

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月31日現在

機関番号：32659

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590047

研究課題名（和文） 極めて広範囲な測定領域を有するオクタノール／水分配係数自動測定システムの開発

研究課題名（英文） Wide-range log $P_{o/w}$ estimation of drug-related compounds by flow-injection analysis combined with a novel two-phase solvent partitioning.

研究代表者

柳田 顕郎 (YANAGIDA AKIO)

東京薬科大学・薬学部・准教授

研究者番号：40318192

研究成果の概要（和文）：多様な生理活性物質や薬物候補化合物のオクタノール／水分配係数（log P）を測定するための新規な手法開発を行った。最終的に、（従来のオクタノール／水二相溶媒系に代わる）新規な二相溶媒系による分配処理とフローインジェクション分析を組み合わせた分配係数計測により、+8から-8までの極めて広範囲な log P 値の実測が可能となった。さらに同法を用いて、高極性アミノ酸、ペプチド、核酸、薬物等の log P 値を計測した。

研究成果の概要（英文）： High-throughput method for measuring a partition coefficient (K) of highly hydrophobic and/or hydrophilic compound was established by flow-injection analysis (FIA) combined with novel two-phase solvent partitioning. The measured K values of 51 kinds of standard compounds, especially their log K values were closely related to their (literature-based) log P (P: partition coefficient between octanol/water two-phase system) values. The relationship between the log P and the log K values was expressed as the correlating equation “log P = 2.849 × log K - 0.1576”. Therefore the combination of the K measurement by FIA and the correlating equation enable to estimate a wide-range log P values (+8 ~ -8) of a huge variety of compounds from their measured log K values (+3 ~ -3). In this study, the estimated log P values of highly polar amino acids, peptides, nucleotides were obtained by the above method.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,600,000	780,000	3,380,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・物理系薬学

キーワード：分析化学, log P, オクタノール／水二相溶媒系, FIA, アミノ酸, 核酸, 薬物

1. 研究開始当初の背景

オクタノール／水二相溶媒系における分配係数 ($P_{o/w}$) の対数値である log P は、物質の疎水性（又は親水性）尺度の指標値であ

り、薬物の薬理活性係数や吸収係数などと良好な相関を示すため、薬物候補分子の定量的構造活性相関や動態研究における疎水性パラメータとして重要視されている。これまで

に確立された様々な $\log P$ 測定法のうち、1) Shake-flask 法は、試験管内にオクタノール/水二相系と被検薬物を加えて十分に攪拌し、分配平衡後の上下相中の薬物濃度比から P を実測する一般的で信頼性の高い直接測定法である。しかしこの方法は実験操作（分配→相分離→希釈→濃度定量）が煩雑で時間と労力を要し、濃度定量時の分析感度や誤差の影響が大きいため測定可能な $\log P$ の範囲が狭い（-3 ~ +3 程度）ことが欠点である。一方、2) オクタノール/水二相系をそのまま固定相/移動相とする HSCCC 法では、濃度定量せずに溶出ピークの保持時間から P が直接計算できるが、実質的な $\log P$ の測定範囲は Shake-flask 法とあまり変わらない。また、3) C8 や C18 アルキルカラムを用いる逆相 HPLC やミセルやマイクロエマルジョン動電クロマトグラフィーでは溶質の保持係数 k から（換算式を用いて） P 値を間接的に見積もることができ、特に疎水性化合物の正の $\log P$ 値（max. +6 程度）が推定可能であるが、（固定相にほとんど保持されない）極性化合物の負の $\log P$ 値は測定できない。

すなわち、従来の測定法では $\log P$ 値の測定範囲が非常に限定されており、特に $\log P$ 値が -3 以下の非常に極性の高い水溶性化合物を測定する方法がいまだに確立されていない。一般に薬物スクリーニングでは生体内での吸収効率向上の観点から適度な疎水性を有する分子種（+5 > $\log P$ > +1）が選抜されやすいが、DDS や製剤技術の進歩により近年では核酸やペプチドアナログ、一部の抗生物質などに代表される水溶性の高極性薬物の種類が増加しており、その $\log P$ 値はほとんど実測されていない。また薬物の大半は生体内で代謝され水溶性の抱合体に変換されるが、これらの代謝抱合体の $\log P$ 値も全く知られていない。

2. 研究の目的

本研究では従来法の $\log P$ 測定範囲をはるかに上回る（+8 ~ -8 程度の）測定領域を有する自動測定法の開発を目指した。そのための研究上の最重要ポイントは、1)（多様な溶質成分の分配係数が従来のオクタノール/水二相溶媒系と比例的に相関する）新規な二相溶媒系の創案ならびに溶媒組成の最適化と、2) 創案した二相溶媒系に対する溶質成分の分配係数を迅速かつ高精度に測定するための技術開発、の二点である。

また、 $\log P$ は物質に固有の物性値（疎水性尺度）であり、本研究は物性値を測定するための“定規”の開発と言い換えることができる。本研究が目標とする“定規”のスケール（+8 > $\log P$ > -8）は分配係数 $P_{o/w}$ に換算すると $10^8 \sim 10^{-8}$ の範囲であり、これは長さの単位 (cm) に換算すれば原子の直径から感

星の直径に相当する範囲である。すなわちダイナミックレンジの観点からも本計画の研究成果より生まれる分析法は画期的な性能を有する計測技術であると考えられる。

さらに、構築された分析法を使用すれば、これまでに測定されることがない様々な化合物の $\log P$ 値を系統的に調べることができ、同時にこれまでに計測されることがない $\log P$ 値の領域にどのような化合物が分布しているか調べることもできる。本研究では様々な高極性薬物（核酸やペプチドアナログ、抗生物質）や薬物代謝産物（抱合体や安定中間体）の $\log P$ 値を実測する予定であるが、それら化合物の大半は $\log P$ 値の報告がないため、得られた値を化合物の構造別に比較することで、構造活性相関に基づく創薬設計上の新しい知見や、薬物代謝経路を詳細に調べる上での新たな分析的視点を提供することができるであろう。また、疾病に関わる生体内代謝経路の中間体や関連薬物及び活性化物の $\log P$ 値を比較することにより、代謝の過程における各物質の生体内分布や移行過程の特徴、および各経路における代謝酵素の生理的意義などについての新たな知見を加える可能性があると考えられる。

3. 研究の方法

(1) 被検試料と溶媒：被検試料として、 $\log P$ 値が既知の医薬品 51 種類、核酸塩基、ヌクレオシド、ヌクレオチドの 19 種類、アミノ酸 21 種類、ペプチド 8 種類、タンパク質 1 種類を、シグマアルドリッチジャパン、もしくは和光純薬工業より購入して使用した。また、オリゴ DNA は、明星大学 理工学部の清水 光弘先生より供与された以下の①～③の検体を使用した。①：SacTTAGGG6 (single strand, C(TTAGGG)6GAGCT)，②：SacCCCTAA6 (single strand, C(CCCTAA)6GAGCT)，③：①+②の double strand DNA (テロメア配列)。さらに、二相溶媒系の調製に用いるアセトニトリル（高速度液体クロマトグラフィー用）と、1-オクタノール（分配係数用）の各有機溶媒、ならびにりん酸水素ニカリウムとりん酸に水素カリウムは関東化学より購入した。

(2) 二相溶媒系：本実験に用いる二相溶媒系として、アセトニトリル/100 mM リン酸緩衝液 (pH 7.4)/1-オクタノール (v/v/v, 25:25:4) を調製した（以下 AN 系と略す）。具体的には、アセトニトリル、100 mM リン酸緩衝液 (pH 7.4)、1-オクタノールを 25:25:4 の体積比で分液漏斗中に加えて十分に攪拌混合することで調製した。さらに、静置後に二相に分かれた上相液と下相液をそれぞれ別の容器に分別貯留して実験に使用した。

(3) 二相溶媒系の相分離時間の測定：調製した二相溶媒系を一定条件下で混合して

から、完全に相分離するまでの所用時間 (settling time) は、以下の手順で測定した。二相溶媒系の上層と下層を 2.5 mL ずつキャップ付き試験管へ加え、ボルテックスミキサーで 1 分間激しく攪拌してから、静置後二相に完全に分離するまでに要した時間 (秒) をストップウォッチで計測した。

(4) フローインジェクション分析 (FIA)

装置： FIA 装置は、日立 L-7100 型低圧グラジェントポンプ、日立 L-2200 型オートサンプラー、日立 L-7455 型 UV-Vis 検出器 (フローセル光路長: 0.5 mm) で構成した。クロマトグラムは、PASOCORDER HY-PCR (シマムラテック) インターフェース装置を介して PC 上で記録した。

(5) FIA 法によるオクタノール/水分配係数測定： 被検試料 2 mg を入れた試験管に AN 系の上相 (UP) と下相 (LP) をそれぞれ 2 mL 加えて、5 分間 850 rpm で攪拌し、分配させた。静置後分別した各相 (1 mL) を 50% アセトニトリル (1 mL) で希釈したものをバイアルに移してから FIA 装置に 100 μ L 注入し、試料の最大吸収波長で吸光度を検出した (測定時間: 約 1 分)。検出波長は、アミノ酸やペプチド類のように紫外部に吸収をほとんど持たない化合物は 200 nm, 205 nm, 210 nm で検出した。得られたピーク面積値を溶媒ブランク液のピーク面積値で補正した後、各相中成分のピーク面積比から K_{AN} 値を算出した。フローインジェクション分析 (FIA) 法の装置と測定手順の概略を図 1 に示す。

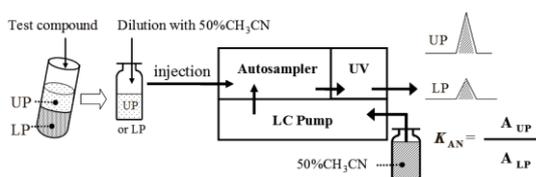


図 1. FIA 装置と測定手順の概略図

(6) テロメア DNA のオクタノール/水分配係数測定： テロメア DNA の検体 10 μ L (or 20 μ L) に AN 系の上相 (UP) 200 μ L と下相 (LP) 190 μ L (or 180 μ L) を加えて、5 分間 980 rpm で攪拌し、分配させた。静置後分別した各相 (100 μ L) を 50% アセトニトリル (100 μ L) で希釈したものをバイアルに移してから FIA 装置に 100 μ L 注入し、260 nm で吸光度を検出した。得られたピーク面積値を溶媒ブランク液のピーク面積値で補正した後、各相中成分のピーク面積比から K_{AN} 値を算出した。

4. 研究成果

(1) **新規な二相溶媒系の組成検討：** オクタノール/水二相溶媒を用いる shake-flask

法や HSCCC では被検化合物の $P_{o/w}$ を直接的に求めることができるが、非常に極性が高く

(上相のオクタノールへほとんど分配されないため)、これらの方法では $P_{o/w}$ が実測できない物質が多数存在する。そこで新規な親水性二相溶媒系を用いることで、間接的に広範囲な $\log P_{o/w}$ を見積もる方法を検討した。二相溶媒系のベースとなる有機溶媒は、誘電率が高く、紫外外部吸収のないアセトニトリルを用いた。これまでに、含水アセトニトリルに高濃度の塩類を添加すると二相形成することが知られているが、塩類の添加ではなく、

(アセトニトリル可溶の) 疎水性有機溶媒を添加することで二相が形成される可能性もあると考え、50% アセトニトリル水溶液 (全量 4 mL) に少量の 1-オクタノールを添加する実験を行った。分配係数は pH 依存性であるため、水として 100 mM リン酸緩衝液 (pH 7.4) を使用した。この実験の結果、2.5 mL のアセトニトリルと 2.5 mL の 100 mM リン酸緩衝液の全量 4 mL に 0.3 mL 以上 0.5 mL 以下の 1-オクタノールを加えると、安定した二相系を形成することが分かった。1-オクタノール添加量が 0.2 mL では二相形成に 1.5 分以上も時間がかかった。また、0.55 mL 以上のオクタノールを添加したとき、二相の境界面付近にエマルジョンを形成し、はっきりと二相に分かれなかった。

続いて、溶媒系を攪拌してから完全に二相に分離するまでの相分離時間 (Settling time) を計測した。アセトニトリル/100 mM リン酸緩衝液/1-オクタノールの混合比を 25:25:x と表し、x の比率を 3~5 まで変化させたときの結果を図 2 に示した。二相系の上下相中の溶媒組成は不明であるが、加えた 1-オクタノールはほぼ全量が上相中に存在すると考えられる。オクタノールの添加量を増やせば増やすほどこの二相溶媒系の性質に近づくため、二相形成のための 1-オクタノールの添加量は最小限に抑える必要があると考えた。

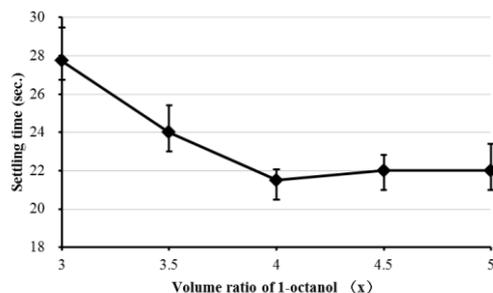


図 2. オクタノール添加量が二相系の相分離時間に及ぼす影響

図 2 より、1-オクタノール混合比 (x) が 4 のとき、Settling time は最少であり、安定な二相系を形成する混合量だと分かる。以上より、この二相系の混合比を 25:25:4 に決め、

今後これを用いて実験を行うこととした。

(2) リン酸緩衝液の濃度変化が分配係数に及ぼす影響：前節の結果より、アセトニトリル/100 mM リン酸緩衝液/1-オクタノールの混合比を 25:25:4 (AN 系) と定めた。さらに、リン酸緩衝液の濃度を変化させることで、分配係数に影響がでるかどうかを検討した。試料はフェニルアラニンを用いて、210 nm で検出した。AN 系において、300 mM 以上の高濃度のリン酸緩衝液濃度を使うと、二相形成せず白濁を生じた。また、10~30 mM の低濃度では 50~200 mM の時の分配係数の値と異なる傾向を示した (詳細なデータは省略)。以上より、リン酸緩衝液の濃度は 100 mM に決定した。

(3) 攪拌時間の変化が分配係数に及ぼす影響：AN 系を用いて分配係数を測定する手順の中で、十分に攪拌する必要がある。そこで攪拌時間を 5 分から 6 時間まで変化させて分配係数の影響があるかどうかを検討した。試料はフェニルアラニンを用いて、260 nm で検出を行った。その結果、5 分間攪拌させたものと 6 時間攪拌させたものに有意な差がなく、攪拌時間を 5 分間に決定した。

(4) FIA 法による新規二相溶媒系中の薬物の分配係数測定と、 $\log P_{o/w}$ - $\log K_{AN}$ 相関式の作成：AN 系を用いる FIA 法で各種薬物の分配係数測定実験を行った。被検薬物には、既知の $\log P_{o/w}$ 値が報告されている総計 51 種類の化合物を選定した。例として図 3 に、Amiodarone, 3-Chlorophenol, Disopyramide の 3 種類の化合物、およびブランクの FIA 溶出プロフィールを示す。

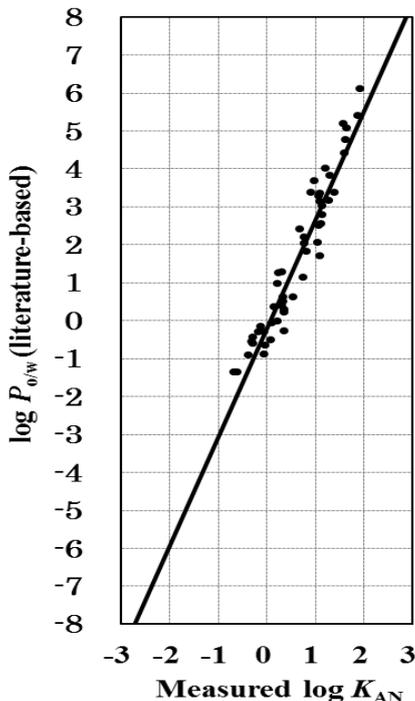


図 3. 3 種類の薬物を AN 系で分配処理後の FIA 溶出プロフィール

図 3 においては、3 種類の試料を AN 系で分配後、各上相液 (UP) と下相液 (LP) の FIA 溶出プロフィールに現れたピーク面積を測定し、ブランクのピーク面積を差し引いた各ピーク面積比から分配係数 K_{AN} を求めた。

このような方法により、総計 51 種類の薬物 ($\log P_{o/w}$ 値が既知) を測定した結果、薬物の $\log P_{o/w}$ 値は $-1.35 \sim +6.10$ の広範囲に渡っていたが、その $\log K_{AN}$ 値は FIA 法でも十分に測定可能な $-0.677 \sim +1.926$ の狭い範囲であった。そこで、この $\log P_{o/w}$ 値と $\log K_{AN}$ 値の間にどのような相関関係があるか調べる目的で、各薬物の $\log P_{o/w}$ (縦軸) と $\log K_{AN}$ (横軸) をプロットし、図 4 に示した。

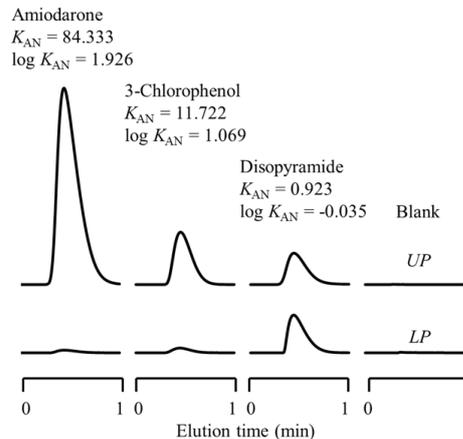


図 4. 各薬物の $\log P_{o/w}$ 文献値と FIA 法による $\log K_{AN}$ 実測値の相関関係

図から明らかのように、測定した 51 種類の被検薬物すべてのプロットを次式で表される一次直線上に相関させることができた。 $\log P_{o/w} = 2.8627 \times \log K_{AN} - 0.1496$ ($n=51$, $r^2=0.9214$)

この $\log P_{o/w}$ と $\log K_{AN}$ の相関式は以下の重要な内容を含んでいる。すなわち、1) 上式はどのような化学構造の薬物においても適応できる相関式であること、2) FIA 法における $\log K_{AN}$ の実測範囲はおおよそ -3 から $+3$ の範囲であるが、図 4 中に示された一次直線の y 切片の値より、上式を用いることにより最大 $+8$ から最小 -8 までの極めて広範囲な $\log P_{o/w}$ 値を実測した $\log K_{AN}$ 値から見積もることが可能であること、3) これまで -3 以下の高極性薬物の $\log P_{o/w}$ 値が実測されたことがなかったが、上式を用いることにより、極めて $\log P_{o/w}$ 値の小さな高極性薬物や生理活性物質の存在が実証できること、などである。

(5) 高極性ヌクレオシド及びヌクレオチドの $\log P_{o/w}$ 値測定：19 種類の高極性ヌクレオシドならびにヌクレオチド類について、AN 系における $\log K_{AN}$ の実測を行い、さらに相関式を用いて見積もられた $\log P_{o/w}$ を表 1 に示した。

表 1 $\log K_{AN}$ 実測値より見積もられた高極性ヌクレオシドならびにヌクレオチド類の \log

$P_{o/w}$ 値			
Compound	$\log K_{AN}$	SD	$\log P_{o/w}$
Tymidine	-0.310	0.017	-1.023
d. Adenosine	-0.370	0.041	-1.190
Adenosine	-0.463	0.006	-1.450
Uridine	-0.628	0.007	-1.915
Inosine	-0.778	0.005	-2.334
Guanosine	-0.823	0.017	-2.461
Cytidine	-0.857	0.006	-2.557
TMP	-1.313	0.020	-3.835
dAMP	-1.358	0.013	-3.963
AMP	-1.443	0.008	-4.202
UMP	-1.514	0.009	-4.400
dCMP	-1.554	0.012	-4.512
GMP	-1.637	0.014	-4.747
IMP	-1.664	0.037	-4.821
ADP	-1.722	0.028	-4.984
CMP	-1.732	0.010	-5.013
GDP	-1.923	0.016	-5.547
ATP	-1.941	0.025	-5.600
GTP	-2.086	0.056	-6.006

表中のすべての化合物の $\log P_{o/w}$ 値はこれまで実測での報告はなく、中でも GTP の $\log P_{o/w}$ 値は -6.006 で最小であった。例えば、AMP (-4.202), ADP (-4.984), ATP (-5.600) に注目すると、モノリン酸残基を有する AMP からトリリン酸残基を有する ATP へリン残基が伸びるにつれて親水性が増加していることが分かる。これらのヌクレオシドならびにヌクレオチド類の $\log P_{o/w}$ 値や表 1 に示した以外の核酸関連化合物の $\log P_{o/w}$ 値は、生体内における核酸の異化代謝や代謝異常疾患の研究分野に新たな視点を提供するかもしれない。

この測定に使用した FIA 法は、測定に要する時間は一回の測定につき約 1 分で、1 時間で約 60 試料の分析ができた。また、試料を注入するだけの簡単な操作で質の高い分析が可能である。さらに、Shake-flask 法や逆相 HPLC 法と比較して、高感度、高精度に測定できる。

そこで、本研究では本法を用いて、これまで実測での $\log P_{o/w}$ 値が報告されたことのないアミノ酸やペプチド、タンパク質、テロメア DNA の $\log P_{o/w}$ 値を測定に進むこととした。

(6) アミノ酸の $\log P_{o/w}$ 値測定: 引き続き、アミノ酸の $\log P_{o/w}$ 値を見積もった。その結果を一覧にして表 2 に示した。

表 2 $\log K_{AN}$ 実測値より見積もられたアミノ酸の $\log P_{o/w}$ 値

Compound	$\log K_{AN}$	SD	$\log P_{o/w}$
Trp	-0.497	0.007	-1.573
Phe	-0.633	0.009	-1.963
Leu	-0.707	0.034	-2.173

Ile	-0.749	0.023	-2.316
Tyr	-0.811	0.012	-2.472
Met	-0.879	0.011	-2.666
Pro	-0.935	0.027	-2.827
Val	-0.937	0.023	-2.865
Cys	-1.011	0.006	-3.043
Asn	-1.133	0.028	-3.392
Ala	-1.130	0.030	-3.429
Gln	-1.146	0.041	-3.429
Thr	-1.175	0.041	-3.453
Glu	-1.177	0.051	-3.518
Asp	-1.182	0.066	-3.533
His	-1.214	0.043	-3.629
Ser	-1.278	0.028	-3.807
Gly	-1.316	0.011	-3.917
Lys	-1.659	0.032	-4.900
Orn	-1.688	0.048	-4.982
Arg	-1.832	0.017	-5.393

芳香族アミノ酸は、260 nm での吸収をもつが、それ以外のアミノ酸は 205 or 210 nm での測定を行った。芳香族アミノ酸のトリプトファン、フェニルアラニン、チロシンと分岐鎖アミノ酸のバリン、ロイシン、イソロイシンは、アミノ酸の中でも疎水的な性質をもつことが分かる。塩基性アミノ酸のアルギニン、オルニチン、リシンは親水的な性質をもつことが分かる。ヒスチジンは塩基性アミノ酸であるが、その側鎖にヘテロ環であるイミダゾール環を有しており、pH 7.4 においてプロトン化されるほど塩基性ではない。また、グルタミンとグルタミン酸、アスパラギンとアスパラギン酸では、酸性アミノ酸のグルタミン酸とアスパラギン酸の方が高極性だった。

今回、表 2 に示した実測データは単にアミノ酸 $\log P_{o/w}$ 値の尺度となるだけでなく、計算値 (Calculated $\log P_{o/w}$; Clog $P_{o/w}$) の予測精度を今以上に高めるためにも貢献できると思われる。

(7) ペプチド、タンパク質の $\log P_{o/w}$ 値測定: 引き続き、ジペプチドの $\log P_{o/w}$ 値を見積もった。その結果を表 3 に示す。アラニンとペプチド結合している 4 つのジペプチドについて、Ala-Trp (-1.585), Ala-Phe (-1.820), Ala-Tyr (-2.389) の 3 つは、芳香族アミノ酸の Trp (-1.573), Phe (-1.963), Tyr (-2.472) の $\log P_{o/w}$ 値と近い値を示した。これより、このジペプチド構造の $\log P_{o/w}$ 値は芳香族アミノ酸の構造に依存すると考えられる。一方、Ala-Pro (-3.495) は Pro (-2.827) よりも親水的な Ala (-3.429) と近い $\log P_{o/w}$ 値を示した。また、Leu-Tyr (-1.079) は Leu (-2.173) と Tyr (-2.472) のいずれとも近い値を示さず、より疎水的な性質をもったジペプチドであることが分かる。

表3 log K_{AN} 実測値より見積もられたジペプチドの log $P_{o/w}$ 値

Compound	log K_{AN}	SD	log $P_{o/w}$
Leu-Tyr	-0.325	0.037	-1.079
Ala-Trp	-0.501	0.003	-1.585
Ala-Phe	-0.583	0.022	-1.820
Ala-Tyr	-0.782	0.008	-2.389
Ala-Pro	-1.168	0.031	-3.495
Gly-Gly	-1.332	0.043	-3.963

次に、グリシンとそのペプチド類の log $P_{o/w}$ 値をまとめたものを表4に示した。グリシンのペプチド鎖が伸びるに従って、より親水的になる傾向があることが分かった。

表4 log K_{AN} 実測値より見積もられたグリシンポリペプチドの log $P_{o/w}$ 値

Compound	log K_{AN}	SD	log $P_{o/w}$
Glycine	-1.316	0.011	-3.917
Gly-Gly	-1.332	0.043	-3.963
Gly-Gly-Gly	-1.376	0.050	-4.089
Gly-Gly-Gly-Gly	-1.434	0.011	-4.254

また、比較的小さな分子量のタンパク質であるシトクロム c (from Horse Heart) の測定を行った。測定の結果、Cytochrome c の log $P_{o/w}$ 値は-7.477 と見積もることができ、かなり高極性であることが分かった。

(8) テロメア DNA の log $P_{o/w}$ 値測定：テロメア DNA の log $P_{o/w}$ 測定の結果を表5に示した。

表5 log K_{AN} 実測値より見積もられたテロメア DNA の log $P_{o/w}$ 値

No.	Compound	log K_{AN}	SD	log $P_{o/w}$
①	SacTTAGGG6	-1.842	0.024	-5.423
②	SacCCCTAA6	-1.857	0.044	-5.467
③	dsDNA	-1.776	0.045	-5.234

今回の測定値はいずれも log $P_{o/w}$ 値が-5~-6 の範囲であり、オリゴ DNA の log $P_{o/w}$ 値が本法の測定範囲内にあることが分かった。また、本法は表1で示したヌクレオシドやヌクレオチド類だけでなく、そのオリゴマーの log $P_{o/w}$ 値も精度よく測定できる分析方法であることが分かった。

9) まとめ：親水的な有機溶媒であるアセトニトリルを用いて、新規な二相溶媒系 (AN系)、アセトニトリル/100 mM リン酸緩衝液 (pH 7.4) /1-オクタノール (v/v/v, 25:25:4) を創案した。

また、フローインジェクション分析 (FIA) 法より、既知の log $P_{o/w}$ 値が報告されている総計 51 種類の化合物について分配係数 K_{AN} を実測した。得られた log K_{AN} 値と log $P_{o/w}$ 値 (文献値) の相関を調べた結果、相関係数良好な相関式 $\log P_{o/w} = 2.8627 \times \log K_{AN} - 0.1496$ ($n=51$, $r^2=0.9214$) が得られた。この AN 系を用いた手法によって、非常に広範囲の log $P_{o/w}$

値 (-8~+8) を、実測可能な log K_{AN} 値の範囲内 (-3~+3) に良好に相関させられることが分かった。

得られた相関式を利用して、これまで実測での log $P_{o/w}$ 値がほとんど報告されなかったアミノ酸やペプチド、ヌクレオチド、DNA などの高極性物質の log $P_{o/w}$ 値を見積もることができた。FIA 法は迅速かつ自動化が可能な方法であり、試料作成の操作も簡便な方法である。さらに測定の精度が HPLC 法や Shake-flask 法よりも高く、オリゴマーの log $P_{o/w}$ 値も精度よく測定できる分析方法であることが分かった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 4 件)

- ① 柳田顕郎, 杉浦巨紀, 鈴木智紘, 渋谷庸一, 極めて広範囲な測定領域を有する新規なオクタノール/水分係数測定法の検討, 日本分析化学会第 58 年会 (札幌), 2009 年 9 月 24 日.
- ② 柳田顕郎, 森川剛, 渋谷庸一, 新規な二相溶媒系を用いる高速向流クロマトグラフィーによる親水性化合物の log P の計測と評価, 日本分析化学会第 59 年会 (仙台), 2010 年 9 月 17 日.
- ③ 森川剛, 柳田顕郎, 渋谷庸一, 新規な二相溶媒系を用いるフローインジェクション法による高極性アミノ酸・ペプチドのオクタノール/水分係数測定, 日本薬学会第 131 年会 (静岡), 2011 年 3 月 28 日.
- ④ 森川剛, 荻原淳, 柳田顕郎, 渋谷庸一, 新規な二相溶媒系を用いるフローインジェクション分析法による高極性アミノ酸・ペプチドのオクタノール/水分係数測定, 第 18 回クロマトグラフィーシンポジウム (福岡), 2011 年 6 月 2 日.

[その他] なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

柳田 顕郎 (YANAGIDA AKIO)
東京薬科大学・薬学部・准教授
研究者番号: 40318192

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

渋谷 庸一 (SHIBUSAWA YOICHI)
東京薬科大学・薬学部・教授
研究者番号: 10102708