

## 固体蛍光測定によるシクロデキストリン混合粉砕物中の *p*-ジメチルアミノベンズニトリルの分子状態

井上 裕,<sup>\*,a</sup> 井 紀孝,<sup>b</sup> 米持悦生,<sup>c</sup> 小口敏夫,<sup>d</sup>  
東 顕二郎,<sup>e</sup> 森部久仁一,<sup>e</sup> 山本恵司<sup>e</sup>

### Solid States Fluorescence Study of *p*-Dimethylaminobenzonitrile by Co-grinding with Cyclodextrins

Yutaka INOUE,<sup>\*,a</sup> Noritaka II,<sup>b</sup> Etsuo YONEMOCHI,<sup>c</sup> Toshio OGUCHI,<sup>d</sup>  
Kenjiro HIGASHI,<sup>e</sup> Kunikazu MORIBE,<sup>e</sup> and Keiji YAMAMOTO<sup>e</sup>

<sup>a</sup>Laboratory of Drug Safety Management, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Josai University, 1-1 Keyakidai, Sakado, Saitama 350-0295, Japan, <sup>b</sup>R & D Department, Daiichi Sankyo Healthcare Co., Ltd, 1-8 Nihonbashi-Koamicho, Chuou-ku, Tokyo 103-8541, Japan, <sup>c</sup>Department of Pharmaceutics, School of Pharmaceutical Sciences, Toho University, 2-2-1 Miyama Funabashi, Chiba 274-8510, Japan, <sup>d</sup>Department of Pharmacy, University of Yamanashi, 1110 Shimogato, Chuo 409-3898, Japan, and <sup>e</sup>Division of Pharmaceutical Technology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Chiba University, 1-33 Yayoi-cho, Inage-ku, Chiba 263-8522, Japan

(Received August 20, 2008; Accepted October 27, 2008)

The molecular status of a freeze-dried sample or a ground mixture of *p*-dimethylaminobenzonitrile (DMABN) with  $\alpha$ -,  $\beta$ -, or  $\gamma$ -cyclodextrins (CDs) was examined using solid-state fluorescence measurements. A twisted intramolecular charge transfer (TICT) emission of DMABN crystals was shown at 475 nm. Emission peaks of freeze-dried samples were observed at 450, 380, and 393 nm in  $\alpha$ -CD/DMABN,  $\beta$ -CD/DMABN, and  $\gamma$ -CD/DMABN systems, respectively. It was speculated that DMABN molecules existed as a twisted form in the cavity of  $\alpha$ -CD, and as a plane structure in that of  $\beta$ -CD or  $\gamma$ -CD. On the other hand, fluorescence emission peaks of ground mixtures of DMABN with  $\alpha$ -,  $\beta$ -, or  $\gamma$ -CD were observed at around 450 nm. When DMABN was ground together with microcrystalline cellulose, which cannot form an inclusion complex, only TICT emission was detected. These results suggest that the observed shift in the fluorescence peak could be due to inclusion phenomena. When the ground mixtures were crystallized under humid conditions, fluorescence emission peaks were observed at 450 nm in  $\alpha$ -CD and of around 400 nm in  $\beta$ - and  $\gamma$ -CD systems. It is concluded that the conformation of the DMABN molecules in a crystalline CD/DMABN inclusion complex change depending on the size of the CD cavity.

**Key words**—solid-state fluorescence; cyclodextrin; *p*-dimethylaminobenzonitrile; cogrinding

## 緒 言

近年、シクロデキストリン (CD) 関連研究の進歩は目覚しく、超分子や分子カプセルとして多くの分野で有用性が認識されている。CD は、製剤の機能性素材として有用であり、薬物の溶解性の改善や包接錯体形成により薬物の安定化などの製剤化研究

に利用されている。<sup>1,2)</sup> 血管拡張作用を有する Prostaglandin E<sub>1</sub> 製剤は  $\alpha$ -CD を安定化剤として使用している。<sup>3)</sup> また、薬物の溶解性や安全性の向上を目的として、化学的あるいは酵素的修飾を施した修飾化 CD (Hydroxypropyl- $\beta$ -CD など) も医薬品添加剤として使用されている。<sup>4)</sup> 抗真菌薬であるイトラコナゾールは、Hydroxypropyl- $\beta$ -CD との包接化合物形成により溶解性向上が報告されている。<sup>5)</sup>

固体製剤の溶解性向上の手段として、共沈法や凍結乾燥法も有用な方法である。<sup>6)</sup> しかしながら、これらの調製法では薬物を水に溶解させる必要があるため、難溶性薬物では包接化合物の調製が困難な場

<sup>a</sup>城西大学薬学部医薬品安全性学講座, <sup>b</sup>第一三共ヘルスケア株式会社研究開発部, <sup>c</sup>東邦大学薬学部薬剤学教室, <sup>d</sup>山梨大学医学部附属病院薬剤部, <sup>e</sup>千葉大学大学院薬学研究院製剤工学研究室

\*e-mail: yinoue@josai.ac.jp

合がある。これまで、筆者らは、溶媒を用いずに包接化合物を調製する方法として、密封加熱法や混合粉碎法などの検討を行ってきた。<sup>7,8)</sup> 混合粉碎法により包接化合物を調製する利点として、包接化合物結晶中に残留溶媒がないこと、溶媒による加水分解がないこと、調製操作が簡便であることが挙げられる。混合粉碎法は CD と薬物の混合物に機械的な力を加える方法であり、包接化合物は粉末 X 線回折測定により非晶質状態として得られることがある。<sup>9)</sup> 山本らは CD とピレン若しくは 2,5-ジフェニルオキサゾールとの混合粉碎物では、包接化合物が非晶質状態で得られることを見い出している。<sup>10,11)</sup> さらに、混合粉碎過程の薬物の包接挙動を固体蛍光測定により評価し、ピレンは  $\beta$ -CD 空洞内で単分子状態（モノマー）、2,5-ジフェニルオキサゾールは  $\gamma$ -CD 空洞内で励起二量体（エキシマー）となることを明らかにしている。このように、包接化合物における CD と薬物との分子間相互作用を解明する上で、蛍光スペクトルを用いることは有用な方法の 1 つである。

*p*-ジメチルアミノベンゾニトリル (DMABN) は、溶液中での包接化メカニズムを調べるモデル薬物として知られている。DMABN は溶液中において、ジメチルアミノ基とベンゼン環が同一平面上にある“平面構造”とジメチルアミノ基とベンゼン環の結合が 90° ねじれた“ねじれ構造”と呼ばれる 2 つの構造を取ることが報告されている。<sup>12)</sup> そして、これら 2 つの構造は、それぞれ異なる蛍光発光ピークを示すことが報告されており、DMABN 分子が平面構造を取る場合には短波長側に蛍光発光ピークを示し、ねじれ構造を取る場合には長波長側に Twisted Intramolecular Charge Transfer (TICT) 発光と呼ばれる蛍光発光ピークを示す。<sup>13,14)</sup> この TICT 発光は、ねじれに伴うジメチルアミノ基の窒素原子からシアノ基への電子移動、若しくは、ベンゾニトリル基全体への電子移動により生じると報告されている。<sup>15)</sup> また、TICT 発光は溶媒の極性が減少することにより発光ピークは短波長側にシフトし、強度が増加することも報告されている。<sup>16)</sup> DMABN と CD との相互作用についても検討がされており、DMABN 水溶液中に  $\alpha$ -CD を添加するとねじれ状態を示す TICT 発光の相対強度が増大すること、 $\gamma$ -CD を添加した場合には平面構造を示す短波長側の

相対強度が増加すること、 $\beta$ -CD を用いた場合は、両方の蛍光発光ピークの強度がともに増大することが認められている。<sup>17-19)</sup> このように、DMABN は、CD の空洞径の違いなど、包接環境に依存して異なる構造を取り、蛍光スペクトルにその分子状態が反映されることから、分子間相互作用の研究のモデル化合物として興味を持たれる。

そこで、本研究では、モデル化合物として DMABN を用い、 $\alpha$ -、 $\beta$ -、あるいは  $\gamma$ -CD との凍結乾燥若しくは混合粉碎を行い、得られた包接化合物について固体状態の蛍光発光スペクトル、励起スペクトル及び時間分解蛍光測定による蛍光寿命の解析を行いその包接様式について検討を行った。さらに空洞構造を持たない結晶セルロース (MCC) との混合粉碎を行い、CD 混合粉碎試料との比較検討を行った。

## 方 法

**1. 試薬**  $\alpha$ -CD (分子量=972)、 $\beta$ -CD (分子量=1135) 及び  $\gamma$ -CD (分子量=1297) は、メルシャン㈱製のものを使用した。MCC は旭化成ケミカルズ㈱製のものを使用した。CD 及び MCC は 110 °C で 3 時間以上減圧乾燥し、水分含量を 3% 以下にして使用した。DMABN は、市販特級品（和光純薬工業㈱製）をそのまま使用した。

**2. 物理的混合物の調製** 物理的混合物は、秤量後乳棒・乳鉢を用いて約 10 秒間混合したものをを用いた。

**3. 混合粉碎物の調製** 混合粉碎物は、物理的混合物約 2 g を平工製作所製 TI-200 振動型ロッドミル（アルミナセル）を用い、混合粉碎を行い試料とした。

**4. 凍結乾燥物の調製** DMABN 及び CD をモル比 (1:1) で秤量し、総量 300 mg を 100 ml の蒸留水に分散させ、70 °C、30 分間かく拌して完全に溶解させた。その後、得られた溶液 15 ml を 50 ml のバイアルに分注し -35 °C にて 1 日予備凍結を行った。さらに、予備凍結後の試料を -50 °C、8.0 Pa の減圧下で凍結乾燥を 2 日間行った。凍結乾燥は、東京理化器械㈱製 FD-1000 を用いて行った。

**5. 混合粉碎物の調湿結晶化** 40 °C の恒温そう内において、KNO<sub>3</sub> 飽和水溶液共存下のデシケーター（相対湿度 89%）に 4 日間保存した。

**6. 粉末 X 線回折測定** 理学電機製ミニフレックス型粉末 X 線回折装置により,  $\text{CuK}\alpha$  線を用い, 室温で測定した. 測定条件は, 30 kV, 15 mA, 走査速度  $4^\circ/\text{min}$ , 測定範囲は  $2\theta=5\text{--}35^\circ$  とした.

**7. 蛍光スペクトル測定** 蛍光励起スペクトル及び蛍光発光スペクトルの測定には, 日本分光工業製 FP-770F 型分光蛍光光度計 (光源: 150W キセノンランプ) を用いた. なお, FP-770F 型本体に日本分光工業製 FP-1060 型固体試料測定装置を取り付け, 粉末状の固体試料について測定を行った. 励起スペクトルは, 基本的に各試料の発光スペクトルでの発光ピーク極大波長を観測波長として測定を行った.

**8. 時間分解蛍光測定** 時間分解蛍光測定には, 堀場製作所製 NAES-1100 型時間分解蛍光分光光度計 (光源: 高圧ガス封入型自励式放電ランプ) を用いた. 測定はマルチ TAC (Time-to-Amplitude) (1 励起パルス当たり複数個の光電子を捉えることが可能) 方式による時間相関光電子計数法である. ガスクロ工業製 AB20 型石英セルを用いて固体試料について測定を行った. 測定条件は励起波長 289 nm, 観測波長 500 nm とした.

**9. 水分含量の測定** 試料中の水分含量の測定には, 平沼産業製水分含量測定装置 (カールフィッシャー法) を用いた.

## 結果及び考察

**1. 凍結乾燥法による包接化合物形成の検討**  
凍結乾燥による包接化合物形成を検討するため, DMABN と  $\alpha$ -,  $\beta$ -, あるいは  $\gamma$ -CD のモル比 (DMABN : 各 CD = 1 : 1) の溶液を調製し, 凍結乾燥物を調製した. Figure 1 に  $\alpha$ -,  $\beta$ -, あるいは  $\gamma$ -CD と DMABN との物理的混合物及び凍結乾燥物の粉末 X 線回折パターンを示した. 物理的混合物には, 各 CD 及び DMABN に由来する特徴的な回折ピークが重なって認められた. DMABN と  $\alpha$ -CD との凍結乾燥物の粉末 X 線回折パターンでは,  $2\theta=13.3^\circ$  と  $19.8^\circ$  に新たな回折ピークが出現し, 原料の X 線回折パターンとは全く異なるものであった. Hunt らによると,  $\alpha$ -CD 包接化合物の筒型構造の典型的な包接化合物の粉末 X 線回折ピークは,  $2\theta=13.2^\circ$  と  $20.0^\circ$  に出現すると報告されており, 本結果もこれとほぼ一致した.<sup>20)</sup> このことから, 凍結乾燥法により, DMABN- $\alpha$ -CD 包接化合物結晶が得られたものと考えられた.  $\beta$ -CD の凍結乾燥物の粉末 X 線回折パターンにも  $\beta$ -CD 包接化合物の筒型構造に典型的な  $2\theta=7.4^\circ$  と  $12.8^\circ$  に回折ピークが出現し, Ohmura らの報告と一致した.<sup>21)</sup> このことから, DMABN- $\beta$ -CD 包接化合物結晶が得られたものと考えられた.  $\gamma$ -CD についても凍結乾燥することで,  $2\theta=7.3^\circ$  に新たな回折ピークが出現した. この結果は, Panova らが報告している  $\gamma$ -CD と PEO [poly (ethylene oxide)] との包接化合物の粉末 X 線回折

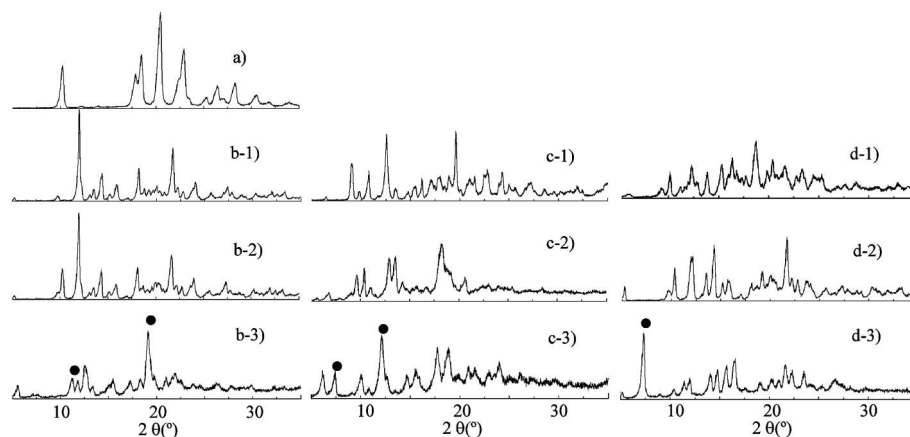


Fig. 1. Change in X-ray Diffraction Patterns of DMABN- $\beta$ -CD Systems during Grinding Process

(a): DMABN unprocessed, (b-1)  $\alpha$ -CD, (b-2): Physical mixture ( $\alpha$ -CD : DMABN = 1 : 1), (b-3): Freeze-dried ( $\alpha$ -CD : DMABN = 1 : 1), (c-1):  $\beta$ -CD, (c-2): Physical mixture ( $\beta$ -CD : DMABN = 1 : 1), (c-3): Freeze-dried ( $\beta$ -CD : DMABN = 1 : 1), (d-1):  $\gamma$ -CD, (d-2): Physical mixture ( $\gamma$ -CD : DMABN = 1 : 1), (d-3): Freeze-dried ( $\gamma$ -CD : DMABN = 1 : 1).

パターンのピークと一致しており、その包接化合物は筒型構造であることが報告されている。<sup>22)</sup> このことより、 $\gamma$ -CD と DMABN を凍結乾燥することにより、DMABN- $\gamma$ -CD 包接化合物結晶が得られたものと考えられた。以上のことから、すべての系において包接化合物は調製でき、その構成モル比はいずれもモル比 (DMABN : 各 CD = 1 : 1) であると考えられた。

次に、各 CD 中の DMABN 分子状態を固体蛍光発光スペクトル法により検討した。まず、DMABN 結晶の固体蛍光発光スペクトルを励起波長 289 nm において測定したところ、396 nm 及び 475 nm にそれぞれ発光ピークが観察された (Fig. 2)。このことから固体状態においても平面構造及びねじれ構造が共存した状態で存在していることが示唆された。DMABN- $\alpha$ -CD 包接化合物では 450 nm のみに、DMABN- $\beta$ -CD 包接化合物では 380 nm のみに発光ピークが観察され、DMABN- $\gamma$ -CD 包接化合物では 393 nm にピークが観察された。このことから、DMABN 分子は、 $\alpha$ -CD 空洞内でねじれ構造、 $\beta$ -CD 空洞内で平面構造、また、 $\gamma$ -CD 空洞内では大部分の DMABN 分子は平面構造で包接化合物を形成しているものと考えられた。用いる CD の違いにより、得られた包接化合物間で DMABN の分子構造が異なる理由として、限られた大きさの空洞内の空間が分子の動きを制限する効果と及び疎水性の CD 空洞内に DMABN 分子が包接されることで、DMABN 分子のまわりの微視的環境の極性を低下

させる効果が考えられる。<sup>23)</sup> 特に  $\alpha$ -CD 空洞内においてジメチルアミノ (DMA) 基は、2 つのメチル基の内部回転や DMA 基の反転運動などのカップリングが弱くなることが予想され、TICT 状態生成に必要な DMA 基の回転が起こり易くなると推察された。

**2. 混合粉砕による蛍光発光特性の変化** 混合粉砕による DMABN の分子状態の変化を検討するために、DMABN と  $\beta$ -CD とのモル比 0.2 (DMABN/ $\beta$ -CD) の物理的混合物を調製し混合粉砕を行った。Figure 3 には、物理的混合物、混合粉砕物 (0.5 分間、1 分間、2 分間及び 15 分間) の粉末 X 線回折パターンの変化を示した。物理的混合物においては、 $2\theta = 9.8^\circ$  と  $20.2^\circ$  に DMABN 結晶由来の回折ピークが観察され、 $\beta$ -CD 及び DMABN が結晶状態で存在していることが確認されたが、粉砕時間 2 分間、15 分間の混合粉砕物では、 $\beta$ -CD 及び DMABN 結晶由来の回折ピークは観察されず非晶質となっていた。Figure 4 には、これら混合粉砕物の固体蛍光発光スペクトルを示した。物理的混合物では、396 nm 及び 470 nm に発光ピークが観察されたが、粉砕時間の延長に伴い短波長側の 450 nm 付近の TICT 発光の相対強度が次第に増加した。Table 1 には、これらの試料を励起波長 289 nm、観測波長 500 nm として時間分解蛍光測定を行い、得られた蛍光寿命と相対量子収率の結果を示した。蛍光寿命は 1 ns 以下の短寿命 (Comp. 1) と、約 2 ns の寿命 (Comp. 2)、4–5 ns の長寿命 (Comp. 3) を示

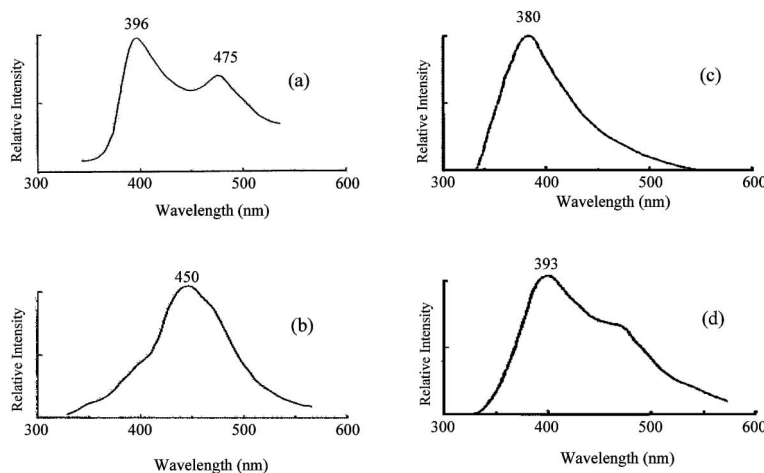


Fig. 2. Emission Spectra of DMABN Unprocessed and DMABN by Freeze-dry with CDs

(Molar Ratio of CDs : DMABN = 1 : 1) ( $\lambda_{\text{ex}} = 289$  nm). (a): DMABN unprocessed, (b):  $\alpha$ -CD : DMABN system, (c):  $\beta$ -CD : DMABN system, (d):  $\gamma$ -CD : DMABN system.

す 3 成分が存在していた。各蛍光寿命成分と相対量子収率の粉碎による変化に着目すると、粉碎に伴い長寿命成分である Comp. 3 の相対量子収率が次第

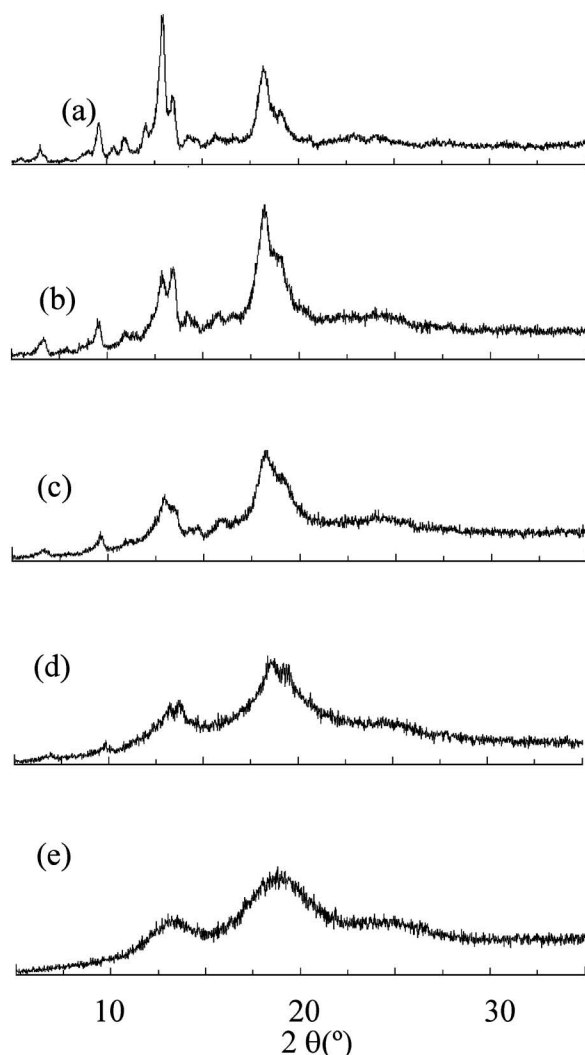


Fig. 3. Change in X-ray Diffraction Patterns of DMABN/ $\beta$ -CD (Molar Ratio 0.2) Systems during Grinding Process

(a): Physical mixture, (b): Ground for 0.5 min, (c): Ground for 1 min, (d): Ground for 2 min, (e): Ground for 15 min.

に増加した。粉碎時間が 2 分間以降の混合粉碎物では相対量子収率が 90% 以上に達したことから、長寿命成分は DMABN のねじれ構造に由来することが妥当であると考えられた。

**3. シクロデキストリン及び結晶セルロースとの混合粉碎** DMABN と  $\alpha$ -,  $\beta$ -, あるいは  $\gamma$ -CD を添加剤として種々の混合比 (DMABN/CD=0.2, 0.5, 1.0 及び 5.0) で 15 分間混合粉碎を行った試料の粉末 X 線回折パターンを Fig. 5 に示した。いずれの CD 系においても、混合モル比 0.2, 0.5 及び 1.0 の混合粉碎物には、DMABN 結晶及び CD 結晶由来の X 線回折ピークは観察されず、また新たなピークの出現も観察されず、DMABN 及び CD はともに非晶質状態となっていることが認められた。一方、混合モル比 5.0 混合粉碎物は  $2\theta=9.8^\circ$  と  $18^\circ-22^\circ$  に DMABN 結晶由来の回折ピークが認められ、DMABN が結晶で存在していることが認められた。MCC 中に DMABN を 2.5%, 10% 及び 40% 含有した 15 分間混合粉碎物の粉末 X 線回折パターンを Fig. 6 に示した。DMABN 結晶由来の回折ピーク

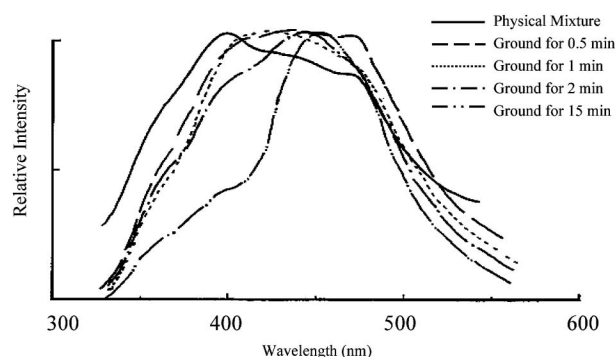


Fig. 4. Changes in Emission Spectra of DMABN/ $\beta$ -CD (Molar Ratio 0.2) Systems during Grinding Process ( $\lambda_{\text{ex}}=289$  nm)

Table 1. Changes of Fluorescence Lifetime ( $\tau$ ) and Relative Quantum Yield (Q) of DMABN by Co-grinding with  $\beta$ -CD

	Comp. 1		Comp. 2		Comp. 3		$\chi^2$
	$\tau_1$ (ns)	Q <sub>1</sub> (%)	$\tau_2$ (ns)	Q <sub>2</sub> (%)	$\tau_3$ (ns)	Q <sub>3</sub> (%)	
DMABN	0.606	90.9	—	—	4.93	9.1	1.37
Physical mixture	0.0724	25.0	2.09	41.5	5.45	33.6	1.05
Ground for 0.5 min	0.0528	18.3	2.41	45.1	5.58	36.5	1.11
Ground for 1 min	0.0638	27.0	2.44	24.6	4.84	48.4	1.27
Ground for 2 min	0.0388	6.9	—	—	4.21	93.1	1.03
Ground for 15 min	0.0279	11.0	—	—	4.43	89.0	1.12

(Molar Ratio of  $\beta$ -CD : DMABN=1 : 0.2).  $\lambda_{\text{ex}}=289$  nm,  $\lambda_{\text{obs}}=500$  nm.

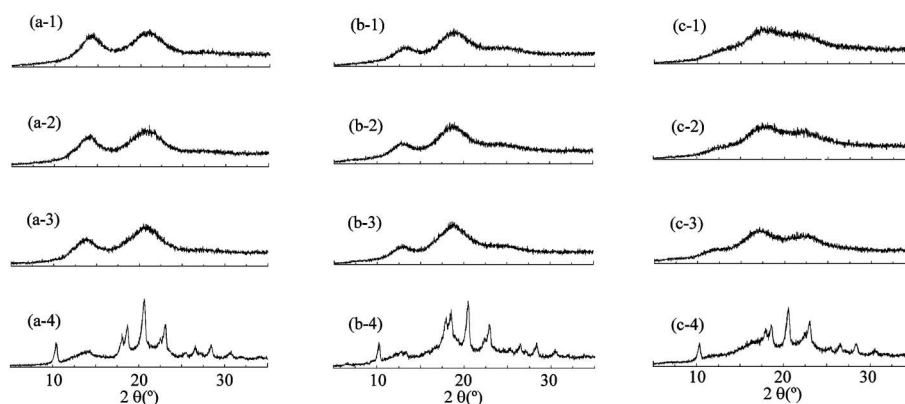


Fig. 5. Powder X-ray Diffraction Patterns of DMABN-Ground Mixtures with CDs at Various Molar Ratios (Ground for 15 min)

(a-1): Ground mixture (Molar ratio of  $\alpha$ -CD : DMABN=1 : 0.2), (a-2): Ground mixture (Molar ratio of  $\alpha$ -CD : DMABN=1 : 0.5), (a-3): Ground mixture (Molar ratio of  $\alpha$ -CD : DMABN=1 : 1.0), (a-4): Ground mixture (Molar ratio of  $\alpha$ -CD : DMABN=1 : 5.0), (b-1): Ground mixture (Molar ratio of  $\beta$ -CD : DMABN=1 : 0.2), (b-2): Ground mixture (Molar ratio of  $\beta$ -CD : DMABN=1 : 0.5), (b-3): Ground Mixture (Molar ratio of  $\beta$ -CD : DMABN=1 : 1.0), (b-4): Ground mixture (Molar ratio of  $\beta$ -CD : DMABN=1 : 5.0), (c-1): Ground mixture (Molar ratio of  $\gamma$ -CD : DMABN=1 : 0.2), (c-2): Ground mixture (Molar ratio of  $\gamma$ -CD : DMABN=1 : 0.5), (c-3): Ground mixture (Molar ratio of  $\gamma$ -CD : DMABN=1 : 1.0), (c-4): Ground mixture (Molar ratio of  $\gamma$ -CD : DMABN=1 : 5.0).

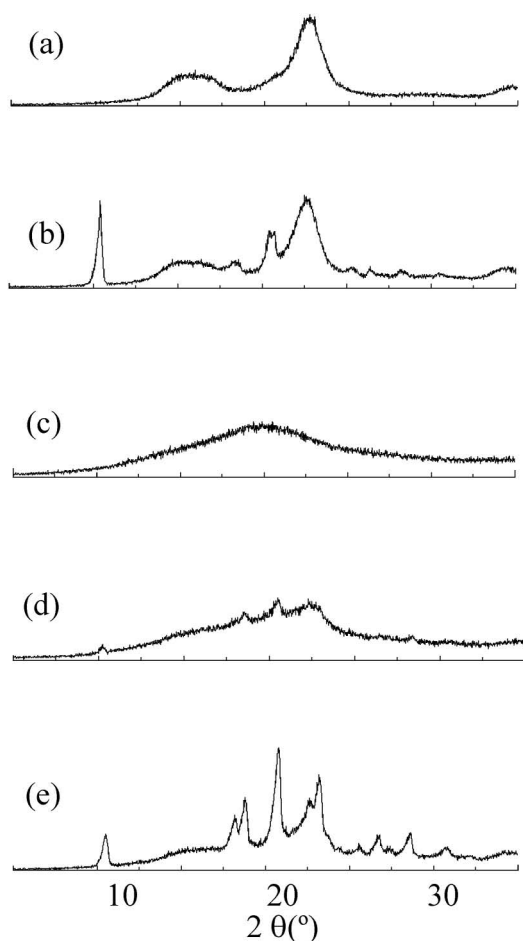


Fig. 6. Powder X-ray Diffraction Patterns of DMABN-Ground Mixtures with MCC at Various Molar Ratios (Ground for 15 min)

(a): MCC unprocessed, (b): Physical mixture, (c): Ground mixture (DMABN content 2.5%), (d): Ground mixture (DMABN content 10%), (e): Ground mixture (DMABN content 40%).

の有無から、DMABN10%及び40%含有混合粉砕物において、DMABNは結晶としても存在しており、DMABN2.5%混合粉砕物では、非晶質であることが認められた。このことから、粉末X線回折測定のみでは、包接化合物形成の確認はできなかった。

固体分子状態を検討するためにDMABNと $\alpha$ -、 $\beta$ -、あるいは $\gamma$ -CDとのモル比を変化させた混合粉砕物の固体蛍光発光スペクトルを測定した (Fig. 7). 各CD系において、モル比が同じ場合には、ほぼ同様のスペクトルを示し、CDの空洞径による発光スペクトルの違いは認められなかった。特に、CDを過剰に含む混合モル比0.2の混合粉砕物では、DMABN分子のねじれ構造に由来するTICT発光の相対強度が大きいことが観察された。また、その発光ピーク極大は450 nmであり、DMABN結晶のTICT発光ピーク (475 nm) より25 nm短波長側にシフトしていた。DMABNと各CDとの混合モル比0.2の混合粉砕物において、蛍光発光スペクトルに450 nm付近の発光ピークが認められたという事実は、ねじれ構造のDMABN分子がCDに包接化されていることを示唆していると考えられた。上述したように凍結乾燥法から得られた包接化合物ではCDの空洞径に応じてDMABNの構造が異なることが観察されており、得られた混合粉砕物と凍結乾燥物ではCD空洞内に包接されたDMABNの分子状態が異なるものと考えられた。粉末X線回折測

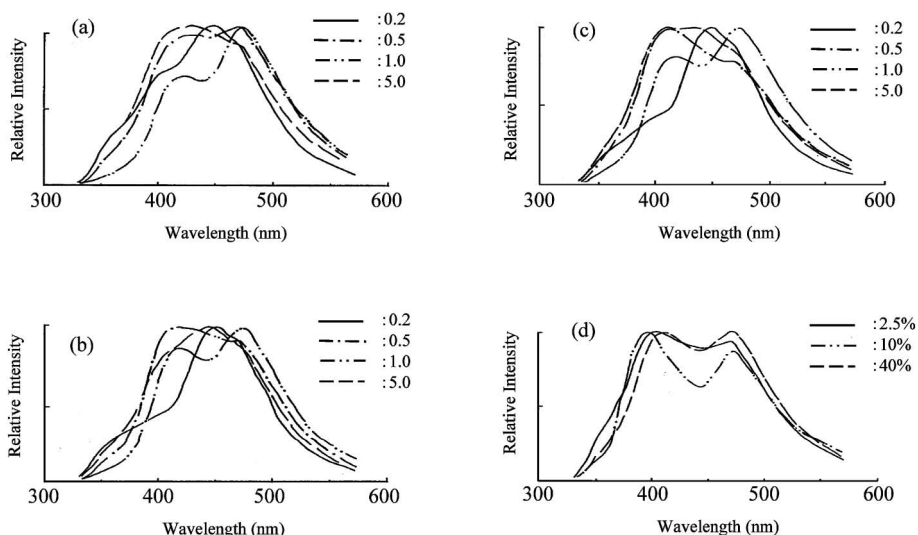


Fig. 7. Emission Spectra of DMABN-Ground Mixtures at Various Molar Ratios

(Molar ratio of CDs : DMABN=0.2, 0.5, 1.0 and 5.0 : 1, MCC contents of 2.5%, 10% and 40% DMABN) ( $\lambda_{\text{ex}}=289 \text{ nm}$ ). (a):  $\alpha$ -CD : DMABN systems, (b):  $\beta$ -CD : DMABN systems, (c):  $\gamma$ -CD : DMABN systems, (d): MCC : DMABN systems.

定の結果より、凍結乾燥法より得られた包接化合物は一定の CD 配列を有する結晶状態を示すのに対し、混合粉碎法より得られた包接化合物は CD 分子がランダムに配向している非晶質状態を示しており、ここで観察された CD の結晶状態の違いが包接された DMABN の分子状態の違いに大きく影響しているものと推察された。Figure 7(d) に空洞を持たない MCC と DMABN との混合粉碎物の発光スペクトルを示した。DMABN 含有 2.5%、10% 及び 40% のいずれの混合粉碎物においても、短波長側の発光ピークは 400 nm、長波長側の TICT 発光ピークは、470 nm に等しい強度で観察されており、CD との混合粉碎物が示すスペクトルとは異なっていた。溶液中において、DMABN の TICT 発光は、溶媒の疎水性が増すほど短波長側にシフトすることが報告されている。CD 混合粉碎物における TICT 発光の短波長側へのピークシフトは、疎水的な環境である CD 空洞内に DMABN が相互作用して起きていることを示唆していると考えられた。

Tables 2-4 には、DMABN と  $\alpha$ -,  $\beta$ -, あるいは  $\gamma$ -CD との混合粉碎物の蛍光寿命と相対量子収率をそれぞれ示した。いずれの CD 系においても、CD の混合割合が多くなるに従い、ねじれ構造に由来する長寿命成分の相対量子収率が増大し、特にモル比 0.2 の混合粉碎物では、長寿命成分の相対量子収率がおよそ 90% になることが観察された。このよう

に、CD 過剰量においては粉碎によりねじれ構造が増加することが示された。つまり、混合粉碎においては、モル比 1.0 の長寿命成分の相対量子収率がおよそ 70% であったことから、混合粉碎物中では、70% 程度の DMABN 分子が包接化されている可能性が示唆された。

**4. 混合粉碎物の調湿結晶化の影響**  $\alpha$ -,  $\beta$ -, 及び  $\gamma$ -CD と DMABN との混合粉碎物を結晶化させたときの固体状態を検討するために高相対湿度条件下 ( $40^\circ\text{C}$ ・相対湿度 89%, 4 日間) で保存し、DMABN の分子状態変化について粉末 X 線回折測定及び蛍光発光スペクトル測定を行った。Figure 8 には、DMABN との  $\alpha$ -,  $\beta$ -, 及び  $\gamma$ -CD 包接化合物の調湿試料後の粉末 X 線回折パターンを示した。混合モル比 0.2 の混合粉碎物の調湿試料では、CD 水和物の回折ピークと包接化合物の回折ピークが観察され、各 CD と包接化合物がそれぞれ結晶化したものと考えられた。観察された包接化合物は凍結乾燥物と同様の回折ピークを示したことから、混合粉碎物を結晶化させた場合には、凍結乾燥物と同じ筒型構造を取ることが示唆された。

Figure 9 にはモル比 0.2 混合粉碎物の調湿試料の固体蛍光発光スペクトルを示した。 $\alpha$ -CD と DMABN との混合粉碎物の調湿物では 450 nm に発光ピークが観察されたことから、DMABN 分子は  $\alpha$ -CD 空洞内にねじれ構造で存在すると考えられ

Table 2. Fluorescence Lifetime ( $\tau$ ) and Relative Quantum Yield ( $Q$ ) of DMABN in Ground Mixture (15 min of Grinding) with  $\alpha$ -CD as a Function of Molar Ratio (DMABN/ $\alpha$ -CD)

Molar ratio (DMABN/ $\alpha$ -CD)	Comp. 1		Comp. 2		Comp. 3		$\chi^2$
	$\tau_1$ (ns)	$Q_1$ (%)	$\tau_2$ (ns)	$Q_2$ (%)	$\tau_3$ (ns)	$Q_3$ (%)	
0.2	0.0352	17.8	—	—	3.96	82.2	1.20
0.5	0.364	23.2	—	—	3.82	76.8	1.43
1.0	0.238	32.3	—	—	3.62	67.7	1.29
5.0	0.456	44.5	—	—	4.84	55.5	1.24

 $\lambda_{\text{ex}}=289$  nm,  $\lambda_{\text{obs}}=500$  nm.Table 3. Fluorescence Lifetime ( $\tau$ ) and Relative Quantum Yield ( $Q$ ) of DMABN in Ground Mixture (15 min of Grinding) with  $\beta$ -CD as a Function of Molar Ratio (DMABN/ $\beta$ -CD)

Molar ratio (DMABN/ $\beta$ -CD)	Comp. 1		Comp. 2		Comp. 3		$\chi^2$
	$\tau_1$ (ns)	$Q_1$ (%)	$\tau_2$ (ns)	$Q_2$ (%)	$\tau_3$ (ns)	$Q_3$ (%)	
0.2	0.0279	11.0	—	—	4.43	89.0	1.14
0.5	0.771	26.8	—	—	4.21	73.2	1.28
1.0	0.176	25.4	—	—	3.84	74.6	1.53
5.0	0.26	62.7	—	—	4.11	37.3	1.29

 $\lambda_{\text{ex}}=289$  nm,  $\lambda_{\text{obs}}=500$  nm.Table 4. Fluorescence Lifetime ( $\tau$ ) and Relative Quantum Yield ( $Q$ ) of DMABN in Ground Mixture (15 min of Grinding) with  $\gamma$ -CD as a Function of Molar Ratio (DMABN/ $\gamma$ -CD)

Molar ratio (DMABN/ $\gamma$ -CD)	Comp. 1		Comp. 2		Comp. 3		$\chi^2$
	$\tau_1$ (ns)	$Q_1$ (%)	$\tau_2$ (ns)	$Q_2$ (%)	$\tau_3$ (ns)	$Q_3$ (%)	
0.2	0.213	14.2	—	—	4.74	85.8	1.01
0.5	1.10	21.7	—	—	5.13	78.3	1.22
1.0	1.61	32.2	—	—	5.45	67.8	1.23
5.0	1.09	62.5	—	—	5.94	37.5	1.27

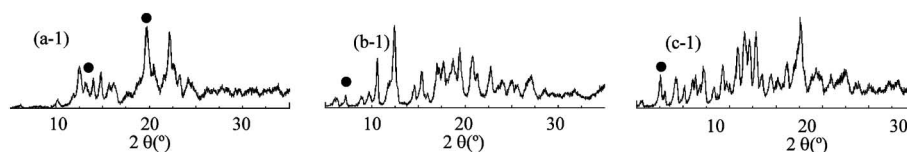
 $\lambda_{\text{ex}}=289$  nm,  $\lambda_{\text{obs}}=500$  nm.

Fig. 8. Powder X-ray Diffraction Patterns of DMABN-Ground Mixtures after Storage at 40°C and RH 89% for 4days

(Molar Ratio of CDs : DMABN=0.2 : 1). (a-1) : Ground Mixture (Molar Ratio of  $\alpha$ -CD : DMABN=1 : 0.2, (b-1) : Ground Mixture (Molar Ratio of  $\beta$ -CD : DMABN=1 : 0.2), (c-1) : Ground Mixture (Molar Ratio of  $\gamma$ -CD : DMABN=1 : 0.2).

た。一方、 $\beta$ -CD と DMABN との混合粉碎物の調湿物では 400 nm 付近に平面構造由来の発光ピークが観察された。また、空洞径の大きい  $\gamma$ -CD と DMABN との混合粉碎物の調湿物では 400 nm 付近に発光ピークが観察されたことから、大部分の DMABN は  $\gamma$ -CD 空洞内で平面構造を取るものと考えられた。溶液状態においては、DMABN と  $\alpha$ -

$\beta$ - 及び  $\gamma$ -CD との包接化合物は、 $\alpha$ -CD 空洞内でねじれ構造、 $\beta$ -CD 空洞内で平面構造、 $\gamma$ -CD 空洞内で平面構造を形成していることが既に報告されている。<sup>24)</sup> このことから、混合粉碎物は調湿保存することにより包接化合物として結晶化し、包接された DMABN は溶液状態及び凍結乾燥から得られたものと同様に CD 空洞径に依存した構造を取ることが



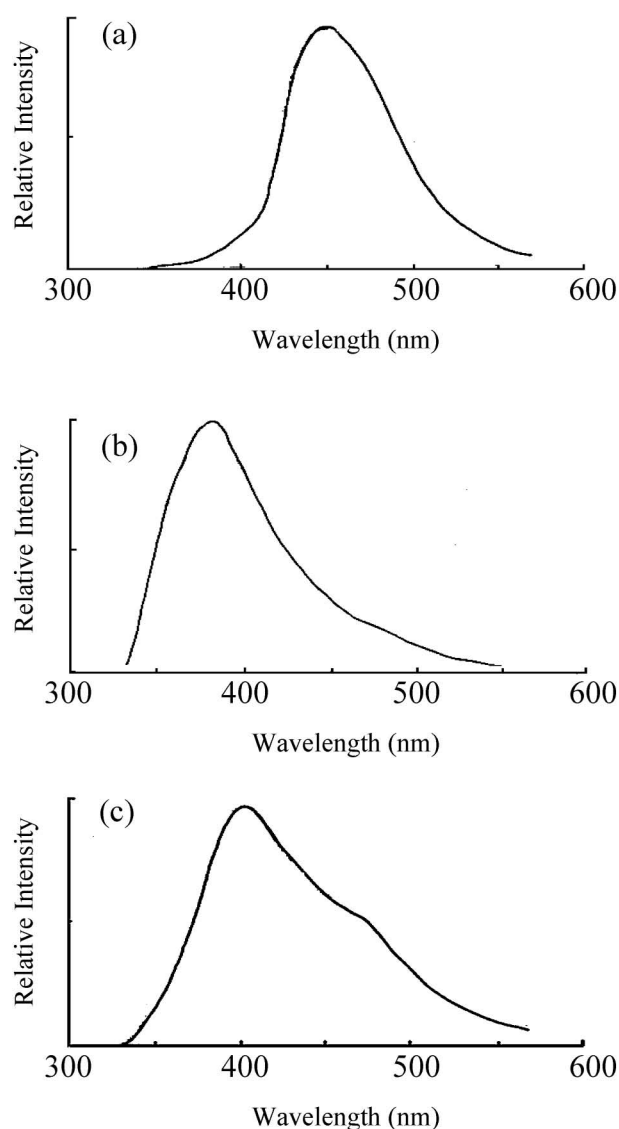


Fig. 9. Emission Spectra of DMABN-Ground Mixtures after Storage at 40°C and RH 89% for 4days (Molar Ratio of CDs : DMABN=0.2) ( $\lambda_{ex}$ =289 nm). (a): Ground Mixture ( $\alpha$ -CD : DMABN), (b): Ground Mixture ( $\beta$ -CD : DMABN), (c): Ground Mixture ( $\gamma$ -CD : DMABN).

明らかとなった。CD の空洞径の違いにより、包接化合物中の DMABN の構造が異なることが蛍光発光スペクトルを用いることで観察されたことは、蛍光スペクトル測定が固体分子状態を検討する手段として有用な方法の1つとして考えられる。

## 結 論

DMABN は CD との凍結乾燥により包接化合物を形成した。包接化合物結晶中 DMABN は、 $\alpha$ -CD 空洞内でねじれ構造、 $\beta$ -CD 空洞内で平面構造、 $\gamma$ -CD 空洞内で大部分が平面構造を取ることが蛍光ス

ペクトルにより明らかとなった。一方、混合粉碎物においては、DMABN は CD 空洞径に依存せず、すべての CD 系においてねじれ構造で CD と相互作用している可能性が示唆された。また、混合粉碎物を調湿し結晶化させることで、DMABN は CD 空洞径に依存した包接化合物を形成することが固体蛍光発光スペクトルにより確認された。

謝辞 シクロデキストリンを提供して頂いた、メルシャン㈱に深謝いたします。

## REFERENCES

- 1) Okimoto K., Tokunaga Y., Ibuki R., Irie T., Uekama K., Rajewski R. A., Stella V. J., *Int. J. Pharm.*, **286**, 81–88 (2004).
- 2) Rao V. M., Stella V. J., *J. Pharm. Sci.*, **92**, 927–932 (2003).
- 3) Kurozumi M., Nambu N., Nagai T., *Chem. Pharm. Bull.*, **23**, 3062–3068 (1975).
- 4) Holvoet C., Vander H. Y., Plaizier-Vercammen J., *Pharmazie*, **62**, 510–514 (2007).
- 5) El-Barghouthi M. I., Masoud N. A., Al-Kafawein J. K., Abdoh A. A., *Russian J. Phys. Chem.*, **80**, 1050–1055 (2006).
- 6) Nakai Y., Yamamoto K., Oguchi T., Yonemochi E., Hanawa T., *Chem. Pharm. Bull.*, **39**, 1532–1535 (1991).
- 7) Nakai Y., Nakajima S., Yamamoto K., Tera-da K., Konno T., *Chem. Pharm. Bull.*, **28**, 652–656 (1980).
- 8) Ahmed M. O., Nakai Y., Aboutaleb A. E-S., Yamamoto K., Rahman A. A. Z. A., Saleh S. I., *Chem. Pharm. Bull.*, **38**, 3423–3427 (1990).
- 9) Tozuka Y., Fujito T., Moribe K., Yamamoto K., *J. Incl. Phenom. Macro.*, **56**, 33–37 (2006).
- 10) Yamamoto K., Oguchi T., Yonemochi E., Matsumura Y., Nakai Y., *Pharm. Res.*, **11**, 331–336 (1994).
- 11) Yamamoto K., Saito K., Kawashima H., Yonemochi E., Oguchi T., Nakai Y., *Nippon kagaku kaishi*, **10**, 1141–1147 (1993).
- 12) Hara K., Rettig W., *J. Phys. Chem.*, **96**, 8307–8309 (1992).
- 13) Salgado F. P., Herbach J., Kunst A. G. M., Rettschnick R. P. H., *J. Phys. Chem.*, **103**,

- 3184–3192 (1999).
- 14) Grabowski Z. R., Rotkiewicz K., Rettig W., *Chem. Rev.*, **103**, 3899–4032 (2003).
- 15) Leinhos U., Kuhnle W., Zachariasse K. A., *J. Phys. Chem.*, **95**, 2013–2021 (1991).
- 16) Al-Hassan K. A., Saleh N., Abu-Abdoun I. I., Yousef Y. A., *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, **61**, 361–365 (2008).
- 17) Nag A., Bhattacharyya K., *Chem. Phys. Lett.*, **151**, 474–476 (1990).
- 18) Nag A., Bhattacharyya K., *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, **86**, 53–54 (1990).
- 19) Nag A., Dutta R., Chattopadhyay N., Bhattacharyya K., *Chem. Phys. Lett.*, **157**, 83–87 (1989).
- 20) Hunt M. A., Rusa C. C., Tonellia A. E., Balik C. M., *Carbohydr. Res.*, **339**, 2805–2810 (2004).
- 21) Ohmura M., Kawahara Y., Okude K., Hasegawa Y., Hayashida M., Kurimoto R., Kawaguchi A., *Polymer*, **45**, 6867–6975 (2004).
- 22) Panova I. G., Matukhina E. V., Gerasimov V. I., Topchieva I. N., *Colloid J.*, **68**, 66–78 (2006).
- 23) Mastushita Y., Suzuki T., Ichimura T., Hiki-da T., *Chem. Phys.*, **286**, 399–407 (2003).
- 24) Monti S., Bortolus P., Manoli F., Grabner G., Koheler G., Mayer B., Boszczyk W., Rotkiewicz K., *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2**, 203–211 (2003).