合 成 二 分 子 膜 に つ い て*

国 武 豊 喜**

九州大学工学部合成化学教室
〒812 福岡市東区箱崎

要 旨 2本の長鎖アルキル基 ($C_{10}\sim C_{18}$) をもつアンモニウム塩を水に分散すると、二分子膜構造を基本とするベシクル、ラメラ構造が生成する (電子顕微鏡観察). DSC, X線回折データより, ラメラ構造の分子配列, 液晶-結晶相転移の状況が検討されている. NMR, ESR, 蛍光測定等の結果とも考え合せると, これらの合成二分子膜はレシチン膜によく似た物性をもつことがわかる.

アンモニウム二分子膜のベシクルはアミノ酸等の有機化合物を保持し, 相転移温度の上下で水に対し著しく異なった透過性を示す. アシル基移動, 脱炭酸などの反応速度も二分子膜の流動性によって影響され, 疎水性の高い試剤を用いると, ベシクル内, ベシクル間反応の速度差を著しく大きくすることができる. 合成二分子膜はアンモニウム以外の親水基をもつジアルキル化合物からも得られ, その生成は極めて一般的な現象であると結論される.

1. はじめに	4. アンモニウム二分子膜の機能
2. 長鎖ジアルキルアンモニウム塩の作る二分子膜	5. 二分子膜を形成するその他の化合物
3. アンモニウム二分子膜の構造	6. おわりに

1. はじめに

生体膜の基本構造単位は脂質二分子膜である. 二分子膜を生体脂質以外の物質より作ろうとする試みは非常に多く行われてきた. 平面膜 (いわゆる黒膜) については, たとえば Tien の著書に, 生体脂質以外の二分子膜を形成する多数の化合物が挙げられている¹⁾. 最近の本誌上に奥山らは面積が大きく丈夫な平面膜がミリスチルアルコールやオレイルアミン等から得られることを紹介している²⁾.

一方, 水中に分散した二分子膜小胞体 (リポソーム) についても生体脂質 (とくにリン脂質) 以外の材料を用いることが試みられてきた. Gebicki と Hicks はオレイン酸, リノレイン酸の薄いフィルムを中性水溶液に分散して, 球状会合体が生ずることを認め, これを Ufasome と名づけた. 同様に, Hargreaves と Deamer も飽和, 不飽和の脂肪酸や高級アルコールを水に分散させて小胞

体状会合体を得ている.

しかしながら, これらの小胞体は比較的不安定であり, また, レシチンリポソームの場合のような明確な二分子膜はできていないようである. また, 従来の二分子膜の研究は脂質またはその類似物質を素材として用いており, 一般的に物理化学的立場から検討しようとする試みは欠けていたといえよう.

最近, 我々はジアルキル型などの両親媒性化合物から水中で安定な二分子膜が生成することを見いだした. これら合成二分子膜の物理的構造や物性は生体脂質二分子膜のそれと基本的には同一であり, さらに, 広範囲な化学構造の物質に拡張することができる. したがって, 二分子膜生成に関する一般的な立場からの物理化学的考察が始めて可能になったと考えられる.

2. 長鎖ジアルキルアンモニウム塩の作る二分子膜

二本のアルキル長鎖をもつアンモニウム塩が特異な溶解挙動を示すことは以前より知られており, Ralston らの1948年の報告がある³⁾. 最近, 国枝らはこの現象を詳細に検討し, Krafft 点 (水和固体の融点) 以上では, ジ

* On Synthetic Bilayer Membranes

** Toyoki Kunitake: Department of Organic Synthesis, Faculty of Engineering, Kyushu University (Fukuoka 812)

Table 1 ジアルキルジメチルアンモニウム塩の会合構造

$\begin{array}{c} \text{R}_1 \quad \text{CH}_3 \\ \diagdown \quad / \\ \text{N}^+ \\ / \quad \diagdown \\ \text{R}_2 \quad \text{CH}_3 \end{array} \text{Br}^-$		10mM 水溶液	電子顕微鏡観察 ^{a)}	会合体分子量 ^{b)} $\times 10^{-6}$, dalton
R ₁	R ₂			
C ₂₂ H ₄₅	C ₂₂ H ₄₅	不 溶		
C ₁₈ H ₃₇	C ₁₈ H ₃₇	少し濁り	ラ メ ラ	10
C ₁₄ H ₂₉	C ₁₄ H ₂₉	少し濁り	ベシクル	5
C ₁₂ H ₂₅	C ₁₂ H ₂₅	透 明	ベシクル	1
C ₁₈ H ₃₇	C ₁₆ H ₃₃	少し濁り	ラ メ ラ	20
C ₁₈ H ₃₇	C ₁₄ H ₂₉	少し濁り	ラメラとベシクル	20
C ₁₈ H ₃₇	C ₁₂ H ₂₅	透 明	ベシクル	8
C ₁₈ H ₃₇	C ₁₀ H ₂₁	透 明	ベシクル	3
C ₁₈ H ₃₇	C ₈ H ₁₇	透 明	構造なし	0.3
C ₁₆ H ₃₃	CH ₃	透 明	構造なし	0.04

^{a)} 日立 H-500 型^{b)} ユニオン技研 LS-600 レーザー光散乱計電子顕微鏡 a : 2C₁₂N+2C₁Br-10mM b : C₁₂C₁₈N+2C₁Br-10mM c : 2C₁₂N+C₁C₂OH Br,- 10mM d : L-2C₁₂:GluN+3C₁Br 10mM

Fig. 1 ジアルキルアンモニウム塩二分子膜の電子顕微鏡写真

アルキルアンモニウム塩-水系の低濃度側から高濃度側にかけて、分子分散溶液、液晶が水相に分散した2相系、液晶領域(ラメラ構造)が存在すると述べている⁷⁻⁹⁾。

このような特異な溶解挙動は親水性、親油性のバランスが適当であるためは生ずると説明されている。

Tanford は一般の界面活性剤ミセルの形態変化を親水性表面積とミセル内のアルキル鎖数の比に基いて説明している^{10,11)}、この説明によれば、親水基1個当たりのアルキル鎖量が増えると、ミセルの形は球状から楕円へと変化し、遂には層状(ラメラ構造)に至る。2本のアルキル鎖をもつ生体脂質による二分子膜の生成は、ミセル形態変化の延長としてとらえられている。この考え方は、一本鎖化合物により二分子膜が形成される事実(5節)を考えると必ずしも正しくないと思われるが、ジアルキル化合物という共通点から、長鎖ジアルキルアンモニウム塩がレシチンなどと同じく二分子膜構造をとり得るか否か調べるのは興味深いことであった。

ジドデシルジメチアンモニウムブロミドを超音波照射下に水に分散させると透明な水溶液が得られる。この溶液数滴を炭素フィルムで覆った銅網上にたらし、さらに酢酸ウラニルの2%水溶液を滴下し乾燥する。この試料を透過型電子顕微鏡で観察すると、直径300~500Åの球状構造が認められる¹²⁾。次に、アンモニウム塩水溶液と染色剤酢酸ウラニル水溶液を混合してから超音波照射したものを試料とすると、多重層構造をもつ閉じた小胞体が見られる。層の厚みが約40Åであることから、二分子膜より成る会合体が生じたと結論した。

系統的に化学構造を変えたジアルキルアンモニウム塩についての研究から、化学構造と二分子膜生成の関係が明らかとなった¹³⁾。Table 1 にその結果をまとめている。これよりいくつかの結論を引き出すことができる。第一に、C₂₂のアルキル鎖を2本もつアンモニウム塩は水に分散させることができない。また、C₁₈とC₈の組合せでは水溶液中に構造形成が見られない。当然のことながら、アルキル長鎖が1本のCTABでは構造は生じない。し

たがって、電子顕微鏡的に二分子膜形成が認められるためにはC₁₀~C₁₈のアルキル鎖2本が必要である。会合体の基本構造はいずれも二分子膜であるが、高次構造として、ラメラまたはベシクル状となる。全般的に、アルキル鎖が長いほどラメラ構造ができやすい。これら高次構造はアンモニウム塩の分散方法によってもある程度は変化する。また、ベシクルはいずれも多重である。会合体の分子量は、二分子膜構造が認められる場合は10⁶~10⁷ daltonであり、通常の界面活性剤ミセルの分子量よりもはるかに大きい。構造形成の見られないC₁₈C₈N⁺2C₁会合体の分子量は両者の中間(3×10⁵ dalton)である。

ジアルキルアンモニウム二分子膜の生成は、最近、他の研究者によっても確かめられている^{14,15)}。

次に、アンモニウム親水基の構造を変えた以下に示すジアルキル化合物やジアルキルスルホニウム塩について

も会合構造を電子顕微鏡で調べた¹⁶⁾。 $2C_{12}N+Cl\cdot CO_2^-$ および $2C_{18}S+C_1Br^-$ を除いては、いずれも水に分散するができ、透明ないしは少し濁った水溶液を与える。

$2C_{12}N+C_1C_2OH$ はきわめて明確な多重のベシクル構造を与えたが、他の化合物ではいずれもラメラ構造であった。親水基に糖残基を含む場合、ラメラ構造が充分発達せず断片的であった。これらの会合体は水溶液中でいずれも数十%のコレステロールを可溶化することができるが、電子顕微鏡で見た二分子膜構造はやや不明瞭となる。

親水基部分にアミノ酸を利用すると、不斉の二分子膜を得ることができる¹⁷⁾。アラニン、グルタミン酸より次のジアルキル化合物が得られる。

水分散性は単純ジアルキルアンモニウム塩より良く、10mMの透明水溶液を与えるが、いずれの場合もラメラまたはベシクルの安定な会合構造生成で確認された。会合構造はよく発達しており、単純アンモニウム塩の場合よりも二分子膜構造が明瞭に現われる。

本節の最後として、ジアルキルアンモニウム塩より得られる二分子膜構造の代表的な電子顕微鏡写真を Fig. 1 に示しておく。

3. アンモニウム二分子膜の構造

ジアルキルアンモニウム-塩水系の相図は国枝らが報告しているが、液晶相の構造については触れていない。梶山らは、最近、X線回折、DSC (示差走査熱量計)測定を併用して、この系の状態図を作製している¹⁸⁾。無水の $2C_{18}N+2C_1Br^-$ は 84°C 付近に結晶液晶転移に伴う吸熱ピークを示す。水を加えてゆくと、吸熱極大温度 (T_e) は低温側へ移行する。 $2C_{18}N+2C_1Br^-$ の濃度が 0.8 以下になると自由水が現われ 0°C 付近に水の融解による吸熱極大が観測される。すなわち、アンモニウム塩に対し水

Fig. 2 上. $2C_{18}N+2C_1Br^-$ の長周期の濃度依存性
下. 状態図

の量が4倍モル以上になると自由水が現われる。

Fig. 2 下図は DSC 測定に基づいて作製された状態図である。結晶液晶転移温度は水の量が増えるとともに急激に低下し、 $C=0.82$ 以下で一定値 51°C (T_e^*) となる。自由水の有無から決められたゲルとゲル+水相の臨界濃度が破線で示してある。 $2C_{18}N+2C_1Br^-$ は温度の上昇に伴って結晶液晶転移するとともに、 T_e^* 以上の温度域では水分率の増加に伴って結晶液晶転移し、生体脂質二分子膜と同じくサーモトロピックとリオトロピックの両性格を持っている。Fig. 2 上図は二分子膜構造の長面間隔 L の濃度依存性である。297K の結晶相の場合(2), L は濃度によらず $36\text{\AA}$ で一定であり、極性基に水分子が結合しても L は増加しない。333K ((1)の場合) で水分率を変化させると $C=0.87$ で液晶状態となり、短面間隔に対応した鋭い X 線回折は消失し、 $4.6\text{\AA}$ のぼやけた回折のみとなり、長面間隔は増加する。

Table 2 は鎖長の異なるジアルキルアンモニウム塩の結晶液晶転移温度 (T_e^*)、引き延したアルキル鎖を膜面に垂直に配置した場合の二分子膜の厚み(二分子鎖長)、X 線測定から評価した結晶状態の長面間隔、希薄溶液から

Table 2 ジアルキルアンモニウム二分子膜の構造特性

アンモニウム塩	T_c^* ($^{\circ}\text{C}$)	二分子鎖長 $\text{\AA}$	X線 長 面 間 隔 $\text{\AA}$	電子顕微鏡 明暗縞間隔 $\text{\AA}$	傾 斜 角 度
$2\text{C}_{18}\text{N}+2\text{C}_1\text{Br}^-$	51	51~52	35~37	43~44	44°
$2\text{C}_{16}\text{N}+2\text{C}_1\text{Br}^-$	44	46~47	23~24	38~40	30°
$2\text{C}_{14}\text{N}+2\text{C}_1\text{Br}^-$	32	41~42	21~22	30~32	31°
$2\text{C}_{12}\text{N}+2\text{C}_1\text{Br}^-$	16	36~37	19~20	28~29	31°
$2\text{C}_{18}+\text{コレステロール}$	—	51~52	—	58~60	$\sim 90^{\circ}$

得られた染色ラメラの電顕的観察より評価した平均明暗縞間隔および二分子鎖長と長面間隔から推定したラメラ面に対するアルキル鎖の傾斜角をまとめたものである。 $2\text{C}_{18}\text{N}+2\text{C}_1\text{Br}^-$ の場合、アルキル鎖が二分子膜ラメラ面に直角に配列しているとする、二分子膜の厚みは51~52 $\text{\AA}$ となり、実測の長面間隔36 $\text{\AA}$ よりかなり大きい。これはアルキル鎖がラメラ面に対して約 44° 傾斜して充填されていることを示唆している。アルキル鎖長の短い $2\text{C}_{16}\text{N}+2\text{C}_1\text{Br}^-$, $2\text{C}_{14}\text{N}+2\text{C}_1\text{Br}^-$, $2\text{C}_{12}\text{N}+2\text{C}_1\text{Br}^-$ の場合には、膜面に対するアルキル鎖の傾きは約 30° と推定されている。アルキル鎖長の揃ったホスファチジルコリン二分子膜の場合にもラメラ面に対してアルキル鎖は50~70 $^{\circ}$ 傾斜していることが知られている¹⁹⁾。

極性アンモニウム基の断面積がアルキル鎖2本のそれより大きい場合には、アルキル鎖が結晶状態で充填するとき余分の極性基部分の体積あるいは断面積を緩和できるよう、アルキル鎖はラメラ面に対して傾いている方がエネルギー的に有利であると思われる。Fig. 2 に示されているように、 $2\text{C}_{18}\text{N}+2\text{C}_1\text{Br}^-$ 水系では、結晶-液晶転移により長面間隔が増加する。これは融解によりアルキル鎖の占める断面積が増加して極性基部の断面積効果が緩和されるため、ラメラ面に対してアルキル鎖がより立ってくる ($44^{\circ} \rightarrow 54^{\circ}$) ものと考えられている。

一方、等モル分率のコレステロールを $2\text{C}_{18}\text{N}+2\text{C}_1\text{Br}^-$ に添加すると、酢酸ウラニル染色剤による明暗縞間隔は43~44 $\text{\AA}$ から58~60 $\text{\AA}$ に増加する (Table 2 最下段)。染色剤の沈着層厚を10 $\text{\AA}$ とすると、明暗縞から推定される二分子膜厚は $2\text{C}_{18}\text{N}+2\text{C}_1\text{Br}^-$ の二分子鎖長とほぼ等しく、アルキル鎖はラメラ面に対しほぼ垂直に充填していると考えられる。

以上で説明したのは、主に固体状態における二分子膜の静的構造 (ジアルキルアンモニウムの充填状態) であったが、Fig. 2 に示した X 線回折の長周期の濃度依存性や、Table 2 の X 線データと電顕観察との対応から考え

て、希薄水溶液中でもほぼ同様の構造が保たれると考えられよう。

希薄水溶液中の二分子膜の物理化学的特性は、生体脂質の場合と同じく、NMR、蛍光、ESR などのスペクトル的手段で明らかにすることができる。

二分子膜を形成するジアルキルアンモニウム塩の NMR スペクトルを見ると、各ピークの線幅が著しく広がっており、アルキル鎖の分子運動が抑制されているようである¹²⁾。Fig. 3 には一連のアンモニウム塩の重水溶液 (10mM) のメチレンプロトン線幅の温度依存性を示している²⁰⁾。メチレン基のシグナル幅は $2\text{C}_{18}\text{N}+2\text{C}_1$, $\text{C}_{18}\text{C}_{12}\text{N}+2\text{C}_1$, $\text{C}_{18}\text{C}_8\text{N}+2\text{C}_1$, CTAB ($\text{C}_{16}\text{N}+3\text{C}_1$) の順で大きく変動しており、この順序は Table 1 に示した二分子膜形成能の有無とよく対応している。とくに、 $2\text{C}_{18}\text{N}+2\text{C}_1$ については 40 $^{\circ}\text{C}$ 前後を境にして半値幅が大きく変化し、

Fig. 3 メチレンプロトンシグナルの線巾の温度依存性

- (a) $2\text{C}_{18}\text{N}+2\text{C}_1\text{Br}^-$ (b) $\text{C}_{18}\text{C}_{12}\text{N}+2\text{C}_1\text{Br}^-$
(c) $\text{C}_{18}\text{C}_8\text{N}+2\text{C}_1\text{Br}^-$ (d) CTAB

Table 3 ^1H の緩和時間

	$\text{C}_{18}\text{C}_{12}\text{N}+2\text{C}_1\text{Br}^-$			CTAB		
	メチル	メチレン	N-メチル	メチル	メチレン	N-メチル
T_1 (sec)	0.5	0.3	0.3	0.4	0.3	0.3
T_2 (sec)		0.016	0.025		0.06	0.2

これは前に述べた結晶液晶転移に関係しているものと思われる。リン脂質であるジパルミトイルレシチン (DPL) でも同様な現象が見られるが、低温側における半値幅の増加は $2\text{C}_{18}\text{N}+2\text{C}_1$ の場合よりも大きい。したがって、 $2\text{C}_{18}\text{N}+2\text{C}_1$ 二分子膜は DPL 二分子膜よりも分子配列がゆるやかであると結論されている。しかし、CTAB のようなミセルや膜構造の発達していない $\text{C}_{18}\text{C}_8\text{N}+2\text{C}_1$ 会合体に比べると大幅にかたくなっている。

一方、出口らは $2\text{C}_{18}\text{N}+2\text{C}_1$ 系についてのみ線幅の温度依存性を調べているが、相転移温度付近で線幅の変化が不連続的であることを見だし、これを転移点付近で親水基の水和度が変化するために生ずる磁気異方性の効

果であるとしている¹⁵⁾。

Fig. 3 の結果などから求められたプロトンの緩和時間 T_1 T_2 の例を Table 3 に与えている。 T_1 はいずれの化合物についてもほぼ同じであるが、 T_2 の値は両者の間で大幅に変化している。これは二分子膜形成の結果、分子運動の異方性が著しく高まったことを示しており、分子の長軸に対して直角方向の回転運動が凍結されて行くのに対応すると推定されている。

蛍光性分子を可溶化し、その蛍光の偏光解消を測定してプローブ分子の運動性に対する微視的環境の影響を検討する方法は、ミセルや生体膜の研究で非常に有効である。

Fig.4 は1,6-ジフェニル-1,3,5-ヘキサトリエン (DPH) を蛍光プローブとしてジアルキルアンモニウムならびに生体脂質 DPL の二分子膜について動特性を調べたものである²⁰⁾。蛍光偏光度 (Fig. 4 たて軸) は一般に低温で大きくなり、蛍光プローブの回転運動が次第に妨げられてゆくことを示す。 $2\text{C}_{18}\text{N}+2\text{C}_1$ 二分子膜については DPL 二分子膜と同じく、相転移点付近で偏光解消度の急激な

蛍光プローブ, DPH

変化が見られる。しかし、 T_c 以下の温度では、 P の値から見て DPL の微視的環境の方が粘度が高い。他方、 $\text{C}_{18}\text{C}_{12}\text{N}+2\text{C}_1$ および $\text{C}_{18}\text{C}_8\text{N}+2\text{C}_1$ の P の値は CTAB の値に近く、ミセルに似た微視的環境をもっている。また、 T_c 以上の温度領域では、蛍光プローブの回転運動に関しては二分子膜とミセルはほぼ同様な微視的環境を与えている。

ESR スペクトルも生体膜の研究に有力な武器となる。

スピンプローブ

Fig. 4 DPH プローブの蛍光偏光度の温度依存性
(a) ジパルミトイルレシチン (b) $2\text{C}_{18}\text{N}+2\text{C}_1\text{Br}^-$
(c) $\text{C}_{18}\text{C}_{12}\text{N}+2\text{C}_1\text{Br}^-$ (d) $\text{C}_{18}\text{C}_8\text{N}+2\text{C}_1\text{Br}^-$
(e) CTAB

スピンプローブとして脂肪酸型のものを用い、分子軸

Fig. 5 オーダーパラメータ (S_r) の温度依存性

方向の回転運動の目安であるオーダーパラメータ S_r を求める²¹⁾。 $S_r=1$ のときはプローブは棒状となり完全な一軸回転、 $S_r=0$ では等方回転である。 Fig. 5 は二分子膜 (10mM) 存在下での S_r 温度依存性を示すものである。 S_r は温度の上昇とともに低下する。 生体脂質 DPL の場合、その相転移点 (41°C) 付近で S_r の減少率が急に変わるが、 $2C_{18}N+2C_1$ 、 $2C_{12}N+2C_1$ では大きな変化は見られない。 また、コレステロールを添加すると S_r が増加するが、効果は DPL の方が著しい。

以上、静的、動的な方法によるアンモニウム二分子膜の構造に関する研究を紹介したが、この合成二分子膜が

リン脂質二分子膜とよく似た物理化学的性質をもつことは明らかである。

4. アンモニウム二分子膜の機能

4.1 保持と透過

生体脂質を水に分散して得られる小胞体——リポソーム——は、膜を隔てて内水層と外水層を持つ。また疎水性な膜部分もある。これらの構造を生かした薬物運搬体 (drugcarrier) としての利用は数多く研究されている。アンモニウム塩二分子膜についても同様な利用が可能である。

Fendler ら¹⁴⁾は、 $2C_{18}N+2C_1Cl^-$ を十分に超音波照射して水に分散し、透明水溶液を得た。こうして得られたベシクルを用いて種々の化合物の保持 (entrapment) 実験を行った結果が Table 4 である。親水性アミノ酸の保持率は良くない。とくに、L-セリンはベシクルの内外面に同程度に保持され、膜を自由に透過するとされている。一方、正電荷をもつ2-アミノピリジン塩酸塩がカチオンベシクルに保持されることは内水層を考えなければ説明つかない。長鎖アルキル基をもつ疎水性のダンシル誘導体の保持率は高い。

生体膜では脂質の二分子膜の結晶液晶相転移が膜透過などの生理機能と直接的に関連すると考えられている。合成二分子膜においても、物質透過に対する相転移の効果を明らかにすることは重要である。

梶山ら²²⁾はポリマーと $2C_{18}N+2C_1Br^-$ のブレンド膜を用いて水透過性を測定している。ポリマーとしてポリカーボネートを用いた場合、ジアルキルアンモニウム塩

Table 4 $2C_{18}N+2C_1Cl^-$ ベシクル内への保持

基 質	% 保 持 ^{a)}	% も れ ^{b)}
L-アラニン	1.2	
L-セリン	1.8	22.0 (3hrs)
8-アザグアニン	34(1.8) ^{c)}	7.2 (3hrs)
2-アミノピリジン塩酸塩	0.05	
ダンシル-n-オクタデシルアミン	62(54) ^{c)}	20hr後検出もできず

a) 超音波分散の際に加えた全基質量に対して

b) セルローズチューブを用いて 25°C 所定時間透析

c) カッコ内の値はレシチンリポソームを用いた場合

の液晶転移温度で透過のアレニウスプロットに不連続な増加が認められる。ポリ塩化ビニルをポリマーとして用いた場合も、水透過係数はやはりこの系におけるアンモ

ニウム塩の液晶転移温度で急激に増加する。

4.2 触媒作用

CTABなどアンモニウム型界面活性剤のミセルは、一

Table 5 アシル基移動の速度定数^{a)}

添加アンモニウム塩 1×10 ⁻³ M	k _a (M ⁻¹ sec ⁻¹)		
	LImAm	chol-HA	cholest-Im
なし	12	25	12
CTAB	1620	4600	194
2C ₁₂ N+2C ₁	1430	1250	3980

a) 30°C 3 v/v EtOH, μ=0.01 (KCl)

Table 6 ベシクル間およびベシクル内反応速度の比較

実 験	k _{obsd} , sec ⁻¹			
	2C ₁₂ N+2C ₁ Br ⁻		CTAB	
	PNPA	PNPP	PNPA	PNPP
シリーズA (ベシクル間)	0.53	0.032	0.066	0.12
シリーズB (ベシクル内)	0.45	7.8	0.065	0.19

反応条件=30°C, pH 9.5, μ=0.01

[cholest-Im]=1×10⁻⁴ M, [2C₁₂N+C₁ Br⁻]=1×10⁻³ M

[CTAB]=2×10⁻³ M

般にアニオン性試剤の反応性を上昇させることが知られているが、アンモニウム二分子膜の場合はそれに加えて膜構造に由来する様々な特異的触媒作用を期待することができよう。第一の例として、(1)式に示す酢酸 *p*-ニトロフェニル(PNPA)より求核試薬へのアシル基移動反応を球状ミセル、アンモニウム二分子膜の存在下で行って得た反応速度定数を Table 5 にまとめている。

長鎖のアルキル基をもつ求核剤 LiImAmは、CTAB, $2C_{12}N+2C_1$ のいずれを加えても100倍以上速度が上昇する。コール酸基を有する chol-HA については、CTABを加えた方が速度が大きい。ところが cholest-Im では逆に $2C_{12}N+2C_1$ を加えた方が CTAB 系よりも20倍以上速度が大きい。このことはコール酸誘導体とコレステロール誘導体とは二分子膜へのとり込まれる位置が異なることを示唆する。

基質としてより疎水性の大きい PNPP を用いると、cholest-Im 触媒による加水分解反応でベシクル内とベシクル間の反応速度が著しく異なる²⁴⁾。Table 6 は触媒と基質を別々にアンモニウム会合体に保持させて反

Fig. 6 プロトン引抜反応

Fig. 7 脱炭酸反応のアレニウスプロット

応した場合(シリーズA)と、両方の試剤を超音波照射により同一の会合体に保持させて反応した場合(シリーズB)の、みかけの速度定数(k_{obsd})を比較したものである。

PNPP 基質の場合には二つのシリーズの間で速度定数はほとんど変わらず、この基質がベシクル間を自由に交換していることを示している。これに対し、PNPP を基質として用いると CTAB ミセル中では両シリーズの速度定数はほぼ等しいが、 $2C_{12}N+2C_1$ 中では200倍以上の差が生じる。すなわち、 $2C_{12}N+2C_1$ ベシクル間の PNPP の交換は反応速度よりもかなり遅いことが明らかである。その後の研究により、PNPP 基質のベシクル間再分配の時間は $10^4 \sim 10^5$ sec を要すると推定されており、通常のミセル系で交換速度が $10^{-6} \sim 10^{-3}$ sec であるのと比較す

ると圧倒的に遅い。以上の結果は、反応ストック水溶液の aging 効果、エタノール添加効果などとも矛盾しない。

次に (2) 式に示すプロトン引抜きを律速する分解反応はカケオンミセル内のアニオン試剤により容易に起こることが知られている。そこで LBHA を塩基とし、一連の長鎖ジアルキルアンモニウム塩存在下に反応を行った。

Fig. 6 は 10°C, 30°C, 40°C で行なった結果をまとめたものである。いずれの温度でもアンモニウム塩添加量を増して行くとき速度の極大が認められる。40°C では二次速度定数 $k_{2\text{obsd}}$ はアルキル鎖長とともに増大し、二分子膜会合体の疎水性の上昇に伴う LBHA アニオンの活性化を反映しているものと思われる。しかし、反応温度が低下するにつれ加速の順序は変わり、とくに $2C_{18}N+2C_1$ による加速効果が小さくなる。このことはおそらく膜の流動性の低下と関係があり、52°C 付近に相転移点をもつ $2C_{18}N+2C_1$ 膜の場合にその効果が最も大きいものと思われる。

6-ニトロベンズイソオキサゾール-3-カルボキシレートアニオンの脱炭酸反応 ((3) 式) は媒体のマイクロ環境を敏感に反映することが知られている²⁵⁾。

ジアルキルアンモニウム塩を加えると反応は加速され、 $1 \times 10^{-3}M$ 付近で飽和値に達する。この点で求めた速度の Arrhenius プロットを Fig. 7 に示す。別に求めた二分子膜の相転移温度の範囲をグラフ中に点線で与えた。いずれの場合も相転移温度付近で屈曲点が認められ、膜の転移が加速効果に影響していることは明らかである。

5. 二分子膜を形成するその他の化合物

合成二分子膜はジアルキルアンモニウム化合物に限らず、他の様々な化合物より作り出すことができる。リン酸、スルホン酸、カルボン酸アニオンを親水基とするジアルキル化合物は二分子膜を形成する²⁶⁾。Mortara らも、最近、ジヘキサデシルホスフェートについて同様な結論を得ている²⁷⁾。一方、非イオン (ポリオキシエチレン) 基、双性イオン基を親水基として含むジアルキル化合物も二分子膜を形成する²⁸⁾。さらに、一部かたい構造をもつ 1 本鎖型界面活性剤からも安定な二分子膜が形成される²⁹⁾、この結果を進展させて分子両末端にアンモニウム親水基をもつ化合物からは安定な一分子膜が形成される³⁰⁾。

6. おわりに

以上、ジアルキルアンモニウム塩より得られる二分子

膜を中心にして、化学構造、物理化学的性質、機能について説明した。とくに物理化学的性質に関しては、多くの点で生体脂質の二分膜と類似していることが明らかになった。化学構造の系統的な変化が容易であること、空气中で極めて安定であることなどはリン脂質二分子膜には見られない合成二分子膜の特長であろう。当初の予定ではジアルキルアンモニウム系以外の合成二分子膜および一分子膜、高分子による膜構造の修飾についても詳細に述べる積りであったが、紙数の関係で省略した。しかし、これらの系をすべて含めて考察することにより、初めて、合成膜系の合体像が明らかとなるものであることだけは強調しておきたい。

なお、我々の研究については電子顕微鏡の使用に関し九州大学工学部高柳素夫教授にたいそう御世話になった。厚くお礼を申し上げる。

文 献

- 1) H. Ti Tien: Ed. "Bilayer Lipid Membranes," Marcel Dekker, New York (1974) Chapter 2.
- 2) 奥山政高, 吉田忠義: 膜, **1**, 263 (1976)
- 3) J. M. Gebicki, M. Hicks: *Nature*, **243**, 232 (1973)
- 4) J. M. Gebicki, M. Hicks: *Chem. Phys. Lipids*, **16**, 142 (1976)
- 5) M. Hicks, J. M. Gebicki: *Chem. Phys. Lipids*, **20**, 243 (1977)
- 6) W. R. Hargreaves, D. W. Deamer: *Biochemistry*, **17**, 3759 (1978)
- 7) A. W. Ralston, D. N. Eggenberger, P. L. Du Brow: *J. Am. Chem. Soc.*, **70**, 977 (1948)
- 8) 国枝博信: 日化誌, **1977**, 151, 1428.
- 9) H. Kunieda, K. Shinoda: *J. Phys. Chem.*, **82**, 1710 (1978)
- 10) C. Tanford: *J. Phys. Chem.*, **76**, 3020 (1972); "The Hydrophobic Effect" Wiley-Interscience, New York (1973), Chapt. 12.
- 11) C. Tanford: *Science*, **200**, 1012 (1978)
- 12) T. Kunitake, Y. Okahata: *J. Am. Chem. Soc.*, **99**, 3860 (1977)
- 13) T. Kunitake, Y. Okahata, K. Tamaki, F. Kumamaru, M. Takayanagi: *Chem. Lett.*, **1977**, 387.
- 14) C. D. Tran, P. L. Klahn, A. Romero, J. H. Fendler: *J. Am. Chem. Soc.*, **100**, 1622 (1978)
- 15) K. Deguchi, J. Mino: *J. Colloid Interface Sci.*, **65**, 155 (1978)
- 16) T. Kunitake, Y. Okahata: *Chem. Lett.*, **1977**, 1337.
- 17) 中島直敏, 林田尚一, 米森和之, 国武豊喜: 第31回コロイドおよび界面化学討論会, 1978年10月富山, 要旨集 p. 258.
- 18) T. Kajiyama, Y. Hamada, F. Kumamaru, M. Takayanagi, Y. Okahata, T. Kunitake: *Rept. Progr.*

- Polymer Phys. Japan*, **21**, 701 (1978)
- 19) A. Tradien, V. Luzzati: *J. Mol. Biol.*, **75**, 711 (1973)
- 20) T. Nagamura, S. Mihara, Y. Okahata, T. Kunitake, T. Matsuo: *Ber. Bun. senges. Phys.Chem.*, **82**, 1093 (1978)
- 21) 楠木 直：ミクロシンボジウム「合成二分子膜の構造と機能」1978年12月，於福岡，要旨集 p. 35.
- 22) E. Maemura, Y. Nagata, T. Kajiyama, M. Takayanagi: *Rept. Progr. Polym. Pjys. Japan*, **21**, 221 (1978)
- 23) 岡畑恵雄，棚町正一，平川慎一，国武豊喜：第27回高分子討論会予稿集，1978年11月，京都
- 24) T. Kunitake, T. Sakamoto: *J. Am. Chem. Soc.*, **100**, 4615 (1978)
- 25) たとえば S. Shinkai, S. Hirotsu, T. Kunitake: *J. Org. Chem.*, **42**, 306 (1977)
- 26) T. Kunitake, Y. Okahata: *Bull. Chem. Soc. Japan*, **51**, 1877 (1978)
- 27) R. A. Mortara, F. H. Quina, H. Chaimovich: *B.B.A. Res. Commun.*, **81**, 1080 (1978)
- 28) 岡畑恵雄，棚町正一，永井勝，国武豊喜：第27回高分子年会予稿集 *Polymer Preprints, Japan*, **27**, 231 (1978)

生体膜に関する国際学会について

生体膜に関する国際学会が下記のように行われますので，ご関心ある方はそれぞれの連絡先 (inbo) へお問合わせ下さい。

- 1) March, 30th, 1979, in Zürich: Symposium on "Ionophore und Ionentransport durch Membranen" (Swiss Chemical Society.). Info: Prof. L. Venzani, ETH-Zentrum, CH 8092 Zürich, Switzerland.
- 2) May 6-11th, 1979 in Israel: "Transfer of Cell Constituents in Eucaryotic Cells" (Israel Scientific Research Conferences) Info: Dr. S. Gairon, Natl. Council for Research and Development, Hakirya Building 3, Jerusalem.
- 3) June, 10-15th, 1979 in Rome: "Specialized Membrane Functions" (Italian Group of Bioenergetics). Info: Prof. L. Masotti, Istituto di Chimica Biologica, Ospedale Maggiore, Via Gramsci 15, I 43100 Parma, Italy.
- 4) July, 16-19th, 1979, in London: Endocrinology '79. Info: Conference Secretariat, The Endocrine Unit, Royal Postgraduate Medical School, DuCane Rd., London W 12 0HS.
- 5) Oct. 1-10th, 1979, in Heidelberg: "Membranes and the Cytoskeleton". Info: European Molecular Biology Laboratory, Dr. G. Warren, Postbox 1022.09, D 6900 Heidelberg, FRG.
- 6) Oct. 17-20th, 1979 in Munich: International Conference and Poster Presentation on "Elektrokinetic Properties and Functions of Bioparticles". Info: Prof. K. Hannig, Max-Planck-Institut für Biochemie, D 8033 Martinsried/b. München, FRG.