

博士学位論文

分子構造および包接特性調節を目的とした
シクロデキストリンの化学修飾；
親水性基と疎水性基のバランス依存性

平成 25 年 9 月

東京工芸大学大学院工学研究科
工業化学専攻

藤原 章司

目次

第一章 序論

1-1 生体分子	…1
1-2 糖鎖	…2
1-3 シクロデキストリン	…4
1-4 糖修飾シクロデキストリン	…7
1-5 本研究の目的	…9

第二章 親水性-疎水性ハイブリッド修飾基の合成

2-1 親水性-疎水性ハイブリッド修飾基設計と合成経路	…10
2-2 親水性-疎水性ハイブリッド修飾基の合成	…11
2-3 生成物の同定	…13

第三章 二級位モノアミノシクロデキストリンの構造解析

3-1 ^1H および ^{13}C NMR の帰属	…20
3-2 二級位モノアミノシクロデキストリン環の構造	…26

第四章 二級位疎水性基修飾シクロデキストリンの合成と構造解析

4-1 二級位疎水性基修飾シクロデキストリンの合成	…32
4-2 分子構造解析	
4-2-1 ^1H NMR スペクトル	…34
4-2-2 スペクトルの濃度依存性	…35
4-2-3 Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy (NOESY) スペクトル	…38
4-2-4 円偏光二色性による分子構造解析	…44

第五章 二級位糖修飾シクロデキストリンの合成と構造解析

5-1 二級位糖修飾シクロデキストリンの合成	…46
5-2 分子構造解析	
5-2-1 NMR スペクトル	
5-2-1-1 ^1H NMR スペクトル	…47
5-2-1-2 Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy (NOESY) スペクトル	…49

5-2-2	表面プラズモン共鳴光学バイオセンサー法	…50
5-2-3	NMR と SPR の結果に基づく分子構造	…51
第六章 糖-疎水性基修飾シクロデキストリンの合成と分子特性		
6-1	エーテル結合型一級位糖修飾シクロデキストリンの合成	…54
6-2	分子構造解析	
6-2-1	NMR スペクトル	
6-2-1-1	^1H NMR スペクトル	…55
6-2-1-2	スペクトルの濃度依存性	…55
6-2-2	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy (NOESY)スペクトル	…57
6-2-3	円偏光二色性による分子構造解析	…58
6-3	エーテル結合型一級位糖修飾シクロデキストリンの分子特性	…58
第七章 α -1,4 および α -1,6 グリコシド結合に起因する 大環状構造の相違;シクロデキストランの分子構造と特性		
7-1	Per- <i>O</i> -Bn-シクロデキストランの合成	…60
7-2	NMR スペクトル	
7-2-1	^1H NMR スペクトル	…62
7-2-2	^{13}C NMR スペクトル	…65
7-2-3	緩和時間(T_1)	…66
7-3	シクロデキストランの分子特性	…68
第八章 総括		
…73		
実験		
…76		
参考文献		
…95		
業績一覧		
…98		
謝辞		
…103		

第一章 序論

1-1 生体分子

生体分子は水素結合をはじめとする多点多重非共有結合により自己組織化し、高次機能を発現している。アミノ酸側鎖や主鎖における原子間相互作用がなければタンパク質鎖は構造を維持し、機能を発現することができない。具体的には二次構造 α -ヘリックスにおいて、各カルボニル酸素が 3.6 残基離れたアミノ酸残基のアミド基と水素結合を形成し安定化している。側鎖構造により、この水素結合の安定性が変わると、コイルやシート構造をとる。さらにヘリックス構造は全体として疎水性であり、その疎水性相互作用が三次構造に影響している事は周知である。また DNA の相補的ニ重らせん構造保持力はヌクレオチド核酸塩基の複数のアミノ-カルボニル基間水素結合が主であるが、ヌクレオチドの疎水性基（プリンあるいはピリミジン基）の π - π スタッキング相互作用、分子表面における親水性の糖とリン酸基の配位も協同して構造の安定性に寄与している。このように生体は水素結合形成と疎水性基が巧妙に組み合わさって 1 本のリボン状分子が複雑な構造を形成し、機能を発現しているのである¹⁾。

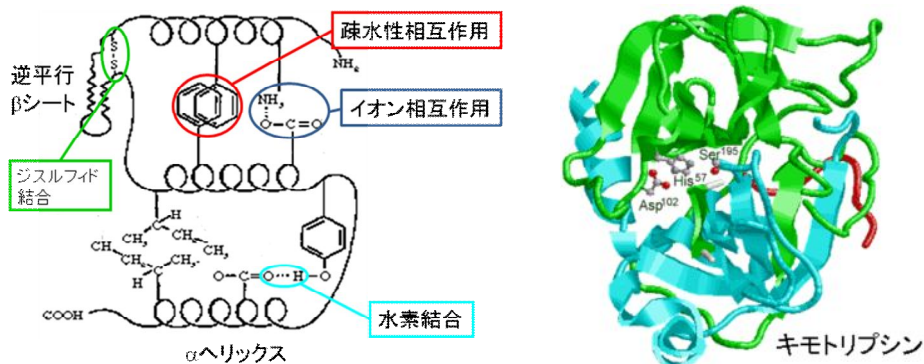


Figure 1-1-1. Three-dimensional structure of protein.

1-2 糖鎖

糖はエネルギー源として生命維持に欠かせないが、それ以外にも重要な生体機能を担っている。例えば、多糖は微生物や植物において細胞壁として構造維持体として機能している。数個の重合体であるオリゴ糖はタンパク質や脂質と結合した複合糖質として含まれ、これら複合糖質の糖部分が糖鎖と呼ばれる。糖鎖は核酸鎖・タンパク質鎖について、第三の生命鎖ともいわれ生体を構成する3つの鎖のひとつである。さらにDNAやタンパク質では単位構造であるヌクレオチドやアミノ酸は分岐をもちず一列構造であるのに対し、グリコシド結合は分岐をもち複雑である (Figure 1-2-1)。しかもその構造はタンパク質やDNAのように単位ユニットによって一義的に決まるものではない。分岐構造と水酸基に起因する親水性が糖の特質である。

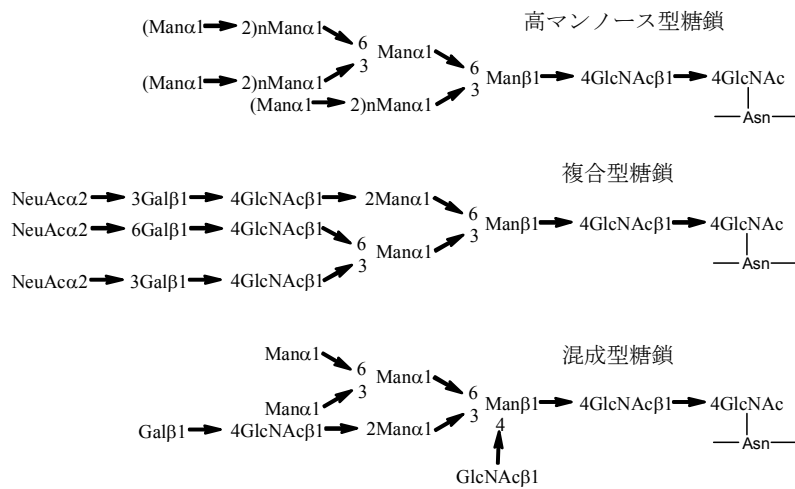


Figure 1-2-1. Structure of sugar chain.

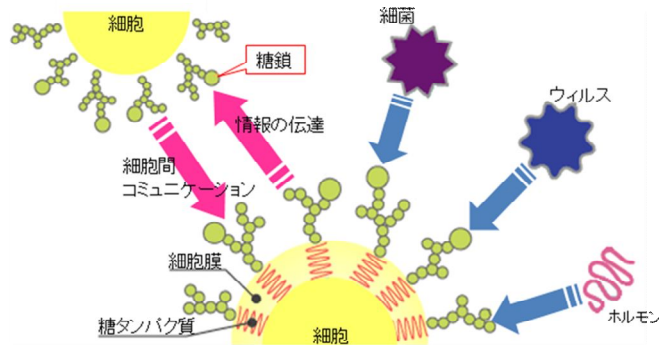


Figure 1-2-2. Recognition of sugar chain on cell surface.

全ての細胞は複合糖質で覆われており、糖鎖は細胞の最外層をなす。糖鎖は多細胞生物の体内および対外からの様々な因子と分子レベルで相互作用する (Figure 1-2-2)。その結果、精微な細胞認識の基礎となっている。様々な疾患に伴い細胞や組織の糖鎖構造が変化することは知られており、例えばほとんど全てのガン細胞で細胞膜の糖鎖異常の現象が生じることや、発生や分化の過程でも糖鎖構造が劇的に変化することが報告されている^{2,3)}。つまり細胞表面の細胞社会の基本的な現象、すなわち細胞間の認識、相互作用あるいは接着などの過程を担っているのは糖鎖であり、糖タンパク質や糖脂質がシグナル分子として働いている。細胞膜はモザイクモデルで示される脂質二重層であり、疎水性環境に近接して水素結合などの多点多重結合が働いている。しかし、糖鎖自体は細胞レベルでの相互作用解析には複雑すぎる。より単純な分子で疎水性相互作用と水素結合を組み合わせる分子構造を解析する分子系を構築する必要がある。

1-3 シクロデキストリン

シクロデキストリン(CyD)は D-グルコースが α -1,4 結合で環状に結合した環状オリゴ糖で、グルコース単位が 6 糖からなるものが α -CyD、7 糖からなるものが β -CyD、8 糖からなるものが γ -CyD と呼ばれている。CyD 空洞の内径は α -CyD で 0.57nm、 β -CyD で 0.78nm、 γ -CyD で 0.95nm であり、空洞の深さはいずれも 0.78nm である。空洞の狭い縁側にグルコース残基の 6 位の第一級水酸基が、広い縁側には 2、3 位の第二級水酸基が存在している (Figure 1-3-1)。中央の CyD 空洞の大きさに応じて、疎水性相互作用を主な駆動力として芳香族などの有機化合物をゲスト分子として取り込み、包接に伴うゲスト分子の安定性や水溶性の向上が、食品や医療、最近では機能性材料など、様々な分野に展開されている⁴⁾。

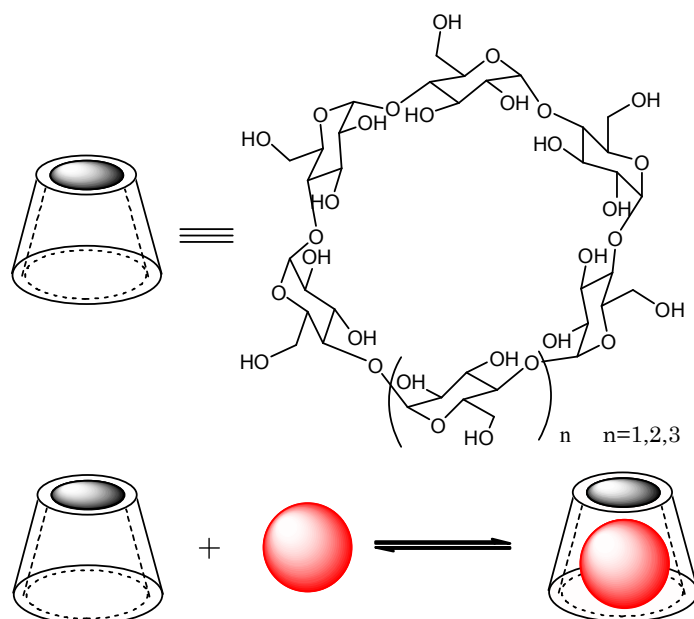


Figure 1-3-1. Molecular structure of cyclodextrin and its host-guest phenomenon.

CyD への疎水性分子の導入は、水溶液中での新たな機能発現が期待される超分子構造体の基盤として重要であり、導入した修飾基の分子内もしくは分子間包接に伴う分子センサー⁵⁻⁸⁾、選択的反応場としての分子フラスコ⁹⁻¹³⁾やロタキサン¹⁴⁻¹⁸⁾、超分子ポリマー¹⁹⁻²³⁾などの様々な超分子構造を示す。

ゲスト分子修飾 CyD の分子構造と機能は、修飾した疎水性基の種類、形状、大きさや、アームの長さや柔軟性に依存する。換言すると、修飾基とバルク溶媒、空洞内部、空洞縁との相互作用のバランスが、超分子構造を決定している。当研究室ではアミノ酸を用い、アームの長さが最小 3 原子から最大 22 原子数のゲスト修飾 CyD を合成し、その宿主空間と分子認識能について報告してきた (Table 1-3-1、Figure 1-3-2)。これまでにアミノ基がカルボベンゾキシ基 (Cbz 基) または *t*-ブトキシカルボニル基 (Boc 基) で保護されたグリシン (Gly) やチロシン (Tyr)、フェニルアラニン (Phe) を修飾させた CyD の分子構造を NMR、円偏光二色性 (CD) スペクトルなどを用いて決定している。Tyr を修飾した CyD では D, L 体ともにキャップ型の包接体をとる。これはフェニル基の水酸基と CyD の 6 位の水酸基プロトン間の相互作用に起因している。Phe を修飾した CyD では D, L 体ともに深い分子間包接を形成する。また、Phe のフェニル基の 4 位の部分にフッ素がついたものでは CyD の 6 位のプロトンとフッ素が相互作用をしないため自己包接されず空洞外部に存在し、分子間タイプの包接体を形成する。一方、脂肪族炭化水素である Boc 基を持ったゲストを修飾した CyD は分子間包接体を形成する傾向にある。このように多様な分子構造を形成するが、これらの一級位ゲスト修飾 CyD は難水溶性の場合が多く、CyD の機能を制限している。高水溶性のゲスト分子修飾 CyD の合成が希求されている。

Table 1-3-1. Structure of amino acid modified CyD.

Substituted		Conformation
formylPhe	D	intra / inside
formylPhe	L	intra / inside
ZPhe	L	intra / outside
Phe	L	intra / inside
BocPhe	L	inter
PheGly	D	intra / outside
PheGly	L	intra / outside
Tyr	D	intra / outside
Tyr	L	intra / outside
TyrGly	L	intra / inside
Z(Gly)n	n = 0,1	intra / outside
Z(Gly)n	n = 2,3,4,5,6	intra / inside
Boc(Gly)n	n = 0,1	inter
Boc(Gly)n	n = 2	intra / inside
Z(Ala)n	n = 0,1	intra / outside
Z(Ala)n	n = 2,3	intra / inside
BocTrp	L	inter

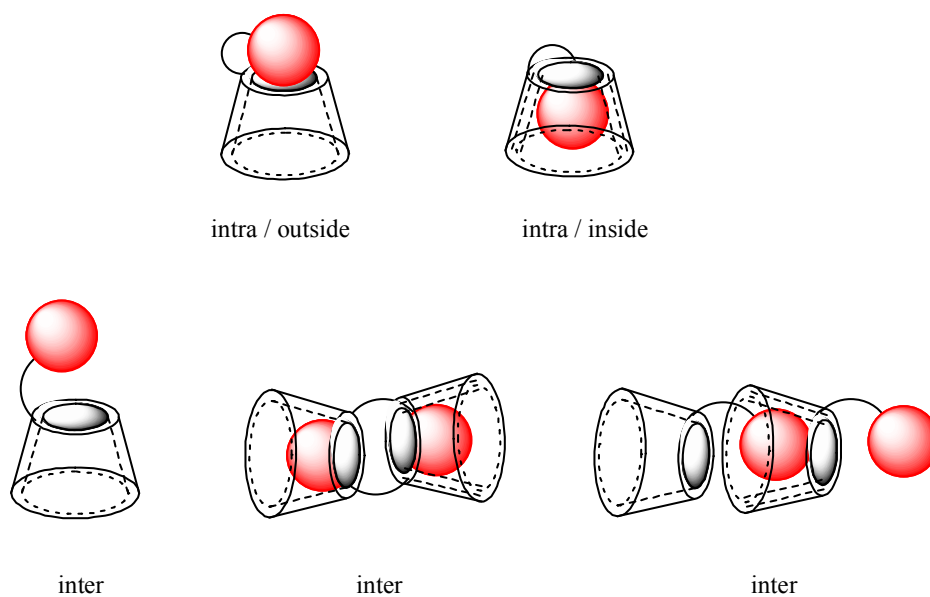


Figure 1-3-2. Structure of various intra- or intermolecular complexes.

1-4 糖修飾シクロデキストリン

CyD は中央の空洞サイズに応じたゲスト分子を包接することで、ゲスト分子の水溶性や安定性が向上し、食品や医療などの様々な分野で用いられている。CyD は水への溶解性が非常に低く、特に β -CyD の溶解性が低い。水溶性向上を意図して、水酸基のメチル化やヒドロキシプロピル化、糖修飾が発展してきた。これらは多置換ランダム修飾である。糖修飾 CyD は糖転移酵素を用いて合成され、 α -1,6 結合でグルコシル基、マルトシル基、マルトオリゴシル基が 1~3 結合した構造の分岐 CyD として知られている。谷本らはグルコース (Glc)、ガラクトース (Gal) およびマンノース (Man) などを CyD に修飾した糖修飾 CyD (Figure 1-4-1) を用いて溶血作用の減少や難水溶性ゲスト分子の可溶化を実現している^{24, 25)}。糖修飾にはもう 1 つの機能が期待されている。それは細胞認識である。細胞間の認識および細胞の化学物質認識の対象は糖である。例えばガラクトースは肝細胞標的性があり、グルコースやマンノースはレクチンであるコンカナバリン A (Con. A) を特異的に認識することが知られている。従って CyD の外部へ糖を修飾すれば標的薬物送達システムの実現が期待できる。化学的糖修飾は多段階合成が必要で、全体として低収率となるため報告は少ない。しかしながら天然の糖以上の機能を期待し、糖と CyD の結合部分に疎水性基やフレキシブルな長鎖を導入した CyD がいくつか報告されている²⁶⁾。親水性である糖と、疎水性官能基が組み合わさったハイブリッド型修飾 CyD と分類できる。ヒドロキノニルグルコースであるアルブチン修飾 CyD (Figure 1-4-2) は高い水溶性を有し、ヒドロキノン部が疎水性相互作用で CyD 空洞上部に位置した cap 型構造をとり、疎水性環境を増幅した。その結果、制がん剤ドキシソルビシン (DXR) との高い会合定数を示し、さらにグルコース部分が Con. A と特異的な結合をし、標的薬物送達システムへの展開が期待されている²⁷⁾。さらに、糖の認識能力を有効に利用する目的で長い脂肪鎖を介し、一級側水酸基をすべて修飾した CyD も報告されている (Table 1-4-1)。以上、糖修飾 CyD は高水溶性のみならず、溶血活性が低く、分子認識、細胞認識を発現し、多機能特性を持つ素材として応用展開がさらに期待される。

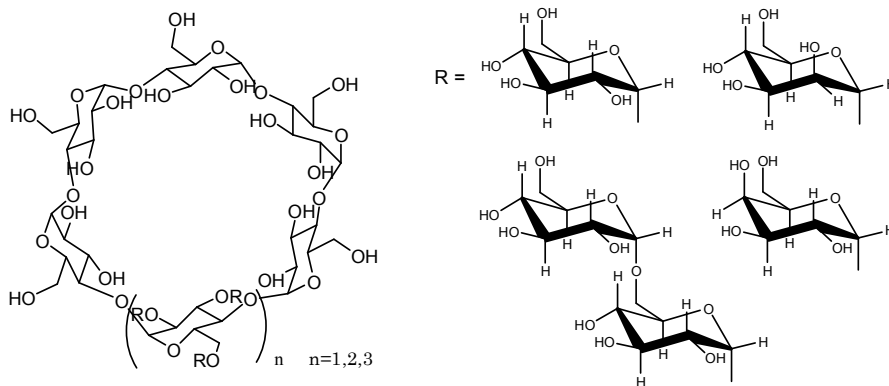


Figure 1-4-1. Branched sugar modified CyDs.

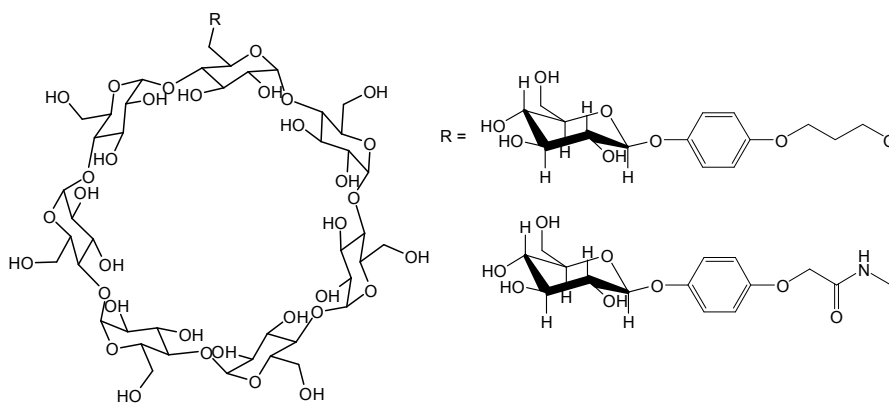


Figure 1-4-2. Arbutin modified CyDs.

Table 1-4-1. Various sugar modified CyDs.

	CyD	結合タイプ	置換度	6-, 2-, 3-	酵素
単糖修飾型					
マルトシル - CyD	β-	α-グリコシド*	di	6-	プルラーゼ*
グリコシル - CyD	β-	α-グリコシド*	mono	6-	CGTase
マンノシル - CyD	α-, β-, γ-	α-グリコシド*	mono	6	マンノシターゼ*
ガラクトース - 分岐CyD	α-, β-	α-グリコシド*	mono	6-, 2-	ガラクトシターゼ*
糖鎖修飾型					
	β-			6-	non
ハイブリッド型					
β-アルブチンCyD	β-	アミド	mono, di	6-	non
	β-	エーテル	mono, di	6-	non
	β-	トリアゾール環	hepta	6-	non
アミノ糖修飾CyD	β-	アミド	mono	6-	non

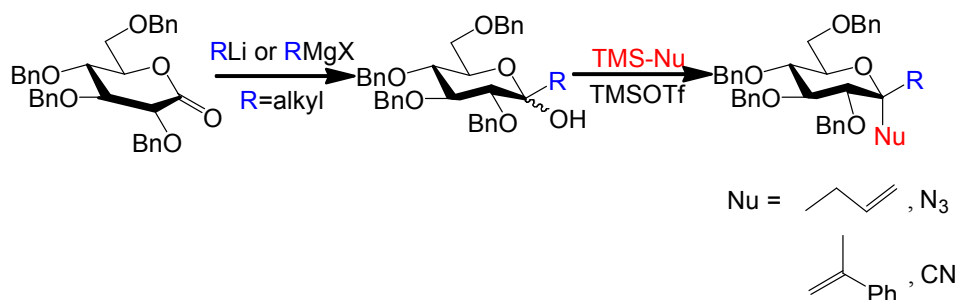
1-5 本研究の目的

CyD は規則的に複数の水酸基が存在し、一級水酸基側と二級水酸基側が異なる縁に存在する。親水性-疎水性の差異がある疎水性相互作用と水素結合の組み合わせを検討する雛型として最適である。本研究では、親水性-疎水性のバランスを考慮した化学修飾 CyD の設計・合成と構造解析を行うことを目的としている。さらに構造と機能の相関を探索することを意図している。親水性基は発色団を伴う疎水性基に比べ、分光活性が小さく情報が少ないので構造解析が難しい。そこで NMR 化学シグナル同定に加え、緩和時間 (T_1) など新規構造情報取得法の検索も目的とした。親水性基として糖を選択し、疎水性基とのバランス変化を比較検討できるよう、ヘキソース *C,C*分岐糖を応用したハイブリッド修飾基を想定した。親水性と疎水性を両有するハイブリッド修飾基の設計および合成について第二章で述べる。二級位修飾 CyD の出発物質である 3A-アミノ-3A-デオキシ-(2AS, 3AS)-CyD (3-NH₂-CyD) の分子構造および包接挙動を解析の方法論確立のため 3-NH₂-CyD の化学シフト完全帰属を第三章で述べる。疎水性空洞との距離・大きさ・疎水性、修飾基の運動性を変えた二級側疎水性ゲスト分子修飾と構造解析を第四章に、糖質 (グルコース、ガラクトース) を加えた親水性-疎水性ハイブリッド修飾 CyD の合成と構造および分子特性について第五章および第六章で明らかにする。第七章では環状グリコシドの大環状構造にフォーカスアウトし、シクロデキストラン (シクロイソマルトース: CI) の分子構造および特性を NMR シグナルにより解析し、新規構造情報取得法の礎として緩和時間の測定と解析を行った。総合すると親水性基として糖誘導体をレギオ特異的に導入し、親水性-疎水性基協同効果による新規機能性 CyD の展開と分子構造提示を目標として研究を行った。

第二章 親水性-疎水性ハイブリッド修飾基の設計と合成

CyD は疎水性空洞を有しているが、親水性基水酸基は狭い縁に一級水酸基が、広い縁に二級水酸基が 1:2 数比で存在し、空洞の両縁は親水性である。つきつめれば二級水酸基側の方がより親水性であり、またバルク水分子を含めたグルコース環の水素結合が存在している。機能性 CyD 分子設計では多数の水酸基が存在するため、同一修飾基数でも異性体間で特性が異なる可能性がある。したがって修飾基の効果を正しく評価するために homo 修飾でも一置換か全置換を選択する事が必要である。疎水性基と親水性基という全く異なる相互作用を有する hetero 修飾では、さらにこの問題は複雑かつ煩雑となる。一点に性質の異なる複数の修飾基を導入することでこの問題が解決できる。例えば親水性-疎水性両有修飾基としてアルブチン（ヒドロキシキノングルコシド）を修飾した報告がある。本章では、CyD 修飾基化合物として糖ラクTONを Key 化合物とする *C,C*グリコシド合成による、糖-疎水性基両有化合物の合成について述べる。

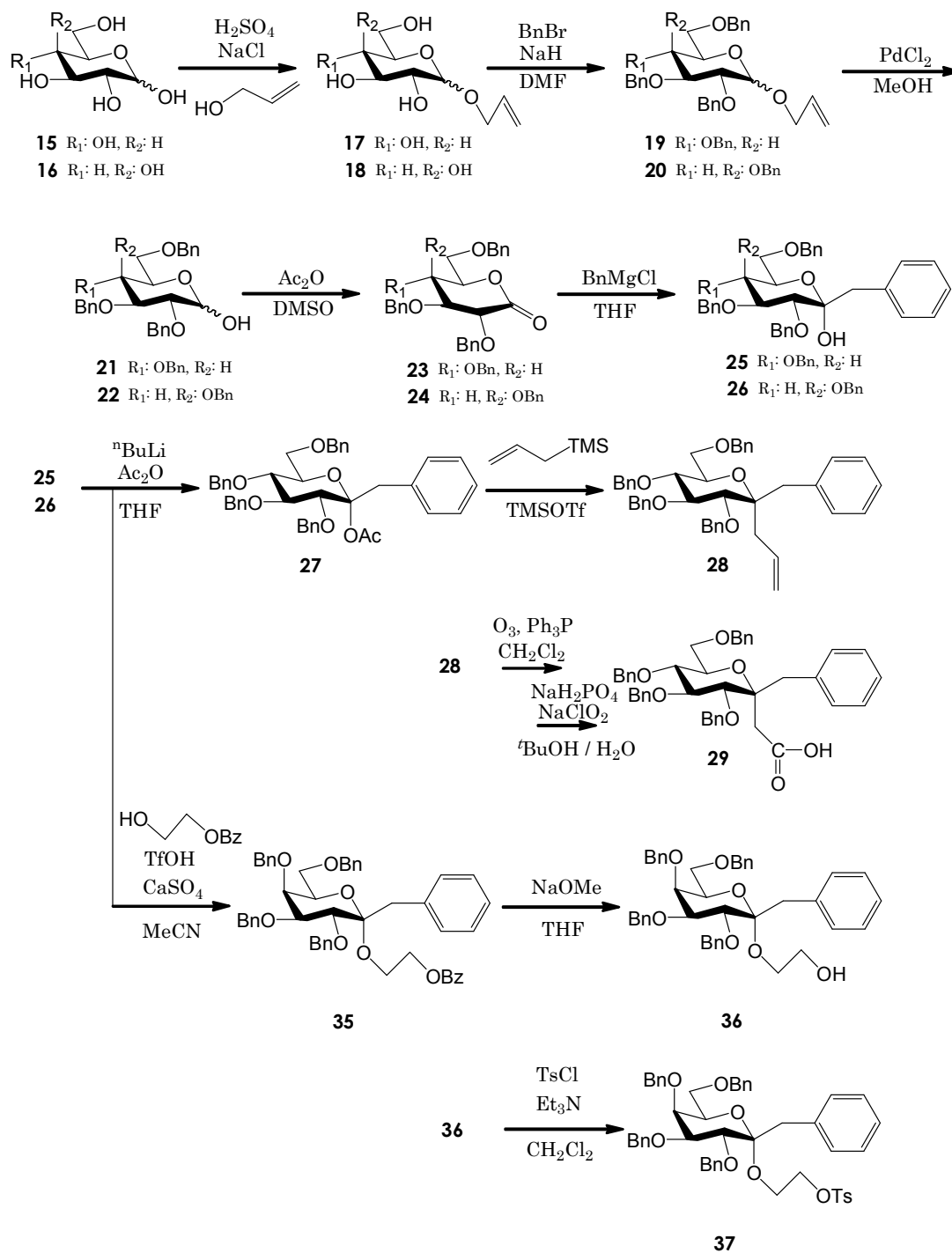
2-1 親水性-疎水性ハイブリッド修飾基設計と合成経路



Scheme 2-1-1. Synthesis strategy for *C*-glycoside.

アノマー位に簡便にアルキル基を導入できる方法として、アルドースを酸化して得られる糖ラクTONにアルキルリチウム (RLi) やグリニャール試薬 (RMgX) などの有機金属試薬を反応させて、糖ラクトールを合成し、ルイス酸存在下、種々の *C* 求核剤を反応させることにより 2 段階で糖ラクTONからアノマー位にジアルキル基が分岐した *C*-グリコシドの合成法が報告されている²⁸⁾ (Scheme 2-1-1)。これを元にして次の合成経路を設定した。

2-2 親水性-疎水性ハイブリッド修飾基の合成



Scheme 2-1-2. Synthesis route of branched glycosides and galactosides.

糖ラクトン (**23**) にベンジルマグネシウムクロリドを反応させ、糖のアノマー位にベンジル基を導入し、ルイス酸としてトリメチルシリルトリフルオロメタンスルホン酸存在下、アリルトリメチルシランを反応させ、糖のアノマー位がベンジル基とアリル基で二分岐した *C*-ベンジル *C*-アリルグルコシド (**28**) を 74% で得た。ついでオゾン酸化によりオレフィンをアルデヒド基にし、亜塩素酸ナトリウムを用いてカルボキシル基への変換を、二段階で 73% の収率で *C*-ベンジル *C*-カルボキシメチルグルコシド (**29**) を合成した (Scheme 2-1-2)。同様に D-ガラクトースを原料とし **26** を得た。**26** にアセトアニリド中ドライライト存在下、トリフルオロメタンスルホン酸とモノベンゾイル化エチレングリコールを反応させ **35** を得た。続いて THF 中 NaOMe にて脱ベンゾイル化を行い、末端が水酸基である **36** を 96% で得た。**36** をトリエチルアミン存在下、末端水酸基をトシル化した **37** を 79% で得た。

2-3 生成物の同定

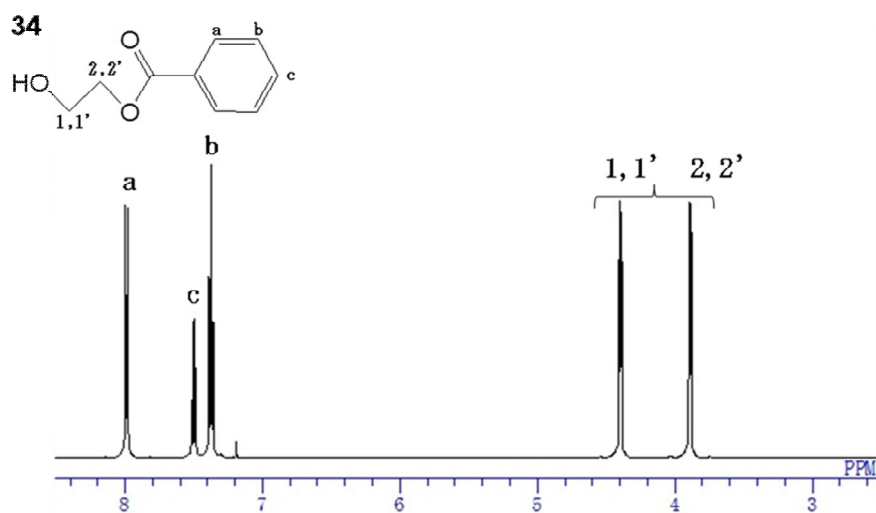


Figure 2-1-5. ^1H NMR spectrum of **34**.

重クロロホルム中の ^1H NMR (Figure 2-1-5) において全てのプロトン由来のシグナルが妥当な積分比で過不足なく観測され、水酸基を Bz 化した **34** と同定される。

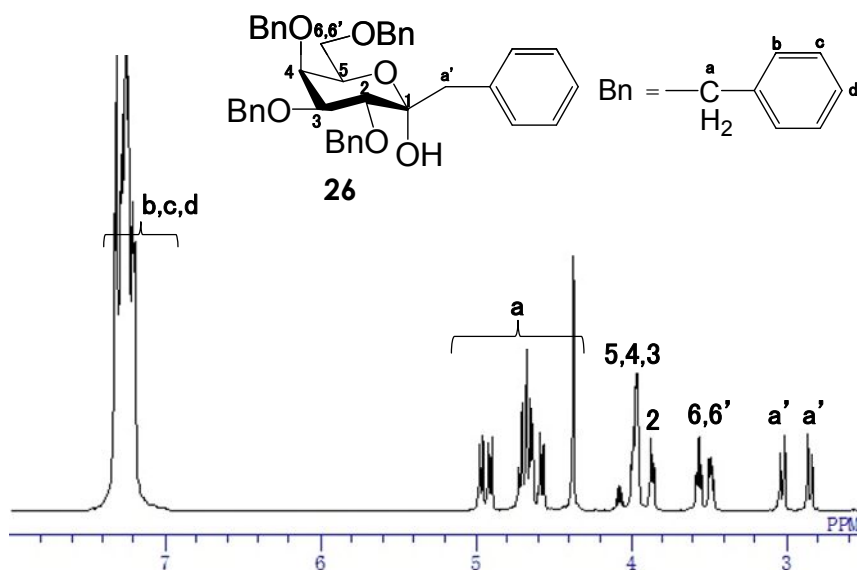


Figure 2-1-3. ^1H NMR spectrum of **26**.

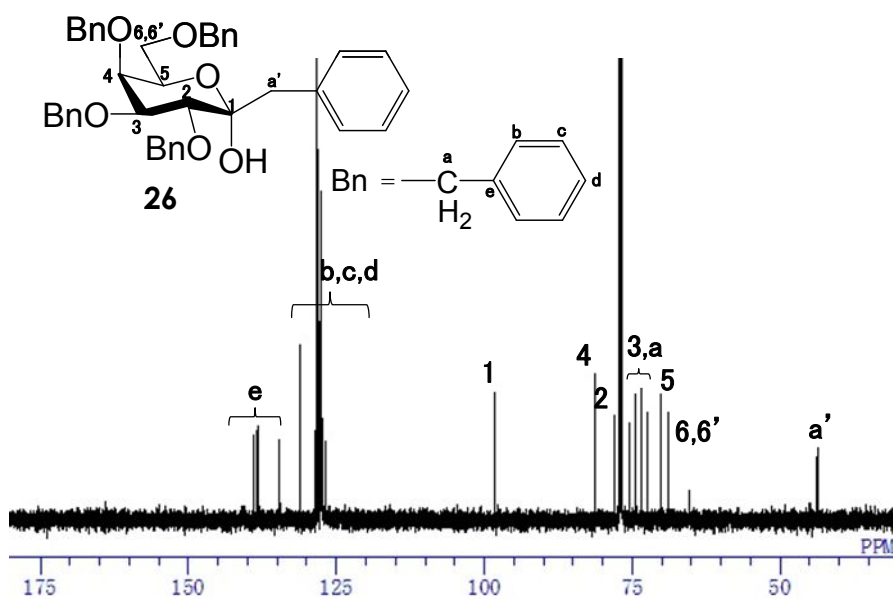


Figure 2-1-4. ^{13}C NMR spectrum of **26**.

重クロロホルム中の ^1H NMR において (Figure 2-1-3) 7.00-7.50ppm に Bn 基由来のシグナルが、3.80-4.00ppm にガラクトース由来のシグナルがそれぞれ 妥当な積分比で過不足なく観測された。また ^{13}C NMR (Figure 2-1-4) において、169.9ppm に観測されていたラクトン由来のシグナルの消失と、98.3ppm にアノマーC1 由来のシグナルの出現が観測され、**26** と同定される。

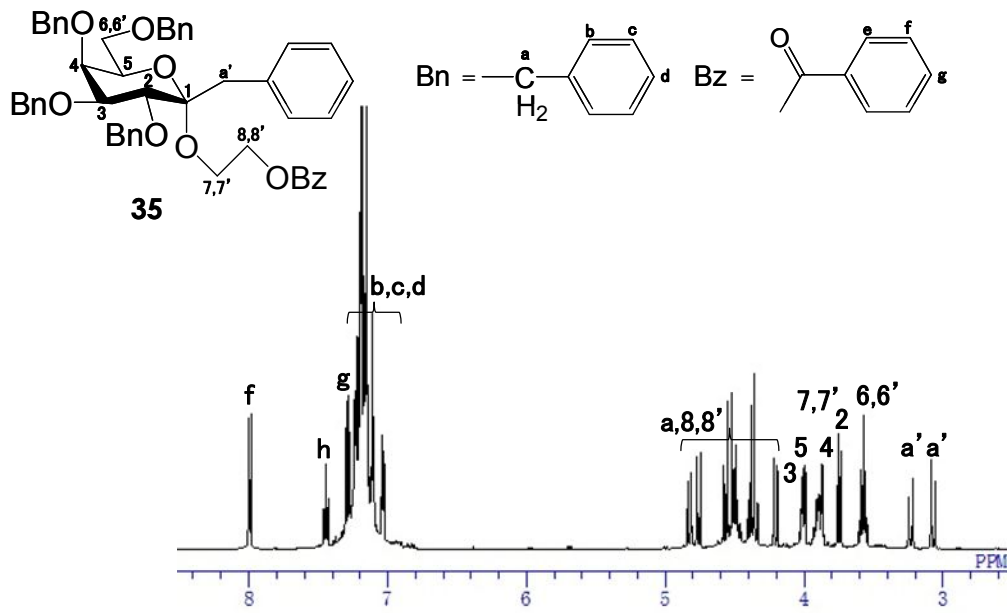


Figure 2-1-6. ^1H NMR spectrum of **35**.

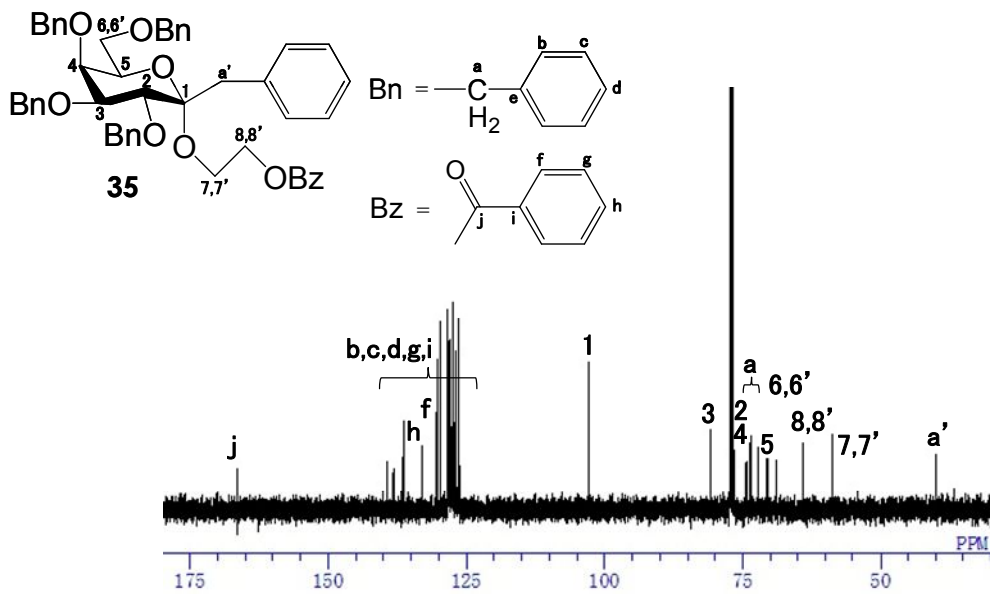


Figure 2-1-7. ^{13}C NMR spectrum of **35**.

重クロロホルム中の ^1H NMR (Figure 2-1-6) において 6.80-8.00ppm には Bn 基および Bz 基由来のシグナルが、3.40-4.00ppm にガラクトース由来のシグナルがそれぞれ妥当な積分比で過不足なく観測された。 ^{13}C NMR (Figure 2-1-7) において、166.5ppm に Bz 基のカルボニル由来のシグナルが出現し、**35** と同定される。

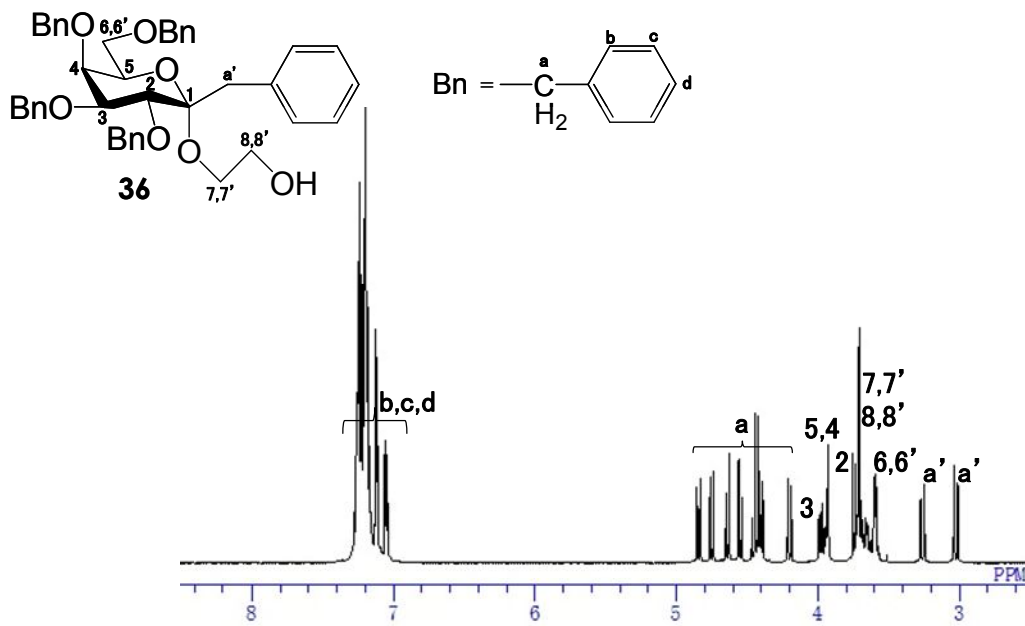


Figure 2-1-8. ^1H NMR spectrum of **36**.

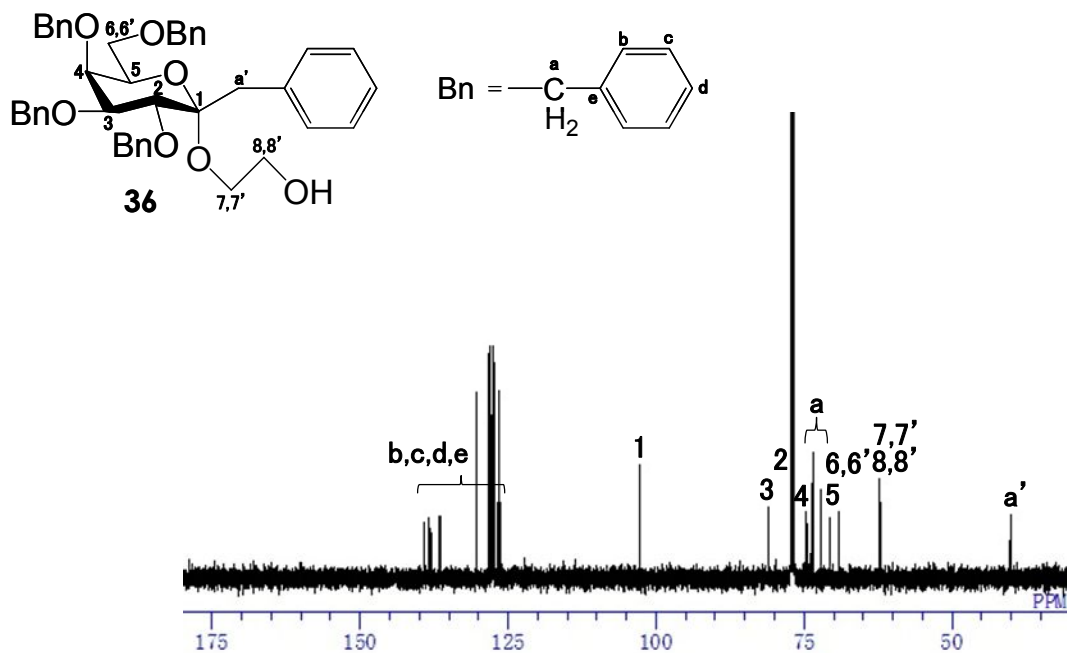


Figure 2-1-9. ^{13}C NMR spectrum of **36**.

重クロロホルム中の ^1H NMR (Figure 2-1-8) において 7.00-7.40ppm に Bn 基由来のシグナルが、3.50-4.00ppm にガラクトース由来のシグナルがそれぞれ 妥当な積分比で過不足なく観測された。 ^{13}C NMR (Figure 2-1-9) において 166.5ppm に観測されていた Bz 基のカルボニル由来のシグナルの消失が観測され、**36** と同定される。

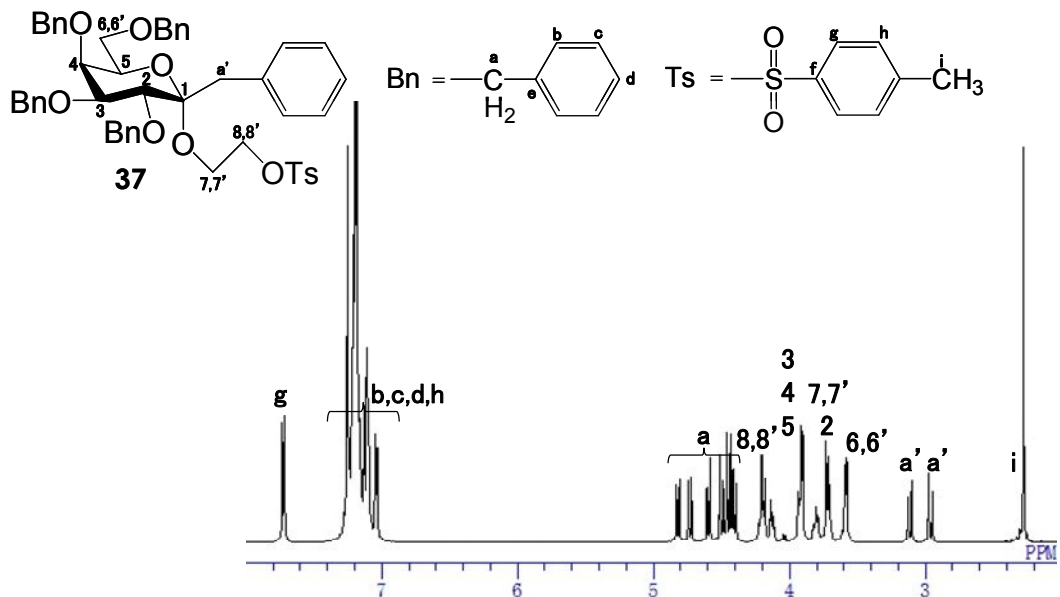


Figure 2-1-10. ^1H NMR spectrum of **37**.

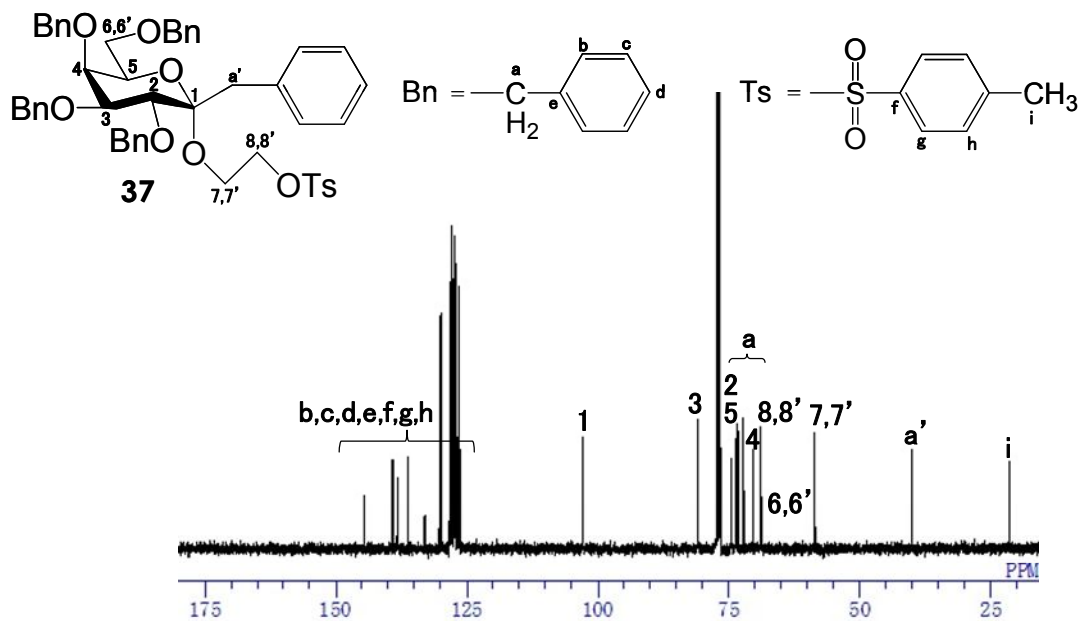


Figure 2-1-11. ^{13}C NMR spectrum of **37**.

重クロロホルム中の ^1H NMR (Figure 2-1-10) において 7.00-7.80ppm に Bn 基由来のシグナルが、3.50-4.00ppm にガラクトース由来のシグナルがそれぞれ 妥当な積分比で過不足なく観測された。新たに 2.2ppm 付近にメチル基由来のシグナルが観測され、 ^{13}C NMR (Figure 2-1-11) においても、21.6ppm に Ts 基のメチル基のシグナルが観測されたことより Ts 化 **37** と同定できた。

以上より、糖-疎水性基ハイブリッド修飾基を得られた。

以上、*C*, *C*-グリコシド合成法を用いて合成経路の設計を行い、親水性-疎水性ハイブリッドグリコシドおよびガラクトシド修飾基を高収率で合成することができた。グリニャール試薬であるベンジルマグネシウムクロリドに代えて(2-クロロ-5-ピリジル)メチルジンククロリド, 2-ピリジルジンクブロミドを用いたが、反応は進行せず疎水性基のバリエーションは実現できなかった。ガラクトースの他にグルコース構造異性体である、マンノース, アルトース, アロース, タロース, イドース, グロースへの本法を適用はできなかった。アリル化の反応性の差異に起因することより、2位水酸基の絶対構造が影響していると考えられる。key化合物であるラクトンも水酸基の絶対構造により安定性が異なると考えられ、これらがグルコース, ガラクトースでしか本合成経路の合成を適用できなかった原因であろう。グルコース構造異性体であるフコースへの適用は可能性があり、実現すれば糖化学の進展が期待できる。

第三章 二級位モノアミノシクロデキストリンの構造解析

二級位修飾 CyD の出発物質として 3A-アミノ-3A-デオキシ(2AS, 3AS)-CyD (3-NH₂-CyD) を選択した (Figure 3-1)。二級位修飾 CyD の分子構造および、包接挙動を解析するには 3-NH₂-CyD の化学シフトの解析が必要である。本章では 3-NH₂- α -, β -, γ -CyD の NMR 化学シフト帰属と分子特性について方法論も含めて述べる。

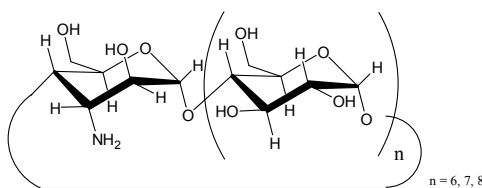


Figure 3-1. Structure of 3A-amino-3A-deoxy-(2AS, 3AS)-CyD.

3-1 ^1H および ^{13}C NMR の帰属

Figure 3-1-1 に $\text{NH}_2\text{-}\beta\text{-CyD}$ の ^1H および ^{13}C NMR スペクトルを示す。比較のため一級位モノアミノ- $\beta\text{-CyD}$ ($6\text{-NH}_2\text{-}\beta\text{-CyD}$) も示した。

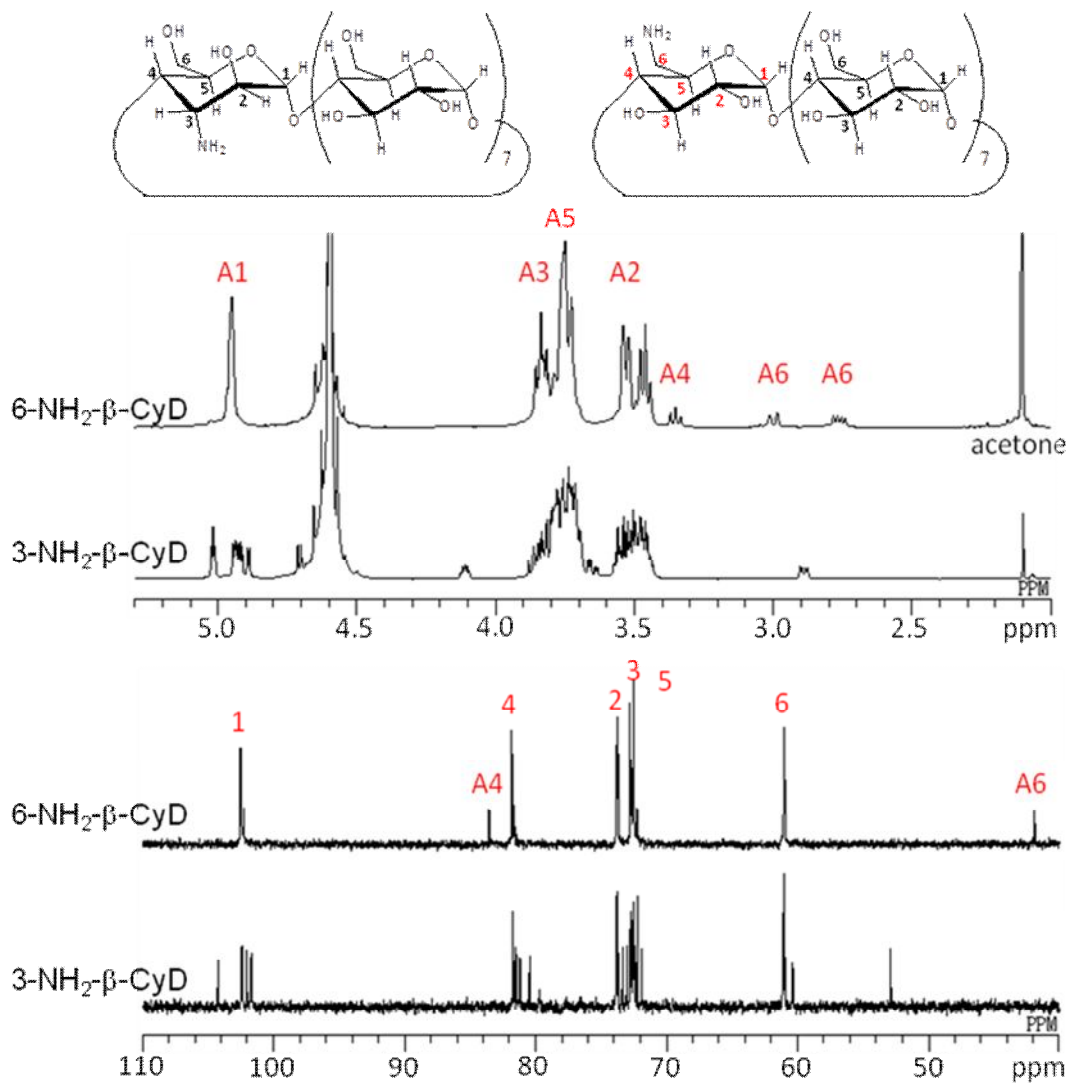


Figure 3-1-1. ^1H (upper) and ^{13}C NMR (bottom) spectra of 3-, 6- $\text{NH}_2\text{-}\beta\text{-CyD}$.

両アミノ置換 CyD は、6 位アミノ化修飾グルコースあるいは 3 位アミノ化アルトロースを含む。6-NH₂-β-CyD はアミノグルコースと未修飾グルコース 2 つのスピ系列を有する。アミノグルコースは 5.11, 3.67, 3.97, 3.50, 3.97, 3.01, 3.25ppm に H1, H2, H3, H4, H5, H6, H6' のシグナルを示した。H1, H4, H6, H6' のシグナルは既報^{29, 30)}と一致する。他のシグナルと重複している H2, H3, H5 由来のシグナルは H-H cosy (correlated spectroscopy) スペクトルの相関から決定した。3-NH₂-β-CyD は全てのグルコース共鳴が異なる 7 スピ系列で観測された。二級側に存在する 3 位 OH と 2 位 OH の隣接グルコース間に生じる水素結合ネットワークがスピ系列の相異を誘引したと考えられる。一級位 6 位水酸基間の水素結合は rigid ではないので一級位、二級位一置換 CyD の NMR スペクトルの差異となったと考えられる。

代表的な ¹H, ¹³C NMR の帰属について以下に述べる。アノメリックプロトンの特徴的低磁場シフトシグナルが 4.8ppm 付近にダブルットで観測された。3 位アミノ化α-CyD のアノメリックプロトンはダブルットでグルコース残基の数と同数の 6 本観測された。これらを A-F とラベルした。4.7ppm のシグナルは最大分裂幅を有し、アルトロース (アミノ基修飾グルコース) のシグナル値に近く、アルトロース由来 A とした。COSY スペクトル相関からアノメリック A プロトンに結合している H2, H3, H4, H5, H6 シグナルを帰属した (Figure 3-1-2)。

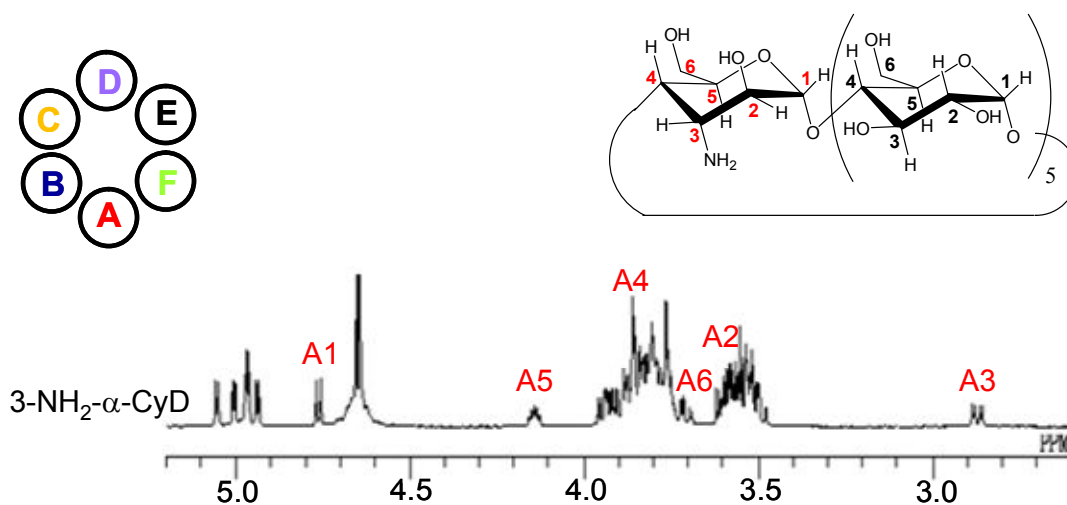


Figure 3-1-2. ¹H NMR spectrum of 3-NH₂-α-CyD.

同一グルコース内プロトン決定のための TOCSY (totally correlated spectroscopy) 相関も上記帰属を支持した (Figure 3-1-4、Figure 3-1-5)。¹³C NMR スペクトルおよび C-H cosy の結果も矛盾しなかった。それぞれの単糖帰属プロトンを決定後、グルコピラノース H1, H4 の近接を利用し、2次元 NOE 観測 NOESY スペクトル相関で、隣接グルコースを決定した。A アルトロース H1-B グルコース H4 間、B グルコース H1-C グルコース H4 間と順次グルコースを特定し、最終的に F グルコース H1-A アルトロース H4 間の NOE 相関を確認した。即ち、CHSHF, TOCSY, ROESY 法を用いて全てのプロトン共鳴の帰属が完了した (Figure 3-1-3)。

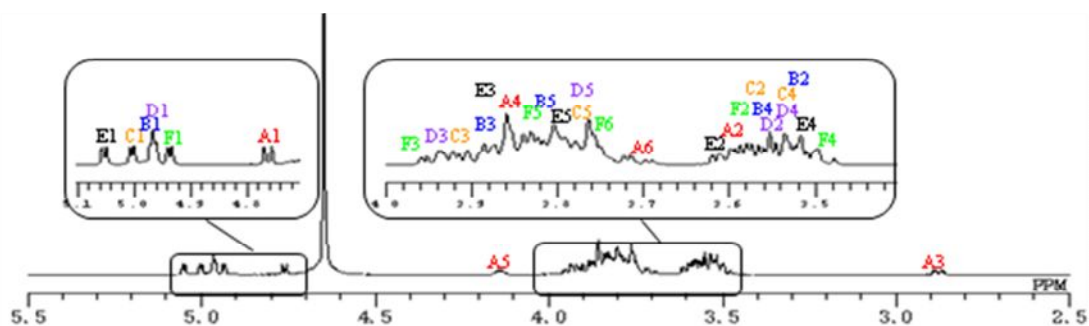


Figure 3-1-3. ¹H NMR spectra of 3-NH₂-α-CyD.

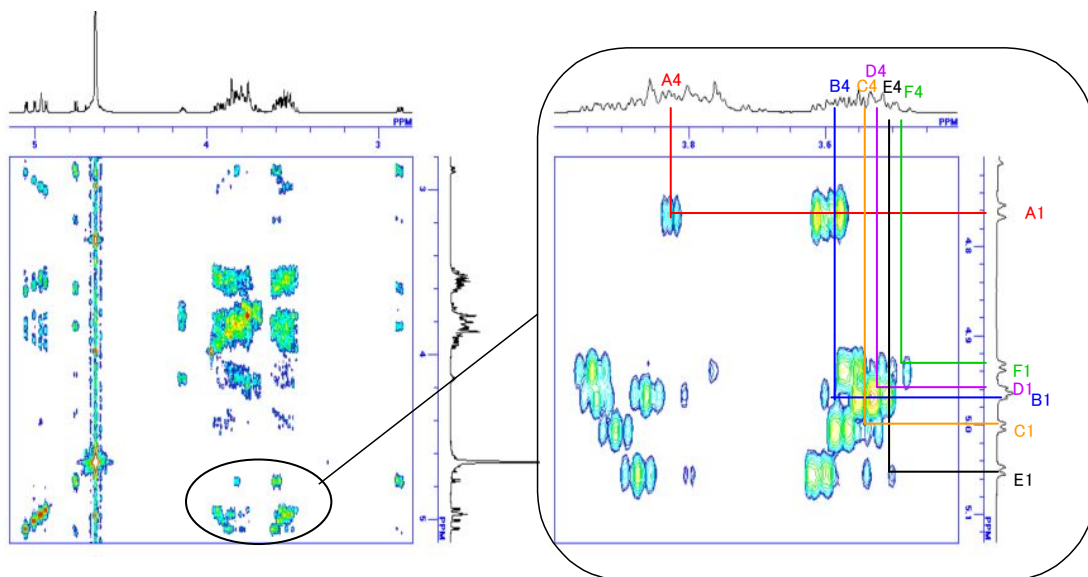


Figure 3-1-4. TOCSY spectra of 3-NH₂-α-CyD.

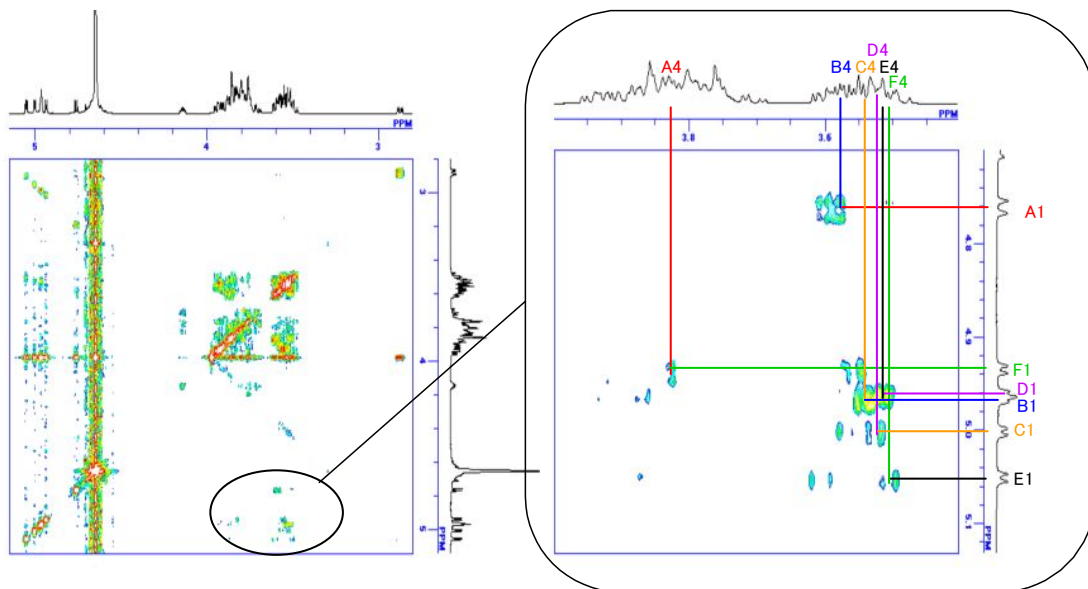


Figure 3-1-5. ROESY spectra of 3-NH₂-α-CyD.

Figure 3-1-6 に 3-NH₂- α -, β -, γ -CyD の結果を示す。

複雑で重複した共鳴を検定するために、全ての 1D NMR スペクトル化学シフトと 2D NMR 相関を再確認した。さらに coupling constant も矛盾がないことを確認した。その結果、¹³C NMR 共鳴の帰属も達成した (Figure 3-1-7)。プロトンの帰属と同様に 3 位アミノ化アルトローシグナルは既報のシフト値と同様であった。

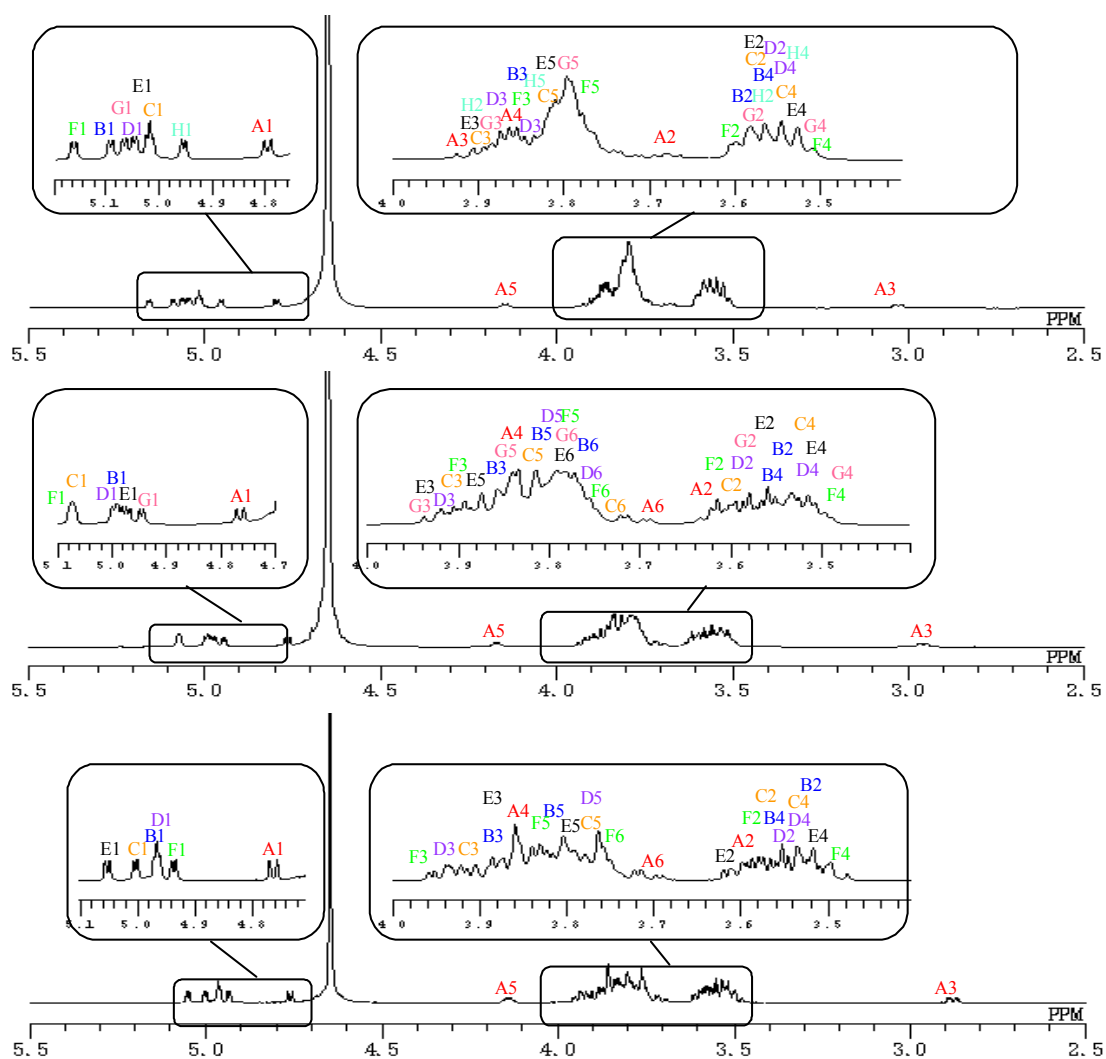


Figure 3-1-6. ¹H NMR spectra of 3-NH₂- α -, β - and γ -CyD.

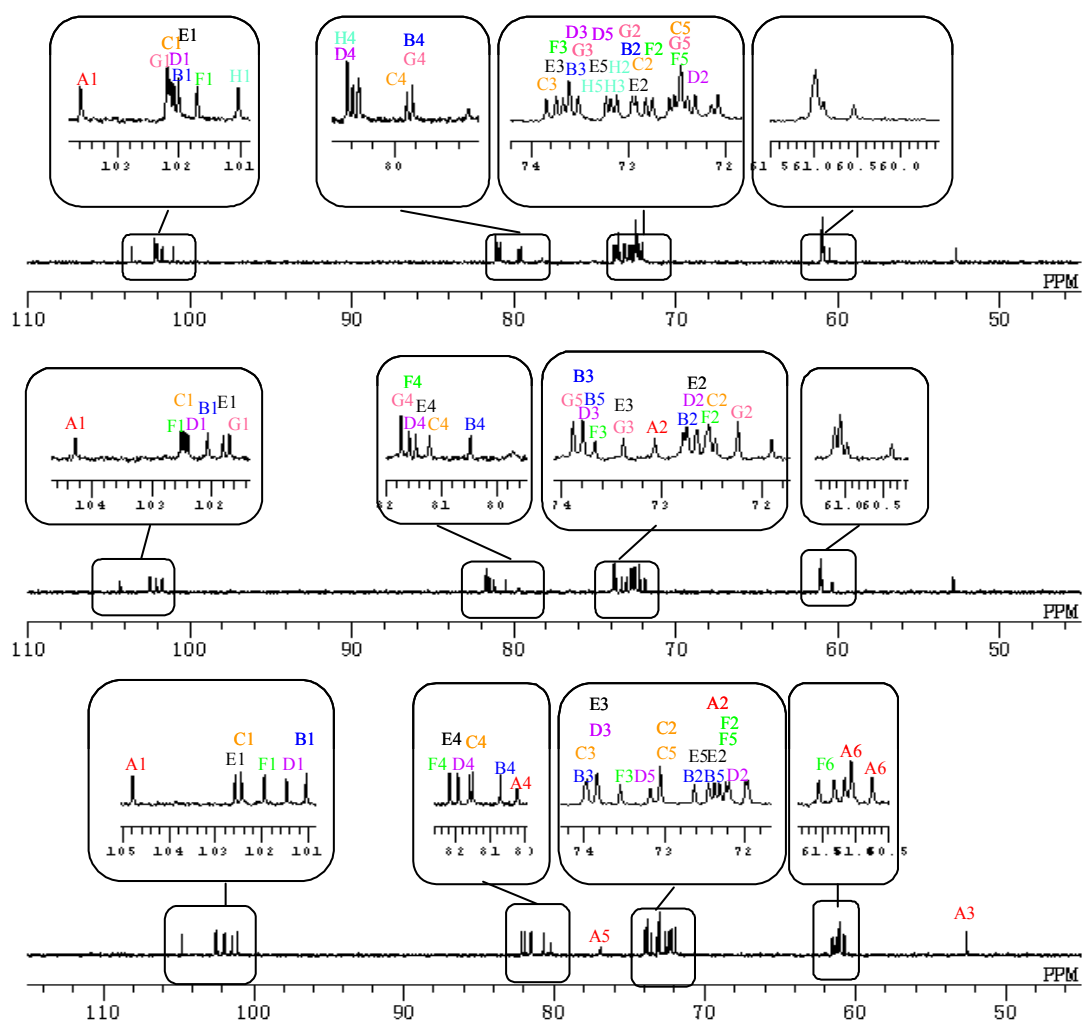


Figure 3-1-7. ^{13}C NMR spectra of 3-NH₂- α -, β - and γ -CyD.

3-2 二級位モノアミノシクロデキストリン環の構造

未修飾 CyD は単純な NMR スペクトルを示したが、3-NH₂-CyD は複雑でそれぞれ異なる化学シフト値を示した (Figure 3-1-1)。つまり二級位モノアミノ α -, β -, γ -CyD は対称性を失っていると推測される。グリコシド結合の両端 H1, H4 プロトンおよび C1, C4 カーボンシフト値はグリコシド結合の二面角を反映している事が知られている³¹⁾。カーボンシフト値 2ppm は二面角 10° に対応する。表にそれぞれの C4, C1 のシフト値の最大値と最小値の差 ppm を示した (Table 3-2-1)。

3-NH₂- α -, β - γ -CyD では、それぞれ 3.74, 2.89, 2.56ppm であり二面角が 13 ~24° の差異がある事を示している。これは CyD 環の歪みに由来している。以上、全てのプロトンとカーボンを ¹H, ¹³C, COSY, TOCSY, ROESY, NOESY で帰属することができた。NMR スペクトルの結果から推測される分子構造を MOPAC により描画した (Figure 3-2-1, Figure 3-2-2)。未修飾 CyD および一級位修飾 CyD と比べ対称性が失われている。さらに、CyD のゲスト分子との相互作用で重要な二級水酸基の方向に多様性があるため、多点相互作用出現の可能性もあると考えられる。

これら MOPAC による分子軌道計算は、 β -CyD の X 線構造解析より既に報告されている隣接構成グルコース残基間 (O...O) の距離³²⁾と、分子軌道計算結果の隣接グルコース残基間の距離 (O...O) が、X 線構造解析結果と近い値が得られたため、分子軌道計算から得られた構造の信頼性は高いと考えられる。

Table 3-2-1. ¹³C chemical shift values of C1 and C4.

δ /ppm	Compound				
	β -CyD	6-NH ₂ - β -CyD	3-NH ₂ - α -CyD (pH: 9.17)	3-NH ₂ - β -CyD (pH: 9.20)	3-NH ₂ - γ -CyD (pH: 8.88)
C1	103.71	103.06(A)	104.79(A)	104.29(A)	103.60(A)
		102.87	101.05(B)	102.51(B)	102.01(B)
			102.44(C)	102.46(C)	102.09(C)
			101.48(D)	101.40(D)	102.15(D)
			102.57(E)	102.07(E)	102.09(E)
			101.95(F)	101.80(F)	101.71(F)
				101.70(G)	102.20(G)
					101.04(H)
$\Delta\delta$ /ppm	-	0.19	3.74(1.52)	2.89(1.11)	2.56(1.11)
C4	82.74	84.00(A)	80.25(A)	- (A)	- (A)
		82.04	80.74(B)	80.49(B)	79.53(B)
			81.61(C)	80.49(C)	- (C)
			81.53(D)	81.47(D)	81.12(D)
			81.96(E)	81.22(E)	- (E)
			82.20(F)	81.55(F)	(F)
				81.73(G)	(G)
					81.12(H)
$\Delta\delta$ /ppm	-	1.96	1.95	1.24	1.59

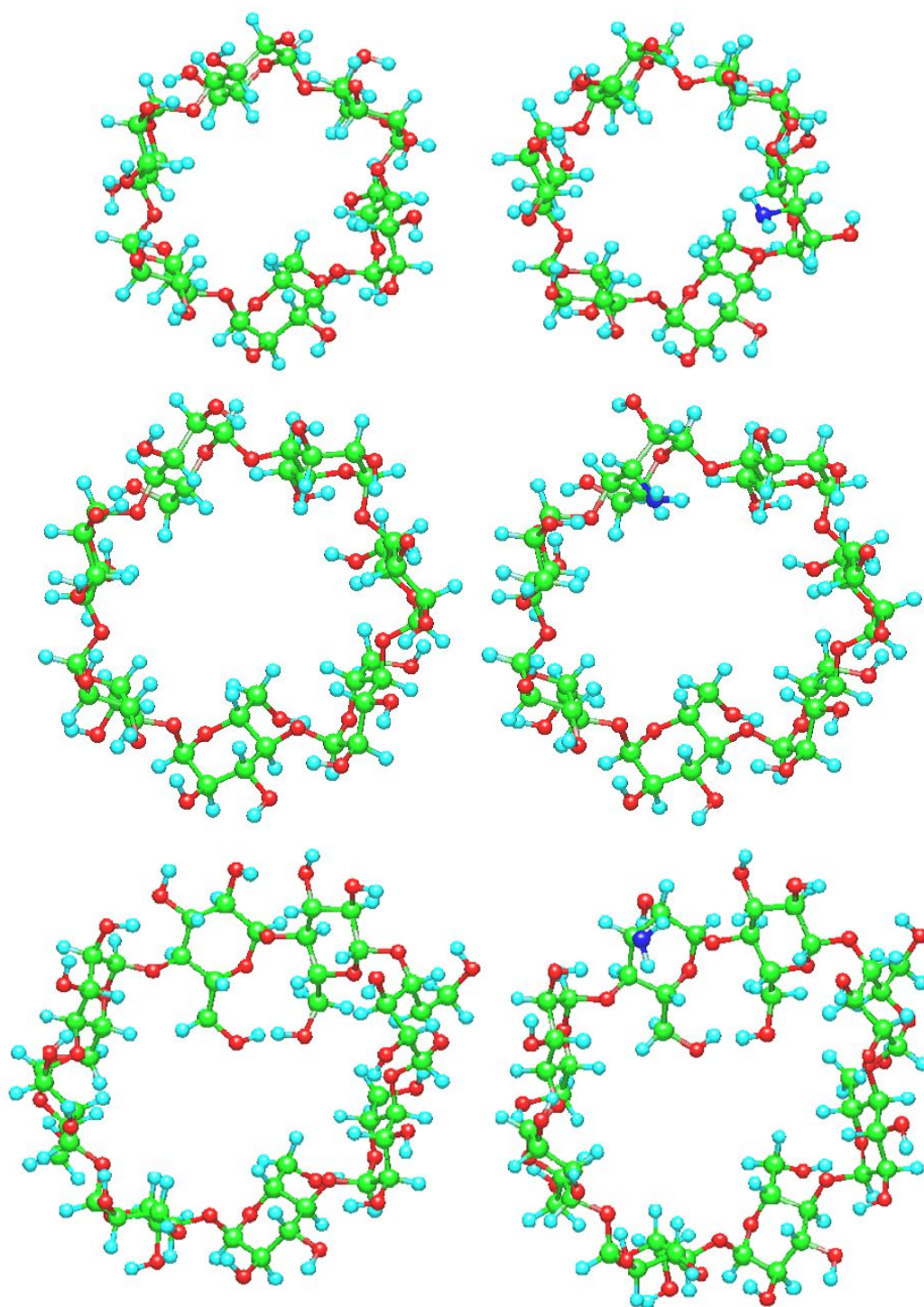


Figure 3-2-1. Top view molecular drawings of α -, β -, and γ -CyD (right) and 3-NH₂- α -, β -, and γ -CyD (left) by MOPAC.

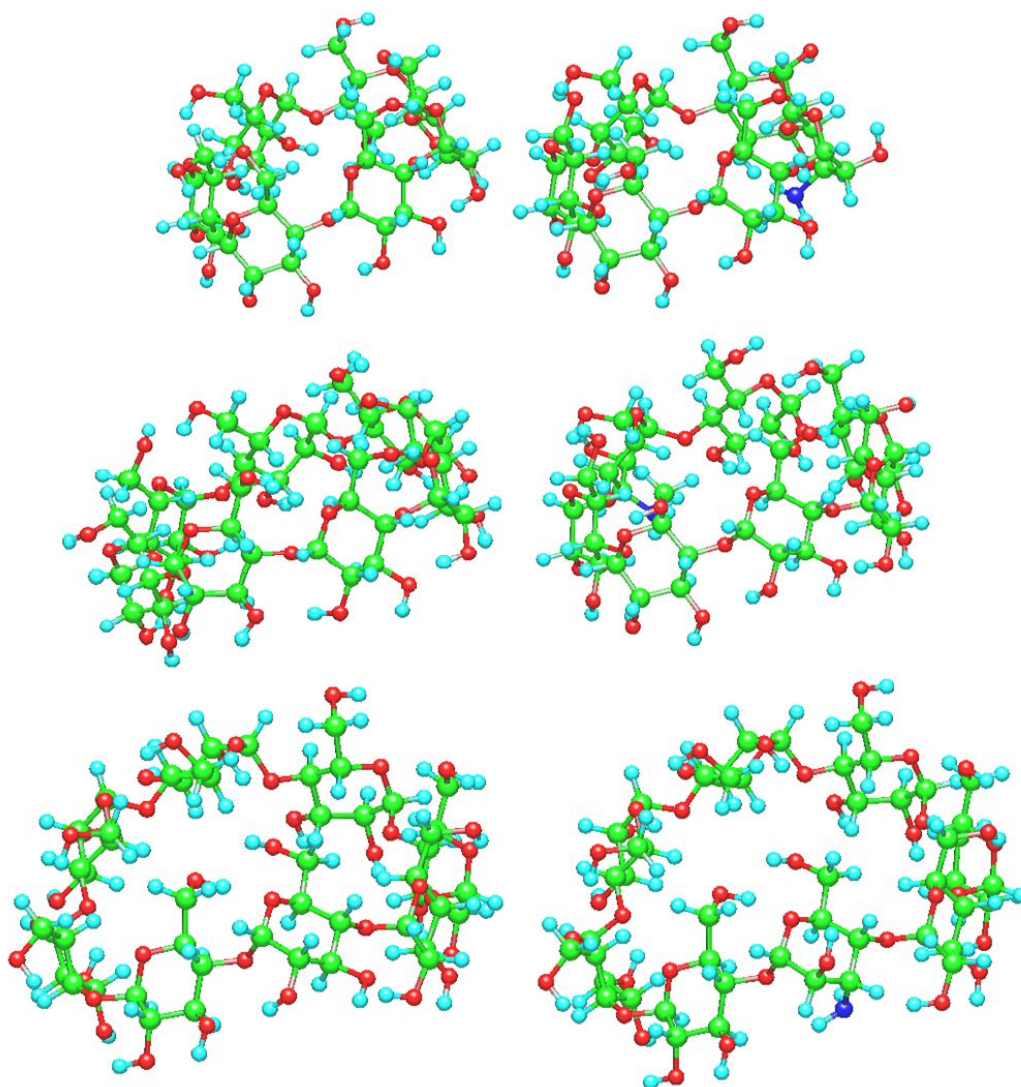


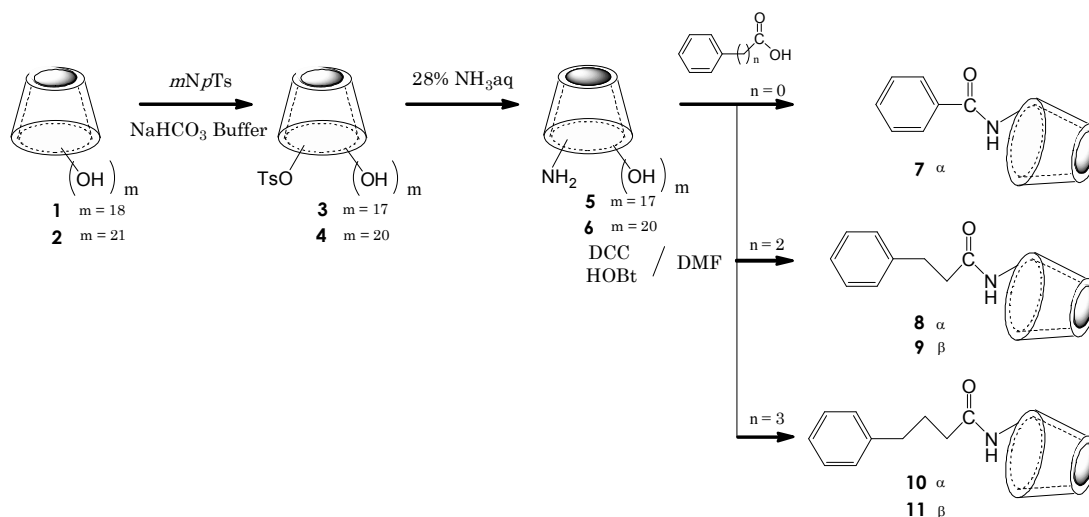
Figure 3-2-2. Side view molecular drawings of α -, β -, and γ -CyD (right) and 3-NH₂- α -, β -, and γ -CyD (left) by MOPAC.

以上、 ^1H , ^{13}C NMR および H-H COSY, CHSHF, TOCSY, ROESY 測定の結果 3-NH₂- α -, β -, γ -CyD の帰属を達成する事が出来た。また ^{13}C NMR のシフト値から、3-NH₂- α -, β -, γ -CyD それぞれにおいて最大値と最小値に 3.74, 2.89, 2.56ppm の差が観測されたことから、二面角が 13~24° の差異があることがわかった。これはアミノ基の導入でグルコースがアルトローズとなり、それが CyD 環全体に影響し、環構造の歪みとして ^{13}C NMR のシフト値変化に反映されたことを示している。また上記結果を考慮した、半経験的分子軌道法を用いた分子描画によると未修飾 CyD に比べ対称性が失われ、ゲスト分子との相互作用に重要な二級水酸基の方向性に多様性がみられた。本化合物を用いた多点相互作用の実現と評価の可能性も示された。

第四章 二級位疎水性基修飾シクロデキストリンの合成と構造解析

疎水性ゲスト分子修飾 CyD は分子内包接現象により、多彩なホスト空間を形成して高い分子認識能を発現する。あるいは分子間包接現象により、二量体や擬似ポリマーなどの高分子構造体を形成する。分子間か分子内いずれの現象が優位となるかは、疎水性基の種類・形状・大きさやアームの長さおよび柔軟性に依存する。すなわち、修飾基とバルク溶媒・空洞内部・空洞縁との相互作用のバランスが総合されて、いずれかの分子構造を示すのである。親水性と疎水性のバランスを考慮した親水性-疎水性ハイブリッド修飾 CyD の合成を行う前段階として、親水性が大きい二級側へ疎水性空洞との距離・大きさ・疎水性、修飾基の運動性を考慮し、アームの長さが異なる疎水性ゲスト分子の修飾を行った。一級側への疎水性ゲスト分子の報告は数多くされているが二級側修飾の例は多くない、本章では二級側への疎水性ゲスト分子修飾 CyD の合成と分子構造について述べる。

全反応経路を示した (Scheme 4-1)。



Scheme 4-1. Synthesis route of secondary hydrophobic group modified CyDs.

4-1 二級位疎水性基修飾シクロデキストリンの合成

3-amino- α -および β -CyD (**5**, **6**) と 1.5 当量の benzoic acid ($n=0$), 3-phenylpropionic acid ($n=2$), 4-phenylbutyric acid ($n=3$)を用い、DCC 法^{33, 34)}で常法により反応させ、CM Sephadex C-25 により精製し、**7**, **8**, **9**, **10**, **11** をそれぞれ 91%, 83%, 93%, 84%, 85%とほぼ定量的収率で合成できた。MALDI TOF-MS に対応する理論的ピークを検出し、BuOH : EtOH : H₂O=5 : 4 : 3 を展開溶媒とした TLC でそれぞれワンスポットであり、さらに¹H NMR で化学シグナルが過不足なく観測され、合成が確認された。

以下に**7**~**11** の NMR を示す。比較として原料である**5**, **6** と疎水性ゲスト分子も合わせて示す (Figure 4-1-1)。

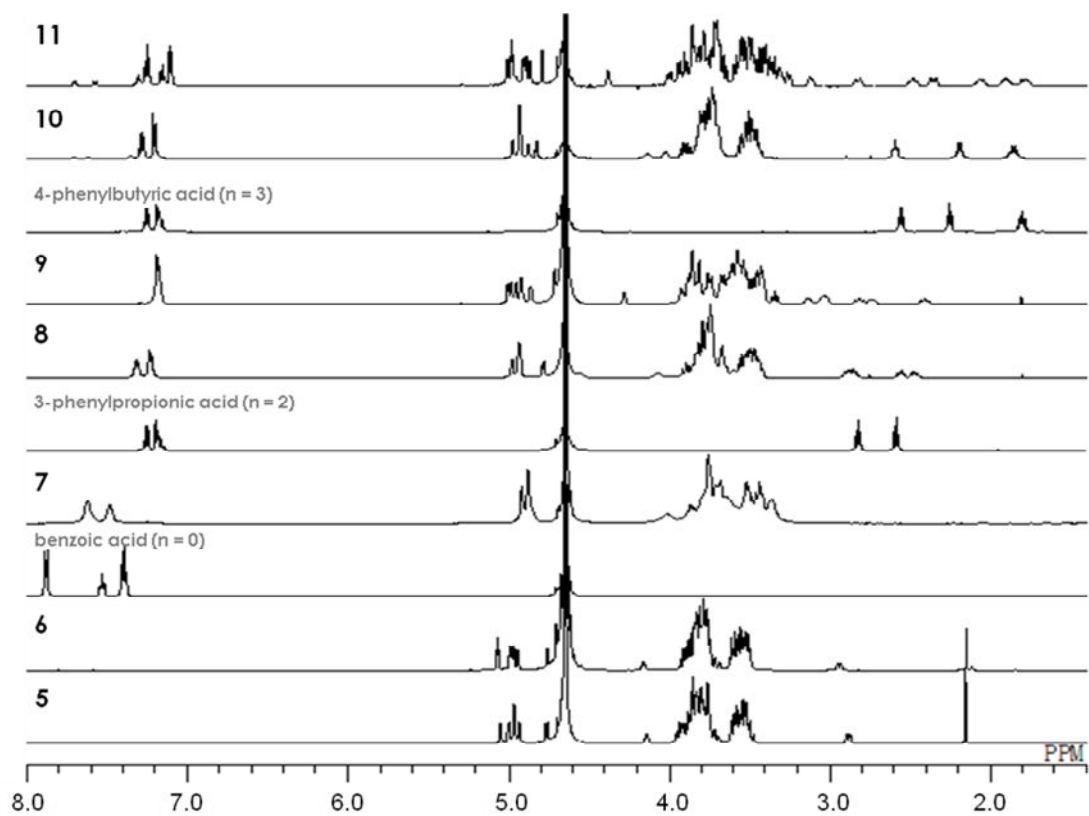


Figure 4-1-1. ¹H NMR spectra of secondary hydrophobic group modified CyDs (**7**, **8**, **9**, **10** and **11**).

4-2 分子構造解析

4-2-1 ¹H NMR 化学シフト

mono-3-*N*-phenylamino- α -CyD (**7**) の重水中 ¹H NMR スペクトルにおいて、7.0-8.0ppm にフェニル基由来、3.0-5.0ppm に CyD 由来のシグナルがブロードにそれぞれ観測された。**7** は CyD 部分がアミド基のみを介してフェニル基を有している。benzoic acid はフェニル基の *o*, *p* および *m*-位のプロトンが 2:1:2 の積分比で分裂して観測されるが、**7** では 3:2 の比で観測された。これは既に報告されている mono-6-*N*-phenylalanyl- β -CyD の自己包接化合物のフェニル基のスペクトル挙動と同様である³⁵⁾。ただし、この系ではスペクトルは全プロトンが同定可能でシャープなシグナルとして観測されているが、**7** では全体にブロードであった (Figure 4-1-1)。

メチレン基がアーム構造に付与された mono-3-*N*-phenylpropylamino- α -および β -CyD (**8**, **9**) では 7.0-8.0ppm のフェニル基のシグナルに加え、1.0-3.0ppm にプロピル基由来のシグナルが観測された。フェニル基のシグナルに着目すると、**8** は 3-phenylpropionic acid と同様に 2:3 の積分比で観測されているのに対し、**9** ではまとまって観測された。またプロピル基のシグナルに着目すると、**8** は高磁場側から 1:1:2 の積分比で観測されているが、**9** では 1:1:1:1 と全てのプロトンが異なるシフト値で観測された。また、**9** においてフェニル基由来のシグナルはブロードな 1 シフト値で観測され、プロトンが平均化されている事を示唆しているのに対し、CyD 由来のシグナルが多彩なシフト値を示し、スペクトルパターンが複雑でシャープになっている事も注目に値する。

アームに -CH₂-CH₂- を有する mono-3-*N*-phenylbutyrylamino- α -および β -CyD (**10**, **11**) は **8** のスペクトルにメチレン基が付与されたスペクトルであり、7.0-8.0ppm にフェニル基の、1.0-3.0ppm にアーム部分のブチル基由来のシグナルが検出された。フェニル部分、アーム部分の両シグナルパターンも 4-phenylbutyric acid と同様である。**5** に修飾基を付与した **7**, **8** ではブロードなパターンが観測されたが、**10** はシャープなパターンを示した。CyD 由来シグナルパターンは類似していて、化学シフト値の変化は少ないと考えられる。**11** は非常に複雑なスペクトルパターンで観測された。**9** はブロードなパターンを示し

たのに比べ、**11** のフェニル基は 2:1:2 と 4-phenylbutyric acid より、それぞれが異なる化学シフト値でシャープに観測されている。アーム部分ブチル基由来シフトはそれぞれ異なる化学シフト値を示したがブロードに観測された。

4-2-2 スペクトルの濃度依存性

CyD の修飾ゲスト分子は疎水性空洞に包接される事は事実であるが、大きさ、構造、修飾基を結ぶ部分（アーム）の長さや化学構造により、自らの空洞に包接されるのか、他の空洞に包接されるのかの差異が生じる。疎水性ゲスト分子修飾 CyD は、濃度を 10^{-2}M から 10^{-5}M の範囲でスペクトルの濃度依存性がなければ右向きの平衡はほとんど無視してもよいとされている (Figure 4-2-2-1)。分子間包接体を形成しやすい Boc 基を一級側へ修飾した CyD は濃度依存性を示すとともに、Boc 基未修飾 β -CyD のゲスト分子として 2 分子 CyD 化合物を形成し CyD の内部プロトンである H3 および H5 のシフトも観察されている³⁶⁾ (Figure 4-2-2-2)。

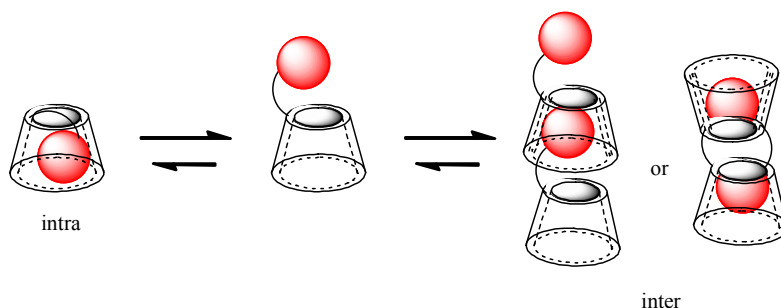


Figure 4-2-2-1. Equilibrium equation of intra- or intermolecular inclusion phenomenon with self-guest modified CyD.

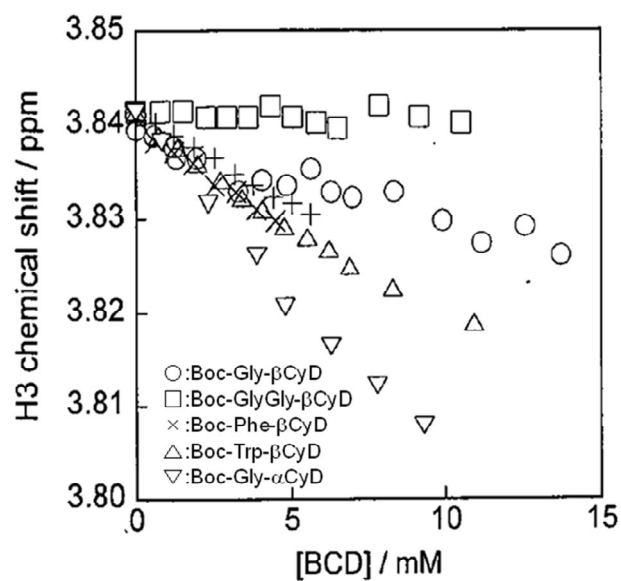


Figure 4-2-2-2. Dependence of H3 chemical shift on concentration of β -CyD.

7 と **8, 9** の重水中それぞれ 1.86×10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} M と 1.20×10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} M および 1.05×10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} M の ^1H NMR スペクトルを示す (Figure 4-2-2-3, Figure 4-2-2-4)。 **10, 11** の 1.19×10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} M、 1.04×10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} M の ^1H NMR スペクトルを示す (Figure 4-2-2-5)。

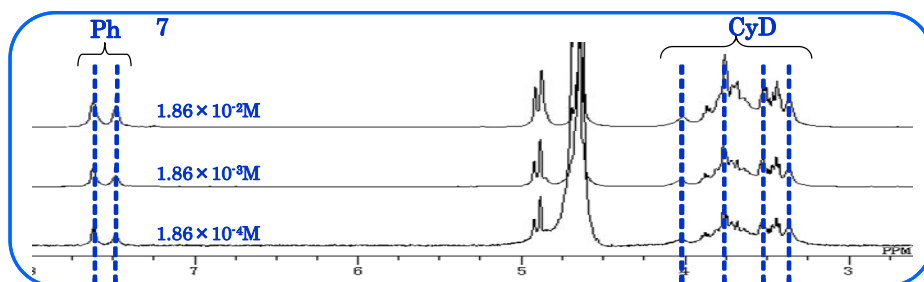


Figure 4-2-2-3. Dependence of ¹H NMR spectra on concentration of **7**.

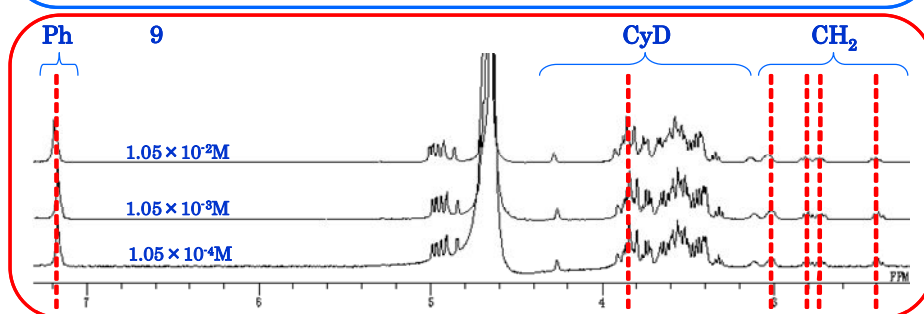
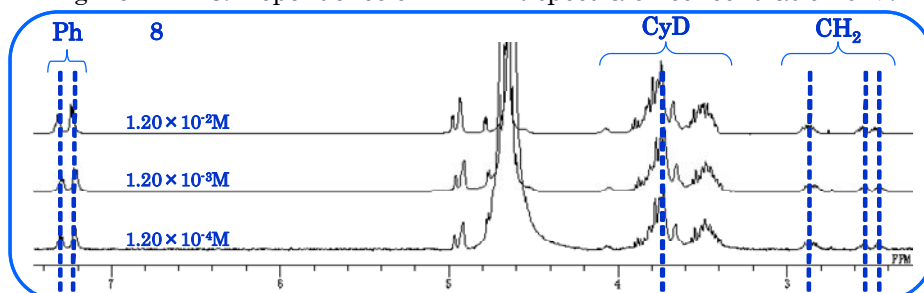


Figure 4-2-2-4. Dependence of ¹H NMR spectra on concentration of **8** and **9**.

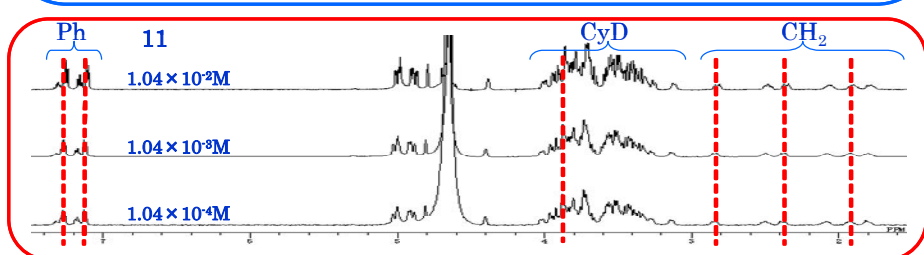
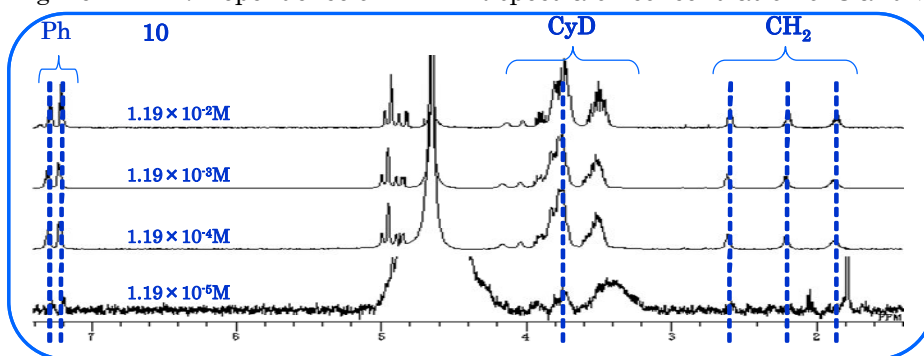


Figure 4-2-2-5. Dependence of ¹H NMR spectra on concentration of **10** and **11**.

いずれも 100 倍濃度が異なっているが化学シフト値は同一で **10, 11** の濃度依存性は観測されなかった。**7~11** の NMR スペクトルの非濃度依存性はこの濃度範囲では右への平衡は非常に少ないことを示し、従って **7** および **8, 9** はいずれも自らの空洞に修飾基が包接された分子内包接体を形成していると考えてよい。

4-2-3 Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy (NOESY) スペクトル

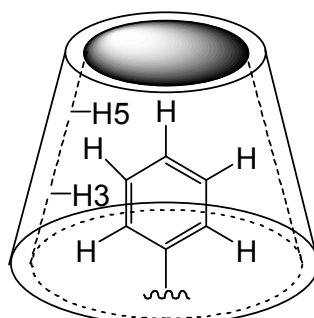


Figure 4-2-3-1. Relative location of protons on CyD rings or guest molecule.

10 および **11** ($1.19 \times 10^{-2} \text{M}$, $1.04 \times 10^{-2} \text{M}$) の NOESY スペクトルおよび拡大スペクトルを示す (Figure 4-2-3-2, Figure 4-2-3-4)。

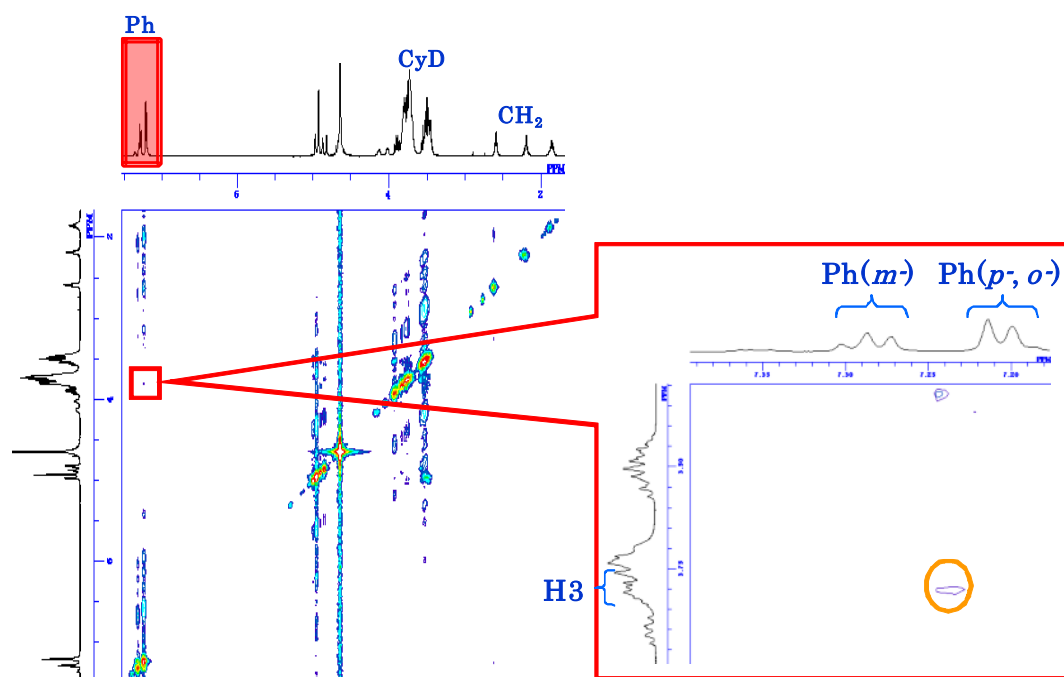


Figure 4-2-3-2. NOESY spectra of **10**.

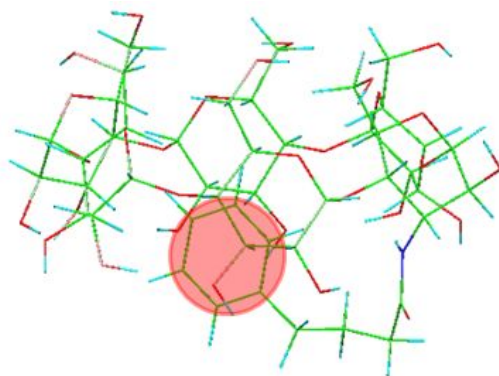


Figure 4-2-3-3. Molecular drawing of **10** by MOPAC.

フェニル基由来プロトンと CyD 空洞内部の 3 位プロトン間に相関が観測され、**10** のフェニル基は CyD 空洞内部に存在していることが明らかとなった (Figure 4-2-3-3)。NOE は 0.4nm 以内に存在しているプロトン間で観測される。従ってフェニル基は二級位水酸基側に位置している。円偏光二色性でも吸収極大値を極大とする正の二色性が観測され、CyD 軸と平行にフェニル基が位置している、即ち cap 型の分子構造を支持する結果を得ており矛盾はない。

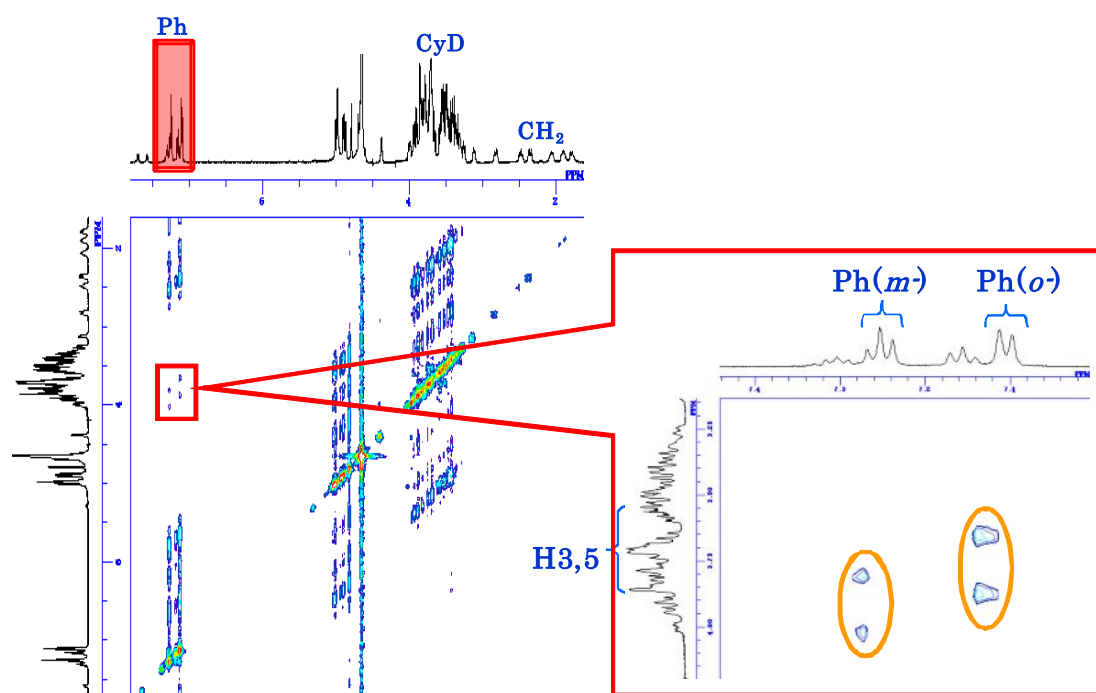


Figure 4-2-3-4. NOESY spectra of **11**.

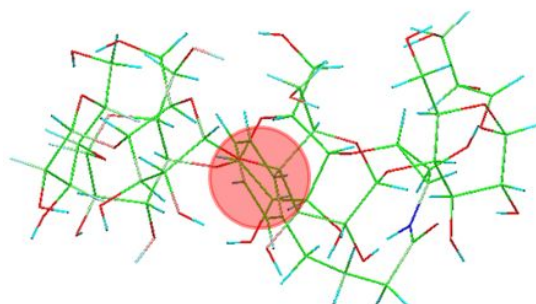


Figure 4-2-3-5. Molecular drawing of **11** by MOPAC.

11 では、フェニル基 σ , m -位ののプロトンと CyD 空洞内由来の H3 と H5 プロトンとの間にそれぞれ 4 つの相関が観測され、フェニル基が CyD 空洞内に存在していることが明らかになった (Figure 4-2-3-5)。円偏光二色性スペクトルによると吸収波長を極大とした正の強い二色性が誘起されており、空洞内部に CyD 軸と平行に位置していることを支持している。

8 および **9** ($1.20 \times 10^{-2} \text{M}$, $1.05 \times 10^{-2} \text{M}$) の NOESY スペクトルおよび拡大スペクトルを示す (Figure 4-2-3-6, Figure 4-2-3-8)。

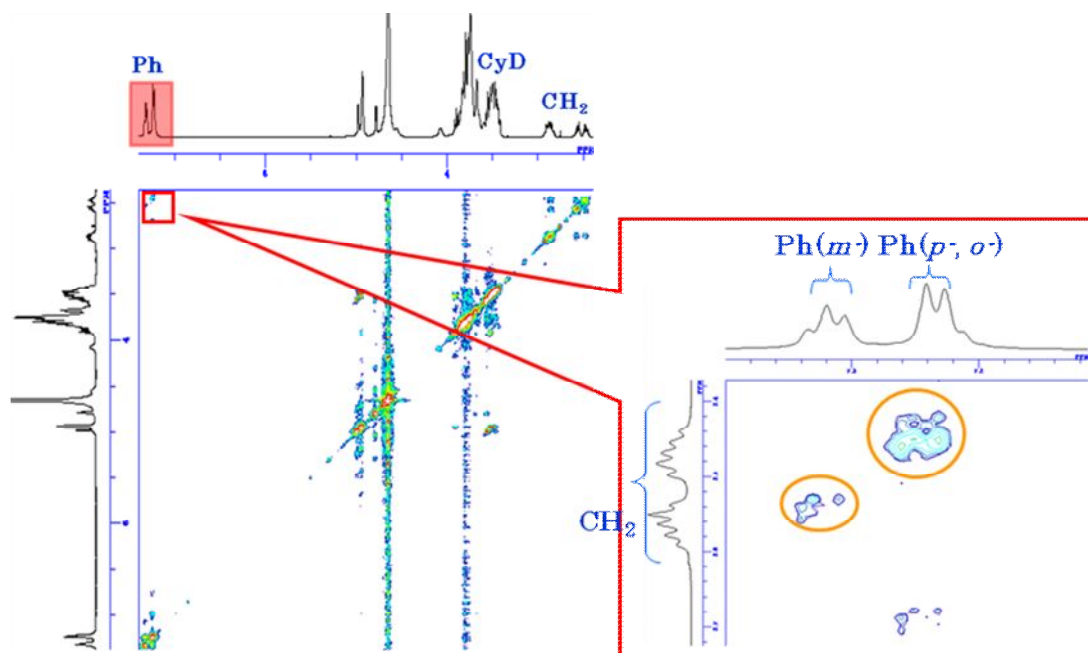


Figure 4-2-3-6. NOESY spectra of **8**.

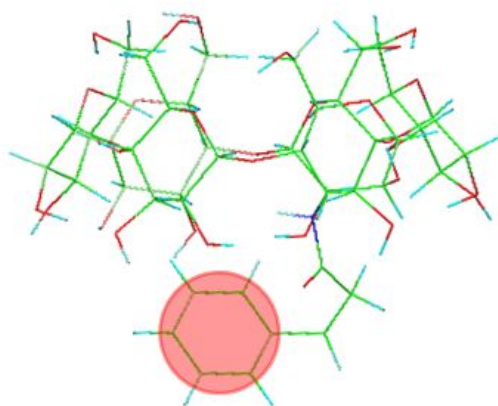


Figure 4-2-3-7. Molecular drawing of **8** by MOPAC.

8 (Figure 4-2-3-6) では、CyD 由来プロトンとフェニル基由来プロトン間の相関は観測されていない。2.5ppm プロピル基由来のプロトンとフェニル基間での相関が 2 つ観測された。この相関を基にすると、アーム-CH₂-CH₂-が折れ曲がりフェニル基と近接している。総合するとフェニル基は空洞縁近辺に存在し、CyD 空洞に浅く包接されているのではないかと考えられる (Figure 4-2-3-7)。相対的位置関係は **10** よりバルク水相に近くなっている。これがアーム部分の運動性を制限し、-CH₂-CH₂-のブロードシグナルを誘引したのかもしれない。

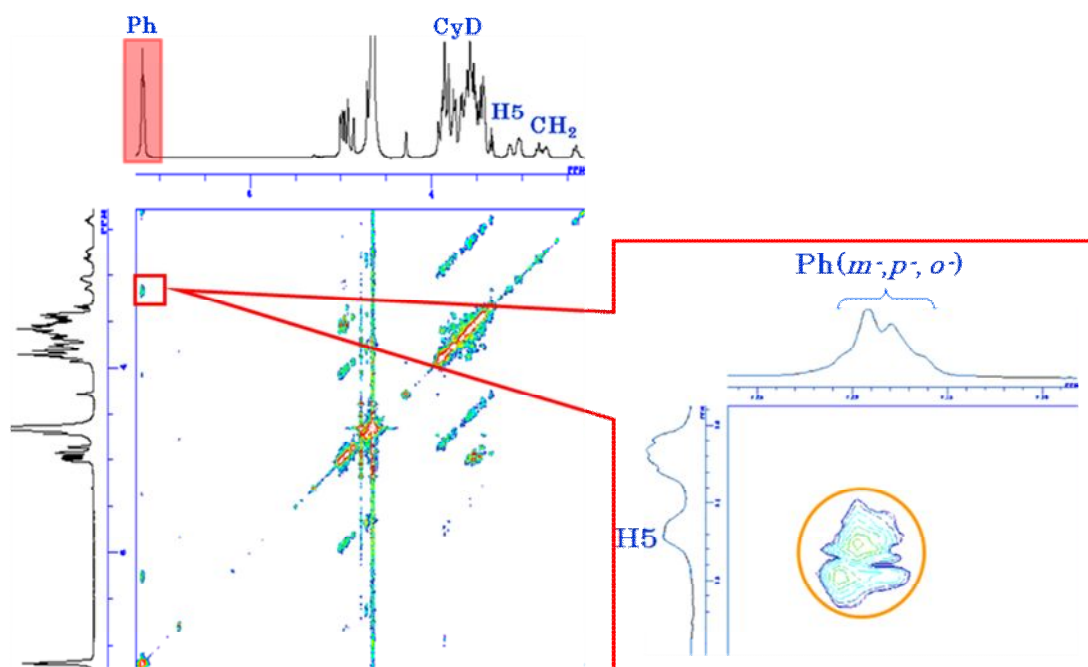


Figure 4-2-3-8. NOESY spectra of **9**.

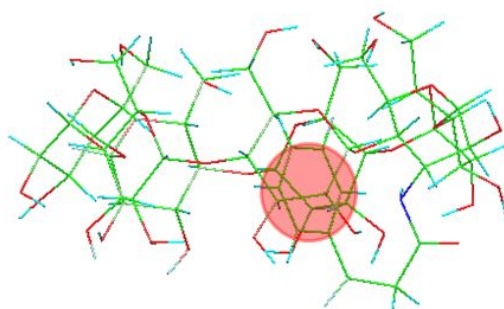


Figure 4-2-3-9. Molecular drawing of **9** by MOPAC.

9 (Figure 4-2-3-8) でも、CyD 空洞内部の H5 とフェニル基との間のみに強い相関が観測された。このことからフェニル基は修飾位置と反対の縁近くに位置し、深く包接されていると考えられる (Figure 4-2-3-9)。

7 ($1.86 \times 10^{-2} \text{M}$) の NOESY スペクトルおよび拡大スペクトルを示す (Figure 4-2-3-10)。

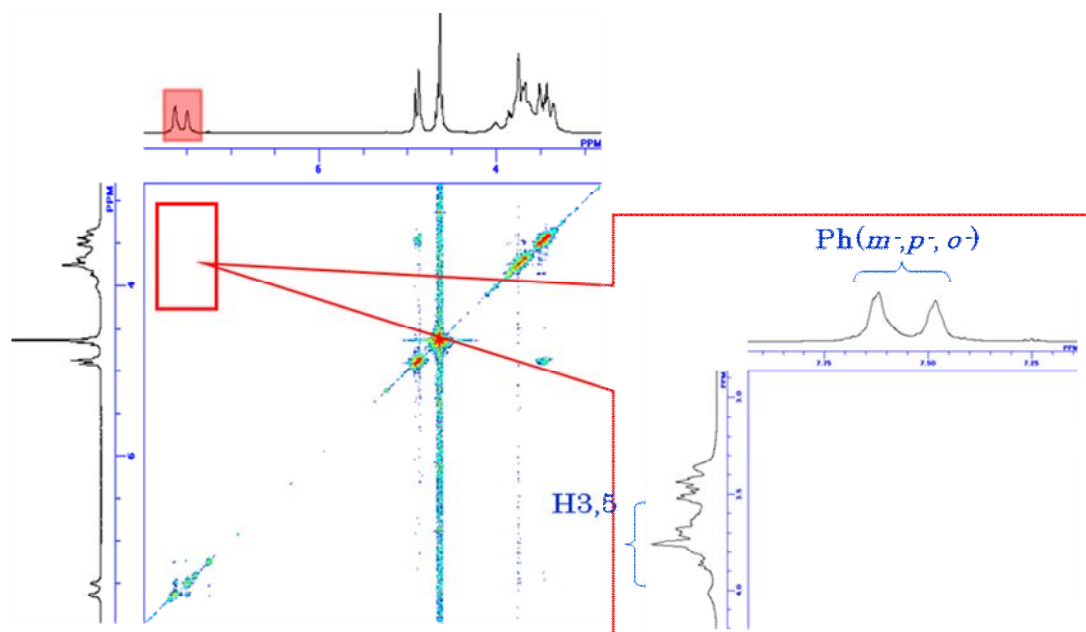


Figure 4-2-3-10. NOESY spectra of **7**.

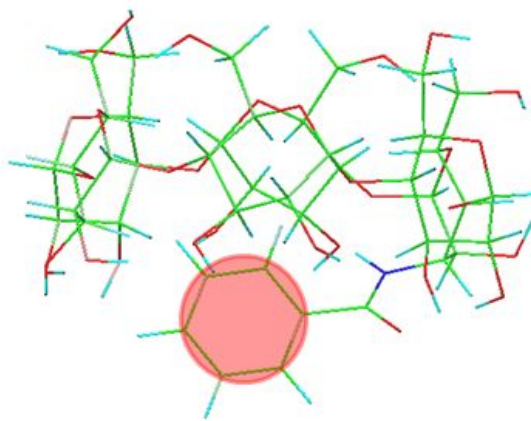


Figure 4-2-3-11. Molecular drawing of **7** by MOPAC.

7 (Figure 4-2-3-10) では、フェニル基と CyD 間に全く相関が観測されなかった。しかしフェニル基由来シグナルパターンは変化している。ブロードシグナルパターンを考慮すると、多くの包接構造が存在するため希釈され、相関が観測されなかったと考えられる (Figure 4-2-3-11)。

4-2-4 円偏光二色性による分子構造解析

円偏光二色性 (Circular Dichroism=CD) は光学活性物質を透過する際の両円偏光の吸収係数の差に由来するものであり、多重結合や芳香族など UV を持っている、なおかつキラリティーを持つ分子で観測できる^{37, 38)}。

10 および **11** の $1.0 \times 10^{-3} \text{M}$ でのそれぞれの CD スペクトルと、吸収スペクトルも示した (Figure 4-2-4-1)。**10** および **11** の CD スペクトルはいずれも正のスペクトルを示していることがわかった。このことから、フェニル基部分は CyD 空洞に存在していると考えられる。また、**10** よりも **11** のほうが強い ICD が観測されている。つまり **10** は CyD 軸と平行にフェニル基が位置し、cap 型の自己包接をしている。一方、**11** は空洞内部に CyD 軸と平行に位置している。

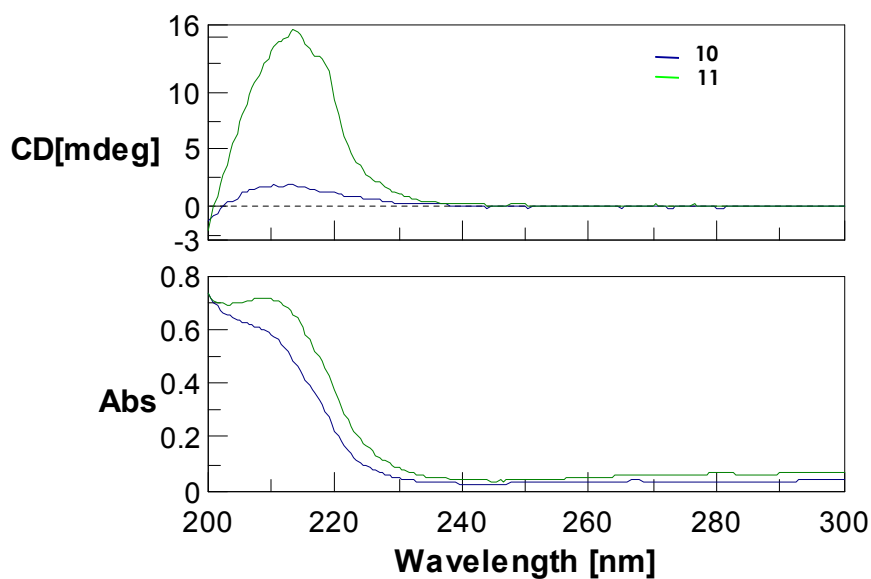


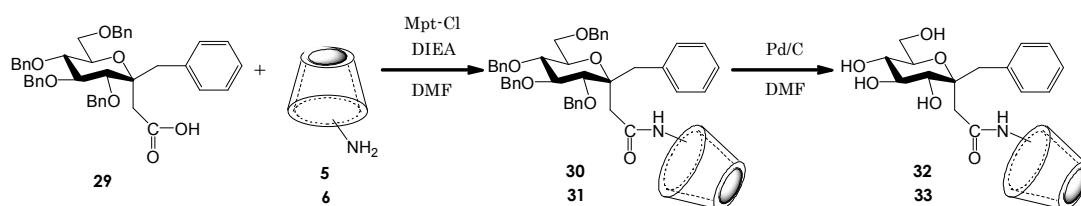
Figure 4-2-4-1. CD spectra of **10** and **11**.

以上、二級位モノ疎水性基修飾 CyD を高収率で得ることができた。NMR では化学シグナルが過不足なく観測され合成が確認された。また、濃度を 100 倍もしくは 1000 倍変化させた、**7~11** の NMR スペクトルでは濃度依存性を示さず、すべて分子内包接体を形成している事が判明した。NOESY スペクトルより、フェニル基が CyD 空洞内に包接されていることも示され、CD スペクトルと矛盾しない結果が得られた。アームの長さを変えて疎水性基を修飾した結果、分子構造はアームの長さではなく、むしろ空洞の大きさに依存していた。

第五章 二級位糖修飾シクロデキストリンの合成と構造解析

既に多くの糖修飾 CyD が知られているが、ほとんどが糖転移酵素により合成されたエーテル（グリコシド）結合化合物で、化学的合成の報告は少ない。本章では第四章で述べた二級位疎水性基修飾 CyD (**10**, **11**) のアーム部分に親水性である糖分子の導入について述べる。親水性の大きな二級側にさらに親水性である糖分子を有する親水性・疎水性ハイブリッド修飾基を修飾することで、親水性と疎水性のバランスを変えた糖修飾 CyD が実現する。糖分子の存在による分子構造の変化を NMR より解析する。さらに包接特性についても述べる。

5-1 二級位糖修飾シクロデキストリンの合成



Scheme 5-1-1. Synthesis of secondary sugar modified α - and β -CyD (**32**, **33**)

1.2 当量の C -グリコシド (**29**) を、ジメチルホスフィノチオイルクロリド存在下 mono-3-amino-3-deoxy-(2AS, 3AS)- α -および β -CyD (**5** および **6**) とそれぞれ縮合させたのち、DMF 中 Pd / C にて脱ベンジル化を行い、HP-20, CM-Sepadex C-25 にて精製し、**32**, **33** をそれぞれ 24%、28% で得た。

TLC にて Rf 値 0.37、0.36 に 1 スポットを示しさらに、MALDI TOF-MS に Na 塩として理論値とほぼ等しいピーク (1286.46, 1449.53) が検出された。 ^1H NMR スペクトルにおいても修飾基と CyD のシグナルが過不足なく観測され、合成を確認した (Figure 5-1-1)。

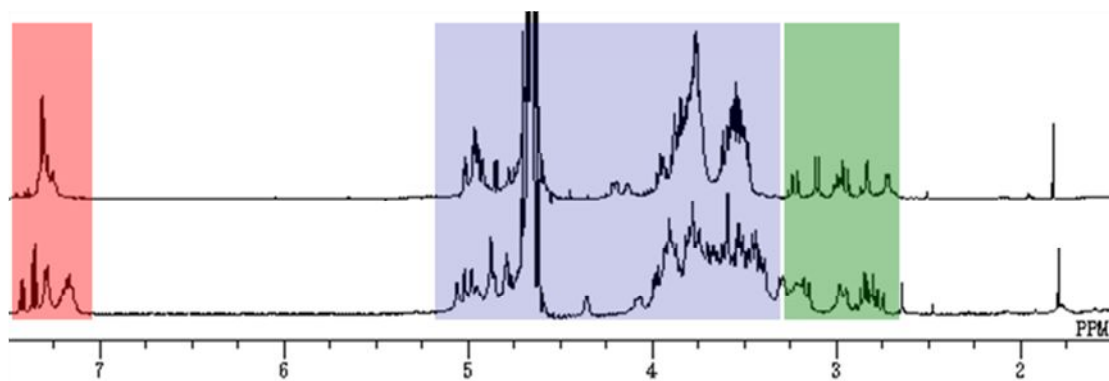


Figure 5-1-1. ^1H NMR spectra of **32** (upper) and **33** (bottom).

5-2 分子構造解析

5-2-1 NMR スペクトル

5-2-1-1 ^1H NMR スペクトル

Figure 5-1-3 に示した二級位糖修飾 α -および β -CyD (**32**, **33**) の ^1H NMR スペクトルでは 7.0-7.3ppm にフェニル基由来のシグナルが、2.6-3.2ppm に糖由来の、3.2-5.2ppm に CyD 由来のシグナルが観測された。四章で述べた **10**, **11** のアームにグルコースが付与している構造である。フェニル基由来のシグナルパターンが **10** では 2:3、**11** では 2:1:2 の積分比で観測されたが、**32** はブロードな単一シフト値で、**33** では 3:2 のパターンで観測された。親水性基糖の存在が疎水性基由来プロトンのスペクトルパターンを変化させた。

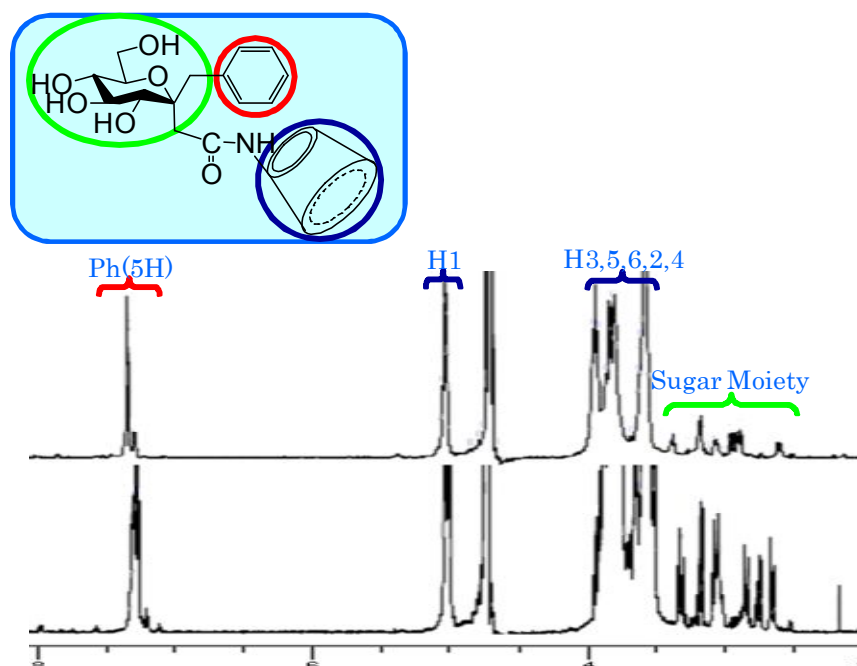


Figure 5-1-1-1-1. ^1H NMR of primary sugar modified α - (upper) and β -CyD (bottom).

3位アミノアルトロースのかわりに一級位 6-NH₂- α -, β -CyD に同法で *C,C* グリコシドを導入した **48**, **49** は分子間包接を形成し **48** は約 20 分子の超分子ポリマーを、**49** は一級水酸基側で向き合ったダイマーを形成することが報告されている³⁹⁾。NMR スペクトルを比較すると、**32** はフェニル基、糖由来シグナルはほぼ同じパターンである。**33** は化学シフト値は異なりブロードで CyD 由来のシグナルがシャープに観測されているのと対照的である。**33** の糖は **32**, **48**, **49** に比べ疎水性かつ運動性の低い環境に位置していると考えられる。

5-2-1-2 Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy (NOESY) スペクトル

32 および **33** ($1.05 \times 10^{-2} \text{M}$, $0.93 \times 10^{-2} \text{M}$) の全範囲および拡大 NOESY スペクトル (2.75-4.25ppm) を示す (Figure 3-4-3, Figure 3-4-4)。

フェニル基と CyD 空洞内部の H3 と H5 プロトン間に相関が観測され、**32** のフェニル基は CyD 空洞内部に存在していると考えられる。**33** のフェニル基と CyD 空洞内部の H3 と H5 プロトン間およびフェニル基と隣接した CH₂プロトンと H5 プロトン間に相関が観測され、フェニル基が CyD 空洞内の一級側縁近くに存在していることが明らかになった。さらに糖のシグナル由来プロトンとも相関が観測され、糖とフェニル基が近接して位置していることを示している。

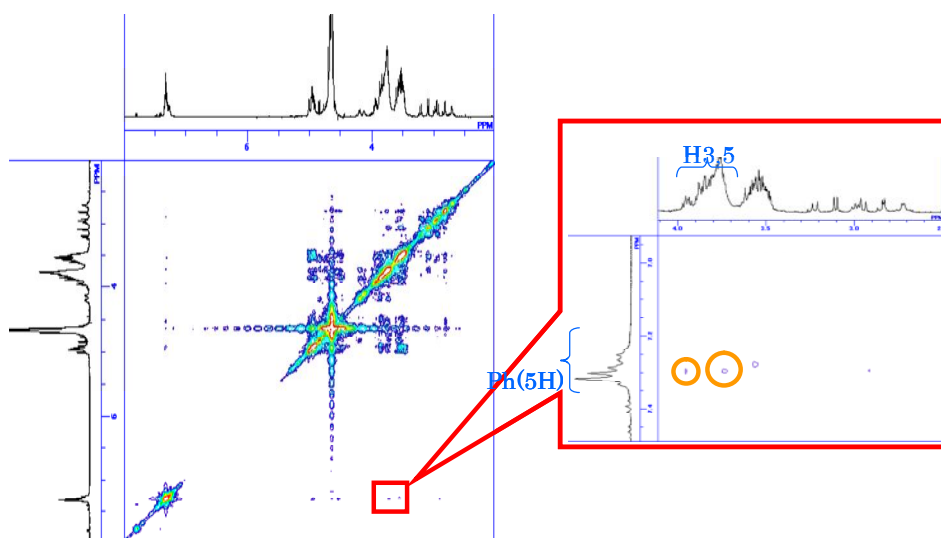


Figure 5-2-1-2-1. NOESY spectra of **32**.

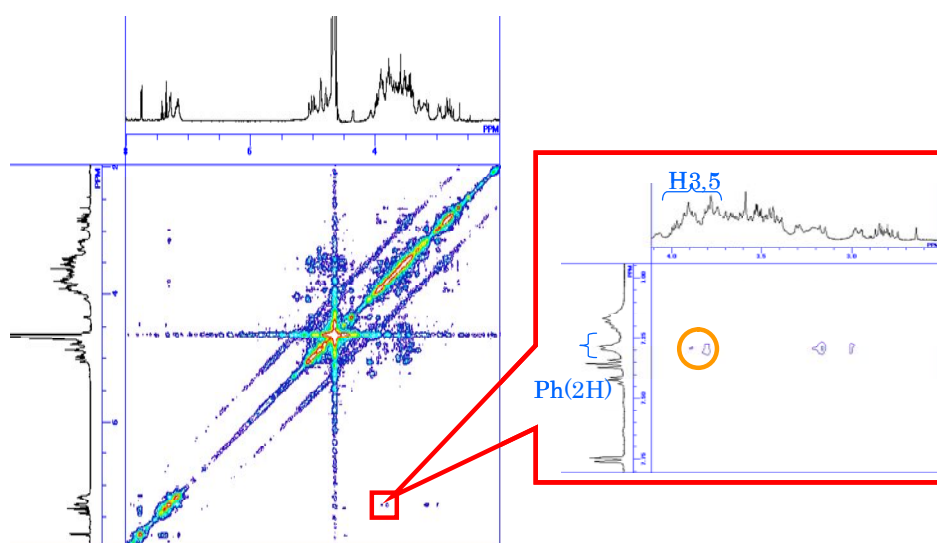


Figure 5-2-1-2-1. NOESY spectra of **33**.

5-2-2 表面プラズモン共鳴光学バイオセンサー法による糖と CyD 空洞の相対的位置の推測

10 mM 酢酸緩衝溶液 (pH 5.3) を溶媒とし、 $3.7 \times 10^{-5} \text{M}$ の **32** および **33** の表面プラズモン共鳴 (Surface Plasmon Resonance : SPR) 光学バイオセンサーの結果を Figure 5-2-2-2 に示す。

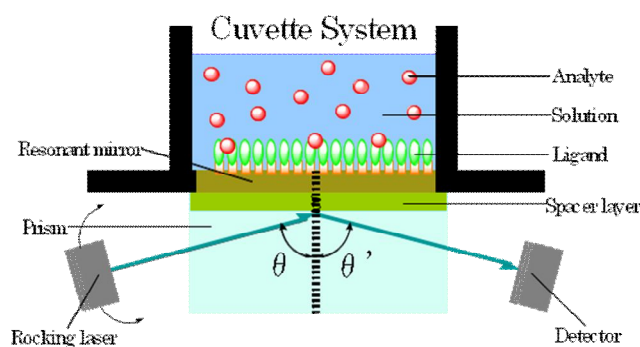


Figure 5-2-2-1. Principle of SPR.

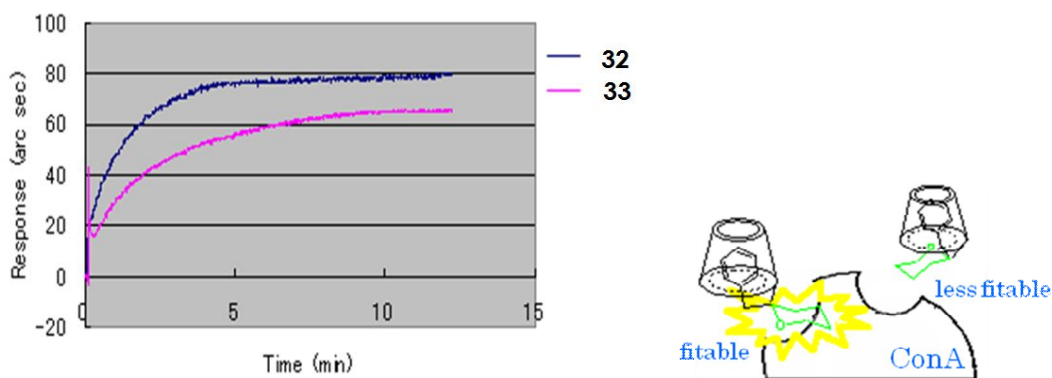


Figure 5-2-2-2. Recognition ability of sugar group by Con A. evidenced by SPR.

Con. A は糖と特徴的に結合し、バルク水中に存在していれば同じレスポンスを示す。**33** のほうが、**32** に比べて低いレスポンスを示し、Con. A と結合しにくい。**33** の糖残基は Con. A との結合を阻害されている。

5-2-3 NMR と SPR の結果に基づく分子構造

^1H NMR において、糖残基のシグナルがブロードに観測されていたことと SPR の結果を総合すると糖は疎水性空洞二級側縁近辺に位置していることになる (Figure 5-2-3-1)。疎水性相互作用により深く包接されたフェニル基に誘引され、アルトロ CyD であることで通常の CyD より歪んだ空洞となり、二級位水酸基が糖と水素結合に適した配座をとっているのではないかと考えられるが、直接証拠は得られていない。

以上の結果から推測される **32** および **33** の分子構造を MOPAC により描画した (Figure 5-2-3-1)。

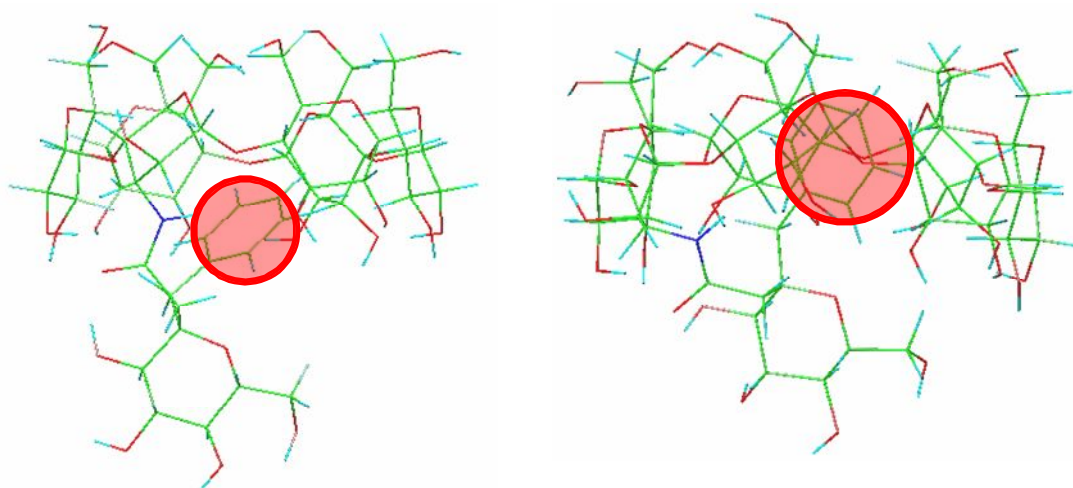


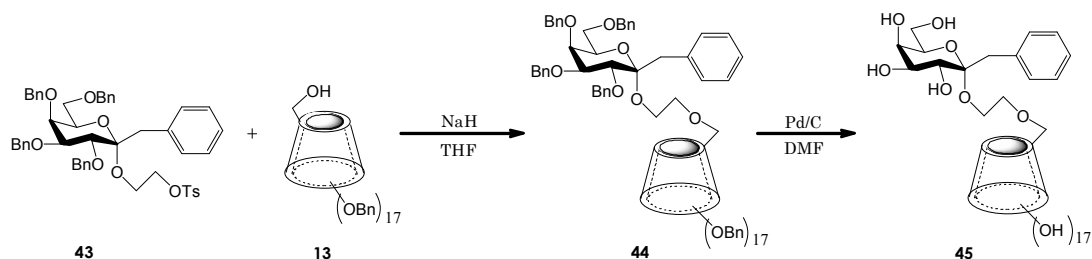
Figure 5-2-3-1. Molecular drawings of **32** (left) and **33** (right) by MOPAC.

以上、親水性-疎水性ハイブリッド修飾基を CyD の二級側へレギオ特異的に導入することができた。二級位疎水性基修飾 CyD はどれも分子内包接体を形成したのに準じ、二級位糖修飾 CyD でも分子内包接体を形成する事が NMR により判明した。さらに SPR の結果は **33** では **32** に比べると糖残基がレクチンに認識されにくいことを示した。この結果は NMR において **33** の糖残基化学シグナルがブロードで観測されたことと矛盾しない。つまり親水性である糖残基が、フェニル基の分子内包接に誘引されるかたちで、二級側の疎水性空洞縁近辺に存在していることが判明した。以上を総合すると二級側修飾において、糖残基を他分子系により認識されるためには疎水性相互作用の調節が有用であることが示された。

第六章 糖-疎水性基修飾シクロデキストリンの合成と分子特性

アミド結合で一級側へ糖分子を導入した一級位糖修飾 α -CyD (**48**) は超分子ポリマーを形成し、 β (**49**) はダイマー型の分子間包接体を形成することが報告されている。第五章では親水性-疎水性ハイブリッド修飾基をアミド結合で二級側へ導入した CyD は、 α 、 β -共に分子内包接体を示した。そこで本章ではアミド結合よりフレキシブルなエーテル結合で、一級側に親水性-疎水性ハイブリッド修飾基を導入したエーテル結合型一級位糖修飾 α -CyD (**45**) を合成し、その構造解析および分子特性について述べる。

6-1 エーテル結合型一級位糖修飾シクロデキストリンの合成



Scheme 6-1-1. Synthesis of primary sugar modified α -CyD (**45**) through the ether bond.

CyD 誘導体 **13** を THF に溶解し、水素化ナトリウム存在下で 1.2 当量の **43** と縮合させたのち薄層クロマトグラフィーにて精製し、DMF 中 Pd / C にて脱ベンジル化を行い、エーテル結合型一級位糖修飾修飾 α -CyD (**45**)を 92%で得た (Scheme 6-1-1)。

MALDI TOF-MS において Na 塩として理論値とほぼ等しいピーク (1291.10) が検出された。 ^1H NMR スペクトルにおいても修飾基と CyD のシグナルが妥当な積分比で過不足なく観測され合成を確認した (Figure 6-1-1)。

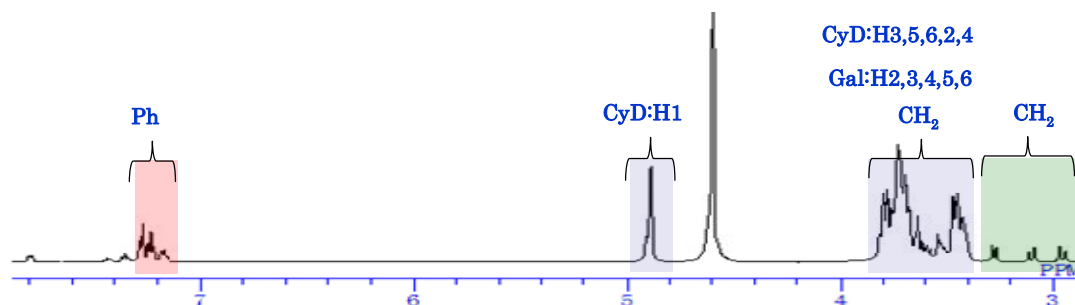


Figure 6-1-1. ^1H NMR spectrum of **45**.

7.0-7.3ppm にフェニル基由来のシグナルが現れ、2.8-3.3ppm に修飾した分岐糖のスペーサーであるアーム部分のシグナルが現れた。CyD 由来の化学シフトも観測された。

6-2 分子構造

6-2-1 NMR スペクトル

6-2-1-1 ^1H NMR スペクトル

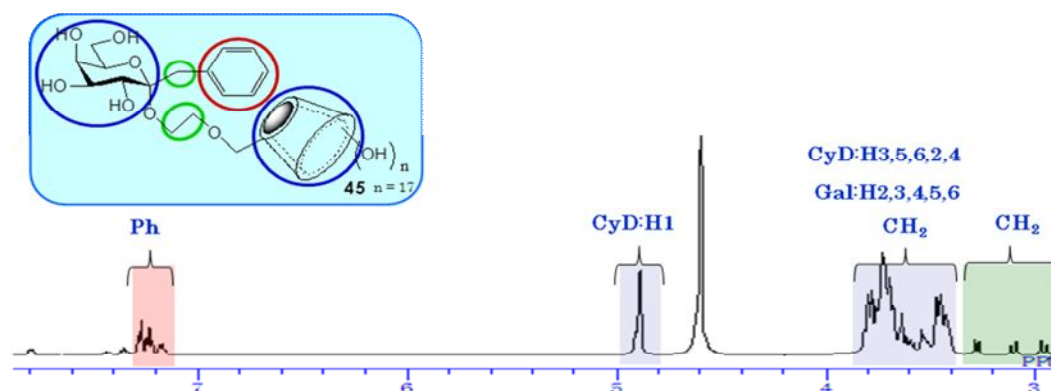


Figure 6-2-1-1-1. ^1H NMR spectrum of **45**.

エーテル結合型一級位糖修飾 α -CyD (**45**) の ^1H NMR スペクトルでは 7.0-7.3ppm にフェニル基由来のシグナルが、2.8-3.3ppm にスパーサー部分由来の、3.4-5.0ppm に修飾基であるガラクトースと CyD 由来のシグナルが観測された (Figure 6-2-1-1-1)。糖部分のシグナルが **45** では CyD 部分と重なって観測され、フリーの糖と同様なシグナルパターンである。これは **45** がフレキシブルなエーテル結合で **43** を結合させたことによると考えられ、第五章で示した二級位糖修飾 CyD (**32**, **33**) との違いである。また、フェニル基由来のシグナルパターンにおいて **32** ではブロードな単一シフト値で、**33** では 3:2 のパターンで観測されたが、**45** では 2:2:1 の積分比で観測された。

6-2-1-2 スペクトルの濃度依存性

4-2-2 と同様に自己ゲスト修飾 CyD の分子内-分子間包接平衡がどちらに偏るか、**45** の濃度を 1.05×10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2}M の ^1H NMR および、測定温度を 30~80°C に変化させた ^1H NMR スペクトルを示す (Figure 6-2-1-2-1, Figure 6-2-1-2-2)。

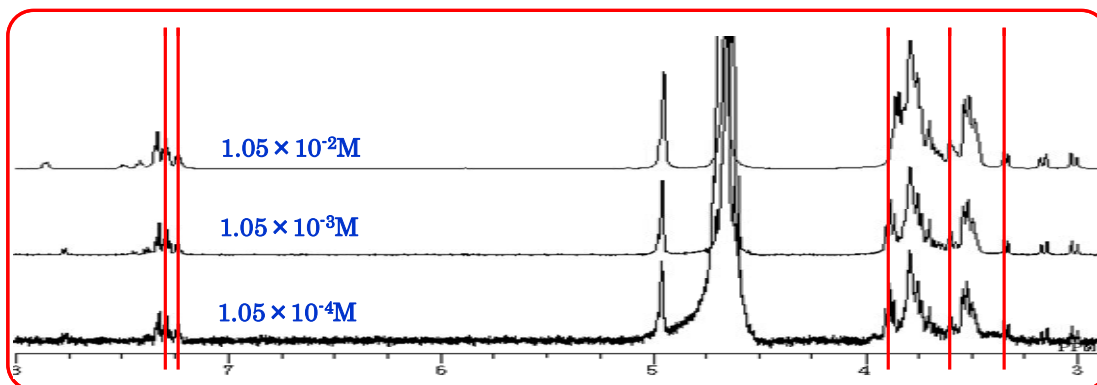


Figure 6-2-1-2-1. Dependence of ^1H NMR spectra of **45** on concentration.

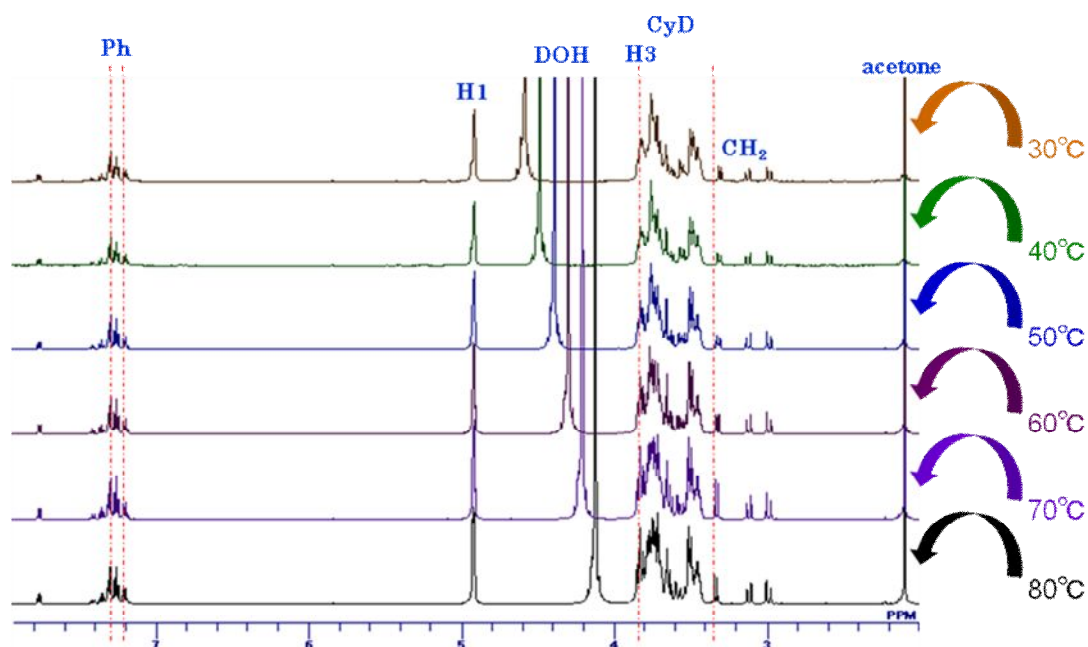


Figure 6-2-1-2-2. Dependence of ^1H NMR spectra of **45** on temperature.

濃度を 100 倍変化させたところ、3.8ppm 付近の CyD 空洞内部プロトン H3 の化学シフト値が変化し、この濃度範囲において右へ平衡が偏り、**45** は他の CyD 空洞にフェニル基が包接され、分子間包接体を形成していると考えてよい。

温度を 30~80°C へ昇温させると、フェニル基部分と CyD 空洞内部の H3 プロトンの低磁場シフトが観測された。分子間包接体の解消に起因している。従って **45** は分子間包接体を形成している。

6-2-2 Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy (NOESY) スペクトル

45 ($1.05 \times 10^{-2} \text{M}$) の NOESY スペクトルおよび拡大スペクトルを示す (Figure 6-2-2-1)。

フェニル基と CyD 空洞内部の H3 と H5 プロトン間に相関が観測され、**45** のフェニル基は CyD 空洞内部に存在していることが明らかとなった (Figure 6-2-2-1)。前節で示したように、この濃度において他の CyD 空洞に包接され、NOE 相関が観測されている。

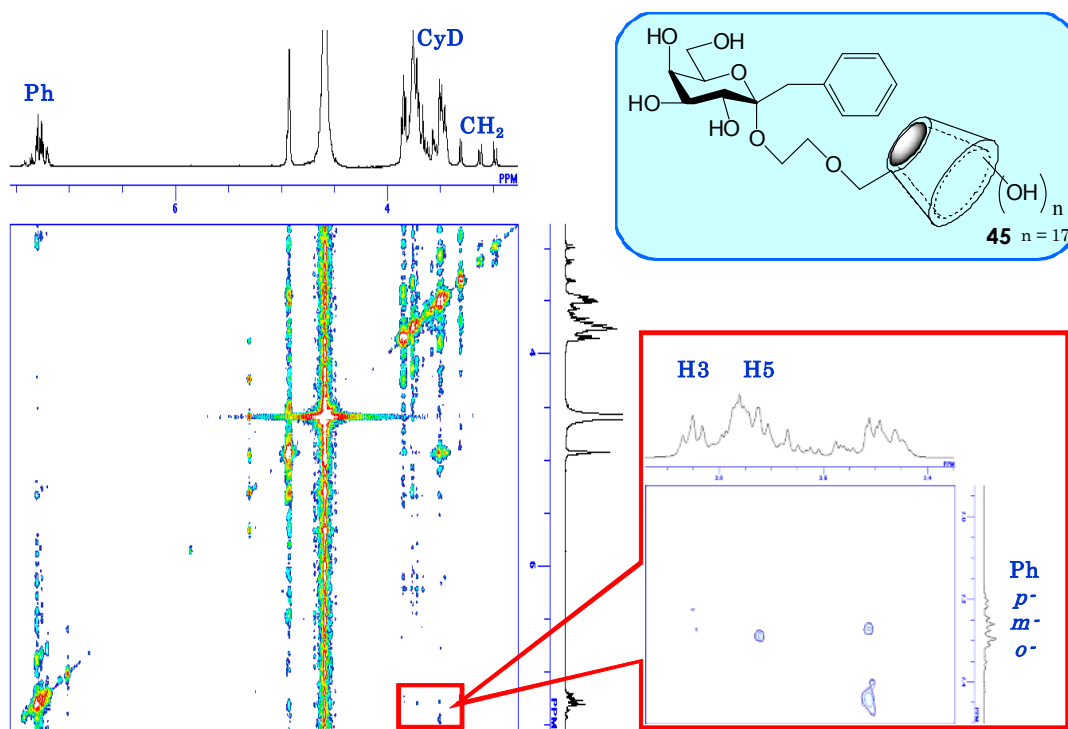


Figure 6-2-2-1. NOESY spectra of **45**.

6-2-3 円偏光二色性による分子構造解析

45 の $1.0 \times 10^{-3} \text{M}$ での CD スペクトルと吸収スペクトルを示す (Figure 6-2-3-1)。

45 の CD スペクトルは負のスペクトルを示していることがわかった。このことから、フェニル基部分は CyD 軸に対して垂直に位置している、即ち CyD の一級位側で空洞上部をフタする cap 型の分子構造を支持している。

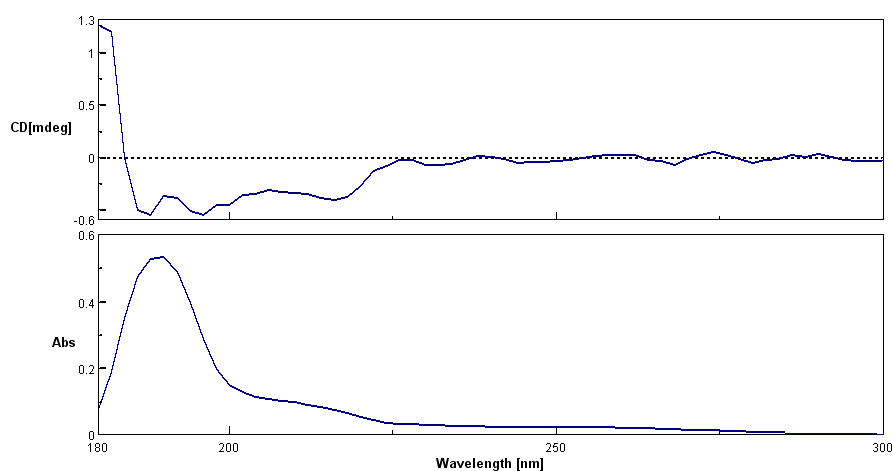


Figure 6-2-3-1. CD spectra of **45**.

6-3 エーテル結合型一級位糖修飾シクロデキストリンの分子特性

45 において濃度が薄い条件では cap 構造をとり、濃度が濃い条件では分子間包接体を形成する。二級位糖修飾 CyD (**32**, **33**) はどちらも分子内包接体を形成したが、**45** では cap 型構造および分子間包接体を形成した (Figure 6-2-5)。先に小田らは糖-疎水性ハイブリッド CyD を剛直なアミド結合で導入した **48**, **49** の分子間包接化合物を形成し、二量体、超分子ポリマーとなることを報告している³⁹⁾。剛直なアミド結合をフレキシブルなエーテル結合に変えても一級側修飾では自己包接体を形成しない事は注目に値する。糖残基もバルク水層で CyD に制限されずに存在しており、他分子からの認識残基としては一級側修飾が望ましい。CyD の水酸基との分子内水素結合のためには、二級水酸基側で疎水性相互作用の調整が有用であることが示された。

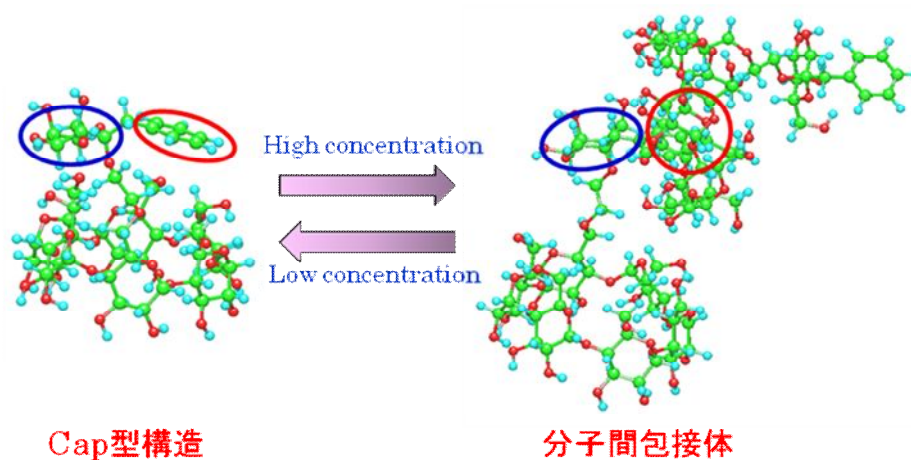


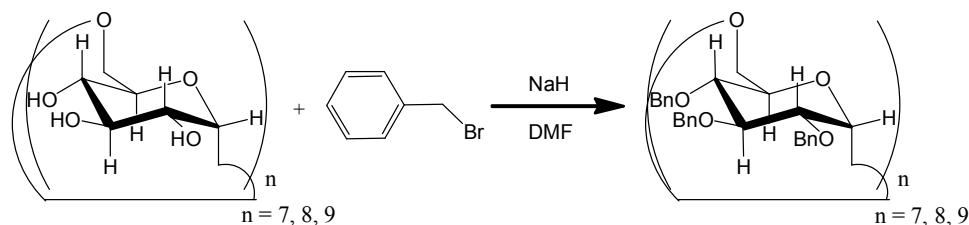
Figure 6-2-5. Suggested molecular structure of **45**.

以上、親水性-疎水性ハイブリッド修飾基を CyD の一級側へレギオ特異的に高収率で導入することができた。NMR と CD の結果より、希薄条件下では cap 型構造をとり、濃厚条件下では分子間包接体を形成することが判明した。剛直なアミド結合のみならず、フレキシブルなエーテル結合でも一級側修飾では自己包接体を形成せず、分子間包接現象を示すことが明らかとなった。導入糖残基もバルク水層に CyD に制限されずに存在しており、他分子からの認識残基としては一級側修飾が望ましいことが示された。

第七章 α -1,4 および α -1,6 グリコシド結合に起因する大環状構造の相違; シクロデキストランの分子構造と特性

環状オリゴ糖でもっともよく知られているものに α -グルコースが α -1,4 結合で環状に連なった構造をしている CyD がある。他にもグルコース残基の水酸基間によるグリコシド結合は可能で、 α -1,6 グルカン (cycloisomaltooligosaccharide) ⁴⁰⁾、 β -1,2 グルカン (cyclosphoraoses) ⁴¹⁾、 β -1,3 グルカン (β -1,3-linked cyclogluco-hexaose) ⁴²⁾、 β -2,1 フルクタン (cycloinulooligosaccharides; CFs) ⁴³⁾などが報告されている。CyD の生産は澱粉に酵素 (シクロデキストリングルコシルトランスフェラーゼ: CGTase) を作用させることで得られるが、使用する酵素を変えることで目的とする環サイズの CyD を得ることができる。一方、CI はショ糖からデキストランを合成するデキストラン生産菌と、デキストランを原料として CI を合成する CI 生産菌の 2 種類の酵素を必要とし、現在の CI 生産法では CI₇~CI₁₂ (グルコース残基が 7~12) の含有量が 15%程度で、複数の環状オリゴ糖を含有したまま生産されている。CI は CyD よりも水溶性が極めて高く、同じグルコース数の CyD に比べて口径が大きく薄い構造を有し、CyD よりも分子のフレキシビリティが非常に高いことが予測されている。CI は抗う蝕作用も報告され、包接能も有している ⁴⁴⁾。CI の構造解析が報告されているのは CI₇~CI₁₇ の 11 種類で、カーボン NMR スペクトルのみである。そこで本章では CI の詳細な分子構造について、NMR スペクトルおよび緩和時間から系統的に論ずる。さらに、複数の環状オリゴ糖混合物として生産される CI の簡便な精製法の手助けとなるべく発色団の導入を検討した結果についても述べる。

7-1 Per-O-Bn-シクロデキストランの合成



Scheme 7-1-1. Synthesis of per-O-Bn- CI_n .

水酸基の全ベンジル化は、糖の有機溶媒可溶化と次段階の化学修飾の前駆体となる。また、発色団導入で数種のオリゴ糖混合物分離の助けとなる。さらに水酸基間の水素結合を遮蔽することで主環構造の特性を知ることができる。 CI_7 , 8 , 9 をそれぞれ DMF に溶解させ、氷浴中、水素化ナトリウム存在下、ベンジルブロミドと室温で三日間反応させ、収率 26, 31, 48%で生成物を得た (Scheme 7-1-1)。MALDI TOF-MS で、それぞれ理論値 $[\text{M}+\text{Na}^+]=3048.34$, 3480.54 , 3928.71 と一致する $[\text{M}+\text{Na}^+]=3046.46$, 3476.69 , 3908.03 のピークを観測した。 ^1H NMR において 7.0-7.25ppm にベンジル基のフェニル、4.3-4.8ppm に CH_2 由来のシグナルが、3.0-4.0ppm および 5.0ppm に CI 由来のシグナルが適正な積分比で過不足なく観測され、per-O-Bn- CI_7 , 8 , 9 の合成が確認された (Figure 7-1-2)。

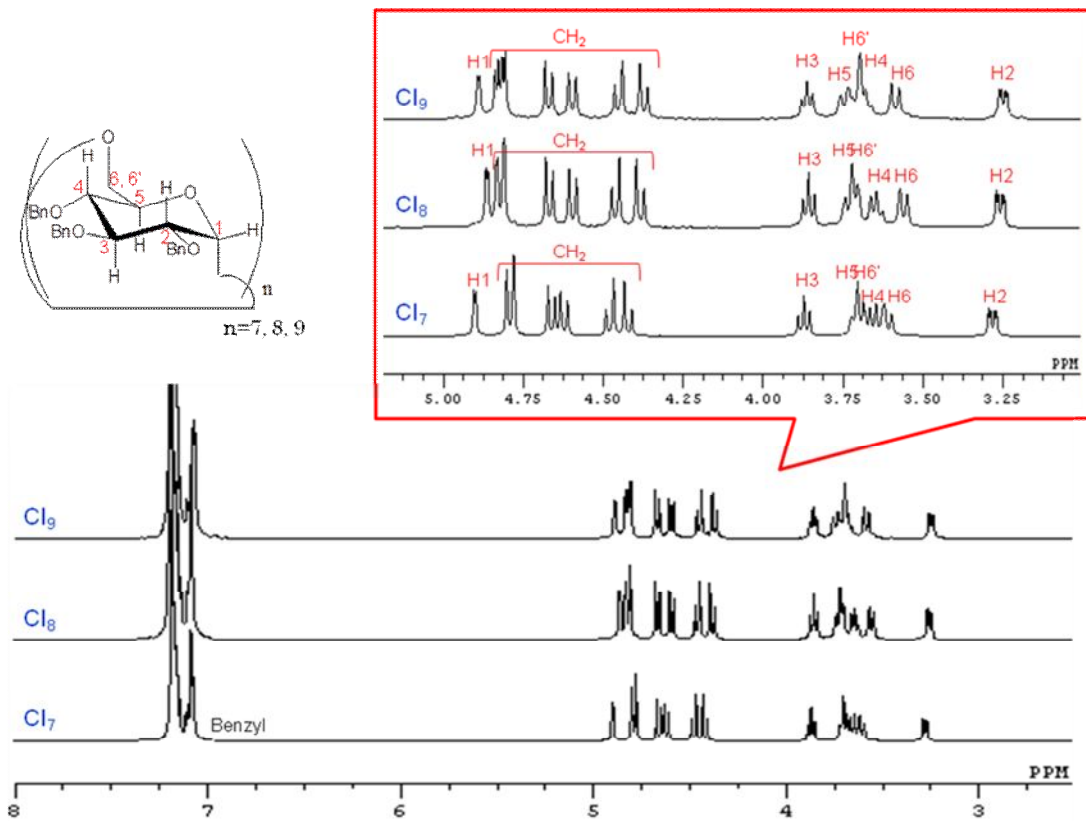


Figure 7-1-2. ^1H NMR spectra of per-*O*-Bn- $\text{CI}_{7, 8, 9}$.

7-2 NMR スペクトル

7-2-1 ^1H NMR スペクトル

シクロデキストラン (CI)

$\text{CI}_{7, 8, 9, 10}$ および α -, β -, γ -CyD の重水中 NMR スペクトルを示す。

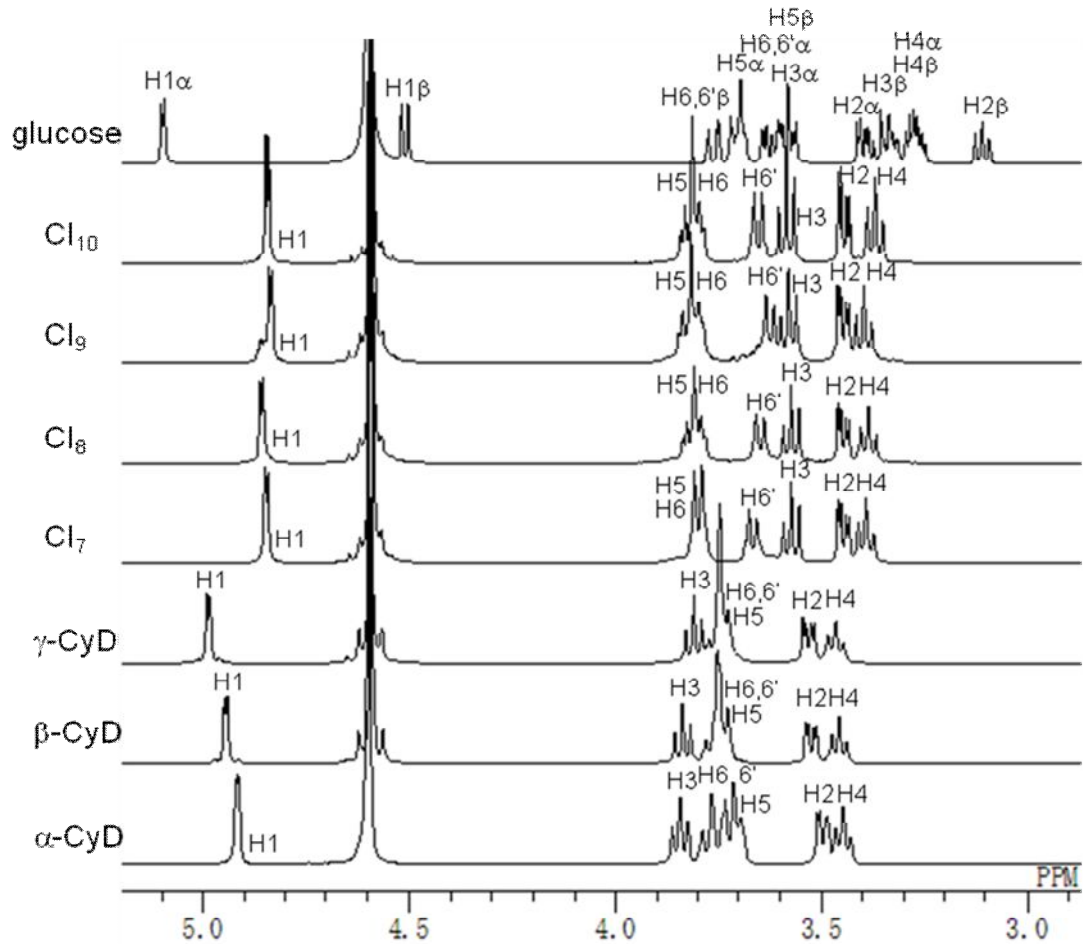
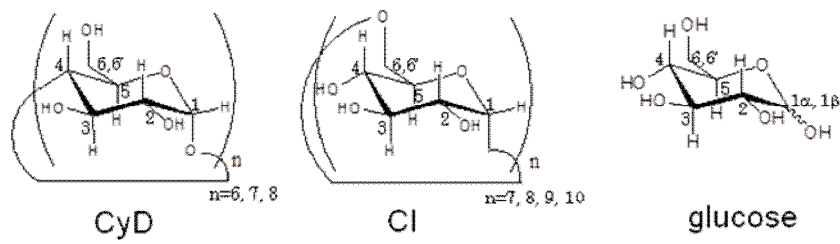


Figure 7-2-1-1. ¹H NMR spectra of CI₇, CI₈, CI₉, CI₁₀, α-, β-, γ-CyD and glucose.

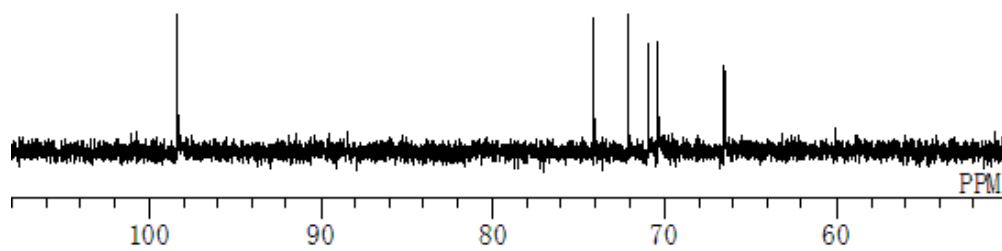


Figure 7-2-1-2. ¹³C NMR spectrum of CI₁₀.

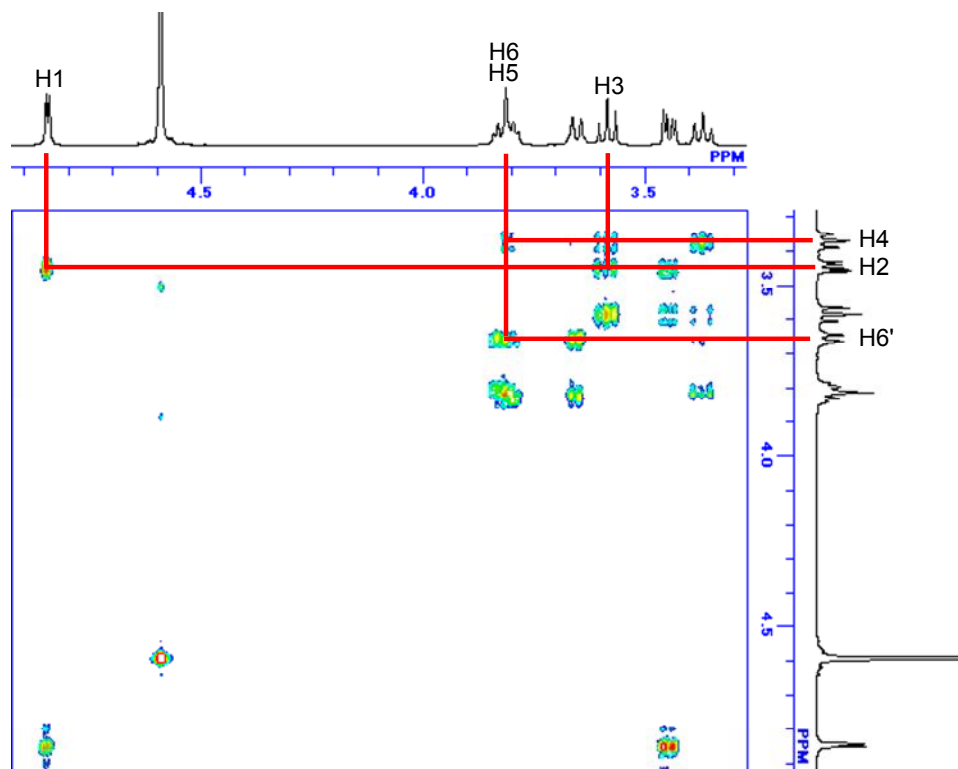


Figure 7-2-1-3. H-H cosy spectrum of Cl₁₀.

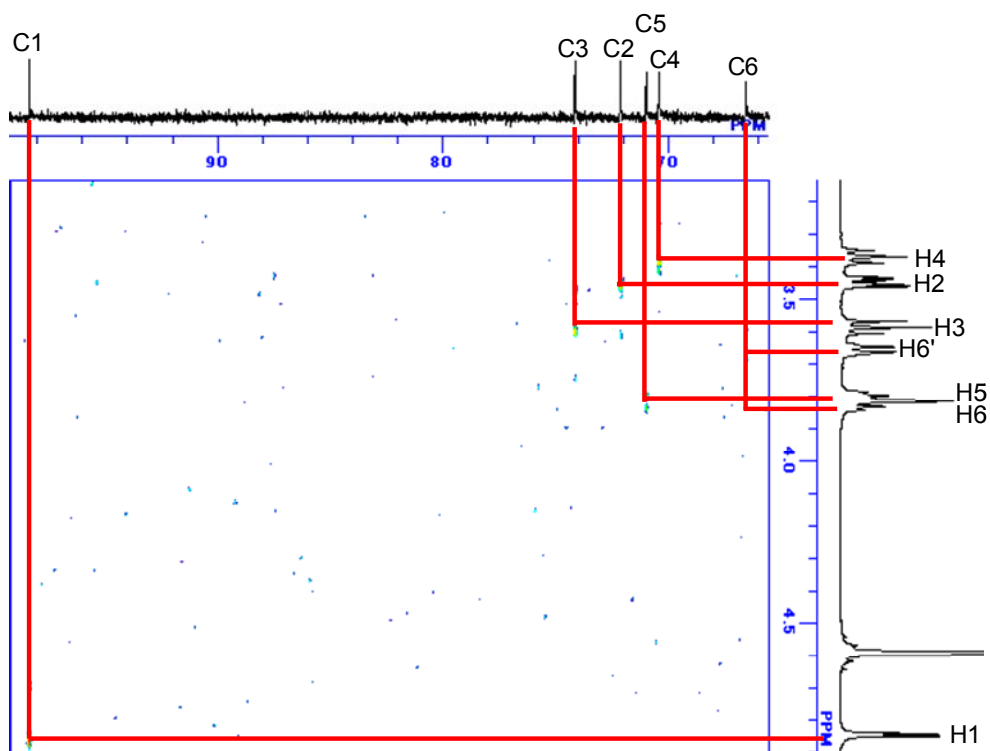


Figure 7-2-1-4. H-C cosy spectrum of Cl₁₀.

いずれも鋭いシグナルが観測されグルコースが平均化された 1 スピン系で観測されている。 ^{13}C NMR スペクトル (Figure 7-2-1-2)、H-C および H-H cosy (Figure 7-2-1-3、Figure 7-2-1-4) の相関から CI_{10} では 4.85ppm (H1), 3.78-3.86ppm (H5, H6), 3.66ppm (H6'), 3.58ppm (H3), 3.44ppm (H2), 3.36ppm (H4)と帰属した。同様に $\text{CI}_{7,8,9}$ も帰属した。アノメリック H1 プロトンが最も低磁場に、H2, H4 が高磁場に観測されたことは CyD と同様であるが、H6, H6'が明確に異なるシフト値を示したこと、H3 が高磁場シフトを示したことが CyD と異なる。また CyD は構成グルコース数により H1, H3 のシフト値が異なり、環の一番小さい α -CyD だけが H5, H6 のパターンが異なっているが、CI では $n=7\sim 10$ で H6, 6'のシフト値に差異があるのみで、他のプロトンはほとんどが同じシフト値であった。合わせて示したグルコース (α -, β - mix) と CI のシグナルを比べると全体的に低磁場シフトしているが、H3 は同様なシフト値を示した。前述した Bn 化 CI では H4, H5, H6 のシフト値が $n=7\sim 9$ で異なっている。

7-2-2 ^{13}C NMR スペクトル

$\text{CI}_{7, 10}$ および α -, γ -CyD の重水中 ^{13}C NMR スペクトルを示す。

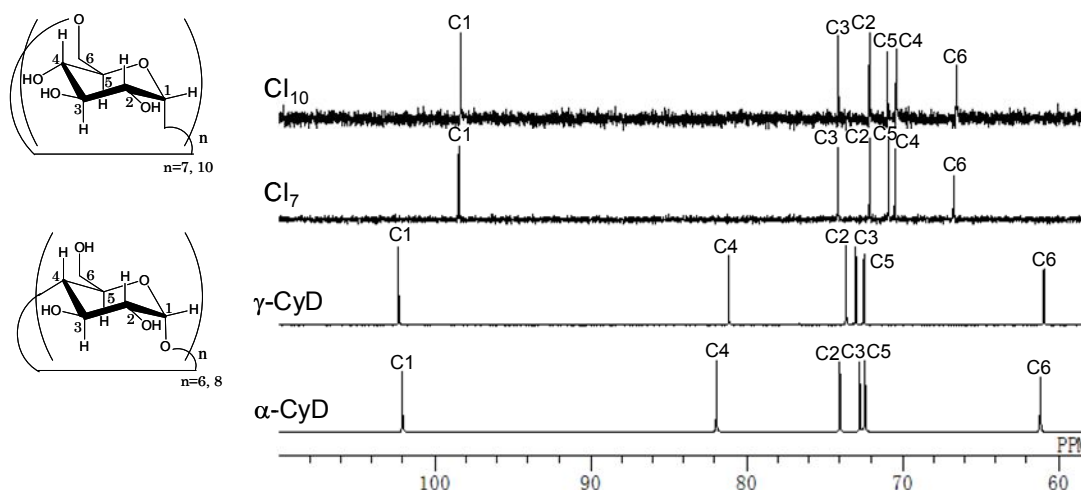


Figure 7-2-2-1. ^{13}C NMR spectra of $\text{CI}_{7, 10}$, α - and γ -CyD.

CI および CyD 共に 6 種のシグナルが観測された (Figure 7-2-2-1)。 ^{13}C NMR スペクトル (Figure 7-2-1-2)、H-C および H-H cosy (Figure 7-2-1-3、Figure

7-2-1-4) の相関から、Cl₁₀ のシグナルは 98.35ppm (C1), 74.15ppm (C3), 74.14ppm (C2), 70.98ppm (C5), 70.42ppm (C4), 66.58ppm (C6) と帰属できた。Cl₇ も同様に帰属することができた。CyD のシフトと比べると C1 と C4 は高磁場に、C3, C6 は低磁場にシフトしている。第三章でカーボンシフト値 2ppm はグリコシド結合二面角 10° に対応すると述べた。グリコシド結合がα-1,4 からα-1,6 へ変わることで、C1 最大シフト値差 3.60ppm であり 18° の差異があることがわかった。

7-2-3 緩和時間(T₁)

シクロデキストリン、シクロデキストランともにα-グルコース単位で構成され、各プロトンは H5, H6 は重複しているが、H1, H2, H3, H4, H6' は異なる化学シフト値を有する (Figure 7-2-1-1)。Table 7-2-3-1 に各プロトン (Figure 7-2-1-1) の 17°C における T₁ (ms) を示した。

Table 7-2-3-1. Relaxation time of each glucose proton.

環状グリコシド	T ₁ / ms						Av.
	H1	H2	H3	H4	H5,6 ^{a)}	H6'	
Cl ₁₀	692.8	913.8	1051	907.1	445.1	347.5	686.0
α-CyD	501.3	802.4	852.5	477.6	335.5	—	520.0
β-CyD	535.6	877.9	1044	529.8	323.1	—	565.2
γ-CyD	603.4	828.6	1125	604.5	370.3	—	610.3

a) H5, 6が平均化されたシフトで観測されているため

α-1,4 結合している H1, H4 が約 500ms, H2, H3 が約 900ms, H5, H6 が約 400ms であった。それぞれ空洞中心, 広い縁, 狭い縁と存在位置ごとに近い値となっている。一方 Cl₁₀ では H2, H3, H4 が約 1000ms で観測され、α-1,6 で結合している H1 は約 700ms, H6 は約 450ms と 400ms であった。環状グリコシドのプロトンあたりの平均値は、環構成グルコース 1 残基あたり約 45ms 増加している。またグリコシド結合両端のプロトンの T₁ は短く分子運動が制限されている可能性がある。

17-80°Cでの T_1 を Table 7-2-3-2、7-2-3-3 および Figure 7-2-3-4 に示した。

Table 7-2-3-2. Relaxation time of γ -CyD on each temperature.

γ -CyD	17°C	30°C	40°C	50°C	60°C	70°C	80°C	Av.
H1	603.4	554.8	453.3	508.7	542.5	569.9	635.2	552.5
H3	1125	1135	323.5	1268	1466	651.4	670.6	948.5
H5, 6	370.3 ^{a)}	327.7 ^{a)}	311.1	323.6	314.0	351.2	380.0	339.7
H6'			398.5	401.3	407.1	525.9	483.6	416.3
H2	828.6	827.7	335.7	811.1	837.3	882.2	991.5	787.7
H4	604.5	534.6	511.5	520.4	540.6	604.3	621.0	562.4
Av.	610.3	576.4	377.8	593.8	631.6	562.3	594.6	

a) H5, 6が平均化されたシフトで観測されているため

Table 7-2-3-3. Relaxation time of Cl_{10} on each temperature.

Cl_{10}	17°C	30°C	40°C	50°C	60°C	70°C	80°C	Av.
H1	692.8	673.2	641.5	638.9	653.5	715.2	771.0	683.7
H3	1051	1106	1073	1099	914.0	1224	1322	1113
H5, 6 ^{a)}	445.1	368.4	353.3	352.4	346.4	383.1	406.3	379.3
H6'	344.3	279.7	255.1	250.1	254.3	271.0	296.6	278.7
H2	921.8	947.3	887.5	877.9	866.8	964.3	1029	927.8
H4	883.9	862.5	831.1	827.9	887.6	919.9	1001	887.7
Av.	683.4	657.9	627.8	628.4	609.9	694.4	747.5	

a) H5, 6が平均化されたシフトで観測されているため

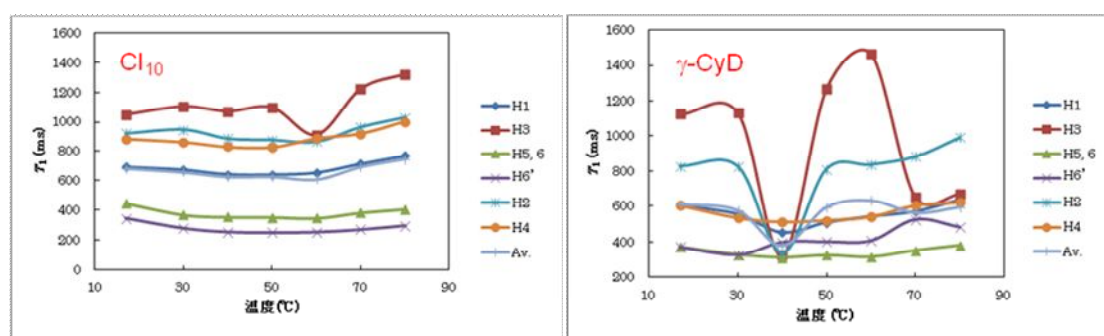


Figure 7-2-4-1. Dependency of relaxation time of Cl_{10} and γ -CyD on each temperature.

Cl_{10} は 60°Cにおいて H3 が短い値を示したが、その他のプロトンの T_1 値は極値を示さなかった。プロトンの T_1 値は周囲のプロトンの影響を受けやすいので、水溶液中の T_1 値から直接分子の運動性について議論することは難しく、これまで例がない。しかし同じグルコースが環状構造をとっている γ -CyD では、H2, H3 が 40°Cにおいて極小値を示した。どちらも CyD の広い縁に存在しているプロト

ンであり、グルコース間の水素結合を形成している可能性がある。極小値は水素結合との関連を示唆しているが、証明に至るにはさらなる検討が必要である。CIはCyDと異なり、グルコースと変わらない分子運動性を有していると考えられる。

7-3 シクロデキストランの分子特性

NMR スペクトルの結果を総合すると CI はグルコースに近い運動性を有し、グルコース基間の水素結合ネットワークも存在の証拠がない。歪んだ環状構造である証拠もない。CI が非常に高い水溶性を有している事と矛盾しない。この条件に合致するよう真空中の誘電率にて MOPAC 描画の結果を Figure 7-3-1、Figure 7-3-2 に示した。

6 位の唯一の一級水酸基とアノメリック位水酸基間での α -1,6 グリコシド結合により、CI は二級水酸基のみ有する。グルコース環はそれぞれ異なる配座にあるので、環状グリコシドの双極子モーメントは垂直方向に向いている。CI に比べると α -1,4 グリコシド結合した CyD は一級水酸基縁と二級水酸基縁を有し、グルコース環は規則性をもって並んでいる。さらに二級水酸基側で水素結合ネットワークが生じる。その結果グリコシド結合部分がベルト状に位置し、深い疎水性空洞を形成し、ゲスト分子包接特性を有する (Figure 7-3-3)。

CI の環状構造をホスト分子として機能させるには、グリコシド結合あるいは水酸基の酸素の対電子が協同して働く配向が必要であると考えられる。各グルコースは十分なフレキシビリティを有しているので可能性はある。

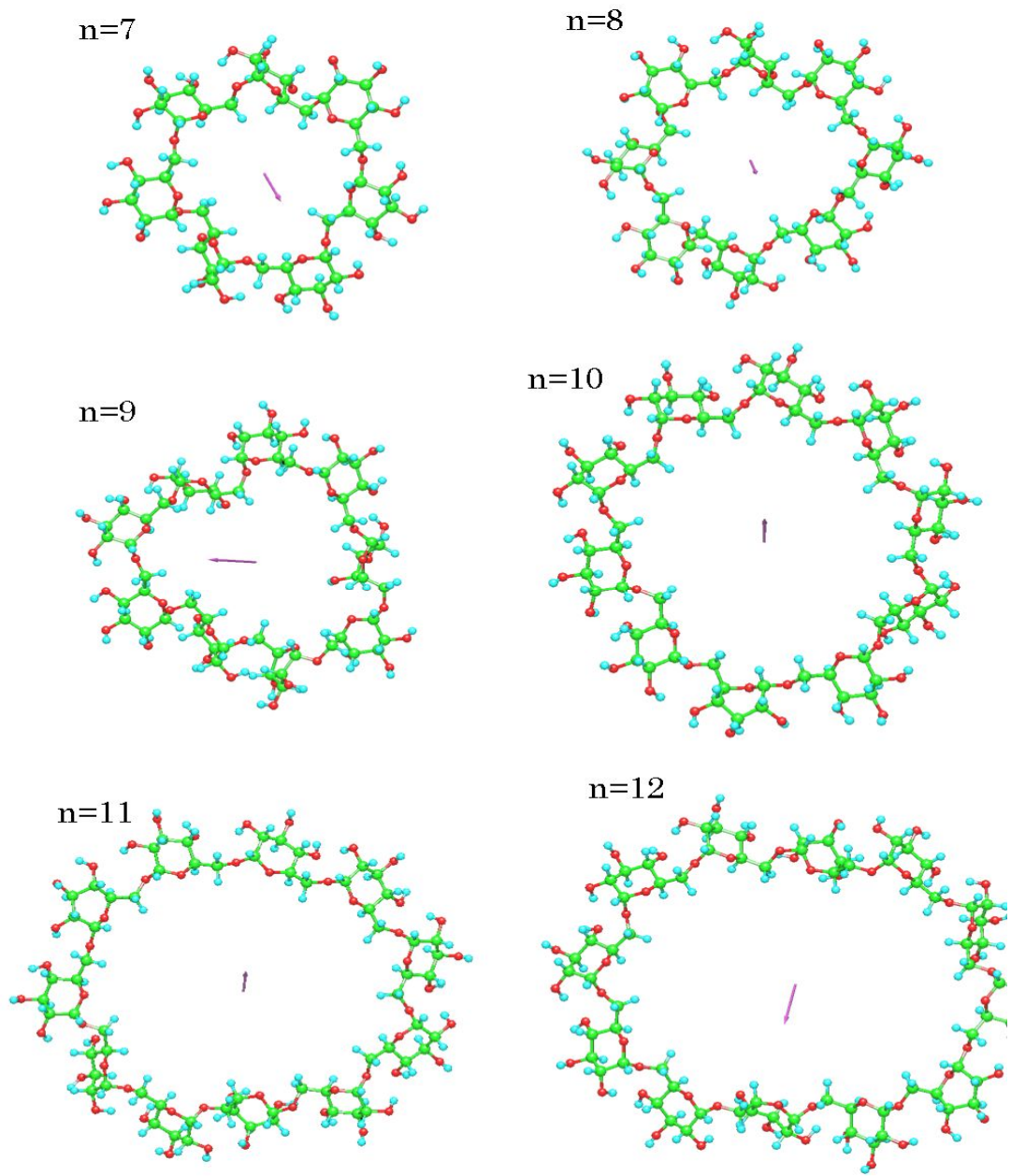


Figure 7-3-1. Top view molecular drawings of CI₇, 8, 9, 10, 11, and 12 by MOPAC.

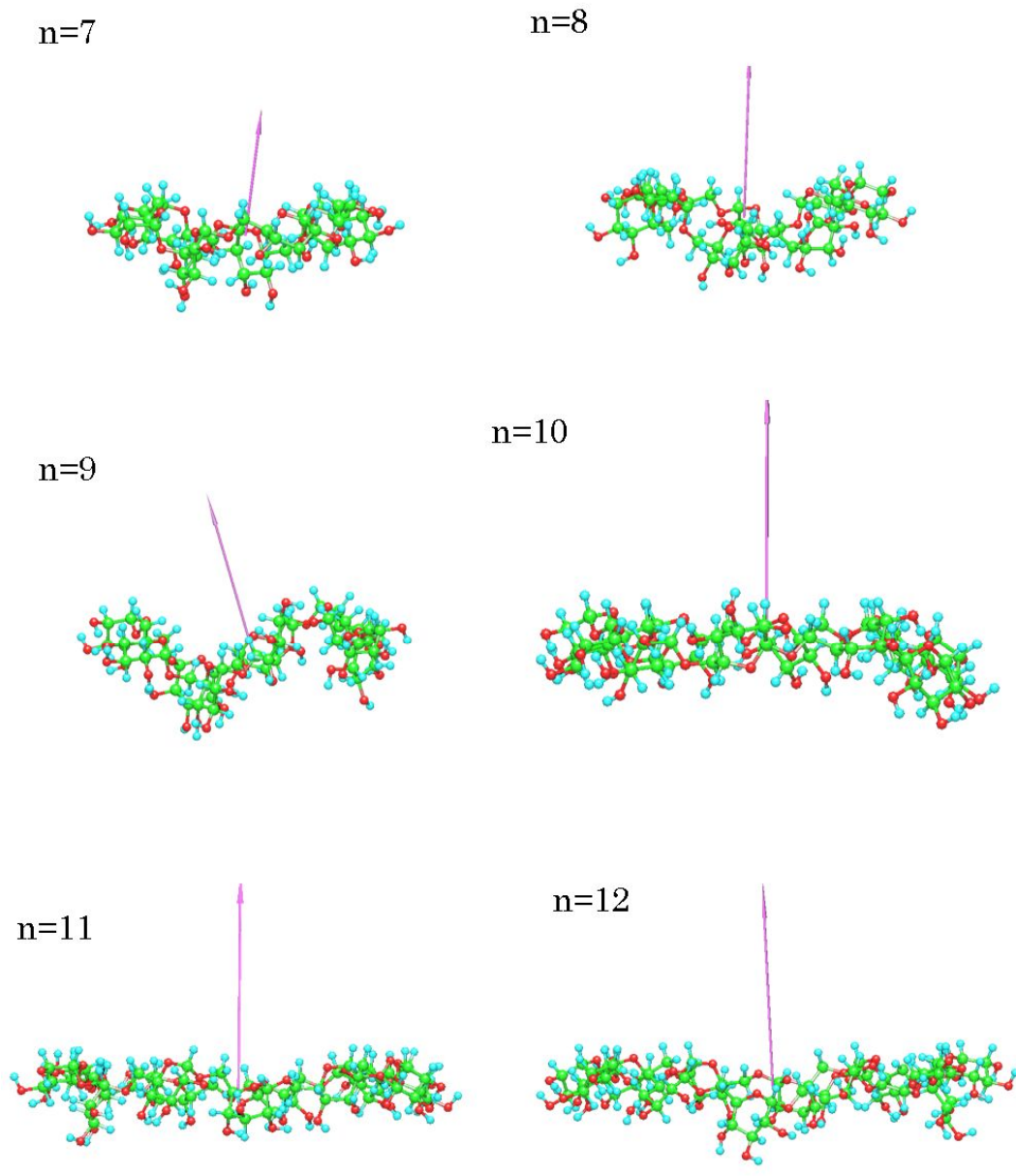


Figure 7-3-2. Side view molecular drawings of CI₇, CI₈, CI₉, CI₁₀, CI₁₁, and CI₁₂ by MOPAC.

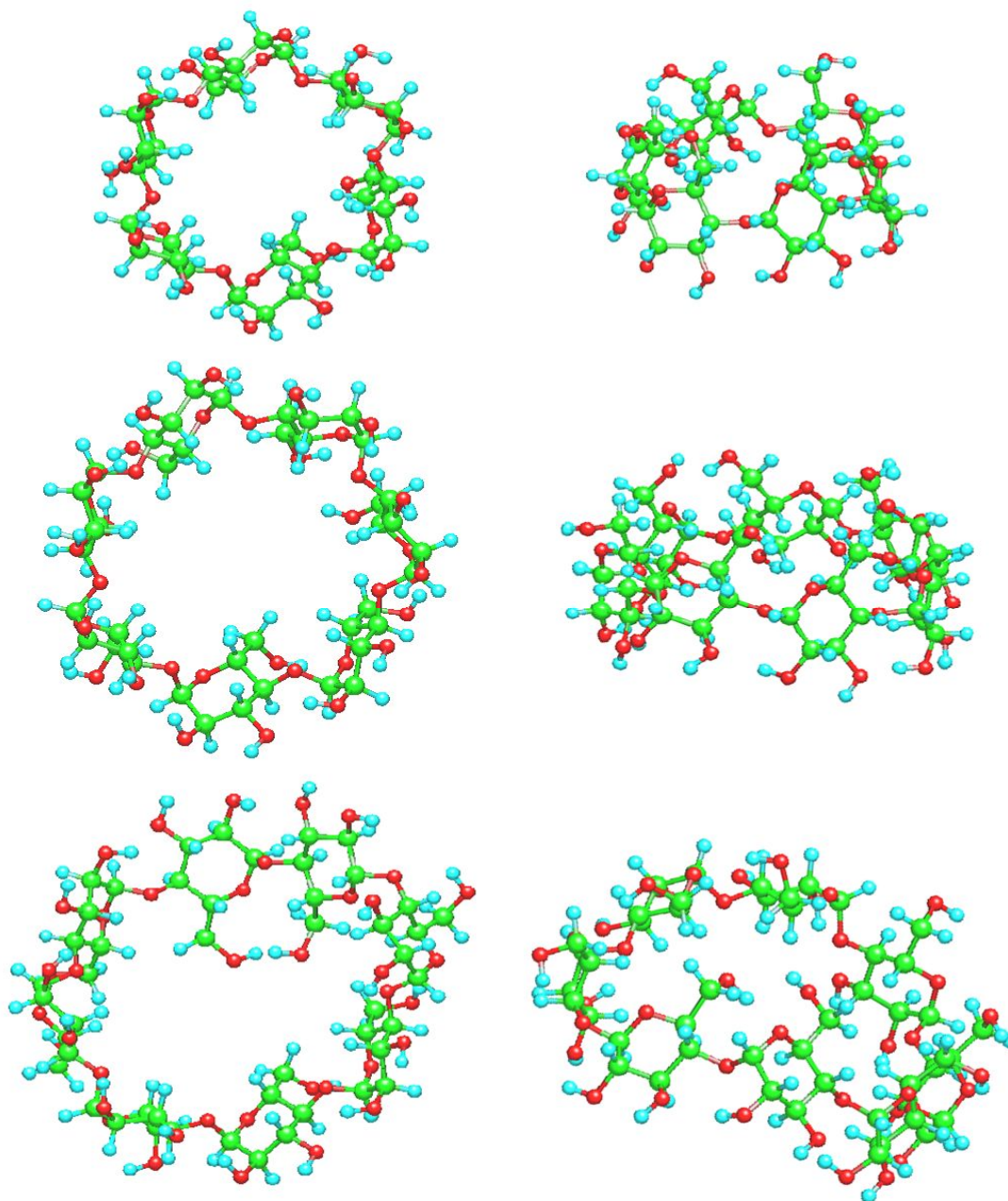


Figure 7-3-3. Top and side view molecular drawings of α -, β -, and γ -CyD by MOPAC.

以上、CI_{7, 8, 9, 10}の分子構造をNMRより解析し、CIの¹H, ¹³Cの帰属を達成した。またCIとCyDの特質の差異を明確化する新たなパラメーターとして、分子の運動性を反映するのに非常に有用な緩和時間を測定し、CIがグルコースに近い分子運動性を有していることを示した。CIの二級側における分子内水素結合の証拠は得られなかったが、これはCIの水溶性が高いことと矛盾しない。 α -1,4グリコシド結合したCyDは一級水酸基縁と二級水酸基縁を有することにより、グルコース環は規則性をもって並んでいる。さらに二級水酸基側で分子内水素結合ネットワークが生じることでグリコシド結合部分がベルト状に位置し、深い疎水性空洞を形成している。その結果CyDはゲスト分子包接特性を有すると考えられる。

総括

本研究では、親水性-疎水性の差異がある疎水性相互作用と水素結合の組み合わせを検討する雛型としてシクロデキストリン (CyD) を用い、親水性-疎水性のバランスを考慮した化学修飾 CyD の設計・合成と構造解析を行うことを目的とし、親水性基として糖を選択し、疎水性基とのバランス変化を比較検討できるように分岐糖を応用したハイブリッド修飾基をレギオ特異的に導入し、新規機能性 CyD の展開と分子構造提示を目標として研究を行った。

第一章では本研究の背景である生体分子における多点多重非共有結合の構造維持、高次機能発現、糖鎖の生体内における機能を例示し、疎水性基-親水性基の組み合わせによる多点多重非共有結合制御を目指した CyD の可能性および展開方向について述べた。

第二章では、疎水性-親水性を両有するハイブリッド修飾基の設計および α -グリコシドの合成手法を用いた合成について述べた。

第三章では、3A-アミノ-3A-デオキシ-(2AS, 3AS)-CyD (3-NH₂-CyD) の NMR スペクトル化学シグナルの ¹H, ¹³C NMR, H-H, H-C cosy, ROESY, TOCSY を用いた帰属と分子構造について述べた。3-NH₂-CyD は未修飾 CyD および一級位修飾 CyD と比べて対称性が失われていることが判明した。

第四章では、第三章で化学シグナルを帰属し構造解析を完了した 3-NH₂-CyD に対して様々なアームの長さを介し、アミド結合で置換基を導入した、mono-3*N*-phenylamino- α -CyD (**7**) と mono-3*N*-phenylpropylamino- α -および β -CyD (**8, 9**)、mono-3*N*-phenylbutyrylamino- α -および β -CyD (**10, 11**) の合成について述べた。重水中、濃度を 10⁻²M から 10⁻⁵M の範囲での NMR スペクトルの濃度依存性は観測されなかったことから、**7**~**11** は修飾基を自らの空洞に包接した分子内包接体を形成しやすいことが判明した。NOESY スペクトルによると **7** 以外は、直接証拠であるフェニル基と H3 および H5 と相関も観測され、分子構造を示した。

第五章では、レギオ特異的疎水性-親水性ハイブリッドグルコシド修飾 CyD、二級位糖修飾 α -および β -CyD (**32, 33**) を合成した。糖は疎水性基の運動性、CyD 空洞内での相対的位置に影響を与えたが、NMR スペクトルパターンおよ

び NOE 相関より、糖存在下でも疎水性基は自己包接体を形成している事が判明した。一方、**33** の糖は **32, 48, 49** に比べ疎水性かつ運動性の低い環境に位置し、NMR 化学シフト値に反映した。これは、これまで報告されている糖修飾 CyD の糖の化学シフトがほとんど変化がない事と対照的である。表面プラズモン共鳴 (Surface Plasmon Resonance: SPR) 光学バイオセンサー法は **33** のほうが、**32** に比べてコンカナバリン A (Con. A) 結合しにくく、**33** の糖残基は Con. A との結合を阻害されていることが判明した。すなわち親水性である糖残基は二級側の空洞縁近辺に位置しており、疎水性相互作用により深く包接されたフェニル基に誘引される形で、CyD 空洞に包接されていることが判明した。二級水酸基と糖の水素結合の可能性も示すことができた。

第六章では、疎水性-親水性ハイブリッドガラクトシド修飾基を一級側へエーテル結合で修飾したエーテル結合型一級位糖修飾 α -CyD (**45**) について述べた。 ^1H NMR の濃度および温度依存性から、二級位糖修飾体 (**32, 33**) とは異なり、分子間包接体を形成した。フェニル基と CyD 空洞内部の H3 と H5 プロトン間の NOE 相関と円偏光二色性から **45** は希薄濃度条件では cap 構造をとり、濃厚濃度条件では分子間包接体を形成することが判明した。剛直なアミド結合で導入した一級位糖修飾体 (**48, 49**) は分子間包接化合物を形成し、二量体、超分子ポリマーとなることが報告されているが、剛直なアミド結合、フレキシブルなエーテル結合にかかわらず、一級側修飾 CyD は自己包接体を形成せず、糖残基もバルク水層で CyD に制限されずに存在することが判明した。標的薬物送達システムの構築、すなわち他分子からの認識残基として糖を位置づけるには一級側修飾が望ましく、CyD の水酸基との分子内水素結合のためには、二級水酸基側で疎水性相互作用の調整が有用である。

第七章では、CyD の特性を明らかにするため、他の環状グリコシドであるシクロデキストラン (シクロイソマルトース: CI) の分子構造および特性評価法として緩和時間 (T_1) の比較検討を試みた。6 位の唯一の一級水酸基とアノメリック位水酸基間での α -1,6 グリコシド結合により、CI は二級水酸基のみを有している。NMR スペクトルの結果を総合すると CI はグルコースに近い運動性を有し、グルコース基間の水素結合ネットワークの存在も、環状構造が歪んでい

る証拠も得られなかった。CI が非常に高い水溶性を有している事と矛盾はない。CI の環状構造をホスト分子として機能させるには、グリコシド結合あるいは水酸基の酸素の不対電子が協同して働く配向が必要であると考えられるが、各グルコースは十分なフレキシビリティを有しているためさらなる発展が期待される。

以上より、構造と機能の相関を探索することを意図した親水性-疎水性ハイブリッド糖誘導体のレギオ特異的導入を達成し、親水性-疎水性基協同効果による新規機能性 CyD の展開と分子構造を示すことができた。また、NMR シグナルの同定に加え、新規構造情報取得法に緩和時間 (T_1) の測定を行ったことで、CI に比べると一級水酸基縁と二級水酸基縁を有する α -1,4 グリコシド結合した CyD のグルコース環は規則性をもって並んでいて、さらに二級水酸基側で水素結合ネットワークが生じており、その結果グリコシド結合部分がベルト状に位置し、深い疎水性空洞を形成し、ゲスト分子包接特性を有していることがわかった。

実験

機器と試薬

実験の際に使用した機器、試薬は以下のとおりである。

特に記述のない溶媒、試薬等は特級またはそれに準ずるものを使用した。

全ての反応追跡は Merck silica gel 60 F₂₅₄ を使用した TLC より行った。検出には UV (254nm)、アニスアルデヒド、ニンヒドリン、リンモリブデン酸を用いた。

NMR ; JNM-LA500 【JEOL】、重溶媒 ; 重クロロホルム、重水 【ALDRICH】

円偏光二色性 ; J-820 【日本分光 (株)】、溶媒 ; 純水

MALDI TOF-MS ; Voyager DE Pro-T 【Applied Biosystem】、マトリックス ;
2,5-dihydroxybenzoic acid (DHB)

紫外可視吸収スペクトル ; V-630 【日本分光 (株)】

フラッシュカラムクロマトグラフィー ; シリカゲル 60N (球状、中性) 40~50
μm フラッシュクロマトグラフィー用 【関東化学 (株)】、海砂 425~850 μ
m (20~35 メッシュ) 【和光純薬工業 (株)】

薄層クロマトグラフィー ; シリカゲル 60GF₂₅₄ 【Merck】

凍結乾燥機 ; FREEZE DRYER FDU-810 【EYELA】

低温装置 ; EYELA COOL ESC-50 【EYELA】

超音波装置 ; US-3 【エヌエヌディ (株)】

イオン交換樹脂 ; CM Sephadex C-25 【GE Healthcare Bio-Sciences AB】

セライト ; No.500, No.545 【和光純薬工業 (株)】

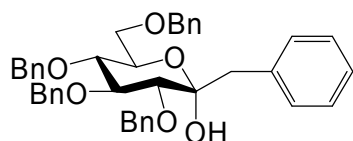
試薬の精製は以下に示す通りに行った。ここに記載していない試薬、薬品は、市販品をそのまま使用した。

水素化ナトリウムは、ヘキササンで洗浄し、減圧乾燥させたものを使用した。

CI_{7, 8, 9, 10, plus} 【株式会社シー・アイ・バイオ】

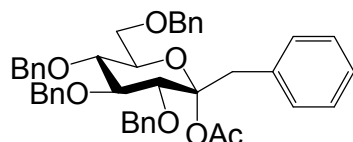
第二章

1-C-benzyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- α -D-glucopyranose (25)



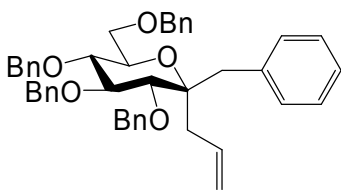
文献記載の方法に従い合成したグルコノラクトン **23** (200.0mg/0.371mmol) をセプタムキャップした 20ml 2 ロナスフラスコに入れ、アルゴン置換してテトラヒドロフラン (2.0ml) を加えて、-78°Cに冷却した。そこに、1.0 M ベンジルマグネシウムクロリド (84.0mg/0.557mmol) を加え、6 時間攪拌した。水を加えてジクロロメタンで有機層を抽出した。有機層に無水硫酸ナトリウムを加え乾燥した後、無機物を濾過した。薄層クロマトグラフィー (展開溶媒 ヘキサン : 酢酸エチル=3 : 1 v/v) で精製し、**25** (339.2mg、収率 93%) をオイルで得た。

1-O-acetyl-1-C-benzyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- α -D-glucopyranoside (27)



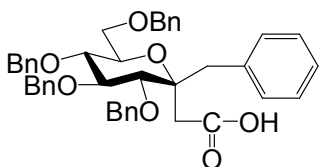
26 (339.2mg/0.54mmol) を 2 ロナスフラスコに入れ、アルゴン置換してテトラヒドロフラン (3.0ml) を加えて-78 °Cに冷却した。そこに 1.2 当量の n-ブチルリチウム (0.43ml) を加え 1 時間攪拌した。その後-30°Cで無水酢酸 (0.5ml) を入れ、TLC で確認後、重曹水を加えて酢酸エチルで有機層を抽出した。有機層に無水硫酸ナトリウムを加え乾燥した後、無機物を濾過した。薄層クロマトグラフィー (展開溶媒 ヘキサン : 酢酸エチル=3 : 1 v/v) で精製し、1-O-acetyl-1-C-benzyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- α -D-glucopyranoside (283.0mg、収率 67%) をオイルで得た。

(2*S**,3*R**,4*S**,5*S**,6*R**)-2-allyl-2-benzyl-3,4,5-trisbenzyloxy-6-benzyloxymethyl-tetrahydropyran (28)



2 ロナスフラスコにドライライト (256.2mg/1.88mmol) を入れ、真空中で加熱乾燥した後アルゴン置換し、 -78°C に冷却した。**27** (278.7mg/0.41mmol) をアセトニトリル (1ml) とジクロロメタン (1ml) に溶解させ、シリンジを用いて 2 ロナスフラスコに入れた。トリフルオロメタンスルホン酸トリメチルシリル (36.8mg/0.17mmol) 存在下 3 当量のアリルトリメチルシラン (142.0mg/1.24mmol) を加えて 4 時間半撹拌した。重曹水を加えて反応を停止し、酢酸エチルで有機層を抽出した。有機層に無水硫酸ナトリウムを加え乾燥した後、無機物を濾過した。薄層クロマトグラフィー (展開溶媒 ヘキサン : 酢酸エチル = 4 : 1 v/v) で精製し、(2*S**,3*R**,4*S**,5*S**,6*R**)-2-allyl-2-benzyl-3,4,5-trisbenzyloxy-6-benzyloxymethyl-tetrahydropyran (200.3mg、収率 74%) をオイルで得た。

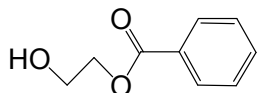
[(2*R,3*R**,4*S**,5*S**,6*R**)-2-benzyl-3,4,5-trisbenzyloxy-6-benzyloxymethyl-tetrahydropyran-2-yl]-acetic acid (29)**



28 (200.3mg/0.306mmol) を、ジクロロメタンで溶解し 1 ロナスフラスコに入れた。これを -78°C に冷却し、オゾンガスを通じた。15 分後自然昇温し、トリフェニルホスフィン (240.69mg/0.918mmol) を加えた。反応液を 2 時間撹拌し、エバポレーターで濃縮後、6.0 ml の *t*-ブチルアルコールと、1.0 ml の水で生成物を溶かし、リン酸二水素ナトリウム (109.4mg/0.918mmol) と 2-メチル-2-ブテン (94.4mg/1.35mmol)、亜塩素酸ナトリウム (553.3mg/6.11mmol) を加えた。反応は TLC で確認し (展開溶媒はヘキサン : 酢酸エチル : 酢酸 = 2 : 1 : 1 v/v)、反応液を 24 時間撹拌した後、1N 塩酸を加えて反応を停止させ、水とジクロロメタンを加えて分液した。薄層クロマトグラフィーより精製を行い **29**

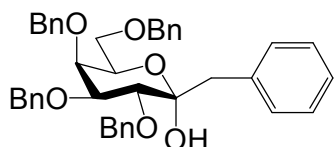
(150.3mg、73%) をオイルで得た。

mono-*O*-benzoyl-ethylene-glycol (34)



エチレングリコール (1.336g/21.5mmol) をナスフラスコに入れ、ジクロロメタンに溶解させ 0°C に冷却した。そしてトリエチルアミン (783.9mg/7.75mmol) を加え 15 分撹拌した後、塩化ベンゾイル (121.0mg/0.86mmol) を加えた。さらに 2 時間撹拌した後クエン酸を加えて反応を停止し、ジクロロメタンで有機層を抽出した。有機層に無水硫酸ナトリウムを加え乾燥した後、無機物を濾過した。薄層クロマトグラフィー (展開溶媒 ヘキサン : 酢酸エチル = 1 : 1 v/v) で精製し、**34** (105.8 mg、収率 74%) をオイルで得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, ppm): δ 3.94 (t, 2H, CH₂CH₂), δ 4.45 (t, 2H, CH₂CH₂), δ 7.43 (t, 2H, Ph), δ 7.55 (t, 1H, Ph), δ 8.04 (d, 2H, Ph); ¹³C NMR (CDCl₃): δ 61.4 (CH₂CH₂), δ 66.7 (CH₂CH₂), δ 128.4-133.2 (Ph), δ 166.9 (C=O)

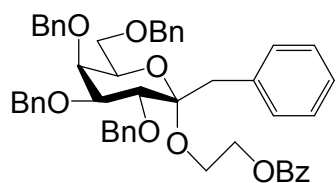
1-*C*-benzyl-2,3,4,6-tetra-*O*-benzyl- α -D-galactopyranose (26)



24 (200.0mg/0.371mmol) をセプタムキャップをした 2 ロナスフラスコに入れ、アルゴン置換してテトラヒドロフラン (2.0ml) を加えて、冷却クーラー下で -50 °C にした。そこに、1.0M ベンジルマグネシウムクロリド (84.0mg/0.557mmol) を加え、6 時間撹拌した。水を加えてジクロロメタンで有機層を抽出した。有機層に無水硫酸ナトリウムを加え乾燥した後、無機物を濾過した。薄層クロマトグラフィー (展開溶媒 ヘキサン : 酢酸エチル = 3 : 1 v/v) で精製し、**26** (173.1mg、収率 74%) をオイルで得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, ppm): δ 2.82 (d, 1H, CH₂), δ 3.00 (d, 1H, CH₂), δ 3.45 (t, 1H, H₆), δ 3.53 (t, 1H, H_{6'}), δ 3.83 (d, 1H, H₂), δ 3.96 (m, 3H, H₃, H₄, H₅), δ 4.34-4.95 (m, 8H, CH₂Ph), δ 7.17-7.29 (m, 25H, Ph); ¹³C NMR (CDCl₃): δ 43.7 (CH₂), δ

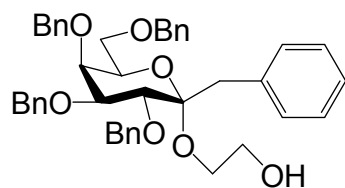
69.0 (C6), δ 70.1 (C5), δ 72.5 (CH₂Ph), δ 73.4 (CH₂Ph), δ 74.4 (CH₂Ph), δ 74.5 (C3), δ 75.5 (CH₂Ph), δ 78.1 (C2), δ 81.2 (C4), δ 98.3 (C1), δ 126.8-139.0 (Ph)

1-O-[2-(benzoyloxy)ethyl]-1-C-benzyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- α -D-galactopyranoside (35)



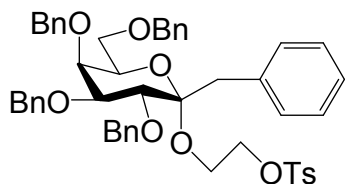
2 ロナスフラスコにドライライト (121.8mg/0.89mmol) を入れ、真空中で加熱乾燥した後アルゴン置換した。0°Cに冷却した後、**26** (112.9mg/0.18mmol) と **34** (35.7mg/0.21mmol) をそれぞれアセトニトリル (2.5ml) に溶解し、シリンジを用いて 2 ロナスフラスコに入れた。その後トリフルオロメタンスルホン酸 (1.33mg/0.0089mmol) を加えて 2 時間攪拌した。重曹水を加えて反応を停止し、酢酸エチルで有機層を抽出した。有機層に無水硫酸ナトリウムを加え乾燥した後、無機物を濾過した。薄層クロマトグラフィー (展開溶媒 ヘキサン : 酢酸エチル=4 : 1×2 回 v/v) で精製し、**35** (66.8mg、収率 48%) をオイルで得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, ppm): δ 3.07 (d, 1H, CH₂), δ 3.23 (d, 1H, CH₂), δ 3.57 (m, 2H, H6, H6'), δ 3.75 (d, 1H, H2), δ 3.87-3.90 (m, 5H, H4, CH₂CH₂, H5, H3), δ 4.19-4.84 (m, 10H, CH₂Ph, CH₂CH₂), δ 7.03-7.24 (m, 25H, Ph), δ 7.29 (t, 2H, Ph), δ 7.45 (t, 1H, Ph), δ 8.00 (d, 2H, Ph); ¹³C NMR (CDCl₃): δ 40.1 (CH₂), δ 58.8 (CH₂CH₂), δ 64.2 (CH₂CH₂), δ 68.9 (C6), δ 70.6 (C5), δ 72.2 (CH₂Ph), δ 73.4 (CH₂Ph), δ 73.8 (CH₂Ph), δ 74.3 (CH₂Ph), δ 74.6 (C4), δ 76.7 (C2), δ 80.8 (C3), δ 102.8 (C1), δ 126.3-139.4 (Ph), δ 166.5 (C=O)

1-C-benzyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-1-O-(2-hydroxyethyl)- α -D-galactopyranoside (36)



35 (66.8mg/0.09mmol) をナスフラスコに入れ、メタノール (5.0ml) に溶解させた。その後 28%ナトリウムメトキシド (0.1ml) を加えて、室温で攪拌した。水を加えて反応を停止し、酢酸エチルで有機層を抽出した。有機層に無水硫酸ナトリウムを加え乾燥した後、無機物を濾過した。薄層クロマトグラフィー (展開溶媒 ヘキサン : 酢酸エチル=1 : 1 v/v) で精製し、**36** (55.3mg、収率 96%) をオイルで得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, ppm): δ 3.02 (d, 1H, CH₂), δ 3.26 (d, 1H, CH₂), δ 3.60 (dd, 2H, H₆, H_{6'}), δ 3.63-3.71 (m, 4H, CH₂CH₂), δ 3.74 (d, H₂), δ 3.93-4.00 (m, 3H, H₄, H₅, H₃), δ 4.19-4.86 (m, 8H, CH₂Ph), δ 7.05-7.28 (m, 25H, Ph); ¹³C NMR (CDCl₃): δ 40.2 (CH₂), δ 62.1 (CH₂CH₂), δ 62.2 (CH₂CH₂), δ 69.1 (C₆), δ 70.6 (C₅), δ 72.2 (CH₂Ph), δ 73.5 (CH₂Ph), δ 73.8 (CH₂Ph), δ 74.5 (C₄), δ 74.7 (CH₂Ph), δ 76.8 (C₂), δ 81.1 (C₃), δ 102.7 (C₁), δ 126.4-139.2 (Ph)

1-C-benzyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-1-O-[2-(*p*-toluensulfonyloxy)ethyl]- α -D-galactopyranoside (46)



36 (45.3mg/0.06mmol) をナスフラスコに入れ、ジクロロメタンに溶解させ 0°C に冷却した。そしてトリエチルアミン (67.9mg/0.67mmol) を加え 15 分攪拌した後、*p*-トルエンシルホニルクロリド (25.6mg/1.34mmol) を加えた。さらに 2 時間攪拌した後クエン酸を加えて反応を停止し、ジクロロメタンで有機層を抽出した。有機層に無水硫酸ナトリウムを加え乾燥した後、無機物を濾過した。薄層クロマトグラフィー (展開溶媒 ヘキサン : 酢酸エチル=1 : 1 v/v) で精製し、**37** (44.1mg、収率 79%) をオイルで得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, ppm): δ 2.27 (s, 3H, CH₃), δ 2.96 (d, 1H, CH₂), δ 3.11 (d, 1H, CH₂), δ 3.59 (m, 2H, H₆, H_{6'}), δ 3.70-3.82 (m, 3H, H₂, CH₂CH₂), δ 3.90-3.94 (m, 3H, H₄, H₅, H₃), δ 4.11-4.83 (m, 10H, CH₂CH₂, CH₂Ph), δ 7.03-7.73 (m, 29H, Ph); ¹³C NMR (CDCl₃): δ 21.5 (CH₃), δ 40.1 (CH₂), δ 58.6 (CH₂CH₂), δ 68.9 (C₆), δ 69.1

(CH₂CH₂), δ 70.5 (C5), δ 72.2 (CH₂Ph), δ 73.3 (CH₂Ph), δ 73.8 (CH₂Ph), δ 74.5 (C4), δ 74.5 (CH₂Ph), δ 76.6 (C2), δ 80.8 (C3), δ 102.9 (C1), δ 126.4-144.6 (Ph)

第三章

3-NH₂-α-CyD の NMR 測定

3-NH₂-α-CyD 0.026g (0.02675mmol)を D₂O (ALDRICH 99.9atom%D) 0.75ml
に溶かし JEOL JMN-LA500 で測定した。

¹H NMR の測定

積算回数 32 回、PD3.7230sec、温度 30.0°C

¹³C NMR の測定

積算回数 4400 回、PD2.0333sec、温度 31.1°C

CHSHF の測定

積算回数 64 回、PD2.4000sec、PI1 1.000msec、温度 30.0°C

COSY の測定

積算回数 64 回、PD 0.5910sec、PI1 1.000msec、温度 30.0°C

ROESY の測定

積算回数 64 回、PD 2.000sec、PI1 250msec、温度 30.0°C

TOCSY の測定

積算回数 16 回、PD 0.5600sec、PI1 80msec、温度 30.0°C

3-NH₂-β-CyD の NMR 測定

3-NH₂-β-CyD 0.024g (0.02116mmol)を D₂O (ALDRICH 99.9atom%D) 0.75ml
に溶かし JEOL JMN-LA500 で測定した。

¹H NMR の測定

積算回数 64 回、PD3.7230sec、温度 30.0°C

¹³C NMR の測定

積算回数 4400 回、PD2.0333sec、温度 31.1°C

CHSHF の測定

積算回数 64 回、PD2.4000sec、PI1 1.000msec、温度 30.0°C

COSY の測定

積算回数 8 回、PD 0.9490sec、PI1 250.0msec、温度 30.0°C

ROESY の測定

積算回数 16 回、PD 0.5000sec、PI1 250.0msec、温度 30.0°C

TOCSY の測定

積算回数 16 回、PD 0.5600sec、PI1 80.00msec、温度 30.0°C

3-NH₂-γ-CyD の NMR 測定

3-NH₂-γ-CyD 0.026g (0.02006mmol)を D₂O (ALDRICH 99.9atom%D) 0.75ml
に溶かし JEOL JMN-LA500 で測定した。

¹H NMR の測定

積算回数 64 回、PD3.7230sec、温度 29.9°C

¹³C NMR の測定

積算回数 8000 回、PD2.0333sec、温度 30.0°C

CHSHF の測定

積算回数 64 回、PD1.2000sec、PI1 1.000msec、温度 30.0°C

COSY の測定

積算回数 8 回、PD 0.9490sec、PI1 250.0msec、温度 30.0°C

ROESY の測定

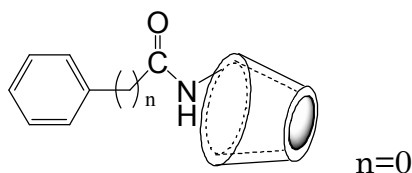
積算回数 16 回、PD 0.5450sec、PI1 250.0msec、温度 30.0°C

TOCSY の測定

積算回数 16 回、PD 0.5600sec、PI1 80.00msec、温度 30.0°C

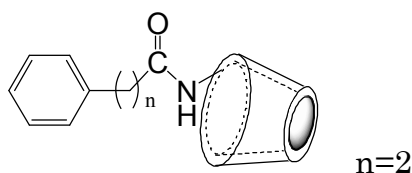
第四章

Mono-3*N*-phenylamino- α -CyD (7)



安息香酸 (12.6mg/0.103mmol) をナスフラスコに入れ、*N,N*-ジメチルホルムアミド (1ml) に溶解し、ジシクロヘキシルカルボジイミド (42.5mg/0.206mmol)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール (27.8mg/0.206mmol) を加え、氷浴中 (0~5°C) で攪拌した。あらかじめ *N,N*-ジメチルホルムアミド (2ml) に溶解させた 3NH₂- α -CyD (100.0mg/0.103mmol) を少量ずつ加え、塩化カルシウム管を付け、1時間、さらに室温で2時間攪拌した後、一晩冷却した。沈殿したジシクロヘキシルウレア (DCU) を綿栓濾過により除去した。CM Sephadex C-25 により未反応の 3NH₂- α -CyD を除去し、アセトン再沈、凍結乾燥、真空乾燥により **7** (100.9mg、収率 91%) を白色結晶で得られた。¹H NMR (500 MHz, D₂O, ppm): δ 3.37-4.01 (m, 36H, H3, H5, H6, H2, H4 of α -CyD), δ 4.87-4.92 (d, 6H, H1 of α -CyD), δ 7.48 (d, 2H, Ph), δ 7.63 (d, 3H, Ph), MALDI TOF-MS m/z calcd. for C₄₃H₆₅NO₃₀Na⁺: 1098.35; found 1099.57

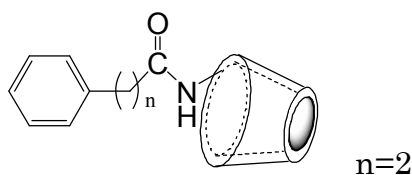
Mono-3*N*-phenylpropylamino- α -CyD (8)



4-フェニルプロピオン酸 (18.6mg/0.124mmol) をナスフラスコに入れ、*N,N*-ジメチルホルムアミド (1ml) に溶解し、ジシクロヘキシルカルボジイミド (42.4mg/0.205mmol)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール (27.9mg/0.206mmol) を加え、氷浴中 (0~5°C) で攪拌した。あらかじめ *N,N*-ジメチルホルムアミド (2ml) に溶解させた 3NH₂- α -CyD (100.0mg/0.103mmol) を少量ずつ加え、塩化カルシウム管を付け、1時間、さらに室温で2時間攪拌した後、一晩冷却した。沈殿したジシクロヘキシルウレア (DCU) を綿栓濾過により除去した。CM

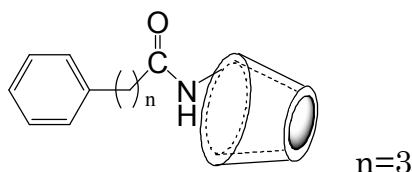
Sephadex C-25 により未反応の $3\text{NH}_2\text{-}\alpha\text{-CyD}$ を除去し、アセトン再沈、凍結乾燥、真空乾燥により **8** (93.7mg、収率 83%) を白色結晶で得られた。 $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, D_2O , ppm): δ 2.47 (m, 1H, $-\text{CH}_2-$), δ 2.56 (m, 1H, $-\text{CH}_2-$), δ 2.86 (m, 2H, $-\text{CH}_2-$), δ 3.42-4.07 (m, 36H, H3, H5, H6, H2, H4 of $\alpha\text{-CyD}$), δ 4.78-4.98 (d, 6H, H1 of $\alpha\text{-CyD}$), δ 7.23 (d, 3H, Ph), δ 7.32 (t, 2H, Ph), MALDI TOF-MS: m/z calcd. for $\text{C}_{45}\text{H}_{69}\text{NO}_{30}\text{Na}^+$: 1126.38; found 1127.49

Mono-3*N*-phenylpropylamino- β -CyD (9)



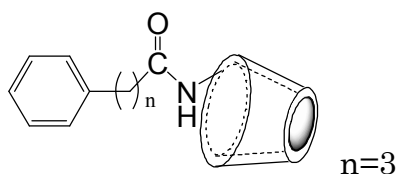
4-フェニルプロピオン酸 (15.8mg/0.105mmol) をナスフラスコに入れ、*N,N*-ジメチルホルムアミド (1ml) に溶解し、ジシクロヘキシルカルボジイミド (36.4mg/0.176mmol)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール (23.9mg/0.177mmol) を加え、氷浴中 ($0\sim 5^\circ\text{C}$) で攪拌した。あらかじめ *N,N*-ジメチルホルムアミド (2ml) に溶解させた $3\text{NH}_2\text{-}\beta\text{-CyD}$ (100.0mg/0.088mmol) を少量ずつ加え、塩化カルシウム管を付け、1時間、さらに室温で2時間攪拌した後、一晚冷却した。沈殿したジシクロヘキシルウレア (DCU) を綿栓濾過により除去した。CM Sephadex C-25 により未反応の $3\text{NH}_2\text{-}\beta\text{-CyD}$ を除去し、アセトン再沈、凍結乾燥、真空乾燥により **9** (103.5mg、収率 93%) を白色結晶で得られた。 $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, D_2O , ppm): δ 2.41 (t, 1H, $-\text{CH}_2-$), δ 2.74 (t, 1H, $-\text{CH}_2-$), δ 2.82 (t, 1H, $-\text{CH}_2-$), δ 3.03 (m, 1H, $-\text{CH}_2-$), δ 3.05-4.28 (m, 44H, H3, H5, H6, H2, H4 of $\alpha\text{-CyD}$), δ 4.72 (s, 1H, H1 of $\beta\text{-CyD}$), δ 4.86-5.01 (d, 6H, H1 of $\beta\text{-CyD}$), δ 7.18 (d, 5H, Ph), MALDI TOF-MS: m/z calcd. for $\text{C}_{51}\text{H}_{79}\text{NO}_{35}\text{Na}^+$: 1288.43; found 1289.02

Mono-3*N*-phenylbutyrylamino- α -CyD (10)



4-フェニル酪酸 (16.9mg/0.103mmol) をナスフラスコに入れ、*N,N*-ジメチルホルムアミド (1ml) に溶解し、ジシクロヘキシルカルボジイミド (31.8mg/0.154mmol)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール (20.9mg/0.155mmol) を加え、氷浴中 (0~5°C) で攪拌した。あらかじめ *N,N*-ジメチルホルムアミド (2ml) に溶解させた 3NH₂- α -CyD (100.0mg/0.103mmol) を少量ずつ加え、塩化カルシウム管を付け、1時間、さらに室温で2時間攪拌した後、一晚冷却した。沈殿したジシクロヘキシルウレア (DCU) を綿栓濾過により除去した。CM Sephadex C-25 により未反応の 3NH₂- α -CyD を除去し、アセトン再沈、凍結乾燥、真空乾燥により **10** (97.0mg、収率 84%) を白色結晶で得られた。¹H NMR (500 MHz, D₂O, ppm): δ 1.86 (m, 2H, -CH₂-), δ 2.19 (m, 2H, -CH₂-), δ 2.59 (t, 2H, -CH₂-), δ 3.43-4.14 (m, 37H, H3, H5, H6, H2, H4 of α -CyD), δ 4.82-4.98 (d, 6H, H1 of α -CyD), δ 7.20 (d, 3H, Ph), δ 7.29 (t, 2H, Ph), MALDI TOF-MS: m/z calcd. for C₄₆H₇₁NO₃₀Na⁺: 1140.40; found 1141.41

Mono-3*N*-phenylbutyrylamino- β -CyD (11)

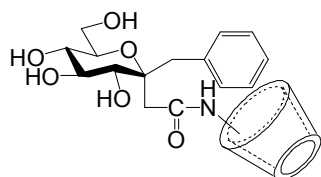


4-フェニル酪酸 (21.7mg/0.132mmol) をナスフラスコに入れ、*N,N*-ジメチルホルムアミド (1ml) に溶解し、ジシクロヘキシルカルボジイミド (27.3mg/0.132mmol)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール (17.9mg/0.132mmol) を加え、氷浴中 (0~5°C) で攪拌した。あらかじめ *N,N*-ジメチルホルムアミド (2ml) に溶解させた 3NH₂- β -CyD (100.0mg/0.088mmol) を少量ずつ加え、塩化カルシウム管を付け、1時間、さらに室温で2時間攪拌した後、一晚冷却した。沈殿したジシクロヘキシルウレア (DCU) を綿栓濾過により除去した。CM

Sephadex C-25 により未反応の 3NH₂-β-CyD を除去し、アセトン再沈、凍結乾燥、真空乾燥により **11** (96.0mg、収率 85%) を白色結晶で得られた。¹H NMR (500 MHz, D₂O, ppm): δ 1.78 (m, 1H, -CH₂-), δ 1.90 (m, 1H, -CH₂-), δ 2.06 (m, 1H, -CH₂-), δ 2.36 (m, 1H, -CH₂-), δ 2.48 (m, 1H, -CH₂-), δ 2.83 (m, 1H, -CH₂-), δ 3.11-4.38 (m, 53H, H3, H5, H6, H2, H4 of β-CyD), δ 4.79 (s, 1H, H1 of β-CyD), δ 4.86-5.01 (d, 6H, H1 of β-CyD), δ 7.10 (d, 2H, Ph), δ 7.16 (t, 1H, Ph), δ 7.25 (t, 2H, Ph), MALDI TOF-MS: m/z calcd. for C₅₂H₈₁NO₃₅Na⁺: 1302.45; found 1303.15

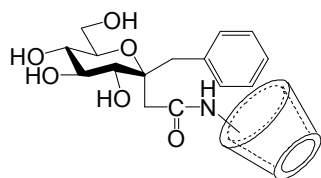
第五章

二級位糖修飾 α -CyD (32)



アルゴンガス雰囲気下で、2 ロナスフラスコに **29** (100.0mg/0.15mmol) を入れ、4.0 ml の *N,N*-ジメチルホルムアミドに溶かした。次にジメチルホスフィノイルクロリド (19.1mg/0.15 mmol) とジイソプロピルエチルアミン (25.9 μ l/0.15mmol)を混ぜ、30 分間後に mono-3-amino-3-deoxy- α -cyclodextrin (120.0mg/0.12mmol) を加え 1 時間攪拌した。反応は TLC で確認し、反応が進行したところで、エーテルによるひだ折れろ過を 5 回行った。次にジメチルホルムアミド 15.0 ml 中、1 ロナスフラスコで水酸化パラジウムを用いて水素ガスをバブリングさせ接触還元を行った。5 時間後、パラジウムをろ過後、ダイヤイオン HP-20 に通して凍結乾燥を行い、二級位糖修飾 α -CyD (**32**) (188.2mg、24%) の白色固体としを得た。¹H NMR (500 MHz, D₂O, ppm): δ 2.72 (d, 1H, CH₂), δ 2.84 (d, 1H, CH₂), δ 2.98 (m, 2H, H₄, CH₂), δ 3.11 (d, 1H, H₂), δ 3.22 (d, 1H, CH₂), δ 3.41-3.97 (m, 40H, H₃, H₅, H₆, H₂, H₄ of α -CyD, glucose,), δ 4.85-5.02 (m, 6H, H₁ of α -CyD), δ 7.25-7.33 (m, 5H, Ph), MALDI TOF-MS: m/z calcd. for C₅₁H₇₉NO₃₅Na⁺: 1288.43; found 1286.46

二級位糖修飾 β -CyD (33)

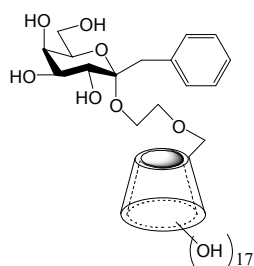


アルゴンガス雰囲気下で、2 ロナスフラスコに **29** (56.0mg/0.08mmol) を入れ、3.0 ml の *N,N*-ジメチルホルムアミドに溶かした。次にジメチルホスフィノイルクロリド (10.7mg/0.08mmol) とジイソプロピルエチルアミン (14.5 μ l /0.08mmol)を混ぜ、30 分間後に mono-3-amino-3-deoxy- β -cyclodextrin (78.7mg/0.07mmol) を加え 1 時間攪拌した。反応は TLC で確認し、反応が進

行したところで、エーテルによるひだ折れろ過を 5 回行った。次にジメチルホルムアミド 15.0 ml 中、1 ロナスフラスコで水酸化パラジウムを用いて水素ガスをバブリングさせ接触還元を行った。6 時間後、パラジウムをろ過後、ダイヤイオン HP-20 に通して凍結乾燥を行い、二級位糖修飾 β -CyD (**33**) (118.9mg, 28%) の白色固体としを得た。 ^1H NMR (500 MHz, D_2O , ppm): δ 2.75-2.87 (m, 2H, CH_2), δ 2.90-3.31 (m, 6H, glucose, CH_2), δ 3.39-4.00 (m, 42H, H3, H5, H6, H2, H4 of β -CyD, glucose, CH_2), δ 4.08 (dd, 1H, H4), δ 4.35 (d, 1H, H3), δ 4.77-5.06 (m, 7H, H1 of β -CyD), δ 7.14-7.22 (m, 3H, Ph), δ 7.30 (d, 2H, Ph), MALDI TOF-MS: m/z calcd. for $\text{C}_{57}\text{H}_{89}\text{NO}_{40}\text{Na}^+$: 1450.49; found 1449.53

第六章

エーテル結合型一級位糖修飾 α -CyD (45)



CyD 誘導体 **13** (79.7mg/0.032mmol) を THF に溶解し、水素化ナトリウム (22.9mg/0.95mmol) 存在下で 1.2 当量の **43** (31.7mg/0.038mmol) と 70°C で 47 時間反応させたのち MeOH を加えて反応を停止し、酢酸エチルで有機層を抽出した。有機層に無水硫酸ナトリウムを加え乾燥した後、無機物を濾過した。薄層クロマトグラフィー (展開溶媒 ヘキサン : 酢酸エチル = 4 : 1 × 3 回 v/v) で精製し、**44** (92.6 mg、収率 92%) をオイルで得た。その後 **44** を DMF に溶解させ、Pd/C 存在下水素ガスをバブリングさせ接触還元を行った。70 時間後、パラジウムをろ過し、ダイヤイオン HP-20 に通し、凍結乾燥を行い、エーテル結合型一級位糖修飾 α -CyD (**45**) を 79% で得た。¹H NMR (500 MHz, D₂O, ppm): δ 2.96 (d, 1H, CH₂), δ 3.10 (d, 1H, CH₂), δ 3.28 (d, 1H, CH₂), δ 3.39-3.84 (m, 45H, H3, H5, H6, H2, H4 of α -CyD, galactose, CH₂), δ 4.89 (d, 6H, H1 of α -CyD), δ 7.17 (t, 1H, Ph), δ 7.23 (t, 2H, Ph), δ 7.28 (d, 2H, Ph), MALDI TOF-MS: m/z calcd. for C₅₁H₈₀O₃₆Na⁺: 1291.43; found 1291.10

第七章

CI₇の NMR 測定

CI₇ 0.005g (0.0044mmol)を D₂O (ALDRICH 99.9atom%D) 0.75ml に溶かし
JEOL JMN-LA500 で測定した。

¹H NMR の測定

積算回数 32 回、PD3.7230sec、温度 30.0°C

¹³C NMR の測定

積算回数 4400 回、PD2.0333sec、温度 31.1°C

CI₈の NMR 測定

CI₈ 0.005g (0.0038mmol)を D₂O (ALDRICH 99.9atom%D) 0.75ml に溶かし
JEOL JMN-LA500 で測定した。

¹H NMR の測定

積算回数 32 回、PD3.7230sec、温度 30.0°C

CI₉の NMR 測定

CI₉ 0.005g (0.0034mmol)を D₂O (ALDRICH 99.9atom%D) 0.75ml に溶かし
JEOL JMN-LA500 で測定した。

¹H NMR の測定

積算回数 32 回、PD3.7230sec、温度 30.0°C

CI₁₀の NMR 測定

CI₁₀ 0.010g (0.0062mmol)を D₂O (ALDRICH 99.9atom%D) 0.75ml に溶かし
JEOL JMN-LA500 で測定した。

¹H NMR の測定

積算回数 32 回、PD3.7230sec、温度 30.0°C

¹³C NMR の測定

積算回数 4400 回、PD2.0333sec、温度 31.1°C

CHSHF の測定

積算回数 64 回、PD2.4000sec、PI1 1.000msec、温度 30.0°C

COSY の測定

積算回数 64 回、PD 0.5910sec、PI1 1.000msec、温度 30.0°C

per-O-Bn-Cl₇

Cl₇ (15.0mg/0.013mmol) を *N,N*-ジメチルホルムアミド (1ml) に溶解し、水素化ナトリウム存在下 (28.0mg/1.16mmol) でベンジルブロミドを加え、三日間反応させ、反応は MALDI TOF-MS で確認し、反応が進行したところで、MeOH で反応を停止し、酢酸エチルで有機層を抽出した。有機層に無水硫酸ナトリウムを加え乾燥した後、無機物を濾過した。薄層クロマトグラフィー (展開溶媒 ヘキサン:酢酸エチル=2:1 v/v) で精製し、per-O-Bn-Cl₇ (10.4mg、収率 26%) をオイルで得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, ppm): δ 3.28 (dd, 7H, H₂), δ 3.60-3.72 (m, 28H, H₅, H₆, H₄, H_{6'}), δ 3.87 (t, 7H, H₃), δ 4.45 (q, 14H, CH₂Ph), δ 4.64 (q, 14H, CH₂Ph), δ 4.79 (d, 14H, CH₂Ph), δ 4.90 (d, 7H, H₁), δ 7.08-7.20 (m, 105H, Ph), MALDI TOF-MS: m/z calcd. for C₁₈₉H₁₉₆O₃₅Na⁺: 3048.34; found 3046.46

per-O-Bn-Cl₈

Cl₈ (15.0mg/0.012mmol) を *N,N*-ジメチルホルムアミド (1ml) に溶解し、水素化ナトリウム存在下 (27.0mg/1.12mmol) でベンジルブロミドを加え、三日間反応させ、反応は MALDI TOF-MS で確認し、反応が進行したところで、MeOH で反応を停止し、酢酸エチルで有機層を抽出した。有機層に無水硫酸ナトリウムを加え乾燥した後、無機物を濾過した。薄層クロマトグラフィー (展開溶媒 ヘキサン:酢酸エチル=2:1 v/v) で精製し、per-O-Bn-Cl₈ (12.4mg、収率 31%) をオイルで得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, ppm): δ 3.26 (dd, 8H, H₂), δ 3.55-3.74 (m, 32H, H₅, H₆, H₄, H_{6'}), δ 3.86 (t, 8H, H₃), δ 4.42 (q, 17H, CH₂Ph), δ 4.66 (q, 17H, CH₂Ph), δ 4.83 (q, 17H, CH₂Ph), δ 4.87 (d, 8H, H₁), δ 7.04-7.23 (m, 122H, Ph), MALDI TOF-MS: m/z calcd. for C₂₁₆H₂₂₄O₄₀Na⁺: 3480.54; found 3476.69

per-O-Bn-Cl₉

Cl₉ (15.0mg/0.010mmol) を *N,N*-ジメチルホルムアミド (1ml) に溶解し、水素化ナトリウム存在下 (27.2mg/1.13mmol) でベンジルブロミドを加え、三日間反応させ、反応は MALDI TOF-MS で確認し、反応が進行したところで、MeOH で反応を停止し、酢酸エチルで有機層を抽出した。有機層に無水硫酸ナトリウムを加え乾燥した後、無機物を濾過した。薄層クロマトグラフィー (展開溶媒 ヘキサン:酢酸エチル=2:1 v/v) で精製し、per-O-Bn-Cl₉ (19.2mg、収率 48%) をオイルで得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, ppm): δ 3.25 (dd, 9H, H2), δ 3.59 (d, 9H, H6), δ 3.64-3.76 (m, 27H, H5, H6', H4), δ 3.86 (t, 9H, H3), δ 4.41 (q, 19H, CH₂Ph), δ 4.63 (q, 19H, CH₂Ph), δ 4.82 (q, 19H, CH₂Ph), δ 4.89 (d, 9H, H1), δ 7.05-7.20 (m, 136H, Ph), MALDI TOF-MS: m/z calcd. for C₂₄₃H₂₅₂O₄₅Na⁺: 3912.73; found 3908.03

半経験的分子軌道計算

SCIGRESS MO Compact V1 Pro.⁴⁵⁾ により Semiempirical Hamiltonian AM1⁴⁶⁾ および PM5⁴⁷⁾ を用いて真空中における分子構造を最適化し、分子構造の三次元構造について検討するため SCIGRESS MO Compact に搭載の描画プログラムにより可視化した。計算機は Dell 製 Precision T7400 (Windows^(R)XP 64bit, Intel^(R)Core^(TM) 5400 processor 3.16GHz, main memory 8GB) を用いた。

参考文献

- 1) E. J. Wood, C. A. Smith, W. R. Pickering, “*Life Chemistry and Molecular Biology*”, Portland Press, London (1997).
- 2) 小倉治夫, “複合糖質の化学と応用”, シーエムシー, 東京 (1989).
- 3) 稲田祐二, 川寄敏祐, “糖鎖ハイブリッド”, 共立出版, 東京 (1995).
- 4) シクロデキストリン学会, “ナノマテリアル・シクロデキストリン”, 米田出版, 東京 (2005).
- 5) H. Ikeda, M. Nakamura, N. Ise, F. Toda, and A. Ueno, *J. Org. Chem.*, **62**, 1411-1418 (1997).
- 6) J. W. Park, S. Y. Lee, H. J. Song, and K. K. Park, *J. Org. Chem.*, **70**, 9505-9513 (2005).
- 7) N. Smiljanic, V. Moreau, D. Yockot, J. M. Benito, Jose M. G. Fernandez, and Djedaini-Pilard, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **45**, 5465-5468 (2006).
- 8) W. Deng, T. Onji, H. Yamaguchi, N. Ikeda, and A. Harada, *Chem. Commun.*, 4212-4214 (2006).
- 9) L. Ebersson, Michael P. Hartshorn, and O. Persson, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **34**, No.20 (1995).
- 10) A. Grandeury, S. Petit, S. Coste, G. Coquerel, C. Perrio, and G. Gouhier, *Chem. Commun.*, 4007-4009 (2005).
- 11) Lavinia G. Marinescu and M. Bols, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **45**, 4590-4593 (2006).
- 12) A. Nowicki, Y. Zhang, B. Leger, Jean-Paul Rolland, H. Bricout, E. Monflier, and A. Roucoux, *Chem. Commun.*, 296-298 (2006).
- 13) Osaki, M., Takashima, Y., Yamaguchi, H., Harada, A., *J. Am. Chem. Soc.*, **129**, 14452-14457 (2007).
- 14) A. Harada, J. Li, and M. Kamachi, *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 3192-3196 (1994).
- 15) I. Yamaguchi, K. Osakada, and T. Yamamoto, *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 1811-1812 (1996).
- 16) S. Anderson, Robin T. Aplin, Tim D. W. Claridge, T. Goodson III, Angela C.

- Maciel, G. Rumbles, John F. Ryan, and Harry L. Anderson, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, **1**, 2383-2397 (1998).
- 17) J. Yand, Y. Wang, A. Rassat, Y. Zhang, P. Sinay, *Tetrahedron*, **60**, 12163-12168 (2004).
- 18) S. Tsuda, J. Terao, Y. Tanaka, T. Maekawa, N. Kambe, *Tetrahedron Lett.*, **50**, 1146-1150 (2009).
- 19) Y. Liu, Bao-Hang Han, B. Li, Yi-Min Zhang, P. Zhao, Yun-Ti Chen, T. Wada, and Y. Inoue, *J. Org. Chem.*, **63**, 1444-1454 (1998).
- 20) A. Van der Heyden, M. Wilczewski, P. Labbe, and R. Auzely, *Chem. Commun.*, 3220-3222 (2006).
- 21) Jing Wang and Ming Jiang, *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 3703-3708 (2006).
- 22) Y. Liu, Zi-Xin Yang, and Y. Chen, *J. Org. Chem.*, **73**, 5298-5304 (2008).
- 23) A. Miyawaki, Y. Takashima, H. Yamaguchi, A. Harada, *Tetrahedron*, **64**, 8355-8361 (2008).
- 24) Y. Nishi, N. Yamane, and T. Tanimoto, *Carbohydr. Res.*, **342**, 2173-2181 (2007).
- 25) Y. Okada, M. Semma, A. Ichikawa, *Carbohydr. Res.*, **346**, 1018-1022 (2011).
- 26) J.M. Benito, M. Gomez-Garcia, C. O. Mellet, I. Baussanne, J. Defaye, and J. M. G. Fernandez, *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 10355-10363 (2004).
- 27) Y. Oda, M. Miura, K. Hattori, and T. Yamanoi, *Chem. Pharm. Bull.*, **57** (1), 74-78 (2009).
- 28) Y. Oda, T. Yamanoi, *Synthesis*, **19**, 3021-3031 (2007).
- 29) Petter, R. C., Salek, J. S., Sikorski, T., Kumaravel, G. Lin, F. -T., *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, 3860-3868 (1990).
- 30) Hamasaki, K., Ikeda, H., Nakamura, A., Ueno, A., Toda, F., Suzuki, I. & Osa, T., *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 5035-5040 (1993).
- 31) K. Book, A. Brignole, *J. Chem. Soc. Perkin trans.* **2**, 1711, (1986).
- 32) K. Harata, K. Kawano, K. Fukunaga, and Y. Ohtani, *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, (4), 1428-1430 (1983).
- 33) K. Takahashi, Y. Ohtsuka, and K. Hattori, *Chem. Lett.*, 2227-2230 (1990)

- 34) W. Saka, Y. Inoue, Y. Yamamoto, R. Chujo, K. Takahashi, and K. Hattori, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **63**, 3175-3182 (1990)
- 35) K. Takahashi, Y. Ohtsuka, S. Nakada, and K. Hattori, *J. Inc. Phenom. Mol. Recogn. Chem.*, **10**, 63-68 (1991).
- 36) K. Takahashi, K. Imotani, and M. Kitsuta, *Poly. J.*, **33**, 242-247 (2001).
- 37) Masato Kodaka, *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 3702-3705 (1993).
- 38) Masato KODAKA and Toshio FUKAYA, *Bull. Chem. Soc. Jap.*, **62**, 1154 (1989).
- 39) K. Takahashi, H. Nakamura, T. Kawaguchi, S. Fujiwara, Y. Oda, T. Yamanoi, *ACC2007, Minireviews*, 48-52, 18-20 May (2007).
- 40) T. Oguma, T. Horiuchi, M. Kobayashi, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **57**, 1225-1227 (1993).
- 41) F. C. McIntire, W. H. Peterson, and A. J. Riker, *J. Biol. Chem.*, **143**, 491-496 (1942).
- 42) P. M. Collins and M. H. Ali, *Tetrahedron Lett.*, **31**, 4517-4520 (1990).
- 43) M. Kawamura, T. Uchiyama, T. Kuramoto, Y. Tamura, and K. Mizutani, *Carbohydr. Res.*, **192**, 83-90 (1989).
- 44) 早川幸男, 中久喜輝夫, “オリゴ糖の製法開発と食品への応用”, シーエムシー, 東京 (2012).
- 45) SCIGRESS MO Compact Pro. V1, Fujitsu Ltd, Tokyo, Japan, (2008).
- 46) M. J. S. Dewar, E. G. Zoebisch, E. F. Healy and J.J .P. Stewart, *J. Am. Chem. Soc.*, **107**, 3902 (1985).
- 47) J. J. P. Stewart, MOPAC2002 1.0 Fujitsu Ltd, Tokyo, Japan (2001).

業績一覧

論文

“Molecular properties of mono guest-modified cyclodextrins on the secondary site”

S. Fujiwara and K. Takahashi,
Supramol. Chem., **23**, 156-159 (2011)

“Characterization and structural determination of 3A-amino-3A-deoxy-(2AS, 3AS)-cyclodextrins by NMR spectroscopy”

K. Takahashi, K. Andou, and S. Fujiwara,
Polymer J., **44**, 850-854 (2012)

“Novel monosubstitution of α - and β -cyclodextrins to introduce both sugar and self-guest groups at a secondary hydroxyl site through branched *C,C*-glycoside method”

S. Fujiwara and K. Takahashi,
Carbohydr. Chem., *Submitting*

会報

“Mono substitution of β -Cyclodextrin through Novel Branched *C*-Glycoside Method”

K. Takahashi, H. Nakamura, T. Kawaguchi, S. Fujiwara, Y. Oda, T. Yamanoi,
Proceedings of Fourth Asian Cyclodextrin Conference (ACC2007)

学会発表

1) 第 24 回シクロデキストリンシンポジウム (2006)

「フェロセン修飾シクロデキストリンの分子構造」

(東京工芸大・工) 高橋圭子、永柴良憲、小針未央、藤原章司

2) 第 25 回シクロデキストリンシンポジウム (2007)

「2 級位 C-ベンジルグルコシド修飾シクロデキストリンの分子構造」

(東京工芸大・工、野口研) 高橋圭子、藤原章司、小田慶喜、山ノ井孝

3) The 4th Asian Cyclodextrin Conference (ACC2007)

“Monosubstitution of β -Cyclodextrin through Novel Branched C-Glycoside Method”

(Tokyo Polytechnic University, The Noguchi Institute) Keiko Takahashi, Hiroto Nakamura, Tomoyuki Kawaguchi, Shoji Fujiwara, Yoshiki Oda and Takashi Yamanoi

4) The 14th International Cyclodextrins Symposium (2008)

“Structure of Sugar-Self Guest Hybrid Cyclodextrins; Where is the Sugar Moiety around Cavity?”

(Tokyo Polytechnic University, The Noguchi Institute) KEIKO TAKAHASHI, SHOJI FUJIWARA, YOSHIKI ODA, TAKASHI YAMANOI

5) 第 3 回バイオ関連化学合同シンポジウム・第 4 回ホスト-ゲスト化学シンポジウム (2008)

「二級位糖修飾シクロデキストリンの合成と分子構造」

(東京工芸大・工、野口研) 高橋圭子、藤原章司、小田慶喜、山ノ井孝

6) The 5th Asian Cyclodextrin Conference (ACC2009)

“Sugar-Self Guest Hybrid Cyclodextrins; the Effect of Sugar Moiety on the

Structure”

(Tokyo Polytechnic University, The Noguchi Institute) Keiko Takahashi,
Shoji Fujiwara and Takashi Yamanoi

7) 第 26 回シクロデキストリンシンポジウム (2009)

「Mono-3*N*-phenylbutyrylamino- α -および β -cyclodextrin 誘導体の分子内包接
錯体形成」

(東京工芸大・工、野口研) 高橋圭子、藤原章司、谷口茂貴、小田慶喜、山ノ
井孝

8) Post 5th International Symposium on Macrocyclic and Supramolecular
Chemistry (POST-ISMSC5) and The 6th Symposium on Host-Guest
Chemistry (HGCS2010)

“Molecular properties of mono secondary side guest modified cyclodextrins”

(Tokyo Polytechnic University) Shoji Fujiwara, Keiko Takahashi

9) 第 27 回シクロデキストリンシンポジウム (2010)

「S-アデノシルメチオニン-フィチン酸-シクロデキストリン複合体の機能」

(東京工芸大・工、磐田化学工業) 関口喜則、榊原光秀、奥野美智子、安藤啓
太、藤原章司、高橋圭子

10) 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies
(PACIFICHEM 2010)

“Novel sugar-self guest hybrid cyclodextrins; the dependency of arm
structure on the molecular structure”

(Tokyo Polytechnic University, The Noguchi Institute) Fujiwara, Shoji; Oda,
Yoshiki; Yamanoi, Takashi; Takahashi, Keiko

11) The 6th Asian Cyclodextrin Conference (ACC2011)

“Preparation and characterization of sugar-self guest hybrid α - and

β -cyclodextrins through 6-ether-bond; the dependency of the molecular recognition on structure of arm”

(Tokyo Polytechnic University) Shoji Fujiwara, Keiko Takahashi

12) 第 28 回シクロデキストリンシンポジウム (2011)

「エーテル結合型 1 級位糖修飾 α -および β -シクロデキストリンの合成と構造解析」

(東京工芸大・工、野口研) 藤原章司、小田慶喜、山ノ井孝、高橋圭子

13) 第 28 回シクロデキストリンシンポジウム (2011)

「6-*O*-(2'-ヒドロキシプロピル)- β シクロデキストリンの合成」

(東京工芸大・工) 高橋圭子、鈴木愛斗、藤原章司

14) 第 28 回シクロデキストリンシンポジウム (2011)

「3,6-アンヒドロシクロデキストリンの有機酸包接能」

(東京工芸大・工) 高橋圭子、早川大、藤原章司

15) 第 28 回シクロデキストリンシンポジウム (2011)

「フィチン酸-アデノシルメチオニン-シクロデキストリン複合体の分子構造」

(東京工芸大・工、磐田化学工業) 高橋圭子、加瀬千恵、安藤啓太、藤原章司、関口喜則、奥野美智子

16) 第 4 回シクロデキストリンワークショップ (2011)

「エーテル結合型 1 級位糖修飾 α -および β -シクロデキストリンの合成と構造解析」

(東京工芸大・工、野口研) 藤原章司、小田慶喜、山ノ井孝、高橋圭子

17) The 16th International Cyclodextrins Symposium (2012)

“Structural Characterization of cyclic α -(1,6)-linked cyclodextran

compairing with cyclodextrins”

(Tokyo Polytechnic University) Shoji Fujiwara, Toshiaki Narusawa, Keiko Takahashi

18) 第9回ホスト-ゲスト化学シンポジウム (2012)

「 α -(1,6)結合シクロデキストランの構造特性および包接体構造」

(東京工芸大・工) 藤原章司、高橋圭子

19) 第29回シクロデキストリンシンポジウム (2012)

「Per-*O*-Bn-cyclodextran の合成」

(東京工芸大・工) 高橋圭子、藤原章司

20) 第29回シクロデキストリンシンポジウム (2012)

「NMR スペクトルによる 2-ヒドロキシプロピルシクロデキストリンの修飾位置の推定」

(東京工芸大・工) 高橋圭子、三井詩乃、藤原章司

謝辞

本研究を行うにあたり終始御指導、御鞭撻を賜り、本論文をまとめるに際して、親身な御助言と力強い励ましを頂いた、東京工芸大学工学部生命環境化学科、高橋圭子教授に厚く御礼申し上げます。

SPR 測定を快く引き受けて下さった東京工芸大学工学部 応用化学科、服部憲治郎教授（現ナノデックス株式会社）および、竹内知子氏に心より感謝いたします。

研究を進めるにあたり、御指導、御助言を頂いた公益財団法人野口研究所、糖質基礎化学研究室 山ノ井孝博士、小田慶喜博士に深く感謝いたします。

本論文の執筆にあたり、誠意に満ちた御教示と御指示を頂きました東京工芸大学 松本利彦教授、八代盛夫教授、大嶋正人教授、宇都宮大学 池田宰教授に深く感謝申し上げます。

また、日々の研究だけでなく多くの御指導、御助言を頂いた東京工芸大学工学部生命環境化学科の先生方に深く感謝いたします。

研究を行うにあたり御協力して頂いた東京工芸大学 生体分子機能研究室の皆様感謝いたします。