薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
107 (9) 676-682 (1987)

卵黄レシチンと高級アルコールの混合単分子膜中における分子間相互作用

中垣正幸,^{1a)} 市橋宏明*,^{1b)}

京都大学薬学部

Intermolecular Interactions between Egg Lecithin and *n*-Long Chain Alkanols in Mixed MonolayersMASAYUKI NAKAGAKI^{1a)} and HIROAKI ICHIHASHI*,^{1b)}

Faculty of Pharmaceutical Science, Kyoto University, Yoshida-Shimoadachi-cho, Sakyo-ku, Kyoto, 606, Japan

(Received February 23, 1987)

Mixed monolayers of egg lecithin (EYPC) with myristyl alcohol ($C_{14}OH$), cetyl alcohol ($C_{16}OH$) or stearyl alcohol ($C_{18}OH$) were spread at air-water interface. The surface pressure mean area (F - A) curves for the mixed monolayers were obtained. F - A curves of the mixed monolayers followed the equations of state of virial type: $FA/kT=c+b/A$. For $C_{18}OH$ -EYPC and $C_{16}OH$ -EYPC systems except for those of low high alcohol concentration, each FA/kT vs. $1/A$ plot showed a break point. Limiting areas obtained by extrapolating the plots to $FA/kT=0$ showed that the mixed monolayers of EYPC and $C_{14}OH$ or $C_{16}OH$ were expanded although the mixed monolayers of EYPC and $C_{18}OH$ were rather condensed. It was concluded that attractive force between hydrocarbonchains of $C_{14}OH$ or $C_{16}OH$ was decreased by EYPC.

Desorption of $C_{14}OH$ from the monolayers under constant area was studied. The desorption rate of $C_{14}OH$ was enhanced by the addition of a small amount of EYPC and practically depressed by the addition of equal or more moles of EYPC. It was concluded that a small amount of EYPC made $C_{14}OH$ molecules to be in high energy state.

Keywords—egg lecithin; *n*-alkanol; monolayer; mixed monolayer; desorption; state equation; virial type equation

低級アルコールが麻酔作用を持つことが知られている。²⁻⁵⁾ Seeman は多くの麻酔薬について赤血球に対する作用を調べ麻酔薬は赤血球膜に浸入し赤血球を膨張させることを示した。⁶⁾ また麻酔薬が脂質二分子膜⁷⁾ や生体膜⁸⁾ の流動性を高めることも報告されている。前報においてブタノールとヘキサノールはアルコールのモル分率 0.1 付近で卵黄レシチン (EYPC) 単分子膜を膨張させることを示した。⁹⁾

低級アルコールは水中におけるりん脂質のゲル-液晶転移温度を低下させるが炭素数 10 以上の高級アルコールは逆にその転移温度を高め麻酔効果ももたない。²⁾ 本実験は低級アルコールと高級アルコールの脂質膜に対する作用の違いを調べる目的で、EYPC とミリスチルアルコール ($C_{14}OH$)、セチルアルコール ($C_{16}OH$) 又はステアリルアルコール ($C_{18}OH$) との混合単分子膜をつくりその表面圧 (F)-面積 (A) 曲線から EYPC と高級アルコールの単分子膜中での相互作用について研究した。また炭素数 16 以上のアルコールは気水界面に安定な不溶性単分子膜として展開できるが $C_{14}OH$ は気水界面の展開単分子膜から溶解する。そこで溶解速度の解析から $C_{14}OH$ 単分子膜に対する EYPC の効果についても研究した。

実験の部

試料 EYPC は卵黄から抽出分離した。⁹⁾ ミリスチルアルコール ($C_{14}OH$)、セチルアルコール ($C_{16}OH$)、ステアリルアルコール ($C_{18}OH$) は日本油脂製で純度は 99.9% 以上である。

表面圧の測定 水を蒸留後イオン交換樹脂を通し更にガラス製容器で 2 度蒸留した。脂質はベンゼンに溶か

し単分子膜として展開する直前に混合し目的の組成比の溶液を調製した。蒸留水をポリメタクリル樹脂製トローに入れ表面を2—3回バリアーで掃いた後 Agla 社製のマイクロメーターシリンジで試料溶液を表面に滴下した。10分放置後膜の圧縮を開始した。それぞれ圧縮後1ないし2分後の表面圧を測定した。表面圧は石英製のプレートを用いたねじり秤（島津製作所製 T-NR 型）にかかる張力を測定して求めた。温度は水相にガラス製曲管を沈め $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$ に保った。

一定面積における C_{14}OH の溶解 C_{14}OH 単分子膜又は C_{14}OH と EYPC の混合単分子膜からの C_{14}OH の溶解による表面圧の減少を測定した。脂質溶液を展開後速やかに所定の面積まで膜を圧縮し表面圧を時間を追って測定した。圧縮を終了した時点を経験時間 0 とした。

組成及び平均面積の表現 混合単分子膜のモル分率 (x_1) 及び平均面積 (A) は次式によって表した。

$$A = A_T / (N_1 + N_2) \quad (1)$$

$$x_1 = N_1 / (N_1 + N_2), \quad x_2 = N_2 / (N_1 + N_2) \quad (2)$$

ここで A_T は単分子膜に覆われた面積, N は分子数, 下添え字 1, 2 はそれぞれアルコール, レシチンを表す。

結 果

1. 混合単分子膜の表面圧-面積曲線

C_{14}OH 単分子膜は C_{14}OH が水相に溶けるため表面圧の減少が起こる。したがって, C_{14}OH の含量の高い混合単分子膜の F - A 曲線は通常行われる膜を順次圧縮する方法では求めることができない。

そこで今回は単分子膜に覆われた面積を一定に保ち表面圧の変化を追跡し, 表面圧を経験時間 0 に外挿して初期表面圧を求め, 表面圧-面積の関係を 1 点ずつ求めた。

C_{14}OH 単分子膜及び $x_2 = 0.14, 0.28$ の混合膜の定表面積における表面圧は溶解の初期においては次

Fig. 1. Surface Pressure (F)-Mean Area (A) Curves of Mixed Monolayers of Egg Lecithin and Myristyl Alcohol of Various Mole Fraction of Egg Lecithin (x_2)

x_2 : (1), 0; (2), 0.14; (3), 0.28; (4), 0.53; (5), 0.66; (6), 0.76; (7), 0.89; (8), 1.0.

Fig. 2. Surface Pressure (F)-Mean Area (A) Curves of Mixed Monolayers of Egg Lecithin and (a) Stearyl Alcohol and (b) Cetyl Alcohol of Various Mole Fraction of Egg Lecithin (x_2)

x_2 : (a): (1), 0; (2), 0.14; (3), 0.28; (4), 0.41; (5), 0.53; (6), 0.66; (7), 0.76; (8), 0.89; (9), 1.0.
(b): (1), 0; (2), 0.13; (3), 0.25; (4), 0.38; (5), 0.50; (6), 0.63; (7), 0.75; (8), 0.88; (9), 1.0.

Fig. 3. Mean Area (A) vs. Mole Fraction of Egg Lecithin (x_2) at Various Surface Pressures (F) for Mixed Monolayers of Egg Lecithin and (a) Myristyl Alcohol, (b) Cetyl Alcohol or (c) Stearyl Alcohol

F (mN m⁻¹): ●, 2; ⊖, 5; ○, 15; ⊙, 25.

式の関係が成立した。

$$F = F_1 + at^{1/2} \quad (3)$$

ここで F_1 は $t^{1/2}$ を 0 に外挿して得られる初期表面圧で a は見掛けの溶解速度定数である。

モノラウリン¹⁰⁾及びラウリン酸¹¹⁾について単分子膜からの溶解が式 (3) に従うことが報告されている。

初期表面圧と初期平均面積の関係 (F_1 - A_1 曲線) を Fig. 1 に ■ 印で示す。 $x_2 \geq 0.53$ の単分子膜では表面圧は 30 mN·m⁻¹ でも減少しなかったので通常の圧縮法で得た F - A 曲線を ● 印で示す。

$C_{16}OH$ 又は $C_{18}OH$ と EYPC との混合単分子膜の F - A 曲線を Fig. 2 に示す。 $C_{16}OH$ 及び $C_{18}OH$ は気水界面に安定な単分子膜をつくる。 $C_{16}OH$ 及び $C_{18}OH$ 単分子膜は液体凝縮膜から固体凝縮膜への変化がみられた。 EYPC は膨張膜であった。 $C_{14}OH$ 単分子膜の F - A 曲線は $C_{16}OH$, $C_{18}OH$ と良くにており凝縮膜であることを示している。

2. 平均面積と組成の関係

混合単分子膜の一定表面圧における平均面積の組成変化を Fig. 3 に示す。破線は次式で計算される平均値である。

$$A_{calc} = A_1x_1 + A_2x_2 \quad (4)$$

ここで A_1 , A_2 はその表面圧における純成分の単分子膜中の分子占有面積である。混合に伴う面積変化 (ΔA) を

$$\Delta A = A - A_{calc} \quad (5)$$

で表すと、EYPC と $C_{14}OH$ との混合単分子膜では ΔA はほとんどの組成、表面圧では正であったが、EYPC と $C_{18}OH$ の混合単分子膜では ΔA は負になった。 $C_{16}OH$ 系でも膨張は認められたが $C_{14}OH$ 系に比べると EYPC の多い時に起こった。

これらの結果は $C_{14}OH$ では分子間の凝集力が弱く少量の EYPC でも $C_{14}OH$ 単分子膜を膨張させることができるがメチレンが 2 つ多い $C_{16}OH$ の単分子膜を膨張させるためには比較的多い量の EYPC が必要であること、更にメチレンが 2 つ多い $C_{18}OH$ では EYPC は $C_{18}OH$ の凝集力によってむしろ収縮することを示している。

3. $C_{14}OH$ の単分子膜からの溶解

単分子膜の溶解機構については多くの報告がある。¹⁰⁻¹⁶⁾ 一定表面積における単分子膜の溶解に関しては前報に述べた方法に従い解析した。¹⁶⁾

Fig. 4. Dependence of (a) Real Desorption Rate Constant (k) of Myristyl Alcohol and (b) $C_s \sqrt{D}$ on Initial Surface Pressure (F_1)

Mole fraction of egg lecithin, x_2 : ○, 0; ●, 0.14; ⊙, 0.28.

C_{14}OH のみの単分子膜及び混合膜からの C_{14}OH の溶解は初期においては表面濃度 (Γ) は拡散過程が律速である式 (6) に従った.

$$1 \ln \Gamma / \Gamma_i = -k t^{1/2} \quad (6)$$

ここで下添え字 i は初期値, k は溶解速度定数, t は時間である. この場合 subsurface の濃度 (C_s) については, C_{14}OH の水中の拡散定数を D とすると溶解の初期において次式で与えられることが導かれている.¹⁶⁾

$$C_s D^{1/2} = \Gamma_i k \pi^{1/2} / 2 \quad (7)$$

溶解速度定数及び subsurface 濃度と表面圧 F_1 との関係を Fig. 4 に示す. 溶解速度定数は $10 \text{ mN} \cdot \text{m}^{-1}$ 以上では $x_2 = 0.14$ の時が $x_2 = 0, 0.28$ より大きくなっていた. Fig. 4 b に示すように $x_2 = 0.14$ の単分子膜の subsurface 濃度は $x_2 = 0$ の時とほぼ同じであった. $x_2 = 0.14$ の方が表面濃度が小さく, 溶解速度が大きいことから単分子膜中における C_{14}OH の自由エネルギーの増加していることが結論される.

考 察

1. 混合単分子膜の状態式

実在気体について圧力はビリアル形の状態式で表すことができる. 単分子膜についても気体膜ではおなじくビリアル形の状態式

$$F/kT = 1/A + B/A^2 \quad (8)$$

すなわち

$$FA/kT = 1 + B/A \quad (9)$$

が報告されている.¹⁷⁾ ここで B は 2 次元気体の第 2 ビリアル係数である. 我々は EYPC と n -アルカノールの混合単分子膜についてビリアル展開を適用した. Fig. 5 に FA/kT と $1/A$ のプロットを示す. EYPC と EYPC 含量の高い単分子膜については FA/kT と $1/A$ の間に直線関係が成立した. しかしこれ等は気体膜ではないために切片は 1 にはならなかった. すなわちこれ等の単分子膜は次の状態式で表される.

$$FA/kT = c + b/A \quad (10)$$

ここで b, c は実験的に求まる定数である。C₁₈OH との混合単分子膜では x_2 が 0.76 以下で、C₁₆OH では x_2 が 0.5 以下で FA/kT と $1/A$ の関係はそれぞれ式 (10) で表される 2 本の直線から成っていた。屈折点以上の直線の傾きは屈折点以下の直線の傾きより大きくなっていた。これは単分子膜が圧縮率の高い状態から低い状態に変化することを示している。したがってこの 2 つの状態を高圧縮率状態、低圧縮率状態と呼ぶことにする。C₁₆OH, C₁₈OH については高圧縮率状態は液体凝縮膜、低圧縮率状態は固体凝縮膜に対応する。本実験では C₁₄OH 系において FA/kT と $1/A$ の関係に明瞭な屈折点は認められなかったが、Harkins の報告している C₁₄OH 単分子膜の $F-A$ 曲線¹⁸⁾は C₁₆OH や C₁₈OH と同様に液体凝縮膜から固体凝縮膜への転移点をもっていることから C₁₄OH 単分子膜についても低圧縮率状態は存在するものと考えられる。しかし $x_2=0.28$ 以下では $F-A$ 曲線の測定点の数が少ないため 2 つの状態を区別するのに不十分である。

b, c の物理的意味は液体膜について提案されている他の状態式のパラメーター¹⁹⁾と同じようにはっきりしていない。しかし Fig. 5 の直線を $FA/kT=0$ に外挿して得られる極限面積は表面圧が 0 のときに占める仮想的な面積を意味している。この極限面積を A_0 で表せば、式 (10) から b, c によって

$$A_0 = -b/c \quad (11)$$

で表される。 A_0 と組成の関係を Fig. 6(a) に示す。

高圧縮率状態の膜では、C₁₄OH-EYPC 及び C₁₆OH-EYPC 系では膨張が認められた。膨張効果は C₁₄OH の方が C₁₆OH より大きかった。C₁₈OH-EYPC 系では膨張は起こらなかった。

低圧縮率状態の膜では C₁₈OH は膜を収縮させ、C₁₆OH は膜を膨張も収縮もさせなかった。このように Fig. 3 に示した平均面積と組成の関係は低表面圧のときは高圧縮率状態、高表面圧のとき低圧縮率状態の極限面積でみられた収縮または拡張効果がよく反映されていることが分かる。

2. アルコールと EYPC との単分子膜中における分子間相互作用

ここで用いたアルコールの分子種間には分子面積に大きな違いはないが EYPC との混合膜になると平均面積に差を生じた。混合単分子膜の平均面積のアルコールの分子種による違いはアルコールと EYPC の炭化水素鎖間の凝集力の大きさがアルコールの炭素数によって変化するためと考えられる。アルコールは凝縮膜、EYPC は膨張膜である。凝縮膜では炭化水素鎖は伸びて固体に近い密な配列をし、膨張膜では炭化水素鎖は熱運動により屈伸を行い液体に近い状態とされている。²⁰⁾ 混合膜では膜の状態の異なる成分の混合であるため分子の状態は、凝縮膜に近い状態から膨張膜に近い状態まで変化する。直鎖脂肪酸の単分子膜の分子面積は凝縮膜から膨張膜の転移に伴い大きく変化し、同じ表面圧で比較した場合、温度又は炭素数の違いによる面積の差は小さく、むしろ状態の変化による面積の違いが大きいたことが知られている。²⁰⁾ そこで混合単分子膜の極限面積の大きさから膜内

Fig. 5. FA/kT vs. A^{-1} Plots for Mixed Monolayers of Egg Lecithin and (a) Stearyl Alcohol, (b) Cetyl Alcohol or (c) Myristyl Alcohol

x_2 : (a): (1), 0; (2), 0.14; (3), 0.28; (4), 0.41; (5), 0.53; (6), 0.66; (7), 0.76; (8), 0.89; (9), 1.0.
 (b): (1), 0; (2), 0.13; (3), 0.25; (4), 0.38; (5), 0.50; (6), 0.63; (7), 0.75; (8), 0.88; (9), 1.0.
 (c): (1), 0; (2), 0.14; (3), 0.28; (4), 0.53; (5), 0.66; (6), 0.76; (7), 0.89; (8), 1.0.

Fig. 6. Relationship (a) between Limiting Area (A_0) and Mole Fraction of Egg Lecithin (x_2), and (b) between Limiting Area per Hydrocarbon Chain (A_0') and Hydrocarbon Chain Fraction of Egg Lecithin (y_2)

○, myristyl alcohol; ⊙, ⊗, cetyl alcohol; ●, ●, stearyl alcohol. ○, ⊙, ●, high compressibility state; ⊗, ●, low compressibility state.

での分子間相互作用について考察した。アルコールとレシチンはそれぞれ1, 2個の炭化水素鎖を分子内に持っている。そこで混合膜の極限面積を炭化水素鎖当たりの面積 (A_0') に換算し EYPC の炭化水素鎖分率 (y_2) に対してプロットした結果を Fig. 6 (b) に示す。ただし $A_0' = A_0/(1+x_2)$, $y_2 = 2x_2/(1+x_2)$ である。アルコール及び EYPC の A_0' は 0.21—0.22 及び 0.56 nm²·mol⁻¹ であり、それぞれ凝縮膜、膨張膜であることを反映している。²⁰⁾ 混合膜では、C₁₄OH と C₁₆OH は高圧縮率状態の膜では y_2 の大きいところはレシチンの A_0' とほとんど変わらない。このことは EYPC 単分子膜中に入ったこれらのアルコール分子は EYPC と同じような液体膨張膜のような状態になっていることを示している。高圧縮率状態では C₁₄OH, C₁₆OH は EYPC との混合によりアルコール分子の密な接触が妨げられ、分子間凝集力が弱められた結果、膨張膜に近い面積にまで膨張すると推定される。炭素数の少ない C₁₄OH の方が C₁₆OH に比べて少ない EYPC 量で膨張膜のような状態に変化することを示している。

$x_2 = 0.14$ における C₁₄OH の溶解速度は C₁₄OH 単分子膜のみより高くなっており、単分子膜中で C₁₄OH の分子運動が盛んになっていることを示唆している。溶解する成分に対し不溶性成分を加えていくと溶解速度が減少することが知られている¹⁰⁾が、C₁₄OH-EYPC 系では溶解速度の極大を生じた。この理由として、C₁₄OH-EYPC 系では x_2 が 0 から 0.28 の範囲で極限面積の変化の大きく、 $x_2 = 0.14$ は膜の状態が凝縮膜から膨張膜へ変化する中間領域にあると考えられる。そのため単分子膜中での分子運動が盛んになった結果溶解速度が高くなると推定される。

前報⁹⁾ でブタノール、ヘキサノールは EYPC 単分子膜をレシチンのモル分率 0.9 付近で著しく膨張させることを明らかにした。C₁₄OH や C₁₆OH と EYPC の混合単分子膜では ΔA が正であるが Fig. 6 (b) に示したように y_2 の大きな時には A_0' はほとんど変わらない。 A_0' が EYPC の値より大きくならないことからこれらのアルコールは EYPC 単分子膜を乱し分子間力を弱めるとは考え難い。C₁₆OH は低圧縮率状態で A_0' を小さくするので分子間凝集力を強め流動性を低下させると推定される。

以上より EYPC は C₁₄OH, C₁₆OH の分子間力を弱め単分子膜を膨張させる。C₁₄OH の場合単分子膜からの溶解速度も単分子膜中の EYPC による C₁₄OH の分子間力の減少を支持している。一方 C₁₆OH と EYPC との混合単分子膜では収縮効果がみられ単分子膜中では EYPC 単独のときより分子間凝集力が強められていることが明らかとなった。

引用文献及び注

- 1) 現住所: a) 星薬科大学, 〒142 東京都品川区荏原 2-4-41; b) 大日本製薬製品研究所, 〒564 吹田市江の木町 33-94.
- 2) M. J. Pringle, K. B. Brown, K. W. Miller, *Mol. Pharmacol.*, **19**, 49 (1981).
- 3) R. Brasseur, P. Chatelain, E. Geormaghtigh, J. M. Ruyschaert, *Biochim. Biophys. Acta*, **814**, 227 (1985).
- 4) G. B. Zavoico, L. Chandler, H. Kutchai, *Biochim. Biophys. Acta*, **812**, 299 (1985).
- 5) Y. Suezaki, H. Kayama, I. Ueda, *Biochim. biophys. Acta*, **818**, 31 (1985).
- 6) P. Seeman, S. Roth, H. Schneider, *Biochim. Biophys. Acta*, **225**, 171 (1971).
- 7) J. M. Vanderkooi, R. Landesberg, H. Selick II, G. G. McDonald, *Biochim. Biophys. Acta*, **464**, 1 (1977).
- 8) J. C. Metcalfe, A. S. V. Burgen, *Nature* (London), **220**, 587 (1968).
- 9) 中垣正幸, 市橋 等, 薬誌, **98**, 577 (1978).
- 10) 中垣正幸, 舟崎紀昭, 日化, **1972**, 995.
- 11) L. Ter Minassian-Saraga, *J. Colloid Sci.*, **11**, 308 (1956).
- 12) J. F. Baret, A. G. Bois, L. Casalta, J. J. Dupin, J. L. Firpo, J. Gonella, J. P. Meliton, J. L. Rodeau, *J. Colloid Interface Sci.*, **53**, 50 (1975).
- 13) L. Ter Minassian-Saraga, *J. Chim. Phys.*, **52**, 181 (1959).
- 14) C. S. Patlak, N. L. Gershfeld, *J. Colloid Interface Sci.*, **25**, 503 (1967).
- 15) N. L. Gershfeld, C. S. Patlak, *J. Phys. Chem.*, **70**, 286 (1966).
- 16) 中垣正幸, 舟崎紀昭, 日化, **1972**, 1576.
- 17) R. Defay, I. Prigogine, "Surface Tension and Adsorption," Longmans, Green & Co. Ltd., London, 1966, p. 209.
- 18) W. D. Harkins, R. T. Florence, *J. Chem. Phys.*, **6**, 848 (1938).
- 19) A. W. Adamson, "Physical Chemistry of Surfaces," Interscience Publishers, New York, 1967, p. 147.
- 20) G. I. Gaines, Jr., "Insoluble Monolayers at Liquid-Gas Interfaces," Interscience Publishers, New York, 1966, Chap. 4.