

Title	シクロデキストリン類とその誘導体の分析法
Author(s)	窪田, 洋子
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36974
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【10】

氏名・(本籍)	窪 田 洋 子
学位の種類	薬 学 博 士
学位記番号	第 8882 号
学位授与の日付	平成元年11月1日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	シクロデキストリン類とその誘導体の分析法
論文審査委員	(主査) 教授 近藤 雅臣 (副査) 教授 三村 務 教授 西原 力 教授 岩田 宙造

論 文 内 容 の 要 旨

最近使用量が急上昇しているシクロデキストリン (CD) はデンプンから得られる天然物であるため高い安全性を有すると言われ、体内動態に関する研究も行われてはいるが、CDそのものの微量定量が困難なため、間接的な分析にたよっている状態であった。そこで、まず β -CDと安定な包接化合物を形成し bioavailability の向上が顕著であるフェノバルビタールを β -CD包接化合物として投与した時の吸収機構を明らかにすることを直接の目的として血中 β -CDの微量定量法について検討し、ラットをもちいた in situ 吸収実験を行った。血中 β -CDの定量法として、高感度示差屈折計 (RID) を用い β -CDを直接定量するAとB法、 β -CDを誘導体化し、紫外分光光度計、又は、液体シンチレーションカウンターを用いて定量するCとD法について検討した結果、ODSカラムと高感度RIDを用いた定量法 (B法) が操作も簡単で高感度定量が可能であることがわかった。B法を用いる血中 β -CDの定量によりこれまで薬物と包接化合物を経口投与した場合薬物のみが吸収され、CDは吸収されないと考えられていたが、 β -CDもラット腸管から吸収され得ることが認められた。

また、これまでCDの利用は製造が最も容易で、かつ最も広範囲のゲスト分子と包接化合物を形成し得る β -CDが中心となっていたが、溶解性が悪いため利用に限界があることが明らかとなり、最近では、 β -CDに比べ数十倍もの水溶性を有し、また有機溶媒にも溶解する分岐CD類やメチル化 β -CDの開発研究が盛んに行われている。しかし、これらの化合物にはそれぞれ多くの同族体の存在が予想されるため、それらの高感度で高分離能を有する分析法の開発が望まれる。そこで、分岐CD類については高感度RIDを用いた高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による分析法と、更に、より高い感度と安定性を持つことが期待される新しいタイプの検出器、パルスドアンペロメトリック検出器 (P

AD)を用いる分析法について検討した。

糖質のHPLCにおいて、アノメリックピークの分裂をおこさず、また、分子量の予想も出来るという理由で、最も一般的に用いられているアミノカラムはある程度改良されたとはいえ、総体的にカラムの寿命は短く、その上溶離液に値段が高く、しかも毒性のあるアセトニトリルを用いなければならない。一方、ODSカラムは鎖状オリゴ糖の分析には α -、 β -アノマーピークの分裂によりクロマトグラムが複雑になるため不適當であるが、環状オリゴ糖ではこの点は問題がなく、移動相は数%のメタノールを含む水溶液で、コストも低く、有機溶媒の含量が少ないために検出器として用いるRIDの高感度使用が比較的容易であり、また、カラム寿命も長いという利点がある。種々の性質の異なる C_{18} -結合充填剤の中ではシリカゲルを基剤として用い、残存シラノール基の2次処理を行った単相構造のものが最も高性能を有していた。このため分岐CD類の分離分析には上記のような条件を備えたODSカラムが最も適していると結論付けられた。

PADは、検出対象が糖の還元基ではなく、分子中に多数存在する水酸基であることから、分子量の増大に伴って検出感度が減少することもなく、CD類のような還元基を持たない少糖類のHPLCにおける検出器として非常に有効であることがわかった。

交換容量の非常に小さい特殊な陰イオン交換カラムを用い移動相にアルカリ溶液を使用するHPLCでCD類と分岐CD類は短時間に良い分離が得られカラム溶出後PADで直接検出出来た。CD類の溶出順は、アミノカラム、又は、ODSカラム上でのいずれとも異なり α -、 γ -、 β -CDの順に溶出した。また、 α -、 β -、 γ -各シリーズの分岐CD類は分子量の順に溶出した。この方法による β -CDの定量下限は25pmolで、第1章で述べた定量法のうち最も感度の高かったBとC法での定量下限に比べ約20倍の感度を示した。そこで血中 β -CDの超微量定量法について検討した結果、ビニルアルコール・コポリマーゲルを充填した逆相カラムであるAsahipak ODP-50を使用し、1.5%のアセトニトリルを含む50mM水酸化ナトリウム溶液を移動相として分離後PADで検出する方法が血漿成分の妨害がなく血中 β -CDの超微量定量を可能にすることがわかった。この方法で人血漿に既知濃度の β -CDを添加したものをを用いて検量線を作成したところ、50~1250pmolの範囲で直線性を示した。これらのことより、PADは従来糖質のHPLCにおける検出器として汎用されてきたRIDに比べ高い感度と安定性を有し、CD類の超微量定量に使用出来ることがわかった。

すでに数年前より市販され多方面で広く研究に利用されて来たジメチル β -CDは、純粋なジメチル誘導体 [heptakis (2, 6-di-O-methyl)- β -CD] (1)とメチル基の1つ多いhexakis (2, 6-di-O-methyl)-mono (2, 3, 6-tri-O-methyl)- β -CD(2)を主成分とする混合物であることがHPLCによる分離分析、部分メチル化グルシトールアセテートに導いた後のGC-MS測定並びにFAB-MSによる分子量の測定の結果より判明した。(1)と(2)をHPLCで単離し、それぞれの融点、施光度、 ^{13}C -NMRを測定した結果は、いずれも(1)と(2)が類似の値を示し、これらによる区別は困難で、特に市販品のように(1)と(2)がほぼ1対1の割合で混合した場合、高分離能を有するHPLCを用いない限り、純品であるかどうかの判断は難しいことがわかった。

論文の審査結果の要旨

β -シクロデキストリンの血中微量定量法を検討し、高感度示差屈折計を用いた高速液体クロマトグラフィーにより分析法ならびにパルスドアンペロメトリック検出器を用いた分析法が高感度な分離、分析法であることを確証した。更にこの方法を用い、フェノバルビタール- β -シクロデキストリン包接化合物の腸管に吸収時における β -シクロデキストリンの腸管膜透過を証明し、また、市販のメチル化 β -シクロデキストリンが2つの主成分を含む混合物であることも明らかにした。これらの成果は包接化合物のBioavailabilityに関する基礎的知見として評価されるものである、薬学博士を授与するに値するものと判定した。