(平成 6 年 2 月 16 日受理)

アルキル鎖長の異なる酸性アゾ染料と
シクロデキストリンとの相互作用

実践女子大学 家政学部 軽部 幸恵・飯島 俊郎

Interaction of Acid Azo Dyes Having Alkyl Group with Cyclodextrines

Yukie Karube and Toshiro Iijima

Faculty of Home Economics, Jissen Women's University, 4-4-1, Oosakaue, Hino, Tokyo, 191 Japan

Abstract: The interaction of acid azo dyes having alkyl chain groups of different length with α -, β - and γ -cyclodextrines (CD) in aqueous solution was investigated by means of the visible absorption spectra at different temperatures. The presence of CD (1×10^{-6} - 10^{-2} mol/L) in the dye solution (5×10^{-5} mol/L) changed the absorption spectra, and the degree of the change was in an order of the increasing alkyl length in the dyes. With an increase in the concentration of CD, the absorption spectra changed keeping an isosbestic point. The stoichiometry of the binding was confirmed as equimolar by a continuous variation method. Upon assuming the molar ratio of the complex as 1 : 1, the binding constants were calculated by a nonlinear least-squares method. The mode of the interaction was estimated as an inclusion type. The presence of the alkyl chains in the dye molecule increased the binding constant. The fitness of the dye 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 compensation relation between entropy and enthalpy changes of binding was found and the contribution of entropy to the process was discussed.

(Received February 16, 1994)

1. 緒 言

グルコースが α -1,4-グルコシド結合した環状オリゴ糖であるシクロデキストリン (以下 CD と略記する) はその特異な包接化合物形成能力によって知られ、多くの研究が行われて来た。これらは二三の成書[1,2]に詳しい。澱粉の酵素作用により作られる CD は現在は工業生産が行われ、ここ十余年の間に多方面の分野で利用研究が行われてきた[3,4]。初期には包接による低分子化合物の取り込み作用が、香料、医薬品の徐放などに応用された。最近では CD (グルコースが 6, 7, 8 個環状結合した α , β , γ -体が基本) に化学反応を行って水溶性を高めた化学修飾 CD は、細胞接着能力がすぐれ、分子認識や医薬の分野で、例えば DDS (薬物送達システム) などに向けて多くの応用研究が行われている。食品分野では、澱粉や大豆加工品にみられる特異な臭気の除去、緑色野菜の色素の安定化などの機能保持の試みが見

られる。化粧品分野では、上記の香料や虫菌予防成分の保持による口内用品としての応用がある。

化学工業分野での応用も多い。包接化合物形成の場合疎水性であることから、エステルやアミドの加水分解の触媒作用が期待され、数多くの研究が報告されている[5,6]。さらにこの疎水場を高分子鎖に共有結合で持たせて人工酵素の構築が報告されている[7]。

被服に関した例としては CD に芳香物質を包接させて消臭加工剤として用いる試み[8,9]がある。染色関係では染料を包接して緩染助剤の効果を検討した研究がある[10,11]。即ち、洪沢らは 4-アミノアゾベンゼン誘導体/ β -CD 水溶液からのナイロン染色における緩染効果を見出した。また最近、洗浄系に於ける CD の油性汚れ除去効果が検討された[12]。

CD と低分子化合物との包接相互作用に関する数多くの研究の中で、染料や界面活性剤[13]をゲストにした報告も多い。原田[14]はメチルオレンジのナトリウムおよ

びカリウム塩との包接化合物の結晶構造の解析を行い、アゾ基とベンゼン環は空洞内に、ジメチルアミノ基とスルホン酸基は空洞外に位置していることを示した。

ゲストとしてメチルオレンジはよく採りあげられ、例えばその水溶液中 (0.1 M リン酸緩衝液, pH6.75, CD 濃度 $< 5 \times 10^{-3}$ M) の包接は 1 : 1 で起こるが、それ以上の濃度では 1 : 1 以外のモル比をとること、1 : 1 包接化合物の解離定数 (25 °C) は 2.2×10^{-4} mol/L であることが報告されている [15]。最近, Tawarah は α -, β -および γ -CD メチルオレンジの共役酸との相互作用を UV 吸収スペクトルで調べ結合の熱力学的諸量を求めた。 γ -ではスペクトル変化は見られず、 α -および β -については前者がより安定な包接化合物をつくることを見だしている [16]。また α -CD によるアゾサリチル酸の包接は 1 : 1 で起こり、生成定数は $1.3 \times 10^3 \sim 9.0 \times 10^3$ L/mol (25°C) が与えられている [17]。次に CD の空洞の大きさと包接能との関係では、アゾ基の両側にナフタレン核を持つアゾ染料は α -CD と包接化合物を作らない [18] ことは興味をひく。また空洞の大きさから、 α -CD とは包接化合物を作れないアゾ染料も β -や γ -CD とは作り得ることを示す報告例 [19] もある。

本研究は、その水溶液の性質 [20]、ナイロンに対する染色性 [21] について既に報告したアルキル鎖を持つ酸性染料と α -, β -および γ -CD との包接平衡を調べ、その相互作用機構を明らかにしたものである。

2. 実験

2.1 材料

CD は東京化成(株)より購入した試薬 (GR) をそのまま用いた。使用にあたっては、標準調湿状態 (65% RH) の水分率を測定し、水溶液調製の際は乾燥重量換算で正確に濃度を定めた。

α -CD (CDA) 水分率 2.53%

β -CD (CDB) 2.77%

γ -CD (CDG) 7.35%

ここで水分率は (水分) / (水分 + 絶乾量) で表す。

染料は下図に示すようにアルキル鎖長の異なる 3 種を用いた。これらの合成、精製は、既報 [20, 21] の通りである。

R = H : C0

R = C₆H₁₃ : C6

R = C₁₂H₂₅ : C12

Fig. 1 Absorption spectra in aqueous solution (C6): Dye concentration, 5.00×10^{-5} mol/L; CDG concentration, 0.00, 3.47×10^{-4} , 1.02×10^{-3} , 2.50×10^{-3} and 6.72×10^{-3} mol/L in increasing order.

Fig. 2-a Absorption spectra in aqueous solution (C12): Dye concentration, 5.00×10^{-5} mol/L; CDG concentration, 0.00, 5.00×10^{-6} , 7.50×10^{-6} , 1.00×10^{-5} and 2.00×10^{-5} mol/L in increasing order.

水はオートスチール (ヤマト科学(株)WA-32) により蒸留後、イオン交換した純水 (比導電率 $< 0.3 \mu\text{S/cm}$) を用いた。

2.2 方法

染料濃度を約 5.00×10^{-5} mol/L (精秤) に固定して、CD 濃度を 10^{-6} – 10^{-2} mol/L の範囲で変えて試料溶液を調製した。なお電解質の影響を避けるため、緩衝液は用いなかった。試料溶液の pH は吸収スペクトル測定前後に測り 6–5 の範囲内の変動であることを確かめ、スペクトルに影響を与えないものと判断した。吸収スペクトル測定は自記分光光度計 MPS-2000 (島津) により、温度 10–45 °C の範囲で ± 0.05 °C に保って行なった。

3. 結果と考察

染料の吸収スペクトルはCDの存在により変化するが、その変化はC0では少なく、C6とC12では大きく現れた。変化の例を図1, 2に示す。図に見られるようにスペクトルは等吸収点をとりながら変化する。極大吸収波長における分子吸光係数の濃度による変化を図3に示す。

この変化はCDと染料とのなんらかの相互作用の結合平衡によるものと推定される。そこで始めに、結合体のモル比を連続変化法によって決定した。

いまCD, 染料(D)混合溶液において式1の結合平衡が成り立つとする。

$D_m \cdot CD_n$ はCD n モルとD m モルとから成る結合体

Fig. 2-b Absorption spectra in aqueous solution (C12): Dye concentration, 5.00×10^{-5} mol/L; CDG concentration, 2.00×10^{-5} , 2.50×10^{-5} , 9.92×10^{-5} , 2.29×10^{-4} , 5.04×10^{-4} mol/L in increasing order.

Fig. 3 Molar extinction coefficient at 540nm vs. CDG concentration (C12): Temperature(°C); 15; ○; 25; ●; 35; □; 45; ■.

である。ここでCDとDとの合計の濃度を一定に保って、そのモル比を変化させると図4が得られ、結合体の生成量最大(すなわち結合による吸光度変化最大)のときの

Fig. 4 Absorption spectra in various molar ratio (C6): Total concentration, 5.00×10^{-5} mol/L; molar ratio (C6/CDG), 1.0, 0.9, 0.8, 0.7, 0.6, 0.5, 0.4, 0.3, 0.2, 0.1 and 0.0 in increasing order.

Fig. 5 Continuous variation plot(C6/CDG, 25 °C).

Fig. 6 Continuous variation plot(C12/CDG, 25 °C).

CD と D のモル比は生成した結合体のモル比 m/n に等しいことになる[22]。結合量は極大吸収波長の吸光度により決定した。結果を図 5, 6 に例示する。縦軸の A は式 1 の平衡が成立したときの吸光度, A' は相互作用が無いときの吸光度である。図に見られるようにモル比 0.5 で極値をとり, 結合体は等モル比 $m=n$ であることがわかる。ここで $m:n$ は 1:1 に限らない。この比は吸光度の波長を変えても, CD と D の合計濃度を変えても変わらない。本実験では合計濃度を 5.00×10^{-5} mol/L として行った。

溶液中で包接化合物ができる時, CD (ホスト) とゲストとのモル比は通常 1:1 であるが例外として長鎖脂肪酸[23], 4-ピフェニルカルボキシラート[24]と CDA が 1:1 以外のモル比をとることが報告されている。そこで, まず式 2 のように 1:1 を仮定して実験値 (図 3) をどのように再現できるかを検討した。

$$D + CD \rightleftharpoons D \cdot CD \quad (2)$$

このような二成分相互作用系の平衡定数 K を求める式は多く提出されている[25]。中でも Benesi-Hildebrand 式[26]はしばしば用いられているが, 式 2 について言えば, $(CD \text{ の全濃度}) \gg (D \text{ の全濃度})$, 従って $(CD \text{ の全濃度}) \gg (\text{結合した D 種の濃度})$ により表される近似の条件が含まれていて, 本研究の系についての正確な取り扱いには適しない。

ここで D および CD のそれぞれの全濃度を C_D , C_{CD} とする。 C_D のうち結合種, 非結合種 (遊離種) の濃度をそれぞれ C_{Db} , C_{Df} とする。

$$C_D = C_{Db} + C_{Df} \quad (3)$$

結合平衡定数を K とすれば式 4 が得られる。

$$C_{Db} = K (C_{CD} - C_{Db}) C_{Df} \quad (4)$$

Fig. 7 Calculation of binding constant (C12/CDG, 25 °C): ○, experimental value; binding constant, 2×10^3 , 5×10^3 , 2×10^4 , 2×10^5 , 5×10^5 L/mol in increasing order.

また観測される試料溶液の吸光度 A_{obs} は式 5 で表わされるから,

$$A_{obs} = \epsilon_f \cdot C_{Df} + \epsilon_b \cdot C_{Db} \quad (5)$$

C_{Db} は式 6 で与えられる。ここで ϵ_f , ϵ_b はそれぞれ,

Table 1 Binding Constants

Host	Guest	Temp./°C	$K \times 10^{-3} / L \cdot mol^{-1}$	$\epsilon_b / m^2 \cdot mol^{-1}$
CDA	C0	15	~0.4	3220
CDA	C0	25	~0.4	3180
CDA	C6	10	6.0	3600
CDA	C6	15	5.4	3480
CDA	C6	25	4.1	3530
CDA	C6	35	3.3	3500
CDA	C6	45	2.5	3490
CDA	C12	10	20.0	3510
CDA	C12	15	19.5	3510
CDA	C12	25	15.6	3510
CDA	C12	35	12.0	3480
CDA	C12	45	9.3	3460
CDB	C0	15	~0.4	3200
CDB	C0	25	~0.3	3150
CDB	C0	35	~0.25	3110
CDB	C6	10	37.6	3420
CDB	C6	15	15.0	3410
CDB	C6	25	5.0	3400
CDB	C6	35	4.0	3340
CDB	C6	45	2.5	3310
CDB	C12	10	7.2	3490
CDB	C12	15	6.0	3490
CDB	C12	25	5.2	3340
CDB	C12	35	4.7	3420
CDB	C12	45	4.5	3390
CDG	C0	15	~0.5	3240
CDG	C0	25	~0.35	3210
CDG	C0	35	~0.3	3185
CDG	C6	10	1.1	2780
CDG	C6	15	1.0	2860
CDG	C6	25	~0.76	3020
CDG	C6	35	~0.66	3140
CDG	C6	45	~0.6	3200
CDG	C12	15	201.0	1780
CDG	C12	25	100.0	1880
CDG	C12	35	45.0	2000
CDG	C12	45	12.3	2150

染料の遊離種、結合種の分子吸光係数である。

$$C_{Db} = C_D (\epsilon_{obs} - \epsilon_f) / (\epsilon_b - \epsilon_f) \quad (6)$$

従って C_{Db} に関する 2 次式である式 4 の根と、式 6 の右辺を等置して得られる式は、 ϵ_b および K を未知数として含み、その他は実測値として与えられる。 ϵ_b は、例えば図 3 の実測値から $C_{CD} \rightarrow \infty$ として推定が可能である。このようにして、 K の値を次々に変え与えて測定値 A_{obs} 、あるいは ϵ_{obs} ($=A_{obs}/C_D$) に対する C_{CD} の関係 (例えば図 3) を最も良く再現する ϵ_b 、 K を定めることができる。これは非線形最小二乗法の計算プログラムによっても、また EXCEL などの表計算プログラムのソフトによっても演算できる。本研究では両者を併用した。未知数 K の値のあたりをつけるに後者が便利であった。前者のプログラムは信州大学濱田州博氏のものを用いた。計算結果の例を図 7 に示す。

このようにして、 ϵ_b 、 K を適当に選ぶことにより、染料および CD の活量 [27] を濃度に等しいと置く以外は近似を用いずに、式 2 に基礎を置いて実験結果をよく再現する結合定数を定めることができた。これにより、結合体のモル比は 1 : 1 と推定した。

一方、C0、C6、C12 と D-グルコースとの相互作用は分光学的には検知できない。即ち、C12 (または C0、C6) 濃度を 5×10^{-5} mol/L に保ち D-グルコース濃度を $1 \times 10^{-4} - 1 \times 10^{-2}$ mol/L に変えた水溶液の吸収スペクトルは 700-300 nm の範囲で変化が見られない。このことから、用いた染料と CD とは環状構造の外側で相互作用するのではないと考えられる。

用いた総ての CD、染料の組み合わせについて得られた平衡定数 K を表 1 にまとめて示す。計算にはそれぞれの染料の極大吸収波長の吸光度を用いたが、波長によらず K の計算値は一定となることも別に確かめた。

C0 染料は、前記のようにいずれの CD についても吸収スペクトルの変化は少なく、計算された K は 250-500 L/mol 程度の低い値であり、その計算値の信頼度は低い。表中 ~ を付したのは約の意味である。C0 と他の C6、

Table 2 Cavity Size of CD [1]

CD	Number of Glucose	Cavity Size (nm)		
		Mol. wt.	In. dia. ^{a)}	Depth
α	6	972	0.45 ^{b)}	0.67 ^{b)}
β	7	1135	~0.70 ^{c)}	~0.70 ^{c)}
γ	8	1297	~0.85 ^{c)}	~0.70 ^{c)}

^{a)} Inner diameter. ^{b)} X-ray diffraction. ^{c)} Molecular model.

Fig. 8 Proposed inclusion model (C12/CDG).

Fig. 9 Van't Hoff's plot of binding constant (C6/CDA).

Table 3 Thermodynamic Quantities of Binding

D/CD	$\Delta H / \text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$	$\Delta S / \text{J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$
C6 CDA	-18.6	6.7
C6 CDB	-64.7	-143.0
C6 CDG	-13.5	10.5
C12 CDA	-15.3	28.7
C12 CDB	-9.6	39.3
C12 CDG	-57.7	-100.3

C12 を比べるとアルキル基が結合に大きく貢献することは明確であるが C6 と C12 を比較すると、アルキル基が長くなると大きい K 値を与えるとは限らない。 K の値は CDA、CDG については $C0 < C6 < C12$ であるが、CDB については $C0 < C12 < C6$ である。

また C12 について見れば $CDB < CDA < CDG$ の順であり、C6 については $CDG < CDA < CDB$ である。この結果からアルキル基のかさ高さと CD の空洞の大きさとの適合性が示唆される。用いた 3 種の CD の空洞の大きさは、表 2 [1] のように知られている。炭素数 12 のアルキル鎖の屈曲性は、CDG の空洞径に対する包接結合に有利に働き、屈曲性の少ない炭素数 6 については適合性に欠け緩い結合となるのであろう。このように考察し、スペクトル変化をも考慮して結合体 (包接体) の模型として C12 について図 8 が想定できる。

Fig. 10 Entropy-enthalpy compensation.

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（有利としても僅か）な過程であり、この有利なエンタルピー変化への寄与の素過程は、(1)ファンデルワールス相互作用、(2)ゲスト化合物とCDの水酸基との水素結合、(3)CD空洞内の不安定な水分子の放出、(4)CDの分子環のひずみエネルギーの解放であるとされている[1]。表1のKの温度変化から、ファン・トホッフの関係（図9）を用いて結合エンタルピー（ ΔH ）、結合エントロピー（ ΔS ）が得られる。これらの熱力学量を表3に与える。全体の値は、エントロピー・エンタルピーの補償関係を示す（図10）。この補償関係は化学平衡反応に広く見られ、理論化の試みもある[28]。CDとこはく酸類との相互作用系[29]、染料と水溶性高分子との相互作用系[30]についての報告例が見られる。

ここで用いた系の包接結合はすべて発熱反応であり、そのうえに、C6/CDB、C12/CDG以外では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、空洞内の水分子の放出、染料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。C6/CDB、C12/CDG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、

$$\Delta G = \Delta H - T \cdot \Delta S$$

の関係により、緊密な適合に伴う大きな発熱によって補われるのであろう。

4. 結 語

異なるアルキル鎖長を持つ酸性アゾ染料と α -、 β -、 γ -シクロデキストリン（CD）との相互作用を吸収スペクトルによって調べ、次のことが明らかになった。

1. CDの添加により吸収スペクトルが変化し、その変化量は $C0 < C6 < C12$ の順に大きい。

2. 連続変化法により染料とCDの結合が $n:n$ （等モル比）であることがわかった。CDの濃度を増大した場合の分子吸光係数の変化を $n=1$ の仮定で導いた式を用い、非線形最小二乗法の計算によって良く再現できることを見出し、結合は1:1の包接型であると結論してそのモデルを提唱し、結合定数を求めた。
3. 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. 結合にはアルキル鎖長が影響し、CDの空洞の大きさとの適合性が指摘された。

文 献

1. M. L. Bender and M. Komiyama, "Cyclodextrin Chemistry-Reactivity and Structure", Springer Verlag, 1978; 平井英史, 小宮山真訳, 「シクロデキストリンの化学」, 学会出版センター, p.17, (1983).
2. 竹本喜一, 「包接化合物の化学」, 東京化学同人, p.44, (1969).
3. 中村信之, サイクロデキストリンの製造とその利用; 中村亦夫監修「水溶性高分子3版」, 化学工業社, p.423 (1990).
4. ダイヤモンド社技術情報編集部, 化学と工業, **46**, 1224 (1993).
5. T. Seo, T. Kajihara, and T. Iijima, *Makromol. Chem.*, **191**, 1665 (1990).
6. T. Seo, T. Kajihara, K. Miwa, and T. Iijima, *Makromol. Chem.*, **192**, 2357 (1991).
7. T. Seo, T. Kajihara, and T. Iijima, *Makromol. Chem.*, **188**, 2071 (1987).
8. 桑原宣洋, 屋敷幾雄, 加工技術, **24**, 774 (1989).
9. H.-J. Buschmann, D. Knittel, and E. Schollmeyer, *Melliand Textilber.*, **72**, 198 (1991).
10. 渋谷崇男, 浜寄卓哉, 佐々木路登, 日化誌, **1975**, 2171; 渋谷崇男, 繊維学会予稿集, **1993**, S-243.
11. H.-J. Buschmann, D. Knittel, and E. Schollmeyer, *Melliand Textilber.*, **72**, 1012 (1991).
12. 櫻野悦子, 藤井富美子, 家政誌, **44**, 855 (1993).
13. E. Junquera, G. Tardajos, and E. Aicart, *Langmuir*, **9**, 1213 (1993).
14. K. Harata, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **49**, 1493 (1976).
15. R. L. VanEtten et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **89**, 3242 (1967); *J. Am. Chem. Soc.*, **89**, 3253 (1967).
16. K. M. Tawarah, *Dyes Pigm.*, **19**, 59 (1992).
17. A. Hersey and B. H. Robinson, *J. Chem. Soc., (Faraday Trans. I)*, **80**, 2039 (1984).

18. Y. Matsui and K. Mochida, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **51**, 673 (1978).
 19. R. J. Clarke, J. H. Coates, and S. F. Lincoln, *J. Chem. Soc. (Faraday Trans. I)*, **82**, 2333 (1986).
 20. 須藤幸恵, 飯島俊郎, 繊維学誌, **48**, 481 (1992).
 21. 軽部幸恵, 飯島俊郎, 繊維学誌, **50**, 38 (1994).
 22. 日本学術振興会編, 「新染色加工講座 第3巻」, 共立出版, p.190 (1972).
 23. H. Schlenk and D. M. Sand, *J. Am. Chem. Soc.*, **83**, 2312 (1961).
 24. R. I. Gelb, et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **100**, 3553 (1978).
 25. A. C. Kenneth, "Binding Constants, The Measurement of Molecular Complex Stability", John Wiley & Sons, p.21 (1989).
 26. H. A. Benesi and J. H. Hildebrand, *J. Am. Chem. Soc.*, **71**, 2703 (1949).
 27. K. Miyajima, M. Sawada, and M. Nakagaki, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **56**, 3556 (1983).
 28. H. M. J. Boots and P. H. de Bokx, *J. Phy. Chem.*, **93**, 8240 (1989).
 29. K. Uekama et al., *Chem. Pharm. Bull.*, **23**, 1421 (1975).
 30. K. Hamada, T. Hirano, K. Yamada, and M. Mitsuishi, *Dyes Pigm.*, **22**, 151 (1993).
-