

---

合成二分子膜によるヘリックス超形態の形成と  
その構造に関する研究

---

(01550687)

平成2年度科学研究費補助金(一般研究C)研究成果報告書

平成3年3月

研究代表者 山田哲弘  
(千葉大学教育学部助教授)

《はじめに》

本研究は昭和64年度(平成元年度)から平成2年度の期間、文部省の科学研究費補助金(一般研究C)を受けて行ったものである。

研究課題；合成二分子膜によるヘリックス超形態の形成とその構造に関する研究

課題番号；01550687

研究組織

研究代表者： 山田哲弘 (千葉大学教育学部助教授)

研究経費

昭和64年度	1400千円
平成2年度	200千円
計	1600千円

研究発表

- (1) 学会誌等 (Norihiro Yamada, Masashi Kawasaki, Alternation of Adsorption Maxima in Helical Superstructures of Chiral, Single-chain Ammonium Amphiphiles, J. Chem. Soc., Chem. Commun., No.7, 1990)
- (2) 口頭発表 (Norihiro Yamada, Formation of Helical Superstructures by the Spontaneous Assemblage of Chiral, Single-Chain amphiphiles, International Symposium on

Self-Assembly of Organic Compounds,

November, 1989.

山田哲弘, 藤本雅美, 大川智弘, FT-IRによる  
ヘリックス超構造体の研究, 日本化学会第59春  
季年会, 1990年4月3日

川崎正志, 山田哲弘, 合成二分子膜の紫外吸収  
スペクトルにおよぼす疎水鎖長(偶奇)の影響,  
日本化学会第59春季年会, 1990年4月3日

山田哲弘, 川崎正志, 加藤裕之, 井上智子, 合  
成二分子膜間の成分混合・分離におよぼす不斉  
と化学構造の影響, 日本化学会第60秋季年会,  
1990年10月2日

川崎正志, 山田哲弘, 二分子膜特性におよぼす  
偶奇鎖長効果, 日本化学会第60秋季年会, 199  
0年10月2日

山田哲弘, 川崎正志, 二分子膜特性におよぼす  
アルキル鎖の偶奇効果, 第39回高分子討論会,  
1990年10月18日)

## 《目次》

第1章 序論	1
第2章 ヘリックス超構造体の形成のメカニズム	8
2-1 序	8
2-2 疎水鎖構造とヘリックス形成について	10
2-2-1 実験	10
用いた化合物	10
Tcの測定	10
会合形態の観察	10
2-2-2 ヘリックス形成に対する疎水鎖長の影響	11
ヘリックス形成の最適温度について	12
ヘリックス形成におよぼす疎水鎖長の効果	25
2-3 不斉とヘリックス形成	39
2-3-1 実験	39
用いた化合物	39
形態観察	40
2-3-2 キラルおよびアキラル膜化合物による	
ヘリックス形成	41
2-3-3 ヘリックス形成に対する水素結合とpHの影響	43
2-4 まとめと考察	46
内的因子	46
外的因子	50
第3章 ヘリックス超構造体中の分子配列様式	51
3-1 序	51
3-2 ヘリックス超構造体の可視・紫外スペクトル挙動	51

3-2-1	実験	5 2
	用いた化合物とスペクトルの測定	5 2
3-2-2	結果	5 2
3-3	ヘリックス超構造体のFT-IRスペクトル	5 5
3-3-1	実験	5 6
	用いた化合物	5 6
	FT-IRスペクトルの測定法	5 6
3-3-2	1 (n=12~16)のFT-IRスペクトル	5 7
3-3-3	7 (n=13~16)のFT-IRスペクトル	6 3
3-4	まとめ	6 7
第4章 結論		6 8
参考文献		7 3

## 第1章 序論

合成二分子膜は人工的に合成された両親媒性化合物が水中で自発的に集合することによってできる分子二重層の膜である。この薄膜は閉じた構造であって、小胞状（ベシクル）、紐状、筒状、あるいは円盤状などの多様な会合体を形成することが知られているが、最近これらの会合体を熟成することによってらせん状の会合体に形態変化する例のあることが報告された(図1)。<sup>1-12)</sup>このらせん状の会合体は一定周期でねじれた構造を持っており、100 $\mu$ mに達する長さを有する。電子顕微鏡写真の結果によれば、らせんを形成するテープ状の薄膜は二分子膜1層分の厚みを持っており、二分子膜の一種であることがわかる。つまり、らせん状会合体は一定の周期構造を有することから、隣接する分子の配向が会合体中のどこをとっても全く同一であるという高度な規則性を有し、巨大であることから従来の会合体以上に分子が集積した二分子膜であるということが出来る。このため、らせん状会合体はヘリックス超構造体と呼ばれる。

1965年、立花はグリースの中の12-ヒドロキシステアリン酸塩がらせん状の結晶になっていることを見いだした。<sup>13)</sup>McConellら<sup>14)</sup>、桜井ら<sup>15)</sup>は固体リン脂質が水中で膨潤する際観察されるミエリン像の中にコイル状の形態があることを報告している。これらのらせん構造は、両親媒性分子によって形成されるという共通点を有するが、12-ヒドロキシステアリン酸塩は二分子膜を形成しないこと、また、ミエリンのコイル状構造は会合体の動的形態変化の過程で一時的に生じたものであるから、二分子膜1層をベースとする先のヘリックス超構造体とは別のものである。しかしながら、二分子膜からヘリックスが形成される要因は、これらのらせん構造体の形成要因とは無関係でないと考えられる。さらに、サーモトロピック液晶におけるカイラルスメクティック相やコレステリック相における分子のねじれた配向とも関連する部分が多いと考えられる。従ってヘリックス形成の要因を解明することは、

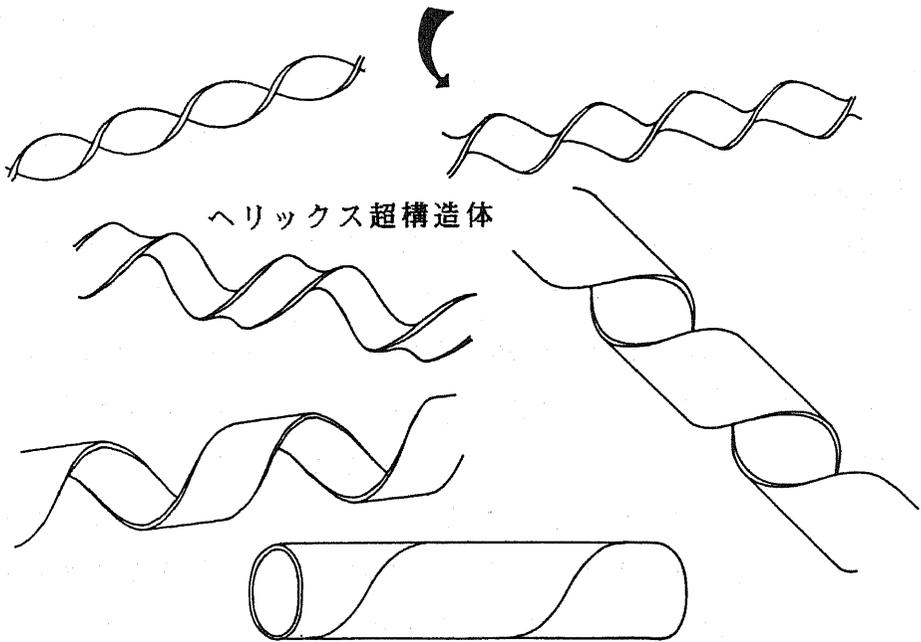
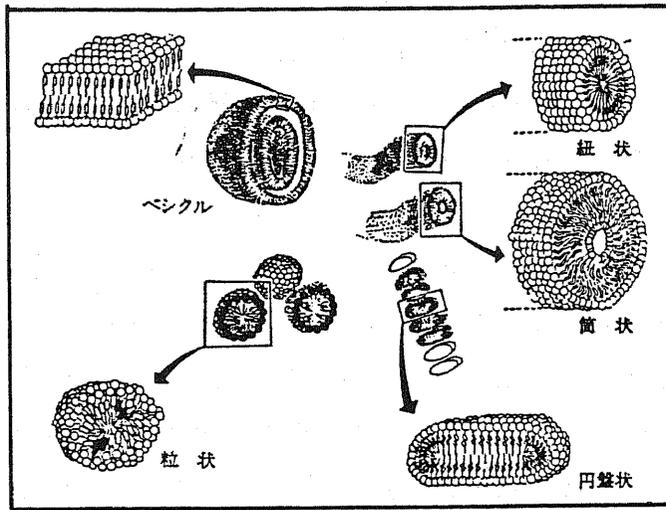


図1 二分子膜の会合形態

工学的応用が展開されつつある様々な分子集合体の構造を明らかにする上で重要である。

これまでに述べた巨視的な形態上の特徴の他、微視的にみれば二分子膜はより重要な特徴を持っている。それは膜面方向に沿った規則的な分子配列である。この規則的な分子配列によって二分子膜は個々の分子には見られなかった相転移現象などの動特性を持つようになる。そこで、分子配列とそれによって生み出される動特性を利用して、二分子膜を新しい機能材料として用いようとする研究が活発である。ヘリックス超構造体は先にも述べたように、従来の会合体よりも高い分子集合度とより規則的な分子配列が期待される会合体である。従って分子集合体としての二分子膜を機能材料として利用する上でヘリックス超構造体は従来の二分子膜会合体より優れた材料となる可能性を持っている。

ところが、ヘリックス超構造体に関する研究は、特定の膜化合物についてヘリックス形成の有無を論じた研究がほとんどで、形成の理論や特性にまで言及している研究はほとんど無い。ヘリックス超構造体を新しい材料として利用しようとするならば、まず①ヘリックス超構造体はどのような条件で形成されるのか、すなわちヘリックス形成に影響する分子構造などの内的因子と、温度などの外的因子を明らかにすることが必要であり、次に②ヘリックス超構造体中での分子配向やパッキングは従来の二分子膜とどのような点で異なっており、それによってどのような特性の変化が生じるのかを明らかにしなければならない。本研究は上記の①と②の解明を目的としたものである。具体的な研究の方針を決めるため、まずヘリックス超構造体について現在までに明らかにされていることをまとめてみた。

#### ①ヘリックス形成のメカニズムについて

- ・ヘリックス超構造体は、次のページ(図2)に示した膜化合物から形成される。

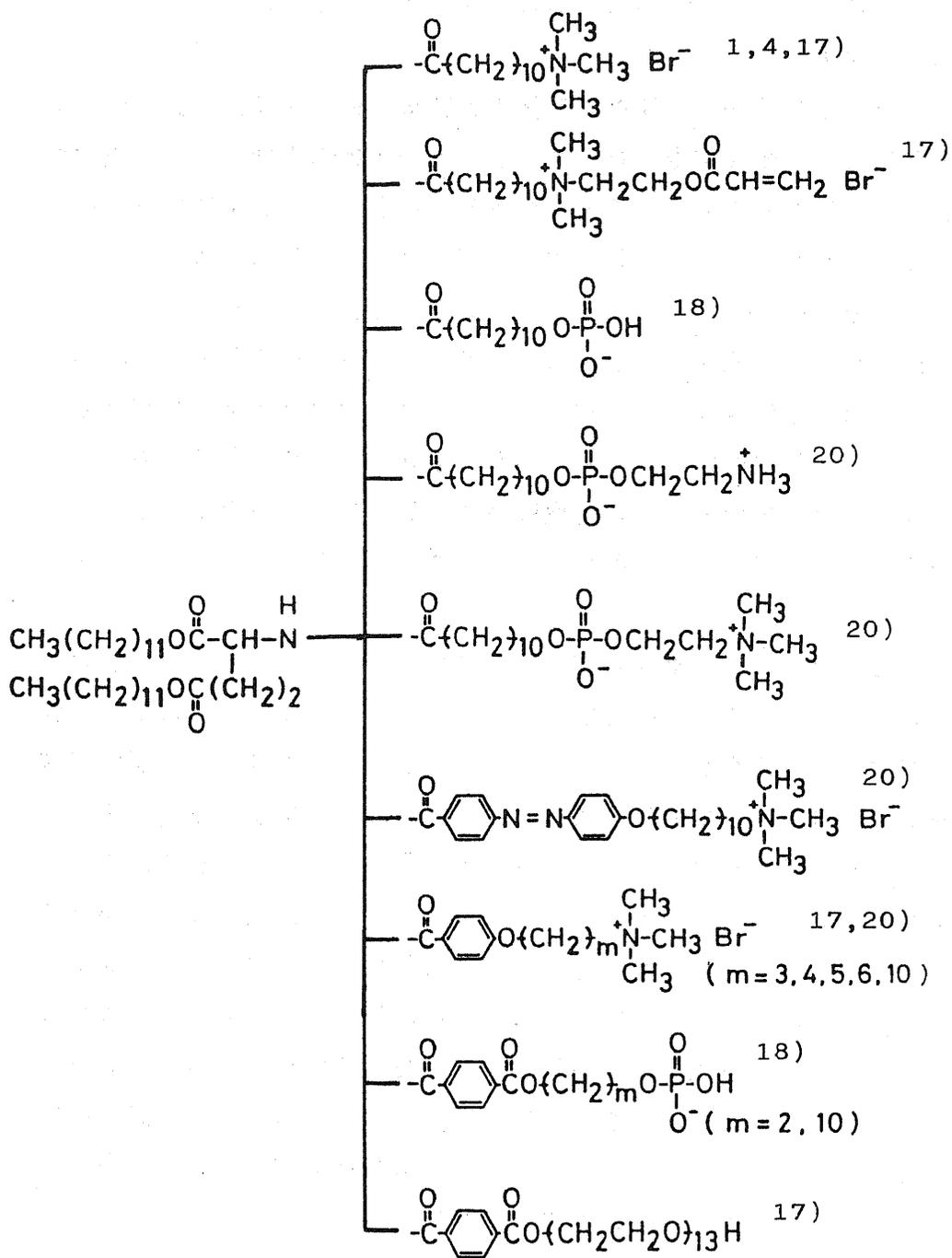


図2 ヘリックス超構造体を形成する膜化合物(続く)

) は文献を表す



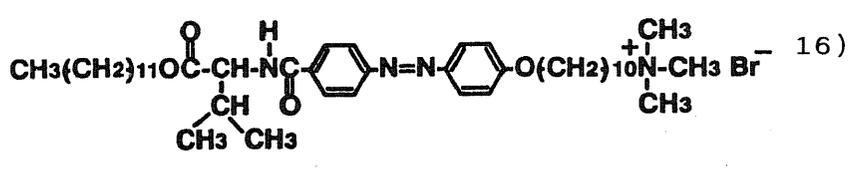
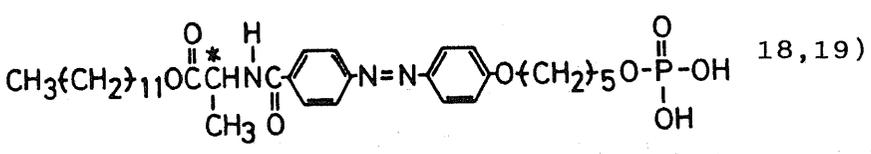
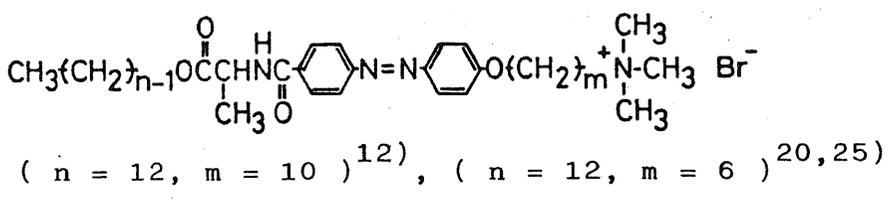
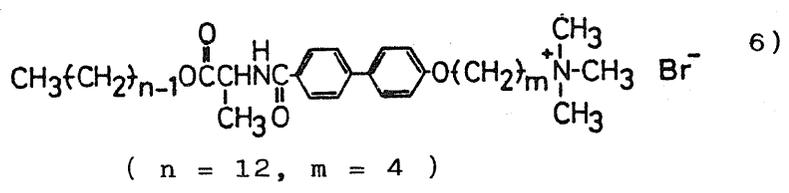
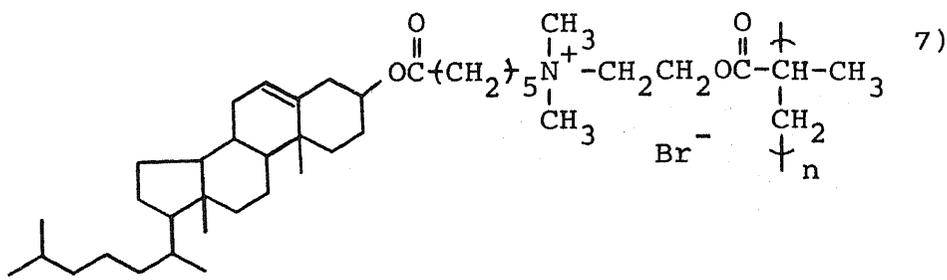


図2 ヘリックス超構造体を形成する膜化合物  
 ) は文献を表す

- ・ヘリックス超構造体は膜化合物の水溶液にエタノールを加えることによって生じた沈澱、あるいはゲル-液晶相転移温度( $T_c$ )よりも低い温度で熟成した水溶液中に見られる。後者の方が一般的である。また後者で生ずるヘリックスは、一般に沈澱しない。
- ・ヘリックス超構造体は $T_c$ 以上に昇温すると以前の会合形態に戻るが、 $T_c$ より低い温度で熟成すれば再び形成される。ヘリックス超構造体の成長は急冷するよりも徐々に冷却した方が速い。

## ②ヘリックス超構造体中での分子配向と特性について

- ・発色団を有する膜化合物ではヘリックス形成に伴って $\lambda_{\max}$ のシフト、<sup>(2,18-20)</sup>著しい分子楕円率の増大<sup>(6,18-20)</sup>がそれぞれUV、およびCDスペクトルから観察されることがある。これ  
の現象には例外があって一般性を欠いている。

以上によればヘリックス形成能を有する化合物は意外に多いが分子中のどの構造要素が支配的因子であるかについてはさらに系統的な検討が必要である。またヘリックス形成に適した具体的温度などの条件についても検討が必要である。さらにヘリックス中の分子配向については、明らかになっている点はほとんどないことがわかる。

そこで本報告書では第一章を序論とし、第二章では内的因子としてヘリックス形成に必要な分子構造の要素を探索するとともに、温度などの外的因子について、より具体的な条件を検討した。第三章ではヘリックス超構造体について可視・紫外スペクトルから得られた分子配向に関する情報を整理した。また、新たにFT-IRスペクトル法を利用し、ヘリックス中の分子のパッキング状態について検討した結果も述べた。第四章は結論であり、本研究での結果を総轄的にまとめた。

## 第2章 ヘリックス超構造体の形成のメカニズム

### 2-1 序

本章では、ヘリックス超構造体がどのような膜化合物からどのような条件で形成されるかを検討した。ヘリックス形成能を有する膜化合物について分子構造上の特徴を明らかにすることは、いわばヘリックス形成に対する内的因子を解明することであり、ヘリックス形成の条件を明らかにすることは外的因子を解明することである。

二分子膜を形成する化合物（膜形成化合物）は、疎水性アルキル鎖と親水性基を同一分子中に有する両親媒性化合物であり、疎水鎖の数に着目すれば、一鎖型、二鎖型、および三鎖以上の疎水鎖を有する型の3つに大別できる。他の構造部位も含めてこれらの分子を模式化したものが図3である。図の中に（）で示されている部分は二分子膜を形成する上で必ずしも必要な部分ではないが、不斉、色素プローブ、触媒基などで膜化合物自身を機能化する場合は、この部分に適当な原子団を挿入する。

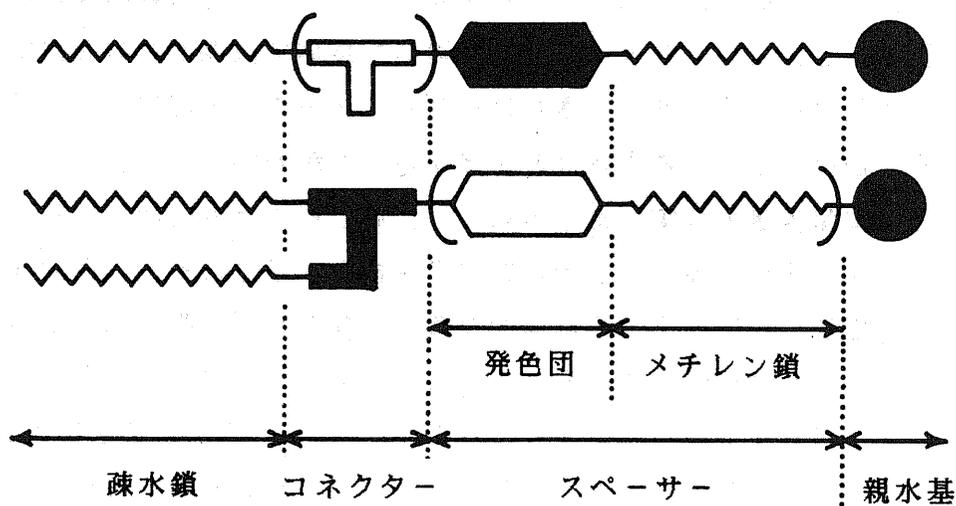


図3 二分子膜の基本構造

ヘリックス形成の内的因子は、これらの構造部位（下の①～⑤）を系統的に変化させることにより検討できる。

- ①疎水鎖構造（鎖長、本数など）
- ②コネクター構造（不斉の有無、側鎖官能基の種類など）
- ③スパーサー構造（鎖長、発色団等の種類や有無）
- ④親水基構造（電荷、対イオンの種類など）
- ⑤その他（水素結合基などの原子団）

ここでは特に①の疎水鎖長、②の不斉構造、そして⑤の水素結合などに関する情報がないことからこれらの影響を重点的に検討した。その他の構造要素については序で挙げたヘリックス形成能を有する膜化合物(図2)を含めて整理することにより十分な情報を得ることができる。

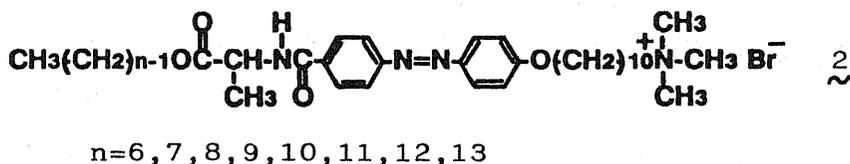
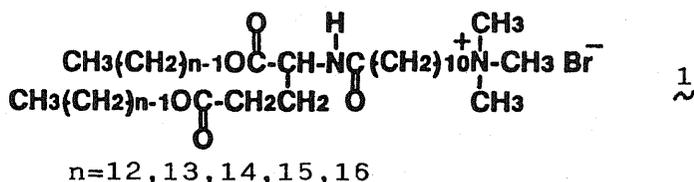
一方、ヘリックス形成に影響するだろうと考えられる外的因子としては、熟成の温度や時間、pH、イオン強度など多くが考えられる。しかし、ヘリックス形成と崩壊は $T_c$ を臨界温度として起こるので、<sup>4)</sup> 熟成温度は外的因子の中では最もヘリックス形成に影響する因子であると考えられる。当然、熟成温度を検討するにあたっては二分子膜の $T_c$ との関係を見捨てることはできない。 $T_c$ は膜化合物の構造によって変化するから、膜化合物ごとにヘリックス形成の最適温度が異なる可能性もある。このため、ヘリックス形成をある一つの温度でのみ評価するのは危険である。たとえば室温下でヘリックスを作らない場合でもそれより数度高い温度ではヘリックスを作るかも知れないからである。そこで熟成温度条件を明らかにすることは、どのような化合物からヘリックスが形成されるのかを明らかにするのに先立って必要なことになる。

## 2-2 疎水鎖構造とヘリックス形成について

### 2-2-1 実験

#### 【用いた化合物】

疎水鎖長が異なる次の化合物を用いた。



これらの化合物のうち  $\underset{\sim}{1}$  (n=12, 14) と  $\underset{\sim}{2}$  (n=12) がヘリックスを形成することは、それぞれ国武ら<sup>1,4)</sup> および著者ら<sup>12,20)</sup> が報告したものである。

#### 【Tcの測定】

これらの二分子膜のゲル(結晶相)-液晶相転移温度(Tc)は超音波分散した10mMの水溶液から50または56 $\mu$ lを分取して銀製試料皿に密封し、セイコー電子社製示差走査熱量計(SSC-560)を用いて行った。走査温度範囲は5~95 $^{\circ}$ Cで、昇温速度は1 $^{\circ}$ C/minとした。その他の詳細は文献に従い、<sup>21)</sup> Tcは吸熱ピークの極小値とした。

#### 【会合形態の観察】

ヘリックス形成の有無はオリンパス社製BHF透過蛍光顕微鏡に液浸型暗視野コンデンサーを装着し、高圧水銀ランプ(OSRAM HBO200W/2)を光源として暗視野モードでの観察結果から判断した。試料プレパラートはスライドガラス(洗浄剤(dcn-90)水溶液中で超音波洗浄後、流水中

キムワイプで機械的に洗浄し、再び超純水で超音波洗浄してからエタノール中に保存しておいたもの)上に1~3mMの加熱分散試料を乗せ、上からスライドガラスと同様の方法で洗浄したカバーガラスをかぶせた。次いで余分な試料をろ紙に吸わせて除き、マニキュアでへりをシールした(図4)。観察は一定温度で熟成した(PABA ANALYZER、PDM-21型トライバース)保存試料水溶液について経時的に行った。

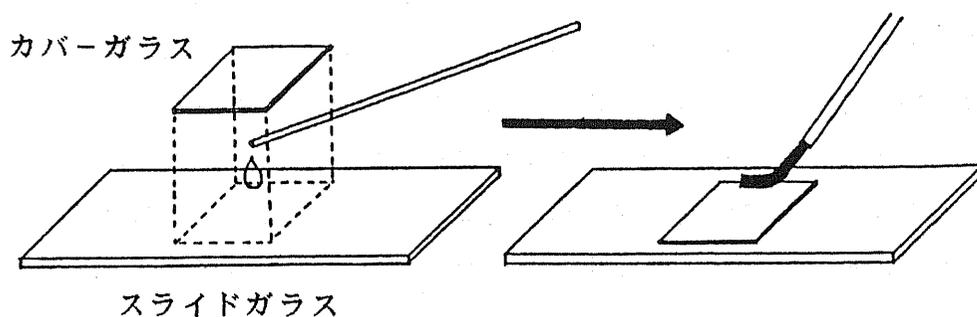


図4 試料プレパラートの製作

#### 2-2-2 ヘリックス形成に対する疎水鎖長の影響

疎水鎖は膜形成化合物にとって最も重要な構造要素である。疎水鎖長は両親媒性化合物が二分子膜を形成するためには、二鎖型ジアルキルジメチルアンモニウム塩ではドデシル、一鎖型アゾベンゼン化合物ではヘキシル以上のアルキル鎖が必要である。<sup>21-23)</sup>そこで疎水鎖長は $\underline{1}$ では $n=12\sim 16$ 、 $\underline{2}$ では $n=6\sim 13$ としてヘリックス形成能を調べた。より長い疎水鎖長を有する化合物は、合成中間体の有機溶媒に対する溶解性が低くなって合成が難しくなること、および生じた二分子膜の $T_c$ が高くなりすぎて熟成温度の設定が難しくなることなどの理由から用いなかった(例えば $\underline{2}$  ( $n=13$ )の $T_c$ は $84.7^\circ\text{C}$ であるから(図21)、 $\underline{2}$  ( $n=14$ )ではさらに高くなることが予想される)。

先にも述べたように疎水鎖長を変えればゲル-液晶相転移温度( $T_c$ )も

変わる。ヘリックスは $T_c$ より低い温度での熟成によって形成されるが、 $T_c$ より何度低い温度で熟成すれば良いかという具体的なデータを欠いている。そこでまず $\underline{1}$  ( $n=12\sim 16$ )を用いてヘリックス形成のおこる最適温度を調べた。

#### 【ヘリックス形成の最適温度について】

実験はまず二鎖型の $\underline{1}$  ( $n=12\sim 16$ )について $T_c$ を測定した。図5～9は $\underline{1}$  ( $n=12\sim 16$ )から形成される二分子膜のDSCサーモグラムである。 $T_c$ は最も高温側にある吸熱ピークのピークトップの温度とした。図10は $n$ と $T_c$ の関係をグラフにしたものである。サーモグラムから明らかなように $n=12$ の場合を除き、 $T_c$ よりも低温側に前転移が観察された。これらの前転移ピークの強度は繰り返し走査によって増大し、これに伴って主転移ピークの強度は減少する傾向がみられた。この理由は不明であるが、前転移ピークはヘリックスの形成や崩壊に関連している可能性がある。

ヘリックス超構造体は $T_c$ 以上の温度では崩壊するので、<sup>4)</sup>ヘリックス形成に適した温度は前転移ピークが出現する温度より低いか、前転移ピークと主転移( $T_c$ )ピークの間にあるかのいずれかと考えられる。そこで表1には、まず $\underline{1}$  ( $n=12\sim 16$ )のいずれの吸熱ピークの出現温度よりも低い $25^\circ\text{C}$ で熟成を行った時の会合形態をまとめた。また、顕微鏡写真を図11～図15に示した。これらの図と表1から明らかなように $\underline{1}$ は疎水鎖長によらずヘリックス超構造体を形成することがわかった。しかしながら観察されるヘリックスは鎖長が長いほど、数は少なく、大きさも小さいことがわかった。これは長い疎水鎖がヘリックス形成に不利であるか、あるいは長い疎水鎖を有する化合物から形成される二分子膜は $T_c$ が高いので(図10)、 $25^\circ\text{C}$ という熟成温度がヘリックス形成にとって低すぎたかのどちらかであると考えられる。

そこで次に $25^\circ\text{C}$ では少数のヘリックスしか作らなかった $n=14, 15, 16$ のうち、 $n=15$ について熟成温度を $45^\circ\text{C}$ に設定してヘリックス形成を観

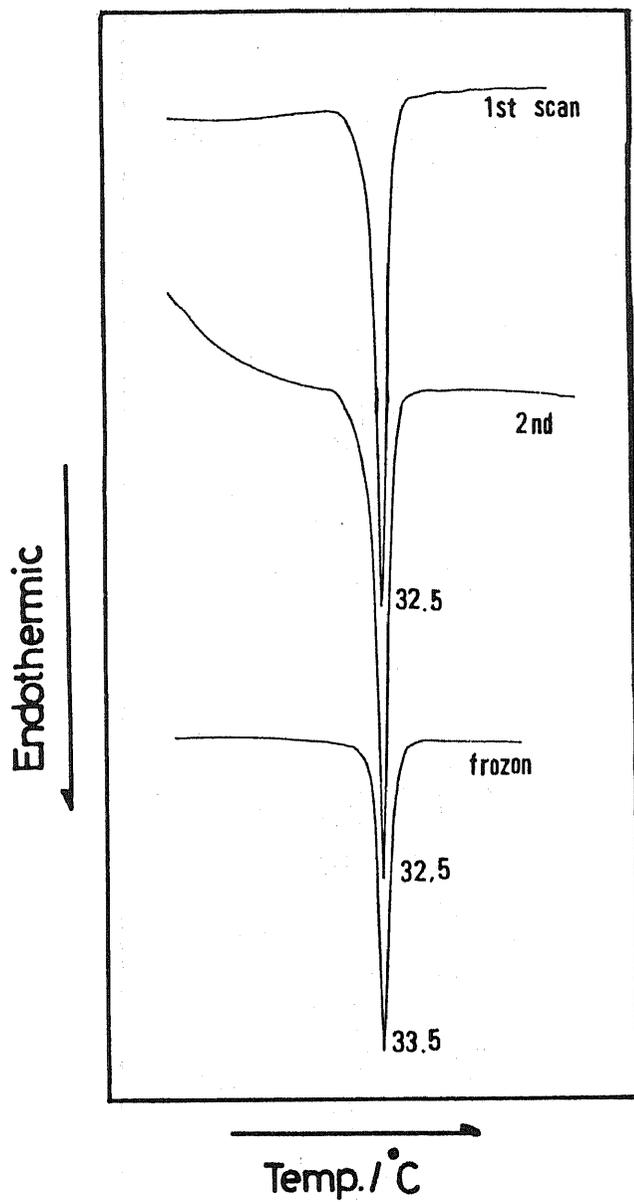


図 5  $\frac{1}{2}$  ( $n=12$ ) の DSC サーマグラム

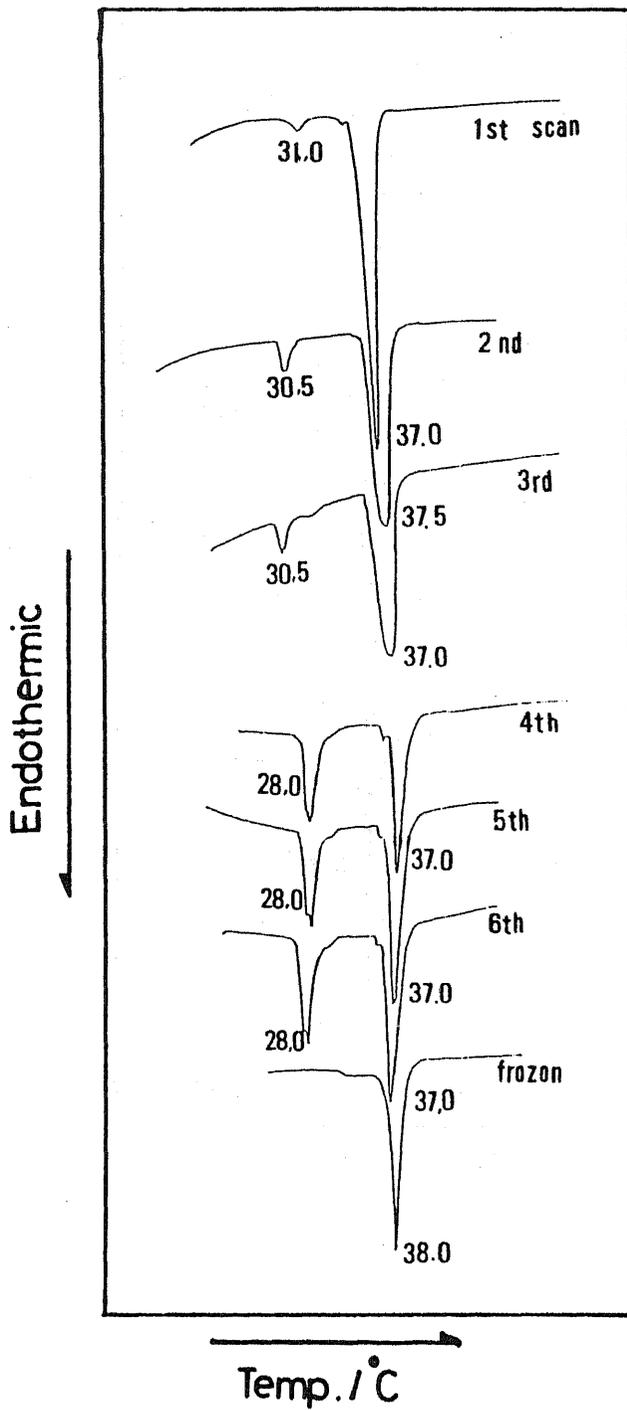


図 6  $\downarrow$  (n=13) の DSC サーマグラム

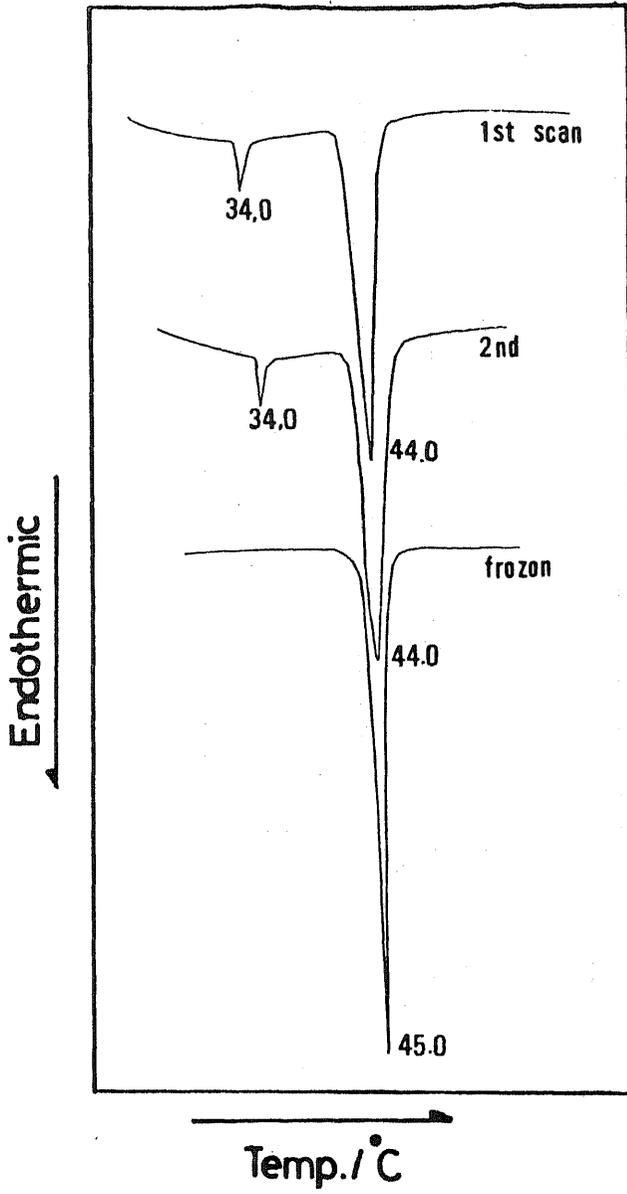


図 7  $\frac{1}{2}$  (n=14) の DSC サーマグラム

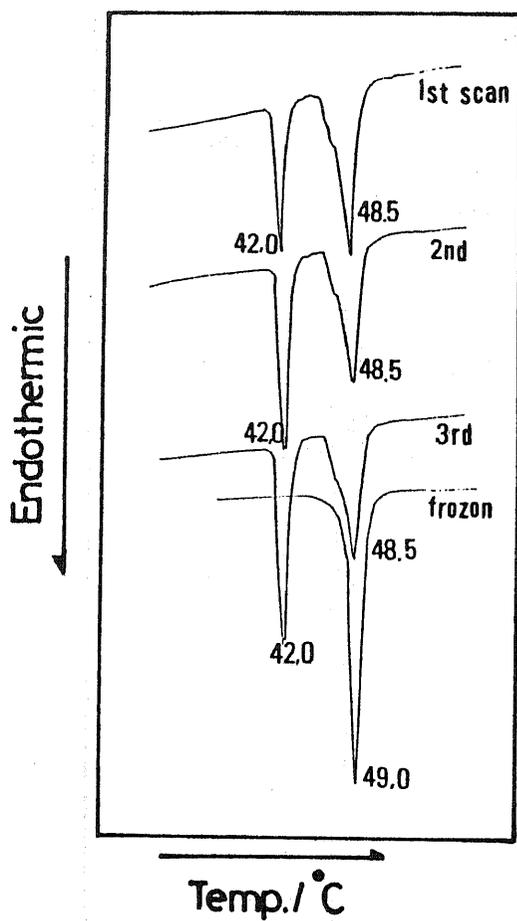


図 8  $\frac{1}{2}$  (n=15) の DSC サーマグラム

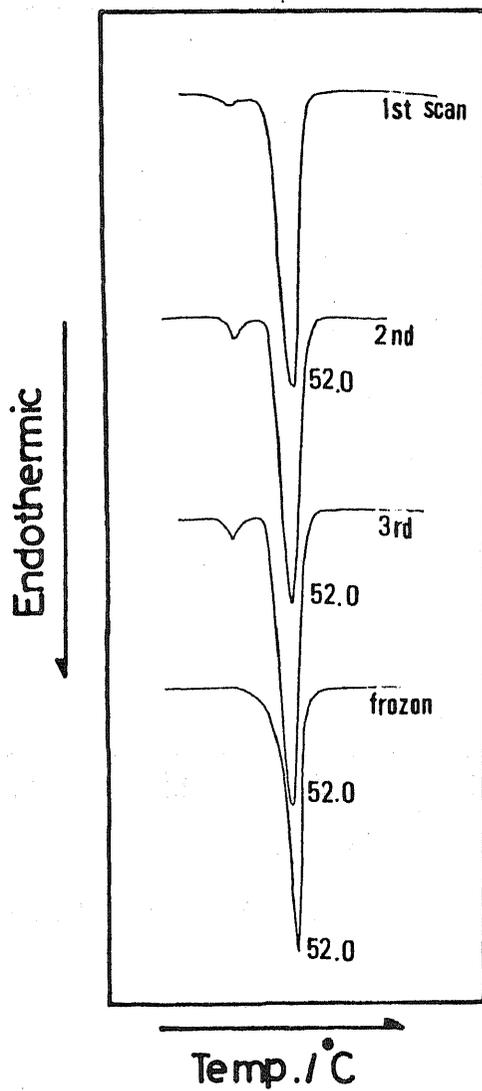


図 9  $\underline{1}$  (n=16)のDSCサーモグラム

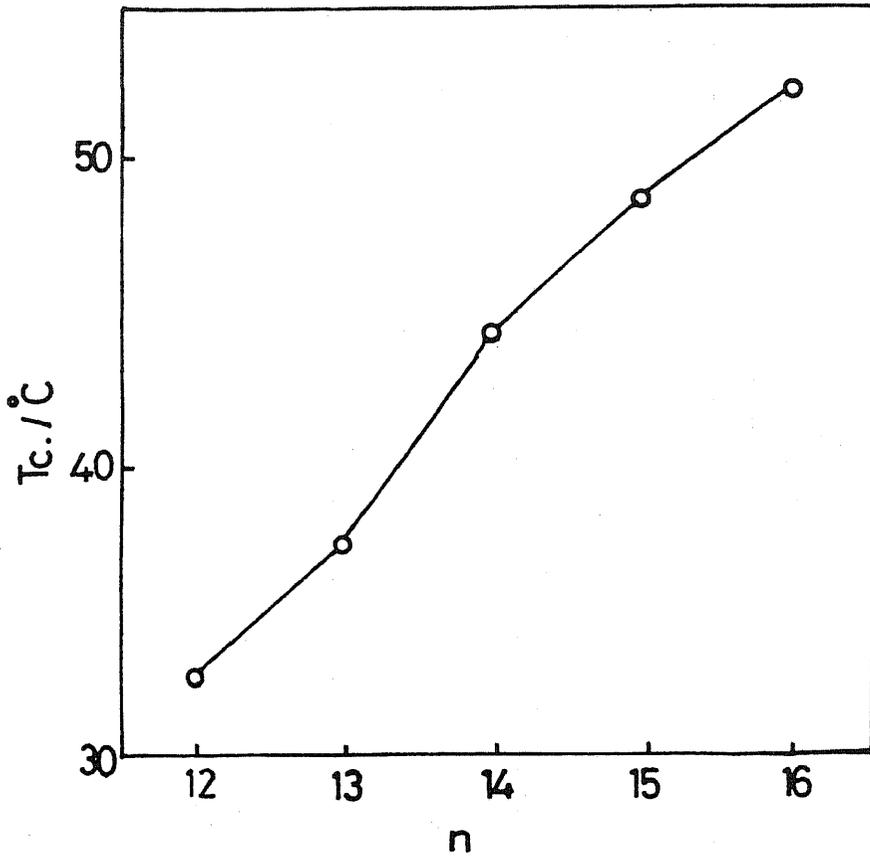


図10 疎水鎖長(n)と二分子膜のTcとの関係

表1 二分子膜;1(n=12~16)によるヘリックス超構造体の形成

n	転移温度/°C		会合形態と量	平均的長さ/μm
	前転移	主転移(Tc)		
12	-	32.5	ヘリックス多数	~200
13	28.0	37.0	ヘリックス多数 繊維状会合体多数	~140
14	34.0	44.0	ヘリックス少数 針状会合体少数	~100
15	42.0	48.5	ヘリックス少数 針状会合体少数	~60
16	47.0	52.0	ヘリックスごく少数 針状会合体ごく少数	~20

超音波分散した試料を60°Cで24時間熟成後、25°Cで熟成しながら形態の経時変化を観察した。形態に関する表中のデータは熟成2週間後のものである。



図 1 1  $\lambda$  (n=12) から形成されたヘリックス超構造体  
超音波分散試料を 60°C で 24 時間熟成後、  
25°C で 2 週間熟成したもの

┆┆┆ 10  $\mu$  m

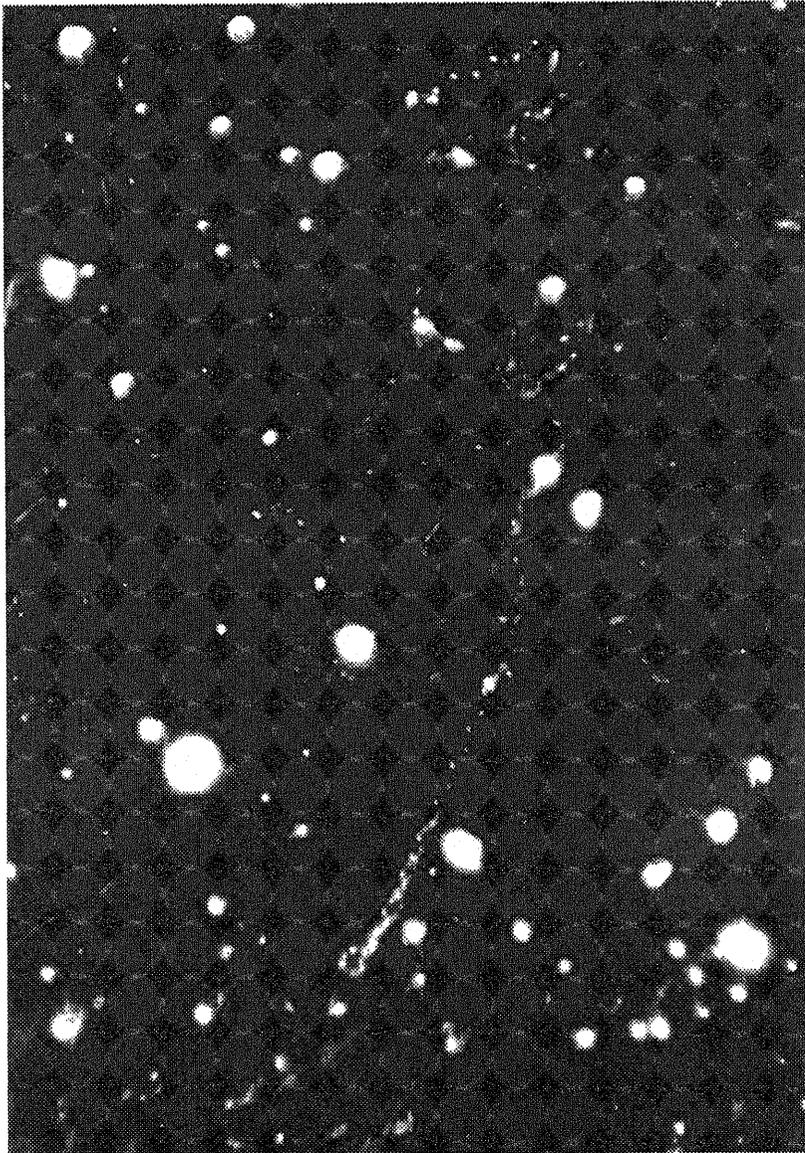


図 1 2  $\lambda$  ( $n=13$ )から形成されたヘリックス超構造体  
超音波分散試料を60°Cで24時間熟成後、  
25°Cで2週間熟成したもの

┆┆┆ 10  $\mu$ m

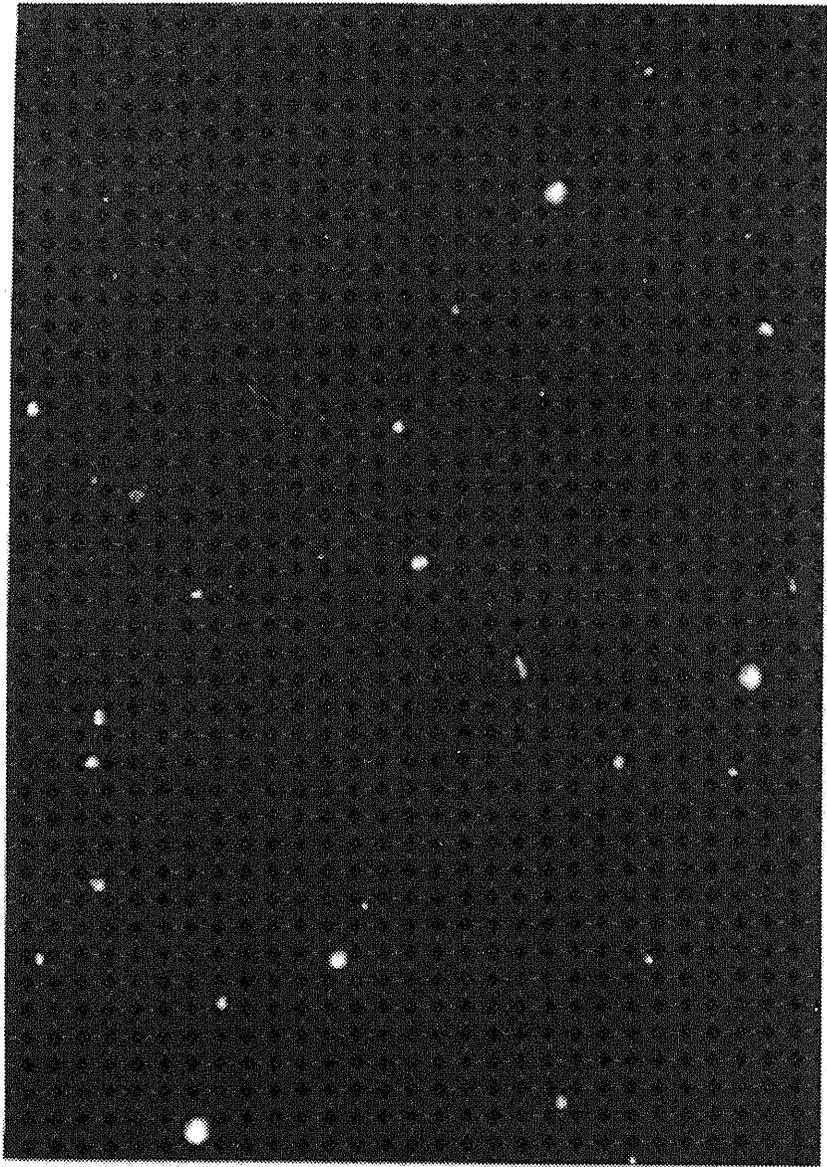


図 1 3  $\tilde{1}$  (n=14) から形成されたヘリックス超構造体  
超音波分散試料を 60°C で 24 時間熟成後、  
25°C で 2 週間熟成したもの

— 10  $\mu$  m

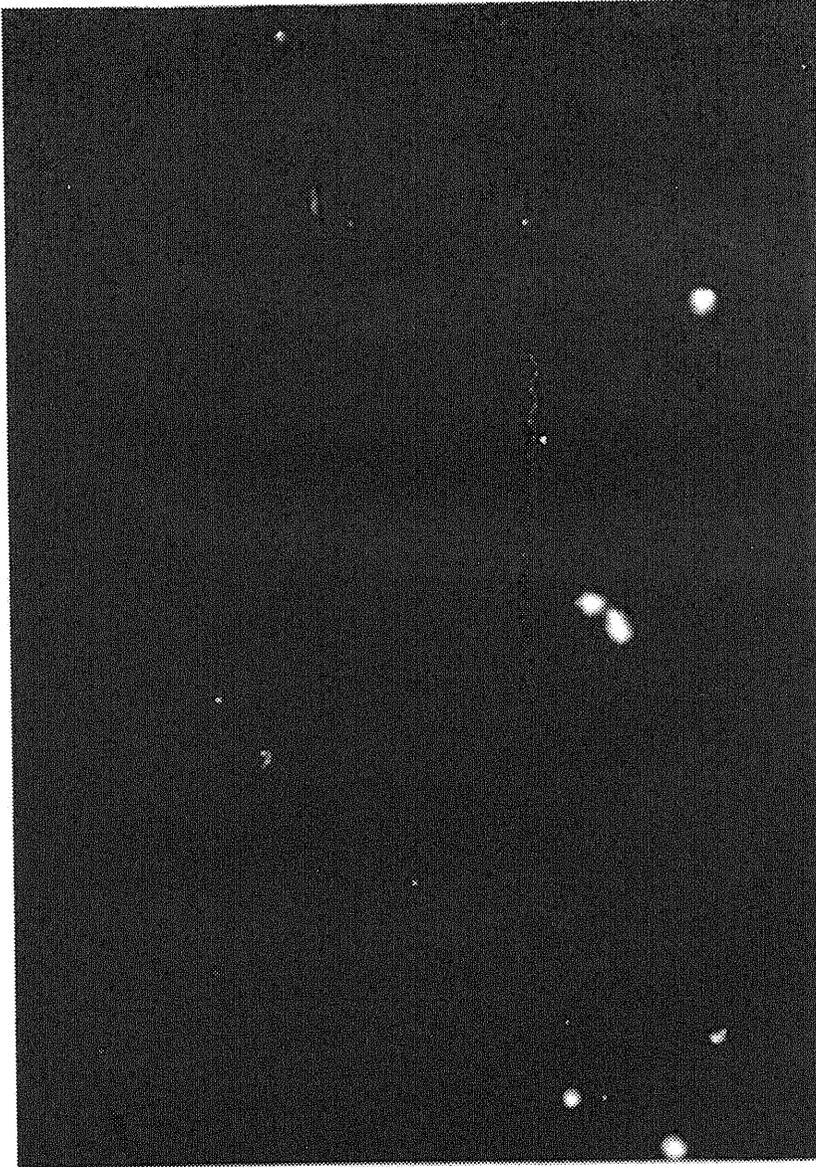


図 1 4 1 (n=15)から形成されたヘリックス超構造体  
超音波分散試料を60°Cで24時間熟成後、  
25°Cで2週間熟成したもの

┆┆┆ 10 μ m



図 1 5  $\lambda$  ( $n=16$ )から形成されたヘリックス超構造体  
超音波分散試料を60°Cで24時間熟成後、  
25°Cで2週間熟成したもの

┆┆┆ 10  $\mu$  m

察した。この温度は $n=15$ から成る二分子膜の $T_c(48.5^\circ\text{C})$ と前転移ピーク( $42^\circ\text{C}$ )の中間温度である。観察の結果 $45^\circ\text{C}$ でもヘリックスは形成された(図16)が数や大きさは $25^\circ\text{C}$ で熟成を行った場合とほとんど変わらなかった。従って $n=15$ の前転移ピークはヘリックスの形成や崩壊とは無関係であることがわかった。温度条件として最後にアニーリングの影響を調べた。アニーリングに着目した理由は、 $\sim$ ( $n=12,13$ )の二分子膜が温度一定で熟成するよりも、室温(約 $20^\circ\text{C}$ )で放置しておいた時の方がよく発達したヘリックスを形成した(図17,18)ことによる。室温に放置した場合、試料は昼夜の温度差(約 $5^\circ\text{C}$ )により自然なアニーリングを受ける。 $\sim$ ( $n=12,13$ )にとって室温(約 $20^\circ\text{C}$ )は $T_c$ よりも $10\sim 20^\circ\text{C}$ 低い温度である。そこで同時に調整した $\sim$ ( $n=14, n=15$ )の水溶液をこれらの $T_c$ よりも $4\sim 13.5^\circ\text{C}$ 低い $35\sim 40^\circ\text{C}$ の範囲で熟成しながら( $35^\circ\text{C}$ 設定と $40^\circ\text{C}$ 設定を約12時間周期で繰り返した)経時的に形態を観察した。この結果、アニーリングの温度範囲が前転移ピークと $T_c$ の間にある $\sim$ ( $n=14$ )では、形成されるヘリックスの数、大きさとも $25^\circ\text{C}$ や $45^\circ\text{C}$ で熟成を行った場合と変わらなかったが、 $\sim$ ( $n=15$ )は2週間後に長さ $70\mu\text{m}$ 程の巨大なヘリックスを多数形成した(図19)。 $\sim$ ( $n=15$ )の場合、アニーリングの温度範囲は前転移ピーク温度( $42^\circ\text{C}$ )よりも低い。このことは前転移温度よりも低い温度領域においてアニーリングを行えばヘリックス形成が促進されることを示す。事実 $\sim$ ( $n=16$ )も $42\sim 47^\circ\text{C}$ の範囲でアニーリングすることにより巨大なヘリックス超構造体を形成した(図20)。

#### 【ヘリックス形成におよぼす疎水鎖長の効果】

熟成温度を検討することにより、 $\sim$ ( $n=12\sim 16$ )は疎水鎖長によらずヘリックス超構造体を形成すること、一定温度で熟成するよりもアニーリングを行った方がヘリックス超構造体を作り易いことなどが明らかとなった。もちろん、 $T_c$ の高い二分子膜は高い温度領域でのアニーリングが必要であり、具体的に言えばDSCサーモグラムにおける前転移ピ

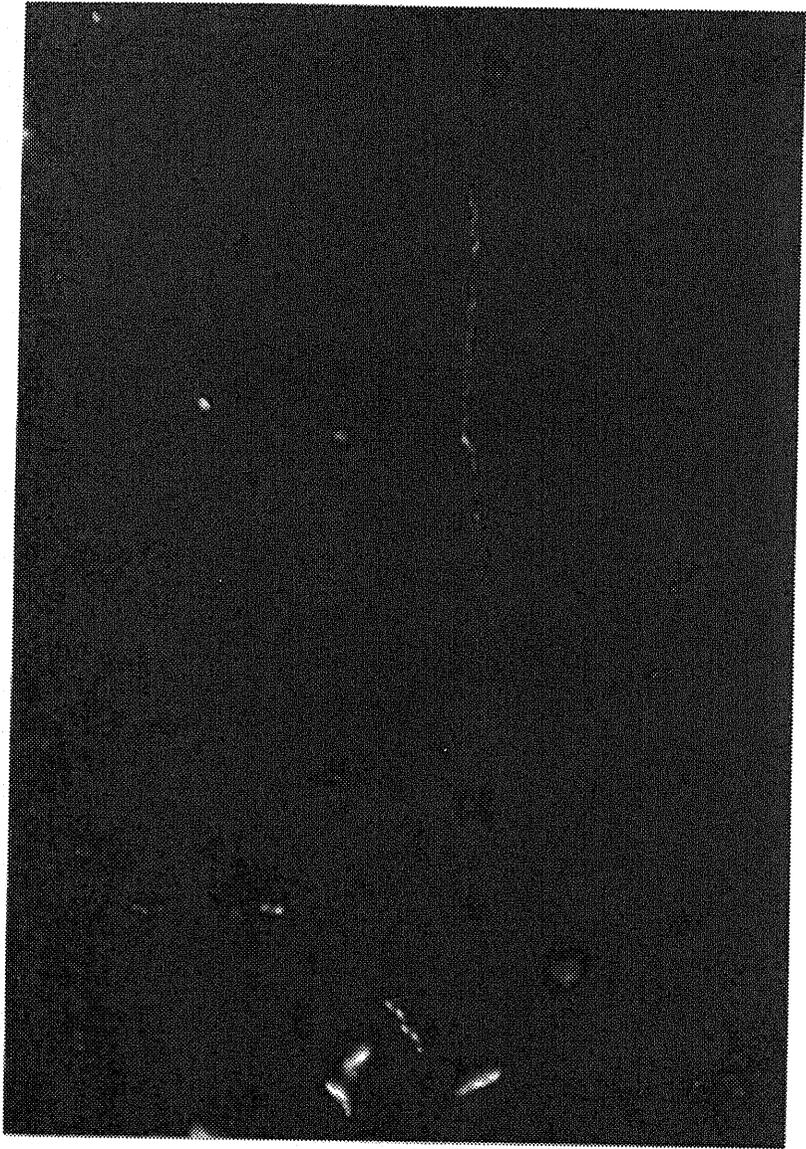


図 1 6 1 (n=15)から形成されたヘリックス超構造体  
加熱分散試料を45°Cで2週間熟成したもの

—| 10 μ m



図 1 7  $\lambda$  (n=12)から形成されたヘリックス超構造体  
加熱分散試料を55°Cで1週間熟成後、  
室温(20°C前後)で3日間熟成したもの

—| 10  $\mu$  m

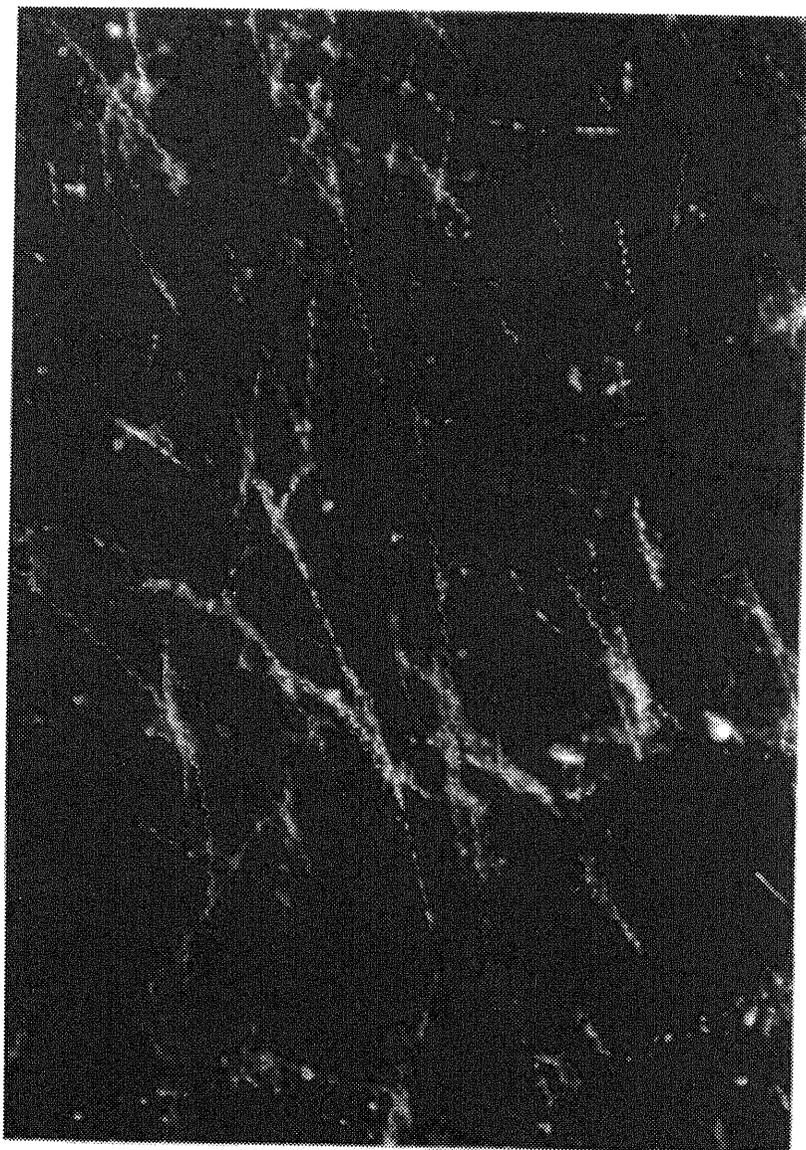


図 18  $\beta$  (n=13)から形成されたヘリックス超構造体  
加熱分散試料を45°Cで4日間熟成後、  
室温(20°C前後)で4週間熟成したもの  
┆ 10  $\mu$ m

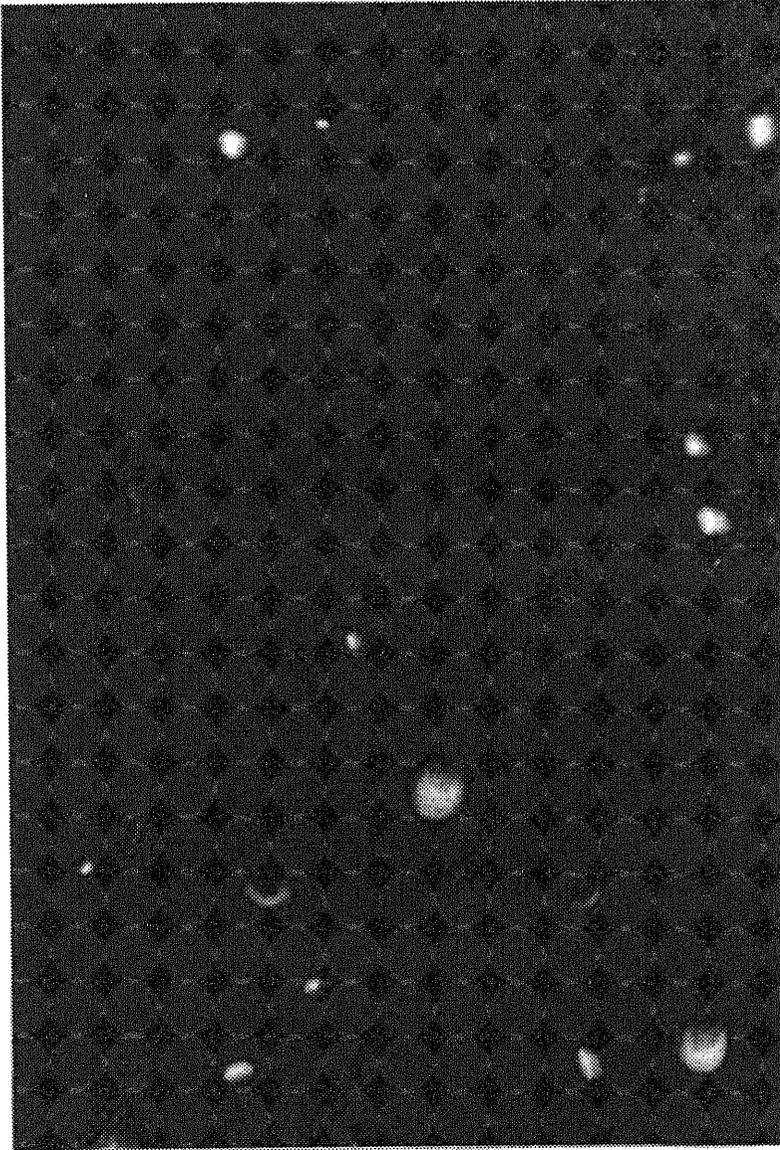


図 1 9  $\tilde{1}$  ( $n=15$ )から形成されたヘリックス超構造体  
加熱分散試料を60°Cで9日間熟成後、  
35~40°Cで2週間アニーリングしたもの  
┆┆┆ 10  $\mu$ m

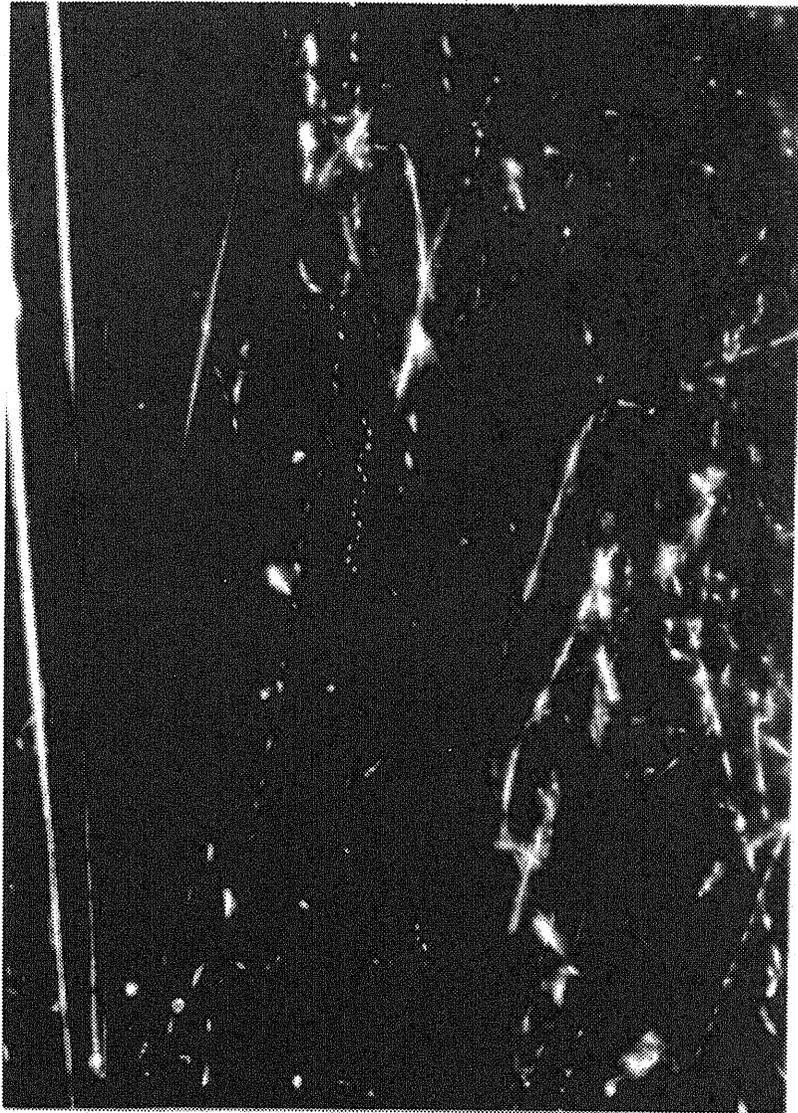


図 2 0  $\lambda$  ( $n=16$ )から形成されたヘリックス超構造体  
加熱分散試料を60°Cで9日間熟成後、  
42~47°Cで3日間アニーリングしたもの  
—| 10  $\mu$ m

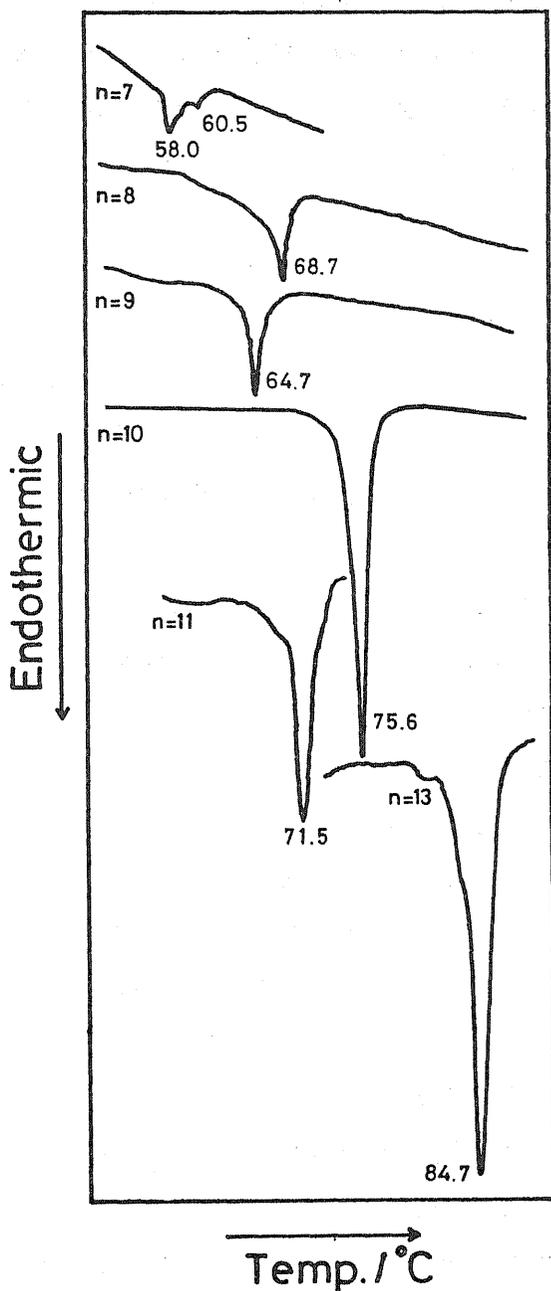


図 2 1 二分子膜;  $2_n$  (n=6~11, 13) の DSC サーマグラム

一ク温度以下で、かつなるべく高い温度が必要とされる。この結果は、巨大ヘリックスを多量に形成するのではなく単にヘリックスの有無のみを調べるのなら、熟成は温度制御を行わず室温で放置しておくだけでよいことを意味する。なぜなら室温で放置すれば、試料は日および時間による温度の変動を受けることになり、自然なアニーリングを行ったことになるからである。ただし、これは $T_c$ が室温より高い二分子膜についてのみあてはまる。 $T_c$ が室温より低い場合、熟成は恒温槽を用いれば可能であるが、試料プレパレート作製時および顕微鏡観察時に実験器具や装置からの熱で昇温するのでヘリックスが崩壊し、観察できない。このため、室温以下に $T_c$ を有する二分子膜からのヘリックス形成を調べるためにはコールドルーム(低温室)などの設備が必要である。

以上を踏まえ、 $T_c$ が室温より高い二分子膜についてのみ室温で熟成を行ってヘリックス形成を調べた。まず $1_n$ は鎖長によらずヘリックスを形成することがわかった(表1)。

一方、アゾベンゼン型膜化合物 $2_n$ についても $1_n$ と同様の実験を行った。図21は $2$ の二分子膜のDSCサーモグラムである。 $T_c$ を疎水鎖長 $n$ に対してプロットしたものが図22である。この図より、二分子膜( $2_n$ )の $T_c$ は疎水鎖中に含まれる炭素の数が偶数か奇数かによってジグザグ型に変化することがわかった。この偶奇鎖長効果は本研究で初めて発見された新しい現象であり、<sup>24)</sup>詳細は次章で議論する。図23~図27は $2_n$  ( $n=7,9,10,11,13$ )の光学顕微鏡写真である( $2_n$  ( $n=12$ )は、すでに報告したようにヘリックス超構造体を形成する。<sup>12)</sup>  $2_n$  ( $n=6,8$ )については、現在形態を観察中である)。熟成条件などは図中に示してある。これらの顕微鏡写真と形態観察の結果をまとめた表2から明らかなように、 $2_n$ も疎水鎖長によらずヘリックス超構造体を形成することがわかった。 $2_n$  ( $n=10$ )は図25に示したように針状の会合体を形成したが、これはヘリックスであると言って良い。

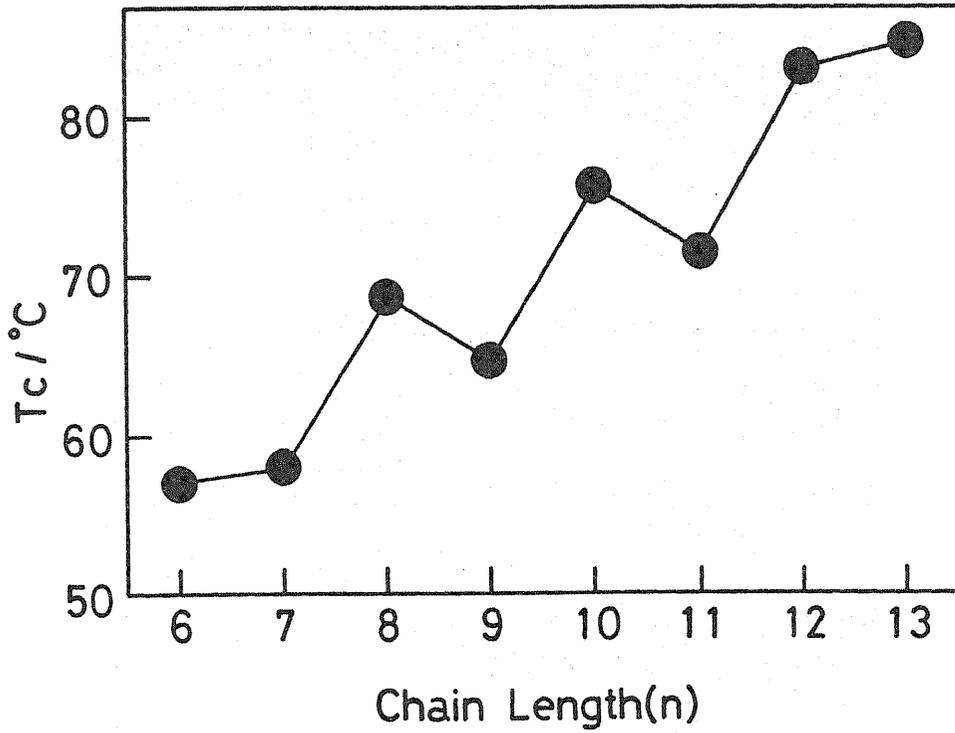


図 2 2 二分子膜; 2 (n=6~13)のTcと疎水鎖長 n の関係  
 2 (n=12)のTc(83°C)は文献12)による.

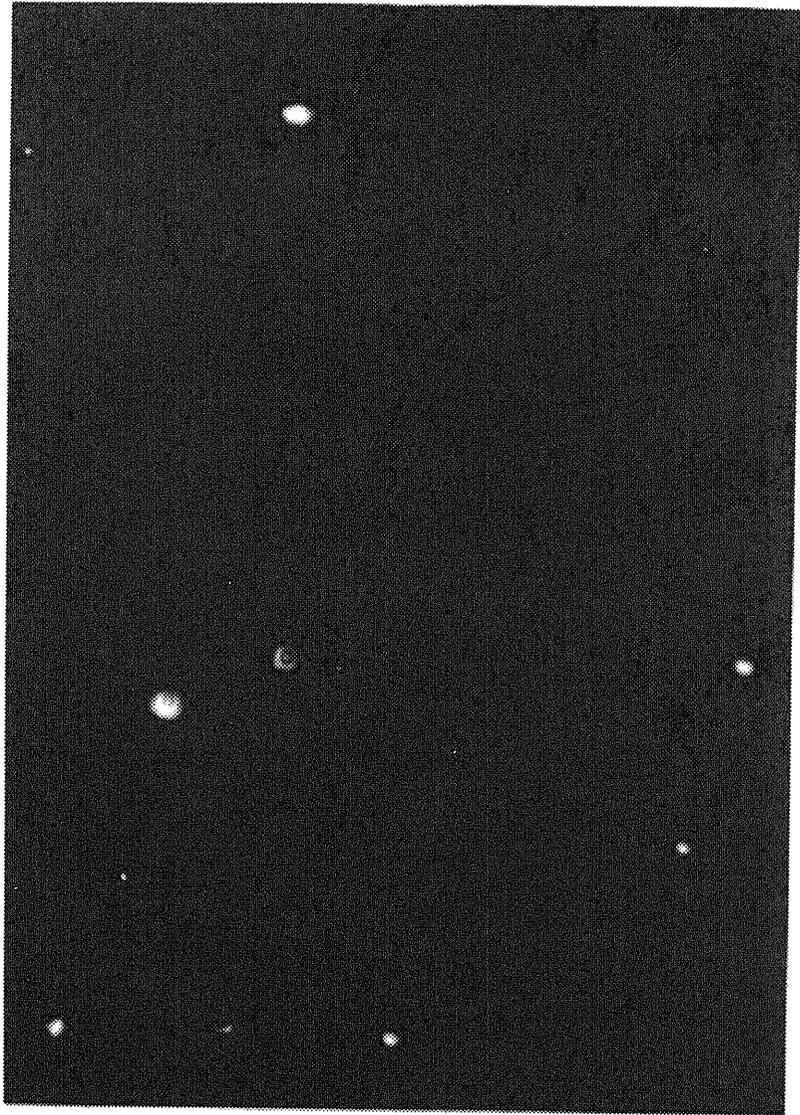


図 2 3  $\lambda$  ( $n=7$ )から形成されたヘリックス超構造体  
加熱分散試料を室温(15°C前後)で1週間熟成したもの

┆ 10  $\mu$  m

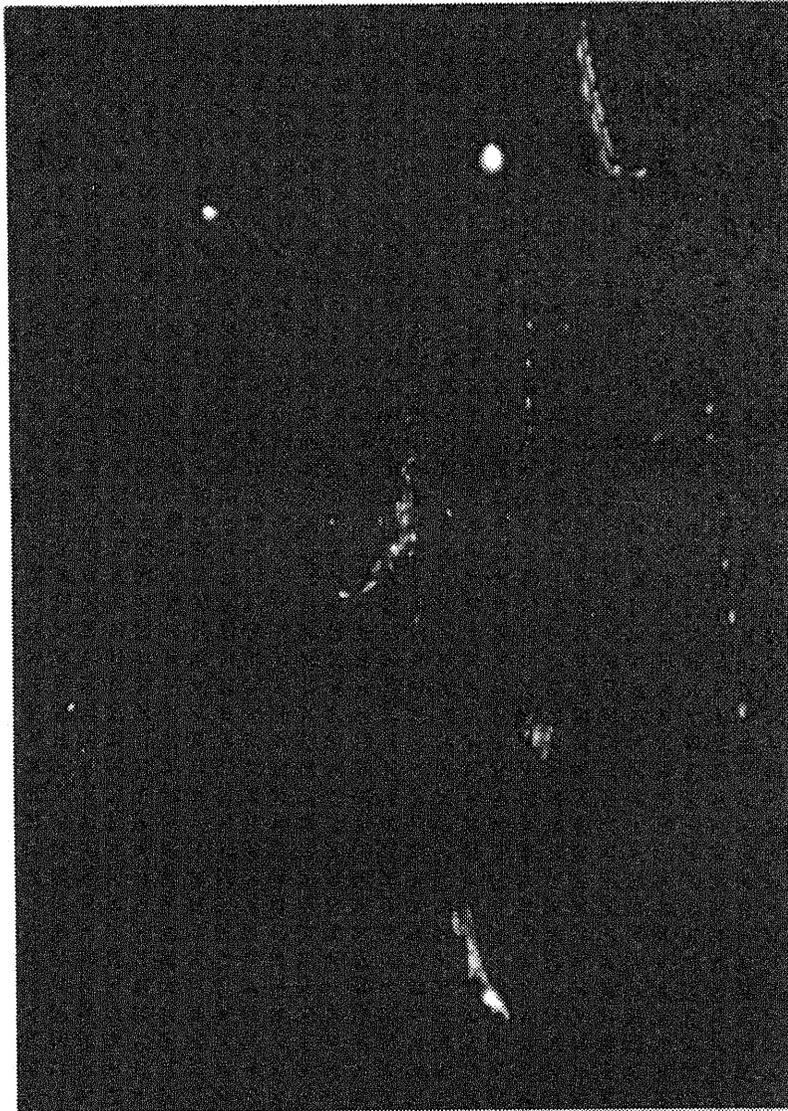


図 2 4  $\zeta$  ( $n=9$ )から形成されたヘリックス超構造体  
加熱分散試料を30°Cで24時間熟成したもの

┆┆ 10  $\mu$ m

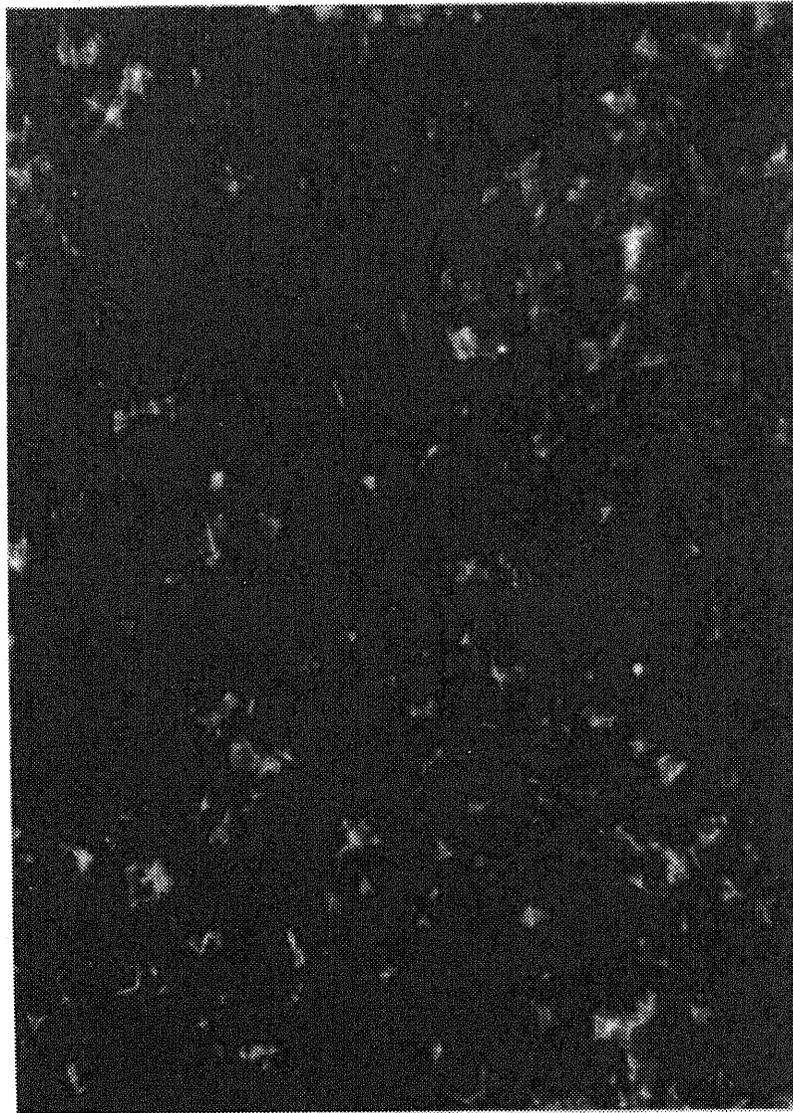


図 2.5  $\zeta$  ( $n=10$ )から形成されたヘリックス超構造体  
加熱分散試料を60°Cで3日間熟成後、  
42~47°Cで24時間熟成したもの

┆┆ 10  $\mu$ m

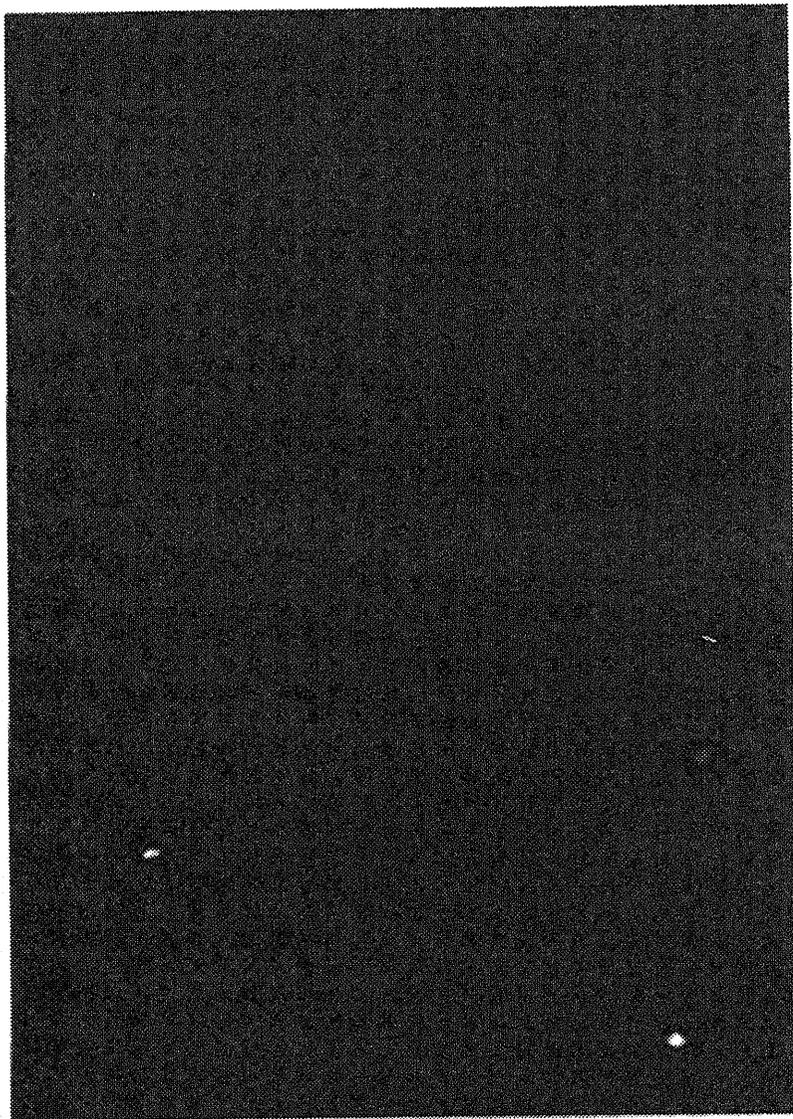


図 2 6  $\lambda$  (n=11)から形成されたヘリックス超構造体  
加熱分散試料を30°Cで2日間熟成したもの

— 10  $\mu$ m

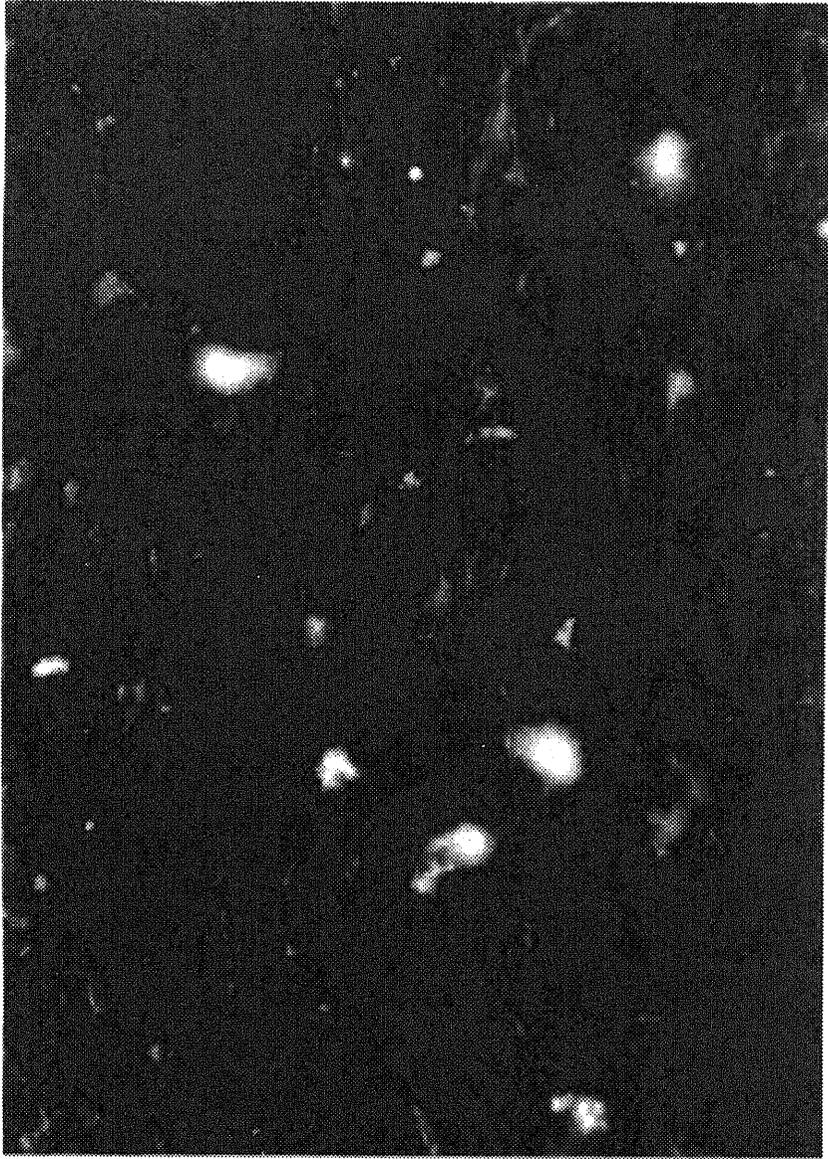
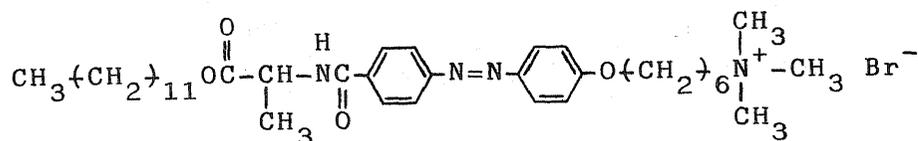


図 2 7  $\zeta$  (n=13)から形成されたヘリックス超構造体  
加熱分散試料を60°Cで24時間熟成したもの

—| 10  $\mu$  m

なぜならば次の化合物も  $\underline{2}$  ( $n=10$ ) と全く同じ針状会合体を形成したが、電子顕微鏡観察によれば、その針状会合体は薄いリボンをらせん状に巻いた短いチューブであることがわかっている。<sup>20, 25)</sup>



以上の結果をまとめると、ヘリックス超構造体は疎水鎖の長さによらず形成されることがわかった。疎水鎖長が長くなるほどヘリックス超構造体が形成されにくくなるのは  $T_c$  が高くなるため、熟成温度が相対的に低くなってしまふことに起因していると考えられる。すなわち疎水鎖長は  $T_c$  を変化させることにより、ヘリックス形成に間接的影響をおよぼしているのであって、ヘリックス形成を支配する因子ではないことがわかる。

なお熟成温度に関しては第3章で再び議論する。

## 2-3 不斉とヘリックス形成

### 2-3-1 実験

#### 【用いた化合物】

現在までにヘリックス形成が報告されている膜化合物はすべて不斉な分子である(図2)。そこで本項では不斉でない(アキラル)膜化合物も含めてより詳細な検討を行った。用いた化合物は次のページに示した  $\underline{2} \sim \underline{7}$  である。これらの膜化合物は疎水鎖と発色団を結合する部分でのみ構造が異なっており、疎水鎖長、スペーサー長、親水基などの構造はすべて同じである。2-2より、 $\underline{2}$  はすでにヘリックス形成能があることを報告済みの膜化合物で不斉分子である。<sup>12)</sup>  $\underline{3}$  はグリシン残基を有しており不斉分子でない。 $\underline{4}$  は  $\underline{3}$  と比較してエステル結合を、 $\underline{5}$  はアミド結合を欠いている。 $\underline{6}$  は最も単純な一鎖型膜化合物である。 $\underline{7}$



いない。そこで2~6については、加熱分散した0.5mMの水溶液を70°Cで3日間熟成し、この後温度を40°Cにしてさらに13日間熟成を続け、これらの期間の経時的な形態変化の様子を観察することにした。7 (n=13~16)については20<sup>±0.5</sup>°Cで熟成しながら形態の経時変化を観察した。この熟成では、Tcを測定していない膜化合物の水溶液がTcより高い温度で熟成されている危険性がある。そこで、現在未測定のTcについては測定を行っている。

### 2-3-2 キラルおよびアキラル膜化合物によるヘリックス形成

まず一鎖型アゾベンゼン二分子膜(2, 3, 4, 5, 6)についてヘリックス形成の有無を調べ、不斉構造の有無や含まれる官能基の影響について考察した。アラニン型の膜化合物(2)がヘリックス超構造体を形成することはすでに報告した通りである。<sup>12)</sup>顕微鏡観察の結果、グリシン型(3)、アミド型(4)の各化合物からもヘリックス超構造体が観察された。図28にはグリシン型の膜化合物(3)から形成されたヘリックスを示した。図28からわかるように3から形成されるヘリックスの長さは20~30 μmで、きわめて小さなものである。従って巻き方を決定することはできなかった。アミド型の膜化合物(4)から形成されるヘリックスはグリシン型の膜化合物から形成されるヘリックスよりもさらに小さく肉眼でやっと確認できる程度であった。一方、エステル型の(5)は長方形の板状微結晶を多く生じ、針状の会合体は全く見られなかった。また、4と同じアミド型の膜化合物(7)は5と同様の板状会合体を形成し、ヘリックス超構造体を作らなかった。しかし、アキラルな膜化合物である3や4からヘリックス超構造体が形成されたことから、不斉はヘリックス形成の支配的因子にならないことが明らかになった。この結果はこれまでの認識を否定する新しい結果である。また、ヘリックス形成は水素結合の影響を受けることも明らかとなった。おそらく不斉は水素結合に同一の方向性を与えることのみに関与



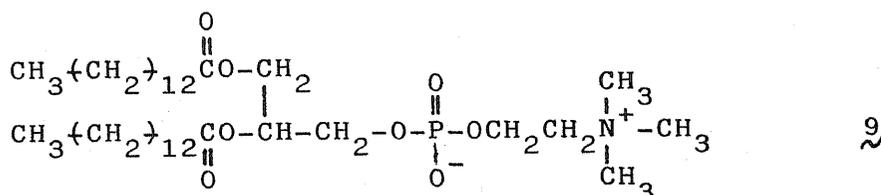
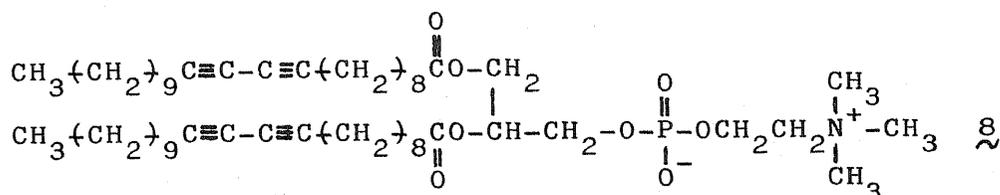
図 28 二分子膜; 3 から形成されたヘリックス超構造体  
加熱分散後 50°C で 6 日間熟成

— 10  $\mu$ m

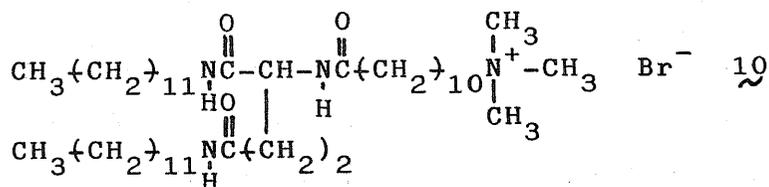
している。アキラル分子では水素結合の方向性が一定にきまらないので巻き方の異なるヘリックスが同時に存在する他、成長もきわめて遅いことが予想できる。

### 2-3-3 ヘリックス形成に対する水素結合とpHの影響

2-3-2の結果は、ヘリックス形成に対する水素結合の重要性を意味するものであった。しかしながら水素結合がヘリックスを形成するための必要十分条件でないことは、水素結合のためのドナーを持たない次の膜化合物(8, 9)からもヘリックス形成が報告されていることから明らかである。



一方、1つの分子中に3個のアミド結合を有する10の膜化合物の形態を観察した結果、図29に示したような良く発達したヘリックス超構造体を形成することがわかった。



興味深いことに、 $1_0$ から形成されるヘリックス超構造体は、 $1_0$ と構造がきわめて良く似ている $1$  ( $n=12$ )が形成する典型的ヘリックスと比較して、ねじれの周期がヘリックスによって異なっている。この理由は不明であるが、水素結合基が1つの分子中に複数含まれていても巨大なヘリックスの形成の妨げになることはない。むしろ、ヘリックス形成を促進する構造要素であると考えられる。この点は、ヘリックス形成に及ぼすpHの影響を調べた結果からも支持される。pHを変えながら、 $1$  ( $n=12$ )と $1_0$ のヘリックス形成を調べた結果、 $1$  ( $n=12$ )はpH 8.4では25°Cで2週間熟成してもヘリックスを形成しなかったが、 $1_0$ はpH 5.0, 7.0, 8.9いずれの緩衝溶液中でも図29と全く同様のヘリックス超構造体を形成した。この結果は、水素結合基の存在がヘリックス形成を促進することを示唆している。水素結合は、よく知られているように分子会合を促進する強い相互作用であるから、二分子膜化合物の会合数を増加させることに大きく寄与する。<sup>28)</sup>これは分子会合数が従来の会合体よりもさらに多いと考えられるヘリックス超構造体の形成に有利である。一方、水素結合は方向性をも有する。このため水素結合の方向が分子配向にねじれを生じればヘリックス超構造体を形成すると考えられるが、分子配向のねじれが他の構造要素によって与えられているものならば、このねじれ方向に沿って安定な水素結合が形成されるときのみ、ヘリックス超構造体となる。これらの場合、前者は水素結合がヘリックス形成の支配因子であることを意味し、後者は水素結合が会合数の増加にのみ寄与する因子であることを意味する。いずれが正しいかはわからないが、複数の水素結合が規則的な分子配列を攪乱することはない。先にも述べたように、水素結合は分子の集合度を増す働きを有するので、ヘリックスであるか否かにかかわらず、水素結合が会合体をより大きくすることに寄与することは疑いない。もしねじれる要因が他の構造部位にあるにせよ、水素結合がなければ巨大になりにくいので、ヘリックス超構造体であることを判定しづら

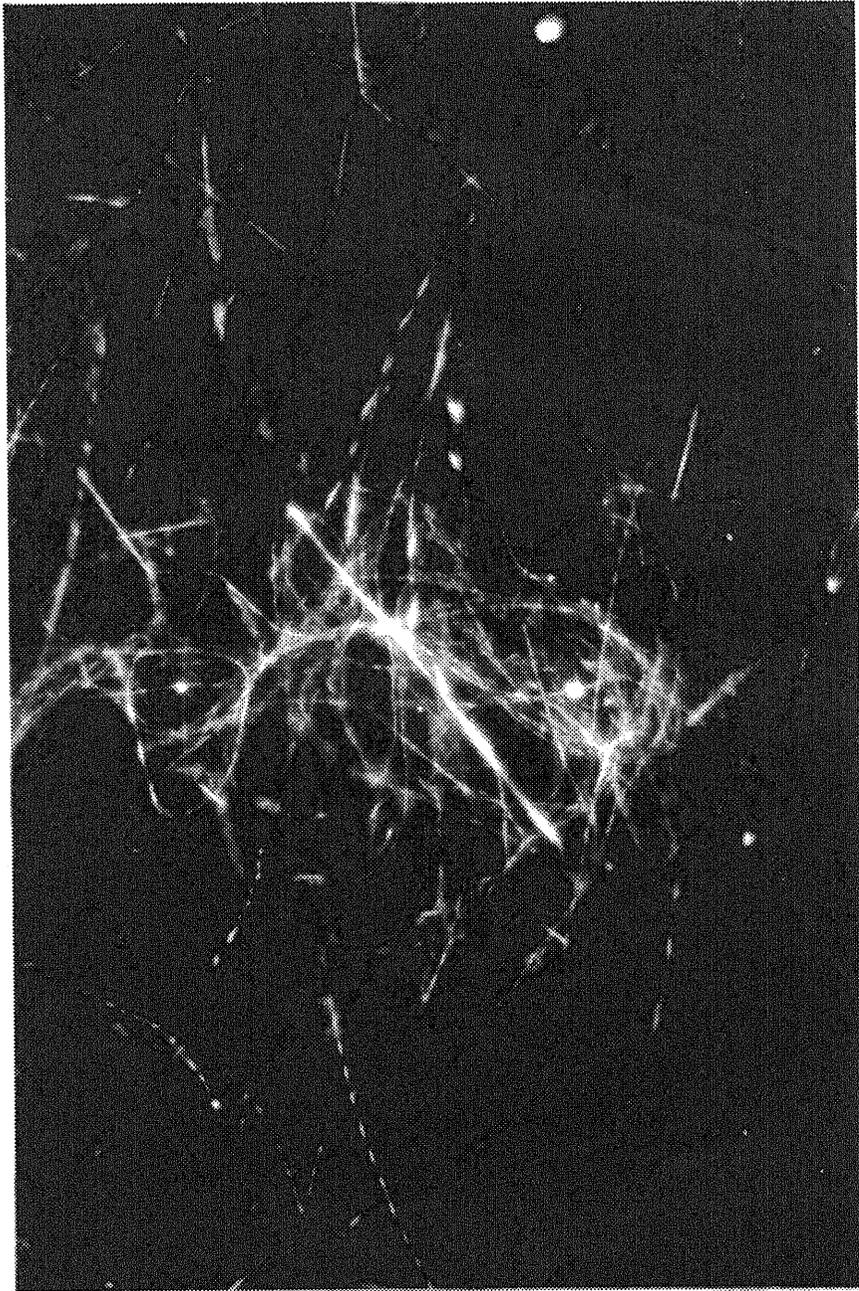


図 2 9 二分子膜; 1.0 から形成されたヘリックス超構造体  
加熱分散後40°Cで24時間熟成, pH=8.9, 濃度; 1.0mM

—| 10 μ m

くなると考えられる。

## 2-4 まとめと考察

これまでの結果から、二分子膜によるヘリックス超構造体の形成は、内的因子である構成分子の化学構造と、熟成温度・時間などの外的因子の両方に依存していることがわかった。そこでこれらの因子についてさらに詳細な考察を行い、ヘリックス形成との関連をまとめた。

### 【内的因子】

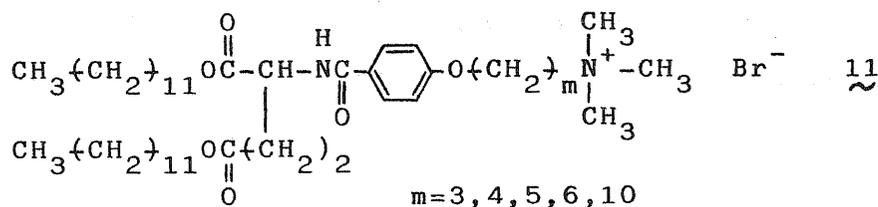
冒頭でも述べたように膜形成化合物の構造要素は次の5つである。

- ①疎水鎖構造（鎖長、本数など）
- ②コネクター構造（不斉の有無、側鎖官能基の種類など）
- ③スペーサー構造（鎖長、発色団等の種類や有無）
- ④親水基構造（電荷、対イオンの種類など）
- ⑤その他（水素結合基などの原子団）

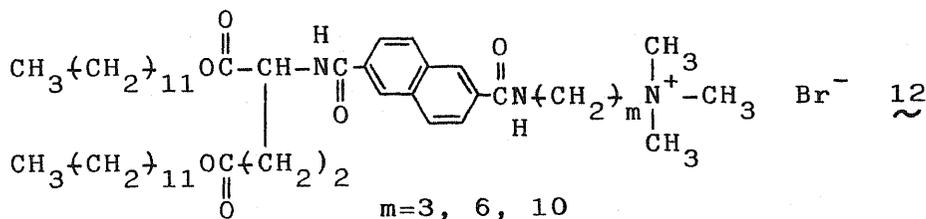
ヘリックス形成に対してこれらの構造要素がどのように影響するかを次の2つの膜化合物を基準に考えてきた。これらの膜化合物について、親水基のトリメチルアンモニウム基をリン酸基やコリン基などの他の原子団で置換してもヘリックス形成能が失われないことは図2より明らかである。すなわち、ヘリックス超構造体は膜化合物がカチオン性である時のみならず、アニオン性、ノニオン性、および双性の時にも形成される。すなわち、親水基構造はヘリックス形成を支配する構造要素ではない。

疎水鎖も本数に関するかぎりヘリックス形成とは無関係であるが、鎖長に関しては長くなるほどヘリックス超構造体が形成されにくくなることが本研究の結果から明らかになった。疎水鎖長は $T_c$ を変化させる最も重要な因子であるから、熟成温度などの外的因子との関係も深い。この意味で、疎水鎖はヘリックス形成にとって重要な構造要素の一つである。

スペーサーに関しては次の化合物(1.1)が鎖長とは無関係にヘリックスを形成するという事実があり<sup>17)</sup>(図2)、また2についてもスペー



サーメチレン数を10個から6個に変えてもヘリックス形成能は失われない。さらに膜化合物(8<sup>3,5,8,10,11</sup>、9<sup>9)</sup>)は、ヘリックスを形成することが報告されているが(図2)、いわゆるスペーサー部を持っていない。スペーサー部にメチレン鎖以外の原子団を導入してもヘリックスは形成される。たとえば先の1.1はその例であり、1.1のフェニレン基をアゾベンゼン基で置換したものもヘリックスを形成する(図2)。この点に関する例外はナフタレンを含む次の化合物(1.2)である。この化合物はヘリックスを形成しなかった。



一鎖型膜化合物の場合は発色団が二分子膜形成にとって不可欠の構造要素であるから、発色団を含まない膜化合物についてヘリックス形成を議論することはできない。しかし、発色団の種類について考察することは可能であり、例えば2のアゾベンゼン基をビフェニル基に変えてもヘリックスは形成される。<sup>6)</sup>以上の事実から、スペーサー構造はヘリックス形成とは無関係である。

コネクタ構造の影響は最も解釈がむずかしい。二鎖型の膜化合物では多くの場合、コネクタ分子によって不斉が導入される。一鎖型

膜化合物にはコネクターという部分はないがここでは疎水鎖とそれ以外の部分をつなぐ原子団をこう呼ぶことにする。二鎖型の膜化合物で考えればヘリックスを形成する分子のコネクターとしては、本研究で用いた化合物に含まれるグルタミン酸残基の他、アスパラギン酸残基、リジン残基、グリセリンをコネクターとする分子からもヘリックス形成が報告されている(図2)。これらはいずれもキラル化合物である。これに対し、アキラルなジエタノールアミンをコネクターとする分子(7)からはヘリックス形成が見られなかった。一方、一鎖型の膜化合物で考えれば、疎水鎖とアゾベンゼン基をつなぐコネクター分子には、本研究で用いたアラニン残基の他、バリン残基やイソロイシン残基を用いてもヘリックスは形成される<sup>16)</sup>(アミノ酸側鎖の原子団がこれらのアミノ酸よりも立体的にかさ高くなるとTcが低くなってTcよりも低い温度での熟成が困難になる。例えば、 $\underline{2}$  (n=12)のアラニン残基をロイシン残基にした化合物からなる二分子膜のTcは9.5°Cであり、<sup>16)</sup>フェニルアラニン残基にしたものではそれよりもさらに低い)。さらに本研究の結果より、アキラルなグリシン残基(3)やアミド結合(4)そのものをコネクターとした場合でもヘリックスは形成されることがわかった。このような反例を見いだしたことにより、ヘリックスは必ずしも不斉化合物のみから形成されるものではないことがわかった。しかしながらアキラル分子から形成されるヘリックスは短く、また数も少ない。アミド結合のみを有する膜化合物(4)からヘリックスが形成されたことにより、水素結合がヘリックス形成のための支配的因子のようにも思えるが、先に述べたリン脂質8と9は水素結合を持たないにもかかわらずヘリックス超構造体を形成する。これらの二分子膜ではコリン基間に強い静電相互作用が働いている。静電相互作用は分子の会合数の増加に大きく寄与すると考えられるから、水素結合と同じ働きをしていると考えられる。

構造因子として考慮していない部分はないので、ヘリックス形成を

支配する因子が全く別の部分にあるとは考えられない。以上をまとめれば、ヘリックス超構造体の形成は構成分子中の特定の構造要素に依存したものではないことがわかる。そこでヘリックス形成については以下のように考えられる。

- (1) 非常に多くの二分子膜化合物がヘリックスを形成することから、二分子膜によるヘリックス超構造体の形成はかなり一般性の高い現象である。
- (2) ヘリックスの中では、隣接する分子が分子長軸間にある角度を持って配向していなければならない(図30)。このような分子配

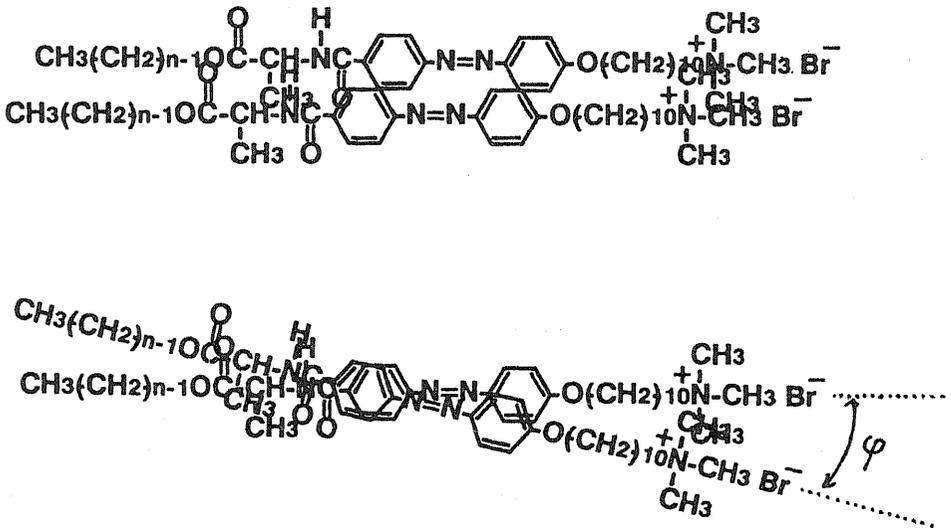


図30 ヘリックス超構造体中の分子配向

向が分子中の特定の構造部分に依存したものではないことは本研究で明らかにした通りであり、おそらく分子全体の形によって決まるものである。

- (2) ヘリックス超構造を観察し得るか否かは隣接する分子間の捻れた配向が非常に多くの分子の間で維持されているか(long range)、数分子程度のものか(short range)、にも依存している。この点については、次章でも再度議論するがヘリックスは

非常に長いものであるから分子を相互につなぎとめる強い相互作用が必要である。この相互作用として最も有効なものは水素結合であると考えられるが、双性イオン型の親水基を有する分子では静電相互作用であっても良い。

- (3) 1個のヘリックスは一定の巻き方でらせんを形成していることが知られている。従って分子長軸のねじれを一方向に固定する要素が存在する場合の方が、ヘリックスを作りやすいと考えられる。この要素は分子の不斉(キラリティー)である。
- (4) かさ高い原子団があつて水素結合などの分子間相互作用を妨害するような場合ヘリックスは形成されない。

これらは本研究と、それ以前に報告されたヘリックス形成を完全に説明し得るものである。

#### 【外的因子】

本研究では外的因子として熟成温度とpHについて検討した。その結果、ヘリックス超構造体を形成するためには一定温度で熟成するよりも、アニーリングを行った方が効果的であることがわかった。もちろん、熟成温度は $T_c$ よりも低くなければならないが、アニーリングの温度はできるだけ $T_c$ に近い方がよい。また、DSCサーモグラムに前転移が観察される場合には、この転移温度以下でアニーリングするのが有効である。pHについては、一部の膜化合物で影響を検討したが、ヘリックス超構造体はpHによっては形成されなくなることがわかった。この点については、イオン強度などの影響も含めてさらに検討する必要がある。

### 第3章 ヘリックス超構造体中の分子配列様式

#### 3-1 序

二分子膜が有する様々な特性は、構成分子の化学構造が変われば変化する。従ってヘリックス超構造体の特性も構成分子の化学構造の変化に伴って多様に変化することが充分予想できる。さらにヘリックス超構造体への形態変化に伴ってベシクルや紐状会合体など元の会合体の特性が変化する可能性もある。

そこで本章ではヘリックス形成能を有する一連の膜化合物について可視・紫外スペクトル法とFT-IRスペクトル法から分子配列やパッキング状態を検討し、ヘリックスを形成しない膜化合物との比較を行った。またヘリックス超構造体の成長に伴うスペクトル特性の変化などについても検討した。

#### 3-2 ヘリックス超構造体の可視・紫外スペクトル挙動

著者はすでにヘリックスを形成する一鎖型アゾベンゼン化合物  $\underline{2}$  ( $n=12$ ) のスペクトル挙動について報告した。<sup>12, 20</sup> この化合物は水分散後初期(1時間後)には細い紐状会合体を形成し、室温下24時間熟成後にはヘリックスを形成する化合物である。この化合物から形成される二分子膜の可視・紫外スペクトルは、加熱分散した水溶液試料を室温で1時間熟成した時点では  $\lambda_{\max}; 320\text{nm}$  に吸収極大を有するが、さらに熟成を行うと  $\lambda_{\max}; 345\text{nm}$  に長波長シフトする。すなわち、ヘリックス超構造体の形成とスペクトル変化は対応しており、 $\underline{2}$  ( $n=12$ ) の発色団配向はヘリックス形成の前後で全く異なっていることが示唆される。このような形態変化に伴うスペクトル変化が一般的現象であれば、それはヘリックス超構造体が有する新たな特性の一つとなり、ヘリックス形成を分光学的に検出する手段にもなりうる。

### 3-2-1 実験

#### 【用いた化合物とスペクトルの測定】

第2章でも用いた  $\underline{2}$  ( $n=6\sim 13$ ) について0.1mMの加熱分散水溶液を調製し、日立U-3210可視・紫外分光光度計を用いて経時的なスペクトル変化を記録した。なお試料の熟成条件、測定温度などは結果の中に記載した。

### 3-2-2 結果

スペクトル測定の結果、ヘリックス形成に伴うスペクトルの長波長シフトが観察できたのは  $n$  が偶数の時のみであった。図31のaとbはそれぞれ  $n$  が偶数( $n=10$ )の時と奇数( $n=11$ )の時の代表的なスペクトル変化である。また表2には、 $\underline{1}$  ( $n=6\sim 13$ )の各二分子膜について熟成によるスペクトル変化が完了した時点での  $\lambda_{\max}$  をまとめてある。表2によれば  $n$  が偶数の時  $\lambda_{\max}$  は345nm付近にあるが、 $n$  が奇数の時は320nm付近にある。従って  $n$  に対して  $\lambda_{\max}$  をプロットすると図32に示したようにジグザグ型になる。 $n$  が奇数の時はどんなに長く熟成を行ってもスペクトル変化は見られなかった(最大25日間)。

アキラルなアゾベンゼン両親媒性化合物  $\underline{6}$  の同族体を用いた研究によれば  $\lambda_{\max}$ ; 320nmはアゾベンゼン発色団のHead-to-Head会合(H-会合)を意味するものであり、発色団がHead-to-Tail会合に移行する過程あるいは発色団間の距離が離れて相互作用の程度が減っていく過程で長波長シフトすることが明らかにされている。<sup>23)</sup> この点から先の偶奇鎖長効果は、ヘリックス超構造体中での発色団の配向は疎水鎖中の炭素数の偶奇によって完全に異なっていることを示している。つまりヘリックス中の分子配向は画一的ではないことになる。図32には2-2-2で述べた  $T_c$  の値も同時にプロットした。 $T_c$  も  $n$  の変化に伴ってジグザグ型に変化しているが、 $n$  が偶数の時の  $T_c$  は  $n$  が奇数の時の  $T_c$  から見積られる値よりも高くなっている。従ってアルキル鎖のパッキングは  $n$  が

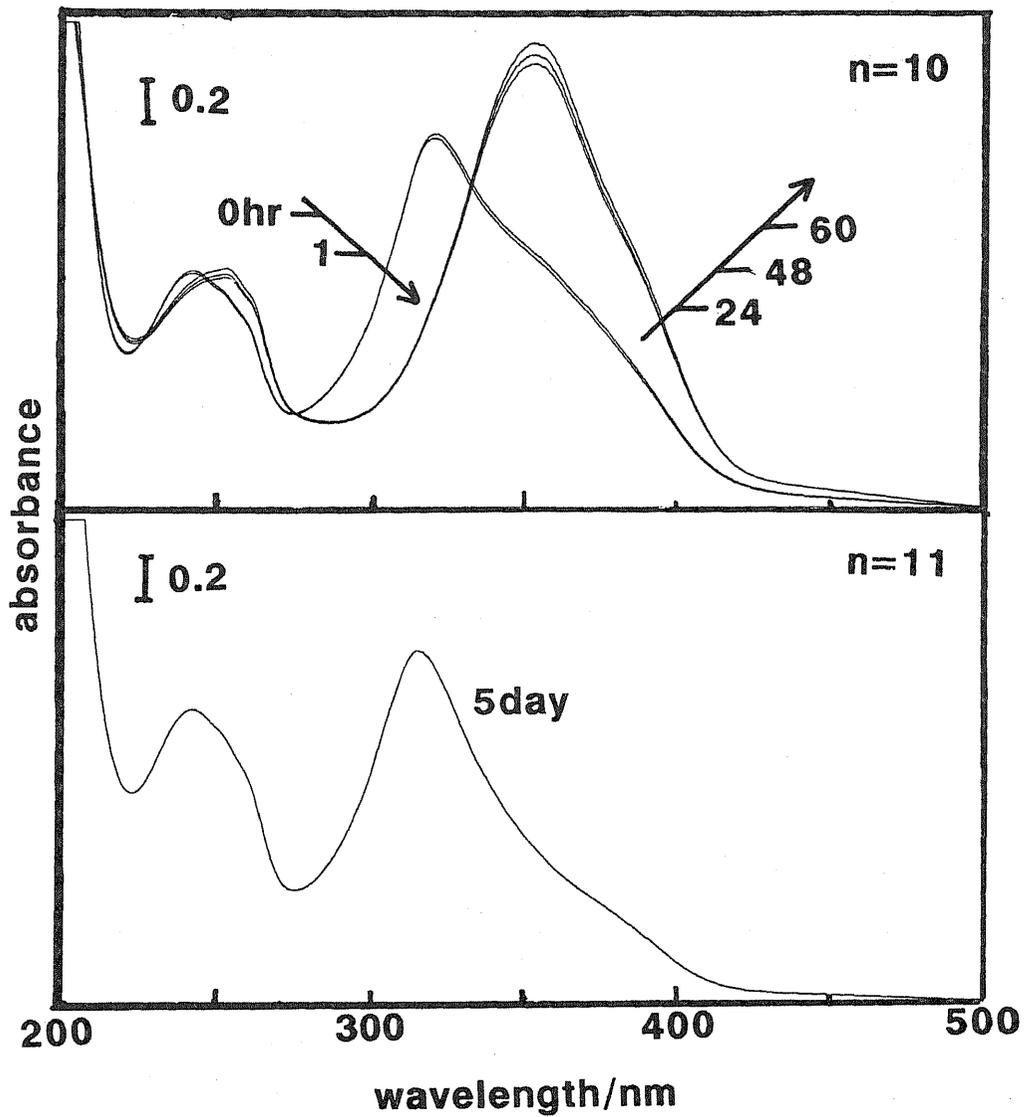


図 3 1 二分子膜; 2 (n=10, 11) における可視・紫外スペクトルの経時変化. 濃度; 0.1mM, 熟成条件は表2に示した.

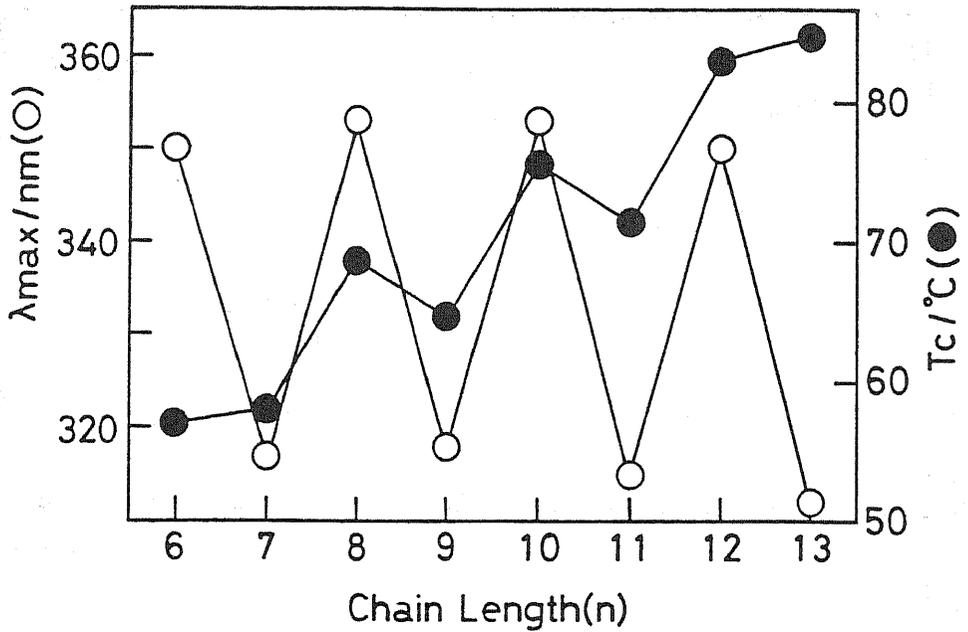


図 3.2 二分子膜;  $\bar{2}$  (n=6~13)の  $\lambda_{\max}$ および  $T_c$ と疎水鎖長 n の関係

表 2 二分子膜;  $\bar{2}$  (n=6~13)の熟成に伴うスペクトル変化

n	$\lambda_{\max}/\text{nm}$ ; 熟成・測定条件
6	350 ; 室温で24h熟成
7	317 ; 25°Cで20h熟成後、室温で72h熟成
8	353 ; 30°Cで1d熟成後、室温で9d熟成
9	318 ; 55°Cで6h、30°C114h熟成後、室温で25d熟成
10	353 ; 25°Cで25d熟成
11	315 ; 30°Cで5d熟成
12	350 ; 室温で24h熟成
13	312 ; 室温で7d熟成後、60°Cで1d熟成

偶数の時の方が奇数の時よりも強いと考えられる。

### 3-3 ヘリックス超構造体のFT-IRスペクトル

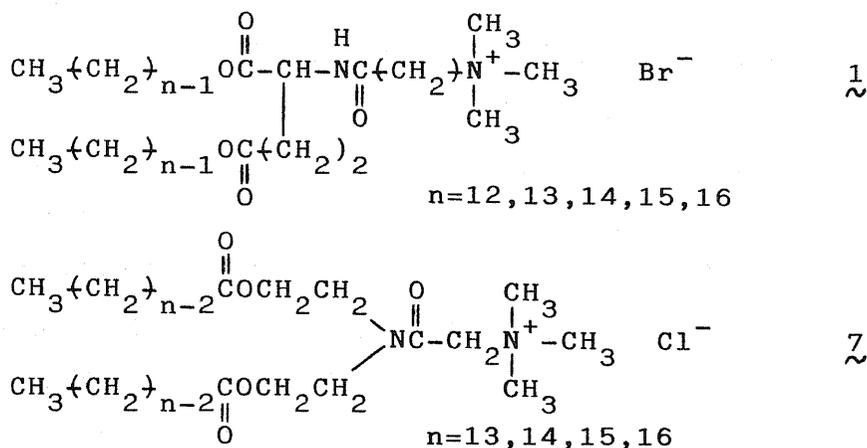
可視・紫外スペクトル法は発色団に関する情報しか与えず、発色団以外の構造部分の配列様式や発色団を含まない膜化合物に対しては無力である。そこで本項ではFT-IRスペクトル法を用いてヘリックス超構造体を調べた。FT-IRを用いたことの第一の理由は水中の試料について測定できることである。ヘリックス超構造体は水中で形成されるので、水分散試料で測定する必要がある。FT-IRはスペクトルを数値化して記録できるので、スペクトル間の演算が可能である。そこで試料自身のスペクトルは水のスペクトルを引算することで得られる。とは言っても吸光度の大きな領域では、吸光度の精度が劣化しているので引算の結果も精度が悪くデータは使いものにならない。C-H伸縮振動やC=O伸縮振動は水のO-H伸縮振動や変角振動の領域にあるので、精度の良いデータを得るためには、水のOH伸縮振動と変角振動の強度を極力小さくすることが必要である。このためには、濃度の高い試料溶液を用い光路長を短くしなければならない。FT-IRを用いた第二の理由は、赤外スペクトルが分子のパッキングに関する情報を与える点にある。パッキングと赤外スペクトルの関係は、X線回折の結果をもとにn-アルカンの結晶で詳細に調べられている。<sup>29, 30)</sup> この研究を利用することによって二分子膜系でも疎水鎖のパッキングに関して新しい情報が得られると考えられる。第三の理由は、赤外スペクトルが二分子膜の相転移に伴って変化する点にある。リン脂質二分子膜では相転移とスペクトル変化の関係が詳しく研究されている。<sup>31)</sup> また、著者らはすでに合成二分子膜系にもFT-IR法が適用できることを報告している。<sup>32)</sup> そこで、FT-IRスペクトルはヘリックス超構造体の相状態を解析する上でも役に立つと考えられた。以上のFT-IR法の利点を踏まえ、具体的には次の2つについて検討した。

- ①ヘリックス形成に伴う二分子膜の相状態の変化
- ②ヘリックス中における分子のパッキング構造

### 3-3-1 実験

#### 【用いた化合物】

ヘリックス形成能を有する膜化合物としては 1 (n=12~16) を用いた。またヘリックスを形成しない膜化合物としては 7 (n=6~13) を用いた。アゾベンゼン型膜化合物の 2 は高い濃度では沈澱を生じやすいことから用いなかった。



#### 【FT-IRスペクトルの測定法】

濃度50mMの水溶液あるいは重水溶液を用い、図33に示した方法でセルに組み込んだ。光路長は6μmである。分光計にはNicolet 740型フーリエ変換赤外分光光度計を用い、分解能4cm<sup>-1</sup>、積算回数200回で測定した。また試料温度の制御は循環式温度制御セルホルダー(Harrick Scientific Corporation; TFC-M19)に恒温水を循環し、銅-コンスタンタン熱電対(K型熱電対)を用いてCHINO DB型デジタル指示調節計で計測しながら行った。得られたスペクトルのS/N比は目算で1000以上あり、この条件での波数精度は少なくとも0.05cm<sup>-1</sup>以上ある。<sup>33)</sup> また水のか

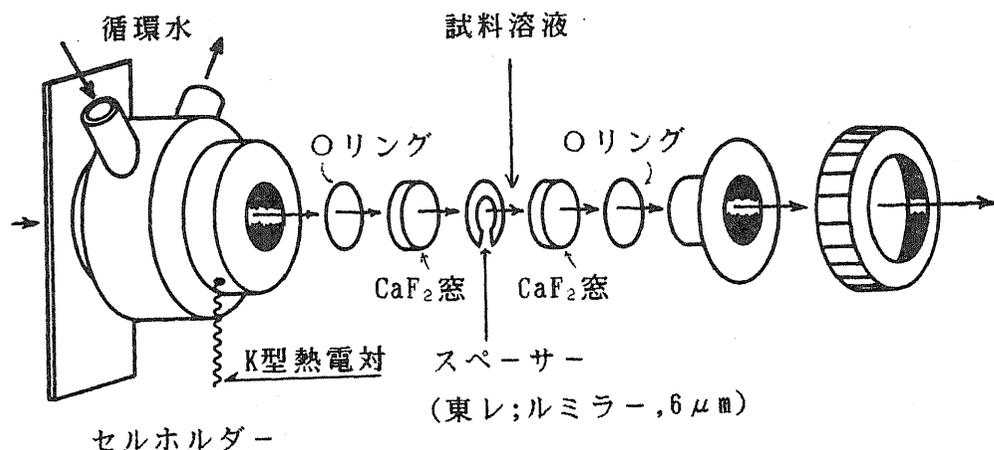


図 3 3 FT-IR測定用セルの組立

わりに重水を用いることにより、OD伸縮振動は $2000\sim 2800\text{cm}^{-1}$ の波数領域に移行するから、 $2800\sim 3100\text{cm}^{-1}$ にあるC-H伸縮振動について正確な情報を得ることができる。実験は水分散試料と重水分散試料との両方について測定を行ったが、両方のデータは一致したので、ここでは重水分散試料の結果を中心に述べた。

ヘリックス超構造体の成長に伴うスペクトル変化を調べるため、試料は同時に調整し、 $\sim 1$ は超音波分散、 $\sim 7$ は加熱分散した後、 $\sim 1$ は室温で、 $\sim 7$ は恒温槽を用いて $20^\circ\text{C}$ で熟成した。スペクトルは一定時間ごとに $20\pm 0.2^\circ\text{C}$ で測定した。また、希釈した試料溶液中の形態も適宜行った。

### 3-3-2 $\sim 1$ ( $n=12\sim 16$ )のFT-IRスペクトル

図34は演算後(重水のスペクトルを引いた後)のFT-IRスペクトルで、例として $\sim 1$  ( $n=12$ )における経時変化を示したものである。熟成は室温で行い、スペクトル変化は2日後、9日後、および51日後にそれぞれ測定した。ただし測定時のみ温度を $20^\circ\text{C}$ に制御して行った。これと全く

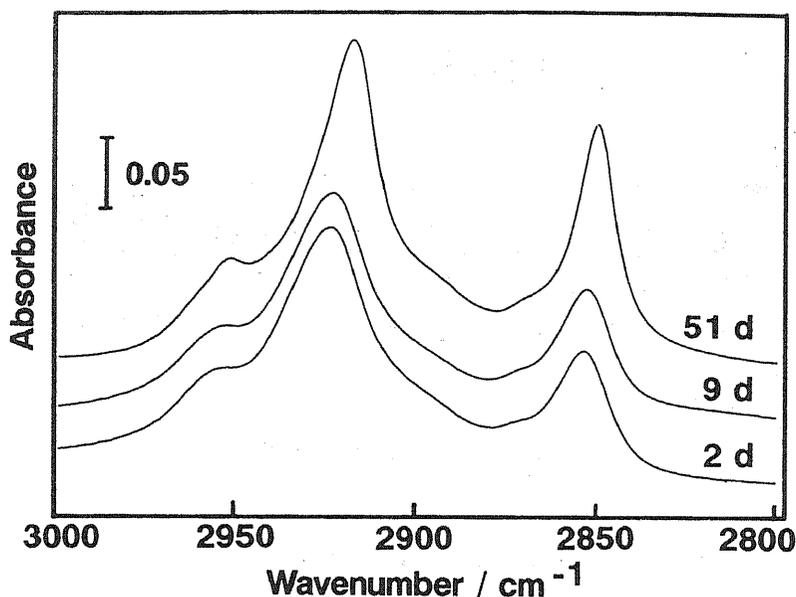


図34 二分子膜;  $\underline{1}$  ( $n=12$ )の2800~3000 $\text{cm}^{-1}$ 領域の赤外スペクトル  
50mM重水溶液のスペクトルから重水の吸収を差し引いたスペクトル。測定温度; 20°C

同じ条件で  $\underline{1}$  ( $n=13\sim 16$ )のスペクトルも測定した。その結果、 $\underline{1}$  ( $n=12$ )と  $\underline{1}$  ( $n=13$ )では、熟成に伴い、各ピークの最大吸収波数がシフトした。これに対し  $\underline{1}$  ( $n=14, 15$ および  $16$ )ではこのような経時変化は観察されなかった。これらの結果を逆対称 $\text{CH}_2$ 伸縮振動( $\nu_{\text{as}}\text{CH}_2$ )およびAmide I吸収帯( $\nu_{\text{C=O}}$ ; Amide)について示したものが、それぞれ図35と図36である。測定とほぼ同時に行った形態観察の結果によれば、 $\underline{1}$  ( $n=12$ )と  $\underline{1}$  ( $n=13$ )では、スペクトルが変化している期間の形態はベシクルである。これらのベシクルは柔軟性に富んでいて観察中、動的に形が変化するものであったことから液晶相状態にあったことがわかる(会合体が液晶相状態にあるか結晶相状態にあるかを見分けるのはきわめて簡単である。液晶相では内水相を持った柔軟な会合体が見られるのに対し結晶相では内水相がない微結晶様の柔軟性に乏しい会合体が見られ

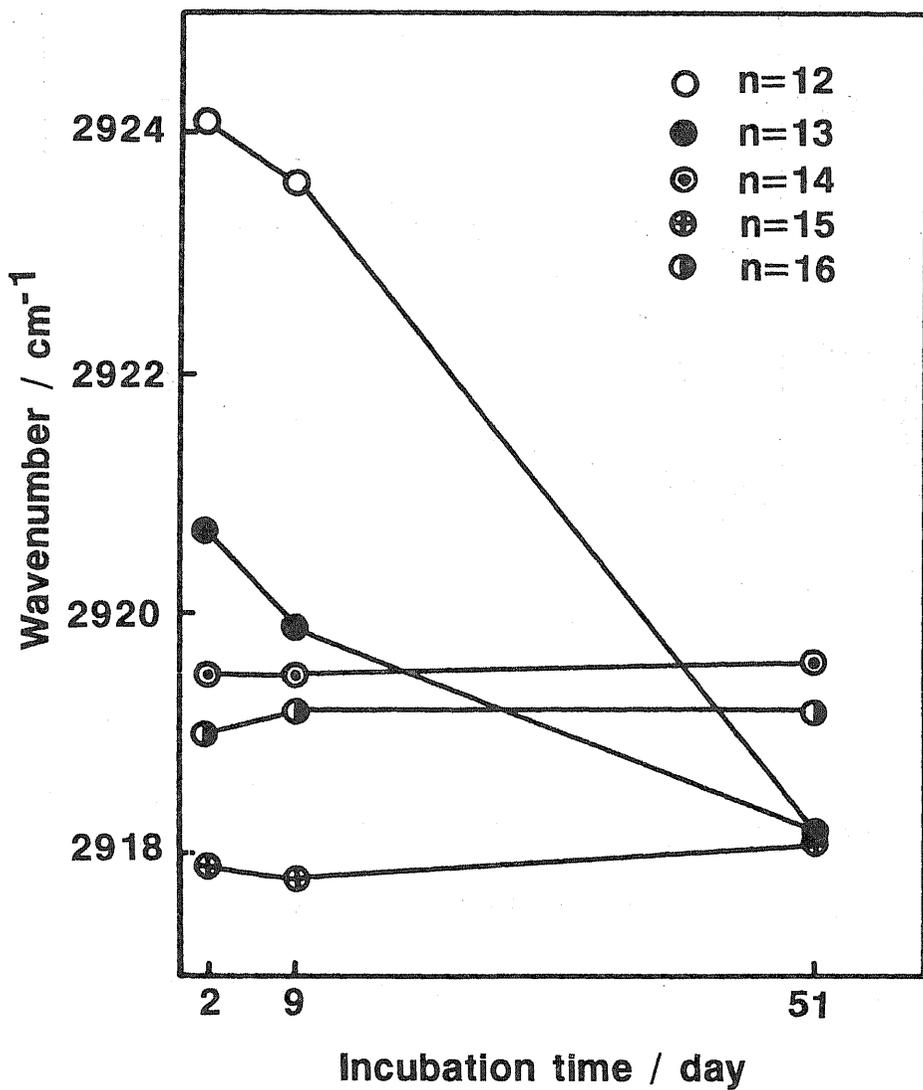


図 3 5 二分子膜(1)における逆対称CH<sub>2</sub>伸縮振動吸収帯の経時変化

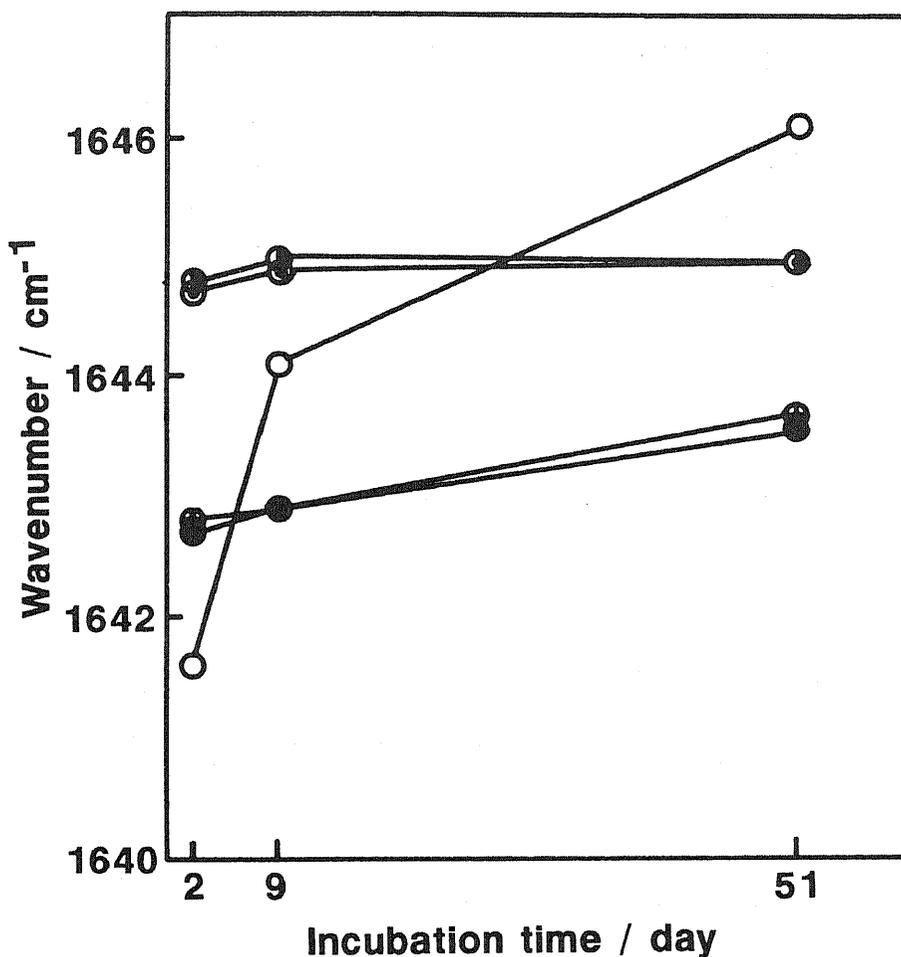


図 3 6 二分子膜( $\lambda$ )におけるAmide I吸収帯の経時変化

る)。 $\lambda$  ( $n=12,13$ )の二分子膜がそれぞれの $T_c$ よりも低い観察温度で液晶状態にあったことはきわめて重要なことである。本来ならば結晶相にあるべき温度で液晶状態をとっていることから、 $\lambda$  ( $n=12,13$ )は分散初期には過冷却液晶相状態にあったことがわかる。従って、その後形成されたヘリックス超構造体はこの過冷却液晶相から成長したものである。FT-IRスペクトルの変化もこのことをよく証明している。なぜならば、二分子膜では結晶相から液晶相への転移にともなって最大吸収

波数がシフトすることが知られており、<sup>32)</sup>特に逆対称CH<sub>2</sub>伸縮振動( $\nu_{as}CH_2$ )を例にとれば2920cm<sup>-1</sup>付近から2930cm<sup>-1</sup>付近に10cm<sup>-1</sup>もシフトする。1 (n=12)を室温で2日間熟成後20°Cで1hr熟成したスペクトルは $\nu_{as}CH_2$ が2924.1cm<sup>-1</sup>にあり、液晶相での吸収波数にきわめて近い。これが熟成に伴って2918.2cm<sup>-1</sup>までシフトした。すなわち熟成2日後は過冷却液晶相であり、51日後、結晶相になる。そして、この時点でヘリックス形成は完了している。 $\sim$ 1 (n=13)の二分子膜についても同様である。これらに対し $\sim$ 1 (n=14, 15, 16)は $\sim$ 1 (n=12, 13)のような過冷却液晶相を作らなかった。これらの二分子膜 $\sim$ 1 (n=14, 15, 16)は分散直後から結晶相状態にあった。このためスペクトルも経時変化は全く観察されなかった。すでに述べたようにこれらの化合物はヘリックスを形成するが、FT-IR測定と並行して行った顕微鏡観察においては、 $\sim$ 1 (n=14, 15, 16)から形成されたヘリックスはきわめて少数で $\sim$ 1 (n=12, 13)が多数のヘリックスを形成することとは対照的である。ヘリックスが多い少ないに関わらず、それ以上の形態変化が観察されなくなった時点(51日後)での最大吸収波数は、nが偶数か奇数かにのみ依存しており、巨大なヘリックスが見られるか否かには無関係であった(図37)。このことは、 $\sim$ 1 (n=14, 15, 16)の会合体も $\sim$ 1 (n=12, 13)が作る巨大ヘリックスと局所的に同じ分子配向様式を持っていると考えれば説明できる。つまり、ヘリックス超構造体は整った分子配列がlarge rangeである場合に観察され、short rangeである場合は観察できないということであって基本的な分子配列様式は、同じであることになる(2-4項参照)。そこで次に全くヘリックスを形成しない7を用いてFT-IRスペクトルを測定した。

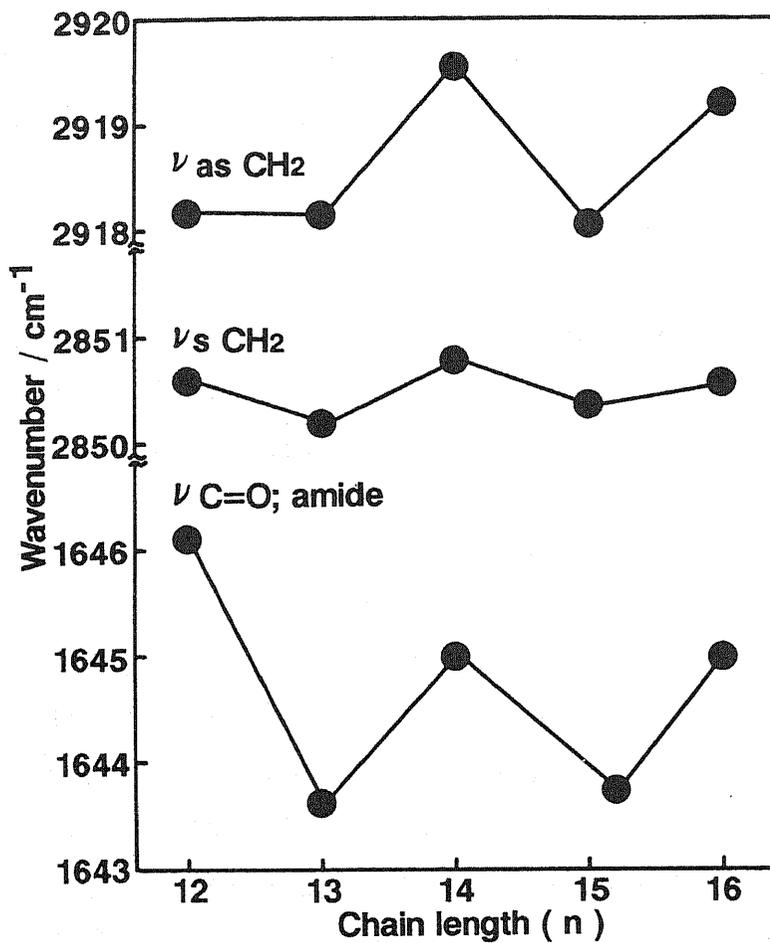


図 3 7 二分子膜 ;  $\underline{1}$  (n=12~16) の吸収波数と疎水鎖長 n の関係  
 室温で 51 日間熟成後 20°C で測定したスペクトルからのデータ

### 3-3-3 $\zeta$ ( $n=13\sim 16$ )のFT-IRスペクトル

ここで用いた $\zeta$ は熟成条件をコントロールしても全くヘリックス超構造体を作らない(2-2-2より)。これらの二分子膜は鎖長の短い $\zeta$  ( $n=13$ )でも $\underline{1}$  ( $n=12, 13$ )で観察されたような過冷却液晶相を作りにくい。 $\zeta$  ( $n=13\sim 16$ )から形成される二分子膜は、熟成13時間後にはすでに結晶相であり、細かいプレート状の会合体が多数観察される。この形態はさらに熟成しても変化しない。図38は室温で17時間熟成した試料を20°Cで測定したFT-IRスペクトルである。この図を元にいくつかの吸収帯について、 $n$ と最大吸収波数の関係をまとめたものが図39と図40である。図39と図40には先のキラル二分子膜( $\underline{1}$ )のデータも示したが、二分子膜( $\underline{1}$ )と( $\zeta$ )の波数はC-H伸縮振動についてはほとんど同じである。アミド結合が波数に大きな違いを生じるのは、 $\underline{1}$ が第二アミド結合を有するのに対し、 $\zeta$ は第三アミド結合を有することを考えれば当然であり、ヘリックス超構造体であるか否かによるものではない。一方、 $\underline{1}$ のCH<sub>2</sub>はさみ振動吸収帯には、重水の使用によって大きくシフトしたアミドII吸収帯が重なっていたので、この波数領域での議論ができなかったが、第三アミド結合を含む $\zeta$ はアミドII吸収帯を生じないのでCH<sub>2</sub>はさみ振動吸収帯についても詳細に検討することができる。図38によればCH<sub>2</sub>はさみ振動に帰属されるピークは $n$ が奇数の時は1466~1468cm<sup>-1</sup>に単一の吸収極大を持つが、 $n$ が偶数の時は1464~1465cm<sup>-1</sup>と1473cm<sup>-1</sup>付近とに2つの吸収極大を持つ。CH<sub>2</sub>はさみ振動における同様の偶奇鎖長効果は、 $n$ -パラフィンの結晶においては早くから報告され、X線回折の結果との対応から単一のピークを持つ場合、結晶の副格子は単斜晶形あるいは六方晶形であること、2本の吸収を有する場合は斜方晶形であるとされている。<sup>29, 30)</sup>この報告を参考にすれば、 $\zeta$ が作る二分子膜も $n$ -パラフィンの場合と同様に疎水鎖中の炭素数の偶奇によって分子のパッキング構造は異なっていることが示唆される。また、 $\underline{1}$ においても $\zeta$ においても $n$ の偶奇に伴う波数の変化はジグザグ型に

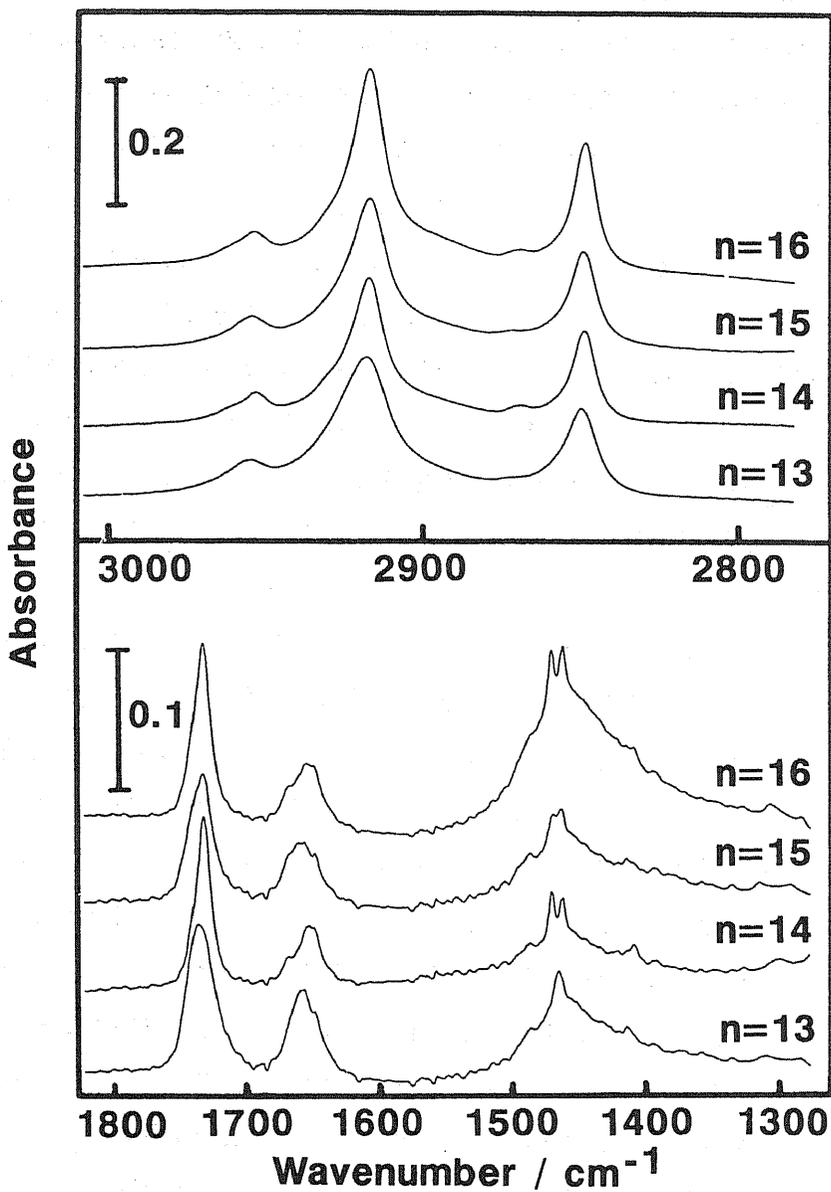


図 3 8 二分子膜;  $\zeta$  ( $n=13\sim 16$ )の赤外スペクトル  
 20°Cで17時間熟成後のスペクトル, 測定温度; 20°C.

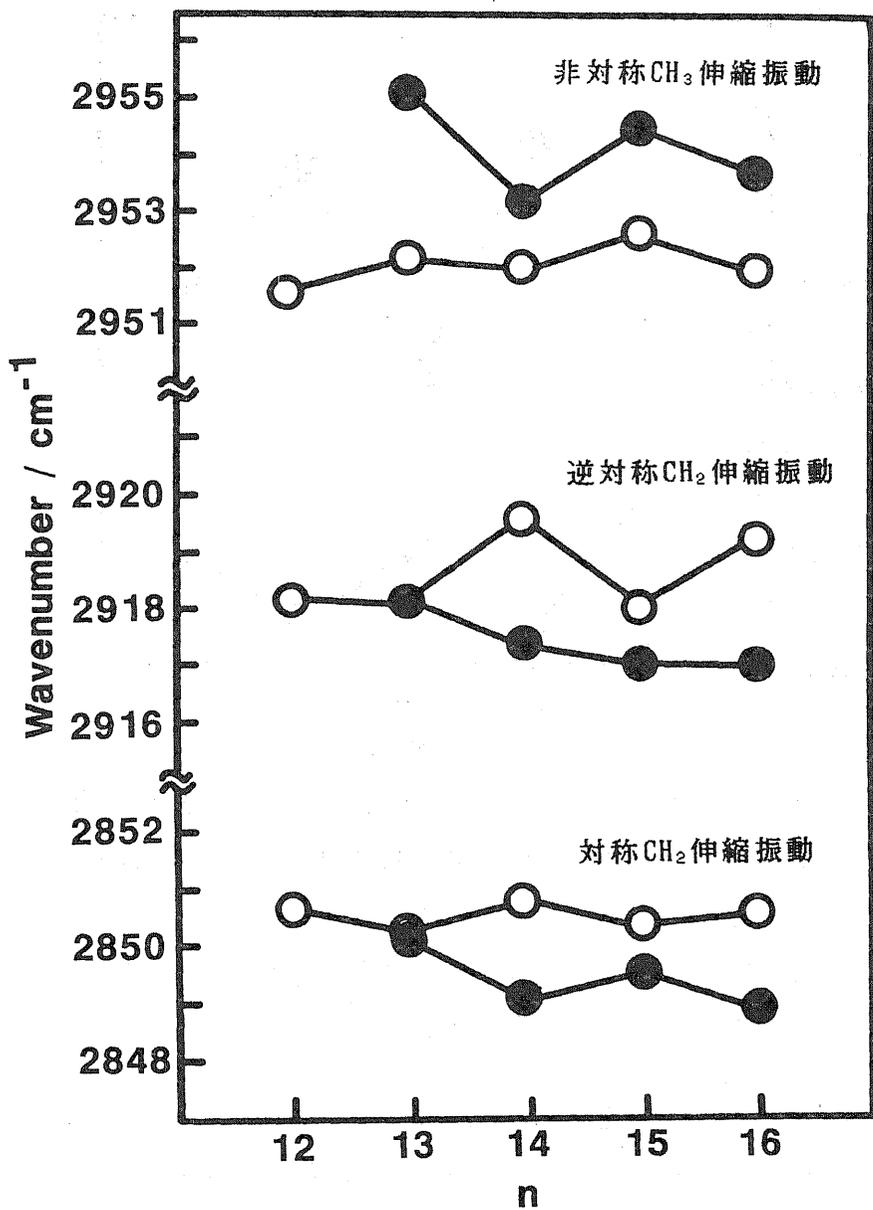


図 3 9 C-H伸縮振動領域の吸収波数と疎水鎖長 n の関係

○; 1 (n=12~16), 室温で51日間熟成後20°Cで測定したスペクトルからのデータ

●; 7 (n=13~16), 20°Cで17時間熟成後20°Cで測定したスペクトルからのデータ

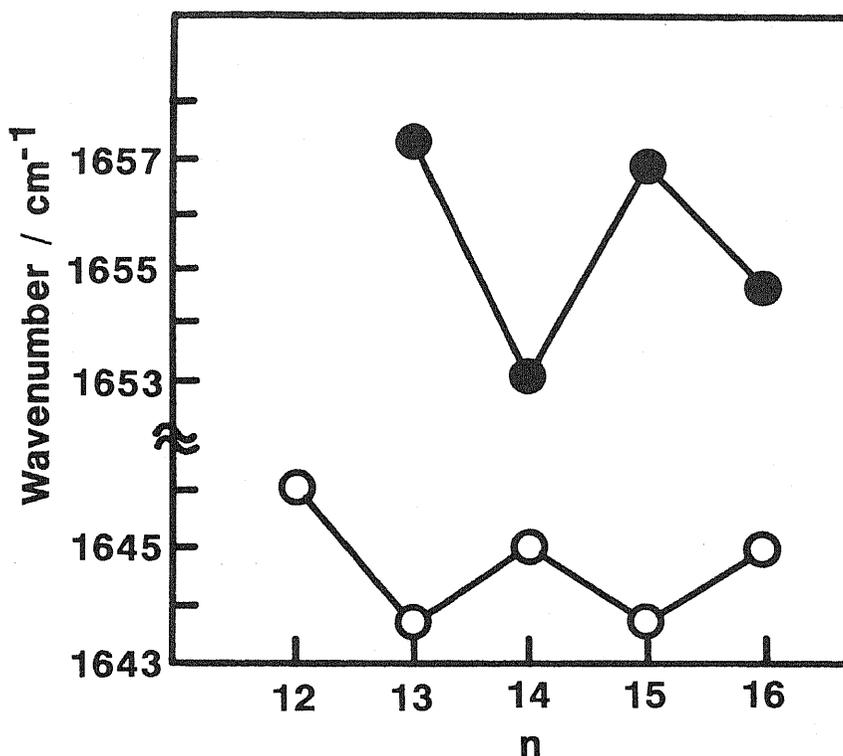


図 40 C=O伸縮振動(Amide I)の吸収波数と疎水鎖長  $n$  の関係

○;  $\sim$  ( $n=12\sim 16$ ), 室温で51日間熟成後20°Cで測定した  
 スペクトルからのデータ

●;  $\sim$  ( $n=13\sim 16$ ), 20°Cで17時間熟成後20°Cで測定した  
 スペクトルからのデータ

なっており(図39および図40)、共通した現象になっている。このことは2の可視・紫外スペクトルに対する偶奇鎖長効果(図32)とあわせて考えれば、二分子膜における偶奇効果が一般的な現象であることを示す重要な結果である。

### 3-4 まとめ

可視・紫外スペクトル法とFT-IRスペクトル法からヘリックス超構造体を調べた結果、ヘリックス中の分子配列状態やパッキング構造は構成分子の化学構造によって変わり、画一的ではないことがわかった。その好例は偶奇鎖長効果である。同じヘリックス超構造帯でも構成分子の疎水鎖長によってスペクトル挙動が異なるということは、同族の化合物であっても分子配列様式は同じでないことを意味する。またスペクトル挙動はヘリックスの大きさには無関係であることも明らかになった。これは断片的で周期構造すら見られない会合体であっても巨大なヘリックスと同じ分子配列を有している場合があることを意味している。たとえば言うなら食塩の大きな結晶と小さな結晶の間には物理化学性質の違いがないことと同じである。しかし食塩の大きな結晶には小さい結晶では不可能な応用が可能となる。おそらくヘリックス超構造体に関しても同様のことが言えよう。従って、ヘリックス超構造体の材料としての特性を捜す場合、広範囲(long range)にわたる分子集積に起因する性質に着目する必要がある。可視・紫外スペクトルは、たとえ隣接する2分子間だけの相互作用であってもそれによる変化を検出できるから、long rangeな相互作用を検出するには不向きであったことがわかる。これに対して、円偏光二色性スペクトルは、分子の集積度に応じて変化するので、ヘリックスの性質を検討するには都合がよい。もちろんある数以上分子が集まると集合に応じた性質の変化はなくなると考えられるが、その具体的数値については全くわからない。この点は今後の課題である。

#### 第4章 結論

本章では第2章と第3章から得られた結果を総轄的にまとめた。本研究から新たに明らかになったことは次の5つである。

- ① ヘリックス超構造体は、成分分子の構造要素が協同的に作用することによって形成される。言い替えれば、ヘリックスを形成を支配する特定の構造要素は存在しない。

これまでは、ヘリックス超構造体を形成する膜化合物がすべて不斉分子であったことから、不斉炭素を有することがヘリックス形成に不可欠であり、さらに不斉以外のなんらかの要素が補助的に作用していると認識されてきた。しかし、第2章で明らかにしたようにヘリックス超構造体は不斉でない膜化合物からも形成され、不斉はヘリックス形成にとっての必要条件ではないことがわかった。そのほかの構造要素、例えば親水基、疎水鎖、スペーサー、発色団、コネクターについても同じであった。これらの構造要素がどのように協同してヘリックスを形成するのかについては、ヘリックス形成が容易であるか否かを整理することによってある程度の情報を得ることができた。系統的な研究を行った結果によれば、ヘリックス超構造体は短い疎水鎖、水素結合基、そして不斉炭素を有する膜化合物から形成され易く、かさだかい原子団、長い疎水鎖を含んでいる膜化合物や不斉でない膜化合物からは形成されにくかった。おそらく、単純な化学構造を持った両親媒性化合物はすべて、図30のように隣接した分子が捻れて配向する性質を持っている。この性質は、完全な直線分子ではない膜化合物が互いに重なりあう面積を最大にしようとする時に生み出されると考えられる。この場合、不斉であるほうが分子は直線的な構造にならないので都合がよいと考えられる。かさだかい原子団はこの分子配向を乱す。また、直線構造を持つ疎水鎖が長い場合、分子配向は疎水鎖の並びに

支配され分子全体として捻れた配向をとりにくいと考えられる。水素結合や不斉については②のように考えられる。

② ヘリックス超構造体の形成は、成分分子間に水素結合や静電相互作用のような強い相互作用が有効に働くとき促進される

すでに明らかにされているように、ヘリックス超構造体は非常に大きな会合体であるから分子の会合数も非常に多い。このため①で述べた、分子の捻れた配向は長い範囲(long range)にわたって維持されていなければならない。水素結合や静電相互作用はこの点に寄与する。本研究では水素結合基を持つアキラルな膜化合物からもヘリックス超構造体が形成されることを示した。この場合、水素結合が分子配向のねじれを生ずる原因になっているのか、それとも捻れの原因は先の①にあって水素結合はその捻れを維持しているだけのものなのかが疑問として残る。しかし、アキラルな膜化合物からは巨大なヘリックスが生じないので、ヘリックスを成長させる因子として不斉も必要である。このように考えれば、不斉と水素結合はヘリックス形成に協同的に作用していることになる。おそらく不斉は水素結合に一定の方向を与える役割を持つと考えられる。

③ ヘリックス超構造体をより長く、またより多く作るためには Tcより低い温度でアニーリングしながら熟成することが効果的である。

二分子膜が結晶相において2つ以上のパッキング状態をとり得るものであるなら、このことは容易に理解できる。なぜならば、アニーリングは分子の再配列を促進する作用を持つからである。しかしながら本研究で行った熱分析の結果、DSCサーモグラムには分子の再配列を示唆

する吸熱ピークや発熱ピークは見られなかった。Tcより低い温度に前転移ピークを有する二分子膜もあるが、このような場合でも前転移ピークはヘリックス形成とは無関係であった。ヘリックス超構造体は、前転移ピークより低い温度でも高い温度でも形成されたからである。この点についてはさらに詳細に検討する必要がある。なおヘリックス超構造体の熱分析については、田中の研究がある。<sup>34)</sup>この研究によれば、ヘリックス超構造体は二分子膜の過冷却液晶相から成長するものであるとされており、本研究で行ったFT-IRの結果と一致する。従って、ヘリックス超構造体を形成するためには二分子膜を過冷却液晶相状態で熟成するのが効果的であることになり、アニーリングもTcに近い温度領域で行った方がよいということになる。また、本研究では、試料を分散してから2~3日の間Tc以上の温度で熟成した。これはヘリックス形成前の会合体を大きくする目的で行ったものであるが、大きいヘリックスをより速く作るのに有効であった。しかし、ヘリックス形成前の会合体の大きさと形成されたヘリックスの大きさについては、さらに詳細な検討が必要である。この点を明かにできれば、ヘリックスが成長してゆくメカニズムについての情報が得られると考えられる。

④ ヘリックス超構造体中の可視・紫外スペクトルは成分分子の化学構造によって異なることがあり、分子配向は、必ずしも同じではないことが示唆される。

これは、次の⑤とも関連するが、疎水鎖長の異なるアゾベンゼン型膜化合物から形成される二分子膜において、鎖中の炭素原子数が偶数の時と奇数の時とで $\lambda_{\max}$ が異なった(図32)。アゾベンゼン発色団の吸収は配向状態によって変わるから、偶数型の二分子膜と奇数型の二分子膜は同じヘリックス超構造体であっても分子配向は異なっていることになる。しかし、可視・紫外スペクトルにおけるこのような偶奇鎖長

効果は他のアゾベンゼン型二分子膜では観察されないこともあり、一般性をやや欠いている。

⑤ 二分子膜の赤外スペクトルはヘリックス形成の有無に関わらず疎水鎖に含まれる炭素原子の数によって変化する。

二分子膜については、これまで偶数個の炭素からなる疎水鎖を持った膜化合物のみが研究され、奇数個の炭素からなる疎水鎖を持った二分子膜は偶数型のものと同じであるとの考えから全く研究されなかった。従って、本研究は奇数炭素型の二分子膜に関しては初めての研究例にもなっている。ヘリックス超構造体とそうでない会合体のあいだに⑤のような共通した現象が見られたことは、この偶奇鎖長効果が二分子膜に関する一般的な現象であることを示す新しい結果である。ヘリックス形成能を有する同族化合物の場合で見れば、偶数型と奇数型の二分子膜は全く異なる赤外スペクトルを示すが、同じ偶数型、あるいは奇数型の二分子膜ではヘリックスの大きさとは無関係に同一の赤外吸収を示す(各ピークの形や吸収波数がほぼ一致する)。従って、巨大なヘリックスと断片的なヘリックスにおける分子の配向状態やパッキング状態は、微視的にみた場合同じであることがわかった。これらの結果は、ヘリックスが顕微鏡で見えないからといってヘリックス構造を持たないと結論することはできないことを意味する。

以上の結果から、ヘリックス超構造体の形成には不斉と水素結合が大きく影響しており疎水鎖長も無視できない構造要素であることがわかった。しかし、顕微鏡でヘリックス超構造体が観察されるか否かは、ヘリックス形成の有無のみならずヘリックスの大きさにも関係している。すべての二分子膜は微視的に見た場合ヘリックス構造を持っている可能性も否定できない。従って、ヘリックス形成をよりマイクロなレ

ベルで評価できる手段を開発する必要がある。

また本研究では、初めて二分子膜系における偶奇鎖長効果を見いだした。現在、ここで得られた偶奇鎖長効果について、X線回折などを利用して分子のパッキング構造などの詳細を検討中である。また、この現象は生体膜を構成するリン脂質のほとんどが偶数炭素型である理由を解明することにも寄与すると考えられる。

参考文献

- 1) N.Nakashima, S.Asakuma, J.-M.Kim, T.Kunitake, Chem. Lett., 1984, 1709.
- 2) K.Yamada, H.Ihara, T.Ide, T.Fukumoto, C.Hirayama, Chem. Lett., 1984, 1713.
- 3) P.Yager, P.E.Schoen, Mol. Cryst. Liq. Cryst., 106, 371(1984).
- 4) N.Nakashima, S.Asakuma, T.Kunitake, J. Am. Chem. Soc., 107 509(1985).
- 5) P.Yager, P.E.Schoen, C.Davies, R.Price, A.Singh, Biophys. J., 48, 899(1985).
- 6) T.Kunitake, N.Yamada, J. Chem. Soc., Chem. Commun., 655(1986).
- 7) I.Cho, J.-G.Park, Chem. Lett., 1987, 977.
- 8) J.H.Georger, A.Singh, R.R.Price, J.M.Schnur, P.Yager, P.E.Schoen, J. Am. Chem. Soc., 109, 6169(1987).
- 9) R.M.Servuss, Chem. Phys. Lipids. 46, 37(1988).
- 10) P.Yager, R.R.Price, J.M.Schnur, P.E.Schoen, A.Singh, D.G. Rhodes, Chem. Phys. Lipids, 46, 171(1988).
- 11) A.Singh, T.G.Burke, J.M.Calvert, J.H.Georger, B.Herendeen, R.R.Price, P.E.Schoen, P.Yager, Chem. Phys. Lipids, 47, 135(1988).
- 12) N.Yamada, T.Sasaki, H.Murata, T.Kunitake, Chem. Lett., 1989, 205.
- 13) a) T.Tachibana, H.Kambara, J. Am. Chem. Soc., 87, 3015 (1965); b) T.Tachibana, T.Mori, K.Hori, Bull. Chem. Soc. Jpn., 54, 73(1981). その他の論文については、b)の referencesを参照いただきたい。

- 14) K.-C.Lin, R.M.Weis, H.M.McConnell, *Nature*, 296, 164(1982).
- 15) I.Sakurai, Y.Kawamura, T.Sakurai, A.Ikegami, T.Seto, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, 130, 203(1985).
- 16) 山本光弘, 江紀修, 石川雄一, 国武豊喜, 日本化学会第58春季年会, 講演予稿集I, 657(1989).
- 17) 朝隈純俊, 修士論文, 九州大学工学部合成化学科, 1985.
- 18) 金種牀, 博士論文, 九州大学工学部合成化学科, 1989.
- 19) 国武豊喜, 石川雄一, 金種牀, 山田哲弘, 第2回生体機能関連化学シンポジウム, 講演予稿集, p95, 1987.
- 20) 山田哲弘, 生体機能関連化学ミニシンポジウム, 講演予稿集, 1(1987).
- 21) Y.Okahata, R.Ando, T.Kunitake, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.*, 85, 789(1981).
- 22) T.Kunitake, Y.Okahata, K.Tamaki, F.Kumamaru, M.Takayanagi, *Chem. Lett.*, 1977, 387.
- 23) M.Shimomura, R.Ando, T.Kunitake, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.*, 87, 1134(1983).
- 24) N.Yamada, M.Kawasaki, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1990, 568.
- 25) Y.Ishikawa, T.Nishimi, T.Kunitake, *Chem. Lett.*, 1990, 25.
- 26) 君塚信夫, 未発表データ, 九州大学工学部合成化学科
- 27) T.Kunitake, R.Ando, Y.Ishikawa, *Memories of the Faculty of Engineering Kyushu University*, 46, 245(1986).
- 28) T.Kunitake, N.Yamada, N.Fukunaga, *Chem. Lett.*, 1984, 1089.
- 29) R.G.Snyder, *J. Mol. Spectroscopy*, 7, 116(1961).
- 30) R.G.Snyder, *J. Chem. Phys.*, 71, 3229(1979).
- 31) H.L.Casal, H.H.Mantsch, *Biochim. Biophys. Acta*, 779, 381,
- 32) N.Nakashima, N.Yamada, T.Kunitake, J.Umemura, T.Takenaka,

- J. Phys. Chem., 90, 3374(1986).  
(1984).
- 33) D.G.Cameron, J.K.Kauppinen, D.J.Moffatt, H.H.Mantsch,  
Appl. Spectrosc., 36, 245(1982).
- 34) 田中雅樹, 卒業論文, 関西学院大学理学部化学科, (1985).