

## 環状イソマルトース (シクロデキストラン) の分子特性と構造

藤原 章司<sup>\*1</sup> 小澤 開土<sup>\*2</sup> 成澤 俊明<sup>\*3</sup> 高橋 圭子<sup>\*4</sup>Molecular properties and molecular structure of  $\alpha$ -(1,6)-cycloisomaltosesShoji Fujiwara<sup>\*1</sup> Kaito Ozawa<sup>\*2</sup> Toshiaki Narusawa<sup>\*3</sup> Keiko Takahashi<sup>\*4</sup>

The chemistry of large ring molecules has been very much part and parcel of the development of supramolecular chemistry. Cyclodextrins (CyDs) are typical cyclic oligosaccharide. Cyclodextrins (CIs) are also naturally occurring  $\alpha$ -(1,6)-linked cyclic isomaltooligosaccharides, consisting of seven to seventeen glucopyranosyl residues. Three secondary hydroxy groups are situated on one of the edges of the ring, whereas no hydroxy group is placed on the other edge. To indicate the structural characterization of CIs comparing with CyDs, NMR spectroscopy;  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  NMR and relaxation measurement were studied. Owing to the presence of C6 methylene groups and the absence of hydrogen bonding belt, CIs have high water solubility and flexible ring structure. We also indicate direct evidence that CIs include Congo red molecules.

## 諸言

## シクロデキストラン

環状オリゴ糖は環状構造の内側に種々の物質を取り込み包接化合物を形成する。代表的分子は D-グルコースが  $\alpha$ -1,4 結合で環状に連なったシクロデキストリン (Cyclodextrin; CyD) である。CyD は、疎水性相互作用を駆動力として、空洞の大きさに応じた分子をゲスト分子として包接するユニークな特性を有している<sup>1)</sup>。包接に伴い、ゲスト分子の安定化や水溶化をもたらす、食品、医薬品から機能性材料に至るまで、多様な分野で応用展開されている<sup>2)</sup>。

CyD 以外にも環状オリゴ糖は存在する。グルコースを単位構造としたものだけでも、 $\alpha$ -1,6、 $\beta$ -1,2、 $\beta$ -1,3-環状オリゴグリコシドが報告されている (Figure 1)<sup>3)</sup>。 $\alpha$ -1,6 結合した環状オリゴグリコシドは環状イソマルトオリゴ糖

(cycloisomaltooligosaccharide)あるいはシクロデキストラン (cyclodextran)とも呼ばれ CI と略記されている<sup>4)</sup>。 $\alpha$ -1,4 結合環状グルコピラノシド CyD は狭い空洞縁に 1 級水酸基を広い空洞縁に 2 級水酸基を有しているのに対し、CI は 2 級水酸基のみを有している。したがって CyD のような深く堅固な疎水性空洞を有していない。浅く広くフレキシブルな空洞を有している。CyD は 19 世紀末に発見されたが、CI は 1993 年に発見された<sup>5)</sup>。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 を合成する環状イソマルトオリゴ糖グルカノトランスフェラーゼ [EC2.4.4.248] による分子内転移反応によって生産されており、現在の CI 生産法では CI-7~CI-12 (グルコース残基が 7~12 個) 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。現在のところグルコース数が 7 個から 17 個までの CI-7~CI-17 までの 11 種類が構造決定されている<sup>6)</sup>。CI は CyD 同様、非還元性糖質で、加熱、酸・アルカリにも強く安定である。CyD と異なり、等量以下の水に溶解する高い水溶性を有している。さらに、 $\alpha$ -1,6 結合であるので、 $\alpha$ -1,4 結合を切断するアミラーゼや消化酵素にもグリコシド結合は切断されない。即ち、経口摂取しても、体内でカロリー源とならない。 $\alpha$ -CyD を除く CyD;  $\beta$ -、 $\gamma$ -CyD が腸内細菌や消化酵素でグリコシド結合が切断されて非環状になることを考えると、 $\gamma$ -CyD が対象としている比較的大きなゲスト分子に対する包接能力の検証が望まれるところである。CI は環の大きさにかかわらず、グルコーストランスフェラーゼ阻害作用を有し、抗う蝕性を発現することから<sup>7)</sup>、様々な環の大きさの CI と非環状  $\alpha$ -1,6-グルコシドの混合物である CI-plus を主成分とした虫歯防止剤が実用に付されている。さらに、グルコースの 2 位から分岐を有する分岐シ

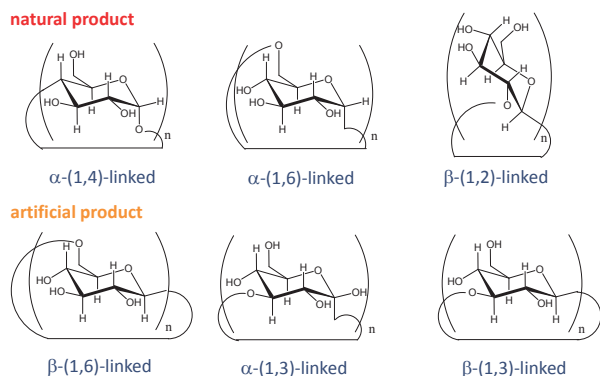


Figure 1. Various cyclic oligoglucosides.

\*1 東京工芸大学大学院博士課程後期大学院生、現在上智大学理工学部特別研究員 \*2 東京工芸大学工学部生命環境化学科卒業研究生

\*3 東京工芸大学工学研究科客員研究員 \*4 東京工芸大学工学部生命環境化学科教授

クロデキストランも酵素を用いて合成され、フラーレン包接作用を有することが報告されている<sup>8-9)</sup>。しかしながら、工業規模での CI 生産が行われていないこともあいまって、CI 研究報告は限られている。CI-10 が pH 7.0 リン酸緩衝液中、ピクトリアブルーの退色阻害を示したことによる包接特性を示した報告があるのみである。

## 本研究の目的

当研究室では、CyD の包接現象について、紫外可視吸収スペクトル (UV)、蛍光スペクトル、円偏光二色性スペクトル (CD)、核磁気共鳴スペクトル (NMR)、質量スペクトル (MS)、表面プラズモン共鳴光学バイオセンサー (SPR) 法などを用いて解析を行ってきた<sup>10-25)</sup>。また、種々の化学修飾 CyD を合成してきた。CI の系統的分光法による報告および分子構造の報告は少ない。CI-7~CI-17、11

種類の、<sup>13</sup>C NMR が報告されているのみである<sup>6)</sup>。そこで本論文では、CI 化学の基礎として、NMR スペクトルおよび緩和時間を検討した。CyD との相違点に着目して CI の特性について報告する。また、コンゴレッド分子に対する、誘起円偏光二色性についても報告する。

## 実験および方法

**試薬** 溶媒、試薬は特級またはそれに準ずるものを使用した。CI は株式会社シー・アイ・バイオ製を使用した。

**機器** NMR は JEOL NM-LA500 を用いて 5 mmφ 試料管で測定した。標準的には約 5 mg の CI を重水 (ALDRICH 99.9 atom%) 0.75 ml に溶かし、30.0 °C で測定した。<sup>1</sup>H 核では 32 回、<sup>13</sup>C 核では 4400 回積算した。円偏光二色性は JASCO J-820 (日本分光(株)製)を用いて、0.1 mm の石英セルにて測定した。溶媒は純水を用いた。

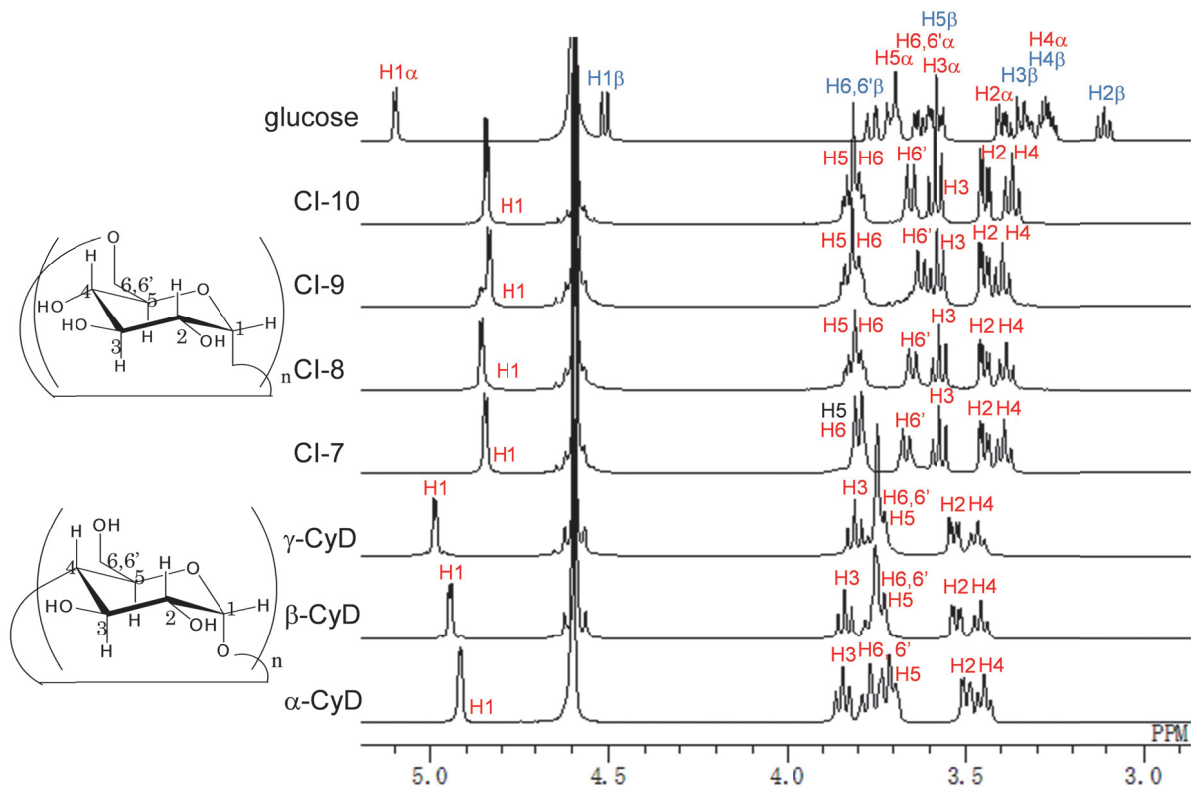


Figure 2. 500MHz <sup>1</sup>H NMR spectra of CIs, CyDs and D-glucose in D<sub>2</sub>O.

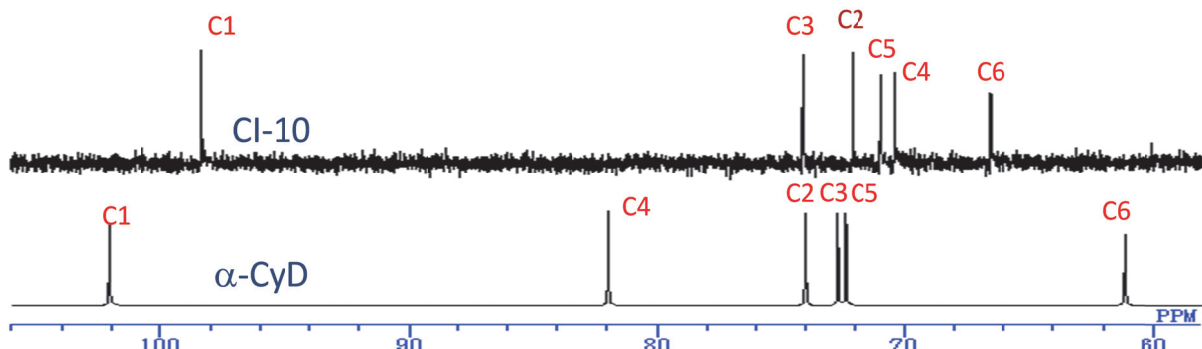


Figure 3. 125MHz <sup>13</sup>C NMR spectra of CI-10 and  $\alpha$ -CyD in D<sub>2</sub>O.

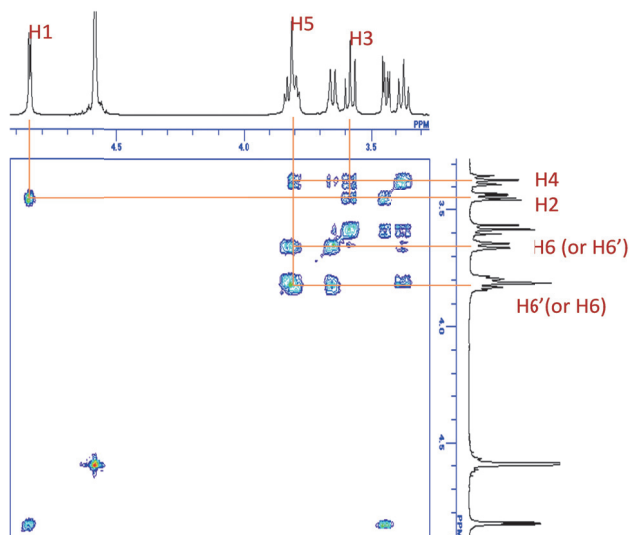


Figure 4. COSY spectrum of CI-10.

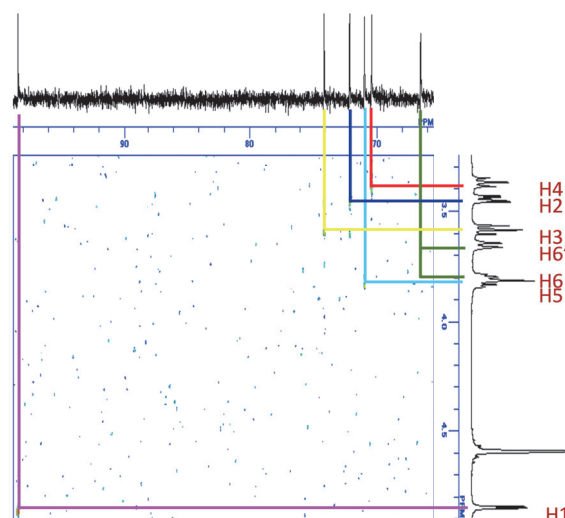


Figure 5. C-H COSY spectrum of CI-10.

### 半経験的分子軌道計算

SCIGRESS MO Compact V1 Pro. により Semiempirical Hamiltonian AM1 および PM5 を用いて真空における分子構造を最適化し、分子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を用いて可視化した。計算機は Dell 製 Precision T7400 (Windows® XP 64bit Intel® Core™ 5400 processor 3.16GHz, main memory 8GB) を用いた<sup>26-28)</sup>。

### 結果と考察

#### NMR スペクトル

CI-7、CI-8、CI-9、CI-10 の重水中における <sup>1</sup>H NMR スペクトルを Figure 2 に示した。比較のために、 $\alpha$ -CyD、 $\beta$ -CyD、 $\gamma$ -CyD、および D-グルコースの NMR スペクトルも示した。グルコースは、 $\alpha$ -と  $\beta$ -体が混在している。各シグナルの帰属は二次元 H-H COSY と C-H COSY との相関シグナルから行った。CI-10 の各スペクトルを Figure 4 および Figure 5 に示した。<sup>1</sup>H NMR では鋭いシグナルが 1 スピン系で観測されている。低磁場側から H1、H5、H6、H6'、H3、H2、H4 の順で 5-3.3 ppm の範囲にシグナルが観測された。CyD のスペクトルと比べると、アノメリック H1 および H3 の低磁場シフトと、H6、H6'プロトンの分裂 (約 0.2 ppm) が特徴的である。また、CyD では構成グルコース数に H1、H3、H5 の化学シフト値が依存しているのに対し、CI では H6、H6' の化学シフト値に差異があるのみであった。H1 がやや高磁場に観測されたことを除くと、 $\alpha$ -グルコースとほぼ同一のスペクトルである。 $\alpha$ -1,4 結合で環状構造を有する CyD は分子内 2OH-3OH 水素結合ネットワークを形成し、疎水性空洞を有している。空洞の内部には H3、H5 が存在している。このため分子のフレキシビリティが制限され、 $\alpha$ -グルコースとは異なる化学シフトとなっているのであろう。CI は 1 級水酸基を有する 6 位とグリコシド結合して

いるので、環化の影響がスペクトルに反映されていない。これは CI が高い水溶性を有し、CyD よりフレキシビリティを有するといわれていることに矛盾しない。ただし、CI-7 の H6、H6' のシフト値の差異が小さい。これは環の大きさにより分子構造の差異がある可能性を示しており、包接挙動などの機能性開発の可能性はある。

<sup>13</sup>C NMR においては CyD 同様、6 種のシグナルが観測された。構成グルコース数によるスペクトルの差異はほとんどない。代表例として CI-10 のスペクトルを Figure 3 に示した。CI-10 では 98.35 ppm に C1、74.15 (C3)、74.14 (C4)、70.98 (C5)、70.42 (C2)、66.58 (C6) ppm が観測された。CyD と比較すると C1、C4 は低磁場に、C6 は高磁場に観測されている。これは C1-C6 間でグリコシド結合をしている影響であろう。C6 エステル化 CyD の C6'シグナルが低磁場シフトする結果と矛盾しない。C1-C4 グリコシド結合二面角はアノメリック C1、およびアグリコニック C4 化学シフト値と相関性があり、二面角 ( $\phi$ )<sup>10</sup> が 2 ppm の化学シフト値の差異に相当する<sup>11,16)</sup>。修飾 CyD においては、C1、C4 のシフト値から環全体のグリコシド結合二面角の範囲について推測ができたが、C6 位はメチレン基であり、CyD と比較して環の歪みやフレキシビリティについて議論できるかどうかは確定できなかった。

#### 緩和時間 ( $T_1$ )

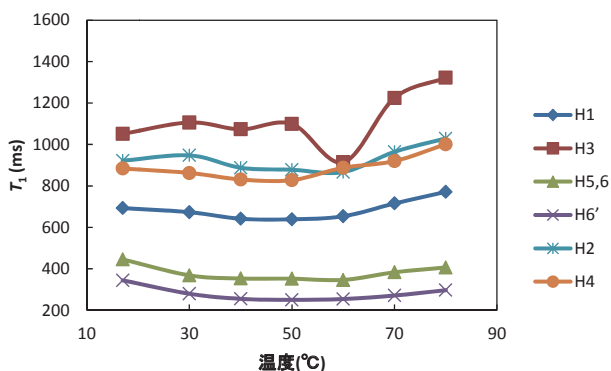
CyD、CI とともに  $\alpha$ -グルコース単位で構成され、H5、H6 プロトンは重複しているが、H1、H2、H3、H4、H6' は異なる化学シフト値を有する (Figure 2)。Table 1 に環状オリゴ糖を構成するグルコース各プロトンの 17 °C における緩和時間 ( $T_1$ /ms) を示した。CyD では広い空洞縁に存在する H2、H3 が約 900 ms、グリコシド結合の両端の H1、H4 が約 500 ms、H5 と H6 はシグナルが重複しているため、平均値として求められ約 400 ms であった。疎水性空洞の広い縁、空洞壁中央 (グリコシド結合周り)、狭い縁で同様の値を示した。CI-10 の場合、2 級水酸基を有している炭素に結合している H2、H3、H4 は約 1 s で、グリコシド結合両端

の H1 と H6 はやや短い 700, 350 ms であった。各環状グリコシドの 1 プロトンあたりの緩和平均値は、環構成グルコース 1 残基あたり約 45 ms 増加している。またグリコシド結合両端のプロトンの  $T_1$  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 10 °C ごとに  $T_1$  を測定した (Figure 6)。CI-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、これまで報告例がない。しかし同じグルコースが環状構造をとっている  $\gamma$ -CyD では、広い縁に存在している H2, H3 が 40 °C において極小値を示す。これは分子内水素結合を反映している可能性がある。証明に至るにはさらなる系統的な検討が必要である。しかしながら、極値を示さない CI は分子内水素結合ネットワークによる運動制限を受けておらず、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。さらに、CI-7、CI-8、 $\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -CyD の室温における炭素の  $T_1$  を測定した。結果を Table 2 に示した。一般にプロトンの緩和は他のプロトンの影響を受けやすく、炭素の緩和が分子の運動性の情報

Table 1.  $T_1$ (H) of cyclic oligosaccharides.

環状グリコシド	$T_1$ / ms						Av.
	H1	H2	H3	H4	H5,6 <sup>a)</sup>	H6'	
CI <sub>10</sub>	692.8	913.8	1051	907.1	445.1	347.5	686.0
$\alpha$ -CyD	501.3	802.4	852.5	477.6	335.5	—	520.0
$\beta$ -CyD	535.6	877.9	1044	529.8	323.1	—	565.2
$\gamma$ -CyD	603.4	828.6	1125	604.5	370.3	—	610.3

Figure 4. Dependency of  $T_1$  of CI-10 on temperature.Table 2.  $T_1$  (C) of cyclic oligosaccharides.

環状グリコシド	$T_1$ / ms						Av.
	C1	C2	C3	C4	C5	C6	
CI-7	185.766	174.115	182.355	171.652	167.685	96.075	162.9
ppm	97.436	71.059	73.083	69.427	69.852	65.67	
$\alpha$ -CyD	181.671	219.787	204.339	204.391	204.339	118.965	188.9
ppm	100.429	72.425	71.615	80.313	71.685	60.89	
$\beta$ -CyD	174.756	188.041	180.958	174.148	174.726	107.608	166.7
ppm	101.518	72.710	71.706	80.758	71.429	59.845	
$\gamma$ -CyD	166.115	181.053	182.942	178.232	178.611	100.994	164.7
ppm	101.318	72.575	71.956	80.05	71.398	59.845	

を与える。しかしながら、ここに示した結果からは、 $\alpha$ -CyD の  $T_1$  がやや長めで、運動性が低い可能性がある以上の考察はできない。プロトンでは環構造との相関性の端緒が示されたが、ほぼ同じ値で、CI の特質も見出すことができなかった。温度依存性や固体状態での測定なども含めて詳細な系統的考察が必要である。

## シクロデキストランの分子構造

$\alpha$ -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、空洞軸に対し交差した双極子モーメントを有しているのであろう。NMR スペクトルの結果と緩和時間の結果を総合すると、CI はグルコース分子に近い運動性を有し、環状になってはいるが CyD ほど制限を受けていないと考えられる。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  $\alpha$ -1,6 グリコシド結合により、CI は 2 位、3 位、4 位の 3 つの二級水酸基のみ有する。真空の誘電率を用いて MOPAC で描画した結果を示した。紫色の矢印は双極子モーメントの方向と大きさを表している (Figure 7, 8)。シクロデキストランの双極子モーメントは全て垂直方向に向いている。CyD の包接の駆動力となっている疎水性空洞の存在も確たる証拠がない。CI の環状構造をホスト分子として機能させるには、グリコシド結合の酸素原子の不對電子あるいは水酸基の酸素の不對電子が共同して働く配向性が必要であると考えられる。各グルコース残基は十分なフレキシビリティを有しているため、その可能性は高い。

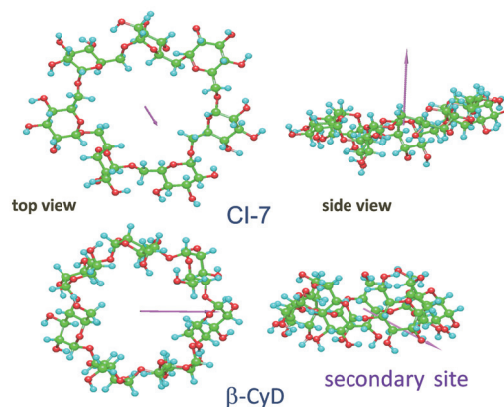
Figure 7. Structure of  $\beta$ -CyD (bottom) and CI-7 (upper)

Table 3. Dipole moment values of CI calculated by MOPAC.

	D/debye
CI-7	6.994
CI-8	10.251
CI-9	9.699
CI-10	13.302
CI-11	13.561
CI-12	12.791

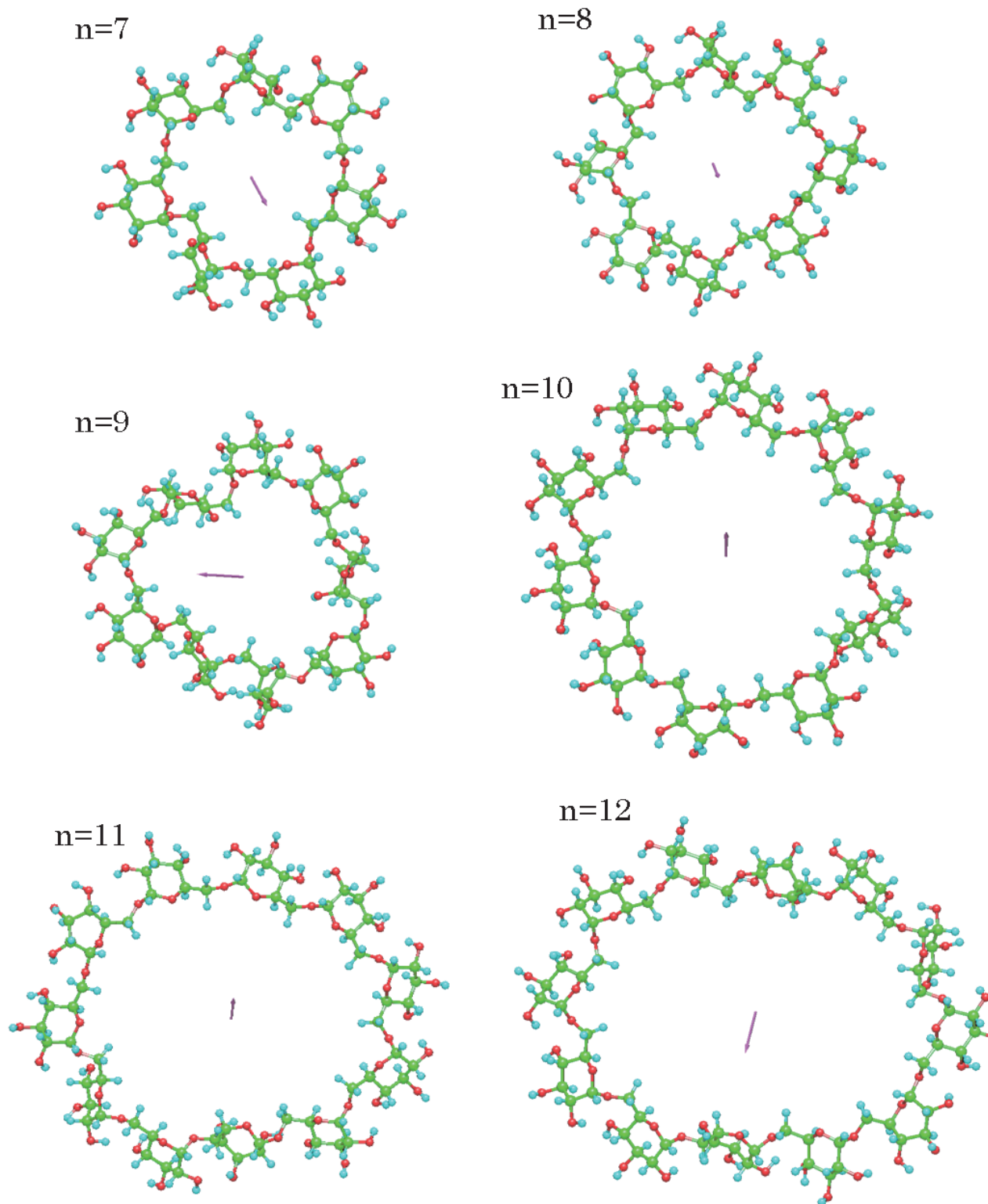


Figure 8-1. Top view molecular drawings of CI-7, 8, 9,10,11, and 12 by MOPAC.

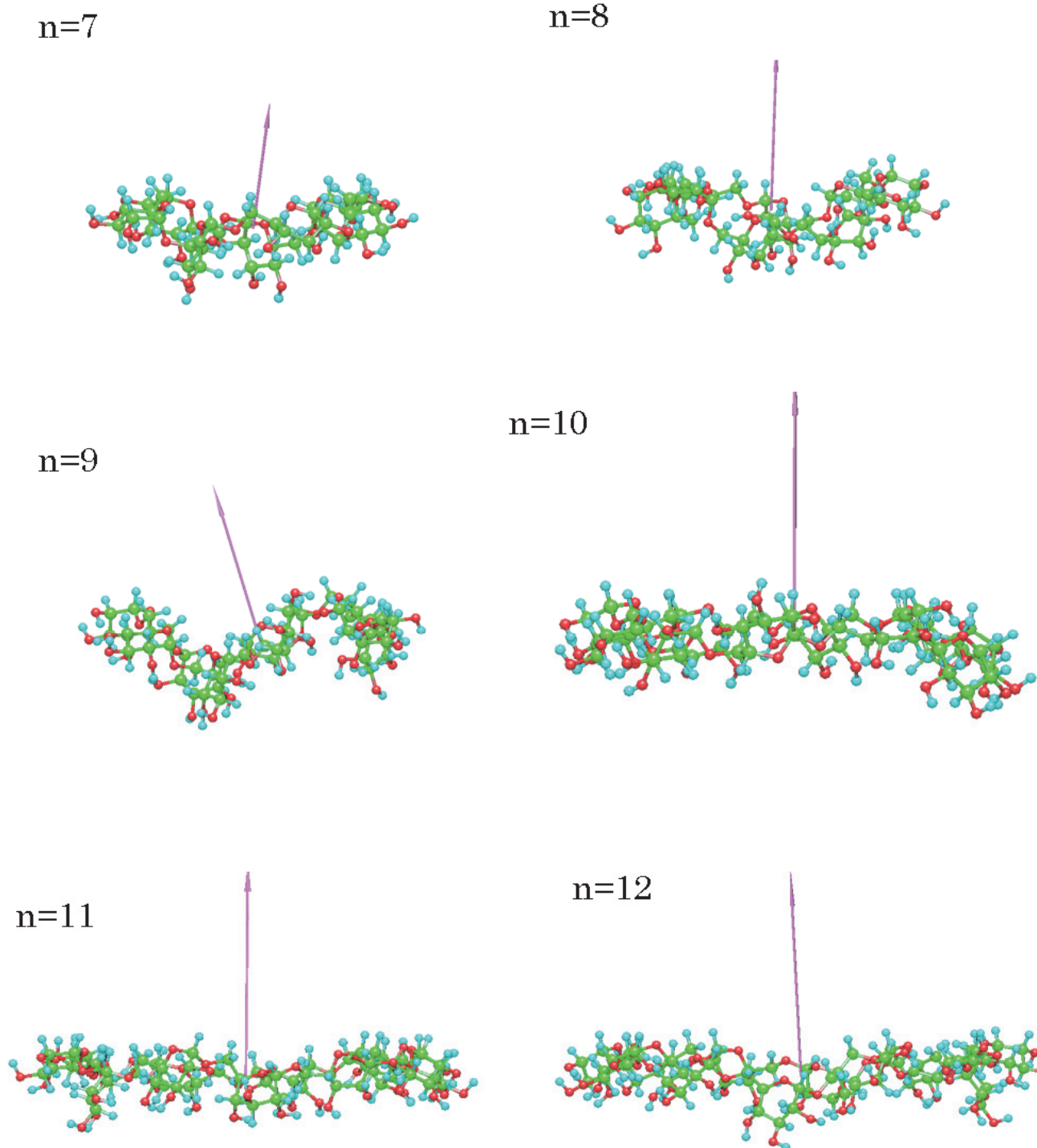


Figure 8-2. Side view molecular drawings of CI-7, 8, 9,10,11, and 12 by MOPAC.

## コンゴレッドに対する包接挙動

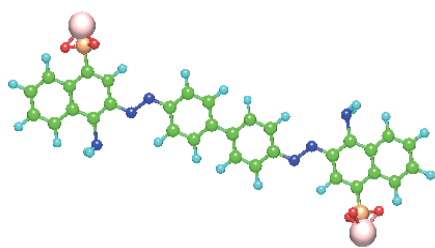


Figure 9 Molecular structure of Congo red.

コンゴレッド (CR; Figure 9) は pH 指示薬として知られており、かつて染料として用いられていた。エタノールなどの極性有機溶媒に易溶で水中では $\pi$ - $\pi$ スタッキングによる自己集合体を形成し、コロイド溶液を生成する<sup>28)</sup>。現在ではその毒性のため、染料として用いられてはいないが、高い $\beta$ -アミロイド構造親和性が細胞診断など研究分野で応用されている。 $\gamma$ -CyD と 2 : 2 の擬ロタキサンを形成することが報告されており<sup>29)</sup>、本研究室ではその機構を解明し、この現象を分子ピーリングと定義してきた<sup>30-33)</sup>。包接現象は NMR 化学シフト変化や誘起円偏光二色性に反映する。

NMR スペクトルにおいて、環状オリゴ糖混合物である CI-plus 存在下、naphthyl 基由来のシグナルと biphenyl 基由来のシグナルのわずかな低磁場シフトが観測された。CI-plus の濃度にシフトは依存した。しかし、CyD で観測された分子ピーリング現象は観測されず、CR 由来シグナルは集合体特有のブロードで、CI-plus 由来シグナル (3.3-4.8 ppm) 変化は観測されず、紫外可視吸収スペクトルの変化も観測されなかった。

高温では CR 集合体の  $\pi$ - $\pi$ スタッキングが解除され、鋭敏なシグナル観測が可能となる。80 °C で同様に過剰 CI-plus 存在下の NMR スペクトル変化もわずかで明確な包接の証拠を得ることができなかった。ところが、CI-7、CI-8、CI-9、CI-10 存在下、CR は紫外可視吸収極大値に対応した cotton 効果を示した (Figure 10)。複数、少なくとも 2 分子の CR が CI グルコース基の不斉環境の影響を受け、規則的な構造をとっている証拠である。誘起二色性 (ICD) は CI-7 が最も大きい、CI を等重量濃度で添加しているので、その影響も考慮の必要があり、CI-7 の包接能力が最も高いとは一概に決めることはできない。しかし、CI が、水溶液中、室温で CR と規則的な構造を形成していることが判明した。CI-plus は環状オリゴ糖が 15 % 程度である。アミラーゼ処理をしているので、残りは非環状 1,6-オリゴグリコシドである。したがって、CI-plus の ICD の結果は、非環状オリゴグリコシドは CR の ICD を示さないことを示唆している。NMR シグナルシフトに反映しない包接体形成の存在も示唆している。

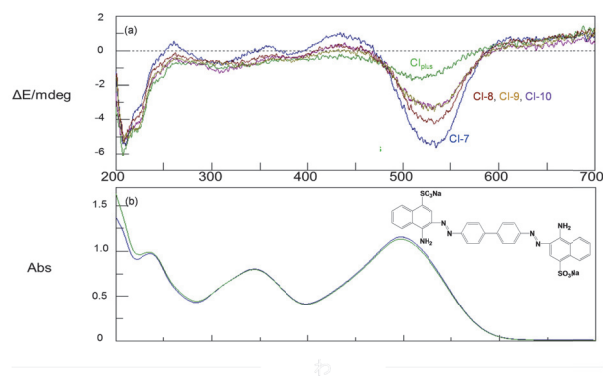


Figure 10. Induced CD in the presence of CI.

## 結論と展望

シクロデキストランという通称を有する環状オリゴ糖、CI の NMR スペクトルを測定し、全プロトンおよびカーボンの帰属を行った。すべてではないが、代表的 CI のプロトン、カーボンの緩和測定を行った。測定結果に矛盾しないよう、半経験的分子軌道計算で描画を行い、双極子モーメントを示した。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。ゲスト分子として CR を選択し、NMR、紫外可視、円二色性スペクトルで検討したところ、唯一、円偏光二色性で包接体形成の証拠が得られた。包接体形成と断言するには更なる検証が必要であるが、少なくとも CI 構成グルコース不斉環境が CR 発色団と規則的相対位置で近接していることが判明した。不斉環境 = 糖二級水酸基である。機能的環状オリゴ糖としては、前世紀から盛んに研究されている CyD が有名であり、同じ D-グルコースから構成されている CI も CyD と同様に包接体研究に付されている可能性が高い。しかし、本論文で示した結果は (1) CI の空洞は疎水性ではない、(2) CI の複合体は疎水性相互作用を主な駆動力としているのではなく、水酸基の相互作用、さらに環状構造の制限によるものであることを示している。これまで CyD 化学で提示された包接による NMR 化学シフトは疎水性-親水性バランスに対応しており、深い堅固な空洞へゆっくり包接されるので NMR シグナルシフトに対応する。さらに、各グルコースの各プロトンは同じ環境にある、具体的には空洞内側には H3 および H5 プロトンが存在している。CI は異なる。以上が、CI が CR を包接しても明確な NMR 変化に反映しなかった理由であろう。

CI は CyD とは異なる特徴と可能性を有している。それは 3 つの 2 級水酸基である。多点多重水素結合は生体機能的分子の根幹をなす相互作用である。多点多重水素結合環状機能的分子として CI を機能させるには、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<sup>34,35)</sup>。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。その基礎データとして本研究が寄与すると考えられる。

## 謝辞

本研究の機会を与您いただきました日新精糖株式会社に深く感謝いたします。

## 参考文献

- 1) M. L. Bender, M. Komiyama, *Cyclodextrin Chemistry*, Springer-Verlag, New York, **1978**.
- 2) ナノマテリアルシクロデキストリン, 日本シクロデキストリン学会編, 米田出版 **2005**.
- 3) G. Gattuso, S. A. Nepogodiev, J. F. Stoddart, *Chem. Rev.*, **1998**, 98, 1919-1958.
- 4) 舟根和美「シクロデキストラン」p205-210 早川幸男, 中久喜輝夫編「オリゴ糖の製法開発と食品への応用」シーエムシー出版 東京 **2012**
- 5) T. Oguma, T. Hirouchi, M. Kobayashi, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **57**, 1225-1227, **1993**.
- 6) K. Funane, K. Terasawa, Y. Mizuno, H. Ono, S. Gibu, T. Tokashiki, Y. Kawabata, Y. M. Kim, A. Kimura, M. Kobayashi, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **72**, 3277-3280 **2008**.
- 7) M. Kobayashi, K. Funane, T. Oguma, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **59**, 1861-1865, **1995**.
- 8) C.-Y. Jina, D.-D. Zhang, T. Oguma, S.-X. Qian, *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, **1996**, **24**, 301-310.
- 9) T. Oguma, H. Kawamoto, *Trends Glycosci. Glycotechnol.*, **15**, 91-99, **2003**.
- 10) K. Takahashi, Y. Koizumi, K. Hattori, The Academic Reports of the Faculty of Engineering, Tokyo Institute of Polytechnics, **13**, 18 -22, **1990**.
- 11) K. Takahashi, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, **1991**, 929-930.
- 12) K. Takahashi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **66**, 540-544, **1993**.
- 13) K. Takahashi and R. Furusho, *Polymer J.*, **28**, 458-464, **1996**.
- 14) 今多秀夫, 服部憲治郎, 高橋圭子 高分子論文集 **52**, 639-643, **1995**.
- 15) M. A. Hossain, K. Hamasaki, K. Takahashi, H. Mihara, A. Ueno, *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 7435-7436 **2001**.
- 16) K. Takahashi, K. Imotani, M. Kitsuta, *Polymer J.*, **33**, 242-247, **2001**.
- 17) I. Suzuki, Y. Kato, Y. Egawa, J. Anzai, M. Wadamori, H. Yokomizo, K. Takahashi, *J. Mol. Structure*, **602-603**, 223-231, **2002**.
- 18) K. Takahashi, H. Narita, M. Oh-hashii, A. Yokoyama and T. Yokozawa, *J. Incl. Phenom. Macrocyc. Chem.*, **50**, 121-127, **2004**.
- 19) K. Takahashi, *Recent Res. Devel. Chem.*, **2**, 91-103, **2004**.
- 20) K. Takahashi, H. Yokomizo, K. Ishiyama, M. Kitsuta, M. Ohashi, *J. Incl. Phenom. Macrocyc. Chem.*, **56**, 95-99, **2006**.
- 21) K. Takahashi, S. Morimoto, H. Nakamura, T. Narusawa, T. Seki, M. Ooe, K. Aoi, A. Takada, *J. Incl. Phenom. Macrocyc. Chem.*, **70**, 384-396, **2011**.
- 22) 高橋圭子, 蕪木和孝, 成澤俊明, 東京工芸大学紀要, **35**, No.1. 87-94, **2012**.
- 23) S. Fujiwara, K. Takahashi, *Supramol. Chem.*, **23**, 156-159, **2011**.
- 24) K. Takahashi, K. Andou, S. Fujiwara, *Polymer J.*, **44**, 850-854, **2012**.
- 25) T. Suzuki, A. Ei, Y. Takada, H. Uehara, T. Yamanobe, K. Takahashi, *Beilstein J. Org. Chem.*, **10**, 2997-3006, **2014**.
- 26) WinMOPAC v3.9, Fujitsu Ltd, Tokyo, Japan, **2004**.
- 27) J. J. P. Stewart, MOPAC2002 v1.5, Fujitsu Ltd, Tokyo, Japan, **2003**.
- 28) M. J. S. Dewar, E.G. Zebisch, E. F. Healy, J. J. P. Stewart, *J. Am. Chem. Soc.*, **107**, 1985, 107, 3902-3909, **1985**.
- 29) M. Skowronek, B. Stopa, L. Konieczny, J. Rybarska, B. Piekarska, E. Szneler, G. Bakalarski, I. Roterman, *Biopolymers*, **46**, 267-281, **1998**.
- 30) S. Kobayashi, S. Miwa, I. Tanaka, K. Mikuni, M. Miura, S. Ogawa and K. Takahashi, *J. Appl. Glycosci.*, **55**, 173-177, **2008**.
- 31) 森本嵩世 東京工芸大学修士論文 **2011**.
- 32) K. Takahashi, S. Morimoto, *5<sup>th</sup> Asian Cyclodextrin Conference(2009), 4<sup>th</sup> Asian Cyclodextrin Conference(2007)*
- 33) K. Takahashi, Y. Ishizaka, S. Morimoto, *6<sup>th</sup> Asian Cyclodextrin Conference (2011)*.
- 34) 高橋圭子, 藤原章司, 「シクロデキストリンの科学と技術」シーエムシー出版, 48-56 **2013**.
- 35) 藤原章司 東京工芸大学博士論文 **2014**.