水相におけるスピラベル— β —シクロデキストリン複合体の プロトン核磁気緩和

(1982 年 7 月 7 日 受理)

小原 正明*・小林 裕子

1 緒 言

シクロデキストリンは 6~10 個の α -D-グルコピラノース単位からなる環状オリゴ糖である。X線解析の結果によれば疎水性の分子内孔を有し、水溶液中で有機分子から無機イオンにいたる数多くの化学種をゲストとして取り込み、包接複合体を形成することが知られている¹⁾²⁾。

著者らは、常磁性化学種（スピラベル）の安定ニトロキシドラジカルをゲストとするシクロデキストリン複合体の ESR スペクトルあるいは NMR スペクトルの変動を追跡し、微視的水準でのその複合体の構造とダイナミクスを研究してきた^{3)~5)}。NMR による研究においては⁴⁾⁵⁾、常磁性中心のニトロキシドラジカルの不対電子のスピンのシクロデキストリンのプロトン核スピンの間の相互作用により、スピン-格子緩和時間 T_1 とスピン-スピン緩和時間 T_2 が短くなる結果としてプロトンシグナルの線幅の広がりが観測された。

本研究では、新たに 270 MHz の ^1H -NMR 分光計を用いて、スピラベル添加による β -シクロデキストリン (α -D-グルコピラノース単位 7 個からなる) のプロトン共鳴吸収線の線幅の広がりと T_1 の変動を詳細に追跡した。スピラベルは、ニトロキシドラジカルの 2,2,6,6-テトラメチル-1-ピペリジニルオキシル (以下 TEMPO と略記する) とランタノイド系列の常磁性のガドリニウム(III)イオンを用いた。本報告は、その結果とシクロデキストリンに対するこれらのスピラベルの結合様式や結合部位に関して得た知見を示す。

2 実 験

2.1 試 料

β -シクロデキストリンと TEMPO の試料は引用文献 3) の方

法によって調製、精製ならびに同定確認を行なった。 β -シクロデキストリンは、さらにヒドロキシル基のプロトンを重水溶液の凍結乾燥法により重水素化した。ガドリニウム(III)試料は、硝酸ガドリニウム(III)六水和物 (Merck 社製) を用いた。試薬中の結晶水のプロトンを同様に重水素化した。

2.2 実験方法

一定量の β -シクロデキストリン (5 mg; 4.41 μmol) と種々の量のスピラベル (1 nmol~30 μmol) を含む 1 cm³ の重水溶液を調製した。その後、この溶液試料に内部基準の DSS を加え、直径 5 mm の NMR 測定用のガラス管へ充填した。 ^1H -NMR スペクトルおよび T_1 の測定には、JEOL JNM-FX 270 型分光計 (270 MHz) を用いた。測定にさいしては、試料温度は $25 \pm 1^\circ\text{C}$ にたもち、重水溶媒中に含まれる HDO シグナルを WEFT 法により除いた。また、 T_1 の測定は、 180° - τ - 90° パルス系列法で inversion recovery を観測し、最小二乗法で T_1 値を算出した。

3 結果と考察

β -シクロデキストリンの 270 MHz における ^1H -NMR スペクトルを図 1 に示す。このスペクトルのプロトン共鳴吸収線の帰属は文献値^{6)~8)}に基づいている。

スピラベルの TEMPO およびガドリニウム(III)イオンの添加によって生じる、 β -シクロデキストリンの ^1H -NMR スペクトルの変動をおおの図 2, 3 に示す。

図 2, 3 から明らかなように、2 種類のスピラベルはいずれも、プロトン共鳴吸収線に対していちじるしい「線幅の広がり」効果を引き起こしている。

TEMPO の濃度の増加とともに、H(3) と H(5) に帰属されるプロトンシグナルの線幅の広がりは、H(2) と H(4) のプロトンシグナルにくらべて格段に大きいことが認められる。H(1) のプロトンシグナルの線幅は、高濃度の TEMPO が共存してもわずかな広がりしか認められない。これに反して、ガドリニウム(III)イオン添加の系では、総じて、 β -シクロデキストリンのいずれのプロトンシグナルの線幅も一様に広がるのが認めら

6) P. V. Demarco, A. L. Thakkar, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1970, 2.

7) R. Bergeron, R. Rowan III, *Bioorg. Chem.*, 5, 425 (1976).

8) D. J. Wood, F. E. Hruska, W. Saenger, *J. Am. Chem. Soc.*, 99, 1735(1977).

城西大学薬学部製薬学科, 350-02 坂戸市けやき台

- 1) F. Cramer, "Einschlussverbindungen", Springer-Verlag, Heidelberg (1954) p. 49.
- 2) M. L. Bender, M. Komiyama, "Cyclodextrin Chemistry", Springer-Verlag, Berlin (1978) p. 3, 10.
- 3) M. Ohara, H. Hettler, D. Gauss, F. Cramer, *Bioorg. Chem.*, 8, 211(1979).
- 4) M. Ohara, J. Fukuda, *Carbohydr. Res.*, 105, 154 (1982).
- 5) M. Ohara, "Symposium on Cyclodextrins, Budapest", Proc., D. Reidel Publishing Company, Dordrecht (1982) p. 173.

Fig. 1 The 270 MHz ^1H -NMR spectrum for β -cyclodextrin ($4.41 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ in D_2O)

Fig. 2 TEMPO-induced ^1H -NMR spectral perturbations (at 270 MHz) for β -cyclodextrin ($4.41 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ in D_2O)

(a) : TEMPO $42.7 \mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, (b) : TEMPO $1.28 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$

れる。

つぎに、 β -シクロデキストリン ^1H 核の T_1 に対する TEMPO およびガドリニウム(III)イオンの添加効果をおおのこの図 4, 5 に示す。

図 4, 5 から明らかなように、TEMPO は総じてすべてのプロトン核の T_1 を短くする効果、すなわち、スピン-格子緩和効果を有する。とくに、 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 以下の低濃度では、第一に H(3) のプロトン核が、ついで H(2) のプロトン核が選択的に大きなスピン-格子緩和効果を示す。これに反して、ガドリニウム(III)イオンは、 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 以上の濃度ではいずれのプロトン核に対しても、一様で無選択なスピン-格子緩和効果が認められる。

以上の実験結果に基づいて、水相におけるスピラベルの TEMPO またはガドリニウム(III)イオンと β -シクロデキストリンの相互作用を考察しよう。

TEMPO の常磁性緩和効果⁹⁾は β -シクロデキストリンの特定

Fig. 3 Gd^{III} -induced ^1H -NMR spectral perturbations (at 270 MHz) for β -cyclodextrin ($4.41 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ in D_2O)

(a) : Gd^{III} $52.0 \mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, (b) : Gd^{III} $1.30 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$

Fig. 4 Changes in the proton T_1 -values of β -cyclodextrin ($4.41 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ in D_2O) in the presence of TEMPO

Figures in parentheses : proton numbers (ref. Fig. 1)

のプロトンの H(3) には非常に強く、H(5) および H(2) にはやや強く現われているので、TEMPO の β -シクロデキストリンへの結合部位はプロトン H(3) に非常に近く、H(5) にも近い位置であることが推論される。プロトン H(3) および H(5) はシクロデキストリンの分子内孔に向いているので¹⁾²⁾、TEMPO と β -シクロデキストリンの間には包接複合体の形成が示唆される (結合定数は 30°C でおよそ $2.5 \times 10^2 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{dm}^3$ ⁴⁾)。ガドリニウム(III)イオンの常磁性緩和効果は総じて弱く、特定のプロトンに対して選択性がないので、ガドリニウム(III)イオンの β -シクロデキストリンへの結合は TEMPO にくらべてはるかに

9) 吸収線幅の広がりには、 T_1 と T_2 の寄与があることが知られている。

Fig. 5 Changes in the proton T_1 -values of β -cyclodextrin ($4.41 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ in D_2O) in the presence of gadolinium(III)

Figures in parentheses : proton numbers (ref. Fig. 1)

Special Articles on

Chemistry of Inclusion Phenomena — Note —

Proton Nuclear Magnetic Relaxation of Spin Labeled β -Cyclodextrin Complexes in an Aqueous Phase

Masaaki OHARA* and Yuko KOBAYASHI

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Josai University;
Keyakidai, Sakado-shi 350-02 Japan

The 270 MHz ^1H -NMR spectra and the ^1H spin-lattice relaxation times, T_1 , have been measured for aqueous solutions of β -cyclodextrin incubated with various concentrations of both nitroxide spin label 2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidinyloxy (TEMPO) and paramagnetic metal ion gadolinium(III). Remarkable spectral perturbations and paramagnetic nuclear relaxation effects were induced for some β -cyclodextrin protons by the addition of TEMPO. In contrast, the effect of the added gadolinium(III) on the spectra of β -cyclodextrin was small, probably because of too weak binding of this metal ion to β -cyclodextrin to form the inclusion complexes.

弱く、特定の結合部位を有さないことが推論される。

図 2, 3 の ^1H -NMR スペクトルは、スピンラベルに結合したシクロデキストリンと遊離のシクロデキストリンの重なりである。このことは、二つの状態にある β -シクロデキストリンのプロトンの核スピンの NMR の時間尺度より大きい程度で交換していること、すなわち、スピンラベル- β -シクロデキストリン複合体の形成および解離が迅速に起こっていることを示唆している。

NMR 測定にさいし、種々の協力をしていただいた日本電子株式会社理科学機器本部の鴨 修氏および出口健三氏に感謝致します。