

ソフトな界面分子膜を足場とした機能性ゲル薄膜構築手法の開発

お茶の水女子大学基幹研究院自然科学系

伊 村 くらら

Low molecular weight gelators (LMWGs) form self-assembled 3D networks via noncovalent forces, such as hydrogen bonding or hydrophobic interactions, and they occur in a sol-gel transition in stimulus-response. As their various functions, they attract much interest in the material fields such as drug delivery, sensing and tissue engineering. Amphiphilic compounds are also assembled in various shapes such as spherical micelles, rod-shaped micelles, and worm-like micelles in the solutions. Their molecular assembling behavior is useful as LMWGs and studies on the surfactant-based LMWGs have been intense so far. An amidoamine derivative amphiphile, C18AOH, shows intermolecular hydrogen bonding and acts as a hydrogelator. C18AOH hydrogel exhibits sol-gel transition upon temperature and pH. It is known that inorganic salts induced the change in the aggregation of biological matters such as proteins and polymers containing amide groups. The addition of electrolytes would be expected to affect the self-assembled morphology of amidoamine surfactants due to the weakening of the intermolecular hydrogen bonding between the amide groups. In this study, we aimed to control the gelation properties of C18AOH and investigated the effect of the addition of electrolytes on the amide moieties. Focused on the C18AOH air-water interface monolayer, we examined the effect of electrolytes on the two-dimensional molecular orientation of the C18AOH monolayer. The gelation properties were also studied by powder X-ray diffraction and Fourier transform infrared spectroscopy. It is indicated that intermolecular hydrogen bonding would be affected by the addition of hydrated cations. It was found that the C18AOH fibril became elongated in the presence of MgCl_2 . In conclusion, the addition of the cations which promoted the hydration to the C18AOH modulated the intermolecular hydrogen bonding of amide groups, which is one of the driving forces for gelation and achieved the control of the hydrogel properties.

1. 緒 言

両親媒性物質が形成する分子集合体は、化粧品や医薬品、食品といった様々な分野で幅広く活用されている¹⁾。その中でも、ひも状ミセルやリオトロピック液晶、 α ゲルといった粘弾性の高いゲル様の機能を示す分子集合体(界面活性剤ゲル)には、高分子ゲルには見られない両親媒性分子特有の優れた機能の発現が期待される。界面活性剤ゲルの多くは、二分子膜平面が多層に積み重なったラメラと呼ばれる構造からなる。構造の特定は比較的容易であり、各種のX線回折装置や偏光顕微鏡観察によっても同定が可能である。しかし、その熱力学的安定性や結晶多形は多様であり、これらの因子はゲルの物性へ多大な影響をおよぼす。これまでに両親媒性物質によるゲルとして、液晶相や α ゲルといった分子運動性の高いものから、低分子ゲルファイバーに分類されるような結晶性の比較的高いものなど多くの報告がなされてきた。近年、水素結合や疎水性相互作用、 π - π 相互作用などの非共有結合を介して自己会合し、高分子様の網目構造を取る低分子ゲルに注目が集まっている²⁾。これらは、温度やpHといった外部刺激に応答した

ゾル-ゲル転移を引き起こすなど多様な機能を持つことから、薬物輸送やセンシング、組織工学などの材料分野における利用が目されている。低分子ゲルの機能開発においても、他の界面活性剤ゲルと同様、その分子集合状態の制御はきわめて重要である。

さらに、これら界面活性剤ゲルは分子集合体の内部に多様な物質を取り込み包接することで、機能性複合ゲルを構築しうる。コスメトロジー分野における応用に向けては、より効率的なヒドロゲルの形成と分子包接が求められる。さらには、分子集合すなわちゲル化が可逆的に起こり、これらの機能を自在に制御できることが望ましい。界面活性剤の分子集合特性を鑑みれば、単一の分子構造でありながらも、分子集積制御を通じてゲル化特性を自在に操ることも可能である。本研究では、界面活性剤ゲルのより効果的な応用に向け、分子集合転移と制御の仕組みを気-液界面での分子集積に基づいて検証するものである。

界面活性剤の分子集合作用は低分子ゲルの構築を考える場合においても有用であり、これまでに界面活性剤由来の低分子ゲル化剤も多く報告されてきた³⁾。本来、界面活性剤の多くは水溶性であり水中ではミセルといった分子集合体を取り得る。ここに、長鎖炭化水素鎖の疎水性相互作用や官能基の分子間水素結合といった会合を強める因子を付加することで、ゲルファイバーの形成を促すことができる。これまでに、 $\text{C}_{18}\text{H}_{37}$ の炭化水素鎖を持つアミドアミン型界面活性剤 *N*-(2-hydroxy-ethyl)-3-[[2-(2-hydroxy-ethylcarbamoyl)-ethyl]-octadecyl-aminol]-propionamide (以下C18AOH、Fig. 1) は、親水部アミド



Fabrication of functional hydrogels based on the molecular membrane of amphiphilic gelator

Clara Imura

Ochanomizu University

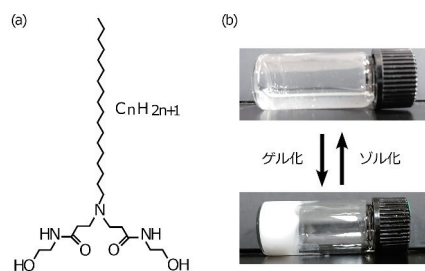


Fig. 1 アミドアミン型界面活性剤の(a) 分子構造ならびに(b) ヒドロゲルの形成

基の分子間水素結合に基づいてヒドロゲルを形成することが報告されている⁴⁾。また、気-液界面においては単分子膜の形成も示唆されている⁵⁾。C18AOHの物性はpHといった外的因子の影響を受けやすく、温度とpHといった外部刺激によって可逆的にゾル-ゲル転移をもたらす(Fig. 1)。しかし、マクロなゲル機能に紐づけながら分子集積構造を緻密に調整するには至っていない。先行研究により、C18AOHと類似構造を持つアミドアミン型界面活性剤では、塩化リチウムの添加によってアミド基の分子間水素結合が弱められ、分子集合形態が変化することが報告されている⁶⁾。無機塩の作用による分子集合状態の変化はタンパク質をはじめとしたアミド基を持つ高分子化合物においても観測されており、無機塩存在下では親水基の水和によって分子間相互作用に影響がおよぶことが指摘されてきた。

そこで本研究では、気-液界面における展開単分子膜の挙動に焦点をあて、界面活性剤ゲルとしての要求を満たすべくC18AOHゲルの分子集積の効果的な制御を目指した。親水基の分子間相互作用へ影響をおよぼす種々の添加物を組み合わせることで、C18AOH親水部への水和状態変化によるゲル形成作用の制御を検討した。まず、分子集合挙動に影響をおよぼす無機塩の探索と解析を行い、これらによってもたらされる界面活性剤ゲルの構造解析を実施した。

2. 実験方法

2. 1. 両親媒性分子*N*-(2-hydroxy-ethyl)-3-[[2-(2-hydroxy-ethylcarbamoyl)-ethyl]-octadecyl-amino]-propionamideの合成

本研究で用いたアミドアミン型の両親媒性分子*N*-(2-hydroxy-ethyl)-3-[[2-(2-hydroxy-ethylcarbamoyl)-ethyl]-octadecyl-amino]-propionamide(以下、C18AOH)は、オクタデシルアミンを原料として合成し、再結晶したものをを用いた。

2. 2. 気-液界面単分子膜の形成と評価

C18AOH気-液界面単分子膜は、Biolin Scientific社製ラングミュア・プロジェクトラフKSV-NIMA smallを

用いて、水面上に形成した。バリアで膜を圧縮しながらWilhelmyプレートをを用いて表面圧を測定し、表面圧-分子占有面積等温線(π - A 等温線)から、分子配向状態を検討した。このとき、下層液には5種の塩化物(KCl、LiCl、NaCl、CaCl₂、MgCl₂)をそれぞれ0~300mMとなるように添加した。いずれの場合も下層液の液性を中性とすることで、C18AOHは親水部アミンがプロトン化していない非イオン性の状態にあるとみなした。全ての実験は、20℃から50℃の恒温環境にて実施した。

2. 3. C18AOHヒドロゲルの形成と評価

C18AOHヒドロゲルは、最低ゲル化濃度以上のC18AOH熱懸濁液を室温で徐冷して得た。このとき、バイアルチューブを反転させ、流動性を失っているものをゲル、流動性が残っているものをゾルと判断した。ヒドロゲルには、5種の塩化物(KCl、LiCl、NaCl、CaCl₂、MgCl₂)をそれぞれ0~200mMとなるように添加した。

得られたゲルのファイバー形状は偏光顕微鏡(オリンパス製BX53)を用いて観察した。さらに、C18AOHヒドロゲルの分子集積構造は、粉末X線回折装置(リガク製Ultima IV)を用いて解析した。ゲル中でのC18AOHの分子間相互作用は、赤外分光光度計(日本分光製FT/IR-4700)を用いて測定した。

3. 結果

3. 1. 気-液界面単分子膜の形成と添加無機塩の影響

無機塩存在下におけるC18AOHのゲル形成挙動を検証するにあたり、まずC18AOHのゲル形成作用における重要な因子となる親水部官能基の水素結合が、添加無機塩の影響を受けてどのように変化するかを調べた。これには、ヒドロゲル化剤分子の気-液界面単分子膜における、二次元的な分子配向の変化から検討を行うこととした。C18AOHはpH=6以上の環境では難水溶性の両親媒性物質であり、中性の水面上に展開単分子膜を形成することが可能である。界面活性剤ゲルに見られるラメラ構造は二分子膜の集合体であり、こうした展開単分子膜における分子間相互作用の知見はゲル形成においても有用となる。

まず、下層液に無機塩を含まない系でのC18AOHの気-液界面単分子膜における π - A 等温線を検証した。C18AOH単分子膜は液体膨張膜を形成していることが示唆された(Fig. 2a)。これは分岐してかさ高い親水部を有するC18AOHの分子構造に起因すると考えられた。下層液温度が20℃のとき、この π - A 等温線にはおよそ38mN/m付近で屈曲点が現れたが、圧縮を続けても表面圧は低下せず膜の崩壊は起こらなかった。この結果からも、C18AOHの分子膜は柔軟な性質を有していることがうかがわれる。

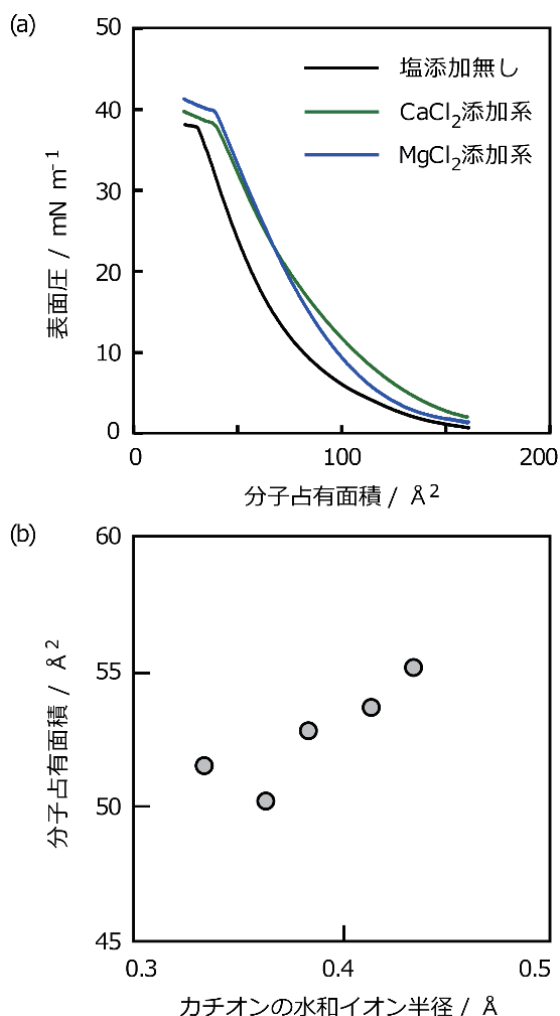


Fig. 2 気-液界面単分子膜における (a) π -A等温線および (b) 表面圧 30 mN/mでのC18AOH分子占有面積 (20°C、いずれも塩化物濃度を10 mMとした)

次いで、下層液に無機塩として塩化物を添加し、その π -A等温線を無機塩非添加系と比較した。無機塩を添加した場合でもC18AOH単分子膜は液体膨張膜を形成し、塩濃度を増すにつれて膜はさらに膨張することが示された。この膜膨張作用は塩化物の種類に依らず観測され、およそ塩濃度10mM以上で顕著な拡張が見受けられた。Fig. 2bに、下層液温度が20°C、表面圧が30 mN/mのときのC18AOH単分子膜の分子占有面積を示す。無機塩を添加していない系でのC18AOH分子占有面積41.52 Å²に対し、無機塩を10mM添加した場合の分子占有面積は50 Å²以上に広がった。興味深いことに、Fig. 2bに示すようにこの分子占有面積の増大は塩化物に含まれるカチオン種の水和イオン半径におよそ依存し、水和イオン半径が大きいほど強く現れることが分かった。特にMgCl₂添加系での分子占有面積は55.15 Å²となり、C18AOH単分子膜中での分子パッキングをより緩める作用を持つことが示された。このMgCl₂添加系のようにC18AOH分子間の距離を拡が

ると、水面上のC18AOH分子は直立できず傾斜した状態で並ぶようになると考えられる。すなわち、添加無機塩に含まれるカチオンは、C18AOHの分子配向に影響をもたらしていることが明らかになった。このような分子配向変化は、バルク中でのヒドロゲルの形成においても観測されると予想される。そこで、気-液界面単分子膜に対して、より強く影響をおよぼしたCaCl₂、MgCl₂に着目し、これらを添加した系でのC18AOHヒドロゲルの形成能の制御を試みた。

3.2. ヒドロゲル形成能に添加無機塩がおよぼす影響

C18AOHヒドロゲルにおいて、ゲル化に要する最小濃度(最低ゲル化濃度)は0.60wt%であることが分かっている⁴⁾。これに対し、CaCl₂およびMgCl₂を50mMの濃度となるように添加すると、最低ゲル化濃度はそれぞれ0.85wt%、0.80wt%まで上昇した。参照系としてNaClを添加した系の最低ゲル化濃度は0.65wt%であったことを考慮すると、前項の気-液界面単分子膜における挙動と同様に、カチオン種の違いに基づくヒドロゲル形成能への影響が生じていると言える。無機塩添加による最低ゲル化濃度の上昇はゲル形成作用が阻害されていることを意味し、この結果は気-液界面単分子膜にてCaCl₂やMgCl₂がC18AOH分子間のパッキングの緩和をもたらしたと矛盾しない。

添加無機塩がC18AOHのゾル-ゲル転移温度におよぼす影響も検討した。無機塩を添加しない場合の転移温度はpH=8条件においておよそ45°Cであったものの、50mMのMgCl₂を添加した系では49°Cまで上昇した。これもまた、無機塩の添加によりC18AOHの最低ゲル化濃度が上昇した結果と矛盾せず、無機塩がC18AOHのゲル形成能を緩める効果をもたらすことを示唆している。ただし、いずれの無機塩においても、C18AOHのゲル形成作用を打ち消すといった作用は示さず、低分子ゲル化剤として要求されるゲル形成力を十分に保持していることも確認された。

分子レベルでの配向状態の変化をマクロなゲル物性として引出し制御するには、分子集積構造に現れる挙動についても把握する必要がある。そこで次に、C18AOHヒドロゲルの分子集積構造に対して、添加無機塩の影響がどのようにおよんでいるかを検証した。ここではまず、C18AOH分子間に働く相互作用の状態を、フーリエ変換型赤外分光法(FT-IR)から調べた。Fig. 3に、C18AOHヒドロゲルのFT-IRスペクトルを、無機塩を含まない系とCaCl₂およびMgCl₂をそれぞれ添加した系と比較して示す。界面活性剤の疎水部炭化水素鎖におけるCH₂対称伸縮振動および逆対称伸縮振動は、それぞれ2850cm⁻¹付近と2920cm⁻¹付近に現れる。このバンドが高波数側に現れるほど炭化水素鎖の運動性が高い状態にあることが

分り、界面活性剤由来のゲルであればおよそ CH_2 逆対称伸縮振動は 2918cm^{-1} 付近に現れることが報告されている。C18AOH ヒドロゲルでは、これらのバンドはそれぞれ 2849cm^{-1} と 2917cm^{-1} に現れ、炭化水素鎖の運動性がゲル相の中でもやや低く水和結晶のものに近いことが示唆された。ここに濃度が 50mM となるように無機塩を添加しても、これらのバンドの波数は大きく変化しなかった。つまり、C18AOH ヒドロゲルの分子集積において、添加無機塩は疎水部炭化水素鎖には影響をおよぼしにくいと言える。次いで、親水部官能基相互作用への無機塩の影響を検討した。C18AOH の親水部にはアミド基とヒドロキシ基がそれぞれ2つずつ存在する。特に、アミド基は梯子様の分子間水素結合を形成することで、C18AOH のゲル化形成において重要な役割を果たしている。そこで、アミド基の水素結合状態をAmide Iバンドから確認した。C=O 伸縮振動によるこのバンドの吸収波数はアミド基の水素結合状態に依存し、アミド基の水素結合が弱いほど高波数側に出現する。無機塩を添加していないC18AOH ヒドロゲルでは、アミドIバンドは 1638cm^{-1} に現れた。この波数はおよそ既報^{4,7)} のアミドアミン誘導体型ゲル化剤による低分子ゲルで現れた波数とも一致し、C18AOH ヒドロゲルのアミド基は分子間で水素結合を生じていると判断し

た。一方で、無機塩を添加した系のFT-IR スペクトルでは、Amide Iバンドに僅かながら高波数シフトが見られた。特に、 CaCl_2 および MgCl_2 を添加した系では、吸収ピークよりも高波数側にて吸光度の増加が観測された。これらは、C18AOH アミド基の分子間水素結合が弱められていることを示唆するものである。添加塩がC18AOH ヒドロゲルにおよぼす作用は、主として疎水部炭化水素鎖ではなく親水部アミド基におよんでいることが確かめられた。

さらに、添加無機塩がC18AOH 分子集積にもたらす影響を、粉末X線回折法(XRD) による構造解析からも検証した。得られたヒドロゲルのXRD パターンには周期的な構造を示すピークが現れ、いずれの系もラメラ構造をとることが分かった。Bragg 式から算出したラメラ面間隔を、それぞれの塩添加系についてTable 1 に示す。無機塩を添加しないヒドロゲルでは 3.37nm であった面間隔は、 CaCl_2 添加系、 MgCl_2 添加系ではそれぞれ 3.35nm 、 3.32nm まで収縮した。Fig. 4 に、無機塩に含まれるカチオンの水和イオン半径に対する傾向を示す。いずれの塩化物でもラメラ面間隔を狭める作用を示したが、水和イオン半径が大きいものほど顕著にこの効果が現れることが分かった。

最後に、C18AOH ヒドロゲル中のファイバー形状に添

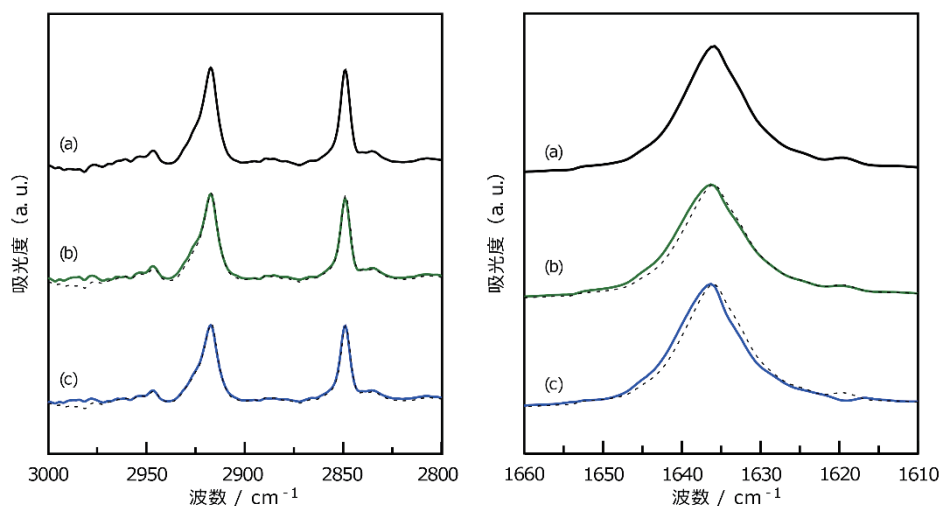


Fig. 3 C18AOH ヒドロゲルの FT-IR スペクトル
(a) 塩添加無し、(b) CaCl_2 添加系、(c) MgCl_2 添加系。
(b) および(c) では塩添加系と合わせて塩添加無しの場合のスペクトルを破線で示した。

Table 1 C18AOH ヒドロゲルの XRD パターンにおける回折ピークとラメラ面間隔
(いずれの塩添加系も C18AOH 濃度 2wt% に対し塩化物濃度を 50mM とした)

添加塩化物	非添加	KCl	NaCl	LiCl	CaCl_2	MgCl_2
回折ピーク 2θ	2.62°	2.63°	2.62°	2.62°	2.64°	2.66°
	5.20°	5.18°	5.15°	5.26°	5.22°	5.26°
	7.79°	7.77°	7.74°	7.75°	7.84°	7.79°
面間隔 d/nm	3.38	3.36	3.37	3.37	3.35	3.32

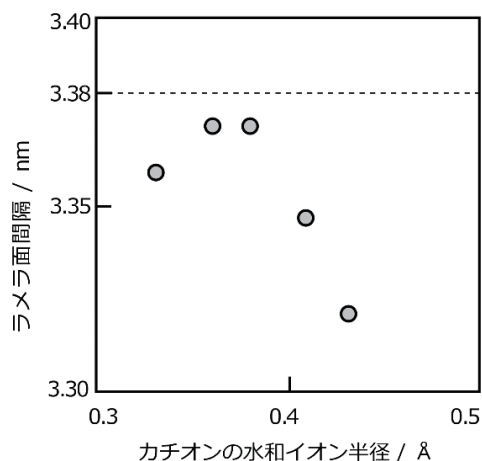


Fig. 4 塩化物濃度 50mM における C18AOH ヒドロゲルのラメラ面間隔とカチオンの水和イオン半径の関係

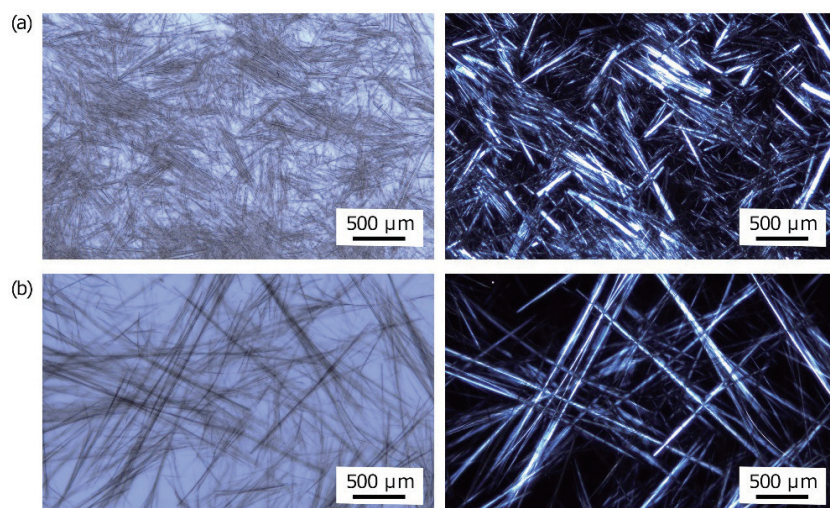


Fig. 5 直交偏光下における C18AOH ヒドロゲルの顕微鏡像
(a) $[MgCl_2] = 0mM$, (b) $[MgCl_2] = 50mM$

加塩がおよぼす影響を確かめた。偏光顕微鏡像 (Fig. 5) にて、C18AOH ヒドロゲルにはラメラ構造由来の複屈折性を示す針状のファイバーが観測され、これらが三次元ネットワークを形成していることが確認された。この形状は無機塩を添加した系では変化し、 $CaCl_2$ および $MgCl_2$ を添加したヒドロゲルではより細長く伸長した。ゲルファイバーの形態変化は、ゾル-ゲル転移温度といったゲルのマクロ物性と強い相関がある。効率的な三次元ネットワーク構築はゲル形成に要するゲル化剤量の低減につながり、ゲルのテクスチャーの制御にも有用である。

4. 考察とまとめ

アミドアミン型の両親媒性分子 C18AOH のヒドロゲル形成について、種々の塩化物を添加することで得られる効果を調査した。界面活性剤の親水部官能基に対して選択的に作用をおよぼしていることが明らかとなり、アミド基間の水素結合の緩和とそれによる分子間距離の拡大が示唆された。この作用は、塩化物に含まれるカチオンの水和イオン半径に強く依存しており、マグネシウムイオンといった水和イオン半径の大きなカチオンを含む系ほど効果的に分子間相互作用の緩和を誘起した。つまり、カチオン種によってゲル形成駆動力の調節が可能であることを意味している。こうした作用のメカニズムとして、カチオンが水和することによる水の分極の促進やゲル化剤官能基への直接的な付加が考えられる。

また、ゲルファイバーの分子集積にも大きな影響をもたらした。マグネシウムイオンといったカチオンを含む系では、C18AOH 分子膜における分子間距離が拡大するため、分子の傾斜が起こりやすいと考えられる。このような分子傾斜がラメラ構造中でも生じ、塩化物添加系でのヒドロゲ

ルにおけるラメラ面間隔の減少を引き起こしたと推測している。これにより、ファイバー成長にも差異を生じ、マグネシウムイオンを含む系ではよりしなやかで細長いゲルファイバーを形成することができた。これらの結果より、アミド基の水和を促進するカチオンの添加によって分子間水素結合の緩和が引き起こされ、ヒドロゲル形成作用を制御できることが示された。本研究で添加した塩化物は生体中でも存在するものであり、マクロなゲル機能に紐づけながら分子集積構造を緻密に調整する知見は、イオン種を含む環境下でのゲル応用にむけて有用であると考えている。

謝 辞

研究の遂行にあたって多大なるご支援をいただいた公益財団法人コーセーコスメトロジー研究財団に篤く御礼を申し上げます。

(引用文献)

- 1) Sarkar, S.; Choudhury, P.; Dinda, S.; Das, P. K., Tailor-Made Self-Assemblies from Functionalized Amphiphiles: Diversity and Applications. *Langmuir* **2018**, 34 (36), 10449-10468.
- 2) Estroff, L. A.; Hamilton, A. D., Water Gelation by Small Organic Molecules. *Chem. Rev.* **2004**, 104 (3), 1201-1218.
- 3) Suzuki, M.; Yumoto, M.; Shirai, H.; Hanabusa, K., Supramolecular Gels Formed by Amphiphilic Low-Molecular-Weight Gelators of N^a , N^e -Diacetyl-L-Lysine Derivatives. *Chem. Eur. J.* **2008**, 14 (7), 2133-2144.
- 4) Morita, C.; Kawai, C.; Kikuchi, A.; Imura, Y.; Kawai, T., Effect of amide moieties for hydrogelators on

- gelation property and heating-free pH responsive gel-sol phase transition. *J. Oleo Sci.* **2012**, 41 (6), 603-605.
- 5) Morita-Imura, C.; Mita, S.; Shindo, H., Effect of the Air/Water Interfacial Properties of Amine Derivatives on the in Situ Fabrication of Microsized Gold Sheets. *Langmuir* **2019**, 35 (11), 4029-4036.
- 6) Morita, C.; Imura, Y.; Ogawa, T.; Kurata, H.; Kawai, T., Thermal-Sensitive Viscosity Transition of Elongated Micelles Induced by Breaking Intermolecular Hydrogen Bonding of Amide Groups. *Langmuir* **2013**, 29 (13), 5450-5456.
- 7) Morita, C; Kawai, C.; Tsujimoto, K.; Kasai, K.; Ogue, Y.; Imura, Y.; Kawai, T, High organogelation ability and soft-templating for ultrathin Au nanowires of long-chain amidoamine derivatives. *J. Oleo Sci.* **2013**, 62 (2), 81-87.