論文特集「薄膜の形成と構造」

(日本化学会誌, 1987, (11), p. 2199~2204)

© 1987 The Chemical Society of Japan

二分子膜構造の解析法とその検証

(1987年4月27日受理)

奥山健二*・小沢 裕・梶山千里**

両親媒性化合物の形成する二分子膜構造を調べるための解析プログラムを作製し、単結晶構造解析によりその構造が詳細にわかっている化合物に適用してプログラムの有効性を検討した。その結果、X線回折データ数が適当ならば、二分子膜中での大まかな分子のパッキング構造に対する知見は本解析プログラムを用いて十分得られることがわかった。

両親媒性化合物の分子構造には固定された構造部分が多く、二面体角を変えても分子全体の形態が極端に変化することはない。そのため分子構造が多少、正しい構造とは異なった構造のものを用いても解析結果に影響しないため、本解析プログラムでは二分子膜中での分子鎖パッキング構造を検討できるという利点がある。

この解析法は両親媒性化合物の結晶性粉末試料、キャストフィルム、Langmuir-Blodgett膜などの解析に適用できるが、対称心のないX膜、Z膜については解析できないという制限がある。

1 序 論

生体の示す特徴の一つに、分子が自発的に会合して高次の集合体を形成する自己組織化の現象がある。生命活動を支える生体膜の基本構造である脂質二分子膜は、この分子集合体の代表的なもののといえよう。この二分子膜構造は当初、生体由来の天然脂質だけが形成できると考えられていた。ところが人工的に全合成された両親媒性化合物でも、生体膜と類似した二分子膜構造を形成することが明らかにされ¹⁾、その後様々なタイプの合成二分子膜に関する研究が盛んとなってきた。この合成両親媒性化合物による二分子膜形成は、自己組織化現象のもっとも簡単な例と考えられる。

著者らは、系統的に合成された両親媒性化合物の二分子膜構造を調べることによって、二分子膜形成における会合原理、あるいは自己組織化力などが脂質分子の化学構造と、どのように関係しているのかを解明できないかと考え、種々の合成二分子膜構造をX線回折法を用いて調べている。最近、生体膜と同様の二本鎖型の合成両親媒性化合物とアゾベンゼン発色団を含む一本鎖型の合成両親媒性化合物において二分子膜構造を保持した単結晶の作製に成功し、原子レベルでの精密な構造解析を行なった^{2)~5)}。一本鎖型化合物については、吸収スペクトルを基にした量子化学的計

算から発色団が head-to-tail で配向している J-会合を形成していることが予想されていたが⁶⁾、単結晶X線構造解析により、この予想が正しいことを明らかにした⁴⁾⁵⁾。

しかし、一般には二分子膜を形成する両親媒性化合物はX線回折可能な大きさの単結晶にまで成長することはきわめてまれである。そこで単結晶の作製が困難な化合物についても、その二分子膜構造を調べるために、結晶性粉末試料あるいはキャストフィルムから得られるX線回折データを基に、膜中での分子の会合形態を調べる解析法を考え、二、三の合成二分子膜構造の解析に適用してきた⁷⁾⁸⁾。この解析方法は結晶性粉末だけでなく、Langmuir-Blodgett膜や二分子膜液晶中での会合形態解明への適用も可能である。本論文では、最近、単結晶から得た精密な構造解析結果に基づき解析プログラムの有効性及び適用限界を検討したので報告する。

2 X線回折データと解析方法

2本鎖型化合物の dimethylditetradecylammonium bromide (以下 $2\text{C}_{14}\text{N}^+2\text{C}_1\text{Br}^-$ と略記する)、アゾベンゼン発色団を含む一本

4) K. Okuyama, H. Watanabe, M. Shimomura, K. Hirabayashi, T. Kunitake, T. Kajiyama, N. Yasuoka, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **59**, 3351(1986).

5) 渡辺 均, 奥山健二, 小沢 裕, 平林 潔, 下村政嗣, 国武豊喜, 安岡則武, 日化, 1987, 550.

6) M. Shimomura, R. Ando, T. Kunitake, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.*, **87**, 1134(1983).

7) T. Kunitake, M. Shimomura, T. Kajiyama, A. Harada, K. Okuyama, M. Takayanagi, *Thin Solid Films* **121**, L89 (1984).

8) A. Harada, K. Okuyama, A. Kumano, T. Kajiyama, M. Takayanagi, T. Kunitake, *Polymer J.*, **18**, 281 (1986).

東京農工大学工学部高分子工学科, 184 小金井市中町

** 九州大学工学部応用化学科, 812 福岡市東区箱崎

1) T. Kunitake, Y. Okahata, *J. Am. Chem. Soc.*, **99**, 3860(1977).

2) K. Okuyama, Y. Soboi, K. Hirabayashi, A. Harada, A. Kumano, T. Kajiyama, M. Takayanagi, T. Kunitake, *Chem. Lett.*, 1984, 2117.

3) 飯島直美, 奥山健二, 平林 潔, 国武豊喜, 梶山千里, 安岡則武, 日本結晶学会予稿集, p. 2004 (1985).

Fig. 1 Chemical formulas and their abbreviations of synthetic amphiphiles used in this study

Fig. 2 Flow-chart of structure analysis

鎖型化合物 4-[5-[(2-hydroxyethyl)dimethylammonio]pentyloxy]-4'-(dodecyloxy)azobenzene bromide (以下 $\text{C}_{12}\text{AzoC}_5\text{N}^+\text{Br}^-$ と略記) および 4-[10-[(2-hydroxyethyl)dimethylammonio]decyloxy]-4'-(octyloxy)azobenzene bromide (以下 $\text{C}_8\text{AzoC}_{10}\text{N}^+\text{Br}^-$ と略記する) の 3 種類の合成両親媒性化合物を試料として用いた。これらの構造式を図 1 に示す。 $2\text{C}_{14}\text{N}^+ 2\text{C}_1\text{Br}^-$, $\text{C}_{12}\text{AzoC}_5\text{N}^+\text{Br}^-$ については単結晶からの回折強度データを, $\text{C}_8\text{AzoC}_{10}\text{N}^+\text{Br}^-$ については水溶液からの溶剤キャストフィルムの回折写真から得た強度データを用いた。

構造解析のフローチャートを図 2 に示す。粉末試料やキャストフィルムの中角 X 線回折像を撮影し, 回折の間隔距離, 回折強度 (I_{obs}) を測定する。得られた回折強度 (I_{obs}) の Lorentz 補正を行ない, 実測の構造振幅 (F_{obs}) を求める。ただし, 本論文においては $2\text{C}_{14}\text{N}^+ 2\text{C}_1\text{Br}^-$ と $\text{C}_{12}\text{AzoC}_5\text{N}^+\text{Br}^-$ については単結晶構造解析のさいに測定した強度データの中で, 二分子膜厚方向に対応する ($h00$) 反射強度を用いた。本論文で解析に用いた実測の構

Table 1 Observed structure amplitudes (F_l) of $2\text{C}_{14}\text{N}^+ 2\text{C}_1\text{Br}^-$, $\text{C}_{12}\text{AzoC}_5\text{N}^+\text{Br}^-$ and $\text{C}_8\text{AzoC}_{10}\text{N}^+\text{Br}^-$

$2\text{C}_{14}\text{N}^+ 2\text{C}_1\text{Br}^-$		$\text{C}_{12}\text{AzoC}_5\text{N}^+\text{Br}^-$		$\text{C}_8\text{AzoC}_{10}\text{N}^+\text{Br}^-$	
$L=29.8\text{ \AA}$		$L=34.2\text{ \AA}$		$L=39.0\text{ \AA}$	
F_1	10	F_1	10	F_9	3780
F_2	12	F_2	1942	F_{10}	1674
F_3	45	F_3	3687	F_{11}	2118
F_4	72	F_4	4947	F_{12}	3365
F_5	42	F_5	809	F_{13}	6599
F_6	120	F_6	8576	F_{14}	4858
		F_7	5755	F_{15}	4143
		F_8	7679	F_{16}	6351
				F_{17}	7322
				F_{18}	2112
				F_{19}	1714
				F_{20}	1684
				F_{21}	1445
				F_{22}	3195
				F_{23}	2886
				F_{24}	2098
				F_1	10
				F_2	43
				F_3	33
				F_4	33
				F_5	39
				F_6	125
				F_7	111
				F_8	108

造振幅 (F_{obs}) の値を表 1 にまとめた。

一方, 可能な二分子膜モデルを計算機により系統的に作製し, それぞれのモデルについて計算の構造振幅 (F_{cal}) を求める。計算の構造振幅 (F_{cal}) と実測の構造振幅 (F_{obs}) がもっともよく一致した膜モデルを, 最適二分子膜構造とする。分子モデルを作製するためには, 類似化合物間で変化の少ない結合距離, 結合角を既知の値に固定し, 内部回転角だけをパラメーターとして系統的に変化させた。しかしながら, 多くの二分子膜形成化合物では疎水性基の大部分は剛直であり, 実際に変化させなければいけない内部回転角は数箇所となる。本試料においては, $2\text{C}_{14}\text{N}^+ 2\text{C}_1\text{Br}^-$ のアルキル鎖部分, アゾベンゼン化合物のスペーサー部とテール部のアルキル鎖部分はいずれも結晶-液晶転移点以下ではトランスジグザグ構造に固定できるし, アゾベンゼン部分も *ap*-形 (トランス) 構造に固定できる。したがって, 実際に変化させる必要があるのは, これらの平面構造間の内部回転角だけとなる。このようにして得られた分子モデルを二分子膜内にパッキングするためには, 分子の膜面に対する傾き角 (θ_1), 分子軸周りの回転角 (θ_2), 分子座標原点と膜座標原点の間の膜厚方向への距離 (l) が新たなパラメーターとなり, これらを系統的に変化させて二分子膜モデルを作製する (図 3)。

このようにして得られたそれぞれのモデルについて, 全原子の膜に垂直方向の成分 (Z 座標) を用いて, 計算の構造振幅 (F_{cal}) を次式で求めた。

$$F_{\text{cal}}(l) = \sum_{j=1}^n f_j \cos 2\pi (lZ_j) \quad (1)$$

ここで, f_j , Z_j はそれぞれ j 番目原子の原子散乱因子と膜厚方向の分率座標を, l は長周期に基づく回折の次数を示している。なお, 実測と計算の構造振幅の一致度は (2) 式である R -因子により評価した。

$$R = \frac{\sum |(F_{\text{obs}}^2 - F_{\text{cal}}^2)|}{\sum (F_{\text{obs}}^2)} \quad (2)$$

3 結果および考察

3.1 $2\text{C}_{14}\text{N}^+ 2\text{C}_1\text{Br}^-$

単結晶の X 線構造解析が行われた両親媒性化合物の中で, もっとも化学構造が単純な二鎖型化合物 Dimethylditetradecylammonium bromide ($2\text{C}_{14}\text{N}^+ 2\text{C}_1\text{Br}^-$) の膜構造の解析を行ない, 本解析プログラムの有効性を調べた。単結晶からの三次元強度データの ($h00$) 反射 ($h=1\sim 6$ までの 6 反射, あるいは $h=1\sim 4$

Fig. 3 Schematic illustration of a bimolecular layer

Fig. 4 Molecular conformation of $2\text{C}_{14}\text{N}^+ 2\text{C}_1\text{Br}^-$ (a) obtained from single crystal analysis (b) artificially generated with symmetric alkyl chains

の4反射)を強度データとして用いた。分子構造解析結果³⁾(図4a)に固定し、2本のアルキル鎖のうち、折れ曲がりのない方のアルキル鎖方向を分子軸とし、このまわりの回転(θ_2)、二分子膜面と分子面の成す角(θ_1)、分子座標と膜座標の原点間距離の膜に垂直方向の成分(t)の3パラメーターだけを変数として(2)式から求めた R -因子の最適値を求めた。図5aは $h=1\sim6$ の6個の強度データを用いて、 $\theta_2=170^\circ$ での $\theta_1(0\sim90^\circ)$ まで 5° 間隔)と $t(0\sim4\text{ \AA})$ まで $0.25\text{ \AA}$ 間隔)の二つのパラメーターを変化させたときの R -因子を調べたものである。分子座標の原点は親水基中の N^+ 上を取ってあるので親水基部分の大きさを考えれば、並進 t は $0\sim4\text{ \AA}$ までの間を調べれば十分である。 θ_2 についても $0\sim180^\circ$ まで 10° ごとに同様の R -因子図を作成して調べたが、 $\theta_2=170^\circ$ がもっとも R -因子の低い部分であったので、これを選んだ。図中の*印は単結晶構造解析の結果得られた構造の θ_1 と t の値であり、本解析で得た最適領域と一致した。つぎに強度データの数がどの程度解析に影響するかを調べるために反射数を4個に減らし($h=1\sim4$)、同様の解析を行なった(図5b)。その結果、最適な構造領域は($\theta_1=40^\circ$, $t=3.00\text{ \AA}$)に移動し、そのほかに($\theta_1=80^\circ$, $t=3.25\text{ \AA}$)にも新しく現われた。

Fig. 5 R -Factor map of $2\text{C}_{14}\text{N}^+ 2\text{C}_1\text{Br}^-$ by using (a) 6 reflections and (b) 4 reflections

* Denotes the θ_1 and t obtained from the single crystal analysis
Solid lines and dashed lines indicate $R=0.50$ and 1.00 , respectively

しかし、二つの最適領域に対応する膜構造モデルを van der Waals モデルで作製してみると(図6a, b), 前者は空間的にすき間なくパッキングしており安定な構造であるが、後者(b)ではたがいに向き合った分子が重なってインターディテイトした

Fig. 6 The plausible bilayer model of $2\text{C}_{14}\text{N}^+2\text{C}_1\text{Br}^-$
(a) and (b) correspond to those in Fig. 5

構造をしており、二分子膜表面近くの密度が低く安定構造とはいえない。前者のモデルが優れていることは明らかである。

つぎに、分子の配座が解析にどの程度影響するかを調べるために、分子配座を2本のアルキル鎖がまったく等しく親水基近くで折れ曲がっているような構造(図4b)に固定した。この場合にはアルキル末端部分の長さがそろい、単結晶の構造解析から得た構造とは分子末端が大きく異なっている。しかしながら、 $h=1\sim 6$ の回折データを使った解析の結果、最適構造は、($\theta_1=40^\circ$, $t=2.25\text{ Å}$, $\theta_2=170^\circ$)であり、正しい分子構造を使った結果とはほぼ同じであった。この程度の分子構造の違いは分子のパッキング構造には影響しないことがわかった。このことは本解析法の限界を示すとともに、実際の解析においては利点ともなっている。すなわち、分子構造の概略さえ正しければ本解析法により正しい膜構造が得られるということは、実際には分子構造、膜構造ともに未知な化合物を対象にするのであるから、膜構造解析における分子構造に関するパラメータを減らすことが可能となる。

このように $2\text{C}_{14}\text{N}^+2\text{C}_1\text{Br}^-$ の場合には本解析法が非常に有効であり、わずか4個のX線回折から正確でない分子構造を使っても、二分子膜中での分子のパッキング構造は導出できることがわかった。

3.2 $\text{C}_{12}\text{AzoC}_5\text{N}^+\text{Br}^-$

アゾベンゼン発色団を含む一本鎖型化合物の中でスペーサーの炭素数が5のものは、いわゆる head-to-tail の J-会合をしており、テール部の炭素数が12, 10, 6の化合物では単結晶の構造解析を行なっている(図7)⁴⁵⁾。そこで、 $\text{C}_{12}\text{AzoC}_5\text{N}^+\text{Br}^-$ 単結晶の($h\ 00$)反射のうち、 $h=1\sim 24$, $1\sim 7$, $1\sim 4$ の3種類の反射の組に対し、単結晶の構造解析により得た分子構造を用いて二分子膜中での会合形態を調べた。24 または7個の反射を用いて解析した結果はほぼ同じであり、7個の反射から得た R -因子図を図8aに示す。 θ_2 は 42° 付近が最適であり、($t=3.0\text{ Å}$, $\theta_1=30^\circ$)

Fig. 7 Packing of $\text{C}_{12}\text{AzoC}_5\text{N}^+\text{Br}^-$ projected onto the c -plane⁴⁾

Fig. 8 R -Factor map of $\text{C}_{12}\text{AzoC}_5\text{N}^+\text{Br}^-$ by using (a) 7 reflections and (b) 4 reflections

付近と($t=2.5\text{ Å}$, $\theta_1=45^\circ$)付近の二つの領域が最適領域であることがわかった。単結晶の構造解析結果(*印)は前者の領域中にあり、図7に示すように二分子膜中でテール部を向かい合わせ

Fig. 9 The plausible bilayer model of $C_{12}AzoC_5N^+Br^-$

(a) and (b) correspond to the two positions in Fig. 8 (a)

にした2本の分子鎖が対になり、膜面に対して約 30° 傾いてパッキングしておりテール部アルキル鎖の重なりはない。図 9 a にはこの構造を van der Waals 模型で図示した。それに対してもう一つの領域における構造は、図 9 b に示すようにたがいに向き合った分子鎖の疎水部の大部分が重なってパッキングしている。この二つのパッキング構造モデルにおいても、 $2C_{14}N^+2C_1Br^-$ の場合と同様、後者の構造は非常に不安定であり膜構造モデルとしては不適当であろう。親水基断面積と疎水基断面積の比の検討など^{3)~5)}立体化学的な検討を行なえば、容易に単結晶構造解析から得られた構造に到達する。反射数が4個に減った場合(図 8 b)には、反射数が7個の(図 8 a)と R -因子図は大きく異なり、単結晶構造解析により得た構造は最適領域に含まれていなかった。 $C_{12}AzoC_5N^+Br^-$ の場合には反射数が解析結果に大きく影響し、解析に用いるデータ数が解析結果に致命的な影響を与える例となった。

3.3 $C_8AzoC_{10}N^+Br^-$

$C_8AzoC_{10}N^+Br^-$ は単結晶に成長させることはできず、正確な膜内での分子の会合状態は不明である。しかし、アゾベンゼン発色団に基づく吸収スペクトル波長のブルーシフトより、発色団が平行配向したいわゆる H-会合であると予想されている⁹⁾。また、この化合物は他の $C_nAzoC_mN^+Br^-$ 試料と異なり、ソルベントキャストによりセルフサポート可能な高配向膜が得られるので、この配向膜から得た膜厚方向の情報を含む子午線上の8個の回折データを用いて膜中での会合状態を調べた。分子の配座は $C_{12}AzoC_5N^+Br^-$ の単結晶構造解析結果に基づき、アルキル鎖長だけを $C_8AzoC_{10}N^+Br^-$ のものにした分子モデルを用いたときの R -因子図を図 10 に示す。最適領域は $2C_{14}N^+2C_1Br^-$ のときに似て非常に狭く、ただ一つのパッキング構造の可能性を示唆した。その構造を図 11 a に示す。分子鎖はたがいに入り組んでおり、いわゆるインターディジテイトした構造である。隣り合うアゾベンゼン発色団はほぼ完全に重なり合って平行に配向しており H-会合を示唆する分光光学データとも矛盾しない。また、これら発色団は膜面の法線方向に対して約 30° 傾いていた。従

Fig. 10 R -Factor map of $C_8AzoC_{10}N^+Br^-$
Inner solid line denotes $R=0.30$

Fig. 11 The plausible bilayer model of $C_8AzoC_{10}N^+Br^-$

来、ブルーシフトを示す場合には発色団が完全に重なり合ったモデルがよく示されてきた。しかし、本解析で得られた発色団の 30° 程度の傾きは、H-会合の本来の定義⁹⁾からも矛盾しないものであろう。

J-会合する $C_nAzoC_mN^+Br^-$ の化合物においては、他のアゾベンゼンを含む化合物にくらべアゾベンゼン部分の構造が、非常に平面性がよいことが指摘されている⁴⁾⁵⁾。会合形態の異なる $C_8AzoC_{10}N^+Br^-$ の分子構造ではアゾベンゼン部分の平面性は悪いことも十分考えられるので、二つのベンゼン平面とアゾ基平面を $\pm 30^\circ$ だけねじった構造の分子についても解析を行なった。しかしながら、この平面間を結ぶ二つの結合の方向が分子軸方向とほぼ平行であるために、このねじれは分子全体の形態にはあまり影響せず、最終構造も図 11 の構造と変わらなかった。

$C_8AzoC_{10}N^+Br^-$ の二分子膜中でのパッキング構造については、既に本解析方法による初期のプログラムを用いて解析した⁷⁾。そ

9) V. Czikkely, H. D. Forsterling, H. Kuhn, *Chem. Phys. Lett.*, **6**, 207(1970),

こで得られた構造は本質的には今回の構造と同じであるが、アゾベンゼン発色団がほぼ膜面に垂直となって (図 11 b), 今回得られたモデルとはやや異なっている。この原因は主として分子構造モデルの作製にあたって、ベンゼンリングとこれに結合している酸素、および窒素原子との結合角をすべて 120° に固定していたのに対して、今回は $C_{12}AzoC_5N^+Br^-$ の構造解析結果を参考にして 1-4 相互作用のある結合角は 125° , 反対側の結合角は 115° としたので、分子全体の形態が変化したためである。ただし、 $C_8AzoC_{10}N^+Br^-$ の分子構造においてはアゾベンゼン部分の平面性は不明であり、このような 1-4 相互作用を考慮すべきであるかどうかはわからず、本解析法では分子構造の違いに基づく図 11 の a と b 二つのパッキング構造程度の差の区別はできない。

4 結 論

両親媒性化合物の形成する二分子膜構造を調べるための解析プ

ログラムを作製し、プログラムの有効性を検討するために単結晶構造解析により構造が既知の化合物に適用した。その結果、この解析法はわずか数個の X 線回折データを用いて、かなり正確に二分子膜中での分子鎖パッキングに関する情報を与え得ることがわかった。しかしながら、未知構造の探索にあたっては可能ながざりの回折データを得ておくことが重要であり、データ数が少ないときは、最適領域が広がる場合 ($2C_{14}N^+2C_1Br^-$ の場合) だけでなく、正しい構造を含まない場合 ($C_{12}AzoC_5N^+Br^-$ の場合) もあることがわかった。

この解析法は、両親媒性化合物の結晶性粉末試料、キャストフィルム、Langmuir-Blodgett 膜などの膜構造を調べるさいに利用できるが、(1) 式にみるように膜構造中に対称心のない X 膜、Z 膜の解析はできないという制限はある。また (1) 式からわかるように、計算の構造因子は膜厚方向の座標 Z だけの関数であり、膜面に平行方向の構造情報は本解析からは得られない。

Special Articles on Thin Films—Preparation, Structure and Properties

Method of Analysis for Bilayer Structures and Its Verification

Kenji OKUYAMA*, Yutaka OZAWA and Tisato KAJIYAMA**

*Faculty of Technology, Tokyo University of Agriculture and Technology;
Naka-machi, Koganei-shi 184 Japan*

*** Faculty of Engineering, Kyushu University; Hakozaki, Higashi-ku,
Fukuoka-shi 812 Japan*

To investigate bilayer structures of amphiphilic compounds based on X-ray diffraction data, the method of analysis was designed and programmed for the computer calculation. In order to verify this program, it was applied to the analyses of wholly synthetic amphiphiles whose bilayer structures were determined precisely by X-ray single crystal analyses. The result shows that the program is very effective for investigating molecular aggregation states, especially when there are enough number of reflections which have information about a repeating period of a bimolecular layer. Since many amphiphilic compounds have only small number of flexible parts of their molecular conformation in a gel state, the important parameters for the molecular packing in a bilayer structure are not those regarding the molecular conformation, but the inclination angle of the molecule to the bilayer surface and the translation of the molecule along the direction normal to the surface. The agreement between calculated and observed structure amplitudes is very sensitive to these two parameters.

This program is applicable to the structure analyses of crystalline powder, casting films and Langmuir-Blodgett films of amphiphilic compounds, but cannot be applied to those of X- and Z- built-up films because of their non-centrosymmetric structures.