

炭化ふっ素系両親媒性分子の二分子膜形成能とベシクルー繊維構造転移

名古屋大学大学院理学研究科物質理学専攻（化学系）

今栄 東洋子

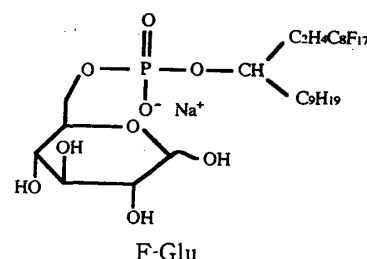
1. はじめに

炭化ふっ素系の両親媒性分子は、炭化水素系両親媒性分子とは異なる特異な性質を有する。特性はふっ素原子の強い電気陰性度由来しており、共有結合性にイオン結合性が加わる結果としてC-F結合エネルギーが強まるのに伴って炭化ふっ素のvan der Waals引力が弱まる。それゆえに、炭化ふっ素系分子は耐熱性、耐薬品性に優れている。弱いvan der Waals引力は気水界面張力低下能を促進するために、炭化ふっ素系両親媒性分子の湿潤性、浸透性が向上する。弱いvan der Waals引力はまた炭化ふっ素鎖の疎水性のみならず疎油性も誘起するため、炭化ふっ素系両親媒性分子は二分子膜を形成しやすい。疎水性、疎油性から生じる低い油水界面張力低下能を補うために炭化ふっ素と炭化水素のハイブリッド鎖を構築する工夫がなされている。二分子膜形成は、ふっ素原子が水素原子より大きいことにより炭化ふっ素鎖長が伸長して剛直になることによっても促進される。炭化ふっ素系化合物の性質を利用した多くの用途のうち、医薬利用は強いC-F結合エネルギー特性に起因する化合物の生体への弱または無毒性によって支持されている。さらに、ドラッグデリバリーや酸素デリバリーの特性は炭化ふっ素系分子の薬物や酸素分子に対する選択的結合能に大いに依存している。一方で炭化ふっ素系両親媒性分子の二分子膜形成能がデリバリー能を高めている。

本研究では、ふっ素置換両親媒性分子およびそのハイブリッドからなるLangmuir (L) 膜やLangmuir-Blodgett (LB) 膜を創製し、表面圧 (π) - 表面積 (A) 曲線と原子間力顕微鏡 (AFM) 観察から、二分子膜形成能を非ふっ素置換分子と比較する。さらに、ふっ素置換両親媒性分子が媒体中で自己組織化によって構築する平板および繊維状構造および集合体内での分子配列を透過型電子顕微鏡 (TEM)、小角中性子散乱 (SANS)、小角X線散乱 (SAXS) によって解析する。繊維状超分子集合体がベシクルに転移する過程とそれに伴う二分子膜の変化についても検討する。

2. 実験

実験に用いた両親媒性分子は、eicosanoic acid ($C_{19}H_{39}COOH$, アラキジン酸)、perfluorotetradecanoic acid ($C_{13}F_{27}COOH$)、perfluoroicosanoic acid ($C_{19}F_{39}COOH$)、perfluoroalkylated dimorpholinophosphates ($C_nF_{2n+1}(CH_2)_mOP(O)[N(O)]_2$, F_nC_mDMP $n=10, m=2$ and $n=8, m=5$)、sodium (F-octylethyl)nonylmethylene O-6-phosphoglucoside (F-Glu $n=8, p=8$), its hydrogenated analog (H-Glu)である。クロロホルムを展開溶媒として、水面上にL膜を作成し、 π -A曲線を描いた。異なる表面圧でマイカ基板上にLB膜を移し取った。両親媒性分子の水溶液は試料固体を軽水、または重水に可温して溶解した後、冷却して調製した。AFM観察はDI社製NanoscopeIIIを用いて行った。TEM観察には日立H-800を用いた。凍結切断法、またはcryo法によって観察した。SANSは高エネルギー物理学研究所の小/中角中性子散乱装置を用いて行った。SAXSの測定には京都大学の超強力X線散乱装置を用いた。



3. 結果と議論

perfluorinated fatty acid $C_{17}F_{35}COOH$ L膜の π -A 曲線から得られる分子占有面積は $34.4 \text{ \AA}^2/\text{molecule}$ であり、アラキジン酸のような nonperfluorinated fatty acid に対して報告されている面積よりも大きい。表面圧 1 mN/m で移し取られた LB 膜を AFM で観察したところ、台地状に集合した二次元単分子膜の状態が確認できた。表面圧を増すと台地は広がり合一するとともに、部分的に二分子膜、4分子膜が形成された。一方、 $C_{13}F_{27}COOH$ LB膜の AFM 観察ではどの表面圧でも一面に凹凸のある表面状態が確認され、分子長約 19 \AA の $C_{13}F_{27}COOH$ 分子が単分子膜上に二分子膜、4分子膜状態で配列していることが明らかになった。このことは L膜での見かけの分子占有面積が長鎖同族体である $C_{17}F_{35}COOH$ の面積よりも小さい ($25 \text{ \AA}^2/\text{molecule}$) ことと一致している。perfluorinated fatty acid は nonperfluorinated fatty acid よりも二分子膜形成能が高く、炭化ふっ素鎖長が短いほど容易に二分子膜を形成することが示唆された。

perfluorinated fatty acid ($C_{13}F_{27}COOH$) に nonperfluorinated fatty acid である $C_{19}H_{39}COOH$ を等モル混合すると、純分子の理想混合を仮定した値よりも少しだけ大きな分子占有面積が得られた。ハイブリッド LB 膜の AFM 像は図 1 に示したように二次元相分離現象を示した。つまり、主に $C_{19}H_{39}COOH$ の単分子膜からなる円形のドメインが形成された。一方、 $C_{13}F_{27}COOH$ リッチ相の表面は粗く、 $C_{13}F_{27}COOH$ のみからなる LB 膜に対して観察された状態と一致していた。いずれも炭化ふっ素疎水基を持つが、非イオン性親水基の種類が異なる $C_{13}F_{27}COOH$ と F10C2DMP を等モル混合したときの π -A 曲線はそれぞれ単独の分子からなる曲線の中間の値を示した。AFM によって観察した LB 膜は $C_{13}F_{27}COOH$ 単独の場合よりも F10C2DMP 単独の場合または等モル混合の場合の方がより平坦であった (図 2)。混合系の場合に相分離も二分子膜形成も起こらなかったことは興味深い結果である。以上の 2 種のハイブリッド膜を比較すると、炭化ふっ素系両親媒性分子同士の混和性は高いが、炭化水素系両親媒性分子と炭化ふっ素系両親媒性分子は混和しにくいことが明らかとなった。

cryo-TEM によると、室温で 3% 水溶液中に形成される F8C5DMP の超分子集合体は種々の形状、厚さを持つ平板であった。平板をマイカ基板にのせて AFM で観察すると、比較的平らな表面上にさらにテクスチャーがみられる。拡大すると、それは高低差 3.3 \AA の層の存在によるものであった (図 3)。この溶液の SANS 曲線には Bragg ピークが $0.2, 0.4, 0.8 \text{ \AA}^{-1}$ で観察された。これらは層構造の回折距離の比 $1:1$

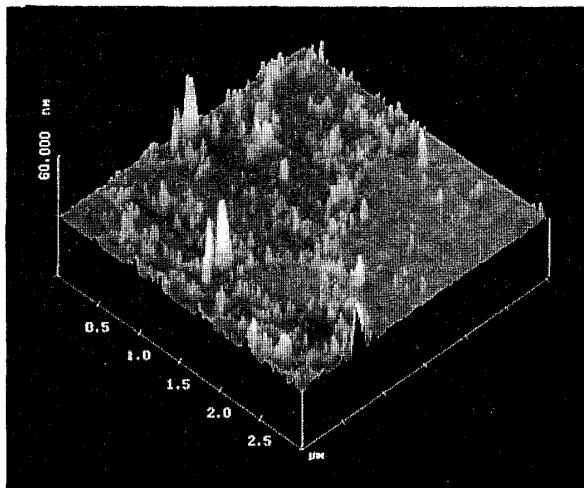


図 1. $C_{13}F_{27}COOH$ と $C_{19}H_{39}COOH$ の等モルハイブリッド LB 膜 (表面圧 10 mN/m) の AFM 写真。

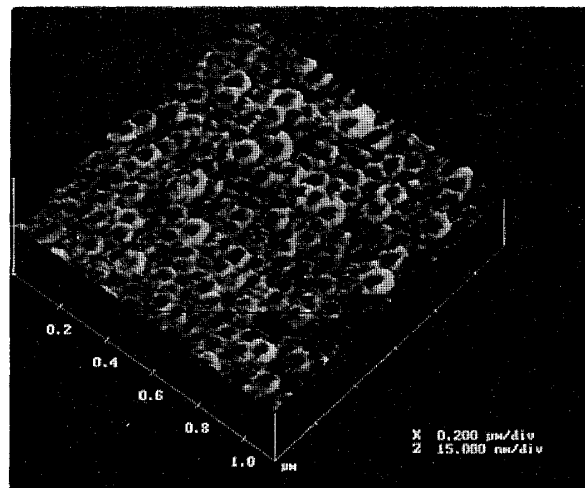


図 2. $C_{13}F_{27}COOH$ と F10C2DMP の等モルハイブリッド LB 膜 (表面圧 20 mN/m) の AFM 写真。

／2：1／4に対応する。このとき、層間隔は31 Åであり、AFMで測定した層厚と一致する。平板は二分子膜構造の積み重ねであることが予測できるが、理論的な分子長は約25 Åであるので、疎水鎖部分が指組みした (interdigitated) 二分子膜構造が考えられる。炭化水素と炭化ふっ素は混和しないので、炭化ふっ素部分のみの指組みを考慮すると、分子は膜表面に対して垂直方向から約30°傾斜して配列していることになる (図4)。AFM観察に基づくと、3%水溶液を1／4希釈した溶液中に存在する超分子集合体は厚さ72 Åの薄い平板であった。板には深さ26または72 Åの多くの穴と50 Åの穴が少しあいていた。従って、その分子配列は厚い板とは異なって、head-to-head配列した二分子膜とその上に形成された単分子膜からなる。厚さ25 Åの小さな単分子膜板も検出できた。これが多層膜の前駆体であろう。

F8C5DMPが水溶液中で形成する超分子集合体は調製直後は葉巻状であったが、容易に板状に変化したことが顕微鏡観察によって確認された。F8C5DMPとF10C2DMPのハイブリッドの場合には平板の両端が平行にまたは扇状に葉巻ロールした構造体 (U型またはV型集合体) が形成される。その構造は、F8C5DMP単独の葉巻型集合体とは異なり、長時間保持されている。AFMによってこの構造の表面を観察したところ、F8C5DMPの平板表面よりも粗い。これはハイブリッドであるために、結晶的に整列した配列を取りにくいためであり、このことが平板への進行を抑制していると考えられる。この構造体は60℃に昇温することによって球体に変化することがTEM観察から明らかとなった。球体は膨潤した二分子膜からなるベシクルであった。この構造転移に伴って25℃で観察された39 Åのラメラ層間隔に相当するSAXSのBraggピークが消失した。一方、25→40→60℃の順に段階的に昇温すると、層間隔が39→52→45 Åの順に変化する。温度変化過程の違いがベシクル状態を支配することが示唆された。25℃での層間隔は、F8C5DMP単独の場合よりも広く、分子が膜表面に対して垂直に配列した指組み二分子膜構造に対応する。この違いは組成の異なるアルキル鎖のパッキングが悪いため、または葉巻状構造での分子パッキングが平板とは異なるためと考えられる。葉巻状構造からベシクルへ転移した40℃においては、層間隔がhead-to-head配列した二分子膜長まで広がる。温度上昇に伴ってアルキル鎖のパッキングが緩んだためであると解釈できる。さらなる昇温によってはアルキル鎖の熱運動性が増す、つまり、トランス-シスコンフィギュレーション転移が起こるために60℃のベシクル状態では二分子膜の層間隔が再び狭まる。このことは、二分子膜の曲率が単純に変化するだけでなく、二分子膜内での分子配列の変化を経て葉巻からベシクルへの集合体構造の転移が起こることを示唆している。

水中でF-Gluが形成する超分子の構造は室温では中心に空洞を持つ円管であることがcryo-TEMから明らかとなった (図5)。希薄な水溶液 (3%) であるので粒子間干渉効果が無視できるとすると、長い中空管 (長さL、内径a、外径b) に対する散乱強度I (Q) は次式で書くことができる。

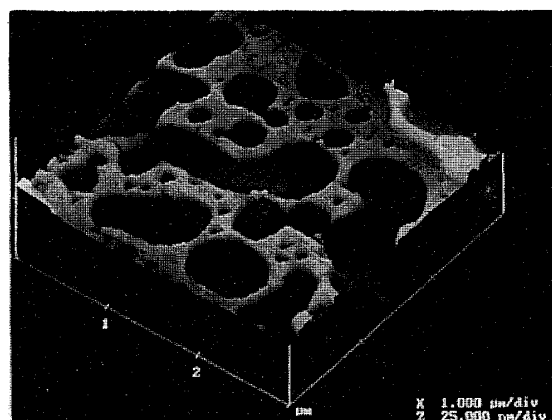


図3. F8C5DMPからなる平板表面のAFM写真

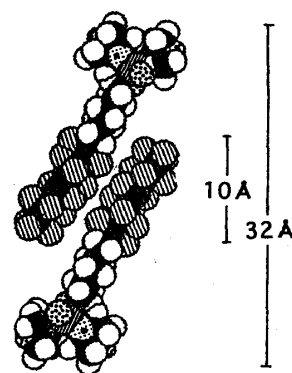


図4. F8C5DMP二分子膜の指組み構造の模式図

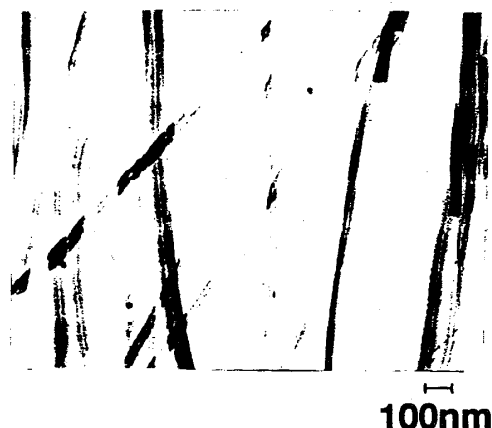


図5. F-Gluからなる円管のcryo-TEM写真

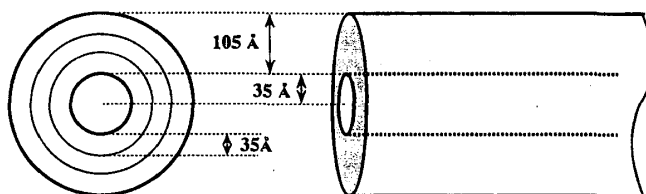


図6. F-Gluからなる円管構造の模式図

$$I(Q) = n_p (\pi / 2QL) \{ 2 [b^2 F(bQ) - a^2 F(aQ)] / (b^2 - a^2) \}^2$$

$$F(x) = 2 J_1(x) / x \tag{1}$$

n_p は粒子数密度、 Q は散乱ベクトルの大きさ、 $J_1(x)$ は一次のベッセル関数である。計算値をSANSとSAXSの実験値と比較して得られたF-Gluからなる管の内径(35 Å)と外径(140 Å)はTEM観察からの値とよく一致した。円管が二分子膜同心円断面からなる構造体であるとする、Braggピークから計算されたラメラ層間隔は34 Åであった。このとき、同心円断面は3層の二分子膜からなる(図6)。層間隔をF-Gluの分子長(24 Å)と比較するとき、二分子膜面に対して垂直に配列したF-Gluの疎水鎖が指組みした分子配列が考えられる。F-Gluの円管も温度上昇(60℃以上)によって球体へ変化し、Braggピークの消失を伴う周期構造の破壊が観察された。cryo-TEM観察によると、幾つかの中間体構造が存在しており、円管を構成する二分子膜はシートまたは膜膨潤状態を経てベシクル二分子膜へ転移することがわかった。F-Gluのnonperfluorinated analogであるH-Gluは低温(約4℃)では外径2500~6000 Åの管状構造体を構築するが、25℃では直径1000 Å以下の球体を形成する。

以上の実験事実から、炭化ふっ素系両親媒性分子は二分子膜形成能が高いことが示唆された。Israelachvili は $p = v / a_0 l_c$ で記述されるパッキングパラメータの数値から集合体構造を予測する方法を提案した。疎水鎖の体積 v 、親水基の表面積 a_0 、分子長 l_c はいずれも炭化ふっ素系両親媒性分子と炭化水素系両親媒性分子に対して異なる計算式に基づくので、同じ鎖長の同族体であっても異なるパッキングパラメータ値を生じる。計算結果によるとF-GluはH-Gluよりパッキングパラメータ値が小さかったが、このことは二分子膜同心円断面をもつ円筒構造がベシクルよりも小さなパッキングパラメータであるなら妥当である。残念ながら、Israelachvili はこのよう形態に関して言及していない。一方で、二分子膜構造の形成と安定性を制御する因子として分子のパッキングのみならず、アルキル鎖の剛直性や疎水相互作用力またはvan der Waals 力の違いを検討する必要があるであろう。特に、構造の経時変化や温度変化にはアルキル鎖のシストランスコンフィギュレーション変化が関わっているはずである。

最後に、本研究を遂行するにあたり、試料の提供と内容の議論、さらに測定に関与していただいたニース大学、J. G. Riess教授、M. P. L. Krafft博士、京都大学、松本孝芳助教授、多田俊生氏、高エネルギー物理学研究所、古坂道弘助教授、清水繁夫博士、名古屋大学、船山勝矢氏、加藤元久氏、竹下朋洋氏に感謝の意を表わしたい。