

糖応答性インスリンリリースシステムを指向した超分子ナノマシン

江川 祐哉,* 関 俊暢

Supramolecular Nanomachines for Sugar Responsive Insulin Release Systems

Yuya Egawa* and Toshinobu Seki

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Josai University; 1-1 Keyakidai, Sakado, Saitama 350-0295, Japan.

(Received August 20, 2013)

Cyclodextrins (CyDs) are cyclic oligosaccharides composed of 6, 7, or 8 glucopyranoside units, named α -, β -, or γ -CD, respectively. CyDs consist of a hydrophobic cavity in which hydrophobic molecules are encapsulated to form an inclusion complex. CyDs are widely used in pharmaceutical applications because they function as nanocapsules to improve the stability and solubility of drugs. Recently, CyDs have attracted much attention as for use as components of supramolecular nanostructures that are particularly attractive because of their unique structures. We modified CyDs with phenylboronic acid (PBA), which forms covalent bonds with the diol groups of sugar, and used the resulting PBA-CyDs to prepare supramolecular nanomachines that undergo structural transformation in the presence of a chemical signal in the form of a sugar. PBA- α -CyD formed a supramolecular polymer that showed consecutive intermolecular interactions between PBA and the cavity of another PBA- α -CyD, whereas PBA- β -CyD formed head-to-head dimers in which one PBA moiety was encapsulated in the other. These supramolecular nanostructures disintegrated in the presence of sugars because of the structural change in the PBA moiety and loss of the driving force of the supramolecular assembly. These features of disintegration can be potentially used to prepare a nanomachine that would act as a sugar-responsive insulin release system. Currently, we are studying sugar-responsive nanomachines composed of PEGylated insulin and PBA- γ -CyD.

Key words—cyclodextrin; phenylboronic acid; supramolecular chemistry; sugar recognition

1. はじめに

シクロデキストリン (cyclodextrin; CyD) はグルコピラノース単位からなる α -1,4 結合の環状オリゴ糖である。1 分子に含まれるグルコース単位が 6, 7, 8 つのものは、それぞれ α -CyD, β -CyD, γ -CyD と呼ばれ、広く研究されている。CyD の最大の特徴は、その環状構造に起因する包接体形成能力である。CyD 自身は、水酸基を多数有するため親水性であるが、CyD 空孔の内壁は C-C 結合、エーテル結合から構成され疎水的な環境となっている。そのため、CyD は水溶液中で空孔内に疎水的な化合物 (ゲスト) を包接し、ホスト-ゲスト複合体を形成する。この包接複合体の大きさは約 1 nm であり、

CyD はナノサイズのカプセルとも呼ばれている。CyD によるナノカプセル化は多方面で応用されており、薬学においては、薬物の安定性向上、薬物の溶解性向上の目的で用いられ、製品化に貢献している例も多数存在する。

近年では、CyD はナノカプセル化という単なる入れ物という捉え方だけでなく、ナノサイズの分子集合体を構成するビルディングブロックとしても注目を集めている。通常、ホストとゲストの間には非共有結合的な相互作用を期待するが、あえて CyD とゲストを共有結合でつないだゲスト修飾 CyD が調製され、それらが興味深い超分子構造を形成することが報告されている。^{1,2)} 原田らは、シンナム酸をゲスト部位として CyD に化学修飾し、このゲスト部位が分子間相互作用により別のゲスト修飾 CyD の空孔に包接され、その相互作用が連続することで、超分子ポリマー構造をとることを明らかにした。³⁻⁵⁾ シンナム酸の上にさらに、2,4,6-トリニトロ

The authors declare no conflict of interest.

城西大学薬学部 (〒350-0295 埼玉県坂戸市けやき台 1-1)

*e-mail: yegawa@josai.ac.jp

本総説は、日本薬学会第 133 年会シンポジウム S30-203 で発表した内容を中心に記述したものである。

フェニル基を配置したものでは、超分子ポリマーの形成と同時に、その超分子ポリマーが溶媒を抱え込んだゲルとなることも報告されている。⁶⁾ これらユニークな構造を持つ超分子ポリマーは、化学刺激に応答するマテリアルとなり得る。CyD に修飾されたゲストと競合するゲスト、例えば 1-アダマンタンカルボン酸を溶液中に添加することで、CyD 空孔がアダマンタンカルボン酸により占有され、超分子ポリマーは崩壊する。これは競合ゲストの濃度変化、すなわち化学シグナルを感知して自ら崩壊する特性を持つ、超分子ナノマシンといえ、今後、様々な分野での応用、展開が期待されている。

ゲスト修飾 CyD による超分子ポリマーのほか、超分子ナノマシンに発展する可能性を持つと注目されているナノ構造の 1 つに、分子ネックレスが挙げられる。⁷⁾ CyD のゲストとなるものは低分子とは限らない。例えば、ポリエチレングリコール (PEG) はいくつもの CyD を貫通し、ポリシュードロタキサンと呼ばれる複合体を形成する。この複合体の PEG 末端を嵩高い基で止め、CyD が外れないようにしたものはポリロタキサンと呼ばれる。これらネックレス状の超分子ナノ構造体の最大の特徴は、CyD が PEG 上をスライドして動くことである。この可動性を利用して、薬物修飾 CyD、あるいは薬物修飾 PEG が分子ネックレス構造から放出されるドラッグデリバリーシステムが提案されている。^{8,9)}

筆者らは、これら CyD を利用したユニークな超分子ポリマーや分子ネックレスなどの超分子ナノ構造及び機能を利用し、血糖値に応答する超分子ナノマシンの構築を試みた。血糖値を認識するセンサー部位としてフェニルボロン酸 (phenylboronic acid; PBA) を利用することとし、PBA を修飾した CyD (PBA-CyD) を調製して、超分子構造の形成、及びその超分子構造の糖応答性について調査した。¹⁰⁾

2. PBA の糖結合能力

PBA は近接シスジオールとエステル結合を形成する特性があり、糖化学センサー化合物の開発に広く用いられている。¹¹⁻¹³⁾ PBA は一種のルイス酸であり、糖結合能力と酸塩基平衡が密接に係わっている (Fig. 1)。ボロン酸のホウ素には空の p 軌道があり、そこに水酸基等が配位する。水酸基が少ない環境、すなわち低い pH では PBA は分子形で存在し、pH が高い環境では水酸基が配位する。水酸基

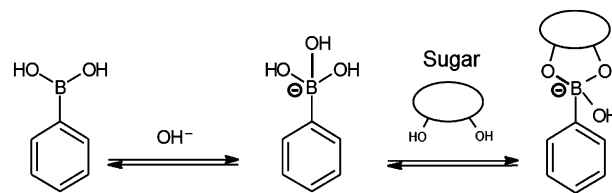


Fig. 1. Equilibrium of PBA and Sugar

が配位した PBA はイオン形であり、このイオン形が糖結合の主体となる。ボロン酸の分子形、イオン形が存在するところに糖を添加すると、イオン形が糖と結合し、糖結合イオン形に変化する。イオン形が消費されると分子形がイオン形へと変化し、酸塩基平衡は保たれる。すなわち、糖を加えることで、結果的に分子形の割合が減少し、負電荷を持つ形 (イオン形、糖結合イオン形) の割合が増え、みかけ上、 pK_a が下がる。これら糖を加えることにより生じる PBA の構造変化は、糖化学センサー化合物のみに留まらず、PBA をセンサーとして組み込んだ製剤への展開が期待されている。¹⁴⁻¹⁶⁾ これら PBA を含む製剤が、生体内において血糖値濃度を測定し、その濃度に応じてインスリンが放出する仕組みは、診断と治療を融合することで、最適な治療を目指すセラノスティックスの 1 つの形態となり得る。

3. PBA と CyD の相互作用

CyD と PBA の相互作用を駆動力とした超分子ポリマーを形成するには、PBA が CyD のゲストとなる必要がある。しかし、CyD は一種の糖であり、PBA と CyD のジオールがエステル結合を形成することも考えられる。PBA と CyD がどのような相互作用をするかを調査するために、PBA の pK_a が CyD の共存でどのように変化するかを観察した。PBA 溶液に少量の塩酸、水酸化ナトリウム水溶液を加えて、pH を変化させながら紫外可視吸収スペクトルを測定し、その変化から pK_a を算出した。PBA 単独の場合、その pK_a は 8.8 と求められた。



江川祐哉

城西大学薬学部薬品物理化学講座 准教授、博士 (薬学)。1998 年東北大学薬学部卒業。2000 年東北大学大学院薬学研究科修士課程修了。2000-2005 年日研化学株式会社薬研究所勤務。2005-2008 年東北大学大学院薬学研究科 助手、助教。2008 年城西大学薬学部薬品物理化学講座 (関 俊暢 教授) 助教、2013 年より現職。

100 mM の CyD が共存した場合、その pK_a は 9.1 に上昇した。この結果は、イオン形 PBA が CyD とエステル結合を形成するのではなく、分子形 PBA が CyD と相互作用したものと考えられた。すなわち、CyD が PBA の分子形を包接したと解釈することができる (Fig. 2).¹⁷⁾ 分子形 PBA が CyD のゲストとなることを確認した後、PBA を CyD へ化学修飾することを試みた。

4. PBA-CyD の調製とその分子間相互作用

出発物質として α -CyD, β -CyD, γ -CyD の 3 種類を用い、*p*-クロロカルボニルフェニルボロン酸を用いて、PBA 基を CyD の水酸基に導入した (Fig. 3)。CyD は多くの水酸基を持つため多点修飾体も反応溶液中にみられたが、一点修飾体のみをカラムクロマトグラフィーにて精製し、 ^1H NMR, FAB-MS により構造を確認した。得られた PBA- α -CyD, PBA- β -CyD, PBA- γ -CyD について、溶解度を調査した。未修飾 α -CyD, β -CyD に比べ、PBA- α -CyD, PBA- β -CyD は著しく低い溶解度を示した (Table 1)。これは超分子構造をとることで難溶解性になったためと推測された。一方、PBA- γ -CyD の溶解度は高く、PBA- γ -CyD 単独で超分子構造形成は得ら

れないものと考えられた。

難溶解性の超分子構造をとることが示唆された PBA- α -CyD, PBA- β -CyD について、分子間相互作用が存在するかを調査するため、二次元 NMR による測定を実施した。Figure 4 は PBA- α -CyD の rotating Overhauser enhancement and exchange spectroscopy (ROESY) スペクトルである。本手法は nuclear Overhauser effect spectroscopy (NOESY) と同じく空間的に近接したプロトン进行调查する手法だが、NOESY では測定が困難となり易い分子量 1000 程度の分子でも、測定を可能にする手法であり、分子量 1121 の PBA- α -CyD の解析に適していた。PBA のベンゼン環部位はカルボニル側、ボロン酸側の 2 種類のピークが重なり 7.9 ppm 付近にみられた。これと 3.8 ppm 付近の CyD の 3 位の間で NOE が観測された。この結果は、PBA 部位と CyD 3 位が近接しており、PBA が CyD に浅く包接していることを示すものである。このことから PBA- α -CyD 同士の分子間相互作用の向きは、PBA

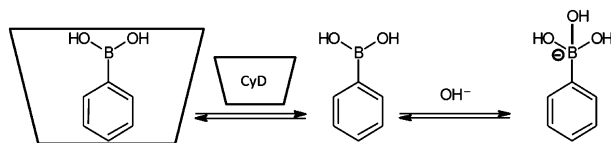


Fig. 2. Equilibria of PBA and CyD

Table 1. Solubility (mM) of CyDs in the Presence and Absence of Sugar (10 mM) at 37°C

CyD	no sugar	with Glu	with Fru
α -CyD	270	—	—
β -CyD	37	—	—
PBA- α -CyD	3.0	3.8	6.3
PBA- β -CyD	0.23	0.26	1.2

Reproduced with permission from Chemical and Pharmaceutical Bulletin Vol. 61 No. 11. Copyright 2013 The Pharmaceutical Society of Japan.¹⁰⁾

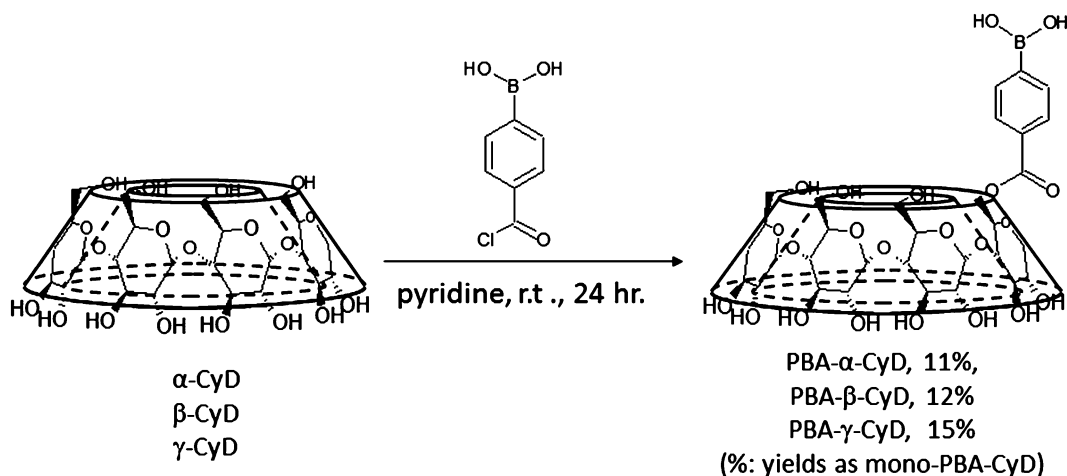


Fig. 3. Synthesis of PBA-CyDs

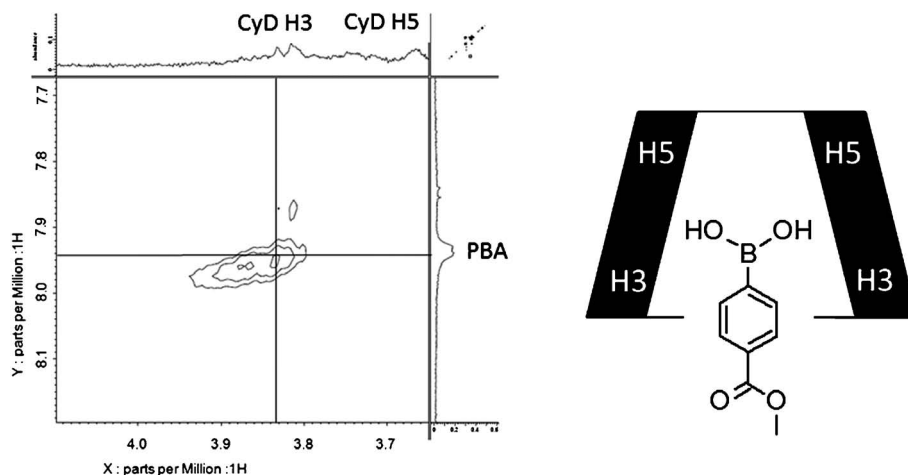


Fig. 4. The 2D ROESY Spectrum (600 MHz) of PBA- α -CyD (1.0 mM in D₂O at 25°C, mixing time 500 ms), and the Proposed Interaction between the PBA Moiety and the Cavity of α -CyD

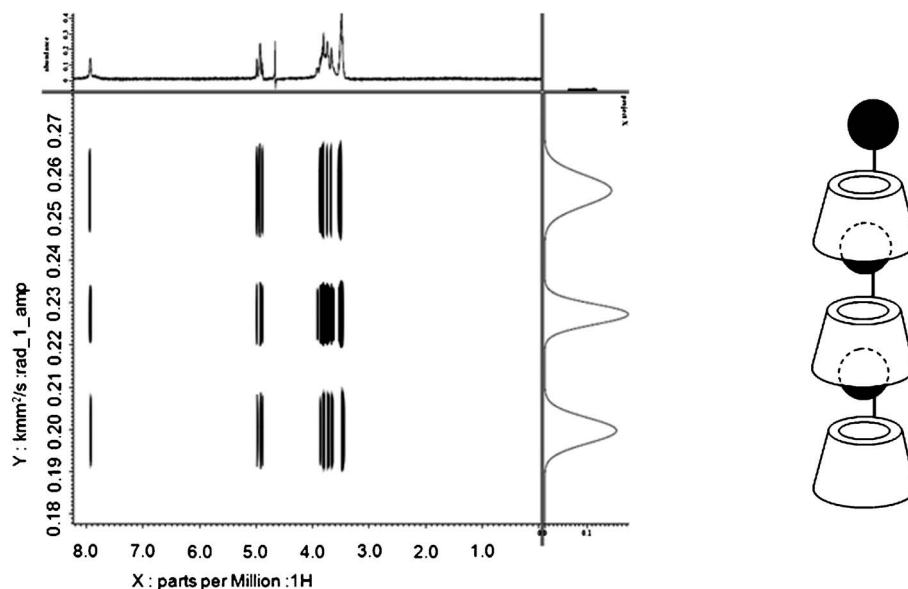


Fig. 5. The 2D DOSY Spectrum (600 MHz) of PBA- α -CyD (1.0 mM in D₂O at 25°C, diffusion time 0.1 s, grad 2.0 ms), and the Proposed Structure of a Head-to-Tail Trimer of PBA- α -CyD

が広い空孔である 2 級水酸基側から包接された、ヘッドトゥーテイルの向きであると考えられた。Figure 5 は PBA- α -CyD の diffusion ordered NMR spectroscopy (DOSY) スペクトルである。この手法は拡散係数の違いを基に、いくつかの化学種がサンプル中に存在するのかを調査することができる。¹⁸⁾ このスペクトルから 3 種類の化学種が存在することがわかり、拡散係数の大きいものから順に PBA- α -CyD のモノマー、ダイマー、トリマーであることが示された。トリマーの存在が確認されたことから、分子間相互作用の向きはヘッドトゥーテイルで

あると考えられた。

Figure 6 は PBA- β -CyD の NOESY スペクトルである。PBA のカルボニル側のプロトンと CyD の 3 位、5 位のプロトンとの間に NOE が観察されており、また、PBA のボロン酸側のプロトンも CyD の 3 位、5 位のプロトンでも同様の NOE が観察されている。この結果は PBA が CyD 空孔に深く包接していることを示すものである。Figure 7 には PBA- β -CyD の DOSY スペクトルであり、2 種類の分子種が溶液中に存在することが確認された。1 つは PBA- β -CyD モノマーであり、もう 1 つはダイマー

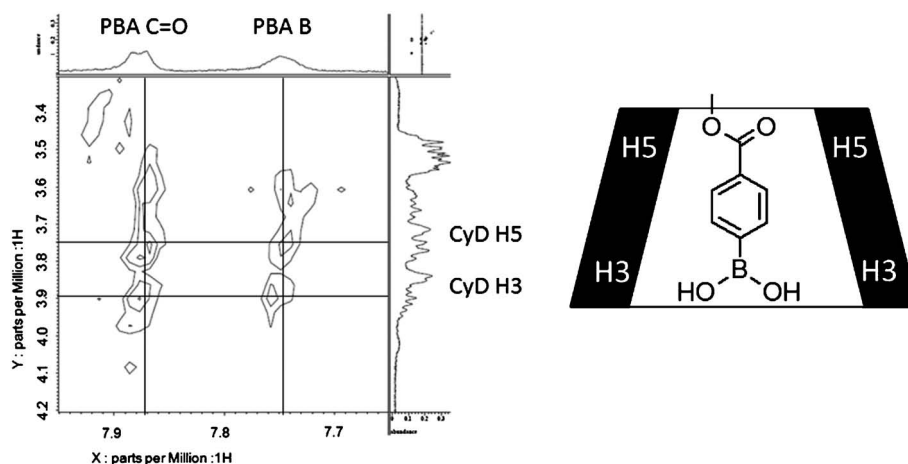


Fig. 6. The 2D NOESY Spectrum (600 MHz) of PBA- β -CyD (Saturating concentration in D₂O at 25°C, mixing time 1500 ms), and the Proposed Interaction between the PBA Moiety and the Cavity of β -CyD

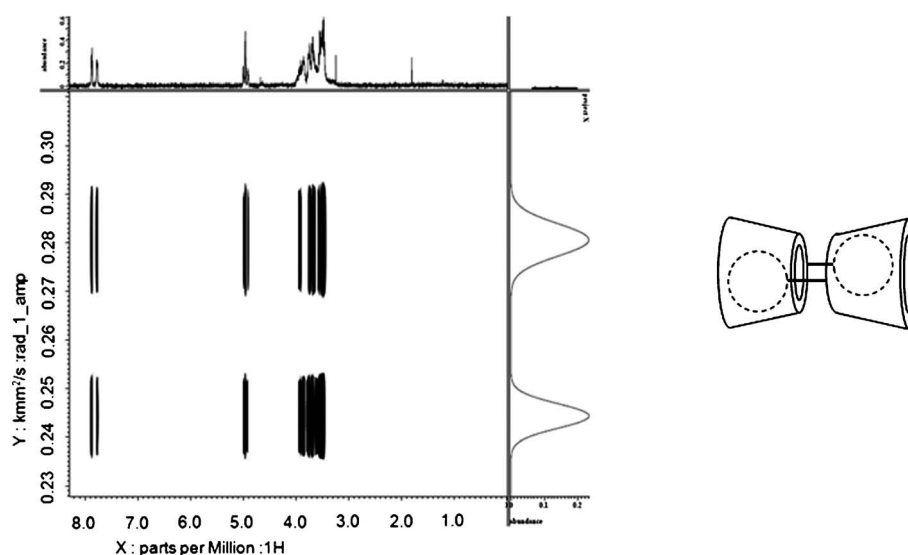


Fig. 7. The 2D DOSY Spectrum (600 MHz) of PBA- β -CyD (Saturating concentration in D₂O at 25°C, diffusion time 0.1 s, grad 2.0 ms), and the Proposed Structure of a Head-to-Head Dimer of PBA- β -CyD

であると考えられた。分子間相互作用の向きはヘッドトゥーヘッド、ヘッドトゥーテイルの2種類が考えられるが、これら二次元NMRの結果からは、どちら向きの相互作用であるか、判断することができなかった。

固体状態でのPBA-CyDの超分子構造の観察を行うため粉末X線構造回折(powder X-ray diffraction; PXRD)の測定を実施した(Figs. 8 and 9)。PBA- α -CyDのPXRDパターンを様々な結晶を持つ α -CyD誘導体や α -CyD包接体のパターンと比較した。すると、ヘッドトゥーテイルの超分子ポリマーとなるモノ-6-デオキシ-6-アジ化- α -CyDと最も近いパターンを示した(Fig. 8)。¹⁹⁾ このことからPBA-

α -CyDは固体状態においてヘッドトゥーテイルの超分子ポリマーとなることが示唆された。Figure 9はPBA- β -CyDのPXRDパターンである。11.8°と18.3°の鋭いピークは、ヘッドトゥーヘッドの向きで β -CyDが向き合った、チャンネル構造のパターンと一致するものであった。²⁰⁾ このチャンネル型結晶構造をとるためには、PBA- β -CyDの基本構造はヘッドトゥーテイルの相互作用であるものと結論づけた。ヘッドトゥーテイルの分子間相互作用であることはDOSYスペクトルにおいて、トリマーが観察されなかったこととも矛盾しない。PBA-CyDによる超分子ナノ構造の模式図をFig. 10に示す。これらは同様のゲスト修飾CyDであってもCyD空孔

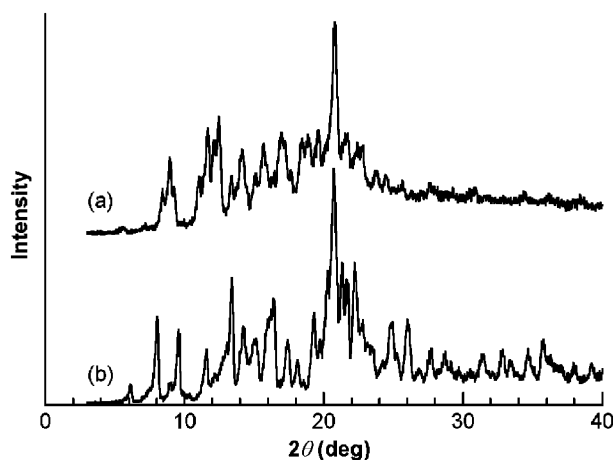


Fig. 8. The PXRD Patterns

(a) PBA- α -CyD, (b) mono-6-deoxy-6-azido- α -CyD. Reproduced with permission from Chemical and Pharmaceutical Bulletin Vol. 61 No. 11. Copyright 2013 The Pharmaceutical Society of Japan.¹⁰⁾

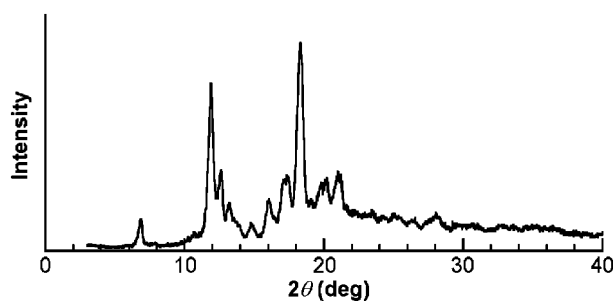


Fig. 9. The PXRD Patterns of PBA- β -CyD

Reproduced with permission from Chemical and Pharmaceutical Bulletin Vol. 61 No. 11. Copyright 2013 The Pharmaceutical Society of Japan.¹⁰⁾

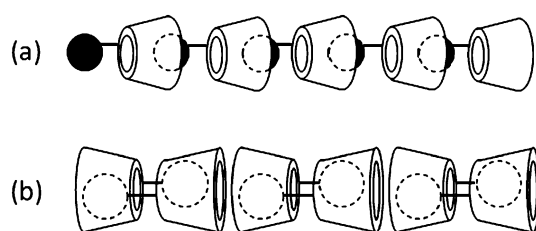


Fig. 10. Proposed Supramolecular Structures of PBA-CyDs in Solid State

(a) Had-to-tail supramolecular polymer based on PBA- α -CyD, (b) head-to-head dimer based on PBA- β -CyD. Reproduced with permission from Chemical and Pharmaceutical Bulletin Vol. 61 No. 11. Copyright 2013 The Pharmaceutical Society of Japan.¹⁰⁾

の大きさの違いにより、異なる超分子構造を形成する興味深い知見である。

5. PBA-CyD 超分子複合体の糖応答性

分子間相互作用による超分子複合体を形成することが示された PBA-CyD について、その糖応答性を

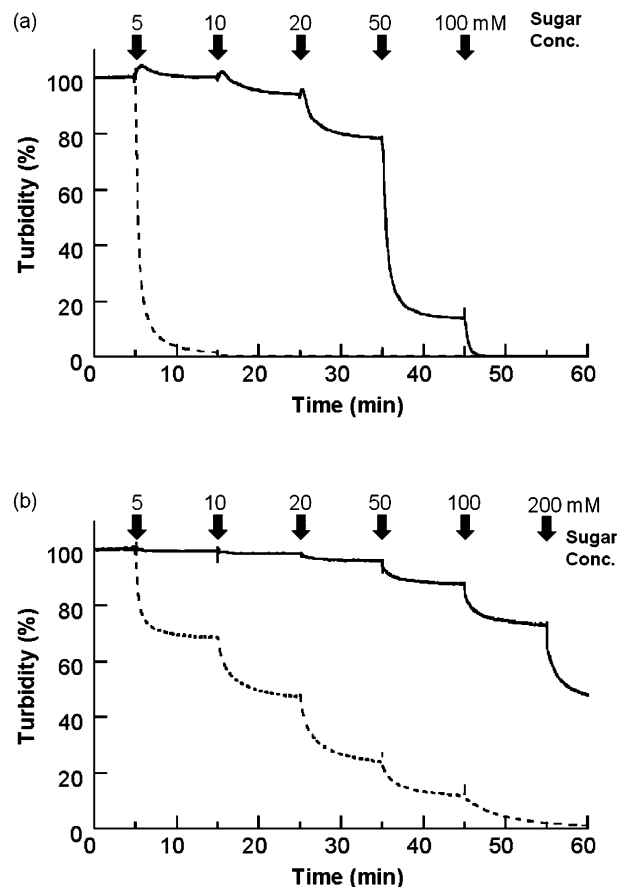


Fig. 11. Sugar-dependent Turbidity Change of PBA-CyDs in PBS (pH 7.4) at 37°C

(a) PBA- α -CyD, (b) PBA- β -CyD; solid line (Glu), dashed line (Fru). Reproduced with permission from Chemical and Pharmaceutical Bulletin Vol. 61 No. 11. Copyright 2013 The Pharmaceutical Society of Japan.¹⁰⁾

調査することとした。糖応答性は、PBA-CyD を溶液中に懸濁させ、そこに糖を添加したときの濁度変化で調査した。ダルベッコリン酸生理食塩液 (PBS, pH 7.4, 2.0 mL) を 37°C に保ちスターラーによって攪拌した。そこに PBA- α -CyD (11 μ mol) あるいは PBA- β -CyD (3.9 μ mol) を加えた。濁度が一定になった後、糖のストック溶液 (1.0 M) を少量加え、所定の糖濃度溶液になるようにした。Figure 11 (a) は PBA- α -CyD のグルコース、フルクトースを加えたときの濁度変化を示す。フルクトースでは、5 mM を添加したところで濁度がほぼ 0% まで減少し、ほぼ完全に PBA- α -CyD 固体が溶解した。フルクトースはグルコースよりも強く PBA 誘導体と結合を作ることが知られている。今回の PBA-CyD においてもフルクトースでより鋭敏な応答が得られたことは、PBA 部位が本来の糖結合能を有していることを示す。PBA- β -CyD の濁度減少の度合いは、

PBA- α -CyD に比べ小さいものであった [Fig. 11 (b)]. PBA- α -CyD と PBA- β -CyD の糖応答性の差を生じる要因を調査するため、PBA-CyD の糖に対する結合力を評価することとした。各糖に対する PBA- α -CyD と PBA- β -CyD において大きな差はなく (Table 2), PBA 部位の結合力は濁度実験の差を生み出す要因ではないものと考えられた。続いて PBA 部位と CyD 空孔の相互作用の強さを推定するために、PBA-CyD と未修飾 CyD による分子間相互作用を円二色性スペクトルで調査した。楕円率の変化から、その結合定数を評価したところ、PBA- β -CyD と β -CyD の組合せ ($K=258 \text{ M}^{-1}$) において、PBA- α -CyD と α -CyD の組合せ ($K=58 \text{ M}^{-1}$) に比べ、より強い相互作用が確認された。このことから PBA- β -CyD 同士で強い分子間相互作用が存在するものと予想される。PBA- β -CyD では、強い分子間相互作用による強固な超分子構造をつくり、溶解度が低くなり、糖を添加したときの溶解度上昇も比較的小さなものであったと考えられる。

これまでの調査結果から、以下に示すような PBA-CyD の糖応答性メカニズムが提唱される

Table 2. Binding Constants (M^{-1}) of PBA-CyDs ($60 \mu\text{M}$) in PBS (pH 7.4) at 37°C

CyD	Glu	Fru
PBA- α -CyD	22	740
PBA- β -CyD	29	720

Reproduced with permission from Chemical and Pharmaceutical Bulletin Vol. 61 No. 11. Copyright 2013 The Pharmaceutical Society of Japan.¹⁰⁾

(Fig. 12). PBA-CyD が緩衝液中に分散されると、PBA-CyD は固体状態と溶解した状態、すなわち溶解平衡に達する。ここに糖が添加されると、溶解した PBA-CyD が糖と結合する。このとき固体の PBA-CyD は PBA が CyD 空孔に覆われているため、糖結合には関与しない。溶解した PBA-CyD が糖結合型へと変化すると、溶解した PBA-CyD が減少する。この減少を補うため、ルシャトリエの原理により固体の PBA-CyD 超分子構造が崩壊し、溶解した PBA-CyD となる。この糖応答性メカニズムは PBA- β -CyD にも適用できると考えている。

6. PBA- γ -CyD を用いた分子ネckレス調製の試み

PBA- γ -CyD では、その他の PBA-CyD とは異なり、溶解度の低下がみられなかった。これは PBA- γ -CyD のみで超分子構造を形成しないこと、あるいは PBA- γ -CyD の CyD 空孔が空いていることを示すものと考えた。そこで、われわれは PBA- γ -CyD とポリエチレングリコール (PEG) を利用した分子ネckレスの調製を試みた。PEG はタンパク質医薬品の修飾に用いられ、PEG 化したタンパク質には、抗原性の低下、血中滞留性の向上など多く利点がみられ、いくつかの PEG 化タンパク質医薬品は既に上市されている。有馬らはポリエチレングリコール修飾インスリン (PEG-Ins) と CD による分子ネckレス構造を含む複合体 (PEG-Ins/CD) の調製を報告している。⁹⁾ この PEG-Ins/CD からは PEG-Ins が長時間にわたり放出され、徐放性製剤として機能することが示された。われわれは、

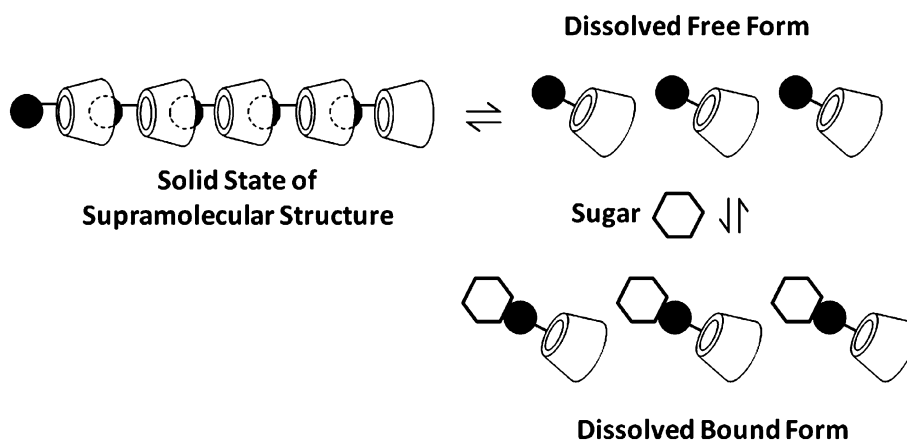


Fig. 12. Proposed Mechanism of Sugar-induced Disintegration of Supramolecular Polymer Structure of PBA- α -CyD

Reproduced with permission from Chemical and Pharmaceutical Bulletin Vol. 61 No. 11. Copyright 2013 The Pharmaceutical Society of Japan.¹⁰⁾

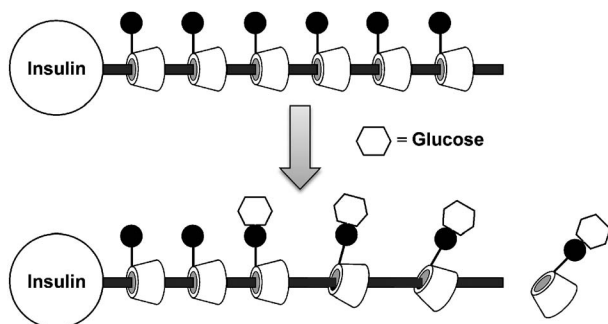


Fig. 13. A Concept of Sugar Responsive Molecular Necklace Composed of PEG-Ins and PBA- γ -CyD

PBA- γ -CyD を用いることで、この分子ネックレスを用いた製剤に、さらに血糖値応答性を付与することができると考えた (Fig. 13)。予備検討として、未修飾 PEG と PBA- γ -CyD を組合せた分子ネックレス (PEG/PBA- γ -CD) を調製することに成功し、この分子ネックレスが糖添加に伴い溶解度が上昇することを見い出している。しかし、PEG/PBA- γ -CD の調製には 60°C、1 カ月の保存が必要であり、タンパク質医薬品への適用は困難と考えられた。また分子ネックレスは化学量論比など、これまでの分子ネックレスとは異なる点が多く、また、PEG/PBA- γ -CD の糖応答性メカニズムも解明されていない。今後、PEG/PBA- γ -CD のより簡便な調製方法の探索、その構造及び糖応答性メカニズムを明らかにすることが課題である。

これら課題をクリアした後、PEG-Ins と PBA-CD を組合せて、分子ネックレス構造を持つインスリン製剤を調製する予定である (PEG-Ins/PBA-CD)。PEG-Ins/PBA-CD は生体内で血糖値濃度を感知し、自ら PEG-Ins を放出するという、ナノマシンの機能を活かした人工膵島になると期待される。

7. まとめ

本研究で示した PBA-CyD をビルディングブロックとした超分子構造は、外部の刺激を感知して、自らその超分子構造を変化させるナノマシンとして機能した。このような糖応答性超分子ナノマシンを、うまくインスリンと組み合わせることで、理想的なインスリンデリバリーシステムになり得ると考えている。また、本研究によって実現することができた、ゲスト部位の構造変化に起因する超分子構造の化学刺激応答性は、新たな刺激応答性材料開発のコンセプトとして、多方面で発展するものと期待して

いる。

謝辞 ここで示した研究は城西大学薬学部で行われたものであり、研究にご協力頂いた中村公薫修士、関 智宏学士にお礼を申し上げます。また、二次元 NMR の測定にご協力頂いた公益財団法人 野口研究所、山ノ井 孝博士、小田慶喜博士に感謝申し上げます。本研究は JSPS 科研費 25860027 の助成を受けたものです。

REFERENCES

- 1) Harada A., Takashima Y., Yamaguchi H., *Chem. Soc. Rev.*, **38**, 875–882 (2009).
- 2) Appel E. A., del Barrio J., Loh X. J., Scherman O. A., *Chem. Soc. Rev.*, **41**, 6195–6214 (2012).
- 3) Harada A., Kawaguchi Y., Hoshino T., *J. Incl. Phenom.*, **41**, 115–121 (2001).
- 4) Harada A., Miyauchi M., Hoshino T., *J. Polym. Sci., Part A, Polym. Chem.*, **41**, 3519–3523 (2003).
- 5) Miyauchi M., Kawaguchi Y., Harada A., *J. Inclusion Phenom.*, **50**, 57–62 (2004).
- 6) Deng W., Yamaguchi H., Takashima Y., Harada A., *Chem. Asian J.*, **3**, 687–695 (2008).
- 7) Harada A., Hashidzume A., Yamaguchi H., Takashima Y., *Chem. Rev.*, **109**, 5974–6023 (2009).
- 8) Ooya T., Yui N., *J. Control. Release*, **58**, 251–269 (1999).
- 9) Higashi T., Hirayama F., Misumi S., Arima H., Uekama K., *Biomaterials*, **29**, 3866–3871 (2008).
- 10) Nakamura K., Seki T., Egawa Y., Miki R., Oda Y., Yamanoi T., Seki T., *Chem. Pharm. Bull.*, **61**, 1188–1191 (2013).
- 11) Nishiyabu R., Kubo Y., James T. D., Fossey J. S., *Chem. Commun.*, **47**, 1124–1150 (2011).
- 12) Egawa Y., Seki T., Takahashi S., Anzai J., *Mater. Sci. Eng. C*, **31**, 1257–1264 (2011).
- 13) Ward C. J., Patel P., James T. D., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 462–470 (2002).
- 14) Hoeg-Jensen T., Havelund S., Nielsen P. K., Markussen J., *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 6158–6159 (2005).
- 15) Matsumoto A., Yoshida R., Kataoka K.,

- Biomacromolecules*, **5**, 1038–1045 (2004).
- 16) Kim H., Kang Y. J., Kang S., Kim K. T., *J. Am. Chem. Soc.*, **134**, 4030–4033 (2012).
- 17) Connors K. A., Lipari J. M., *J. Pharm. Sci.*, **65**, 379–383 (1976).
- 18) Oda Y., Matsuda S., Yamanoi T., Murota A. Katsuraya K., *Supramol. Chem.*, **21**, 638–642 (2009).
- 19) Hanessian S., Benalil A., Simard M., Bélanger-Gariépy F., *Tetrahedron*, **51**, 10149–10158 (1995).
- 20) Gao Y. A., Li Z. H., Du J. M., Han B. X., Li G. Z., Hou W. G., Shen D., Zheng L. Q., Zhang G. Y., *Chem. Eur. J.*, **11**, 5875–5880 (2005).