		560	[15]
Ag	プリズム	38 ~ 120	490 ~ 850	[16]
	双角錐	75 ~ 150	500 ~ 800	[17]
	五重双晶	40	490 ~ 500	[18]

3.1.2 コアシェルナノ粒子

Au と Ag を組み合わせた Au-Ag バイメタルナノ粒子も、 $\lambda_{\max}$ の制御のために研究されている [19]。コアシェル構造のナノ粒子は、Au-Ag バイメタルナノ粒子の代表的なものである。コアシェル構造のナノ粒子としてナノスフィア (NSp) [20–23]、ナノ多面体 (NPo) [24]、ナノロッド (NR) [13,25–29]、ナノスター (NS) [30]、ナノフラワー (NF) [31,32] の合成が報告されている。

Table 3-2 にコアシェル構造ナノ粒子の構造と $\lambda_{\max}$ の関係を示す。Au コア-Ag シェルナノスフィア (Au/AgNSp) は、Ag シェルの厚さを 10 nm に固定し、Au コアのサイズを 10 nm から 100 nm に変更させることで $\lambda_{\max}$ は 520 nm から 560 nm にレッドシフトすることが報告された [20]。さらに Au コアのサイズに対して Ag シェルの厚みが大きくなると Ag に帰属される吸収が支配的になり $\lambda_{\max}$ は 438 nm [21] や 499 nm [23] へとブルーシフトすることが明らかになっている。Au/AgNPo は Au/AgNSp と同様に Ag シェルの厚みの増大に依存して $\lambda_{\max}$ は 580 nm から 410 nm にブルーシフトすることが報告された [24]。AuNR から合成した Au/AgNR は短軸方向への Ag シェルの成長によりアスペクト比が合成前よりも小さい NR であり、 $\lambda_{\max}$ は 550 nm [26] や 480 nm [27] となっていた。Au 五重双晶 (AuNT) シードから合成した Au/AgNR はナノ粒子のアスペクト比の増大により大きな $\lambda_{\max}$ を示す [25]。

Au/Ag ナノ粒子は結晶成長に伴った Ag シェルの厚みの増大が吸収波長をブルーシフトさせる。NIR に吸収をもつナノ粒子の合成には Ag シェルの成長を抑制しつつ形態制御する必要がある。さらに、シード媒介成長で合成したナノ粒子は NIR-I 吸収があるものの、高い NIR-II 吸収をもつナノ粒子の例は少ない。そのため、NIR-II 吸収を示すナノ粒子を実現するためには、シード媒介成長に加えて他の形態制御法を組み合わせる必要がある。

Table 3-2 コアシェル構造ナノ粒子の $\lambda_{\max}$

シード	形態	コアサイズ nm	ナノ粒子サイズ nm	$\lambda_{\max}$ nm	参考文献
AuNSp	Au/AgNSp	10 ~ 100	30 ~ 120	520 ~ 561	[20]
		5.5 ~ 7.0	3.0 ~ 8.5	520 ~ 438	[11]
		13	15	499	[23]
	Au/AgNPo	24	32 ~ 144	580 ~ 410	[24]
AuNR	Au/AgNR	34×11	40×20	550	[26]
	Au/AgNR	10×40	43×約 50	480	[27]
AuNT	Au/AgNR	21	21×64	580	[25]

AuNSp ; Au ナノスフィア、AuNPo ; Au ナノ多面体、AuNR ; Au ナノロッド、
AuNT ; Au 五重双晶、AuNC ; Au ナノキューブ

第二章で明らかにしたように星型 Au-Ag ナノ粒子 (AuAgNS) の成長機構には低電位析出 (UPD) が寄与していた。UPD による形態制御では Au 表面には Ag の単 (多) 原子層が析出する。従って、シード媒介成長法と UPD を組み合わせることで Ag シェルの影響を低減し NIR-II に吸収をもつ形態へ形態制御が可能であることが考えられる。UPD とシード媒介成長法を組み合わせた形態制御の報告はほとんどない。唯一の報告がミズーリ大学の Siegel らによって 2024 年に報告された、Ag イオン (Ag^+) と Au イオン (Au^{3+}) の共存溶液中での光還元反応による、Au ナノキューブ (AuNC) シードからの AuAgNS と AuAgNF の合成である [33]。

3.1.3 第3章の目的

本章では、低電位析出とシード媒介成長法を組み合わせた形態制御時に、1) 異なる形態のシード、2) シード濃度、3) Au / Ag 比、4) Au および Ag の濃度の影響について検討した。本章の目的は、NIR-II に高い光学密度を示すナノ粒子への形態制御のために、各条件を最適化することである。

3.2 実験方法

3.2.1 試薬

合成にはテトラクロロ金 (III) 酸四水和物 (HAuCl_4 ; 和光純薬工業、試薬特級)、硝酸銀 (AgNO_3 ; 和光純薬工業、試薬特級)、 $L(+)$ -アスコルビン酸 (AA; 和光純薬工業、試薬特級)、ヘキサデシルトリメチルアンモニウムブロミド (CTAB; 和光純薬工業、試薬)、水素化ホウ素ナトリウム (NaBH_4 ; 和光純薬工業、試薬特級) 超純水 (18 M Ω cm, Millipore) を用いた。

3.2.2 Au ナノキューブと Au ナノ多面体の合成

AuNC と AuNPo は準球状の Au ナノ粒子を前駆体 (Au 前駆体) として利用することで合成された。Au 前駆体は、キャッピング剤として CTAB の存在下で HAuCl_4 を NaBH_4 で還元することによって合成された。まず、0.125 mL の 10 mM HAuCl_4 を 3.75 mL の 100 mM CTAB 溶液に添加した。溶液を穏やかに混合すると、明るい茶色から黄色に変化した。次に、0.3 mL の氷冷した 10 mM NaBH_4 水溶液を一度に加え、2 分間急速に反転混合した。その後、溶液は茶色に変化した (Au 前駆体溶液)。

AuNC と AuNPo は、Au 前駆体の成長条件を制御することによって作製された。0.2 mL の 10 mM HAuCl_4 を、8 mL の超純水と 1.6 mL の 100 mM CTAB 溶液を含む溶液に添加した。溶液を穏やかに混合した後、0.95 mL の 100 mM AA をこの溶液に加えた。このステップでは、CTAB 溶液中の HAuCl_4 のオレンジ色が消え、 Au^{3+} が Au^{1+} に還元されたことが確認された。AuNC と AuNPo は、これまで調製した溶液に、それぞれ 5 μL と 50 μL の 10 倍希釈した Au 前駆体溶液を加えることで合成した。このステップで、 Au^{1+} から Au^0 へのさらなる還元が達成された。最終的に、室温で 1 時間穏やかに混合して、AuNC と AuNPo を合成した (シード溶液)。

3.2.3 Au ナノキューブ/多面体を用いた Au-Ag ナノ粒子の合成

Au-Ag ナノ粒子は、AuNC と AuNPo を使用し、シード媒介成長と UPD によって合成された。10 mL の超純水に、0.01 M HAuCl_4 と 0.01 M AgNO_3 のさまざまな比率の混合物を調製した。次に、以前に得られたシード溶液を混合物に添加した。最後に、40 μL の 0.1 M AA を加えて、 Au^{3+} と Ag^+ を還元した。このプロセスでは、シード溶液の添加量、0.01 M HAuCl_4 と 0.01 M AgNO_3 の添加量が変更された。Table 3-3 に合成条件と試料名を示す。試料名には使用したシードの種類に対応して C (ナノキューブ) または P (ナノ多面体) を付け、シード溶液を変更した条件ではシード溶液の量を、0.01 M HAuCl_4 と 0.01 M AgNO_3 の添加量を変更した試料ではそれぞれの添加量を示している。具体的には AuNC 溶液を 500 μL 、10 mM HAuCl_4 と 10 mM AgNO_3 の体積がそれぞれ 200 μL と 20 μL の条件で合成した試料は C200/20 と命名された。

Table 3-3 Au-Ag ナノ粒子の合成条件と試料名

試料名	シード量 μL	0.01 M H ₂ AuCl ₄ μL	0.01 M AgNO ₃ μL	0.1 M AA μL
(C or P) 250	250			
(C or P) 500	500	200	20	
(C or P) 1000	1000			
(C or P) 200/20		200	20	40
(C or P) 180/40		180	40	
(C or P) 160/60	500	160	60	
(C or P) 400/40		400	40	
(C or P) 600/60		600	60	

3.2.4 星型 Au-Ag ナノ粒子の評価方法

合成したナノ粒子溶液の 300 nm から 1300 nm までの領域を 1 nm の間隔で光吸収スペクトルを、紫外可視分光光度計（UV-vis ; v-570、JASCO）を使用して測定した。測定セルはディスポセル（1937、アズワン）を使用した。超純水でバックグラウンドをとり、ダブルビームで測定した。

合成した溶液をそのままカバーガラス上に滴下し、窒素ガス噴射により乾燥させた。カバーガラスと試料台をカーボンテープで貼付した後、オートファインイオンコーター（JEC-3000FC、JEOL）によりカバーガラスに 40 mA、40 秒間の条件で白金を蒸着した。その後、ナノ粒子の形態は電界放出型走査電子顕微鏡（FE-SEM ; JSM-7500F、JEOL）を用いて、加速電圧 15.0 kV、作動距離 8 mm で観察した。

980 nm レーザー（PLD-92-974、IPG Photonics、United States）を用いてレーザー照射試験を行った。Figure 3-1 にサンプルに対するレーザー入射方向とカメラ位置を示す。サンプル濃度は 200 μg/mL に調製後に核磁気共鳴サンプルチューブに入れ、レーザー出力は 2.1 W/cm² の条件で上部から 5 分間照射した。照射中の温度上昇は、サンプル側面に配置したサーマルカメラ（OPTPI64IL TMO44T150、ARGO Corp.、Japan）を使用して 1 秒ごとに測定した。最後に、Roper ら [34] によって考案された式 (3-1) を使用して光熱変換効率 (η) を計算した。ここで、 h は熱伝達係数、 S は容器の表面積、 T_{max} はサンプル溶液の平衡温度、 T_{sur} は周囲温度、 Q_0 はレーザー照射下で容器と水によって発生する熱、 I はレーザー出力、 A は 980 nm でのサンプル溶液の吸光度である。

$$\eta = \frac{hS(T_{max} - T_{sur}) - Q_0}{I(1 - 10^{-A})} \quad \text{式 (3-1)}$$



Figure 3-1 試料へのレーザーの入射の方向とカメラの位置

3.3 結果と考察

3.3.1 シード媒介成長法と UPD の複合による Au-Ag ナノ粒子の形態制御

Figure 3-2 に Au 前駆体溶液を利用して作製したナノ粒子の吸収スペクトルと形態を示す。10 倍希釈 Au シード溶液 5 μL を添加して合成したナノ粒子は、 λ_{max} が 565 nm の赤紫色であった。ナノ粒子の形状は、一辺が $45.7 \pm 2.0 \text{ nm}$ ($n = 5$) の立方体であった。10 倍希釈 Au シード溶液 50 μL を添加して合成したナノ粒子は、赤色で、 λ_{max} が 536 nm であった。ナノ粒子は、直径が $36.5 \pm 1.6 \text{ nm}$ ($n = 10$) の多面体であった。合成されたナノ粒子の形態は正確に制御されており、これらのナノ粒子は、次の合成のシードとして使用された。

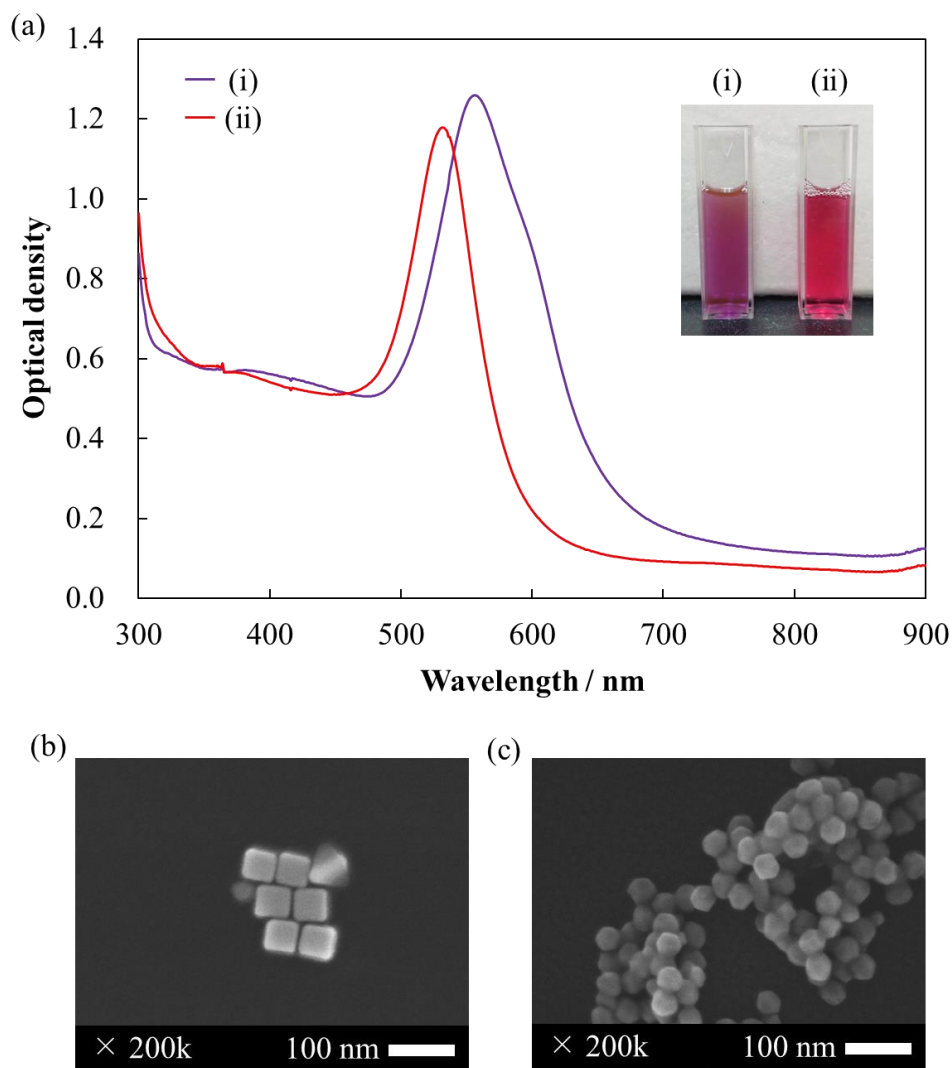


Figure 3-2 (a) シード溶液の吸収スペクトル ; (i) AuNC、(ii) ナノ多面体と(b) AuNC と(c) ナノ多面体の形態

Figure 3-3 (a) に AuNC から合成したナノ粒子溶液の外観と吸収スペクトルを示す。250 μL の AuNC 溶液から合成した C250 の溶液は紫色で、 λ_{max} は 795 nm であった。500 μL の AuNC 溶液から合成した C500 の溶液は青色で、640 nm と 1095 nm にピークが存在した。1000 μL の AuNC 溶液から合成した C1000 の溶液は赤紫色で、 λ_{max} は 605 nm であった。

Figure 3-3 (b) に、AuNPo を種として合成したナノ粒子溶液の外観と吸収スペクトルを示す。250 μL の AuNPo 溶液から合成した P250 の溶液は紫色で、573 nm と 970 nm に吸収ピークが存在した。500 μL の AuNPo 溶液から合成した P500 の溶液は青色で、 λ_{max} は 629 nm であり、800 nm 以上の領域での光学密度は約 0.4 であった。一方、1000 μL の AuNPo 溶液から合成した P1000 の溶液は赤紫色で、 λ_{max} は 574 nm であった。

シード形態に関わらず、1000 μL のシード溶液を加えて合成したナノ粒子は、約 600 nm の λ_{max} を示した。AuNC と AuNPo のシード溶液を 1000 μL 使用する条件下では、最大吸収波長は合成前後で約 40 nm だけレッドシフトしていた。このレッドシフトはシードの成長を意味しているが、シード濃度が高い合成系では溶液中のナノ粒子の成長に必要な Au/Ag 濃度が不十分となり、粒子の成長が制限されることを示唆している。興味深いことに、シード形態に関わらず、500 μL 以下のシード溶液から合成したナノ粒子は 600 ~ 1300 nm に吸収があった。従って、条件を最適化することで、NIR-II 領域に高い光学密度をもつナノ粒子を合成できる可能性が示唆された。シード濃度が低い条件ではナノ粒子の過剰成長や、溶液中でのナノ粒子の直接合成の懸念があるため、以下の実験ではシード溶液の量を 500 μL に固定した。

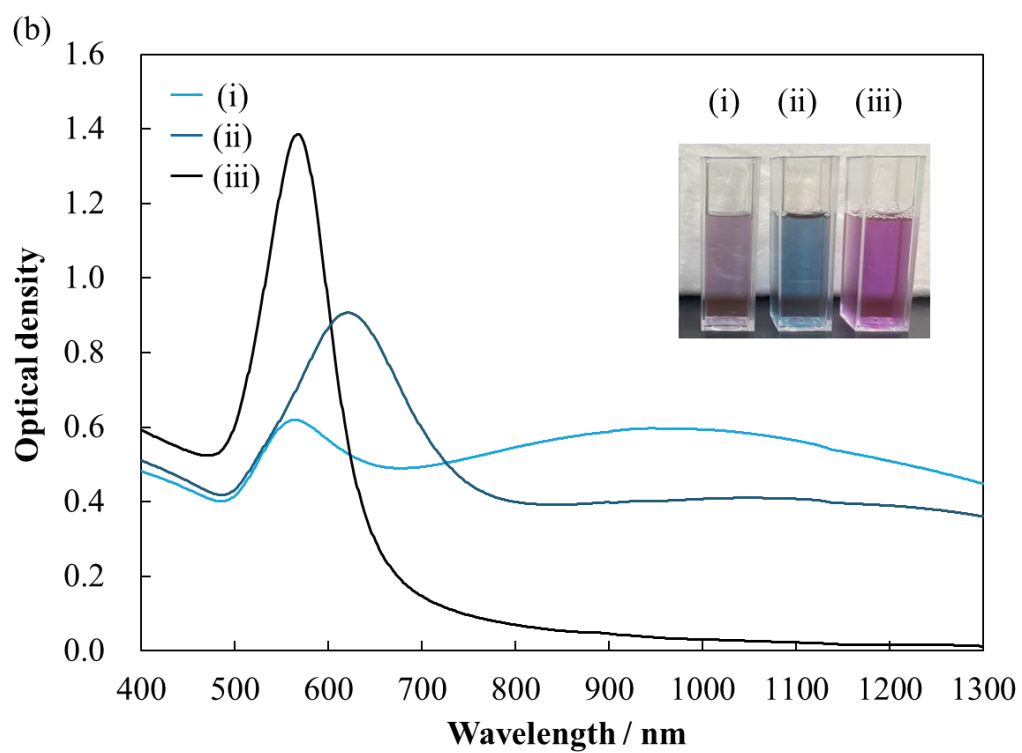
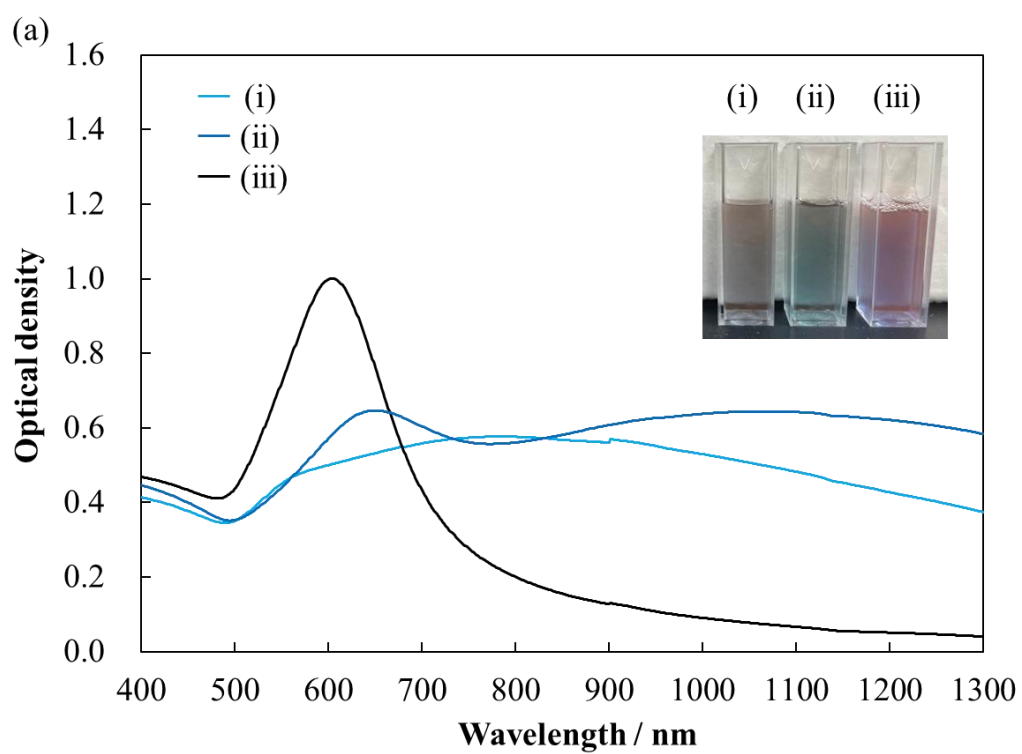


Figure 3-3 (a) AuNC と(b) Au NPo から合成したナノ粒子の
吸収スペクトル ; シード溶液量 (i) 250 μ L、(ii) 500 μ L、(iii) 1000 μ L

Figure 3-4 に異なる Au / Ag 比で合成したナノ粒子の吸収スペクトルを示す。Au / Ag 比が 200/20 で合成された C200/20 は 649 nm と 1073 nm に吸光ピークを有しており、特に NIR-II 領域の吸収ピークはブロードであった。P200/20 は 626 nm に $\lambda_{\max}$ を有しており、NIR-II 領域にも 0.4 程度の光学密度を有していた。従って、Au/Ag 比が 200/20 の条件で合成することによってシードの形態に関わらず NIR-II 領域に吸光をもつナノ粒子の合成に成功した。

AuNC から合成した C180/40 と C160/60 はそれぞれ $\lambda_{\max}$ が 574 nm と 592 nm であり、1300 nm にかけて光学密度は緩やかに減少した。一方で AuNPo から合成した P180/40 と P160/60 の $\lambda_{\max}$ は 563 nm と 544 nm であった。AuNPo から合成されたナノ粒子の光学密度は AuNC から合成したナノ粒子の光学密度とは異なり、700 nm にかけて急激に低下した。この結果は合成したナノ粒子の形態はシードの形態に依存しており、NIR-II 領域に吸収をもつナノ粒子の合成において AuNC がシードとして有利な形態であることが示唆された。

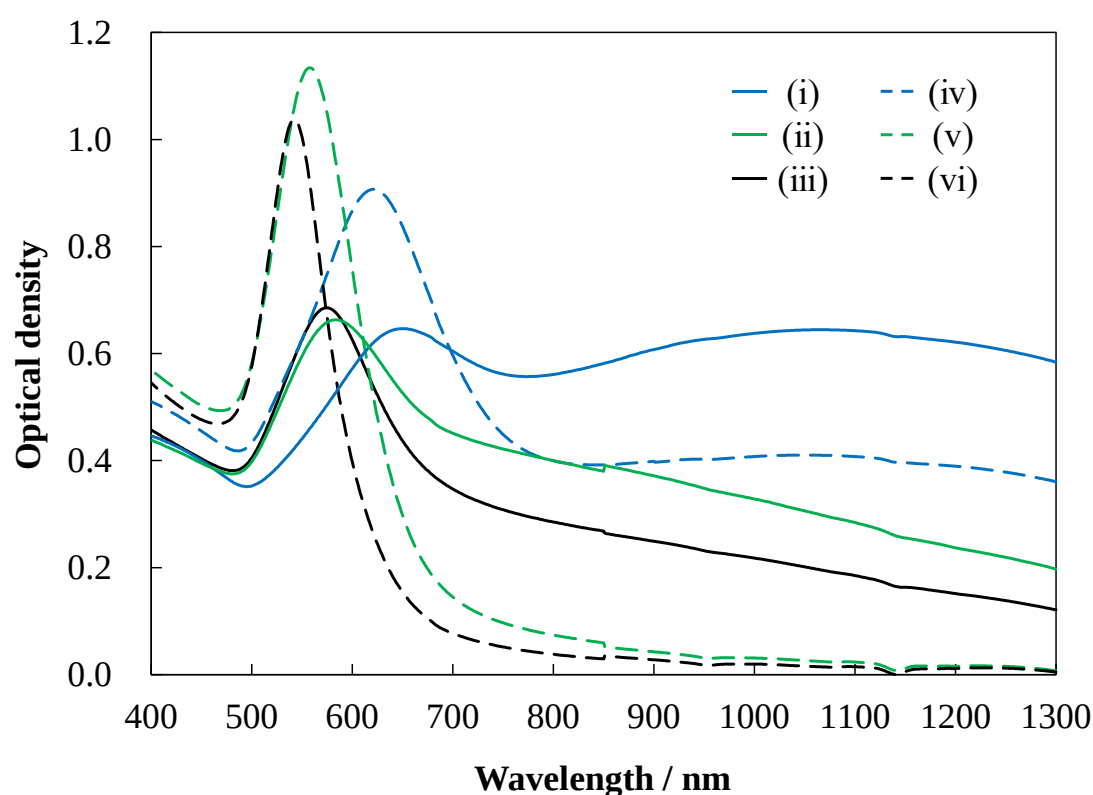


Figure 3-4 異なる Au/Ag 比で合成されたナノ粒子の吸収スペクトル ;
(i) C200/20、(ii) C180/40、(iii) C160/60、(iv) P200/20、(v) P180/40、(vi) P160/60

Figure 3-5 に、異なる Au / Ag 比で合成したナノ粒子の FE-SEM 像を示す。NIR-II 領域に吸収を示す C200/20 は、棘状の構造をもつナノ粒子であることが明らかになった (Figure 3-5 (a))。一部のナノ粒子は立方体の構造を維持していることが確認された。これはシード由来の形態であり、立方体の側面に沿って棘が成長しているのが観察された。P200/20 も棘のような構造をしているが、その形態は以前に報告された星型 Au-Ag ナノ粒子のものと類似している (Figure 3-5 (d)) [35,36]。第 2 章で明らかにした AA による還元反応によって合成した AuAgNS の成長機構は、第一段階で $\langle 110 \rangle$ を五回回転軸とする五重双晶が形成され、第二段階で五重双晶が成長し二十面体を形成し、最終段階で二十面体の頂点から $\langle 110 \rangle$ に棘が成長する機構であった。AuNPo をシードとして利用した本章でも、ナノ粒子は AuAgNS と類似した形態へと成長していた。したがって、P200/20 は多面体の頂点上から棘が成長する AuAgNS の成長機構と同様の成長機構で形成されたと考えられる。

Au / Ag 比が 180/40 および 160/60 のナノ粒子の FE-SEM 像からは 200/20 比で観察された棘状構造はほとんど観察されなかった (図 3 (b)、(c)、(e)、(f))。特に、AuNPo をシードとして用いたナノ粒子の FE-SEM 像では、形態がほとんど変化していないことが確認された。Au / Ag 比によって形態が変化する理由には、成長に必要な Au の不足が考えられる。Ag の UPD によって制御される形態の特徴は、Au の特定の結晶面が安定化することである。従って、ナノ粒子の成長は、AA の還元によるシードの特定の部位への Au の析出と、その表面を安定化させる役割を果たす Ag 単 (多) 原子層の UPD による形成によって起こる。Au / Ag 比は重要なパラメータであり、粒子の成長と形態制御を可能にする最適条件は 200/20 であることが明らかとなった。

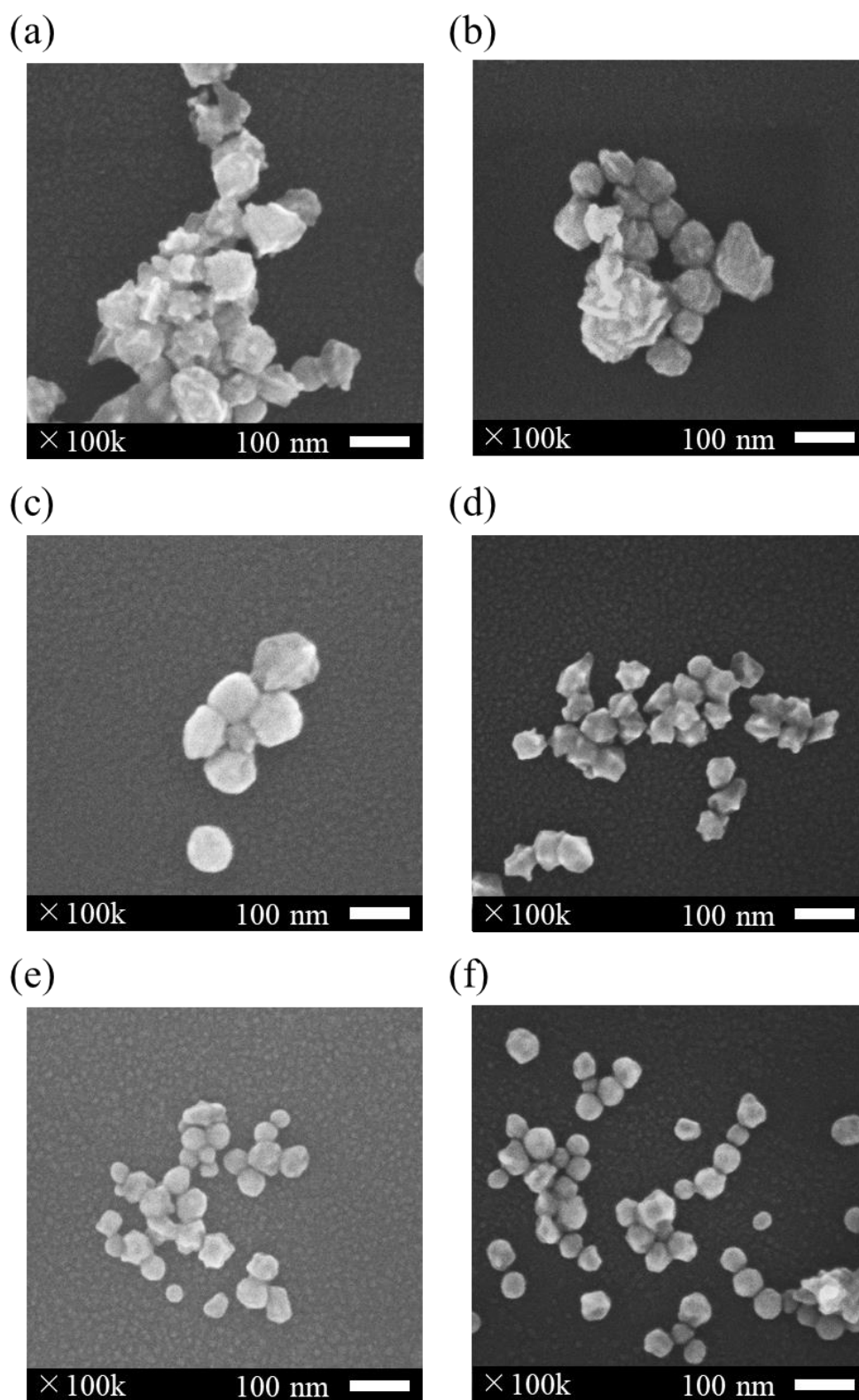


Figure 3-5 異なる Au/Ag 比で合成されたナノ粒子の形態 ;
 (a) C200/20、(b) C180/40、(c) C160/60、(d) P200/20、(e) P180/40、(f) P160/60

Figure 3-6 に、Au / Ag 比を 200/20 に固定し、10 mM H_{AuCl}₄ と 10 mM AgNO₃ の総量を 220 μ L から 660 μ L の間で変化させて合成したナノ粒子の吸収スペクトルを示す。結果から、C400/40 は 990 nm の λ_{max} と 635 nm のピークを示し、P400/40 は 530 nm、600 nm、および 980 nm に吸収ピークを示した (Figure 3-6 (ii)、(v))。一方、C600/60 と P600/60 の λ_{max} は約 550 nm であり、NIR 領域に吸収がないことが確認された (Figure 3-6 (iii)、(vi))。

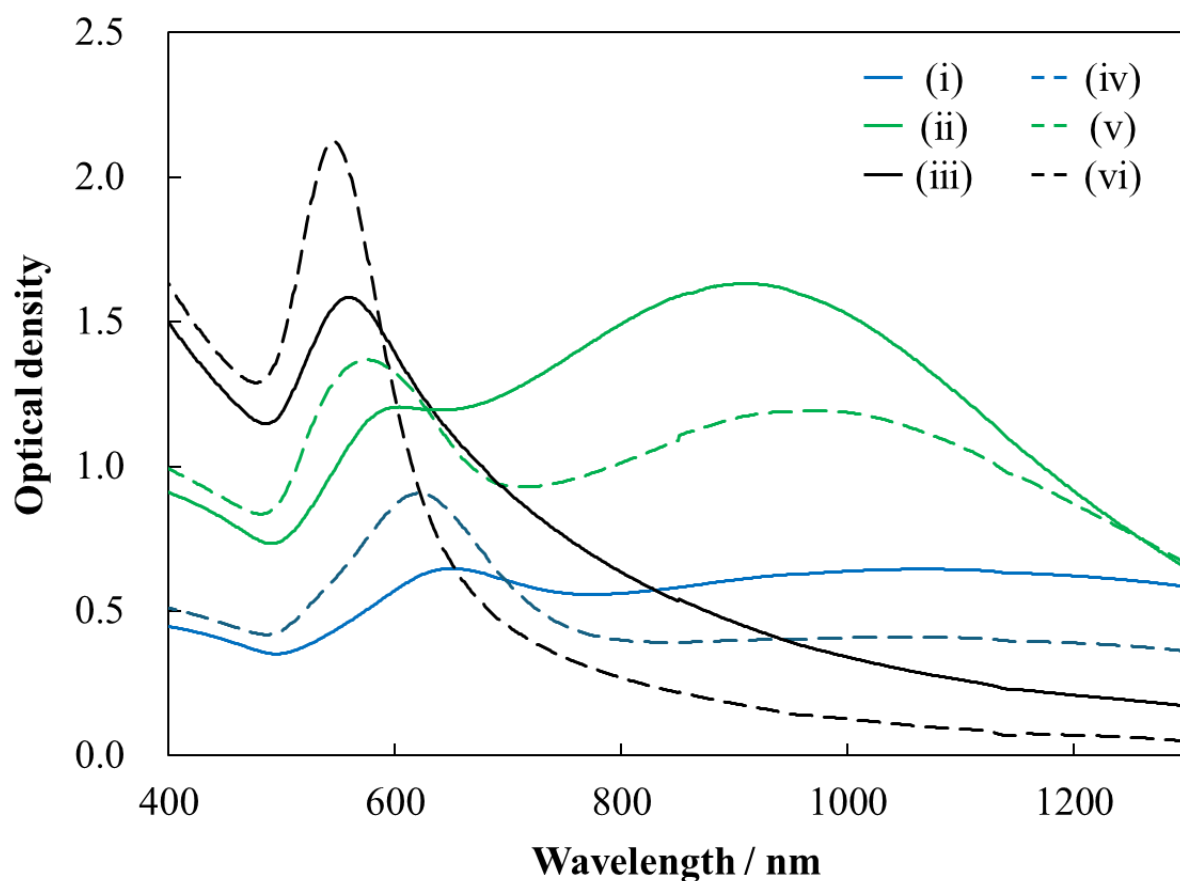


Figure 3-6 Au/Ag 比を 200/20 に固定し合成したナノ粒子の吸収波長 ; (i) C200/20、(ii) C400/40、(iii) C600/60、(iv) P200/20、(v) P400/40、(vi) P600/60

Figure 3-7に Au/Ag 比を 200/20 に固定して合成された C400/40 と P400/40 の FE-SEM 像を示す。興味深いことに、C400/40 と P400/40 の両方の FE-SEM 像で平板構造が確認された。Figure 3-5 に示した C200/20 および P200/20 の FE-SEM 像からは平板構造が確認されなかったことから、これらの構造が NIR 領域での LSPR に関与していることが示唆された。P400/40 では C400/40 と比較してより多くのシード由来の AuNPo が確認されたことから、平板構造の成長条件が完全に最適化されていないことが示唆され、これが NIR 領域で確認された低い光学密度の理由である可能性がある。C400/40 は平板形成物で構成された花のような構造をしており、これは AuNF や AgNF としてこれまで報告されている表面に球体 [37–39]、棘 [40–43]、平板 [44–48] が高密度に存在するナノ粒子の形態とは異なっていた。本章では、シード媒介成長と UPD を組み合わせた合成法がナノ粒子の形態を制御する新しい方法として提案され、AuNC をシードとして利用することで、NIR-I だけでなく NIR-II 領域にも吸収をもつ AuAgNF の合成に成功した。

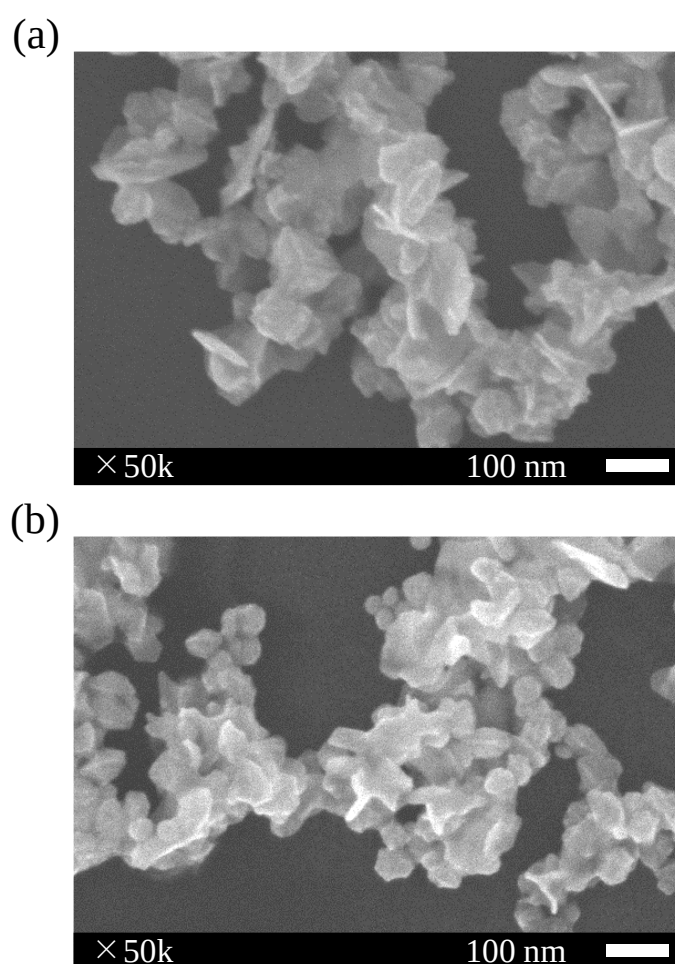


Figure 3-7 (a) C400/40 と (b) P400/40 の FE-SEM 像

3.3.2 レーザー照射による光熱変換効率の算出

Figure 3-8 に各試料に対して波長が 980 nm のレーザーを照射した際の温度上昇を示す。レーザー照射中、溶液の温度は緩やかに上昇し、5 分後には超純水では 39.8℃、AuNC では 42.0℃、AuNPo では 41.5℃、C400/40 では 46.4℃、P400/40 では 45.2℃に達した。算出された η は AuNC では $2.32 \pm 0.7\%$ 、AuNPo では $0.24 \pm 0.4\%$ 、C400/40 では $17.28 \pm 1.4\%$ 、P400/40 では $10.76 \pm 2.2\%$ であった ($n = 3$)。シード媒介成長と UPD の組み合わせで合成された C400/40 ナノ粒子は、NIR-II 領域に吸収があり、980 nm レーザー照射において光熱変換機能を示したが 17.28%という値はこれまで AuNF の 808 nm における η として報告された 33.9%と比較しても低い値となった [49]。C400/40 の η が低い理由として、NIR-II に吸収を示すナノ粒子は散乱効率が低いことが挙げられる。ナノ粒子の光散乱の影響により、光吸収が妨げられ η は低下する。ナノ粒子のサイズが大きくなることで散乱効率が增大することも報告されている。従って、シードとして利用する AuNC のサイズを制御することが、 η の向上に有効であると考えられる。

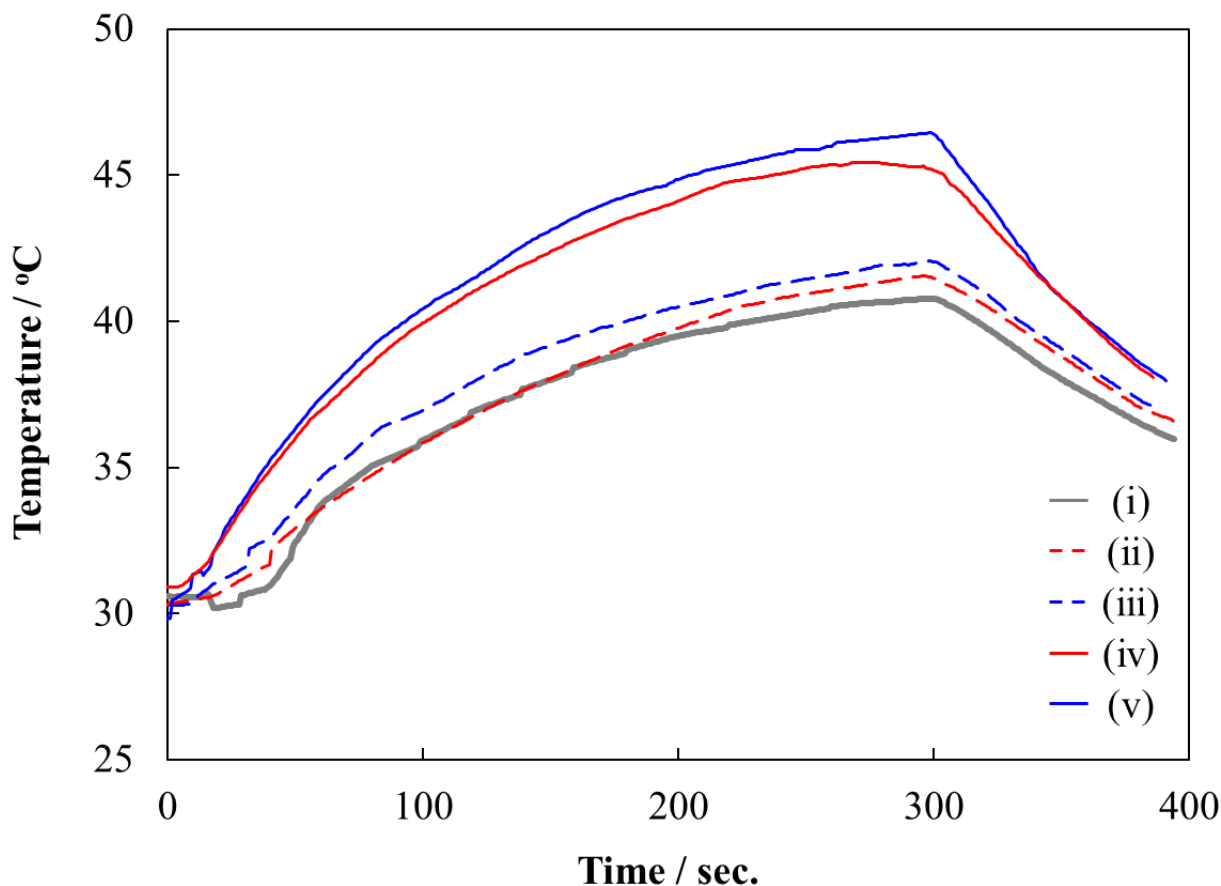


Figure 3-8 レーザー照射時の温度変化 ; (i) 超純水、(ii) AuNC、(iii) AuNPo、(iv) P400/40、(v) C400/40

3.4 結言

本章ではシード媒介成長法と UPD による形態制御法を考案し、合成条件における吸収波長と形態の変化を検討した。シード媒介成長法と UPD による形態制御により凹多面体型ナノ粒子へ形態が制御された。合成時の Au / Ag 比を変更することでシードから棘状構造が成長することを明らかにし、第二章で明らかにした成長機構において第一段階で多面体が形成されることを裏付けた。Au / Ag 濃度を最適化することでシード上へ平板状の構造を成長させることに成功した。これによって NIR-II 領域に吸収を示す AuAgNF が合成できた。

- [1] Ye, X., Shi, H., He, X., Wang, K., Li, D., & Qiu, P. Gold nanorod-seeded synthesis of Au@Ag/Au nanospheres with broad and intense near-infrared absorption for photothermal cancer therapy. *Journal of Materials Chemistry B*, **2**(23), 3667–3673. (2014). <https://doi.org/10.1039/c4tb00202d>
- [2] Ha, M., Nam, S. H., Sim, K., Chong, S. E., Kim, J., Kim, Y., ... Nam, J. M. Highly Efficient Photothermal Therapy with Cell-Penetrating Peptide-Modified Bumpy Au Triangular Nanoprisms using Low Laser Power and Low Probe Dose. *Nano Letters*, **21**(1), 731–739. (2021). <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.0c04386>
- [3] Zhang, L., Chen, S., Ma, R., Zhu, L., Yan, T., Alimu, G., ... Zhang, X. NIR-Excitable PEG-Modified Au Nanorods for Photothermal Therapy of Cervical Cancer. *ACS Applied Nano Materials*, **4**(12), 13060–13070. (2021). <https://doi.org/10.1021/acsanm.1c02594>
- [4] Xu, B., Ju, Y., Cui, Y., Song, G., Iwase, Y., Hosoi, A., & Morita, Y. TLYP-1-conjugated Au-nanorod@SiO₂ core-shell nanoparticles for tumor-targeted drug delivery and photothermal therapy. *Langmuir*, **30**(26), 7789–7797. (2014). <https://doi.org/10.1021/la500595b>
- [5] Li, M., Wu, D., Chen, Y., Shan, G., & Liu, Y. Apoferritin nanocages with Au nanoshell coating as drug carrier for multistimuli-responsive drug release. *Materials Science and Engineering C*, **95**(October 2018), 11–18. (2019). <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.10.060>
- [6] Li, W., Cao, Z., Yu, L., Huang, Q., Zhu, D., Lu, C., ... Liu, Y. Hierarchical drug release designed Au @PDA-PEG-MTX NPs for targeted delivery to breast cancer with combined photothermal-chemotherapy. *Journal of Nanobiotechnology*, **19**(1), 1–15. (2021). <https://doi.org/10.1186/s12951-021-00883-8>
- [7] Li, B., Lu, L., Zhao, M., Lei, Z., & Zhang, F. An Efficient 1064 nm NIR-II Excitation Fluorescent Molecular Dye for Deep-Tissue High-Resolution Dynamic Bioimaging. *Angewandte Chemie - International Edition*, **57**(25), 7483–7487. (2018). <https://doi.org/10.1002/anie.201801226>
- [8] Li, B., Lu, L., Zhao, M., Lei, Z., & Zhang, F. An Efficient 1064 nm NIR-II Excitation Fluorescent Molecular Dye for Deep-Tissue High-Resolution Dynamic Bioimaging. *Angewandte Chemie*, **130**(25), 7605–7609. (2018). <https://doi.org/10.1002/ange.201801226>
- [9] Ding, B., Xiao, Y., Zhou, H., Zhang, X., Qu, C., Xu, F., ... Hong, X. Polymethine Thiopyrylium Fluorophores with Absorption beyond 1000 nm for Biological Imaging in the Second Near-Infrared Subwindow. *Journal of Medicinal Chemistry*, **62**(4), 2049–2059. (2019). <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b01682>
- [10] Ge, X., Fu, Q., Bai, L., Chen, B., Wang, R., Gao, S., & Song, J. Photoacoustic imaging and photothermal therapy in the second near-infrared window. *New Journal of Chemistry*, **43**(23), 8835–8851. (2019). <https://doi.org/10.1039/c9nj01402k>
- [11] Zhou, J., Jiang, Y., Hou, S., Upputuri, P. K., Wu, D., Li, J., ... Duan, H. Compact Plasmonic Blackbody for Cancer Theranosis in the Near-Infrared II Window. *ACS Nano*, **12**(3), 2643–2651. (2018). <https://doi.org/10.1021/acs.nano.7b08725>
- [12] Jiang, S., Huang, K., Qu, J., Lin, J., & Huang, P. Cancer nanotheranostics in the second near-infrared window. *VIEW*. John Wiley and Sons Inc. (2021, February 1). <https://doi.org/10.1002/VIW.20200075>
- [13] Liu, J., Duggan, J. N., Morgan, J., & Roberts, C. B. Seed-mediated growth and manipulation of Au

- nanorods via size-controlled synthesis of Au seeds. *Journal of Nanoparticle Research*, **14**(12). (2012). <https://doi.org/10.1007/s11051-012-1289-3>
- [14] Niu, W., Zheng, S., Wang, D., Liu, X., Li, H., Han, S., ... Xu, G. Selective synthesis of single-crystalline rhombic dodecahedral, octahedral, and cubic gold nanocrystals. *Journal of the American Chemical Society*, **131**(2), 697–703. (2009). <https://doi.org/10.1021/ja804115r>
- [15] Seo, D., Yoo, C. Il, Chung, I. S., Park, S. M., Ryu, S., & Song, H. Shape adjustment between multiply twinned and single-crystalline polyhedral gold nanocrystals: Decahedra, icosahedra, and truncated tetrahedra. *Journal of Physical Chemistry C*, **112**(7), 2469–2475. (2008). <https://doi.org/10.1021/jp7109498>
- [16] Jin, R., Cao, Y. C., Hao, E., Métraux, G. S., Schatz, G. C., & Mirkin, C. A. Controlling anisotropic nanoparticle growth through plasmon excitation. *Nature*, **425**(6957), 487–490. (2003). <https://doi.org/10.1038/nature02020>
- [17] Wiley, B. J., Xiong, Y., Li, Z. Y., Yin, Y., & Xia, Y. Right bipyramids of silver: A new shape derived from single twinned seeds. *Nano Letters*, **6**(4), 765–768. (2006). <https://doi.org/10.1021/nl060069q>
- [18] Zheng, X., Zhao, X., Guo, D., Tang, B., Xu, S., Zhao, B., ... Lombardi, J. R. Photochemical formation of silver nanodecahedra: structural selection by the excitation wavelength. *Langmuir*, **25**(6), 3802–3807. (2009). <https://doi.org/10.1021/la803814j>
- [19] Wu, R., Du, Q., Zhang, H., Zhang, P., Lei, X., & Zhang, F. A comprehensive Review: The approach for fabrication of Core/Shell Au nanocomposite and Modification, Properties, applications of Au NPs. *Journal of Saudi Chemical Society*. Elsevier B.V. (2024, March 1). <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2024.101824>
- [20] Haldar, K. K., Kundu, S., & Patra, A. Core-size-dependent catalytic properties of bimetallic Au/Ag core-shell nanoparticles. *ACS Applied Materials and Interfaces*, **6**(24), 21946–21953. (2014). <https://doi.org/10.1021/am507391d>
- [21] Eisa, W. H., Al-Ashkar, E., El-Mossalamy, S. M., & Ali, S. S. M. PVP induce self-seeding process for growth of Au@Ag core@shell nanocomposites. *Chemical Physics Letters*, **651**, 28–33. (2016). <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2016.03.009>
- [22] Song, L., Mao, K., Zhou, X., & Hu, J. A novel biosensor based on Au@Ag core-shell nanoparticles for SERS detection of arsenic (III). *Talanta*, **146**, 285–290. (2016). <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.08.052>
- [23] Zhu, H., Lin, M., Li, Y., Duan, K., Hu, J., Chen, C., ... Lee, B. H. LSPR sensing for in situ monitoring the Ag dissolution of Au@Ag core-shell nanoparticles in biological environments. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **310**(January), 123885. (2024). <https://doi.org/10.1016/j.saa.2024.123885>
- [24] Wang, R., Yao, Y., Shen, M., & Wang, X. Green synthesis of Au@Ag nanostructures through a seed-mediated method and their application in SERS. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, **492**, 263–272. (2016). <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2015.11.076>
- [25] Yang, Y., Wang, W., Li, X., Chen, W., Fan, N., Zou, C., ... Huang, S. Controlled growth of Ag/Au

- bimetallic nanorods through kinetics control. *Chemistry of Materials*, **25**(1), 34–41. (2013). <https://doi.org/10.1021/cm302928z>
- [26] Ma, Y., Zhou, J., Shu, L., Li, T., Petti, L., & Mormile, P. Optimizing Au/Ag core-shell nanorods: Purification, stability, and surface modification. *Journal of Nanoparticle Research*, **16**(6). (2014). <https://doi.org/10.1007/s11051-014-2439-6>
- [27] Khlebtsov, B., Khanadeev, V., & Khlebtsov, N. Surface-enhanced Raman scattering inside Au@Ag core/shell nanorods. *Nano Research*, **9**(8), 2303–2318. (2016). <https://doi.org/10.1007/s12274-016-1117-7>
- [28] Krejcova, L., Novotny, F., & Pumera, M. Observed Dramatically Improved Catalysis of Ag Shell on Au/Ag Core-shell Nanorods is Due to Silver Impurities Released During Etching Process. *Electroanalysis*, **31**(10), 1873–1877. (2019). <https://doi.org/10.1002/elan.201800668>
- [29] Miryousefi, N., Varmazyad, M., & Ghasemi, F. Synthesis of Au@Ag core-shell nanorods with tunable optical properties. *Nanotechnology*, **35**(39). (2024). <https://doi.org/10.1088/1361-6528/ad572b>
- [30] Qin, Y., Wang, B., Wu, Y., Wang, J., Zong, X., & Yao, W. Seed-mediated preparation of ag@au nanoparticles for highly sensitive surface-enhanced raman detection of fentanyl. *Crystals*, **11**(7). (2021). <https://doi.org/10.3390/cryst11070769>
- [31] Pan, Z., Yang, J., Song, W., Luo, P., Zou, J., Peng, J., ... Luo, Z. Au@Ag nanoparticle sensor for sensitive and rapid detection of glucose. *New Journal of Chemistry*, **45**(6), 3059–3066. (2021). <https://doi.org/10.1039/d0nj04489j>
- [32] Vilímová, I., & Šišková, K. Distinctly different morphologies of bimetallic au-ag nanostructures and their application in submicromolar sers-detection of free base porphyrin. *Nanomaterials*, **11**(9). (2021). <https://doi.org/10.3390/nano11092185>
- [33] Siegel, A. L., Mallott, A. J., Patel, D. N., Polo-Parada, L., & Baker, G. A. Silver(I)-induced anisotropy in the plasmon-driven growth of nanoscale gold. *Green Chemistry Letters and Reviews*, **17**(1). (2024). <https://doi.org/10.1080/17518253.2024.2306816>
- [34] Roper, D. K., Ahn, W., & Hoepfner, M. Microscale heat transfer transduced by surface plasmon resonant gold nanoparticles. *Journal of Physical Chemistry C*, **111**(9), 3636–3641. (2007). <https://doi.org/10.1021/jp064341w>
- [35] Cheng, L. C., Huang, J. H., Chen, H. M., Lai, T. C., Yang, K. Y., Liu, R. S., ... Tsai, D. P. Seedless, silver-induced synthesis of star-shaped gold/silver bimetallic nanoparticles as high efficiency photothermal therapy reagent. *Journal of Materials Chemistry*, **22**(5), 2244–2253. (2012). <https://doi.org/10.1039/c1jm13937a>
- [36] Krajczewski, J., Kołataj, K., Pietrasik, S., & Kudelski, A. Silica-covered star-shaped Au-Ag nanoparticles as new electromagnetic nanoresonators for Raman characterisation of surfaces. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **193**, 1–7. (2018). <https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.11.060>
- [37] Sun, D., Zhang, G., Jiang, X., Huang, J., Jing, X., Zheng, Y., ... Li, Q. Biogenic flower-shaped Au-Pd nanoparticles: Synthesis, SERS detection and catalysis towards benzyl alcohol oxidation. *Journal of*

- Materials Chemistry A*, **2**(6), 1767–1773. (2014). <https://doi.org/10.1039/c3ta13922k>
- [38] Zhang, A., Huang, C., Shi, H., Guo, W., Zhang, X., Xiang, H., ... Jia, N. Electrochemiluminescence immunosensor for sensitive determination of tumor biomarker CEA based on multifunctionalized Flower-like Au@BSA nanoparticles. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, **238**, 24–31. (2017). <https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.07.009>
- [39] Wu, S., Yang, X., Luo, F., Wu, T., Xu, P., Zou, M., & Yan, J. Biosynthesis of flower-shaped Au nanoclusters with EGCG and their application for drug delivery. *Journal of Nanobiotechnology*, **16**(1), 1–14. (2018). <https://doi.org/10.1186/s12951-018-0417-3>
- [40] Zhao, L., Ding, K., Ji, X., Li, J., Wang, H., & Yang, W. Formation of hollow Ag/Au nanostructures in seeding approach: The competition of hydroxyl groups with chloride ions to Ag⁺. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, **386**(1–3), 172–178. (2011). <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2011.07.012>
- [41] Sun, G., Ding, Y. N., Ma, C., Zhang, Y., Ge, S., Yu, J., & Song, X. Paper-based electrochemical immunosensor for carcinoembryonic antigen based on three dimensional flower-like gold electrode and gold-silver bimetallic nanoparticles. *Electrochimica Acta*, **147**, 650–656. (2014). <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2014.09.149>
- [42] Zhang, Q., Wen, H., Watanabe, K., Kotani, I., Ricci, M., Fortuni, B., ... Uji-I, H. Low-Cytotoxic Gold-Coated Silver Nanoflowers for Intracellular pH Sensing. *ACS Applied Nano Materials*, **3**(8), 7643–7650. (2020). <https://doi.org/10.1021/acsanm.0c01278>
- [43] Dilek Tepe, H., Şeymanur Aktaş, B. S., Çeter, T., & Yazgan, İ. Comparison of Blueberry and Dandelion Aqueous Extracts in the Synthesis of Gold and Silver Nanostructures, and Their Applications as Anti-Pseudomonas aeruginosa Agent. *ChemistrySelect*, **8**(18). (2023). <https://doi.org/10.1002/slct.202300362>
- [44] Krishnan, J. N. N., Kim, I. T., Park, W.-H., Kim, Z. H., & Kim, S. K. K. Fabrication and Properties of Au Nanoflowers for SERS Substrates. *ECS Meeting Abstracts*, **MA2009-02**(29), 2290–2290. (2009). <https://doi.org/10.1149/ma2009-02/29/2290>
- [45] Xu, M., & Zhang, Y. Hierarchical Ag mesostructures for single particle SERS substrate. *Applied Surface Science*, **393**, 197–203. (2017). <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2016.10.011>
- [46] Zhang, Y., Yang, C., Xue, B., Peng, Z., Cao, Z., Mu, Q., & Xuan, L. Highly effective and chemically stable surface enhanced Raman scattering substrates with flower-like 3D Ag-Au hetero-nanostructures. *Scientific Reports*, **8**(1), 1–10. (2018). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19165-9>
- [47] Chen, J., Zhou, Y., & Wang, W. Spontaneous growth of au microflowers on poly(N-isopropylacrylamide) brushes-grafted-graphene oxide films for surface-enhanced raman spectroscopy. *Chemistry Letters*, **49**(10), 1159–1162. (2020). <https://doi.org/10.1246/CL.200468>
- [48] Zhang, H., Xing, Z., Pan, M., Wang, H.-B., & Liu, Y.-M. Highly Sensitive and Selective Electrochemical Determination of 4-Aminophenol Based on Flower-Like Ag-Au Nanocomposites Modified Glassy Carbon Electrode. *Journal of The Electrochemical Society*, **167**(12), 126504. (2020). <https://doi.org/10.1149/1945-7111/abae91>
- [49] He, J., Yu, S., Ma, Z., Sun, H., Yang, Q., Liu, Z., ... Wang, L. Polymyxin E biomineralized and

doxorubicin-loaded gold nanoflowers nanodrug for chemo-photothermal therapy. *International Journal of Pharmaceutics*, **625**(July), 122082. (2022). <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2022.122082>

第4章 離散双極子近似によって算出した光吸収および光散乱による Au-Ag

ナノ粒子の形態評価

4.1 緒言

4.1.1 計算科学による Au ナノ粒子の吸収スペクトル解析

局在表面プラズモン共鳴 (LSPR) の特性は計算科学からも解析されている。LSPR の計算において直径が波長より十分小さく材料が金属であるとき、Mie の散乱公式よりも簡単な空間的な遅延がなく時間的には $\exp(-i\omega t)$ で振動する場を考える準静電近似によって散乱問題を解くことができる。吸収断面積 C_{abs} は分極率 α と波数 k の式 (4-1) によって示される。準静電近似が成り立つ場合、分極率 α は粒子の体積 V と形状因子 L によってと誘電率 ϵ による式 (4-2) によって示される。形状因子 L は球の場合 $1/3$ であり球の吸収断面積 C_{abs} は式 (4-3) で示される。

1983 年にクラークソン工科大学の Bader らは T-matrix 法にて回転楕円体の散乱問題を解くことによって、回転楕円体の LSPR の波長依存性を解析した [1]。T-matrix 法は回転対称性をもつ任意の形状の金属粒子に適応可能である。この時、回転楕円体の分極率 α は式 (4-4) で表される。

$$C_{abs} = k \text{Im}(\alpha) \quad \text{式 (4-1)}$$

$$\alpha = \frac{V (\epsilon_1 - \epsilon_2)}{L (\epsilon_1 - \epsilon_2) + \epsilon_2} \quad \text{式 (4-2)}$$

$$\alpha = 4\pi r^3 \frac{\epsilon_1 - \epsilon_2}{\epsilon_1 + 2\epsilon_2} \quad \text{式 (4-3)}$$

$$\alpha = \frac{4\pi a b^2}{3} \frac{\epsilon_1 - \epsilon_2}{(\xi_0^2 - 1) \left[\frac{\xi_0}{2} \ln \left(\frac{\xi_0 + 1}{\xi_0 - 1} \right) - 1 \right] (\epsilon_1 - \epsilon_2) + \epsilon_2} \quad \text{式 (4-4)}$$

$$\epsilon_1 = \epsilon'_1 + i\epsilon''_1 \quad \text{式 (4-5)}$$

$$\epsilon_2 = \epsilon'_2 + i\epsilon''_2 \quad \text{式 (4-6)}$$

$$\xi_0 = \frac{b}{(b^2 - a^2)^{1/2}} \quad \text{式 (4-7)}$$

α : 分極率
 k : 波数
 V : 体積
 L : 形状因子
 r : 半径
 a : 長軸の半径
 b : 短軸の半径
 ε_1 : 金属微小球の誘電率
 ε_2 : 周囲の媒質の誘電率

これらの式によって長軸方向に電場をかけたときの金ナノ回転楕円体の吸収断面積 C_{abs} と光波長の関係が Figure 4-1 である。吸収断面積 C_{abs} は体積によって規格化されている。計算によって得られる吸収断面積 C_{abs} のスペクトルがアスペクト比に依存していることは明らかである。したがって星形 Au ナノ粒子に関しても棘のアスペクト比が吸収スペクトルを変化させる要因の一つであることが予想される。

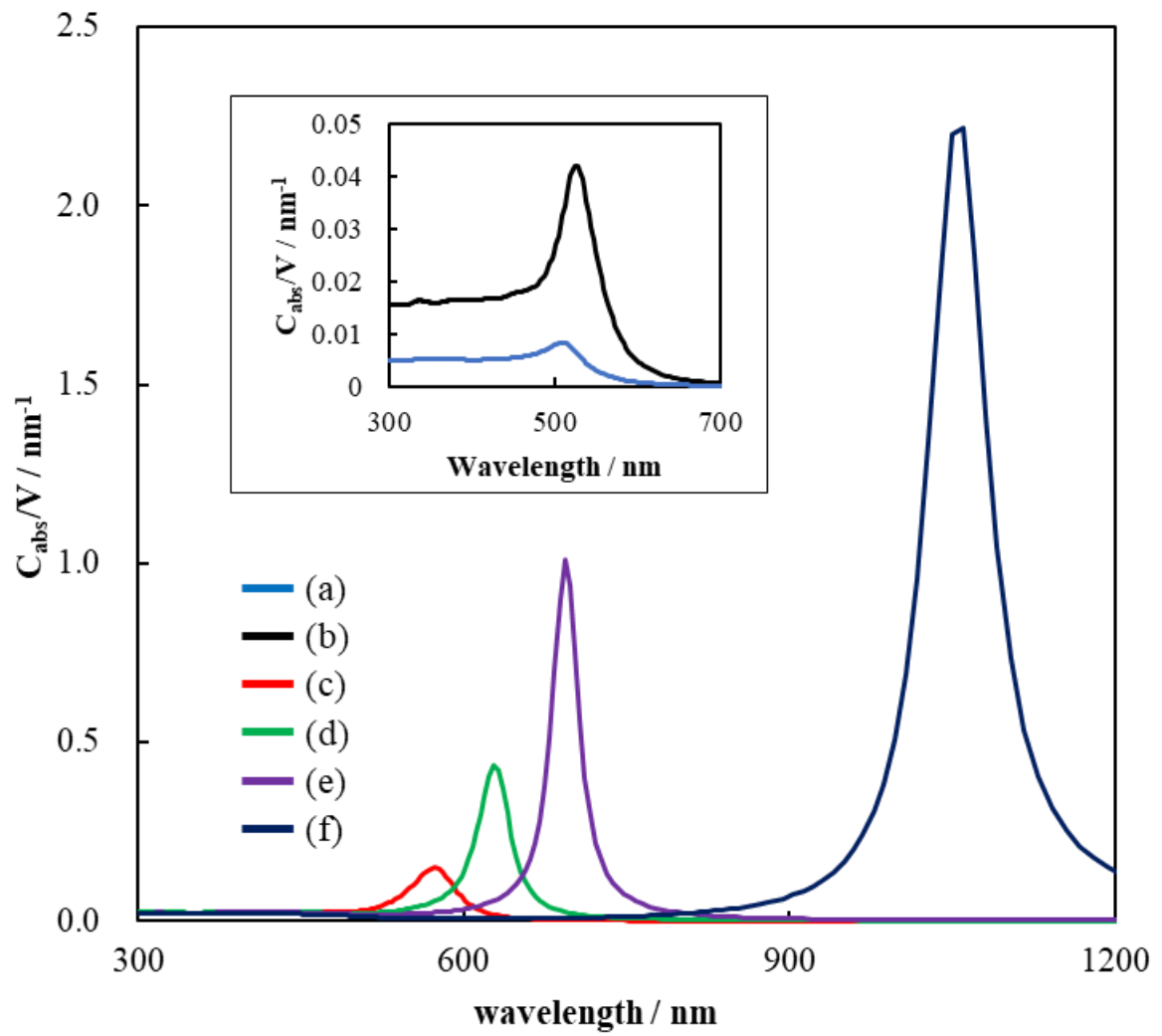


Figure 4-1 長軸方向に電場が印加されたときの一定体積での吸収断面積の波長依存性；
 (a) $a/b = 1$ 、(b) $a/b = 2$ 、(c) $a/b = 3$ 、(d) $a/b = 4$ 、(e) $a/b = 5$ 、(f) $a/b = 10$

4.1.2 離散双極子近似

本研究では凹多面体型 Au ナノ粒子の LSPR 解析のために離散双極子近似 (DDA ; discrete dipole approximation) を用いた。DDA は 1970 年代に任意の形状の散乱問題を解くために開発された [2]。DDA は回転楕円体にとどまらず任意の形状の微粒子の散乱問題を解くことができ、Draine と Flatau らによって計算ソフト (DDSCAT) が公開されてから多くの研究者に使用されてきた[3–5]。金属ナノ粒子のシミュレーションの代表的な計算手法には時間領域差分法 (FDTD ; finite difference time domain) [6–8]、有限要素法 (FEM ; finite element method) [9–11]及び境界要素法 (BEM ; boundary element method) [12–14]が報告されている。DDA は、プラズモンの光学応答の計算に並んで良く用いられる FDTD と比較して屈折率が 1.4 以下の条件では、同程度の精度で計算時間が短いという特徴をもつ。

DDA の原理は Okamoto らの著書に詳しい[15]。DDA は、対象となるモデルを N 個の双極子からできたモデルに置き換えて計算する。しかし、精度の高い計算のためには、双極子間隔が十分に小さい必要がある。双極子の間隔はその数と反比例するため、数を操作することで計算に適した間隔を決める。この時、必要以上に双極子の数を増やすと計算時間も増え、計算器資源も必要としてしまう。通常、双極子の数は数千から数十万程度で計算される。Figure 4-2 に DDA に用いる双極子の集合体としてのナノ構造の概念図と双極子の配列を示す。ナノ構造に対して外部電場 $\mathbf{E}_{ext}$ が印加された際に位置 $\mathbf{r}_i$ に生じる局所電場 $\mathbf{E}_{loc}$ は外部電場と N 個の双極子の電場の和として式 (4-8) として記述することができる。

$$\begin{aligned}\mathbf{E}_{loc}(\mathbf{r}_i) &= \mathbf{E}_{ext}(\mathbf{r}_i) - \sum_{i \neq j} \mathbf{A}_{ij} \cdot \mathbf{p}_j \\ &= \mathbf{E}_{ext}(\mathbf{r}_i) - \sum_{i \neq j} \frac{\exp(ikr_{ij})}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}^3} \left\{ k^2 \mathbf{r}_{ij} \times (\mathbf{r}_{ij} \times \mathbf{p}_j) + \frac{ikr_{ij} - 1}{r_{ij}^2} [r_{ij}^2 \mathbf{p}_j - 3\mathbf{r}_{ij}(\mathbf{r}_{ij} \cdot \mathbf{p}_j)] \right\}\end{aligned}$$

式 (4-8)

ここで、 k は波数、 ϵ_0 は誘電率であり、 $\mathbf{p}_j$ は位置 $\mathbf{r}_j$ における双極子モーメントである。 $\mathbf{r}_{ij}$ は位置 $\mathbf{r}_j$ から $\mathbf{r}_i$ へのベクトルであり、 r_{ij} はその大きさである。各双極子は分極率 α をもつため、双極子モーメント $\mathbf{p}_i$ は式 (4-9) によって記述される。

$$\mathbf{p}_i = \alpha \mathbf{E}_{loc}(\mathbf{r}_i) \quad \text{式 (4-9)}$$

この時 α は Clausius – Mossotti の関係が適応できるため、行列 $\mathbf{A}$ を含む項を移項して求まる行列 $\mathbf{A}'$ を用いると最終的に式 (4-10) となる。

$$\mathbf{A}'\mathbf{P} = \mathbf{E} \quad \text{式 (4-10)}$$

$\mathbf{P}$ および $\mathbf{E}$ はそれぞれ $\mathbf{p}_i$ と $\mathbf{E}_{ext}(\mathbf{r}_{ij})$ を並べた縦行列である。この式を解くことで散乱効率や分極率、吸収波長、光圧を求めることができる。行列 $\mathbf{A}$ は $3N \times 3N$ の行列要素をもつため直接計算することは困難であるため、行列反復法を用いて収束させる。

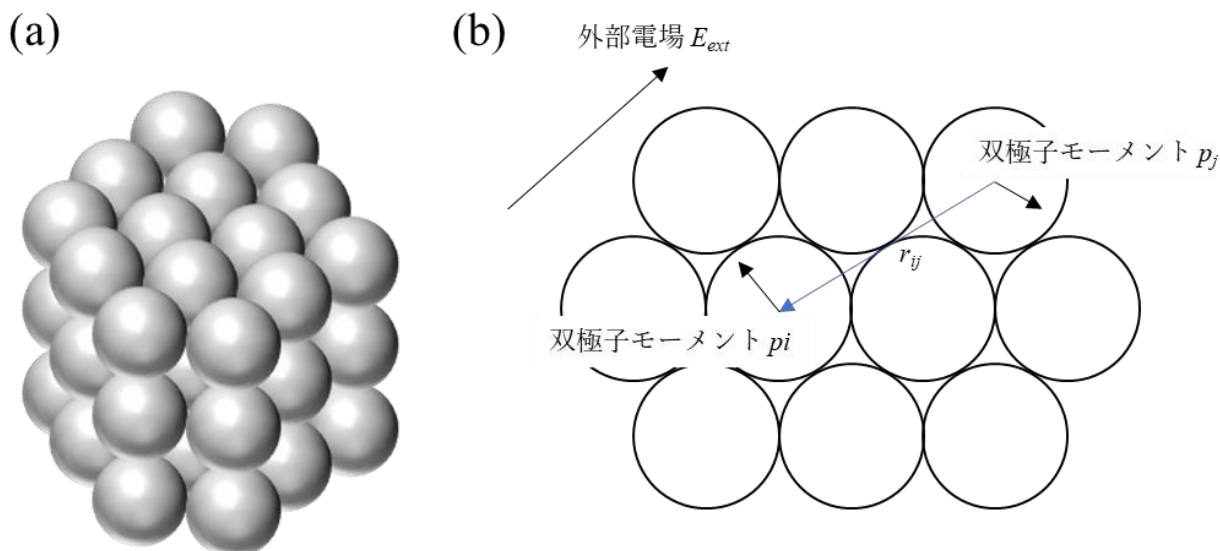


Figure 4-2 DDA に用いる(a) 双極子の集合体としてのナノ構造の概念図と(b) 双極子配列

4.1.3 凹多面体型 Au ナノ粒子の計算科学的解析

走査型電子顕微鏡 (SEM) や透過型電子顕微鏡 (TEM) によって得られた観察像から三次元モデルを作製し、形態から光学特性を計算することで凹多面体型 Au ナノ粒子の特異性が調査されている [16–18]。

2004 年にノースウェスタン大学の Hao らは TEM で観察した分岐型 Au ナノ粒子の形態から計算モデルを作成し、DDA によって光学特性を解析した [18]。対称的な三本の棘のあるモデルに、光の偏向方向を変えて計算すると、540 nm と 700 nm に共鳴波長があり、700 nm が面内双極子プラズモン共鳴であり、540 nm が面外四重極共鳴であることを明らかにした。また、このモデルの近接場が約 3900 倍に増強されており、表面増強ラマン散乱に有効であることを報告した [18]。

2007 年にライス大学の Hao らは星形 Au ナノ粒子 (AuNS) の SEM 像と定性的に一致する中心体と棘からなる三次元像を作製し、FDTD を用いて解析した [17]。電場の偏向角を変えて解析し、共鳴波長を計算することで、近接場の増強度と共鳴波長は棘のアスペクト比に依存すると報告した。

2012 年に国立台湾大学の Cheng らは TEM による観察像を三次元化し、FEM で解析した [16]。FEM での計算の結果、偏向方向に沿った棘の周囲が最も強い電場増強を示し、棘の曲率が電場増強度に影響を与えることを明らかにした。さらに抵抗加熱を計算することで AuAgNS における発熱機構を明らかにした。

このように凹多面体型 Au ナノ粒子の計算科学による解析はいくつか報告されているが、成長機構が未解明であったため、成長方向や結晶の対称性を考慮した計算モデルの作製は困難であり、凹多面体の平均構造を議論することができなかった。

4.1.4 第4章の目的

本章の目的は、これまで明らかにした成長機構を考慮した対称性の高いモデルの吸収効率および消光効率を DDA により計算することで、合成した凹多面体型ナノ粒子の平均構造を評価することである。作製した凹多面体型 Au-Ag ナノ粒子の吸収スペクトルと DDA によって計算された光吸収や光散乱を比較することによる形態評価を試みた。

4.2 実験方法

4.2.1 離散双極子近似による計算

4.2.1.1 星型 Au ナノ粒子のモデリング

第 2 章で明らかにした AuAgNS の成長機構が二十面体の頂点からの棘の成長を示唆していたことから、正二十面体の中心から各頂点に対して棘を配置したモデルを考案した。正二十面体の頂点の数と正十二面体の面の数は等しいため、考案したモデルは正十二面体の中心から各平面に棘を垂直に配置したモデルと等しい。棘の本数が吸収スペクトルに与える影響を調査するため、八面体、正十二面体、正二十面体などの対称性の高い仮想正多角形モデルの中心から各平面に垂直に棘（円錐）を配置したモデルを構築した。作製したモデルと正多面体の関係および双極子の集合体へと置換した三次元像を Figure 4-3 に示す。このとき、球を中心体（コア）とし棘を円錐と仮定した。

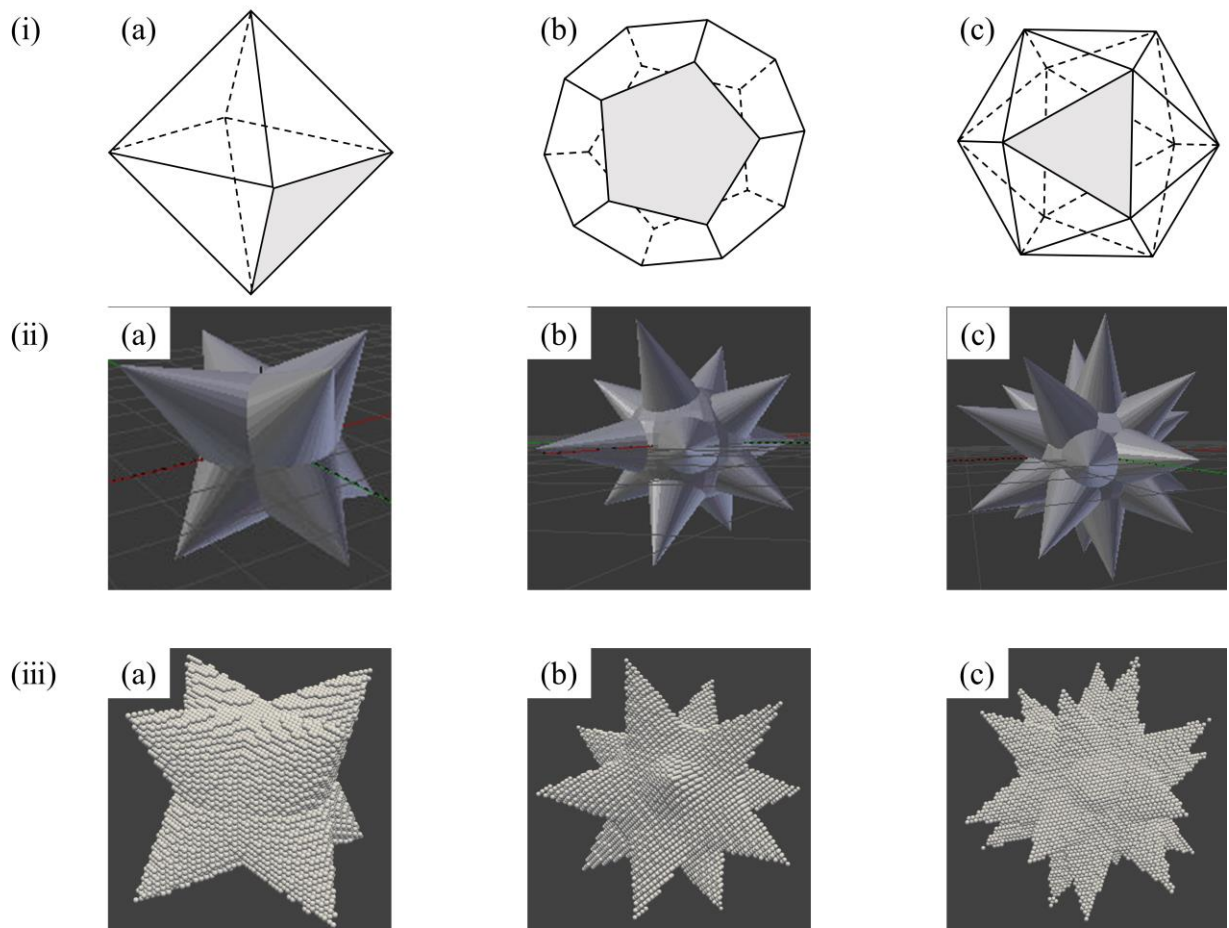


Figure 4-3 (i) 正多面体に対して (ii) 構築したモデルと (ii) 双極子への置換後の三次元モデル ; (a) 正八面体、(b) 正十二面体、(c) 正二十面体

球の半径 (r_{core}) を 1 に固定し、 r_{core} に対して円錐の底面の半径を 0.75、棘のアスペクト比は球状コアの中心から棘の先端までの長さ (L_{spine}) / r_{core} と仮定した。また、棘の数は 8、12、20 本とし、成長した棘はコア球の外側に配置した。モデル名は、ss (棘の数) _ (アスペクト比) と略す。たとえば、ss8_1.2 の略語は、棘の数が 8 で、アスペクト比が 1.2 であることを意味する。シミュレーションに用いたモデルの作製と双極子の集合体への置換は nanoDDSCAT+を用いた。AuNS のモデルを nanoDDSCAT+内の Blender 2.70 にて作製した。双極子への置換は nanoDDSCAT+内の DDSCAT Shape File Converter を利用した。

AuNS の計算モデルにおいて棘先端の曲率が LSPR に影響を与えられとされる。異なる先端の鋭さをもつ AuNS のモデルは、高対称性と 20 本の棘を持つ仮想正二十面体モデルに基づいて構築された。棘先端の曲率を変えるために、Figure 4-4 に示すように、異なる半径の球を円錐の先端に配置した。棘は、高さ L_{cone} の円柱と、半径 r_{sphere} が 0、0.05、0.1、または 0.2 の球で構成されていると仮定し、円柱の底半径 r_{base} は 0.75 に、 L_{cone} と r_{sphere} の長さの合計は r_{core} に対して 2.2 に固定した。モデルの全体積は、直径が 100 nm の球と同じ体積に固定することで双極子間隔を一定にした。これらのモデルを用いて、仮想正二十面体の辺の midpoint からモデルの中心に向けて偏光した光を照射することで、モデルの吸収効率 (Q_{abs}) およびナノ粒子によって誘起される電場強度を計算した。

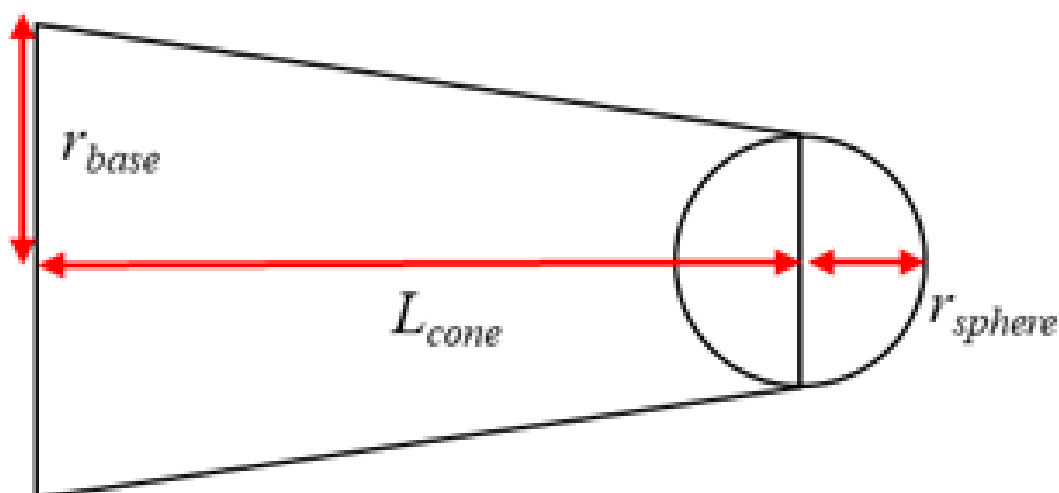


Figure 4-4 棘先端の曲率を変更したモデル

4.2.1.2 花型 Au ナノ粒子のモデリング

花型 Au ナノ粒子 (AuNF) の計算モデルとして考案した三次元像を Figure 4-5 に示す。Figure 4-5 (a) は、中心を原点とする立方体のシード骨格と、原点と交差する (110) に平行な平面上に円盤を配置したものである。円盤の半径と高さの比は 10:1 とした。最終的に円盤と原点と交差する全ての {110} に円盤を配置して計算モデルとした (Figure 4-5 (b) ; model 1)。{110} に相当する結晶面は 12 面あり、原点を通りそれぞれに平行な面は 6 面ある。Figure 4-5 (d) ~ (f) は、この 6 面に円盤を配置したモデルである。第 3 章で Au / Ag 濃度が十分に高い条件で合成した試料は平板構造が組み合わさった花型ナノ粒子であるのに対し、Au / Ag 濃度が低い条件で合成したナノ粒子は、シードの辺上に棘が成長した構造であった。そこで、本章で考案したモデルはその構造を反映した、辺上に平板構造が成長するモデルである。平板構造の形状は LSPR の共鳴波長に大きく影響し、入射光の偏向方向に依存した LSPR スペクトルを示すため、最も単純なモデルである円盤状に成長するモデルとした。平板構造を円盤と仮定することで計算モデルを単純化し、最小限の計算コストで AuNF の解析が可能である。

シードとして用いた Au ナノキューブ (AuNC) の面と辺における成長速度を考慮するため、円盤のパラメータとして辺方向のアスペクト比を変更した (Figure 4-5 (d))。そのアスペクト比によって計算モデル名を model 2_ (アスペクト比) とした。この時、アスペクト比を変更した円盤の高さは長軸の半径の長さの 1/10 とした。さらに、シードの面はほとんど成長せず、辺のみが成長するモデルとして、各 {110} 上に円盤を 2 枚並べた構造を考案した (Figure 4-5 (f) ; model 3)。Figure 4-5 (f) に示すモデルは、半径 10 に対して円盤の高さを 0.8~2 まで変化させており、その高さからモデル名を model 3_h (高さ) とした。

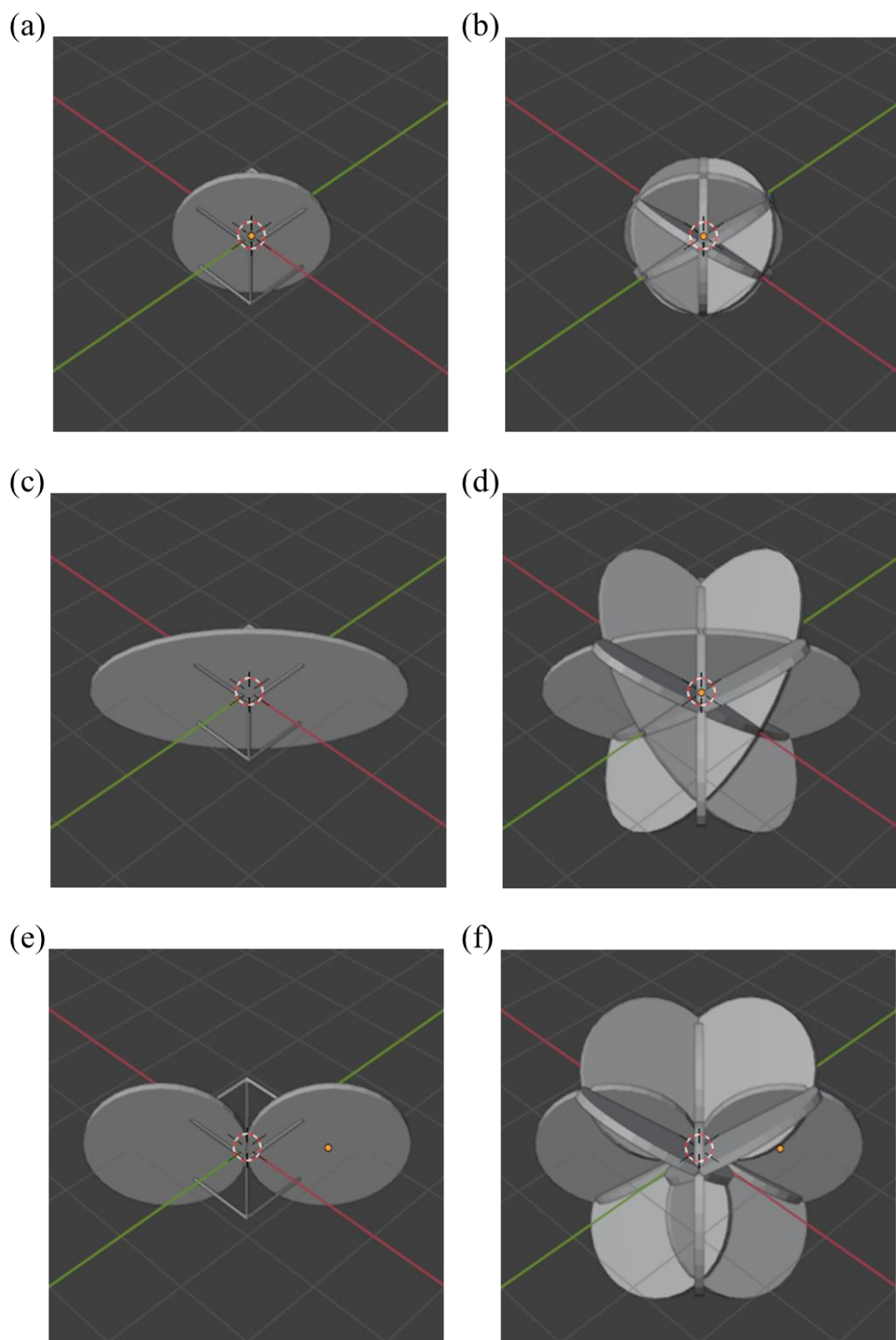


Figure 4-5 花型 Au ナノ粒子として考案した (a、c、e) $\{110\}$ に配置した円盤の形態と (b、d、f) 三次元的に配置した図

4.2.1.3 離散双極子近似の計算条件

設計したモデルの消光効率 (Q_{ext}) と Q_{abs} は DDSCAT version 7.3.3 内の DDA によって計算した。また、Au で作製したモデルの光学定数は、Johnson と Christie によって報告された値を用いた [19]。入射光として 300 nm から 1200 nm の波長を 10 nm 毎に計算させ、 Q_{abs} を求めた。DDA では有効半径 r_{eff} を設定する必要がある。有効半径 r_{eff} とは、シミュレーションモデルと等しい体積をもつ球の半径である。FDTD は双極子間隔を指定するが DDA は双極子間隔を指定できない。DDA では双極子間隔 d は双極子数 N と有効半径 r_{eff} との関係式として式 (4-11) で表される。この双極子間隔 d は式 (4-12) を満たす必要があると報告されている [20]。

$$d = \sqrt[3]{\frac{4\pi}{3N}} r_{eff} \quad \text{式 (4-11)}$$

$$|n_{NP}| \cdot k \cdot d \leq 1 \quad \text{式 (4-12)}$$

DDA では双極子数 N が多いほど精度よく計算ができるが、計算時間が長くなる。そこで、AuNS と AuNF の有効半径 r_{eff} は 50 nm とし、AuNS モデルの双極子数を変更し吸収スペクトルを比較することで、シミュレーションに適した条件を決定した。条件決定の際に計算したモデルと条件を Table 4-1 に示す。

光の入射方向による Q_{abs} の変化を調べるために ss12_2.2 では 1 本の棘に入射した場合、2 本の棘の中央に入射した場合、3 本の棘の中央に入射した場合の変化を調べた。ss20_2.2 では 1 本の棘に入射した場合、2 本の棘の中央に入射した場合、5 本の棘の中央に入射した場合の変化を調べた。

また、決定した条件にて棘の本数をアスペクト比が異なるモデルの Q_{abs} を計算した。

Table 4-1 計算したモデルの双極子数と双極子間隔の関係

Model	r_{eff} nm	N	d nm
ss20_2.2	50	3000	5.59
		5000	4.71
		10000	3.74
		20000	2.97
ss20_2.5	50	500	10.15
		1000	8.06
		3000	5.59
		5000	4.71
		20000	2.97

4.2.2 凹多面体型 Au-Ag ナノ粒子の合成

4.2.2.1 試薬

合成にはテトラクロロ金 (III) 酸四水和物 (HAuCl_4 ; 和光純薬工業、試薬特級)、硝酸銀 (AgNO_3 ; 和光純薬工業、試薬特級)、 $\text{L}(+)$ -アスコルビン酸 (AA; 和光純薬工業、試薬特級)、ヘキサデシルトリメチルアンモニウムブロミド (CTAB; 和光純薬工業、試薬特級)、水素化ホウ素ナトリウム (NaBH_4 ; 和光純薬工業、試薬特級)、超純水 ($18\text{ M}\Omega\text{cm}$ 、Millipore) を用いた。

4.2.2.2 星型 Au-Ag ナノ粒子の合成

星型 Au-Ag ナノ粒子 (AuAgNS) は、Cheng らによって提案された方法 [16] に若干の変更を加えて合成した。10 mL の超純水に、10 mM HAuCl_4 溶液と 10 mM AgNO_3 溶液を所定量添加した。この時、Au と Ag の合計モル濃度は 220 mM に固定した。各試料の 10 mM HAuCl_4 溶液と 10 mM AgNO_3 溶液の混合量を Table 3-1 に示す。その後、100 mM AA 溶液を 40 μL 加え 1 分間攪拌した。

Table 4-2 各試料の 10 mM HAuCl_4 と 10 mM AgNO_3 の混合量

Aqueous solution	Au22	Au21Ag1	Au20Ag2	Au18Ag4	Au15Ag7
HAuCl_4 μL	220	210	200	180	150
AgNO_3 μL	0	10	20	40	70

4.2.2.3 花型 Au-Ag ナノ粒子の合成

AuNC は準球状の Au ナノ粒子を前駆体 (Au 前駆体) として利用することで合成された。Au 前駆体は、キャッピング剤として CTAB の存在下で HAuCl_4 を NaBH_4 で還元することによって合成された。まず、0.125 mL の 10 mM HAuCl_4 を 3.75 mL の 100 mM CTAB 溶液に添加した。溶液を穏やかに混合すると、明るい茶色から黄色に変化した。次に、0.3 mL の氷冷した 10 mM NaBH_4 水溶液を一度に加えて、2 分間急速に反転混合した。その後、溶液は茶色に変化した (Au 前駆体溶液)。

AuNC は Au 前駆体の成長条件を制御することによって作成された。0.2 mL の 10 mM HAuCl_4 を、8 mL の超純水と 1.6 mL の 100 mM CTAB 溶液を含む溶液に添加した。溶液を穏やかに混合した後、0.95 mL の 100 mM AA をこの溶液に加えた。AuNC はこれまで調整した溶液に 50 μL の 10 倍希釈した Au 前駆体溶液を加えることで合成した。

花型 Au-Ag ナノ粒子 (AuAgNF) は、AuNC を使用したシード媒介成長によって合成された。まず、10 mL の超純水に、10 mM HAuCl_4 400 μL と 10 mM AgNO_3 40 μL を添加し成長溶液を調製した。次に、以前に得られたシード溶液を 500 μL を成長溶液に添加した。最後に、40 μL の 100 mM AA を加えて、 Au^{3+} と Ag^+ を還元した。合成した試料は C400/40 と命名した。

4.2.2.4 凹多面体型 Au-Ag ナノ粒子の評価方法

合成したナノ粒子溶液の 300 nm から 1300 nm までの領域を 1 nm の間隔で光吸収スペクトルを、紫外可視分光光度計 (UV-vis ; v-770、JASCO) で測定した。測定セルはディスポセル (1937、アズワ

ン)を使用した。超純水でバックグラウンドをとり、ダブルビームで測定した。

カバーガラスと試料台をカーボンテープで貼付した後、オートファインイオンコーター (JEC-3000FC、JEOL、Japan) によりカバーガラスに 40 mA、40 秒間の条件で白金を蒸着した。合成した溶液をそのままカバーガラス上に滴下し、窒素ガス噴射により乾燥させた。その後、ナノ粒子の形態は電界放出型走査電子顕微鏡 (FE-SEM ; JSM-7500F、JEOL) を用いて、加速電圧 15.0 kV、作動距離 8 mm で観察した。AuAgNS に関しては、ナノ粒子の棘が金の球状コアから成長していると仮定し、画像解析から棘のアスペクト比を算出した。アスペクト比は球状中心体 (コア) の中心から棘の先端までの長さ (L_{spine}) を球状コアの半径 (r_{core}) で割った式 (4-13) と定義した。

$$\text{アスペクト比} = \frac{L_{spine}}{r_{core}} \quad \text{式 (4-13)}$$

合成したナノ粒子溶液を動的光散乱法 (DLS ; DLS-1000MH、大塚電子) により試料の平均粒子径及び粒度分布を測定した。試料をガラスセルにいれ、He-Ne レーザー (波長 : 630 nm) を用いた。DLS の測定条件は粒子の粒径範囲に沿ったタイムインターバル (T.I) 法でデータチャネル数を 1024、サンプリング時間を 10 μ 秒に設定し、散乱強度の範囲が 10,000 ~ 80,000 程度であることを確認した。測定後の解析にはキュムラント法を用い、試料の粒径分布、平均粒径、多分散度を記録した。

測定した吸収スペクトルと DDA 計算から算出した Q_{abs} との精度は、決定係数 (R^2) を算出して評価した。また、DLS の結果をもとに、各粒子径 (直径) に換算した構造モデルで Q_{abs} を再度計算した。算出した Q_{abs} を、積算することで R^2 値の向上を試みた。補正には、箱ひげ図で既知の第一四分位数、中央値、第三四分位数の粒子の直径を使用した。

4.3 結果と考察

4.3.1 計算条件および計算モデルの決定

Figure 4-6 に ss20_2.2 の双極子数と Q_{abs} の関係を示す。得られたスペクトルをもとに最大吸収波長 (λ_{max}) と半値幅、並びに本研究で最も精度が良いと考えられる、双極子数を 20000 で計算したときのスペクトルと比べた決定係数 (R^2) を算出した。Table 4-3 にその結果を示す。双極子数が 3000 で計算したスペクトルの λ_{max} は 630 nm で半値幅は 120 nm、5000 での λ_{max} は 660 nm で半値幅は 150 nm、10000 での λ_{max} は 640 nm で半値幅は 150 nm、20000 での λ_{max} は 670 nm で半値幅は 180 nm であった。双極子数が 20000 で計算したスペクトルと比較した各双極子数で計算したスペクトルとの R^2 は、3000 では 0.807、5000 では 0.868、10000 では 0.898 であった。双極子数が大きくなるほど R^2 が 1.00 に近づき、精度が高くなることが確認できた。双極子数が 3000 では双極子間隔が 5 nm 以上となり双極子-双極子相互作用が正確に計算されていないことが考えられる。従って、双極子数が 3000 の条件は本研究のモデルの計算に適していないことが分かった。

アスペクト比の大きいモデルである ss20_2.5 でも最適な双極子数を検討した。Figure 4-7 に ss20_2.2 の双極子数と Q_{abs} の関係を示す。最も精度が高い双極子数 20000 で計算したスペクトルと各双極子数でのスペクトルとから算出した R^2 と、それぞれの λ_{max} と半値幅を Table 4-4 に示す。双極子数を 500 で計算したスペクトルの λ_{max} は 670 nm で半値幅は 90 nm、1000 では λ_{max} が 660 nm で半値幅は 160 nm、3000 では λ_{max} が 660 nm で半値幅は 240 nm、5000 では λ_{max} が 660 nm で半値幅は 110 nm、20000 では λ_{max} が 670 nm で半値幅は 130 nm であった。また、対応する R^2 は、500 では 0.745、1000 では 0.677、3000 では 0.804、5000 では 0.926 であった。ss20_2.2 と同様に双極子数が大きくなるほど精度が高くなる傾向が確認できた。双極子数を 5000 で計算したスペクトルでは、 R^2 は ss20_2.2 と ss20_2.5 共に 0.9 前後となっており、本研究のシミュレーションの条件として十分であると考えられる。

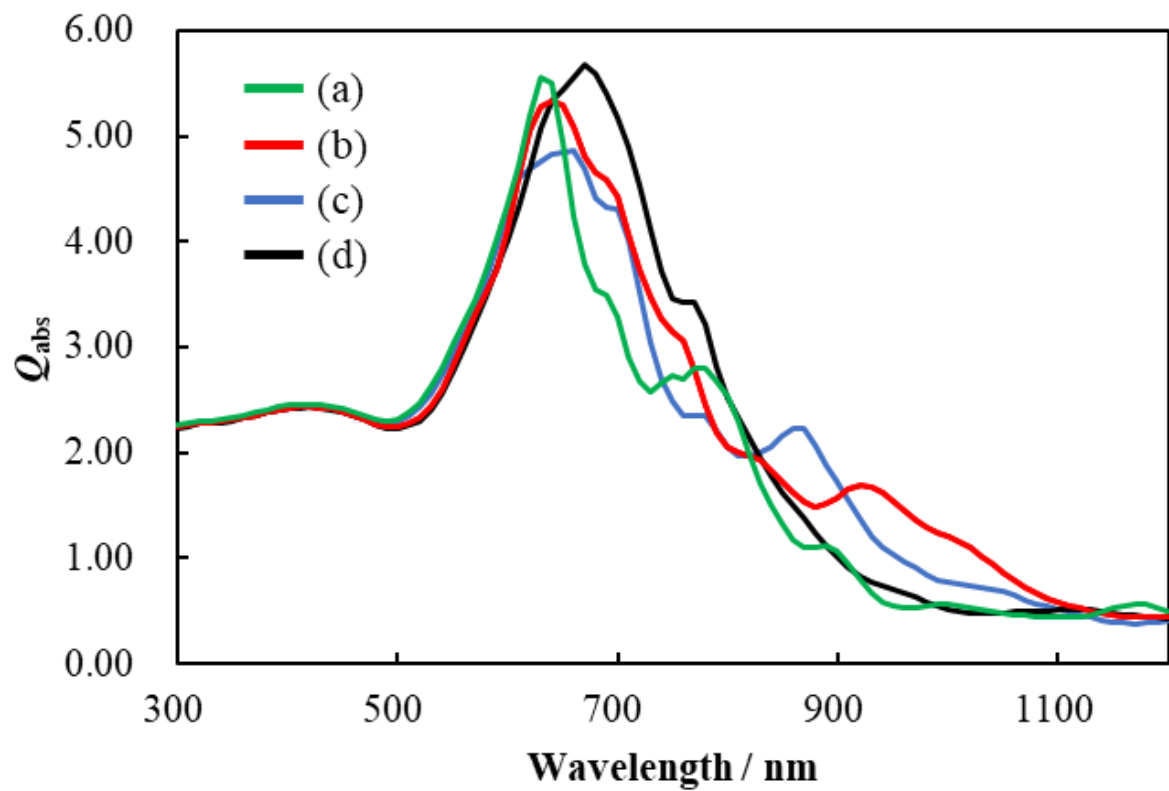


Figure 4-6 SS20_2.2 の Q_{abs} と双極子数の関係 ;
(a) $N = 3000$ 、(b) $N = 5000$ 、(c) $N = 10000$ 、(d) $N = 20000$

Table 4-3 双極子数による SS20_2.2 の吸収スペクトルの変化

双極子数	λ_{max} nm	半値幅 nm	R^2
3000	630	120	0.807
5000	660	150	0.868
10000	640	150	0.898
20000	670	180	-

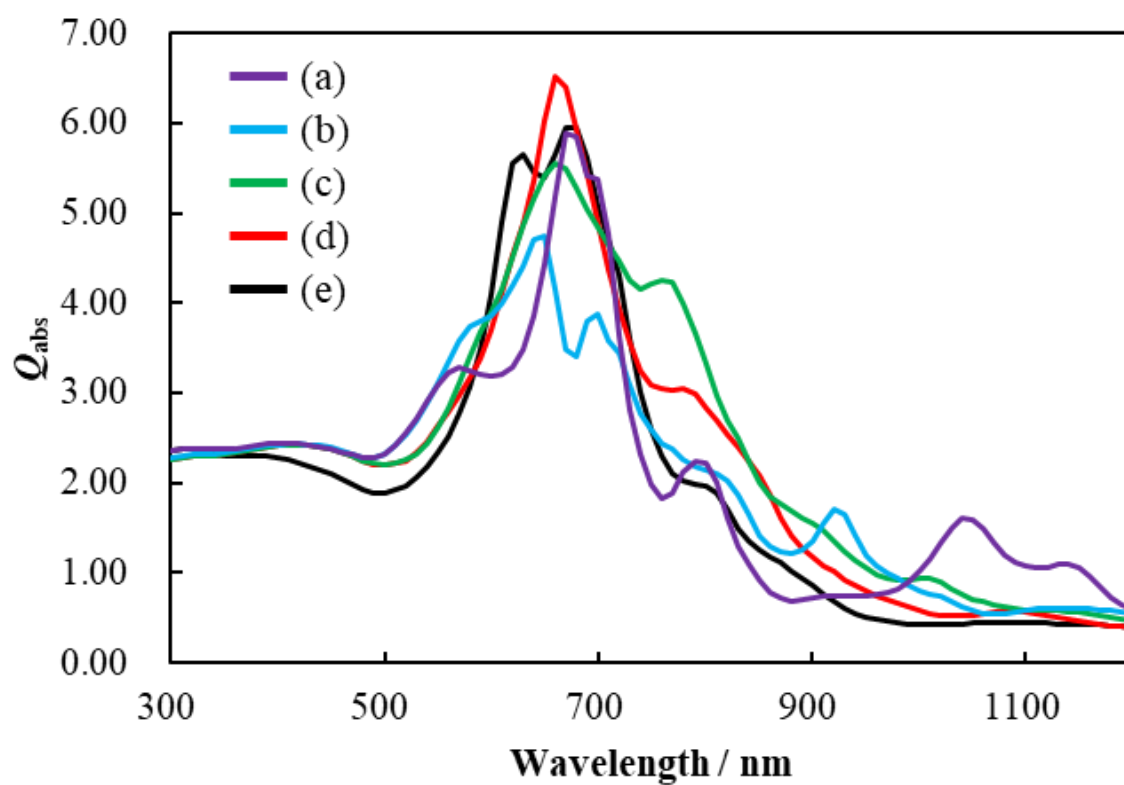


Figure 4-7 SS20_2.5 の Q_{abs} と双極子数の関係 ;
 (a) $N = 500$ 、(b) $N = 1000$ 、(c) $N = 3000$ 、(d) $N = 5000$ 、(e) $N = 20000$

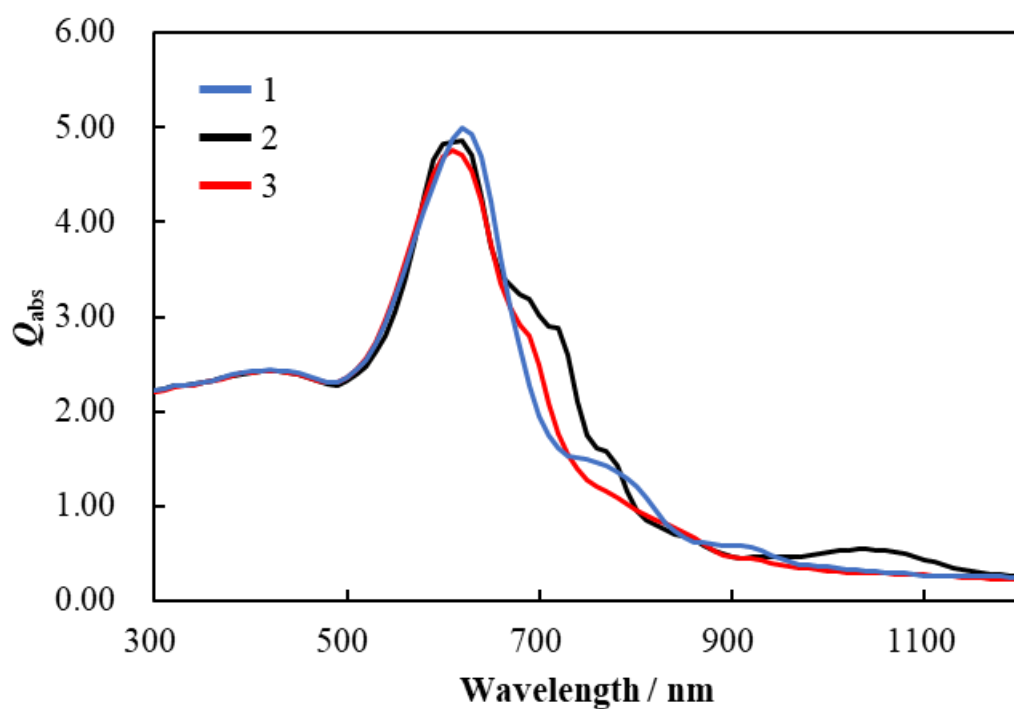
Table 4-4 双極子数による SS20_2.5 の吸収スペクトルの変化

双極子数	λ_{max} nm	半値幅 nm	R^2
500	670	90	0.745
1000	650	160	0.677
3000	660	240	0.804
5000	660	110	0.926
20000	670	130	-

Figure 4-8 に ss12_2.2 と ss20_2.2 の入射方向による Q_{abs} の変化を示す。双極子数は 5000 で計算した。正多面体の面方向に棘が成長するモデルでは、3通りの入射方向が考えられる。棘の直上、2本の棘の間、3本あるいは5本の棘の中央であり、それぞれの入射方向は、正多面体の面、辺、頂点に入射することを意味している。どちらのモデルも異なる入射方向によって計算された λ_{max} と半値幅は概ね一致していた。正多面体では、辺の本数が最も多いため、以後の計算では辺すなわち2本の棘の中央から偏光させた光を入射した場合を検討する。

Figure 4-9 (i-a、b、c、d) はそれぞれ r_{sphere} が 0、0.05、0.1、0.2 のモデルを 20000 個の双極子に換算したものである。双極子の数が 20000 のとき、双極子の集合体に置き換えたモデルは、それぞれ棘先端の曲率が異なることが確認された。したがって、構造は鋭さを変えるために作製したモデルの見た目を反映していることがわかる。Figure 4-9 (ii) は、 Q_{abs} の波長依存性を示している。 r_{sphere} が 0 のときは 670 nm、 r_{sphere} が 0.05 のときは 690 nm、 r_{sphere} が 0.1 のときは 680 nm、 r_{sphere} が 0.2 のときは 670 nm に λ_{max} が確認された。 r_{sphere} が 0.05 から 0.2 では、 r_{sphere} が大きくなるにつれて λ_{max} が短波長側にシフトする傾向が見られたが、そのシフト量は 20 nm であり、曲率を変えることによる吸収スペクトルへの大きな影響は確認できなかった。スパインの最も鋭い $r_{sphere} = 0$ モデルの Q_{abs} は最も小さくなった。双極子像を見ると、 $r_{sphere} = 0$ のモデルでのみ、スパインの先端の双極子が独立して存在していることが確認された。そのため、スパインの先端の形状が十分に反映されずに計算され、 Q_{abs} が小さくなったと考えられる。以後の計算では双極子数 5000 の条件で計算した。双極子数が 5000 と 20000 の時の双極子間隔はそれぞれ 4.71 nm と 2.97 nm であり、双極子間隔は約 1.5 倍になる。そのため、双極子数 20000 で相対的に独立しているように観測された棘先端の双極子の影響は双極子 5000 では限りなく低いことが考えられる。したがって、以降の計算モデルとしては $r_{sphere} = 0$ のモデルを採用する。

(a)



(b)

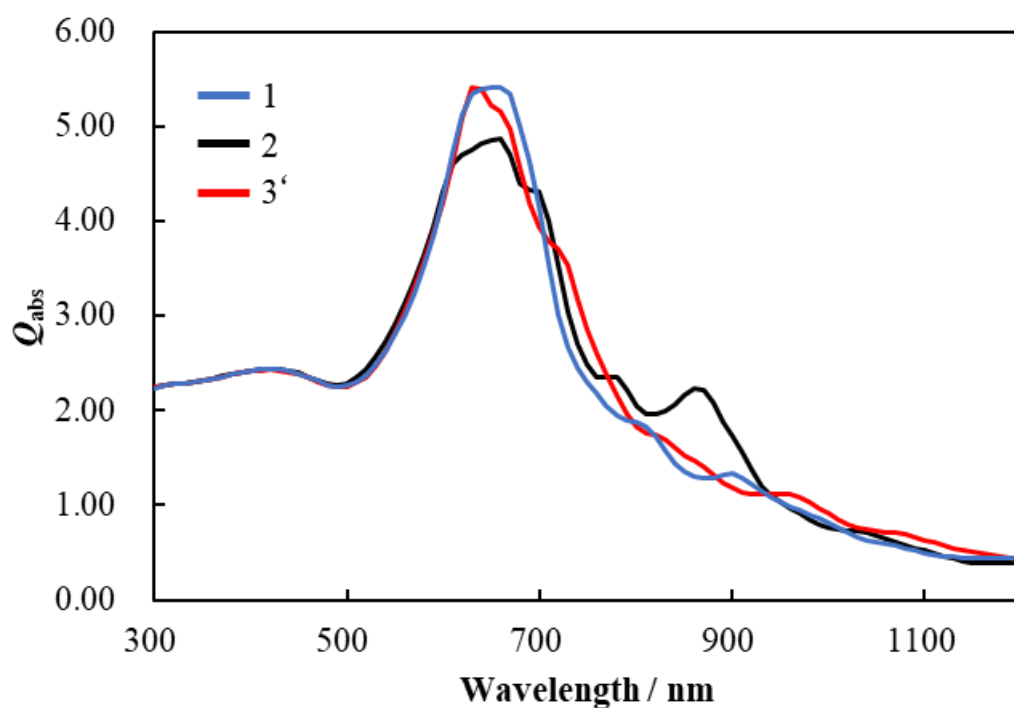


Figure 4-8 (a) ss12_2.2 と (b) ss20_2.2 に対する光の入射方向による Q_{abs} の変化 ; 1 棘の頂点からの入射、2 二本の棘の midpoint からの入射、3 三本の棘の midpoint からの入射、3' 五本の棘の midpoint からの入射

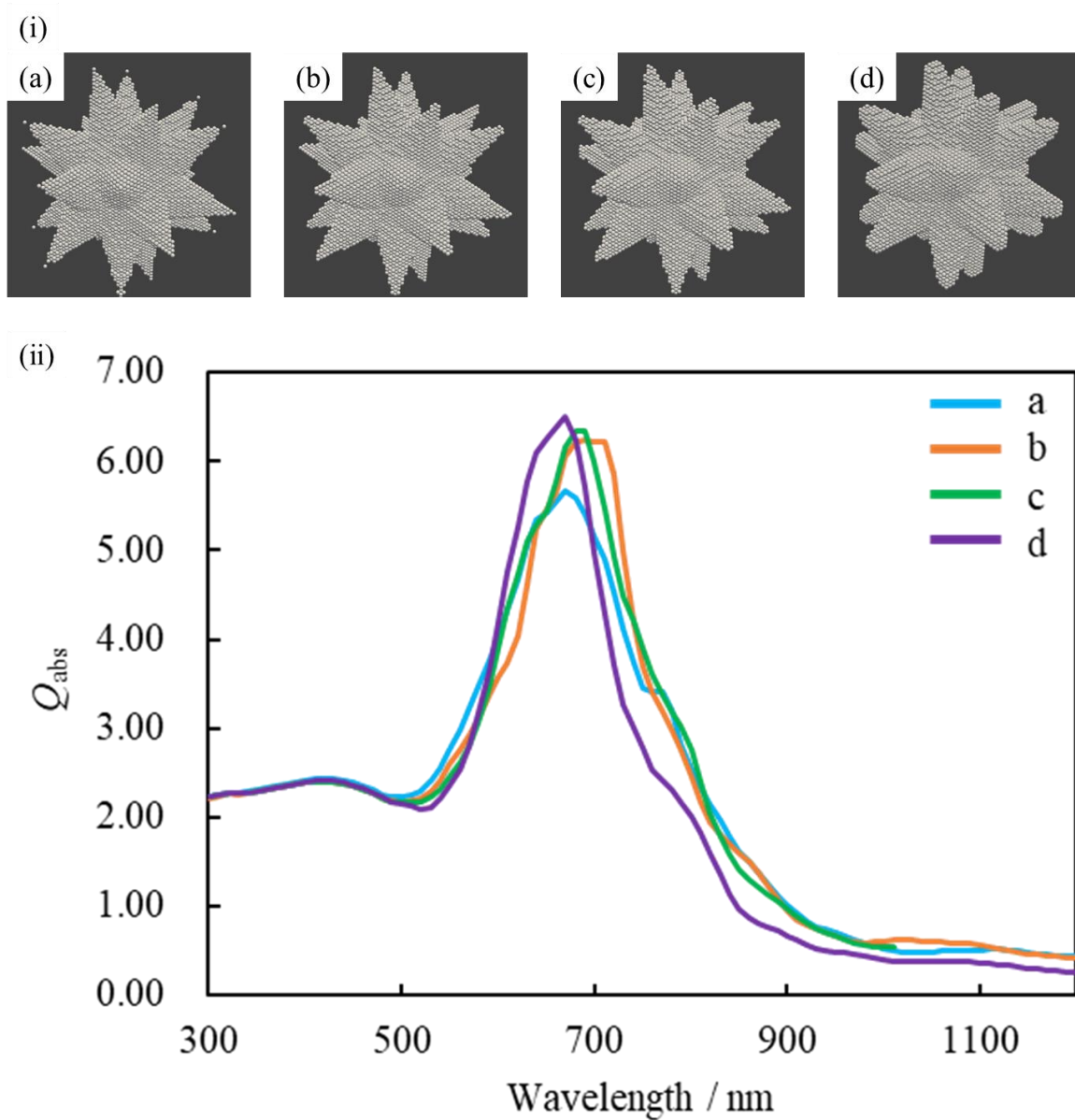


Figure 4-9 (i) 高い対称性と二十本の棘をもつモデルの三次元双極子像と (ii) 棘先端の曲率による Q_{abs} の変化 ; (a) $r_{sphere} = 0$ 、(b) $r_{sphere} = 0.05$ 、(c) $r_{sphere} = 0.1$ 、(d) $r_{sphere} = 0.2$

4.3.2 棘の本数とアスペクト比が及ぼす吸収波長への影響

Figure 4-10 に、棘の本数とアスペクト比を変えて計算した吸収スペクトルを示す。さらに、これらのスペクトルを解析し、 $\lambda_{\max}$ と半値幅を算出した結果を Table 4-5 に示す。棘の本数が同じモデルの結果を比較すると、アスペクト比を大きくすると $\lambda_{\max}$ は長波長側へとシフトすることが確認された。ss8、ss12、ss20 に対してアスペクト比を 1.3 から 2.5 まで 0.3 ずつ増加させたモデルを計算すると、 $\lambda_{\max}$ はそれぞれ 120 nm、210 nm、140 nm 長波長側へシフトすることが確認された。アスペクト比と $\lambda_{\max}$ の関係性をプロットしたのが Figure 4-11 である。アスペクト比と $\lambda_{\max}$ の関係の傾きは、ss8 が最も小さく、ss12 が最も大きくなった。したがって ss12 の $\lambda_{\max}$ と Q_{abs} はアスペクト比の影響を強く受けることが明らかになった。ss20 の $\lambda_{\max}$ が ss12 よりもアスペクト比の影響を大きく受けなかった理由は双極子間隔の観点から説明することができる。本章で考案したモデルにおいて棘の本数が多くなるにつれて棘同士の間隔が狭くなる。棘の間隔はそのまま双極子間隔へと反映され、棘の本数を増やし続けると最終的には棘同士の間隔は球の双極子間隔と等しくなる。従って、棘の本数が多くなればなるほど形態が球に近似できるため、棘の本数がより多いモデルを計算したときにはアスペクト比による $\lambda_{\max}$ はほとんどシフトしないことが予想される。

Table 4-5 棘の本数とアスペクト比のモデルの吸収スペクトル

棘の本数	アスペクト比	$\lambda_{\max}$ nm	半値幅 nm
8	1.3	520	70
	1.6	580	100
	1.9	590	100
	2.2	620	100
	2.5	640	100
12	1.3	520	70
	1.6	590	120
	1.9	630	110
	2.2	650	130
	2.5	730	110
20	1.3	530	70
	1.6	570	120
	1.9	620	120
	2.2	640	130
	2.5	670	120

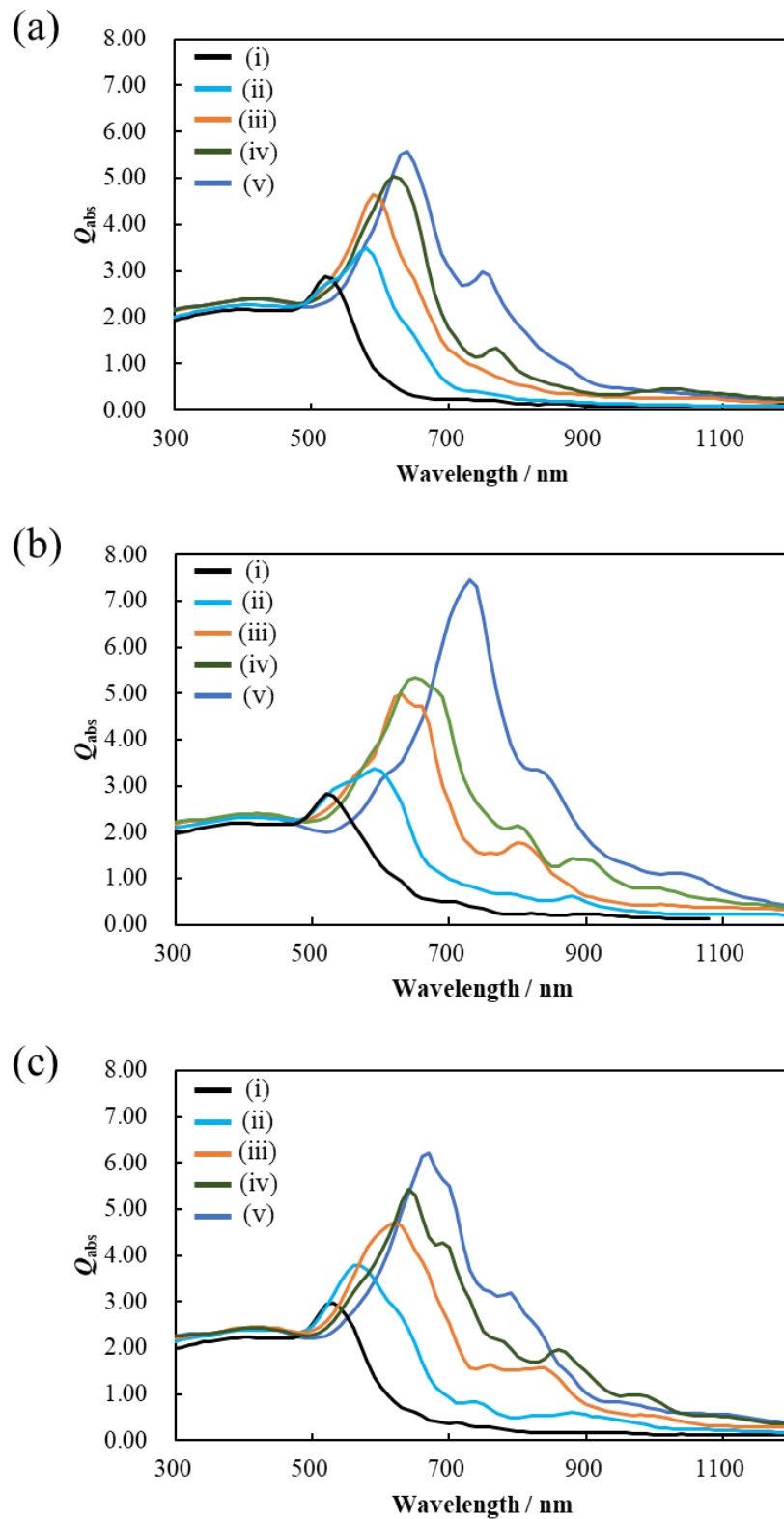


Figure 4-10 (a) ss8、(b) ss12、(c) ss20 の棘のアスペクト比による Q_{abs} の変化;
 (i) アスペクト比 1.3、(ii) アスペクト比 1.6、(iii) アスペクト比 1.9、(iv) アスペクト比 2.2、(v) アスペクト比 2.5

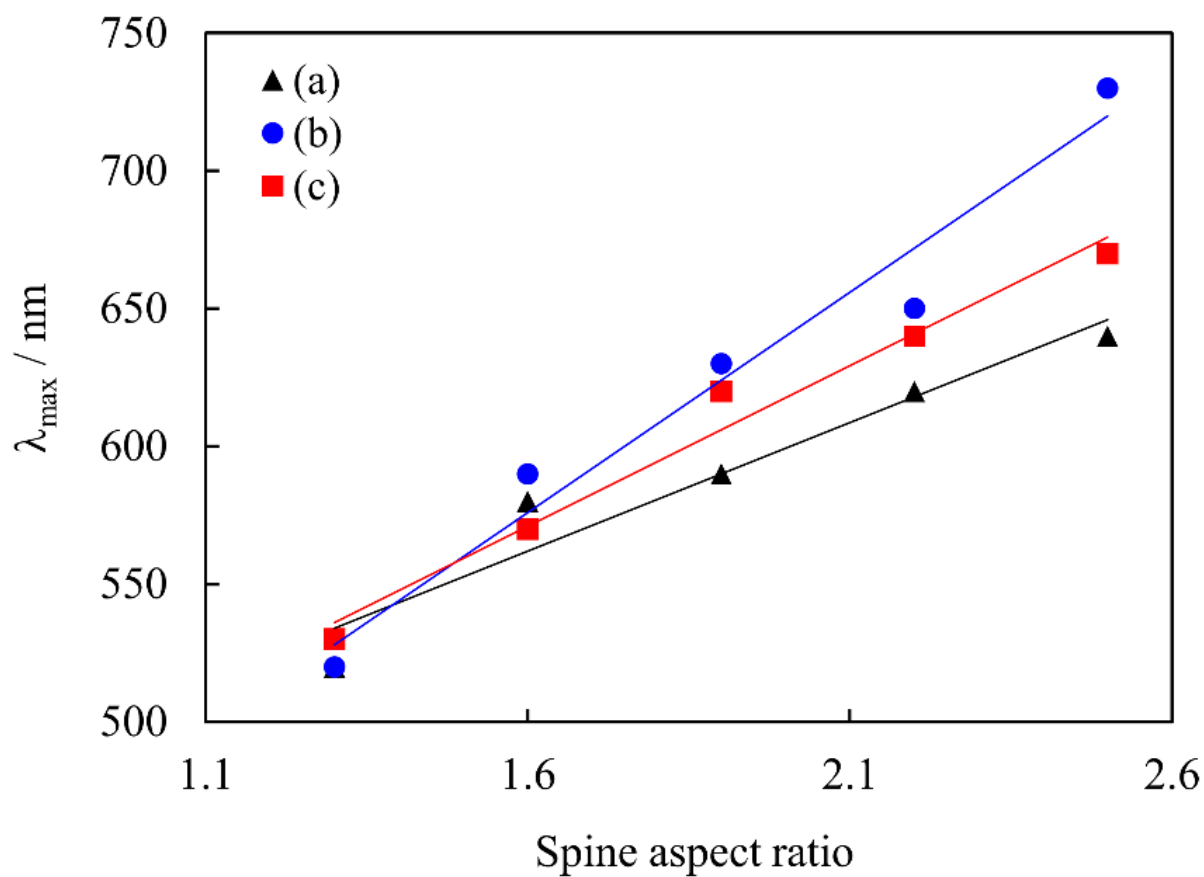


Figure 4-11 $\lambda_{\max}$ のアスペクト比依存性 ; (a) ss8、(b) ss12、(c) ss20

Figure 4-12 に、ナノ粒子によって誘起された電界の強度分布を示す。励起光の波長は $\lambda_{\max}$ に設定し計算をした。ss8_1.9には590 nm、ss8_2.2には620 nm、ss8_2.5には640 nm、ss12_1.9には630 nm、ss12_2.2には650 nm、ss12_2.5には730 nm、ss20_1.9には620 nm、ss20_2.2には640 nm、ss20_2.5には670 nmの光を入射させた。電界はコア部分ではほとんど誘起されないが、棘の先端部分では強く励起される。棘の本数が同じモデルを比較すると、棘のアスペクト比が大きいほど、電界が強く誘起されることが明らかになった。さらに、同じアスペクト比のモデルを比較すると誘起された電場強度はss12が最も大きく、その次にss20が大きいという結果であった。従ってナノ粒子に誘起される電場強度はss12が最もアスペクト比の影響を受ける。これはアスペクト比と $\lambda_{\max}$ の関係と一致した。

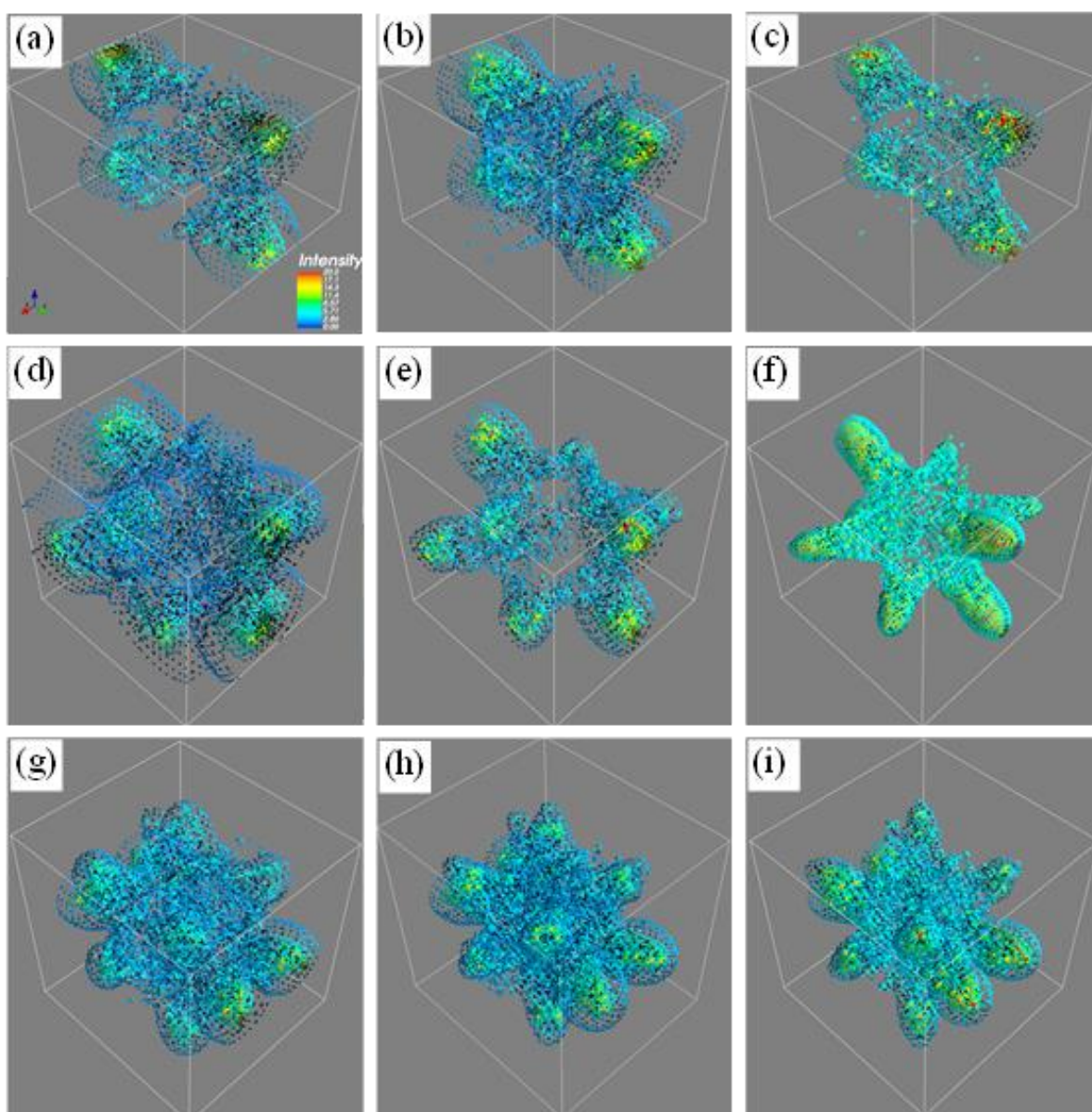


Figure 4-12 ナノ粒子によって誘起された近接場 ; (a) ss8_1.9 に対し 590 nm の光入射、(b) ss8_2.2 に対し 620 nm の光入射、(c) ss8_2.5 に対し 640 nm の光入射、(d) ss12_1.9 に対し 630 nm の光入射、(e) ss12_2.2 に対し 650 nm の光入射、(f) ss12_2.5 に対し 730 nm の光入射、(g) ss20_1.9 に対し 620 nm の光入射、(h) ss20_2.2 に対し 640 nm の光入射、(i) ss20_2.5 に対し 670 nm の光入射

4.3.3 異なる Au/Ag 比で合成された星型 Au-Ag ナノ粒子の分析

Figure 4-13 に、合成した直後のナノ粒子コロイド溶液の外観を示す。金属イオン濃度を 220 mM に固定し、Au / Ag 比を減少（Ag 量を増加）させると、LSPR や特定の入射光の吸収と反射により、赤、藍、青緑、青紫、紫と色が変化する。

Figure 4-14 に作製したナノ粒子コロイド溶液の紫外可視吸収スペクトルを示し、Table 4-6 にコロイド溶液の $\lambda_{\max}$ とピークの半値幅を示す。一般に、Au コロイド溶液の色はナノ粒子の大きさに依存し、粒子サイズが 40 nm から 100 nm と大きくなるほど、 $\lambda_{\max}$ は 520 nm から 570 nm に赤方偏移する [21]。一方、Au ナノロッドは、光を長軸方向に入射した場合と短軸方向に入射した場合で異なる LSPR を示し、長軸方向に光を入射させたとき吸収スペクトルの最大値は 600 nm 以上を示す [22]。Au / Ag 比が 20/2 までのコロイド溶液では、 $\lambda_{\max}$ は 668 nm へと長波長側にシフトしていたが、Ag 比がさらに増加すると短波長側にシフトし、Ag 量により吸収波長が制御されることが明らかになった。AuAgNS の色調変化は、これまでの報告 [23, 24] と一致した。注目すべきは、Au ナノ粒子の半値幅が 62 nm と最も狭く、Ag の添加により半値幅が広くなる傾向にあり、これは粒度分布が広くなることに相関すると考えられる。

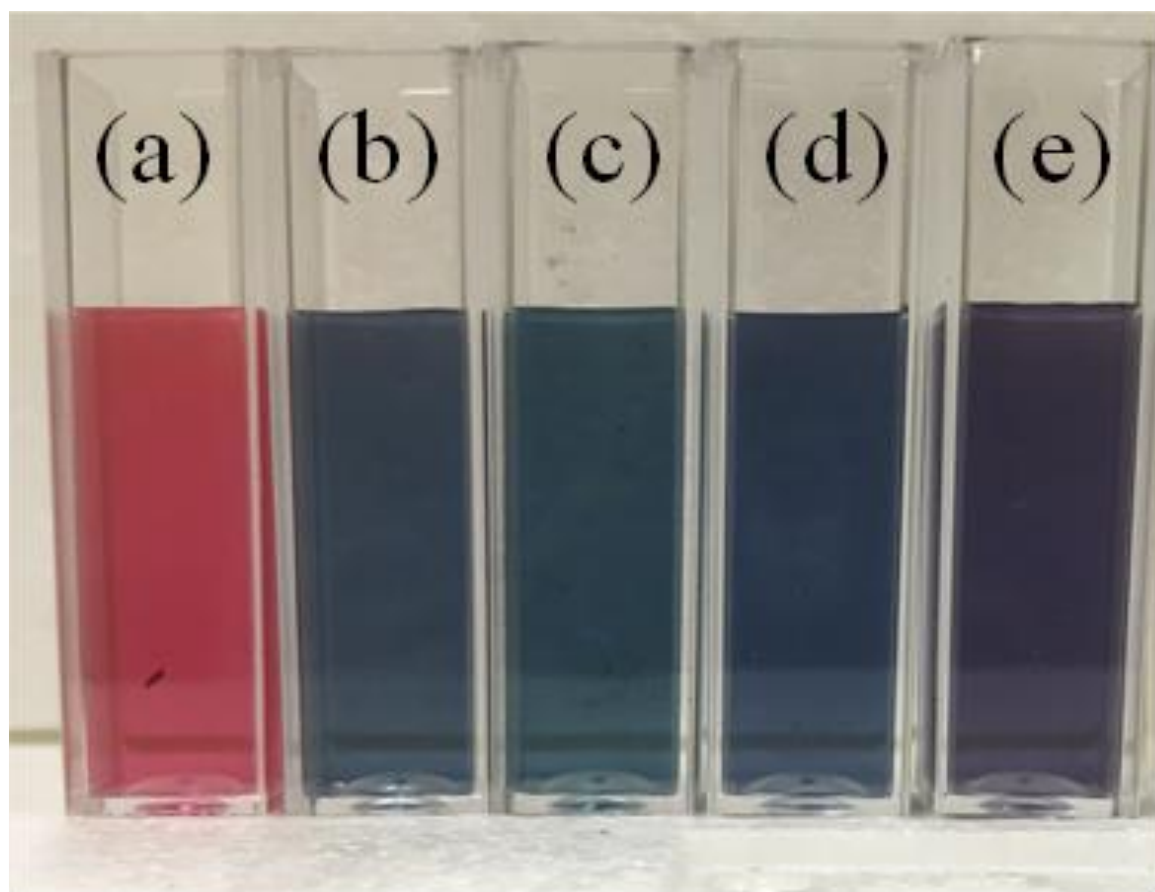


Figure 4-13 Au/Ag 比による外観の違い;
(a) Au₂₂、(b) Au₂₁Ag₁、(c) Au₂₀Ag₂、(d) Au₁₈Ag₄、(e) Au₁₅Ag₇

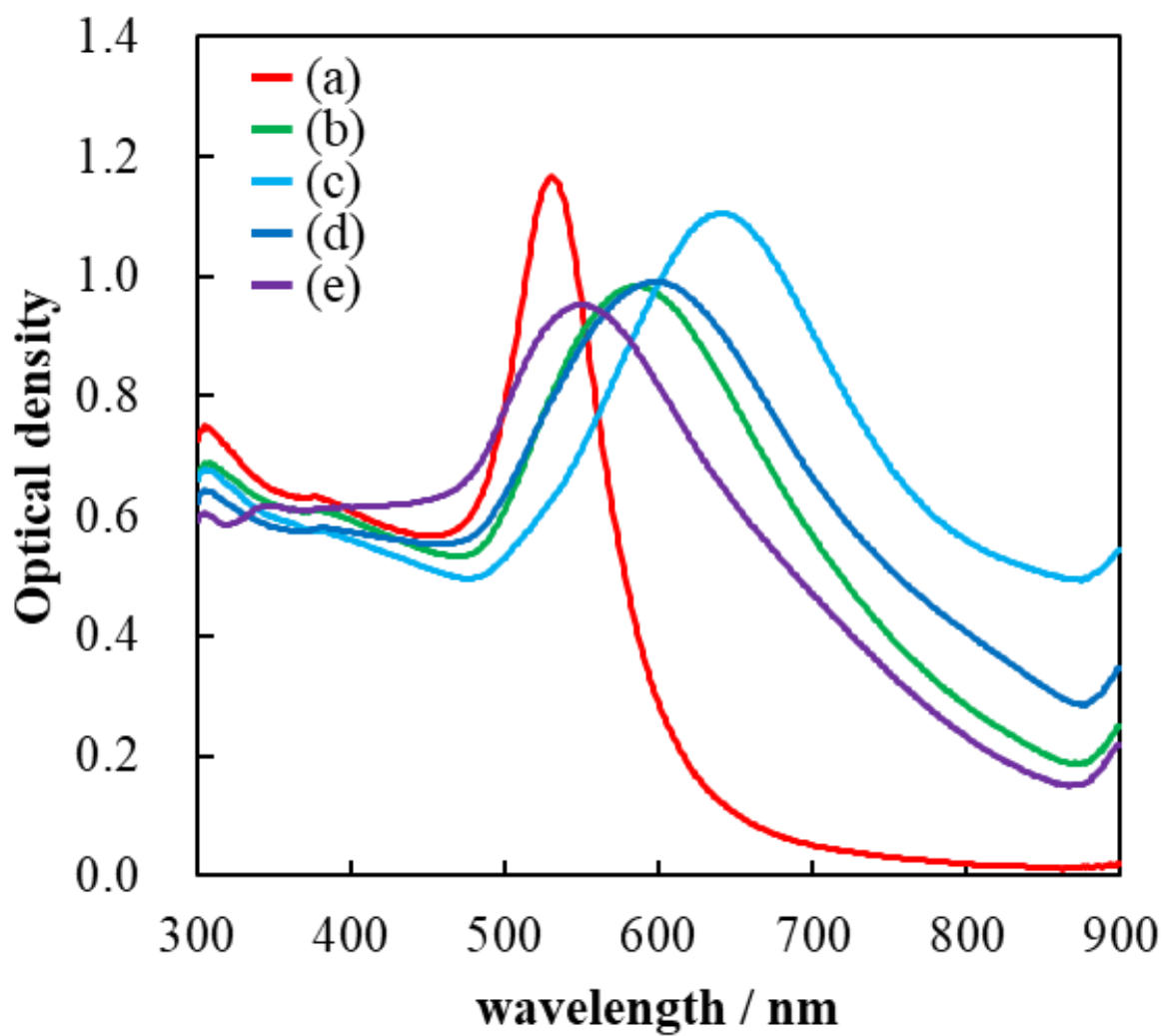


Figure 4-14 異なる Au/Ag 比の AuAgNS の吸収スペクトル;
 (a) Au22、(b) Au21Ag1、(c) Au20Ag2、(d) Au18Ag4、(e) Au15Ag7

Table 4-6 AuAgNS の $\lambda_{\max}$ と半値幅

Sample name	$\lambda_{\max}$ nm	半値幅 nm
Au22	536	62
Au21Ag1	622	192
Au20Ag2	668	158
Au18Ag4	630	140
Au15Ag7	620	208

Figure 4-15 は DLS で測定した、合成したナノ粒子の粒度分布を示し、Table 4-7 はナノ粒子の流体力学的直径と多分散性 (p.d.) をまとめたものである。調製時の Au と Ag の濃度を 220 mM に固定したため、ナノ粒子の平均粒径は約 100 nm でほぼ一定であった。このことは、調製したナノ粒子の $\lambda_{\max}$ の変化が粒子径に起因していないことを意味する。

吸収スペクトルの半値幅が 62 nm である Au22 は 0.268 と小さな p.d. を有していた。Au20Ag2 の p.d. は 0.257 と Au22 よりも小さい値を示した。これは Au20Ag2 の粒度分布が狭いことを意味しており、この合成系において比較的均一なナノ粒子が合成できていることが示唆された。一方、吸収スペクトルの半値幅が 192 nm と 208 nm と大きい値を示した Au21Ag1 と Au15Ag7 の p.d. は 0.395 と 0.339 であり 0.3 以上となっていた。従って、AuAgNS の吸収スペクトルの半値幅は粒度分布の影響を受けることが示唆された。

Table 4-7 Au/Ag 濃度を 220 mM に固定して合成された AuAgNS の粒度分布

試料名	流体力学的直径 nm	第一四分位数 nm	中央値 nm	第三四分位数 nm	p.d.
Au22	104 ± 36	79.5	93.5	129	0.268
Au21Ag1	98.5 ± 50	63.7	87.7	121	0.395
Au20Ag2	104 ± 38	77.1	90.6	125	0.257
Au18Ag4	102 ± 51	64.0	88.2	121	0.308
Au15Ag7	116 ± 58	69.8	96.8	134	0.339

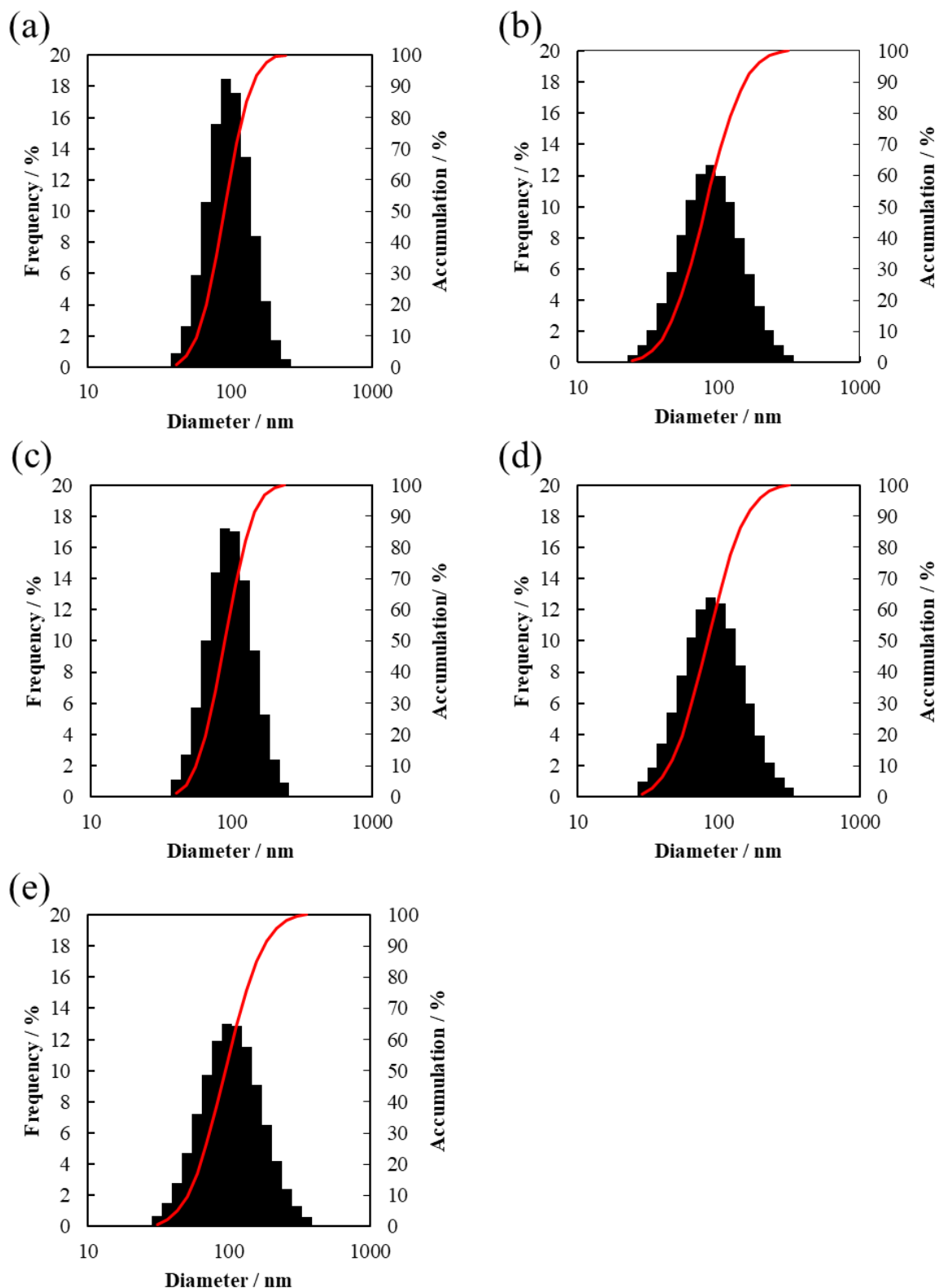


Figure 4-15 Au/Ag 濃度を 220 mM に固定して合成された AuAgNS の粒度分布;
(a) Au、(b) Au₂₁Ag₁、(c) Au₂₀Ag₂、(d) Au₁₈Ag₄、(e) Au₁₅Ag₇

Figure 4-16 に示すように、AA の還元反応を利用して合成したナノ粒子の形状や形態は、金属イオン濃度が 220 mM で一定であれば、 Au^{3+} と Ag^+ のモル比によって明らかに変化することが確認された。 Ag^+ イオンを添加しない場合、Au ナノ粒子は準球状であり、その半径は $32.3 \pm 6.0 \text{ nm}$ ($n = 10$) であった。一方、Au/Ag ナノ粒子はいずれも三次元的に棘状構造が成長した星型ナノ粒子であった。

Table 4-8 に Au/Ag 比と画像解析から式 (4-13) によって算出したアスペクト比の関係性を示す。棘のアスペクト比は Au21Ag1 が 1.55 ± 0.17 、Au20Ag2 が 1.90 ± 0.31 、Au18Ag4 が 1.81 ± 0.31 、Au15Ag7 が 1.62 ± 0.15 であった。特に Au20Ag2 が大きなアスペクト比の棘を有していた。Ag 量が増えるにつれてアスペクト比は増加したが、Au20Ag2 を境に Ag 量の増加によりアスペクト比は減少した。この傾向は、各試料の λ_{max} における傾向と一致する。したがって、 λ_{max} は棘のアスペクト比に依存することを明らかとした。

r_{core} は Au21Ag1 が $24.4 \pm 3.9 \text{ nm}$ 、Au20Ag2 が $28.0 \pm 6.5 \text{ nm}$ 、Au18Ag4 が $20.6 \pm 3.2 \text{ nm}$ 、Au15Ag7 が $20.7 \pm 5.3 \text{ nm}$ ($n = 10$) であった。 r_{core} は Ag 量の増加と共に小さい値となった。第 2 章で明らかにしたように、 Ag^+ 存在下で AA による Au^{3+} の還元によって合成された AuAgNS の成長機構は Ag の低電位析出 (UPD) が寄与している。Ag の UPD は高次の結晶面の安定化とその方向への成長抑制効果がある。従って Ag 量の増加による r_{core} の減少は Ag の UPD によりコアの成長が抑制されたと考えられる。

Table 4-8 異なる Au/Ag 比で合成された AuAgNS のコアサイズと棘の長さのアスペクト比

試料名	r_{core} nm	L_{spine} nm	アスペクト比
Au	32.3 ± 6.0		
Au21Ag1	24.4 ± 3.9	37.7 ± 5.7	1.55 ± 0.17
Au20Ag2	28.0 ± 6.5	52.6 ± 11.3	1.90 ± 0.31
Au18Ag4	20.6 ± 3.2	37.0 ± 6.3	1.81 ± 0.31
Au15Ag7	20.7 ± 5.3	33.1 ± 6.3	1.62 ± 0.15

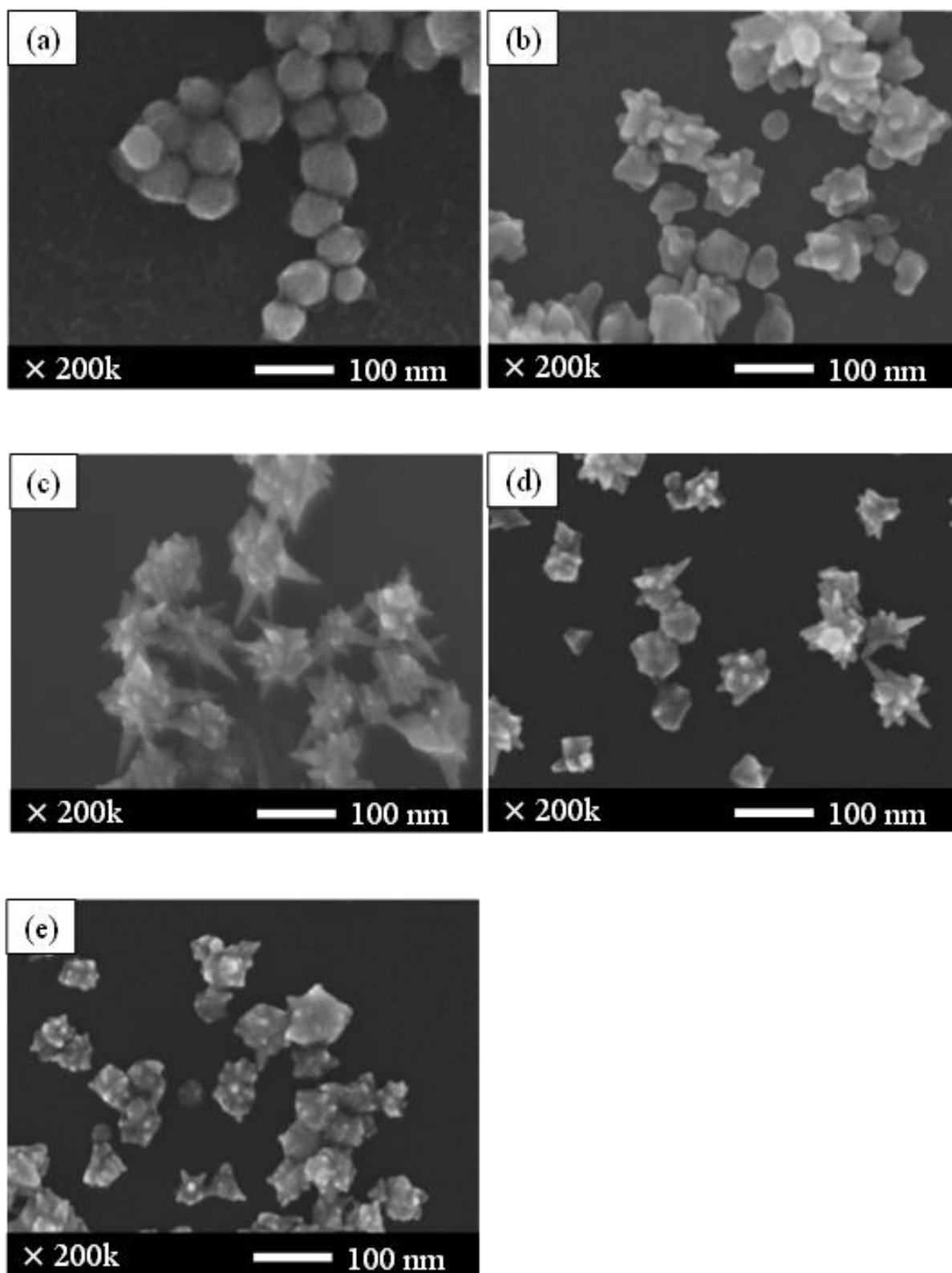


Figure 4-16 異なる Au/Ag 比で合成された AuAgNS の FE-SEM 像 ;
 (a) Au₂₂, (b) Au₂₁Ag₁, (c) Au₂₀Ag₂, (d) Au₁₈Ag₄, (e) Au₁₅Ag₇

4.3.4 離散双極子近似による星型 Au-Ag ナノ粒子の形態評価

DDA で算出した Q_{abs} と UV-vis による吸光度の形状について比較検討した。Figure 4-17 に測定した UV-vis と良い一致を示したモデルの Q_{abs} を示す。その結果、Au では半径 50 nm の球体、Au21Ag1 では ss12_2.2、Au20Ag2 では ss20_2.2、Au18Ag4 では ss20_2.0、Au15Ag7 では ss20_1.9 であった。ナノ粒子によっては、吸光度と Q_{abs} との間に違い（差）がある。実際のナノ粒子は完全な球状ではないため、Au の吸光度が 20 nm 程度だけ赤方偏移していた。ナノ粒子の吸光度は形態に敏感であるため、このような違いが生じたと考えられる。Au20Ag2 はかなり良い一致を示したが、Au21Ag1 と Au18Ag4、Au15Ag7 は吸光度に比べて Q_{abs} の幅が明らかに狭かった。この違いの原因は、DLS で測定した多分散性 (p.d.) によるものである。Au21Ag1、Au18Ag4、Au15Ag7 の p.d. は 0.3 より大きいため、直径の異なるナノ粒子の存在が影響していると考えられる。

そこで、Figure 4-18 に粒度分布を考慮した比較結果を示す。なお、データの補正には、箱ひげ図として既知の第一四分位数、中央値、第三四分位数の直径を使用した。DLS の結果から求めた第一四分位数、中央値、第三四分位数の直径を DDA の r_{eff} として設定し、得られた Q_{abs} を DLS の頻度で重みづけすることで補正後の Q_{abs} を求めた。Figure 4-18 は、 λ_{max} の強度で規格化した吸光度と Q_{abs} である。また、一致度を検討するために R^2 を算出した。Table 4-9 に補正前と補正後の R^2 を示す。その結果、補正前の R^2 は ss12_2.2 で 0.572、ss20_2.2 で 0.881、ss20_2.0 で 0.314、ss20_1_9 で 0.00473 だったが、補正により 0.706、0.902、0.552 および 0.140 に増加した。P.d. が 0.3 以下の Au20Ag2 は補正前でも大きい R^2 を示した。一方で P.d. が 0.3 以上の試料では補正することによって R^2 が大きく向上した。したがって、これらのナノ粒子では、異なる粒子径をもつ粒子が吸収波長の半値幅に寄与したと考えられる。また、補正が十分でない試料には、棘のアスペクト比の異なる粒子が混在していることが示唆された。さらに、今回の計算したモデルは Au のみで構成されていると仮定したため、Ag の元素分布をモデルに取り入れることで、更なる R^2 の向上が期待できる。

Table 4-10 は、FE-SEM 像と DDA で計算したモデルのアスペクト比を比較した結果である。特に、Au20Ag2 と Au18Ag4 はアスペクト比の一致度が高く、正確に DDA による計算結果からも実際の形態を規定できることを明らかとした。

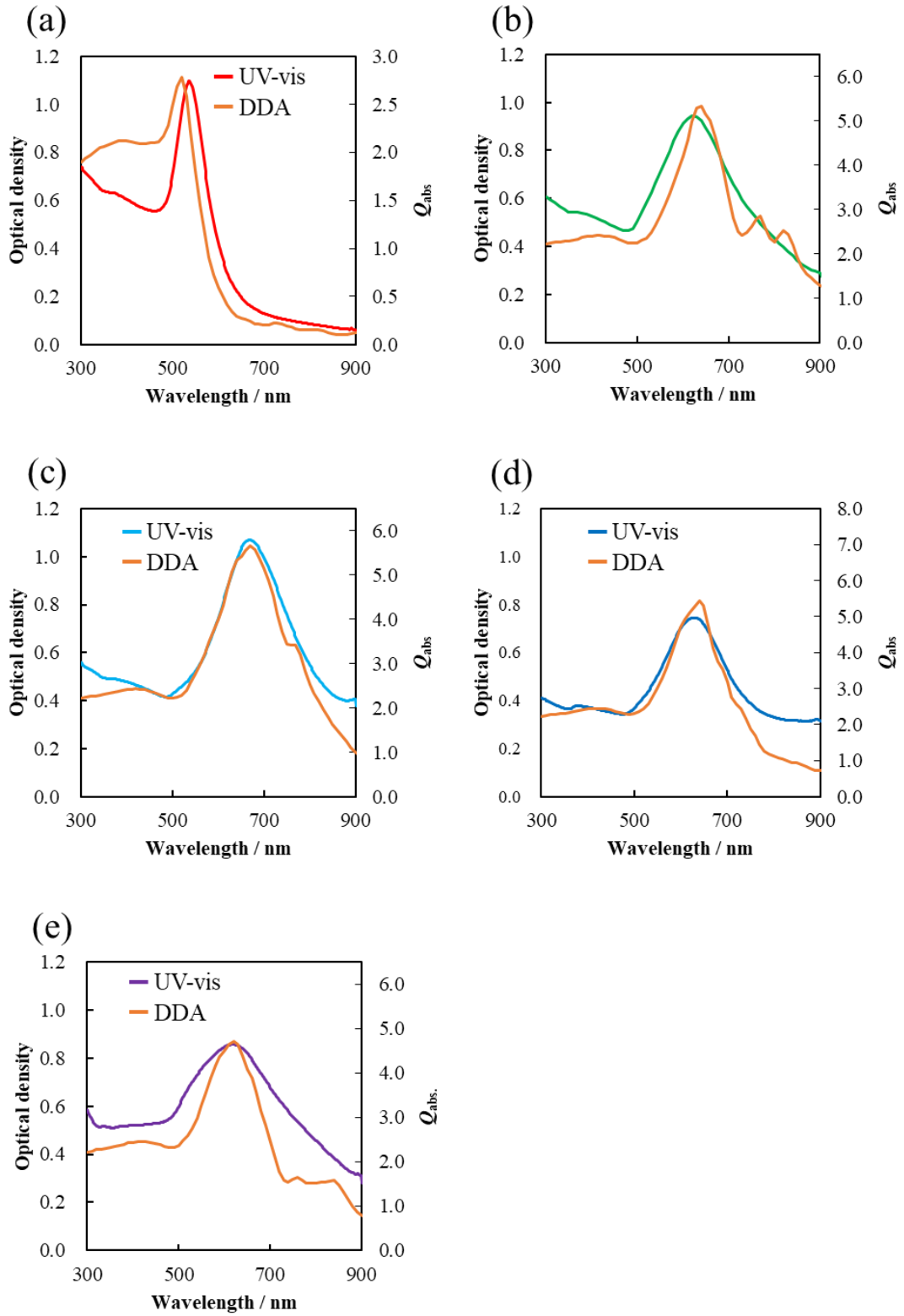


Figure 4-17 吸収スペクトルと DDA で求めた Q_{abs} の比較 ; (a) Au – sphere、
(b) Au₂₁Ag₁ - ss12_2.2、(c) Au₂₀Ag₂ - ss20_2.2、(d) Au₁₈Ag₄ - ss20_2.0、(e) Au₁₅Ag₇ - ss20_1.9

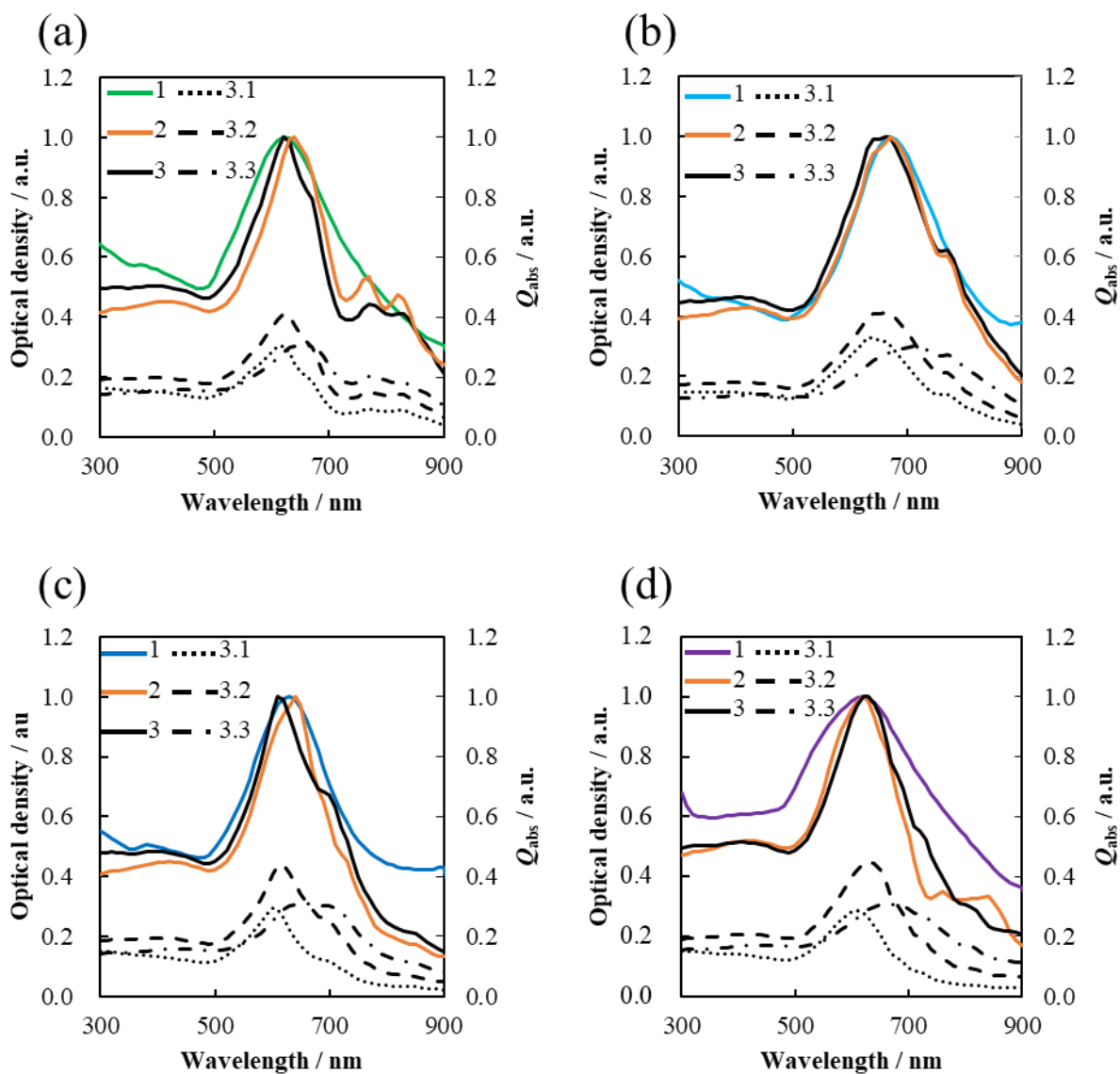


Figure 4-18 粒度分布によって補正した Q_{abs} と吸収スペクトルの比較 ; (a) Au21Ag1、(b) Au20Ag2、(c) Au18Ag4、(d) Au15Ag7、スペクトル 1: 吸収スペクトル、スペクトル 2: 補正前の Q_{abs} 、スペクトル 3: 補正後の Q_{abs} 、スペクトル 3.1: 粒形の第一四分位数から計算した Q_{abs} 、スペクトル 3.2: 粒形の中央値から計算した Q_{abs} 、スペクトル 3.3: 粒形の第三四分位数から計算した Q_{abs}

Table 4-9 AuAgNS の吸収スペクトルと DDA で計算した Q_{abs} の補正前後の R^2

	Au	Au21Ag1	Au20Ag2	Au18Ag4	Au15Ag7
補正前の R^2	0.717	0.572	0.881	0.314	0.00473
補正後の R^2		0.691	0.901	0.552	0.140

Table 4-10 FE-SEM 像の解析結果と DDA で決定したモデルの比較

	FE-SEM	本数	DDA
	アスペクト比		アスペクト比
Au		0	1.0
Au21Ag1	1.55 ± 0.17	12	2.0
Au20Ag2	1.90 ± 0.31	20	2.2
Au18Ag4	1.81 ± 0.31	20	2.0
Au15Ag7	1.62 ± 0.15	20	1.9

4.3.5 離散双極子近似による花型 Au-Ag ナノ粒子の形態評価

Model_1 の Q_{ext} の波長依存性と円盤のアスペクト比を変更した model_2 の Q_{ext} の波長依存性の計算結果を Figure 4-19 (a) に示す。model 2 については、[100] と [110] から入射した場合について計算した。DDA 計算の結果、model_1 は 640 nm に λ_{max} を示し、850 nm と 1050 nm 付近にもピークが確認された。model2_2 は、[100] から入射した場合は 690 nm に λ_{max} を示し、[110] から入射した場合は 710 nm 付近にブロードなピークを示すナノ粒子であることが明らかになった。同様に model2_3 は、[100] から入射した場合は 760 nm に λ_{max} を示し、[110] から入射した場合は 800 nm 付近にブロードなピークを示すナノ粒子であった。model_2 の計算では、その円盤状の構造が NIR 光と共鳴していることが示唆された。また、円盤のアスペクト比を変えることで、光の入射方向に関わらず共鳴波長が赤方偏移を起こすことも明らかになった。しかし、アスペクト比を 3 まで増加させても、NIR-II 領域に吸収はなく、アスペクト比を変更したモデルは合成した花型ナノ粒子の消光スペクトルとは異なることを示唆している。

Figure 4-19 (b) は、ディスクの高さが異なる model 3 において、[110] から光が入射した場合の消光スペクトルを示している。モデル 3_h0.9 の消光スペクトルは、モデル 3_h1.0 と比較して 630 nm 付近のピークにほとんど変化はないが、930 nm のピークはわずかに赤方偏移して 950 nm となり、1200 nm にもピークが現れる。高さを 0.8 まで薄くすると、630 nm と 1200 nm にピークがあらわれ、ピーク数は減少した。一方、高さ 2.0 以上のモデルでは、740 nm に大きなピークが現れ、NIR 領域にはピークが現れない。これらの結果は、円盤の高さが NIR 領域の LSPR に大きな影響を与え、高さを変更することで任意の波長で LSPR を生成できることを示唆している。

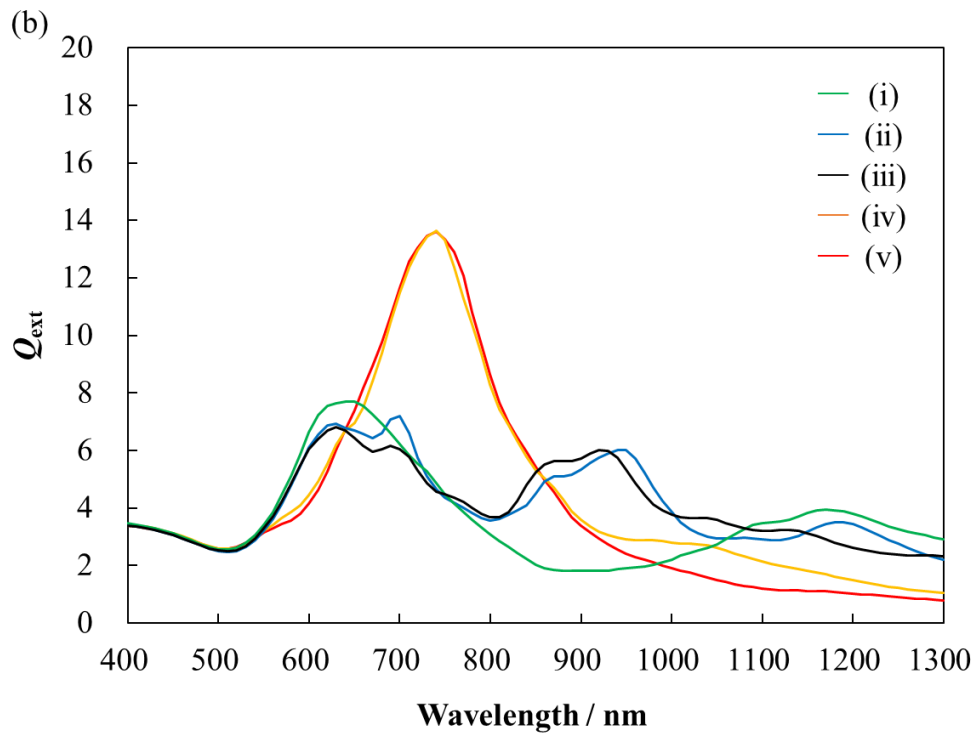
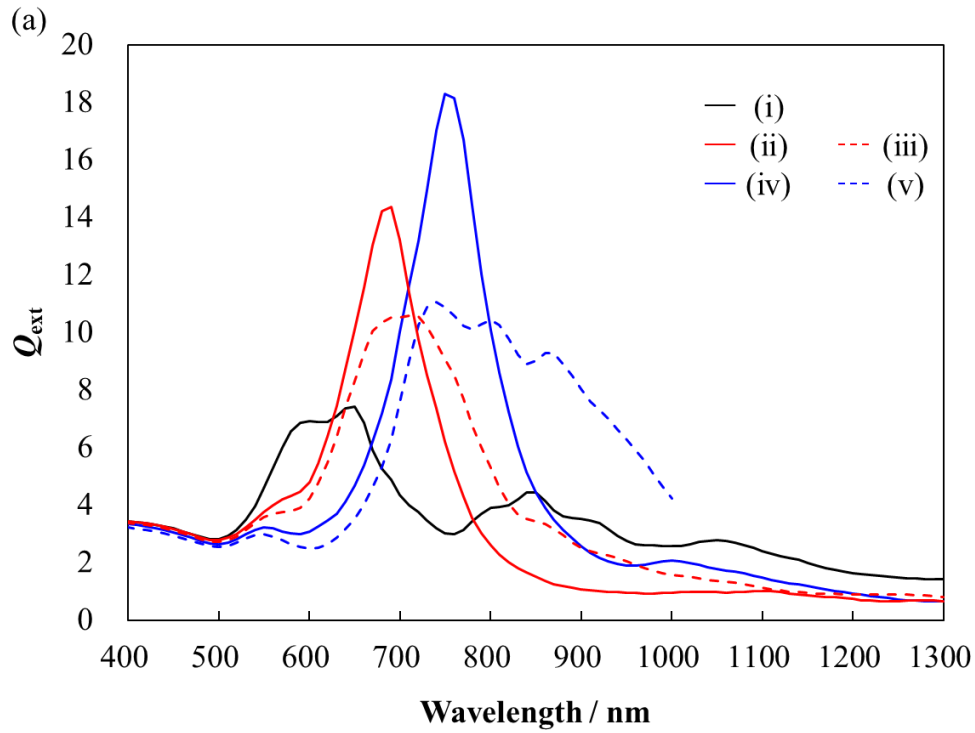


Figure 4-19 DDA によって計算された Q_{ext} ; (a) 円盤のアスペクト比の変化による Q_{ext} の変化 ; (i) model 1、(ii) model 2_2 に[100]から入射、(iii) model 2_2 に[110]から入射、(iv) model 2_3 に[100]から入射、(v) model 2_3 に[110]から入射、(b) 円盤の高さの違いによる Q_{ext} の変化 ; (i) model 3_h0.8、(ii) model 3_h0.9、(iii) model 3_h1.0、(iv) model 3_h1.5、(v) model 3_h2.0

ナノ粒子の吸収スペクトルは光の電場の偏向に依存する。例えば、金ナノロッドの吸収は縦モードと横モードの2つのピークを示すことが報告されている [25]。そのため、入射方向を変えて計算した結果を重み付けして加算することで、実際の吸収スペクトルを予測することができる。Figure 4-20は、入射方向を変えて計算した model3_h0.9 の消光スペクトルと、吸収スペクトルの実測値を示している。モデルの対称性を考慮して、光の入射方向は [100]、[110]、[111] に選択されている。等価な方向の比は [100]:[110]:[111]=6:12:8 であり、これらの値を乗じて加算することで合成後の吸収スペクトルを得た。[100] 方向から入射した光の消光スペクトルは 600~1000 nm にかけてブロードなピークを示したのに対し、[111] 方向から入射した光の消光スペクトルは NIR 領域にブロードなピークを示した。導出された合成後のスペクトルは、800 nm 以上の NIR 領域で合成した C400/40—の吸収スペクトルとよく一致しており、合成した花型ナノ粒子の計算モデルが部分的に成功したことを示唆している。700 nm 付近の不一致は、計算モデル特有の円盤の交差構造によるものであり、計算モデルを調整することで、より吸収スペクトルと一致する消光スペクトルを生成できる可能性がある。

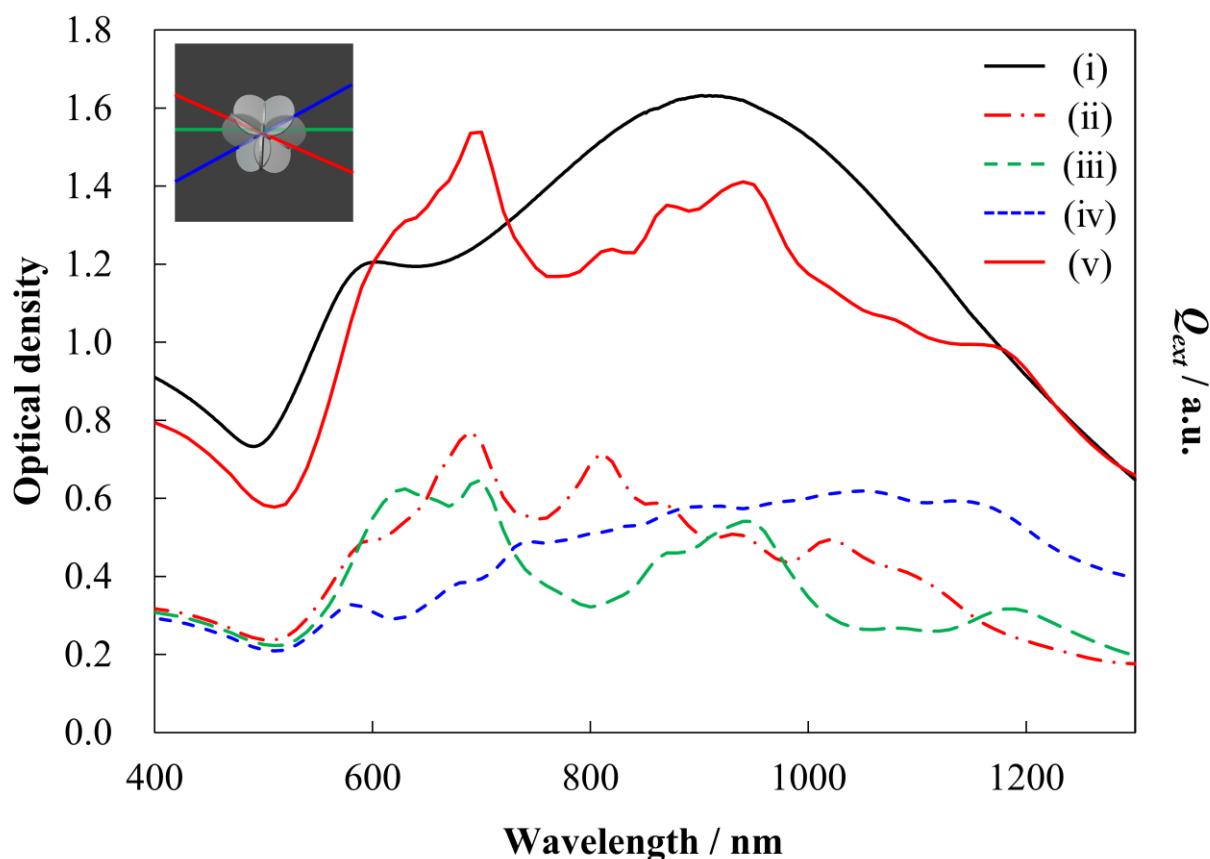


Figure 4-20 モデルの対称性から合成した Q_{abs} と吸収スペクトルの比較 ; (i) 吸収スペクトル, (ii) [100]から入射した時の Q_{abs} 、(iii) [110] から入射した時の Q_{abs} 、(iv) [111] から入射した時の Q_{abs} 、(v) 合成後の Q_{abs}

model 3_h0.9 において $[110]$ 方向から光が入射した場合の消光スペクトルのピークに対して構造を帰属するため、ピーク波長での電場を計算した。Figure 4-21 は、630 nm、950 nm、1200 nm の入射光に対する電場分布を示している。630 nm では、電場は表面全体に励起され、特に強い電場は円盤同士の交差部位に分布していた。950 nm の光が入射した場合、電場は 630 nm よりも強く、特に偏向方向のディスクの端に沿って誘起された。1200 nm の光入射時は、630 nm と 950 nm の光入射時よりもナノ粒子表面に誘起された電場は弱い、偏向方向のディスクの端では他の条件よりも強く誘起された。異なる波長での電場分布の違いは、構造によって LSPR 波長を調整できることを示しており、平板構造は NIR-II 領域での LSPR に有利であることが示唆された。さらに、可視光によるナノ粒子全体にわたる電場の励起は表面増強ラマン散乱 (SERS) に有効であり、以前に報告された[26] 花形ナノ粒子の SERS 増強能の向上の要因であると考えられる。

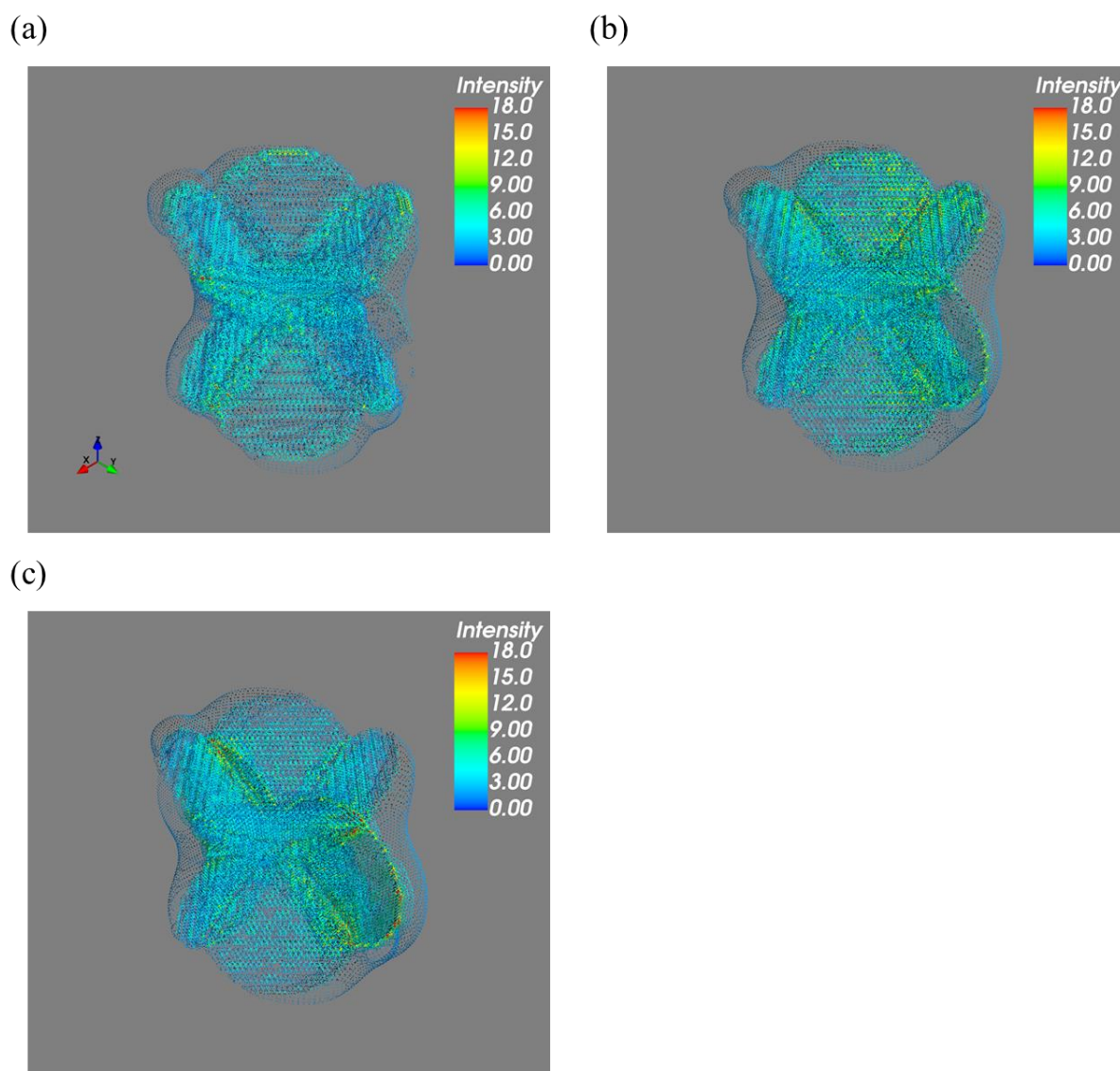


Figure 4-21 (a) 630 nm、(b) 950 nm、(c) 1200 nm の光入射時に誘起された電場分布

DDA の計算結果から AuAgNF の成長機構を推測することが可能である。合成した C400/40 の吸収スペクトルと model 3_h0.9 の Q_{ext} は NIR 領域において一致する傾向を示した。model 3_h0.9 はシードの AuNC の面方向の成長が限りなく抑制され、辺方向にのみナノ粒子が成長すると仮定した計算モデルである。従ってこのモデルの円盤構造の平面の結晶面は $\{110\}$ であり、C400/40 の平板構造の結晶面が $\{110\}$ であることが示唆される。つまり、AuNC から AA の還元反応によって合成された C400/40 は Ag の低電位析出 (UPD) によって $\{110\}$ の安定化と $\{110\}$ 上での成長抑制によって平板構造が組み合わさった花型構造へと成長したと考えられる。Ag の UPD 時の結晶面選択性はこれまで報告されており、 $\{110\}$ が $\{100\}$ や $\{111\}$ に対して優位に UPD が生じ安定化される。

更に、第 3 章で明らかにした C400/40 の 980 nm のレーザー照射時の光熱変換効率が $17.28 \pm 1.4\%$ と低い値であった理由を r_{eff} が小さい条件で DDA 計算を実行することで考察した。に r_{eff} が 20、30、40、50 nm の時の 980 nm における Q_{abs}/Q_{ext} を示す。 Q_{abs}/Q_{ext} は r_{eff} が小さくなるにつれて大きい値を示した。これは NIR 領域に吸収を持つ AuNF 固有の課題である AuNF の低い Q_{abs}/Q_{ext} は粒子径を小さくすることで解決できることを意味する。

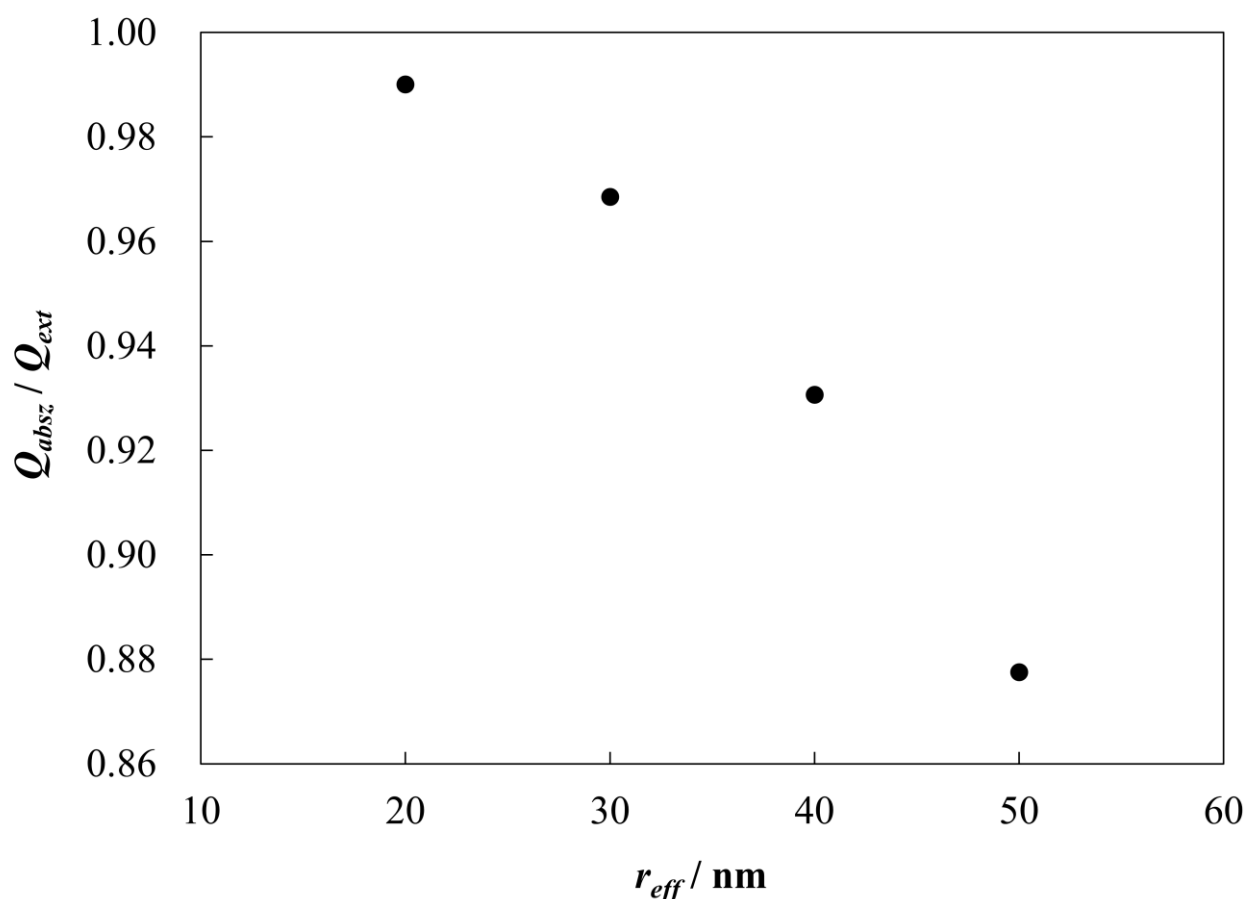


Figure 4-22 Q_{abs}/Q_{ext} の r_{eff} 依存性

4.4 結言

Au / Ag 比を変えることで、棘のアスペクト比を制御した星型 Au-Ag ナノ粒子を合成することができた。星型 Au-Ag ナノ粒子の形態を同定するために DDA を選択して Q_{abs} を算出し、合成したナノ粒子の UV-vis スペクトルと比較検討を行った。その結果、FE-SEM と DLS の測定結果をもとに DDA により計算することで、星型 Au-Ag ナノ粒子の棘は球の周りに成長した 3 次元的な対称性を含んだ形態をとることを明らかとした。さらに、ナノ粒子の光学応答性は棘のアスペクト比に起因することが分かり、アスペクト比を制御することで光学特性を操作・改善できることが示唆された。

シードから合成した花型 Au-Ag ナノ粒子の FE-SEM 像から構築した計算モデルに対して DDA での計算を実行することで NIR 領域の吸収スペクトルが平板構造に起因することを明らかにした。さらに Q_{ext} に対する Q_{abs} は粒子サイズに依存していることが明らかとなり、サイズの調整により光熱変換効率が向上することが示唆された。

- [1] Barber, P. W., Chang, R. K., & Massoudi, H. Surface-enhanced electric intensities on large silver spheroids. *Physical Review Letters*, **50**(13), 997–1000. (1983). <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.50.997>
- [2] E. M. Purcell and C. R. Pennypacker. Scattering and absorption of light by nonspherical dielectric grains. *Handbook of Surface and Colloid Chemistry, Second Edition*, **186**(Astrophys.), 705–714. (1973). <https://doi.org/10.1201/9781420040944>
- [3] Draine, B. T., & Flatau, P. J. Discrete-dipole approximation for scattering calculations. *Journal of the Optical Society of America A*, **11**(4), 1491. (1994). <https://doi.org/10.1364/josaa.11.001491>
- [4] Draine, B. T., & Flatau, P. J. Discrete-dipole approximation for periodic targets: theory and tests. *Journal of the Optical Society of America A*, **25**(11), 2693. (2008). <https://doi.org/10.1364/josaa.25.002693>
- [5] Flatau, P. J., & Draine, B. T. Fast near field calculations in the discrete dipole approximation for regular rectilinear grids, **20**(2), 1247–1252. (2012). <https://doi.org/10.1016/j.jqsrt.2011.01.031>
- [6] Hassan, N. A., & Hashim, A. M. The effect of size of Au nanodisc on the localized surface plasmon resonance simulated using finite-difference time-domain (FDTD) method. *Materials Today: Proceedings*, **7**, 607–611. (2019). <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2018.12.014>
- [7] Lopatynska, O. G. Localized surface plasmon resonance in Au nanoprisms on glass substrates. *Semiconductor Physics Quantum Electronics and Optoelectronics*, **18**(4), 410–415. (2015). <https://doi.org/10.15407/spqeo18.04.410>
- [8] Yi, Z., Liu, M., Luo, J., Xu, X., Zhang, W., Yi, Y., ... Tang, Y. Optical properties and local electromagnetic field enhancement of periodic rectangular nanohole arrays in Au-Interlayer-Au multilayer films. *Plasmonics*, **12**(6), 1929–1937. (2017). <https://doi.org/10.1007/s11468-016-0464-2>
- [9] Yan, B. xin, Zhu, Y. ying, Wei, Y., & Pei, H. Study on surface enhanced Raman scattering of Au and Au@Al₂O₃ spherical dimers based on 3D finite element method. *Scientific Reports*, **11**(1), 1–8. (2021). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-87997-z>
- [10] Huang, H. H., Zhang, Y., Liu, X. S., Luo, X. F., Yuan, C. L., & Ye, S. L. Strain distributions of confined Au/Ag and Ag/Au nanoparticles. *Chinese Physics B*, **24**(4). (2015). <https://doi.org/10.1088/1674-1056/24/4/047803>
- [11] McMahon, J. M., Henry, A. I., Wustholz, K. L., Natan, M. J., Freeman, R. G., Van Duyne, R. P., & Schatz, G. C. Gold nanoparticle dimer plasmonics: Finite element method calculations of the electromagnetic enhancement to surface-enhanced raman spectroscopy. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **394**(7), 1819–1825. (2009). <https://doi.org/10.1007/s00216-009-2738-4>
- [12] Szántó, G., Csarnovics, I., & Bonyár, A. Numerical investigation of the refractive index sensitivity of Au/Ag core-shell nanostructures for sensing applications. *Sensing and Bio-Sensing Research*, **32**. (2021). <https://doi.org/10.1016/j.sbsr.2021.100414>
- [13] Zalaffi, M. S., Litti, L., Canton, P., Meneghetti, M., Moretto, L. M., & Ugo, P. Preparation and characterization of Ag-nanostars@Au-nanowires hierarchical nanostructures for highly sensitive surface enhanced Raman spectroscopy. *Nano Express*, **1**(2), 020006. (2020). <https://doi.org/10.1088/2632-959x/aba104>

- [14] Schletz, D., Schultz, J., Potapov, P. L., Steiner, A. M., Krehl, J., König, T. A. F., ... Fery, A. Exploiting combinatorics to investigate plasmonic properties in heterogeneous Ag-Au nanosphere chain assemblies. *Advanced Optical Materials*, **9**(9). (2021). <https://doi.org/10.1002/adom.202001983>
- [15] Okamoto, T., Kajikawa, K. Plasmonics. *Kodansha Ltd.* (2010).
- [16] Cheng, L. C., Huang, J. H., Chen, H. M., Lai, T. C., Yang, K. Y., Liu, R. S., ... Tsai, D. P. Seedless, silver-induced synthesis of star-shaped gold/silver bimetallic nanoparticles as high efficiency photothermal therapy reagent. *Journal of Materials Chemistry*, **22**(5), 2244–2253. (2012). <https://doi.org/10.1039/c1jm13937a>
- [17] Hao, F., Nehl, C. L., Hafner, J. H., & Nordlander, P. Plasmon resonances of a gold nanostar. *Nano Letters*, **7**(3), 729–732. (2007). <https://doi.org/10.1021/nl062969c>
- [18] Hao, E., Bailey, R. C., Schatz, G. C., Hupp, J. T., & Li, S. Synthesis and Optical Properties of “Branched” Gold Nanocrystals. *Nano Letters*, **4**(2), 327–330. (2004). <https://doi.org/10.1021/nl0351542>
- [19] Johnson, P. B., & Christy, R. W. Optical Constants of the Noble Metals. *Phys. Rev. B*, **6**(12), 4370–4379. (1972).
- [20] Amendola, V., Pilot, R., Frasconi, M., Maragò, O. M., & Iati, M. A. Surface plasmon resonance in gold nanoparticles: A review. *Journal of Physics Condensed Matter*, **29**(20). (2017). <https://doi.org/10.1088/1361-648X/aa60f3>
- [21] Kondorskiy, A. D., & Lebedev, V. S. Size and Shape Effects in Optical Spectra of Silver and Gold Nanoparticles. *Journal of Russian Laser Research*, **42**(6), 697–712. (2021). <https://doi.org/10.1007/s10946-021-10012-3>
- [22] Lohse, S. E., & Murphy, C. J. The quest for shape control: A history of gold nanorod synthesis. *Chemistry of Materials*, **25**(8), 1250–1261. (2013). <https://doi.org/10.1021/cm303708p>
- [23] Cheng, L. C., Huang, J. H., Chen, H. M., Lai, T. C., Yang, K. Y., Liu, R. S., ... Tsai, D. P. Seedless, silver-induced synthesis of star-shaped gold/silver bimetallic nanoparticles as high efficiency photothermal therapy reagent. *Journal of Materials Chemistry*, **22**(5), 2244–2253. (2012). <https://doi.org/10.1039/c1jm13937a>
- [24] Krajczewski, J., Kołataj, K., Pietrasik, S., & Kudelski, A. Silica-covered star-shaped Au-Ag nanoparticles as new electromagnetic nanoresonators for Raman characterisation of surfaces. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **193**, 1–7. (2018). <https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.11.060>
- [25] Yu, Chang, S.-S., Lee, C.-L., & Wang, C. R. C. Gold Nanorods: Electrochemical Synthesis and Optical Properties. *The Journal of Physical Chemistry B*, **101**(34), 6661–6664. (1997). <https://doi.org/10.1021/jp971656q>
- [26] Krishnan, J. N. N., Kim, I. T., Park, W.-H., Kim, Z. H., & Kim, S. K. K. Fabrication and Properties of Au Nanoflowers for SERS Substrates. *ECS Meeting Abstracts*, **MA2009-02**(29), 2290–2290. (2009). <https://doi.org/10.1149/ma2009-02/29/2290>

第5章 星型 Au-Ag ナノ粒子へのシリカ被覆

5.1 緒言

5.1.1 Au ナノ粒子の生物医学的用途における課題

棘状の構造及びロッド状の金 (Au) や銀 (Ag) ナノ粒子は、熱によって球状へと形態が変化することが報告されている [1,2]。2009 年にローソンヘルスリサーチ研究所の Didychuk らは、波長 800 nm、パルス幅 9 ns、10 Hz のナノ秒パルスレーザーを $120 \text{ mJ cm}^{-2} / \text{pulse}$ (1.2 W/cm^2)、で 1000 パルス照射すると、800 nm 付近に観測された局所表面プラズモン共鳴 (LSPR) の縦モードに帰属されるピークが消失し、Au ナノ球 (AuNSp) に帰属される 520 nm のピーク強度が増大することを報告した [1]。この時の形態変化は透過型電子顕微鏡 (TEM) により観察されており、レーザー照射前にはアスペクト比が 3.6 であった Au ナノロッド (AuNR) は、照射後には直径 13.8 nm の球へと変化した。2011 年にトゥエンテ大学の Ungureanu らは波長 713 nm、パルス幅 6 ns、 $3.5 \text{ mJ cm}^{-2} / \text{pulse}$ の 10 Hz パルスレーザー (35 mW/cm^2) を 1 分間照射すると、50% の AuNR が球形へと再形成されること明らかにし、ナノ粒子自体の発熱により形態が変化することを示した [2]。レーザー照射時にナノ粒子の LSPR による発熱で形態が不安定的になり球へと再形成されることは、Au ナノ粒子の生物医学的用途に対して不利であることは明らかである。従って、ナノ粒子の形態の維持や安定性の向上を達成する必要がある。

ヘキサデシルトリメチルアンモニウムブロミド (CTAB) はナノ粒子の表面を均一に被覆するため、形態の維持などの安定性の向上に最も良く用いられている。一方で、 Au^{3+} は CTAB の存在下で Au を酸化することが報告されており、CTAB ミセルと錯体を形成した Au^0 と AuCl_4^- 間で酸化還元反応が生じることで AuNR の溶解と AuNSp の再形成が報告された [3]。2011 年にはビーゴ大学の Lorenzo らによって同様の機構を原理とした CTAB による Au ナノスター (AuNS) の再形成が報告された [4]。CTAB による再形成はナノ粒子の曲率が高い構造で選択的に生じ、CTAB 濃度の上昇による AuNS の棘状構造のアスペクト比および曲率の低下と中心体のサイズ増加が確認された。さらに CTAB は細胞毒性を示すことがある [5–7]。従って CTAB を用いない形態安定化が求められている。

AuAgNS の安定性を向上させる手法の一つが、多糖類であるキトサンの修飾である [8]。2012 年に国立台湾大学の Cheng らは *o*-カルボキシメチルキトサンを AuAgNS に修飾することで AuAgNS の安定性が温熱療法に適した温度である 45°C の溶液中においても向上することを報告した [8]。さらに Cheng らは *o*-カルボキシメチルキトサンが CTAB よりも AuAgNS の安定性を向上させたことから、*o*-カルボキシメチルキトサンのアミノ基とナノ粒子間の静電相互作用が CTAB のアミノ基とナノ粒子間の静電相互作用よりも高いことを報告した。生体適合性の高いキトサンを用いることで、細胞毒性を示さずにナノ粒子の安定性の向上がなされた。

5.1.2 ナノ粒子へのシリカ被覆

シリカ (SiO₂) は、水系溶媒における高い安定性、厚さ制御の容易性、化学的不活性、光学的な透明性によりコアナノ粒子の光学特性が維持できるため、表面特性を改質する材料として選択されてきた[9]。SiO₂ 被覆法として主要な手法が、式 (5-1) に示すケイ酸テトラエチル (TEOS) を、アンモニアを触媒として加水分解させる Stöber 法である [10]。



1995 年にビーゴ大学の Liz-Marzán らは SiO₂ 球の存在下で Au ナノ粒子を合成することで複合粒子を合成し、その複合粒子を Stöber 法によって成長させた。Liz-Marzán らは Au ナノ粒子のコアと SiO₂ のシェルで構成された粒子 (Au/SiO₂) の溶液中での合成を初めて報告した [11]。この方法で合成された Au/SiO₂ は全てのコロイド粒子に対して約 3% に限定されていた。

1996 年に Liz-Marzán らは被覆率が大幅に向上した被覆法を報告した [12]。アミノプロピルトリメトキシシランが Au ナノ粒子表面に吸着したクエン酸に対して静電相互作用で吸着することでシラノール基が Au ナノ粒子表面に導入され、最終的に Stöber 法によって成長させることで Au/SiO₂ が合成された。この方法で合成された Au/SiO₂ はコロイド粒子の 97% 以上であった。

Au や Ag ナノ粒子への SiO₂ 被覆にはアミノ基などを有するシランカップリング剤が必要とされてきたが、2002 年にワシントン大学の Yin らはポリビニルピロリドン (PVP) が吸着した Ag ナノ粒子に対して Stöber 法によってナノ粒子表面へのシラノール基の導入なしに SiO₂ 層を形成できることを報告した [13]。さらに、2003 年に東北大学の Mine らは Stöber 法によってクエン酸が吸着した Au ナノ粒子に直接 SiO₂ を被覆した [14]。

2014 年に南京航空航天大学の Liu らは AuNR のレーザー照射時の安定性が SiO₂ 被覆により向上することを報告した [15]。波長が 808 nm、スポットサイズが 2 mm のレーザーを 5 分間照射した際に、AuNR は出力が 3 W (95.5 W/cm²) 以下では吸光度が維持されたが、4 W (127 W/cm²) を超えると急激に減少した。一方で、SiO₂ 被覆した AuNR は出力 7 W (223 W/cm²) 以下の条件で吸光度が維持された。さらに、シリカ被覆後に細胞毒性を示さないことも報告されており、SiO₂ は AuAgNS の安定化材料として適した材料であることが考えられる [16,17]。

5.1.3 第 5 章の目的

本章の目的は、SiO₂ 被覆による AuAgNS の安定性を向上させることである。被覆前後のナノ粒子に対して 37°C 及び 60°C で静置することで、吸収スペクトルから吸収効率の変化、粒度分布測定による粒度分布を測定し、形態・分散性への SiO₂ 被覆の寄与を検討した。、さらに細胞培養試験により細胞毒性への影響を検討した。

5.2 実験方法

5.2.1 試薬

合成にはテトラクロロ金 (III) 酸四水和物 (HAuCl_4 ; 和光純薬工業、試薬特級)、硝酸銀 (AgNO_3 ; 和光純薬工業、試薬特級)、 $\text{L}(+)\text{-アスコルビン酸}$ (AA; 和光純薬工業、試薬特級)、PVP K25 (PVP; 分子量 24,500、和光純薬工業、試薬特級)、TEOS (信越化学工業)、25%アンモニア水 ($\text{NH}_3 \text{ aq.}$; 和光純薬工業、試薬特級)、エタノール (99.5) (エタノール; 和光純薬工業、試薬特級) D-MEM (高グルコース; L-グルタミン 、フェノールレッド、ピルビン酸ナトリウム、1500 mg/L 炭酸水素ナトリウム含有、和光純薬工業)、Fetal Bovine Serum (FBS; Biowest)、ペニシリン-ストレプトマイシン (PS; 和光純薬工業)、リン酸緩衝液 (PBS、DS ファーマバイオメディカル)、0.5 w/v% トリプシン 5.3 mmol/L EDTA-4Na (フェノールレッド不含) (トリプシン; Gibco)、超純水 (18 M Ω cm, Millipore) を用いた。

5.2.2 シリカ被覆星型 Au-Ag ナノ粒子の合成

10 mM HAuCl_4 200 μL と 10 mM AgNO_3 20 μL を 10 mL の超純水に加えた後、100 mM AA 40 μL を加え還元することで AuAgNS ($\text{Au}_{20}\text{Ag}_2$) を作製した。この操作を 10 回行い 100 mL 作製した ($\text{Au}_{20}\text{Ag}_2$ 4.0 mg)。作製した $\text{Au}_{20}\text{Ag}_2$ 溶液 100 mL に固相安定剤として 1 wt% PVP 400 μL を加えて 9,390 $\times g$ で 15 分間遠心分離を行い、10 mL に濃縮して AuAg を濃縮した溶液を調製した。濃縮した溶液 10 mL に、エタノール 30 mL と TEOS 20 μL を加え 30 分攪拌した。その後 $\text{NH}_3 \text{ aq.}$ 1 mL を加えて、1 時間又は 2 時間攪拌を行った。反応後には、9,390 $\times g$ で 15 分間、遠心分離を行い、上澄みを除去後 10 mL のエタノールを加えた。この操作を 3 回繰り返して洗浄した。

TEOS 量を変えて SiO_2 を $\text{Au}_{20}\text{Ag}_2$ に被覆させた。20 μL の TEOS を 20 mL のエタノールに加え、1,000 倍希釈 TEOS 溶液を作製した。 $\text{Au}_{20}\text{Ag}_2$ 濃縮溶液 10 mL に 27 mL のエタノールと 3 mL の 1,000 倍希釈 TEOS 溶液を加え 30 分攪拌した後に $\text{NH}_3 \text{ aq.}$ を 1 mL 加え 1 時間攪拌した。反応後には、9,390 $\times g$ で 15 分間、遠心分離を行い、10 mL のエタノールを加えた。この操作を 3 回繰り返して洗浄した。Table 5-1 に本章で作製した試料の作製条件を示す。試料名は $\text{Au}_{20}\text{Ag}_2$ 4.0 mg に対する TEOS 添加量と攪拌時間により " $\text{Au}_{20}\text{Ag}_2\text{-SiO}_2\text{-TEOS 量_攪拌時間}$ " とした。

Table 5-1 SiO_2 被覆条件

試料名	Au20Ag2 4.0 mg に対する TEOS 量		攪拌時間
	μL		h
Au20Ag2_SiO2_3_1h	3		1
Au20Ag2_SiO2_20_1h	20		1
Au20Ag2_SiO2_20_2h	20		2

5.2.3 シリカ被覆星型 Au-Ag ナノ粒子の評価方法

エタノール中に 0.1 mg/mL となるように試料濃度を調製した。カバーガラスと試料台をカーボンテープで貼付した後、カバーガラス上に試料を滴下し、窒素ガス噴射により乾燥させた。その後、オートファインイオンコーター（JEC-3000FC、JEOL、Japan）によりカバーガラスに 40 mA、40 秒間の条件で白金を蒸着した。ナノ粒子の形態は、走査電子顕微鏡（SEM、JSM-6510LV、JEOL、Japan）を用いて、加速電圧 20.0 kV、作動距離 10 mm で観察した。

エタノール中に 0.1 mg/mL となるように試料濃度を調製した後、マイクログリッドに 10 μ L 滴下し、真空オーブンによって 90°C で乾燥させた。その後、ナノ粒子の形態は電界放出型走査電子顕微鏡（FE-SEM、SU9000、HITACHI、Japan）によって加速電圧 30 kV で観察した。元素分布はエネルギー分散型 X 線分光法（EDS、GENESIS、Ametec EDAX、Japan）によって測定した。

合成したナノ粒子溶液の 300 nm から 900 nm までの領域を 1 nm の間隔で光吸収スペクトルを、紫外可視分光光度計（UV-vis、v-570、JASCO、Japan）を使用して測定した。測定セルはディスポセル（1937、アズワン）を使用した。超純水でバックグラウンドをとり、ダブルビームで測定した。

試料の粒度分布測定のために、試料を 0.05 mg/mL となるように超純水に分散させた。動的光散乱法（DLS、DLS-1000MH、大塚電子）により試料の平均粒子径及び粒度分布を測定した。試料をセルにいれ、He-Ne レーザー（波長：630 nm）を用いた。DLS の測定条件は、粒子の粒径範囲に沿ったタイムインターバル（T.I）法でデータチャンネル数を 1024、サンプリング時間を 10 μ 秒に設定し、Intensity の範囲が 10,000 ~ 80,000 程度におさまっていることを確認してから測定を行った。測定後の解析には Marquardt 法または Cumulant 法を用いた。Cumulant 法は解析により単一の正規分布を求める解析法であるため、マイクロサイズの SiO₂ 球が確認されなかった試料は、Cumulant 法を用いて試料の粒径分布、平均粒径、多分散度を記録した。マイクロサイズの SiO₂ 球が確認された試料は、粒度分布の広い試料の解析に適した Marquardt 法にて解析した。

5.2.4 安定性評価

Au20Ag2 と Au20Ag2_SiO₂_3_1h の温度による安定性を評価した。この実験では Au20Ag2_SiO₂_3_1h は Au20Ag2_SiO₂ と表記する。Au20Ag2 は合成した溶液をそのまま用い、Au20Ag2_SiO₂ は Au20Ag2 溶液と同じ濃度となるように 40 μ g/mL で超純水 10 mL に分散させた。各溶液を 37°C と 60°C の恒温槽に入れ、24 時間毎に DLS、UV-vis で測定した。各測定前には 28 kHz、5 分間の条件で超音波洗浄装置（VS-100 III、AS ONE、Japan）を用いて分散させた。

5.2.5 レーザー照射時の安定性評価

Au20Ag2 と Au20Ag2_SiO₂_3_1h のレーザー照射時の安定性を評価した。この実験では Au20Ag2_SiO₂_3_1h は Au20Ag2_SiO₂ と表記する。Au20Ag2 は合成した溶液をそのまま用い、Au20Ag2_SiO₂ は 750 nm の光学密度（OD）が Au20Ag2 と同じとなるように 100 μ g/mL で超純水に分散させた。調製した溶液を 1 cm 四方の石英ガラスキューベットに 1.0 mL 加え、上からレーザーを照射した。レーザー試験にはレーザー装置（KIF200521085-0000、スペクトラ・フィジクス）を用いた。レーザーは波長 750 nm、レーザー径 6.4 mm、出力 2.8 W/cm² で照射した。レーザー照射時の温度上昇はサーモカメラ（G120EX、日本アビオニクス）によって側面から 5 秒毎に測定した。レーザー照

射後 5 分、10 分、20 分、30 分後に超微量分光光度計（ナノドロップ ; NanoDrop One、Thermo Fisher Scientific）で調製した溶液の 670 nm の OD (OD_{670}) と 750 nm の OD (OD_{750}) を測定した。

5.2.6 細胞毒性試験

ヒト肺胞基底上皮癌細胞（A549）に対する Au20Ag2 と Au20Ag2_SiO₂_3_1h の細胞毒性を評価した。この実験では Au20Ag2_SiO₂_3_1h は Au20Ag2_SiO₂ と表記する。

初めに D-MEM に対して 10% の FBS と 1% の PS を添加し調製培地を調製した。A549 を播種するのに適切な細胞濃度 (1.3×10^5 cell/mL) になるように調製培地を加え、接着細胞培養プレート 48F 独立ウェルタイプ（48 well プレート ; MS-80480、住友ベークライト）に 0.15 mL ずつ入れ (2.0×10^4 cells/well)、CO₂ インキュベーター（MCO-5AC、SANYO）内に 37°C、CO₂ 濃度 5%、湿度 95% の条件で 1 日静置して細胞を接着させた。

試料の殺菌と分散のため、ナノ粒子の濃度が 1 mg/mL の溶液を 1 mL だけ 15 mL の遠沈管に入れて、エタノールを 6~7 mL 加えた後、25 kHz の超音波を 5 分間照射して分散させた。9,390 × g で 15 分間遠心分離を行い、上清みを吸引した。この操作を 2 回繰り返した。滅菌した試料に、FBS を含まない調製培地を 6~7 mL 加えて、エタノールと同様の操作を 2 回繰り返した。最終的に所定量の 2 倍の濃度（20、100、200、1,000 μg/mL）の試料を、FBS を含まない調製培地に分散させた。細胞を播種させた 48 well プレートの培地を吸引した後、control として試料を含まない調製培地を $n=3$ となるように 0.30 mL ずつ加えた。48 well プレートに調製した試料 0.15 mL と 20% の FBS 濃度の調製培地 0.15 mL を加えた。最終的に FBS 濃度は 10%、試料濃度は 10、50、100、500 μg/mL に調製した。

24 時間 CO₂ インキュベーター内に静置した後、PBS とトリプシンを用いて上澄み溶液と細胞を全て回収した。各サンプルの生存率は、Muse® カウント & 生存率キットとセルアナライザー（Guava® Muse™ セルアナライザー、Cytex Biosciences）を使用して評価した。

5.3 結果と考察

5.3.1 シリカ被覆の条件決定

Figure 5-1 に AuAg_SiO₂_20_1h と AuAg_SiO₂_20_2h の SEM 像を示す。直径 100 nm 程度の星形の粒子に加え直径 200 nm 以上の真球状の粒子が確認された。Figure 5-2 に Marquardt 法による AuAg_SiO₂_20_1h と AuAg_SiO₂_20_2h の粒度分布を示す。攪拌時間が 1 時間と 2 時間の条件はともに 3 つのピークを示した。Au20Ag2_SiO₂_20_1h のピークの流体力学的直径は左から 52.7 ± 5.5 、 284 ± 85 、 1424 nm であった。一方で、Au20Ag2_SiO₂_20_2h のピークの流体力学的直径は左から 19.8 ± 2.2 、 429 ± 126 、 1531 nm であった。SEM 像と比較すると中央のピークは SiO₂ によって被覆された Au20Ag2 の直径を、一番右のピークは SiO₂ 球の直径であると考えられる。既往の研究では、反応時間を制御することでシリカ層の厚さを変えたナノ粒子の作製を報告 [18] しているが、攪拌 1 時間の条件で SiO₂ 球が確認されたことから、Au20Ag2 を SiO₂ 被覆する際に TEOS 20 μL は過剰であることが示された。

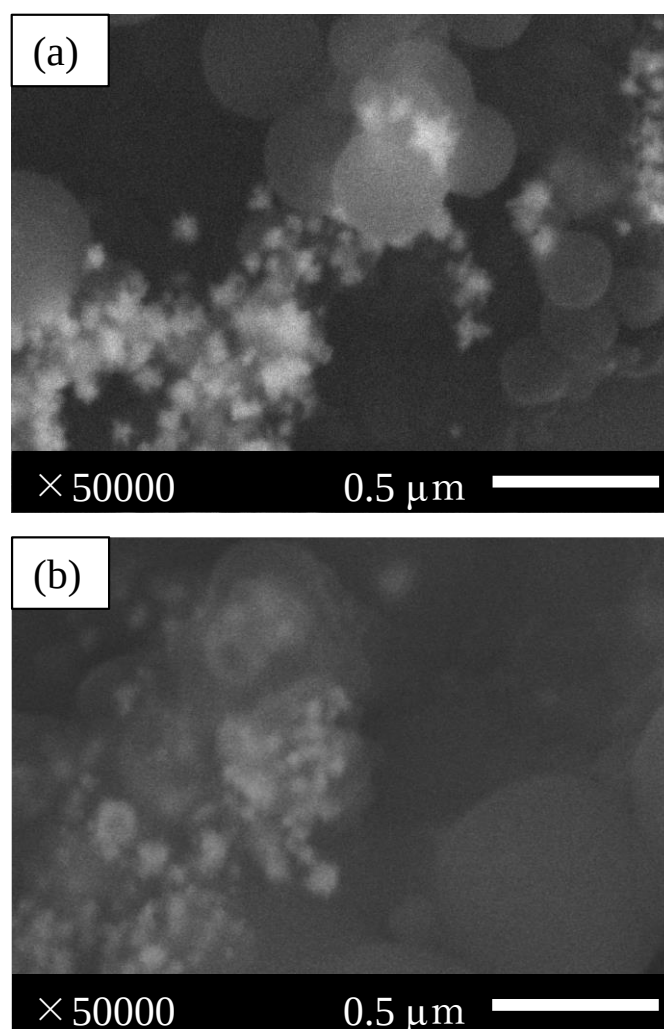
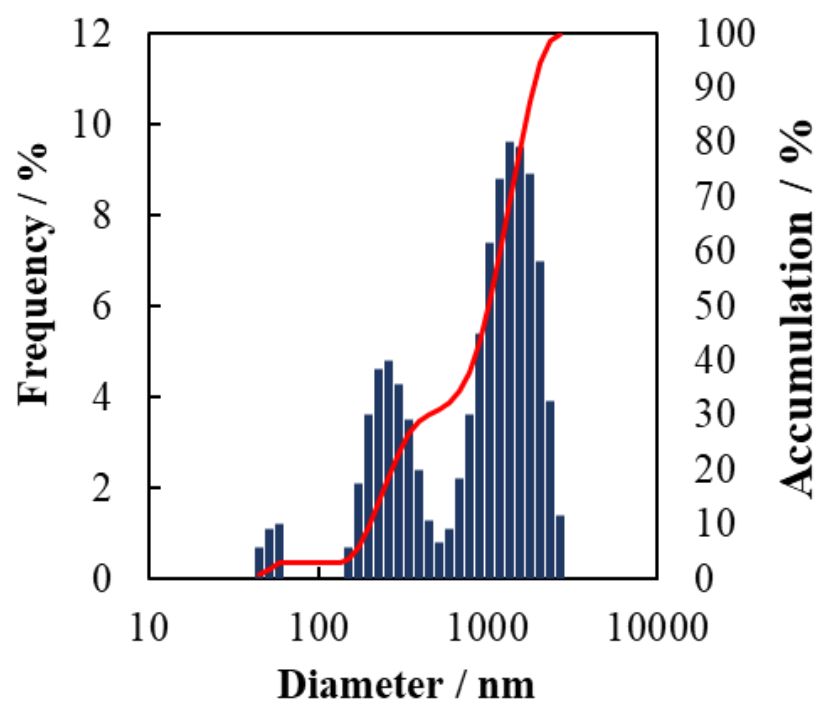


Figure 5-1 20 μL の TEOS を添加して合成した粒子の SEM 像 ;
(a) AuAg_SiO₂_20_1h、(b) AuAg_SiO₂_20_2h

(a)



(b)

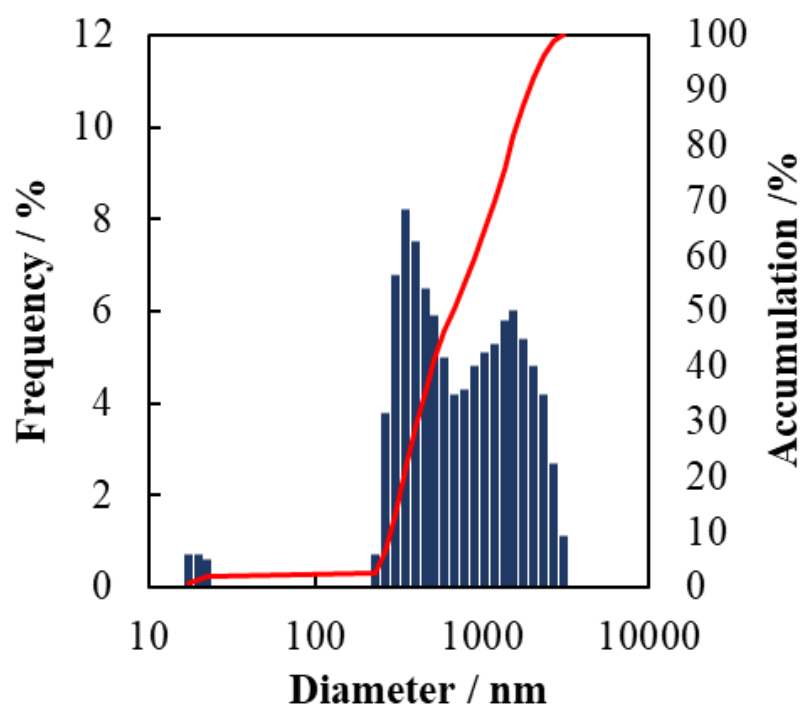


Figure 5-2 20 μL の TEOS を添加して合成した粒子の粒度分布 ;
(a) Au₂₀Ag₂_SiO₂_20_1h、 (b) Au₂₀Ag₂_SiO₂_20_2h

Figure 5-3 に Au20Ag2、Au20Ag2_SiO₂_3_1h のキュムラント法による粒度分布を示す。それぞれの流体力学的直径は $82 \pm 30 \text{ nm}$ と $152 \pm 56 \text{ nm}$ ($n = 3$) で、SiO₂被覆により流体力学的直径が約 70 nm 増加した。

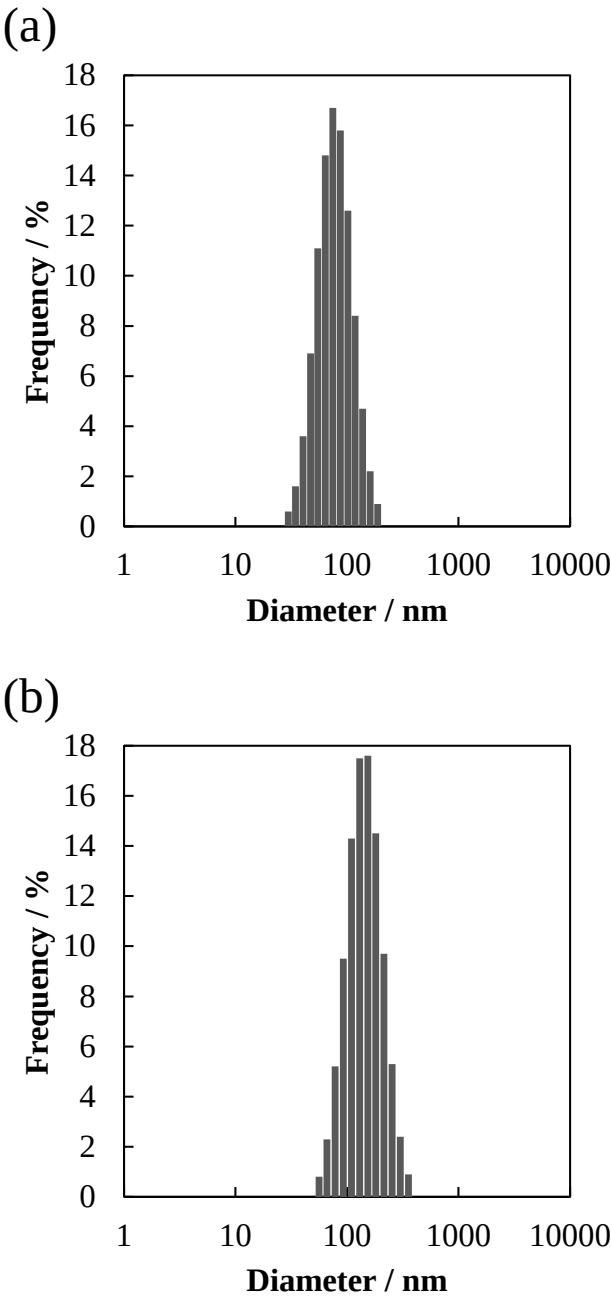


Figure 5-3 粒度分布 ; (a) AuAg、(b) AuAg_silica_3_1

Figure 5-4 に、FE-SEM によって観察した Au20Ag2_SiO₂_3_1h の二次電子像 (SEI)、反射電子像 (BEC)、および Au、Ag、Si の元素マッピング像を示す。SEI により、AuAg_SiO₂_3 は SiO₂ を被覆した後も星型の形態を維持しており、第 2 章および第 4 章で合成した SiO₂ で被覆されていない Au20Ag2 と比較して表面が粗いことが確認された。ナノ粒子表面のコントラストの差は、高加速電圧によって電子が SiO₂ 層を透過したことを示唆している。一方、BEC では、同じ加速電圧で同じナノ粒子の滑らかな表面が明確に示された。これは、Au と Si の原子番号の大きな差に由来すると考えられる。SEI はナノ粒子全体の形態を観察したが、BEC は原子番号の大きい Au の構造のみを観察した。したがって、SEI と BEC の違いは、ナノ粒子の表面に SiO₂ 層が形成されていることを示唆していると考えられる。

SEM 像や TEM 像の濃淡のみから SiO₂ 層を評価することは困難であるため、シリカ層などのコーティングを正確に評価するには EDS 分析が不可欠である。Figure 5-4 (g) に示す Au20Ag2_SiO₂_3 の EDS スペクトルからは、Au と Si が主成分として検出され、さらに微量の Ag が検出された。元素分布からは、Au と Ag はナノ粒子の全域で検出されたが、Si はナノ粒子の最表面でのみ検出された。Si マッピング画像から、被覆された SiO₂ 層の厚さは約 2 nm であった。EDS で確認した SiO₂ 層の厚さと DLS で測定した流体力学的直径の変化には大きな差があった。この差は真空中の乾燥サンプルを測定する TEM とは異なり、DLS は SiO₂ 層が膨張する傾向がある水中の流体力学的サイズを測定しているため生じたと考えられる。

SiO₂ 被覆時に添加する TEOS 量を 3 mL に減らすことで球状 SiO₂ ナノ粒子の均一核生成を抑制した。この制御されたプロセスにより、Au20Ag2 の表面にのみ薄い SiO₂ 被覆層が形成された。通常、Au-Ag ナノ粒子を球状 SiO₂ に封入する場合、表面の SiO₂ コーティングを安定化するためにクエン酸 [17] や PVP [19] などのキャッピング剤が使用される。これは、SiO₂ が Au 表面に直接結合していないことを示唆している。本研究では、以前の研究 [20] と同様に、PVP がナノ粒子の形状安定剤として作用すると考えられる。さらに、正に帯電した PVP は負に帯電したシリカとの親和性が高いため [21]、Au 表面の SiO₂ 被覆に寄与する。さらに、還元剤として使用された AA は AuAg 表面に吸着し、キャッピング剤として作用することなども考えられ、AA のヒドロキシル基の周りに SiO₂ が成長することで均一なコーティングを形成したと考えられる。

Figure 5-5 に形態観察後に再度測定した元素分布を示す。再測定時にはナノ粒子への加速電子の長期曝露により形態が球形に変化した。ナノ粒子の元素マッピング画像 (Au、Si、C) は、電子ビーム照射時にナノ粒子が電荷を帯びることによる FE-SEM 内の汚染によってナノ粒子の表面に炭素 (炭化水素) が蓄積していることを示した。しかし、AuAgNS の形態には変化がないことは明らかであった。

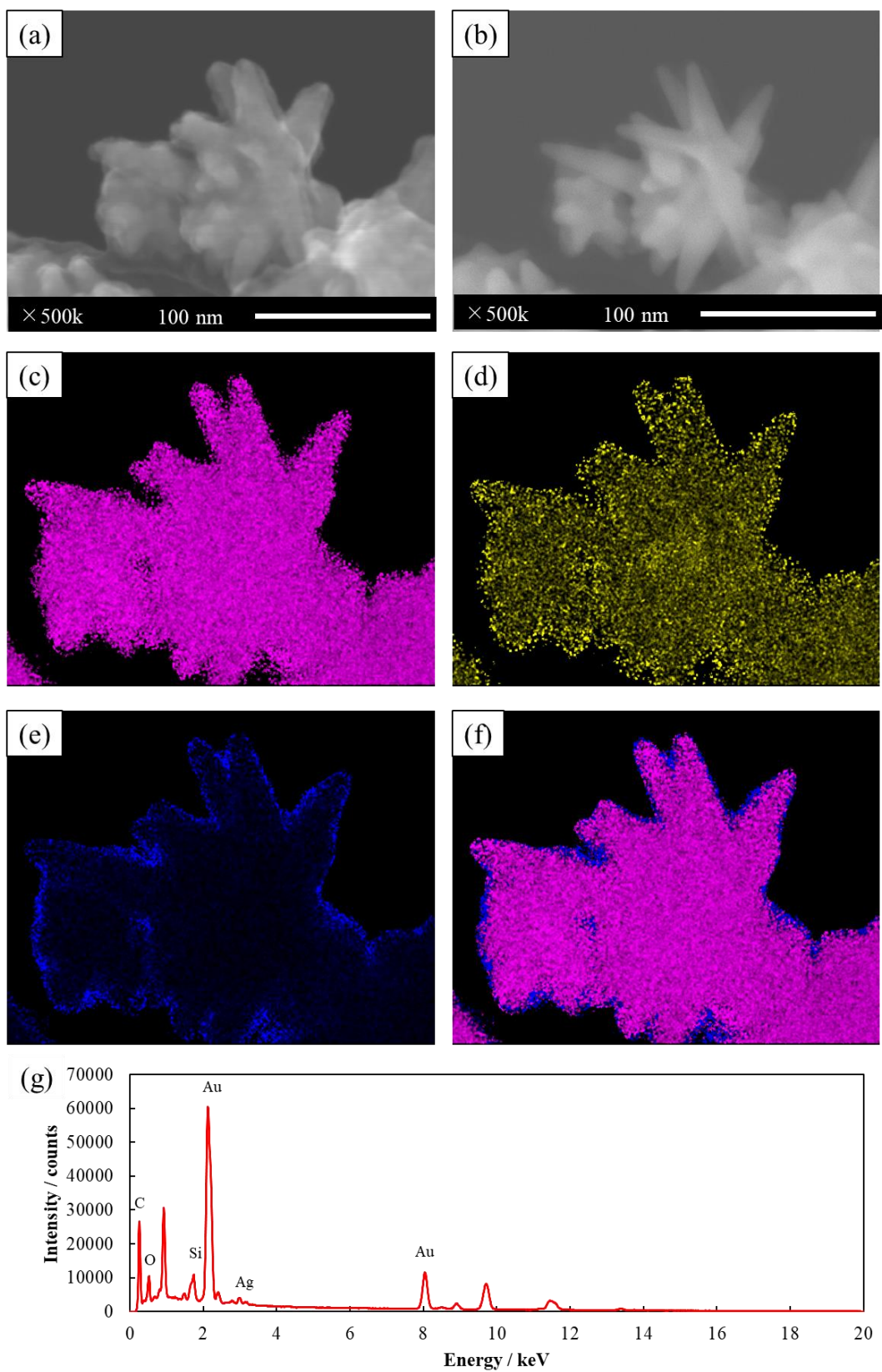


Figure 5-4 $\text{Au}_{20}\text{Ag}_2\text{SiO}_2\text{-3-1h}$ の FE-SEM 像と元素マッピング像 ;
 (a) SEI、(b) BEC、(c) Au、(d) Ag、(e) Si、(f) Au と Si、(g) EDS スペクト

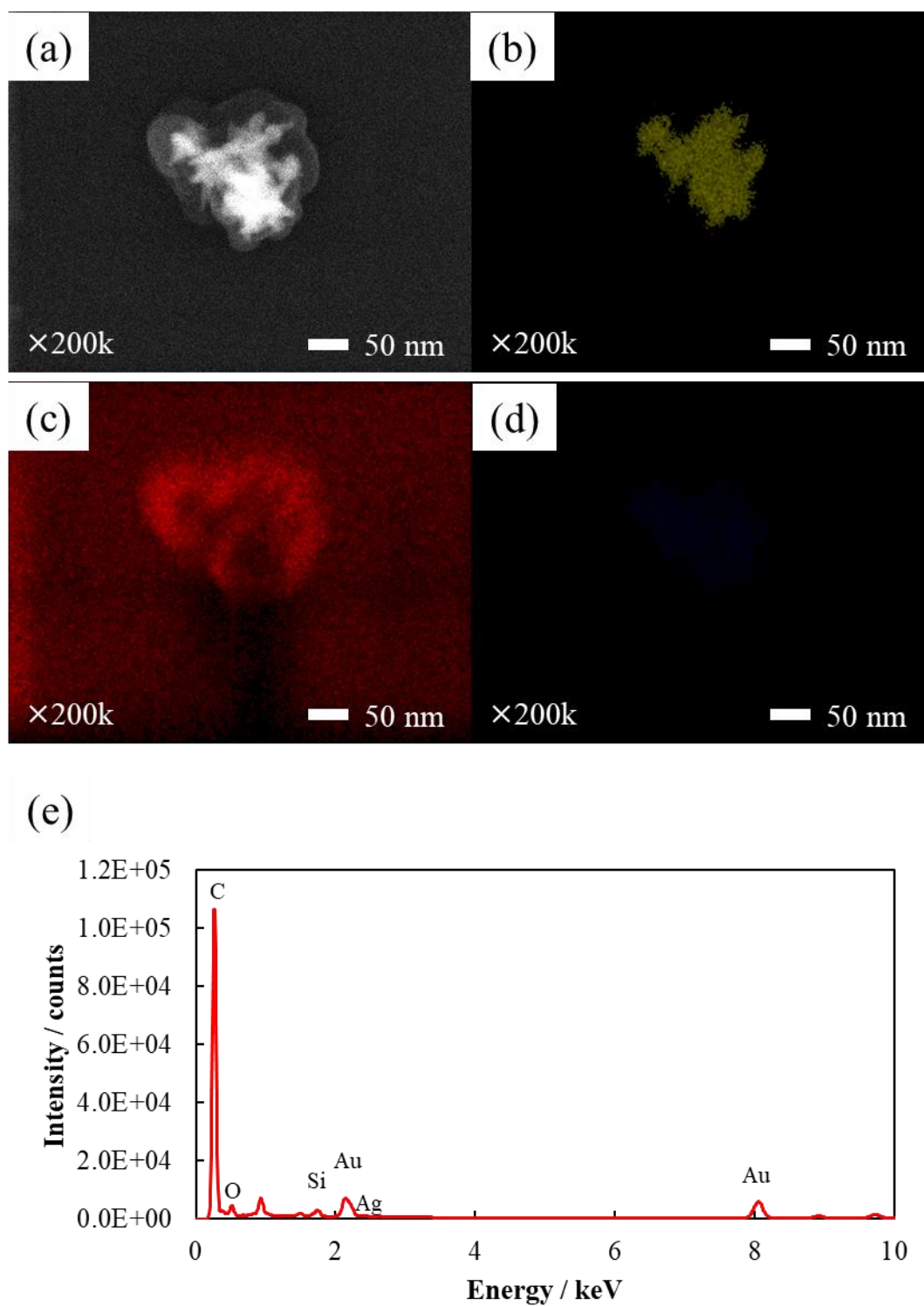


Figure 5-5 形態観察後再測定した FE-SEM 像と元素分布 ;
(a) SEI、(b) Au、(c) C、(d) Si、(e) EDS スペクトル

5.3.2 37°C と 60°C の溶液中での安定性

Figure 5-6 に 37°C と 60°C の超純水中に分散させた Au20Ag2 と Au20Ag2_SiO₂ の吸収スペクトルの経時的変化を示す。Au20Ag2 と Au20Ag2_SiO₂ の初期 (0 日目) 分散時のスペクトルは、それぞれ 630 nm と 650 nm で最大吸収波長 ($\lambda_{\max}$) を示していた。この 20 nm のレッドシフトは Au20Ag2 の周囲の屈折率が異なることを意味しており、Au20Ag2_SiO₂ は Au20Ag2 上に非晶質 SiO₂ が存在し、被覆に成功したことを示唆している。37°C での Au20Ag2 の吸収スペクトルは、4 日後に OD の減少を示し、5 日目には 500~900 nm の波長領域で OD がほぼ 0.1 まで減少した。対照的に、Au20Ag2_SiO₂ は、5 日後もピーク形状と 630 nm の $\lambda_{\max}$ を維持しており、溶液中の Au20Ag2 の安定性が向上していることを明確に示していた。60°C では、Au20Ag2 の吸収スペクトルは、 $\lambda_{\max}$ での OD が 0.3 に低下した。Au20Ag2_SiO₂ の吸収スペクトルの挙動は、37°C の場合とは異なる傾向を示した。スペクトルはピーク形状を維持したが、 $\lambda_{\max}$ がより低い波長、具体的には 600 nm にシフトしていることが確認された。ナノレイヤーである SiO₂ 層が膨潤することによる非晶質 SiO₂ 密度の低下や、Au20Ag2 の棘のアスペクト比が小さくなった可能性がある。第 4 章で明らかにしたように、棘のアスペクト比の減少は $\lambda_{\max}$ をブルーシフトさせるだけでなく、OD を低下させる。興味深いことに、60°C の超純水に分散した Au20Ag2_SiO₂ は、7 日後でも高い吸光度を維持しており、SiO₂ 被覆は溶液中の Au20Ag2 の熱安定性を改善する効果があることが示された。

Figure 5-7 に 37°C または 60°C の超純水中に分散した Au20Ag2 と Au20Ag2_SiO₂ の粒度分布の経時変化を示す。37°C では、流体力学的直径が大きくなる方向にシフトし、Au20Ag2 が時間の経過とともに凝集することが確認された。60°C では、流体力学的直径は 3 日後までわずかに小さい直径にシフトし、その後、流体力学的直径は 5 日で 142.4 nm、7 日で 702.7 nm に増加した。これは、Au20Ag2 の棘が 3 日目まで熱によって短くなることで観測される粒子サイズがわずかに小さくなり、5 日以降は凝集が観測されたと考えられる。一方、Au20Ag2_SiO₂ では、37°C、60°C のいずれにおいても粒度分布のシフトは確認されなかった。UV-vis および DLS データの分析から、Au20Ag2 の OD の低下はナノ粒子の凝集の結果であることが示唆された。以前の研究では、温熱療法に適した温度である 45°C でキトサンコーティングの安定性が向上したことが強調されていた。腫瘍組織の温度が 45°C で維持されることを考えると、ナノ粒子の表面の温度が局所的に高いことが推測される。本研究で明らかにした SiO₂ 被覆に起因する 60°C での安定性の向上は、温熱療法中の凝集が改善され、それによって光熱変換効率が高い水準で維持されることを示唆している。

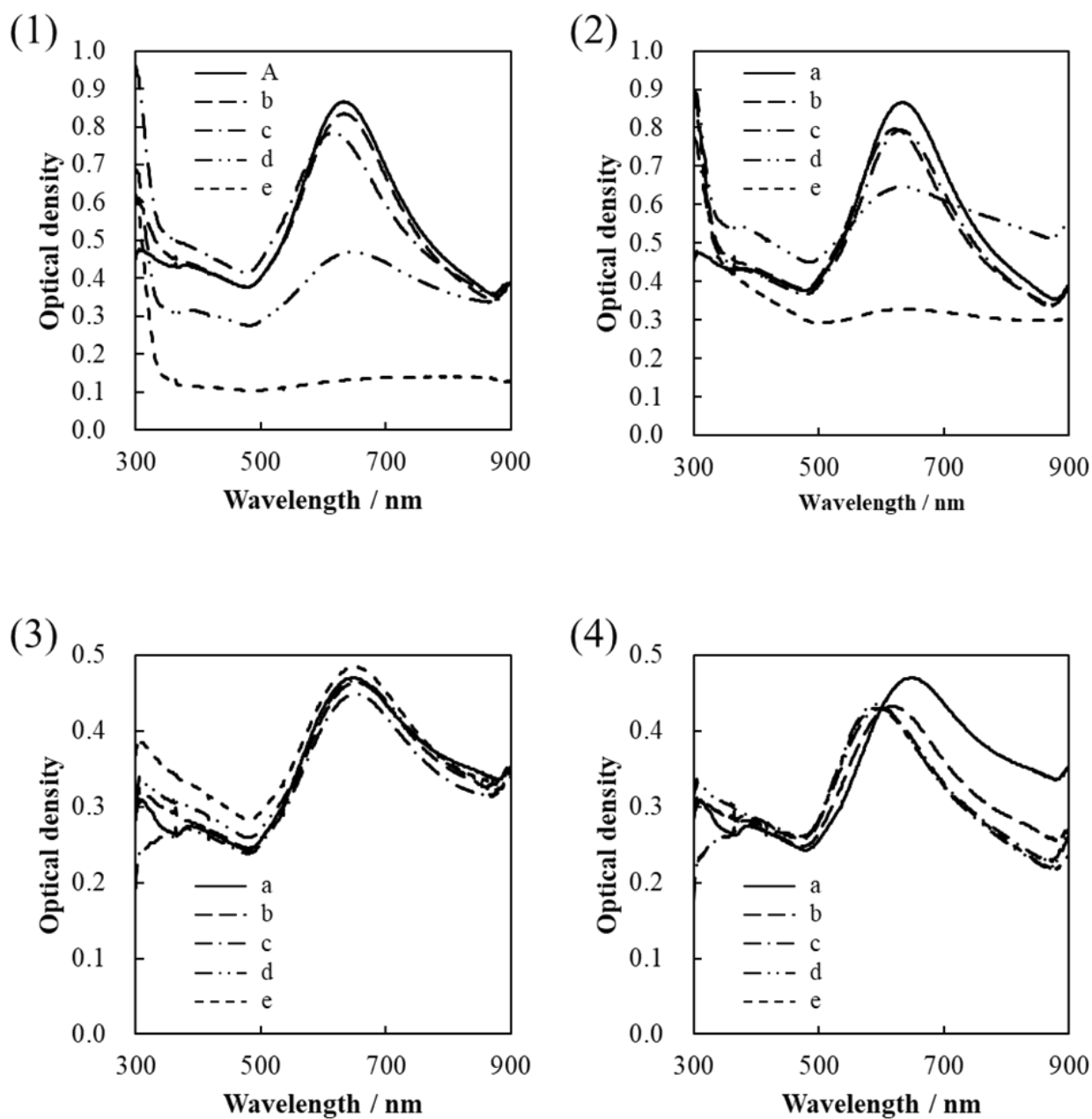


Figure 5-6 異なる温度に静置した時の超純水に分散した Au₂₀Ag₂ と Au₂₀Ag₂-SiO₂ の吸収スペクトルの変化 ; (1) 37°における Au₂₀Ag₂、(2) 60°C における Au₂₀Ag₂、(3) 37°C における Au₂₀Ag₂-SiO₂、(4) 60°C における Au₂₀Ag₂-SiO₂ ; a 0 day、b 1 day、c 3 day、d 5 day、e 7 day

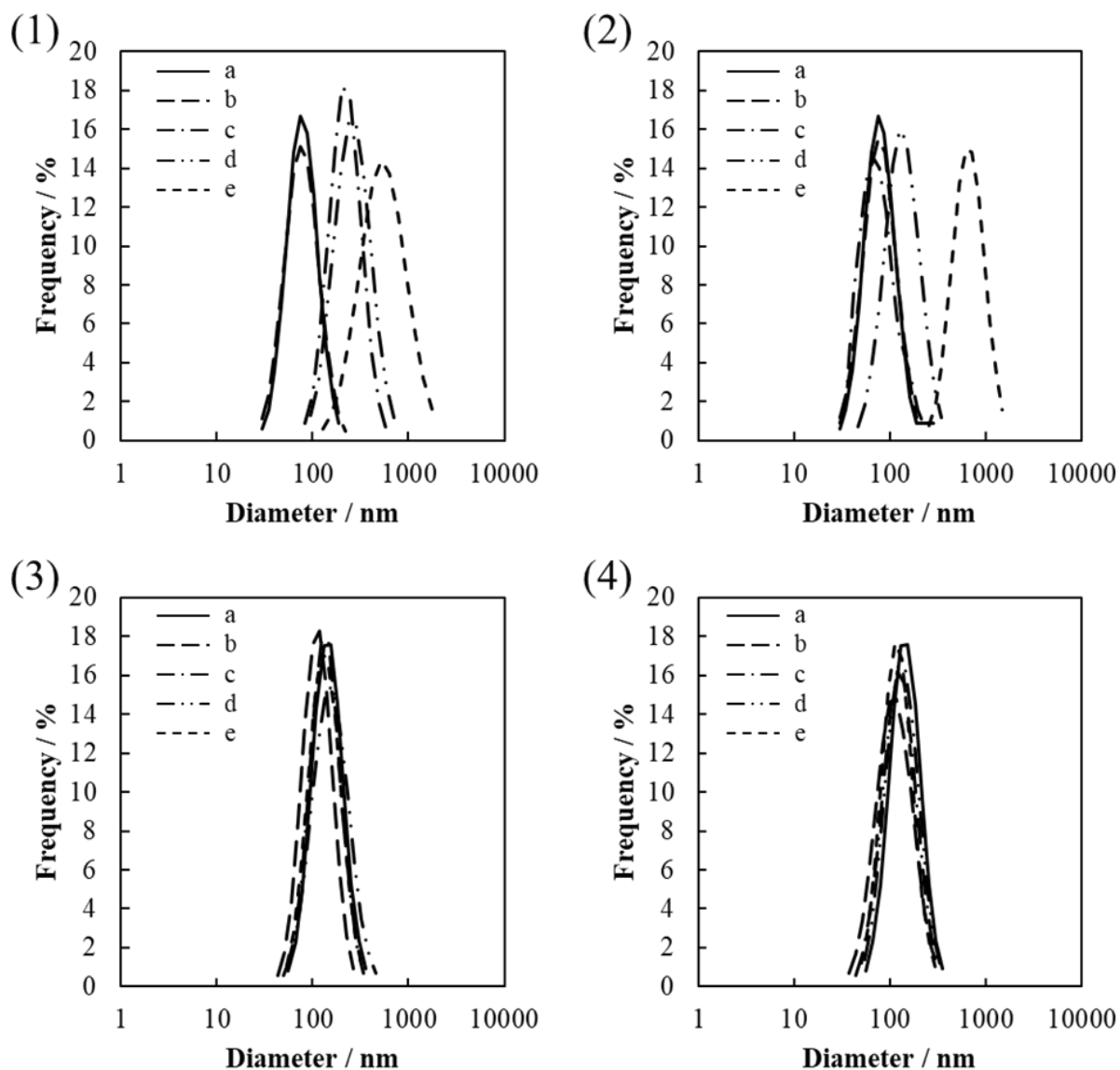


Figure 5-7 粒度分布の経時的変化 ; (1) 37°における Au₂₀Ag₂、(2) 60°C における Au₂₀Ag₂、(3) 37°C における Au₂₀Ag₂_SiO₂、(4) 60°C における Au₂₀Ag₂_SiO₂ ; a 0 day、b 1 day、c 3 day、d 5 day、e 7 day

5.3.3 レーザー照射時の安定性

波長 750 nm のレーザー照射時の OD の変化を Figure 5-8 に示す。レーザー照射前の 40 $\mu\text{g/mL}$ の Au20Ag2 溶液の OD₆₇₀ と OD₇₅₀ はそれぞれ 0.958 と 0.692 であり、100 $\mu\text{g/mL}$ の Au20Ag2_SiO₂ 溶液の OD₇₅₀ は 0.695 であった。OD₇₅₀ は 40 $\mu\text{g/mL}$ の Au20Ag2 溶液と 100 $\mu\text{g/mL}$ の Au20Ag2_SiO₂ 溶液が同じであることが確認された。レーザー照射により OD は 20 分までは線形に減少し、20 分後の Au20Ag2 溶液の OD₆₇₀ と OD₇₅₀ はそれぞれ 0.621 と 0.493 であり、Au20Ag2_SiO₂ 溶液の OD₇₅₀ は 0.574 であった。20 分後から 30 分後にかけては OD の変化は殆ど確認されなかった。Au20Ag2_SiO₂ 溶液のレーザー照射 20 分後の OD₆₇₀ と OD₇₅₀ は照射前の溶液の 64.8% と 71.2% であり、Au20Ag2_SiO₂ 溶液の OD₇₅₀ は 82.6% であった。吸収スペクトルのシフトが確認されなかったことから、この OD の変化はレーザー照射時のナノ粒子の凝集によるものだと考えられる。Au20Ag2_SiO₂ の OD はレーザー照射後も Au20Ag2 と比較して高い値を維持しており、SiO₂ 被覆によってレーザー照射時の凝集を抑制できた。

Figure 5-9 にレーザー照射時の Au20Ag2 溶液と Au20Ag2_SiO₂ 溶液の温度変化を示す。5 分後の温度は Au20Ag2 溶液と Au20Ag2_SiO₂ 溶液がそれぞれ、 $41.8 \pm 1.3^\circ\text{C}$ 、 $42.1 \pm 0.15^\circ\text{C}$ であった。レーザー照射前の OD₇₅₀ は同じ値を示したが、5 分後の溶液の温度は僅かに Au20Ag2_SiO₂ が高かった。5 分後の溶液の温度は僅かに高いことは、SiO₂ 被覆によって凝集が抑制と光熱変換機能の維持を示唆している。

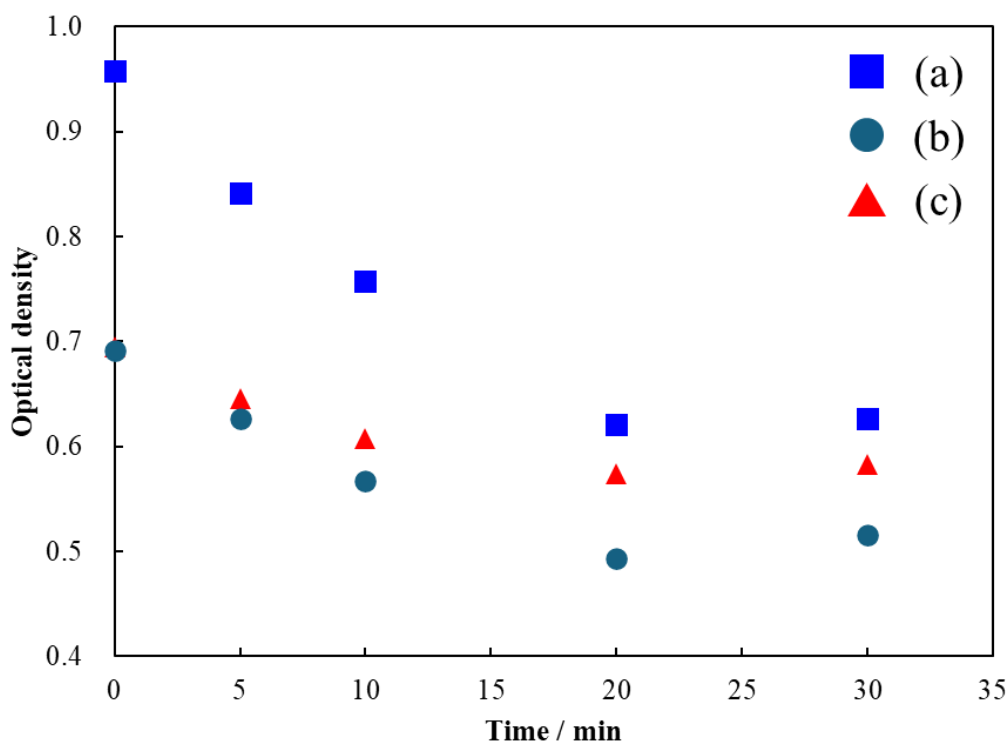


Figure 5-8 レーザー照射時の Au20Ag2 の (a) OD₆₇₀ と (b) OD₇₅₀ および (c) Au20Ag2_SiO₂ の OD₇₅₀ の変化

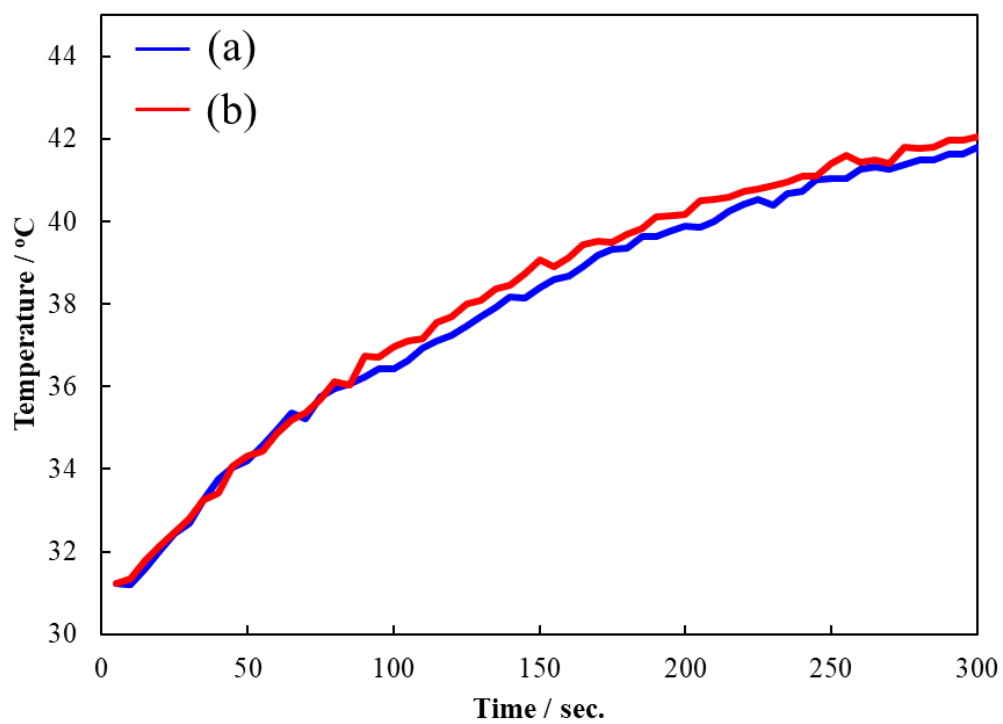


Figure 5-9 レーザー照射時の (a) Au20Ag2 溶液と (b) Au20Ag2_SiO₂ 溶液の温度変化

5.3.4 細胞毒性評価

Au20Ag2 および Au20Ag2_SiO₂ の *in vitro* における生物学的安全性は、がん治療への潜在的な応用のために A549 細胞を使用して評価した。SiO₂ は高い生体適合性をもつことが知られており、SiO₂ 被覆がナノ粒子の細胞毒性を軽減できることが以前に報告された [21]。Figure 5-10 に細胞毒性評価の結果を示す。Figure 5-10 (c) - (k) は細胞一つ一つに対して、核染色による蛍光強度を縦軸に死細胞染色による蛍光強度を横軸にプロットしたものである。グラフ中の赤線は細胞の生と死を区別する閾値を示しており、全試料で同じものを使用した。この時、赤線の左にプロットされたものが生細胞、右にプロットされたものが死細胞を意味する。試料を添加せずに培養した A549 細胞 (control) は、96.9% の細胞生存率を示した。一方、細胞生存率は、試料濃度が 500 µg/mL まで Au20Ag2 では 85% 以上、Au20Ag2_SiO₂ では 94% 以上であったが、試料濃度が増加すると減少する傾向を示した。したがって、Au20Ag2 と Au20Ag2_SiO₂ はともに細胞毒性をほとんど示さなかった。Ag を含むナノ粒子が細胞毒性を示す原因としてインキュベーション中のナノ粒子からの Ag⁺ の放出がある。Au と Ag の合金構造のナノケージは 200 µg/mL で乳癌細胞 (MDA-MB-435) の細胞生存率が 20% 低減することが報告された [22]。本研究で 500 µg/mL の Au20Ag2 の細胞生存率が 85%、Au20Ag2_SiO₂ が 94% であったことは、Au20Ag2 からの Ag⁺ の溶出は殆どなく、SiO₂ 被覆によってさらに抑制された可能性がある。これまでの研究では、試料添加後 24 時間の細胞生存率は、直径 50 nm の Au/SiO₂ 550 µg/mL ではヒト乳癌細胞 (MDA-MB-231) は 89.8% [23]、直径 100 nm の Au/SiO₂ 200 µg/mL ではヒト乳癌細胞 (MCF-7) は約 100% [24] であった。さらに、A549 に対する Au/SiO₂ の細胞毒性は Au コアの有無に関係なくサイズに依存していることが報告されており、直径 200 nm の Au/SiO₂ の細胞生存率は 200 µg/mL で約 100% である一方で、100 nm の細胞生存率 80 µg/mL で 50% 程度であった [25]。したがって、直径 100 nm 以上の Au/SiO₂ の細胞毒性はさまざまな細胞株に対して非常に低いことが示されていた。本章では、棘状構造をもつナノ粒子の生体適合性を改善する SiO₂ 被覆の影響を明らかにした。

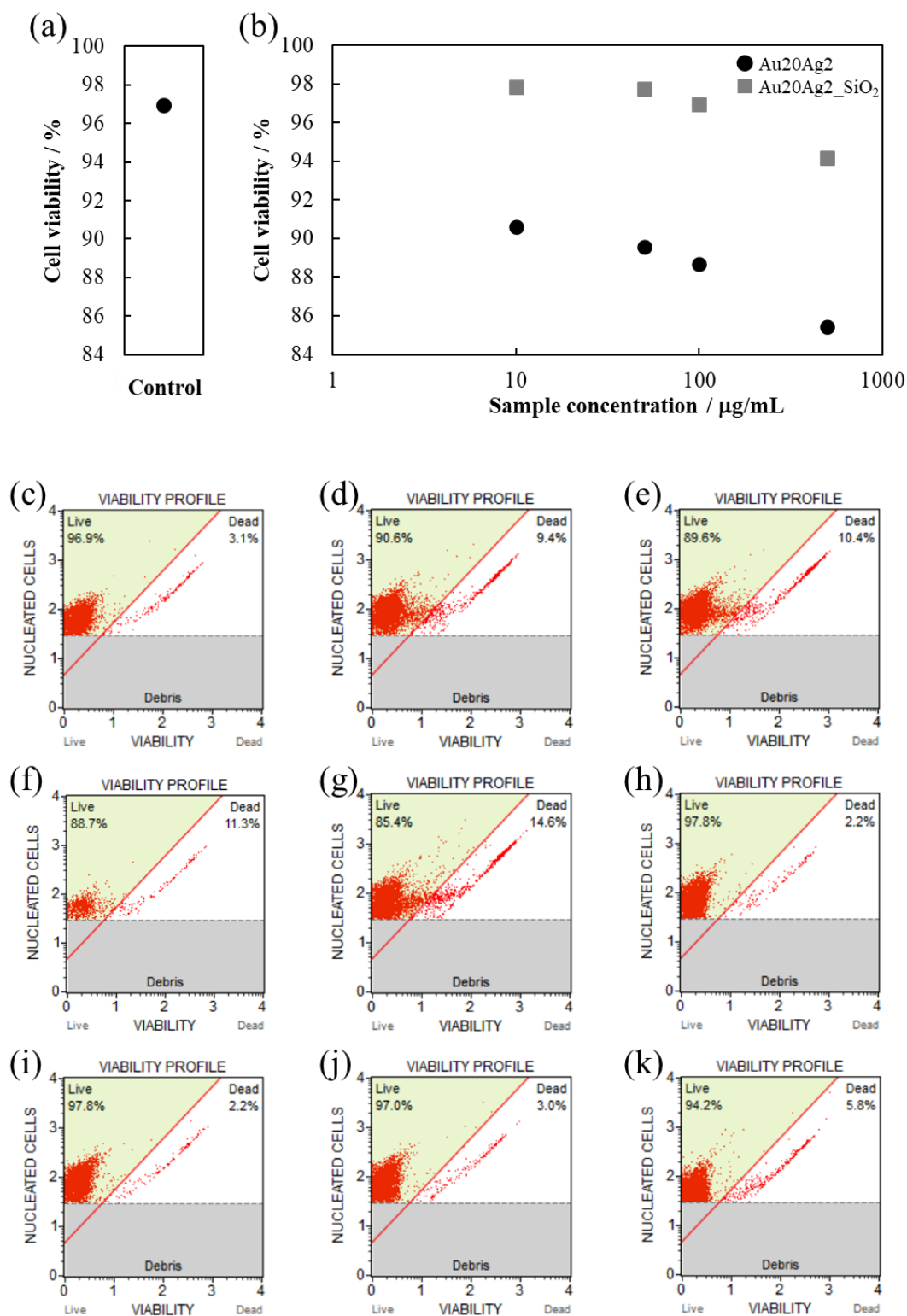


Figure 5-10 細胞毒性試験 ; (a) control、(b) 細胞生存率の濃度依存性、(c) – (k) 細胞生存率プロファイル ; (c) control、(d) $\text{Au}_{20}\text{Ag}_2$ 10 $\mu\text{g/mL}$ 、(e) $\text{Au}_{20}\text{Ag}_2$ 50 $\mu\text{g/mL}$ 、(f) $\text{Au}_{20}\text{Ag}_2$ 100 $\mu\text{g/mL}$ 、(g) $\text{Au}_{20}\text{Ag}_2$ 500 $\mu\text{g/mL}$ 、(h) $\text{Au}_{20}\text{Ag}_2\text{-SiO}_2$ 10 $\mu\text{g/mL}$ 、(i) $\text{Au}_{20}\text{Ag}_2\text{-SiO}_2$ 50 $\mu\text{g/mL}$ 、(j) $\text{Au}_{20}\text{Ag}_2\text{-SiO}_2$ 100 $\mu\text{g/mL}$ 、(k) $\text{Au}_{20}\text{Ag}_2\text{-SiO}_2$ 500 $\mu\text{g/mL}$

5.4 結言

Stöber 法により Au₂₀Ag₂ に SiO₂ 被覆することに成功した。SiO₂ 層は FE-SEM によって確認され、その厚さは 2 nm 程度であった。37°C および 60°C とともに SiO₂ 被覆により凝集が抑制され、光学密度が維持されることが明らかになった。レーザー照射時に Au₂₀Ag₂ の吸光度は経時的に低下したが Au₂₀Ag₂_SiO₂ の吸光度は維持され、レーザー照射時においても SiO₂ 被覆はナノ粒子の凝集の抑制に有効であることが明らかとなった。さらに細胞毒性試験では Au₂₀Ag₂ は 500 µg/mL においても毒性がほとんどないが、シリカ被覆によってさらに毒性が低減されることを明らかとした。

- [1] Didychuk, C. L., Ephrat, P., Chamson-Reig, A., Jacques, S. L., & Carson, J. J. L. Depth of photothermal conversion of gold nanorods embedded in a tissue-like phantom. *Nanotechnology*, **20**(19). (2009). <https://doi.org/10.1088/0957-4484/20/19/195102>
- [2] Ungureanu, C., Kroes, R., Petersen, W., Groothuis, T. A. M., Ungureanu, F., Janssen, H., ... Van Leeuwen, T. G. Light interactions with gold nanorods and cells: Implications for photothermal nanotherapeutics. *Nano Letters*, **11**(5), 1887–1894. (2011). <https://doi.org/10.1021/nl103884b>
- [3] Rodríguez-Fernández, J., Pérez-Juste, J., Mulvaney, P., & Liz-Marzán, L. M. Spatially-directed oxidation of gold nanoparticles by Au(III)-CTAB complexes. *Journal of Physical Chemistry B*, **109**(30), 14257–14261. (2005). <https://doi.org/10.1021/jp052516g>
- [4] Rodríguez-Lorenzo, L., Romo-Herrera, J. M., Pérez-Juste, J., Alvarez-Puebla, R. A., & Liz-Marzán, L. M. Reshaping and LSPR tuning of Au nanostars in the presence of CTAB. *Journal of Materials Chemistry*, **21**(31), 11544–11549. (2011). <https://doi.org/10.1039/c1jm10603a>
- [5] Parab, H. J., Chen, H. M., Lai, T. C., Huang, J. H., Chen, P. H., Liu, R. S., ... Hwu, Y. K. Biosensing, cytotoxicity, and cellular uptake studies of surface-modified gold nanorods. *Journal of Physical Chemistry C*, **113**(18), 7574–7578. (2009). <https://doi.org/10.1021/jp9000169>
- [6] Murphy, C. J., Gole, A. M., Stone, J. W., Sisco, P. N., Alkilany, A. M., Goldsmith, E. C., & Baxter, S. C. Gold nanoparticles in biology: Beyond toxicity to cellular imaging. *Accounts of Chemical Research*, **41**(12), 1721–1730. (2008). <https://doi.org/10.1021/ar800035u>
- [7] Connor, E. E., Mwamuka, J., Gole, A., Murphy, C. J., & Wyatt, M. D. Gold nanoparticles are taken up by human cells but do not cause acute cytotoxicity. *Small*, **1**(3), 325–327. (2005). <https://doi.org/10.1002/sml.200400093>
- [8] Cheng, L. C., Huang, J. H., Chen, H. M., Lai, T. C., Yang, K. Y., Liu, R. S., ... Tsai, D. P. Seedless, silver-induced synthesis of star-shaped gold/silver bimetallic nanoparticles as high efficiency photothermal therapy reagent. *Journal of Materials Chemistry*, **22**(5), 2244–2253. (2012). <https://doi.org/10.1039/c1jm13937a>
- [9] Liz-Marzán, L. M., & Mulvaney, P. The assembly of coated nanocrystals. *Journal of Physical Chemistry B*, **107**(30), 7312–7326. (2003). <https://doi.org/10.1021/jp027835b>
- [10] Stober, W., Fink, A., & Ernst Bohn, D. *Controlled Growth of Monodisperse Silica Spheres in the Micron Size Range I. JOURNAL OF COLLOID AND INTERFACE SCIENCE* (Vol. 26). (1968).
- [11] Liz-Marzán, L. M., Marzán, M., & Philipse, A. P. *Synthesis and Optical Properties of Gold-Labeled Silica Particles The obtained sols were characterized by static and dy. JOURNAL OF COLLOID AND INTERFACE SCIENCE* (Vol. 176). (1995).
- [12] Liz-Marzan, L. M., Giersig, M., & Mulvaney, P. *Homogeneous silica coating of vitreophobic colloids. Chem. Commun.* (1996).
- [13] Yin, Y., Lu, Y., Sun, Y., & Xia, Y. Silver Nanowires Can Be Directly Coated with Amorphous Silica To Generate Well-Controlled Coaxial Nanocables of Silver/Silica, **2**(4), 427–430. (2002). <https://doi.org/10.1021/nl025508>
- [14] Mine, E., Yamada, A., Kobayashi, Y., Konno, M., & Liz-Marzán, L. M. Direct coating of gold

- nanoparticles with silica by a seeded polymerization technique. *Journal of Colloid and Interface Science*, **264**(2), 385–390. (2003). [https://doi.org/10.1016/S0021-9797\(03\)00422-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9797(03)00422-3)
- [15] Liu, J., Kan, C., Cong, B., Xu, H., Ni, Y., Li, Y., & Shi, D. Plasmonic Property and Stability of Core-Shell Au@SiO₂ Nanostructures. *Plasmonics*, **9**(5), 1007–1014. (2014). <https://doi.org/10.1007/s11468-014-9708-1>
- [16] Agabeigi, R., Rasta, S. H., Rahmati-Yamchi, M., Salehi, R., & Alizadeh, E. Novel Chemo-Photothermal Therapy in Breast Cancer Using Methotrexate-Loaded Folic Acid Conjugated Au@SiO₂ Nanoparticles. *Nanoscale Research Letters*, **15**(1), 1–14. (2020). <https://doi.org/10.1186/s11671-020-3295-1>
- [17] Wu, Z., Liang, J., Ji, X., & Yang, W. Preparation of uniform Au@SiO₂ particles by direct silica coating on citrate-capped Au nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, **392**(1), 220–224. (2011). <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2011.09.059>
- [18] Krajczewski, J., Kołataj, K., Pietrasik, S., & Kudelski, A. Silica-covered star-shaped Au-Ag nanoparticles as new electromagnetic nanoresonators for Raman characterisation of surfaces. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **193**, 1–7. (2018). <https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.11.060>
- [19] Wang, Z., Fu, H., Han, D., & Gu, F. The effects of Au species and surfactant on the catalytic reduction of 4-nitrophenol by Au@SiO₂. *Journal of Materials Chemistry A*, **2**(47), 20374–20381. (2014). <https://doi.org/10.1039/c4ta04524f>
- [20] Krajczewski, J., Kołataj, K., Pietrasik, S., & Kudelski, A. Silica-covered star-shaped Au-Ag nanoparticles as new electromagnetic nanoresonators for Raman characterisation of surfaces. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **193**, 1–7. (2018). <https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.11.060>
- [21] Atabaev, T. S., Jin, O. S., Lee, J. H., Han, D. W., Vu, H. H. T., Hwang, Y. H., & Kim, H. K. Facile synthesis of bifunctional silica-coated core-shell Y₂O₃:Eu³⁺, Co²⁺ composite particles for biomedical applications. *RSC Advances*, **2**(25), 9495–9501. (2012). <https://doi.org/10.1039/c2ra21332j>
- [22] Wang, Y., Black, K. C. L., Luehmann, H., Li, W., Zhang, Y., Cai, X., ... Xia, Y. Comparison study of gold nanohexapods, nanorods, and nanocages for photothermal cancer treatment. *ACS Nano*, **7**(3), 2068–2077. (2013). <https://doi.org/10.1021/nn304332s>
- [23] Ryabchikova, E. I., Chelobanov, B. P., Parkhomenko, R. G., Korchagina, K. V., & Basova, T. V. Degradation of core-shell Au@SiO₂ nanoparticles in biological media. *Microporous and Mesoporous Materials*, **248**, 46–53. (2017). <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2017.04.006>
- [24] Agabeigi, R., Rasta, S. H., Rahmati-Yamchi, M., Salehi, R., & Alizadeh, E. Novel Chemo-Photothermal Therapy in Breast Cancer Using Methotrexate-Loaded Folic Acid Conjugated Au@SiO₂ Nanoparticles. *Nanoscale Research Letters*, **15**(1). (2020). <https://doi.org/10.1186/s11671-020-3295-1>
- [25] Wang, M., Li, J. M., Huang, B., & Miao, A. J. Quantification of silica nanoparticle uptake at environmentally relevant concentrations by gold-core embedding. *Science of the Total Environment*, **954**. (2024). <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.176433>

第6章 化学温熱併用がん治療法への展開

6.1 緒言

6.1.1 Diels-Alder 反応

Diels-Alder 反応とは炭素二重結合をもつ炭化水素であるジエン (Diene) とアルケンで構成されるジエノフィル (Dienophile) が反応してシクロヘキセン環を形成する環化付加反応である。Figure 6-1 に Diels-Alder 反応の例であり、一般的な Diene が求電子性のアルケンと反応する電子要請型反応、分子内でシクロヘキセン環を形成する分子内反応、ヘテロ原子を含む Diene や Dienophile によるヘテロ Diels-Alder 反応、テトラジンと Dienophile による環化反応である逆電子要請型反応がある [1,2]。Diels-Alder 反応は結合の切断と生成が同時に進行する協奏反応であり、非常に効率的かつ化学構造も調整可能な反応である [3]。

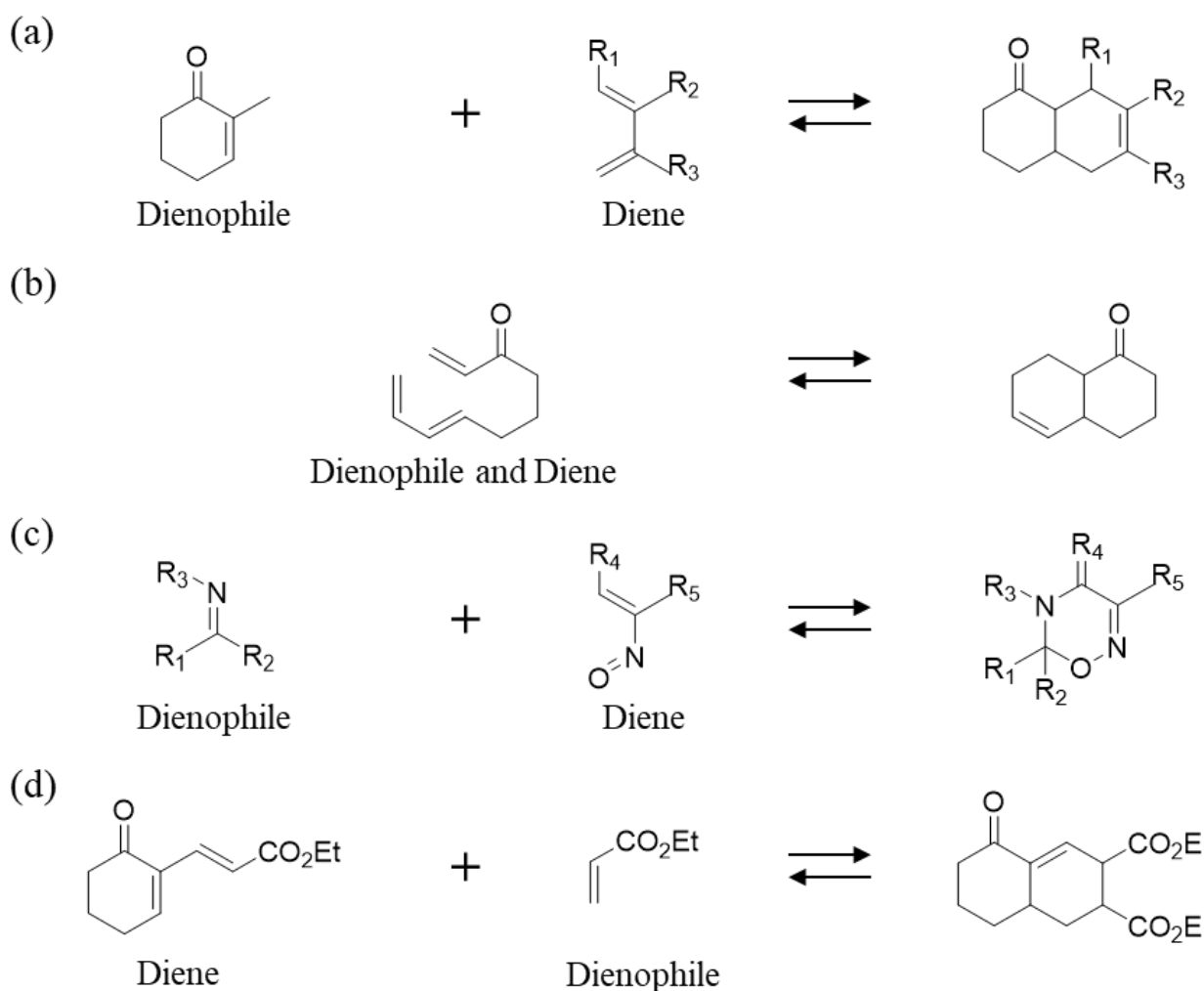


Figure 6-1 Diels-Alder 反応の例 ; (a) 電子要請型反応、(b) 分子内反応、(c) ヘテロ Diels-Alder 反応、(d) 逆電子要請型反応

Diels-Alder 反応はその反応条件によりメチレン架橋基に対して置換基がトランスであるエンド体とシスであるエキソ体を形成する。エンド体とエキソ体の形成は Diene と Dienophile の物理的配置によって説明される [4]。Figure 6-2 にマレイミドとジエンの物理的配置と生成物の関係を示す。カルボニル基が $C=C$ 二重結合の上/下に配置するとき反応性が向上し、立体障害があるが形成速度の速いエンド体が形成される。一方で、カルボニル基が $C=C$ 二重結合と対称的な位置に配置するとき、立体障害はないが反応性の低下により形成速度が遅いエキソ体が形成される。

Diels-Alder 反応において生成物の熱力学的安定性を考慮することで反応性の制御が可能である。Figure 6-3 に Diels-Alder 反応における生成物のエネルギー状態の概念図を示す [5]。Diels-Alder 反応は吸熱反応と発熱反応の二つに区分される。吸熱反応では結合に必要な熱を外部から吸収し、活性化エネルギーを超えることで反応が開始する。この時、立体障害により基底状態のエネルギーが高いエンド体が形成される。一方で発熱反応では結合形成時に放出されるエネルギーが活性化エネルギーを超えることで反応が自動的に進行する。この時、より安定な化合物であるエキソ体が形成される。反応物と生成物のエネルギー差により結合が切断される逆反応も進行する。可逆的な熱平衡反応である Diels-Alder 反応は近年、刺激応答性のポリマー [6]やナノ粒子 [7,8]、ハイドロゲル [9,10]の合成に応用されている。

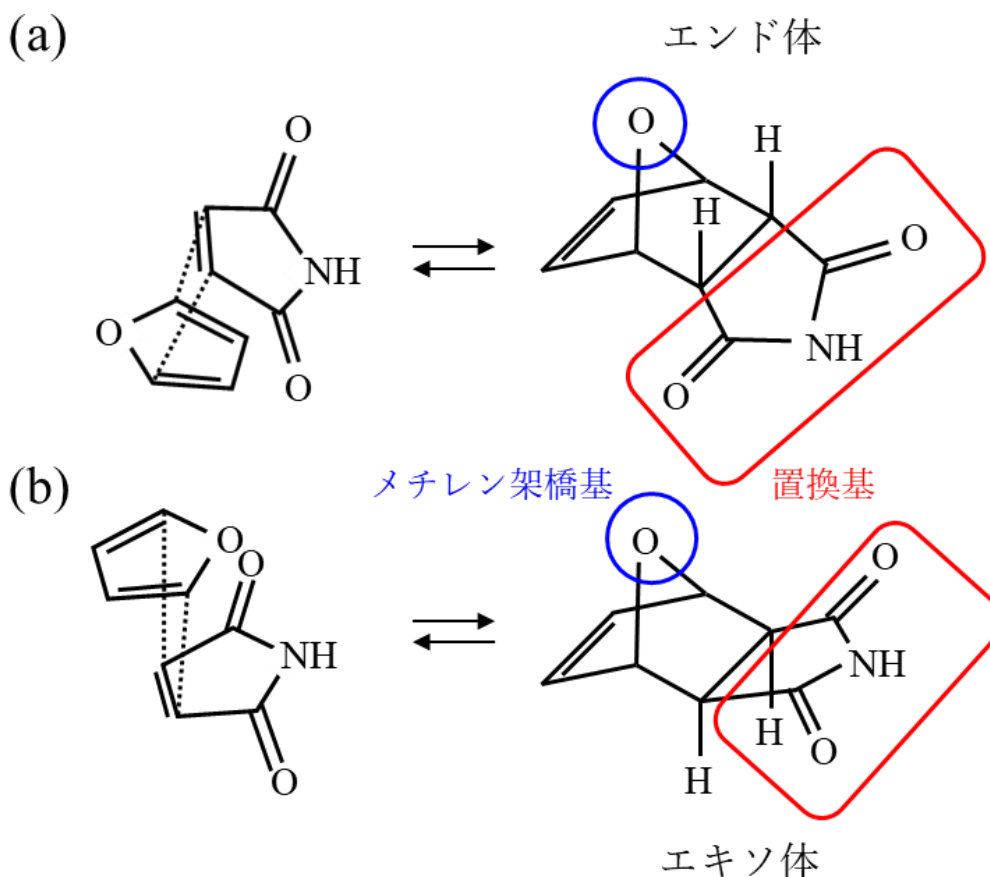


Figure 6-2 マレイミドとジエンの物理的配置と生成物の関係 ; (a) エンド体、(b) エキソ体

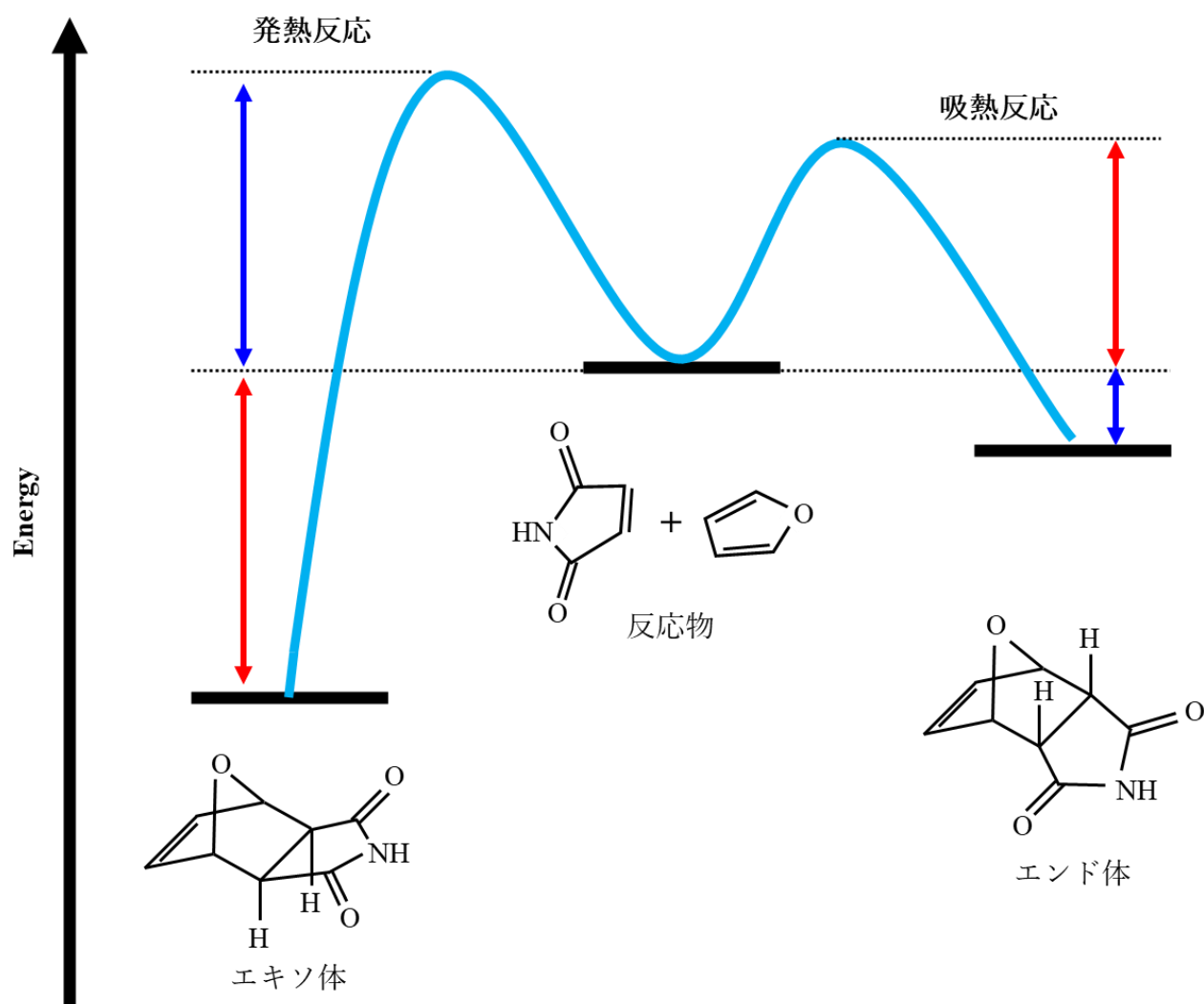


Figure 6-3 Diels-Alder 反応における遷移状態の概念図

6.1.2 Diels-Alder 反応を応用した薬物送達システム

Diels-Alder 反応で形成された結合は、pH、温度、生体分子との相互作用により逆反応が進行し結合が切断される。逆反応による結合の切断を応用することで薬物放出を時空間的に制御することが可能である。Diels-Alder 反応と金 (Au) や銀 (Ag) ナノ粒子の光熱変換機能を利用することで 5-カルボキシフルオレセイン (CF) [11]やペプチド核酸 [12]の修飾と放出が報告され、DDS への応用が期待されている [13]。ナノ粒子表面への修飾は Au や Ag と配位共有結合を形成するチオールが広く利用されている [4,11–13]。

2020 年にパーク大学の Liu らは、Ag ナノ粒子表面にあらかじめ薬物としてマイクロ RNA (miRNA : miR-148b) を Diels-Alder 反応によって結合させたジスルフィド結合をもつ化合物を修飾したナノ粒子の合成を報告した [14]。放出挙動は 415 nm、0.2 W/cm² の LED 照射によって確認され、15 分後に段階的に放出されることを明らかにした。さらに、*in vitro* では細胞の増殖に関わる遺伝子である Ras が発現したケラチノサイトで選択的にアポトーシスを誘導し、*in vivo* では腫瘍の増殖を抑制することを実証した。

2021 年にチリ大学の Bolaños らは、あらかじめ薬物であるメトトレキサート (MTX) に対して Diels-Alder 反応によってジスルフィド結合を導入し、光熱変換効率が 44% の Au ナノロッド (AuNR) と 32% の Au ナノプリズム (AuNPr) 表面に修飾した [8]。Bolaños らは波長 808 nm の近赤外 (NIR) レーザーを 350 mW で 15 分照射するで 1 nM の AuNR 溶液と AuNPr 溶液はそれぞれ 41°C と 40°C まで温度が上昇し、その表面から 15% と 11% のメトトレキサートが放出されることを明らかにした。

これまで、Diels-Alder 反応で形成された結合がプラズモンナノ粒子の光熱変換時に切断され、DDS にとって有用であることが報告された。一方で検討されたプラズモンナノ粒子の形態は単純なものに限定されており、光熱変換効率のより高い星型ナノ粒子との複合は報告されていない。そこで、第 5 章で合成したシリカ被覆星型 Au-Ag ナノ粒子 (AuAg-SiO₂) の表面に薬物としてドキソルビシン (Dox) を Diels-Alder 反応によって修飾することを検討した。

6.1.3 第 6 章の目的

本章の目的は、Dox を Diels-Alder 反応によって AuAg-SiO₂ 表面に修飾したナノ粒子の抗腫瘍効果を検討することである。合成したナノ粒子の薬物放出の温度/レーザー応答性を評価し、*in vitro* にて抗腫瘍効果を評価した。

6.2 実験方法

6.2.1 試薬

合成には、テトラクロロ金 (III) 酸四水和物 (HAuCl_4 ; 和光純薬工業、試薬特級)、硝酸銀 (AgNO_3 ; 和光純薬工業、試薬特級)、 $\text{L}(+)\text{-アスコルビン酸}$ (AA; 和光純薬工業、試薬特級)、ポリビニルピロリドン K25 (PVP; 和光純薬工業、試薬特級)、Tetraethyl Orthosilicate (TEOS; 東京化成工業)、25%アンモニア水 (NH_3 aq.; 和光純薬工業、試薬特級)、1 M 水酸化ナトリウム溶液 (1 M NaOH aq.; 和光純薬工業、容量分析用) 3-Aminopropyltriethoxysilane (APTES; 東京化成工業)、2-Furancarboxylic Acid (Fran; 東京化成工業)、エタノール (99.5) (和光純薬工業、試薬特級) 4-(4,6-Dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-methylmorpholinium Chloride (DMT-MM; 東京化成工業)、Doxorubicin Hydrochloride (Dox; 東京化成工業)、N-Succinimidyl 4-Maleimidobutyrate [Cross-linking Reagent] (Mal; 東京化成工業)、ジメチルスルホキシド (DMSO; 和光純薬工業、試薬特級)、酢酸エチル (和光純薬工業、試薬特級)、重水 (D_2O ; 和光純薬工業、NMR 用)、DMSO- d_6 (和光純薬工業、NMR 用)、D-MEM (低グルコース) (L -グルタミン、フェノールレッド、ピルビン酸ナトリウム、1500 mg/L 炭酸水素ナトリウム含有) (和光純薬工業、細胞培養用)、Fetal Bovine Serum (FBS; Biowest)、ペニシリン-ストレプトマイシン (PS; 和光純薬工業、細胞培養用)、リン酸緩衝液 (PBS、DS ファーマバイオメディカル)、0.5 w/v% トリプシン 5.3 mmol/L EDTA-4Na (フェノールレッド不含) (トリプシン; Gibco)、超純水 (18 M Ω cm、Millipore) を用いた。

6.2.2 シリカ被覆星型 Au-Ag ナノ粒子の合成

10 mM HAuCl_4 200 μL と 10 mM AgNO_3 20 μL を 10 mL の超純水に加えた後、100 mM AA 40 μL を加え還元することで AuAgNS (AuAg) を作製した。この操作を 10 回行い 100 mL 作製した。作製した AuAg 溶液 100 mL に固相安定剤として 1 wt% PVP 400 μL を加えて 9,390 $\times$ g で 15 分間遠心分離を行い、10 mL に濃縮した溶液を調整した。濃縮した溶液 10 mL に、エタノール 30 mL と TEOS 3 μL を加え 30 分攪拌した。その後 NH_3 aq. 1 mL を加えて、1 時間攪拌を行った。反応後には、9,390 $\times$ g で 15 分間、遠心分離を行い、上澄みを除去後 10 mL のエタノールを加えた。この操作を 3 回繰り返して洗浄し、シリカ被覆 AuAg (AuAg_SiO_2) を合成した。

6.2.3 シリカ被覆星型 Au-Ag ナノ粒子への Dox 修飾

AuAg_SiO_2 表面にジエンを導入するために用いた APTES と Fran および DMT-MM を用いた縮合反応によって形成された化合物の構造を Figure 6-4 に示す。APTES の構造中の 3 つのエトキシ基は加水分解しシラノール基を形成し、 AuAg_SiO_2 表面のシラノール基と縮合反応することで修飾される。フランの二位または三位にアルコキシ基、アルキル基、アルデヒド基をもつフラン誘導体とマレイミドの Diels-Alder 反応における活性化エネルギーが計算によって明らかになっている [15]。官能基に関わらずエンド体からの逆反応の活性化エネルギーは三位より二位に官能基をもつフラン誘導体の方が低い。したがって本研究では二位にカルボキシル基を持つ Fran を選択した。

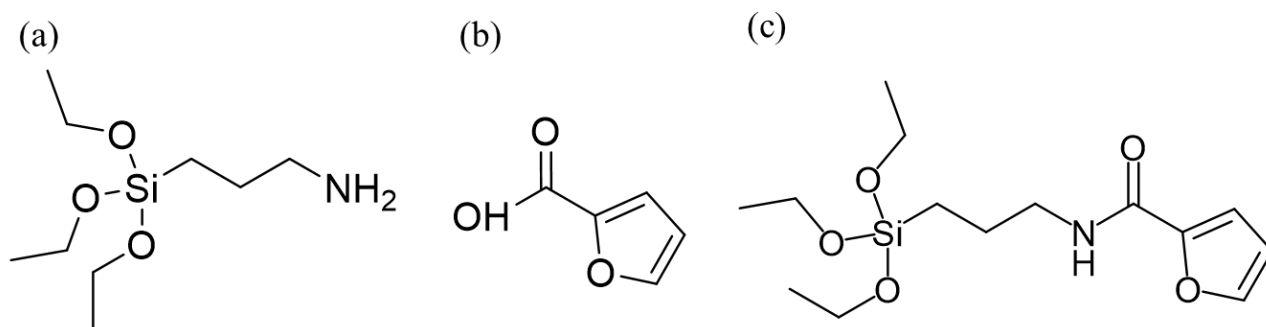


Figure 6-4 (a) APTES、(b) Fran および (c) DMT-MM を用いた縮合反応によって形成された化合物の構造

第一段階として、AuAg₂SiO₂表面に APTES 修飾した。1 mg の AuAg₂SiO₂ を 10 mL のエタノールに分散させ、予め 1 mM に調整した NaOH aq. を 1 mL 添加することで pH を 10 程度に調整した。調整した溶液に APTES を 1.4 ～ 54 μ mol 添加し、60°C で二時間転倒攪拌した。反応後には、9,390 $\times$ g で 15 分間、遠心分離を行い、上澄みを除去後 10 mL のエタノールを加えた。この操作を 3 回繰り返して洗浄し、APTES 修飾 AuAg₂SiO₂ (AuAg₂APTES (APTES 添加量)) を合成した。

第二段階として 50% エタノールに 5 mL に 1 mg の AuAg₂APTES₂₇ を分散させ、14、27、54 μ mol の Fran を添加した。縮合剤には DMT-MM を用い、二時間毎に 27 μ mol の DMT-MM を三回添加し、40°C で 18 時間反応を進行させた。反応後には、9,390 $\times$ g で 15 分間、遠心分離を行い、上澄みを除去後 10 mL のエタノールを加えた。この操作を 3 回繰り返して洗浄し、Fran 修飾 AuAg₂SiO₂ (AuAg₂Fran (Fran 添加量)) を合成した。

Dox 修飾に先立って Dox にマレイミド基を導入した。構造中のアミノ基を利用して官能基が導入された Dox は抗腫瘍効果を示すことが報告されている [16,17]。Figure 6-5 に反応過程を示す。本章でマレイミド基の導入に用いた Mal は水中で分解し、カルボキシ基をもつ化合物と不活性化合物に分解される。カルボキシ基をもつ化合物と Dox が脱水縮合しアミド結合を形成することで Dox に対してマレイミド基が導入された Dox-Mal を合成した。Dox-Mal は Dox 30 mg に対してモル比で 3 等量の Mal を添加し、反応の進行度に応じて DMT-MM を添加し合成した。合成した Dox-Mal はエバポレーター (N-1300、EYELA) を用いて溶媒を全て揮発させた後、2 mL の DMSO に溶解させた。

展開溶媒を薄層クロマトグラフィー (TLC ; TLC Silica gel 60 F₂₅₄、Supelco) によって異なる酢酸エチル：メタノール比で展開した結果をもとに決定し、フラッシュ自動精製システム (Isolera™ One、Biotage) にカラム (Biotage® Sfär Silica HC D-High Capacity Duo 20 µm、Biotage) を二つ連結させ、40 mL/min の条件で 15 mL ずつ分注することで精製した。精製後は DMSO 中に 100 mg/mL となるよう溶解させた。

最後にナノ粒子表面に Dox-Mal を修飾した。50%エタノールに分散した AuAg_Fran 1 mg に対して Dox-Mal が 20、30、40、50 µg となるよう 1 mg/mL Dox-Mal 溶液を添加した。添加後は 60°C で 18 時間転倒攪拌することで反応を進行させた。反応後には、9,390 ×g で 15 分間、遠心分離を行い、上澄みを除く後 10 mL の 50%エタノールを加えた。この操作を 3 回繰り返して洗浄し、Dox 修飾 AuAg (AuAg_Dox (Dox-Mal 添加量)) を合成した。

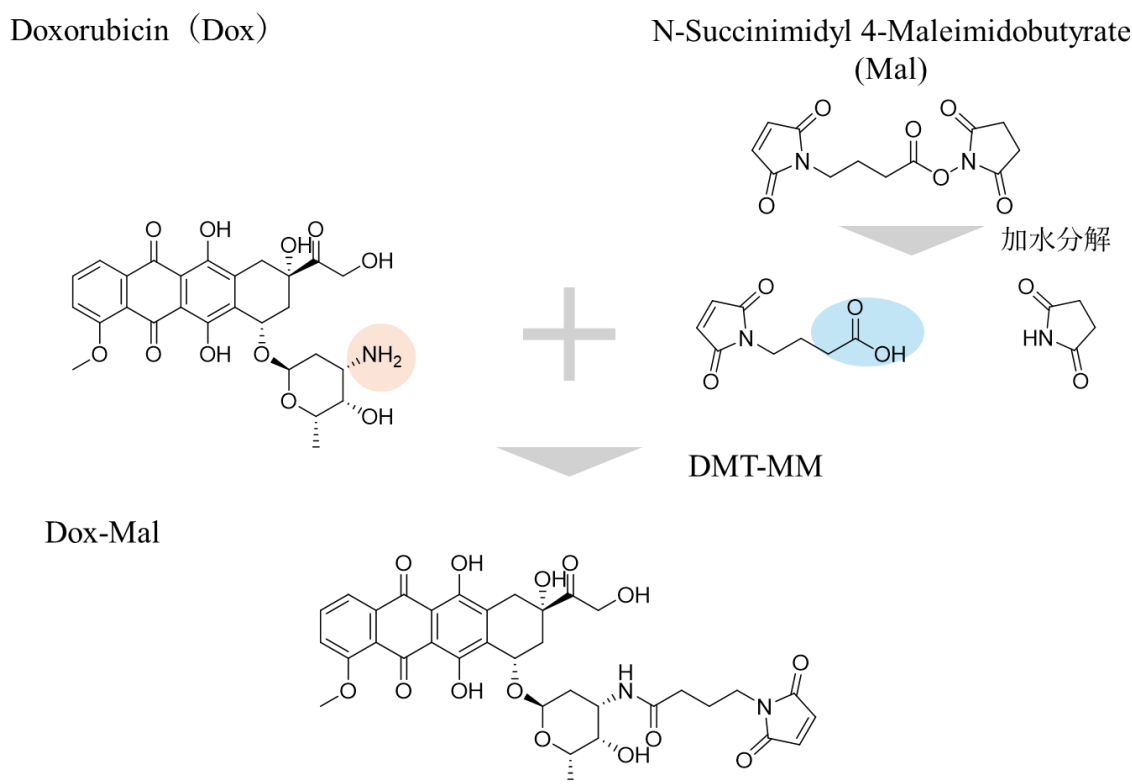


Figure 6-5 Dox へのマレイミド基の導入過程

6.2.4 評価方法

6.2.4.1 光散乱電気泳動法による表面修飾の評価

Figure 6-6 (a) に固体粒子の電位分布の概念図を示す [18]。ナノ粒子表面は電荷を帯びており、溶液中の対イオンとの静電相互作用により固定層と拡散層からなる電気二重層が形成される。粒子表面の最近傍距離まで接近した水和している対イオンの中心の面が Stern 面であり、その面の電位が Stern 電位 ψ_δ である。ゼータ電位 ζ はすべり面の電位であるため Stern 電位 ψ_δ よりも僅かに溶液側の電位であると考えられているが、ほとんどの研究では Stern 電位 ψ_δ とゼータ電位 ζ は等しいものとして取り扱われている [19]。電気二重層の広がり具合は式 (6-2) で示す Debye 長 x によって表されることが報告されている [20]。Debye 長 x は式 (6-3) に示す κ の逆数である。ここで、 n は電解質の価数、 z は電解質の数密度 (m^{-3})、 e は電気素量 (C)、 ε_0 は真空の誘電率 (F/m)、 ε_r は溶液の比誘電率、 k はボルツマン定数 (J/K)、 T は絶対温度 (K) である。Debye 長 x は厳密には電気二重層の厚さではなく、拡散層内の電位が Stern 電位の $1/e$ (e : 自然対数の底) となる距離である。

$$x = \kappa^{-1} \quad \text{式 (6-2)}$$

$$\kappa = \sqrt{\frac{2\pi n z^2 e^2}{\varepsilon_0 \varepsilon_r k T}} \quad \text{式 (6-3)}$$

n : 電解質の価数

z : 電解質の数密度

e : 電気素量

ε_0 : 真空の誘電率

ε_r : 溶液の溶液の比誘電率

k : ボルツマン定数

T : 絶対温度

粒形 a が Debye 長 x に対して十分大きいとき、電気泳動移動度 u は式 (6-4) に示す Smoluchowski の式 [21] で表される。このとき、 η は粘性率 (mPa)、 ζ はゼータ電位 (mV) である。

$$u = \frac{\varepsilon_0 \varepsilon_r \zeta}{\eta} \quad \text{式 (6-4)}$$

ε_0 : 真空の誘電率

ε_r : 溶液の溶液の比誘電率

η : 粘性率

ζ : ゼータ電位

Figure 6-6 (b) に帯電高分子が吸着した粒子の電位分布の概念図を示す。粒子表面には帯電高分子の吸着によって表面電荷層が形成される。表面電荷層の厚さ d が Debye 長 x より十分大きいとき、表面電荷層内部では電位が一定となる。この電位が Donnan 電位 ψ_{DON} である。表面電荷層の外部だけで

なく内部にも電気二重層が形成されるため、表面電荷層／液界面の両側で電位は指数関数的に変化する。粒子表面から $1/\lambda$ の領域は帯電高分子の存在によって溶液の流速が低い領域である。帯電高分子が吸着した粒子の電気泳動移動度 u を式 (6-5) に示す [22]。このとき、 ψ_0 は表面電荷層／液界面における電位、 N は帯電高分子の解離基の価数、 Z は帯電高分子の解離基の密度である。帯電高分子が吸着した粒子の電気泳動移動度 u は Donnan 電位 ψ_{DON} と $1/\lambda$ 、および表面電荷層／液界面における電位 ψ_0 で表され、ゼータ電位 ζ を求めることはできない。

$$u = \frac{\varepsilon_r \varepsilon_0}{\eta} \frac{\frac{\psi_0}{\kappa} + \frac{\psi_{DON}}{\lambda}}{\frac{1}{\kappa} + \frac{1}{\lambda}} + \frac{ZeN}{\eta \lambda^2} \quad \text{式 (6-5)}$$

ε_0 : 真空の誘電率

ε_r : 溶液の比誘電率

η : 粘性率

N : 帯電高分子の解離基の価数

Z : 帯電高分子の解離基の密度

e : 電気素量

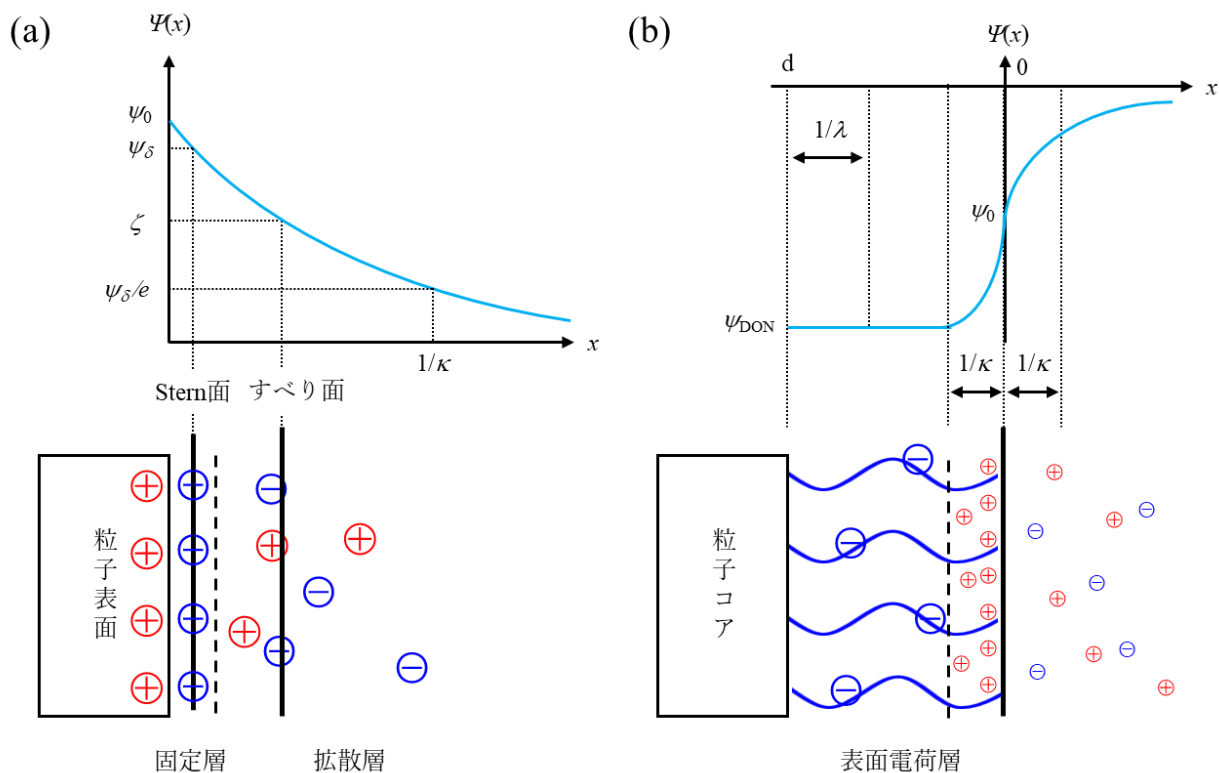


Figure 6-6 (a) 固体粒子と(b) 表面に帯電した高分子の層が吸着した粒子の電位分布の概念図

本章では、電気泳動光散乱測定装置（ゼータサイザー；Zetasizer Nano ZS90、Malvern Panalytical、United Kingdom）により、試料の表面電位の測定を行った。試料の濃度は 0.1 mg/mL で調製した。また、溶媒は pH が 7.4 である 10 mM の NaCl を用いた。セルへの試料の充填を行う前に、セルを NaCl 溶媒で洗浄した後、気泡の発生を避けるために試料はゆっくりと注いだ。繰り返し回数は 3 回とし、各試料の平均電位を求めた。

Debye 長 x は電解質の濃度が 100 mM の時に約 1 nm、1 mM の時に約 10 nm、10 μ M の時に約 100 nm である [23]。本章のゼータ電位測定時の NaCl 濃度は 10 mM であるため AuAg-SiO₂ の電気二重層の Debye 長 x は 3 nm 程度であると考えられる [24]。さらに APTES の単分子層の厚さは 5 ～ 10 Å であることが報告されている [25–28]。Debye 長 x は APTES の単分子層によって形成される表面電荷層に対して大きく、 $1/\lambda$ は非常に小さい。 $1/\lambda$ が非常に小さいとき、式 (6-5) は式 (6-4) と一致する。従って、AuAg-APTES は固体粒子として近似でき、電気泳動移動度 u からゼータ電位 ζ を算出することが可能である。電気泳動移動度は式 (6-6) に示す Henry の式 [29] によって解析し、ゼータ電位 ζ を算出した。Henry の式は式 (6-4) に対して、粒子の存在による外部電場の歪みを考慮した式であり $f(\kappa a)$ は Henry 係数である。

$$u = \frac{\varepsilon_r \varepsilon_0}{\eta} f(\kappa a) \quad \text{式 (6-6)}$$

$f(\kappa a)$: Henry 係数

6.2.4.2 核磁気共鳴分光法による Dox-Mal の評価

核磁気共鳴スペクトルは核磁気共鳴分光装置 (¹H-NMR ; 400YH、JEOL) を用いて、測定モードは ¹H、スキャン回数 32 回、室温で測定した。対照試料として Dox と Mal を用いた。Dox は D₂O に、Dox-Mal と Mal は DMSO-d₆ に 1 mg/mL となるよう溶解させ測定した。Dox-Mal の精製は Dox の六員環の 3 つの水素に帰属されるピークとマレイミド基の 4 つの水素に帰属されるピークの積分値によって確認した。

6.2.4.3 温度応答性の評価

AuAg-Dox を 1 mg/mL となるよう 50%エタノールに分散させ、15 mL 遠沈管に入れた。ナノ粒子溶液が入った遠沈管を 40、65、90°C の水浴中に 5 分間静置した。全ての結合を切断するために 90°C の水浴中に 30 分間静置し、この時の放出量を 100% とし、各試料の放出量を算出した。静置後に 9,390 × g で 5 分間遠心分離し、上澄み 100 μ L をプレートリーダー (power scan HT、DS ファーマバイオメディカル、Japan) によって測定し、Dox の放出量を定量した。測定時の波長は励起波長 480 nm、蛍光波長 590 nm で測定した。 $n = 3$ となるように測定し、有意差は Tukey 法によって確認した。

6.2.4.4 レーザー応答性の評価

レーザー試験にはレーザー装置 (KIF200521085-0000、スペクトラ・フィジクス) を用いた。レーザーは波長 750 nm、レーザー径 6.4 mm、出力 2.8 W/cm² で照射した。1 mg/mL の AuAg-Dox 50%エタ

ノール溶液を超純水で希釈し、100 µg/mL と 200 µg/mL となるよう調整した。調整した溶液を 1 cm 四方の石英ガラスキュベットに 200 µL 加え、上からレーザーを照射した。温度上昇はサーモカメラ（G120EX、日本アビオニクス、Japan）によって側面から 3 秒毎に測定した。温度測定は 5 分間のレーザー照射時の昇温とレーザー照射後の 2 分間の降温を測定した。照射後の溶液は 9,390 × g で 15 分間遠心分離し上澄みをプレートリーダーによって分析した。さらに、Roper ら [30]によって考案された式（6-7）を使用して各濃度における光熱変換効率（ η ）を計算した。ここで、 h は熱伝達係数（W/m²・°C）、 S は容器の表面積（m²）、 T_{max} はサンプル溶液の平衡温度（°C）、 T_{sur} は周囲の温度（°C）、 Q_0 はレーザー照射下で容器と水によって発生する熱（W）、 I はレーザー出力（W）、 A は 750 nm でのサンプル溶液の吸光度である。

$$\eta = \frac{hS(T_{max} - T_{sur}) - Q_0}{I(1 - 10^{-A})} \quad \text{式 (6-7)}$$

6.2.4.5 細胞実験方法

レーザー照射時のヒト肺胞基底上皮癌細胞（A549）に対する AuAg_Dox50 の抗腫瘍効果を評価した。

初めに D-MEM に対して 10% の FBS と 1% の PS を添加し調整培地を調整した。A549 を播種するのに適切な細胞濃度（ 2.5×10^4 cell/mL）になるように調整培地を加え、接着細胞培養プレート 96F 独立ウェルタイプ（96 well プレート、MS-80480、住友ベークライト）に 0.1 mL ずつ入れ（ 2.5×10^3 cells/well）、CO₂ インキュベーター（MCO-5AC、SANYO）内に 37°C、CO₂ 濃度 5%、湿度 95% の条件で 1 日静置して細胞を接着させた。

試料の殺菌と分散のため、ナノ粒子の濃度が 1 mg/mL の溶液を 1 mL だけ 15 mL の遠沈管に入れて、エタノールを 6~7 mL 加えた後、25 kHz の超音波を 5 分間照射して分散させた。9,390 × g で 15 分間遠心分離を行い、上澄みを吸引した。この操作を 2 回繰り返した。滅菌した試料に、FBS を含まない調整培地を 6~7 mL 加えて、エタノールと同様の操作を 2 回繰り返した。最終的に所定量の 2 倍の濃度（200、400 µg/mL）の試料を、FBS を含まない調整培地に分散させた。細胞を播種させた 96 well プレートの培地を吸引した後、control として試料を含まない調整培地を $n = 3$ となるように 0.2 mL ずつ加えた。96 well プレートに調整した試料 0.10 mL と 20% の FBS 濃度の調整培地 0.10 mL を加えた。最終的に FBS 濃度は 10%、試料濃度は 100、200 µg/mL に調整した。

24 時間後に波長 750 nm のレーザーを 2.8 W/cm² の条件で 5 分または 10 分間照射した。

さらに 24 時間 CO₂ インキュベーター内に静置した後、PBS とトリプシンを用いて上澄み溶液と細胞を全て回収した。各サンプルの生存率は、Muse® カウント & 生存率キットとセルアナライザー（Guava® Muse™ セルアナライザー、Cytex Biosciences、United States）を使用して評価した。

Dox の 50% 阻害濃度（IC₅₀）は 2.5×10^3 cells/well で播種後、CO₂ インキュベーター内で 1 日静置し、1 ng/mL から 50 µg/mL の範囲で Dox 濃度を調整後に 24 時間後の細胞生存率を測定し、IC₅₀ Calculator（AAT Bioquest）によって算出した。

6.3 結果と考察

6.3.1 APTES 修飾条件の検討

Figure 6-7 に AuAg_SiO₂ 1 mg に対して添加した APTES 量によるゼータ電位の変化を示す。pH7.4 で AuAg_SiO₂ のゼータ電位は -27.3 ± 1.6 mV であった。アミノ基を有する APTES の添加量が増えるにつれてゼータ電位は正に帯電した。

これまで、ドデシルアンモニウムイオン (DA⁺) [19]、セチルトリメチルアンモニウムブロミド (C_nTAB) [31,32] やポリアミン鎖を有するポリマー [33] を SiO₂ に吸着させ、そのゼータ電位と添加量の関係が報告されている。界面活性剤である DA⁺ と C_nTAB 吸着時のゼータ電位の添加量依存性は同様の傾向を示し、段階的に変化していた [19,31,32]。第一段階では SiO₂ 表面に単分散した界面活性剤が静電相互作用によって吸着した。第二段階では表面に吸着した界面活性剤同士が疎水性相互作用により単分子層を形成するためゼータ電位は 0 mV に近づく。さらに添加量が多くなると界面活性剤は二分子膜を形成するため、ゼータ電位は正の値を示す。最終的に二分子膜の形成に伴って表面は正に帯電するため界面活性剤の吸着が抑制され、ゼータ電位の変化の傾きは小さくなる。ゼータ電位と界面活性剤の添加量の関係は SiO₂ に対する界面活性剤の吸着挙動と良く一致していた [31,32]。したがって、AuAg_SiO₂ への APTES 修飾時のゼータ電位と APTES 添加量の関係を、等温吸着式を模した式で解析することで結合挙動の推定が可能である。

AuAg_SiO₂ 表面のシラノール基と APTES のエトキシ基は一対一で反応するため、解析には 1 吸着サイトに対して 1 分子が吸着する場合を仮定した吸着式であるラングミュアの吸着等温式を選択した。吸着等温式の吸着等温式は負の値を示さないため、AuAg_SiO₂ のゼータ電位の項を追加した式 (6-8) を考案し、フィッティングした。この時、 Z (mV) はゼータ電位、 Z_m (mV) はゼータ電位の最大値、 Z_0 (mV) は AuAg_SiO₂ のゼータ電位、 K_z (μmol⁻¹) は定数、 C (μmol) は APTES 添加量である。

$$Z = \frac{(Z_m - Z_0)K_z C}{1 + K_z C} + Z_0 \quad \text{式 (6-8)}$$

考案した式によるフィッティングの結果、 Z_m は 4.14 mV、 K_z は 0.481 であることが明らかになった。この時、決定係数 R^2 は 0.970 であり、精度良く一致した。考案した式によってフィッティングできたことは、APTES が単層で修飾されており修飾量が飽和した際のゼータ電位が 4.16 mV であることを意味している。APTES は SiO₂ 表面のシラノール基と水素結合し表面に対して水平または垂直に配置されることによりグラフト密度が低くなることが報告されている [34]。 K_z は反応の進行度に依存する値であると考えられるため K_z の値を考慮することで APTES 修飾時の溶媒、合成温度、pH 等の反応条件最適化により修飾密度の向上が可能であると考えられる。合成した AuAg_APTES27 のゼータ電位は 2.46 ± 0.22 mV であり最大であったことから以降の修飾には AuAg_APTES27 を使用した。

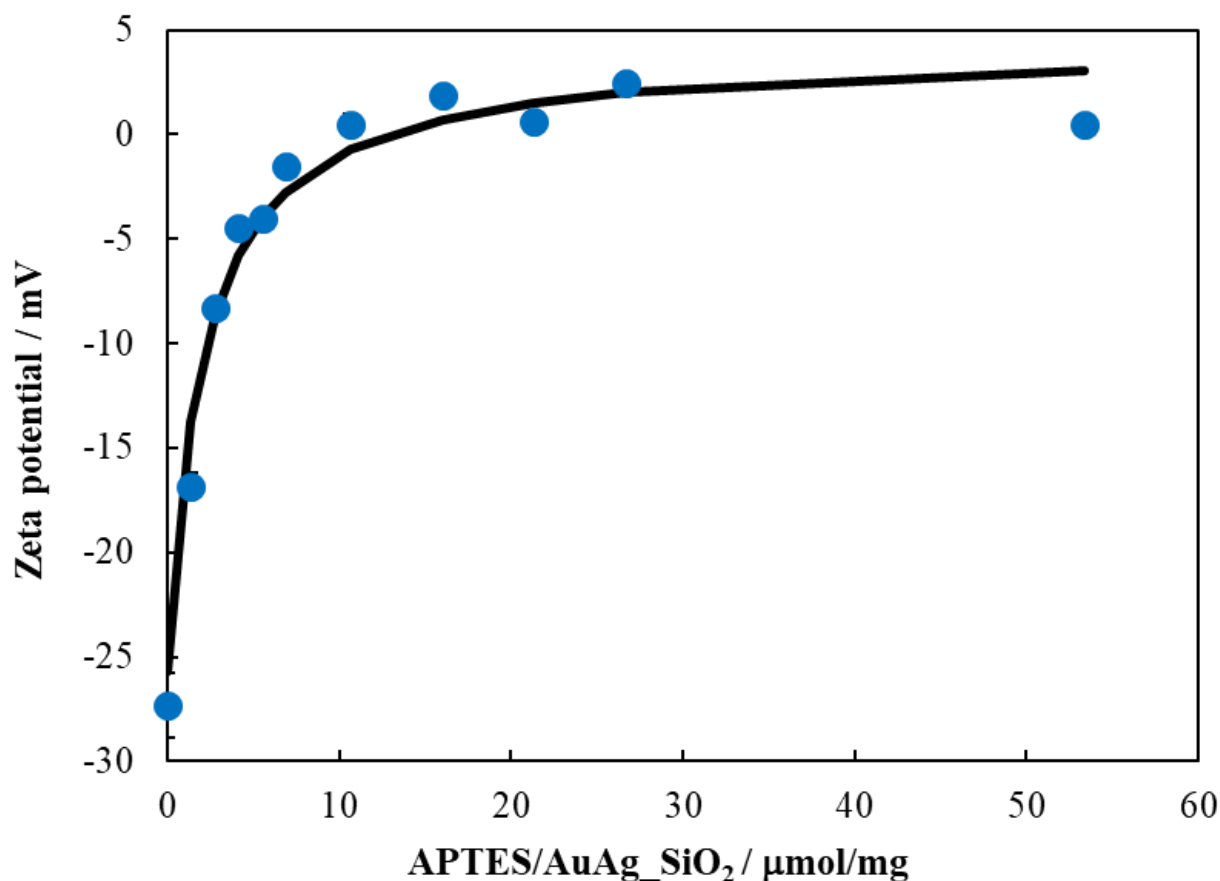


Figure 6-7 合成時の APTES 添加量によるゼータ電位の変化

6.3.2 Fran 修飾条件の検討

AuAg_APTES27 に対して縮合剤として DMT-MM を用いて Fran を修飾した時のゼータ電位の変化を Figure 6-8 に示す。Fran 修飾前の AuAg_APTES27 のゼータ電位は 2.46 ± 0.22 mV であったが、AuAg_Fran14 のゼータ電位は -13.9 ± 0.84 mV であった。Fran 添加量を増やした条件で作成した試料も 10 mV 程度の値を示したため AuAg_Fran14 の条件で表面の APTES は十分に反応していると考えられる。Figure 6-9 に示すように、DMT-MM はナノ粒子表面のアミノ基ではなく、カルボン酸と反応し活性エステルを形成する。従って、Fran 修飾後のゼータ電位の変化は、ナノ粒子表面のアミノ基が Fran と縮合反応し、アミド結合が形成したことで Fran が修飾されたことを示唆している。この時、APTES 修飾時に未反応であったシラノール基の存在によってゼータ電位は負の値を示したことが考えられる。AuAg_SiO₂ のゼータ電位は -27.3 ± 1.6 mV であり、AuAg_Fran14 のゼータ電位は 13.9 ± 0.84 mV であったことから APTES 修飾による表面シラノール基の減少が示唆された。以降では AuAg_Fran27 に対して表面修飾をした結果を示す。

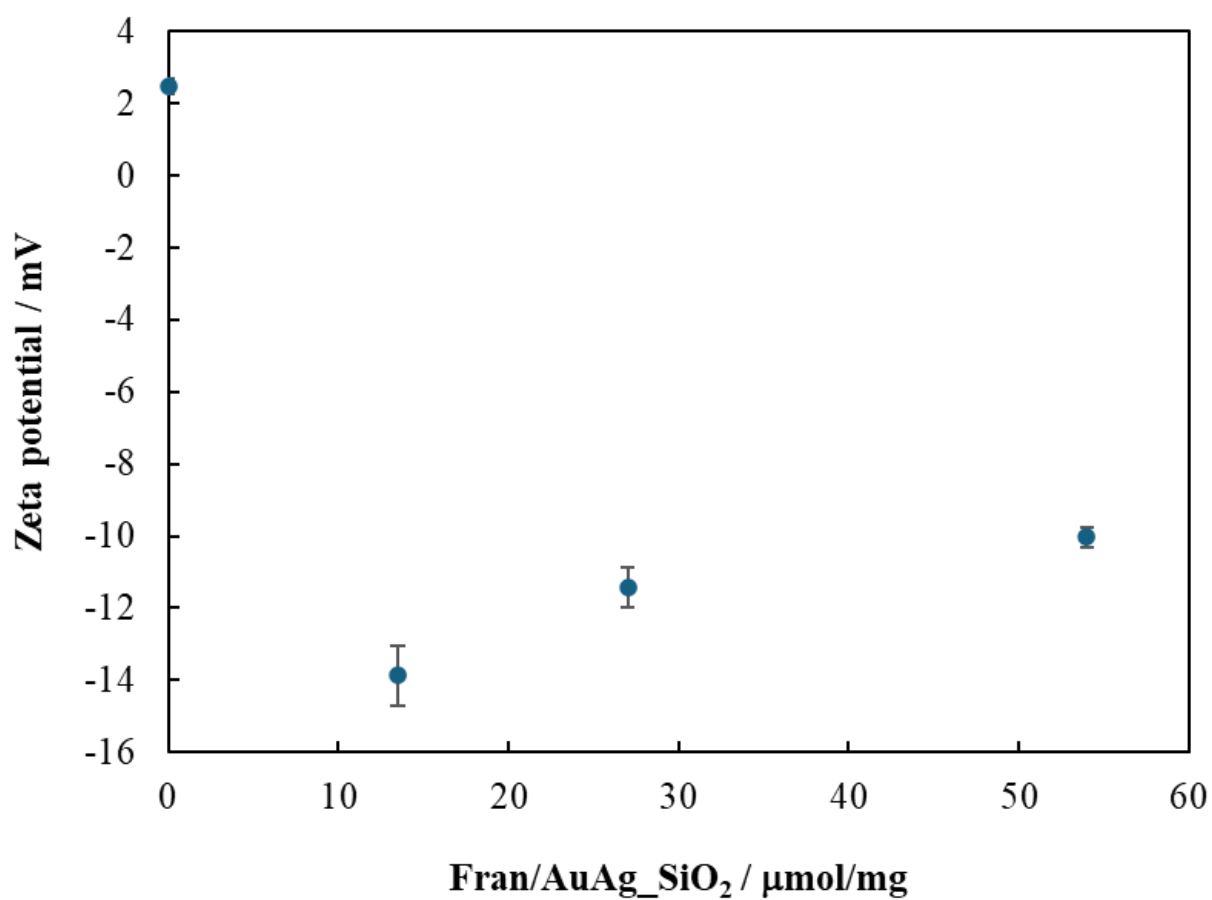


Figure 6-8 Fran 添加量によるゼータ電位の変化

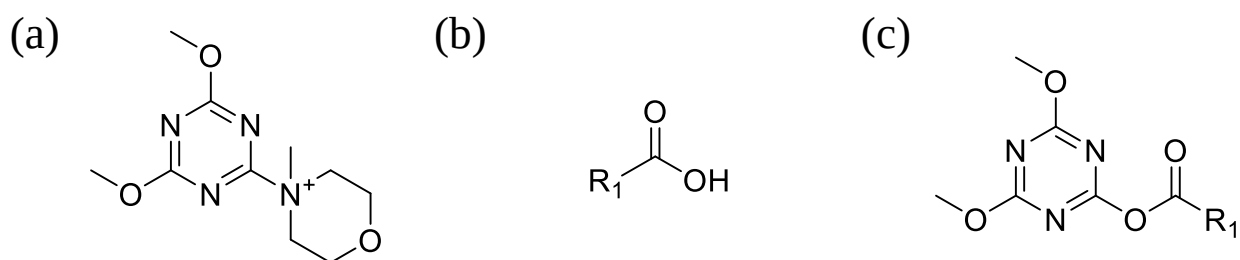


Figure 6-9 DMT-MM を用いた縮合反応の中間生成物 ; (a) DMT-MM、(b) カルボン酸、(c) 活性エステ

6.3.3 Dox-Mal の精製

Figure 6-10 に精製前の Dox-Mal を異なる酢酸エチル：メタノール比の有機溶媒によって展開した TLC の結果を示す。TLC の結果は溶媒フロントの移動距離に対する物質の移動距離の相対値である Relative to front (Rf) 値を求め評価した。Figure 6-10 の TLC 下部の直線がスポットの始点であり、赤線が展開後の溶媒フロント位置である。物質の移動距離はスポットの中心を用いた。

Figure 6-10 (a) に示す酢酸エチル：メタノール比が 50 : 1 で展開した結果は、Mal のスポットの Rf 値が 0.18 と 0.95 であり、精製前の Dox-Mal の Rf 値が 0、0.20、0.78、0.91、0.96 であった。Mal のスポットが二つであったことは Mal が加水分解によって二つの化合物に分解されたことを意味している。精製前の Dox-Mal は Rf 値が 0.20、0.78、0.96 のスポットが Dox 由来の橙色に呈色していた。Rf 値は固定層との相互作用の強さに依存するため、Mal のスポットの Rf 値 0.18 と同程度の値であった精製前の Dox-Mal の Rf 値が 0.20 のスポットは目的の Dox-Mal であると考えられる。

Figure 6-10 (b) に示す酢酸エチル：メタノール比が 500 : 1 で展開した結果は、Mal のスポットの Rf 値が 0.19 と 0.95 であり、精製前の Dox-Mal の Rf 値が 0、0.15、0.89、0.96 であった。Figure 6-10 (c) に示す酢酸エチル：メタノール比が 1000 : 1 で展開した結果は、Mal のスポットの Rf 値が 0.20 と 0.94 であり、精製前の Dox-Mal の Rf 値が 0.16、0.24、0.86、0.89、0.95 であった。Figure 6-10 (d) に示す酢酸エチルで展開した結果は、Mal のスポットの Rf 値が 0.23 と 0.97 であり、精製前の Dox-Mal の Rf 値が 0.13、0.89、0.97 であった。酢酸エチル：メタノール比が 500 : 1 から酢酸エチルへと展開溶媒のメタノール含有率を減らすことで、Mal の下部スポットの Rf 値は 0.18 から 0.23 に増大した一方で、Dox-Mal と考えられるスポットの Rf 値は 0.20 から 0.13 に減少した。二つの Rf 値の差は酢酸エチルで展開した時が最も大きいためフラッシュ自動精製システムによる分取には酢酸エチルを用いた。



Figure 6-10 酢酸エチル：メタノール比を変更して展開した TLC のスポット位置 ; (a) 50 : 1、(b) 500 : 1、(c) 1000 : 1、(d) 100 : 0 ; (左) Mal、(右) 精製前の Dox-Mal

Figure 6-11 に Dox、Mal および精製後の Dox-Mal の ^1H -NMR スペクトルを示す。Dox、Mal、Dox-Mal のピークは文献値によって帰属した [35,36]。Figure 6-11 (i) に Dox の ^1H -NMR スペクトルを示す。7.3 ppm と 7.6 ppm に確認されたピークは Figure 6-11 (i) a に示す Dox の六員環の 3 つの水素に帰属された。ピークに示した値は Figure 6-11 (i) の 7.3 ppm と 7.6 ppm のピークの積分値を 3.00 としたときの相対値である。積分値は構造中の水素数に依存している。5.5 ppm に確認されたピークは Figure 6-11 (i) b に示す 1 つのヒドロキシ基に帰属され、その積分値は 0.98 であった。3.9 ppm に確認されたピークは Figure 6-11 (i) c に示す 1 つのメトキシ基に帰属され、その積分値は 3.68 であった。2.2 ppm に確認されたピークは Figure 6-11 (i) d に示す 2 つの水素に帰属され、その積分値は 2.59 であった。1.3 ppm に確認されたピークは Figure 6-11 (i) e に示すメチル基に帰属され、その積分値は 2.92 であった。

Figure 6-11 (ii) に Mal の ^1H -NMR スペクトルを示す。7.0 ppm に確認されたピークは Figure 6-11 (ii) a に示すマレイミド基の 2 つの水素に帰属された。ピークに示した値は Figure 6-11 (ii) の 7.0 ppm のピークの積分値を 2.00 としたときの相対値である。3.5 ppm に確認されたピークは Figure 6-11 (i) b に示す 2 つの水素に帰属され、その積分値は 2.21 であった。2.8 ppm に確認されたピークは Figure 6-11 (ii) c に示す 4 つの水素に帰属され、その積分値は 3.58 であった。2.7 ppm に確認されたピークは Figure 6-11 (ii) d に示す 2 つの水素に帰属され、その積分値は 2.03 であった。1.8 ppm に確認されたピークは Figure 6-11 (ii) e に示す 2 つの水素に帰属され、その積分値は 2.01 であった。全ての積分値は構造中の水素数の理論値とよく一致した。

Figure 6-11 (iii) に Dox-Mal の ^1H -NMR スペクトルを示す。7.7 ppm と 7.6 ppm に確認されたピークは Figure 6-11 (iii) a に示す Dox の六員環の 3 つの水素に帰属された。ピークに示した値は Figure 6-11 (i) の 7.7 ppm と 7.6 ppm のピークの積分値を 3.00 としたときの相対値である。8.0 ppm に確認されたピークは Figure 6-11 (iii) b に示すアミド結合の 1 つの水素に帰属され、その積分値は 2.76 であった。7.0 ppm に確認されたピークは Figure 6-11 (iii) c に示すマレイミド基の 2 つの水素に帰属され、その積分値は 2.20 であった。3.9 ppm に確認されたピークは Figure 6-11 (iii) d に示すメトキシ基の 3 つの水素に帰属され、その積分値は 5.02 であった。1.1 ppm 程度に確認されたピークは Figure 6-11 (iii) e に示すメチル基の 3 つの水素に帰属され、その積分値は 5.28 であった。

Dox-Mal の ^1H -NMR スペクトルからマレイミド基およびアミド結合に帰属されるピークが確認できたことから Dox に対するマレイミド基の導入に成功したと考えられる。マレイミド基に帰属されたピークの積分値は 2.20 であり、理論値である 2.00 と近い値であったため、Mal と Dox-Mal の分離に成功した。一方でアミド結合に帰属されピークの積分値は 2.76 であり、理論値である 1.00 に対して大きい値を示した。8 ppm 程度には Dox のアミノ基のピークが表れることが報告されている [35]。従って、Dox-Mal には Dox が含まれることが示唆されたが、マレイミド基が導入されていない Dox は AuAg_Fran と反応しないため修飾量に不利に働かないことが考えられるため精製後の試料を Dox-Mal として以降の実験で用いた。

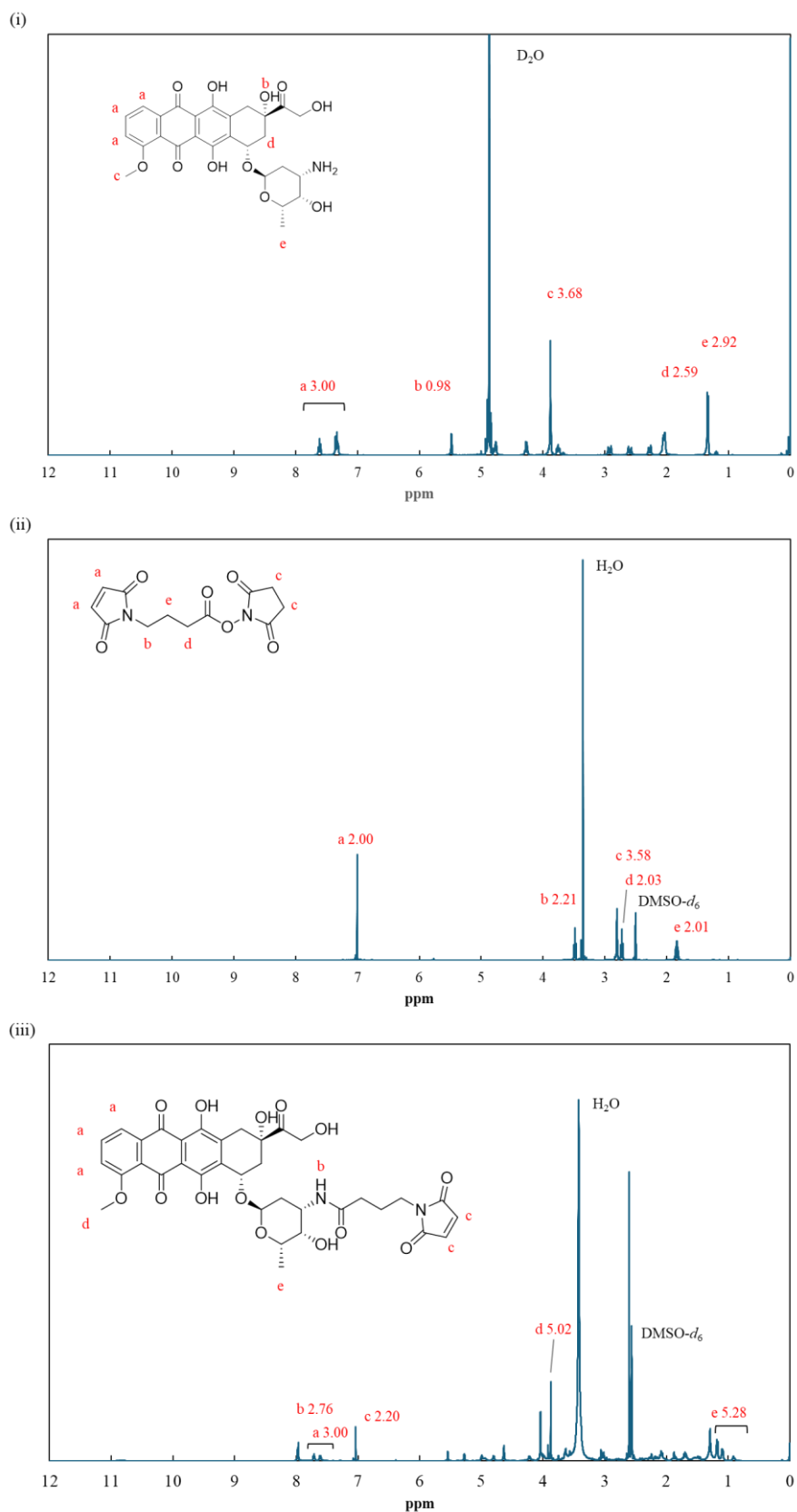


Figure 6-11 (i) Dox, (ii) Mal, (iii) Dox-mal の NMR スペクトル

6.3.4 温度/レーザー応答性の評価

Figure 6-12 に 1 mg の AuAg_Fran27 に対して異なる量の Dox-Mal を添加して AuAg_Dox を合成し、40°C、65°C、90°C の水浴に静置することで放出された Dox 量を示す ($n = 3$)。40°C 5 分静置後、AuAg_Dox20 1 mg からは $0.124 \pm 0.080 \mu\text{g}$ 、AuAg_Dox30 1 mg からは $0.0282 \pm 0.037 \mu\text{g}$ 、AuAg_Dox40 1 mg からは $0.110 \pm 0.031 \mu\text{g}$ 、AuAg_Dox50 1 mg からは $0.0240 \pm 0.033 \mu\text{g}$ の Dox が放出された。65°C 5 分静置後、AuAg_Dox20 1 mg からは $0.155 \pm 0.038 \mu\text{g}$ 、AuAg_Dox30 1 mg からは $0.297 \pm 0.099 \mu\text{g}$ 、AuAg_Dox40 1 mg からは $0.175 \pm 0.15 \mu\text{g}$ 、AuAg_Dox50 1 mg からは $0.301 \pm 0.028 \mu\text{g}$ の Dox が放出された。90°C 5 分静置後、AuAg_Dox20 1 mg からは $0.616 \pm 0.22 \mu\text{g}$ 、AuAg_Dox30 1 mg からは $0.787 \pm 0.097 \mu\text{g}$ 、AuAg_Dox40 1 mg からは $0.546 \pm 0.13 \mu\text{g}$ 、AuAg_Dox50 1 mg からは $1.04 \pm 0.51 \mu\text{g}$ の Dox が放出された。90°C 30 分静置後、AuAg_Dox20 1 mg からは $1.35 \pm 0.32 \mu\text{g}$ 、AuAg_Dox30 1 mg からは $1.45 \pm 0.21 \mu\text{g}$ 、AuAg_Dox40 1 mg からは $1.30 \pm 0.13 \mu\text{g}$ 、AuAg_Dox50 1 mg からは $1.88 \pm 0.52 \mu\text{g}$ の Dox が放出された。

温度が一定であるとき、AuNR や磁性粒子表面での逆 Diels-Alder 反応は溶液の時間に依存して線形的に進行することが報告されている [11,37]。従って 30 分間 90°C の水浴中における放出量は 5 分後の 6 倍であることが予測されたが、30 分静置後の放出量は 5 分後の 2 倍程度であったため、30 分間 90°C の水浴に静置することで全ての Dox-Mal が放出されたと考えられる。したがって、90°C 30 分静置後の放出量を 1 mg の AuAg_Fran27 に対する Dox-Mal の修飾量とした。Dox-Mal 量を $20 \mu\text{g}$ から $50 \mu\text{g}$ に変更して合成した試料の Dox-Mal の修飾量に有意差が確認されなかったことから、添加量は修飾量に対して十分であり 1 mg の AuAg_Fran27 への Dox-Mal の最大修飾量は $1.5 \mu\text{g}$ 程度あることが明らかとなった。これまで AuNR や AuNPr 一個当たりのジスルフィド結合が Diels-Alder 反応によって導入された CF や MTX の修飾分子数が報告されている [8,11]。長軸の長さが 40 nm、短軸の長さが 10 nm の AuNR 1 個当たりの CF の修飾数は約 2.0×10^4 であり、MTX の修飾数は約 5.8×10^3 、一辺の長さが 90 nm の AuNPr 1 個当たりの MTX の修飾数は約 3.5×10^4 であった [8,11]。AuAg 1 個当たりの Dox の修飾数は AuAg の密度を Au の密度 19.32 g/cm^3 、形態を粒形 100 nm の球体と仮定して算出した。Dox の分子量は 579.98 を用いた。計算の結果、AuAg 1mg あたりの Dox の修飾量 $1.5 \mu\text{g}$ は、AuAg 1 個当たりに Dox が約 2×10^7 個修飾されていることを意味していた。Dox の修飾量はこれまでの報告と比較して大きく、凹多面体である AuAg の高表面積が凸多面体である AuNR や AuNPr と比較して表面修飾に対して有利であることが示唆された。

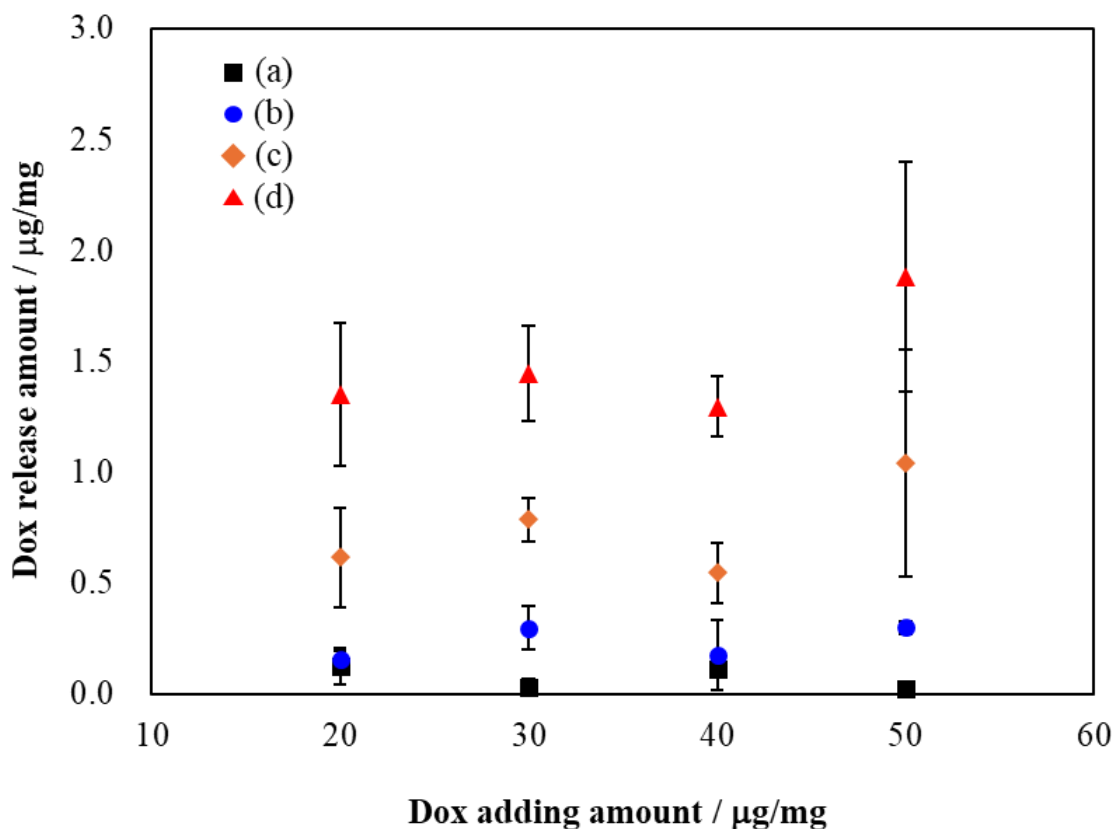


Figure 6-12 Dox 放出挙動の温度応答性 ; (a) 40°C 5 min、(b) 65°C 5 min、(c) 90°C 5 min、(d) 90°C 30

Dox-Mal 修飾量に対して各条件で放出された割合を Table 6-1 に示す。40°C 5 分の条件では AuAg_Dox20、AuAg_Dox30、AuAg_Dox40、AuAg_Dox50 の放出率はそれぞれ、9.16%、1.94%、8.52%、1.28%であり、全ての試料の放出率が10%以下であった。65°C 5 分の条件では AuAg_Dox20、AuAg_Dox30、AuAg_Dox40、AuAg_Dox50 の放出率はそれぞれ、11.47%、20.5%、13.5%、16.0%であった。90°C 5 分の条件では AuAg_Dox20、AuAg_Dox30、AuAg_Dox40、AuAg_Dox50 の放出率はそれぞれ、45.6%、54.4%、42.1%、55.3%であった。

65°C で 5 分静置することで 10 ~ 20%程度放出されることが確認された。したがって、65°C 程度の温度を保持することで薬物の徐放が可能であることが示唆された。一方で、90°C で 5 分静置すると 40 ~ 50%程度の Dox が放出された。これは 90°C の条件では活性化エネルギーを超えるのに十分なエネルギーが与えられるため Diels-Alder 反応の逆反応が急速に進行し、結合が急速に切断されたことを意味する。これまで磁性粒子表面からの逆 Diels-Alder 反応の進行による Dox 放出率は 37°C 15 分で 5%、48°C 15 分で 40%、50°C 15 分で 90% 以上であることが報告された [37]。既往の研究では本研究で使用した Mal よりも炭素鎖の短いマレイミド化合物を利用していたことや Dox に対する修飾位置の違いにより放出率の差が現れたと考えられる。

Table 6-1 異なる温度で静置したときの Dox 放出率

	AuAg_Dox20 %	AuAg_Dox30 %	AuAg_Dox40 %	AuAg_Dox50 %
40°C 5min	9.16	1.95	8.52	1.28
65°C 5min	11.5	20.5	13.5	16.0
90°C 5min	45.6	54.4	42.1	55.3

Figure 6-13 に AuAg_Dox50 を 100 $\mu\text{g/mL}$ と 200 $\mu\text{g/mL}$ に調整した溶液のレーザー照射時の温度変化と Dox 放出率の変化を示す。波長 750 nm、出力 2.8 W/cm² のレーザーを 300 秒照射した結果、100 $\mu\text{g/mL}$ では $49.9 \pm 5.5^\circ\text{C}$ 、200 $\mu\text{g/mL}$ では $57.3 \pm 1.9^\circ\text{C}$ まで温度が上昇した。この温度を用いて、各濃度における AuAg_Dox の光熱変換効率 η を式 (6-7) から算出した。この時、 hS はレーザー照射後の冷却曲線をフィッティングして導出し、200 $\mu\text{g/mL}$ の吸光度は 0.821、100 $\mu\text{g/mL}$ の吸光度は 0.411 を用いた。算出した光熱変換効率 η は 100 $\mu\text{g/mL}$ で $64.5 \pm 14\%$ 、200 $\mu\text{g/mL}$ で $72.2 \pm 4.2\%$ を示した。この値はこれまで報告された 980 nm における AuNS の光熱変換効率である 78.8% [38] と同程度の値である。光熱変換効率 η は 100 $\mu\text{g/mL}$ と 200 $\mu\text{g/mL}$ では 100 $\mu\text{g/mL}$ がやや低い値であったが、濃度を変更することで光熱変換効率 η が変化することはこれまでも報告されている[39]ため、光熱変換効率は正しく求められたと考えられる。これらの結果から表面修飾後も AuAgNS は高光熱変換効率を維持しており、DDS にとって有望な材料であることが示唆された。

レーザー照射後の Dox 放出率は 100 $\mu\text{g/mL}$ と 200 $\mu\text{g/mL}$ で、それぞれ 5 分後に $7.15 \pm 5.9\%$ 、 $11.2 \pm 2.3\%$ であり、10 分後には $10.9 \pm 1.7\%$ 、 $14.0 \pm 3.5\%$ であった。どちらの濃度でも照射時間に依存して Dox 放出量が増加した。一方で、溶液の最高温度は濃度に依存したが、濃度による放出率の差はほとんど確認されなかった。これは、Diels-Alder 反応の逆反応は溶液の温度ではなく、ナノ粒子表面の温度に依存して反応が進行することを示唆している。さらに、波長 808 nm、出力 44.6 W/cm² (出力 350 mW、レーザー径 1 mm) のレーザー照射時、炭素鎖の炭素数が Mal と同程度の 6 であるマレイミド化合物によって AuNR に表面修飾された CF の放出率は 100 分照射時に約 10% であることが報告されている [11]。AuNR と比較して、低出力かつ短時間で逆 Diels-Alder 反応が進行したことは AuAg の高光熱変換効率が逆 Diels-Alder 反応に対して有効であったことを示唆している。

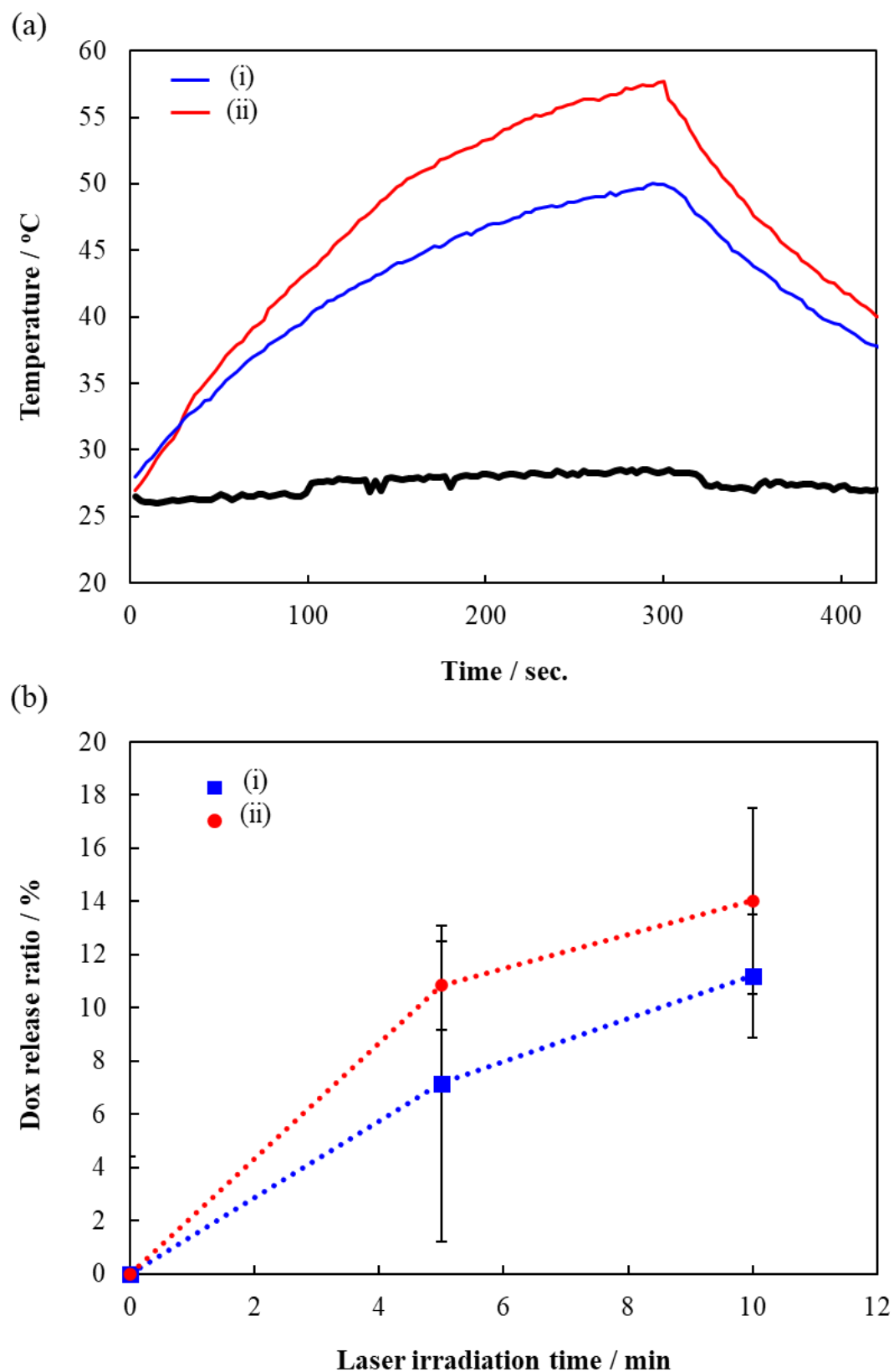


Figure 6-13 (i) 100 $\mu\text{g/mL}$ と (ii) 200 $\mu\text{g/mL}$ の溶液の (a) レーザー照射時の温度変化と (b) レーザー照射による Dox 放出率

6.3.5 抗腫瘍効果

Figure 6-14 に、異なる濃度の AuAg_Dox50 を添加してレーザーを照射後、24 時間培養した細胞の顕微鏡像を示す。20 μm 程度のものが細胞であり、AuAg_Dox50 は細胞への接着や凝集により黒い凝集体として確認された。レーザーを照射しない条件では、細胞が 96 well プレートに接着している様子が観察され、ほぼ全ての細胞が生存していることが確認された。試料を添加しない条件では、レーザーを 10 分間照射しても細胞はプレートに接着しており、レーザー照射自体は細胞生存率に影響を与えないことが分かった (Figure 6-14 (d)、(g))。試料を添加した条件では、レーザー照射時間に依存して球状の死細胞が観察された。特に 200 mg/mL で 10 分間レーザーを照射した細胞の顕微鏡像では、ほとんどが球状となり死んでいることが確認された。

細胞生存率は、セルアナライザーによって定量的に評価した ($n = 3$)。Figure 6-15 に試料濃度とレーザー照射時間を変更した条件での細胞生存率を示す。レーザー照射しない場合、試料濃度が 0、100、200 mg/mL における細胞生存率は $95.6 \pm 1.9\%$ 、 $96.5 \pm 0.5\%$ 、 $91.7 \pm 1.8\%$ であり、全ての試料濃度で 90%以上の値を示した。従って、AuAg_Dox50 は細胞毒性を示さないことが明らかとなった。

レーザーを 5 分間照射した条件では、試料濃度が 0、100、200 mg/mL における細胞生存率はそれぞれ $94.1 \pm 0.67\%$ 、 $79.5 \pm 3.9\%$ 、 $9.4 \pm 1.2\%$ であり、レーザーを 10 分間照射した条件では、細胞生存率はそれぞれ $94.9 \pm 1.2\%$ 、 $16.9 \pm 2.4\%$ 、 $2.8 \pm 0.3\%$ であった。細胞生存率はレーザー照射時間と試料濃度に依存して低下した。

Figure 6-16 に、各試料濃度でレーザー照射時間を変えたときの細胞生存率を計算した代表的な細胞プロファイルを示す。細胞プロファイルは細胞一つ一つに対して、核染色による蛍光強度を縦軸に死細胞染色による蛍光強度を横軸にプロットしたものである。グラフ中の赤線は細胞の生と死を区別する閾値を示しており、全試料で同じ閾値の線を使用した。この時、赤線の左にプロットされた点が生細胞、右にプロットされた点が死細胞を意味する。レーザー照射によって死細胞としてプロットされる割合が増加することが確認された。

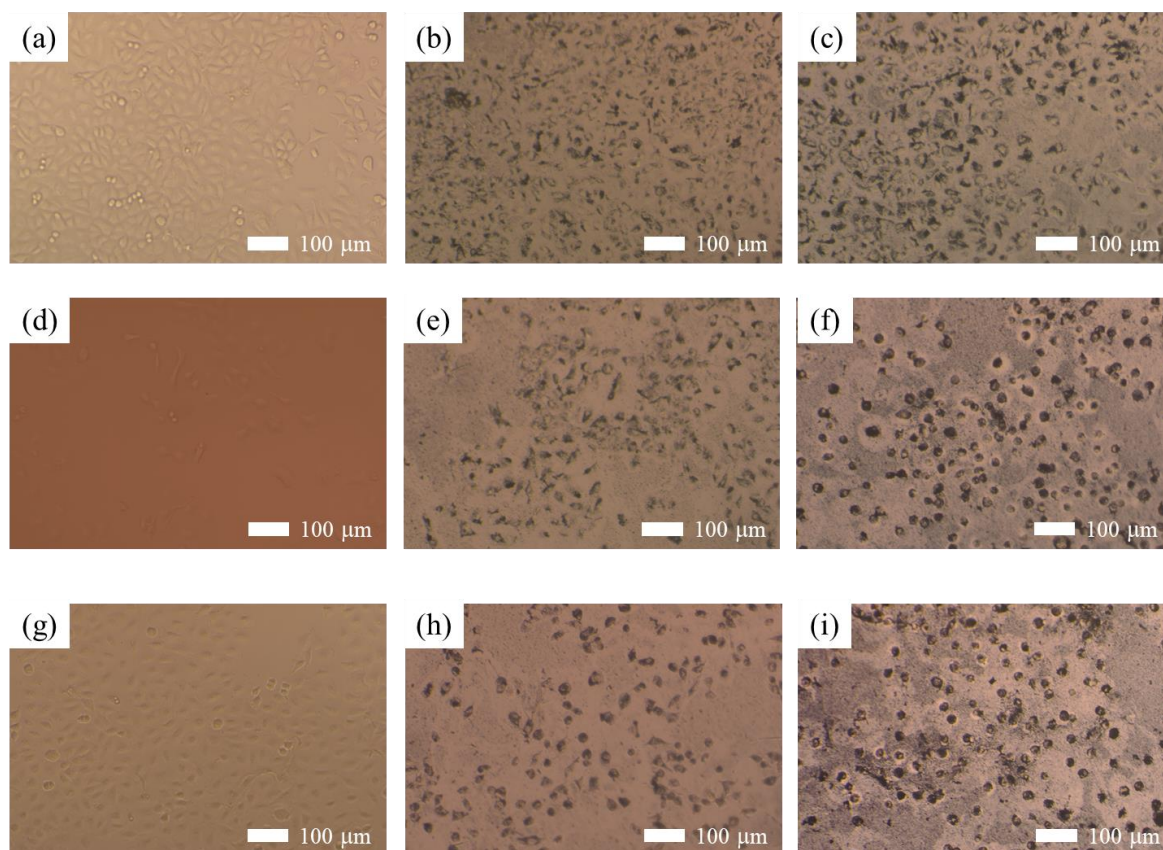


Figure 6-14 異なる濃度の AuAg_Dox50 を添加してレーザーを照射後、24 時間培養した細胞の顕微鏡像 ; (a、d、g) 0 mg/mL、(b、e、h) 100 mg/mL、(c、f、i) 200 mg/mL ; (a - c) 0 min、(d - f) 5 min、(g - i) 10 min

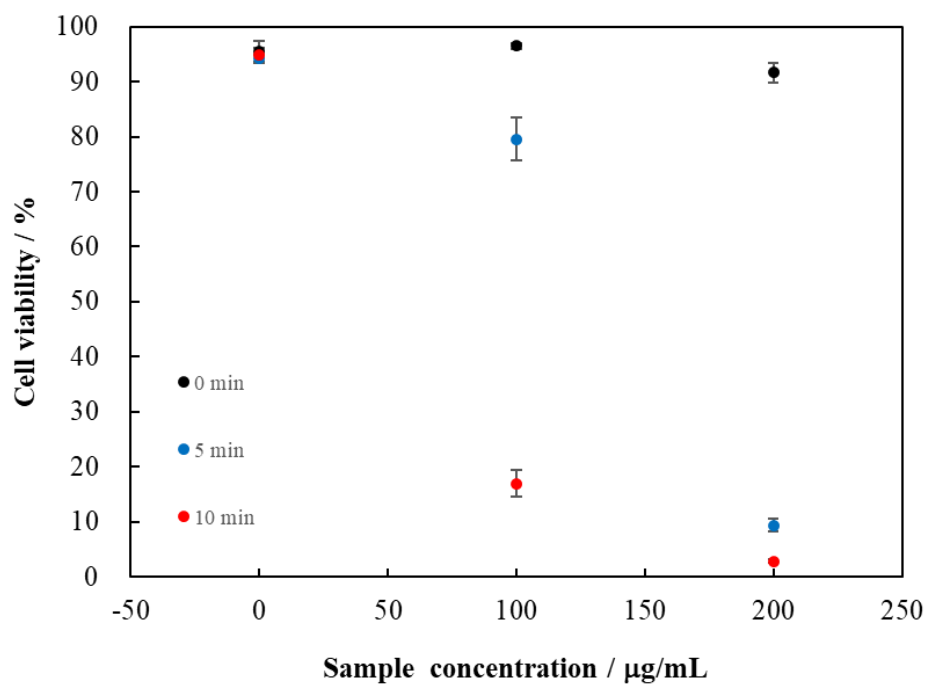


Figure 6-15 異なる濃度とレーザー照射時間による細胞生存率の変化

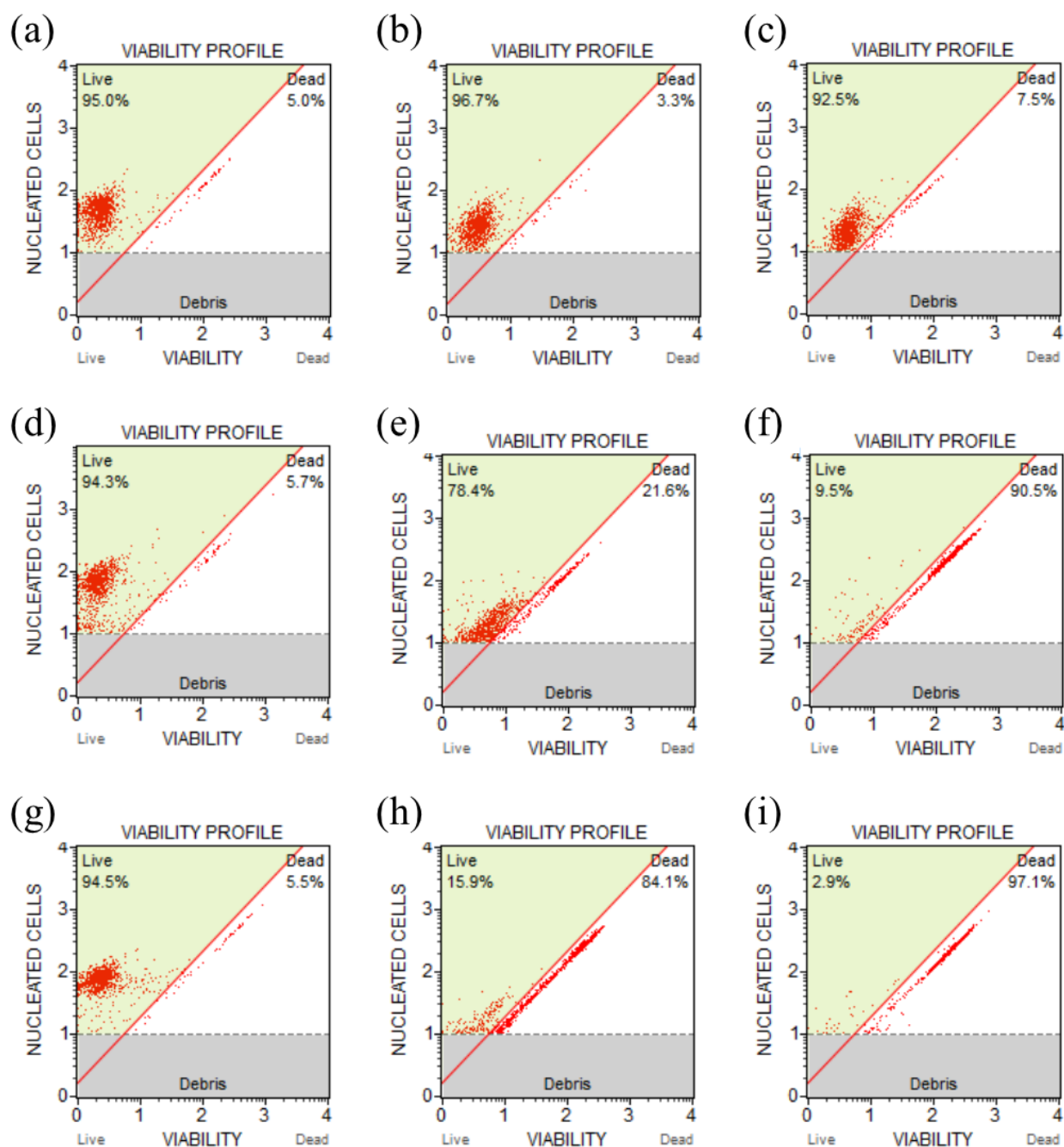


Figure 6-16 試料濃度とレーザー照射時間を変化させたときの細胞のプロファイル (計測数 ; 1000) ; (a、d、g) 0 $\mu\text{g/mL}$ 、(b、e、h) 100 $\mu\text{g/mL}$ 、(c、f、i) 200 $\mu\text{g/mL}$; (a - c) 0 min、(d - f) 5 min、(g - i) 10 min

Figure 6-17に 1 ng/mL から 50 μ g/mL の範囲に Dox 濃度を調整し、24 時間後の A549 の細胞生存率を示す。1 ng/mL、10 ng/mL、100 ng/mL、1 μ g/mL、10 μ g/mL、50 μ g/mL の細胞生存率はそれぞれ、 $89.2 \pm 0.10\%$ 、 $86.9 \pm 0.64\%$ 、 $91.0 \pm 1.3\%$ 、 $93.3 \pm 1.3\%$ 、 $11.9 \pm 1.1\%$ 、 $6.4 \pm 2.1\%$ 、 $2.2 \pm 0.70\%$ であった。各濃度の細胞生存率を IC50 Calculator で解析した結果、A549 に対する Dox の IC50 は 0.647 μ g/mL であることが明らかとなった。

200 μ g/mL の AuAg_Dox50 の Dox 修飾量は 0.376 μ g/mL であり、Dox の IC50 に対して低い値であった。Dox 修飾量が IC50 に対して低いにも関わらず、高い抗腫瘍効果を示した要因を調査するために 200 μ g/mL の AuAg_SiO₂ を添加した条件でレーザーを照射したときの細胞生存率を測定した。Figure 6-19 にレーザー照射時間に対する細胞生存率を、Figure 6-19 に細胞プロファイルを示す。細胞プロファイルの左図は細胞一つ一つに対して細胞のサイズを縦軸に、死細胞染色による蛍光強度を横軸にプロットしたものである。細胞生存率は 5 分後と 10 分後でそれぞれ、 $98.2 \pm 0.42\%$ 、 $94.3 \pm 6.3\%$ であり、抗腫瘍効果は示さなかった。一方で、細胞プロファイルは異なる傾向を示した。核染色に対する細胞染色のプロットでは A549 のみの細胞プロファイルは球状に分布していたが、レーザーを 5 分照射した条件と 10 分照射した条件では閾値を示す赤い線に沿って分布していることが確認された。特に 10 分間照射した条件では、プロットが二つに分かれる様子が確認された。さらに細胞のサイズに対してプロットしたプロファイルでは、A549 のみでは Cell size index は 3 程度に分布していたが、レーザーを照射した後は 1~3 に分布した。Cell size index は生細胞と死細胞に対して、ネクローシス間近の細胞は小さい値をとることが分かっている。従って、レーザー照射後の細胞はネクローシス間近の状態であることが明らかとなった。以上結果から、レーザー照射時の AuAg_SiO₂ による発熱は細胞障害性を示すことが考えられ、熱による効果と Dox の効果の相乗作用によって AuAg_Dox50 は高い抗腫瘍効果を示したことが示唆された。

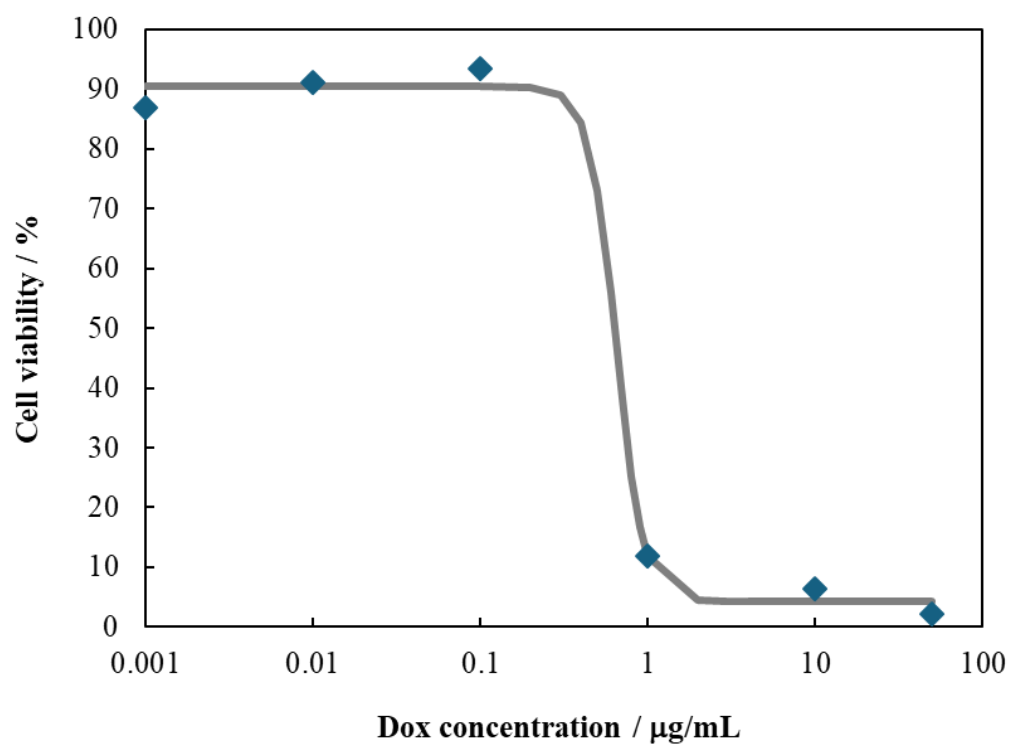


Figure 6-17 24 時間後の細胞生存率の Dox 濃度依存性

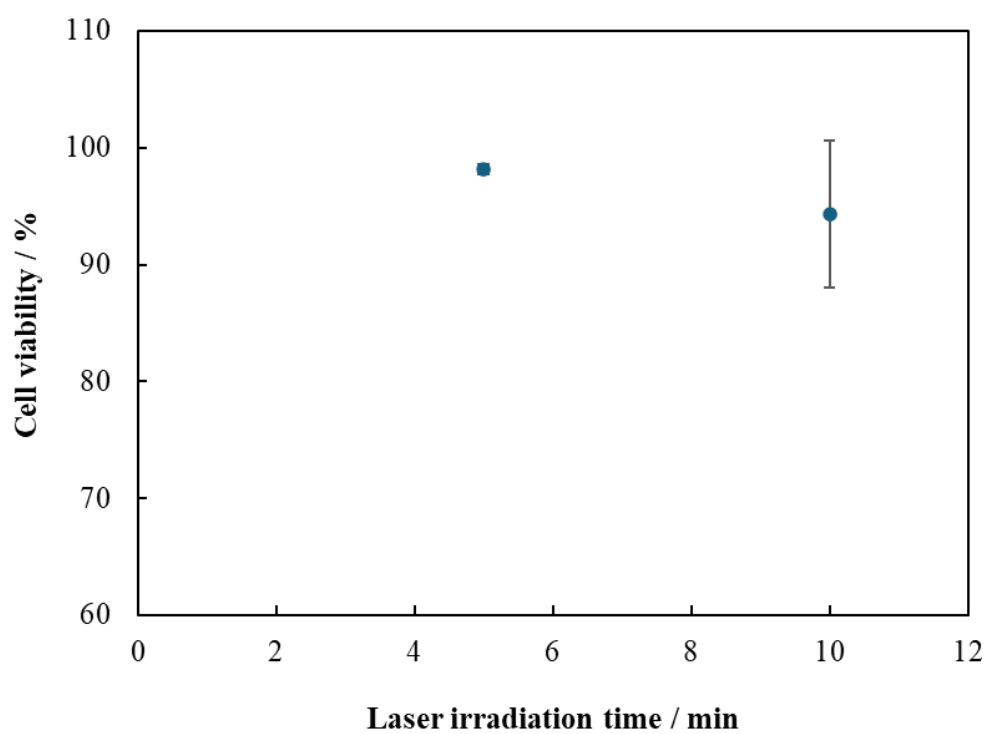


Figure 6-18 200 $\mu\text{g/mL}$ の AuAg-SiO₂ をまいた細胞にレーザーを照射したときの細胞生存率

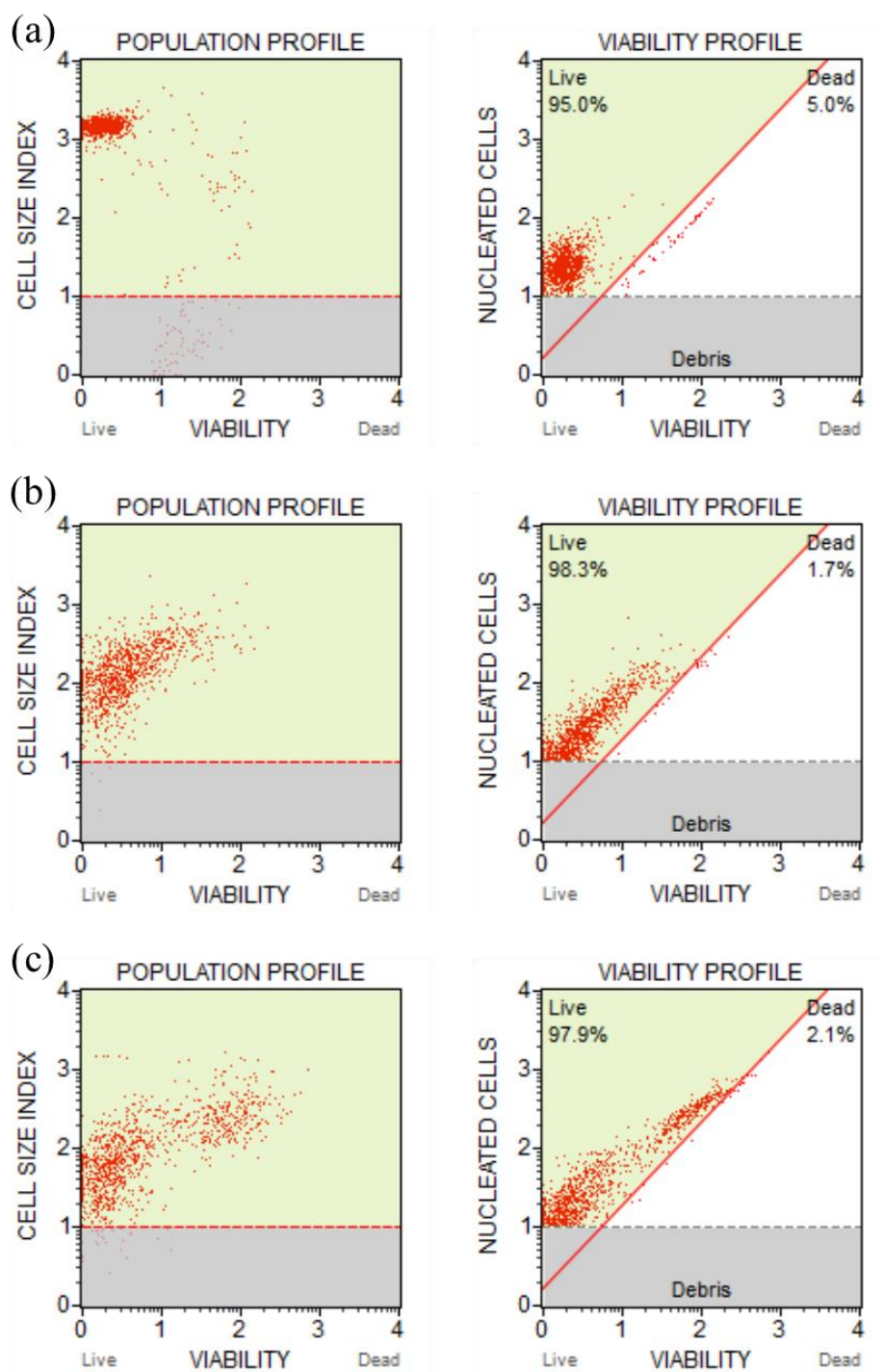


Figure 6-19 200 mg/mL の AuAg₂SiO₂ に対してレーザーを照射したときの細胞プロファイル ; (a) A549 のみ、照射なし、(b) 5min、(c) 10 min ; (左) 細胞サイズと視細胞染色による蛍光強度、(右) 核染色の蛍光強度と死細胞染色による蛍光強度

6.4 結言

Diels-Alder 反応によってマレイミド基を導入した Dox を Fran 修飾した AuAg₂SiO₂ 表面に修飾することに成功した。このナノ粒子には AuAg₂SiO₂ 1 mg に対して Dox は 1.5 μg 程度修飾されていた。Dox 修飾後の AuAg₂Dox は 72.2% と高い光熱変換効率を維持していた。レーザー照射時の AuAgNS からの発熱と逆 Diels-Alder 反応によって放出された Dox との相乗効果により A549 の細胞生存率は 2.8% まで低下し、高い抗腫瘍効果を示した。

- [1] Gregoritz, M., & Brandl, F. P. The Diels-Alder reaction: A powerful tool for the design of drug delivery systems and biomaterials. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. Elsevier. (2015, November 1). <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2015.06.007>
- [2] Briou, B., Améduri, B., & Boutevin, B. Trends in the Diels-Alder reaction in polymer chemistry. *Chemical Society Reviews*. Royal Society of Chemistry. (2021, October 7). <https://doi.org/10.1039/d0cs01382j>
- [3] Gevrek, T. N., & Sanyal, A. Furan-containing polymeric Materials: Harnessing the Diels-Alder chemistry for biomedical applications. *European Polymer Journal*. Elsevier Ltd. (2021, June 15). <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2021.110514>
- [4] Oluwasanmi, A., & Hoskins, C. Potential use of the Diels-Alder reaction in biomedical and nanomedicine applications. *International Journal of Pharmaceutics*. Elsevier B.V. (2021, July 15). <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120727>
- [5] Yeingst, T. J., Helton, A. M., & Hayes, D. J. Applications of Diels–Alder Chemistry in Biomaterials and Drug Delivery. *Macromolecular Bioscience*. John Wiley and Sons Inc. (2024). <https://doi.org/10.1002/mabi.202400274>
- [6] Yeingst, T. J., Arrizabalaga, J. H., Rawnaque, F. S., Stone, L. P., Yeware, A., Helton, A. M., ... Hayes, D. J. Controlled Degradation of Polycaprolactone Polymers through Ultrasound Stimulation. *ACS Applied Materials and Interfaces*, **15**(29), 34607–34616. (2023). <https://doi.org/10.1021/acsami.3c06873>
- [7] Ozdogan Tasci, R., Arslan, M., & Tasdelen, M. A. Poly(ϵ -caprolactone)/montmorillonite nanocomposites via Diels–Alder click reaction. *Polymer Composites*, **43**(2), 1168–1176. (2022). <https://doi.org/10.1002/pc.26445>
- [8] Bolaños, K., Sánchez-Navarro, M., Giralt, E., Acosta, G., Albericio, F., Kogan, M. J., & Araya, E. NIR and glutathione trigger the surface release of methotrexate linked by Diels-Alder adducts to anisotropic gold nanoparticles. *Materials Science and Engineering C*, **131**. (2021). <https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.112512>
- [9] Arrizabalaga, J. H., Smallcomb, M., Abu-Laban, M., Liu, Y., Yeingst, T. J., Dhawan, A., ... Hayes, D. J. Ultrasound-Responsive Hydrogels for On-Demand Protein Release. *ACS Applied Bio Materials*, **5**(7), 3212–3218. (2022). <https://doi.org/10.1021/acsabm.2c00192>
- [10] Madl, C. M., & Heilshorn, S. C. Rapid Diels-Alder Cross-linking of Cell Encapsulating Hydrogels. *Chemistry of Materials*, **31**(19), 8035–8043. (2019). <https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.9b02485>
- [11] Vetterlein, C., Vásquez, R., Bolaños, K., Acosta, G. A., Guzman, F., Albericio, F., ... Araya, E. Exploring the influence of Diels–Alder linker length on photothermal molecule release from gold nanorods. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **166**, 323–329. (2018). <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.03.021>
- [12] Cadoni, E., Rosa-Gastaldo, D., Manicardi, A., Mancin, F., & Madder, A. Exploiting Double Exchange Diels-Alder Cycloadditions for Immobilization of Peptide Nucleic Acids on Gold Nanoparticles. *Frontiers in Chemistry*, **8**. (2020). <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00004>
- [13] Ghiassian, S., Gobbo, P., & Workentin, M. S. Water-Soluble Maleimide-Modified Gold Nanoparticles (AuNPs) as a Platform for Cycloaddition Reactions. *European Journal of Organic Chemistry*, **2015**(24), 5438–5447. (2015). <https://doi.org/10.1002/ejoc.201500685>

- [14] Liu, Y., Bailey, J. T., Abu-Laban, M., Li, S., Chen, C., Glick, A. B., & Hayes, D. J. Photocontrolled miR-148b nanoparticles cause apoptosis, inflammation and regression of Ras induced epidermal squamous cell carcinomas in mice. *Biomaterials*, **256**. (2020). <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2020.120212>
- [15] Boutelle, R. C., & Northrop, B. H. Substituent effects on the reversibility of furan - Maleimide cycloadditions. *Journal of Organic Chemistry*, **76**(19), 7994–8002. (2011). <https://doi.org/10.1021/jo201606z>
- [16] Gu, Y. J., Cheng, J., Man, C. W. Y., Wong, W. T., & Cheng, S. H. Gold-doxorubicin nanoconjugates for overcoming multidrug resistance. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, **8**(2), 204–211. (2012). <https://doi.org/10.1016/j.nano.2011.06.005>
- [17] Riedinger, A., Guardia, P., Curcio, A., Garcia, M. A., Cingolani, R., Manna, L., & Pellegrino, T. Subnanometer local temperature probing and remotely controlled drug release based on Azo-functionalized iron oxide nanoparticles. *Nano Letters*, **13**(6), 2399–2406. (2013). <https://doi.org/10.1021/nl400188q>
- [18] Kitahara F, Furusawa K, Ozaki M, & Oshima H. ゼータ電位. サイエンティスト社. (2012).
- [19] USUI, S. Adsorption of Amine in Connection with Electrical Double Layer. *FLOTATION*, **1972**(46), 13–20. (1972). <https://doi.org/10.4144/rpsj1954.1972.13>
- [20] Hückel, E. Zur Theorie der Elektrolyte. In *Ergebnisse der Exakten Naturwissenschaften* (pp. 199–276). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. (1924). https://doi.org/10.1007/978-3-642-94260-0_9
- [21] Smoluchowski, M. v. Versuch einer mathematischen Theorie der Koagulationskinetik kolloider Lösungen. *Zeitschrift für Physikalische Chemie*, **92U**(1), 129–168. (1918). <https://doi.org/10.1515/zpch-1918-9209>
- [22] Ohshima, H. Electrophoretic Mobility of Soft Particles. *Journal of Colloid and Interface Science*, **163**(2), 474–483. (1994). <https://doi.org/10.1006/jcis.1994.1126>
- [23] Ozaki M. 微粒子分散計の分散・凝集の基礎とゼータ電位の測定法. 横浜市立大学論叢. 自然科学系系列, **2**(58), 9–48. (2008). <https://doi.org/https://doi.org/10.15015/0002002911>
- [24] OHSHIMA, H. Developments in Theories of Electrokinetic Phenomena: From Smoluchowski to ELKIN. *Oleoscience*, **13**(7), 291–297. (2013). <https://doi.org/10.5650/oleoscience.13.291>
- [25] Zhu, M., Lerum, M. Z., & Chen, W. How to prepare reproducible, homogeneous, and hydrolytically stable aminosilane-derived layers on silica. *Langmuir*, **28**(1), 416–423. (2012). <https://doi.org/10.1021/la203638g>
- [26] Liang, Y., Huang, J., Zang, P., Kim, J., & Hu, W. Molecular layer deposition of APTES on silicon nanowire biosensors: Surface characterization, stability and pH response. *Applied Surface Science*, **322**, 202–208. (2014). <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2014.10.097>
- [27] Smith, E. A., & Chen, W. How to prevent the loss of surface functionality derived from aminosilanes. *Langmuir*, **24**(21), 12405–12409. (2008). <https://doi.org/10.1021/la802234x>
- [28] Petri, D. F. S., Wenz, G., Schunk, P., & Schimmel, T. An improved method for the assembly of amino-terminated monolayers on SiO₂ and the vapor deposition of gold layers. *Langmuir*, **15**(13), 4520–4523. (1999). <https://doi.org/10.1021/la981379u>
- [29] The cataphoresis of suspended particles. Part I.—The equation of cataphoresis. *Proceedings of the Royal*

- Society of London. Series A, Containing Papers of a Mathematical and Physical Character*, **133**(821), 106–129. (1931). <https://doi.org/10.1098/rspa.1931.0133>
- [30] Roper, D. K., Ahn, W., & Hoepfner, M. Microscale heat transfer transduced by surface plasmon resonant gold nanoparticles. *Journal of Physical Chemistry C*, **111**(9), 3636–3641. (2007). <https://doi.org/10.1021/jp064341w>
- [31] FUKADA, K. Effects of Addition of Amphiphilic Molecules on the Dispersion Stability of Colloidal Systems. *Oleosience*, **16**(2), 51–56. (2016). <https://doi.org/10.5650/oleosience.16.51>
- [32] KAWANO, S., SAITO, Y., TAKEBAYASHI, H., YAMAGUCHI, A., SAKAI, H., & ABE, M. Surface Chemistry of Ink-absorbing Layer on Paper for Ink Jet Printer. *Journal of the Japan Society of Colour Material*, **75**(4), 162–166. (2002). <https://doi.org/10.4011/shikizai1937.75.162>
- [33] NAGASAKI, Y. Design of Porous Inorganic Nanoparticles Hybridized with Acetal-PEG-b-Polyamine Block Copolymers for High Performance Drug Carrier. *KOBUNSHI RONBUNSHU*, **65**(6), 405–415. (2008). <https://doi.org/10.1295/koron.65.405>
- [34] Kanan, S. M., Tze, W. T. Y., & Tripp, C. P. Method to double the surface concentration and control the orientation of adsorbed (3-aminopropyl)dimethylethoxysilane on silica powders and glass slides. *Langmuir*, **18**(17), 6623–6627. (2002). <https://doi.org/10.1021/la0203133>
- [35] Piorecka, K., Stanczyk, W., & Florczak, M. NMR analysis of antitumor drugs: Doxorubicin, daunorubicin and their functionalized derivatives. *Tetrahedron Letters*, **58**(2), 152–155. (2017). <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2016.11.118>
- [36] Gandini, A., Silvestre, A. J. D., & Coelho, D. Reversible click chemistry at the service of macromolecular materials. 2. Thermoreversible polymers based on the Diels-Alder reaction of an A-B furan/maleimide monomer. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, **48**(9), 2053–2056. (2010). <https://doi.org/10.1002/pola.23957>
- [37] Hammad, M., Nica, V., & Hempelmann, R. On-command controlled drug release by diels-Alder reaction using Bi-magnetic core/shell nano-carriers. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **150**, 15–22. (2017). <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.11.005>
- [38] Bi, C., Chen, J., Chen, Y., Song, Y., Li, A., Li, S., Xia, H. Realizing a Record Photothermal Conversion Efficiency of Spiky Gold Nanoparticles in the Second Near-Infrared Window by Structure-Based Rational Design. *Chemistry of Materials*, **30**(8), 2709–2718. (2018). <https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.8b00312>
- [39] Gao, R., Fu, R., Jiao, W., Fan, G., Liang, C., Chen, J., Liu, W. Photothermal effect of Au nanoparticles and photothermal inactivation to saccharomycetes cell. *Optik*, **206**, 163757. (2020). <https://doi.org/10.1016/j.ijleo.2019.163757>

第7章 総括

第1章では背景として Au ナノ粒子の形態制御の歴史と形態制御法を概説した。ナノ粒子の形態を、ユークリッド空間において「内部のどの二点間も、外部を通らない線でまっすぐつなげる多面体」として説明される凸多面体型ナノ粒子と「内部のいずれかの二点間が外部を通る多面体」として説明される凹多面体型ナノ粒子に大別し、光熱変換効率の観点から凹多面体型ナノ粒子の優位性を示した。凹多面体型ナノ粒子への形態制御の課題としてシードや界面活性剤を用いない合成法での成長機構が未解明な点があることを示した。さらに、プラズモンナノ粒子を用いた薬物送達システムと化学温熱併用がん治療を概説し本研究の目的を述べた。

第2章では Ag^+ の存在下でアスコルビン酸による Au^{3+} の還元によって合成された凹多面体型ナノ粒子に分類される星型 Au-Ag ナノ粒子 (AuAgNS) に焦点をあて、元素分布、結晶面、棘の成長方向を明らかにし、成長機構を低電位析出 (UPD) の観点から検討した。元素分析の結果から Ag は AuAgNS の再表面にのみ UPD によって単 (多) 原子層を形成していることが明らかとなり、Au/Ag 比を 20/2 から 18/4 に変更することで Ag 単 (多) 原子層の厚さを変更することができた。走査透過電子顕微鏡像の解析から棘の成長方向が $\langle 110 \rangle$ 、棘の側面が $\{711\}$ 、棘の先端が $\{111\}$ であることが明らかとなり、双晶境界を持つ二十面体の形成とその頂点から $\{111\}$ が $\langle 110 \rangle$ にエピタキシャル成長する成長機構が明らかとなった。

第3章では UPD とシード媒介成長法により Au-Ag ナノ粒子を近赤外 (NIR) -II (1000 ~ 1700 nm) に吸収をもつ形態に形態制御した。形態制御時にシードの形態、シード濃度、Au/Ag 比、Au および Ag の濃度が形態に与える影響を検討した。シードを用いることで凹多面体型ナノ粒子へと形態が制御された。ナノ多面体をシードとして合成したナノ粒子は Au と Ag が低濃度では AuAgNS と類似した形態であることから第2章の成長機構で明らかにした双晶境界を持つ二十面体の形成を裏付けた。ナノキューブをシードとして合成することでシード上から平板状の構造が成長した花型 Au-Ag ナノ粒子 (AuAgNF) へと形態制御でき、AuAgNF は NIR-II に高い光学密度を持つことから平板状の構造が NIR 領域での局所表面プラズモン共鳴に関与することが示唆された。

第4章では第2章、第3章で明らかにした成長機構から計算モデルを構築し、離散双極子近似によって吸収効率および消光効率の波長依存性を計算することで、合成した凹多面体型ナノ粒子の平均構造を評価した。AuAgNS の吸収スペクトルとの決定係数より計算精度を評価し、スペクトル形状と λ_{max} とが一致するモデルの棘の本数とアスペクト比を明らかとした。AuAgNF の計算モデルとして、原点を通る $\{110\}$ に平行な面上に円盤を 2 枚並べた構造を考案した。考案した計算モデルの消光スペクトルが NIR 領域において AuAgNF の吸収スペクトルと一致したことから、AuAgNF は Ag の UPD によって $\{110\}$ の安定化と $\{110\}$ 上での成長抑制によって平板構造が組み合わさった花型構造へと成長したことが示唆された。

第5章では Stöber 法によって AuAgNS にシリカ (SiO_2) 被覆した (AuAg-SiO_2)。AuAgNS はその高い表面積により 37°C と 60°C で静置すると凝集したが、 SiO_2 被覆によりナノ粒子の凝集を抑制することができた。レーザー照射時においても SiO_2 被覆したナノ粒子の光学密度が維持されたことから、 SiO_2 被覆は光熱療法におけるナノ粒子の凝集の抑制に有効であることが示唆された。さらに細胞毒性試験では Au₂₀Ag₂ は 500 $\mu\text{g/mL}$ の高濃度においても毒性は殆ど示さないが、シリカ被覆によって

さらに毒性が低減されることを明らかとした。

第 6 章ではマレイミド基を導入した Dox を Diels-Alder 反応によって AuAg₂SiO₂ 表面に修飾したナノ粒子の抗腫瘍効果を検討した。AuAg₂SiO₂ 表面への(3-アミノプロピル)トリエトキシシランの修飾量とそのアミノ基への 2-フランカルボン酸の結合量は界面動電現象を解析することで最大化した。逆 Diels-Alder 反応による薬物放出挙動の熱及びレーザー応答性を評価し、AuAgNS がナノヒーターとして優れていることを示した。レーザー照射時の AuAgNS からの発熱と逆 Diels-Alder 反応によって放出された Dox との相乗効果により A549 の細胞生存率は 2.8%まで低下し、高い抗腫瘍効果を示した。

本研究で得られた知見は、UPD による NIR に高光熱変換効率を持つ凹多面体型ナノ粒子を合成し、Diels-Alder 反応によって薬物担持することで、高い抗腫瘍効果を示す化学温熱併用がん治療法を実現可能にするものである。

謝辞

本研究は、JSPS 科研費 24KJ1077 の助成を受けたものです。

本研究は、生駒俊之教授と安楽康孝准教授、水野ローレンス隼斗助教のご指導の下に行いました。研究全般や学会発表、研究室運営等、多大なご指導、ご助言を頂きました。ここに感謝の意を表します。

また、岸哲生准教授には、レーザー装置を用いた実験の際にご指導、ご助言を頂き大変お世話になりました。国立研究開発法人物質・材料研究機構の竹口雅樹様、根本善弘様には透過型電子顕微鏡での測定の際にご指導、ご助言頂きました。当研究室の先輩方、同期諸氏、後輩諸氏には研究生活や研究室運営において大変お世話になりました。この場を借りて厚く御礼申し上げます。

令和7年2月14日

會田 雄大