

アミロースおよびシクロデキストリンの 有機化合物複合体に関する研究 複合体形成とX線回折による結晶構造の解析

竹 尾 健 一
KEN'ICHI TAKEO

Studies on Complexes of Amylose and Cyclodextrins with Organic Compounds. Complexation of Amylose and Cyclodextrins and X-Ray Diffraction of the Crystalline Complexes.

要旨：アミロースおよびそのモデル物質であるシクロデキストリンを用い、それぞれにより得られる有機化合物複合体の性質を比較することにより、アミロース有機化合物複合体に関して未解釈であった種々の点を解決した。その主な点は次の通りである。

- 1) アミロースはこれまで考えられていたよりはるかに多種類の有機化合物と水溶液中で複合体を形成し得ることを確めた。また有機化合物の分子構造のわずかな相違が、複合体形成に著しい変化を与えることがわかった。
- 2) ラセン状固体アミロースは、その空洞内に有機化合物を選択的に包接することを見出し、この現象より双極子共同相互作用が複合体形成を支配していることを推定した。
- 3) アミロースのラセン構造は、ゲスト分子の大きさによって、グルコース残基6あるいは7の整数個で一周期を形成することが出来るが、分数個からなるラセンは存在しないことを見出し、アミロースのラセン構造を安定化している水素結合の部位に関する知見を得た。
- 4) アミロースおよび α 、 β -シクロデキストリンの有機化合物の複合体結晶の間にはオリゴマー類似が成立することを見出し、これによってそれぞれの結晶構造を更に明確化した。
- 5) γ -シクロデキストリンの複合体結晶との比較から、グルコース残基8個で一周期を形成するアミロースのラセン構造は、ある種の歪を持つことを推定した。

I. 緒 言

1940年 Meyer^{1,2,3,4)} の澱粉の温水抽出による研究によって、澱粉粒を構成する成分は単一のものではなく、直鎖成分のアミロースと分岐成分のアミロペクチンの全く構造の異なる二種類の高分子化合物からなることが明らかにされ、その後の澱粉化学の研究は急速に活発となった。その翌年 Schoch⁵⁾ はアミロースは *n*-butanol と複合体を作り水溶液中から不溶性の結晶として沈澱してくるが、アミロペクチンは溶液中に残ることを発見し、両成分の分別法を確立し、その後数多くのアミロース複合体に関する研究が行われた。その際アミロースと複合体を形成するためには、複合体試薬は全て有極性あるいは分極性でなければならない

い^{6,7,8)}とされていた。ところが1963年 French⁹⁾によりある種の疎水性化合物もまた複合体を作り、アミロースを水溶液中から選択的に沈澱させることが報告され、それ迄の複合体形成に対する見解の誤りが指摘された。このように有極性あるいは無極性と分子の性質が非常に異なり、また分子の形状、大きさも異なる有機化合物が類似の複合体形成能力を示す反面、これら化合物の複合体試薬としての有効性とそれら化合物の分子の種々な他の性質との間には何らの関係も見出すことは出来ない。従って複合体形成機構、換言すればアミロースと試薬分子の相互作用については不明のままである。

一方、これら多くの有機化合物によって分別されるアミロース複合体の沈澱について、その結晶構造がX線回折によって明らかにされたのは、直鎖アルコール^{10, 11, 12, 13, 14, 15, 16)}、ヨウ素^{17, 18, 19)}、高級脂肪酸²⁰⁾などの数種の化合物の複合体に限られていた。即ち、

Rundle ら¹¹⁾ は Schoch の方法^{5, 6)} で得た *n*-butanol 複合体結晶の構造を主として X 線的に研究し、アミロースはグルコース残基 6 個で 1 巻きしたラセン構造を取り、そのラセン内部に *n*-butanol が包接され、更にこの各ラセン円筒は最密充填した構造であることを明らかにし、ヨウ素^{17, 18)}、及び高級脂肪酸²⁰⁾ の複合体もまた同様な結晶構造であることを示した。Bear⁷⁾ は数種の分岐アルコール複合体の示す X 線粉末図形は直鎖アルコールのそれとは異なることを認め、測定される各回折線の面間隔 (*d*-spacings) が *n*-butanol 複合体のそれに比べると、いずれも大きいという事実から分岐アルコールがアミロースのラセン内部に包接されるためには、そのラセン直径は *n*-butanol 複合体の場合に比べて拡大されていなければならないことを示唆した。1963 年に Zaslow²¹⁾ は分岐アルコールとして *t*-butanol を用い、その複合体の乾燥状態での X 線回折からグルコース残基 7 個でラセン 1 巻きしたアミロースの存在を推定したが、これらは主として *n*-butanol 複合体から繊維軸の大きさを仮定した X 線の分子容積の比較と分子模型の考察によるところが大きいので、このグルコース残基 7 個でラセン 1 巻きしたアミロースの構造の存在を完全に証明するには至らなかった。

一方 Keller²²⁾ は 1957 年 polyethylene のような線状合成高分子を xylene の希薄溶液から沈澱させるとその分子鎖が折りたたまれて低分子量の *n*-paraffine と同様な単結晶となることを明らかにして、それ迄の高分子結晶に対する結晶と非結晶の両領域からなる房状ミセル説を否定した。その後同様な高分子単結晶の存在が polyoxymethylene²³⁾、nylon 6²⁴⁾、polyvinylalcohol^{25, 26)} のような合成高分子のみならず cellulose²⁷⁾、xylane²⁸⁾、pectin²⁹⁾、inulin³⁰⁾ のような天然高分子についても見出されている。アミロースの場合にも *n*-butanol 複合体について薄板状単結晶^{15, 16, 30)} が得られ、アミロースのラセン分子鎖は単結晶板面に垂直に入り折りたたまれていることが確認されている。

そこでもし Keller の見出した高分子とそのオリゴマーの結晶の間に見られるような類似の関係がアミロース複合体とアミロースのラセン 1 巻に相当すると考えられる環状オリゴ糖のシクロデキストリンの複合体結晶の間に成立すれば、これら複合体の結晶構造の比較によって、結晶状態におけるアミロースのラセン構造は一層明確なものとなり、複雑な複合体形成機構についても何らかの知見の得られることが期待出来る。

これらの観点からこの研究では、先ず百数十個に及ぶ各種有機化合物の水溶液中でのアミロースに対する選択的沈澱能力³¹⁾を調べ、ついでガスクロマトグラフ

法を用いた各種澱粉類縁物質に対する有機化合物気体の吸着性^{32, 33)}を見ることにより固相状態での複合体形成機構について考察した。一方多種類の有機化合物により水溶液中から沈澱したアミロースの複合体結晶と従来その結晶構造がほとんど不明であった多数のシクロデキストリンの複合体結晶の X 線回折^{34, 35, 36, 37)}を行い、これらの結晶構造について比較、検討した。

II. 水溶液内におけるアミロース複合体の形成と *l*-メントンによる澱粉の分別³¹⁾

1. 序

Schoch^{5, 6)} により *n*-butanol を複合体試薬とする澱粉のアミロースとアミロペクチンへの選択的分別法が見出されて以来、各種の直鎖及び分岐アルコール^{7, 10, 38, 39, 40)}、高級脂肪酸⁴¹⁾、thymol^{42, 43)}、ニトロ化合物^{44, 45)}、界面活性剤^{46, 47)}、lysolecithin⁴⁸⁾などの有極性化合物が水溶液中からアミロースと不溶性の複合体を形成して沈澱することが見出された。一方 French ら⁹⁾ により無極性炭化水素やハロゲン化炭化水素もアミロースの選択的沈澱剤となり得ることが見出された。このように試薬分子の性質や形状の異なる化合物が同様なアミロース複合体を形成し、アミロースのラセン内部に包接される現象は非常に興味深い。そこで本章においては、複合体形成についての知見を得るために、また IV の X 線回折のために、出来るだけ異なった種類の有機化合物により水溶液中から沈澱したアミロース複合体を得る目的で、これ迄に報告された化合物を含めて、化学構造の異なる百数十個の有機化合物の水溶液中でのアミロースの選択的沈澱能力について比較、検討した。尚この実験では、天然に存在する多くのモノテルペン化合物がアミロースと複合体を形成することが見出され、なかでも *l*-menthone は、アミロースとの複合体形成能力が特にすぐれていることがわかったので、これを用いる澱粉の分別を試みたところ、純度、収量及び操作時間の点で従来の方法に比べて良好な結果を得ることが出来た。

2. 実験方法

1) 試薬

澱粉は局方馬鈴薯澱粉(水分含量; 17.5%)、試薬は市販特級品を用い、テルペン類は日本テルペン工業 K K から恵与されたものを使用前蒸溜し、ガスクロマトグラフで単一物質であることを確認して用いた。

2) 複合体形成の試験法

一定量の馬鈴薯澱粉を水に懸濁させスラリー状とな

し、沸騰水中にマグネチックスターラーで激しく攪拌しつつ加えて均一な1%の透明溶液を作り、これを120°C、1時間オートクレーブで加圧した。ついで幾本かの大型試験管(4×20cm)にこの熱溶液100mlずつを入れ、1mlあるいは1gの検討すべき複合体試薬を加え、試薬の蒸発を防ぐために密栓後、激しく振とうし、熱水を満したDewar瓶中に浸した。Dewar瓶中の温度は約5日間で90°Cから室温にまで下るが、その間、時々試験管を取り出して観察し、肉眼で沈澱が明瞭に認められる温度を記録した。室温迄冷却後生成した沈澱を3000rpmで遠心分離し、ethanolで3回、etherで1回洗浄しガラスフィルター(No.2)で濾過し、減圧下80°C、P₂O₅上で乾燥した。得られた沈澱は次の青価とヨウ素結含量によりその性質を調べた。

3) 複合体沈澱の青価の測定

McCready ら⁴⁹⁾により定義された方法に従い、乾燥した複合体沈澱を水に溶解し、ヨウ素で呈色し、680 m μ における吸光度を島津分光々度計 QR-50 で10mm ガラスセルを用いて測定した。青価は100ml中に多糖類1mg、ヨウ素2mg、KI 20mgが存在する溶液の680m μ における吸光度を液層4cmで比色計を用いて測った値で、澱粉のヨウ素反応の強度をあらわしアミロース含量の良い目安となる。

4) 複合体沈澱の電流滴定

アミロース含量の尺度となるヨウ素結含量を測定するために、Larson ら⁵⁰⁾による死点終止法を応用した電流滴定をおこない、アミロースと複合体を形成した真のヨウ素量、即ち、アミロース・ヨウ素結含量(amylose-iodine-binding, A.I.B.)を求めた。

5) *l*-menthone による澱粉の分別

馬鈴薯澱粉10gを100mlの交換水に懸濁し、かたまりを生じないように注意して2l三角フラスコ中の900mlの沸騰水中に激しく攪拌しながら徐々に加え均一な1%透明溶液とし、直ちに120°C、1時間オートクレーブで加圧する。もし不溶性物質の存在する場合にはガラスフィルター(No.2)で吸引濾過する。溶液のpHは通常5.5~6.5である。その後澱粉溶液の入った容器を電気湯煎器中に浸し、溶液の温度を90°Cに調節し、マグネチックスターラーで攪拌する。これに10mlの*l*-menthoneを加え、密栓をして*l*-menthoneが揮発しないようにする。85~90°Cで約10分間攪拌すると白色の*l*-menthone複合体の沈澱が析出し始める。約1時間この温度で攪拌後、約2時間で湯煎器の温度を室温に迄徐々に下げる。攪拌をやめると大部分の沈澱は白色のかさ高いかたまりとなってフラスコ

の底に沈む。上澄液を傾斜して除き、沈澱を3000rpmで遠心分離し200mlずつのethanolで3回くり返して洗浄し*l*-menthoneを除去すると共に脱水する。最後にガラスフィルター(No.3)上で100mlのetherで洗浄し、減圧下、80°C、P₂O₅上で乾燥する。収量2.1g。アミロース複合体を除去した溶液に等容のacetoneを加えるとアミロペクチンが直ちにガム状に分離する。このかたまりを乳鉢に入れ、くり返しethanolと共にすりつぶすと微細な白色粉末が得られる。etherで洗浄後、減圧下、80°C、P₂O₅上で乾燥する。アミロペクチンの収量、7.5g。

3. 結果及び考察

実験方法(2)に従って複合体形成を検討した結果、澱粉と不溶性の複合体を作る有機化合物をTable II-1に示す。この場合各々の複合体について、それぞれの試薬分子を含んだ澱粉水溶液を徐々に冷却した場合に沈澱が肉眼で明瞭に認められる温度、乾燥状態での沈澱の収量、青価及びアミロース・ヨウ素結含量の測定結果を記してある。また得られた沈澱は乾燥後X線粉末図形を記録したが、すべての沈澱はラセン構造を取っていることが明らかになった。これについてはIV, 2で詳述する。従ってこれらの沈澱がアミロース複合体形成後に沈澱したことが、また試薬分子はラセン内部に包接されていることは明らかであり、各種の非常に性質の異なる化合物でも複合体試薬になり得ることは確実である。一方澱粉水溶液中で沈澱を生じない有機化合物をTable II-2に示す。

Table II-1 及び II-2 から複合体形成についていくつかの興味ある事実が見られる。アルコール類については triphenylcarbinol を除けば脂肪族及び芳香族アルコールのすべてが複合体を作る。triphenylcarbinol は直径 10~11Å 程度の球形の分子と考えられるのでラセン内部に包接されるにはあまりにも大きすぎるであろう。一般に試薬分子の形状及び大きさも複合体形成を支配する一因とも考えられるが、8個のグルコース残基でラセンの一周期を作るアミロースラセンの存在^{51), 52), 53)}が示唆されていて、この場合はラセンの内径は 10Å 程度と考えられる。しかもアミロースは水溶液中ではかなり屈曲性に富むと考えられるので複合体の形成に際しては分子の大きさの制限については特別の場合を除いて考慮する必要はないであろう。複合体形成の際には試薬分子の長軸がアミロースのラセン軸にそって配列するであろうから。この意味において Table II-2 中分子の大きさが triphenylcarbinol に匹敵するのは triphenylamine, phenolphthalein だけで

Table II-1. Testing Results of Complex Formation of Various Compounds

Compound	Temperature of formation (°C)	Yield* (%)	Blue value	A. I. B. (mg Iodine/100 mg Amylose)
Methanol**				
Ethanol**				
Linalool	65	22.8	1.000	15.5
Citronellol	62	25.5	0.992	14.4
Pinacol	55	28.8	0.772	
<i>n</i> -Butyl alcohol	46	26.6	1.040	16.0
Geraniol	45	25.5	1.128	17.2
<i>t</i> -Butyl alcohol**				
Diacetone alcohol**				
α -Naphthol	85	31.5	0.924	
Borneol	67	25.7	0.968	15.0
<i>l</i> -Menthol	66	26.4	1.068	16.4
Perillyl alcohol	62	24.6	1.064	16.8
β -Naphthol	55	16.1	1.088	
Caproic acid	55	21.8	1.010	
Caprylic acid	50	21.7	1.040	
α -Bromopropionic acid	44	18.4	0.964	
Stearic acid	35	21.2	0.986	
1,1,2,2-Tetrachloroethane	83	26.7	0.908	13.6
Cyclohexane	67	17.2	0.936	14.2
Carbontetrachloride	66	18.2	0.960	
Benzene	56	23.4	1.040	16.0
Chloroform	52	20.0	1.010	
<i>p</i> -Cymene***	49	22.9	1.092	16.5
<i>o</i> -Xylene	30	18.2	0.968	
Limonene	25	20.4	1.080	16.7
β -Pinene	23	9.2	1.048	16.2
Methylethylketone	60	21.8	1.060	
Diisobutylketone	55	13.0	1.096	
Methylisobutylketone	54	20.5	1.040	
Pinacolone	53	31.0	0.864	
Perillaldehyde	70	25.5	1.080	16.9
<i>l</i> -Menthone	86	24.5	1.128	17.1
Carvone	85	15.0	1.056	16.4
Cyclohexanone	80	22.9	1.020	
Camphor	52	8.9	0.984	15.1
Dimedone	23	19.7	0.932	
Acetone**				
<i>p</i> -Cresol	72	32.2	0.864	
Phenol	61	24.2	1.008	
2,4-Dinitrophenol	60	22.6	1.092	
Quinoline	85	24.7	0.996	
Diethylmalonate	23	2.7	0.880	
Nitrobenzene***				
Pyridine**				

* On the basis of dry weight.

** The efficiency is remarkably effected by the amount of the complexing agent added.

*** French *et al.* reported that this compound failed to form a complex.⁹⁾

**** Formed only in alkaline aqueous solution.

Table II-2. Organic Compounds which do not Form Complex with Starch

Triphenylcarbinol	Methylvinylketone
Cinnamic acid	Mesityloxide
Benzoic acid	Acetylacetone
<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid	α -Ionone
<i>p</i> -Aminobenzoic acid	β -Ionone
Salicylic acid	Benzophenone
Phthalic acid	Acetophenone
Ascorbic acid	Benzoin
<i>dl</i> -Mandelic acid	Citral
Dehydroacetic acid	Cinnamaldehyde
Ethyl benzoate	Vanilline
Ethyl <i>p</i> -aminobenzoate	<i>L</i> -Glutamic acid
Diethylamine	<i>L</i> -Leucine
Triethylamine	<i>L</i> -Aspartic acid
Triphenylamine	<i>L</i> -Cystine
Diphenylamine	<i>L</i> -Cysteine
<i>n</i> -Hexane	Aniline
<i>n</i> -Heptane	<i>p</i> -Toluidine
<i>n</i> -Octane	2,4,5-Trichloroaniline
<i>n</i> -Propylbromide	Benzidine
Isopropylbromide	N,N-Dimethylaniline
Bromobenzene	β -Naphthoquinone
Chlorodenzene	Anthraquinone
Toluene	<i>p</i> -Quinone
Ethylbenzene	Hydroquinone
<i>m</i> -xylene	Benzamide
<i>p</i> -xylene	Acetoanilide
Mesitylene	α -Picoline
Cumene	Pyrogallol
α -Pinene	Dinitrobenzene
Naphthalene	<i>o</i> -Nitrobiphenyl
α -Methylnaphthalene	Dimethyloxalate
Decaline	Alizarin
Diphenyl	Phenolphthalein
Anthracene	
Stylene	
Indene	

あるから、その他の化合物が複合体を形成しないのは大きさ以外の何らかの原因によるものと考えられる。

linalool, citronellol, geraniol の同一炭素数を有するモノテルペンアルコールについて見ると、複合体形成、即ち沈澱析出の温度は試薬分子中の二重結合と水酸基の位置の相違により異なる。有機酸類について見ると、直鎖及び直鎖ハロゲン化脂肪酸は複合体を作るのに対して、芳香族の酸及びその誘導体は複合体を形成しない。カルボニル化合物では分子中に共役系の存在しない脂肪族ケトンが複合体を作るが、分子中に α , β -不飽和ケトンの共役系が存在する methylvinylketone, mesityloxide, cinnamaldehyde などが複合体を作らない傾向が見られる。またケト・エノール化しうるケトン類も複合体を作らない。その他脂肪族及び芳香族アミン類, キノン類, アミノ酸類はすべて複合体を作

らない。最も興味を引くのは炭化水素及びハロゲン化炭化水素の場合で、ごくわずかな分子構造の相違によって複合体形成が左右されている。この理由は明らかではないが、アミロースが水溶液中でラセン構造を取って複合体を作るためには、試薬分子の水溶液中での濃度が、かなり大きくなければならず試薬の水に対する溶解度が複合体形成に影響を及ぼすことも考えられる。芳香族炭化水素の水に対する溶解度は benzene の誘導体では, benzene, toluene, *o*-xylene, ethylbenzene, mesitylene, cumene, *p*-cymene の順に減少⁵⁴⁾するが、Table II-1 および II-2 から分かるように benzene, *o*-xylene, *p*-cymene は複合体を作るが, toluene, *m*-及び *p*-xylene, ethylbenzene, mesitylene, cumene は複合体を作らず、試薬分子の水に対する溶解度による複合体形成の一定の傾向は見出せない。また β -pinene は複合体を作るが α -pinene は複合体を作らず、この場合は分子中の2重結合の位置が異なるだけである。このように水溶液内におけるアミロース複合体の形成は非常に複雑であり、各試薬に対する複合体形成の可能性を簡単な規則により記述することは出来ず、複合体形成は試薬分子、アミロース及び水分子の3者の間の相互作用によって生じる系の全体的なエネルギーの関与により支配されるものと思われる。

尚ここでは、複合体形成を沈澱の生成によって判断したが、Table II-2 中の沈澱を生じない benzoic acid やその誘導体、カルボニル化合物などを澱粉水溶液に加えると、これら試薬の吸収スペクトルの深色移動が認められ⁵⁵⁾、またこれら試薬の添加によって澱粉の老化が起らない⁵⁵⁾ことを考えると、水溶液中ではこれらの化合物は何らかの形で澱粉と相互作用をしていることが考えられる。

このように広い範囲の有機化合物のアミロースの沈澱能力について検討したが、これらの内、天然界に存在する多数のモノテルペン化合物が澱粉の分別に有効であることが認められた。従来テルペン化合物の複合体形成については、thymol^{42), 43)} 以外にその例は見られず複合体試薬としてのテルペン類の相対的な有効性は研究されていない。Table II-1 のように代表的なモノテルペン：アルコール (linalool, citronellol, geraniol, borneol, *L*-menthol, perillyl alcohol), ケトン (*L*-menthone, camphor, carvone), アルデヒド (perillaldehyde), 炭化水素 (β -pinene, *p*-cymene, limonene) は複合体を作るが, α -pinene, citral, cinnamaldehyde, cinnamic acid は複合体を作らない。この場合に得られるアミロースの収量と純度は当然テルペン化合物の種類により変わるが、これらのうち *L*-menthone は澱

Table II-3. Results of Fractionation of Starch

Complexing reagent	Expt. No.	Concentration		Amylose fraction			Amylopectin fraction
		Starch (%)	Complexing agent (ml/liter)	Yield (%)	Blue value	A.I.B. (mg Iodine/100 mg Amylose)	
<i>l</i> -Menthone	1	1	10.0	20.2	1.136	17.9	0.112
	2	1	7.0	23.0	1.144	18.0	0.121
	3	1	5.0	23.3	1.136	17.9	0.124
	4	1	3.5	23.1	1.108	17.0	0.120
	5	3	10.0	23.8	0.944	14.4	0.152
	6	3	10.0	20.3	1.040	16.0	0.160
	7	3	7.0	18.0	0.932	14.2	0.148
	8*				1.250	19.8	
	9*				1.256	20.0	
<i>n</i> -Butyl alcohol	10**	1	100	22.0	1.042	16.1	
	11***				1.260	20.0	

* Recrystallized once.

** The average data of five trials of fractionation.

*** Recrystallized five times.

粉の分別に対してすぐれた沈澱剤となり得ることが分かったので、この *l*-menthone を用いる澱粉の分別法について検討した。従来の *n*-butanol のような直鎖アルコールを用いる方法は、析出したアミロース沈澱を容易に遠心分離するためには、徐々に数日間にわたる冷却が必要で、分離には相当長時間を要する。これに対して加圧して粒子を破壊した澱粉溶液に *l*-menthone を加えるとアミロース・*l*-menthone 複合体は10分後には結晶性の良い沈澱として析出し始めアミロースとアミロペクチンへの分離は非常に鮮明に2、3時間のうちに行われる。しかもアミロースの沈澱は2000~3000rpm 程度で遠心分離出来る。アミロース複合体の沈澱を ethanol で洗浄すると *l*-menthone を容易に除去することが出来る。そこで、分別試薬としての *l*-menthone の有効性を調べるために従来最良の分別法とされている *n*-butanol 法^{5,6)} との比較を行った。澱粉及び複合体試薬の濃度を変えたいくつかの実験で、アミロースとアミロペクチンの両成分を単離し、それらの収量を求め、その純度を青価と A.I.B. により調べた。その結果を Table II-3 に示す。*l*-menthone によって沈澱するアミロースの収量は用いた澱粉溶液の濃度にはほとんど無関係で18.0~23.8%であるが、得られるアミロース成分の純度は澱粉溶液の濃度に依存しており、高濃度の澱粉溶液ではアミロースの純度は低くなる傾向があり、分別には1%の濃度が最適と考えられる。この際アミロース成分の純度は加えられた *l*-menthone の量にはほとんど無関係である。Table

II-3 から明らかなように *l*-menthone 法によれば *n*-butanol 法に比べて高純度のアミロースを得ることが出来る。即ち *l*-menthone 法によって5回再結晶した20.0のA.I.B.を示すアミロースを100%純度のアミロースと見なし、またA.I.B.は試料中のアミロース量に比例するものとする、*l*-menthone 法では再結晶しなくても直ちに90%純度のアミロースを得ることが出来る。これに比べて *n*-butanol 法では、その純度は80%にとどまる。*l*-menthone 法では1回の再結晶によりほとんど100%の純度のアミロースを得ることが出来る。一方アミロペクチン成分は *l*-menthone 法によれば60~70%程度の収量で得られ、その青価は0.16よりも小さくアミロースの混入は非常に少ない。従って *l*-menthone を用いる分別法はアミロース及びアミロペクチンの純度、収量共にすぐれており、分別操作は簡単で、単時間で行えるという満足すべき結果を与える。

尚 Montana 大学の Goering²⁹⁾ によれば *Phalaris canariensis* の種子の澱粉にこの *l*-menthone 法を適用したところ、*n*-butanol 法では10回の再結晶によっても A.I.B. 12のアミロースしか得られなかったのに対して、*l*-menthone 法では1回の分別で A.I.B. 17のアミロースを得ることが出来たということである。

III 固体状の澱粉類縁物質に対する 有機化合物気体の吸着^{32, 33)}

1. 序

前章では有極性及び無極性の種々の有機化合物が澱粉水溶液中からアミロースを選択的に沈澱させる能力を示す反面、化合物のわずかな分子構造の相違がアミロースの沈澱能力に大きな変化を及ぼすことが認められたが、これらの関係については一定の傾向が見られなかった。また複合体形成にはアミロース、試薬分子及び水分子の間に複雑な相互作用が存在し、特に水分子が複合体形成に大きな影響を及ぼしていることが考えられた。従って複合体形成機構、特にアミロースと試薬分子の相互作用の性質について考察するためには、水分子の存在しない系、即ち固体の各種澱粉類似物質と有機化合物の相互作用について調べねばならない。そこで本章においては気-固クロマトグラフィーの原理を応用して、種々の澱粉質物質 (6₁- 及び 7₁-helix amylose*, 凍結乾燥アミロース, アミロペクチン, シクロデキストリン及びシクロデキストリン複合体**など) に対する有機化合物気体の吸着性をガスクロマトグラフ法により比較、検討し、固相での複合体形成における親和力の性質について調べると共に、前章で得た結果と考え合わせて水溶液内での複合体形成機構についても考察した。

2. 原 理

気-固クロマトグラフィー、即ち吸着ガスクロマトグラフィーはカラム充填剤の吸着媒に対する試料の吸着の強弱により保持時間に差が生じる⁵⁷⁾ことを利用したものである。従って逆にその保持時間から吸着の強弱が求められ、その吸着の過程は個々の気-固系を特性づける吸着等温線の本質に関係⁵⁸⁾している。今吸着媒としてアミロースやアミロペクチンなどの澱粉質物質を用い、吸着質として種々の揮発性有機化合物を用いるとそれら澱粉質物質と有機化合物との直接的な相互作用を知ることが出来る。またこの方法ではアミロース複合体形成に大きな影響を及ぼすと考えられる水分子の影響を取り除いて考えることが出来て、アミロース複合体の形成に働く力の本質を知るための一手段となる。

今吸着媒に対する吸着質の吸着等温線が直線的な理想的気-固クロマトグラフィーを考えるとクロマトグラフのカラム内における吸着の状態は次のように考え

ることが出来る。

気 相	C_g, V_g	$\rightarrow \Delta V$
固 相	$C_a, V_a\phi$	
単位長さ		Δx

ここで C_g 及び C_a はそれぞれ気相及び活性な吸着媒中の試料の濃度、 V_g 及び V_a はそれぞれカラムの単位長さにおける気相と固相の真の容積、また ϕ は固相中の活性吸着媒の容積分率である。単位長さのカラムに含まれる試料の全量 q は、

$$q = C_g V_g + C_a V_a \phi + C_a' V_a (1 - \phi) \dots\dots\dots (1)$$

但しここで C_a' は不活性吸着媒中の試料の濃度であるが、実際には吸着で起らないので $C_a' \approx 0$ と見なせる。

今 ΔV の容積のキャリヤースガスが、カラムを通過したために、単位長さに対して試料帯が Δx だけ移動したとすると物質収支によって、

$$q \Delta x = C_g \cdot \Delta V \dots\dots\dots (2)$$

(1)を(2)に代入すると

$$\begin{aligned} \frac{\Delta x}{\Delta V} &= \frac{C_g}{q} = \frac{C_g}{C_g V_g + C_a V_a \phi} \\ &= \frac{1}{V_g + (C_a/C_g) V_a \phi} = \frac{1}{V_g + K V_a \phi} \dots\dots\dots (3) \end{aligned}$$

ここで $K = C_a/C_g$ であり分布係数である。 Δx だけ移動するのに必要なキャリヤースガスの容積は $V_g \cdot \Delta x$ であるから、カラム内の試料とキャリヤースガスとの移動速度の比は

$$\begin{aligned} \frac{\Delta x / \Delta V}{\Delta x / V_g \cdot \Delta x} &= \frac{1 / (V_g + K V_a \phi)}{1 / V_g} \\ &= \frac{1}{1 + K (V_a / V_g) \phi} \dots\dots\dots (4) \end{aligned}$$

この逆数を取ると

$$V_R / V_0 = 1 + K (V_a / V_g) \phi \dots\dots\dots (5)$$

これは試料とキャリヤースガスとの保持容積の比になる。カラム内の空間容積を補正すると(5)から

$$\frac{V_R - V_0}{V_0} = \frac{V'_R}{V_0} = K \left(\frac{V_a}{V_g} \right) \phi \dots\dots\dots (6)$$

が得られる。実際にはキャリヤースガスの流速が一定であれば試料及び空気の保持時間をそれぞれ t_r 及び t_0 とすれば試料の相対保持値 t'_r/t_0 は

$$\frac{t'_r}{t_0} = \frac{t_r - t_0}{t_0} = \frac{V_R - V_0}{V_0} = K \left(\frac{V_a}{V_g} \right) \phi \dots\dots\dots (7)$$

であらわされる。従って t'_r/t_0 を ϕ に対してプロットすると、もしカラム内の吸着平衡が理想的であれば傾斜 K を持った直線を与えるはずである。

3. 実験方法

* 6₁- 及び 7₁-helix amylose はそれぞれ グルコース残基 6 及び 7 個でラセン 1 周期を作る アミロースで、これについては IV, 2 で詳述する。

** これらについては IV, 5 で詳述する。

3-1 試料

6₁-helix amylose は Schoch の *n*-butanol 法^{5,6)}と同様な方法により調製し、5 回再結晶した。得られた複合体をくり返し *n*-butanol で洗浄、脱水し、減圧下、80°C で P₂O₅ 上で数日間乾燥した。X線粉末図形からこのアミロースのラセン直径は13.0Åである。7₁-helix amylose は馬鈴薯澱粉から II, 2 に述べた *l*-menthone 法³¹⁾により調製し、2 回再結晶後 *t*-butanol で脱水し、減圧下 80°C で P₂O₅ 上、20 時間乾燥した。X線粉末図形からそのラセン直径は 14.7Å である。アミロペクチンは *l*-menthone 法によりアミロース複合体を完全に除去した上澄液に等容積の acetone を加え、得られた沈澱を乳鉢中で ethanol と共にすりつぶして脱水し ether で洗浄しアミロースの場合と同様に乾燥した。その X線粉末図形は Fig. III-1.(a) のようにハローのみが現われ無晶系である。凍結乾燥アミロースは *l*-menthone 法で得た湿潤アミロースを熱水中にとかし、*l*-menthone を水蒸気蒸溜により完全に除き、溶液中でアミロースが出来るだけランダム造構^{59,60)}を取るように 2 時間煮沸した。ついで直ちにドライアイス・アセトン中で急速に冷却、凍結後、凍結乾燥した。その X線粉末図形は Fig. III-1.(b) のよ

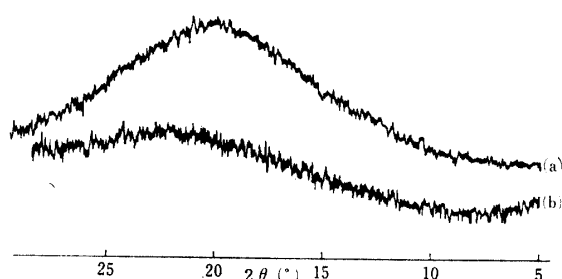


Fig. III-1. X-Ray Diffraction Diagrams of Amylopectin and Freeze-dried Amylose.
(a) Amylopectin.
(b) Freeze-dried amylose.

うに無晶系である。 α -及び β -シクロデキストリンは IV, 5-1 で得たものと同一である。減圧下、P₂O₅ 上、80°C で20時間乾燥した。 α -及び β -デキストリンの比旋光度はそれぞれ $[\alpha]_D^{25} = +152.0^\circ$ (C=1, H₂O), $[\alpha]_D^{25} = +162.0^\circ$ (C=1, H₂O) である。シクロデキストリン複合体は α -デキストリン・cyclohexane 複合体を IV, 5-2 の方法によって、 β -デキストリン・*n*-propanol 複合体を IV, 5-3 の方法により調製し、風乾したもの及びアミロースと同様に乾燥したものについて検討した。試薬は市販特級品を用いた。

3-2 ガスクロマトグラフィー

ガスクロマトグラムは島津ガスクロマトグラフィー GC-2C 型を用いて記録した。検出器は熱伝導度セルを

用いた。吸着媒の割合をいろいろに変えるために、吸着の起らない不活性な固体としてテフロン粉末 (Shimalite F, 30~80mesh) を用い、これと 3-1 に述べた澱粉質物質とを種々の割合に良く混合し U 字管ステンレス製カラム (長さ 750mm, 内径 3mm) 中に充填した。キャリアガスは He を 20ml/min の一定流速で使用し、保持時間は各試薬の量をそれぞれ 0.2, 0.4, 及び 0.8 μ l と変えて注入し測定した。各保持時間を試薬注入容量に対してプロットし、注入量零に外挿することにより、注入容量に無関係な保持時間を求め、不完全な吸着平衡による保持時間の誤差を最少⁶¹⁾にした。このようにして求めた保持時間は原理で述べた t_r とすることが出来る。

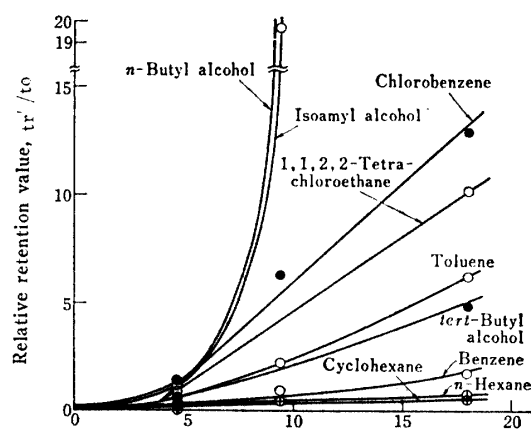
3-3 X線回折

IV, 2-1 と同一条件で記録した。

4. 結果及び考察

2 で述べた原理により、もしも澱粉質物質と有機化合物の間に親和力があれば、試料化合物の相対保持値 t_r'/t_0 は固相中の澱粉質物質の容積分率 ϕ の増大に従って増加するはずである。

6₁-helix amylose を吸着媒に用いた時は、 $t_r'/t_0 \sim \phi$ の関係は Fig. III-2 のようになった。cyclohexane, *n*-hexane などの非極性化合物では、ほとんど傾斜を持たない直線を与えるので、吸着性は非常に小さいことがわかる。これに対して *n*-butanol や isoamylalcohol などの極性化合物では t_r'/t_0 は ϕ の増加に伴ない指数函数的に増大してアミロースに対する吸着性が非常に強いことを示している。 π 電子系を有する benzene, toluene, xylene などの芳香族化合物や 1,1,2,2-tetrach-



Amylose content in column, % in weight
Fig. III-2 Relationship between Relative Retention Value and Amylose Content in Column.
Amylose, 6₁-helix amylose; Column temperature, 100°C.

Table III-1. Classification of Organic Compounds by Their Chromatographic Behavior. Adsorbent; 6₁-helix amylose.

Group 1	Group 2	Group 3
methanol	t. butanol	× n. hexane
ethanol	○ benzene	isopentane
n. butanol	× toluene	○ cyclohexane
n. amyl alcohol	× p. xylene	○ cyclopentane
isoamyl alcohol	× m. xylene	○ cyclohexene
cyclohexanol	○ o. xylene	○ methylcyclohexane
cyclohexanone	× mesitylene	○ carbon tetrachloride
	× chlorobenzene	× isopropylbromide
	○ chloroform	× isoheptane
	○ 1,1,2,2-tetrachloroethane	
	isooctane	
	× α-pinene	

○ ; Hydrophobic compounds which complex amylose in aqueous solution.

× ; Hydrophobic compounds which does not complex amylose in aqueous solution.

loroethane のようなハロゲン化炭化水素は両者の中間的な吸着性を示す。従って実験に供した化合物は分子の極性あるいは分極性が増加するにつれて、アミロースに対する親和性が大となっており、6₁-helix amylose に対する吸着力に従って、検討した有機化合物は Table III-1 のように大略3つのグループに大別出来る。主としてグループ1は極性化合物、グループ2は分極性化合物、グループ3は無極性化合物である。

次に7₁-helix amylose を吸着媒に用いた場合の $t_r'/t_0 \sim \phi$ の関係は Fig. III-3 のようになり、この場合には6₁-helix amylose の場合に比べて全般的な化合物の親和力の減少が見られた。即ち6₁-helix amylose の場合のグループ1の n-butanol などに見られた ϕ の増加に伴う t_r'/t_0 の著しい増加は見られず、グループ

1のグループ2への傾斜の接近が認められる。しかしこの場合にも、極性あるいは分極率の大きい化合物ほど親和力は大きくなっている。原理により $t_r'/t_0 \sim \phi$ のプロットにおける直線あるいは曲線の傾斜は各化合物の気相と固相の分布係数 K に比例し、またその傾斜は澱粉質物質に対する各化合物の親和力を反映しているので、吸着平衡が完全でなくてもその傾斜から定性的な論議を行える。従って6₁-及び7₁-helix amylose の実験結果から、無極性化合物はラセン状アミロースとはほとんど相互作用を起さず、ラセン状アミロースに対する化合物の親和力は分子の極性あるいは分極性の増加と共に増大するものと言える。

クロマトグラムの形状も Fig. III-4 のように、グループ3の cyclohexane は ϕ の増加に関係なくほぼ対称的な鋭いピークを示すのに対して、グループ1の n-butanol は ϕ の増加と共にテーリングのある崩れたピークを与え、カラム内のアミロース含量が10%以上になると最早流出されないほどである。

一方無晶系のアミロペクチンや凍結乾燥アミロースを吸着媒にした場合、すべての化合物のクロマトグラムの形状はテーリングのない鋭い対称的なものとなり、 t_r'/t_0 は吸着媒含量が増加しても小さくほとんど一定で、吸着性は認められなかった。しかしデキストリン複合体を減圧下一定重量に達するまで加熱して乾燥したものを吸着媒に用いた場合には、グループ1及び2の化合物は認むべき吸着性を示した。

これらの結果は明らかにアミロースに対するグループ1及び2の化合物の吸着はアミロースのラセン内部

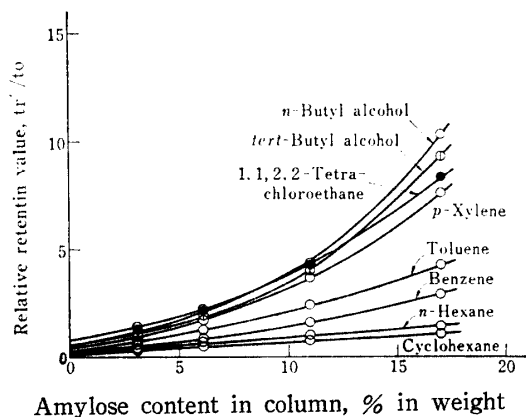


Fig. III-3. Relationship between Relative Retention Value and Amylose Content in Column. Amylose, 7₁-helix amylose; Column temperature, 80°C.

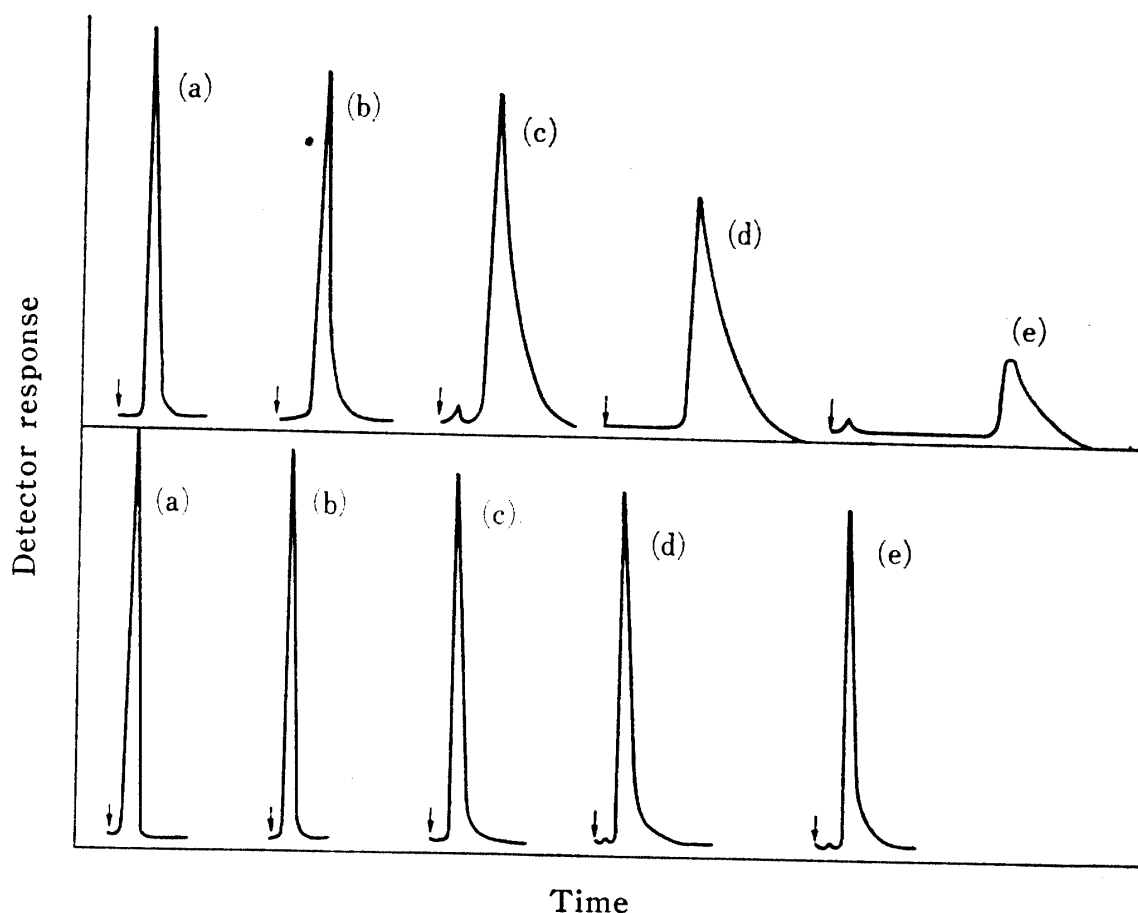


Fig. III-4. Change of Gas-chromatogram Caused by Changing Amylose Content in Column.

Upper chromatograms are of *n*-butyl alcohol and lower of cyclohexane. Experimental conditions: 7₁-helix amylose; column temperature, 80°C; injection volume, 0.4 μ l; carrier gas, helium; flow rate, 20ml/min. Amylose content; (a), 0%; (b), 3.1%; (c), 6.1%; (d), 11.0%; (e), 17.0%. The marks, ↓, show injection points.

で生じていて、その親和力はアミロースのラセン構造に起因することを示している。即ち、クロマトカラム中ではアミロースとグループ1及び2の化合物との間には複合体が形成されている。そして、その親和性はTable III-1に分類したように、アルコールなどの有極性分子が最も大きく、芳香族及びハロゲン化炭化水素などの分極率の大きい化合物がそれに続き、*n*-hexane, cyclohexaneなどの無極性化合物はほとんど親和性を示さない。また α -及び β -デキストリン、及び風乾したデキストリン複合体に対して全ての化合物は何ら親和力を示さず、乾燥したデキストリン複合体についてのみ有極性及び分極性分子が親和力を示した事実は次のように考えられる。即ち、VI, 5で詳述するが、デキストリン分子は複合体結晶中では同軸状に配列した円筒構造を取るが、風乾した状態ではその円筒の空洞内はゲスト分子で飽和されているため試薬は親和力を示さない。ところが複合体を減圧で乾燥すると、円筒構造は保たれたままで、その空洞内から部分的にゲス

ト分子が抜け出た⁶²⁾ために、デキストリン単分子の長さに比べてかなり長い空洞が生じ、この空洞内に試薬が包接されたためと考えられる。

複合体形成機構、即ち、アミロースと試薬分子の相互作用の性質については、この種の分子間に働く力として、水素結合、電荷移動力、双極子共同作用力(dipolar cooperative force)などが考えられているが、未だ定まった結論は得られていない。しかし固体アミロースに関するこの実験の結果から考えて、これらのうち双極子共同作用力が固体状態での複合体形成に最も大きな寄与をしているものと考えられる。

双極子共同作用理論は、Steinら⁶³⁾がアミロース・ヨウ素複合体の親和力について提唱した理論で、ラセン上に規則的に配列した水酸基がラセン内部に軸方向に双極子場を形成することによってラセン内部のヨウ素が分極され、分極されたヨウ素は更に双極子場を強めるといものである。このように双極子の共同作用により強い親和力が発現するという理論は、ヨウ素のみ

ならず有機化合物に対しても適用出来るだろう。この場合、有極性分子または分極率の大きい分子ほど親和力が強く、無極性分子の親和力が小さいことが予想される。事実この実験では、ラセン状アミロースに対する親和力は試薬分子の極性の増加につれて大となっている。また6₁-helix amylose に比べて7₁-helix amylose に対する全体的な化合物の親和力の減少は、1.7Å のラセン直径の拡大がラセン内の双極子場の強さを減じて相互作用力を弱めたためであろう。これは誘起双極子の相互作用の強さが分子間距離に反比例⁶⁴⁾することからもうなづける。また乾燥したシクロデキストリン複合体に対して有極性分子が親和力を示した事実は、シクロデキストリン単分子のみでは親和力は現われず、親和力の原因になる双極子場を形成するためには、シクロデキストリンの空洞が円筒状に配列することが必要であることを示している。水素結合や電荷移動力については、この実験結果から固体状態での複合体形成にはほとんど関係がないように思われる。

この実験では、アミロースのラセン構造は、固体状態では固定されたものであるから、ラセン構造の空間的な関係が、複合体形成に大きな影響を及ぼしている。たとえば、アルコール類では *t*-butanol だけが、6₁-helix amylose に対する親和力が弱い、7₁-helix amylose に対しては逆にその親和力は強くなっている。*t*-butanol は直径約 4.8Å のほぼ球形の分子であって、一方6₁-helix amylose の包接有効内径は約4.5Å であるので、この場合はラセン状アミロースの分子篩効果働いているのであろう。その他 *p*-xylene, *m*-xylene, *o*-xylene はその順に吸着力が減少した。又、cycloparaffine および isoparaffine は、*n*-paraffine に比べて更に吸着力が弱いことも認められるので、吸着性に関してアミロースのラセン直径と吸着質分子の大きさの間にはかなり密接な関係のあることが推定される。一方 Table III-1 のグループ3の化合物の内、澱粉水溶液中からアミロースを選択的に沈澱させる疎水性化合物が固体のラセン状アミロースに対して親和性を示さない。cyclohexanol のような比較的大きな分子でも固体のラセン状アミロースと強い相互作用を示している、グループ3のこれらの化合物が固体状態で親和性を示さないのは、ラセン空洞に対してこれら分子の形状が大きすぎるためによるのではないことは明らかである。

IIの結果とこの実験の固相での複合体形成を考え合わせてみると、水溶液中での複合体形成は次のように考えられる。

水溶液内におけるアミロースの構造として最も確か

らしいと思われるのは、ラセン状のセグメントがいくつかの乱れた部分を介して連なっている構造^{58, 59, 65, 66, 67, 68, 69)}である。この乱れた部分の屈曲性によって全体のアミロースは糸まり状の構造を取る。そしてこのアミロースラセンの外側は勿論、内側も水和されているものと思われ、またラセン構造も固体アミロースのように規則正しいものではない^{59, 60)}。従って固体ラセン状アミロースのラセン内部に仮定されたような双極子場の強さは、この場合ラセンの乱れと水分子の存在によって著しく弱められているであろう。

溶液内で複合体が形成するのに必要な過程を考えてみると

- 1) ラセン内部の水和水が離脱し、離れた水分子は液体の水と結合する。
- 2) 複合体試薬が水和状態から遊離状態を経てラセン内に包接される。
- 3) ラセン構造の改善が起こる。
- 4) ラセン間の配列が起って凝集する。

従って溶液内で複合体が形成するには、これら各過程における熱力学的な諸量の関係が適当でなければならない。1)の過程は試薬の種類に関係しないので、熱含量の増減については明らかでない。2)と3)の過程は試薬によって異なる結果を生じる。2)と3)のどちらが先に起るかというようなことは言えない。2)の過程が複合体形成に関して最も重要であると思われるが、水溶液内ではラセン内部の双極子場が小さいから、ラセン内に包接された試薬が分極性のものであってもエネルギー的に安定化され難いと思われる。従って原系と生成系における熱含量の差は小さいものであろう。3)ではラセン内の水素結合の再配列が起って試薬の大きさに最も適したラセン構造(6₁-, 7₁-あるいは8₁-helix であるかも知れない)になる。4)の過程の後に沈澱が生じる。IIでは沈澱生成をもって複合体生成の尺度と考えてきたが、4)の過程が起らない場合もあるであろう。しかし、ラセンの性質(構造、荷電状態など)が試薬毎に大きな差を生じない限り、4)の過程は試薬の種類にはあまり関係ないものと思われる。

測定された複合体の生成熱は、ヨウ素に対しては、16.0kcal/mol 程度^{70, 71)}と相当に大きい、*n*-butanol, cyclohexanol の場合には +1.26kcal/mol の吸熱⁷²⁾であると言われている。従って一般に有機化合物の場合には原系及び生成系の熱含量の差は極めて小さいものであろう。また、エントロピーは生成系の方がより小さい。従って水溶液内での複合体形成は簡単には起り難いことが考えられる。これは主として2)の過程が、

固相の場合と異なって分子の極性だけでは左右されないことに基づくものと思われる。重要なのは試薬の水に対する親和力とアミロースに対する親和力（共に小さいと思われるが）の相対的な大きさであって、この大きさや試薬の溶液内での活量などが複合体形成の可否を決定するものと考えられる。

IV アミロース及びシクロデキストリンの有機化合物複合体のX線回析^{34, 35, 36, 37)}

1. 序

これまでにアミロース複合体の結晶構造については、Rundle らのX線回析を主とした広範な研究^{11, 17, 18, 73, 74, 75, 76)}によって、*n*-butanol, ヨウ素及び高級脂肪酸の複合体では、アミロースの分子鎖は7.91~8.05 Åのピッチを持って、グルコース残基6個でラセン1巻きした構造を取り、更にその円筒状ラセンは最密充填していることが証明された。そのラセン直径は乾燥状態では13.0Å、水和した状態では13.7Åになることが明らかにされた。（このグルコース残基6個でラセン1巻きしたアミロースを以後6₁-helix amyloseとする）。

一方Zaslow²¹⁾によって*t*-butanol複合体について提唱されたグルコース残基7個でラセン1巻きするアミロース（以後7₁-helix amyloseとする）の構造は推定の域を出ない。また最近ではグルコース残基8個でラセン1巻きしたアミロース（8₁-helix amylose）の存在も推定され^{51, 52, 53)}ていて、アミロースの分子鎖はかなり屈曲性に富み、包接される複合体試薬によって種々のラセン構造を取ることが予想される。従ってIIで得た多数のさまざまな分子構造を有する有機化合物によって水溶液中から沈澱したアミロース複合体が結晶状態において、どのような構造を取るかは非常に興味深い。またIで述べたpolyethyleneがそのオリゴマーの*n*-paraffineと類似の結晶構造を有するという事実は、アミロースの環状オリゴマーに相当するシクロデキストリンをアミロースラセン1巻きのモデル物質として取り扱える可能性を示している。シクロデキストリン（シャーディングーデキストリン、シクロアミロース）は澱粉に*Bacillus macerans* amylaseを作用させて得られる環状オリゴ糖で、6, 7, ないし8個のグルコース残基が α -1,4結合したもので、それぞれ α -, β -, γ -シクロデキストリンと呼ばれている¹⁰⁶⁾。これらのシクロデキストリン分子は水溶液中で、その空洞内にいろいろの種類の適当な大きさの化合物を取り込み包接化合物(inclusion compound)を作ることが知られている。このシクロデキストリンの包接現象に

ついては、Cramer ら^{78, 79)}及びFrench ら⁸⁰⁾により活発な研究が行われ、また最近では酵素反応のモデル化合物^{81, 82, 83)}としての注目を集めている。しかしながらその包接化合物の結晶構造に関しては、Cramer⁸⁴⁾及びFrench ら⁸⁵⁾により、わずか2, 3のものについて研究が行われたにすぎず、複合体結晶中ではシクロデキストリン分子が同軸状(coaxial)に積重なった円筒(channel)構造を取るか、あるいは非同軸状(non-coaxial)に配列したカゴ型(cage)構造を取るかは、長年の問題点⁵¹⁾とされていたが不明のままであった。

アミロースとシクロデキストリンの構成グルコース残基の立体配座が同一であるとする、デキストリン分子が同軸状に積重なって配列すれば、その構造はアミロースラセンと類似のものとなる。しかも結晶内でこれらのデキストリン円筒とアミロースラセン円筒が同一の充填構造を取れば、その結晶構造はほとんど同じものとなり、当然そのX線粉末図形にも一致が見られるはずであり、この場合には一般的な高分子のオリゴマー類似が見られる。もしデキストリン分子が非同軸状に配列したならば、その構造はアミロースラセンとは全く異なったものとなるためにオリゴマー類似は見られない。従って、逆にデキストリン及びアミロースの複合体の粉末図形の比較によって、デキストリン複合体結晶内でのデキストリン分子の配列状態をも知ることが出来る。

これらの観点から、本章においては、先ずIIで得た全てのアミロース複合体の粉末図形をX線ディフラクトメーターを用いて記録、解析³³⁾した。また直鎖脂肪酸ケトンの特異的なアミロース複合体の形成をX線的に検討³⁶⁾した。ついでアミロースラセンのモデル物質としてのシクロデキストリンを得るために*B. macerans*を用いて澱粉からその調製と単離⁸⁶⁾を行い、薄層クロマトグラフィーによって各デキストリンの同定⁸⁷⁾を行い、かつその立体配座をNMRスペクトル⁸⁸⁾により調べた。一方多数の α -, β -及び γ -デキストリンと有機化合物の複合体を調製し、そのX線粉末図形を解析し、アミロース複合体の回析結果との比較からそれらの結晶構造^{33, 34, 35)}について考察した。

2. IIで得たアミロース複合体のX線回析³³⁾

IIで得た45個のアミロース複合体のX線粉末図形をX線ディフラクトメーターを用いて記録した。直接澱粉溶液から調製したアミロース複合体は、湿潤状態ではその結晶の不完全さや水の乱反射などのために、明確な粉末図形を示さないことが多いため、ここでは複合体は全て乾燥状態に於てその粉末図形を記録した。

2-1 実験方法

1) アミロース複合体の調製

II, 2 と同様な方法で、馬鈴薯澱粉溶液から調製した。各々の沈澱したアミロース複合体は 3000 rpm で遠心分離後、傾斜して上澄液を除き、この沈澱を各複合体試薬の飽和水溶液でくり返し洗浄した。再び 10000 rpm で遠心分離後、沈澱を数枚の重ねた濾紙の上に広げ、出来るだけ水を除去し、ガラス板上に集めて、30°C で減圧下ある程度乾燥し、ついで試料瓶に移し、減圧下、80°C, P_2O_5 上で一定重量に達する迄（約48時間）乾燥した。かたまりあるいはフィルム状の試料が得られた場合は、乳鉢で細かく粉碎した。

2) X線回析

X線ディフラクトメーターを用いた粉末図形の記録と結晶構造の解析については、綜説⁸⁹⁾や成書^{90, 91, 92)}に述べられているのでここでは省略する。試料をアルミニウム試料板に圧搾して充填し、その表面をガラス板で平らにし、島津 X-Ray diffractometer GX-3 を用いて、その粉末図形を記録した。測定条件は次の通りである。X-ray: nickel-filtered Cu-K α radiation.

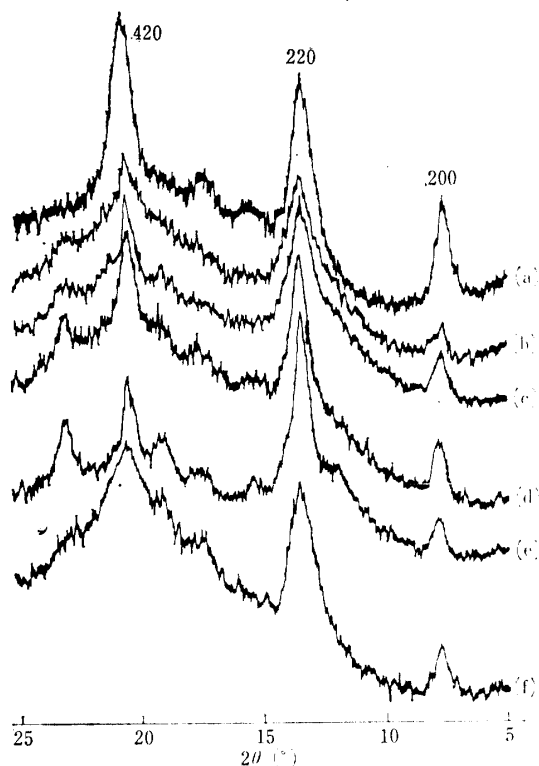


Fig. IV-1. X-Ray Diffraction Diagrams of Thoroughly Dried Samples of Amylose Complexes.

- (a) *n*-Butanol-amylose complex. (b) Methanol-amylose complex. (c) Ethanol-amylose complex. (d) Caproic acid-amylose complex. (e) Caprylic acid-amylose complex. (f) Stearic acid-amylose complex.

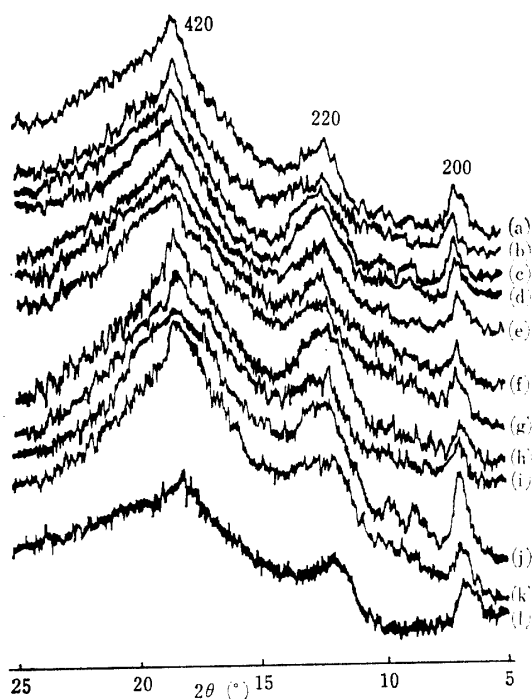


Fig. IV-2. X-Ray Diffraction Diagrams of Thoroughly Dried Samples of Amylose Complexes.

- (a) *t*-Butanol-amylose complex. (b) Linalool-amylose complex. (c) *l*-Menthol-amylose complex. (d) α -Bromopropionic acid-amylose complex. (e) 1,1,2,2-Tetrachloroethane-amylose complex. (f) Cyclohexane-amylose complex. (g) Benzene-amylose complex. (h) Methylisobutylketone-amylose complex. (i) Perillaldehyde-amylose complex. (j) *l*-Menthone-amylose complex. (k) 2,4-Dinitrophenol-amylose complex. (l) Acetone-amylose complex.

Voltage: 30kV, Current: 15mA, time constant: 2sec, divergency; 2mm, receiving slit; 0.4mm, scanning 及び chart speed: 10mm/min 及び 1cm/min, detector, Geiger Counter, 1500V.

2-2 結果及び考察

Table II-1 に示す種々の有機化合物のアミロース複合体の粉末図形を乾燥状態で記録したところ、すべての複合体は、複合体試薬によって、Fig. IV-1 および IV-2 に示すようないずれかの粉末図形を示した。両粉末図形には、いずれも 3 本の強い回析線が現われる。methanol, ethanol のような直鎖アルコールあるいは caproic acid のような直鎖脂肪酸の複合体では、それぞれ Fig. IV-1 のような粉末図形を与え、これらは Fig. IV-1-(a) の *n*-butanol 複合体の図形に一致する。この場合、これら試薬分子の横断面の直径* は約

* 以後横断面の直径は HGS 分子模型(丸善)での大きさをいい、Van der Waals 半径の大きさを考慮に入れない。

3.0Å で *n*-butanol のそれに等しい。Fig. IV-1 の粉末図形はいずれも $a=b=26.0\text{\AA}$ の六方晶系で指数配当することが出来る。それぞれの回析線の *d*-spacings は次式により計算出来る。面指数 (*hkl*) で与えられる格子面間隔を d_{hkl} とすると

$$d_{hkl} = \frac{a_0}{\sqrt{4/3(h^2 + hk + l^2) + (l/c)^2}}$$

ここで a_0 は格子定数、軸比; 1:1:*c*, 軸角; $\alpha=\beta=90^\circ$, $\gamma=120^\circ$, である。従って各回析線の *d*-spacings の計算値は $a_0=26.0\text{\AA}$ とすると,

$$d_{200} = 26.0 / \sqrt{4/3 \times 4} = 11.25\text{\AA}$$

$$d_{220} = 26.0 / \sqrt{4/3 \times 12} = 6.50\text{\AA}$$

$$d_{420} = 26.0 / \sqrt{4/3 \times 28} = 4.26\text{\AA}$$

測定値は $d_{200}=11.33\text{\AA}$, $d_{220}=6.50\text{\AA}$, $d_{420}=4.25\text{\AA}$, 従って d_{200} , d_{220} , d_{420} から計算されるラセン直径はそれぞれ $11.33 \times 2/\sqrt{3}=13.1\text{\AA}$, $6.5 \times 2=13.0\text{\AA}$, $4.25 \times \sqrt{7/2} \times 2=13.0\text{\AA}$ となる。

このようにして求めた各指数の *d*-spacings の測定値及び計算値を Table IV-1 に示すが、それらの値の間には良い一致が見られる。従ってこれらの複合体の各ラセン円筒は六方晶系に最密充填しており、そのラ

Table IV-1. Diffraction Data for Dried *n*-Butanol-Amylose Complex.

hkl ^{a)}	d (Å)	
	Calcd.	Obs.
200	11.25	11.33
220	6.50	6.50
420	4.26	4.25

a) Hexagonal indices.

セン直径が 13.0\AA のグルコース残基6個でラセン1巻きした 6₁-helix amylose に相当する。一方直鎖アルコール、直鎖脂肪酸以外の試剤が複合体試薬の場合には、Fig. IV-2-(a) のような *t*-butanol 複合体の粉末図形と同一のものが得られる。Fig. IV-2 には、各同族化合物のうちで代表的なものを示す。脂肪酸分岐アルコールとして linalool, 脂環式アルコールとして, *l*-menthol, ハロゲン化脂肪酸として α -bromopropionic acid, ハロゲン化炭化水素として 1,1,2,2-tetrachloroethane, 脂環式炭化水素として cyclohexane, 芳香族化合物として benzene, 分岐脂肪酸ケトンとして methylisobutylketone, 脂環式アルデヒドとして perillaldehyde, 脂環式ケトンとして *l*-menthone, phenol 類として 2,4-dinitrophenol, 直鎖脂肪酸ケトンとして acetone

Table IV-2. Diffraction Data for Dried *t*-Butanol-Amylose Complex.

hkl ^{a)}	d (Å)	
	Calcd.	Obs.
200	12.81	12.81
220	7.35	7.31
420	4.82	4.82

a) Hexagonal indices.

の複合体の粉末図形をそれぞれ示す。この場合の試薬分子の横断面の直径は約 $4.5\sim 6.0\text{\AA}$ である。これらの粉末図形はいずれも Fig. IV-2 の 6₁-helix amylose のそれとは明らかに異なる。各回析線の *d*-spacings の値は大きくなっており、6₁-helix amylose に比べると、その単位胞が拡大されていることは明らかである。この粉末図形は $a=b=29.4\text{\AA}$ の六方晶系で指数配当出来て、各回析線の測定値及び計算値は Table IV-2 のように良く一致している。(200)の回析線から計算されるラセン直径は 14.7\AA で、これは 6₁-helix amylose に比べて、ラセン直径が 1.7\AA だけ拡大されたグルコース残基7個でラセン1巻きした 7₁-helix amylose に相当すると考えられる。この場合にも、グルコース残基7個からなるラセン円筒が、6₁-helix amylose の場合と同様に最密充填しているものと考えられ、これは IV, 5-3 で述べる β -シクロデキストリン複合体とのオリゴマー類似により正しいことが証明される。また acetone と methylethylketone のような直鎖脂肪酸ケトンの分子の横断面の直径は約 3.6\AA で、直鎖アルコール類のそれに近く、6₁-helix amylose を与えることが予想されるが、実際には、その複合体からは 7₁-helix amylose を示す粉末図形が得られる。これについては IV, 3 で詳述する。

このように Table II-1 の複合体は乾燥状態では、*n*-butanol と *t*-butanol の複合体の粉末図形によって代表される 6₁-あるいは 7₁-helix amylose のいずれかのラセン構造を取り、その中間状態、例えばグルコース残基6.5個でラセン1巻きしたような粉末図形は存在せず、ラセン1巻を構成するルコース残基数は全て6あるいは7の整数であらわされる。

今水溶液中から複合体試薬により沈澱し、遠心分離して得た直後の湿潤状態の 6₁-helix amylose を *t*-butanol 中に分散し、激しく攪拌後、遠心分離し、乾燥したものの粉末図形は *t*-butanol のそれに一致する。これは 6₁-から 7₁-helix への単位胞の変換が生じたことを示している。しかし 6₁-helix amylose を 7₁-

helix amylose を形成する試薬ではあるが、水とは自由に混合しない benzene, chloroform, *p*-cymene のような溶媒中に分散させてもこの単位胞の変換は見られない。

これとは逆に、湿潤状態の 7₁-helix amylose を水と自由に混合する直鎖アルコール (methanol, ethanol, *n*-propanol) 中に分散させると 6₁-helix amylose への変化が見られる。しかし水とは自由に混合しない直鎖アルコール (*n*-butanol, *n*-amyl alcohol など) に分散させてもこの変化は見られない。また 7₁-helix amylose を示す複合体を *t*-butanol に分散させても、その粉末図形は変化しない。

このようにアミロース結晶の分子鎖は湿潤状態においても、かなり屈曲性に富むことが示されたが、そのラセン直径の変化は 6₁- から 7₁-helix あるいは 7₁- から 6₁-helix へとラセン 1 巻あたりのグルコース残基の不連続的な増加あるいは減少を伴うものであり、アミロースはラセン内部に包接された分子の大きさに応じて、任意の大きさのラセン直径を取るものではない。即ちラセンのグルコース残基の配列には、試薬分子の種類により一定の整数的変化が生じ、ラセン 1 巻あたりのグルコース残基数が分数であらわされるようなグルコース残基の増加あるいは減少を伴うラセン構造の連続的な拡大や収縮は起り得ないことを示している。

NMR^{93, 94)}, IR⁹⁵⁾, 比旋光度^{96, 97, 98)} などの研究によって、水溶液中や DMSO 中では、アミロースのラセン構造は 1 つのラセン環のグルコース残基の O₂H と同一ラセン環の隣接グルコース残基の O₃H 間の分子内水素結合により安定化されるとされているが、単にこのような O₂H と O₃H 間の水素結合の生成だけでは、この実験に見られるラセンのグルコース残基の整数的変化を説明することは出来ない。ラセン 1 巻あたりのグルコース残基の整数的変化は、アミロースラセンのある一つの環のグルコース残基が、隣る環のグルコース残基に対して相対的にある定まった配置を取るために生じるものであるから、それらの隣接した個々のラセン環のグルコース残基の間に水素結合が生じている。即ち、Fig. IV-3 に示すように、固体状態のアミロースラセンには、隣接グルコース残基の O₂H, O₃H 間の水素結合以外に、ラセンのある 1 つの環におけるグルコース残基の O₆H と隣接したラセン環のグルコース残基の O₂H 間に水素結合が生じ、これが主としてこの実験に見られたラセン直径の整数的変化の原因になっていると考えるのが妥当であろう。尚、このような隣接した個々のラセン環間の O₆H, O₂H

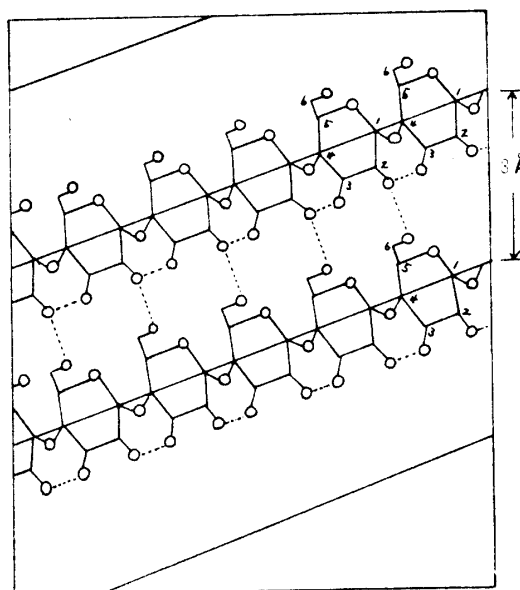


Fig. IV-3. Cylindrical Projection of the Proposed Chain Conformation for Helical Amylose. Broken lines; hydrogen bonds.

The planar arrangement is pictured in such a way as to produce a continuous helical chain molecules with adjacent turns connected by hydrogen bonds.

間の水素結合の存在は、最近更に Blackwell ら⁹⁹⁾ によっても明らかにされている。7₁-helix amylose が 4.5~6.0Å とかなり大きさの異なる試薬分子を包接した複合体に見られる事実は、上述した隣接ラセン環間の水素結合の存在によって説明されよう。分子模型による考察によっても、6₁-helix は 4.5Å あるいはそれ以上の横断面を有する分子を包接することは出来ず、またラセンの環同志間の水素結合は、1 周期が分数のグルコース残基からなるラセンに対しては生じ得ないので、このような横断面の大きい分子に対してはすべて 7₁-helix が生じるのであろう。以上のような理由により固体状態では 6₁-及び 7₁-helix のような整数のグルコース残基からなるラセンのみが存在する事実を合理的に説明することが出来る。

3. アミロース・直鎖脂肪族ケトン複合体の X線回析³⁷⁾

IV, 2 ではアミロースと種々の有機化合物の X線回析を行い、乾燥状態では 6₁-及び 7₁-helix を示す 2 つの粉末図形のみが存在することを明らかにし、複合体試薬の分子の横断面の大きさがラセン直径を決定する因子の一つであることを見出した。

しかしながらこれら複合体のうち acetone, methyl ethyl ketone のような直鎖脂肪族ケトンが試薬分子の場合は、これらケトン分子の横断面は約 3.6Å でむし

ろ直鎖アルコールのそれ(約 3.0\AA)に近く、その粉末図形は 6_1 -helix amylose を示すことが予想されるが、実際にはその粉末図形は $4.5\sim 6.0\text{\AA}$ の横断面を有する分子の複合体に見られる 7_1 -helix amylose をしめし、これらケトン分子の場合には特異性が見られた。また湿潤状態のこれら複合体を直鎖アルコール中に分散させると、そのラセン直径は 13.0\AA に変化した。

一方 Germino ら¹⁰⁾ は acetone 及び methylethylketone の複合体は湿潤及び乾燥状態では、そのラセン直径はいずれも 13.7\AA の 6_1 -helix であり、また湿潤 acetone 複合体を methanol で洗浄すると、そのラセン直径は 13.0\AA と 13.7\AA の混り合ったものとなり、湿潤 methylethylketone 複合体を methanol で洗浄すると、そのラセン直径は 13.7\AA のままで何らの変化を受けないことを報告し、IV, 2 で得た結果とは全く異なる結論を得ている。

そこでここでは、以上の点を明らかにし、複合体の結晶構造に及ぼすケトン分子の影響を調べるために、種々の直鎖ケトン複合体の粉末図形を、湿潤及び乾燥状態において記録し、その解析を行った。

3-1 実験方法

1) 馬鈴薯澱粉は局方のものを使用し、試薬の純度には特に注意を払った。acetone, methylethylketone は Merck 社の spectro grade を用い、他のケトン類は市販特級品を精密分留しガスクロマトグラフで均一であることを確かめた。

2) アミロース複合体の調製

IV, 2 で述べたように澱粉から直接したアミロース複合体は通常湿潤状態では良い粉末図形を示さないで、この実験ではアミロース溶液から複合体を調製した。アミロースは II, 2 の *l*-menthone による分別法で得た。100 g の馬鈴薯澱粉から得た湿ったアミロース・*l*-menthone 複合体を 1*l* の熱水に溶解し、水蒸気

蒸溜により *l*-menthone を完全に除去した。その後直ちに、この熱溶液 100 ml ずつを、いくつかの試験管に入れ、検討すべきケトン試薬を加え、激しく振とうし、密栓をして、熱水を満した Dewar 瓶中に浸し、時々振とうして室温にまで徐々に冷却した。生成した沈澱を 10000rpm で遠心分離し、数枚の濾紙上にのせて水分を除去し、これを湿潤状態の試料とした。一方この湿潤状態の試料を 80°C . P_2O_5 上、減圧下で一定重量になるまで乾燥し、これを乾燥状態の試料とした。acetone 及び acetonylacetone 複合体は次のように調製した。*l*-menthone を水蒸気蒸留により除去したアミロースの熱溶液にその 40% (V/V) に相当する試薬, acetone あるいは acetonylacetone, を加え、徐々に冷却して得られる沈澱を遠心分離し、試薬中に 1 分間分散し、ガラスフィルター (No. 2) で吸引濾過し、これを湿潤状態の試料とした。これを減圧下乾燥したものを乾燥状態の試料とした。

3) X線回析

乾燥状態の粉末図形は IV, 2.1 と同一条件で記録し、湿潤状態の試料の測定には、次の操作条件を用いた。

X-ray: nickel-filtered Cu-K α radiation, Voltage 35kV, Current; 20mA, divergency; 2mm, receiving slit; 0.4mm, time constant; 8sec, Scanning; speed; 10mm/min, Chart speed; 10mm/min, Geiger counter; 1500V.

3-2 結果及び考察

Table IV-3 に示すような炭素数及び分子中でのカルボニル基の位置の異なる10個の直鎖脂肪酸ケトンの複合体を調製し、湿潤及び乾燥状態でその粉末図形を記録したが、炭素数 3 ~ 6 個の acetone, methylethylketone, methyl *n*-propylketone, diethylketone, acetonylacetone 及び methyl *n*-butyl ketone の複合体の湿潤状態での粉末図形はそれぞれ Fig. IV-4 のように

Table IV-3. *n*-Aliphatic ketones which Complex with Amylose for X-Ray Diffraction Measurement.

<i>n</i> -Aliphatic ketones	Molecular formula	Number of carbons
1) Acetone	CH_3COCH_3	3
2) Methylethylketone	$\text{CH}_3\text{COCH}_2\text{CH}_3$	4
3) Methyl- <i>n</i> -propylketone	$\text{CH}_3\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	5
4) Diethylketone	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COCH}_2\text{CH}_3$	5
5) Acetonylacetone	$\text{CH}_3\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{COCH}_3$	6
6) Methyl- <i>n</i> -butylketone	$\text{CH}_3\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	6
7) Di- <i>n</i> -propylketone	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	7
8) Ethyl- <i>n</i> -butylketone	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	7
9) Methyl- <i>n</i> -amylketone	$\text{CH}_3\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	7
10) Methyl- <i>n</i> -hexylketone	$\text{CH}_3\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	8

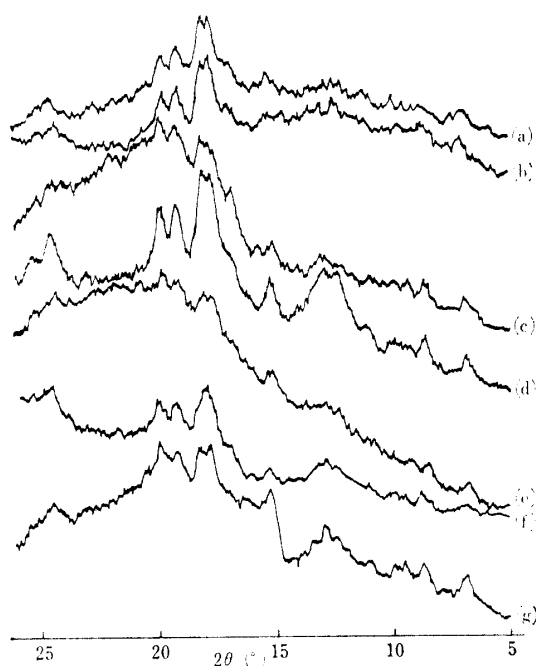


Fig. IV-4. X-Ray Diffraction Diagrams of Wet *n*-Aliphatic Ketone-Amylose Complexes. (a) Acetone-amylose complex. (b) Methyl-ethylketone-amylose complex. (c) Methyl-*n*-propylketone-amylose complex. (d) Diethylketone-amylose complex. (e) Acetonyl-acetone-amylose complex. (f) Methyl-*n*-butylketone-amylose complex. (g) *t*-Butanol-amylose complex.

Table IV-4. Diffraction Data for wet *n*-Aliphatic Ketones^{a)}-Amylose Complexes.

$\sin^2 \theta$ (Obs.)	
<i>t</i> -Butyl alcohol complex ^{b)}	<i>n</i> -Aliphatic ketone complexes ^{a)}
0.00366	0.0037
0.00463	0.0046
0.00567	0.0056
0.00705	0.0070
0.00907	0.0092
0.01135	0.0114
0.01273	0.0124
0.01732	0.0175
0.02108	0.0211
0.02402	0.0240
0.02705	0.0276
0.02930	0.0293
0.03560	0.0356
0.03890	0.0391
0.0447	0.0447
0.0474	0.0474
0.0583	0.0581

a) Acetone, methylethylketone, methyl-*n*-propylketone, diethylketone, acetonylacetone and methyl-*n*-butylketone.

b) Reported by Zaslow.²¹⁾

なった。これらの粉末図形は簡単な対称性を示さないために、その指数配当は困難である。しかしこれらの粉末図形は回析線の位置と強度に関して互いに類似していて、いずれの粉末図形も Fig. IV-4.(g) の *t*-butanol 複合体のそれに一致している。これら炭素数 3 ~ 6 個のケトン複合体の回析線の位置を $\sin^2 \theta$ であらわして Zaslow²¹⁾ が *t*-butanol 複合体について得たものと比較すると Table IV-4 のようになり、各回析線の $\sin^2 \theta$ の値は良く一致しており、これらケトン及び *t*-butanol 複合体の結晶構造は全く等しいことがわかる。但しこれら複合体の単位胞をこの粉末図形のみから直接明らかにすることは出来ない。これらのケトン複合体を一定重量に達するまで乾燥したものの粉末図形は、すべて Fig. IV-5.(a) の acetone 複合体により代表される典型的な六方晶系を示す図形に変化し、この図形は IV, 2 で述べた 7₁-helix amylose である乾燥 *t*-butanol 複合体のそれに完全に一致する。この粉末図形に対して $a=b=29.4\text{\AA}$ の単位胞を有する六方晶系から計算した *d*-spacings は Table IV-5 のように測定値と良く一致している。従って炭素数 3 ~ 6 個の直鎖脂肪族ケトン複合体は、分子中のカルボニル基

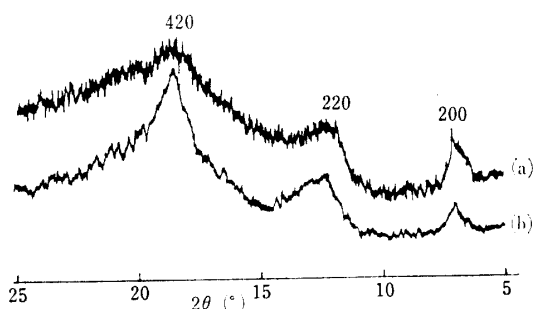


Fig. IV-5. X-Ray Diffraction Diagrams of Dried Acetone- and *t*-Butanol-Complexes.

(a) Dried acetone-amylose complex.

(b) Dried *t*-butanol-amylose complex.

Table IV-5. Diffraction Data for Dried *n*-Aliphatic Ketone^{a)}-Amylose Complexes.

hkl ^{b)}	<i>d</i> (Å)	
	Calcd.	Obs.
200	12.80	12.81
220	7.37	7.37
420	4.82	4.82

a) Acetone, methylethylketone, methyl-*n*-propylketone, diethylketone, acetonylacetone and methyl-*n*-butylketone.

b) Hexagonal indices.

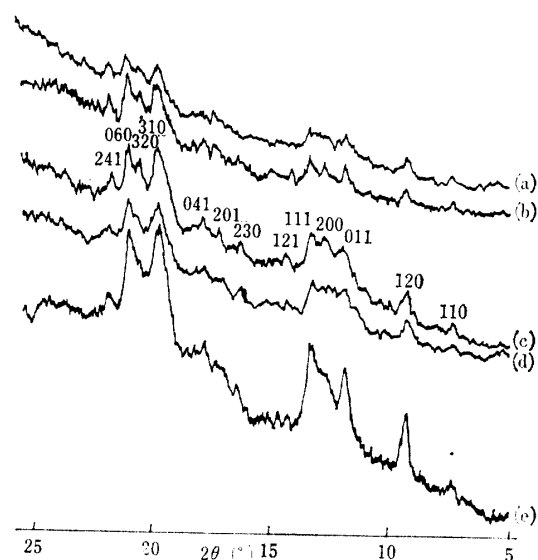


Fig. IV-6. X-Ray Diffraction Diagrams of Wet *n*-Aliphatic Ketone-Amylose Complexes.
 (a) Di-*n*-propylketone-amylose complex.
 (b) Ethyl-*n*-butylketone-amylose complex.
 (c) Methyl-*n*-amylketone-amylose complex.
 (d) Methyl-*n*-hexylketone-amylose complex.
 (e) *n*-Butanol-amylose complex.

Table IV-6. Diffraction Data for Wet *n*-Aliphatic Ketone^{a)}-Amylose Complexes.

hkl ^{b)}	d (Å)		
	Calcd. ^{c)}	Obs.	
		Ketone ^{a)} complexes	<i>n</i> -Butyl alcohol complexes
110	12.09	12.11	12.11
120	9.35	9.35	9.38
011	7.44	7.44	7.44
200	6.85	6.86	6.86
111	6.55	6.55	6.58
121	6.05	6.03	6.03
230	5.34	5.38	5.37
201	5.14	5.12	5.10
041	4.94	4.92	4.95
310	4.49	4.48	4.48
320	4.29	4.31	4.29
060	4.27	4.23	4.23
241	4.02	4.04	4.02

- a) Di-*n*-propylketone, ethyl-*n*-butylketone, methyl-*n*-amylketone and methyl-*n*-hexylketone.
 b) Orthorhombic indices.
 c) Calculated on the basis of the orthorhombic unit cell proposed by Rundle et al.¹¹⁾

の位置に関係なく 7-helix amylose を与える。また acetonylacetone 及び methyl-*n*-butylketone の複合体の解析結果から、ケトン分子中のカルボニル基の数は直鎖脂肪族ケトン複合体のラセン直径に変化を与えないことがわかる。

一方炭素数 7 及び 8 個の di-*n*-propylketone, methyl-*n*-amylketone, methyl-*n*-hexylketone の複合体は湿潤状態において、それぞれ Fig. IV-6 のような粉末図形を与え、これは明らかに Fig. IV-4 の図形とは異なる。これらの粉末図形は Fig. IV-6.(e) の湿潤状態での *n*-butanol 複合体のそれに一致している。従ってこのようなケトン及び *n*-butanol 複合体の粉末図形の一致により、ケトン複合体の指数配当が可能となる。即ちこれらのケトン複合体は、Rundle ら¹¹⁾ が湿潤 *n*-butanol 複合体について報告した $a=13.7$, $b=25.6$, $c=7.8\text{Å}$ の正斜方晶系を仮定すると矛盾なく指数配当することが出来て、これらケトン複合体と *n*-butanol 複合体の結晶構造は同一であることがわかる。配当した各回折線の指数を Fig. IV-6.(c) の methyl-*n*-amylketone 複合体の粉末図形上に示す。Table IV-6 には各指数についての斜方晶系に対する計算式; $d_{hkl} = b_0 / \sqrt{(h/a)^2 + k^2 + (l/c)^2}$, b_0 ; b 軸の格子定数, 軸比; $a:1:c$, 軸角; $\alpha=\beta=\gamma=90^\circ$, により求めた d -spacings の計算値と測定値を示すが、これらには良い一致が見られる。この場合のラセン直径は 13.7Å である。一方、これら炭素数 7 および 8 個のケトン複合体を一定重量に達するまで乾燥すると、これら複合体は Fig. IV-7.(a) の methyl-*n*-hexylketone 複合体によって代表される粉末図形を与える。この粉末図形は Fig. IV-7.(b) の水和した *n*-butanol のそれに一致し、 $a=b=27.4\text{Å}$ の六方晶系にて指数配当され、各

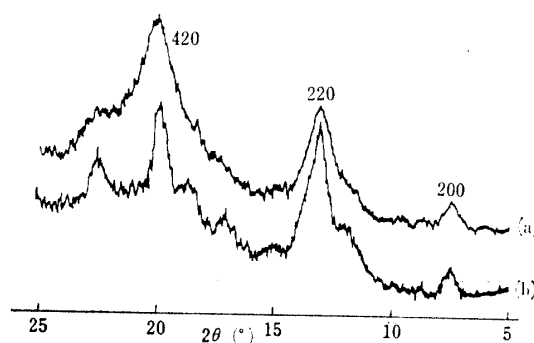


Fig. IV-7. X-Ray Diffraction Diagrams of Dried Methyl-*n*-Hexylketone- and Hydrated *n*-Butanol-Amylose Complexes.
 (a) Dried methyl-*n*-hexylketone-amylose complex. (b) Hydrated *n*-butanol-amylose complex.

Table IV-7. Diffraction Data for Dried *n*-Aliphatic Ketone^{a)}-Amylose Complexes.

hkl ^{b)}	d (Å)	
	Calcd.	Obs.
200	11.91	11.94
220	6.85	6.85
420	4.49	4.49

a) Di-*n*-propylketone, ethyl-*n*-butylketone, methyl-*n*-amylketone and methyl-*n*-hexylketone.

b) Hexagonal indices.

d-spacings の計算値及び測定値を Table IV-7 に示す。この場合ラセン直径は 13.7Å で、乾燥によりこれら複合体の単位胞は正斜方晶系から六方晶系に変化するが、そのラセン直径には変化が生じない。この事実、これらケトン分子はラセン内部に強固に包接され、乾燥しても尚そのラセン直径に影響を及ぼすことを示している。従って炭素数 7 及び 8 個の直鎖脂肪族ケトン複合体は、分子中のカルボニル基の位置には関係なく、湿潤及び乾燥状態で、ラセン直径 13.7Å を有する 6₁-helix amylose を与える。従ってこれらケトン複合体のラセン直径は包接されたケトン分子の長さに関係している。

湿潤状態の 7₁-helix を示す直鎖ケトン複合体を調製後、直ちに methanol 中に分散し、激しく攪拌、遠心分離し、乾燥したものの粉末図形は Fig. IV-8. (a) のようになり、これは IV, 2 の Fig. IV-8. (b) の乾燥 *n*-butanol 複合体のそれに一致する。この粉末図形に対して $a=b=26.0\text{Å}$ の六方晶系による指数、*d*-spacings の計算及び測定値を Table IV-8 に示す。この

Table IV-8. Diffraction Data for Dried *n*-Aliphatic Ketone-Amylose Complexes After Methyl Alcohol Exchange

hkl ^{a)}	d (Å)	
	Calcd.	Obs.
200	11.31	11.31
220	6.50	6.50
420	4.27	4.27

a) Hexagonal indices.

場合のラセン直径は 13.0Å で、アミロースラセンに包接されたケトン分子は完全に methanol で置換されていることが明らかである。

この実験では、ケトン分子の相違により生じる複合体のラセン直径の急激な変化の原因を明らかにすることは出来ないが、直鎖脂肪族ケトン複合体のラセン直径は、ケトン分子のカルボニル基の位置と数には無関係で、分子の長さによって変化していることは明らかである。またラセン内部に包接された分子はその長軸をアミロースのラセン軸に対して平行に並ぶことが考えられるので、分子の長さはラセン直径には一見無関係のように思えるが、実際にはこの直鎖ケトン複合体に見られるように、分子の長さもまたラセン直径に変化を与えるという注目すべき現象が明らかになった。

4. シクロデキストリンの調製⁸⁶⁾、単離⁸⁶⁾、薄層クロマトグラフィー⁸⁷⁾及び立体配座解析⁸⁸⁾

4-1 シクロデキストリンの調製及び単離⁸⁶⁾

X線回折及び III のガスクロマトグラフィーの実験を行うために必要なシクロデキストリンを得るために、*B. macerans* の酵素液を作り、これを馬鈴薯澱粉に作用させて、シクロデキストリンの調製を行った。調製法については、French ら^{101, 102)} 及び Cramer ら¹⁰³⁾ の方法があるが、用いる菌株が異なる上に、複合体試薬による選択的沈澱法のみを用いた単離操作が繁雑である。また河野ら¹⁰⁴⁾ の改良法も報告されているが、 γ -デキストリンの単離についての記載がない。そこで実験室的に比較的容易に多量のデキストリンを得るために、財団法人醸酵研究所から恵された *B. macerans* IFO. No. 3490 を用いて、その調製法を検討した。また α -, β - 及び γ -デキストリンは水に対する溶解度が非常に異なる点¹⁰⁵⁾ に着目して、各デキストリンの水に対する溶解度の相違と複合体試薬による選択的沈澱法を併用した単離法により個々のデキストリンを容易に、純粋に得ることが出来た。

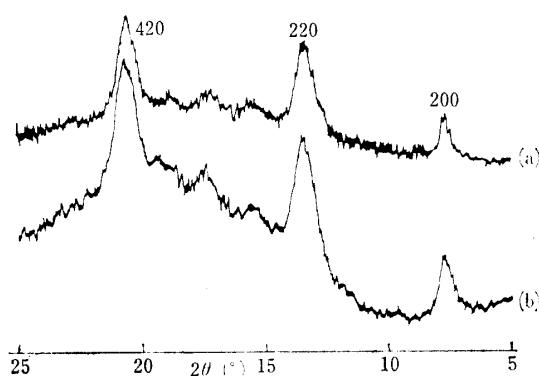


Fig. IV-8. X-Ray Diffraction Diagrams of Dried *n*-Aliphatic Ketone-Amylose Complex After Methanol Exchange and Dried *n*-Butanol-Amylose Complex.

(a) Dried *n*-aliphatic ketone-amylose complex after methanol exchange.

(b) Dried *n*-butanol-amylose complex.

1) 酵素液の調製

馬鈴薯 5g をすりつぶし、5ml の水と共に試験管に入れ、綿栓をして滅菌、冷却後 *B. macerans* IFO. No. 3490 を接種し、1 週間、38°C で前培養した。酵素液の調製には数個の 2l 三角フラスコに、それぞれ交換水 500ml と馬鈴薯をホモゲナイザーですりつぶし、ガーゼで濾過した濾液 500ml を入れ、これに馬鈴薯澱粉 30g をとかし、CaCO₃ 30g を加え、綿栓をして、120°C、1 時間オートクレーブで加圧、滅菌した。冷却後、前培養した溶液 3ml を加え、38°C で 10 日間から 2 週間時々振とうして放置した。溶液は時間の経過と共に粘性のない褐色溶液となる。培養液を 4000 rpm で遠心分離して得られる透明液を希酢酸で pH 5.7 に調整し、冷蔵庫に放置して酵素液として用いた。酵素力価は Tilden ら¹⁰⁶⁾のヨウ素複合体を顕微鏡で観察する方法で測定したが、上記の酵素液は通常 2unit/ml の力価を有する。ここで 1unit は 1ml の 3% 澱粉溶液を 40°C、30 分間で Tilden-Hudson の終点¹⁰⁶⁾にまで変化させるに必要な酵素量である。

2) シクロデキストリンの調製

個々のデキストリンの調製に最適の酵素濃度を決定するために、各デキストリンの収率に及ぼす同一時間での反応における酵素濃度の影響を調べた。5 個の 3l 三角フラスコに、それぞれ 1.4l の交換水を入れ、外部から 80~90°C に加温する。これに激しく攪拌しながら、100ml の交換水中に 45g の馬鈴薯澱粉（水分含量；17.5%）を分散させたものに加え、約 3% の透明溶液とした。この時澱粉がゲル状にかたまらないように注意する。ついで 120°C、1 時オートクレーブで加圧し、50°C まで冷却した時 3ml の酵素液を加えると溶液は粘性を失いマグネチックスターラーで攪拌可能となり、同時に澱粉の老化を防止することが出来る。*B. macerans* amylase の至適 pH は 5.0~6.0 とされているが、交換水を用いれば、加圧した後の澱粉溶液は約 pH 5.7 で特に調整を必要としない。溶液が 40°C になった時、攪拌しながら、それぞれ 40, 80,

160, 240, 400unit の酵素液を加え、時々振とうして 38°C に 48 時間放置した。ついで沸騰水中に 30 分間放置して酵素を失活させ、chart IV-1 に示す単離法で、 α -デキストリンを 1,1,2,2-tetrachloroethane 複合体、 β -デキストリンを bromobenzene 複合体として単離し、それぞれ α -及び β -, γ -デキストリンの収量とした。その結果を Table IV-9 と Fig. IV-9 に示す。これから明らかなように、基質に対して酵素濃度を変えた場合に、得られる全デキストリン量は酵素量の増加と共に、ごくわずかに増加するだけである。しかし各デキストリンの生成比は酵素濃度により著しく異なり、 α -デキストリンの生成は酵素量の少ない時に最高に達し、酵素量の増加と共にしだいに減少するが、逆に β -及び γ -デキストリンの生成量は酵素量の増加と共に増加している。個々のデキストリンの生成を、後に述べる TLC による方法で追跡すると、 γ -デキストリンは反応の初期の段階ではほとんど検出されず、後期に至り検出される。従って α -デキストリンを多く得るに

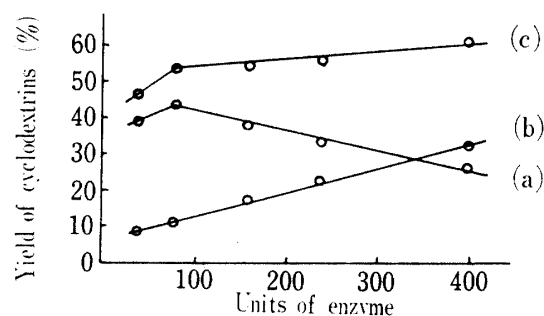


Fig. IV-9. Yield of Cyclodextrins as a Function of the Amounts of Enzyme Used. Varying amounts of enzyme were incubated with potato starch (45g, wet weight). The β -dextrin, bromobenzene complex (β -+ γ -dextrins) and tetrachloroethane complex (α -dextrin) were isolated and weighed (Table IV-9). (a) α -Cyclodextrin-1,1,2,2-tetrachloroethane complex. (b) β -Cyclodextrin+ β - and γ -cyclodextrin-bromobenzene complex. (c) Total amounts of cyclodextrin and its complexes.

Table IV-9. Effect of Enzyme Concentration on Yields^{a)} of Cyclodextrins.

Units of enzyme added	40	80	160	240	400
α -Dextrin-tetrachloroethane complex (g)	14.5	16.1	14.0	12.5	10.1
Yield of α -dextrin-tetrachloroethane complex (%)	39.1	43.4	37.8	33.7	27.2
β -Dextrin, β - and γ -dextrin-bromobenzene complexes (g)	2.8	4.0	6.6	8.6	12.3
Yield of β -dextrin, β - and γ -dextrin complexes (%)	7.6	10.8	17.8	23.2	33.2
Total amounts of dextrans and its complexes (g)	17.3	20.1	20.6	21.1	22.4
Total yield of dextrans and its complexes (%)	46.7	54.2	55.5	56.9	60.4

a) Calculated on the basis of dry starch.

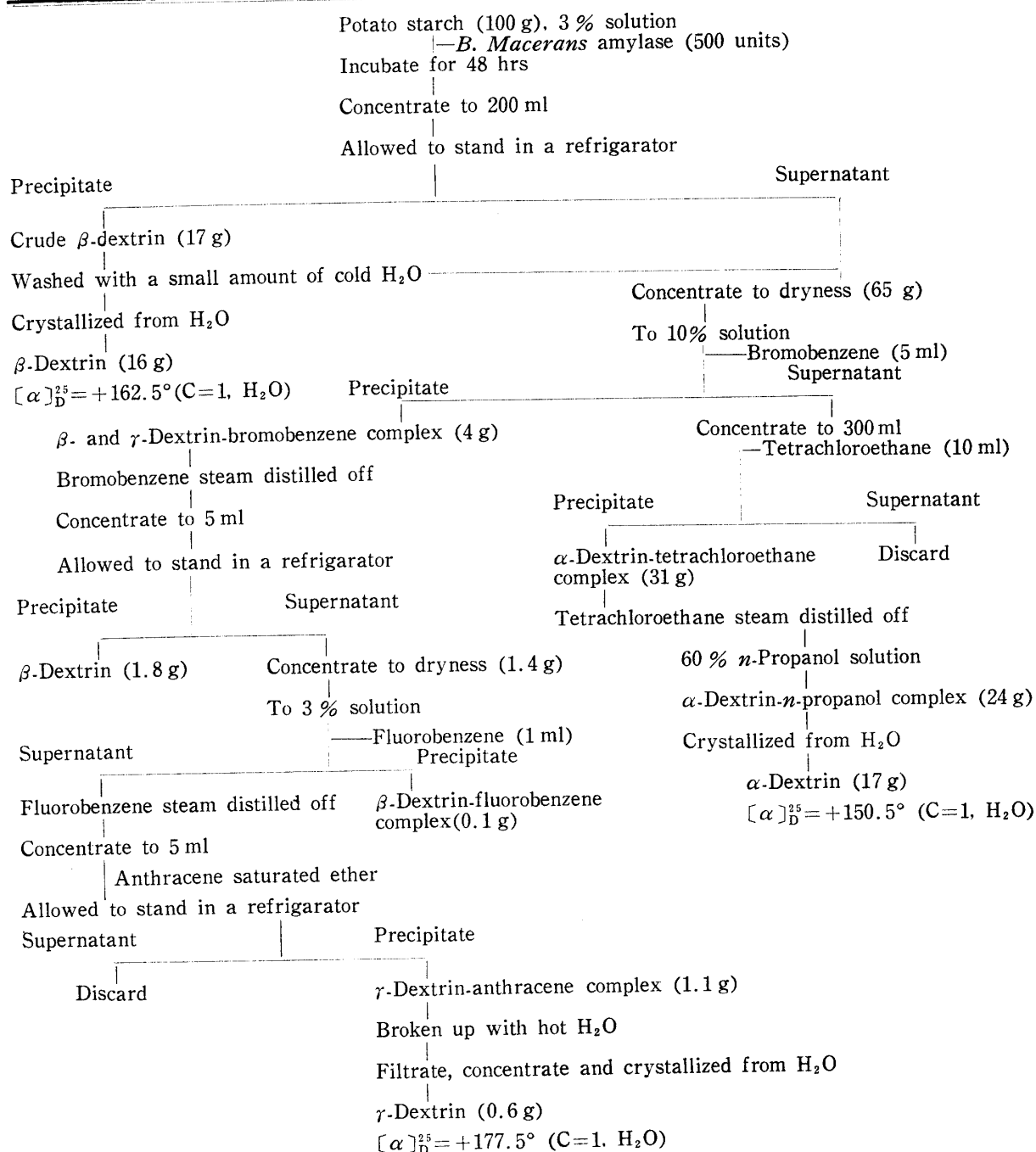
は、用いる酵素量を少なくし、 β -及び γ -デキストリンを多く得るには、用いる酵素量を多くすれば良い。

3) シクロデキストリンの単離

シクロデキストリンの単離法として従来用いられている方法は、空洞直径の大きさが各デキストリンでそれぞれ異なり、適当な大きさの有機化合物を選択的にその空洞内に取り込み水溶液中から沈澱する性質を利用したものである。しかし水溶液中から各デキストリンを複合体として選択的に沈澱させるためには、水溶

液中でのデキストリンの濃度をかなり厳密に規定せねばならない。即ち一般に個々のデキストリンの単離に用いる複合体試薬は、選択的に個々のデキストリンとのみ複合体を形成するものと考えられるが、これはあくまでも水溶液中のデキストリン濃度を2~3%程度の比較的希薄溶液とした場合のみに限られ、デキストリン濃度が大きくなれば、 α -、 β -及び γ -デキストリンはほとんど全ての複合体試薬と複合体を形成し、沈澱するために分別には不都合となる。従って澱粉の酵素

Chart IV-1. Fractionation Scheme for Isolation of α -, β -, and γ -Cyclodextrins.



消化液中から、個々のデキストリンを選択的沈澱のみにより単離するには、厳密に濃度を規定する必要が生じ、再度の濃縮と希釈とを繰返さねばならず、やや多量の調製には不便である。

一方 α -, β - 及び γ -デキストリンの水に対する溶解度はそれぞれ 16.0, 1.8, 22.0 g/100 ml¹⁰⁵⁾と大きな相違がある。そこで特に β -デキストリンは水に難溶性で、しかも結晶性の良いことを利用して、先ず澱粉の酵素消化液を濃縮して冷所に放置して、 β -デキストリンのみをほとんど完全に結晶化させ、その後上澄液から、複合体試薬を用いる選択的沈澱法により、 α - 及び γ -デキストリンの単離を行うことによって、各デキストリンを純粋に収量良く単離することが出来た。その結果を Chart IV-1 に示す。この Chart における各デキストリンの単離の過程は、次に述べる TLC により調べ、最終的な個々のデキストリンの純度は旋光度により決定した。またここで得られた α - 及び β -デキストリンは Arkansas 大学 J. A. Thoma 教授から恵与された標準品と TLC における R_f 値と旋光度が完全に一致した。

4-2 シクロデキストリンの薄層クロマト

グラフィー⁸⁷⁾

上述した澱粉の *B. macerans* amylase によるシクロデキストリンの調製と単離において、澱粉の酵素消化により生じるデキストリン混合物の組成を速かに調べ、得られた各デキストリンの純度を調べる必要が生じた。シクロデキストリンの分離については、Cramer¹⁰⁷⁾により報告された円型濾紙クロマトによる方法があるが、この方法は分離に約20~25時間もの長時間を要する。また Wiedenhof¹⁰⁸⁾による microchromatoplate¹⁰⁹⁾を用いる方法は、特殊な方法であり、異なった複雑な溶媒で2回展開する必要がある、しかも γ -デキストリンの分離法についての記載がない。従って上記2方法は、迅速な各デキストリンの分離に使用することは不可能である。これらの点を解決するために、ここでは直鎖オリゴ糖の分離^{110, 111)}に用いられるような、ごく一般的な TLC による分離方法を試みた。TLC の担体としては Silica gel (Kieselgel G, Merck), Kieselguhr (Kiesel guhr G, Merck), 微結晶性粉末セルロース (Avicel SF, 舟越薬品) の3つを用いた。プレートは通常の方法で 250 μ の厚さに調製した。Kieselguhr と silicagel のプレートは、室温で1時間風乾後、110°C, 30分間加熱し、デシケーター中で保存した。セルロースのプレートは、室温で1夜風乾して用いた。展開溶媒としては、直鎖オリゴ糖の分離に有効な *n*-BuOH-EtOH-H₂O, *n*-BuOH-pyridine-H₂O,

n-BuOH-ACOH-H₂O のような溶媒系をその組成をいろいろに変えて用いた。各デキストリンでは約 3~5 μ g, 混合物では約 20 μ g をプレートに線状につけ、ガラス容器中で上昇法により展開した。溶媒が原点から 10~13 cm 程度上昇するまで展開し、ホットプレートで乾燥し、1% I₂-MeOH 溶液を噴霧して検出した。I₂-MeOH 溶液の噴霧によって直ちに、 α -デキストリンは紫色、 β -デキストリンは黄色、 γ -デキストリンは褐色に、同時に呈色し、単時間での検出が可能である。

3種の担体と種々の溶媒との組合せについて実験をくり返したところ、(I) Avicel SF と *n*-BuOH-EtOH-H₂O=4:3:3 (V/V) と (II) Kieselguhr と *n*-BuOH-EtOH-H₂O=4:3:2 (V/V) の組合せが各デキストリンの分離に良い結果を与えた。

(I) の組合せを用いた時、Fig. IV-10 に示すように各デキストリンは良く分離していて、テーリングは起らない。この場合展開時間は約4時間である。これを同一溶媒で再び展開すると、Fig. IV-11 のように各デキストリンの R_f 値は増加して、分離は更に良好となる。(II) の組合せを用いた時は、展開は約1.5時間という単時間で行える。この場合 Fig. IV-12 に見られるように、(I) に比べて分離の点では劣るが、ヨウ素による特異的な呈色により容易に各デキストリンを区別することが出来る。澱粉の消化により生じる直鎖オリゴ糖はヨウ素によってほとんど呈色しないので、

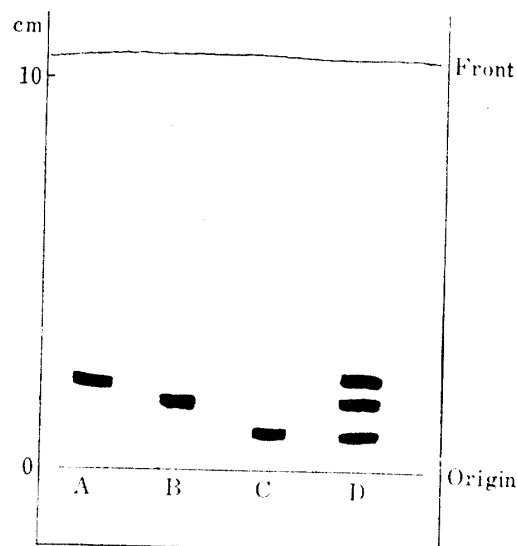


Fig. IV-10. Thin-layer Chromatogram of Cyclo-dextrins on Microcrystalline Cellulose.

Solvent system, *n*-butyl alcohol-ethyl alcohol-water (4:3:3 by volume); (A) α -cyclodextrin, (B) β -cyclodextrin, (C) γ -cyclodextrin, (D) mixture of α -, β -, and γ -cyclodextrins.

(I) 及び (II) の組合せを用いる場合には、シクロデキストリンの検出は妨害されない。尚 Silicagel を用いる分離は、テーリングがひどく分離には不適当であった。この TLG による方法は、分離及び展開時間の点

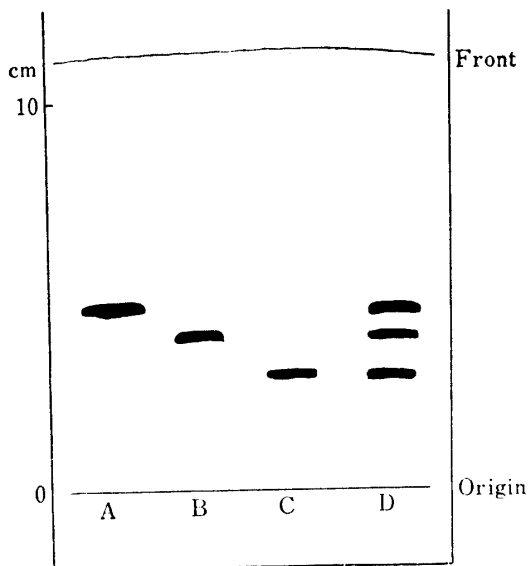


Fig. IV-11. Thin-layer Chromatogram of Cyclodextrins on Microcrystalline Cellulose Obtained after Twice-repeated Irrigations.

Solvent system, *n*-butyl alcohol-ethyl alcohol-water (4 : 3 : 3 by volume); (A) α -cyclodextrin, (B) β -cyclodextrin, (C) γ -cyclodextrin, (D) mixture of α -, β -, and γ -cyclodextrins.

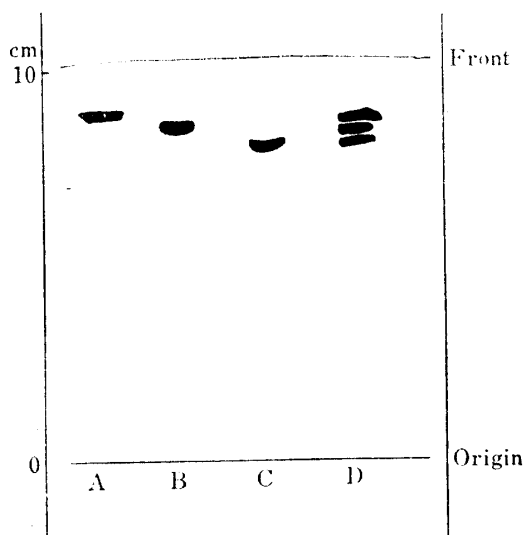


Fig. IV-12. Thin-layer Chromatogram of Cyclodextrins on kieselguhr G.

Solvent system, *n*-butyl alcohol-ethyl alcohol-water (4 : 3 : 2 by volume); (A) α -cyclodextrin, (B) β -cyclodextrin, (C) γ -cyclodextrin, (D) mixture of α -, β -, and γ -cyclodextrins.

で、従来のペーパークロマトグラフィーによる方法に比べてはるかにすぐれている。(I) の組合せを用いることにより、個々のデキストリンの純度を調べ、また (II) の組合せを用いて、*B. macerans* amylase による澱粉の消化で生成する各デキストリンを速かに検出することが出来る。

4-3 シクロデキストリンの立体配座解析⁸⁸⁾

本章の目的であるアミロース及びシクロデキストリンの複合体の X 線粉末図形の比較を行うためには、これらアミロース及びシクロデキストリンの構成糖であるグルコピラノース残基の立体配座は同一でなければならない。即ち、たとえ結晶内で、シクロデキストリン分子が円筒構造を取ってアミロースのラセン構造と類似したものになっても、構成糖の立体配座が異なれば、それら複合体結晶について得られる粉末図形は異なったものとなり、比較を行うことは出来ない。

シクロデキストリンの構成糖であるグルコピラノース残基の優位立体配座としては、Fig. IV-13 に示す C1, B1, 3B 配座が考えられている^{113, 114, 115, 116)}が、これらの配座のうち、 D_2O ^{117, 118)} 及び $DMSO-d_6$ ^{119, 120)} 中での NMR スペクトルの解析により C1 配座が推定された。しかしながら、この NMR による研究では、 C_1H_1 結合の配向と H_1H_2 の dihedral angle^{121, 122)} から求められるアノメリックプロトンの化学シフトとスピン結合定数 (spin-spin coupling constant, J 値) の

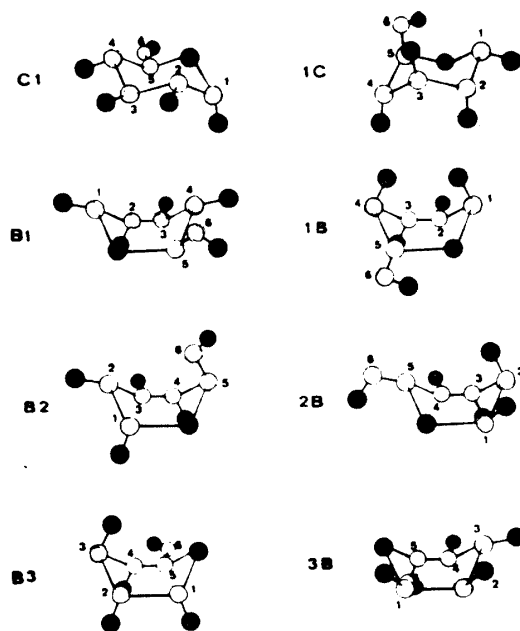


Fig. IV-13. The Eight Possible Strainless Conformations of the Glucopyranose Ring According to Reeve's Convention.¹¹²⁾ ● Oxygen, ○ Carbon, Hydrogens are not shown.

測定だけによるものであった。しかし、H-1 と H-2 が eq*-ax* の関係にあるのは C1 配座だけでなく、Fig. IV-13 に見られるように 1B, B2 配座も H-1 と H-2 は eq-ax の関係にあり、また、1C, B1, 2B, 3B 配座でも H-1 と H-2 とは ax-eq の関係にあるので、アノメリックプロトンの解析だけにより、直ちにシクロデキストリンの構成糖は C1 配座であるとは断定出来ない。

アミロースのような多糖類では、その NMR スペクトルは非常に複雑であり、アノメリックプロトンでさえ、その J 値を読み取ることは困難^{120, 123)}である。この場合には、構成ピラノース環の水酸基をメチルプロトンを持つ適当な基で置換し、そのメチルプロトンの化学シフトから、水酸基の配向を推定し、多糖分子中の構成糖の立体配座を解析する方法¹²³⁾が取られている。この方法はメチル化シクロデキストリン¹²⁴⁾について行われたが、メチルプロトン以外のすべての環プロトンの解析は困難であった。

一方アセチル化単糖ヘキシピラノース及びペントピラノース類^{125, 126)}の個々の環プロトンは、その NMR スペクトル上に、互いに良く分離して現れるので、その帰属は比較的容易である。アセチル化のような緩和

な条件では、ピラノース環の配座は変化しないと考えられるから、シクロデキストリンの水酸基をアセチル化すれば、単糖類の例から見ても、各ピラノース残基の環プロトンの帰属を行うことが期待出来る。

そこで、この実験では、完全にアセチル化したシクロデキストリンの立体配座をその NMR スペクトルから検討した。アセチル化は室温にて通常の pyridine-AC₂O による方法で行った。粗生成物を methanol から再結晶すると、 α -, β -及び γ -デキストリン、いずれの場合にも針状結晶が得られた。Silica gel G を担体とし、Benzene: MeOH=95:5 (V/V) を溶媒とした TLC (検出試薬, conc-H₂SO₄) で、各デキストリンアセテートの結晶は単一成分であることを確認した。又これらの IR スペクトルには水酸基に基づく吸収は存在しなかった。 α -, β -, 及び γ -デキストリンアセテートの比旋光度 $[\alpha]_D^{25}$ は、それぞれ +107.5°, +125.0°, +138.0° (C=1, CHCl₃) であった。NMR スペクトルは TMS を内部標準にして、100 Mc で測定した。測定温度及び試料濃度はそれぞれ 25°C, 10% である。

β -デキストリンアセテートの NMR スペクトルを Fig. IV-14 に示す。最も低磁場 (τ 4.69) の良く分離した 1 対の 2 重線は H-3 に帰属できる。そのカップリング定数 $J_{3,4}=9.5$ cps は、H-3 と H-4 とが trans-diaxial

* eq: equatorial, ax: axial

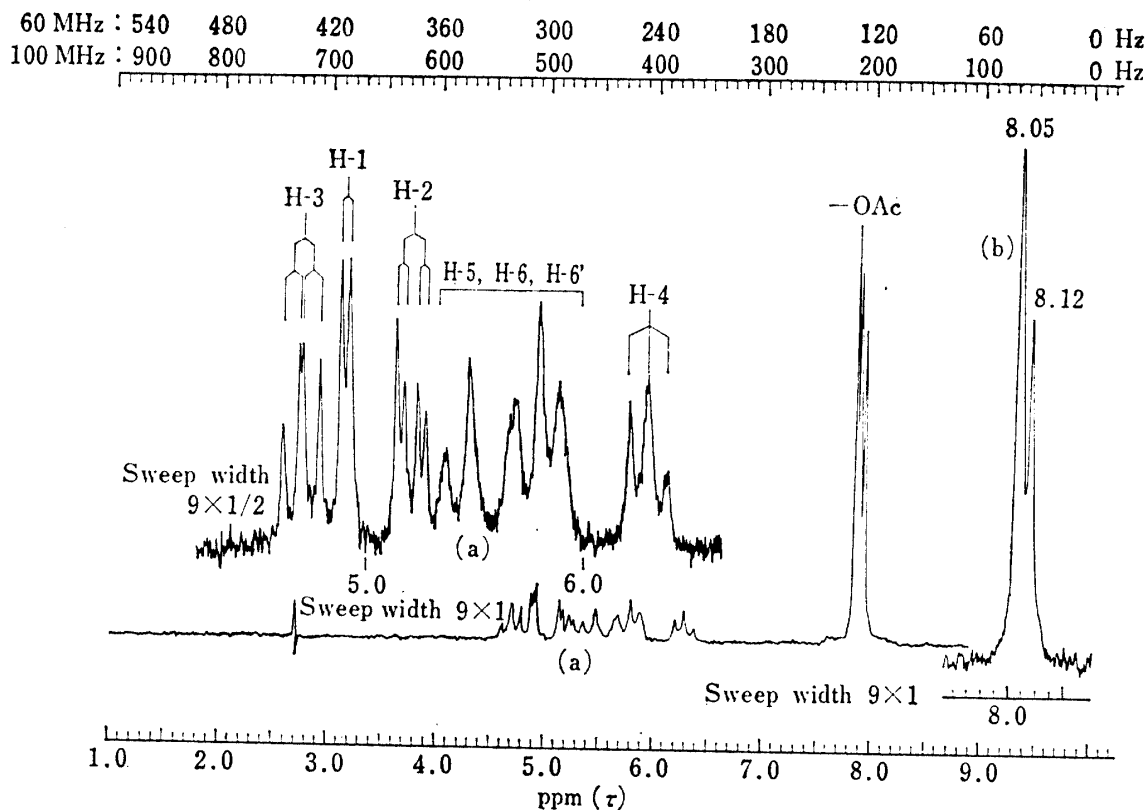


Fig. IV-14. NMR Spectrum of Peracetylated β -Cyclodextrin.
(a) at 100 Mc in CDCl₃.
(b) The acetoxyl group signals of peracetylated β -cyclodextrin at 100 Mc in benzene-d₆.

の配向を取ることを示している。H-3 のシグナルがこのような低磁場に現われるのは、H-3 が C-3 のアセチル基により、また H-3 に対して syn-diaxial の関係にある C-1 のグルコシド結合の酸素原子により強く非しゃへい化されるためと考えられる。この非しゃへい化の効果は、アノメリックプロトンを非しゃへい化するピラノース環の酸素原子と C-1 のグルコシド結合の酸素原子による効果よりも大きい。このようなグルコシド結合の酸素原子が、ax に配位したプロトンを非しゃへい化する効果は、既に methyl 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -*D*-glucopyranoside¹²⁶⁾ や methyl 4,6-*O*-benzylidene-2,3-*O*-acetyl- α -*D*-glucopyranoside,¹²⁷⁾ methyl 3-deoxy- β -*L*-erythro-pentopyranoside¹²⁸⁾ などの場合に見出されている。H-1 のシグナルは τ 4.90 に鋭い 2 重線として現われ、そのカップリング定数、 $J_{1,2}=3.0$ cps は H_1H_2 の dihedral angle は約 60° であることを示している。H-2 のシグナルは τ 5.19 に良く分離した 1 対の 2 重線として現われ、 $J_{1,2}=3.0$ cps は H-2 と H-1 とが ax-eq の関係にあり、また $J_{2,3}=9.5$ cps は H-2 が H-3 と eq-ax の関係にあることを示している。最も高磁場の τ 9.29 に現われる 3 重線は、C-4 の ax プロトンに帰属出来る。この H-4 は C-4 のグルコシド結合の酸素原子だけに非しゃへい化され、またそのシグナルは隣接した H-3, H-5 プロトンが H-4 に対して ax に配向していることを示す特有な 3 重線^{126), 127)} である。 $J_{4,5}=9.5$ cps は、H-4 と H-5 とが trans-diaxial の関係にあることを示している。H-1 と H-2, H-2 と H-3, H-3 と H-4 のそれぞれのシグナルには、互いに対称的なシグナルの傾斜¹²⁹⁾ が見られ、これはまた、上に述べた各プロトンの帰属の正しいことを示している。H-5, H-6, H-6' のシグナルは、各デキストリンアセテートで、それぞれ τ 5.30~5.90 の領域に複雑に現われる。

3 本のアセチル基のシグナルは、アセチル基が eq 配向を取る場合に予想される領域内^{123), 130)} に、同じ強度の 1 重線として現われる。また Fig. IV-14 に示すように benzene-*d*₆ 中で測定したアセテートのアセチル基のシグナルには、methyl 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -*D*-glucopyranoside^{126), 131)} の場合に見られるような溶媒効果による高磁場シフトとシグナルの重なりが認められる。このようにアセチル化シクロデキストリンのスペクトルの環プロトンのシグナルは、Table IV-10 のように first order で矛盾なく帰属出来る。以上の事実からアセチル化デキストリンの各ピラノース残基は C1 配座を取っていることは明らかであり、従ってシクロデキストリンの構成糖の優位立体配座として推定された B1, 3B 配座^{113), 114), 115), 116)} は否定される。またデキストリン中の各グルコピラノース残基は同一の配座を取らねばならない。もしデキストリン中のグルコピラノース残基の配座が同一でないとすると、化学的には等価であるが、磁氣的に不等価なプロトンの存在のために、そのスペクトルは Fig. IV-14 のように明瞭なものではなく、複雑になってしまう。尚最近 Casu ら¹³²⁾ によっても、 α -及び β -シクロデキストリンアセテートの NMR 解析が行われたが、この実験でのスペクトルの帰属は彼等の結果と完全に一致している。

一方、最近 Friebohn ら¹³³⁾ により、220Mc の分光器を用いたアミロースアセテートの NMR スペクトルの解析が行われた結果、構成糖のグルコピラノース残基の環プロトンの完全な帰属がなされ、ピラノース残基は C1 配座を取ることが明らかにされた。従ってアミロース及びシクロデキストリンは共にその構成グルコピラノース残基は C1 配座を取っていることになる。

シクロデキストリンアセテートとは別に、この実験では、 γ -デキストリンの NMR スペクトルを DMSO-

Table IV-10. Chemical Shifts^{a)} and First-order Coupling Constants^{b)} of Peracetylated Cyclodextrins

Compound	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5, H-6, H-6'	OAc ^{c)}		
Peracetylated α -cyclodextrin	4.92 d*	5.21 dd*	4.41 dd	6.19 t*	5.43~5.95	7.80s*	7.92s	7.93s
Peracetylated β -cyclodextrin	4.90 d	5.20 dd	4.69 dd	6.28 t	5.30~5.95	7.88s	7.90s	7.94s
Peracetylated γ -cyclodextrin	4.86 d	5.25 dd	4.64 dd	6.29 t	5.38~6.02	7.88s	7.90s	7.92s
	$J_{1,2}=3.0$	$J_{2,3}=9.5$	$J_{3,4}=9.5$	$J_{4,5}=9.5$				

a) Chemical shifts are on the τ scale.

b) Coupling constants are given in hertz.

c) Unassigned to each acetoxyl methyl protons.

* s; singlet, d; doublet, dd; double doublets, t; triplet.

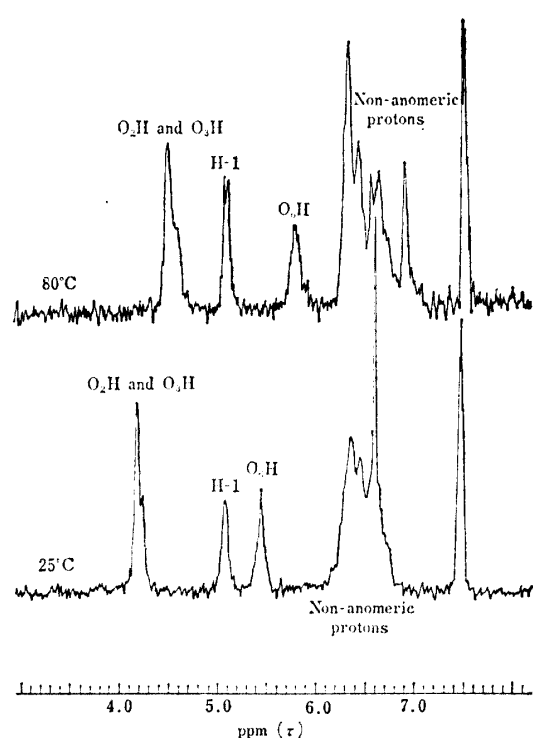


Fig. IV-15. Temperature Dependence of γ -Cyclodextrin Proton Resonances in DMSO-d_6 at 100 Mc.

d_6 中で 25°C , 80°C で測定した。その結果を Fig. IV-15 に示す。 α -及び β -デキストリンについては、その NMR スペクトルは Casu ら¹²⁴⁾ により測定されているが、その結果を参考にして、水酸基シグナルの帰属を行うと Fig. IV-15 のようになる。一般に DMSO を測定溶媒に用いると、水酸基と溶媒との強い水素結合のために、プロトン交換速度が減少し、水酸基プロトンのカップリングが観測出来て¹³⁴⁾、第1級アルコールは3重線を、第2級アルコールは2重線を与えるのが普通であるが、 γ -デキストリンでは、このような明瞭な分離は見られない。しかし γ -デキストリンの水酸基シグナルは、 α -及び β -デキストリンのそれに比べて低磁場に現われている。水酸基の化学シフトは分子間水素結合の状態で異なり、水素結合の強さが大きくなる程低磁場へシフトするから、 γ -デキストリンの場合には、非常に強い水素結合が生じていることがわかる。Casu ら¹²⁴⁾ も β -デキストリンの水素結合は α -デキストリンのそれに比べて強いことを認めており、 α -, β -, γ -デキストリンの順に環の大きさの大きい程、その水素結合が強くなっていることは興味深い。各水酸基の化学シフトは、測定温度が 25°C から 80°C に上昇すると高磁場シフトしており、これは温度上昇により水素結合が減少したためと考えられる。一方 H-1 のシグナルは温度上昇によっても、ほとんど同一磁場

に現われ、 80°C で測定したスペクトルでは、H-1 のシグナルはカップリングを示しており、この $J_{1,2}=3.0$ cps から H-1 と H-2 は eq-ax の配向であることがわかる。この J 値の大きさは構成グルコピラノース残基の立体配座が C1 である時に予想される大きさ¹²³⁾ である。

5. α -及び β -シクロデキストリン複合体の

X線回折^{34, 36)}

I 及び本章の序で述べた高分子結晶のオリゴマー類似が、アミロース及びシクロデキストリンの複合体結晶の間に成立するか否かを調べるため、 α -及び β -シクロデキストリンと種々の有機化合物の複合体を水溶液中から調製し、本章の2及び3で検討したアミロースの複合体結晶との比較を行った。またデキストリン分子の複合体結晶中での配列状態についても考察した。

5-1 実験方法

1) 試薬及びシクロデキストリン

試薬は市販特級品を使用し、 α -デキストリンは4-1で得たものを60%-(V/V)- n -propanol 水溶液から3回再結晶し、得られる n -propanol 複合体を交換水とにかし、ロータリーエバポレーターで減圧下、 70°C で濃縮した。ついで交換水から3回再結晶して、減圧下、 80°C , P_2O_5 上で乾燥した。 β -デキストリンは4-1で得たものを交換水から3回再結晶し、 α -デキストリンと同様に乾燥した。

2) シクロデキストリン複合体の調製

デキストリンを交換水に溶解し、 α -デキストリンでは10%溶液、 β -デキストリンでは1%溶液とした。これに Table IV-11 に示す複合体試薬をそれぞれ過剰に加え、マグネチックスターラーで室温で1時間攪拌し、ついで1夜放置した。生成した複合体沈澱を吸引濾過し、減圧で P_2O_5 上、 100°C で一定重量になるまで乾燥した。 α -デキストリンと methanol, ethanol, n -propanol との複合体は次のように調製した。 α -デキストリン 1g を交換水 20ml に溶解し 90°C に加熱して、これに各アルコール 25ml を加え、結晶が直ちに析出しないように注意して徐々に冷却し、室温に2, 3日間放置した。得られた沈澱を上と同様に乾燥した。 β -デキストリンの n -propanol 複合体は、 α -デキストリンの場合と同様に、デキストリン 0.5g, 交換水 50ml, n -propanol 75ml から調製した。 β -デキストリン anthracene 複合体は、1%デキストリン溶液を anthracene を飽和した ether 溶液と振とうし、室温に放置し、得られる沈澱を同様に乾燥した。

3) X線回折

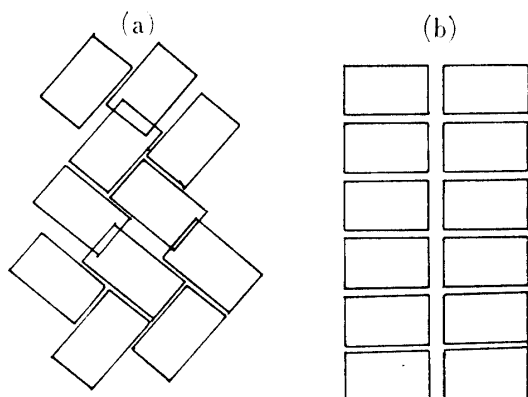


Fig. IV-16. Schematic Drawing of the Alignments of Cyclodextrin Molecules in the Crystal-line Complex. (a) Non-coaxial alignment of cyclodextrin molecules (cage structure). (b) Coaxial alignment of cyclodextrin molecules (channel structure).

X線粉末図形は IV, 2.1 と同一条件で記録した。

5-2 α -シクロデキスリン複合体のX線回折^{34, 36)}

α -シクロデキスリン複合体の結晶構造については James ら⁸⁵⁾ 及び Cramer ら⁸⁴⁾ により, 2, 3の複合体についてX線的研究が行われたにすぎない。James ら⁸⁵⁾はmethanol, ethanol, *n*-propanolのような低級アルコールの α -デキストリン複合体は, I_5 の存在しないヨウ素複合体や水和した α -デキストリン結晶と同一構造であり, 結晶内では, デキストリン分子は Fig. IV-16-(b)のように同軸状に配列した円筒構造でなく, Fig. IV-16-(a)のように非同軸状に配列したカゴ型構造を取っているとした。このカゴ型構造では, 高級アルコールを包接することは不可能である。一方 Cramer⁸⁴⁾は *n*-hexanol, *n*-octanol, *n*-dodecanol の複合体はいずれも α -デキストリン結晶と同一構造であり, $a=14.97$, $b=33.1$, $c=9.5\text{\AA}$ の単位胞を有する斜方晶系

であるとしたが, デキストリン分子の配列状態にはふれておらず, 実験データの記載もない。Cramer⁸⁴⁾によって報告された単位胞は, James ら⁸⁵⁾によってデキストリン分子はカゴ型構造を取るとされた, 水和したデキストリン結晶の単位胞, $a=14.78$, $b=33.96$, $c=9.51\text{\AA}$ とは少し異なっている。これらの単位胞に見られる相違は, 結晶の水和の程度に基づくものか, あるいは Cramer の用いた高級アルコール複合体が James らの主張するカゴ型構造とは異なる円筒構造を取るために生じるものであるかは明らかでない。

一般には⁵¹⁾包接されるゲスト分子が低級アルコール

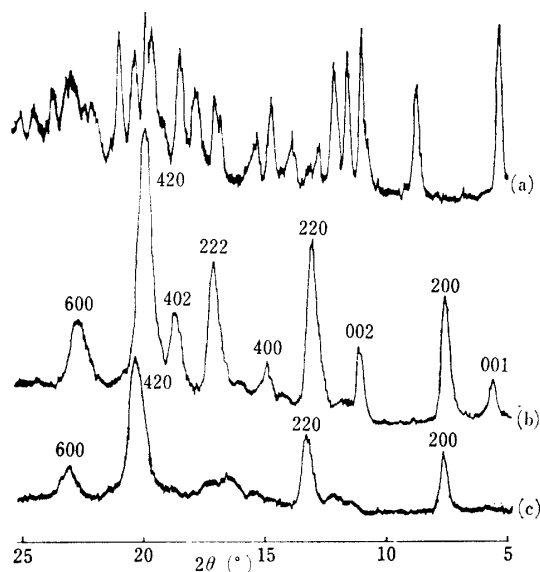


Fig. IV-17. X-Ray Diffraction Diagrams of α -Cyclodextrin-Cyclohexane Complex in Various Drying States. (a) Hydrated α -Cyclodextrin-cyclohexane complex. (b) α -Cyclodextrin-cyclohexane complex dried in the air. (c) α -Cyclodextrin-cyclohexane complex dried *in vacuo*.

Table IV-11. Organic Guest Molecules which Complex with α -Cyclodextrin for X-Ray Diffraction Measurement.

cyclohexane	methanol	carbontetrachloride
methylcyclohexane	ethanol	chloroform
benzene	<i>n</i> -propanol	1,1,2,2-tetrachloroethane
toluene	<i>n</i> -butanol	1,1,2,2-tetrachloroethylene
<i>p</i> -xylene	<i>n</i> -amyl alcohol	1,1,2-trichloroethylene
fluorobenzene	<i>n</i> -hexanol	<i>n</i> -caproic acid
bromobenzene	<i>n</i> -heptanol	salicylic acid
chlorobenzene	<i>n</i> -octanol	aniline
cumene	<i>n</i> -dodecanol	<i>o</i> -chlorophenol
thymol	cyclohexanol	cinnamaldehyde
cyclohexanone		

の場合には、カゴ型構造を取り、高級アルコールの場合には、円筒構造を取ると考えられているが、これに対する明確な証明は未だ得られていない。

ここでは Table IV-11 に示すような多くの有機化合物との複合体を調製し、その粉末図形を記録、解析したが、これらデキストリン複合体では、結晶が水和した状態にあると非常に多くの回折線が現れる結果、この粉末図形のみからの指数配当は不可能である。たとえば、 α -デキストリン-cyclohexane 複合体を例にとると、Fig. IV-17-(a) のように、高度に水和した状態にあると多くの回折線が現われ、簡単には指数配当出来ない。ところが、これを乾燥すると、その粉末図形は Fig. IV-17-(b), (c) と変化し、この (b) 及び (c) では、Table IV-12 に示すように六方晶系としての指数配当が可能である。それ故この実験では、すべての複合体の粉末図形は結晶構造に及ぼす水和の影響を除去するために、乾燥状態で記録した。従ってこのような水分子の存在しない状態では、複合体の結晶構造に及ぼすゲスト分子の直接的な影響を知ることが可能となる。

Table IV-11 のような種々の化合物との複合体の粉末図形を乾燥状態でとったところ、いくつかの異なった図形が得られた。ところが、すべての複合体の粉末図形をその回折線の位置と強度について比較してみる

Table IV-12. Diffraction Data for α -Cyclodextrin-Cyclohexane Complex.

hkl ^{a)}	d (Å)	
	Obs.	Calcd.
200	11.63	11.70
220	6.75	6.75
420	4.40	4.43
600	3.90	3.91

a) Hexagonal indices.

と、これらの中には、ゲスト分子の種類には関係なく同一の粉末図形を与えるものがあるが、これらをいくつかのグループに分類出来た。そこで同一の粉末図形を与えるものを、その複合体のゲスト分子について分類してみると Table IV-13 のようになる。Fig. IV-18 には Table IV-13 における各々のグループの代表的な粉末図形を示す。たとえば I のグループの cyclohexanol 及び cyclohexane 複合体では、Fig. IV-19 のように、その粉末図形は同一である。また II のグループの fluorobenzene, *o*-chlorophenol, benzene, toluene などの複合体の粉末図形は Fig. IV-20 のように互いに良く一致している。このように各グループ分子が異なっても、その得られる粉末図形はいずれも同一のものであらわされる。従ってここで検討された複合体は

Table IV-13. Classification for the X-Ray Diffraction Patterns of the Complexes of α -Cyclodextrin with Organic Guest Molecules.

Group of Diffraction Diagrams ^{a)}	Organic Guest Molecules	Dimensions of Hexagonal Unit Cell	
		a, b (Å),	c (Å)
I	cyclohexanol, cyclohexanone	27.2	—
II	fluorobenzene, bromobenzene chlorobenzene, benzene, toluene <i>o</i> -chlorophenol, thymol, aniline methylcyclohexane	27.2	16.1
III	carbontetrachloride, chloroform 1,1,2,2-tetrachloroethane 1,1,2,2-tetrachloroethylene 1,1,2-trichloroethylene	27.2	16.1
IV	<i>n</i> -caproic acid, <i>n</i> -butanol <i>n</i> -amyl alcohol, <i>n</i> -dodecanol	27.6	16.1
V	<i>n</i> -octanol, <i>n</i> -heptanol	27.6	15.5
VI	methanol, ethanol, <i>n</i> -propanol	27.8	16.7
VII	salicylic acid	27.8	14.7
VIII	<i>n</i> -hexanol	27.2	14.7
IX	cinnamaldehyde, cumene	27.0	—
X	<i>p</i> -xylene	27.0	—
XI	cyclohexane	27.0	—

a) Number of the diffraction patterns corresponds to those of the diffraction diagrams illustrated in Fig. IV-18.

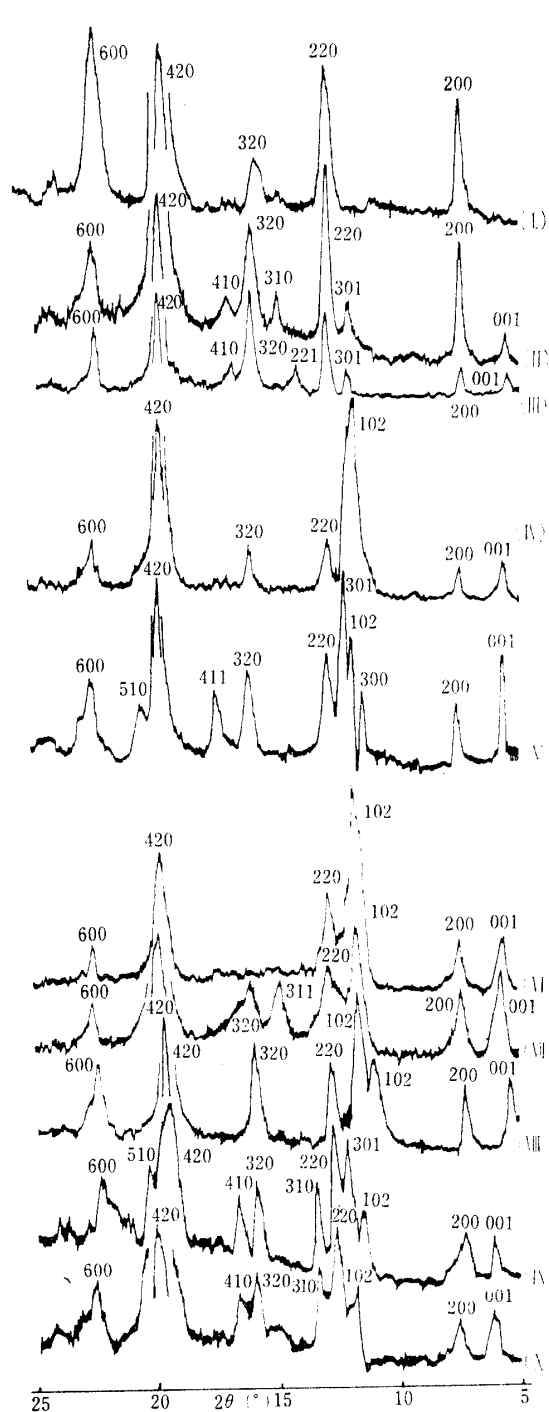


Fig. IV-18. X-Ray Diffraction Diagrams of α -Cyclodextrin Complexes.

(I) α -Cyclodextrin-cyclohexanol complex. (II) α -Cyclodextrin-fluorobenzene complex. (III) α -Cyclodextrin-carbon tetrachloride complex. (IV) α -Cyclodextrin-*n*-caproic acid complex. (V) α -Cyclodextrin-*n*-octanol complex. (VI) α -Cyclodextrin-*n*-propanol complex. (VII) α -Cyclodextrin-salicylic acid complex. (VIII) α -Cyclodextrin-*n*-hexanol complex. (IX) α -Cyclodextrin-cinnamaldehyde complex. (X) α -Cyclodextrin-*p*-xylene complex.

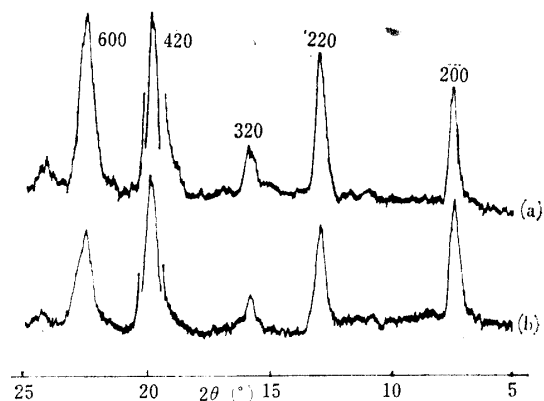


Fig. IV-19. X-Ray Diffraction Diagrams of α -Cyclodextrin Complexes.

(a) α -Cyclodextrin-cyclohexanol complex.

(b) α -Cyclodextrin-cyclohexanone complex.

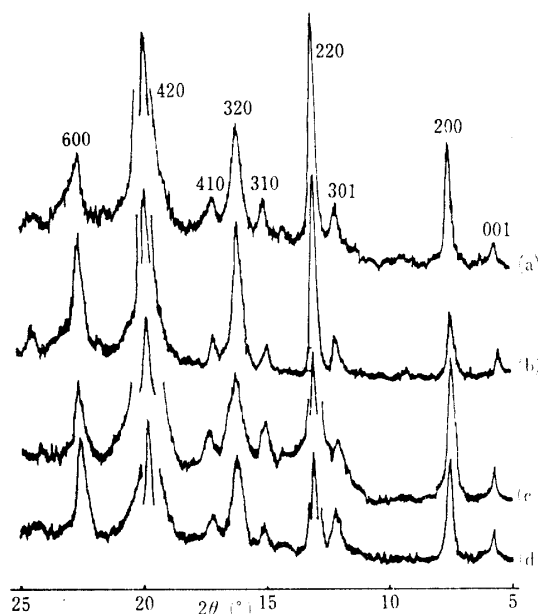


Fig. IV-20. X-Ray Diffraction Diagrams of α -Cyclodextrin Complexes Dried *in vacuo*.

(a) α -Cyclodextrin-fluorobenzene complex.

(b) α -Cyclodextrin-*o*-chlorophenol complex.

(c) α -Cyclodextrin-benzene complex.

(d) α -Cyclodextrin-toluene complex.

すべて Fig. IV-18 の I~X 及び Fig. IV-17(c) のいずれか 1 つの粉末図形を与えることになる。

Table IV-13 から明らかなように、III のグループの脂肪族ハロゲン化炭化水素と VI のグループの低級直鎖アルコールがそれぞれ同一の粉末図形を与えるということ以外にゲスト分子の種類による一定の傾向はほとんど見出すことは出来ない。但し、低級直鎖アルコールは Fig. IV-18 (VI) とは異なるもう 1 つの粉末図形を生じることがあるが、これについては後述する。Fig. IV-18 から明らかなように、I~V のグループの粉末図形に出現する主な回折線及びその位置はほ

Table IV-14. Diffraction Data for the Complexes of α -Cyclodextrin with Organic Guest Molecules Showing the Diffraction Patterns of I~V Groups in Fig. IV-18.

hkl ^{a)}	Diffraction ^{b)} patterns	d (Å)					Calcd.
		Obs.					
		I	II	III	IV	V	
001			16.07	16.07	16.07	16.07	16.07
200		11.79	11.79	11.79	11.75	11.79	11.79
300						7.89	7.89
102					7.56	7.58	7.62
301			7.17	7.11		7.09	7.09
220		6.81	6.81	6.81	6.81	6.81	6.81
221				6.28			6.27
311			5.91				5.83
320		5.47	5.44	5.47	5.43	5.50	5.42
410			5.16	5.16			5.16
411						5.06	4.98
420		4.48	4.46	4.46	4.46	4.49	4.47
510				4.31		4.31	4.24
600		3.93	3.95	3.93	3.93	3.95	3.94

a) Hexagonal indices.

b) Number of the diffraction patterns corresponds to those of the diffraction diagrams of I~V groups in Fig. IV-18.

とんど同一であり、一部の限られた回折線だけが、それぞれの粉末図形に出現あるいは消失している。これらの粉末図形は、デキストリン分子の同軸状積重なりにより生じる円筒が最密充填した六方晶系を仮定するとその指数配当が可能となる。Fig. IV-18 の (200) と (001) の回折線の d -spacings から単位胞の a 及び c 軸を決定すると残りの回折線は矛盾なく指数配当出来る。各回折線に対する指数は Fig. IV-18 の I~V の粉末図形上に記す。Table IV-14 に示すように $a=b=27.2$, $c=16.1$ Å の六方晶系による各回折線の d -spacings の計算値は、その測定値と良く一致してい

る。但し I のグループの粉末図形は (001) の回折線の消失のために決定出来ない。同様に Fig. IV-18 の VI~X のグループの複合体の粉末図形は、I~V のグループについて得た六方晶系の単位胞の a 及び c 軸を、わずかに変化させることにより指数配当出来る。VI~X の粉末図形から得られる回折データをそれぞれ Table IV-15~IV-19 に示す。この場合にも、それぞれの粉末図形の各回折線の d -spacings の計算値と測定値には良い一致が見られる。また各回折線の指数を Fig. IV-18 のそれぞれの図形上に記す。以上の事実は、直鎖低級アルコールの場合を例外として、すべて

Table IV-15. Diffraction Data for the Complexes of α -Cyclodextrin with Methanol, Ethanol and n -propanol.

hkl ^{a)}	d (Å)	
	Obs.	Calcd.
001	16.07	16.07
200	11.95	11.95
102	7.63	7.63
220	6.92	6.92
420	4.51	4.53
600	3.99	3.99

a) Hexagonal indices.

Table IV-16. Diffraction Data for α -cyclodextrin-Salicylic acid Complex.

hkl ^{a)}	d (Å)	
	Obs.	Calcd.
001	15.50	15.50
200	11.95	11.95
102	7.69	7.59
220	6.92	6.92
311	5.94	5.90
320	5.50	5.47
420	4.50	4.52
600	3.97	3.99

a) Hexagonal indices.

Table IV-17. Diffraction Data for α -Cyclodextrin-*n*-Hexanol Complex.

hkl ^{a)}	d (Å)	
	Obs.	Calcd.
001	16.67	16.67
200	12.28	12.28
300	8.04	8.04
102	7.68	7.77
220	6.97	6.97
320	5.61	5.54
420	4.53	4.56
600	3.99	4.02

a) Hexagonal indices.

Table IV-18. Diffraction Data for the Complexes of α -Cyclodextrin with cinnamaldehyde and Cumene.

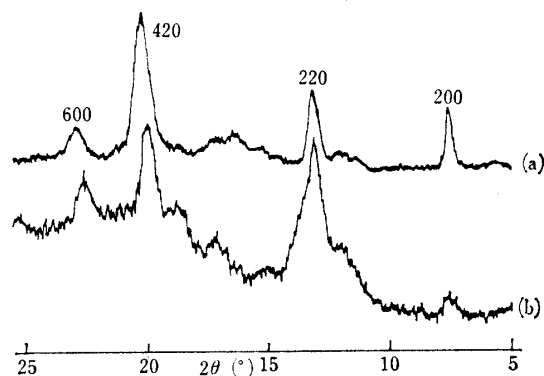
hkl ^{a)}	d (Å)	
	Obs.	Calcd.
001	14.73	14.73
200	12.21	12.28
102	7.49	4.40
301	7.25	7.20
220	6.97	6.97
310	6.60	6.57
320	5.60	5.54
410	5.30	5.25
420	4.55	4.56
510	4.35	4.32
600	3.98	4.02

a) Hexagonal indices.

Table IV-19. Diffraction Data for α -Cyclodextrin-*p*-Xylene complex.

hkl ^{a)}	d (Å)	
	Obs.	Calcd.
001	14.73	14.73
200	11.79	11.79
102	7.49	7.40
301	7.08	7.09
220	6.81	6.81
310	6.56	6.55
320	5.50	5.42
410	5.16	5.18
420	4.44	4.47
600	3.94	3.94

a) Hexagonal indices.

Fig. IV-21. X-Ray Diffraction Diagrams of α -Cyclodextrin-Cyclohexane Complex and Hydrated *n*-Butanol-Amylose Complex. (a) α -Cyclodextrin-cyclohexane complex dried *in vacuo*. (b) Hydrated *n*-butanol-amylose complex, obtained by placing dried *n*-butanol complex in RH=100% for 30 min.

の α -デキストリン複合体は同様な結晶構造を取ることを示しており、その結晶構造は $a=27.0\sim 27.8$, $c=14.7\sim 16.7\text{Å}$ のわずかな単位胞の相違を有する六方晶系で説明出来る。今 Fig. IV-17.(c) の cyclohexane 複合体の粉末図形を Fig. IV-21 のように 6₁-helix amylose の水和した *n*-butanol 複合体の粉末図形と比較すると、これらの図形は非常に良く類似している。この cyclohexane 複合体では、デキストリン分子の同軸状積重ねにより生じる円筒が六方晶系に最密充填したものとして良く説明出来たが、一方 IV, 2 で述べたように、アミロースの *n*-butanol 複合体の結晶構造は、そのラセン円筒の最密充填した六方晶系であった。これらの事実から、 α -デキストリン複合体と 6₁-helix amylose の結晶構造は類似したものであると結論出来る。事実 α -デキストリン-cyclohexane 複合体の円筒直径は 13.5Å で、水和 6₁-helix amylose のそれは 13.7Å で、ほとんど同一である。また、この事実は α -デキストリン分子は内筒構造を取ることを示している。Fig. IV-18 及び Table IV-14~19 の回折データには、回折線の規則的な消失は見られないが、(200), (220), (420) の回折線は、すべての複合体の粉末図形上に必ず出現している。一方 IV, 2 で明らかにされたように 6₁-helix amylose の場合にも (200), (220), (420) の回折線は存在しており、 α -デキストリン複合体及び 6₁-helix amylose の結晶の基本的骨格構造はほとんど同じであることが示される。従って α -デキストリン複合体では、包接されたゲスト分子は、その結晶構造に著しい影響を与えないと言えよう。

デキストリン複合体の粉末図形上のある種の回折線の出現あるいは消失と、複合体結晶の単位胞のわずかな

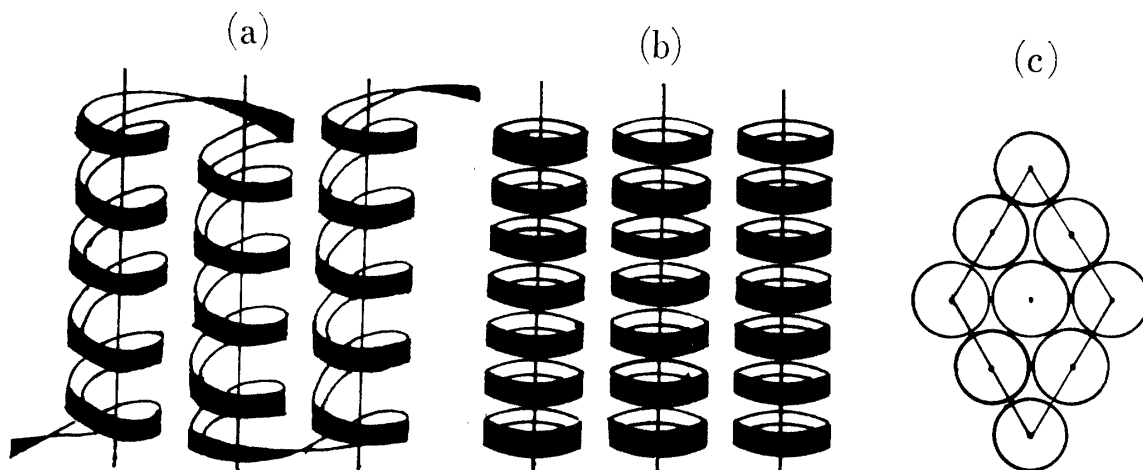


Fig. IV-22. Schematic Representations of Similarity of Crystal Structures between Amylose Helix and Cyclodextrin Complex.

- (a) Holding structure of amylose helices.
 (b) Stacking alignments of cyclodextrin molecules.
 (c) Projection of amylose helix and cyclodextrin cylinders onto (001) plane of the hexagonal unit cell.
 The guest molecules enclosed are omitted.

な相違は、ゲスト分子に対する α -デキストリンの有効空洞直径が小さいために、デキストリンの空洞内に包接されたゲスト分子が、デキストリン分子の環状構造に影響を与えたために生じたものと考えられる。事実 IV, 6 で述べるように、空洞直径のより大きな γ -デキストリンの複合体では、このようなゲスト分子の影響は全く現われない。

ここに目的とした高分子結晶のオリゴマー類似が、6₁-helix amylose とそのオリゴマーである α -デキストリンの複合体の結晶の間に見られ、これにより 6₁-helix amylose のラセン構造、 α -デキストリン複合体結晶の構造及び α -デキストリン分子の複合体結晶内での配列状態が、一挙に同時に解決されたことになる。このオリゴマー類似について考えてみると、6₁-helix amylose の代表的な *n*-butanol 複合体の単結晶の場合には、60~100Å 程度の厚さを持った層板状単結晶の平板面にアミロースのラセン分子鎖が垂直に入り折りたたまれて^{14, 15, 30)} いることが確認されている。そこで今このアミロースラセンの折りたたみ構造を層板面の側方から見たものとして、模式的に示すと Fig. IV-22-(a) のようになる。アミロースのラセン一周期は両端のごくわずかのずれを除けばシクロデキストリンの1分子とほとんど同じで、しかもそれらの立体配座は同一であるから、デキストリン分子が Fig. IV-22-(b) のように、同軸状に配列して円筒を形成すると、この円筒はアミロースの円筒と類似したものとなる。しかもこのデキストリン及びアミロースラセンの円筒は、Fig. IV-22-(c) のように、最密充填構造の六方晶系を

取る。但し結晶の厚さは、アミロースでは 100Å 程度にとどまるのに対して、デキストリンでは、この制限がなく、その結晶は光学顕微鏡で観察される程度にまでなる。この現象はまた polyethylene と *n*-paraffine との関係²²⁾に良く似ている。そのために結晶内での分子配列が同様になり、それら X 線粉末図形も当然類似することになり、この実験における 6₁-helix amylose と α -デキストリン複合体の粉末図形の類似を良く説明出来る。

尚、ここで、水と自由に混合しうる低級アルコール (methanol, ethanol, *n*-propanol) の α -デキストリン複合体の X 線回折の結果を James ら⁸⁵⁾の結果と比較してみる。既に述べたように、James らはこれらの低級アルコールの α -デキストリン複合体について、デキストリン分子のカゴ型構造を推定した。一方この実験では、これら低級アルコール複合体について、Fig. IV-18-(VI) と Fig. IV-23 のような 2 種類の異なった粉末図形が得られる。Fig. IV-18-(VI) は六方晶系、即

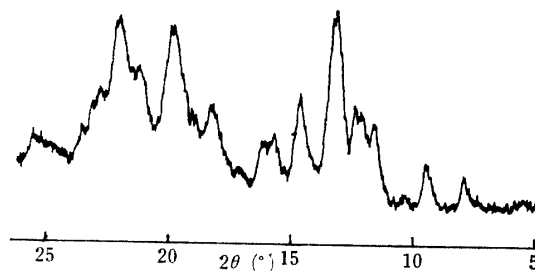


Fig. IV-23. X-Ray Diffraction Diagram of α -Cyclodextrin-*n*-Propanol Complex Dried *in vacuo*.

ち円筒の最密充填構造により説明出来たが、Fig. IV-23は明らかにこれとは異なり、この粉末図形は対称性が悪いために解析出来ない。現在のところ、これら2つの粉末図形を示す両方の結晶を任意に調製する条件は見出してない。Ulmann ら^{135, 136}は古く α -デキストリン及びその ethanol 複合体は、結晶を調製する条件、即ち結晶化の温度や速度、溶媒組成などにより数種の特有な粉末図形を示す変態 (modification) の存在することを認めている。(但し、彼らはこれら結晶構造の解析を行っていない)。これと同様に、この実験における低級アルコール複合体が結晶調製の条件により異なった図形を示すことは十分に考えられる。従って円筒構造からなる低級アルコールの複合体の結晶も、このような一種の変態を示すであろう。水とは自由に混合しない *n*-butanol 以上 *n*-dodecanol に至る直鎖脂肪アルコール複合体では、 α -デキストリン分子が円筒構造を取った六方晶系で説明出来る。一方Cramer⁸⁴⁾は高級アルコール複合体を斜方晶系により説明した。これらの結晶系の相違は、測定に用いた複体の水和の程度の違いにより生じるものであろう。複合体結晶が水和した状態から完全な乾燥状態へ、乾燥によりその結晶系に変化が生じたとしても、単なる水分子の除去によって、カゴ型から円筒構造への、デキストリン分子の配列状態を変えるような結晶の基本的骨格構造の変化は起り得ないから、Cramer⁸⁴⁾の用いた複合体結晶も円筒構造と考えられる。また James⁸⁵⁾及び Cramer⁸⁴⁾によって、それぞれ低級及び高級アルコール複合体について報告された単位胞の大体の一致を見ても、低級アルコール複合体も円筒構造を取ると考えるのが妥当であろう。Table IV-13に見られるような種々の化合物がゲスト分子に用いられても、多くの場合に、その複合体はいくつかの同一結晶構造を示すグループに属したが、このことはシクロデキストリンとゲスト分子の複合体形成には特定の強い相互作用のないことを示唆している。

5-3 β -シクロデキストリン複合体のX線回折⁸⁴⁾

β -シクロデキストリン複合体結晶も β -デキストリンの場合と同様に、水和状態では複雑な粉末図形を示した。たとえば、*n*-propanol 複合体は水和状態で Fig. IV-24-(a) のような粉末図形を示し、この図形だけから、その結晶構造を解析することは困難である。一方乾燥状態では α -デキストリン複合体の場合と同様に、その粉末図形は比較的簡単なものになる。そこでこの実験でも、乾燥状態で粉末図形を記録した。ゲスト分子としては、cyclohexane, *n*-octanol, *n*-propanol, *p*-nitrophenol, anthracene を用い、その複合体を調製し

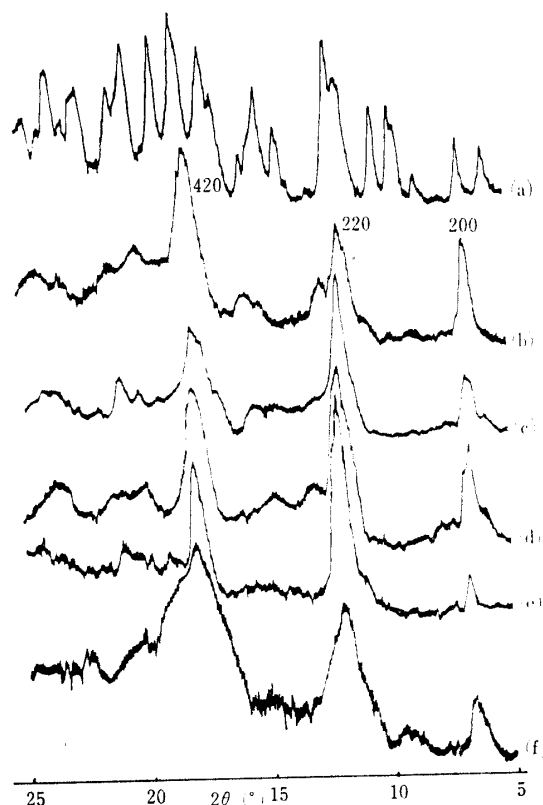


Fig. IV-24. X-Ray Diffraction Diagrams of β -Cyclodextrin Complexes.

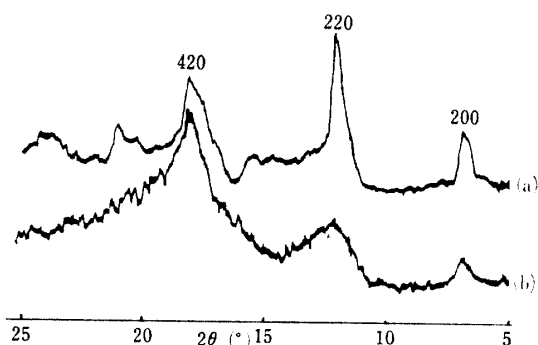
(a) β -Cyclodextrin-*n*-propanol complex dried in the air. (b) β -Cyclodextrin-cyclohexane complex dried *in vacuo*. (c) β -Cyclodextrin-*n*-propanol complex dried *in vacuo*. (d) β -Cyclodextrin-*n*-octanol complex dried *in vacuo*. (e) β -Cyclodextrin-*p*-nitrophenol complex dried *in vacuo*. (f) β -Cyclodextrin-anthracene complex dried *in vacuo*.

た。これらの粉末図形を Fig. IV-24 に示す。これらは互いに良く類似しており、いずれも主として3本の強い回折線が現われ、結晶構造に及ぼすゲスト分子の影響は、 α -デキストリン複合体に比べて少ないことが示される。これは β -デキストリン分子の空洞直径が α -デキストリン分子に比較して幾分大きいためと考えられる。これらは典型的な六方晶系を示し、たとえば、*n*-propanol 複合体の粉末図形について $a=b=29.6\text{\AA}$ の六方晶系を仮定すると、各回折線の *d*-spacings の計算値及び測定値は Table IV-20 のように良い一致が見られる。従ってこの場合にも、 α -デキストリン複合体と同様に、 β -デキストリン分子は同軸状に配列して円筒を形成し、更にこれらの円筒が最密充填構造を取っていることになる。*n*-propanol 複合体について計算されるデキストリン円筒の直径は 14.7\AA であり、 7_1 -helix amylose のラセン直径に一致する。又この *n*-propanol 複合体の粉末図形は Fig. IV-25 に示す *t*-

Table IV-20. Diffraction Data for Dried β -Cyclodextrin-*n*-Propanol Complex.

hkl ^{a)}	d (Å)	
	Calcd.	Obs.
200	12.80	12.81
220	7.41	7.37
420	4.85	4.85

a) Hexagonal indices.

Fig. IV-25. X-Ray Diffraction Diagrams of β -Cyclodextrin-*n*-Propanol Complex and Dried *t*-Butanol-Amylose Complex.(a) β -Cyclodextrin-*n*-propanol complex dried in vacuo. (b) *t*-Butanol-amylose complex dried in vacuo.

butanol 複合体のそれと良く類似していて、両図形には、いずれも (200), (220), (420) の回折線が主として強く出現し、これらの結晶構造は等しいことを示している。従ってこの場合にも 7₁-helix amylose と β -デキストリン複合体結晶の間に、オリゴマー類似が見られることが明らかになった。ここに初めて、Zaslow²¹⁾により推定され、いくつかの研究グループ^{7, 15, 100, 137)}によって論議された 7₁-helix amylose の存在とその構造とが、最も明確に証明された。

Cramer⁸⁴⁾ は β -デキストリンの *h*-hexanol, *n*-octanol 及び *n*-dodecanol 複合体は同一結晶構造を有し、いずれも $a=14.85$, $b=10.01$, $c=20.40\text{Å}$, $\beta=70^\circ$ の単斜晶系であるとしたが、ここでは *n*-octanol 複合体は $a=b=29.6\text{Å}$ の六方晶系で説明されるので、Cramer の用いた複合体結晶はおそらく水和したもので、乾燥により単斜晶系から六方晶系へ、結晶系に変化が生じたものと思われる。

尚従来 anthracene は分子の形状が大きすぎるために、 β -デキストリンには包接されず、 γ -デキストリンとのみ複合体を作るので、 γ -デキストリンの選択的沈澱剤として用いられてきたが、ここでは、anthracene も、また β -デキストリンと複合体を形成して沈澱し、Fig. IV-24-(f) に見られるような粉末図形を与えるこ

とが明らかになった。

6. γ -シクロデキストリン複合体のX線回折³⁵⁾

本章の 2, 3 及び 5 で、高分子のオリゴマー類似の観点から、アミロース及びシクロデキストリン複合体と種々の有機化合物との複合体の結晶構造の関係が、それらの X 線粉末図形の比較により明確にされ、すべてのアミロース複合体は乾燥状態においては、ラセン内部に包接された複合体試薬分子の性質によって、6₁-及び 7₁-helix の 2 種類のラセン構造で存在することが示された。また 6₁-及び 7₁-helix 間には相互のラセン構造の変換の起こることが見出された。このようにアミロースのラセン構造は容易に変化するという事実から、もう一つのラセン構造の可能性、即ち 7₁-helix amylose に比べて、そのラセン直径がより大きなラセン 1 巻が 8 個のグルコース残基からなる 8₁-helix amylose の存在が考えられる。また 8 個のグルコース残基からなる環状の γ -シクロデキストリンが、 α -及び β -シクロデキストリンと共に、*B. macerans* amylase による澱粉消化液中に存在することは良く知られている。このシクロデキストリンの生成では、酵素がトランスグルコシレーションによって澱粉の直鎖分子の閉環反応を行ってシクロデキストリンを生成する前に、澱粉の分子鎖は溶液中であらかじめゆるいラセン構造を取って存在⁸⁰⁾しているものと思われる。即ち澱粉の直鎖分子鎖は、6₁-及び 7₁-helix のラセン構造としては勿論のこと、8₁-helix としても酵素の作用を受ける前に水溶液中に存在するであろう。しかしながら現在のところ、8₁-helix amylose の結晶構造についてはほとんど知られていない。Senti ら⁵¹⁾は湿ったアミロースの *t*-butanol 複合体の繊維図形の X 線回折により、この図形は単斜晶系で説明され、そのラセン 1 周期は 8 個のグルコース残基で出来ていることを推定したが、実験データは全く示されていない。Bumb ら⁵³⁾も 8₁-helix amylose の存在の可能性を示唆したもも、実験的証明は全くなされていない。

IV, 5 で述べたように、 α -及び β -シクロデキストリン複合体の X 線回折から、それぞれ 6₁-及び 7₁-helix amylose の結晶構造に関する知見が得られた。一方、 γ -デキストリンの環の直径は 8₁-helix amylose のラセン直径にはほぼ等しいと考えられるので、 γ -デキストリン複合体と 8₁-helix amylose の X 線回折データの比較を行うことによって、8₁-helix amylose のラセン構造についての知見が得られると考えられる。そこでこの実験では、 γ -デキストリン複合体の結晶構造を明らかにすることを目的とし、得られた結果から 8₁-helix amylose のラセン構造について考察した。

4-1 実験方法

1) γ -シクロデキストリンは, IV, 4-1 により調製したものを交換水から3回再結晶し, 減圧下, 100°C, P_2O_5 上で24時間乾燥した。 $[\alpha]_D^{25} = +177.5^\circ$ ($c=1$, H_2O)。

2) γ -デキストリン n -propanol 複合体は次のように調製した。 γ -デキストリン (0.5g) を交換水 (3ml) にとかし沸騰させ, これに n -propanol (5ml) を滴下し, 沈澱が直ちに生じないように徐々に冷却した。数日にわたって室温にまで冷却すると, 複合体の大きな結晶が析出した。これを吸引濾過して風乾した。 γ -デキストリンと benzene, bromobenzene, cyclohexane, p -cymene の複合体は次のように調製した。 γ -デキストリン (0.5g) を交換水 (10ml) にとかし, それぞれ 0.5ml の試薬を加え1夜室温で攪拌した。生じる複合体沈澱を吸引濾過して風乾した。anthracene 複合体は, 0.5% γ -デキストリンの水溶液を anthracene を飽和した ether と共に数日間振とうし, 生じる複合体結晶に anthracene の混入しないように注意して, エーテル層を傾斜して除き, 結晶を吸引濾過して, 風乾した。

3) X線粉末図形は, IV, 2 と同一条件で記録した。

6-2 結果及び考察

この実験では, γ -デキストリンと n -propanol, benzene, bromobenzene, cyclohexane, p -cymene 及び

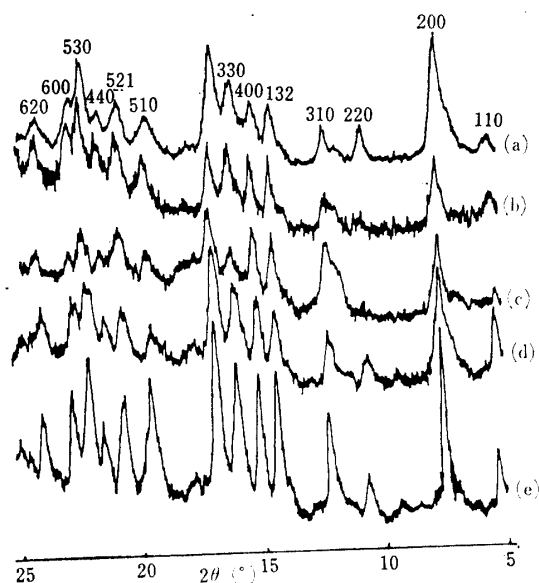


Fig. IV-26. X-Ray Diffraction Diagrams of α -Cyclodextrin Complexes Dried in the Air.
(a) α -Cyclodextrin- n -propanol complex.
(b) α -Cyclodextrin-bromobenzene complex.
(c) α -Cyclodextrin- p -cymene complex.
(d) α -Cyclodextrin-benzene complex.
(e) α -Cyclodextrin-anthracene complex.

anthracene の複合体を調製し, それら複合体結晶の粉末図形を, 種々の乾燥状態で記録した。これら複合体結晶を室温で風乾したものの粉末図形は, それぞれ Fig. IV-26 に示すように, いずれの粉末図形も n -propanol 複合体のそれに完全に一致し, 用いたゲスト分子の種類による相違は全く認められない。 n -propanol 複合体の粉末図形は, 正方晶系を仮定すると, 各回折線の指数配当が可能となる。(200) の回折線の d -spacings を単位胞の a 及び b 軸を決定するために用いると残りの赤道線 (equatorial layer) 上の回折線は矛盾なく指数配当される。配当された各回折線の指数を Fig. IV-26-(a) に示す。正方晶系をあらわす次式, $d_{hkl} = a_0 / \sqrt{h^2 + k^2 + (l/c)^2}$, ここで a_0 は格子定数, 軸比; $1:1:c$, 軸角; $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ から, $a = b = 23.7\text{\AA}$ を仮定して得られる各回折線の d -spacings の値は, Table IV-21 のように測定値と良く一致している。この場合, Fig. IV-30-(b) のようにデキストリン分子が同軸状に積み重なって生じる円筒が, Fig. IV-29-(a) のように正方晶系に充填したものとして説明出来る。従って Fig. IV-29-(a) に示された円筒直径は 16.75\AA と計算される。また, 単位胞の a 軸は French ら¹³²⁾ の報告したものとも良く一致している。

(521) と (132) の回折線は, c 軸を French ら¹³²⁾ が n -propanol 複合体について得た 22.2\AA に等しいと仮定し, また Hull-Devey¹³³⁾ の表から得られるデータを基にして指数配当した。一方これらデキストリン複合体を減圧下, 100°C で3時間, P_2O_5 上にて乾燥する

Table IV-21. Diffraction Data for γ -Cyclodextrin- n -Propyl Alcohol Complex

hkl ^{a)}	d (Å)	
	Calcd.	Obs.
110	16.74	16.70
200	11.85	11.85
220	8.37	8.40
310	7.50	7.45
400	5.93	5.92
330	5.59	5.60
420	5.30	5.30
510	4.66	4.65
440	4.20	4.19
530	4.07	4.06
600	3.95	3.96
620	3.75	3.75
521	4.33	4.35
132	6.27	6.24

a) Tetragonal indices.

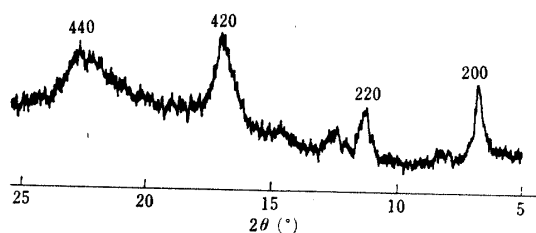


Fig. IV-27. X-Ray Diffraction Diagrams of γ -Cyclodextrin-*n*-Propanol Complex Dried *in vacuo* over Phosphorus Pentoxide at 100°C.

と、いずれも Fig. IV-27 のような *n*-propanol 複合体で示されるような粉末図形が得られた。明らかにこの粉末図形は Fig. IV-26 の図形とは異なり、典型的な六方晶系を示している。(200) の回折線を単位胞を決定するために用いて $a=b=32.7\text{\AA}$ の六方晶系を仮定すると、この粉末図形は矛盾なく指数配当出来る。各回折線の *d*-spacings についての指数、計算値及び測定値を Table IV-22 に示す。この場合その単位胞は、Fig. IV-29-(b) のように示され、そのデキストリン円筒の直径は、 16.36\AA と計算される。従って複合体の乾燥によって 0.39\AA だけその円筒直径が減少したことになる。正方晶系を示す複合体結晶を減圧下、室温で5時間、シリカゲル上で乾燥したものは、いずれも Fig. IV-28 のような *n*-propanol 複合体によって代表される粉末図形を与える。この図形は上に述べた正方

Table IV-22. Diffraction Data for γ -Cyclodextrin-*n*-Propyl Alcohol Complex

hkl ^{a)}	<i>d</i> (Å)	
	Calcd.	Obs.
200	14.15	14.13
220	8.18	8.18
420	5.35	5.34
440	4.08	4.00

a) Hexagonal indices.

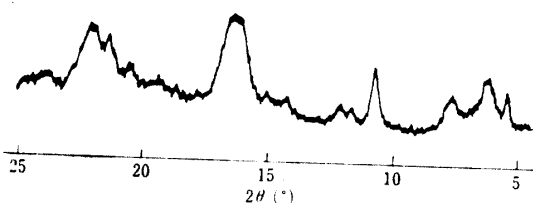


Fig. IV-28. X-Ray Diffraction Diagram of γ -Cyclodextrin-*n*-Propanol Complex Dried *in vacuo* over Silica Gel at Room Temperature.

晶系や六方晶系では説明出来ない。しかしこれら複合体を更に、減圧下、80°C で2時間、 P_2O_5 上で乾燥すると、それらの粉末図形はいずれも Fig. IV-27 の図形に完全に一致する。従って Fig. IV-28 の粉末図形は、デキストリン円筒が正方晶系と六方晶系に入り混って充填した、正方晶系から六方晶系への遷移状態に相当するものであると言える。包接されたゲスト分子の種類にかかわらず、乾燥によりこのような円筒の充填構造、即ち単位胞に変化が見られる事実は、包接されたゲスト分子は単位胞の遷移には無関係であることを示している。ゲスト分子はシクロデキストリンの空洞内に強く包接され、乾燥によりその大部分は空洞内に残っている¹⁴⁰⁾ ものと思われるので、このような単位胞の遷移は、結晶の水和の程度の相違により生じるものであり、この水和はアミロース・ヨウ素複合体結晶^{19, 141)} の場合から類推して、デキストリン円筒の間隙に生じるものと考えられる。従って、このようなデキストリン円筒の充填構造の変化を伴う著しい結晶構造の変化は、デキストリン円筒の間隙からの脱水によって生じたものであると言える。また γ -デキストリン複合体について推定した正方晶系及び六方晶系は、それぞれ結晶が水和及び無水の状態に相当するものである。Fig. IV-29 には、このような γ -デキストリン複合体の単位胞の遷移の様子を、その単位胞の (001) について投影したものとして示す。ここでは、正方晶系に対しては4本のデキストリン円筒が存在することになる。またこの正方晶系は アミロース・DMSO 複合体について、French ら¹⁴²⁾ により見出れた擬正方晶系に酷似している。

以上の実験で得られた γ -デキストリン複合体の回折データを Senti ら⁵¹⁾ の報告した 8_1 -helix amylose の結果と比較することは非常に興味深い。Senti らは10%の水分を含んだアミロースの *t*-butanol 複合体の繊維図形の X 線回折から、この繊維図形では $a=33.7$, $b=19.7$, $c=7.92\text{\AA}$ (繊維軸), $\gamma=130^\circ$ の単斜晶系で指数配当出来て、2本のラセンが単位胞に含まれるとした。そこでは、回折データが示されておらず、その詳細については明らかでない。しかし、この実験で得た γ -デキストリン複合体の回折データと Senti らの 8_1 -helix amylose についての結果から、 γ -デキストリンと 8_1 -helix amylose 複合体の結晶構造の相違についての知見が得られる。Table IV-21 の γ -デキストリンの *n*-propanol 複合体について配当された指数を検討してみると、 $h+k$ が奇数の時に $(hk0)$ の回折線は消失し、また $(h00)$ と $(0k0)$ の回折線は h あるいは k が奇数の時に消失している。但し $(h00)$ と $(0k0)$ の回

折線は、単位胞が正方晶系のため区別出来ない。この事実は回折線の消滅則に基づいて、各デキストリン円筒は単位胞の (001) 面に垂直に入り、その結晶軸は投影面に対して垂直であることを示している。これはまた、六方晶系を有する無水の γ -デキストリン複合体についても同様である。Fig. IV-29 に見られるように、 γ -デキストリンの正方及び六方晶系においては、単位胞の (001) 面に対する 1 本の円筒の投影は 1 つの円としてあらわされる。 α -及び β -デキストリン複合体についてもこの事情は同様である。即ち IV, 5 で α -及

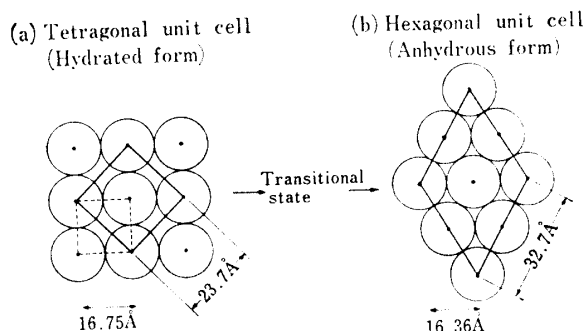


Fig. IV-29. Proposed Transition of the packing Arrangements of the Cylinders in the γ -Cyclodextrin Complexes.

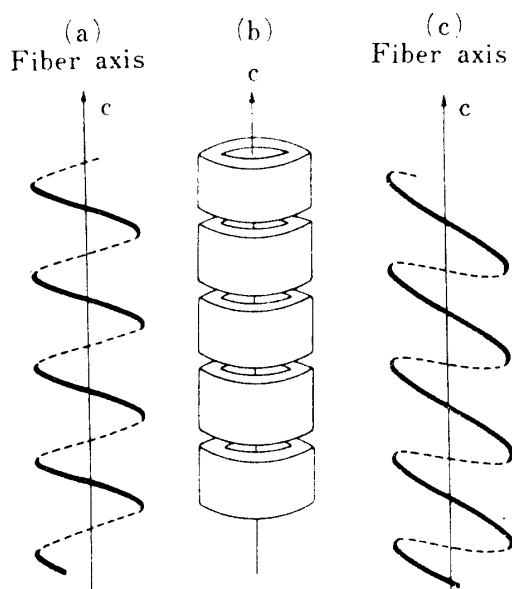


Fig. IV-30. Schematic Representations of the Helical Configuration of Amylose and Stacking Alignment of Cyclodextrin Molecules. (a) 6₁- and 7₁-Helix amylose. (b) Cyclodextrin complexes. (c) 8₁-Helix amylose.

The helical chain of amylose illustrated is left-handed helix according to Hybl et al.¹⁴⁴⁾

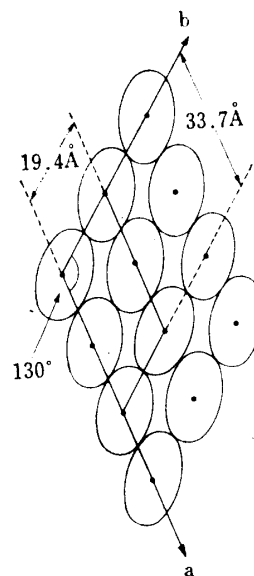


Fig. IV-31. Projection of the 8₁-Helix Amylose onto (001) Plane According to the Suggestion of Senti et al.⁵¹⁾

び β -デキストリン複合体では、各デキストリン円筒の面は、Fig. IV-30-(b) のように c 軸に対して垂直であることが証明された。但しこの図では、円筒内に包接されたゲスト分子は省略してある。この場合、円筒を単位胞の (001) 面に対して投影すると、Fig. IV-29-(b) のように γ -デキストリン複合体の場合と同様な円型として描かれる。更に、乾燥した α -及び β -デキストリン複合体は、それぞれ乾燥した 6₁-及び 7₁-helix amylose と類似した粉末図形を与えることも見出された。従って 6₁-及び 7₁-helix amylose のラセン円筒を単位胞の (001) 面に対して投影すると、この場合にも、Fig. IV-29-(b) のような円型としてあらわされ、ラセンは、その横断面に対して円型であることがわかる。

これに対して、Senti ら⁵¹⁾ により推定された 8₁-helix amylose の条件を満足させる単位胞は、Fig. IV-31 のようにダ円の平行型最密詰め込み構造¹⁴³⁾で描くことが出来る。この場合、8₁-helix amylose の横断面は、最早円型ではなく、ダ円 (elliptic) 型であらわされることは明らかである。これらの事実と一致する 8₁-helix amylose の唯一の構造は、8₁-helix amylose の個々のラセンの環は、Fig. IV-30-(c) のように、(a) のような 6₁-及び 7₁-helix amylose の場合に比べて、そのラセン軸に対してかなり大きな傾斜を持つ場合である。その結果、8₁-helix amylose のラセン構造は 6₁-および 7₁-helix amylose に比べて異なったものとなる。このような 8₁-helix amylose のラセン円筒を単位胞の (001) 面に対して投影した場合、最早その横

断面は円型ではなくなり、ダ円であらわされる結果、全体としての結晶系は Fig. IV-31 に示されるような Senti らにより推定された単斜晶系となり、明らかに γ -デキストリン複合体の場合とは異なっている。この場合には当然円筒の六方晶系への充填構造を取り得ず、そのため γ -デキストリン複合体の回折結果とは一致しなくなるものと考えられる。しかし何故このようなラセンの繊維軸に対する傾斜が 8₁-helix amylose の場合にだけ生じるかは現段階では明らかでない。

IV, 2 では、8₁-helix amylose は乾燥状態では存在しないことが明らかにされた。一方 Erlander ら⁵²⁾は過ヨウ素酸化によるアミロースラセンの分解の研究から、アミロースは水溶液中では、最も張力の小さい 8₁-helix の構造で存在し、7₁- や 8₁-helix を張力の大きな 6₁-helix にするためには I₂ のような強力な複合体試薬が必要であるとした。また Bumb ら⁵³⁾は湿潤状態のアミロース・ハロゲン化炭化水素複合体の X 線回折から、ラセン 1 巻について、8 個から 7 個へのグルコース残基の減少が、乾燥により起こることを示唆している。これらの事実を考え合わせると、ラセン内部に包接された試薬分子と水分子とが、アミロースのラセン直径を決定する重要な因子になっていて、8₁-helix amylose は、アミロースラセンが高度に水和されたような特殊な場合にだけ存在すると言えよう。

V 総括及び結論

多くの有機性あるいは無極性の有機化合物が澱粉水溶液中からアミロースと選択的に複合体を形成して沈澱させることは多くの研究者達によって報告されてきたが、その複合体生成機構については全く不明であった。また、これらアミロース複合体結晶の構造については、2, 3 のものについて X 線回折がなされ、これら複合体結晶中ではアミロースがラセン構造を取り、グルコース残基 6 個でラセン 1 巻きすることが明らかにされた。一方では、7 及び 8 個のグルコース残基でラセン 1 巻したアミロースの可能性も示唆されたが、これらはいずれも推定の域を出なかった。

著者は、このような複雑なアミロース複合体形成と、アミロースの分子鎖はかなり屈曲性に富んだものであることを考える時、アミロースがさまざまな形状の有極性あるいは無極性と性質を異にする有機化合物と複合体を形成して沈澱した場合に、アミロースの分子鎖は、どのような結晶構造で存在するかに興味を持ち、その結晶構造を明らかにすることによって、複合体形成に関しての知見を得ようとした。そこでアミロースの複合体結晶でのラセン構造を明らかにするた

めに、既に多くの合成高分子について見出されている高分子単結晶はそのオリゴマーの単結晶と類似の構造を有するという事実に基づいて、アミロースのラセン 1 巻に相当すると考えられる環状オリゴ糖のシクロデキストリンをモデル化合物に用いて研究を進めた。

まず百数十個の分子構造の異なる有機化合物の水溶液内でのアミロースの選択的沈澱能力を比較、検討したところ複合体形成についていくつかの興味ある事実を見出し、複合体形成には水分子が重要な役割りを果たしているものと推定した。ついで固体状の各種澱粉質物質に対する有機化合物気体の吸着性をガスクロマトグラフ法により測定し、親和性はアミロースラセン内部に有機化合物が包接される複合体の形成によるものであることを見出し、固体状態では主として双極子共同作用力が複合体形成の原因となることを推定した。一方、得られた多くの複合体結晶の乾燥状態での X 線粉末図形を解析したところ、全ての複合体結晶は、グルコース残基 6 個でラセン 1 巻きするアミロース (6₁-helix amylose) と 7 個でラセン 1 巻きするアミロース (7₁-helix amylose) のいずれかに分類され、その中間のラセン構造は存在しないことがわかった。またこの 6₁- 及び 7₁-helix 間には、相互にラセン構造の変化が生じることが明らかになった。そしてアミロース複合体のラセン直径はラセン内部に包接される試薬分子の横断面の直径と分子の長さにより決定されることが判明した。またラセン 1 周期を構成するグルコース残基の整数的変化を、ラセン環間の水素結合の生成によって説明した。水溶液中から有機化合物と複合体を形成して沈澱したアミロースが、そのラセン内部に包接した試薬分子の親水性あるいは疎水性の性質に関係なく、いずれも同様なラセン構造を取る事実は、溶液内のアミロース複合体の形成に特定の強い相互作用の存在しないことを示唆しており、固体ラセン状アミロースの内部に仮定された双極子場の強さは、水溶液内におけるラセンの乱れと水分子の存在により著しく弱められていることが考えられる。

一方多くのシクロデキストリンの有機化合物複合体結晶の X 線回折を行い、6₁-helix amylose と α -デキストリン複合体結晶及び 7₁-helix amylose と β -デキストリン複合体結晶の間には、それぞれ高分子結晶に見られるオリゴマー類似の見られることを明らかにして、6₁- 及び 7₁-helix amylose のラセン構造を明確にすると共に、従来未解決であったデキストリン複合体結晶中でのデキストリン分子の配列状態は、デキストリン分子の同軸状積重なりにより生じる内筒構造であることを確認した。また γ -シクロデキストリン複合体の X 線回折から、8₁-helix amylose の結晶構造を考察

し, 8₁-helix amylose は 6₁- 及び 7₁-helix amylose に比べて, そのラセン構造を少し異にすることを推定した。

謝 辞

本研究を行うにあたり, 終始懇切な御指導と励ましを賜った京都府立大学農学部久下喬教授, 並びに大阪府立大学農学部小野宗三郎教授に深く感謝の意を表します。また, X線回折について御指導と御討論頂いた京都府立大学農学部服部共生助教授, 本研究の全般にわたり御教示頂いた大阪府立大学農学部本田幸一郎教授, 米沢大造教授, 並びに Iowa 州立大学 D. French 教授に感謝します。さらにシクロデキストリンの標準品を恵与された Arkansas 大学 J. A. Thoma 教授, NMR スペクトルを測定して頂いた日本電子株式会社, *B. macerans* を頂いた財団法人醸酵研究所及びテルペン化合物を頂いた日本テルペン工業株式会社に感謝します。

引 用 文 献

- 1) Meyer, K.H., W. Brentano and P. Bernfeld (1940) : *Helv. Chim. Acta*, **23** ; 845.
- 2) Meyer, K.H., P. Bernfeld and E. Wolff (1940) : *Helv. Chim. Acta*, **23** ; 854.
- 3) Meyer, K.H., and P. Bernfeld (1940) : *Helv. Chim. Acta*, **23** ; 875.
- 4) Meyer, K.H., M. Wertheim and P. Bernfeld, (1941) : *Helv. Chim. Acta*, **24** ; 378.
- 5) Schoch, T.J., (1941) : *Cereal Chem.*, **18** ; 121.
- 6) Schoch, T.J., (1942) : *J. Am. Chem. Soc.*, **64** ; 2957.
- 7) Bear, R.S., (1944) : *J. Am. Chem. Soc.*, **66** ; 2122.
- 8) Whistler, R.L., and G.E. Hilbert, (1945) : *J. Am. Chem. Soc.*, **69** ; 1161.
- 9) French, D., A.O. Pulley and W.J. Whelan, (1963) : *Stärke*, **15** ; 349.
- 10) Bear, R.S., (1942) : *J. Am. Chem. Soc.*, **64** ; 1388.
- 11) Rundle, R.E., and F.C. Edwards, (1943) : *J. Am. Chem. Soc.*, **65** ; 2200.
- 12) Valletta, R.M., F.J. Germino, R.E. Lang and R.J. Moshy, (1964) : *J. Polymer Sci., Part A*, **2** ; 1085.
- 13) 平井, 安井, 藤田, 山下(1963) : 高分子化学, **20** ; 413.
- 14) 山下 (1964) : 高分子化学, **21** ; 103.
- 15) Yamashita, Y., (1964) : *J. Polymer Sci., Part A*, **2** ; 4503.
- 16) Hinkle, M.E., and H.E. Zobel, (1968) : *Biopolymers*, **6** ; 1119.
- 17) Rundle, R.E., and D. French, (1943) : *J. Am. Chem. Soc.*, **65** ; 1707.
- 18) Rundle, R.E., (1947) : *J. Am. Chem. Soc.*, **69** ; 1769.
- 19) Zaslow B., and M.L. Miller, (1961) : *J. Am. Chem. Soc.*, **83** ; 4378.
- 20) Mikus, F.F., R.M. Hixon and R.E. Rundle. (1946) : *J. Am. Chem. Soc.*, **68** ; 1115.
- 21) Zaslow, B. (1963) : *Biopolymers*, **1** ; 165.
- 22) Keller, A. (1957) : *Phil. Mag.*, **2** ; 1171.
- 23) Geil, P.H. (1956) : *J. Appl. Phys.*, **30** ; 1516.
- 24) Holland, V.F. (1964) : *Makromol. Chem.*, **71** ; 204.
- 25) Tsudoi, K. and T. Mochizuki, (1963) : *J. Polymer Sci., Part B*, **1** ; 531.
- 26) 物延・藤原 (1964) : 高分子化学, **21** ; 179.
- 27) Manley, R.St.J. (1961) : *Nature*, **189** ; 390.
- 28) Marchessault, R.H., F.F. Morehead, N.M. Walter and C.P.T. Glandemans, (1961) : *J. Polymer Sci.*, **51** ; s66.
- 29) 平井・物延 (1965) : 高分子化学, **86** ; 460.
- 30) Manley, R.St.J. (1964) : *J. Polymer Sci., Part A*, **2** ; 1085.
- 31) Kuge, T. and K. Takeo, (1968) : *Agr. Biol. Chem.*, **32** ; 1232.
- 32) Kuge, T. and K. Takeo, (1967) : *Agr. Biol. Chem.*, **31** ; 256.
- 33) Kuge, T. and K. Takeo, (1968) : *Agr. Biol. Chem.*, **32** ; 753.
- 34) Takeo, T. and T. Kuge, (1969) : *Agr. Biol. Chem.*, **33** ; 1174.
- 35) Takeo, K. and T. Kuge, (1970) : *Agr. Biol. Chem.*, **34** ; 568.
- 36) Takeo, K. and T. Kuge, (1970) : *Agr. Biol. Chem.*, **34** ; 1787.
- 37) Takeo, K. and T. Kuge, (1971) : *Agr. Biol. Chem.*, **35** ; 537.
- 38) Wiegel, E. (1941) : *Z. Physik. Chem., A* **188** ; 137.
- 39) Wiegel, E. (1943) : *Kolloid Z.*, **102** ; 145.
- 40) Schoch, T.J. (1945) : *Advances in Carbohydrate Chemistry*, **1** ; 247.
- 41) Schoch, T.J. and C.B. Williams, (1944) : *J.*

- Am. Chem. Soc., **66** ; 1232.
- 42) Haworth, W.N., S. Peat and P.E. Sagrott, (1946) : *Nature*, **157** ; 19.
- 43) Bourne, E.J., J.H. Donnison, N. Haworth and S. Peat, (1948) : *J. Chem. Soc.*, 1687.
- 44) Whistler, R.L., and G.E. Hilbert, (1945) : *J. Am. Chem. Soc.*, **67** ; 1161.
- 45) Dvornik, W., H.J. Yearian and R.L. Whistler (1950) : *J. Am. Chem. Soc.*, **72** ; 1748.
- 46) Osman, E.M., S.J. Leith and M. Fies, (1961) : *Cereal Chem.*, **38** ; 449.
- 47) Takagi, T. and T. Isemura, (1960) : *Bull. Chem. Soc. Japan*, **33** ; 437.
- 48) Nakamura, A., R. Shimidzu, T. Kono and S. Funahashi, (1958) : *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, **22** ; 328.
- 49) McCready, R.M. and W.Z. Hassids, (1943) : *J. Am. Chem. Soc.*, **65** ; 1154.
- 50) Larson, B.L., K. A. Gilles and R. Jenness, (1953) : *Anal. Chem.*, **25** ; 802.
- 51) Senti, F.R. and S.R. Erlander, (1964) : *Non-stoichiometric Compounds*, ed. by L. Mandelcorn, p. 567, Academic Press, New York.
- 52) Erlander, S.R., H.F. Griffin and F.R. Senti, (1965) : *Stärke*, **17** ; 151.
- 53) Bumb, R.R. and B. Zaslow, (1967) : *Carbohydr. Res.*, **4** ; 96.
- 54) McAuliffe, C. (1967) : *J. Phys. Chem.*, **70** ; 1267.
- 55) 竹尾・久下, 未発表.
- 56) Goering, K. J., 私信.
- 57) Everett, D.H. (1965) : *Gas Chromatography*, ed. by A. Goldays, p. 219, Elsevier Pub. Co.
- 58) Knox, J.H. (1962) *Gas Chromatography*, p. 41, Methuen and Co. Ltd.
- 59) Kuge, T. and S. Ono, (1964) : *Bull. Chem. Soc. Japan*, **34** ; 1264.
- 60) Kuge, T. (1961) : *Bull. Univ. Osaka Pref., Ser. B*, **11** ; 121.
- 61) Waksmundzki, A., W. Rundzinski and Z. Suprynowicz, (1966) : *J. Gas. Chromatog.*, **93**
- 62) Matsui, Y., H. Naruse, K. Mochida and Y. Date, (1970) : *Bull. Chem. Soc. Japan*, **43** ; 1909.
- 63) Stein, R.S. and R.E. Rundle, (1948) : *J. Chem. Phys.*, **16** ; 195.
- 64) Debye, P. (1920) : *Physik. Z.*, **21** ; 178.
- 65) Hollo, J. and J. Szejtli, (1958) : *Stärke*, **10** ; 49.
- 66) Rao, V.S.O. and J.F. Foster, (1963) : *Biopolymers*, **1** ; 527.
- 67) Ono, S., T. Watanabe, K. Ogawa and N. Okazaki, (1965) : *Bull. Chem. Soc. Japan*, **38** ; 643.
- 68) Szejtli, J., M. Richter and S. Augustat, (1967) : *Biopolymers*, **5** ; 5.
- 69) Szejtli, J., S. Augustat and M. Richter, (1967) : *Biopolymers*, **5** ; 17.
- 70) Kuge, T. and S. Ono, (1960) : *Bull. Chem. Soc. Japan*, **33** ; 1274.
- 71) Ono, S. and K. Takahashi, (1969) : *Biological Microcalorimetry*, ed. by H.D. Brown, p. 96, Academic Press.
- 72) Hollo, J., J. Szejtli, E. Laszlo, G.S. Ganter and M. Toth, (1960) : *Stärke*, **12** ; 287.
- 73) Bates, F., D. French and R.E. Rundle, (1943) : *J. Am. Chem. Soc.*, **65** ; 142.
- 74) Rundle, R.E. and R.R. Baldwin, (1943) : *J. Am. Chem. Soc.*, **65** ; 554.
- 75) Rundle, R.E. and D. French, (1943) : *J. Am. Chem. Soc.*, **65** ; 558.
- 76) Baldwin, R.R., R.S., Bear and R.E. Rundle, (1944) : *J. Am. Chem. Soc.*, **66** ; 111.
- 77) Rundle, R.E., J.F. Foster and R.R. Baldwin, (1944) : *J. Am. Chem. Soc.*, **66** ; 2116.
- 78) Cramer, F. (1954) : *Einflussverbindungen*, Springer-Verlag, Heidelberg.
- 79) Cramer, F. and H. Hettler, (1967) : *Naturwiss.*, **54** ; 625.
- 80) French, D. (1957) : *Advances in Carbohydrate Chemistry*, **12** ; 189.
- 81) VanEtten, R.L., G.A. Clowes, J.F. Sebastian and M.L. Bender, (1967) : *J. Am. Chem. Soc.*, **89** ; 3242.
- 82) VanEtten, R.L., G.A. Clowes, J.F. Sebastian and M.L. Bender, (1967) : *J. Am. Chem. Soc.*, **89** ; 3242.
- 83) Vanderjagt, L., F.L. Killian and M.L. Bender, (1970) : *J. Am. Chem. Soc.*, **92** ; 1016.
- 84) Cramer, F. (1951) : *Chem. Ber.*, **84** ; 851.
- 85) James, W.T., D. French and R.E. Rundle, (1959) : *Acta Cryst.*, **12** ; 385.
- 86) 竹尾・近藤・久下 (1970) : 京府大, 学報・農, **22** ; 106.

- 87) Takeo, K., Y. Kondo and T. Kuge, (1970) : Agr. Biol.Chem., **34** ; 955.
- 88) Takeo, K., and T. Kuge, (1970) : Agr. Biol. Chem., **34** ; 1416.
- 89) 檜作 (1961) : 澱粉工誌, **2** ; 1.
- 90) 実験化学講座, 第4巻, 固体物理学, (1956) p. 211. 丸善.
- 91) Cullity, B. D. (1956) : Elements of X-Ray Diffraction, Addison-Wesley Pub. Co. Inc.
- 92) Bann, C.W. (1961) : Chemical Crystallography, An Introduction to Optical and X-Ray Methods, Oxford Univ. Press.
- 93) Casu, B. (1966) : Chimia Industria, **48** ; 921.
- 94) Casu, B., M. reggiani, G.G. Gallo and A. Vigevani, (1966) : Tetrahedron, **22** ; 3061.
- 95) Casu, B., G. Gaglioppa and M. Reggiani, (1965) : Stärke, **17** ; 386.
- 96) Erlander, S.R. and R. Tobin, (1968) : Makromol. Chem., **111** ; 194.
- 97) Erlander, S.R. and R. Tobin, (1968) : Makromol. Chem., **111** ; 212.
- 98) Erlander, S.R., R.M. Purvinas and H.L. Griffin, (1968) : Cereal Chem., **45** ; 140.
- 99) Blackwell, J., A. Sarko and R.H. Marchessault, (1969) : J. Mol. Biol., **42** ; 379.
- 100) Germino, E.J., R. J. Moshy and R. M. Valletta, (1964) : J. Polymer Sci., Part A, **2** ; 2705.
- 101) French, D., M.L. Levine, J.H. Pazur and E. Norberg, (1948) : J. Am. Chem. Soc., **71** ; 353.
- 102) French, D., A.O. Pulley and W.J. Whelan, (1963) : Stärke, **15** ; 280.
- 103) Cramer, F. and F.M. Henglein, (1958) : Chem. Ber., **91** ; 308.
- 104) 河野・二国 (1966) : 澱粉工誌, **2** ; 23.
- 105) Thoma, J.A. and L. Stewart, (1965) : Starch; Chemistry and Technology, Vol 1, p. 209. Academic Press.
- 106) Tilden, E.B. and C.S. Hudson, (1942) : J. Bacteriol., **43** ; 527.
- 107) Cramer, F. and D. Steinle, (1955) : Ann., **595** ; 81.
- 108) Wiedenhof, W. (1964) : J. Chromatog., **15** ; 100.
- 109) Peifer, J.J. (1962) : Microchim. Acta, **352** ; 529.
- 110) Weill, C.E. and P. Hanke, (1962) : Anal. Chem., **34** ; 1736.
- 111) Hough, L. and A.C. Richardson, (1967) : Rodd's Chemistry of Carbon Compounds 1F, ed. by S. Coffey, p. 196. Elsevier Pub. Co.
- 112) Reeves, R.E. (1951) : Advances in Carbohydrate Chemistry, **6** ; 107.
- 113) Freudenberg, K. and F. Cramer, (1950) : Chem. Ber., **83** ; 296.
- 114) Reeves, R.E. (1954) : J. Am. Chem. Soc., **76** ; 4595.
- 115) Bentley, R. (1959) : J. Am. Chem. Soc., **81** ; 1952.
- 116) Hollo, J., J. Szejtli and M. Toth, (1963) : J. Phys. Chem., **67** ; 951.
- 117) Rao, V.S.O. and J.F. Foster, (1963) : J. Phys. Chem., **67** ; 951.
- 118) Glass, C.A. (1965) : Can. J. Chem., **43** ; 2652.
- 119) Casu, B., M. Reggiani, G.G. Gallo and A. Vigevani, (1965) : Tetrahedron Letters, **27** ; 2253.
- 120) Casu, B., M. Reggiani, G.G. Gallo and A. Vigevani, (1965) : Tetrahedron Letters, **27** ; 2253.
- 121) Karplus, M. (1959) : J. Chem. Phys., **30** ; 11.
- 122) Karplus, M. (1963) : J. Am. Chem. Soc., **85** ; 2870.
- 123) Hall, L.D. (1964) : Advances in Carbohydrate Chemistry, **19** ; 51.
- 124) Casu, B., M. Reggiani, G.G. Gallo and A. Vigevani (1968) : Tetrahedron, **24** ; 804.
- 125) Remieux R.U. and J.D. Steavens, (1965) : Can. J. Chem., **43** ; 2059.
- 126) Horton D. and J.H. Lauterback, (1969) : J. Org. Chem., **34** ; 86.
- 127) Coxon, B. (1965) : Tetrahedron, **21** ; 3481.
- 128) Remieux, R.U. and A.A. Paria, (1969) : Can. J. Chem., **47** ; 4441.
- 129) Bible, Jr., R.H. (1967) : Guide to the NMR Empirical Method, p. 67. Plenum Press, New York.
- 130) Remieux, R.U., R.K. Kulling, H.J. Bernstein and W.J. Schneider, (1957) : J. Am. Chem. Soc., **79** ; 1005.
- 131) Freemantle, M.H. and W.J. Overend, (1969) : J. Chem. Soc., (B), 547.
- 132) Casu, B., M. Reggiani, G.G. Gallo and A. Vigevani, (1970) : Carbohydr. Res., **12** ; 157.

- 133) Friebolin, H., G. Keilich and E. Siefert, (1969) : *Angew. Chem.*, **81** ; 791.
- 134) Chapmann, O.L. and R.W. King, (1964) : *J. Am. Chem. Soc.*, **36** ; 1256.
- 135) Ulmann, M., C. Trogus and K. Hess, (1932) : *Chem. Ber.*, **65** ; 682.
- 136) Hess, K., C. Trogus and M. Ulmann, (1933) : *Z. Physik. Chem.*, B **21** ; 1.
- 137) Yamashita, Y. and N. Hirai, (1966) : *J. Polymer Sci., Part A*, **4**, 169.
- 138) French, D., D. W. Knapp and J.H. Pazur, (1950) : *J. Am. Chem. Soc.*, **72** ; 5150.
- 139) Hull, A.W. and W.P. Davey, (1921) : *Phys. Rev.*, **17** ; 549.
- 140) Cramer, F. and F.M. Henglein, (1957) : *Chem. Ber.*, **90** ; 2561.
- 141) Nicolson, P.C., G.U. Yuen and B. Zaslow, (1966) : *Biopolymers*, **4** ; 677.
- 142) French, A.D. and H.F. Zobel, (1967) : *Biopolymers*, **5** ; 457.
- 143) Nowacki, W. (1948) : *Schweiz. Min. Pet. Mitt.*, **28** ; 502.
- 144) Hybl, A., R.E. Rundle and D.E. Williams, (1965) : *J. Am. Chem. Soc.*, **87** ; 2779.

Summary

Studies on the complexes of amylose and its cyclic oligomers (cyclodextrins) with various organic compounds were carried out. The results obtained were as follows:

1) More than one hundred organic compounds have been examined with respect to their precipitation abilities for starch. All the precipitates may be caused subsequent to complex formation between amylose and reagents. A slight change in molecular structure of the reagents often results in a marked change of the complex formation.

2) It was shown that an attractive interaction between solid amylose and the vapor of organic compounds would occur in the interior of V-amylose helix and dipolar cooperative interaction would mainly be responsible for the complex formation of amylose with organic compounds.

3) X-Ray diffraction of the complexes of amylose with organic compounds were carried out. Only two kinds of diffraction patterns corresponding to the helix of amylose consisting of six glucose resi-

dues per helical turn (6_1 -helix) and to that consisting of seven glucose residues per turn (7_1 -helix) were observed in the dried state. The helix with a fractional number of glucose residues could not be seen. It is inferred that the helix is stabilized by hydrogen bonds between individual helical loops.

4) The diffraction patterns of cyclodextrin complexes were examined. Under suitable conditions α - and β -dextrins can produce complexes having analogous crystalline structures of 6_1 - and 7_1 -helix amyloses, respectively. This is confirmatory evidence for the helical structure of amylose and the coaxial alignments of the dextrin molecules (channel structure).

5) From the correlations between the diffraction data of γ -dextrin complexes and 8_1 -helix amylose, it was pointed out that the individual helical loops of amylose consisting of eight glucose residues per turn (8_1 -helix) have a large inclination to a fiber axis of the unit cell as compared to those of 6_1 - and 7_1 -helix amyloses.