

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	水晶発振子を用いた気相系での分子認識の解析
Title(English)	
著者(和文)	松浦和則
Author(English)	Kazunori Matsuura
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第3249号, 授与年月日:1996年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第3249号, Conferred date:1996/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:
学位種別(和文)	博士論文
Type(English)	Doctoral Thesis

平成7年度 学位論文

水晶発振子を用いた気相系での
分子認識の解析

東京工業大学

生命理工学研究科 バイオテクノロジー専攻

松浦 和則

Kazunori Matsuura

目次

第一章 序論

1-1 分子認識について	-----	1
1-2 気-液界面における分子認識	-----	5
1-3 気相系における分子認識	-----	7
1-4 固体ホストを用いた分子認識	-----	11
1-5 本研究の目的	-----	14

第二章 気相中での自己会合性単分子膜表面への酢酸分子の選択的吸着

2-1 緒言	-----	21
2-2 単分子膜作製用チオール化合物の合成	-----	26
2-3 実験方法		
2-3-1 水晶発振子について	-----	34
2-3-2 自己会合性単分子膜作成方法	-----	40
2-3-3 気相フロー系と測定装置について	-----	41
2-3-4 振動数変化の解析方法	-----	44
2-4 酢酸の吸着等温線に対する表面官能基の効果	-----	51
2-5 酢酸の吸着動力学に対する表面官能基の効果	-----	57
2-6 酢酸の吸着に及ぼす表面官能基含量の効果	-----	62
2-7 結論	-----	66

第三章 有機気体分子の自己会合性単分子膜表面への選択的吸着

3-1 緒言	-----	70
3-2 実験方法	-----	72
3-3 様々な有機気体分子の吸着選択性	-----	75
3-4 ジアミノシクロヘキサン類の位置選択的吸着	-----	87
3-5 結論	-----	93

第四章 核酸塩基を末端に持つ自己会合性単分子膜と核酸塩基類似ゲストの間で起こる分子認識

4-1 緒言	-----	96
4-2 チミンおよびアデニンを末端に持つチオール化合物の合成	-----	100
4-3 実験方法	-----	105
4-4 核酸塩基を末端に持つ自己会合性単分子膜上で起こる気相分子認識	---	108
4-5 自己会合性単分子膜表面における核酸塩基含量の効果	-----	119
4-6 分子力学計算との比較	-----	128
4-7 結論	-----	133

第五章 アントラセンビスレゾルシノール固体ホスト中で起こる分子認識

5-1 緒言	-----	137
5-2 実験方法	-----	141
5-3 結果と考察		
5-3-1 ゲスト包接の経時変化	-----	143

5-3-2	O-メチル化ホストアナログへの吸着	145
5-3-3	包接錯体の IR スペクトル	146
5-3-4	ゲスト包接におけるホスト量依存性	148
5-3-5	ゲスト包接におけるゲスト濃度依存性とアロステリック効果	149
5-3-6	ゲスト包接過程の動力学解析	155
5-4	結論	158
第六章 総括		161
発表論文		165
学会発表		167

第一章 序論

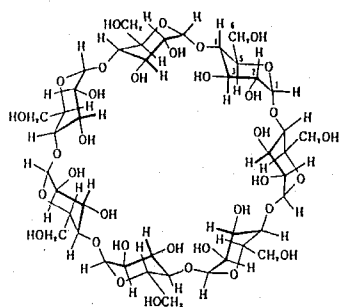
1-1 分子認識について

生体内では、静電相互作用、水素結合、疎水性相互作用、 π - π スタッキング、CH- π 相互作用などの様々な相互作用により、タンパク質、核酸、脂質二分子膜のような構造体が形成され、またそれらがお互いにあるいは他の分子と相互作用をすることで生命活動が維持されている¹⁾。例えば、抗原-抗体反応、酵素と基質または補因子の結合、糖鎖とレクチンの結合、イオノホアと金属イオンの結合、核酸の複製や転写、核酸との薬物や蛋白質の結合などがそれに含まれる。このような分子間の特異的あるいは選択的な相互作用が起こるという現象は、分子認識と呼ばれている。すなわち、あらゆる生体内での反応の基礎となるものは分子認識であるといえる。

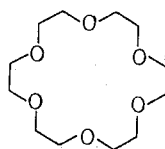
分子認識現象は、生体内に限ったものではなく in vitro の均一溶液中でも起こりうることを示され、そのような研究は「ホスト-ゲスト化学」あるいは「包接化合物の化学」として発展してきた²⁾。例えば、シクロデキストリン、クラウンエーテル、クリプタン、シクロファン、キャビタント、カーセランド、カリックスアレーンなどの多くの大環状ホスト化合物が発見、合成され多くの研究がなされている（図 1-1）²⁾。しかし、これらは、イオンとホスト間の静電相互作用や、水中で疎水性相互作用を利用してゲストをホスト内に取り込み、イオンまたはゲスト分子の大きさや形状により分子認識をおこなうといったものであった。

それに対して、1980 年代後半から Rebek Jr. ら³⁾や Hamilton ら⁴⁾を中心に発展してきた「人工レセプター」の研究は、多点の水素結合や静電相互作用、 π - π スタッキング、CH- π 相互作用などを巧みに組み合わせて、より高度な分子認識を人工系で達成したものである^{5), 2a)}。例えば、図 1-2 に示すように、ある核酸塩基を選択的に認識するレセプ

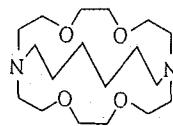
ターが報告されている。しかしながら、生体内では水中であるにも関わらず水素結合が
起こり、それにより分子認識がおこなわれているのに対し、このような人工レセプター
を用いたモデル研究では、低分子同士の水素結合が水中では非常に起こりにくいため、
大抵の場合、水素結合が起こりやすいと考えられるクロロホルムのような疎水的な有機
溶媒中で研究されている。すなわち分子認識において、溶媒の効果は非常に大きいとい
える。



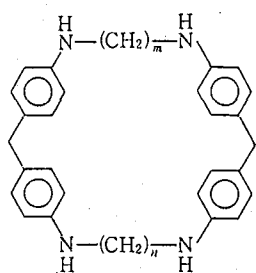
シクロデキストリン



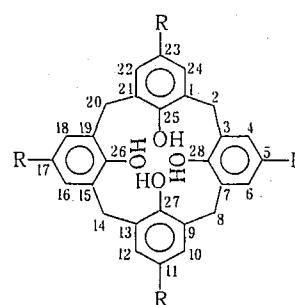
クラウンエーテル



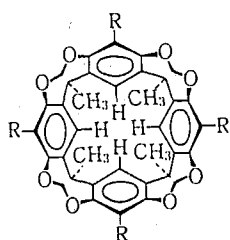
クリプタント



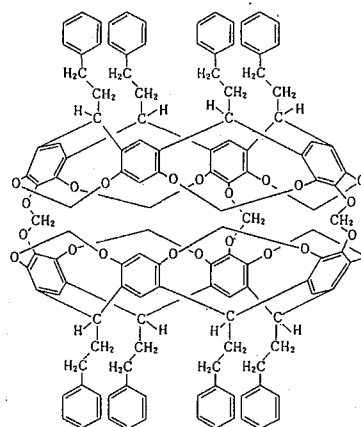
シクロファン



カリックスアレーン

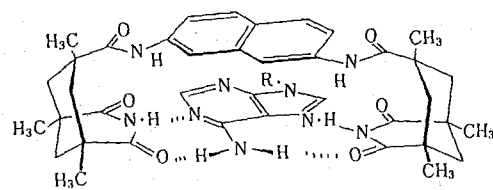
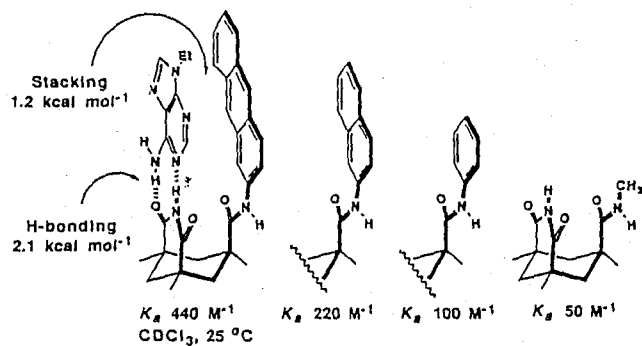


キャビタント

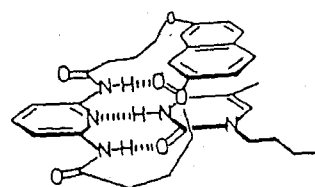
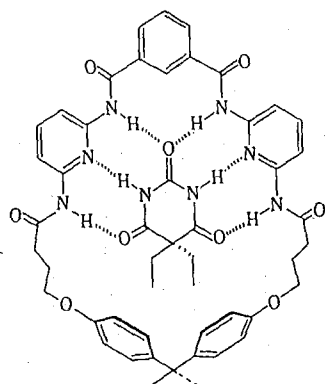


カーセランド

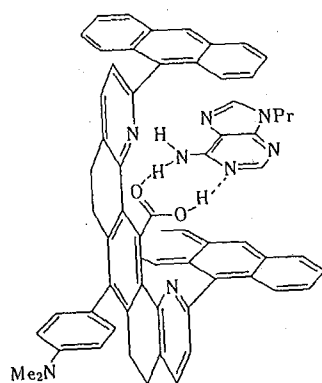
図1-1 様々な大環状ホスト化合物



Rebek Jr. *et al.*



Hamilton *et al.*



Zimmerman *et al.*

図 1-2 様々な人工レセプター化合物

1-2 気-液界面における分子認識

最近、Kurihara と Kunitake らは、水面単分子膜を用いたモデル系を用いて、水面単分子膜界面においても水素結合による分子認識が疎水的な有機溶媒中に匹敵するほど効果的に起こりうることを示した⁶⁾。例えば、ジアミノトリアジン環を親水部に持つ脂質の水面単分子膜の下水層に、チミンやアデニンのような核酸塩基を加えてから、基板に累積して作製した Langmuir-Blodgett 膜を FT-IR スペクトルおよび X 線光電子スペクトル (XPS) により分析すると、ジアミノトリアジンと相補的に水素結合すると考えられ

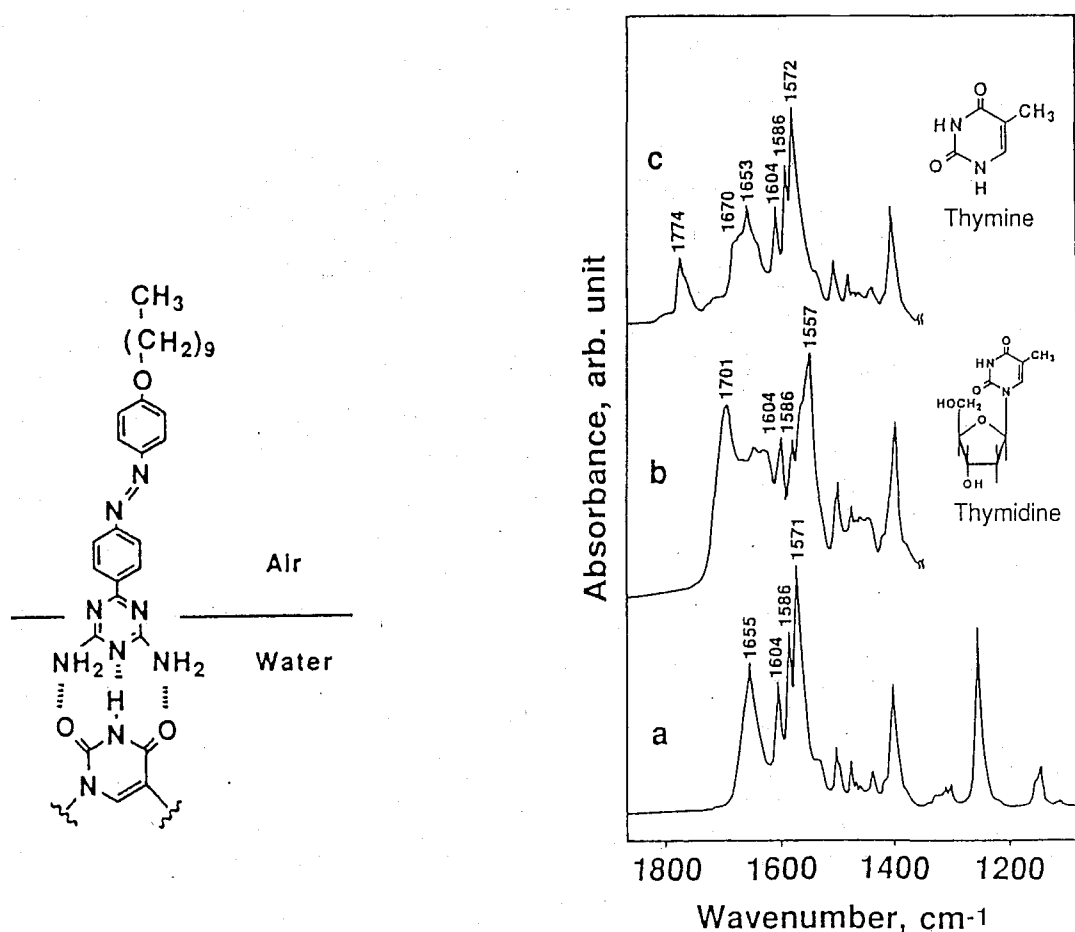


図 1-3 気-水界面におけるジアミノトリアジン型脂質へのチミン塩基の結合⁷⁾

右の図は、脂質を (a) 純水から、(b) 0.01 M チミジン溶液から、(c) 0.01 M チミン溶液から金基板上に 12 層累積した LB 膜の反射 IR スペクトルである。チミン塩基とジアミノトリアジンが水素結合していることがわかる。

(K. Kurihara, K. Ohto, Y. Honda, and T. Kunitake, *J. Am. Chem. Soc.*, 113, 5077 (1993) から引用)

るチミンが選択的に結合し、その結合定数 K は $(2 \pm 1) \times 10^2 \text{ M}^{-1}$ となり、類似の化合物のクロロホルム中での結合定数 ($\sim 10^2 \text{ M}^{-1}$) に匹敵することを示している (図 1-3) ⁷⁾。

その他にも、長鎖グアニジニウム単分子膜への ATP の結合⁸⁾、長鎖レゾルシノール環状四量体単分子膜への糖類の結合⁹⁾、長鎖ケンブ酸誘導体単分子膜への含窒素複素環化合物の結合¹⁰⁾ などのような分子認識が、バルクの水中では起こらないような高い結合定数で観察されている (図 1-4) 。したがって、気水界面で起こる分子認識は水中というよりは、有機溶媒環境での分子認識と類似していると考えられている。

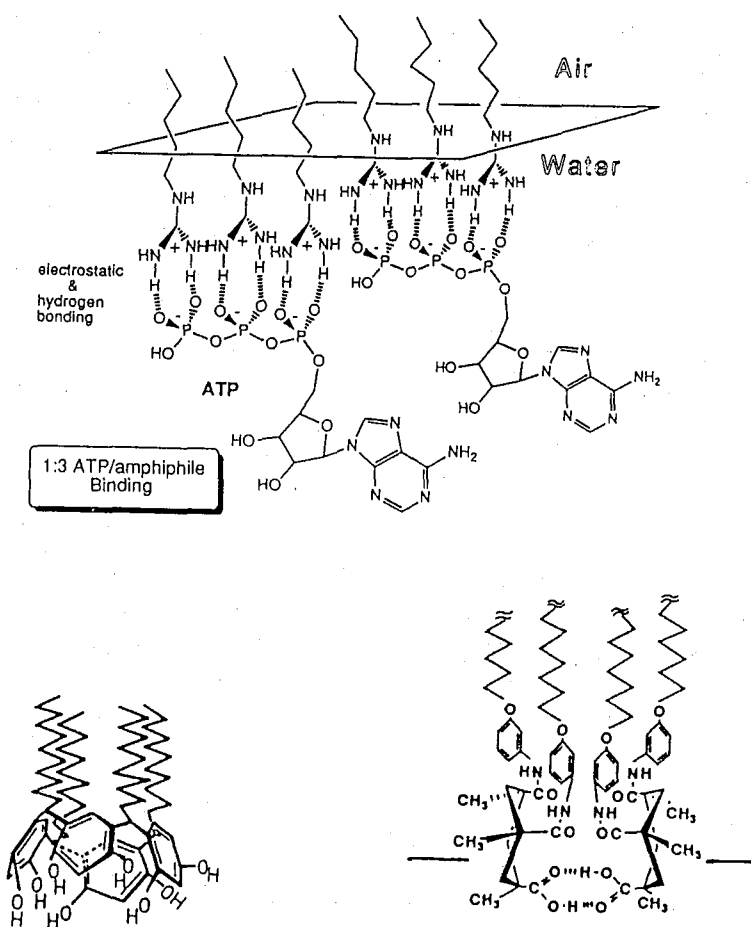


図 1-4 気-水界面において分子認識をする様々な人工レセプター脂質^{8,9,10)}

1-3 気相系における分子認識

ある現象の溶媒効果を研究するうえでの究極の方法は、溶媒が存在しない気相系での現象を研究することであろう。実際、有機反応論における溶媒効果の最近のトピックスはもっぱら気相系での反応に集中している¹¹⁾。分子認識現象においても溶媒効果は重要な役割を演じており¹²⁾、溶媒効果についての研究の最も単純な系として、気相系における分子認識が活発に研究されている。

気相系の分子認識をおこなう方法としては、気相均一系においてマススペクトル (MS) で研究するのが一般的である。例えば、Shinkai ら¹³⁾ や、Takahashi ら¹⁴⁾ はシクロファンやクラウンエーテル類の気相での金属イオン取り込みを MS を用いて研究している。また、Sawada ら¹⁵⁾ や、Dearden ら¹⁶⁾ はキラルなクラウンエーテルとキラルなアミンあるいはアミノ酸の気相キラル認識を報告している (図 1-5)。また、Lehn らは、気相中での水素結合にもとづくバルビツール酸誘導体とメラミン誘導体の環状六量体超分子形成を MS で観察している (図 1-6)¹⁷⁾。

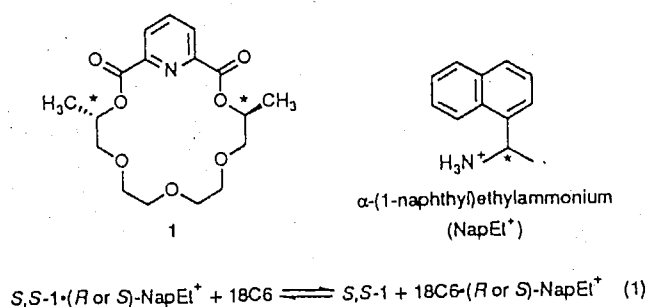


図 1-5 キラルなクラウンエーテルによる気相中でのアミンのキラル認識¹⁶⁾

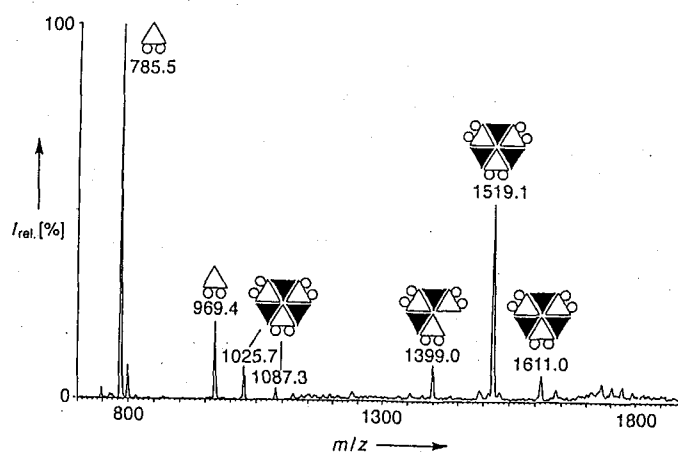
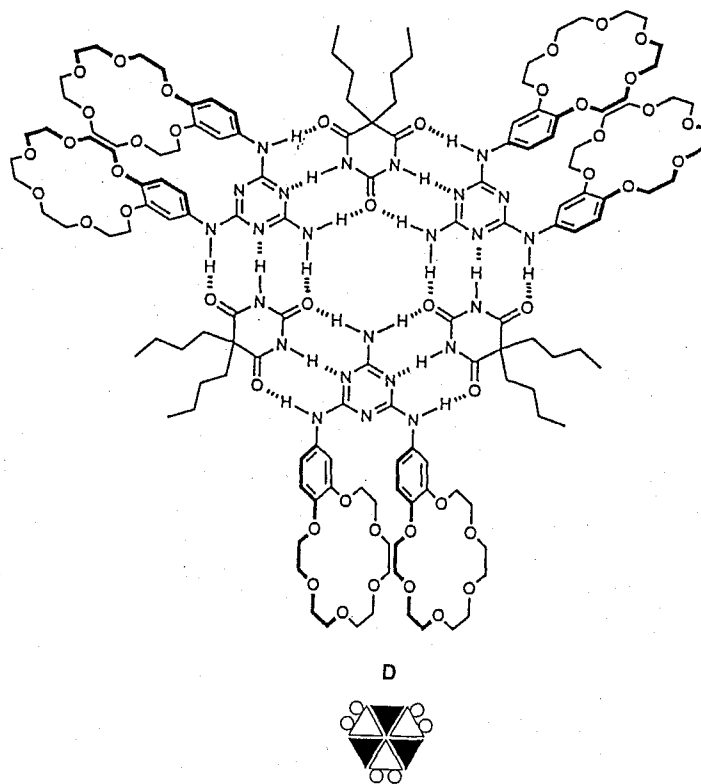


図 1-6 メラミンとバルビツール酸の水素結合による気相中での超分子形成¹⁷⁾

下の図はエレクトロスプレーマスペクトルの結果である。

(K. C. Russell, E. Leize, A. V. Dorselaer, and J. M. Lehn,
Angew. Chem. Int. Ed. Eng., **34**, 209 (1995) から引用)

一方、気相系の分子認識を研究するもう一つの方法として、ホスト（あるいはレセプター）分子を基板上に固定して、気相からのゲスト分子の吸着あるいは脱着を観察するという気相不均一系の方法がある。この方法では、MS による方法と比較して穏やかな条件での観察が可能であり、分子認識センサーなどへの応用という点でも有用である。例えば、Göpel ら¹⁸⁾や Dickert ら¹⁹⁾はマイクロバランスとして知られている水晶発振子上にカリックスアレーンをキャストし、気相からのゲスト分子の選択的吸着を観察している。Reinhoudt らは、環状レゾルシン [4] アレーンを金電極上に固定し、気相中においてテトラクロロエチレンが選択的に取り込まれることを、温度制御脱着スペクトル (TPD) やマイクロバランスとして知られている水晶発振子を用いて観察している (図 1-7)²⁰⁾。

これらの研究により、溶媒がない気相系でも選択的な分子認識が観察されることが示されてきている。

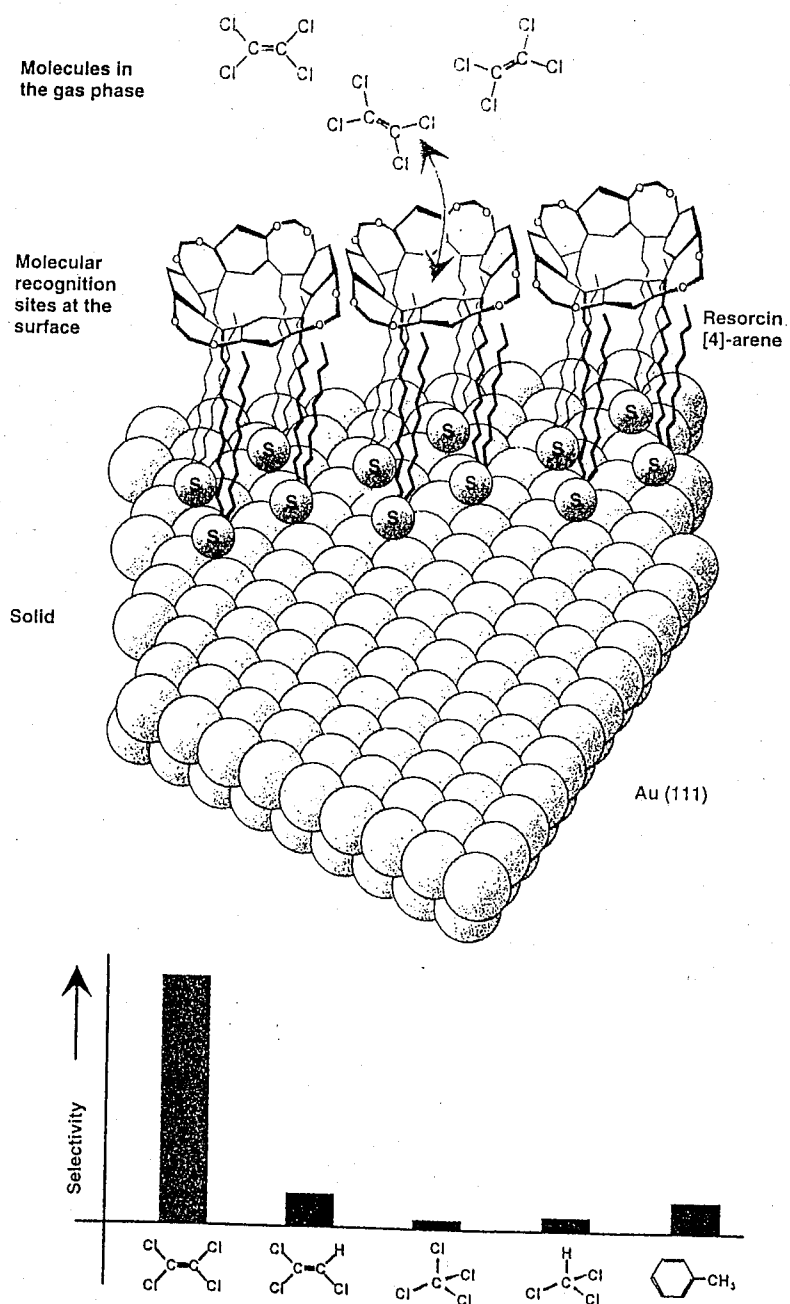


図 1-7 基板上に固定した環状レゾルシン [4] アレーンによる気相中での分子認識²⁰⁾

下のグラフは水晶発振子により求められた気相ゲストの吸着選択性である。

(K. D. Schierbaum, T. Weiss, E. U. T. V. Velzen, J. F. J. Engbersen, D. N. Reinhoudt, and W. Göpel, *Science*, **256**, 1413 (1994) から引用)

1-4 固体ホストを用いた分子認識

これまで、液相均一系、気-液界面、気相系における分子認識について述べてきたが、固相中でも分子認識が起こることが昔から知られている。例えば、尿素やチオ尿素、コール酸類などの有機化合物が溶媒から再結晶するときに溶媒や共存させたゲスト化合物を包接することが知られている^{2d), 21)}。またTodaらは、キラルな固体ホストを用いて再結晶により一方のエナンチオマーを優先的に包接することにより光学分割を行なっている²²⁾。最近、Fujita, Oguraらは金属錯体を利用して固体ホストを設計し、芳香族化合物がこの固体ホストに包接されることを観察している(図1-8)²³⁾。また、Oguraらはフェニルグリシルフェニルグリシン結晶がスルホキド化合物やアミノ酸を選択的に包接することを報告している(図1-9)²⁴⁾。また、Wuestらはホスト間の水素結合により一定の空孔を作る固体ホストをデザインし、ゲスト分子の包接を観察している(図1-10)²⁵⁾。

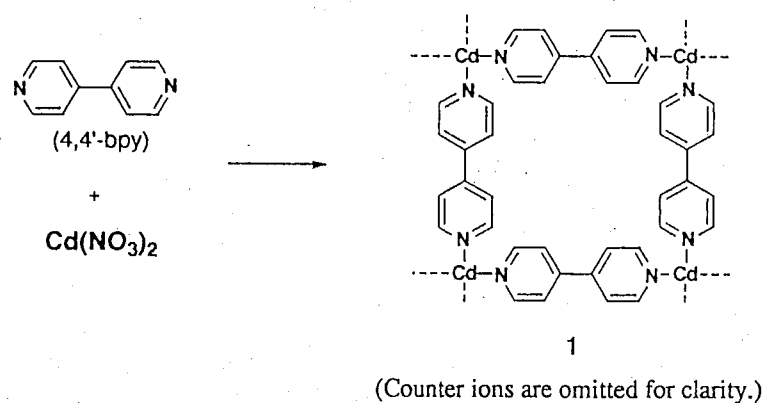


図1-8 ビピリジン-カドミウム錯体による固体ホストの構築²³⁾

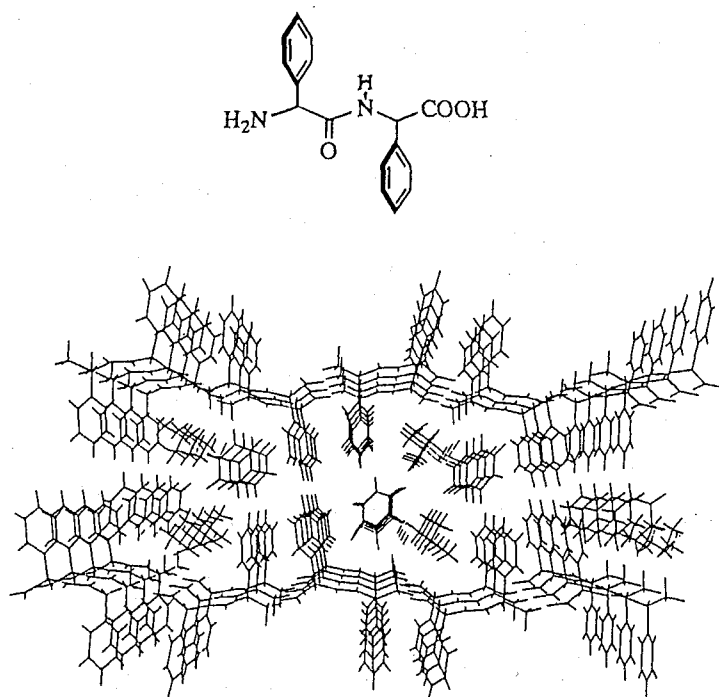


図 1-9 フェニルグリシルフェニルグリシン固体ホストによる分子認識²⁴⁾

(S)-イソプロピルフェニルスルホキシドとの包接錯体のX線解析の結果を示す。

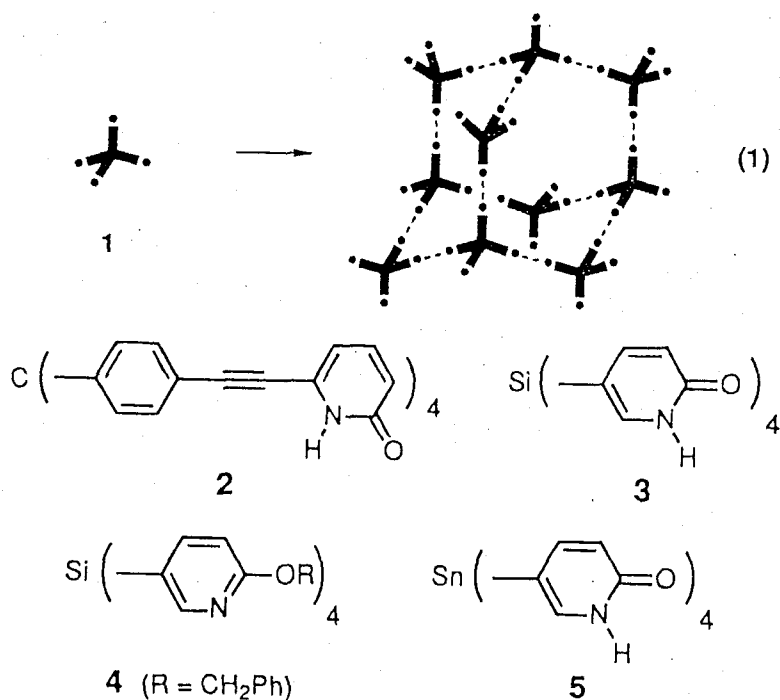


図 1-10 ホスト分子間の水素結合を利用した包接結晶（テクトン分子）の構築²⁵⁾

また最近、Aoyama らは、ホスト間の水素結合により空孔を形成するようデザインされたアントラセンビスレゾルシノール固体ホストが、再結晶の際に様々な有機化合物を包接し、さらに、ゲストを脱離させたアポホストに対し、液相、固相、気相のいずれからも包接がおこり、もとの包接錯体に戻ることを報告している（図 1-11）²⁶⁾。

固体ホストによる分子認識は、結晶場という特殊な環境であり、分子集合体であるがゆえの性質がでる可能性があるため、興味深い。

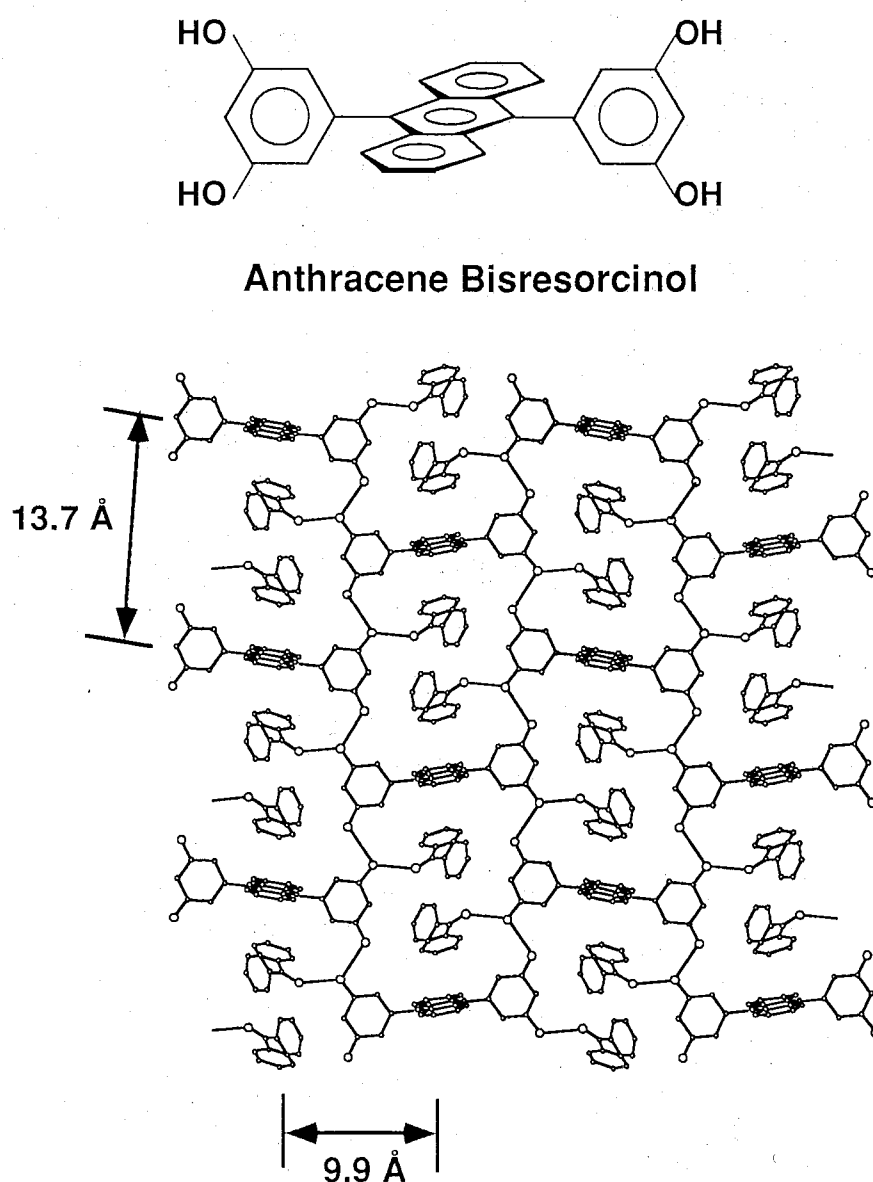


図 1-11 アントラセンビスレゾルシノール固体ホストによる分子認識²⁶⁾

ベンゾフェノンとの包接錯体の X 線解析の結果を示す。

1-5 本研究の目的

これまで述べてきたように、近年、分子認識の研究は均一な溶液系だけでなく、気-水界面、気相、固相のような様々な媒体中で研究されるようになってきた。しかし、いずれの媒体においても、分子認識の動的過程を定量的に扱う方法はこれまであまりなかった。当研究室では、マイクロバランスとして知られている水晶発振子を用いて、匂い物質²⁷⁾、苦み物質²⁸⁾、麻酔薬²⁹⁾、抗生物質³⁰⁾、酵素³¹⁾の脂質キャスト膜への相互作用や、水面単分子膜表面へのタンパク質の吸着³²⁾、DNA のハイブリダイゼーション³³⁾、DNA とタンパク質の相互作用³⁴⁾などを検討してきた。水晶発振子は、電極上に付着した物質質量に比例してその共振振動数が減少するデバイスであり、振動数変化を経時的に測定すれば、重量変化としてゲスト分子のホスト膜への結合量の経時変化から、その動力学解析をおこなうことができる。そこで、本研究では水晶発振子をデバイスに用い、その金電極上に固定した自己会合性単分子膜や固体ホストへの、気相中でのゲスト化合物の分子認識吸着を観察した。1-3 でも述べたように、気相系の分子認識は溶媒効果のない最も単純な系であり、どのような相互作用で分子認識がおこるかという本質が解明できると思われる。自己会合性単分子膜表面への低分子化合物の吸着の重量変化は比較的小さいので、従来用いられてきた 9 MHz 水晶発振子では感度が十分ではないため、本研究では 9 MHz の 7 次オーバートーン発振子を用いて高感度化した。

第二章では、末端にアルキル、カルボン酸、アミド、アミンという官能基を持つ自己会合性単分子膜への気相中での酢酸分子の吸着挙動を観察し（図 1-12）、吸着等温線や動力学解析、末端官能基含量の効果などから、酢酸分子の末端官能基認識がどのようにおこなわれているかを考察する。

第三章では、末端にアルキル、カルボン酸、アミド官能基を持つ自己会合性単分子膜への気相からのカルボン酸類、アミン類、エタノール、オクタンなどのゲストの吸着を観察し、動力学解析からゲストの化学的性質が分子認識挙動にどのように影響するかを

検討する。

第四章では、末端にチミンおよびアデニンのような核酸塩基を持つ自己会合性単分子膜を作製し、その表面への気相中での2-アミノピリジン、 γ -ブチロラクタム、アニリンのような核酸塩基のモデル化合物の相補的水素結合形成に基づく分子認識吸着を観察した(図 1-13)。また、表面核酸塩基の含量の効果も検討し、核酸塩基の集合状態が認識に及ぼす影響について述べる。また、分子力学計算と比較することでこの系の妥当性について考察する。

第五章では、固体ホストであるアントラセンビスレゾルシノールのアポホスト微結晶を水晶発振子上に作製し、様々な有機気体ゲスト化合物の包接挙動を観察した。ゲスト化合物の構造的特徴、吸着等温線の形状、および動力学解析から包接のメカニズムについて考察する。

第六章では、第二章から第五章までを総括する。

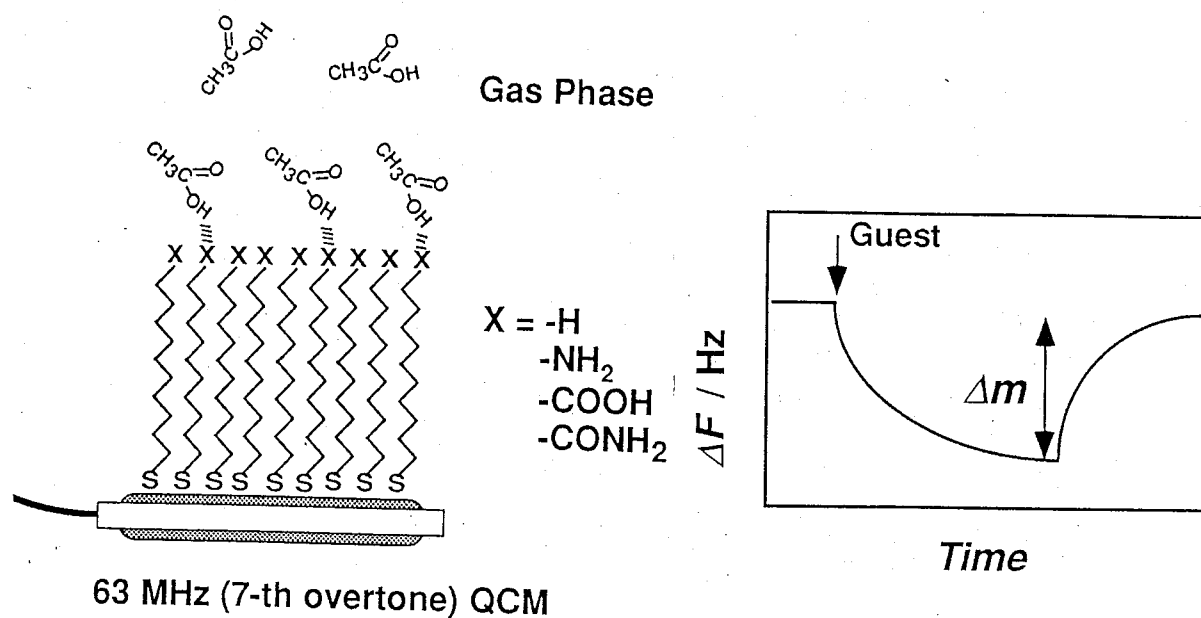


図 1-12 水晶発振子を用いた様々な官能基を末端に持つ自己会合性単分子膜への酢酸の気相からの選択的吸着

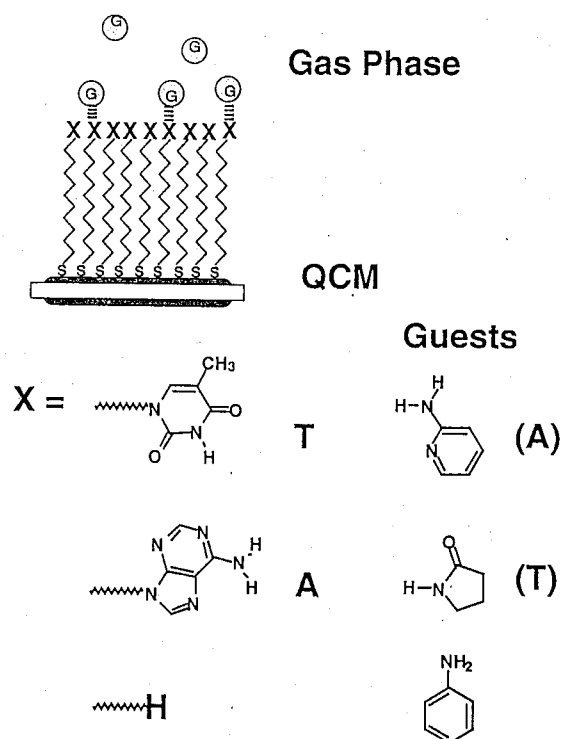


図 1-13 水晶発振子を用いた核酸塩基を末端に持つ自己会合性単分子膜と気相間での分子認識

参考文献

- 1) L. Stryer, "BIOCHEMISTRY 3rd Ed.", FREEMAN Co., New York, 1988
- 2) a) C. J. Pedersen, *J. Am. Chem. Soc.*, **87**, 7017 (1967)
b) D. J. Cram, *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, **27**, 1009 (1989)
c) J.-M. Lehn, *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, **27**, 89 (1989)
d) 竹本喜一, 宮田幹二, 木村恵一, "包接化合物", 東京化学同人, 1989
e) 上野昭彦, "超分子の化学", 産業図書, 1993
f) 新海征治, "大学院 有機化学 (中)", 第7章, 講談社サイエンティフィック, 1988
g) 有機合成化学協会誌, **47**, No. 6, "ホスト-ゲストケミストリー特集号", 1989
- 3) a) J. Rebek Jr., *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, **29**, 245 (1990)
b) J. Rebek Jr., *Acc. Chem. Res.*, **23**, 399 (1990)
- 4) a) A. D. Hamilton, *J. Chem. Educ.*, **67**, 821 (1990)
b) A. D. Hamilton, *Supramol. Chem.*, **1**, 247 (1993)
- 5) a) C-Y. Huang, L. A. Cabell, and L. A. Anslyn, *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 2778 (1994)
b) T. Hayashi, T. Asai, H. Hokazono, and H. Ogoshi, *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 12210 (1993)
c) H. Furuta, D. Magda, and J. L. Sessler, *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 978 (1991)
d) S. C. Zimmerman, W. Wu, and Z. Zeng, *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 196 (1991)
e) M. Inouye, K. Kim, and T. Kitano, *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 778

(1992)

- f) J. E. Cochran, T. J. Parrott, B. J. Whitlock, and H. W. Whitlock, *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 2269 (1992)
- 6) a) 栗原和枝, *Dojin News*, **61**, 3 (1992)
 b) 栗原和枝, 膜(MEMBRANE), **19**, 111 (1994)
 c) 栗原和枝, 現代化学, No.11, 45 (1995)
 d) 国武豊喜, 現代化学, No.11, 16 (1995)
- 7) K. Kurihara, K. Ohto, Y. Honda, and T. Kunitake, *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 5077 (1993)
- 8) D. Y. Sasaki, K. Kurihara, and T. Kunitake, *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 9685 (1991)
- 9) K. Kurihara, K. Ohto, K. Tanaka, and Y. Aoyama, T. Kunitake, *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 444 (1991)
- 10) Y. Ikeura, K. Kurihara, and T. Kunitake, *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 7342 (1991)
- 11) 奥山格, 友田修司, 山高博 編, "有機反応論の新展開", 現代化学・増刊 26, 東京化学同人 (1995)
- 12) F. Diederich, D. B. Smithrud, E. M. Sanford, T. B. Wyman, S. B. Ferguson, D. R. Carcanague, I. Chao, and K. N. Houk, *Acta. Chem. Scand.*, **46**, 205 (1992)
- 13) F. Inokuchi, Y. Miyahara, T. Inazu, and S. Shinkai, *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, **34**, 1364 (1995)
- 14) T. Takahashi, B. C. Lynn, G. W. Gokel, 油化学, **43**, 813 (1994)
- 15) a) M. Sawada, M. Shizuma, Y. Takai, H. Yamada, T. Kaneda, and T. Hanafusa, *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 4405 (1992)
 b) M. Sawada, Y. Takai, H. Yamada, S. Hirayama, T. Kaneda, T. Tanaka,

- K. Kamada, T. Mizooku, S. Takeuchi, K. Ueno, K. Hirose, Y. Tobe, and K. Naemura, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 7726 (1995)
- 16) I-H. Chu, D. V. Dearden, J. S. Bradshaw, P. Huszthy, and R. M. Izatt, *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 4318 (1993)
- 17) K. C. Russell, E. Leize, A. V. Dorsselaer, and J. M. Lehn, *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, **34**, 209 (1995)
- 18) A. Dominik, H. J. Roth, K. D. Schierbaum, and W. Göpel, *Supramol. Science*, **1**, 11 (1994)
- 19) F. L. Dickert and O. Schuster, *Adv. Mater.*, **5**, 821 (1993)
- 20) K. D. Schierbaum, T. Weiss, E. U. T. V. Velzen, J. F. J. Engbersen, D. N. Reinhoudt, and W. Göpel, *Science*, **256**, 1413 (1994)
- 21) K. Miki, A. Masui, N. Kasai, H. Tsutsumi, M. Miyata, M. Shibakami, and K. Takemoto, *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 6594 (1988)
- 22) a) 田中耕一, 戸田美三夫, "季刊 化学総説 No.6 光学異性体の分離", p 68, 学会出版センター, 1989
- b) 戸田美三夫, "化学増刊 No.123 モレキュラー・キラリティー", p 57, 化学同人, 1993
- 23) M. Fujita, Y. J. Kwon, S. Washizu, and K. Ogura, *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 1151 (1994)
- 24) a) K. Ogura, T. Uchida, M. Minoguchi, A. Murata, and M. Fujita, *Tetrahedron Lett.*, **31**, 3331 (1990)
- b) 小倉克之, 油化学, **43**, 779 (1994)
- 25) a) M. Shimard, D. Su, and J. D. Wuest, *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 4696 (1991)
- b) X. Wang, M. Shimard, and J. D. Wuest, *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 12119 (1991)

- 26) a) K. Kobayashi, K. Endo, Y. Aoyama, and H. Masuda, *Tetrahedron Lett.*, **34**, 7929 (1993)
- b) Y. Aoyama, Y. Imai, K. Endo, and K. Kobayashi, *Tetrahedron*, **51**, 343 (1995)
- c) K. Endo, T. Sawaki, M. Koyanagi, K. Kobayashi, H. Masuda, and Y. Aoyama, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 8341 (1995)
- 27) Y. Okahata, X. Ye, A. Shimizu, and H. Ebato, *Thin Solid Films*, **180**, 51 (1989)
- 28) Y. Okahata, G. En-na, and H. Ebato, *Anal. Chem.*, **62**, 1431 (1990)
- 29) Y. Okahata and H. Ebato, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 475 (1991)
- 30) Y. Okahata, O. Shimizu, and H. Ebato, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **63**, 3082 (1990)
- 31) Y. Okahata and Y. Ebara, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 116 (1992)
- 32) a) Y. Ebara and Y. Okahata, *Langmuir*, **9**, 574 (1993)
- b) Y. Ebara and Y. Okahata, *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 11209 (1994)
- c) 江原靖人, 博士論文, 東京工業大学 (1992)
- d) 白川信明, 卒業論文, 東京工業大学 (1993)
- e) 石原光輝, 修士論文, 東京工業大学 (1995)
- 33) a) Y. Okahata, Y. Matsunobu, K. Ijio, M. Mukae, A. Murakami, and K. Makino, *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 8299 (1993)
- b) 川瀬賢紀, 修士論文, 東京工業大学 (1995)
- 34) a) 新倉謙一, 修士論文, 東京工業大学 (1994)
- b) 岡畑恵雄, 新倉謙一, *蛋白質 核酸 酵素*, **40**, 65 (1995)

第二章 気相中での自己会合性単分子膜表面への酢酸分子の選択的吸着

2-1 緒言

気相中でおこる分子認識は、溶媒効果のない最も単純な分子認識系として位置づけられ、多くの研究がなされてきている。気相系の分子認識を研究する方法としては、マスペクトルを用いて気相均一系でおこなう方法と、ホスト分子を基板に固定して気相中のゲスト分子のホストへの結合を見る方法がある。前者の方法は、装置が高価なうえ、分子をイオン化して相互作用を検出しているため中性分子同士の相互作用を見るのは困難である。それに対し、後者のホスト分子を基板に固定して気相分子認識を研究する場合には、中性分子同士の相互作用を見ることができ、測定も簡便である。また、基板を工夫することにより、分子認識センサーなどのデバイスに応用可能である。

基板に分子認識のためのホスト分子（集合体）を固定化する方法としては、溶液からキャストするという方法が最も簡単であるが、その場合の分子認識の場としてはキャストフィルム中が大半を占めるので、「気相中」での分子認識という意味からははずれる。基板に単分子膜を固定し、その表面での分子認識を観察すれば、より「気相中」に近くであろう。基板に単分子膜を固定化する方法としては Langmuir-Blodgett (LB) 法がよく知られている。単分子膜を水面から引き上げた X 膜では、疎水部が気相に接することになり、様々な官能基を導入しにくい。また、基板を水中に下げることによって累積される Z 膜では、親水部が外側を向くが、気相中に引き上げた場合に膜が反転して疎水部が気相中に出てしまうことが知られている¹⁾。これは、Langmuir 膜が基板に強く固定されていないためである。

10 年程前に、Nuzzo らは、ジスルフィド、チオールなどの有機硫黄化合物が清浄な金や銀のような金属表面に配位結合し、安定な単分子膜を形成することを発見した²⁾。

この単分子膜は、LB膜のように人工的に膜を圧縮させて作製させるものではなく、基板を有機硫黄化合物の溶液に浸けておくだけで自発的に形成することから、Self-assembled monolayer (SAM, 自己会合性単分子膜) と呼ばれている。この発見以来、自己会合性単分子膜のキャラクタリゼーションや応用研究が Ulmann, Kaifer, Whitesides らのような多くの研究者によって展開されてきた。この単分子膜は基板に強く結合しているため気相中においても反転するようなことはない³⁾。

この自己会合性単分子膜と低分子化合物との相互作用やそれを用いた溶液系および気相系での分子認識が活発に研究され始めている。Nuzzo らは、様々な官能基を末端に持つ自己会合性単分子膜上からの水分子の気相への脱着挙動を、温度制御脱着スペクトル (Temperature-Programed desorption, TPD) を用いて観察し、単分子膜表面の官能基によってその振る舞いが大きく異なることを報告している⁴⁾。Crooks らは、カルボン酸を末端に持つ自己会合性単分子膜に対する、気相中のカルボン酸、アミン化合物の結合を外反射 IR スペクトルで観察して、前者が水素結合、後者が酸-塩基相互作用で結合していることを確認している (図 2-1)⁵⁾。Kaifer らは、パラコート型レセプターを金電極上に固定し、水溶液中からカテコールが選択的に取り込まれることをサイクリックボ

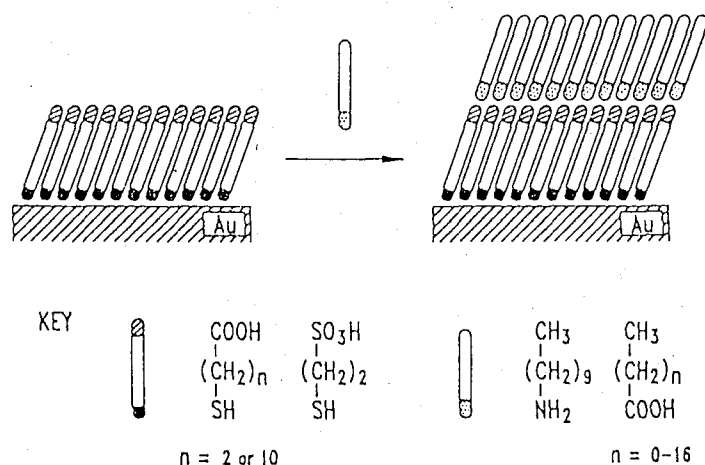


図 2-1 カルボン酸基を末端に持つ自己会合性単分子膜へのカルボン酸、アミンの吸着の外反射 FT-IR スペクトルによる観察⁵⁾

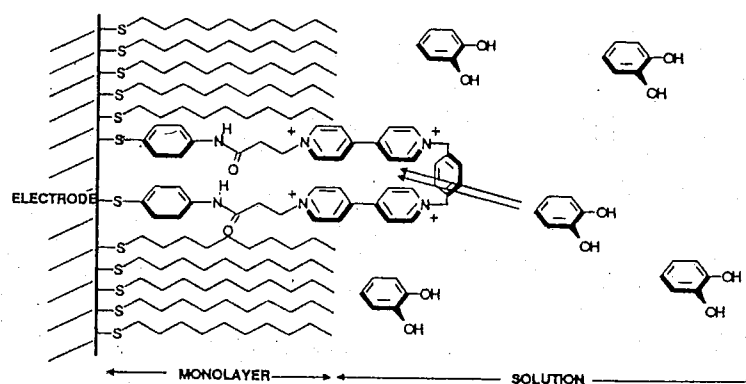


図 2-2 電極上に固定したパラコート型レセプターによる分子認識⁶⁾

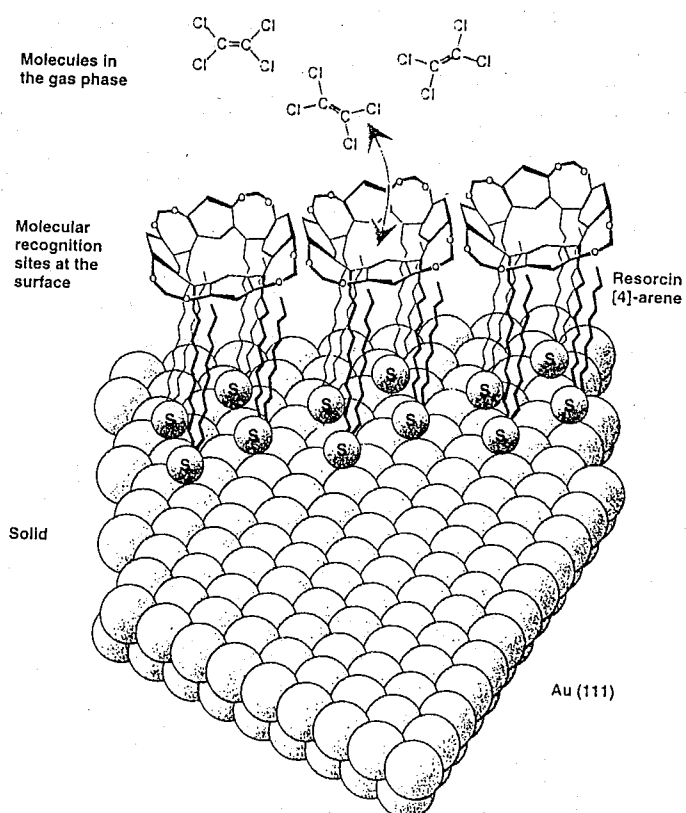


図 2-3 金基板上に固定した環状レゾルシン四量体による分子認識⁷⁾

ルタンメトリー (CV) で観察している (図 2-2)⁶⁾。Reinhoudt らは、環状レゾルシン [4] アレーンを金電極上に固定し、気相中においてテトラクロロエチレンが選択的に取り込まれることを、温度制御脱着スペクトルやマイクロバランスとして知られている水晶発振子を用いて観察している (図 2-3)⁷⁾。水晶発振子はその電極上の重量変化を定量的かつ経時的に測定できるデバイスであり、動力学解析が容易におこなえる利点があるが、Reinhoudt らの論文ではこの特徴が生かされておらず、ただ重量変化を測定しているにすぎない。

本研究では、マイクロバランスとして知られている水晶発振子の金電極上に様々な官能基を末端に持つ自己会合性単分子膜 ($\text{HS}-(\text{CH}_2)_{10}-\text{X} : \text{X} = \text{H}, -\text{COOH}, -\text{CONH}_2, -\text{NH}_2$) を固定化し、単純な有機化合物の一つである酢酸の気相からの吸着を定量的かつ経時的に観察した (図 2-4)。これまで、上で述べたように、自己会合性単分子膜への気体分子の選択的結合を観察した論文は存在するが、その吸着等温線や動力学定数の違いは詳しく検討されていない。本研究では、酢酸の単分子膜表面への吸着等温線や動力学パラメーターの比較から単分子膜表面の官能基およびその集合状態が酢酸との相互作用にどのように影響しているかを検討した。

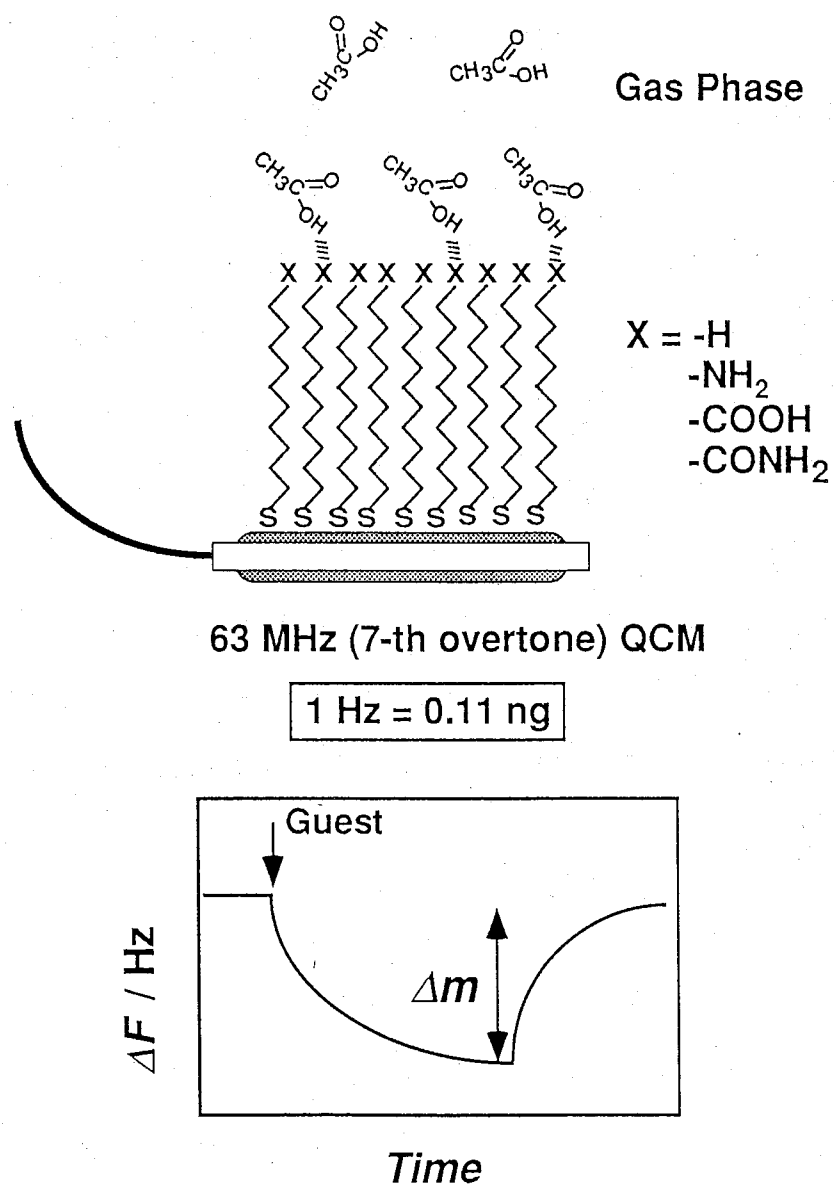


図 2-4 本研究で行なった水晶発振子上に固定した様々な官能基を末端に持つ単分子膜への酢酸の選択的吸着挙動の観察

2-2 単分子膜作製用チオール化合物の合成

水晶発振子の金基板上に自己会合性単分子膜を作製するために、末端に官能基を持ったチオール化合物を合成した。合成した化合物の分析は以下の装置を用いておこなった。

炎イオン化検出薄層クロマトグラフィー (TLC-FID):

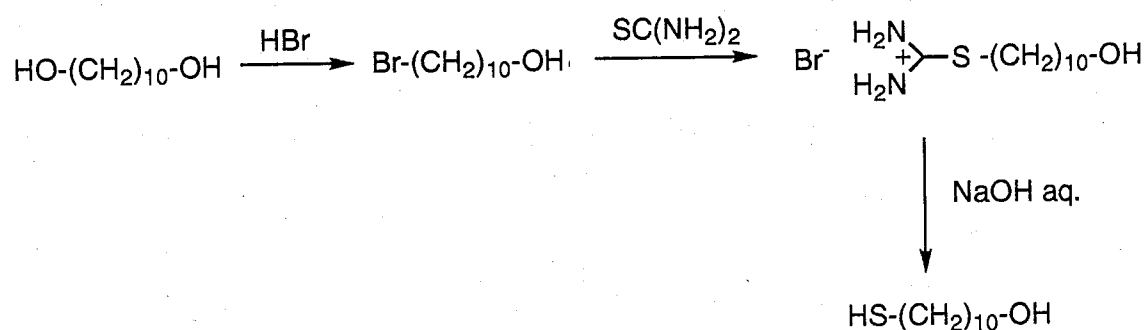
IATTROSCAN TH-10 TLC / FID Analyser (Iatron)

ガスクロマトグラフィー: GC-8A (島津製作所)

$^1\text{H-NMR}$ スペクトル (300 MHz): Gemini-300 (Varian)

融点測定: MF 融点測定装置 (柳本製作所)

2-2-1 10-メルカプトデカノールの合成



a) 10-ブロモデカノールの合成

朝比奈の抽出器、冷却管を取り付けた 300 mL ナス型フラスコに、1,10-デカンジオール (16.0 g, 0.0918 mol)、47% 臭化水素酸 (50 mL)、およびトルエン (適量) を入れ、80~90 °C で 8 時間還流した。その後、反応液を分液ロートに移し、炭酸水素ナトリウム水溶液、および水で洗浄した。有機相を無水硫酸ナトリウム上で脱水後、揮発成分をエバポレートして、減圧蒸留により無色透明液体の目的物を得た。

収量：12.30 g (56.5 %)

沸点：105 - 108 °C / 0.3 mmHg

$^1\text{H-NMR}$ スペクトル (CDCl_3 , TMS) : δ 3.6 (t, 2H), 3.4 (t, 2H), 1.2~2.0 (m, 16H)

b) 10-メルカプトデカノールの合成

冷却管を取り付けた 100 mL ナス型フラスコに、10-ブロモデカノール (12.3 g, 0.0519 mol)、チオ尿素 (4.34 g, 0.0571 mol)、エタノール (30 mL) を入れ、2 時間還流した。その後、25% 水酸化ナトリウム水溶液 (12 mL) を加え、さらに 3 時間還流した。反応液を塩酸で酸性にした後、クロロホルムで抽出し、有機層を水層が中性になるまで数回水洗した。クロロホルム層を無水硫酸ナトリウム上で脱水後、エバポレートして、減圧蒸留により無色透明液体の目的物を得た。

収量：5.29 g (53.5%)

沸点：111 - 115 °C / 0.2 mmHg

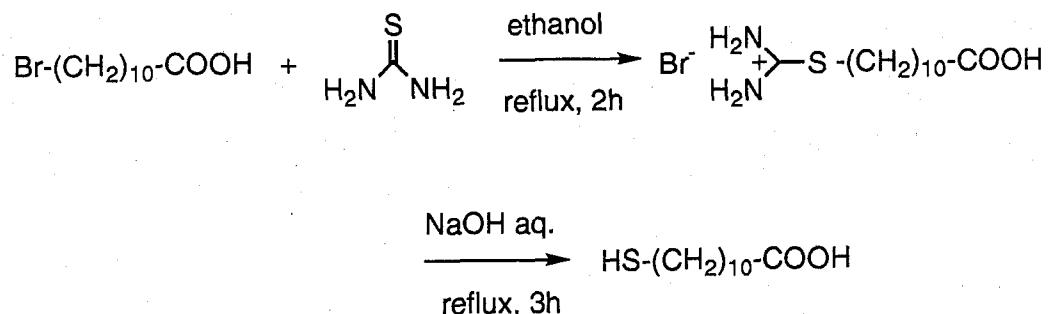
ガスクロマトグラフィー : (INT/DET : 250 °C, Range : 50 °C~160 °C,

Program Rate : 16 °C / min, Carrier Gas : He)

Rt = 5.6 min

$^1\text{H-NMR}$ スペクトル (CDCl_3 , TMS) : δ 3.6 (t, 2H), 2.5 (t, 2H), 1.2~1.7 (m, 16H)

2-2-2 11-メルカプトウンデカン酸の合成



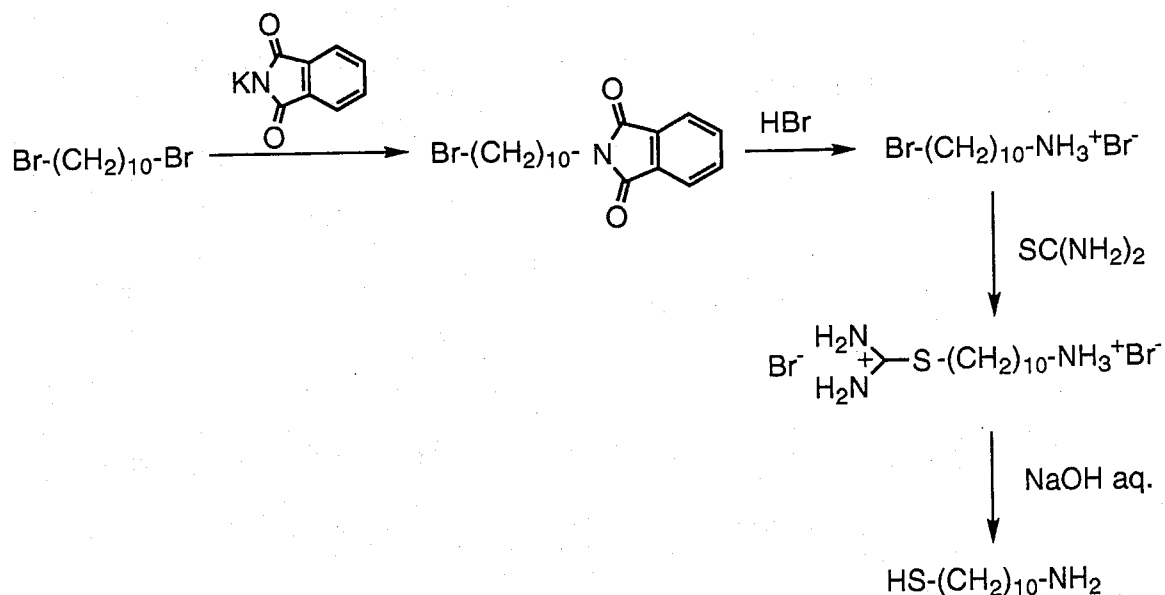
冷却管を取り付けた 500 mL ナス型フラスコに、11-ブロモウンデカン酸 (100.0 g, 0.377 mol)、チオ尿素 (30.0 g, 0.394 mol)、エタノール (300 mL) を入れ、2 時間還流した。その後、25% 水酸化ナトリウム水溶液 (120 mL) を加え、さらに 3 時間還流した。反応液を塩酸で酸性にした後、クロロホルムで抽出し、有機層を水層が中性になるまで数回水洗した。クロロホルム層を無水硫酸ナトリウム上で脱水後、エバポレートして白色固体を得た。これをエタノールで熱時ろ過後、再結晶して白色結晶の目的物を得た。

収量：62.07 g (75.4 %)

融点：49 - 51 °C

^1H -NMR スペクトル (CDCl_3 , TMS) : δ 2.5 (t, 2H), 2.3 (t, 2H), 1.2~1.7 (m, 16H)

2-2-3 10-メルカプトデシルアミンの合成

a) *N*-(10'-ブロモデシル)フタルイミドの合成

冷却管を取り付けた1 L ナス型フラスコに 1,10-ジブロモデカン (241.7 g, 0.805 mol)、フタルイミドカリウム (50.0 g, 0.268 mol)、*N,N*-ジメチルホルムアミド (800 mL) を入れ、80 °C で 42 時間攪拌した。反応中、臭化カリウムの白色沈殿が生じた。その後、沈殿をろ過により除き、ろ液中の *N,N*-ジメチルホルムアミドをエバポレートした後、*n*-ヘキサン (800 mL) に熱時溶解し、ろ過した。ろ液中の *n*-ヘキサンをエバポレートし、減圧蒸留により過剰の 1,10-ジブロモデカンを除いた。その蒸留残渣を *n*-ヘキサンで再結晶してクリーム色固体の目的物を得た。

収量 : 53.37 g (54.2 %)

融点 : 55-58 °C

¹H-NMR スペクトル (CDCl₃, TMS) : δ 7.6~7.9 (m, 4H), 3.6 (t, 2H), 3.4 (t, 2H),
1.2~1.7 (m, 16H)

b) 10-ブロモデシルアンモニウムブロミドの合成

冷却管を取り付けた 1 L ナス型フラスコに、N-(10'-ブロモデシル)フタルイミド (27.00 g, 0.0735 mol)、47% 臭化水素酸水溶液 (80 mL, 0.688 mol)、酢酸 (320 mL) を入れ、30 時間還流した。その後、酢酸をエバポレートし、クロロホルム 100 mL で 3 回熱時ろ過してフタル酸を除いた。ろ液中のクロロホルムをエバポレートして白色固体を得た。これを酢酸エチルで熱時ろ過後、再結晶して白色固体の目的物を得た。

収量：11.39 g (48.9 %)

融点：55→110 ~ 120 °C (液晶)

$^1\text{H-NMR}$ スペクトル (CDCl_3 , TMS) : δ 8.0~8.5 (br, 3H), 3.4 (t, 2H), 2.7~3.2 (br, 2H), 1.2~2.0 (m, 16H)

c) 10-メルカプトデシルアミンの合成

冷却管を取り付けた 200 mL ナス型フラスコに 10-ブロモデシルアンモニウムブロミド (11.0 g, 0.0347 mol)、チオ尿素 (2.905 g, 0.0382 mol)、エタノール (30 mL) を入れ 2 時間還流した。その後、25% 水酸化ナトリウム水溶液 (12 mL) を加え、さらに 3 時間還流した。反応液をクロロホルムで抽出し、有機層を水層が中性になるまで数回水洗した。その後、クロロホルム層を無水硫酸ナトリウムで脱水、エバポレートして茶色液体を得た。これを減圧蒸留して、白色固体の目的物を得た。

収量：3.10 g (47.2 %)

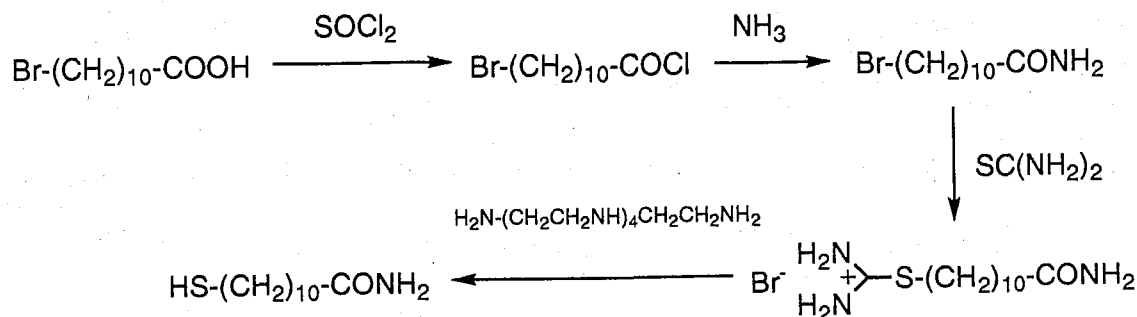
沸点：100~105 °C / 0.2 mmHg

融点：49~51 °C

ガスクロマトグラフィー : (INT / DET : 250 °C, Range : 50 °C~160 °C,
Program Rate : 16 °C / min, Carrier Gas : He)
Rt = 5.0 min

$^1\text{H-NMR}$ スペクトル (CDCl_3 , TMS) : δ 2.4~2.8 (m, 4H), 1.1~1.8 (m, 19H)

2-2-4 11-メルカプトウンデカン酸アミドの合成



a) 11-ブロモウンデカン酸クロリドの合成

冷却管と塩化カルシウム管を取り付けた 500 mL ナス型フラスコに 11-ブロモウンデカン酸 (100.0 g, 0.377 mol) と塩化チオニル (82 mL, 1.131 mol) を入れ、3 時間還流した。その後、アスピレーターにより塩化チオニルを減圧留去し、さらにベンゼン (50 mL) を加えエバポレートすることにより完全に塩化チオニルを除き、赤色液体を得た。特に分析は行わずに、これを次の反応にそのまま使用した。

収量：111.38 g (>100 %)

b) 11-ブロモウンデカン酸アミドの合成

11-ブロモウンデカン酸クロリド (111.38 g, 0.393 mol) の入った 500 mL ナス型フラスコに、乾燥ジクロロメタン (200 mL) を加え、0 °C に氷冷した。これに下図のようにしてアンモニアガスを吹き込んだところ、10 分ほどで液温が 33 °C にまで上昇し、白色固体が析出した。1 時間後、温度上昇がそれ以上見られなかったため、ガスの吹き込みを止めた。その後、反応液をクロロホルムで抽出し、有機層を水層が中性になるまで炭酸水素ナトリウム水溶液および水で数回洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウム上で脱水後、エバポレートしてクリーム色半固体状混合物を得た。これをエタノールで再結晶して白色固体の目的物を得た。

収量 : 23.89 g (24.0 %)

融点 : 78 ~ 83 °C

TLC-FID (クロロホルム : メタノール = 9 : 1 + NH₃) : R_f = 0.8

ガスクロマトグラフィー : (INT / DET : 250 °C, Range : 50 °C ~ 160 °C,

Program Rate : 16 °C / min, Carrier Gas : He)

R_t = 9.5 min

¹H-NMR スペクトル (CDCl₃, TMS) : δ 5.3~5.8 (brd, 2H), 3.4 (t, 2H), 2.2 (t, 2H),
1.2~1.9 (m, 16H)

c) 11-メルカプトウンデカン酸アミドの合成

冷却管を取り付けた 100 mL ナス型フラスコに 11-ブロモウンデカン酸アミド (20.0 g, 0.0757 mol)、チオ尿素 (6.34 g, 0.0833 mol)、エタノール (60 mL) を入れ、2 時間還流した。反応液を室温まで放冷後、滴下漏斗から ペンタエチレンヘキサミン (17.59 g, 0.0757 mol) を 15 分間にわたって滴下し、さらに 1 時間還流した。その後、反応液を室温まで放冷したところ、白色沈殿が生じた (2 級グアニジウム塩と考えられる)。沈殿をろ過後、ろ液をクロロホルムで抽出し、有機層を水層が中性になるまで数回水洗した。有機層を無水硫酸ナトリウム上で脱水後、エバポレートして黄色固体 (16.32 g) を得た。これを酢酸エチルで再結晶してクリーム色固体 (11.64 g) を得たが、不純物は完全には除かれなかった。そこで、これをさらにヘキサン / 酢酸エチル = 3 / 2 溶液で熱時ろ過後、再結晶してクリーム色固体の精製品を得た。

収量 : 6.83 g (41.5 %)

融点 : 92 ~ 94 °C

ガスクロマトグラフィー : (INT / DET : 250 °C, Range : 50 °C ~ 160 °C,

Program Rate : 16 °C / min, Carrier Gas : He)

Rt = 9.1 min

$^1\text{H-NMR}$ スペクトル (CDCl_3 , TMS) : δ 5.3~5.8 (brd, 2H), 2.5 (t, 2H), 2.2 (t, 2H),
1.2~1.9 (m, 17H)

2-3 実験方法

2-3-1 水晶発振子について

水晶には機械的なストレスにより片方に電荷が集まり電圧が生ずるという圧電性があり、またその逆に、電圧を掛けることにより水晶に歪みが生ずる逆圧電効果があることが知られている。従って、水晶に適当な周波数で交流電圧を印加することにより歪みが生じ、その歪みにより電圧が生ずるという繰り返しが起きる。この弾性振動による共振現象が結晶の固有振動数に適合するときに大きな発振が得られる。水晶発振子は水晶板の両側に電極として金属を蒸着したもので（図 2-5）、電極間に交流電場を印加することで水晶の逆圧電効果により一定の振動数の発振をするデバイスである。本実験で用いた AT カット水晶発振子は、水晶の結晶（図 2-6）の X 軸から約 35° の角度で切り出した水晶の薄いウエハーにクロムを蒸着し、その上に電極として金を蒸着したものである。水晶の振動は、そのカットの方向により固有振動数や振動モードが異なるが（図 2-6）、AT カット水晶は厚み滑り振動を生ずる。この AT カットの水晶発振子は振動数、温度特性共に安定な高周波数発振が得られることが知られている^{8, 9, 10}。

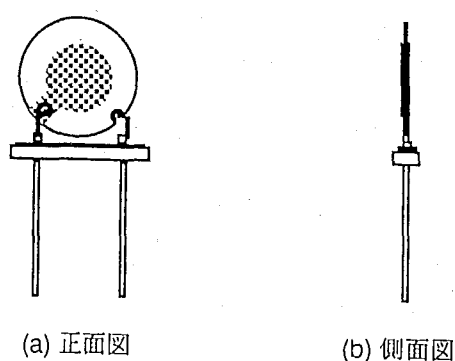


図 2-5 9 MHz AT カット水晶発振子の外観図

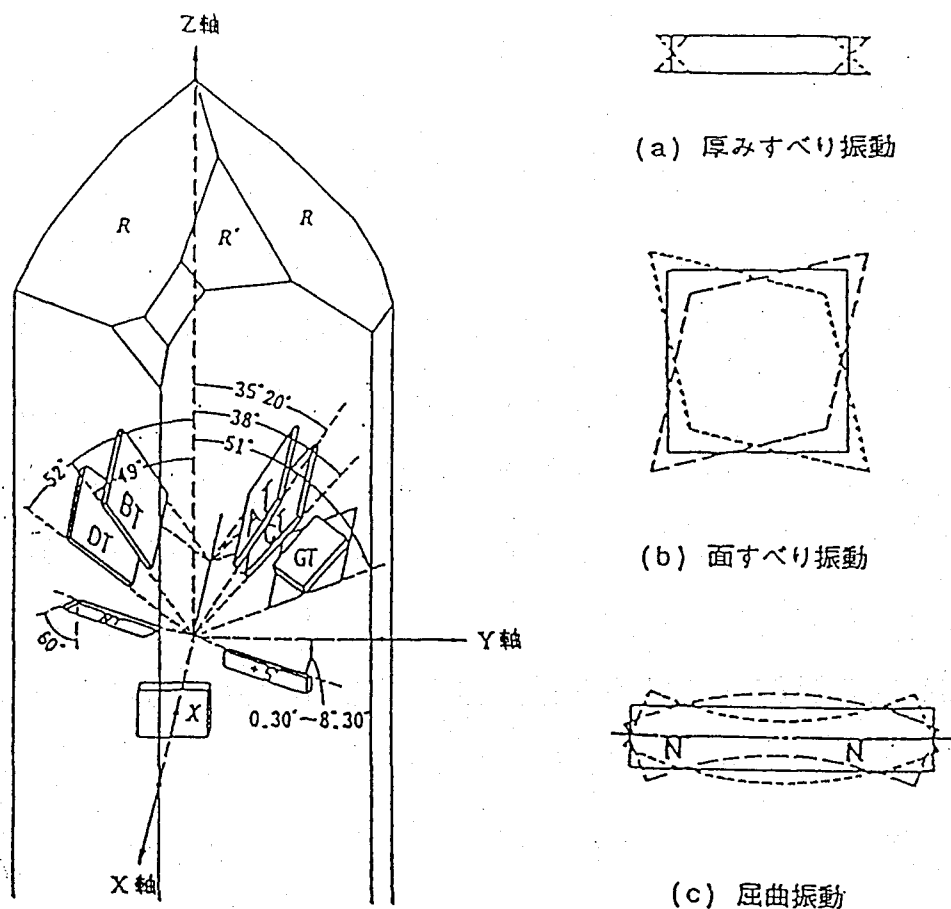


図 2-6 水晶の六角柱結晶のカット面と振動モード⁹⁾

1959 年に Sauerbley は、水晶発振子の電極上に物質が付着すると、水晶発振子の固有振動数が物質質量に比例して減少することを発見し、それ以来、水晶発振子をマイクロバランスとして用いる研究が数多く展開されてきた。振動数変化と付着物質質量の関係は、次式のような Sauerbley の式で表される¹¹⁾。

$$\Delta F = \frac{-2N F_0^2}{A \sqrt{\rho_q \mu_q}} \Delta m \quad (1)$$

ここで、 ΔF は振動数変化 (Hz)、 N はオーバートーン次数、 F_0 は基本振動数 (9×10^6 Hz)、 A は電極面積 (0.159 cm^2)、 ρ_q は水晶の密度 (2.65 g cm^{-3})、 μ_q は水晶のずり剪断係数 ($2.95 \times 10^6 \text{ dyn cm}^{-2}$)、 Δm は重量変化 (g) である。式 (1) の定数部分をまとめ

て K とおくことにより、次式のように変形できる。

$$\Delta F = K \Delta m \quad (2)$$

定数 K の値は、LB 膜累積法およびポリマーキャスト法により、 $N = 1$ の基本振動において実験的に $K = 1.05 \times 10^9 \text{ Hz g}^{-1}$ であることが当研究室の有賀¹²⁾ および江波戸¹³⁾ により確かめられている。

これまで、マイクロバランスとしての水晶発振子の利用としては、ポリマーへの NO_x などの公害物質の吸着¹⁴⁾、金属の蒸着過程¹⁵⁾、脂質二分子膜に対する生理活性物質の吸着・侵入^{13, 16)}、水面単分子膜表面へのタンパク質の吸着¹⁷⁾、プローブ DNA に対するタンパク質の結合¹⁸⁾などを観察した例がある。しかし、これらの測定では高分子量の物質の結合や低分子であっても膜内に侵入して吸着するので、比較的大きな振動数変化を観察することになり、1 Hz が約 1 ng に相当する 9 MHz 水晶発振子であっても十分観測可能であった。しかしながら、本実験のように低分子量の物質の単分子膜表面への吸着の場合は、見込まれる重量変化が数 ng 程度であるので、従来の 9 MHz 水晶発振子の感度と S/N 比 ($\pm 1 \text{ Hz}$) では精密な測定は困難である。従って、このような実験を行うためには S/N 比を従来どうり $\pm 1 \text{ Hz}$ 程度に抑え、かつ感度を向上させなければならない。

式 (1) および (2) を見てわかるように、マイクロバランスとしての水晶発振子の感度を向上させるには、基本振動数 F_0 の高い水晶を使用するか¹⁹⁾、より高いオーバートーン次数 N で発振させるかのどちらかを達成すればよい²⁰⁾。本実験では、後者の方法により感度の向上を計画した。つまり、オーバートーン発振をさせるためにトランジスタを用いることにより水晶発振子の全ての振動を増幅し、目的の振動数を取り出すというタイプの発振回路を用いた (図 2-7)。この回路はピアースが最初に作製し、水晶発振子を C (コレクタ) と B (ベース) の間に置く型であるためピアース CB 回路と呼ばれて

いる。この回路の出力段階のインダクタンスとキャパシタンスを調節すれば、9 MHz の奇数倍のオーバートーン波で発振することができる。オーバートーン波は、基本波と同位相にならないといけないので、オーバートーン次数 N は奇数となる。本実験では、安定に発振が得られる最大のオーバートーン波として 7 倍波 (63 MHz) を選んだ (図 2-8)。

式 (1) に従えば、7 倍オーバートーン 9 MHz (63 MHz) 水晶発振子は、理論的に 1 ng の重量変化により、8.05 Hz の振動数変化をすることになる。実際には、電極面積を補正する必要があるので、重量変化と振動数変化の比例定数 K は実験的に求められる値を用いた。つまり、累積比 1 で水晶発振子上に累積されることがわかっているホスファチジルコリン型脂質を用いて、20℃、表面圧 40 mN / m で LB 膜累積法によりキャリブレーションを行った (図 2-9)。振動数の減少量は累積回数に対し直線的に変化し、この直線の傾きからこの 7 倍オーバートーンで発振させた 9 MHz 水晶発振子には、次式のような重量と振動数変化の関係があることがわかった。

$$\Delta F \text{ (Hz)} = - (8.75 \times 10^{-9}) \Delta m \text{ (g)} \quad (3)$$

以下の測定においては、全てこの式 (3) を用いて振動数変化から重量変化を計算した。

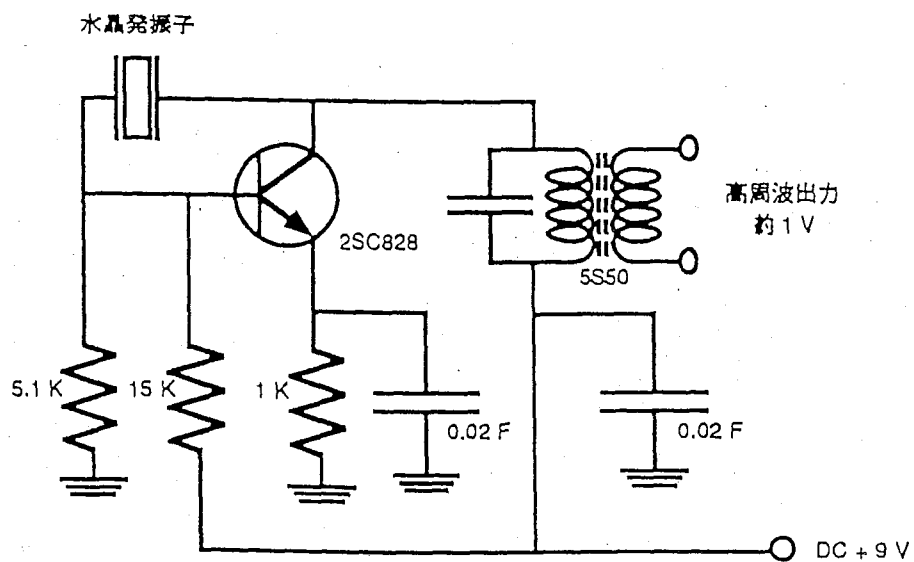


図 2-7 オーバートーン発振のための発振回路

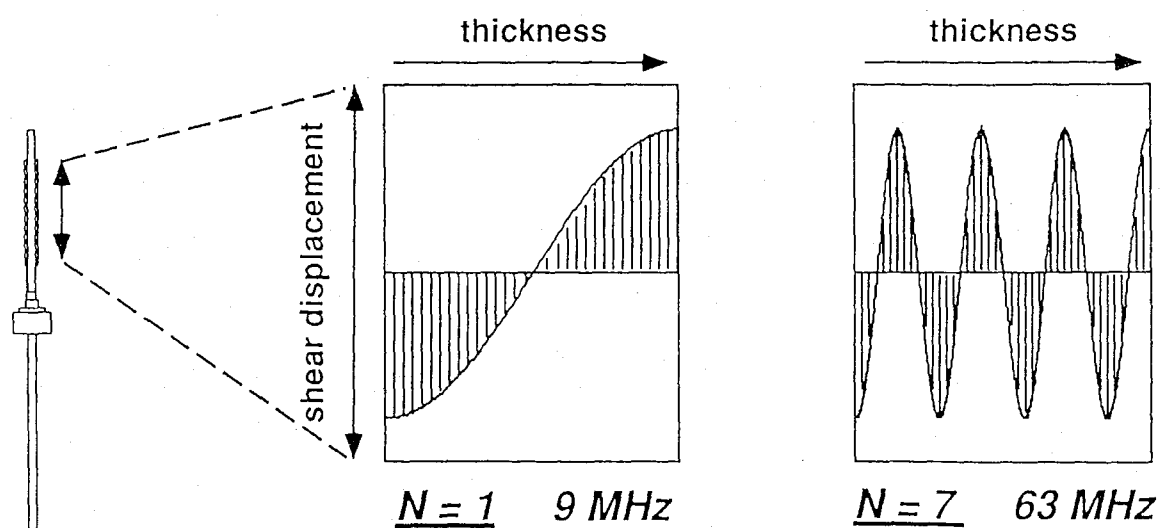


図 2-8 オーバートーン発振の模式的表現

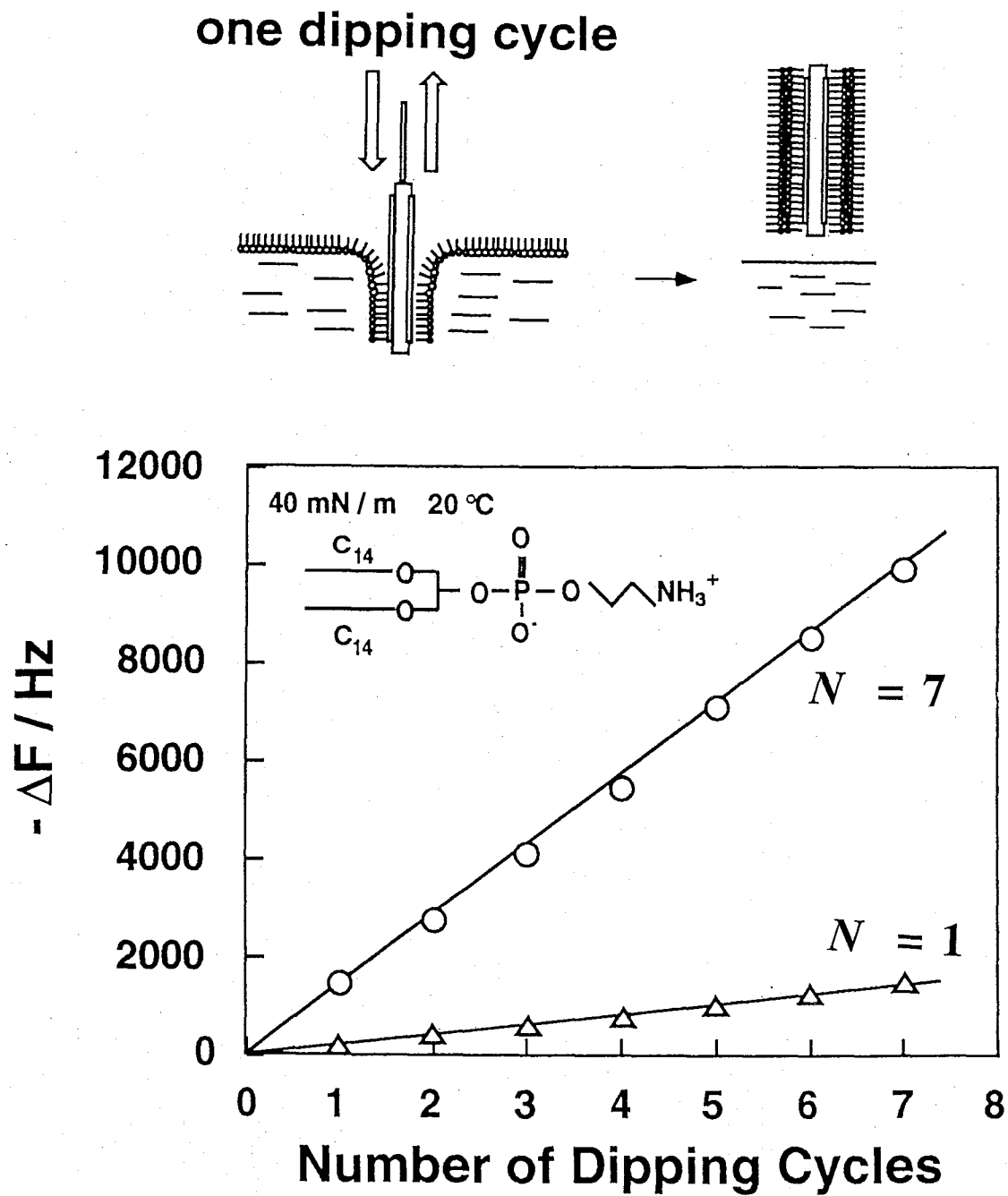


図 2-9 7-次オーバートーン 9 MHz 水晶発振子 (63 MHz) の LB 法によるキャリブレーション

2-3-2 自己会合性単分子膜作成方法

濃硫酸 / 過酸化水素水 = 3 / 1 (v / v) の溶液 (pyranha 溶液) を調整し (注意: pyranha 溶液は調整時に大きく発熱する。また、大抵の有機物を溶かすので取り扱いには慎重に行わねばならない)、すぐに水晶発振子の金電極部分の両面にそれぞれ約 1 分づつ pyranha 溶液をマウントした。このとき水素の気泡が激しく発生し、金電極表面の不純物が分解されるのが観察された (pyranha 溶液は調整してすぐに使ったほうがよりよい洗浄効果があった)。この発振子を蒸留水でリンスし、 $\text{HS}-(\text{CH}_2)_{10}-\text{X}$ ($\text{X} = \text{H}, -\text{COOH}, -\text{CONH}_2, -\text{OH}, -\text{NH}_2$) の 5 mM エタノール溶液に 12 時間浸漬した。 $\text{X}=\text{H}$ のデカンチオールは東京化成の市販品を用い、その他のチオール化合物は 2-2 で合成したものをを用いた。その後、エタノールおよび蒸留水で数回リンスし、窒素で乾燥した。単分子膜を固定化した水晶発振子は空気中のコンタミネーションを避けるため、エタノール中あるいはデシケーター内で保存した。

水晶発振子への自己会合性単分子膜の固定化量は、pyranha 溶液で洗浄後乾燥した発振子の気相中の振動数と、単分子膜を固定後乾燥した発振子の気相中の振動数を比較することにより見積もった。その結果、振動数変化で 350 ~ 440 Hz の減少があり、式 (3) に基づき重量に換算すると 40 ~ 50 ng の増加が観察された。アルキル鎖一本の占有面積を $20 \text{ \AA}^2$ としたとき、それが発振子の金電極上に密にパッキングして並んでいるとして計算した理論固定化量は 50 ~ 60 ng である。よって、この固定化法により、発振子の金電極上の 70 ~ 80 % が自己会合性単分子膜で覆われていることがわかった。

2-3-3 気相フロー系と測定装置について

当研究室では、これまで水晶発振子マイクロバランスを用いて気相中の物質をセンシングするには、バッチ系の容器中にサンプル物質（液体または固体）を存在させておき飽和蒸気圧の状態にして、そこに発振子を入れて測定する方法と、発振子が入ったバッチ系の容器中に、全て気化すると考えて一定量のサンプル物質（液体）を *neat* でインジェクトして測定する方法のどちらかが用いられてきた^{16d, 21, 22)}。前者の方法では、測定できる濃度が飽和蒸気圧の一点だけに限られてしまい、濃度変化ができないことが問題であり、また後者の方法は、インジェクト量を変えることにより濃度（蒸気圧）の変化はできるが、比較的飽和蒸気圧が高い（数十 mmHg 以上）すなわち気化しやすい物質に制限されるという欠点がある。さらに、両者に共通する欠点としては、容器を入れ替える際や、インジェクトする際のノイズ（数 10 Hz）が測定に大きな影響を与えるということである。脂質二分子膜キャストフィルムへの気体物質の侵入を観察する場合には、振動数変化が数百～数千 Hz であるため、このようなノイズはほとんど問題とならなかったが、単分子膜への吸着を観察するときには大きな問題となる。このような問題を改善するために、本実験では以下に説明する気相フロー系を用いた²³⁾。この方法では、飽和蒸気圧が低い物質の濃度変化も行うことができ、気体を導入する際のノイズも完全に抑えることができた。

図 2-10 に本実験で用いた気相フロー系および測定装置の外観を示す。測定系の温度は、循環式恒温水装置 J により 25 °C に保った。キャリアーガスとしては窒素を用い、窒素ボンベ A の先に塩化カルシウム管 B を取り付けて窒素ボンベ中に存在する水蒸気を取り除いた。窒素の全流量は流量計（草野科器械製作所）C でモニターし、コック F の調節により試料室 G への窒素ガスの流量の制御をおこない、その流量を流量計 D でモニターした。窒素ガスの全流量は、吸着における *time lag* を無くすために、2 L/min という比較的高い流量でおこなった。窒素とサンプル（ゲスト分子）の混合ガスは測定室 H に送られ、そのまま排気した。測定室 H には、自己会合性単分子膜を固定し

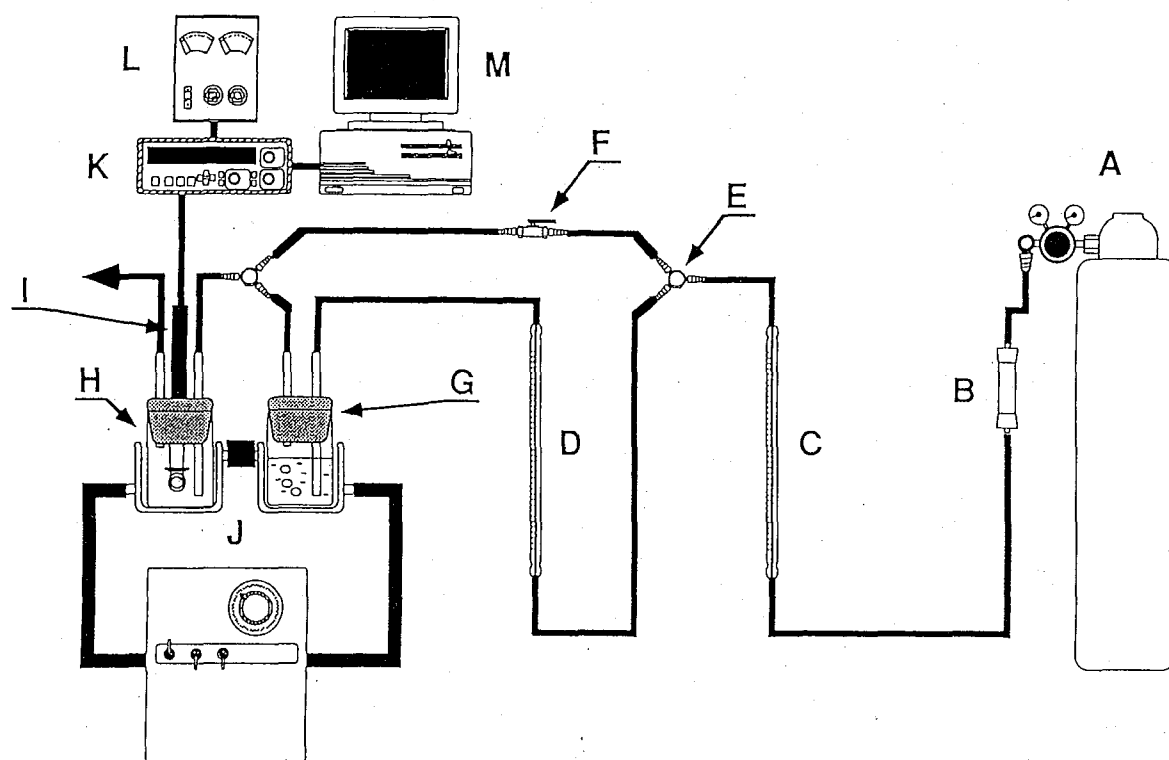


図 2-10 気相フロー系と測定装置の概略図

た 9 MHz AT カット水晶発振子と 7 次オーバートーンで発振するように調節した発振回路 I が取り付けられており、in situ でゲスト分子ガスの水晶発振子に固定した単分子膜表面への吸着を観察できるようにした。水晶発振子の振動数は気体の流量によっても変化することが知られているが²⁴⁾、この測定装置の場合は、ゲスト分子ガスを流す前後において全流量は一定であり、流量による振動数変化やノイズは無いと考えられる。水晶発振子上での振動数変化は発振回路 I から周波数カウンター (53131A, HEWLETT PACKARD) K に取り込まれ、測定値がデジタル化されてパーソナルコンピューター M に経時的に取り込まれた。測定は 1 秒毎におこなった。なお、発振回路 I は直流電源 (7316, KIKUSUI ELECTRONICS CORP.) L により 9~12 V で駆動した。

試料室 G においてゲスト分子が飽和蒸気で気化しているとする、測定室 H におけ

る気相中のゲスト分子の飽和度 (P/P_{sat}) は、流量計 C, D の比 ($u_{\text{sample}}/u_{\text{total}}$) となる。従って、理想気体を仮定することにより、状態方程式から気相中のゲスト分子濃度を次式のように計算できる。

$$[\text{Guest}] = \frac{P_{\text{sat.}}}{RT} \left(\frac{u_{\text{sample}}}{u_{\text{total}}} \right) \quad (4)$$

ここで、 P_{sat} (Pa) は絶対温度 T (298 K) におけるゲスト分子の飽和蒸気圧、 R は気体定数 ($8.314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$) である。ゲスト分子の飽和蒸気圧は、化学便覧に記載されている Antoine 定数を用いて、次の Antoine 式 (5) から計算した²⁵⁾。Antoine 定数が無い場合には、いくつかの飽和蒸気圧-温度のデータを Antoine 式 (5) にフィッティングすることで 25°C の飽和蒸気圧を見積もった。

$$\log (P_{\text{sat.}} / \text{mmHg}) = A - \frac{B}{C + (t / ^\circ\text{C})} \quad (5)$$

ここで、 t は摂氏温度 ($^\circ\text{C}$)、 A, B, C は Antoine 定数である。本章で述べる酢酸の場合は、 $A = 7.42728$, $B = 1558.03$, $C = 224.79$ であるので、 25°C における飽和蒸気圧は 15.5 mmHg (2070 Pa) であり、飽和気相濃度は $8.33 \times 10^4 \text{ M}$ である。飽和蒸気圧-温度のデータすら無いゲスト分子については、自分で気相濃度を測定したが、それについては 3-2 において述べる。

実際の吸着実験は、発振回路に乾燥した水晶発振子を取り付け、系中に存在する水分を取り除くため窒素パージを水晶発振子が安定に発振するようになるまで (約 1~2 時間) おこない、その後、ゲスト分子と窒素の混合ガスを流し、単分子膜へのゲスト分子の吸着を経時的に観察した。吸着が平衡に達したところで、再び窒素だけを流せば脱着過程も観察できた。

2-3-4 振動数変化の解析方法

それぞれの自己会合性単分子膜への酢酸の吸着挙動は、平衡論（熱力学）的な方法と動力学的な方法の二方法により解析した。

まず平衡論的な方法としては、単層吸着以下においてLangmuirの吸着等温式(6)を用いた²⁶⁾。

$$\Delta m = \frac{\Delta m_{mono} K_a [\text{Guest}]}{1 + K_a [\text{Guest}]} \quad (6)$$

ここで、 $\Delta m(\text{ng})$ は単分子膜表面への気相ゲスト分子（酢酸）の平衡時における吸着量、 $\Delta m_{mono}(\text{ng})$ は気相分子の最大単層吸着量、 $K_a(\text{M}^{-1})$ は単分子膜と気相ゲスト分子の結合定数である。式(6)は逆数をとることにより次式(7)のような直線関係に変形することができる。

$$\frac{[\text{Guest}]}{\Delta m} = \frac{1}{\Delta m_{mono}} [\text{Guest}] + \frac{1}{\Delta m_{mono} K_a} \quad (7)$$

この直線の傾きから最大単層吸着量 $\Delta m_{mono}(\text{ng})$ を、x切片から結合定数 $K_a(\text{M}^{-1})$ を求めた。

また、多層吸着挙動を平衡論的に扱う方法として、次の Brunauer, Emmett, Teller (BET) の吸着等温式(8)を用いた²⁶⁾。

$$\frac{\Delta m}{m_{mono}} = \frac{C \left(\frac{P}{P_{sat}} \right)}{\left(1 - \frac{P}{P_{sat}} \right) \{ 1 - (1 - C) \} \left(\frac{P}{P_{sat}} \right)} \quad (8)$$

ここで、 P はゲスト分子の蒸気圧、 P_{sat} はゲスト分子の飽和蒸気圧、 C は単層吸着における結合定数 K_{mono} と二層目以降（多層吸着）の結合定数 K_{multi} の比 ($K_{\text{mono}} / K_{\text{multi}}$) を意味するパラメーターである。式 (8) の逆数をとって変形すると式 (9) になる。

$$\frac{Z}{(1-Z)\Delta m} = \frac{1}{C\Delta m_{\text{mono}}} + \frac{C-1}{C\Delta m_{\text{mono}}} Z \quad \left(Z = \frac{P}{P_{\text{sat}}} \right) \quad (9)$$

この式に従い、左辺を $Z(=P/P_{\text{sat}})$ に対してプロットすれば直線が得られ、傾きと切片の連立方程式から最大単層吸着量 Δm_{mono} (ng) と、パラメーター C が求められる。

動力学解析は、結合過程の経時変化のカーブフィッティングにより得られる緩和時間から速度定数を求める方法（以後「緩和法」と呼ぶ）を用いて行なった。

いま、単分子膜 M と吸着ゲスト分子 A の間で式 (10) のような単純な平衡関係を考えると、吸着した複合体 MA の生成速度は式 (11) で表すことができる。



$$\begin{aligned} \frac{d[MA]}{dt} &= k_1 [M][A] - k_{-1}[MA] \\ &= k_1 [A] ([M]_0 - [MA]) - k_{-1}[MA] \end{aligned} \quad (11)$$

ここで、 $[M]_0$ は単分子膜の初濃度 (mol/m^2)、 $[A]$ は吸着させるゲスト分子の気相濃度 (mol/L)、 $[MA]$ は吸着が起こっている単分子膜の濃度 (mol/m^2)、 k_1 は吸着速度定数 ($\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)、 k_{-1} は脱着速度定数 (s^{-1}) である。 $[A]$ は $[M]_0$ に対して大過剰であり、フロー系により常に一定濃度でゲスト分子が流れているので、微分方程式 (11) は $[A]$ を一定とした擬一次速度反応式として解くことができる。その時間 t における積分解は、次式 (12) のようになる。

$$[MA] = k_1 [M]_0 [A] \tau \left\{ 1 - \exp \left(-\frac{1}{\tau} t \right) \right\} \quad (12)$$

ここで、

$$\frac{1}{\tau} = k_1 [A] + k_{-1} \quad (13)$$

$$\Delta m_{\infty} = k_1 [M]_0 [A] \tau A M_w \quad (14)$$

と置くと、式(12)は次の式(15)のように簡略化できる。ここで、 τ は吸着平衡の緩和時間(s^{-1})、 Δm_{∞} は時間 ∞ (平衡時)における吸着量(ng)、 A は電極面積(m^2)、 M_w はゲスト分子の分子量である。

$$\Delta m = \Delta m_{\infty} \left\{ 1 - \exp \left(-\frac{1}{\tau} t \right) \right\} \quad (15)$$

従って、任意のゲスト分子気相濃度 $[A]$ において、測定された吸着量 Δm の経時変化を非線形カーブフィッティングすることで Δm_{∞} と緩和時間 τ を求めることができる。さらに、式(13)に従って、カーブフィッティングで求められた緩和時間の逆数 $1/\tau$ をゲスト分子の気相濃度 $[A]$ に対してプロットすることで、得られる直線の傾きから吸着速度定数 k_1 を、 y 切片から脱着速度定数 k_{-1} を求めることができる。また、結合定数 K_a は次式のように速度定数の比から求めることができる。

$$K_a = \frac{k_1}{k_{-1}} \quad (16)$$

2-4 酢酸の吸着等温線に対する表面官能基の効果

各種官能基を末端に持つ自己会合性単分子膜に対し、酢酸を気相濃度 $4.5 \times 10^{-4} \text{ M}$ ($P/P_{\text{sat}} = 0.54$)、 25°C で吸着させたときの振動数の経時変化を図 2-11 に示す。酢酸分子が単分子膜表面に単層吸着すると約 15 ng の重量変化が見込まれる。官能基がないアルキル単分子膜においては、平衡吸着量が 3 ng 程度であり、この濃度でほとんど吸着していないことがわかる。一方、アミド基を末端に持つ膜では、単層吸着に相当する量に近い 13 ng が吸着していることがわかる。それに対し、カルボン酸およびアミンを末端に持つ単分子膜では、酢酸分子は明らかに単層吸着量を超えており、多層吸着していることがわかる。

それぞれの単分子膜に対する気相からの酢酸の 25°C における吸着等温線を図 2-12 に示す。アルキル単分子膜では、低濃度においてほとんど吸着が起こらないが、高濃度にするに従い、急に吸着量が増加するような曲線が得られた。それに対し、アミド単分子膜では、 $P/P_{\text{sat}} = 0.5$ 以下の低濃度において Langmuir の吸着等温線に従うような飽和型の曲線になり、 $P/P_{\text{sat}} = 0.5$ 以上の高濃度になると多層吸着を示すような吸着曲線となった。カルボン酸を末端に持つ単分子膜では、 $P/P_{\text{sat}} = 0.2$ 以下の低濃度においてはアミド単分子膜と同様な Langmuir 型の吸着曲線となるのだが、それ以上の高濃度になると多層吸着が起こるようである。すなわち、カルボン酸単分子膜がアミド単分子膜よりも多層吸着しやすいことが定性的にわかる。また、アミンを末端に持つ単分子膜では、よりその傾向が強く、酢酸の気相濃度とともにほぼ直線的に吸着量が増加していった。

これら吸着等温線は明らかに多層吸着挙動を示しているので、それぞれの単分子膜の酢酸の吸着挙動の違いを定量的に扱うために、2-3-4 で述べた BET 式 (8), (9) で解析した。それぞれの単分子膜に対する BET 式の逆数プロットを図 2-13 に示し、そこから求められる最大単層吸着量 Δm_{mono} とパラメーター C を表 2-1 にまとめた。ここでパラメーター C は単層吸着と多層吸着の結合定数の比を表しており、 C が小さいほど多層吸着

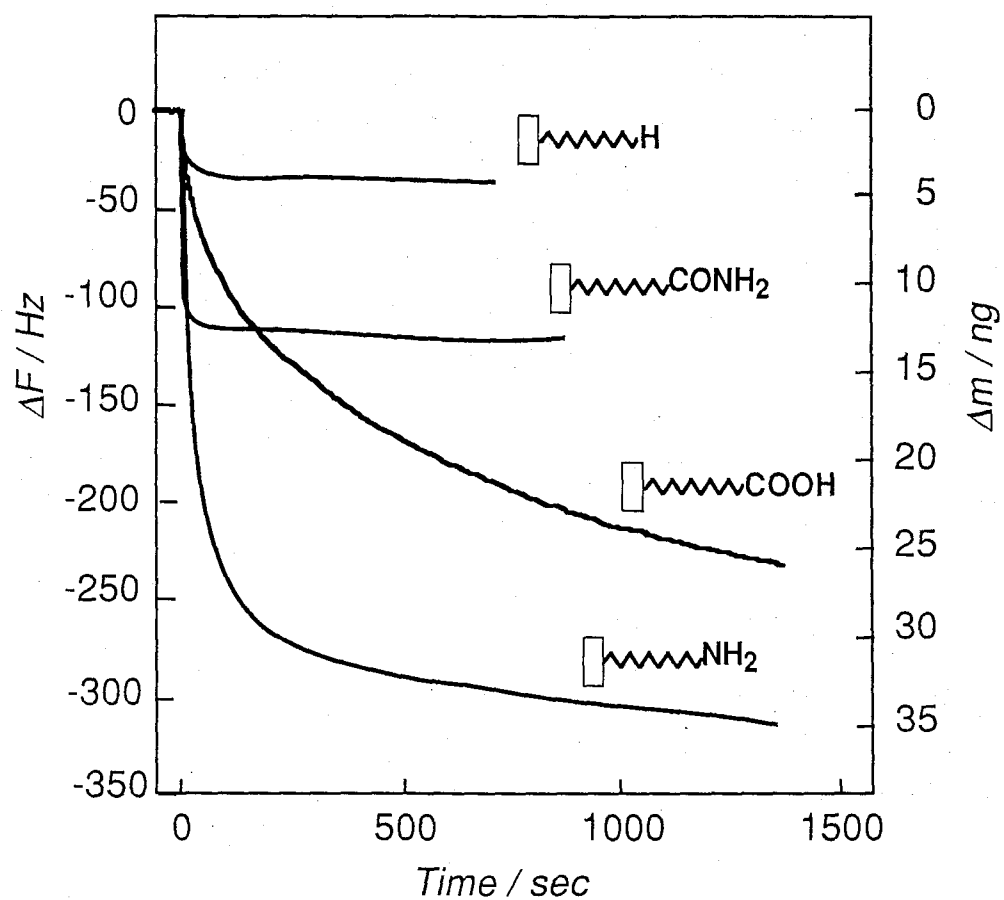


図 2-11 水晶発振子上に固定化した自己会合性単分子膜への酢酸の気相からの吸着による典型的な振動数の経時変化

$[\text{AcOH}] = 4.5 \times 10^{-4} \text{ M}$ ($P / P_{\text{sat.}} = 0.54$), 25°C

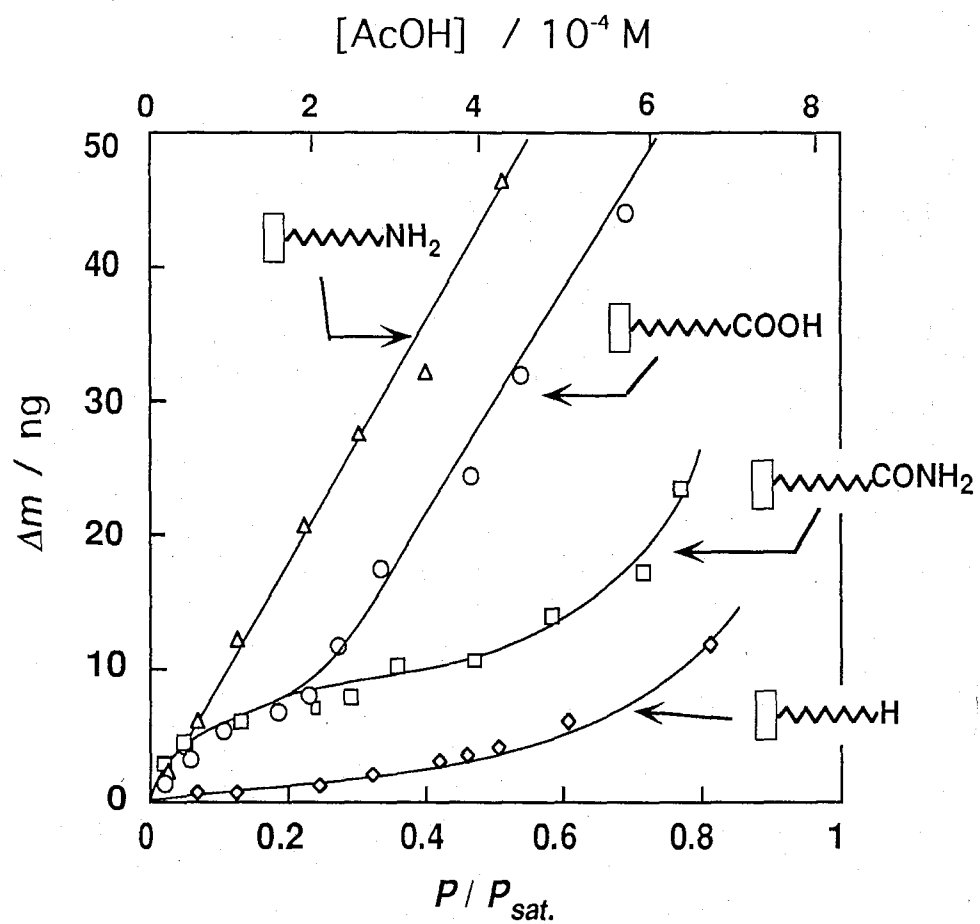


図 2-12 様々な官能基を末端に持った単分子膜への酢酸の吸着等温線 (25 °C)

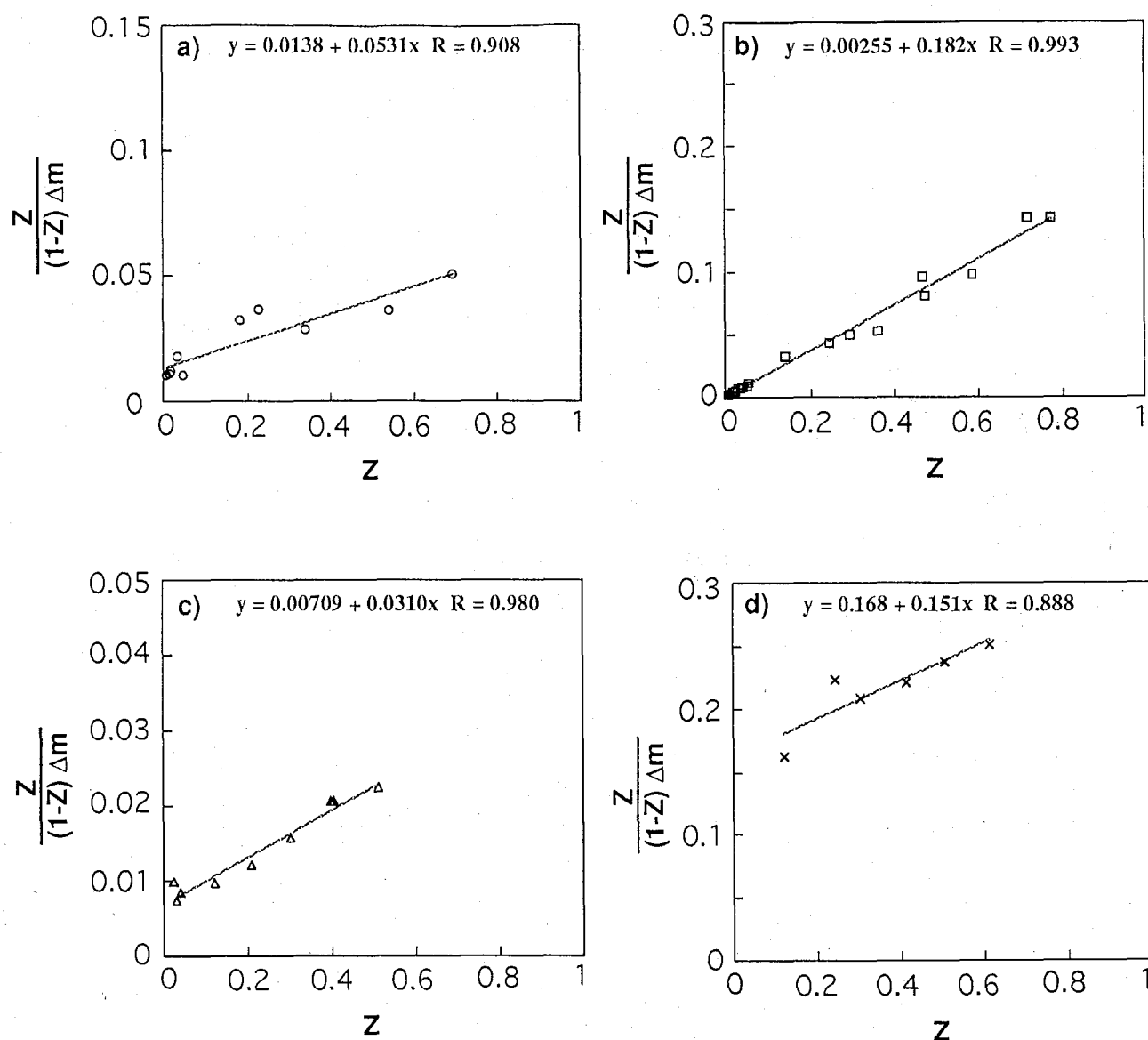


図 2-13 各種単分子膜に対する酢酸の吸着における BET 等温線の逆数プロット

a) カルボン酸単分子膜, b) アミド単分子膜, c) アミン単分子膜, d) アルキル単分子膜

表 2-1 各種単分子膜への酢酸の吸着における BET パラメーター

Au-S-C ₁₀ -X	C	$\Delta m_{\text{mono}} / \text{ng}$
-H	1.9	3.3
-COOH	4.6	15
-NH ₂	5.6	26
-CONH ₂	62	5.4

が起こりやすい傾向にあることを意味する。アルキル単分子膜では C が 1.9 と他の単分子膜と比べて最小の値となり、多層吸着が起こりやすいことがわかった。一方、アミド単分子膜では、 C 値は 62 と大きく、多層吸着がかなり起こりにくいことがわかる。カルボン酸およびアミン単分子膜では C 値は 5 程度であり、多層吸着しやすいことを表している。これらの値は、図 2-12 の吸着等温線の傾向を大きく反映している。アルキル単分子膜の C 値が小さいにも関わらず、吸着量が全体的に低いのは、酢酸のアルキル膜への単層吸着の結合定数が極端に小さいためと考えられる（次節で示す）。

単分子膜表面の官能基による酢酸分子の気相からの多層吸着挙動の違いは、表面官能基と吸着した第一層目の酢酸分子の結合状態の違いによると考えられる（図 2-14）。アルキル単分子膜においては、低濃度で吸着がほとんど起こらないことからわかるように、酢酸分子は単分子膜表面とあまり相互作用しておらず、自由度が高いため酢酸分子同士の水素結合による自己会合が起こり、吸着量が少ないにも関わらず多層吸着しやすいものと考えられる。カルボン酸単分子膜では、膜内でカルボン酸基同士が水素結合していると考えられており、実際、反射型 IR スペクトルにおいても観察されている⁵⁾。そのため、カルボン酸単分子膜は酢酸分子と二点水素結合するよりも一点水素結合する割合が多いと考えられる。従って、吸着した酢酸分子は比較的自由度が高く、水素結合していないカルボキシル基を表面にさらしているものと思われる。よって、多層吸着が起こりやすいと考えられる。一方、アミド単分子膜においては膜内で水素結合していてもアミド基の N-H は一つ余っているので、酢酸分子と二点水素結合でき、吸着した酢酸分子はメチル基を表面に向けた配向で強く単分子膜に結合しているものと思われる。従って、酢酸の二層目の吸着はアルキル単分子膜への吸着と似た状況にあり、そのため多層吸着しにくいものと考えられる。実際、アミド単分子膜における高濃度の酢酸の吸着等温線は、アルキル単分子膜の高濃度の酢酸の吸着等温線に類似している（図 2-12）。アミンを末端に持った単分子膜では、酢酸分子は酸-塩基（静電）相互作用により吸着すると考えられる^{5b)}。酸-塩基（静電）相互作用は、水素結合と比較して方向性に乏しい相互作用であり、吸着した酢酸分子の自由度が高く、多層吸着しやすいと思われる。

加えて、静電相互作用は比較的長距離にまで及ぶため、カルボン酸単分子膜よりも多層吸着しやすいのではないかと推定される。

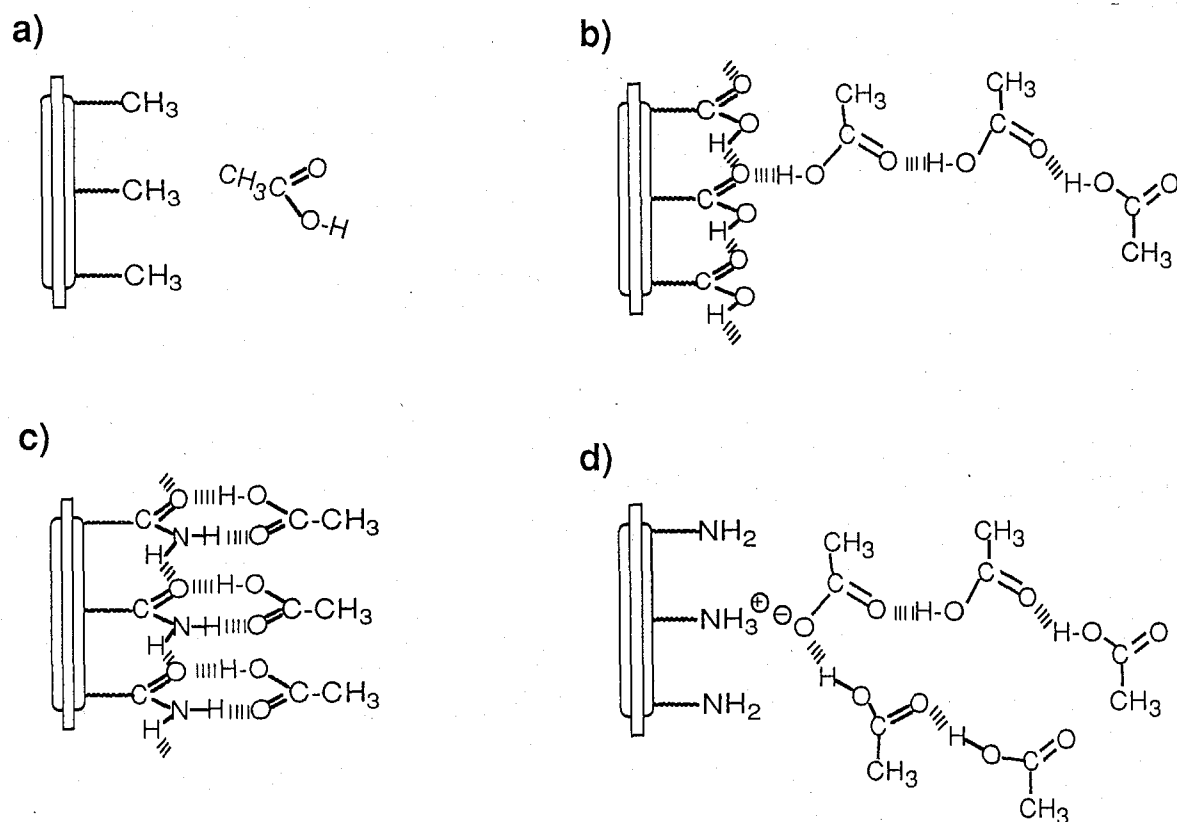


図 2-14 各単分子膜表面における酢酸の吸着状態の模式的表現

a) アルキル単分子膜, b) カルボン酸単分子膜, c) アミド単分子膜, d) アミン単分子膜

2-5 酢酸の吸着動力学に対する表面官能基の効果

前節では、自己会合性単分子膜への酢酸の多層吸着挙動における表面官能基の効果を述べ、その違いが表面官能基と酢酸の第一層目における吸着状態の違いに起因すると考察した。本節では多層吸着が起こっていないと考えられる低濃度において、単分子膜表面と酢酸分子との相互作用、特に単層吸着動力学について検討した。図 2-12 からわかるように、 $P/P_{\text{sat}} = 0.1$ 以下の低濃度ではどの単分子膜上においても、酢酸は単層吸着しているものと考えられるので、この濃度域において酢酸の吸着動力学を解析した。

各単分子膜に対する $[\text{AcOH}] = 3.3 \times 10^{-5} \text{ M}$ ($P/P_{\text{sat}} = 0.04$) における酢酸の吸着の経時変化を図 2-15 に、低濃度域の酢酸の吸着等温線を図 2-16 に示した。この濃度域において、酢酸はアミド、アミン、カルボン酸、アルキル単分子膜の順に吸着しやすいことがわかる。また、いずれの単分子膜においても Langmuir の吸着等温線で近似できるような飽和型の曲線となった。各単分子膜に対する式 (7) に基づいた逆数プロットから求められる最大単層吸着量 Δm_{mono} および結合定数 K_a を表 2-2 にまとめた。アルキル単分子膜は、他の単分子膜に比べ結合定数 K_a がかなり小さいことがわかる。また、アミド単分子膜がカルボン酸単分子膜よりも少し大きな結合定数をもつことがわかった。しかし、この解析法では、完全に飽和になっていないところで解析しているため誤差が大きいものと考えられる。そこで次に、2-3-4 節で述べた動力的な解析法である緩和法により解析した。

吸着の経時変化のカーブフィッティングの一例として、アミド単分子膜への酢酸の吸着の場合を図 2-17 に示した。この濃度域において、酢酸吸着の経時変化は式 (15) に非常によくフィットした。すなわち、この吸着過程が、式 (10) の単純な平衡反応で起こっていることを示している。他の単分子膜においても、吸着の経時変化は式 (15) でフィッティングすることができた。それぞれの単分子膜において、カーブフィッティングで求められた緩和時間 τ の逆数を酢酸の濃度に対してプロットしたものを図 2-18 に示し、

その直線から式 (13) に従って求められた吸着速度定数 k_1 と脱着速度定数 k_2 および式 (16) より求めた結合定数 K_a を表 2-3 にまとめた。全体の傾向としては、表 2-2 の Langmuir 解析した結果と類似していた。アルキル単分子膜では、他の単分子膜と比べて、結合定数が一桁小さかった。従って、前節で言及したように、アルキル単分子膜において吸着量が少ないにも関わらず多層吸着しやすい傾向にあるのは、アルキル表面と酢酸分子があまり強く相互作用していないためと考えられる。他の単分子膜では、アルキル膜よりも主に吸着速度定数 k_1 が大きいことにより結合定数 K_a が一桁大きかった。カルボン酸単分子膜では例外的に脱着速度定数 k_2 が小さいことも効いているようである。アミド単分子膜では、カルボン酸単分子膜よりも少し大きい結合定数を示した。こ

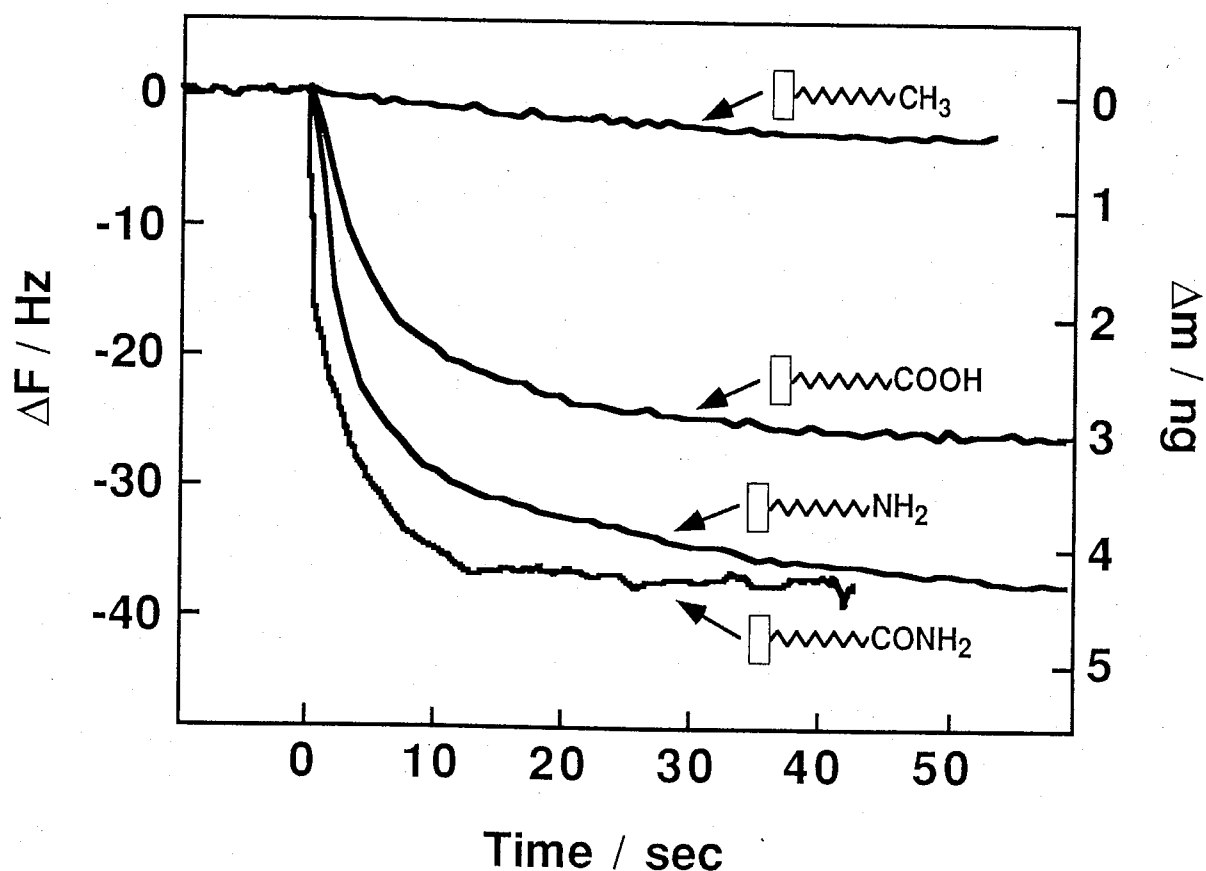


図 2-15 水晶発振子上に固定化した自己会合性単分子膜への低濃度の酢酸の気相からの吸着による振動数の経時変化

$[\text{AcOH}] = 3.3 \times 10^{-5} \text{ M}$ ($P / P_{\text{sat.}} = 0.04$), 25°C

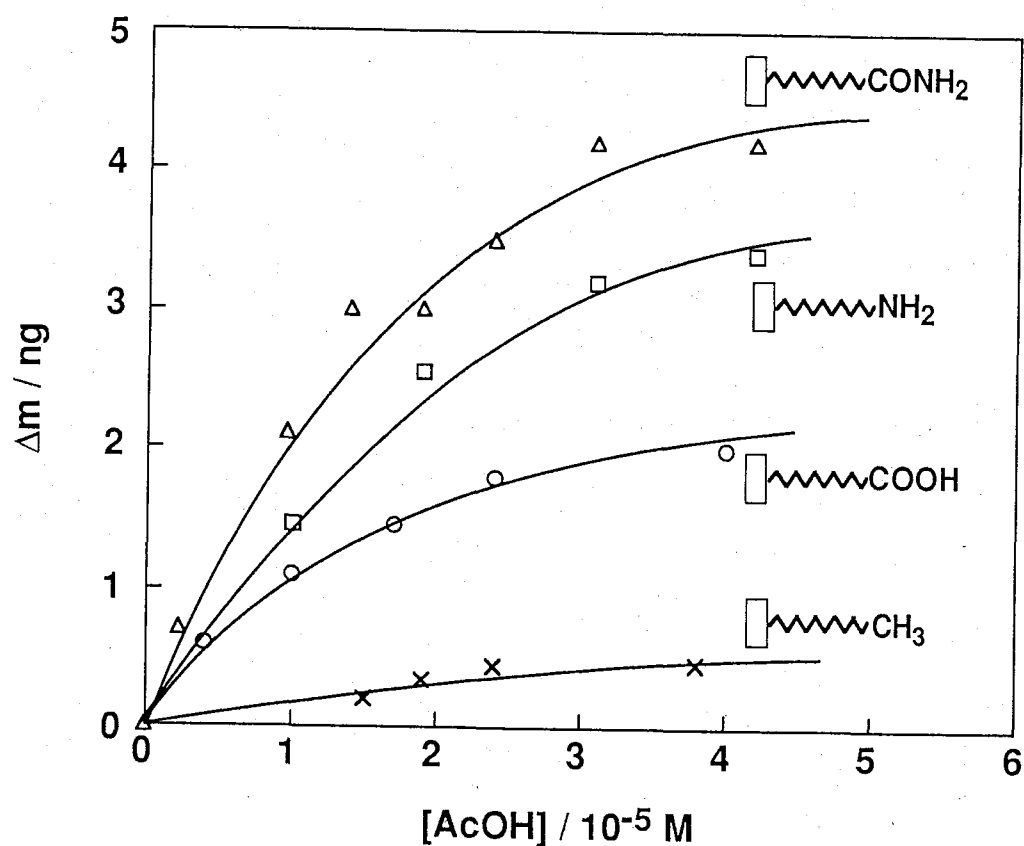


図 2-16 様々な官能基を末端に持った単分子膜への低濃度の酢酸の吸着等温線 (25 °C)

表 2-2 飽和法より求めた各単分子膜への酢酸の吸着における単層吸着量と結合定数

Au-S-(CH ₂) ₁₀ -X	K / 10 ³ M ⁻¹	Δm _{mono} / ng
-H	17	1.7
-COOH	55	3.1
-CONH ₂	61	6.1
-NH ₂	43	5.5

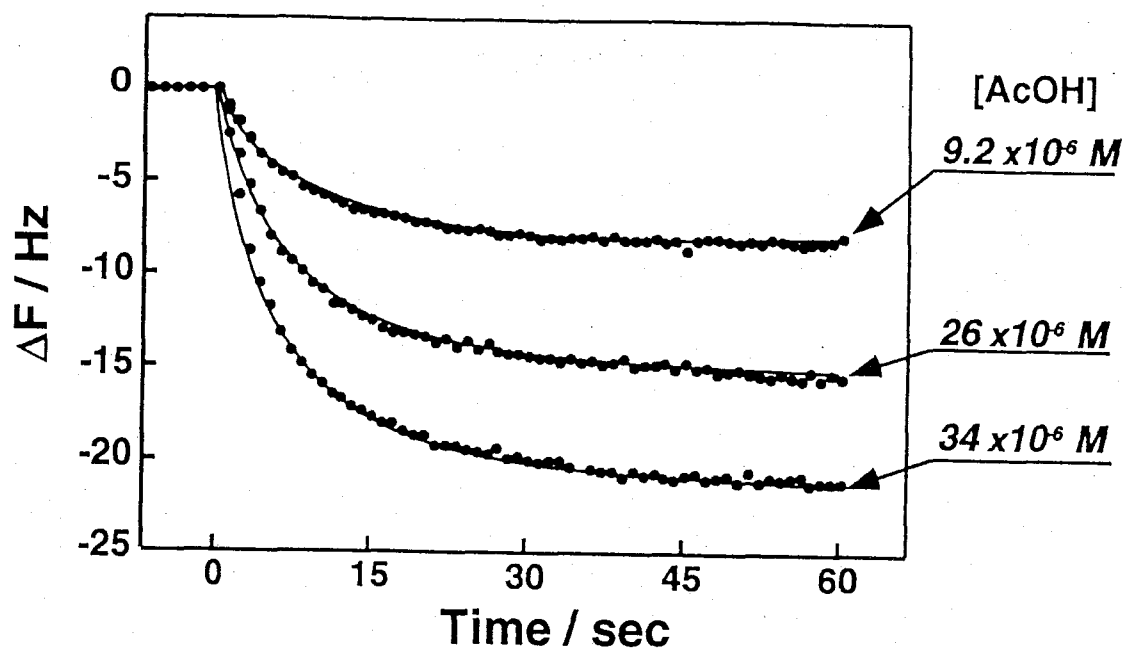


図 2-17 様々な濃度における酢酸のアミド単分子膜への吸着の経時変化のカーブフィッティング

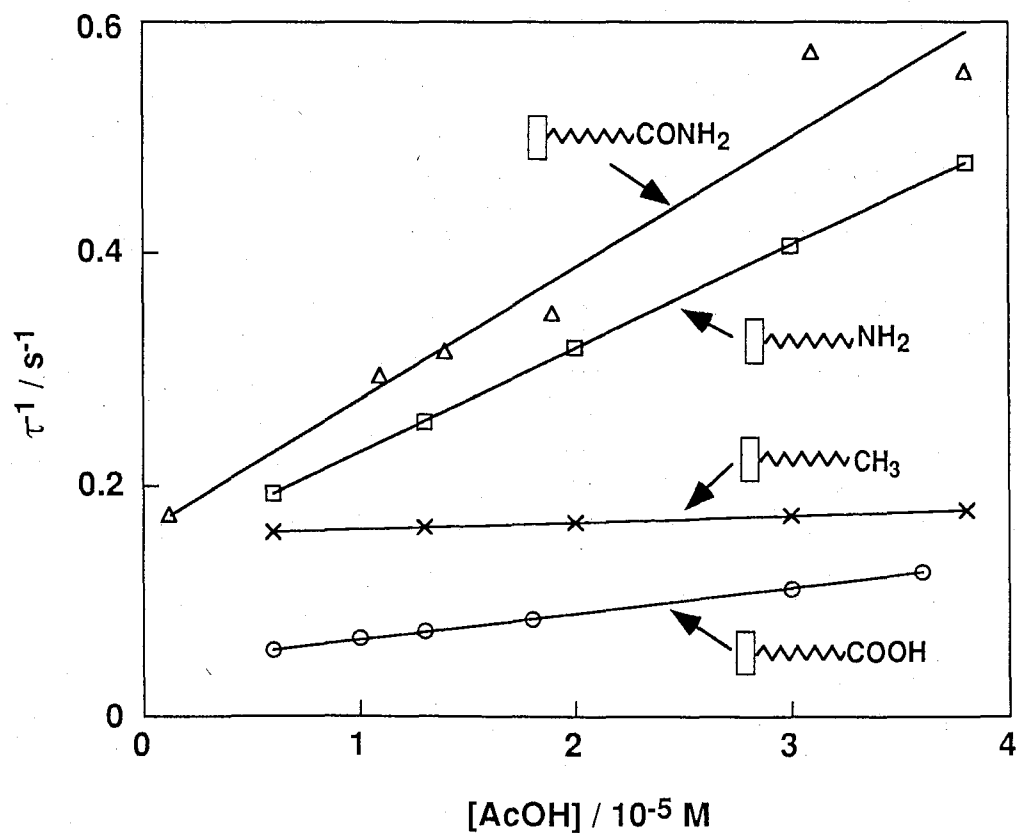


図 2-18 各単分子膜に対する酢酸の吸着の緩和時間の逆数プロット

表 2-3 緩和法より求めた各単分子膜への酢酸の吸着における
動力学パラメーターと結合定数

Au-S-(CH ₂) ₁₀ -X	$k_1 / 10^3 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$	k_{-1} / s^{-1}	$K / 10^3 \text{ M}^{-1}$
-H	0.57	0.16	3.6
-COOH	2.2	0.045	49
-CONH ₂	11	0.16	69
-NH ₂	8.9	0.14	63

れは前節で推定したように、アミド単分子膜では酢酸分子と二点水素結合しているが、カルボン酸膜では膜内水素結合のために酢酸分子と一点水素結合しかできないためと考えられる。しかし、この結合定数の $K_a = 4.9 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ と $6.9 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ の違いは、エネルギー差に換算すると 0.2 kcal/mol の違いであり、通常言われている一個の水素結合あたりのエネルギー $1\sim 4 \text{ kcal/mol}$ よりも小さい。これは、酢酸が二点水素結合する場合において、アミド基と結合するよりもカルボン酸と結合するほうが安定であるためか、あるいは、カルボン酸膜の膜内水素結合が膜中の全てのカルボン酸において起こっているわけではないので、一部は二点水素結合しているためかもしれない。アミン単分子膜もまた、アミド単分子膜と同様、カルボン酸単分子膜よりも少し結合定数が大きかった。これはおそらく、アミン膜が酸-塩基相互作用で酢酸分子と結合しているためと考えられる。

2-6 酢酸の吸着に及ぼす表面官能基含量の効果

2-4 節において、酢酸はカルボン酸単分子膜表面で多層吸着が起こりやすく、アミド単分子膜表面においては多層吸着しにくい原因として、カルボン酸単分子膜では膜内水素結合により酢酸分子と二点水素結合できないためと推論した。また、2-5 節において、酢酸との結合定数はアミド膜が弱冠カルボン酸膜よりも大きく、これも、カルボン酸膜中での膜内水素結合が原因であると考えた。もし、カルボン酸膜中で膜内水素結合がおこっているとすると、表面の官能基含量を小さくすることでその形成が抑制され、フリーのカルボン酸が膜表面に存在し、酢酸分子との結合定数が向上することが予測される。そこで本節では、カルボン酸とアルキルの混合単分子膜およびアミドとアルキルの混合単分子膜を調製し、官能基含量が酢酸の吸着における動力学パラメーター、結合定数にどのように影響するかを検討した。

混合単分子膜は、二つのチオール化合物の比率を変えて 5 mM のエタノール溶液から水晶発振子に固定化した。二つのチオール化合物の混合単分子膜上の組成は、溶液組成とあまり変わらないことが知られているので²⁷⁾、本実験では、溶液組成を単分子膜上の官能基含量とした。吸着挙動の解析は、低吸着量においても誤差が小さいと思われる緩和法によりおこなった。

カルボン酸・アルキル混合単分子膜およびアミド・アルキル混合単分子膜への酢酸の吸着における動力学パラメーターおよび結合定数への官能基含量の効果を図 2-19 に示す。カルボン酸・アルキル混合単分子膜では、吸着速度定数 k_1 がカルボン酸含量が 10 ~ 20 % 程度で最大となり、この付近で脱着速度定数 k_{-1} が最小となるため、結合定数は 10 % で最大となった。これは、上の予想どおり、カルボン酸の表面含量が低くなるにつれ膜内水素結合が抑制され、フリーのカルボン酸が生じ、酢酸と二点水素結合できるようになるためと考えられる (図 2-20)。

一方、アミド・アルキル単分子膜では、アミド含量の低下とともに吸着速度定数 k_1 は

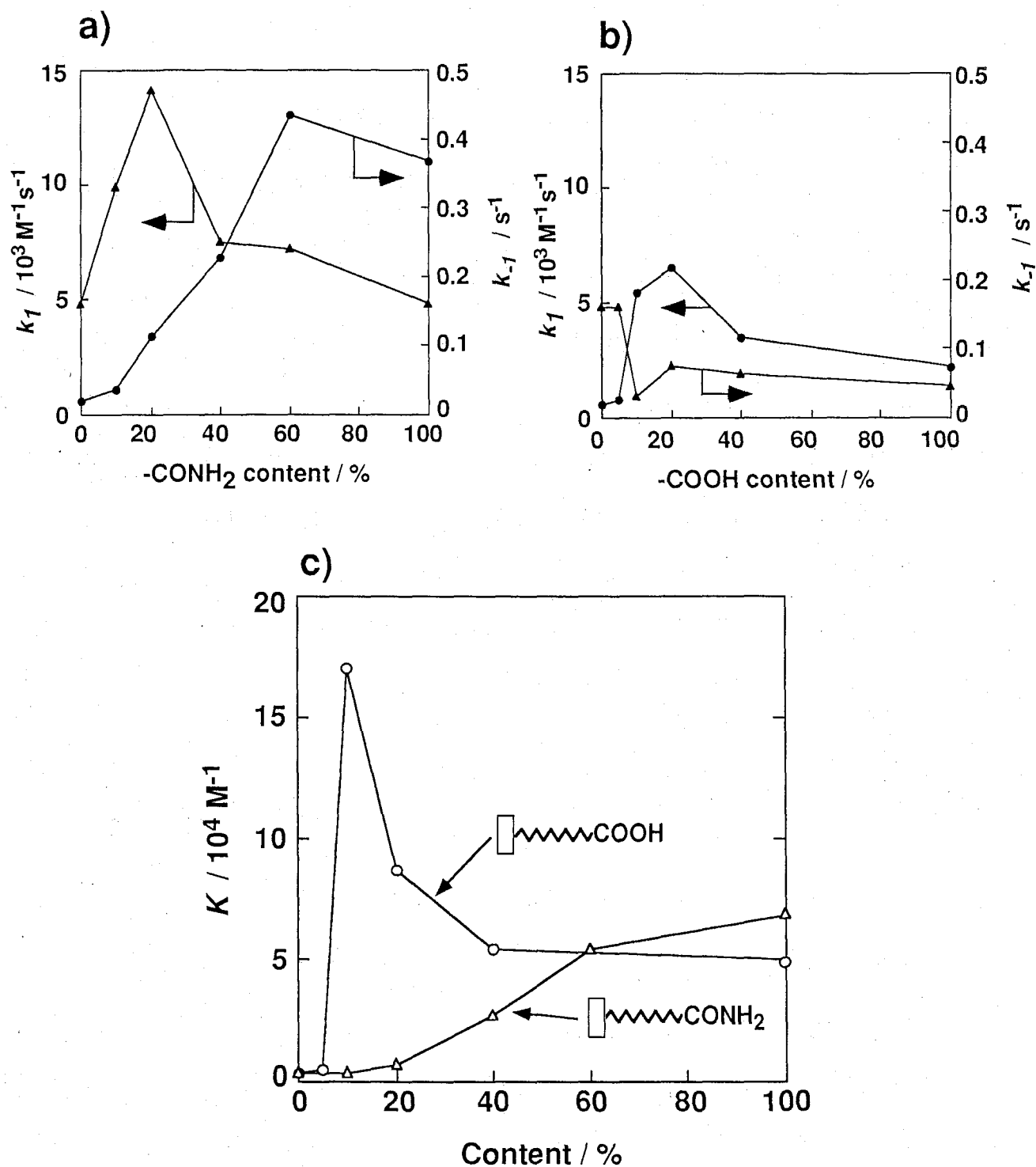


図 2-20 酢酸の吸着における動力学パラメーターおよび結合定数に及ぼすカルボン酸およびアミド基の表面含量の効果

- a) $-\text{COOH}$ 含量が酢酸吸着の動力学パラメーターに及ぼす効果
- b) $-\text{CONH}_2$ 含量が酢酸吸着の動力学パラメーターに及ぼす効果
- c) $-\text{COOH}$ 含量および $-\text{CONH}_2$ 含量が酢酸吸着の結合定数に及ぼす効果

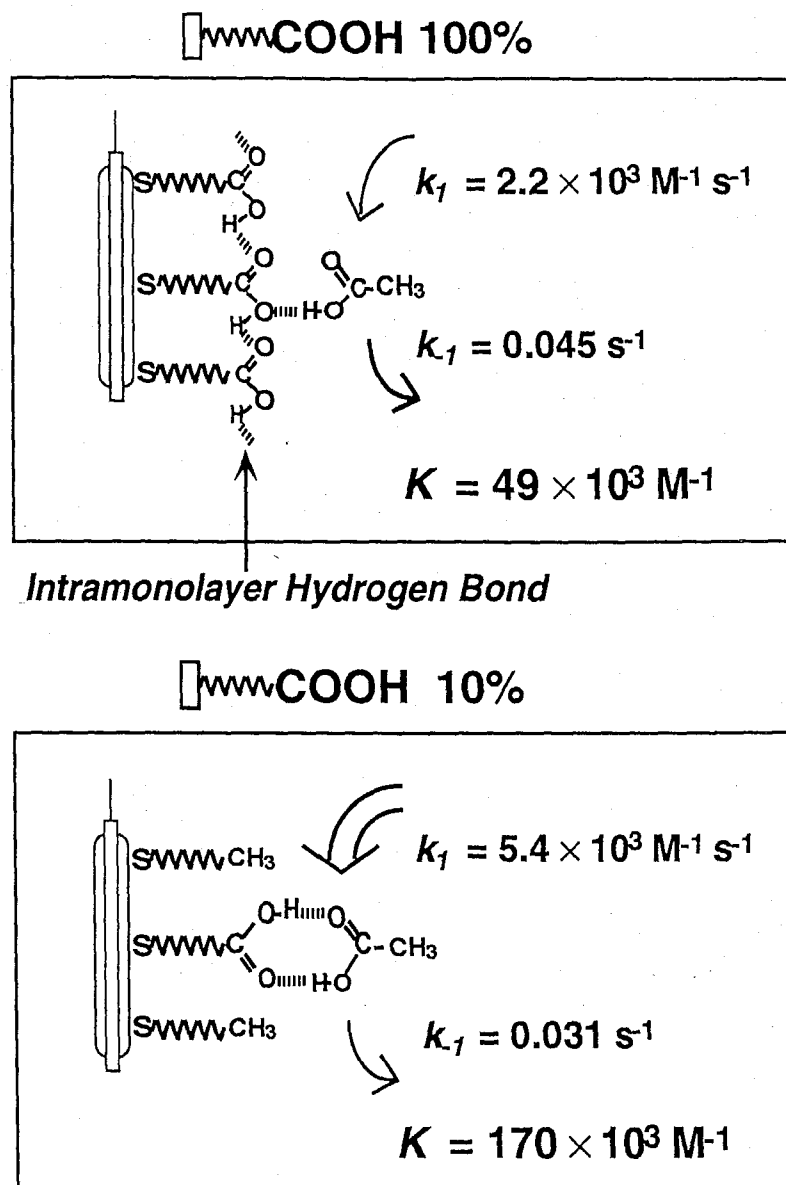


図 2-20 酢酸の吸着に及ぼすカルボン酸単分子膜のカルボン酸含量の効果の模式的説明

減少し、脱着速度定数 k_d は増加するために、結合定数はアミド含量の低下とともに単調に減少する傾向が見られた。ここでいう結合定数は、酢酸分子と混合単分子膜全体の平均化されたものであるので、アミド含量の低下とともに単調に減少するということはアミド含量あたりの結合定数はほぼ一定であることを意味する。アミド基と酢酸との相互作用は膜内水素結合していても、フリーであっても、酢酸分子と二点水素結合できるのでほぼ同じ強さであると考えられる。

2-7 結論

本章では、7 次オーバートーン 9 MHz 水晶発振子を用いて、 $\text{HS}-(\text{CH}_2)_{10}-\text{X}$; $\text{X} = \text{H}$, COOH , CONH_2 , NH_2 の自己会合性単分子膜上への気相からの酢酸分子の吸着を検討した。酢酸分子の吸着挙動は、表面官能基により大きく異なった。官能基を持たないアルキル単分子膜においては、酢酸は比較的小さい結合定数で表面と相互作用し、吸着量も少ないが多層吸着しやすい傾向にあることがわかった。アミド基を末端に持つ単分子膜では、酢酸はアルカン単分子膜よりも一桁大きな結合定数で表面に強く結合し、単層吸着が起こり、多層吸着しにくいことがわかった。それに対し、カルボン酸を末端に持つ単分子膜では、アミド膜より弱冠小さな結合定数を示したが、多層吸着がより起こりやすいことがわかった。これは、カルボン酸単分子膜では膜内水素結合しているために酢酸分子と一点水素結合しかできないのに対し、アミド単分子膜では膜内水素結合していても二点水素結合できるためと推論した。このことは、表面のカルボン酸含量の少ない混合単分子膜において結合定数が向上したことからも裏付けられた。また、アミンを末端に持つ単分子膜では、酢酸はアミド膜と同様の大きい結合定数で単分子膜表面に結合するが、カルボン酸単分子膜よりもさらに多層吸着しやすいことがわかった。これは、アミン単分子膜と酢酸が酸-塩基相互作用により結合しているためではないかと推論した。

以上のように、水晶発振子に固定した自己会合性単分子膜と気相界面において、単純な酢酸分子の吸着挙動においても明確な分子認識が観察された。

参考文献

- 1) a) 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", 講談社サイエンス・フィク, 1993
b) 田中健太郎, 博士論文, 東京工業大学 (1994)
- 2) a) R. G. Nuzzo and D. L. Allara, *J. Am. Chem. Soc.*, **105**, 4481 (1983)
b) D. L. Allara and R. G. Nuzzo, *Langmuir*, **1**, 52 (1985)
c) R. G. Nuzzo, F. A. Fusco, and D. L. Allara, *J. Am. Chem. Soc.*, **109**, 2358 (1987)
- 3) a) A. Ulmann, S. D. Evans, Y. Shindman, R. Sharma, J. E. Eilers, and J. C. Chang, *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 1499 (1991)
b) L. Zhang, T. Lu, G. W. Gokel, and A. E. Kaifer, *Langmuir*, **9**, 786 (1993)
c) J. P. Folkers, P. E. Laibinis, and G. M. Whitesides, *Langmuir*, **8**, 1330 (1992)
- 4) L. H. Dubois, B. R. Zegarski, and R. G. Nuzzo, *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 1499 (1991)
- 5) a) L. Sun, L. J. Kepley, and R. M. Crooks, *Langmuir*, **8**, 2101 (1992)
b) L. Sun and R. M. Crooks, *Langmuir*, **9**, 1775 (1993)
- 6) M. T. Rojas and A. E. Kaifer, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 5883 (1995)
- 7) K. D. Schierbaum, T. Weiss, E. U. T. V. Velzen, J. F. J. Engbersen, D. N. Reinhoudt, and W. Göpel, *Science*, **256**, 1413 (1994)
- 8) 川端 昭, "やさしい超音波工学", p.77, 工業調査会, 1988
- 9) 相原正夫, "結晶工学ハンドブック", 結晶工学ハンドブック編集委員会編, p.375, 共立出版, 1971

- 10) 日本電波工業株式会社編, "水晶発振子", 1974
- 11) G. Sauerbrey, *Z. Physik*, **155**, 206 (1959)
- 12) 有賀克彦, 博士論文, 東京工業大学 (1991)
- 13) 江波戸博, 博士論文, 東京工業大学 (1993)
- 14) W. H. King Jr., *Anal. Chem.*, **36**, 1735 (1964)
- 15) a) G. G. Guilbault, *Ion-Sel. Electrode Rev.*, **2**, 3 (1980)
b) G. G. Guilbault, J. M. Jordan, *CRC Crit. Rev. Anal. Chem.*, **19**, 1 (1988)
- 16) a) Y. Okahata, X. Ye, A. Shimizu, and H. Ebato, *Thin Solid Films*, **180**, 51 (1989)
b) Y. Okahata, G. En-na, and H. Ebato, *Anal. Chem.*, **62**, 1431 (1990)
c) Y. Okahata and H. Ebato, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 475 (1991)
d) Y. Okahata, O. Shimizu, and H. Ebato, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **63**, 3082 (1990)
- 17) a) Y. Ebara and Y. Okahata, *Langmuir*, **9**, 574 (1993)
b) Y. Ebara and Y. Okahata, *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 11209 (1994)
c) 江原靖人, 博士論文, 東京工業大学 (1992)
d) 白川信明, 卒業論文, 東京工業大学 (1993)
e) 石原光輝, 修士論文, 東京工業大学 (1995)
f) M. D. Ward and D. A. Buttry, *Science*, **249**, 1000 (1990)
g) R. C. Ebersole, J. A. Miller, J. R. Moran, and M. D. Ward, *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, 3239 (1990)
- 18) a) 新倉謙一, 修士論文, 東京工業大学 (1994)
b) 岡畑恵雄, 新倉謙一, *蛋白質 核酸 酵素*, **40**, 65 (1995)
- 19) a) Z. Lin, C. M. Yip, I. S. Joseph, and M. D. Ward, *Anal. Chem.*, **65**, 1546 (1993)
b) 川瀬賢紀, 修士論文, 東京工業大学 (1995)

- c) 板倉健介, 卒業論文, 東京工業大学 (1995)
- 20) S. J. Martin, V. E. Granstaff, and G. C. Frye, *Anal. Chem.*, **63**, 2277 (1993)
- 21) 清水 治, 修士論文, 東京工業大学 (1988)
- 22) 宮崎裕二, 研究生報告, 東京工業大学 岡畑研究室 (1991)
- 23) C. Xu, L. Sun, L. J. Kepley, R. M. Crooks, and A. J. Ricco, *Anal. Chem.*, **65**, 2102 (1993)
- 24) V. Tsionsky, L. Daikhin, M. Urbakh, and E. Gileadi, *Langmuir*, **11**, 674 (1995)
- 25) 日本化学会編, "改訂3 版 化学便覧 基礎編 II", p.118, 丸善, 1984
- 26) P. W. Atkins, "物理化学 (下)", 第29章, 東京化学同人, 1985
- 27) P. E. Laibinis and G. M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 1990 (1992)

第三章 有機気体分子の自己会合性単分子膜表面への選択的吸着

3-1 緒言

第二章において、官能基を末端に持つ自己会合性単分子膜 ($\text{HS}-(\text{CH}_2)_{10}-\text{X}$: $\text{X} = \text{H}$, $-\text{COOH}$, $-\text{CONH}_2$, $-\text{NH}_2$) 表面への気相からの酢酸分子の吸着挙動を、7 次オーバートーン 9 MHz 水晶発振子を用いて観察した。吸着等温線の BET 解析、低濃度における動力学解析および表面官能基含量の効果を調べた結果、同じような極性官能基であるにも関わらずカルボン酸膜とアミド膜において大きな違いが見られ、それは、官能基間の膜内水素結合によるものであると推察した。酢酸のような単純な有機化合物と、アミドやカルボン酸といった単純な官能基を持つ単分子膜間で、このような明確な違いが見られたのは興味深い。本章では、官能基を末端に持つ単分子膜表面への様々な有機分子（カルボン酸、アミン、アルコール、アルカン）の吸着の選択性について観察した。

最近、Crooks らはカルボン酸を末端に持った自己会合性単分子膜へのカルボン酸類、アミン類の結合を外反射 IR スペクトルで観察しているが、*in situ* の測定でないうえ他の膜との比較がないために、単分子膜表面でゲスト分子との水素結合および酸塩基相互作用がおこったという現象を述べているにすぎない¹⁾。前章でも述べたように、マイクロバランスである水晶発振子を用いれば、単分子膜とゲスト分子間の相互作用が *in situ* で、定量的かつ経時的に観察でき動力学解析が行えるために、より詳しい議論ができるものと思われる。

一般に、固体表面への気体物質の吸着は、気体物質同士の表面での凝集力の違い（すなわち、気体から液体になる力で、飽和蒸気圧の違いに反映される）に大きく依存すると考えられる。従って、ゲスト分子を変える場合は、飽和蒸気圧が低い方が単分子膜と大きな結合定数で相互作用することが予想される。本研究では、ゲスト分子によりホスト単分子膜への吸着選択性がどのように変わるかを明確にするため、官能基（カルボン

酸、アミド) のついた単分子膜へのゲスト分子の結合定数を官能基のないアルキル単分子膜への結合定数で割ることによりそのような効果を補正した。Reinhoudt らは基板上に固定した環状レゾルシン [4] アレーンへの気体分子の結合を水晶発振子を用いて観察しているが²⁾、彼らはゲストの蒸気圧の違いを考慮していない。

ゲスト分子としては、酢酸 (C_2)、ヘキサン酸 (C_6)、ノナン酸 (C_9) のカルボン酸類、ペンチルアミン、アニリン、エチレンジアミン、1,2-, 1,3-, 1,4-ジアミノシクロヘキサンのアミン類、および比較としてエタノール、オクタンの吸着を観察した。カルボン酸の系列以外は、ゲスト分子は基本的に飽和蒸気圧があまり変わらないものを選んだ。本章では、これらの気体分子のカルボン酸単分子膜およびアミド単分子膜への吸着選択性を水晶発振子を用いた動力学解析から議論する (図 3-1)。

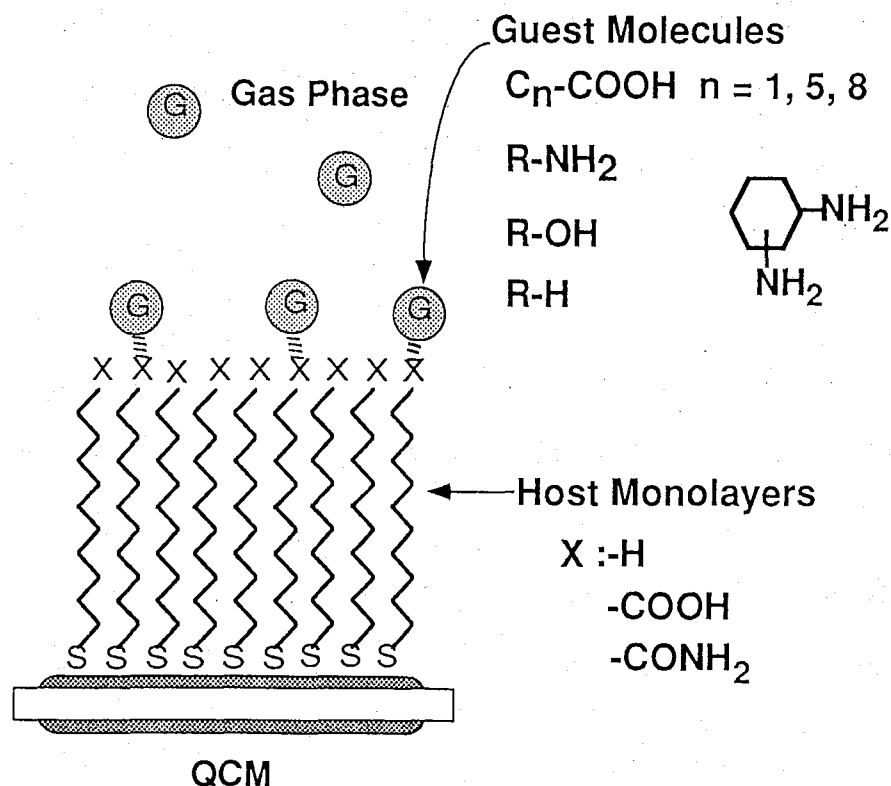


図 3-1 水晶発振子に固定した自己会合性単分子膜への様々な有機気体化合物の吸着の模式図

3-2 実験方法

水晶発振子、発振回路、測定装置、測定方法、単分子膜の固定化方法は基本的に 2-3 で述べたものと同様である。

本章で用いた気相ゲスト化合物のうち、酢酸、ヘキサン酸、ノナン酸、ペンチルアミン、アニリン、エチレンジアミン、エタノール、オクタンは Antoine 定数や飽和蒸気圧-温度曲線が知られているので、Antoine 式 (5) を用いて 25℃ の飽和蒸気圧および式 (4) から気相濃度を求めた³⁾。しかし、1,2-、1,3-、および 1,4-ジアミノシクロヘキサンは Antoine 定数や飽和蒸気圧-温度曲線が知られていないので、以下に述べる方法で気相濃度を測定した⁴⁾。なお、1,2-ジアミノシクロヘキサンは (±)-trans 体を、1,3- および 1,4-ジアミノシクロヘキサンは cis trans 混合物を用いた。

図 2-10 に示した気相フロー系測定装置を用いて、25℃ において一定流量 u (L/min) の窒素ガスで、分子量 M_w (g/mol) のサンプルを一定時間 Δt (min) だけバブリングしたときのサンプル液の重量変化 Δm (g) を電子天秤により測定した。気相濃度を c (mol/L) とすると、重量変化は次式で表すことができる。

$$\Delta m = c u M_w \Delta t \quad (17)$$

従って、サンプルをバブリングした時間 Δt (min) に対してサンプルの重量変化 Δm (g) をプロットすることで、得られた直線の傾きから気相濃度 c (mol/L) を計算することができる。

まず、この方法の妥当性を検討するために 25℃ における気相濃度が既知であるオクタンについて測定した。結果は図 3-2 のようになり、その直線の傾きから 25℃ における気相中の濃度は $[\text{octane}] = 7.88 \times 10^{-4} \text{ M}$ 、飽和蒸気圧は $P_{\text{sat}} = 14.6 \text{ mmHg}$ となり、文献値の $[\text{octane}] = 7.52 \times 10^{-4} \text{ M}$ 、 $P_{\text{sat}} = 14.0 \text{ mmHg}$ とほぼ一致した³⁾。よって、この

方法で気相濃度を測定できると考え、ジアミノシクロヘキサンの三つの位置異性体について測定した。結果を図 3-3 に示し、それぞれの直線の傾きから得られた 25 °C におけるジアミノシクロヘキサンの気相濃度および飽和蒸気圧を、他のゲスト化合物のそれとともに表 3-1 にまとめた。

水晶発振子に固定した単分子膜上へのゲスト分子の吸着挙動の解析は、原理的には 2-3 で述べたものと同様であるが、緩和法で解析する際に、ゲスト分子によっては式 (15) のように一つの指数関数ではなく、その線形結合で表される式にフィットするものがあつた。つまり、速い過程（数秒の時間スケール）と遅い過程（数分から数十分の時間スケール）が存在すると考えられるが、議論を単純化するため特異的な（単層）吸着と考えられる速い過程のみをカーブフィッティングし、その緩和時間の逆数プロットから、動力学パラメーターを求めた。

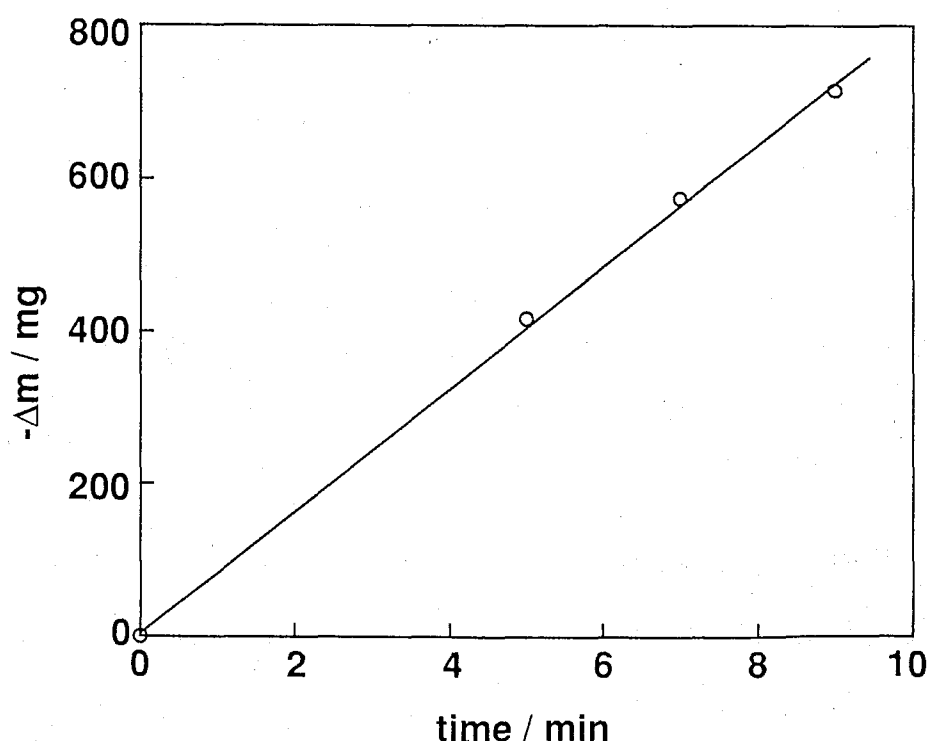


図 3-2 オクタンの気相濃度検量線 (25 °C, $u = 0.9 \text{ L min}^{-1}$)

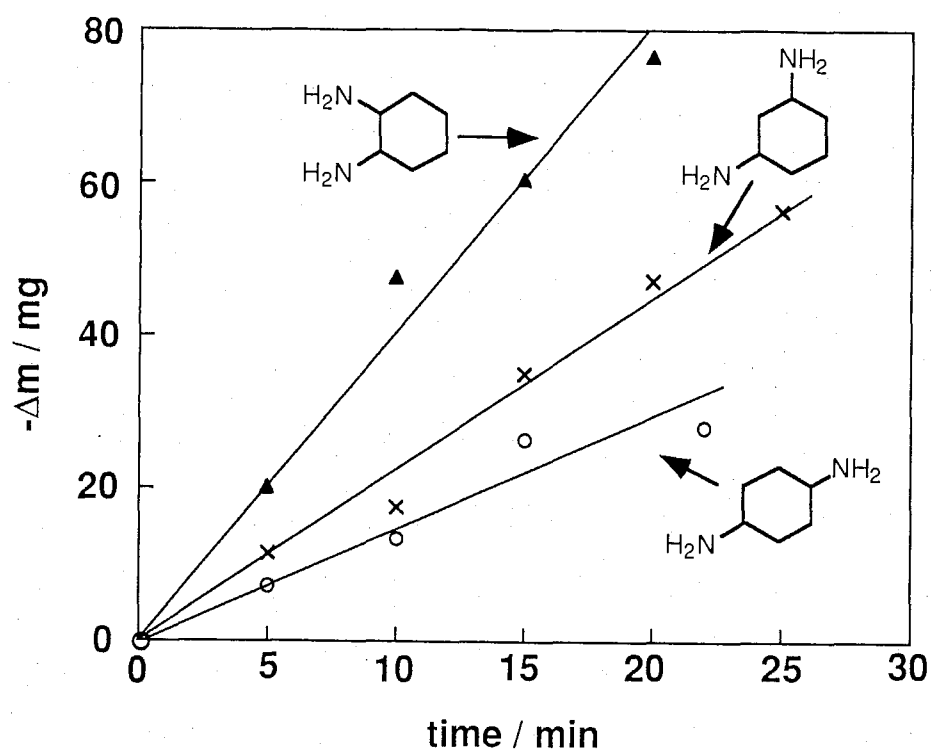


図 3-3 ジアミノシクロヘキサン類の気相濃度検量線 (25°C, $u = 2.1 \text{ L min}^{-1}$)

表 3-1 ジアミノシクロヘキサン類の 25 °C における飽和気相濃度と飽和蒸気圧

Compounds	Conc. / 10^{-6} M	P_{sat} / mmHg
1,2- <chem>NCC1CCCCC1N</chem>	16.7	0.310
1,3- <chem>NCC1CCCCC1N</chem>	9.45	0.175
1,4- <chem>NCC1CCCCC1N</chem>	5.91	0.110

3-3 様々な有機気体分子の吸着選択性

カルボン酸、アミドを末端に持つ単分子膜および官能基を持たないアルキル単分子膜への、ヘキサン酸、ノナン酸、ペンチルアミン、アニリン、エチレンジアミン、エタノール、オクタンの吸着等温線を図 3-4~10 に示す。それぞれのゲスト分子で飽和蒸気圧が異なるため直接の比較はできないが、膜の違いによる吸着選択性がゲスト分子によって異なった傾向にあることがわかる。第二章で示したように酢酸（図 2-12）の吸着においては単分子膜表面の官能基によって大きく吸着挙動が異なったのに対し、ヘキサン酸（図 3-4）、ノナン酸（図 3-5）のような炭素鎖の長いカルボン酸ゲストでは膜による吸着量の違いはあまり観察されなかった。また、アミン類の吸着等温線について見ると、ペンチルアミン（図 3-6）、アニリン（図 3-7）がゲストの場合では膜による違いが比較的少ないが、エチレンジアミン（図 3-8）がゲストの場合では膜の効果は、酢酸の場合と同様に大きく、アルカン膜にはほとんど吸着せず、アミド膜には単層吸着、カルボン酸膜には多層吸着する傾向が見られた。また、エタノール（図 3-9）やオクタン（図 3-10）がゲストの場合では、膜による違いはほとんどなかった。

図 3-11~17 に各ゲスト分子のカルボン酸、アミドおよびアルキル単分子膜への吸着過程のカーブフィッティングから得られた緩和時間の逆数 τ^{-1} の濃度依存性を示し、それぞれの直線から得られた吸着速度定数 k_1 、脱着速度定数 k_{-1} 、および結合定数 K を表 3-2 にまとめた。3-1 節で述べたように、結合定数は気体物質同士の表面での凝集力の違い、すなわち、飽和蒸気圧の違いに大きく依存した。事実、図 3-18 に示すように、ゲストの飽和蒸気圧と結合定数には良い相関関係があった。そこで、このような効果をキャンセルするために、アルカン膜に対する動力学パラメーターおよび結合定数をリファレンスにし、アミド基およびカルボン酸基が単分子膜表面にあることでどれだけ動力学パラメーターや結合定数が向上するかを、それらの比により評価することにした。すなわち、ゲストの違いによる単分子膜表面官能基への吸着選択性を求めた。

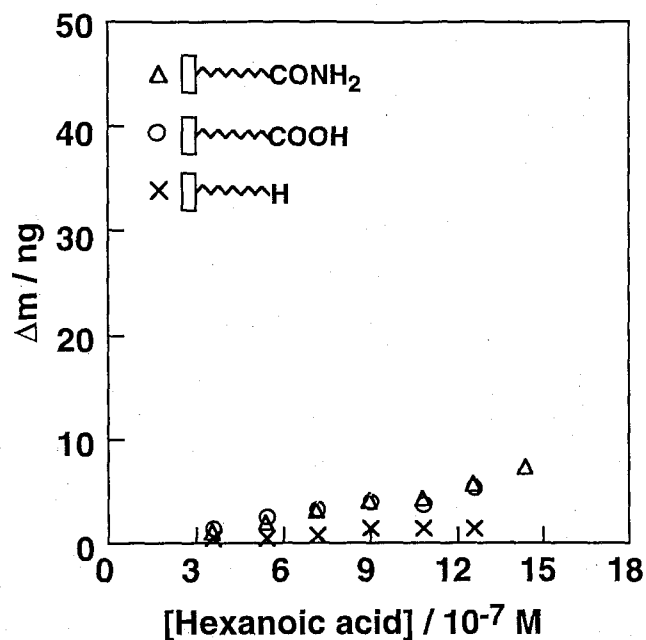


図 3-4 各単分子膜へのヘキサン酸の
25 °Cでの吸着等温線
飽和気相濃度 = 1.8×10^{-6} M
理論一層吸着量 = 31 ng

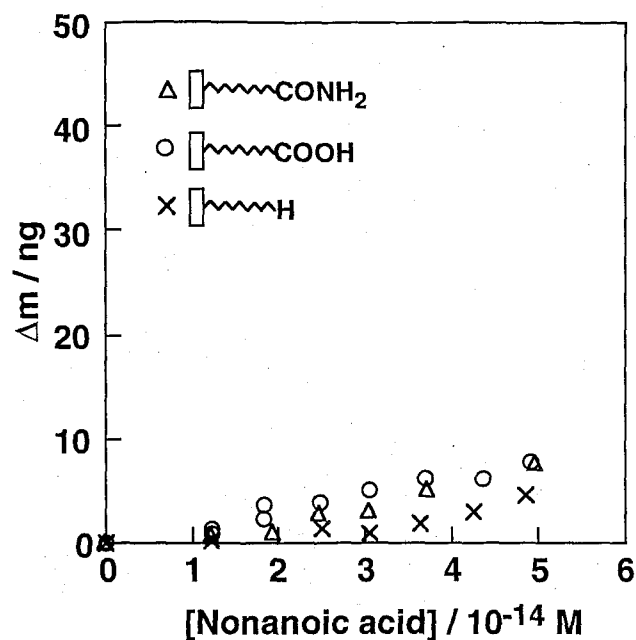


図 3-5 各単分子膜へのノナン酸の
25 °Cでの吸着等温線
飽和気相濃度 = 6.1×10^{-14} M
理論一層吸着量 = 42 ng

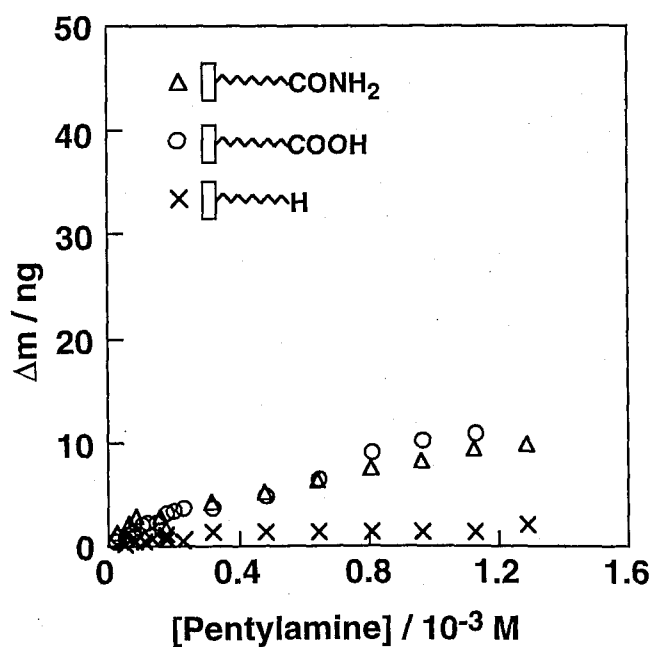


図 3-6 各単分子膜へのペンチルアミンの
25 °Cでの吸着等温線
飽和気相濃度 = 1.6×10^{-3} M
理論一層吸着量 = 23 ng

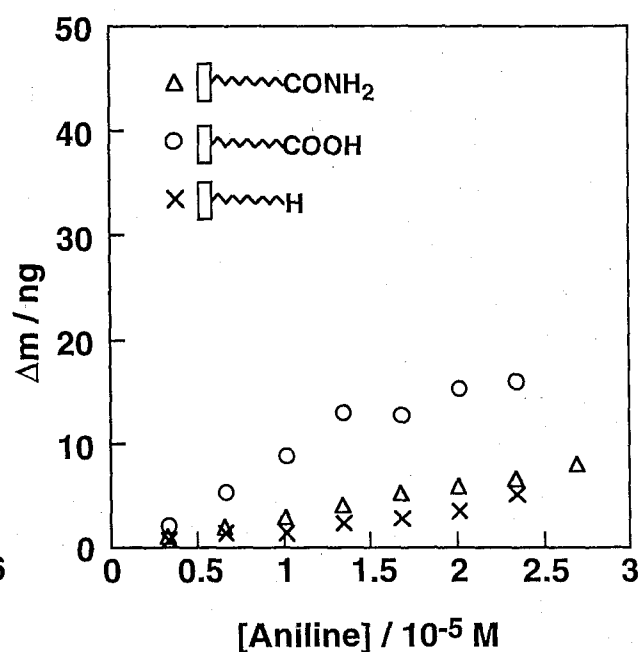


図 3-6 各単分子膜へのアニリンの
25 °Cでの吸着等温線
飽和気相濃度 = 3.7×10^{-5} M
理論一層吸着量 = 25 ng

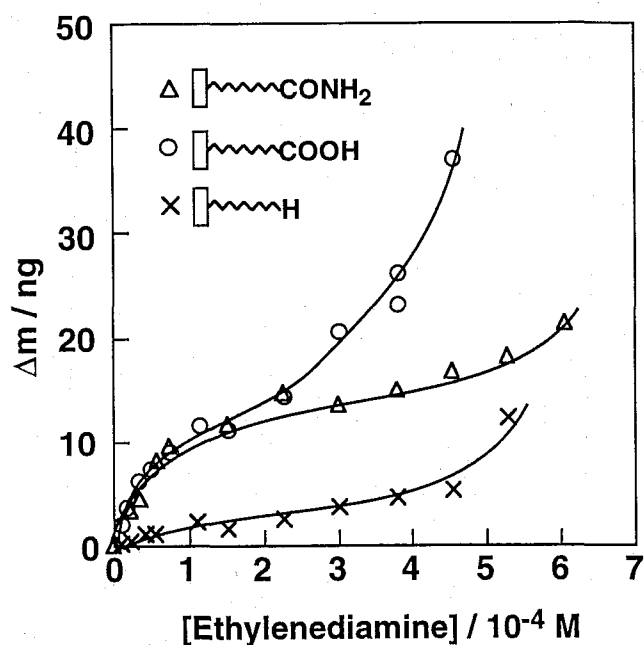


図 3-8 各単分子膜へのエチレンジアミンの
25 °Cでの吸着等温線
飽和気相濃度 = 7.6×10^{-4} M
理論一層吸着量 = 16 ng

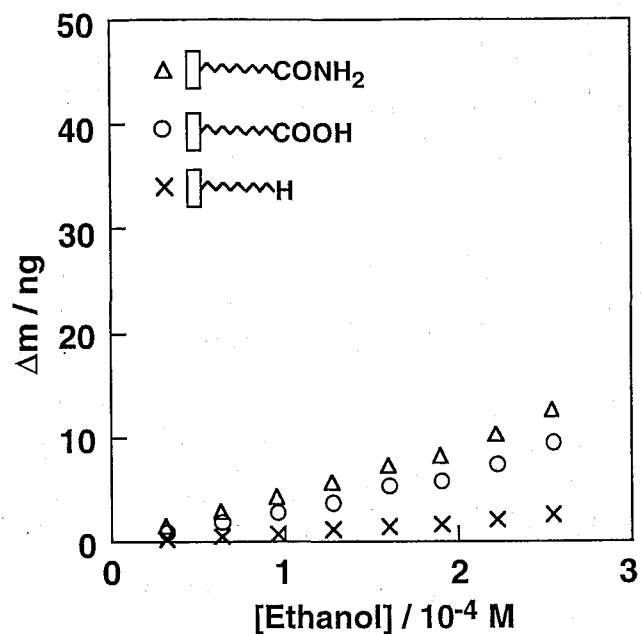


図 3-9 各単分子膜へのエタノールの
25 °Cでの吸着等温線
飽和気相濃度 = 3.2×10^{-4} M
理論一層吸着量 = 12 ng

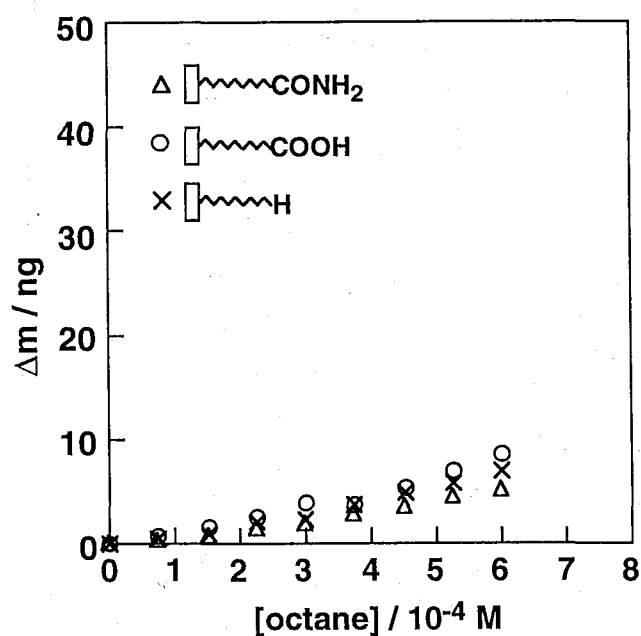


図 3-10 各単分子膜へのオクタンの
25 °Cでの吸着等温線
飽和気相濃度 = 7.5×10^{-4} M
理論一層吸着量 = 30 ng

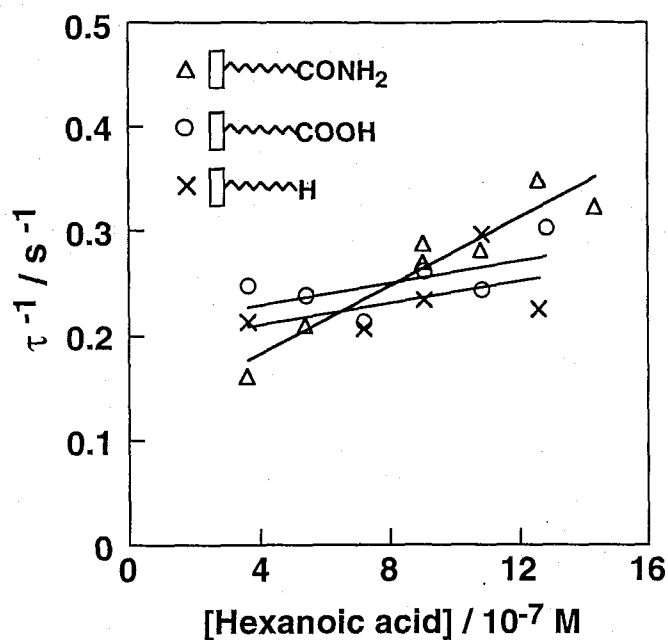


図 3-11 各単分子膜へのヘキサン酸の吸着における緩和時間の逆数プロット

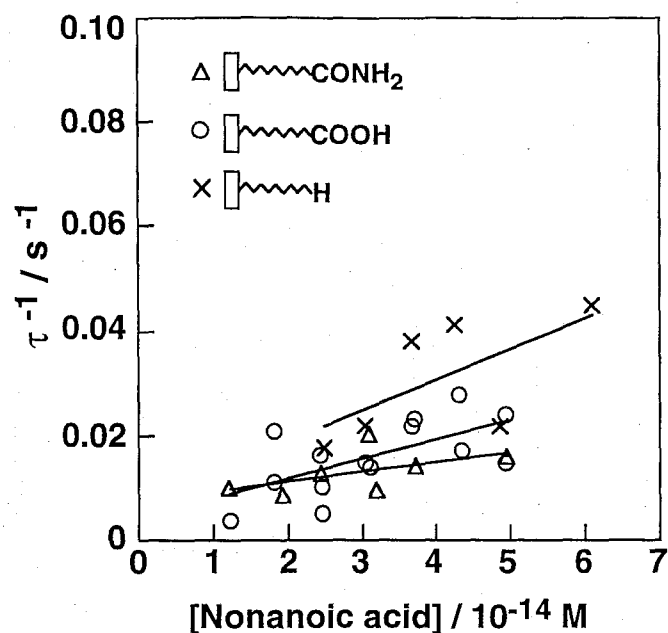


図 3-12 各単分子膜へのノナン酸の吸着における緩和時間の逆数プロット

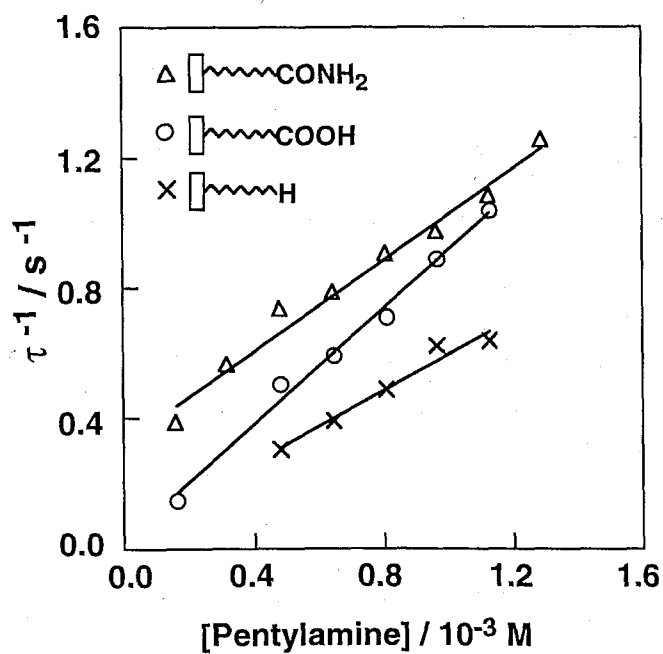


図 3-13 各単分子膜へのペンチルアミンの吸着における緩和時間の逆数プロット

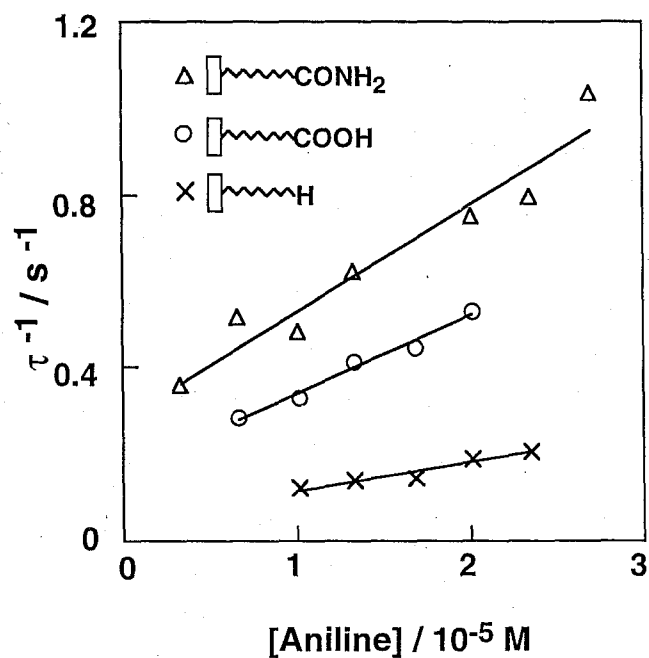


図 3-14 各単分子膜へのアニリンの吸着における緩和時間の逆数プロット

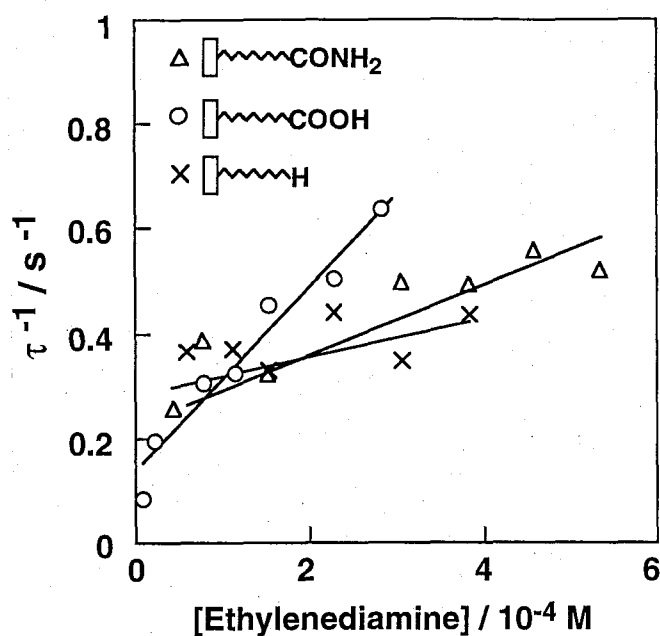


図 3-15 各単分子膜へのエチレンジアミンの吸着における緩和時間の逆数プロット

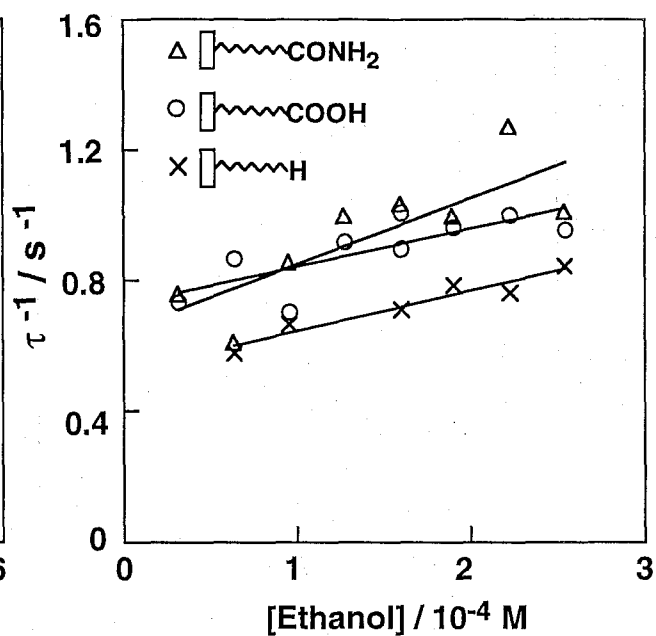


図 3-16 各単分子膜へのエタノールの吸着における緩和時間の逆数プロット

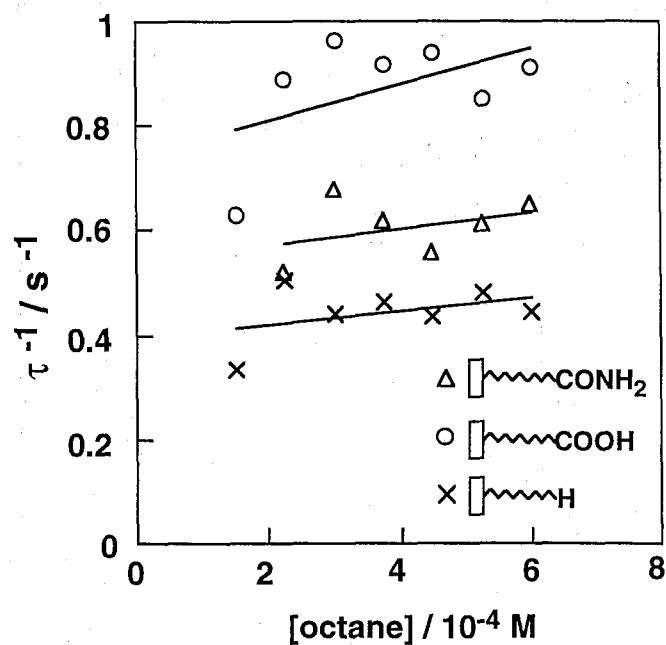


図 3-17 各単分子膜へのオクタンの吸着における緩和時間の逆数プロット

表 3-2 様々な有機分子ゲスートのアルキル、カルボン酸、アミド膜への吸着における結合定数と動力学パラメーター

Guest molecules	Vapor pressure / mmHg at 25 °C	-H membrane			-COOH membrane			-CONH ₂ membrane		
		K_a / 10^3 M^{-1}	k_I / $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$	k_{-I} / s^{-1}	K_a / 10^3 M^{-1}	k_I / $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$	k_{-I} / s^{-1}	K_a / 10^3 M^{-1}	k_I / $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$	k_{-I} / s^{-1}
Acetic acid	15.5	3.6	0.57	0.16	49	2.2	0.045	69	11	0.16
Hexanoic acid	0.0334	27	5.1	0.19	26	5.4	0.21	130	16	0.12
Nonanoic acid	1.13×10^{-9}	8.4×10^{10}	5.9×10^8	0.007	9.5×10^{10}	3.8×10^8	0.004	2.4×10^{10}	1.8×10^8	0.0074
Pentylamine	16.2	14	0.56	0.039	37	0.89	0.024	2.2	0.70	0.32
Aniline	0.625	140	6.8	0.047	120	18	0.15	89	25	0.28
Ethylenediamine	14.2	1.3	0.37	0.28	13	1.8	0.14	2.9	0.66	0.23
Ethanol	59.2	0.23	0.12	0.52	0.15	0.11	0.73	0.33	0.21	0.64
Octane	14.0	0.33	0.13	0.39	0.47	0.35	0.74	0.28	0.15	0.54

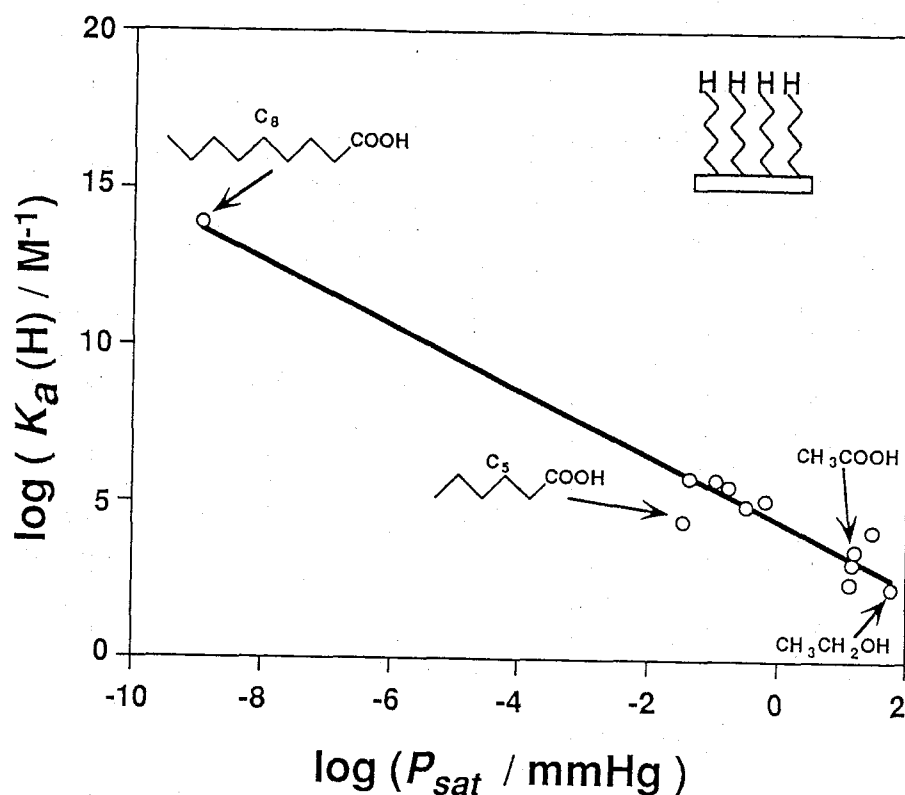


図 3-18 アルキル単分子膜に対する有機気体化合物の結合定数の飽和蒸気圧依存性
有機気体化合物としては、酢酸、ヘキサン酸、ノナン酸、ペンチルアミン、
アニリン、エチレンジアミン、エタノール、オクタン、1,2-ジアミノシク
ロヘキサン、1,3-ジアミノシクロヘキサン、1,4-ジアミノシクロヘキサン、
 γ -ブチロラクタム、2-アミノピリジンを用い、25℃で測定した。

図 3-19 にアミド単分子膜に対する気体ゲスト化合物の吸着速度定数 k_1 、脱着速度定数 k_{-1} 、および結合定数 K のアルカン単分子膜との比、すなわちアミド膜とアルカン膜の吸着選択性を示した。明らかに、酢酸だけが $K_a(\text{CONH}_2) / K_a(\text{H}) = 19$ という大きな選択性でアミド膜に吸着したが、他の鎖長の長いカルボン酸やアミン類、エタノール、オクタンなどのアミド膜への吸着選択性は小さかった。アミド膜における酢酸の大きな結合定数比 $[K_a(\text{CONH}_2) / K_a(\text{H})]$ は、大きい吸着速度定数比 $[k_1(\text{CONH}_2) / k_1(\text{H})]$ と、小さな脱着速度定数比 $[k_{-1}(\text{CONH}_2) / k_{-1}(\text{H})]$ によるものであることがわかる。これは、第二章で述べたように、ゲストである酢酸とアミド膜との強い二点水素結合によるもので

あろう (図 3-21)。しかし、カルボン酸類のゲストで比べてみると、炭素鎖長が $n = 2, 6, 9$ と増えるに従い、アミド膜選択性 $K_a(\text{CONH}_2) / K_a(\text{H})$ は 19, 5, 0.3 というふうに減少していった。これは、鎖長が長くなるにしたがい、炭素鎖同士のファンデルワールス力により吸着分子が安定化しているために、膜表面のアミド基とゲストのカルボン酸基の相互作用による寄与が薄れているためではないかと考えられる。また、オクタンにおいてアミド膜選択性があまりないことから、ファンデルワールス力だけにより吸着している場合には膜による違いは出ないことが支持される。アミン類ゲストやエタノールもまたアミド膜にあまり選択性を示さなかったが、これはアミン-アミドおよびアルコール-アミドの水素結合が弱いため、アルカン膜との違いがあまりでなかったものと考えられる。

図 3-20 にカルボン酸単分子膜に対する気体ゲスト化合物の吸着速度定数 k_1 、脱着速度定数 k_{-1} 、および結合定数 K のアルカン単分子膜との吸着選択性を示した。カルボン酸単分子膜表面においても、酢酸は高選択的に吸着する [$K_a(\text{CONH}_2) / K_a(\text{H}) = 15$] のに対し、ヘキサン酸やノナン酸ではアルキル膜とカルボン酸膜との違いがあまり観察されなかった。これもまた、酢酸ではカルボン酸膜と水素結合 (図 3-22) することで、アルキル膜との違いが明確に現れたが、鎖長の長いカルボン酸ゲストではファンデルワールス力による寄与が大きいためあまり違いがなかったと考えられる。一方、アミン類ゲストの吸着においては、アミド膜とは異なり、エチレンジアミンもカルボン酸膜に選択的に吸着した。これは、エチレンジアミンはアミド膜では酸-塩基相互作用できないが、カルボン酸膜ではおそらくエチレンジアミンの二つのアミノ基と酸-塩基相互作用 (図 3-22) するため、アルカン膜との大きな違いが出たものと思われる。実際、Crooks らはカルボン酸膜表面にアミン類が吸着する際に、酸-塩基相互作用で吸着していることを外反射 IR スペクトルで観察している^{1b)}。ペンチルアミンやアニリンにおいてあまり吸着選択性が高くないのは、モノアミンのため膜との酸-塩基相互作用があまり強くないためではないかと考えられる。また、エタノールやオクタンではアミド膜の場合と同様に、あまり吸着選択性は高くなかった。これは、エタノールやオクタンがアミド膜と

同様にカルボン酸膜でも表面に弱く結合するためであると考えられる。

これらの動力学解析の結果と、上で述べた吸着等温線の傾向はほぼ対応するものであった。しかし、エチレンジアミンにおいて、動力学解析ではアミド膜には吸着しにくい吸着等温線ではアミド膜に単層吸着が起こっているような曲線が得られている。第二章の酢酸の吸着においても述べたように、吸着等温線は吸着第一層の配向状態に影響されると考えられるので、エチレンジアミンはアミド膜に弱く結合しているが、きれいに配向しているのかもしれない。

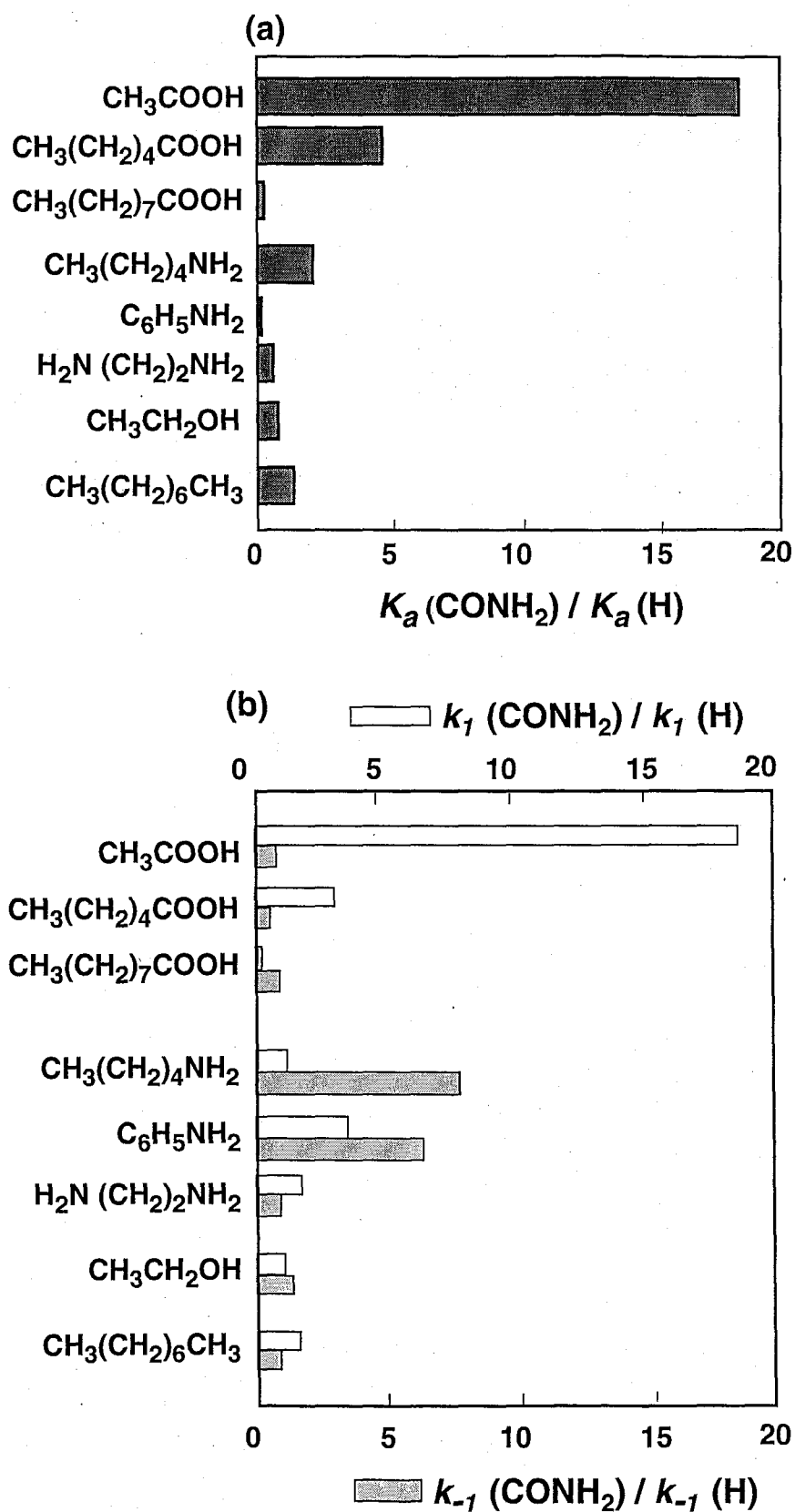


図 3-19 様々な有機気体ゲスト分子のアミド単分子膜とアルキル単分子膜への吸着における結合定数の比 (a) および動力学パラメーターの比 (b)

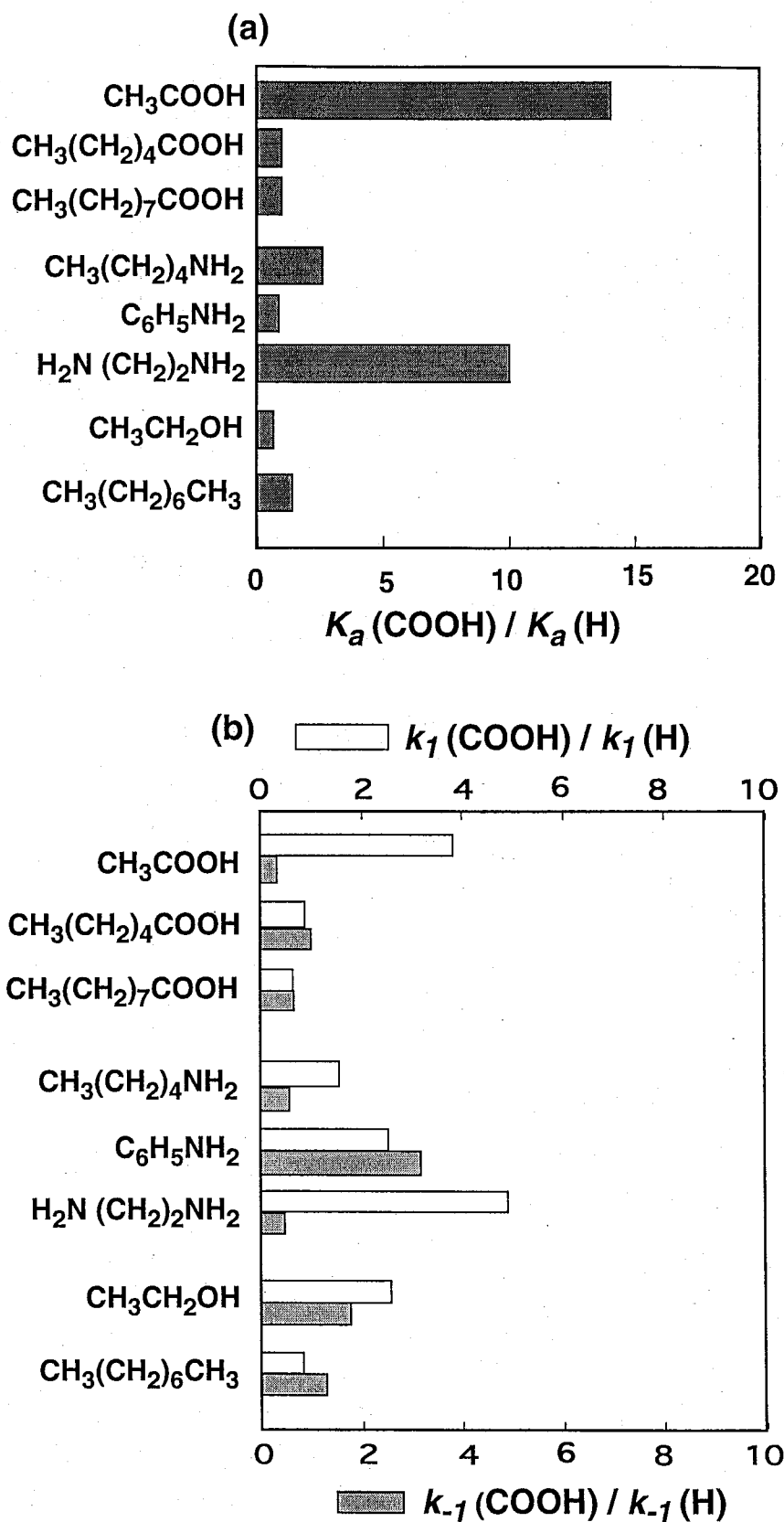


図 3-20 様々な有機気体ゲスト分子のカルボン酸単分子膜とアルキル単分子膜への吸着における結合定数の比 (a) および動力学パラメーターの比 (b)

Hydrogen Bond

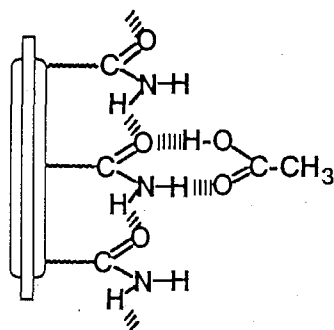


図 3-21 アミド単分子膜に対する酢酸の吸着状態の模式図

Hydrogen Bond Acid-Base Interaction

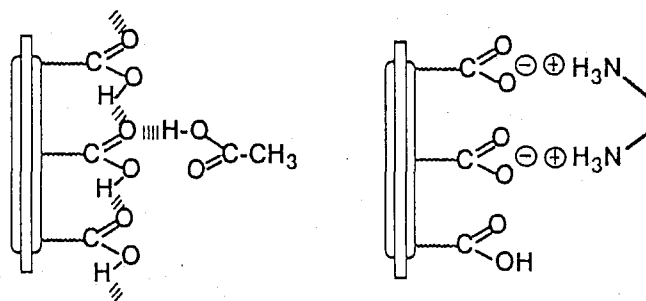


図 3-22 カルボン酸単分子膜に対する酢酸およびエチレンジアミンの吸着状態の模式図

3-4 ジアミノシクロヘキサン類の位置選択的吸着

前節において、エチレンジアミンがアミド膜にはあまり選択的に吸着しないが、カルボン酸膜に選択的に吸着すること、およびモノアミンではカルボン酸膜にあまり選択的に吸着しないことを述べた。すなわち、ジアミンであることがカルボン酸膜への酸-塩基相互作用による吸着選択性に大きく効いていると考えられる。このジアミンのカルボン酸膜への吸着がエチレンジアミンだから起こるのかを知るために、ジアミンの相対距離を変えてその吸着選択性を調べることにした。ジアミノシクロヘキサンの三つの位置異性体 (1,2-, 1,3-, 1,4-) はこの目的によくあう化合物である。というのも、環状化合物であるがゆえ、二つのアミンの相対距離が分子運動によりあまり変化しないと考えられるからである。なお、1,2-ジアミノシクロヘキサンは (±)-trans 体を、1,3- および 1,4-ジアミノシクロヘキサンは cis, trans 混合物を用いた。

図 3-23 に 1,2-, 1,3-, 1,4-ジアミノシクロヘキサンのカルボン酸膜およびアルキル膜への吸着等温線を示す。定性的に、カルボン酸膜とアルキル膜への吸着量の差は、1,2- > 1,3- > 1,4- であることがわかる。また、図 3-24 にそれぞれのジアミノシクロヘキサンのカルボン酸膜およびアルキル膜への吸着における緩和時間の逆数プロットを示し、そこから求められる吸着速度定数 k_f 、脱着速度定数 k_r 、結合定数 K_a を表 3-3 に、またそれらのカルボン酸膜対アルキル膜の比を表 3-4 にまとめた。この場合も、異性体によって飽和蒸気圧が異なり、飽和蒸気圧の低下によりアルカン膜への結合定数が増加しているのがわかる。そこで、蒸気圧の効果をキャンセルするために、ここでもカルボン酸膜対アルキル膜の比で吸着選択性を議論した。二つのアミノ基がしだいに離れるにしたがい、すなわち、1,2-, 1,3-, 1,4- となるにしたがい、吸着速度定数比 $k_f(\text{COOH}) / k_f(\text{H})$ は小さくなっていき、脱着速度定数比 $k_r(\text{COOH}) / k_r(\text{H})$ は大きくなっていくことにより、結合定数比 $K_a(\text{COOH}) / K_a(\text{H})$ は小さくなっていった。この傾向は吸着等温線の傾向と一致する。1,2-ジアミノシクロヘキサンの結合定数比 $[K_a(\text{COOH}) / K_a(\text{H}) =$

9] はエチレンジアミンのそれ $[K_a(\text{COOH}) / K_a(\text{H}) = 10]$ に匹敵するのに対し、1,4-ジアミノシクロヘキサンの結合定数比 $[K_a(\text{COOH}) / K_a(\text{H}) = 1.7]$ は一点で相互作用するペンチルアミンのそれ $[K_a(\text{COOH}) / K_a(\text{H}) = 1.1]$ に近づく。従って、エチレンジアミンや1,2-ジアミノシクロヘキサンのように二つのアミノ基が互いに隣り合った炭素上にある場合に、カルボン酸膜とおそらく二点酸-塩基相互作用することができ、大きな結合定数比を示すのに対して、1,4-ジアミノシクロヘキサンでは、おそらく立体的な要因によりカルボン酸膜と一点でしか酸-塩基相互作用できないため結合定数比が小さかったものと思われる（図 3-25）。

したがって、カルボン酸単分子膜はジアミノシクロヘキサンの位置異性体を識別し、1,2-ジアミノシクロヘキサンを選択的に結合したといえる。

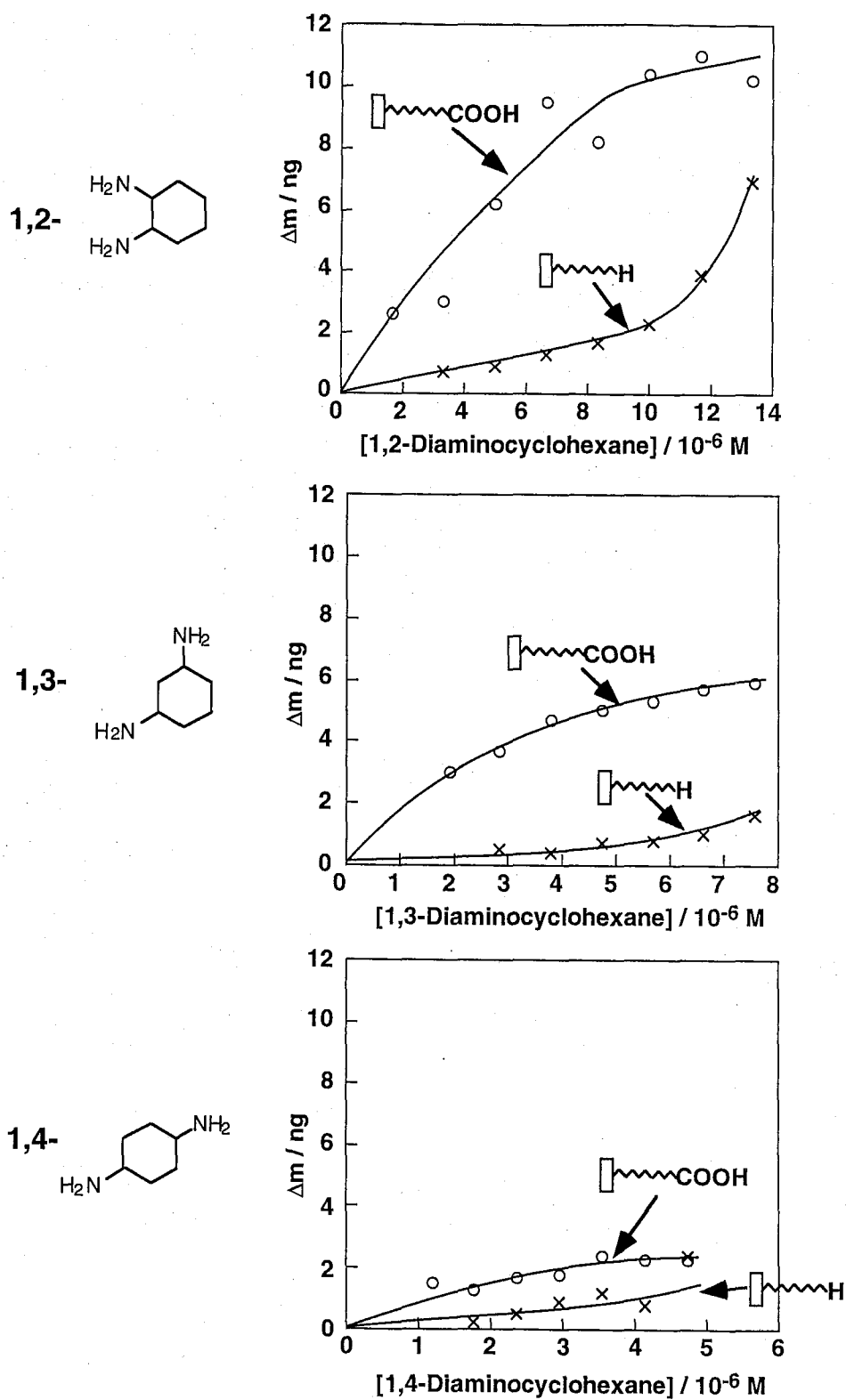


図 3-23 1,2- (上)、1,3- (中)、1,4- (下) ジアミノシクロヘキサンのカルボン酸膜およびアルキル膜に対する吸着等温線 (25°C)

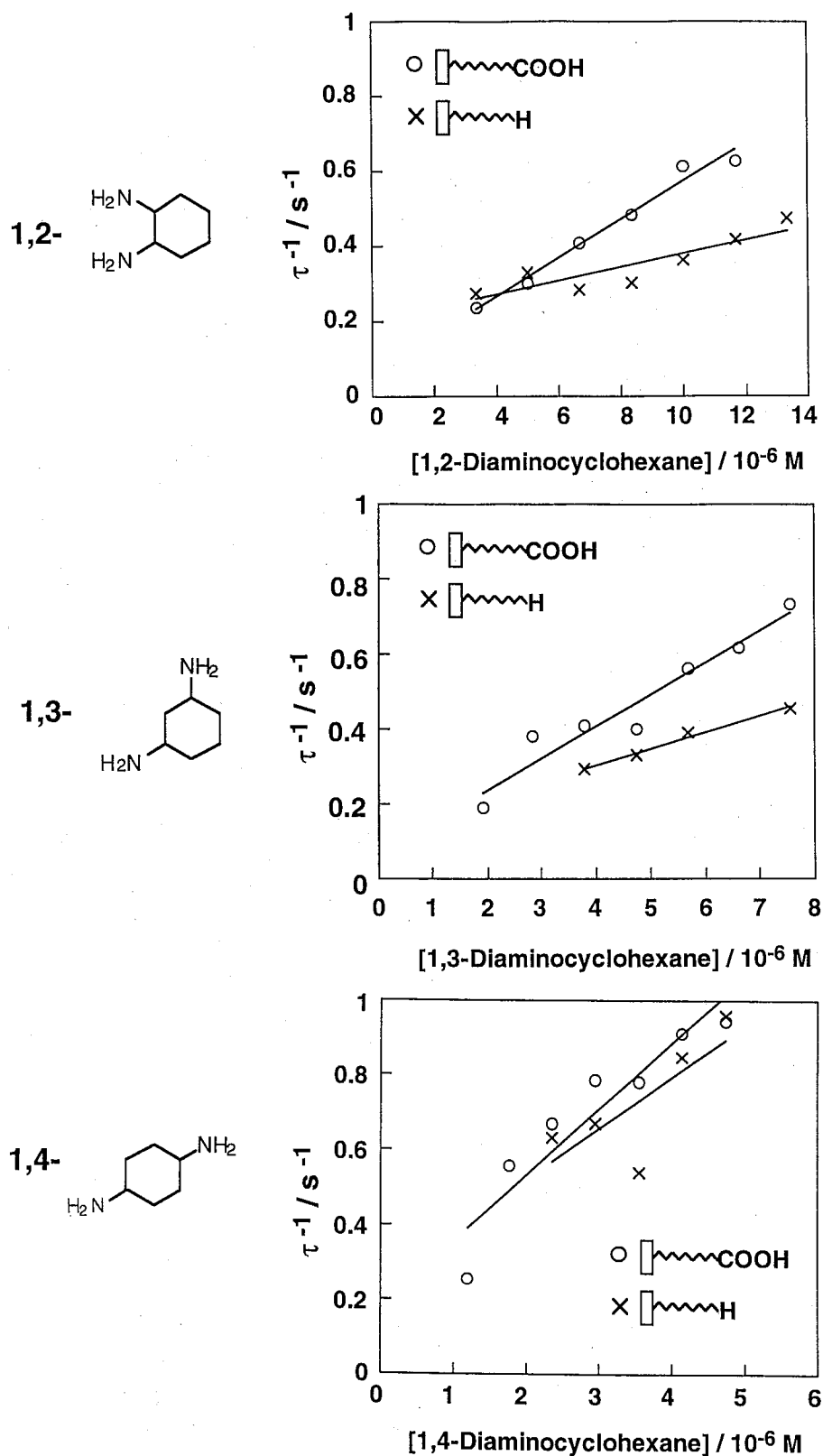


図 3-24 1,2- (上)、1,3- (中)、1,4- (下) ジアミノシクロヘキサンのカルボン酸膜およびアルキル膜への吸着における緩和時間の逆数プロット

表 3-3 ジアミノシクロヘキサンのカルボン酸およびアルキル単分子膜への吸着における動力学パラメーターと結合定数

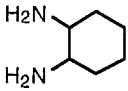
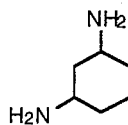
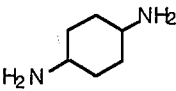
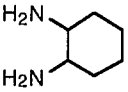
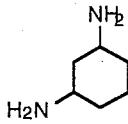
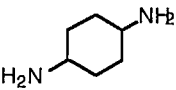
Guests						
	k_1 / $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$	k_{-1} / s^{-1}	K_a / 10^4 M^{-1}	k_1 / $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$	k_{-1} / s^{-1}	K_a / 10^4 M^{-1}
	5.1	0.063	81	1.8	0.20	9.0
	8.6	0.067	130	4.4	0.13	34
	18	0.18	100	14	0.24	58

表 3-4 ジアミノシクロヘキサンの吸着における動力学パラメーターと結合定数のカルボン酸膜とアルキル膜との比

Guests	$\frac{k_1 (\text{COOH})}{k_1 (\text{H})}$	$\frac{k_{-1} (\text{COOH})}{k_{-1} (\text{H})}$	$\frac{K_a (\text{COOH})}{K_a (\text{H})}$
	2.8	0.32	9.0
	1.9	0.52	3.7
	1.3	0.75	1.7

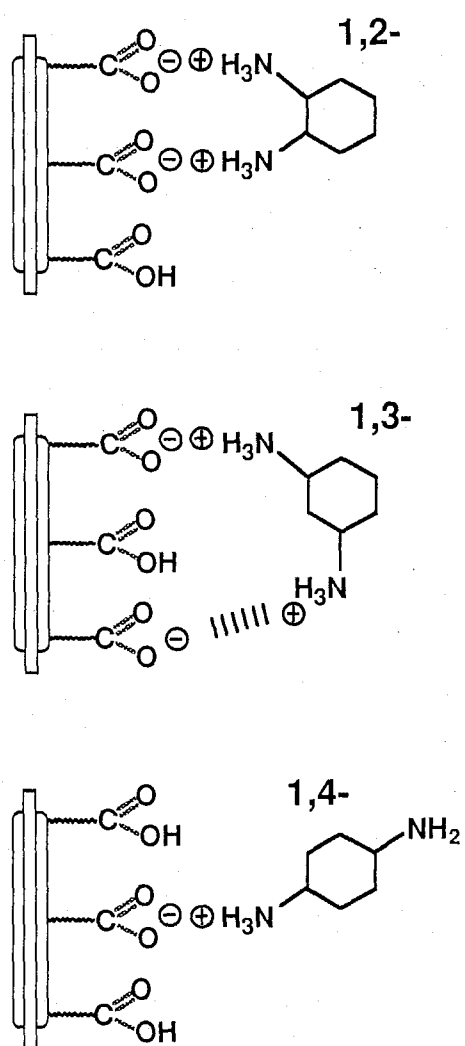


図 3-24 ジアミノシクロヘキサンのカルボン酸膜との相互作用の模式図

3-5 結論

本章では、7 次オーバートーン 9 MHz 水晶発振子を用いて、 $\text{HS}-(\text{CH}_2)_{10}-\text{X}$; $\text{X} = \text{H}, \text{COOH}, \text{CONH}_2$ の自己会合性単分子膜上への様々な有機気体ゲスト分子の吸着選択性を検討した。予想した通り、単分子膜表面へのゲスト分子吸着の結合定数はゲスト分子の飽和蒸気圧に依存した。そこで、アミドおよびカルボン酸単分子膜に対する動力学パラメーターおよび結合定数をアルカン単分子膜に対するそれで割ることで、蒸気圧による効果を補正し、ゲストによる表面官能基への吸着選択性を議論した。

有機気体ゲスト分子（酢酸、ヘキサン酸、ノナン酸、ペンチルアミン、アニリン、エチレンジアミン、エタノール、オクタン）のうち、アミド単分子膜に対しては酢酸が選択的に吸着したのに対し、カルボン酸単分子膜に対しては酢酸とエチレンジアミンが選択的に吸着した。酢酸は強い水素結合によりアミド膜およびカルボン酸膜のどちらとも吸着していると考えられるが、エチレンジアミンは酸-塩基相互作用によりカルボン酸膜に強く吸着し、そのためアミド膜にはあまり強く吸着しないものと考えた。酢酸と比較してヘキサン酸およびノナン酸が、アミド膜およびカルボン酸膜にあまり選択的に吸着しないのはアルキル鎖長が長いためにファンデルワールス相互作用が水素結合よりも大きく効いているためと考えた。エチレンジアミンと比較してペンチルアミンやアニリンがカルボン酸膜にあまり選択的に吸着しないのは、エチレンジアミンがカルボン酸膜と二点酸-塩基相互作用して強く吸着しているためと考えた。

また、カルボン酸膜に対するジアミノシクロヘキサンの三つの位置異性体 (1,2-, 1,3-, 1,4-) の吸着選択性を検討したところ、1,2-体がエチレンジアミンに匹敵する選択性でカルボン酸膜に吸着したのに対し、1,4-体ではペンチルアミンと同様にカルボン酸膜にあまり選択的ではなく、1,3-体はその中間であった。したがって、カルボン酸膜は二つのアミノ基の相対位置を識別し、エチレンジアミンや 1,2-ジアミノシクロヘキサンのように二つのアミノ基が隣り合った炭素上に存在するとき最も強く結合することがわ

かった。

以上のように、水晶発振子に固定したアミドやカルボン酸のような単純な官能基を末端に持つ自己会合性単分子膜は、カルボン酸やアミン類のような単純な気体分子を識別することがわかった。

参考文献

- 1) a) L. Sun, L. J. Kepley, and R. M. Crooks, *Langmuir*, **8**, 2101 (1992)
b) L. Sun and R. M. Crooks, *Langmuir*, **9**, 1775 (1993)
- 2) K. D. Schierbaum, T. Weiss, E. U. T. V. Velzen, J. F. J. Engbersen, D. N. Reinhoudt, and W. Göpel, *Science*, **256**, 1413 (1994)
- 3) 日本化学会編, "改訂3 版 化学便覧 基礎編 II", p.118, 丸善, 1984
- 4) 日本化学会編, "第4版 実験化学講座 (4) 熱・圧力", 第9章, 丸善, 1991

第四章 核酸塩基を末端に持つ自己会合性単分子膜と核酸塩基類似ゲストの間でおこる分子認識

4-1 緒言

水素結合による分子認識は、タンパク質-低分子化合物、核酸-核酸、核酸-タンパク質のような生体内における様々な特異的な相互作用において重要な役割を演じている。核酸塩基はアデニン(A)-チミン(T) (ウラシル(U))、グアニン(G)-シトシン(C)といった相補的な水素結合により、安定な二重らせん構造を形成し、その遺伝情報を保存することに貢献している¹⁾。核酸塩基の水素結合は DNA や RNA といった生体高分子においては水中で安定に形成するが、ヌクレオチド単独では水中で水素結合を形成しない。しかし、核酸塩基の誘導体が誘電率の低い有機溶媒中で水素結合し、核酸塩基の相補性が水素結合の強さによるものであることが NMR などを使った多くの研究により知られて

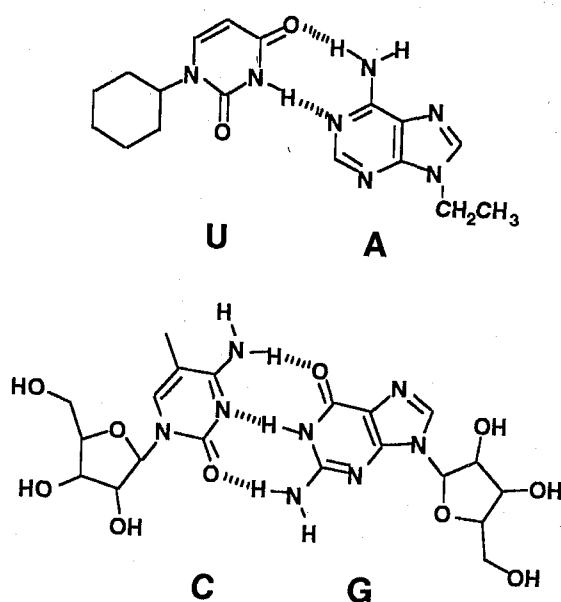
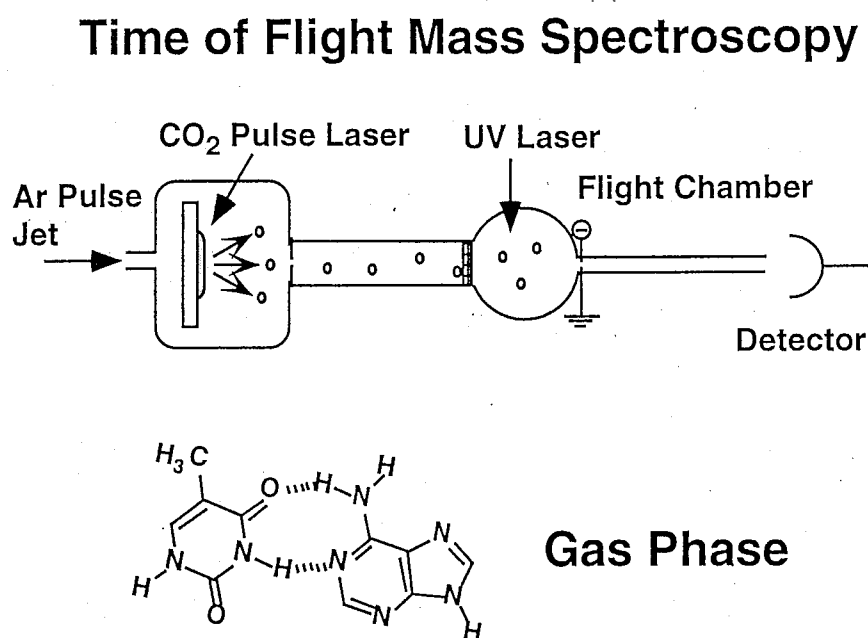


図 4-1 有機溶媒中での相補的核酸塩基対の水素結合形成²⁾

クロロホルム中、25 °Cにおいて、 $K(\text{AU}) = 140 \text{ M}^{-1}$ ，
 $K(\text{GC}) = 10^4 \sim 10^5 \text{ M}^{-1}$ で選択的に結合する。

いる (図 4-1)²⁾。つまり、有機溶媒中においてもアデニン(A)はチミン(T) (ウラシル(U)) と最も安定に水素結合を形成し、グアニン(G)はシトシン(C)と最も安定に水素結合を形成する。最近、Rebek Jr.³⁾や Hamilton ら⁴⁾は、有機溶媒中における核酸塩基の選択的水素結合形成を利用あるいは模倣して様々な分子認識人工レセプターの開発に成功している。

一方、量子化学による理論計算により、真空中 (気相中) においても核酸塩基は相補的に水素結合することが予測されている⁵⁾。しかしながら、気相中における核酸塩基間の相補的水素結合を実験的に観察した例はほとんどなかった。最近、Grotemeyer らは、Time-of-Flight マススペクトル (TOF-MS) により気相中において核酸塩基が相補的に水



A-T > A-A , T-T

1.1 0.6 0.6
(relative intensity)

図 4-2 Time of Flight Mass Spectroscopy (TOFMS) による気相中での相補的塩基対の形成の観察⁶⁾

素結合を形成していることを示唆する結果を示した (図 4-2) ⁹⁾。しかし、この方法は核酸塩基が一部イオン化されているため中性分子同士の相互作用を見ているわけではない。事実、彼らが報告しているマスペクトルの相対強度は、例えば、A-T (1.1) > A-A (0.6) > T-T (0.6) というように選択性に乏しく、有機溶媒中で観察された選択性や理論計算から予測されるものと大きく違っている。また、この方法では結合の相対安定性を議論できるだけで、絶対値を議論することはできない。さらに、結合の動力学などの定量的議論はできない。

二章および三章で示したように、7 次オーバートーン 9 MHz 水晶発振子は気相中の分子認識を定量的かつ経時的に解析するのに適したデバイスである。本章では、7 次オーバートーン 9 MHz 水晶発振子上にチミンおよびアデニンのような核酸塩基を末端に持つ自己会合性単分子膜を作製し、核酸塩基の気相での分子認識の動力学解析をおこない、気相中で核酸塩基の相補的水素結合が起こるかどうかを検討した (図 4-3)。一般に、核酸塩基は常温・常圧では気化しないため、ここでは核酸塩基と同じような水素結合部位を有するモデル化合物で実験することにした。すなわち、チミン(T)のモデルとして γ -ブチロラクタムを、アデニン(A)のモデル化合物として 2-アミノピリジンを選んだ。また、比較としてチミンおよびアデニンと一点でしか水素結合できないと考えられるアニリンの吸着も検討した。また、単分子膜中における核酸塩基含量の効果や分子力場計算との比較もおこなった。

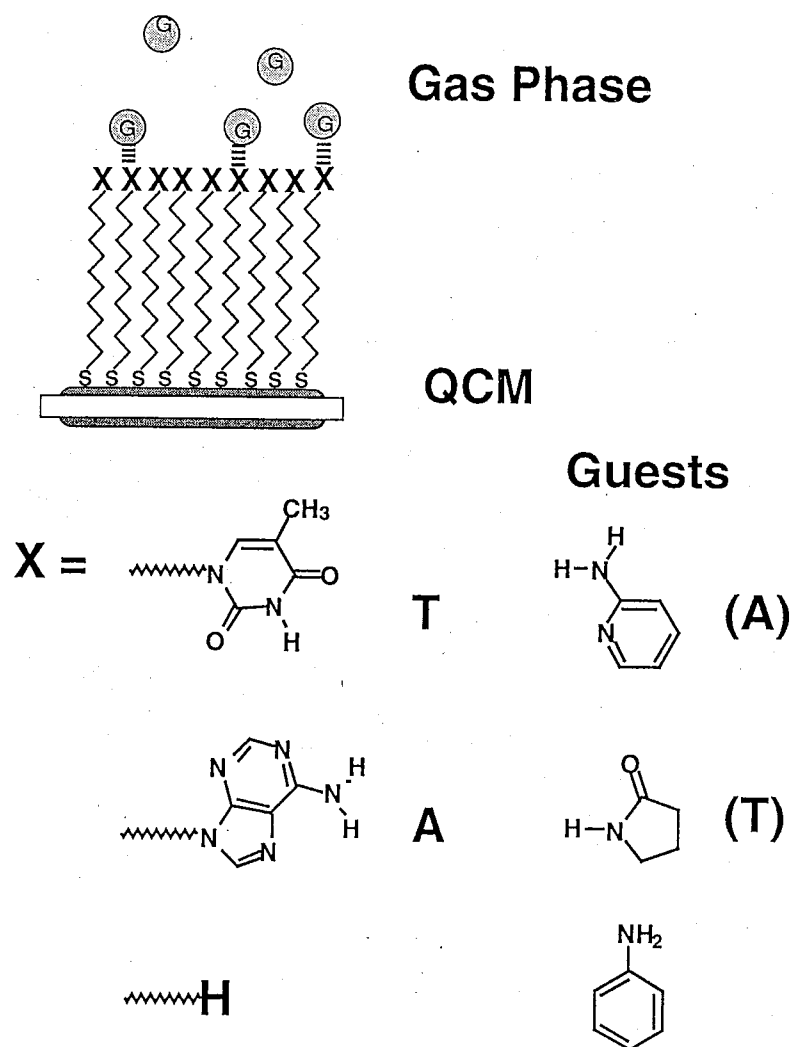
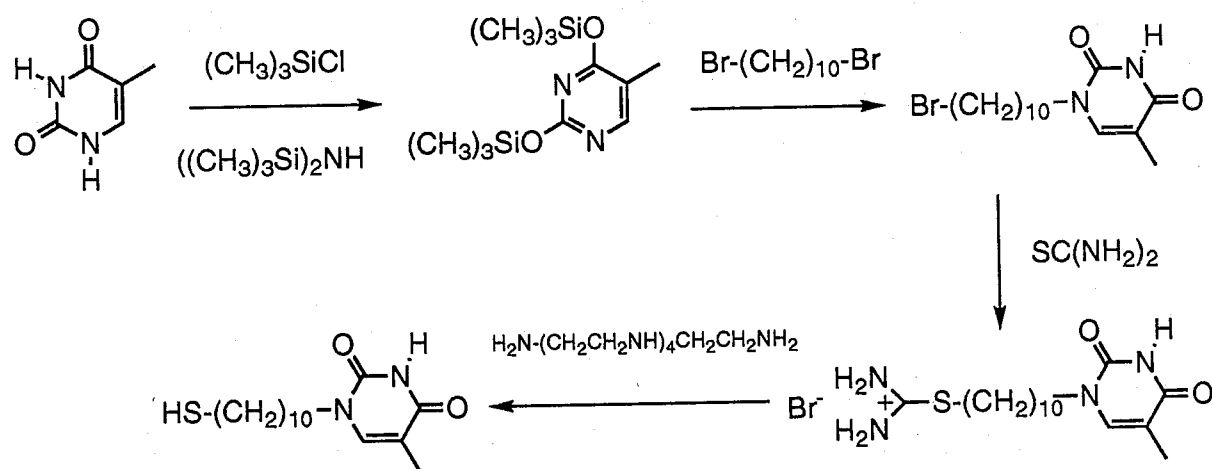


図 4-3 水晶発振器を用いた核酸塩基を末端に持つ自己会合性単分子膜上での気相中の核酸塩基モデル化合物の分子認識

4-2 チミンおよびアデニンを末端に持つチオール化合物の合成

水晶発振子の金電極上に核酸塩基を末端に持つ自己会合性単分子膜を作製するために、チミンおよびアデニンを持つチオール化合物を合成した。化合物の分析は、2-2 節で述べた機器を用いておこなった。

4-2-1 1-(10'-メルカプトデシル) チミンの合成



a) チミン ビス(トリメチルシリル) エーテルの合成

冷却管を取り付けた 300 mL ナス型フラスコに チミン (10.0 g, 0.0793 mol)、1, 1, 1, 3, 3, 3-ヘキサメチルジシラザン (38.41 g, 0.238 mol)、トリメクロロチルシラン (4.30 g, 0.0396 mol) を入れ、20 時間還流した。反応系は終始不均一であり、塩化アンモニウムと思われる白煙が冷却管中に生じた。放冷後、反応液の揮発成分をエバポレートして、白色半固体状物質 (21.45 g) を得た。特に分析は行わずに、これを次の反応にそのまま使用した。

b) 1-(10'-ブロモデシル) チミンの合成

チミン ビス(トリメチルシリル) エーテル (21.45 g, 0.079 mol) の入った 300 mL ナス型フラスコに 1, 10-ジブロモデカン (71.41 g, 0.283 mol) と N, N- ジメチルホルムアミド (40 mL) を加え、冷却管を取り付け、約 80 °C で 24 時間攪拌した。反応中、反応液は黄色から黒に変化した。その後、反応液を氷水 (300 mL) 中にあけ、30 分攪拌した。水層をある程度デカンテーションで取り除き、残りをジクロロメタンで抽出し、水層が中性になるまで水洗、無水硫酸ナトリウム上で脱水、ろ過後、ジクロロメタンをエバポレートした。残渣の黒色液体から 1,10-ジブロモデカンを減圧留去し (105-120 °C / 0.2 mmHg)、残渣として黒色粘稠物 (28.5 g) を得た。これを -10 °C の n-ヘキサン中でトリチュレートして茶色の固体にした。これを ヘキサン / 酢酸エチル (8 / 2) で熱ろ過再結晶し、精製品を得た。

収量 : 3.99 g (14.6 %)

融点 : 95~99 °C

TLC-FID (benzene / ethyl acetate = 8 / 2) : $R_f = 0.4$

$^1\text{H-NMR}$ スペクトル (CDCl_3 , TMS) : δ 8.1 (br s, 1H), 7.0 (s, 1H), 3.7 (t, 2H), 3.4 (t, 2H), 1.9 (s, 3H), 1.2~1.8 (m, 16H)

c) 1-(10'-メルカプトデシル) チミンの合成

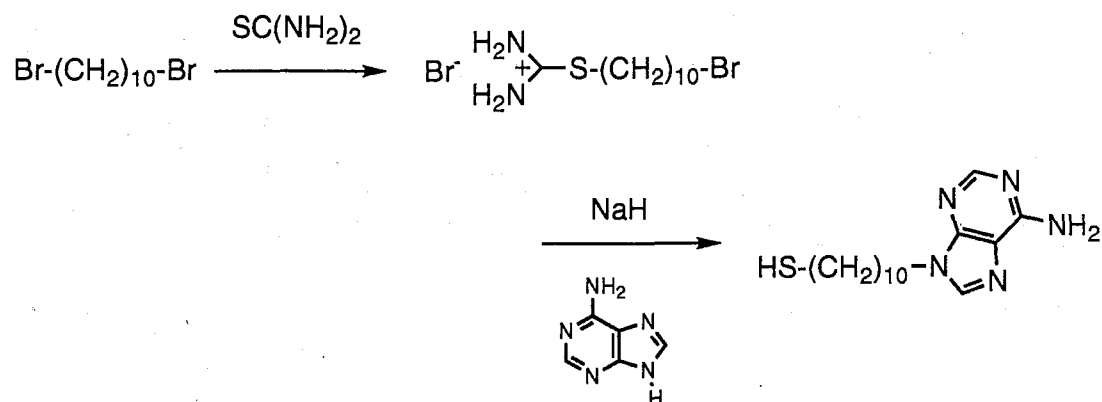
100 mL ナス型フラスコに 1-(10'-ブロモデシル) チミン (1.00 g, 2.90 mmol)、チオ尿素 (0.243 g, 3.19 mmol)、エタノール (3 mL) を入れ、2 時間還流した。放冷後、ペンタエチレンヘキサミン (0.673 g, 2.896 mmol) のエタノール (2 mL) 溶液を加え、1 時間還流した。放冷後、クロロホルムで抽出、水層が中性になるまで水洗、無水硫酸ナトリウム上で脱水、ろ過後、クロロホルムをエバポレート、真空乾燥して白黄色固体 (0.93 g) を得た。これをヘキサン / 酢酸エチル (8 / 2) 溶液で熱ろ過再結晶して (熱時ろ過の際、溶けない黄色い粘稠物を除いた)、白色結晶を得た。

収量：0.201 g (23.3 %)

融点：105~107 °C

^1H -NMR スペクトル (CDCl_3 , TMS) : δ 8.6 (br s, 1H), 7.0 (s, 1H), 3.7 (t, 2H), 2.5 (t, 2H), 1.9 (s, 3H), 1.2~1.8 (m, 17H)

4-2-1 9-(10'-メルカプトデシル) アデニンの合成



a) 10-ブロモデシルイソチオウロニウム ブロミドの合成

200 mL ナス型フラスコに 1,10-ジブロモデカン (20.0 g, 0.0667 mol)、チオ尿素 (1.016 g, 0.0133 mol)、およびエタノール (40 mL) を入れ、2 時間還流した。放冷後、エタノールをエバポレートし、過剰の 1,10-ジブロモデカンを減圧留去により除いた (122-125 °C / 2 mmHg)。その後、蒸留残渣である黒色粘稠物をヘキサン (100 mL) で煮沸洗浄し、ヘキサンをデカンテーションにより除いた後、残渣 (黒色粘稠) をエタノールに溶解させ、エバポレート、真空乾燥して黒色の固体 (5.24 g) を得た。さらにこれをベンゼンで熱抽出し、不溶成分 (黒色粘稠物) をろ過で除いた。ろ液中のベンゼンをエバポレートし、真空乾燥してクリーム色固体を得た。なお、再結晶を試みたがうまくいかなかった。

収量 : 3.81 g (76.2 %)

融点 : 72~76 °C

TLC-FID (chloroform / methanol = 10 / 1 + NH₃) : R_f = 0.6

¹H-NMR スペクトル (CDCl₃, TMS) : δ 9.0 (br s, 2H), 7.9 (br s, 2H), 3.4 (t, 2H),
3.3 (t, 2H), 1.2~2.0 (m, 16H)

b) 9-(10'-メルカプトデシル) アデニンの合成

200 mL ナス型フラスコにアデニン (2.73 g, 0.0202 mol)、水素化ナトリウム (60% oil dispersion) (0.808 g, 0.0202 mol)、dry DMF (50 mL) を入れ室温で 30 分攪拌した。この白色懸濁液に 11-ブロモデシルイソチオウロニウム ブロミド (3.80 g, 0.0101 mol) の dry DMF (20 mL) 溶液を 5 分間かけて室温で滴下した。このとき反応液は白色懸濁から黄土色懸濁に変化した。この懸濁液を 42 h 攪拌した。これにメタノールを少量加えた後、クロロホルムで有機物を抽出、水層が中性になるまで水洗、有機層を無水硫酸ナトリウムで脱水、ろ過し、溶媒をエバポレート、減圧乾燥して黄色固体 (2.20 g) を得た。これをメタノールから熱時ろ過後再結晶して、白黄色の固体として目的物を得た。

収量 : 0.51 g (16 %)

融点 : 81 ~ 84 °C

TLC-FID (chloroform / methanol = 10 / 1 + NH₃) : R_f = 0.2

¹H-NMR スペクトル (CDCl₃, TMS) : δ 8.4 (s, 1H), 7.8 (s, 1H), 5.5~5.7 (br d, 2H),
4.2 (t, 2H), 2.5 (t, 2H), 1.2~2.0 (m, 17H)

4-3 実験方法

水晶発振子、発振回路、測定装置、測定方法は基本的に 2-3 節で述べたものと同様である。

4-2 節で合成した 1-(10'-メルカプトデシル) チミンの水晶発振子金電極上への固定化は、2-3 節で述べたものと同様に、pyranha 溶液で処理した水晶発振子を 1-(10'-メルカプトデシル) チミンの 5 mM エタノール溶液に約 12 時間浸漬することによりおこなった。一方、9-(10'-メルカプトデシル) アデニンの場合は、エタノールには溶けにくいため、5 mM エタノール/クロロホルム = 1/3 (v/v) 溶液から同様にして固定化した。

チミンおよびアデニンの長軸はアルキル鎖の直径よりも大きい、厚さはアルキル鎖の直径よりも薄いと考えられるので、これらの化合物の分子占有面積を（核酸塩基の長軸）×（アルキル鎖の直径）として計算した。チミンの長軸は 6.3 Å であるので、1-(10'-メルカプトデシル) チミンの分子占有面積は 28.4 Å² と計算され、アデニンの長軸は 7.9 Å であるので 9-(10'-メルカプトデシル) アデニンの分子占有面積 35.6 Å² と計算された。これを基にしてそれぞれの水晶発振子金電極上への理論固定化量は 1-(10'-メルカプトデシル) チミンで 46 ng、9-(10'-メルカプトデシル) アデニンで 56 ng と計算された。固定化前後の振動数変化から求められた固定化量は 1-(10'-メルカプトデシル) チミンで 99 ng、9-(10'-メルカプトデシル) アデニンで 125 ng となり理論量の約 2 倍の値となった。しかし、水晶発振子の表面は約 2 の凹凸度があることが知られており、よってこの場合、それぞれの核酸塩基含有チオール化合物は水晶発振子の金電極上に 100% 固定化されていると考えた。

ゲスト化合物の 25℃ における飽和蒸気圧は、アニリンの場合は既知であるが、γ-ブチロラクタムおよび 2-アミノピリジンの場合はデータがないため、3-2 節で述べた方法で 25℃ における飽和蒸気圧を測定した。25℃ において流量 2.1 L min⁻¹ で窒素をキャリアーガスとして流したときの試料重量の減少量の時間依存性を図 4-4 に示す。この直

線の傾きから、式 (16) により25℃における気相濃度および飽和蒸気圧を求め、アニリンのデータとともに表 4-1 にまとめた。

水晶発振子に固定した単分子膜上へのゲスト分子の吸着挙動の解析は原理的には2-3節で述べたものと同様であるが、3-2節でも述べたように、ゲスト分子の吸着の経時変化を緩和法で解析する際に、多くの場合、式 (14) のように一つの指数関数ではなく、その線形結合で表される式にフィットした。しかしここでも、議論を単純化するため特異的な（単層）吸着と考えられる速い過程のみをカーブフィッティングし、その緩和時間の逆数プロットから、動力学パラメーターを求めた。

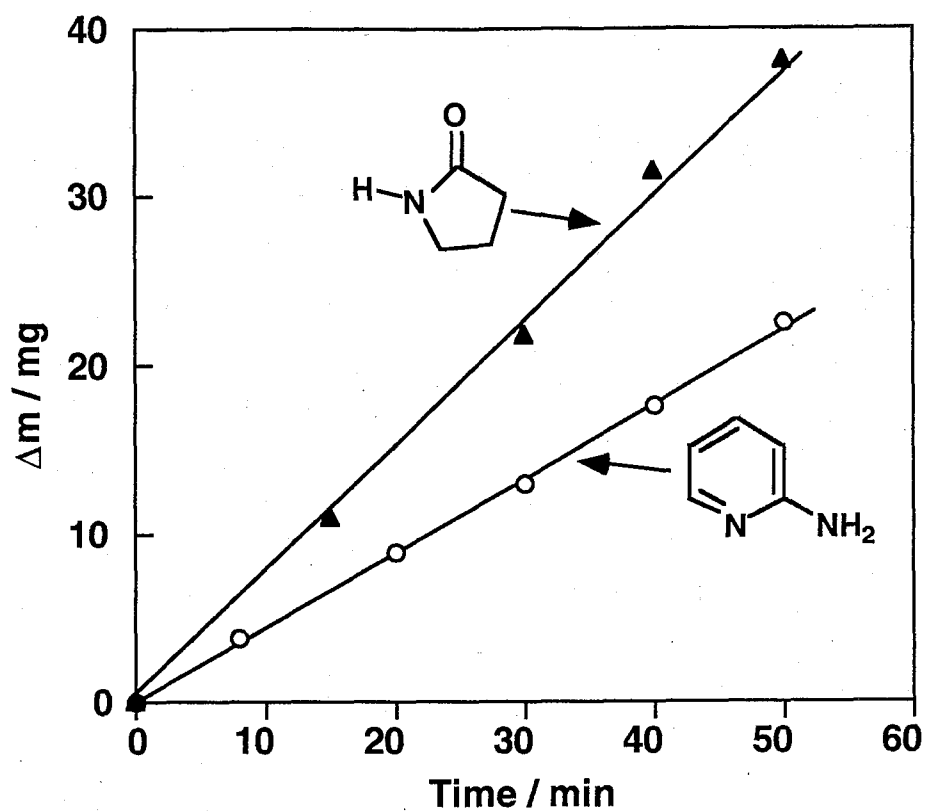
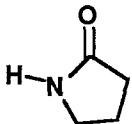
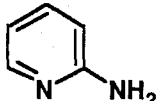


図 4-4 核酸塩基モデル化合物の気相濃度検量線 (25°C, $u = 2.1 \text{ L min}^{-1}$)

表 4-1 核酸塩基モデルゲスト化合物の 25 °C における飽和気相濃度および飽和蒸気圧

Compounds	Conc. / 10^{-6} M	$P_{\text{sat}} / \text{mmHg}$
γ -Butyrolactam 	4.27	0.0794
2-Aminopyridine 	2.26	0.0419

4-4 核酸塩基を末端に持つ自己会合性単分子膜上で起こる気相分子認識

水晶発振子上に固定化したチミンを末端に持つ自己会合性単分子膜への、気相ゲスト濃度 1.4×10^{-6} M, 25 °Cにおける2-アミノピリジン、 γ -ブチロラクタム、およびアニリンの吸着の経時変化を図 4-5 に示す。この気相濃度において、チミン膜にはアデニンのモデルである 2-アミノピリジンがチミンのモデルである γ -ブチロラクタムおよびアニリンよりも多く吸着していることが明らかである。一方、同条件下におけるアルキル単分子膜へのこれらの気相ゲストの吸着は、ゲストによらずほぼ同じような吸着の経時変化を示した (図 4-6)。したがって、2-アミノピリジンは単分子膜上のチミン塩基と特異的に相互作用していると考えられる。また、図 4-7 にチミン、アデニン、アルキルの各単分子膜に対して 2-アミノピリジンを吸着させたときの経時変化を示す。これから明らかに、2-アミノピリジンがチミン膜に選択的に吸着していることがわかる。

図 4-8 にチミン、アデニン、およびアルカン膜への各気体ゲスト分子 (2-アミノピリジン、 γ -ブチロラクタム、アニリン) の吸着等温線を示す。アデニンのモデルである 2-アミノピリジンはチミン膜に多く吸着する傾向にあるのに対し、チミンのモデルである γ -ブチロラクタムはチミン膜よりもアデニン膜に多く吸着した。アニリンの吸着においてはアデニン膜とチミン膜の違いはあまり観察されなかった。したがって、2-アミノピリジンと γ -ブチロラクタムというモデル化合物がそれぞれ相補的な塩基を持つ単分子膜を識別しているといえる。

図 4-9 にチミン膜に対する様々な濃度における 2-アミノピリジンの吸着の経時変化を示す。これらをカーブフィッティングし、それぞれの緩和時間を求めた。チミン、アデニン、およびアルカン膜への各気体ゲスト分子 (2-アミノピリジン、 γ -ブチロラクタム、アニリン) の吸着における緩和時間の逆数プロットを図 4-10 に示す。そこから求められる吸着速度定数 k_f 、脱着速度定数 k_r 、および結合定数 K_a を表 4-2 にまとめた。また、蒸気圧の効果を補正するために、チミンおよびアデニン膜に対する動力学パラメーターをアルキル膜のそれで割った値も同時に表 4-2 に示した。

まず、一つの単分子膜に対するゲストの選択性を議論する。チミン膜に対しては、アデニンのモデルである 2-アミノピリジンが、チミンのモデルである γ -ブチロラクタムやアニリンよりも二桁大きい結合定数 K_a で吸着した。この 2-アミノピリジンの大きい結合定数は、 γ -ブチロラクタムやアニリンに比べ、一桁大きい吸着速度定数 k_f と 1-order 小さい脱着速度定数 k_r によるものであることがわかる。それに対して、アデニン膜に対してはチミンのモデルである γ -ブチロラクタムがアデニンのモデルである 2-アミノピリジンやアニリンよりも大きい結合定数で吸着した。これは主に脱着速度定数 k_r の効果であると考えられる。チミン膜の場合の 2-アミノピリジンと γ -ブチロラクタムの選択性 (約 10^2 倍) と比較してアデニン膜の場合は絶対値で 6 倍程 (蒸気圧の効果を補正して 12 倍程度) という低い選択性であったが、これは、アデニン膜に対する 2-アミノピリジンの吸着速度定数 k_f が依然として大きいためであると考えられる。このように、チミン膜に対してはアデニンのモデルである 2-アミノピリジンが、アデニン膜に対してはチミンのモデルである γ -ブチロラクタムが選択的に吸着した。よって、核酸塩基の相補性を反映している結果といえる。一方、核酸塩基を持たないアルキル単分子膜に対してはゲスト分子の違いによる結合定数 K_a の違いはあまりなく、蒸気圧の低い順に結合定数が多少大きくなる傾向が観察された。したがって、結合定数に及ぼすゲストの蒸気圧の効果は小さいことがわかる。よって、チミン膜およびアデニン膜において観察されたゲストの違いによる結合定数の違いは、蒸気圧の効果ではなく単分子膜表面の核酸塩基による相補的な水素結合によるものであると考えられる。このことは、チミンおよびアデニン膜での結合定数をアルキル膜での結合定数で割った値 (K_T/K_H および K_A/K_H) が依然として大きな選択性を示していることから明らかである。したがって、単分子膜表面の核酸塩基は相補的な水素結合をするゲスト化合物を認識しているといえる。

次に、一つのゲストに対する、単分子膜による違いを議論する。ゲストがアデニンのモデルである 2-アミノピリジンの場合、より小さい脱着速度定数 k_r の効果によりチミン膜に強く吸着し、アデニン膜には脱着速度定数 k_r が大きいため結合定数 K_a が小さく、アルキル膜への結合定数とそれほど変わらなかった。それに対して、チミンのモデ

ルである γ -ブチロラクタムの場合は逆にアデニン膜への結合定数がチミン膜に対するそれよりも大きく、それは吸着速度と脱着速度で効いていることがわかる。一方、一点水素結合しかできないアニリンでは単分子膜による違いはあまり観察されなかった。したがって、ゲスト化合物は相補的な水素結合を形成する核酸塩基単分子膜を認識しているといえる。

上で述べたように、チミン膜にはアデニンのモデルである 2-アミノピリジンが強く結合し、チミンのモデルである γ -ブチロラクタムの結合は弱かった。逆にアデニン膜には γ -ブチロラクタムがより強く結合し、2-アミノピリジンの結合は弱かった。

γ -ブチロラクタムとチミン膜の水素結合や2-アミノピリジンとアデニン膜との水素結合は、2-アミノピリジンとチミン膜および γ -ブチロラクタムとアデニン膜のような場合と同様に、二点水素結合できると考えられるが、これらの結合定数はどちらの膜とも一点水素結合しかできないと考えられるアニリンと同程度の値を示した。これはチミンモデルである γ -ブチロラクタムとチミン塩基の二点水素結合および2-アミノピリジンとアデニン膜の二点水素結合が非常に弱いためと考えられる。水素結合の数が同じでも、構成分子の電子的性質によりその強度は大きく変化することが知られており、一般に、

「電子相補性」と呼ばれている⁷⁾。実際、Kyogoku ら^{2a,b)}は、チミン塩基と構造が類似している1-シクロヘキシルウラシル (1-chU) と 9-エチルアデニン (9-eA) の25℃におけるクロロホルム中での水素結合形成を IR 滴定法により定量し、1-chU と 9-eA の結合定数が $K_{UA} = 140 \text{ M}^{-1}$ であるのに対し、1-chU 同士では $K_{UU} = 6.1 \text{ M}^{-1}$ 、9-eA 同士では $K_{AA} = 3.1 \text{ M}^{-1}$ であることを示している。また、Binford Jr. ら⁸⁾のカロリメトリーによる方法や、Hammes ら⁹⁾の超音波吸収法によるクロロホルム中における測定でも同様の結果が得られている。すなわち、ウラシルとアデニンは電子相補的であるといえる。本実験で得られた結果は、 γ -ブチロラクタムと2-アミノピリジンの吸着選択性がチミン塩基において約 10^2 倍の選択性、アデニン塩基においてはなぜか小さいが約 10 倍の選択性が見られていることは、上記の傾向と似ている。したがって、本実験における核酸塩基類似物の気相からの核酸塩基単分子膜への塩基選択的吸着もまた、そのような電子相補性

を反映した結果ではないかと考えられる。

このように本実験で得られた気相系における核酸塩基の分子認識の選択性は、クロロホルムのような有機溶媒中での値とほぼ一致する。そのような傾向は、Sawada らが報告しているマスペクトルを用いた気相キラル認識においても観察されている¹⁰⁾。しかし、気相系での結合定数の絶対値は $10^5 \sim 10^7 \text{ M}^{-1}$ となり、クロロホルム中での値 ($10^0 \sim 10^2 \text{ M}^{-1}$) よりもかなり大きいことがわかる。一般に、誘電率が低い媒体にある方が水素結合は強まると考えられるが、両者において誘電率はそれほど変わらないと考えられるので、その効果は小さいと考えられる。したがって、これは、気相系では溶媒がないために吸着分子と単分子膜との衝突確率が高いためか、あるいは、ゲスト分子の蒸気圧が低いために気体が表面で液体になる凝集力が効いているためではないかと考えられる。

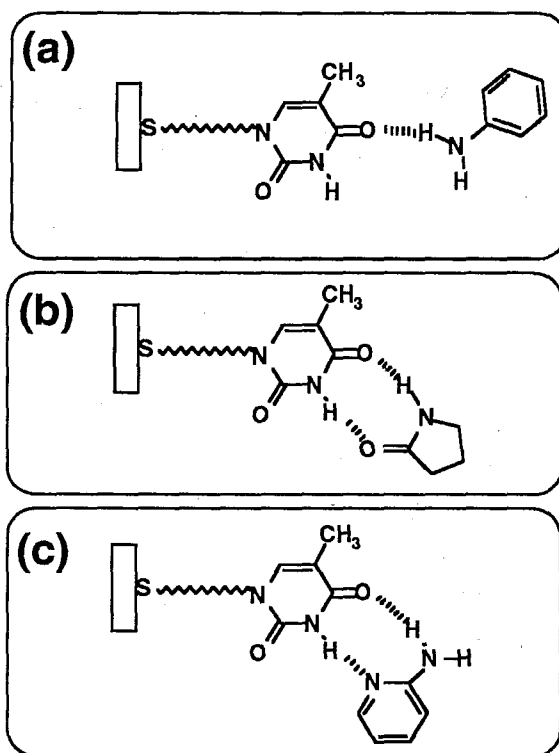
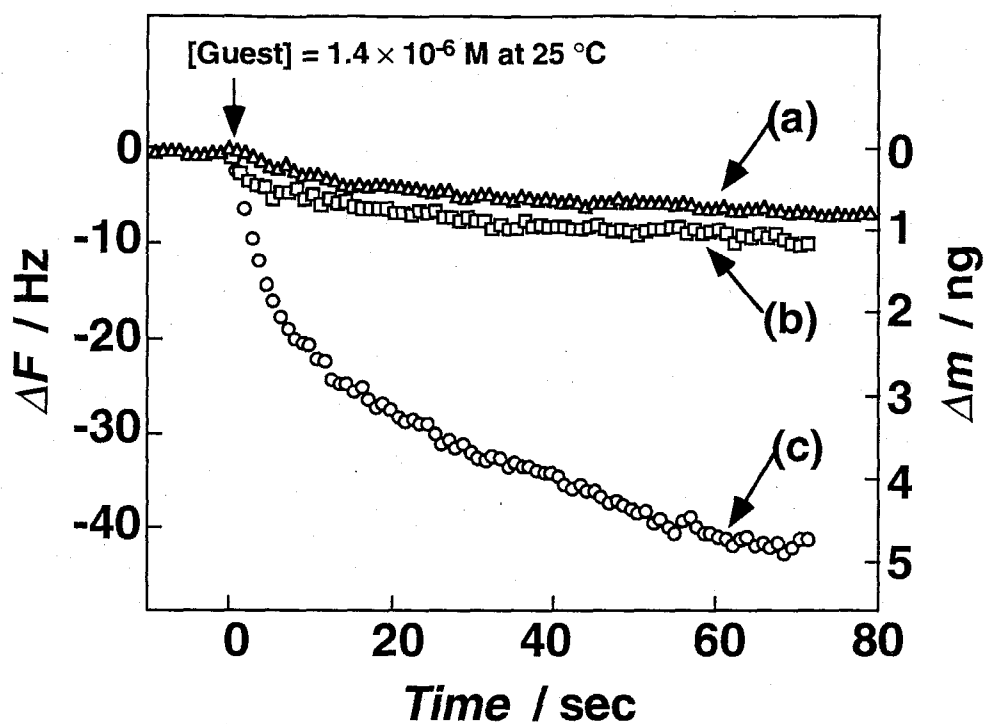


図 4-5 チミン塩基を末端に持つ単分子膜へのゲスト化合物の吸着による典型的な振動数の経時変化 (25 °C, [Guest] = 1.4×10^{-6} M)
(a) アニリン, (b) γ-ブチロラクタム, (c) 2-アミノピリジン

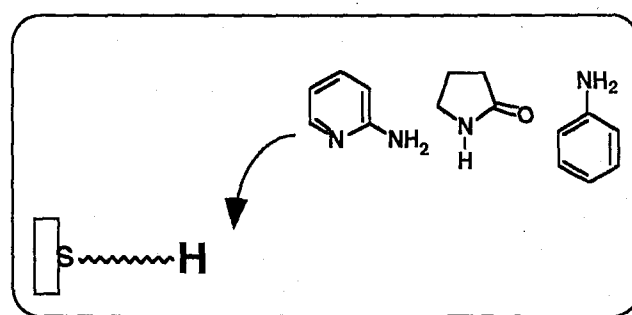
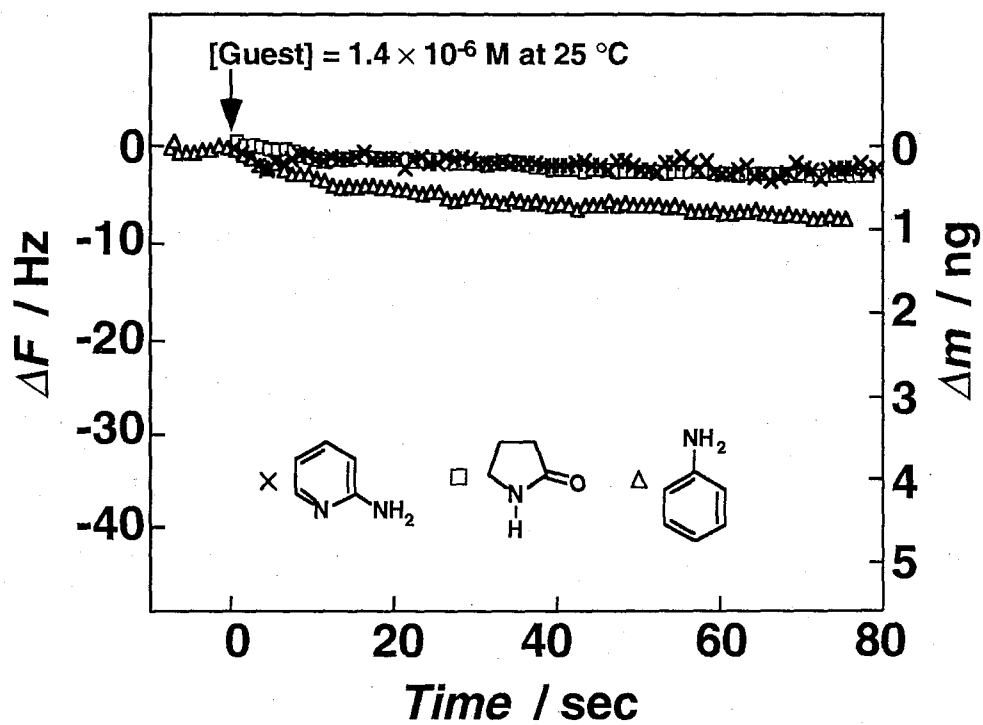


図 4-6 アルキル単分子膜へのゲスト化合物の吸着による典型的な振動数の経時変化
(25 °C, [Guest] = 1.4×10^{-6} M)

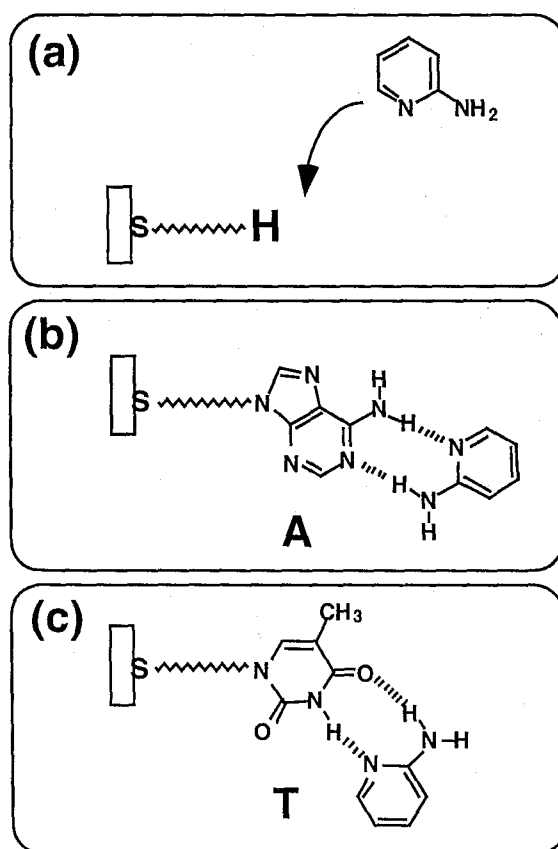
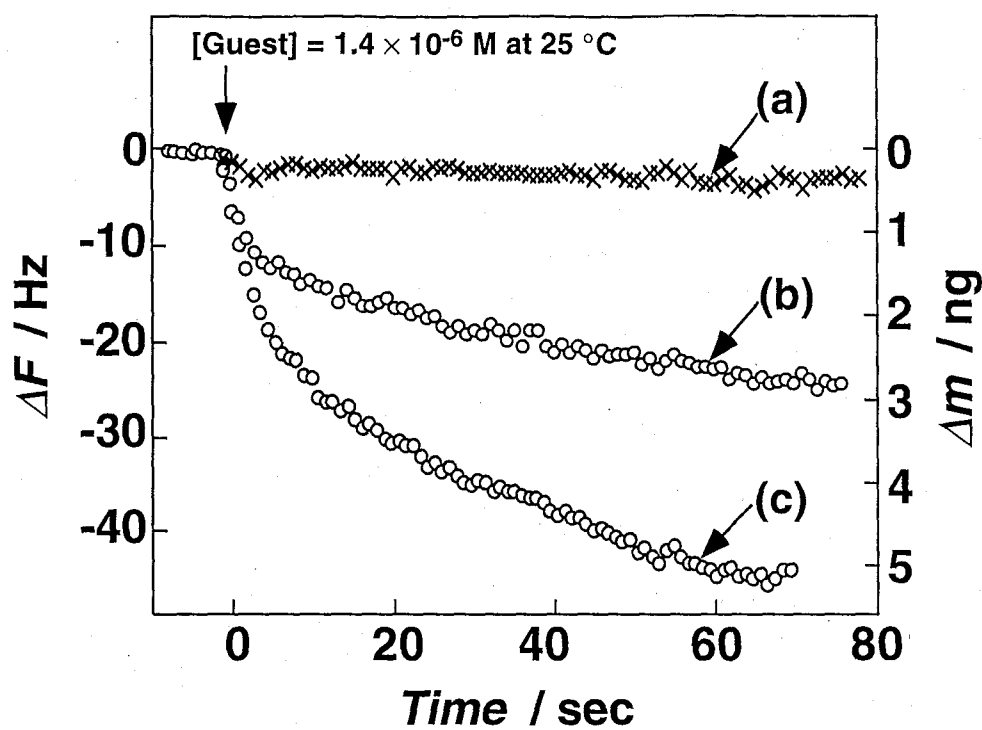


図 4-7 各単分子膜への2-アミノピリジンの吸着による典型的な振動数の経時変化
(25 °C, [Guest] = 1.4×10^{-6} M)
(a) アルキル膜, (b) アデニン膜, (c) チミン膜

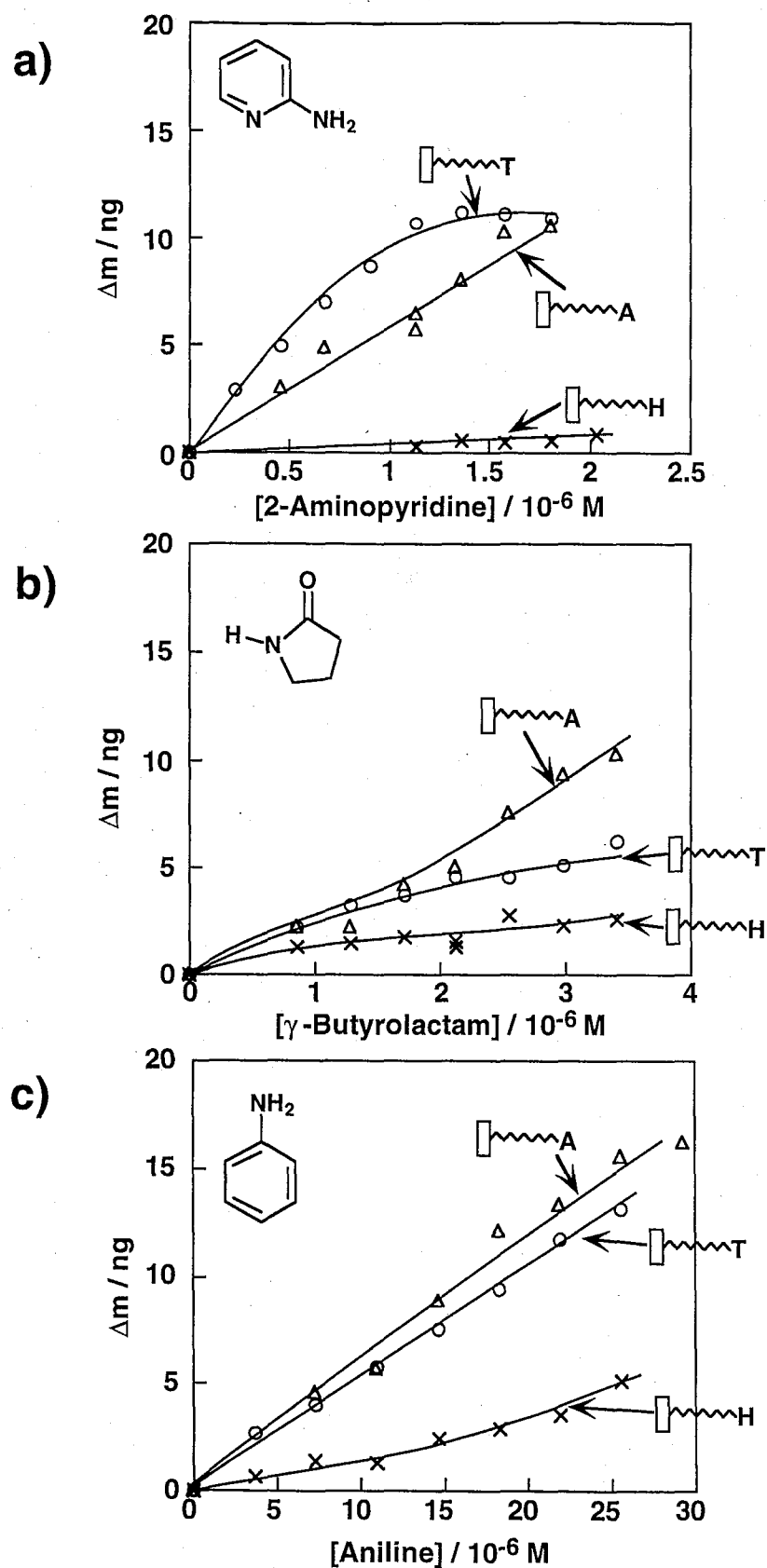


図 4-8 各単分子膜へのゲスト化合物の吸着等温線 (25°C)
(a) 2-アミノピリジン, (b) γ -ブチロラクタム, (c) アニリン

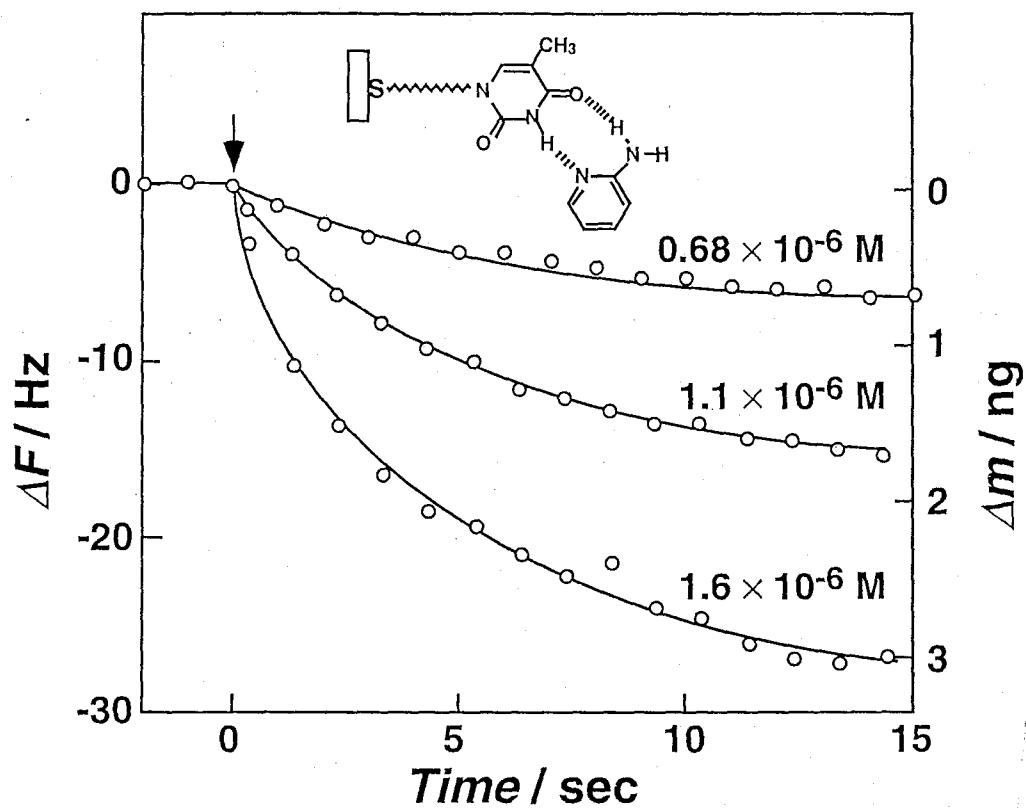


図 4-9 様々な濃度における 2-アミノピリジンのチミン単分子膜への吸着の経時変化のカーブフィッティング

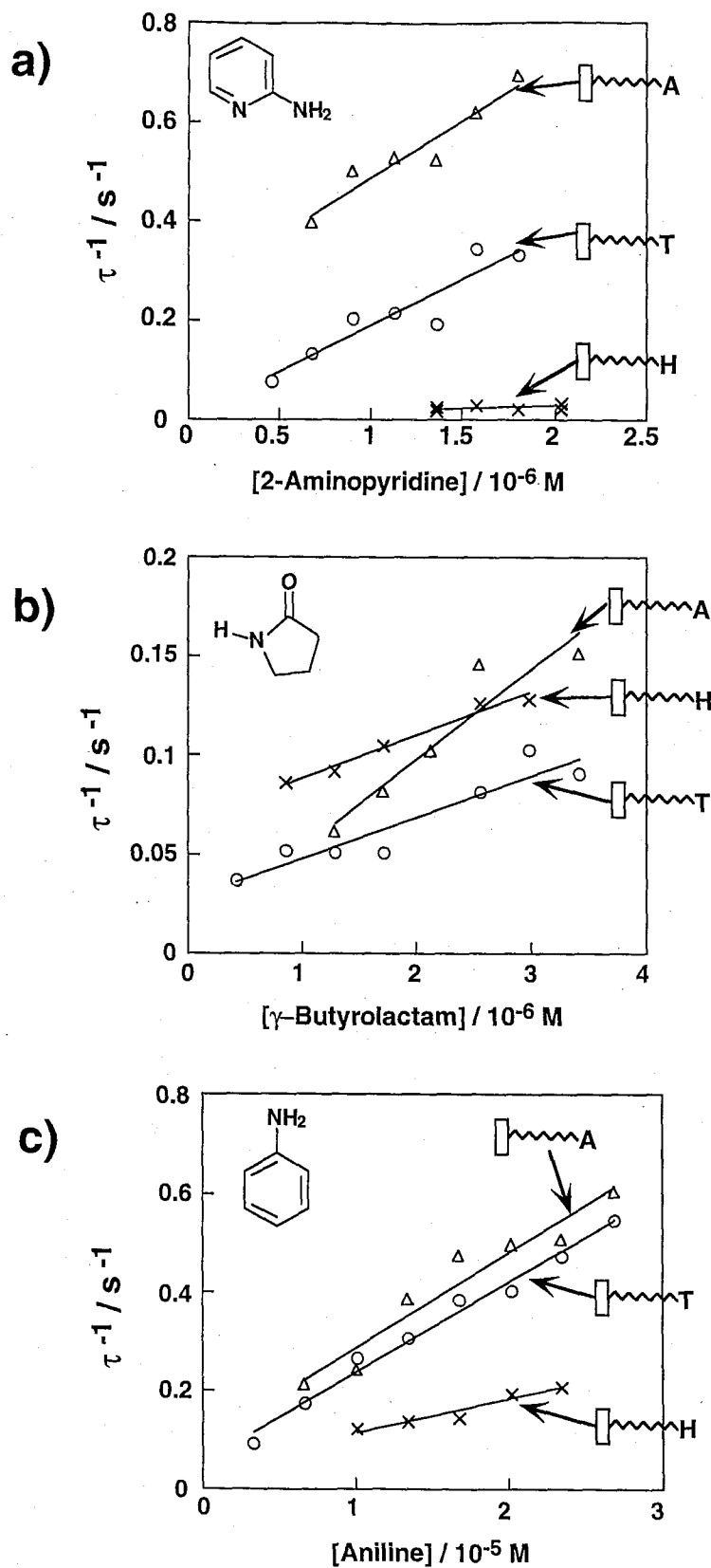


図 4-10 各単分子膜に対するゲスト化合物の吸着の緩和時間の逆数プロット
(a) 2-アミノピリジン, (b) γ-ブチロラクタム, (c) アニリン

表 4-2 核酸塩基を持つ単分子膜に対するゲスト化合物の吸着における動力学パラメーターと結合定数

HS-(CH ₂) ₁₀ -X X =	Guests	$k_1 / 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$	$k_{-1} / 10^{-2} \text{ s}^{-1}$	$K_a / 10^5 \text{ M}^{-1}$	$k_1(X) / k_1(\text{H})$	$k_{-1}(X) / k_{-1}(\text{H})$	$K_a(X) / K_a(\text{H})$
	190	0.26	730	24	0.22	110	
	21	2.7	7.8	0.95	0.40	2.5	
	18	5.4	3.3	2.6	1.1	2.4	
	230	25	9.2	29	21	1.4	
	45	0.79	57	2.0	0.12	17	
	19	9.2	2.1	2.8	2.0	1.5	
	7.9	1.2	6.6				
	22	6.7	3.3				
	6.8	4.7	1.4				

4-5 自己会合性単分子膜表面における核酸塩基含量の効果

前節において、チミン塩基およびアデニン塩基を末端に持つチオール化合物のそれぞれの単独の単分子膜を作製し、その気相－単分子膜界面において相補的な水素結合による分子認識が発現できたことを述べた。第二章でも述べたように、単分子膜表面における分子認識は、表面官能基同士が相互作用していれば表面官能基の含量に大きく依存する。ここでは、核酸塩基含有単分子膜において核酸塩基の表面における状態が分子認識挙動にどのように影響するかを調べるために、核酸塩基含有チオール化合物とデカンチオールの混合単分子膜を作製し、 γ -ブチロラクタムおよび2-アミノピリジンの吸着の動力学解析をおこなった。

図 4-11 にチミン/アルキル混合単分子膜（チミン含量：10%, 20%, 40%）における γ -ブチロラクタムおよび2-アミノピリジンの吸着の緩和時間の逆数プロットを、図 4-12 にアデニン/アルキル混合単分子膜（アデニン含量：10%, 20%, 40%）における γ -ブチロラクタムおよび2-アミノピリジンの吸着の緩和時間の逆数プロットを示す。また、これらの直線の傾きから吸着速度定数 k_f 、脱着速度定数 k_r 、および結合定数 K_a を求めたものを表 4-3, 4-4 にまとめた。また、 γ -ブチロラクタムおよび2-アミノピリジンの吸着の動力学パラメーターおよび結合定数におよぼすチミン含量の効果を図 4-13 に、アデニン含量の効果を図 4-14 に示した。

まず、チミン/アルキル混合膜への γ -ブチロラクタムの吸着においては、吸着速度定数 k_f はチミン含量が小さくなると弱冠大きくなり、脱着速度定数 k_r が弱冠小さくなるために結合定数 K_a は 20% の低含量において 100% の場合より約 2 倍ほど大きくなっていることがわかる。また、チミン/アルキル混合膜への2-アミノピリジンの吸着では、吸着速度定数 k_f はチミン含量に関係なくほぼ一定の値をとるが、脱着速度定数 k_r が弱冠大きくなるために結合定数 K_a は含量とともに多少減少する傾向にあることがわかる。一方、アデニン/アルキル混合膜への γ -ブチロラクタムの吸着の場合は、吸着速度定数

k_1 はアデニン含量によらずほぼ一定であるが、脱着速度定数 k_{-1} が 20 % 含量で 100 % のときの約 1/7 にまで減少した最小値をとるため、結合定数 K_a は 20 % 含量で 100 % のときの約 5 倍の最大値をとることがわかる。また、アデニン/アルキル混合膜への 2-アミノピリジンの吸着では、低アデニン含量において吸着速度定数 k_1 が大きく、脱着速度定数 k_{-1} が小さくなるために結合定数 K_a は 10 ~ 20 % において最大となるような傾向を示した。

アデニン/アルキル混合膜への γ -ブチロラクタムと 2-アミノピリジンの吸着の結合定数 K_a を比較すると、100 % アデニン膜においては結合定数 K_a が 6 倍ほど γ -ブチロラクタムのほうが大きい、20 % アデニン含量でその差はなくなり、10 % アデニン含量においては選択性が逆転して 7 倍ほど 2-アミノピリジンの方が大きい結合定数 K_a を持つことがわかる。それに対して、チミン/アルキル混合膜への γ -ブチロラクタムと 2-アミノピリジンの吸着の結合定数 K_a は、低含量になると弱冠その差が小さくなる程度で、比較的チミン含量に依存しないと考えられる。このことは、アデニン膜では高アデニン含量において単分子膜表面におけるアデニン塩基同士の相互作用により、ゲスト分子との相互作用が抑制されているのに対し、チミン膜ではチミン塩基同士の相互作用は比較的小さいことを意味する。このアデニン膜とチミン膜の違いは、アデニン塩基同士がチミン塩基同士よりもスタッキング相互作用が強いこと⁷⁾や、アデニン塩基の 6-位のアミノ基がチミン塩基の 3-位のイミノ基の水素原子よりも動きやすいために、より膜内水素結合しやすいためと考えられる (図 4-15)。10 % アデニン膜に対して 2-アミノピリジンがより強く吸着することは、予想した核酸塩基の相補性と異なるが、核酸塩基とゲスト分子の 1:1 の相互作用ではこの組み合わせの方が安定なのかもしれない。

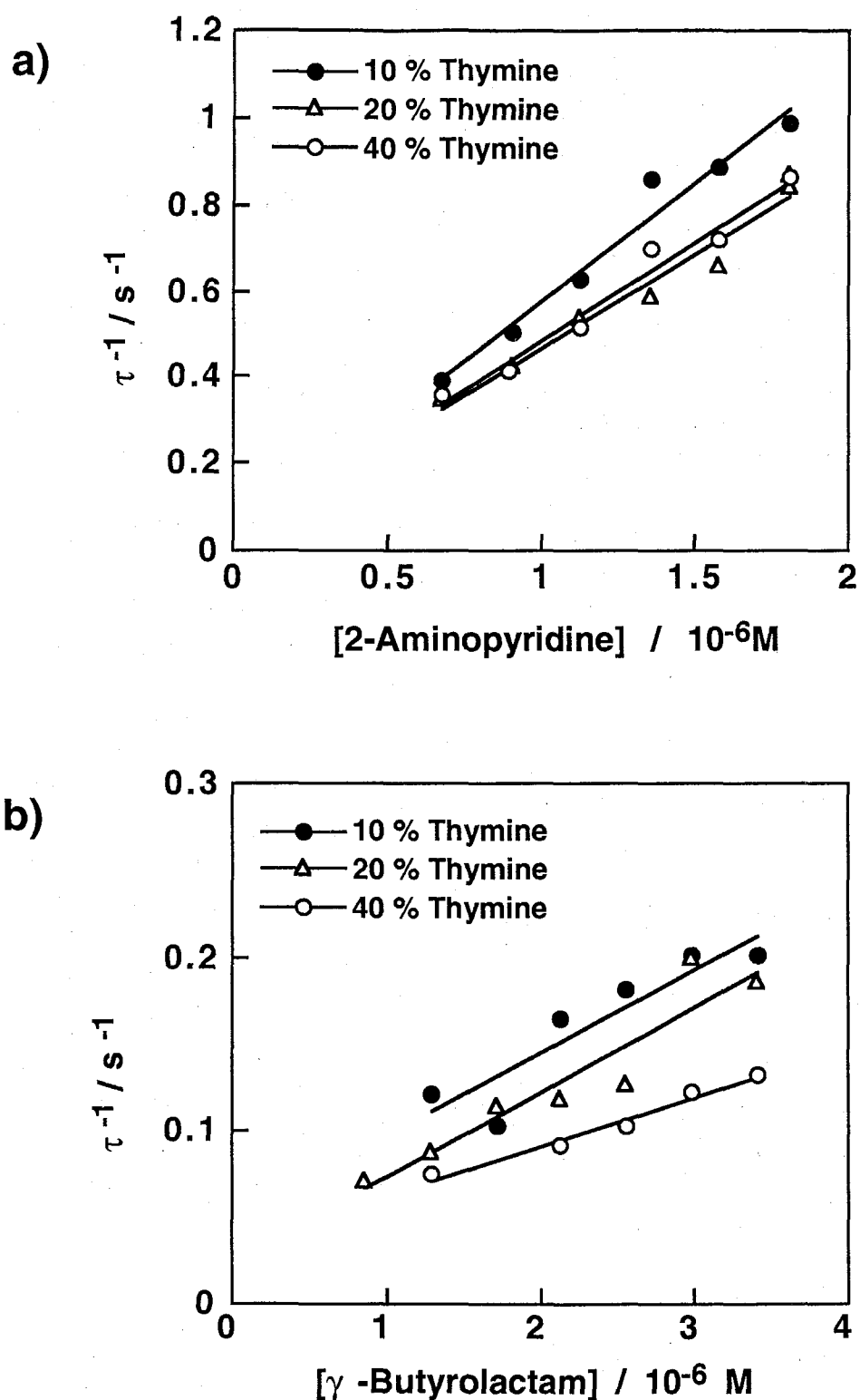


図 4-11 チミン/アルキル混合単分子膜に対するゲスト化合物の吸着の緩和時間の逆数プロット
(a) 2-アミノピリジン, (b) γ -ブチロラクタム

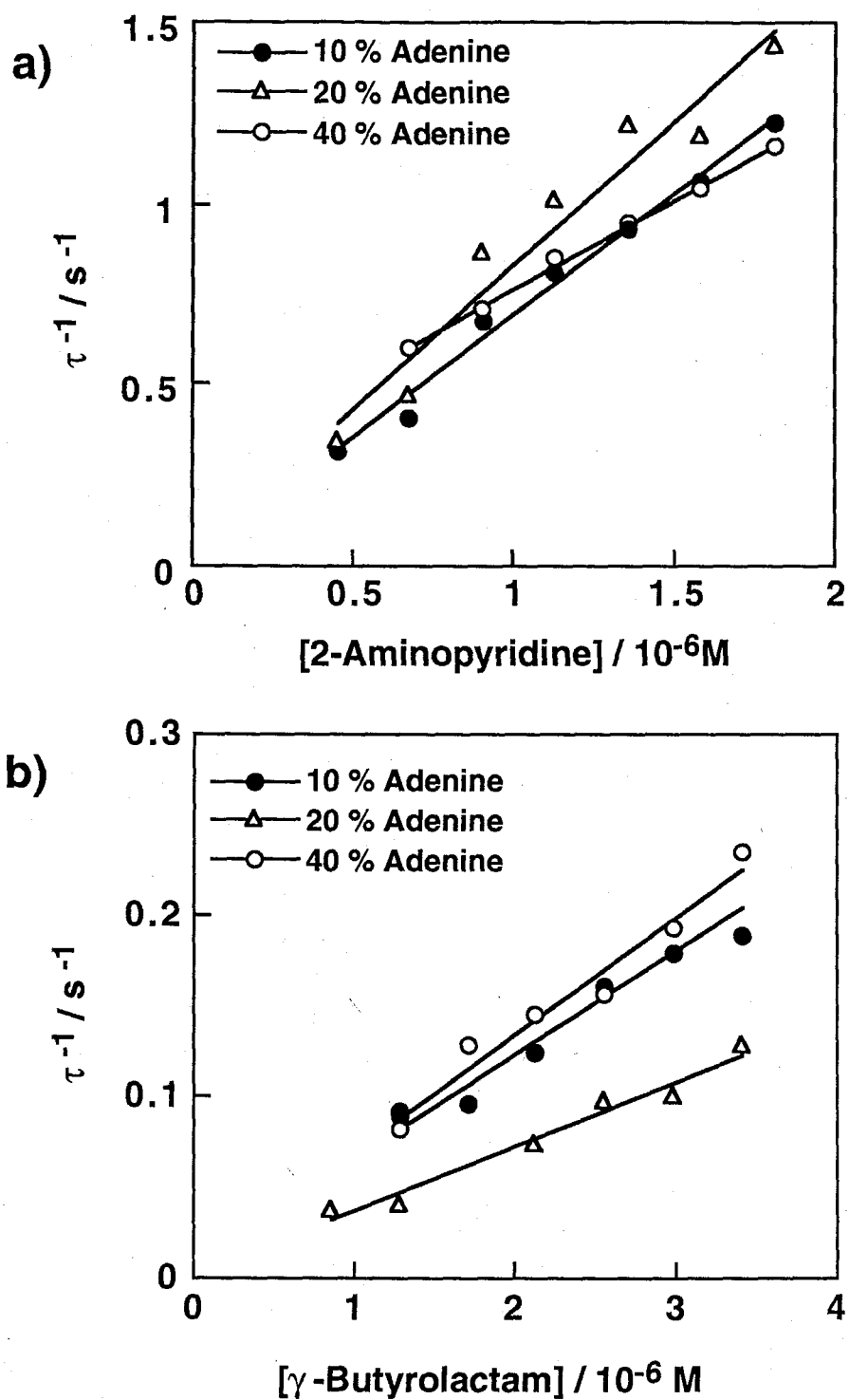


図 4-12 アデニン / アルキル混合単分子膜に対するゲスト化合物の吸着の緩和時間の逆数プロット
(a) 2-アミノピリジン, (b) γ-ブチロラクタム

表 4-3 ゲスト化合物の吸着における動力学パラメータおよび結合定数に及ぼすチミン含量の効果

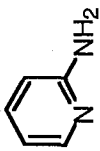
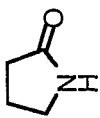
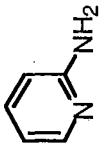
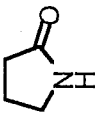
Guest	Thymine content / %	k_1 / $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$	k_{-1} / 10^{-2} s^{-1}	K_a / 10^5 M^{-1}
	0	0.79	1.2	6.6
	10	550	2.1	260
	20	440	2.6	170
	40	460	2.6	180
	100	190	0.26	730
	0	2.2	6.7	3.3
	10	4.8	5.0	9.6
	20	4.8	2.6	18
	40	2.8	3.6	7.8
	100	2.1	2.7	7.8

表 4-4 ゲスト化合物の吸着における動力学パラメータおよび結合定数に及ぼすアデニン含量の効果

Guest	Adenine content /%	k_1 / $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$	k_{-1} / 10^{-2} s^{-1}	K_a / 10^5 M^{-1}
	0	0.79	1.2	6.6
	10	68	1.7	400
	20	80	2.5	320
	40	50	26	19
	100	23	25	9.2
	0	2.2	6.7	3.3
	10	5.7	1.1	52
	20	3.6	0.12	300
	40	6.4	0.52	120
	100	4.5	0.79	57

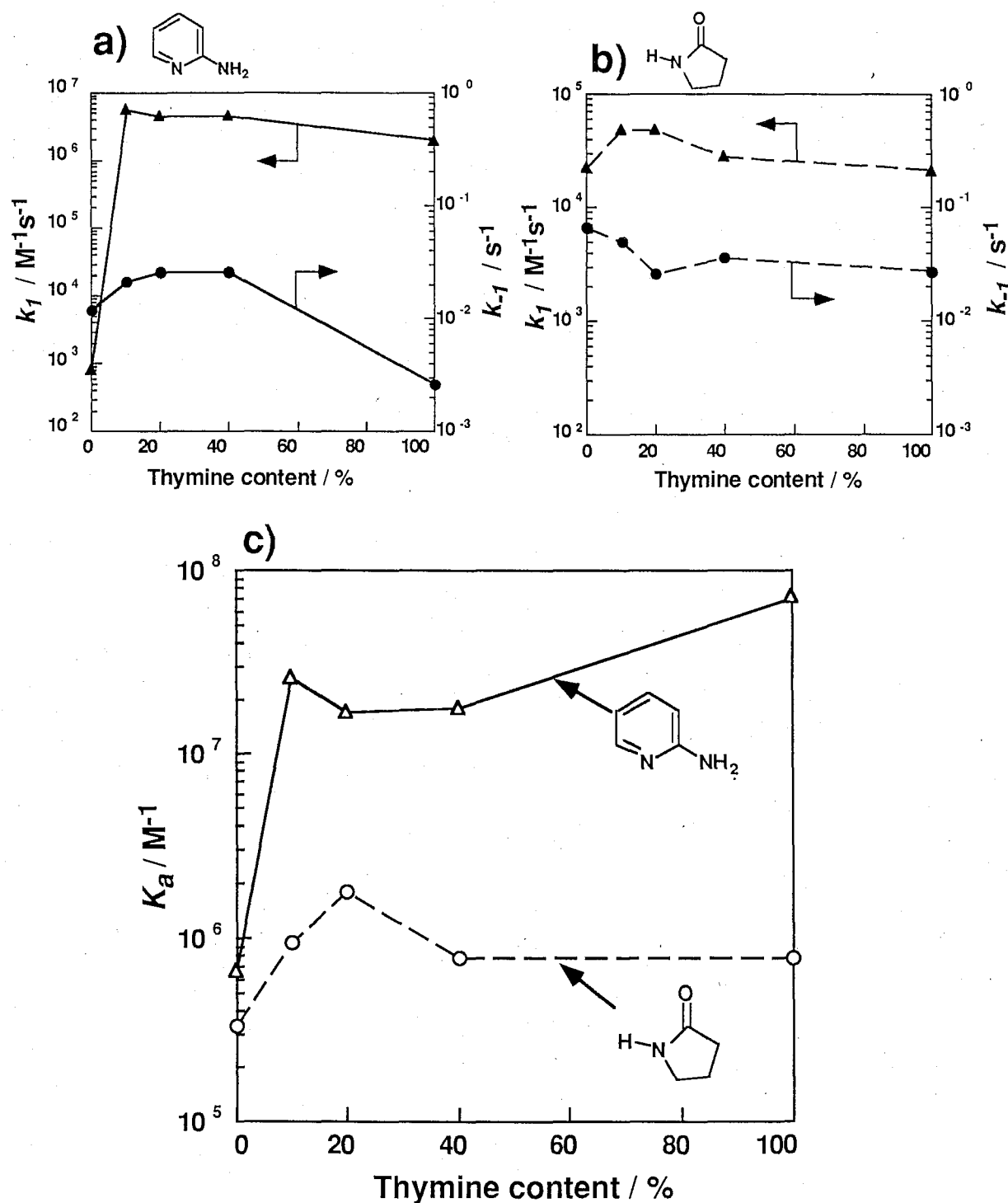


図 4-13 ゲスト化合物の吸着における動力学パラメーターおよび結合定数に及ぼすチミン塩基の表面含量の効果

- a) 2-アミノピリジンの吸着の動力学パラメーターに及ぼすチミン含量の効果
- b) γ -ブチロラクタムの吸着の動力学パラメーターに及ぼすチミン含量の効果
- c) ゲスト化合物の結合定数に及ぼすチミン含量の効果

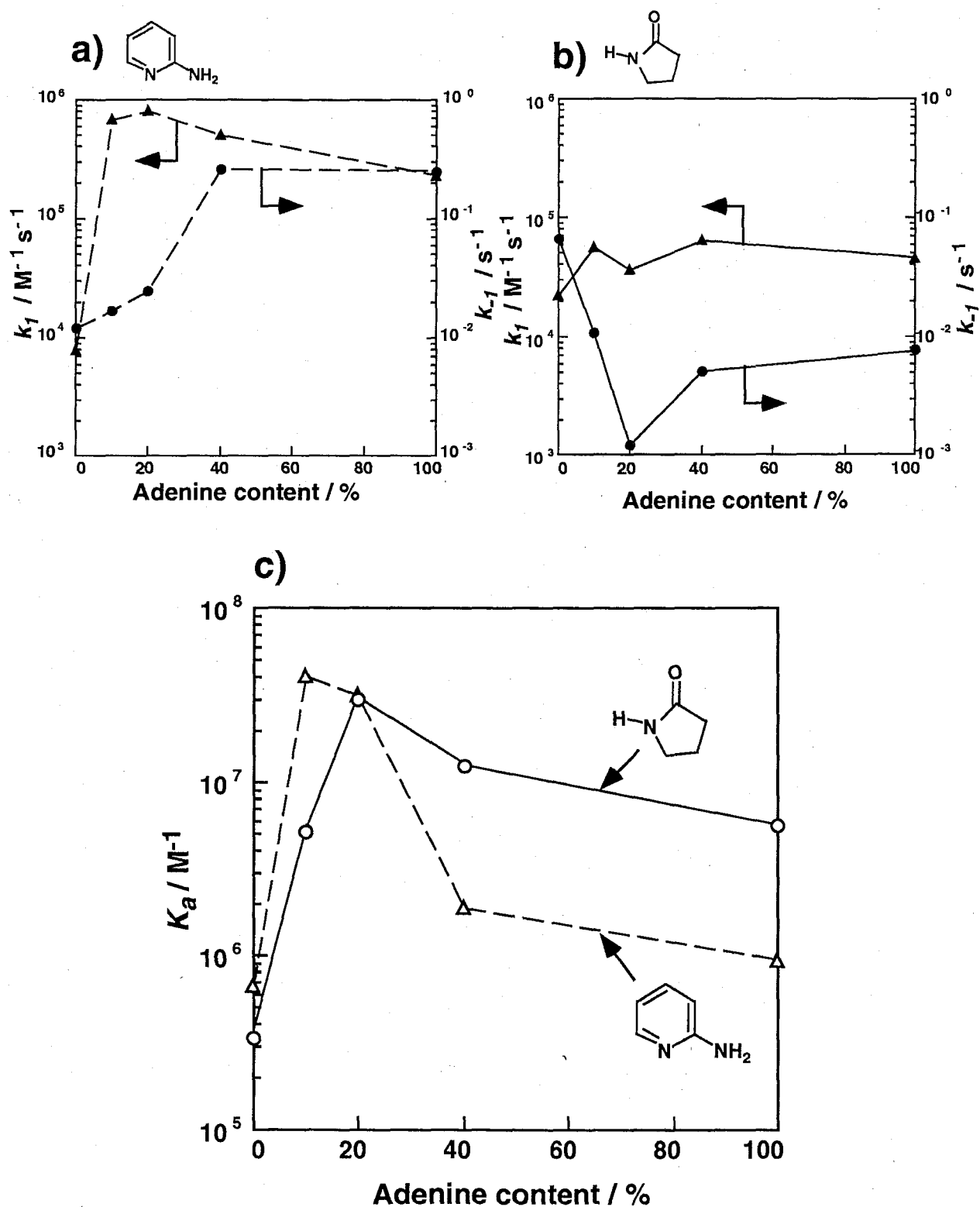


図 4-14 ゲスト化合物の吸着における動力学パラメーターおよび結合定数に及ぼすアデニン塩基の表面含量の効果

- a) 2-アミノピリジンの吸着の動力学パラメーターに及ぼすアデニン含量の効果
- b) γ -ブチロラクタムの吸着の動力学パラメーターに及ぼすアデニン含量の効果
- c) ゲスト化合物の結合定数に及ぼすアデニン含量の効果

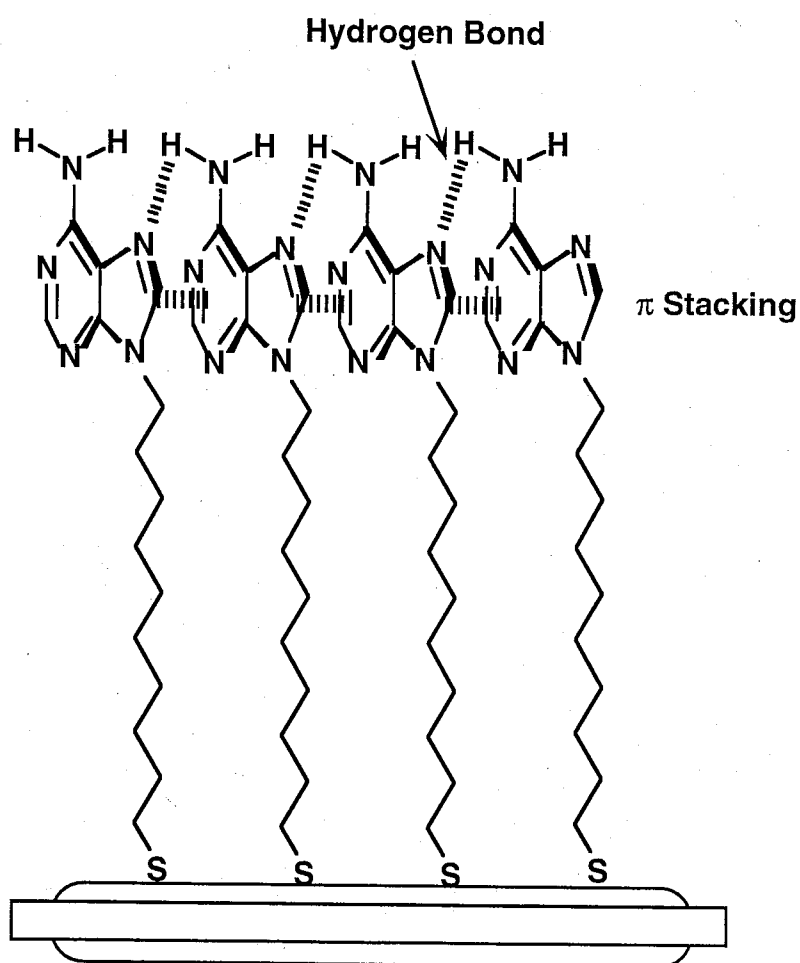


図 4-15 アデニン単分子膜における膜内相互作用の予想模式図

4-6 分子力学計算との比較

分子力学計算は、化学結合に関する実験的パラメーターをもとに、単純な古典力学により分子の構造論やエネルギー論についての情報を得る計算方法である¹¹⁾。これまで、分子力学計算は、各種配座解析の研究¹²⁾に多く利用されていたが、最近、分子認識の分野においても、ホスト-ゲスト間の相互作用のエネルギー論に利用され始めている¹³⁾。そこで本節では、上で述べた核酸塩基（チミンおよびアデニン）と核酸塩基のモデル化合物（2-アミノピリジン、 γ -ブチロラクタム、およびアニリン）の間の相互作用エネルギーを分子力学計算により見積もった。

シリコングラフィック社製の CASSIS ワークステーション上で、分子グラフィックソフト QUANTA 4.0 中の CHARMM 22 力場¹⁴⁾を用いて分子力学計算をおこなった。媒体の誘電率は $\epsilon = 1$ とし、エネルギー最小化のアルゴリズムは Adopted basis Newton-Raphson (ABNR) 法を用いた。分子およびコンプレックスの全エネルギーは、結合エネルギー、変角エネルギー、ねじれエネルギー、improper エネルギー、ファンデルワールスエネルギー、静電エネルギーの総和である。分子力学計算の局所安定構造は、初期入力構造に依存するので、コンプレックスのエネルギー最小化をおこなう際には、考えられる全ての初期構造から最小化をおこない、得られた局所安定構造のうち最もエネルギーが小さい構造を最安定構造とした。コンプレックス形成エネルギーの見積もりは、次式のように超分子法¹⁵⁾によりおこなった。

$$\Delta E = (E_A + E_B) - E_{AB} \quad (18)$$

ここで、 ΔE はコンプレックス形成エネルギー、 E_A および E_B は分子 A および分子 B の単独の最安定全エネルギー、 E_{AB} は分子 A と分子 B からなるコンプレックスの最安定全エネルギーである。ここでは、計算を簡略化するために、1-メチルチミンおよび 9-メチルアデニンとゲスト化合物（2-アミノピリジン、 γ -ブチロラクタム、およびアニリン）

とのコンプレックス形成エネルギーを計算した。

表 4-5 に 1-メチルチミンと各ゲスト化合物のコンプレックスの最安定構造を、表 4-6 に 9-メチルアデニンと各ゲスト化合物のコンプレックスの最安定構造を示した。また、それぞれのコンプレックス形成エネルギー ΔE を、4-4 で述べた水晶発振子を用いた 100% の核酸塩基単分子膜上への吸着実験から求めた結合定数 K_a および自由エネルギー変化 ΔG とともにそれぞれ表 4-5, 6 にまとめた。なお、自由エネルギー変化 ΔG は次式により求めた。

$$\Delta G = -RT \ln K_a \quad (19)$$

1-メチルチミンに対しては、予想どおり 2-アミノピリジンと γ -ブチロラクタムは二点水素結合し、全体として平面構造をとったが、アニリンは一点水素結合で二分子がねじれた構造となった。同じ二点水素結合となるにも関わらず、2-アミノピリジンとのコンプレックスと γ -ブチロラクタムとのコンプレックスでは ΔE で 5.1 kcal/mol 差があり、 γ -ブチロラクタムとのコンプレックスはアニリンとのそれとあまり変わらないことがわかる。この傾向は、チミン単分子膜へのゲスト化合物の吸着における自由エネルギー変化とよく一致する。すなわち、チミン膜上で観察された分子認識が、チミン塩基とゲスト分子の 1:1 の相補的水素結合によるものであるといえる。一方、9-メチルアデニンとのコンプレックスの最安定構造は、2-アミノピリジンと γ -ブチロラクタムは二点水素結合、アニリンは一点水素結合という点では 1-メチルチミンの場合と同じであるが、Watson-Crick 型の水素結合ではなく Hoogsteen 型の水素結合をとった。コンプレックス形成エネルギーは 2-アミノピリジン > γ -ブチロラクタム > アニリンの順に大きいという結果が得られたが、これは 100% アデニン単分子膜への吸着実験の結果と一致しない。しかし、4-5 節で示したように、10% アデニン含有単分子膜では結合定数 K_a は 2-アミノピリジン ($\Delta G = -10.4$ kcal/mol) > γ -ブチロラクタム ($\Delta G = -9.2$ kcal/mol) となり、計算結果と一致する。これは、100% アデニン膜では膜内のアデニン同士の相互

作用により、何らかの理由で γ -ブチロラクタムが強く吸着するが、10% アデニン膜では1:1の相互作用となるため計算と一致して2-アミノピリジンの方が強く吸着したものと考えられる。したがって、 γ -ブチロラクタムは集合体としてのアデニン塩基を強く認識しているといえる。

表 4-5 分子力学計算から得られた 1-メチルチミンとゲスト化合物のコンプレックス形成エネルギーと実験から求められる吸着の自由エネルギー変化との比較

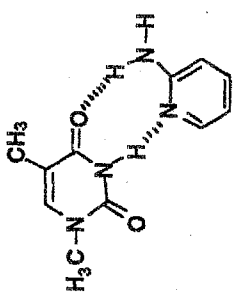
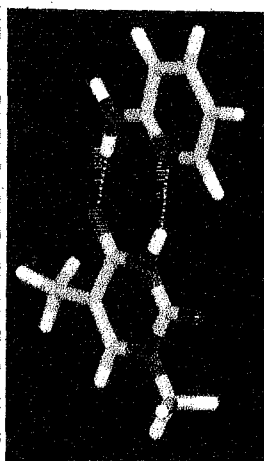
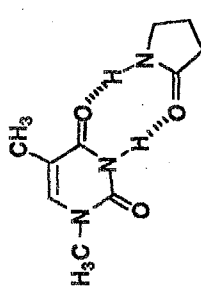
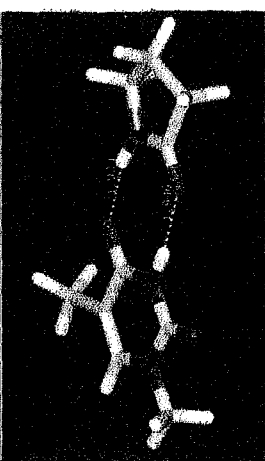
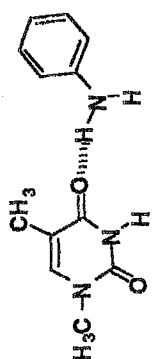
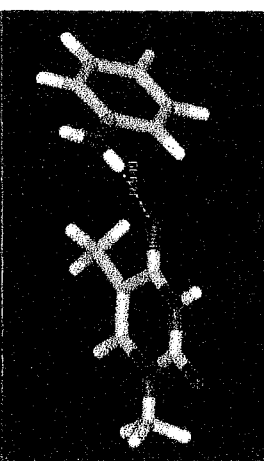
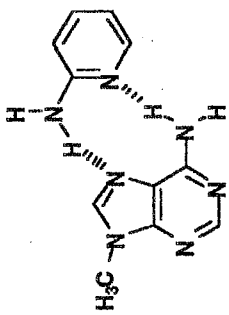
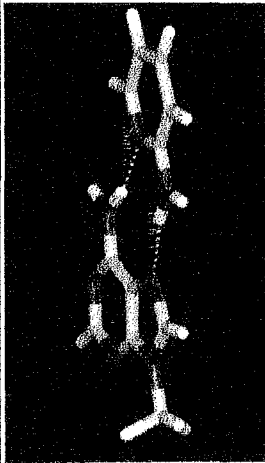
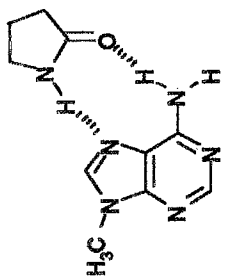
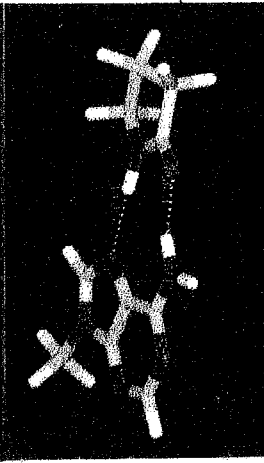
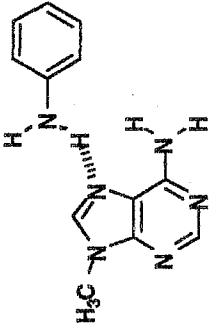
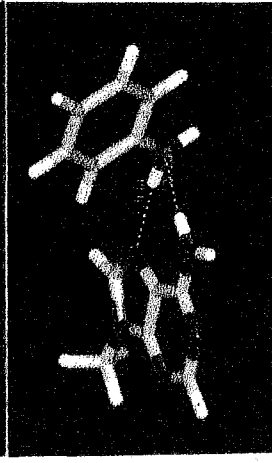
Complexes	Most Stable Structures	QCM		
		$\frac{\Delta E}{\text{kcal mol}^{-1}}$	$\frac{\Delta G = -RT \ln K_a}{\text{kcal mol}^{-1}}$	$\frac{K_a}{10^5 \text{ M}^{-1}}$
		-13.1	-10.7	730
		- 8.03	- 8.03	7.8
		- 7.00	- 7.52	3.3

表 4-6 分子力学計算から得られた 9-メチルアデニンとガスト化合物のコンプレックス形成エネルギーと実験から求められる吸着の自由エネルギー変化との比較

Complexes	Most Stable Structures	QCM		
		$\frac{\Delta E}{\text{kcal mol}^{-1}}$	$\frac{\Delta G = -RT \ln K_a}{\text{kcal mol}^{-1}}$	$\frac{K_a}{10^5 \text{ M}^{-1}}$
		-12.1	-8.13	9.2
		-8.07	-9.21	57
		-6.84	-7.26	2.1

4-7 結論

本章では、7 次オーバートーン 9 MHz 水晶発振子を用いて、チミン塩基およびアデニン塩基を末端に持つ自己会合性単分子膜上への核酸塩基類似物の 2-アミノピリジン、 γ -ブチロラクタム、およびアニリンの気相からの吸着挙動を観察した。チミン単分子膜に対しては、アデニンのモデルとして用いた 2-アミノピリジンが選択的に吸着し、チミンのモデルである γ -ブチロラクタムはあまり吸着せず一点水素結合しかしないと考えられるアニリンと同程度の結合定数しか示さなかった。それに対して、アデニン単分子膜に対しては、チミンのモデルの γ -ブチロラクタムがアデニンのモデルの 2-アミノピリジンやアニリンよりも大きな結合定数を示した。また、その選択性はクロロホルム中での値と似ていた。したがって、核酸塩基の相補的水素結合による分子認識が気相中において観察されたといえる。

また、ゲスト吸着に及ぼす単分子膜表面の核酸塩基含量の効果について検討した。その結果、チミン膜ではその含量にあまり依存せず、2-アミノピリジンが選択的に吸着したが、アデニン膜では含量に大きく依存し、高含量では γ -ブチロラクタム > 2-アミノピリジンであるが低含量にすると逆転する傾向にあった。したがって、アデニン膜においては、膜内でアデニン塩基同士が相互作用しており、それがゲスト認識性に影響を及ぼしていると考えた。

さらに、分子力学計算により核酸塩基とゲスト分子の相互作用エネルギーを見積もったところ、チミン塩基においては 100% チミン膜での実験値とほぼ対応する結果を得た。つまり、チミン膜ではほぼ 1:1 での相補的水素結合により分子認識がおこなわれていることがわかった。一方、アデニン塩基においては 100% アデニン膜での実験値とは合わないが、10% アデニン膜での実験値に対応する計算結果となった。これは、100% アデニン膜における分子認識は、アデニン塩基が膜内で相互作用することにより起こっているためと考えた。

以上のように、本実験により、気相－単分子膜系においても核酸塩基の相補的水素結合による分子認識が起こりうることが示唆された。

参考文献

- 1) L. Stryer, "BIOCHEMISTRY 3rd Ed.", FREEMAN Co., New York, 1988
- 2) a) Y. Kyogoku, R. C. Lord, and A. Rich, *Biochim. Biophys. Acta*, **179**, 10 (1969)
- b) Y. Kyogoku, R. C. Lord, and A. Rich, *J. Am. Chem. Soc.*, **89**, 496 (1967)
- c) H. Iwahashi, H. Sugeta, and Y. Kyogoku, *Biochemistry*, **21**, 631 (1982)
- d) L. D. Williams, B. Chawila, and B. R. Shaw, *Biopolymer*, **26**, 591 (1987)
- e) S. B. Petersen and J. J. Led, *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 5308 (1981)
- f) J. S. Nowick, J. S. Chen, and G. Noronha, *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 7636 (1993)
- 3) a) J. Rebek Jr., *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, **29**, 245 (1990)
- b) J. Rebek Jr., *Acc. Chem. Res.*, **23**, 399 (1990)
- 4) a) A. D. Hamilton, *J. Chem. Educ.*, **67**, 821 (1990)
- b) A. D. Hamilton, *Supramol. Chem.*, **1**, 247 (1993)
- 5) Z. G. Kudritskaya and V. I. Danilov, *J. Theor. Biol.*, **59**, 303 (1976)
- 6) M. Day, F. Moritz, J. Grotemeyer, and E. W. Schlag, *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 9211 (1994)
- 7) W. Saenger, "核酸構造 (上)", 第6章, シュプリンガー・フェアラーク東京, 1987
- 8) J. S. Binford Jr. and D. M. Holloway, *J. Mol. Biol.*, **31**, 91 (1968)
- 9) G. G. Hammes and A. C. Park, *J. Am. Chem. Soc.*, **90**, 4151 (1968)

- 10) M. Sawada, Y. Takai, H. Yamada, S. Hirayama, T. Kaneda, T. Tanaka, K. Kamada, T. Mizooku, S. Takeuchi, K. Ueno, K. Hirose, Y. Tobe, and K. Naemura, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 7726 (1995)
- 11) 日本化学会編, "第4版 実験化学講座 (3) 基本操作 コンピューター利用", 第8章, 丸善, 1991
- 12) a) H-C. Siebert, G. Reuter, R. Schauer, C-W. Lieth, and J. Dabrowski, *Biochemistry*, **31**, 6962 (1992)
- b) K. Ueda, H. Ochiai, A. Imamura, and S. Nakagawa, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **68**, 95 (1995)
- c) 大澤映二, 山田晴夫, 高橋孝志, "化学増刊 122, 糖 - その多様性を探る -", p.155, 化学同人, 1994
- 13) a) K. B. Lipkowitz and R. Zegarra, *J. Comput. Chem.*, **10**, 595 (1989)
- b) A. Dominik, H. J. Roth, K. D. Schierbaum, and W. Göpel, *Supramol. Science*, **1**, 11 (1994)
- c) I-H. Chu, D. V. Dearden, J. S. Bradshaw, P. Huszthy, and R. M. Izatt, *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 4318 (1993)
- d) 板倉健介, 卒業論文, 東京工業大学 (1995)
- 14) B. R. Brooks, R. E. Bruccoluri, B. D. Olafson, D. J. States, S. Swaminathan, and M. Karpulus, *J. Comput. Chem.*, **4**, 187 (1983)
- 15) 米澤貞次郎, 永田親義, 加藤博史, 今村詮, 猪熊奎治, "三訂 量子化学入門 (下)", p.610, 化学同人, 1983

第五章 アントラセンビスレゾルシノール固体ホスト中 でおこる分子認識

5-1 緒言

第二章から第四章では、気相-単分子膜表面で分子認識が起こることを7次オーバートーン 9 MHz 水晶発振子を用いて示してきた。一方、序論でも述べたように、最近、有機固体ホスト化合物を用いた分子認識が注目を集め、多くの研究がなされている¹⁾。固体ホストによる分子認識は、結晶場という特殊な環境におけるものであり、分子集合体としての特徴や結晶内空孔の動きなどを考えると非常に興味深い。

これまで、有機固体ホスト中の分子認識の研究は、ホスト化合物を再結晶する際に溶媒などのゲスト分子が取り込まれることで得られた包接錯体結晶を成分分析したり X 線結晶構造解析したりする静的な方法に限られていた。最近、固体ホストへのゲスト分子の結合や解離の動的な情報を得るために、様々な方法により研究が進められてきている。例えば Barbour らは、trans-9,10-Dihydroxy-9,10-diphenyl-9,10-dihydroanthracene 固体ホストに包接されたベンゼン分子の脱着過程を熱重量分析 (TG) により調べたり²⁾、同固体ホストへのアセトン分子の気相からの吸着の動力学を in situ で電子天秤により観察している³⁾ (図 5-1)。また、当研究室の安永ら⁴⁾は、Ogura ら⁵⁾の合成したフェニルグリシルフェニルグリシン固体ホストをマイクロバランスである水晶発振子上にキャストし、スルフィド化合物やアミノ酸誘導体の立体選択的な包接挙動を観察している (図 5-2)。

最近 Aoyama らは、アントラセンビスレゾルシノールをケトンやエステル類のような溶媒から再結晶すると、溶媒をゲスト分子とした包接錯体を形成することを見いだした。この包接錯体のホスト:ゲスト比は大抵 1:2 であり、単結晶 X 線解析 (図 5-3) から、アントラセンビスレゾルシノールホストの水酸基の水素結合ネットワークにより形成さ

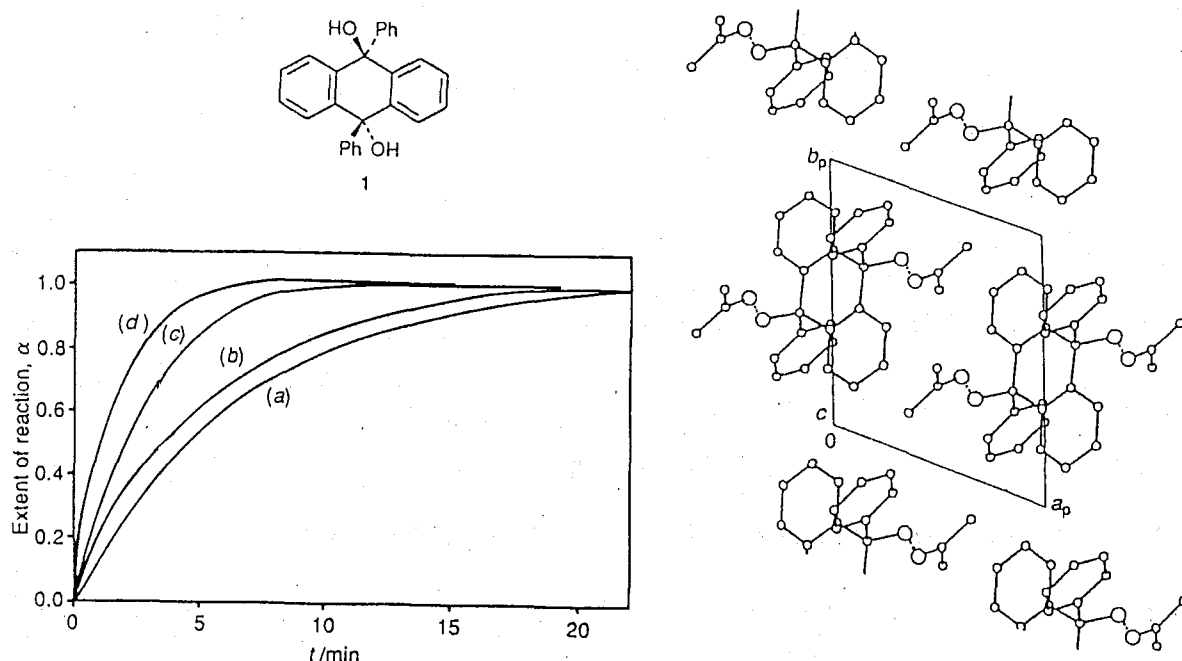


図 5-1 **trans-9,10-Dihydroxy-9,10-diphenyl-9,10-dihydroanthracene** 固体ホストへのアセトンの気相からの吸着経時変化の観察³⁾

(a) 44, (b) 48, (c) 69, and (d) 122 mmHg acetone, -25 °C

(L. J. Barbour, M. R. Caira, and L. R. Nassimbeni, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 2321 (1993) より引用)

れたキャビティー内にゲスト二分子がホストとの水素結合と空間を埋めるためのファンデルワールス接触により包接されていることがわかっている⁶⁾。

固体ホスト化合物へのゲスト化合物の包接挙動を動的に観察するためには、包接錯体からゲストが抜けたアポホストが作製できなければならない。このアントラセンビスレゾルシノール固体ホストの包接錯体からゲスト化合物を取り去ったアポホストは、ゲストを液相、気相、固相のいずれからも再包接することができ、同一のゲストであれば、再結晶法で得られる包接錯体と再包接させた包接錯体の粉末 X 線結晶パターンが同一であることがわかっている⁶⁾。このような固体ホスト化合物は、包接の動力学を定量的に解析する目的に適していると考えられる。しかし Aoyama らは、アポホストへのゲスト

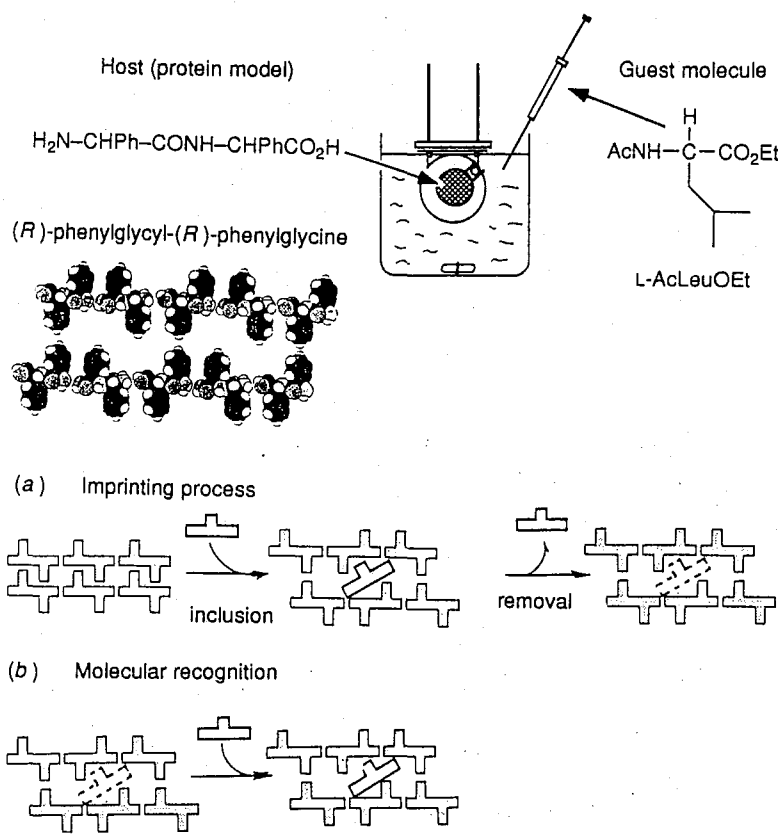


図 5-2 フェニルグリシルフェニルグリシン固体ホストによるアミノ酸のキラル認識の水晶発振子による観察⁴⁾

の気相からの再包接の過程を、一定期間アポホストをゲストの飽和蒸気にさらし、その包接錯体を NMR 測定するという方法で観察している。この方法では、濃度変化や包接の動力学を行なうのは困難である。そこで本章では、アントラセンビスレゾルシノールの固体アポホストを水晶発振子上に作製し、様々な濃度における気体ゲスト化合物の包接にもとづく振動数変化を経時的に測定することで、包接のメカニズムについて考察した (図 5-3)。

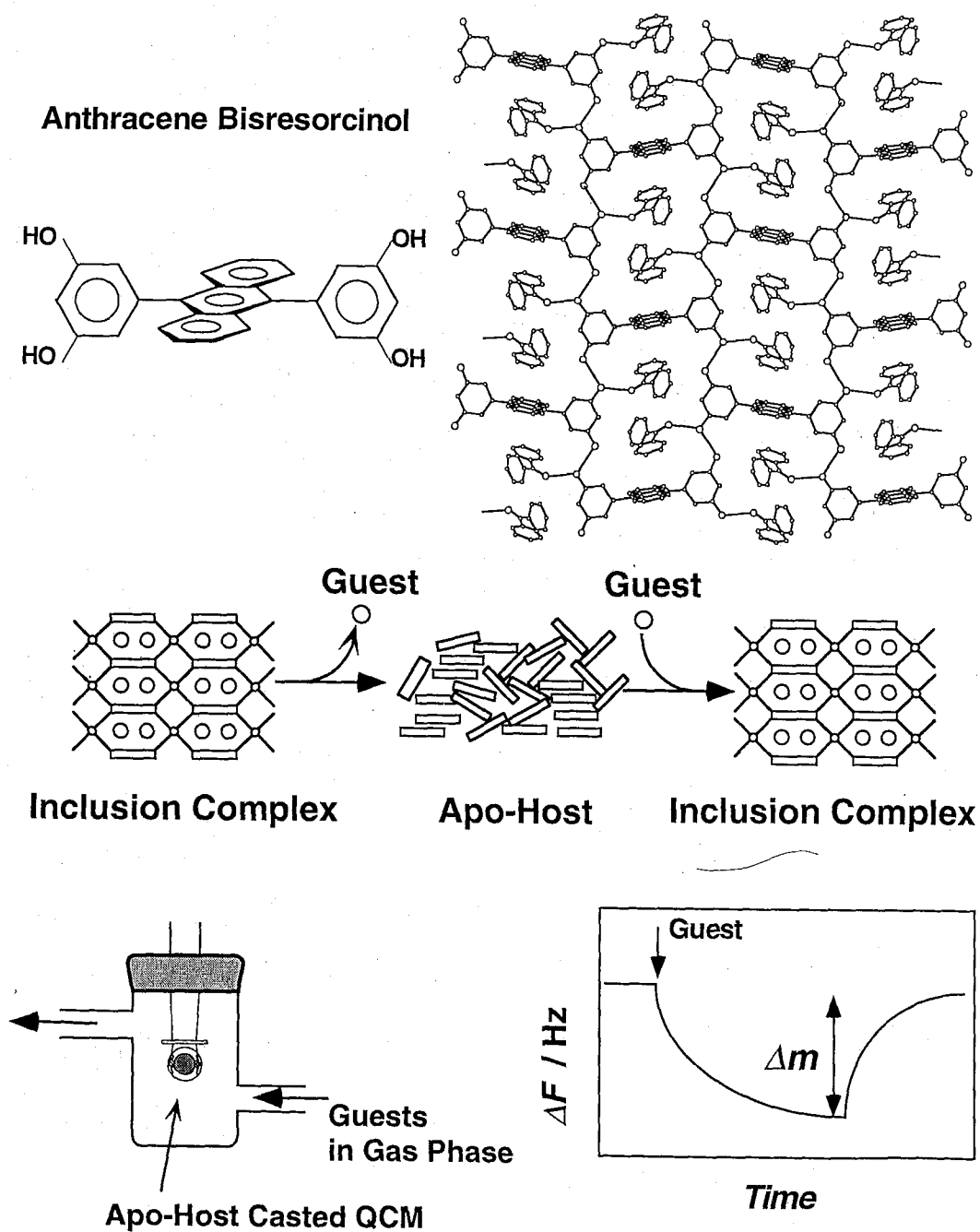


図 5-3 水晶発振子を用いたアントラセンビスレゾルシノール固体ホストと気相ゲスト間での分子認識の観察

5-2 実験方法

第二章から第四章においては、単分子膜表面への低分子化合物の吸着を観察していたため、水晶発振子の感度を向上させるため、9 MHz の 7 次オーバートーン水晶発振子を用いてきた。しかし、本章で測定するキャストした固体ホスト内へのゲスト分子の結合は、その量が多いため数百から数千 Hz の振動数変化が見込まれる。したがって、ここでは、9 MHz の基本波で測定した。2-3 節でも述べたように、9 MHz 水晶発振子は 1 ng の物質が電極上に付着すると振動数が 1.05 Hz 減少することが確かめられている。

水晶発振子の金電極上でのアントラセンビスレゾルシノール固体ホストのアポホストの作製は、青山ら^{6a)}の方法を参考にして、以下のようにおこなった。まず、水晶発振子の金電極表面を pyranha 溶液で洗浄、純水でリンス、乾燥した。この水晶発振子の金電極上にゲストフリーのアントラセンビスレゾルシノール 10 mg の酢酸エチル 10 mL 溶液を 2 μ L だけキャストした。乾燥後、振動数変化を測定したところ、2965 Hz の振動数の減少、すなわち 2824 ng の重量増加が観測された。溶媒である酢酸エチルが完全に蒸発していれば、2000 ng の重量増加であるので、観測された重量増加は、固体ホストに酢酸エチルがホスト一分子に対して約二分子包接されて発振子上にキャストされていることを意味する。次に、この包接錯体を固定化した水晶発振子をナスフラスコ内に入れ、1 mmHg 以下の減圧下、140 ~ 160 $^{\circ}$ C で 2 時間乾燥した。放冷後、振動数変化を測定すると、最初の振動数と比較して 2055 Hz 減少しており、1957 ng の重量が発振子上に存在することがわかった。つまり、溶媒である酢酸エチルが包接錯体から完全に抜け、アポホストが発振子上に作製できた。また、他のホスト量のアポホスト固定化水晶発振子も同様な方法で作成した。

この水晶発振子上に固定した固体アポホストへの気体ゲストの吸着の測定方法は、2-3-3 で述べたものと同様に気相フロー系で、25 $^{\circ}$ C にておこなった。

また、固体ホストとしての機能を果たさないことが知られている⁶⁾類似体であるテト

ラO-メチルアントラセンビスレゾルシノールもまた、酢酸エチル溶液から発振子上にキャストした。この場合は、溶媒は容易に蒸発し、固体のみが発振子上に簡単に固定できた。

包接錯体のIRスペクトルの測定は、A-100 Spectrometer（日本電子）を用いて、アポHOST 3 mg を酢酸エチルの飽和蒸気に1時間さらし、すぐに岩塩板にはさみ測定をおこなった。また、HOSTであるアントラセンビスレゾルシノールは四塩化炭素に分散させ岩塩板にはさんで測定し、酢酸エチルはneatで岩塩板にはさんで測定した。

5-3 結果と考察

第三章でも述べたように、固体表面への気体の吸着は、気体の蒸気圧が低いほどより強く固体に吸着する傾向がある。そのような効果を避けるために、ここでは蒸気圧がほぼ等しい気体ゲスト分子、すなわちベンゼン、シクロヘキサン、酢酸エチル、メチルエチルケトンを用いて、アントラセンビスレゾルシノールの固体アポホスト中への吸着挙動を観察した。気体ゲストの25℃における飽和蒸気圧（気相濃度）は、ベンゼンで95.2 mmHg (5.13 mM)、シクロヘキサンで97.6 mmHg (5.25 mM)、酢酸エチルで96.8 mmHg (5.22 mM)、メチルエチルケトンで90.4 mmHg (4.86 mM)である。

5-3-1 ゲスト包接の経時変化

アポホスト2 μg を固定した水晶発振子へ気体ゲスト分子をほぼ飽和蒸気濃度である5 mM（メチルエチルケトンは4.86 mM）の濃度でさらしたときの振動数の経時変化を図5-4に示す。酢酸エチルとメチルエチルケトンがゲストの場合には大きな振動数変化が観察され、アポホストに包接されていることがわかる（それぞれ、 $\Delta m = 885 \text{ ng}$, 782 ng）。酢酸エチルおよびメチルエチルケトンは、固体ホスト一分子に対して二分子包接されたときに、それぞれ894 ng および731 ngの重量変化が見込まれるので、これらのゲスト化合物は、約5 mMの濃度において固体ホスト一分子に対して約二分子包接されていると考えられる。一方、ベンゼンおよびシクロヘキサンは、5 mMのゲスト濃度でアポホストにそれぞれ39 ng および52 ngしか吸着しなかった。つまり、これらのゲスト化合物はこの濃度においてアポホストにほとんど包接されないことがわかる。よって、この固体アポホストには水素結合部位があるゲスト分子が選択的に包接されることが考えられる。また、シクロヘキサンとベンゼンの吸着挙動があまり変わらないことから、 π - π 相互作用はあまり重要でないと思われる。

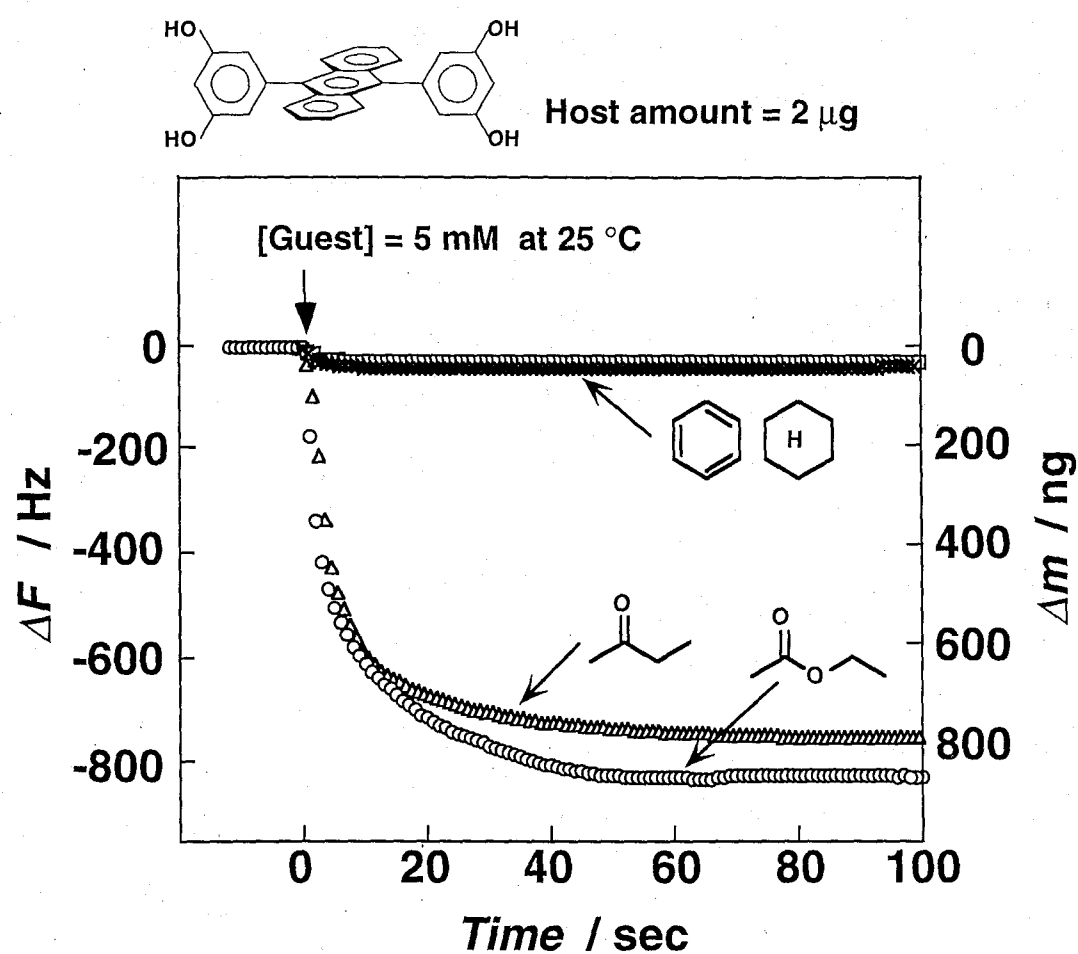


図 5-4 固体アポホスト 2000 ng への気体ゲストの吸着における振動数の経時変化
 [Guest] = 5 mM (メチルエチルケトンは 4.86 mM), 25°C

5-3-2 O-メチル化ホストアナログへの吸着

ホスト化合物の類似体である O-メチル化アントラセンビスレゾルシノールを $2\mu\text{g}$ キャストした水晶発振子へ約 5 mM のゲスト化合物をさらしたときの振動数の経時変化を図 5-5 に示す。この O-メチル化ホスト類似体には、どのゲスト化合物も 100 ng 以下の吸着しか観察されなかった。すなわち、ゲストが包接されるためには、ホスト分子の水酸基が重要な役割を果たしていることが示唆された。この水酸基はホスト分子同士の水素結合ネットワークにより空孔を形成するために使用されているが、ゲスト分子と水素結合できると考えられる。このことは青山らも X 線結晶解析により示している⁶⁾。

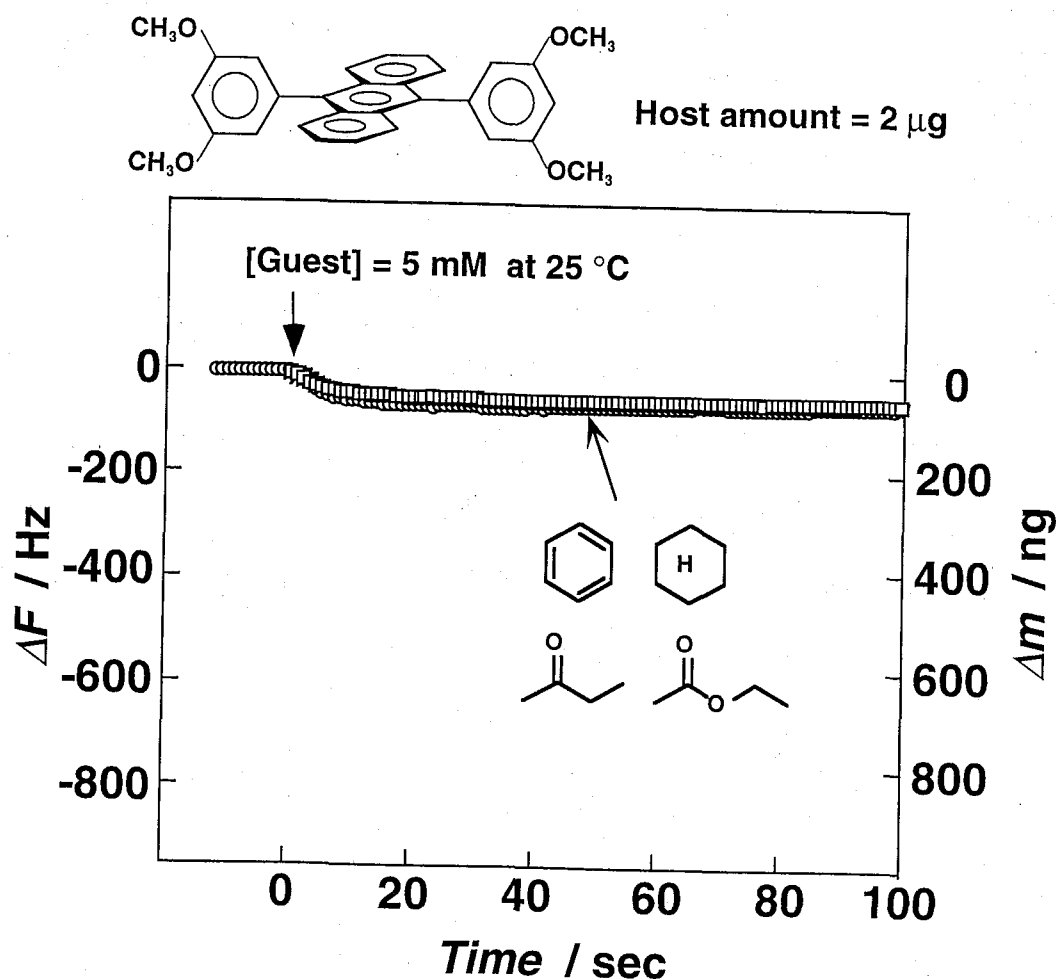


図 5-5 O-メチル化ホストアナログ 2000 ng への気体ゲストの吸着における振動数の経時変化

[Guest] = 5 mM (メチルエチルケトンは 4.86 mM) , 25°C

5-3-3 包接錯体の IR スペクトル

ホストとゲストの相互作用を直接観察するために、IR スペクトルを測定した。アントラセンビスレゾルシノールのアポホストに酢酸エチルを気相から包接させた包接錯体の IR スペクトルを、それぞれの単独の IR スペクトルとともに図 5-6 に示す。ホスト化合物単独 (a) の場合に、 3300 cm^{-1} を中心に持つブロードピークとして、O-H 伸縮振動が見られる。これは、ホスト同士の分子間水素結合をした水酸基によるものと考えられる。また、 3500 cm^{-1} 付近に見られる鋭いピークは、水素結合していない O-H 伸縮振動に帰属できる。一方、酢酸エチルとの包接錯体の IR スペクトル (b) では、分子間水素結合している O-H 伸縮振動のブロードピークがさらに低波数側にブロード化しており、水素結合していない O-H 伸縮振動は完全に消失していることがわかる。また、酢酸エチル単独 (c) の場合に 1720 cm^{-1} に見られた C=O 伸縮振動のピークは、包接錯体 (b) においては、 1700 cm^{-1} に低波数シフトしていることがわかる。一般に、水素結合が関与してくると IR のピークは低波数側にシフトすることが知られている。したがって、これらの IR スペクトルの結果は、ホスト化合物の水酸基とゲストである酢酸エチルのカルボニル基が水素結合して包接されていることを示しているといえる。また、(a) において 3040 cm^{-1} に見られる C-H (aromatic) 伸縮振動および 1590 cm^{-1} に見られる C=C (aromatic) 伸縮振動、また (c) において 2980 cm^{-1} に見られる C-H (aliphatic) 伸縮振動が、包接錯体 (b) でも全く変化していないことから、 π - π および CH- π 相互作用の関与は小さいと考えられる。

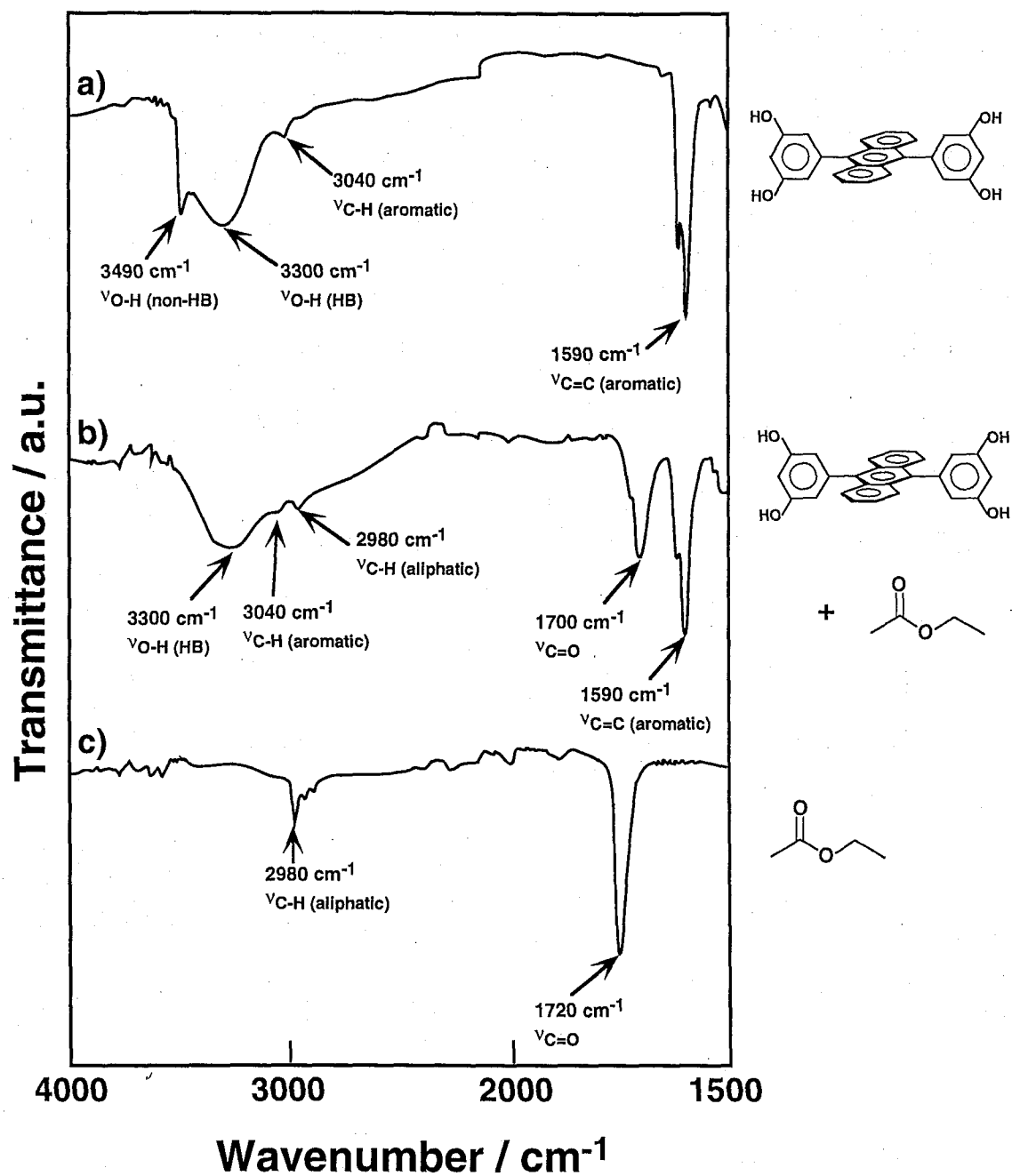


図 5-6 アントラセンビスレゾルシノール固体ホスト単独 (a)、固体ホストと酢酸エチルとの包接錯体 (b)、酢酸エチル単独 (c) の IR スペクトル

5-3-4 ゲスト包接におけるホスト量依存性

気体ゲスト化合物が固体ホストの内部あるいは表面のどちらに吸着しているのかを知るために、水晶発振子上のアポホスト量依存性を調べた。図 5-7 に固定化したアポホスト量を 500 ~ 3000 ng に変化させたときの、5 mM の気体ゲスト化合物の吸着量を示す。酢酸エチルとメチルエチルケトン、このホスト量の範囲において、ホスト量の増加とともにゲスト吸着量が直線的に増加し、常に、ホスト量一分子に対しゲスト二分子が包接されていることがわかった。このことは、これらのゲスト分子が固体アポホストの内部にまで侵入して包接していることを示している。一方、ベンゼンやシクロヘキサンはホスト量に関係なくほとんど吸着は起こらず、ほぼ一定の値となることから、これらのゲストは固体ホストの表面にのみ吸着していると考えられる。

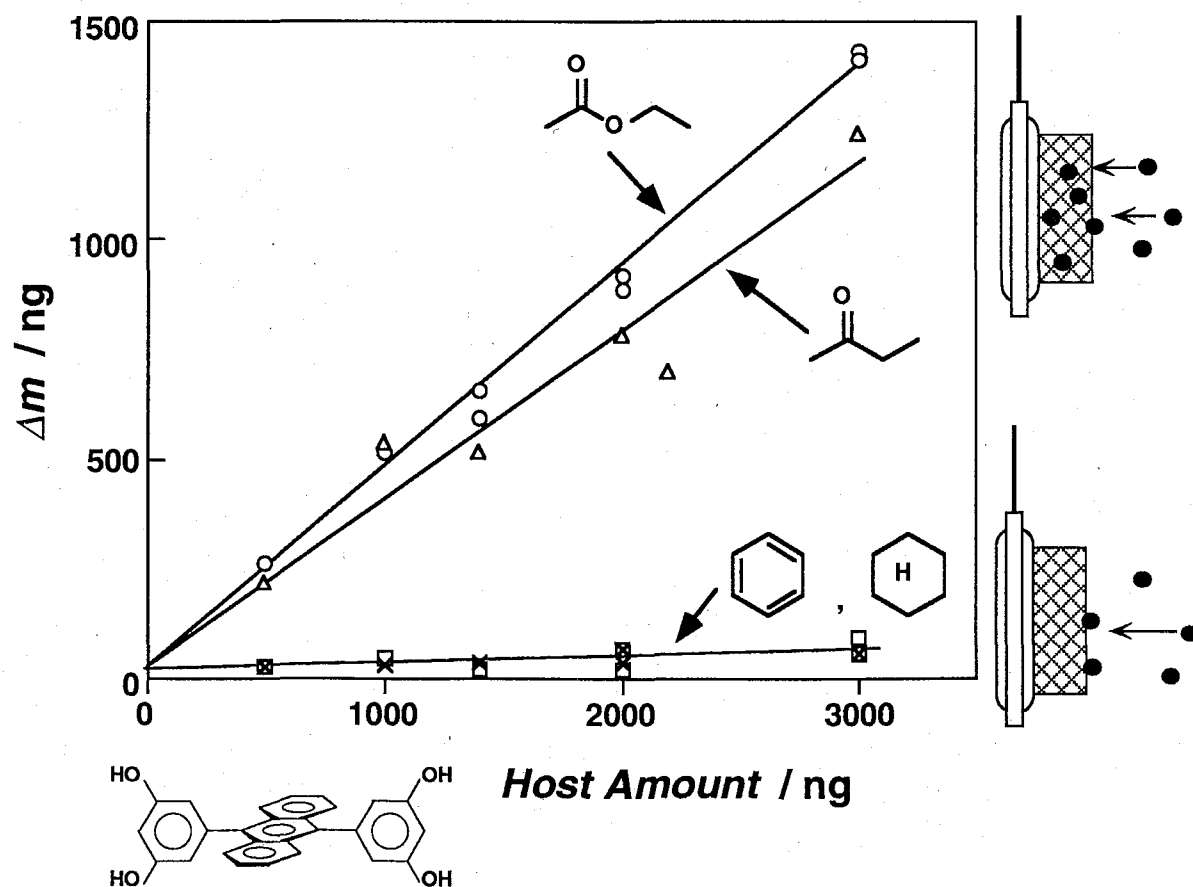


図 5-7 気体ゲスト包接におけるアポホスト量依存性 ($[Guest] = 5 \text{ mM}$, 25°C)

5-3-5 ゲスト包接におけるゲスト濃度依存性とアロステリック効果

次に、アポホストへの気体ゲスト吸着における濃度依存性、すなわち吸着等温線を調べた。図 5-8 にアポホスト量 2000 ng に対するゲスト化合物の 25 °C における吸着等温線を示す。ベンゼンとシクロヘキサンは濃度とともに少し吸着量が増加したが、その量は非常に小さいことがわかる。それに対し、酢酸エチルとメチルエチルケトンでは濃度に依存して吸着量は大きく変化した。メチルエチルケトンの吸着量は濃度に対して緩やかな変化を示したが、酢酸エチルの吸着量は 2.5 mM 付近を閾値にして、急激なシグモイド型の吸着等温線となり、ホスト一分子に対してゲスト二分子の量論比で飽和となった。シグモイドの濃度依存性は、ヘモグロビンの酸素結合の濃度依存性でよく知られているように⁷⁾、ゲストが結合するにつれて協同的にホスト側の構造が変化してゲストが結合しやすくなるときに見られる現象で、アロステリック効果と呼ばれている。つまり、酢酸エチルのアントラセンビスレゾルシノール固体アポホストへの吸着はアロステリックであるといえる。これはおそらく、低濃度においては酢酸エチルはアポホストの表面にしか吸着していないが、2.5 mM 以上の濃度になるとゲスト分子により固体ホストの結晶構造変化が誘起されて、より包接が起こりやすくなるためと考えられる (図 5-9)。

次に、酢酸エチルに構造の類似したエステル類である酢酸メチルおよびプロピオン酸メチルの固体アポホストへの吸着を観察した。酢酸メチルおよびプロピオン酸メチルの 25 °C における飽和蒸気圧 (気相濃度) は、それぞれ、216.6 mmHg (11.7 mM) および 81.6 mmHg (4.40 mM) である。図 5-10 にゲスト濃度 4.4 mM におけるアポホスト 2000 ng への酢酸エチル、酢酸メチル、プロピオン酸メチルの吸着の経時変化を示す。この濃度において、ゲストの包接されやすさは酢酸エチル > 酢酸メチル > プロピオン酸メチルとなり、エステルの構造が類似しているにも関わらずゲスト包接の明確な選択性が現れた。

図 5-11 にエステル類ゲスト化合物の 25 °C における飽和濃度までの吸着等温線を示す。酢酸エチルはシグモイド型の吸着等温線となりホスト一分子に対して約二分子の包接で

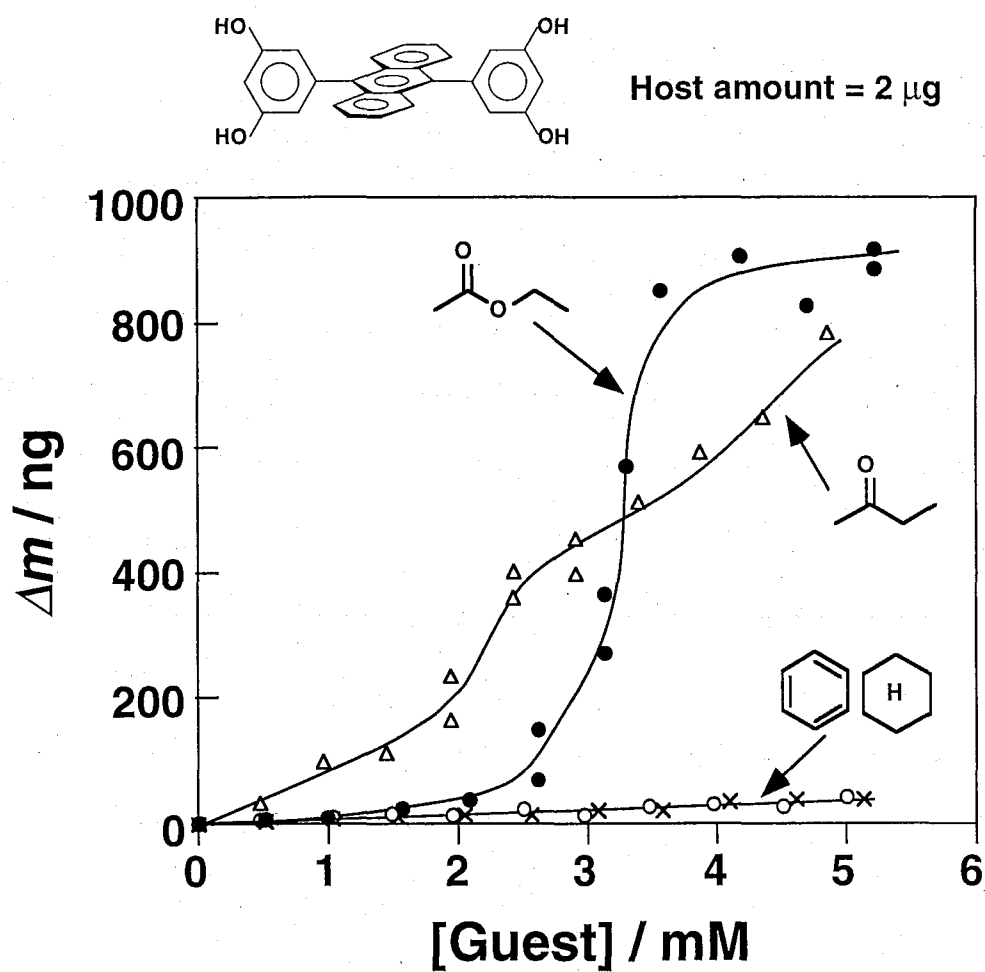


図 5-8 アポホスト 2000 ng に対するゲスト化合物の吸着等温線 (25 °C)

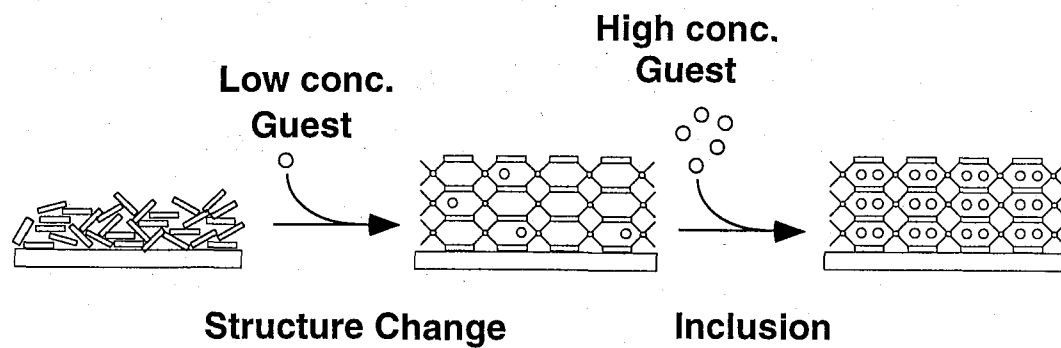


図 5-9 アポホストへのゲスト包接におけるアロステリック効果の模式的表現

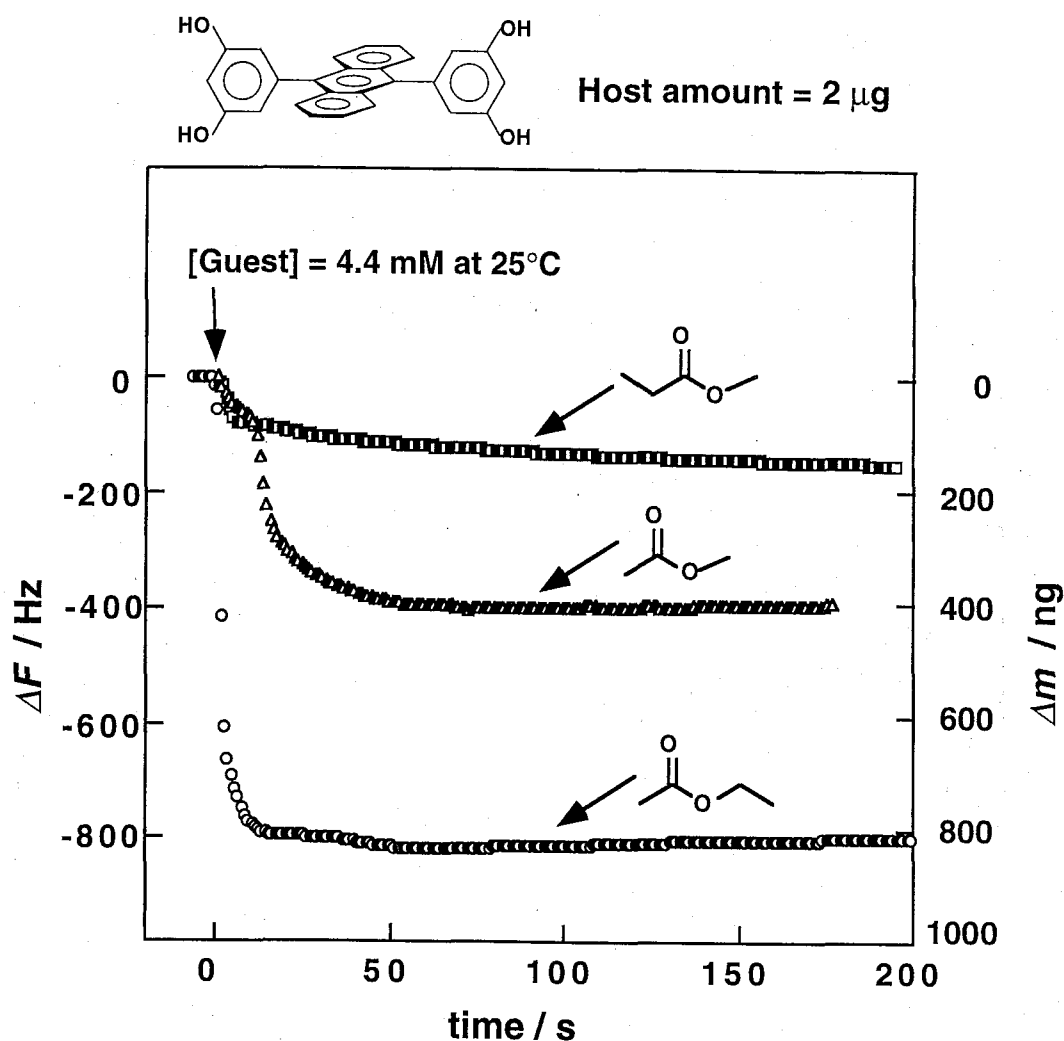


図 5-10 固体アポホスト 2000 ng へのエステル類ゲストの吸着における振動数の経時変化 [Guest] = 4.4 mM, 25°C

飽和となるのに対し、メチル基が一つ少ない酢酸メチルは、同様にシグモイド型の吸着等温線となったが、比較的緩やかな曲線となり、ホスト一分子に対して約三分子の包接でほぼ飽和となった（理論量は、二分子包接で 751 ng で、三分子包接で 1127 ng である）。それに対し、酢酸エチルの構造異性体であるプロピオン酸メチルは飽和濃度である 4.4 mM までの濃度で 200 ng 程度までの吸着しか起こらず、緩やかな濃度依存性を

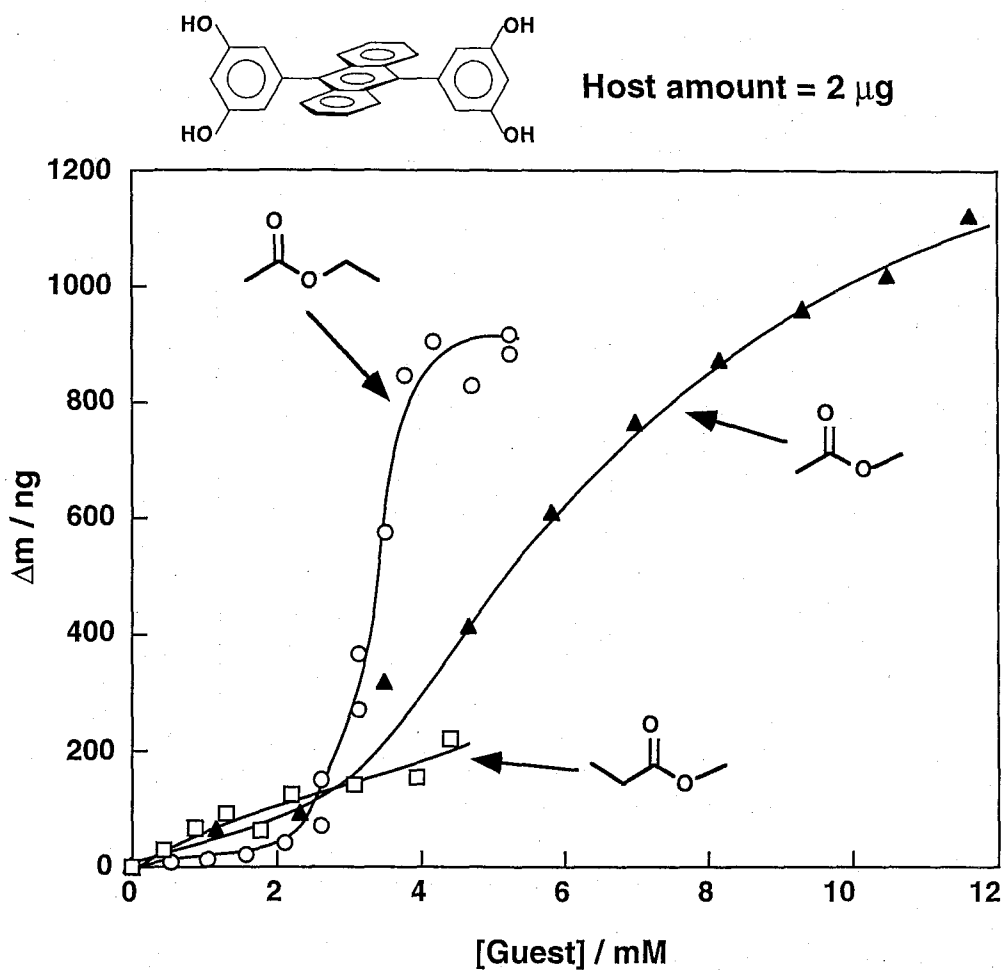


図 5-11 アポホスト 2000 ng に対するエステル類ゲストの吸着等温線 (25°C)

示した。

アロステリック効果の大きさの度合いを見積もる一つの方法として、Hill プロットが知られている⁷⁾。これは、式 20 のようにホスト H とゲスト G の結合定数 K_a が、ゲスト濃度 $[G]$ の n 乗に比例すると考えたときの、直線プロット (式 21) である。

$$K_a = \frac{[HG]}{[H] [G]^n} \quad (20)$$

$$\log \left(\frac{Y}{1-Y} \right) = n \log [G] + n \log K_a \quad (21)$$

ここで、 Y は飽和度 ($\Delta m / \Delta m_{max}$) であり、 n は Hill 係数といい、反応の協同性を表すパラメーターである。図 5-12 に酢酸エチル、酢酸メチルおよびメチルエチルケトンのアポHOST 2000 ng への包接における Hill プロットを示す。メチルエチルケトンの場合は飽和結合量がはっきりしないが、酢酸エチルと同様にHOST一分子に対して二分子が包接されると考えて計算した。どのゲスト化合物の Hill プロットもほぼ直線を与えた。この直線の傾きから Hill 係数 n と切片から結合定数 K を求めたものを表 5-1 に示す。各ゲストの結合定数 K はそれほど変わらないが、協同性を表す Hill 係数 n は酢酸エチルが 6.1 となり、メチルエチルケトンの 2.6 および酢酸メチルの 3.0 と比べ大きな値となった。つまり、酢酸エチルの方がHOST構造を大きく変えながら包接されていることがわかる。ヘモグロビンの酸素結合における Hill 係数は $n = 2.8$ である⁷⁾ ので、酢酸エチルの固体HOSTへの包接において観察された協同性はかなり大きいものと考えられる。

ゲスト分子の構造の違いによる協同性の違いは、酢酸メチルが三分子包接で飽和になることからわかるように、HOSTの空孔を埋めるのに酢酸メチルやメチルエチルケトンでは酢酸エチルに比べ大きさが不十分で、濃度に対して比較的緩やかにHOST結晶構造が変化するためではないかと考えられる。一方、酢酸エチルの構造異性体のプロピオン酸メチルでは、吸着もあまり起こらず、HOSTの構造変化を示唆するような挙動をも示さなかった。つまり、この固体HOSTは、メチル基一個の違いや分子中のカルボニル基の位置などを厳密に認識しているといえる。実際、青山らも似たような現象を観察していて、この固体HOSTは競争再結晶の際、ジブチルケトンとプロピルペンチルケトンでは構造異性体にも関わらず、前者の方が圧倒的に包接されることを報告している⁶⁰⁾。おそらく、HOSTゲスト間の水素結合点が固定されると、HOSTの空孔を埋めるための置換基の大きさにはちょうどいいバランスというものが存在するものと思われる。

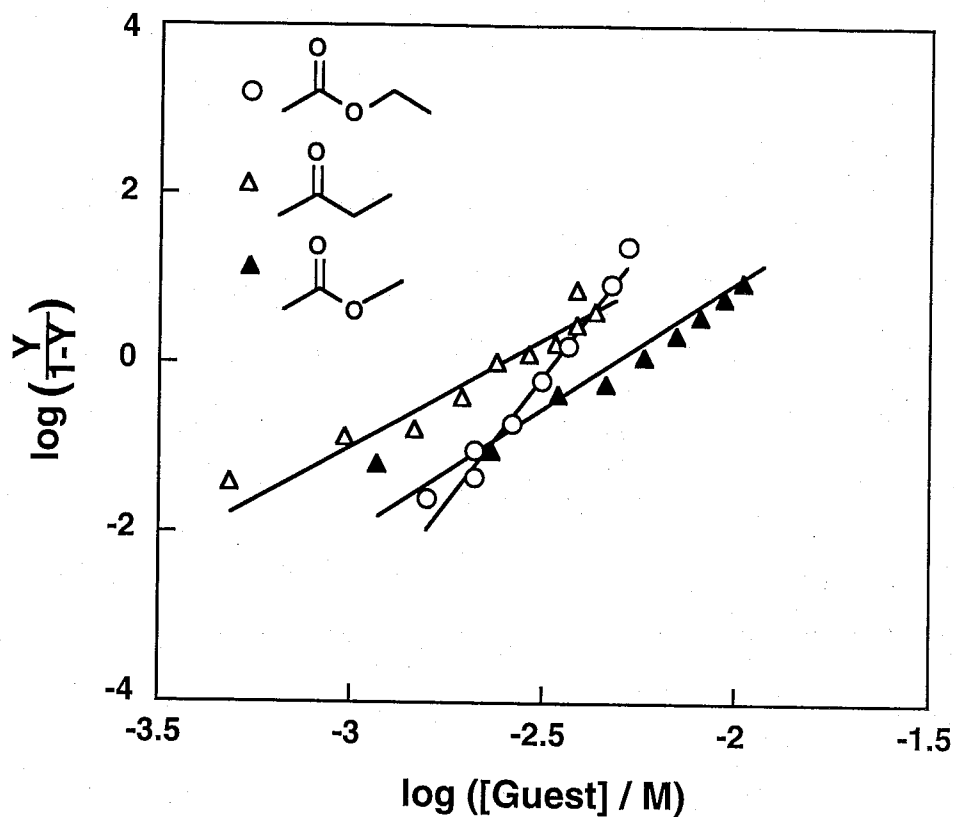


図 5-12 アポホストへのゲスト包接における Hill プロット

表 5-1 アポホストへの包接における Hill 係数と結合定数

Guest	n	K_a / M^{-1}
<chem>CCOC(=O)C</chem>	6.1	340
<chem>CCC(=O)C</chem>	2.6	420
<chem>CCOC(=O)C</chem>	3.0	220
<chem>CCC(=O)OC</chem>	a)	

a) シグモイド型の吸着等温線にならなかった。

5-3-6 ゲスト包接過程の動力学解析

これまで示してきたように、固体アポホストに酢酸エチルやメチルエチルケトンが水素結合を介して、ホストの構造変化をともしないながらアロステリックに包接されることがわかった。ここでは、ゲスト包接過程の経時変化の動力学解析をおこなった。解析方法は、2-3-4 節で述べたものと同様に、単純な擬一次平衡速度式（2-3 節、式10-15）に従うものとした。また、初期の約 30~60 ng の速い表面吸着過程は省略してフィッティングをおこなった。

図 5-13 に様々な濃度における酢酸エチルのアポホスト 2000 ng への包接過程の経時変化のカーブフィッティングを示す。2.6 mM までは吸着量は小さいが、平衡に達するまでに 200 秒近くかかるのに対し、吸着量が急激に大きくなる 3.6 mM 以上では 20 秒程度で平衡に達していることがわかる。つまり、吸着量が大きくなるところで吸着速度も大きく変化していると考えられる。

様々な濃度の酢酸エチル、メチルエチルケトン、酢酸メチル、およびプロピオン酸メチルの、アポホスト 2000 ng への包接過程のカーブフィッティングから求められる緩和時間の逆数 $1/\tau$ のゲスト濃度に対するプロットを図 5-14 に示す。プロピオン酸メチル以外のゲスト化合物では、ある濃度まではほとんど $1/\tau$ が零で、ある濃度を超えると直線的に $1/\tau$ が増加していった。つまり、ある閾値濃度を境に包接速度が濃度依存的に増加するといえる。一方、プロピオン酸メチルでは $1/\tau$ は飽和蒸気圧までほとんど零であり、包接速度が閾値濃度で増加するという現象は見られなかった。この閾値濃度は、図 5-8, 11 で示したシグモイド型の吸着等温線にほぼ対応している。つまり、閾値濃度まではホストの構造変化が起こらず、吸着量が少なく包接速度も遅いが、閾値濃度を超えるとホストの構造変化が起こり急に吸着量が増加するとともに包接速度も濃度依存的に増加すると考えられる。また、吸着等温線からもホストの構造変化を伴わないと考えられるプロピオン酸メチルでは、包接速度の閾値も見られなかった。

緩和時間の逆数プロットの直線の傾きから吸着速度定数 k_1 を求め、閾値濃度とともに

表 5-2 に示した。これより、酢酸エチルはメチルエチルケトンに比べ、構造変化を引き起こすためには比較的高濃度を要するが、構造変化してからはより速い速度で包接されていること、および酢酸メチルは酢酸エチルとはほぼ同濃度で構造変化を引き起こすが、構造変化してからの包接速度は遅いことがわかった。これは、ホストの空間を埋めるためのゲスト分子の大きさの違いによるものであると考えられる。

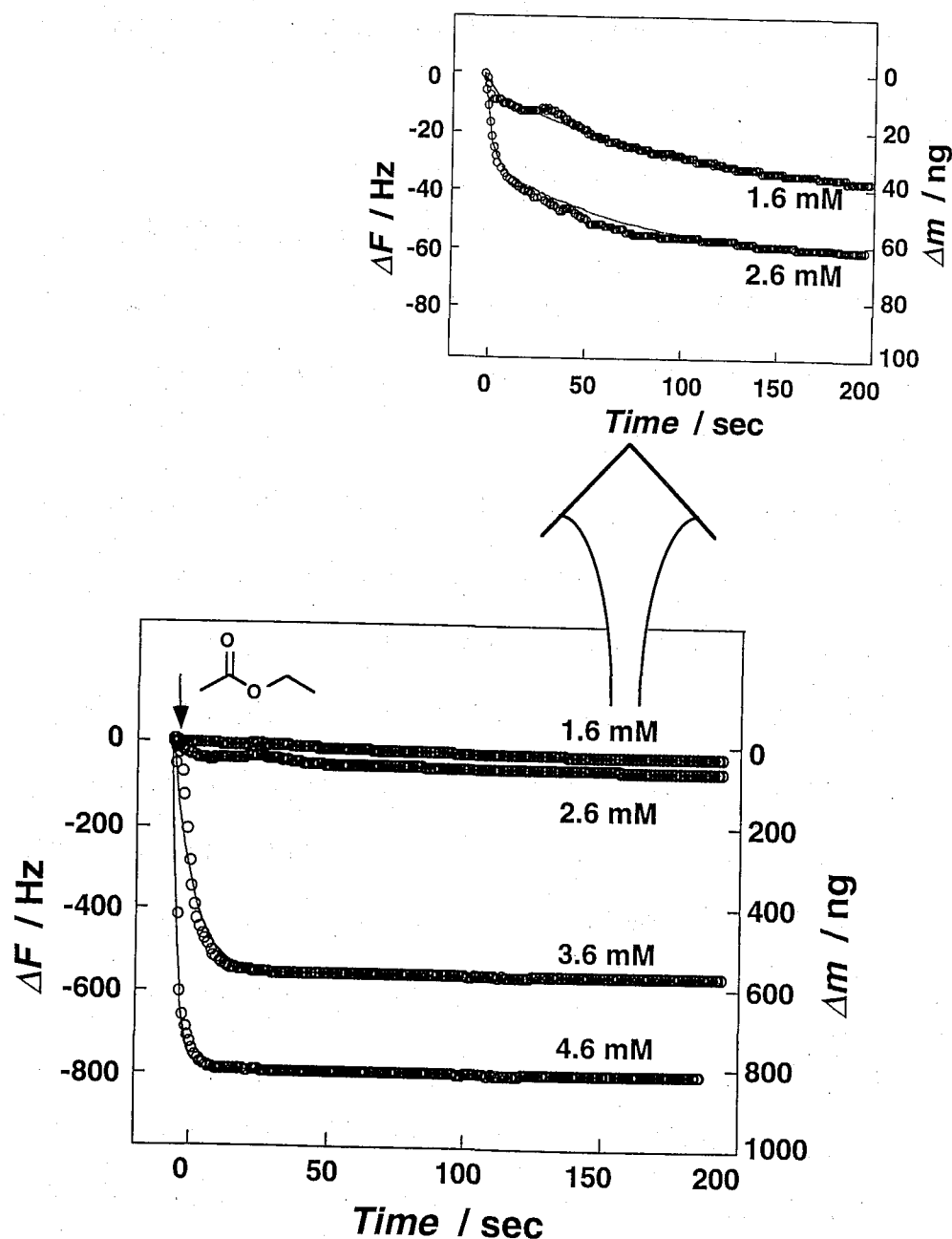


図 5-13 様々な濃度における酢酸エチルのアポホスト 2000 ng への包接過程のカーブフィッティング

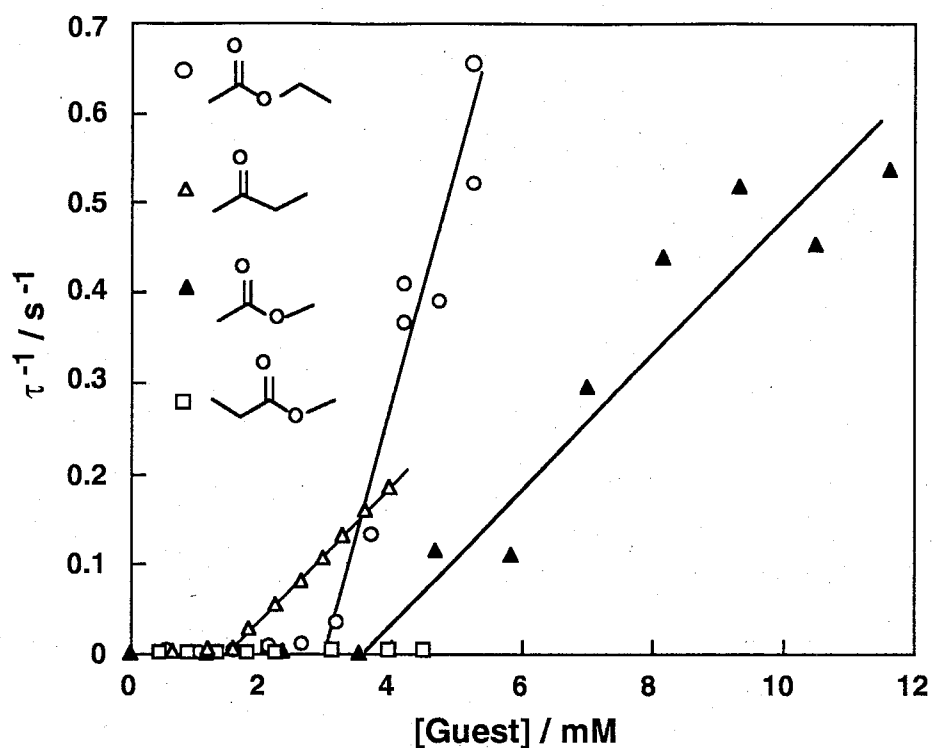


図 5-14 アポHOST 2000 ng へのゲスト包接における緩和時間の逆数の濃度依存性

図 5-2 アポHOST への包接における閾値濃度と包接速度定数

Guest	$[\text{Guest}]_{\text{th}} / \text{mM}$	$k_1 / \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$
<chem>CCOC(=O)C</chem>	2.9	270
<chem>CCC(=O)C</chem>	1.4	51
<chem>CCOC(=O)CC</chem>	3.1	70
<chem>CCC(=O)OC</chem>	a)	

a) ある濃度以上で包接速度が加速することはなかった。

5-5 結論

本章では、9 MHz 基本波の水晶発振子を用いて、アントラセンビスレゾルシノール固体アポホストへの気体ゲスト化合物の包接過程を観察した。

蒸気圧がほぼ等しいベンゼン、シクロヘキサン、酢酸エチル、メチルエチルケトンのうち、ホスト化合物と水素結合しうる酢酸エチルとメチルエチルケトンが選択的にホスト一分子に対してゲスト二分子の量論比で包接された。テトラO-メチル化ホストアナログに酢酸エチルとメチルエチルケトンが包接されないことや、IR スペクトル観察から、ホスト化合物同士の水素結合とホスト-ゲスト間の水素結合が包接には必要であることがわかった。また、ホスト量依存性から酢酸エチルとメチルエチルケトンは、結晶の内部にまで侵入して包接されていることがわかった。

包接におけるゲスト濃度依存性は、酢酸エチル、酢酸メチルの場合にシグモイド型の等温線となり、協同的に包接が起こっていることがわかった。また、動力学解析でもある濃度以上で急激に包接速度が大きくなり、その濃度以上で構造変化が起こっていることが示唆された。

また、酢酸エチルに構造の似た酢酸メチルでは、メチル基一個の違いでも、包接量論比や、包接における協同性が大きく違うことがわかった。さらに、酢酸エチルの構造異性体であるプロピオン酸メチルでは、あまり包接されず、ホスト分子の構造変化が誘起されるような挙動は示さなかった。すなわち、この固体ホスト化合物がゲスト分子のわずかな構造の違いをも認識していることが示唆された。

参考文献

- 1) a) 竹本喜一, 宮田幹二, 木村恵一, "包接化合物", 東京化学同人, 1989
b) K. Miki, A. Masui, N. Kasai, H. Tsutsumi, M. Miyata, M. Shibakami, and K. Takemoto, *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 6594 (1988)
c) 田中耕一, 戸田美三夫, "季刊 化学総説 No.6 光学異性体の分離", p 68, 学会出版センター, 1989
d) 戸田美三夫, "化学増刊 No.123 モレキュラー・キラリティー", p 57, 化学同人 (1993)
e) M. Fujita, Y. J. Kwon, S. Washizu, and K. Ogura, *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 1151 (1994)
f) M. Shimard, D. Su, and J. D. Wuest, *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 4696 (1991)
g) X. Wang, M. Shimard, and J. D. Wuest, *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 12119 (1994)
- 2) L. J. Barbour, M. R. Caira, A. Coetzee, and L. R. Nassimbeni, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 1345 (1995)
- 3) L. J. Barbour, M. R. Caira, and L. R. Nassimbeni, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 2321 (1993)
- 4) a) Y. Okahata, K. Yasunaga, and K. Ogura, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 469 (1994)
- 5) a) K. Ogura, T. Uchida, M. Minoguchi, A. Murata, and M. Fujita, *Tetrahedron Lett.*, **31**, 3331 (1990)
b) 小倉克之, 油化学, **43**, 779 (1994)
- 6) a) K. Kobayashi, K. Endo, Y. Aoyama, and H. Masuda, *Tetrahedron*

Lett., **34**, 7929 (1993)

b) Y. Aoyama, Y. Imai, K. Endo, and K. Kobayashi, *Tetrahedron*, **51**, 343 (1995)

c) K. Endo, T. Sawaki, M. Koyanagi, K. Kobayashi, H. Masuda, and Y. Aoyama, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 8341 (1995)

7) a) D. Voet and J. G. Voet, "生化学 (上)", p.181, 東京化学同人, 1992

b) L. Stryer, "BIOCHEMISTRY 3rd Ed.", p.154, FREMAN Co., 1988

第六章 総括

分子認識は生体内でのあらゆる過程の基礎となる現象であり、それを人工系でも再現するために様々なモデル研究が行われてきている。これまで、分子認識のモデル研究は水中や有機溶媒中などで行われてきたが、近年、溶媒のない気相系での分子認識研究が注目を集めている。分子認識現象が、溶媒に関係なくホストとゲストの分子の性質だけで起こることは興味深い。

本研究では、マイクロバランスとして知られている水晶発振子を用いて、水晶発振子の金電極上に固定した自己会合性単分子膜や固体ホストと気相中のゲスト分子との相互作用を観察した。これまで、分子認識の研究において動的過程を観察する方法はあまりなかったが、本研究の方法では、その過程を振動数の経時変化として定量的に観察でき、動力学解析が容易に行うことができた。

第二章では、カルボン酸、アミド基、アミノ基を末端に持つ単分子膜と官能基を持たないアルキル単分子膜への酢酸分子の吸着挙動を観察した。官能基を持たないアルキル単分子膜においては、酢酸分子は比較的小さい結合定数で表面と相互作用し、吸着量も少ないが多層吸着しやすい傾向にあることがわかった。アミド基を末端に持つ単分子膜では、酢酸分子はアルカン単分子膜よりも一桁大きな結合定数で表面に強く結合し、単層吸着が起こり、多層吸着しにくいことがわかった。それに対し、カルボン酸を末端に持つ単分子膜では、アミド膜より少し小さな結合定数を示したが、多層吸着がより起こりやすいことがわかった。これは、カルボン酸単分子膜では膜内水素結合しているために酢酸分子と一点水素結合しかできないのに対し、アミド単分子膜では膜内水素結合していても二点水素結合できるためと推論した。このことは、表面のカルボン酸含量の少ない混合単分子膜において結合定数が向上したことからも裏付けられた。また、アミンを末端に持つ単分子膜では、酢酸はアミド膜と同様の大きい結合定数で単分子膜表面に結合するが、カルボン酸単分子膜よりもさらに多層吸着しやすいことがわかった。これ

は、アミン単分子膜と酢酸が酸-塩基相互作用により結合しているためではないかと推論した。

第三章では、カルボン酸、アミド基を末端に持つ自己会合性単分子膜上への様々な有機気体ゲスト分子の吸着選択性を検討した。予想したとうり、単分子膜表面へのゲスト分子吸着の結合定数はゲスト分子の飽和蒸気圧に依存した。そこで、アミドおよびカルボン酸単分子膜に対する動力学パラメーターおよび結合定数をアルカン単分子膜に対するそれで割ることで、蒸気圧による効果を補正し、ゲストによる表面官能基への吸着選択性を議論した。有機気体ゲスト分子（酢酸、ヘキサン酸、ノナン酸、ペンチルアミン、アニリン、エチレンジアミン、エタノール、オクタン）のうち、アミド単分子膜に対しては酢酸が選択的に吸着したのに対し、カルボン酸単分子膜に対しては酢酸とエチレンジアミンが選択的に吸着した。酢酸は強い水素結合によりアミド膜およびカルボン酸膜のどちらとも吸着していると考えられるが、エチレンジアミンは酸-塩基相互作用によりカルボン酸膜に強く吸着し、そのためアミド膜にはあまり強く吸着しないものと考えた。酢酸と比較してヘキサン酸およびノナン酸が、アミド膜およびカルボン酸膜にあまり選択的に吸着しないのはアルキル鎖長が長いためにファンデルワールス相互作用が水素結合よりも大きく効いているためと考えた。エチレンジアミンと比較してペンチルアミンやアニリンがカルボン酸膜にあまり選択的に吸着しないのは、エチレンジアミンがカルボン酸膜と二点酸-塩基相互作用して強く吸着しているためと考えた。また、カルボン酸膜に対するジアミノシクロヘキサンの三つの位置異性体(1,2-, 1,3-, 1,4-)の吸着選択性を検討したところ、1,2-体がエチレンジアミンに匹敵する選択性でカルボン酸膜に吸着したのに対し、1,4-体ではペンチルアミンと同様にカルボン酸膜にあまり選択的ではなく、1,3-体はその中間であった。したがって、カルボン酸膜は二つのアミノ基の相対位置を識別し、エチレンジアミンや1,2-ジアミノシクロヘキサンのように二つのアミノ基が隣り合った炭素上に存在するとき最も強く結合することがわかった。

第四章では、チミン塩基およびアデニン塩基を末端に持つ自己会合性単分子膜上への核酸塩基類似物の（2-アミノピリジン、 γ -ブチロラクタム、およびアニリン）の気相か

らの吸着挙動を観察した。チミン単分子膜に対しては、アデニンのモデルとして用いた 2-アミノピリジンが選択的に吸着し、チミンのモデルである γ -ブチロラクタムはあまり吸着せず一点水素結合しかしないと考えられるアニリンと同程度の結合定数しか示さなかった。それに対して、アデニン単分子膜に対しては、チミンのモデルの γ -ブチロラクタムがアデニンのモデルの 2-アミノピリジンやアニリンよりも大きな結合定数を示した。また、その選択性はクロロホルム中での値と似ていた。したがって、核酸塩基の相補的水素結合による分子認識が気相中において観察されたといえる。また、ゲスト吸着に及ぼす単分子膜表面の核酸塩基含量の効果について検討した結果、チミン膜ではその含量にあまり依存せず、2-アミノピリジンが選択的に吸着したが、アデニン膜では含量に大きく依存し、高含量では γ -ブチロラクタム > 2-アミノピリジンであるが低含量にすると逆転する傾向にあった。したがって、アデニン膜においては、膜内でアデニン塩基同士が相互作用しており、それがゲスト認識性に影響を及ぼしていると考えた。さらに、分子力学計算により核酸塩基とゲスト分子の相互作用エネルギーを見積もったところ、チミン塩基においては100% チミン膜での実験値とほぼ対応する結果を得た。つまり、チミン膜ではほぼ1:1での相補的水素結合により分子認識がおこなわれていることがわかった。一方、アデニン塩基においては100% アデニン膜での実験値とは合わないが、10% アデニン膜での実験値に対応する計算結果となった。これは、100% アデニン膜における分子認識は、アデニン塩基が膜内で相互作用することにより起こっているためと考えた。

第五章では、アントラセンビスレゾルシノール固体アポホストへの気体ゲスト化合物の包接過程を観察した。蒸気圧がほぼ等しいベンゼン、シクロヘキサン、酢酸エチル、メチルエチルケトンのうち、ホスト化合物と水素結合しうる酢酸エチルとメチルエチルケトンが選択的にホスト一分子に対してゲスト二分子の量論比で包接された。テトラ O-メチル化ホストアナログに酢酸エチルとメチルエチルケトンが包接されないことや、IR スペクトル観察から、ホスト化合物同士の水素結合とホスト-ゲスト間の水素結合が包接には必要であることがわかった。また、ホスト量依存性から酢酸エチルとメチルエ

チルケトン¹は、結晶の内部にまで侵入して包接されていることがわかった。包接におけるゲスト濃度依存性は、酢酸エチルの場合にシグモイド型の等温線となり、協同的に包接が起こっていることがわかった。また、動力学解析でもある濃度以上で急激に包接速度が大きくなり、その濃度以上で構造変化が起こっていることが示唆された。また、酢酸エチルに構造の似た酢酸メチルでは、メチル基一個の違いでも、包接量論比や、包接における協同性が大きく違うことがわかった。さらに、酢酸エチルの構造異性体であるプロピオン酸メチルでは、あまり包接されず、ホスト分子の構造変化が誘起されるような挙動は示さなかった。すなわち、この固体ホスト化合物がゲスト分子のわずかな構造の違いをも認識していることが示唆された。

以上のように本研究では、水晶発振子を用いて気相系における様々な分子認識の定量的な動的解析をおこなった。結果として、溶媒がないために、酢酸のような単純な化合物でも分子認識が起こり、また、核酸塩基の相互作用でも有機溶媒系よりも大きな結合定数を示すなど様々な特徴を見いだすことができた。また、ホスト単分子膜の含量効果のように、単分子膜であることの特徴も見いだすことができた。さらに、固体ホスト系では、アロステリックな包接挙動が観察され、分子集合体としての特徴が見られた。最近、分子認識における媒体の効果が重要視されてきているが、このように気相系において、興味深い分子認識が起こることを示すことは非常に意味のあることである。今後、気相系での分子認識や、分子認識の媒体効果の研究が蓄積され、分子認識現象の物理的および化学的な本質が明らかになっていくであろう。

発表論文

第二章

Y. Okahata, K. Matsuura, K. Ito, and Y. Ebara

**Gas Phase Selective Adsorption on Functional Monolayers
Immobilized on a Highly Sensitive Quartz-Crystal
Microbalance**

Langmuir, in press

第三章

K. Matsuura, Y. Ebara, and Y. Okahata

**Guest Selective Adsorption from Gas Phase onto a
Functionalized Self-Assembled Monolayer Immobilized on a
Super Sensitive Quartz-Crystal Microbalance**

Thin Solid Films, in press

第四章

K. Matsuura and Y. Okahata

**Selective Guest Binding onto Nucleic Acid Base Monolayers
immobilized on a Highly Sensitive Quartz-Crystal
Microbalance in Gas Phase**

Chem. Lett., 119-120 (1996)

その他の発表論文

- 1) T. Keumi, K. Matsuura, N. Nakayama, T. Tsubota, T. Morita, I. Takahashi, and H. Kitajima
Ortho-Selective Side-Chain Nitration of α -Bromoacyl-polymethylbenzenes and its Application to the Syntheses of Indan-1-one and Inden-1-one Derivatives
Tetrahedron, **49**, 537-556 (1993)

- 2) K. Matsuura, Y. Kimura, H. Takahashi, T. Morita, I. Takahashi, H. Kitajima, and T. Keumi
Positional Reactivity of Acylpolymethylbenzenes in Electrophilic Substitution
Bull. Chem. Soc. Jpn., **67**, 757-765 (1994)

- 3) D. N. Furlong, R. Urquhart, F. Grieser, K. Matsuura, and Y. Okahata
The Fabrication of Titania Q-State Particles in Langmuir-Brodgett Films
J. Chem. Soc. Chem. Commun., 1329-1330 (1995)

- 4) F. Caruso, P. S. Vukusic, K. Matsuura, R. Urquhart, D. N. Furlong, J. R. Sambles, and Y. Okahata
Investigation of Immuno-reactions in a Flow Injection System Using Surface Plasmon Resonance
Colloid and Surfaces, A, **103**, 147-157 (1995)

学会発表

本論文に関する学会発表

- 1) 伊藤賢志、松浦和則、江原靖人、岡畑恵雄
高感度水晶発振子の開発と単分子膜上での分子認識
日本化学会第67春季年会、青山学院大学青山キャンパス、平成6年3月
- 2) 松浦和則、伊藤賢志、江原靖人、岡畑恵雄
高感度水晶発振子上に固定化した単分子膜上での分子認識
第43回高分子学会年次大会、愛知県産業貿易会館、平成6年5月
- 3) 松浦和則、岡畑恵雄
高感度水晶発振子上に固定化した単分子膜上での分子認識
第43回高分子討論会、九州大学、平成6年10月
- 4) Y. Okahata and K. Matsuura
Molecular Recognition on a Self-Assembly Monolayer Immobilized on a Super Sensitive Quartz-Crystal Microbarance
3rd Australia-Japan Joint Symposium on Colloid Science, 福岡、平成6年10月
- 5) Y. Okahata and K. Matsuura
Molecular Recognition on a Self-Assembly Monolayer detected by a Quartz-Crystal Microbarance
International Symposium on Ultra Materials for Picotransfer, 幕張、平成7年3月
- 6) 松浦和則、岡畑恵雄
高感度水晶発振子を用いた気相-単分子膜間における分子認識の解析
第44回高分子学会年次大会、パシフィコ横浜、平成7年5月
- 7) 松浦和則、岡畑恵雄
高感度水晶発振子を用いる気相系での核酸塩基類似物の分子認識
第44回高分子討論会、関西大学、平成7年9月

- 8) 松浦和則、岡畑恵雄、遠藤健、青山安宏
水晶発振子をデバイスとする有機結晶中での分子認識
第44回高分子討論会、関西大学、平成7年9月
- 9) K. Matsuura and Y. Okahata
**Gas-Phase Molecular Recognition on a Self-Assembled Monolayer
detected by a Supersensitive Quartz-Crystal Microbalance**
1995 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, Honolulu,
Hawaii, 平成7年12月
- 10) 松浦和則、岡畑恵雄
水晶発振子をデバイスとする気相系での核酸塩基単分子膜上における分子認識
日本化学会第70春季年会、青山学院大学、平成8年3月発表予定
- 11) 河村浩一、松浦和則、江原靖人、岡畑恵雄
水晶発振子をデバイスとする水溶液中での核酸塩基単分子膜上における分子認識
日本化学会第70春季年会、青山学院大学、平成8年3月発表予定
- 12) 松浦和則、岡畑恵雄、遠藤健、青山安宏
水晶発振子をデバイスとするアントラセンビスレゾルシノール固体ホスト中での
分子認識
日本化学会第70春季年会、青山学院大学、平成8年3月発表予定

その他の学会発表

- 13) 松浦和則、毛海 敬、坪田敏昭、森田俊夫、北嶋英彦
 α -ブロモアシルポリメチルベンゼンのオルト位選択的側鎖ニトロ化反応と分子内求核置換反応
日本化学会第61春季年会、慶応義塾大学日吉校舎、平成3年3月
- 14) 毛海 敬、松浦和則、坪田敏昭、森田俊夫、北嶋英彦
 α -ブロモアシルポリメチルベンゼンのニトロ化と分子内求核置換反応によるインダノン、インデノン骨格合成
日本化学会第62秋季年会、北海道大学、平成3年10月
- 15) 松浦和則、毛海 敬、高橋久和、森田俊夫、北嶋英彦
アセチルペンタメチルベンゼンの求電子置換反応
日本化学会第63春季年会、近畿大学、平成4年3月
- 16) 木村保夫、松浦和則、毛海 敬、森田俊夫、北嶋英彦
アシル-2,4,5,6-テトラメチルベンゼンの求電子置換反応
日本化学会第63春季年会、近畿大学、平成4年3月
- 17) 松浦和則、毛海 敬、坪田敏昭、森田俊夫、北嶋英彦
 α -ブロモアシルポリメチルベンゼンのオルト位選択的側鎖ニトロ化反応と分子内求核置換反応
日本化学会第63春季年会、近畿大学、平成4年3月
- 18) 松浦和則、毛海 敬、森田俊夫、高橋一朗、北嶋英彦
アセチルペンタメチルベンゼンのニトロ化反応
日本化学会第64秋季年会、新潟大学五十嵐キャンパス、平成4年10月

謝辞

本研究を行うにあたり、常に熱意に満ちあふれた御指導、御鞭撻を頂きました東京工業大学教授 岡畑 恵雄先生および同助教授 佐藤 智典先生に心から感謝いたします。

論文審査にあたられ、御指導、御助言を頂きました東京工業大学教授 藤平 正道先生、同教授 佐藤 史衛先生、同教授 上野 昭彦先生に深く御礼申し上げます。

水晶発振子のオーバートーン発振回路の作製およびキャリブレーションをして頂き、また研究を進める上で親身な御指導、御助言を頂きました東京工業大学助手 江原 靖人博士、また、実験を進める上で有用な御助言を頂きました森 俊明博士、田中 健太郎博士に厚く感謝いたします。

本研究の第二章の一部を行なって頂いた岡畑・佐藤^智研究室の伊藤 賢志氏に深く感謝いたします。また、三年間同じ学年として共に研究に励んできた芹沢 武博士をはじめとする岡畑・佐藤^智研究室の皆様に感謝いたします。

アントラセンビスレゾルシノール固体ホストを提供していただき、御助言を頂きました九州大学 有機化学基礎研究センター教授 青山 安宏先生および遠藤 健博士に深く感謝いたします。

学部および大学院修士課程においてお世話になりました福井大学教授 北嶋 英彦先生、福井大学助教授（故）毛海 敬先生に感謝いたします。また、東京工業大学大学院博士課程に入学する際にお世話になり、その後も御助言を頂きました名古屋工業大学助教授 南 後 守先生に感謝いたします。

オーストラリア留学中にお世話になりましたCSIRO 研究所の Dr. Neil Furlong および Dr. Robert Urquhart をはじめとする研究室の皆様に御礼申し上げます。

平成8年2月

松浦 和則