報 文

抗炎症薬 β -グリシルリチン酸塩と 長鎖アルキルアンモニウム塩との混合ミセル形成

小出 操^{*1}・宇川 仁太^{*2}・小高 明人^{*1}・
太垣和一郎^{*2}・玉垣 誠三^{*2}

^{*1} ライオン株式会社研究開発本部薬品研究所
(〒256 神奈川県小田原市田島 100)

^{*2} 大阪市立大学工学部生物応用化学科
(〒558 大阪府大阪市住吉区杉本 3-3-138)

Mixed Micellar Formation of an Anti-Inflammatory Drug β -Glycyrrhizinate and Long-chain Alkylammonium Salts

Misao KOIDE^{*1}, Jinta UKAWA^{*2}, Akito ODAKA^{*1},
Waichiro TAGAKI^{*2}, and Seizo TAMAGAKI^{*2}

^{*1} Pharmaceutical Research Laboratories of Lion Corporation
(100, Tajima, Odawara-shi, Kanagawa-ken, 〒256)

^{*2} Department of Bioapplied Chemistry, Faculty of Engineering, Osaka City University
(3-3-138, Sugimoto, Sumiyoshi-ku, Osaka-shi, Osaka-fu, 〒558)

Abstract : Dipotassium glycyrrhizinate(GK2) is known as an anionic surfactant having anti-allergic and anti-inflammatory activities. However, physicochemical properties of mixed micelle formation of GK2 is not well-understood. In this study, in order to understand the microenvironmental polarity around the enone chromophore of chiral GK2 and its 20 β -carboxyl methyl ester(GMe) in the presence of long-chain alkyltrimethylammonium bromide(C_n -TAB) homologues, circular dichroism(CD) measurements were carried out. The spectroscopy revealed that the ability of mixed micelle formation of C_n -TABs with GK2 depended upon the alkyl chain length. C_{12} -TAB and C_{14} -TAB, which have almost the same alkyl chain length as the long axis of the hydrophobic part of GK2, formed the most stable micelles with both GK2 and GMe in the molar ratios of 2 : 1 and 1 : 1, respectively. Surface tension measurements and fluorescence analyses using pyrene as a probe also supported the above results stoichiometrically. In addition, molecular dynamic calculations were in good agreement with those results.

Key Words : β -glycyrrhizinate, alkylammonium salt, mixed micelle, circular dichroism, molecular mechanics calculation

1 緒 言

β -グリシルリチン酸ジカリウム (GK 2) は、甘草根中に存在するトリテルペノイドサポニンであり、抗炎症・抗かゆい(潰瘍)・解毒の顕著な三つの薬理作用を始めとして、抗がん(癌)・抗アレルギー・脱コレステロール

作用等その薬理効果は多種多彩で、しかも反復服用によって薬剤耐性が認められないこともあり、長期にわたり広く活用されている¹⁾。その一方で GK2 は、親水部としてジグルクロン酸、疎水部としてトリテルペノイド骨格を有するため界面活性能を持つことが知られている^{2)~4)}。著者らは、臨界ミセル濃度 (cmc) に近い 1 mM 溶液中では、GK2 がすき(隙)間の多いマイクロ構造の巨大アニオン性ミセルを形成することを最近報告した⁵⁾。この隙間を柔軟性のある炭化水素鎖を有するカチ

注 1) 前報 : 油化学, 原稿番号 96046, 1996.6.18 受付
連絡者 : 小出 操

オン性界面活性剤である長鎖アルキルトリメチルアンモニウム分子の第二成分で埋めることができれば、堅固な構造のGK2混合ミセルが得られるものと考えられる。

一般的に、アニオン界面活性剤とカチオン界面活性剤等の界面活性剤同士が混合ミセル複合体を形成することは広く知られている^{6)~7)}。特に混合ミセルの形成は、主に表面張力法による臨界ミセル濃度 (cmc) 測定により調べられている^{8),9)}、GK2に関する知見は極めて少ない¹⁰⁾。本報では、混合ミセル形成に対するGK2の疎水トリテルペノイド部の構造因子、例えば長軸の長さや疎水度合の影響を調べる目的で、異なるアルキル鎖長を有する長鎖アルキルトリメチルアンモニウム塩 (C_n -TAB) のミセル中でのGK2疎水トリテルペノイド部のエノン基近傍の疎水性を円二色性 (CD) スペクトル法により検討した。混合ミセル形成におけるGK2の疎水部のカルボキシル基の働きを理解するために、メチルエステル化した β -グリシリリチン酸メチルエステル (GMe) を合成し、GK2と比較した。

2 実験

2.1 試料

GK2は丸善製薬(株)から購入した。オクチル-(C_8 -TAB), デシル-(C_{10} -TAB), ドデシル-(C_{12} -TAB), テトラデシル-(C_{14} -TAB), ステアリル (C_{18} -TAB) トリメチルアンモニウム臭素化物塩とリン酸 (特級) は東京化成工業(株), セチル (C_{16} -TAB) トリメチルアンモニウム臭素化物塩は日光ケミカルズ (株) からの市販品をそのまま使用した。

GMeは前報で述べた方法¹¹⁾で合成した。グルクロン酸部 (糖部) の2つのカルボキシル基をジメチルホルムアミド (DMF) 中で臭化ベンジルと反応させ、生成物をクロロホルム/メタノール (10:1) を溶出溶媒にしてカラムクロマトグラフィーにより精製し、糖部ジベンジルエステルを得た。次いで、トリテルペノイド部のカルボキシル基を各々等モルのトリメチルオキソニウムテトラフルオロボレートと*N*-エチルイソプロピルアミンを用いてメチルエステル化し、クロロホルム/メタノール (10:1) でカラムクロマト精製して純品を得た。最後に、メタノール中10% Pd/Cを用いて水素化脱ベンジルを行った。原料が薄層クロマトグラフィー (TLC) 上で消失したことを確認後、Pd/Cを濾過で除き、溶媒を留去して白色粉末GMeを得た。Fig. 1に、GK2およびGMeの化学構造式を示した。

2.2 実験および分子力場計算

各種測定はすべてpH 7.4の0.1 M リン酸緩衝液中で行った。cmc値はCDスペクトル法⁵⁾により決定した。CDスペクトルは日本分光 (株) 製JASCO J-720ポラリメーターを用いて測定した。また蛍光スペクトル測定は、 10^{-3} mMのピレンをプローブとして島津製RF-5000分光蛍光光度計によって行い、310 nmの励起波長で第一蛍光強度 (371 nm) と第三蛍光強度 (381 nm) との比を用い決定した^{12)~14)}。表面張力は島津製ST-1型Surface tensiometer (ウィルヘルミー型) で測定した。

Fig. 1 Structure of Glycyrrhizates.

分子力場計算は、ハードウェアとしてINDIGO R-400 (Silicon Graphics Inc., USA) を用い、CHARMm Ver 22/QUANTA Ver 3.3 (Polygen Corporation, USA) の構成からなるソフトウェアを使用した¹⁵⁾。CHARMm およびQUANTAはソフトウェアパッケージであり、前者は、Molecular Dynamic SimulationとMolecular Mechanics、後者は、Molecular Graphicsに関するものである。本研究では、GK2またはGMe分子と特定の長鎖アルキルトリメチルアンモニウム分子の2分子集合体をデザインして、その相互作用力を計算し、最も安定な状態での全エネルギーを求め、それぞれの分子が単独で存在するときの最低安定化エネルギーの総和と比較した。

3 結果および考察

3.1 GK2と長鎖アルキルアンモニウム塩 (C_n -TAB) との混合ミセル形成

pH 7.4, 1.0 mMのGK2溶液に一連の長鎖*n*-オクチル (C_8 -TAB), デシル (C_{10} -TAB), ドデシル (C_{12} -TAB), テトラデシル (C_{14} -TAB), セチル (C_{16} -TAB), ステアリル (C_{18} -TAB) 誘導体の各トリメチルアンモニウム臭素化物塩 (C_n -TAB) を加えた時の340 nmにおける円二色性 (CD) スペクトルの強度変化をFig. 2に示した。CD強度がGK2のエノン基周辺の環境の極性を反映することは既に報告した^{16),17)}。Fig. 2から分かるように、GK2のエノン基の環境が最も疎水的となるとCD強度は飽和 (ほぼ10 mdeg) に達する。そのために、例えば C_8 -TABは、GK2の1000倍の濃度を要

Fig. 2 Concentration Dependence of C_n -TAB on CD Spectral Intensity (340 nm) of GK2 (1.0 mM) in a Buffer Solution (0.1 M) of Phosphate at pH 7.4.

● : C_8 -TAB, ○ : C_{10} -TAB, ■ : C_{12} -TAB, □ : C_{14} -TAB, ▲ : C_{16} -TAB, △ : C_{18} -TAB.

Fig. 3 Plots of HSC Values for GK2 and GMe Against the Carbon Number in C_n -TAB.

● : $\log(\text{HSC})$, GK2, ▲ : $\log(\text{HSC})$, GMe, ○ : $\log(\text{cmc})$.

するのに対し、 C_{18} -TAB ではわずか 2 倍で充分である。このように CD 強度が飽和するのに要する C_n -TAB 濃度は、そのアルキル鎖長に依存した。

ここで、CD 強度が飽和レベルになる C_n -TAB 分子の最低濃度を、その濃度において GK2 分子周辺の環境が十分に疎水的になったと考え、疎水性飽和濃度 (hydrophobicity-saturating concentration : HSC) と定

義した。同じ考えを採用すると、いわゆる cmc とは同種の分子が集まって、界面活性剤分子の周りに最高の疎水的環境を形成する最低の界面活性剤濃度と言える。

上述の HSC 値と cmc 値とアルキル基の炭素数との関係を Fig. 3 に示す。HSC 値と cmc 値との大小関係から、用いた C_n -TAB 類は、以下の 3 領域 (I, II, III) に分類することができる。

3.1.1 C_8 -TAB (領域 I) との混合ミセル形成

C_8 -TAB の HSC (1000 mM) は、cmc (137 mM) を遙かに超えている。そのような高 C_8 -TAB 濃度では、 C_8 -TAB と GK2 (1 mM) との濃度比関係から判断して、GK2 は C_8 -TAB のカチオン性ミセル中に均一に分散していると表現するのが適切である。しかし、HSC 値そのものが 1000 mM と非常に大きい値を示すのは、GK2 と C_8 -TAB との相互作用が本質的には小さいことを示唆している。従って、GK2 の混在は C_8 -TAB のカチオン性ミセルを安定化していない。一般的には、混合ミセルの形成により、cmc が減少することが多いが、このケースはその限りではないことが分かる。

Fig. 3 の左側の HSC 直線部分 (領域 I) の傾きは、cmc の傾きの 2.2 倍である。これは、バルクで剛直な GK2 のトリテルペノイド部と直鎖炭化水素との間の疎水性相互作用によるメチレン基一個当たりの安定度が、自由度の大きい直鎖炭化水素基同士の相互作用に比べて大きいことを示している。Fig. 2 のシグモイド曲線の変曲点がほぼ C_8 -TAB の cmc 約 137 mM に対応している。後述する GMe- C_8 -TAB 系では、変曲点 (Fig. 4) は cmc より低く、cmc には対応していない。この結果は、GK2/ C_8 -TAB 系の方が混合ミセルを作りにくい

Fig. 4 The Change of the CD Intensity of GMe at 340 nm by Addition of TAB Homologues. [β -GMe]=1.0 mM in 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4)

● : C_8 -TAB, ○ : C_{10} -TAB, ■ : C_{12} -TAB, □ : C_{14} -TAB, ▲ : C_{16} -TAB, △ : C_{18} -TAB.

ことに起因する。

3.1.2 C_{10} -TAB, C_{12} -TAB, C_{14} -TAB (領域Ⅱ) との混合ミセル形成

一般的に C_n -TAB の直鎖炭素数が増加すると会合数が多くなり、cmc が減少するために¹⁸⁾、共存する他の界面活性物質 (例えば GK2) との混合ミセルを形成しにくくなると考えられるが、逆に直鎖の炭素数の増加により GK2 との疎水性相互作用がそれ以上に強くなると、混合ミセル形成が有利になるとも考えられる。Fig. 3 の領域Ⅱで後者が優勢になることは、GK2 のトリテルペノイド疎水部の長軸の長さ約 $12\sim 13\text{Å}$ ¹⁷⁾ とほぼ同じ長さのアルキル鎖長を持つ C_{12} -TAB (約 11Å) や C_{14} -TAB では HSC と cmc との値の完全な逆転が起り、HSC が cmc より小さくなったことを示している。

C_{12} -TAB (cmc : 16 mM) では、cmc のほぼ半分の濃度、言い換えると、GK2 濃度のほんの 10 倍の 10 mM で CD 強度が飽和レベルの 10 mdeg に達した (Fig. 2)。単独ではモノマーとしてしか存在しえない cmc 以下でも、 C_{12} -TAB は GK2 (ミセル) と安定な 2 : 1 の二成分混合ミセルを生成している。同様の現象は、 C_{14} -TAB においても起こる。ただし、 C_{12} -TAB と異なり、 C_{14} -TAB の HSC はちょうど GK2 濃度の 2 倍であり、 C_{14} -TAB と GK2 とは溶液中での組成と同じ 2 : 1 の混合ミセルを形成している。静電的相互作用に加えて、分子の疎水部間の疎水的な適合性からも、こ

れらの C_{12} -TAB や C_{14} -TAB と GK2 とは 2 : 1 混合ミセル形成にとって互いに相性のよい組み合わせである。GK2 と異種の界面活性剤である C_n -TAB を混合して安定なミセルを形成させるには、疎水部の長さを揃えればよいと推察される。

GK2 (cmc : 1.0 mM) と C_n -TAB との 2 成分混合ミセルの構造について更に検討するために、GK2 の濃度を 0.0, 0.01, 0.03, 0.05, 0.10, 0.20 mM とそれぞれ一定の条件下、まず、 C_{14} -TAB (cmc : 4 mM) 濃度を変化させて測定した表面張力を Fig. 5 に示す。どの GK2 濃度でも、 C_{14} -TAB 濃度が高くなると、表面張力が全く変化しない濃度が存在する。この濃度を臨界アルキルアンモニウム濃度 (critical alkylammonium concentration, CAC), 表面張力を臨界表面張力 (critical surface tension, CST) と称する。

GK2 濃度がほんの 0.01 mM でも、単独では比較的高い cmc を持つ C_{14} -TAB 水溶液の表面張力を著しく低下させ、 C_n -TAB 濃度が 0.38 mM と低いところでさえも CST (43 mN/m) になる。形成した相は極めて安定な凝縮相であることを示唆している。その他の GK2 濃度の場合についても、CST に到達するのに必要な CAC を Fig. 6 に示した。

GK2 と C_{14} -TAB 濃度がそれぞれ 0.06 mM, 0.12 mM の点、つまり、GK2/ C_{14} -TAB がちょうど 1 : 2 のところでプロットは屈曲する。GK2 の濃度が変われ

Fig. 5 Variation of Surface Tension vs. Total C_{14} -TAB Concentration with Different GK2 Concentrations in the GK2/ C_{14} -TAB Mixed System.

Fig. 6 CAC Values of C_{14} -TAB as a Function of GK2 Concentration.

ば、対応して C_{14} -TAB 濃度の CAC も変わるが、GK2 濃度が 0.06 mM を超えると、CAC も CST も一定 (0.12 mM, 43 mN/m) になる。つまり、GK2 : C_{14} -TAB を 1 : 2 の割合で含む水溶液の cmc は 0.06 mM であり、1 : 2 の混合比のミセルが生成している。CST の状態にある系に、cmc を超えない範囲で GK2 や C_{14} -TAB をそれぞれ追加しても、CST の値に全く影響しないことも Fig. 6 から明らかである。CAC に到達した溶液の界面の組成と構造は、Fig. 6 の斜線部の広い組成範囲でも同じである。両成分が一定の組成比 (1 : 2)

をもつ安定な表面膜を形成していることを示している。当然、 C_{14} -TAB が cmc を超えるほど大過剰に存在すると、当該成分が主成分の表面膜を生成し、表面張力は C_{14} -TAB 単独のものに近づくことも Fig. 5 は示している。

同様に、GK2 の濃度を 0.0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mM とそれぞれ一定にして、 C_{12} -TAB (cmc : 16 mM) 濃度を変化させたときの表面張力を Fig. 7 に示す。この場合も、どの GK2 濃度でも、 C_{12} -TAB 濃度を上げていくと、CAC が存在する。ほんの 0.1 mM の GK2 濃度でも、単独では比較的高い cmc を持つ C_{12} -TAB 水溶液の表面張力を著しく低下させ、 C_{12} -TAB 濃度が 1.9 mM と低くても CST は 46 mN/m になる。極めて安定な凝縮相が形成していることを示唆している。その他の GK2 濃度についての CAC 値を Fig. 8 に示す。GK2, C_{12} -TAB 濃度がそれぞれ 0.3 mM, 0.95 mM の点 (つまり、GK 2/ C_{12} -TAB 比がほぼ 1 : 3) でプロットに屈曲が生じるが、1 : 2 の直線との交点での GK2 の濃度は、約 0.5 mM である。 C_{14} -TAB と異なり、それら両者の点は一致しない。GK2 : C_{12} -TAB が 1 : 2 のミセルを形成するには、1 : 3 の割合で後者を過剰に含む水溶液が必要であることを意味している。このことは、CD スペクトルから得られた結果と良く一致している。

Fig. 7 Variation of Surface Tension vs. Total C_{12} -TAB Concentration with Different GK2 Concentrations in the GK2/ C_{12} -TAB Mixed System.

Fig. 8 CAC Values of C_{12} -TAB as a Function of GK2 Concentration.

3.1.3 C_{16} -TAB, C_{18} -TAB (領域Ⅲ) との混合ミセルの形成挙動

この部類の C_n -TAB は cmc が低く¹⁹⁾, C_n -TAB 単独でミセル化しやすい。従って, C_n -TAB の cmc 値を遥かに超える濃度で, 混合ミセル生成の証拠である CD 強度の急激な減少が見られる。混合ミセルができるには, GK2/ C_n -TAB 分子間に, C_n -TAB の炭化水素鎖同士間の疎水結合に打ち勝つだけの強い分子間引力が働かなくてはならない。事実, cmc より高いながらも HSC が観察されるのは, その引力が十分に働いていることを示している (Fig. 3)。反対に, それらの C_n -TAB 濃度が cmc より高くなければ, 安定な混合ミセルができない。

以上, GK2 の疎水部の長さ と C_n -TAB の炭化水素鎖の長さ とに過不足ができるだけ少ない場合には, 単独ミセルよりも混合ミセルが優先的に生成することが明らかとなったが, これらの結果は, 分子力場計算による安定化エネルギーからも支持される。Fig. 9 に示すように, GK2 分子と C_n -TAB 分子は, GK2 のトリテルペノイド上の 20α -位メチル基側と C_n -TAB が分子集合体を形成することにより安定化するが, 安定化の程度は C_8 から C_{12} の間では, アルキル鎖長の増加と共に上昇し, C_{12} から C_{14} で飽和した。この傾向は, Fig. 3 に示した

Fig. 9 Stabilization Energy for GK2/ C_n -TAB Aggregation against the Alkyl Chain Length (n) of C_n -TAB.

● : C_n -TAB placed on the 20α -methyl side
■ : C_n -TAB placed on the 20β -carboxyl side.

CD スペクトル法により求めた HSC 値の変化の傾向とほぼ良い一致を示した。一方, 同様の計算を GK2 のトリテルペノイド上の 20β -カルボキシル基側と C_n -TAB が相互作用した分子集合体モデルについて行くと, アルキル鎖長の増加とともに不安定化するという, 実験事実と正反対の結果が得られた。従って, 溶液中でも, GK2 と C_n -TAB との分子集合体は, GK2 の疎水部であるトリテルペノイド部の 20α -位メチル基側とアンモニウム塩のアルキル鎖とが疎水性相互作用して形成されているものと考えられる。このことは, 後述する GK2 のトリテルペノイド上のカルボキシル基をメチル化した GMe のアルキル鎖長に対する HSC の挙動が GK2 の挙動と良く一致している (Fig. 3) ことから強く支持される。Fig. 10 に GK2 と C_{12} -TAB との二分子集合体の推定モデル図を描いた。

安定な混合ミセルを形成する長鎖アルキルアンモニウム塩 (C_{14} -TAB) について, GK2 : C_{14} -TAB = 1 : 2 の混合ミセルが生成することを上述したが, その組成比を蛍光法でも検討した。GK2 を各々の長鎖アルキルアンモニウム塩で滴定すると, 疎水性の関数であることが確

Fig. 10 2-Molecular Model of GK2/ C_{12} -TAB Aggregate.

Fig. 11 Plots of the Fluorescent Polarity Indexes vs. C_{14} -TAB Concentration. $[GK2]=[GMe]=1.0$ mM. $[Pyrene]=10^{-3}$ mM in 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4). $\lambda_{ex}=310$ nm, $\lambda_{em}=371$ nm (peak I), 381 nm (peak III).

認められている^{12)~14)}蛍光プローブピレンの第一蛍光強度と第三蛍光強度の比が GK2 : C_{14} -TAB = 1 : 2 の点で明確に屈曲し (Fig. 11), GK2 が C_{14} -TAB と 1 : 2 の組成比で混合ミセルを形成していることが再確認された。

3.2 GMe と C_n -TAB との混合ミセル形成

前章では、疎水部に親水的なカルボキシル基をもつ GK2 と C_n -TAB の混合ミセル形成において、GK2 の疎水部より長いアルキル鎖を有する C_{18} -TAB や C_{16} -TAB では余剰のアルキル基先端部が混合ミセル形成を抑制することを述べた。GMe はその分子構造から察して球状ミセルよりも隙間の多いミセルを作ると予測され、事実、cmc (0.3 mM) 付近ではその通りのミセルを形成することを前報⁵⁾で報告した。

GMe と C_8 -TAB の場合 (Fig. 4), CD 強度の最小値は、 C_8 -TAB の cmc に一致した濃度で現れている。つまり、cmc に達するまで、ゆっくりと CD スペクトル強度が減少するのは、まさしく C_n -TAB 分子が GMe ミセルの隙間を徐々に埋めているためと考えられる。更に、 C_8 -TAB の濃度を上げると、cmc を境に CD 強度が徐々に増加した。これはミセル構造が変化したことを示唆しており、新たに生成した C_8 -TAB の球状ミセルの構造が、異質分子である GMe の存在によってその対称性を崩され、親水性が増したためと推察できる。

Fig. 4 は、 C_{12} 以上のどの C_n -TAB でも濃度の増加

とともに、GMe とほぼモル比 1 : 1 の安定な混合ミセルを生成することを示している。この時、CD 強度もほぼ一定となる事実をも考慮すると、1 : 1 以上に加えられた過剰の C_n -TAB 分子は混合ミセルとは相互作用せずに、もっぱらその C_n -TAB の単独ミセル形成に費やされている可能性が大きいことを示唆している。

また、 C_{12} 以上の長鎖アルキル界面活性剤については、HSC 濃度は全くアルキル鎖の炭素数に依存しない (Fig. 4)。過剰のアルキル鎖は、HSC を低下させるようには全くと言っていいほど働かない。この現象は GK2 でも、 C_{14} 以上の C_n -TAB で全く同じであった (Fig. 3)。これらの C_n -TAB の 1 : 1 混合ミセル中で、過剰のアルキル鎖部分がミセル中のどこに存在し、どのような役割を果たしているのかについては、次のような様々な説明が可能である。a) 混合ミセルの中心でランダムに折りたたまれて、剛直な GMe 分子によって埋め尽くせないミセル内空白部を満たしている。または、b) C_n -TAB 分子のイオン部がミセル表面から突き出ることによって、長さ調整されているのかも知れない。あるいは、c) 疎水場中の強い静電的相互作用によって安定化が図られているために過剰なアルキル鎖の効果が相対的に隠ぺいされていると予想される。

混合ミセルの形成によって GMe 系の CD スペクトルの強度がほぼゼロになるのは、1 : 1 のカチオン-アニオン混合ミセルの内部が高い疎水性を持っていることを

示している。この混合ミセル比が1:1であることは、GMeをC₁₄-TABで滴定したとき、前述の蛍光プロブピレンの第一蛍光強度と第三蛍光強度の比がGMeとC₁₄-TABの等量点(1:1)で明確に屈曲することからも支持される(Fig. 8)。

4 総括

抗炎症作用を有するGK2およびそのメチルエステル誘導体であるGMeの長鎖アルキルアンモニウム塩との混合ミセル形成を調べたところ、GK2やGMeは、その疎水部であるトリテルペノイド部の長さとはほぼ同長の疎水基を持つC₁₂-TABまたはC₁₄-TABと最も安定な混合ミセルを形成し、その組成比はそれぞれ1:2と1:1であった。混合ミセルでは、GK2トリテルペノイド部の20 α -メチル基側とアンモニウム塩が疎水性相互作用していることが明らかとなった。

(受付: 1996年7月8日, 受理 1996年10月25日)

文 献

- 1) Maruzen Pharmaceuticals Co., LTD., Dipotassium Glycyrrhizinate, March (1994).
- 2) 大塚昭信, 米沢頼信, 伊庭克英, 巽 恒治, 砂田久一, 薬学雑誌, 96, 203 (1976).
- 3) A. Otsuka, Y. Yonezawa, Y. Nakamura, *J. Pharm. Sci.*, 67, 151 (1978).
- 4) 大塚昭信, 米沢頼信, 薬学雑誌, 101, 829 (1981).
- 5) 小出 操, 宇川仁太, 小高明人, 太垣和一郎, 玉垣誠三, 油化学, 45, 1339 (1996).
- 6) F. Tokiwa, K. Tsujii, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 46, 1338 (1973).
- 7) 野島庄七, 砂本順三, “リポソーム” 南江堂 (1988) p. 102.
- 8) D.N. Rubingh, “*Solution Chemistry of Surfactants*”, K.L. Mittal (Ed.), Vol. 1 (1979) p. 337.
- 9) M.J. Rosen 著, 坪根和幸, 坂本一民 監訳, “界面活性剤と界面現象” フレグランスジャーナル社 (1995) p. 405.
- 10) Y. Isihama, S. Terabe, *J. Liq. Chromatography*, 16 (4), 933 (1993).
- 11) M. Koide, J. Ukawa, W. Tagaki, S. Tamagaki, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 74, 49 (1997).
- 12) N.J. Turro, P.L. Kuo, P. Somasundaran, K. Wong, *J. Phys. Chem.*, 90, 288 (1986).
- 13) K. Kalyanasundaran, J.K. Thomas, *J. Am. Chem. Soc.*, 99, 2039 (1977).
- 14) A. Nakajima, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 44, 3272 (1971).
- 15) 西田勇一, 高橋俊夫, 油化学, 45 (2), 187 (1996).
- 16) M. Koide, M. Takahashi, S. Tamagaki, W. Tagaki, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 73 (7), 913 (1996).
- 17) S. Tamagaki, M. Koide, M. Takahashi, T. Mizushima, J. Ukawa, W. Tagaki, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, 2, 1257 (1996).
- 18) 北原文雄, “微粒子の科学” 旺文社 (1981) p. 32.
- 19) 北原文雄, 玉井康勝, 早野茂夫, 原 一郎, “界面活性剤”, 講談社 (1984) p. 70.

ジアシルグリセリン (DG) は、血清トリアシルグリセリン (TG) の上昇を抑制する脂質である。1,3-DG と 1,2-DG から成る DG の栄養学的特徴を、ラットで検討した。DG と TG の間には、消化及び代謝過程において、明らかな違いが認められた。結果は次の通りである。(1) 小腸内において、DG からは TG の消化物中にはほとんど見られなかった 1-モノアシルグリセリンが生成した。(2) DG 投与後には、TG と比較して多量の脂肪酸が小腸から門脈へ放出された。(3) DG 摂取は、肝臓での脂肪酸の β 酸化を促進し、ケトン体を尿中へ放出させた。(4) ラットにおいて、DG 投与後の酸素消費量は、TG 投与後に比べて増加した。これらの結果から、DG はエネルギーとして利用されやすく、そのため TG と比較して体脂肪として蓄積しにくいものと考えられた。

(連絡者：渡邊浩幸) Vol. 46, No. 3, 301 (1997).

[報文]

ヒトの脂質代謝に及ぼす ジアシルグリセリンの影響

渡邊 浩幸^{*1}・鬼沢 孝司^{*1}・田口 浩之^{*1}・藤森 尚子^{*1}・内藤 幸雄^{*1}・
後藤 直宏^{*1}・安川 拓次^{*1}・服部 道廣^{*1}・島崎 弘幸^{*2}

^{*1} 花王株式会社生物科学研究所 (〒321-34 栃木県芳賀郡市貝町赤羽 2606)

^{*2} 帝京大学医学部第一生化学教室 (〒173 東京都板橋区加賀 2-11-1)

再構成血清トリアシルグリセリン (TG) 濃度の変動率や種々の脂質代謝物に関する生化学的指標に対する食事性ジアシルグリセリン (DG) の影響について研究を行った。11 h 絶食した 17 人の健康人に、DG または TG エマルジョンを、体重 60 kg 当たり 44 g の脂質量となるように、各々単回摂取させた。試験は、クロスオーバー法によって行った。血清 TG 値は、エマルジョン摂取後 4 h まで上昇するが、その後下降し、摂取後 8 h では初期値に達した。DG 摂取後 6 及び 8 h 後の血清 TG の変動率は、TG 摂取後と比較して、有意に低下していた。再構成 TG の血清滞留量に対する DG の抑制効果は、初期 TG 値が高い被験者ほど明白であった。この抑制効果が認められた被験者において、キロミクロンや VLDL に含有され、末しょう(梢)組織のリポプロテインリパーゼを活性化する血清アポタンパク CⅡ濃度は、DG 摂取後で、有意に低下していた。DG の代謝物に関しては、脂肪酸の β 酸化産物である 3-ヒドロキシ酪酸の変動率は、DG 摂取後の血清中に上昇する傾向にあった。これらの結果から、DG は、エネルギーとして利用されやすく、そのため、ヒトにおいて、TG と比較して体脂肪として蓄積しにくいものと考えられた。

(連絡者：渡邊浩幸) Vol. 46, No. 3, 309 (1997).

[報文]

抗炎症薬 β -グリシルリチン酸塩と 長鎖アルキルアンモニウム塩との混合ミセル形成

小出 操^{*1}・宇川 仁太^{*2}・小高 明人^{*1}・太垣和一郎^{*2}・玉垣 誠三^{*2}

^{*1} ライオン株式会社研究開発本部薬品研究所 (〒256 神奈川県小田原市田島 100)

^{*2} 大阪市立大学工学部生物応用化学科 (〒558 大阪府大阪市住吉区杉本 3-3-138)

グリシルリチン酸二カリウム (GK 2) は、抗アレルギー・抗炎症の薬理作用を示すアニオン界面活性剤として知られているが、混合ミセル形成の物理化学的性質についてはあまり明らかとなっていない。本研究では、長鎖アルキルトリメチルアンモニウム臭素化塩 (C_n -TAB) の存在下、光学活性な GK 2 とその 20 β 位-カルボキシルメチルエステル (GMe) のエノン基近傍のミクロ環境場の極性を円二色性スペクトル法を用い調べた結果、 C_n -TAB の GK 2 類との混合ミセル形成能は、 C_n -TAB の炭素鎖長に依存することが明らかとなった。GK 2 類の疎水部とほぼ同じ炭素鎖長を持つ C_{12} -TAB, C_{14} -TAB が、GK 2 および GMe と組成比が各々 2 : 1, 1 : 1 の最も安定なミセルを形成した。表面張力測定、ピレンプローブによる蛍光解析からも、これらの組成が支持された。さらに、分子力場計算結果も実験事実と良く一致した。

(連絡者：小出 操) Vol. 46, No. 3, 315 (1997).