

シクロデキストリンホストによるポルフィリン誘導体の分子カプセル化に関する実験的理論的研究

Experimental and Theoretical Studies on Molecular Encapsulation of Porphyrin Derivatives with Cyclodextrins

伊原靖二*, 今村主税**

Yasuji Ihara, Chikara Imamura

Summary

The molecular encapsulation of porphyrin derivatives having different functional groups with α -, β -, and γ -cyclodextrins (CD) in aqueous solution was investigated by spectrophotometric measurements at 25°C. The binding constants were calculated for each system imposing 1 : 1 and 1 : 2 stoichiometries. β -CD showed the highest binding constant among the three complexes. The fitness of the guest to the cavity of CD was suggested to affect the binding constant. Molecular mechanics (MM) and semiempirical molecular orbital (MO) calculations served to investigate the molecular encapsulation. The more energetically stable complexes by encapsulation with CD calculated based on MM were obtained compared with CD and porphyrin alone, respectively. The structural information about the preferred complex formation by encapsulation from the MO calculations was also obtained and the results were compared with experimental data.

1. 緒言

ダイオキシンは食品や焼却炉の排気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、大きな関心を呼んでいる。ダイオキシンは蓄積性も高く、血液中に入るとヘモグロビン等の酸素運搬機能を阻害するため、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。ヘモグロビンは血液中において酸素を末端の組織まで運ぶ役割を持っている。その活性中心のポルフィン骨格は環状ピロール四量体で、生体内では酸化還元反応、酸素の運搬、光電子移動反応などの様々な反応に関与している。このポルフィン骨格は疎水性であるので、分子カプセル化により新規の活性発現やダイオキシンの阻害の防止作用としての応用が期待できる¹⁻³⁾。

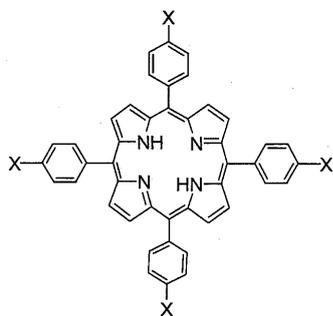
本研究は、ヘモグロビンを含有する酸素結合タンパク質やチトクロームP-450sのダイオキシンの阻害を防止するために、包接複合体形成機能を有するシクロデキストリンによるポルフィリン類の分子カプセル化の機構及び、そのカプセル化に伴うポルフィリンの電子構造とその生物活性の発現との相関性を実験的及び理論的な両面から明らかにすることを目的とする。実験的には生体レセプターとの相互作用のモデルとして、環状化合物であるシクロデキストリンホストとの

包接作用を試み、その結合の強さから、カプセル化に伴う各種効果及び生体への影響を推定する。また理論化学的手法を用い、ポルフィン類の分子軌道法計算から得られる強い活性を示す化合物とその電子構造との関係を考察する。

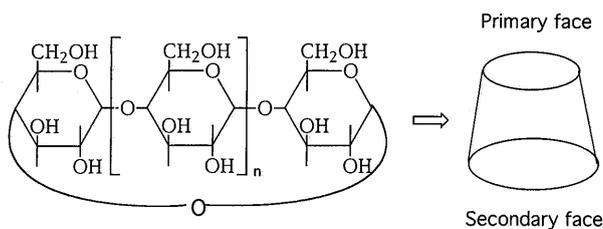
シクロデキストリンは構造式(2)及びその模式図に示すようにグルコースが α -1,4結合した環状オリゴ糖であり、円筒状をしている。その内孔はX軸方向にCHに覆われており、強い疎水性を示す。また、分子の周辺部にはOH基(狭い口の方に1級のOH、広い口の方に2級のOH)が配列しているので、水にかなりの親和性を持っている。疎水内孔の重合度(グルコース単位数)がそれぞれ、6, 7, 8のものは α , β , γ と呼ばれ、重合度nが増加するに従ってその直径は広がる。この疎水性内孔の大きさに適した疎水性化合物、疎水性残基をもつ親和性化合物が存在すると、それらの疎水性部分は水溶液中でシクロデキストリンに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⁴⁻⁷⁾。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⁸⁻¹¹⁾。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

* 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

** 山口県立大学 生活科学部生活環境学科

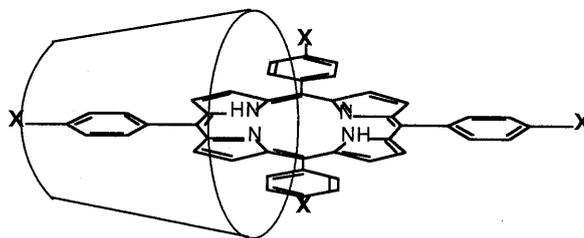


1
1a; X = CO₂H (TCPP)
1b; X = SO₃H (TPPS)

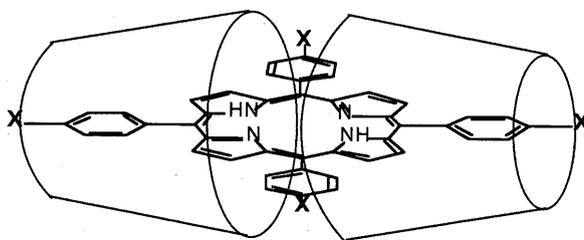


2

2a; n=4 (α-CD)
2b; n=5 (β-CD)
2c; n=6 (γ-CD)



1:1 Complex



1:2 Complex

Figure 1 : Encapsulation of Porphyrin Subunit via the Secondary Face of CD.

もに、CDによる生物学的活性の緩和及びシールド効果を推定する。

れる。

ポルフィリンは環状ピロール4個が交互に平面上に結合した化合物で、ヘモグロビン、チトクロームC等の活性中心グループを形成している。本研究では、さらにそのポルフィリン骨格にベンゼン核が4個結合したポルフィリン誘導体(1)を用い、シクロデキストリン(CD, 2)との相互作用を検討する。(1)はその構造からCDを1個もしくは2個強力に取り込み、分子カプセル化が進行し、驚異的な結合定数が得られるものと期待出来る。CD誘導体としてα-, β-, γ-CDを用い、結合定数を吸光度法により求め、種々の条件下でのCDの包接機能の基礎的データを求めると共に、分子カプセル化機能としてのシクロデキストリンの役割を考察する。

ポルフィリンとCDの相互作用は図1に示すような1個及び2個のCDの口径の大きい第2水酸基側からカプセル化された複合体形成が考えられる²⁾。得られた安定エネルギーの結果から、ポルフィリンがどのように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係を明らかにし、分子カプセルとしてのCDの役割を考察する。CDのカプセル化により、いかにポルフィリン分子が遮蔽されるかを予測するとと

2. 実験

2-1 試料

ポルフィリン誘導体(1)は側鎖の官能基の異なる2種(東京化成)を用いた。シクロデキストリン(CD, 2)は市販試薬(GR)を十分乾燥しそのまま用いた。

2-2 方法

ポルフィリン誘導体の包接作用はpH7.0, 0.05Mリン酸ナトリウム緩衝液中にて基質濃度を固定して行ない、包接複合体の結合定数(K_{11} 及び K_{12})は、CD濃度に伴うゲスト分子である基質の吸収スペクトル変化からConnors¹²⁾の式を用いることにより算出した。温度は25±0.05°Cに保って行った。

2-3 分子モデル計算

2-3-1 分子力場(MM)計算

分子モデル計算はSun Workstation上で動作する分子力場計算プログラムのMM3(89及び92)¹³⁾を用いて行った。複合体形成の全エネルギー変化はそれぞれ単独で得られた最適化エネルギー変化の差として算出した。計算に必要なCD(2)分子の初期構造はX線結晶解析のデータを用いた。TCPP(1a)の各分子構造は

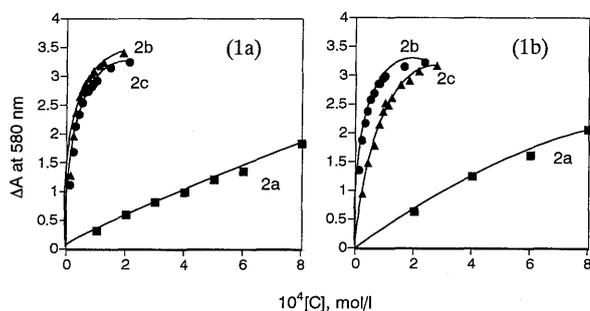


Figure 2 : Plot of Adsorption Changes of Polphyrin Derivatives(1 a and 1b)on Complexation with CD (2).

Chem 3 D等の分子構造作成ソフトを用いて作成した。CDとTCPPの相互作用は、まず分子構造作成ソフトであるMEDY¹⁴⁾により各TCPPとCDをそれぞれ重心で重ね合わせ、その後、TCPP(1 a)を1 Åずつ左右に移動させ、得られた複合体を、MM 3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、MM 3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、1 : 2 複合体については、1 : 1 複合体から上記と同様に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、MM 3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(FINALSと略記する)

【COMPLEX】

FINALs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=FINALs-(CDのFINALs+各ゲストのFINALs)

2-3-2 半経験的分子軌道(MO)計算

TCPP(1 a)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MOPAC2000(FUJITSU Version1.32)を用いて計算を行った。計算はすべてPM 3ハミルトニアンを使用して、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座標パラメーターを設定し計算した。

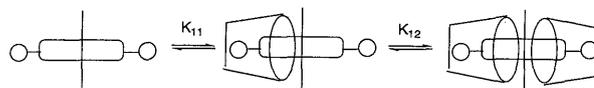


Figure 3 : Encapsulation Process via Two-step Binding Process

3. 結果及び考察

3-1 CDによるポルフィリン誘導体の分子カプセル化

はじめに、CDに対する側鎖の異なる2種類のポルフィリン誘導体(1 a, 1 b)のpH7.0緩衝溶液中、25°Cにおける包接作用を検討した。すなわち、CDの濃度変化に伴うゲスト分子である各基質の極大吸収波長における2種の吸収スペクトル変化を図2に示す。この図において、横軸はCD濃度 [C] (mol/l)、縦軸は各波長における吸光度変化 ΔA 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。この変化はCDと基質とのなんらかの相互作用の結果であると考えられる。

CD分子の包接作用による分子カプセル化は緒論のところでも述べたように、まず最初に1 : 1のコンプレックスを形成し、その後1 : 2コンプレックスが出来るものと考えられる。そこで、本研究では図3に示すようなそれぞれ1 : 1及び1 : 2のモル比で結合する経路を考え実験値を処理することにした。すなわち、Connorsの式¹²⁾(1式)を適合して結合定数を算出した。

$$\Delta A/G_1b = (\beta_{11}\Delta \epsilon_{11}[H] + \beta_{12}\Delta \epsilon_{12}[H]^2) / (1 + \beta_{11}[H] + \beta_{12}[H]^2) \quad (1)$$

ここで ΔA はシクロデキストリンを加えたときの吸光度の変化であり、 b はセルの長さ(cm)、 G_1 はゲスト分子の濃度、 $[H]$ はCDホスト分子の濃度、 K_{11} は1 : 1複合体の結合定数、 K_{12} は1 : 2の結合定数、 $\Delta \epsilon_{11}$ は1 : 1複合体の分子吸光係数、 $\Delta \epsilon_{12}$ は1 : 2の分子吸光係数を示す。また次の関係式(2式)が得られる。

$$\beta_{11} = K_{11}, \beta_{12} = K_{11}K_{12} \quad (2)$$

本研究においてはこれら結合定数 K_{11} 及び K_{12} を非線形最小自乗法を用いて算出した。

表1に包接複合体形成の結合定数(K_{11} , K_{12})を示した。まず、25°Cにおける各CDとポルフィリン誘導体との包接複合体の結合定数を表から考察すると、一般的に、第一次結合定数(K_{11})の方が第二次結合(K_{12})より大きな値が得られた。2種の基質について重合度の異なる α -、 β -、 γ -CDについて比較すると、最も高い結合定数(K_{11})が得られたのは、 β -CDで、次に γ -CD、 α -

Table 1 : Binding Constants for Encapsulation of Porphyrin Derivatives with Cyclodextrins^{a, b)}

		α -CD (2a)	β -CD (2b)	γ -CD (2c)
TCPP (1a)	K_{11}	330	3860	1780
	K_{12}	267	295	427
	Ratio(K_{11})	1	11.7	5.4
TPPS (1b)	K_{11}	94.1	1770	1270
	K_{12}	50	260	225
	Ratio(K_{11})	1	18.8	13.4

a) At pH 7.0, 0.05 M phosphate buffer, 25°C.

b) Binding constants(L/mol), K_{11} ; 1 : 1 complexes K_{12} ; 1 : 2 complexes.

-CDの順であった。このように3種のCD間で結合定数に差が生じたのは、 β -CDが3種の内で最も適切な内孔を持ち、そこへ基質がちょうどフィットしたためと考えられる。一方、 α -CDでは、内孔が基質の大きさに対して小さく、基質を深く取り込むことが難しいものと考えられる。このことから、疎水内径がポルフィリンとうまくフィットするほど強い結合定数を示すことが分かった。

次に、官能基の異なる、1a及び1bについて比較すると、高い結合定数を示したのは1aで、次に1bとなった。1aが1bよりも高い結合定数を示したのは、それぞれの親水基の極性の相違によるものと考えられる。1a, 1bはそれぞれその分子構造内に極性基を4つ持っておりスルホン酸基の方がカルボン酸基より親水性である。またカルボン酸基より分子が大きくバルキーである。これらの理由より、上記の結果が得られたものと思われる。

3-2 TCPP (1a)及びTPPS (1b)の電子状態

今回使用したポルフィリン誘導体はポルフィン骨格にベンゼン及び親水性官能基を有する化合物である。2種の官能基を有する1a及び1b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、最適化構造、エネルギー、生成熱、双極子モーメント、静電ポテンシャル(EPS)、最高被占分子軌道(HOMO)と、最低空軌道(LUMO)を算出した。HOMOとは、イオン化ポテンシャルに対応し、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、電子親和力に対応し、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; η)及び、Absolute electronegativity(絶対電気陰性度; χ)¹⁵⁾を算出した。Absolute hardnessは下記の(3)及び(4)式に示すように近似的にHOMOからLUMOを引いたも

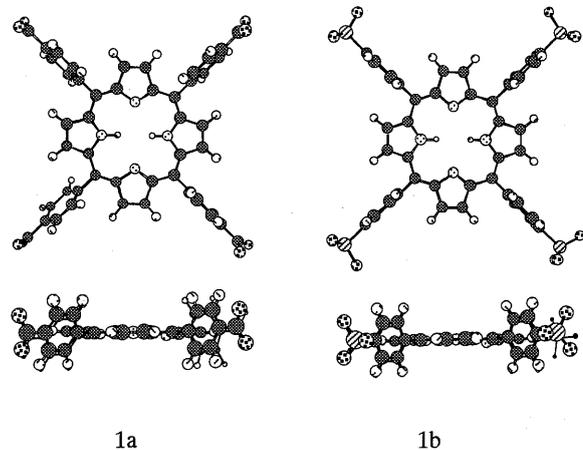


Figure 4 : Optimized Molecular Structures of Polypyrin Derivatives (1a and 1b) obtained by MO calculation (PM3)

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(η)と絶対電気陰性度(χ)を算出した。

$$\eta = 1/2 (\epsilon \text{LUMO} - \epsilon \text{HOMO}) \quad (3)$$

$$\chi = -1/2 (\epsilon \text{LUMO} + \epsilon \text{HOMO}) \quad (4)$$

2種のポルフィリン誘導体について、その分子構造を図4に示した。いずれもポルフィン骨格は平面構造を示し、またベンゼン環はポルフィン骨格に対して直交している。この1a及び1bの分子構造の双極子モーメントは0.5689及び0.5337(debye)、生成熱は-29.1484及び-206.0461 kcal/molを示した。算出した1a, 1b及び3種のCDの各種データ値を次節で考察する複合体形成のデータと共に表2に示した。

3-3 TCPP (1a)とCDの相互作用

上記の実験結果をさらに詳細に検討するため、ポルフィリン類とCD誘導体のコンプレックス形成時のエネルギーを分子カプセルとしてのCDとの相互作用の理論計算によるアプローチを試みた。ポルフィリンとCDの相互作用は緒論及び実験的アプローチで示したように、最終的には図1の例に示すような2個のCDによりカプセル化された複合体形成が考えられる。

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 α -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、親水的水に可溶であるがその空洞の内

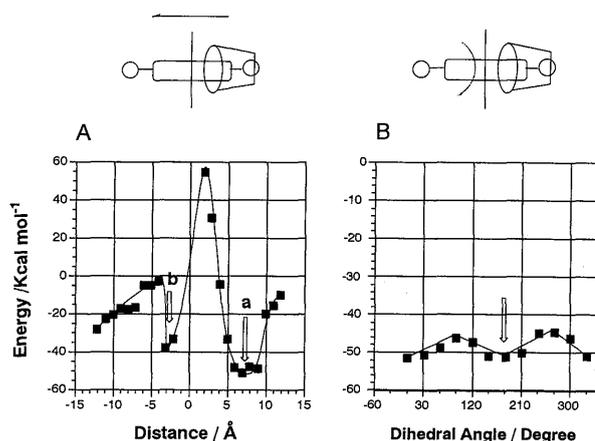
Table 2 : Calculated molecular properties for hosts, guests, and their encapsulated complexes^{a)}

	HEAT OF FORMATION (KCAL)	TOTAL ENERGY (EV)	ELECTRONIC ENERGY (EV)	CORE-CORE REPULSION (EV)	DIPOLE (DEBYE)	ϵ_{HOMO} (EV)	ϵ_{LUMO} (EV)	χ	η
1 a	-29.1484	-9080.1085	-100932.3778	91852.2693	0.5689	-1.4110	4.7060	-1.6475	3.0585
1 b	-206.0461	-10526.2500	-117623.1455	107096.8955	0.5337	-1.7930	4.3850	-1.2960	3.0890
2 a	-1240.9963	-14002.5781	-192881.2227	178878.6447	6.0578	-10.8940	1.4570	4.7185	6.1755
2 b	-1453.3454	-16336.5803	-240010.6593	223674.0791	7.5843	-10.8900	1.4890	4.7005	6.1895
2 c	-1665.5754	-18670.5773	-291827.3465	273156.7691	8.6176	-10.8010	1.4910	4.6550	6.1460
1 a-2 a [1]	-1306.3975	-23084.2586	-462188.2450	439103.9864	73.3640	-1.7260	4.2810	-1.2775	3.0035
1 a-2 a [2]	-2581.5270	-37088.3168	-956662.1797	919573.8629	3.4610	-1.8550	3.8330	-0.9890	2.8440
1 a-2 b [1]	-1542.4618	-25419.2892	-53935.1800	513935.8908	63.6952	-1.7590	4.2270	-1.2340	2.9930
1 a-2 b [2]	-3048.6316	-41758.1602	-1165490.5059	1123732.3457	10.8861	-2.3130	3.7650	-0.7260	3.0390
1 a-2 c [1]	-1760.9869	-27753.5592	-624049.8274	596296.2681	45.0291	-1.8800	4.1330	-1.1265	3.0065
1 a-2 c [2]	-3475.9906	-46426.2800	-1500384.0724	1453957.7924	15.3883	-2.1950	4.0110	-0.9080	3.1030

a) Based on mopac(PM 3) calculation

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 α -CD=5.7 Å, β -CD=7.8 Å, γ -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¹⁶⁻¹⁹⁾。本研究では1 aとこれら3種のCD(2 a, b, c)との相互作用を分子力場(MM 3)及び半経験的分子軌道計算(MO)により検討した。また1 bとの相互作用はMM 3の側鎖のスルホン酸基の正確なパラメータが得られないので本研究では試みなかった。

まずCDと1 aの相互作用については、計算方法の項目で示しているように、1 aとCDをそれぞれ重心で重ね合わせ、その後、1 a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MM 3により極小化させた。図5 Aに移動に伴う極小化エネルギーの変化の例を示した。図5 A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。その内aは第2級水酸基側からの、bは第1級水酸基側からの分子カプセル化を示している。図1で推定したように第2級水酸基の口径の広い側からの複合体形成の方がエネルギーが低く、より安定化されていることを示している。その後、このaをさらに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、MM 3にて最適化を試みた。図5 B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、1:1複合体の安定構造が得られた後、さらにもう1個のCDを重心で重ね合わせ、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

Figure 5 : Potential Energy Changes Along the Changes of Distance and Dihedral Angles for Encapsulation of TCPP (1 a) with β -CD (2 b).

させさらにY軸方向に移動させ、重ね合わせた後、MM 3にて最適化を試みた。以後、[1]は1:1包接複合体、[2]は1:2包接複合体を示す。

その結果を図6及び表3に示した。図6では最安定化された α -, β -, γ -CD 3種の1:1及び1:2複合体形成図を示している。すべてにおいて、ほぼ1 aのベンゼン環4個の内、1個もしくは2個のベンゼン環を中心にCDに包接されていることがわかる。さらにCD環の口径が大きくなるにつれて、ポルフィリン環により深く包接されるが認められる。図7に安定化時の各距離に対するエネルギー差を示した。この図より明らかなように、 α -CDの場合、重心からの距離が8 Å, β -CDの場合7 Å, γ -CDの4 Åであり、CD口径が大きくなるにつれて、より深くポルフィリン骨格に包接されることが認められた。1:2複合体は2個のCDがほぼ対称的に位置している。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3である。最安定化した各シクロデキストリンとポルフィリン誘導体の包接作用に伴うエネルギー(Com-

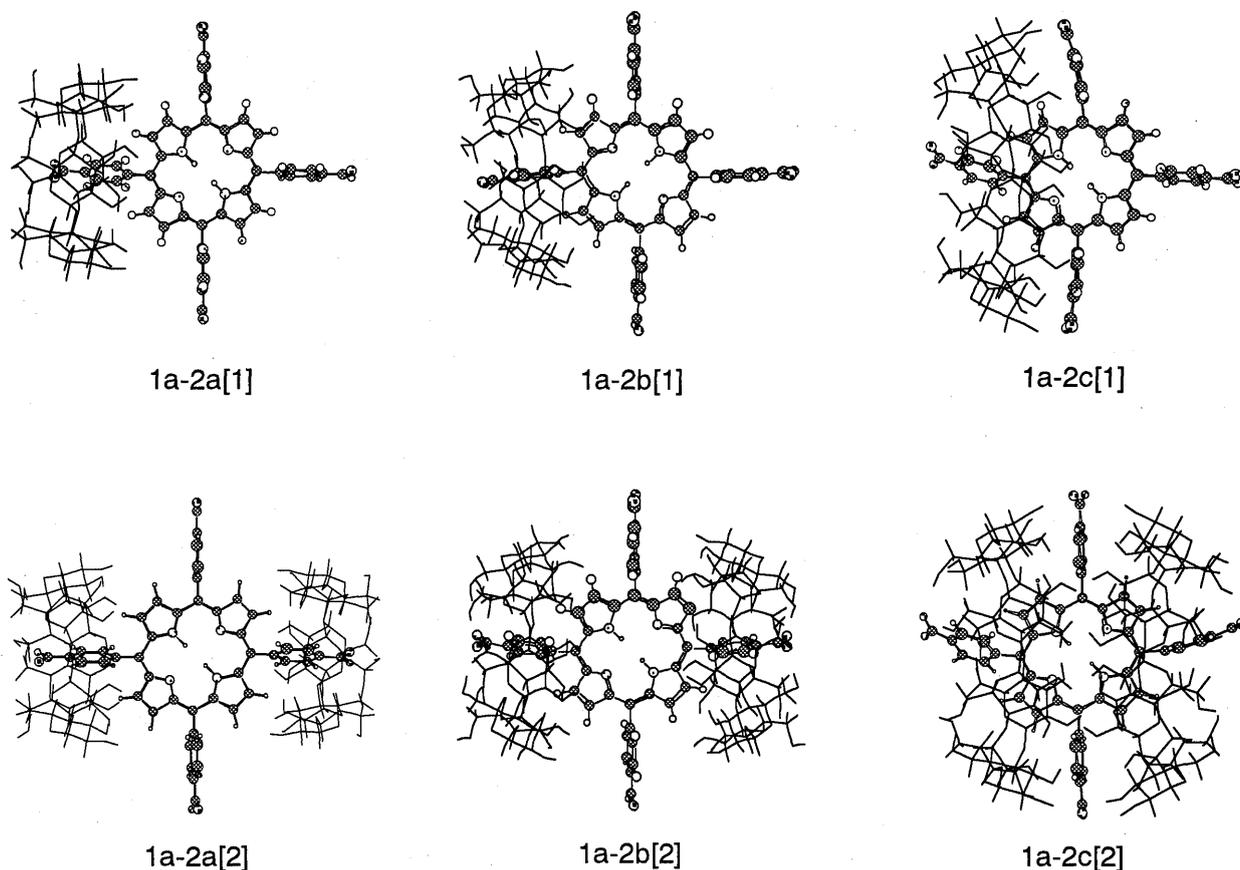


Figure 6 : Molecular Structures of Complex Formation of TCPP(1a) with CD(2). [1] 1 : 1 Complex, [2] 1 : 2 Complex

plex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TCPP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 : 2 複合体は1 : 1 複合体の2倍以上の安定化エネルギーが得られた。また、 γ -CD、 β -CD、 α -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 β -CDの方が結合定数が大きく、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、ファンデルワールス力及び静電エネルギー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、ポルフィリ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基とポルフィリン環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なり大きく見積もられている。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。

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、包接複合体の生成熱、全エネルギー(Electronic energy, Core-core repulsion)、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; η)及び、Absolute electronegativity(絶対電気陰性度; χ)を算出した。それぞれ計算した複合体形成の結果を表2に示した。生成熱はすべて負であり、1 : 2 複合体は1 : 1 複合体のほぼ2倍の値を示した。全エネルギーは1 : 2 複合体の場合Core-core repulsionが大きく見積もられ、

若干低くなっている。得られた χ 値は1a単独と比べ増加したが、 η 値は1a-2c [2] の場合を除き若干減少した。また、 χ と η のはっきりした相関性は本研究では認められなかった。

また表4には各包接化合物のエネルギー変化を示した。生成熱及び全エネルギー変化の値はほぼ同じ値を示した。分子力場計算(MM3)の計算と同様に、最安定化した各シクロデキストリンとポルフィリン誘導体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1a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

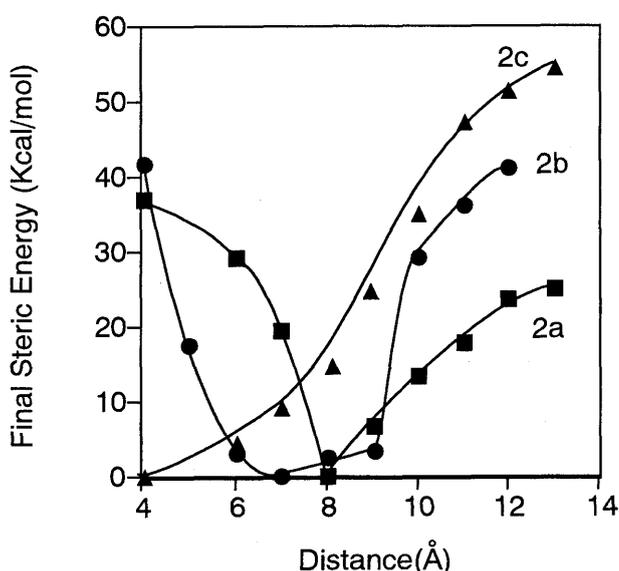


Figure 7 : Final Steric Energy Changes by Distance for Encapsulation of TCP (1 a) with CD (2).

Table 3 : Changes in the energies for complex formation of TCP (1 a) with CD (2) ^{a,b,c)}

No.	1 a-2 a [1]	1 a-2 a [2]	1 a-2 b [1]	1 a-2 b [2]	1 a-2 c [1]	1 a-2 c [2]
FINAL STERIC ENERGY	-36.4133	-75.0342	-54.0362	-110.1536	-64.1964	-116.6860
COMPRSSION	0.0177	-0.0052	-0.3232	0.0056	-0.0267	-0.8440
BENDING	2.9786	5.3431	0.4189	0.5206	1.4925	2.9016
BEND-BEND	0.0556	0.1036	0.0216	0.0459	0.0475	0.1078
STRETCH-BEND	0.2092	0.3893	0.1601	0.2016	0.1825	0.5729
VANDER-WAALS						
1,4-ENERGY	-0.0138	0.2208	-0.4109	-0.1097	1.4846	1.1964
OTHER	-18.3939	-38.0027	-27.9542	-54.1733	-38.1780	-75.8013
TORSIONAL	0.3210	2.3492	0.5650	0.1551	3.7145	8.2131
TORSION-STRETCH	-0.0230	-0.1860	0.2637	0.0563	-0.2596	-0.1823
DIPOLE-DIPOLE	-0.5115	-0.3316	0.8268	-0.6919	5.0778	7.0840
CHARGE-DIPOLE	-21.5797	-43.3524	-28.0202	-56.4811	-38.7328	-61.5473
CHARGE-CHARGE	-0.0378	-0.0728	0.0400	0.1256	1.0180	2.1143

a) Based on MM3 calculation

b) kcal/mol

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

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。MM3の結果と同様に、 γ -、 β -、 α -CDの順で低い安定化エネルギーが得られた。しかし β -CDと γ -CDの差は小さく、実験結果により近い傾向が認められた。また、1 : 2 複合体は1 : 1 複合体のほぼ2倍の安定化エネルギーが得られたが、 γ -CDの場合は大きく減少した。

次に、1 aと2 b(β -CD)の各複合体の電子状態(HOMO, LUMOの分布)を図8に示した。1 a単独のHOMOはポルフィン骨格を中心に分布しており、その値は表2で示したように-1.411eVであるが1 : 1 複合体のHOMOは親水基のカルボキシル基に分布しており、包接によりドラスティックに変化し、その値は-1.759eVを示した。しかし、1 : 2 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ポルフィン骨格に分布し、その値は-2.313eVを示した。LUMOは単独及び複合体とも、ポルフィン骨格に分布し、その値はそれぞれ4.706, 4.227, 3.765eV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。

また1 aと2 bの1 : 1及び1 : 2 複合体で包接された1 a全体の静電ポテンシャルはそれぞれ-3.926及び-3.847と包接前の値-4と比べ0.078及び0.153と減少し、包接によりCD内に電子が吸収されている結果が得られた。さらに図9に1 aの包接後及び包接前の各親水性基の酸素(O)の静電ポテンシャルを示した。太字で示したようにCD内及び隣接している酸素の静電ポテンシャルの電荷が大きく変化しており、水素結合等の相互作用が認められた。

以上のように、実験的にポルフィリンは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。また理

Table 4 : Changes in the energies for complex formation of TCPP(1 a) with CD(2) ^{a,b)}

	HEAT OF FORMATION (KCAL)	TOTAL ENERGY (EV)	ELECTRONIC ENERGY (EV)	CORE-CORE REPULSION (EV)	TOTAL ENERGY (KCAL)
1 a-2 a [1]	-36.2593	-1.5724	-168377.9716	168376.3992	-36.2584
1 a-2 a [2]	-73.7817	-3.1995	-468255.1381	468251.9387	-73.7800
1 a-2 b [1]	-60.9625	-2.6436	-198269.1422	198266.4986	-60.9611
1 a-2 b [2]	-114.2962	-4.9563	-584895.0277	584890.0713	-114.2934
1 a-2 c [1]	-70.2297	-3.0454	-232180.5705	232177.5251	-70.2281
1 a-2 c [2]	-115.1152	-4.9919	-814840.0685	814835.0766	-115.1125

a) Based on mopac(PM3) calculation

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

論的に1 a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、ポルフィリンがどのように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、いかにポルフィン分子が遮蔽され、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出来た。今後、さらに包接能の高いCD、例えば側鎖を修飾したCD誘導体を用いる等により、より強力な分子カプセル化の可能性が期待できる。

3-4 結論

2種類のポルフィリン類とシクロデキストリン(CD)との相互作用に伴う結合定数の測定及び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)ポルフィリン誘導体に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、ある濃度になると平衡に達するようである。この変化は包接化合物が形成されている結果であり、Connorsの式を用い、1:1及び1:2複合体の結合定数を算出したところ、最も高い結合定数(K_{11})が得られたのは、 β -CDで、次に γ -CD、 α -CDの順であった。このように3種のCD間で結合定数に差が生じたのは、 β -CDが3種の中で最も適切な内孔を持ち、そこへ基質がちょうどフィットしたためと考えられる。

2)ポルフィリン誘導体のCDによるカプセル化に伴う複合体形成を分子力場計算(MM)により算出したところ、すべてにおいて、ほぼCDは1個又は2個のベンゼン環とポルフィン骨格にまたがり、包接し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ポルフィリン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、ファンデルワールス力及び静電エネルギーの効果が大きく表われている。両者間の疎水性相互作用及び水素結合の効果が高まり、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分子軌道計算の結果より生成熱及び全エネルギー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。上記MMの結果と同様に、 γ -、 β -、 α -CDの順で低い安定化エネルギーが得られた。しかし β -CDと γ -CDの差は小さく、実験結果により近い傾向が認められた。また、1:2複合体は1:1複合体のほぼ2倍の安定化エネルギーが得られたが、 γ -CDの場合は大きく減少した。また、電子状態(HOMO, LUMO)及び静電ポテンシャルの変化より、分子カプセル化に伴う電荷移動の状態を確認することが出来た。

本研究の遂行にあたり、一部の実験に協力して下さった学部卒論生の水野愛、椎木優子、清水登恵の諸氏に深く感謝致します。本研究は平成13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) J. S. Manka and D. S. Lawrence, J. Am. Chem. Soc., **112**, 2440(1990).
- 2) D. L. Dick, T. V. S. Rao, D. Sukumaran, D. Lawrence, J. Am. Chem. Soc., **114**, 2664(1992).
- 3) T. Jiang, D. K. Sukumaran, S-D Soni, and D. S. Lawrence, J. Org. Chem., **59**, 5149(1994).
- 4) M. L. Bender and M. Komiyama, "Cyclodextrin Chemistry" Springer-Verlag, New York(1977).
- 5) W. Saenger, Angew. Chem. Int. Ed. Engl., **19**, 344(1980).
- 6) L. J. Cline Love, M. L. Grayesky, and J. Novoski, Anal. Chim. Acta, **170**, 3(1985).

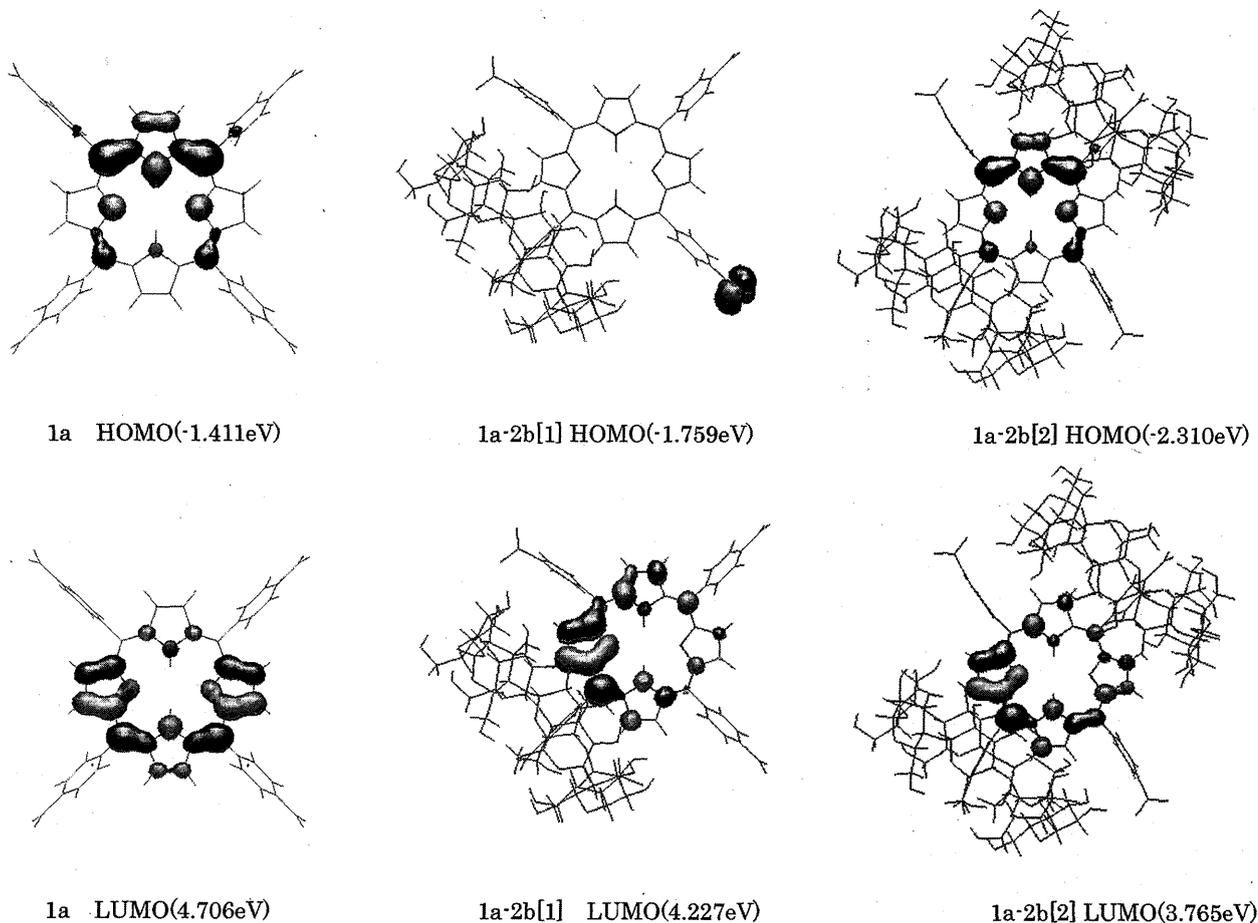


Figure 8 : Optimized Molecular Structures and HOMO, LUMO Distribution Diagrams obtained by MO Calculation (PM 3)..

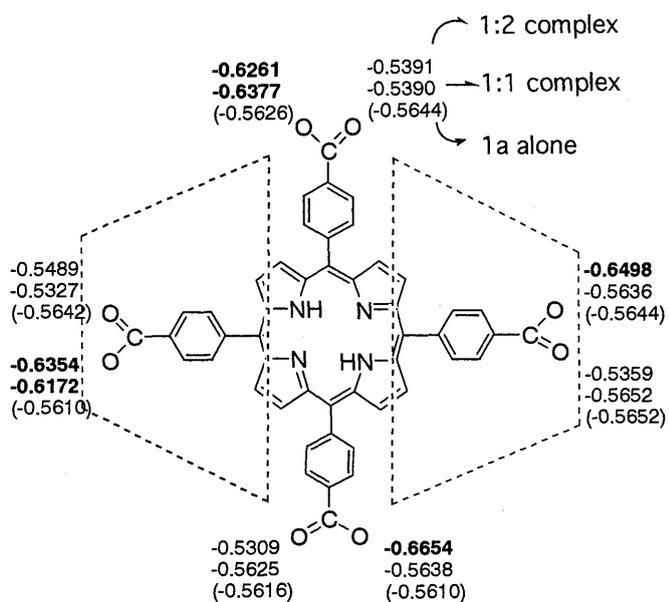


Figure 9 : Electrostatic Potential (ESP) Changes for Encapsulation of TCPP (1 a) with β -CD (2 b).

- 7) F. Garcia Sanchez, M. Hernandez, and A. Heredia, *Anal. Chim. Acta*, **187**, 147(1986).
- 8) H-J. Buschmann, D. Knittel, and E. Schollmeyer, *Melliand Textilber.*, **72**, 1012(1991).
- 9) E. Junquera, G. Tardaios, and E. Aicart, *Langmuir*, **9**, 1213(1993).
- 10) K. Harada, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **49**, 1493(1976).
- 11) R. L. VanEtten et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **89**, 3242(1967). *J. Am. Chem. Soc.*, **89**, 3253(1967).
- 12) Connors, K. A. *Binding Constants. The Measurement of Molecular Complex Stability*; John Wiley & Sons: New York, 1987; p161-168.
- 13) QCPE 登録プログラム
- 14) JCPE 登録プログラム
- 15) R. G. Parr, R. G. Pearson,, *J. Am. Chem. Soc.*, **105**, 7512(1983).
- 16) Y. Matsui and K. Mochida, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **51**, 673(1978).
- 17) R. J. Clarke, J. H. Coates, and S. F. Lincoln, *J. Chem. Soc., Faraday Trans. I.*, **82**, 2333(1986).
- 18) H. Benesi and J. Hildebrand, *J. Am. Chem. Soc.*, **71**, 2703(1949).
- 19) D. L. Dick, T. Venkata, S. Rao, D. Sukumaran, and D. S. Lawrence, *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 114(1992).