

1D16 ラマン分光法および密度汎関数法によるセラミドの構造研究

(神戸大院自¹・神戸大農²) ○田中丈幸¹, 田中陽子², 土橋慶輔¹, 大野 隆², 幡山文一²

【序論】人間の皮膚の最も外側に位置する角質層には角質細胞が密集しており、それらの細胞の間には脂質が満たされている。その細胞間脂質が凝集化することによって角質層の保湿性や弾力性などの機能を担っている。細胞間脂質にはセラミド、コレステロール、遊離脂肪酸がそれぞれ 50、25、10 %を占めており、それらの中で最も多いセラミドが角質層の機能に関係していると予想される。セラミドはスフィンゴシン塩基と呼ばれるアミノ基に脂肪酸がアミド結合した分子であり、疎水性のアルキル鎖と親水性のセラミド骨格に分けられる。また、セラミド骨格の置換基の違いからセラミドは 7 種類に分類されるが、皮膚組織に一番多いのがセラミド 2 である。本研究では、アルキル鎖の長さが異なるセラミド 2 のラマンスペクトルを測定し、密度汎関数法(DFT)によってラマンバンドを帰属し、セラミド 2 の構造と機能の関係について考察した。

【実験】測定に用いたセラミドを図 1 に示す。アセチルセラミドは SIGMA から、オクタデカノイルセラミドは和光純薬工業株式会社から購入した。ラマンスペクトルの測定には、Kaiser Optical Systems 社製の Holo Probe 532 を使用した。DFT 計算には、SGI 社の Origin 3800 上で分子軌道計算プログラム GAUSSIAN 98 を用いた。密度汎関数には B3LYP、基底関数には 6-31G(d)を使用した。

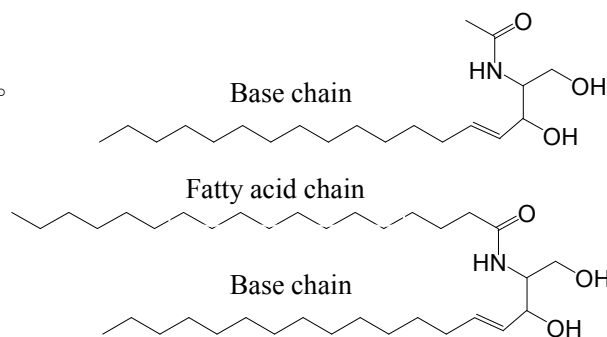


図 1 アセチルセラミド(上)およびオクタデカノイルセラミド(下)の化学構造

【結果・考察】アセチルセラミドの粉末状態におけるラマンスペクトルを図 2 に示す。1677 cm^{-1} にアミド基の C=O 伸縮振動が観測され、1464、1442、1419 cm^{-1} にメチレン基のはさみ振動のラマンバンドが観測された。これらのバンドの帰属を明らかにするために、DFT 法による構造最適化と振動数解析およびラマン散乱強度の計算を行った。アルキル鎖のコンフォメーションが全てトランスで、アミド基の C=O とそれから近い距離にある OH 基が分子内水素結合を形成しているコンフォメーションについて B3LYP/6-31G(d)による構造最適化とそのラマンスペクトルのシミュレーションを行った。その結果を図 2 に示す。アルキル鎖を全てゴーシュに変えて DFT 計算を行うと、メチレン基のはさみ振動は低波数側にシフトすることから、実測の 1442 cm^{-1} はトランス、1419 cm^{-1} はゴーシュに帰属された。また、1677 cm^{-1} の低波数側に観測された二本の弱いラマンバンドの帰属を明らかにするために、アミド基に水分子を結合させた吸湿モデルとアミド基間で水素結合させた二量体モデルの DFT 計算を行った。その結果、1660 cm^{-1} は水分子の吸着、1639 cm^{-1} は分子間水素結合によるラマンバンドであることが分かった。

アセチルセラミドをクロロホルムに溶解させてから溶媒を揮発させた場合や 30 °C から 50 °C に温度変化させた場合では、いずれも 1419 cm^{-1} のバンド強度が減少した。これはアルキル鎖がゴーシュであるコンフォメーションの存在比が減り、トランスのものが増えたことを示している。このコンフォメーション変化によって 1660 cm^{-1} のバンド強度もわずかに増加しており、吸湿性が高くなった。興味深いことに、乾燥させたアセチルセラミドに水分子を吸着させると、前述のコンフォメーション変化も起こった。つまり、より多くの水分子を吸着させるためにアセチルセラミドがコンフォメーション変化を起こしたと考えられる。

アセチルセラミドの結果を踏まえて、オクタデカノイルセラミドも同様の実験を行った。オクタデカノイルセラミドではアルキル鎖のコンフォメーションはほぼトランスであることが分かったが、水分子の吸着による 1660 cm^{-1} のバンドは観測されず、代わりに 1639 cm^{-1} に分子間水素結合によるラマンバンドの強度が増大した。これはオクタデカノイルセラミドの方が凝集し易い分子であることを示している。また、アセチルセラミドと異なり、930 cm^{-1} にラマンバンドが観測された。このバンドの帰属を調べるために、図 2 の立体構造とは異なり、アミド基がもう一方の OH 基と分子内水素結合を形成している構造について DFT 計算を行ったところ、930 cm^{-1} のバンドが再現できた。よって、オクタデカノイルセラミドとアセチルセラミドは、セラミド骨格の構造が違っていると予測される。さらに、オクタデカノイルセラミドをクロロホルムに溶解し、溶媒を揮発させてラマンスペクトルを測定すると、930 cm^{-1} のラマンバンドが消失し、アセチルセラミドのものと良く似ていた。したがって、オクタデカノイルセラミドは角質層において共存する他の細胞間脂質などの割合によってセラミド骨格の構造を変化させていることが示唆される。以上のように、異なる測定条件のラマンスペクトルを比較し、DFT 法によるシミュレーションを通して、セラミドの構造と機能について考察することができる。

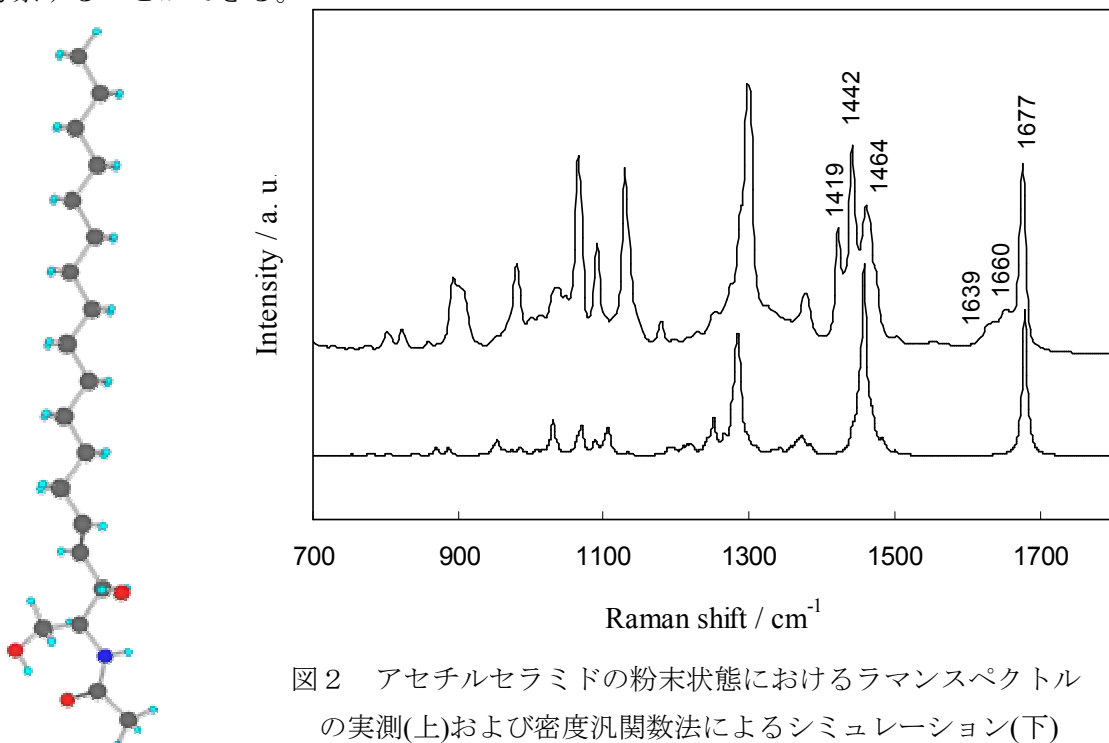


図2 アセチルセラミドの粉末状態におけるラマンスペクトルの実測(上)および密度汎関数法によるシミュレーション(下)