



Title	高電圧キャピラリー分析法とその医薬品分析への応用に関する研究
Author(s)	藤原, 茂
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/36623">https://hdl.handle.net/11094/36623</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

## 【8】

氏名・(本籍)	藤 原	茂
学位の種類	薬 学 博	士
学位記番号	第 8395	号
学位授与の日付	昭和 63 年 12 月 12 日	
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当	
学位論文題目	高電圧キャピラリー分析法とその医薬品分析への応用に関する研究	
論文審査委員	(主査) 教授 枝井雅一郎 (副査) 教授 岩田 宙造 教授 北川 眞 教授 富田 研一	

## 論文内容の要旨

キャピラリーゾーン電気泳動 (capillary zone electrophoresis, CZE) は従来行われていたゾーン電気泳動とは異なり、支持体を用いる代わりに中空キャピラリーを用いて電気泳動を行う方法であり、1979年に Everaerts らによって初めて試みられた。この方法は Jorgenson と Lukacs によってその高分離能が示され、その後、蛋白質やヌクレオチド等の分離に適用され、その高いカラム効率が立証された。

一方、寺部らは電極液 (キャリアー液) にイオン性界面活性剤を加えることによってミセルを形成させて電気泳動を行い、中性化合物のミセルへの分配の差を利用してその分離を行った。この方法は Sepaniak らによりミセル電気動力学的クロマトグラフィー (micellar electrokinetic capillary chromatography, MECC) と呼ばれ、中性化合物にも適用できるため、イオン性物質にしか適用できない CZE の欠点を補うものとして期待される。MECC も CZE と同様、高いカラム効率を有していることから、種々の化合物の分離に適用された。

このように、CZE および MECC による分離を利用した定性分析に関する報告は少なくないが、定量分析に関しては、わずかに津田らが生体試料中のヌクレオチドを対象とした予備的実験を行った程度である。そこで著者は、これらの高電圧キャピラリー分析法 (CZE と MECC) について定量性に重点をおいて基礎的考察を行い、その結果に基づいてこれらの方法を初めて体液中の薬物代謝産物濃度の測定と医薬品製剤中の薬物成分の定量に応用した。

まず、第 I 章では CZE および MECC について分離の面と定量の面からの考察を行った。分離の面については、電気浸透、電気泳動、ミセル分配およびカラム効率などの諸点から検討を行い、既存の理論との異同について考察した。結果は概略において従来の知見と一致したが、若干の解釈が必要な問題

もあった。また、CZEにおいて、ケイ皮酸とその類縁化合物4種をモデル化合物とし、これらの化合物の分離に及ぼすキャリヤー液のpHと塩濃度の影響を調べたところ、pHを調整してカルボキシル基やフェノール性水酸基の解離を制御することによって保持時間は変動し、また塩濃度を調節することによって分離の改善が期待できることがわかった。また、CZEにおいてキャリヤー液に有機溶媒（アセトニトリル、メタノール）を添加すると、置換安息香酸類の位置異性体の分離が改善される現象を見出した。水溶液中で水和している試料のカルボキシレートイオンの実効サイズはほぼ同じと考えられるが、ここに有機溶媒を加えると、異性体間での水に対する親和性の違いによって実効サイズが変化し、その結果、電気的移動度の比が増大するものと考えられる。このような効果は他のイオンについても共通に期待できるので、一般的な分離改善策として重要なものになると考えられる。

定量の面については、キャピラリーへの導入量とピーク高さおよびピーク面積との関係で得られた結果をもとに種々の考察を行った。その結果、必要な試料濃度条件が満たされれば、絶対定量法よりも内部標準法が、また、ピーク高さ（比）法よりもピーク面積（比）法の方が検量線の直線範囲が広く、再現性良く定量できることがわかった。

第Ⅱ章では、定量分析における必要性から試作した自動試料導入器について考察した。キャピラリーへ試料を導入する方法としては、落差による方法、電気浸透を利用する方法およびバルブインジェクターを用いる方法が報告されている。この中で、落差法は簡便で最も一般的に用いられている方法であるが、手動で行う場合、導入量が一定しないという欠点がある。そこで、キャピラリーへの導入量の低再現性を改善するため、落差を利用した自動試料導入器を試作し、定量的な観点からその評価を行った。ベンジルアルコールを繰り返し導入した時の、ピーク高さとピーク面積の相対標準偏差は、手動で試料を導入した時の値よりも低い値であり、本器により試料を再現性良くキャピラリーに導入できることを明らかにした。

第Ⅲ章では、自律神経失調治療薬 $\gamma$ -oryzanolから生成するferulic acid (FA)をモデルとして、CZEによる血中の薬物代謝産物の分析に対する可能性を検討した。イヌのブランク血漿およびFAとケイ皮酸(CA、内部標準物質)を添加した血漿のエーテル抽出物をキャピラリーに導入し、CZEで分析したところFAおよびCAとも血漿成分から分離し、また、ピーク高さ比による検量線も直線性を示した。本法により、ビーグル犬に $\gamma$ -oryzanolを経口投与した後の血漿中FA濃度を経時的に測定した結果は、HPLC法により得られた結果とよく一致し、本法の有用性が立証された。

第Ⅳ章では、解熱鎮痛剤および水溶性ビタミン製剤を選び、MECCによる医薬品製剤の成分分析について検討した。解熱鎮痛剤の成分としてはアセチルサリチル酸を含む5種を、また、水溶性ビタミンとしては塩酸チアミンなど7種のものを対象とした。ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)を添加したリン酸緩衝液をキャリヤー液に用いるMECCによりこれらの化合物が良好に分離される条件を見出した。内部標準物質はいずれの場合にもp-アミノ安息香酸エチル(EAB)が適当であった。EABと各化合物を含む溶液を繰り返しキャピラリーに導入したときの、EABに対するピーク面積比の相対標準偏差はいずれの場合にも2.0%以下の良好な再現性を示した。検量線も良好な直線性を示した。本法を市販解熱鎮痛錠中の成分および注射剤中の水溶性ビタミン類の定量に応用したところ、本法が幅広い

イオン性と極性を有する多種類の化合物を極めて高いカラム効率で分離できる、正確で再現性の高い定量法であることが証明された。

### 論文の審査結果の要旨

キャピラリーゾーン電気泳動（CZE）や、ミセル電気動力学的クロマトグラフィー（MECC）は、中空キャピラリー内に生ずる電気的二重層による作用と電気泳動による作用との働きによって、試料成分の分離が極めて高い分離能で達成される方法であるが、これ迄定性的な応用に限られ、定量分析法として用いる為に必要な数々の問題は殆ど未解決のまゝであった。藤原氏はこの分離分析法に働く基礎的な問題の解析を行い、定量分析法として満足出来る手段の開発に成功し、実際に薬物代謝産物の分析、医薬品製剤の分析を行うことにより本法が優れた分離能と定量精度を有することを示すことが出来たもので、学位論文に値するものと判定した。