

リポソーム（脂質 2 分子膜）とミセルのマイクロ環境と機能

半田哲郎¹⁾

岐薬紀要 (1984) 33 : 1-15

要約：リポソーム（脂質 2 分子膜）やミセルは両親媒性の分子（脂質や界面活性剤）によって、水中に形成される小さな分子集合体であり、複雑な生体膜の理解、さらに、製剤や薬物学的応用に関係して有望な将来性を持っている。これらの分子集合体は、変化に富んだ微小なサイズ的环境（マイクロ環境）を提供し、化学平衡、動力学や膜構造形成に大きな影響を持っている。

本稿では、マイクロ環境を特徴づける 4 つの因子、すなわち、マイクロ極性、マイクロ粘性、表面電位、および、膜電位について解説する。また、これらの因子がリポソーム、ミセル、さらに、生体膜の機能に対する効果を簡単に展望する。

索引用語：リポソーム、ミセル、マイクロ環境、マイクロ極性、マイクロ粘性、表面電位、膜電位（文80）

Microenvironments and Functions of Liposome and Micelle

TETSUROU HANDA

Ann. Proc. Gifu Pharm, Univ. (1984) 33 : 1-15

Abstract : Liposome (lipid bilayer membrane) and micelle are small assemblies of amphiphatic molecules (lipids and surfactants) organized in aqueous phase, and offer promising prospects of understanding complex natures of biological membrane and for pharmaceutical and pharmacological uses. These molecular assemblies provide extensive varieties of micro-sized environment (microenvironments) and have great effects on chemical equilibria, kinetics and structure formation of membrane.

In this article, the interpretations for 4 factors characterizing microenvironment, *i. e.* micropolarity, microviscosity, surface potential and membrane potential are given. The effects of these factors on the functions of liposome, micelle and biological membrane are also reviewed briefly.

Keyphrases : liposome, micelle, microenvironment, micropolarity, microviscosity, surface potential, membrane potential (Ref 80)

1) 岐阜薬科大学製剤学教室
岐阜市三田洞東 5 丁目 6 - 1
1) Department of Pharmaceutical Engineering,
Gifu Pharmaceutical University,
6-1, Mitahora-higashi 5 chome, Gifu 502

Received March 1, 1984
The Annual Proceedings of Gifu Pharmaceutical
University,
ISSN 0434-0094, CODEN : GYDKA 9

1. 緒言

脂質や界面活性剤は親水基と疎水基を1つの分子内に持つ両親性 (amphiphatic) の低分子であり、水中では疎水基間の凝集力により集合、配向して脂質2分子膜やミセルなどの分子集合体を形成する。^{1,2)} 脂質2分子膜のほうはリン脂質など水に難溶性の分子が水中で集合して形成される。リポソーム (liposome) は水相を内包する閉鎖した脂質2分子膜系である。ミセルは水溶性の界面活性剤分子が水中で集合して形成される。ミセル (micelle) 中では界面活性剤分子は疎水基を内側に、親水基を外側に配向させて集合し、一般には球形構造をもっている。³⁾ Fig.1 にリポソームとミセルの構造を示した。

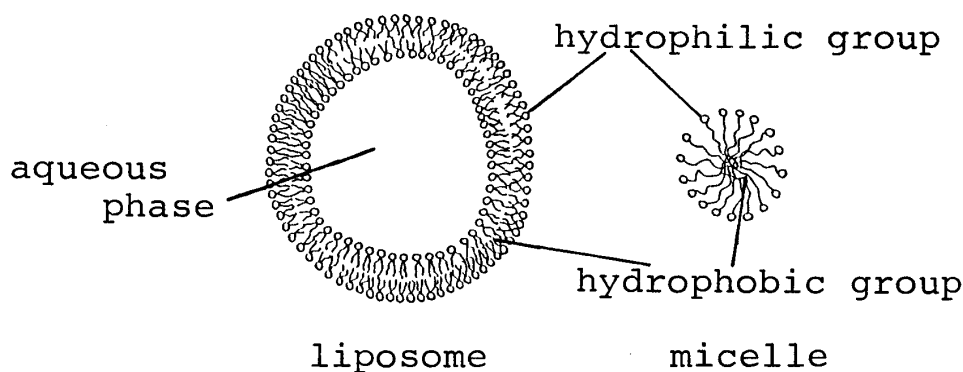


Fig. 1 Schematic presentations of liposome (lipid bilayer membrane) and micelle

リポソームやミセルの形成や平衡の問題は不均一系の溶液論を用いて研究されている (物理化学)。^{1,3,4)} 脂質2分子膜は生体膜の基本構造であり、生理学や生化学方面の多数の研究者が興味を持ちつつけている。細胞の多くの機能は生体膜で発現されるが、脂質の物理化学的状態や脂質と蛋白の相互作用の仕方は、その機能に大きな影響を及ぼしている (生物化学, 生物物理)。^{5,6)} 他方, リポソームやミセルを医薬品の担体として用いようという試みが多くなされている。これは、分子集合体であるリポソームやミセルによる難溶性医薬品の可溶化, 不安定な薬物の安定化, 徐放化, 吸収の促進, さらに医薬品の特定の臓器や細胞への選択的投与などと関係している (製剤学, 薬剤学)。^{7,8)} リポソームやミセルがこの様に広い範囲の関心を集めている原因は、これらの分子集合体が水溶液中で提供する微小な環境 (microenvironment) が持つ性質によると考えられる。脂質2分子膜に結合した種々の ATPase は高活性を持つが、膜がとり除かれると失活することが知られている。酸化還元酵素でも同様なことが見出される。⁹⁾ 光化学反応の増感剤の機能が水溶液内とリポソームやミセル内で異なることがある。^{4,10)} また、医薬品の安定性が水溶液中と、これらの分子集合体に取り込まれた時で大きく変化することも多い。^{11,12)}

マイクロ (微小な) 環境の具体的な内容としては、次の事柄が挙げられる。A: 膜の表面電位, 膜電位などの電気化学的状態, B: 膜やミセル内の環境の極性 (マイクロ極性, micropolarity), C: 膜やミセル内の環境の粘性 (マイクロ粘性, microviscosity) などである。本稿では、これらの問題点を筆者の最近の測定結果も一部に交えながら解説することにしよう。

2. ミクロ極性

リポソームの脂質2分子膜やミセル内の環境は均一な溶媒中のそれとは異なるものである。Fig.1 からわかるように、例えば、ミセルでは炭化水素鎖の集合した中心部は疎水性かつ非極性な環境であり、その表面付近は親水基や水分子が配置された比較的極性の環境である。また、ミセル表面とその内部では分子の運動性、したがって、マイクロな粘性も異なる。特定の機能を持つ分子がミセルに取り込まれても、ミセル内での存在位置 (location) により物

理的，化学的性質は同じでなく，その機能も影響を受ける。すなわち，ミセルやリポソーム膜内に取り込まれた分子を考えると，どのような位置に存在するか知る必要がある。^{13,14)}

Fig. 2 にはカチオン性の色素，methylene blue (MB) と 3,3'-dipropyl-2,2'-thiadicarbocyanine (diS-C₃(5)) 水溶液 (pH=7.3) に，牛の脳より抽出精製されたホオスファチジルセリン (PS) で形成されたりポソームを添加した時の吸収スペクトルの変化を示した。いずれの場合も PS 添加に伴い，吸光度が低下する。これはアニオン性の

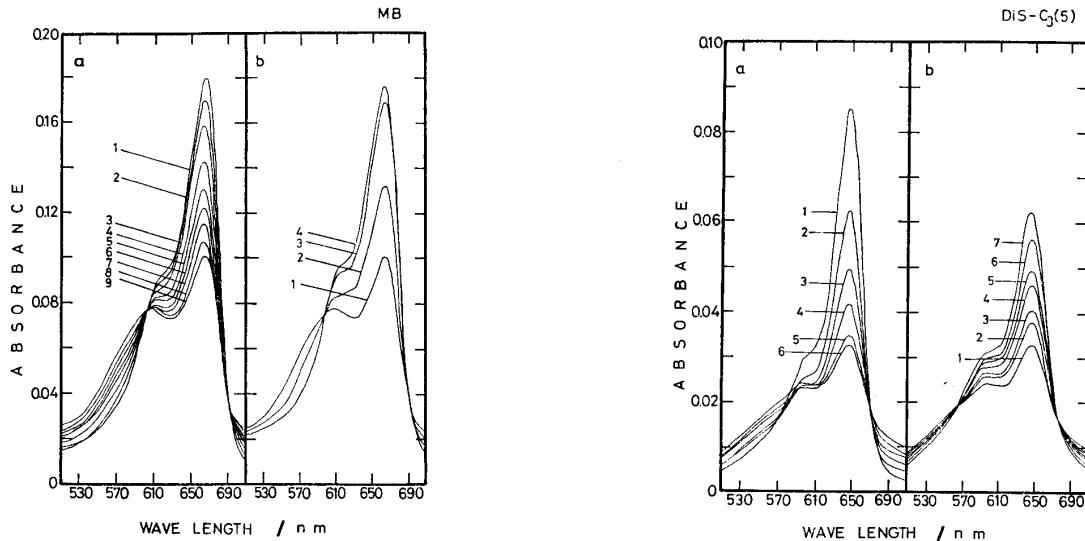


Fig. 2 A (a) MB spectral change upon addition of PS membrane. The medium contains 1 mM Tris-HCl and 2 μ M of MB at pH 7.3, 25°C. The amount of lipid added (in μ g/1 ml of medium): (1) 0; (2) 0.38; (3) 0.70; (4) 1.35; (5) 2.04; (6) 2.60; (7) 3.21; (8) 3.84; (9) 4.47. (b) MB spectral change upon addition of NaCl. 4.47 μ g PS/ml. The medium is the same as that on the (a) except for concentration of NaCl. [NaCl]: (1) 0; (2) 1; (3) 2; (4) 4 (in mM).

B (a) DiS-C₃ (5) spectral change upon addition of PS membrane. The medium contains 1 mM Tris-HCl and 0.73 μ M of diS-C₃ (5) at pH 7.3, 25°C. The amount of (dried) lipid added (in μ g/1ml of medium): (1) 0; (2) 0.06; (3) 0.126; (4) 0.190; (5) 0.252; (6) 0.315. (b) DiS-C₃ (5) spectral change upon addition of NaCl. 0.315 μ g PS/ml. The medium is the same as that on the (a) except for the concentration of NaCl. [NaCl]: (1) 0; (2) 2; (3) 4; (4) 14; (5) 24; (6) 54; (7) 104 (in mM)

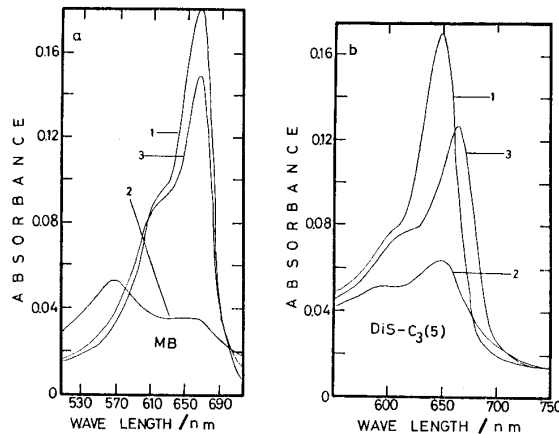


Fig. 3 Dye spectral change upon addition of PS membranes. The medium contains 1 mM Tris-HCl at pH 7.3, 25°C. (a) 2 μ M MB with (1) 0; (2) 15; (3) 150 μ g PS/ml. (b) 3 μ M diS-C₃ (5) with (1) 0; (2) 2.7; (3) 20 μ g PS/ml.

PS 2分子膜 (リポソーム) にカチオン性の MB や diS-C₃(5) が水溶液中より強く分配し、濃縮二量化したためである。¹⁵⁾ NaCl を添加すると静電的引力が弱まり、色素は溶液中に単量体として戻され、吸収も同時に回復する。色素が膜中で二量化されている事実は、Fig. 3 により明らかにされる。すなわち、水溶液中の MB や diS-C₃(5) に PS リポソームを大過剰添加すると、一度は濃縮二量化された色素は、それまでとは逆にリポソーム膜中で希釈され、二量体→単量体の方向に平衡がずれていく。Fig. 3 のMB, diS-C₃(5) についてのスペクトル1は水溶液中の色素単量体、スペクトル3はリポソーム膜中の単量体にそれぞれよるものである。diS-C₃(5) の場合、膜中のスペクトル3の吸収極大波長は、水中の値より長波長側にシフトしている。MB の場合、このシフトは小さい。

Table 1 にMB, diS-C₃(5) さらに 9-aminoacridine(9-AA)について、種々の溶媒中での吸収極大波長 (λ_{\max}) と溶媒の極性を表わすパラメーター (誘電率 ϵ や Reichardt-Dimorth の $E_T(30)$) の関係を示した。¹⁵⁾ この Table 1

Table 1 Solvent effects on the absorption maxima, λ_{\max} of cationic dyes

Solvent	Dielectric Constant	$E_T(30)$ Kcal/mole	λ_{\max}/nm		
			MB	DiS-C ₃ (5)	9-AA
H ₂ O (1 mM Tris-HCl, pH 7.3)	78.5	63.1	664	648	422.5
methanol	32.6	56.3	653	653.8	423.5
ethanol	24.5	51.9	655	656	424.5
1-propanol	20.1	50.7	655.8	657.5	425
1-octanol	10.3		658	662	426.5
benzene	2.3	34.5	659.8	672	428
hexane	1.9	30.9	*	675**	430**
methanol-H ₂ O mixtures					
W _M e _{OH} =0	78.5	63.1	664	648	422.5
0.13	72.6		663.8	650	
0.24	67.5		663.5	651	
0.30	64.8		663	652	
0.44	58.4		661.5	652.8	423.2
0.50	55.6		660		
0.56	52.8		658.5	653.3	
0.66	48.2		657.5	653.5	
0.79	41.8		655.5	653.5	
1	32.6	56.3	653	653.8	423.5
methanol-aqueous 5 M NaCl mixtures					
W _M e _{OH} =0	35		668	*	423.5
0.13			669	653.5	424
0.24			668.5	654.5	424.2
0.30***			668	654.8	424.2
0.38***			665.5	655	424
0.44***			663.5	655	424

* insoluble. ** rapid bleachings were observed. *** methanol + aqueous 4 M NaCl

にもとづいて、リポソーム膜やミセル内の MB, diS-C₃(5) および 9-AA の吸収極大波長より、これらの色素の近傍の膜内の極性を有効誘電率 ϵ として求め、Table 2 に示した。¹⁵⁾ MB はリポソーム膜やミセル中の比較的極性の高い領域 ($\epsilon=56\sim68$) に、diS-C₃(5) は非極性の領域 ($\epsilon=7.5\sim13.5$) に取り込まれることがわかる。詳細は述

Table 2 Absorption maxima, λ max, of cationic dye monomers and effective dielectric constants, ϵ , in membrane and micelle

Membrane and Micelle	MB		DiS-C ₃ (5)		9-AA	
	λ max/nm	ϵ	λ max/nm	ϵ	λ max/nm	ϵ
Phosphatidylcholine (PC) (11 mM)	663	68	663	8.5	423—424*	
Phosphatidylserine (PS) (0.03—0.21 mM)	662.8	65	664	7.5	424.8	20.5
Phosphatidic acid (PA) (0.03—0.21 mM)	663	68	663	8.5	424	27
Phosphatidid acid (PA) (0.21 mM, pH 10)	663	68				
Heptaethylene glycol monododecyl ether (HED) (20 mM)	663.5	63	663.5	8.0	423.6	33.5
Sodium tetradecyl sulfate (STS) (10 mM)	665.5**		660	13.5	424.5	23.0
Disodium hexadecyl phosphate (SHP) (10 mM, pH 10)	661.5	56				

* less accurate because of appreciable turbidity

** the close value of λ max is obtained in aqueous solution of 2 M NaCl

The concentrations of MB, diS-C₃ (5) and 9-AA used are 2, 3 and 2×10^{-6} M, respectively.

べないが、Fig. 1 の解析からも同様なことが結論される。このようにして、MB は膜の表面に結合するが膜透過性がほとんどないことが、diS-C₃ (5) は膜の内部に取り込まれ膜透過性が高いことがわかる。また、MB は膜の表面電位 (surface potential) のプローブとして、diS-C₃ (5) は膜で隔てられた水溶液間の電位差、すなわち膜電位 (membrane potential) のプローブとして用いられることがわかる。また、9-AA は膜で隔てられた水溶液間の pH の差の測定に用いられる。これらの 3 つは、後でも述べるが、生体膜の機能と深く結びついた電気化学的な量であり、生物物理学的関心が持たれつづけている。

ここで、マイクロは極性を表わすために用いた有効誘電率 ϵ に対するコメントを追加しよう。誘電率という量は本来、均一な媒質の静電的効果において評価された、巨視的性質に対するパラメーターである。ミセルやリポソーム内部は分子レベルの距離で媒体としての性質が変化する不均一な環境である (Fig. 1 参照)。一方、吸収スペクトルなどの分光学的測定値は、色素分子とその極く近傍の媒質分子の分子間相互作用を表わしている。したがって、ここで得られる有効誘電率とは、分子次元での色素と脂質や界面活性剤との相互作用の仕方を、誘電率という巨視的パラメーターで置き換えて評価した effective な量と考えねばならない。^{13,15)} 水溶液中の膜や、ミセル内での色素と媒質分子の相互作用は、polarization-dipole, dipole-dipole の他に水素結合性を考慮せねばならない。この様なマイクロ極性を誘電率で表わすには、水素結合能を持つ水やアルコールのシリーズを標準媒質として用いるのが最良である。¹⁶⁾

ベンゼン、ピレンやナフタレン、さらに多くの色素などの芳香族化合物のミセルや脂質膜中での存在部位が研究

されているが、これらの化合物はほとんど膜やミセルの表面付近に取り込まれることがわかってきている^{14,17-20)} (diS-C₃ (5) は、むしろ、例外的)。これは芳香環を持つ医薬品と膜の相互作用を考える時の重要な知見である。

3. 表面電位と膜電位

3-1 表面電位

表面電位 (surface potential) は、膜やミセルなどの分子集合体と水溶液との界面に存在する固定電荷により形成される静電的ポテンシャルである。Fig. 4 に示されるように、MB はリポソーム膜に分配し (分配係数 P)、濃縮され二量化する (二量化係数 K_d)。分配係数 P は膜の内在的な効果 (疎水性効果) による P_0 の項と、表面電位による静電的な項 $\exp(-e\psi/kT)$ の積として表わされる。²¹⁾ e は素電荷、 k はボルツマン定数である。

$$P = P_0 \exp(-e\psi/kT) \quad (1)$$

P_0 は実験的には電気的に中性のリポソーム膜への MB の分配係数であり、 P は表面電荷を持つ膜への分配係数である。Fig. 2 の MB の測定値を Fig. 4 にしたがって解析すると、表面電位 ψ (mV) が式(1)より求まる。

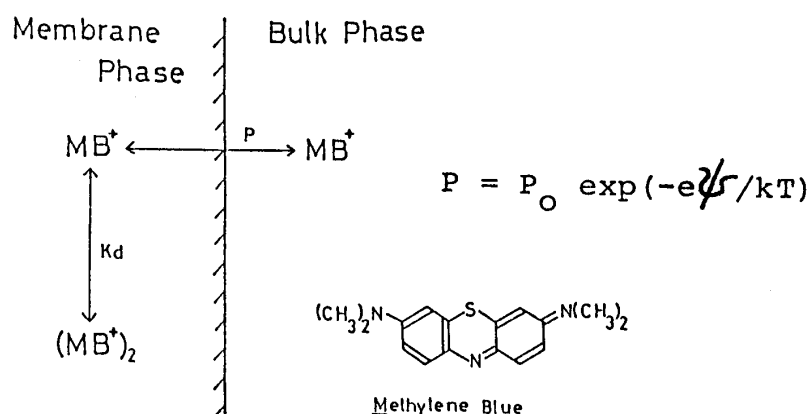


Fig. 4 Partition and dimerization equilibria of MB in aqueous membrane system.

P : partition coefficient between aqueous and membrane phase,

K_d : dimerization constant in membrane

Fig. 5 に中性のリン脂質である卵黄レシチン (E. Y. PC) と負電荷を持つウシ脳ホスファチジルセリン (B. B. PS) の混合リポソーム、および、中性の合成レシチン (DPPC) と合成の負電荷リン脂質 (DPPA) の混合リポソームの ψ の測定値を示した。酸性リン脂質 (B. B. PS, DPPA) の組成 x をそれぞれ変化させ、 ψ の測定値の変化を示した。また、Fig. 6 には溶液中の NaCl 濃度を变化させ (イオン強度 J を変化させ) た時の ψ の変化を示した。

酸性リン脂質の負電荷が全て表面電荷として有効であると仮定し、電気二重層の理論より ψ を求めた。この結果は Fig. 5 の破線のようになり、実測値とは一致しない。この理論で変化させ得るパラメーターは有効表面電荷密度のみである。そこで、負電荷の15~18% (解離度 $\alpha=0.15\sim0.18$) だけが有効電荷として作用するとして ψ を計算すると、測定値とよく一致した (実線)。Fig. 6 は J が増大すると α が一層、低下する事を示している。この様に大部分の表面の電荷が中和されているのは、溶液中より反対符号を持つ対イオンが膜表面に結合するからである。²²⁾

イオン性のミセルや単分子膜の熱力学的研究からも、これらの分子集合体にも対イオンが強く結合し、有効電荷密度が著しく減少することがわかっている。^{23~26)} この原因は、近接して存在する表面電荷による静電ポテンシャルの重なり合いが、表面近傍に対イオンに対する低いポテンシャル帯を形成すること、^{27~29)} 分子集合体と水相の異相界面で電気力線が歪み、対イオンに対する電場が強化されることが挙げられる。³⁰⁾ こうして、表面電荷を持つ膜やミセ

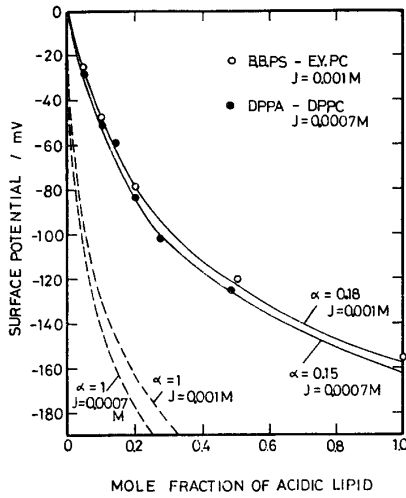


Fig. 5 Surface potential of lipid membrane (liposome) presented as a function of mole fraction of acidic lipid. The broken and solid lines indicate the theoretical values estimated from the electrical double layer theory. α : dissociation coefficient of head group

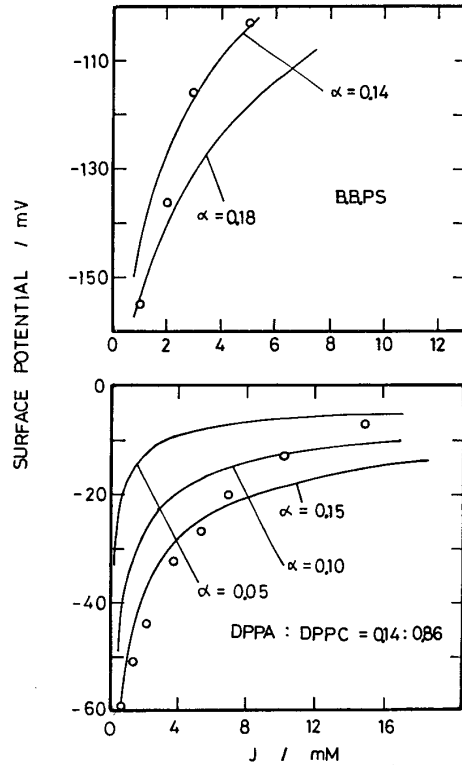


Fig. 6 Variation of surface potential of lipid membrane (liposome) with ionic strength J . The solid lines present the theoretical values for the α value indicated.

ル表面付近は濃厚な電解質溶液と似た環境にある。このような場に存在する水分子はその H^+ 供与性が高められ、種々の反応に影響を与えるだろう。³¹⁾ また、このような雰囲気の中で、酵素反応が影響を受けることも示唆されている。^{22,33)}

表面電位の別の顕著な効果は、次の様にしても生ずる。例えば、表面電位 $\psi < 0$ の時、 H^+ は静電的引力により膜やミセル表面で濃縮される。表面の pH を pH_s 、溶液内部の pH を pH_b とすれば、次の関係がえられる。^{34,35)}

$$pH_s = pH_b + (\psi/59.2) \quad (25^\circ C) \quad (2)$$

表面電荷が負で $\psi = 180mV$ の時、溶液の $pH_b = 7.0$ でも、膜やミセル表面では $pH_s = 4.0$ となる。逆に $\psi = +180mV$ の時、 $pH_s = 10.0$ とアルカリ性の値となる。この結果、酸やアルカリで触媒される反応は、リポソームやミセル表面でその速度が大きく変化する。^{36~38)} ミセルやリポソーム膜に取り込まれた医薬品の安定性を考える時、医薬品近傍の有効電率 ϵ と、この ψ の値が重要な因子になるであろう。また、生体膜のある種々の受容体（味覚や嗅覚）は基質の結合により ψ が変化し、これにより基質の認識をおこなうのである。^{39~40)}

3-2 膜電位

膜電位 (membrane potential) は膜の内外の水溶液間の電位差である。Fig. 7 に示すように、膜電位 $4E$ は膜の内と外の表面電位 $4E_D^I$ と $4E_D^O$ 、および、膜内のイオンの拡散により形成される拡散電位 $4E_M$ の和として表わされる。膜電位 $4E$ ($4E_M$ ではない) は膜の Na^+ 、 K^+ および Cl^- イオンの透過性を P_{Na} 、 P_K や P_{Cl} とすれば、Hodgkin-Katz により式(3)の様になる。^{42,43)}

$$4E = (kT/e) \ln \left(\frac{P_{Na} [Na^+]_O + P_K [K^+]_O + P_{Cl} [Cl^-]_I}{P_{Na} [Na^+]_I + P_K [K^+]_I + P_{Cl} [Cl^-]_O} \right)$$

ここで、 $[Na^+]$ などはイオンの濃度を、下添字 O や I は膜の外側と内側を示す。

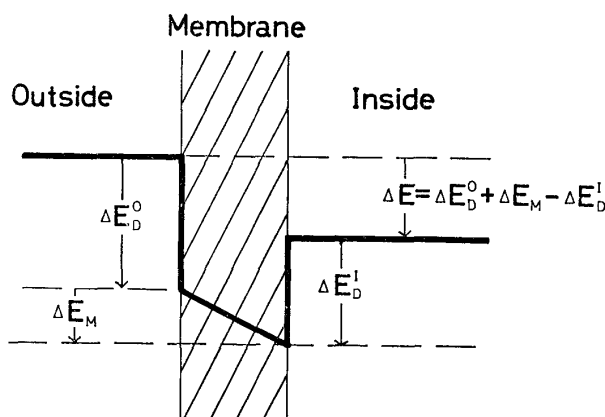


Fig. 7 Electrical potential profile across the red blood cell membrane. ΔE_D^0 is the surface potential between outer and bulk medium, ΔE_M is the diffusion potential through the membrane, ΔE_D^1 is the surface potential between the inner surface and the cell interior, and ΔE is the (trans) membrane potential.

脂質 2 分子膜の特徴として、イオンに対する不透過性が挙げられよう。^{44~46)} 生体膜の脂質においても、この性質は保持されており、イオンの透過は膜のチャンネル形成蛋白により選択的になされる。脂質 2 分子膜にイオンのチャンネルを形成する物質やイオンのキャリア作用を持つ物質（これらはイオノフォアと呼ばれている）を加えると、それぞれのイオノフォアに選択的なイオンの膜透過がおこる。イオノフォアは細菌細胞のイオンバランスを崩すので、抗生物質としても用いることがある。^{47~49)}

赤血球膜には、 Cl^- に選択的なチャンネル（バンド 3）が存在し、 Cl^- の膜透過性は高く $P_{\text{Cl}} \gg P_{\text{Na}}, P_{\text{K}}$ である。^{50,51)} 式(3)より、膜電位 ΔE は Cl^- の膜内外の濃度差によって決まることがわかる。すなわち、

$$\Delta E = (kT/e) \ln ([\text{Cl}^-]_i / [\text{Cl}^-]_o) \quad (3')$$

となる。ここに、 K^+ に選択的なイオノフォアであるバリノマイシンを添加すると、 K^+ が膜内外の濃度差に応じて流れ、

$$\Delta E = (kT/e) \ln ([\text{K}^+]_o / [\text{K}^+]_i) \quad (3'')$$

となり、 K^+ の濃度差に応じた膜電位 ΔE となる。前の章で述べたカチオン性の diS-C₃ (5) を赤血球のサスペンションに添加しておく、 ΔE にしたがって色素は膜を透過してその内外に分布する。 $[\text{K}^+]_i \gg [\text{K}^+]_o$ の時、式(3'')より $\Delta E < 0$ で、膜内部が低い電位になる（分極）。カチオン性の diS-C₃ (5) はこの時、膜の内側に濃縮され二量化

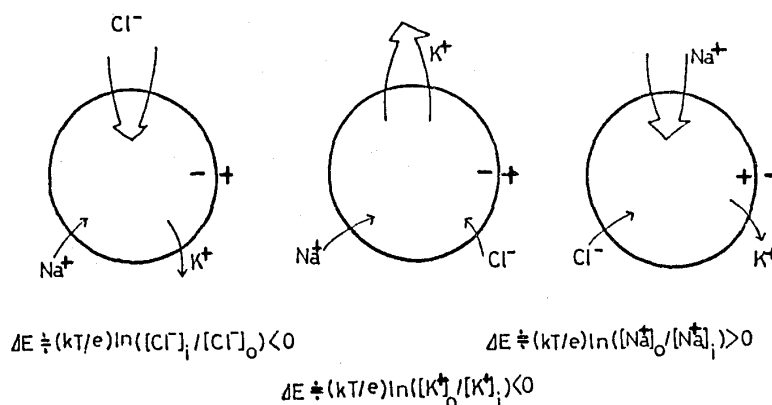


Fig. 8 Relationships between selective permeability of ion and membrane potential

する。この結果、モノマー由来の吸収や蛍光が低下するので $4E$ の変化を知る事ができる。⁵²⁾ Fig. 8 にイオンの選択的透過と $4E$ の関係を示した。

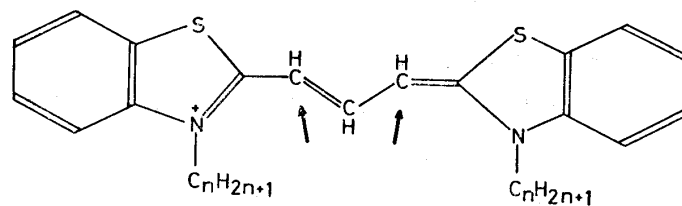
ウシ赤血球の場合、バリノマイシンを添加した時の (P_K/P_{Na}) の値はヒトやラットの場合に比較して著しく小さい。⁵²⁾ これはウシ赤血球膜の脂質組成が特異であり、膜の流動性が低く（粘性が高く） K^+ イオノフォアであるバリノマイシンの膜内の拡散速度が低下し、 P_K も小さくなるからである。^{52,53)}

生体膜は薄く、 10^{-6}cm 程度の厚さである。今、 $4E=30\text{mV}$ の時、膜内の電場は300万ボルト/m という大きな値になる。この電場により膜の機能がコントロールされるのである。神経細胞の膜電位は Na^+ と K^+ の透過性により決まる。静止状態では K^+ が細胞内より外に流れ、 $4E < 0$ と分極している。刺激を受け興奮状態になると Na^+ のゲートが開き、外から内へ Na^+ が急流し $4E \rightarrow 0$ の方向に脱分極していく。⁵⁴⁾

Na^+ や K^+ の膜内外の濃度差により、これらのイオンを膜透過させ、膜に結合している Na^+ 、 K^+ -依存性 ATPase を働かせると $ADP+Pi \rightarrow ATP$ の反応がおこる。⁵⁵⁾ これは、イオンの濃度差という物理化学的エネルギーから ATP の化学的エネルギーへの変換が、膜でなされたことになる。ATP を分解し、そのエネルギーで濃度勾配に逆って Na^+ や K^+ を流す能動輸送とは、これに反対の現象である。この様な膜によるエネルギー変換で注目されているのは、膜の H^+ -依存性 ATPase であろう。好塩菌 (*Halobacterium halobium*) の細胞膜の H^+ -依存性 ATPase は細胞内外に形成された H^+ の濃度勾配 (pH 差) を利用し、内向きの H^+ の流れにより ATP を合成する。この細胞内外の pH 差は太陽光のエネルギーを利用した膜の H^+ ポンプにより形成される(バクテリオロドプシンの関与)。^{56,57)} したがって、この場合、太陽光エネルギー $\rightarrow H^+$ の物理化学的エネルギー $\rightarrow ATP$ の化学エネルギーの変換がなされる。高等動物の細胞内のミトコンドリアでも、膜を隔てた H^+ の濃度差を利用して、ATP の合成がおこなわれていると考えられている。 H^+ の濃度差形成は電子の伝達鎖と共役している。この様な ATP の化学エネルギー獲得に対する立場は、化学浸透説と呼ばれている。^{58~60)} H^+ 、 K^+ や Na^+ の膜の内側の濃度差を用いて、その他の物質のくみとりや取り込みが生体の随所でおこなわれている。小腸の上皮細胞でのアミノ酸、グルコースや水の吸収がその例である。⁶¹⁾ この様なイオンの濃度差形成や流れのコントロールは、生体膜の基本構造である脂質 2 分子膜がイオン不透過性であることに負っている。

4. ミクロ粘性

Fig. 9 に 3,3'-dialkyl-2,2'-carbothiacyanine の構造を示した。この色素は電子の励起状態では矢印で示した炭素原子において、 π 電子密度が低下し分子内回転が可能になる。^{62~64)} 電子の励起状態は、このとき、この分子内回転と共役し、電子エネルギーが周囲の媒質に流出させられる。⁶⁵⁾ 一方、この分子が示す蛍光は電子の励起（一重項）エ



C_n

Fig. 9 Structure of dialkyl-thiacyanine ($C_n : n=2$ or 18).

The arrows show the carbon atoms at which electron density in the $\pi-\pi^*$ excited state is approximately zero.

エネルギーの一部が光子として放出されるプロセスである。したがって、分子内回転による電子励起エネルギーの無輻射的な媒質への流れが大きくなれば、蛍光の強さ（蛍光収率）も低下する。また、分子内回転は、色素のポリメチン近傍の媒質の粘性により影響を受ける。この様にして、リポソームの膜やミセル内の色素近傍のマイクロ粘性と、蛍光収率が関係づけられる。いま、マイクロ極性（有効誘電率）が一定で粘性が粘度 η である媒質中で、この色素が蛍光収率 ϕ を示す時、式(4)の関係が得られる。⁶⁶⁾

$$(1/\phi) = (1/\phi_0) + (1/A) (kT/\eta) \quad (4)$$

ここで、 ϕ_0 は高粘度のガラス状態媒質中での蛍光収率である。Aは、分子内回転に関係する残基の大きさを示すパラメーターである。色素に結合している2本のアルキル鎖として、2本の ethyl 基を用いた時より、2本の長鎖の octadecyl 基を用いた方がAは大きくなる。したがって、後者の方が、粘性による分子内回転の抑制が大きく、 ϕ も大きくなる。⁶⁷⁾

リポソーム2分子膜やミセル中の色素の蛍光収率を測定し、式(4)より η を逆算すると、ミセル中では有効粘度 $\eta \doteq 5$ センチポアーズ (cp), また、流動性の高い液晶状態の2分子膜では $\eta \doteq 8$ cp, 粘性の高いゲル状態の2分子膜では $\eta \doteq 33$ cp なる値がえられる。水などの均一溶媒では $\eta \doteq 1$ cp 程度なので、ミセルやリポソーム膜のマイクロ粘性は高いことがわかる。⁶⁷⁾

マイクロ粘性に対するコメントを述べよう。マイクロ極性を表わす誘電率同様に、粘度も本来は巨視的な物理量である。ここで問題になったのは、色素分子の内部回転に対する近傍の媒質分子との分子間相互作用による影響である。この影響を分光学的測定値より評価し、有効粘度として表現したのである。マイクロ粘性の測定は、外に NMR や ESR の緩和効果や蛍光偏光解消度の時間分解性からもなされている。⁶⁹⁻⁷¹⁾ 蛍光偏光解消度の場合、問題になるのは色素分子全体の回転に対する近傍の媒質の有効粘度である。

脂質2分子膜や生体膜のマイクロ粘度や流動性は、膜の相状態に依存する。膜にはゲル状態という流動性の低い状態と、液晶状態という流動性の高い状態がある。この相状態間の転移現象は膜の構造や機能を考えるとき、重要であるが、これについての記述はすべて割愛する。^{71,72)} とにかく、生体膜の脂質は生理状態では液晶状態にある。例えば、低温下で育成された昆虫の生体膜の脂質は、低温でも液晶状態にあるような組成になる。⁵⁾ 極地と赤道では同じ種類の動物でも膜の脂質組成が異なるのである。

5. ミクロ環境の光電子移動反応に対する影響

光で増感される電子の移動（酸化還元反応）は、増感剤の励起、増感剤と電子受容体との励起複合体のイオン解離などの過程を含んでいる。^{65,73)} これらの過程は媒質の影響を受けやすく、したがって、リポソームやミセルでの電子移動反応は、ミクロ環境の効果を検討するに好都合なものである。¹⁰⁾ また、これ等の結果は、生体内の酸化還元反応に対する多くの知見を与えることも期待されている。

5-1 ミクロ極性とマイクロ粘性の増感剤の励起状態に対する効果

Fig. 10 に 3, 3'-dialkyl-2, 2'-thiacarbocyanine (diS-C₃) (5) とわずかに異なる) の2本のアルキル基をエチル基としたもの (C₂) や長鎖のオクタデシル基にしたもの (C₁₈) を非イオン性のミセル (HED) に取り込ませ、これを光増感剤として、EDTA \rightarrow methyl viologen (MV²⁺) の電子移動を測定した結果を示す。縦軸は生成した methyl viologen のラジカル (MV⁺) の濃度を、横軸は反応時間を示している。この場合、光増感作用を持つ色素 C₂ や C₁₈ の励起状態の安定性が重要である。前の事で述べたように、ミセル中では有効粘度が高く、C₂ や C₁₈ の分子内回転が抑制され、励起状態が安定化される。また、ミセル中は水溶液中より有効誘電率が低く、これも励起状態を安定化する (式(4)の ϕ_0 が大きくなる)。長いアルキル基が2本結合している C₁₈ は、ミセル内の高粘性の効

果をより強く受け、反応性がより高くなることがわかる。リポソーム膜内でも似た効果が見出される。⁷⁴⁾

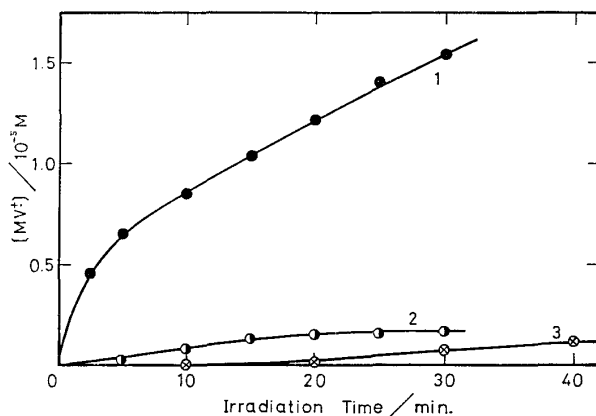


Fig. 10 Time course of methyl viologen cation radical, MV^+ , production.
1: C_{18} in 20 mM HED micelle as sensitizer, 2: C_2 in 20 mM HED micelle as sensitizer, 3: C_2 in aqueous phase as sensitizer

5-2 ミクロ極性や表面の電荷のラジカルイオン解離に対する効果

励起された増感剤と電子受容体は励起複合体（ヘテロエキシマー）を形成し、電荷移動、ラジカルイオンへの解離の過程がつづく。イオン解離はミセルやリポソームにおけるミクロ極性、表面の電荷分布により大きな影響を受ける。^{10,75,76)}

増感剤として tetraphenyl porphyrin (TPP) とその誘導体、電子の供与体としては Tris を、受容体としてアゾ色素を用いた例を Fig. 11 に示す。TPP に $-SO_3^-$ 基が 3 つ結合した TPPS や、アゾ色素 methyl yellow (MY) と、これに $-SO_3^-$ が結合した methyl orange (MO) を用いた。TPPS や MO はイオン性の基を持ち、ミセルの

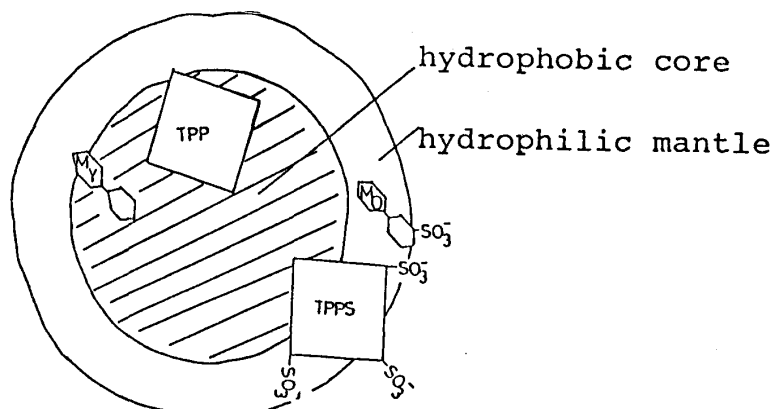


Fig. 11 Locations of TPP derivatives (sensitizer) and azo dyes (electron donors) in HED micelle.
The hydrophilic TPPS and MO are solubilized at rather polar sites and exhibit higher photoreactivity.

表面付近のミクロ極性の高い所に取り込まれ、一方、TFP や MY はミセル内の比較的的非極性の環境に取り込まれる。生成したラジカルイオンが、近傍の媒質分子により安定化されないと、ラジカルイオン間の再結合がおこり、反応は進行しない。ラジカルイオン（例えば TPP^+ , MY^- ）が安定化されるには、一定の極性が媒質に要求される。Fig. 11 の場合、TPPS-MO の系は反応がよく進行するが、TPP-MY ペアは近傍のミクロ極性が低すぎてラジカ

ルイオンの再結合がおこりやすい。⁷⁷⁾ TPP-MO や TPPS-MY の組は上の両極端な場合 (TPPS-MO と TPP-MY) の中間の反応性を示す。この様に、機能を持つ分子が、ミセルなどの分子集合体のどこに取り込まれるか (location), 近傍のマイクロ極性は如何であるかにより機能が変化する。ミセルやリポソーム内のマイクロ極性は、一般的には、増感剤の励起状態安定化とイオン解離について、反対の効果を持つ。どちらに効果的になるかは、用いた増感剤によりかわる。

リポソームやミセルの表面がイオン性であったり、両性イオン性である時、生成したラジカルイオン対は表面電荷と相互作用し、反応性が変化する。^{75,76)} Fig. 12 リポソーム膜やミセルに取り込まれた TPP-MO 系を例にとり示す。

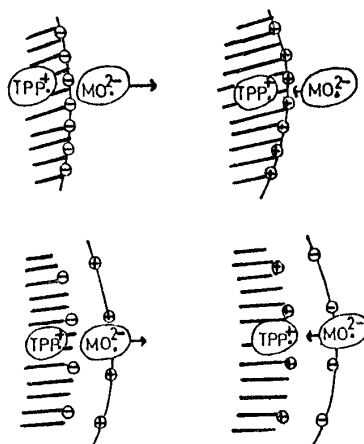


Fig. 12 Effects of surface charge on ion dissociation of heteroeximer as $(\text{TPP-MO}^-)^* \rightarrow \text{TPP}^+ + \text{MO}^{2-}$

反応は $\text{TPP} + \text{MO}^- \rightarrow \text{TPP}^+ + \text{MO}^{2-}$ と進む。水に可溶性の MO^{2-} は膜表面が正電荷を持つなら、一層強く静電的に引きつけられ、膜内の TPP^+ と再結合する。表面電荷が負の時、 MO^{2-} は外に押し出され反応が進む。表面に両性イオンが存在する時、そのイオン対の配向方向により、異なる方向の局所的電場が形成される。負と正の電荷が内側から外側に配置されている時 (レシチン 2 分子膜) 電荷分離はスムーズである。これに対し、アルキル S ベタインのようにミセル表面で正負イオンの配置が逆の場合、ラジカルイオンの再結合がおこり反応が進行しない。⁷⁷⁾

膜の表と裏を用いて酸化還元をおこなう時、電子は膜内を何らかの形で通過せねばならない。この時、膜電位による強い電場の影響を受けるのは必至であり、^{78,79)} 生体内電子移動に対する膜電位の効果の知見が必要とされている。

6. 結 言

脂質 2 分子膜 (リポソーム) やミセルは水溶液中に形成された分子集合体であり、電気的、極性的および粘性的に特異な環境を提供する。この様な部位に取り込まれた分子は、水溶液中とは異なる性状や機能を示す。ここでは、主に色素や光化学的増感剤を取り上げ例示してきた。マイクロ環境の効果は、さらに広範囲の膜現象において予期される。⁸⁰⁾ 膜に取り込まれる分子としては、酵素やレセプター蛋白、さらに医薬品が挙げられる。酵素やレセプターと脂質膜の相互作用は生体膜機能の分子レベルでの解明に、また、医薬品と膜の相互作用は医薬品の作用、製剤や薬剤学の立場から重要であり、薬学全体において深い関心が持たれる問題である。今後、多方面からの研究が期待される。

引用文献

- 1) C. Tanford: "The Hydrophobic Effect" 2nded., John Wiley & Sons, New York, 1980.
- 2) G. S. Hartley: "Aqueous Solution of Paraffin-Chain Salts" Hermann & Cie, Paris, 1936.

- 3) P. Mukerjee : *Advan. Colloid Interface Sci.*, **1**, 241 (1967).
- 4) K. L. Mittal : "Micellization, Solubilization, and Microemulsion" Plenum Press, New York, 1977.
- 5) S. J. Singer and G. L. Nicolson : *Science*, **175**, 720 (1972).
- 6) 殿村雄治, 佐藤了 : "生体膜の構造と機能" 講談社, 1979.
- 7) R. L. Juliano ed. : "Drug Delivery Systems" Oxford University Press, New York, 1980.
- 8) C. G. Knight ed. : "Liposome : From physical structure to therapeutic applications" Elsevier, Amsterdam, 1981.
- 9) 例えば, 鬼頭誠編 : "生体膜成分の構造と機能" 学会出版センター, 1982.
- 10) 例えば, 松尾拓 : 化学総説, **33**, 211 (1982).
- 11) J. B. D'Silva and R. E. Notari : *J. Pharm. Sci.*, **71**, 1394 (1982).
- 12) J. H. Fendler and E. J. Fendler : "Catalysis in Micellar and Microemulsion Systems" Academic Press, New York, 1975.
- 13) P. Mukerjee, J. R. Cardinal and N. R. Desai : in ref. 4.
- 14) F. M. Menger : *Acc. Chem. Res.*, **12**, 111 (1979).
- 15) T. Handa, C. Ichihashi, I. Yamamoto and M. Nakagaki : *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **56**, 2548 (1983).
- 16) P. Mukerjee, C. Ramachandran and A. Pyter : *J. Phys. Chem.*, **55**, 3189 and 3198 (1982).
- 17) K. A. Zachariasse, N. Van Phuc and B. Kozan Kiewicz : *J. Phys. Chem.*, **85**, 2676 (1981).
- 18) C. Reichardt : "Solvent Effects in Organic Chemistry" Verlag Chemie, Weinheim, New York, 1979.
- 19) F. M. Martens and J. W. Verhoeven : *J. Phys. Chem.*, **85**, 1773 (1981).
- 20) K. Kalyanasundaram and J. K. Thomas : *J. Am. Chem. Soc.*, **99**, 2039 (1977).
- 21) M. Nakagaki, I. Katoh and T. Handa : *Biochemistry*, **20**, 2208 (1981).
- 22) T. Handa, I. Yamamoto and M. Nakagaki : 日本薬学会104年会要旨集29 I 3-5, 仙台, 1984.
- 23) M. Nakagaki and T. Handa : *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **48**, 630 (1975).
- 24) M. Nakagaki, T. Handa and S. Shimabayashi : *J. Colloid Interface Sci.*, **43**, 521 (1973).
- 25) P. Mukerjee and T. Handa : *J. Phys. Chem.*, **85**, 2298 (1981).
- 26) M. Nakagaki and T. Handa : *ACS Symp. Ser.*, (1984).
- 27) G. S. Manning : *J. Chem., Phys.*, **51**, 926 (1969).
- 28) D. Stigter : *J. Phys. Chem.*, **78**, 3603 (1974).
- 29) D. Stigter : *J. Phys. Chem.*, **79**, 1015 (1975).
- 30) H. Monoi : *Biochim. Biophys. Acta*, **693**, 159 (1982).
- 31) J. R. Cardinal : Ph. D. Thesis, University of Wisconsin, Madison, Wis., 1973.
- 32) F. M. Menger and K. Yamada : *J. Am. Chem. Soc.*, **101**, 6731 (1979).
- 33) S. Barbaric and P. L. Luisi : *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 4239 (1981).
- 34) M. S. Fernandez and P. Fromherz : *J. Phys. Chem.*, **81**, 1775 (1977).
- 35) J. T. Davis and E. K. Rideal : "Interfacial Phenomena" Academic Press, New York, 1961.
- 36) N. Funasaki : *J. Phys. Chem.*, **83**, 1998 (1979).
- 37) F. H. Quina and H. Chaimovich : *J. Phys. Chem.*, **83**, 1844 (1979).

- 38) P. Mukerjee, K. L. Mysels and P. Kapauan : *J. Phys. Chem.*, **71**, 4166 (1967).
- 39) N. Akaike, A. Noma and M. Sato : *J. Physiol.*, **254**, 87 (1976).
- 40) M. Hata, T. Ueda, K. Kurihara and Y. Kobotake : *Biochim. Biophys. Acta*, **426**, 73 (1976).
- 41) N. Kamo, M. Miyake, K. Kurihara and Y. Kobotake : *Biochim. Biophys. Acta*, **367**, 1 (1974).
- 42) A. L. Hodgkin and B. Katz : *Physiol.*, **108**, 37 (1949).
- 43) G. Goldman : *J. Gen. Physiol.*, **27**, 37 (1943).
- 44) R. Fettiplace : *Biochim. Biophys. Acta*, **513**, 1 (1978).
- 45) M. K. Jain : "The Biomolecular Lipid Membrane" Van Nostrand Reinhold, New York (1972).
- 46) J. W. Nichols and D. W. Deamer : *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **77**, 2038 (1980).
- 47) B. D. Pressman : *Ann. Rev. Biochim.*, **45**, 501 (1976).
- 48) H. T. Tien : "Bilayer Lipid Membranes" Marcel Dekker, New York, 1974.
- 49) Y. A. Ovchinnikov, V. T. Ivanov and A. M. Shkrob : "Membrane-Active Complexones" Elsevier, Amsterdam, 1974.
- 50) M. J. Hunter : *J. Physiol.*, **218**, 49P (1971).
- 51) M. F. Lukacovic, M. B. Feinstein, R. I. Shaafi and S. Perrie : *Biochemistry*, **20**, 3145 (1981).
- 52) T. Handa, C. Sehara and M. Nakagaki : *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 1132 (1983).
- 53) Y. Isreal, A. Mac Donald, J. Bernstein and E. Rosenman : *J. Gen. Physiol.*, **59**, 270 (1972).
- 54) 田崎一二, 松本元 : "神経興奮のメカニズム" 産業図書, 1975.
- 55) J. L. Dahl and L. E. Hokin, *Ann. Rev. Biochem.*, **43**, 327 (1974).
- 56) W. Stoeckenius : *Sci. Am.*, **234**, 38 (1976).
- 57) D. Oesterhelt, and W. Stoeckenius : *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **70**, 2853 (1973).
- 58) P. D. Boyer, B. Chance, L. Ernster, P. Mitchell, E. Racker and E. Slater : *Ann. Rev. Biochem.*, **46**, 955 (1977).
- 59) J. W. DePierre and L. Ernster : *Ann. Rev. Biochem.*, **46**, 201 (1977).
- 60) I. A. Kozlov and V. P. Skulachev : *Biochim. Biophys. Acta*, **363**, 28 (1977).
- 61) S. G. Shultz : in "Gastrointestinal Physiology" MIP. Inter. Rev. Sci. Physiol. Ser., Butterworth, London, 1974.
- 62) T. Tani : *Photogr. Sci. Eng.*, **16**, 258 (1972).
- 63) J. Jaraudias : *J. Photochem.*, **13**, 35 (1980).
- 64) D. N. Dempster, T. Morrow, R. Rankin and G. Thompson : *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 2*, **68**, 1472 (1972).
- 65) N. Mataga and T. Kubota : "Molecular Interactions and Electronic Spectra" Marcel Dekker, New York, 1970.
- 66) G. Oster and Z. Nishijima : *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 1581 (1956).
- 67) 半田哲郎, 小松裕明, 松崎勝巳, 中垣正幸 : 日化, 1984(1), 8.
- 68) M. Shinitzky, A. C. Dianoux, C. Gilter and G. Weber : *Biochemistry*, **10**, 2106 (1971).
- 69) H. J. Pownall and L. C. Smith : *J. Am. Chem. Soc.*, **95**, 3136 (1973).
- 70) Y. K. Levine and N. J. M. Bridall and J. C. Metcalfe : "Method in Membr. Biol." ed. by E. D.

Korn Vol. 2, Plenum Press, New York, 1974.

- 71) L. I. Rotifield ed. : "Structure and Function of Biological Membrane" Academic Press, New York, 1971.
- 72) 半田哲郎 : "膜系の相平衡と相変化" 中垣正幸編 "膜学入門" 喜多見書房, 1978.
- 73) J. B. Birks : "Photo physics of Aromatic Molecules" Wiley-Interscience, Londn, 1970.
- 74) T. Handa, K. Komatsu and M. Nakagaki : *Prog. Colloid Polymer Sci.*, **68**, 8 (1983).
- 75) Y. Waka, K. Hamamoto and N. Mataga : *Chem. Phys. Lett.*, **53**, 242 (1978).
- 76) B. Katusin-Razen, M. Wong and J. K. Thomas : *J. Am. Chem. Soc.*, **100**, 1679 (1978).
- 77) T. Handa, M. Sakai, and M. Nakagaki : *Chem. pharm. Bull.*, **32** (1984).
- 78) M. S. Tunuli and J. H. Fendler : *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 2507 (1981).
- 79) J. H. Fendler : "Membrane Mimetic Chmistry", Wiley Interscience, New York, 1982.
- 80) 日本化学会編 : 化学総説**35** : "バイオミメティックケミストリー" (1982), **40** : "分子集合体" (1983) 学会出版センター.