

AL04 医薬品分析のための高選択的検出法および高機能分離法の開発と応用

Development of Highly Selective Detection and High-Performance Separation Methods for Pharmaceuticals and Their Applications

萩中 淳 (Jun HAGINAKA)

武庫川女子大学薬学部 (School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Mukogawa Women's University)

医薬品分析において、生体試料中の薬物および代謝物の高選択的検出法および高機能分離法を開発することは非常に重要である。ペニシリン系抗生物質 (PCAs) および β -ラクタマーゼ阻害剤 (BLIs) は、誘導体化試薬との反応では、 β -ラクタム環の開裂などの分解反応が起こるため高感度検出できない。PCAs が 1,2,4-triazole (あるいは MeOH - NaOH) および HgCl_2 と反応し、penicillenic acid mercury (II) mercaptide あるいは methyl penamaldate を生成する、BLIs が 1,2,4-triazole (あるいは MeOH - NaOH) と反応し、enamine amide あるいは enamine ester を生成することを見出した。次に、これらの反応を液体クロマトグラフィー (LC) のプレカラムあるいはポストカラム反応として用いる PCAs および BLIs の高選択的検出法を開発するとともに生体試料中のこれらの薬物の高感度・高選択的分析に応用した。

高機能分離法の開発と応用に関する研究では、まず、血清などの生体試料中の分析対象物質を前処理操作なしで、直接注入分析を行うための浸透制限型充填剤 (RAM) を開発した。疎水性相 (あるいはキラル相) と親水性相が細孔内表面および外表面にバランスよく存在する RAM を、混成機能相 (MFP) 充填剤と命名した。また、合成法に改良を加え、バッチ間の再現性に優れた MFP 充填剤の合成を可能にした。疎水性相としてオクチル基、フェニル基およびブチル基、親水性相としてグリセリルプロピル基を導入した。さらに、キラル相として β -cyclodextrin を導入することにより、血清中の光学異性体薬物の直接注入分析も可能となった。MFP 充填剤は市販され、生体試料中の薬物およびその代謝物の LC 分析に用いられている。

次に、光学異性体医薬品の分離のためのタンパク質固定化充填剤として、ニワトリオボムコイド充填剤に注目して研究を展開した。七面鳥オボムコイド (OMTKY) のドメインを単離し、第3ドメイン (OMTKY3) とフェニル酢酸誘導体の1つである U-80,413 との相互作用を $^1\text{H-NMR}$ および計算化学的手法を用いて詳細に検討し、OMTKY3 上での光学認識機構を明らかにした。本研究は、タンパク質表面上での光学認識機構をマイクロレベルで明らかにした最初の例である。また、ニワトリ卵白中から優れた光学認識能を有する糖タンパク質を新たに単離し、ニワトリ α_1 -酸性糖タンパク質 (cAGP) と命名した。cAGP のアミノ酸配列、糖鎖結合位置、S-S 結合位置を明らかにするとともに、その光学認識部位がタンパク質部分に存在し、Trp26 が光学認識に重要な役割を果たしていることを明らかにした。cAGP および pepsin 固定化充填剤は市販され、光学異性体医薬品の分離に用いられている。

さらに、多段階重合法を用いて粒子径の均一な、水系で優れた分子認識能を有する分子インプリントポリマー (MIP) 充填剤を開発し、薬物、生体関連物質および環境汚染物質などの特異的分子認識に適用した。また、生体試料の直接注入分析を目的として、RAM と MIP の機能を併せ持つ RAM-MIP を開発した。超微量の薬物の分析においては、MIP からの鑄型分子の漏出が定量の妨害となるが、擬似鑄型分子を用いることにより、薬物およびその代謝物の高感度・高選択的分析が可能となる。そこで、擬似鑄型分子として分析対象物質の同位体置換化合物を用いる同位体インプリント法を考案し、優れた分子認識能を有する MIP および RAM-MIP を開発した。さらに、creatinine、chlorogenic acid、arbutin、rutin などの水溶性化合物に対する粒子径の均一な MIP の調製は、予めこれらの化合物を親水性の溶媒に溶解後、沈殿重合を行う (修正沈殿重合法と命名) ことにより可能となった。

本研究にご協力いただいた研究室の教員、学生、多くの共同研究者の方々に深謝いたします。