

# ポリ塩化ジベンゾフランとシクロデキストリンの相互作用に関する分子科学的研究

Molecular Simulation on Interaction of Polychlorodibenzofurans and Cyclodextrins

伊原靖二\*  
Yasuji Ihara

## Summary

Molecular mechanics (MM) and molecular orbital (MO) calculations served to investigate the interaction of  $\beta$ -cyclodextrin (CD) and polychlorodibenzofurans (PCDF). Calculated values of absolute hardness ( $\eta$ ) and absolute electronegativity ( $\chi$ ) on 135 PCDF based on MO calculations showed the linear relationships between chlorinated positions of PCDF. The more energetically stable complex formation of PCDF with CD calculated based on MM were obtained compared with CD and PCDF alone, respectively. Moreover,  $\eta$  and  $\chi$  obtained by complex formation indicated higher values compared with PCDF alone. The results of the present MM and MO calculations were discussed and compared with chemical structures and the biological toxicity of PCDF.

## 1. 緒言

近年、ダイオキシン類が環境汚染物質として注目されるようになり、その毒性や環境ホルモン作用に関して多くのことが明らかになってきた。ダイオキシン類は、ベンゼン核が酸素1個で結ばれた(ジベンゾフラン)が塩素で置換された異性体(PCDF類、1)と、2個の酸素で結ばれた化合物(ジベンゾダイオキシン)が塩素で置換された異性体(PCDD類、2)、の2つに大別される。そして、塩素が1~9の位置に8個つくので組み合わせにより、PCDF類は135種、PCDD類は75種の異性体が存在する。さらに、一般にポリ塩化ビフェニル(PCB類、3)を含めて、総称的にダイオキシン類と呼んでいる。

本研究はシクロデキストリン(4)と、その毒性及び環境ホルモン作用で問題となっているポリ塩化ジベンゾフラン(PCDF類)との相互作用を分子シミュレーションにより理論的に検討することを目的とする。今日、高性能なコンピュータとより洗練されたプログラムが科学上の革命を起こし、科学計算を行うことによって、既知及び未知の分子構造やエネルギー、その他の性質を予測することができるようになった。また、ただ1回の操作によって分子構造、生成熱、双極子モーメント、イオン電位、電子分布、スピン密度などを一挙に得ることができる。分子科学計算である計算分野において、3大計算法と呼ばれているのが、分子力学法(MM)、半経験的及び非経験的分子軌道(MO)の3つである。一般に大きい分子については分子力学法、

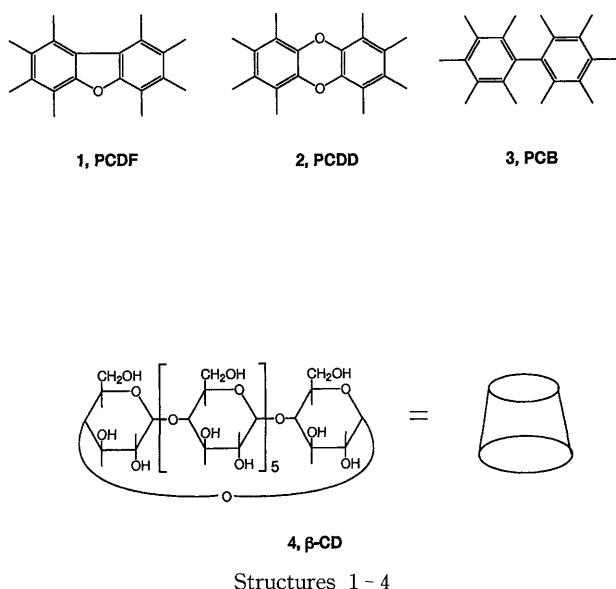
小さい分子においては分子軌道法が用いられ、実験をしのぐほどの精度を得ている。また、液体状態の分子の集合は十分な運動エネルギーを有しているため、分子シミュレーションである分子動力学法(MD)が用いられる。

シクロデキストリンは構造式(4)及びその模式図に示すようにクルコースが $\alpha$ -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)が配列しているため、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広がる。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、農薬、化学工業といった分野での研究がなされており、環境分野での応用が期待される。

最近、ダイオキシン類は都市ゴミや産業廃棄物焼却、あるいは一般家庭ゴミ焼却による飛灰や焼却残灰に検出されることから、環境汚染を懸念する大きな社会問

\* 山口県立大学大学院 健康福祉学研究科生活健康科学専攻

題になり今日に至っている。また、ダイオキシン類は極めて毒性が強く、私たち人間の健康を脅かす有害物質の一つとも言われている。ダイオキシン類の毒性やレセプターとの結合親和力の強さは、ダイオキシン類の化学構造に依存するといわれることから、本研究ではレセプターモデルとしての $\beta$ -シクロデキストリンホスト(CD, 4)によるダイオキシン類、特にPCDF類(1)との相互作用について分子力学的及び半経験的分子軌道計算プログラムを用いて理論的に検討した。



## 2. 計算方法

### 2-1 分子力場(MM)計算

計算に必要なCD(4)分子の初期構造はX線結晶解析のデータを用いた。PCDF(1)の各分子構造はChem 3D(FIJITSU Version5.0)等の分子構造作成ソフトを用いて作成した。CDとPCDFの相互作用は、図1の模式図に示すように、まず分子構造作成ソフトであるMEDY<sup>9)</sup>により各PCDFとCDをまずそれぞれ重心で重ね合わせ、その後、PCDF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)<sup>10)</sup>により極小化させた。その後30度ずつ<0-330度>Y軸回転させ、さらにY軸方向に移動させ、重ね合わせた後、MM3にて最適化を試みた。そして、そこで得られた最小のFINAL 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安定化エネルギーを算出した。また、PCDFの化学構造が非対称のもの

については、CDを逆方向に180度回転させた後、上記と同様にX軸方向に移動させ、さらにY軸方向に30度ずつ<0-330度>回転させさらにY軸方向に移動させ、重ね合わせた後、MM3にて最適化を試みた。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、下記に示す半経験的分子計算プログラムであるMOPAC2000を用い安定化構造を求めた。

### 【FINAL STERIC ENERGY】

極小化した立体エネルギー (FINAL S と略記する)

### 【COMPLEX】

FINAL S から CD 及び各ゲストを単独で最適化したものを差し引いた値

COMPLEX=FINAL S-(CDのFINAL S+各ゲストのFINAL S)

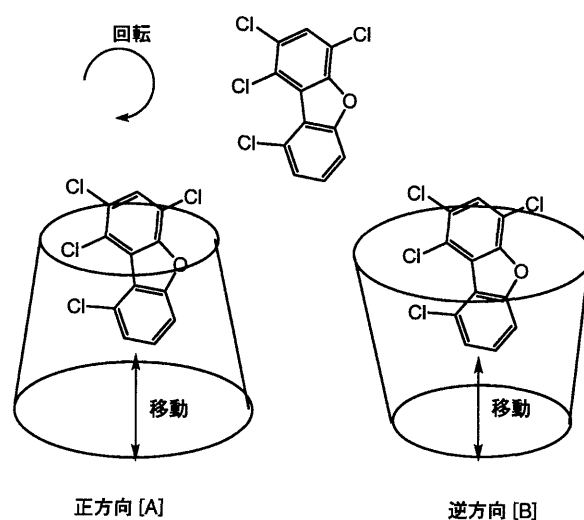


Figure 1 : Calculated Models for Complex Formation of PCDF(1) with CD(4)

### 2-2 分子軌道(MO)計算

PCDFの電子状態及びCDとの包接複合体については、COMPAQ ALPHA UNIXワークステーション上で動作する半経験的分子軌道計算プログラムであるMOPAC2000(FUJITSU Version1.01)を用いて計算を行った。計算はすべてPM3ハミルトニアンを使用して、GNORMを0.1に設定して行った。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座標パラメーターを設定し計算した。

Table 1. Calculated HOMO, LUMO energies and values of absolute hardness( $\eta$ ) and absolute electronegativity( $\chi$ ) for PCDF

No.	Chlorinated Position	$\epsilon_{\text{HOMO}}$ (EV)	$\epsilon_{\text{LUMO}}$ (EV)	$\chi$	$\eta$
1	1,6	-9.067	-0.773	4.9200	4.1470
2	2,7	-9.043	-0.819	4.9310	4.1120
3	3,7	-8.936	-0.850	4.8930	4.0430
4	1,3,6	-9.086	-0.944	5.0150	4.0710
5	1,4,7	-8.976	-0.949	4.9625	4.0135
6	2,4,6	-9.048	-0.895	4.9715	4.0765
7	1,2,4,7	-9.042	-1.058	5.0500	3.9920
8	1,2,4,9	-9.009	-1.018	5.0135	3.9955
9	2,3,4,7	-9.035	-1.066	5.0505	3.9845
10	3,5,8	-9.070	-0.908	4.9890	4.0810
11	2,3,7,8	-9.035	-1.074	5.0545	3.9805
12	1,2,3,7,8	-9.021	-1.272	5.1465	3.8745
13	1,2,3,6,7,8	-9.099	-1.262	5.1805	3.9185

### 3. 結果及び考察

#### 3-1 PCDFの電子状態及び毒性評価

ダイオキシン類はPCDF及びPCDDの2種類があり、毒性の強いのはPCDD類であるが、中央に2個の酸素を有し、平面構造及び2個の酸素を中心に折れ曲り構造を取ったりするので、そのCDとの相互作用は複雑である。そこで本研究では折れ曲り構造のとれないPCDF類に焦点を合わせ、135種類のPCDFについてMOPAC計算を試みた。計算ではPM3ハミルトニアンを用い、GNORMを0.1に設定して計算を行った。計算により、最高被占分子軌道(HOMO)と、最低空軌道(LUMO)を算出した。HOMOとは、電子の入っている分子軌道のうちで軌道エネルギーが最も高いもので、LUMOとは、電子の入っていない分子軌道のうちで、軌道エネルギーが最も低いものである。そして、このHOMO, LUMOをもとにAbsolute hardness(絶対ハードネス;  $\eta$ )及び、Absolute electronegativity(絶対電気陰性度;  $\chi$ )を算出した<sup>11)</sup>。Absolute hardnessは下記の(1)及び(2)式に示すようにHOMOからLUMOを引いたものを2で割った値であり、Absolute electron negativityは、HOMOとLUMOを足したものを2で割った値である。計算の結果から得られるHOMO, LUMOから絶対ハードネス( $\eta$ )と絶対電気陰性度( $\chi$ )を算出した。

$$\eta = 1/2 (\epsilon_{\text{LUMO}} - \epsilon_{\text{HOMO}}) \quad (1)$$

$$\chi = -1/2 (\epsilon_{\text{LUMO}} + \epsilon_{\text{HOMO}}) \quad (2)$$

代表的なPCDF類について、算出した $\eta$ 値と $\chi$ 値を表1に示した。また本研究では、分子の電子構造を調べるため、135種類全部のダイオキシン類の $\eta$ - $\chi$ 活性ダイアグラムを作成した。これら135種類の値をプロットして $\eta$ - $\chi$ 活性ダイアグラムを作成したのが図2である。この図で、ダイアグラムからずれているのは

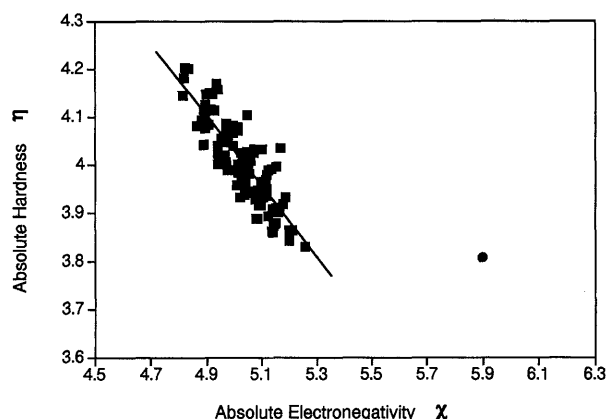


Figure 2 : Relationship between Calculated Values of Absolute Hardness( $\eta$ ) and Absolute Electronegativity( $\chi$ ) on PCDF

丸印で示しているように塩素を含まないものである。その他のPCDF類の化学構造において絶対ハードネスの尺度では、図上向きのハードで、下向きにソフトであり、負の相関が得られた。右下に集中しているのが比較的毒性の高い化合物である。これらの結果から、PCDFの毒性は $\eta$ 値と $\chi$ 値に依存することが認められた。同様の結果は小林、鮫島らにより、PCDD類において報告されている<sup>12-14)</sup>。

#### 3-2 CDとPCDFの相互作用

シクロデキストリン(CD)は、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の第一級水酸基側は狭く、第二級水酸基は広い。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、親水的水に可溶であるがその空洞の内部は疎水性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 $\alpha$

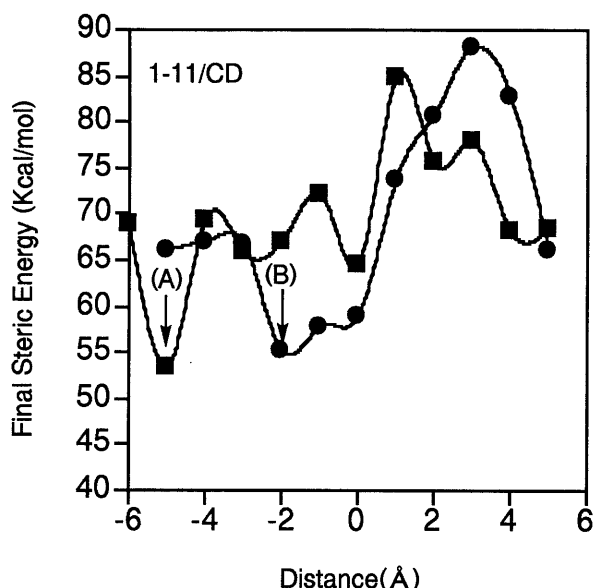


Figure 3 : Energy Diagrams by Distance for Complex Formation of PCDF(1) with CD(4). (A) 1-11/CD Normal Model (B) 1-11/CD Reverse Model

$\alpha$ -CD=5.7 Å、 $\beta$ -CD=7.8 Å、 $\gamma$ -CD=9.5 Åであり、深さが約8 Å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。本研究では中間の口径を有する $\beta$ -CD(4)との相互作用を検討した。

CDとPCDFの相互作用については、まず図2に示された135種類から比較的直線に乗っている13種類を選び、計算方法の項目で示しているように、PCDFとCDをまずそれぞれ重心で重ね合わせ、その後、PCDFを重心から1 Åずつ移動させた。得られた複合体を分子力場計算ソフトであるMM3により極小化させた。図3に移動に伴う極小化エネルギーの変化の例を示した。図3に示すように、移動に伴う各エネルギー変化は大きく変化し、図の矢印に示すところで極小値が得られた。その後さらに30度ずつ〈0-330度〉Y軸回転させさらにY軸方向に移動させ、重ね合わせた後、MM3にて最適化を試みた。図4に回転に伴う各エネルギー変化の結果の例を示した。そして、この図のように得られた最小のFINAL 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安定化エネルギーを算出した。また、PCDFの化学構造が非対称のものについては、CDを逆方向に180度回転させた後、上記と同様にX軸方向に移動させさらにY軸方向に30度ずつ〈0-330度〉回転させさらにY軸方向に移動させ、重ね合わせた後、MM3にて最適化を試みた。以後、[A]は正方向、[B]は逆方法の包接複合体を示す。

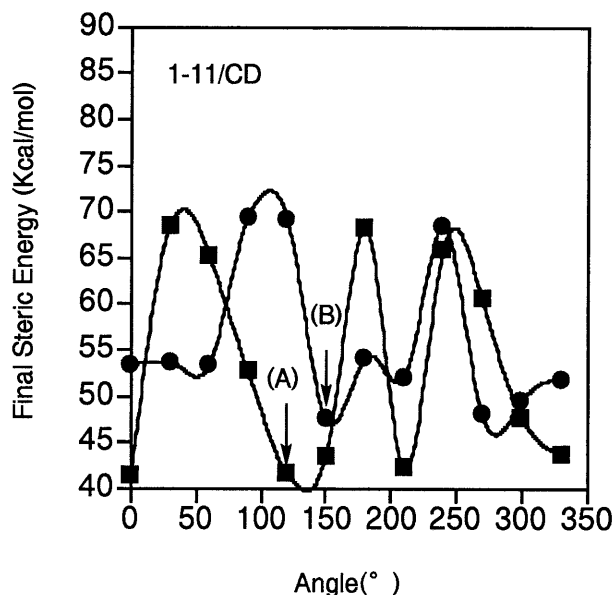


Figure 4 : Energy Diagrams by Rotation for Complex Formation of PCDF(1) with CD(4). (A) 1-11/CD Normal Model (B) 1-11/CD Reverse Model

その結果の一部を図5及び表2に示した。図5では最安定化された3種の正逆方向の両方の複合体形成図を示している。すべてにおいて、ほぼCDの中心にPCDFが包接されていることがわかる。またこれらの包接作用に伴うエネルギーを各コンポーネント別に解析したのが表2である。最安定化した各シクロデキストリンとPCDF誘導体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PCDF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。FINAL STERIC ENERGY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。1-11(A)及び1-11(B)ではPCDFの構造は対称であり、当然そのエネルギーはほぼ等しい。非対称のPCDFについては正方向の包接体がより安定である。各コンポーネント別のエネルギーでは、ファンデルワールス力の効果が大きく表われている。ファンデルワールス力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、PCDF類の疎水性が増加するに従って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。また複合体によっては、ファンデルワールス力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。

Table 2. Calculated energies for complex formation of PCDF with CD<sup>(a),b,c)</sup>

No.	1-11/CD(A)	1-11/CD(B)	1-12/CD(A)	1-12/CD(B)	1-13/CD(A)	1-13/CD(B)
FINAL STERIC ENERGY	-29.7499	-30.9765	-30.8125	-22.1407	-35.8375	-31.3975
COMPRSSION	0.0565	-0.1462	-0.3441	-0.1324	-0.5710	-0.0114
BENDING	0.4102	0.1812	0.3133	-0.1052	0.2399	1.2192
BEND-BEND	0.0288	0.0218	0.0059	0.0070	0.0205	0.0414
STRETCH-BEND	0.1368	0.0731	0.0329	-0.0073	-0.0229	0.0565
VANDER-WAALS						
1,4-ENERGY	-0.0553	0.1302	0.5870	0.6551	-0.2899	0.8429
OTHER	-29.2666	-30.2021	-30.5105	-22.2197	-31.0072	-35.3583
TORSIONAL	1.1582	-0.0266	0.7386	0.3665	0.2210	1.3186
TORSION-STRETCH	-0.0997	0.6922	-0.0471	0.0132	0.0066	-0.0638
DIPOLE-DIPOLE	-2.1188	-1.7001	-1.5911	-0.7179	-5.4343	0.5574
CHARGE-DIPOLE	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
CHARGE-CHARGE	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000

a Based on MM calculation

b kal/mol

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

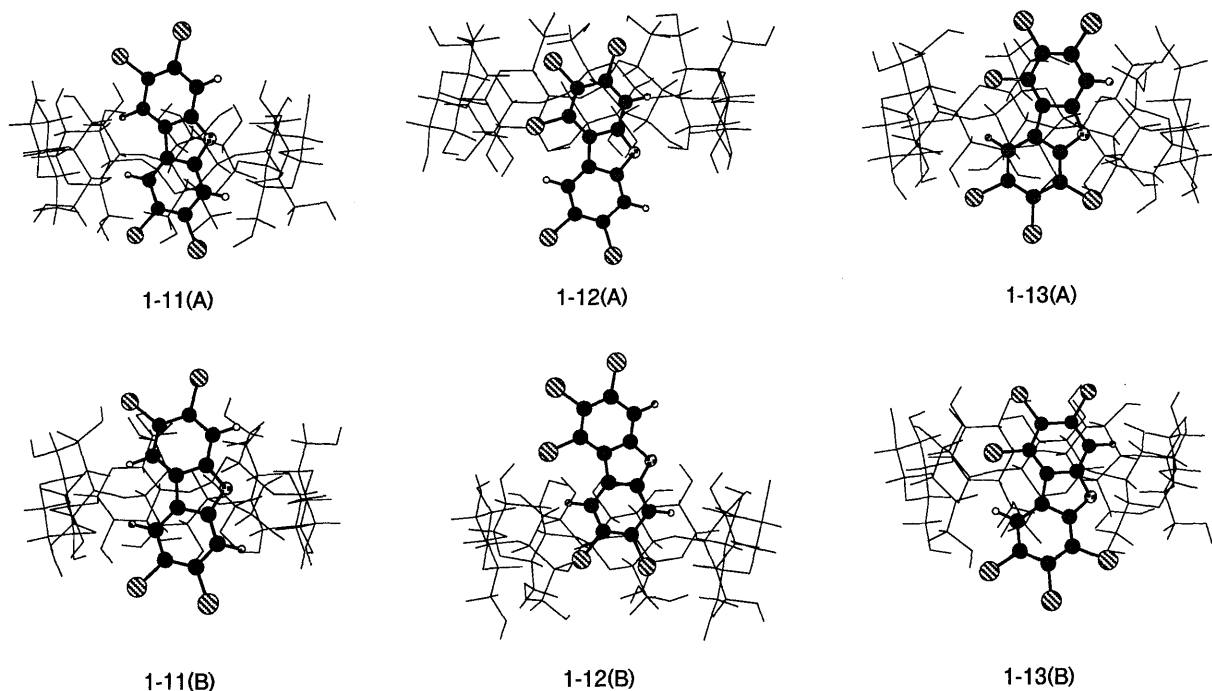


Figure 5 : Molecular Structures of Complex Formation of PCDF(1) with CD(4). (a) Normal model (B) Reverse Model

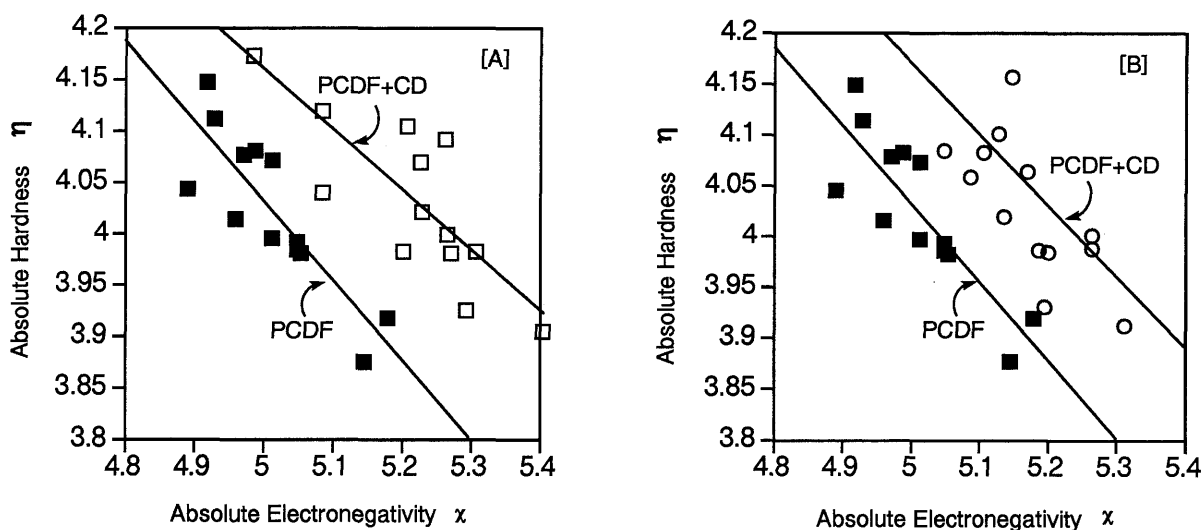
次に、MM3にて最安定化した包接複合体について、半経験的分子軌道計算プログラムであるMOPAC2000を用いた結果を考察する。MOPAC2000より、前章で示したように、包接複合体の最高被占分子軌道 (HOMO) と、最低空軌道 (LUMO) を算出した。そして、このHOMO, LUMOをもとに Absolute hardness (絶対ハードネス;  $\eta$ ) 及び、Absolute electronegativity (絶対電気陰性度;  $\chi$ ) を算出した。正逆方向についてそれぞれ計算した結果を表3及び図6に示した。このダイオキシン類の $\eta$ - $\chi$ 活性ダイア

グラムをしてみると、PCDF類は $\eta$ 値の高い部分に集中しており、これは、先ほどにも少し述べたが、塩素のつく位置及び数によりダイオキシン類の毒性の強度が異なり、2, 3, 7, 8, の位置に塩素が置換されたテトラクロロジベンゾフラン (TCDF) が最も毒性が強いと言われることより、 $\eta$ 値の低い部分に集中したのではないかと考えられる。また、PCDF類の塩素数が減少するにつれて $\eta$ 値は低くなっていることが認められた。

図6は $\eta$ - $\chi$ 活性ダイアグラムは、包接複合体を形成

Table 3. Calculated values of absolute hardness( $\chi$ ) and absolute electronegativity( $\eta$ ) for complex formation of PCDF with CD

No.	Chlorinated Position	1-CD Complex (A)		1-CD Complex (B)	
		$\chi$	$\eta$	$\chi$	$\eta$
1	1,6	5.2640	4.0920	5.2655	3.9995
2	2,7	5.0855	4.1195	5.0885	4.0565
3	3,7	5.0850	4.0400	5.1730	4.0630
4	1,3,6	5.2265	4.0695	5.0510	4.0830
5	1,4,7	5.2310	4.0220	5.1075	4.0815
6	2,4,6	5.2085	4.1045	5.1490	4.1550
7	1,2,4,7	5.2025	3.9825	5.1890	3.9840
8	1,2,4,9	5.2655	3.9995	5.2025	3.9825
9	2,3,4,7	5.3080	3.9830	5.1385	4.0185
10	3,5,8	4.9865	4.1735	5.1295	4.0995
11	2,3,7,8	5.2710	3.9810	5.2665	3.9855
12	1,2,3,7,8	5.2955	3.9255	5.1975	3.9295
13	1,2,3,6,7,8	5.4060	3.9040	5.3145	3.9105

Figure 6 : Absolute Hardness( $\eta$ )-Absolute Electronegativity( $\chi$ ) Compensation for Complex Formation of PCDF(1) with CD(4)

する前と形成した後でのダイオキシン類の毒性の強さを比較した図であるが、■は包接複合体形成前、□は正方向(A)の、○は逆方向(B)の包接複合体形成後の各ゲストの $\eta$ 値を表している。これらのグラフをみると、どれも複合体形成後、つまり最安定化した各ゲストの $\eta$ 値に比べ、高い値を示していることが分かる。これは、各ホストがダイオキシン類を包接したことで、ダイオキシン類の毒性をうまく閉じこめることができたからではないかと推定される。

近年、強い毒性や酸素誘導能を有し生態系に悪影響を及ぼすことが知られているダイオキシン類が、食品や焼却炉の廃棄ガスなど我々の身近な環境中に含まれている可能性が指摘されている。ダイオキシンは蓄積性も高く、微量の濃度であっても長期間摂取すると深刻な問題となるため、その生物毒性評価及び生体への影響の解明が望まれている。しかし、ダイオキシンを

取り扱った実験は非常に危険であるため、実験によらない解明が必要である。この理論的研究により、PCDFとCDとの包接作用に伴い、いかにダイオキシン分子がソフト化されるかを予測するとともに、CDによる毒性や生物学的活性の緩和及びシールド効果を推定することができ、またこれらの結果よりCDによるダイオキシンの回収等が十分可能であると考えられる。

### 3-4 結論

135種のPCDFの電子状態及び13種類のPCDFとシクロデキストリンとの相互作用に伴う電子状態の変化を理論的に検討した結果、次のような知見が得られた。

- 1) 分子軌道計算により、135種類のPCDFのAbsolute hardness (絶対ハードネス;  $\eta$ ) 及び、Absolute electronegativity (絶対電気陰性度;  $\chi$ ) を算出

したところ、絶対ハードネスの尺度では、図上向きのハードで、下向きにソフトであり、負の相関が得られた。これらの結果から、PCDFの毒性は $\eta$ 値と $\chi$ 値に依存することが認められた。

- 2) CDとPCDFの複合体形成を分子力場計算により算出したところ、すべてにおいて、ほぼCDの中心にPCDFが包接されていることがわかった。最安定化した各シクロデキストリンとPCDF誘導体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、すべてマイナスであり、各コンポーネント別のエネルギーでは、ファンテルワールス力の効果が大きく表われている。両者間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。
- 3) MOPAC2000を用いた包接複合体の計算結果より絶対ハードネス( $\eta$ )及び絶対電気陰性度( $\chi$ )を算出した。正逆方向についてのそれぞれ $\eta$ - $\chi$ 活性ダイアグラムにより包接複合体を形成する前と形成した後でのダイオキシン類の毒性の強さを比較した。これらのグラフを見てみると、どれも複合体形成後、つまり最安定化した各ゲストの $\eta$ 値に比べ、高い値を示していることが分かる。これは、各ホストがダイオキシン類を包接したことで、ダイオキシン類の毒性をうまく閉じこめることができたからではないかと推定される。

本研究の遂行にあたり、実験に協力して下さった学部卒論生の世良幸子、林未亜子、岡崎伸子の諸氏に深く感謝致します。本研究は平成12年度山口県立大学研究創作活動助成事業費により行なわれた。

## 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). *J. Am. Chem. Soc.*, **89**, 3253 (1967).
- 9) JCPE 登録プログラム
- 10) QCPE 登録プログラム
- 11) R. G. Parr, R. G. Pearson, *J. Am. Chem. Soc.*, **105**, 7512 (1983).
- 12) S. Kobayashi, K. Sameshima, Y. Ishii, and A. Tanaka *Chem. Pharm. Bull.*, **43**, 1780 (1995).
- 13) 吉村忠与志, コンピュータ・ケミストリー入門 pp106-116, サイエンスハウス
- 14) Y. Matsui and K. Mochida, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **51**, 673 (1978).
- 15) R. J. Clarke, J. H. Coates, and S. F. Lincoln, *J. Chem. Soc., Faraday Trans. I*, **82**, 2333 (1986).
- 16) H. Benesi and J. Hildebrand, *J. Am. Chem. Soc.*, **71**, 2703 (1949).
- 17) D. L. Dick, T. Venkata, S. Rao, D. Sukumaran, and D. S. Lawrence, *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 114(1992).