

シクロデキストリンによるベンジリデン型誘導体の 包接作用に関する研究

伊原 靖二・中野 昭夫*

Inclusion Complex Formation of Benzylidene-type Derivatives with Cyclodextrins

Yasuji IHARA and Akio NAKANO*

Summary

The inclusion complex formation of benzylidene-type derivatives having different side groups with β -, dimethyl- β -, trimethyl- β -, and γ -cyclodextrins(CDs) in aqueous solution was investigated by fluorescence measurements at different temperatures. The binding constants were calculated for each system imposing a 1:1 stoichiometry. The increases of the side chain length in the guest molecules increased the binding constant. The fitness of the guest 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. Molecular modeling studies were also performed by means of Monte Carlo Simulation on Molecular Mechanics in order to determine the preferred complex formation of cyclodextrins and benzylidene molecules. The formation of the complex involves the benzene rings of the guest molecules which mainly interact with the hydrophobic cavity of the host by van der Waals forces.

1. 緒言

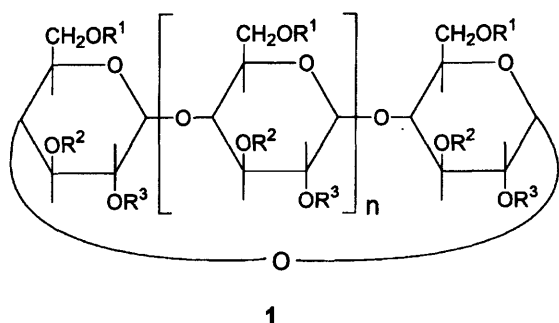
シクロデキストリン(CD、1)は、環状オリゴ糖で、6個から8個の α -D-グルコピラノース基が、 α -1,4グルコシド結合によって環化した円筒状の化合物である。CDの外部は親水性であるため、水に可溶であるが、その空洞の内部は疎水性であるため、親油的な有機ゲスト分子、特にその空洞内部からベンゼン環を持つ基質を取り込むことが知られている。また空洞の内径は、 α -CDから β -CD、 γ -CDと重合度(グルコース単位数) n が増加するに従って広がる。これまでの研究により、 β -CDは α -、 γ -CDの中間口径を有するため、比較的大きな結合定数を示すことが分かっている。このドーナツ状分子の周辺部には、OHが配列しているため、水にかなり親和性を持ち、一方、その内孔は軸方向のCHに覆われているため、疎水的環境を作っている。そのため、空洞内に疎水性分子、あるいは疎水基を持つ分子の疎水基を特異的に取り込み、包接複合体を形成することが知られている。このように、シクロデキストリン(CD)は、その特異な構造とホスト機能が注目されて活発な研究が展開されてきた¹⁾。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^{4)~6)}、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⁷⁾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。

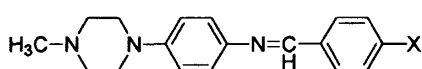
ベレニル(Berenil;1,3-Bis(4'-amidinophenyl) triazen)は、抗原性動物活性を有する化合物として知られており、バベジア病やトリパノソーマ病の治療薬として用いられている。又、ベレニルは、核酸にインターカレータ及びグループバインダーの両様式で取り込まれることや¹²⁾、それらの三重鎖と相互作用を示¹³⁾こと等が明らかにされている。一方イミダゾール系色素に分類されるヘキスト誘導体は、DNAの蛍光標識剤として広く用いられており核酸との相互作用についても誘導体毎に多くの知見が得られている。例えばビスイミダゾール系色素ヘキスト33258は、B型DNA二重らせんの連続したATリッチ領域の副溝に特異的に結合する。今回の研究で使用するベンジリデン型の誘導体(2)は、両化合物の構造複合体(Hybrid)の様な構造をしており、核酸とどのような相互作用を示すかが興味を持たれるところである。図1にベレニル及びヘキスト33258の構造

* 東亜大学工学部

を示す。



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



- 2a: X = N(CH₂)₂N-CH₃
 2b: X = N(CH₃)₂
 2c: X = CN
 2d: X = H

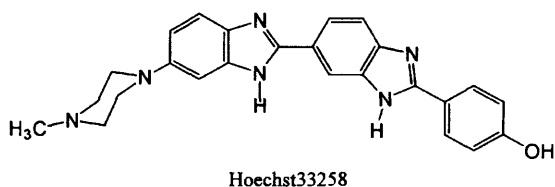
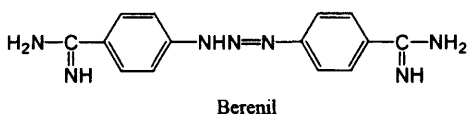


Figure 1 Structures of Berenil and Hoechst33258.

本研究においては、上記の骨格にベンジリデン基を有し、末端にバルキヤなピペラジン基を含む化合物(2)が、水溶液中でβ-CDをはじめとする種々のシクロデキストリンとどの程度複合体形成するかを確認するため、蛍光強度を測定することにより結合定数を求めその相互作用を検討した。特にベンジリデンの選択的包接作用を検討する目的で、系統的に側鎖を変化させた化合物(2a~2d)とCDとの相互作用を試み、側鎖の包接作用に及ぼす影響について

検討を行なった。そして、包接に及ぼすCDとベンジリデン誘導体の側鎖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。また、分子モデル計算により、CDとゲスト分子の包接作用で得られる分子複合体の安定構造の探索し、実験結果と比較検討した。

2. 実験

2-1 試料

シクロデキストリン及びそのメチル誘導体(CD, 1)は市販試薬(GR)を十分乾燥しそのまま用いた。ベンジリデン型誘導体(2)は側鎖の異なる4種を用いた。これらベンジリデン型誘導体の合成経路(一例)を図2に示す。どの化合物も4-(4'-Methylpiperazinyl)aniline(4)とベンズアルデヒド誘導体を脱水縮合させることにより合成した。

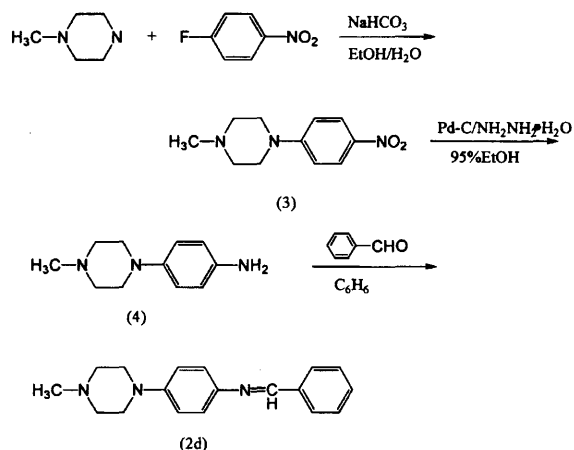


Figure 2 Synthetic Pathway of Benzylidene-type Derivatives.

4-(4'-Methylpiperazinyl) nitrobenzene (3) の合成

丸底フラスコにp-フルオロニトロベンゼン(5.08g)、N-メチルピペラジン(3.61g)、炭酸水素ナトリウム(14.6g)、エタノール(100 ml)及び水(40 ml)を入れ、120℃の油浴中で48時間還流を行った。熱時ろ過後、ろ液からエタノールを減圧留去した。残った水層をクロロフォルムで抽出(50 ml x 3)した。クロロフォルム層を水洗(50 ml x 2)後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。クロロフォルムを減圧除去後、得られた固体を酢酸エチルで再結晶した。オレンジ色の結晶(4.92g, 62%)を得た。融点;95~97℃。

¹H-NMR(400MHz,CDCl₃, TMS) δ(ppm) 2.37(s, 3H, N-CH₃), 2.54(t, 2H, ピペラジン環), 3.45(t, 2H, ピペラジン環), 6.82(d, 2H, ベンゼン環), 8.11(d, 2H, ベンゼン環). ¹³C-NMR(400MHz,CDCl₃) δ(ppm) 46.0, 46.9, 54.5, 112.6, 125.9, 138.3, 154.8

4-(4'-Methylpiperazinyl)aniline (4) の合成

丸底フラスコに (3) (10.1g) を入れ、95% エタノール(50 ml) に溶解した。油浴中(50 °C) 攪拌下、95% エタノールに懸濁した 5% Pd-C(100 mg) を加え、続いて飽水ヒドラジン(2 ml) をゆっくり加えた。同様の操作 (5% Pd-C 及び飽水ヒドラジンの添加) をさらに 3 回繰り返した。1 中夜加熱攪拌後、セライト 545 カラム(20x100 mm) で Pd-C を除去 (ろ過) した。ろ液を減圧除去し、得られた個体を n-ヘキサンと酢酸エチルを用いて再結晶を行った。暗黒色の結晶 (3.46g, 39%) を得た。融点; 73~79 °C。

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃, TMS) δ (ppm) 2.35 (s, 3H, N-CH₃), 2.58 (t, 2H, ピペラジン環CH₂), 3.05 (t, 2H, ピペラジン環), 6.64 (d, 2H, ベンゼン環), 6.79 (d, 2H, ベンゼン環). ¹³C-NMR(400MHz, CDCl₃) δ (ppm) 46.0, 50.7, 55.2, 116.1, 118.5, 140.0, 144.4

4-(4'-Methylpiperazinyl)-N-(4''-cyanobenzylidene)aniline(2c) の合成

丸底フラスコに (4) (0.48 g)、p-シアノベンズアルデヒド(0.33 g) 及び p-トルエンスルホン酸一水和物 (20 mg) を加え、ベンゼン(150 ml) に溶解した。脱水装置(Dean Sterk 装置) を取り付け、油浴中 (100 °C) で 1 中夜、加熱還流を行った。少量の析出固体を熱時ろ過で除去した。冷却後析出した固体を吸引ろ取した。金色の結晶(0.28 g, 37%) 融点; 210~214 °C。 ¹H-NMR (400MHz, CDCl₃, TMS) δ (ppm) 2.34 (s, N-CH₃, 3), 2.60(t, 2H, J=5.1Hz, ピペラジン環), 3.27 (t, 2H, J=5.1Hz, ピペラジン環), 6.96 (d, 2H, J=8.8, ベンゼン環), 7.28 (d, 2H, J=8.8Hz, ベンゼン環), 7.72 (d, 2H, J=8.3Hz, ベンゼン環), 7.97(d, 2H, J=8.3Hz, ベンゼン環), 8.53 (s, 1H, =C-H) . ¹³C-NMR(400MHz, CDCl₃) δ (ppm) 46.0, 48.7, 54.9, 113.6, 116.2, 118.6, 122.5, 132.5, 138.7, 140.5, 142.1, 150.1, 154.3

4-(4'-Methylpiperazinyl)-N-benzylideneaniline(2d) の合成

合成は(2c)の合成と同様の方法で行った。(4) (0.48g), ベンズアルデヒド(0.28g), p-トルエンスルホン酸一水和物 (20 mg), ベンゼン(150 ml) を用いた。黄色の結晶(0.35 g, 46%), 融点; 145~146 °C。

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃, TMS) δ (ppm) 2.38 (s, 3H, N-CH₃), 2.61 (t, 2H, J=4.9Hz, ピペラジン環), 3.25 (t, 2H, J=4.9Hz, ピペラジン環), 6.94 (d, 2H, J=8.8Hz, ベンゼン環), 7.23 (d, 2H, J=8.8Hz, ベンゼン環), 7.44 (m, 3H, ベンゼン環), 7.88 (m, 2H, ベンゼン環), 8.50 (s, 1H, =C-H) . ¹³C-NMR(400MHz, CDCl₃) δ (ppm) 46.0, 49.1, 55.0, 116.5, 122.0, 128.5, 128.7, 130.9, 136.6, 143.7, 149.9, 157.7

4-(4'-Methylpiperazinyl)-N-(4''-dimethylaminobenzylidene)aniline(2a) の合成

合成は(2c)の合成と同様の方法で行った。(4) (0.96 g)、p-ジメチルアミノベンズアルデヒド(0.75 g)、p-トルエンスルホン酸一水和物 (50 mg)、ベンゼン(300 ml) を用いた。緑色粉末(0.71 g, 44%)。融点; 204~208 °C。 ¹H-NMR (400MHz, CDCl₃, TMS) δ (ppm) 2.39 (s, 3H, N-CH₃), 2.59 (t, 2H, J=5.1Hz, ピペラジン環), 3.04 (s, 6H, N(CH₃)₂), 3.22 (t, 2H, J=5.1Hz, ピペラジン環), 6.71 (d, 2H, J=8.5Hz, ベンゼン環), 6.96 (d, 2H, J=8.8Hz, ベンゼン環), 7.19 (d, 2H, J=8.8Hz, ベンゼン環), 7.74 (d, 2H, J=8.5Hz, ベンゼン環), 8.35 (s, 1H, =C-H) . ¹³C-NMR(400MHz, CDCl₃) δ (ppm) 40.2, 46.1, 49.4, 55.1, 111.6, 116.6, 121.7, 124.8, 130.1, 145.0, 149.1, 152.1, 158.0

4-(4'-Methylpiperazinyl)benzaldehyde の合成

ナス型フラスコに 4-フルオロベンズアルデヒド (5.1 g), N-メチルピペラジン(4.05 g), 炭酸水素ナトリウム(15.0 g), エタノール(300 ml), 水(120 ml) を入れ、油浴上 (120 °C) で 5 日間加熱、還流した。反応溶液を熱時ろ過し、ろ液からエタノールを減圧留去した。残った水溶液をジクロロメタンで抽出 (100 ml x 3) し、ジクロロメタン層を無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧留去すると、暗橙色蠟状固体が得られた。(1.02 g, 12.4%) 融点; 49~51 °C。 ¹H-NMR (400MHz, CDCl₃, TMS) δ (ppm) 2.31 (s, 3H, N-CH₃), 2.53 (t, 2H, ピペラジン環), 3.41 (t, 2H, ピペラジン環), 6.88 (d, 2H, ベンゼン環), 7.78 (d, 2H, ベンゼン環), 9.79 (s, 1H, -CHO) . ¹³C-NMR(400MHz, CDCl₃) δ (ppm) 45.8, 46.8, 54.4, 113.3, 126.8, 131.6, 154.8, 190.1

4-(4'-Methylpiperazinyl)-N-[(4''-(4'''methylpiperazinyl)benzylidene)aniline(2b) の合成

合成は(2c)の合成と同様の方法で行った。(4) (0.96 g)、4-(N'-Methylpiperazinyl)benzaldehyde (1.02 g)、p-トルエンスルホン酸一水和物 (40 mg)、ベンゼン(300 ml) を用いた。9 日間の加熱還流後後処理したところ、黄褐色粉末が得られた。(0.55 g, 29%)。融点; 240~242 °C。 ¹H-NMR (400MHz, CDCl₃, TMS) δ (ppm) 2.35 (s, 6H, N-CH₃), 2.58 (m, 4H, ピペラジン環), 3.21 (t, 2H, J=4.9Hz, ピペラジン環), 3.32 (t, 2H, J=5.1Hz, ピペラジン環), 6.92 (m, 4H, ベンゼン環), 7.19 (d, 2H, J=8.8Hz, ベンゼン環), 7.76 (d, 2H, J=8.5Hz, ベンゼン環), 8.36 (s, 1H, -CHO) . ¹³C-NMR(400MHz, CDCl₃) δ (ppm) 46.1, 47.9, 49.3, 54.8, 55.1, 114.7, 116.6, 121.8, 127.4, 144.6, 149.0, 152.9, 157.5

2-2 方法

ベンジリデ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 (Kb) は、CD 濃度に

伴うゲスト分子である基質の蛍光スペクトル変化からBenesi-Hildebrandの式を用いることにより算出した。温度は20-40℃の範囲で±0.05℃に保って行った。

2-3 分子モデル計算

分子モデル計算はCompaq Alpha Workstation上で動作するWavefunction社の分子設計支援プログラムSpartanに含まれる経験的分子力場計算プログラムのMMFF力場を用いて行った。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。

3. 結果及び考察

3-1 CDによるベンジリデン誘導体の包接作用

はじめに、CDに対する側鎖の異なる4種類のベンジリデン誘導体(2a-d)のpH7.0緩衝溶液中、25℃における包接作用を検討した。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4種の蛍光スペクトル変化を図3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蛍光度変化ΔFを示す。これらの蛍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。他のCDとベンジリデン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。

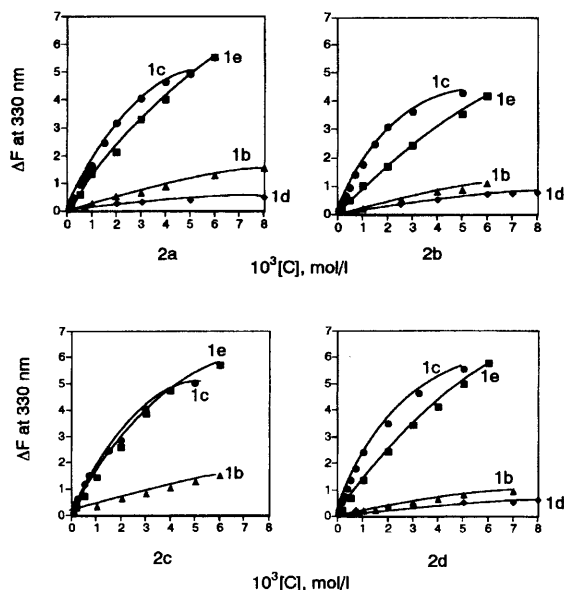


Figure 3 Plots of Fluorescence Changes of 2a, 2b, 2c, and 2d on Complexation with CD Hosts at 25°C

そこで、本研究ではそれぞれ1:1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。すなわち、Benesi-Hildebrandの式¹⁶⁾(1式)を適合して結合定数

を算出した。



$$\Delta F^1 = (\alpha [Guest]K_b[CD])^1 + \alpha [Guest]^1 \quad (1)$$

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、[Guest]はゲスト分子であるベンジリデン誘導体の初期濃度、[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。まず、25℃における各CDとベンジリデ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、末端のピペラジン基のバルキー性のため、低い結合定数の値が得られた。重合度の異なるα-, β-, γ-CDについて比較すると、最も高い結合定数が得られたのは、γ-CDで、次にβ-CDであった。α-CDについては、蛍光強度に変化が認められなかったため、結合定数を算出できなかった。このように3種のCD間で結合定数に差が生じたのは、γ-CDが3種の内で最も大きな疎水内孔を持ち、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、基質をうまく取り込むことができなかったものと考えられる。このことから、疎水内径が大きいほど強い結合定数を示すことが分かった。

次に、メチル基数の異なる、β-CD、DM-β-CD、TM-β-CDについて比較すると、最も高い結合定数を示したのはDM-β-CDで、次にβ-CD、TM-β-CDとなったDM-β-CDがβ-CDよりも高い結合定数を示したのは、DM-β-CDは、その構造内にメチル基を2つ持っておりそのためβ-CDよりも疎水の相互作用が高まり、結果として大きな結合定数が得られたものと考えられる。また、TM-β-CDは逆にそのバリキー性のため、結合定数は減少した。これらの結果より、ベンジリデン誘導体と最も強い結合を示すのは、DM-β-CDであることがわかった。

Table 1 Binding Constants for Inclusion Complex Formation of Benzylidene Derivatives with Cyclodextrins in Aqueous Solution at 25°C^{a)}

	K _b (L/mol)			
	2a	2b	2c	2d
1b	75.7	124	75.5	62.3
1c	506	528	159	69.4
1d	15.3	46.3	28.4	11.2
1e	543	-	84.5	118

a) At pH 7.0, 0.05 M phosphate buffer.

3-2 包接に伴う熱力学パラメーター

次に、各CDについて、20℃から40℃まで、5℃ずつ温度を変化させ、蛍光強度変化を測定し、各温度における結合定数を求めた。その結合定数から、ファントホッフの式を用いて結合エンタルピー(ΔH)、結合エントロピー (ΔS)、自由エネルギー(ΔG)を算出し、熱力学的観点から考察した。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4に示すように、 $RT \ln K$ 対 $1/T$ のファント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。 ΔH とは、CDとベンジリデン誘導体の熱力学的観点より見た、包接作用の状態を示し、正の値は吸熱反応を、負の値は発熱反応であることを示す。次に、 ΔS はCDとゲストとの適合状態を示し、正の値は緩い結合を、負の値は緊密な結合状態を示している。さらに、 ΔG は包接複合体における不可逆変化の過程を示し、値が小さいほど結合は強くなる。

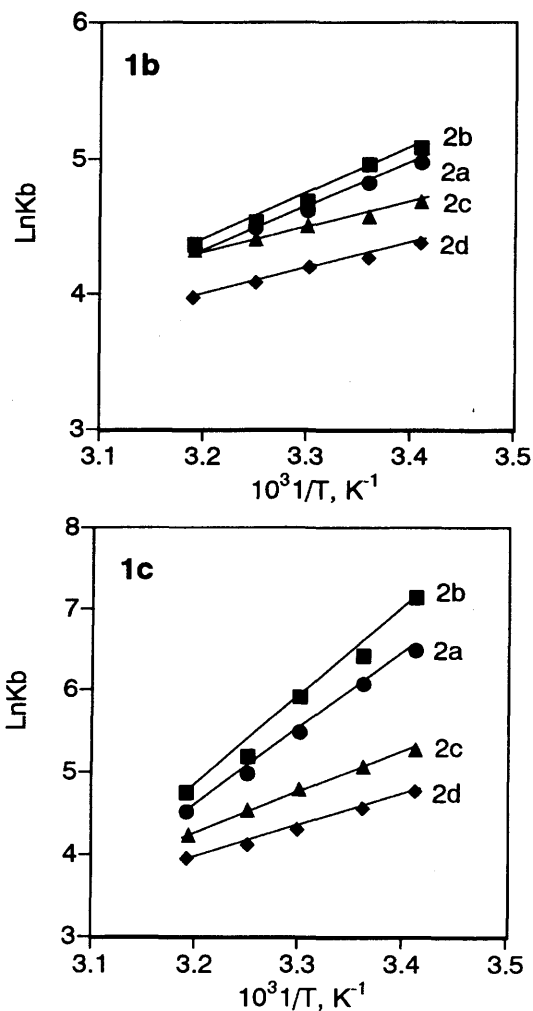


Figure 4 Van't Hoff's Plot of Binding Constants for Complex Formation.

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1の結合定数の温度変化から、ファント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2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、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2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な適合に起因し、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。エンタルピーの安定化はゲスト分子脱水和過程のより低いエネルギー放出で説明出来る。

Table 2 Thermodynamic Quantities for Complex Formation

		ΔH (kcal/mol)	ΔS (cal/mol K)	ΔG (kcal/mol)
2a	1b	0.670	-52.0	14.8
	1c	-22.8	-122	13.7
2b	1b	-6.43	-70.8	14.7
	1c	-20.3	-115	12.8
2c	1b	0.862	-47.2	14.9
	1c	0.517	-47.2	14.6
2d	1b	-3.61	-62.2	15.0
	1c	5.27	-32.7	15.0

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 β CD-2a系では $\Delta H = 0.670$ kcal/mol、 $T\Delta S = -14.2$ kcal/molで β CD-2b系では $\Delta H = -6.43$ kcal/mol、 $T\Delta S = -19.35$ 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5に今回得られた全データのエンタルピーとエンタルピー変化の関係を示した。図5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、分子認識現象の弱い力の協同効果によってはじめて可能になり、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¹⁷⁾。

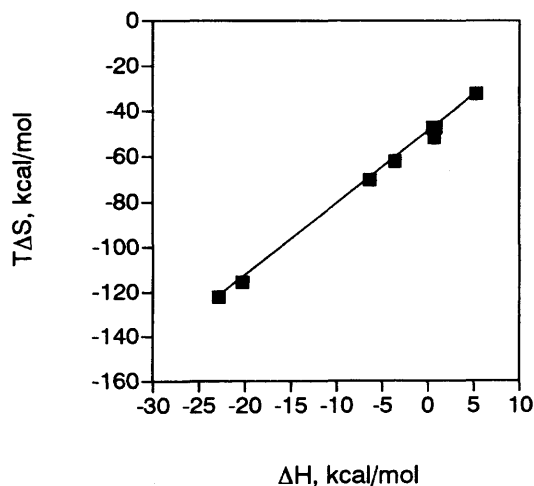


Figure 5 Entropy-enthalpy Compensation for Complex Formation.

3-3 分子モデル計算及び包接の様式

複合体形成の結合の様式を巨視的に把握するため、CDとベンジリデンの相互作用の分子モデル計算を一部試みた。計算はCompaq Digital Alpha Workstation上で動作する分子設計支援ソフトSpartanのMMFF力場を用いた。CDとして、 β -CD(1b)、DM- β -CD(1c)、及びTM- β -CD(1d)を選択し使用した。また基質として結合定数の比較的大きい2a及び2bを用いた。

まず最初に、基質2a及び2bの安定構造を探索した。構造探索には上記SpartanのMMFF力場上で動作するモンテカルロシミュレーションを用いた。モンテカルロ計算は、ある定められた確立規則に従って系を位相空間上でランダムに変位させる方法であり、分子のコンフォメーション構造の探索に適している。シミュレーションはSpartanの初期設定値を用いた。すなわち、各二面角の初期配座を30度間隔で発生させ、また糖の環状部分は小澤らが開発した方法を併用した。2aの場合225配座、2bの場合169配座からの検索の結果、表3に示すように約6 kcal以内にそれぞれ16及び4個の安定構造が得られた。その内最安定構造を図6に示した。両分子ともほぼ直鎖構造を示した。

Table 3 Total Energies of 2a and 2b Obtained by Monte Carlo Simulation.

	2a		2b	
	E (kcal/mol)	rel.E (kcal/mol)	E (kcal/mol)	rel.E (kcal/mol)
1	188.9816	0.0000	115.1461	0.0000
2	189.0957	0.1141	115.2822	0.1361
3	189.1154	0.1338	120.3169	5.1709
4	189.2344	0.2529	120.4101	5.2640
5	191.6747	2.6931		
6	191.7851	2.8036		
7	191.9547	2.9732		
8	192.0790	3.0974		
9	194.1521	5.1705		
10	194.2031	5.2215		
11	194.2493	5.2677		
12	194.2675	5.2860		
13	194.2787	5.2971		
14	194.3378	5.3562		
15	194.3638	5.3823		
16	194.4164	5.4348		

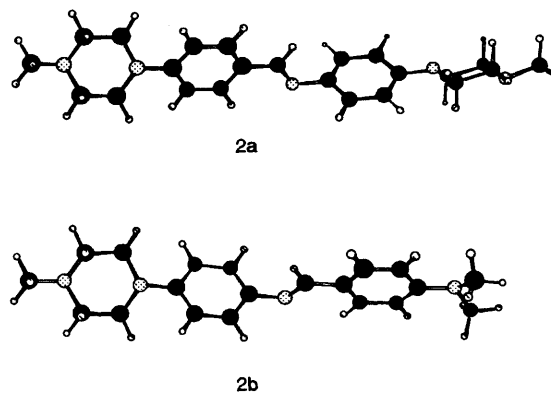


Figure 6 Optimized Molecular Structures of Benzylidene-type Derivatives.

上記の前もって単独で最適化された両分子はSpartan上でCDと重ね合わせ、複合体を作成した。複合体形成には基質は左右対称でないで図7の(a)-(f)に示すように、CDの正方向及び逆方向に上下からそれぞれの分子方向に挿入して重ね合わせた場合と、CDの上下に平行に配置した場合の6種類の複合体形成を考え、これらを初期値として、上記同様MMFF力場にてモンテカルロシミュレーションを試みた。2aの場合約16000-18000、2bの場合約15000-17000の初期配座を発生させ極小化を試みた。一例として、十分に安定化させた後、その安定化されたエネルギーの低い順にまとめたのが表4である。この例では、最安定構造は(c)の初期構造からのシミュレーションで得られた。

さらに最終的にその各複合体の極小化を同じMMFF力場で行った。 β -CD、DM- β -CD、及びTM- β -CDと2a及び2bを用いた6種類の各複合体の(a)-(f)の6通りの初期構造のシュミレーションから得られた最安定化された分子複合体を図8に示す。各複合体の最安定構造は(b), (c), (d)の初期構造から得られた。図8の包接形態ではゲスト分子がかなり折れ曲がって包接されている安定複合体も認められた。ま

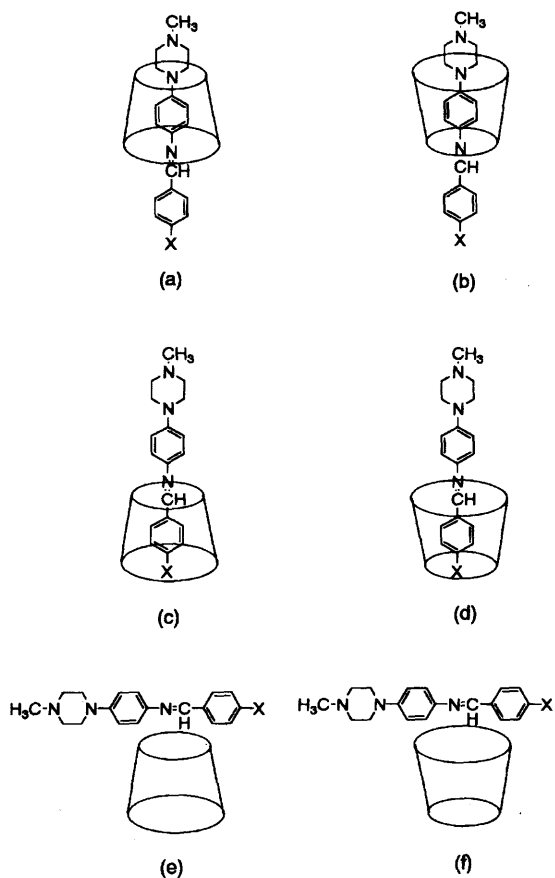


Figure 7 Sketch of the Different Topologies for the Entry of the Guest Molecule into the Cavity of the CD host.

Table 4 Total Energies of DM β CD(1c)-2a Complexes Obtained by Monte Carlo Simulation.

	a		b		c	
	E (kcal/mol)	rel.E (kcal/mol)	E (kcal/mol)	rel.E (kcal/mol)	E (kcal/mol)	rel.E (kcal/mol)
1	849.7066	0.0000	849.0524	0.0000	842.4567	0.0000
2	850.4353	0.7286	849.9520	0.8996	846.0003	3.5436
3					852.2698	9.8131

	d		e		f	
	E (kcal/mol)	rel.E (kcal/mol)	E (kcal/mol)	rel.E (kcal/mol)	E (kcal/mol)	rel.E (kcal/mol)
1	844.6755	0.0000	852.1774	0.0000	844.6338	0.0000
2	845.8687	1.1931	853.7718	1.5944	844.8326	0.1988
3	847.5160	2.8404	858.6484	6.4711	849.3212	4.6874

た複合体の中で各安定構造はそれぞれ異なった複合体形成を示したが、ベンゼン環がほぼCDの中央に含んだ複合体形成の安定構造が得られた。2aの場合はすべてCH=N結合のCH側のベンゼン環と、2bの場合はそれぞれ個々にベンゼン環と包接しているのが特徴的である。

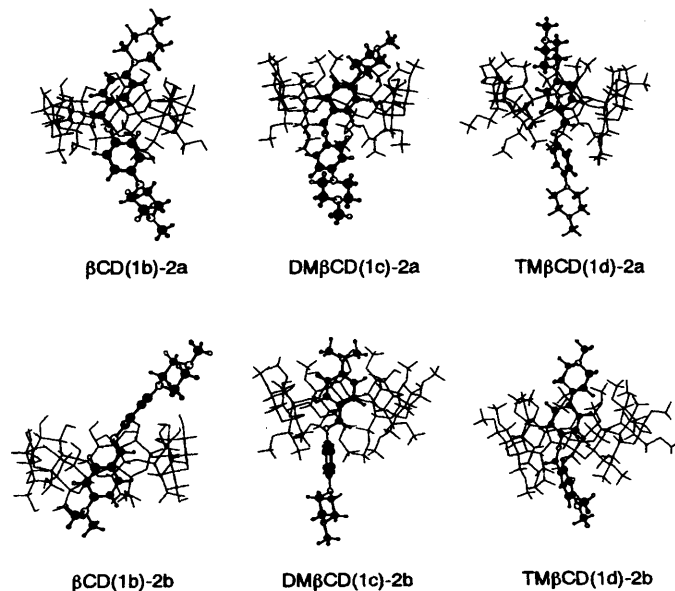


Figure 8 Computer-generated Molecular Models of Six Complexes Detected for the CD Hosts and Benzylidene-type Derivatives.

また各コンポーネント別のエネルギー変化を表5に示す。表中、上からそれぞれ全エネルギー、伸縮、変角、伸縮変角、平面外変角、ねじれ、静電及びファンデルワールス力の各コンポーネントを示す。この表から明らかのように、各複合体形成における安定化の全エネルギーは約20-30kcal/mol減少し、安定な結果が得られた。全エネルギーと結合定数のはっきりした相関は認められなかったが、非結合ファンデルワールス力の項ではCDのメチル基の増加によりその値が増加していることが認められた。このファン

デルワールス力は主として分子間の疎水性相互作用から得られるものであり、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。

Table 5 Change in the Energies and Their Components on Complex Formation of Benzylidene Derivatives with CD Host^{a,b,c)}

	β CD(1b)-2a	DM β CD(1c)-2a	TM β CD(1d)-2a	β CD(1b)-2b	DM β CD(1c)-2b	TM β CD(1d)-2b
Totals	-28.4840	-25.8967	-24.6453	-22.5742	-20.5136	-25.9554
Stretching	0.8177	-0.3171	-0.7904	-0.0323	-0.2962	-0.6267
Bending	1.9766	1.7936	-1.8735	-0.9878	0.3030	-0.7517
Stretch-Bend	0.2990	-0.2717	-0.0429	0.2513	0.0000	0.1202
Out-Of-Plane	-0.0404	0.0704	-0.0200	-0.2147	-0.0519	0.0641
Tors.	-2.2899	-0.5215	4.8885	2.3490	-0.6875	-0.0455
Elect.						
1-4 Interactions	0.6989	2.2788	-2.6719	-0.7131	-0.2404	50.0961
Nonbonded	-16.6574	-7.5501	-2.0186	-8.8506	-3.9235	-48.0061
VdW						
1-4 Interactions	1.7459	1.0089	3.4958	0.9505	1.1297	-2.1252
Nonbonded	-15.0344	-22.3879	-25.6123	-15.3265	-16.7468	-24.6806

a Based on MM(MMFF94 force field) 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)]

3-4 結論

水溶液からの側鎖の異なるベンジリデン誘導体と β -、ジメチル- β -、トリメチル- β -及び γ -シクロデキストリン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) ベンジリデン誘導体に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とゲスト分子とのなんらかの相互作用の結果であると考えられる。

2) ベンジリデン誘導体とCDの結合は1:1の包接型であると考えられ、Benesi-Hildebrandの式を用いて結合定数を求めた。それぞれの結合定数からすべての系においてベンジリデン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。しかし、トリメチル- β -CDの場合は逆にそのバルキー性が増すため、結合定数は減少した。

3) 熱力学パラメーターの結果より、結合は発熱反応であり、結合のエンタルピーとエントロピーは補償関係にあることがわかった。

4) モンテカルロシミュレーションによる分子モデル計算の結果において、各複合体形成における安定化の全エネルギーは約20-30kcal/mol減少し、安定な結果が得られた。これらの安定化は主として非結合ファンデルワールス力の項で顕著に認められ、この結合力は主として分子間の疎水性相互作用から得られるものであり、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。

本研究の遂行にあたり、実験に協力して下さった山口県立大学卒業生の谷川智美、山田浩子、及び東亜大学卒業生の磯部清太郎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13年度文部省科学研究費(13680125)により行った。

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 Pigms.*, **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) Pilch, D.S.; Kirolos, M.A.; Liu, X.; Plum, G.E.; Breslauer, K.J. *Biochemistry*, **34**, 9962 (1995).
- 13) Daniel, S.P.; Michael, A.K.; Kenneth, J.B. *Biochemistry*, **34**, 16107 (1995).
- 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) 築部浩, "分子認識化学", 三共出版, 東京 (1997).