

ダブルシクロデキストリンホストによるアルキルスルホン酸 及びその関連化合物の包接作用に関する研究

伊原 靖二・中野 昭夫*

Inclusion Complex Formation of Alkyl Sulfonate and Related Compounds with Double Cyclodextrin Hosts

Yasuji IHARA and Akio NAKANO*

Summary

The inclusion complex formation of alkyl sulfonate and its related compounds with α -, β -, γ -cyclodextrins (CDs) and double- β -cyclodextrins in aqueous solution was investigated by fluorescence spectrum measurements at different temperatures. The increases of alkyl chain length in double CDs decreased the binding constant. The fitness of the alkyl sulfonate to the cavity of CD was suggested to affect the binding constant. Based on the temperature dependence of the binding constants at different temperatures, the entropy and enthalpy changes were calculated for the complex formation and contribution of entropy to the process was discussed.

1. 緒言

シクロデキストリン (CD, 1) は、グルコース単位が α -1,4 結合で環状に数個つながった、非還元性の環状オリゴ糖であり、代表的なものは 6, 7, 8 個のグルコース単位で構成され、 α , β , γ -CD のように区別されている。この環状分子の外側周縁部には親水性を示す-OH基が並んでおり、一方、空洞内部には疎水性を示す-CH基が並んでいる¹⁻⁴⁾。この疎水内孔の大きさに匹敵した疎水性化合物、疎水性残基を持つ親水性化合物〈ゲスト〉が存在すると、それらの疎水性部分は水溶液中でCDに特異的に取り込まれ、環の周縁に存在するOHの、ゲストに対する特異的な触媒作用により、包接複合体を形成する。またCDは種々のものが合成されており、これらのCDのホスト機能は特異な分子形態と密接な関係があると考えられているため、その包接作用や認識機能もさまざまである。包接複合体の生成はCDの最も特異的な性質であり、例えば食品、化粧品、化学工業といった分野での研究がなされており、環境分野においても生活排水中の界面活性剤との包接作用の研究、応用が期待される⁵⁻¹³⁾。

本研究においては、環境中の界面活性剤等の化合物の選択的吸着処理を検討する目的で、系統的に疎水性を変化させたアルキルスルホン酸 (4) 及びその関連化合物とCD及び2個のCD環を有するダブルCD (2) との相互作用を試み、疎水性側鎖の包接作

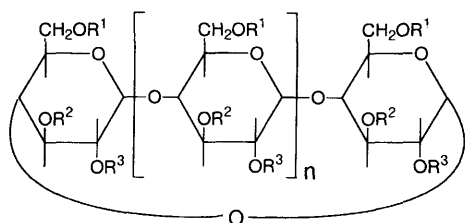
用に及ぼす影響について検討を行なった。すなわちアルキルスルホン酸として側鎖のアルキル鎖長の異なる3種を用い、 α -, β -, 及び γ -CDとの包接作用を蛍光スペクトル変化法及び蛍光プローブとの競争結合法より検討した。そして、包接に及ぼすCDとアルキルスルホン酸の疎水性及び分子サイズの影響を考察した。さらに温度を変化させ、結合定数の温度依存性から熱力学パラメーターを算出することによりその相互作用の機構を考察した。

2. 実験

2-1 試料

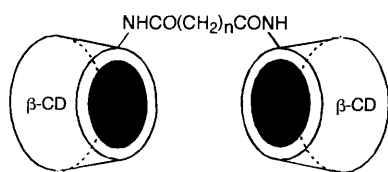
シクロデキストリン (CD, 1) は市販試薬 (GR) を十分乾燥しそのまま用いた。ダブルシクロデキストリン (2) は6-アミノ- β -CDと相当する二塩基酸-コハク酸ジ m -ニトロフェニルエステル (2a) アジピン酸 m -ニトロフェニルエステル (2b), スベリン酸 m -ニトロフェニルエステル (2c), セバチン酸 m -ニトロフェニルエステル (2d) との反応で得られたものである¹⁴⁾。蛍光プローブとしての蛍光試薬 (3) の内3aは市販試薬を3bは相当するジアミンと2-アミノ-6-ナフタレンスルホン酸をカップリングして合成した。アルキルスルホン酸 (4 a-c) はアルキル鎖長の異なる3種を用いた。

* 東亜大学工学部



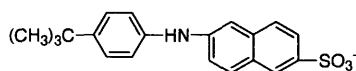
1

- 1a; n = 4 R¹=R²=R³=H (α-CD)
- 1b; n = 4 R¹=R³=CH₃, R²=H (DM-α-CD)
- 1c; n = 5 R¹=R²=R³=H (β-CD)
- 1d; n = 5 R¹=R³=CH₃, R²=H (DM-β-CD)
- 1e; n = 5 R¹=R²=R³=CH₃ (TM-β-CD)
- 1f; n = 6 R¹=R²=R³=H (γ-CD)

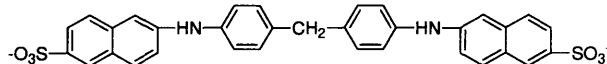


2

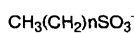
- 2a; n = 2 (W2-β-CD)
- 2b; n = 4 (W4-β-CD)
- 2c; n = 6 (W6-β-CD)
- 2d; n = 8 (W8-β-CD)



3a (BNS)



3b (WBNS)



4

- 4a: n=10 (AS11)
- 4b: n=12 (AS13)
- 4c: n=14 (AS15)

2-2 方法

CDによる蛍光プローブの包接作用は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 (Kb) は、CD濃度に伴う基質の蛍光スペクトル変化から Benesi-Hildebrand の式¹⁵⁾を用いることにより算出した。またアルキルスルホン酸との包接作用は前述の蛍光プローブを競争試薬として加えた後、アルキルスルホン酸の濃度変化に伴う蛍光スペクトルの変化から Connors等の式¹⁶⁾を用いることにより算出した。温度は15-40℃の範囲で±0.05℃に保って行った。

円二色性測定は日本分光 J-720 型円二色分散計を用い、25℃にて上記と同一実験条件下で測定した。

3. 結果及び考察

3-1 各CDによる蛍光プローブの包接作用

はじめに、CDに対する蛍光プローブ (3a) の pH7.0緩衝溶液中、25℃における包接作用を検討した。すなわち、CDの濃度変化に伴う各蛍光プローブの極大蛍光波長における蛍光スペクトルの変化の一例を図1に示す。この図において、横軸はCD濃度 [C] (mol/l)、縦軸は530nmにおける蛍光スペクトル変化 ΔFを示す。これらのスペクトル変化より明らかのように、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3個の側鎖メチル基を有する TM-β-CDはCDの低濃度で変化が大きく又早く平衡に達していることが認められた。この変化はCDと蛍光プローブすなわち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。一般に3aと α-CD、β-CD、及びγ-CD及びその誘導体との包接作用は1:1の複合体を生成することが報告されている^{12,13)}。

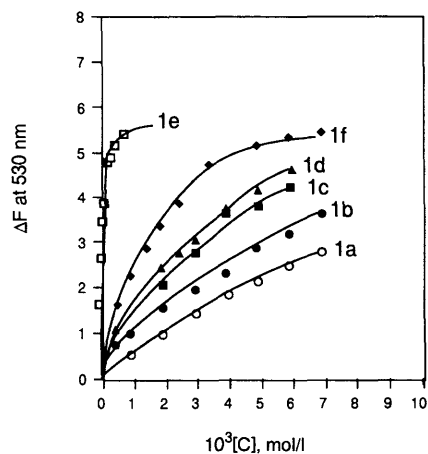


Figure 1 Plot of Fluorescence Changes of BNS(3a) on Complexation with CDs at 25°C

そこで、そこでBenesi-Hildebrandの式¹⁵⁾ (1式)を適合して結合定数を算出した。

$$CD + I = I-CD$$

$$\Delta F^{-1} = (\alpha [I]K_b[CD])^{-1} + \alpha [I]^{-1} \quad (1)$$

ここで ΔF はシクロデキストリンを加えたときの蛍光スペクトルの変化であり、 $[I]$ は蛍光プローブの初期濃度、 $[CD]$ はシクロデキストリン濃度、 α は定数である。 ΔF 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、まずBNSとCDの包接複合体の結合定数を比較すると、 $\alpha \cdot \beta \cdot \gamma$ CDの順に結合定数は大きくなった。これは、環の内径 ($\alpha < \beta < \gamma$) が関連していると考えられる。 γ -CDは内径が大きく3aとの包接複合体の安定性が増加し、その結果 K_b 値は大きくなったと考えられる。3aは分子中にベンゼン環及びナフタレン環を有し、包接の位置が異なっているものと思われる。また、CD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。その結果、結合にはCDのメチル鎖長が影響し、特にTM- β -CDにおいて、一番大きな K_b 値が得られた。

Table 1 Binding Constants of Inclusion Complex Formation of BNS(3a) with Cyclodextrins in Aqueous Solution at 25 °C^{a),b)}

	K_b	Ratio
α -CD(1a)	76.9	1
DM- α -CD(1b)	152	1.98
β -CD(1c)	274	3.56
DM- β -CD(1d)	591	7.69
TM- β -CD(1e)	15500	202
γ -CD(1f)	5920	77.0

^{a)} At pH 7.0, 0.05 M phosphate buffer, ^{b)} L/mol,

3-2 ダブルCDホストとの包接作用

β -CD環を2つ有しているW- β -CDを用いた場合、互いの環の相乗効果によりその包接作用が大きくなることが期待される。そこで6-アミノ- β -CDと相当する2塩基酸との反応により側鎖メチレン基の長さの異なるW2, 4, 6, 8- β -CD(2a-d)を合成し、これらの包接作用を検討した。4種のダブルCD (2a-d) に対する蛍光プローブ3a及び3bのpH7.0緩衝溶液中、25°Cにおける包接作用を検討した。そして、ダブルCDの濃度変化に伴う3bの蛍光スペクトルの変化の一例を図2に示す。図1と同様に、横軸はCD濃度 $[C]$ (mol/l)、縦軸は530nmにおける蛍光スペクトル変化 ΔF を示す。また、Benesi-Hildebrandの式を適合して結合定数を算出した結果を表2に示した。

次に、3種のアルキルスルホン酸(4a-c)との包接作用を検討した。アルキルスルホン酸は蛍光が得られないので、上記2種の蛍光プローブとの競争結合

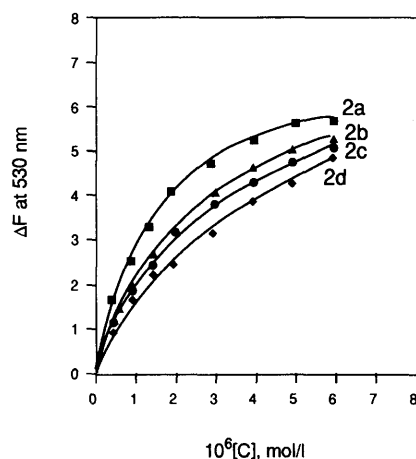


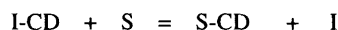
Figure 2 Plot of Fluorescence Changes of WBNS(3b) on Complexation with Double CDs at 25°C.

Table 2 Binding Constants of Inclusion Complex Formation of Various Substrates with Cyclodextrins in Aqueous Solution at 25 °C^{a),b)}

	W2- β -CD (2a)	W4- β -CD (2b)	W6- β -CD (2c)	W8- β -CD (2d)
BNS(3a)	1470000(13.9) (4.92)	583000(5.50)	363000(3.42)	106000(1)
WBNS(3b)	1750000(3.86) (5.85)	631000(1.39)	489000(1.08)	453000(1)
AS11(4a)	299000(13.0) (1)	180000(7.82)	106000(4.61)	23000(1)
AS13(4b)	1550000(20.0) (5.18)	660000(8.51)	367000(4.74)	77500(1)
AS15(4c)	1910000(518) (63.9)	360000(9.75)	212000(5.75)	36900(1)

^{a)} At pH 7.0, 0.05 M phosphate buffer, ^{b)} L/mol,

による方法を用いた。すなわち、蛍光プローブを競争試薬として加えた後、アルキルスルホン酸の濃度変化に伴う蛍光スペクトルの変化からConnors等の式(2)を用いることにより算出した。



$$K_{Com} = [S-CD][I] / [I-CD][S] = K_{S,CD} / K_{I,CD} \quad (2)$$

ここで、 K_{Com} は競争結合前後におけるCD-アルキルスルホン酸とCD-蛍光プローブの結合定数の比であり、(2)式から基質の結合定数 $K_{S,CD}$ すなわち K_b を求めることが出来る。表2に各ダブルCDホストによる3a-b及び4a-cの包接複合体形成の結合定数 (K_b) をまとめて示した。

この表より明らかなように、BNS(3a)の包接において、ダブルCDは表1の β -CDと比較すると、例えば3aの場合、最高約4000倍と驚異的な結合定数が得られた。これは、W- β -CDには、1分子で包接部位が2つあるため、ゲストである基質をより多く覆い囲むことができるためであり、2個のCD環が効果的に基質を取り込んでいることがわかる。3aは分子中にベンゼン環及びナフタレン環を有し、それぞれが2個のCD環に包接されているものと思われる。さらに、各ダブルCDとの3a及び3bの包接複合体の結合

定数の結果から考察すると、W- β -CDの中ではW2- β -CDの結合定数が最も大きかった。CD同士を結ぶメチレン鎖長(CH₂)のn=2がW2- β -CD, n=4がW4- β -CD, n=6がW6- β -CD, n=8がW8- β -CDであるが、この鎖長の長さが結合定数に関連しており、結合側鎖の短く環が接近しているW2- β -CDがうまく、蛍光プローブと適合したと思われる。また、結合側鎖が長くなるにつれて、結合定数は減少した。また興味深いことに、BNSではダブルCD間で結合定数の差が大きく見られたが、WBNSではダブルCD間の値にあまり差が見られなかった。WBNSでは分子構造は長く又左右対称であり、これらの結果は基質の構造とCDの口径と関連して、その結果結合側鎖の長い2dでも比較的大きな結合定数が得られ興味深い。その推定される分子複合体を図3に示す。図3の中でWBNSはそれぞれダブルCDの2個の環との安定化した複合体形成図である。WBNSはほぼ中央に位置してベンゼン環及びナフタレン環を空洞内に含んだ複合体形成の安定構造が得られるものと考えられる。各複合体形成には疎水性相互作用が大きく関与していることがわかった。

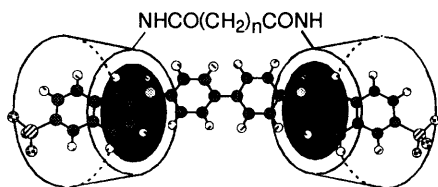


Figure 3 Estimated Models for Complex Formation of WBNS(3b) with Double CD

次に、W- β -CDとアルキルスルホン酸との競争反応について考察する。この実験では、競争試薬としてBNSまたはWBNSを用い、アルキルスルホン酸との競争反応を行わせるため、アルキルスルホン酸に比べてBNSとの結合力の小さいものが適していると考えられる。その実験結果を表2から考察すると、各W- β -CDについては、メチレン鎖長が増えるにつれて、結合定数は減少した。これはメチレン鎖長が増えるにつれて、CDのコンホメーションの自由度が大きくなるため、安定した包接複合体が形成しにくいと考えられる。一方、各アルキルスルホン酸についても、メチレン鎖長が増えるにつれて結合定数は減少すると推測される。しかし、実験結果によるとW2- β -CDでは鎖長の長い、ペンタデカンスルホン酸(4c)、トリデカンスルホン酸(4b)、ウンデカンスルホン酸(4a)の順に増加した。また、W4- β -CD, W6- β -CD, W8- β -CDの場合は4b, 4c, 4aの順であった。これはW- β -CDの鎖長にトリデカンスルホン酸(4b)がうまく適合し、疎水性相互作用の効果が大きく表

れたためであると考察することができる。ウンデカンスルホン酸(4a)は、鎖長が短すぎて、疎水性相互作用の効果があまり表れなかったため結合定数が小さくなったと考えられ、逆にペンタデカンスルホン酸(4c)は鎖長が長すぎて、構造が変化しやすいため、うまく包接複合体が形成されなかったと考えられる。そのため、トリデカンスルホン酸に比べると、結合定数が小さくなった。しかし、疎水性相互作用の効果により、ウンデカンスルホン酸よりは、大きな結合定数が得られたと考えられる。

さらに、得られたCDの複合体が真の包接複合体であるか否かを確認するために、円二色分散計でその包接複合体を測定したところ、図4の結果が得られた。また、W4- β -CDのみで測定した場合と比べてアルキルスルホン酸との包接複合体を測定した場合は、ピークが現れる位置に差が認められた。CDとゲストとの間に生じる相互作用の効果がスペクトルの変動として現れたものと考えられる。

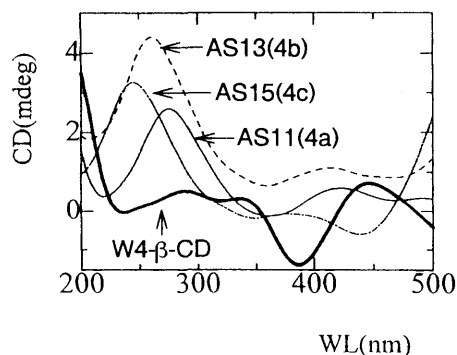


Figure 4 Circular Dichroism Spectra for Complex Formation of Alkyl Sulfonate with W4- β -CD.

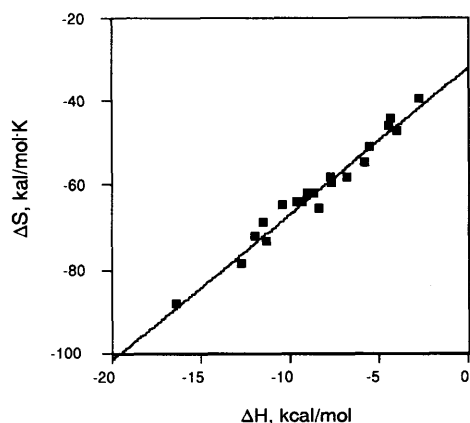
3-3 包接に伴う熱力学パラメーター

次に、包接作用に対する熱力学パラメーター、すなわち、結合エンタルピー(ΔH)、結合エントロピー(ΔS)、及び自由エネルギー(ΔG)を15-40°Cでの各温度における結合定数の温度依存性から求めた。複合体形成の ΔH と ΔS は温度を変化させその結合定数を求めることにより得られる。図5に示すように、 $RT \ln K$ 対 $1/T$ のファンツホッフプロットは直線関係を示し、この研究で用いた温度範囲において ΔH と ΔS は実質的の定数であることがわかる。包接化合物の形成は一般にエンタルピー的に有利で、エントロピー的には不利な過程であり、この有利なエンタルピー変化の素過程は、(1) 疎水性相互作用、(2) 複合体の水和、(3) CD空洞内の不安定な水分子の放出、(4) CDの分子間のひずみエネルギーの解放であるとされている。表2の結合定数の温度変化から、ファンツホッフの式を用いて ΔH 、 ΔS が得られる。これらの熱力学データを表3に示した。ここで用

いた系の包接作用はすべて発熱反応であり、そのうえエントロピー増大による付加的な安定化を伴う。このエントロピー増加から、空洞内の水の放出、基質のアルキル基の回りの構造化された水の解放が推定される。表3に見られる結合エントロピーの大きな負値は、前記の空洞への緊密は適合に起因し、自由エネルギー (ΔG) としてはその関係により、緊密な適合に伴う大きな発熱により補間されるのであろう。疎水性相互作用は効果的な正のエントロピー変化 ($S > 0$) とわずかな正のエントロピー変化 ($H > 0$) を伴う。しかしながら、本実験での結果、包接過程は正のエントロピー変化よりもむしろ正のエントロピー変化によって補間されている。エントロピーの安定化はゲスト分子脱水過程のより低いエネルギー放出で説明出来る。

Table 3 Thermodynamic Quantities for Complex Formation

		ΔH (kcal/mol)	ΔS (cal/mol·K)	ΔG (kcal/mol)
BNS(3a)	W2- β -CD	-11.3	-68.4	9.08
	W4- β -CD	-8.82	-61.7	9.58
	W6- β -CD	-9.10	-63.7	9.88
	W8- β -CD	-11.1	-72.9	10.7
WBNS(3b)	W2- β -CD	-10.2	-64.2	8.98
	W4- β -CD	-9.32	-63.4	9.57
	W6- β -CD	-16.8	-87.7	9.36
	W8- β -CD	-11.7	-71.6	9.63
AS11(4a)	W2- β -CD	-8.37	-61.5	9.98
	W4- β -CD	-3.68	-46.9	10.3
	W6- β -CD	-5.56	-54.3	10.6
	W8- β -CD	-6.49	-60.4	11.5
AS13(4b)	W2- β -CD	-4.08	-43.9	9.02
	W4- β -CD	-4.12	-45.7	9.51
	W6- β -CD	-5.22	-50.6	9.87
	W8- β -CD	-12.5	-78.0	10.8
AS15(4c)	W2- β -CD	-2.16	-32.5	7.52
	W4- β -CD	-7.46	-58.1	9.87
	W6- β -CD	-7.37	-59.1	10.3
	W8- β -CD	-8.09	-65.0	11.3


Figure 6 Entropy-enthalpy Compensation for Complex Formation.

一般に包接作用はエンタルピー的に有利であって、25℃でたとえばBNS-W2 β CD系では $\Delta H = -11.3$ kcal/mol, $T\Delta S = -20.4$ kcal/molでWBNS-W2 β CD系では $\Delta H = -10.2$ kcal/mol, $T\Delta S = -19.1$ kcal/molである。これは取り込みは主としてエンタルピー的であるが側鎖の疎水性が増すにつれて増加しており、包接疎水性相互作用が関与しているものと考えられる。また図6に示すように、これらの系中では全体の値のエントロピー・エンタルピーは補償関係であることが示された。この補償則は水溶液中での反応でしばしば見出される関係であり、包接化合物の形成に溶媒の水が重要な働きをしていることを示唆している。

3-4 結論

水溶液からの2種の蛍光プローブ及び3種のアルキル鎖長の異なるアルキルスルホン酸とシクロデキストリン及びダブルシクロデキストリンホスト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) 蛍光プローブ (BNS) にCD濃度を変化させ加えることにより蛍光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と蛍光プローブとのなんらかの相互作用の結果であると考えられる。

2) CDによる疎水性側鎖を有する蛍光プローブ (BNS) の結合定数はTM- β -CDで最大値を示し、 γ -CDがその次であった。疎水性側鎖及びCD環のサイズにより結合定数は大きく変化することが認められた。

3) BNS(3a)の包接において、ダブルCDは β -CDと比較すると、例えば3aの場合、最高約4000倍と驚異的な結合定数が得られた。ダブルCDホストとそれぞれの結合定数からすべての系において、CD単独と比べて、驚異的な結合定数が得られた。またダブルCDの結合側鎖の長さが増加するにつれてその結合定数は減少した。

4) 各W- β -CDについては、2種の蛍光プローブの場合、メチレン鎖長が増えるにつれて、結合定数は減少した。しかし、アルキルスルホン酸の場合は、W2- β -CDでは鎖長の長い、ペンタデカンスルホン酸(4c)、トリデカンスルホン酸(4b)、ウンデカンスルホン酸(4a)の順に増加した。また、W4- β -CD、W6- β -CD、W8- β -CDの場合は4b,4c,4aの順であった。これはW- β -CDの鎖長にトリデカンスルホン酸(4b)がうまく適合し、疎水性相互作用の効果が大きく表れたためであると考察することができる。

5) 熱力学パラメーターの結果より、今回行った包接作用はすべて発熱反応であり、結合のエントロピーとエントロピーは補償関係にあることがわかつ

た。

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大堂美那子、桑本更織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。

本研究の一部は平成10年度文部省科学研究費(課題番号10680123)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) K. M. Tawarah, *Dyes Pigm.*, **19**, 59 (1992).
- 10) A. Hersey and B. H. Robinson, *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, **1**, **80**, 2039 (1984).
- 11) 軽部幸恵, 飯島俊郎, 繊維学会誌, **50**, 477 (1994).
- 12) Y. Matsui and K. Mochida, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **51**, 673 (1978).
- 13) R. J. Clarke, J. H. Coates, and S. F. Lincoln, *J. Chem. Soc., Faraday Trans. I.*, **82**, 2333 (1986).
- 14) 中野昭夫 未発表データ
- 15) H. Benesi and J. Hildebrand, *J. Am. Chem. Soc.*, **71**, 2703 (1949).
- 16) D. L. Dick, T. Venkata, S. Rao, D. Sukumaran, and D. S. Lawrence, *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 114(1992).