薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
114 (6) 395-400 (1994)

ドコサン酸-ニコチン酸アミド複合体からのニコチン酸アミドの 遊離に対する熱力学的検討

春原政明, 藤江忠雄, 横山祥子*

共立薬科大学

Thermodynamic Study on the Release of Nicotinamide from Docosanoic Acid-Nicotinamide Complex

Masaaki SUNOHARA, Tadao FUJIE, and Shoko YOKOYAMA*

*Kyoritsu College of Pharmacy, 1-5-30 Shibakoen,
Minato-ku, Tokyo 105, Japan*

(Received January 10, 1994)

Nicotinamide (NAA) forms a crystalline complex with docosanoic acid (C22), C22-NAA. The molar ratio of C22 to NAA is 1 : 1. The release rate of NAA from C22-NAA was measured above 47°C at pH 1.2 and pH 6.8, and the thermodynamic quantities for the release of NAA from C22-NAA were estimated. The value of activation energy (E^*) at pH 6.8 was about three times larger than that at pH 1.2. The effect of temperature on the release rate of NAA from C22-NAA at pH 6.8 was larger than that at pH 1.2. It has been reported that the values of activation enthalpy (ΔH^*) and activation entropy (ΔS^*) at pH 1.2 for the release of NAA from fatty acid (FA)-NAA complex whose carbon number of constituent FA is 14-18 were positive and negative, respectively. On the contrary, the values of ΔH^* and ΔS^* for the release of NAA from C22-NAA at pH 1.2 and pH 6.8 were positive. Furthermore, the values of ΔH^* and ΔS^* at pH 6.8 were larger than those at pH 1.2. The value of activation Gibbs energy (ΔG^*) was positive. It was found that the release of NAA from C22-NAA was enthalpically controlled reaction.

Keywords—thermodynamic quantity; release; complex; docosanoic acid; nicotinamide

脂肪酸 (FA) が 1,2-ジクロロエタン中でニコチン酸アミド (NAA) と包接化合物的な複合体 (FA-NAA) を形成することは既に報告した。¹⁾ また, ドコサン酸 (C22) を用いて調製した複合体 (C22-NAA) は温度応答性ドラッグデリバリーシステム (DDS) への応用性が示唆されている。²⁾ すなわち, C22-NAA からの NAA の遊離は pH 1.2 の水溶液中において 37°C 以下では C22-NAA から NAA は遊離されないが, 42°C 以上では NAA は遊離されることが認められている。²⁾ そして, これは C22-NAA の結晶構造が約 40°C を境に変化することによって NAA の放出状態が制御されていることが確認されている。³⁾ さらに, 一定の温度条件下で C22-NAA からの NAA の遊離に及ぼす pH の影響を調べたところ, C22-NAA は pH にも応答する遊離挙動を示した。⁴⁾ すなわち, 41°C では, pH 1.2 の時 NAA は遊離されたが pH 6.8 では NAA はほとんど遊離されなかった。⁴⁾ そして, 41°C において pH を 1.2 と 6.8 の間で繰り返し変化させた時, pH 1.2 では NAA の放出が on 状態, pH 6.8 では off 状態を示すことが認められた。⁴⁾ C22-NAA 及び C22 は少なくとも酸性-中性領域では水溶液には不溶であり, C22-NAA から放出された NAA のみが水溶液

に溶解している。したがって、C22-NAA の pH 応答性は複合体を形成している FA のカルボン酸基の pH による解離ということでは説明されない。C22-NAA の温度応答性が結晶構造の変化に基づいているのに対し、pH 応答性のメカニズムは、むしろ C22-NAA からの NAA の遊離の際の活性化エネルギーなどに起因しているのではないかと考えられる。

他方、構成 FA の炭素数 (n) が 14—18 の FA-NAA からの NAA の遊離の際の活性化熱力学量については先に報告したが、⁵⁾ pH 1.2 の水溶液中で FA-NAA から NAA が遊離する際の活性化エントロピー ($\Delta S^\ddagger$) は n が大きくなるほどその負の値の絶対値が小さくなることが認められている。⁵⁾ そこで、さらに n が大きい C22-NAA からの NAA の遊離の際には $\Delta S^\ddagger$ の符号が果して正に変わるのかどうかという点も大変興味深い。また、シクロデキストリンと薬物の複合体の形成や安定性に対する熱力学的パラメーターについての報告は多いが、⁶⁾ 薬物を放出する際の活性化熱力学量に関する報告は少なく、複合体からの薬物の遊離に対する活性化熱力学量を調べることは物理化学的及び熱力学的観点からも興味をもたれる。

以上の観点から、pH 1.2 と 6.8 の水溶液中での C22-NAA からの NAA の遊離速度を種々な温度において測定し、得られた結果を先の報告⁵⁾と同様に処理することによって熱力学量を求めた。そして、pH 1.2 と 6.8 の水溶液中での C22-NAA からの NAA の遊離に対する活性化熱力学量を比較検討することによって、C22-NAA の pH 応答性薬物放出機構を探ってみた。

実 験 の 部

試薬 NAA, C22 は和光純薬工業製の特級品を用いた。その他の試薬については既報と同じものを用いた。^{1,5)}

C22-NAA の調製 0.73 g の C22 と 0.32 g の NAA を 1,2-ジクロロエタン 60 ml 中に加温溶解させた後、42°C で結晶化させることによって C22-NAA を調製した。そして、得られた結晶の融点を測定することにより、C22-NAA²⁾の生成を確認した。さらに C22-NAA 中の FA を定量することによって、組成比が 1:1 であることを確認した。

C22-NAA からの NAA の遊離速度の測定 前報⁵⁾と同様に JP XII 溶出試験器 (パドル法) を用いて、JP XII 崩壊試験用第一液 (pH 1.2) 及び第二液 (pH 6.8) 中で、温度 47—55°C で行った。試料は 48—60 メッシュサイズの C22-NAA の結晶 30 mg (NAA として 8 mg) を用いた。そして、遊離されてくる NAA を経時的に吸光度を測定することによって NAA の遊離速度を求めた。NAA のモル吸光係数 ϵ_{261} は、pH 1.2 の時 $5.80 \times 10^3 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$ であり、⁷⁾ pH 6.8 の時 $2.88 \times 10^3 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$ であった。

FA-NAA は FA ホスト構造と NAA との間のファンデルワールス力や疎水結合のような物理的な結合力によって形成されている。^{1,5)} FA-NAA からの NAA の遊離に対する一連の研究で用いられる遊離速度とは、上記の結合力を打ち切って NAA が FA ホスト構造中から外部環境中に出てくる速度のことである。NAA の水溶液に対する溶解度は十分に高く、溶解速度も十分に速いので、NAA の溶解速度は遊離速度に対して無視できる。⁷⁾

結 果 と 考 察

C22-NAA からの NAA の遊離挙動

pH 1.2 と 6.8 の水溶液中における 47—55°C での C22-NAA からの NAA の遊離挙動をそれぞれ Fig. 1 及び Fig. 2 に示した。さらに遊離平衡パーセント値 (x_e) と温度の関係を Fig. 3 に示した。いずれの pH においても温度が高いほど NAA の遊離は速く、 x_e も大となった。なお、Fig. 3 には 41°C における x_e の値⁴⁾も一緒に示した。41°C では pH 6.8 の時には NAA はほと

Fig. 1. Effect of Temperature on the Release Behavior of NAA from C22-NAA at pH 1.2
Temperature: ●, 55°C; ◐, 51°C; ○, 47°C.

Fig. 2. Effect of Temperature on the Release Behavior of NAA from C22-NAA at pH 6.8
Temperature: ●, 52°C; ◐, 50°C; ○, 47°C.

Fig. 3. Relationship between Percentage of Finally Released NAA and Temperature
pH: ○, 1.2; ●, 6.8.

Fig. 4. Effect of Temperature on the Release of NAA from C22-NAA at pH 1.2
Symbols are the same as in Fig. 1.

んど遊離されなかったが、⁴⁾ 47°C 以上ではいずれの pH においても NAA は 85% 以上遊離されることが認められた。

C22-NAA からの NAA の遊離速度定数

FA-NAA からの NAA の遊離は擬一次反応として取り扱えることが認められているので、⁵⁾ NAA の遊離速度定数 (k) は式 1 で表される。

$$\ln(x_e - x) = \ln x_e - kt \quad (1)$$

ここで、 x は時間 t までに遊離された NAA の量をパーセント値で表したものである。なお、測定には 48—60 メッシュサイズの C22-NAA 粒子を供したが、遊離速度の測定中に多少の粒子サイズの変化を伴うため、ここで得られる k の値は真の値ではなく見かけの値である。次に Figs. 1 と 2 に示される pH 1.2 と 6.8 の遊離挙動に対する $\ln(x_e - x)$ vs. t のプロットをそれぞれ Figs. 4 と 5 に示した。両プロットはいずれも良好な直線性を示した。そこで、各直線の傾きからそれぞれ

Fig. 5. Effect of Temperature on the Release of NAA from C22-NAA at pH 6.8
Symbols are the same as in Fig. 2.

れの温度における k を求め、その結果を Table I にまとめた。

C22-NAA からの NAA の遊離の際の活性化エネルギー

アレニウスの理論によれば、活性化エネルギー (E^*) は式 2 で表される。

$$\ln k = -(E^*/R) \cdot (1/T) + \ln A \quad (2)$$

ここで、 R は気体定数であり、 A は頻度因子である。C22-NAA からの NAA の遊離速度は温度依存性であることが認められたので、式 2 に従って pH 1.2 と 6.8 における k の自然対数値を絶対温度の逆数 ($1/T$) に対してプロットし、それを Fig. 6 に示した。いずれの pH においても $\ln k$ vs. $1/T$ プロットは良好な直線性を示したので、Fig. 6 の直線の傾きから pH 1.2 及び 6.8 における NAA の遊離の際の E^* を求め、それを Table II にまとめた。pH 6.8 の時の E^* の値は pH 1.2 の時の約 3 倍であることが認められた。さらに Fig. 6 の 2 本の直線は 44°C のところで交差することが認められた。すなわち 44°C 以上では pH 6.8 の方が NAA の遊離は速く、44°C 以下では pH 1.2 の方が遊離速度が速くなることが示された。このことが 41°C において、C22-NAA が pH 1.2 と 6.8 の間で pH 応答性遊離挙動⁴⁾を示したことの要因となっているのではないかと考えられる。なお、40°C 以下になると C22-NAA の結晶構造が変わるため、⁸⁾ Fig. 6 のアレニウスプロットは 40°C ($1/T$ の値で約 3.19×10^{-3}) のところで不連続となる。

スチレン-ブタジエンゴム中に封入されたアンモニウムニトリルの水中での遊離の際の E^* は 57.4 kJ mol^{-1} であることが報告されている。⁸⁾ C22-NAA からの NAA の遊離の際の E^* は、この値と比べるとかなり大きくなっている。

C22-NAA からの NAA の遊離の際の活性化熱力学量

C22-NAA からの NAA の遊離の際の活性化ギブスエネルギー (ΔG^*) は式 3 を用いて k の値から求めることが出来る。

$$\Delta G^* = -RT \ln k + RT \ln (k_B T/h) \quad (3)$$

ここで h はプランク定数であり、 k_B はボルツマン定数である。そこで、Table I に示される k の

TABLE I. Rate Constants (k) of Release for the Release of NAA from C22-NAA

Temperature (°C)	k (s ⁻¹)	
	pH 1.2	pH 6.8
47	3.62×10^{-5}	1.11×10^{-4}
50		3.44×10^{-4}
51	6.13×10^{-5}	
52		7.43×10^{-4}
55	1.08×10^{-4}

Fig. 6. Arrhenius Plots

Symbols are the same as in Fig. 3.

TABLE II. Activation Thermodynamic Quantities for the Release of NAA

pH	E^* (kJ mol ⁻¹)	$\Delta G^{*a)}$ (kJ mol ⁻¹)	ΔH^* (kJ mol ⁻¹)	ΔS^* (JK ⁻¹ mol ⁻¹)
1.2	116	106	115	28.1
6.8	332	102	326	697

a) at 320.15 K.

値から NAA が遊離する際の ΔG^* を求めると、Fig. 7 の縦軸で示されるような正の値をとった。次に、正の値の ΔG^* に寄与しているのは活性化エンタルピー (ΔH^*) であるのかあるいは活性化エントロピー (ΔS^*) であるのかという点について検討を行った。熱力学の法則によれば ΔG^* は ΔH^* と ΔS^* と式 4 のような関係にある。

$$\Delta G^* = \Delta H^* - T\Delta S^* \quad (4)$$

そこで ΔG^* を T に対してプロットし、それを Fig. 7 に示した。いずれの pH においても ΔG^* vs. T プロットは良好な直線性を示した。

そこで直線の傾きと交点から ΔS^* と ΔH^* を求め、それらを Table II にまとめた。 ΔH^* と ΔS^* は共に正の値をとった。このことは C22-NAA からの NAA の遊離はエンタルピー的には不利であるがエントロピー的には有利であることを示している。また、 ΔH^* と ΔS^* の値は pH 6.8 の時の方が pH 1.2 の時よりも大であった。さらに $|\Delta H^*|$ と $|T\Delta S^*|$ を比較すると、いずれの pH においても $|\Delta H^*|$ の方が大であった。特に pH 1.2 での $|\Delta H^*|$ の値は $|T\Delta S^*|$ の値よりもはるかに大であった。すなわち温度 47°C において pH 1.2 では $|\Delta H^*|$ と $|T\Delta S^*|$ がそれぞれ 115 と 9.0 kJ mol⁻¹ であるのに対し、pH 6.8 では 326 と 223 kJ mol⁻¹ であった。以上のことから C22-NAA からの NAA の遊離はエンタルピー支配的な反応であること、及びその支配の程度は pH 1.2 の時の方が大であることが示された。

C22-NAA と C14-NAA-C18-NAA の活性化熱力学量の比較

n が 14—18 の FA (C14—C18) からつくられる FA-NAA からの、pH 1.2 における NAA の遊離に対する ΔH^* は正、 ΔS^* は負であり、 n が増えるほど正の値の ΔH^* は大きくなり、一方、負の値の ΔS^* の絶対値は小さくなることが認められている。⁵⁾ n がさらに多い C22-NAA の場合、 ΔH^* の値はさらに大きくなったが、 ΔS^* は負から正へと符号が変わった。すなわち、FA-NAA からの NAA の遊離は n が増えるにつれてエントロピー的には有利になっていることが示される。FA は n が増えるほどその疎水性が大となり、それを取りまく水分子による iceberg 構造も強固になっているものと考えられる。正の値の ΔS^* は複合体から NAA が遊離される際に、その iceberg 構造が解かれ、水分子のエントロピーが回復するためである。したがって本研究において最も FA の n が大きい C22-NAA の場合には、C22-NAA から NAA が遊離する際にエントロピー的に有利になるものと考えられる。

結 論

C22-NAA から NAA が遊離する際の E^* は、pH 6.8 の時では pH 1.2 の時の約 3 倍大きいことが認められた。さらに、pH 1.2 と 6.8 における 2 本のアレニウスプロットは 44°C で交わることが確認され、44°C より高温側では pH 6.8 の方が NAA の遊離が速いものの 44°C より低温側では pH 1.2 の方が NAA の遊離が速くなることが示された。これらのことが、温度 41°C において、pH 1.2 と 6.8 の間で C22-NAA が pH 応答性の遊離挙動⁴⁾を示すことの一因となっているのではないと思われる。¹⁾

Fig. 7. Relationship between Activation Gibbs Energy and Temperature

Symbols are the same as in Fig. 3.

引用文献

- 1) S. Yokoyama, M. Sakamaki, F. Ueda, A. Kaneko, T. Fujie, *Chem. Pharm. Bull.*, **40**, 1601 (1992).
- 2) S. Yokoyama, M. Sunohara, T. Fujie, *Chem. Pharm. Bull.*, **40**, 2576 (1992).
- 3) S. Yokoyama, M. Sunohara, T. Fujie, M. Hasegawa, M. Abe, *Chem. Lett.*, **1994**, 445.
- 4) S. Yokoyama, M. Sunohara, T. Fujie, *Chem. Pharm. Bull.*, **41**, 1674 (1993).
- 5) S. Yokoyama, F. Ueda, T. Fujie, *Chem. Pharm. Bull.*, **39**, 3114 (1991).
- 6) Y. Inoue, Y. Liu, L.-H. Tong, B.-J. Shen, D.-S. Jin, *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 10637 (1993); A. F. Danil de Namor, R. Traboulssi, D. F. V. Lewis, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1990**, 751.
- 7) S. Yokoyama, F. Ueda, T. Fujie, *Chem. Pharm. Bull.*, **39**, 3075 (1991).
- 8) F. M. Helaly, E. M. Abdel-Bary, A. A. Sarhan, H. H. Abel-Razik, *Plast., Rubber. Compos. Process. Appl.*, **19**, 111 (1993).