



Title	経口セファロスポリン系抗生物質セフジニルの加水分解中の異性化とクロマトグラフ法設定に関する研究
Author(s)	岡本, 芳彦
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41015
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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	岡 本 芳 彦
博士の専攻分野の名称	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	第 1 3 5 7 3 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 10 年 3 月 3 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	経口セファロsporin系抗生物質セフジニルの加水分解中の異性化とクロマトグラフ法設定に関する研究
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 大森 秀信 (副査) 教 授 今西 武 教 授 岩田 宙造 教 授 北 泰行

論 文 内 容 の 要 旨

医薬品の安定性は、品質に関わる重要な要素として、研究開発段階から市販後まで様々な角度から研究され、特に医薬品の安全性との関連において、分解物の研究が重要視されている。セフジニル（以下、CFN と略す）は、分子内にカルボキシル基等の解離基、反応性の高いビニル基、複数の不斉中心を持つことから、複雑な分解の過程をたどることが推察され、水溶液中では、解離状態の変化のため、分解経路はより複雑化すると考えられたため、異性化に注目して、CFN の水溶液中における分解物、分解経路及び分解機構を検討した。

CFN を緩衝塩濃度の異なる各種 pH 緩衝液 (pH 1~10) に溶解し、CFN の分解の反応速度定数を求めた。緩衝塩濃度を零に外挿して得た反応速度定数と pH の関係は U 字型を示し、それぞれの液性で分解機構が異なると考えられたことから、pH 1、pH 6 及び pH 9 を代表 pH として以下の研究を行った。それぞれの pH で、CFN より合計 7 種の分解物の生成を認め、これらの分解物は β -ラクタム環開裂のほか、それぞれの pH に特有の異性化（塩基性条件における C-7 エピマー化、中性～塩基性条件におけるオキシム基の異性化、中性～酸性条件におけるラクトン化及び C-6 エピマー化）を伴っていることが明らかとなった。

CFN の分解反応並びに生成した分解物の後続反応について、速度論的に考察し、CFN の分解経路を解明した。pH 9 では CFN は分解物 1、2、3 を併発的に生成し、分解物 1 は更に分解物 4 に分解した。pH 6 では、CFN は分解物 1 と 2 を併発的に生成するが、分解物 1 は容易に分解物 4 と 6 に分解し、分解物 2 は徐々に未知物質に分解した。また、pH 1 では、CFN は分解物 1 と 5 を併発的に生成し、これらはいずれも分解物 6、分解物 7、分解物 4 に順次分解することが分かった。pH 6 及び pH 6 では、分解物 1 は生成の 1,000 倍以上の反応速度定数で分解するため、クロマトグラム上ではピークを認めなかったが、分解物 1 が中間体として存在するとの仮定に基づく反応速度式により、その生成を速度論的に明らかにした。

CFN は水溶液中で、pKa 値 [1.9 (COOH), 3.3 (ArNH₂), 9.9 (C=NOH)] に基づく 4 種の分子種 (LH₃, LH₂, LH, L) として存在する。CFN 分解の反応速度定数は、これらの分子種の反応速度定数の和として与えられることから、分子種毎に関与する速度項について種々検討したところ、 $\{k_a[LH_3] + k_b[LH_2] + k_c[LH] + k_e([LH] + [L])$

[OH⁻]}で表される速度式において、計算値と実測値は一致し、更に、pKa から求めたそれぞれの分子種の分布から、pH 1 では LH₃、pH 6 では LH、pH 9 では LH 及び L が主として分解に関与すると考えられた。

pH 毎の分子種の関与を考え、CFN から生成する分解物の生成機構を次のように考察した。①分解物 1 (β-ラクタム環開裂体) は、pH 9 では分子種 L 及び LH の β-ラクタム環が水酸イオンの求核攻撃を受け、pH 6 では分子種 LH の β-ラクタム環が水分子の求核攻撃を受け、pH 1 では分子内一般酸触媒により δ+ に荷電した分子種 LH₃ の β-ラクタム環カルボニルに水分子が求核的に付加し、生成する。②分解物 2 (アンチ体) は、塩基性～中性条件下ではオキシム C=N の二重結合性が減少し、一重結合の中間体を経る機構により、pH 9 では分子種 L が、pH 6 では分子種 LH が主として関与する。③分解物 3 (7 位エピマー体) は、分子種 LH 及び L が水酸イオンにより 7 位のプロトンが脱離したカルバニオンを形成し、7 位エピマー化する機構による。④分解物 5 (ラクトン体) は、酸性条件下で+に荷電した分子種 LH₃ が 3 位ビニル基にプロトンが付加した互変異性体となり、このものにカルボキシル基が分子内付加して分解物 5 を生成する。

中性～酸性条件下の分解物 6 は、CFN が β-ラクタム環が開裂し、更にラクトン化したもので、4 種のジアステレオマー混合物として得られ、複雑な異性化を伴っていたことから、その生成機構を検討した。先ず、CFN と分解物 3 を pH 8～12 で分解し、逆相法及び光学分割カラム (BSA) を用いた光学分割法により測定し、逆相法では 2 本、光学分割法では 4 本のピークとして観察された。それぞれのピークのスペクトル解析及びクロマトグラフ法の挙動から、β-ラクタム環開裂時に 6 位及び 7 位エピマー化を伴うが、pH が低い程異性化率は減少し、pH 9 ではそれぞれの異性化はいずれも 1 割以下であったことから、pH 8 以下では 6 位及び 7 位の立体を保持した β-ラクタム環開裂体が生成すると考えられた。次に、CFN と分解物 3 の分解物 (6 及び 6') を UV 検出器と光学検出器を直列に連結した液体クロマトグラフ法で分析した。対応する成分の保持時間は等しいが、逆の光学活性を示したことから、6 と 6' はエナンチオマーの関係にあり、分解物 6 はラクトンメチルと 6 位エピマー化によるジアステレオマー混合物であることが分かった。分解物 6 の 4 成分は、それぞれに相互変換することから、C-6 異性化が可逆的であることが示唆され、単離した成分の重水 (pD=8) 中の経時変化から、6 位に重水素付加はなく、6 位エピマー化は脱プロトンを伴わない機構によることが明らかになった。各種 pH 緩衝液中における 6 位異性化の反応速度定数が、pH 4 で最も小さな値を示し、酸性と弱酸性～弱塩基性では異なる機構によるものと推定され、これらの結果に基づき、分解物 6 の生成経路並びに 6 位エピマー化の機構を考察した。なお、分解物 6 の生成過程で明らかとなった 6 位エピマー化は、セファロスポリン系化合物においては新しい知見である。

CFN の分解物に関する研究に加えて、現在、主要開発国 (日本、米国、欧州) の法的規制の調和と緩和を目的とした ICH で討議中の「分析法バリデーション」の考え方を適用し、CFN の試験方法 (定量法及び類縁物質試験法) 設定の検討を行った。

論文審査の結果の要旨

医薬品の安全性に関する研究、特に分解物に関する研究は、①分解物の毒性・薬理作用の解明、②薬物の体内動態の研究、③安全な薬剤の開発等の基礎として重要である。

本研究は、現在我が国で最も汎用されている経口セファロスポリン系抗生物質の一つであるセフジニルに注目し、その in vitro での分解物 (7 種類) を各種 pH 領域において明らかにするとともに、それらの生成経路を速度論的手法を中心として用い解明したものである。特に、分解反応中に観られたセファロスポリン環の 6 位のエピマー化は、セファロスポリン系化合物においては全く新しい知見であるが、その機構が 6 位の脱プロトン化を伴わないユニークなものであることをも明らかにしている。さらに、得られた結果に基づいて、セフジニルの液体クロマトグラフ法による定量法および類縁物質試験法を検討し、ICH で協議されている分析法のバリデーションを実施している。

以上の成果は、博士 (薬学) の学位論文として価値あるものと認める。