

生理活性物質－シクロデキストリン包接化合物の構造化学 (1) －l-menthol- β -cyclodextrin 錯体のX線結晶構造解析

甲斐 泰*、山本将輝*

Structural Chemistry of the Cyclodextrin Inclusion Complexes of Physiologically Active Compounds －X-ray Structural Studies on l-menthol- β -cyclodextrin Complex

Yasushi Kai and Masaki Yamamoto

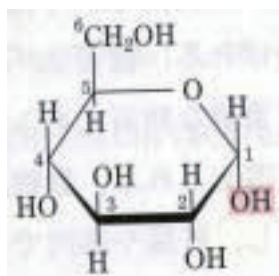
The crystal structure of an inclusion complex of β -cyclodextrin with l-menthol has been determined by X-ray diffraction method. The crystals were very unstable in air, so they were sealed in thin-walled glass capillary tubes with small amount of water on the bottom of them. The complex crystallized in monoclinic, $P2_1$ with $a=15.411(1)$, $b=32.798(1)$, $c=15.424(1)$ Å, $\beta=102.28(1)^\circ$. The unit cell includes two molecules composed of two β -cyclodextrins and two l-menthols. Dimeric β -cyclodextrins make the infinite channel to include hydrophobic l-menthol molecules in it.

Key Words: cyclodextrin, inclusion compound, crystal structure, l-mentol

1. はじめに

シクロデキストリン (cyclodextrin、CD) は数分子の D-グルコースが $\alpha(1\rightarrow4)$ グルコシド結合によって結合し環状構造をとった環状オリゴ糖の一種である。グルコースが 6 個から 8 個結合したものが良く知られており、6 個、7 個、8 個結合しているものはそれぞれ α -シクロデキストリン、 β -シクロデキストリン、 γ -シクロデキストリンと呼ばれている。シクロデキストリンの環状構造の内部は他の比較的小さな分子を包接できる程度の大きさの空孔となっている。空孔の内径は α 体で 4.5 - 6 Å (0.45 - 0.6 nm)、 β 体で 6 - 8 Å (0.6 - 0.8 nm)、 γ 体で 8 - 9.5 Å (0.8 - 0.95 nm) 程度である。親水性の水酸基 (—OH) はこの空孔の外側にあるため、空孔内部は疎水性となっており、疎水性の分子を包接しやすい。つまり、シクロデキストリンは、分子内側は疎水性だが、分子外側は親水性である。この性質を利用して、疎水性の物質をシクロデキストリンに包接させることで水に溶解させたり、水や酸素と反応しやすい物質を保護したりする用途に利用されている。

* 環境生命化学科



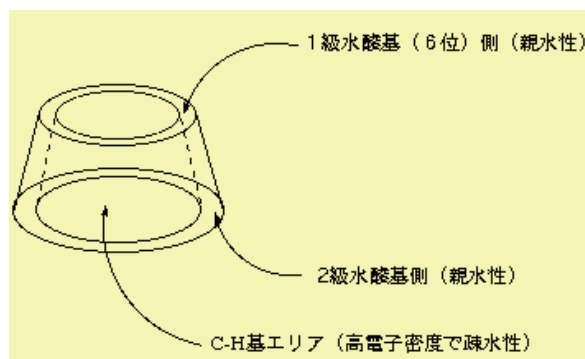
α -D-グルコース



α -シクロデキストリン

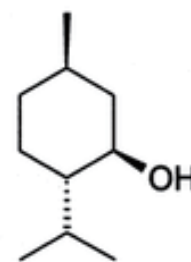
シクロデキストリンは円錐型台形をしており、開口部の大きさが両端で異なっている。従って、シクロデキストリンが標的化合物を包接する場合、1分子のシクロデキストリンが1分子の標的化合物を中央の疎水孔にすっぽりと包接する場合もあれば、2分子のシクロデキストリンが、大きな開口部を向かい合わせながら標的化合物をサンドイッチするように包接することもある。

シクロデキストリンの持つこのような両親媒性は、水に溶けにくい化合物の可溶化、酸化などによる変性の防止などを意図して、生理活性物質に混合して用いられることが多く、産業分野で広く利用されている。しかしながら、シクロデキストリンと生理活性物質がどのような分子間相互作用を取っているかを詳しく構造化学的に調べた研究は少ない。食品分野で



実際に利用されているシクロデキストリンの効果を、それぞれの標的化合物について分子と分子の相互作用という観点から構造化学的に明らかにすることにより、シクロデキストリンの作用機構をより明確にし、期待される効果への見通しも広げることができるものと考えている。

メントール (Menthol) は、IUPAC 命名法では 2-イソプロピル-5-メチルシクロヘキサノール (2-isopropyl-5-methyl- cyclohexanol) であり、和名では薄荷脳という。ハッカ臭を持つ、揮発性の無色結晶である。メントールにはいくつかのジアステレオマー、鏡像異性体がある。そのうちの l-メントール (エル-メントール) は歯磨きやチューインガムなどの菓子類、口中清涼剤などに多用されるほか、局所血管拡張作用、皮膚刺激作用等を有するため、医薬品にも用いられる。ミント (ペパーミント) に多く含まれる。



l-メントール

そこで、 β -シクロデキストリンと1-メントールの包接化合物を作成し、結晶化して、X線回折法によってその3次元構造を決定した。その結果、2分子の β -シクロデキストリンが広い開口部を合わせるように会合した中に2分子の1-メントールが包接されていることが明らかとなった。

2. 実験

1) 結晶化

1-メントールは水には溶けにくい、アルコールにはよく溶ける。一方、 β -シクロデキストリンは水によく溶ける。この様な2つの物質を混合し、両者の複合体を結晶化単離することは興味深い。基本的には、シクロデキストリンの水溶液と1-メントールのアルコール溶液をそれぞれ作成し、両溶液を相分離が起らないように混合攪拌したのち静置して、両化合物の複合体の結晶化を試みるものである。実際の結晶化は以下の条件下で行った。

0.013gの β -シクロデキストリンを1mlの水に混ぜ、完全に溶けるまで加熱攪拌する。そこに、0.013gの1-メントールを粉末の状態で加える。水溶液の上部に浮いている1-メントールは徐々に溶解し、やがて完全に溶けるので、それを室温で静置する。数日以内に β -シクロデキストリンと1-メントールの包接化合物の単結晶が得られた。

このように、一方の溶液にもう一方の化合物を粉末で加え、ゆっくり溶解させることも用いられる。この方法の利点は、溶液の体積を少なくすることができる点にある。

2) 回折実験用結晶試料

結晶は無色の柱状で、写真1のように非常に美しいものが得られた。0.50 x 0.40 x 0.30 mmの結晶を用いて、X線回折実験を行った。単結晶中には結晶水が多数含まれることがこれまでの研究から明らかにされている。事実、結晶そのものを用いてX線回折実験を行ったところ、短時間で結晶が劣化した。通常よく用いられるコロジオンコーティングを行っても、結晶の劣化は防ぐことができなかった。そこで、やはり結晶格子中に多量の結晶水を含むタンパク質結晶の場合用いられるようにガラスキャピラリーに封管した(写真2)。

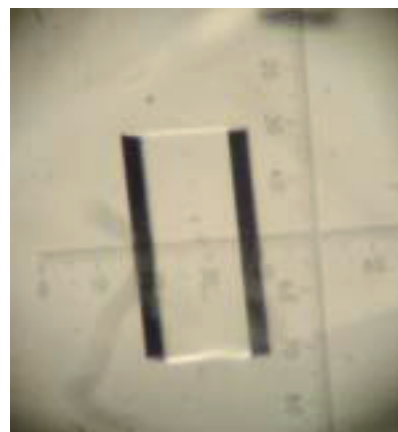


写真1 1-メントール- β -シクロデキストリン錯体の結晶(長辺が約1cm)

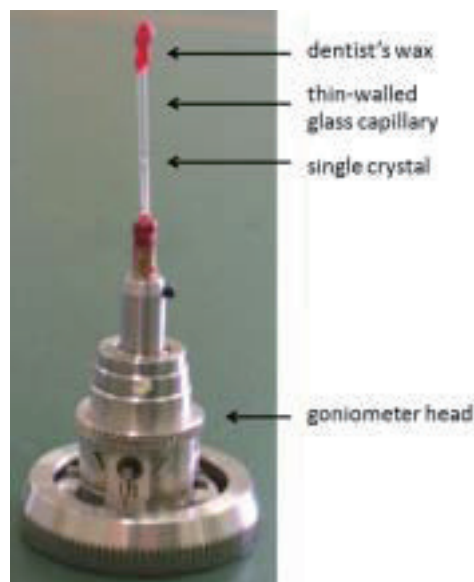


写真2 ガラス毛細管に封入した結晶試料

3) X 線回折強度測定

X 線回折実験は、福井工業大学産学共同研究センターに設置されているイメージングプレート 2 次元回折計 (㈱リガク製、RAPID-S) を用いて 23°C の室温で行った。結晶学的データを表 1 に示す。単斜晶系、空間群 $P2_1$ で、単純立方格子の単位格子の体積は 7618.1 \AA^3 である。分子量も 2582.41 \AA^3 であり、低分子化合物とタンパク質などの高分子化合物の中間の大きさの単位格子となっている。単位格子中に含まれる分子の数 (Z) は、構造解析の結果 2 となり、1-メントール 2 分子と β -シクロデキストリン 2 分子を 1 分子単位とすることが明らかとなった。

表 2 に回折強度測定を示す。グラフィートモノクロメータで単色化した $\text{MoK}\alpha$ 線を用い、イメージングプレートを検出器として、1 フレーム当たりの振動角を 5° とし、合計 44 フレームの回折強度を測定した。回折角の最大値 $2\theta_{\text{max}}$ は 55° である。全測定反射数は 70,049、独立反射数は 17,670 であった。等価反射の一致度を示す R_{merge} 、全球の反射の集積割合を示す Completeness、等価反射の平均出現回数を示す Redundancy はいずれも良好な値となった。以上のことから、質の高い回折強度データが測定されたとと言える。

4) 構造解析

結晶構造解析は、Rigaku Crystal Structure System を用いて行った。この化合物が C, H, O 原子のみで出来ていることから、直接法プログラムによって解くこととしたが、従来良く使われている SIR92、SAPI91、SHELXS97、SYSTEM90、MULTAN88 などを用いても、構造解析に成功しなかった。しかし、最近タンパク質の結晶構造解析に活用され始めている SHELXD を用いると、構造解析に成功した。シクロデキストリン骨格は異方性温度因子で、メントール分子は等方性温度因子で精密化した。結晶格子中には結晶水が多数含まれると予想されるので、20 個の水を等方性温度因子で精密化した。現時点では、信頼度因子 $R=0.14$ で、まだ十分精度の高い構造が得られていないので、その原因については現在調べている。

Table 1. Crystal Data of l-menthol- β -cyclodextrin complex

Formula; $\text{C}_{104}\text{H}_{180}\text{O}_{72}$
F.W. = 2582.41
Crystal System; monoclinic
Space Group; $P2_1$
Temperature; 23 °C
$a = 15.4114(7) \text{ \AA}$
$b = 32.798(2)$
$c = 15.4244(7)$
$\beta = 102.278(2)^\circ$
$V = 7618.1(6) \text{ \AA}^3$
$Z = 2$
$D_c = 1.125 \text{ g cm}^{-3}$

Table 2. Data Measurement of l-menthol- β -cyclodextrin complex

RIGAKU RAXIS-RAPID
$\text{MoK}\alpha$; $\lambda=0.7107 \text{ \AA}$ (50kV, 40mA)
graphite monochromated
Data images; 44 exposures
Oscillation angle; 5° /exposure
$2\theta_{\text{max}}$; 55.0°
No. of reflections measured; 70,049
No. of unique reflections; 17,670
R_{merge} ; 3.72% (total)
3.02%(2 σ cut)
Completeness; 0.99
Redundancy; 3.96

3. 結果と考察

1) 分子構造

構造解析の結果得られた分子構造を図1に示す。

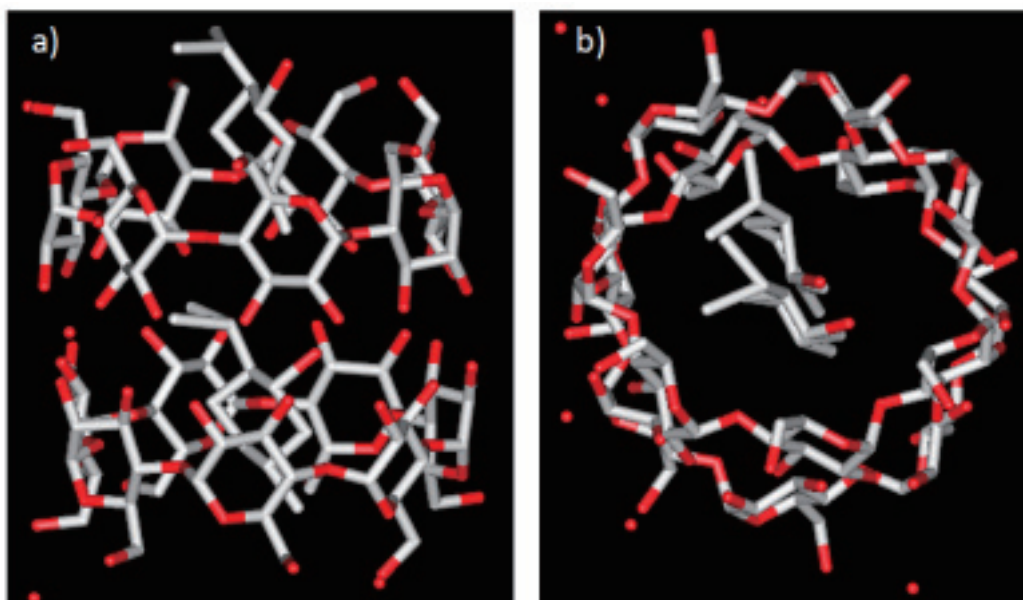


図1 1-メントール- β -シクロデキストリン包接化合物の分子構造（スティックモデル）

図1で、赤色は酸素原子、灰色は炭素原子を示している。図1のa)から、2分子のシクロデキストリンが広い開口部を持つ2級水酸基側を互いに接するように2量体を形成し、2量体分子中央の疎水部分に2分子の1-メントール分子を包接していることが明らかとなった。シクロデキストリン分子は2分子が向かい合うように2量体を形成しているのに対し、1-メントール分子は同じ方向に配列している点に興味深い。このように、2分子の β -シクロデキストリンと2分子の1-メントール分子が1つの複合体分子を形成している。またb)から、1-メントール分子はシクロデキストリン2量体分子の中央の疎水チャンネルに沿って配列していることが明らかである。

シクロデキストリン2分子が形成する疎水性のチャンネルの中に1-メントールが縦に並んで包接されていることから、シクロデキストリンと1-メントールの間には疎水性相互作用が働いていることは自明であるが、それをまず、空間充てんモデルで図2に示す。図2は図1a)の上側から見た分子を示しており、1-メントールのイソプロピル置換基が一級水酸基($-\text{CH}_2-\text{OH}$)のメチレン炭素で取り囲まれている構造であることが分かる。2量体分子の外側にある酸素原子は結晶水を示している。

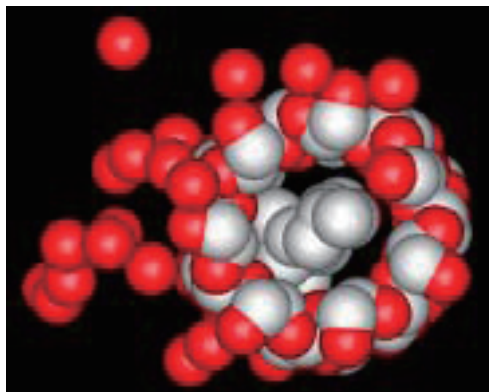


図 2 l-メントール- β -シクロデキストリン包接化合物の分子構造
(空間充てんモデル)

2) 結晶構造

結晶構造を図 3 に示した。a) は b 軸を投影面上に置いて、また b) は b 軸にそって投影した結晶構造を示している。 β -シクロデキストリンは 2 量体を形成し、それがさらに b 軸に沿って積み重ねられ無限のチャンネルを形成している。この無限のチャンネルの中に l-メントールがチャンネルの軸に分子軸をそろえるようにして包接されている。また、チャンネルを形成するシクロデキストリンの円筒状の分子集合体の間を埋めるように多数の結晶水が存在している。

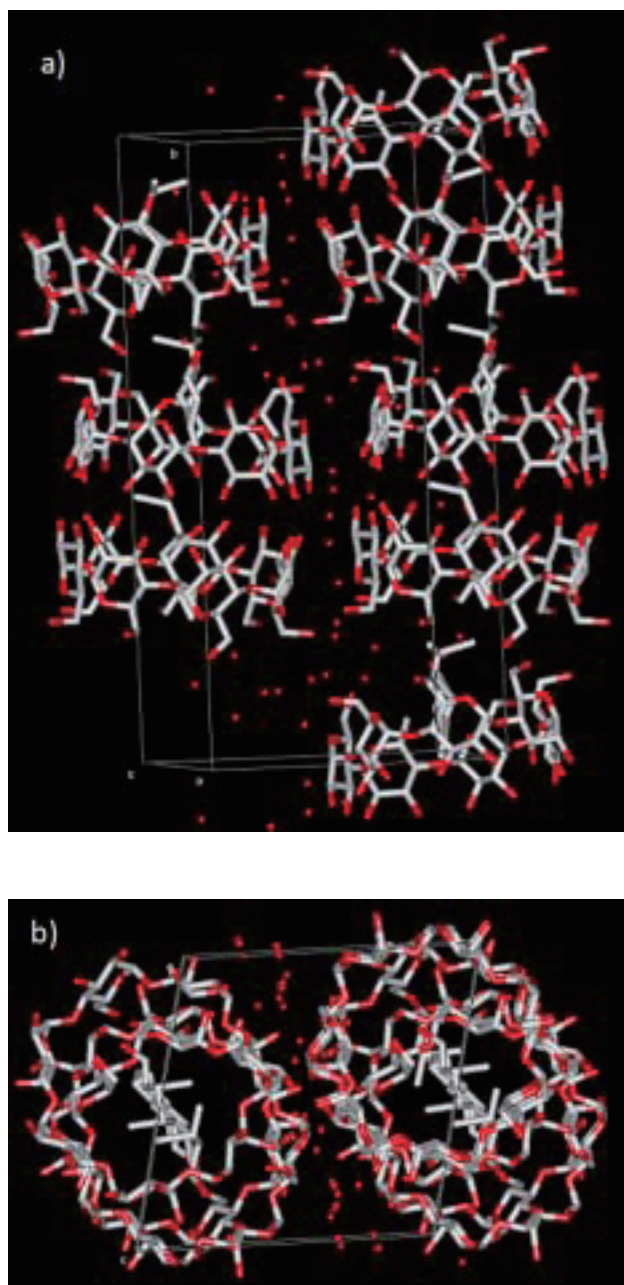


図 3 結晶構造 a) b 軸を投影面上に置いて投影
b) b 軸に沿って投影

4. 結論

l-メントールと β -シクロデキストリンの包接化合物の結晶構造を決定した。 β -シクロデキストリンは広い開口部を向かい合わせる形で 2 量体を形成し、その中央の疎水性内孔に l-メントールを保持している。また、この 2 量体分子が結晶学的な b 軸に沿って配列し、無限のチャンネルを形成していることが明らかとなった。まだ、解析精度が十分でないため、引き続き低温測定などを行い、高精度の結晶構造解析を目指したい。

(平成 23 年 3 月 31 日受理)