

# シクロデキストリン誘導体による メチルオレンジ同族体の包接作用とその分子シミュレーション

伊原 靖二

山口県立大学名誉教授

## Inclusion and Molecular Simulation Studies on Complex Formation of Methyl Orange and its Homologs with Modified Cyclodextrin

Yasuji IHARA

Emeritus Professor of Yamaguchi Prefectural University

### Summary

The inclusion complex formation of methyl orange and its homologs with modified cyclodextrins (CD) in aqueous solution was studied by spectrophotometric measurement at 25 °C. The binding constants were determined on methyl orange derivatives of the alkyl groups with different lengths with modified CD. Changing the length of alkyl groups in methyl orange derivatives modified the binding selectivity in favor of hydrophobic interaction on the complex formation.

Molecular simulations were performed on the complex of methyl orange derivatives with modified CD to explain the experimental results. The simulations in gas phase and water model showed that the inclusion of the methyl orange derivatives into CD lead to stabilization of the total steric energy in agreement with experimental findings.

Key Words: Modified cyclodextrin, Methyl orange and its homologs, Binding constant, Hydrophobic interaction, Molecular simulation, Steric energy

### 1. 緒言

シクロデキストリン (CD, 1) はグルコースが  $\alpha$ -1,4結合した環状オリゴ糖であり、円筒状をしている。その内孔はX軸方向にCHに覆われており、強い疎水性を示す。また、分子の周辺部にはOH基(狭い口の方に1級のOH, 広い口の方に2級のOH)が配列しているので、水にかなりの親和性を持っている。疎水内孔の重合度(グルコース単位数)がそれぞれ、6, 7, 8のものは $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ と呼ばれ、重合度  $n$  が増加するに従ってその直径は拡がる。この疎水性内孔の大きさに適した疎水性化合物、疎水性残基をもつ親和性化合物が存在すると、それらの疎水性部分は水溶液中でシクロデキストリンに特異的に取り込まれ、包接複合体を形成する。取り込まれるゲストは気体、液体、固体の有機物から、ヨウ素のような無機物まで多種多様である<sup>1-4</sup>。この包接複合体の生成は、シクロデキストリンの最も特異

的な性質であり、これまでも多くの研究が行われてきた<sup>4-8</sup>。例えば、食品、医薬品、化粧品、農業、化学工業といった分野での研究がなされており、その内、各種染料とCDとの相互作用の研究は数多く報告されており<sup>5-11</sup>、種々の複合体を生成することが見出されている。原田らは<sup>7</sup>メチルオレンジのナトリウム及びカリウム塩との包接化合物の結晶解析を試み、アゾ基とベンゼン間は空洞内に、ジメチルアミノ基とスルホン酸は空洞外に位置していることを示した。

以前、筆者は<sup>12</sup>染料分子の選択的包接作用を検討する目的で、CD(1)と系統的に疎水性を変化させた染料(2)との相互作用を試み、疎水性側鎖の包接作用に及ぼす影響について検討を行なった。すなわち染料として、今回と同じ側鎖のアルキル鎖長の異なるメチルオレンジ及びその同族体を用い、 $\alpha$ ,  $\beta$ , 及び $\gamma$ CDとの包接作用を吸収スペクトル

変化法より検討した。そして、包接に及ぼすCDと染料の疎水性及び分子サイズの影響を考察した。さらに温度を変化させ、結合定数の温度依存性から熱力学パラメーターを算出することによりその相互作用の機構を考察した。

本研究においては、上記の研究結果を基に、CDの第1級及び第2級水酸基をメチル基で修飾した誘導体を用いてメチルオレンジ同族体の包接作用を試み、未修飾のCDと比較することにより疎水性側鎖の包接に及ぼす効果を検討した。また、分子シミュレーションにより、気相中及び水溶液モデルでのCD誘導体とメチルオレンジ同族体の包接作用で得られる分子複合体の安定構造を推定すると共に、実験結果との関連を考察した。

## 2. 実験

### 2-1 試料

シクロデキストリン誘導体 (CD, 1) は市販試薬 (GR) を十分乾燥しそのまま用いた。メチルオレンジ同族体 (2) はアルキル鎖の異なる4種を用いた。その内 2a 及び 2b は市販試薬をエタノール-水混合溶媒より繰り返し再結晶することにより精製して使用した。2c 及び 2d はスルファニル酸と相当するN,N-ジアルキルアニリンをカップリングして合成した。その後、得られた粗生成物から活性アルミナカラムクロマトグラフィーにて不純物を分離し、さらにエタノール-水混合溶媒で再結晶して精製した<sup>12)</sup>。

### 2-2 方法

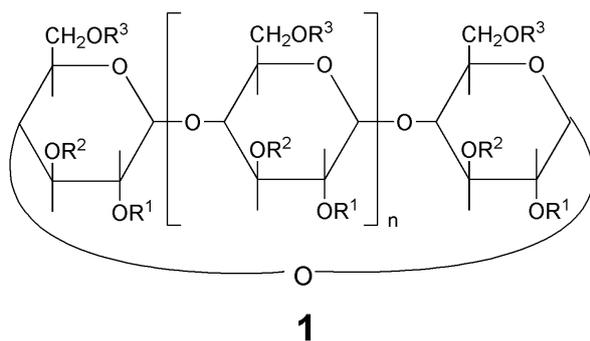
シクロデキストリン誘導体とメチルオレンジ同族体 (染料基質) の包接作用は25℃、pH7.0、0.05M リン酸ナトリウム緩衝液中にて染料濃度を固定して行ない、包接複合体の結合定数 (Kb) は、CD濃度に伴う基質の吸光スペクトル変化からBenesi-Hildebrand<sup>13)</sup> の式を用いることにより算出した。

### 2-3 分子力場 (MM) 計算

計算に必要なシクロデキストリン (CD) 分子の初期構造はX線結晶解析のデータを用いた。メチルオレンジ同族体の各染料の分子構造はChem3D等の分子構造作成ソフトを用いて作成した。CDと染料との相互作用は、図1の模式図に示すように、まず各染料とCDを正方向と逆方向からそれぞれ重心で重ね合わせ、その後、染料を1Åずつ上下に移動させ、得られた複合体を、SUNワークステーション上で動作する、分子力場計算プログラムであるMM3 (89及び92) により極小化させた。その後得られた複数の極小構造をConflex (Ver.6.0)<sup>14)</sup> のMMFF94s力場にて配座探索を行い最適化を試みた。水溶液モデルではGB/SAパラメーターを設定し計算を行った。

そして、そこで各極小構造から得られた最小のTOTAL STERIC ENERGYについてCOMPLEX形成時のエネルギーを各コンポーネント別に分類しその最安定化エネルギーを算出した。

## Modified Cyclodextrins



1a; n=4, R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>=R<sup>3</sup>=H (αCD)

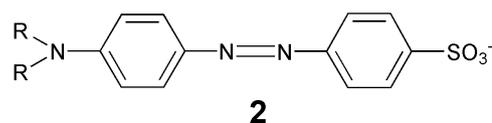
1b; n=4, R<sup>1</sup>=R<sup>3</sup>=CH<sub>3</sub>, R<sup>2</sup>=H (DMαCD)

1c; n=5, R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>=R<sup>3</sup>=H (βCD)

1d; n=5, R<sup>1</sup>=R<sup>3</sup>=CH<sub>3</sub>, R<sup>2</sup>=H (DMβCD)

1e; n=5, R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>=R<sup>3</sup>=CH<sub>3</sub> (TMβCD)

## Methyl Orange Derivatives



2a; R=CH<sub>3</sub> (MO)

2b; R=CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub> (EO)

2c; R=CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub> (BO)

2d; R=CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub> (HO)

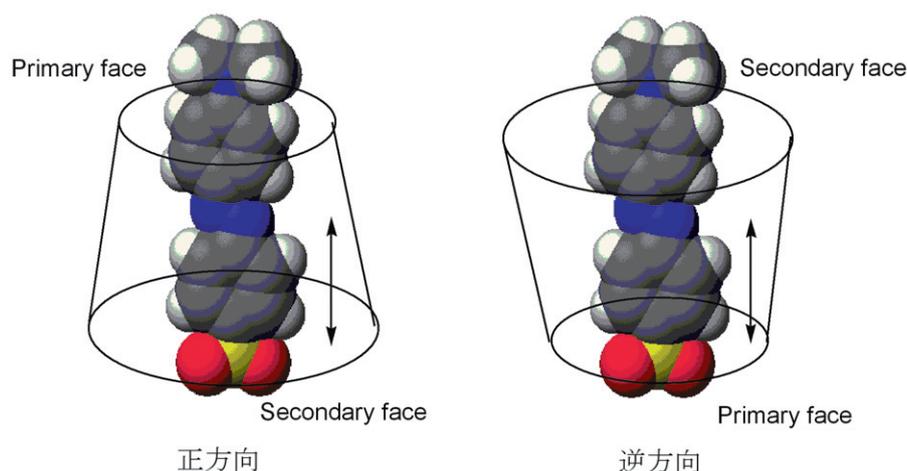


Figure 1 Sketch of the Different Topologies for the Entry of the Guest Molecule into the Cavity of the CD Host.

## 2) 半経験的分子軌道 (MO) 計算

染料分子及びCDとの包接複合体の電子状態については、Microsoft Windows上で動作する半経験的分子軌道計算プログラムであるMOPAC2009 (Version: 10.060W)<sup>15)</sup>を用いて計算を行った。計算はPM6ハミルトニアン<sup>16)</sup>を使用して、EFルーチンを用いてGNORMを0.1に設定して最適化を行った。包接複合体の場合は、前もって上記の分子力場計算で極小化したものを計算の初期構造として用いた。原子数が多い複合体の場合はXYZ座標パラメータを設定し計算した<sup>17)</sup>。また、水溶液モデルの場合、EPSを78.3に設定した。

## 3. 結果及び考察

### 3-1 シクロデキストリン誘導体によるメチルオレンジ同族体の包接作用

はじめに、アルキル鎖長の異なる4種類のメチルオレンジ同族体(2a-d)のpH7.0緩衝溶液中、25℃における包接作用を検討した。シクロデキストリン誘導体は $\alpha$ CD及び $\beta$ CDと水酸基をメチル基で修飾したジメチル及びトリメチル誘導体を用いた。図2にCDの濃度変化に伴う各染料の極大吸収波長における吸収スペクトルの変化の一例を示した。この図において、横軸はCD濃度 [C] (mol/l)、縦軸は530nmにおける吸光度変化 $\Delta E$ を示す。これらの吸光度変化より明らかなように、いずれの場合もCD濃度の増加とともに増加し、ある濃度になるとほぼ一定となり平衡に達するようである。特に側鎖アルキル基を比較すると、DM $\beta$ CDによる変化ではMOと比べてBOのように側鎖アルキル基が増加するにつれて低濃度で変化が大きく又速く平衡に達していることが認められた。他のCDとメチルオレンジ同族体の包接実験においても同様な結果が得られた。

この変化はCDと染料とのなんらかの相互作用の結果であると考えられる。一般にMO(2a)及びEO(2b)と $\alpha$ CDや $\beta$ CDとの包接作用は1:1の複合体を、 $\gamma$ CDとは2:1の複合体を生成することが報告されている<sup>18, 19)</sup>。BO(2c)及びHO(2d)についても同様と推定される。

以前、すでに報告したように<sup>12)</sup>、結合体のモル比を連続変化法により決定した。すなわち、 $\beta$ CDと染料の合計の濃度を一定に保って、そのモル比を変化させたところ、結合体の生成量が最大の時のCDと染料のモル比は結合対のモル比に等しくなる。 $\beta$ CDとBOとのモル比は0.5で極大値を極大値を示した。この結果、 $\beta$ CDとの包接は1:1であることがわかった。以下、本研究ではそれぞれ上記のモル比で結合すると考え実験値を処理することにした。そこでBenesi-Hildebrandの式<sup>13)</sup>(1式)を適合して結合定数を算出した。

$$\text{CD} + \text{Dye} = \text{Complex}$$

$$\Delta E^{-1} = (a [\text{Dye}] K_b [\text{CD}])^{-1} + a [\text{Dye}]^{-1} \quad (1)$$

ここで $\Delta E$ はシクロデキストリンを加えたときの吸収スペクトルの変化であり、[Dye]は染料の初期濃度、[CD]はシクロデキストリン濃度、 $a$ は定数である。 $\Delta E$ と[CD]の逆数の直線関係から結合定数 $K_b$ を求めることが出来るが、本研究においては非線形最小自乗法を用いて $K_b$ を算出した。表1に包接複合体形成の結合定数( $K_b$ )を示した。この表より明らかなように、未修飾の $\alpha$ CD及び $\beta$ CDを比較すると、 $\beta$ CDは内径が大きく包接複合体の安定性が減少し、その結果 $K_b$ 値は小さくなった。さらに基質の疎水性鎖長が増加するに従って、 $K_b$ 値は大きくなる傾向にある。しかし、HOは取り込

みの仕方が他の3種と異なるためかKb値が再び小さくなった。結合にはアルキル鎖長が影響し、 $\alpha$  CDと $\beta$  CDそれぞれにおいて、側鎖アルキル基の鎖長の増加につれてその結合定数が増加したがHOでは減少した。Kb値は $\alpha$  CDについてはBO>EO>MO>HOで $\beta$  CDではBO>EO>HO>MOであった。また、 $\alpha$  CDに2個のメチル基を修飾したDM  $\alpha$  CDでは疎水性側鎖の影響により、結合定数が最大6倍程度の増加が認められ、BO>EO>HO>MOの順であった。また興味深いことに、 $\alpha$  CDではMOとEOであまり差がないがBOの値が2倍程度

大きい。 $\beta$  CDではEOとBOの値にあまり差がなくMOの2.5倍程度大きい値を示した。

次に、 $\beta$  CD及びそのメチル化誘導体については、表2に示した結合定数比から明らかなように、すべての染料に効果的な包接はメチル基を2個導入したDM  $\beta$  CDで得られた。TM  $\beta$  CDの場合、 $\beta$  CDと比べて増加したが、その増加率は低く、2倍以下であった。3個のメチル基の導入は、各染料の包接にあまり効果的でないことを示している。この原因はメチル基の導入によりかさ高さが増し、逆に結合定数が

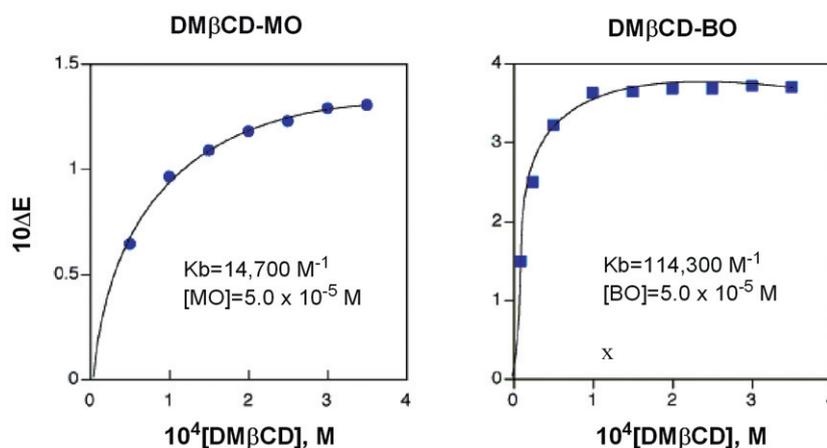


Figure 2 Plot of Adsorption Changes of MO and BO on Complexation with DM  $\beta$  CD at 25 °C.

Table 1. Binding Constants for the Complex Formation of Methyl Orange Derivatives with Modified Cyclodextrins<sup>a)</sup>

	Kb, M <sup>-1</sup>				
	$\alpha$ CD (1a)	DM $\alpha$ CD (1b)	$\beta$ CD (1c)	DM $\beta$ CD (1d)	TM $\beta$ CD (1e)
MO (2a)	5780	17000	2200	14700	4130
EO (2b)	7140	30800	6060	41800	8550
BO (2c)	12300	40500	6410	114300	13400
HO (2d)	3880	25800	5880	27900	7090

a) pH 7.0, 0.05M Phosphate Buffer, 25°C

Table 2. Binding Constant Ratios for the Complex Formation of Methyl Orange Derivatives with Modified Cyclodextrins<sup>a)</sup>

	10 <sup>-4</sup> Kb, M <sup>-1</sup>				
	$\beta$ CD	DM $\beta$ CD	TM $\beta$ CD	DM $\beta$ CD / $\beta$ CD	TM $\beta$ CD / $\beta$ CD
MO (2a)	0.220 (1)	1.47 (1)	0.413 (1)	6.69	1.88
EO (2b)	0.606 (2.75)	4.18 (2.84)	0.855 (2.07)	6.90	1.41
BO (2c)	0.641 (2.91)	11.43 (7.78)	1.340 (3.24)	17.80	2.09
HO (2d)	0.588 (2.54)	2.79 (1.72)	0.709 (1.72)	4.74	1.21

a) pH 7.0, 0.05M Phosphate Buffer, 25°C

減少したものと考えられる。逆にDM $\beta$ CDの場合は $\beta$ CDと比較してその結合定数は4.7～17.8倍であり、特にBOとの結合では最大の増加率を示した。DM $\beta$ CDのように2個のメチル基は染料の包接に効果的であることを示している。これらの結果はCDの口径と関連して興味深い。この結果からアルキル基のかさ高さやCDの空洞の大きさとの適合性が唆される。BOのブチル基のかさ高さはCDの空洞径に対する包接結合に有利に働き、HOの場合非常に長い側鎖は立体障害等により適合性に欠け緩い結合となったと考えられる。

### 3-2 包接複合体の分子シミュレーション

本研究では複合体形成の様式を巨視的に把握するため、CDと染料の相互作用で得られる複合体の分子シミュレーションを試みた。包接のゲスト分子としてMOとBOを選び、ホスト分子として、5種のCD (1a-e) との相互作用を分子力場 (MM) 及び半経験的分子軌道計算 (MO) により検討し、特にBOの疎水性側鎖の各修飾CDに対する効果をMOと比較することにした。

CDは、すでに緒言のところでも示したように、グルコピラノース単位からなる $\alpha$ -1,4結合の環状オリゴ糖である。正多角形に近い断面を有する円筒状の立体構造をしている。CDの第一級水酸基側 (Primary face) は狭く、第二級水酸基 (Secondary face) は広い。これは、グルコース間の立体障害と分子間水素結合のためと考えられる。CDの周辺は、親水的で水に可溶であるがその空洞の内部は疎水的であるため疎水性化合物及び疎水性残基をもつ親水性化合物が存在すると取り込むことが知られている。また、CDの内孔の直径は $\alpha$ CD=5.7Å,  $\beta$ CD=7.8Å,  $\gamma$ CD=9.5Åであり、深さが約8Åである。

今回用いた修飾CDはメチル基の導入により約9Åとなり、メチルオレンジ同族体はMO分子で約14.6Å, BOで18.0Åである。包接される分子もしくは、分子の一部はこの中に安定に収容されるものでなければならない<sup>18-20)</sup>。

#### 3-2-1 分子力場計算による分子シミュレーション

分子力場計算はWindows上で動作する分子設計支援ソフトConflexのMMFF94s力場を用いた。分子シミュレーションに必要なCD分子の初期構造はX線結晶解析のデータを用いた。染料の各分子構造はChem3D等の分子構造作成ソフトを用いて作成した。CDと染料の相互作用は、図1の模式図に示すように、それぞれCDの正方向、逆方向に各染料をそれぞれ重心で重ね合わせ、その後、染料分子を1Åずつ上下に移動させ、得られた複合体を、SUNワークステーション上で動作する、分子力場計算プログラムであるMM3 (89及び92) により極小化させた。その結果、図3の例に示すように、複数の極小値が得られた。これらの複数の複合体を基にConflexを用い配座探索を行い、そこで得られた最小のTOTAL STERIC ENERGYについてCOMPLEX形成時のエネルギーを各コンポーネント別に分類しその最安定化エネルギーを算出した。水溶液モデルではGB/SAパラメーターを設定し分子シミュレーションを試み、上記と同様に配座探索を行い、安定化エネルギーを算出した。Conflexは、適当な分子力場のポテンシャル空間中に存在する、予め特定できないエネルギー極小点、すなわち配座異性体を発生する独自のアルゴリズムを用いて、最安定構造を配座探索することができる分子シミュレーションプログラムである<sup>14)</sup>。

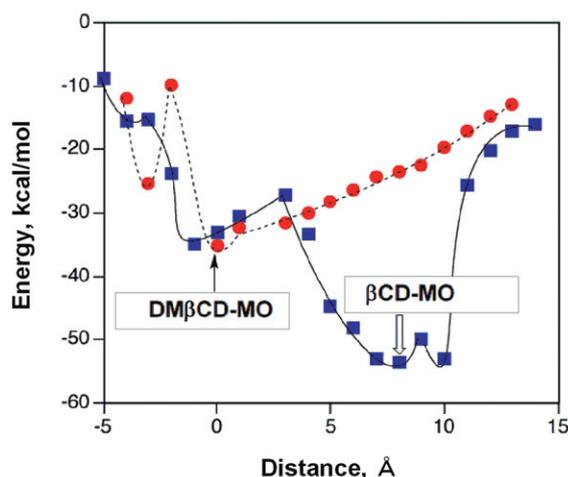


Figure 3 Potential Energy Change Along the Path of Inclusion for Complex Formation of MO with  $\beta$ CD and DM $\beta$ CD.

そして、そこで得られた最安定化した包接複合体について、さらに下記に示す半経験的分子軌道計算プログラムであるMOPAC2009を用い安定化構造を求めた。

前報<sup>12)</sup>では、分子支援ソフトであるHyperChemを用い、MO及びBOと $\alpha$  CDとの複合体をMM+力場にて最適化後、分子動力学シミュレーションを試みた。シミュレーション温度は最初0から300Kまで立ち上げ、その後300Kにて100ps 計算を試み、十分に安定化させた後、最終的にその複合体の極小化を同じMM+力場で行った。その最適化された分子複合体では、MOとの包接作用の場合は正逆両方ともほぼ中央に位置してベンゼン環及びアゾ基を空洞内に含んだ複合体形成の安定構造が得られた。BOとの相互作用では正方向の方が幾分疎水性則鎖に近づいた安定構造が認められた。

分子力場を用いた分子シミュレーションの結果、得られた各複合体の最安定化エネルギー及び各コンポーネント別のエネルギー変化を表3に示した。表中、上からそれぞれ結合ひずみ、角ひずみ、ねじれ、面外変角、非結合、静電、伸縮変角、及び全エネルギー

の各コンポーネントを示す。最安定化した各シクロデキストリンとMO及びBOの包接作用に伴うエネルギー（Complex形成過程のエネルギー）は、包接複合体のエネルギーからCDとMO及びBOの単独のエネルギーを足したものを引いた値であり、その差が大きくなるほど包接複合体が安定しているといえる。表3から明らかなように、TOTAL STERIC ENERGYを比較すると包接に伴うエネルギー変化は一部を除き、すべてマイナスであり、包接することにより化合物が安定化されることを示している。気相中（Gas Phase）の各複合体形成における安定化の全エネルギーはMOの場合、DM  $\alpha$  CD以外は約34-107 kcal/mol、またBOの場合、約54-109 kcal/mol減少し安定な結果が得られた。ただし、DM  $\alpha$  CDでは逆に安定化エネルギーがプラスであり、計算上、包接することにより不安定になる結果を示した。

また、未修飾のCDでは $\beta$  CD、 $\alpha$  CDの順にエネルギーが低くなりより安定化されることが示された。実験結果では $\alpha$  CDの方が結合定数が大きく、

Table 3. Change in the Energies and Their Components of Complex Formation of MO and BO with CD Hosts in Gas Phase<sup>a), b), c)</sup>

	MO				
	$\alpha$ CD	DM $\alpha$ CD	$\beta$ CD	DM $\beta$ CD	TM $\beta$ CD
TOTAL BOND STRAIN ENERGY	-0.0032	-0.5833	-0.0008	0.0038	0.0008
TOTAL ANGLE STRAIN ENERGY	-0.0059	-0.8855	-0.0016	-0.0043	-0.0014
TOTAL TORSION STRAIN ENERGY	-0.0003	-0.0047	0.0013	0.0009	0.0007
TOTAL OUT-OF-PLANE ANGLE STRAIN ENERGY	-0.0001	0.0000	0.0000	-0.0001	0.0000
TOTAL NONBONDED STRAIN ENERGY	-0.0334	-17.6354	-1.2535	-19.2052	-16.6019
TOTAL CHARGE INTERACTION ENERGY	-77.2846	32.8328	-106.2027	-15.1611	-34.9276
TOTAL STRETCH-BEND ENERGY	0.0017	-0.0363	-0.0051	0.0027	-0.0059
TOTAL STERIC ENERGY	-77.3246	13.6872	-107.4632	-34.3645	-51.5372
	BO				
	$\alpha$ CD	DM $\alpha$ CD	$\beta$ CD	DM $\beta$ CD	TM $\beta$ CD
TOTAL BOND STRAIN ENERGY	0.0000	-0.5825	0.0043	0.0072	-0.0071
TOTAL ANGLE STRAIN ENERGY	-0.0083	-0.8672	0.0036	-0.0143	0.0015
TOTAL TORSION STRAIN ENERGY	0.0007	-0.0046	0.0007	0.0021	-0.0009
TOTAL OUT-OF-PLANE ANGLE STRAIN ENERGY	-0.0001	0.0000	0.0000	0.0000	0.0001
TOTAL NONBONDED STRAIN ENERGY	-0.4909	-22.3470	-1.2833	-14.4647	-18.7837
TOTAL CHARGE INTERACTION ENERGY	-77.2290	33.1395	-107.8091	-39.9949	-29.7903
TOTAL STRETCH-BEND ENERGY	0.0000	-0.0351	-0.0025	-0.0012	-0.0051
TOTAL STERIC ENERGY	-77.7286	9.3025	-109.0857	-54.4660	-48.5849

a) Based on MM (MMFF94s force field) Calculation

b) Kcal/mol

c) Change in the energy [total energy of inclusion compound (Host-Guest)] - [total energy of Guest] + (total energy of Host)]

異なる結果が得られた。この原因の1つとしては、計算結果はすべて気相中（真空状態）の結果であり、実験結果は水溶液中の値であることが考えられる。各コンポーネント別のエネルギーでは、非結合エネルギー及び静電エネルギーの効果が大きく表われている。非結合エネルギーにおいて低いエネルギーが得られたため、CD空洞内の疎水性が包接に大きく関与しており、ベンゼン骨格との疎水性相互作用の効果が高まり、包接複合体の安定性が増加することを示している。

静電エネルギーはCDのOH基と親水性基であるスルホン酸基との水素結合から得られるものであり、真空状態ではその寄与がかなり大きく見積もられている。また複合体によっては、非結合エネルギー以外にダイポール間のエネルギーがマイナスであり、極性間の相互作用が幾分複合体の安定化に寄与していることが推定される。

次に、水溶液モデル（GB/SA）の結果を表4に示した。表4では表3の各コンポーネントに、さらにGB/SAの項目が追加されている。GB/SA法は、静電ポテンシャルを一般化 Born (GB) 式で求め、かつ非極性の寄与を溶媒接触可能表面積 (SA) をもとに溶媒和エネルギーを計算するモデルである<sup>21-23)</sup>。表より明らかのように、水溶液モデルでは各安定化エネルギーは気相中と異なり、すべてマイナスを示すと共に、より実験値に近い結果が得られた。水溶液モデルの各複合体形成における安定化の全エネルギーはMOの場合、約13-40 kcal/mol、またBOの場合、約15-44 kcal/mol減少し安定な結果が得られた。また、気相中で大きな安定化エネルギーが得られた $\alpha$ CDと $\beta$ CDの場合、非結合エネルギー項目で安定度が増え、GBエネルギーが少し増加した結果、TOTAL ENERGYが減少した。気相中において静電エネルギーの反発から、プラスの値が得られた

Table 4. Change in the Energies and Their Components of Complex Formation of MO and BO with CD Hosts in GB/SA Water Model<sup>a), b), c)</sup>

	MO				
	$\alpha$ CD	DM $\alpha$ CD	$\beta$ CD	DM $\beta$ CD	TM $\beta$ CD
TOTAL BOND STRAIN ENERGY	0.0011	-0.7906	-0.7225	1.5141	-0.7943
TOTAL ANGLE STRAIN ENERGY	-0.0012	-3.1069	-2.2809	5.3866	-3.1435
TOTAL TORSION STRAIN ENERGY	0.0003	-0.0015	-0.0023	0.0042	-0.0012
TOTAL OUT-OF-PLANE ANGLE STRAIN ENERGY	-0.0001	0.0000	0.0000	0.0000	-0.0005
TOTAL NONBONDED STRAIN ENERGY	-16.6105	-18.2898	-0.9755	2.6548	-20.1720
TOTAL CHARGE INTERACTION ENERGY	-4.3588	39.1030	-18.8772	-24.5846	49.0553
TOTAL STRETCH-BEND ENERGY	-0.0004	-0.0571	-0.0232	-0.0546	-0.0635
TOTAL GB/SA ENERGY (GB TERM)	7.9692	-51.1214	-17.0500	-49.1842	-62.6444
TOTAL GB/SA ENERGY (SA TERM)	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
TOTAL STERIC ENERGY	-13.0005	-34.2649	-39.9317	-33.3233	-37.7642

	BO				
	$\alpha$ CD	DM $\alpha$ CD	$\beta$ CD	DM $\beta$ CD	TM $\beta$ CD
TOTAL BOND STRAIN ENERGY	-0.0052	-0.7701	-0.8421	-0.7851	-0.8297
TOTAL ANGLE STRAIN ENERGY	0.0045	-3.1920	-3.2757	-3.2268	-3.2569
TOTAL TORSION STRAIN ENERGY	-0.0006	-0.0027	-0.0017	-0.0023	-0.0022
TOTAL OUT-OF-PLANE ANGLE STRAIN ENERGY	0.0000	0.0001	0.0001	0.0000	0.0000
TOTAL NONBONDED STRAIN ENERGY	-19.1085	-22.1027	-20.6308	-20.9003	-26.9166
TOTAL CHARGE INTERACTION ENERGY	-1.0257	51.4348	47.3482	48.3703	43.8054
TOTAL STRETCH-BEND ENERGY	-0.0015	-0.0612	-0.0545	-0.0648	-0.0581
TOTAL GB/SA ENERGY (GB TERM)	4.7949	-59.5995	-56.3424	-57.9310	-56.9574
TOTAL GB/SA ENERGY (SA TERM)	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
TOTAL STERIC ENERGY	-15.3432	-34.2928	-33.7996	-34.5404	-44.2155

a) Based on MM (MMFF94s force field) Calculation

b) Kcal/mol

c) Change in the energy [total energy of inclusion compound (Host-Guest)] - [total energy of Guest] + (total energy of Host)]

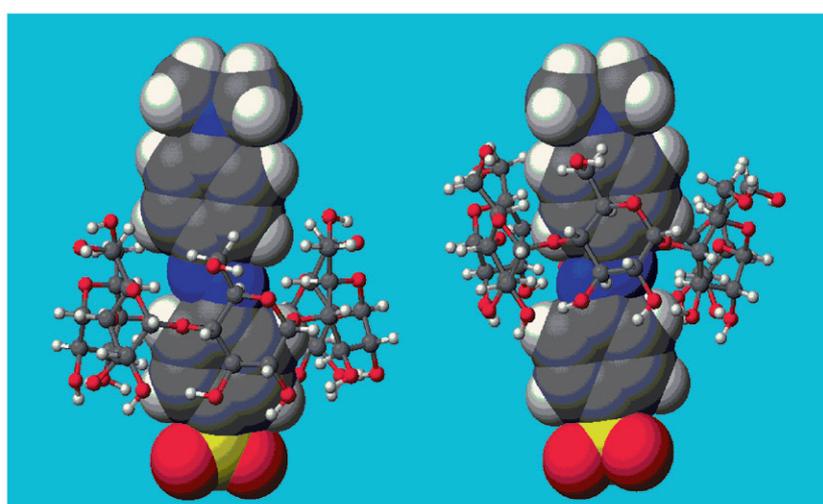
DM  $\alpha$  CDでは、水溶液モデルではGBエネルギー項目の関与の結果、安定な複合体形成が認められた。MOとBOのDM  $\alpha$  CD, DM  $\beta$  CD, 及びTM  $\beta$  CDを比較すると、大きな安定化エネルギーが得られたが、その値は必ずしも実験値の結果と一致しなかったが、気相中と比べてこれらの結果は実験で得られた結合定数と、その順序がほぼ一致し、相関することが認められた。また、各コンポーネント別のエネルギー変化から、それぞれ形態は異なるが、GB/SAエネルギーと共に、静電エネルギーもしくは非結合エ

ネルギーが大きく関与し、極性力及び疎水性結合により包接複合体が安定化されることが示唆された。

表3及び表4のMMによる分子シミュレーションの結果、得られた気相中と水溶液モデルでの複合体の包接様式を示す分子図の一部を図4～図6に示した。

すべての分子図はCDの第1級水酸基側を上、第2級水酸基側を下にして表示した。図4は最安定化された  $\alpha$  CDとMO及びBOの複合体形成図を示した。すべてにおいてベンゼン環を中心にCDに包接

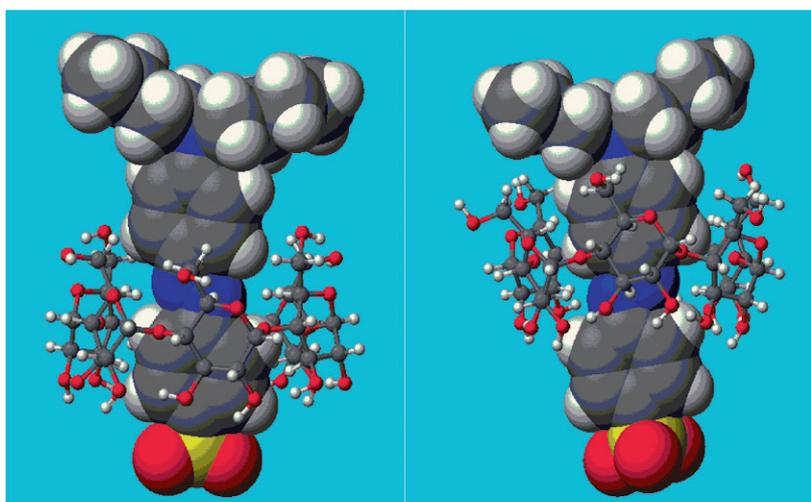
### $\alpha$ CD-MO



Gas Phase

Water Model

### $\alpha$ CD-BO

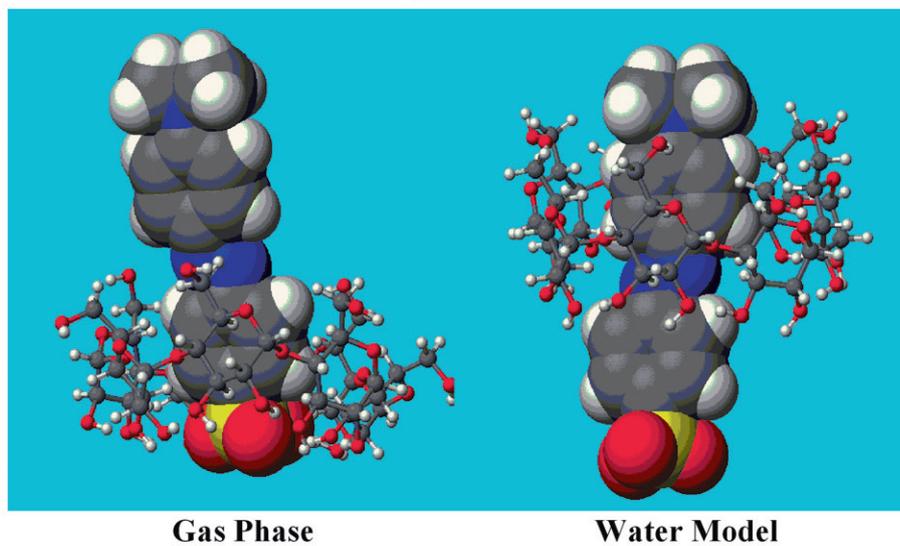


Gas Phase

Water Model

Figure 4 Computer-simulated Molecular Models of Complexes Detected for the MO and BO with  $\alpha$  CD Host in Gas Phase and Water Model.

### $\beta$ CD-MO



### $\beta$ CD-BO

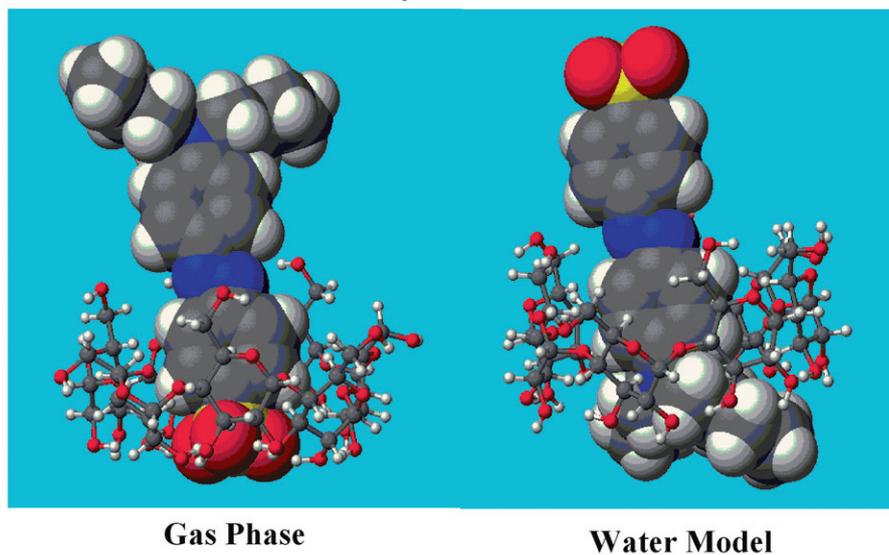
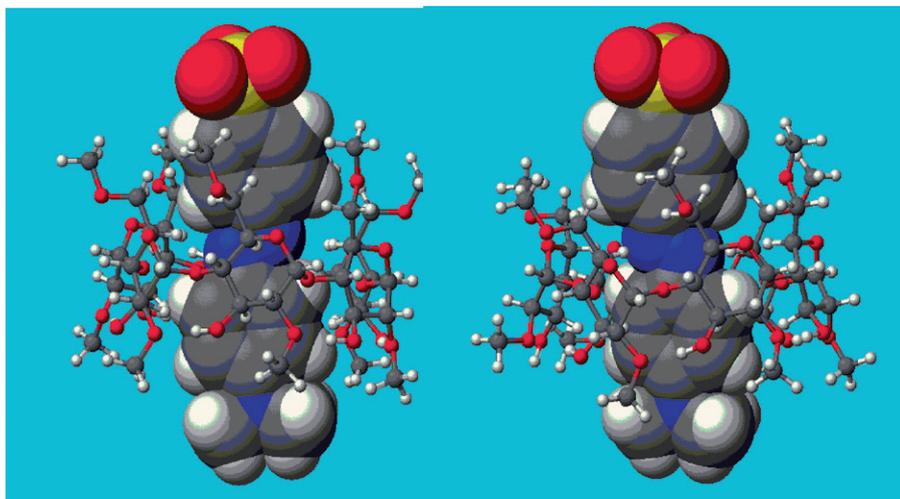


Figure 5 Computer-simulated Molecular Models of Complexes Detected for the MO and BO with  $\beta$  CD Host in Gas Phase and Water Model.

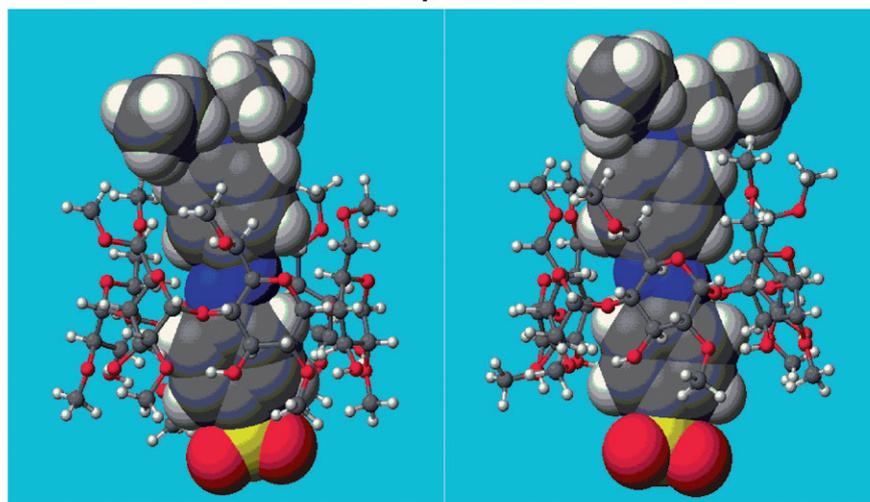
### DM $\beta$ CD-MO



Gas Phase

Water Model

### DM $\beta$ CD-BO



Gas Phase

Water Model

Figure 6 Computer-simulated Molecular Models of Complexes Detected for the MO and BO with DM $\beta$  CD Host in Gas Phase and Water Model.

されていることがわかる。気相中においてMO又はBOは第2級側の水酸基と水素結合を形成し包接されているが、水溶液モデルではCDはMOまたはBOとほぼ中央に位置し包接されている。これらの結果は表3及び表4の各コンポーネント別のエネルギー結果からも明らかのように、気相中での包接は静電エネルギーが大きく寄与し、結晶状態の包接構造を示している。原田らは<sup>7)</sup>、 $\alpha$ CDとMOとのX線結晶解析において、図4と同様な安定構造が得られることを示しており、この計算結果と一致している。

しかし、水溶液モデルではGB/SAエネルギーが効果的に関与し、CDのほぼ中央に包接形態を示した。図5の $\beta$ CDとMO及びBOの複合体は、気相中では $\alpha$ CDとよく似た結果を示した。やはりCDの第2級水酸基との水素結合の結果、 $\alpha$ CDとよく似た包接構造を示したが、 $\alpha$ CDより口径が大きいので少し傾いて包接されている。水溶液モデルではMOの場合、CDのジメチルアミノ側のベンゼン環側での包接構造を示したが、BOの場合は逆方向に包接された構造が得られた。 $\beta$ CDは $\alpha$ CDと比べて、口径が大きく、BOの疎水性部分のジブチルアミノ基側の包接の方がより安定構造が得られたものと考えられる。図には示していないが、DM $\alpha$ CDとの複合体は気相、水溶液モデルと共にほぼCDの中心付近に包接された構造が得られた。

DM $\beta$ CDとMO及びBOの複合体では、図6に示すように、修飾された上下のメチル基の効果により中央に包接された構造が得られた。しかしMOの場合は気相中では逆方向の型で、水溶液モデルでは逆方向ではあるが幾分ジメチルアミノ基側にシフトした包接構造を示した。BOの場合は、気相、水溶液モデル共に正方向の包接構造であり、水溶液モデルではMOと同様にジブチルアミノ基側にシフトした構造が得られた。TM $\beta$ CDでは図には示していないが3個の修飾メチル基の影響で大きな安定化エネルギーが得られたが、それぞれ特有の包接構造を示した。

いずれにしても、各複合体は $\alpha$ CD及び $\beta$ CDのように未修飾のCDでは気相中においてはX線結晶解析と同様な結晶構造の形態を示すが、水溶液モデルではCDの中心近くに包接され、実験結果と相関することが認められた。ジメチル及びトリメチルCDでは気相中、水溶液モデルとも、水素結合の寄与はあまり認められず、正方向、逆方向の違いがあるが、ほぼ中心付近に包接された構造を示した。特にDM $\beta$ CDは上下の各メチル基がBOの包接に効果的に作用し、その結果、非常に大きな結合定数が得られたものと考えられる。

静電エネルギーはCDのOH基とMOまたはBOの親水性基との水素結合から得られるものであり、真空状態ではその寄与が大きくかなり大きく見積もら

れている。また複合体によっては、非結合エネルギー以外に極性間の相互作用が幾分複合体の安定化に寄与していることが推定される。

### 3-2-2 分子軌道計算による分子シミュレーション

次に、MM計算(MMFF94s)にて最安定化した包接複合体について、半経験的分子軌道計算プログラムであるMOPAC2009を用いて分子シミュレーションを試みた。MOPAC2009より、包接複合体の生成熱、全エネルギー(Electronic energy, Core-core repulsion)、イオン化ポテンシャル、最高被占分子軌道(HOMO)と、最低空軌道(LUMO)を算出した。表5に気相中の各包接化合物のエネルギー変化を示した。分子力場計算(MM)の計算と同様に、最安定化した各シクロデキストリンとMO及びBOの包接作用に伴う生成熱及び全エネルギー変化(Complex形成過程のエネルギー)は、包接複合体のエネルギーからCDとMO及びBOの単独のエネルギーを足したものを引いた値であり、その差が大きくなるほど包接複合体が安定しているといえる。生成熱の変化を比較すると包接に伴うエネルギー変化はすべてマイナスであり、包接することにより化合物が安定化されることを示している。MM計算の結果と同様に、MOの場合 $\alpha$ CDと $\beta$ CDはその水素結合に伴うELECTRONIC ENERGYがCORE-CORE REPULSIONより大きく見積もられ、その結果大きな安定化エネルギーが得られた。MMの結果と幾分異なり、 $\alpha$ CDと $\beta$ CDではMMの結果と同様に水素結合が大きく見積もられ、大きな安定化エネルギーが得られているが、DM $\alpha$ CDでは逆にマイナスを示し複合体形成が安定化されている。MMの結果と幾分異なり、DM $\alpha$ CDでは逆にマイナスを示し、複合体形成が安定化された結果である。DM $\alpha$ CDやDM $\beta$ CD、TM $\beta$ CDの場合の安定化エネルギーはDM $\beta$ CDが一番大きく、より実験値と一致することが認められた。MOの場合は $\alpha$ CDと $\beta$ CD以外ではDM $\beta$ CD、DM $\alpha$ CD、TM $\beta$ CDの順で低い安定化エネルギーが得られ、BOの場合もDM $\beta$ CD、DM $\alpha$ CD、TM $\beta$ CDの順であり、またそのエネルギー差も大きく、実験結果により近い傾向が認められた。また、 $\alpha$ CDと $\beta$ CDの高安定化エネルギーはMOのスルホン酸基の酸素とCDの2級水酸基との水素結合である。これらの結果は表3のMM計算の各コンポーネント別の静電エネルギーの項目の値と相関しており、各複合体は形態が異なるが、水素結合の関与が安定性に大きく寄与していることを示している。

分子軌道計算による水溶液モデルの計算として、

**Table 5. Change in the Energies and Their Components of Complex Formation of MO and BO with CD Hosts in Gas Phase<sup>a), b)</sup>**

	MO				
	<i>a</i> CD	DM <i>a</i> CD	$\beta$ CD	DM $\beta$ CD	TM $\beta$ CD
HEAT OF FORMATION <sup>c)</sup>	-84.3037	-46.0303	-85.9508	-47.2532	-41.5767
TOTAL ENERGY <sup>d)</sup>	-3.6558	-1.9961	-3.7272	-2.0491	-1.8029
ELECTRONIC ENERGY <sup>d)</sup>	-89332.5257	-107554.5731	-97034.3678	-117731.7792	-122657.8807
CORE-CORE REPULSION <sup>d)</sup>	89328.8699	107552.5770	97030.6406	117729.7301	122656.0777
IONIZATION POTENTIAL <sup>d)</sup>	-9.1089	-8.8531	-8.9209	-8.7235	-8.4778

	BO				
	<i>a</i> CD	DM <i>a</i> CD	$\beta$ CD	DM $\beta$ CD	TM $\beta$ CD
HEAT OF FORMATION <sup>c)</sup>	-84.9505	-45.5585	-87.4775	-49.6693	-34.8030
TOTAL ENERGY <sup>d)</sup>	-3.6838	-1.9756	-3.7934	-2.1539	-1.5092
ELECTRONIC ENERGY <sup>d)</sup>	-105747.3170	-131340.4838	-120051.0654	-147704.6521	-159615.9415
CORE-CORE REPULSION <sup>d)</sup>	105743.6332	131338.5082	120047.2720	147702.4983	159614.4323
IONIZATION POTENTIAL <sup>d)</sup>	-9.2512	-8.9579	-8.8772	-8.8178	-8.8877

a) Based on Mopac (PM6) calculation

b) Change in the energy [total energy of inclusion compound (Host-Guest)] - [total energy of Guest] + (total energy of Host)]

c) KCAL

d) EV

誘電率 (EPS=78.3) を設定し試みた。複合体の安定化エネルギーを算出したが、ほとんどの場合、想定した安定化エネルギーは得られなかった。この原因は今のところ不明であるが、MOPACでは量子化学計算において溶媒効果を考慮する方法として、溶媒を連続体モデル (COSMO法)<sup>24)</sup> として扱う方法を用いており、複合体のコンフォメーションを求め、最安定配座からのエネルギー差としての安定化エネルギーの計算は効果的でないように思われる。ただし、得られた最安定エネルギーの複合体の構造はMM計算の水溶液モデルと類似しており、実験結果と相関関係が認められた。

次に、図7及び表6にBOとDM  $\beta$  CDの最安定化複合体の気相及び水溶液モデルの電子状態 (HOMO, LUMOの分布) を示した。本計算ではMOPAC2002 (FUJITSU Version 1.00) とその支援ソフト WinMopac Professional (Ver. 3.5) を用いた。BO単独のHOMOは気相中で親水基のスルホン酸及びスルホン酸側のベンゼン骨格を中心に分布し、その値は-6.122 eVであった。水溶液モデルではジブチルアミノ基及びその側のベンゼン骨格に分布し、その値は-8.855 eVであった。気相中での複合体のHOMOは図に示すように、親水基のスルホン酸基に分布しており、その値は-6.766 eVを示した。しかし、水溶液モデルでの複合体の場合はCD環により対照的に包接されることにより、単独の場合と同

じようにアミノ基及びそのベンゼン骨格に分布し、その値は-8.764 eVを示した。水溶液モデルの包接によりドラスティックに変化した。複合体のLUMOは気相中、水溶液モデルでそれぞれ1.416 eV, -1.175 eVであった。全体的に、HOMO, LUMO値は包接によりその値が順次減少した。

同じく、表6に示すようにBO単独及び複合体のスルホン酸基の静電ポテンシャル (ESP, Electrostatic Potential) を求めた。BO単独では気相中スルホン酸基の、イオウ原子 (S) の電荷は1.782で水溶液モデルでは1.900であった。水溶液中でのSの電荷の増加は溶媒和の影響と考えられる。

一方複合体の場合は、気相中でイオウ (S) の電荷は1.804, 3個の酸素 (O) は -0.786 ~ -0.829 であったが、水溶液モデルではSは1.914, 3個のOは -0.907 ~ -0.935 であり、BO単独の場合と同様に、溶媒和されることにより、静電ポテンシャルの値が増加することが認められた。

以上のように、実験的にメチルオレンジ同族体はCDにより安定な包接複合体を形成することが確認出来た。また分子シミュレーションにより、MO及びBOの複合体形成における安定構造を探索すると共に、得られた安定エネルギーや電子状態の変化の結果から、MOよBOがどのようにCDに結合されるかを推定し、実験から得られた結合定数との相関関

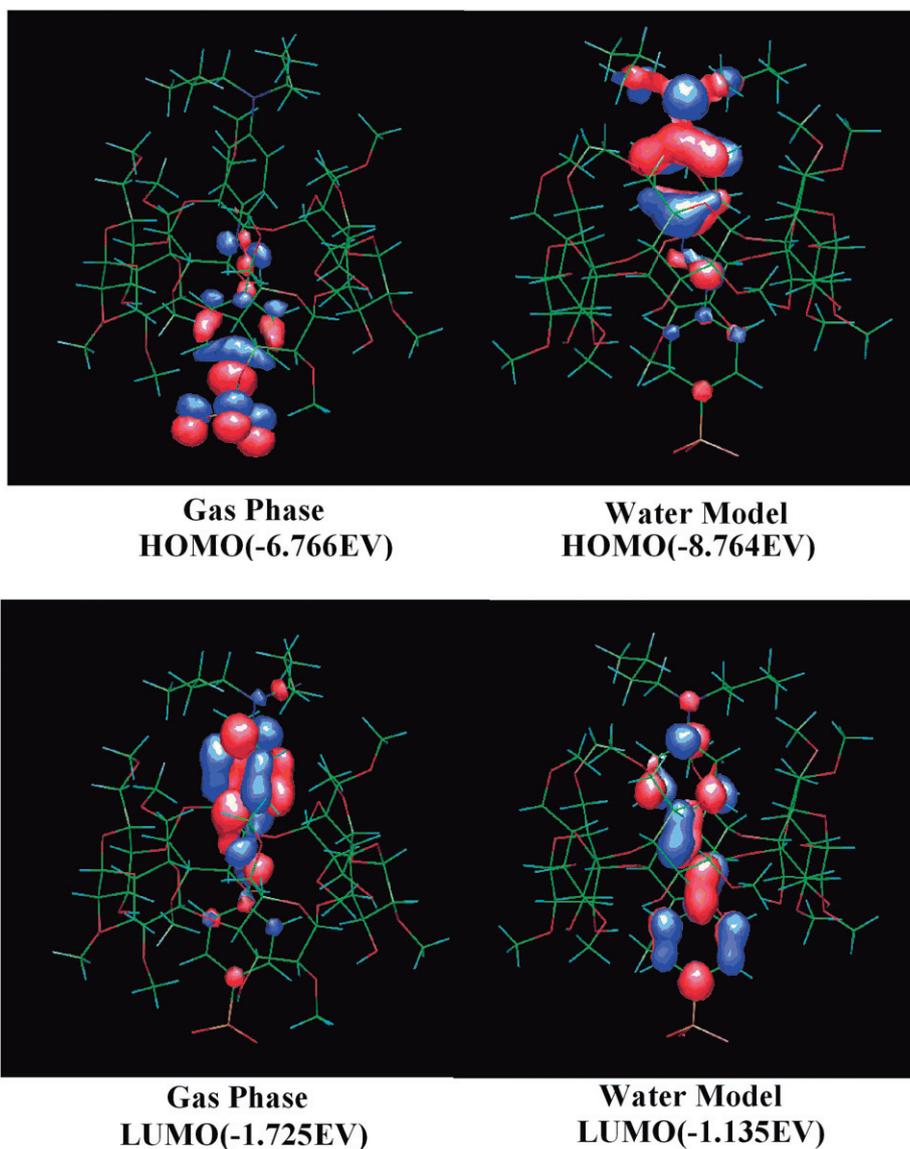
DM $\beta$ CD-BO

Figure 7 Optimized Molecular Structures and HOMO, LUMO Energies Obtained by MOPAC Calculation (PM3).

Table 6. Calculated HOMO, LUMO Energies and ESP Charges of Complex Formation of BO and DM $\beta$ CD<sup>a)</sup>

		Gas Phase		Water Model	
		BO	Complex	BO	Complex
HOMO <sup>b)</sup>		-6.122	-6.766	-8.855	-8.754
LUMO <sup>b)</sup>		1.416	1.725	-1.175	-1.135
ESP					
	S	1.782	1.804	1.900	1.914
	O1	-0.794	-0.791	-0.929	-0.931
	O2	-0.796	-0.786	-0.927	-0.935
	O3	-0.792	-0.829	-0.902	-0.907

a) Based on Mopac2002 (PM3) calculation

b) EV

係を明らかにした。包接に伴う分子カプセルとしてのCDの役割、及びCDのカプセル化により、いかにメチルオレンジ同族体の分子が取り込まれて、その電子状態が変化するかを予測するとともに、CDによる包接効果を推定することが出来た。今後、さらに包接能の高いジメチル、トリメチルCD以外の、例えば側鎖を別の分子修飾したCD誘導体やCDを二個結合したダブルCD誘導体等を用いることより、より強力な超分子による包接化の可能性が期待できる。

### 3-3 結論

水溶液からのアルキル鎖長の異なるメチルオレンジ同族体と $\alpha$ CD、 $\beta$ CD及びそのメチル化誘導体との相互作用を検討した結果、次のような知見が得られた。

1) メチルオレンジ同族体にCD濃度を変化させ加えることにより吸収スペクトルが変化し、いずれの場合もCD濃度の増加とともに増加した。この系において染料とCDの結合は $\alpha$ 及び $\beta$ CDとその誘導体の場合1:1の包接体であると考えられ、Benesi-Hildebrandの式を用いて結合定数を求めた。

2) 各結合定数の結果からすべての系において染料の側鎖の疎水性が増加するにつれてその結合定数は増加した。特に、2個のメチル基で修飾したDM $\beta$ CDで非常に大きな結合定数が得られた。しかしHOの場合は側鎖のアルキル基がバルキーであり、結合形態が異なるため減少した。

3) 分子シミュレーションの結果、各複合体は $\alpha$ CD及び $\beta$ CDのように未修飾のCDでは気相中においてはX線結晶解析と同様な結晶構造の形態を示すが、水溶液モデルではCDの中心近くに包接され、実験結果と相関することが認められた。ジメチル及びトリメチルCDではほぼ中心付近に包接された構造を示した。特にDM $\beta$ CDは上下の各メチル基がBOの包接に効果的に作用し、その結果、非常に大きな結合定数が得られたものと考えられる。

本研究の遂行にあたり、実験に協力して下さった卒論生の木山幸子、吉岡裕子の諸氏に深く感謝致します。また試料の提供をいただいた日本食品化工株式会社に厚く御礼申し上げます。

### 参考文献

- 1) M. L. Bender and M. Komiyama, "Cyclodextrin Chemistry" Springer-Verlag, New York (1977).
- 2) W. Saenger, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **19**, 344 (1980).
- 3) L. J. Cline Love, M. L. Grayesky, and J. Novoski, *Anal. Chim. Acta*, **170**, 3 (1985).
- 4) F. Garcia Sanchez, M. Hernandez, and A. Heredia, *Anal. Chim. Acta*, **187**, 147 (1986).
- 5) H.-J. Buschmann, D. Knittel, and E. Schollmeyer, *Melliand Textilber.*, **72**, 1012 (1991).
- 6) E. Junquera, G. Tardaios, and E. Aicart, *Langmuir*, **9**, 1213 (1993).
- 7) K. Harada, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **49**, 1493 (1976).
- 8) R. L. VanEtten et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **89**, 3242 (1967).
- 9) K. M. Tawarah, *Dyes Pigm.*, **19**, 59 (1992).
- 10) A. Hersey and B. H. Robinson, *J. Chem. Soc., Faraday Trans., I*, **80**, 2039 (1984).
- 11) 軽部幸恵, 飯島俊郎, *繊維学会誌*, **50**, 477 (1994).
- 12) 伊原靖二, *山口県立大学生生活科学部研究報告*, **24**, 1 (1997).
- 13) H. Benesi and J. Hildebrand, *J. Am. Chem. Soc.*, **71**, 2703 (1949).
- 14) Conflex manual (コンフレックス株式会社)、東京。
- 15) MOPAC<sup>®</sup> is a registered trademark of Stewart Computational Chemistry (SCC).
- 16) J. J. P. Stewart, *J. Mol. Mod.*, **13**, 1173-1213 (2007).
- 17) 伊原靖二, 今村主税, *山口県立大学大学院論集*, **3**, 61-70 (2002).
- 18) Y. Matsui and K. Mochida, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **51**, 673 (1978).
- 19) R. J. Clarke, J. H. Coates, and S. F. Lincoln, *J. Chem. Soc., Faraday Trans. I*, **82**, 2333 (1986).
- 20) D. L. Dick, T. Venkata, S. Rao, D. Sukumaran, and D. S. Lawrence, *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 114 (1992).
- 21) D. Q. Peter and S. Shenkin, F. P. Hollinger, W. C. Still, *J. Phys. Chem. A*, **101**, 3005-3014 (1997).
- 22) S. A. Best, K. M. Merz Jr., and C. H. Reynolds, *J. Phys. Chem. B*, **101**, 10479-10487 (1997).
- 23) A. Cheng, S. A. Best, and K. M. Merz Jr., C. H. Reynolds, *J. Mol. Graph. Mod.*, **18**, 273-282 (2000).
- 24) A. Klamt and G. Schuurmann, *J. Chem. Soc. Perkin. Trans. 2*, **1993**, 799.