α -, β -, γ -シクロデキストリン固体水和物結晶水の 部 分 モ ル 体 積

(1993 年 4 月 7 日 受 理)

真鍋昌裕*・伊東哲也・河村秀男
幾島賢治†・鍵本久雄††

α -, β -, γ -シクロデキストリン (CD) について, 無水固体に微量の水を順次添加し, CD に水和した結晶水の部分モル体積, $\bar{V}$, を含水モル比, R ($=$ 水/CD) の関数として膨張計法により 25 °C で測定し, 次の結果を得た。1) いずれの CD についても $\bar{V}$ は R の増加にともなって段階的に増加し, 4 種の結晶水が存在することが判明した。すなわち, α -CD については $R=1, 2, 5.6, 6.7$, β -CD では $R=1, 2, 7.5, 11$, γ -CD は $R=6.3, 14$ で特徴的な水和状態が識別できる。 β -CD における $R=1, 2$ は新しく見つかった水和数である。2) CD 分子の空洞の中央に位置すると言われている二つの水分子も区別でき, それぞれの $\bar{V}$ 値は CD の種類に依存しない。3) 第 3 種の結晶水について R ($=$ 約 6) はあまり変化しないが, $\bar{V}$ 値は CD の分子量の増加にともなって増大する。4) 第 4 種の結晶水では CD の分子量の増加にともなって R も $\bar{V}$ も増加する。以上の結果をこれまでに報告されている X 線測定の結果などと比較して水和状態を考察した。

1 緒 言

シクロデキストリン (CD) はいくつかの D-グルコピラノース (GP) 単位が (1 $\rightarrow$ 4)- α -グリコシド結合で結ばれた環状化合物であり, その内側は疎水的で, 外側は多くのヒドロキシル基によって親水性を持っている。このため, CD は水溶液中で各種の物質をゲストとした包接化合物を形成することが知られている¹⁾²⁾。この錯体形成の推進力の一つとして CD 分子の水和状態の変化が考えられる。したがって CD 分子自身の水和状態は包接錯体形成機構を明らかにするための重要な知見を与える。

真鍋らはこれまで, 無機塩³⁾, イオン性界面活性剤⁴⁾, 酵素⁵⁾, 高分子電解質⁶⁾などの固体水和物の体積的挙動を研究し, 水和状態によって水和水の部分モル体積が様々に変化することを報告した。そこで, 本研究では特異な分子構造を持ち多くのヒドロキシル基を有する CD 結晶について結晶水の部分モル体積から水和状態を調べることを試みた。

2 実 験

2.1 試料

α -, β -, γ -シクロデキストリン (CD) は東京化成から購入したものを 110 °C で約 1 日間真空乾燥して恒量になったことを確認して使用した。水はイオン交換樹脂で脱イオンした後蒸留した。ドデカン (東京化成) は減圧蒸留した。

2.2 部分モル体積測定

固体状 CD に水和した水の部分モル体積は以前の研究⁷⁾と同様な膨張計法で行った。測定に用いた膨張計は図 1 に示すようにサンプル液注入口が付いたパイレックスガラス製のセルと均一毛管から成る。注入口はシリコンゴム栓とフッ素ゴム板でシールした。セル内に所定量の CD の結晶を秤り込み, ドデカンでセル内を満たし, 減圧下で脱気した。測定温度は 25.0 $\pm$ 1/1000 °C である。毛管内の液面の高さを読み取り顕微鏡で測定した。無水状態において系の体積が一定になるには 3~25 日を要した。体積が一定になった後, 微量 (約 40 mg) の水を順次添加し, 3 日から 45 日を経てそれぞれの含水状態での水の部分モル体積の平衡値を得た。水の部分モル体積 ($\bar{V} = \Delta V / \Delta n$) は水の注入モル数 (Δn) とその際の体積変化 (ΔV) から決定した。

新居浜工業高等専門学校工業化学科, 792 新居浜市八雲町 7-1

† 東京工業大学生命理工学部生物工学科 227 横浜市緑区長津田町 4259

†† 三栄源エフエフアイ株式会社 561 豊中市三和町 1-1-11

1) M. L. Bender, M. Komiyama 著, “シクロデキストリンの化学”, 平井英史, 小宮山真志訳, 学会出版センター (1979).

2) J. Szejtli, “Cyclodextrin Technology”, Kluwer Academic Publishers (1988).

3) 真鍋昌裕, 河村秀男, 泉 高俊, 本宮恭一, 徳永 進, 第 9 回溶液化学シンポジウム講演要旨集, (名古屋) p. 12 (1986).

4) 真鍋昌裕, 河村秀男, 徳永 進, 第 40 回コロイドおよび界面化学討論会講演要旨集, (京都) p. 296 (1987).

5) M. Manabe, S. Adachi, T. Watanabe, H. Kawamura, *Agric. Biol. Chem.*, **53**, 571 (1989).

6) M. Manabe, T. Ito, H. Kawamura, T. Kinugasa, K. Watanabe, H. Kagimoto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **65**, 2319 (1992).

Fig. 1 Dilatometer

A : Datum line, B : Uniform capillary (ca. 1.8 ϕ and 20 cm long), C : Metal fitting, D : Injection aperture, E : Silicone rubber, F : Thin fluorinated rubber, G : Magnetic bar
Volume of cell is 15~45 cm³.

3 結果と考察

3.1 固体状態での水和

CD 結晶水の $\bar{V}$ を測定するための体積媒体としてドデカンを使ったのは、ドデカンは非極性で疎水的であり、親水性の強い CD との親和性が弱いこと、沸点が高くして長時間の測定の間の蒸発量が無視できること、そして CD 結晶よりも密度が小さくて CD 結晶が沈殿することなどの理由による。

α -, β -, γ -CD 系において得られた $\bar{V}$ を CD に対する水のモル比, $R=(\text{水}/\text{CD})$, に対して図 2, 3, 4 にそれぞれプロットした。いずれの系においても 3 回の測定値をいっしょにまとめてプロットした。CD が結晶状態にある含水領域では R の増加にともなって $\bar{V}$ は段階的に 4 段階で増加する。この結果はエネルギー的に異なる 4 種の水和状態が、より安定な状態から順次現れることを意味する。含水量が増して CD のゲル化が始まる (この R を R_g と表す) と $\bar{V}$ は大きな極大値から小さな極小値を経て純水のモル体積 ($V_0=18.02 \text{ cm}^3 \text{ mol}^{-1}$)⁷⁾ に漸近的に増加する傾向がある。 R_g 以下での結晶状態において不連続的に $\bar{V}$ が上昇する R を低含水比から順に R_1 , R_2 , R_3 とし, R_g の値もいっしょに表 1 にまとめる。また、各領域での $\bar{V}$ の平均値を順に $\bar{V}_1$, $\bar{V}_2$, $\bar{V}_3$, $\bar{V}_4$ と表し、それらの値を表 2 に示す。

おおよその平衡到達時間は, $\bar{V}$ が一定値を与える領域では, α -CD では 3~4 日, β -, γ -CD では 1 週間程度であり, $\bar{V}$ が急上昇する過渡領域では, α -CD では 7~10 日, β -, γ -CD では 10~20 日を要した。なお, γ -CD の R_3 - R_g の領域では 1~2 日であった。Nakai ら⁸⁾は CD 結晶に対する水蒸気の吸脱着の研究において α -CD では可逆的に起こるが, β -CD ではヒステリシス

Table 1 Characteristic hydration number for solid hydrate of α -, β -, and γ -cyclodextrin at 25 °C

	Hydration molar ratio ^{a)}					Ref.
	R_1	R_2	R_3'	R_3	R_g	
α -CD	1	2		5.6	6.7	(9, 10, 11)
		2			6	
β -CD	1	2	4.4	7.5	11.0	(12)
				6.13	11	(13)
				7.3	12	(13)
				6.3	11	(13)
γ -CD		2		6.3	14	(15)
				5.3	13.3	(8)
				7	17	(14)

a) $R=\text{water}/\text{CD}$.

Table 2 Partial molar volume of crystalline water for α -, β -, γ -cyclodextrin solid hydrate at 25 °C

	$\bar{V}/\text{cm}^3 \text{ mol}^{-1}$			
	$\bar{V}_1$	$\bar{V}_2$	$\bar{V}_3$	$\bar{V}_4$
α -CD	2.834	5.519	9.829	11.96
β -CD	2.536	5.123	12.74	15.32
γ -CD			13.84	16.72

を示すと報告している。彼らの結果は本測定において β -CD 系での平衡到達時間が長いことと一致する。さらに, β -CD 系 (図 3) においてのみ $\bar{V}$ がほぼ直線的に増加する傾向が R_2 と R_3 の間で認められる ($\bar{V}$ が上昇して一定値に達する R を R_3' とする)。先のヒステリシス現象⁸⁾を考慮すると R_2 ~ R_3' の領域での $\bar{V}$ は平衡値ではないと推測される。したがって, さらに長時間の測定を続ければ β -CD 系でも $\bar{V}$ は R_2 で $\bar{V}_3$ まで非連続的に上昇すると解釈するのが妥当であろう。

Saenger らのグループ^{9)~15)}や Harata¹⁶⁾は主に X 線回折法によって水溶液から再結晶して得た CD 固体水和物についていくつかの特徴的な水和水の水和位置と水和数を決定した。再結晶して得られた水和物の最大水和数はゲル化が始まる R_g に相当する

- 8) Y. Nakai, K. Tamamoto, K. Terada, A. Kajiyama, I. Sasaki, *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 2178(1986).
- 9) P. C. Manor, W. Saenger, *Nature*, **237**, 392(1972).
- 10) P. C. Manor, W. Saenger, *J. Am. Chem. Soc.*, **96**, 3630(1974).
- 11) W. Saenger, *Nature*, **279**, 343(1979).
- 12) C. Betzel, W. Saenger, B. E. Hingerty, G. M. Brown, *J. Am. Chem. Soc.*, **106**, 7545(1984).
- 13) 藤原隆二, 山崎真利, 戸水由貴子, 徳岡良二, 富田研一, 松男隆祐, 菅 宏, Wolfran Saenger, 日化, 1983, 181.
- 14) W. Sanger, Ch. Betzel, V. Zabel, G. M. Brown, B. E. Hingerty, B. Lesyng, S. A. Mason, *Proc. Int. Symp. Biolol., Struct. Interactions, Suppl. J. Biosci.*, **8**, 437(1985).
- 15) K. Harata, *Chem. Lett.*, 1984, 641.
- 16) 未発表.

7) 日本化学会編, “化学便覧(基礎編 II)”, 丸善(1966)p. 432.

Fig. 2 The dependence of $\bar{V}$ (partial molar volume of hydrated water) on molar ratio, R (=water/CD) for α -CD at 25 °C

R_1 , R_2 , R_3 , and R_g , see in text. V_0 is molar volume of liquid water. Arrow in upper side indicates reported hydration number listed in Table 1

Fig. 3 The dependence of $\bar{V}$ on R for β -CD at 25 °C

Arrow in upper side indicates reported hydration number listed in Table 1

ことを基準にして文献値の水和数を分類し表1に示す。それらの研究によるとある数の水分子はCD分子の空洞内に水和し、残りの水分子は空洞外すなわちCD分子間に位置する。

表1, 2の特徴的な R および $\bar{V}$ 値のCDの種類との関係をそれぞれ図5, 6に示す。また表1に示した水和数の文献値も図5にプロットした。図中の文献値はCD分子の空洞内の水和水と空洞外の水和水と区別して示した。X線測定⁹⁾¹⁰⁾によると α -CD分子の空洞内のほぼ中央に2分子の水が位置する。 R_1 , R_2 における水和水はこれに対応する。そして、体積的挙動からこの2分子を識別することができるので、エネルギー的に両者は異なることがわかる。 α -, β -CDの $\bar{V}_1$, $\bar{V}_2$ の値は非常に低い。これはCD分子の空洞内に侵入型で水分子が取り込まれることを示唆する。しかし $\bar{V}_1$, $\bar{V}_2$ 値は低いゼロではないことから空洞内への完全な侵入型の水和ではなくて水和にともなうCD分子の何らかの

コンフォメーション変化が起こると考えられる。さらに α -CDと β -CDの $\bar{V}_1$ と $\bar{V}_2$ はそれぞれ一致する(図6)ことから空洞内での侵入型水和という解釈が妥当であろう。図2と図3の R_2 以下での体積的挙動が類似していることから β -CD系でも α -CD系の2分子の水和水に相当する水和状態が存在すると推察されるが、著者らの知る限りでは β -CD系について R_1 , R_2 に相当する水和数は未だ報告されていない。図4から、 γ -CDでは $R < 2$ の領域のデータ不足のため明確ではないが他のCD系と同様に R_2 (=2)が存在すると解釈してもよいだろう。さらに R_1 (=1)の存在も十分に可能性がある。

R_3 と $\bar{V}_3$ については次のように考察する。 β -, γ -CDの R_3 値はX線回折^{12)~15)}によるとCD分子の空洞内に位置するとされている水和数と比較できる。図5に示すように R_3 はGP単位数に対する依存性は小さく、 β -CD系で小さな最大値を示す。この含

Fig. 4 The dependence of $\bar{V}$ on R for γ -CD at 25°C

Arrow in upper side indicates reported hydration number listed in Table 1

Fig. 5 The correlation between characteristic R and the kind of CD

Small circle indicates literature value shown in Table 1 where closed and open circles represent location of the hydrated water inside and outside of cavity of CD molecule, respectively

水領域での水和数の文献値は R_3 と比較してほぼ ± 1 の差の範囲に点在しており、この差異を詳しく論じることは難しい。そこで、 R_3 は、相当する文献値も考慮して、 $R_3=6$ 程度で CD の種類に依存しないと見なすと、空洞内の水和数は CD の種類によって変化しないが空洞サイズの増加にともなって水分子当たりの体積、 $\bar{V}_3$ は増加する (図 6) ことになる。それぞれの CD において $\bar{V}_3$ は $\bar{V}_1$ や $\bar{V}_2$ よりもかなり高い。これは、 R_3 以下では空洞内での水和とすると $R_2 \sim R_3$ の領域での水和は R_2 以下のような単純な侵入型の水和ではなくて、空洞内への水和が飽和すると

Fig. 6 The correlation between $\bar{V}$ for characteristic hydration water and the kind of CD

V_0 indicates molar volume of liquid water

CD 分子のコンフォメーションが大きく変化するためであろう。X線測定の結果^{9)~11)}では、 β -, γ -CD とは違って、 α -CD 系では $R_1=2$ より上の 4 個の水分子 ($R_2 \sim R_3$ に相当) は空洞外に水和するとしている。しかし同じく X線測定により β -, γ -CD 系の R_3 以下では空洞内の水和水だとされており⁸⁾¹²⁾¹³⁾¹⁵⁾、体積的挙動 (図 5, 6) からは α -CD 系だけが特異だとは認められない。

R_g は GP 単位の増加にともなってほぼ直線的に増加する (図 5)。この勾配 ($=3.7/\text{GP}$) は CD 分子のヒドロキシル基あたり約 1 分子の水が水和することになる。 β -, γ -CD に関して R_g に相当する水和数の文献値と妥当な一致をしている。 $R_3 \sim R_g$ 間に相当する水和水は空洞外すなわち CD 分子間に位置するとさ

れている¹²⁾⁻¹⁵⁾。 α -CD では R_3 と R_g を区別した報告は見当たらない。したがって前述の Saenger ら⁹⁾⁻¹¹⁾による α -CD 系の $R=6$ (表1) という値は R_3 と R_g の差が小さいために両者の水和状態が識別されていないのであろう。

それぞれの CD について, $\bar{V}_4$ は $\bar{V}_3$ よりも高く, 3種の $\bar{V}_4$ の平均値は $14.4 \text{ cm}^3 \text{ mol}^{-1}$ である。著者らは単糖類のブドウ糖について同様の方法で固体水和水の $\bar{V}$ を測定して $R < 0.4$ の範囲で $14.4 \text{ cm}^3 \text{ mol}^{-1}$ の一定値を得た¹⁶⁾。両者はよく一致することから $\bar{V}_4$ は CD 分子の空洞外のヒドロキシル基に水和した水の体積を表すと考えられる。この解釈はX線測定の結果と一致する。そして $\bar{V}_4$ および R_g が CD の種類に大きく依存するのは, CD 分子間に水和した水分子が CD 結晶格子間隔を広げるためと推察される。

3.2 ゲル状態での水和

R_g 以上の含水領域ではいずれの CD 系でも含水率の増加にもなって CD は次第にゲル化する。 R が高くなるにつれて $\bar{V}$ は大きな極大値から小さな極小値を経て V_0 に向かって漸的に増加する (図2参照)。この漸的な変化は CD 分子のヒドロキシル基への水和ではなくてその水和水への水和すなわち自由水生成を意味する。 R_g を越えたすぐ上の領域では $\bar{V}$ の時間変化が異常な挙動を示した。他の領域では時間とともに単調な変化をするのに対して, この領域では極小値を経て大きな極大値が現れ, しかもその最大値が V_0 よりもはるかに高い値を示すことがある。この原因としては体積媒体のドデカンが次のようないくつかの過程で複雑に関与していると考えられる。 R_g 以上で水を順次添加すると結

晶が添加した水に溶解し, その CD 分子がドデカンを包接し, 同時に空洞内の水和水と置換し, 低い $\bar{V}$ を持つ空洞内水和水が V_0 の自由水に変わり CD 分子のコンフォメーションが変化する。また, α -CD 系において水に対する CD の溶解度 ($127 \text{ mg CD/gH}_2\text{O}^{20}$: $R=425$) を越えて $R=700$ まで水を添加しても CD は溶解しないで粘性の高いゲル状になり水相の分離も観察されなかった。さらに, β -CD の希薄水溶液 (5 mmol kg^{-1}) に微量のドデカンを添加する (1 mmol kg^{-1}) と CD の沈殿を生じた¹⁷⁾。両者の観察結果から, R_g 以上の含水領域で生成するドデカン包接錯体は水に溶解しないで, 上記のいくつかの素過程が時間的に複雑に関連して $\bar{V}$ の極大, 極小値 (図2~4) が現れたものと思われる。この領域での平衡値を得るには長時間を要するのに対して, 極小値が現れる R 以上の含水領域では速やか ($1 \sim 2$ 日) に $\bar{V}$ は平衡値に達した。これは包接錯体形成が完結したためかもしれない。

γ -CD では $R=17, 18$ (表1) という高い水和数が報告されているが体積的挙動 (図4) にはこの領域には特別な変化は観察されない。

以上のことから, R_g 以上では体積媒体として用いたドデカンが $\bar{V}$ に関与するが R_g 以下の水和結晶生成領域では体積的挙動の考察にドデカンの存在を無視しても本質的な間違いはないと考えられる。また, 文献によって特異的な水和数にばらつきがあるのは安定な CD 固体水和物を生成するまでに非常に長時間を要することが主な原因であろう。

17) 未発表。

Partial Molar Volume of Crystalline Water in Solid Hydrate of α -, β -, and γ -Cyclodextrin

Masahiro MANABE*, Tetsuya ITO, Hideo KAWAMURA,
Kenji IKUSIMA[†] and Hisao KAGIMOTO^{††}

*Department of Industrial Chemistry, Niihama National College of Technology;
Yagumo-cho 7-1, Niihama-shi 792 Japan*

[†] *Department of Bioengineering, Tokyo Institute of Technology; Nagatuta-cho
4259, Midori-ku, Yokohama-shi 227 Japan*

^{††} *SAN-EIGEN FFI Co., Ltd, Department of R & D; Sanwa-cho 1-1,
Toyonaka-shi 561 Japan*

For the solid hydrates of α -, β -, and γ -cyclodextrin (CD)s, the partial molar volume ($\bar{V}$) of their water of crystallization was determined at 25°C by dilatometry as a function of water molar ratio R (=water/CD). The results obtained are as follows. 1) For every CD, $\bar{V}$ increases stepwise at $R=1, 2, 5.6, 6.7$ (α -CD), $R=1, 2, 7.5, 11$ (β -CD), and $R=6.3, 14$ (γ -CD) with increasing R , which gives the existence of 4 kinds of hydrated waters. Where, the water at $R=1$ and 2 for β -CD was first found in this research. 2) On measurement, two water molecules located at the center of cavity of a CD molecule can be volumetrically identified and the $\bar{V}$ of each hydrated water has no dependence on the molecular weight of CD (M_{CD}). 3) With the 3rd hydrated water, R (=ca. 6) depends little but $\bar{V}$ depends on M_{CD} . 4) As for the fourth water, both R and $\bar{V}$ depend on M_{CD} . The hydration states of these water have been discussed by comparing the present results with literature data obtained by X-ray measurements.