

アスコルビン酸膜透過促進キャリアーの開発と機構探求

東北大学大学院 薬学研究科

鈴木 巖

We synthesized lipophilic cyclodextrins (CDs) having ionizable amino groups to investigate their abilities to form ion pair compounds with a biologically important reducing agent of ascorbic acid (vitamin C, AsA). Although permethylation on the hydroxy groups of hydrophilic CD derivatives to make them lipophilic is unsuccessful, peracetylation affords lipophilic CD derivatives having amino groups with excellent yields. The preliminary studies using hydrophilic amino-CDs revealed that the amino group introduced to the β -CD platform is able to form an ion pair with AsA. The binding constants of two monoamino- β -CDs, one of which has an amino group at the primary hydroxy side (1) and the other has it at the secondary hydroxy side (2), for AsA are 140 and 220 M^{-1} , respectively, indicating the superiority of the secondary hydroxy side modification. β -CD itself may bind AsA, but the binding constant for the β -CD-AsA complex cannot be obtained spectroscopically. Guest binding studies with adenine nucleotides, which have similar negative charges support the ion pair formation between amino-CDs and AsA even in the highly polar aqueous solutions. Binding AsA by the amino-CDs is also supported by the retardation effect on the oxidative degradation of AsA. Ion pair formation between lipophilic CDs having amino groups and AsA is indicated by liquid-liquid extraction and liquid membrane transportation experiments. When the hydroxy groups of 1 and 2 are acetylated (**Ac1** and **Ac2**, respectively) to make them lipophilic, they successfully extract AsA dissolved in aqueous phase into ethyl acetate phase where the lipophilic amino-CDs exist. The extraction abilities of **Ac1** and **Ac2** are greater than tetrabutylammonium bromide, a well know ion pair agent, indicating that both amino group and CD framework are critical for the uptake of AsA from aqueous to organic phases. As the binding strength difference observed for the corresponding hydrophilic CDs, 1 and 2, the secondary hydroxy side modification is superior to the primary hydroxy side modification indicated by the greater extraction ability of **Ac2**. The results obtained in this study suggest that (1) lipophilic amino-CD derivatives may be useful in uptake of AsA across an organic layer, especially those which have amino groups at the secondary hydroxy side, and (2) the transmembrane permeation abilities of lipophilic CD derivatives for AsA may be estimated from simple binding studies in aqueous solutions using corresponding hydrophilic CD derivatives.

1. 緒言

アスコルビン酸 (AsA; Fig. 1) はその標準酸化電 $E^{1\circ}$ が 0.127 V (vs. NHE, pH5.0) であり, 容易に酸化される物質, すなわち還元剤であり, 生体に対する著しい低毒性とあわせ, 生体内で発生する酸化作用を有するラジカル種を還元することで抗酸化作用の主要な部分を担っている物質である¹⁾. 一般に AsA のような高い親水性を有する化合物の場合, 生体はそれらの物質が必要とされる標的細胞に, それらに対する輸送タンパクを生体膜上に具備し, その膜輸送を行っている. しかしながら, 輸送タンパクがない細胞や, AsA を積極的に外部に投与しその優れた抗酸化作用を発揮させる場合には, 細胞表面にて親水性物質を本質的には透過させない生体膜の存在は大きな障害となる. AsA の経皮投与などを考慮する場合, 疎水性の細胞膜や細胞間脂質を透過させる必要があり, この観点から AsA に脂溶性側鎖を導入する試みがなされている²⁾. しかしな

が, 脂溶化 AsA 誘導体は脂質膜中に滞留する傾向が高く, 細胞内への AsA の導入には AsA を直接吸収させる方が効率が良いといえる. 本研究では, AsA 同様, 生体に対する毒性が著しく低いシクロデキストリン (CD; Fig. 2)³⁾ に正電荷を持たせ, かつ脂溶化することで, AsA と脂溶性のイオン対を形成させ, AsA の膜透過を実現可能か否かについての検討を行うこととした.

2. 実験

2.1 合成

水溶性 β -CD の過アセチル化: β -CD あるいは既報⁴⁻⁶⁾ により合成したアジ化- β -CD あるいは 2,3-マンノエポキシド- β -CD をピリジンに溶解させ無水酢酸を加え, 50°C にて 2 日間反応させた後, 溶媒溜去. 残滓にクロロホルムを加え, 硫酸水素ナトリウム溶液, 炭酸水素ナトリウム溶液, および飽和食塩水にて洗浄後, シリカゲルカラムクロマトグラフィーに附し (溶媒は酢酸エチル-メタノール系), 目的物を収率 83 ~ 92% で得た.

Ac1 の合成: 上で得られた過アセチル化-アジ化- β -CD をメタノール-酢酸溶媒中, 水素雰囲気下でパラジウム触媒による接触還元を常温, 常圧で行い目的物を収率 75% で得た.

Ac2 の合成: 上で得られた過アセチル化-2,3-マンノエポキシド- β -CD に, ベンジルアミンを作用させ, シリカゲルショートカラムクロマトグラフィーにて精製 (溶媒は酢酸



Development of Carrier Molecules Capable of Transmembrane Permeation of Ascorbic Acid and Exploration of Its Mechanism

Iwao Suzuki

Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Tohoku University

エチル-メタノール) した後, このベンジル基を Ac1 で行ったのと同じ条件下, パラジウム触媒による接触還元にて除去し, 目的物を収率 44% で得た.

2.2 AsA の安定性

AsA 1.0mM と各種水溶性 CD 誘導体と 5.0mM 含むリン酸緩衝液 (100mM; pH7.2) を恒温槽中に放置し, 定期的にサンプルを採取し, HPLC (UV 検出, 波長 284nm; ODS カラム 4.6 × 150mm; 溶離液 pH5.0 リン酸緩衝液: アセトニトリル (8 : 2), 5mM の臭化テトラエチルアンモニウム (TBAB) を含む) にて AsA を定量し⁷⁾, 擬一次反応速度式に従い AsA の見かけの消失速度定数 k を算出した. 温度は 7, 15, 25, 35, 45°C の各温度で行い, アレニウスプロットおよびアイリングプロットより活性化エネルギー E_a , 頻度因子 A , 活性化エンタルピー ΔH^\ddagger , および活性化エントロピー ΔS^\ddagger を求めた.

2.3 結合定数の算出

AsA の 7.5×10^{-5} M 水溶液 (pH5.0 リン酸緩衝液) に種々

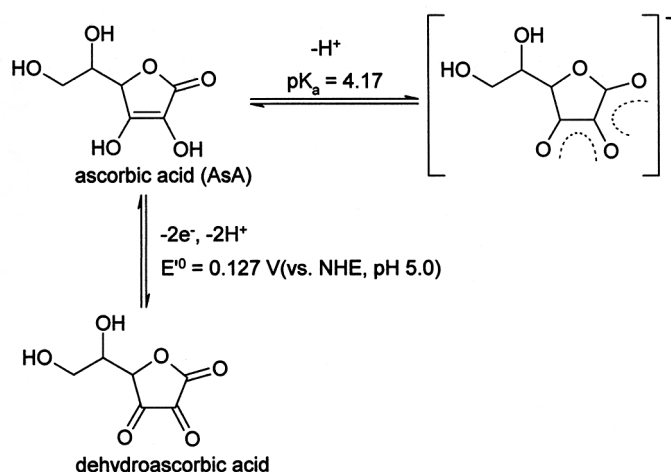


Fig.1 Structures of ascorbic acid (AsA), its deprotonated form, and dehydroascorbic acid.

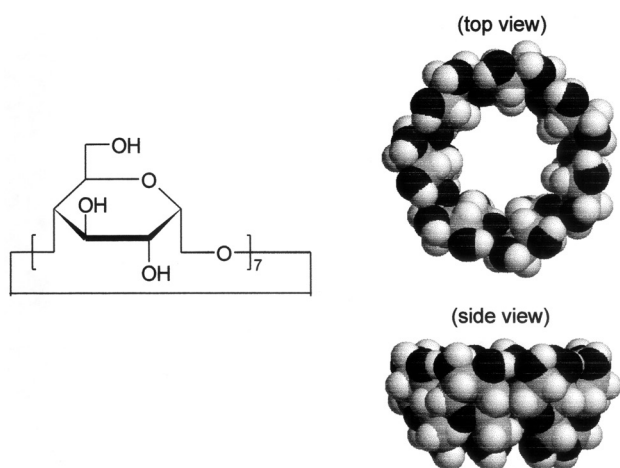


Fig.2 Structures and space filling model of β -CD.

の濃度になるよう, 各種水溶性 β -CD 誘導体を添加し, 円二色性スペクトルを測定し, 265nm 付近の円二色性強度変化より, ベネジ-ヒルデブランドプロット⁸⁾ より, 結合定数を算出した.

2.4 液-液抽出実験

AsA 1.0mM リン酸緩衝液 (5.0mL) と各種脂溶性 β -CD 誘導体を 1.0, 2.0, 3.0mM になるよう溶解させた酢酸エチル溶液をマグネチックスターラーにて 900rpm の角速度にて 10 分間攪拌し, 2 相に分離後, 水相および有機相を採取し, HPLC (条件は 2.2 に同じ) にて AsA を定量, 分配係数 K_p ($=[\text{AsA}]_{\text{有機相}} / [\text{AsA}]_{\text{水相}}$) を求めた.

2.5 液膜輸送実験

AsA の液膜輸送には内径 20mm, 高さ 70mm, 連結部の長さ 50mm, 連結部の内径 20mm の H 型セルを用いた. 送相として 10mM の AsA の pH5.0 リン酸緩衝液 5.0mL, 受取相として pH5.0 リン酸緩衝液 10.0mL を用い, 有機相には各種脂溶性 β -CD 誘導体を 5.0mM 含む酢酸エチル溶液 30mL を用いた. 定期的に 2 つの水相から 10mL をサンプリングし, 適宜希釈した後, HPLC (条件は 2.2 に同じ) にて AsA を定量した. なお, 実験中, 2 つの水相はマグネチックスターラーにて 100rpm の角速度にて攪拌した.

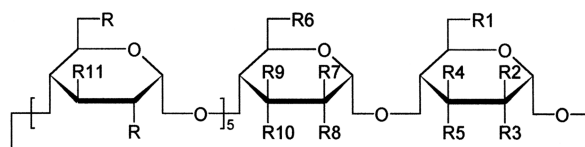
3. 結果

3.1 CD 誘導体の合成

本研究で用いた, あるいは合成を試みた β -CD 誘導体を Table1 に示した. CD の 1 つの水酸基にを常法によりトシル化した後, アジドあるいはエポキシドに導き, これら中間体の残存する水酸基をピリジン中で無水酢酸を用いるアセチル化⁷⁾ あるいは DMF 中 NaH-ヨウ化メチルを用いるト

Table 1 Structures of β -CD Derivative Used in This Study

| | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 | R6 | R7 | R8 | R9 | R10 | R11 | R |
|-------------|-----------------|----|-----|-----|-----------------|-----------------|----|-----|-----|-----|-----|-----|
| β -CD | OH | H | OH | OH | H | OH | H | OH | OH | H | OH | OH |
| 1 | NH ₂ | H | OH | OH | H | OH | H | OH | OH | H | OH | OH |
| 2 | OH | OH | H | H | NH ₂ | OH | H | OH | OH | H | OH | OH |
| 3 | NH ₂ | H | OH | OH | H | NH ₂ | H | OH | OH | H | OH | OH |
| DM | OMe | H | OMe | OH | H | OMe | H | OMe | OH | H | OH | OMe |
| TM | OMe | H | OMe | OMe | H | OMe | H | OMe | OMe | H | OMe | OMe |
| Ac β | OAc | H | OAc | OAc | H | OAc | H | OAc | OAc | H | OAc | OAc |
| Ac1 | NH ₂ | H | OAc | OAc | H | OAc | H | OAc | OAc | H | OAc | OAc |
| Ac2 | OAc | OH | H | H | NH ₂ | OAc | H | OAc | OAc | H | OAc | OAc |
| Ac3 | NH ₂ | H | OAc | OAc | H | NH ₂ | H | OAc | OAc | H | OAc | OAc |



リメチル化,あるいはDMF-DMSO混合溶媒中Ba(OH)₂-BaO共存下でジメチル硫酸で処理するジメチル化により脂溶性を試みた。最後にアジド基は還元し,エポキシ基はベンジルアミンによる環解裂後,接触還元によりアミノ基へと変換した。メチル化した場合には,副生物が多く中間体の精製が困難であった。一方,アセチル化を施したAcb, Ac1, Ac2では,一般に良好な収率で目的とするCD誘導体を得ることができた。CDに複数のアミノ基を導入したAc3は,副生物が多く目的物を純品で得ることはできなかったが,予備的に実験に用いた。

3.2 水溶性CD誘導体によるAsAの包接の確認

脂溶性CD誘導体を用いる前に,脂溶化していない

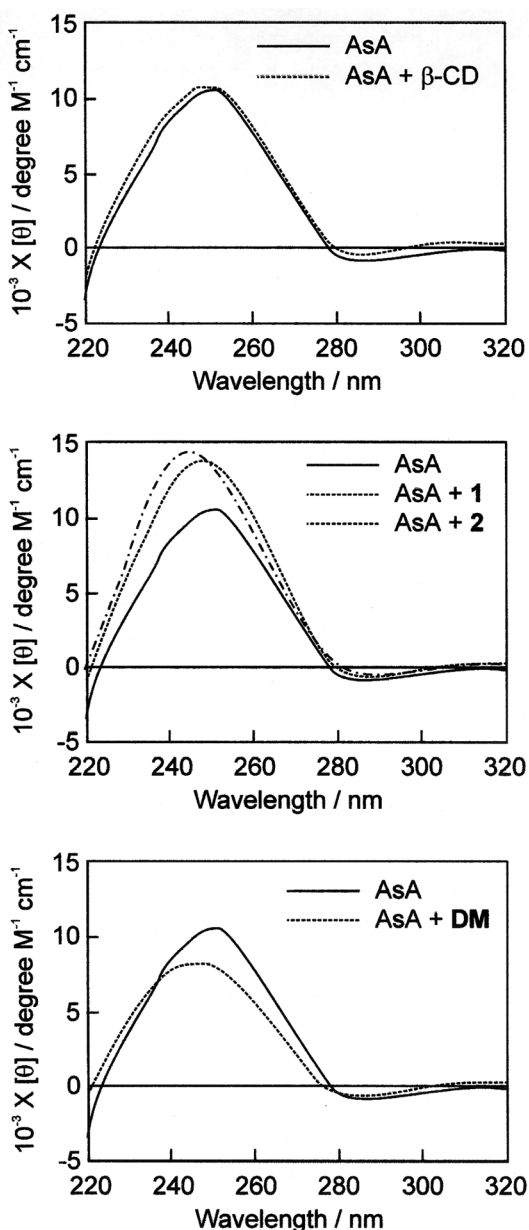


Fig.4 Circular dichroism spectra of AsA ($7.5 \times 10^{-5} \text{M}$) in phosphate buffer solutions (pH7.4), alone or in the presence of 5.0mM of β -cd (top), 1 or 2 (middle), and DM (bottom).

β -CD およびその誘導体について, AsA の包接が起こるかどうかを検討した。Fig. 4に AsA の円二色性スペクトルとそれに及ぼす各種水溶性 β -CD 誘導体の影響を示す。AsA と β -CD との包接化合物形成は,すでに AsA の吸光度と電極反応に及ぼす β -CD の影響よりその結合定数が pH 1 で $K=1200 \text{M}^{-1}$ と報告されている⁹⁾が,われわれが行った円二色性ならびに NMR の結果では pH5 および 7 で β -CD が AsA を包接しているという確証は得られなかった。しかしながら, Table2 に示したように, AsA の酸化分解を抑制するため,弱いながらも包接は起こっている可能性が高い。一方,アミノ化した β -CD である **1** および **2** では, AsA の円二色性スペクトルが **1** および **2** の添加により変化したことから, **1** と **2** は AsA を包接していることが示唆された。この円二色性スペクトルの変化より,結合定数が算出可能であり, **1** は $K=140 \text{M}^{-1}$, **2** は $K=220 \text{M}^{-1}$ にて AsA を包接することが明らかとなった。

AsA の水溶液中 (pH7.2) での安定性に及ぼす各種 CD 誘導体の効果をみたところ,円二色性スペクトル上にて包接が示唆された **1** と **2** では,顕著に AsA の安定性を増大させた (Table2)。また,AsA の分解過程の DH と DS に及ぼすこれら CD 誘導体の影響は小さく (Table3)¹⁰⁾, AsA の酸化分解祖素反応には CD は関与しない,すなわち,包接することで AsA の酸化分解を抑制していることが強く示唆される。

β -CD のメチル化体である 2,6-ジメチル- β -CD (DM) と 2,3,6-トリメチル- β -CD (TM) は両親媒性物質であり,水溶性を具備していることから円二色性による包接の確認を行ったところ,AsA の円二色性スペクトルに影響を与え,包接化合物形成が示唆された。しかしながら,結合定数解析では,1:1 の包接を仮定しても,結合定数が得られず,他の化学両論比の包接化合物の形成が考えられるが,現時点ではその詳細は不明である。また,他の β -CD 誘導体とは異なり,DM と TM は AsA の安定性を減少させたことから,あるいは溶存酸素を含んだ形の包接化合物を形成している可能性も考えられる。

水溶液中におけるイオン対形成が可能なことは,AsA と同様の負電荷を生理学的 pH において負電荷を有し,かつ 5 炭糖部分を持つアデニンヌクレオチドを用いて,さらに検討した。円二色性スペクトルによる検討から,各種アデニンヌクレオチドと **1** および **2** との間の包接化合物の結合定数を得ることができた (Table4)。その結果,やはり CD 上にアミノ基を導入することにより,ゲストアニオンとの間の効果的なイオン対形成が起こり,電荷を持たない β -CD よりも各種アデニンヌクレオチドを強く認識できることが明確に示された。さらに,1H-NMR スペクトルを検討したところ,リボースのアノマープロトンが CD 誘導体添加によって大きくシフトし,アデニンヌクレオチドで

Table 2. Apparent Pseudo-First Order Rate Constants for Auto-Oxidation of AsA in at Various Temperature^{a,b})

| Condition | k / h ⁻¹ | | | | |
|-----------|---------------------|--------|--------|-------|-------|
| | 7°C | 15°C | 25°C | 35°C | 45°C |
| AsA only | 0.0095 | 0.0278 | 0.124 | 0.131 | 0.365 |
| with β-CD | 0.0094 | 0.0248 | 0.0408 | 0.116 | 0.257 |
| with DM | 0.0182 | 0.0408 | 0.158 | 0.277 | 0.408 |
| with TM | 0.0166 | 0.0338 | 0.135 | 0.225 | 0.412 |
| with 1 | 0.0105 | 0.0204 | 0.0630 | 0.136 | 0.315 |
| with 2 | 0.0078 | 0.0178 | 0.0356 | 0.102 | 0.244 |

- a) All measurements were performed with 0.1 M phosphate buffer (pH 5.0).
 b) The initial concentration of AsA was 1.0 mM and the concentrations of the additives were 5.0 mM.

Table 3. Activation Energy (E_a), Activation Enthalpy (ΔH[‡]), and Activation Entropy (ΔS[‡]) for the Auto-oxidation of AsA

| Condition | E _a | ΔH [‡] | ΔS [‡] |
|-----------|------------------------|------------------------|-------------------------|
| | kJ / mol ⁻¹ | kJ / mol ⁻¹ | J K / mol ⁻¹ |
| AsA only | 70.5 | 73.1 | 137 |
| with β-CD | 64.9 | 67.5 | 116 |
| with DM | 65.2 | 67.5 | 122 |
| with TM | 66.5 | 69.0 | 126 |
| with 1 | 69.4 | 72.0 | 132 |
| with 2 | 68.8 | 71.1 | 127 |

Table 4 Binding Constants of β-CD Derivatives for Adenine Derivatives in pH 7.4 Aqueous Solutions at 25°C

| guest | K / M ^{-1a)} | | |
|-----------|-----------------------|----------|---------------------|
| | β-CD | 1 | 2 |
| adenosine | 16 (12) | 13 (5.4) | - (-) ^{b)} |
| AMP | 44 (44) | 46 (39) | 79 (52) |
| ADP | 19 (15) | 66 (4.9) | 140 (38) |
| ATP | 32 (38) | 75 (30) | 160 (120) |

- a) The values in parentheses were obtained in the presence of 20 mM of MgCl₂.
 b) Values could not be obtained owing to the small circular dichroism changes caused by the addition of 2.

はアデニン環ではなく、リボース部分が包接されることが判明した。

3.3 脂溶性 CD 誘導体による AsA の液 - 液抽出

水溶性 CD 誘導体による結果から、アミノ基を導入した β-CD 誘導体はイオン対形成を補助駆動力として AsA を包接することが示唆された。したがって、より疎水的な環境下では Ac1, Ac2 などの脂溶性した β-CD 誘導体との間

でより効果的なイオン対形成が期待された。そこで、有機相に酢酸エチルを用い、その中に各種脂溶性 CD 誘導体を溶解させ、水相中に存在する AsA の抽出能を検討した。なお、有機相の溶媒として酢酸エチル以外にもクロロホルムや n-ブタノールを用いたが、その場合には混合・振とう時にエマルジョン形成が起こったため、抽出能を評価することは不能であった。液 - 液抽出の結果を Table 5 に示す。β-CD の過アセチル化体である Acb は AsA の有機相への抽出には何ら効果を示さなかったのに対し、アミノ基を有する Ac1 では小さいながらも抽出能が認められた。さらに、Ac2 は Ac1 よりも効果的に AsA を有機相へと移行させることがわかった。両親媒性物質である DM および TM はアゾ色素の液膜輸送に有効であることが報告されているが¹¹⁾、AsA の液 - 液抽出においては、全くその効果を示さなかった。これらは上述の通り、水溶液中で AsA を包接することが示唆されており、かつ有機溶媒に可溶であるにもかかわらず、AsA の有機相への移行を行えなかったことから、有機相への AsA の移行には CD の空洞のみではなく、正荷電を持ちうるアミノ基の存在が重要であること、したがって、水相 - 有機相の界面でのイオン対形成が必要であることが示唆された。このことは対照実験として行った TBAB をイオン対形成剤として用いた場合に、わずかではあるが、

有機相への移行を観察できたことから支持される。また、TBAB と Ac1 や Ac2 の AsA に対する分配係数 K_p を比較すると、Ac1 で約 2 倍、Ac2 では約 4 倍の抽出能が認められた。このことから、単なるイオン対形成ではなく、界面での包接に CD 空孔も関与していることが示唆された。

3.4 脂溶性 CD 誘導体による AsA の液膜輸送

前節での結果をふまえ、H 型セルを用いる AsA の液膜

Table 5 Partition Co-efficient (K_p) of AsA between Aqueous and Ethyl Acetate Layers^{a)}

| Additives | K_p | | | |
|------------|-------|--------|--------|--------|
| | 0 | 1.0 mM | 2.0 mM | 3.0 mM |
| Ac β | 0 | 0 | 0 | 0 |
| DM | 0 | 0 | 0 | 0 |
| TM | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Ac1 | 0 | > 0.01 | 0.02 | 0.04 |
| Ac2 | 0 | 0.02 | 0.05 | 0.08 |
| TBAB | 0 | > 0.01 | 0.01 | 0.02 |

a) K_p is defined as (concentration of AsA in organic layer) / (concentration of AsA in aqueous layer).

Table 6 Transmembrane Transportation Rates (unit in mM h^{-1}) at 25°C for AsA Mediated by Lipophilic CD Derivatives^{a)}

| Ac β | DM | TM | Ac1 | Ac2 | Ac3 | TBAB |
|------------|----|----|--------|--------|--------|--------|
| 0 | 0 | 0 | 0.0146 | 0.0201 | 0.0226 | 0.0078 |

a) See Experimental Section for the detailed experimental conditions.

輸送について検討した. ここでも有機相として酢酸エチルを使用した. その結果を Table 7 に示す. 液-液抽出にて効果のなかった Ac β と DM, TM は, 予想通り AsA の液膜輸送を行えなかった. これに対し, 液-液抽出にて効果を示した Ac1 および Ac2 は, おそいながらも液膜輸送を行えた. すなわち, Ac1 は 0.0146 mM h^{-1} の速度で, また Ac2 は 0.0201 mM h^{-1} の速度で送出相から受取相へと AsA を輸送した. Ac1 および Ac2 は本来, 荷電を持たない形であり, プロトン化することで正荷電を獲得する. したがって, Fig. 3 に示したように, 界面で AsA とともにプロトンを送出相から受け取り, 受け取り相との界面にて AsA とプロトンとを放出する機構が考えられる. また, 精製が不十分ではあるが, 2つのアミノ基を有する Ac3 を液膜輸送の単体として用いたところ, 界面が時間の経過とともに白濁し, 長時間での測定は不能であったが, 初期の輸送速度は 0.0226 mM h^{-1} であり, この結果は複数のアミノ基の CD への導入により, より効果的な AsA の膜輸送担体とすることができる可能性を示唆するものである.

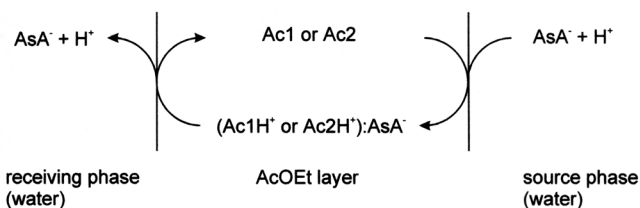


Fig.3 Proposed mechanism for Ac1- or Ac2-mediated transportation of AsA across liquid membrane.

4. 考 察

AsA は親水性物質であり, 主として疎水性相互作用を駆動力とする β -CD とは包接化合物を形成しにくい物質である. しかしながら, CD は安息香酸アニオンを包接する際に, 極めて親水的であるはずのカルボキシラート部分を疎水性空孔内に取り込んでいることが知られており¹²⁾, AsA についても, すでに報告されているように, β -CD に包接される可能性は否定できない. それが AsA の安定性改善に対する要因であると思われるが, 他の分光学的手法では包接化合物形成を確認できず, その結合定数は小さいものと推定できる. 対照的に,

pH 5 あるいは pH7.2 にてプロトン化し, 正荷電を有する **1** および **2** では, 水溶液中においても AsA を包接しうることが示唆された. これは, ホスト側に正荷電, ゲストである AsA に負荷電があり, その間でイオン対形成が起こり, AsA が β -CD 空孔に包接されたものと考えられる. このことは, AsA と同じく生理学的 pH にて負荷電があり, かつ 5 炭糖構造を有するアデニンヌクレオチドに対する CD 母核上のアミノ基のイオン対形成に基づく包接力の増強からも確認することができる.

ここで, CD の修飾位置に関する違いを見てみると, 1 級水酸基側にアミノ基を導入したものより, 2 級水酸基側にアミノ基を導入したものが, AsA の安定性の増大に対する効果が大きい. このことは, 2 倍の水酸基が存在し, より親水的な環境であると考えられる CD の 2 級水酸基側に正荷電を導入することで, より効果的な AsA の包接を行うことが可能になることを示している¹³⁾.

この 2 級水酸基側への正荷電の導入の優位性は, CD を脂溶化した Ac2 においても, 液-液抽出ならびに液膜輸送実験にも現れた. すなわち, 対応する 1 級水酸基側修飾体である Ac1 に比べ, 液-液抽出能で約 2 倍, 液膜輸送能で約 1.4 倍の効果を AsA の有機相移行に対して示した. また, イオン対試薬として汎用されている TBAB とも比較して, Ac2 は約 4 倍の液-液抽出能, および約 2.5 倍の液膜輸送能を AsA に対して示した. このことは, 液-液界面にて AsA と Ac1, そして特に Ac3 は単なるイオン対形成によって AsA を有機相に移行させるのみでなく, AsA の形状を認識して包接することを示唆している. し

かしながらアミノ基のない Acb や、水溶液中でも AsA を包接することが示唆された DM および TM では界面での AsA の捕捉を行い得なかったことから、界面における AsA 認識の主たる駆動力はイオン対形成であり、CD 空孔の関与する認識力(おそらくは van der Waals 力であろう)は補助的な役割を担っていると考えられる。

アミノ基を有する CD 誘導体について、本研究から得られた示唆の 1 つとして、水溶液中で AsA を包接しうるものは、界面においても有効なホストとして機能し、水溶液中での包接の強さと界面での捕捉力にはある程度の相関が認められたことである。まだ例数が少ないため、確定的なことはいえませんが、仮に水溶液中での結果と界面での捕捉力とがパラレルな関係にあるとすると、今後、このタイプの AsA 輸送キャリアーをスクリーニングする手段として、簡便である水溶液中での各種分光的手法による包接化合物形成を確認することで代用できる可能性がある。

5. 総括

本研究でこれまでに得られた成果は上述の通りである。すなわち、 β -CD にわずか 1 つのアミノ基を導入することで、水溶液中での AsA の安定性を向上させることが可能であった。これはこれら CD を基盤とする分子がホスト分子として AsA を包接し、溶存酸素による酸化を抑制する機能を有していること示すものである。さらに、これらの水溶性 β -CD を過アセチル化により脂容化することで、少なくとも酢酸エチル相への AsA の移行を促進することが可能であった。予備的に行った 2 つのアミノ基を有する脂溶性 β -CD 誘導体は 1 つのアミノ基のみを有する β -CD 誘導体よりも効率的に AsA の有機相への移行を促進する結果が得られており、今後、2 つのアミノ基を有する β -CD 誘導体の効率的な合成法および精製法を確立することで、あるいはより効果的なキャリアー分子を開発できる可能性がある。

本研究では、AsA の脂質膜透過を促進するキャリアー分子を、生体に対する毒性の低い CD 誘導体にて実現させる系についての検討を行う予定であったが、肝心の脂質膜透過性を検証するには至らなかった。この点については、今後も引き続き検討する予定である。

引用文献

1) Kaneko K, Nagao N, Miwa N, :Vitamin C: A structure-activity Correlation and Cytoprotective Actions through Free Radical Scavenging and

Extracellular Matrix Construction: *Nippon Rinsho*, **57**, 2223-9, 1999.

- 2) For example; Schmid E, Figala V, Roth D, et al, :Antioxidant and Nuetrophil-Inhibiting Properties of New 2-O-Methyl-6-(alkylthio)ascorbic Acid Derivatives: *J. Med. Chem.*, **36**, 4021-4029, 1993.
- 3) Szejtli J, Osa T (eds), :Comprehensive Supramolecular Chemistry, Volume 3, Cyclodextrins: Pergamon, Oxford, 1996.
- 4) Melton LD, Slessor KN, :Synthesis of Monosubstituted Cyclohexaamylose: *Carbohydr. Res.*, **18**, 29-37, 1971.
- 5) 戸田不二緒監修・上野昭彦編集, :シクロデキストリン-基礎と応用- :産業図書, 東京, 1995, 第 4 章.
- 6) Teranishi K, Watanabe K, Hisamitsu M. Et al., :Efficient Regioselective Synthesis of Mono-2-O-Sulfonyl-Cyclodextrins by the Combination of Sulfonyl Imidazole and Molecular Sieves: *J. Carbohydr. Chem.*, **17**, 489-494, 1998.
- 7) Pappa-Louisi A, Pascalidou S, :Optimal Conditions for the Simultaneous Ion-Pairing HPLC Determination of L-Ascorbic, Dehydro-L-Ascorbic, D-Ascorbic, and Uric Acids with On-line Ultraviolet Absorbance and Electrochemical Detection: *Anal. Biochem.*, **263**, 176-182 (1998).
- 8) Benesi HA, Hildebrand JH, :A Spectrophotometric Investigation of the Interaction of Iodine with Aromatic Hydrocarbons: *J. Am. Chem. Soc.*, **71**, 2703-2707 (1949).
- 9) Manzanares MI, Sol s V, de Rossi RH, :Effect of Cyclodextrins on the Electrochemical Behaviour of Ascorbic Acid on Gold Electrodes: *J. Electroanal. Chem.*, **407**, 141-147 (1996).
- 10) 中間報告に記載のデータに誤りがありました。謹んでお詫びいたします。
- 11) Harada A, Takahashi S, :Transport of Neutral Azobenzene Derivatives by Methylated Cyclodextrins: *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1987**, 527-528.
- 12) Suzuki I, Obata K, Anzai J, Ikeda H, Ueno A, :Crown Ether-tethered Cyclodextrins: Superiority of the Secondary Hydroxy Side Modification in Binding Tryptophan: *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **2000**, 1705-1710.