

神戸学院大学大学院 薬学研究科 学位論文

シクロデキストリンのヘテロ多官能化を目指した  
ベクトル選択的遠隔修飾法の開発

富永 達朗

2021 年



## 目次

序論	1
略語	40
化合物一覧	41
第一章 6-(( <i>N</i> -methylimidazol-2-yl)thio)-CDs を用いたベクトル選択的 スルホニル化法の開発	45
1-1 緒言	46
1-2 6-(( <i>N</i> -methylimidazol-2-yl)thio)-CDs の合成	48
1-3 6-(( <i>N</i> -methylimidazol-2-yl)thio)- $\beta$ -CD を用いたベクトル選択的 スルホニル化法の開発	61
1-4 mono-6 <sup>A</sup> -(( <i>N</i> -methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6 <sup>C</sup> -Tosyl- $\beta$ -CD の 糖鎖配列解析	66
1-5 mono-6 <sup>A</sup> -(( <i>N</i> -methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6 <sup>C</sup> -(2-Naphthalene- sulfonyl)- $\beta$ -CD の糖鎖配列解析	73
1-6 6-(( <i>N</i> -methylimidazol-2-yl)thio)- $\alpha$ , $\gamma$ -CD を用いたベクトル選択的 スルホニル化法の開発	98
1-7 mono-6 <sup>A</sup> -(( <i>N</i> -methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6 <sup>C</sup> -(2-Naphthalene- sulfonyl)- $\gamma$ -CD の糖鎖配列解析	100
1-8 結語	114
1-9 実験	115
1-10 参考文献	121

第二章 di-6 <sup>A,X</sup> -(( <i>N</i> -methylimidazol-2-yl)thio)-β-CD を用いたベクトル 選択的スルホニル化 -----	123
2-1 緒言 -----	124
2-2 di-6 <sup>A,X</sup> -(( <i>N</i> -methylimidazol-2-yl)thio)-β-CD の合成 -----	125
2-3 6 <sup>A,X</sup> -di-(( <i>N</i> -methylimidazol-2-yl)thio)-β-CD (X = B, C, D) に対する ベクトル選択的スルホニル化法の適応 -----	129
2-4 6 <sup>A,X</sup> -di-(( <i>N</i> -methylimidazol-2-yl)thio)-6 <sup>Y</sup> -Tos-β-CD (X = B, C, D) の 糖鎖配列解析 -----	138
2-5 結語 -----	162
2-6 実験 -----	163
2-7 参考文献 -----	169
機器・試薬 -----	171
謝辞 -----	172

## 序論

### 1. シクロデキストリンの構造と性質

シクロデキストリン (CD) は、D-グルコピラノースが基本単位として $\alpha$ -1,4 グルコシド結合によって環状に結合した環状オリゴ糖の総称である (図 1)。D-グルコピラノースの数が 6 個、7 個、8 個から成るものは、それぞれ $\alpha$ -CD、 $\beta$ -CD、 $\gamma$ -CD と呼ばれ、酵素によるでんぷんの分解過程で生成される。

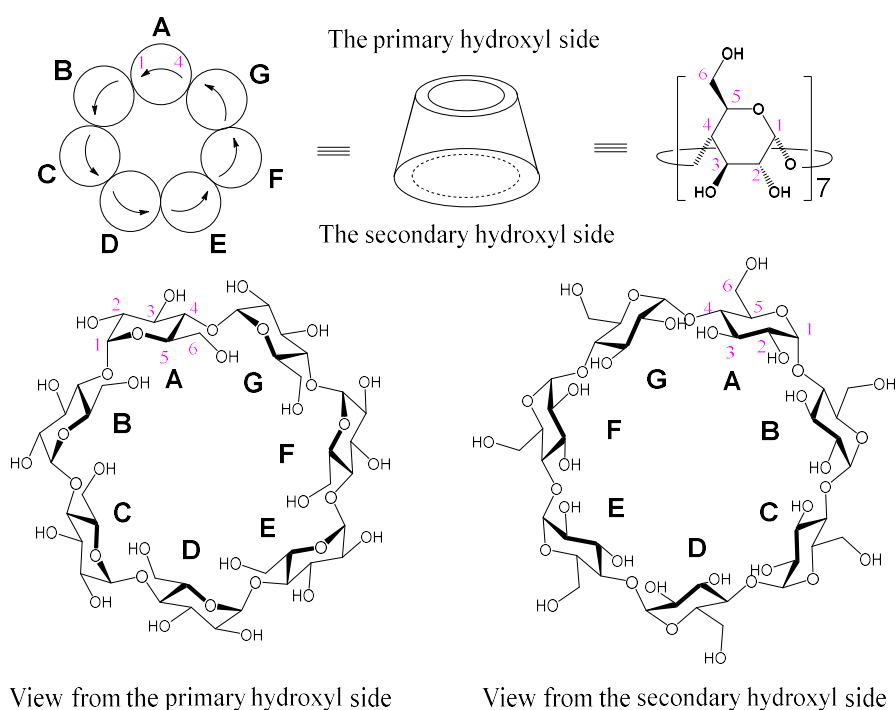


図 1  $\beta$ -Cyclodextrin

CD の発見は、1891 年 Villier の研究に遡り、今年で 130 年の歴史を刻んできた<sup>1)</sup>。その長い歴史にも拘らず、CD に関する研究は、衰えが見えず、論文の発表件数が年々増えつつある (図 2)。特定の化合物について多様な分野においてこれほど盛んに研究されることは非常に希で、まさに“超”分子といえる。

CD の魅力は、その美しい構造および独特の分子認識機能にある。すべての構成糖は、分子の輪と直交する軸に沿って同じ方向で配置され、底の抜けた円錐台形を形成する。円錐台の狭い縁に一級ヒドロキシ基、広い縁に二級ヒドロキシ基がそれぞれ配置され、円錐台の内部は空洞となっている (図 3)。空洞の内壁に、グルコピラノースの  $C_3$ -H、 $C_5$ -H およびグルコシド結合の酸素原子が主に配置されているため、CD の空洞は疎水性の環境となる。

その疎水性の強さはジオキサンと同程度と思われる。また、構成糖のグルコピラノースは、いずれも隣接の糖と強い水素結合を形成しているため、 $\alpha$ 、 $\beta$ -CD の空洞が強固に保たれ、非常に変形しにくい。空洞の深さは $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ -CD のいずれも 0.78 nm であるが、その内径は CD の種類によって異なり、 $\alpha$ -CD で 0.57 nm、 $\beta$ -CD で 0.78 nm、 $\gamma$ -CD で 0.95 nm である<sup>2)</sup>。

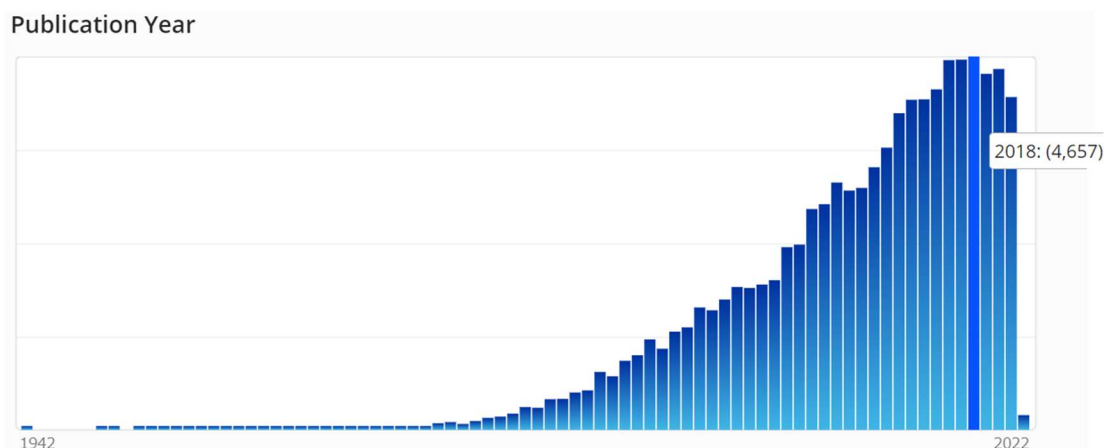


図2 SciFinderにて cyclodextrin をキーワードとした検索でヒットした reference の件数

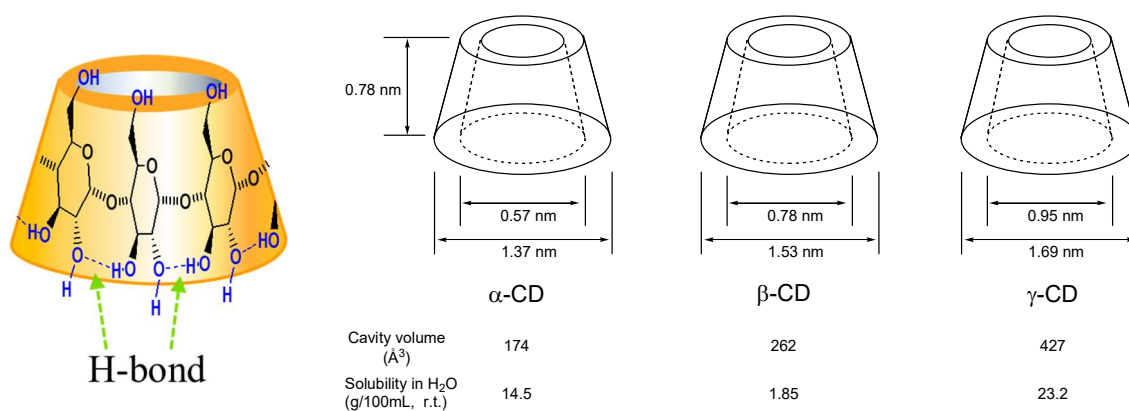


図3 シクロデキストリンの円錐台構造および空洞の大きさ

CD は空洞内部が疎水性、外部が親水性であるため、水に溶けて水溶液中で疎水性のマイクロ環境を提供する。また、その空洞に適した化合物をゲスト分子として内部に取り込み、包接錯体を形成することができる。多くの場合、疎水性相互作用が主な駆動力として働く。この CD の包接特性は食品、医薬品、機能性材料など幅広い分野で研究が行われている<sup>2,3)</sup>。

## 2. シクロデキストリンの分子認識能およびそれに係る分子間力

CD は水溶液中、ホスト分子として働き、様々な有機分子やイオンをゲストとして自分の空洞に取り込む、包接錯体を形成する。この包接錯体は、固有の組成、構造および物理化学的性質、いわゆる分子の三つの基本的特徴を有する。例えば、 $\beta$ -CD は、トルエンを取り込むと、1:1 の包接錯体を生成する (図 4)、錯体の水溶性は、 $\beta$ -CD の 1/30 程度しかなく、水溶液中で結晶化する。このようなホスト-ゲスト複合体は、ホストとゲストの間に共有結合を形成していないが、従来の定義上の分子と同様な振る舞いをすることから、J. M. Lehn によって超分子という概念が提唱された。

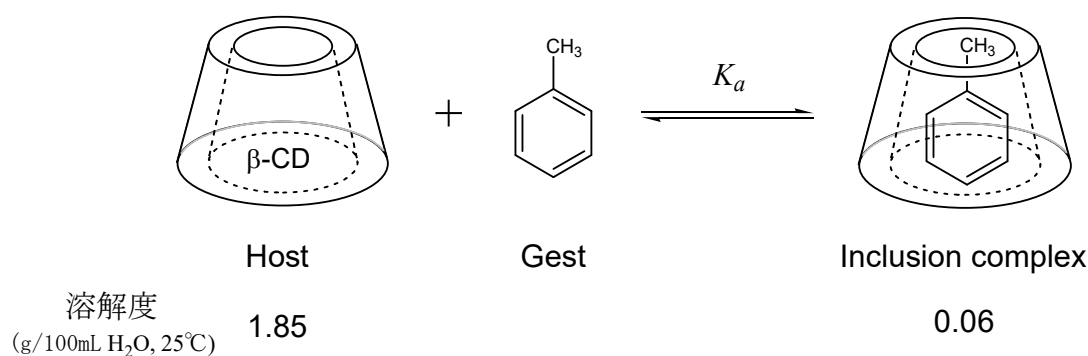


図 4 CD の包接錯体形成：包接錯体は、固有の組成、構造、物理・化学的性質をもつ。

包接錯体の安定性は、錯体形成の平衡定数  $K_a$  を用いて評価する。CD は、ゲスト分子を結合する際、ゲスト分子の形状や大きさ、電子構造などが重要になる。図 5 に示すように、CD 空洞に適した大きさのゲスト分子がより安定な包接錯体を形成する (i-1 vs i-2、i-4 vs i-5)。同じ置換基を有しても、置換位置が適切でなければ、安定な錯体が形成できない (i-3 vs i-4)。また、アルコール分子に対して、空洞の小さい  $\alpha$ -CD は、環式よりも鎖式アルコールを強く結合するが、空洞の大きい  $\beta$ -CD は、環式構造をより強く結合する。即ち、CD は、ゲスト分子を見分けて結合する力 (分子認識能) を有する。CD の分子認識能について、様々な分野において非常に広く、深く研究されている。

包接錯体形成の駆動力は主に疎水性相互作用といわれる。しかし、典型的な疎水性相互作用は、溶質の脱溶媒和によるエントロピーゲインが主な駆動力であることとは異なり、CD の錯体形成は、エンタルピー駆動のケースが多い。これは、水溶液中において、CD の空洞に 2 個の水分子が存在することに起因すると思われる (図 6)。錯体形成する前、 $\beta$ -CD の空洞は空ではなく、2 個の水分子が配置されている。水環境中の水分子は、周りの水分子と 4 つの水素結合を形成して安定化されているが、CD 空洞に存在するこれらの水分子は、

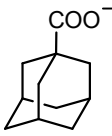
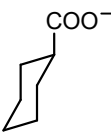
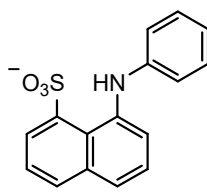
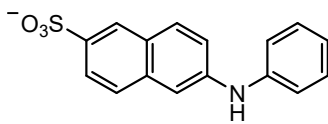
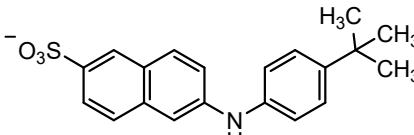
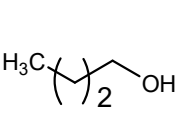
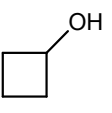
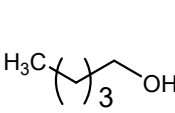
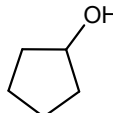
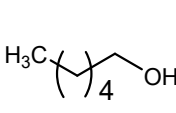
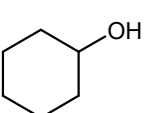
						
	<b>i-1</b>	<b>i-2</b>	<b>i-3</b>			
$\alpha$ -CD	141	50	26			
$\beta$ -CD	$3.2 \times 10^4$	$2.9 \times 10^2$	97			
						
	<b>i-4</b>	<b>i-5</b>				
$\beta$ -CD	$1.8 \times 10^3$	$4.6 \times 10^4$				
						
	<b>i-6</b>	<b>i-7</b>	<b>i-8</b>	<b>i-9</b>	<b>i-10</b>	<b>i-11</b>
$\alpha$ -CD	79	30	324	36	871	58
$\beta$ -CD	17	14	63	174	219	501

図5 CDの分子認識能（数字は、1:1 錯体形成の平衡定数  $K_a$  ( $M^{-1}$ )である）。

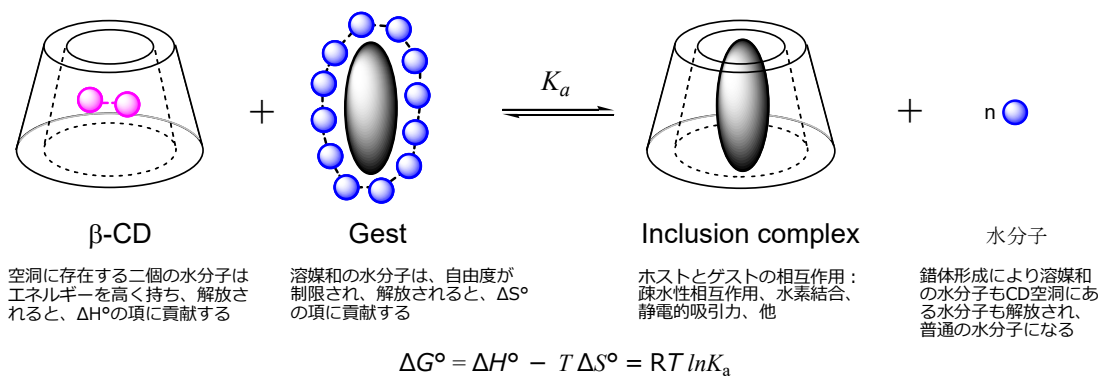


図6 CDの包接錯体形成における熱力学。



周りに水分子が存在せず、水素結合による安定化が得られないため、水環境中の水分子よりエネルギーを高く持つことになる。錯体形成に伴い、これらの水分子が空洞から解放され、高く持っていたエネルギーを放出して通常の水分子になる。これらの水分子から放出された分のエネルギーはエンタルピー変化に貢献する。一方では、ゲスト分子の脱溶媒和は、エントロピー変化に貢献する。錯体形成はエンタルピー駆動であるが、温度変化によって  $T\Delta S^\circ$  の項が逆転することもある。

鎖式脂肪族ゲスト分子の場合、 $\text{CH}_2$  一個あたりの標準 Gibbs 自由エネルギー変化  $\Delta G^\circ$  に対する貢献はおおよそ 3.1 ( $\alpha$ -CD) または 2.8  $\text{kJ mol}^{-1}$  ( $\beta$ -CD) である。平衡定数に換算すると、 $\text{CH}_2$  一個増えることに平衡定数はおおよそ 3~3.5 倍大きくなる。

CD の空洞に収納されるのは、ゲスト分子の疎水部であり、電荷を帯びる部分や親水性官能基は包接されない。例えば、1-ヘキサノール(i-10)と 1-O-ヘキシル- $\beta$ -D-グルコピラノシド(i-12)は  $\alpha$ -CD とほぼ同じ強さで結合し、ほとんど同じエンタルピー変化を示す。これは i-10 の OH も、i-12 の D-グルコピラノシド部も  $\alpha$ -CD とほとんど作用していないことを物語っている (図 7)。

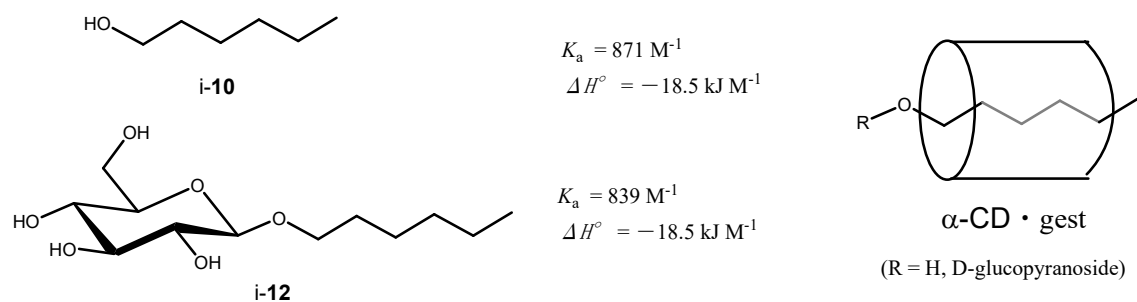
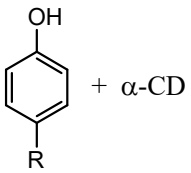


図 7 ゲストの親水性基は CD の空洞に包接されない。

CD には複数のヒドロキシがあり、ゲスト分子と水素結合をつくることが可能である。フェノール性 OH が CD と一個の水素結合を結ぶと、 $\Delta H^\circ$  に  $-1.5 \sim -2.5 \text{ kJ mol}^{-1}$  の変化をもたらす。しかし、ゲストのアルコール性 OH と CD 間の水素結合形成に関する例は乏しい。図 7 に示す例では、ゲスト-ホスト間に水素結合相互作用がないと考えられる。

疎水性相互作用や水素結合の他に、双極子相互作用 (静電的吸引力) を含む多種の分子間力も CD の包接錯体形成に機能していると思われる。例えば、4-置換フェノールと  $\alpha$ -CD との包接錯体形成においては、疎水性相互作用や置換基効果だけでは、包接能を解釈することができない (表 i-1)。

表 i-1  $\alpha$ -CD と 4-置換フェノールの 1 : 1 包接錯体の結合定数  $K_a$  ( $M^{-1}$ )

	4-R	$K_a$	4-R	$K_a$
		H	29	CH <sub>3</sub>
	F	37	CHO	95
	Cl	174	COOH	1,047
	Br	692	OH	17
	I	1,995	NH <sub>2</sub>	24

### 3. シクロデキストリンの応用

CD はでんぷん由来の環状オリゴ糖であり、安全性、機能性、安定性、経済性に優れることから、食品、化粧品、サプリメント、医薬品、家庭用品、バイオテクノロジー、塗料などに応用され、年間消費量は 2,000 トンを超える。中では、食品分野における CD の使用量が最も多く、日本、アメリカ、ヨーロッパ諸国を含め多くの国では食品添加物として認可されている。日本では成分としてオリゴ糖や環状オリゴ糖と表記された場合、CD が添加されている可能性が高い。身近なものとして、練りわさびの辛味や魚介類の鮮度を保つために CD を添加している。また、カテキンを含む飲料に CD を添加して渋味を抑えている。CD を用いて卵黄や乳製品からコレステロールを除去する技術も開発されている。サプリメントへの応用として、コエンザイム Q10 やイソフラボン、クルクミンなどの溶解性改善、 $\alpha$ -リポ酸の吸収性改善、DHA の安定性向上、L-カルニチンの吸湿性防止などに CD が使用されている。化粧品に CD を用いて、香り成分を包接することで、ほのかに優しい香りを長時間持続させる。また、香り分子を放出した CD は、代わりに皮脂や体臭成分を包接し、体臭を防ぐことができる。CD は、多くの研究分野においても広く応用されている。以下、薬学および化学における研究概要を述べる。

#### 3-1 薬学における応用

図 8 は SciFinder にて cyclodextrin をキーワードとして検索した reference に対し、drug をキーワードで再検索してヒットした件数を示す。図 2 と比較すると、CD を用いた総件数のおよそ 1/3 に相当し、薬学における CD の研究が活発に行われていることが読み取れる。

CD は様々な医薬品分子と錯体を形成し、温度、湿度、酸素、光などに不安定な薬を安定化させる、または水に溶けにくい薬物の溶解性を改善することができる。また、CD は軟膏・貼付剤・坐剤からの薬物の放出の制御、薬のバイオアベイラビリティの向上、油状薬物の粉体化、昇華性

薬物の揮散性の防止、苦味・悪臭および局所刺激性の軽減などの有益な作用を有することが報告されている。

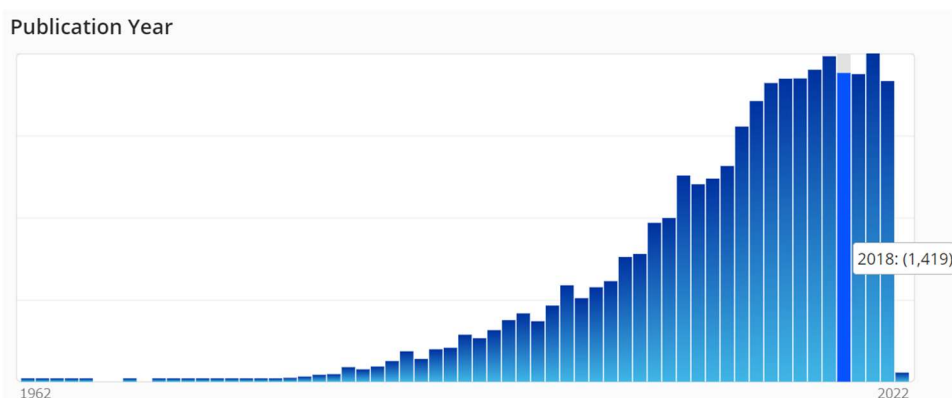


図 8 SciFinder にて cyclodextrin と drug をキーワードとした検索でヒットした reference 数

CD を含有する実際の市販医薬品製剤は現在、世界で約 30 種類存在する。そのうち、プロスタグランジン E<sub>2</sub> と β-CD との包接錯体は、日本で 1978 年に市販され、世界初の CD-医薬品製剤となった。この製剤では、化学的に不安定なプロスタグランジンの安定性を CD 包接により改善させることにより商品化が可能になったと思われる。現在、日本で市販されている主な CD 含有医薬品製剤を表 i-2 にまとめる。

表 i-2 主なシクロデキストリン含有医療用医薬品製剤（日本）

CD	医薬品一般名	商品名	製造販売会社	目的
α CD	アルプロスタジール アルファテックス（包接化合物）	プロスタンテ <sup>®</sup> イン注射用 20 μg	丸石製薬	安定性改善
		プロスタンテ <sup>®</sup> イン点滴静注用 500 μg	丸石製薬	安定性改善
		プロスタンテ <sup>®</sup> イン軟膏 0.003%	小野薬品工業	安定性改善
		アピスタンテ <sup>®</sup> イン注射用 20 μg	日本ケミファ	安定性改善
		アピスタンテ <sup>®</sup> イン注射用 500 μg		
		2020年3月経過措置満了		
		注射用アルテジール 20	武田テバファーマ	安定性改善
		アルプロスタジールアルファテックス注射用 20 μg 「AFP」	共創未来ファーマ	安定性改善
		アルプロスタジールアルファテックス点滴静注用 500 μg 「タカタ」	高田製薬	安定性改善
		アルプロスタジールアルファテックス注射用 20 μg 「タカタ」	高田製薬	安定性改善

		アルプロスタシルアルファテックス点滴静注用 500 $\mu$ g 「F」	富士製薬工業	安定性改善	
		アルプロスタシルアルファテックス注射用 20 $\mu$ g 「F」	富士製薬工業	安定性改善	
	リマプロスタアルファテックス (包接化合物)	リマプロスタアルファテックス錠 5 $\mu$ g 「SN」	シオノケミカル	安定性改善	
		リマプロスタアルファテックス錠 5 $\mu$ g 「F」	富士製薬工業	安定化	
		リマプロスタアルファテックス錠 5 $\mu$ g 「テハ」	武田テハファーマ	安定性改善	
	セフォチアム ヘキサチル塩 酸塩	ハンスホリン T 錠100 (販売中止) ハンスホリン T 錠200 (販売中止)	武田薬品工業	ゲル化防止	
	$\beta$ CD	ケルカゴン	ハクスミ点鼻粉末剤 3mg *	日本イライリ	鼻粘膜付着性改善
		香料ミックス	ハッチテストハネル (S)	佐藤製薬	溶解性改善
		セチリジン塩酸塩	ジレットクトライシロップ 1.25%	ユーシービーシーヤホン	苦味抑制
			セチリジン塩酸塩 OD 錠 5mg サワイ	沢井製薬	苦味抑制
セチリジン塩酸塩 OD 錠 10mg サワイ					
セチリジン塩酸塩トライシロップ 1.25% 「日医工」			日医工	苦味抑制	
		セチリジン塩酸塩 DS1.25% 「カタ」	高田製薬	苦味抑制	
デキサメタゾン		グリメサゾン軟膏	藤永製薬	溶解性改善	
ナテグリニド		ナテグリニド錠 30mg 「テハ」 ナテグリニド錠 90mg 「テハ」	武田テハ薬品	溶解性改善	
ニトログリセリン		ニトロペン舌下錠 0.3mg	日本化薬	安定化 (揮散性抑制)	
ファモチジン	カスター-D 錠 10mg	LTL ファーマ	香料、 $\beta$ -メントールの 飛散防止による 矯味・矯臭		
	カスター-D 錠 20mg				
	ファモチジン OD 錠 10mg 「テハ」	武田テハファーマ			
	ファモチジン OD 錠 20mg 「テハ」				
	ファモチジン OD 錠 10mg 「JG」	日本ジエネリック	$\beta$ -メントールの粉体化		

		ファモチジン OD 錠 20mg 「JG」		によるハントリンク改善
		ファモチジン OD 錠 10mg 「ケミア」	シオノケミカル	
		ファモチジン OD 錠 20mg 「ケミア」		
ヘネキサート塩酸塩 ヘタテクス（包接化合物）		ウルグートカプセル 200mg	共和薬品工業	安定性改善
		ロンミールカプセル 200mg	ナガセ医薬品	安定性改善
α CD 及び β CD	リマプロストアルファテクス（包接化合物＋安定化剤）	オパルモン錠 5mg	小野薬品工業	安定性改善
		プロレナル錠 5 μg	大日本住友製薬	安定性改善
		リマプロストアルファテクス錠 5 μg 「サライ」	メディサ新薬	安定性改善
		リマプロストアルファテクス錠 5 μg 「日医工」	日医工	安定性改善
ヒドロキシプロピルβ-CD (HPBCD)	イトリゾナール	イトリゾール注 1%*	ヤンセンファーマ	可溶化
		イトリゾール内用液 1%*	イトリゾール	可溶化
		キサリチニブ塩酸塩	第一三共	主に溶解性改善
		ウァンフリタ錠 17.7mg		
	ウァンフリタ錠 26.5mg			
レテルモビル	イトリゾール点滴静注 240mg*	MSD	可溶化	
スルホブチルエーテルβ-CD ナトリウム (SBECD)	ホサコナール	イトリゾール点滴静注 300mg	MSD	可溶化
	ホリコナール	イトリゾール 200mg 静注用*	イトリゾール	可溶化
	レムデシビル	イトリゾール点滴静注液 100mg イトリゾール点滴静注用 100mg	イトリゾール	可溶化
スカマテクスナトリウム(γ-CD 誘導体)	スカマテクスナトリウム	ブリアイオン	MSD	筋弛緩回復剤

\* 特定の製剤や特定の条件下においてのみ使用が認められた添加物

データソース: 独立行政法人医薬品医療機器総合機構 files 000235837.pdf。アジアシクロデキストリンニュース (asiancyclodextrin.news) 2020 年 10 月 28 日

T. Takazawa, K. Miyasaka, T. Sawa, H. Iida, APSF Newsletter 2018, 33(1),11-12.

表 i-2 から読み取れるように、天然の  $\alpha$ -CD、 $\beta$ -CD は主に医薬品添加剤として利用されていたが、2000 年以降、ヒドロキシプロピル  $\beta$ -CD などの修飾シクロデキストリンも医薬品添加剤として認証された。更に、カルボキシエチル基で 6 位完全修飾した  $\gamma$ -CD (スガマデクス) は、アミノステロイド筋弛緩薬、特にロクロニウムを包接して深い筋弛緩状態からも確実に回復させることができる (図 9)。スガマデクスは CD に基づく初原薬として認証され、その製剤は 2008 に欧州連合で、その後 2010 年 4 月に日本で発売が開始された。スガマデクスは従来の拮抗薬とは全く異なる作用機序で働き、アミノステロイド筋弛緩薬の効果から確実に回復させることができるため、麻酔学に大きな変革をもたらすのではと期待され、発売以来広く使用されている。2010 年~2017 年の 8 年間で販売されたスガマデクスのバイアル数は日本人人口のおよそ 10% に上る。

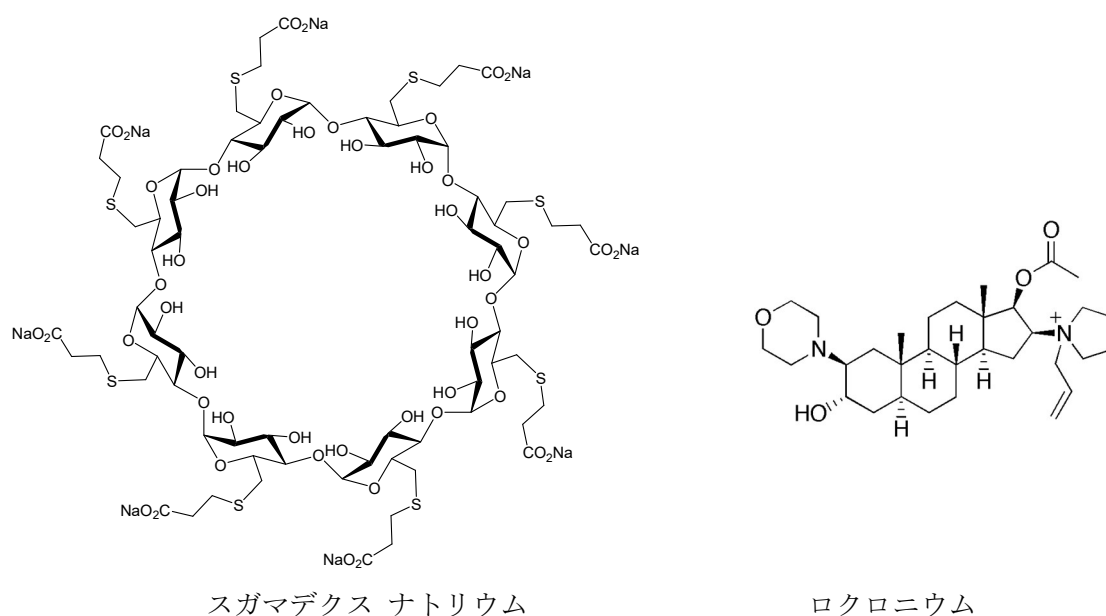


図 9 CD をベースとした初原薬であるスガマデクスおよびそのターゲット分子ロクロニウムの構造

一方、CD を用いる DDS に関する研究も盛んに行われている。しかし、天然の  $\alpha$ -CD、 $\beta$ -CD の溶解性や包接能が十分ではないため、その応用範囲に限界がある。十分な機能性や生体適合性を有する CD 誘導体の開発は、重要なカギになるかと思われる。

### 3-2. 化学における応用

CDは疎水性空洞が特異的な反応場を提供し、基質の反応特性を変化させる作用を持っている。反応系中にCDを添加することによって、微視的溶媒効果や基質選択性、コンフォメーションの制御、基質同士の分子配向制御、反応中間体および生成物の保護など様々な効果が期待される。主な反応例を次に紹介する<sup>4)</sup>。

#### A. 位置選択的置換反応

Breslowによって報告されたアニソールの塩素化反応(図10)は、初めてのCD触媒下での位置選択的反応例となる。

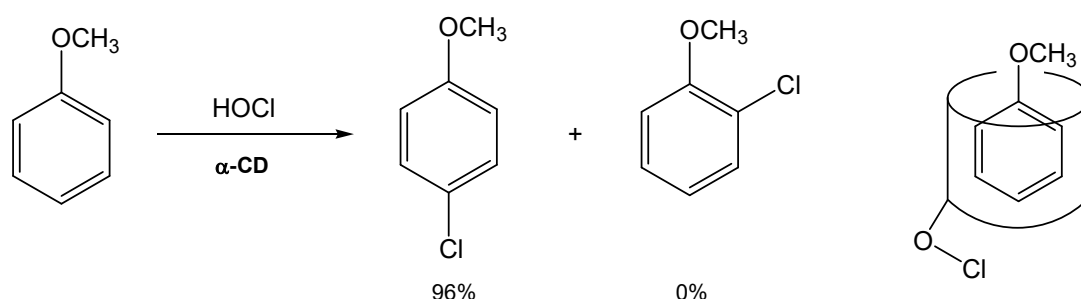


図10 CD触媒下でのアニソールの塩素化反応

次亜塩素酸によるアニソールの塩素化反応は、*o*-位と*p*-位で起こるが、水溶液中、室温で過剰のα-CDの存在下で反応を行うと、反応が大幅に加速され、4-クロロ-1-メトキシベンゼンのみを収率96%で生成した。CDは基質のアニソールを包接するとともに、CDのOHが次亜塩素酸と反応し次亜塩素酸エステルを生成する。次に次亜塩素酸エステルがアニソールの4位のすぐ傍にあるので速やかに4位炭素と反応する。

フェノールおよびその類縁体を強塩基性水溶液中クロロホルムと反応させると*o*-位または*p*-位でホルミル化が起こり、二種のアルデヒドを生成する。位置選択性が低く、反応条件下では生成物が不安定なため、実用性が乏しい。しかし、CDを添加することで、収率と位置選択性が大きく改善される。β-CDはα-CDより効果的である。CDはフェノールを包接し、*o*-位を保護する。*p*-位はCD空洞内に開口方向に配向され、同じ開口部包接されたジクロロカルベンと反応しやすい(図11)。

類似の効果はインドールのホルミル化反応、フェノールのカルボキシ化反応にも確認されている(図12)。これらの反応では、基質がCD空洞に包接することで一部の位置が保護され、特定の位置だけ反応剤に開放される。

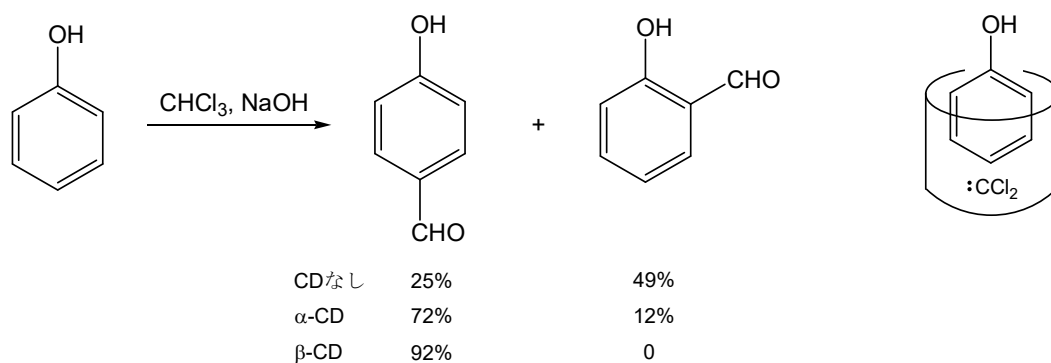


図 11 フェノールのホルミル化（数字は消費したフェノールに基づく収率を示す）

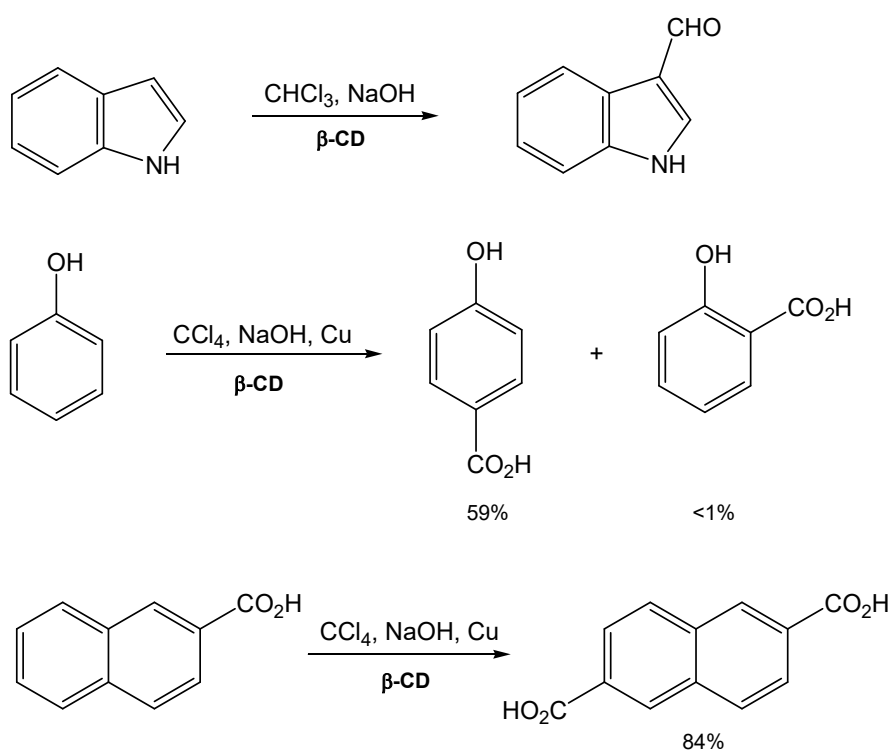


図 12 CD 存在下での芳香族化合物の位置選択的ホルミル化およびカルボキシ化反応



## B. 付加反応

Diels-Alder 反応は重要な有機合成反応の一つである。Breslow らの研究により、CD は Diels-Alder 反応に大きな影響を及ぼすことが分かった。シクロペンタジエンとアクリロニトリルの反応は  $\beta$ -CD によって大きく加速されるが、 $\alpha$ -CD によって阻害される (図 13)。これは、反応が  $\beta$ -CD の空洞内で進行しているためと考えられる。 $\beta$ -CD はジエン体と求ジエン体を同時に包接して反応させることができるが、 $\alpha$ -CD は空洞が小さく、両基質を同時に包接することができない。

CD は Diels-Alder 反応の選択性を高めることができる。例えば、2,5-ジメチル-1,4-キノンと 2-メチル-1,3-ブタジエンの Diels-Alder 反応から、二組のエナンチオマーを生成するが、触媒不使用では非常に遅く、ジアステレオマー選択性もほとんど示さない。 $\beta$ -CD を用いると、室温でも反応が進み、ジアステレオマー選択性も明白に示された (図 14)<sup>5)</sup>。

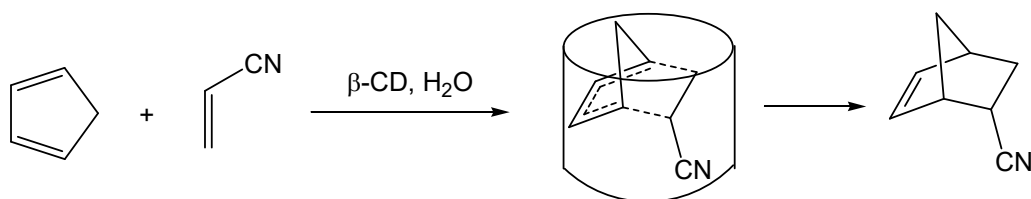
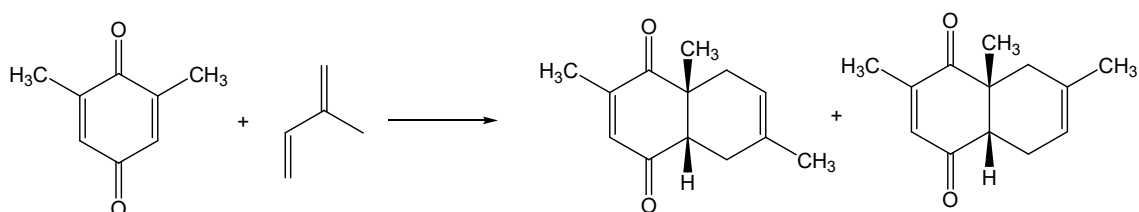


図 13 CD 触媒下の Diels-Alder 反応



Reaction condition	Yield/%	product distribution
benzene, 110-115°C, 2.5 d	6	55/45
H <sub>2</sub> O, rt, 8 d	4	65/35
H <sub>2</sub> O, $\beta$ -CD, rt, 2 d	76	12/88

図 14 CD 触媒下の Diels-Alder 反応

## Mickael 付加反応

$\alpha$ ,  $\beta$ -不飽和カルボニル化合物へのチオールとの Mickael 付加反応は、室温の水中でほとんど進まないが、CD の存在下では速やかに進み、数分で反応終了し、Mickael 付加反応生成物を高い収率で生成する (図 15) <sup>6)</sup>。二種の基質が同時に CD 空洞に包接した形で反応が進行し、また、CD の OH が水素結合を通じて基質を活性化していると思われる。

水中でベンゼンセレノール (PhSeH) やアミンによる  $\alpha$ ,  $\beta$ -不飽和カルボニル化合物への Mickael 付加反応も報告されている (図 14) <sup>6)</sup>。

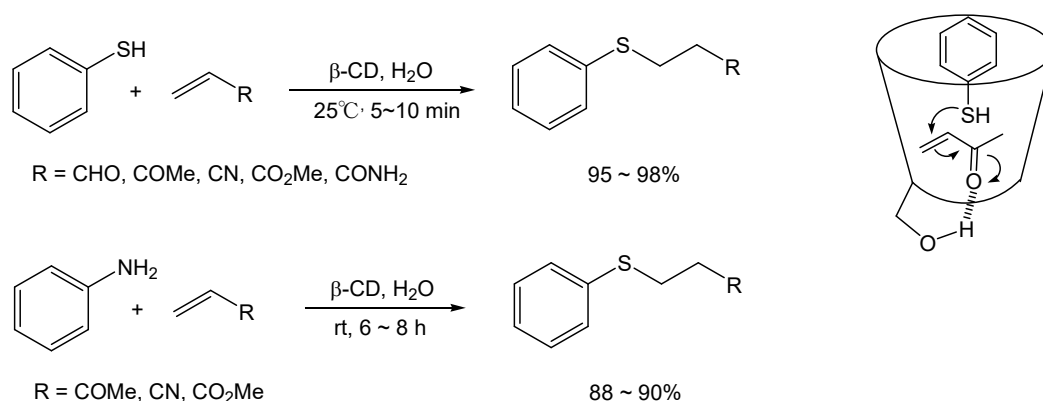


図 14 CD 存在下での Mickael 付加反応 (top) および aza-Mickael 付加反応 (bottom)

## C. 酸化反応

ベンジルアルコールまたはアリルアルコールは NaClO によって酸化され、アルデヒドをわずかにしか生成しないが、CD の存在下では、収率が転換率とともに劇的に向上される。また、この反応は溶媒の影響を強く受け、25%アセトン水溶液中では、ほとんど進行しなくなる (図 15) <sup>7)</sup>。

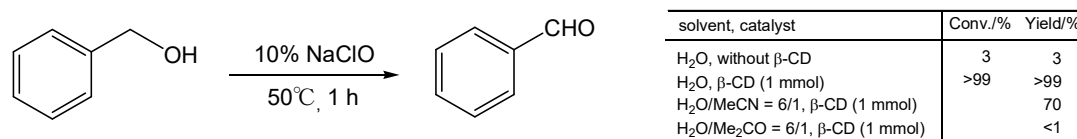


図 15 CD 存在下でアルコールからアルデヒドへの酸化

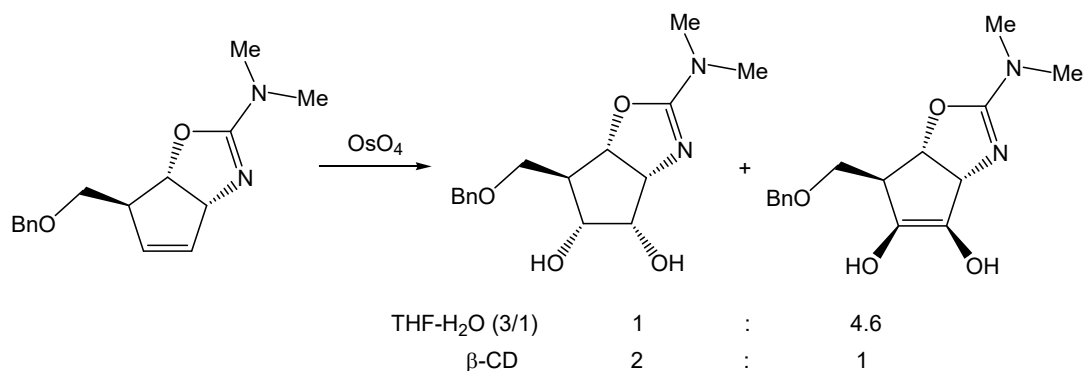


図 16 アルケンの OsO<sub>4</sub> 酸化：CD によるジアステレオマー選択性の逆転

また、図 16 に示すアルケンの四酸化オスミニウム酸化反応は、THF-水 3 : 1 の溶媒中で行うと 1 : 4.6 の比率で 2 種類のシスジオールを生成する。この比率を逆転させることは難しかったが、 $\beta$ -CD と包接錯体を形成させるとジオールの生成比を逆転させることができた。これは CD が O-Bn 基を取り囲み有効な立体障害因子として作用したためと考えられる<sup>8)</sup>。

#### D. 還元反応

水溶液中、NaBH<sub>4</sub> を用いるケトンの還元反応において、過剰量の CD を添加することで生成物に数パーセントの光学過剰率が得られる。結晶化したアミン-ボラン-CD 複合体を用いて芳香族ケトン還元すると、91% ee も得られた<sup>9)</sup>。

$\beta$ -CD を用いる  $\alpha$  アジド芳香族ケトン/NaBH<sub>4</sub> 系の反応においては、収率は 90~96%、エナンチオマー選択性は 81% ee にのぼる<sup>10)</sup>。

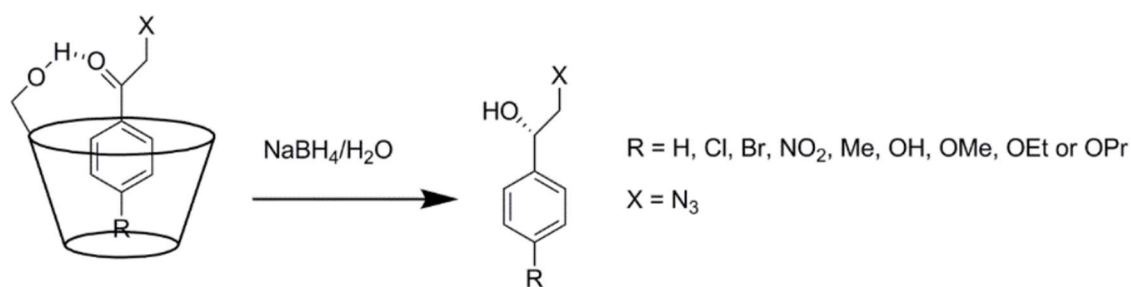


図 17  $\beta$ -CD は  $\alpha$ -azido 芳香族ケトンの還元反応に (S)-選択性を示す (R : 電子供与基 > 電子求引基)

(-)-Menthone の水素化反応は、Raney Ni を触媒とし、アルカリ存在下で行った場合、収率は 36% に止まったが、 $\beta$ -CD を添加すると、収率も立体的選択性も劇的に高まった (図 18)<sup>11)</sup>。

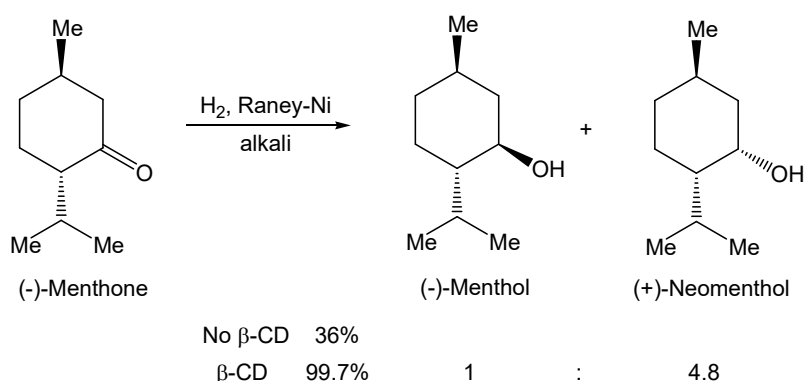


図 18 Menthone の水素化反応

### E. 複素環の合成反応

Shashikanth らは、共沈法で作成した  $\text{ZrO}_2$ - $\beta$ -CD ナノ粒子を触媒とし、溶媒非存在下でイミダゾール誘導体およびベンズイミダゾール誘導体を高収率で合成することを報告した (図 19)<sup>12)</sup>。

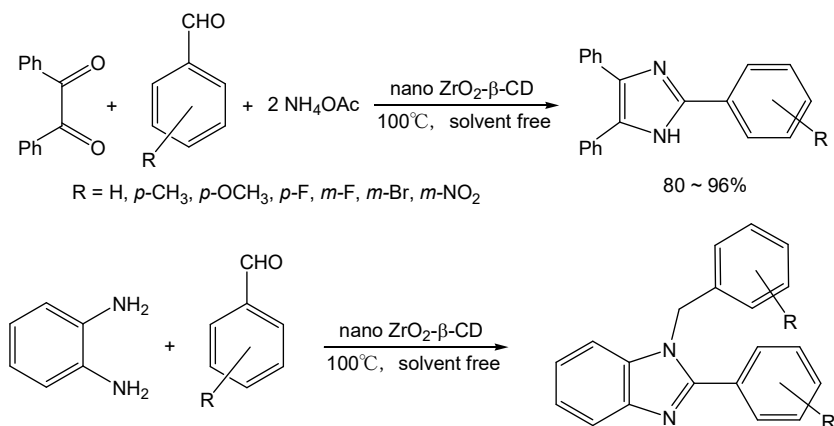


図 19 イミダゾール誘導体およびベンズイミダゾール誘導体の合成.

Rescifina らは、 $\gamma$ -CD を触媒として用いた nitron とアルケンの 1,3-双極子付加環化反応から isoxazoline を高収率・高選択的に合成した。 $\gamma$ -CD は、二種類の基質を同時に空洞に包接して反応させると思われる<sup>13)</sup>。

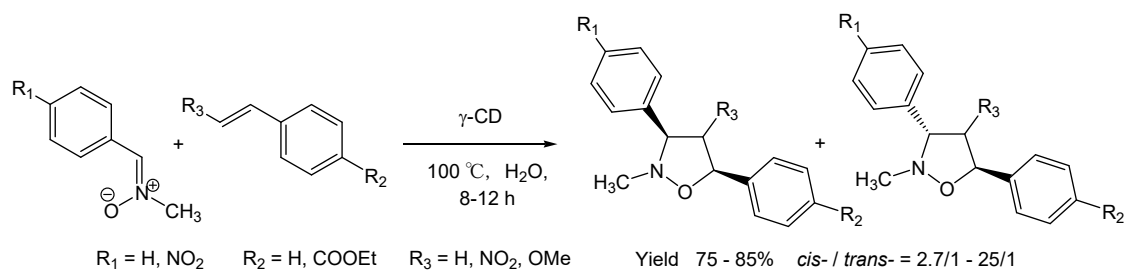


図 19 イミダゾール誘導体およびベンズイミダゾール誘導体の合成.

Katla らは芳香族アルデヒド、芳香族アミン、アセチルアセトンおよびニトロメタンの4成分から one-pot 反応でピロール誘導体を合成した。この反応は、ポリマーの生成が伴うため、選択性が乏しい。PEG-400 や SDS などの相関移動触媒を用いても、収率が低かったが、 $\beta$ -CD を触媒として用いると、収率が大幅に向上した (図 20) <sup>14)</sup>。

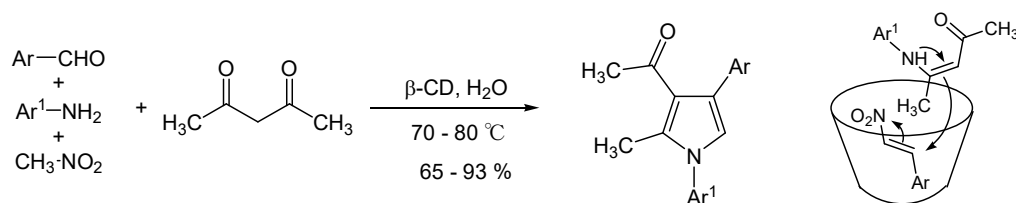


図 20 ピロール誘導体の合成.

Ghosh らはアセトフェノン、アルデヒド、マロニトリル、酢酸アンモニウム の4成分から one-pot 反応でピリジン誘導体を合成した。水溶液中、触媒非存在下では、目的物がほとんど取れなかったが、10%の $\beta$ -CDを用いると、1時間の反応によって生成物が高い収率で得られた (図 21) <sup>15)</sup>。

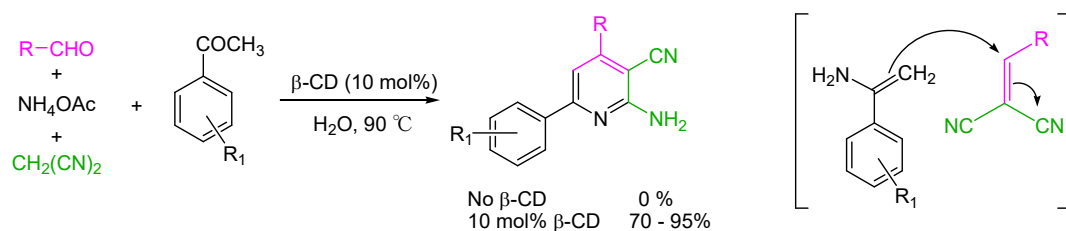


図 21 ピリジン誘導体の合成.

#### 4. 修飾シクロデキストリンによる分子認識および触媒反応

CDは様々な有機化合物を包接し、多種の有機反応を促進することができるが、利用できる分子間相互作用の種類や官能基などの制限を受けるので、分子認識能にも触媒能にも限界がある。CDに修飾を適切に施すことで、分子認識能および触媒能を改善し、新しい機能を創出することができる。SciFinder®に記録されている修飾CDは一万個を遥かに超えており、満遍なく紹介することが不可能なので、以下、CD修飾による分子認識能の向上およびCD修飾による酵素様触媒反応について述べる。

##### 4-1. CD修飾による分子認識能の向上

天然のCDは、水溶性が低く、ゲスト分子との会合定数が高くても $10^4 \text{ M}^{-1}$ 程度しかないため、薬学における応用には十分なものではない。難溶性薬物の水溶化やゲスト分子に対する結合能の向上のため、CDの修飾が施されている。現在商品化されているものとして、ジメチル $\beta$ -CD、グルコシル $\beta$ -CD、ヒドロキシプロピル $\beta$ -CDがある。

適切な修飾基をCDに導入することで、CDの水溶性や結合能を大きく改善することができる。例えば、カルボキシエチル基で $\gamma$ -CDの一級側を全面修飾して得られたスガマデクス(図9)は、水溶性が上がると同時にロクロニウムに対する結合定数を $1.8 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ 程度から $1.8 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ まで劇的に高め、 $\mu\text{M}$ 濃度でも確実にロクロニウムを包接することができるようになる<sup>16)</sup>。

ATPに対して、 $\beta$ -CDの包接能は $100 \text{ M}^{-1}$ を超えないが、アミノ基を一級側に導入すると結合能が大きく上がる。グアニジノ基で一級側を全面修飾すると、結合定数は劇的に上がって、常用の測定法で評価不能となる(図22)。

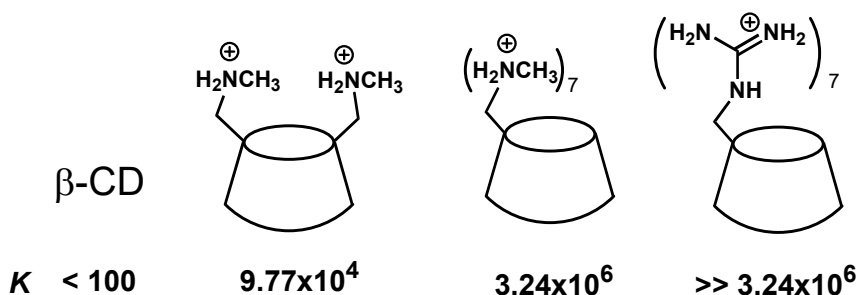


図22 ATPに対するレセプターの結合能

細長いゲスト分子に対しては、CD二量体が非常に強い結合能を示す。例えば、メチルオレンジと $\beta$ -CDの結合定数が $2,970 \text{ M}^{-1}$ に対し、メチルオレンジとジスルフィドで架橋した $\beta$ -CD二量体では、200倍も強い結合を示す。これは、二つのCD空洞がゲストの包接に協奏的に働くことを強く示唆する。また、疎水性のより顕著なt-Bu基を両末端としたゲスト分子に対して、 $\beta$ -CD二量体は $10^8 \text{ M}^{-1}$ にも及ぶ結合能を示す(図23)。

$\beta$ -CD のターシャリーブチルフェニル誘導体に対する結合能は  $10^4 \text{ M}^{-1}$  程度であることから、 $\beta$ -CD 二量体の包接に二つの CD がともに理想的に働いていること推測される。


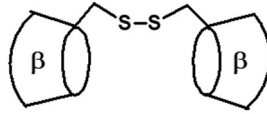
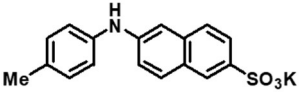
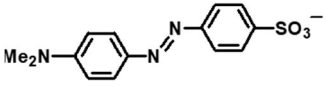
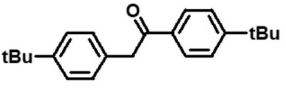
guest	K ( $\text{M}^{-1}$ )	
	host	
		
	1,800	87,000
	2,970	593,000
		100,000,000

図 23 CD 二量体による ditopic ゲストの分子認識

CD 二量体が高い結合能のため、数多く報告されている。しかし、一本のスペーサーで架橋した CD 二量体には、単結合の回転により様々なコンフォメーション（例えば二つの CD ユニットの相対的配置）が取れる。そのうち、ゲスト分子の包接に適したコンフォメーションがエネルギー的に不利なものであり、錯体形成に際し、CD 二量体のコンフォメーション変化・固定によるポテンシャルエネルギー増加とエントロピーロスが伴ってしまう。これに対処し Breslow らは、二つの CD を二箇所架橋し、空洞どうしが向かい合った CD 二量体 (Occlusive) と空洞どうしがずれた CD 二量体 (Aversive) を作った。Occlusive 型の CD 二量体は、その形状に適合したゲスト分子に対する結合定数が  $4 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$  を超え、抗体に匹敵する。Aversive 型は強い結合能を示さない (図 24) <sup>17)</sup>。

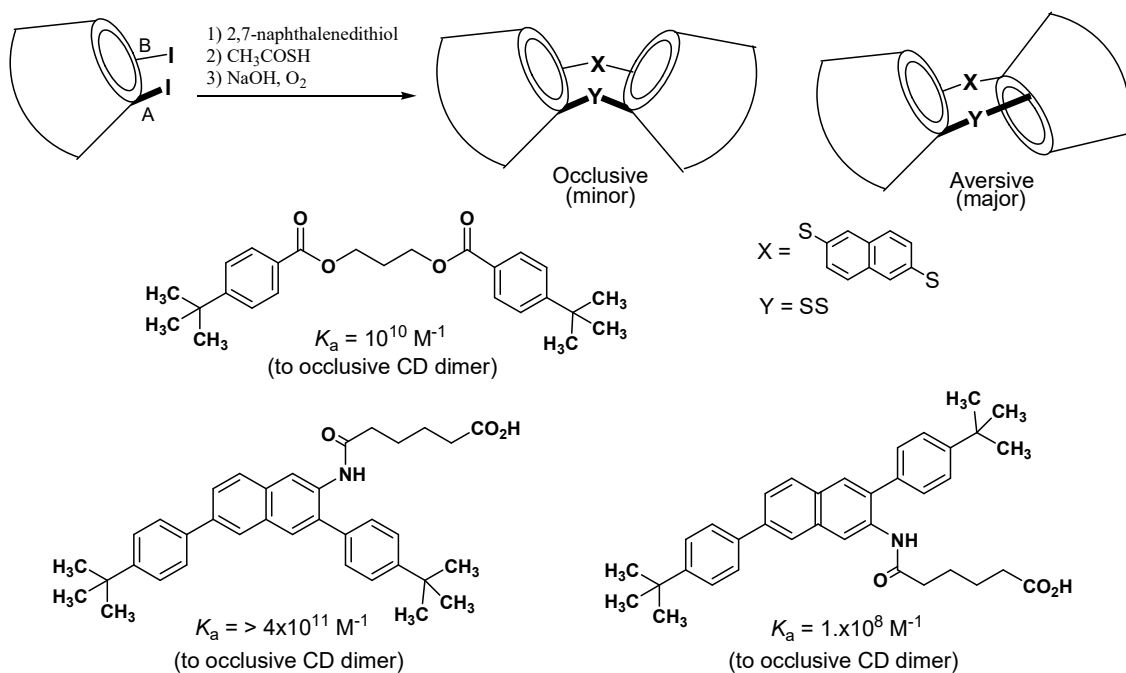


図 24 二箇所架橋した CD 二量体

しかし、6<sup>A</sup>, 6<sup>B</sup>-diiodo-β-CD からの合成では、Occlusive 型と Aversive 型の CD 二量体が各二種生成し、分子認識能の高い Occlusive 型の CD 二量体はマイナーの混合物としてしか得られない。面白いことに 6<sup>A</sup>, 6<sup>B</sup>-diiodo-β-CD と 6<sup>A</sup>, 6<sup>B</sup>-dithio-β-CD との反応から Aversive 型、6<sup>A</sup>, 6<sup>B</sup>-tosyl-β-CD と Na<sub>2</sub>S の反応からは、Occlusive 型が選択的に生成する (図 25)<sup>18)</sup>。6<sup>A</sup>, 6<sup>B</sup>-tosyl-β-CD の反応では、反応中間体どうしの分子間包接錯体構造を形成してからカップリングが進むことによって高い選択性が得られると考えられる。

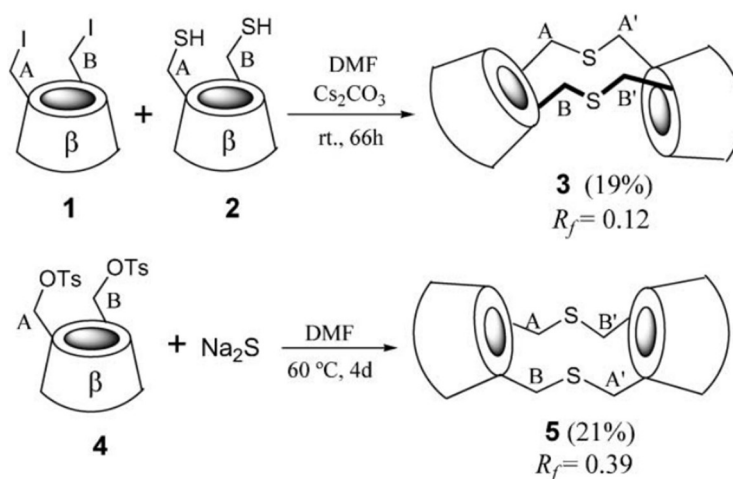


図 25 二箇所架橋した CD 二量体の選択的合成



CDの分子認識能を利用した分子センサーの開発が活発に研究されている。その基本原理を図26に示す。レポーター部位として色素がよく使われている。ゲスト分子が結合すると、色素に直接作用するまたはそのまわりの環境を変化させることによって、吸収または発光性質に変化を引き起こす。分子センサー機能の評価に、結合能とシグナル変化の大きさが重要な指標となる。

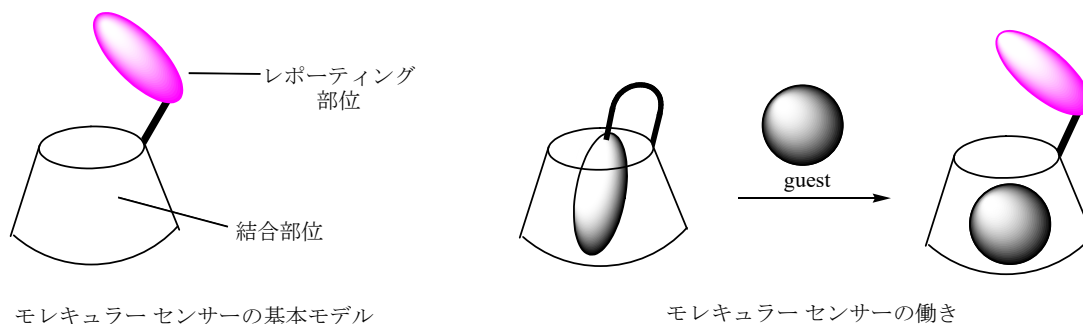


図26 CDに基づく分子センサーの設計と働き原理

表らば色素とCDの間の連結をシングルスペーサーからダブルスペーサーにすることで、CD空洞上のトポロジーを精密に制御することを実現し、結合能とシグナル変化量の両方を向上させることに成功した(図27)。

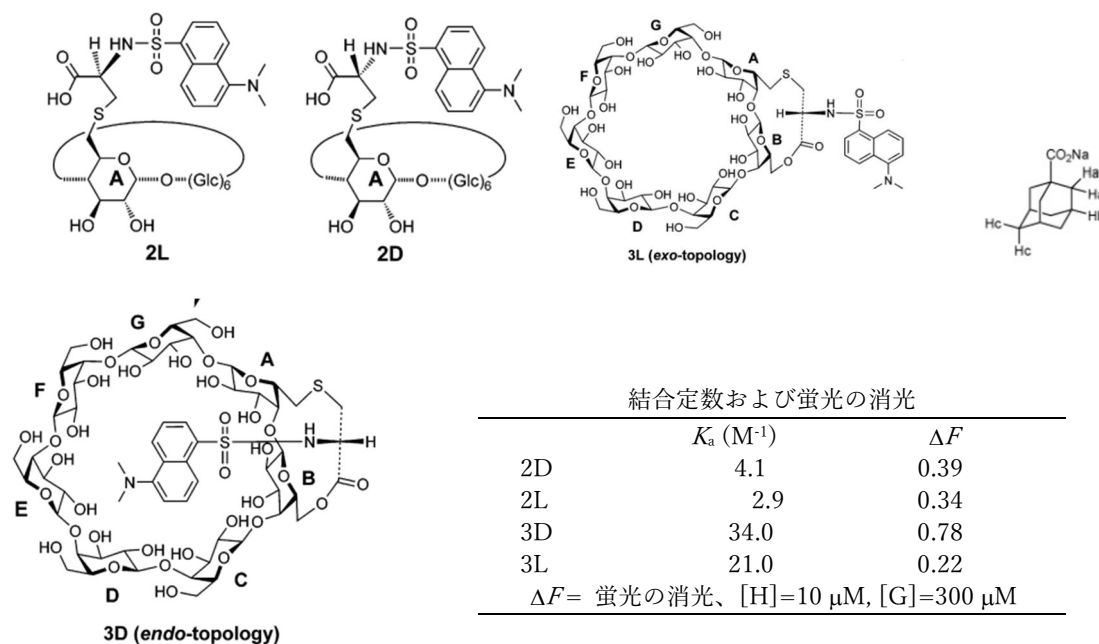


図27  $\beta$ -CD空洞上のトポロジー制御

CDは不斉炭素原子を数多く持ち、不斉環境を形成しているため、クロマトグラフィーのキラルセクターとして応用でき、広く研究されている。しかし、CD空洞の $C_n$ 対称性のため、不斉認識能が低く、溶液においては、通常の天然アミノ酸に対して、天然のCDはD-体とL-体をほとんど識別できない。CDの不斉認識能を高めるため、様々なCD修飾体を作られたが、通常のアミノ酸のD-体とL-体に対する結合能に数倍の差しか見られていない。例えば、glucosylで $\beta$ -CDの6位を修飾した**G1- $\beta$ -CD**は、tryptophanのD-体とL-体に対する1:1包接錯体の結合定数はほとんど同じである。面白いことに、過剰のCDの存在下では、L-体よりもD-体に対して4倍弱の強さで2:1包接錯体を形成する（図28）。

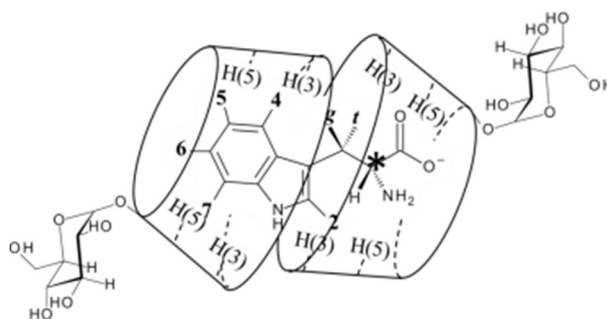


図28 G1- $\beta$ -CDによる2:1包接錯体の形成

不斉認識において、立体中心に対して三点以上の結合が必要と考えられている<sup>19)</sup>。Tabushiは、初めてアミノ基とカルボキシ基を $\beta$ -CDの特定箇所に導入し、ヘテロ二官能化CD誘導体によるアミノ酸の不斉認識を試みた<sup>20)</sup>。フェニルアラニンなどのアミノ酸に対する不斉認識能が数倍まで高まった。また、6A-amino-6C-alkylimidaolium- $\beta$ -CDは、に応用され、良好な分離能を示している（図29）<sup>21)</sup>。しかし、ヘテロ二官能化CD誘導体は、入手困難なため、研究報告が非常に限られている。

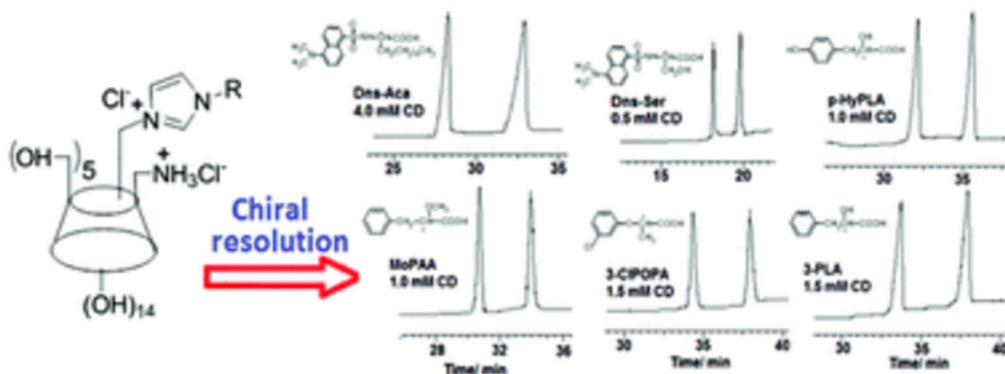


図29 6A-amino-6C-alkylimidaolium- $\beta$ -CDによるキラル分子の分離

## 4-2. 酵素様触媒反応

### A. エステルの加水分解反応

CD は、カルボン酸エステルの加水分解を促進する。反応は、エステル-CD 複合体の形成、CD の OH へのアシル転位、アシル CD の加水分解の順序で進むとされている (図 30)。最終段階のアシル CD の加水分解が非常に遅いので、アシル CD は事実上の反応生成物となり、CD は真の触媒ではないが、アシル CD を生成するまでの反応は、加水分解酵素反応の典型的特徴を示す。例えば、基質が反応する前に複合体の生成平衡が存在し、飽和反応速度論に従う。CD は、タンパク質ではないが酵素のように振舞うことから、「enzyme model」または「artificial enzyme」、「biomimetic chemistry」などの斬新な概念や発想が生まれ、数多くの酵素モデルが報告されている。加水分解酵素モデルが最も深く研究されている。反応速度の限界に挑戦することと、キモトリプシン作用機構の模倣を通じて酵素の働きを学ぶことが大きな目的とされた<sup>22)</sup>。

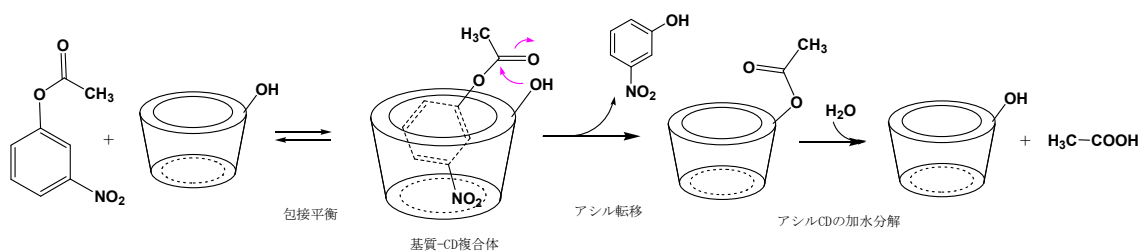


図 30 CD によるカルボン酸エステルの加水分解の促進

*m*-nitrophenyl acetate の加水分解は、 $\beta$ -CD によっておよそ 100 倍加速される (図 31)。しかし、*m*-nitrophenyl acetate は  $\beta$ -CD の理想的基質ではない。分子計算では、 $\beta$ -CD-基質複合体において基質が空洞に深く入っており、四面体中間体に向かう遷移状態になるため、フェニル基が CD 空洞から部分的に抜け出す必要があり、その分の包接能が失われることが分かった。*p*-nitrophenyl ferroceneacrylate を基質にすると、 $\beta$ -CD-基質複合体において基質が CD 空洞における位置を変えずに遷移状態に進むことができるようになり、反応が同じ条件下で 5,900,00 倍も大きく加速される (図 31)。脱離能が *p*-nitrophenoxy 基より低い置換 phenoxy 基の場合、加速倍数はより小さくなる。これは、ferroceneacrylate のような硬直な基質の場合、エステルの平面構造 $\Rightarrow$ 四面体中間体 $\Rightarrow$ エステルの平面構造に必要な回転が阻害されるからである。CD の二級 OH がエステル基の平面に直交した方向から C=O 炭素原子に近づけるように配置され、四面体中間体が形成しやすいが、CD-O を含むエステルになるには、phenoxy 基の脱離に伴い、ferrocene 部分が回転しなければならない。この回転が CD の包接により制限されているため、進みにくく、反応の速度を制限することに

になってしまう。Adamantanepropiolate (図 31) は、この立体的要件をクリアすることができる。

Bender らは、イミダゾリル基とカルボキシ基を持つ  $\beta$ -CD 誘導体を用いて、chymotrypsin 活性中心の酸・塩基・求核剤の触媒三残基の機能を模倣した (図 32)。

他にイミダゾリル基で修飾した CD 誘導体や金属錯体、CD 二量体などが数多く報告され、エステルの加水分解触媒としての機能を評価された (図 33)。そのうち、架橋部に金属錯体構造をもつ CD 二量体が ditopic 的なエステル基質の加水分解に対して極め高い触媒能を示すことは特筆すべきである。

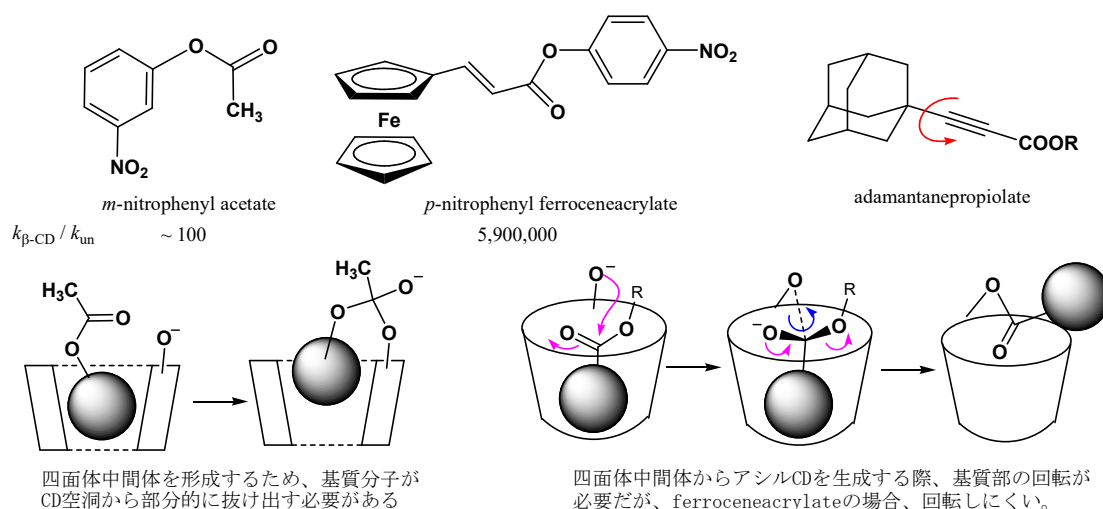


図 31 *p*-nitrophenyl ferroceneacrylate を基質とした  $\beta$ -CD による加水分解反応

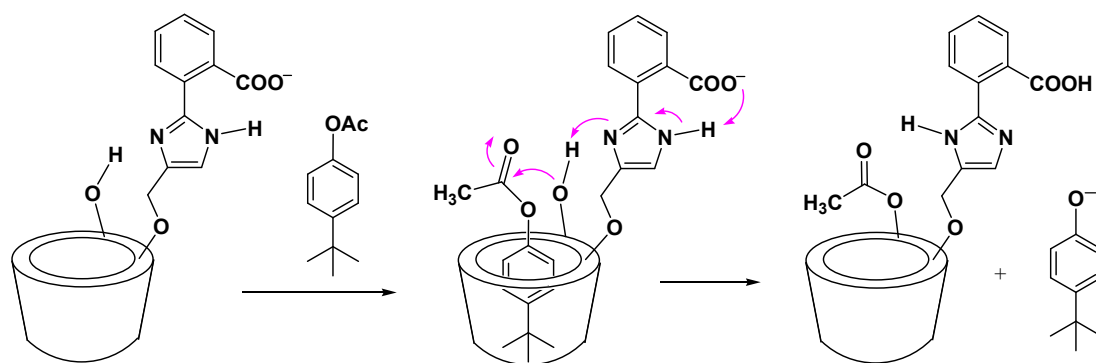


図 32 Bender の chymotrypsin モデル

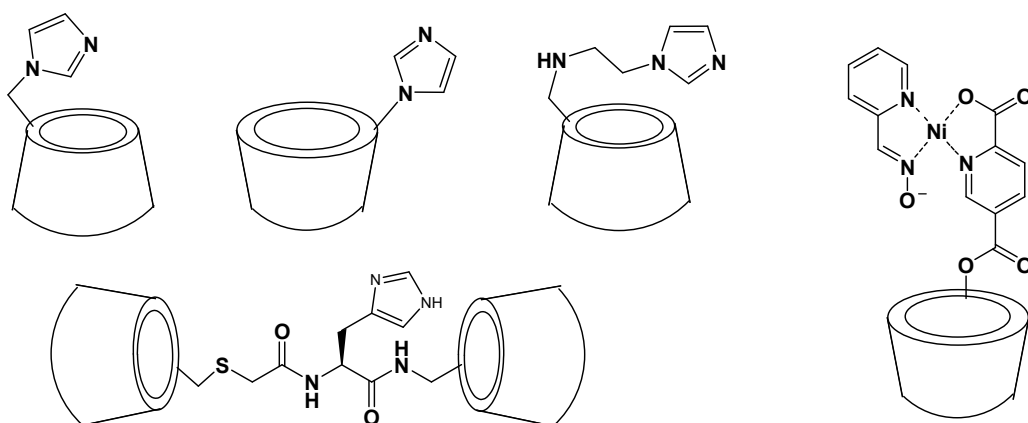


図 33 エステルの加水分解触媒として機能を評価された CD 誘導体

### B. リン酸エステルの加水分解反応

多くの天然酵素は、二つまたは複数のアミノ酸残基の協奏的働きによる bifunctional または multifunctional 触媒機能を利用している。RNase A が利用した二つのヒスチジンイミダゾリル基による酸・塩基 bifunctional 触媒機能は、その典型的例となる (図 34) 23)。

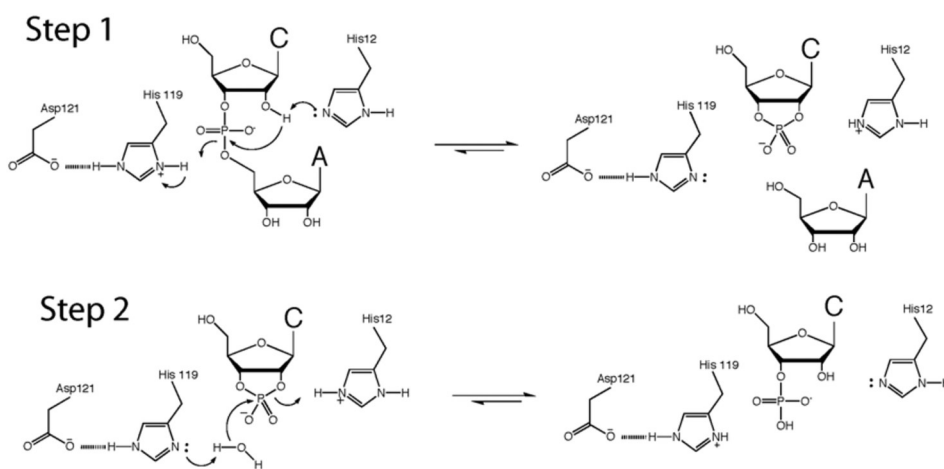


図 34 RNase A の触媒作用機構

Breslow らは、二つのイミダゾリル基を  $\beta$ -CD の 6<sup>A</sup> と 6<sup>B</sup>、6<sup>A</sup> と 6<sup>C</sup>、6<sup>A</sup> と 6<sup>D</sup> 位に導入したジイミダゾリル  $\beta$ -CD の三つの位置異性体を用いて、RNA 加水分解酵素の bifunctional 触媒機能を模倣した (図 35) <sup>24</sup>。芳香族環状リン酸エステルの加水分解反応に対し、いずれのジイミダゾリル  $\beta$ -CD も大きく加速し、pH 6.2 付近に頂点としたベール型の速度-pH 依存性を示した。これは、天然の RNA 加水分解酵素の特徴と一致する。天然酵素においては、二つのイミダゾリル基が基質のエステル基の左右の両サイド (*trans*-) に配置されている。この知見から、AD 体が望まれる触媒と予測される。しかし実際には、三つの位置異性体のうち、AB 体が最も顕著な触媒能を示した。また、タイトな包接錯体が形成できる 6<sup>A</sup>,6<sup>B</sup>-diimidazolyl- $\beta$ -CD は、99/1 の非常に高い位置選択性を示したが、結合能の低い 6<sup>A</sup>,6<sup>B</sup>-diimidazolyl- $\gamma$ -CD の場合では、位置選択性も加速倍数も低くなる。

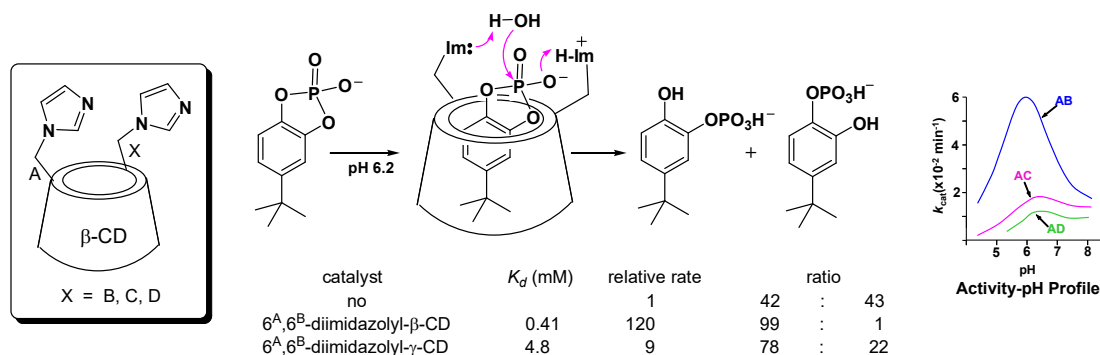


図 35 RNA 加水分解酵素のモデル

## 5. シクロデキストリンの化学修飾

CD は円錐台形の構造をとっており、狭い縁側にグルコース残基 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おり、それぞれの反応性が異なる。6-OH は水素結合しておらず、通常のアルコールと同程度の酸性度を持つが、第二級 OH は、強い水素結合のため、 $pK_a$  は 12-13 まで下がる。この性質は CD の修飾に利用される。CD の修飾には、OH を活性化せず、直接目的の置換基へ誘導することが可能であるが、CD に OH が数多く存在し、数多くの位置異性体や置換数の異なる生成物も生成するため、望まれる方法とは考えられない。そのため水酸基に対する様々な修飾法が、現在まで開発されてきた<sup>1,3)</sup>。2-ヒドロキシプロピル基や 2-ヒドロキシブチル基を $\beta$ -CD の 21 個の水酸基へ多置換ランダム修飾したヒドロキシプロピル- $\beta$ -CD (HP- $\beta$ -CD) およびヒドロキシブチル- $\beta$ -CD (HB- $\beta$ -CD) は、高い水溶性を持つことが知られている<sup>25)</sup>。また、有機溶媒に易溶性の CD が必要な場合、水酸基をシリルエーテル基で多置換ランダム修飾することによって、CD の有機溶媒への溶解性が向上する事が知られている<sup>3)</sup>。いずれの生成物も混合物であるため、その構造の同定は困難を極める。修飾 CD を利用した超分子化学を議論するためには、用いる修飾 CD が純粋で構造が十分に解明されている必要がある。すなわち、修飾した官能基の数や正確な結合位置などのすべての構造が明確にされる事によって、はじめて包接挙動を研究することができるようになる。この問題を解決するために、先人達によりシクロデキストリンの選択的修飾法が研究されてきた<sup>1)</sup>。

## A. 6-位修飾

CDの一級水酸基に一つだけ修飾残基を導入した修飾CDを合成するにあたり、特に重要な前駆体は、C6位水酸基の一つだけをトシルスルホン酸エステル化した6-モノトシルCDである(図36)。*p*-トルエンスルホンクロリドと乾燥させたCDとをピリジン中で反応させ、副生成物である多置換体を再結晶や逆相カラムクロマトグラフィーによって取り除くことで、6-モノトシルCDを得る方法が一般的であり、多置換体を全く生成させることなくモノスルホン酸エステルだけを高収率で合成する手法は確認されていない(図37)

1, 3, 26)。

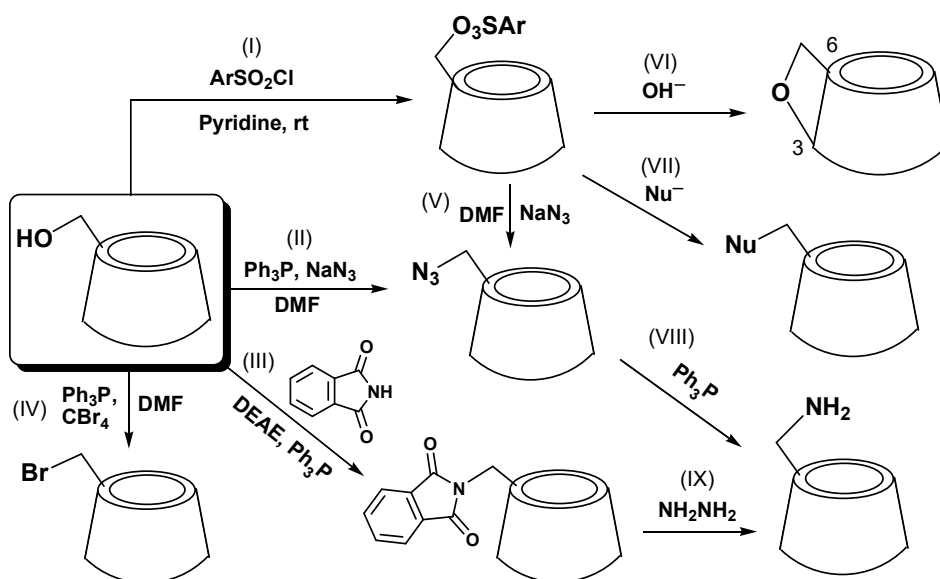


図 36 CD における C6 位モノ修飾

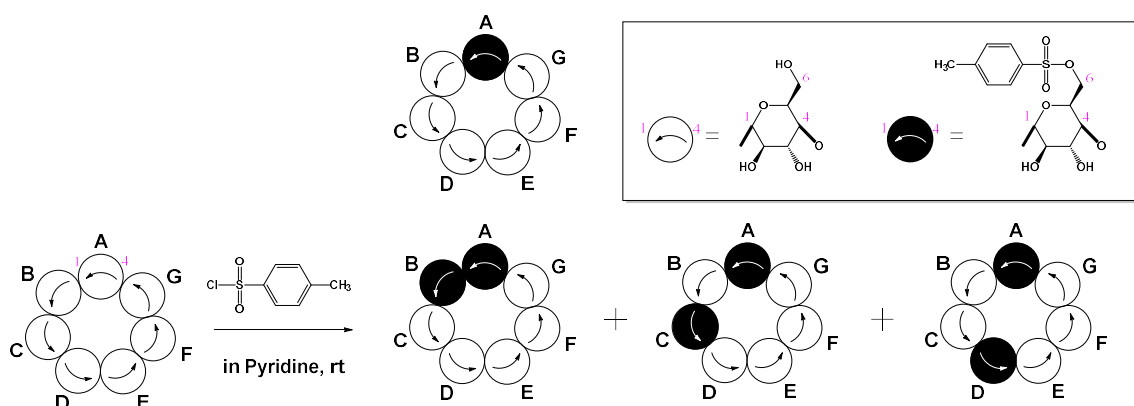


図 37  $\beta$ -CD における C6 位トシル化体生成物



CDの多置換体には位置異性体が存在する。C6位へ同じ置換基を導入したC6位ホモ二置換体の場合、 $\alpha$ -CD、 $\beta$ -CDではAB体、AC体、AD体の3種類の位置異性体が存在し、 $\gamma$ -CDの場合はAB体、AC体、AD体、AE体の4種類が存在する<sup>1)</sup>。これらC6位ホモ二置換体を得る方法には、①特定位置のC6位水酸基を選択的にスルホン酸エステル化できるキャップ試薬を用いる方法<sup>27-34)</sup>、②非選択的にC6位水酸基をスルホン酸エステル化し、多置換体の異性体を逆相カラムクロマトグラフィーで分離精製する方法<sup>35-37)</sup>がある(図38)。

特定位置の異性体のみが必要な場合は、①の方法が一般的にとられるが、副生成物として位置異性体が発生する可能性があること、分子間でスルホン酸エステル化が生じる事によってポリマー体が発生する可能性があることを踏まえ、逆相カラムクロマトグラフィーで分離精製する必要がある。また、②の方法を用いると、1度の反応で全種類の二置換体が得られるが、一置換体および三置換体も生成する可能性があるため、多置換体および位置異性体の分離精製に多大な時間と労力を必要とする。

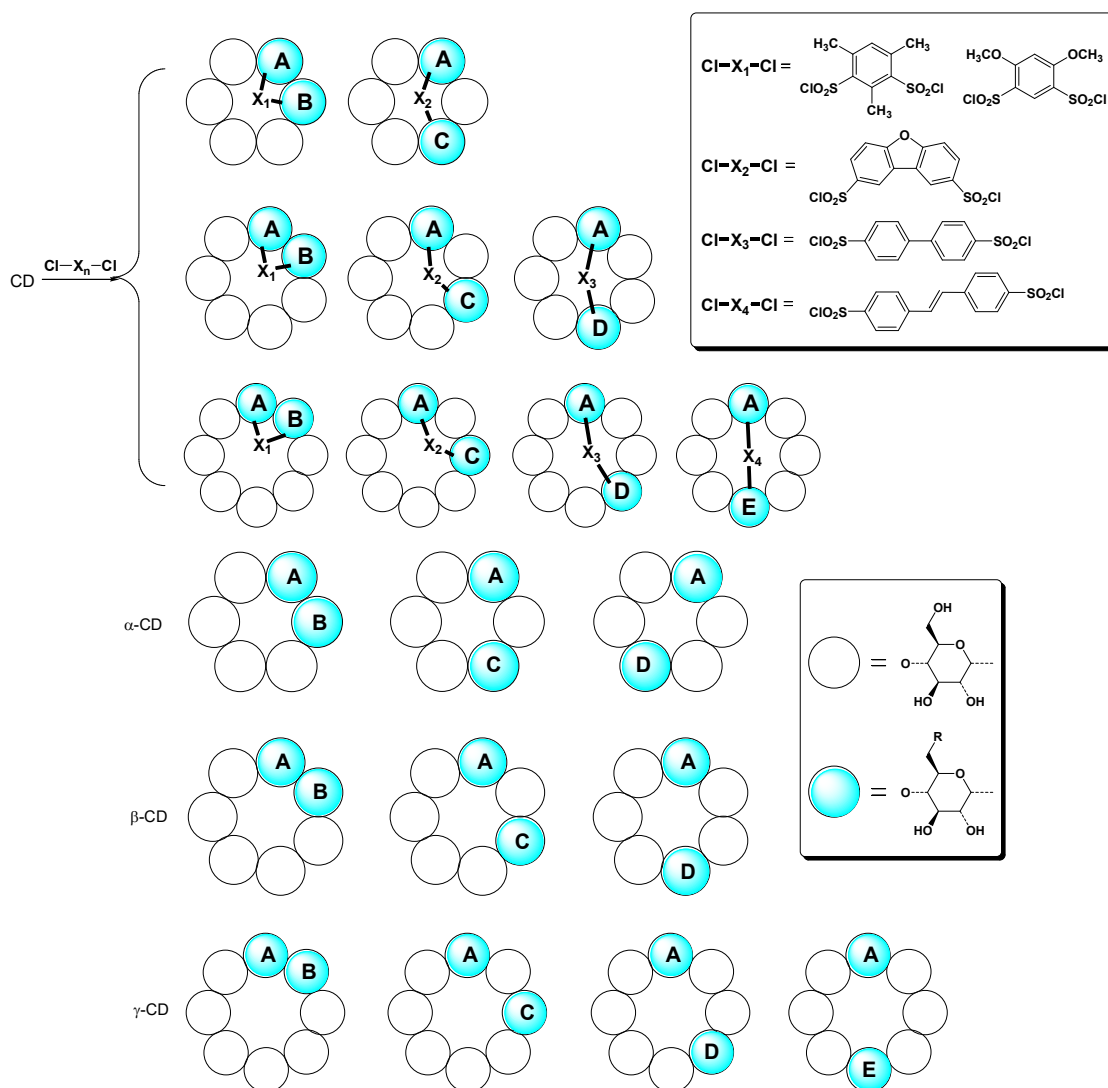


図38 CDにおけるC6位ホモ二置換体

位置選択的に三置換以上のスルホン酸エステル化 CD 誘導体を合成する方法は、現在のところ報告されておらず、三置換体以上の CD 誘導体を得るには、非選択的にスルホン酸エステル化した後、逆相クロマトグラフィーにて分離精製する必要がある<sup>38)</sup>。

## B. 2-位修飾

2-OH の  $pK_a$  はおよそ 12.2 であり、強塩基で脱プロトン化して 2-O<sup>-</sup>にすれば求核性は 6-OH と逆転するので、スルホニル化剤やアルキル化剤と優先的に反応する。

2-スルホニル化は、複数の選択的2-スルホニル化法が開発されている(図 39)。まず Breslow らは *m*-ニトロフェニルトルエンスルホナートをスルホニル化剤として用い、DMF-pH 10 炭酸緩衝液中で  $\beta$ -CD と反応させることによって、初めての 2-スルホニル化に成功した。収率は 10%前後であった。次に、 $Bu_2SnO$  と  $ArSO_2Cl$  を DMF 中、 $\beta$ -CD と反応させることによって 2-スルホニル  $\beta$ -CD を合成する方法が報告された。D'Souza らは、 $NaH/ArSO_2Cl$  法を開発した。DMF 中  $\beta$ -CD を  $NaH$  で脱プロトン化した後、 $ArSO_2Cl$  と反応させることで 2-スルホニル  $\beta$ -CD を 30%台の収率で合成できる。Teranishi は  $ArSO_2Im$ /モレキュラーシーブ法を報告した。この方法はスルホニルイミダゾールをスルホニル化剤として用い、塩基を使用しないのが特徴である。しかし、モレキュラーシーブの活性の違いによって反応が長時間かかる場合がある。 $ArSO_2Im/Cs_2CO_3$  の組合せを用いる改良法は最良のスルホニル化法となる。この改良法では、DMF 中、室温で反応はスムーズに進み、2 時間程度で終了する。反応の度合いは反応剤の使用量で容易にコントロールできる。

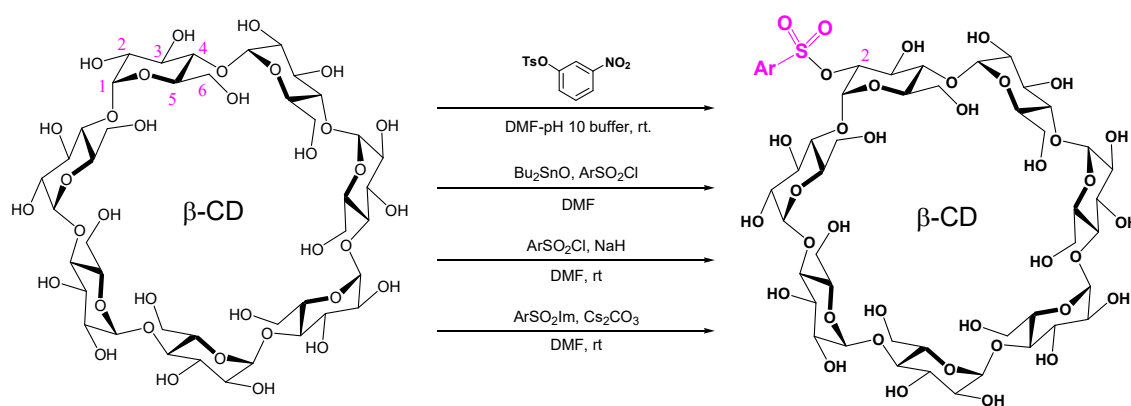


図 39 CD における C2 位の修飾

図 39 にまとめた方法のうち、一番目の緩衝液中の反応を除いて、他の方法は、すべて 2 位の二箇所に用いられる。AB、AC、AD、AE ( $\gamma$ -CD のみ) 体の混合物を生成する (図 38 参照)。モノスルホニル化およびトリスルホニル化 CD も共存しているので、分離精製は煩雑となる。

Teranishi は図 40 に示すキャップ試薬を開発し、CD の  $2^A2^B$ 、 $2^A2^C$ 、 $2^A2^D$  を選択的にスルホニル化に成功した<sup>3)</sup>。反応はモレキュラーシーブの存在下、DMF 中、 $30^\circ\text{C}$  で 2-5 日間攪拌することで目的物を生成する。AB キャップ試薬は他の位置異性体を生成しないが、AC キャップ試薬は、AC 以外の位置異性体の若干生成する。

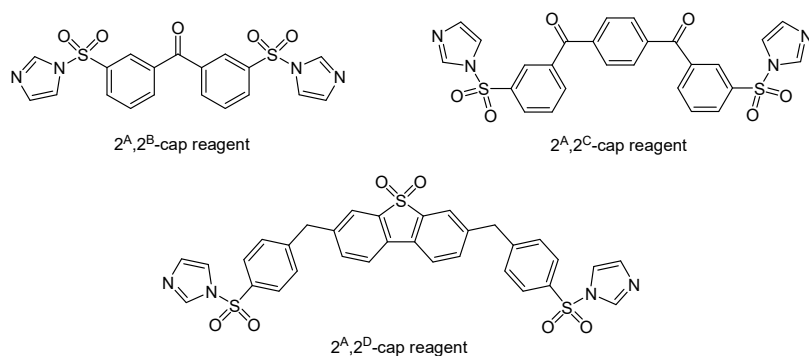


図 40 Teranishi らが開発した  $2^A2^B$ 、 $2^A2^C$ 、 $2^A2^D$  選択的キャップ試薬

### C. 3-位修飾

3-OHは最もアクセスしにくい。選択的に3-OHと反応する試薬は2-naphthalenesulfonyl chlorideのみである(図41)。β-CDをpH 12.3の30% CH<sub>3</sub>CN水溶液に溶かし、40°Cで激しく攪拌しながら2-naphthalenesulfonylchlorideを添加して反応させる。pHが中性まで下がったところで反応を止め、3-スルホニルβ-CDを20%以上の収率で得られる。反応剤を添加する前のpH調整(塩基の量)が反応の進行度合いを左右する。

リン酸緩衝液を使用すれば、二箇所および三箇所の修飾も可能になる(図41)。この際、先にβ-CDに付いた2-naphthalenesulfonyl基は、その隣接糖の3位の反応を防ぐように働く。その結果、主に生成する二箇所修飾体は、ACとADの二つの位置異性体、三箇所修飾体はACEのみとなる。

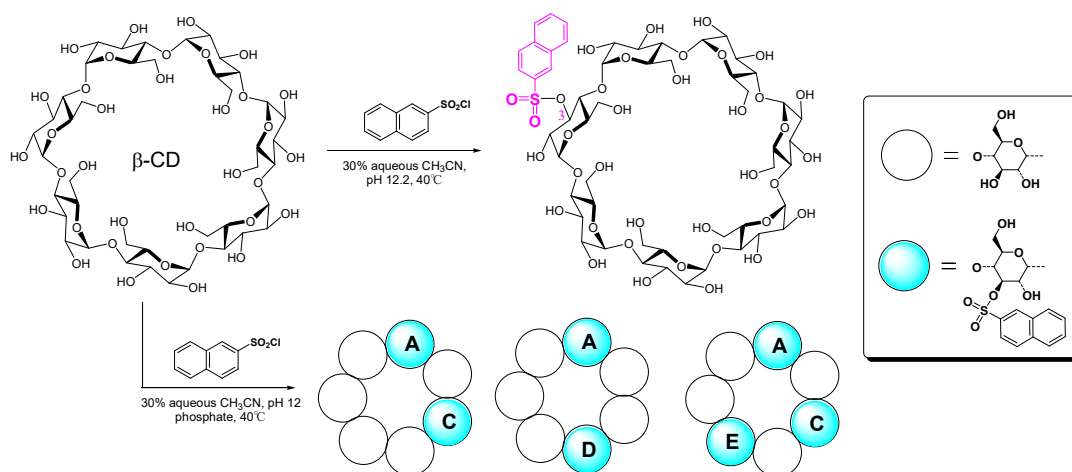


図41 CDにおけるC3位の修飾

#### D. ヘテロ二官能化

CDにおけるヘテロ二官能化には、得られたCDのモノ置換体を別の修飾基でもう一回反応させるランダム法 (図 42: I)、ホモ二置換体を経由したランダム法 (図 42: II)、キャップの開環法 (図 42: III) の3通りがある。いずれの手法も位置異性体を選択的に発生させることが困難であり、得られた生成物の分離精製も煩雑となる<sup>39)</sup>。

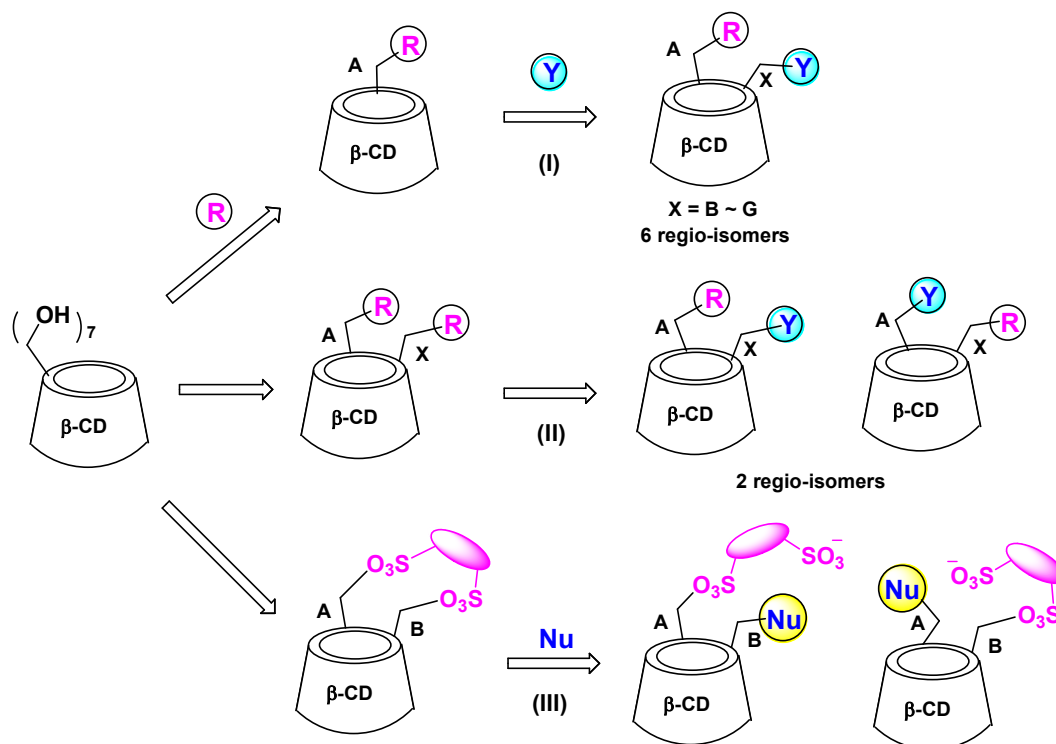


図 42  $\beta$ -CD における C6 位のヘテロ官能化

ランダム法 (図 42: I) は、CD をモノ修飾し、得られた CD のモノ置換体を別の修飾基でもう一回修飾する方法である。二回目の反応は、予め導入した置換基の影響をほとんど受けて、候補となるすべての CD ヒドロキシ基にランダムに起こり、全種類の位置異性体が大差のない割合 (1-5%程度) で生成する。また、原料残留のままでもより高い置換度の CD 誘導体へ進み、最終的に非常に複雑な混合物になる。カラムクロマトグラフィーを重ねても純粋な単一化合物を得ることは極めて困難である。

ホモ二置換体を経由したランダム法 (図 42: II) は、まず CD を二か所修飾し、ホモ二置換体 CD を合成する方法である。次に得られたホモ二置換体の置換基を一個だけ他に置換基に誘導する。この方法では、いずれの段階も反応がランダムに起こり、位置異性体の生成および置換度の問題に直面する。例えば、 $\beta$ -CD の場合、一段目では置換度による同系列化合物以外に、AB、AC、AD の位置異性体の分離精製が必要になり、いずれのホモ二置換体も数パーセントの収率でしか取れない。2段階目では、二個の置換基の反応性に差が少なく、原

料残留のまま過剰反応も進むので、反応混合物の中でヘテロ二置換体の割合は 30%台に止まる。また、ヘテロ二置換体について、糖配列が時計回りと反時計回りの関係にある二つの異性体が生成し、HPLC でも分離できない場合もある。これまでの機能調査研究に使われたヘテロ二置換 CD 誘導体のほとんどはこの方法で合成されたものであり、異性体の分離をせず、混合物の状態で使用されているケースも多い。

キャップの開環法 (図 42: III) は、求核剤によってキャップド CD を開環することでヘテロ二置換体を得る方法である。β-CD をメシチレンジルスルホニルでキャップし、得られた 6<sup>A</sup>, 6<sup>B</sup> キャップ体をイミダゾールと反応させると、キャップは片足を外し、ヘテロ二置換体 CD を生成する。イミダゾールを反応剤とした場合、反応はヘテロ二置換体 CD の段階で止り、二つの位置異性体を 10:1 の割合で生成する (図 43) <sup>40)</sup>。この方法が CD におけるヘテロ二置換体の初の選択的合成法である。

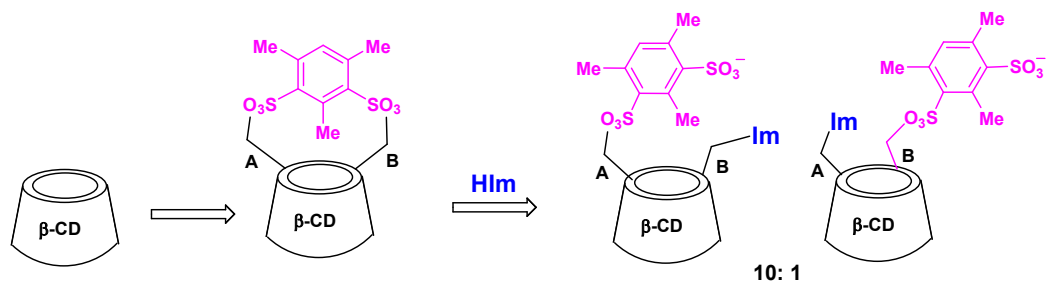


図 43 キャップド CD の位置選択的開環によるヘテロ二置換 CD の合成

## 修飾 CD の糖鎖配列解析

一般的に環状ペプチドや環状オリゴ糖などの構造を直接解析することは非常に困難であり、一度鎖状にすることによって配列を決定する。環状オリゴ糖である多置換体 CD の構造を詳細に解析するためには、単離した CD 誘導体を  $\alpha$ -アミラーゼの一種である TAKA-Diastase を用いて分解し、糖鎖となった化合物の構造を各種 NMR や質量分析を行うことが知られている<sup>41)</sup>。

TAKA-Diastase はグルコピラノシドが  $\alpha(1\rightarrow4)$  結合で連結した多糖を不規則に加水分解し、主にグルコースやマルトースを与える  $\alpha$ -アミラーゼの一種である。TAKA-Diastase を未修飾 CD に作用させると、CD のグリコシド結合を非選択的に切断し、最終的にグルコースおよびマルトースにまで加水分解する。その一方、置換基を導入した CD を TAKA-Diastase によって加水分解すると、その置換基の種類と修飾位置によって選択的にマルトオリゴ糖が生成される(図 43)。この修飾 CD に対する TAKA-Diastase の選択的加水分解反応を利用することで、複雑な構造の修飾 CD の構造を解析する。

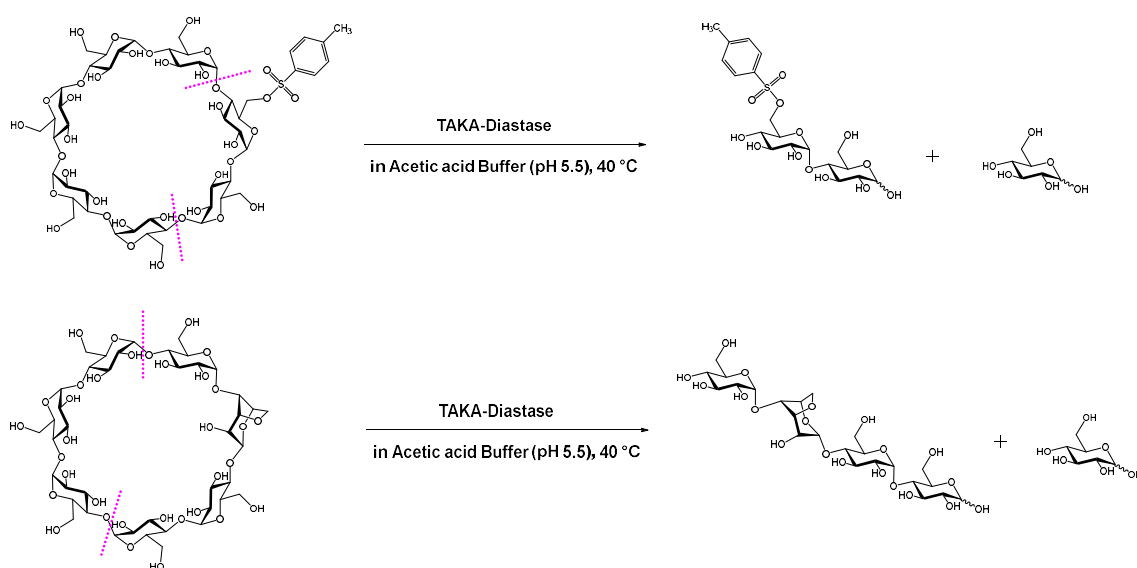
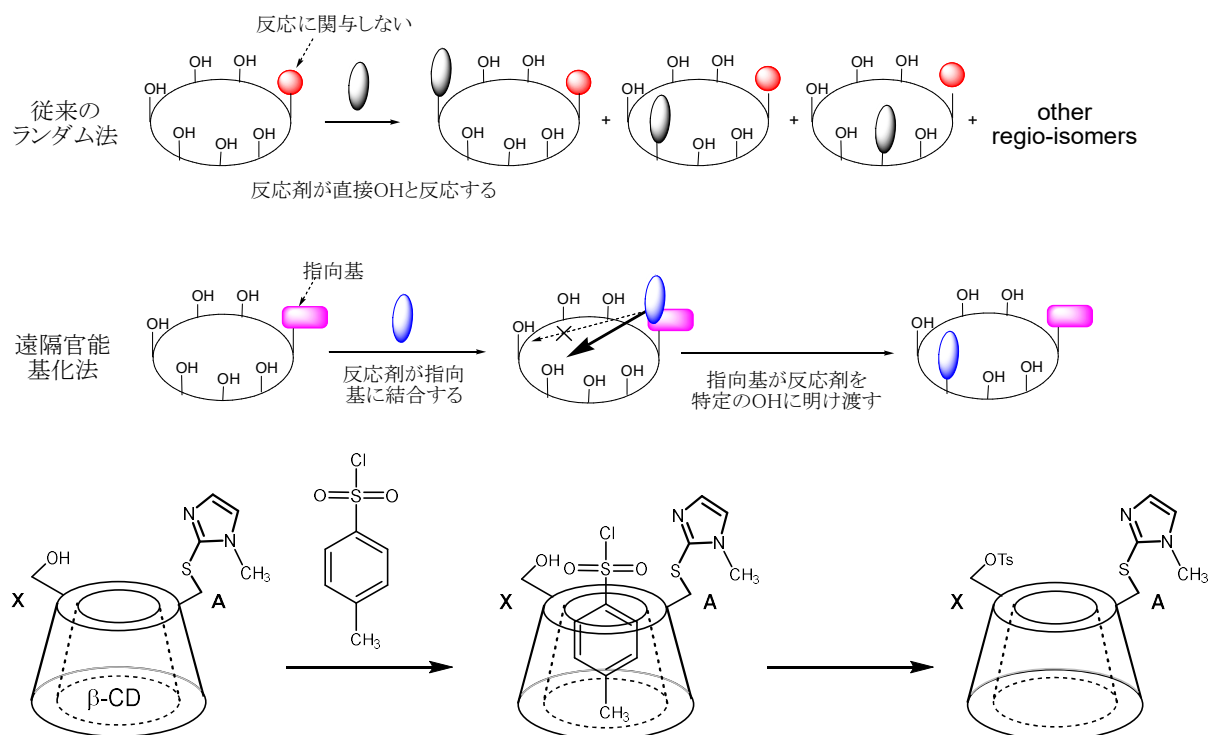


図 43 TAKA-Diastase による CD 誘導体の選択的加水分解反応

## 本研究の目的

酵素など天然に存在する機能性分子は、基質捕捉部位に複数種の官能基が配置され、その協同的作用によって精密な機能を発現している。よって、CD の任意の位置へ適切な官能基が導入できれば、天然の機能性分子を模した化合物を合成できると考えられる。そのためには、CD の特定箇所を修飾する方法を確立しなければならない。この問題に対し、前述した通り先人達により様々な研究が行われてきたが、その多くはCD の任意の箇所と同種の官能基を導入する方法（ホモ多置換）である。その一方、CD を用いて複雑な機能性分子を創造するために、CD の任意の箇所に異なる官能基を導入する方法（ヘテロ多置換）の開発が望まれているが、大環状化合物のヘテロ多置換は非常に困難であり、酵素模倣CDの研究が盛んに行われていた1980~90年代から大きな変化はない。著者は、CD誘導体を用いた機能性分子の研究を進展させるためには、CDの位置特異的ヘテロ多官能基化反応の開発が重要かつ急務であると考えた。この問題に対し著者は、 $\alpha$ -キモトリプシンモデルCDを用いることとした。 $\alpha$ -キモトリプシンモデルCDは、芳香族エステル類の加水分解を促進し、アセチル基をCDの水酸基へ転位させることが知られている。この触媒様の働きを利用すれば、アセチル基の代わりに、スルホン酸エステルをCDの水酸基へ導入することが可能であると著者らは考えた（図44）。この考えに基づき著者は、 $\alpha$ -キモトリプシンモデルCDを用いることで一箇所目の官能基を指向性触媒として使い、二箇所目以降の修飾位置を精密に制御するベクトル選択的反応の開発に着手した。



(図44)  $\alpha$ -キモトリプシンモデル $\beta$ -CDによるベクトル選択的反応



## 参考文献

- 1) a) J. Szejtli, Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry, *Chem. Rev.*, **98**, 1743-1753 (1998) b) A. R. Khan, P. Forgo, K. J. Stine, and V. T. D'Souza, Methods for Selective Modifications of Cyclodextrins, *Chem. Rev.*, **98**, 1977-1996 (1998) c) R. Breslow and S. D. Dong, Biomimetic Reactions Catalyzed by Cyclodextrins and Their Derivatives, *Chem. Rev.*, **98**, 1997-2011(1998)
- 2) 寺尾啓二, 池田幸 “シクロデキストリンの科学と技術”, シーエムシー出版, 東京(2020).
- 3) 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).
- 4) a) F. Hapiot, S. Menuel, M. Ferreira, B. Leger, H. Bricout, S. Tilloy, E. Monflier, *ACS Sustainable Chem. Eng.*, 2017, **5**, 3598–3606; b) T. Girek, W. Sliwa, *Cyclodextrins: Properties and Applications*, Wiley-VCH, Weinheim 2017; c) M. De Rosa, P. La Manna, C. Talotta, A. Soriente, C. Gaeta, P. Neri, *Front. Chem.*, 2018, **6**
- 5) W. Chung, J. Wang, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 971-972(1995)
- 6) a) N. S. Krishnaveni, K. Surendra, K. R. Rao, *Chem. Commun.*, **36**, 669–671(2005) b) B. Srinivas, V. P. Kumar, R. Sridhar, V. P. Reddy, K. R. Rao, *Helv. Chim. Acta*, **92**, 1080–1084(2009)
- 7) H.-B. Ji, D.-P. Shi, M. Shao, Z. Li, L.-F. Wang, *Tetrahedron Lett.*, **46**, 2517–2520 (2005)
- 8) *J. Molecular Catalysis*, **70**, 399(1991)
- 9) N. Baba, Y. Matsumura, T. Sugimoto, *Tetrahedron Lett.*, **19**, 4281–4284(1978); b) R. Fornasier, F. Reniero, P. Scrimin, U. Tonellato, *J. Org. Chem.*, **50**, 3209–3211(1985); c) H. Sakuraba, N. Inomata, Y. Tanaka, *J. Org. Chem.*, **54**, 3482–3484(1989); d) Y. Kawajiri, N. Motohashi, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1336–1337(1989)
- 10) M.A. Reddy, N. Bhanumathi, K. R. Rao, *Chem. Commun.*, **19**, 1974–1975(2001)
- 11) R. Ravichandran, *J. Mol. Catal. A Chem.*, **256**, 216–218(2006)

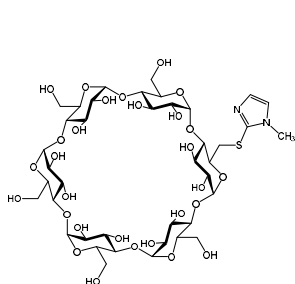
- 12) Y. R. Girish, K. S. S. Kumar, K. N. Thimmaiah, K. S. Rangappa, S. Shashikanth, *RSC Adv.*, **5**, 75533–75546(2015)
- 13) G. Floresta, C. Talotta, C. Gaeta, M. De Rosa, U. Chiacchio, P. Neri, A. Rescifina, *J. Org. Chem.*, **82**, 4631–4639(2017)
- 14) K. Konkala, R. Chorasias, P. S. Manjari, N. L. Domingues, R. Katla, *RSC Adv.*, **6**, 43339–43344(2016)
- 15) B. Mitra, G. C. Pariyar, P. Ghosh, *RSC Adv.*, **11**, 1271-1281(2021)
- 16) a) A. Bom, M. Bradley, K. Cameron, J. K. Clark, J. Egmond, H. Feilden, E. J. MacLean, A. W. Muir, R. Palin, D. C. Rees, M.-Q. Zhang, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **41**, 266-270(2002); b) K. A. Connors, *Chem. Rev.*, **97**, 1325-1357(1997); c) K. S. Cameron, D. Fletcher, L. Fielding, *Magn. Reson. Chem.*, **40**, 251–260(2002)
- 17) R. Breslow, S. Chung, *J. Am. Chem. Soc.* 1990, **112**, 9659-9660. R. Breslow, S. Halfon, B. Zhang, *Tetrahedron*, **51**, 377-388(1995)
- 18) D.-Q. Yuan, K. Koga, I. Kouno, T. Fujioka, M. Fukudome, K. Fujita, *Chem. Commun.*, 828–830(2007)
- 19) a) Ogston, A. G., *Nature*, **162**, 963(1948); b) Kano, K. Nishiyabu, R., *J. Incl. Phenom. Macrocyclic Chem.*, **44**, 355-359(2002)
- 20) I. Tabushi, *Pure Appl. Chem.*, **58**, 1529-1534(1986)
- 21) Y. Dai, S. Wang, J. Wu, J. Tang, W. Tang, *RSC Adv.*, **2**, 12652-12656(2012)
- 22) R. Breslow, C. Schmuck, *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 6601–6605(1996)
- 23) D. J. Boerema, V. A. Tereshko, J. Zhang, S. B. H. Kent, *Org. Biomol. Chem.*, **14**, 8804-8814(2016)
- 24) R. Breslow, C. Schmuck, *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 6601–6605(1996)

- 25) K. Uekama, *Yakugaku Zasshi*, **132**, 85-105 (2012)
- 26) P. Kasal, J. Jindrich, *Molecules*, **26**, 5065(2021)
- 27) R. Breslow, J. W. Canary, M. Varney, S. T. Waddell, D. Yang, *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, 5212–5219 (1990)
- 28) I. Tabushi, K. Yamamura, T. Nabeshima, *J. Am. Chem. Soc.*, **106**, 5267–5270 (1984)
- 29) I. Tabushi, L. C. Yuan, *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 3574–3575 (1981)
- 30) I. Tabushi, Y. Kuroda, K. Yokota, L. C. Yuan, *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 711–712(1981)
- 31) A. Ueno, F. Moriwaki, T. Osa, F. Hamada, K. Murai, *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 4323–4328(1988)
- 32) U. Akihiko, M. Fumio, O. Tetsuo, H. Fumio, M. Koichi, *Bull. Chem. Soc. Jpn*, **59**, 465-470(1986)
- 33) A. Ueno, F. Moriwaki, A. Azuma, T. Osa, *J. Org. Chem.*, **54**, 295–299(1989)
- 34) K. Koga, D.-Q. Yuan, K. Fujita, *Tetrahedron Letters*, **41**, 6855-6857(2000)
- 35) K. Fujita, A. Matsunaga, T. Imoto, *J. Am. Chem. Soc.*, **106**, 5740–5741(1984)
- 36) K. Fujita, A. Matsunaga, T. Imoto, *Tetrahedron Letters*, **25**, 5533-5536(1984)
- 37) K. Fujita, H. Yamamura, T. Imoto, T. Fujioka, K. Mihashi, *J. Org. Chem.*, **53**, 1943–1947(1988)
- 38) M. Atsumi, M. Izumida, D.-Q. Yuan, K. Fujita, *Tetrahedron Letters*, **41**, 8117–8120(2000)
- 39) G. Benkovics, M. Bálint, É. Fenyvesi, E. Varga, S. Béni, K. Yannakopoulou, M. Malanga, *Beilstein J. Org. Chem.*, **15**, 710–720(2019)
- 40) De-Qi Yuan, Tomonobu Yamada and Kahee Fujita, *Chem. Commun.*, 2706–2707(2001)
- 41) K. Fujita, T. Ishizu, K. Oshiro, K. Obe, *Bull. Chem. Soc. Jpn*, **62**, 2960-2962(1989)

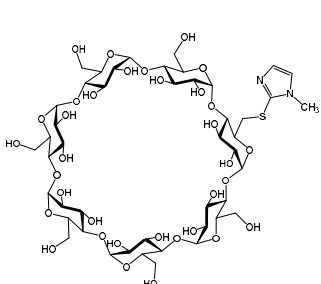
本論文では、以下の略語を用いる。

CD	: Cyclodextrin
COSY	: Correlated spectroscopy
DMF	: <i>N,N</i> -Dimethylformamine
DMSO	: Dimethyl sulfoxide
HMBC	: Heteronuclear multiple bond correlation
HMQC	: Heteronuclear multiple quantum coherence
HPLC	: High performance liquid chromatography
NMR	: Nuclear magnetic resonance
ODS	: Octa Decyl Silyl
TLC	: Thin layer chromatography
TOF-MS	: Time-of-Flight Mass Spectrometer

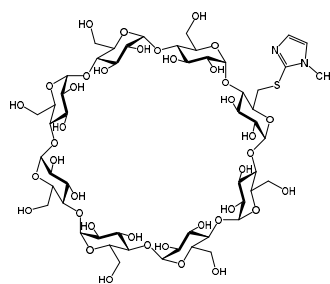
## 化合物一覽



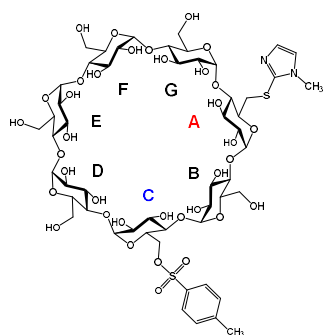
compound 1



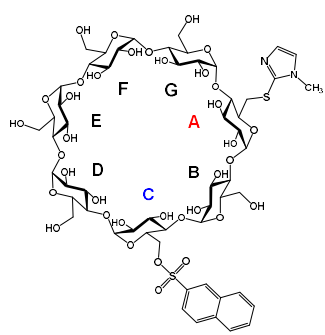
compound 2



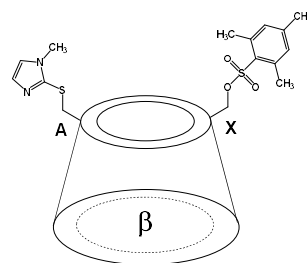
compound 3



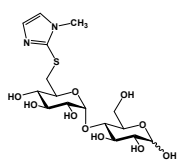
compound 4



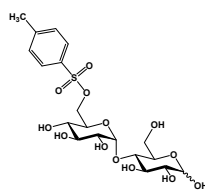
compound 5



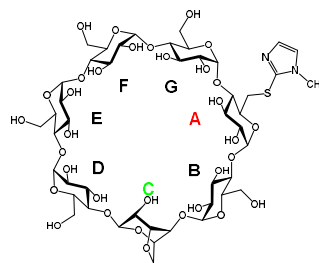
compound 6



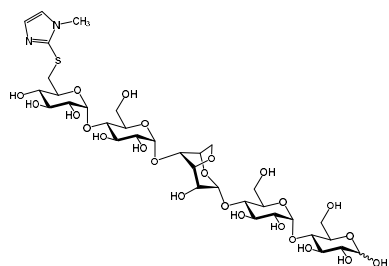
compound 7



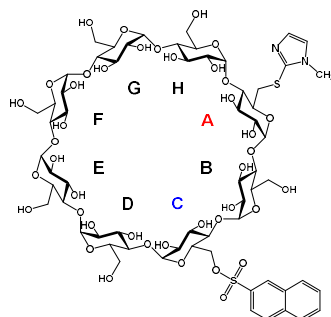
compound 8



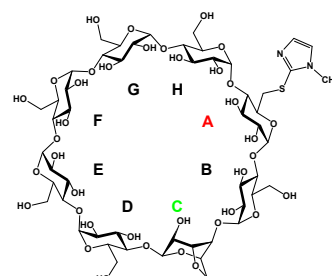
compound 9



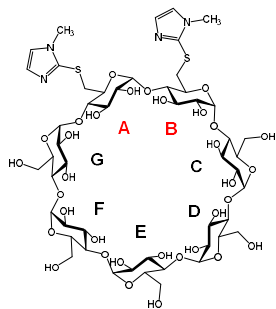
compound 10



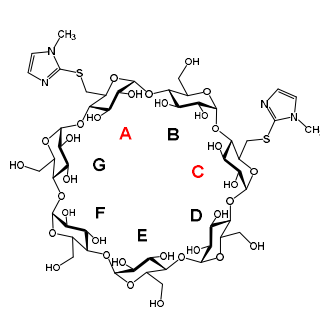
compound 11



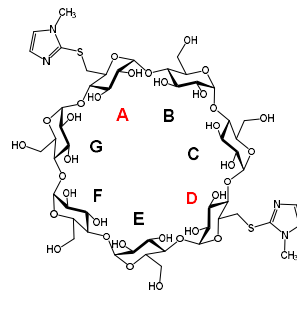
compound 12



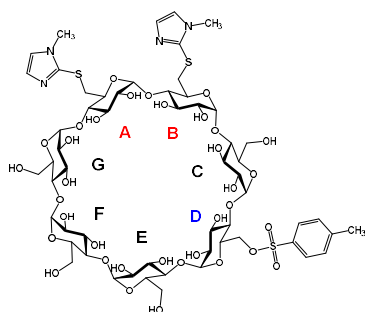
compound 13



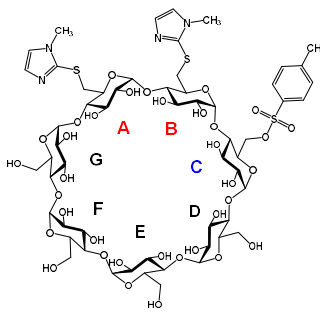
compound 14



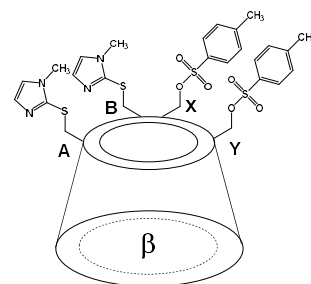
compound 15



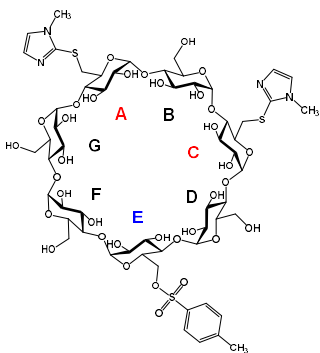
compound 16



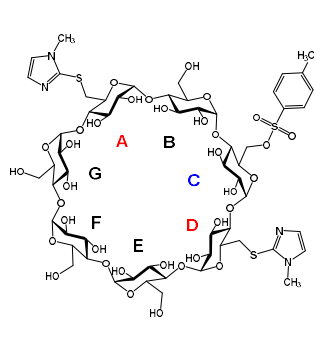
compound 17



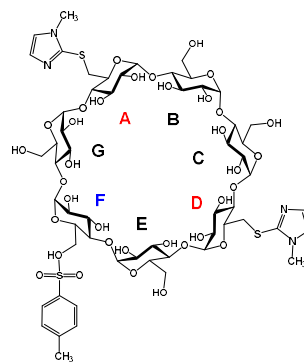
compound 18



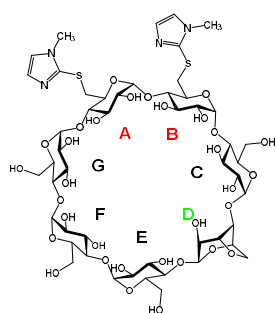
compound 19



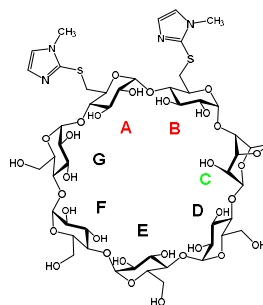
compound 20



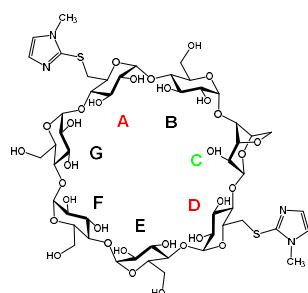
compound 21



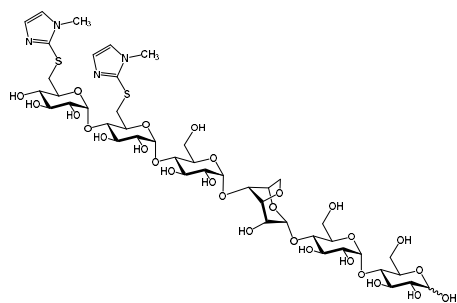
compound 22



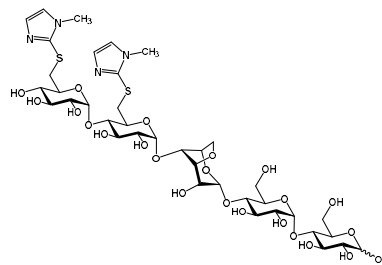
compound 23



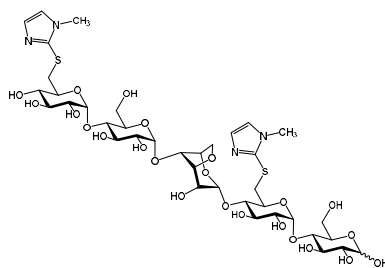
compound 24



compound 25



compound 26



compound 27





# 第一章

6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-CDs を  
用いたベクトル選択的スルホニル化法の開発

## 1-1 緒言

CD の二箇所を任意の異なる官能基へ変換したヘテロ二官能基化 CD は、キラルな分子に対する認識素子や不斉触媒の開発を含む多くの研究分野において強く望まれている。しかし、CD はキラル分子であるグルコースから構成されているため、特定の異なる官能基を望まれる二箇所に導入することは困難を極める。例えば $\beta$ -CD のグルコース残基 6 位に異なる 2 種の置換基が導入された異性体は、AB, AC, AD, AE, AF, AG 体の 6 種が考えられる。特にこの場合、AB 体と AG 体、AC 体と AF 体、AD 体と AE 体は導入された官能基同士の距離は等しいが、官能基が導入された立体配置が異なるため、既存の方法では合成や分離精製が困難である (図 1)。

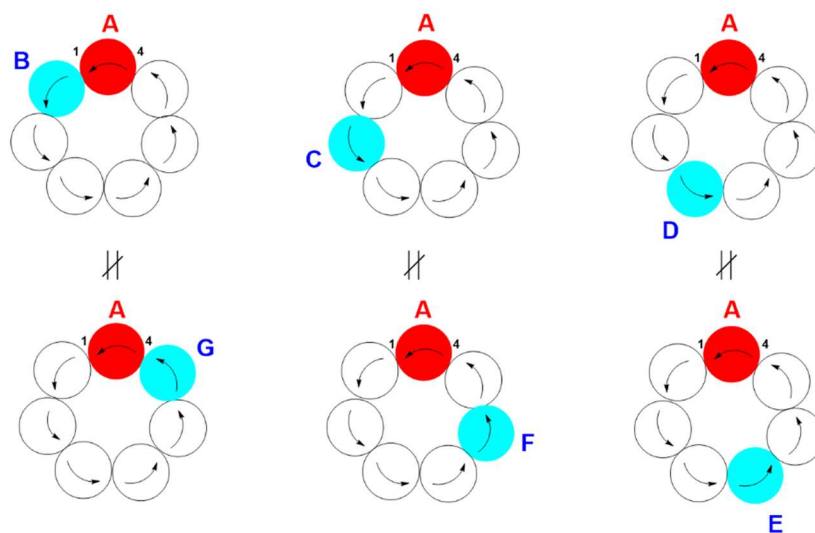


図 1 ヘテロ二官能基化  $\beta$ -CD 異性体の模式図

著者らはこの問題に対する解決策の着想を生体分子から得た。アシル転位反応は無数の生体プロセスが関与し、酵素の基質結合部位や補酵素はアシル基の転位過程において重要な役割を果たす。例として、クロラムフェニコール・アセチルトランスフェラーゼ (CAT) は、アセチル補酵素 A からクロラムフェニコールの 2 つの水酸基の内、1 つへアセチル残基を転移させる (図 2) <sup>1)</sup>。

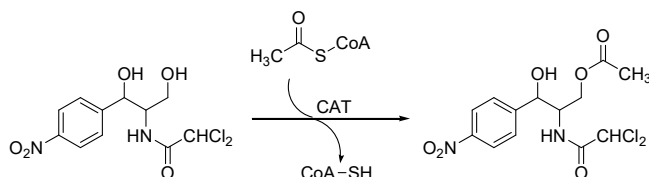


図 2 CAT によるクロラムフェニコールのアセチル化反応

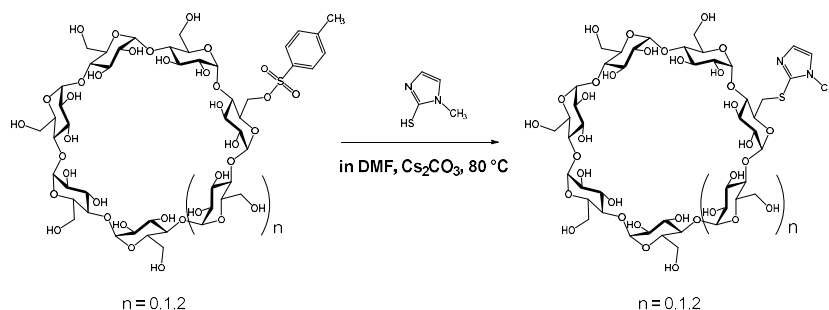
このように、生体分子である酵素や受容体は、分子中の官能基を区別することができ、その結果として、医薬品における光学異性体間の生理活性や代謝に違いが生じる事が知られている。この生体分子の機能から、著者らは天然のアシル転位システムにおける酵素、補酵素、基質の役割を CD、CD に導入された官能基、スルホニル化剤に当てはめる着想を得た。CD は、疎水性空洞によって酵素における基質結合部位の役割を果たすことができると考えられる。また、補酵素の役割を果たす官能基としては、生体内分子として塩基性触媒能を持つイミダゾリル基を選択した。

この章では、著者らが試みた生体分子を模倣した CD に対する距離および方向選択的にスルホニル基を導入する反応、すなわちベクトル選択的なスルホニル化反応の開発を解説する。

## 1-2 6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-CDs の合成

$\alpha$ -キモトリプシンモデル CD を参考に、既存法にて合成した mono-6-Tosyl-CDs を用いて 6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-CDs を合成した。

mono-6-Tosyl- $\beta$ -CD(1.0 g, 0.77 mmol) に対し、2-Mercapto-1-methylimidazole(180 mg, 1.58 mmol)、炭酸セシウム(250 mg, 0.77 mmol)を用いて、乾燥 DMF(10 ml)中 80 °C で 24 時間攪拌した。反応を TLC にて追跡し、ODS カラムにて分離精製を行う事で、6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\beta$ -CD を得ることができた(収率:83 %, TOF-MS :  $m/z$  = 1254(M+23) )。



同様の方法を用い、6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\alpha$ -CD(収率:78 %, TOF-MS :  $m/z$  = 1091(M+23) )および 6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\gamma$ -CD(収率:80 %, TOF-MS :  $m/z$  = 1416(M+23) )を得ることができた。

6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-CDs の構造は、各種 NMR によって解析した。いずれも <sup>1</sup>H-NMR において  $\delta$  7 ppm 付近にイミダズリル基由来のプロトンが観測され、 $\delta$  3.2 および 3.0 ppm 付近に修飾糖 C6 位由来と考えられるプロトンが確認できた(Fig. 1-1, 1-7, 1-13)。<sup>13</sup>C-NMR では、 $\delta$  141, 128, 124 ppm 付近にイミダズリル基由来の芳香族環炭素が観測され(Fig. 1-2, 1-8, 1-14)、DEPT135 によって、 $\delta$  37 ppm 付近のシグナルが修飾糖 C6 位由来であることが確認された(Fig. 1-3, 1-9, 1-15)。COSY では、修飾糖 C6 位由来と考えられる  $\delta$  3.2 および 3.0 ppm 付近のプロトンシグナルと  $\delta$  4.24(Fig. 1-1), 3.99(Fig. 1-7), および 4.06 ppm(Fig. 1-13)とがそれぞれ相関している。この COSY の結果は、 $\delta$  4.24(Fig. 1-1), 3.99(Fig. 1-7), および 4.06 ppm(Fig. 1-13)のシグナルが修飾糖 C5 位由来であることを示唆する。HMQC では、DEPT135 によって修飾糖 C6 位由来であると判断できた  $\delta$  37 ppm 付近のシグナルと、 $\delta$  3.2 および 3.0 ppm 付近のプロトンシグナルとにクロスピークが観測された(Fig. 1-5, 1-11, 1-17)。この HMQC の結果により、 $\delta$  3.2 および 3.0 ppm 付近のプロトンシグナルが修飾糖 C6 位由来であると判断した。また HMBC においてイミダズリル基由来の C-S 炭素原子と修飾糖 C6 位由来プロトンとの相関が見られたことから、(*N*-methylimidazol-2-yl)thio 基が CD の C6 位に導入されたと判断できる(Fig. 1-6, 1-12, 1-18)。

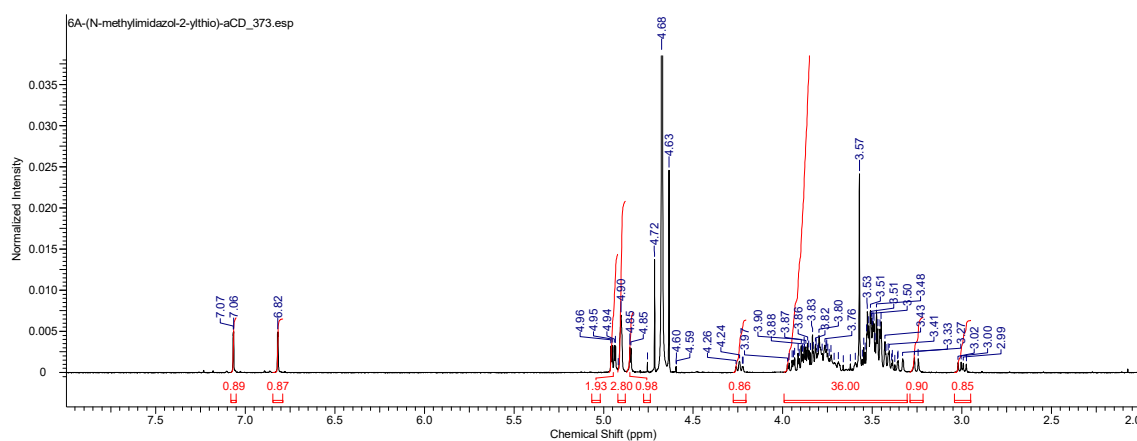


Fig. 1-1  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of compound 1 in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

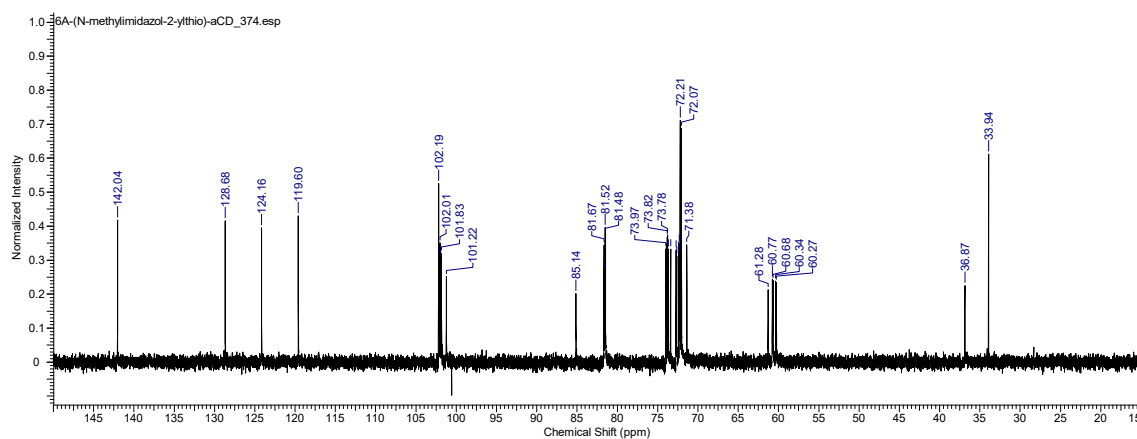


Fig. 1-2  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of compound 1 in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

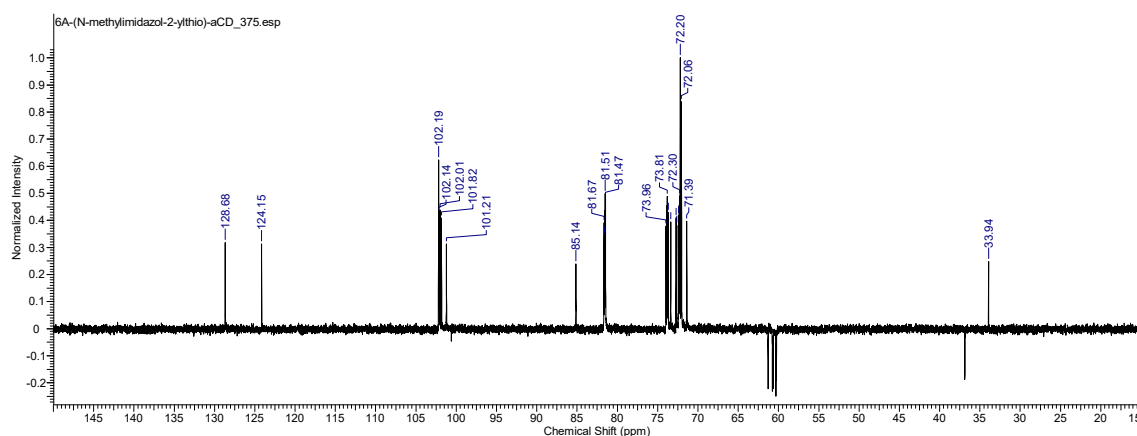


Fig. 1-3  $^{13}\text{C}$ -DEPT135 spectrum of compound 1 in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

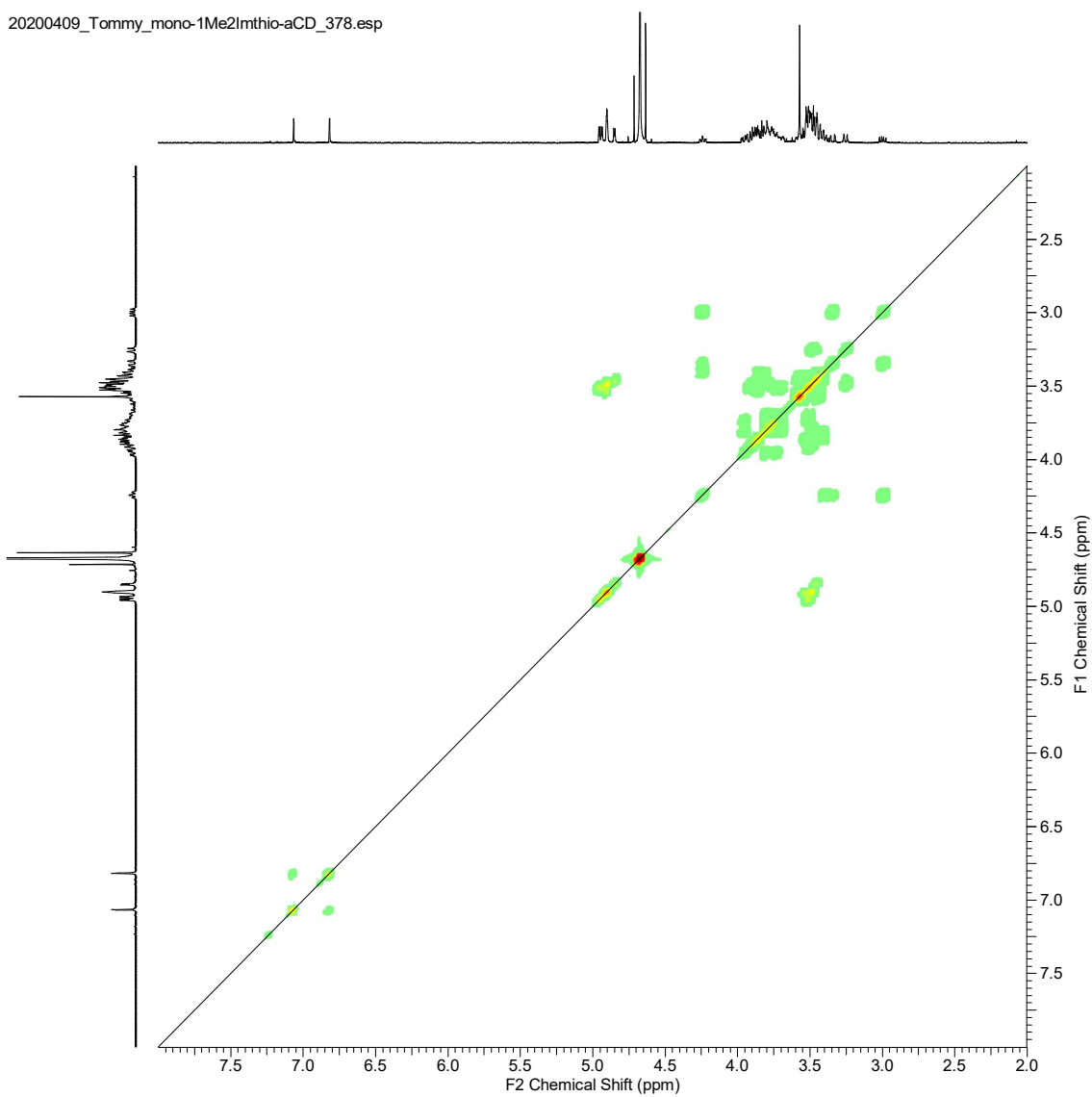


Fig. 1-4  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY spectrum of **compound 1** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

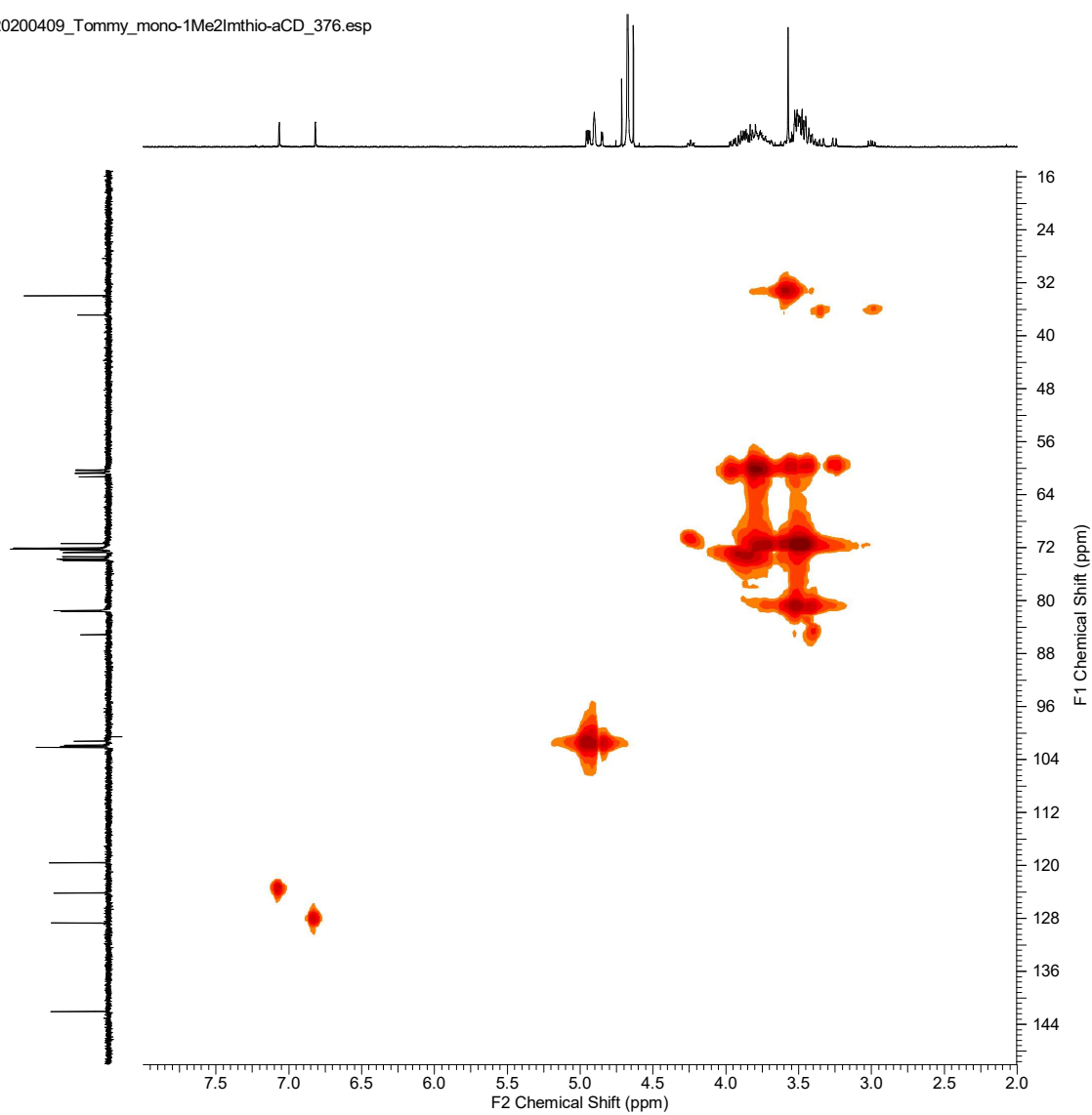


Fig. 1-5  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  HMQC spectrum of **compound 1** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

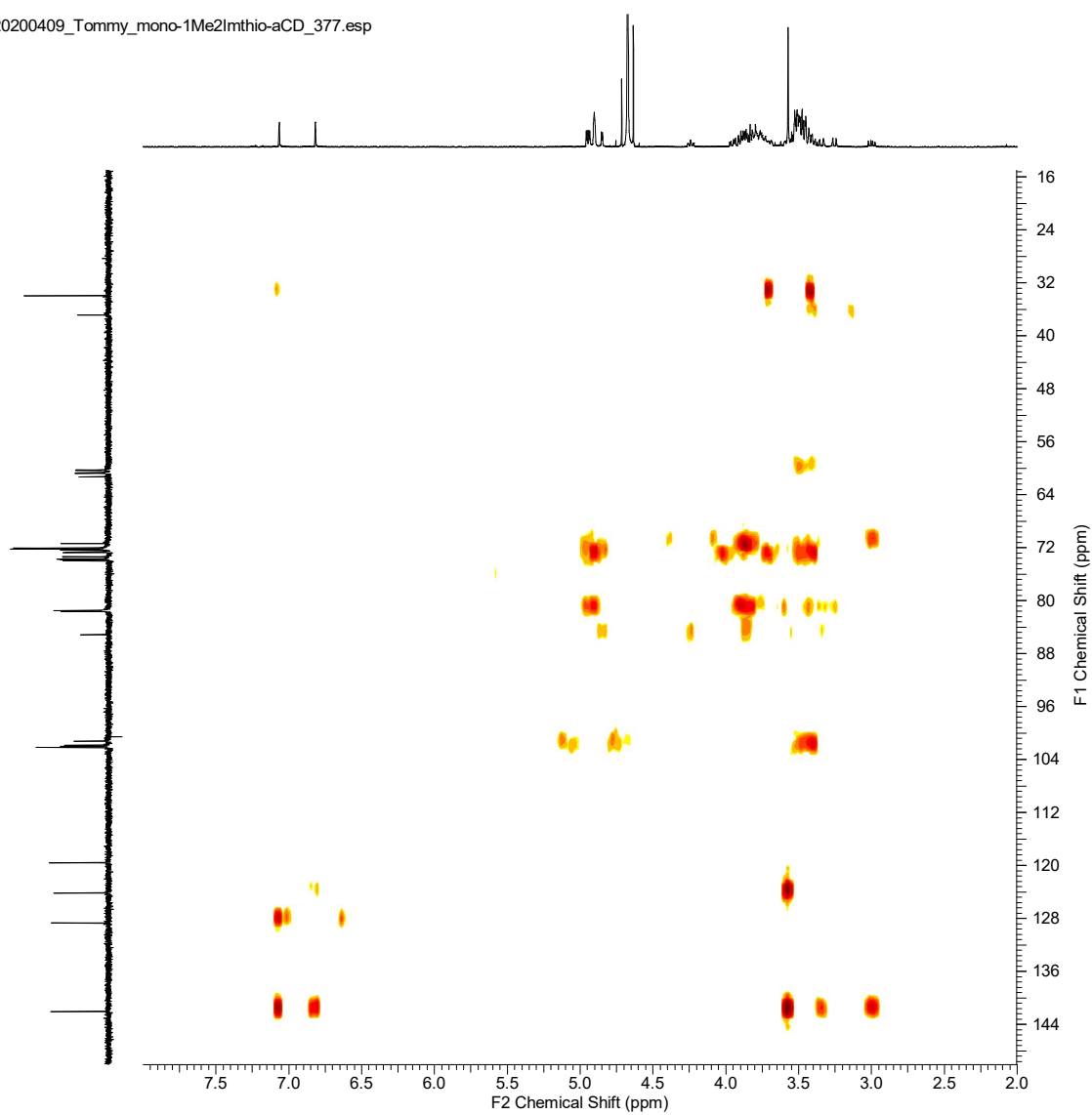


Fig. 1-6  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  HMBC spectrum of **compound 1** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)



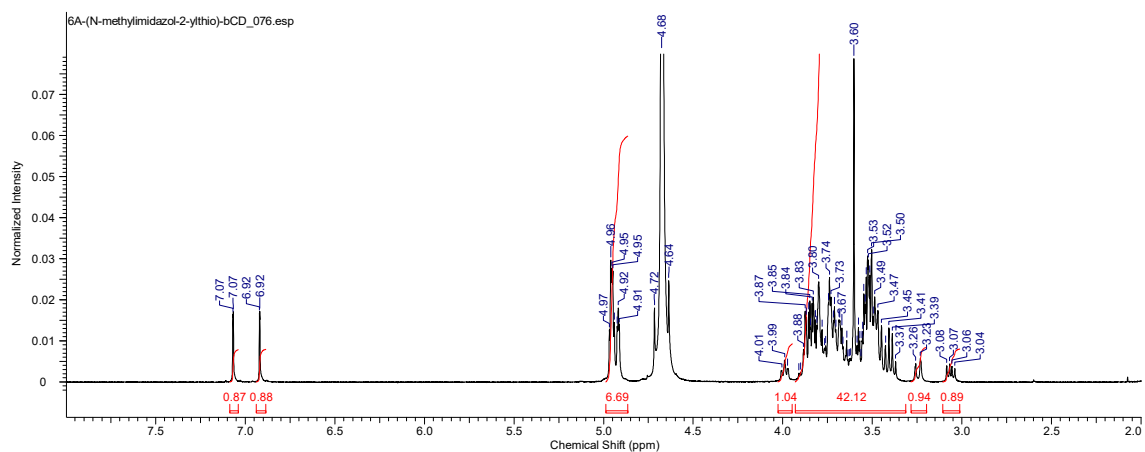


Fig. 1-7  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of compound 2 in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

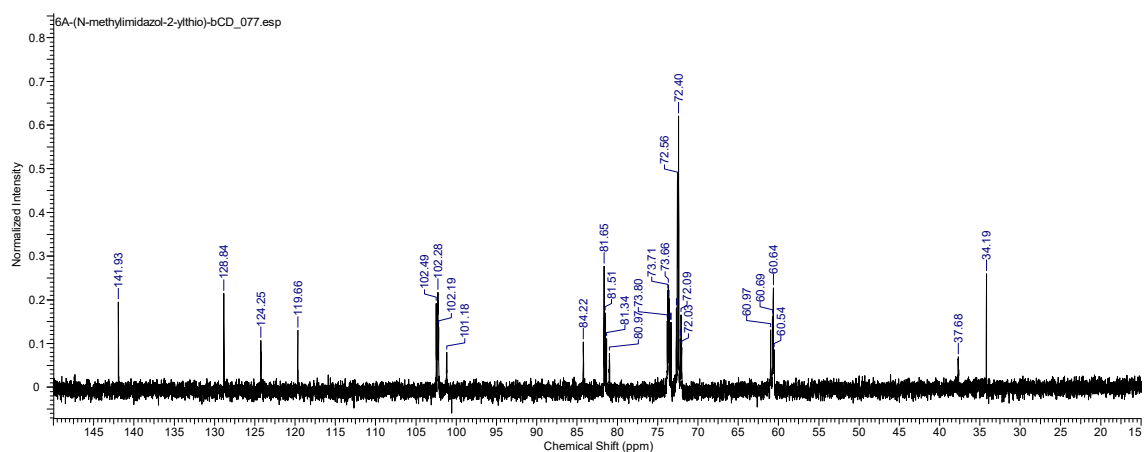


Fig. 1-8  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of compound 2 in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

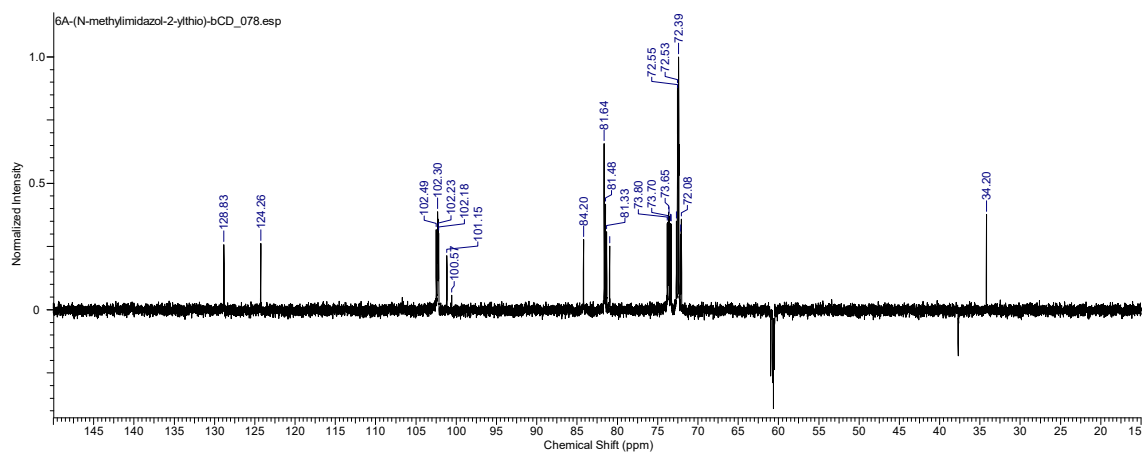


Fig. 1-9  $^{13}\text{C}$ -DEPT135 spectrum of compound 2 in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

20190702\_Tommy\_mono-6-(2mercapto-1-methylimidazole)-bCD\_01\_1G43-48.081.001.2rr.esp

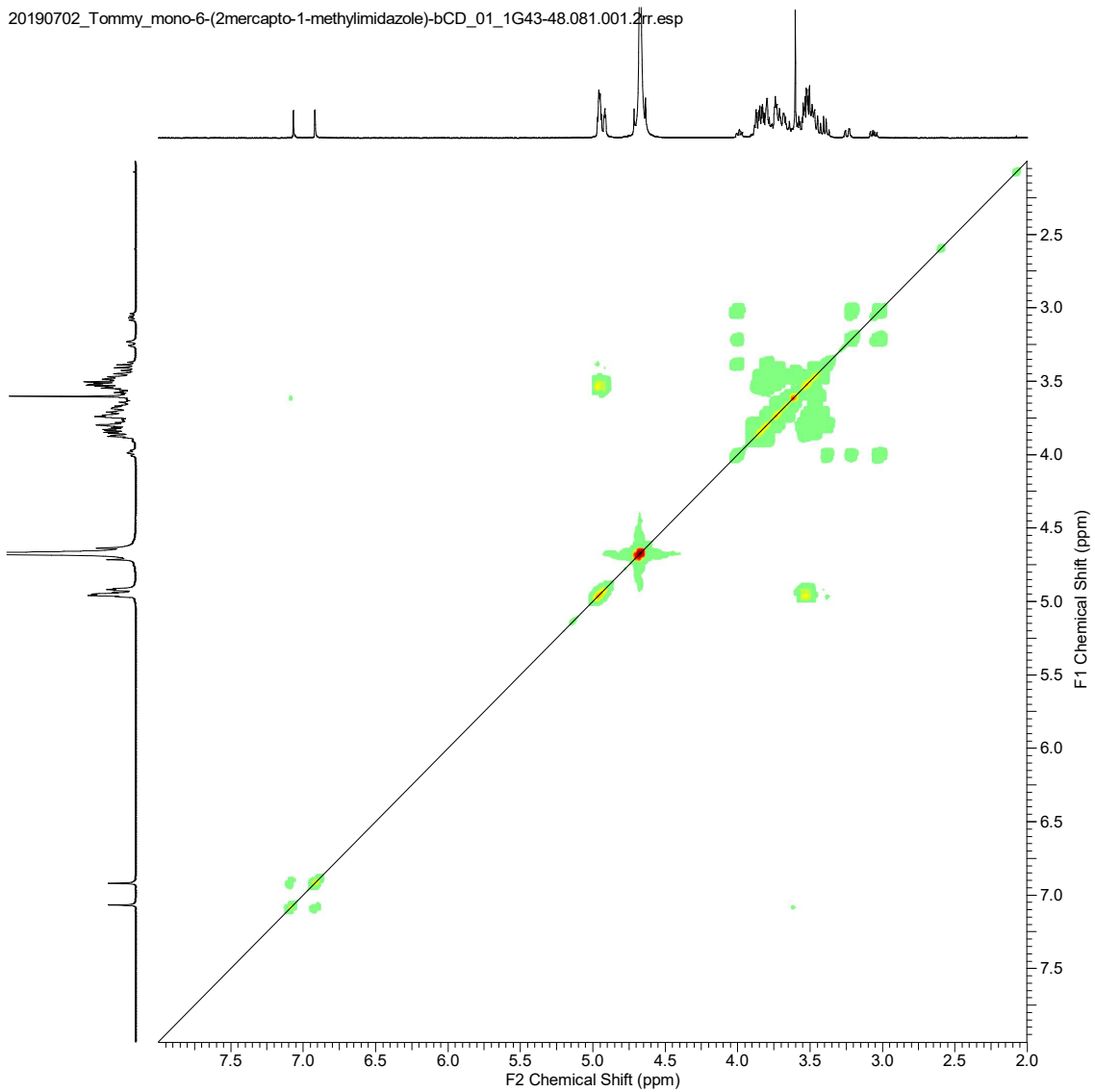


Fig. 1-10  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY spectrum of **compound 2** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

20190702\_Tommy\_mono-6-(2mercapto-1-methylimidazole)-bCD\_01\_1G43-48.079.001.2rr.esp

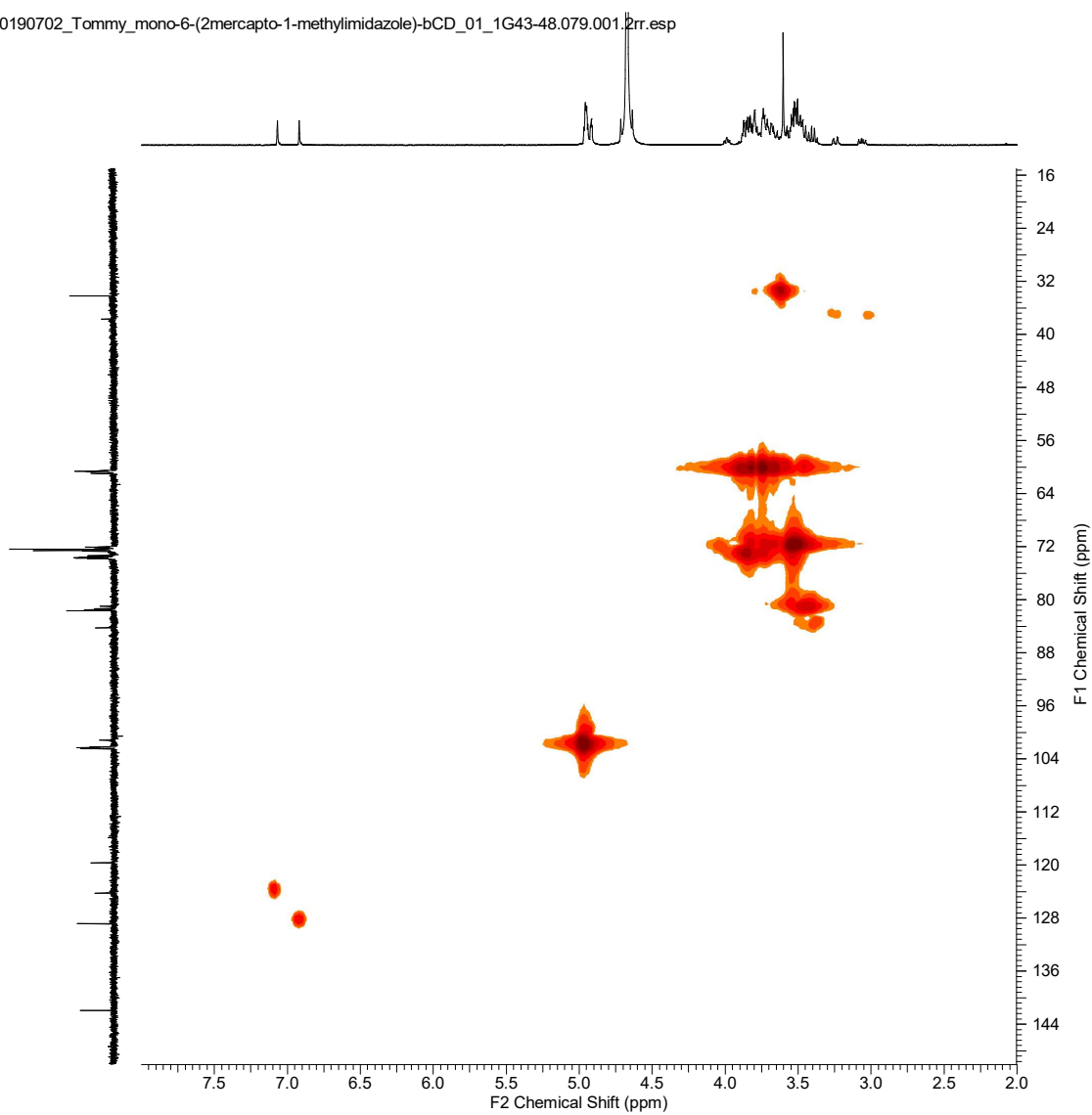


Fig. 1-11  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  HMQC spectrum of **compound 2** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

20190702\_Tommy\_mono-6-(2mercapto-1-methylimidazole)-bCD\_01\_1G43-48.080.001.2rr.esp

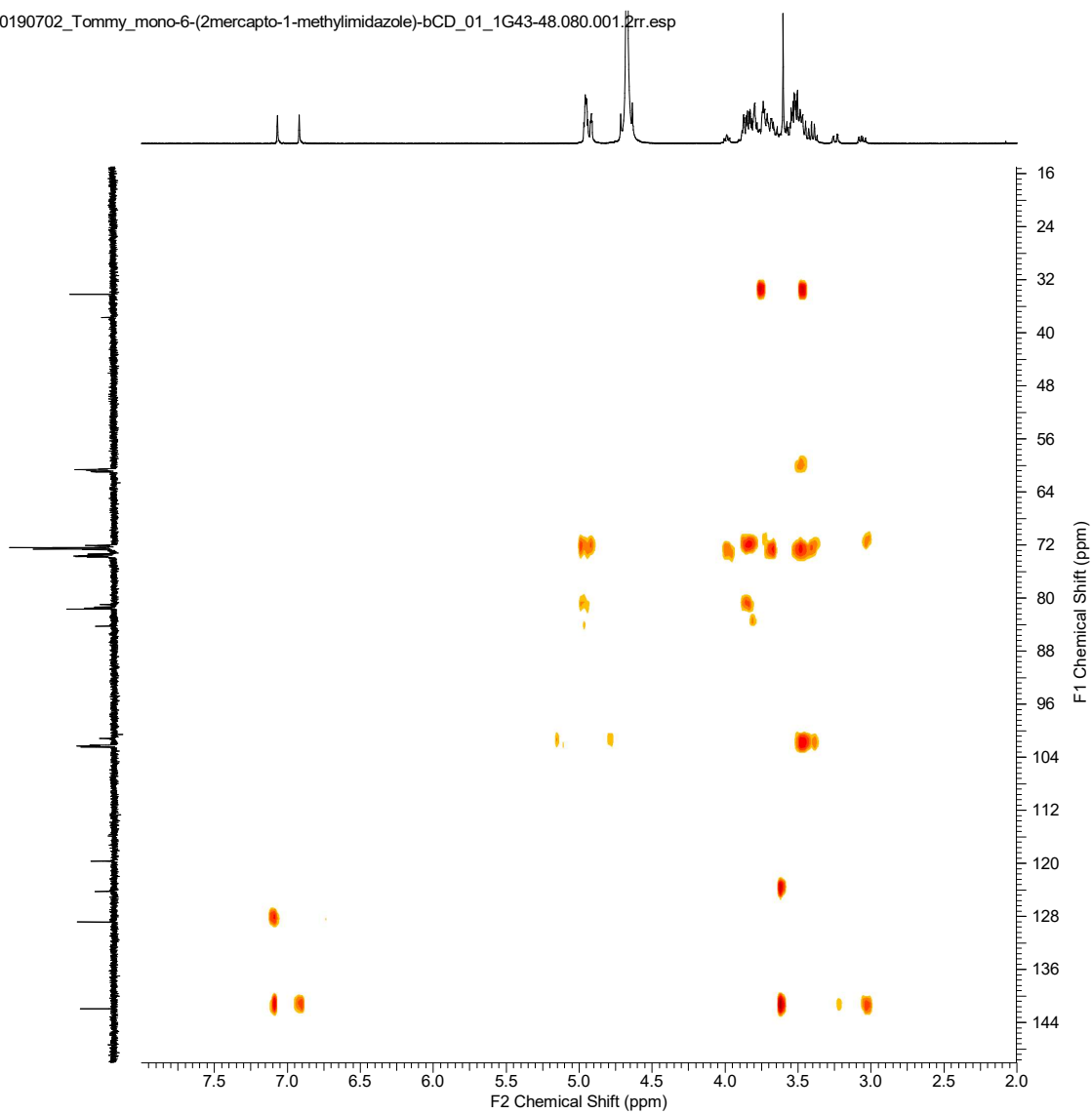


Fig. 1-12 <sup>13</sup>C-<sup>1</sup>H HMBC spectrum of **compound 2** in D<sub>2</sub>O (acetonitrile int.)

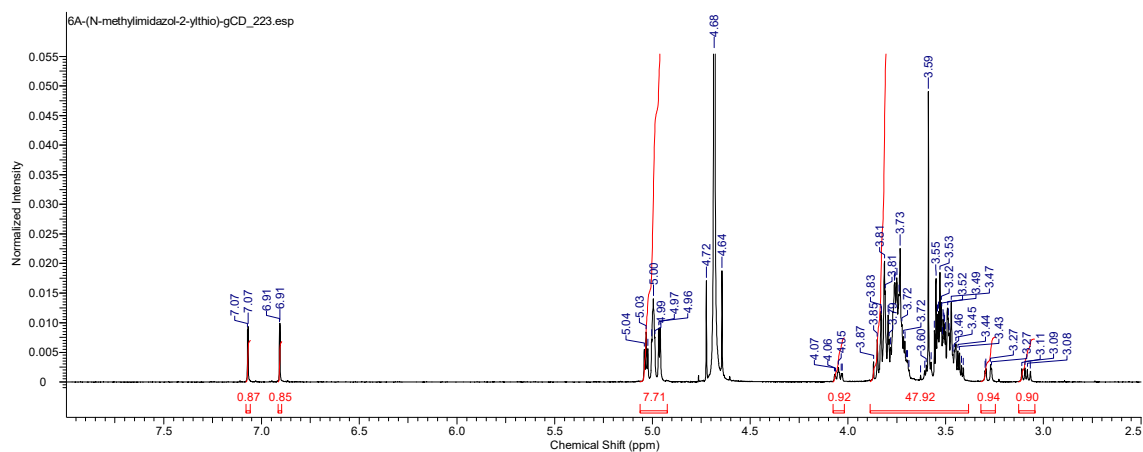


Fig. 1-13  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of **compound 3** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

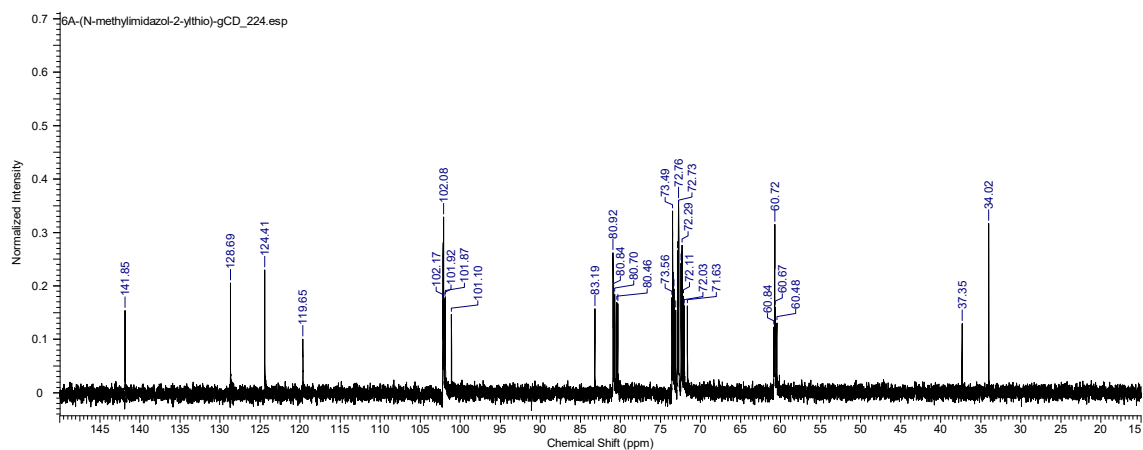


Fig. 1-14  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of **compound 3** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

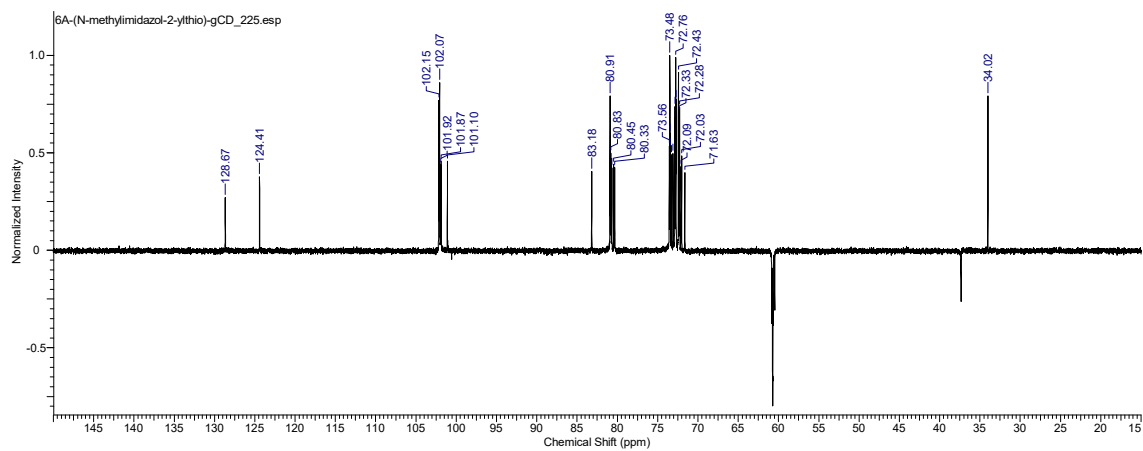


Fig. 1-15  $^{13}\text{C}$ -DEPT135 spectrum of **compound 3** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

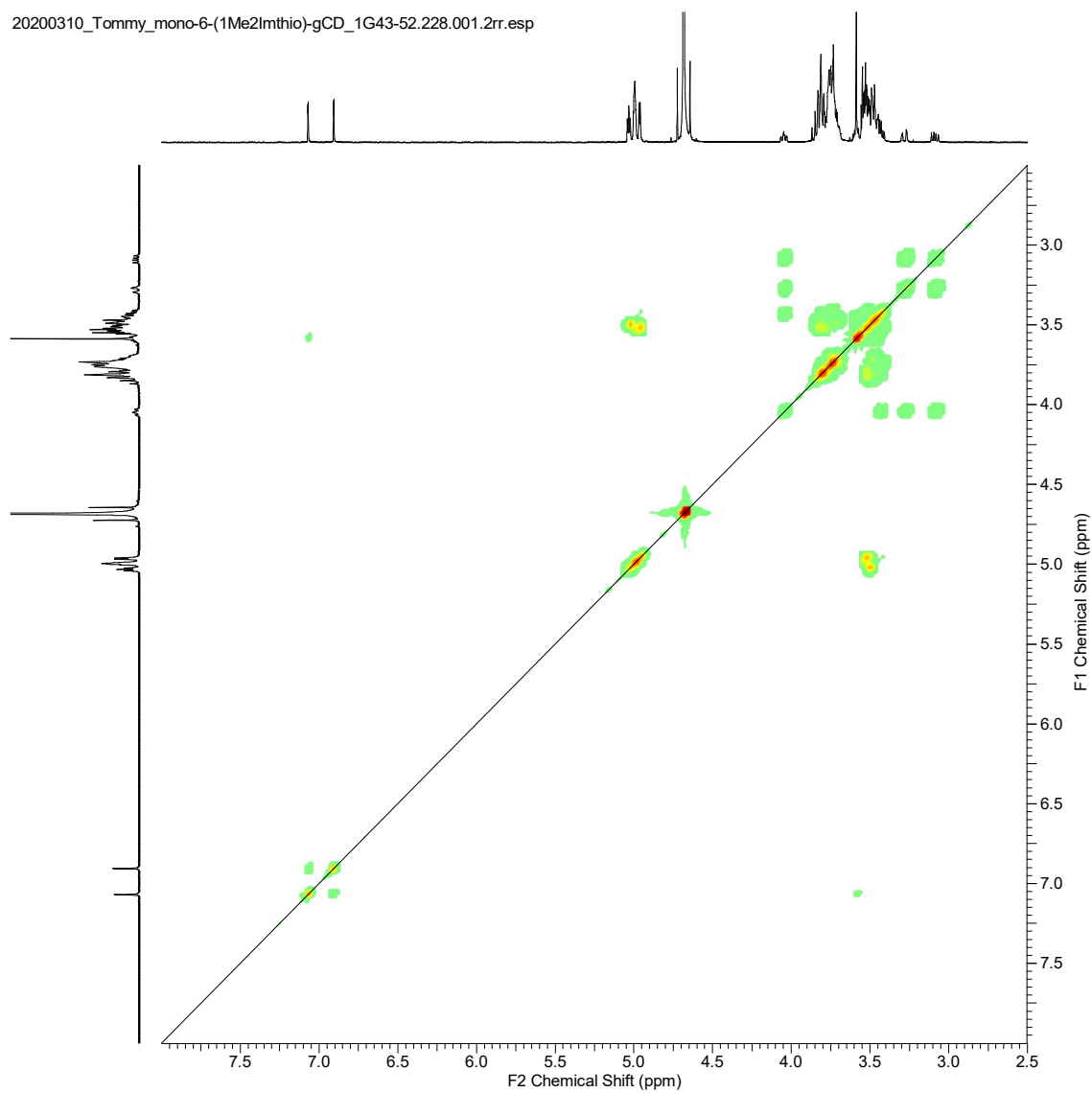


Fig. 1-16  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY spectrum of **compound 3** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

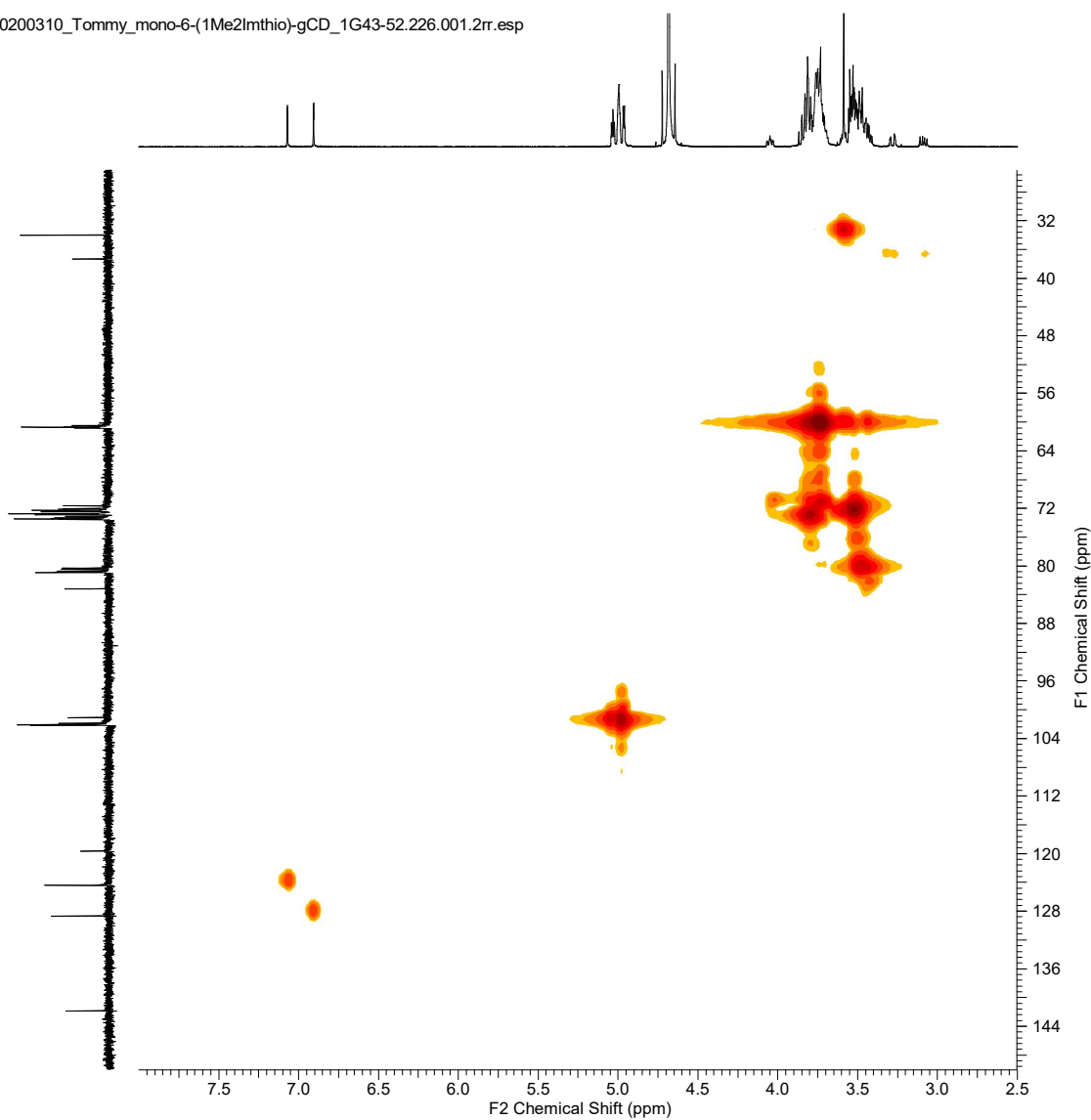


Fig. 1-17  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  HMQC spectrum of **compound 3** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

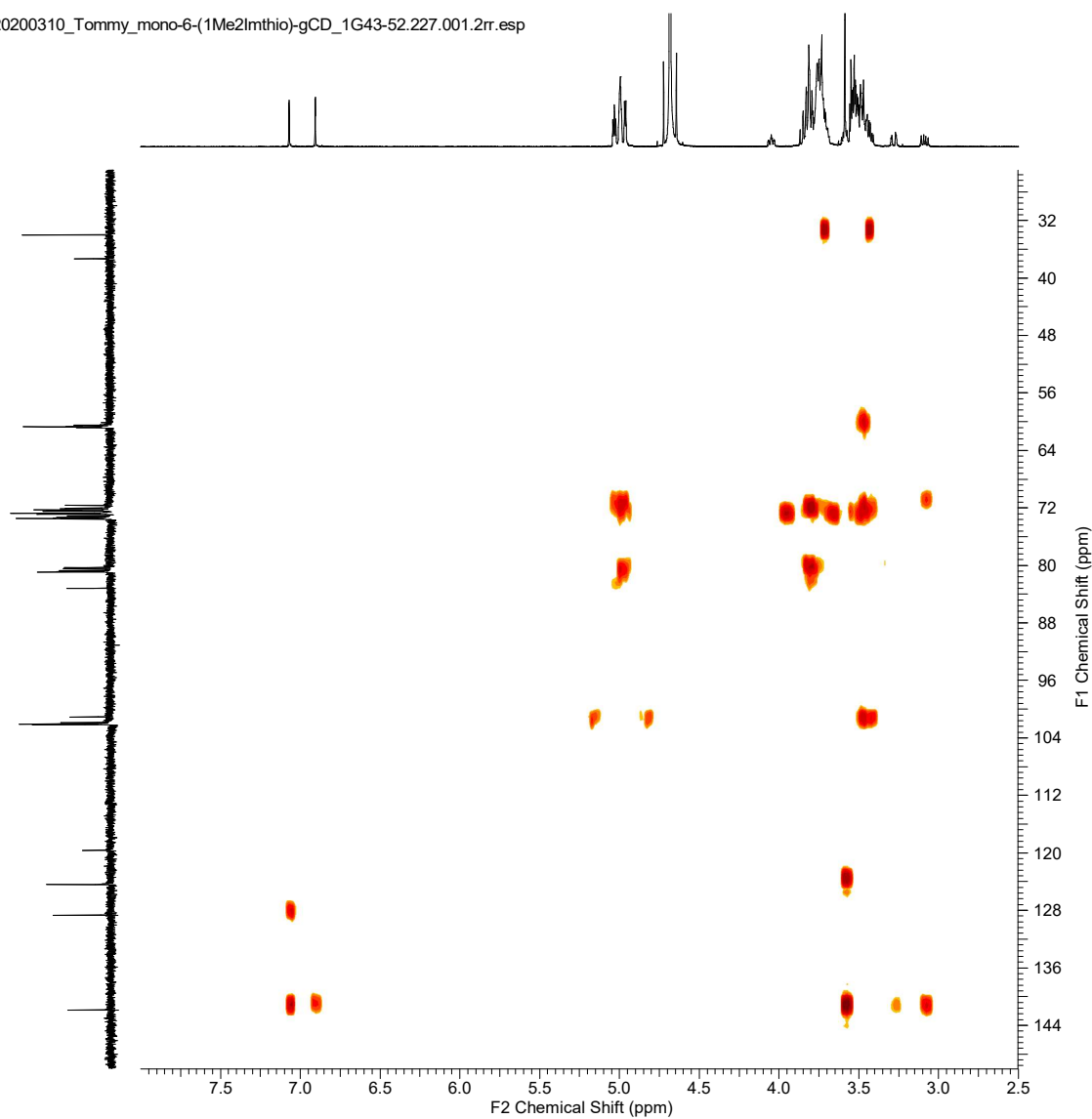
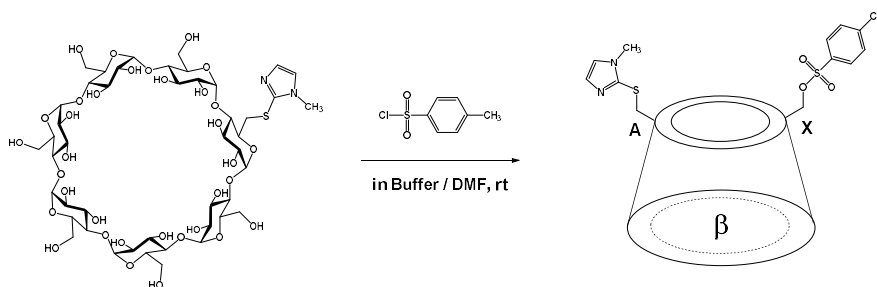


Fig. 1-18 <sup>13</sup>C-<sup>1</sup>H HMBC spectrum of **compound 3** in D<sub>2</sub>O (acetonitrile int.)



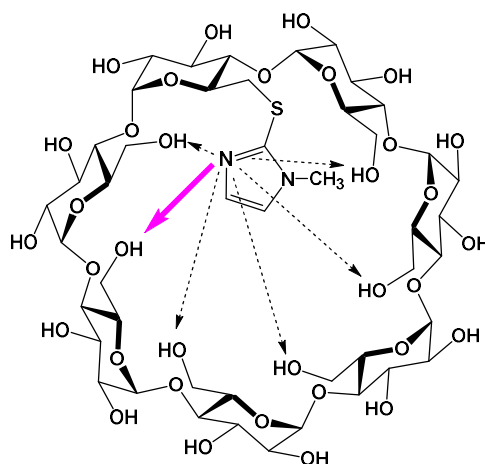
### 1-3 6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\beta$ -CD を用いたベクトル選択的スルホン化法の開発

6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\beta$ -CD とスルホン化剤との反応を様々な条件下で検討し、逆相 HPLC を用いて反応の進行を追跡した (Fig. 1-19, 1-21, 1-23)。その結果、リン酸緩衝液 (100 mM, pH 8.0) / DMF = 4:1 の割合の溶媒中において、6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\beta$ -CD (200 mg, 0.16 mmol) と *p*-Toluenesulfonyl Chloride (31 mg, 0.16 mmol) とを室温条件下で攪拌すると、反応が進行し、単一の化合物が生成することが確認された (Fig. 1-19)。逆相カラムで分離精製すると、C6 位を一箇所トシル化した生成物 (収率: 23 %, TOF-MS :  $m/z$  = 1408 (M+23) ) を得る事ができ、未反応の原料を回収することもできた (収率: 65 %, TOF-MS :  $m/z$  = 1254 (M+23) ) , Fig. 1-20)。更に、*p*-Toluenesulfonyl Chloride の量を 6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\beta$ -CD に対して 5 等量まで増加させても位置異性体は生じず、38 % の収率で生成物を得る事ができた。

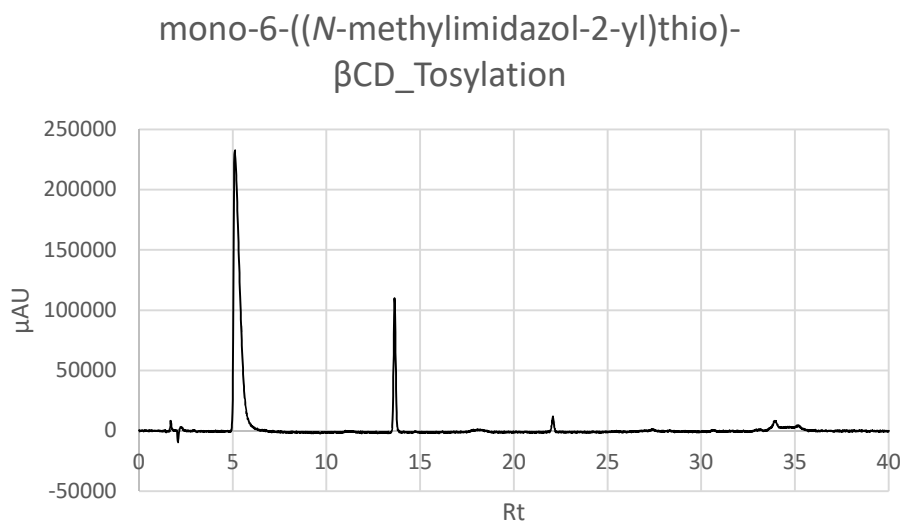


2-Naphthalenesulfonyl Chloride を用いた場合でも、*p*-Toluenesulfonyl Chloride を用いた場合と同様の結果が得られ、単一の化合物 (収率: 40 %, TOF-MS :  $m/z$  = 1444 (M+23) ) と未反応の原料 (収率: 50 %, TOF-MS :  $m/z$  = 1254 (M+23) ) を回収することができた (Fig. 1-21, Fig. 1-22)。その一方、2-Mesitylenesulfonyl Chloride を用いた場合、反応は進みにくく、逆相 HPLC にて主に 2 種の生成物ピークが観測された (Fig. 1-23, Fig. 1-24)。

スルホニル化剤が6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\beta$ -CD に対しランダムに反応すれば、位置異性体が生じるため、逆相 HPLC にて複数種のピークが観測されると推測できる。しかし、結果として *p*-Toluenesulfonyl Chloride もしくは 2-Naphthalenesulfonyl Chloride を用いた場合、生成物ピークは 1 種のみが確認された (Fig. 1-19, 1-21)。これは、6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\beta$ -CD のイミダゾリル基がスルホニル化を触媒するに際し、天然酵素の様な選択性をもって、CD 誘導体の特定位置の OH 基に対しスルホニル基を転位させたことを示唆する。



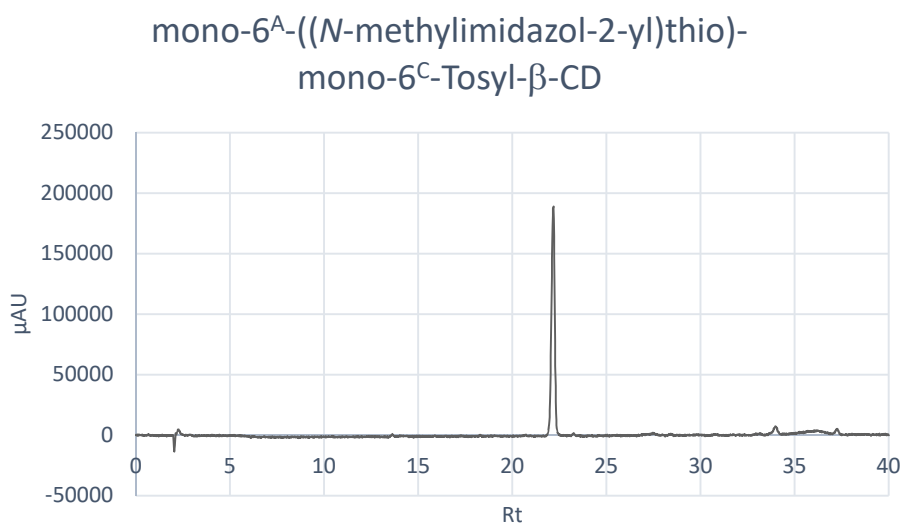
この知見は、CD に対し特定の二箇所を異なる官能基へ変換する効率的な手法の開発に大いに役立つ。よって、反応機構について考察するために、得られた化合物の詳細な構造を解析することとした。



**Fig. 1-19** Reversed phase HPLC analysis of the mixture obtained by the reaction of **compound 2** with *p*-Toluenesulfonyl Chloride.

Column: Wakosil 5C<sub>18</sub>-MS-II (ø 4.6 × 150 mm)

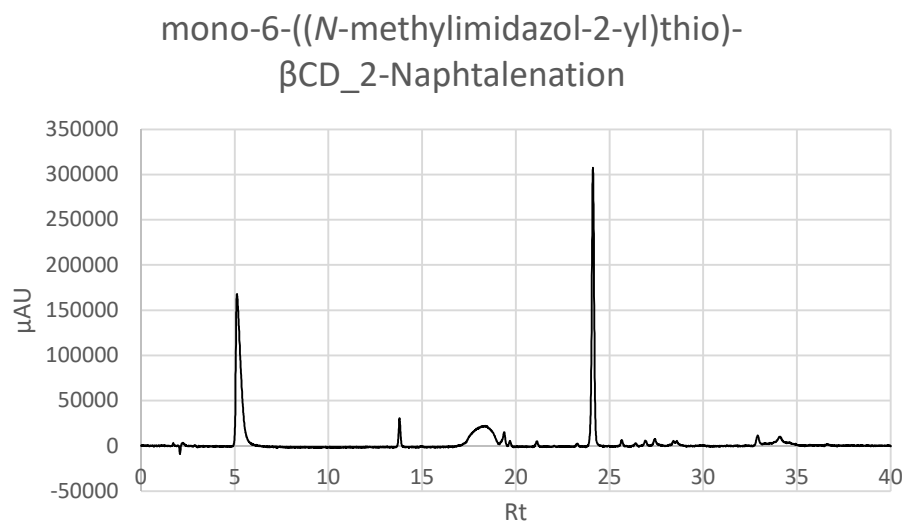
Gradient: 0~50 %aq. MeCN, Flow Rate: 1.0 mL / min, Wavelength: 250 nm



**Fig. 1-20** Reversed phase HPLC analysis of the **compound 4**.

Column: Wakosil 5C<sub>18</sub>-MS-II (ø 4.6 × 150 mm)

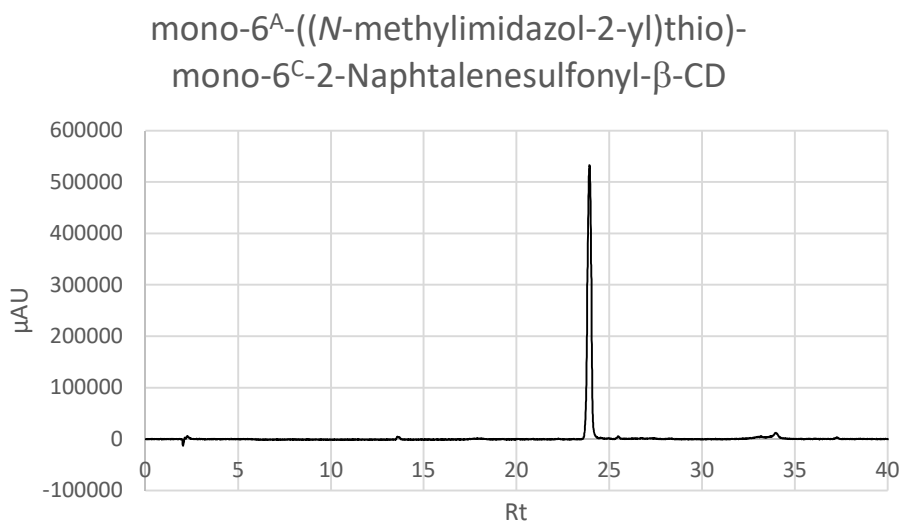
Gradient: 0~50 %aq. MeCN, Flow Rate: 1.0 mL / min, Wavelength: 250 nm



**Fig. 1-21** Reversed phase HPLC analysis of the mixture obtained by the reaction of **compound 2** with 2-Naphthalenesulfonyl Chloride.

Column: Wakosil 5C<sub>18</sub>-MS-II (ø 4.6 × 150 mm)

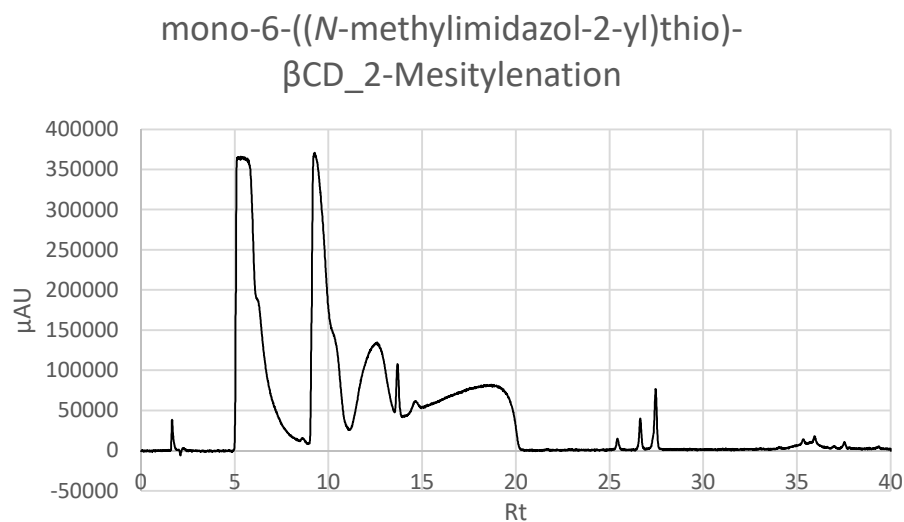
Gradient: 0~50 %aq. MeCN, Flow Rate: 1.0 mL / min, Wavelength: 250 nm



**Fig. 1-22** Reversed phase HPLC analysis of the **compound 5**.

Column: Wakosil 5C<sub>18</sub>-MS-II (ø 4.6 × 150 mm)

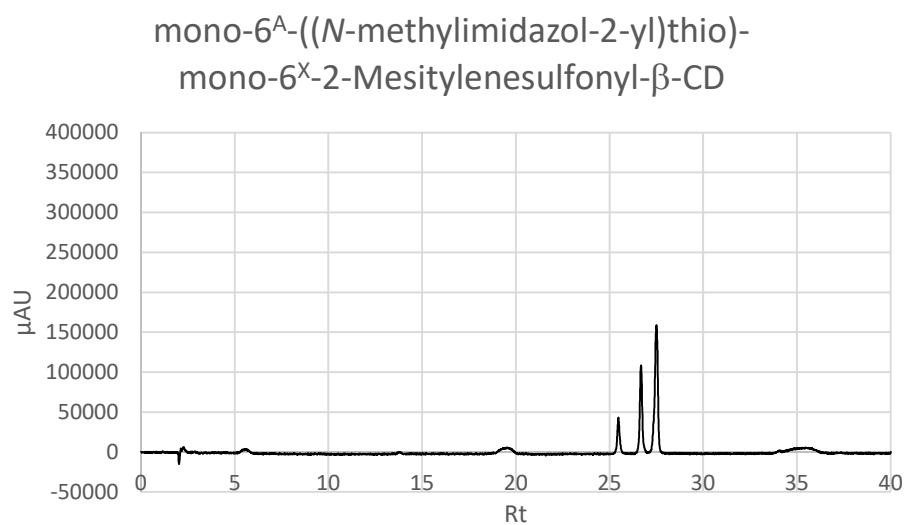
Gradient: 0~50 %aq. MeCN, Flow Rate: 1.0 mL / min, Wavelength: 250 nm



**Fig. 1-23** Reversed phase HPLC analysis of the mixture obtained by the reaction of **compound 2** with 2-Mesitylenesulfonyl Chloride.

Column: Wakosil 5C<sub>18</sub>-MS-II (ø 4.6 × 150 mm)

Gradient: 0~50 %aq. MeCN, Flow Rate: 1.0 mL / min, Wavelength: 250 nm



**Fig. 1-24** Reversed phase HPLC analysis of the **compound 6**.

Column: Wakosil 5C<sub>18</sub>-MS-II (ø 4.6 × 150 mm)

Gradient: 0~50 %aq. MeCN, Flow Rate: 1.0 mL / min, Wavelength: 250 nm

#### 1-4 mono-6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>C</sup>-Tosyl-β-CD の糖鎖配列解析

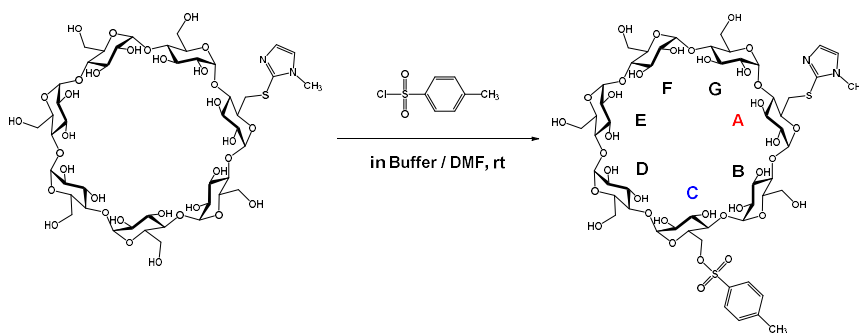
TOF-MS では、mono-6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>X</sup>-Tosyl-β-CD の分子イオンと思われるピーク ( $m/z = 1408$ ,  $M+23$ ) が確認された。これにより原料である mono-6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-β-CD に対し、トシル基が 1 つ導入されている事が示唆される。

得られた化合物 mono-6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>X</sup>-Tosyl-β-CD の <sup>1</sup>H-NMR は 6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-β-CD とは明らかに異なるケミカルシフトパターンが示され、 $\delta$  7.5 ppm 付近にトシル基由来の芳香族環が確認できる (Fig 1-27)。このトシル基由来のプロトンと β-CD 誘導体のイミダゾリル基由来プロトンの積分比が 2:1 であった。これは、TOF-MS の結果と同じく、トシル基が CD 誘導体に対し 1 つ導入されたことを強く示唆する。

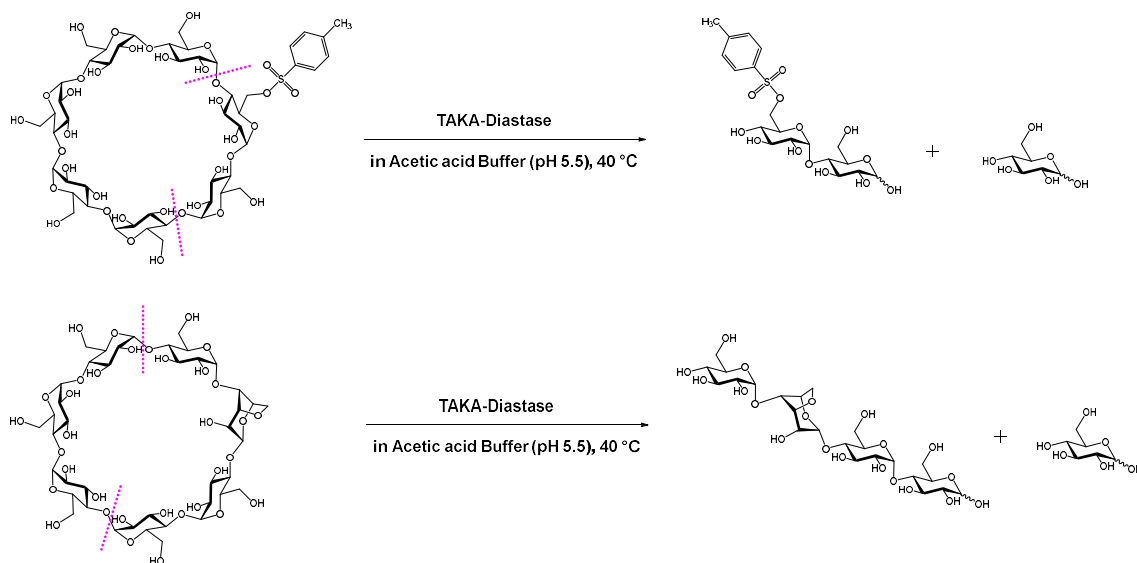
次に、<sup>13</sup>C-NMR において、 $\delta$  102, 81.8, 73-71, 60 ppm 付近の強いシグナル群は、β-CD の骨格を表している (Fig 1-28)。それらの強いシグナルの近くに修飾糖由来のシグナルも観測されている。また、トシル基の芳香族環由来のシグナルが  $\delta$  145, 132, 139, 128 ppm 付近に観測された。DEPT135 からは  $\delta$  71 ppm 付近に CD 誘導体の修飾糖由来 C6 位由来と思われるメチレン炭素が確認され、通常の C6 位メチレン炭素よりも 10 ppm ほど低磁場シフトしている (Fig 1-29)。この結果は、トシル基が β-CD 誘導体の C6 位に修飾していることを示唆する。

以上の結果より、トシル基は 6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-β-CD (2) の C6 位に修飾していると考えられるが、(*N*-methylimidazol-2-yl)thio 基が修飾されたグルコースから数えてどの位置の C6 位に導入されているかは判断できない。よって、得られた mono-6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>X</sup>-Tosyl-β-CD の糖鎖配列の解析を試みた。

その結果、トシル基は 6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-β-CD (2) の 6<sup>C</sup>-OH 基に導入されている事が確認され、得られた化合物が mono-6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>C</sup>-Tosyl-β-CD (4) であると判明した。糖鎖配列解析の詳細については、次に述べる。



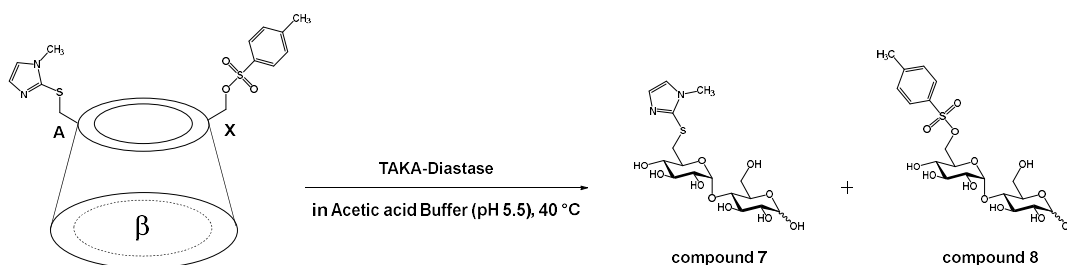
TAKA-Diastase はグルコピラノシドが $\alpha(1\rightarrow4)$ 結合で連結した多糖を不規則に加水分解し、主にグルコースやマルトースを与える $\alpha$ -アミラーゼの一種である。TAKA-Diastase を CD に作用させると、CD のグリコシド結合を非選択的に切断し、最終的にグルコースおよびマルトースにまで加水分解する。その一方、置換基を導入した CD を TAKA-Diastase によって加水分解すると、その置換基の種類と修飾位置によって選択的にマルトオリゴ糖が生成される<sup>2-7</sup>。



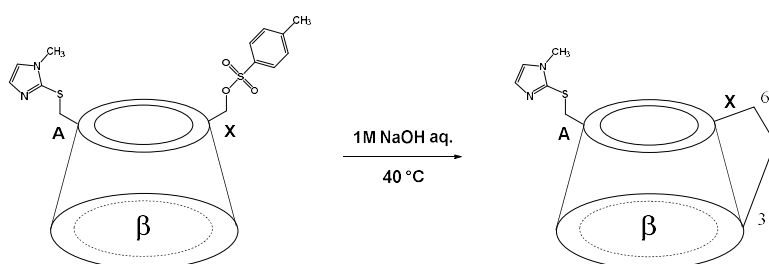
この修飾 CD に対する TAKA-Diastase の選択的加水分解反応を利用することで、mono-6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>X</sup>-Tosyl- $\beta$ -CD における糖鎖配列の解析を試みた。

TAKA-Diastase による加水分解反応の溶媒には、塩化カルシウムを 0.02 M 含む酢酸緩衝液 (0.2 M, pH 5.5) を使用した。この緩衝液に mono-6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>X</sup>-Tosyl-β-CD (150 mg, 0.11 mmol) を溶かし、TAKA-Diastase を加え、40°C で 24 時間 攪拌した。反応を TOF-MS にて追跡し原料の消失を確認した後、90°C で 30 分加熱して TAKA-Diastase を失活させた。反応液中の失活酵素をろ別して、得られた溶液を逆相カラムで分離精製したところ、生成物を 2 種類得る事ができた (収量: 42.7 mg, TOF-MS : *m/z* = 461 (M+23) ; 収量: 46.5 mg, TOF-MS : *m/z* = 519 (M+23))。

この 2 種類の生成物の構造を解析したところ、(*N*-methylimidazol-2-yl)thio 基を有する compound (7) と トシル基を有する compound (8) であることが判明した (Fig. 1-39, 1-40)。この結果は、mono-6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>X</sup>-Tosyl-β-CD の (*N*-methylimidazol-2-yl)thio 基と トシル基が隣接糖残基に位置しない事を意味する。

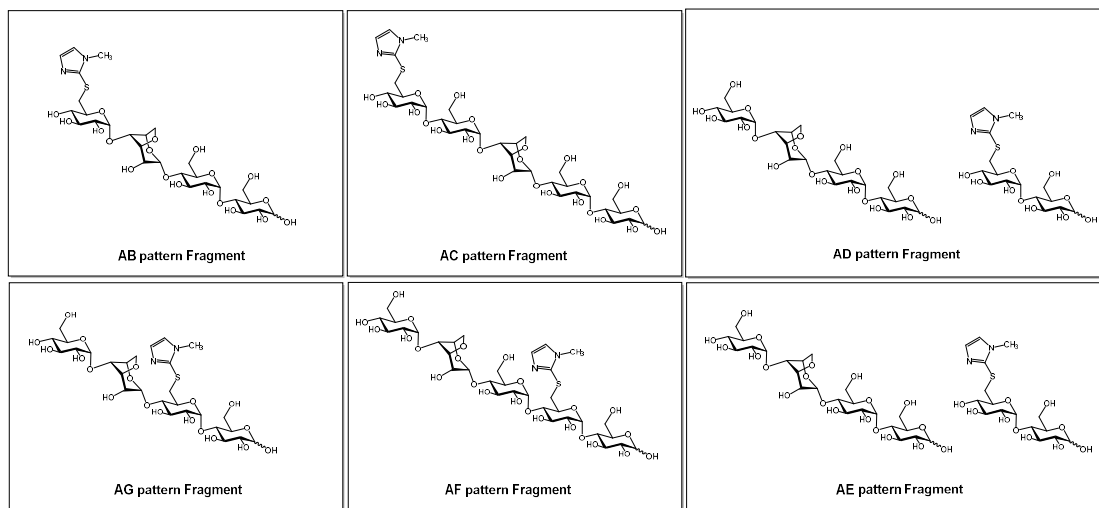


先の結果を受け、TAKA-Diastase の加水分解作用の選択性を変化させるために、6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>X</sup>-Tosyl-β-CD を 6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-3<sup>X</sup>, 6<sup>X</sup>-anhydro-β-CD へ変換した。





mono-3,6-anhydro- $\beta$ -CD は、mono-6-Tosyl- $\beta$ -CD とは異なる位置で TAKA-Diastase による加水分解作用を受ける。この知見に基づき、6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-3<sup>X</sup>,6<sup>X</sup>-anhydro- $\beta$ -CD を TAKA-Diastase によって分解した際に得られる糖鎖の予想配列を以下に示す。



先の結果から、(*N*-methylimidazol-2-yl)thio 基とトシル基が隣接糖残基に位置しないことが判明しているため、AB pattern 体および、AG pattern 体由来の糖鎖は発生しないと推測できる。AC pattern 体および AF pattern 体であれば、5 糖から成る糖鎖が得られると予想され、糖鎖の非還元末端に (*N*-methylimidazol-2-yl)thio 基が導入されているか否かを調査することで区別ができる。その一方、AD pattern 体および AE pattern 体であれば、2 糖から成る糖鎖と 4 糖から成る糖鎖が得られると推測できるが、発生する糖鎖が同じ構造であるため、本手法では区別が困難であると予想した。

6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-3<sup>X</sup>,6<sup>X</sup>-anhydro-β-CD に対し、TAKA-Diastase を作用させたところ、5 糖から成る糖鎖が得られた。この糖鎖の構造を各種 NMR と質量分析を用いて解析した。その結果、得られた糖鎖は、6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-3<sup>C</sup>,6<sup>C</sup>-anhydro-β-CD (9) 由来である事が判明した。

<sup>1</sup>H-NMR では、 $\delta$  5.3-5.0 ppm 付近にアノマー位の $\alpha$ -水素由来プロトンが 5 種類確認できる。また、アノマー位の $\beta$ -水素由来のプロトンが  $\delta$  4.52 ppm に 1 種類観測されている (Fig. 1-47)。これらの結果は、糖鎖が 5 糖から成る事を示唆している。非還元末端の C4 位由来のプロトンは、 $\delta$  3.29 ppm のトリプレットとして観測されている。C<sup>13</sup>-NMR および DEPT135 によって、 $\delta$  36.22 ppm のシグナルが (*N*-methylimidazol-2-yl)thio 基が導入されたグルコース残基 C6 メチレン炭素であること、 $\delta$  69.40 ppm のシグナルが 3,6-anhydro-グルコース残基 C6 メチレン炭素由来である判明した (Fig. 1-47, 1-48)。C<sup>13</sup>-<sup>1</sup>H HMBC において、<sup>1</sup>H  $\delta$  3.29 ppm と C<sup>13</sup>  $\delta$  36.22 ppm とがクロスピークを示している (Fig. 1-25, Fig. 1-52)。これは、非還元末端グルコース残基に (*N*-methylimidazol-2-yl)thio 基が導入されている事を意味し、6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-3<sup>C</sup>,6<sup>C</sup>-anhydro-β-CD (9) 由来の糖鎖 (10) であることを強く示唆する。

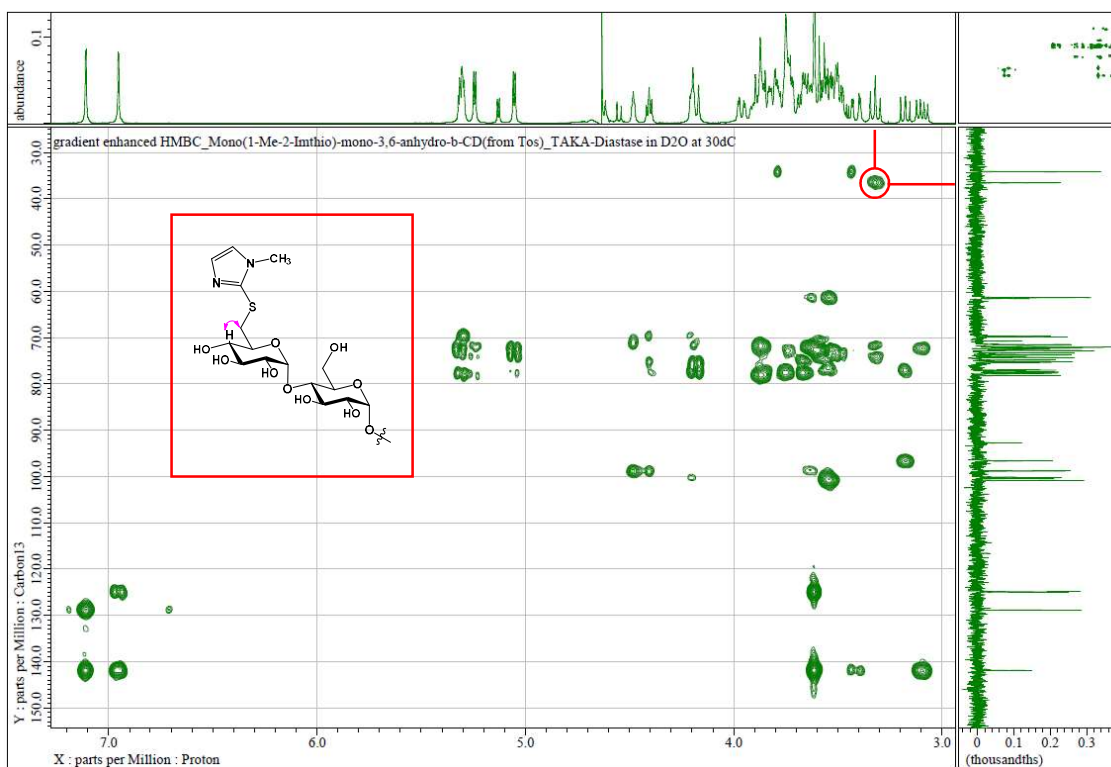


Fig. 1-25 <sup>13</sup>C-<sup>1</sup>H HMQC spectrum of compound 10 in D<sub>2</sub>O (acetonitrile int.)

鎖状化合物の配列解析では、MS/MS 測定を利用することで、生じたフラグメントイオンから配列を解析することが知られている。この手法を利用し、 $6^A$ -((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $3^X$ ,  $6^X$ -anhydro- $\beta$ -CD を TAKA-Diastase によって分解した際に得られた糖鎖に対して糖鎖配列の解析を試みた。

MALDI-TOF-MS では、 $m/z = 929$  が観測されており、予想される 5 糖から成る糖鎖の分子量 (TOF-MS :  $m/z = 929$  (M+23)) と一致している。MS/MS において、 $6^A$ -((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $3^C$ ,  $6^C$ -anhydro- $\beta$ -CD (9) から得られると予想される糖鎖 (10) に特徴的なフラグメントイオンが観測された ( $m/z = 671.5$  (M+23) ,  $297.2$  (M+23))。

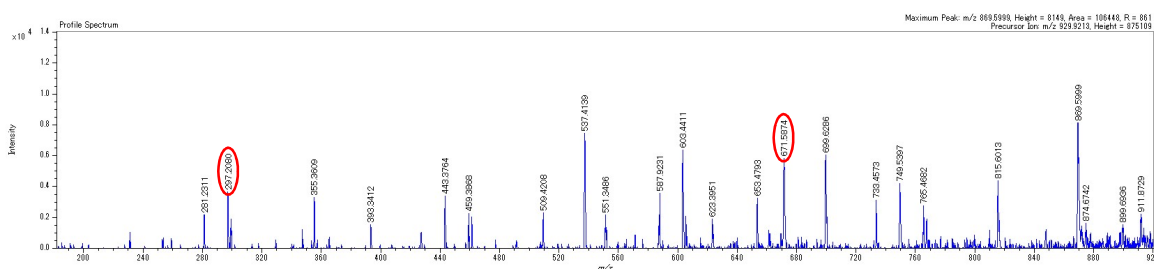
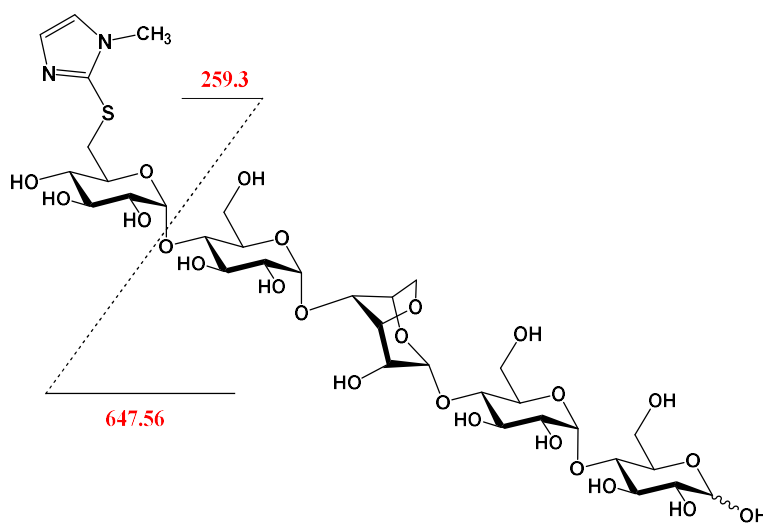
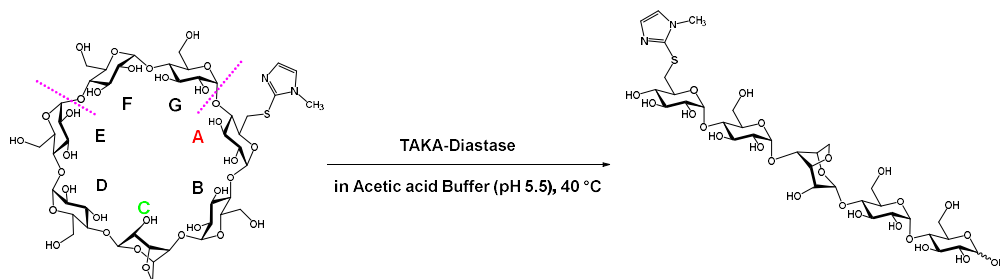


Fig. 1-26 MS/MS spectrum of compound 10

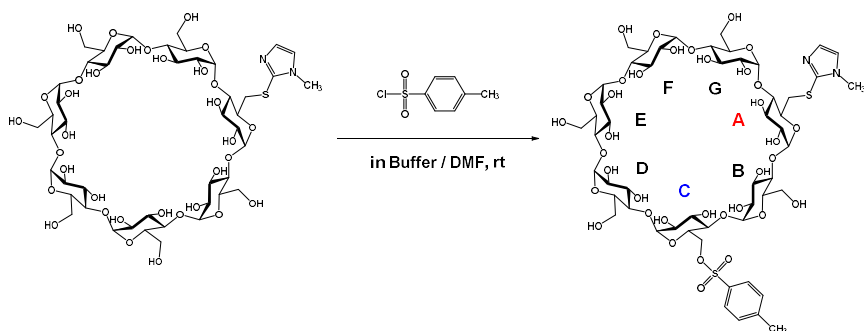


AC pattern Fragment

以上の結果から、TAKA-Diastase によって分解した際に得られた糖鎖(10)は、6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-3<sup>C</sup>, 6<sup>C</sup>-anhydro-β-CD(9)由来であると決定した。

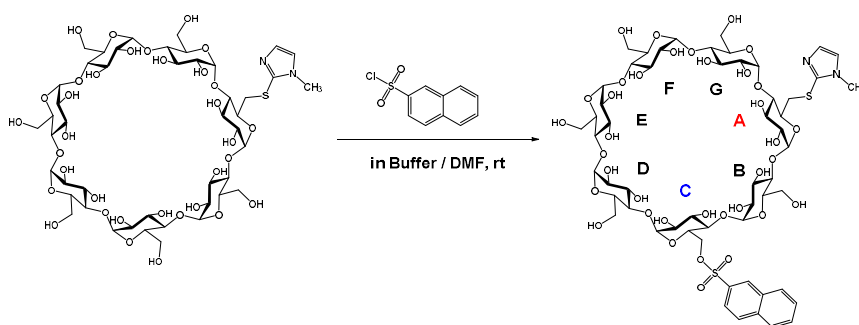


これにより、6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-β-CD と *p*-Toluenesulfonyl Chloride との反応は、位置特異的に CD 誘導体の 6<sup>C</sup>-OH で生じたと判明した。



## 1-5 mono-6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>C</sup>-(2-Naphthalenesulfonyl)-β-CD の糖鎖配列解析

6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>C</sup>-Tosyl-β-CD (4) の糖鎖配列調査と同様の方法で、mono-6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>X</sup>-(2-Naphthalenesulfonyl)-β-CD の糖鎖配列を解析したところ、*p*-Toluenesulfonyl Chloride と同じ結果を得た (Fig. 1-59, 1-60, 1-61, 1-62, 1-63, 1-64)。よって、6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-β-CD と 2-Naphthalenesulfonyl Chloride との反応も、位置特異的に CD 誘導体の 6<sup>C</sup>-OH で生じたと判明した。



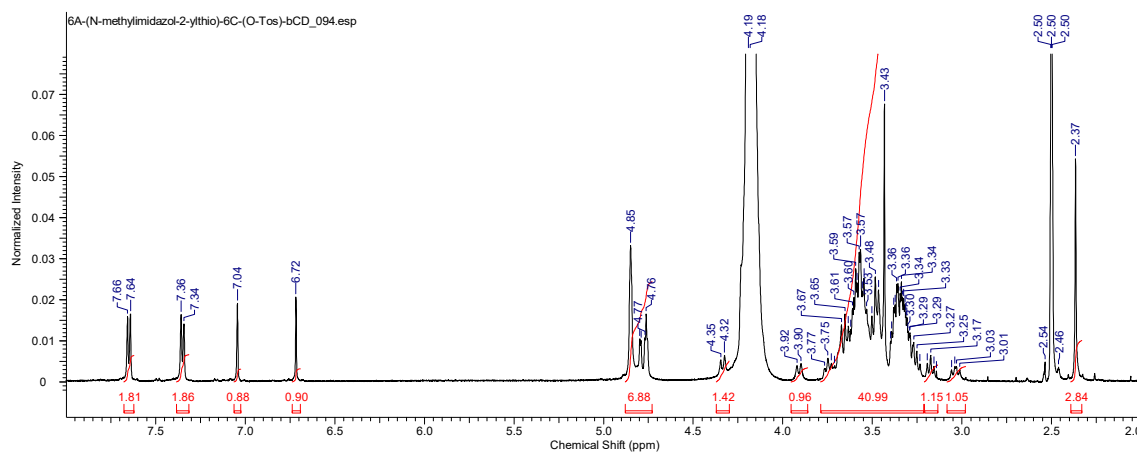


Fig. 1-27  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of compound 4 in  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\text{D}_2\text{O}$  int.)

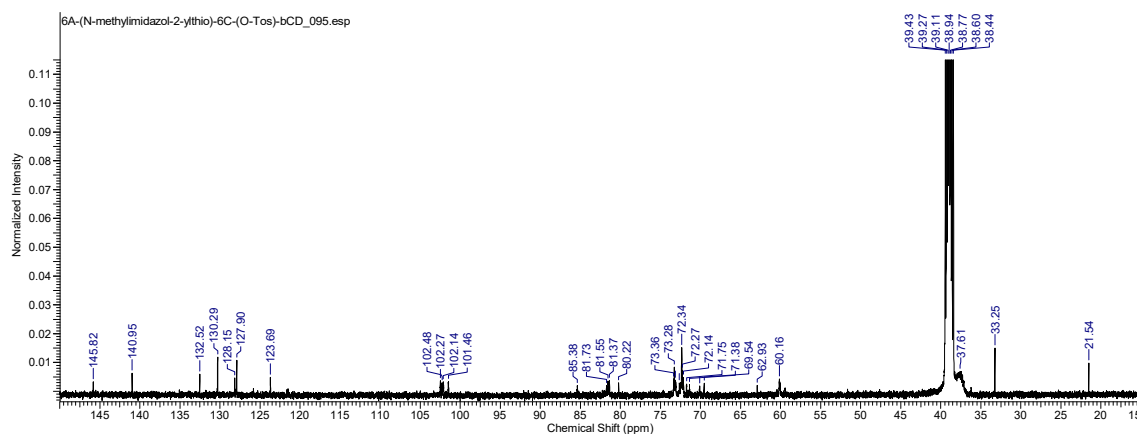


Fig. 1-28  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of compound 4 in  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\text{D}_2\text{O}$  int.)

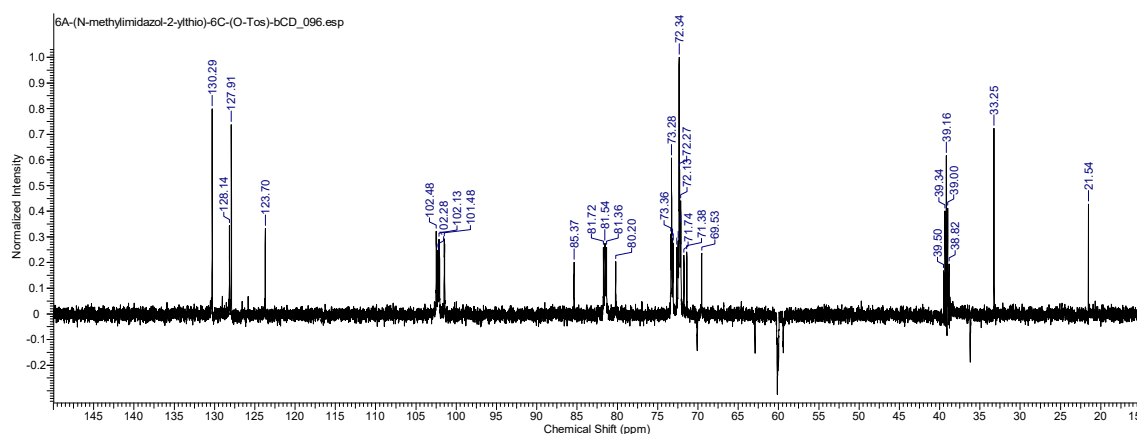


Fig. 1-29  $^{13}\text{C}$ -DEPT135 spectrum of compound 4 in  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\text{D}_2\text{O}$  int.)

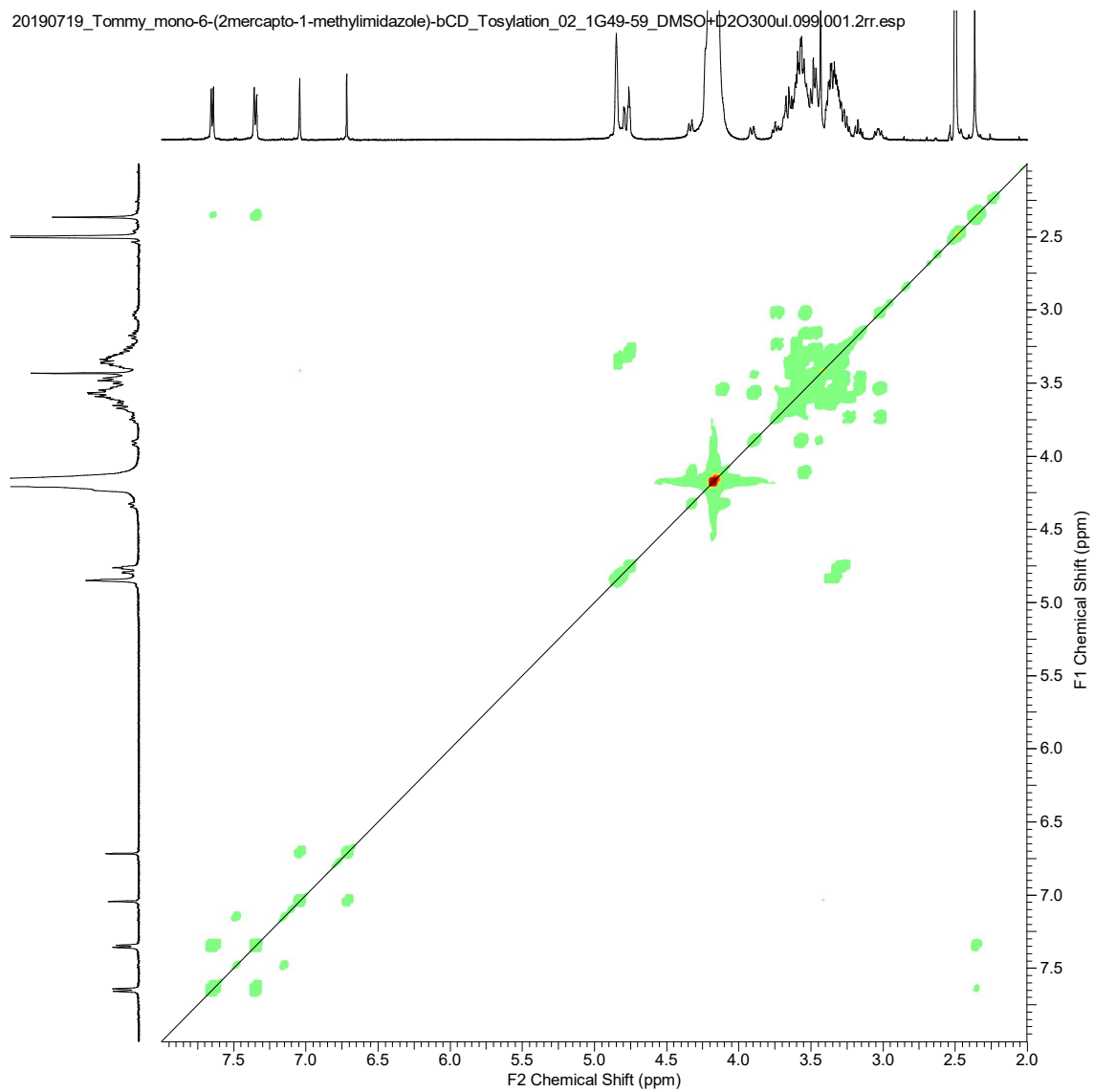


Fig. 1-30  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY spectrum of **compound 4** in  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\text{D}_2\text{O}$  int.)

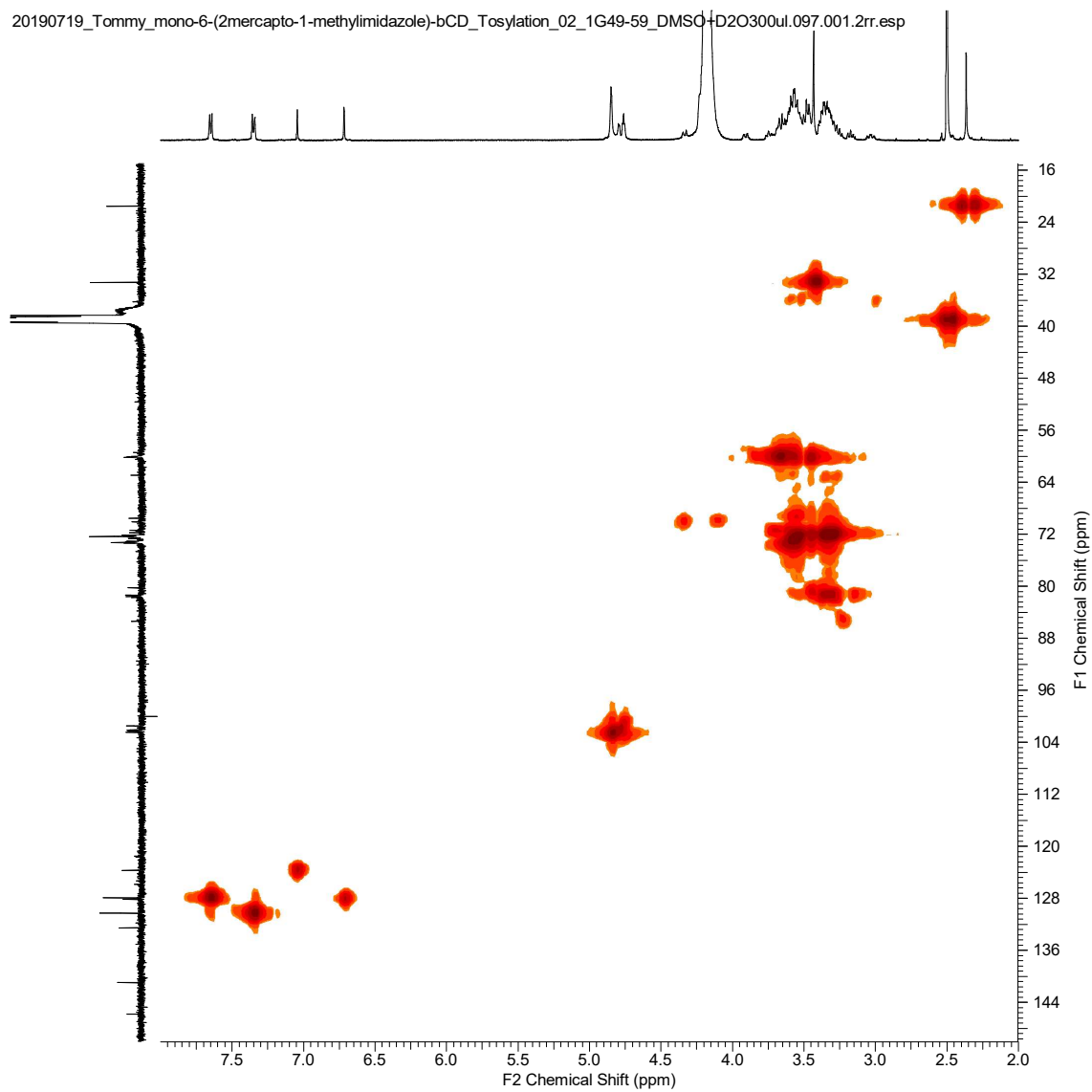


Fig. 1-31  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  HMQC spectrum of **compound 4** in  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\text{D}_2\text{O}$  int.)



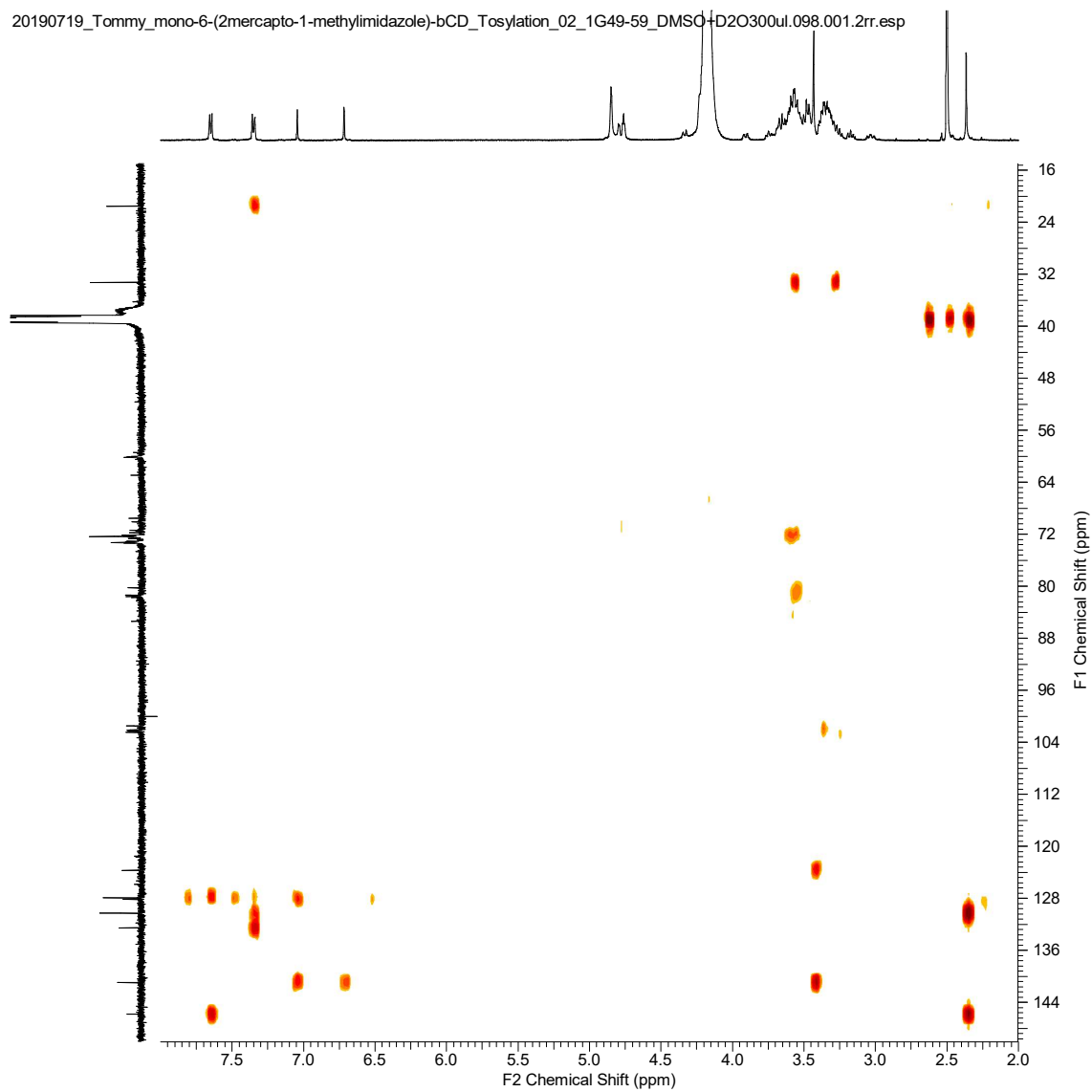


Fig. 1-32  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  HMBC spectrum of **compound 4** in  $\text{DMSO}-d_6$  ( $\text{D}_2\text{O}$  int.)

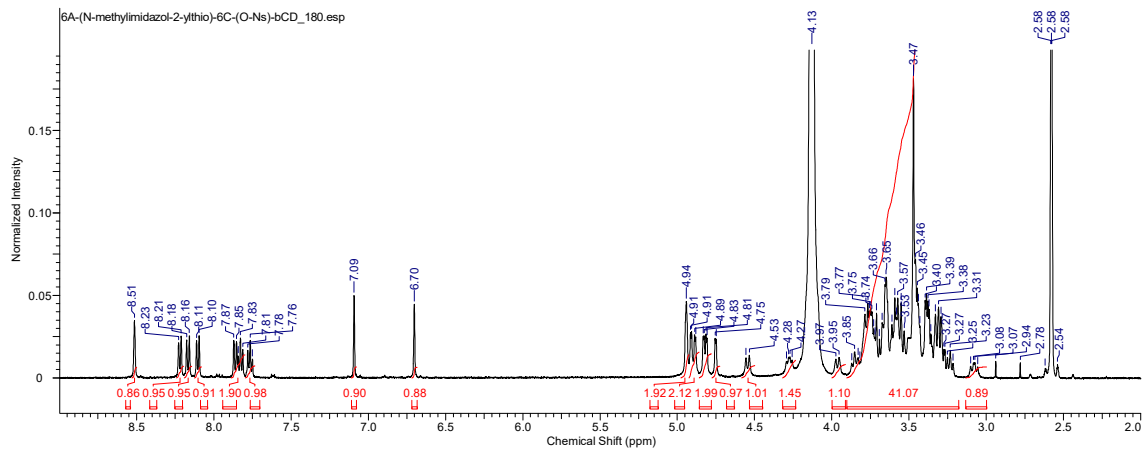


Fig. 1-33  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of compound 5 in  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\text{D}_2\text{O}$  int.)

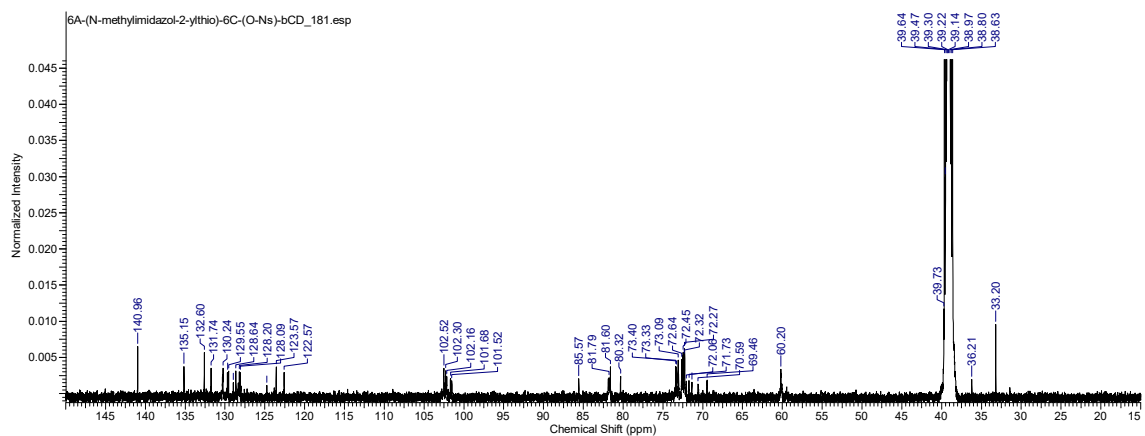


Fig. 1-34  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of compound 5 in  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\text{D}_2\text{O}$  int.)

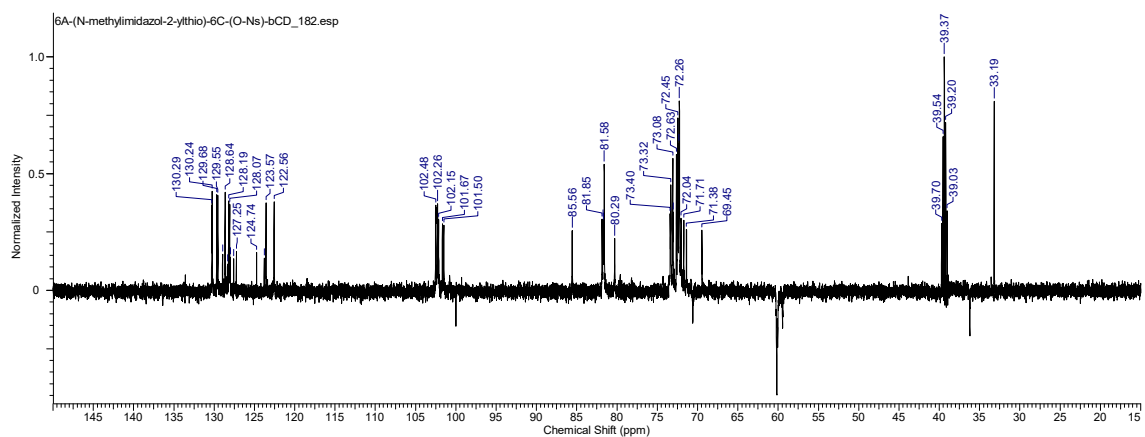


Fig. 1-35  $^{13}\text{C}$ -DEPT135 spectrum of compound 5 in  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\text{D}_2\text{O}$  int.)

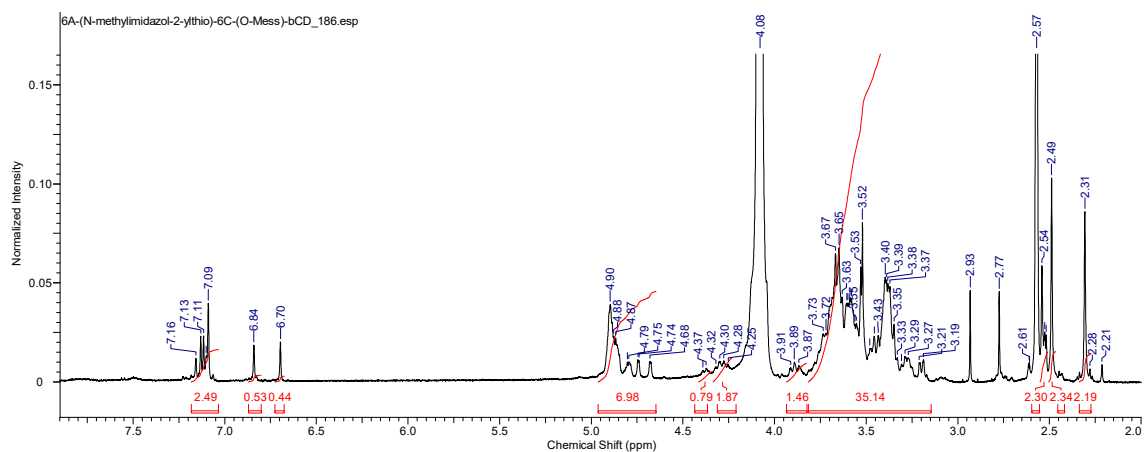


Fig. 1-36  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of compound 6 in  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\text{D}_2\text{O}$  int.)

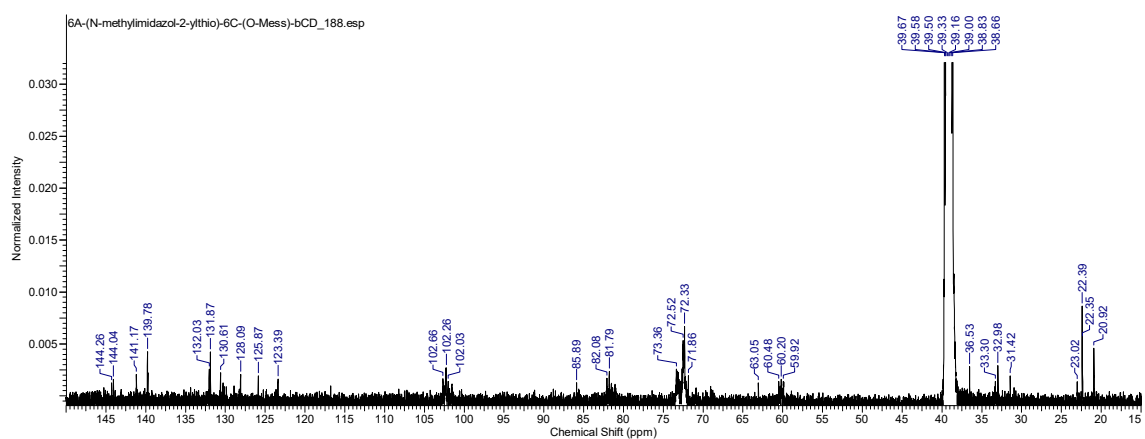


Fig. 1-37  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of compound 6 in  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\text{D}_2\text{O}$  int.)

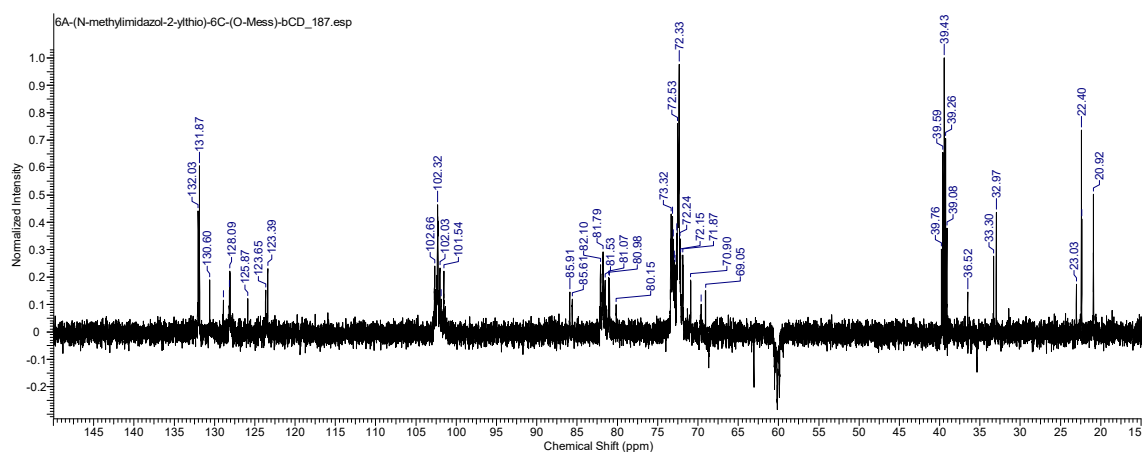


Fig. 1-38  $^{13}\text{C}$ -DEPT135 spectrum of compound 6 in  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\text{D}_2\text{O}$  int.)

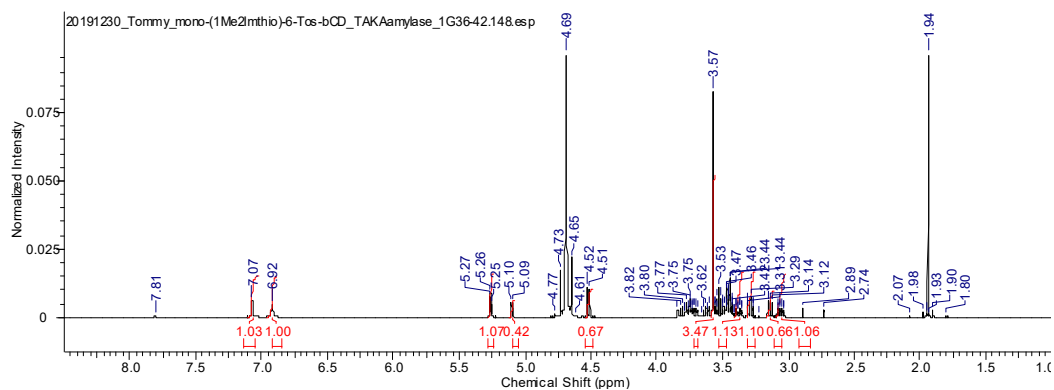


Fig. 1-39  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of **compound 7** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

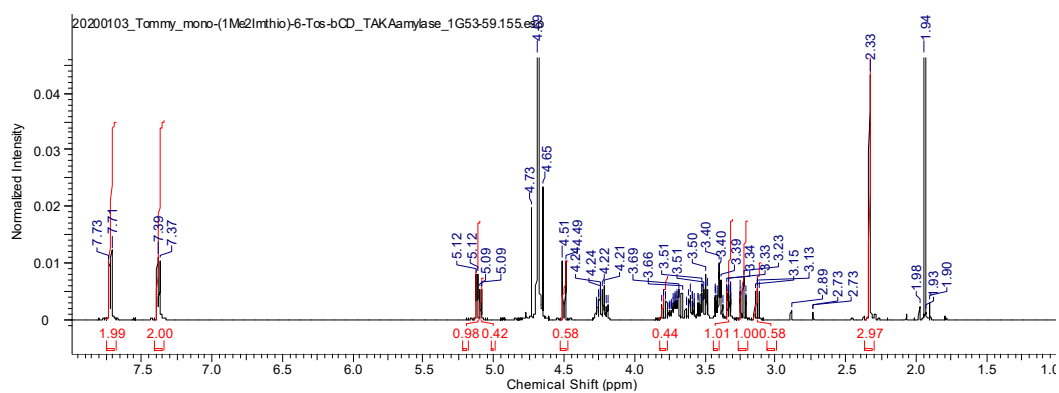


Fig. 1-40  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of **compound 8** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

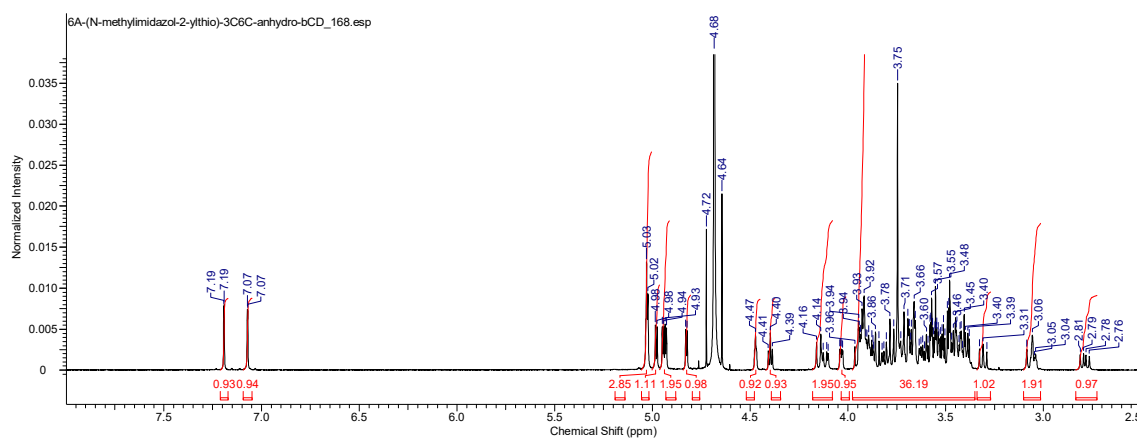


Fig. 1-41  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of **compound 9** from **compound 4** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

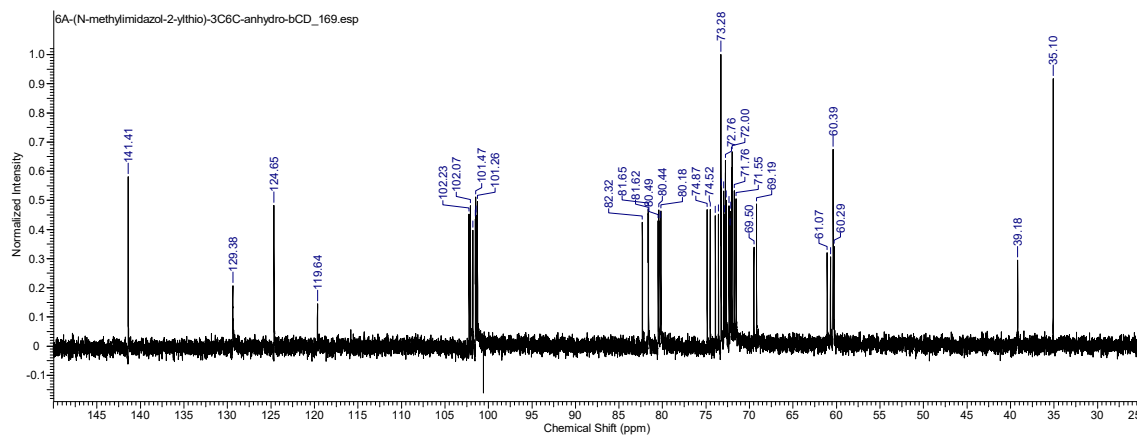


Fig. 1-42  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of **compound 9** from **compound 4** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

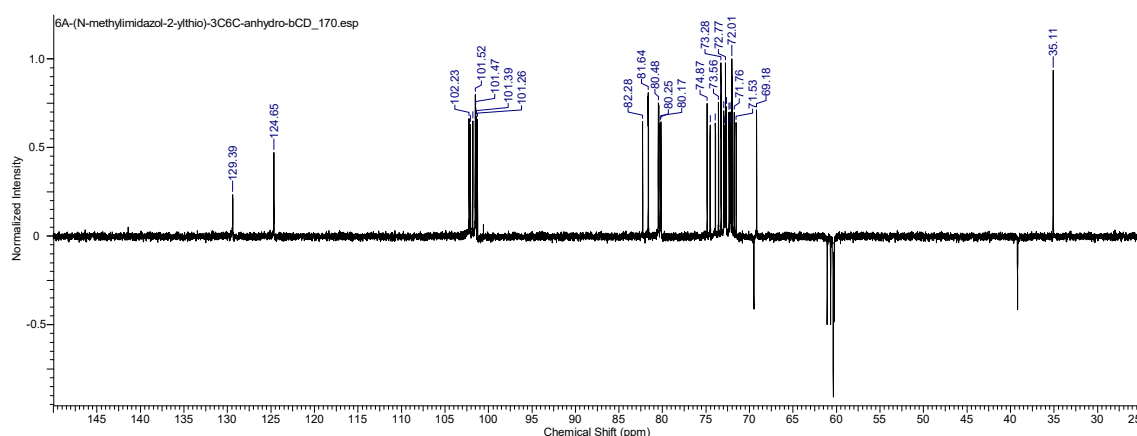


Fig. 1-43  $^{13}\text{C}$ -DEPT135 spectrum of **compound 9** from **compound 4** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

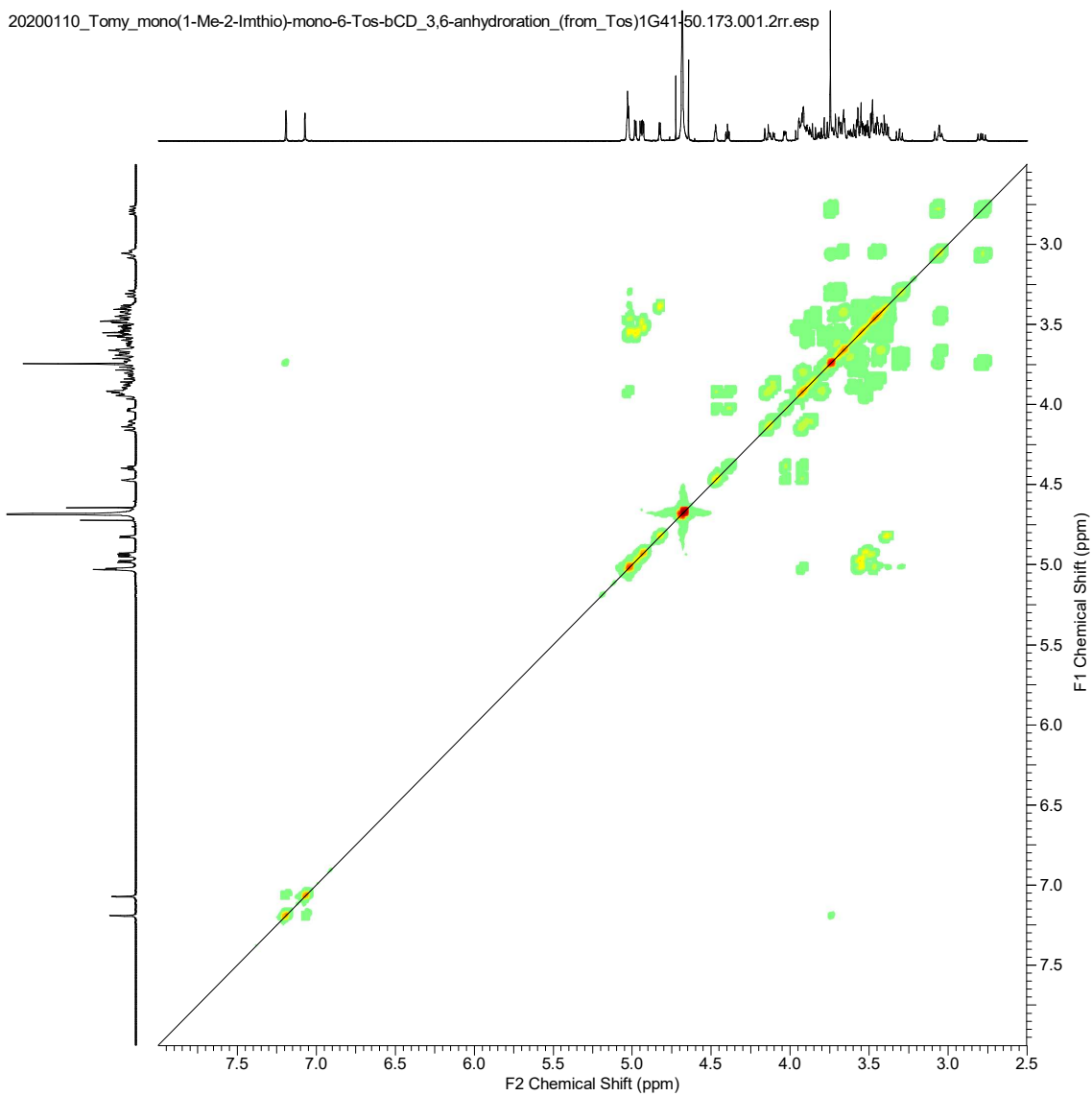


Fig. 1-44  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY spectrum of **compound 9** from **compound 4** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

20200110\_Tomy\_mono(1-Me-2-Imthio)-mono-6-Tos-BCD\_3,6-anhydroration\_(from\_Tos)1G41-50.171.001.2rr.esp

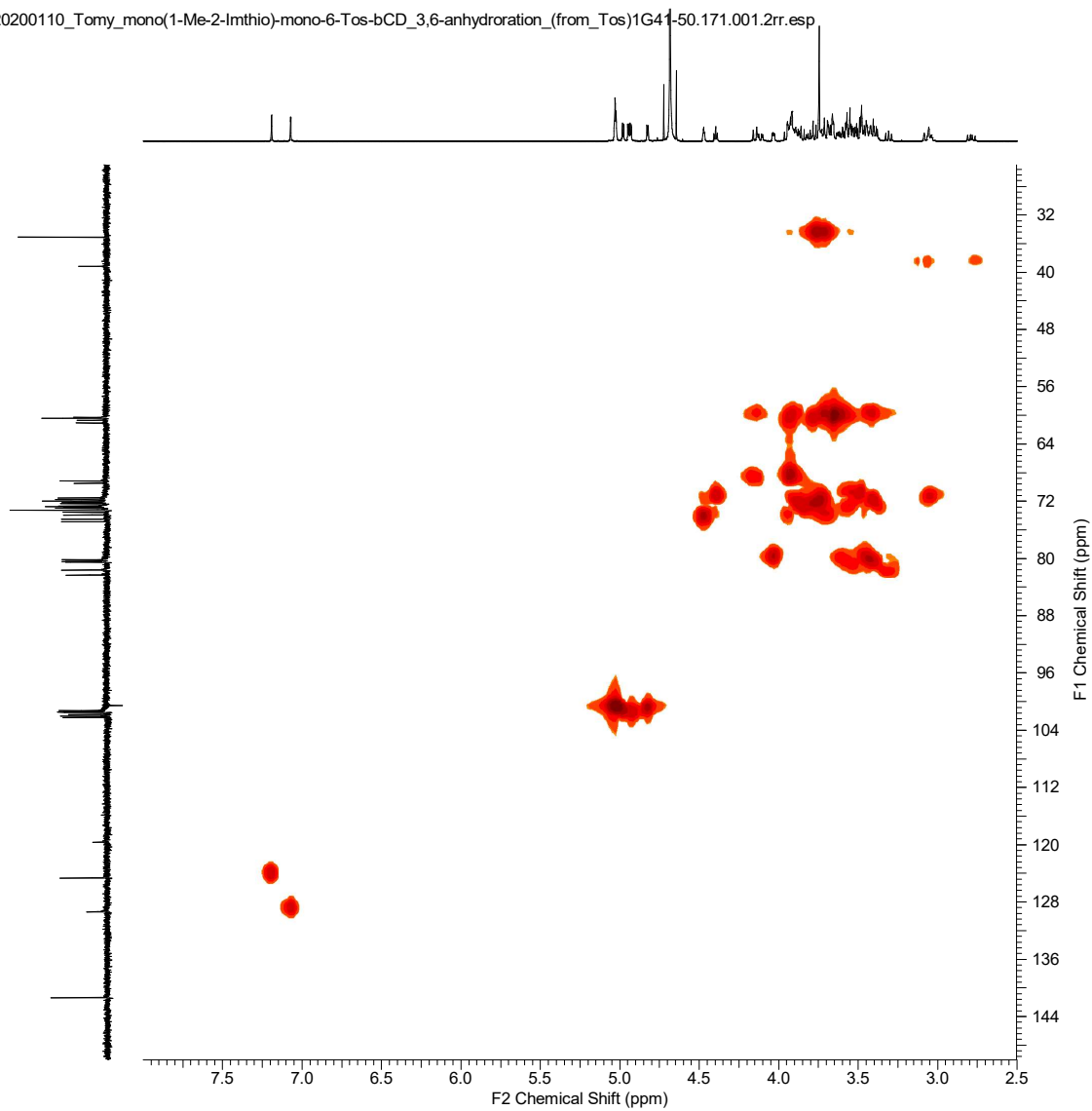


Fig. 1-45  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  HMQC spectrum of **compound 9** from **compound 4** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

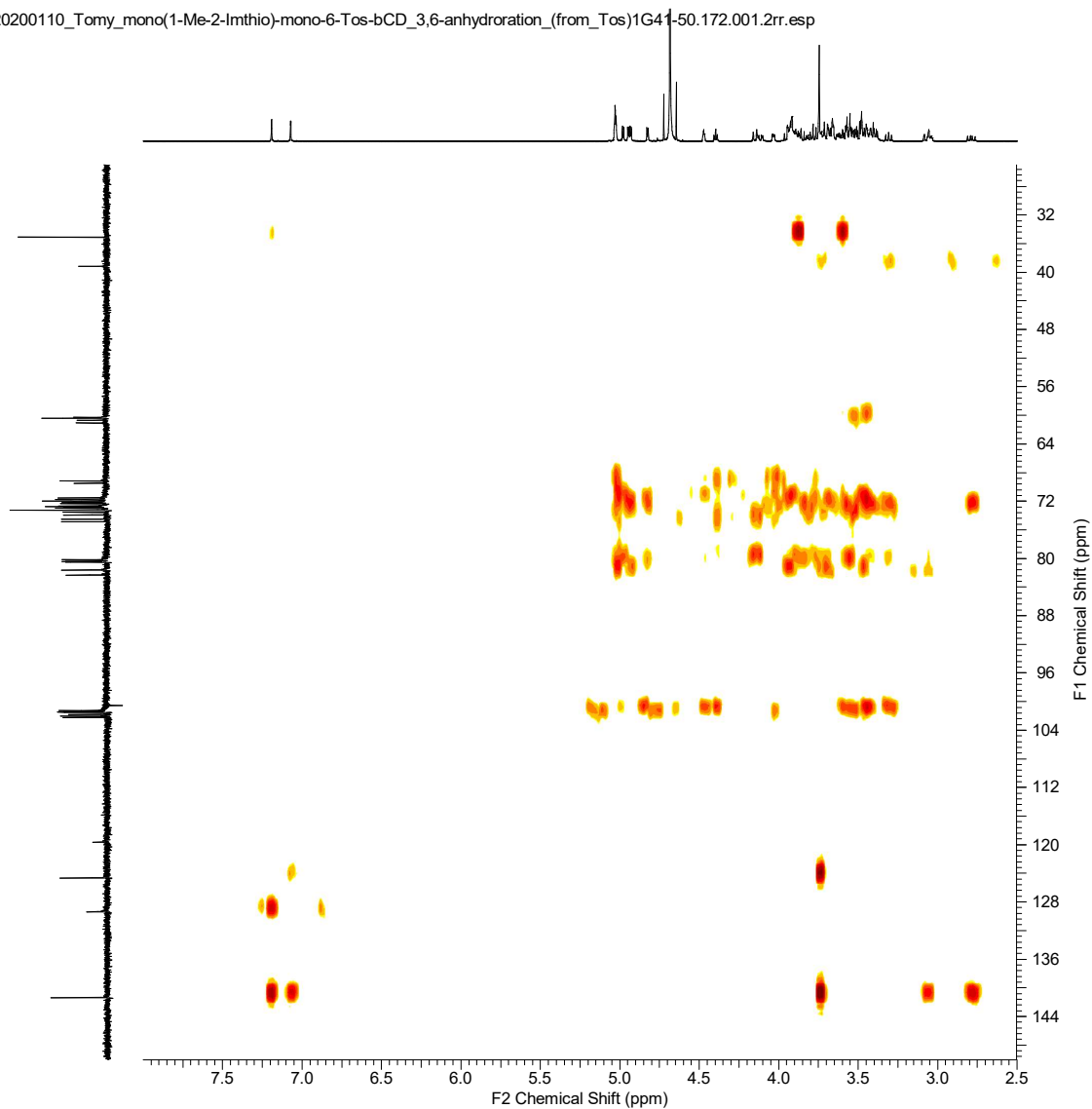


Fig. 1-46 <sup>13</sup>C-<sup>1</sup>H HMBC spectrum of **compound 9** from **compound 4** in D<sub>2</sub>O (acetonitrile int.)



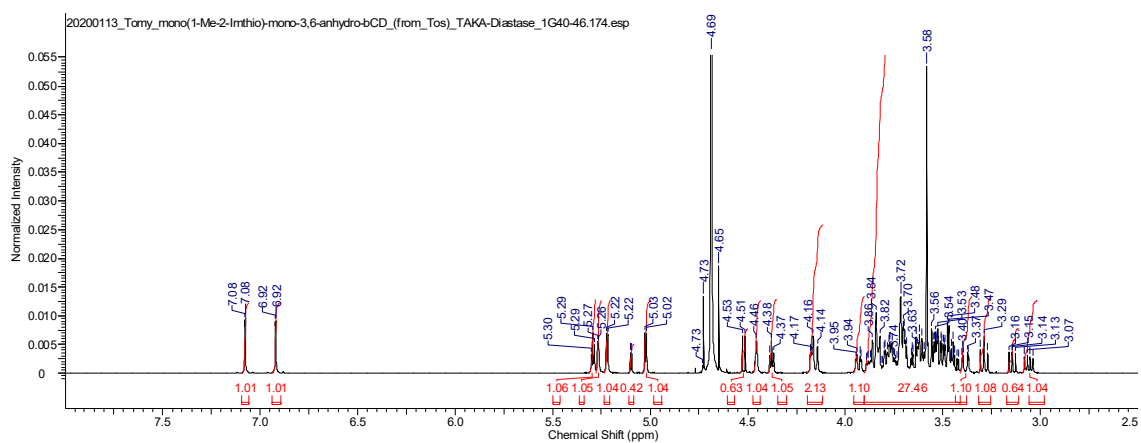


Fig. 1-47  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of compound 10 from compound 4 in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

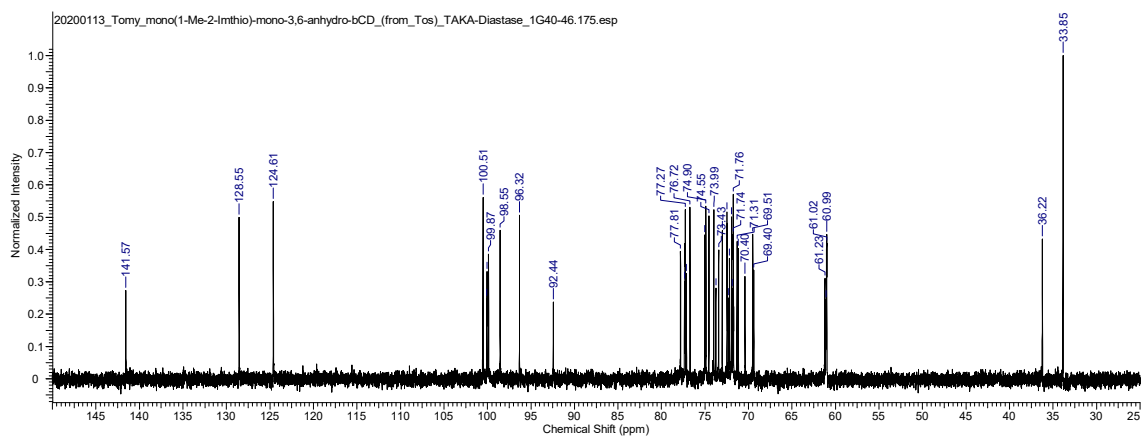


Fig. 1-48  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of compound 10 from compound 4 in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

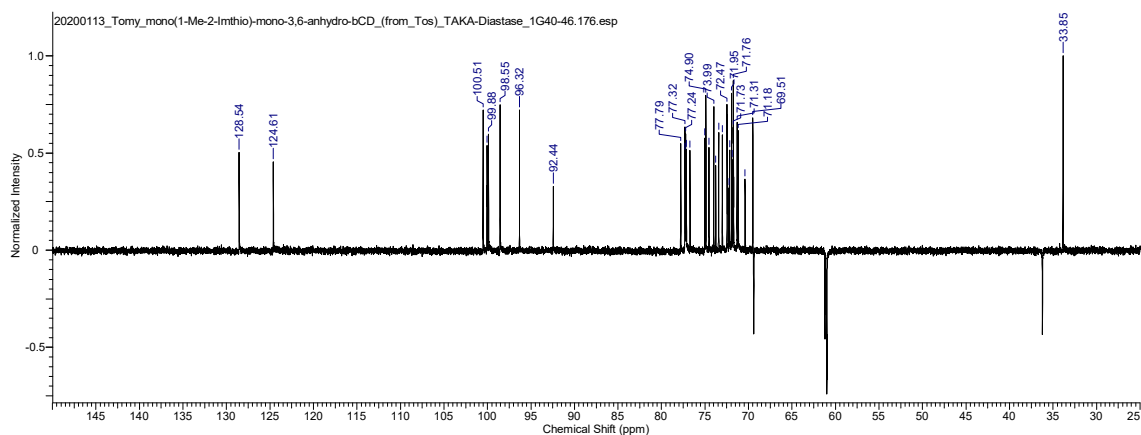


Fig. 1-49  $^{13}\text{C}$ -DEPT135 spectrum of compound 10 from compound 4 in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

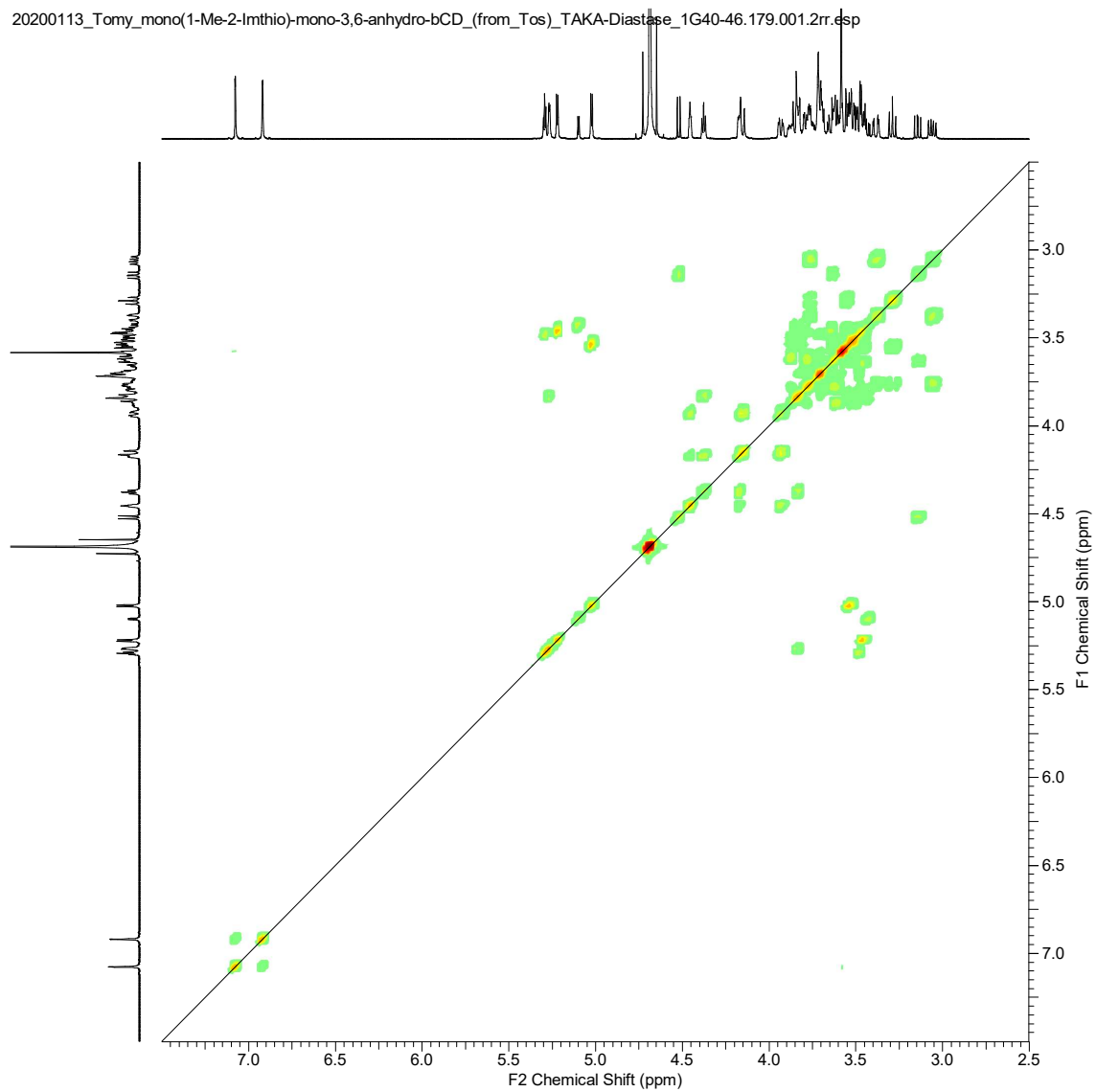


Fig. 1-50  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY spectrum of **compound 10** from **compound 4** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

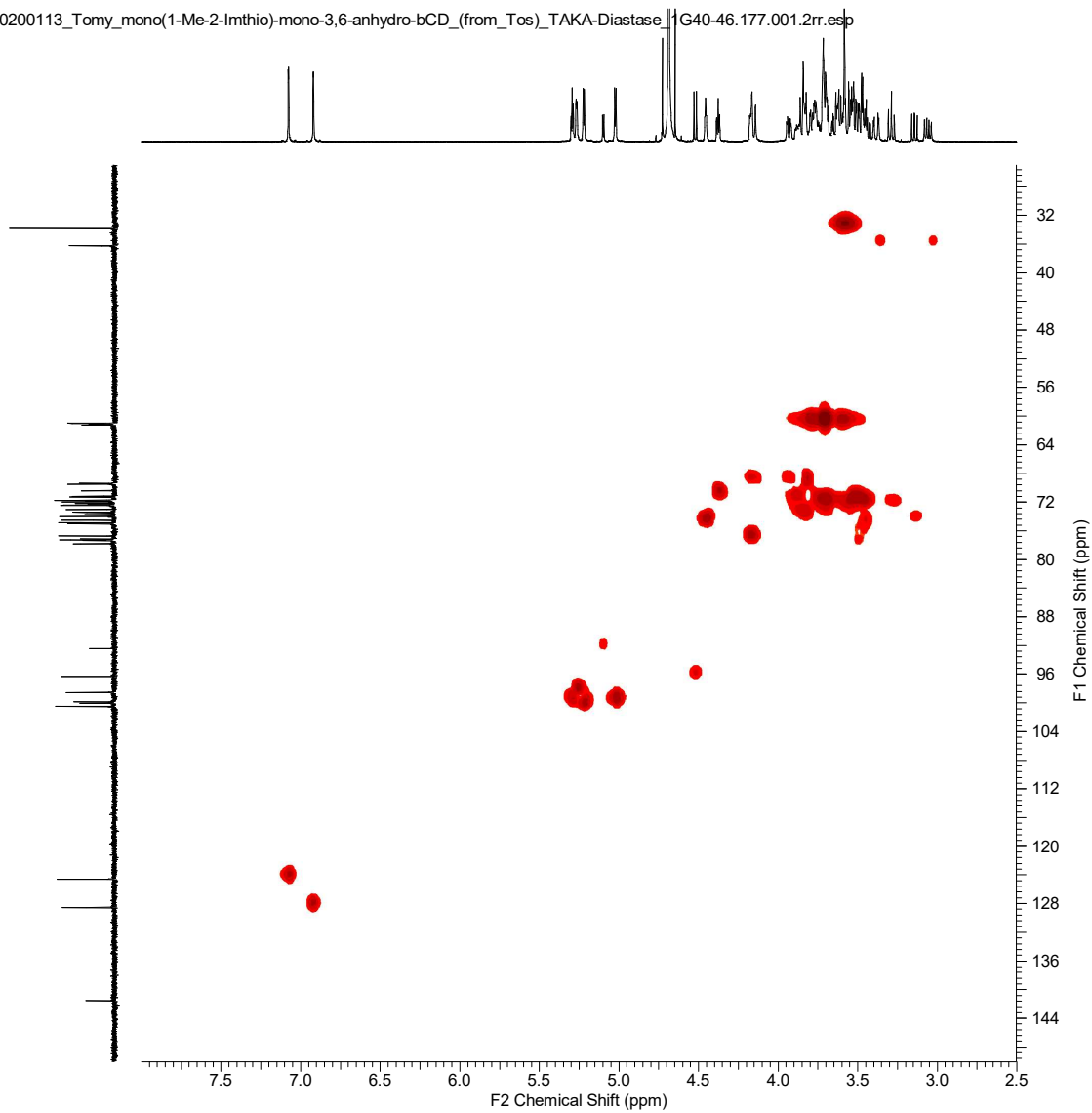


Fig. 1-51 <sup>13</sup>C-<sup>1</sup>H HMQC spectrum of **compound 10** from **compound 4** in D<sub>2</sub>O (acetonitrile int.)

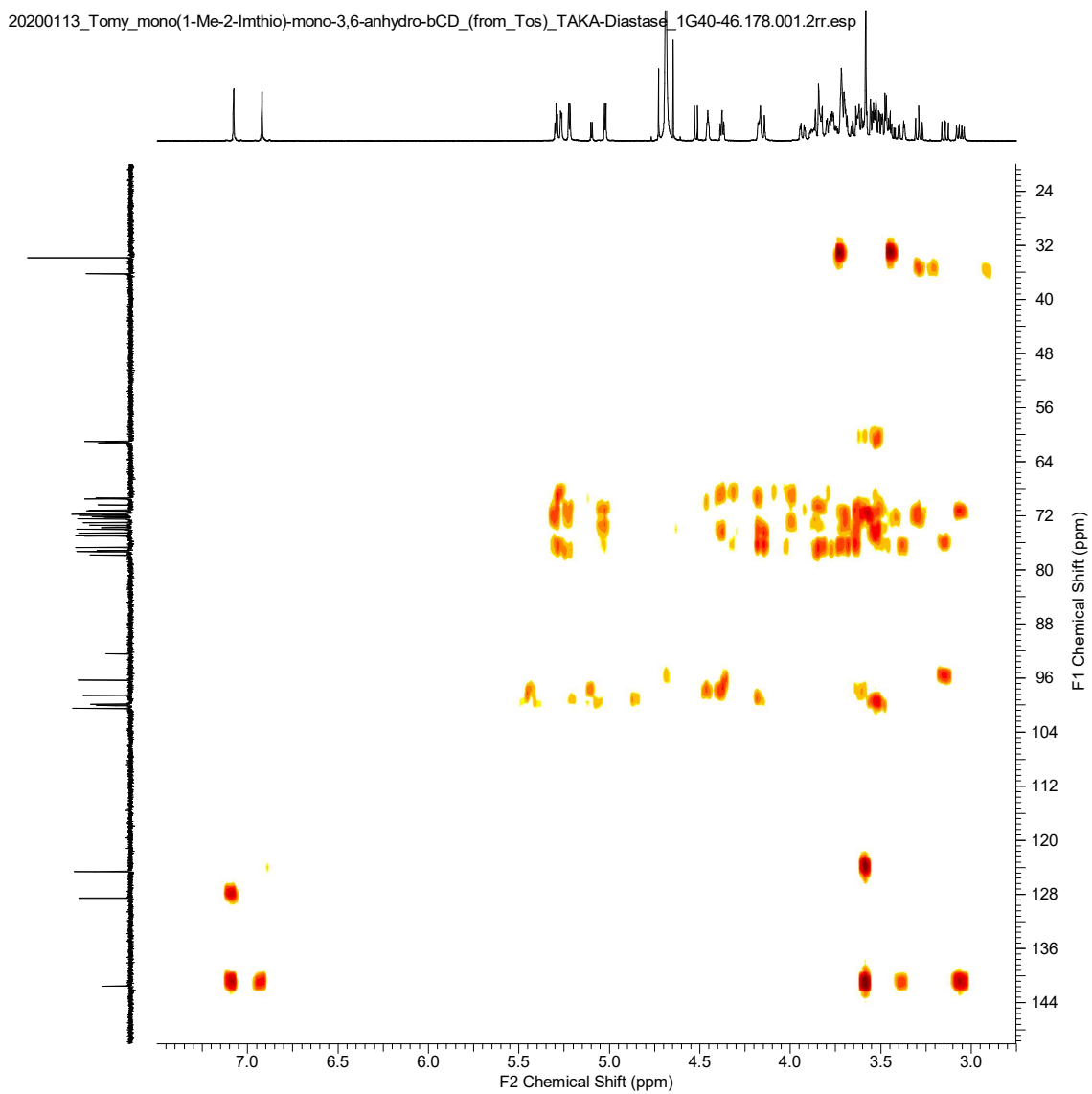


Fig. 1-52  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  HMBC spectrum of **compound 10** from **compound 4** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

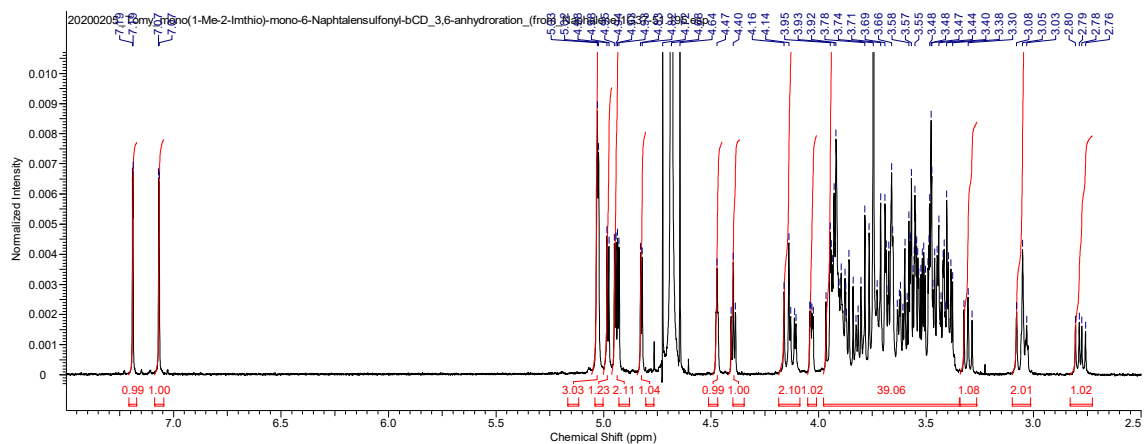


Fig. 1-53  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of compound 9 from compound 5 in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

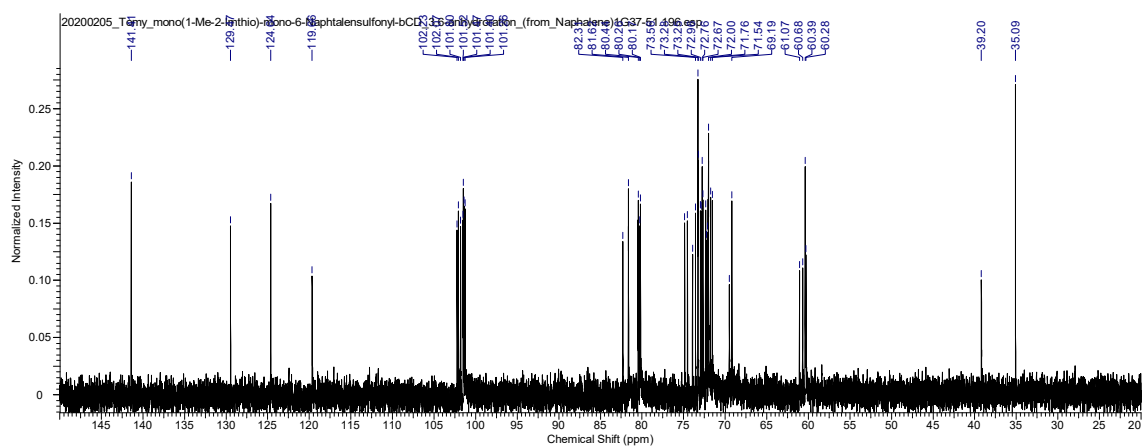
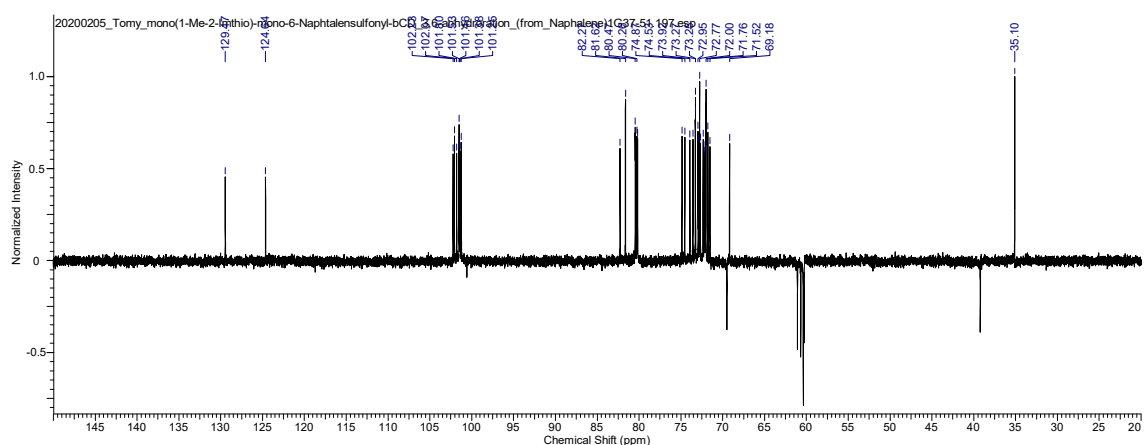


Fig. 1-54  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrum of compound 9 from compound 5 in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)



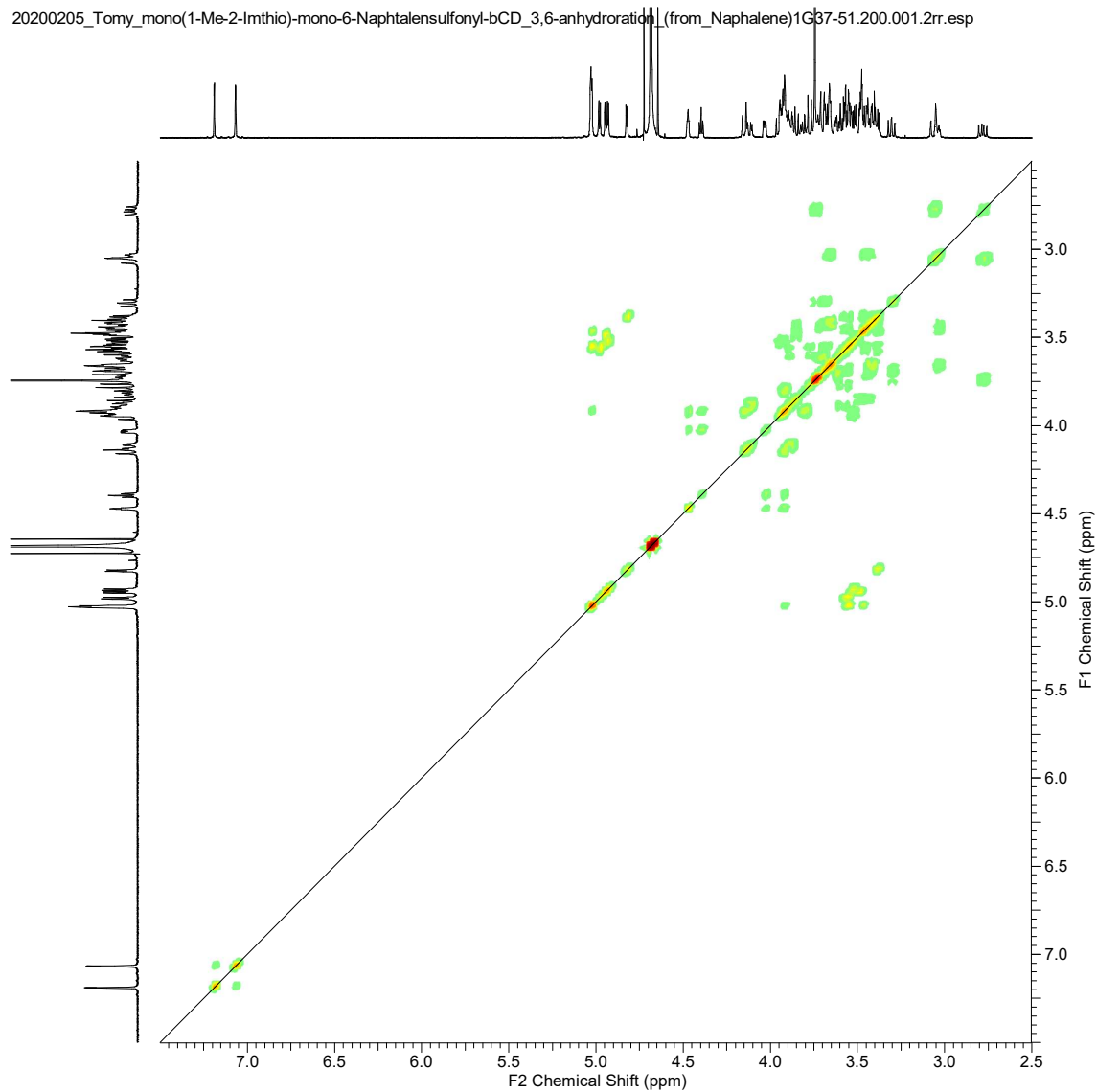


Fig. 1-56  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY spectrum of **compound 9** from **compound 5** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

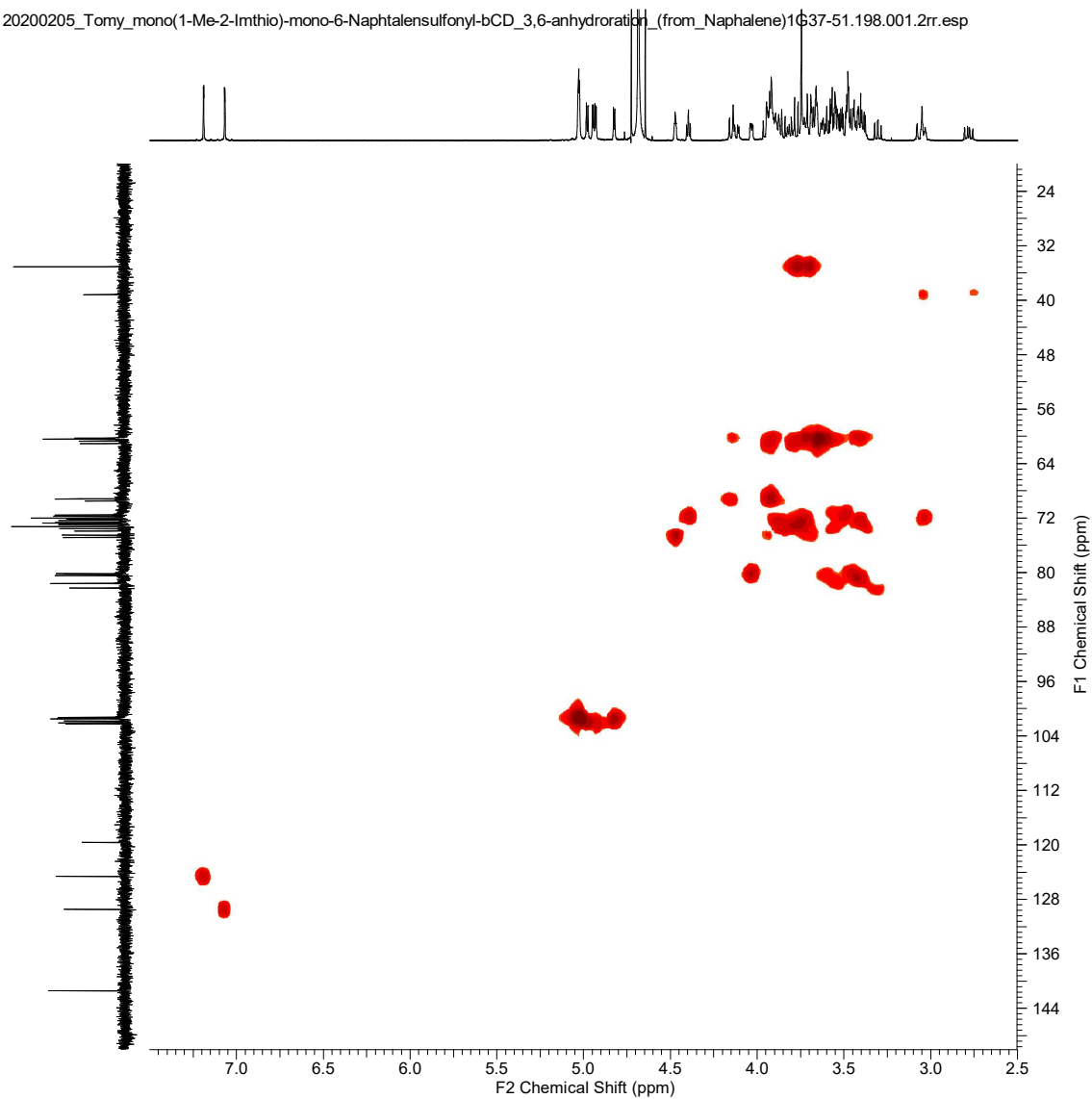


Fig. 1-57  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  HMQC spectrum of **compound 9** from **compound 5** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

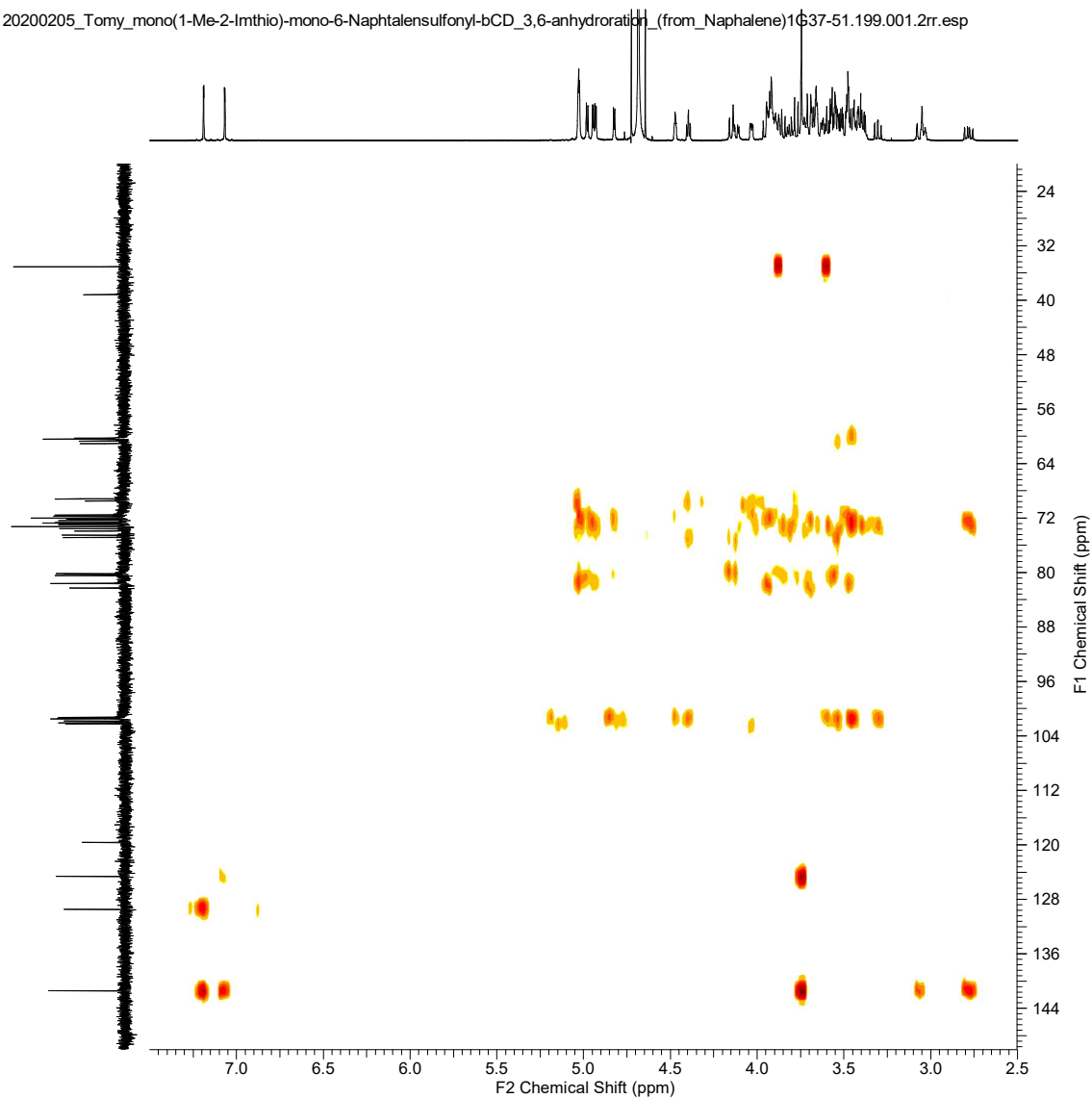


Fig. 1-58  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  HMBC spectrum of **compound 9** from **compound 5** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)



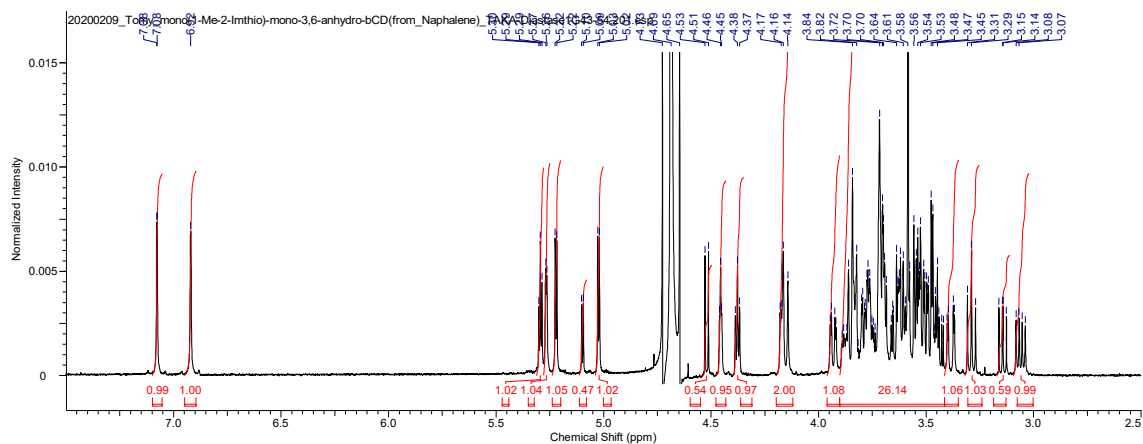


Fig. 1-59  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of **compound 10** from **compound 5** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

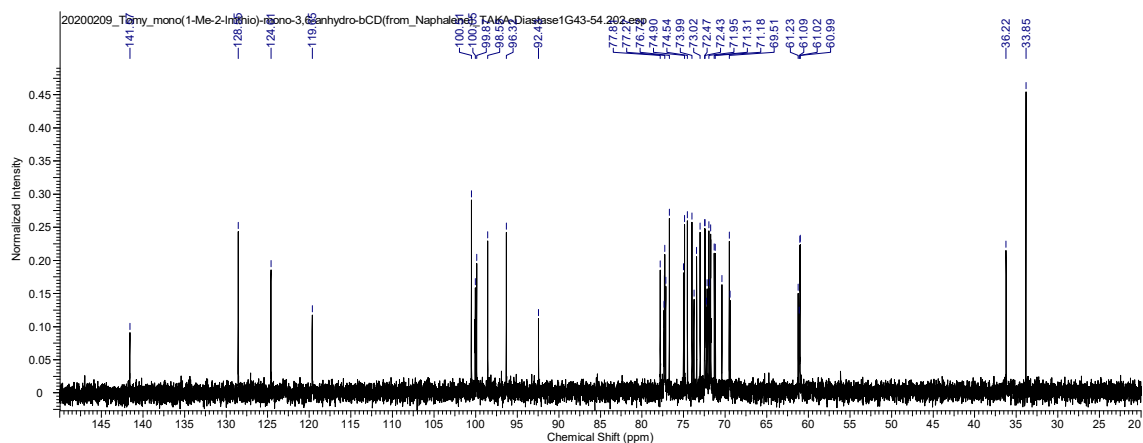


Fig. 1-60  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of **compound 10** from **compound 5** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

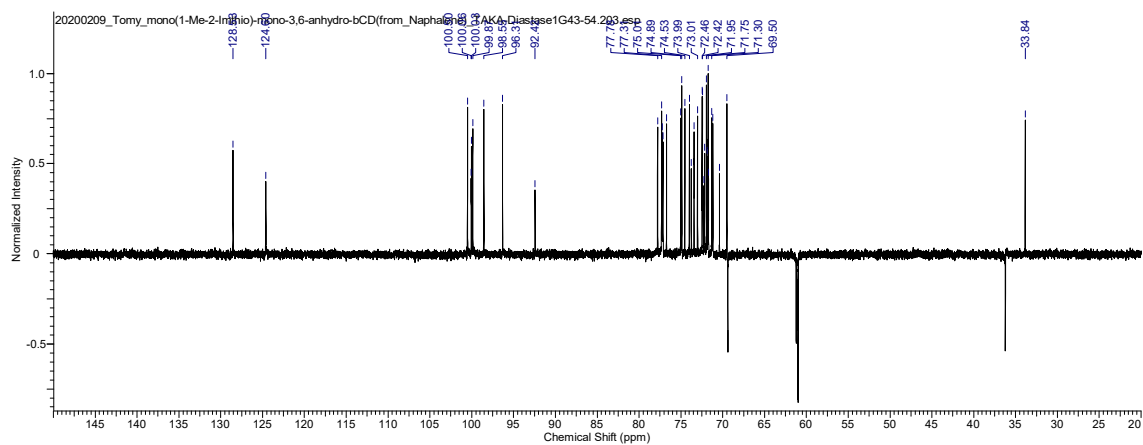


Fig. 1-61  $^{13}\text{C}$ -DEPT135 spectrum of **compound 10** from **compound 5** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

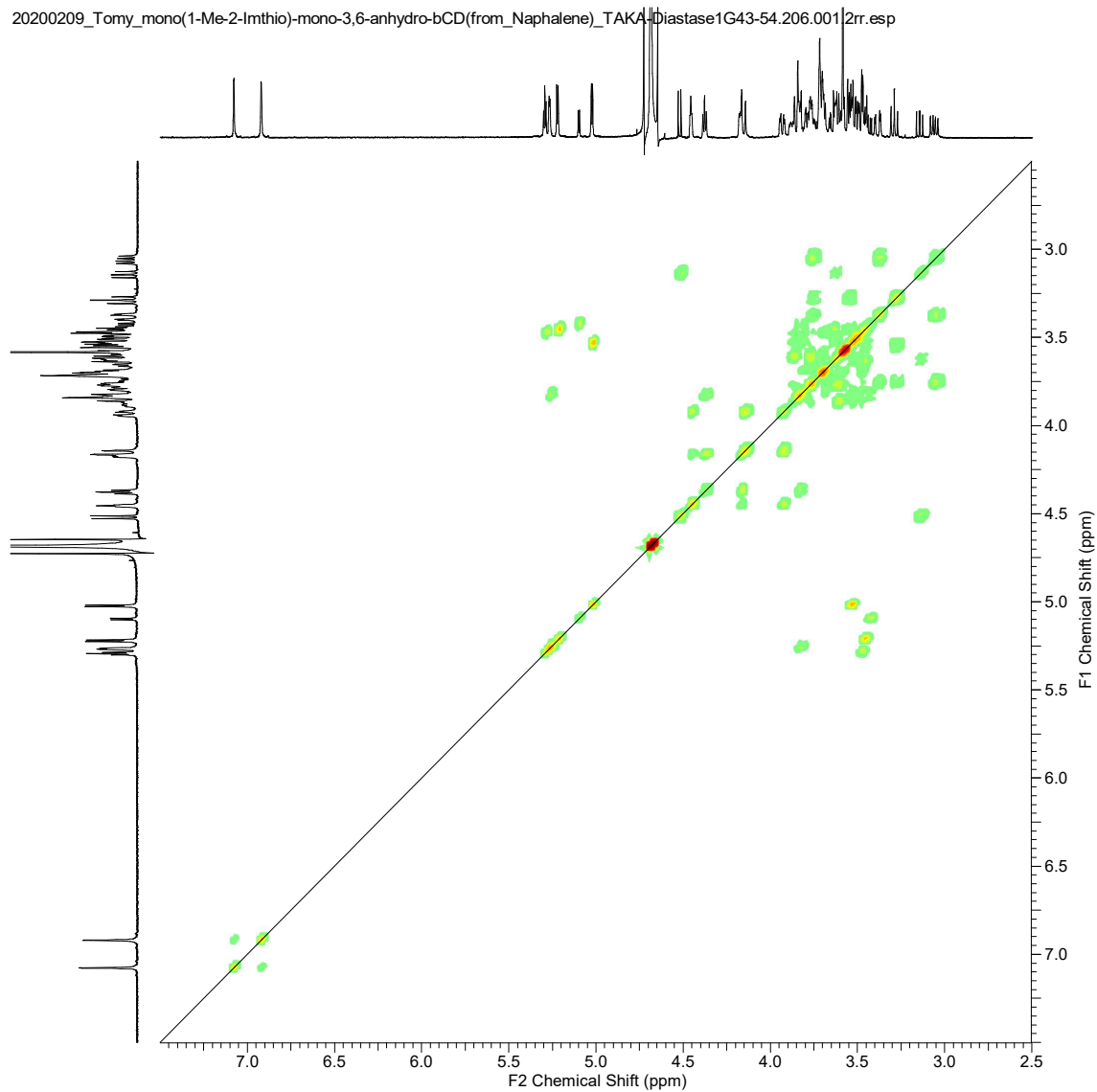


Fig. 1-62  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY spectrum of **compound 10** from **compound 5** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

20200209\_Tomy\_mono(1-Me-2-Imthio)-mono-3,6-anhydro-bCD(from\_Naphalene)\_TAKA-Diastase1G43-54.204.001.2rr.esp

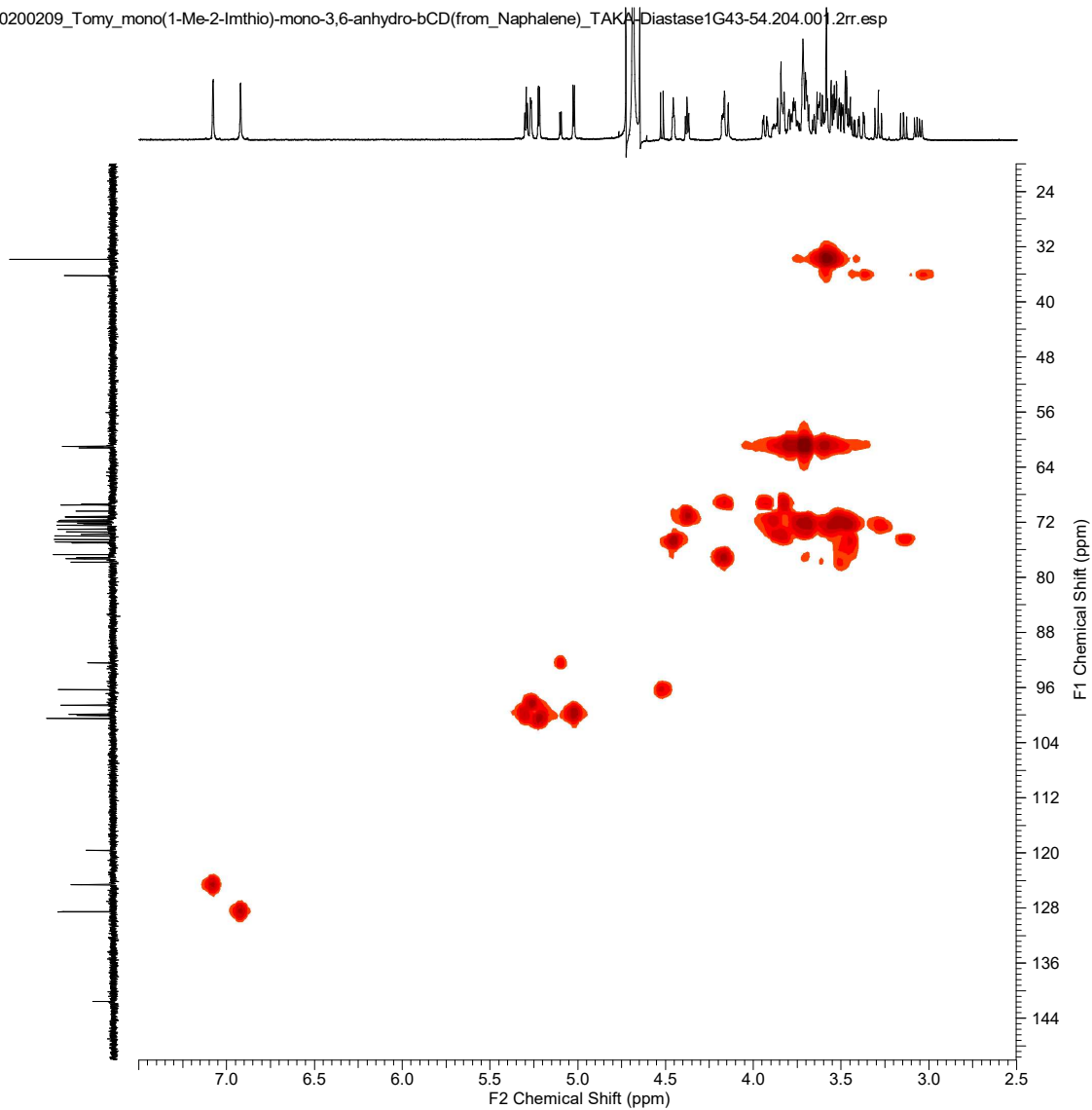


Fig. 1-63  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  HMQC spectrum of **compound 10** from **compound 5** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

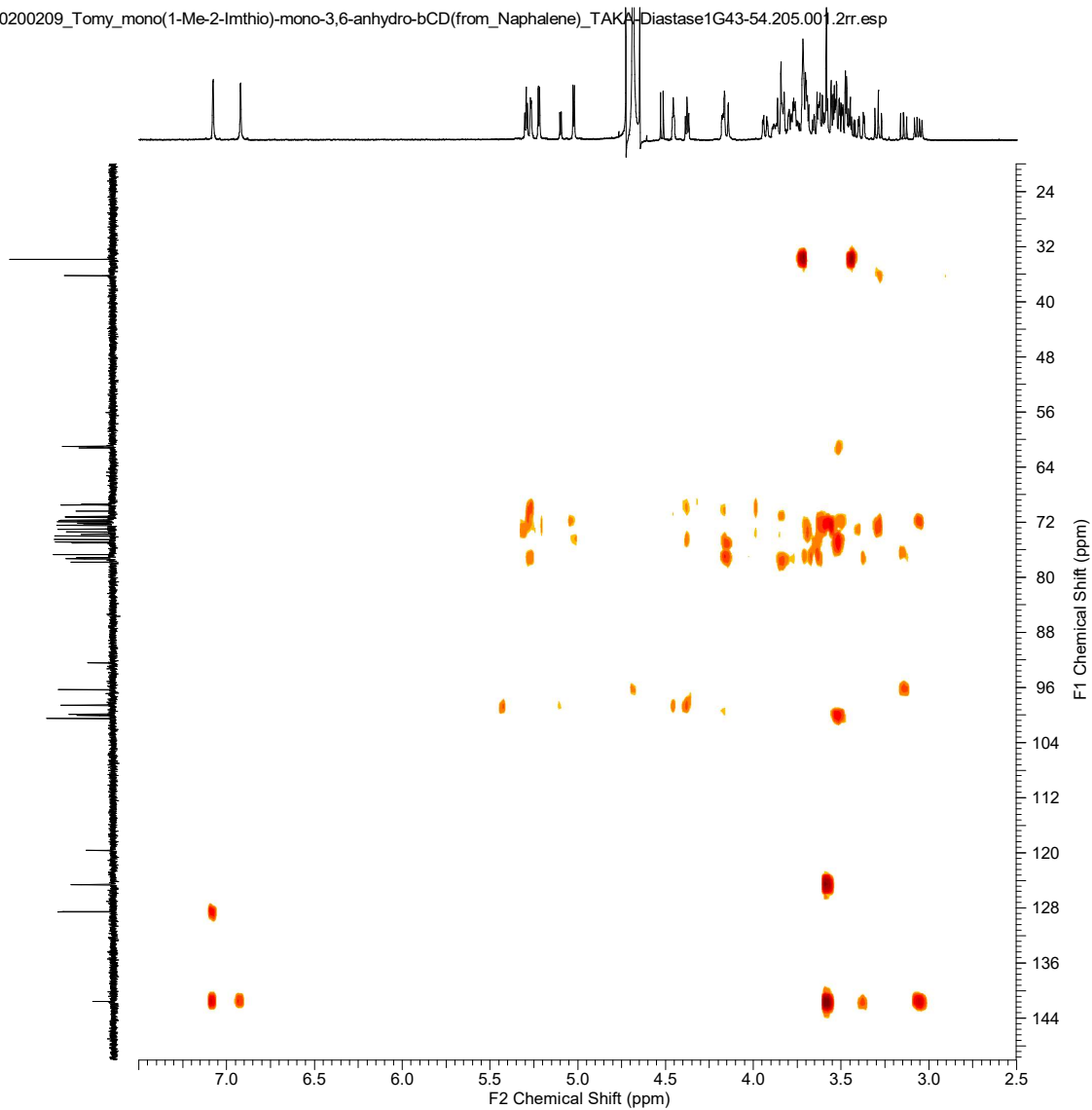


Fig. 1-64  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  HMBC spectrum of **compound 10** from **compound 5** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

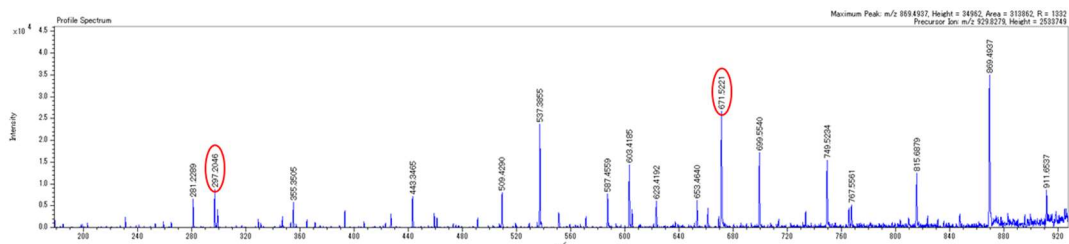
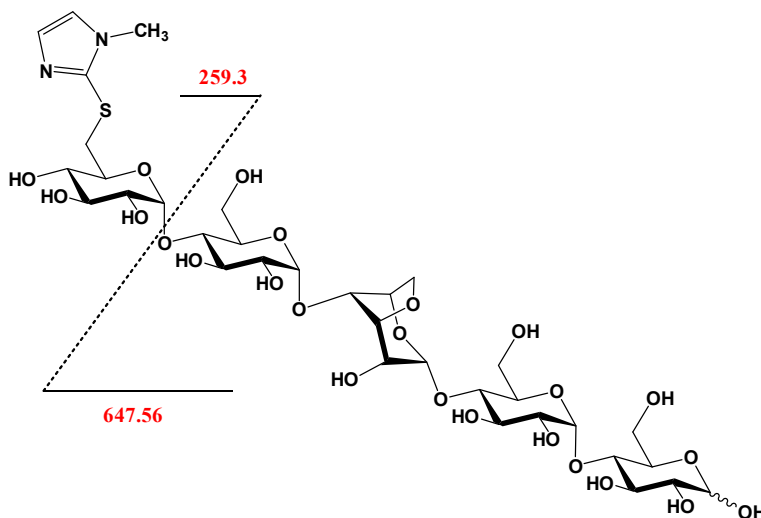


Fig.1-65 MS/MS spectrum of compound 10 from compound 5

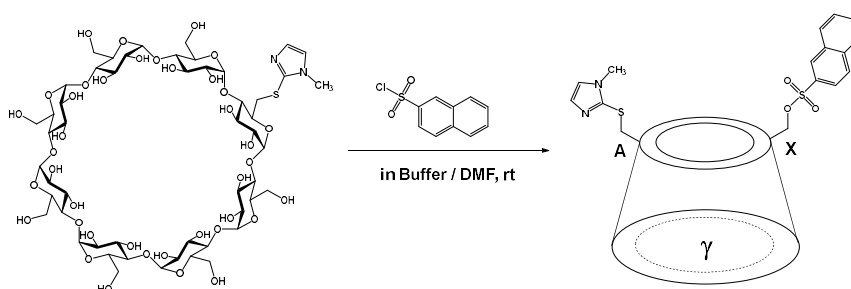


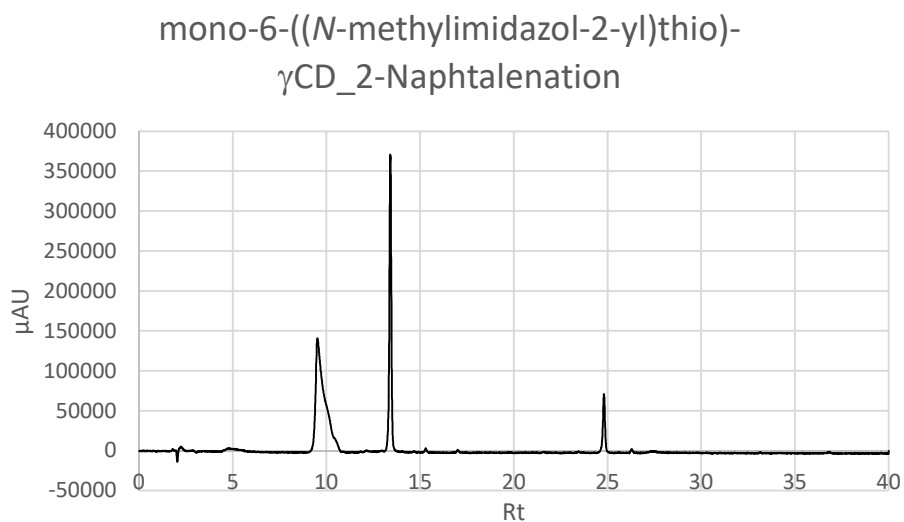
AC pattern Fragment

## 1-6 6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\alpha$ , $\gamma$ -CD を用いたベクトル選択的スルホニル化法の開発

$\beta$ -CD 誘導体の知見を基に、6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\alpha$ , $\gamma$ -CD (**1**, **3**) 誘導体を用いて種々のスルホニル化剤の反応について検討を行った。 $\alpha$ -CD 誘導体は検討されたスルホニル化剤のいずれともほとんど反応せず、生成物を得る事ができなかった。 $\gamma$ -CD 誘導体では、スルホニル化生成物の収率が著しく低下したが、位置特異性が認められた (Fig. 1-66)。

リン酸緩衝液 (100 mM, pH 8.0) / DMF = 4:1 の割合の溶媒中において、6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\gamma$ -CD (**3**) (600 mg, 0.43 mmol) と 2-Naphthalenesulfonyl Chloride (490 mg, 2.2 mmol) とを室温条件下で攪拌すると、反応が進行し、単一の化合物が生成することが逆相 HPLC にて確認された (Fig. 1-66)。逆相カラムで分離精製すると、C6 位を一箇所 2-Naphthalenesulfonyl 化された生成物 (**11**) (収率: 14 %, TOF-MS :  $m/z$  = 1606 (M+23) ) を得る事ができ、未反応の原料を回収することもできた (収率: 80 %, TOF-MS :  $m/z$  = 1416 (M+23) , Fig. 1-67)。

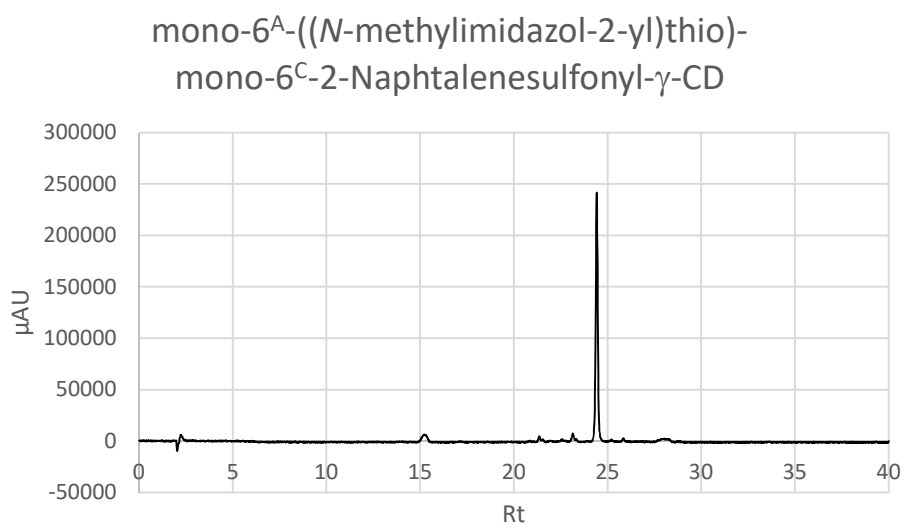




**Fig. 1-66** Reversed phase HPLC analysis of the mixture obtained by the reaction of **compound 3** with 2-Naphthalenesulfonyl Chloride.

Column: Wakosil 5C<sub>18</sub>-MS-II (ø 4.6 × 150 mm)

Gradient: 0~50 %aq. MeCN, Flow Rate: 1.0 mL / min, Wavelength: 250 nm



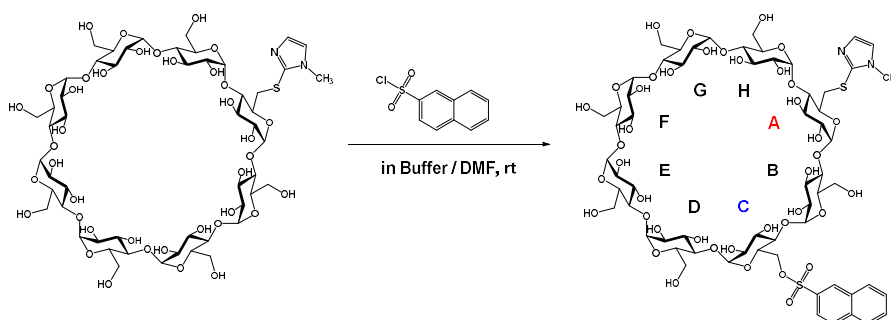
**Fig. 1-67** Reversed phase HPLC analysis of the **compound 11**.

Column: Wakosil 5C<sub>18</sub>-MS-II (ø 4.6 × 150 mm)

Gradient: 0~50 %aq. MeCN, Flow Rate: 1.0 mL / min, Wavelength: 250 nm

## 1-7 mono-6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>C</sup>-(2-Naphthalenesulfonyl)- $\gamma$ -CD の糖鎖配列解析

6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>F</sup>-Tosyl- $\beta$ -CD (4) の糖鎖配列解析と同様の方法で、mono-6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>X</sup>-(2-Naphthalenesulfonyl)- $\gamma$ -CD の糖鎖配列を解析した。その結果、2-Naphthalenesulfonyl Chloride は位置特異的に $\gamma$ -CD 誘導体の 6<sup>C</sup>-OH で生じたと判明した。

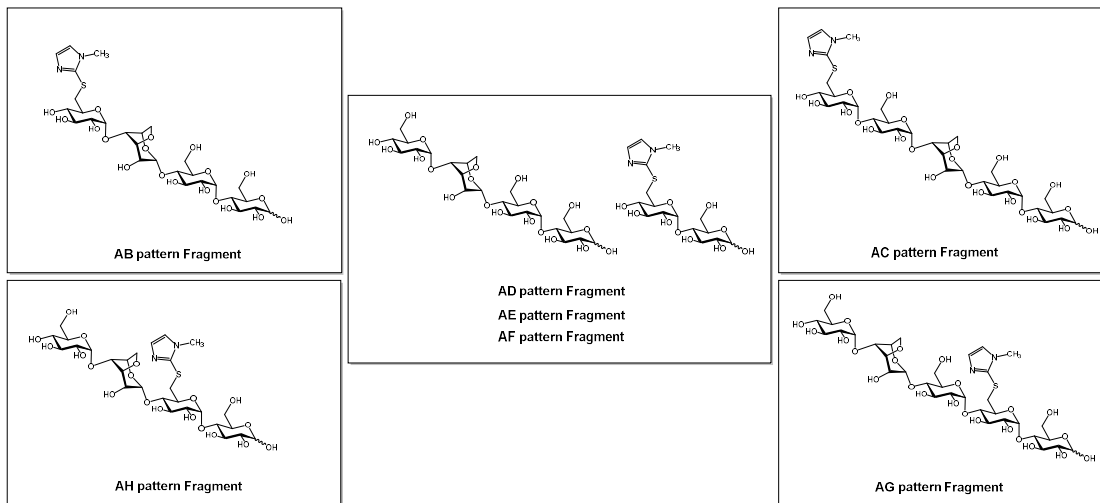


これにより、 $\beta$ -CD 誘導体および $\gamma$ -CD 誘導体、どちらも還元末端方向へ数えて触媒基から2つ目のグルコース残基がスルホン化されたと判明した。この結果から、明らかにイミダズリル基は、距離によってのみ CD のヒドロキシル基を認識するのではなく、ヒドロキシル基の位置を時計回り-反時計回りの関係で区別している事が分かる。よって、本反応はイミダズリル環の距離だけでなく、CD のキラリティにも依存して、特定位置のグルコース残基 6 位 OH を選択的にスルホン化すると考えられる。

mono-6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>C</sup>-(2-Naphthalenesulfonyl)- $\gamma$ -CD の糖鎖配列解析の詳細については、次に述べる。



6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-3<sup>X</sup>, 6<sup>X</sup>-anhydro- $\gamma$ -CD を TAKA-Diastase によって分解した際に、得られる糖鎖の予想配列を以下に示す。



AB pattern 体および AH pattern 体由来であれば、4 糖から成る糖鎖が得られると予想され、糖鎖の非還元末端に (*N*-methylimidazol-2-yl)thio 基が導入されているか否かを調査することで区別ができる。AC pattern 体および AG pattern 体であれば、5 糖から成る糖鎖が得られると予想され、この糖鎖も糖鎖の非還元末端に (*N*-methylimidazol-2-yl)thio 基が導入されているか否かを調査することで区別が可能である。その一方、AD pattern 体および AE pattern 体、AF pattern 体であれば、2 糖から成る糖鎖と 4 糖から成る糖鎖が得られると推測され、発生する糖鎖が同じ構造であるため、本手法では区別が困難であると予想した。

6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-3<sup>X</sup>, 6<sup>X</sup>-anhydro- $\gamma$ -CD に対し、TAKA-Diastase を作用させたところ、5 糖から成る糖鎖(10)が得られた。この糖鎖の構造を各種 NMR と質量分析を用いて解析した(Fig. 1-77, 1-78, 1-79, 1-80, 1-81, 1-82, 1-83)。その結果、得られた糖鎖は非還元末端に(*N*-methylimidazol-2-yl)thio 基が導入されており、6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-3<sup>C</sup>, 6<sup>C</sup>-anhydro- $\gamma$ -CD(12) 由来である事を強く示唆する。

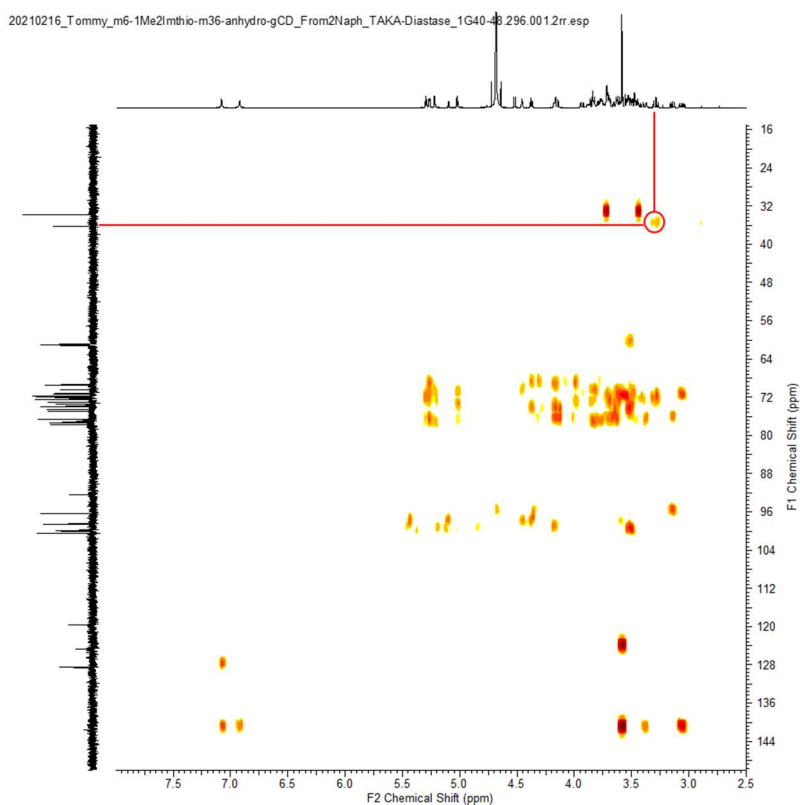
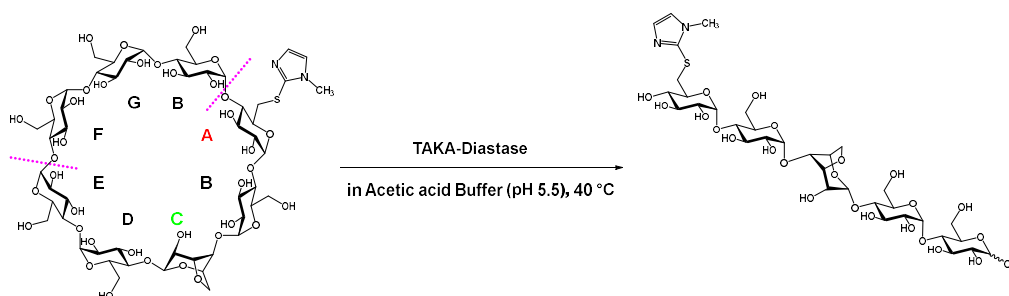
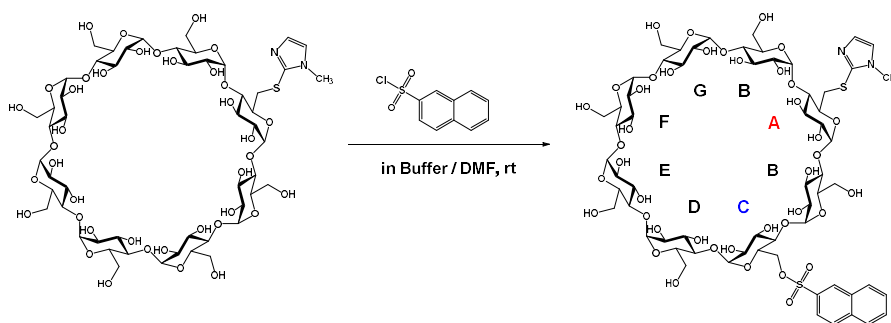


Fig. 1-82 <sup>13</sup>C-<sup>1</sup>H HMBC spectrum of **compound 10** from **compound 12** in D<sub>2</sub>O (acetonitrile int.)

また、MALDI-TOF-MSにおいて、 $m/z = 929$  が観測されており、予想される5糖から成る糖鎖(10)の分子量(TOF-MS :  $m/z = 929$  (M+23))と一致している。MS/MSにおいて、 $6^A-$  ((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $3^G$ ,  $6^C$ -anhydro- $\gamma$ -CD から得られると予想される糖鎖に特徴的なフラグメントイオンが観測された( $m/z = 671.5$  (M+23),  $297.2$  (M+23), **Fig. 1-83**)。最終的に、 $\beta$ -CD 誘導体から得られた糖鎖(5)と同じ構造である事が判明した。これらの結果から、2-Naphthalenesulfonyl 基は位置特異的に 6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\gamma$ -CD の  $6^C$ -OH に修飾されていると判明した。



これにより、 $\beta$ -CD 誘導体と同様に $\gamma$ -CD 誘導体でも、還元末端方向へ数えて触媒基から2つ目のグルコース残基のみがスルホン化することが判明した。



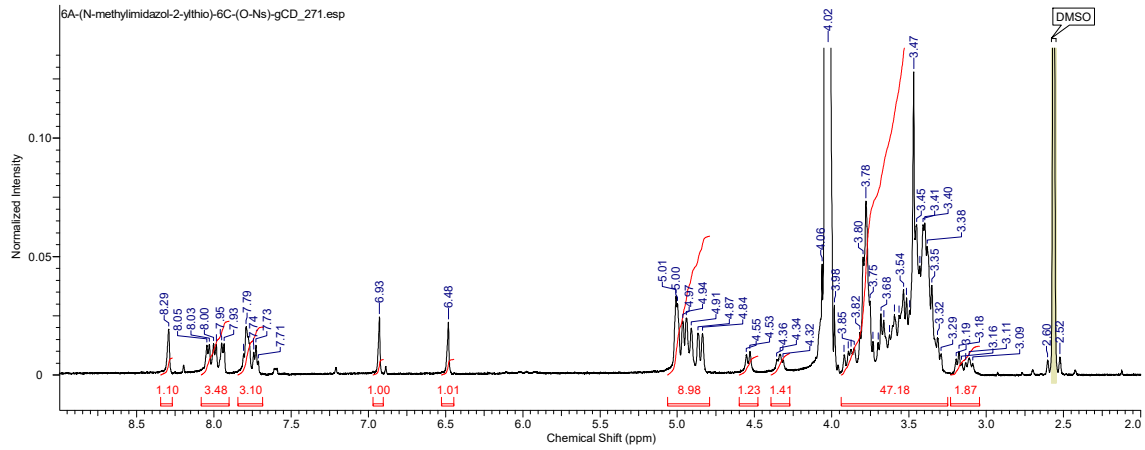


Fig. 1-68  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of compound 11 in  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\text{D}_2\text{O}$  int.)

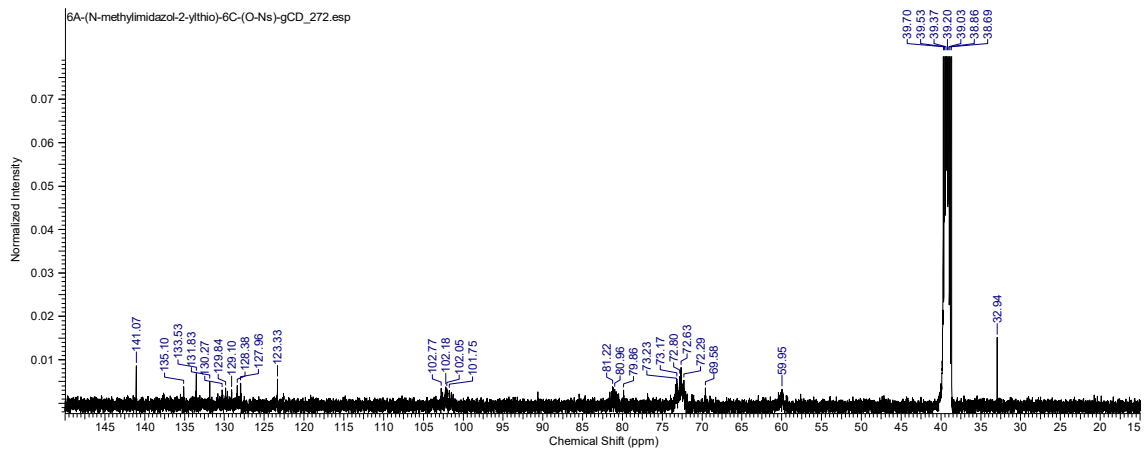


Fig. 1-69  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of compound 11 in  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\text{D}_2\text{O}$  int.)

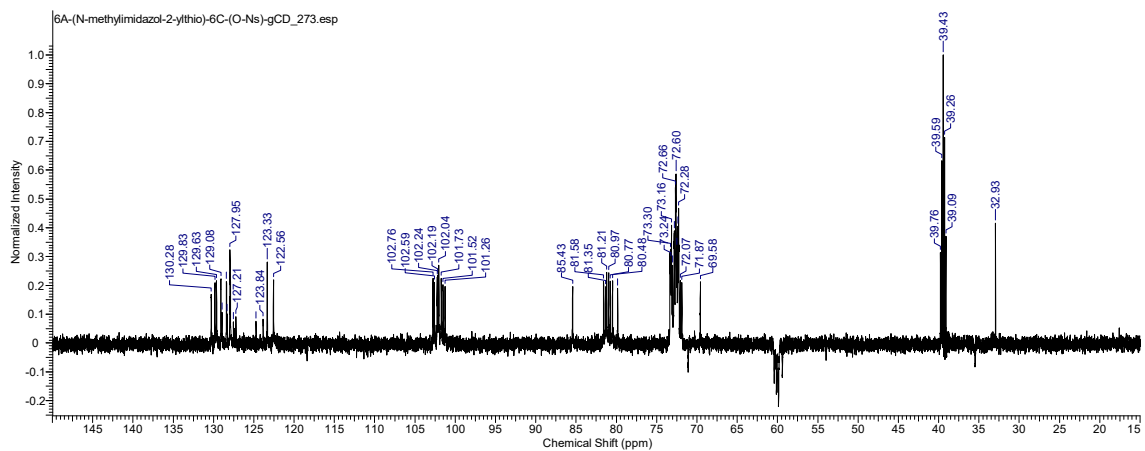


Fig. 1-70  $^{13}\text{C}$ -DEPT135 spectrum of compound 11 in  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\text{D}_2\text{O}$  int.)

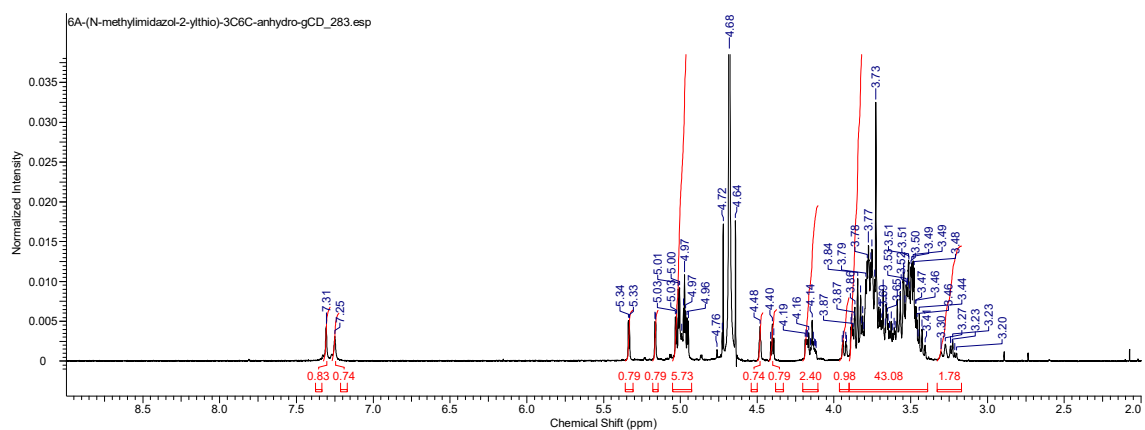


Fig. 1-71  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of compound 12 in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

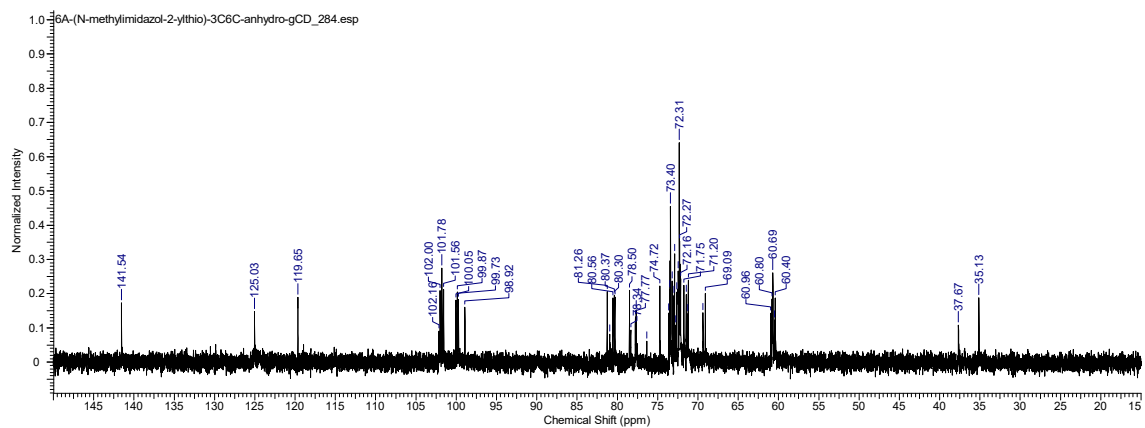


Fig. 1-72  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of compound 12 in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

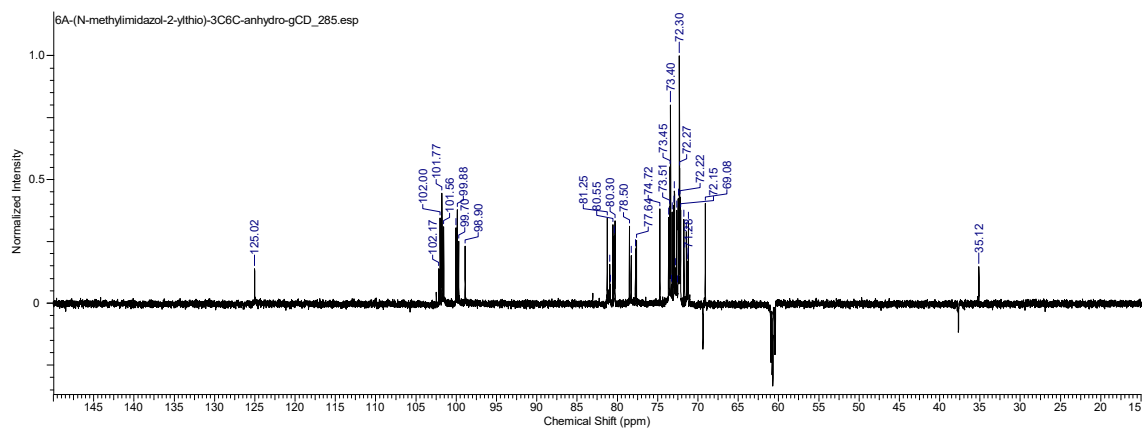


Fig. 1-73  $^{13}\text{C}$ -DEPT135 spectrum of compound 12 in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

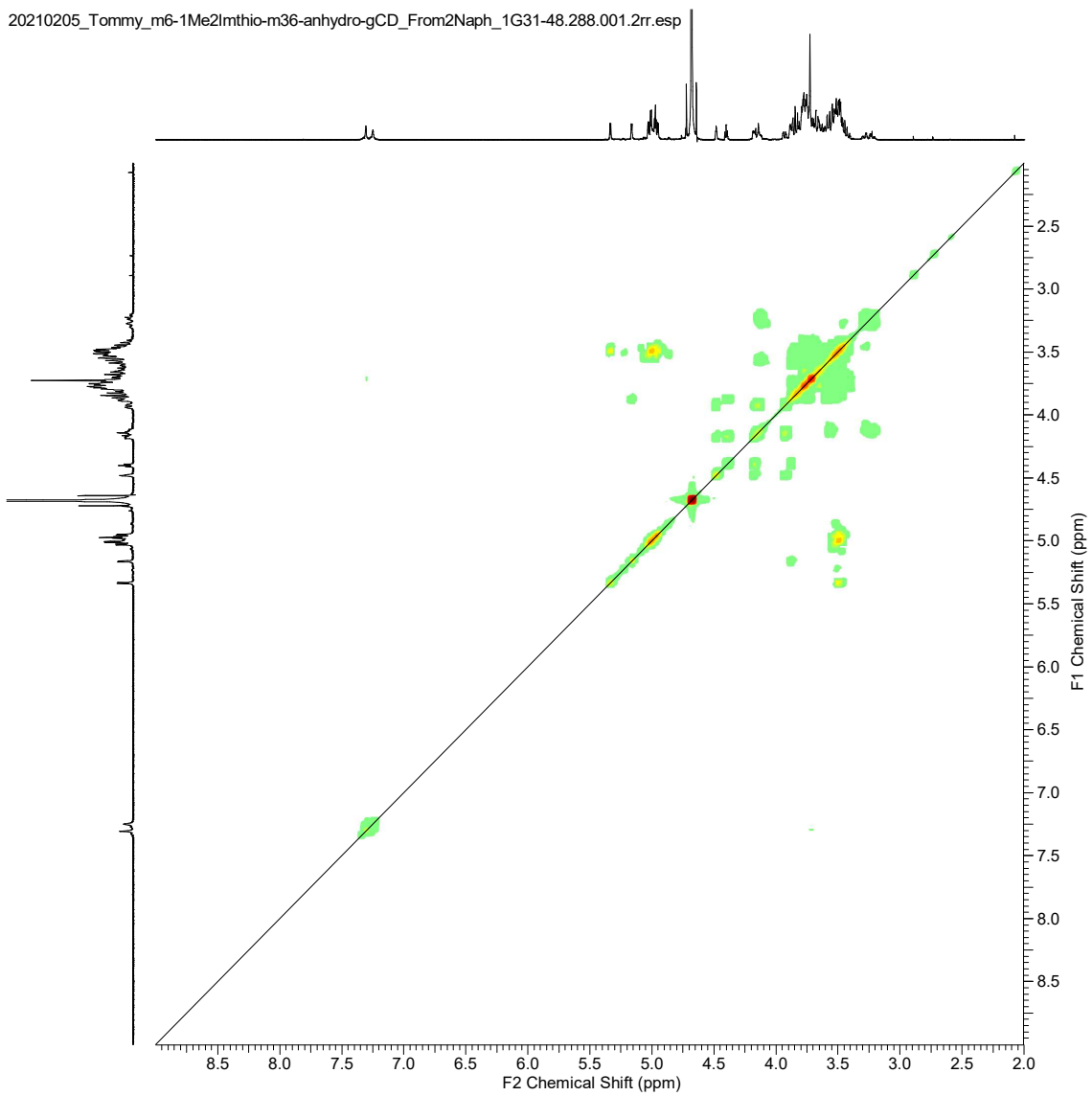


Fig. 1-74  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY spectrum of **compound 12** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

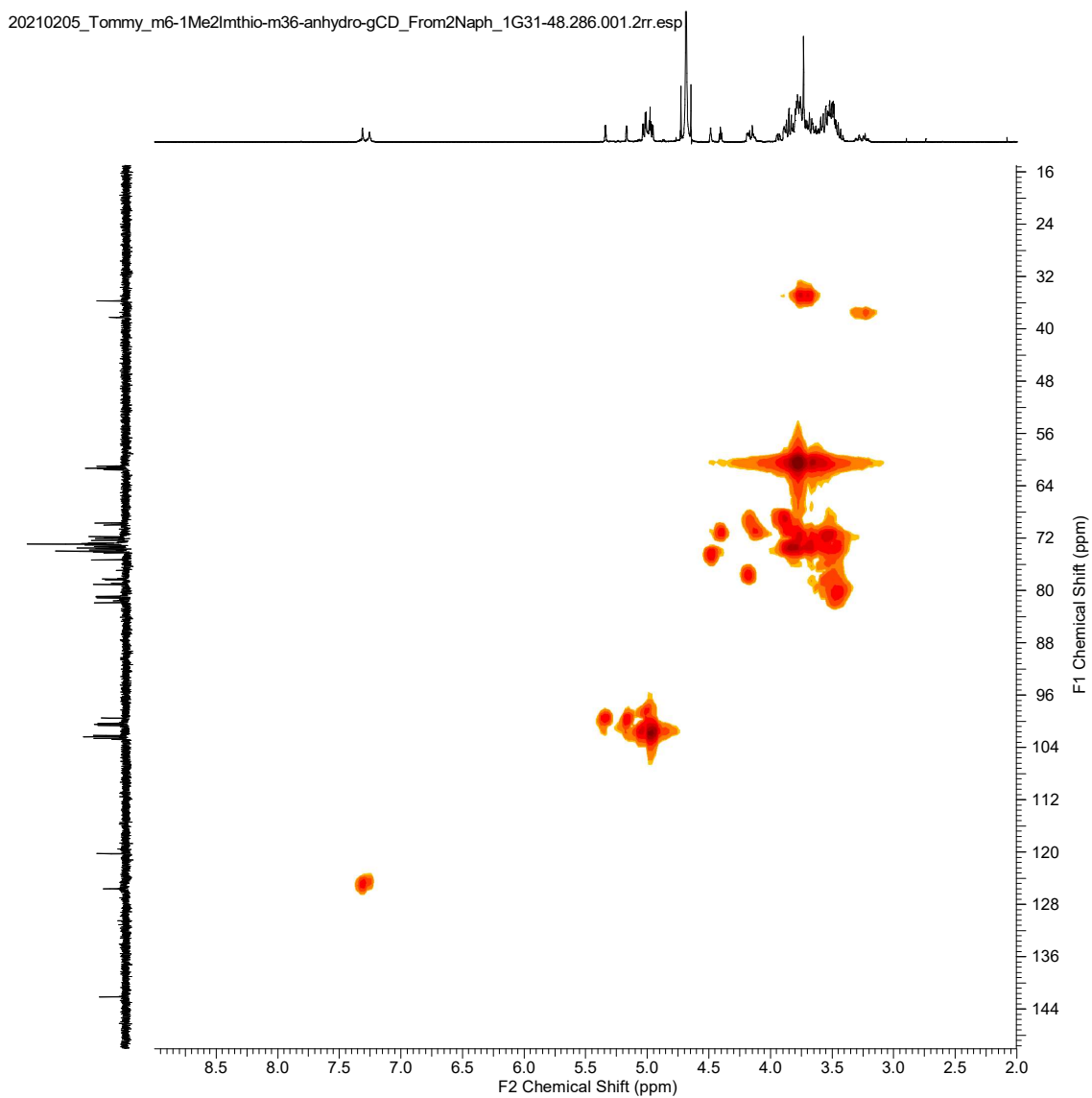


Fig. 1-75  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  HMQC spectrum of **compound 12** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

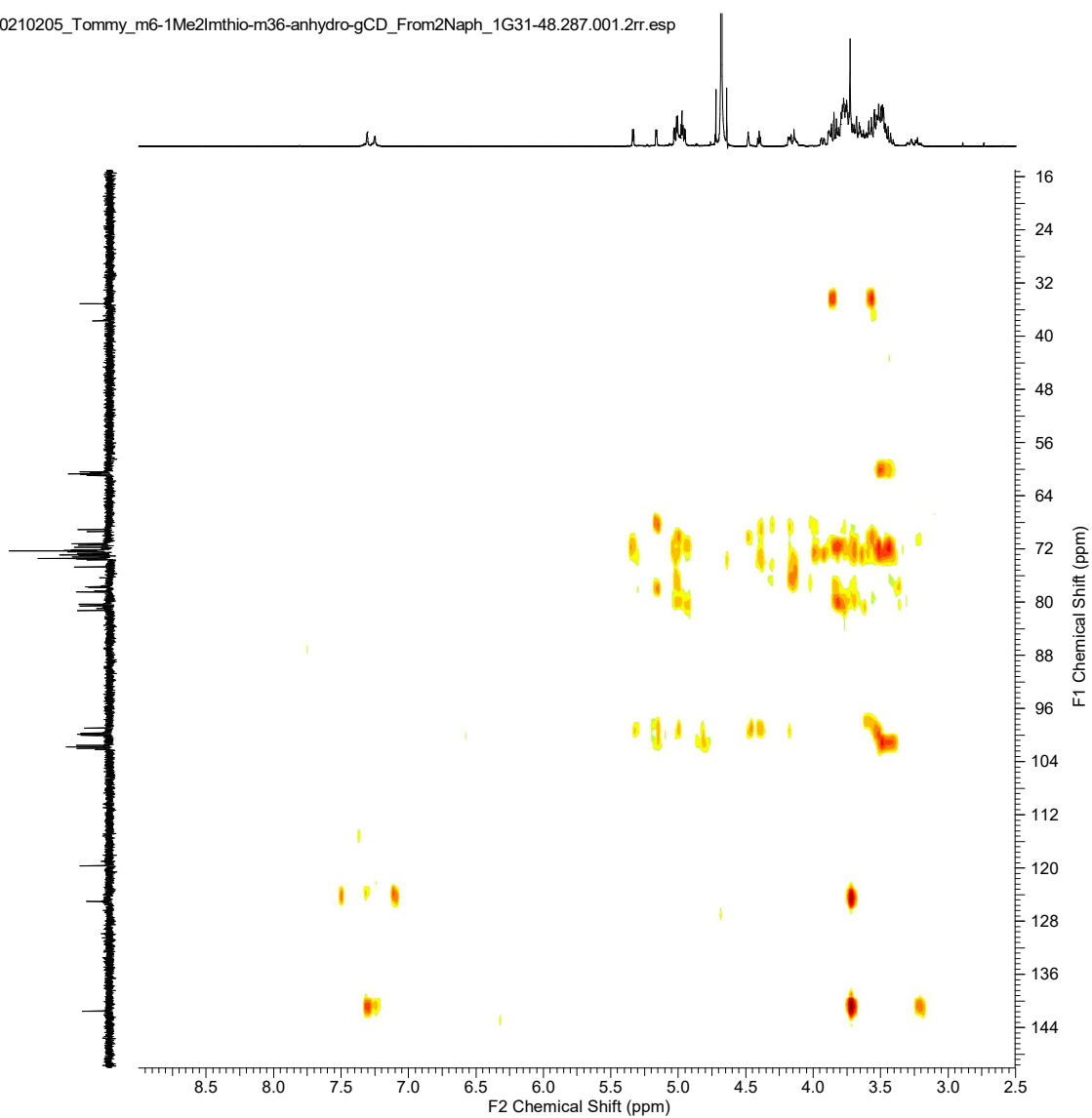


Fig. 1-76  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  HMBC spectrum of **compound 12** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)



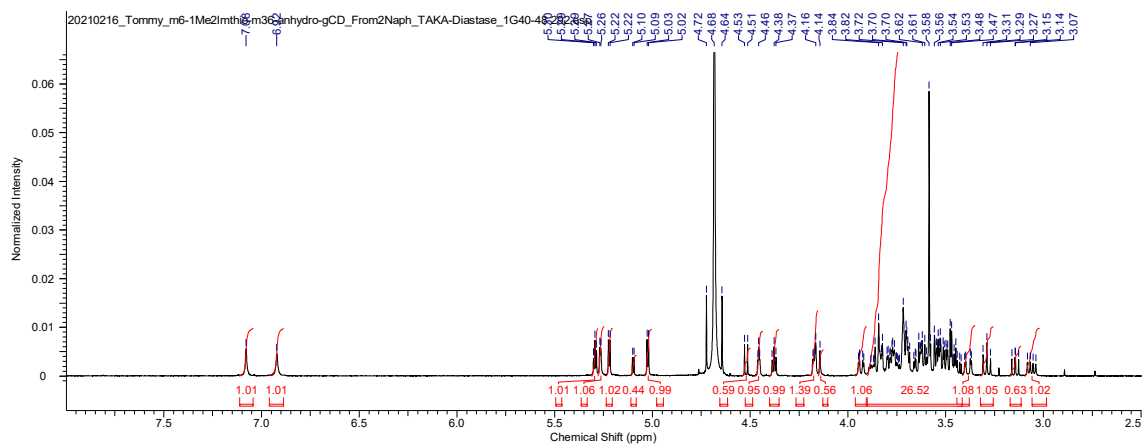


Fig. 1-77  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of **compound 10** from **compound 12** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetone- $d_6$  int.)

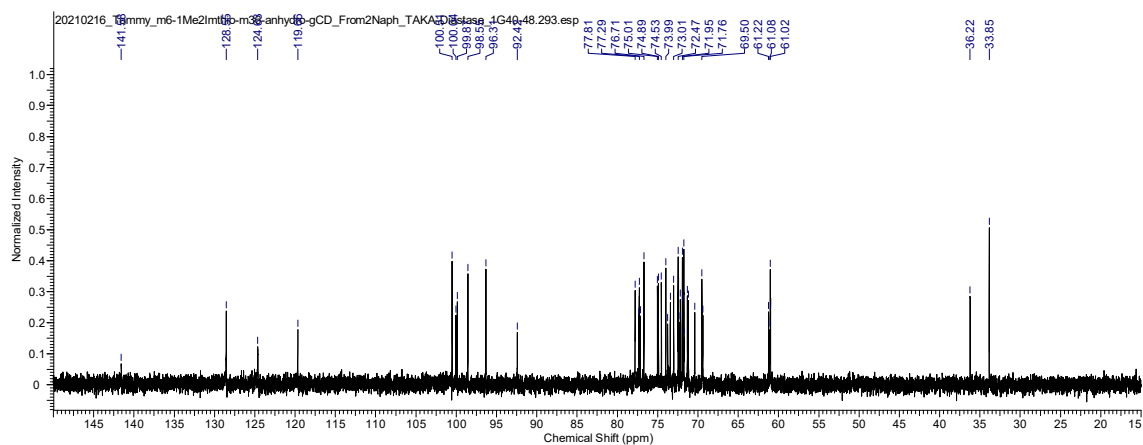


Fig. 1-78  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of **compound 10** from **compound 12** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetone- $d_6$  int.)

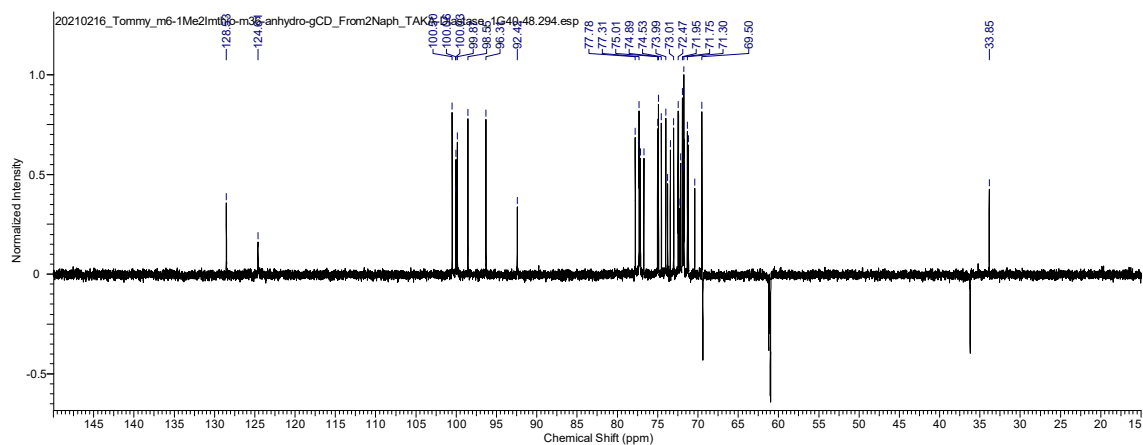


Fig. 1-79  $^{13}\text{C}$ -DEPT135 spectrum of **compound 10** from **compound 12** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetone- $d_6$  int.)

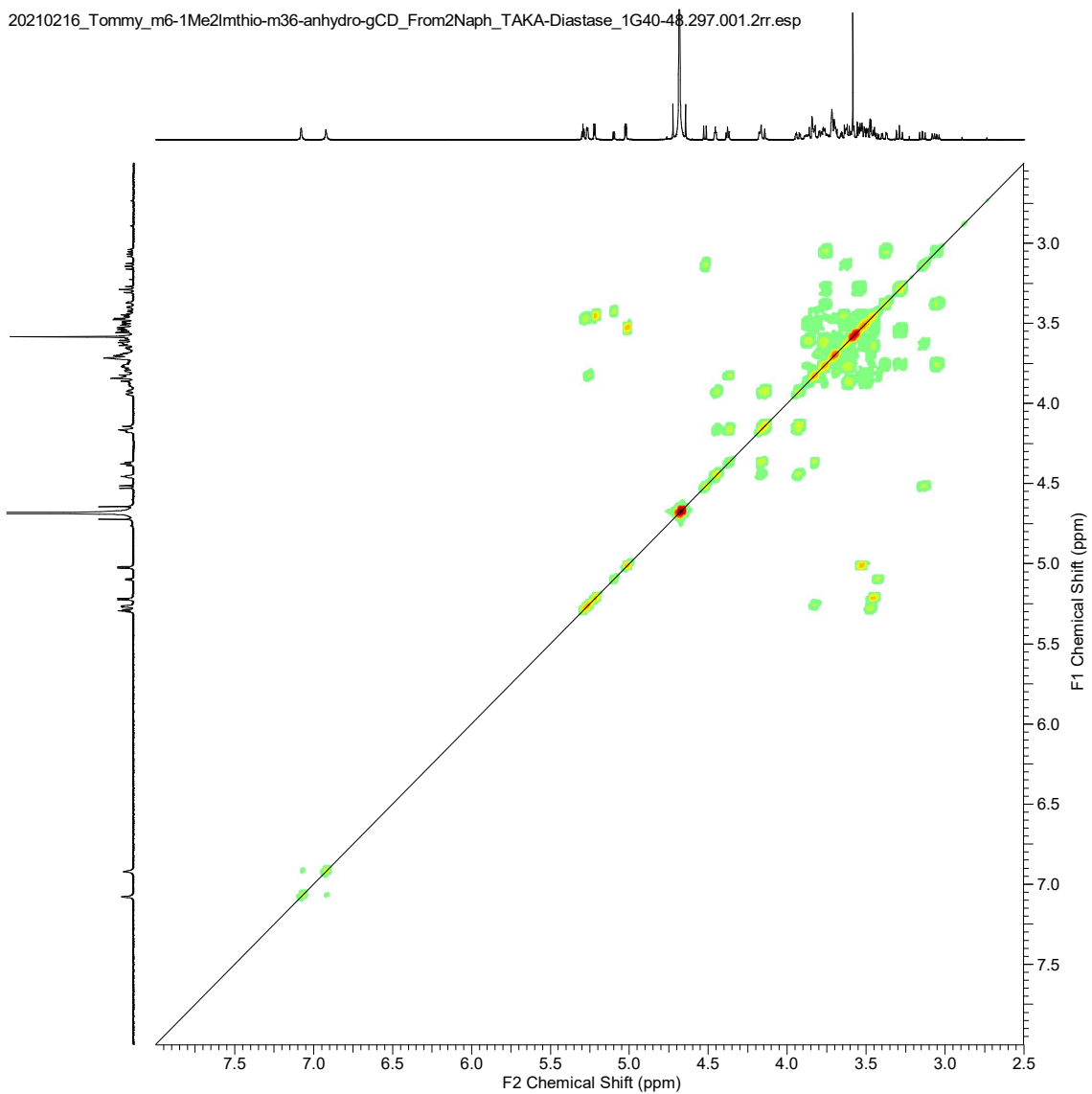


Fig. 1-80  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY spectrum of **compound 10** from **compound 12** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

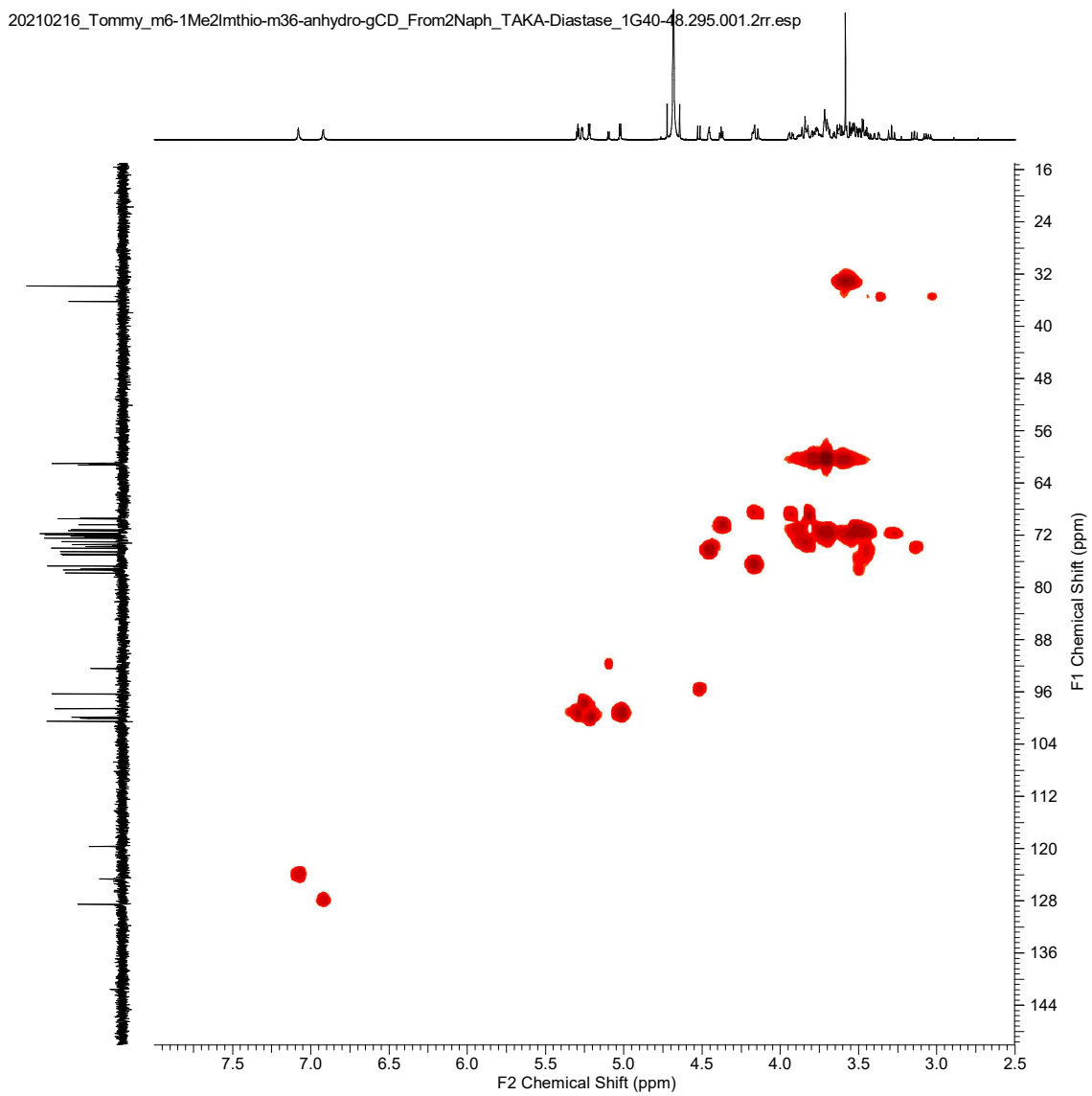


Fig. 1-81  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  HMQC spectrum of **compound 10** from **compound 12** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

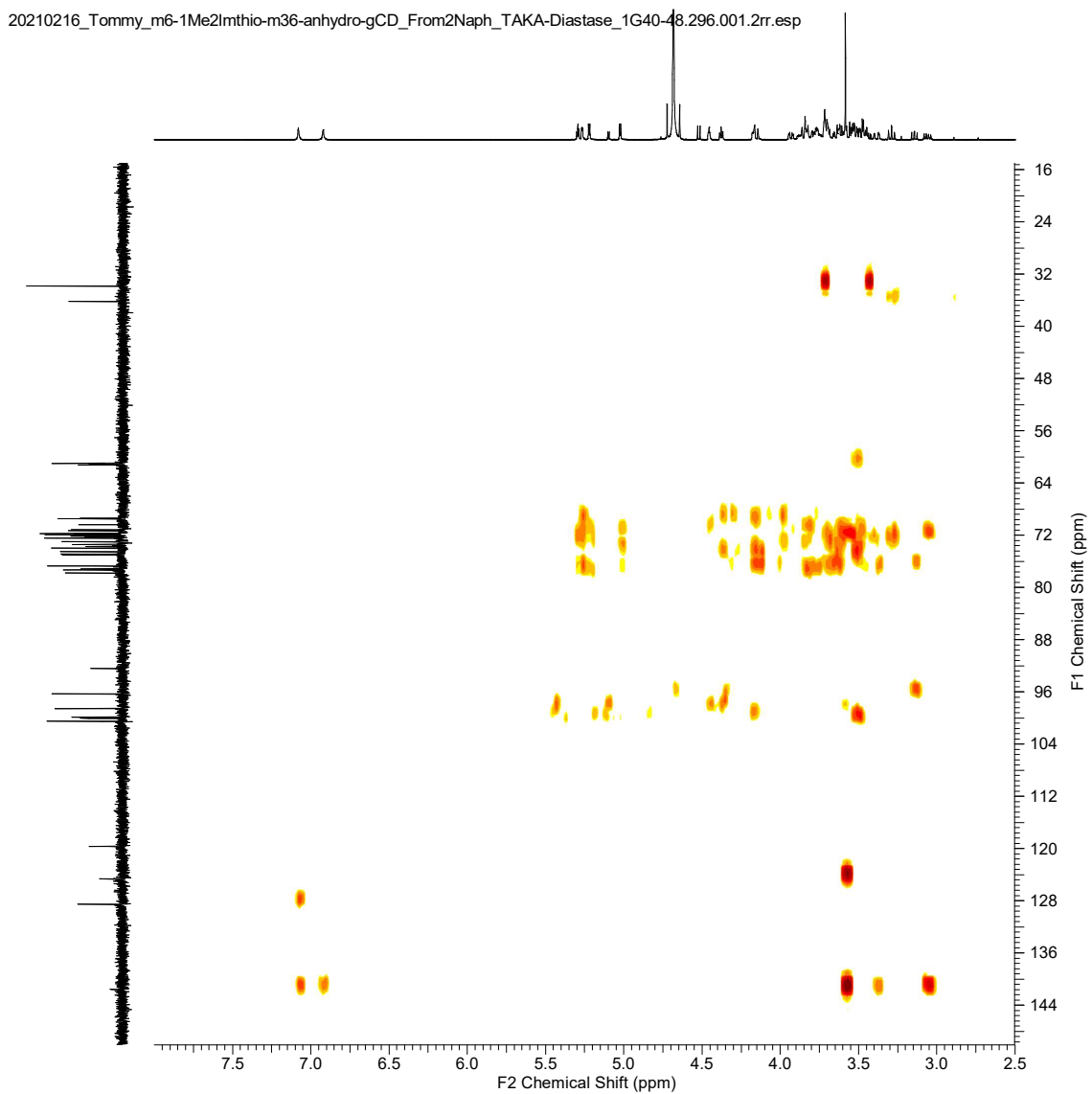


Fig. 1-82  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  HMBC spectrum of **compound 10** from **compound 12** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

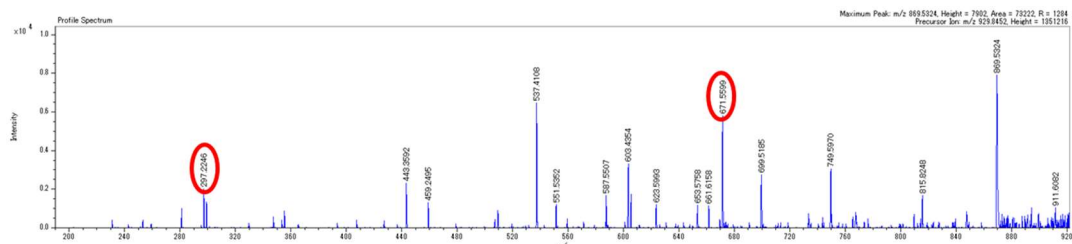
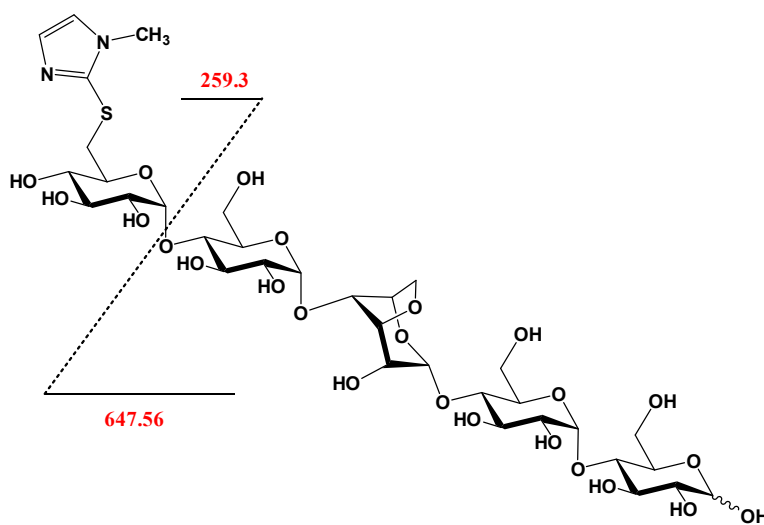


Fig. 1-83 MS/MS spectrum of compound 10 from compound 12



AC pattern Fragment

## 1-8 結語

$\alpha$ -キモトリプシンモデル CD を参考に、既存法にて合成した mono-6-Tosyl-CDs を用いて 6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ -CD を合成した。

*p*-Toluenesulfonyl Chloride および 2-Naphthalenesulfonyl Chloride を用いることで、いずれの場合でも 6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\beta$ -CD の 6<sup>c</sup>-OH を位置特異的にスルホニル化することに成功した。

2-Mesitylenesulfonyl Chloride を用いた場合には、反応が進みにくく、位置特異的なスルホニル化が困難であることを確認した。

*p*-Toluenesulfonyl Chloride、2-Naphthalenesulfonyl Chloride、2-Mesitylenesulfonyl Chloride のいずれを用いた場合でも 6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\alpha$ -CD は反応が進みにくく、6-OH スルホニル化体が得られない事を確認した。

2-Naphthalenesulfonyl Chloride を用いることで、6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\gamma$ -CD の 6<sup>c</sup>-OH を位置特異的にスルホニル化することに成功した。

6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\beta$ ,  $\gamma$ -CD の結果から、還元末端方向へ数えて触媒基から 2 つ目のグルコース残基がスルホニル化されたと判明した。この結果から、明らかにイミダズリル基は、距離によってのみ CD のヒドロキシル基を認識するのではなく、ヒドロキシル基の位置を時計回り-反時計回りの関係で区別している事が分かる。よって、本反応はイミダズリル環の距離だけでなく、CD のキラリティにも依存して、グルコース残基 6<sup>c</sup> 位 OH を選択的にスルホニル化すると考えられる。これにより、6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-CDs を用いたベクトル選択的スルホニル化法が開発できた。

$\beta$ -ならびに $\gamma$ -CD 誘導体の一級水酸基における位置特異的なスルホニル化を簡便かつ比較的良好な収率で行うことが可能となった。これにより、異なる 2 種の機能性基を有する $\beta$ ,  $\gamma$ -CD 誘導体を基とした、複雑な構造の人工酵素や人工レセプターの構築を試みる事が可能になったと考える。

## 1-9 実験

### 6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\alpha$ -CD(1)の合成

mono-6-Tosyl- $\alpha$ -CD(1.0 g, 0.88 mmol)に対し、2-Mercapto-1-methylimidazole(180 mg, 1.58 mmol)、炭酸セシウム(250 mg, 0.77 mmol)を乾燥 DMF(10 ml)中に溶かし、80°Cで24時間攪拌した。反応を TLC にて追跡し原料の消失を確認した。反応液を精製水 300 mL に希釈し、膜ろ過したものを ODS カラムに吸着させ、0 % ~ 90 %メタノール水溶液(1000 mL for each)のグラジエントにて分離精製した。各分画の糖発色を確認し、目的物を含む分画を集めて減圧濃縮後、凍結乾燥して 6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\alpha$ -CD を得た(収率:77 %, n = 3, TOF-MS :  $m/z$  = 1091(M+23) )。

NMR: Fig. 1-1, 1-2, 1-3, 1-4, 1-5, 1-6

### 6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\beta$ -CD(2)の合成

mono-6-Tosyl- $\beta$ -CD(1.0 g, 0.77 mmol)に対し、2-Mercapto-1-methylimidazole(180 mg, 1.58 mmol)、炭酸セシウム(250 mg, 0.77 mmol)を乾燥 DMF(10 ml)中に溶かし、80°Cで24時間攪拌した。反応を TLC にて追跡し原料の消失を確認した。反応液を精製水 300 mL に希釈し、膜ろ過したものを ODS カラムに吸着させ、0 % ~ 90 %メタノール水溶液(1000 mL for each)のグラジエントにて分離精製した。各分画の糖発色を確認し、目的物を含む分画を集めて減圧濃縮後、凍結乾燥して 6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\beta$ -CD を得た(収率:83 %, n = 3, TOF-MS :  $m/z$  = 1254(M+23) )。

NMR: Fig. 1-7, 1-8, 1-9, 1-10, 1-11, 1-12

### 6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\gamma$ -CD(3)の合成

mono-6-Tosyl- $\gamma$ -CD(1.0 g, 0.69 mmol)に対し、2-Mercapto-1-methylimidazole(200 mg, 1.75 mmol)、炭酸セシウム(200 mg, 0.61 mmol)を乾燥 DMF(10 ml)中に溶かし、80°Cで24時間攪拌した。反応を TLC にて追跡し原料の消失を確認した。反応液を精製水 300 mL に希釈し、膜ろ過したものを ODS カラムに吸着させ、0 % ~ 90 %メタノール水溶液(1000 mL for each)のグラジエントにて分離精製した。各分画の糖発色を確認し、目的物を含む分画を集めて減圧濃縮後、凍結乾燥して 6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\gamma$ -CD を得た(収率:81 %, n = 3, TOF-MS :  $m/z$  = 1416(M+23) )。

NMR: Fig. 1-13, 1-14, 1-15, 1-16, 1-17, 1-18

mono-6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>C</sup>-Tosyl-β-CD(4)の合成

6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-β-CD(200 mg, 0.16 mmol)をリン酸緩衝液(100 mM, pH 8.0, 40 mL)に溶かした溶液に、*p*-Toluenesulfonyl Chloride(155 mg, 0.81 mmol)を溶かした DMF(10 mL)を滴下し、室温で1.5時間攪拌した。反応液を20%メタノール水溶液300 mLに希釈し、膜ろ過したものを ODS カラムに吸着させ、20%～90%メタノール水溶液(1000 mL for each)のグラジエントにて分離精製した。各分画の糖発色を確認し、目的物を含む分画を集めて減圧濃縮後、凍結乾燥して mono-6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>C</sup>-Tosyl-β-CD(4) (収率:38%, n = 3, TOF-MS :  $m/z$  = 1408(M+23))と未反応の原料(2) (収率:44%, n = 3, TOF-MS :  $m/z$  = 1254(M+23))を得た。

NMR: Fig. 1-27, 1-28, 1-29, 1-30, 1-31, 1-32

mono-6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>C</sup>-(2-Naphthalenesulfonyl)-β-CD(5)の合成

6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-β-CD(200 mg, 0.16 mmol)をリン酸緩衝液(100 mM, pH 8.0, 16 mL)に溶かした溶液に、2-Naphthalenesulfonyl Chloride(37 mg, 0.16 mmol)を溶かした DMF(4 mL)を滴下し、室温で1.5時間攪拌した。反応液を20%メタノール水溶液300 mLに希釈し、膜ろ過したものを ODS カラムに吸着させ、20%～90%メタノール水溶液(1000 mL for each)のグラジエントにて分離精製した。各分画の糖発色を確認し、目的物を含む分画を集めて減圧濃縮後、凍結乾燥して mono-6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>C</sup>-(2-Naphthalenesulfonyl)-β-CD(5) (収率:40%, n = 3, TOF-MS :  $m/z$  = 1444(M+23))と未反応の原料(2) (収率:50%, n = 3, TOF-MS :  $m/z$  = 1254(M+23))を得た。

NMR: Fig. 1-33, 1-34, 1-35



mono-6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>X</sup>-(2-Mesitylenesulfonyl)-β-CDs (**6**) の合成

6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-β-CD (200 mg, 0.16 mmol) をリン酸緩衝液 (1000 mM, pH 8.0, 16 mL) に溶かした溶液に、2-Mesitylenesulfonyl Chloride (1.064 g, 4.87 mmol) を溶かした DMF (4 mL) を滴下し、室温で 24 時間攪拌した。反応液を 20 % メタノール水溶液 300 mL に希釈し、膜ろ過したものを ODS カラムに吸着させ、20 % ~ 90 % メタノール水溶液 (1000 mL for each) のグラジエントにて分離精製した。各分画の糖発色を確認し、目的物を含む分画を集めて減圧濃縮後、凍結乾燥して mono-6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>X</sup>-(2-Mesitylenesulfonyl)-β-CDs (**6**) を混合物 (収率: 18 %, n = 3, TOF-MS :  $m/z = 1436 (M+23)$  ) として、さらに未反応の原料 (**2**) (収率: 68 %, n = 3, TOF-MS :  $m/z = 1254 (M+23)$  ) を得た。

NMR: Fig. 1-36, 1-37, 1-38

mono-6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>C</sup>-Tosyl-β-CD (**4**) の TAKA-Diastase による加水分解

mono-6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>C</sup>-Tosyl-β-CD (**4**) (150 mg, 0.11 mmol) と TAKA-Diastase (150 mg) を 0.2 M 酢酸緩衝液 (10 mL, pH 5.5, 0.02 M CaCl<sub>2</sub> を含む) を溶かし、40°C で 24 時間攪拌した。反応を TOF-MS にて追跡し原料の消失を確認した後、90°C で 30 分加熱して TAKA-Diastase を失活させた。反応液を精製水 300 mL に希釈し、膜ろ過したものを ODS カラムに吸着させ、0 % ~ 90 % メタノール水溶液 (1000 mL for each) のグラジエントにて分離精製した。各分画の糖発色を確認し、目的物を含む分画を集めて減圧濃縮後、凍結乾燥して化合物 **7** (収量: 42.7 mg, TOF-MS :  $m/z = 461 (M+23)$  ) と化合物 **8** (収量: 46.5 mg, TOF-MS :  $m/z = 519 (M+23)$  ) を得た。

化合物 **7** NMR: Fig. 1-39

化合物 **8** NMR: Fig. 1-40

6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-3<sup>C</sup>, 6<sup>C</sup>-anhydro-β-CD(9)の合成

mono-6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>C</sup>-Tosyl-β-CD(4) (200 mg, 0.14 mmol) を 1M 水酸化ナトリウム水溶液(10 mL)に溶かし、40℃で 24 時間攪拌した。反応を TLC にて追跡し原料の消失を確認した後、1M 塩酸(10 mL)で中和処理を行った。反応液を精製水 300 mL に希釈し、膜ろ過したものを ODS カラムに吸着させ、0 % ~ 90 %メタノール水溶液(1000 mL for each)のグラジエントにて分離精製した。各分画の糖発色を確認し、目的物を含む分画を集めて減圧濃縮後、凍結乾燥して 6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-3<sup>C</sup>, 6<sup>C</sup>-anhydro-β-CD(9) (収率:86 %, TOF-MS :  $m/z = 1236 (M+23)$  )を得た。

NMR: Fig. 1-41, 1-42, 1-43, 1-44, 1-45, 1-46

mono-6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>C</sup>-(2-Naphthalenesulfonyl)-β-CD(5) (200 mg, 0.14 mmol) を 1M 水酸化ナトリウム水溶液(10 mL)に溶かし、40℃で 24 時間攪拌した。反応を TLC にて追跡し原料の消失を確認した後、1M 塩酸(10 mL)で中和処理を行った。反応液を精製水 300 mL に希釈し、膜ろ過したものを ODS カラムに吸着させ、0 % ~ 90 %メタノール水溶液(1000 mL for each)のグラジエントにて分離精製した。各分画の糖発色を確認し、目的物を含む分画を集めて減圧濃縮後、凍結乾燥して 6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-3<sup>C</sup>, 6<sup>C</sup>-anhydro-β-CD(9) (収率:87 %, TOF-MS :  $m/z = 1236 (M+23)$  )を得た。

NMR: Fig. 1-53, 1-54, 1-55, 1-56, 1-57, 1-58

6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-3<sup>C</sup>, 6<sup>C</sup>-anhydro-β-CD の TAKA-Diastase による加水分解

6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-3<sup>C</sup>, 6<sup>C</sup>-anhydro-β-CD (9) (120 mg, 0.1 mmol) と TAKA-Diastase (120 mg) を 0.2 M 酢酸緩衝液 (10 mL, pH 5.5, 0.02 M CaCl<sub>2</sub> を含む) を溶かし、40°C で 24 時間攪拌した。反応を TOF-MS にて追跡し原料の消失を確認した後、90°C で 30 分加熱して TAKA-Diastase を失活させた。反応液を精製水 300 mL に希釈し、膜ろ過したものを ODS カラムに吸着させ、0 % ~ 90 % メタノール水溶液 (1000 mL for each) のグラジエントにて分離精製した。各分画の糖発色を確認し、目的物を含む分画を集めて減圧濃縮後、凍結乾燥して生成物 (10) を得た (93 %, TOF-MS :  $m/z$  = 929 (M+23))。

(10) from (4) NMR: Fig. 1-47, 1-48, 1-49, 1-50, 1-51, 1-52

(10) from (5) NMR: Fig. 1-59, 1-60, 1-61, 1-62, 1-63, 1-64

mono-6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>C</sup>-(2-Naphthalenesulfonyl)-γ-CD の合成

6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-γ-CD (11) (600 mg, 0.43 mmol) をリン酸緩衝液 (100 mM, pH 8.0, 48 mL) に溶かした溶液に、2-Naphthalenesulfonyl Chloride (490 mg, 2.2 mmol) を溶かした DMF (12 mL) を滴下し、室温で 1.5 時間攪拌した。反応液を 20 % メタノール水溶液 300 mL に希釈し、膜ろ過したものを ODS カラムに吸着させ、20 % ~ 90 % メタノール水溶液 (1000 mL for each) のグラジエントにて分離精製した。各分画の糖発色を確認し、目的物を含む分画を集めて減圧濃縮後、凍結乾燥して mono-6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>C</sup>-(2-Naphthalenesulfonyl)-γ-CD (12) (収率: 14 %, n = 3, TOF-MS :  $m/z$  = 1606 (M+23)) と未反応の原料 (11) (収率: 80 %, n = 3, TOF-MS :  $m/z$  = 1416 (M+23)) を得た。

NMR: Fig. 1-68, 1-69, 1-70

6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-3<sup>C</sup>, 6<sup>C</sup>-anhydro-γ-CD (12) の合成

mono-6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>C</sup>-(2-Naphthalenesulfonyl)-γ-CD (11) (200 mg, 0.13 mmol) を 1M 水酸化ナトリウム水溶液 (10 mL) に溶かし、40°C で 24 時間攪拌した。反応を TLC にて追跡し原料の消失を確認した後、1M 塩酸 (10 mL) で中和処理を行った。反応液を精製水 100 mL に希釈した後、陰イオン交換カラムに通し、ろ液を得た。ろ液を ODS カラムに吸着させ、0 % ~ 90 % メタノール水溶液 (1000 mL for each) のグラジエントにて分離精製した。各分画の糖発色を確認し、目的物を含む分画を集めて減圧濃縮後、凍結乾燥して 6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-3<sup>C</sup>, 6<sup>C</sup>-anhydro-γ-CD (12) (収率: 77 %, TOF-MS :  $m/z$  = 1398 (M+23)) を得た。

NMR: Fig. 1-71, 1-72, 1-73, 1-74, 1-75, 1-76

6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-3<sup>C</sup>, 6<sup>C</sup>-anhydro- $\gamma$ -CD の TAKA-Diastase による加水分解

6<sup>A</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-3<sup>C</sup>, 6<sup>C</sup>-anhydro- $\gamma$ -CD (**12**) (120 mg, 0.09 mmol) と TAKA-Diastase (120 mg) を 0.2 M 酢酸緩衝液 (10 mL, pH 5.5, 0.02 M CaCl<sub>2</sub> を含む) を溶かし、40°C で 48 時間攪拌した。反応を TOF-MS にて追跡し原料の消失を確認した後、90°C で 30 分加熱して TAKA-Diastase を失活させた。反応液を精製水 300 mL に希釈し、膜ろ過したものを ODS カラムに吸着させ、0 % ~ 90 % メタノール水溶液 (1000 mL for each) のグラジエントにて分離精製した。各分画の糖発色を確認し、目的物を含む分画を集めて減圧濃縮後、凍結乾燥して生成物 (**10**) を得た (83 %, TOF-MS :  $m/z = 929$  (M+23))。

NMR: Fig. 1-77, 1-78, 1-79, 1-80, 1-81, 1-82

## 1-10 参考文献

- 1) A. Röttig, A. Steinbüchel, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 77, 277-321(2013)
- 2) Fujita Kahee, Yamamura Hatsuo, Imoto Taiji, Tabushi Iwao, *Chemistry Letters*, 17, 543-546(1988)
- 3) Fujita Kahee, Tahara Tsutomu, Imoto Taiji, Koga Toshitaka, *Chemistry Letters*, 17, 1329-1332(1988)
- 4) Fujita Kahee, Tahara Tsutomu, Koga Toshitaka, *Chemistry Letters*, 18, 821-824(1989)
- 5) Fujita Kahee, Ishizu Takashi, Oshiro Kyoko, Obe Ken-ichi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 62, 2960-2962(1989)
- 6) Fujita Kahee, Tahara Tsutomu, Koga Toshitaka, Imoto Taiji, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 62, 3150-3154(1989)
- 7) Fujita Kahee, Ishizu Takashi, Minamiura Noshi, Yamamoto Takehiko, *Chemistry Letters*, 20, 1889-1892(1991)



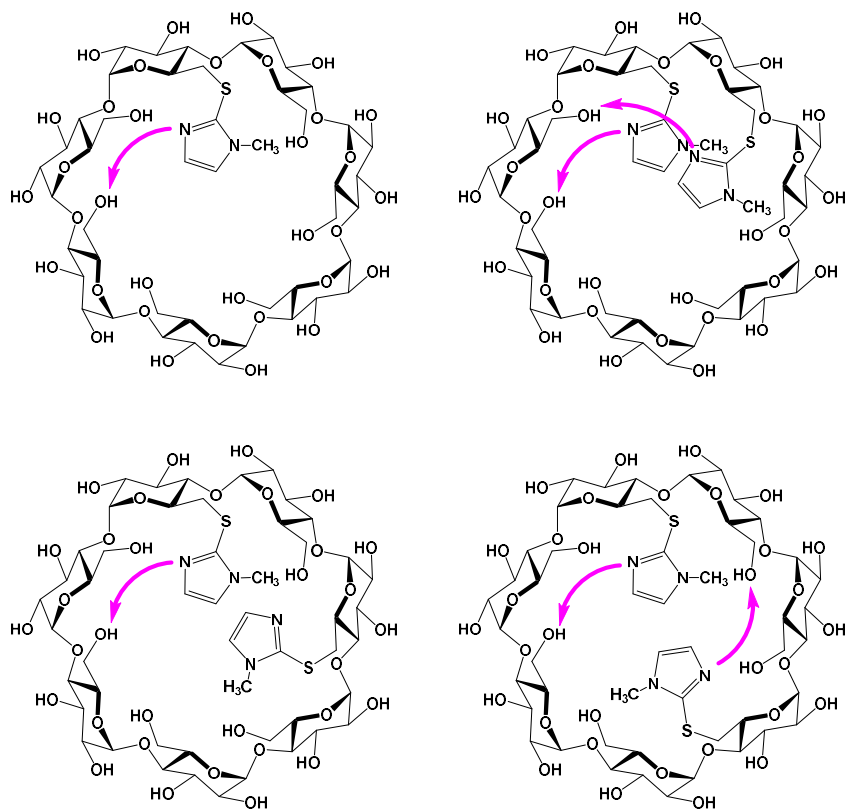
## 第二章

di-6<sup>A,X</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\beta$ -CD  
を用いたベクトル選択的スルホニル化

## 2-1 緒言

先の生体分子の働きから着想を得た 6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\beta$ -CD (**2**) に対するベクトル選択的スルホニル化法の開発によって、 $\beta$ -CD 誘導体 (**2**) および  $\gamma$ -CD 誘導体 (**3**) のイミダゾリル基は、距離によってのみ CD のヒドロキシル基を認識するのではなく、ヒドロキシル基の位置を時計回り-反時計回りの関係で区別し、還元末端方向へ数えて触媒基から 2 つ目のグルコース残基のみがスルホニル化する事が判明した。この知見を活用すれば、更なるヘテロ多置換 CD 誘導体の合成が可能であると考えられる。

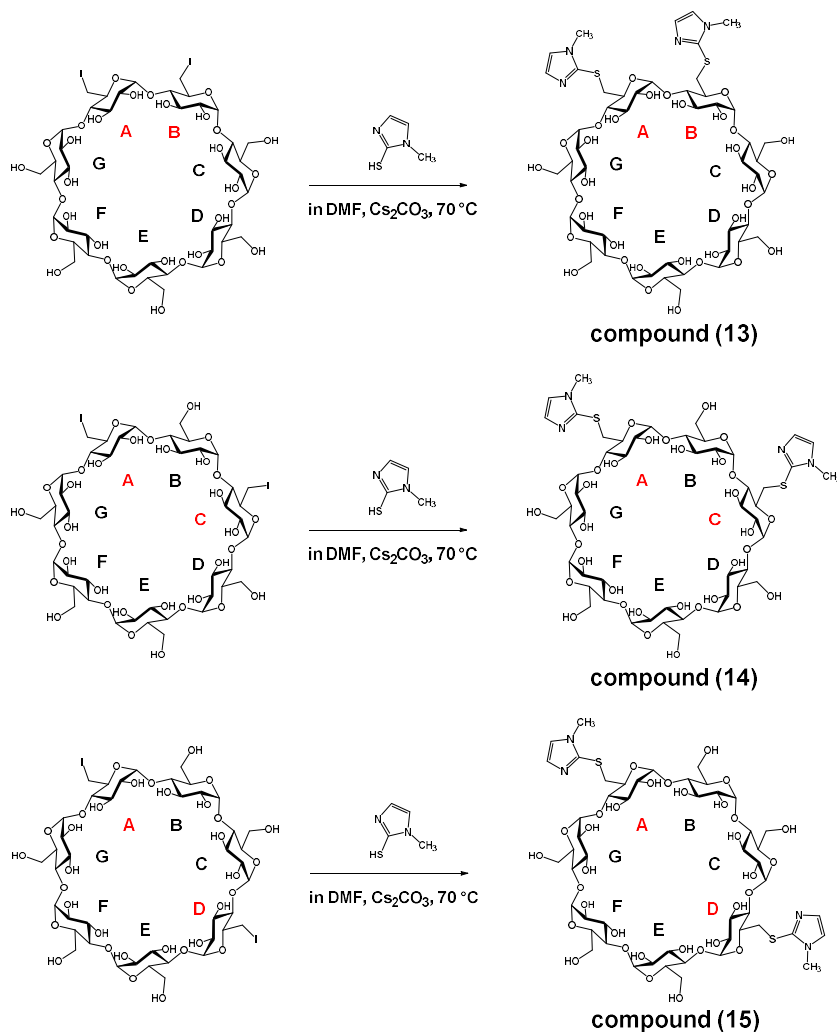
本研究では、6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\beta$ -CD に対するベクトル選択的スルホニル化法を活用し、di-6<sup>A,X</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\beta$ -CD (X = B, C, D) の一級水酸基側の特定箇所が予測通りスルホニル化するか、調査した。





## 2-2 di-6<sup>A,X</sup>-(*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\beta$ -CD の合成

cap 法<sup>2)</sup>を経由して調整した di-6<sup>A,X</sup>-iodo- $\beta$ -CD (X = B, C, D) を用いて、di-6<sup>A,X</sup>-(*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\beta$ -CD (X = B, C, D) を合成した。



いずれも <sup>1</sup>H-NMR において  $\delta$  5 ppm 付近のアノマー水素に対し、 $\delta$  7.3~6.7 ppm 付近のイミダゾリル基由来プロトンが 7:4 を示した (Fig. 2-1, 2-4, 2-7)。また DEPT135 によって、 $\delta$  36 ppm 付近のシグナルが修飾糖 C6 位由来であることが確認されたことから、(*N*-methylimidazol-2-yl)thio 基が 2 つ CD の C6 位に導入されたと判断できる (Fig. 2-3, 2-6, 2-9)。

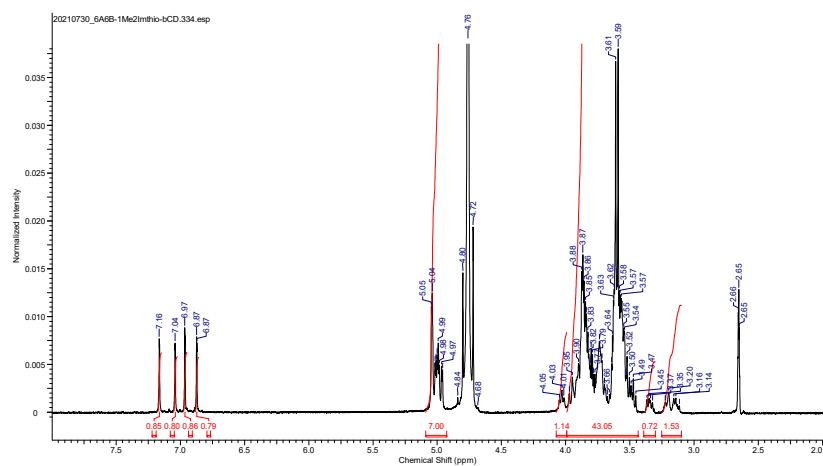


Fig. 2-1  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of **compound 13** in  $\text{DMSO}-d_6$  ( $\text{D}_2\text{O}$  int.)

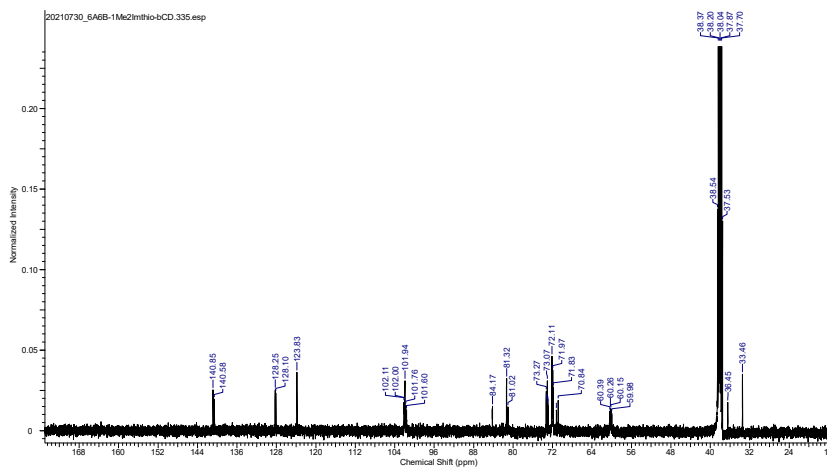


Fig. 2-2  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of **compound 13** in  $\text{DMSO}-d_6$  ( $\text{D}_2\text{O}$  int.)

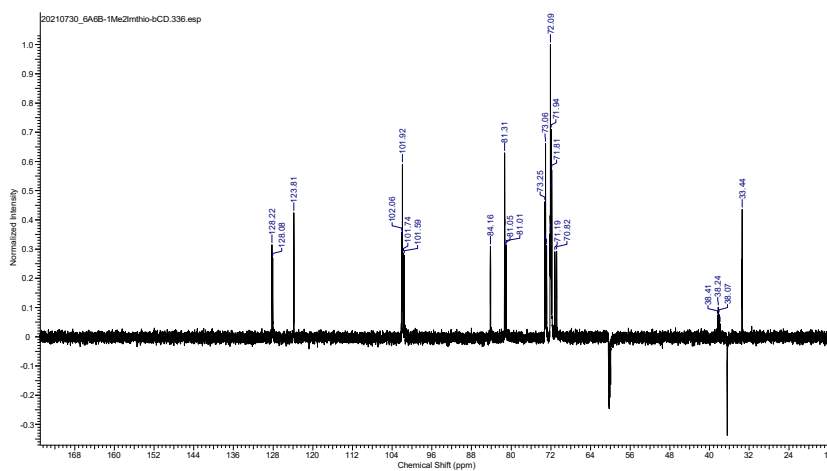


Fig. 2-3  $^{13}\text{C}$ -DEPT135 spectrum of **compound 13** in  $\text{DMSO}-d_6$  ( $\text{D}_2\text{O}$  int.)

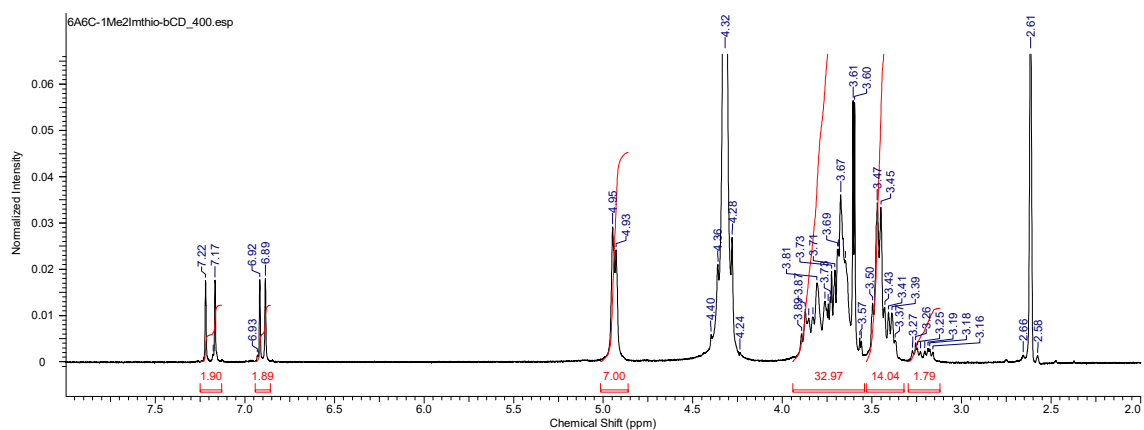


Fig. 2-4  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of compound 14 in  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\text{D}_2\text{O}$  int.)

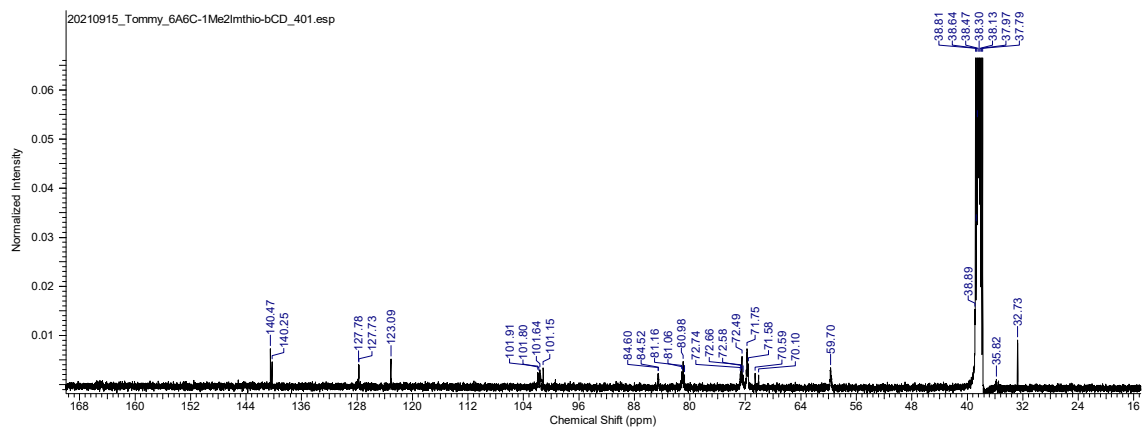


Fig. 2-2  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrum of compound 14 in  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\text{D}_2\text{O}$  int.)

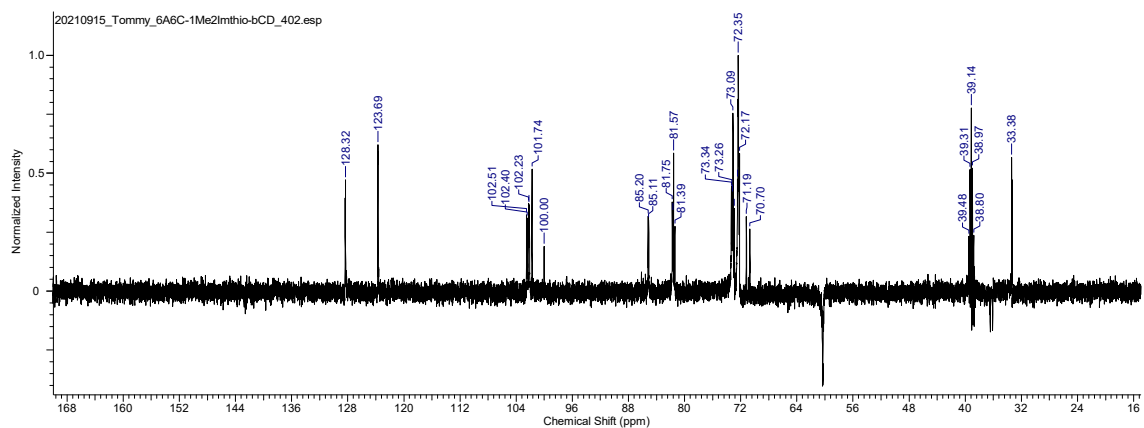


Fig. 2-3  $^{13}\text{C-DEPT135}$  spectrum of compound 14 in  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\text{D}_2\text{O}$  int.)

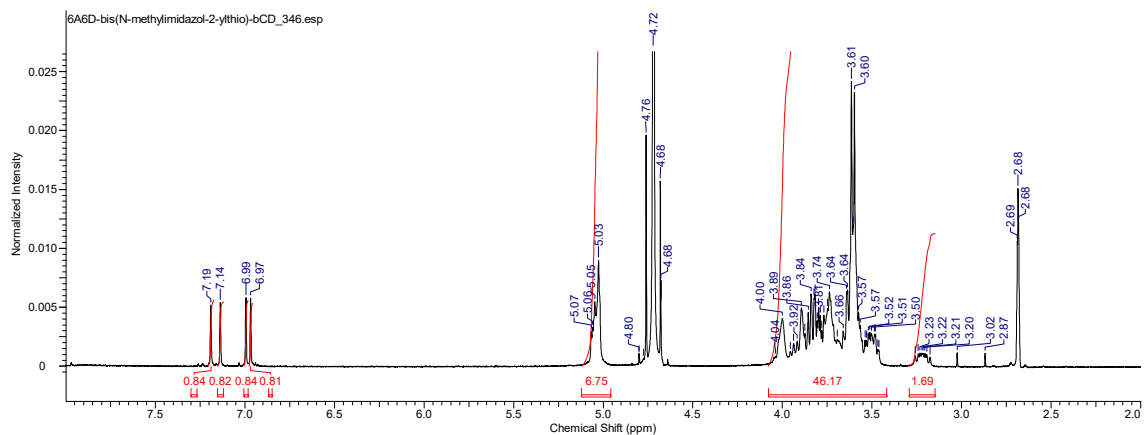


Fig. 2-7  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of **compound 15** in  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\text{D}_2\text{O}$  int.)

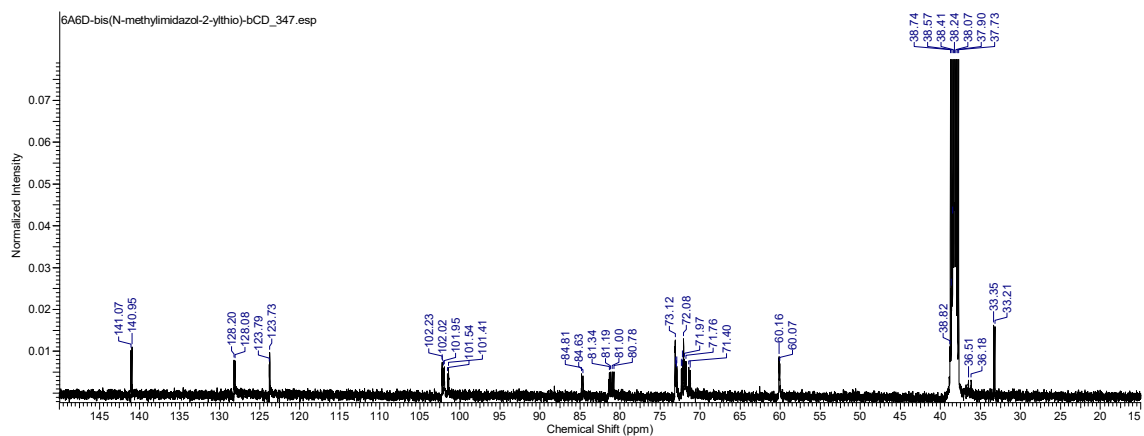


Fig. 2-8  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of **compound 15** in  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\text{D}_2\text{O}$  int.)

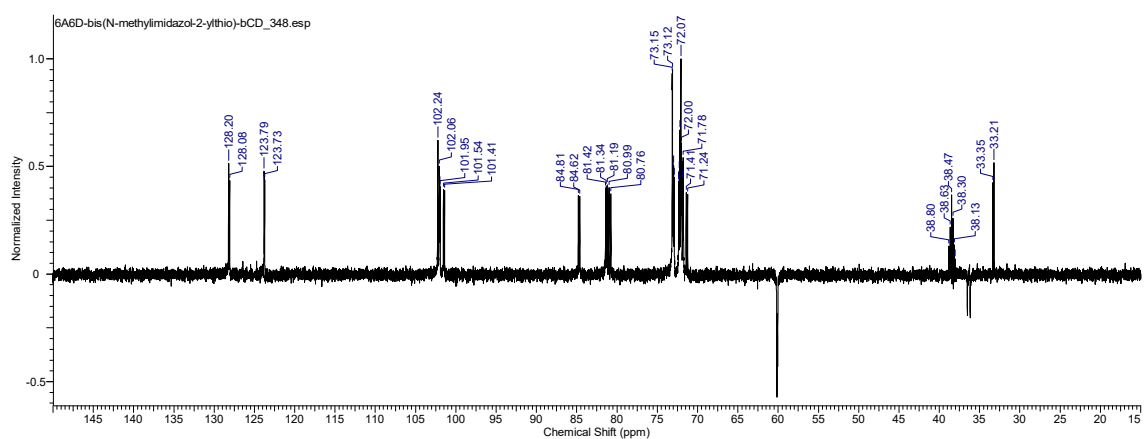
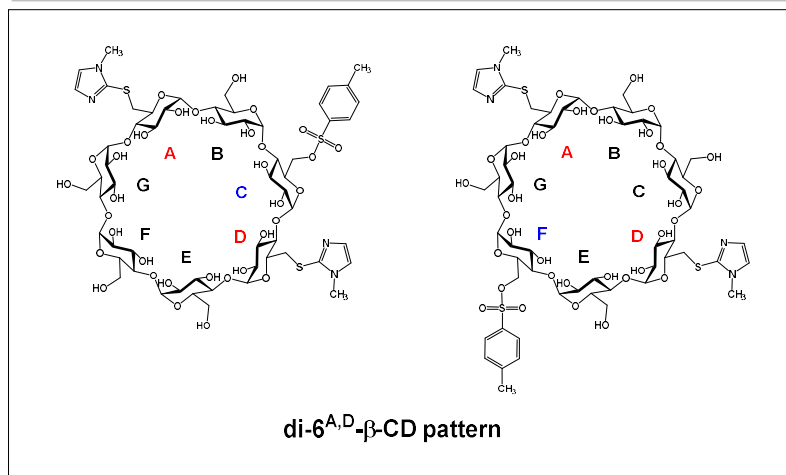
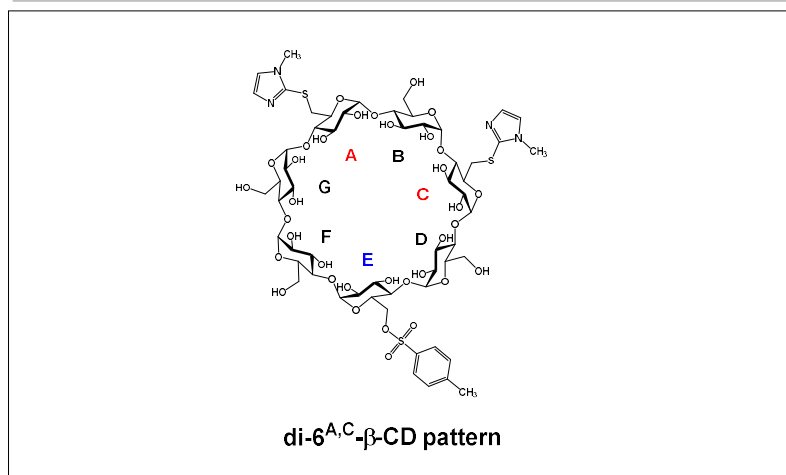
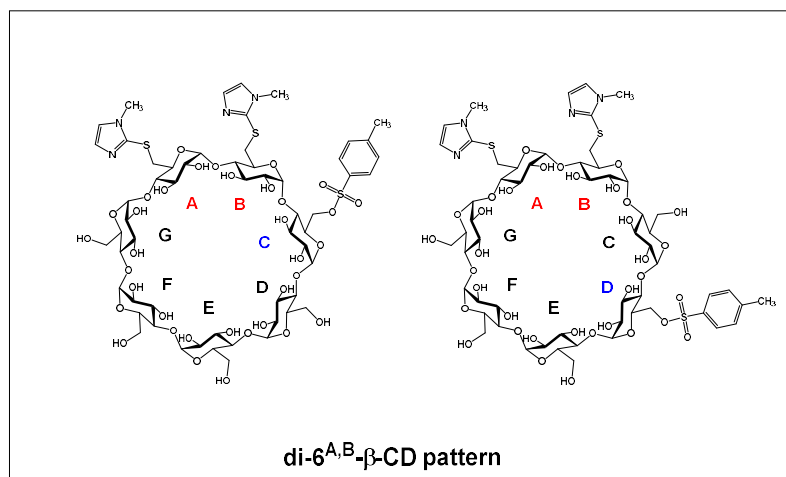


Fig. 2-9  $^{13}\text{C}$ -DEPT135 spectrum of **compound 15** in  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\text{D}_2\text{O}$  int.)

### 2-3 6<sup>A,X</sup>-di-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-β-CD (X = B, C, D) に対するベクトル選択的スルホニル化法の適応

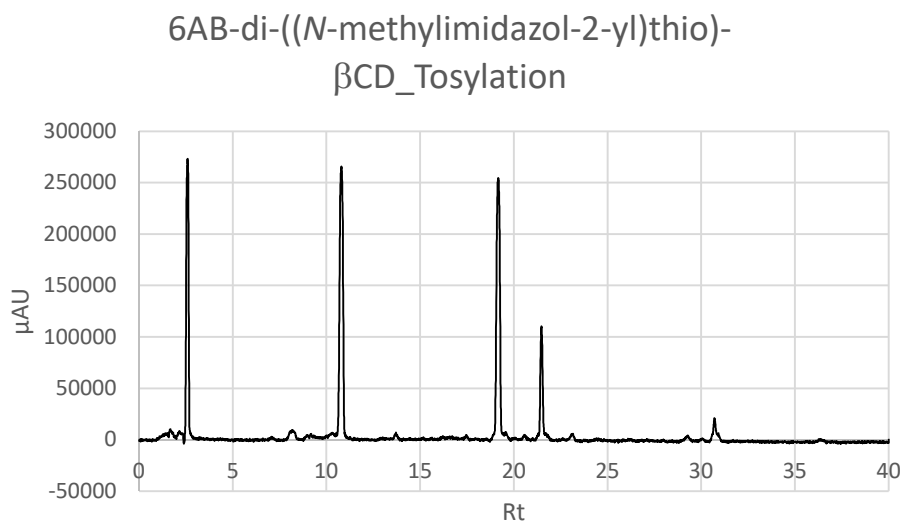
先の 6-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-β-CD を用いた位置特異的スルホニル化法の知見から、各 6-di-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-β-CDs がスルホニル化を受ける位置の予想図を以下に示す。



還元末端方向へ数えて触媒基から 2 つ目のグルコース残基のみがスルホニル化すると考えると、6A6B-di 体(13)では、6C および 6D 位でスルホニル化が生じる事が予想され、6A6C-di 体(14)では、6E 位スルホニル化体のみが得られると予測できる。また、6A6D-di 体(15)では、6C および 6F 位でスルホニル化が生じる事が予想される。この予想に基づき、6<sup>A,X</sup>-di-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\beta$ -CD(X = B, C, D)に対して、*p*-Toluenesulfonyl Chloride を用いたベクトル選択的スルホニル化法を適応し、逆相 HPLC を用いて反応の進行を追跡した(Fig. 2-10, 2-15, 2-18)。すると、いずれの反応も単純なピークを示した。

6A6B-di 体(13)と *p*-Toluenesulfonyl Chloride の反応では、主に 2 種の生成物ピークが観測され、Rt = 31 min 付近に di-Tosyl 体と考えられるピークも確認できた(Fig. 2-10, 2-11, 2-12, 2-13, 2-14)。6A6C-di 体(14)では予想と異なり、3 種類の生成物ピークが観測され、主要な化合物を得た(Fig. 2-15, 2-16, 2-17)。また、6A6D-di 体(15)も予想と異なり、主に 1 種類の生成物ピークが確認された(Fig. 2-18, 2-19, 2-20)。

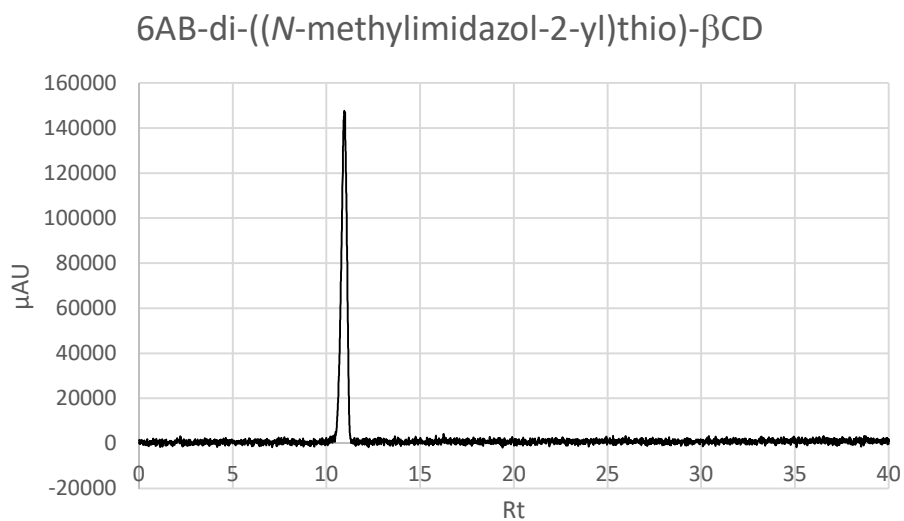
これらの生成物を逆相カラムで分離精製すると、C6 位を一箇所トシル化した生成物を比較的良収率で得る事ができた。また、僅かながらも二箇所トシル化したと考えられる生成物を得る事もできた。



**Fig. 2-10** Reversed phase HPLC analysis of the mixture obtained by the reaction of **compound 13** with *p*-Toluenesulfonyl Chloride.

Column: Wakosil 5C<sub>18</sub>-MS-II (ø 4.6 × 150 mm)

Gradient: 10~50 %aq. MeCN, Flow Rate: 1.0 mL / min, Wavelength: 250 nm

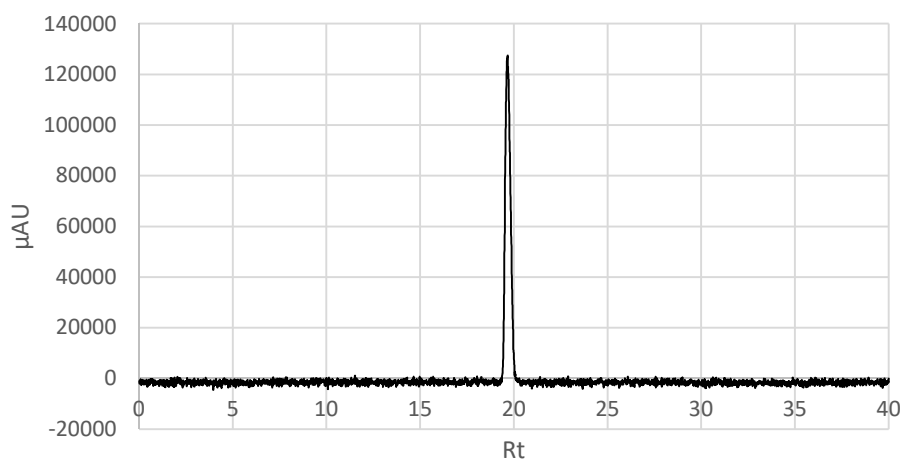


**Fig. 2-11** Reversed phase HPLC analysis of **compound 13**.

Column: Wakosil 5C<sub>18</sub>-MS-II (ø 4.6 × 150 mm)

Gradient: 10~50 %aq. MeCN, Flow Rate: 1.0 mL / min, Wavelength: 250 nm

6AB-di-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-6C-Tos- $\beta$ CD

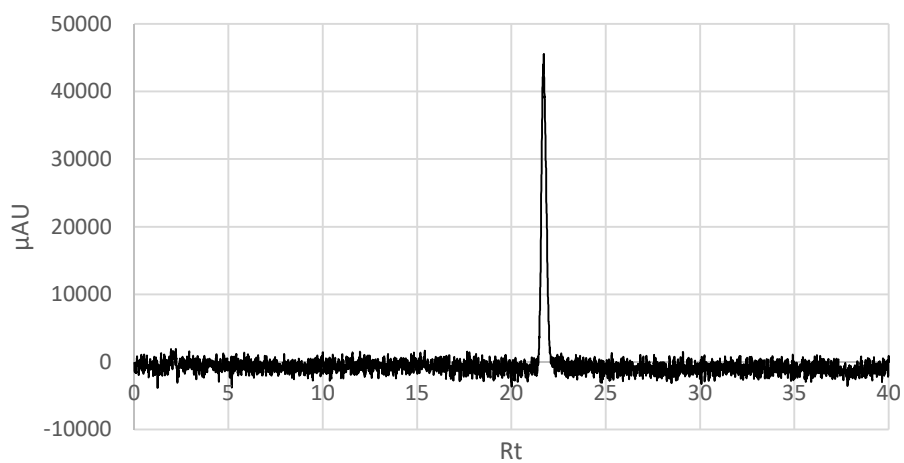


**Fig.2-12** Reversed phase HPLC analysis of **compound 16**.

Column: Wakosil 5C<sub>18</sub>-MS-II (∅ 4.6 × 150 mm)

Gradient: 10~50 %aq. MeCN, Flow Rate: 1.0 mL / min, Wavelength: 250 nm

6AB-di-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-6D-Tos- $\beta$ CD



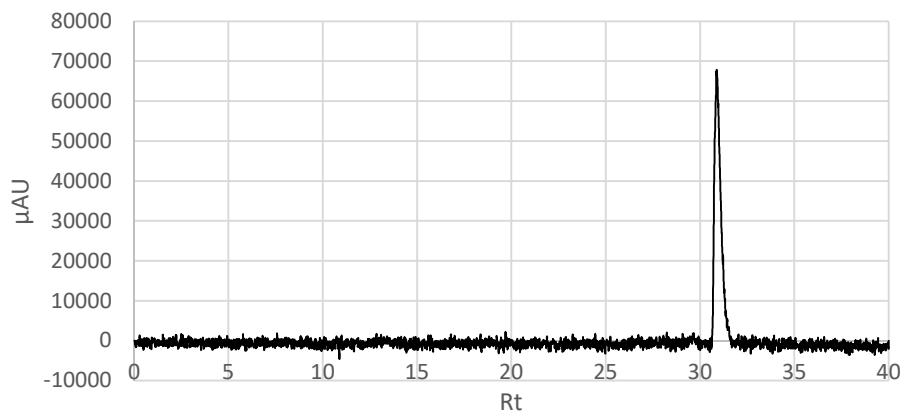
**Fig.2-13** Reversed phase HPLC analysis of **compound 17**.

Column: Wakosil 5C<sub>18</sub>-MS-II (∅ 4.6 × 150 mm)

Gradient: 10~50 %aq. MeCN, Flow Rate: 1.0 mL / min, Wavelength: 250 nm



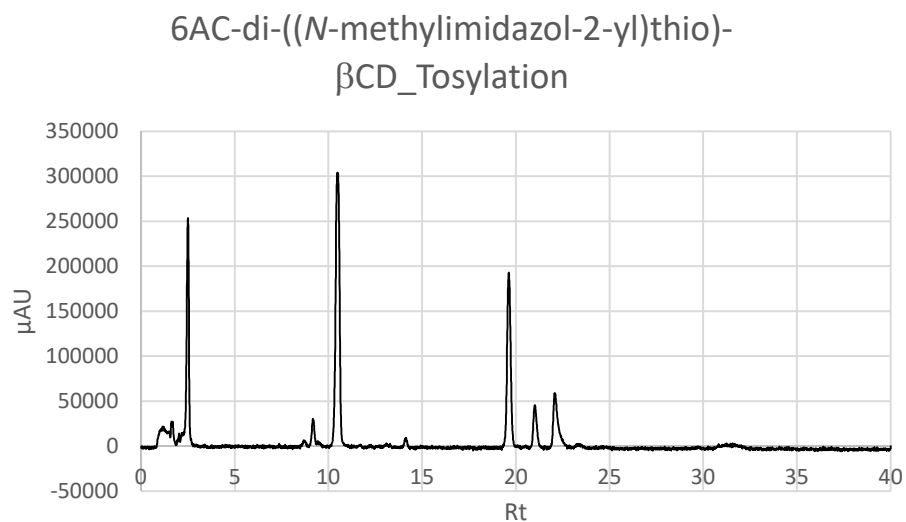
6AB-di-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-  
6CD-Tos- $\beta$ CD



**Fig.2-14** Reversed phase HPLC analysis of **compound 18**.

Column: Wakosil 5C<sub>18</sub>-MS-II (ø 4.6 × 150 mm)

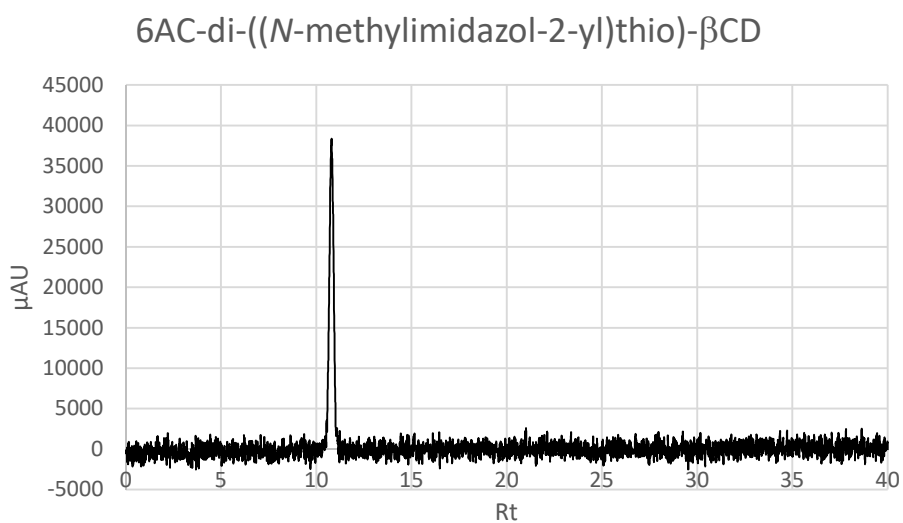
Gradient: 10~50 %aq. MeCN, Flow Rate: 1.0 mL / min, Wavelength: 250 nm



**Fig. 2-15** Reversed phase HPLC analysis of the mixture obtained by the reaction of **compound 14** with *p*-Toluenesulfonyl Chloride.

Column: Wakosil 5C<sub>18</sub>-MS-II (ø 4.6 × 150 mm)

Gradient: 10~50 %aq. MeCN, Flow Rate: 1.0 mL / min, Wavelength: 250 nm

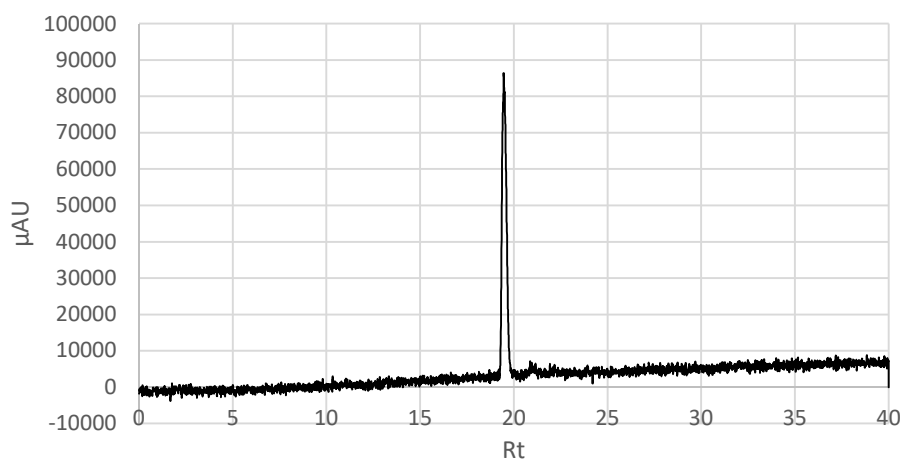


**Fig. 2-16** Reversed phase HPLC analysis of **compound 14**.

Column: Wakosil 5C<sub>18</sub>-MS-II (ø 4.6 × 150 mm)

Gradient: 10~50 %aq. MeCN, Flow Rate: 1.0 mL / min, Wavelength: 250 nm

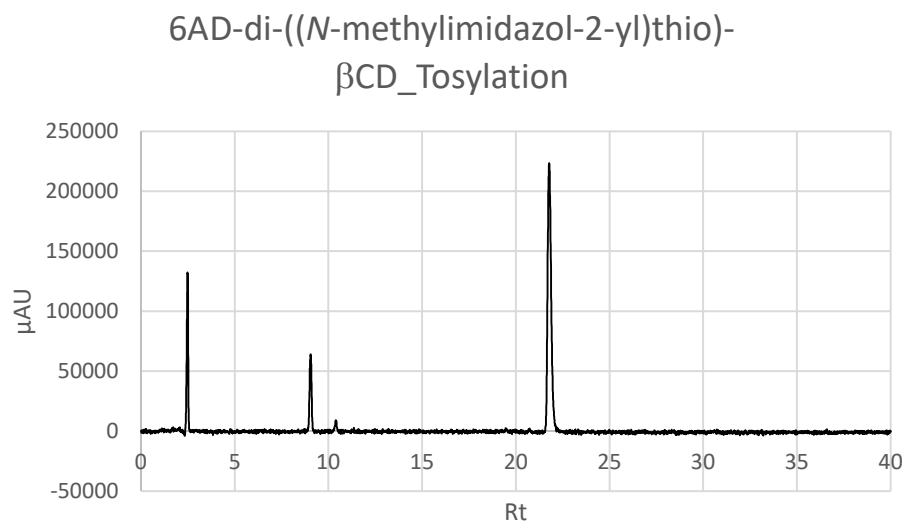
6AC-di-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-6E-Tos-βCD



**Fig.2-17** Reversed phase HPLC analysis of **compound 19**.

Column: Wakosil 5C<sub>18</sub>-MS-II (ø 4.6 × 150 mm)

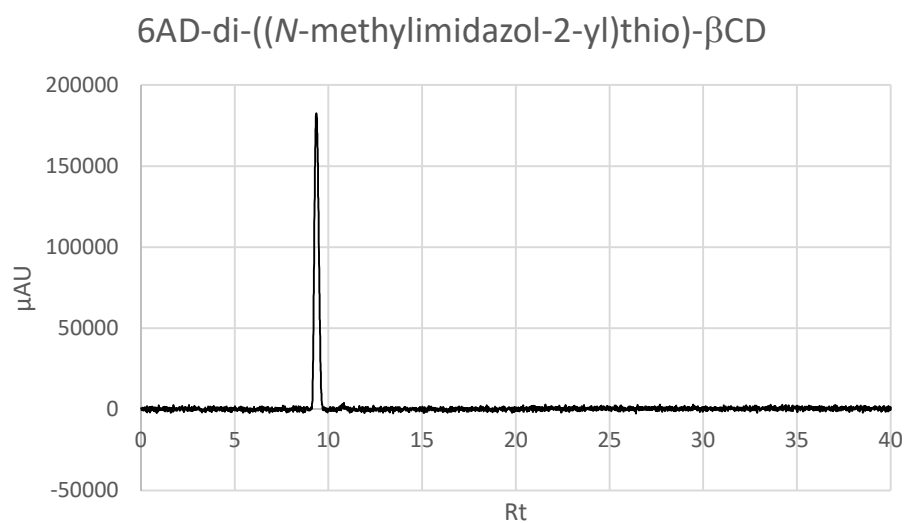
Gradient: 10~50 %aq. MeCN, Flow Rate: 1.0 mL / min, Wavelength: 250 nm



**Fig. 2-18** Reversed phase HPLC analysis of the mixture obtained by the reaction of **compound 15** with *p*-Toluenesulfonyl Chloride.

Column: Wakosil 5C<sub>18</sub>-MS-II (ø 4.6 × 150 mm)

Gradient: 10~50 %aq. MeCN, Flow Rate: 1.0 mL / min, Wavelength: 250 nm

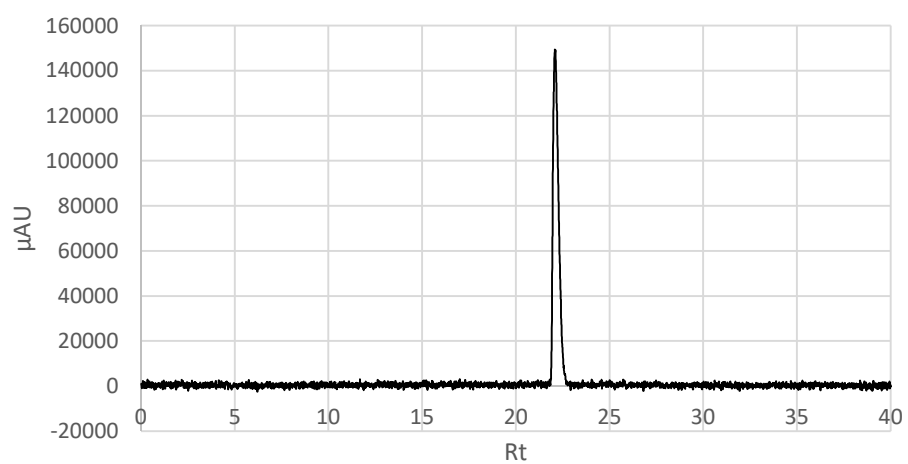


**Fig. 2-19** Reversed phase HPLC analysis of **compound 15**.

Column: Wakosil 5C<sub>18</sub>-MS-II (ø 4.6 × 150 mm)

Gradient: 10~50 %aq. MeCN, Flow Rate: 1.0 mL / min, Wavelength: 250 nm

6AD-di-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-6C-Tos- $\beta$ CD



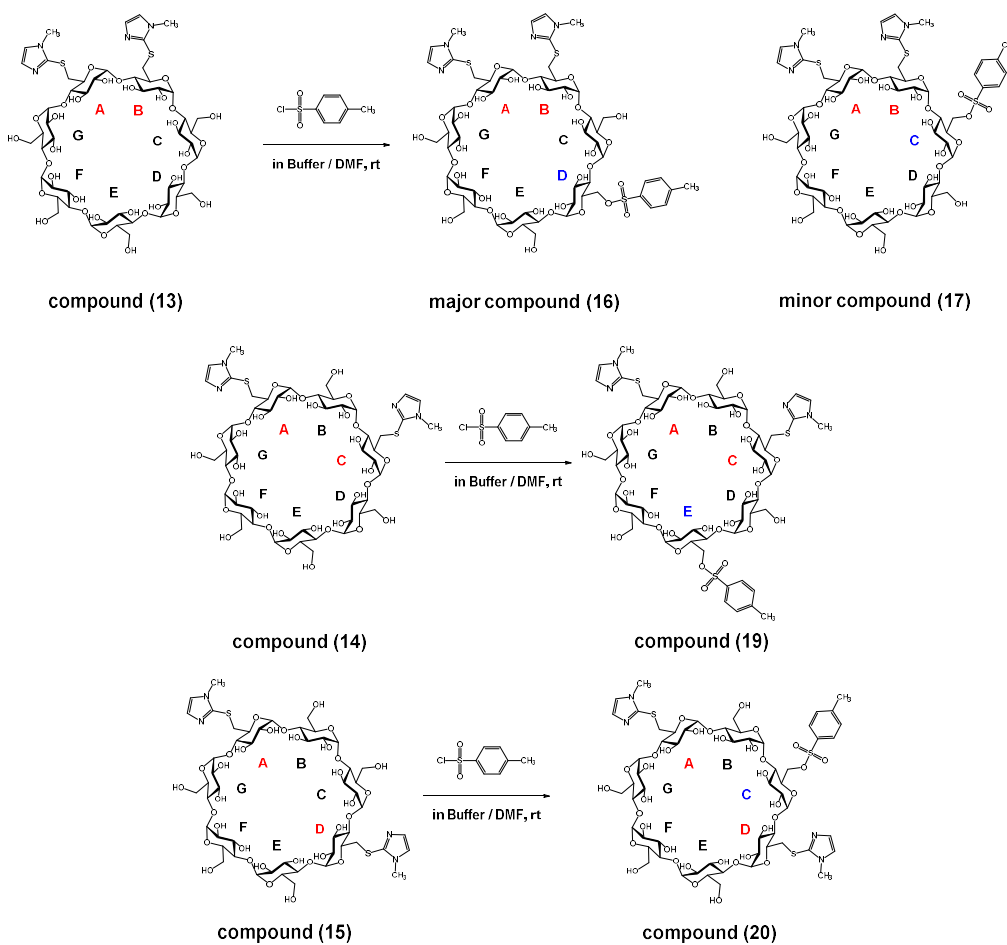
**Fig. 2-20** Reversed phase HPLC analysis of **compound 20**.

Column: Wakosil 5C<sub>18</sub>-MS-II ( $\phi$  4.6  $\times$  150 mm)

Gradient: 10~50 %aq. MeCN, Flow Rate: 1.0 mL / min, Wavelength: 250 nm

## 2-4 6<sup>A,X</sup>-di-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-6<sup>Y</sup>-Tos-β-CD(X = B, C, D)の糖鎖配列解析

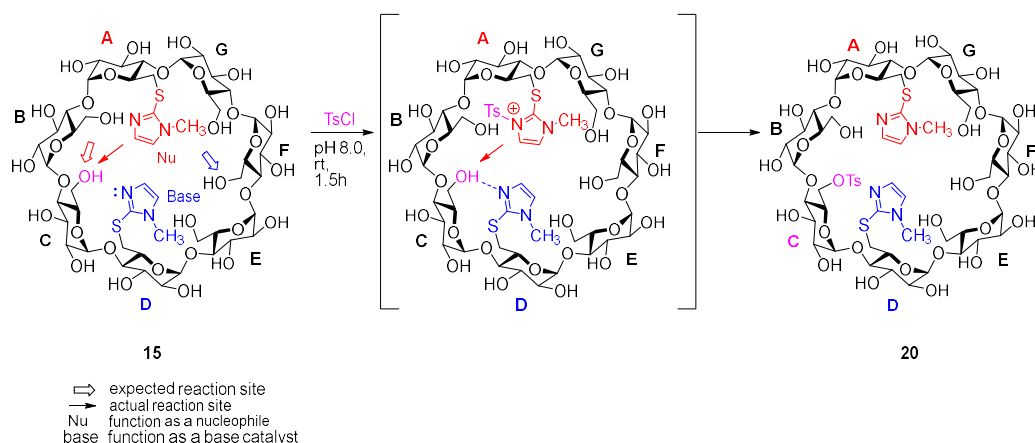
6<sup>A,X</sup>-di-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-6<sup>Y</sup>-Tos-β-CD(X = B, C, D)の糖鎖配列は、3, 6-anhydro化を経た TAKA-Diastase による加水分解反応を行い、得られた糖鎖の構造を解析することで判明した。得られた化合物の糖鎖配列の解析結果を以下に示す。



6<sup>A</sup>6<sup>B</sup>-di 体(13)では、6<sup>F</sup>および6<sup>G</sup>位でスルホニル化が生じる事が予想され、実際に6<sup>F</sup>:6<sup>G</sup> = 3:1の比率でスルホニル化が生じた。その一方で、6<sup>A</sup>6<sup>C</sup>-di 体(14)では、3種の異性体が生じ、6<sup>E</sup>位スルホニル化体(19)を得る事が出来た。また、6<sup>A</sup>6<sup>D</sup>-di 体(15)では、6<sup>C</sup>および6<sup>F</sup>位でスルホニル化が生じる事が予想されるが、6<sup>C</sup>-OHがスルホニル化された化合物(20)が60%の収率で得られたにもかかわらず、6<sup>F</sup>位スルホニル化体は得られなかった。

これらの結果から、本反応は CD に導入された (*N*-methylimidazol-2-yl)thio 基が求核剤としてだけでなく、塩基としても働く事が示唆される。

$6^A6^D$ -di 体 (**15**)において、2 つのイミダゾリル基がそれぞれ同じ触媒能を持ち、6-( (*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\beta$ -CD (**2**) のベクトル選択性を再現することができるならば、 $6^C$ -OH はグルコース残基 A のイミダゾリル基によってベクトル選択性にスルホン化され、 $6^F$ -OH はグルコース残基 D のイミダゾリル基によってスルホン化されると予測できる。よって、 $6^C$ -OH と  $6^F$ -OH の反応性に差は生じないと考えられた。しかし、結果として  $6^A6^D$ -di 体 (**15**) とトシルクロリドとの反応では、 $6^C$ -OH と  $6^F$ -OH の反応性は明らかに異なり、反応液中においても生成物は 1 種類のみが確認され (Fig. 2-18)、 $6^C$ -トシル化生成物 (**20**) のみが 60% の単離収率で得られた (Fig. 2-20)。この結果から、隣接するグルコース残基 D のイミダゾリル基が塩基として機能することによって、 $6^C$ -OH の求核性が高められていると考えられる。よって、 $6^A6^D$ -di 体 (**15**) におけるベクトル選択的スルホン化反応の結果は、2 つのイミダゾリル基のうち、グルコース残基 A のイミダゾリル基がスルホン化剤に対し求核原子として機能する際、グルコース残基 D のイミダゾリル基は塩基触媒として作用し、 $6^C$ -OH の求核性を高めている事を強く示唆する。









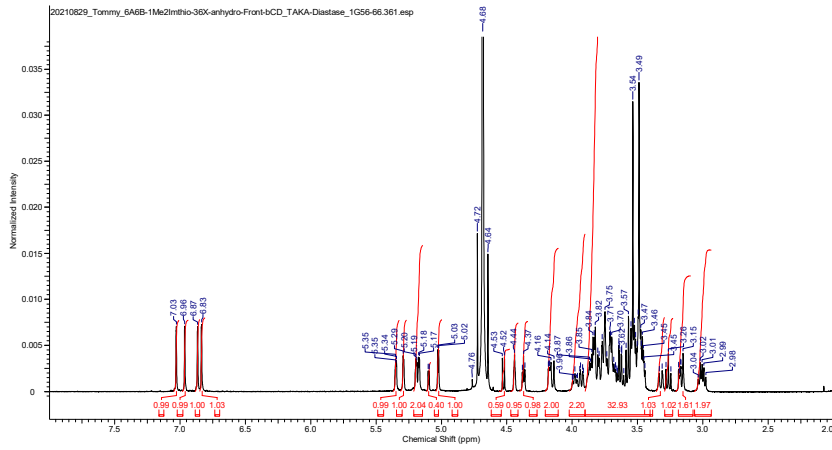
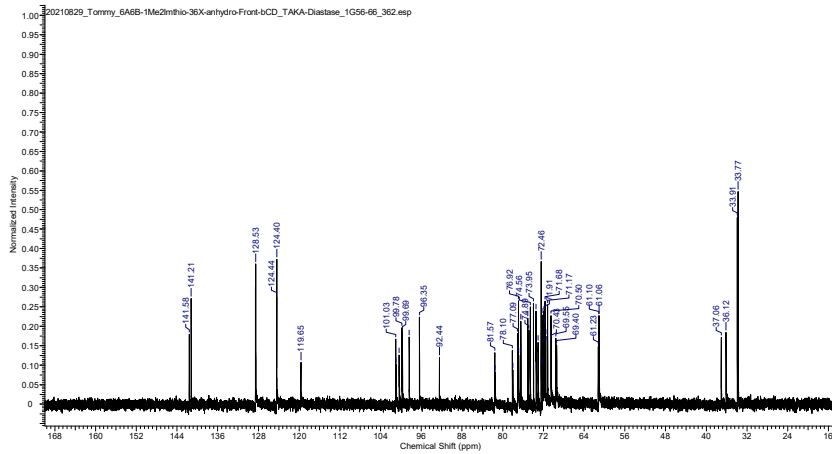


Fig. 2-27  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of **compound 25** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int. int.)



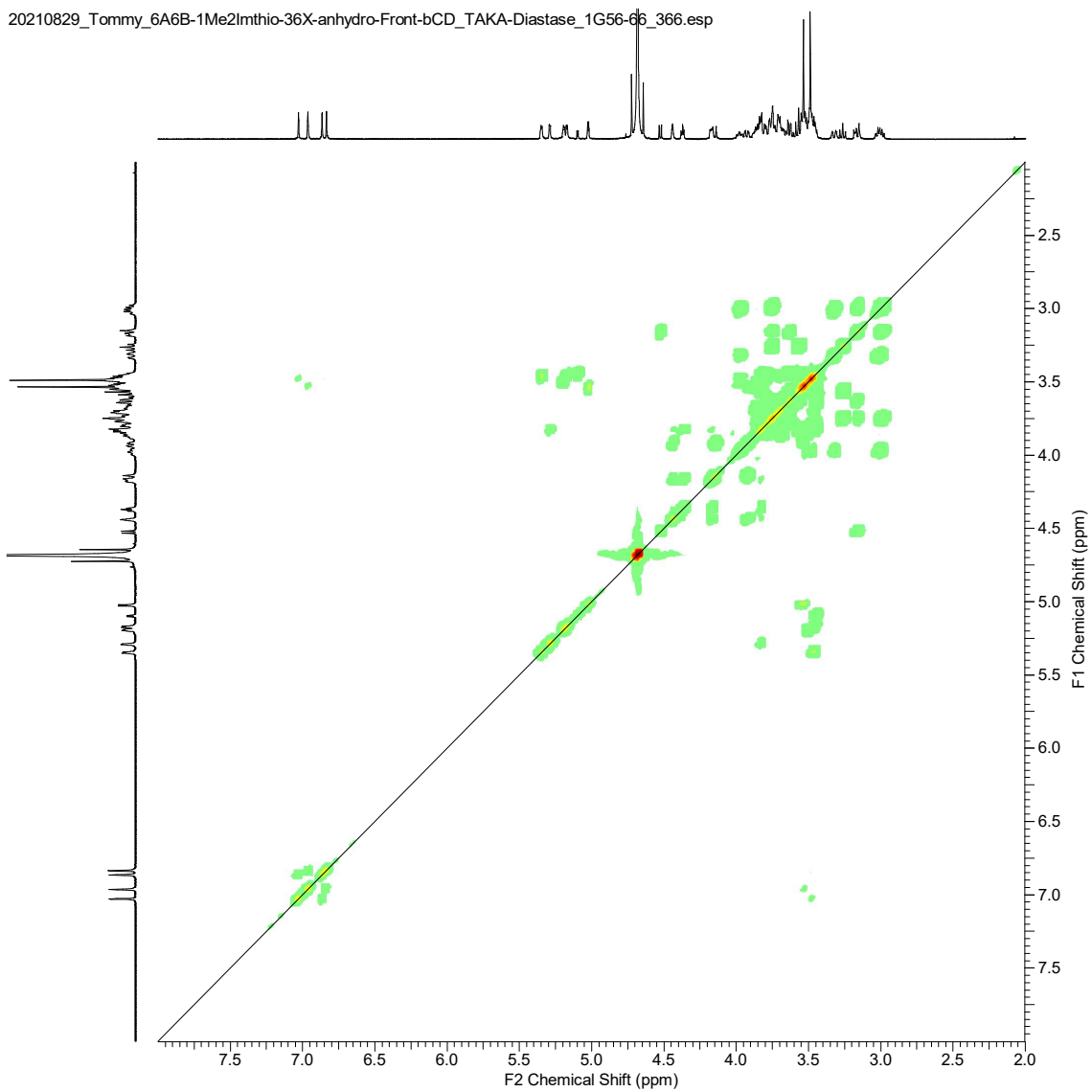


Fig. 2-30  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY spectrum of **compound 25** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

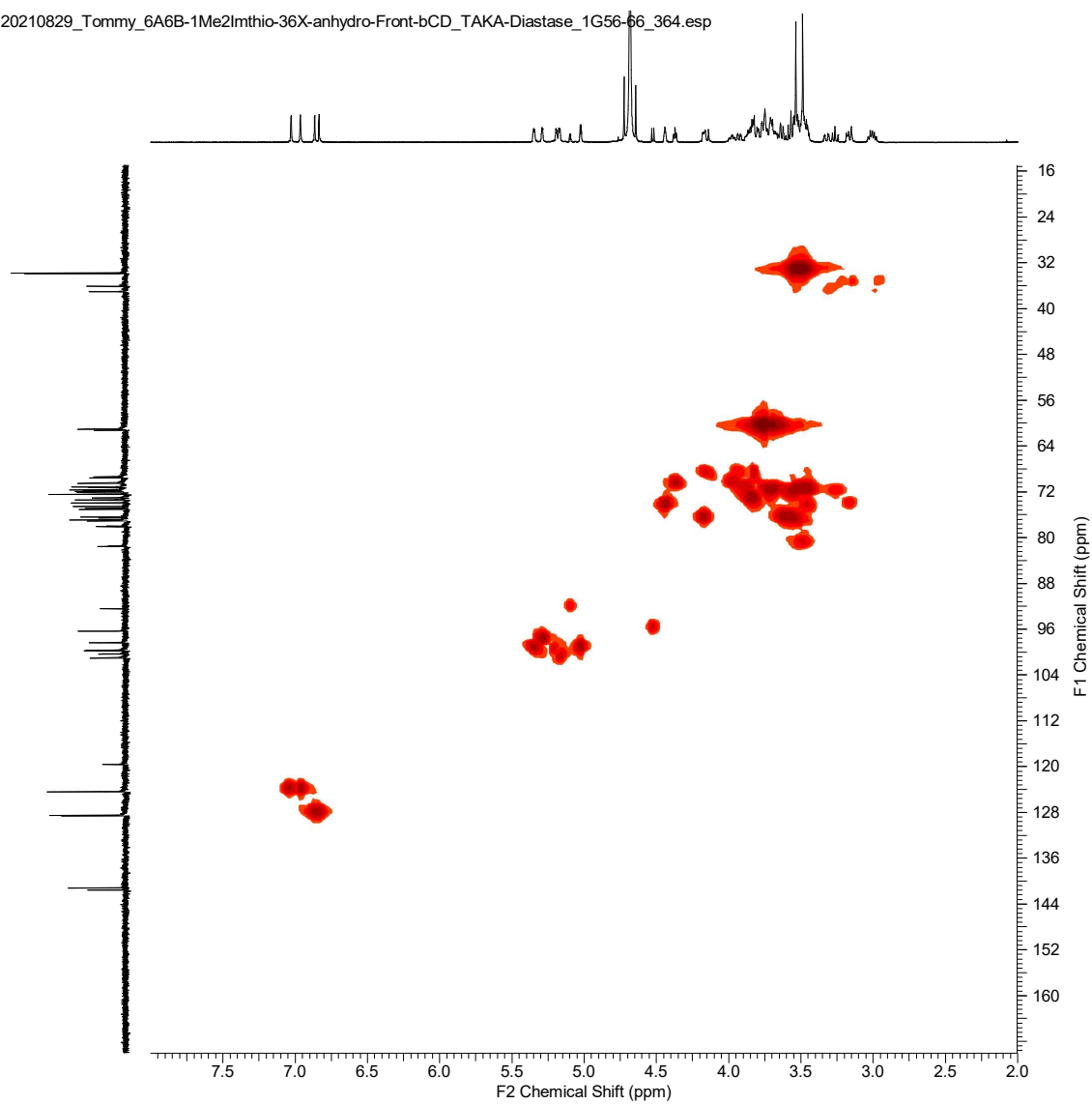


Fig. 2-31  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  HMQC spectrum of **compound 25** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

20210829\_Tommy\_6A6B-1Me2Imthio-36X-anhydro-Front-bCD\_TAKA-Diastase\_1G56-66\_365.esp

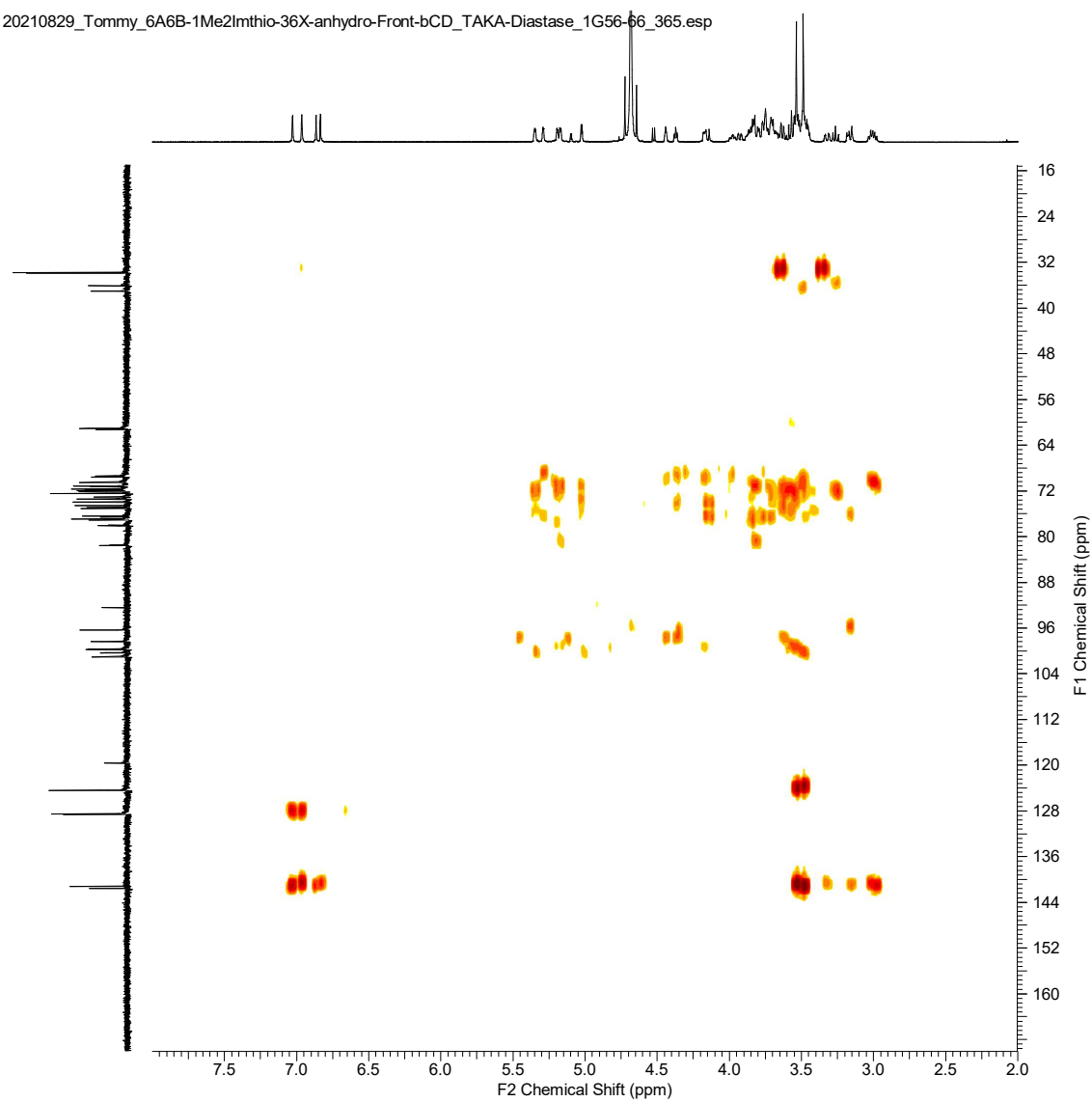


Fig. 2-32  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  HMBC spectrum of **compound 25** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)





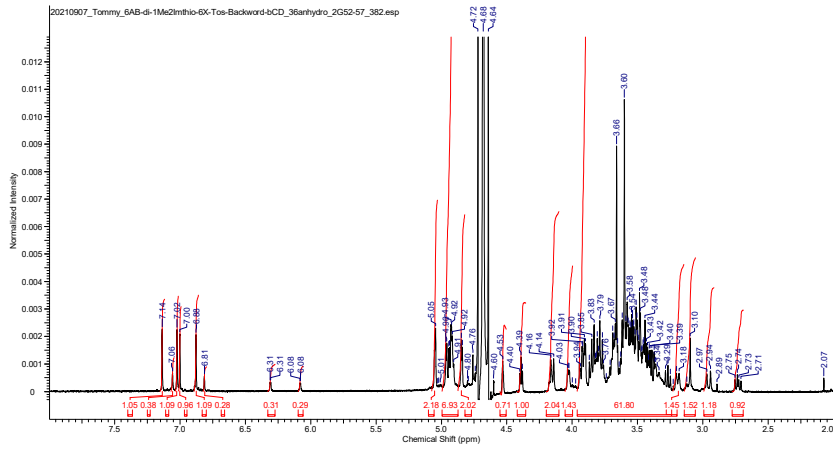


Fig. 2-37  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of compound 23 in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

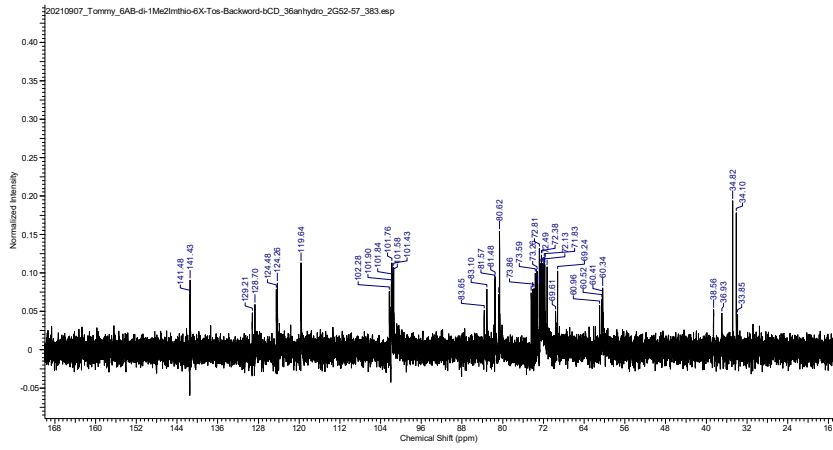


Fig. 2-38  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of compound 23 in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

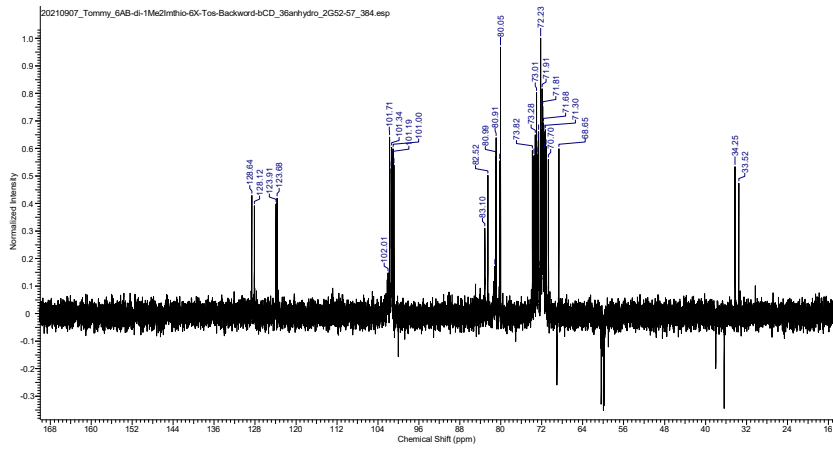


Fig. 2-39  $^{13}\text{C}$ -DEPT135 spectrum of compound 23 in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)



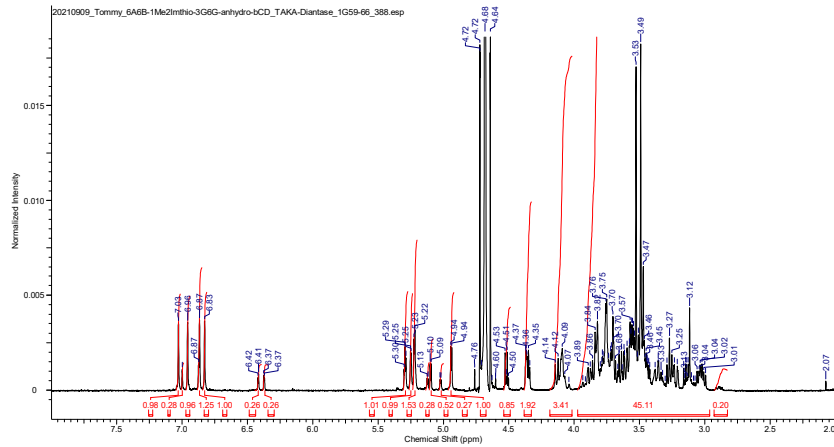


Fig. 2-40  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of compound 26 in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

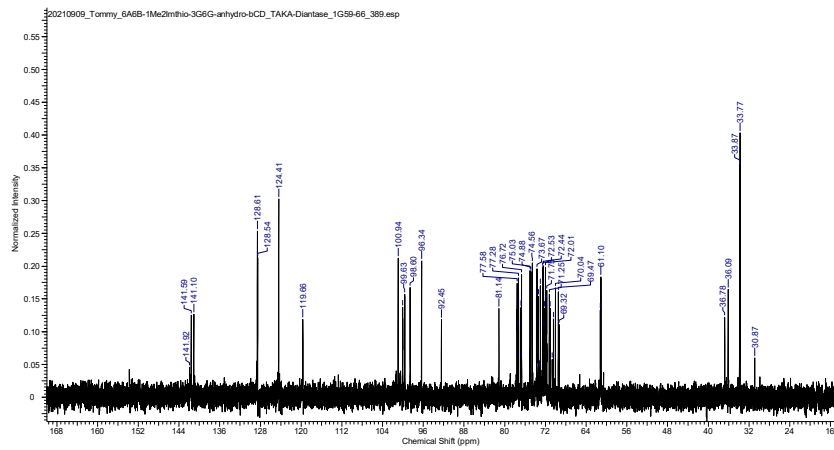


Fig. 2-41  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of compound 26 in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

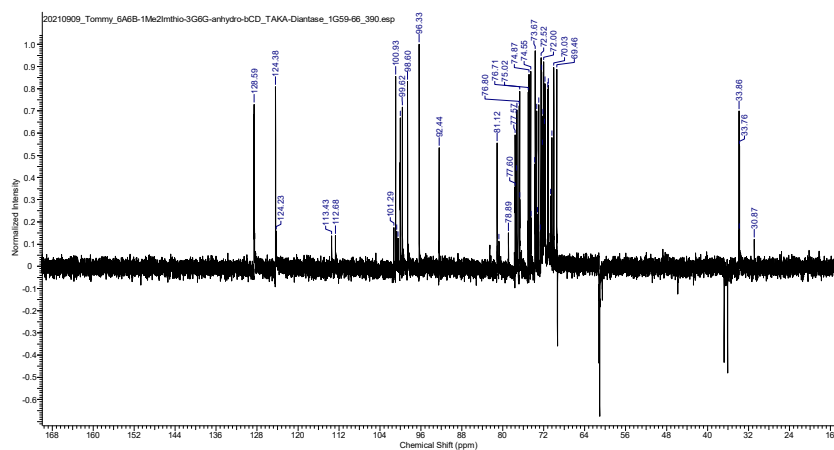


Fig. 2-42  $^{13}\text{C}$ -DEPT spectrum of compound 26 in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

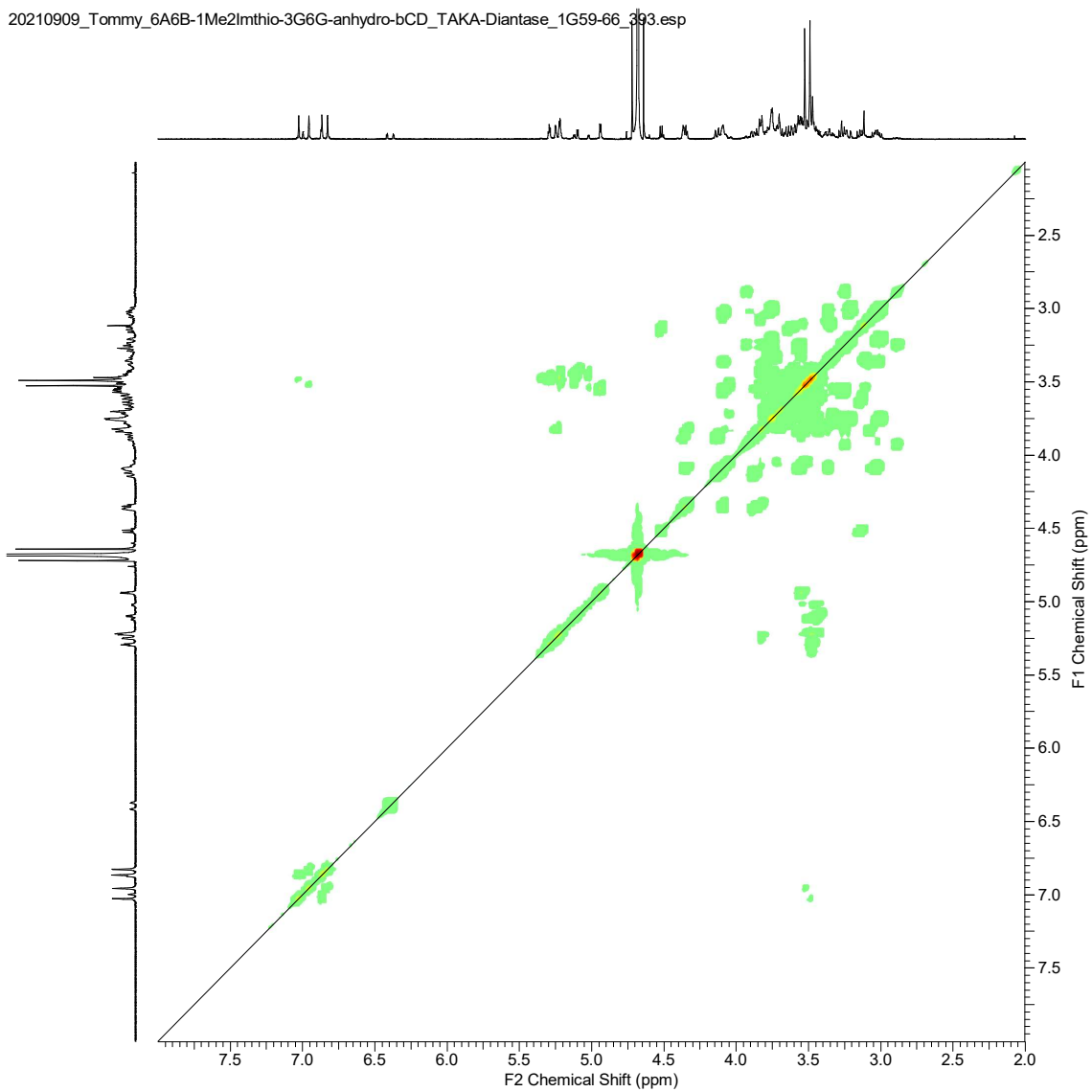


Fig. 2-43  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY spectrum of **compound 26** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

20210909\_Tommy\_6A6B-1Me2Imthio-3G6G-anhydro-bCD\_TAKA-Diantase\_1G59-66\_391.esp

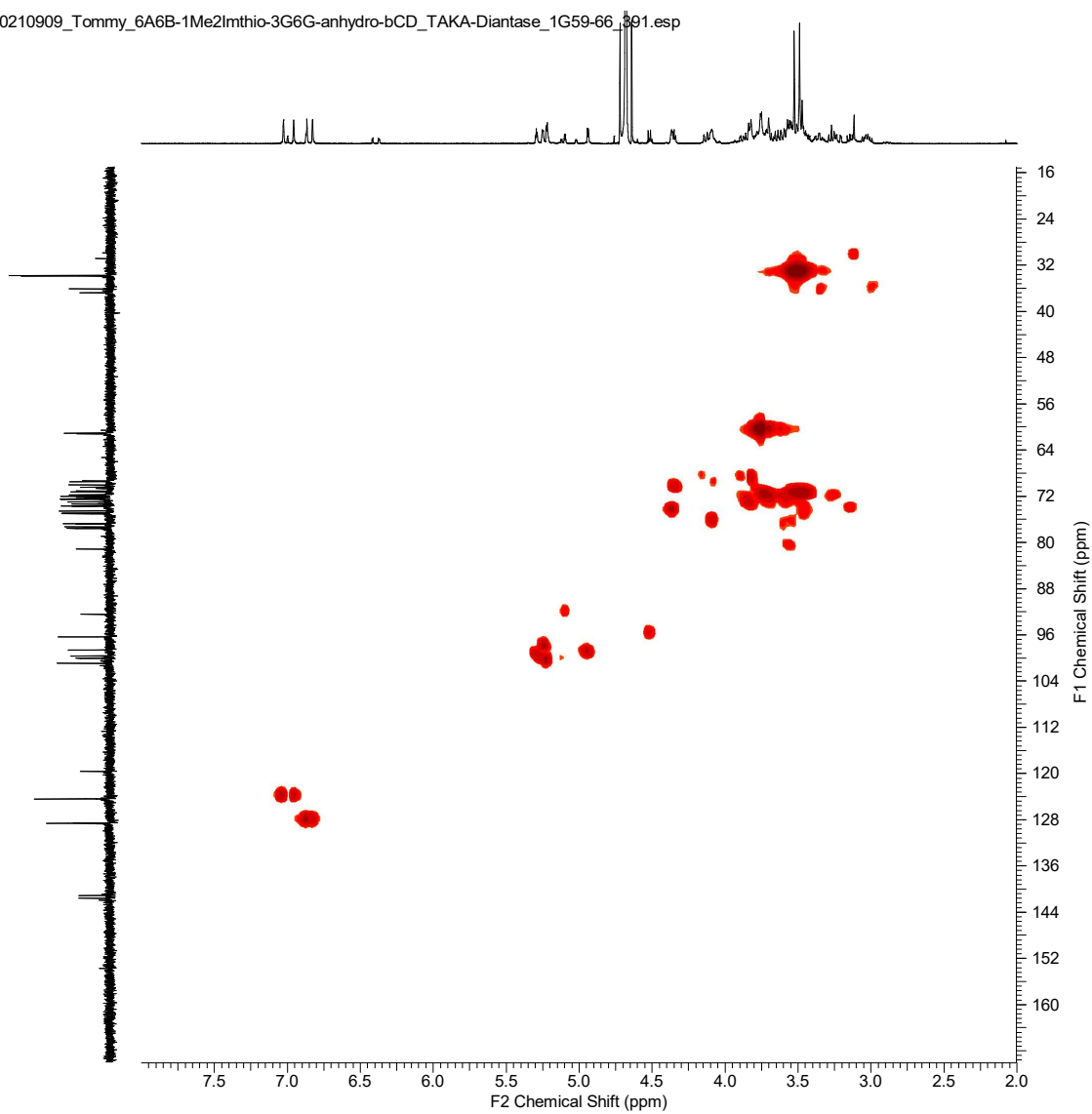


Fig. 2-44  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  HMQC spectrum of **compound 26** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

20210909\_Tommy\_6A6B-1Me2Imthio-3G6G-anhydro-bCD\_TAKA-Diantase\_1G59-66\_392.esp

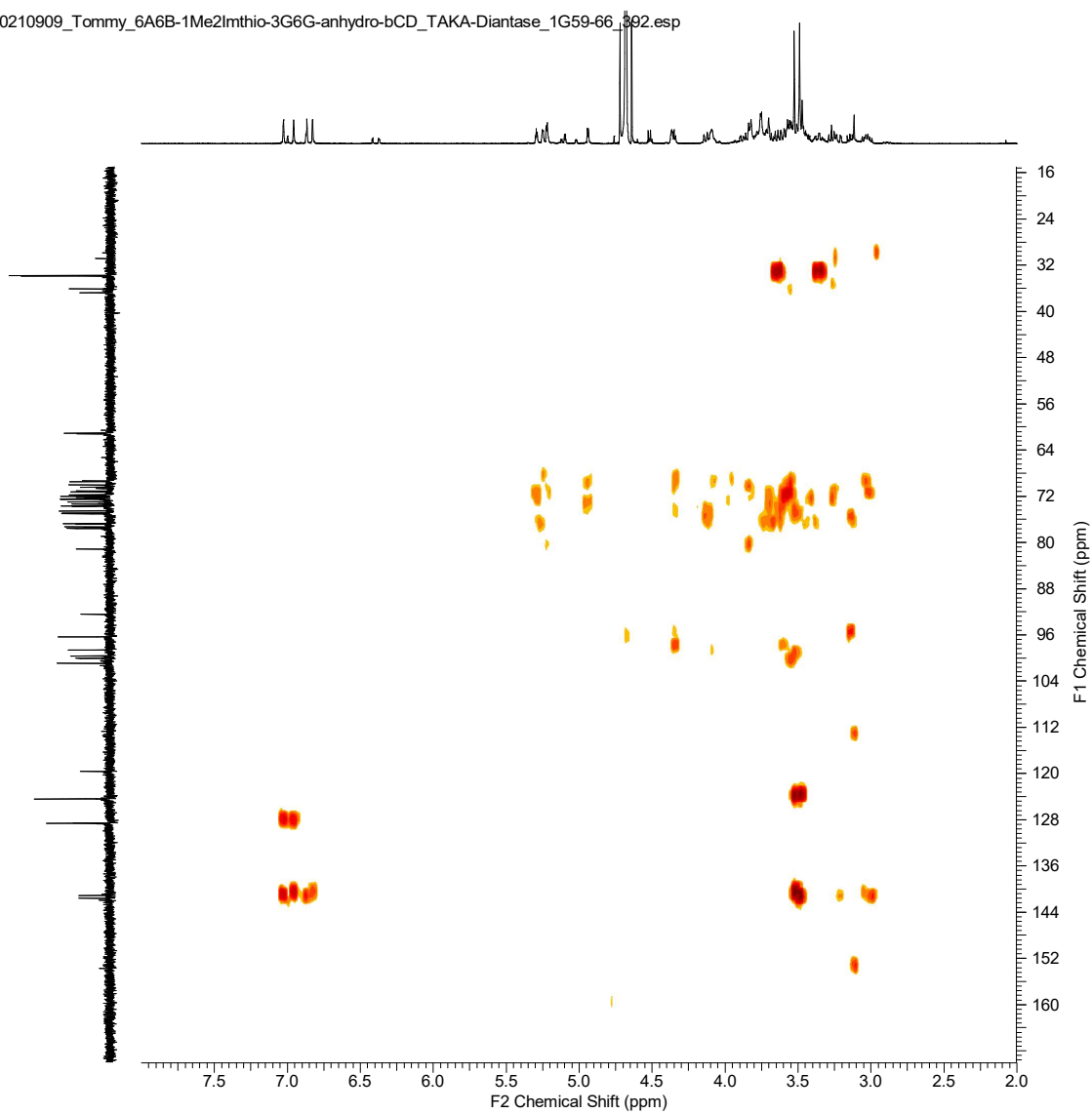


Fig. 2-45  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  HMBC spectrum of **compound 26** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

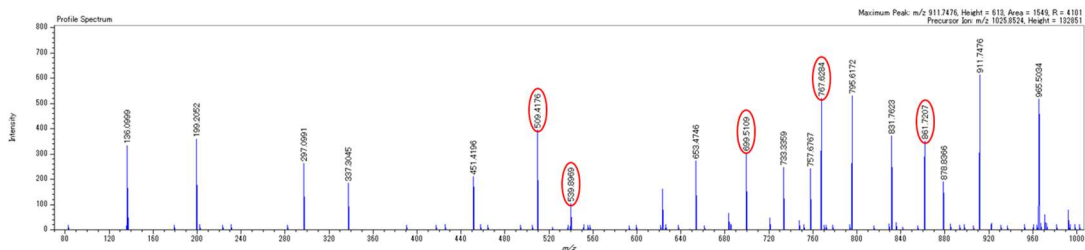
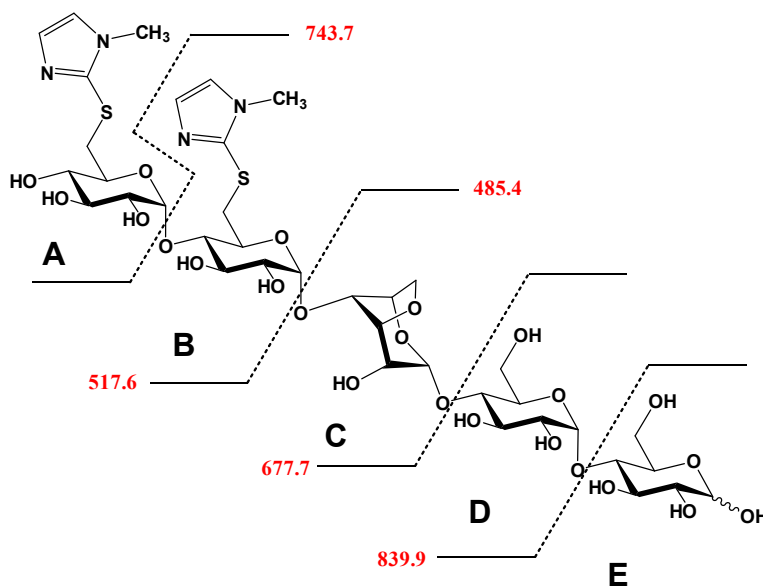


Fig. 2-46 MS/MS spectrum of compound 26



ABC pattern Fragment

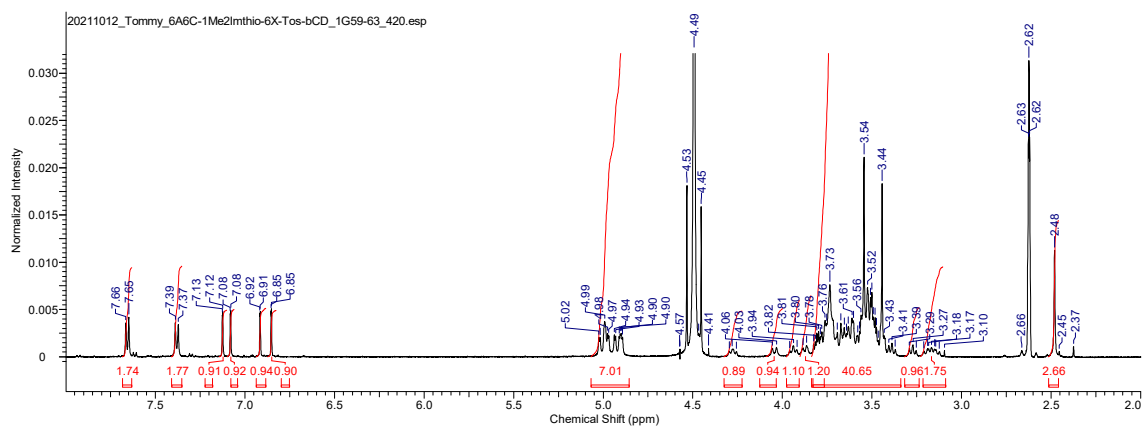


Fig. 2-47  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of compound 19 in  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\text{D}_2\text{O}$  int.)

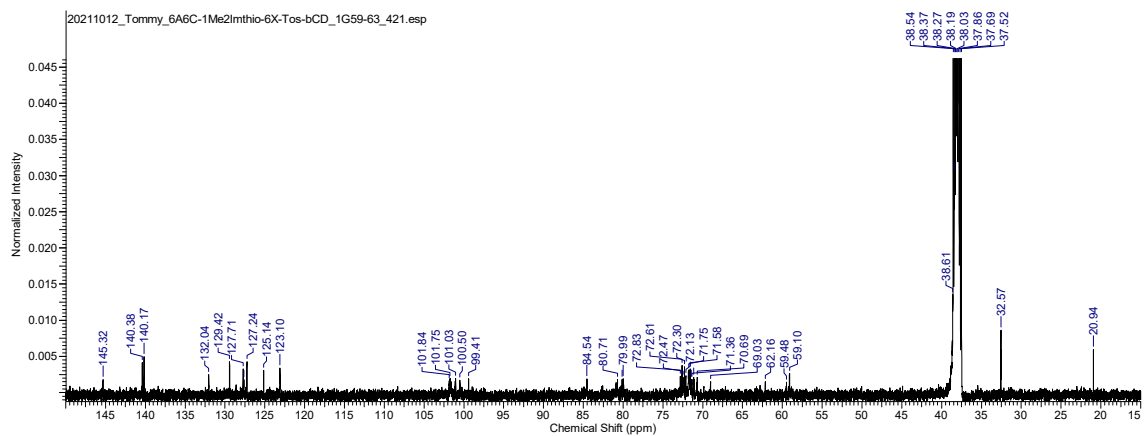


Fig. 2-48  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrum of compound 19 in  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\text{D}_2\text{O}$  int.)

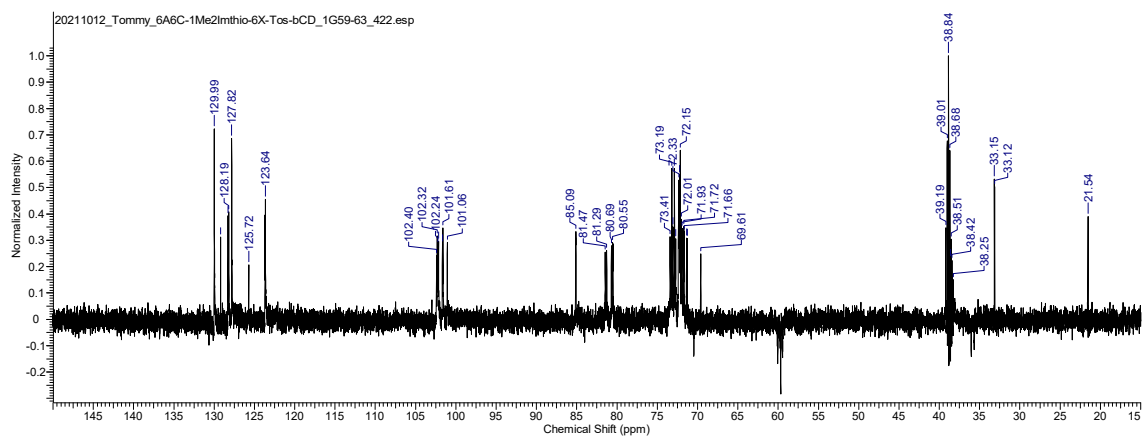


Fig. 2-49  $^{13}\text{C-DEPT135}$  spectrum of compound 19 in  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\text{D}_2\text{O}$  int.)

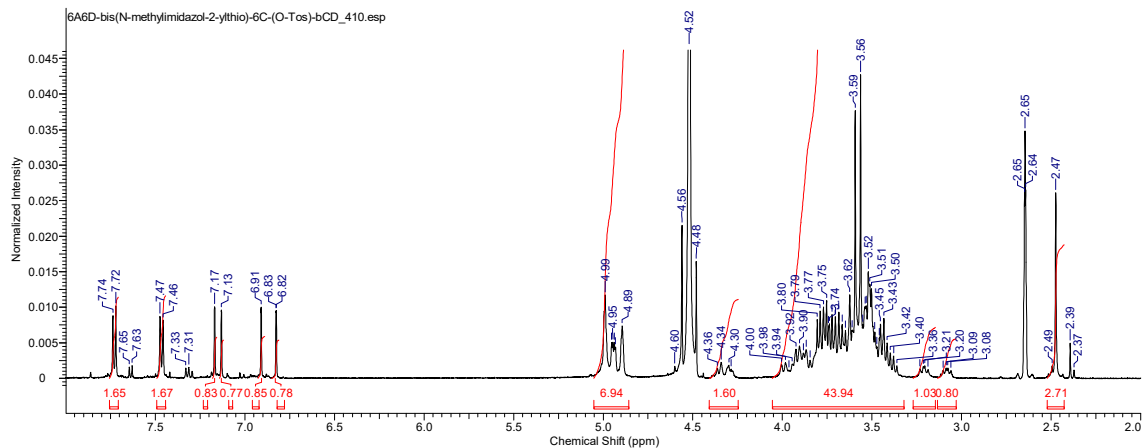


Fig. 2-50  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of compound 20 in  $\text{DMSO}-d_6$  ( $\text{D}_2\text{O}$  int.)

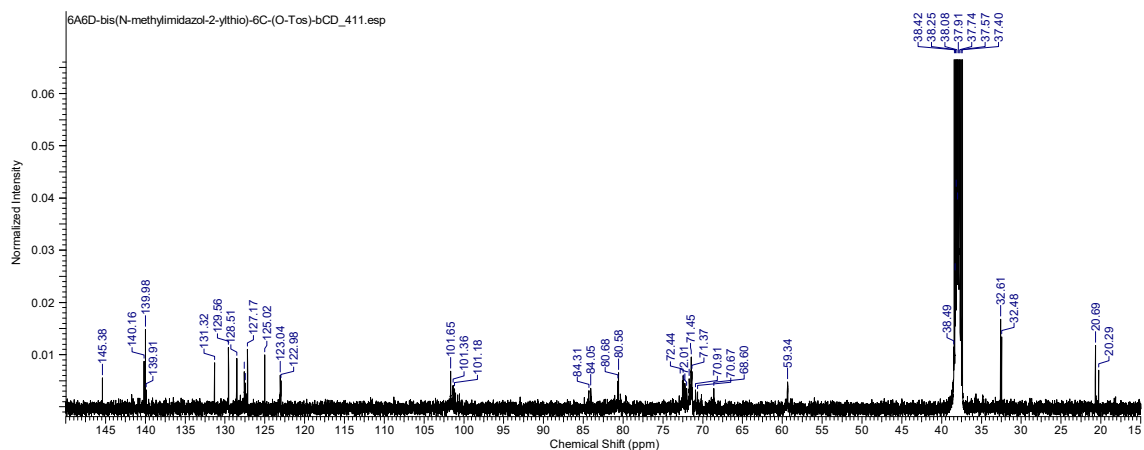


Fig. 2-51  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of compound 20 in  $\text{DMSO}-d_6$  ( $\text{D}_2\text{O}$  int.)

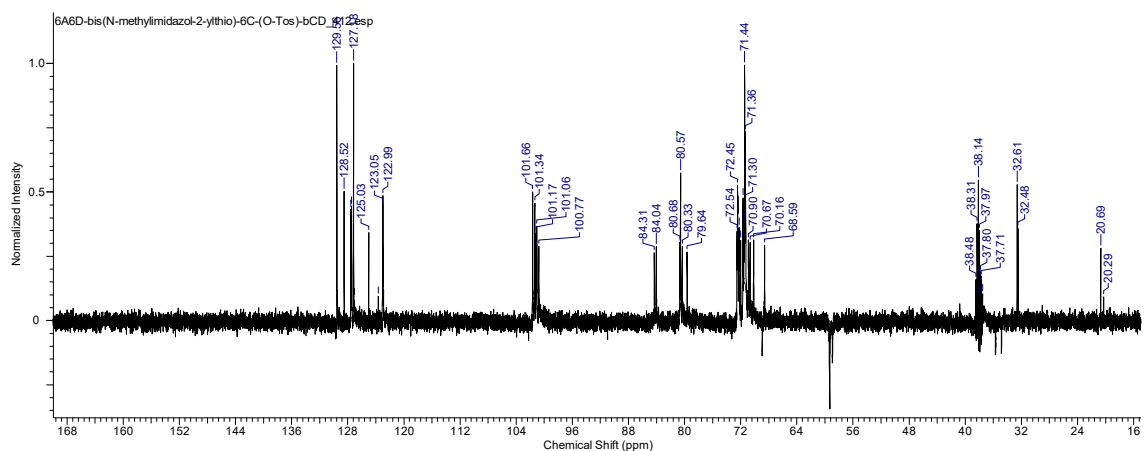


Fig. 2-52  $^{13}\text{C}$ -DEPT135 spectrum of compound 20 in  $\text{DMSO}-d_6$  ( $\text{D}_2\text{O}$  int.)





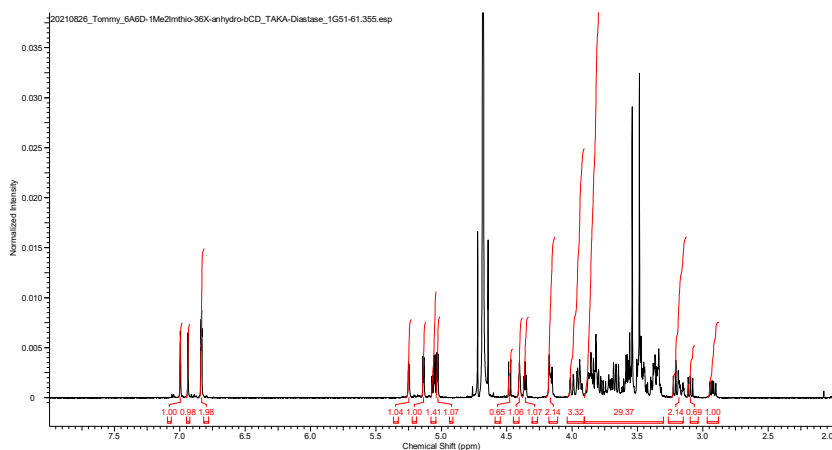


Fig.2-56  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of **compound 27** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

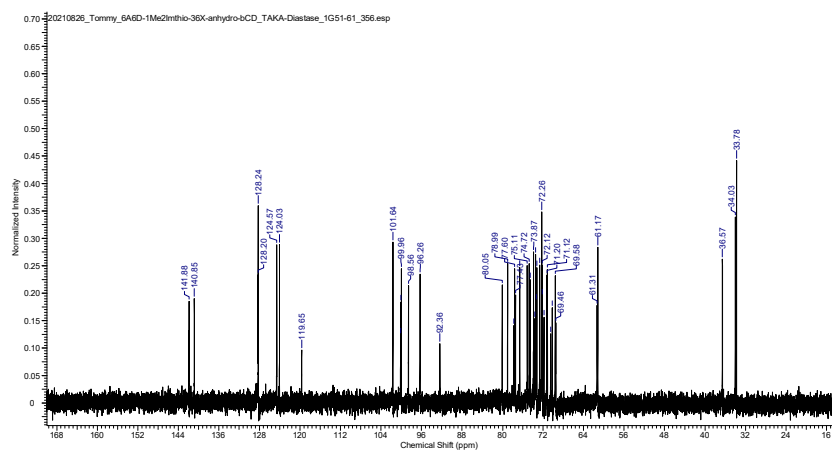


Fig.2-57  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of **compound 27** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

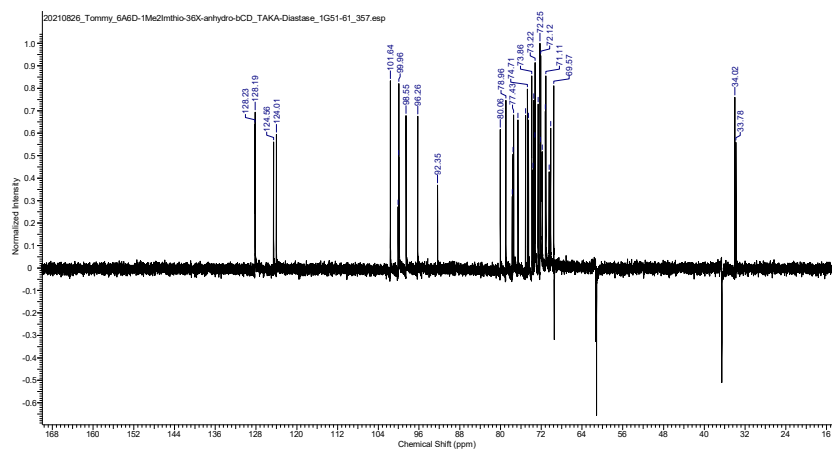


Fig.2-58  $^{13}\text{C}$ -DEPT135 spectrum of **compound 27** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

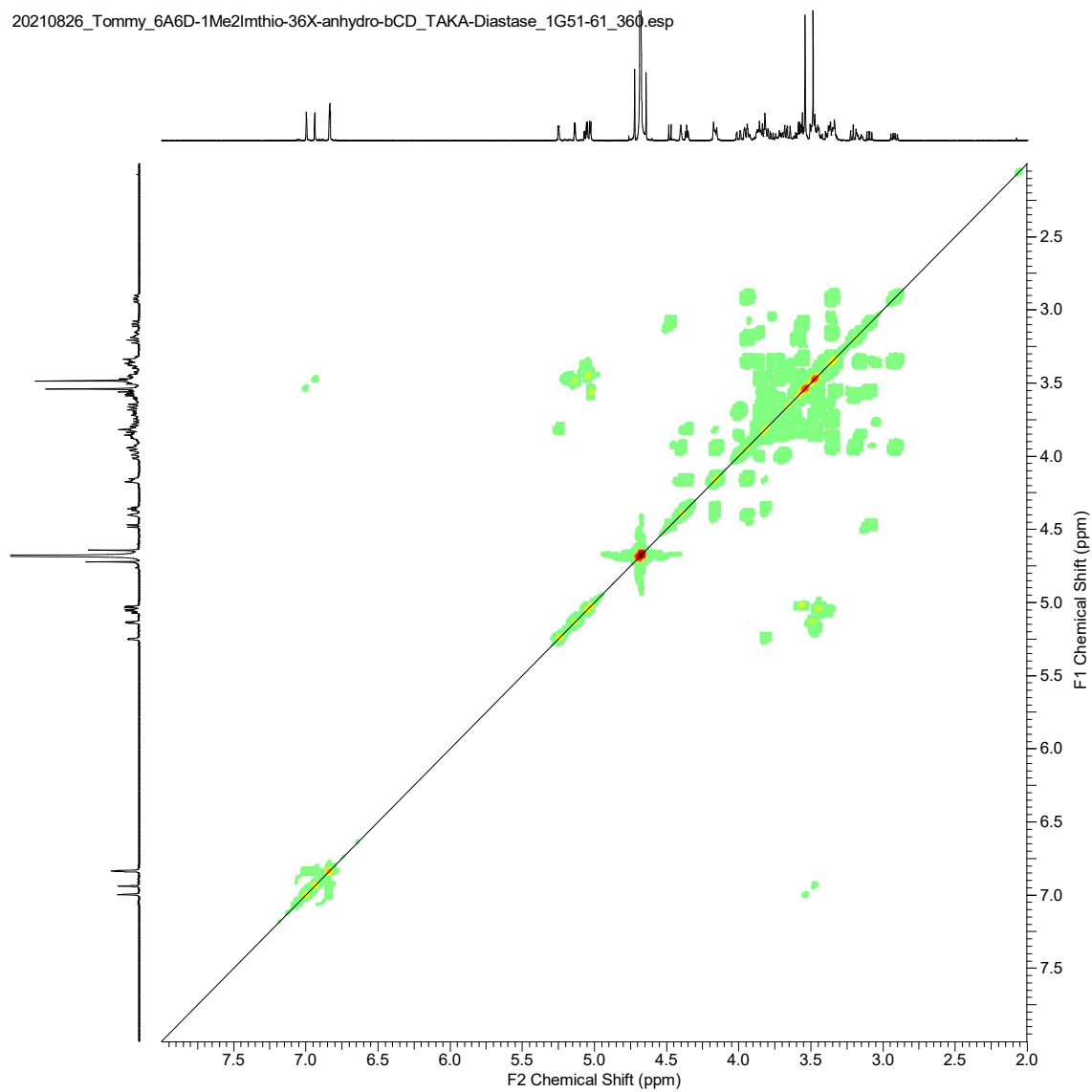


Fig. 2-59  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY spectrum of **compound 27** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

20210826\_Tommy\_6A6D-1Me2Imthio-36X-anhydro-bCD\_TAKA-Diastase\_1G51-61\_358.esp

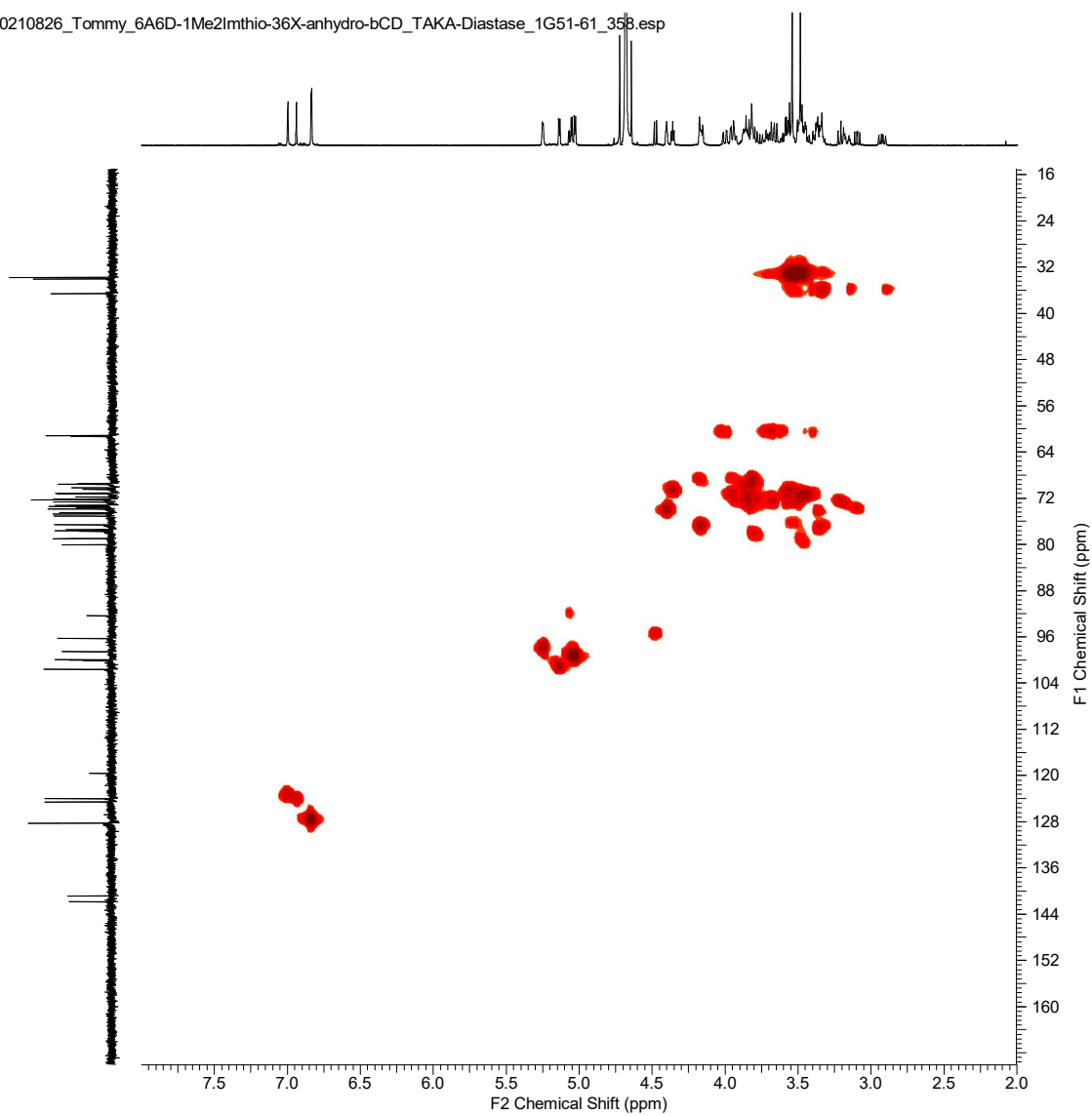


Fig. 2-60  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  HMQC spectrum of **compound 27** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

20210826\_Tommy\_6A6D-1Me2Imthio-36X-anhydro-bCD\_TAKA-Diastase\_1G51-61\_359.esp

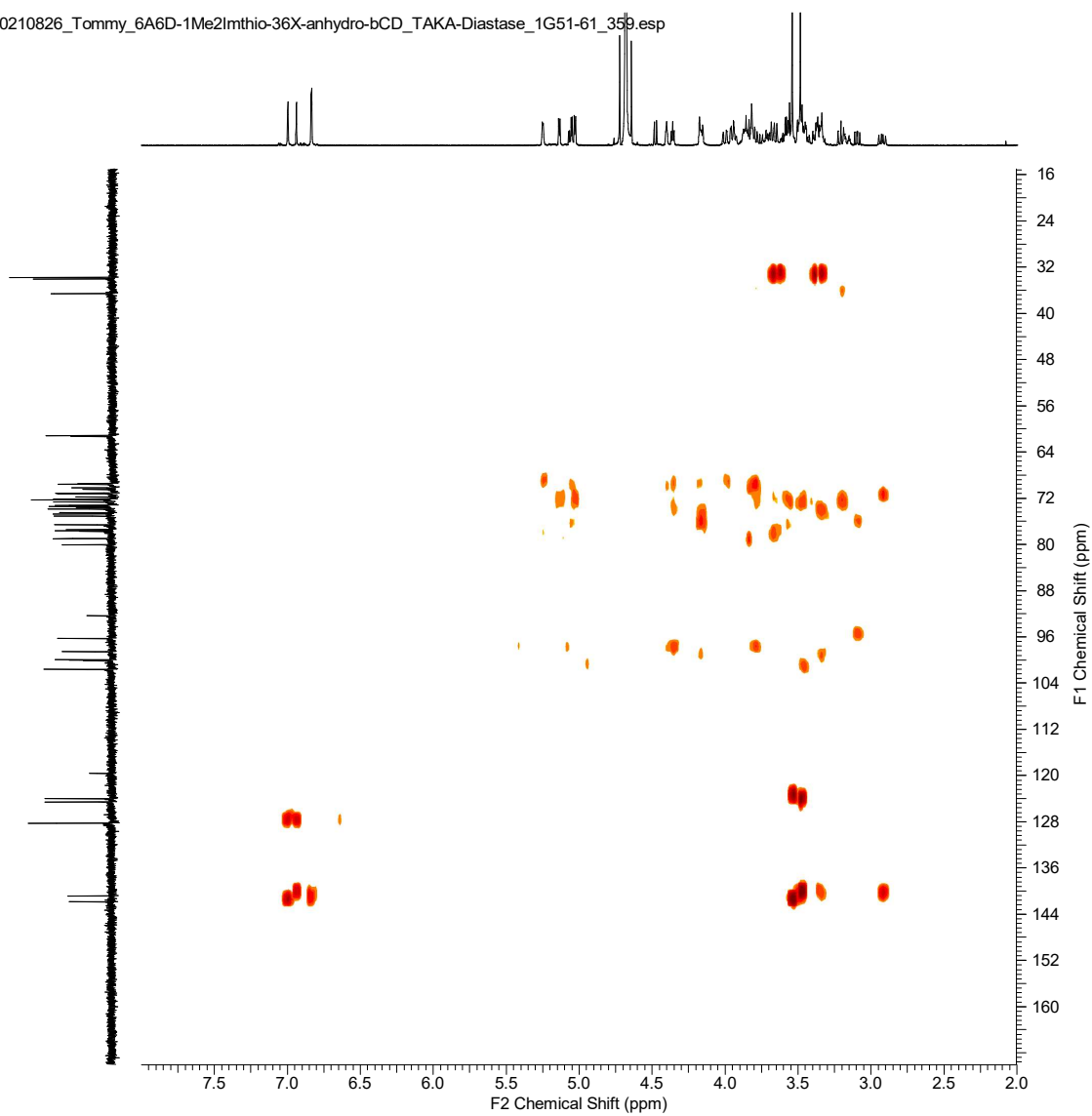


Fig. 2-61  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  HMBC spectrum of **compound 27** in  $\text{D}_2\text{O}$  (acetonitrile int.)

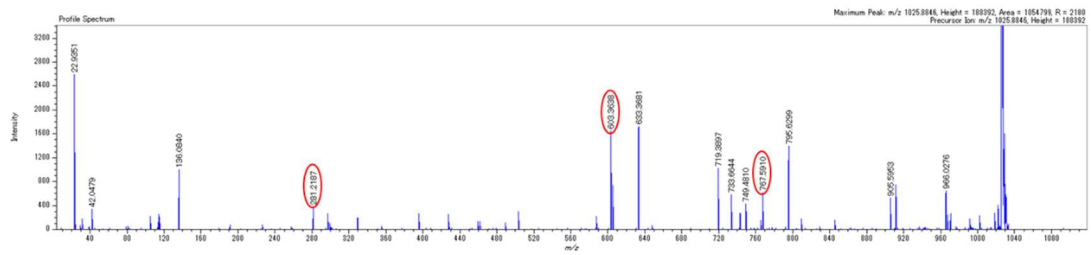
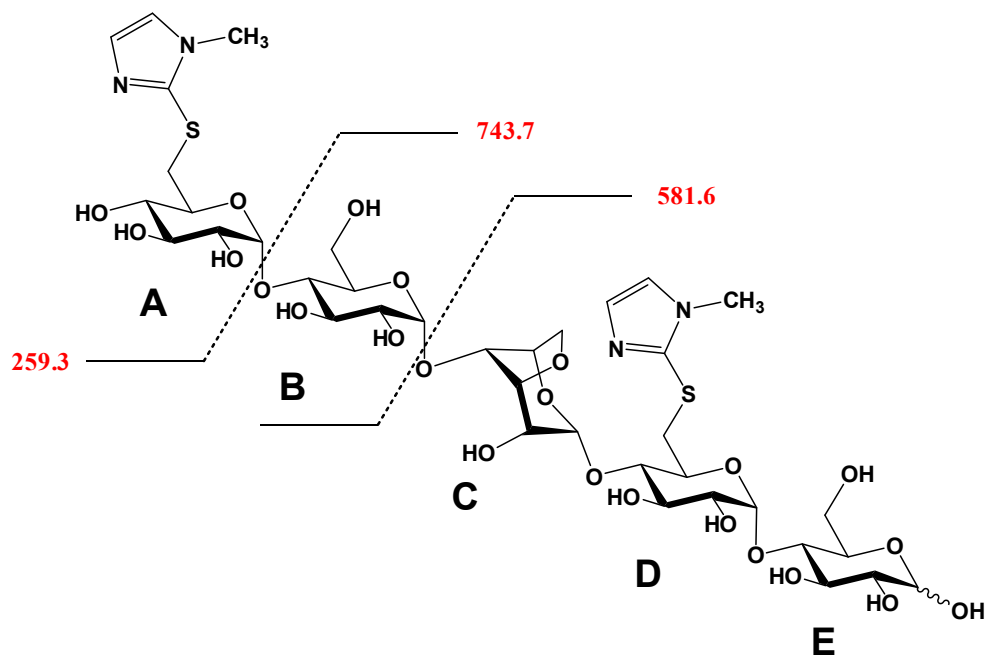


Fig.2-62 MS/MS spectrum of compound 27



ACD pattern Fragment

## 2-5 結語

$6^{A,B}$ -di-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\beta$ -CD(**13**)に *p*-Toluenesulfonyl Chloride を用いたベクトル選択的スルホニル化法を適応すると、 $6^D$ -トシル体 (**16**, 収率: 31 %) および  $6^C$ -トシル体 (**17**, 収率: 10 %) をそれぞれ得た。

$6^{A,C}$ -di-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\beta$ -CD(**14**)に *p*-Toluenesulfonyl Chloride を用いたベクトル選択的スルホニル化法を適応すると、 $6^E$ -OH がスルホニル化された化合物(**19**)を得た(収率: 38 %)。

$6^{A,D}$ -di-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\beta$ -CD(**15**)に *p*-Toluenesulfonyl Chloride を用いたベクトル選択的スルホニル化法を適応すると、 $6^C$ -OH がスルホニル化された化合物(**20**)を得た(収率: 60 %)。

以上の結果から、 $6^{A,X}$ -di-イミダゾリル CD 誘導体(X = B, C, D)でも問題なく、ベクトル選択的にスルホニル基の導入が可能である事が判明した。

今後、触媒基の種類やスペーサーを変更することにより、今回とは異なる位置の 6-OH 基をスルホニル化できれば、異なる種類の触媒基を CD に導入することで、ヘテロ四置換以上の CD 誘導体合成が可能となると考える。

## 2-6 実験

### di-6<sup>A,B</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\beta$ -CD(**13**)の合成

Cap 法を經由して調整した di-6<sup>A,B</sup>-iodo- $\beta$ -CD(0.5 g, 0.37 mmol)に対し、2-Mercapto-1-methylimidazole(300 mg, 2.6 mmol)、炭酸セシウム(300 mg, 0.92 mmol)を乾燥 DMF(10 ml)中に溶かし、70°Cで24時間攪拌した。反応を TLC にて追跡し原料の消失を確認した。反応液を精製水 300 mL に希釈し、膜ろ過したものを ODS カラムに吸着させ、0 % ~ 90 % メタノール水溶液(1000 mL for each)のグラジエントにて分離精製した。各分画の糖発色を確認し、目的物を含む分画を集めて減圧濃縮後、凍結乾燥して di-6<sup>A,B</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\beta$ -CD(**13**)を得た(収率:70 %, n = 3, TOF-MS :  $m/z$  = 1350(M+23) )。

(13) NMR: Fig. 2-1, 2-2, 2-3

(13) HPLC: Fig. 2-11

### di-6<sup>A,C</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\beta$ -CD(**14**)の合成

Cap 法を經由して調整した di-6<sup>A,C</sup>-iodo- $\beta$ -CD(0.5 g, 0.37 mmol)に対し、2-Mercapto-1-methylimidazole(300 mg, 2.6 mmol)、炭酸セシウム(300 mg, 0.92 mmol)を乾燥 DMF(10 ml)中に溶かし、70°Cで24時間攪拌した。反応を TLC にて追跡し原料の消失を確認した。反応液を 20 %メタノール水溶液 300 mL に希釈し、膜ろ過したものを ODS カラムに吸着させ、20 % ~ 90 %メタノール水溶液(1000 mL for each)のグラジエントにて分離精製した。各分画の糖発色を確認し、目的物を含む分画を集めて減圧濃縮後、凍結乾燥して di-6<sup>A,C</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\beta$ -CD(**14**)を得た(収率:83 %, n = 3, TOF-MS :  $m/z$  = 1350(M+23) )。

(14) NMR: Fig. 2-4, 2-5, 2-6

(14) HPLC: Fig. 2-16

di-6<sup>A,D</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\beta$ -CD(**15**)の合成

Cap 法を經由して調整した di-6<sup>A,D</sup>-iodo- $\beta$ -CD(0.5 g, 0.37 mmol)に対し、2-Mercapto-1-methylimidazole(300 mg, 2.6 mmol)、炭酸セシウム(300 mg, 0.92 mmol)を乾燥 DMF(10 mL)中に溶かし、70°Cで24時間攪拌した。反応を TLC にて追跡し原料の消失を確認した。反応液を20%メタノール水溶液300 mLに希釈し、膜ろ過したものを ODS カラムに吸着させ、20%～90%メタノール水溶液(1000 mL for each)のグラジエントにて分離精製した。各分画の糖発色を確認し、目的物を含む分画を集めて減圧濃縮後、凍結乾燥して di-6<sup>A,D</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\beta$ -CD(**15**)を得た(収率:94%, n = 3, TOF-MS :  $m/z$  = 1350(M+23) )。

(15) NMR: Fig. 2-7, 2-8, 2-9

(15) HPLC: Fig. 2-19

di-6<sup>A,B</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\beta$ -CD(**13**)のベクトル選択的トシル化

6<sup>A,B</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)- $\beta$ -CD(**13**)(200 mg, 0.15 mmol)をリン酸緩衝液(500 mM, pH 8.0, 14 mL)に溶かした溶液に、*p*-Toluenesulfonyl Chloride(200 mg, 1.0 mmol)を溶かした DMF(10 mL)を滴下し、室温で1.5時間攪拌した。反応液を20%メタノール水溶液300 mLに希釈し、膜ろ過したものを ODS カラムに吸着させ、20%～90%メタノール水溶液(1000 mL for each)のグラジエントにて分離精製した。各分画の糖発色を確認し、目的物を含む分画を集めて減圧濃縮後、凍結乾燥して di-6<sup>A,B</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>D</sup>-Tosyl- $\beta$ -CD(**16**)(収率:31%, n = 3, TOF-MS :  $m/z$  = 1504(M+23) )と di-6<sup>A,B</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>C</sup>-Tosyl- $\beta$ -CD(**17**)(収率:10%, n = 3, TOF-MS :  $m/z$  = 1504(M+23) )、di-Tosyl 体(**18**)(収率:6%, n = 3, TOF-MS :  $m/z$  = 1658(M+23) )および未反応の原料(**13**)(収率:35%, n = 3, TOF-MS :  $m/z$  = 1350(M+23) )を得た。

(16) NMR: Fig. 2-21, 2-22, 2-23

(16) HPLC: Fig. 2-12

(17) NMR: Fig. 2-34, 2-35, 2-36

(17) HPLC: Fig. 2-13



di-6<sup>A,C</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-β-CD(**14**)のベクトル選択的トシル化

6<sup>A,C</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-β-CD(**14**) (200 mg, 0.15 mmol) をリン酸緩衝液 (500 mM, pH 8.0, 14 mL) に溶かした溶液に、*p*-Toluenesulfonyl Chloride (200 mg, 1.0 mmol) を溶かした DMF (10 mL) を滴下し、室温で 1.5 時間攪拌した。反応液を 20 % メタノール水溶液 300 mL に希釈し、膜ろ過したものを ODS カラムに吸着させ、20 % ~ 90 % メタノール水溶液 (1000 mL for each) のグラジエントにて分離精製した。各分画の糖発色を確認し、目的物を含む分画を集めて減圧濃縮後、凍結乾燥して di-6<sup>A,C</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>E</sup>-Tosyl-β-CD(**19**) (収率: 38 %, n = 3, TOF-MS :  $m/z$  = 1504 (M+23) ) と未反応の原料(**14**) (収率: 45 %, n = 3, TOF-MS :  $m/z$  = 1350 (M+23) ) を得た。

(**19**) NMR: Fig. 2-47, 2-48, 2-49

(**19**) HPLC: Fig. 2-17

di-6<sup>A,D</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-β-CD(**15**)のベクトル選択的トシル化

6<sup>A,D</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-β-CD(**15**) (200 mg, 0.15 mmol) をリン酸緩衝液 (500 mM, pH 8.0, 14 mL) に溶かした溶液に、*p*-Toluenesulfonyl Chloride (200 mg, 1.0 mmol) を溶かした DMF (10 mL) を滴下し、室温で 1.5 時間攪拌した。反応液を 20 % メタノール水溶液 300 mL に希釈し、膜ろ過したものを ODS カラムに吸着させ、20 % ~ 90 % メタノール水溶液 (1000 mL for each) のグラジエントにて分離精製した。各分画の糖発色を確認し、目的物を含む分画を集めて減圧濃縮後、凍結乾燥して di-6<sup>A,D</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>C</sup>-Tosyl-β-CD(**20**) (収率: 60 %, n = 3, TOF-MS :  $m/z$  = 1504 (M+23) ) と di-Tosyl 体 (収率: 7 %, n = 3, TOF-MS :  $m/z$  = 1658 (M+23) ) 未反応の原料(**15**) (収率: 18 %, n = 3, TOF-MS :  $m/z$  = 1350 (M+23) ) を得た。

(**20**) NMR: Fig. 2-50, 2-51, 2-52

(**20**) HPLC: Fig. 2-20

di-6<sup>A,B</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-3<sup>D</sup>,6<sup>D</sup>-anhydro-β-CD (**22**) の合成

di-6<sup>A,B</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>D</sup>-Tosyl-β-CD (**16**) (200 mg, 0.14 mmol) を 1M 水酸化ナトリウム水溶液 (10 mL) に溶かし、40°C で 24 時間攪拌した。反応を TLC にて追跡し原料の消失を確認した後、1M 塩酸 (10 mL) で中和処理を行った。反応液を精製水 300 mL に希釈し、膜ろ過したものを ODS カラムに吸着させ、0 % ~ 90 % メタノール水溶液 (1000 mL for each) のグラジエントにて分離精製した。各分画の糖発色を確認し、目的物を含む分画を集めて減圧濃縮後、凍結乾燥して di-6<sup>A,B</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-3<sup>D</sup>,6<sup>D</sup>-anhydro-β-CD (**22**) (収率: 84 %, TOF-MS :  $m/z = 1332 (M+23)$ ) を得た。

(**22**) NMR: Fig. 2-24, 2-25, 2-26

di-6<sup>A,B</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-3<sup>D</sup>,6<sup>D</sup>-anhydro-β-CD (**22**) の TAKA-Diastase による加水分解

di-6<sup>A,B</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-3<sup>D</sup>,6<sup>D</sup>-anhydro-β-CD (**22**) (130 mg, 0.1 mmol) と TAKA-Diastase (130 mg) を 0.2 M 酢酸緩衝液 (15 mL, pH 5.5, 0.02 M CaCl<sub>2</sub> を含む) を溶かし、40°C で 24 時間攪拌した。反応を TOF-MS にて追跡し原料の消失を確認した後、90°C で 30 分加熱して TAKA-Diastase を失活させた。反応液を精製水 300 mL に希釈し、膜ろ過したものを ODS カラムに吸着させ、0 % ~ 90 % メタノール水溶液 (1000 mL for each) のグラジエントにて分離精製した。各分画の糖発色を確認し、目的物を含む分画を集めて減圧濃縮後、凍結乾燥して生成物 (**25**) を得た (93 %, TOF-MS :  $m/z = 1188 (M+23)$ )。

(**25**) NMR: Fig. 2-27, 2-28, 2-29, 2-30, 2-31, 2-32

(**25**) MS/MS: Fig. 2-33

di-6<sup>A,B</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-3<sup>C</sup>,6<sup>C</sup>-anhydro-β-CD (**23**) の合成

di-6<sup>A,B</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>C</sup>-Tosyl-β-CD (**17**) (200 mg, 0.14 mmol) を 1M 水酸化ナトリウム水溶液 (10 mL) に溶かし、40°C で 24 時間攪拌した。反応を TLC にて追跡し原料の消失を確認した後、1M 塩酸 (10 mL) で中和処理を行った。反応液を精製水 300 mL に希釈し、膜ろ過したものを ODS カラムに吸着させ、0 % ~ 90 %メタノール水溶液 (1000 mL for each) のグラジエントにて分離精製した。各分画の糖発色を確認し、目的物を含む分画を集めて減圧濃縮後、凍結乾燥して di-6<sup>A,B</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-3<sup>C</sup>,6<sup>C</sup>-anhydro-β-CD (**23**) (収率:84 %, TOF-MS :  $m/z = 1332 (M+23)$  ) を得た。

(**23**) NMR: Fig. 2-37, 2-38, 2-39

di-6<sup>A,B</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-3<sup>C</sup>,6<sup>C</sup>-anhydro-β-CD (**23**) の TAKA-Diastase による加水分解

di-6<sup>A,B</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-3<sup>C</sup>,6<sup>C</sup>-anhydro-β-CD (**23**) (50 mg, 0.038 mmol) と TAKA-Diastase (50 mg) を 0.2 M 酢酸緩衝液 (10 mL, pH 5.5, 0.02 M CaCl<sub>2</sub> を含む) を溶かし、40°C で 24 時間攪拌した。反応を TOF-MS にて追跡し原料の消失を確認した後、90°C で 30 分加熱して TAKA-Diastase を失活させた。反応液を精製水 300 mL に希釈し、膜ろ過したものを ODS カラムに吸着させ、0 % ~ 90 %メタノール水溶液 (1000 mL for each) のグラジエントにて分離精製した。各分画の糖発色を確認し、目的物を含む分画を集めて減圧濃縮後、凍結乾燥して生成物 (**26**) を得た (86 %, TOF-MS :  $m/z = 1025 (M+23)$ )。

(**26**) NMR: Fig. 2-40, 2-41, 2-42, 2-43, 2-44, 2-45

(**26**) MS/MS: Fig. 2-46

di-6<sup>A,D</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-3<sup>C</sup>,6<sup>C</sup>-anhydro-β-CD (**24**) の合成

di-6<sup>A,D</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-6<sup>C</sup>-Tosyl-β-CD (**20**) (200 mg, 0.14 mmol) を 1M 水酸化ナトリウム水溶液(10 mL)に溶かし、40°Cで 24 時間攪拌した。反応を TLC にて追跡し原料の消失を確認した後、1M 塩酸(10 mL)で中和処理を行った。反応液を精製水 300 mL に希釈し、膜ろ過したものを ODS カラムに吸着させ、0 % ~ 90 %メタノール水溶液(1000 mL for each)のグラジエントにて分離精製した。各分画の糖発色を確認し、目的物を含む分画を集めて減圧濃縮後、凍結乾燥して di-6<sup>A,D</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-3<sup>C</sup>,6<sup>C</sup>-anhydro-β-CD (**24**) (収率:87 %, TOF-MS :  $m/z = 1332 (M+23)$  )を得た。

(**24**) NMR: Fig. 2-53, 2-54, 2-55

di-6<sup>A,D</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-3<sup>C</sup>,6<sup>C</sup>-anhydro-β-CD (**24**) の TAKA-Diastase による加水分解

di-6<sup>A,D</sup>-((*N*-methylimidazol-2-yl)thio)-mono-3<sup>C</sup>,6<sup>C</sup>-anhydro-β-CD (**24**) (130 mg, 0.1 mmol) と TAKA-Diastase(130 mg) を 0.2 M 酢酸緩衝液(15 mL, pH 5.5, 0.02 M CaCl<sub>2</sub> を含む)を溶かし、40°Cで 24 時間攪拌した。反応を TOF-MS にて追跡し原料の消失を確認した後、90°Cで 30 分加熱して TAKA-Diastase を失活させた。反応液を精製水 300 mL に希釈し、膜ろ過したものを ODS カラムに吸着させ、0 % ~ 90 %メタノール水溶液(1000 mL for each)のグラジエントにて分離精製した。各分画の糖発色を確認し、目的物を含む分画を集めて減圧濃縮後、凍結乾燥して生成物(**29**)を得た(81 %, TOF-MS :  $m/z = 1003 (M+23)$ )。

(**27**) NMR: Fig. 2-56, 2-57, 2-58, 2-59, 2-60, 2-61

(**27**) MS/MS: Fig. 2-62

## 2-7 参考文献

- 1) Ronald Breslow and Steven D. Dong, “*Biomimetic Reactions Catalyzed by Cyclodextrins and Their Derivatives*” *Chem. Rev.*, 98, 1997-2011(1998)
- 2) 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).
- 3) Fujita Kahee, Yamamura Hatsuo, Imoto Taiji, Tabushi Iwao, *Chemistry Letters*, 17, 543-546(1988)
- 4) Fujita Kahee, Tahara Tsutomu, Imoto Taiji, Koga Toshitaka, *Chemistry Letters*, 17, 1329-1332(1988)
- 5) Fujita Kahee, Tahara Tsutomu, Koga Toshitaka, *Chemistry Letters*, 18, 821-824(1989)
- 6) Fujita Kahee, Ishizu Takashi, Oshiro Kyoko, Obe Ken-ichi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 62, 2960-2962(1989)
- 7) Fujita Kahee, Tahara Tsutomu, Koga Toshitaka, Imoto Taiji, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 62, 3150-3154(1989)
- 8) Fujita Kahee, Ishizu Takashi, Minamiura Noshi, Yamamoto Takehiko, *Chemistry Letters*, 20, 1889-1892(1991)



## 機器・試薬

$^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 、COSY、HMQC、HMBC スペクトルは、BRUKER DPX-500 を使用して測定した。測定溶媒が重水の際には、内標準物質として、アセトニトリルを使用した。MALDI-TOF-MS スペクトルは 日本電子株式会社 JMS-S3000 を使用して測定した。薄層クロマトグラフィー (TLC) は、Merck 社製 Art. NO. 5554 を用い、スポットの検出には、0.1 % ナフトレゾルシンのエタノール/水/濃硫酸 (200/157/43 (v/v/v)) 溶液を発色試薬として使用した。HPLC カラムには、Wakosil 5C<sub>18</sub>-MS-II ( $\phi$  4.6 × 150 mm) を用いた。逆相カラムクロマトグラフィーは、nacalai Cosmosil 40C<sub>18</sub>-PREP を用いた。CD 誘導体の凍結乾燥には、EYELA 社製 Freeze Dryer FD-5 N 型凍結乾燥機を使用した。TAKA-Diastase は、Aspergillus oryzae 由来の $\alpha$ -Amylase (SIGMA: 86247-25G) を用いた。試薬に関しては、市販されているもののうち最高純度のものを使用した。

## 謝辞

本研究において終始御指導、御鞭撻を賜りました 袁 徳其 教授 並びに、実験に際し御助言を賜りました 福留 誠 助教 に深甚なる謝意を表します。本研究を遂行するにあたり、NMR スペクトルを測定して戴いた 第一薬科大学 古賀 和隆 助教 に厚く御礼申し上げます。

本論文において主査および副査担当として、厳しくも優しい御指導を賜りました 津田 裕子 教授、稲垣 冬彦 教授、日置 和人 准教授 に謝意を表します。

テニス部顧問として長きにわたりお世話になりました 佐々木 秀明 教授、アメリカ薬学研修などの課外活動を通じて、博士課程進学のかっかけを与えて下さった 白川 晶一 教授 並びに 中川 左理 准教授、NMR 測定操作について御教授頂きました 神谷 浩平 講師、MS/MS 測定操作について御助言を賜りました 日高 興士 講師、いつも明るく楽しく杯を交わして頂きました 安藤 徹 助教 並びに 井上 雅己 助教、科学クラブや初年次実習を通じて教育活動や私生活についてご助言頂きました 前田 光子 助教、身近な目標としてあり続けて下さった 村上 遼 助教、研究活動のみならず日々の生活や人生観においても御心配り頂きました 瀧本 竜哉 助教 に心より感謝いたします。

博士課程兼実習助手として、研究活動および教育活動について苦楽を共にし、私生活においても御心配り頂きました 鳥井 栄貴 博士 並びに 峯 幸稔 博士 に敬意を表します。

実習助手の後輩として、業務のみならず私生活も温かく支えて頂きました 浅田 麻琴 実験助手、野ヶ峯 亜由美 実習助手、藤岡 志緒 実習助手、日々の業務やコロナ禍における教育の IT 化について共に奮闘した 松本 まり絵 実習助手 に深く感謝いたします。

学業・私生活ともに支えて頂きました、機能性分子化学研究室 の皆様、日々の研究生活でお世話になり、よき相談相手となってく下さった 神戸学院大学 薬学部 分子薬学部門の皆様、学部卒業後も心の支えとなって頂きました全ての友人たちに厚く御礼申し上げます。

また、苦難の日々の中、最後まで研究活動を続ける活力を与えて頂きました、全ての神戸学院大学 薬学部生 の皆様に深く感謝いたします。これからも皆様の 先輩 兼 先生 として恥じぬよう、日々精進いたします。

そして、私が 薬学部 並びに 薬学研究科 への進学を決心するきっかけとなった級友の故 池田 颯子 さん のご冥福をお祈り申し上げるとともに、今日まで心の支えになって頂きましたこと深く感謝いたします。私たちの為の「どんな病気も治せる魔法の薬」を作る事は叶いませんでしたが、いつの日か本研究が開花し、多くの人生を豊かにする事を願っています。これからも故人の夢を忘れず、明るい未来を作ることに邁進いたします。

最後に、終始御支援を賜りました家族に心から感謝いたします。

研究室の片隅より 大勢の後輩たちに囲まれながら  
2022年2月15日(火) 富永 達朗



## 主論文

- 1) Tatsuro Tominaga, Koki Fukuda, Kazutaka Koga, Makoto Fukudome, De-Qi Yuan.  
Three-in-one: Miniature Models of Natural Acyl-transfer Systems Enable  
Vector-selective Reaction on the Primary Side of Cyclodextrins. *Chem Eur J*,  
(First published online on 10 Dec. 2021: <https://doi.org/10.1002/chem.202103940>)