

解 説

糖類アモルファスマトリクスの
温度走査フーリエ変換赤外分光分析
— 相互作用状態の温度依存性 —

今村 維克

(受取日：2010年6月4日，受理日：2010年7月22日)

**Temperature-Scanning Fourier Transform IR Spectroscopic Analysis of
Amorphous Sugar Matrices
— Changes in Interaction States with Temperature —**

Koreyoshi Imamura

(Received June 4, 2010; Accepted July 22, 2010)

Amorphous matrices formed by sugars are widely used as bulk-forming agents, stabilizing agents for physically/chemically labile ingredients such as proteins in the drug manufacturing industries. The intermolecular interactions involved in the amorphous sugar matrix closely relate to the physical properties of the amorphous sugar matrix: Hydrogen bonds among sugar molecules largely contribute to holding the amorphous sugar matrix in the solid state; The interactions between sugar and substances embedded in the sugar matrix (polymer, salts etc.) significantly affect the physical stability of the amorphous matrix; In the sugar-protein mixture, the sugar-protein hydrogen bonds play an essential role in the stabilization of protein. In this study, the intermolecular interactions in amorphous sugar matrices and the mixtures with polymer additive (polyvinylpyrrolidone, PVP) and protein were analyzed using temperature scanning Fourier transform infrared spectroscopy, TS-FTIR. From the investigations, the following findings were obtained: 1) The amorphous sugar matrix, in which sugar molecules can be fixed by fewer hydrogen bonds, has a higher glass transition temperature (T_g). 2) The heat-induced conformational changes of proteins were significant at temperatures above the glass transition temperature. 3) The addition of PVP to amorphous matrix tended to prevent the disruption of hydrogen bonds due to increasing temperature.

Keywords: FTIR; Amorphous sugar; Temperature scanning; Glass transition; Hydrogen bonds

1. はじめに

種々の分光分析装置の中で，フーリエ変換赤外線分光光度計はUV-vis分光光度計の次に汎用性が高いものであろう。

赤外線吸収スペクトルは分子を構成する化学結合の振動状態に対応しており，未知試料に含まれる化学結合種，あるいは，既知試料に含まれる化学結合の相互作用状態や解離状態を知ることができる。また，特定の吸収ピークを解析

することで、タンパク質や高分子のコンフォメーションを評価することができる。一方、示差走査熱量計などの熱分析では、温度変化に伴うサンプル物性の変化が解析対象となる。物性の温度に対する依存性は、相や相転移に関する情報だけでなく、試料の物理化学的安定性や試料内部に形成された相互作用の強さ・安定性を反映している。これら二つの分析手法を組み合わせたものが、温度走査フーリエ変換分光分析 (TS-FTIR) である。TS-FTIR 分析は、反応系中の生成物の解析や特定成分の脱離過程を検討するのに有効であり、現在では試料温度を制御するためのアタッチメントが市販されている。

糖の水溶液を適当な条件で乾燥すると、糖分子が水素結合を介してランダムなネットワーク構造を形成する。この糖類アモルファスマトリクスは他成分を均一かつ安定に包埋することから、医薬品や食品分野において機能性成分の包括担体や不安定成分の安定化剤として利用されている。¹⁻³⁾ これまで様々な糖類アモルファスマトリクスの物理化学的特性や不安定物質に対する安定化特性が調べられてきており、そのいずれもがアモルファスマトリクス内に形成される分子間相互作用の重要性を指摘している。^{3,4)} 糖類アモルファスマトリクスには、糖分子間や包埋された物質とそれを取り巻く糖分子との間に水素結合を主とする相互作用が形成されており、これらはFTIRにより解析することができる。また、異なる温度における相互作用の形成度から、各分子間相互作用の強さ（あるいは切れ易さ）も同時に評価することができる。近年、筆者らを含むいくつかの研究グループがTS-FTIRにより糖類アモルファスマトリクスにおける分子間相互作用および内包物質のコンフォメーションなどについて検討・報告している。^{5,7)} 本稿では、それらTS-FTIR分析によって得られた知見について、筆者らの研究成果を中心に解説する。

2. 糖類アモルファスマトリクスのTS-FTIR

糖類アモルファスマトリクスは優れた安定化剤である反面、吸湿やちょっとした温度上昇によって容易にコラプス（≒glass-to-rubber転移）し、その有効性を消失してしまう。⁸⁾ そのため、糖類アモルファスマトリクスの物理的安定性の解析は盛んに行われてきた。^{9,10)} 一方、糖類アモルファスマトリクスにおいては糖分子間に水素結合が形成されており、マトリクスの物理的安定性において糖の水酸基が重要な役割を担うことは容易に想像がつく。WolkersらはTS-FTIRにより様々な温度における糖類アモルファスマトリクスのIRスペクトルを測定した。⁵⁾ 得られたスペクトルの内、糖の水酸基の伸縮振動に起因する吸収バンドのピーク波数を読み出し、温度に対してプロットした (Fig.1⁷⁾)。その結果、ピーク波数は温度上昇に伴い直線的に増加して行くが、あ

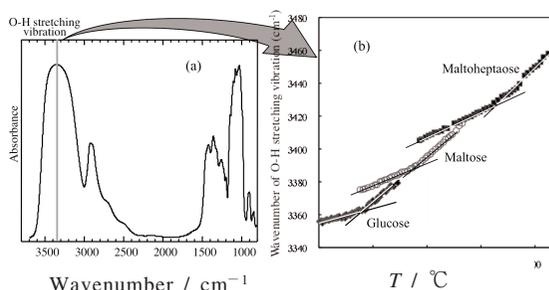


Fig.1 IR spectrum of amorphous sugar (glucose) (a) and temperature dependences of wavenumber of O-H stretching vibration for amorphous matrices of glucose and maltooligosaccharides (b).

る温度で不連続に折れ曲がり、温度に対してさらに大きな勾配で増加していった。また、折れ曲がりが生じた温度は試料のガラス転移温度 (T_g) と完全に一致していた。この結果は次のように解釈することができる。^{5,7)} 糖分子の水酸基はある割合で水素結合を形成し、その伸縮振動が束縛されているが、温度上昇に伴い糖分子間水素結合が切断されていく。これにより遊離の水酸基が増加し、ピーク波数は高波数側にシフトしていく。このとき、試料温度が T_g 以上になると、水酸基を擁する糖分子自体の運動が顕著になり、糖分子間水素結合の消失がより顕著になる。このような解釈に基づくと、Fig.1で示されるようなピーク波数-温度の増加勾配は糖分子間水素結合の切れ易さを表すものと考えられる。

筆者らは、種々の糖からなるアモルファスマトリクスについて温度上昇に伴うピーク波数の増加勾配を調べた。⁷⁾ このとき、IRスペクトルは透過法により測定した。糖のアモルファス試料は、糖の水溶液 (10 mg mL⁻¹) の液滴 (10 μ L) をBaF₂の円形窓剤上で通気 (窒素ガス) 乾燥することによって調製し、残留水分は予備昇温 (~100 °C) により完全に除去した。室温程度まで冷却した後、1 K min⁻¹で昇温しながら、2~3 °C間隔でIRスペクトルを測定した。得られたIRスペクトルを解析したところ、一般に分子量が大きな糖からなるアモルファスマトリクスほど、分子間水素結合が切れやすい傾向があった。⁷⁾ また、分子量が大きな糖ほど全体的にピーク波数は高く、糖分子間水素結合の形成度も、低くなること示唆された。⁷⁾ 糖類アモルファスマトリクスは、単糖ユニットからなるセグメントがグルコシド結合と水素結合によって固定された固体マトリクスと見なすことができる。^{7,11)} ここで、セグメントを固定する相互作用の内、共有結合であるグルコシド結合の割合が高くなれば、セグメントの配向の自由度が制限されることになり、水素結合の形成度および強度とも低下してしまうものと考

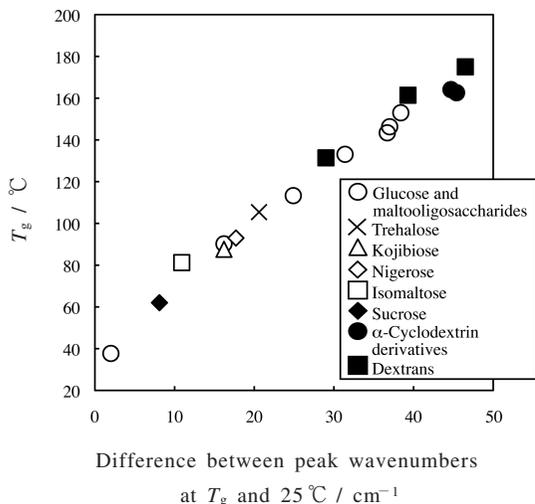


Fig. 2 Relationship between T_g and peak wavenumber at T_g ¹²⁾ (difference between peak wavenumbers at T_g and 25°C)

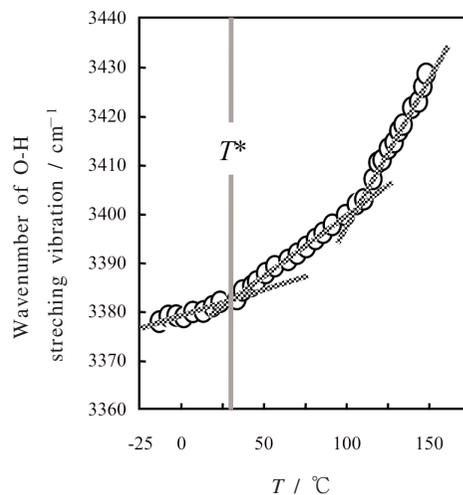


Fig. 3 Temperature dependences of wavenumber due to O-H stretching vibration for amorphous trehalose

えられる。一方、同じ二糖であってもグルコシド結合の部位や単糖ユニットの構造によって水素結合の形成度と強度は異なる。例えば、isomaltoseとsucroseは他の二糖類に比較して温度上昇に伴う水素結合の消失が少ないことがわかってている。⁷⁾

糖類アモルファスマトリックスの物理的安定性の指標としては、 T_g が一般的に用いられており、様々な糖について T_g が測定・報告されている。^{9,10)}しかし、 T_g と糖の分子構造との関係についてはほとんど一般的な知見は報告されていない。これは、 T_g もまた糖分子間の相互作用状態に強く依存するが、分子構造と相互作用状態の関係についての検討があまりなされていないためである。筆者らは、種々の糖からなるアモルファスマトリックスの各温度における水素結合の形成度を水酸基に起因するIR吸収ピーク波数から評価し、比較した(Fig. 2)。⁷⁾その結果、 T_g と T_g におけるピーク波数¹²⁾は、糖の種類によらず一本の曲線で表されることがわかった。温度上昇により水素結合が減少し、セグメントである単糖ユニットを支えきれなくなった際にglass-to-rubber転移すると考えると、Fig. 2の結果は、より少ない水素結合で支えられるマトリックスほど高い T_g を有することを意味しているものと考えられる。

Fig. 1において T_g 以下で、ピーク波数の増加勾配が小さくなったが、さらに温度が下がるとどうなるか。 T_g で見られたような勾配の変化が T_g の50~100°C低温のある温度(Fig. 3, T^*)で現れる。この T^* 以下の温度域では、糖分子間の水素結合が極めて安定に存在し、温度上昇に伴う水素結合の消失がほとんど生じない。この T^* の物理的意味を明

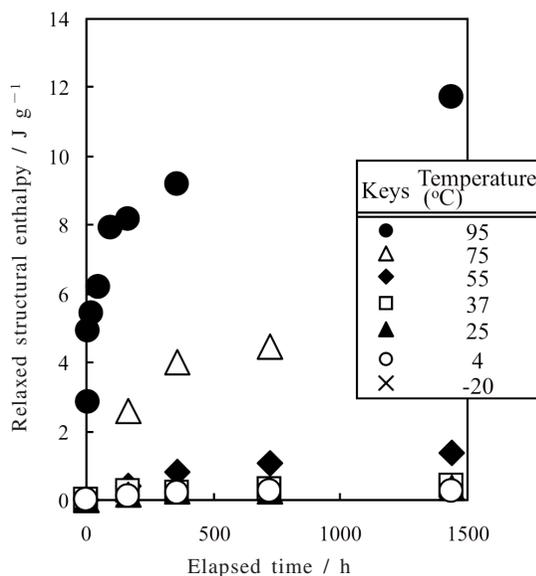


Fig. 4 Courses of relaxation of structural enthalpy of amorphous trehalose matrix at different storage temperatures.

らかにするため、異なる温度における構造エンタルピーの緩和過程(Fig. 4)とアモルファスマトリックス内に包埋した酵素の保存安定性(Fig. 5)を測定した。ここで、構造エンタルピーの緩和速度はマトリックスを構成する糖分子のモビリティに対応すると考えられている。その結果、 T^* 以下では糖分子のモビリティはほぼ完全に消失し、マトリックスに包埋された酵素の失活もほぼ完全に停止することが分

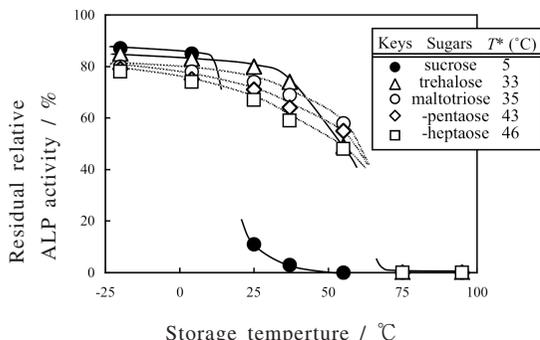


Fig.5 Relationships between remaining enzyme (ALP) activity in amorphous sugar matrix after 120 days and storage temperature for different types of sugars. Vertical axis means the relative value to the ALP activity immediately after freeze-drying.

かった。一方、以前から、 T_g 以下の温度域における非晶質状態の分子の運動性については多くの研究がなされており、その過程で分子の運動がほぼ完全にフリーズする温度域が存在することが示唆されていた (Kauzmann temperature, T_k ¹³; zero mobility temperature, T_0 ^{14,15})。sucroseおよびtrehaloseからなるアモルファスマトリクスの T_k および T_0 として報告されている値^{14,16}は、 T^* とほぼ一致した。以上のことから T^* は糖分子のモビリティが消失する温度であり、その温度はTS-FTIR分析により一義的に同定できるものと考えられる。

3. 糖-タンパク質複合系のTS-FTIR解析

タンパク質は優れた生理活性を持つ半面、物理化学的に不安定な場合が多い。そのため、タンパク質の安定性は、これまで市販・単離されたほとんど全てのタンパク質について何らかの方法で評価されている。タンパク質の安定性を表す一つの指標は変性温度であろう。¹⁷ すなわち、タンパク質を含む水溶液を一定速度で昇温する際に、タンパク質の変性に伴い吸熱が生じる温度のことである。これは、示差走査熱量計やより高感度なマイクロカロリーメーターにより測定が可能である。あるいは、タンパク質水溶液の円二色性スペクトルの温度変化からも変性が生じる温度を知ることができる。¹⁸⁻²⁰ また、酵素活性の測定が可能であれば、酵素の水溶液を種々の温度で保存したときの残存酵素活性を比較することで、どの温度から酵素の失活が顕著になるか知ることができる。これに対し、タンパク質が固体・乾燥状態にある場合、タンパク質の安定性を解析する手法は限られてしまう。一つの方法は、タンパク質の乾燥試料を種々の温度下で保存したときの生理活性の低下を実

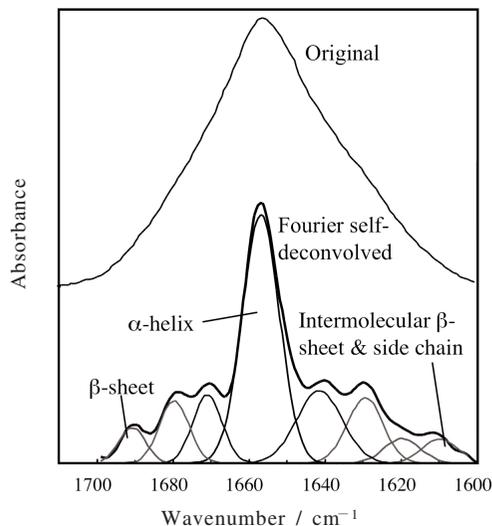


Fig.6 Original and Fourier self-deconvolved amide I bands of IR spectra of freeze-dried BSA with 10 g/g-BSA of trehalose.

測することであるが、測定に長期間を要する。

一方、タンパク質の二次構造をFTIRで解析する手法は1980年代には既に確立されている。²¹⁻²² また、タンパク質試料は固相状態でも測定でき、試料温度を走査・制御できるユニットを組み合わせれば、温度とともにタンパク質の二次構造がどのように変化していくかを解析することができる。筆者らは、乾燥状態のタンパク質のTS-FTIR分析を行い、昇温過程におけるタンパク質の構造変化を解析した。²³ まず、タンパク質の水溶液をFTIRの透過測定用の窓剤(BaF₂)に塗布・乾燥することでタンパク質の乾燥試料を作成した。このとき、水溶液には種々の糖類を加えておき、乾燥過程で形成した糖のアモルファスマトリクス中にタンパク質を包埋させた。この糖-タンパク質複合試料を0.5~2 K min⁻¹の昇温速度で加熱しながら、IRスペクトルを測定した。得られたIRスペクトルの内、タンパク質のペプチド結合に起因するアミドI吸収帯(>C=O伸縮振動)をフーリエセルフデコンボリューションし(Fig.6)、さらに、二次微分した上で市販のピーク解析ソフトで個々のcomponent bandのエリアおよびその組成を算出した。²⁴ 尚、どのcomponent band(ピーク波数)がどの二次構造に対応するかは、文献・書籍で容易に調べることができる。^{21,25-28} Fig.7にタンパク質として牛血清アルブミン(BSA)を用いたときの二次構造組成の温度依存性を調べた結果を示す。BSAは元々αヘリックスを多く(>50%)含んでいるが、温度の上昇とともにこのαヘリックスが顕著に減少した。逆に1648 cm⁻¹および1669 cm⁻¹近傍のランダム構造と

1693 cm^{-1} 近傍の β シートが増加した。これらの結果は、温度上昇により α ヘリックスが β シートやランダム構造に変化したことを意味している。

Fig.7には水溶液中のBSAについて二次構造組成と温度の関係調べた結果も示してある。これよりある温度（ $\sim 50^\circ\text{C}$ ）から α ヘリックスの消失が劇的に進行し、その温度は示差走査熱分析で得られた変性温度と一致した。一方、乾燥状態のタンパク質では**Fig.7**に示すように温度上昇に伴う構造変化はずっと緩やかに進行し、変性温度のような明確な転移温度は存在しないことが分かった。また、二次構造組成の変化傾向を詳しく観察すると、 α ヘリックスの減少が糖 (trehalose) の T_g ($\sim 110^\circ\text{C}$) 近傍で一層顕著になることが分かった。このような傾向は他の糖についても認められ、また、異なる種類のタンパク質 (人血清アルブミン, ミオグロビン, リボヌクレアーゼA, β ラクトグロブリン) を用いた場合にも、主たる二次構造成分が T_g 近傍で大きく組成を下げる事が分かった。

以上の結果から、糖類アモルファスマトリクスにおけるタンパク質の構造変化と温度の関係として次のように考えられる。まず、糖のアモルファスマトリクス中ではタンパク質の高次構造は糖分子との水素結合によって支えられて

いる。³⁾ この糖-タンパク質間水素結合の形成度は温度上昇とともに低下していく。特に T_g 以上では糖分子は高いモビリティを獲得するため、糖-タンパク質間水素結合の減少が促進され、その結果、タンパク質の構造変化も一層顕著になるものと考えられる。

4. 糖-高分子複合系のTS-FTIR解析

糖類アモルファスマトリクスの物理的安定性を改善する目的で、しばしば糖からなるアモルファスマトリクスに高分子物質を複合する場合がある。これまで糖-高分子複合マトリクスの物理特性についてはしばしば検討されており、高分子量物質が複合マトリクスの T_g を顕著に上昇させ、^{4,29,30)} また、水分吸着量を低下させることが明らかになっている。^{30,31)} また、高分子成分の複合による糖類アモルファスマトリクスの物理的安定化がタンパク質に対する包埋・安定化作用につながることも報告されている。³²⁾

これら高分子成分の複合による物理特性変化は、高分子成分とそれを取り巻く糖分子の間に形成される相互作用が主たる原因であると考えられる。⁴⁾ 筆者らは、各種糖とポリビニルピロリドン (PVP) からなる糖-高分子複合アモルファスマトリクスにおける分子間相互作用をTS-FTIR分析により解析した。¹¹⁾ 各種糖とPVP (MW ca. 360 k) からなる複合試料のIRスペクトルの内、糖の水酸基に起因する吸収ピークの波数を温度に対してプロットしたものを**Fig.8**に示す。試料の作成方法および分析条件は上述の糖単体の試料と同様であった。**Fig.8**に示すように、いずれの試料においてもglass-to-rubber転移に起因するピーク波数の増加勾配の不連続な増加が認められた。また、この温度-ピーク波数の屈曲 (つまり、glass-to-rubber転移) はいずれの試料についても、一つだけあったことから、PVPは糖と均一に混ざり合っているものと考えられる。しかし、糖の種類によってPVPの複合による傾向の変化は異なっている。まず、glucoseや二糖ではPVPの複合により全体的にピーク波数が高くなったのに対し、三糖以上のオリゴ糖ではピ

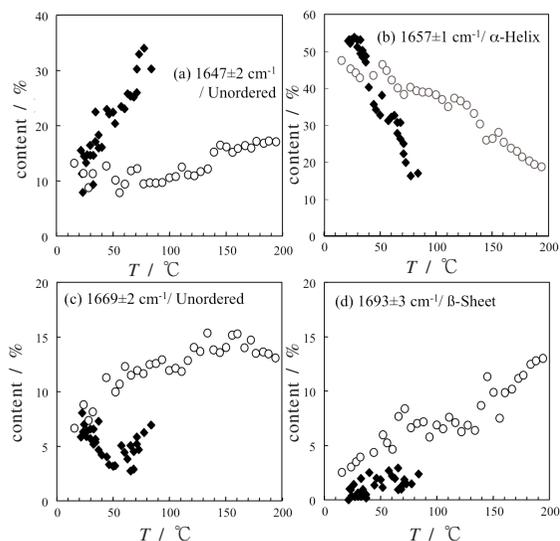


Fig.7 Changes in area content of component bands in amide I bands for an aqueous solution of BSA (closed diamonds) and BSA embedded in an amorphous trehalose matrix (open circles) due to increasing temperature. The BSA concentration of the aqueous solution was 50 mg/mL and trehalose content of the BSA mixture was 10 g/g-BSA.

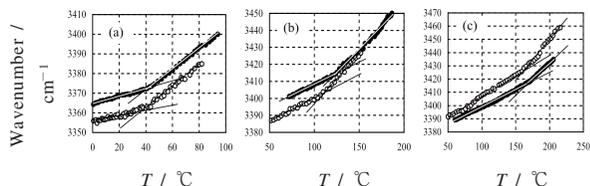
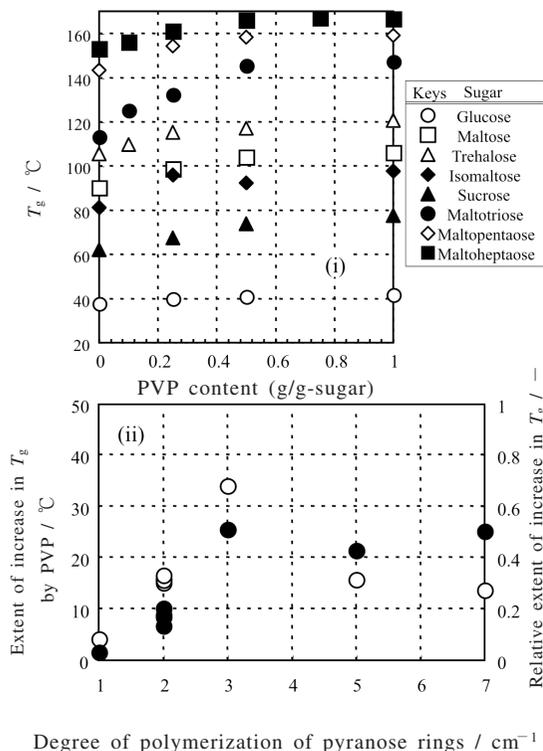


Fig.8 Temperature dependences of wavenumbers for the O-H stretching vibration for amorphous matrices of (a) glucose, (b) trehalose, and (c) maltoheptaose containing 0 (open keys) and 0.5 g/g-sugar (closed keys) PVP (MW ca. 360k).



Degree of polymerization of pyranose rings / cm^{-1}

Fig.9 (i) Dependences of T_g for different types of amorphous sugars on PVP content and (ii) the extent of increase in T_g by the addition of 1.0 g/g-sugar of PVP (MW ca. 360k) (open keys) and the relative values normalized by dividing by the difference between T_g values for sugar alone and PVP alone (180 °C) (closed keys).

ーク波数はほとんど変化しなかった。原理的にピーク波数が高いほど水素結合の形成度が低いことを意味する。従って、単糖や二糖のような元々密なマトリクスを形成する糖³³⁾では、高分子成分の複合は糖分子間の水素結合を減少させ、逆に大きな分子サイズの糖が形成する疎なマトリクス³³⁾では、高分子成分を組み込んでマトリクス内の水素結合の形成度は低下しないものと考えられる。また、単糖からなるアモルファスマトリクスでは、PVPの複合により温度上昇に伴うピーク波数の増加勾配が大きくなった。一方、二糖のマトリクスではPVPの複合による増加勾配の変化はほとんど見られず、三糖以上の糖の場合は、PVPの複合によりピーク波数の増加勾配は逆に減少した。カルボニル基は水酸基よりも極性が強いことから、糖分子の水酸基間に形成される水素結合よりもPVPのカルボニル基と糖の水酸基の間の水素結合の方が結合力は強いと考えられる。従って、糖-PVP間水素結合はマトリクスを補強する働き

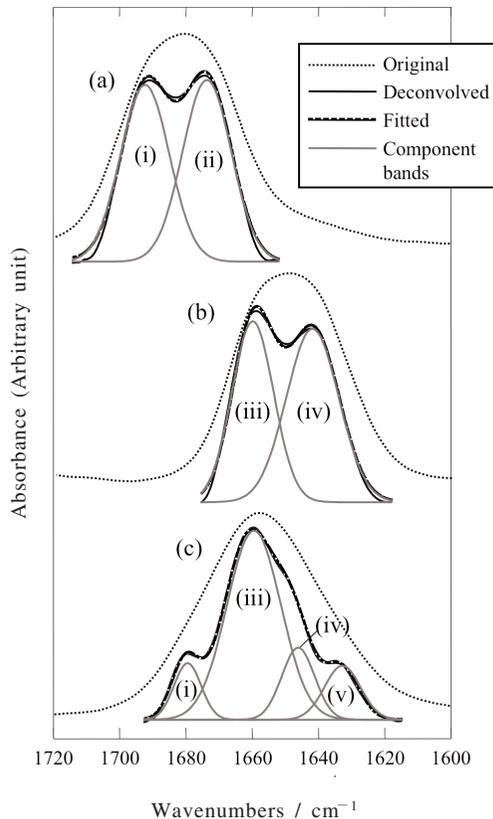


Fig.10 Fourier self-deconvoluted IR bands for C=O stretching of PVP (MW ca. 360k) and the fitted individual component bands (at room temperature). (a) PVP dehydrated alone; (b) 50 mg/mL PVP aqueous solution; (c) PVP dehydrated with 4 g/g-PVP of maltose.

をし、三糖以上のオリゴ糖で見られたように、水素結合が切れにくくなったものと考えられる。一方、単糖、二糖のマトリクスにおいては、糖-PVP間水素結合が形成されるものの、マトリクスを支える糖分子間水素結合が顕著に減少するため、マトリクスが『脆く』になってしまうのかもしれない。その結果、単糖の結果で見られたように、逆に水素結合は切れやすくなった可能性が考えられる。

Fig.9には各糖を用いた場合のPVPの複合による T_g の上昇度（上昇温度および相対値）を糖の分子サイズに対してプロットした。単糖（glucose）ではPVPの添加によりほとんど T_g は上昇せず、糖の分子サイズが二糖、三糖と大きくなるほど、 T_g の上昇度（相対値）が高くなった。三糖以上の糖では T_g の上昇度（相対値）は変化せず、糖単体の T_g が高い分、上昇温度は減少した。このような傾向は、上述のPVPの複合による二つの影響によるものと考えられ

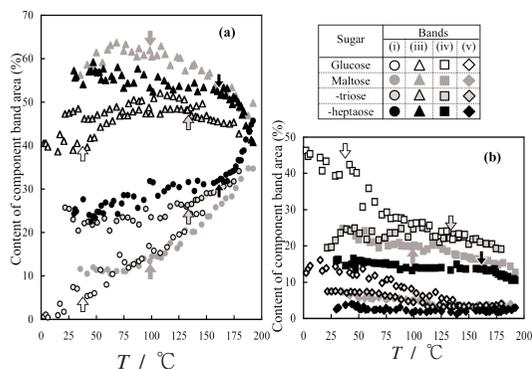


Fig.11 Change in the contents of the individual component band (i and iii, (a); iv and v, (b)) areas for the C=O stretching of PVP (MW ca. 360k) dried in the presence of 0.25 g of various sugars due to increasing temperature. Arrows indicate T_g values.

る。¹¹⁾

さらに糖-PVP複合試料におけるPVPのC=O伸縮振動の吸収ピークを解析した。PVPのカルボニル基に起因する吸収ピークの解析は、タンパク質の二次構造を解析するのと同じ要領で行った。³⁴⁾ Fig.10にPVPのカルボニル基の吸収ピークを解析した結果の一例を示す。これよりPVPのC=O基は二つの遊離状態 (component band (i, ii)) と三つの相互作用状態 (component band (iii-v)) に対応する計五つのcomponent bandを示すことがわかった。

Fig.11に各component bandのエリアが温度とともにどのように変化するかを調べた結果を示す。遊離状態のC=O基に起因するcomponent band(i)は温度の上昇とともに増加していくが、 T_g 以上では、増加勾配が顕著に大きくなった。このことは糖とPVP間の水素結合は T_g の上昇に寄与しているが、一旦、glass-to-rubber転移が生じると糖-PVP間水素結合も消失しやすくなることを表している。一方、component band (iii-v)は糖と水素結合しているC=O基に対応するが、これらの内、component band (iii)は遊離のC=O基に対応するcomponent band (i)と対称的な温度依存性を示した。糖-PVP間水素結合にも三つの形態があるが、 T_g 近傍における変化傾向からするとcomponent band (iii)に対応する糖-PVP間水素結合がマトリクスの物理的安定化に主に寄与しているものと考えられる。

5. おわりに

材料の物理化学的特性は、結晶かアモルファスかによらず、その材料を構成する分子の構造と分子間に形成される相互作用の状態に強く依存する。分子の運動性もそれ自身

の分子量や嵩だけでなく、周囲の分子との相互作用の強さおよび形成度によっても左右される。また、その相互作用の形成状態は分子のコンフォメーションや構造柔軟性を反映している。ここで、結晶性材料の場合、X線回折分析などにより三次元的な原子の配置を特定することで、相互作用状態を明らかにすることができ、さらには材料が示す物理化学的特性にも理論的解釈を与えることができる。これに対して、非晶質材料においては、個々の分子の配置・配向がランダムなため、分子間相互作用の形成特性と分子構造の関係は未だ一般的な知見は乏しく、非晶質材料の物理化学的特性の理論的解釈も十分なものではない。今後、様々な非晶質固体の物理化学的特性に関する知見を集積・整理し、普遍的な傾向を浮かび上がらせる作業が必要となろう。その際、今回紹介したTS-FTIRは幅広い温度域の相互作用状態を一度の測定で計測できることから、有効な分析手法になるのではないだろうか。

謝 辞

本研究は、文部科学省科学研究費補助金 (No. 18760594 および20560702)、(財) 飯島記念食品科学振興財団平成19年度学術研究助成 (6号)、(財) 岡山県工学振興会平成18年度奨励研究助成により行われた。

文 献

- 1) F. Franks, *Biotechnology* **12**, 38 (1991).
- 2) M. J. Pikal, *Formulation, and Delivery of Proteins and Peptides*, ACS Symposium Series 567, p 120-133 (1994).
- 3) J. F. Carpenter, S. J. Prestrelski, T. J. Anchodorquy, and T. Arakawa, *Formulation, and Delivery of Proteins and Peptides*, ACS Symposium Series 567, p 134-147 (1994).
- 4) L. S. Taylor and G. Zografis, *J. Pharm. Sci.* **87**, 1615 (1998).
- 5) W. F. Wolkers, M. G. van Kilsdonk, and F. A. Hoekstra, *Biochim Biophys Acta* **1425**, 127 (1998).
- 6) I. J. van den Dries, D. van Dusschoten, M. A. Hemminga, and E. van der Linden, *J. Phys. Chem. B* **104**, 10126 (2000).
- 7) K. Imamura, K. Sakaura, K. Ohyama, A. Fukushima, H. Imanaka, T. Sakiyama, and K. Nakanishi, *J. Phys. Chem. B* **110**, 15094 (2006).
- 8) K. Izutsu, S. Yoshioka, and Y. Takeda, *Int. J. Pharm.* **71**, 137 (1991).
- 9) L. Slade and H. Levine, *Pure & Appl. Chem.* **60**, 1841 (1988).
- 10) Y. Roos and M. Karel, *Food Technol.* **45**, 66 (1991).
- 11) K. Imamura, K. Ohyama, T. Yokoyama, Y.

- Maruyama, H. Imanaka, and K. Nakanishi, *J. Pharm. Sci.* **97**, 519 (2008).
- 12) 糖分子ごとに水酸基の振動状態は、同じ水素結合の形成度においても多少の差異はあるものと考えられる。この差異を補正するため、**Fig.2**では T_g におけるピーク波数から25℃におけるピーク波数値を差し引いた値が横軸としてとってある。
 - 13) W. Kauzmann, *Chem. Rev.* **43**, 219 (1948).
 - 14) C. A. Angell, *Science* **267**, 1924 (1995).
 - 15) C. A. Angell, *Physica D* **107**, 122 (1997).
 - 16) S. L. Shamblyn, X. Tang, L. Chang, B. C. Hancock, and M. J. Pikal, *J. Phys. Chem. B* **103**, 4113 (1999).
 - 17) 神部博太郎, 小澤丈夫. 新版熱分析, 講談社サイエンスティフィク, p.233-236 (1992).
 - 18) G. C. Kresheck, C. T. Lin, L.N. Williamson, W. R. Mason, D-J. Jang, and M. A. El-Sayed. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **7**, 289 (1990).
 - 19) G. S. Jas and K. Kuczera, *Biophys. J.* **87**, 3786 (2004).
 - 20) J. Guo, N. Harn, A. Robbins, R. Dougherty, and C. R. Middaugh, *Biochemistry* **45**, 8686 (2006).
 - 21) D. M. Byler and H. Susi, *Biopolymers* **25**, 469 (1986).
 - 22) W. Surewicz and H. H. Mantsch, *Biochim. Biophys. Acta* **952**, 115 (1988).
 - 23) K. Imamura, K. Ohyama, T. Yokoyama, Y. Maruyama, and K. Nakanishi, *J. Pharm. Sci.* **98**, 3088 (2009).
 - 24) K. Imamura, T. Ogawa, T. Sakiyama, and K. Nakanishi, *J. Pharm. Sci.* **92**, 266 (2003).
 - 25) H. L. Casal, U. Köhler, and H. H. Mantsch, *Biochim Biophys Acta* **957**, 11 (1988).
 - 26) T. Heimbürg, and D. Marsh, *Biophys. J.* **65**, 2408 (1993).
 - 27) U. Görne-Tschelnokow, D. Naumann, C. Weise, and F. Hucho, *Eur J Biochem.* **213**, 1235 (1993).
 - 28) H. R. Costantino, K. G. Carrasquillo, R. Cordero, M. Mumenthaler, C. C. Hsu, and K. Griebenow, *J. Pharm. Sci.* **87**, 1412 (1998).
 - 29) P. D. Orford, R. Parker, and S. G. Ring, *Carbohydr. Res.* **196**, 11 (1990).
 - 30) K. Imamura, A. Fukushima, K. Sakaura, T. Sugita, T. Sakiyama, and K. Nakanishi, *J. Pharm. Sci.* **91**, 2175 (2002).
 - 31) K. Imamura, Y. Asano, Y. Maruyama, T. Yokoyama, M. Nomura, S. Ogawa, and K. Nakanishi, *J. Pharm. Sci.* **97**, 1301 (2008).
 - 32) S. D. Allison, M. C. Manning, T. W. Randolph, K. Middleton, A. Davis, and J. F. Carpenter, *J. Pharm. Sci.* **89**, 199 (2000).
 - 33) K. Imamura, Y. Maruyama, K. Tanaka, T. Yokoyama, H. Imanaka, and K. Nakanishi, *J. Pharm. Sci.* **97**, 2789 (2008).
 - 34) 半価幅および強度因子 (K) は、それぞれ 30 cm^{-1} および 2.0 とした。これらの値はタンパク質の二次構造解析の際に用いられる criterion ($1800\sim 1700\text{ cm}^{-1}$ 近傍のベースラインが直線になり、かつ、component band の数があり得る程度に複数存在すること; H. Jiang, Z. Song, M. Ling, S. Yang, and Z. Du, *Biochim. Biophys. Acta* **1294**, 121 (1996)) に基づいて決定した。

要 旨

糖によって形成されたアモルファスマトリクスはタンパク質などの不安定性成分の包埋・安定化剤として利用されている。この糖類アモルファスマトリクスの物理化学的特性は、マトリクス内に含まれる分子間相互作用と密接に関連している。すなわち、糖分子間に形成される水素結合はマトリクスを支える働きを担っており、マトリクス内に包埋された物質と糖との間の相互作用はマトリクスの物理的安定性を左右する。さらに、糖とタンパク質からなる系では、糖とタンパク質の間に形成される水素結合はタンパク質が安定化する働きがある。筆者らはこれまで、温度走査 Fourier 変換赤外分光分析 (TS-FTIR) により、糖類アモルファスマトリクスおよびそのタンパク質や高分子物質との複合材料における分子間相互作用について検討してきた。その結果、(1) 糖類アモルファスマトリクスのガラス転移温度(T_g)は、より少ない糖分子間水素結合で糖分子を固定できるマトリクスほど、高くなる。(2) 糖類アモルファスマトリクスに包埋されたタンパク質の構造変化はマトリクスの T_g 以上で顕著になる。(3) 糖類アモルファスマトリクスに高分子量物質として polyvinylpyrrolidone を添加した場合、マトリクス内の分子間水素結合の切断が抑制され、その結果、 T_g が上昇することなどの知見を得た。



今村維克 Koreyoshi Imamura
岡山大学大学院自然科学研究科物質生命工学専攻, Graduate School of Natural Science and Technology, Okayama University
E-mail: kore@cc.okayama-u.ac.jp
研究テーマ: 糖類アモルファスマトリクスの物理と応用
趣味: 裏通りサイクリング