多重水素結合を利用した結晶性繊維および マイクロチューブの非共有結合的構築

清水 敏 美

物質工学工業技術研究所 ☎ 305-8565 茨城県つくば市東 1-1

(1997 年 10 月 31 日受理)

Noncovalent Construction of Crystalline Fibers and Microtubes via Multiple Hydrogen Bonds

Toshimi SHIMIZU

National Institute of Materials and Chemical Research
1-1 Higashi, Tsukuba, Ibaraki 305-8565

(Received October 31, 1997)

Amphiphiles self-assemble in water to form molecular bilayers. Their head-group arrangements can be considered to be fluidlike. This character is quite different from that of usual 3-D crystals. In this paper, self-assembling properties and morphologies of synthetic dumbbell-shaped amphiphiles (bolaamphiphiles) have been discussed. In particular, the effect of multiple hydrogen bonds on the supramolecular structures were commented. The D-glucose- and oligoglycine-based bolaamphiphiles self-assembled in water to form well-defined fibrous and vesicle-encapsulated tubular assemblies, respectively. The formation strongly depends on the length and even or odd carbon numbers of the spacer alkylene chains. FT-IR spectroscopy, X-ray diffraction and crystal analyses showed that the utilization of multiple hydrogen bonds provides the assemblies with an interesting self-assembling morphology and crystalline surfaces. These crystalline assemblies can rearrange to form 3-D crystals by converting the hydrogen-bonded scheme. Possible self-assembling models for the molecular arrangements within the fibers and tubes were proposed as a result of various solid analyses.

1. は じ め に

両親媒性化合物は水中で自己集合し、二分子膜構造を与える¹⁾。この時、疎水性効果は分子同士の会合を引き起こし膜構造を安定化させる。一方、水和斥力や立体的相互作用は大きな三次元結晶の形成を妨げる²⁾。その結果、シート状二分子膜構造、球状ベシクルやミセル構造といった有限の特異的な形態をもつ自己集合体が出現する。これら集合体表面の親水性頭部の配列は流動的であると考えられる (Fig. 1)。しかし、最近になってその表面が結晶的 (固体的) な分子集合体の存在が分かってきた³⁾。これは分子中に導入された水素結合性官能基が二分子膜界面近傍で水素結合鎖 (あるいはネットワーク) を形成し、水和を抑えるためである。Fuhrhop らの系統的研究⁴⁾から、Fig. 2 に結晶性の表面をもつ脂質集合体

の例をあげる。もし、ミセル頭部が結晶化すればディスク状ミセル (D) を形成し、これは棒状集合体 (R) に変化する。ミセル (M) やベシクル (V) の頭部が表面で強い相互作用をもつと二分子膜シート (S) になり、それが大きな曲率をもつことでヘリカルリボン (H) やチューブ (T) に形態変化する。それでは、方向性のある水素結合を膜構造の界面近傍で多重に形成させるとその自己集合様式、集合形態はどうなるであろうか? 本稿では、筆者らの研究を中心に、まずはじめに材料設計の立場から見た水素結合の特徴を述べ、続いて水中で得られるキラルならせん状繊維やチューブといった特異的構造体の集合様式、構造体中の分子配列、層状構造の界面での三次元水素結合ネットワークについて最近の話題を紹介してみたい。

Fig. 1 Schematic representation of cross-sections through (a) a fluid micellar rod and (b) a solid micellar rod with a crystalline surface.

Fig. 2 Spherical micelles (M) and vesicles (V) characterized by repulsive interactions of the head groups. (D): Disk micelles, (R): Bilayer rods, (S): Bilayer sheets, (H): Helical ribbons, and (T): Tubules.

2. 材料設計の立場から見た水素結合の特徴⁵⁾

水素結合 ($X-H\cdots Y$) は、電気陰性度が高い2つの原子X, Yを水素原子Hが結びつけた時生じ、その性質は主に静電的なものである。共有結合は明確な結合距離、結合力、方向性をもつに対し、水素結合は20倍～30倍程弱い。また、結合を0.1 Å伸ばすのに必要なエネルギーは水素結合の方が約30倍小さく、そのため、水素結合は伸びやすく、曲がりやすい(方向性)。また、水素結合の特性は結合周辺の原子まで含めた全ての環境に大きく依存する(グルーブ性、相補性)。水素結合は連続したネットワークを形成することが可能であり、その場合、単独の水素結合エネルギーの和より大きくなる(協同性)という特徴をもつ。

3. 双頭型糖脂質の分子設計

2節で述べた水素結合の弱い方向性、相補性、協同性などの特徴を生かして分子複合体や分子集合体を構築する研究例は Lehn⁶⁾や Whiteside⁷⁾などの総説に見られるよ

Fig. 3 Supramolecular assemblies of synthetic bolaamphiphiles via multiple hydrogen-bonded networks.

うにこれまでに数多くある。しかし、そのほとんどは非プロトン性有機溶媒中での水素結合形成であるか、ゲル状態、液晶相、結晶格子中の水素結合様式の制御に限られる。それらの詳細は本特集での他の解説を参照されたい。また水素結合の相補性に関しては本特集の君塚らの解説を参照されたい。

筆者らは、方向性のある水素結合が分子の両端で多重に、かつ協同的に形成されるように親水性部位として糖、ペプチドなどを導入し、それを疎水性の炭化水素鎖の両端でアミド結合で連結させる双頭型脂質を設計した(Fig. 3)。一般に水素結合ネットワークの安定性は水素結合力とその数を増加することにより増大する⁸⁾。また、双頭型の脂質は好熱性細菌や古細菌の細胞膜成分として含まれ、(1)多形現象がない、(2)最も薄い単分子膜形成が可能である、(3)親水部の非対称化によりベシクル膜を容易に形成する、(4)膜融合が起こりにくい、などの特徴をもつ⁹⁾。こうして両親媒性分子を双頭型にすることにより、膜構造自身の安定化効果も期待できる。

4. 双頭型糖脂質のキラル繊維形成

両端にD-グルコース残基をもつ双頭型糖脂質(Glc-n-Glc)は水中で、分子の自己集合により柔軟性のある繊

維状あるいは無定形状の結晶性構造体を与える¹⁰⁾。その形態は連結部であるアルキレン鎖長の長さおよびその炭素偶奇数に強く依存した(Fig. 4)。従来、光学活性な両親媒性化合物が鏡像体関係にあるキラル分子集合体を与え、ラセミ混合物がキラルのない平板状集合体を与える現象が知られる^{4, 11)}。今回の結果は従来と異なり、初めてキラル/非キラル構造体が連結炭化水素鎖の炭素偶奇数に応じて制御されたことを示している¹²⁾。それでは、これら偶奇効果および構造体の安定性が超分子繊維内の分子配列の何に起因しているのだろうか？

Fig. 4 Supramolecular fibrous assemblies ($n=6$, 10, and 12) and twin crystal ($n=11$) of **Glc-*n*-Glc** observed using confocal laser scanning and polarized light microscopy (at 25°C, in water). Scale bar=10 μm .

Fig. 11 Vesicle-encapsulated microtubes observed using (a) phase-contrast and (b) dark-field light microscopy (at 25°C, in water). Needle microcrystal sitting on the outer surface of the tubes are denoted by arrows in (a). Scale bar=5 μm .

Fig. 8 Transmission electron micrograph of a supramolecular fiber unit made of **Glc-12-Glc** (negatively stained with 2%-phosphotungstic acid).

Fig. 5 Representative molecular arrangements of oligomethylene chains in fatty acid crystals and derived lipids.

一般に、長鎖の脂質結晶に見られる副格子構造は最近接する炭化水素鎖のジグザグ鎖面が垂直、平行、無秩序であるかの違い、さらに空間群対称性の違いにより、主に三斜晶系平行型 (T//) および斜方晶系垂直型 (O⊥) が、それ以外に単斜晶系平行型 (M//) やヘキサゴナル型 (H) などが知られている (Fig. 5)¹³⁾。これらの同定は、粉末 X 線回折の広角領域における特性回折ピークや赤外吸収スペクトルのメチレンはさみ振動 $\delta(\text{CH}_2)$ および横揺れ振動 $\tau(\text{CH}_2)$ の特性ピークの解析から可能である¹⁴⁾。その結果、偶数鎖をもつ双頭型脂質では炭化水素鎖の副格子が O⊥ 又は M// をとり、奇数鎖では T// のパッキング様式をとることが推定できた。また、種々の固体分析は繊維内のアミド基の配向、水素結合の強さ、長周期間隔などに対して偶奇効果による明確な相違を示した¹²⁾。こうして、上記の集合体形態に対する偶奇効果は、分子が繊維内で形成する層状構造配列の相違 (平行型かブリーツ型) に起因する界面での糖鎖水素結合のキラル/非キラル性によるものと考えられる。

5. 繊維中の分子配列と三次元水素結合ネットワーク

双頭型糖脂質として初めて見いだされた **Glc-11-Glc** の結晶構造は分子がブリーツ状の層状構造を形成していた。層内にはアミド基と糖鎖 2 位の尿酸基が関与した一次元的な水素結合ネットワーク、層間にはそれと直交する面内において残りの糖鎖尿酸基が関与した二次元的な水素結合ネットワークが形成していた (Fig. 6)¹⁵⁾。両端の D-グルコース残基を D-ガラクトース残基に置換すると、糖鎖間水素結合ネットワークは二次元的から三次元的に大きく変化する¹⁶⁾。現在までに、単糖でかつ一本鎖型 (炭化水素炭素数が 5 以上) の糖脂質の結晶構造は全

Fig. 6 X-ray crystal structure of **Glc-11-Glc**, viewed along the c-axis (upper) and the a-axis (lower). Hydrogen-bonded networks are denoted by dotted lines.

Fig. 7 Crystal structure of 1-decyl- α -glucopyranoside.

て完全二分子膜構造をとらずに、疎水部のアルキル鎖が指組構造 (interdigitated) をした頭-頭不完全二分子膜構造をとることがわかっている (Fig. 7)¹⁷⁾。しかし、2つの糖残基を 1 本の炭化水素鎖で連結した双頭型糖脂質ではこのような指組構造をとることができない。そこで分子は大きく傾いた層状構造をとることによって最密充填しているのである。

次に、**Glc-12-Glc** から形成した超分子繊維内の分子配列について考えてみよう。これまでに脂質から形成される繊維内での分子配列を解明した報告は極めて少ない¹⁸⁾。筆者らの知る限り、幅が数百 nm~数 μm 、長さが数百 μm ~数 cm 程の光学顕微鏡サイズをもつ繊維構造体を水中から単離した唯一の例に、イソフタル酸長鎖エーテル誘導体を用いた例¹⁹⁾がある。彼らはカルボン酸間の水素結合により分子が環状に配列したディスクモデルを提唱したが、詳細は不明のままである。これに対し、

Glc-12-Glc から形成される超分子繊維の基本単位は、透過型電子顕微鏡観察より厚さ約 3 nm の単分子膜リボンが直径 35 nm の右巻きらせんを形成した繊維状構造体であることがわかった (Fig. 8)。他の固体分析結果も考慮して Fig. 9 に示した超分子繊維中 ($n=12$) の三次元分子配列を推定した¹²⁾。興味あることに、この基本単位繊維が 8 本束なりより高次の繊維集合体に会合している様子がクライオ電顕より確認できた²⁰⁾。こうしてコラーゲン繊維などの繊維状タンパク質と同様な階層的な高次構造化による超分子繊維形成 (Fig. 10) が明らかとなった。さらに、クライオ電顕像は基本繊維の半径約 50 nm 周囲に存在する水分子はそれより外部にある自由水とは異なり、繊維表面で形成された糖鎖間水素結合ネットワークの影響を受けて束縛された水分子結晶格子を形成していることも示唆した²⁰⁾。

Fig. 9 A possible self-assembling model of **Glc-12-Glc** based on monolayered chiral sheet. The hydrogen-bonded networks between the sugar-head groups are tentatively depicted by reference to those in the crystal structure of **Glc-11-Glc**¹⁵⁾.

Fig. 10 Schematic drawing of the twisted rope that shows hierarchical fibrous assemblies. In the fiber formation of **Glc-12-Glc**, the transmission electron microscopic image may correspond to this fiber, whereas optical microscopic image to this cable.

6. 双頭型ペプチド脂質のマイクロチューブ形成

糖鎖の代わりにオリゴペプチド鎖を導入すると構造体形成にどのような影響を与えるだろうか？ アミノ酸残基であるグリシンの二量体または三量体を両端にもつ双頭型ペプチド脂質 (ジカルボン酸型) $C(n)[Gly_2]_2$ の

ナトリウム塩は、水中で、内部に多数の球状小胞体 (ベシクル) を内包する直径が 1~3 μm 、長さが数百 μm の閉じたチューブ状構造体を与えた (Fig. 11)²¹⁾。さらに、チューブ外壁から極微小の針状結晶が析出している様子も観測できた。合成脂質が形成する径のより細かいチューブ状構造体の存在は電顕観察などから数例報告がある²²⁾。しかし、小胞体をカプセル化した光学顕微鏡サイズの単離可能な有機マイクロチューブは従来全く報告例がない。チューブ形状態は水中での 100°C までの加熱や超音波処理によっても破壊されないぐらい安定であった。問題はどのようにして、しかもどんな分子配列でこうした厚さ数十 nm~数百 nm の有機薄膜からなるマイクロチューブが生成するかである。

末端カルボン酸のイオン化状態、アミド基の水素結合形成の有無などを強く反映する赤外吸収スペクトルを測定した結果、最初溶解していた末端カルボン酸アニオンが何らかのプロトン種、おそらく空気中の二酸化炭素によってゆっくりとプロトン化し、酸-アニオン型の分子間水素結合がチューブ膜内に形成していることがわかった。一般に長鎖脂肪酸の水溶液中における物理的性質はカルボキシル基のイオン化度 (α) に大きく依存する²³⁾。例えば、完全にイオン化した脂肪酸 (石鹼) ($\alpha = 1.0$) は

Fig. 12 Ionization degree (a) of $C(n)[Gly_2]_2$ ($n = 6$ and 10) as a function of pH.

Fig. 13 Possible mechanism for the formation of vesicle-encapsulated microtubes and needle crystals on the outer surface.

(a) Intralayer acid-anion dimers

(b) Interlayer acid-acid dimers

Fig. 14 Schematic representation of (a) intralayer acid-anion and (b) interlayer acid-acid dimers that lead to the formation of microtubes and needle crystals, respectively.

水中でミセル、液晶、希に結晶を形成するのに対し、全くイオン化していない脂肪酸 ($\alpha=0$) は油滴又は結晶を形成する。しかし、イオン化度がその中間値 ($0 < \alpha < 1.0$) をとる時の集合挙動については不明な点が多い。今回用いた双頭型ペプチド脂質について水溶液の pH とイオン化度 (α) との相関を求めた (Fig. 12)。 $n=6$ の場合を例にとると、水中で、 $\alpha=0.8\sim 0.9$ でマイクロチューブ形成が起こり、それ以降プロトン化が進行 ($\alpha < 0.7$) すると結晶化が起こることがわかった。

7. チューブの生成プロセス

以上の解析をもとに、マイクロチューブおよびチューブ上に析出した微小針状結晶の生成プロセスを推定することが可能である (Fig. 13)²⁴⁾。最初にロッド状ミセルとして溶解していたカルボン酸アニオン型脂質は、酸-アニオン型の分子間水素結合形成 (Fig. 14) とグリシン残基間の分子間水素結合形成により、チューブ状構造体

Fig. 15 Crystal structure of $\text{C(10)[Gly}_2\text{]}_2$. (a) projected on the bc -plane, (b) magnification of the terminal gly-glyglycine moieties, and (c) projected on the b ($2a/3 + 1c/8$)-plane.

を形成する。さらに、プロトン化が進むと、チューブ外壁界面において酸-酸型への水素結合様式の変換が生じ、極微小の針状結晶がチューブ外壁に析出したと考えられる。注目すべきことは、チューブ形成における α が $0.8\sim 0.9$ であることから、溶解したプロトンはチューブの膜界面に濃縮され、界面付近で局所的な pH の減少が起きていることである。一方、チューブ内部の球状ベシクルはチューブ内壁における内層部の層状欠陥を契機としてエネルギー的により有利に生成したのではないかと考えられる。

8. 結晶とチューブの三次元水素結合ネットワーク

酢酸の蒸気拡散法により得た双頭型オリゴグリシン脂質 $\text{C(10)[Gly}_2\text{]}_2$ の結晶構造は分子が層状構造をとり、分子同士は層間で酸-酸型の分子間水素結合を形成していた²⁵⁾。分子は最近接する周囲の 6 分子とグリシン残基

Fig. 16 A possible molecular arrangement within the organic microtubes.

のアミド基間で三次元的な分子間水素結合を形成し、ヘキサゴナル格子をとる (Fig. 15)。高分子であるポリグリシンが同様なヘキサゴナル格子 (ポリグリシン II 型構造) を形成することが知られ²⁶⁾、この結果は低分子の自己集積により初めて高分子の三次元構造を自発的に形成したことを意味する。一方、チューブ状構造体においては、分子は膜内で層状構造をとるが、結晶中での分子配列とは異なり層内での酸-アニオン型水素結合とグリシン残基間の一部が切れた分子間水素結合によって特徴づけられる分子配列 (Fig. 16) をとることが固体分析より推定できた。すなわち、脂質分子間の層状界面および単分子膜内における水素結合の微妙な組み合わせの相違だけでマイクロチューブあるいは結晶が生成することが見いだされた。

9. おわりに

全く同じジカルボン酸の両端にアミド結合を介して単糖であるアルドピラノース残基またはオリゴグリシン鎖を導入し、水中での自己集積を検討した。その結果、全く異なる形態をもつ構造体と集積挙動を示した。これはまさしく、親水部にある水素結合性をもつ水酸基やアミド基の方向性、協同性の相違、言い換えれば水素結合様式の相違が直接的に集積形態に反映したものである。また、水素結合部位を分子両端に多重に導入した結果、より結晶性の高い親水部界面をもつ構造体を形成することがわかった。本稿では、3 軸方向に無限に生長した通常の有機結晶ではなく、リボン様のらせん状繊維やマイクロチューブといった従来にない中間的な結晶性集合体の例を紹介した。これら中間結晶相は水素結合ネットワークの変換により従来の三次元結晶構造も提供した。水素結合の数と方向性を制御することにより自己集積体の表

面結晶性を制御し、それを駆動力として集積形態自身を制御できる可能性を示した。ここでは、筆者らの研究²⁷⁾を中心に解説したが、水素結合の奥深さはこの拙論では到底語りきれない。ぜひとも、他のすぐれた解説書^{5, 28)}を参考にして頂ければと思う。

謝 辞

本稿の双頭型脂質に関する研究は、増田光俊、小木曾真樹各研究員、浅川真澄博士 (物質研: ポリマーオブジェクトグループ)、後藤みどり、本田一匡、芝上基成、八瀬清志各博士 (物質研)、M. Mueller 博士 (ETH, スイス) との共同研究によるものであり、ここに厚く感謝申し上げる。

文 献

- 1) 例えば, J.H. Fendler: "Membrane Mimetic Chemistry" (Wiley, New York, 1982).
- 2) J.N. Israelachvili: "Intermolecular and Surface Forces" (Academic Press, New York, 1985); "分子間力と表面力", 近藤, 大島訳 (マグローヒル, 1991).
- 3) J.-H. Fuhrhop: Chem. Rev. **93**, 1565 (1993).
- 4) J.-H. Fuhrhop, P. Schnieder, E. Boekema and W. Helfrich: J. Am. Chem. Soc. **110**, 2861 (1988); J.-H. Fuhrhop and C. Boettcher: J. Am. Chem. Soc. **112**, 1768 (1990); J.-H. Fuhrhop, S. Svenson, C. Boettcher, E. Roessler and H.-M. Vieth: J. Am. Chem. Soc. **112**, 4307 (1990); J. Koenig, C. Boettcher, H. Winkler, E. Zeitler, Y. Talmon and J.-H. Fuhrhop: J. Am. Chem. Soc. **115**, 693 (1993).
- 5) G.A. Jeffrey and W. Saenger: "Hydrogen Bonding in Biological Structures" (Springer-Verlag, Berlin, 1991).
- 6) J.-M. Lehn: Makromol. Chem. Macromol. Symp. **69**, 1 (1993).
- 7) J.M. Whiteside, E.E. Simanek, J.P. Mathias, C.T. Set, D. N. Chin, M. Mammen and D.N. Gordon: Acc. Chem. Res. **28**, 37 (1995).
- 8) P. Brunet, M. Simard and J.D. Wuest: J. Am. Chem. Soc. **119**, 2737 (1997).
- 9) J.-H. Fuhrhop, H.-H. David, J. Mathieu, U. Liman, H.-J. Winter and E. Boekema: J. Am. Chem. Soc. **108**, 1785 (1986).
- 10) T. Shimizu and M. Masuda: Mol. Cryst. Liq. Cryst. **295**, 197 (1997).
- 11) T. Tachibana, T. Yoshizumi and K. Hori: Bull. Chem. Soc. Jpn. **52**, 34 (1979); N. Nakashima, S. Asakuma and T. Kunitake: J. Am. Chem. Soc. **107**, 509 (1985).
- 12) T. Shimizu and M. Masuda: J. Am. Chem. Soc. **119**, 2812 (1997).
- 13) N. Garti and K. Sato: "Crystallization and Polymorphism of Fats and Fatty Acids" (Marcel Dekker, New York, 1988).
- 14) M. Goto: J. Jpn. Oil Chem. Soc. **19**, 583 (1970); N. Yamada and M. Kawasaki: J. Chem. Soc., Perkin Trans.

- 2, 2707 (1996).
- 15) M. Masuda and T. Shimizu: Chem. Commun. 1057 (1996); M. Masuda and T. Shimizu: Carbohydr. Res. **302**, 139 (1997).
- 16) T. Shimizu, M. Shibakami and M. Masuda: Chem. Lett. 267 (1997).
- 17) G.A. Jeffrey and L.M. Wingert: Liquid Crystals **12**, 179 (1992); 例えば, P.C. Moews and J.R. Knox: J. Am. Chem. Soc. **98**, 6628 (1976).
- 18) 今 榮 東 洋 子 : 化 学 **51**, 532 (1996); P. Terech, V. Rodriguez, J.D. Barnes and G.B. McKenna: Langmuir **10**, 3406 (1994); P. Terech, I. Furman and R.G. Weiss: J. Phys. Chem. **99**, 9558 (1995).
- 19) F.M. Menger and S.J. Lee: J. Am. Chem. Soc. **116**, 5987 (1994).
- 20) K. Yase, E. Zellman, M. Mueller, M. Masuda and T. Shimizu: Thin Solid Films, 投稿中。
- 21) T. Shimizu, M. Kogiso and M. Masuda: Nature **383**, 487 (1996).
- 22) K. Yamada, H. Ihara, T. Ide, T. Fukumoto and C. Hirayama: Chem. Lett. 1713 (1984); J.H. Georger and P. Yager: Biophys. J. **48**, 899 (1985); J.-H. Fuhrhop, D. Spiroski and C. Boettcher: J. Am. Chem. Soc. **115**, 1600 (1993).
- 23) M.E. Feinstein and H.L. Rosano: J. Phys. Chem. **73**, 601 (1969); W.R. Hargreaves and D.W. Deamer: Biochemistry, **17**, 3759 (1978).
- 24) M. Kogiso, M. Masuda, K. Yase and T. Shimizu: Polymer Preprints, Japan **46**, 3303 (1997).
- 25) T. Shimizu, M. Kogiso and M. Masuda: J. Am. Chem. Soc. **119**, 6209 (1997).
- 26) F.H.C. Crick and A. Rich: Nature **176**, 780 (1955).
- 27) T. Shimizu, M. Masuda, M. Kogiso and M. Asakawa: Kobunshi Ronbunshu **54**, 815 (1997).
- 28) W. Saenger: "Principles of Nucleic Acid Structure" (Springer-Verlag, New York, 1984); "核酸構造", 西村 訳 (シュブリンガー・フェアラーク東京, 東京, 1987); J.-H. Fuhrhop and J. Koenig: "Membranes and Molecular Assemblies: The Syntkinetic Approach" (The Royal Society of Chemistry, London, 1994).