合成高分子化合物と医薬品との相互作用に関する研究 (第 1 報¹⁾) スチレン
無水マレイン酸共重合体とチアミン誘導体との相互作用

島 和弘, 溝尻顕爾, 森田節子, 山本隆一

塩野義製薬研究所²⁾

Interaction of Some Pharmaceuticals with Synthetic Macromolecules. I.¹⁾
Studies on the Binding of Thiamine Derivatives with
Styrene-Maleic Anhydride Copolymer

KAZUHIRO SHIMA, KENJI MIZOJIRI, SETSUKO MORITA and RYUICHI YAMAMOTO
Shionogi Research Laboratory, Shionogi & Co., Ltd.²⁾

(Received June 6, 1969)

The interaction between some thiamine derivatives and styrene-maleic anhydride copolymer(SMA) was studied. Ultraviolet absorption measurements on the mixed solutions of O,S-bis(ethoxycarbonyl)thiamine, thiamine tetrahydrofurfuryldisulfide, and pyrimidine derivatives with SMA indicate the presence of donor-acceptor type binding between acid anhydride group in the SMA and pyrimidine group in the thiamine derivatives.

The interaction of the following six thiamine derivatives of thiol type with SMA was also examined through a distribution method at 25° and 37°: O,S-bis(benzoyl)thiamine disulfide, O,S-bis(ethoxycarbonyl)thiamine, S-ethoxycarbonylthiamine, S-butoxycarbonylthiamine, O-benzoylthiamine, and thiamine tetrahydrofurfuryldisulfide. It was found that these derivatives show a strong affinity to SMA, and that the binding process is a Langmuir-type relationship. The temperature dependence of the binding showed a decrease in binding constant with increase in the temperature from 25° to 37°. The maximum amount of each derivative bound to SMA was found to be 0.2 to 0.3 mmole/g, regardless of the temperature, and each value for O,S-disubstituted derivatives was smaller than that for S-monosubstituted derivatives. Each amount thus obtained also indicated that one thiamine derivative molecule was bound by about 10 monomeric units of the copolymer chain.

The significance of these results was discussed in relation to a possible binding mechanism.

近年いろいろの合成高分子化合物が医薬品製剤の助剤や容器材料として繁用されるようになった。なかでもポリビニルピロリドン (PVP) をはじめ、メチルセルロース (MC), ポリエチレングリコール (PEG), ポリソルベート (Tween) などは乳化剤, 懸濁化剤, 可溶化剤, 軟膏や坐剤の基剤として製剤に広く用いられている。その反面, 化学的に不活性とみなされているこれらの高分子化合物が主薬あるいは保存剤と相互作用を起こして配合変化を生じることが問題視されるようになった。³⁾ Pellerat⁴⁾ は PVP がペニシリンやインシュリン, キニーネなどと水溶液中で相互作用をもち, 薬効を低下させたり, 効力の発現を遅延させたりすることを指摘している。また Kostenbauder⁵⁾ や Aoki 等⁶⁾ は PVP, MC, PEG や Tween がパラベン類をはじめいろいろの保存剤と結合し

1) 日本薬学会第 86 年年会で発表, 仙台, 1966 年 10 月。

2) Location: Sagisu, Fukushima-ku Osaka.

3) A. Marcus, *Drug and Cosmetic Industry*, **79**, 456 (1956).

4) J. Pellerat, R. Maral, M. Murat, *J. Med. Lyon*, **9/5**, 611 (1947).

5) N.K. Patel, H.B. Kostenbauder, *J. Am. Pharm. Assoc.*, **47**, 289 (1958); F.D. Pisano, H.B. Kostenbauder, *ibid.*, **48**, 310 (1959); G.M. Miyawaki, N.K. Patel, H.B. Kostenbauder, *ibid.*, **48**, 315 (1959); P.D. Deluca, H.B. Kostenbauder, *ibid.*, **49**, 430 (1960); H.B. Kostenbauder, *Perfumer Aromat.*, **75**, 28 (1960).

6) M. Matsumoto, M. Aoki, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, **10**, 251 (1966); M. Matsumoto, M. Aoki, *ibid.*, **10**, 260 (1966).

てその効力を低下させることを, Kooper や Capper, Autian⁷⁾ は合成樹脂製の容器や合成ゴムに主薬や保存剤が吸着されることを述べている。

一方, Higuchi 等をはじめ多くの研究者⁸⁾ が非イオン性の水溶性高分子化合物と多数の医薬品との相互作用について検討し, その結合機構は双極子-双極子吸引力, 水素結合, 疎水結合などによることを明らかにしている。しかし, これらの合成高分子化合物と医薬品との相互作用に関する報告はほとんど水溶液中での研究に限られており, 非水溶媒中での研究報告はみられず, さらに高分子物質と医薬品との相互作用を積極的に製剤に利用しようとする試みはほとんどなされておらず, iodo-complex⁹⁾ の例や点眼剤への応用¹⁰⁾ が知られている程度である。

著者等はチオール型チアミン誘導体やそのほかの医薬品と, 腸溶性被膜に用いられる合成高分子化合物であるスチレン-無水マレイン酸共重合体 (SMA)¹¹⁾ を非水溶媒中で混合すると, 医薬品の紫外部または可視部の吸収スペクトルに変化を生じたり, 新しい吸収帯があらわれること, また SMA と医薬品との混合溶液を減圧下に乾固して得た物質の赤外線吸収スペクトルが同一組成の機械的な混合物のスペクトルと明らかに異なることなどから, 両成分分子間に複合体が形成されることを見いだした。

生成した複合体は成分医薬品を安定にしたり矯味に役立つことも認められた。¹²⁾ したがって SMA のような高分

Fig. 1. Difference Spectra of Mixed Solutions of SMA with DCET and TTFD vs. SMA in Ethylene Dichloride (0.2 cm Cell)

(A)—: DCET alone ($5 \times 10^{-4}M$)
 (B)—: TTFD alone ($5 \times 10^{-4}M$)
 --- 1: 0.125% ($3.5 \times 10^{-3}M$ as an acidanhydride) of SMA added
 --- 2: 0.25% ($7.0 \times 10^{-3}M$ as an acidanhydride) of SMA added
 --- 3: 0.50% ($14 \times 10^{-3}M$ as an acidanhydride) of SMA added

Fig. 2. (A) Absorption Spectrum of Mixed Solution of SMA with DCET in Tetrahydrofuran (1 cm Cell)

1. mixed solution (SMA: 10.7%, DCET: 0.25M)
 2. SMA alone (10.7%)
 3. DCET alone (0.25M)

(B) Difference Spectra of Mixed Solutions of Styrene-Maleic Acid Copolymer with DCET vs. Styrene-Maleic Acid Copolymer in Tetrahydrofuran

1. DCET alone ($5 \times 10^{-4}M$) 1'. 0.5% of styrene-maleic acid copolymer added (0.2 cm cell)
 2. DCET alone (0.25M) 2'. 10% of styrene-maleic acid copolymer added (1 cm cell)

- 7) J. Cooper, *J. Mond, Pharm.*, **4**, 259 (1966); K. Capper, *ibid.*, **4**, 305 (1966); J. Autian, *ibid.*, **4**, 317 (1966).
- 8) T. Higuchi, R. Kuramoto, *J. Am. Pharm. Assoc.*, **43**, 393 (1954); T. Higuchi, R. Kuramoto, *ibid.*, **43**, 398 (1954); T. Higuchi, J. L. Lach, *ibid.*, **43**, 465 (1954); N.K. Patel, N.E. Foss, *J. Pharm. Sci.*, **54**, 1495 (1965); W.J. Tillman, R. Kuramoto, *ibid.*, **46**, 211 (1957); S.M. Blaug, A.G. Rich, *ibid.*, **54**, 30 (1965).
- 9) ヘルマン, オールダー, シェランスキー, 日本特許公告, 昭 32-4897.
- 10) 青木 大, 第 13 回薬学会近畿支部総会講演要旨集, 1963, p. 18; 青木 大, 第 14 回薬学会近畿支部総会講演要旨集, 1964, p. 58.
- 11) Sinclair Petrochemicals, Inc. 600, Fifth Avenue, New York 20, N.Y.; SMA resin® 3000A.
- 12) 山本隆一, 島 和弘, 日本特許公告 昭41-8796; 山本隆一, 島 和弘, 日本特許公告 昭 44-4790.

子化合物と医薬品との相互作用について研究することは、高分子化合物と低分子化合物との間の相互作用の機作を知るうえばかりでなく、その製剤的な応用の面からもきわめて興味がある。

本報では SMA とチオール型チアミン誘導体との相互作用について検討を加えた結果を報告する。

O,S-Bis(ethoxycarbonyl)thiamine(DCET) または thiamine tetrahydrofurfuryldisulfide (TTFD) を二塩化エチレンに $5 \times 10^{-4} \text{M}$ 濃度に溶解し、これに SMA を 0.125, 0.25, 0.50% (w/v) の濃度に加えると、Fig. 1 に示すような紫外部 (UV) 吸収スペクトルの変化が起こり、ピリミジン部に起因する λ_{max} 236 m μ 付近の吸収帯は長波長側に移動し、 λ_{max} 277 m μ 付近の吸収帯は消失して 268 m μ 付近に肩吸収が生じる。このことから DCET または TTFD と SMA との間に明らかに分子間相互作用が生じているものと考えられる。また DCET と SMA をテトラヒドロフラン (THF) に高濃度に溶解した溶液では Fig. 2-A に示すような 480 m μ 付近に λ_{max} を示す左右対称で、かつ、幅の広い新しい吸収帯が生じることが認められたが、TTFD は THF に溶解しがたいため、その飽和濃度においては DCET について観察されたような可視部の新吸収帯の発現は見られなかった。

一方、SMA を加水分解して得たスチレン-マレイン酸共重合体と DCET との混合溶液では Fig. 2-B に示したように、UV 吸収スペクトルの変化や可視部の新吸収帯の発現は観察されず、DCET との相互作用には SMA の無水マレイン酸部が関与しているものと考えられる。

Fig. 3 は DCET と SMA とをアセトンに溶解したのち減圧下に乾燥して得た淡黄色の無定形物質と、これと同一組成の機械的混合物の赤外線 (IR) 吸収スペクトルを示したものであるが、2つのスペクトルの間には吸収帯の位置、相対吸収強度に差異が生じており、とくに図中の矢印で示すピリミジン部に起因した約 3430 cm^{-1} (NH_2 逆対称伸縮), 1640 cm^{-1} (NH_2 変角), 1620, 1580 cm^{-1} (ピリミジン環伸縮), 1370 cm^{-1} (NH_2 伸縮), 1160 cm^{-1} (ピリミジン環面変角), 1080 cm^{-1} (NH_2 面内変角), 980 cm^{-1} (NH_2 面外変角) および 850 cm^{-1} (ピリミジン環面外変角) 付近の吸収帯の変化が著しい。

Fig. 3. Infrared Absorption Spectra of DCET-SMA Systems in Nujol (DCET: 0.632g, SMA: 1.368g)

-----: mechanical mixture
—: complex

これらの UV スペクトルの変化や、IR 吸収スペクトルの変化は、DCET 以外のチオール型チアミン誘導体についても類似した結果が得られており、SMA とチアミン誘導体との間の相互作用の部位は主として SMA の無水マレイン酸部と誘導体のピリミジン部であると推定される。

この推定をたしかめるために、いろいろの合成高分子化合物とチアミン誘導体との相互作用をメチルエチルケトン (MEK) を溶媒相とする溶解度法¹³⁾を用いて検討した結果、たとえば thiaminedisulfide (TDS) は SMA をはじめ、無水マレイン酸を 1 成分とする

各種のビニル化合物との共重合体の共存により程度の差はあるが例外なく MEK に対する溶解度が増加し、両成分分子間で相互作用が生じていることが認められた。これにたいし、ポリスチレン、ポリメタクリル酸メチル、スチレン-マレイン酸共重合体や、スチレン-マレイン酸ジエチル共重合体などのように、酸無水物基をもたない合成高分子化合物の共存時には、TDS の MEK にたいする溶解度増加の現象はまったく認められなかった。この結果から、チオール型チアミン誘導体との相互作用に際して SMA のスチレン部は結合に直接関与しておらず、結合は主として無水マレイン酸部で起こっていることが明らかとなった。これらの実験、結果は別に報告する。¹⁴⁾

つぎにチオール型チアミン誘導体側の相互作用部位としてピリミジン部が関与していることをたしかめるために、pyrimidine (I), 2-methylpyrimidine (II), 2-methyl-4-aminopyrimidine (III), 2-methyl-4-methoxypyrimidine (IV), 2-methyl-4-aminopyrimidine-5-methanol (V), および 2-methyl-4-amino-5-aminomethylpyrimidine (VI) と SMA との相互作用を検討した。

Fig. 4 はこれらのピリミジン誘導体の 2 塩化エチレン溶液に SMA を加えたときの UV 吸収スペクトルの変

13) L.J. Andrews, *Chem. Rev.*, **54**, 713 (1954).

14) 島 和弘, 木下雅悦, 井本 稔, 第17回高分子討論会で発表, 松山, 1968年10月; 島 和弘, 日化, **90**, 1168, (1969)

Fig. 4. Difference Spectra of Mixed Solutions of SMA with Pyrimidine Derivatives vs. SMA in Ethylene Dichloride

- A. 2-methylpyrimidine (44.3 $\mu\text{g/ml}$, 0.2 cm cell)
 B. 2-methyl-4-aminopyrimidine (25.5 $\mu\text{g/ml}$, 0.2 cm cell)
 C. 2-methyl-4-methoxypyrimidine (83.3 $\mu\text{g/ml}$, 0.1 cm cell)
 D. 2-methyl-4-amino-5-aminomethylpyrimidine (93.4 $\mu\text{g/ml}$, 0.2 cm cell)
 E. 2-methyl-4-aminopyrimidine-5-methanol (48.1 $\mu\text{g/ml}$, 0.2 cm cell)
 F. pyrimidine (76.5 $\mu\text{g/ml}$, 0.2 cm cell)
 —: derivative alone
 ----: 1. 0.031% of SMA added, 2. 0.063% of SMA added, 3. 0.125% of SMA added,
 4. 0.25% of SMA added, 5. 0.50% of SMA added

化を示したものであり、I はなんらの吸収変化も示さなかった。しかし、Fig. 4-B, D, E にみられるように、チアミン誘導体のピリミジン部に相当する III, V および VI のスペクトル変化は Fig. 1-A および B に示した変化と類似性が認められる。

SMA とピリミジン誘導体との間に形成される複合体の安定度定数は両成分分子間の結合の化学量論比の関係が不明であるため求めることはできないが、ピリミジン誘導体の濃度が希薄な場合には、SMA の無水マレイン酸部とピリミジン誘導体とがみかけ上 1 対 1 で配位するものと仮定して、酸無水物基量に換算した SMA 濃度と吸光度の変化との関係を Ketelaar¹⁵⁾ の式に準じてとりあつかうと、Table I に示す相互作用の強さを表わす定数が得られた。これらの定数の値は IV をのぞいてピリミジン誘導体の pK_a と並行する関係がみられ、I は pK_a 値にみられるようにきわめて弱いルイス塩基であり、電子供与性が著しく小さいために、SMA と相互作用を示さなかったものと考えられる。一方、ピリミジン環に電子供与性のメチル基やアミノ基が置換されると塩基性が増大し、電子供与体としてはたらき、SMA の酸無水物環内の δ^+ 電荷との間で Donor-Acceptor 型の相互作用

TABLE I. Apparent Stability Constant(K) for the Interaction of Pyrimidine Derivatives with SMA in Ethylene Dichloride at 25°

Derivatives	K (liter/mole)	pK_a
Pyrimidine (I)	0	1.3
2-Methylpyrimidine (II)	30.4	2.0
2-Methyl-4-amino-5-aminomethylpyrimidine (VI)	43.2	5.2
2-Methyl-4-aminopyrimidine-5-methanol (V)	90.9	6.3
2-Methyl-4-methoxypyrimidine (IV)	154	4.0
2-Methyl-4-aminopyrimidine (III)	156	6.5

15) J.A. Ketelaar, C.W. Van de Stolpe, H.R. Gersman, *Rec. Trav. Chim.*, **70**, 499 (1952).

が生じるものと考えられる。したがって、Fig. 2-A に示した DCET と SMA との混合により生じた可視部の新吸収帯は両成分分子間の電荷移動スペクトルとも考えられるが、ピリミジン部位の donor としての性質は弱く、¹⁶⁾ さらに SMA の無水マレイン酸部のモデル低分子である無水コハク酸との間ではこのような新吸収帯の発現はみられない¹⁴⁾ ので断定しがたい。しかし SMA のような共重合体の場合には、無水コハク酸と異なり隣接するスチレン部のフェニル基が静電的に関与する影響や、いわゆる高分子効果によりモデル低分子とは異なった挙動を示す可能性が考えられるので、この詳細については現在検討中である。

以上の諸結果から、SMA とチアミン誘導体との間の相互作用部位は主としてその環状酸無水物基とピリミジン部であるという先述の推定は妥当であると考えられる。なお上述以外の相互作用の機作や他の部位での相互作用の可能性については順次検討を行なう予定である。

SMA とチアミン誘導体との相互作用の部位は上に述べたようにその酸無水物基とピリミジン部であることが明らかとなったが、両成分分子間の結合量比の関係を求めることができなかったため、つぎに分配法^{13,17)} によって結合量の測定を行なった。

低分子化合物やそのイオンが高分子化合物、タンパク質などと可逆的に結合し、これらの化合物にたいする高分子やタンパク質の site の性質がすべて等しい場合に、その結合は Langmuir 型の式 1 に従うことはよく知られている。¹⁸⁾

$$\frac{C}{y} = \frac{1}{Ky_m} + \frac{C}{y_m} \quad (1)$$

ここで C は低分子の化合物またはそのイオンの平衡濃度、 y は高分子またはタンパク質の一定量あたりの結合量、 y_m はその飽和結合量であり、 K は結合の強さをあらわす定数である。いろいろの条件における y_m および K の値を (1) 式より求め、これを用いて結合の性質を研究することができる。本報においては DCET, TTFD, O,S-bis(benzoyl)thiamine (DBT), S-ethoxycarbonylthiamine (CET), S-butoxycarbonylthiamine (CBT) および O-benzoylthiaminedisulfide (BTDS) の 6 種のチオール型チアミン誘導体と SMA との結合について観察した。

既知量のチアミン誘導体を含む緩衝液およびこれと互いにまじり合わない溶媒にいろいろの濃度に SMA を溶解した溶液の一定容積ずつを共栓つきの容器にとり、一定温度で振とうしてチアミン誘導体を両液相に分配平衡さす。この際 SMA は実験条件では測定中にその酸無水物基が系中の水によって加水分解することなく、溶媒相にのみとどまり、チアミン誘導体と相互作用を生じる。

SMA を含まない溶媒相と水相との間でチアミン誘導体について式 2 の関係が成立している。

$$\frac{T_o}{T_{aq}} = k$$

または、 $T_o = T_{aq} \cdot k$ (2)

ここで T_o , T_{aq} はそれぞれ溶媒相中および水相中のチアミン誘導体量であり、 k はみかけの分配係数である。また SMA を含む溶媒相と水相との間では式 3 が成立する。

$$T^{\text{total}} = T_o^{\text{bound}} + T_o + T_{aq} \quad (3)$$

ここで T^{total} は系に加えたチアミン誘導体の全量であり、 T_o^{bound} は溶媒相中で SMA と結合している量である。(2) 式および (3) 式より、

$$T_o^{\text{bound}} = T^{\text{total}} - T_{aq}(k+1) \quad (4)$$

したがって、チアミン誘導体の溶媒相中での平衡濃度 C および SMA にたいする結合量 y は、それぞれのチアミン誘導体についてのみかけ分配係数 k およびいろいろの濃度で共重合体が存在するときの水相中のチアミン誘導体の量を測定することにより、式 5 および式 6 から求めることができる。

- 16) B. Pullman, A. Pullman, "Quantum Biochemistry," Interscience Publishers, Inc., New York, N. Y., 1963, p. 698, 811.
- 17) A.N. Martin, "Physical Pharmacy," Lea & Febiger, Philadelphia, 1963, p. 416.
- 18) a) P. Molyneux, H.P. Frank, *J. Am. Chem. Soc.*, **83**, 3169 (1961); b) I.M. Klotz, F.M. Walker, R.B. Pivan, *ibid.*, **68**, 1486 (1946); c) 中垣正幸, 古賀直文, 寺田弘, 薬誌, **83**, 586 (1963).

$$C = \frac{T_o}{V_o} = \frac{T_{aq} \cdot h}{V_o} \quad (5)$$

$$y = \frac{T_o^{\text{bound}}}{P} = \frac{T_{\text{total}} - T_{\text{aq}}(h+1)}{P} \quad (6)$$

ただし V_o は溶媒相の容積, P はその中に溶解している SMA の量 (g) である.

二塩化エチレンを溶媒相としたときのチアミン誘導体の平衡濃度を C , SMA 1 g あたりの結合量を y として, C と C/y との関係をしらべた結果は Fig. 5 のようになりかなりよい直線性を示し, 両者の結合を Langmuir 型の式を用いてあらわすことができる.

直線の回帰式を最小二乗法で求め, 直線の勾配および切片の値から飽和結合量 y_m , および

Fig. 5. Langmuir-type Plots for Binding of Thiamine Derivatives to SMA in Ethylene Dichloride at 25°

(A): ●; DCET, ○; DBT, △; BTDS
(B): ●; CET, ○; TTFD, △; CBT
 C : concn. of unbound derivative at equilibrium
 y : amount of derivative bound to SMA ($\times 10^{-3}$ mole/g)

TABLE II. Data for the Binding of Thiamine Derivatives to SMA in Ethylene Dichloride

Thiamine derivatives	$y_m \left(\frac{\text{mmole}}{\text{g}} \right)$		$\log K$	
	25°	37°	25°	37°
BTDS	0.21	0.21	3.98	3.61
TTFD	0.25	0.25	3.64	3.38
CET	0.27	0.23	3.46	3.40
CBT	0.28	0.31	3.23	3.15
DCET	0.18	0.18	3.30	3.08
DBT	0.19	0.20	3.26	3.08

結合の強さを示す定数 K を算出した結果を Table II に示す.

Table II から知られるように, SMA 1 g にたいするチアミン誘導体の飽和結合量は約 0.2—0.3 mmole であり, この結果は SMA の結合に関与する部位と考えられる無水マレイン酸含量, 平均 2.8 mmole/g にたいして著しく小さいことが注目される. さらにそれぞれの誘導体について y_m を比較すると温度が変わってもこの値はほとんど変化せず, チオール S 位置にのみ置換基をもつ TTFD, CET, CBT では 0.25—0.28 mmole/g であるが, O,S 両位置に置換基をもっている BTDS, DCET, DBT では約 0.2 mmole/g とやや小さな値となりチアミン誘導体の分子の構造によって差が認められる.

これらの結果は SMA の 1 共重合単位にくらべて分子 size の大きいチアミン誘導体の配位に際し, 立体的な障害が生じているためと考えられ, とくに結合に関与する酸無水物基がスチレンと隣り合って連続して存在していること, また高分子が直鎖状で溶解しているのではなくランダムコイルの状態で溶解していると考えられるので, これらの構造因子に基づく立体障害や配位方向の規制により, チアミン誘導体分子との結合にたいして最もつごうのよい状態に配向している SMA の site 数が全 site 数にくらべて少ないためであると考えられる. 同じような現象が Molyneux 等^{18a)} の水溶液中での PVP と芳香族化合物との結合や, 麻生等¹⁹⁾ のビニルピロリドンイミダゾール共重合体と 3-ニトロ-4-アセトキシ安息香酸との結合の場合にも報告されており, 著者等の得られた結果と類似性が認められる.

一方, 結合の強さ K はチアミン誘導体の種類によってそれぞれ異なっているが, いずれも 37° での値は 25° の値よりも小さくなっている.

19) 麻生忠二, 国武豊喜, 島田史子, 第 16 回高分子討論会, 福岡, 1967, 講演要旨集, II, p. 500.

TABLE III. Data for the Binding of DCET to SMA in Various Solvents at 25°

	(CH ₂ Cl) ₂	CH ₂ Cl ₂	(CHCl ₂) ₂	CHCl ₃
y_m (mmole/g)	0.18±0.01	0.24±0.04	0.23±0.02	0.21±0.04
log K	3.30	3.12	3.03	3.00
Dielectric constant	10.13	9.08	7.83	4.95

つぎに、相互作用におよぼす溶媒の影響をみるため温度 25° で DCET と SMA との相互作用を二塩化メチレン、テトラクロルエタン、およびクロロホルムを用いて二塩化エチレン中での場合と同じような実験を行ない Table III に示す y_m および K の値を得た。

Table III の結果から知られるように、 y_m はいずれの溶媒を用いた場合でもほぼ 0.2 mmole/g であって差はない。しかし K の値は溶媒の種類によって変化し、結合は誘電率の大きい溶媒中ほど強くなる傾向が認められる。この現象は DCET, SMA および溶媒との間の競合的な相互作用に起因するものと思われ、DCET が Table III の 4 種の塩素化炭化水素系溶媒については、その誘電率が小さい溶媒ほど溶解しやすいために SMA との結合に関する化学ポテンシャルが減少するためと考えることができる。

実 験 の 部

試料および溶媒 a) スチレン無水マレイン酸共重合体 (SMA)——シンクレア石油会社製 SMA resin® 3000A¹¹⁾ をベンゼンに溶解したのちエーテル中に滴下、再沈殿精製を行なって使用。Anal. Found: C, 79.79; H, 6.72, mol. wt. (数平均, アセトン蒸気圧法), 2300, 軟化温度: 115—130°, $[\eta]_{DMF}^{30} = 0.071$, 元素分析値より算出した無水マレイン酸含量: 2.8 mmole/g.

b) スチレンマレイン酸共重合体——SMA 5 g をアセトン 25 ml に溶解, 1N NaOH 50 ml を加えて 1 hr 還流, 冷後 2N HCl 50 ml を加え沈殿する共重合体を浮別, 十分水洗乾燥後テトラヒドロフラン-水系より再沈殿精製した。

c) チアミン誘導体——DBT; mp 170°, BTDS; mp 143°, TTFD; mp 125°, DCET; mp 113°, CET; mp 139.5°, および CBT; mp 135° を使用。

d) ピリミジン誘導体——I, II の誘導体は文献記載²⁰⁾ の方法で合成し, III-VI は当研究所高見沢映博士, 平井英三博士より供与されたものを使用。Pyrimidine (I)^{20a)}, 2-methylpyrimidine (II)^{20b)}, 2-methyl-4-aminopyrimidine (III), 2-methyl-4-methoxypyrimidine (IV), 2-methyl-4-aminopyrimidine-5-methanol (V) および 2-methyl-4-amino-5-aminomethylpyrimidine (VI)。

e) 溶媒: CH₂Cl₂, (CH₂Cl)₂, (CHCl₂)₂ および CHCl₃ の各溶媒はいずれも市販特級品を再蒸留し, 初留と後留を十分に除いたものを使用した。

吸収スペクトルの測定 日立 EPS-3T 型自記分光光度計を使用。

IR 吸収スペクトルの測定 日本分光 IRS 型赤外分光光度計を使用。

分配法 1. 試料溶液の調製——a) SMA 溶液: SMA を前記の溶媒に溶解 (0.25, 0.50, 0.75, 1.0% (w/v))。

b) チアミン誘導体溶液: 0.2M リン酸クエン酸緩衝液にそれぞれのチアミン誘導体を溶解 (0.25, 0.50, 1.0, 2.0 mg/ml), 溶液の pH: BTDS, DCET; 3.6, TTFD, CET CBT; 5.6, DBT; pH 2.0 0.2M KCl-HCl. 2. 分配平衡 50 ml 容の共栓つき遠沈管に前記溶媒または SMA 溶液 5 ml, チアミン誘導体溶液 10 ml をとり, 25° または 37° で 20 min 間はげしくふりまぜ, 遠沈後水相中のチアミン誘導体量を定量する。3) 定量法 分配平衡到達後上澄水相の一定量をとり, チアミン誘導体の濃度が 5—20 μg/ml となるよう 0.01N HCl で希釈, この 1 ml を 25 ml のメスフラスコにとり, つぎに記す前処理を行なった後 25% 酸性塩化カリ溶液でみたして検液とし, 臭化アン・チオクローム蛍光法²¹⁾ により定量した。4) 前処理 DBT, DCET, CET, CBT: 2N NaOH 1 ml を加え 30° 5 min 間ふりまぜ加温した後 2N HCl 1.5 ml を加えて酸性とする。²¹⁾ BTDS: 0.2% (w/v) 塩酸システイン液 1 ml および 2N NaOH 2 ml を加え 30° 5 min 間ふりまぜ加温した後 2N HCl 3 ml を加えて酸性とする。TTFD: pH 4.5 酢酸緩衝液 5 ml および 1% (w/v) チオ硫酸ナトリウム液 1 ml を加え 60° 30 min 間ふりまぜ加温する。

謝辞 本研究にあたり御指導御鞭撻を賜った大阪市立大学工学部 井本稔教授に深謝するとともに, 試料を提供された当研究所高見沢映博士, 平井英三博士, 中田忠志博士に感謝いたします。

20) a) S. Gabriel, *Chem. Ber.*, **37**, 3657 (1904); S. Gabriel, *ibid.*, **33**, 3666 (1900); b) S. Gabriel, *ibid.*, **37**, 3638. (1904).

21) 山本隆一, 稲津邦平, 島 和弘, *ビタミン*, **25**, 478 (1962).