

脂質間相互作用に基づく人工膜組織形成

河波 伸一

2003年 3月

奈良先端科学技術大学院大学

第1章 序論

1

第2章 種々の水素結合部位をもつ脂質分子の合成

6

2-1. 序

6

2-2. 異なる水素結合部位を持つ4級アンモニウム型脂質の合成

9

2-2-1. *N,N*-ジヘキサデシル-*N*⁺-[6-(トリメチルアンモニオ)ヘキサノイル]グリシン
アミド ブロミド : $N^+C_5Gly_2C_{16}$

9

2-2-2. *N,N*-ジヘキサデシル-*N*⁺-[6-(トリメチルアンモニオ)ヘキサノイル]グリシル
グリシンアミド ブロミド : $N^+C_5Gly_2C_{16}$

12

2-2-3. *N,N*-ジヘキサデシル-*N*⁺-[6-(トリメチルアンモニオ)ヘキサノイル]グリシル
グリシルグリシンアミド ブロミド : $N^+C_5Gly_3C_{16}$

15

2-2-4. *N,N*-ジヘキサデシル-*N*⁺-[6-(トリメチルアンモニオ)ヘキサノイル]-L-アラニ
ンアミド ブロミド : $N^+C_5Ala_2C_{16}$

17

2-2-5. *N,N*-ジヘキサデシル-[6-(トリメチルアンモニオ)ヘキサノイル]-L-アラニル
-L-アラニンアミド ブロミド : $N^+C_5Ala_2C_{16}$

20

2-2-6. *N,N*-ジヘキサデシル-[6-(トリメチルアンモニオ)ヘキサノイル]-L-アラニル-
L-アラニル-L-アラニンアミド ブロミド : $N^+C_5Ala_3C_{16}$

22

2-2-7. *N,N*-ジヘキサデシル-*N*⁺[3-(トリメチルアンモニオ)プロピル]尿素 ブロミ
ド : $N^+C_3U_2C_{16}$

25

2-3. 異なる水素結合部位を持つシラン型脂質の合成

26

2-3-1. [*N*-(3-トリエトキシシリルプロピル)スクシナモイル]ジヘキサデシルアミ
ン : $(EtO)_3SiC_3Suc_2C_{16}$

26

2-3-2. *N,N*-ジヘキサデシル-*N*⁺[3-(トリエトキシシリル)プロピル]尿素 :
 $(EtO)_3SiC_3U_2C_{16}$

28

2-3-3. *N,N*-ジヘキサデシル-(4-トリエトキシシリル)酪酸アミド : $(EtO)_3SiC_3A_2C_{16}$

29

2-4. 総括

30

第3章 複数のアミノ酸残基を持つ脂質分子集合体の性質

31

3-1. 序

31

3-2. 二分子膜の相転移挙動

32

3-2-1. 試料の調製と測定法

32

3-2-2. 示差走査熱量分析

33

3-2-3. 赤外吸収分光法

33

3-3. 単分子膜の相転移挙動

35

3-3-1. 試料の調製と測定法

36

3-3-2. 表面圧-面積曲線

37

3-3-3. 圧縮率-面積曲線と単分子膜の相転移温度	38
3-3-4. 脂質単分子膜の相転移挙動に及ぼす水素結合部位の効果	39
3-4. 二分子膜、単分子膜での水素結合部位の導入効果の比較	47
3-4-1. 相転移挙動における差異	47
3-4-2. 赤外分光法による水素結合性の評価	48
3-5. 総括	49
 第4章 頭部にシロキサン結合形成部位を持つ脂質集合体「セラソーム」の性質	50
4-1. 序	50
4-2. セラソーム調製法の検討と会合挙動	51
4-2-1. 試料の調製と測定法	51
4-2-2. 動的光散乱法	54
4-2-3. 電子顕微鏡観察	54
4-2-4. ゼータ電位測定	56
4-2-5. 示差走査熱量分析	57
4-2-6. MALDI-TOF MASS 測定	58
4-3. 界面活性剤存在下のセラソームの会合挙動	59
4-3-1. 界面活性剤に対する耐性	59
4-3-2. 電子顕微鏡観察	63
4-3-3. 示差走査熱量分析	64
4-4. 総括	65
 第5章 結論	66
 引用文献	68
 謝辞	
 論文目録	

第1章 序論

近年、ナノデバイスの開発が盛んになっているが、そのための研究戦略の一つとして、「ボトムアップ」法で作られた分子レベルでのユニット材料を脂質膜などの集合体中に集積し、機能性分子同士の連携によって新たな機能を発現するといったシステムの構築に関する研究がなされている。また、そのようなユニット材料はサイズ分布が小さくナノメートルスケールの大きさであり、大量に作製できることが必要とされている¹⁻³⁾。

生体ではこの「ボトムアップ」によって非常に精緻なシステムが構築されている。生物の基本構成単位は細胞であり、細胞というユニットが有機的に連携し、組織、臓器というさらに大きなユニットを作り、それがさらに組織化することにより生物一個体となる(図 1-1)。このように階層的な組織化が可能であるのはそれぞれのユニットが外部の刺激に対して、応答はしても、本質的に変化せず、その機能を保ち続けるからである。

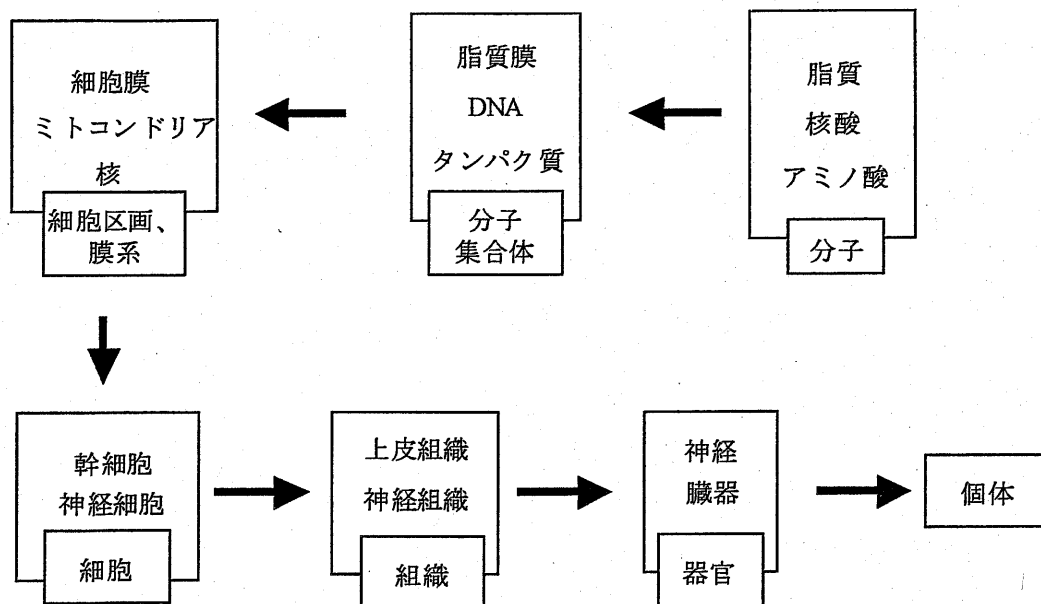


図 1-1 生体内における階層構造

この細胞というユニットは条件に応じて多様な応答を示す。近年、話題となっている、胚幹細胞(ES細胞)などはその代表的な例であり、ホルモンなどの様々な外部刺激に応じて、多種多様な臓器を構成する細胞に分化していく⁴⁾。このような複雑な応答は、細胞膜において特異的にシグナルを認識するレセプターにおいて外部刺激が受容され、その情報が細胞膜内に伝えられて応答するシステムが働くといった経路でなされる⁵⁾。このようなシグナル伝達システムによって細胞は状況に応じて的確に応答す

ることができる。また、膜の持つ疎水性は分子を効率よく集積するのに利用でき、かつ、疎水性場特有の反応を水中で可能にする。例えば、光を受容して、エネルギーに変換するような光合成系も膜内で構築されている⁶⁾。

そのような生体システムにインスパイアされて脂質膜を利用した人工シグナル伝達系⁷⁾や人工光合成系⁸⁾の研究が盛んに行われている。このようなシステムは近年、開発が盛んな一分子からなる高機能な分子デバイスを、脂質膜上に集積することで、一つのモジュールを構築したよい例である。このように脂質膜を用いて分子デバイスを集積することでさらに高度な応答をするデバイスの構築が可能である。

細胞膜は親水性頭部と疎水性尾部を持つ両親媒性物質である脂質分子、アミノ酸のポリマーであるタンパク質、糖の高分子である多糖を主な構成成分とする分子集合体である⁹⁾。これらの構成分子のうち脂質分子は水中で自己組織的に細胞膜類似の集合体を形成する。脂質分子を水中で自己組織化させて得られる二分子膜小胞はベシクルまたはリポソームと呼ばれ、その膜表面は親水的であり、膜中は疎水的な反応場を与える¹⁰⁻¹²⁾。この5 nm程度の二分子の厚さからなる脂質膜はイオン性分子などの透過を抑制し、膜内外の環境を差別化することができる¹³⁾。さらに疎水的な分子を集積することができ、高効率な反応系を構築することができることは前述の通りである。このように、脂質膜は、水中において疎水性の分子認識場を与え、この性質を利用して生体においては効率よく分子を集積し、高度な制御を要する反応系を構築している。また、リポソームは形態安定性がそれほど高くないため、集積化は難しいが、タンパク質同士の相互作用や配位結合を利用して溶液中での集積化には成功した例がある。
14-16)

脂質を有機溶媒に溶かし、気-水界面上に展開すれば、分子一層からなる単分子膜を形成させることができる¹⁹⁾。この単分子膜は二次元の集合体として数多くの研究がなされている²⁰⁾。また、単分子膜を Langmuir-Blodgett(LB)膜として基板上に集積し、LB膜の分子のレベルで厚さを制御するという特長を生かして応用に用いることができる。例えば、LB膜中では発色団の配向や充填状態を容易に制御でき、高い官能基密度を実現できる。それを利用して化学反応の速度および選択性を規制することが期待され、各種クロミック反応を通じてエネルギーや情報の変換素子としての応用が広く関心を集めている²¹⁾。また、生体模倣機能を有するLB膜を用いたセンサーを開発しようとする試みも多い。

一方、疎水部に長鎖ジアルキル基を有し、頭部にアルコキシシリル基を有するシラン型脂質は、酸または塩基性条件下でアルコキシド部位を加水分解してシラノール基に変換することで両親媒性を獲得し、二分子膜構造をとる。また、二分子膜集合体の形成により、頭部のシラノール基同士で重縮合が起こり、結果として二分子膜表面にシリカ類似のシロキサンネットワークが形成して膜構造が強化される。このようなベシクル状構造体は表面はシリカ粒子と同様であり、内部はリポソームのように二分子膜構造と内水相を持つ。この有機-無機ナノハイブリッドであるセラミックス表面を有するリポソーム型小胞体は「セラソーム」と呼ばれ、従来の集合体には見られない

高い機械的安定性を示す²⁸⁻³¹⁾。この高い安定性により、ベシクルの階層的集積化が可能となっている。

このような集合体を構築する分子の設計は一般に臨界充填パラメータという脂質頭部の大きさと分子の長さならびに体積という分子構造に依存するパラメータによって議論されており、それらのパラメータによってミセル、ベシクル、逆ミセルといった集合体の構造が決定される^{17,18)}。

しかし、これらの超分子薄膜は構成分子間の疎水性相互作用や van der Waals 力といった弱い相互作用で保たれているため、二分子膜においては形態安定性が十分ではなく、集合体を一つのユニットとして他の集合体と連携させて高次なシステムを構築することは非常に困難である。また、単分子膜においてもピンホールのような致命的な欠陥が生じるため、実際に応用する際に問題になる²²⁾。生体においては前述のように細胞というユニットをさらにそれぞれ連携させ、多細胞系である組織、さらには臓器、という様に階層的にシステムを形成する。このような組織化を可能にするためには、それぞれのユニットが刺激や集積に対して膜の形態や分子パッキングなどの膜物性を維持する必要がある。生体内においては細胞の膜安定性は形質膜内側の裏打ちタンパクや細胞壁などで膜の有用な物性を損なわないように補われている²³⁾。人工脂質二分子膜であるリポソームにおいてもこのような安定性を獲得すべく、様々な研究がなされている。

親水性頭部に4級アンモニウム基、疎水性尾部にジアルキル鎖を持ち、それらの間に水素結合部位として種々のアミノ酸を有する脂質はペプチド脂質と呼ばれており、リン酸エステルやカルボン酸エステルを有しないペプチド脂質はジアシルホスファチジルコリンに比べて化学的に安定であると予想される(図 1.2)。酸やアルカリに対する二分子膜集合体の化学的安定性は、例えば、示差走査熱量分析(DSC)によって確かめられている。また、ペプチド脂質からなる二分子膜ベシクルはリン脂質に比べて構造安定性が高く、少なくとも1ヶ月以上放置していても構造変化を起こさないことが、電子顕微鏡観察、¹H NMR、DSC、濁度測定により確かめられている。このような構造安定性の高さはペプチド脂質中のアミノ酸残基によるベシクル内水素結合帯形成から生じるものであると解釈されている²⁴⁾。

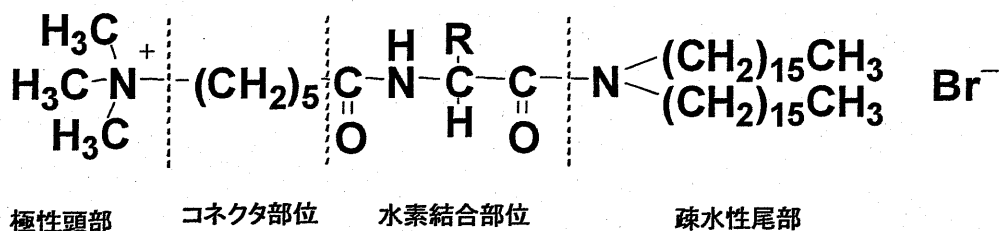


図 1-2. ペプチド脂質の基本構造

脂質間を共有結合でつなぐような重合性リポソームも精力的に研究されている²⁵⁾。

中でも、最近、疎水性尾部に光照射により隣接する分子同士を共有結合的にリンクできるジエン部位を導入し、リポソーム形成後、脂質分子同士を網目状に共有結合的にリンクできるように設計された脂質がよく研究されており²⁶⁾、この脂質からなるベシクルは光照射による重合後、大過剰の界面活性剤の添加に対しても形態を維持し、脂質間がクロスリンクされたベシクルは凍結乾燥後に再水和して再びベシクルを得ることができることが知られている²⁷⁾。また、前述したように頭部をシロキサンネットワークで連結することで集合体の形態安定性を高めたセラソームは従来のリポソームでは困難であった階層的集積化に成功している。

静電相互作用、水素結合、配位結合、*van der Waals* 力といった様々な非共有結合を分子設計に取り入れ、特異的な分子間相互作用が強くなるように設計された例は現在では枚挙にいとまがない。中でも、水素結合は、その持つ配向特異的な相互作用の特徴を利用して分子認識や立体の規制された集合体構築が行われてきた³²⁾。水素結合ドメインの形成は二分子膜でも前述のペプチド脂質のように膜安定性を高めるために用いられたり、膜内での脂質ラフト³³⁾構築のために導入されたりしている。また、アミノ酸残基を有する合成脂質は水中だけでなく、有機溶媒中でも水素結合を形成することにより安定な脂質集合体を形成することも知られている³⁴⁾。また、脂質分子への水素結合部位の導入は境界脂質のように膜タンパクを安定に脂質膜に構成できる可能性もある³⁵⁻³⁷⁾。

このように集合体物性の改良のために水素結合の利点を利用した研究は数多くあるが、同じ構造の脂質を用いてこれらの集合体物性に水素結合が及ぼす影響を系統的に検討した研究はこれまでにほとんど見られない。本研究では、水素結合部位を有しその二分子膜での集合体物性のよくわかっているペプチド脂質を用い、系統的に分子設計を変えて単分子膜の物性と比較することにより、単分子膜における分子間相互作用を評価した。また、前述のように非常に安定な集合体として設計された新規有機-無機ハイブリッドであるセラソームにおいても、水素結合などの分子間相互作用の導入が膜物性へ及ぼす影響は明らかにされていない。そこで、本研究においては、水素結合効果を積極的に利用して脂質の分子設計を行い、その様々な集合体物性に関する物理化学的測定を通じて、単分子膜、二分子膜、及びセラソームの分子組織体について脂質間相互作用と膜物性の相関を明らかにすることを目的とした。本論文はその成果をまとめたもので、この序章を含む5章からなっている。

第2章においては疎水性尾部と4級アンモニウム型頭部の間のコネクタ部に水素結合部位を導入した脂質および疎水性尾部と無機前駆体部位の間に水素結合部位を導入したシラン型脂質の合成について述べた。

第3章においては単分子膜、二分子膜の膜物性に分子間水素結合が及ぼす影響を系統的に検討した。二分子膜中において疎水性尾部と4級アンモニウム型頭部の間のコネクタ部に水素結合部位を導入した脂質において、水素結合部位の数や構成するアミノ酸残基を変え、その相転移挙動を検討した。また、この水中で形成される二分子膜について相転移前後での分子の状態を FT-IR 測定によって評価した。

水素結合部位の導入による単分子膜物性への影響について、二分子膜の場合と同様の脂質からなる単分子膜の表面圧-面積曲線の解析から相転移挙動を検討した。単分子膜と二分子膜の水素結合性の差異について FT-IR を用いて検討した。同様の脂質を用いて系統的に二分子膜と単分子膜の相転移挙動を調べることで、単分子膜と二分子膜における脂質間相互作用と膜物性の相関を明らかにした。

第4章においては新規の有機-無機ハイブリッド集合体であるセラソームにおいて、水素結合などの分子間相互作用と膜物性の相関について検討した。頭部にアルコキシシリル基をもつ二本鎖型脂質は、水中でゾルーゲル反応が進行し、表面にシリカセラミックス類似の無機骨格をもつリポソームである「セラソーム」を形成する。このセラソームの構造安定性に及ぼす水素結合の効果を明らかにするために、頭部と疎水性二本鎖の間に尿素基あるいはアミド基を導入したセラソーム形成脂質を新たに合成した。これらの脂質から形成されるセラソームについて、界面活性剤に対する耐性を光散乱法により評価した。また、その際の界面活性剤に対する耐性の時間依存性についても検討した。脂質中に導入した尿素基とアミド基の水素結合効果について相転移挙動から議論した。

第5章は本論文の総括である。

第2章 種々の水素結合部位を持つ脂質分子の合成

2-1. 序

Brockerhoff は生体膜の構造を考察して、リン脂質が極性頭部、水素結合帯部、二本鎖アルキル鎖の三つの特徴的構造単位から構成されていることを指摘している³⁸⁾。ここで極性頭部は脂質に水溶性を賦与するために、また、二本鎖アルキル鎖部は脂質の疎水性をより高めるとともに、脂質の分子形態を円筒型に保って二分子膜構造を形成させるために必須である。脂質の分子形態と会合構造との関連性については、臨界充填パラメータを用いることで定量的な議論が可能であることは先に述べたとおりである^{17,18)}。

一方、水素結合帯ではエステルやアミドなどのカルボニル基やアルコール、水の水酸基が水素受容基として働き、カルボン酸やアルコール、水に含まれる水酸基やアミドに含まれるアミノ基が水素供与基として働くと考えられる。合成ペプチド脂質はこの水素結合帯の概念を積極的に取り入れている。また、水素結合をより強固にするために水素結合部位を比較的疎水性の脱溶媒和された環境におく必要がある。このため、極性頭部とアミノ酸残基の間に炭化水素鎖のコネクターを導入した。このように設計されたペプチド脂質は高い形態安定性をもつことが知られている²⁴⁾。

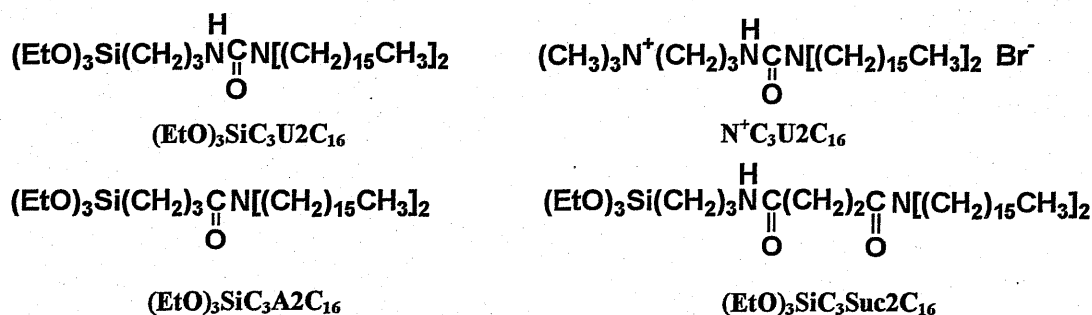
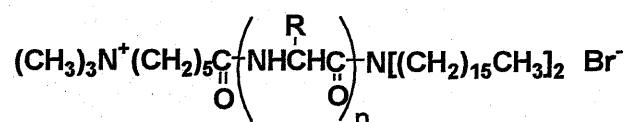
このように集合体を安定化することができる水素結合は、多点で作用するように設計すればより強い相互作用を分子間に導入できると考えられる。例えば、DNA やコラーゲンなどのように多点で水素結合することで通常は困難である水中での自己集合が可能になる。また、人工系においても、多点で分子間水素結合できるように設計した糖残基やオリゴペプチド残基を持つ双頭型合成脂質は、水中で自己集合することで繊維状高分子超構造体を形成することが知られている^{39,40)}。

本研究においては、これらの知見を基に分子間相互作用の強さの違いが膜物性に与える影響を検討するために、水素結合部位の数の異なるペプチド脂質を設計し合成した。水素結合部位にグリシンを1個から3個有するペプチド脂質 $[N^+C_5Gly_n2C_{16} (n=1-3)]$ を合成した。また、アミノ酸残基の違いによる膜物性への影響を検討するため、アラニン残基を1個から3個有するペプチド脂質 $[N^+C_5Ala_n2C_{16} (n=1-3)]$ も合成した。

一方、脂質頭部に親水性のシラノールの前駆体であるアルコキシシリル基を持ち、ジアルキル鎖の疎水部を持つ脂質前駆体は酸性条件下でアルコキシシランが加水分解されて、両親媒性物質となることによりベシクルを形成する。このとき同時にシラノール頭部同士の分子間縮重合によってベシクル表層にシリカ骨格類似の構造が形成され、形態安定性に優れたベシクルとなることが明らかとなっている。この安定なベシクルは「セラソーム」と名付けられた²⁸⁻³¹⁾。

本研究においては、まず、このシラン型脂質からなるセラソームと脂質間で重合反応を行わない4級アンモニウム型脂質からなるリポソームとの形態安定性を比較するため、アルコキシシラン部位とジアルキル疎水部の間に尿素部位を持つ脂質前駆体

[(EtO)₃SiC₃U₂C₁₆]と4級アンモニウム部位とジアルキル部位の間に尿素部位を持つ脂質[N⁺C₃U₂C₁₆]を合成した。また、この脂質への水素結合部位導入による集合体物性への影響を検討するため、水素結合しうる尿素部位を持つ脂質前駆体である(EtO)₃SiC₃U₂C₁₆の参照化合物として、水素供与部位がなく水素結合性が弱いと考えられる、3級アミドを有する脂質前駆体(EtO)₃SiC₃A₂C₁₆を合成した。また、初めてセラソームの形成が確認され、機械的安定性が高いといわれる(EtO)₃SiC₃Suc₂C₁₆²⁸⁻³¹⁾についても、ベシクル構造安定性の比較のため、合成を行った。これら脂質化合物の構造を図 2-1 にまとめて示した。



合成に使用した試薬は以下の通りである。

ブロモヘキサデカン (東京化成)
ヘキサデシルアミン (東京化成)
シアノホスホン酸ジエチル(DEPC)(東京化成)
ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)(和光純薬)
t-ブトキシカルボニルグリシン (BocGlyOH)(ペプチド研究所)
t-ブトキシカルボニル-L-アラニン (BocAlaOH)(ペプチド研究所)
トリフルオロ酢酸 (和光純薬)
6-ブロモヘキサン酸 (Aldrich Chemical Co., Ltd)
30% トリメチルアミン水溶液 (和光純薬)
3-トリエトキシプロピルアミン (信越化学工業)
3-トリエトキシシリルプロピルイソシアナート(Gelest Inc.)
3-ブロモプロピルイソシアナート(Avocado Research Chemicals Ltd.)
3-ブテン酸(東京化成)
トリエトキシシラン(チッソ株式会社)
白金-ジビニルテトラメチルジシロキサン錯体(Pt 2.0-2.4%)(Karstedt 触媒)
(Gelest Inc.)

これらの試薬は購入後、精製することなく用いた。合成に用いた溶媒のうち、乾燥溶媒については、テトラヒドロフランはナトリウムから蒸留したものを、ジクロロメタンは水素化カルシウムから蒸留したものを、また、特に明記していない場合は購入したものを精製せずにそのまま用いた。

目的化合物およびすべての合成中間体の構造確認には以下の機器を使用した。

¹H-NMR : JEOL JNM-LA400, JNM-LA600, JNM-EX270

融点測定 : Yanaco MP-500D

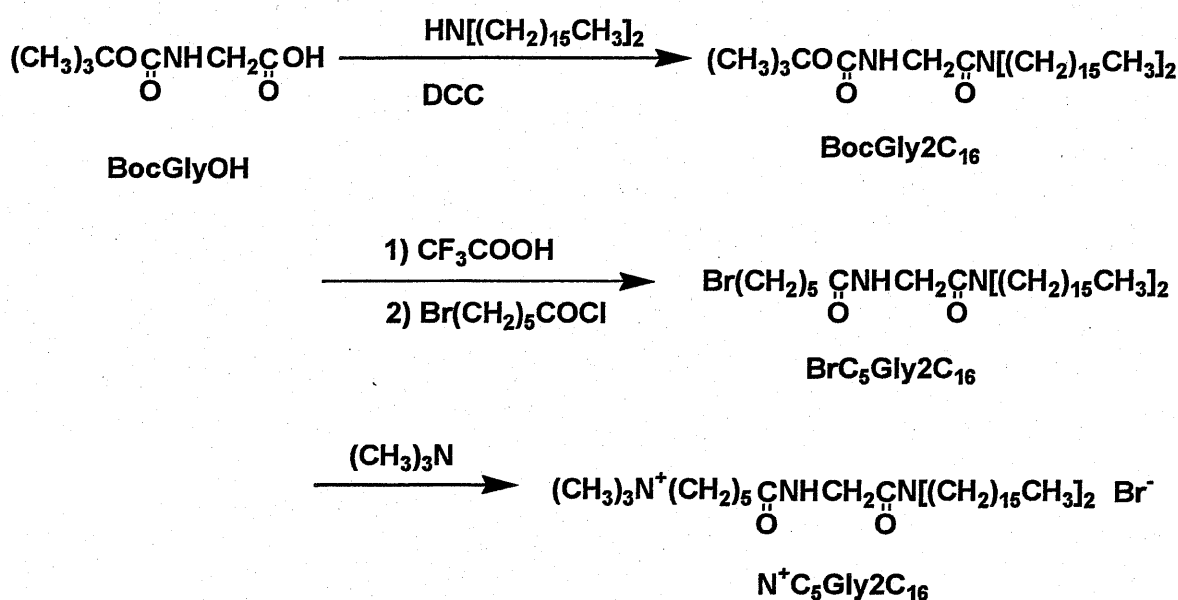
元素分析 : Perkin-Elmer 2400 CHNS/O Analyzer

2-2. 異なる水素結合部位をもつ4級アンモニウム型脂質分子の合成

主鎖に種々のアミノ酸を有する4級アンモニウム型脂質は村上らによって合成され、合成法もほぼ確立されている²⁴⁾。基本的にこの合成法に従い、縮合反応の進行しやすさなどを考慮し、適宜、縮合剤を変えて合成を行った⁴⁴⁾。

2-2-1. *N,N*-ジヘキサデシル-*N*^α-(6-トリメチルアンモニオヘキサノイル)グリシンアミド ブロミド : $N^+C_5Gly2C_{16}$

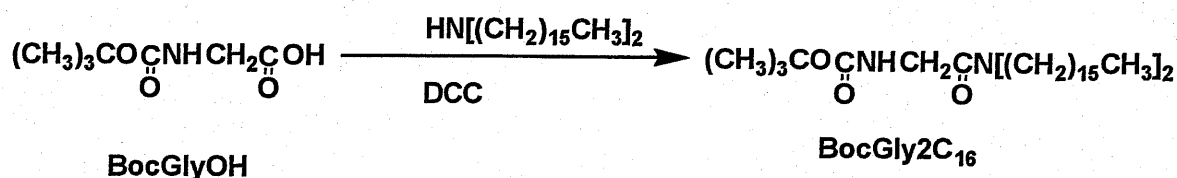
スキーム 2.1



2-2-1-1. ジヘキサデシルアミン : $2C_{16}NH$

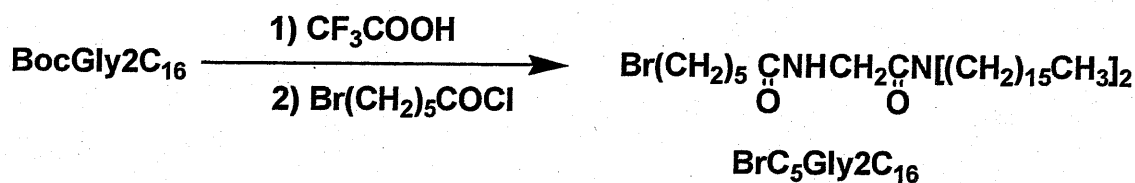
2章で合成したすべての脂質の出発物質となるジヘキサデシルアミンの合成は次のようにして行った。ヘキサデシルアミン (250 g, 1.05 mol) とブロモヘキサデカン (150 g, 0.49 mol) をエタノール (300 ml) に溶かし、炭酸カリウム (218 g, 1.58 mol) 存在下で7日間 110 °C で加熱攪拌した。この粗生成物をエタノールおよびヘキサンから数回再結晶することで原料および副生成物を取り除き、目的化合物を得た。収量 (収率) : 113 g (49.5%)。

2-2-1-2. *N,N*-ジヘキサデシル-*N'*-(*t*-ブトキシカルボニル)グリシンアミド : BocGly2C₁₆



BocGlyOH (2.00 g, 11.5 mmol)を無水ジクロロメタン(80 ml)に溶解し、氷浴下で攪拌しながら *N,N'*-ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC) (2.85 g, 13.8 mmol)を加えた。15分後にジヘキサデシルアミン(5.36 g, 11.5 mmol)を加え、氷浴下で4時間、次いで室温で36時間攪拌した。生じた *N,N'*-ジシクロヘキシル尿素を濾別し、溶媒を留去して減圧下で乾燥を行った。これを酢酸エチル (80 ml) に溶解し、冷蔵庫で一晩放置した後、析出した白色沈殿を濾別した。濾液を 10%クエン酸水溶液、飽和食塩水、4%炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水(各 30 ml×3)の順に洗浄した後、液相分離濾紙で水層を除去し、溶媒を留去して黄色油状物を得た。この粗生成物についてカラムクロマトグラフ法 [ワコーゲル C-300 ; 酢酸エチル-クロロホルム (1:9 v/v)] により精製を行い、無色透明の油状物を得た。収量 (収率) : 4.71 g (65.7%)。TLC : *R_f* 値 0.72 [シリカゲル 70 FM プレートワコー ; 酢酸エチル-クロロホルム (1:9 v/v)]。¹H-NMR (270 MHz, CDCl₃, TMS) : δ 0.88 [6H, t, *J* = 6.8 Hz, CH₃], 1.26 [52H, m, (CH₂)₁₃CH₃], 1.45 [9H, s, (CH₃)₃CO], 1.52 [4H, m, NCH₂CH₂], 3.13 [2H, t, *J* = 7.8 Hz, NCH₂], 3.31 [2H, t, *J* = 7.8 Hz, NCH₂], 3.94 [2H, d, *J* = 7.2 Hz, NHCH₂CO], 5.57 [1H, br, CONH]。

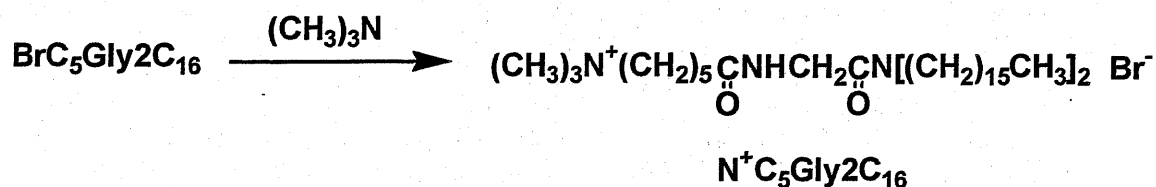
2-2-1-3. *N,N*-ジヘキサデシル-*N'*-(6-ブロモヘキサノイル)グリシンアミド : BrC₅Gly2C₁₆



BocGly2C₁₆ (4.70 g, 7.54 mmol)を無水ジクロロメタン(20 ml)に溶解し、トリフルオロ酢酸 (2.00 g, 17.5 mmol)を加え、室温で18時間攪拌した。減圧下で溶媒を留去し、過剰なトリフルオロ酢酸を除くためにジクロロメタンを加えて減圧留去を繰り返す操作を行い、黄色油状物を得た。¹H-NMR 測定により *t*-ブトキシカルボニル基のシグナルの消失を確認した。収量 (収率) : 5.44 g (定量的)。得られた生成物(0.50 g, 0.78 mmol)を無水ジクロロメタン(2 ml)に溶解し、トリエチルアミン(0.58 g, 5.73 mmol)を加えた。

氷浴下で攪拌しながら無水ジクロロメタン (5 ml) に溶解した 6-ブロモヘキサン酸クロリド (0.39 g, 1.83 mmol) を 3 分間で滴下し、氷浴下で 1 時間、次いで室温で 12 時間攪拌した。飽和食塩水、5%クエン酸水溶液、飽和食塩水、5%炭酸水素ナトリウム水溶液 (各 10 ml×3) の順に洗浄した後、硫酸マグネシウムを加え、液相分離濾紙で濾過し水層を除去した。溶媒を留去し、減圧下で乾燥を行って粗生成物を得た。これをメタノール (30 ml) に 40 °C で溶解し、冷蔵庫で放冷して再結晶を行い、白色固体を得た。収量 (収率) : 0.092 g (18.9%)。融点 : 46.9 – 48.5 °C。TLC : R_f 値 0.59 [シリカゲル 70 FM プレートワコー ; 酢酸エチルーヘキサン (1:2 v/v)]。 $^1\text{H-NMR}$ (270 MHz, CDCl_3 , TMS) : δ 0.88 [6H, t, $J = 6.6$ Hz, CH_3], 1.26 [52H, m, $(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_3$], 1.51 [6H, m, NCH_2CH_2 , $\text{BrCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$], 1.69 [2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$], 1.88 [2H, m, BrCH_2CH_2], 2.27 [2H, t, $J = 7.4$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$], 3.16 [2H, t, $J = 7.7$ Hz, NCH_2CH_2], 3.32 [2H, t, $J = 7.7$ Hz, NCH_2CH_2], 3.40 [2H, t, $J = 6.8$ Hz, BrCH_2], 4.03 [2H, d, $J = 6.5$ Hz, NHCH_2CO], 6.63 [1H, br, CONH]。

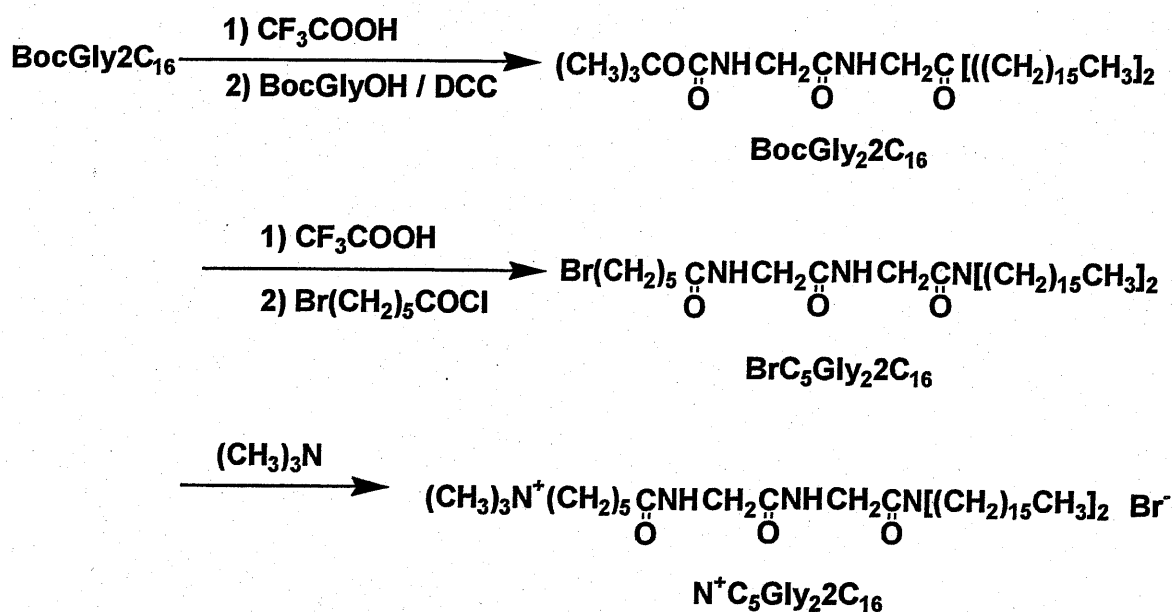
2-2-1-4. *N*, *N*-ジヘキサデシル-*N* $^{\alpha}$ -[6-(トリメチルアンモニオ)ヘキサノイル]グリシン
アミド ブロミド : $\text{N}^+\text{C}_5\text{Gly}2\text{C}_{16}$



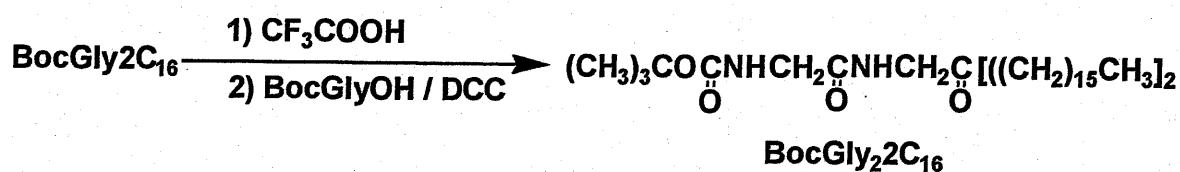
$\text{BrC}_5\text{Gly}2\text{C}_{16}$ (0.069 g, 0.11 mmol) を無水テトラヒドロフラン (THF) (20 ml) に溶解した後、室温でトリメチルアミンガスを飽和するまで 3 時間吹き込んだ。その後、8 日間攪拌してから空気を吹き込んでアミンを除去した。溶媒を留去し、減圧下で乾燥を行って黄色油状物を得た。この粗生成物をゲルクロマトグラフ法 [Sephadex LH-20 ; メタノール] により精製し白色固体を得た。収量 (収率) : 41 mg (49.1%)。融点 : 188.0 – 189.1 °C。TLC : R_f 値 0.38 [シリカゲル 70 FM プレートワコー ; クロロホルムーメタノールー水 (30:10:1 v/v/v)]。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , TMS) : δ 0.88 [6H, t, $J = 6.8$ Hz, CH_3], 1.26 [52H, m, $(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_3$], 1.51 [6H, m, NCH_2CH_2 , $\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$], 1.76 [2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$], 1.84 [2H, m, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2$], 2.34 [2H, t, $J = 7.4$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$], 3.16 [2H, t, $J = 7.6$ Hz, NCH_2CH_2], 3.30 [2H, t, $J = 7.6$ Hz, NCH_2CH_2], 3.45 [9H, s, $(\text{CH}_3)_3\text{N}^+$], 3.60 [2H, t, $J = 6.8$ Hz, N^+CH_2], 4.02 [2H, d, $J = 6.5$ Hz, NHCH_2CO], 6.96 [1H, br, CONH]。元素分析 : 実測値 : C, 67.41 ; H, 11.64 ; N, 5.47%。 $\text{C}_{43}\text{H}_{88}\text{BrN}_3\text{O}_2 \cdot 0.3 \text{H}_2\text{O}$ としての計算値 : C, 67.56 ; H, 11.68 ; N, 5.49%。

2-2-2. *N,N*-ジヘキサデシル-*N'*-[6-(トリメチルアンモニオ)ヘキサノイル]グリシルグリシンアミド プロミド : $N^+C_5Gly_22C_{16}$

スキーム 2.2



2-2-2-1. *N,N*-ジヘキサデシル- *N'*-(*t*-ブトキシカルボニルグリシルグリシンアミド : $\text{BocGly}2C_{16}$

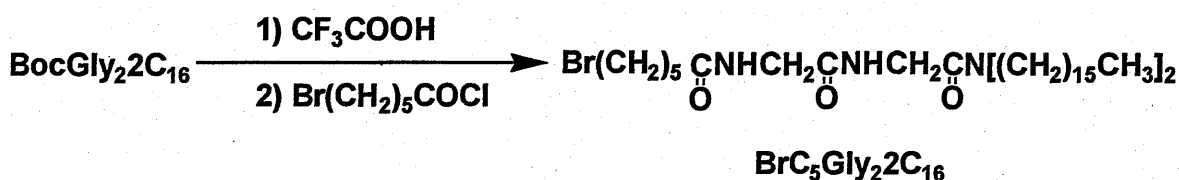


$\text{BocGly}2C_{16}$ (4.70 g, 7.54 mmol)を無水ジクロロメタン (20 ml)に溶解し、トリフルオロ酢酸 (2.00 g, 17.5 mmol)を加え、室温で18時間攪拌した。減圧下で溶媒を留去し、過剰なトリフルオロ酢酸を除くためジクロロメタンを加えて減圧留去を繰り返す操作を行い、*N,N*-ジヘキサデシルグリシンアミドのトリフルオロ酢酸塩 (黄色油状物)を得た。 $^1\text{H-NMR}$ 測定により *t*-ブトキシカルボニル基のシグナルの消失を確認した。収量 (収率) : 5.44 g (定量的)。 BocGlyOH (1.40 g, 7.99 mmol)を無水ジクロロメタン (20 ml)に溶解し、トリエチルアミン (1.13 g, 11.2 mmol)を加えた。これを氷浴下で攪拌しながら *N,N'*-ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC) (1.96 g, 9.50 mmol)を加え、続け

て *N,N*-ジヘキサデシルグリシンアミドのトリフルオロ酢酸塩 (5.04 g, 7.91 mmol) を無水ジクロロメタン (15 ml) に溶解して加えた。1 時間氷浴下で攪拌した後、室温で 12 時間攪拌を続けた。反応混合物を濾過し、濾液から溶媒を減圧下で留去した。残さを酢酸エチル (150 ml) に溶解し、5% クエン酸水溶液、飽和食塩水、5% 炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水 (各 50 ml × 2) の順に洗浄した。これに硫酸マグネシウムを加え液相分離濾紙で水層を濾別した。この粗生成物についてカラムクロマトグラフ法 [ワコーゲル C-100; 酢酸エチル-クロロホルム (1:9 v/v)] により精製を行い、溶媒を留去して減圧下で乾燥を行い、無色油状物を得た。収量 (収率) : 3.61 g (70.0%)。

TLC: R_f 値 0.40 [シリカゲル 70 FM プレートワコー; 酢酸エチル-クロロホルム (1:9 v/v)]。 $^1\text{H-NMR}$ (270 MHz, CDCl_3 , TMS) : δ 0.88 [6H, t, $J = 6.7$ Hz, CH_2CH_3], 1.26 [52H, m, $(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_3$], 1.45 [9H, s, $(\text{CH}_3)_3\text{CO}$], 1.52 [4H, m, NCH_2CH_2], 3.16 [2H, t, $J = 7.7$ Hz, NCH_2], 3.32 [2H, t, $J = 7.7$ Hz, NCH_2], 3.87 [2H, d, $J = 5.7$ Hz, NHCH_2CO], 4.06 [2H, m, NHCH_2CO], 5.13 [1H, br, OCONH], 7.06 [1H, br, CONH]。元素分析: 実測値: C, 71.17; H, 11.65; N, 5.97%。 $\text{C}_{42}\text{H}_{82}\text{BrN}_3\text{O}_3$ としての計算値: C, 71.46; H, 11.99; N, 6.10%。

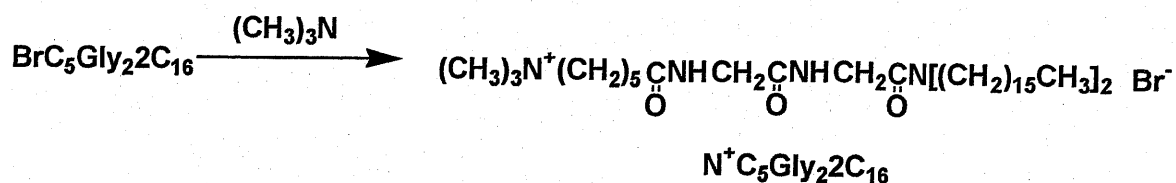
2-2-2-2. *N,N*-ジヘキサデシル- N^α -(6-ブロモヘキサノイル)グリシルグリシンアミド:
 $\text{BrC}_5\text{Gly}_2\text{C}_{16}$



$\text{BocGly}_2\text{C}_{16}$ (3.29 g, 5.05 mmol) にトリフルオロ酢酸 (5.0 ml, 7.40 mg, 64.9 mmol) を加えて室温で 2 時間攪拌した。過剰なトリフルオロ酢酸を除くためジクロロメタンを加えて減圧留去をする操作を 5 回を行い、淡黄色油状物を得た。収量 (収率) : 3.60 g (定量的)。TLC: R_f 値 0.89 [シリカゲル 70FM プレートワコー; メタノール-クロロホルム (1:2 v/v)]。得られた生成物 (1.00 g, 1.44 mmol) を無水ジクロロメタン (10 ml) に溶解し、トリエチルアミン (0.61 ml, 0.44 g, 4.32 mmol) を加えた後、氷浴下で攪拌しながら無水ジクロロメタン (20 ml) に溶解した 6-ブロモヘキサン酸クロリド (0.37 g, 1.74 mmol) を 30 分かけて滴下し、次いで室温で 48 時間攪拌した。この反応混合物にジクロロメタン (50 ml) を加え、10% クエン酸、飽和食塩水、5% 炭酸水素ナトリウム、飽和食塩水 (各 100 ml × 2) の順に洗浄した。液相分離濾紙で水層を濾別し、溶媒を留去した後に減圧下で乾燥を行った。更にこの粗生成物をメタノール (10 ml) に溶かし、冷蔵庫に一晩放置することで再結晶を行った。この操作を 2 回を行い、白色固体を得た。収量 (収率) : 0.46 g (38.2%)。融点: 67.2-67.9 °C。TLC: R_f 値 0.38 [シリカゲル 70FM プレートワコー, 酢酸エチル-クロロホルム (1:2 v/v)]。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 ,

TMS) : δ 0.88 [6H, t, $J = 7.0$ Hz, CH_3], 1.25 [54H, m, $(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_3$, $\text{BrCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$], 1.51 [4H, m, NCH_2CH_2], 1.70 [2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$], 1.89 [2H, m, BrCH_2CH_2], 2.28 [2H, t, $J = 7.4$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$], 3.15 [2H, t, $J = 7.8$ Hz, NCH_2], 3.31 [2H, t, $J = 7.8$ Hz, NCH_2], 3.41 [2H, t, $J = 6.7$ Hz, BrCH_2], 4.00 [2H, d, $J = 5.2$ Hz, NHCH_2CONH], 4.05 [2H, d, $J = 4.2$ Hz, NHCH_2CON], 6.17 [1H, br, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}$], 6.92 [1H, br, CONH]. 元素分析 : 実測値 : C, 66.94 ; H, 10.90 ; N, 5.46%. $\text{C}_{42}\text{H}_{82}\text{BrN}_3\text{O}_3$ としての計算値 : C, 66.64 ; H, 10.92 ; N, 5.55%.

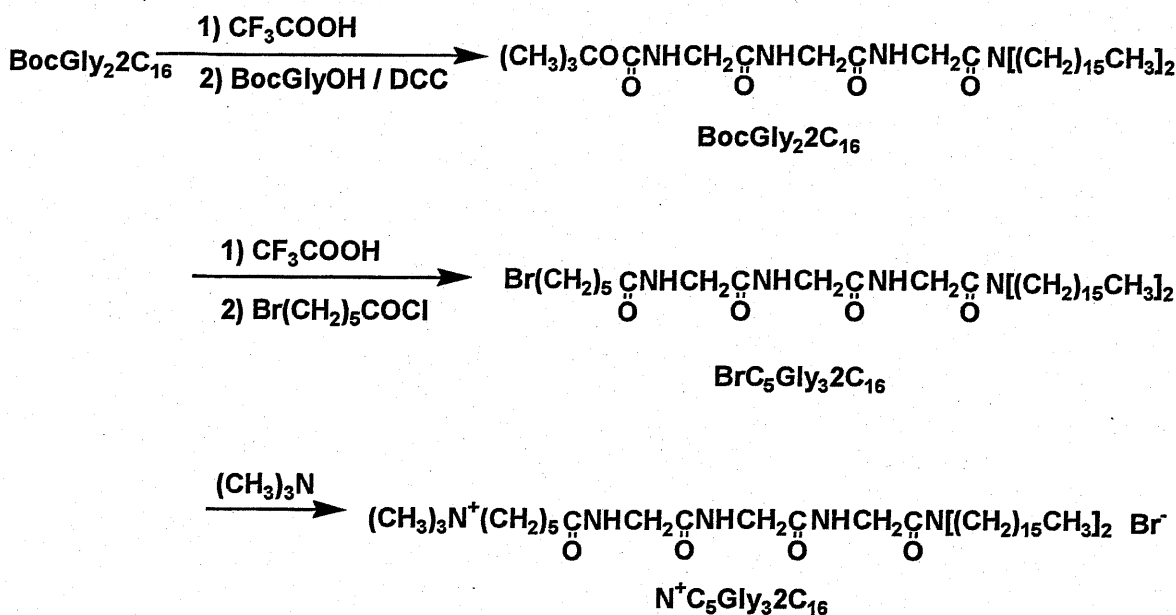
2-2-2-3. *N*, *N*-ジヘキサデシル-*N*^α-[6-(トリメチルアンモニオ)ヘキサノイル]グリシル
グリシンアミド プロミド : $\text{N}^+\text{C}_5\text{Gly}_2\text{C}_{16}$



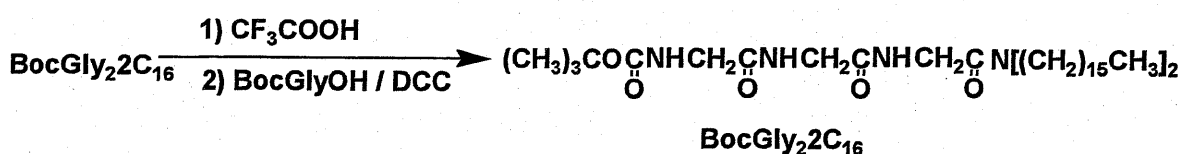
$\text{BrC}_5\text{Gly}_2\text{C}_{16}$ (386 mg, 0.510 mmol)を無水 THF (20 ml)に溶解し、室温でトリメチルアミンガスを飽和するまで2時間吹き込んだ。室温で70時間攪拌し、その後、空気を吹き込んでトリメチルアミンを除去した。溶媒を留去し、減圧下で乾燥を行い黄色油状物 (418 mg)を得た。この粗生成物 (200 mg)についてゲルクロマトグラフ法 [Sephadex LH-20; メタノール] で精製し、さらにゲルクロマトグラフ法 [Toyopearl HW-40F; メタノール] での精製を3回繰り返して白色固体を得た。収量 (収率) : 195 mg (98.0%)。融点 : 137.9 – 138.5 °C。TLC : R_f 値 0.73 [シリカゲル 70FM プレートワコー, クロロホルム–メタノール–水 (30:10:1 v/v)]。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , TMS) : δ 0.88 [6H, t, $J = 7.2$ Hz, CH_3], 1.25 [54H, m, $(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_3$, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$], 1.51 [4H, m, NCH_2CH_2], 1.81 [2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$], 1.94 [2H, m, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2$], 2.47 [t, $J = 7.1$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$], 3.16 [2H, t, $J = 7.7$ Hz, NCH_2], 3.27 [2H, t, $J = 7.7$ Hz, NCH_2], 3.39 [9H, s, $\text{CH}_3 \text{ N}^+$], 3.66 [2H, m, N^+CH_2], 3.96 [2H, d, $J = 5.6$ Hz, NHCH_2CONH], 4.03 [2H, d, $J = 4.6$ Hz, NHCH_2CON], 7.17 [1H, br, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}$], 7.97 [1H, br, NHCH_2CONH]. 元素分析 : 実測値 : C, 65.87; H, 11.23; N, 6.66%. $\text{C}_{45}\text{H}_{91}\text{BrN}_4\text{O}_3$ としての計算値 : C, 66.22; H, 11.24; N, 6.86%.

2-2-3. *N,N*-ジヘキサデシル-*N*^α-[6-(トリメチルアンモニオ)ヘキサノイル]グリシルグリシルグリシンアミド ブロミド : $N^+C_5Gly_32C_{16}$

スキーム 2.3



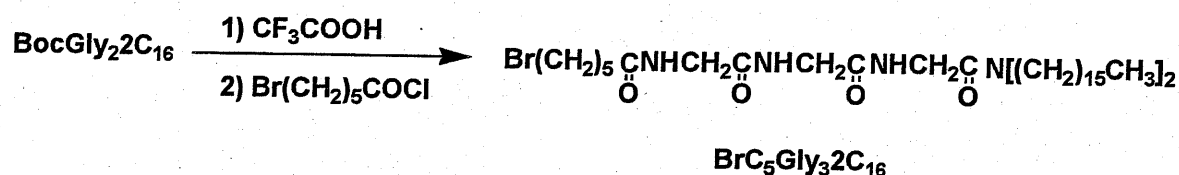
2-2-3-1. *N,N*-ジヘキサデシル-*N*^α-(*t*-ブトキシカルボニル)グリシルグリシンアミド : BocGly_32C_{16}



BocGly_22C_{16} (2.06 g, 3.03 mmol)にトリフルオロ酢酸(5 ml)を加え、室温で5時間攪拌した。減圧下で溶媒を留去し、過剰なトリフルオロ酢酸を除くためジクロロメタンを加えて減圧留去を繰り返す操作を行い、*N,N*-ジヘキサデシルグリシルグリシンアミドのトリフルオロ酢酸塩(黄色油状物)を得た。¹H-NMR測定により *t*-ブトキシカルボニル基のシグナルの消失を確認した。収量(収率): 5.44 g (定量的)。 BocGlyOH (242 mg, 1.38 mmol)を無水ジクロロメタン (30 ml)に溶解させ、トリエチルアミン (175 mg, 1.73 mmol)を加えた。これを氷浴下で攪拌しながら *N,N'*-ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC) (285 mg, 1.38 mmol)を加え、続けて *N,N*-ジヘキサデシルグリシルグリシン

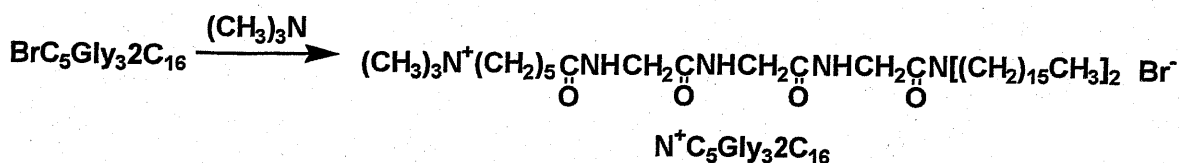
アミドのトリフルオロ酢酸塩 (800 mg, 1.15 mmol)を加えた。室温で12時間攪拌した後濾別し、濾液から溶媒を減圧下で留去した。得られた粗生成物についてカラムクロマトグラフ法[ワコーゲル C-300; ヘキサン-酢酸エチル (1:4 v/v)]により精製を行い、透明な油状物を得た。収量 (収率) : 817 mg (96.0%)。TLC : R_f 値 0.41 [シリカゲル 70 FM プレートワコー; ヘキサン-酢酸エチル (1:4 v/v)]。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , TMS) : δ 0.88 [6H, t, $J = 6.1$ Hz, CH_2CH_3], 1.26 [52H, m, $(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_3$], 1.46 [s, 9H, $(\text{CH}_3)_3\text{CO}$], 1.52 [4H, m, NCH_2CH_2], 3.15 [2H, t, $J = 7.8$ Hz, NCH_2], 3.31 [2H, t, $J = 7.8$ Hz, NCH_2], 3.87 [2H, d, $J = 5.9$ Hz, $\text{OCONHCH}_2\text{CO}$], 4.03 [4H, m, NHCH_2CO], 5.30 [br, 1H, OCONH], 6.77 [1H, br, NHCH_2CON], 6.94 [1H, br, CONH]。

2-2-3-2. *N,N*-ジヘキサデシル-*N* $^{\alpha}$ -(6-ブロモヘキサノイル)グリシルグリシルグリシン
アミド : $\text{BrC}_5\text{Gly}_3\text{2C}_{16}$



$\text{BocGly}_3\text{2C}_{16}$ (815 mg, 1.11 mmol) にトリフルオロ酢酸 (5 ml)を加えて室温で2時間攪拌した。過剰なトリフルオロ酢酸を減圧留去した。エタノールを加えて油状物を溶解し、アセトニトリルを加えて冷蔵庫で再結晶を行い、淡黄色油状物を得た。収量 (収率) : 688 mg (82.9%)。TLC : R_f 値 0.12 [シリカゲル 70FM プレートワコー; ヘキサン-酢酸エチル (1:4 v/v)]。得られた粗生成物 (600 mg, 0.80 mmol)を無水ジクロロメタン(10 ml)に溶解し、トリエチルアミン (243 mg, 2.40 mmol)を加えた後、氷浴下で攪拌しながら無水ジクロロメタン (20 ml)に溶解した 6-ブロモヘキサン酸クロリド(256 mg, 1.20 mmol)を加え、室温で一晩攪拌した。溶媒を減圧下で留去した後、この粗生成物についてカラムクロマトグラフ法 [ワコーゲル C-300; クロロホルム-メタノール (30:1 v/v)]により精製を行い、白色固体を得た。収量 (収率) : 0.45 g (69.2%)。融点 : 79.7–80.5 °C。TLC : R_f 値 0.33 [シリカゲル 70FM プレートワコー, クロロホルム-メタノール (30:1 v/v)]。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , TMS) : δ 0.88 [6H, t, $J = 6.8$ Hz, CH_3], 1.26 [52H, m, $(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_3$], 1.49 [6H, m, NCH_2CH_2 , $\text{BrCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$], 1.70 [2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$], 1.88 [2H, m, BrCH_2CH_2], 2.29 [2H, t, $J = 7.4$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$], 3.16 [2H, t, $J = 7.6$ Hz, NCH_2], 3.31 [2H, t, $J = 7.6$ Hz, NCH_2], 3.41 [2H, m, BrCH_2], 4.02 [6H, d, $J = 5.9$ Hz, NHCH_2CO], 6.87 [1H, br, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}$], 7.09 [1H, br, CONH], 7.26 [1H, br, NHCH_2CON]。元素分析 : 実測値 : C, 65.04 ; H, 10.54 ; N, 7.01%。 $\text{C}_{44}\text{H}_{85}\text{BrN}_4\text{O}_4$ としての計算値 : C, 64.92 ; H, 10.52 ; N, 6.88%。

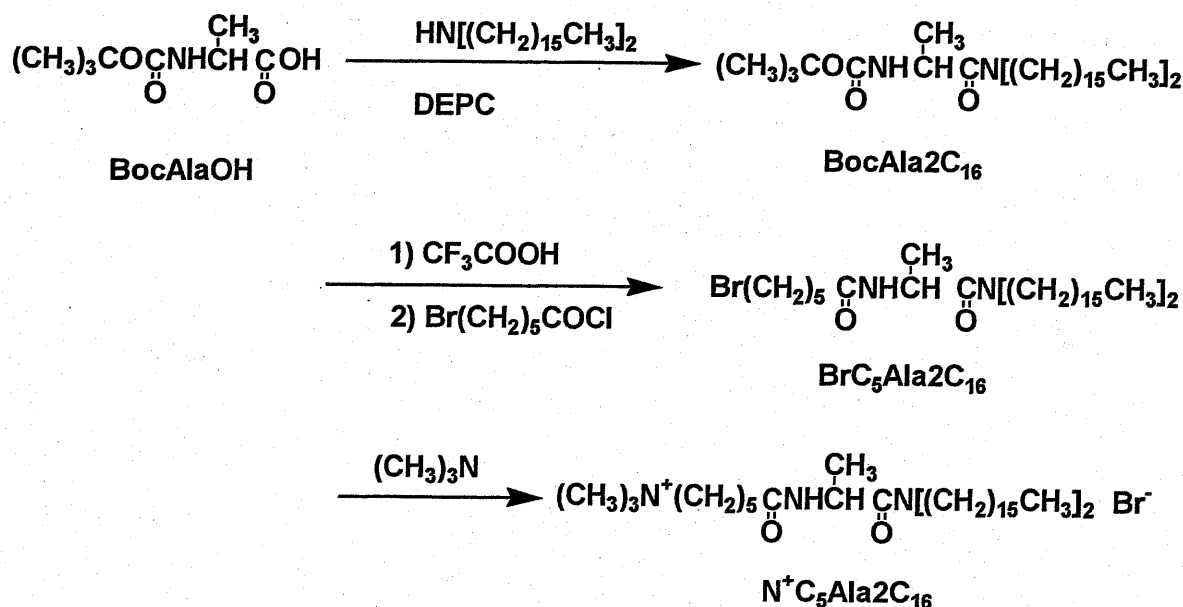
2-2-3-3. *N,N*-ジヘキサデシル-*N*^α-[6-(トリメチルアンモニオ)ヘキサノイル]グリシルグリシルグリシンアミド ブロミド : $\text{N}^+\text{C}_5\text{Gly}_32\text{C}_{16}$



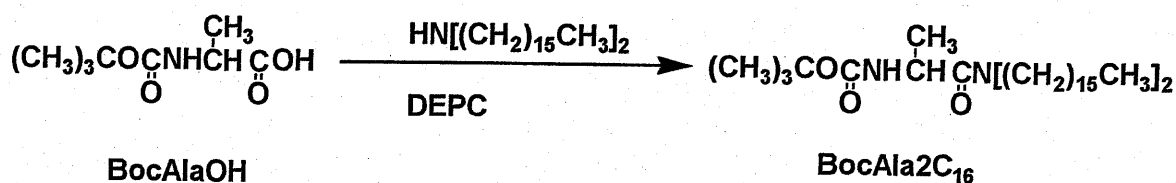
$\text{BrC}_5\text{Gly}_32\text{C}_{16}$ (460 mg, 0.51 mmol)を無水 THF (20 ml)に溶解し、室温でトリメチルアミンガスを飽和するまで2時間吹き込んだ。室温で36時間攪拌し、その後空気を吹き込んでトリメチルアミンを除去した。溶媒を留去し、減圧下で乾燥を行い、黄色油状物を得た。この油状物をアセトニトリルから再結晶し、白色固体を得た。収量 (収率) : 337 mg (68.4%)。融点 : 168.0 – 169.5 °C。TLC : R_f 値 [シリカゲル 70FM プレートワコー, クロロホルム–メタノール–水 (30:10:1 v/v)]。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , TMS) : δ 0.88 [6H, t, $J = 6.5$ Hz, CH_3], 1.25 [52H, m, $(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_3$], 1.49 [6H, m, NCH_2CH_2 , $\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2$], 1.79 [2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$], 1.91 [2H, m, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2$], 2.45 [2H, t, $J = 7.1$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$], 3.16 [2H, t, $J = 7.7$ Hz, NCH_2], 3.27 [2H, t, $J = 7.7$ Hz, NCH_2], 3.37 [s, 9H, $\text{CH}_3 \text{ N}^+$], 3.69 [2H, m, N^+CH_2], 4.01 [6H, m, NHCH_2CO], 7.36 [2H, br, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}$], 7.62 [1H, br, CONH], 7.95 [1H, br, NHCH_2CON]。元素分析 : 実測値 : C, 64.02 ; H, 10.66 ; N, 7.85%。 $\text{C}_{47}\text{H}_{94}\text{BrN}_5\text{O}_4 \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$ としての計算値 : C, 63.99 ; H, 10.85 ; N, 7.94%。

2-2-4. *N,N*-ジヘキサデシル-*N*^α-[6-(トリメチルアンモニオ)ヘキサノイル]-*L*-アラニンアミド ブロミド : $\text{N}^+\text{C}_5\text{Ala}2\text{C}_{16}$

スキーム 2.4

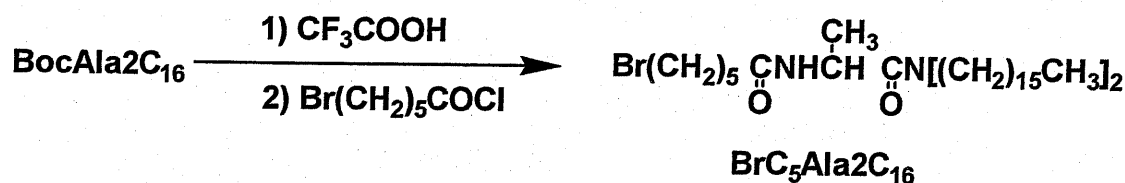


2-2-4-1. *N,N*-ジヘキサデシル-*N*^α-(*t*-ブトキシカルボニル)-*L*-アラニンアミド :
BocAla2C₁₆



BocAlaOH (3.25 g, 17.2 mmol)を無水ジクロロメタン(50 ml)に溶解し、ジヘキサデシルアミン (10.0 g, 21.5 mmol), トリエチルアミン (2.61 g, 25.8 mmol)を加え、さらに氷浴下で攪拌しながら DEPC (4.20 g, 25.8 mmol)を加えた。氷浴下で1時間攪拌し、次いで室温で13時間攪拌した。溶媒を留去し減圧下で乾燥を行った。この粗生成物についてカラムクロマトグラフ法 [ワコーゲル C-300 ; ヘキサン-酢酸エチル (6:1 v/v)] により精製を行い、無色透明の油状物を得た。収量 (収率) : 3.33 g (61.0%)。TLC : *R_f* 値 0.57 [シリカゲル 70 FM プレートワコー ; ヘキサン-酢酸エチル (6:1 v/v)]。¹H-NMR (270 MHz, CDCl₃, TMS) : δ 0.88 [6H, t, *J* = 6.8 Hz, CH₃], 1.26 [52H, m, (CH₂)₁₃CH₃], 1.29 [3H, d, *J* = 6.8 Hz, CH₃CH], 1.43 [9H, s, (CH₃)₃CO], 1.54 [4H, m, NCH₂CH₂], 3.14 [1H, m, NCH], 3.24 [2H, t, *J* = 7.8 Hz, NCH₂], 3.45 [1H, m, NCH₂], 4.57 [1H, m, NHCH₂CO], 5.46 [1H, d, CONH]。

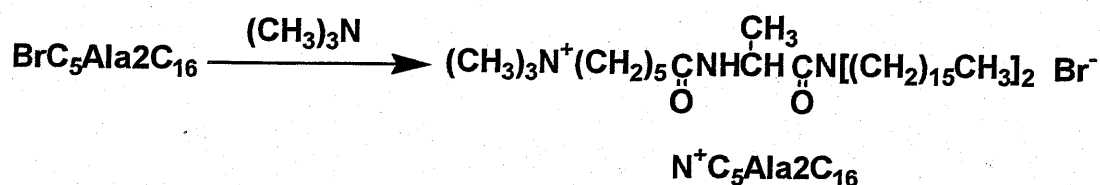
2-2-4-2. *N,N*-ジヘキサデシル-*N*^α-(6-ブロモヘキサノイル)-*L*-アラニンアミド :
BrC₅Ala2C₁₆



BocGly2C₁₆ (9.51 g, 14.9 mmol)をジクロロメタン (10 ml)に溶解し、トリフルオロ酢酸 (10 ml)を加え、室温で3時間攪拌した。減圧下で溶媒を留去し、過剰なトリフルオロ酢酸を減圧留去し、黄色油状物を得た。収量 (収率) : 13.8 g (定量的)。得られた生成物 (13.8 g)をジクロロメタン (50 ml)に溶解し、トリエチルアミン (0.58 g, 5.73 mmol)を加えた。氷浴下で攪拌しながら 6-ブロモヘキサン酸クロリド (3.82 g, 17.9 mmol)を滴下し、氷浴下で1時間攪拌し、次いで室温で17時間攪拌した。飽和

食塩水、5%クエン酸水溶液、飽和食塩水、5%炭酸水素ナトリウム水溶液（各 10 ml ×3）の順に洗浄した後、硫酸マグネシウムを加えて乾燥し液相分離濾紙で濾別し水層を除去した。減圧下で溶媒を留去し、この粗生成物についてカラムクロマトグラフ法 [ワコーゲル C-300 ; ヘキサン-酢酸エチル (3:1 v/v)] により精製を行い、白色固体を得た。収量 (収率) : 5.05 g (47.5%)。TLC : R_f 値 0.42 [シリカゲル 70 FM プレートワコー ; ヘキサン-酢酸エチル (3:1 v/v)]。 $^1\text{H-NMR}$ (270 MHz, CDCl_3 , TMS) : δ 0.88 [6H, t, $J = 6.6$ Hz, CH_3], 1.26 [55H, m, $(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_3, \text{CHCH}_3$], 1.51 [6H, m, $\text{NCH}_2\text{CH}_2, \text{BrCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$], 1.63 [2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$], 1.66 [2H, m, BrCH_2CH_2], 3.15 [1H, m, $\text{NCH}_a\text{H}_b\text{CH}_2$], 3.20 [2H, t, $J = 7.6$ Hz, NCH_2CH_2], 3.45 [4H, m, $\text{BrCH}_2, \text{NCH}_a\text{H}_b\text{CH}_2$], 4.81 [1H, m, NHCHCO], 6.52 [1H, d, $J = 7.6$ Hz, CONH]。

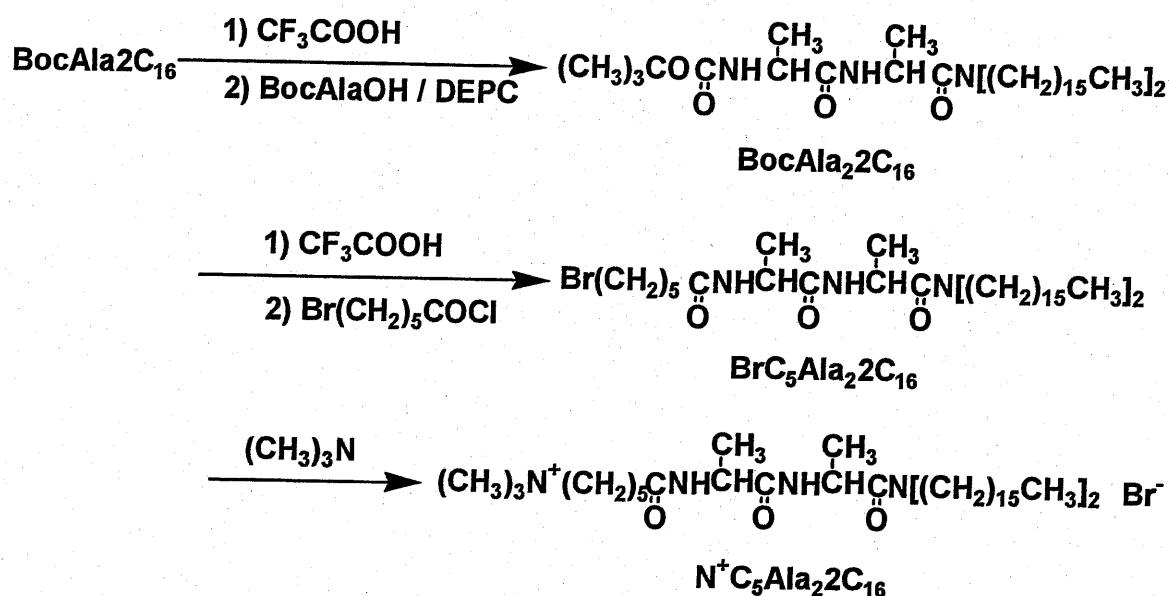
2-2-4-3. *N,N*-ジヘキサデシル-*N* $^\alpha$ -[6-(トリメチルアンモニオ)ヘキサノイル]-*L*-アラニンアミド ブロミド : $\text{N}^+\text{C}_5\text{Ala2C}_{16}$



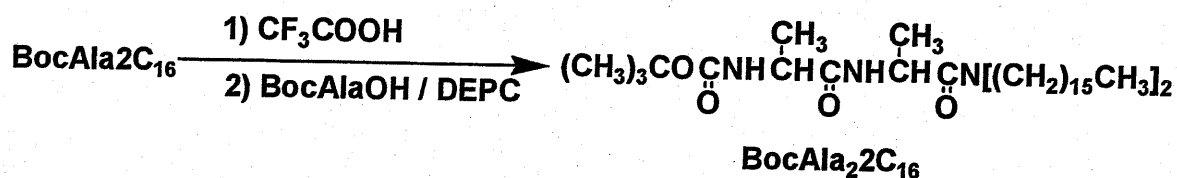
$\text{BrC}_5\text{Ala2C}_{16}$ (0.793 g, 1.12 mmol) を無水 THF (20 ml) に溶解し室温でトリメチルアミンガスを飽和するまで 1 時間吹き込んだ。4 日間攪拌した後、THF およびトリメチルアミンを減圧下で留去した。得られた生成物をアセトニトリル:エタノール混合溶液から再結晶し、白色固体を得た。収量 (収率) : 0.593 g (69.0%)。 $^1\text{H-NMR}$ (270 MHz, CDCl_3 , TMS) : δ 0.88 [6H, t, $J = 6.8$ Hz, CH_3], 1.26 [52H, m, $(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_3$], 1.31 [3H, d, $J = 6.8$ Hz, CHCH_3], 1.47 [6H, m, $\text{NCH}_2\text{CH}_2, \text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$], 1.62 [2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$], 1.71 [2H, m, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2$], 2.23 [1H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_a\text{H}_b\text{CO}$], 2.34 [1H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_a\text{H}_b\text{CO}$], 3.09 [1H, m, $\text{NCH}_a\text{H}_b\text{CH}_2$], 3.25 [2H, t, $J = 7.6$ Hz, NCH_2CH_2], 3.45 [10H, m, $(\text{CH}_3)_3\text{N}^+, \text{NCH}_a\text{H}_b\text{CH}_2$], 3.58 [2H, t, $J = 8.1$ Hz, N^+CH_2], 4.76 [1H, m, NHCHCO], 6.92 [1H, d, $J = 6.8$ Hz, CONH]。元素分析 : 実測値 : C, 68.16 ; H, 11.70 ; N, 5.36%。 $\text{C}_{44}\text{H}_{90}\text{BrN}_3\text{O}_2$ としての計算値 : C, 68.36 ; H, 11.73 ; N, 5.44%。

2-2-5. *N,N*-ジヘキサデシル-[6-(トリメチルアンモニオ)ヘキサノイル]-*L*-アラニル-*L*-アラニンアミド ブロミド : $N^+C_5Ala_22C_{16}$

スキーム 2.5



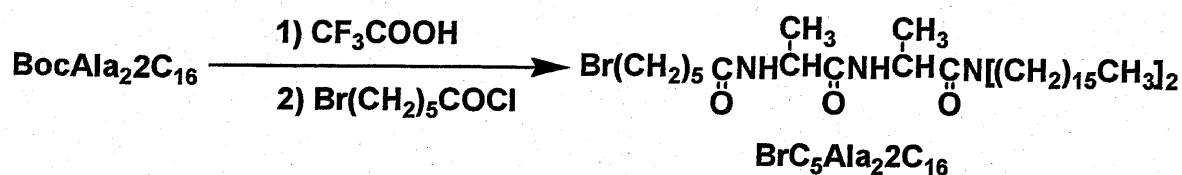
2-2-5-1. *N,N*-ジヘキサデシル-*N*^α-(*t*-ブトキシカルボニル)-*L*-アラニル-*L*-アラニンアミド : $\text{BocAla}_2\text{C}_{16}$



$\text{BocAla}_2\text{C}_{16}$ (3.33 g, 5.22 mmol) にトリフルオロ酢酸 (5 ml) を加え、室温で2時間攪拌した。過剰なトリフルオロ酢酸を減圧留去し、*N,N*-ジヘキサデシルアラニンアミドのトリフルオロ酢酸塩 (黄色油状物) を得た。TLCにて原料の消失を確認した。収量 (収率) : 4.68 g (定量的)。得られた生成物をジクロロメタン (30 ml) に溶解させ、 BocAlaOH (1.19 g, 6.26 mmol)、トリエチルアミン (2.49 g, 24.6 mmol) を加えた。これを氷浴下で攪拌しながら DEPC (1.02 g, 6.26 mmol) を加え、氷浴下で1時間攪拌した後、室温で18時間攪拌した。溶媒を減圧留去し、粗生成物についてカラムクロマトグラフ法 [ワコーゲル C-300 ; ヘキサノール-酢酸エチル (3:1 v/v)] により精製を行った。溶媒を留去し減圧下で乾燥を行い、無色油状液体を得た。収量 (収率) : 3.36 g (91.0%)。TLC :

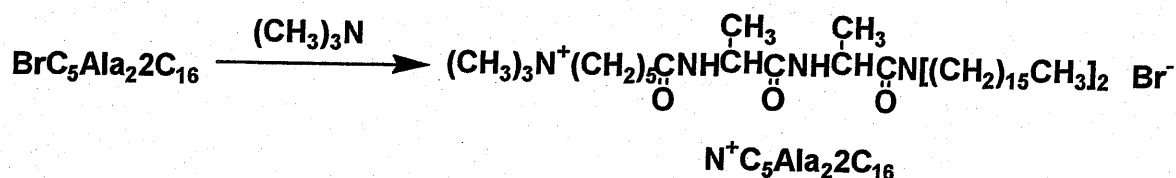
R_f 値 0.60 [シリカゲル 70 FM プレートワコー ; ヘキサノール酢酸エチル (3:1 v/v)]。
 $^1\text{H-NMR}$ (270 MHz, CDCl_3 , TMS) : δ 0.88 [6H, t, $J = 6.8$ Hz, CH_2CH_3], 1.26 [52H, m, $(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_3$], 1.31 [3H, d, $J = 6.8$ Hz, C_bHCH_3], 1.34 [6H, d, $J = 6.8$ Hz, C_aHCH_3], 1.45 [9H, s, $(\text{CH}_3)_3\text{CO}$], 1.52-1.58 [4H, m, NCH_2CH_2], 3.11 [1H, m, NCHH_a], 3.23 [1H, m, NCH_2], 3.48 [1H, m, NCHH_b], 4.16 [1H, m, NC_bHCH_3], 4.79 [1H, m, NC_aHCH_3], 5.03 [1H, br, OCONH], 6.92 [1H, br, CONH].

2-2-5-2. N,N -ジヘキサデシル- N^a -(6-ブロモヘキサノイル)- L -アラニル- L -アラニンアミド : $\text{BrC}_5\text{Ala}_2\text{C}_{16}$



$\text{BocAla}_2\text{C}_{16}$ (3.36 g, 4.74 mmol) にトリフルオロ酢酸 (5 ml)を加えて室温で 24 時間攪拌した。過剰なトリフルオロ酢酸を減圧留去し、淡黄色油状物を得た。収量 (収率) : 5.95 g (定量的)。得られた生成物 3.00g を無水ジクロロメタン (20 ml)に溶解し、氷浴下で攪拌しながらトリエチルアミン (2.48 g, 24.5 mmol)、6-ブロモヘキサノ酸クロリド (0.61 g, 2.84 mmol)を加えた。氷浴下で 1 時間攪拌し、次いで室温で 11 時間攪拌した。溶媒を減圧下で留去した後、粗生成物についてカラムクロマトグラフ法 [ワコーゲル C-300 ; ヘキサノール酢酸エチル (1:3 v/v)] により精製を行い、溶媒を留去後、減圧下で乾燥を行い、白色固体を得た。収量 (収率) : 0.650 g (35.0%)。TLC : R_f 値 0.63 [シリカゲル 70FM プレートワコー, ヘキサノール酢酸エチル (1:3 v/v)]。 $^1\text{H-NMR}$ (270 MHz, CDCl_3 , TMS) : δ 0.88 [6H, t, $J = 6.8$ Hz, CH_3], 1.26 [52H, m, $(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_3$], 1.32 [3H, d, $J = 6.4$ Hz, C_bHCH_3], 1.36 [3H, d, $J = 6.8$ Hz, C_aHCH_3], 1.47 [6H, m, NCH_2CH_2 , $\text{BrCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$], 1.59 [2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$], 1.68 [2H, m, BrCH_2CH_2], 2.22 [2H, t, $J = 7.6$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$], 3.08 [1H, m, NCHH], 3.18 [1H, m, NCHH], 3.27 [1H, m, NCHH], 3.41 [2H, t, $J = 6.8$ Hz, BrCH_2], 3.52 [1H, m, NCHH], 4.47 [1H, m, NHC_bHCONH], 4.77 [1H, m, NHC_aHCONH], 6.12 [1H, d, $J = 7.3$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}$], 6.82 [1H, d, $J = 7.8$ Hz, CONH].

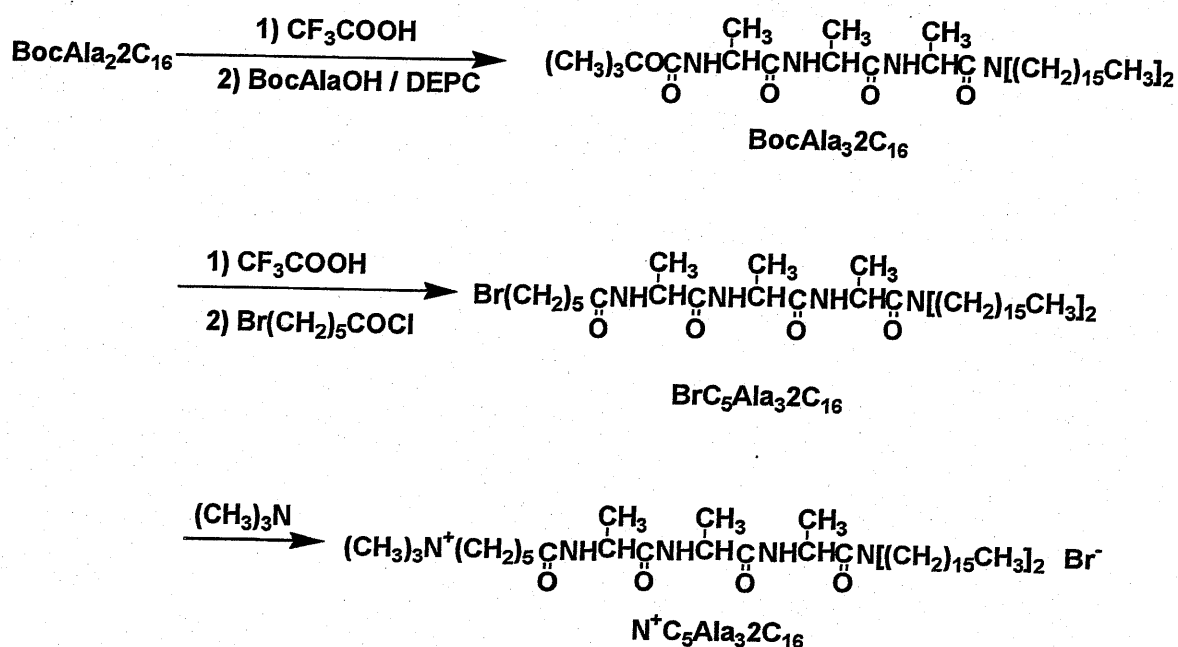
2-2-5-3. *N,N*-ジヘキサデシル-*N*^α-[6-(トリメチルアンモニオ)ヘキサノイル]-*L*-アラニル-*L*-アラニンアミド ブロミド : $\text{N}^+\text{C}_5\text{Ala}_2\text{C}_{16}$



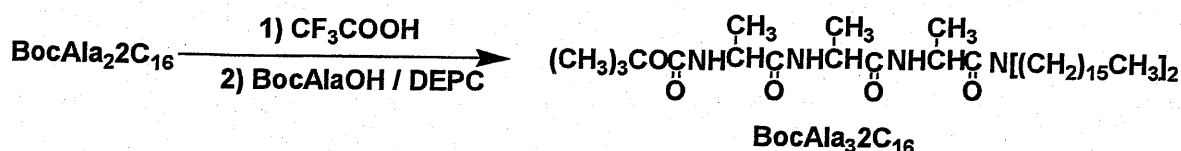
$\text{BrC}_5\text{Ala}_2\text{C}_{16}$ (600 mg, 0.764 mmol) を無水 THF (20 ml) に溶解し、室温でトリメチルアミンガスを飽和するまで 1 時間吹き込んだ。その後、24 時間攪拌し、THF およびトリメチルアミンを減圧下で留去した。得られた生成物をアセトニトリル:エタノール混合溶液から再結晶し、白色固体を得た。収量 (収率) : 393 mg (61.0%)。¹H-NMR (270 MHz, CDCl_3 , TMS) : δ 0.88 [6H, t, $J = 7.2$ Hz, CH_3], 1.26 [52H, m, $(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_3$], 1.31 [3H, d, $J = 6.8$ Hz, $\text{C}_\alpha\text{HCH}_3$], 1.42 [3H, d, $J = 6.8$ Hz, $\text{C}_\beta\text{HCH}_3$], 1.46 [4H, m, NCH_2CH_2 , $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$], 1.59 [2H, m, NCH_2CH_2], 1.6-1.9 [3H, m, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{CHH}$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$], 2.06 [1H, m, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{CHH}$], 2.31 [m, 1H, CH_2CHHCO], 2.52 [m, 1H, CH_2CHHCO], 3.09 [1H, m, NCHH], 3.25 [2H, m, NCH_2], 3.42 [9H, s, $\text{CH}_3 \text{N}^+$], 3.42 [1H, m, NCHH], 3.54 [1H, m, N^+CHH], 3.77 [1H, m, N^+CHH], 4.47 [1H, m, $\text{NHC}_\beta\text{HCONH}$], 4.80 [1H, m, $\text{NHC}_\alpha\text{HCON}$], 7.18 [1H, d, $J = 7.8$ Hz, $\text{NHC}_\beta\text{HCONH}$], 7.97 [1H, d, $J = 7.8$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}$]。元素分析 : 実測値 : C, 67.26; H, 11.37; N, 6.41%。 $\text{C}_{47}\text{H}_{95}\text{BrN}_4\text{O}_3$ としての計算値 : C, 66.87; H, 11.34; N, 6.64%。

2-2-6. *N,N*-ジヘキサデシル-[6-(トリメチルアンモニオ)ヘキサノイル]-*L*-アラニル-*L*-アラニル-*L*-アラニンアミド ブロミド : $\text{N}^+\text{C}_5\text{Ala}_3\text{C}_{16}$

スキーム 2.6

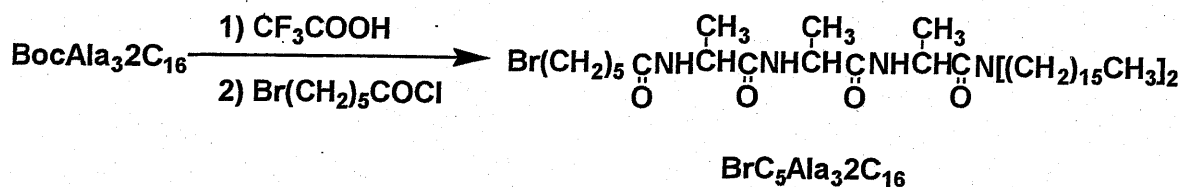


2-2-6-1. *N,N*-ジヘキサデシル-*N*^α-(*t*-ブトキシカルボニル)-*L*-アラニル-*L*-アラニル-*L*-アラニンアミド : BocAla₃2C₁₆



BocAla₂2C₁₆ (3.41 g, 4.82 mmol) にトリフルオロ酢酸 (5 ml)を加えて室温で0.5時間攪拌した。TLCにて原料が消失していることを確認し、過剰なトリフルオロ酢酸を減圧留去し、淡黄色油状物を得た。収量(収率): 4.49 g (定量的)。得られた生成物 4.49 gをジクロロメタン (30 ml)に溶解し、氷浴下で攪拌しながら BocAlaOH (1.09 mg, 5.78 mmol)、トリエチルアミン (2.09 g, 20.6 mmol)、DEPC (0.942 g, 5.78 mmol)を加えた。氷浴下で15分攪拌した後、室温で22時間攪拌した。溶媒を減圧下で留去した後、粗生成物についてカラムクロマトグラフ法 [ワコーゲル C-300; ヘキサノー酢酸エチル (1:1 v/v)] により精製を行い、溶媒を留去し減圧下で乾燥を行い、無色油状液体を得た。収量(収率): 3.21 g (84.0%)。TLC: *R*_f値 0.45 [シリカゲル 70 FM プレートワコー; ヘキサノー酢酸エチル (1:1 v/v)]。¹H-NMR (270 MHz, CDCl₃, TMS): δ 0.88 [6H, t, *J* = 6.8 Hz, CH₂CH₃], 1.26 [52H, m, (CH₂)₁₃CH₃], 1.31 [3H, d, *J* = 6.3 Hz, C_aHCH₃], 1.36 [6H, d, *J* = 6.8 Hz, C_bHCH₃, C_cHCH₃], 1.45 [s, 9H, (CH₃)₃CO], 1.51-1.57 [4H, m, NCH₂CH₂], 3.09 [1H, m, NCHH], 3.23 [2H, m, NCH₂], 3.51 [1H, m, NCHH], 4.18 [1H, m, OCONHC_aHCO], 4.43 [1H, m, NHC_aHCON], 4.77 [1H, m, NHC_bHCONH], 5.06 [br, 1H, OCONH], 6.77 [1H, d, *J* = 7.3 Hz, NHC_aHCON], 6.95 [1H, d, *J* = 7.3 Hz, NHC_bHCO]。

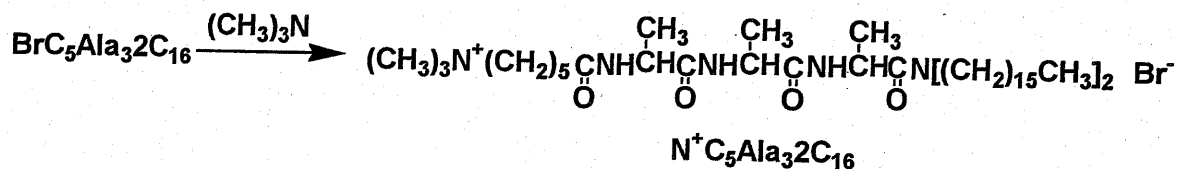
2-2-6-2. *N,N*-ジヘキサデシル-(6-ブロモヘキサノイル)-*L*-アラニル-*L*-アラニル-*L*-アラニンアミド : BrC₅Ala₃2C₁₆



BocAla₃2C₁₆ (1.00 g, 1.28 mmol) にトリフルオロ酢酸(3 ml)を加えて室温で0.5時間攪拌した。TLCにて原料が消失していることを確認し、過剰なトリフルオロ酢酸を減

圧留去し、淡黄色油状物を得た。収量 (収率) : 1.32 g (定量的)。得られた生成物をジクロロメタン(30 ml)に溶解し、氷浴下で攪拌しながらトリエチルアミン (0.80 g, 7.87 mmol)、6-ブロモヘキサン酸クロリド(0.55 g, 2.56 mmol)を加えた。氷浴下で1時間攪拌し、次いで室温で13時間攪拌した。溶媒を減圧下で留去した後、粗生成物についてカラムクロマトグラフ法 [ワコーゲルC-300; 酢酸エチル] により精製を行い、溶媒を留去し減圧下で乾燥を行い、白色固体を得た。収量 (収率) : 0.760 g (70.0%)。TLC: R_f 値 0.57 [シリカゲル 70FM プレートワコー, 酢酸エチル]。 $^1\text{H-NMR}$ (270 MHz, CDCl_3 , TMS) : δ 0.88 [6H, t, $J = 6.8$ Hz, CH_3], 1.26 [52H, m, $(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_3$], 1.32 [3H, d, $J = 6.8$ Hz, $\text{C}_\alpha\text{HCH}_3$], 1.37 [6H, d, $J = 5.8$ Hz, $\text{C}_\alpha\text{HCH}_3$], 1.39 [3H, d, $J = 5.9$ Hz, $\text{C}_\beta\text{HCH}_3$], 1.49 [4H, m, NCH_2CH_2], 1.58 [2H, m, $\text{BrCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$], 1.67 [2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$], 1.87 [2H, m, BrCH_2CH_2], 2.24 [2H, t, $J = 7.4$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$], 3.09 [1H, m, NCHH], 3.23 [2H, m, NCH_2], 3.40 [2H, t, $J = 6.6$ Hz, BrCH_2], 3.51 [1H, m, NCHH], 4.50 [2H, m, $\text{NHC}_\alpha\text{HCON}, \text{CH}_2\text{CONHC}_\alpha\text{H}$], 4.80 [1H, m, $\text{NHC}_\beta\text{HCONH}$], 6.34 [1H, d, $J = 6.6$ Hz, CH_2CONH], 6.67 [1H, d, $J = 7.3$ Hz, $\text{NHC}_\alpha\text{HCON}$], 7.09 [1H, d, $J = 7.8$ Hz, $\text{NHC}_\beta\text{HCO}$]。

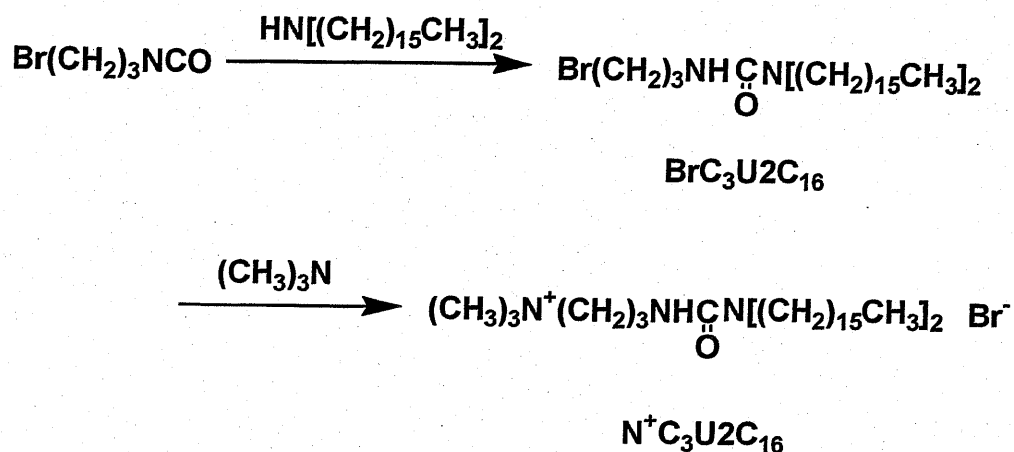
2-2-6-3. *N, N*-ジヘキサデシ- N^α -[6-(トリメチルアンモニオ)ヘキサノイル]-*L*-アラニル-*L*-アラニル-*L*-アラニンアミド ブロミド : $\text{N}^+\text{C}_5\text{Ala}_32\text{C}_{16}$



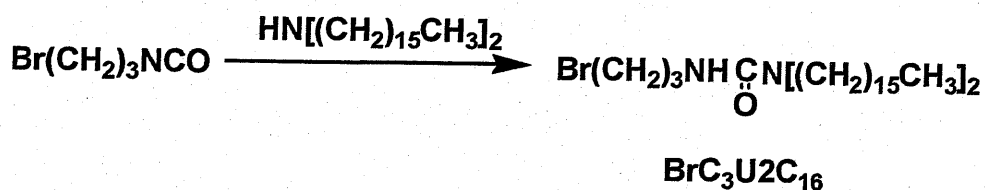
$\text{BrC}_5\text{Ala}_32\text{C}_{16}$ (0.660 g, 0.771 mmol)を無水 THF (20 ml)に溶解し、室温でトリメチルアミンガスを飽和するまで1時間吹き込んだ。31時間攪拌した後、THF およびトリメチルアミンを減圧下で留去した。得られた生成物をアセトニトリル:エタノール混合溶液から再結晶し、白色固体を得た。収量 (収率) : 520 mg (64.0%)。 $^1\text{H-NMR}$ (270 MHz, CDCl_3 , TMS) : δ 0.88 [6H, t, $J = 6.6$ Hz, CH_3], 1.26 [52H, m, $(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_3$], 1.34 [3H, d, $J = 6.6$ Hz, $\text{C}_\alpha\text{HCH}_3$], 1.38 [6H, d, $J = 7.3$ Hz, $\text{C}_\alpha\text{HCH}_3$], 1.44 [3H, d, $J = 6.8$ Hz, $\text{C}_\beta\text{HCH}_3$], 1.47 [4H, m, NCH_2CH_2], 1.59 [2H, m, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$], 1.68 [1H, m, CHHCH_2CO], 1.80 [2H, m, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{CHH}, \text{CHHCH}_2\text{CO}$], 1.97 [1H, m, $\text{N}^+\text{CH}_2\text{CHH}$], 2.34 [1H, m, CH_2CHHCO], 2.48 [1H, m, CH_2CHHCO], 3.07 [1H, m, NCHH], 3.24 [2H, t, $J = 7.8$ Hz, NCH_2], 3.40 [s, 9H, $(\text{CH}_3)_3\text{N}^+$], 3.44 [1H, m, NCHH], 3.60 [1H, m, N^+CHH], 3.71 [1H, m, N^+CHH], 4.44 [2H, m, $\text{NHC}_\beta\text{HCONH}, \text{CH}_2\text{CONHC}_\alpha\text{H}$], 4.74 [1H, m, $\text{NHC}_\alpha\text{HCON}$], 7.18 [1H, d, $J = 7.3$ Hz, CH_2CONH], 7.23 [1H, d, $J = 7.8$ Hz, $\text{NHC}_\alpha\text{HCON}$], 7.78 [1H, d, $J = 6.8$ Hz, $\text{NHC}_\beta\text{HCO}$]。元素分析 : 実測値 : C, 65.03 ; H, 10.89 ; N, 7.31%。 $\text{C}_{50}\text{H}_{100}\text{BrN}_5\text{O}_4 \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$ としての計算値 : C, 64.97 ; H, 11.01 ; N, 7.58%。

2-2-7. *N,N*-ジヘキサデシル-*N'*-[3-(トリメチルアンモニオ)プロピル]尿素 ブロミド : $N^+C_3U2C_{16}$

スキーム 2.7

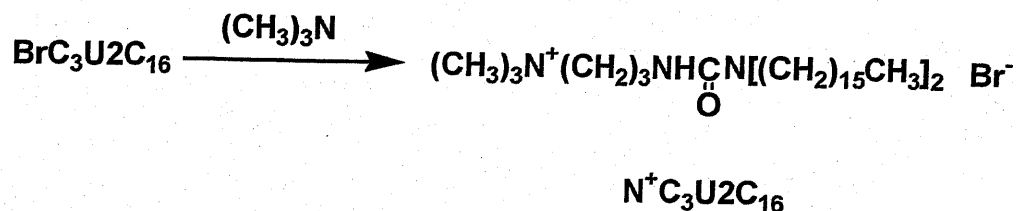


2-2-7-1. *N,N*-ジヘキサデシル-*N'*-(3-ブロモプロピル)尿素 : $\text{BrC}_3\text{U}2\text{C}_{16}$



3-ブロモプロピルイソシアナート (0.423 g, 2.58 mmol) とジヘキサデシルアミン (1.00 g, 2.15 mmol) をジクロロメタン (50 ml) に溶解し、3 時間室温で攪拌した。NMR にてジヘキサデシルアミンが消失していることを確認した後、溶媒を留去して、アセトニトリルから再結晶し、白色結晶を得た。収量(収率) 0.906 g (67.0%)。TLC : R_f 値 0.37 [シリカゲル 70FM プレートワコー, ヘキサン-酢酸エチル (5:1 v/v)]。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3 , TMS) : δ 0.88 [6H, t, $J=6.6$ Hz, CH_3], 1.25-1.44 [52H, m, $(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_3$], 1.52 [2H, m, NCH_2CH_2], 1.62 [2H, m, NCH_2CH_2], 3.26 [2H, m, NCH_2], 3.68 [2H, m, NCH_2], 3.68 [2H, m, $\text{BrCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$], 2.12 [2H, m, BrCH_2CH_2], 4.47 [2H, m, BrCH_2], 10.2 [1H, br, NHCON]。

2-2-7-2. *N,N*-ジヘキサデシル-*N'*-[3-(トリメチルアンモニオ)プロピル]尿素 ブロミド : $\text{N}^+\text{C}_3\text{U2C}_{16}$

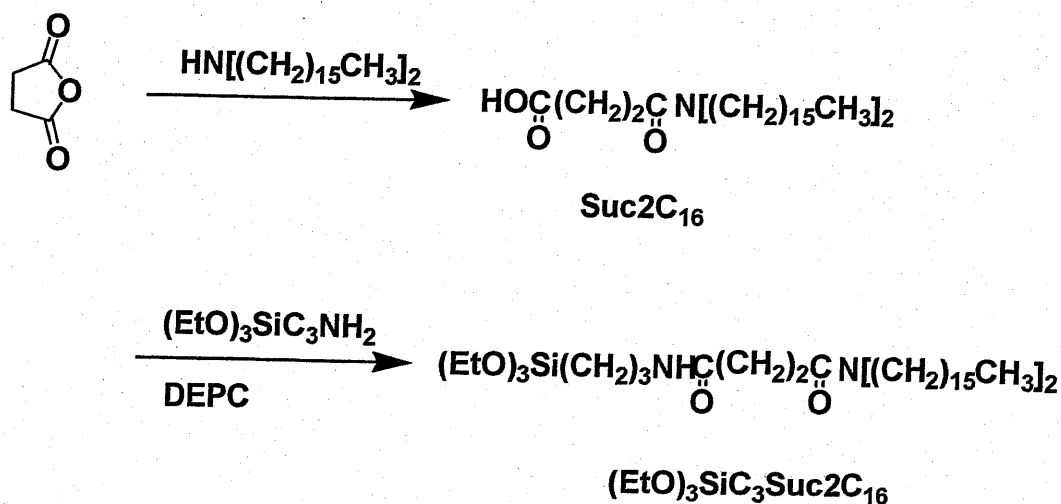


$\text{BrC}_3\text{U2C}_{16}$ (0.400 g, 0.635 mmol)を乾燥 THF (50 ml)に溶解し、30% トリメチルアミン水溶液 (100 ml)を 70 °Cに加熱して発生させたトリメチルアミンガスを吹き込み、20 時間 50 °Cで撹拌した。NMR にて $\text{N}^+\text{C}_3\text{U2C}_{16}$ が生成していることを確認した後、溶媒を留去した。この粗生成物についてリサイクル分取 HPLC(JAIGEL 2H, 日本分析化学工業)により精製を行い、白色固体を得た。収量 (収率) : 0.115 g (26.3%)。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3 , TMS) : δ 0.88 [6H, t, $J=6.6$ Hz, CH_3], 1.25 [52H, m, $(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_3$], 1.51 [4H, m, NCH_2CH_2], 2.13 [2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCO}$], 3.22 [4H, t, $J=7.8$ Hz, NCH_2], 3.32 [9H, s, $J=7.8$ Hz, NCH_2], 3.39 [2H, d, $J=7.7$ Hz, 5.1 Hz, CH_2NHCO], 3.87 [2H, t, $J=7.3$ Hz, N^+CH_2], 5.64 [1H, t, $J=5.1$ Hz, NH]。元素分析 : 実測値 : C, 65.95 ; H, 12.20 ; N, 6.10%。 $\text{C}_{39}\text{H}_{82}\text{BrN}_3\text{O} \cdot \text{H}_2\text{O}$ としての計算値 : C, 66.25, H, 11.98 ; N, 5.94%。

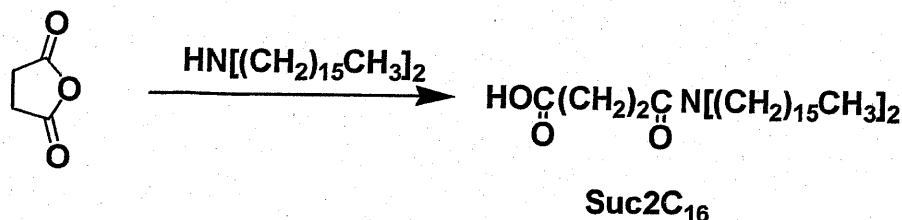
2-3. 異なる水素結合部位を持つシラン型脂質の合成

2-3-1. [N-(3-トリエトキシシリルプロピル)スクシナモイル]ジヘキサデシルアミン : $(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{Suc2C}_{16}$

スキーム 2.8

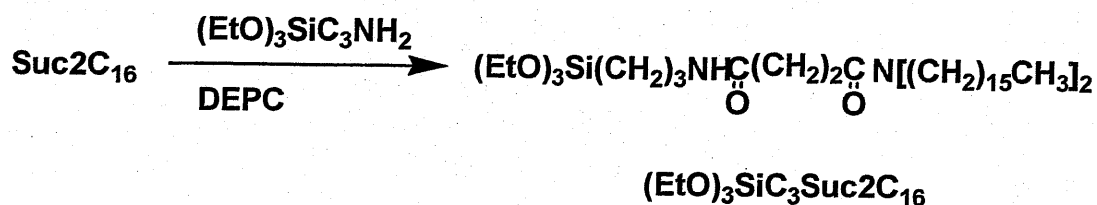


2-3-1-1. *N,N*-ジヘキサデシルコハク酸アミド : Suc2C₁₆



ジヘキサデシルアミン (2.00 g, 4.29 mmol) の THF 溶液 (30 ml) に無水コハク酸 (0.473 g, 4.72 mmol) を加えて 2 時間攪拌した。TLC にてジヘキサデシルアミンのピークが消失したことを確認した後、白色沈殿物を濾別し、濾液の溶媒を留去した。残渣をアセトニトリルから再結晶し、白色結晶を得た。収量 (収率) : 1.35 g (55.7%)。TLC : R_f 値 0.50 [シリカゲル 70FM プレートワコー, ヘキサノ-酢酸エチル-酢酸 (90:30:1 v/v)]。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, TMS) : δ 0.88 [6H, t, $J = 6.5$ Hz, CH₃], 1.26 [52H, m, (CH₂)₁₃CH₃], 1.54 [6H, m, NCH₂CH₂], 1.79 [2H, m, CH₂CH₂CO], 2.69 [4H, m, HOCO(CH₂)₂CON], 3.15 [2H, t, $J = 7.8$ Hz, NCH₂(CH₂)₁₃], 3.32 [2H, t, $J = 7.8$ Hz, NCH₂(CH₂)₁₃]。

2-3-1-2. *N*-[*N*-(3-トリエトキシシリル)プロピルスクシナモイル]ジヘキサデシルアミン : (EtO)₃SiC₃Suc2C₁₆

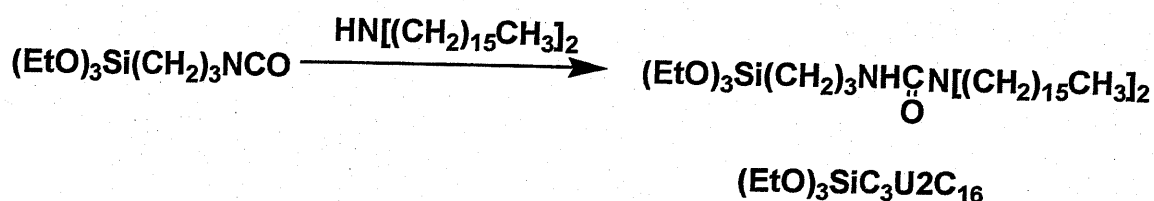


Suc2C₁₆ (0.419 g, 0.74 mmol) をジクロロメタン (30 ml) に溶解し、3-アミノプロピルトリエトキシシラン (0.180 g, 0.813 mmol)、DEPC (0.133 g, 0.816 mmol)、トリエチルアミン (0.082 g, 0.810 mmol) を加えて 4 時間攪拌した。NMR にて反応の終了を確認した後、溶媒を留去し、カラムクロマトグラフ法 [ワコーゲル C-300 ; クロロホルム-酢酸エチル (3:1 v/v)] により精製した。さらにこの粗生成物についてリサイクル分取 HPLC (JAIGEL 2H, 日本分析化学工業) により精製を行い、無色透明な液体を得た。収量 (収率) : 0.220 g (38.6%)。TLC : R_f 値 0.30 [シリカゲル 70FM プレートワコー, クロロホルム-酢酸エチル (3:1 v/v)]。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, TMS) : δ 0.62 [2H, t, $J = 8.4$ Hz, SiCH₂], 0.88 [6H, t, $J = 6.6$ Hz, CH₃], 1.22 [9H, t, $J = 7.3$ Hz, SiOCH₂CH₃],

1.22-1.29 [52H, m, (CH₂)₁₃CH₃], 1.60 [6H, m, NCH₂CH₂, SiCH₂CH₂CH₂], 2.51 [2H, t, *J* = 6.6 Hz, CH₂CON], 2.64 [2H, t, *J* = 6.6 Hz, CH₂CON], 3.15-3.24 [6H, m, NCH₂SiCH₂CH₂CH₂NH], 3.80 [6H, q, *J* = 7.3 Hz, OCH₂CH₃], 6.30 [1H, br, NHCO]. 元素分析 : 実測値 : C, 70.26; H, 12.05; N, 3.64%. C₄₅H₉₂N₂O₅Si としたの計算値 : C, 70.31; H, 12.05; N, 3.65%。

2-3-2. *N,N*-ジヘキサデシル-*N'*-[(3-トリエトキシシリル)プロピル]尿素 :
(EtO)₃SiC₃U2C₁₆

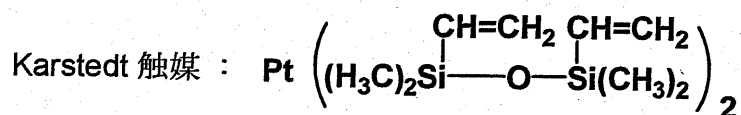
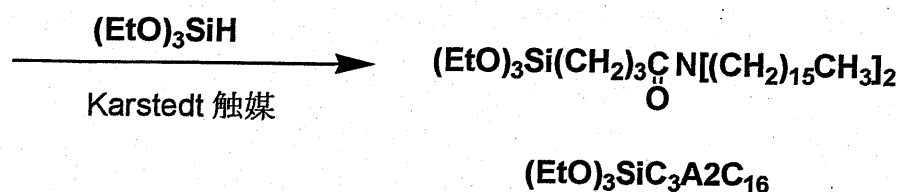
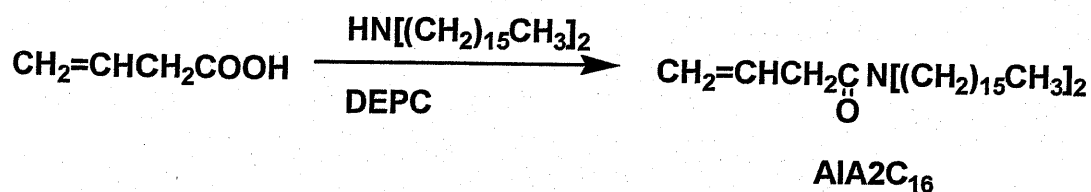
スキーム 2.9



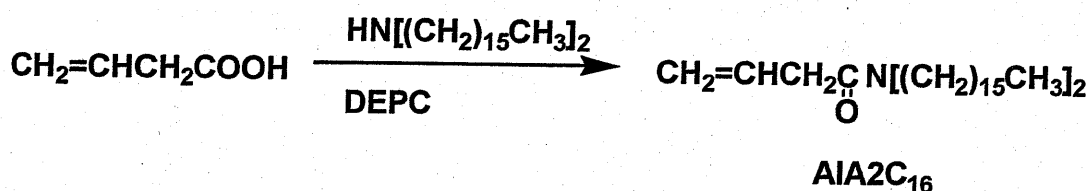
ジヘキサデシルアミン (0.500 g, 1.07 mmol) をジクロロメタン (30 ml) に溶解し、3-トリエトキシシリルプロピルイソシアナート (0.319 g, 1.29 mmol) を加えて1時間攪拌した。TLCにてジヘキサデシルアミンが消失したことを確認した後、溶媒を留去し、この粗生成物についてカラムクロマトグラフ法 [ワコーゲル C-300; ヘキサノー酢酸エチル (4:1 v/v)] により精製した。溶媒を留去して減圧下で乾燥を行い、無色透明な液体を得た。収量 (収率) : 629 mg (76.8%)。TLC : *R_f* 値 0.19 [シリカゲル 70FM プレートワコー, ヘキサノー酢酸エチル (5:1 v/v)]。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃, TMS) : δ 0.63 [2H, t, *J* = 7.6 Hz, SiCH₂], 0.87 [6H, t, *J* = 6.8 Hz, CH₃], 1.20-1.25 [61H, m, (CH₂)₁₃CH₃, OCH₂CH₃], 1.5-1.63 [4H, m, NCH₂CH₂, SiCH₂CH₂], 3.13 [4H, t, *J* = 7.4 Hz, NCH₂], 3.22 [2H, t, *J* = 6.8 Hz, CH₂NHCO], 3.81 [6H, q, *J* = 6.9 Hz, OCH₂CH₃], 4.43 [1H, br, NHCON]。元素分析 : 実測値 : C, 70.47; H, 12.73; N, 3.89%。C₄₂H₈₈N₂O₄Si としたの計算値 : C, 70.73; H, 12.44; N, 3.93%。

2-3-3. *N,N*-ジヘキサデシル-(4-トリエトキシシリル)酪酸アミド : $(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{A}2\text{C}_{16}$

スキーム 2.10



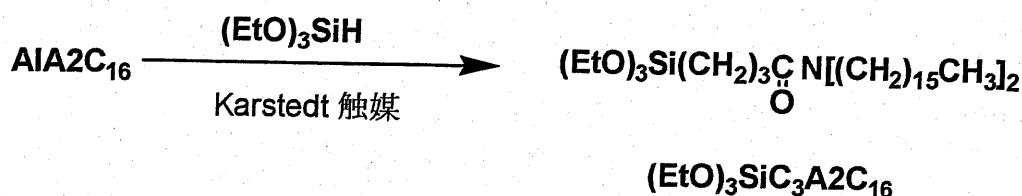
2-3-3-1. *N,N*-ジヘキサデシル-3-ブテンアミド : $\text{AIA}2\text{C}_{16}$



$2\text{C}_{16}\text{NH}$ (2.00 g, 4.29 mmol)をジクロロメタン (30 ml)に溶解し、3-ブテン酸(0.443 g, 5.15 mmol)、DEPC (0.840 g, 5.15 mmol)、トリエチルアミン(0.521 g, 5.15 mmol)を加えて27時間攪拌した。TLCにて反応の終了を確認した後、溶媒を留去し、この粗生成物についてカラムクロマトグラフ法 [ワコーゲル C-300;ヘキサノー酢酸エチル (10:1 v/v)] により精製した。溶媒を留去して減圧下で乾燥を行い、無色透明な液体を得た。収量 (収率) : 1.58 g (60.6%)。TLC : R_f 値 0.36[シリカゲル 70FM プレートワコー, ヘキサノー酢酸エチル (10:1 v/v)]。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3 , TMS) : δ 0.88 [6H, t, J = 6.6 Hz, CH_3], 1.20-1.38 [52H, m, $(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_3$], 1.53 [4H, m, NCH_2CH_2], 3.11 [2H, d, J = 6.6 Hz, CH_2CO], 3.20 [2H, t, J = 7.8 Hz, NCH_2], 3.29 [2H, t, J = 7.8 Hz, NCH_2], 5.12 [1H, d, d, J

= 1.8 Hz, 1.8 Hz, $\text{CH}_a\text{H}_b\text{CH}$], 5.15 [1H, d, d, $J = 1.8 \text{ Hz}, 10.8 \text{ Hz}$, $\text{CH}_a\text{H}_b\text{CH}$], 5.99 [1H, t, d, d, $J = 6.6 \text{ Hz}, 10.8 \text{ Hz}, 1.8 \text{ Hz}$, $\text{CH}_a\text{H}_b\text{CH}$]. 元素分析：実測値：C, 80.97; H, 13.78; N, 2.59%. $\text{C}_{36}\text{H}_{71}\text{BrNO}$ としての計算値：C, 80.98; H, 13.40; N, 2.62%。

2-3-3-1. *N,N*-ジヘキサデシル-(4-トリエトキシシリル)酪酸アミド： $(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{A}_2\text{C}_{16}$



$\text{AlA}_2\text{C}_{16}$ (500 mg, 0.936 mmol) に $(\text{EtO})_3\text{SiH}$ (154 mg, 0.936 mmol) を加え、Karstedt 触媒 (Pt 2.0-2.4%, 30 μl) を加えて、室温で 22 時間攪拌した。TLC で反応の終了を確認した後、カラムクロマトグラフ法 [ワコーゲル C-300; クロロホルム-エタノール (50:1 v/v)] により精製した。溶媒を留去して減圧下で乾燥を行い、無色透明液体を得た。さらにこの粗生成物についてリサイクル分取 HPLC (JAIGEL 2H, 日本分析化学工業) で精製を行い、無色透明な液体を得た。収量 (収率) : 96 mg (15%)。TLC : R_f 値 0.27 [シリカゲル 70FM プレートワコー, クロロホルム-エタノール (50:1 v/v)]。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD , TMS) : δ 0.67 [2H, t, $J = 7.8 \text{ Hz}$, SiCH_2], 0.90 [6H, t, $J = 6.5 \text{ Hz}$, CH_3], 1.21 [9H, t, $J = 6.6 \text{ Hz}$, CH_2COSi], 1.29 [56H, m, $(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_3$], 1.53 [6H, t, $J = 7.2 \text{ Hz}$, NCH_2], 1.60 [6H, t, $J = 7.2 \text{ Hz}$, NCH_2], 1.73 [2H, t, t, $J = 7.8 \text{ Hz}, 7.8 \text{ Hz}$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$], 2.34 [2H, t, $J = 7.8 \text{ Hz}$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$], 3.83 [6H, q, $J = 7.2 \text{ Hz}$, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$]。元素分析：実測値：C, 72.28; H, 12.75; N, 1.91%。 $\text{C}_{42}\text{H}_{87}\text{NO}_4\text{Si}$ としての計算値：C, 72.25; H, 12.56; N, 2.01%。

2-4. 総括

4 級アンモニウム型脂質の合成に際して、ペプチド鎖が伸長するにつれアミノ基末端の反応性が悪くなったので一般に用いられる DCC より強い縮合剤である、DEPC を用いることで反応を行った。ペプチド鎖の伸長は 3 残基程度では溶解性が悪くなることは無く、オリゴペプチドを有する 4 級アンモニウム型脂質の合成に成功した。シラン型脂質の合成では従来用いられてきた縮合剤による合成法以外にイソシアナートへのアミンの付加を利用することにより、収率よく 1 段階で新規シラン型脂質を合成することができた。また、アルケンのヒドロシリル化を利用することで新規シラン型脂質を合成することにも成功した。

第3章 複数のアミド結合を持つ脂質分子の集合体の性質

3-1. 序

脂質二分子膜や単分子膜は従来からよく研究された分子集合体であり、近年のナノテクノロジーの重要性の増加にあいまって、ますます盛んに研究が行われている^{7,8,21)}。

水素結合は強い分子間相互作用であり、これを脂質などの集合体を構築する分子に導入することで分子同士の相互作用を強め、集合体構造を安定化することができる²⁴⁾。さらに、多点で水素結合できるように設計することで脂質間に強い分子間相互作用を導入し、従来困難とされていた超分子集合体の構築が可能となることが知られている^{39,38)}。同様にペプチド脂質へ多点水素結合部位を導入し、ベシクル中で分子間相互作用が強まれば、分子パッキングを増大させると予想される。このことは膜の形態安定性や流動性といった膜物性に大きな影響を与えると考えられる。ここではこれらの膜物性のうち、集合体の相転移挙動に着目して系統的に調べた。

一般に二分子膜構造を形成する脂質のゲルー液晶相転移温度(T_m)、相転移エンタルピー変化(ΔH)といった相転移パラメータはその分子構造全体に大きく依存している。例えば、リン脂質のうちジアシルホスファチジルコリンにおいては、疎水性アルキル基の鎖長と相転移パラメータとの間には一定の相関が認められるが⁴⁵⁾、疎水性アルキル基の鎖長を一定にして、極性頭部のアンモニウム基のメチル基の数を変化させても、 T_m は大きく変化する。例えば、ジパルミトイルホスファチジルコリンの頭部アンモニウム基のメチル基の数を3,2,1,0と減少させると、 T_m の値は、41.5、48.2、58.0、63.4℃と増加する⁴⁶⁾。同様な挙動はジミリストイルホスファチジルコリンについても認められている⁴⁷⁾。このように、天然脂質系では分子の疎水性鎖部位のみならず、極性頭部の構造も相転移に影響を与える。同様な挙動は、二分子膜形成能をもつ人工脂質系においても一般に認められる。国武らは、数多くの人工脂質についてその分子構造と相転移パラメータとの関係について議論しているが、この場合にも相転移パラメータは脂質分子の疎水性鎖部位のみならず、極性頭部やコネクター部位の構造に大きく依存する⁴⁸⁾。したがって、新規の人工脂質を分子設計する場合に、あらかじめその相転移温度を予測することは一般には困難であるといえる。

これに対して、ペプチド脂質の場合には、多くの化合物について、相転移パラメータが主に疎水性アルキル基の鎖長のみに依存しており、極性頭部やコネクター部位のアミノ酸残基の種類にはほとんど依存しない²⁴⁾。このことはペプチド脂質では膜中で極めて効果的に水素結合帯が形成されていることを反映するものといえよう。また、水素結合帯の形成は以下のことから強く示唆されている。

1. 多くのペプチド脂質について、相転移パラメータが主に疎水性アルキル基の鎖長のみに依存しており、極性頭部やコネクター部位のアミノ酸残基の種類にはほとんど依存しない²⁴⁾。
2. $N^+C_5Ala2C_{16}$ からなるベシクルは疎水性のゲストに対して二つの結合部位を持っており、このことは水素結合帯により分離された二つの部位が存在している

ことを示唆している^{49,50)}。

3. 重水中の $\text{N}^+\text{C}_5\text{Ala}_2\text{C}_{14}$ からなるベシクルのアミド I であるカルボニル基の赤外振動吸収は 1624 cm^{-1} であり、このことは膜中で強い分子間水素結合をしていることを示している⁵¹⁾。

また、二分子膜中の水素結合部位のマイクロ環境については、マイクロ環境の極性を調べるプローブを用いた研究から分子構造の違いによって、メタノール⁴⁹⁾、エタノール⁵²⁾、イソプロパノール⁵³⁾と同様の極性であることがわかっている。このことは水素結合部位には水がかなり含まれていることを示している。また、ペプチド脂質は分子構造上、最密にパッキングしても直接分子間水素結合をすることは難しい。これらのことから水を介して分子間水素結合をしているものと考えられる。

このようにペプチド脂質からなる集合体の水素結合性は様々な測定により、分子論的に明らかになっている。その水素結合性が相転移挙動に与える影響も二分子膜においては明らかになっている。このような脂質を用いることで集合体の相転移挙動からその相転移が分子のどの官能基の状態変化に依存するかを推定することが可能となる。このことは集合体中における分子間相互作用を論ずる上で極めて有利な点である。

第 1 章でも述べたように集合体物性の改良のために水素結合の利点を利用した研究は数多くあるが、同じ構造の脂質を用いてこれらの集合体物性に水素結合が及ぼす影響を系統的に検討した研究はこれまでにほとんど見られない。本章では水素結合部位を有しその二分子膜での集合体物性のよくわかっているペプチド脂質を用い、系統的に分子設計を変え、二分子膜および単分子膜の相転移挙動を比較することにより、単分子膜における分子間相互作用について明らかにし、単分子膜、二分子膜といった分子組織体の脂質間相互作用と膜物性の相関を明らかにした。

3-2. 二分子膜の相転移挙動

二分子膜中において、疎水性尾部と 4 級アンモニウム型頭部の間のコネクタ部位に複数の水素結合部位の導入することによる膜物性への影響を調べるために、水素結合部位として 1 個から 3 個のグリシンまたはアラニン残基を導入したオリゴペプチド脂質を合成し、それぞれの集合体について、分子間相互作用の膜物性への影響を最も反映すると考えられる相転移挙動について検討した。また、水中で形成される二分子膜については相転移前後での分子の状態を FT-IR 測定によって評価した。

3-2-1. 試料の調製と測定法

サンプル管中で脂質をエタノールに溶解した後、 N_2 ガスをゆっくりと吹き付けて溶媒を蒸発させながら、サンプル管壁面に薄膜を形成した。さらに溶媒を完全に留去するために減圧下 (0.5 mmHg) 室温にて 2 ～ 3 時間で乾燥した。この薄膜に脂質濃度が 10 mM になるように超純水を加え、Vortex Mixer で 5 分間激しく攪拌することで分散し、乳白色の分散溶液を得た。膜の状態をより均質にするために凍結融解操作を 3 回行った。示差走査熱量測定は DSC-6100 熱量計 (Seiko Instrument) を用い、 $1\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ の走査

速度で昇温した。温度-熱容量曲線のピークを主相転移温度 T_m とした。また、赤外分光測定は次のようにして行った。調製されたサンプルを $12\ \mu\text{m}$ のテフロン製スペーサーとともにフッ化カルシウム製の窓剤で挟み、温度制御可能な循環セル(Harrick Scientific Co., TFC-M19)に組み込んだ。セル温度は恒温に保たれた循環水を通すことによって 15 から $45\ ^\circ\text{C}$ の範囲で変化させた。赤外吸収スペクトルは MCT 検出器を取り付けたフーリエ変換赤外吸収スペクトロメータ(Nicolet 560)で測定した。300 回積算をおこない、1 レベルのゼロフィリングを行うことで分解能 $1\ \text{cm}^{-1}$ の高分解能スペクトルを得ることができた。

3-2-2. 示差走査熱量分析

3-1 で述べたようにペプチド脂質においては一般の人工脂質と異なり、相転移が分子中のどの官能基に依存するかについて相転移温度を調べることで推定できる。そこで、 $\text{N}^+\text{C}_5\text{Gly}_n2\text{C}_{16}$ および $\text{N}^+\text{C}_5\text{Ala}_n2\text{C}_{16}$ ($n = 1 - 3$) のベシクル溶液の示差走査熱量測定を行った(表 3-1)。

表 3-1. ペプチド脂質からなる二分子膜ベシクル($10\ \text{mmol dm}^{-3}$)の相転移温度

脂質	$T_m / ^\circ\text{C}$		
	n=1	n=2	n=3
$\text{N}^+\text{C}_5\text{Gly}_n2\text{C}_{16}$	29.1	34.1	30.7
$\text{N}^+\text{C}_5\text{Ala}_n2\text{C}_{16}$	25.4	26.0	26.8

相転移温度は水素結合部位を増やすことによって従来のアルキル鎖 16 のペプチド脂質の相転移温度である $25 \pm 3\ ^\circ\text{C}$ ²⁴⁾ と比べて大きな差は見られなかった。このことから、二分子膜においては水素結合部位の数を増やすことで分子のパッキングに顕著な影響は与えないことがわかった。

3-2-3. 赤外吸収分光法

$\text{N}^+\text{C}_5\text{Gly}2\text{C}_{16}$ および $\text{N}^+\text{C}_5\text{Ala}2\text{C}_{16}$ からなるベシクルの相転移温度は表 3-1 よりそれぞれ $25.4\ ^\circ\text{C}$ 、 $29.1\ ^\circ\text{C}$ である。この相転移前後での分子挙動を赤外吸収スペクトル測定から調べた。

相転移前後での FT-IR 測定を行うことにより、相転移の前後で分子中の各部位がどのような結合様式をしているか明らかにでき、相転移の要因となる分子の会合挙動について知ることができる。例えば、二分子膜中のゲル相においてアルキル鎖は $2920\ \text{cm}^{-1}$ 付近と $2850\ \text{cm}^{-1}$ 付近にそれぞれ CH_2 逆対称および対称伸縮振動の吸収ピークを示す。これらのバンドは温度とともに上昇し、高波数側にシフトする。一般に CH_2 対称伸縮振動によるバンドは炭化水素鎖がトランスジグザグ構造をとるときは $2850\ \text{cm}^{-1}$ 付近に、ゴーシュ型が増えるとそれより少し高波数側になることが知られている。

例えば、アスコルビン酸パルミテートは相転移温度付近でバンドの波数が 2850 cm^{-1} から 2853 cm^{-1} に変化する⁵⁴⁾。

また、アミド I として知られるアミドのカルボニル基の赤外振動吸収は水素結合の程度を反映してシフトすることが知られており、例えば、水素結合していると考えられる固体状態の二級アミドでは 1640 cm^{-1} 付近で吸収するが、水素結合しにくい希薄溶液中では 1680 cm^{-1} 付近で吸収する⁵⁵⁾。

$\text{N}^+\text{C}_5\text{Gly}2\text{C}_{16}$ および $\text{N}^+\text{C}_5\text{Ala}2\text{C}_{16}$ からなるベシクル中の相転移前後での脂質分子の挙動の差を FT-IR 測定から調べた。図 3-1a)にはアルキル鎖の逆対称伸縮振動の吸収ピークの温度依存性について示した。 $\text{N}^+\text{C}_5\text{Gly}2\text{C}_{16}$ からなるベシクル中では相転移の前後でアルキル基のパッキングを示す 2920 cm^{-1} の CH_2 逆対称伸縮振動が高波数側に变化していることがわかる。また、 $\text{N}^+\text{C}_5\text{Ala}2\text{C}_{16}$ からなるベシクル中でも同様の变化を示した。これらはゲル液晶相転移に伴い、アルキル鎖の立体配置がトランスジグザグ型構造からゴーシュ型構造に変化していることを示している。また、図 3-1b)では、カルボニル基の吸収ピークの温度依存性について示した。 $\text{N}^+\text{C}_5\text{Gly}2\text{C}_{16}$ および $\text{N}^+\text{C}_5\text{Ala}2\text{C}_{16}$ からなるベシクル中のいずれにおいても、アルキル鎖の場合とは対照的に、水素結合を示すカルボニル基の伸縮振動を示すピークは相転移の前後でほとんど変化がなかった。このピークは集合体を作らないエタノール中の 1660 cm^{-1} のピークに比べ、 30 cm^{-1} 以上低波数側にシフトしている。これらのことは集合体中で水素結合が相転移の前後で強固に保たれていることを示している。水素結合帯が相転移の前後で保たれるために、 $\text{N}^+\text{C}_5\text{Ala}2\text{C}_{16}$ および $\text{N}^+\text{C}_5\text{Gly}2\text{C}_{16}$ からなる二分子膜はよく似た相転移挙動を示すものと考えられる。

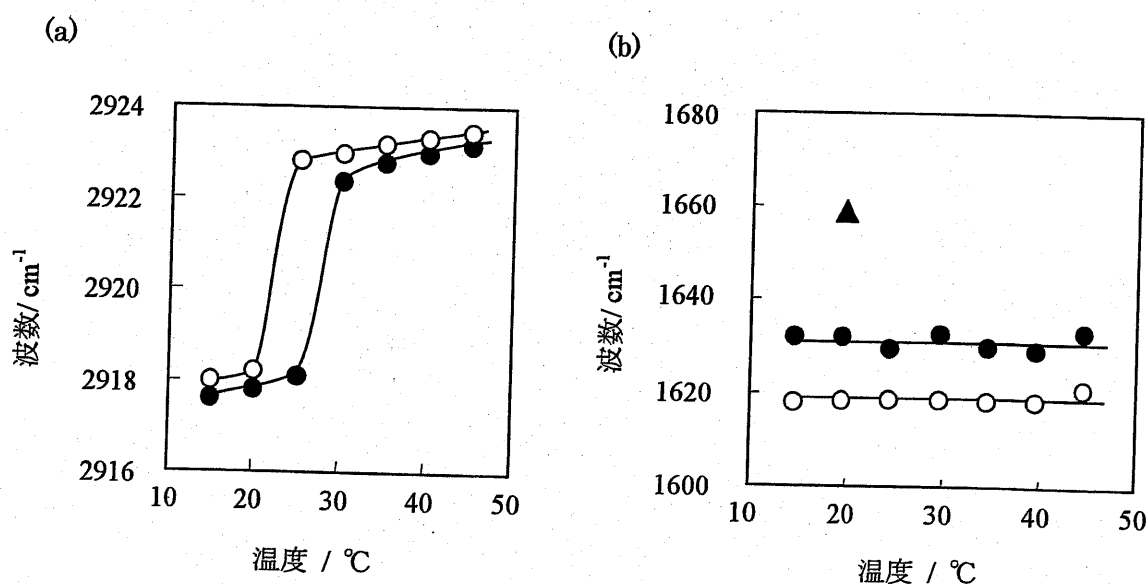


図 3-1. $\text{N}^+\text{C}_5\text{Gly}2\text{C}_{16}$ (●) および $\text{N}^+\text{C}_5\text{Ala}2\text{C}_{16}$ (○) からなる二分子膜ベシクル (各 10 mmol dm^{-3}) の赤外振動の温度依存性: (a), $\nu_{\text{as}}(\text{CH}_2)$; (b), $\nu(\text{C}=\text{O})$, ▲: $\text{N}^+\text{C}_5\text{Ala}2\text{C}_{16}$ のエタノール中の振動数 $\nu(\text{C}=\text{O})$

3-3. 単分子膜の相転移挙動

膜形成脂質を有機溶媒溶液を気-水界面上に滴下すると、脂質 1 分子層からなる単分子膜が得られる。単分子膜を力学的に圧縮することで脂質密度が変化し、それに伴って膜の状態が変化する (図 3-2)。このような脂質単分子膜の状態変化は表面圧に反映されるため、表面圧-面積曲線を測定することで単分子膜の状態変化について知ることができる。

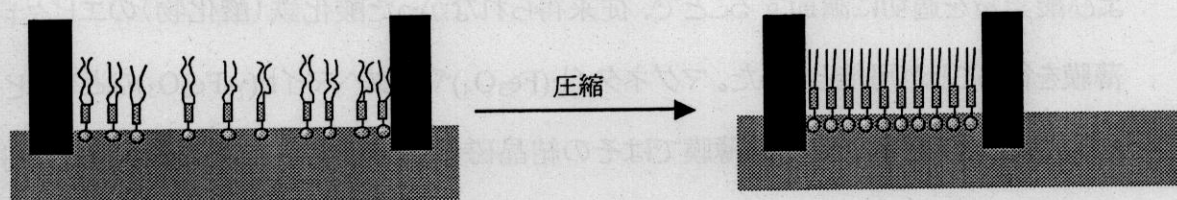


図 3-2. 単分子膜の圧縮による状態変化

ある膜形成脂質の表面圧(π)-面積(A)曲線を、温度を少しずつ変えて測定し、相転移を検出して温度軸、圧縮軸に対して整理すると相図が得られる。このようにして得られた相図を見れば、単分子膜の性質が温度によって変化していく様子がわかる。例えば、炭素数 14 の長鎖アンモニウムと長鎖スルホン酸からなる混合単分子膜は 32 °C 以下では膨張相(E)、凝縮相(C-I)をとり、さらに圧縮することで別の凝縮相(C-II)をとるが、32 °C 以上では膨張相(E)から直接、凝縮相(C-II)に転移するようになる。炭素数 12 の場合は大半の温度で膨張相であり、低温、高压の時のみ C-I 相をとる。これに対して、炭素数 18 の場合はすべての測定領域で膨張相を形成せず C-I 相から C-II 相を示すのみである。これらの結果はアルキル鎖間のファンデルワールス力が鎖長とともに増大し、単分子膜が凝集する効果を明瞭に示している⁵⁶⁾。

このように単分子膜の温度による状態の変化は膜中の分子間相互作用を反映するものと考えられる。また、温度による単分子膜の変化は長鎖カルボン酸単分子膜の電子線回折と FT-IR から詳細に検討されている⁵⁷⁾。これによると、長鎖カルボン酸からなる単分子膜は相転移温度(T_m)以下では、膨張相→中間相→結晶相をとる圧縮結晶性単分子膜であるが、 T_m 以上では凝縮相をとることなく崩壊する非晶質単分子膜になる。これと同様の挙動はペプチド脂質の単分子膜でも見られた。そこで、ペプチド脂質単分子膜の分子間相互作用を評価するにあたって、様々な温度で表面圧-面積曲線を測定し、相図を作製し、検討を行った。

相図を作製するにあたって、結晶性単分子膜の特徴である、結晶相の有無を詳細に検討する必要がある。すなわち、膨張相から結晶相への相転移が起こるかどうかを決定することが重要であり、圧縮による単分子膜の相転移を詳細に検討する必要がある。Ehrenfest によれば、ギブスの自由エネルギー G の一次微分が不連続になる相転移を一

次相転移と呼び、これに対し二次微分が不連続になる転移を二次相転移という。単分子膜、すなわち二次元状態について考えると、一定温度における G の表面圧に関する一次微分は面積を与えるから、表面圧-面積曲線において面積に不連続的变化を生ずる転移は一次相転移である。また、圧縮率は表面圧-面積曲線において分子面積を表面圧で微分することにより得られるので、 G の二次微分に相当する。したがって、圧縮率が転移点で無限大に跳ね上がる転移は一次転移であり、不連続的变化を示す転移は二次転移に相当する。このように、表面圧-面積曲線の圧力微分から求められる圧縮率は単分子膜の相転移を敏感に検出するよい指標となる⁵⁸⁾。

3-3-1. 試料の調製と測定法

所定の温度における表面圧-面積測定はコンピュータで制御したフィルムバランスシステム(USI-System Co., Ltd, FSD-300)を用いて行った。脂質溶液はベンゼン-エタノール(7:3 v/v)を展開溶媒として調製した。この脂質溶液を MilliQ 水を下水相とした気-水界面に展開し、単分子膜を作製した。下水相の温度は恒温に保たれた循環水をテフロン製のトラフ(150 mm×516 mm)に通すことで ± 0.2 °C以内に維持した。単分子膜の圧縮は面積変化速度 $60 \text{ mm}^2 \cdot \text{min}^{-1}$ で行った。

3-3-2. 表面圧-面積曲線

図 3-3 には様々な温度で気-水界面における $\text{N}^+\text{C}_5\text{Gly2C}_{16}$ のからなる単分子膜の表面圧-面積等温線を示した。単分子膜は圧縮に伴って、分子間の反発により、表面圧の上昇が見られる。一般に表面圧が 0 の状態から圧縮を始めると分子間の反発が起こるに従って、膨張相といわれる状態になり、ゆるやかな表面圧の上昇が見られる。さらに圧縮を続けるとよりパッキングや配向性の高い状態(凝縮相)への転移を起こそうとして、二状態の混合状態である中間相をとる。この状態では表面圧の上昇は見られない。さらに圧縮を続けると単分子膜状のすべての分子が高いパッキングをとり、凝縮相となる。この状態では表面圧は急峻なカーブとなる。さらに圧縮を続けると単分子膜が崩壊してしまう(図 3-3a)。

表面圧-面積曲線を様々な温度で測定した。温度が高くなるにつれて中間相に転移する表面圧が上昇することがわかる。これは温度が上がるにつれて分子の運動性が上昇し、凝縮相に転移するのに大きな圧力が必要になることを意味している。また、温度が上昇するにつれ、単分子膜が相転移をすることなく崩壊するのがわかる。(図 3-3d) これは圧縮結晶単分子膜から非晶質単分子膜に変化したためと考えられる⁵⁷⁾。次に単分子膜の温度による状態の違いを詳細に検討するために表面圧-面積曲線に基づき、圧縮率-面積曲線を求めた。

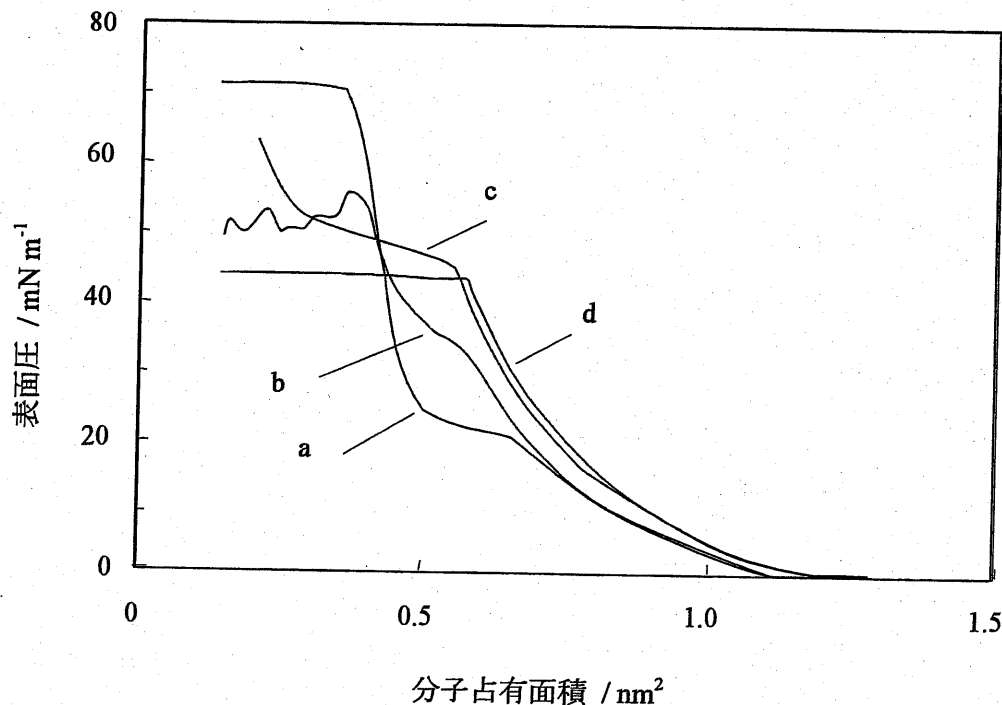


図 3-3. 気-水界面における $\text{N}^+\text{C}_5\text{Gly2C}_{16}$ のからなる単分子膜の表面圧-面積等温線:
a, 10 °C; b, 20 °C; c, 30 °C; d, 40 °C

3-3-3. 圧縮率-面積曲線と単分子膜の相転移温度

単分子膜の圧縮率は $-(\partial A/\partial \pi)_T/A$ で定義される。単分子膜では圧縮に伴い分子間反発が強くなるため、同じ相では圧縮率は下がる。しかし、圧縮による相転移に伴って膜は二つの相の混合状態をとり(中間相)、この状態では膜の圧縮より分子間の凝集が生じ、表面圧変化はほとんど起こらないため、圧縮率は上昇する。また、単分子膜が崩壊することでも表面圧は上昇しなくなるのでこの場合も圧縮率は上昇する。したがって、圧縮による相転移点では圧縮率は極小値をとると考えられる。そこで、表面圧-面積曲線から各分子占有面積における圧縮率を求めた。圧縮率 $-(\partial A/\partial \pi)_T/A$ を求めるに当たり、 $(\partial A/\partial \pi)_T$ は測定点を含む前後3点の計7点に対し、Savitzky-Golay法による最小二乗法で二次関数をフィッティングし、その関数の測定点における微分値から求めた。圧縮率はそれぞれの測定点に対し計算され、分子占有面積の関数としてプロットした。その一例を下に示す。圧縮率に二つの極小値が存在するのがわかる。これらの極小値から相転移圧(π_p)および最も凝縮された状態での表面圧(π_c)とした。図3-4に示すようにある温度範囲では単分子膜は π_c で崩壊せずにより高い崩壊圧をとる。この間では膜が歪んだ構造をとることで表面圧を緩和しているためと考えられる。

単分子膜の温度による状態の変化を調べるために π_p および π_c を下水相の温度に対してプロットし、相図を作製した(図3-5)。 π_p および π_c は温度が低い場合は決定できるが、 π_p はある温度で極小点が1つになるため、決定できなくなる。さらに、 π_p が決定できなくなる温度で π_c は不連続に変化する。この温度は単分子膜の相転移温度として定義されている。梶山らは同様に脂質単分子膜の相転移の解析を行っている⁵⁷⁾。このような方法で相転移温度を決定したところ、 $N^+C_5Gly2C_{16}$ の場合、27.0℃となった。

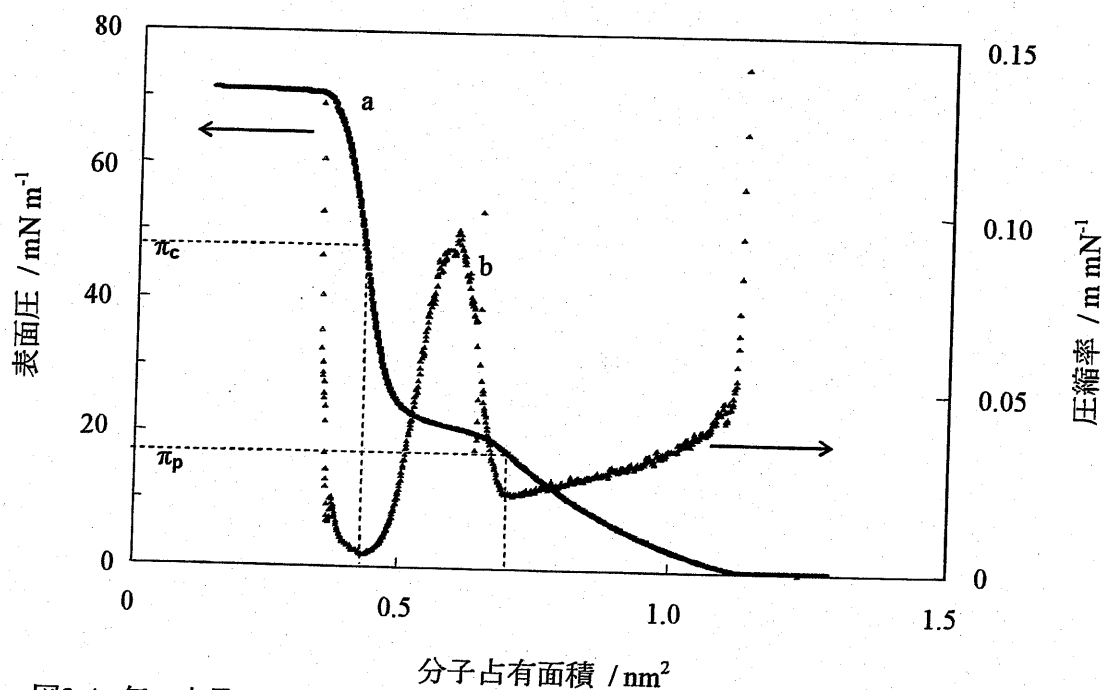


図3-4. 気-水界面における $N^+C_5Gly2C_{16}$ のからなる単分子膜の表面圧-面積等温線(a)および圧縮率-面積等温線(b) (10 °C)

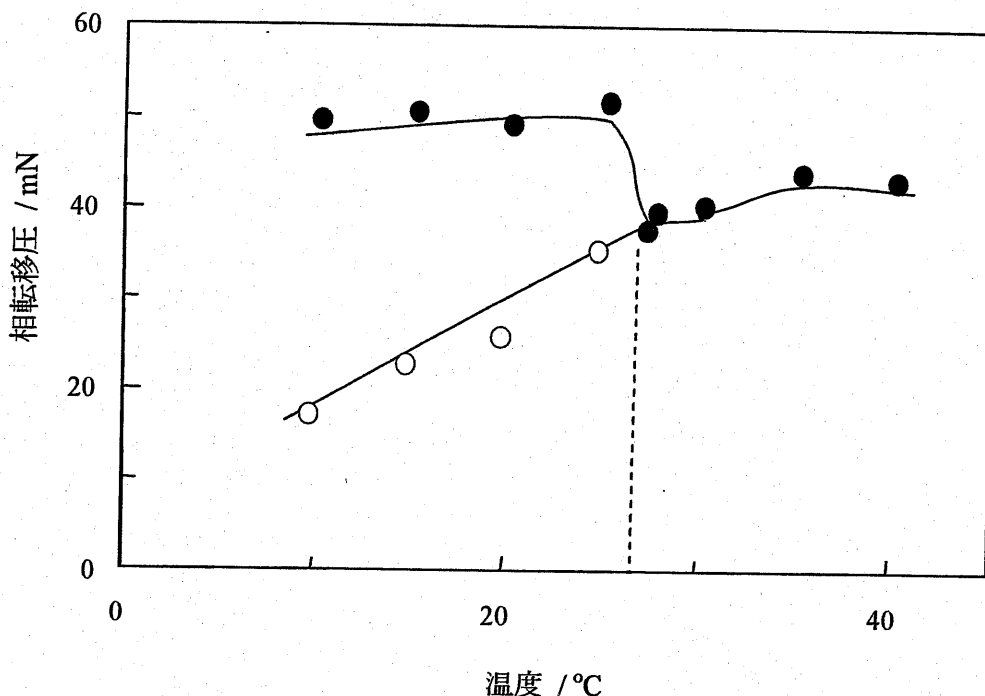


図 3-5. $N^+C_5Gly_2C_{16}$ 単分子膜の π_p (○) および π_c (●) と温度の相関

3-3-4. 脂質単分子膜の相転移挙動に及ぼす水素結合部位の効果

脂質膜は相互作用部位が増えるに従って、相転移温度が上がる傾向にある。例えば、二分子膜においてはアルキル鎖長が長くなるにつれて分子間に働くファンデルワールス力が大きくなり、相転移温度が高くなる⁴⁶⁾。単分子膜においてもアルキル鎖長が短いと圧縮しても膨張相しかとらない温度でもアルキル鎖長が長くなると圧縮により膨張相から凝縮相へ相転移する膜になる⁵⁶⁾。このことと前述の単分子膜の相転移を考慮すると、単分子膜においてもアルキル鎖長が長くなると相転移温度が高くなると考えられる。ペプチド脂質に含まれるアミノ酸残基の数を増やすことで水素結合部位をふやし、分子間相互作用の強さを変えることで単分子膜に与える影響を相転移挙動から調べた。

(a). $N^+C_5Gly_2C_{16}$ 単分子膜

$N^+C_5Gly_2C_{16}$ 単分子膜については 3-3-3 および 3-3-4 で詳細に述べた。

(b) $N^+C_5Gly_2C_{16}$ 単分子膜

ジグリシンを有する脂質が分子間で水素結合し、安定な集合体を形成することが知られている⁴⁰⁾。単分子膜中で同様に水素結合を形成できればより安定な膜が形成されることが考えられる。このことによって $N^+C_5Gly_2C_{16}$ 単分子膜は $N^+C_5Gly_2C_{16}$ 単分子膜より強くパッキングが保たれ、相転移温度が上がる可能性がある。このことを検証するため、 $N^+C_5Gly_2C_{16}$ 単分子膜の表面圧-面積曲線を測定し、前述の方法で相図を作製し、相転移温度を求めた(図 3-6, 3-7)。

相図から相転移温度は 33.0 °C と求められた。この温度は $N^+C_5Gly_2C_{16}$ 単分子膜の

27.0 °Cと比べ大きくなった。この差が有意な差であるかどうか、さらに水素結合部位を増やした $\text{N}^+\text{C}_5\text{Gly}_3\text{2C}_{16}$ 単分子膜についても同様に相転移温度を求め、系統的に比較した。

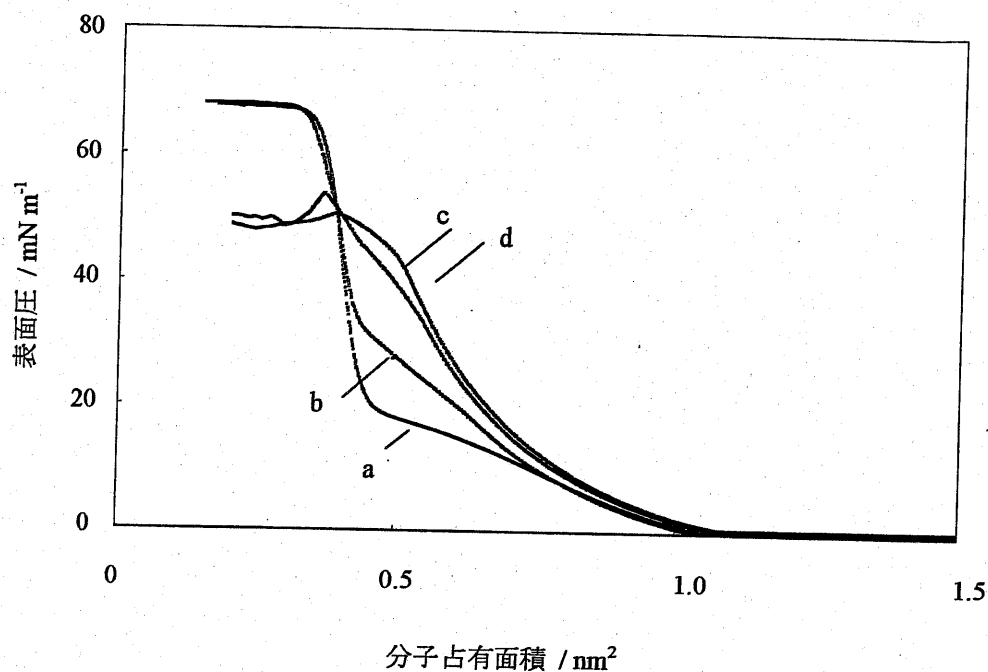


図 3-6. 気-水界面における $\text{N}^+\text{C}_5\text{Gly}_2\text{C}_{16}$ のからなる単分子膜の表面圧-面積等温線: a, 10 °C; b, 20 °C; c, 30 °C; d, 40 °C

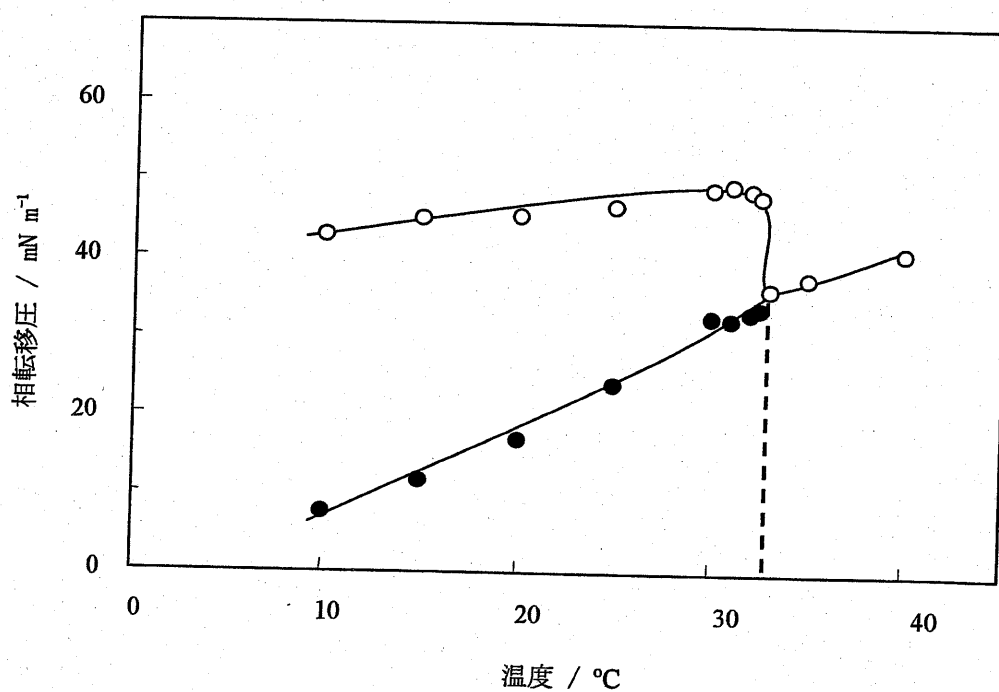


図 3-7. $\text{N}^+\text{C}_5\text{Gly}_2\text{C}_{16}$ 単分子膜の π_p (●) および π_c (○) と温度の相関

(c) $\text{N}^+\text{C}_5\text{Gly}_3\text{2C}_{16}$ 単分子膜

アミノ酸残基の数が増えるに従って相転移温度の上昇が見られるかどうかについて検証するため、 $\text{N}^+\text{C}_5\text{Gly}_3\text{2C}_{16}$ 単分子膜の表面圧-面積曲線を測定し、前述の方法で相図を作製し、相転移温度を求めた(図 3-8, 3-9)。

相転移温度を求めた結果、 $32.0\text{ }^\circ\text{C}$ であった。 $\text{N}^+\text{C}_5\text{Gly}_2\text{2C}_{16}$ と比べほとんど変化はなかった。 $\text{N}^+\text{Gly}_n\text{2C}_{16}$ ($n = 1 - 3$)の単分子膜の相転移温度は $30 \pm 3\text{ }^\circ\text{C}$ に収まっており、同じ脂質の二分子膜の相転移温度と同じ傾向にある。また、アルキル鎖長 16 の多くのペプチド脂質の二分子膜の相転移温度は $25 \pm 3\text{ }^\circ\text{C}$ に収まっている。これらのことは単分子膜においても水素結合帯の形成があることを示唆している。

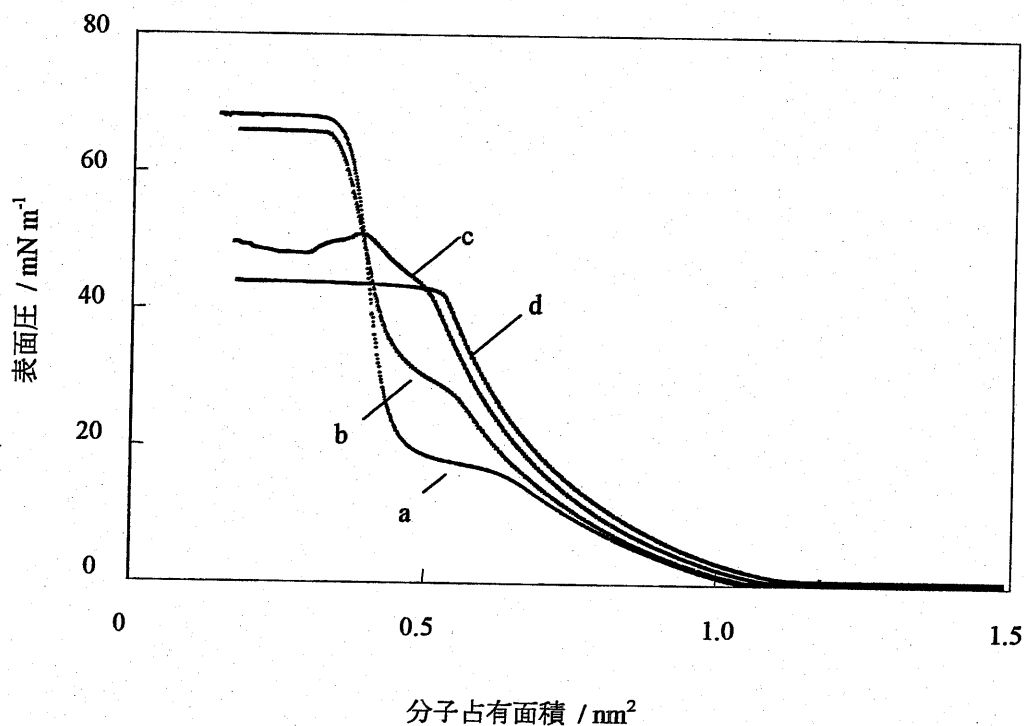


図 3-8. 気-水界面における $\text{N}^+\text{C}_5\text{Gly}_3\text{2C}_{16}$ のからなる単分子膜の
表面圧-面積等温線:a, $10\text{ }^\circ\text{C}$; b, $20\text{ }^\circ\text{C}$; c, $30\text{ }^\circ\text{C}$; d, $40\text{ }^\circ\text{C}$.

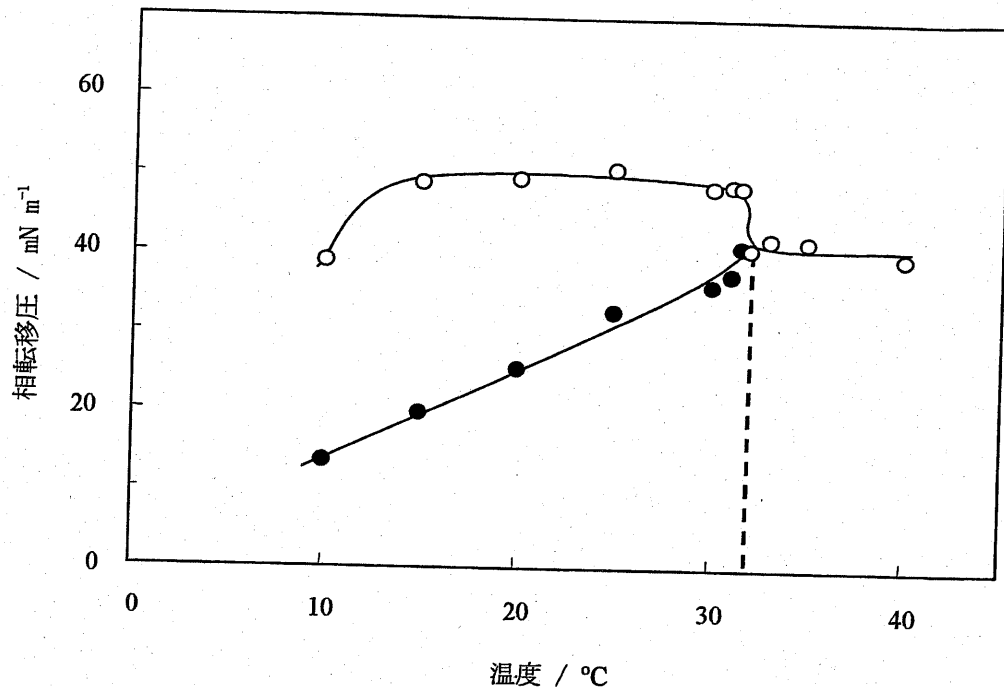


図 3-9. $N^+C_5Gly_3_2C_{16}$ 単分子膜の π_p (●) および π_c (○) と温度の相関

(d). $N^+C_5Ala_2C_{16}$ 単分子膜

次に、アミノ酸残基の単分子膜の相転移に及ぼす効果について調べた。グリシンより、かさ高い残基であるアラニンを導入した $N^+C_5Ala_2C_{16}$ 単分子膜の相転移について検討するために表面圧－面積曲線を測定し、前述の方法で相図を作製し、相転移温度を求めた(図 3-10, 3-11)。

その結果、相転移温度は 14.5 °C となり、 $N^+C_5Gly_2C_{16}$ の 27.0 °C に比べ、10 °C 以上低くなった。これはアラニンの残基であるメチル基の立体障害のために、単分子膜のパッキングが悪くなったためであると考えられる。また、そのために分子間の水素結合が弱くなり、大きな相転移温度の下降をもたらしたと考えられる。水素結合部位が増えることによる相転移温度への影響も調べた。

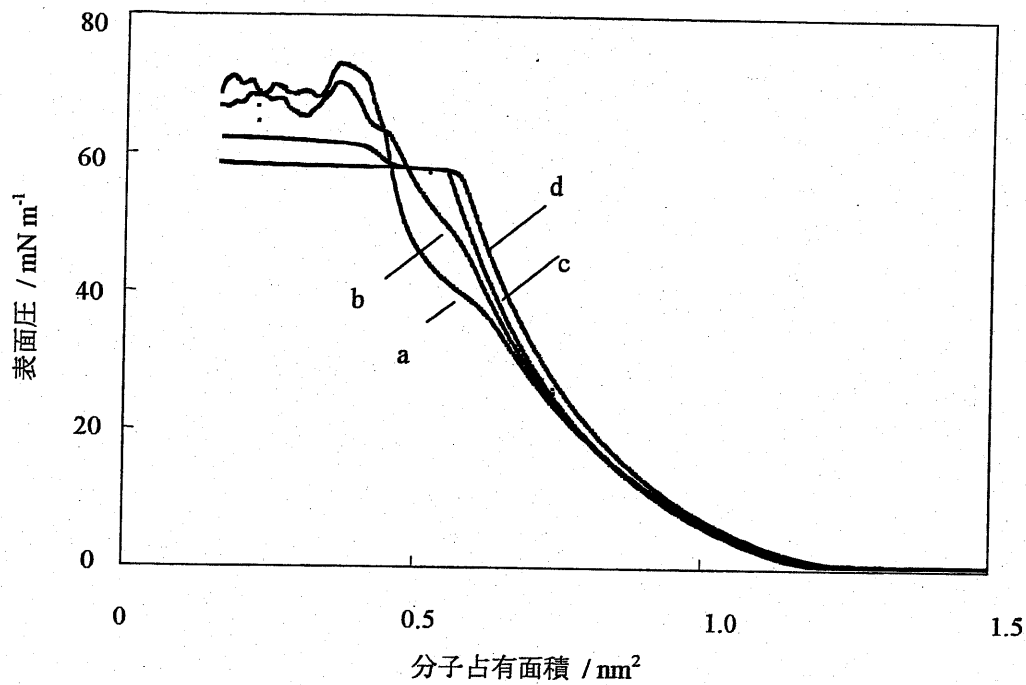


図 3-10. 気-水界面における $\text{N}^+\text{C}_5\text{Ala2C}_{16}$ のからなる単分子膜の表面圧-面積等温線:a, 5 °C; b, 10 °C; c, 20 °C; d, 30 °C.

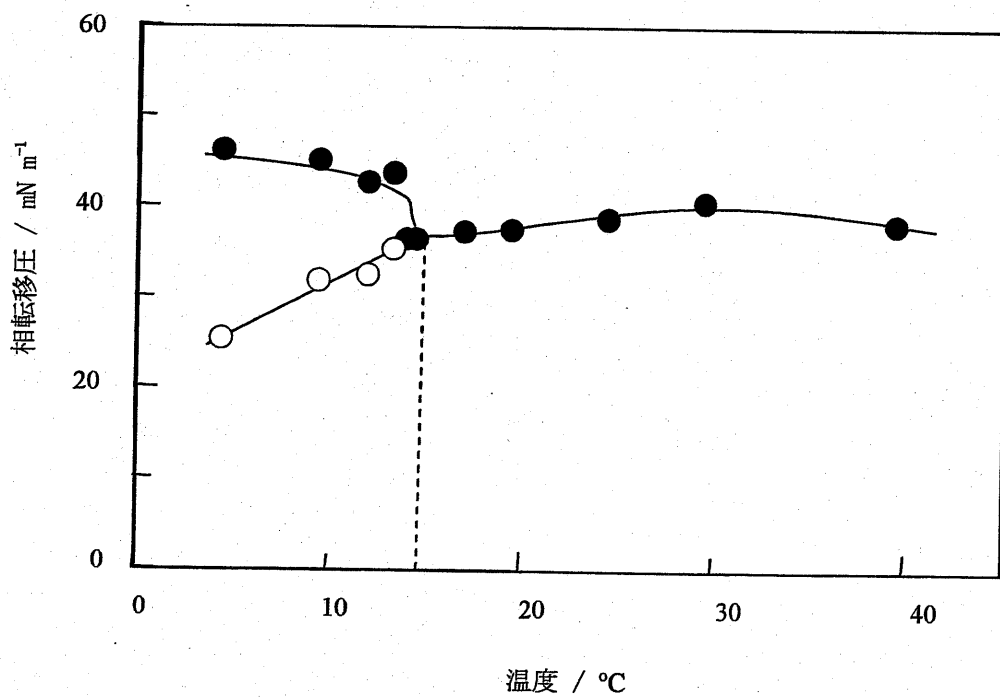


図 3-11. $\text{N}^+\text{C}_5\text{Ala2C}_{16}$ 単分子膜の π_p (○) および π_c (●)と温度の相関

(e) $N^+C_5Ala_2C_{16}$ 単分子膜

水素結合部位が増えることにより $N^+C_5Ala_nC_{16}$ ($n = 1-3$) 単分子膜においても $N^+C_5Gly_nC_{16}$ の場合と同様な相転移挙動が見られるかどうかを検討するために、各温度で $N^+C_5Ala_2C_{16}$ 単分子膜の表面圧-面積曲線を測定し、前述の方法で相図を作製し、相転移温度を求めた(図 3-12, 3-13)。

相図から求めた相転移温度は $12.0\text{ }^\circ\text{C}$ となり、 $N^+C_5Ala_2C_{16}$ の $14.5\text{ }^\circ\text{C}$ に比べ、ほとんど差がなかった。水素結合部位を増やしてもほとんど相転移の増加が見られないのは、立体障害のために、分子間水素結合を形成しにくくなっていることを反映していると考えられる。このことをさらに水素結合部位を増やした $N^+C_5Ala_3C_{16}$ 単分子膜についても同様に相転移温度を求め、系統的に比較した。

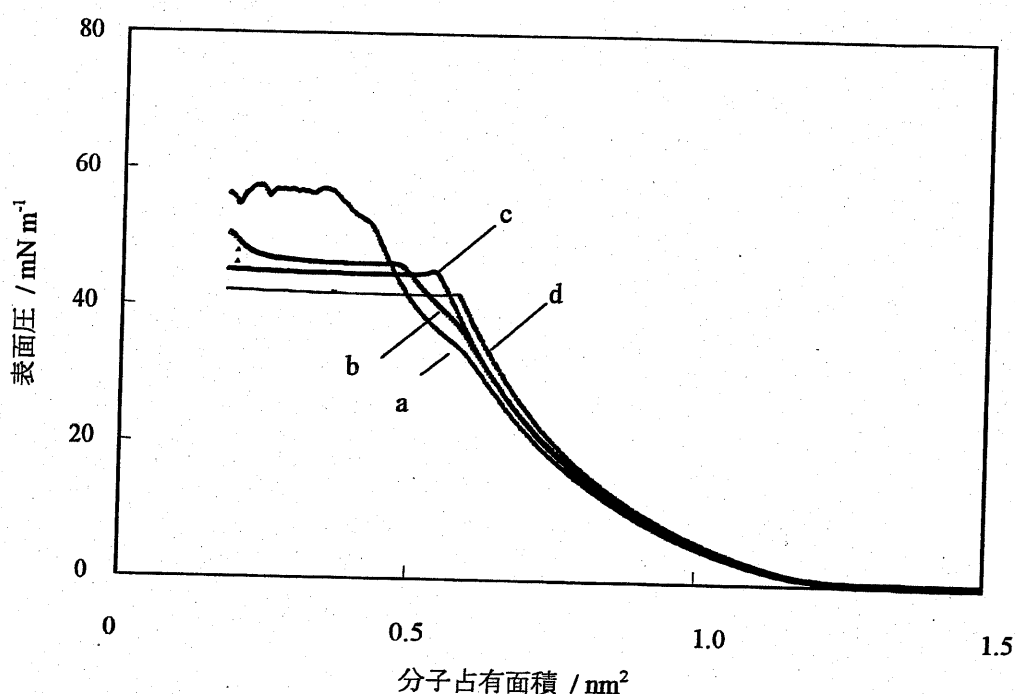


図 3-12. 気-水界面における $N^+C_5Ala_2C_{16}$ のからなる単分子膜の表面圧-面積等温線: a, $5\text{ }^\circ\text{C}$; b, $10\text{ }^\circ\text{C}$; c, $15\text{ }^\circ\text{C}$; d, $20\text{ }^\circ\text{C}$.

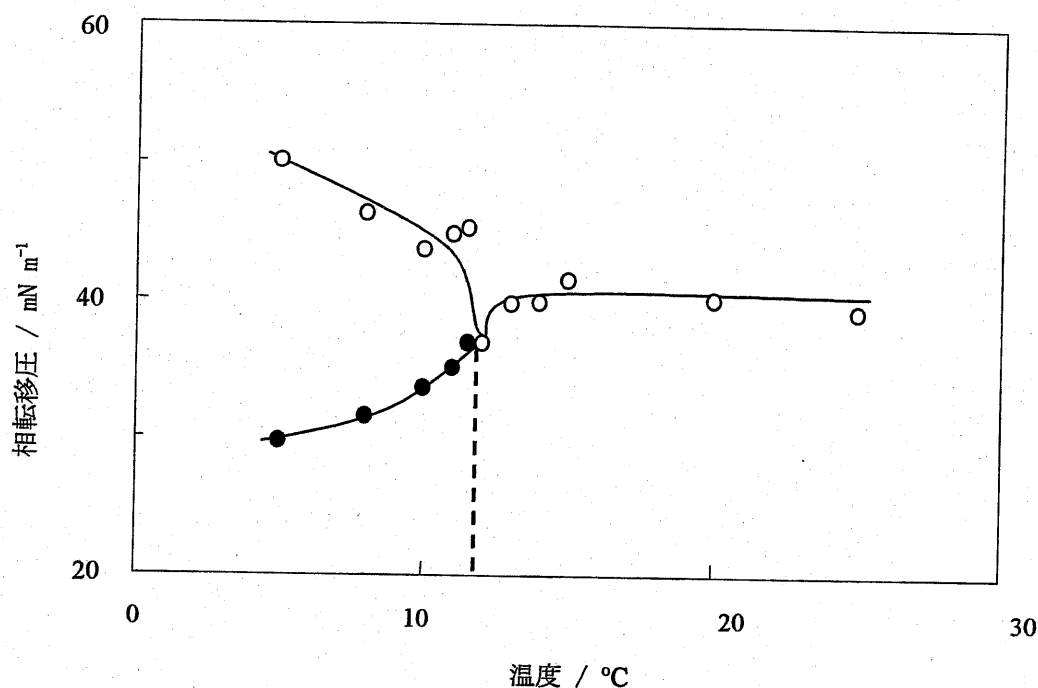


図 3-13. $N^+C_5Ala_2C_{16}$ 単分子膜の π_p (●) および π_e (○) と温度の相関

(f) $N^+C_5Ala_3C_{16}$ 単分子膜

さらに水素結合部位が増えた場合について、 $N^+C_5Ala_3C_{16}$ 単分子膜についても各温度で表面圧-面積曲線を測定し、前述の方法で相図を作製し、相転移温度を求めこれまでの結果と比較した(図 3-14, 3-15)。

相転移温度は 13.0 °C であり、 $N^+C_5Ala_2C_{16}$ 、 $N^+C_5Ala_2C_{16}$ の相転移温度とほとんど変わらなかった。このことから、アラニンを含む単分子膜においても水素結合帯の形成が示唆される。しかしながら、 $N^+C_5Gly_nC_{16}$ ($n = 1-3$) の単分子膜の相転移温度に比べ 10 °C 以上も低く、このことは $N^+C_5Gly_nC_{16}$ ($n = 1-3$) の単分子膜に比べ分子間相互作用が弱くなっていることを示唆している。

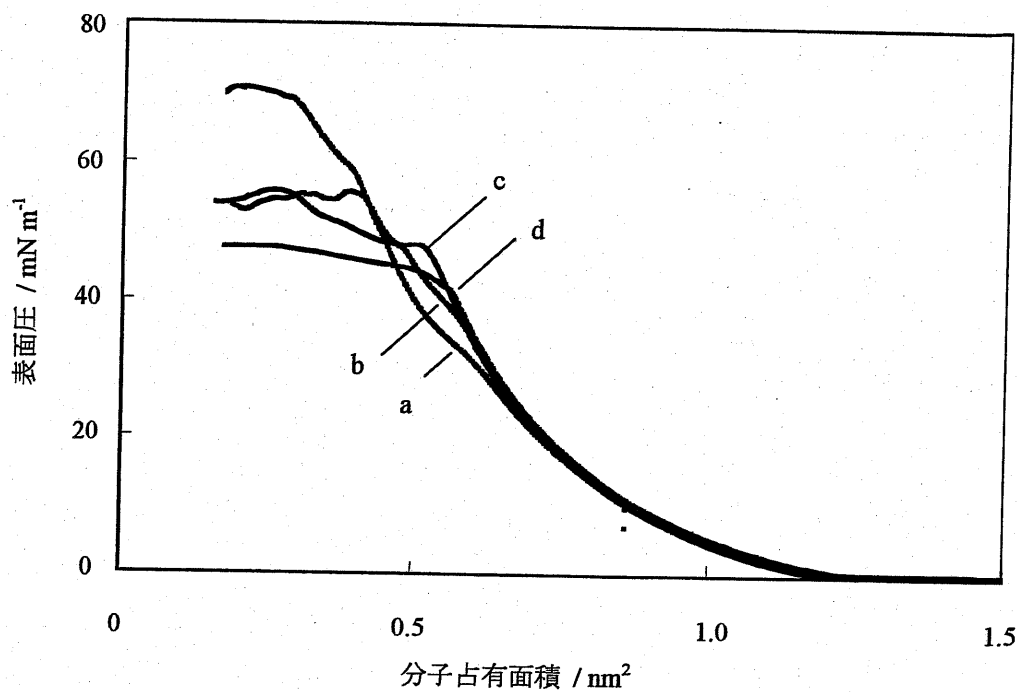


図 3-14. 気-水界面における $\text{N}^+\text{C}_5\text{Ala}_3_2\text{C}_{16}$ のからなる単分子膜の表面圧-面積等温線:a, 5 °C;b, 10 °C;c, 15 °C;d, 20 °C.

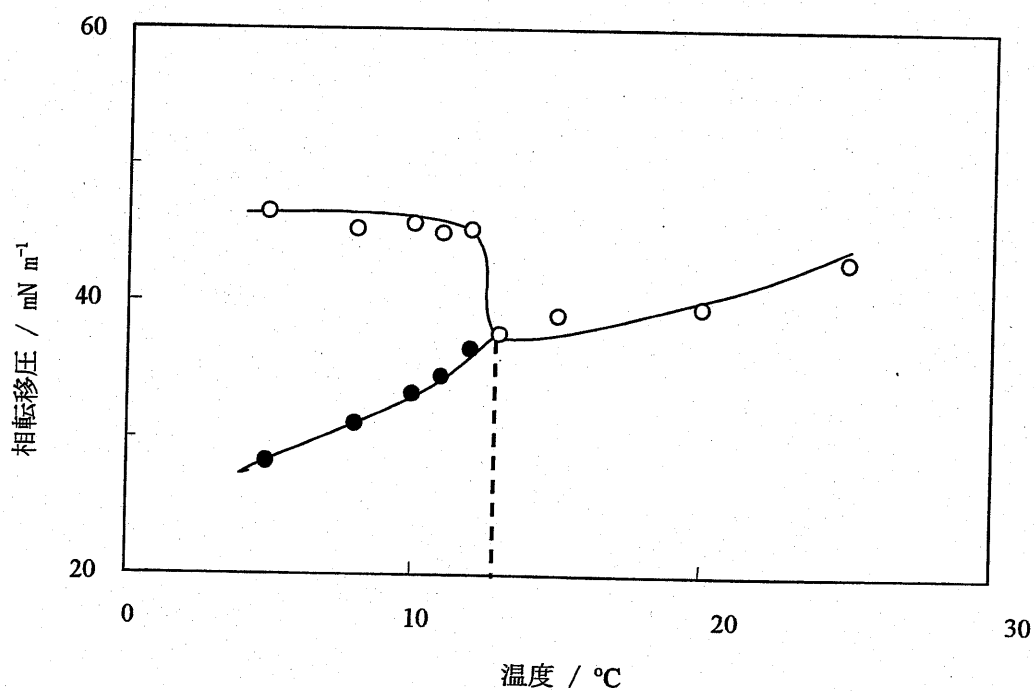


図 3-15. $\text{N}^+\text{C}_5\text{Ala}_3_2\text{C}_{16}$ 単分子膜の π_p (●) および π_c (○)と温度の相関

3-4. 二分子膜、単分子膜での水素結合部位の導入効果の比較

3-4-1. 相転移挙動における差異

二分子膜の相転移温度は、分子間の密度が大きく変わらない集合体におけるゲル相から液晶相への転移を示す温度である。一方、単分子膜の相転移温度は、圧縮による密度変化を行った時に単分子膜が凝縮相をとらなくなる温度を求めたものである。よって、単分子膜と二分子膜の相転移温度は異なる現象について測定しているパラメータである。しかし、二分子膜における相転移温度はゲル相と液晶相における分子間相互作用に大きく依存している。一方、単分子膜における凝縮相の形成も分子間相互作用の強さに大きな影響を受ける。これらのことから、単分子膜、二分子膜で見積もられている相転移はいずれにおいても分子間相互作用を反映するものであると考えられる。従って、ある2つの化合物の相転移に寄与する分子間相互作用が同様であるならばそれぞれの相転移温度において類似した値を示すと考えられる。

二分子膜においては $N^+C_5Gly_n2C_{16}$ 、 $N^+C_5Ala_n2C_{16}$ ($n = 1-3$) のいずれにおいても相転移温度にはほとんど差が現れなかった(図 3-16)。 $N^+C_5Gly2C_{16}$ 、 $N^+C_5Ala2C_{16}$ の FT-IR による知見からこれらの脂質は相転移の前後で水素結合が保たれており、アルキル鎖のパッキングのみが変化していることが明らかである。同様のことがペプチド鎖を伸長した場合においても起こっていると思われる。このことから、これらの分子の二分子膜中における相転移に寄与する分子間相互作用はアルキル鎖間のファンデルワールス力が主であると考えられる。

単分子膜においては、このことは $N^+C_5Gly_n2C_{16}$ と $N^+C_5Ala_n2C_{16}$ ($n = 1-3$) のいずれの系においてもアミノ酸残基を伸長することによる相転移温度の差は小さい。二分子膜において、分子間水素結合によって水素結合部位の構造の差異にかかわらず、相転移温度があまり変わらなくなることを考慮すると、このことから単分子膜においても分子間水素結合が形成されていることが明らかとなった。また、 $N^+C_5Ala2C_{16}$ および $N^+C_5Gly2C_{16}$ の単分子膜の相転移温度はそれぞれ、14.5 °C、27.0 °C であり、その差は 12.5 °C と大きなものであった。ペプチド鎖を伸長して水素結合部位を増やした $N^+C_5Gly_n2C_{16}$ と $N^+C_5Ala_n2C_{16}$ においても残基の違いによる大きな相転移温度差があった。これは残基の立体障害の違いを反映しているものと思われる。すなわち、 $N^+C_5Gly_n2C_{16}$ では立体障害が小さいために二分子膜の系と相転移温度が変わらないが、 $N^+C_5Ala_n2C_{16}$ では立体障害が大きいことによって分子間パッキングが悪くなり、その結果、分子間相互作用が弱まり、相転移温度が低くなっていると考えられる。単分子膜では構造上、疎水部が接しているのは空気であり、分子の束縛が二分子膜に比べて小さいため、立体障害などのパッキングに関わる因子が反映されやすいと思われる。単分子膜、二分子膜それぞれの系において含まれるアミノ酸残基の違いによる相転移温度の差の有無は、二つの集合体における分子間相互作用の差異をあらわす興味深い結果である。二つの界面における水素結合性の差異については酸解離挙動の違い⁵⁹⁾や分子認識能の違い⁶⁰⁾などでも報告されている。

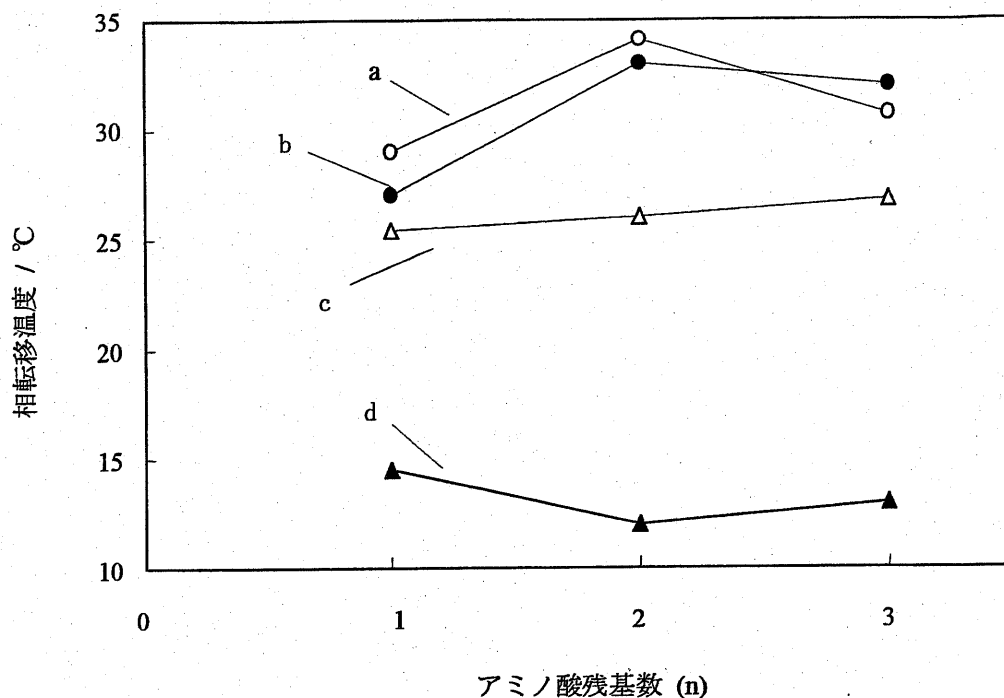


図 3-16. 導入したアミノ酸残基数とそれぞれの脂質集合体の相転移温度：

- a, $\text{N}^+\text{C}_5\text{Gly}_n2\text{C}_{16}$ ($n = 1-3$) 二分子膜； b, $\text{N}^+\text{C}_5\text{Gly}_n2\text{C}_{16}$ ($n = 1-3$) 単分子膜；
 c, $\text{N}^+\text{C}_5\text{Ala}_n2\text{C}_{16}$ ($n = 1-3$) 二分子膜； d, $\text{N}^+\text{C}_5\text{Ala}_n2\text{C}_{16}$ ($n = 1-3$) 単分子膜

3-4-2. 赤外分光法による水素結合性の評価

FT-IR 測定から単分子膜と二分子膜の水素結合性について評価した。

(a). 試料の調製と測定法

二分子膜の FT-IR は 3-2-1 で述べた方法で測定した。 $\text{N}^+\text{C}_5\text{Gly}_2\text{C}_{16}$ 単分子膜の FT-IR は 20 °C で凝縮相をとる 40 mN/m まで圧縮し、水平引き上げ法にて下水相から金基板を引き上げて単分子膜を金基板上に堆積し、高感度反射赤外吸収スペクトル(RAS)法で測定を行った。赤外吸収スペクトルは MCT 検出器のあるフーリエ変換赤外吸収スペクトロメータ (Nicolet 560) で測定した。300 回積算をおこない、1 レベルのゼロフィリングを行うことで分解能 1 cm^{-1} の高分解能スペクトルを得ることができた。

(b). 単分子膜、二分子膜の FT-IR

$\text{N}^+\text{C}_5\text{Gly}2\text{C}_{16}$ について、カルボニル基の伸縮振動($\nu(\text{C}=\text{O})$)を示すピークに着目すると、単分子膜では 1659 cm^{-1} 、二分子膜では 1639 cm^{-1} であり、単分子膜では 20 cm^{-1} 高波数側にシフトしていることがわかる。カルボニル基の伸縮振動の波数は水素結合が形成されると低波数側にシフトすることが知られている⁵⁵⁾。この結果は凝縮相の単分子膜中においてさえ二分子膜中に比べて、分子間の水素結合がより弱いことを示している。単分子膜は平面性が高いために水素結合部位が分子間水素結合の形成に不利な配向をとっているためと考えられる。

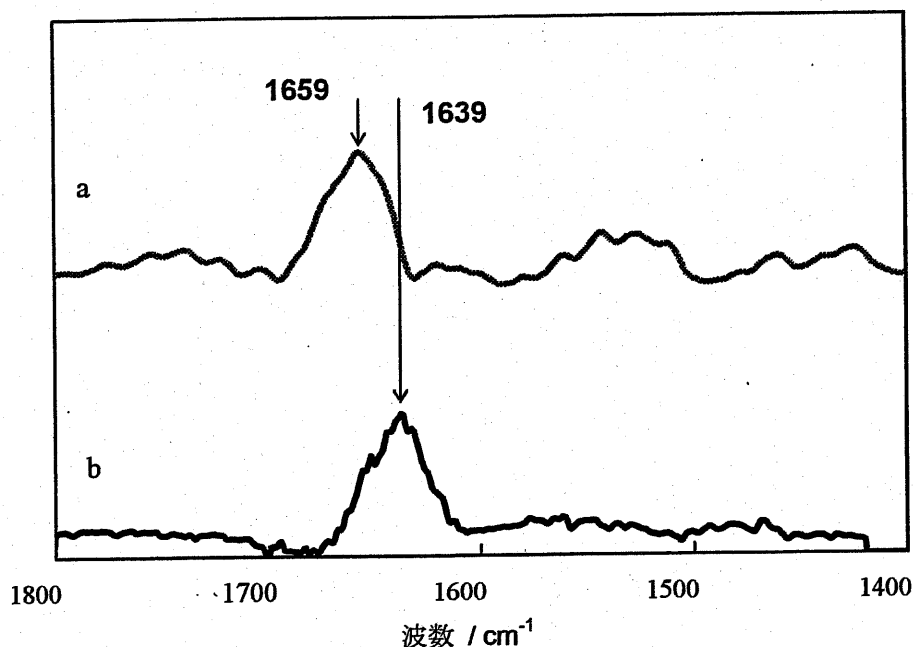


Fig 3-17. $\text{N}^+\text{C}_5\text{Gly}2\text{C}_{16}$ 単分子膜および二分子膜の赤外吸収スペクトル：
a, 単分子膜；b, 二分子膜

3-5. 総括

本章においてはペプチド脂質である $\text{N}^+\text{C}_5\text{Gly}_n2\text{C}_{16}$ と $\text{N}^+\text{C}_5\text{Ala}_n2\text{C}_{16}$ ($n = 1-3$) を用いて異なる数の水素結合部位導入による単分子膜の相転移挙動への影響について検討を行った。また、単分子膜と二分子膜の相転移挙動を比較し、それらの差異について検討した。二分子膜、単分子膜において水素結合部位の数を変えてもその相転移温度には変化が見られなかった。このことから二分子膜のみならず、単分子膜においても分子間水素結合が形成されていることが明らかになった。二分子膜においては相転移挙動はアミノ酸部位の構造の差にかかわらず、水素結合部位は相転移の前後で強い水素結合を示したままであったが、単分子膜においてはアミノ酸部位の残基の構造の違いにより、相転移挙動は変化した。また、単分子膜においては凝縮相において二分子膜に比べ、水素結合が弱くなっていることも示された。これらの知見は集合体物性を期待して分子設計する際に重要な指針となる。

第4章 頭部にシロキサン結合形成部位を持つ脂質集合体「セラソーム」の性質、

4-1. 序

近年、ナノデバイスの開発が盛んになっているが、そのユニット材料は電氣的、光化学的性質や触媒活性といった機能を持つ必要がある。その候補となる材料の一つとして、有機-無機ハイブリッド材料が分子電子材料の構築に大きな期待が寄せられている。組成や構造に依存して無機部分が量子ドットや low-k 材料のような機能性部位として働く場合もあり、簡便に設計できる有機-無機ハイブリッド材料は「ナノ」の領域において今日、重大な関心が払われている^{26,64-68)}。

当研究室において、新規有機-無機ハイブリッド集合体である、「セラソーム」の開発、研究が行われてきた⁷⁰⁻⁷⁶⁾。セラソームは球状ベシクルであり、表面でシロキサンネットワークが発達することで集合体構造が安定化する。この集合体を形成する脂質は頭部にシロキサン結合が可能なシラノール基を有し、疎水性の二本のアルキル鎖を有している。また、頭部と疎水性尾部の間には水素結合部位があり、集合体中で脂質間水素結合が可能である。これまでの研究で、このセラソームは従来のリポソームに特徴的なゲル-液晶相転移といった内在性の特徴を有していることが明らかとなっている。また、セラソームの形態安定性は従来のリポソームでは不可能であったベシクル形態を保ったままの固体基板上への3次元的な集積から強く示唆されている^{70,71)}。

前章までで述べてきたように、集合体中に分子間水素結合の導入によって構造安定性といった膜物性の改良が可能である。セラソームにおいては頭部のシロキサンネットワークによって形態安定性は改良されているが、セラソームを構成するシラン型脂質の極性頭部と疎水性部位との間に挿入されたコネクタ部位への分子間水素結合部位の導入によって、セラソームの相転移挙動などの膜物性を改変することが可能であると考えられる。

本章において、セラソームを形成しうるシラン型脂質を設計するに当たり、集合体表面におけるシロキサンネットワークの形成による構造安定化と水素結合による分子間相互作用の強化による構造安定化の両方の概念を用いた。水素結合の集合体安定化に及ぼす影響を検討するために尿素もしくはアミド部位は水素結合部位としてシラン型脂質のコネクタ部位に導入した。また、頭部のみ構造の異なるシラン型脂質と4級アンモニウム型の安定性を比較し、セラソームの示す特異な安定性がシラノール頭部によるものかどうかの検討も行った。集合体の形態安定性といった観点から光散乱、電子顕微鏡観察、示差走査熱量測定といった様々な物理化学的測定によってセラソームにおける脂質間相互作用と膜物性の相関を検討した。

4-2. セラソーム調製法の検討と会合挙動

セラソームは頭部にシラノール基を持ち、疎水性のアルキル鎖尾部を2本有するシラン型脂質から形成される。このシラン型脂質からなるセラソームと脂質間で重合反応を行わない4級アンモニウム型脂質からなるリポソームとの形態安定性の比較を行った。用いた脂質はアルコキシシラン部位とジアルキル疎水部の間に尿素部位を持つ脂質前駆体 $[(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{U}2\text{C}_{16}]$ と4級アンモニウム部位とジアルキル部位の間に尿素部位を持つ脂質 $[\text{N}^+\text{C}_3\text{U}2\text{C}_{16}]$ である。また、この脂質への水素結合部位導入による集合体物性への影響を検討は強い水素結合部位であるといわれている尿素部位⁴¹⁾を持つ脂質前駆体 $(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{U}2\text{C}_{16}$ の参照化合物として水素供与部位がなく水素結合性が弱いと考えられる、3級アミドを有する脂質前駆体 $[(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{A}2\text{C}_{16}]$ を用いて行った。また、初めてセラソームの形成が確認され、機械的安定性が高いといわれる $(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{Suc}2\text{C}_{16}$ ²⁸⁻³¹⁾についても、ベシクル構造安定性の比較に用いた。これら脂質化合物の構造を図4-1に示した。

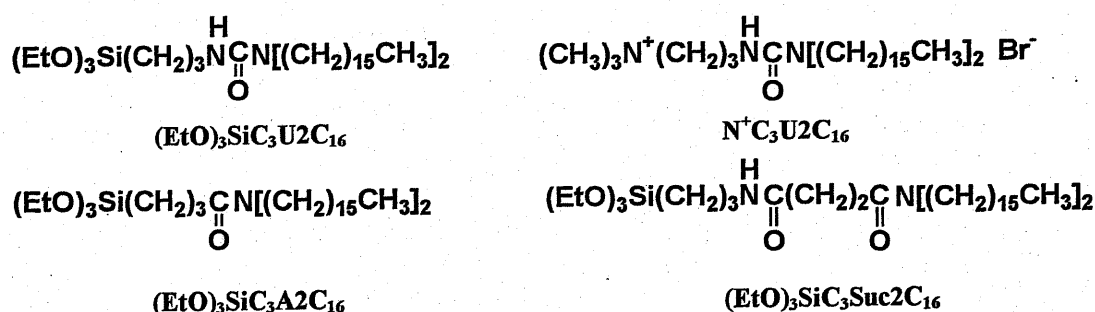


図 4-1. シラン型および4級アンモニウム型脂質の構造

4-2-1. 試料の調製と測定法

セラソームの調製法としては二つの方法が知られている。一つはシラン型脂質を直接水中で加水分解し、分散させる方法であり、もう一つは酸性エタノール溶液中でシラン型脂質をあらかじめ加水分解して極性頭部を遊離させ、水中での脂質分子の自己組織化をしやすいようにして水中に分散させる方法である。この方法はエタノールインジェクション法と呼ばれ、広い範囲のpHでセラソームの調製が可能であることが知られている⁷²⁾。様々なpHにおいてこれら二つの方法でシラン型脂質からなるベシクルの調製を検討した。

直接脂質を加水分解、分散させる方法では脂質濃度が0.1 mMになるように所定のpHの塩酸またはアンモニア水溶液中を加え、Vortex Mixerで室温下、5分間撹拌した(表4-1)。

また、エタノールインジェクション法では、サンプルはモル比が脂質/エタノール/水/HCl = 1/200/19/0.03になるよう混合し、以下の条件(表4-2)で静置することで加水分解を行い、脂質濃度が0.1 mMになるように所定のpHの水に分散することで調製

した。これらの方法で調製したセラソームを動的光散乱測定(DLS)にて流体力学的直径を測定した(表 4-2,4-3)。

表 4-1. シラン型脂質の加水分解条件

脂質	温度 / °C	時間 / 分
(EtO) ₃ SiC ₃ U2C ₁₆	20	60
(EtO) ₃ SiC ₃ A2C ₁₆	20	2
(EtO) ₃ SiC ₃ Suc2C ₁₆	40	360

表 4-2. 水中、様々な pH 中での各種シラン脂質からなるベシクルの流体力学的直径 (nm)^{a)}

Lipid	pH 3	pH 6	pH 12
(EtO) ₃ SiC ₃ U2C ₁₆	分散せず	322	481
(EtO) ₃ SiC ₃ A2C ₁₆	分散せず	481	292
(EtO) ₃ SiC ₃ Suc2C ₁₆	388	分散せず	分散せず

a) 室温下、Vortex Mixer によって 5 分間攪拌。

[脂質] = 0.1 mmol dm⁻³

表 4-3. 水中、様々な pH 中での各種シラン脂質からなるベシクルの流体力学的直径(nm)^{a)}

Lipid	pH 3	pH 6	pH 12
(EtO) ₃ SiC ₃ U2C ₁₆	140	271	179
(EtO) ₃ SiC ₃ A2C ₁₆	290	222	分散せず
(EtO) ₃ SiC ₃ Suc2C ₁₆	310	270	280

a) 室温下、エタノールインジェクション法

[脂質] = 0.1 mmol dm⁻³

表 4-2 の結果が示すように、 $(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{U}_2\text{C}_{16}$ および $(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{A}_2\text{C}_{16}$ からなるセラソームは pH 3 では集合体を得られなかったが、pH 6,12 においては粒径 300~400 nm の集合体を得られた。また、表 4-3 で示すように、エタノールインジェクション法を用いることで本研究で新規に合成したシラン型脂質においても pH 3~12 の広い範囲でセラソームが得られることがわかった。

これ以降の測定に用いたシラン型脂質からなるベシクルは以下の方法で調製した。サンプルは、モル比が脂質/エタノール/水/HCl = 1/200/19/0.03 になるよう混合し、表 4-1 の条件下で静置することで加水分解を行い、所定の脂質濃度、pH、エタノール濃度になるように水、またはエタノール-水溶液に分散することで調製した。ベシクルは所定の温度で静置し、各時間で非イオン性の界面活性剤、Triton X-100(TX-100)を加えて濁度を測定した。

$\text{N}^+\text{C}_3\text{U}_2\text{C}_{16}$ ベシクルの調製はサンプル管中で脂質をエタノールに溶解した後、 N_2 ガスをゆっくりと吹き付けて溶媒を蒸発させながら、サンプル管壁面に薄膜を形成し、さらに溶媒を完全に留去するために減圧下(0.5 mmHg) 室温にて 2~3 時間乾燥した。この薄膜に脂質濃度が所定の濃度になるように pH 3 の HCl 水溶液を加え、Vortex Mixer で 5 分間激しく攪拌することで分散し、乳白色の濁った溶液を得た。これにエタノールを加え、ベシクルの 10%(v/v)エタノール水溶液とした。

セラソームの形態は走査型電子顕微鏡(S-5000 日立)を用い、加速電圧 20kV で観察した。サンプルはセラソーム溶液(0.5 mM, pH 3, TX-100 不含もしくは含有)をシリコン基板上にキャストして調製した。必要に応じて、サンプルは約 10 nm の白金で被覆した。セラソームの形態は日立 H-7100 透過型電子顕微鏡で観察した。TEM のサンプルはセラソーム溶液(0.5 mM, pH 3, TX-100 不含もしくは含有)と同じ体積の 1% 酢酸ウラニル溶液をコロジオン膜で被覆した銅グリッド上に滴下、乾燥して調製した。

セラソームの流体力学的直径と多分散指数は 50 °Cでの動的光散乱(DLS)測定(DLS-6000,大塚電子)により求めた。脂質濃度は 30 倍等量の界面活性剤の有無にかかわらず 0.5 mM であった。得られたデータは Cumulant 法で解析した。

セラソームの表面電位は 50 °Cでレーザードップラー法による電気泳動光散乱測定(ELS-6000, 大塚電子)によってゼータ電位として求めた。セラソーム溶液(0.5 10 mmol dm^{-3} , pH 3, TX-100 不含もしくは含有)は 10 mmol dm^{-3} の塩化ナトリウム溶液とし、pH は塩酸もしくは水酸化ナトリウムを加えて調整した。

セラソームのシロキサンネットワークの発達度を評価するために、マトリクス支援レーザー脱離イオン化時間飛行型質量分析(MALDI-TOF)を行った。

サンプル調製中の重縮合を防ぐためにセラソームの遊離のシラノール基をトリメチルシリル基で保護することで不活性化した^{74,76}。2-プロパノール(10 ml)に溶解したトリメチルクロシラン(12 ml)を水(10 ml)と混合し、2 時間室温で攪拌した。その後、セラソーム溶液を加え、混合溶液を 2 日間室温で攪拌した。上清を分離し、2-プロパノール/水(1:1 v/v)で洗浄し、溶液を留去し、トリメチルシリル保護をした脂質を得た。サンプルは THF に溶かし、ジスラノールの THF と 1:9(v/v)で混合し、MALDI-TOF 質

量分析計(Voyager DE-STR, PerSeptive Biosystems)でリニアモードで陽イオン化して 25 kV の加速電圧で測定を行った。データはブラジキニンとインシュリンを標準物質として校正した。

セラソームの形態安定性はノニオン性界面活性剤である TX-100 に対する安定性から評価した^{73,77)}。セラソーム溶液(0.5 mM, pH 3)へ TX-100 溶液を加え、400 nm における光散乱強度(光源に対して 90°)の変化を 50 °C で蛍光測定装置(日立 F-4500)で測定した。

セラソームの相転移挙動は示差走査型熱量計(VP-DSC, MicroCal, Ltd)で測定した。500 μ l のセラソーム溶液(0.5 mM, pH 3, TX-100 不含もしくは含有)を DSC セルに入れ、昇温速度 0.5 °C/ min で 10-50 °C で 3 回繰り返し昇温を行った。この測定により、相転移温度(T_m)、エンタルピー変化(ΔH)、相転移ピークの半値幅($T_{1/2}$)を決定した。相転移のピークは二状態モデルで近似、分析し、vant Hoff エンタルピー(ΔH_v)を以下の式から求めた。

$$d \ln K' / d(1/T) = - \Delta H_v / R \quad (1)$$

K' はゲル-液晶相転移の平衡定数、 T は温度、 R は気体定数である⁷⁸⁻⁸⁰⁾。この分析により、協同効果単位 $\Delta H_v / \Delta H (= n)$ も求めた。この値は何個の分子が一体となって、相転移を行うかというその集団を構成する分子数を表す⁷⁸⁻⁸⁰⁾。

4-2-2. 動的光散乱法

エタノール/水(1:9 v/v)中 pH 3 で $(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{U}_2\text{C}_{16}$ から調製された 0.5 mmol dm^{-3} のセラソームの 50 °C における流体力学的直径を動的光散乱測定(DLS)で評価したところ、140 nm であった。これはエタノール含量が低い場合(0.5%)でも 140 nm であり、10% 程度のエタノール含率では非水溶媒でも安定にセラソームが形成されることを示唆している。また、エタノール/水(1:9 v/v)中 pH 3 で $(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{U}_2\text{C}_{16}$ から調製された 0.5 mmol dm^{-3} のセラソームおよび $\text{N}^+\text{C}_3\text{U}_2\text{C}_{16}$ から調製された 0.5 mmol dm^{-3} のリポソームの 50 °C における流体力学的直径を DLS で評価したところ、それぞれ、256 nm、464 nm であった。

4-2-3. 電子顕微鏡観察

エタノール/水(1:9 v/v)中で調製されたセラソームの会合形態は走査型電子顕微鏡(SEM)で調べた。図 4-2a では $(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{U}_2\text{C}_{16}$ から調製したセラソームを 50 °C で 24 時間静置したものをシリコン基板上にキャストした像を示す。基板上的セラソーム粒子が白金被覆しない状態で観察された。このことは無機シロキサンネットワークがセラソーム表面で発達していることを示している。白金で被覆した場合でもよく似た球状構造が観察された(図 4-2b)。ここで観察されたセラソームの粒子径は 100 nm から 2 μ m の広範囲にわたっていた。

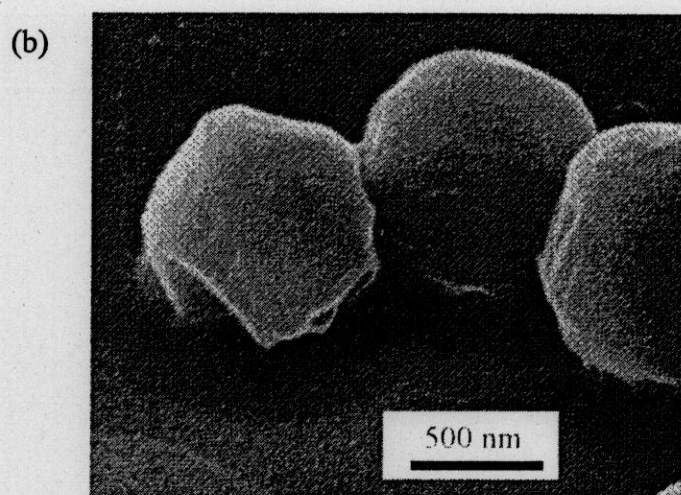
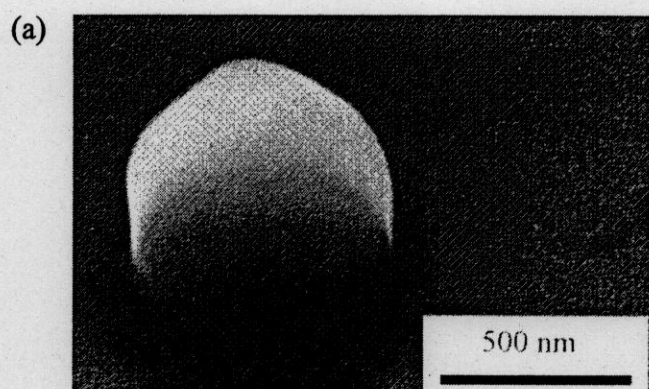


図 4-2. $(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{U}_2\text{C}_{16}$ から調製されたセラソームの SEM 像 :

(a), 白金被覆されていないもの ; (b), 白金被覆されたもの

4-2-4. ゼータ電位測定

(EtO)₃SiC₃U2C₁₆ からなるセラソームの表面の状態はゼータ電位で評価した。エタノール/水 (1:9 v/v) 中で調製されたセラソームのゼータ電位の pH 依存性は図 4-3 に示した。ゼータ電位は溶媒の pH に従って +25 から -70 mV まで変化した。セラソームの等電点は 6.1 であった。ゾルーゲル法で得られた典型的なシリカ粒子の等電点は水溶液中で 2-3 程度であり、同様な pH 幅でのこれらの粒子のゼータ電位の幅は +20 から -80 mV である^{84,85)}。(EtO)₃SiC₃Suc2C₁₆ の pH 3 の水中に直接分散することで調製されたセラソームは等電点が 4.3 で同様の pH 幅でゼータ電位の幅が +10 から -70 mV であった⁷²⁾。この結果は (EtO)₃SiC₃U2C₁₆ からなるセラソームの表面状態がシリカ粒子や (EtO)₃SiC₃Suc2C₁₆ からなるセラソームと本質的に同様であることを示している。(EtO)₃SiC₃Suc2C₁₆ からなるセラソームに比べ (EtO)₃SiC₃U2C₁₆ からなるセラソームの等電点が大きいのは、溶媒組成が異なることに起因していると考えられる。セラソーム表面上のシラノール基の脱プロトン化が溶媒の極性が下がることで押さえられているものと考えられる。

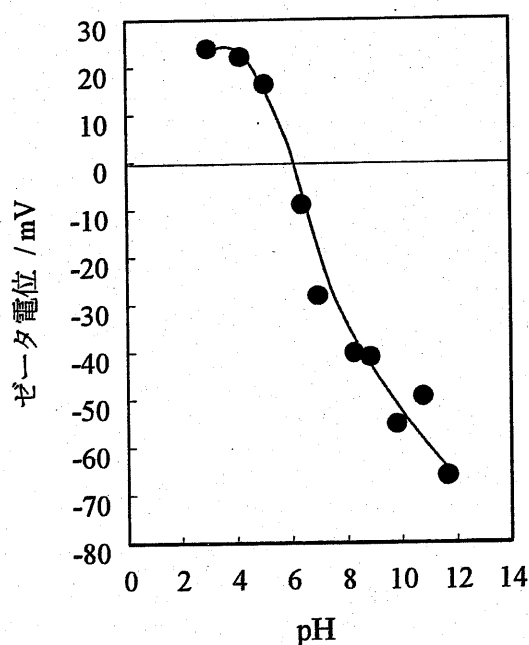


図 4-3. 50 °C におけるエタノール/水(1 : 9)中における
(EtO)₃SiC₃U2C₁₆ からなるセラソームのゼータ電位の pH 依存性
(エタノール/水 (1 : 9 v/v), 50 °C),

4-2-5. 示差走査熱量分析

(EtO)₃SiC₃U2C₁₆ および (EtO)₃SiC₃A2C₁₆ からなるセラソームと N⁺C₃U2C₁₆ からなるリポソームの相転移パラメータを表 4-4 に示した。(EtO)₃SiC₃U2C₁₆ からなるセラソームと N⁺C₃U2C₁₆ からなるリポソームの相転移温度(T_m)は非常に似ており、このことは尿素部位間の水素結合帯がそれぞれの膜中で効果的に形成されているため、親水性部位がアルキル鎖部位の分子パッキングの状態にほとんど影響を与えていないことを示している。相転移のエンタルピー変化(ΔH)、vant Hoff エンタルピー(ΔH_v)および協同効果単位(n)は脂質二分子膜の以前の様々な結果と比較して理にかなった値であった^{79,82-84})。注目すべきは N⁺C₃U2C₁₆ からなるリポソームに比べ (EtO)₃SiC₃U2C₁₆ からなるセラソームは ΔH_v と n が小さく、発熱ピークの半値幅($T_{1/2}$)が大きいことである。このことはセラソーム表面上のシロキサンネットワークの形成が膜中の局所的なパッキングの乱れを引き起こし、相転移の協同性を下げているものと考えられる。

(EtO)₃SiC₃A2C₁₆ からなるセラソームの T_m および ΔH は (EtO)₃SiC₃U2C₁₆ からなるセラソームに比べて、これら二つの脂質の分子構造が水素結合部位だけであるにもかかわらず、 T_m は 3.5 °C 低く、 ΔH は 15.7 kJ mol⁻¹ 小さい。また、 ΔH_v および n は ΔH が小さすぎたために求めることができなかった。このことは尿素結合部位がアミド結合部位に比べ、膜中でよい水素結合帯になっていることを示していると考えられる。

表 4-4. 様々な脂質からなるベシクルの相転移パラメータ^{a)}

脂質	$T_m / ^\circ\text{C}$	$\Delta H / \text{kJ mol}^{-1}$	$T_{1/2} / ^\circ\text{C}$	$\Delta H_v / \text{kJ mol}^{-1}$	n
(EtO) ₃ SiC ₃ U2C ₁₆	29.1	21.3	0.99	2.63	131
(EtO) ₃ SiC ₃ A2C ₁₆	25.6	5.6	0.62	-	-
N ⁺ C ₃ U2C ₁₆	29.1	27.2	0.5	5.66	271

a) 50 °C, 24 時間静置後測定。

(エタノール/水 (1 : 9 v/v), pH 3), [脂質] = 0.5 mmol dm⁻³

4-2-6. MALDI-TOF MASS 測定

セラソーム表面のシロキサンネットワークの発達の程度を評価するため、MALDI-TOF 質量分析を $(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{U}_2\text{C}_{16}$ からなるセラソームについて行った。質量分析用のサンプル調製時に重縮合することを防ぐため、セラソーム上の遊離のシラノール基をトリメチルシリル化することで不活性化した。その結果、 $(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{U}_2\text{C}_{16}$ の少なくとも 8 量体の帰属と一致するピークが検出された (図 4-4)。CPK 分子モデルと脂質の脂質集合体の形態を決定する最密充填パラメータ^{17,18)}から考えて、脂質オリゴマーが顕著に見られることは理にかなっている。

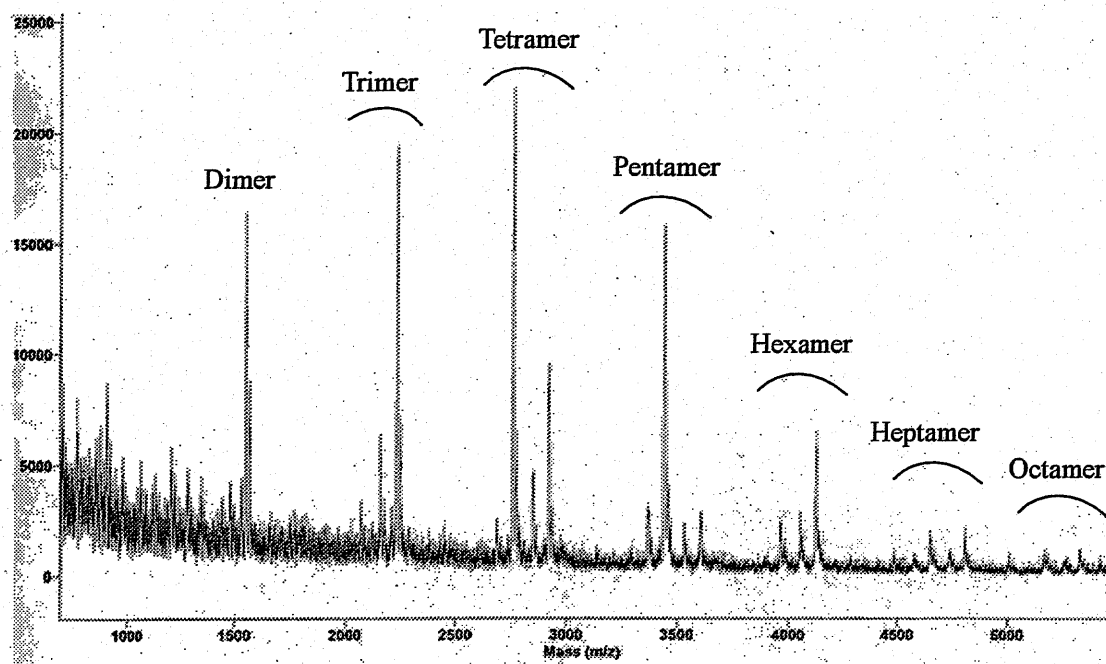


図 4-4. $(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{U}_2\text{C}_{16}$ からなるセラソーム(エタノール/水 (1 : 9 (v/v)), pH 3, 0.5 mmol dm^{-3} , 50°C , 24h 静置)の MALDI-TOF 質量分析スペクトル

4-3. 界面活性剤存在下のセラソームの会合挙動

4-3-1. 界面活性剤に対する耐性

従来のベシクルにおいては、TX-100 などの界面活性剤の添加に対して集合体構造が崩壊してしまうのはよく知られている。ベシクルの超安定化については最近の Liu や O'Brien らによって、非常に安定な重合性ベシクルが大過剰の TX-100 に対してベシクル構造を維持していることが報告されている²⁷⁾。同様に、セラソームの形態安定性を TX-100 に対する耐性から評価した。また、その安定性の時間依存性および、頭部構造の異なる脂質との安定性の比較からシロキサンネットワークの発達とセラソームの安定性の関係について検討した。

(a). $(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{U}_2\text{C}_{16}$ からなるベシクル溶液の光散乱強度

尿素部位を持つシラン型脂質である $(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{U}_2\text{C}_{16}$ からなるセラソームについて、エタノール含有量が高く、相転移温度以上である、エタノール-水(10:90 v/v), pH 3, 50 °C の条件下で、界面活性剤 TX-100 に対する形態安定性を光散乱強度測定から評価した。図 4-5 のように安定性は時間依存性を示し、3 時間後においては 30 倍等量の界面活性剤の添加によってかなりのベシクル構造が溶解しているが、24 時間静置後のセラソームは 30 倍等量の界面活性剤に対してもほぼ完全に形態を維持していることがわかった。このことはシラン部位のシロキサンネットワークの発達が形態安定性に不可欠であることが示唆される。また、10% もエタノールを含んでいるにもかかわらず、十分安定化されたセラソームは安定であった。このことは非水溶媒に対しても耐性があることを示している。重合ベシクルはベシクル中の脂質分子を共有結合的にリンクすることにより形態安定性を高める方法で、これまでに非常に多くの手法を用いて研究がなされ、安定性の向上を達成してきた²⁵⁾。中でも、近年なされた 2 カ所の重合部位を有し二次元的にクロスリンクできるように設計した O'Brien らの研究において、重合ベシクルは高い形態安定性を示し、水中で 12 倍等量の TX-100 の添加に対しても耐性が示されている²⁶⁾。さらに、セラソームにおいては集合体に擾乱を与えるエタノールを 10% 含む条件下でなおかつ TX-100 を 30 倍等量加えた場合においても十分な安定性を示した。このことからセラソームは重合性ベシクルを匹敵あるいはそれを超える安定性を有すると考えられる。

また、ゲル相でのセラソームの TX-100 に対する耐性を検討するために、相転移温度以下で界面活性剤 TX-100 に対する形態安定性を光散乱強度測定から評価した。 $(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{U}_2\text{C}_{16}$ からなるセラソームについて、エタノール-水(10:90 v/v), pH 3, 20 °C の条件下において検討を行った。その結果、図 4-6 に示すように 3 時間後においても十分な安定性を持つことが明らかとなった。このことは加水分解条件が同じでもゲル相と液晶相で安定化の速度が異なることを示唆している。この結果はゲル相において脂質の運動性が抑制され、脂質頭部同士の縮重合反応が起こりやすくなるためと考えられる。

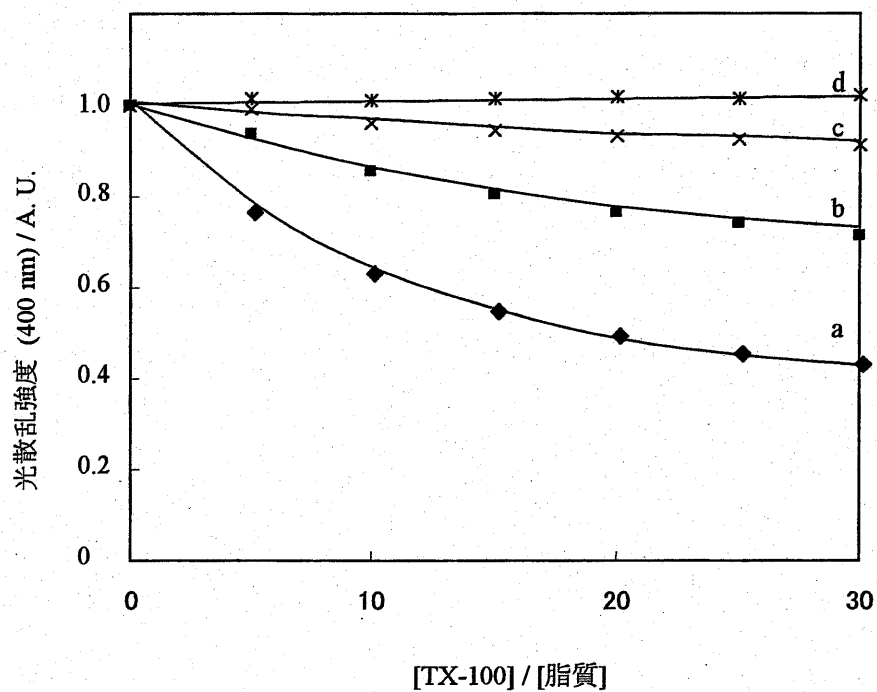


図4-5. 加えたTX-100の等量に対する $(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{U}_2\text{C}_{16}$ からなるベシクル溶液の光散乱強度(エタノール-水(10:90 v/v), pH3, 50 °C).
ベシクル調製後の静置時間: a, 3時間; b, 6時間; c, 12時間; d, 24時間; $[(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{U}_2\text{C}_{16}] = 0.5 \text{ mmol dm}^{-3}$.

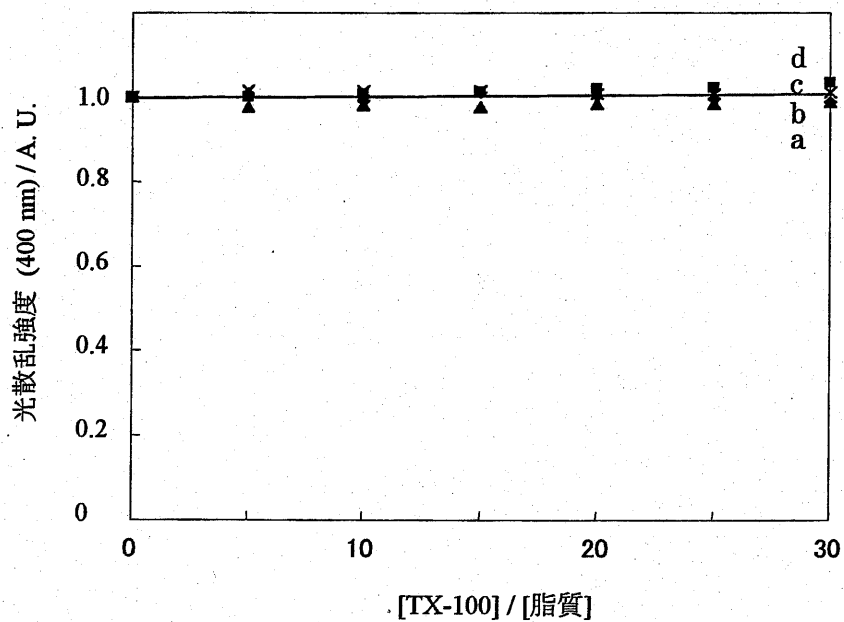


図4-6. 加えたTX-100の等量に対する $(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{U}_2\text{C}_{16}$ からなるベシクル溶液の光散乱強度(エタノール-水(10:90 v/v), pH3, 20 °C).
ベシクル調製後の静置時間: a, 3時間; b, 6時間; c, 12時間; d, 24時間; $[(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{U}_2\text{C}_{16}] = 0.5 \text{ mmol dm}^{-3}$.

(b). $(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{A}_2\text{C}_{16}$ からのベシクル溶液の光散乱強度

3 級アミド部位を持つシラン型脂質である $(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{A}_2\text{C}_{16}$ からのセラソームについて、エタノール-水(10:90 v/v), pH 3, 50 °C の条件下で、界面活性剤 TX-100 に対する形態安定性を光散乱強度測定から評価した。図 4-7 のように 3 時間静置後においてすでにセラソームは 30 倍等量の界面活性剤に対しても形態を維持していることがわかった。 $(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{A}_2\text{C}_{16}$ のシラン部位は反応性が高く、ベシクルとなるのに必要な加水分解時間が短いことがわかっている。(表 4-1) このような非常に早い安定化はシラン頭部の反応性が高いため、エタノール中で加水分解を行っているときにすでにある程度縮重合が進んでいることに起因すると思われる。また、3 級アミドを有するシラン型脂質においても、10% エタノール中でもセラソームが安定に存在できることを示しており、非水溶媒に対しても耐性があることを示している。

3 級アミド部位を持つシラン型脂質である $(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{A}_2\text{C}_{16}$ からのセラソームについても、ゲル相での安定性を検討するために、エタノール-水(10:90 v/v), pH3, 20 °C の条件下で、界面活性剤 TX-100 に対する形態安定性を光散乱強度測定から評価した。その結果、図 4-8 に示すように液晶相の時の結果と同様、3 時間後ですでに十分な安定性を持つことが明らかとなった。この結果は、 $(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{A}_2\text{C}_{16}$ が加水分解中に縮重合を起こしやすいこととゲル相において頭部のシロキサンネットワーク形成反応が進行しやすいことと矛盾しない。

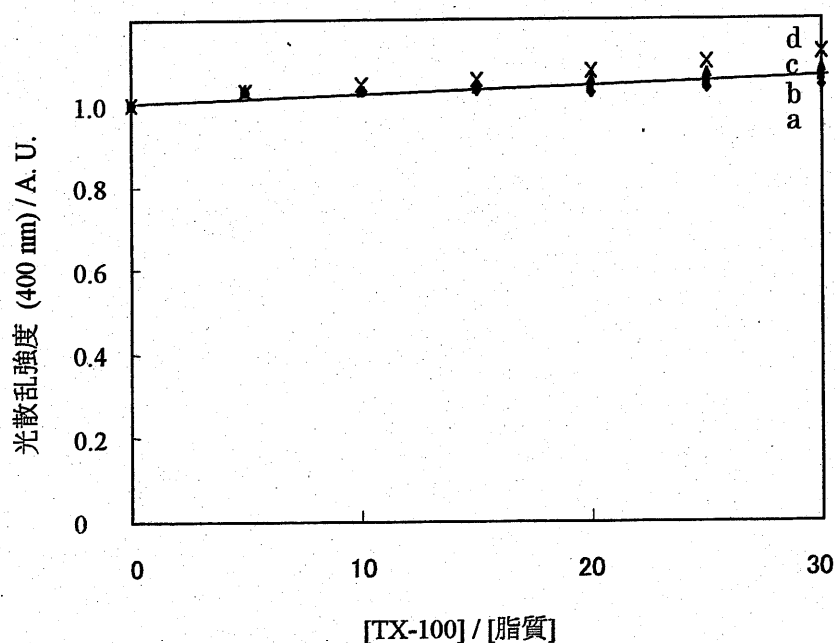


図4-7. 加えたTX-100の等量に対する $(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{A}_2\text{C}_{16}$ からのベシクル溶液の光散乱強度(エタノール-水(10:90 v/v), pH3, 50 °C).

ベシクル調製後の静置時間: a, 3時間; b, 6時間; c, 12時間; d, 24時間; $[(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{A}_2\text{C}_{16}] = 0.5 \text{ mmol dm}^{-3}$.

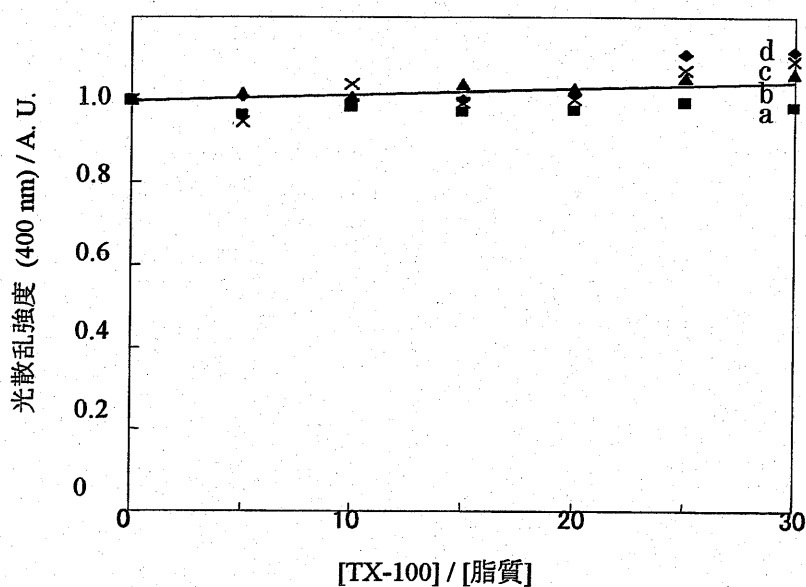


図4-8. 加えたTX-100の等量に対する $(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{A}_2\text{C}_{16}$ からなるベシクル溶液の光散乱強度(エタノール-水(10:90 v/v), pH3, 20 °C).
ベシクル調製後の静置時間: a, 3時間; b, 6時間; c, 12時間; d, 24時間; $[(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{A}_2\text{C}_{16}] = 0.5 \text{ mmol dm}^{-3}$.

(c). $\text{N}^+\text{C}_3\text{U}_2\text{C}_{16}$ からなるベシクル溶液の光散乱強度

カチオン性脂質である $\text{N}^+\text{C}_3\text{U}_2\text{C}_{16}$ からなるリポソームについてエタノール-水 (10:90 v/v), pH 3, 50 °C の条件下で、界面活性剤 TX-100 に対する形態安定性を光散乱強度測定から評価した。その結果、図 4-9 のように、シラン型脂質の場合と異なり、安定性は時間依存性を示さず、2,3 倍等量の TX-100 の存在で光散乱がなくなり、ベシクル構造が完全に溶解してしまうことが明らかとなった。このことから、セラソームの形態安定性はシラン頭部のシロキサンネットワークの形成によるものであることが強く示唆される。

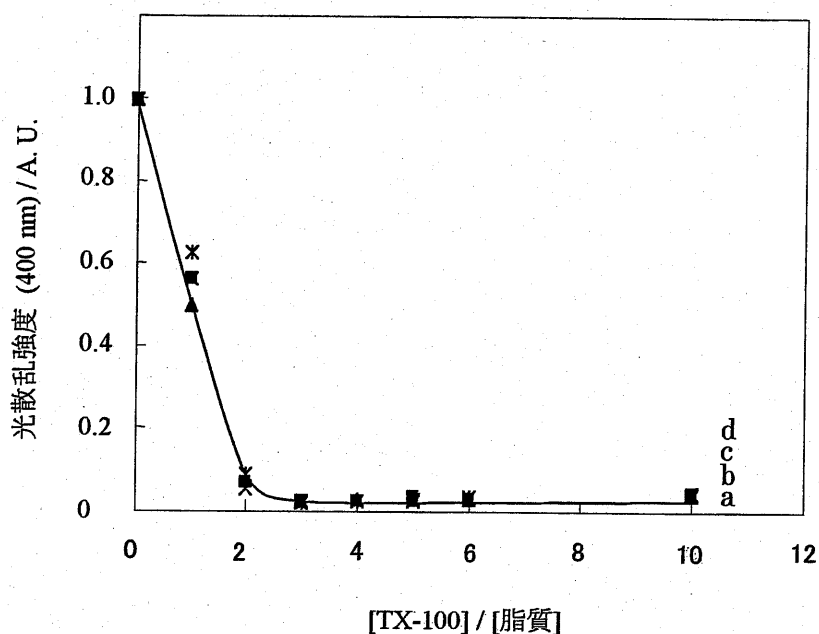


図4-9. 加えたTX-100の等量に対する $\text{N}^+\text{C}_3\text{U}_2\text{C}_{16}$ からなるベシクル溶液の光散乱強度(エタノール-水(10:90 v/v), pH3, 50 °C).
ベシクル調製後の静置時間: a, 3時間; b, 6時間; c, 12時間; d, 24時間; $[\text{N}^+\text{C}_3\text{U}_2\text{C}_{16}] = 0.5 \text{ mmol dm}^{-3}$.

4-3-2. 電子顕微鏡観察

TX-100 に対する $(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{U}_2\text{C}_{16}$ からなるセラソームの形態安定性は SEM 観察によって直接確認された。図 4-10 に示すように 30 倍等量の TX-100 の存在下でさえベシクル構造は保たれている。セラソームの周りにある波状の痕跡はサンプル乾燥過程で濃縮された TX-100 の集まりと思われる。また、DLS 測定からも界面活性剤に対する注目すべき安定性が明らかとなっている。30 倍等量の TX-100 の添加に対してセラソームの流体力学的直径は 85 nm であり、界面活性剤が無い場合と比較的よく似た値を示した。

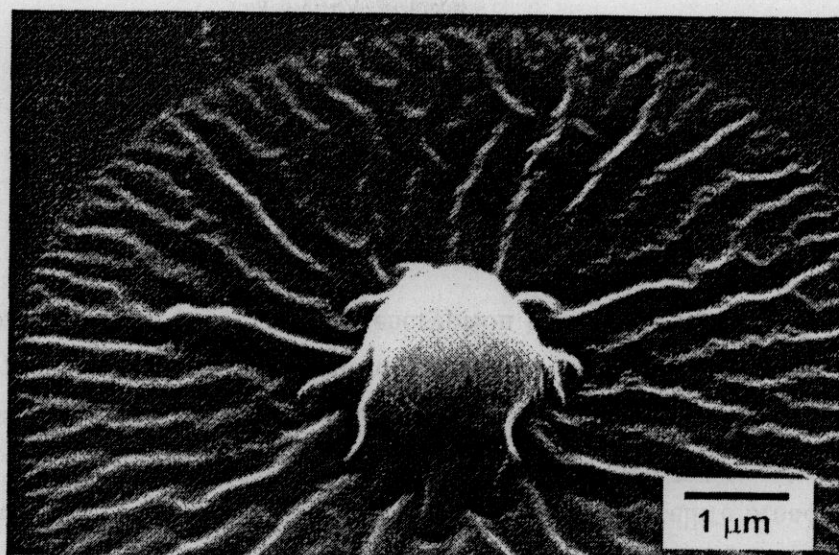


図 4-10. TX-100 存在下の $(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{U}_2\text{C}_{16}$ から調製されたセラソームの SEM 像

4-3-3. 示差走査熱量分析

様々な脂質からなるベシクルについて膜安定性を検討するために、TX-100 を添加した後のベシクルの示差走査熱量測定を行い、膜の相転移挙動を検討した。シラン型脂質において十分な形態安定性を持つと考えられる、24 時間静置後のベシクルを用いて測定を行った(表 4-5)。

$(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{U}_2\text{C}_{16}$ からなるセラソームにおいて、30 倍等量の TX-100 の存在下でも TX-100 のないときに比べ、相転移パラメータはほとんど変わらなかった。これらの結果は、TX-100 分子が $(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{U}_2\text{C}_{16}$ からなるセラソームにほとんど浸透せず、長鎖アルキル部位のパッキングをほとんど乱さないことを示している。

アミド部位はよい水素結合部位でないにも関わらず、 $(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{A}_2\text{C}_{16}$ からなるセラソームは大量の TX-100 存在下でも相転移挙動を示す。しかしながらそのセラソームの相転移ピークは TX-100 の有無にかかわらず大変小さいものであり、 ΔH_v と n は正確に求めることができなかった。このことは尿素結合部位がアミド結合部位に比べ、膜中でよい水素結合帯になっていることを示していると考えられる。

$\text{N}^+\text{C}_3\text{U}_2\text{C}_{16}$ からなるリポソームは、コネクタ部位に水素結合ユニットとして尿素部位が導入されているため、従来のリン脂質からなるリポソームに比べ、形態安定性が高いと予想される。しかしながら、30 倍等量の TX-100 の添加により、相転移挙動は消失してしまう。このように、尿素部位によって供される分子内水素結合は界面活性剤 TX-100 の存在下でベシクル構造を安定化するのに十分でない。言い換えれば、セラソーム表面の二次元シロキサンネットワークがセラソームのベシクル構造を非常に効果的に安定化していると言える。

表 4-5. 様々な脂質からなるベシクルの相転移パラメータ^{a)}

脂質	$T_m / ^\circ\text{C}$	$\Delta H / \text{kJ mol}^{-1}$	$T_{1/2} / ^\circ\text{C}$	$\Delta H_v / \text{kJ mol}^{-1}$	n
(EtO) ₃ SiC ₃ U2C ₁₆	29.1	18.6	0.83	3.45	178
(EtO) ₃ SiC ₃ A2C ₁₆	25.5	1.3	0.33	-	-
N ⁺ C ₃ U2C ₁₆	ピークなし	-	-	-	-

a) 50 $^\circ\text{C}$, 24 時間静置後 TX-100 を添加し測定。

(エタノール/水 (1 : 9 v/v), pH 3,) [脂質] = 0.5 mmol dm⁻³,

[TX-100] = 15 mmol dm⁻³

4-4. 総括

セラソームへ界面活性剤 TX-100 を添加したときの光散乱強度の測定や SEM 観察から、セラソームが重合性ベシクルを超える形態安定性を有することがわかった。N⁺C₃U2C₁₆ からなるリポソームと (EtO)₃SiC₃U2C₁₆ からなるセラソームの TX-100 に対する安定性の比較から、シラン部位が形態安定性に大きく寄与していることが明らかとなった。また、TX-100 に対する耐性の時間変化からセラソームの安定性がシロキサンネットワークの発達によるものであることが間接的ではあるが明らかとなった。このネットワークの発達速度は液晶相とゲル相で異なることもわかった。ネットワークの発達の程度は MALDI-TOF 測定によって検討され、8 量体程度の脂質ドメインが形成されていることもわかった。示差走査熱量測定の結果、N⁺C₃U2C₁₆ からなるリポソームに比べ (EtO)₃SiC₃U2C₁₆ からなるセラソームは ΔH_v と n が小さく、発熱ピークの半値幅 ($T_{1/2}$) が大きいことがわかった。このことからセラソーム表面上のシロキサンネットワークの形成が膜中の局所的なパッキングの乱れを引き起こし、相転移の協同性を下けていることが明らかになった。尿素部位を有するシラン型脂質と 3 級アミドを持つシラン型脂質の相転移挙動の比較の結果、尿素部位を有するシラン型脂質のパッキングが高いことがわかった。このことからパッキングに関わる膜物性について水素結合性を変えることを通して制御できることが期待できる。膜物性を考慮して脂質分子を設計する際には水素結合部位を適切に導入することが極めて重要である。

第5章 結論

脂質膜は、水中において疎水性の分子認識場を与えるが、この性質を利用して生体においては効率よく分子を集積し、シグナル伝達などの高度な制御を要する反応系を構築している。また、疎水性の障壁を利用してオルガネラや細胞などの内側と外側を区別するといった働きも担っている。このような脂質膜は、親水性頭部と疎水性尾部からなる脂質分子を水中で分散させることによって自発的に形成させることが可能であり、その小胞体はリポソームと呼ばれている。このリポソームは薬物輸送などのカプセルとしての利用にとどまらず、光合成やシグナル伝達を模倣した複雑なシステムを構築するための反応場として盛んに用いられている。また、脂質分子はそれの有機溶媒溶液を気-水界面に展開することで、自発的に分子一層からなる集合体である単分子膜を形成することも知られている。単分子膜は基板上に移し取ることが可能であり、それを利用して電極の修飾などの応用に用いられている。

しかし、これらの超分子薄膜は構成分子間の疎水性相互作用やファンデルワールス力といった弱い相互作用で保たれているため、単分子膜においてもピンホールのような致命的な欠陥が生じるため、実際に応用する際に問題になる。また、二分子膜においてはコロイド安定性や形態安定性が十分ではなく、集合体を一つのユニットとして他の集合体と連携させて高次のシステムを構築することは非常に困難である。この問題を解決するため、二分子膜においては、分子間に強い相互作用である水素結合を導入し、安定化する試みがなされてきた。親水性頭部に4級アンモニウム基、疎水性尾部にジアルキル鎖を持ち水素結合部位として種々のアミノ酸を有するこれらの脂質はペプチド脂質と呼ばれ、コロイド安定性の高いベシクルを得ることに成功している。

本研究では集合体の安定化に効果的であると考えられる水素結合部位の設計をペプチド脂質、シラン型脂質において検討し、合成を行い、その様々な集合体物性を物理化学的測定により検討してきた。

二分子膜において熱量測定から複数の水素結合部位を導入したペプチド脂質の相転移挙動を検討した結果、水素結合部位を増やし、分子間相互作用を強めても、膜の相転移挙動には大きな影響を与えないことが明らかとなった。熱量測定による相転移挙動の検討の難しい単分子膜において、 π -A 等温線を解析することにより、相図を作製し、単分子膜の相転移温度を決定した。この単分子膜においても水素結合部位の数を変えたことによる相転移挙動の差はほとんど見られなかった。このことから二分子膜のみならず単分子膜においても分子間水素結合が形成されていることが明らかになった。しかしながら、二分子膜の場合と異なり、残基の違いによって相転移温度の差が見られた。このことから二つの集合体における分子間相互作用には差があることが明らかとなった。

さらに、単分子膜および二分子膜の FT-IR の検討から、単分子膜中では二分子膜中に比べて、分子間の水素結合がより弱いことがわかった。

セラソームへ界面活性剤 TX-100 を添加したときの光散乱強度の測定や SEM 観察から、セラソームが重合性ベシクルを超える形態安定性を有することがわかった。

$\text{N}^+\text{C}_3\text{U}_2\text{C}_{16}$ からなるリポソームと $(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{U}_2\text{C}_{16}$ からなるセラソームの TX-100 に対する安定性の比較から、シラン部位が形態安定性に大きく寄与していることが明らかとなった。また、TX-100 に対する耐性の時間変化からセラソームの安定性がシロキサンネットワークの発達によるものであることが間接的ではあるが明らかとなった。このネットワークの発達の程度は MALDI-TOF 測定によって検討され、8 量体程度の脂質ドメインが形成されていることもわかった。示差走査熱量測定の結果、 $\text{N}^+\text{C}_3\text{U}_2\text{C}_{16}$ からなるリポソームに比べ $(\text{EtO})_3\text{SiC}_3\text{U}_2\text{C}_{16}$ からなるセラソームは ΔH_v と n が小さく、発熱ピークの半値幅 ($T_{1/2}$) が大きい。このことはセラソーム表面上のシロキサンネットワークの形成が膜中の局所的なパッキングの乱れを引き起こし、相転移の協同性を下げているものと考えられる。尿素部位を有するシラン型脂質と 3 級アミドを持つシラン型脂質の相転移挙動の比較の結果、尿素部位を有するシラン型脂質のパッキングが高いことがわかった。このように水素結合部位の導入によってパッキングに関わる膜物性の制御が期待できる。膜物性を考慮して脂質分子を設計する際には水素結合部位を適切に導入することが極めて重要である。

単分子膜においては非常に多くの可能性が指摘されながら、商業規模で実用化された例はほとんどない。これは単分子膜の欠陥の問題など、分子膜を制御し切れていないためである。本研究のような単分子膜への水素結合帯の導入は分子膜の設計、制御といった問題に一つの指針を与えるものである。また、二分子膜中の脂質分子同士のシロキサン結合やジエンのラジカル反応を利用した共有結合によって形態安定性に非常に優れたベシクルの開発が盛んに行われているが、これらの手法の問題点である共有結合による歪みのもたらす膜物性への影響についてはほとんど明らかにされていない。これらの問題を検討し、強い分子間相互作用である水素結合を利用し適切に分子設計を行うことで、パッキングに関わる膜物性を制御し、それらに強く関係する膜透過性や流動性、欠損の少ない膜などの目的に応じた膜物性を持つ集合体を設計、作製することが重要である。本研究から得られた二分子膜、単分子膜、セラソームを形成する脂質への水素結合部位導入とその膜物性への相関に関する結果はそのための重要な指針を与えるものである。

引用文献

- [1] R. Dagani, *C&EN*, **78**, 25 (2000).
- [2] S. Borman, *C&EN*, **79**, 45 (2001).
- [3] V. Balzani, A. Credi, F. M. Raymo, and J. F. Stoddart, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **39**, 3348 (2000).
- [4] B. Albert, D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, and J. D. Watson, "*Molecular Biology of The Cell*" 3rd Ed., Garland Publishing, New York (1999), Chapter 21.
- [5] B. Albert, D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, and J. D. Watson, "*Molecular Biology of The Cell*" 3rd Ed., Garland Publishing, New York (1999), Chapter 15.
- [6] D. Voet, J. and G. Voet, "*Biochemistry*" 2nd Edition, John Wiley and Sons, New York (1995), Chapter 22.
- [7] J. Kikuchi, K. Ariga, and Y. Sasaki, In "*Advances in Supramolecular Chemistry*", G. W. Gokel, Ed., Vol. 8, Cerberus Press, South Miami (2002), pp.131-173.
- [8] G. Steinberg-Yfrach., J.-L. Rigaud, E. N. Durantini, A. L. Moore, D. Gust, and T. A. Moore, *Nature* **392**, 479 (1998).
- [9] B. Albert, D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, and J. D. Watson, "*Molecular Biology of The Cell* 3rd Ed., Garland Publishing, New York (1999), Chapter 10.
- [10] A. D. Bangham and R.W. Horne, *J. Mol. Biol.*, **8**, 660 (1964).
- [11] S. F. Papahadjopoulos, *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.*, **9**, 467.
- [12] T. Kunitake, In "*Comprehensive Supramolecular Chemistry*", J.-M. Lehn, J. L. Atwood, J. E. D. Davis, D. D. MacNicol, and F. Vögtle, Eds., Vol. 9, Pergamon Press, Oxford (1996), p.351.
- [13] H. Ringsdorf, B. Schlarb, and J. Venzmer, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **31**, 113 (1988).
- [14] E. C. Constable, W. Meier, C. Nardin, and S. Mundwiler, *Chem. Comm.*, **1999**, 1483.
- [15] P. Vermette, S. Taylor, D. Dunstan, and L. Meagher, *Langmuir*, **18**, 505 (2002).
- [16] Z. Sideratou, D. Tsiouvas, C. M. Paleos, A. Tsortos, S. Pyrpassopoulos, and G. Nounesis, *Langmuir*, **18**, 829 (2002).
- [17] J. N. Israelachvili, D. J. Mitchell, and B. W. Ninham, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.2*, **72**, 1525 (1976).
- [18] D. J. Mitchell and B. W. Ninham, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.2*, **77**, 601 (1981).
- [19] I. Langmuir, *J. Am. Chem. Soc.*, **39**, 1848 (1917).
- [20] A. W. Adamson and A. P. Gast, "*Physical Chemistry of Surfaces*" 6th ed., John Wiley and Sons, New York (1997).
- [21] 福田 清成, 加藤 貞二, 中原 弘雄, 柴崎 芳夫, "超薄分子組織膜の科学", 9 章, 講談社サイエンティフィク, 東京 (1993), 9 章.
- [22] 福田 清成, 加藤 貞二, 中原 弘雄, 柴崎 芳夫, "超薄分子組織膜の科学", 9 章, 講談社サイエンティフィク, 東京 (1993), 3 章.
- [23] B. Albert, D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, and J. D. Watson, "*Molecular Biology*

of *The Cell*” 3rd Ed., Garland Publishing, New York (1999), Chapter 1.

- [24] Y. Murakami and J. Kikuchi, In “*Bioorganic Chemistry Frontiers*”, H. Dugas, ed., Vol. 2, Springer-Verlag, Berlin (1991), pp. 73.
- [25] H. Ringsdorf, B. Schlarf, and J. Venzmer, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **27**, 113 (1988).
- [26] A. Muller and D. F. O’Brien, *Chem. Rev.*, **102**, 727 (2002).
- [27] S. Liu and D. F. O’Brien, *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 6037 (2002).
- [28] K. Karagiri, K. Ariga, and J. Kikuchi, *Chem. Lett.*, **1999**, 661.
- [29] 有賀克彦, 片桐清文, 菊池純一, 高分子論文集, **57**, 251 (2000).
- [30] K. Katagiri, K. Ariga, and J. Kikuchi, *Studies in Surface Sci. and Catal.*, **132**, 599 (2001).
- [31] K. Katagiri, R. Hamasaki, K. Ariga, and J. Kikuchi, *Langmuir*, **18**, 6709 (2002).
- [32] J. M. Whiteside, E. E. Simanek, J. P. Mathias, C. T. Seto, D. N. Chin, M. Mammen, and D. N. Gordon, *Acc. Chem. Res.*, **28**, 37 (1995).
- [33] M. Uragami, N. Tokutake, X. Yan, and S. L. Regen, *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 5124 (2001).
- [34] N. Yamada, K. Ariga, M. Naito, K. Matsubara, and E. Koyama, *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 12192 (1998).
- [35] J. Sunamoto, M. Goto, and K. Akiyoshi, *Chem. Lett.*, **1990**, 1249.
- [36] J. Sunamoto, Y. Mori, and T. Sato, *Proc. Japan Acad.*, **68B**, 69 (1992).
- [37] Y. Okumura, M. Ishitobi, M. Sobel, K. Akiyoshi, and J. Sunamoto, *Biochim. Biophys. Acta*, **1194**, 335 (1994).
- [38] H. Brockerhoff, In “*Bioorganic Chemistry*”, E. E. Tamelen, Ed., Vol. 3, Academic Press, New York (1977), Chapter 1.
- [39] 清水敏美, 表面科学, **19**, 222 (1998).
- [40] T. Shimizu, M. Kogiso, and M. Masuda, *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 6209 (1997).
- [41] M. de Loos, J. van Esch, I. Stkroos, R. M. Kellogg, and B. L. Feringa, *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 12675 (1997).
- [42] J. J. E. Moreau, L. Vellutini, M. W. C. Man, C. Bied, J.-L. Bantignies, P. Dieudonne, and J.-L. Sauvajol, *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 7957 (2001).
- [43] L. N. Lewis, *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, 5998 (1990).
- [44] 塩入孝之, 有機合成化学, **37**, 856 (1979).
- [45] A. Blume, *Biochemistry*, **22**, 5436 (1983).
- [46] J. M. Seddon, K. Harlos, and D. Marsh, *J. Biol. Chem.*, **258**, 3850 (1983).
- [47] H. L. Casal and H. H. Matsch, *Biochem. Biophys. Acta*, **735**, 387 (1983).
- [48] T. Kunitake, R. Ando, and Y. Ishikawa, *Mem. Fac. Eng. Kyushu Univ.*, **46**, 221, 245 (1986).
- [49] Y. Murakami, Y. Aoyama, A. Nakano, T. Tada, and K. Fukuya, *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 3951 (1981).
- [50] Y. Murakami, A. Nakano, and A. Yoshimatsu, *Chem. Lett.*, **1984**, 13.
- [51] Y. Murakami, J. Kikuchi, T. Takaki, K. Uchimura, and A. Nakano, *J. Am. Chem. Soc.*,

107, 2161 (1985).

- [52] Y. Murakami, J. Kikuchi, K. Nishida, and A. Nakano, *Bull. Chem. Soc. Jpn*, **57**, 1371 (1984).
- [53] Y. Murakami, J. Kikuchi, T. Imori, and K. Akiyoshi, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, **1984**, 1434.
- [54] H. Sapper, D. G. Cameron, and H. H. Mantsh, *Can. J. Chem.*, **59**, 2543 (1981).
- [55] R. M. Silverstein, G. C. Bassler, and T. C. Morrill, "Spectrometric Identification of Organic Compounds" 4th Ed., John Wiley and Sons, New York (1981), Chapter 3.
- [56] O. Shibata, *et al.*, *J. Colloid Interface Sci.*, **96** 189 (1983).
- [57] T. Kajiyama, H. Kozuka, Y. Takashima, Y. Oishi, and K. Suehiro, *Supramol. Sci.*, **2**, 107 (1995).
- [58] 福田清成, 加藤貞二, 中原弘雄, 柴崎芳夫, "超薄分子組織膜の科学", 講談社サイエンティフィク, 東京 (1993), 2 章.
- [59] K. Ariga, T. Abe, and J. Kikuchi, *Chem. Lett.* **2000**, 82.
- [60] M. Onda, K. Yoshihara, H. Koyano, K. Ariga, and T. Kunitake, *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 8524 (1996).
- [61] A. Walcarius, *Chem. Mater.*, **13**, 3351 (2001).
- [62] K. J. Shea and D. A. Loy, *Chem. Mater.*, **13**, 3351 (2001).
- [63] H. Schmidt, *J. Sol-Gel Sci. Technol.*, **1**, 217 (1994).
- [64] N. Kimizuka and T. Kunitake, *Adv. Mater.*, **8**, 89 (1996).
- [65] F. Caruso, R. A. Caruso, and H. Möhwalt, *Chem. Mater.*, **11**, 3309 (1999).
- [66] N. Kimizuka, *Adv. Mater.*, **12**, 1461 (2000).
- [67] J. H. Jung, Y. Ono, and S. Shinkai, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **39**, 1862 (2000).
- [68] D. H. W. Hubert, M. Jung, P. M. Frederik, P. H. H. Bomans, J. Meuldijk, and A. L. German, *Adv. Mater.*, **12**, 1286 (2000).
- [69] I. Ichinose and T. Kunitake, *Adv. Mater.*, **14**, 344 (2002).
- [70] K. Katagiri, R. Hamasaki, K. Ariga, and J. Kikuchi, *Langmuir*, **18**, 6709 (2002).
- [71] K. Katagiri, R. Hamasaki, K. Ariga, and J. Kikuchi, *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 7892 (2002).
- [72] K. Katagiri, R. Hamasaki, K. Ariga, and J. Kikuchi, *J. Sol-Gel Sci. Technol.*, **26**, 393 (2003).
- [73] K. Katagiri, M. Hashizume, J. Kikuchi, Y. Taketani, and M. Murakami, submitted.
- [74] K. Katagiri, K. Ariga, M. Hashizume, and J. Kikuchi, submitted.
- [75] S. Kawanami, M. Hashizume, and J. Kikuchi, submitted.
- [76] C. W. Lentz, *Inorg. Chem.*, **3**, 574 (1964).
- [77] S. Liu and D. F. O'Brien, *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 6037 (2002).
- [78] M. Kodama, *Yukagaku*, **39**, 530 (1990).
- [79] W. R. Christopher, C. S. Saussure, and E. Freire, *Biochemistry*, **24**, 5638 (1985).
- [80] P. L. Privalov and N. N. Khechinashvili, *J. Mol. Biol.* **86**, 665 (1974).
- [81] H.-J. Hinz and J. M. Sturtevant, *J. Biol. Chem.*, **247**, 6071 (1972).

- [82] D. B. Mountcastle, R. L. Biltonen, and M. J. Halsey, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **75**, 4906 (1978).
- [83] Y. Murakami, O. Hayashida, and Y. Nagai, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas*, **113**, 815 (1996).
- [84] R. K. Iler, "*The Chemistry of Silica*", John Wiley and Sons, New York (1979).
- [85] H. Nishimori, M. Tatsumisago, and T. Minami, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **69**, 815 (1996).

謝辞

本研究を行うに当たり終始激励並びに懇切なるご指導を賜りました菊池純一先生に深く感謝いたします。また、有益なご助言とご指導を頂きました有賀克彦先生、橋詰峰雄先生にも心から感謝の意を表します。

さらに、本研究を進めるに当たり多大なご助言を賜りました物質創成科学研究科の小夫家芳明先生、垣内喜代三先生に厚く御礼申し上げます。

電子顕微鏡観察において多大な協力を賜りましたローム株式会社の百瀬博士に感謝致します。

最後に、同じ研究室にあって有益なご助言を賜りました池田篤志先生、佐々木善浩先生をはじめ菊池研究室の皆様、研究上の便宜を与えてくださいました物質創成科学研究科の職員の皆様に感謝いたします。

論文目録

学位論文の主たる部分を公表した論文

題 目 : Monolayer and Bilayer Properties of Oligopeptide-containing Lipids
– Difference in Phase Transition Behavior –
著 者 名 : S.Kawanami, T. Kosaka, T. Abe, K. Ariga, and J. Kikuchi
公 表 時 期 : 2001 年
雑誌名、巻、ページ : Studies in Surface Science and Catalysis, 132, 553-556

題 目 : Stable Vesicular Nanoparticle “Cerasome” as an Organic-Inorganic Hybrid Formed with Organoalkoxysilane Lipids having a Hydrogen-Bonding Unit
著 者 名 : M. Hashizume, S. Kawanami, S. Iwamoto, T. Isomoto, and J. Kikuchi
公 表 時 期 : 2003 年
雑誌名、巻、ページ : Thin Solid Films, in press.

参考論文

題 目 : Synthesis, Structure, and Reaction of the First Thermally Stable cis-(Silyl)(stannyl)palladium(II) Complex
著 者 名 : M. Murakami, T. Yoshida, S. Kawanami, and Y. Ito
公 表 時 期 : 1995 年
雑誌名、巻、ページ : J. Am. Chem. Soc., 117, 6408-6409.

題 目 : Chiral Amino Acid Recognition by a Porphyrin-Based Artificial Receptor
著 者 名 : Y. Kuroda, Y. Kato, T. Higashioji, J. Hasegawa, S. Kawanami, M. Takahashi, N. Shiraishi, K. Tanabe, and H. Ogoshi;
公 表 時 期 : 1995 年
雑誌名、巻、ページ : J. Am. Chem. Soc., 117, 10950-10958.