

各種シクロデキストリンとニトログリセリン
及びエピネフリンとの相互作用並びに製剤化
への応用に関する基礎的研究

星薬科大学
図書館



0000060054

伴 野 和 夫

目 次

緒言	1
第一章 複合体の生成と確認	8
第一節 ニトログリセリンとシクロデキストリンの 複合体の生成と確認	10
溶液状態での相互作用	10
固体複合体の調製	16
固体状態での複合体生成の確認	17
第二節 エピネフリンとシクロデキストリンの 複合体の生成と確認	25
溶解度相図による検討	25
¹ NMRでの検討	25
第三節 実験の部	30
第四節 小括	35
第二章 安定化への応用の検討	36
第一節 ニトログリセリンの揮散の抑制効果	36
第二節 光分解しやすい薬物の光安定化	40
第三節 エピネフリンの酸化分解の抑制	43
第四節 実験の部	45

第五節 小括	49
第三章 シクロデキストリンの製剤化への応用	50
第一節 錠剤への応用	50
第二節 軟膏剤への応用	53
第三節 点眼剤への応用	59
第四節 実験の部	60
第五節 小括	63
第四章 総括	64
謝辞	65
論文目録	66
参考文献	67

結 言

シクロデキストリン (CyD) は環状オリゴ糖であり、Fig. 1 に示すように分子内に疎水性の空洞を有するバケツのような立体構造をもった単分子的ホスト分子である¹⁾。CyDは空洞内にゲスト分子を取り込み包接化合物を形成する。形成した包接化合物はゲスト分子の物理化学的性質を変化させるため、有機化学、食品化学、薬学²⁻⁶⁾などの分野で注目され、その利用に関する研究が行われている。一方、CyDそのものも各種誘導体が造られ、CyDの物理化学的性質の改善も検討されてきた。現在一般に利用されているCyDはTable 1 に示した天然に存在する α -シクロデキストリン (α -CyD)、 β -シクロデキストリン (β -CyD)、 γ -シクロデキストリン (γ -CyD) である。これらは、D-グルコピラノースが6, 7, 8個、 α -1, 4結合したものである。天然にはD-グルコピラノースが13個連なったものまで知られている。その他、Table 2 に示す農林水産省食品総合研究所を中心に製造が検討された分岐形のCyDがある⁷⁻¹²⁾。これは、前記の天然形CyDにグルコースあるいはマルトースを1つまたは2つ α -1, 6結合させたものである。合成タイプのものとしては、2, 6位の水酸基をメチル化したジメチル- β -シクロデキストリン (DM- β -CyD)、2, 3, 6位の水酸基をメチル化したトリメチル- β -シクロデキストリン (TM- β -CyD) などのTable 3 に示すメチル化体¹³⁻¹⁷⁾、さらにTable 4 に示すエポキシで架橋重合したポリマー¹⁸⁾ (CDPS, CDPI) などがある。

薬剤学分野での利用¹⁹⁾には、不溶性薬品の可溶化 (注射剤の開発、吸収促進によるバイオアベイラビリティの改善)、液状薬品の粉体化 (油性ビタミン等の剤形の変更)、揮散、酸化、加水分解などに対する安定化、薬品の徐放化、吸着の防止等が考えられる。剤形的には散剤および錠剤等の経口剤、注射剤、軟膏剤等の外用剤、その他坐剤等あらゆる剤形に利用が可能と考えられる。

CyDの中でも β -CyDは生産量も多く、安価であるのに加えて、その空洞サイズが各種薬品を取り込むのに有利であるため、実用化が期待されるものである。しかし、 β -CyDは水に対する溶解度が他のCyDに比較して低いため、可溶化には不利である。この点を改良するために分岐形のCyD、メチル化体、ポリ

マーなどが提案された。DM- β -CyDは天然形のCyDと比較して水溶性が高くなり、さらに空洞が深くなり、天然形のCyDよりも優れた包接能を示す²⁰⁻²²⁾ことが注目されている。現在DM- β -CyDは高い包接能を利用して工業的方面に使用されている。薬学分野では抗生物質の製造の際、その高回収率化等利用されている。CDPSは製造が簡単であり水溶性も高い。また、生体にも安全であるとの報告²³⁾もあり利用の期待できるCyDの一つである。また、重合度の大きいもの(CDPI)は水に不溶性となり、CyDの固定化ができるため、再生使用のできる分子捕獲型の固定相、触媒としての利用が考えられる²⁴⁾。

人体への安全性等から注射剤、経口投与剤等には天然形か分岐形の利用が実用的である²⁵⁻²⁷⁾と考えられている。特に注射剤では、 β -CyDの水溶性が低いいため β -CyDが腎臓に蓄積され腎障害をおこすことが示唆されており、水溶性が高くそのような障害の小さい分岐CyDの利用が期待される²⁸⁻²⁹⁾。

CyDを利用して実用化された医薬品としてはプロスタグランジンE(安定化、可溶化に α -CyD)、また、塩酸ベネキサート(可溶化に β -CyD)、ピロキシカム(可溶化に β -CyD)、また本論文でとりあげたニトログリセリン(揮散防止に β -CyD)などがあり、今後の研究が待たれるところである。

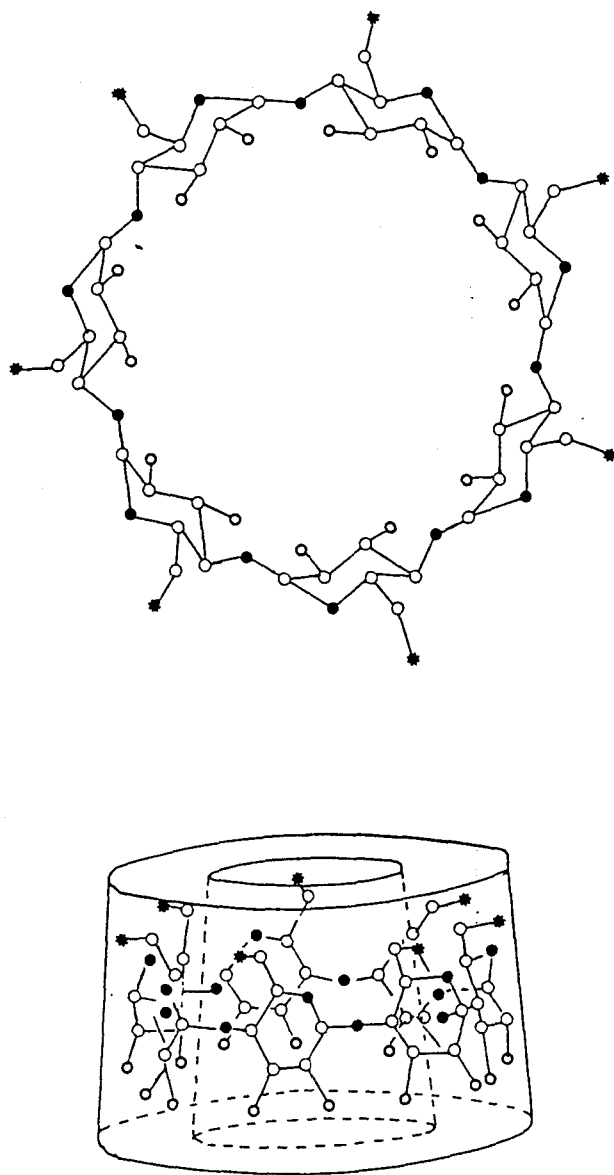


Fig.1 Chemical Structure of β -Cyclodextrin.

Table 1 Physicochemical Properties of Natural CyDs

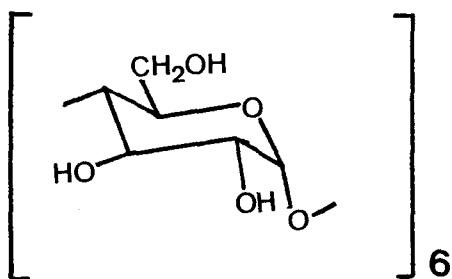
	α -CyD ^{b)}	β -CyD ^{c)}	γ -CyD ^{d)}
Number of glucose units	6	7	8
Molecular weight	973	1135	1297
Internal cavity diameter (Å) ^{a)}	5	6	8
Melting point (°C)	275	280	275
Aqueous solubility (g/100ml at 25°C)	15	1.85	23

a) Estimated by CPK model.

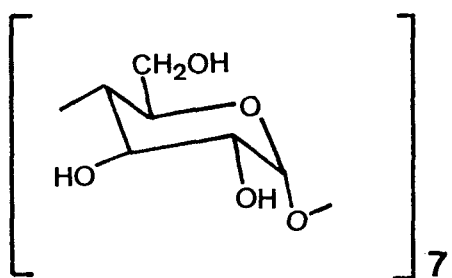
b) Cyclomaltohexaose.

c) Cyclomaltoheptaose.

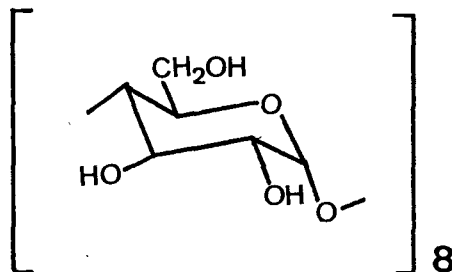
d) Cyclomaltooctaose.



α - Cy D



β - Cy D



γ - Cy D

Table 2 Physicochemical Properties of β -CyD and branched- β -CyDs

	β -CyD ^{b)}	G ₁ - β -CyD ^{b)}	G ₂ - β -CyD ^{c)}
Molecular weight	1135	1297	1459
Internal cavity diameter (Å) ^{a)}	6	6	6
Melting point (°C)	275	291	260
Aqueous solubility (g/100ml at 25°C)	1.85	>50	>50

a) Estimated by CPK model.

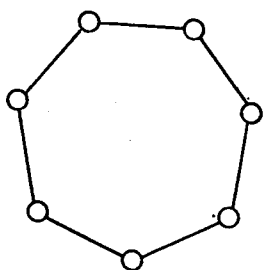
b) Cyclomaltoheptaose.

c) 6-O- α -maltosylcyclomaltoheptaose.

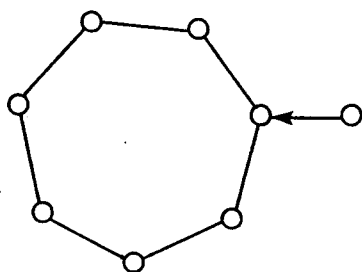
d) 6-O- α -glycosylcyclomaltoheptaose.

○—○ α -1,4 glucosidic linkage

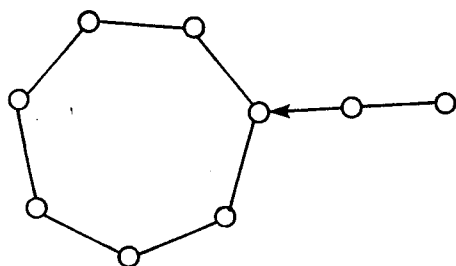
○→○ α -1,6 glucosidic linkage



β -CyD



G₁- β -CyD



G₂- β -CyD

Table 3 Physicochemical Properties of β -CyD and Methylated β -CyDs

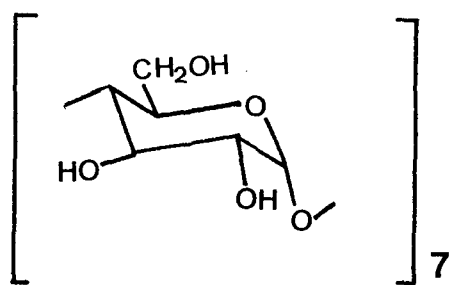
	β -CyD ^{b)}	DM- β -CyD ^{c)}	TM- β -CyD ^{d)}
Molecular weight	1135	1331	1521
Internal cavity diameter (Å) ^{a)}	6	6	4-7
Melting point (°C)	280	295-300	157
Aqueous solubility (g/100ml at 25°C)	1.85	57	31

a) Estimated by CPK model.

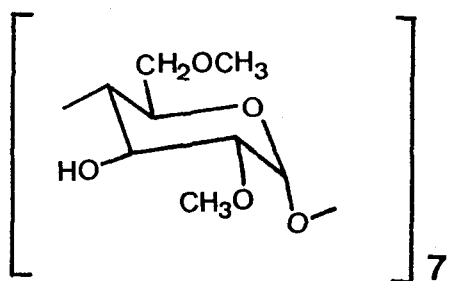
b) Cyclomaltoheptaose.

c) Heptakis(2,6-di-O-methyl)cyclomaltoheptaose.

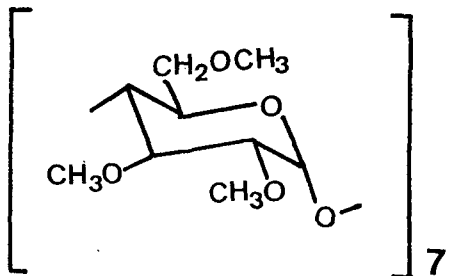
d) Heptakis(2,3,6-tri-O-methyl)cyclomaltoheptaose.



β -CyD



DM- β -CyD



TM- β -CyD

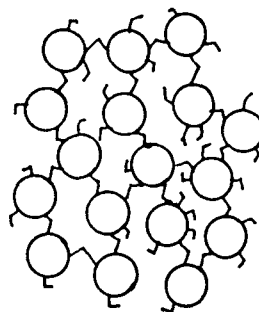
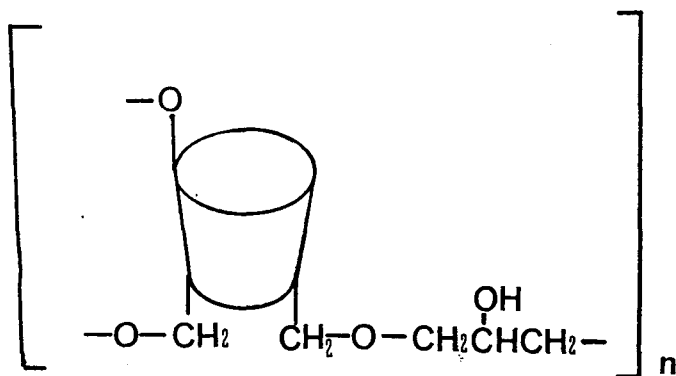
Table 4 Physicochemical Properties of β -CyD, CDPS and CDPI

	β -CyD	CDPS ^{b)}	CDPI ^{c)}
Molecular weight	1135	Polymer of 3-5 molecules	Polymer of 10 molecules over
Internal cavity diameter(Å) ^{a)}	6	6	6
Melting point (°C)	275	450	440
Aqueous solubility (g/100ml at 25 °C)	15	>312	-----

a) Estimated by CPK model.

b) Water-soluble β -CyD-epichlorohydrin polymer

c) Water-insoluble β -CyD-epichlorohydrin polymer



第一章 複合体の生成と確認

シクロデキストリンをホストとして、複合体を生成させる場合、幾つかの手法が用いられる。一般には、ホスト分子とゲスト分子を精製水に溶解して、溶液状態で複合体を生成させる方法である（溶解法）。この方法は比較的簡単に複合体の調製が可能である。また、複合体の生成に要する時間は一般に瞬間的である。しかし、溶液のままでは、錠剤や軟膏剤などの原料として使用しにくく、また実務的でない。したがって、固体状態で複合体を得る必要がある。固体状態の複合体を得るには幾つかの方法がある。ただ単にホスト分子とゲスト分子を精製水に溶解した時、複合体が沈澱を起こす場合には、これを濾過して得る方法（沈澱法²⁹⁾）と、強制的に溶液の溶媒を留去して得る方法（溶媒留去法³⁰⁾）がある。ホスト分子とゲスト分子を精製水に溶解した溶液を噴霧乾燥して得る方法（噴霧乾燥法）、またはその溶液を凍結乾燥して得る方法（凍結乾燥法）等もある。また、溶媒を使用しないでホスト分子とゲスト分子をメカノケミカルな手法により混合粉碎し複合体を得る方法（粉碎法³¹⁾）。さらに、粉碎する際に若干の水を加えペースト状とし、これを風乾させて得る方法（混練法）。その他にホスト分子とゲスト分子をアンプル内に溶封し、外部から熱を加えて複合体を得る方法（密封加熱法³²⁾）などがある。いずれの方法も長所と短所を有しており、ゲストの物理化学的性質と目的によって選択する必要がある。

また、これらの手法により得られた複合体はその生成を確認する必要がある。複合体のゲスト分子の物理化学的性質はもとのゲスト分子の物理化学的性質と異なるので、その変化を確認することにより複合体生成の確証とする。一般には溶解度の変化、沸点の変化、融点の消失および変化、赤外線吸収スペクトル（IR）の変化³³⁻³⁴⁾、核磁気共鳴スペクトル（NMR）のケミカルシフト³⁵⁾、結晶構造の変化および消失³⁶⁾等により確認する。

核磁気共鳴スペクトル法—複合体が生成された場合、分子内のそれぞれの原子は互いに影響し合って、もとの分子の運動状態に変化を生じる。等価のプロトンが存在する場合、複合体の生成により運動の自由をうばわれ非等価となり、ケミカルシフトに変化を生じる事がある。

熱分析－複合体が生成された場合、分子はそれぞれがホスト分子と結合し新たな分子として振る舞う。そのため、新たな結晶を生成したり、あるいは非結晶化する。従って、融点が元の融点と異なったり、融点が消失したりする。同様に沸点も変化する。シクロデキストリンとの複合体の場合、シクロデキストリンの分子量が1000前後と大きいいため複合体の分子量は1000より大きくなり、融点が消失するのが一般的である。

粉末X線回折－複合体が生成された場合、分子はそれぞれがホスト分子と結合し新たな分子として振る舞う。そして、新たな結晶を生成したり、非結晶化したりする。また、同様にホスト分子であるシクロデキストリンもゲスト分子と結合するため、新たな結晶を造ったり、非結晶化したりする。従って、粉末X線のパターンが変化したり、ブロードとなる。

光学測定法－複合体の生成により、分子のコンフォーメーションに変化が生じ、紫外線吸収スペクトル（UV）、円二色性偏光スペクトル（CD）、赤外線スペクトル（IR）、蛍光スペクトル等のチャートのピーク位置や強度に変化が生じる。

第一節 ニトログリセリン (TNG : trinitroglycerol) と シクロデキストリンの複合体の生成と確認

溶液状態での相互作用

溶解度法⁷⁾による検討

ニトログリセリン (TNG) と β -シクロデキストリン (β -CyD), TNGと水溶性シクロデキストリンポリマー (CDPS) およびTNGとマルトシル- β -シクロデキストリン (G_2 - β -CyD) の溶解度相図をFig. 2 (a), (b), (c) に示した。各シクロデキストリンを添加することにより, いずれも, TNGの飽和濃度を上回るTNG溶解度の上昇が見られ, 溶液中での複合体の生成を示唆した。TNGと各種 β -CyDとの相図のタイプと相図の初期の直線部分から求めた見かけの安定度定数 (K') をTable 5 に示した。また, Bsタイプを示すTNGと β -CyDの複合体の結合比を溶解度の上昇とプラトーな部分の比から求めるとTNG: β -CyD=1.01 : 1.00となりおよそ1 : 1のモル比で生成されていた。

$$\text{見かけの安定度定数} = \frac{\text{初期直線部分の傾き}}{\text{溶媒へのゲスト分子の飽和濃度} \times (1 - \text{初期直線部分の傾き})}$$

$$\text{複合体の結合比} = \frac{\text{TNGの飽和濃度の上昇分 (M)}}{\text{TNGの溶解度のプラトー領域における } \beta\text{-CyDの濃度変化 (M)}}$$

核磁気共鳴スペクトルによる検討

複合体の生成は核磁気共鳴スペクトルの測定によっても推測することができる。すなわち, シクロデキストリンとTNGが複合体を生成すると, 互いの分子が作用し合い, 分子振動に変化が生じ, スペクトルピークの化学シフトとして観察される。 β -CyD, G_2 - β -CyDとTNGの混液について測定したところ, Table 6 に示す結果を得た。すなわち, TNGのA, Bのピークは高磁場側にシフトし, A'のピークは低磁場側にシフトした。これはTNGと β -CyDおよび G_2 - β -CyDが複合体を生成することに由来しているものと考えられた。

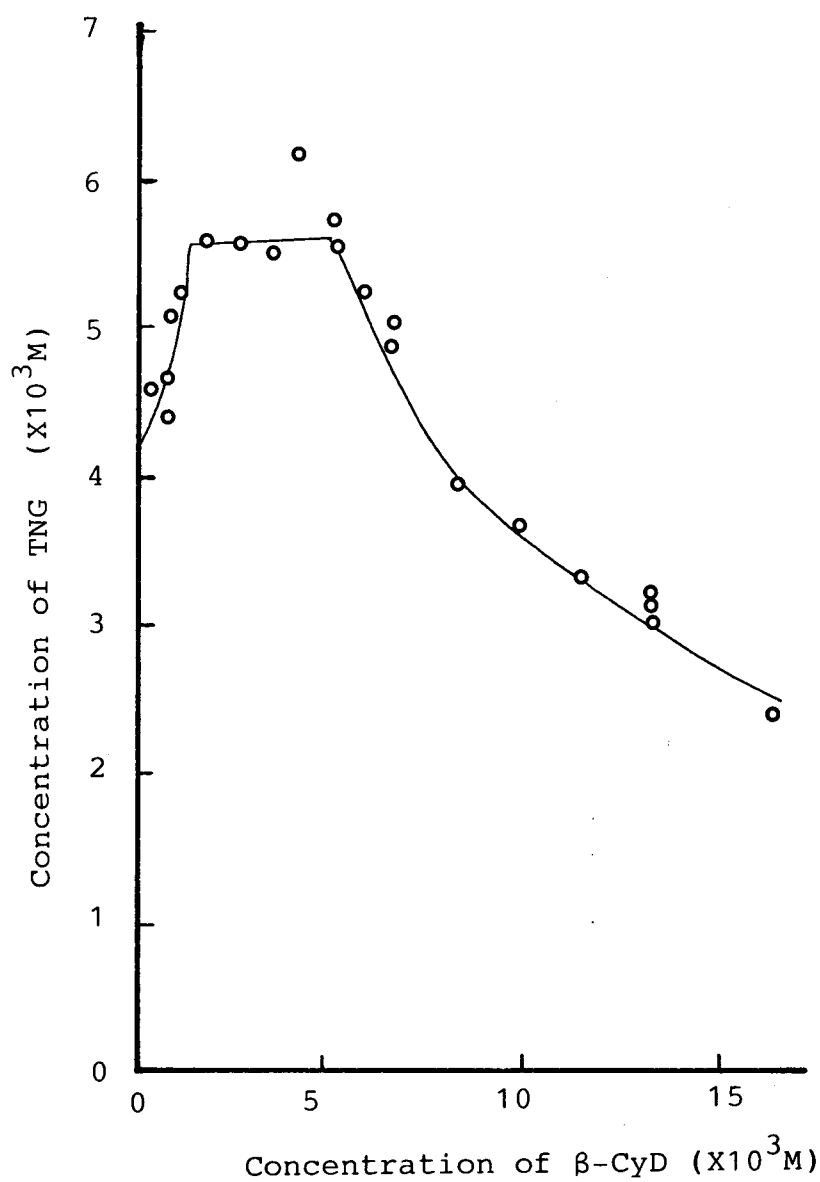


Fig.2(a) Phase Solubility Diagram of TNG/ β -CyD in Water at 37°C

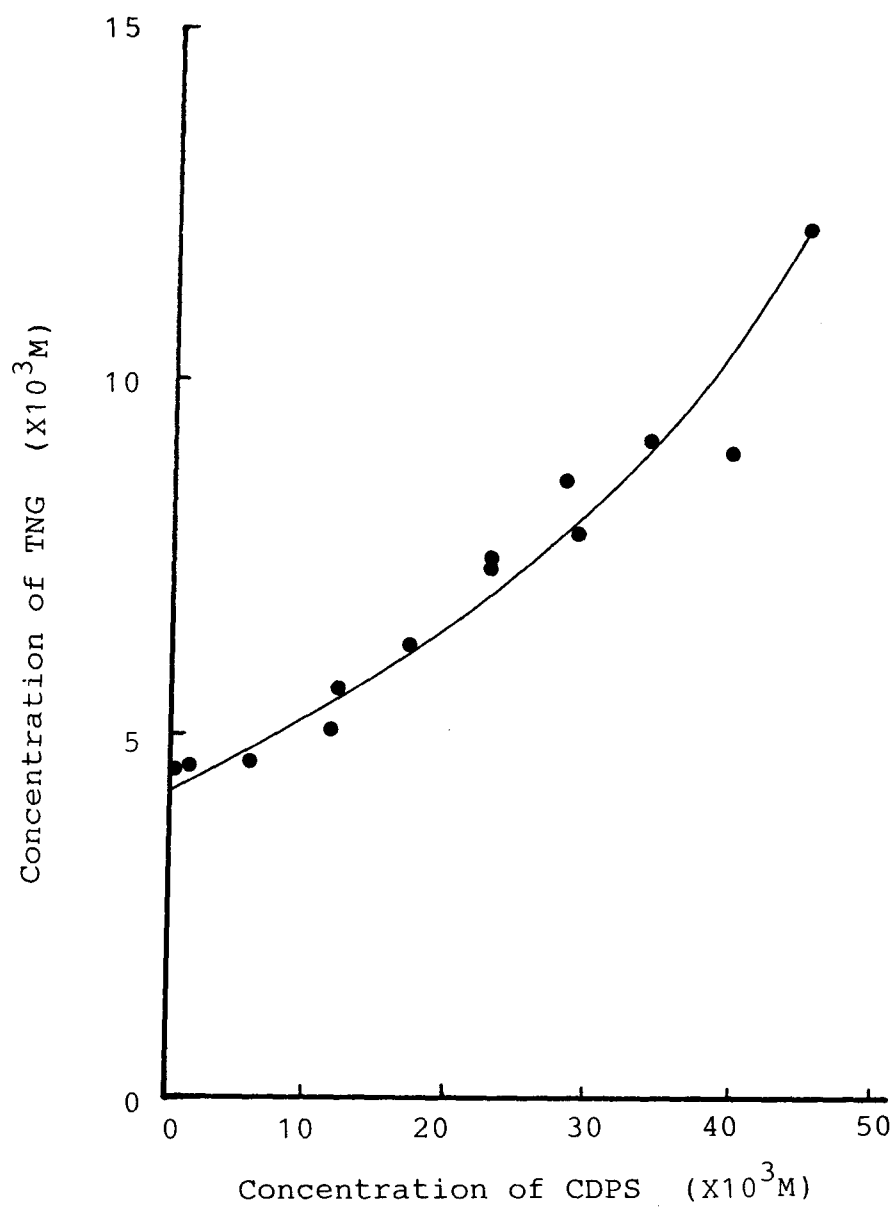


Fig.2(b) Phase Solubility Diagram of TNG/CDPS in Water at 37°C

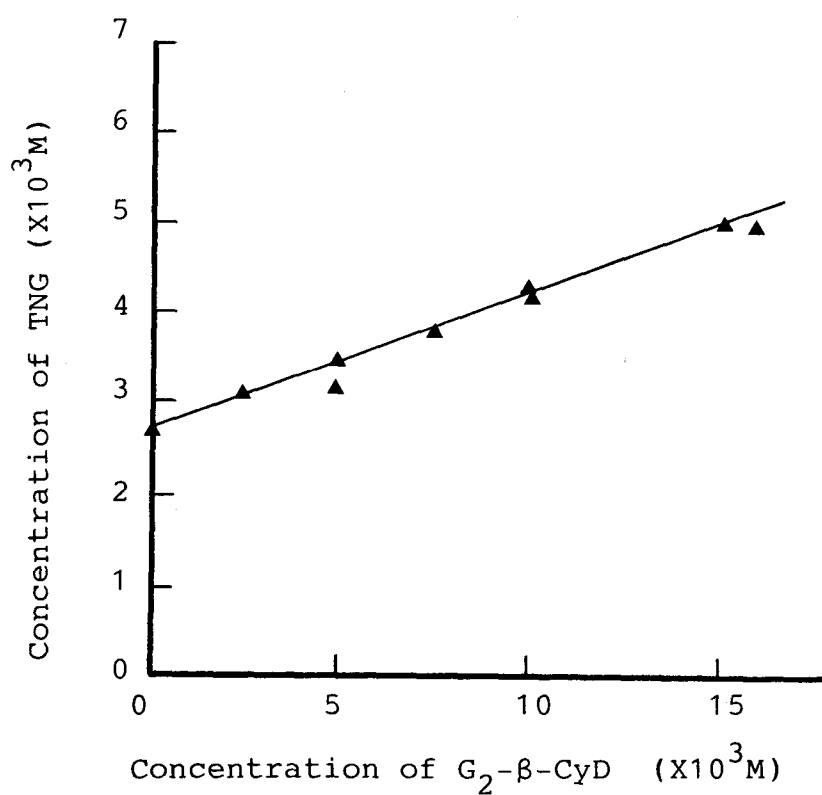
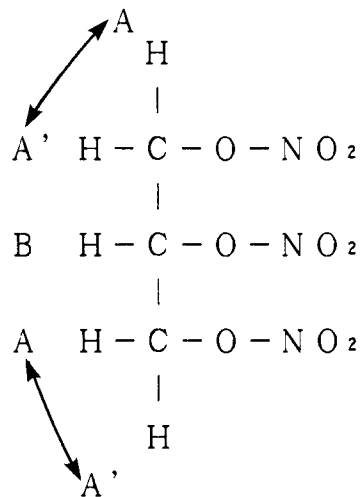


Fig.2(c) Phase Solubility Diagram of TNG/ $\text{G}_2\text{-}\beta\text{-CyD}$ in Water at 5°C

Table 5 Stability Constants of TNG-CyD Complexes
Determined by Solubility Method in Water

Cyclodextrin	Stability constant(M^{-1})	Type of solubility curve
β -CyD	154 (37°C)	B _S
CDPS	26.25(37°C)	A _P
G ₂ - β -CyD	67.95 (5°C)	A _L
DM- β -CyD	54.12 (5°C)	A _L
TM- β -CyD	38.33 (5°C)	A _P

Table 6 ^1H -NMR Data from TNG in Presence or Absence of β -CyD or G_2 - β -CyD^a



Proton	Chemical shift (ppm)				
	TNG	+ β -CyD	Δ	+ G_2 - β -CyD	Δ
A	4.6128dd	4.6036dd	-0.0092	4.6013dd	-0.0115
A'	4.7572dd	4.7609dd	0.0037	4.7620dd	0.0043
B	5.5566m	5.5517m	-0.0049	5.5499m	-0.0067

^a β -CyD, 0.01M; G_2 - β -CyD, 0.01M; TNG, 0.005M; in D_2O .

固体複合体の調製

溶媒留去法による調製

複合体の調製には種々の方法があるが、溶媒留去法による調製法はCyDとゲスト分子が水溶性であるか、生成された複合体が高い水溶性を示す時に利用できる。TNGと β -CyDについては溶媒留去法により複合体を調製したとの報告³⁰⁾があるので、これに習ってTNGと β -CyD、TNGとCDPS、TNGとG₂- β -CyDおよびTNGとその他 β -CyD誘導体との複合体の調製を行った。すなわち、TNGと各CyDをモル比1 : 1となるように秤取し、両者を精製水に充分溶解した後エバポレーターで精製水を留去して粉末状の複合体を調製した。

粉碎法による調製

粉碎法による固体複合体の調製は水を必要としない方法として大変興味深い。CyDと複合体を生成する薬品は疎水性であること（疎水性の部分が分子内に存在すること）が必要であり、このような薬品は当然水溶性は乏しいと考えられる。従って、水に溶解して複合体を得る方法はその実施範囲が限られる。その点、粉碎法は水への溶解を必要としないので、ほとんど全ての薬品に対して実施することが可能と考えられる。

β -CyDとTNGの混合物を1, 2, 4, 7時間粉碎した後40°C 2 mmHgの条件で放置し経時的に残存するTNGを定量した結果をFig. 3に示した。放置2時間後、TNGの残存量は一定となった。すなわち、この残存するTNGが β -CyDと複合体を生成しているTNGの量と考えられた。また、粉碎時間が長くなるに従いTNGの残存量は増加した。Fig. 4には β -CyD、CDPS、水不溶性ポリマー（CDPI）およびG₂- β -CyDとTNGの混合をモル比1 : 1として粉碎し、粉碎時間と複合体の生成量について検討した結果を示した。すなわち、粉碎時間の延長とともに複合体の生成量が増加し、加えられるメカノケミカルなエネルギーの量と生成する複合体の量の間に正の相関関係のあることが示唆された。また、複合体の生成に要するエネルギーはCyDの種類によって異なり、複合体生成量の最大値までに要する時間は β -CyDで約12時間、CDPSで約18時間、CDPIでは約30時間であった。すなわち、複合体の生成には β -CyDに比べて

CDPSで1.5倍，CDPIで2.5倍のエネルギーが必要であった。 $G_2-\beta-CyD$ の場合はFig. 5に示すようにCDPSやCDPIよりも $\beta-CyD$ に近い複合体の生成過程を示した。Fig. 6にはCDPIとTNGの混合比を1 : 1，1 : 0.6，1 : 0.3と変化させて複合体の生成量と粉碎時間について検討した。その結果，TNGに対しCDPIの混合比が増えると複合体の生成速度が速くなる事が確認された。

粉碎操作による各種シクロデキストリン類の分子への影響

$\beta-CyD$ ，CDPSの粉碎による分子サイズの変化をゲルパーミエーションクロマトグラフィーにより測定したところ，Fig. 7 (a)，(b) のチャートを得た。この結果 $\beta-CyD$ ，CDPSともに分子量分布に変化は見られず $\beta-CyD$ ，CDPSは破壊されないことが示唆された。

また，CDPIについては，粉碎物を経時的にサンプリングし精製水に溶解してその旋光度を測定したところ，Fig. 8に示すように，粉碎時間の経過とともに旋光度の上昇が観測され，CDPIが粉碎にともない破壊されることを示した。

固体状態での複合体生成の確認

熱分析による複合体の分析

溶媒留去法で得られた $\beta-CyD$ およびCDPSとTNGの白色の複合体の示差走査熱量測定 (DSC) のチャートを Fig. 9 に示した。粉碎法によって得られた $\beta-CyD$ ，CDPSおよびCDPIとTNGの粉末のDSCのチャートをFig.10に示した。また， $\beta-CyD$ および $G_2-\beta-CyD$ とTNGの粉碎法と溶媒留去法で調製した粉末のDSCのチャートをFig.11に示した。 $\beta-CyD$ ，CDPS， $G_2-\beta-CyD$ とTNGの吸熱温度はそれぞれ，185℃，188℃，185℃～188℃であった。これはTNGがCyDから遊離する温度，即ちTNGの気化温度が185℃～188℃になったことを示している。したがって，粉碎法と溶媒留去法により生成されたこれら複合体はほぼ同一の包接状態であることを示唆している。

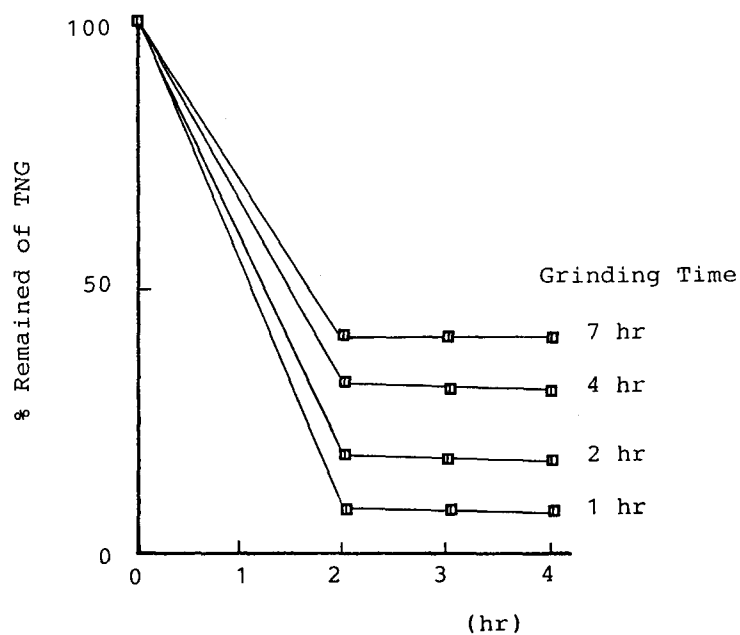


Fig.3 % Remained of TNG in TNG/CDPI (0.3/1) System under Reduced Pressure 2mmHg at 40°C

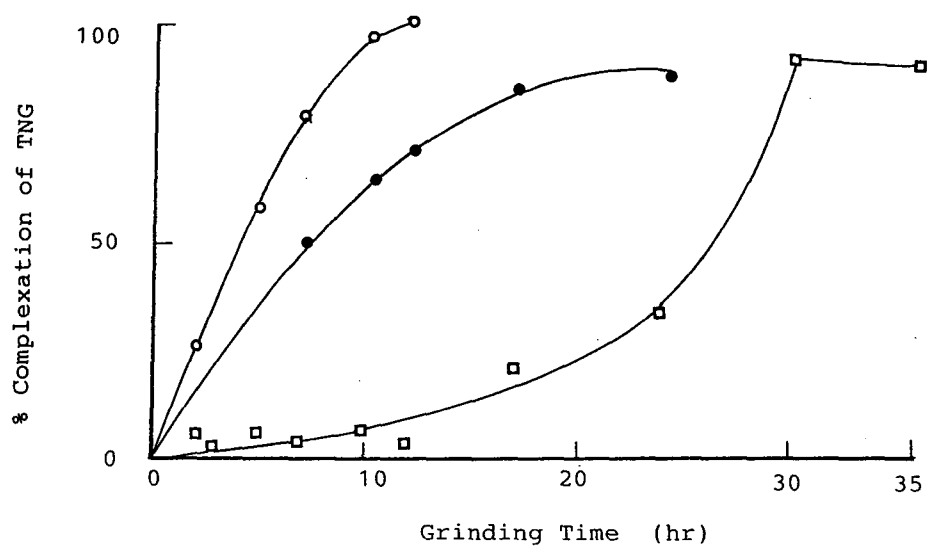


Fig.4 Effect of Grinding Time on Complexation between TNG and CyD Derivatives

○ : TNG/β-CyD, ● : TNG/CDPS, □ : TNG/CDPI.

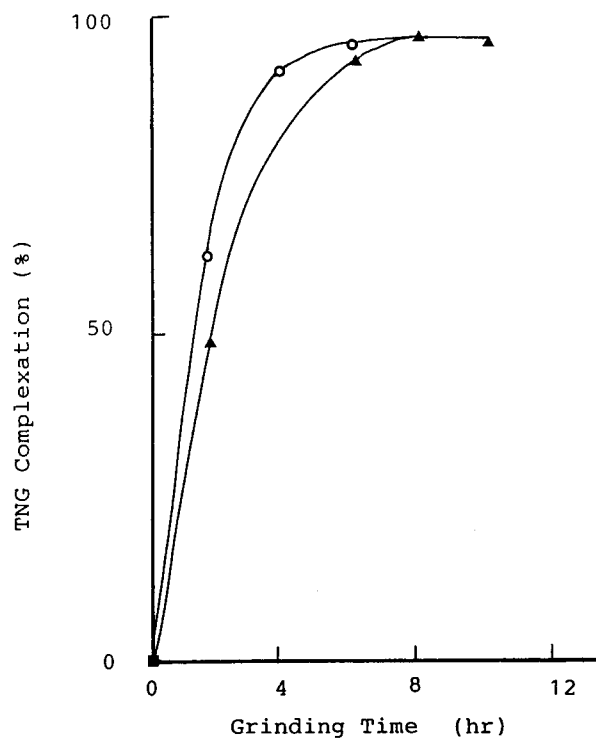


Fig.5 Effect of time of Grinding on the Complexation of TNG with β -CyD (○) and G_2 - β -CyD (▲)

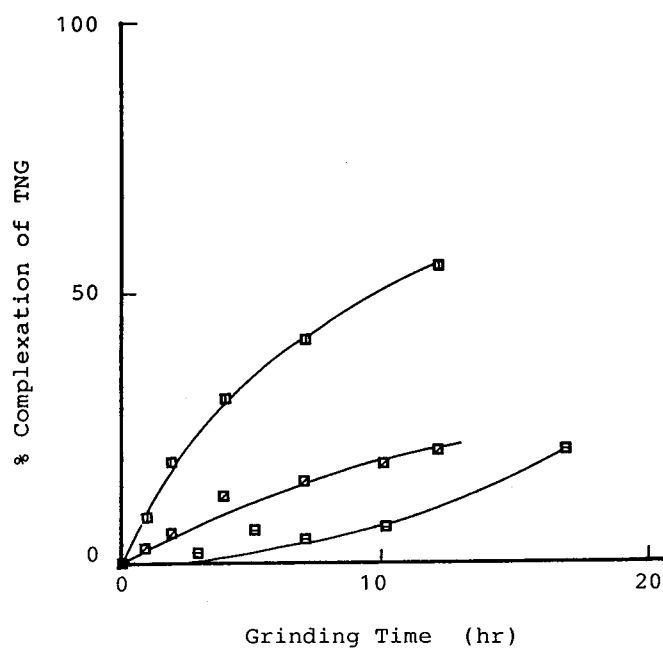


Fig.6 Effect of the TNG/CDPI Ratio on Complexation
 □ : TNG/CDPI=0.3/1, ◻ : TNG/CDPI=0.6/1, ○ : TNG/CDPI=1/1.

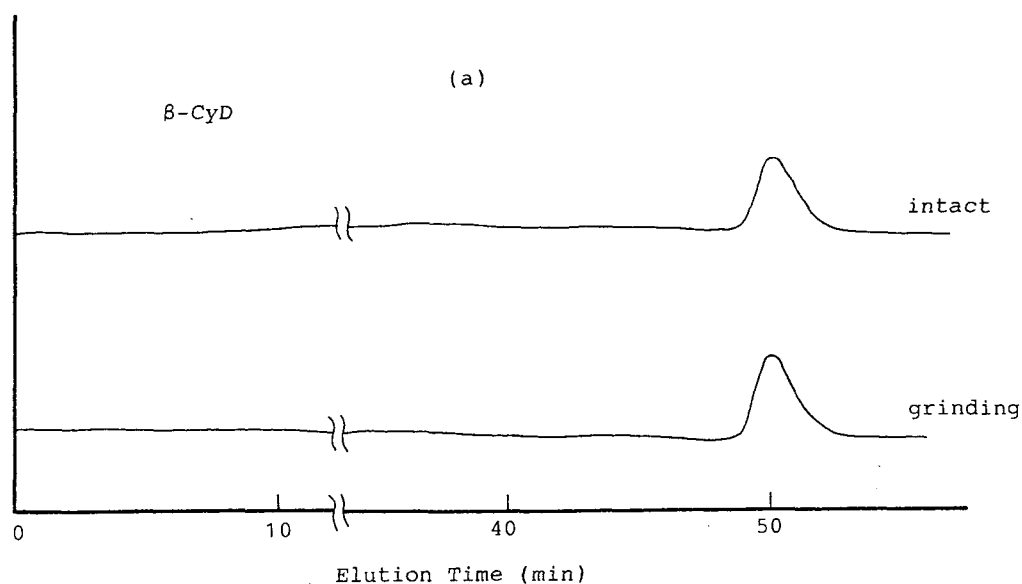


Fig.7(a) Gel-permeation Chromatograms of β -CyD after Grinding
 Column : Asahipak[®] GS-310, Size : 7.6×500mm, Eluent : H₂O,
 Flow rate : 0.4ml/min, Detector : Refractive Index Meter.

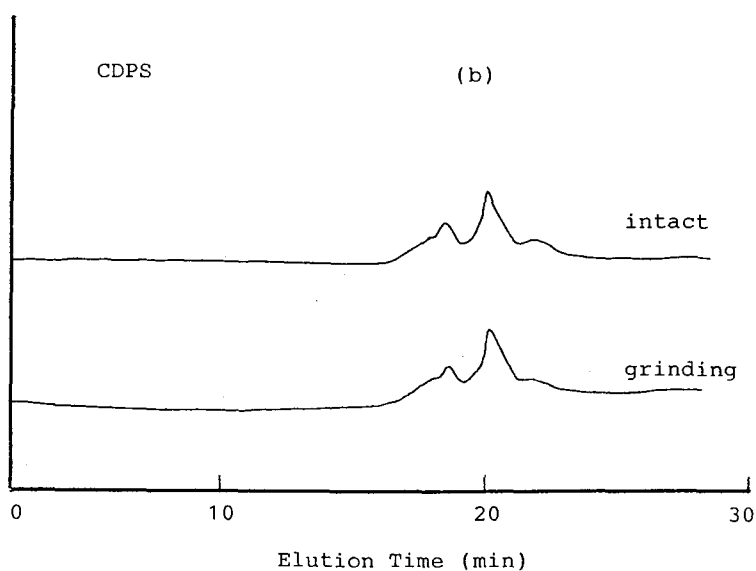


Fig.7(b) Gel-permeation Chromatograms of CDPS after Grinding
 Column : Asahipak[®] GS-310, Size : 7.6×500mm, Eluent : H₂O,
 Flow rate : 0.4ml/min, Detector : Refractive Index Meter.

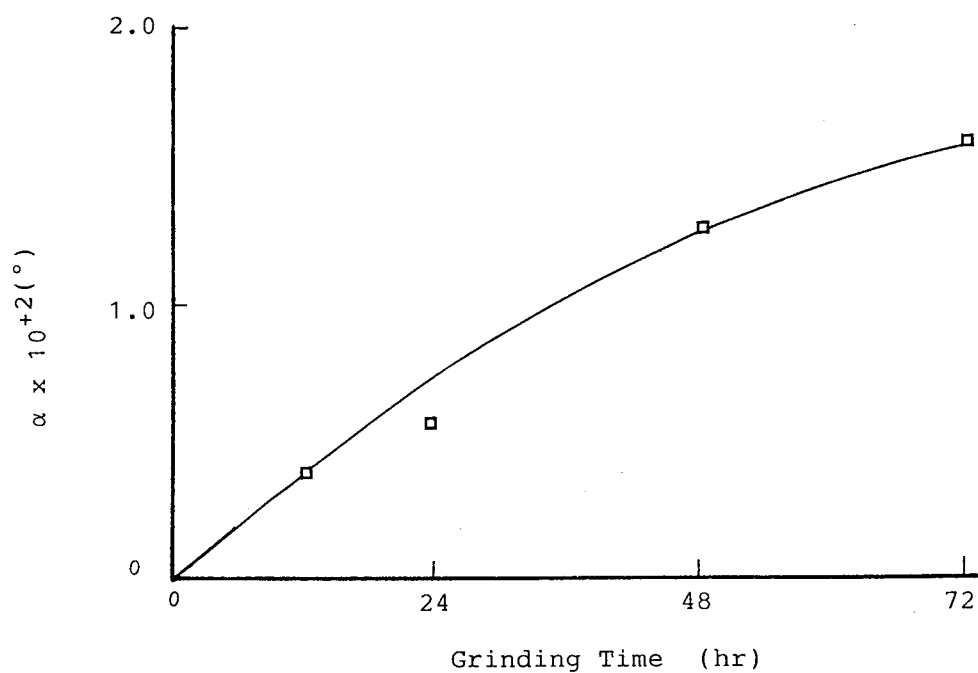


Fig.8 Polarimetry of CDPI after Grinding

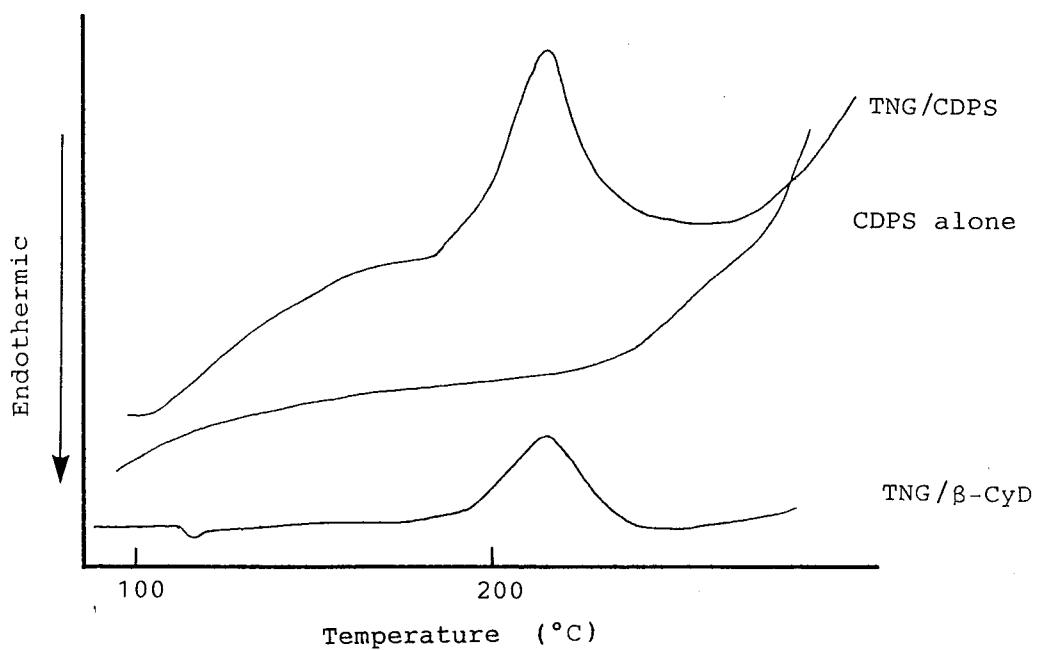


Fig.9 DSC Curves of CDPS, TNG/CDPS and TNG/ β -CyD Complex by Evaporation Method

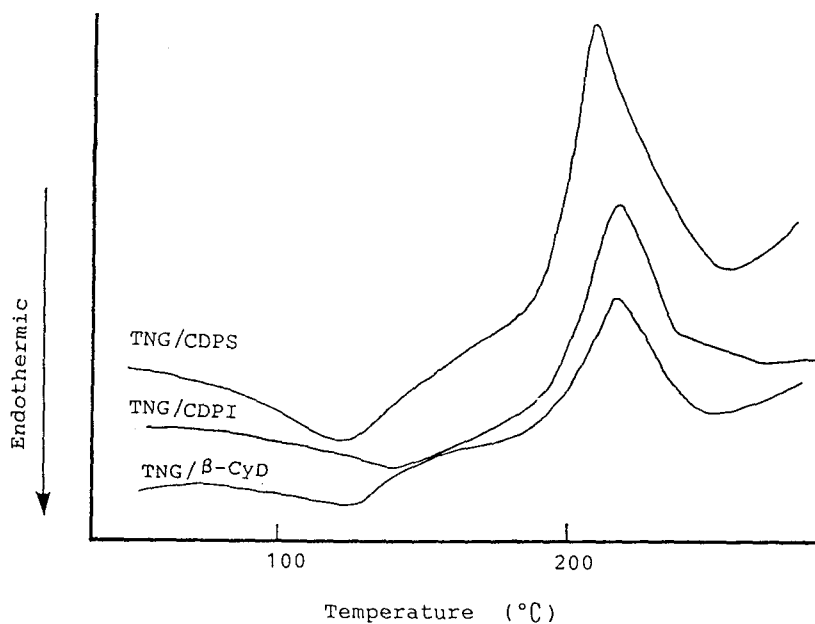


Fig.10 DSC Curves of TNG/CDPI, TNG/CDPS and TNG/ β -CyD Grinding Mixtures

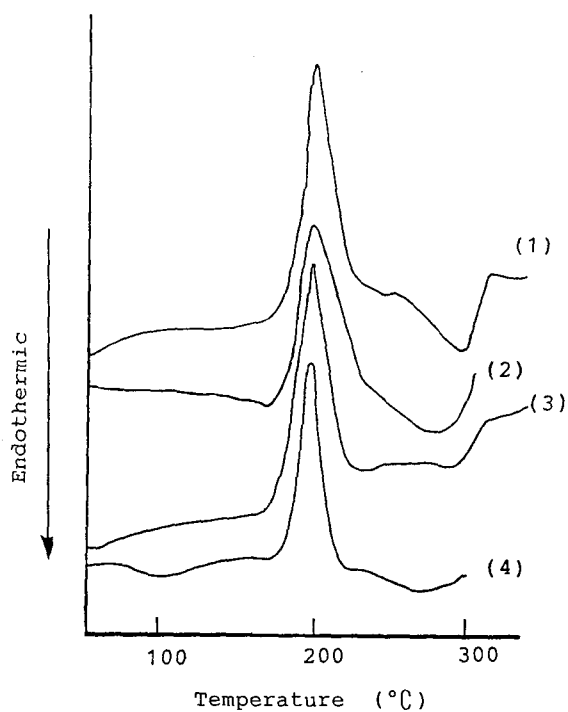


Fig.11 Differential Scanning Calorimetry at 5°C/min of TNG/G₂- β -CyD Prepared by Evaporation(1) and Grinding(2) Methods, and TNG/ β -CyD Prepared by Evaporation(3) and Grinding(4) Methods

赤外線スペクトルによる検討

β -CyD, CDPSおよびCDPIとTNGの混合, 粉碎, 溶媒留去のサンプルを測定した結果をTable 7, Table 8に示した。 β -CyD, CDPSの物理的混合物に比較して粉碎物、溶媒留去物の場合、C-0 伸縮振動、N-0 伸縮振動による吸収の位置が若干低波数側に移動していることが観測された。この事実は、複合体の形成による可能性がある。

Table 7 IR Spectral Change of TNG with CDPS (cm^{-1})

Vibrations	Intact TNG	Physical mixture of CDPS/TNG	CDPS/TNG complex by grinding method	CDPS/TNG complex by evaporating method
ν_{as} NO_2	1675	1658	1652	1653
	1654	1648		
	1645			
ν_{s} NO_2	1293	-	1292	1293
ν_{s} NO_2	1276	1275	1276	1276
ν C-O	1049	1054	- *1032	- *
ν O-N	901	904	891 *900	904 *898
ν O-N	840	844	841 *838	841 *838

*Under reduced pressure 2mmHg at 40 °C for 2hr

Table 8 IR Spectral Change of TNG with β -CyD (cm^{-1})

Vibrations	Intact TNG	Physical mixture of β -CyD/TNG	β -CyD/TNG complex by grinding method	β -CyD/TNG complex by evaporating method
ν_{as} NO_2	1675	1658	1658	1659
	1654	1648		
	1645			
ν_{s} NO_2	1293	-	1291	1292
ν_{s} NO_2	1276	1276	1275	1275
ν C-O	1049	1052	1050 *1034	1053 *1034
ν O-N	901	901	898 *899	898 *898
ν O-N	840	845	835 *838	834 *835

*Under reduced pressure 2mmHg at 40 °C for 2hr

第二節 エピネフリンとシクロデキストリンの複合体の生成と確認

β -エピネフリン (Ep) は酸化されやすく、また精製水に対して溶解度が大変低い³⁸⁾。従って、製剤としては、一般に塩酸エピネフリンあるいは酒石酸水素エピネフリンとして利用されている。経皮、点眼等の外用剤としてそれらを利用する場合には、吸収の面から塩基の形で投与することが可能ならばより望ましい。しかし、Epは安定性、溶解性の問題点より、塩基のかたちで投与することは困難であった。 β -シクロデキストリン (β -CyD) とEpに関する研究は、R. Huttenrauらによる糖類と混合したときのEpの酸化抑制効果についての報告がある³⁹⁾。また、総説中で上釜らによりCyDの薬剤への応用の可能性の一つとしてEpへの応用がわずかに触れられている¹⁹⁾が詳しく論じられていない。そこでCyDとEpの相互作用について詳細な検討を行った。

溶解度相図による検討

各種CyDとEpの溶解度相図をFig. 12に示した。すべてALタイプを示した。初期の直線部分の傾きから求めた見かけ上の安定度定数はTable-9に示した。 β -CyDが最も大きく、次いでグリコシル- β -CyD (G_1 - β -CyD)、マルトシル- β -CyD (G_2 - β -CyD) の順となった。しかし α -シクロデキストリン (α -CyD)、 γ -シクロデキストリン (γ -CyD) では小さな値となり、 β -CyD類が複合体生成に有利であることを示唆する結果が得られた。また、 β -CyD、 G_1 - β -CyD、 G_2 - β -CyDの順に、側鎖が大きくなるに従って安定度定数が小さくなった。この様な現象はCarmofur等でも観察されており原因は側鎖による立体障害の影響と考えられている⁴⁰⁾。

$^1\text{H-NMR}$ での検討

$^1\text{H-NMR}$ を測定したチャートはFig. 13に、またそれぞれのピークはTable 10に示した。その結果、 β -CyD類ではメチル基の低磁場側へのシフトが観察された。また、メチレン基は β -CyD類では多くのピークに分離するとともに、高磁場側へのシフトが観察された。メチレン基のケミカルシフトは非等価となりそのシフトは β -CyDとEpでは δ :3.02 (1H, dd, $J=4.4, 3.0\text{Hz}$, CH_2) と

3.00(1H, dd, $J=8.8, 8.0\text{Hz}$, CH_2), G2- β -CyDとEpでは δ : 2.88(1H, dd, $J=10.3, 16\text{Hz}$, CH_2) と2.95(1H, dd, $J=3.6, 3.6\text{Hz}$, CH_2), G1- β -CyDとEpでは δ :2.88 (1H, dd, $J=10.3, 16\text{Hz}$, CH_2) と2.95 (1H, dd, $J=3.6, 3.6\text{Hz}$, CH_2) であった。これは, CyD 環内へEpが取り込まれ側鎖の回転が抑制されるためと考えられ, 包接を示唆している。メチン基は H_2O のピークと重なり読み取れなかった。ベンゼン環に関わるHa, Hb, Hcのピークは高磁場側にシフトし, 重なっていたHbとHcのピークがはっきりと分離した。この現象も, CyD環内へEpが取り込まれるための現象と考えられ, 包接を示唆している。対照としてプルランを添加して ^1H -NMRを測定したところ, CyDで見られたようなシフトは観察されなかった。また, β -CyDを添加したときの溶解度は, β -CyD自身の溶解度を越えることから β -CyDとEpの複合体は β -CyDよりも親水性となったと考えられた。このことより親水基であるEpの2つの水酸基がCyD環の外側に存在し, 全体として親水性を獲得するものと推定された。また, NOE相関2次元NMR測定によりCyDの空洞内に取り込まれた分子とCyDとの関係が推測できるとの報告⁴¹⁾があるので測定し検討を行った。NOE相関2次元NMR測定では予想するCyDの空洞の内側に位置するH3, H5とEpのベンゼン環のHa, Hb, Hcとの相関ピークが観察されなかった。しかし, これはCyD内へのEpの包接を否定するものではない。すなわち, NOESYは分子運動と密接な関係にあり分子どうしが近くに存在しても観察されないことがある⁴²⁾とされているからである。

以上より, Epは β -CyD類と複合体を生成した。特に β -CyDと安定な複合体を生成した。

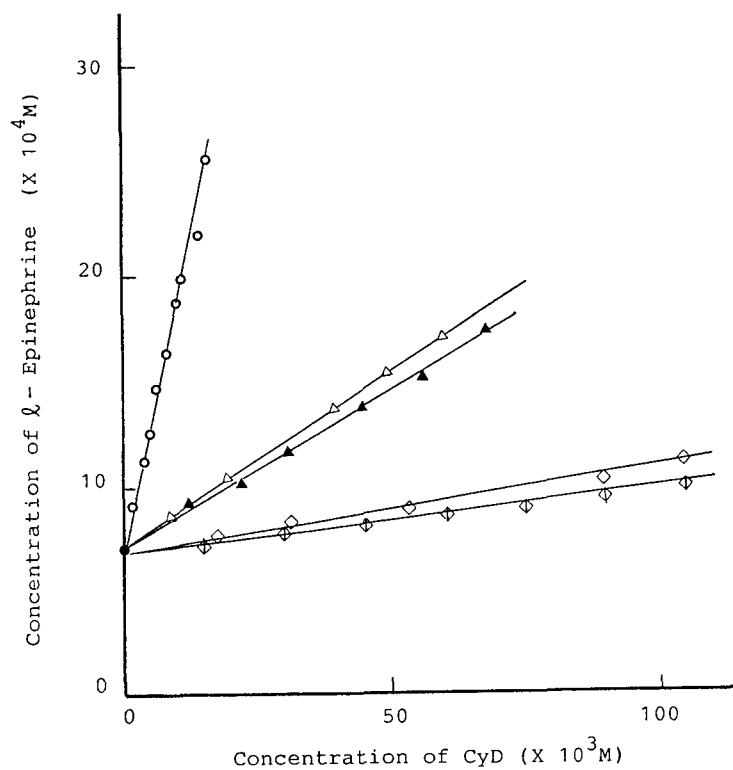


Fig.12 Phase Solubility Diagrams of Ep-CyD Systems in Water at 4°C
 \diamond : α -CyD, \circ : β -CyD, \diamond : γ -CyD, \triangle : G_1 - β -CyD,
 \blacktriangle : G_2 - β -CyD.

Table 9 Stability Constant of *l*-Epinephrine – Cyclodextrin Complexes
Determined by Solubility Method in Water at 4 °C

Cyclodextrin	Stability constant (M^{-1})
α -CyD	4.59
β -CyD	236
γ -CyD	6.33
G_1 - β -CyD	21.6
G_2 - β -CyD	20.7

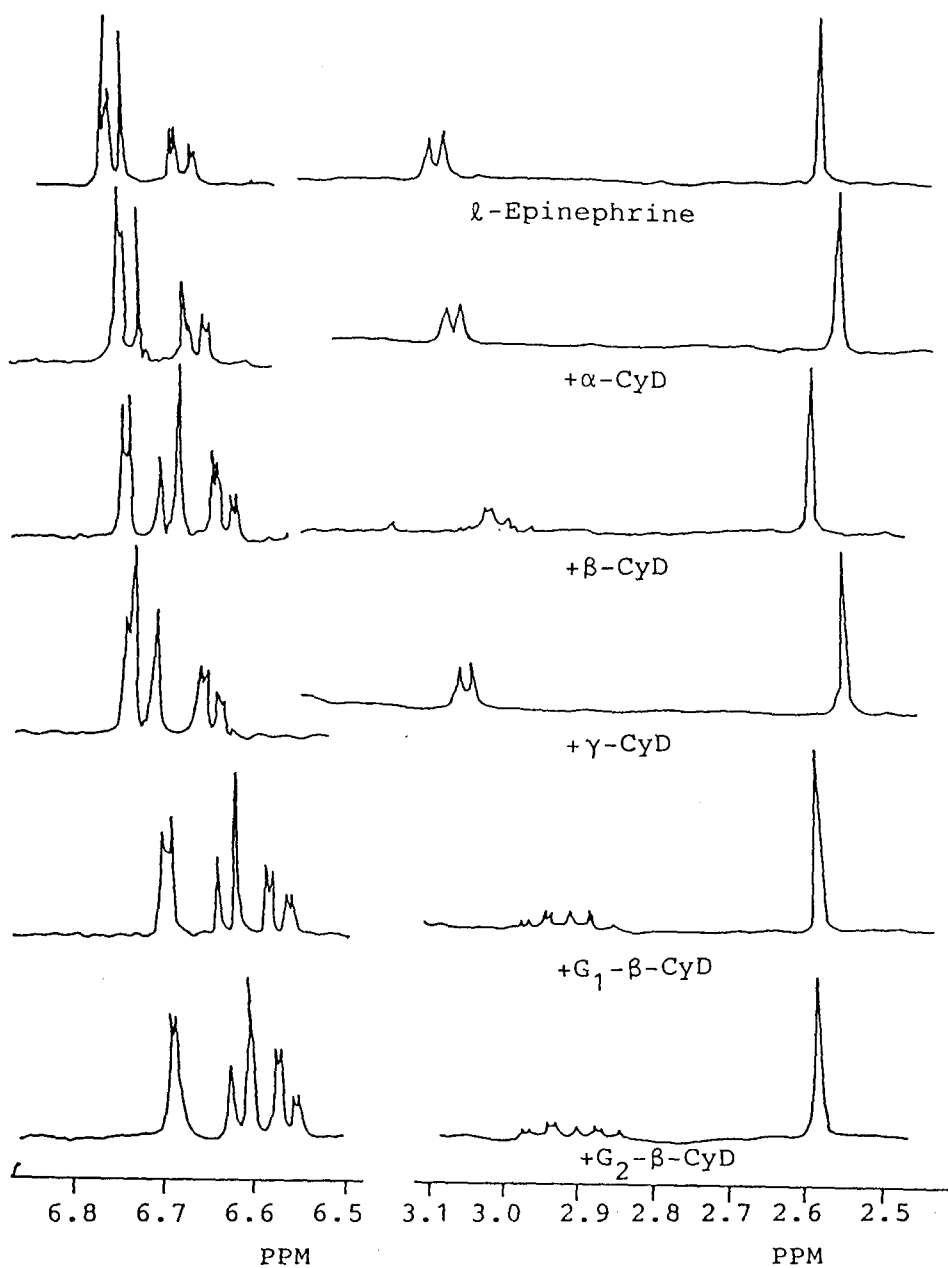
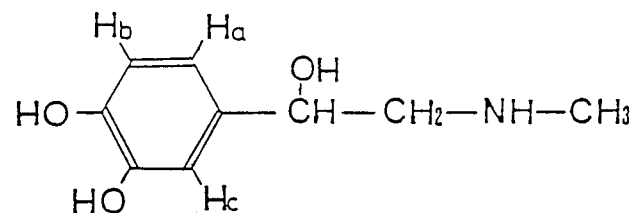


Fig.13 Effect of CyDs on ^1H -NMR Chemical Shifts of Ep
in 0.5N DCl at 30°C

Table 10 ^1H -NMR Data from ℓ -Epinephrine in Presence or Absence of CyDs

Proton	Chemical shift(ppm)									
	CH_3	Δ	CH_2	Δ	H_a	Δ	H_b	Δ	H_c	Δ
ℓ -Epinephrine	2.573		3.085d		6.672dd		6.748d		6.758d	
+ α -CyD	2.553	-.020	3.063d	-.022	6.654dd	-.018	-----	----	6.731d	-.027
+ β -CyD	2.587	.014	3.012m	-.073	6.633dd	-.039	6.682d	-.066	6.730d	-.028
+ γ -CyD	2.545	-.028	3.045d	-.040	6.646dd	-.026	6.710d	-.038	6.713d	-.046
+ G1- β -CyD	2.591	.018	2.917m	-.073	6.569dd	-.103	6.625d	-.123	6.693d	-.065
+ G2- β -CyD	2.584	.011	2.917m	-.071	6.566dd	-.106	6.623d	-.125	6.688d	-.070

ℓ -Epinephrine and CyDs in 0.5N DCl (D_2O).

第三節 実験の部

溶解法による調製

試料

ニトログリセリン (TNG) は日本化薬㈱より提供を受けた。

エピネフリン： ℓ -エピネフリン (Ep) は和光純薬工業㈱の試薬 (生化学用) をそのまま使用した。

β -CyD, α -CyD, γ -CyDは各々日本食品化工㈱のCELDEX[®] N, CELDEX[®] A, CELDEX[®] Gを, グリコシル β -CyD (G_1 - β -CyD), マルトシル- β -CyD (G_2 - β -CyD) は塩水港精糖㈱の製品を購入しそのまま使用した。

β -CyDの水溶性ポリマー (CDPS) は, Fenyvesiらの方法¹⁸⁾に従ってNaOH (1.85M) 溶液に β -CyD (0.158M) を溶解し, エピクロルヒドリン (0.187 M) を加えて, 60°Cで重合反応させた後, 塩酸を加えて中和し, さらに精製水で48時間透析を行い, 凍結乾燥して粉末を得, さらに, この粉末をSzemanらと同様にゲル濾過を行い, 分子量9000-5000のフラクション部分を本実験の試料とした。合成したCDPSのゲルクロマトを Fig.14に示した。ヨウ素滴定によると, このCDPS中に含まれる β -CyDの量は約50%であった。

ヨウ素滴定によるCDPS中の β -CyDの定量

CDPS中に含まれる β -CyDの定量は, ヨウ素滴定法によって行った。CDPSを約30mg正確に測り, 2N塩酸を30ml加えて2時間煮沸する。冷後メチルオレンジ試薬を指示薬として, 液が黄色となるまで40%水酸化ナトリウム溶液を加える。20°Cで15分間放置後0.1Nヨウ素溶液を7 ml加え, さらに20°Cで1時間放置した後, 20%硫酸を15ml加え, デンプン試薬を指示薬として, 0.1Nチオ硫酸ナトリウムで滴定した。同様の方法で空試験を行い, 下記の方法で求めた。

$$\beta\text{-CyD cont.} = \frac{810 \text{ (ml Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ of blank - Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ of sample) f Na}_2\text{S}_2\text{O}_3}{\text{mg CDPS Sample}}$$

非水溶性ポリマー (CDPI) は日本純薬㈱より供与された。CDPIはエピクロルヒドリンで β -CyDを10量体以上に高分子化したポリマーで, 水に不溶の他,

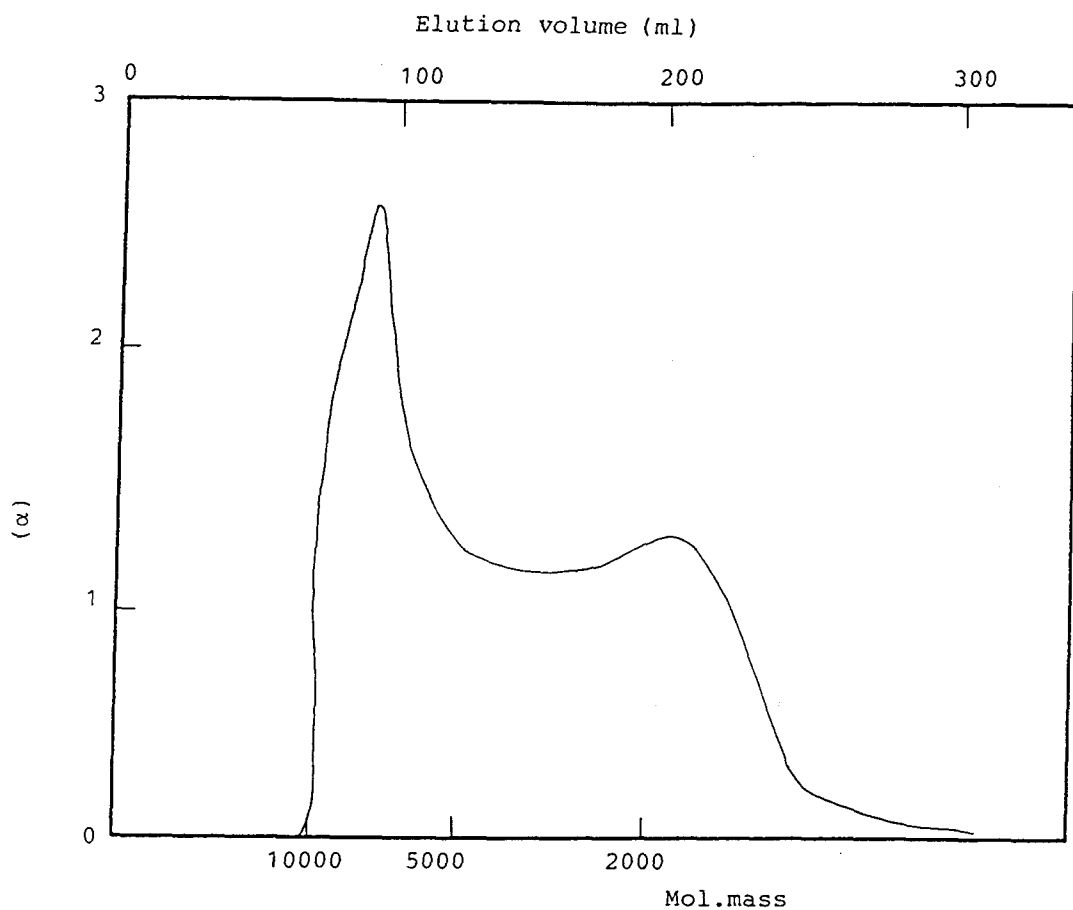


Fig.14 Elution Profile of the Water-soluble β -Cyclodextrin-epichlorohydrin Polymer(CDPS) on Ulutrogel® ACA 54
 Elution volume ranges of CDPS fraction CDPS : 60–110ml.

アルコール等の溶剤にもほとんど溶けない。

以上のシクロデキストリンは以下に記す本論文の実験に共通に使用された。

溶解度法による相互作用の検討

ニトログリセリンの検討

T.Higuchiらの溶解度法³⁷⁾に従って、相図の型および安定度定数を求めた。すなわち、過量のTNGを種々の濃度の β -CyD、CDPSおよび G_2 - β -CyDの水溶液に添加し、20℃あるいは5℃の暗所で1週間振盪した後、このサンプルを遠心分離し、水相に溶解しているTNGの濃度を高速液体クロマトグラフィーで定量した。その結果より β -CyD、CDPS、 G_2 - β -CyDおよび各種 β -CyD誘導体とTNGの溶解度相図を作成した。

エピネフリンの検討

各CyDについてT.Higuchiらの溶解度法³⁷⁾に従ってEpとの溶解度相図を作成し、相図の型および安定度定数を求めた。溶媒には蒸留水を用い、4℃の恒温室中で5日間振とうした後、0.45 μ mのフィルターでろ過し、ろ液中のEp濃度を高速液体クロマトグラフィーで定量した。

溶媒留去法による調製

複合体の調製には前記の様な方法があるが、TNGと β -CyDについては溶媒留去法により複合体を調製したとの報告³⁰⁾に習ってTNGと β -CyD、TNGとCDPSおよびTNGと G_2 - β -CyDの複合体の調製を行った。すなわち、TNGとCyDとシクロデキストリンをモル比1：1として精製水に溶解し超音波処理により充分溶解分散後、エバポレーターで溶媒を留去して複合体の粉末を得た。

粉碎法による複合体の調製

仲井らの方法を参考にして⁴³⁾3種類のCyD(CDPS, CDPI, β -CyD)とTNGのモル比を1：1とした混合粉末、CDPI：TNGのモル比を1：1、1：0.6、

1 : 0.3とした混合粉末および、 $G_2-\beta$ -CyDとTNGのモル比を1 : 1とした混合粉末を、それぞれガラス製のボールミル（入江商会㈱製V-1M型 直径6 cmのポットを使用）にセットして粉碎することにより複合体を調製した。回転数はタコメーターで測定し65rpmに調整した。

複合体の確認

熱分析による確認

溶媒留去法および粉碎法によつて得られたTNG/ β -CyD、TNG/CDPSおよびTNG/CDPIの固体複合体について示差走査熱量測定を行った。装置は理学電気㈱製サーモフレックス（PTA-10 A-DSC型，TAS-100型）を用い，昇温速度は10°C/minとした。また，同様にして得られたTNG/ $G_2-\beta$ -CyDの固体複合体について示差走査熱量測定を行った。装置は理学電気㈱製サーモフレックス（TAS-100型）を用い，昇温速度は5°C/minとした。

^1H -NMRによる確認

ニトログリセリンの測定

β -CyDあるいは $G_2-\beta$ -CyDを0.01MとTNGを0.005M，重水（ D_2O ）に溶解しテトラメチルシラン（TMS）を基準物質として，外部標準法により400MHzの ^1H -NMRを測定した（CyDと基準物質の相互作用を避けるため外部標準法を採用した）。装置は日本電子㈱製GX-400型を使用した。

エピネフリンの測定

EpとCyDの水溶液中での相互作用の状態を ^1H -NMRで検討した。測定にはEp 1mg/mlの0.5N重塩酸溶液を調製し，それにEpとCyDが1 : 10モルとなるように各種CyDを添加した。なお， β -CyDはそれ自身の溶解度が低いため飽和濃度を用いた（計算上Ep : CyD = 1 : 3モル程度である）。測定は日本電子㈱製GX-400型により，TMSを用いた外部標準法により測定した。

赤外線分光光度法による測定

各複合体をKBrに混合して10%濃度に調製した試料について、FT/IR（日本分光㈱製FT/IR5F型）で拡散反射法により測定し、T.Urbanskiら⁴⁰⁾のデーターと比較した。データーはKuber-Munku変換して処理した。また実際の測定ではスキャンニングは各々1,000回行った。

定量法

ニトログリセリンの定量

高速液体クロマトグラフィー法で定量した。装置は日本分光工業㈱製の880-PU型ポンプ、875-UV紫外可視検出器、システムインスツルメンツ㈱製クロマトコーダー12あるいは日本電子科学㈱製ユニコーダーU228型を使用した。分離カラムには日本分光工業㈱製Finepak SIL C18S、㈱ケムコ製Chemcosorb[®]H-ODS 7あるいはNagel社製Nucleosil[®]5C18を使用した。また、移動相には60%メタノール溶液を使用した。

エピネフリンの定量

高速液体クロマトグラフィー法で定量した。装置はTNGと同様とした。分離カラムもTNGと同様とした。また、移動相にはりん酸緩衝液（0.025Mりん酸水素ナトリウムとりん酸を加えてpH3.0に調製したもの）を使用した。検出波長は287nm移動相の流速は1.2ml/minとした。

第四節 小括

- 1) β -CyD, CDPSおよび G_2 - β -CyDとニトログリセリンの溶解度相図は β -CyDがBs型, CDPSはAp型, G_2 - β -CyDはAL型を示した。
- 2) β -CyD, CDPSおよび G_2 - β -CyDはニトログリセリンと溶液状態において複合体を生成した。
- 3) β -CyD, CDPS, CDPIおよび G_2 - β -CyDはニトログリセリンと溶媒留去法あるいは粉碎法によって固体複合体を生成した。
- 4) β -CyD類とエピネフリンの溶解度相図は全てALを示した。
- 5) β -CyD類, 特に β -CyDとエピネフリンは安定した複合体を生成した。

第二章 安定化への応用の検討

第一節 ニトログリセリンの揮散の抑制効果

β -シクロデキストリンおよび水溶性ポリマーによるニトログリセリンの揮散防止効果

ニトログリセリン(TNG)はシクロデキストリン(CyD)と複合体を生成することは第一章に述べたが、この複合体はTNGの揮散の抑制に大変有効であった。Fig.15, Fig.16に示すように溶媒留去法によって調製した β -シクロデキストリン(β -CyD)および水溶性ポリマー(CDPS)とTNGの複合体を40°C, 50°Cの条件で放置した時、それら複合体からのTNGの揮散は、対照とした多糖類プルランとの物理的混合物よりもはるかに小さく、揮散の防止効果は大きかった。また、初期においては β -CyDの方がCDPSよりTNGの残存率は大きい、時間の経過に従って β -CyD中のTNGは徐々に減少する。一方CDPS中のTNGは、初期の段階で急速な減少が見られるが、以後ほとんど減少せず最終的には β -CyDよりもCDPSの方がTNGの残存率が大きかった。このことからCDPSに対してTNGは複合体を生成している状態と吸着あるいは付着している2つの状態が存在する可能性があると考えられた。

また、50°Cで24時間放置したサンプルを3 mmHg 37°Cの条件で保存したところFig.17に示すように、CDPSの方がTNGの減少率が小さかった。

マルトシル- β -シクロデキストリンによるニトログリセリン揮散防止効果

マルトシル- β -シクロデキストリン(G_2 - β -CyD)とTNGおよび β -CyDとTNGの複合体を37°C大気圧と37°C 2 mmHgの条件下に放置し残存するTNGをHPLC法により経時的に定量した。その結果を Fig.18, Fig.19に示した。放置の初期においては β -CyDとTNGの複合体からのTNGの揮散は速いものの、時間がたつに従って G_2 - β -CyDとTNGの複合体とほぼ同じTNGの残存率を示した。対照の多糖類プルランとTNGの物理的混合物と比較して β -CyDと同様に G_2 - β -CyDもTNGの揮散防止に有効であることが示唆された。

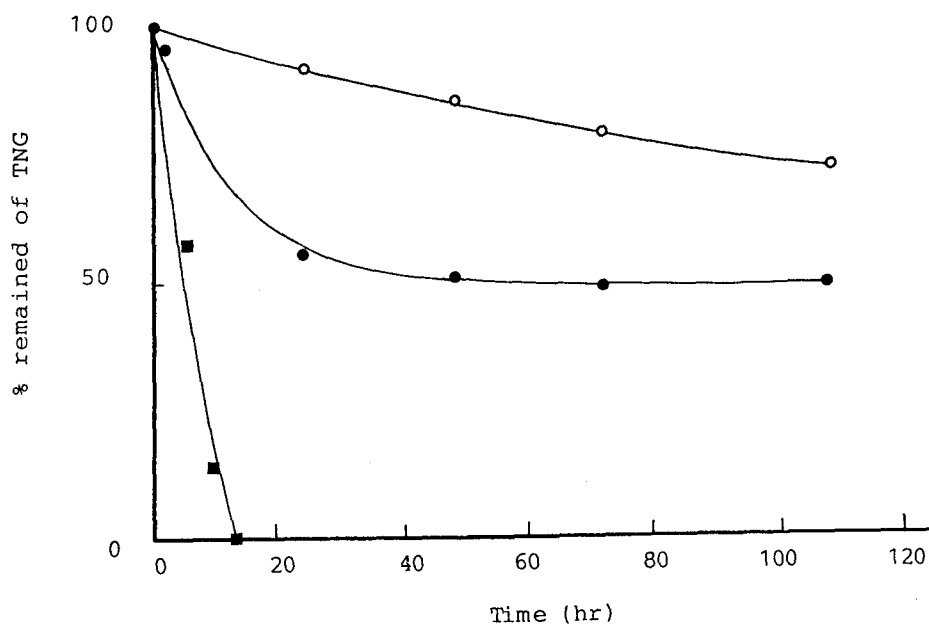


Fig.15 % Remained of TNG in TNG/ β -CyD, TNG/CDPS and TNG/Pullulan Systems at 40°C
 ○ : TNG/ β -CyD Complex, ● : TNG/CDPS Complex,
 ■ : TNG/Pullulan Mixture.

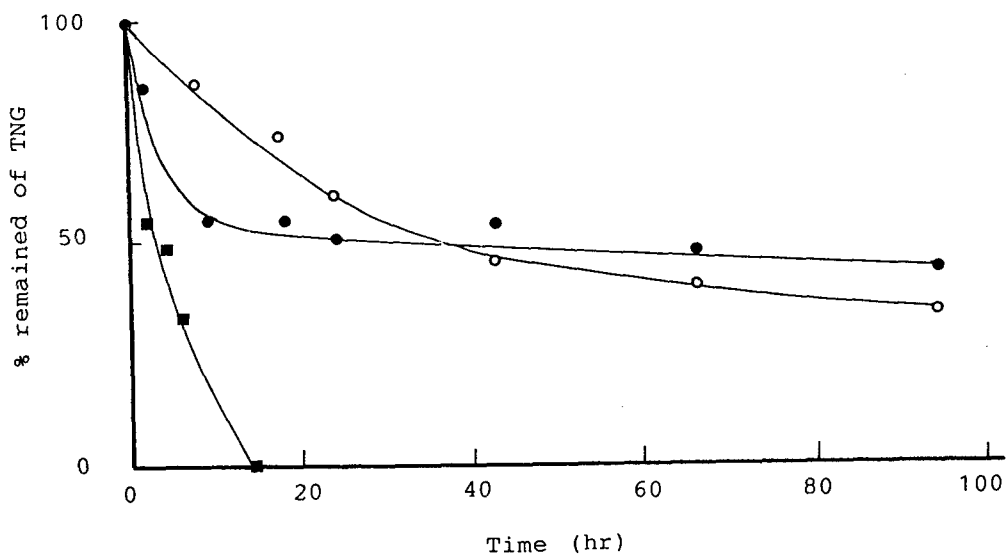


Fig.16 % Remained of TNG in TNG/ β -CyD, TNG/CDPS and TNG/Pullulan Systems at 50°C
 ○ : TNG/ β -CyD Complex, ● : TNG/CDPS Complex,
 ■ : TNG/Pullulan Mixture.

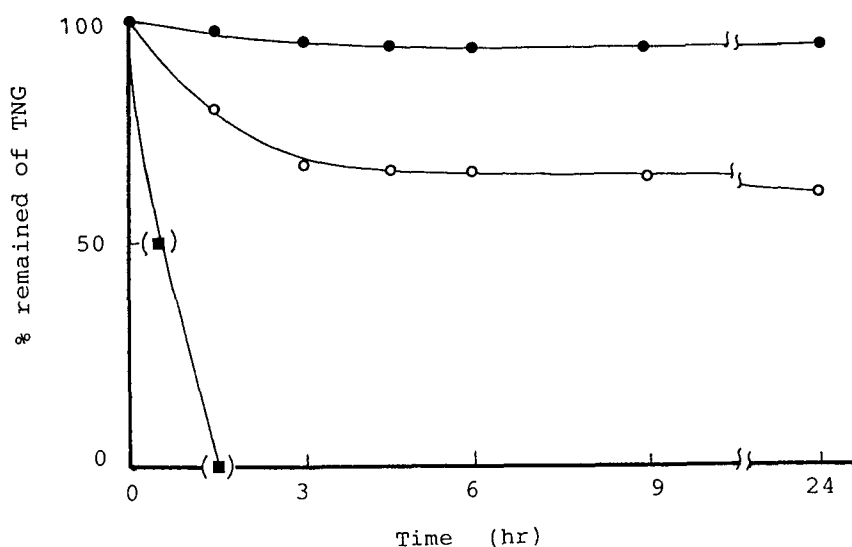


Fig.17 % Remained of TNG in TNG/ β -CyD and TNG/CDPS Complex under Reduced Pressure 3mmHg at 37°C after 24 hr Standing at 50°C
 ○ : TNG/ β -CyD Complex, ● : TNG/CDPS Complex,
 ■ : [TNG/Pullulan Mixture (intact)].

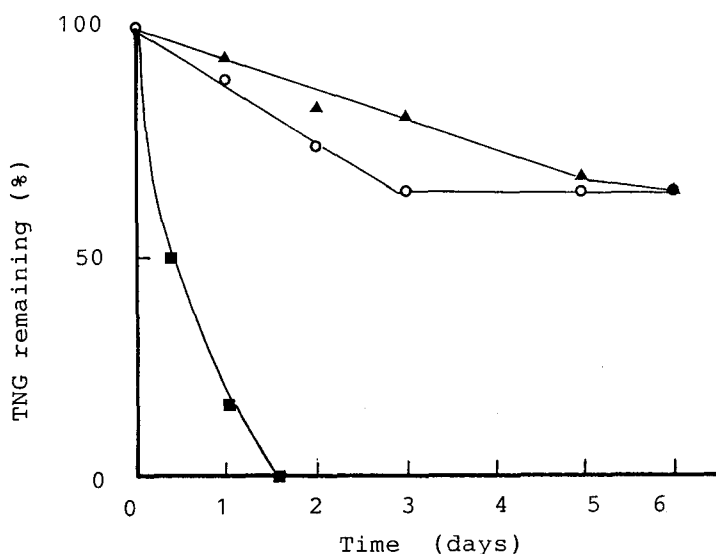


Fig.18 Loss of TNG at 37°C from TNG/ β -CyD (○), TNG/ G_2 - β -CyD (▲) and TNG/Pullulan (■) (the pullulan was used as an inactive additive)

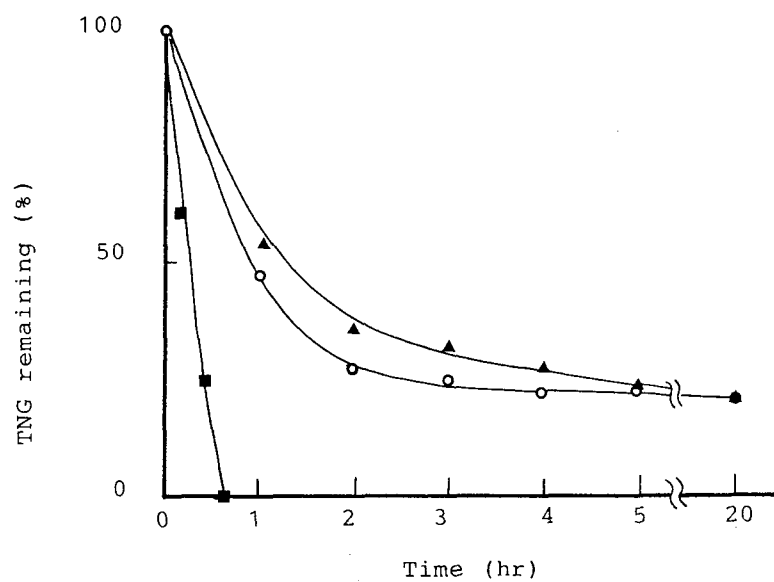


Fig.19 Loss of TNG at 37°C/3mmHg from TNG/ β -CyD (○)
TNG/G₂- β -CyD(▲) and TNG/Pullulan(■)

第二節 光分解しやすい薬物の光安定化

医薬品の光分解に対する安定化への β -シクロデキストリン (β -CyD) の応用に関する報告⁴⁵⁻⁴⁶⁾はいくつかあるが、 β -CyDの誘導体であるジメチル- β -シクロデキストリン (DM- β -CyD), トリメチル- β -シクロデキストリン (TM- β -CyD), 水溶性ポリマー (CDPS) についての報告⁴⁷⁾は少なく, その検討も進んでいない。そこで β -CyDと合わせてこれら誘導体の医薬品の光分解に対する影響について検討を行った。対象とした医薬品は, ニトログリセリン (TNG) の他, 保存に遮光を必要とする局方医薬品から, ニフェジピン, ヒドロクロロチアジド, フロセミド, 塩酸ピリドキシン, 酢酸レチノールおよびクロフィブラートを選択した。光照射は5℃の恒温槽の下で150Wキセノンランプにより行った。

溶液状態での光分解の抑制

溶液状態での光分解に対するCyDの影響をTable 11に示した。光照射による各医薬品の溶液状態での分解は, ニフェジピンの場合CyDの添加は光分解の抑制に有効であった。ヒドロクロロチアジドの場合DM- β -CyD, TM- β -CyDを添加したものは無添加のものより分解が速かった。しかし, β -CyDを添加したものは無添加のものより安定であった。塩酸ピリドキシンの場合は, β -CyDをのぞきCyDの添加は有効であった。フロセミドは, β -CyDを添加したものは分解が抑制されたがその他は光分解の抑制に有効でなかった。クロフィブラートの場合は, β -CyDの各誘導体の添加によって無添加の場合より安定となった。特にDM- β -CyDの添加は大変有効であった。酢酸レチノールの場合はDM- β -CyDを添加したものと無添加のものが同程度の分解を示したが, 他の β -CyD誘導体の添加は分解を抑制する傾向を示した。TNGはCyDの添加の影響を判断出来るほど分解されなかった。

固体状態での光分解の抑制

固体状態での分解の結果をTable 12に示した。固体状態での光分解は, 溶液状態での光分解より遅くなった。フロセミドの場合, 溶液状態で比較的安定であ

った無添加のものが個体状態では最も分解が速かった。また、溶液状態で β -CyDより分解の速いDM- β -CyDおよびTM- β -CyDが固体状態では極めて安定であった。ニフェジピンにおいてはフロセミドの場合とは逆に、溶液状態で不安定な無添加のものが、固体状態では比較的安定となった。塩酸ピリドキシンの場合は、溶液状態において安定であったTM- β -CyDを添加したものが、固体状態でも最も安定であった。TNGは固体状態においても、CyDの添加の影響を判断するほど分解されなかった。

これらのことより固体状態と溶液状態では添加物の光分解に対する影響が異なることが示唆された。また、 β -CyDおよびその誘導体の見かけ上の安定度定数と光分解との対応を検討したが、それを見いだすことはできなかった。その原因は溶液状態での光分解の場合、主薬の溶解度の点より溶液へ有機溶媒を添加した状態で測定した。そのため安定度定数が有機溶媒により低くなっていることが考えられ、直接の比較は難しいことも一因と考えられた。また、医薬品とCyDの混合比が1 : 1であり、医薬品とCyDの濃度が1mMの条件では生成される複合体の濃度は低いと考えられ、これも原因と考えられた。

また、貯法が遮光した気密容器とされているTNGは光に対して比較的安定であることが本実験から示唆された。

Table 11 Effect of Various β -Cyclodextrins on the Photodecomposition of Drugs in the Solution : % of Drug Remaining after Irradiation Given Below

CyD	Nifedipine	Hydrochloro- thiazide	Pyridoxine Hydrochloride	Furosemide	Clofibrate	Retinol Acetate	Nitroglycerin
	30 min	6hr	2hr	20 min	6hr	80 min	5hr
Drug alone	58	62	46	87	74	42	98.5
β -CyD	58 (128)	79	55.5	92.3 (132)	88.2 (333)	67	98.3
CDPS	76 (59)	67.2	65.5	15.5 (149)	82.3 (574)	57.2	97
DM- β -CyD	67.5 (41)	44.2	62.5	77.5 (174)	97.3 (482)	45	98.3
TM- β -CyD	61 (18)	38	70	62 (162)	80.0 (111)	64.1	98

Stability constants in purified water at 5°C were in parentheses.

Table 12 Effect of Various β -Cyclodextrins on the Photodecomposition of Drugs in the Solid State : % of Drug Remaining after Irradiation Given Below

CyD	Nifedipine 6hr	Furosemide 2hr	Pyridoxine Hydrochloride 6hr	Nitroglycerin 8hr
Drug alone	71.1	68.1	37.4	99.0
β -CyD	56.0	87.2	74.3	99.0
CDPS	63.8	79.0	57.5	98.7
DM- β -CyD	74.2	98.0	79.2	99.2
TM- β -CyD	59.0	99.2	88.0	99.0

第三節 エピネフリンの酸化分解の抑制

l-エピネフリン (Ep) は極めて酸化されやすい化合物である。R. Hutteranらにより各種糖類とEpの酸化分解について検討した報告³⁹⁾があり、第1章でEpと β -シクロデキストリン (β -CyD) 類が複合体を生成することを示した。ここではそれらの複合体が酸化に対してどのような効果があるかを検討した。Epの40℃における水溶液中での酸化分解の結果をFig. 20に示した。Epは分解し易く、特にグリコシル- β -シクロデキストリン (G_1 - β -CyD), マルトシル- β -シクロデキストリン (G_2 - β -CyD) を添加すると単味のものと比較して酸化は同等か加速される傾向を示した。 α -シクロデキストリン (α -CyD), γ -シクロデキストリン (γ -CyD) では同等か若干の抑制効果が見られた。これは、第一章に示したように安定度定数が α -CyD, γ -CyDでは小さいこと、 ^1H -NMRの測定においてケミカルシフトがわずかしき観察されないことより複合体の生成が充分でないことが原因と考えられた。また、 β -CyDの添加では強く酸化が抑制され、Epの酸化防止に有効であることが確認された。 G_1 - β -CyD, G_2 - β -CyDの添加で酸化の抑制効果が見られないのは、安定度定数が β -CyDに比べて小さいこと、CyD環とEpの位置関係が β -CyDと異なること等が考えられる。以上より β -CyDの添加は酸化を受けにくい製剤の開発に応用できることが示唆された。

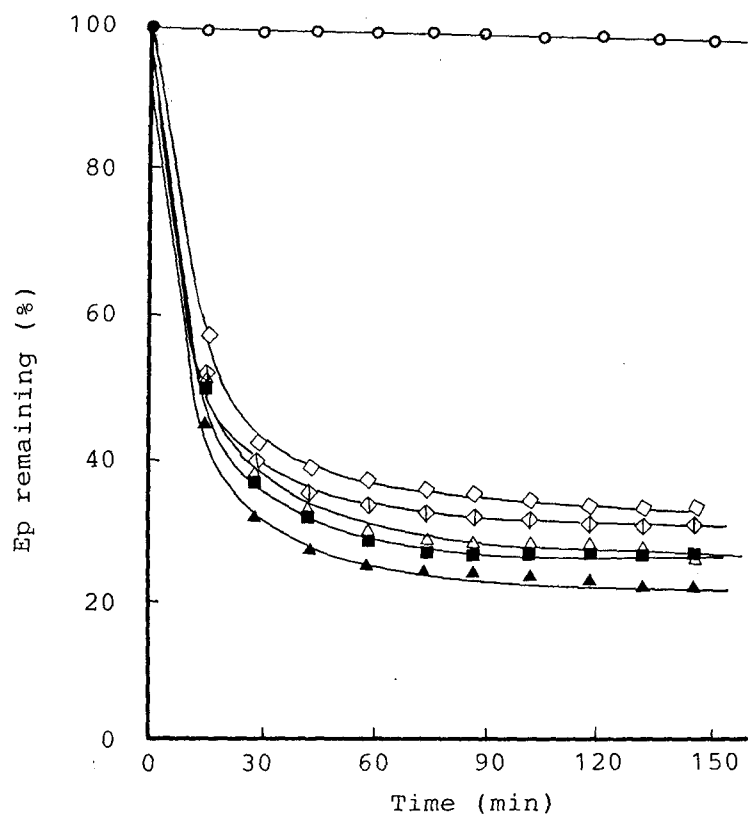


Fig.20 Effect of CyDs on Oxidation of Ep in Water at 40 °C

■ : Ep alone, ◇ : α -CyD, ○ : β -CyD, ◇ : γ -CyD.
 △ : G_1 - β -CyD, ▲ : G_2 - β -CyD.

第四節 実験の部

試料

ニトログリセリン (TNG), および各種CyDは第一章で使用したものと同様のものを使用した。ニフェジピン, ヒドロクロロチアジド, クロフィブラートはシグマ社の製品を, 塩酸ピリドキシン, 酢酸レチノールおよび臭化カリウムは, 和光純薬工業(株)特級品を, フロセミド, エピネフリン: β -エピネフリン (Ep) は和光純薬工業(株)の試薬 (生化学用) を用いた。なお, 各試薬は購入したものをそのまま使用した。

ニトログリセリンの揮散実験

第一章で述べた, 各複合体10mgを小ビーカーに取り, 均等に広げてそれぞれ40℃, 50℃, 37℃あるいは37℃ 2mmHgの条件下に放置し, 経時的にサンプルを取り出し, これを精製水10mlに溶解後メタノール10mlを加えHPLC法で残存するTNGを定量した。

光分解の測定

装置

光照射に用いた装置は, Fig.21に示すもので, 光源は, 浜松ホトニクス(株)製, L 2175型 (150w) キセノンランプ, ランプハウスは, 同 E2450型, 電源は日立製作所(株)製650-0902型, 恒温槽はトーマス(株)製TRL101FE型, 試料台の回転モーターは, CKD.ContROLS Ltd.製J202-442 R.P.M.1を使用した。恒温槽は, 5℃の条件とした。また, 光量は試料台の上で照度計 (株東芝製SPI-5型) で測定したところ24,000ルクスであった。

水溶液状態での各試料調製並びに定量法

各医薬品は β -CyDおよび β -CyD誘導体とモル比1:1で複合体を生成するものと仮定してTable 13に示す溶媒に1mMを加えて調製し光照射を行った。

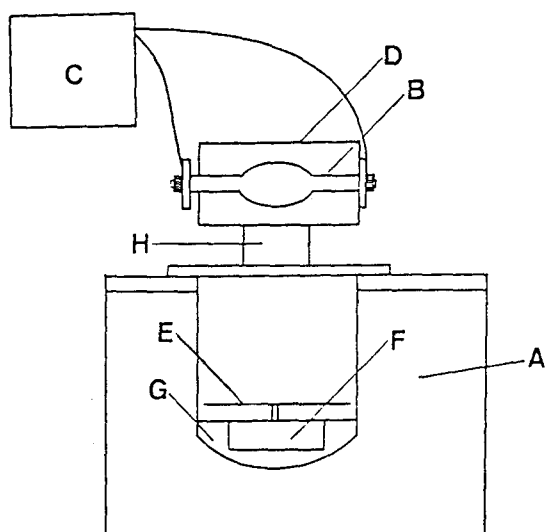


Fig.21 The Apparatus Used for Photodecomposition

A : Constant-temperature water bath (Type TRL-101 FE Thomas Kagaku Co.,Ltd.), B : Xenon lamp 150 W (Type L2175 Hamamatsu Photonics K.K.), C : Electric source (Type 650-0902 Hitachi,Ltd.), D : Lamp house (Type E 2450 Hamamatsu Photonics K.K.), E : Sample table, F : Motor(Type J 202-442 R.P.M.1 CKD. Controls Ltd.), G : Silica gel, H : Connecting cylinder.

Table 13 Solvents Used for Photodecomposition in Aqueous State

Drug	Solvent
Nifedipine	50% Methanol
Hydrochlorothiazide	Purified Water
Pyridoxine Hydrochloride	Purified Water
Furosemide	Purified Water
Clofibrate	Purified Water
Retinol Acetate	50% Acetonitrile
Nitroglycerin	30% Methanol

Table 14 High Performance Liquid Chromatography Conditions

Drug	Mobile phase	Monitored wavelength
Nifedipine ^{4,8)}	Methanol:Buffer(pH 6.1)=45:55 Buffer;0.01M Na ₂ HPO ₄ +50%(v/v)H ₃ PO ₄	UV 254nm
Hydrochlorothiazide ^{4,9)}	Methanol:Buffer(pH 8)=5:95 Buffer;0.01M Na ₂ HPO ₄ +50%(v/v)H ₃ PO ₄	UV 225nm
Pyridoxine Hydrochloride ^{5,10)}	Methanol Isopropanol 1-Hexanesulfonic acid,sodium salt Acetic acid Purified Water	300ml 30ml 1.35mg 10ml ad 1,000ml
Furosemide ^{5,11)}	Methanol:Buffer=40:60 Buffer; 0.2M Acetic acid	UV 300nm
Clofibrate ^{5,12)}	Methanol:Purified Water=70:30	UV 225nm
Retinol Acetate ^{4,13)}	100% Methanol	UV 326nm
Nitroglycerin	Methanol:Buffer=50:50 Buffer;0.5M Acetic acid	UV 220nm

各医薬品はの定量は(株)ケムコ製Chemcosorb[®] H-ODS 5 の直径4.6×長さ150 mmのカラムを用いTable 14に示す条件により高速液体クロマトグラフィー法により定量した。

固体状態での各試料調製並びに定量法

各薬品と β -CyDおよび β -CyD誘導体をモル比1：1として精製水に溶解後溶媒留去法により複合体粉末を得た。この複合体を臭化カリウム中に10%添加して十分に混和しIR用の直径13mm、重量100mgの薄い錠剤を成形して試料とした。これをFig.21に示す装置で光照射し、錠剤中に残存する薬品を水溶液の場合と同様にHPLC法で定量して光分解を測定した。なお、HPLC法のサンプルは光照射した錠剤を精製水2 ml に溶解し、これにメタノール8 mlを加え均質として調製した。

エピネフリンの定量

高速液体クロマトグラフィー法で定量した。装置は日本分光工業(株)製880-UP型ポンプ、875-UV紫外可視検出器、およびシステムインストルメント(株)製クロマトコーダー12を使用した。分離カラムには日本分光工業(株)製Finepak[®] SII C18Sを、また、移動相にはりん酸緩衝液(0.025Mりん酸水素ナトリウムにりん酸を加えてpH3.0に調整したもの)を使用した。検出波長287nm、移動相の流速は1.2ml/minとした。

酸化分解の測定

現在はEpの酸化防止のため亜硫酸水素ナトリウム等の環元剤を利用しているが、若干の酸化は避けられない。酸化反応は充分脱気した蒸留水を用いて、Epの0.26mg/mlの水溶液を調製し、この溶液にEpの10倍モルの各種のCyDを添加し攪拌溶解後、40℃の恒温相中に放置し30ml/minの酸素ガスを導入し酸化反応を行った。Epの定量は経時的に20 μ lサンプリングし、前記のHPLC法で行った。なお、反応中の溶液のpHは7.0-6.8であった。

第五節 小括

- 1) ニトログリセリンは揮散し易い医薬品であるが、 β -CyDおよびその誘導体であるCDPS、 G_2 - β -CyD等はニトログリセリンと複合体を生成し、ニトログリセリンの揮散を強く抑制することが確認された。
- 2) 医薬品の光に対する安定化に β -CyDおよびその誘導体を利用する場合、一般的な原則は存在せずそれぞれの医薬品について最も適切なものを選択することが必要であることが示唆された。
- 3) エピネフリンの酸化は β -CyDにより強く抑制される。また、他の β -CyD類(G_1 - β -CyD, G_2 - β -CyD), α -CyD, γ -CyDでは十分な抑制効果は示されなかった。

第三章 シクロデキストリンの製剤化への応用

第一節 錠剤への応用

ニトログリセリン (TNG) は一般に舌下錠として利用されている。第二章ではシクロデキストリン (CyD) の利用により揮散を強く抑制できることを示した。ここでは、調製した複合体を粉末のまま、あるいは錠剤に成形して、TNG の溶出について検討した。

複合体粉末からのニトログリセリンの溶出

粉末状態での複合体からのTNGの溶出はFig.22に示すように、溶媒留去法で得た複合体では β -シクロデキストリン (β -CyD) との複合体の方が水溶性ポリマー (CDPS) との複合体よりTNGの溶出が速かった。Fig.23に示す粉碎法で得られた粉末の結果でも β -CyDからの溶出が最も速く、次いで水不溶性ポリマー (CDPI), CDPSの順にTNGの溶出が速かった。 β -CyDは水に溶解し、CDPIは水に不溶であるが水中に速やかに分散した。一方、CDPSは表面にゲルを生成し分散しにくく、溶解にも時間を要した。

複合体錠剤からのニトログリセリンの溶出

TNGと β -CyD, CDPSおよびCDPIの複合体を結晶性セルロースを賦形剤として直打法により錠剤を調製して、それぞれの錠剤からのTNGの溶出を検討した。その結果、Fig.24に示すようにCDPIは速やかな溶出を示し、 β -CyDとCDPSはほぼ同じ溶出を示した。これは、CDPIが素早く崩壊したのに比べ β -CyDとCDPSの錠剤は崩壊が遅かったため、TNGの溶出が遅くなったと考えられた。また、この両者の溶出の差は小さなものであった。

以上の結果TNGと β -CyDの複合体を錠剤に用いる場合、崩壊が速やかに行われれば、溶出も速やかに行われることが予測された。また、CDPIには崩壊剤としての性能が期待できることが示唆された。CDPSは崩壊が速やかに行われたとしても、溶出に時間を要し即効性が期待される舌下錠には適さないことが示唆された。しかし、持効性を求めるならCDPSは適していると考えられた。

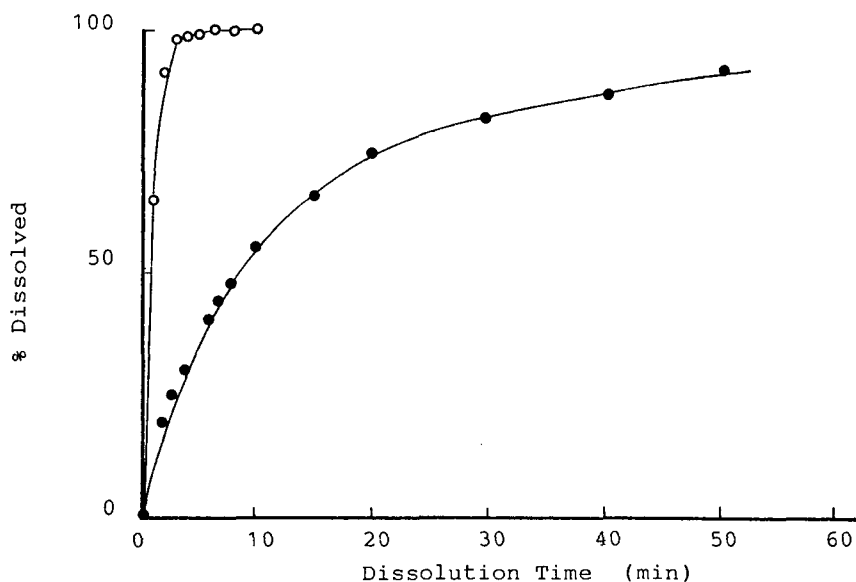


Fig.22 Dissolution Curves of TNG from 10mg TNG/ β -CyD and TNG/CDPS Complex Obtained by Solvent Removing Method, in 100ml Water at 25°C
 ○ : TNG/ β -CyD, ● : TNG/CDPS.

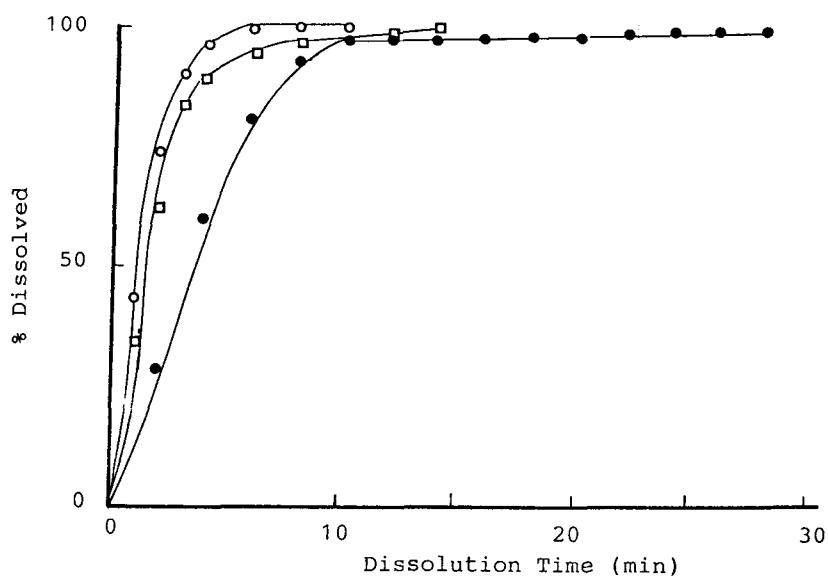


Fig.23 Dissolution Curves of TNG from 10mg TNG/ β -CyD, TNG/CDPS and TNG/CDPI Complex Obtained by Grinding Method, in 100ml Water at 25°C
 ○ : TNG/ β -CyD, ● : TNG/CDPS, □ : TNG/CDPI.

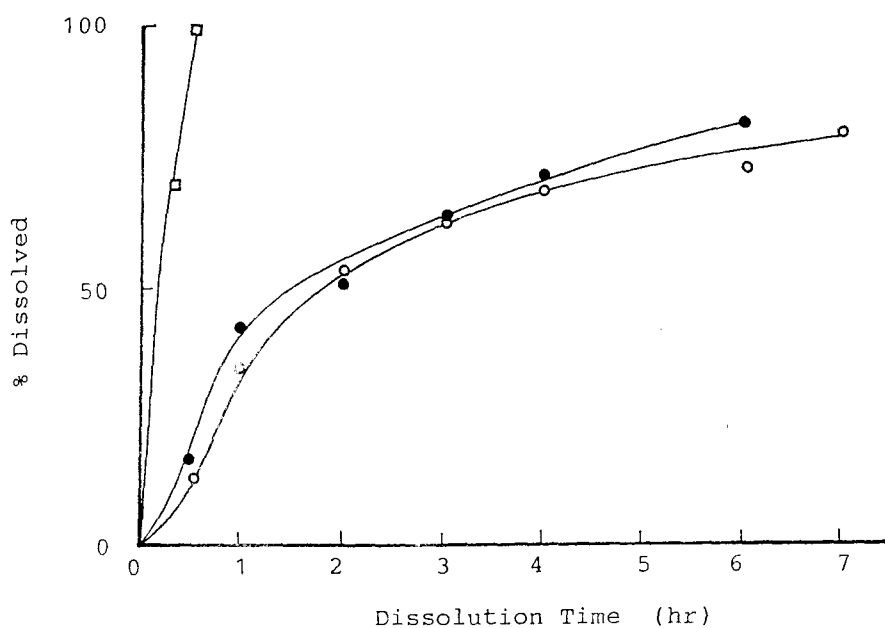


Fig.24 Dissolution Curves of TNG from Some Kind Tablets
 ○ : TNG/ β -CyD, ● : TNG/CDPS, □ : TNG/CDPI.

第二節 軟膏剤への応用

冠状血管拡張薬である亜硝酸系薬品は近年多くの製剤研究がなされ、狭心症の治療薬として再び注目されている⁵³⁻⁵⁴⁾。本研究に用いたTNGは皮膚や粘膜からの吸収はよいが経口投与ではほとんど効果の無い薬物である⁵⁶⁾。TNGは舌下錠、パッチ型製剤（ニトロダーム[®] TTS[®]）、テープ製剤（ミリスロール[®] テープ）、スプレー剤および軟膏剤（バソレーター[®] 軟膏）等が開発され狭心症患者の発作の予防並びに治療に広く用いられている。TNGが狭心症の発作時の治療だけでなく発作の予防にも使用されることを考えると長時間の薬効の持続が必須と考えられる。現在の軟膏にも持続性は認められる⁵³⁻⁵⁵⁾が、本研究ではさらに長期持続型の軟膏の開発を目的として β -シクロデキストリン（ β -CyD）、水溶性ポリマー（CDPS）および水不溶性ポリマー（CDPI）とTNGの複合体の軟膏剤への応用を検討した。

各軟膏からの放出

軟膏剤中に配合されたTNGがその薬効を示すためには基剤から放出され皮膚のバリアーを通過し血液中に到達する必要がある。TNGはバソレーター軟膏[®]において、含量の57%が吸収され、経皮吸収の良好な薬物と考えられる⁵⁶⁾。従って基剤からの放出性はTNGの持効性を検討する上で重要な試験の一つと考えられるので、フローセルを用い各軟膏からのTNG放出の挙動を検討した。Fig. 25に示すように軟膏からの放出量を時間の平方根に対してプロットする時、グラフは200分前後までは良好な直線を示したので上釜らの報告⁵⁷⁾と同様にHiguchiの式⁵⁸⁾を適用してFig. 25の傾きより見かけの放出速度定数を算出してTable 15に示した。200分以後は全ての軟膏で測定のプロットが直線部分からずれを生じた。これは軟膏と循環水とを隔てるフィルムが親水性であるため、また基剤がわずかに親水性であるため軟膏中に精製水が浸潤し軟膏／フィルム／水相の関係が、軟膏／水相／フィルム／水相となり、条件が変化したためと考えられる。

軟膏からの薬物の溶出は粉体の添加により遅延することが一般に知られているが、今回の実験では物理的混合によってTNGの放出が遅延する現象は β -CyDでわずかに見られたがCDPSでは見られなかった。この原因は添加したCDPSの

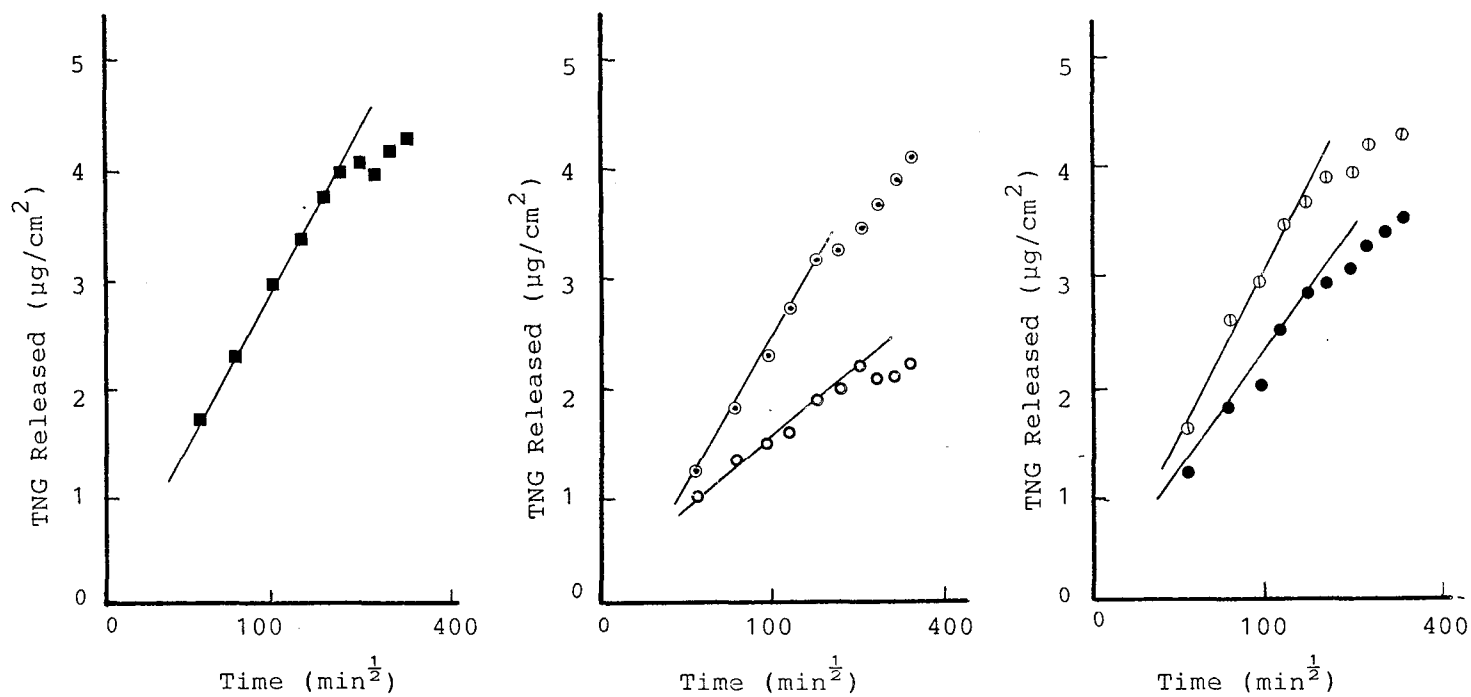


Fig.25 Release Profiles of TNG as a Function of Square Root of Time from Ointment Containing TNG or Its β -CyD Complex at 37°C

■ : VASOLATOR®, ○ : β -CyD complex, ⊙ : β -CyD physical mixture,
● : CDPS complex, ⊕ : CDPS physical mixture.

Table 15 Apparent Release Rate Constants of Dissolution of TNG from Several Bases Containing TNG or Its β -CyD Complexes

Ointment	Constants ($\mu\text{g/cm/min}^{1/2}$)
VASOLATOR®	0.333×10^{-2}
TNG/ β -CyD Complex Ointment	0.125×10^{-2}
TNG/ β -CyD Physical Mixture Ointment	0.263×10^{-2}
TNG/CDPS Complex Ointment	0.263×10^{-2}
TNG/CDPS Physical Mixture Ointment	0.333×10^{-2}

水溶性が β -CyDより高く比較的容易に基剤中の水相部分へ溶解するためと考えられる。また、放出実験中における軟膏中でのTNGとCyDの複合体の生成の可能性は否定できないが、軟膏は半固形物質でありその中の物質は移動しにくく、さらに疎水性の基剤成分の存在のためTNGはそれらの中に溶解しやすく、複合体は本実験の時間内ではきわめて生成しにくいと考えられる。一方、TNGをCyDの複合体として添加した場合、TNGの放出はバソレーター軟膏®に比較して遅延がみられた。これは、軟膏中にTNGが複合体として存在するためTNGの見かけ上の分子が大きくなり軟膏中での移動が制約を受けたものと考えられる。しかし、TNGをCDPSとの複合体として添加した場合は放出の抑制がTNGと β -CyDとの複合体として添加した場合より小さかった。これは、CDPSと β -CyDのTNGとの安定度定数の差、生成する複合体の水溶性の差によるものと考えられる。したがって、安定度定数が大きく、溶解度相図がB_Sタイプを示す溶解性の低い β -CyDとの複合体を添加した軟膏からのTNGの放出は強く抑制されたものと考えられた。

軟膏からのニトログリセリンの揮散

バソレーター軟膏®は実際患者に貼付する時、硫酸紙に伸ばして胸部等に貼付する。この硫酸紙の利用は密封包帯と考えられる。これは吸収を促進する働きとともにTNGの揮散を防止する効果が考えられる。すなわち、揮散せずTNGが軟膏

中に留まることが経皮吸収にとって重要であると考えられるので、TNGが軟膏中にCyDの複合体、物理的混合物として添加された時の軟膏からのTNGの揮散を検討した。軟膏からのTNGの揮散実験の結果を Fig.26 に示した。複合体と物理的混合物ではTNGの揮散に差のあることが観察された。すなわち、複合体として添加したTNGは軟膏からの揮散が抑制されることが確認された。物理的混合物として添加した軟膏はバソレーター軟膏[®]と同等かやや速い揮散を示した。特にかさ高なCDPSの添加で顕著であった。これは、粉体の添加により揮散しやすい条件が生成されたと考えられた。しかし、24時間後の結果では、物理的混合物もバソレーター軟膏[®]よりTNGを多く保持しており、基剤中で若干の複合体の生成を示唆しているものと考えられた。また、この軟膏からのTNGの揮散は第二章に示した粉体状態からのTNGの揮散の実験の結果と比較すると速い速度

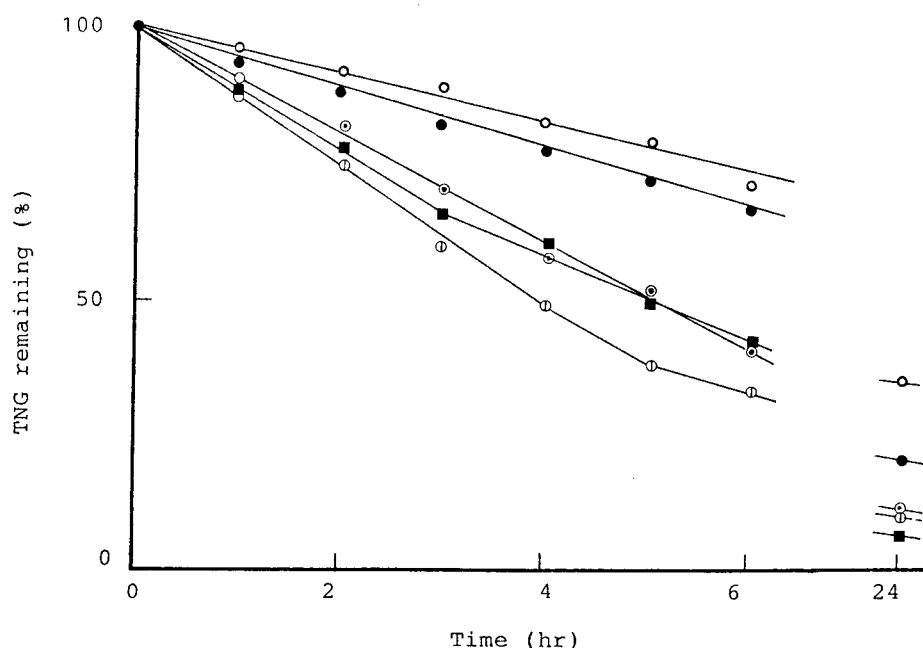


Fig.26 % Remaining of TNG in Five Kinds of TNG Ointments at 37°C

■ : VASOLATOR[®], ○ : β-CyD complex, ● : β-CyD physical mixture
 ● : CDPS complex, ⊙ : CDPS physical mixture.

で進んでいる。これは、TNGが脂溶性であるため複合体中のTNGが軟膏基剤に移行しやすく、移行後容易に揮散することが原因と考えられた。

各種軟膏による血圧への影響

TNGは体内に吸収されると本来の薬効である血管拡張作用を示す。この血管拡張により血圧の低下が生じるので、血圧の低下の時間は、すなわち、TNGの作用時間の1つの指標と考えることができる。そこで血圧測定を行った。血圧測定の結果をFig. 27に示した。バソレーター軟膏[®]と比較して物理的混合物を適用したときは、同程度かやや短時間の血圧低下を示した。一方複合体を用いた軟膏は血圧の低下時間が長くなり、特に β -CyDとの複合体を適用したものは8時間にわたる持続効果が見られ、 β -CyD添加の効果が顕著であった。

各種軟膏による血中濃度への影響

TNGの血中濃度の推移を Fig. 28に示した。バソレーター軟膏[®]を適用した場合と比較すると、複合体として適用した軟膏の場合は血中濃度が比較的長く持続し、特に β -CyDの複合体として適用したときは顕著であった。物理的混合物として添加したときは、最高血中濃度は低く、持続時間はあまり変化しなかった。バソレーター軟膏[®]の10時間までの血中濃度時間曲線下面積（AUC）を1としてAUCを比較すると複合体の場合 β -CyDで1.6、CDPSで1.2、物理的混合物の場合 β -CyDで0.7、CDPSで0.8となった。また、バソレーター軟膏[®]、複合体としてTNGを添加した軟膏では血中濃度が3 ng/ml程度を境としてそれ以下の濃度では低下していた血圧が定常状態に戻ることが示された。物理的混合物を添加した軟膏も同様の傾向を示した。したがって、血中濃度と血圧低下の持続時間に対応関係が存在すると考えられた。

in vitroの実験で揮散性が低く、溶出の遅い複合体を添加した軟膏を適用したin vivoの実験において、血中濃度と血圧低下の持続が観察され、in vitroとin vivoの実験の結果に一致がみられた。すなわち、TNG軟膏の持効化にCyDとの複合体化が良好な結果を示した。従来のTNG軟膏は硫酸紙により密封包帯されて貼付されていたことを考え合わせるとCyDとの複合体生成によりTNGの軟膏からの揮散が強く抑制されたこと、また基剤からのTNGの放出が抑制されることが理由と考えられた。

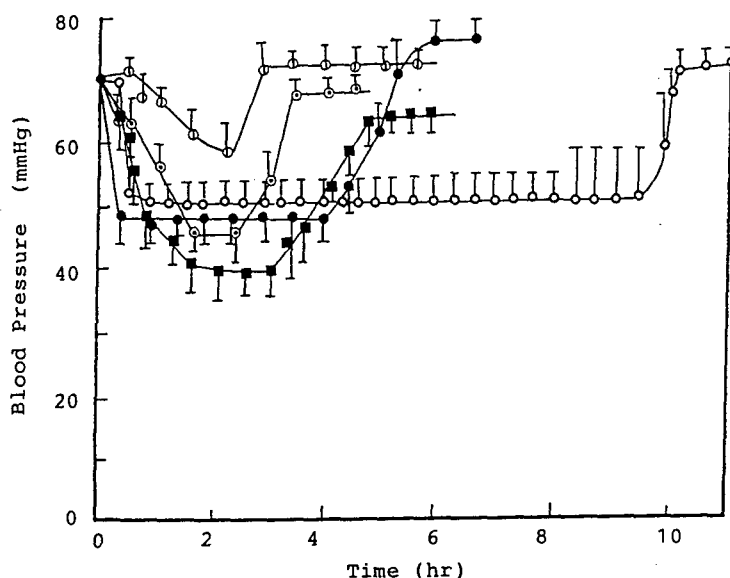


Fig.27 Blood Pressure after Application of Five Kinds of TNG Ointments on the Rabbits
 ■ : VASOLATOR®, ○ : β -CyD complex, ● : β -CyD physical mixture, ● : CDPS complex, ⊕ : CDPS physical mixture.
 Each point represents the mean \pm SD of 5 rabbits.

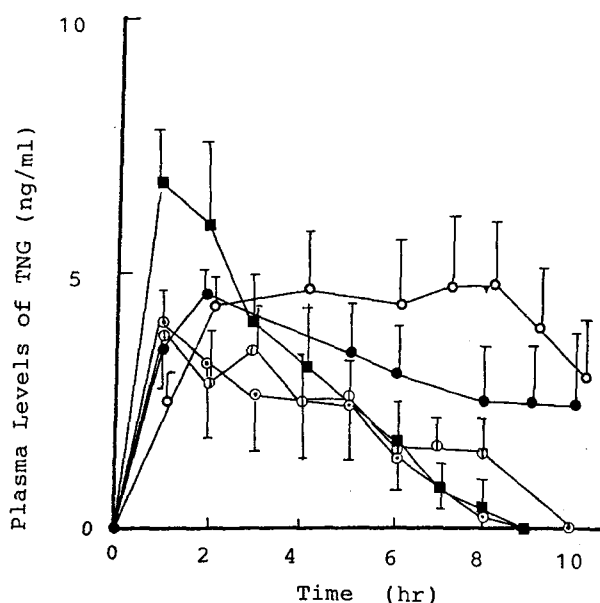


Fig.28 Plasma Levels of TNG after Application of Five Kinds of TNG Ointments on the Rabbits
 ■ : VASOLATOR®, ○ : β -CyD complex, ● : β -CyD physical mixture, ● : CDPS complex, ⊕ : CDPS physical mixture.
 Each point represents the mean \pm SD of 5 rabbits.

第三節 点眼剤への応用

β-エピネフリン(Ep)は酸化されやすく、また精製水に対して溶解性が大変低い。従って、製剤としては、一般に塩酸Epあるいは酒石酸水素Epとして利用されている。経皮、点眼等の外用剤としてそれらを利用する場合には、吸収の点より塩基のかたちで投与することが可能ならばより望ましい。しかし、Epは上述の安定性、溶解性の問題点より、塩基のかたちで投与することは困難であった。そこでシクロデキストリン(CyD)とEp複合体の製剤への応用の可能性について詳細な検討を行った。その結果、第一章、第二節に示したようにβ-シクロデキストリン(β-CyD)とEpは複合体を生成した。また、第二章、第三節に示したように、この複合体は酸化に対して安定であった。CyDとEpの複合体の溶解度の上昇がどこまで可能であるかを測定したところ、β-CyDとEpの複合体では0.5%w/vの溶液を得ることができた。しかしグリコシル-β-シクロデキストリン(G_1 -β-CyD)、マルトシル-β-シクロデキストリン(G_2 -β-CyD)の500mg/ml(水溶液として実用可能な上限濃度)溶液に、Epはそれぞれ0.14%W/V、0.13%w/vしか溶解せずβ-CyD添加の溶液より低い濃度しか得られなかった。これは、CyDとTNGの複合体のコンフォーメーションがCyDの種類によって異なるためと考えられる。β-CyDとEpの複合体ではEpがβ-CyDの環内に深く侵入しベンゼン環につくO-H基はβ-CyDの環の外側に飛びだし水溶性を高めているものと推察される。一方、 G_1 -β-CyD、 G_2 -β-CyDでは側鎖の影響によりEpのCyD環内への侵入が浅くなり、EpのO-H基がCyD環の外に充分出ない事が考えられ、従って複合体の溶解度がβ-CyDとEpの複合体より低いものと推定された。β-CyDによって得られたEpの濃度は注射液(ボスミン®)の0.1%より高く、点眼液(エピスタ®)の1.25%より低かったが、製剤上実用性のある濃度であると考えられた。

第四節 実験の部

複合体からのTNG溶出

粉体からの溶出

第一章に述べたものと同様に溶媒留去法、粉碎法によりニトログリセリン (TNG) と β -シクロデキストリン (β -CyD), TNGと水溶性ポリマー (CDPS) およびTNGと水不溶性ポリマー (CDPI) の複合体を調製した。溶媒留去法で得た複合体は粒子径は60メッシュのふるいを通過するようにそろえて試料とした。また、粉碎法によって得られた複合体はそのまま試料とした。

試料10mgを25°Cの精製水100ml中に投入し複合体からのTNGの溶出を経時的に測定した。攪拌はスターラーで行い、1,200rpmとした。定量はいずれもUV (215nm) 法⁵⁹⁾で行った。

錠剤からの溶出

複合体100mg (β -CyDは50mg) と結晶セルロース (アビスル[®] 101) 300mg を混合しIRのKBr錠用の打錠機を用い15秒間600kgの圧力をかけ成型して錠剤とし、これを試料として第11改正日本薬局方⁴³⁾ に従って回転パドル法により溶出試験を行った。パドルの回転数は100rpmとした。定量はいずれもUV (215nm) 法⁵⁹⁾で行った。

軟膏剤への応用

使用薬品

白色ワセリン、精製ラノリンは局方品を使用した。TNGと β -CyDを複合体として基剤へ添加し調製した軟膏、TNGと β -CyDを物理的に混合しそのまま基剤へ添加し調製した軟膏、TNGとCDPSを複合体として基剤へ添加し調製した軟膏、TNGとCDPSを物理的に混合しそのまま基剤へ添加し調製した軟膏の4種類と比較対照として(株)三和化学研究所より市販のTNG軟膏であるバスレーター[®] 軟膏の提供を受けこれを使用した。複合体の調製は β -CyDとTNGをモ

ル比1：1として溶媒留去法で調製した。また、軟膏の基剤（局方精製ラノリン145gに精製水55gを加え十分に混和し得た加水ラノリンと白色ワセリンを6：4の割合で混合）へのTNGの添加量（2％）はバソレータ軟膏®と同様とした。なお、TNGおよびCyDは第一章に述べたものと同様である。

軟膏からのニトログリセリンの放出実験

実験の装置はSartorius社（西ドイツ）製軟膏放出シュミレーターに習ってアクリル製のフロータイプの溶出セル（サンコウプラスチック製）を用い溶出試験装置とした。アクリル製のフロータイプのセル（容量1ml）の片側に軟膏1.5gを充填し1時間精製水で煮沸処理したセルロースフィルムをはさみ、他方に精製水50mlを5 ml/minの速度で環流させ、経時的に環流液中のTNG濃度をHPLCで定量した。なお、本実験は37℃の恒温槽中で行った。

軟膏からのニトログリセリンの揮散の測定

各軟膏100mgを10mm×10mmのガラス板に均一に伸ばし37℃の恒温槽中に一定時間放置した後、キューラーを付け、20mlのエタノールが入った三角フラスコ中にガラス板とともに投入し、水浴上で20mlのエタノールにより50℃の条件で20分間抽出し放冷後遠心分離（5℃, 300rpmで20分間）し上澄液についてHPLCでTNGを定量し、TNGの揮散に対する各CyDの影響を検討した。

血圧の測定

1群5羽の家兎（♂3-4Kg）をクロスオーバー法により実験した。家兎の背部をはさみで除毛し、それぞれの試験する軟膏0.6gを20cm²の硫酸紙にのぼして貼付した後、一定時間ごとに中心耳静脈で血圧の測定をした。血圧測定の原理は人体の水銀血圧計と全く同様であるが、家兎の場合肉眼で血流を観察するため、最高血圧の測定のみとなった。

血中濃度の測定

TNGの血中濃度の測定は血圧測定と全く同様に家兎に対して各軟膏を貼付し耳静脈より1時間ごとに1ml採血し、その血清200μlをエタノールで除蛋白し、

これを窒素ガスの気流下で濃縮し、さらにヘキサン100 μ lでTNGを抽出し、放射イオン型ガスクロマトグラフィーで定量した。測定装置は(株)島津製作所製、GC-5A型ガスクロマトグラフィー (ECD (^{63}Ni 10mCi) を装着)、インテグレーターはシステムインスツルメンツ(株)製Chromatocorder12を使用した。カラム条件はGas-chrom Q 80-100メッシュにSilicone OV-3を3%コーティングした充填剤を2 mのガラスカラムに充填し、カラム温度180°C試料室温度200°Cとした。

エピネフリンと β -シクロデキストリンの溶解限界の測定

各種CyDとEpをそれぞれ過飽和に10mlの脱気した蒸留水に加え、4°Cで5日間振とうし、0.45 μ mのフィルターでろ過しHPLCでその溶液のEpの濃度を定量した。

第五節 小括

- 1) ニトログリセリンとCDPSの複合体を舌下錠とする時、CDPSとの複合体は溶出が遅いため、即効性を得ることは難しいが持効性の舌下錠への利用が考えられた。
- 2) ニトログリセリンとCDPIの複合体を舌下錠とする時、CDPIは崩壊性に優れるため即効性を必要とするニトログリセリンの舌下錠には有効であると考えられた。
- 3) ニトログリセリンと β -CyDの複合体を舌下錠とする時、 β -CyDとの複合体は溶出に問題は無いと考えられるが、崩壊に若干の工夫が必要であると考えられた。
- 4) 軟膏にニトログリセリンとCyDの複合体を利用すると、持効型のニトログリセリン軟膏を調製することが出来る。特に β -CyDの複合体は持効性に優れていた。
- 5) エピネフリンと β -CyDの複合体は製剤として利用できる範囲の溶解性を示し、塩基の形での製剤化が可能であることが示唆された。

第四章 総括

- 1) ニトログリセリンと β -CyD類は複合体を形成することが明らかとされた。
- 2) ニトログリセリンと β -CyD類の複合体はニトログリセリンの揮散を強く抑制することが確認された。
- 3) ニトログリセリンと β -CyD類の複合体は錠剤に利用することが可能であることが明らかとされた。
- 4) ニトログリセリンと β -CyD類の複合体は軟膏に利用するとき持効性の製剤の得られることが確認された。
- 5) エピネフリンと β -CyD類は複合体を形成することが明らかとされた。
- 6) エピネフリンと β -CyDの複合体は酸化に対して安定となり、また水溶性も改善されエピネフリンの塩基としての製剤化が可能であることが明らかとされた。
- 7) シクロデキストリンは光に不安定な各種の薬品の光安定性に影響し、分解を抑制したり加速したりする。また、この作用は固体、液体の状態で異なる場合のあることが明らかとされた。

謝 辞

本研究を行うに際し、終始御指導、ご鞭撻を賜りました星薬科大学永井恒司教授ならびに日本大学堀岡正義教授に深甚なる感謝の意を表します。

本研究を行うに際し、御指導、御協力を賜りました星薬科大学上田晴久助教授に深く感謝の意を表します。

本研究にあたり惜しめない御協力と御助言をいただいた日本大学岡村信助教授と後藤博子講師に深く感謝の意を表します。

ニトログリセリンをご提供頂いた日本化薬㈱二宮宏博士に深謝致します。

ニトログリセリン軟膏をご提供頂いた㈱三和化学研究所に深謝致します。

最後に、本研究を行うに際し、御指導、ご鞭撻を賜りました故日本大学斉藤太郎教授に深く感謝の意を表するとともに、ご冥福をお祈り致します。

論文目録

本論文は学術雑誌に収載された次の論文を基礎とするものである。

- 1) 伴野和夫, 上田晴久, 斉藤太郎, 永井恒司: 水溶性 β -シクロデキストリンポリマーとニトログリセリンの相互作用, 薬剤学, 47, 133-140 (1987)
- 2) 伴野和夫, 上田晴久, 斉藤太郎, 永井恒司: 粉碎法による β -シクロデキストリンポリマーとニトログリセリンとの複合体の生成, 薬剤学, 48, 9-16 (1988)
- 3) 伴野和夫, 後藤博子, 岡村信, 斉藤太郎, 上田晴久, 永井恒司: 光分解しやすい数種の薬物の光安定性に対する β -シクロデキストリンおよびその誘導体の影響, 薬剤学, 48, 322-325 (1988)
- 4) Kazuo Tomono, Hiroko Gotoh, Makoto Okamura, Taroh Saitoh, Haruhisa Ueda and Tsuneji Nagai: Interaction of nitroglycerin with 6-O- α -maltosylcyclomaltoheptaose, *Carbohydrate Research*, 192, 351-356 (1989)
- 5) 伴野和夫, 後藤博子, 岡村信, 堀岡正義, 上田晴久, 永井恒司: β -シクロデキストリン類によるニトログリセリン軟膏の持効化, 薬剤学, 51, 22-28 (1991)
- 6) 伴野和夫, 後藤博子, 岡村信, 堀岡正義, 上田晴久, 永井恒司: β -シクロデキストリン類のエピネフリンの溶解性及び酸化への影響, 薬剤学, 51, 129-134 (1991)

参考文献

- 1) M.L.Bender and M.Komiyama “シクロデキストリンの化学” 学会出版センター (1979)
- 2) 御船昭, 島淳之, 有機合成化学, 35, 116, (1977)
- 3) K.Uekama, Jpn.J.Antibio, 32, (suppl.), 103 (1979)
- 4) W.Saeng, Angew Chem.Int.Ed., 19, 344, (1980)
- 5) 上釜兼人, フレグランスジャーナル, 63, 68 (1983)
- 6) J.Szejtli, “Cyclodextrin Technology”, Kluwer Academic Publishers (1988)
- 7) P.M.Taylor and W.J.Whelan, Arch.Biochem.Biophys., 113, 500 (1966)
- 8) D.French and M.Abdullah, Biochem.J., 100, 6 (1966)
- 9) 小林昭一, 丸山一男, 貝沼圭二, 澱粉科学, 30, 231 (1983)
- 10) 檜作進, 安部淳一, 溝脇直規, 小泉京子, 宇多村敏子, 澱粉科学, 33, 119 (1986)
- 11) 岡田茂孝, 吉村佳典, 北畑美雄, 澱粉科学, 33, 127 (1986)
- 12) フードケミカル, 3 (7), 19-63 (1987)
- 13) A.R.Croft, A.R.Barsch, Tetrahedron, 39, 147 (1983)
- 14) J.Szejtli, J.Incl.Phenom., 1, 135, (1983)

- 15) K.Uekama, T.Irie, Cyclodextrins and their industrial used Ed:D. Duchene Edition de Sante, Paris, 1987, p.395
- 16) B.W.Muller and U.Brauns, Int. J.Pharm., 26, 77, (1985)
- 17) J.Pitha, J.Incl.Phenom., 2, 477 (1984)
- 18) E.Fenyvesi, M.Szilasi, B.Zadon, J.Szejtli, F.Tudos, "Proceeding of 1st International Symposium on Cyclodextrins"(Ed.J.Szejtli)D.Reidel Publisind, Dordrecht, Holland, 1981, p.345-356
- 19) 上釜兼人, 薬学雑誌, 101, 857 (1981)
- 20) K.Uekama, Y.Horiuchi, M.Kikuchi and F.Hirayama, J.Inclusion Phenom., 6, 167 (1988)
- 21) 菊池雅彦, 上釜兼人, 薬学雑誌, 108, 156 (1988)
- 22) K.Harata, K.Uekama, M.Otagiri and F.Hirayama, J.Incl.Phenom., 1, 279 (1984)
- 23) J.Szeman, H.Ueda, J.Szejtli, E.Fenyvesi, Y.Machida, T.Nagai, Chem. Pharm.Bull., 35, 282 (1987)
- 24) M.Komiyama, I.Sugiura, H.Hirata, J.Inclusion Phenom., 2, 823 (1984)
- 25) Y.Okada, Y.Kubota, K.Koizumi, S.Hizukuri, T.Ohfuji, K.Ogata, Chem.Pharm.Bull., 36, 2176 (1988)

- 26) D.W.Frank, J.E.Grary, R.N.Weaver, Am.J.Pathol., 83, 367
(1976)
- 27) 松田和夫, 米良幸典, 瀬川秀美, 内田泉, 横崎明子, 高木要, 応用薬理, 26, 287
(1983)
- 28) 山本政信, 有富英明, 入江徹美, 平山文俊, 上釜兼人, “分岐 β -シクロデ
キストリンの注射担体としての有用性評価” 日本薬剤学会第6年会 (1990)
- 29) M.Otagiri, T.Imai K.Uekama, J.Pharmacobio-Dyn., 5, 1027
(1983)
- 30) 山岡佳子, 山岸義史, 高山幸三, 南部直樹, 永井恒司, 薬剂学, 41, 231
(1981)
- 31) Y.Nakai, Drug Dev.Ind.Pharm., 12, 1017 (1985)
- 32) Y.Nakai, K.Yamamoto K.Terada and D.Watanabe, Chem.
Pharm.Bull., 35, 4609 (1987)
- 33) J.L.Flippen, R.D.Giraldi, Acta Cryst.B13, 926 (1975)
- 34) Y.Nakai, S.Nakajima, K.Yamamoto, K.Terada, T.Konno, Chem.
Pharm.Bull., 26, 3419 (1978)
- 35) H.Ueda, T.Nagai, Chem.Pharm.Bull., 28, 1415 (1980)
- 36) A.Yoshida, M.Yamamoto, T.Itoh, T.Irie, F.Hirayama, K.Uekama.
Pharm.Chem.Bull., 38, 176, (1990)

- 37) T.Higuchi, and K.A.Connors, *Adv.Anal.Chem.Instr.*, 4, 117 (1965)
- 38) 第十一改定日本薬局方注解 広川書店 日本公定書協会編 (1986)
- 39) R.Huttenrau, S.Fricke and M.Knop, *Pharmazie*, 40, 199 (1985)
- 40) M.Yamamoto, A.Yoshida, F.Hirayama and K.Uekama, *Int.J. Pharm.*, 49, 163 (1989)
- 41) Y.Yamamoto, M.Onda, M.Kitagawa, Y.Inoue and R.Chujo, *Carbohydr.Res*, 167, c11 (1987)
- 42) 井上義夫, “NMRでみるシクロデキストリン複合体の構造とダイナミックス” 第8回 シクロデキストリンシンポジウム, P.7 (1989)
- 43) Y.Nakai, E.Fukuoka, S.Nakajima, Y.Iida, *Chem.Pharm.Bull.*, 26, 2983 (1987)
- 44) T.Urubanski, M.W.Tanowski, *Trans.Farady Soc.*, 59, 1046 (1963)
- 45) 池田陽一, 松本孝次, 国弘和雄, 不破亨, 上釜兼人, *薬学雑誌*, 102, 83 (1982)
- 46) 星野輝彦, 入江徹美, 平山文俊, 上釜兼人, 山崎政城, *薬学雑誌*, 109, 107 (1989)
- 47) K.Uekama, K.Oh, M.Otagiri, H.Seo, M.Tsuruoka, *Pharm.Acta Helv.*, 58, 338 (1983)

- 48) N.Kohri, K.Mori, K.Miyazaki, T.Arita, J.Pharm.Sci, 75, 57
(1986)
- 49) S.R.Tamat, D.E.Moore, J.Pharm.Sci., 72, 180 (1983)
- 50) M.C.Walker, B.E.Carpenter, E.L.Cooper, J.Pharm.Sci., 70, 99
(1981)
- 51) D.E.Moor, S.R.Tamat, J.Pharm.Pharmacol., 32, 172 (1980)
- 52) 山岡佳子, 山岸義史, 小林国男, 長谷部正晴, 安田和人, 中村正明, 水越正
信, 佐藤美枝子, 佐藤忠寿, 吉田功一, 永井恒司, 薬剂学, 42 (3) 189-200
(1982)
- 53) S.K.Yap, C.T.Rhoses, Ho-Leung Fung, Am.J.Hosp.Pharm., 32,
1039 (1975)
- 54) 林元英, 増田俊一, 佐野広, 基礎と研究, 15, 1950 (1981)
- 55) Armstrong.J.A. and Marks.G.S., Am.J.Cardiol., 46, 670 (1980)
- 56) Reichek.N., Goldstein R.E., Circulation, 50, 345 (1974)
- 57) Krantz J.C.Jr, Carr C.T., Pharmacological Principles Medical
Practice. 5th ed., Williams Wilkins Co., Baltimor, 1961, p.1021
- 58) 上釜兼人, 正木勝弘, 有森和彦, 入江徹美, 平山文俊, 薬学雑誌, 107, 449
(1987)
- 59) T.Higuchi, J.Pharm.Sci., 50, 874 (1961)

各種シクロデキストリンとニトログリセリン
及びエピネフリンとの相互作用並びに製剤化
への応用に関する基礎的研究
伴野和夫

—— 正誤表 ——

訂正箇所	誤	正
目次 12 行目	^1NMR	$^1\text{H-NMR}$
P. 30 下から3行目	β -CyD cont.	β -CyD cont. <u>(%)</u>
P. 61 下から6行目	中心耳静脈	中心耳動脈
P. 68 9 行目	J. <u>Inclusion</u> Phenom.	J. Incl. Phenom
P. 68 下から4行目	J. <u>Inclusion</u> Phenom.	J. Incl. Phenom
P. 70 8 行目	Carbohydry. <u>Res.</u>	Carbohydrate <u>Research</u>