



Title	モノリスタイプ充填剤を用いたキャピラリー電気クロマトグラフィーによる光学異性体分離分析法の開発に関する研究
Author(s)	小井手, 崇
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/43109">https://hdl.handle.net/11094/43109</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

氏名	小井 手 崇
博士の専攻分野の名称	博士(薬学)
学位記番号	第 16660 号
学位授与年月日	平成14年2月21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	モノリスタイプ充填剤を用いたキャピラリー電気クロマトグラフィーによる光学異性体分離分析法の開発に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 大森 秀信
	(副査) 教授 北 泰行 教授 小林 資正 教授 高木 達也

### 論文内容の要旨

光学異性体分離は、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)、ガスクロマトグラフィー及びキャピラリー電気泳動(CE)などの分離分析法を利用した主要な研究対象のひとつである。近年の光学異性体分離分析技術の進歩に伴い、生体試料中に含まれる微量の光学活性薬物の分離分析が可能となり、多くの薬物において薬理作用、毒性及び薬物代謝などに立体特異性が存在することが知られるようになった。市販の医薬品はラセミ体のままで販売されているものも多いが、今後は光学活性体としての医薬品開発が望まれており、光学活性医薬品の品質並びに薬物動態などを調べるための迅速、簡便かつ高分離能を有する光学異性体分離法の開発及び応用に関する検討は今後も継続的に行う必要があると考えられる。

近年、CEが広く普及してきたことに伴い、CEとHPLCの学際領域に位置する分離分析法であるキャピラリー電気クロマトグラフィー(CEC)に対する興味が高まり、新たな高分離能分析法として注目されている。CECは、高分離能を有する、移動相及び試料の必要量が微量、イオン性化合物だけでなく中性化合物も分析可能、というCEとHPLCの両方の特長を併せ持ち、また、基本的にCEと同一の装置で実行可能であることから、今後CEと相補的な分離分析法として幅広い分野において活用されることが期待される。

本研究では、電荷を持つポリアクリルアミドゲルにキラルセレクターを化学的又は物理的に固定化したモノリスタイプ充填剤を用いたCECによる光学異性体分離について検討を行った。その結果、種々の酸性、塩基性及び中性ラセミ化合物の光学異性体分離が可能な分離分析法を開発することができた。

第一章“AC- $\beta$ -CDを結合した電荷を持つポリアクリルアミドゲル充填キャピラリー”では、既法により合成した $\beta$ -シクロデキストリン( $\beta$ -CD)のアリルカルバモイル化体を添加したアクリルアミドモノマー溶液をキャピラリー内でラジカル重合することにより $\beta$ -CDを化学的に固定化した電気浸透流(EOF)発生ポリアクリルアミドゲル充填キャピラリーの作製、並びにそれらのキャピラリーを用いた種々の化合物の光学異性体分離について述べた。スルホン酸基を持つアクリルアミドモノマーを用いて作製したゲル充填キャピラリーを用いた場合は、陽極側から陰極側へ向かうEOFが発生し、10種の塩基性及び3種の中性化合物の光学異性体分離が可能であった。また、18-Crown-6を添加した移動相を用いることにより、5種の1級アミノ化合物について光学異性体分離が促進される現象を認めた。一方、4級アンモニウム基を持つアクリルアミドモノマーを用いた場合は、陰極側から陽極側へ向かうEOFが発生し、16種の酸性及び2種の中性化合物の光学異性体分離が可能であった。保持時間及び分離係数の併

行精度、並びにキャピラリー間の再現性についても検討を行い、得られた結果は良好であった。

第二章 “ $\beta$ -CD ポリマーを添加した電荷をもつポリアクリルアミドゲル充填キャピラリー” では、 $\beta$ -CD ポリマーを添加したアクリルアミドモノマー溶液をキャピラリー内でラジカル重合することにより  $\beta$ -CD ポリマーを物理的に固定化した EOF 発生ポリアクリルアミドゲル充填キャピラリーの作製、並びにそれらのキャピラリーを用いた種々の化合物の光学異性体分離について述べた。モノマーの  $\beta$ -CD を添加した場合は、カラム安定化の際に  $\beta$ -CD が溶出されてしまったことから、高分子量の  $\beta$ -CD ポリマーはゲルに絡み付くことにより物理的に固定化されたと考えられる。スルホン酸基を持つアクリルアミドモノマーを用いて作製したゲル充填キャピラリーを用いた場合は、陽極側から陰極側へ向かう EOF が発生し、3 種の塩基性及び 2 種の中性化合物の光学異性体分離が可能であった。一方、4 級アンモニウム基を持つアクリルアミドモノマーを用いた場合は、陰極側から陽極側へ向かう EOF が発生し、12 種の酸性化合物の光学異性体分離が可能であった。本法は、キラルセレクターを誘導体化せずともそのままゲルに固定化できる簡便な方法であり、他の高分子キラルセレクターを用いるなどの展開が可能であると考えられる。

第三章 “光学活性クラウンエーテルを結合した負電荷を持つポリアクリルアミドゲル充填キャピラリー” では、光学活性クラウンエーテルのアリル化体 2 種をそれぞれ、及びスルホン酸基を持つアクリルアミドを添加したモノマー溶液をキャピラリー内でラジカル重合することによる光学活性クラウンエーテル固定化 EOF 発生ポリアクリルアミドゲル充填キャピラリーの作製、並びにそれらのキャピラリーを用いた 1 級アミノ化合物の光学異性体分離について述べた。種々の 1 級アミノ化合物の光学異性体分離が可能であること、光学純度試験への応用が可能であること、さらに保持時間及び分離係数の併行精度、並びにキャピラリー間の再現性も良好であることを示した。

第一章で、AC- $\beta$ -CD 結合ゲル充填キャピラリーを用いた CEC において 18-Crown-6 を添加した移動相を用いることにより 1 級アミノ化合物の光学異性体分離が促進される現象を報告した。この CD と 18-Crown-6 を用いた 1 級アミノ化合物の光学異性体認識において、1 級アミノ化合物が 18-Crown-6 と CD にサンドイッチされた 18-Crown-6-1 級アミノ化合物-CD 3 成分錯体の形成が重要であることは既に推測されているが、光学異性体認識メカニズムに関する詳細な報告は未だ行われていない。そこで、第四章 “CD 及び 18-Crown-6 を用いた 1 級アミノ化合物の光学異性体認識における鍵段階に関する考察” では、モデルの提唱並びに理論式を誘導し、その理論式に基づいて CE 及び  $^1\text{H-NMR}$  を用いた実験により錯体生成定数を算出することにより、18-Crown-6-1 級アミノ化合物-CD 3 成分錯体の形成においてどの段階が光学異性体認識に最も寄与しているか、つまり光学異性体認識における鍵段階の推定が可能ではないかと考え、検討を行った。その結果、CE によるジメチル- $\beta$ -CD 及び 18-Crown-6 を用いた 1 級アミノ化合物の光学異性体認識においては、分析対象とした 3 種の 1 級アミノ化合物すべてにおいて、18-Crown-6-1 級アミノ化合物錯体がジメチル- $\beta$ -CD と錯体形成する段階が鍵段階であることが示唆された。 $^1\text{H-NMR}$  による  $\beta$ -CD 及び 18-Crown-6 を用いた 1-(1-Naphthyl) ethylamine の光学異性体認識においては、18-Crown-6-1-(1-Naphthyl) ethylamine 錯体が  $\beta$ -CD と錯体形成する段階が鍵段階であることが示唆された。両手法により同一の鍵段階を支持する結果が得られたことから、CE 法及び  $^1\text{H-NMR}$  法は共に光学異性体認識における鍵段階を推定するための有用な手法であることも示された。

以上

### 論文審査の結果の要旨

キャピラリー電気クロマトグラフィー (CEC) は、有力な分離分析法として汎用されているキャピラリー電気泳動 (CE) および高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を補完するものとして、近年その利用が注目されている。本研究は、ポリアクリルアミドゲル充填キャピラリーの有用性に着目し、これを用いた CEC による光学異性体分離分析の可能性を検討したものである。

作製し用いられたキャピラリー充填ゲルは、(1)スルホン酸基により負電荷を付与されたポリアクリルアミド、(2)4 級アンモニウム基により正電荷を付与されたポリアクリルアミドを基本として、これにシクロデキストリン、光学活

性クラウンエーテル等の機能性分子を共重合させたもの、あるいはシクロデキストリンポリマーを物理的に保持させたものなどである。分離対象化合物によるこれら充填キャピラリーおよび移動相の適切な選択により、酸性、中性、塩基性にわたる種々の化合物の光学異性体分離が達成し得ることを実証している。また、シクロデキストリンとクラウンエーテルの二要素協同による、光学異性体分離モデルの理論的検証を試み、異性体識別に対する鍵段階を解明している。

ここで得られた成果は、近年、医薬品開発においてその重要性が増大しているより効率的な光学異性体分離法の確立のための有用な情報を提供するものであり、博士（薬学）の学位論文として価値あるものと認められる。