

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 23 日現在

機関番号：12501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26600003

研究課題名(和文)オリゴロイシン型糖脂質の階層構造特性を利用した新規ナノコーティング法の創出

研究課題名(英文)Preparation of new coating agent that possesses origoleucine residue and gluconic acid head

研究代表者

山田 哲弘 (Yamada, Norihiro)

千葉大学・教育学部・教授

研究者番号：40182547

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：ペプチド基を含むグルコンアミド誘導体を新規に合成し、鉄表面に対する防錆効果を調べた。このグルコンアミド誘導体の防錆効果は、同じペプチド基を有するアンモニウム両親媒性分子よりも優れていた。この結果はグルコン酸が複数の水酸基によって鉄表面に強く結合することを意味している。これまで金属の防食を目的とした表面処理は鉱油や塗料によって行われてきた。このような方法と比較して、ここで用いたグルコンアミド誘導体のような超分子による防食は、大面積には不向きであるもののマイクロスケールやナノスケールの防錆に向いている。非常に規則的な分子配列が理論的には分子一層の厚さで達成できるからである。

研究成果の概要(英文)：Newly prepared D-gluconamide derivatives containing a peptide moiety were examined for rust prevention effect on the iron surface. The antirust effect of the gluconamide derivatives was superior to those of the ammonium amphiphiles that contained the same peptide moiety. This result means that the gluconic acid head group should strongly bind onto iron surface by plural hydroxide groups. The surface treatment in order to prevent corrosion of metal has been achieved by use of mineral oil or coating materials such as paint. Compared with the conventional method, the rust prevention by means of the supramolecular material here used gluconamide derivative is unsuitable for large surface area, but convenient for micro- or nano-scale area, because its protective film possesses a very orderly molecular arrangement and should be theoretically effective even if the film possessed monomolecular thick.

研究分野：分子組織化学

 キーワード：防錆処理 グルコンアミド誘導体 ペプチド型両親媒性分子 糖脂質 水素結合 ナノコーティング 表面
オリゴロイシン

1. 研究開始当初の背景

古くから南部鉄器は漆や茶渋で防錆を行っている。また、これとは別にタンニンやカテキンが鉄の防錆に効果があるとする文献や特許も散見される。漆、茶渋、タンニン、カテキンに共通するのは、主たる構成分子が水酸基を豊富に含んでいる点にある。そこで、もし水酸基が鉄基材との接着に寄与するのであれば、同じく水酸基の豊富な糖は鉄などへの接着効果に優れるのではないかと推察された。一方、防錆剤には基材表面を隙間無く覆うことのできる稠密性が要求される。現在行われている防錆は、油脂や高分子化合物の塗布によるのが一般的であるが、この方法は、防錆剤に一定の厚みが要求されるので、微細な領域の防錆に不向きである。

そこで本研究は、分子一層の厚さでの表面改質を目指し、分子集合体を用いた新しいコーティング剤の創出を試みた。その理由は、著者らがこれまで研究してきたオリゴロイシン基を含むアンモニウム型両親媒性分子が、応力や柔軟性に優れた柔軟なフィルムをつくることに由来する(図1)。応力や柔軟性に優れるのは、ペプチド部がβ-シートを形成すると、ロイシン側鎖が噛み合っ分子ジッパーを形成し、隣接するβ-シートが固定される独特の構造を有するからである(図2)[1]。この構造は、その稠密さから膜面貫通方向への高いバリアー能が期待できる。そこで、このような分子に、鉄基材に対する接着性が備われば、優れた表面コーティング剤になると考えた。

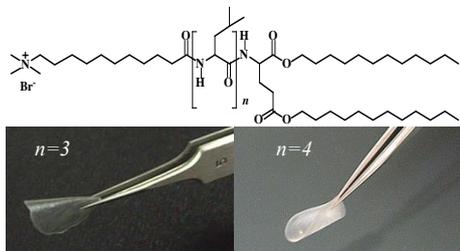


図1 オリゴロイシン型両親媒性分子が作る柔軟なキャストフィルム [1] .

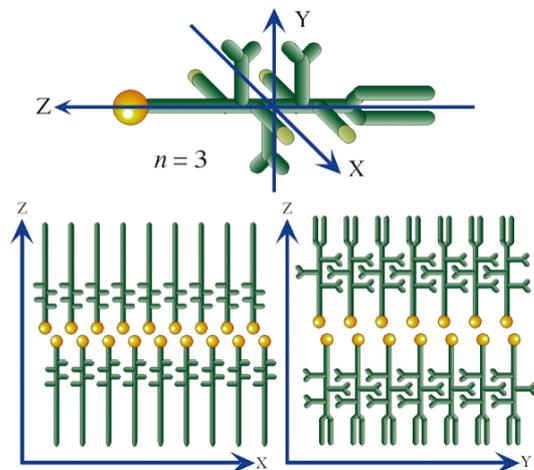


図2 水素結合(XZ平面)と分子ジッパー(YZ平面)によるトリロイシン型両親媒性分子の構造固定.

2. 研究の目的

金属表面に分子を隙間なく並べることができれば、理論的には分子レベルの厚さで防錆可能な表面コーティングを実現できる。ここでは超分子コーティングと呼ばせていただく。界面活性剤(両親媒性分子)は構造規則性に優れた分子膜を形成することで知られ超分子コーティングに向いているように思える。しかし、一般的な両親媒性分子を塗布したところで良好な防錆効果は得られない。両親媒性分子を用いて防錆を実現するためには、分子間が強い相互作用で固定された稠密な集合構造を有しながらも柔軟な薄膜を形成し、基材との接着性に優れた官能基を末端に持つ分子が必要である。

これら稠密性・柔軟性・接着性を備えた分子は、ナノスケールで見れば荒れた基材表面であっても柔軟性と接着性に基づく高い表面トレース機能によって基材表面を隙間なくコーティングできると考えられる。そのような防錆剤は、その厚さから見て機械強度は期待できないが少量で機能する経済性を有し、生体関連材料や微小な電子部品等の表面改質に適していると考えられる。

著者らは2003年、オリゴロイシン基を有する両親媒性分子が等方性溶液をキャスト・風乾するだけで柔軟かつ機械強度に優れたフィルムになることを見出し報告した[1]。非共有結合性であるにもかかわらずフィルムが柔軟で機械強度にも優れている理由は、オリゴロイシン基が形成するβ-シートが、ロイシン側鎖の噛み合いで固定された独特の分子ジッパー構造を作るためである(図2)。そこで、この現象を利用すれば、オリゴロイシン基を含む両親媒性分子の末端に基材と接着する官能基を導入することで、超分子コーティングが可能な分子を合成できると考えた。

一方、基材との接着性付与には糖基の可能性を検討した。日本では、古くから南部鉄器の錆止めとして表面を茶殻で磨くことや、漆を金属表面の防錆剤として用いてきた。タンニンや漆には分子構造中に豊富な水酸基を有する共通点があるため、水酸基が鉄などへの接着に寄与するのであれば、糖基にも同様の接着効果が期待できる。

本研究では、オリゴロイシン型両親媒性分子の表面形態を原子間力顕微鏡(AFM)で観察し、欠陥の少ない稠密な分子配列構造が形成されていることを示すとともに、基材との接着性の向上を念頭に置いて糖基を末端に導入した分子を新規に合成し、その防錆能を既存の防錆剤と比較した。

3. 研究の方法

(1) 用いた化合物

図3に用いた化合物を示した。アミノ酸はすべてL体である。これらのうち $N^+C_{11}\text{-Leu}_3\text{-Glu}(\text{OC}_{12})_2$, $N^+C_{11}\text{-Ala}_3\text{-Glu}(\text{OC}_{12})_2$, および $\text{HOCC}_3\text{-Leu}_3\text{-OC}_2\text{C}_8^{\text{F}}$ について

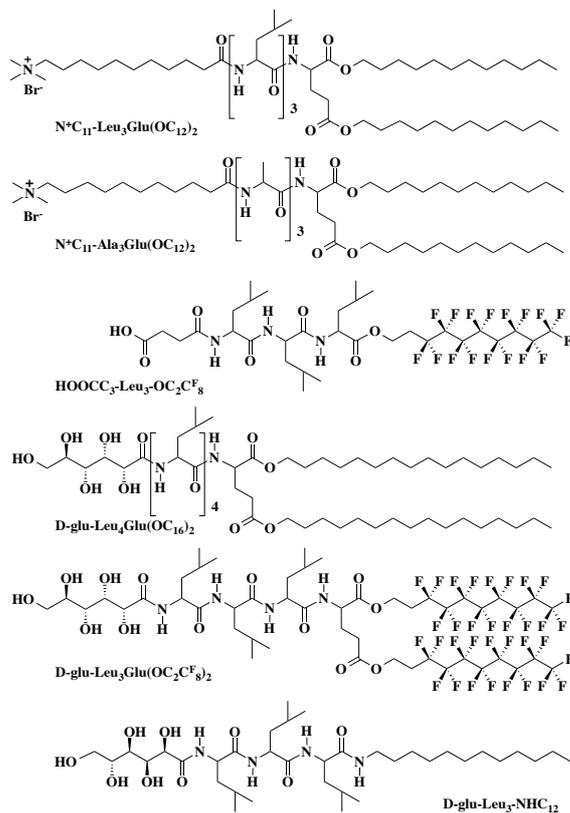


図3 本研究で用いた化合物

では合成法や元素分析値をすでに報告した [1, 2]。オリゴロイシン型糖脂質は、Fohrhopらの報告を参照して [3]、 δ -グルコノラクトンのアミノ基による開環反応で合成した。具体的には保護基 (Boc 基: *tert*-butoxycarbonyl 基) を除去したロイシン誘導体 1 当量と (例えば **H-Leu₃-NHC₁₂**) 1.1 当量の δ -グルコノラクトンをメタノール中で加熱環流した。 δ -グルコノラクトンはクロロホルムに難溶であるため、反応混合物をクロロホルムに分散させて不溶物が認められる場合は、未反応の δ -グルコノラクトンを取り除くことができる。しかしながら、これらの分子は一般に結晶性に乏しく精製が難しい。例えば、**D-glu-Leu₃-NHC₁₂** はオイルで赤外スペクトルから未反応の δ -グルコノラクトンが少量検出されたが (ラクトン由来の 1740 cm^{-1} 付近の吸収が弱い) が確認できる) 除去できなかった。分子量を大きくして結晶性を向上させた結果、**D-glu-Leu₄Glu(OC₁₂)₂** と **D-glu-Leu₃Glu(OC₂CF₈)₂** は固体となって未反応の δ -グルコノラクトンを取り除くことはできたが適当な再結晶溶媒が見つからなかった。以上の結果からグルコン酸基を有する糖型脂質については不純物を含む状態のまま使用した。

(2) AFM による単分子膜表面形態の観察

文献 2 と全く同じ方法で単分子膜を作製した。この時得た面積-圧力曲線 (π -A 曲線) を参考にして、任意の表面圧において気水界面単分子膜 (LB 膜) を、劈開したばかりのマイカ基板表面に移し取った。LB 膜は、ユーエスアイ システムズ (株) 製のフィルムバランス (FSD220) とリフトコントローラー

(LSD-23) を用いて Z 膜 1 層を作製した。リフトの上昇速度は単分子膜の圧縮速度と同じ、 0.2 mm/sec とした。

上で作製したマイカ基板上の Z 膜をセイコーインスツル (株) 製の原子間力顕微鏡 (SPA-400 多機能型ユニット顕微鏡, SPI 3800N プロブステーション) で観察した。走査方法はタッピングモードを採用し、カンチレバーに SI-DF20 (単結晶シリコン, 背面アルミコートなし) を用いて走査周波数 0.75 Hz で走査エリア $10\text{ mm} \times 10\text{ mm}$, もしくは $2\text{ mm} \times 2\text{ mm}$ を観察した。

(3) ペプチド型両親媒性分子の防錆効果

軟鉄断片の片面をサンドペーパーで表面がなめらかになるまで磨いた後、直径 10 mm のドリルビットで約 3 mm 穿孔し、円錐型のくぼみを作った。円錐型に穿孔したのはこの孔に試料溶液を入れて風乾する際、鉄との吸着性の悪い試料は表面吸着せず中心部に集まるため、周辺部の腐食の有無から吸着性を判断できるからである。穿孔の際使用した切削オイルを除去するために、ヘキサン、アセトンの順に浸漬して綿棒を使って洗浄した。試料は約 $5.0 \times 10^{-6}\text{ mol}$ となるよう秤量し、クロロホルム 1 mL に溶解した。この溶液から 75 mL を分取して円錐型のくぼみに滴下し風乾した。シャーレの隅に希塩酸を吸わせたる紙を置き、鉄片をこれと接しないよう置いて蓋をした。

(2) オリゴロイシン型糖脂質の防錆効果

同じ大きさの鉄片 3 つの片面をグラインダーで削って錆を落とし、サンドペーパーで表面がなめらかになるまで磨いた。金属粉や油膜等を除去するため、磨いた面をアセトンで拭いた。試料は $5.0 \times 10^{-6}\text{ mol}$ となるよう秤量し、クロロホルム 1 mL に溶解させた後、 250 mL を分取して磨いた鉄片の表面にキャストし風乾した。別の鉄片には、市販のオイルスプレーとシリコンスプレーを用い、それぞれ目視で鉄表面が防錆剤で完全に覆われるまで塗布し、拭き取ることなくそのまま試験片とした。シャーレの隅に希塩酸を吸わせたる紙を置き、3 つの鉄片をこれと接しないよう置いて蓋をした。

4. 研究成果

(1) 単分子膜の表面形態

防錆効果を検討する前に、オリゴロイシン型両親媒性分子の薄膜が稠密な分子配列を形成しているかについて、マイカ基板に移し取った気水界面単分子膜の表面形態を AFM で観察した。分子ジッパーの形成は赤外スペクトルで CH_3 の非対称伸縮振動 ($\nu_{\text{as}}\text{CH}_3$) の高波数シフトから直裁的に診断できるが、⁴⁾ 間接的には気水界面単分子膜の面積-圧力曲線 (π -A 曲線) に現れる一時的圧力増加から形成を判断できる [2, 4]。図 4 に水素結合は形成するが分子ジッパーを形成しない **N⁺C₁₁-Ala₃-Glu(OC₁₂)₂** と分子ジッパーを形成する **N⁺C₁₁-Leu₃-Glu(OC₁₂)₂** の π -A 曲線を示

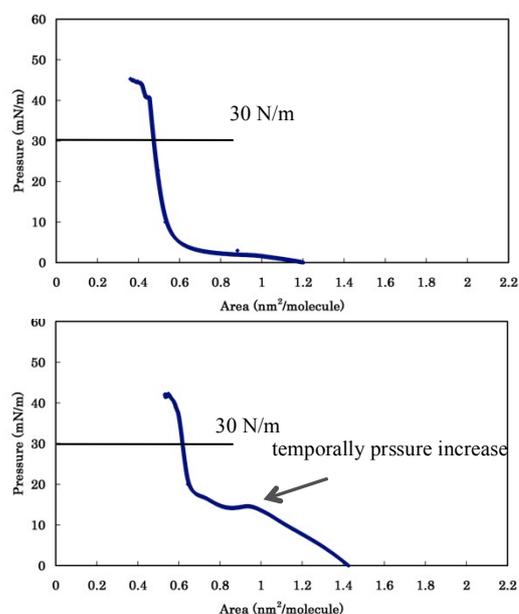


図4 $N^+C_{11}\text{-Ala}_3\text{-Glu(OC}_{12})_2$ (上)と $N^+C_{11}\text{-Leu}_3\text{-Glu(OC}_{12})_2$ (下)の π -A曲線.(図4のAFM像は、本の30 mN/mで作製したLB膜).

した。分子ジッパーが形成される場合は固体凝縮膜を形成しはじめる直前に一時的圧力増加(矢印)が観察できる。また、図5には30 mN/mでマイカ基板に移し取った固体凝縮膜のAFM像を示した。AFM像中の黒い点は欠陥部分である。そのため、10 mm×10 mmの形状像で比較すればどちらも稠密であるように見えるが、2 mm×2 mmの形状像で比較すれば、

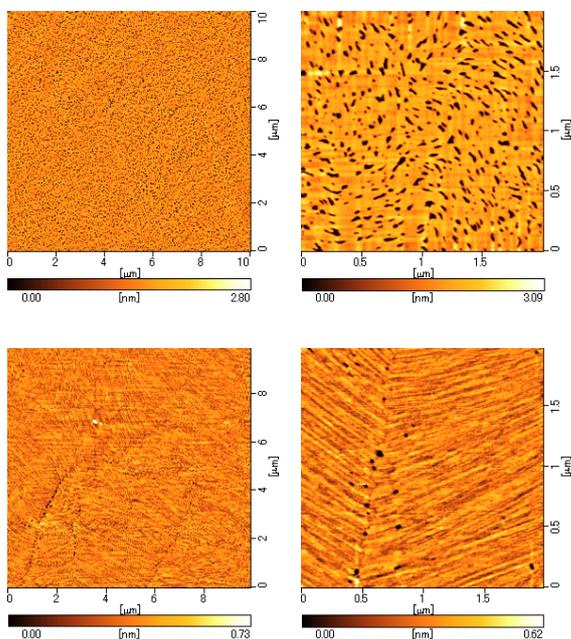


図5 $N^+C_{11}\text{-Ala}_3\text{-Glu(OC}_{12})_2$ (上)と $N^+C_{11}\text{-Leu}_3\text{-Glu(OC}_{12})_2$ (下)のAFM像. 走査エリアは、左が10 μm × 10 μm, 右が2 μm × 2 μm.

微小な欠陥の数は、 $N^+C_{11}\text{-Leu}_3\text{-Glu(OC}_{12})_2$ の方が圧倒的に少ないことがわかる。数種のオリゴロイシン型両親媒性分子について表面形態の観察を行ったが、欠陥はいずれの場合も分子ジッパーを形成しない $N^+C_{11}\text{-Ala}_3\text{-Glu(OC}_{12})_2$ より少なかった。また、図6

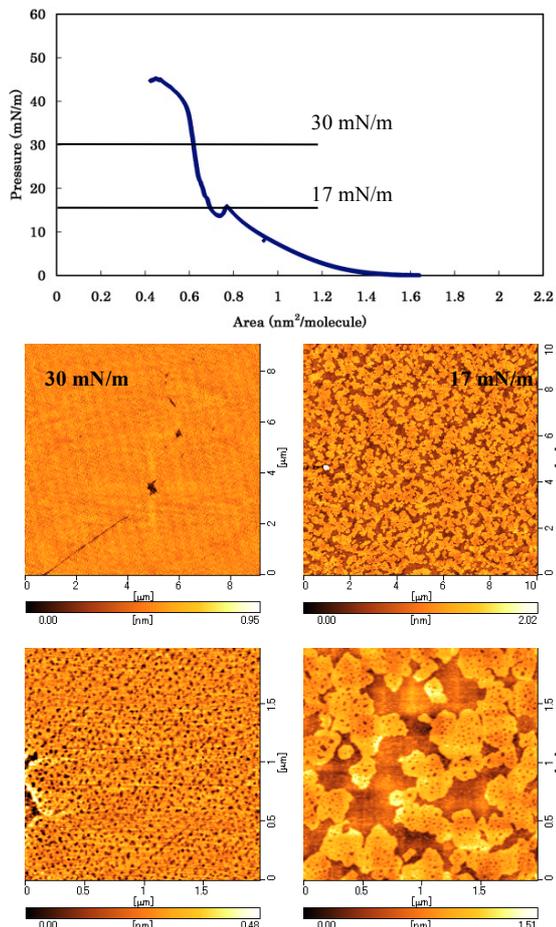


図6 $\text{HOCC}_3\text{-Leu}_3\text{-OC}_2\text{C}_8^{\text{F}}$ の π -A曲線とZ型LB膜のAFM像. 左は30 mN/mで作製したLB膜, 右は17 mN/mで作製したLB膜. 走査エリアは上が10 μm × 10 μm, 下が2 μm × 2 μm

には $\text{HOCC}_3\text{-Leu}_3\text{-OC}_2\text{C}_8^{\text{F}}$ の単分子膜について、固体凝縮膜形成前後での形状像を示した。水素結合と分子ジッパーが形成されると、表面形態は飛躍的に稠密になる事がわかる。この傾向はすべてのオリゴロイシン型両親媒性分子に共通するものである。

(2) ペプチド型両親媒性分子の防錆効果

図7は軟鉄に穿孔した窪みに試料溶液を滴下・風乾して塩酸雰囲気下に室温で放置した際の写真である。窪みに試料溶液を入れて風乾した1時間後は金属光沢が維持されているが、2日後腐食に耐えて金属光沢を維持しているのは $\text{D-glu-Leu}_3\text{-NHC}_{12}$ と $\text{D-glu-Leu}_4\text{-Glu(OC}_{16})_2$ のみで、それ以外の試料では腐食が進んだ。その理由として $N^+C_{11}\text{-Leu}_3\text{-Glu(OC}_{12})_2$ の場合は、アンモニウム頭部基の対イオンが臭化物イオンであり、これは腐食性を有するために発錆したと考えられる。パーフルオロアルキル鎖を有する $\text{D-glu-Leu}_3\text{Glu(O C}_2\text{C}_8^{\text{F}})_2$ については、糖基を有することに加えフッ素の特性として知られる撥水・撥油性および防汚性のため防錆効果が期待されたが、図7に示したように防錆効果は全く見られなかった。フルオロアルキル鎖は、最大の電気陰性度を有するフッ素原子のため非常に大きな双極子モーメントを有するフルオロメチレン基(CF_2 基)が連鎖したためであるから、分子自体は極性に富んでいて親水性で



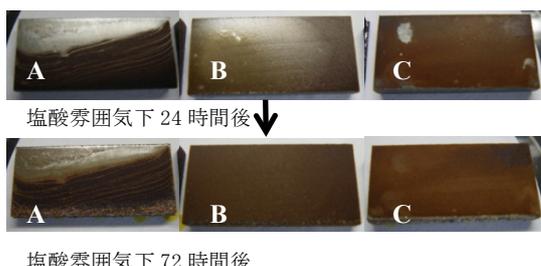
図7 ペプチド型両親媒性分子の防錆効果

- 1: $\text{N C}_{11}\text{-Leu}_3\text{-Glu(OC}_{12}\text{)}_2$
 3: $\text{D-glu-Leu}_3\text{-Glu(OC}_6\text{)}_2$

あり、フッ素化合物の特性として知られる撥水・撥油性はフルオロアルキル鎖が集合した状態でのいわゆるバルク特性である[5]。本研究では濃縮にともなう水素結合形成とそれに続く分子ジッパー形成を狙って等方性溶液を試料溶液としたため、キャストした際、フッ素型試料はバルク特性を発揮する前に未会合状態で鉄表面に吸着したものと考えられる。

(3) オリゴロイシン糖脂質の防錆効果

本研究ではオリゴロイシン糖脂質を未精製のまま使用しているにもかかわらず、図7の結果は hidrocarbon 鎖を有するオリゴロイシン型糖脂質が他のペプチド型両親媒成分よりも防錆能に優れていることを示唆していた。そこで一般的に用いられている簡易な市販の防錆剤と腐食に対する効果を比較した。図8は市販の防錆剤であるシリコンスプレーやオイルスプレーを塗布した表面と腐食の進行を比較したもので、上が塩酸雰囲気下に24時間置いたもの、下が72時間おいたものである。市販品では一面に錆を生じたのに対し、 $\text{D-glu-Leu}_3\text{-NHC}_{12}$ で被覆した鉄片は一部に金属光沢が残っている。また $\text{D-glu-Leu}_3\text{-NHC}_{12}$ のクロロホルム溶液を塗布したAでは、右下から左上に向かって溶媒の乾燥が進行したため、左上ほど保護膜が厚くなっている。この部分は3日後でも金属光沢を残しており、防錆にはある程度の膜厚が必要であることを示唆している。



塩酸雰囲気下 72 時間後

図8 オリゴロイシン糖脂質と市販防錆剤の比較
 A: $\text{D-glu-Leu}_3\text{-NHC}_{12}$, B: シリコンスプレー, C: オイルスプレー

<引用文献>

- [1] N. Yamada, T. Komatsu, H. Yoshinaga, K. Yoshizawa, S. Edo, M. Kunitake, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **42**(44) 5496-5499 (2003).
- [2] 山田哲弘, 高橋京子, 上野香央里, 山谷裕香, 長谷川健, *高分子論文集*, **63** (7), 476-483 (2006).
- [3] J.-H. Fuhrhop, S. Svenson, C. Boettcher, E. Rössler, H.-M. Vieth, *J. Am. Chem. Soc.*, **112**(11), 4307-4312(1990).
- [4] T. Hasegawa, H. Kakuda, N. Yamada, *J. Phys. Chem. B*, **109**(10), 4783-4787 (2005).
- [5] T. Hasegawa, T. Simoaka, N. Shioya, K. Morita, M. Sonoya, T. Takagi, T. Kanamori, *ChemPlusChem* **79**, 1421-1425 (2014).

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計3件)

- ① 山田哲弘, 山谷裕香, 水素結合と分子ジッパーで構造化した二次元分子薄膜による鉄表面の防錆の試み, 防錆管理, 査読有, 61 巻, 3 号, 2017, 27-31, <http://jaccl.or.jp>
- ② 野田卓夢, 近藤沙南, 荷堂清香, 長谷川健, 山田哲弘, グリシン, ジグリシン, トリグリシンを含む脂肪酸誘導体によるポリグリシン II 構造の形成, 高分子論文集, 査読有, 73 巻, 1 号, 2016, 69-75 DOI:10.1295/koron.2015-0059
- ③ 佐藤圭亮, 小野貴仁, 山田哲弘, オリゴロイシン型両親媒性分子が形成する薄膜の熱処理あるいは加圧による応力向上, ネットワークポリマー, 査読有, 35 巻, 1 号, 2014, 17-23

[学会発表] (計7件)

- ① 鶴飼裕紀, 下赤卓史, 山田哲弘, 長谷川健, 赤外分光法による含パーフルオロアルキル両親媒性分子の凝集支配因子の検討, 日本化学会第97春季年会(慶應義塾大学 日吉キャンパス) 2017年3月
- ② 栗嶋香奈, 野田卓夢, 竹井耕太郎, 下赤卓史, 長谷川健, 山田哲弘, 第39回フッ素化学討論会(アバンセ(佐賀県佐賀市天神三丁目2-11(どんどんの森))), 2016年9月
- ③ 奈村大志・野田卓夢・守安啓人・下赤卓史・長谷川健・山田哲弘, 第39回フッ素化学討論会(アバンセ(佐賀県佐賀市天神三丁目2-11(どんどんの森))), 2016年9月
- ④ 野田卓夢・近藤沙南・荷堂清香・長谷川健・山田哲弘, グリシン型両親媒性分子が作る会合体中の水素結合構造の検討, 第66回コロイドおよび界面化学討論会(鹿児島大学郡元キャンパス), 2015年9月

- 月
- ⑤ 鶴飼裕紀・下赤卓史・野田卓夢・山田哲弘・長谷川健, 競合する凝集性官能基を含むパーフルオロ化合物の分子間相互作用メカニズムの検討, 第66回コロイドおよび界面化学討論会(鹿児島大学郡元キャンパス), 2015年9月
 - ⑥ 野田卓夢・曾合大樹・佐藤圭亮・笈川博彰・山田哲弘, ペプチド型両親媒性分子の鉄に対する防錆効果, 第63回高分子討論会(長崎大学文教キャンパス), 2014年9月
 - ⑦ 佐藤圭亮, 小野貴仁, 野田卓夢, 荷堂清香, 山田哲弘, 熱および圧力の制御によるオリゴロイシン超分子薄膜の機械強度の向上, 第63回高分子討論会(長崎大学文教キャンパス), 2014年9月

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山田 哲弘 (YAMADA, Norihiro)
千葉大学・大学院教育学研究科／教育学部・教授
研究者番号：40182547

(2) 連携研究者

長谷川 健 (HASEGAWA, Takeshi)
京都大学化学研究所・教授
研究者番号：30258123

(3) 研究協力者

佐藤圭亮 (SATO, Keisuke)
千葉大学大学院教育学研究科
2015年3月修了
野田 卓夢 (NODA, Takumu)
千葉大学大学院教育学研究科
2016年3月修了
栗嶋 香奈 (KURISHIMA, Kana)
千葉大学大学院教育学研究科
2017年3月修了
奈村 大志 (NAMURA, Taishi)
千葉大学大学院教育学研究科
2016年4月入学