

平成 22 年 6 月 14 日現在

研究種目：基盤研究 (C)  
 研究期間：2007～2009  
 課題番号：19590031  
 研究課題名 (和文) 生体内含カルシウム化合物の迅速溶解のためのジグリコールアミド利用法の創製  
 研究課題名 (英文) Development of the utility of diglycolamides for the rapid dissolution of calcium-composed materials in the living body  
 研究代表者  
 佐々木 祐二 (SASAKI YUJI)  
 日本原子力研究開発機構・原子力基礎工学研究部門・研究主幹  
 研究者番号：20354839

研究成果の概要 (和文) : Ca と高い反応性を示す新規な化合物、ジグリコールアミド、を用いて、生体内で生成した結石 (胆石) の溶解試験を行った。3 種の生体試料の溶解試験を行ったところ、ヒト男性の胆石の溶解について、これまでの溶解液よりも高い性能を持つことが明らかとなった。

研究成果の概要 (英文) : The dissolution of the solid sample composed of calcium produced in the living body was performed by the solution with the novel compound, diglycolamide. From the dissolution test using three rock-materials, it is clear that the dissolving solution containing diglycolamide has high effect on dissolution of gallstone from the human-male body.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2008 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：

科研費の分科・細目：

キーワード：ジグリコールアミド、カルシウム溶解、錯形成、胆石、製薬

1. 研究開始当初の背景：2001年に原子力分野で提案された新抽出剤、テトラオクチルジグリコールアミド (DGA)、と同じ骨格を持つ

DGA 化合物の新しい利用法を探るものである。  
 DGA 化合物は原子力分野で回収が検討される  
 アクチノイド元素以外にカルシウムと高い

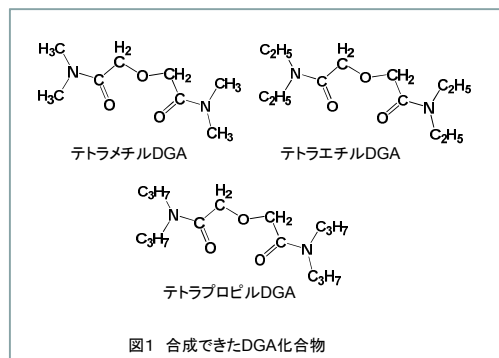
反応性を持っている。さらに DGA 化合物は中心骨格を変えずに短いアルキル基を持つ化合物を合成可能であり、これは水に溶解できる。以上の特徴を鑑み、DGA 化合物を溶解した溶解溶液を用いて、生体内で生成した胆石などの新しい溶解法の開発に取り組んだ。

2. 研究の目的：水溶性のジグリコールアミド (DGA) 化合物の応用面での新しい利用法を探る。体内で必須元素であるカルシウムの錯形成剤としてこれまでにクエン酸、EDTA などが開発されてきたが、DGA 化合物はこれまでの化合物にはない次の特徴が明らかになっている。(1) 結石の主成分となるカルシウムとの反応性が高い。(2) 酸溶液中で使用可能。(3) 構造が簡単であり、合成は容易である。以上のことから生体内の含カルシウム結石を溶解するのに非常に都合のよい化合物といえ、その手法についての研究を進める。

3. 研究の方法：(1) 初めに DGA 化合物の合成を行った。これは、ジグリコール酸とアミンを縮合反応させる方法である。この方法で、いくつかの DGA 化合物を合成した。(2) 得られた DGA 化合物の水への溶解試験を行った。(3) 次に DGA 化合物の毒性評価を行った。これは、微生物の変異原性試験 (エイムズ試験) と呼ばれる方法を用いた。次に、従来から利用される溶解液との比較について検討した。(4) まず、Ca との反応性を滴定型のカロリメトリーで測定した。次に実試料を溶解する前に、模擬試料で検討する為の模擬試料作製を行った。(5) 得られた模擬試料の溶解試験を 3 種の溶解液を用いて行った。(6) 最後に入手できた、ヒト (男性、女性) 及び猫の胆石の溶解試験を行った。

#### 4. 研究成果：

(1) 3 種の DGA 化合物を合成できた、テトラメチル(TM)DGA, テトラエチル(TE)DGA、テトラプロピル(TP)DGA である。構造を下に記す。



(2) DGA 化合物の水への溶解試験を行った。溶解についてはアミドのカルボニル酸素による UV スペクトル吸収、溶液中の全有機炭素 (TOC) 測定も検討したが、溶解度が極めて高いため目視により確認する方法を選択した。結果を次に示す。TMDGA 及び TEDGA は pH2-7 の 0.15M NaCl 溶液中に 1M 以上の溶解性を示した。TPDGA はやや溶解性が低く、0.2-0.3M 程度であった。これは、TPDGA になると化合物中の炭素数が増加するため、親油性が上がり、その結果水に溶解しにくくなるためである。次に TMDGA と TEDGA を水への溶解以外の点で比較した。TMDGA は合成の初期試薬にジメチルアミンを利用するが、揮発性が著しく取り扱いが困難であることに加えて、反応性は TEDGA の方が高い。従って、ここでは TEDGA を利用することとした。

(3) 行ったエイムズ試験 (変異原性試験) の概要を次に示す。サルモネラ菌に試料を混ぜて培養すると 試料に変異原性がある場合、菌は突然変異を起こしコロニーを形成する。このコロニー数をカウントして変異原性の強さを表すことができる。この試験方法は次のとおりである。①TEDGA を生理食塩水に溶

解、菌液と混合し寒天培地に加えた。また、ブランク試験としての無菌試験も同様に実施した。②蛍光ランプを使い、37℃で48時間培養した際の、復帰変異コロニー数を計数した。なお、測定には自動コロニーカウンターを使用した。結果を次に示す。菌の種類、試料量を変えて試験を行った結果、いずれもブランク実験で得たコロニー数の2倍以上の値を示さなかった。従って、TEDGAの変異原性は陰性と判断できる。このことから、TEDGAは本試験から毒性はないと判断された。

(4) カロリメトリーの測定結果を次にまとめる。カロリメトリーを実施した溶液は次の3種である、0.1M クエン酸、EDTA 及び TEDGA の 0.9% NaCl 溶液である。これとカルシウムとの反応性を調べた。カロリメトリーを行った実験系が適正でなかったためか、精度の高い結果を得ることが大変困難であった。その中で、次のようなことが理解された。両方の化学試薬共にカルシウム1に対して2分子結合すること、TEDGAは1分子反応の結合定数は高いが、クエン酸は2分子結合の反応性が高いことなどである。なお、EDTAは吸熱反応の傾向を示し、Caとの反応性は低いことが予想された。

(5) 模擬試料を次のようにして作成した。リン酸カルシウムとコレステロール或いはクエン酸カルシウムとコレステロールを所定量の原料粉末を量り取り、乳鉢中でアルコールを添加して均一に混合し、乾燥して原料混合粉末とした。原料混合粉末を所定時間加圧し、成型体を得た。なお、模擬試料は粉末ではなく、固体(塊状)にする必要があったが、コレステロールが試料に含まれていると成形しやすい。一方カルシウム塩のみのペレットは成形しにくいという溶解試験時にも崩れやすい傾向にあった。

3種の溶解溶液を用いたカルシウム成型

体の溶解試験は次のとおりである。リン酸カルシウム：コレステロール (= 70:30, 50:50, 30:70) 或いはシュウ酸カルシウム：コレステロール (= 70:30, 50:50, 30:70) のペレットを各種溶解液の中に加える。なお、溶解液の組成は次のとおりである、0.1M TEDGA, EDTA, クエン酸濃度を持つ 0.23M NaCl 溶液 (pH 3)。40 度に加温し、緩やかに振り混ぜた。溶解開始より 300 分後の溶液中の Ca 濃度を ICP 発光分光装置を用いて測定した。測定結果を表 1 (リン酸カルシウム化合物)、2 (シュウ酸カルシウム化合物) にまとめた。表よりシュウ酸カルシウム：コレステロール = 70 (%) : 30 (%) 或いはリン酸カルシウム：コレステロール = 30 (70) : 70 (30) (%) の成型体はいずれも TEDGA 溶液を用いた場合のカルシウム溶解量が高い。本実験からは TEDGA は従来からの胆石を溶解する溶解液よりも高い溶解性を示すことが分った。一方、リン酸カルシウム、シュウ酸カルシウムの試料によって溶解性が大きく異なり、実試料の組成も重要であることが予想される。

表 1 3種の溶解溶液中のCa濃度(リン酸カルシウム:コレステロール化合物)

溶解液	Ca濃度の測定結果(ppm)		
	リン酸カルシウム:コレステロール(%)		
	70:30	50:50	30:70
0.1M TEDGA	1215	191.6	205.9
0.1M クエン酸	600.7	282	168.3
0.1M EDTA	644.7	248	109

表 2 3種の溶解溶液中のCa濃度(シュウ酸カルシウム:コレステロール化合物)

溶解液	Ca濃度の測定結果(ppm)		
	シュウ酸カルシウム:コレステロール(%)		
	70:30	50:50	30:70
0.1M TEDGA	64.0	41	22.28
0.1M クエン酸	35.96	22.65	12.43
0.1M EDTA	31.09	19.72	15.9

(6) 最後に実試料での溶解試験を行った。実験内容は模擬試料でのそれと同様である。Ca濃度の測定結果を表3にまとめた。表より、次の事が理解された。TEDGAは男性の胆石の溶解に最も高い効果を発揮した。それ以外に

は EDTA の性能が優れている。生体試料の溶解性は、女性>男性>猫、の順であり、試料組成によって溶解性が異なると思われる。先にも記したが、実試料の組成によって溶解性が大きく異なることから、実試料の組成分析も重要な情報を提供すると思われ、今後の課題である。

表3 生体試料(ヒト男性、女性、猫)の溶解試験

	Ca濃度 / ppm		
	male	female	cat
0.1M TEDGA	44.17	53.98	0.00
0.1M クエン酸	23.12	201.3	0.152
0.1M EDTA	26.57	286.2	0.697

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計 1 件)

佐々木祐二、水溶性 DGA による生体内含カルシウム化合物の溶解、第 7 1 回分析化学討論会

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者：佐々木 祐二

(SASAKI YUJI)

日本原子力研究開発機構・原子力基礎工学研究部門・研究主幹

研究者番号：20354839

(2) 研究分担者：小熊 幸一

(OGUMA KOICHI)

千葉大学 工学部 教授

研究者番号：60009529

(3) 連携研究者：須郷由美

(SUGO YUMI)

日本原子力研究開発機構・原子力基礎工学研究部門・研究副主幹

研究者番号：90354836

(H21 年度 分担者⇒連携研究者)

(4) 連携研究者：北辻章浩

(KITATSUJI YOSHIHIRO)

日本原子力研究開発機構・原子力基礎工学研究部門・研究副主幹

研究者番号：30354898

(H21 年度 分担者⇒連携研究者)