

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 27 日現在

機関番号：10106

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19319

研究課題名（和文）薬物選択捕捕捉気液界面形成機構の解明と超迅速薬物精製技術の開発

研究課題名（英文）Elucidation of drug-selective trapping air-water interface formation mechanism and development of ultra-rapid drug purification technology

研究代表者

齋藤 徹（Saitoh, Tohru）

北見工業大学・工学部・教授

研究者番号：40186945

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,800,000円

研究成果の概要（和文）：気液界面への薬物の選択的な吸着現象の発見に基づき、気泡を吸着材とする新規分離技術（気泡分離）を創案し、薬物の分離精製技術としての可能性を検討した。抗マラリア薬クロロキンの合成後の粗製物を本法により精製し、3回の気泡分離の繰り返しにより、標準物質と同等の高純度品を得ることができた。

微視的環境プローブを用いる気液界面の溶媒特性を評価より、酢酸エチル相当の薬物の捕捉に適した場の形成が示唆された。動的表面張力測定結果より、原料に対して生成物であるクロロキンが選択的に気液界面に吸着することが裏付けられた。さらに、分子動力学シミュレーションにより薬物の気液界面への吸着や凝集が再現された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

気液界面の薬物捕捉媒場としての可能性に着目し、空気を吸着材として用いる薬物分離技術を創案した。気液界面への界面活性剤の吸着は広く知られており、界面がバルクの水と比べて疎水的な性質を持つことは古くから指摘されていた。しかし、気泡を水中物質の吸着材とする考えはこれまでになかった。本研究は、空気が薬物を選択的に捕捉する吸着材となることを見出し、応用の可能性を示した世界で初めての成果である。

薬物の精製には主に晶析やクロマトグラフ分離が用いられており、多量の有機溶媒やエネルギーを必要とする。分離精製により発生する廃棄物や再生も課題であった。本法の実用化により、迅速かつ持続可能なプロセスとなる。

研究成果の概要（英文）：Based on the discovery of the selective adsorption phenomenon of drugs on the gas-liquid interface, we have invented a new separation technology (bubble separation) using air bubbles as an adsorbent and examined the possibility as a drug separation and purification technique. A crude product of the antimalarial drug chloroquine after synthesis was purified by this method, and by repeating the bubble separation three times, a high-purity product equivalent to the standard substance could be obtained.

Evaluation of the solvent properties of the air-water interface using a microscopic environmental probe suggested the formation of a suitable field for trapping drugs equivalent to ethyl acetate. Dynamic surface tension measurements confirmed that the product chloroquine was selectively adsorbed on the gas-liquid interface with respect to the raw material. Furthermore, adsorption and aggregation of the drug on the air-liquid interface were reproduced by molecular dynamics simulation.

研究分野：分析化学

キーワード：気液界面 薬物 精製 濃縮 析出 高純度化 簡便 迅速

1. 研究開始当初の背景

医薬品製造技術の進展は著しいが、使用に供するためには不純物の除去が不可欠であり、高純度化のための精製プロセスには依然として多大の時間と手間を要している。薬物の精製には主に晶析法が用いられているが、大量の有機溶媒やエネルギーを必要とする。さらに、薬物によっては昇華やクロマトグラフ分離も必要であり、これらの分離精製操作が薬物の製造に要する期間とコストを押し上げている。大量の医薬品の迅速な製造と普及には、従来の方法を根本的に変革する仕組みが必要である。応募者は水中色素の気液界面への選択的吸着現象を発見し、微量 (<0.1%) の低級アルコール共存下で気泡分離を行うと、色素が1~2分で水面に選択的に濃縮され、最終的に高速液体クロマトグラフ分析用標準試薬相当の純度に精製されることを見出した。気液界面への色素の吸着は、空気を吸着材として利用できる可能性を示す。分離・精製時間を短縮できるだけでなく、大量の有機溶媒や固体吸着材も不要となり、廃棄物の発生も最小限に抑えることができる。薬物の精製に適用できれば、上記の利点に加えて、大量の薬物の迅速な製造と普及が可能となる。

2. 研究の目的

本研究は、薬物の気液界面への選択的吸着機構と制御因子を解明し、薬物を原料物質や副生成物から迅速に分離する系の設計指針を得ることにより、従来技術の常識を圧倒的に凌駕する薬物の超迅速・低環境負荷精製技術としての新規気泡分離法を確立する。

(1) 薬物選択的気泡分離系の設計と制御因子の解明

気泡分離による分離挙動から薬物の気液界面吸着性を系統的に調査し、選択性の要因および制御方法を明らかにする。気液界面に配向して薬物の吸着選択性に影響を及ぼす微量添加溶媒を探索し、薬物選択性を積極的に制御する方法を見出す。

(2) 微視的環境プローブの蛍光測定による気液界面の特性評価

微量の溶媒分子が配向した気液界面の微視的環境を分子幅レベルで解明する。微視的環境に応じてスペクトルが変化する蛍光プローブを用いて気液界面の疎水性を評価する。

(3) 分子動力学シミュレーションによる薬物捕捉気液界面の設計

分子間相互作用に基づく分子動力学シミュレーションにより、気液界面における薬物の挙動を推算する。気液界面に配向する分子の挙動や薬物の界面吸着への効果を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 界面修飾型気泡分離法の設計と薬物精製への応用

薬物の原料物質や副生成物に対する気液界面吸着選択性を気泡分離による分離挙動から系統的に調査し、選択性の支配要因を明らかにする。併行して、薬物選択性の制御因子を明らかにするとともに、気液界面に配向して薬物の吸着選択性に影響を及ぼす微量添加溶媒を探索し、薬物選択性を積極的に制御する方法を見出す。

(2) 微視的環境プローブの全反射蛍光測定による気液界面の特性評価

周囲の極性により蛍光スペクトルが変化する微視的環境プローブの界面からの距離を調節した誘導体を調製し、微量の溶媒分子が配向した気液界面の微視的環境を分子幅レベルで明らかにする。

(3) 分子動力学シミュレーションによる薬物選択捕捉気液界面の設計

分子間相互作用に基づく分子動力学シミュレーションにより、気液界面における薬物の挙動を推算する。同時に気液界面に配向する分子を導入し、その挙動や薬物の選択的気液界面吸着に及ぼす効果を明らかにする。

4. 研究成果

(1) 気泡分離によるクロロキンの分離精製

クロロキン(CQ)は抗マラリア薬として汎用されており、1,4-ジクロロキノリン(DCQ)と4-アミノ-1-ジエチルアミノペンタン(AP)のSN2反応により合成される(図1)。

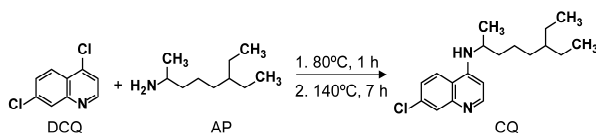


図1 クロロキンの反応スキーム

合成後のCQ粗製物には、原料であるDCQやAPおよび副生成物が含まれるため、CQを選択的に気泡分離する条件を検討した。

図2に気泡分離の様子を示す。内径50 mm、長さ700 mmの焼結

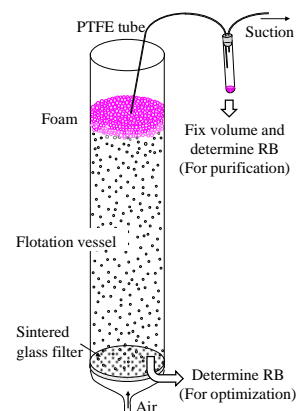


図2 気泡分離操作

ガラスフィルター付オープンカラムに 1 L の 0.5% (v/v)エタノールを含む水を入れ、そこに CQ 粗製物を加えた。カラム下部から空気を導入し、気泡を発生させ、気泡分離を行った。一定時間経過後、下部から採取した水中の物質の濃度から除去率、水面の泡を吸引して回収した溶液中の物質の濃度から回収率を求めた。

図 3 に CQ と DCQ の除去率の分離時間依存性を示す。気泡分離開始後 1~2 分で CQ がカラム下部から除かれ、カラム上部に濃縮され、析出して水面に集まった。一方、原料物質 DCQ はほとんど濃縮されず、下部層に残存した。

図 4 に CQ と DCQ の除去率に及ぼす pH の影響を CQ の存在形態とともに示す。酸性~中性条件下では CQ の回収率は低下した。CQ にプロトンが付加し、正電荷を有する共役酸となったためである。これに対し、pH 10 を超えると CQ の回収率は 90% 以上になった。CQ が無電荷の化学種となり、疎水性が増したためである。一方、原料である DCQ の回収率は pH に依存せず、CQ に比べて低かった。CQ と DCQ の水-オクタノール間分配係数 ($\log K_{ow}$) は 4.63 と 3.57 であり、DCQ に比べて CQ の方が高い疎水性を有することから、気泡分離の選択性は物質の疎水性に依存した。合成後の粗製物の水溶液の pH が 12 であったこともあり、pH 12 に設定して気泡分離を行った。

気泡分離の繰り返し数と CQ および DCQ の回収率との関係を図 5 に示す。1 回目の操作では、合成後の CQ 粗製物の溶液を 1 L の水に加え、気泡分離後に水面に濃縮・析出した CQ を吸引により回収し、析出物を含む溶液 10 mL を得た。これを原液とし、次の操作を行うことを繰り返した。3 回繰り返し後の CQ の回収率は約 80% であり、DCQ は検出されなくなった。析出物を含む溶液をろ過し、析出物を回収し、液体クロマトグラフ-質量分析法とガスクロマトグラフィーを用いて純度を評価した。

図 6 に液体クロマトグラフを示す。粗製物(A)に含まれる原料 DCQ が 3 回気泡分離後の析出物のクロマトグラム(B)からは、検出されなかった。CQ の保持時間に出現したピーク画分の質量スペクトルからは、 $[CQ+H]^+$ と同位体イオンのピークのみが検出され、析出物が純粋な CQ であることが確認された。また、析出物のクロマトグラム(B)は市販高純度品(標準試薬)のクロマトグラム(C)と同等であった。図 7 にガスクロマトグラフィーによる分析結果を示す。粗製物(A)のクロマトグラフィーには、原料の DCQ と AP の他に副生成物と見られるピークが出現した。これに対し、3 回気泡分離後の析出物のクロマトグラム(B)には、これらのピークが見られなくなった。以上より、本法のクロロキンの精製への有効性が示された。

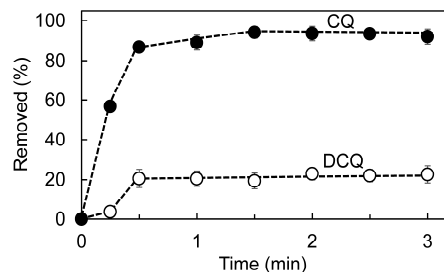


図 3 気泡分離時間の影響

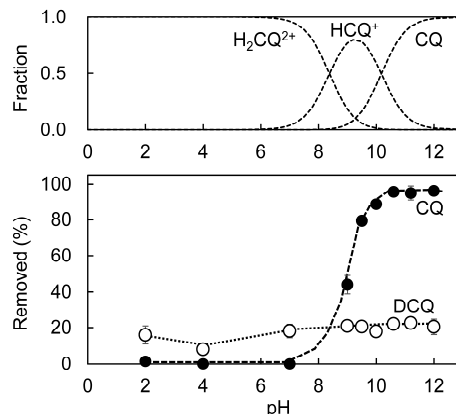


図 4 CQ の存在形態と pH の影響

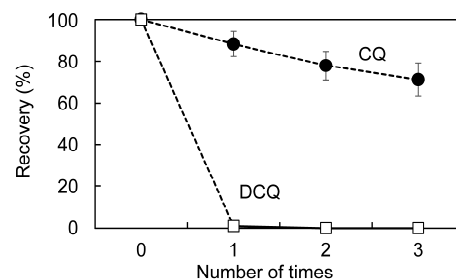


図 5 繰り返し気泡分離後の回収率

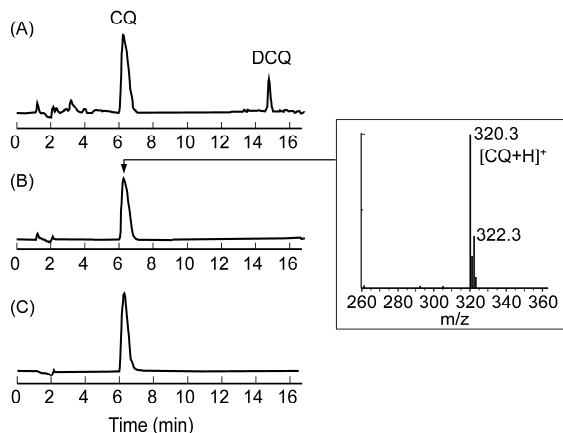


図 6 クロロキン粗製物(A)、3 回気泡分離後の析出物(B) 標準試薬(C)の液体クロマトグラム

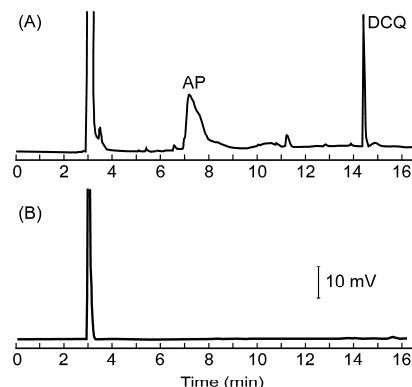


図 7 粗製物(A)と 3 回気泡分離後の析出物(B) 中の原料他のガスクロマトグラム

(2) 気液界面の疎水性評価

気液界面への両親媒性物質の吸着は広く知られており、界面がバスキ水と比べて疎水的な性質を持つことは古くから知られていた。気液界面の溶媒としての性質の評価は、吸着材としての適用や選択性の制御に極めて重要である。本研究では、蛍光スペクトルが溶媒の疎水性（微視的環境）に依存する蛍光プローブを用いて気液界面の疎水性を評価した。図 8(A)に異なる個数の微細気泡（平均径: 108 nm, SD: 38 nm）を含む水中のナフチルアミン融合体の発光スペクトルを示す。微細気泡を含まない水中に比べ、微細気泡の濃度の増加とともに短波長側にシフトした。ナフチルアミン誘導体が微細気泡の気液界面に吸着し、その場がバルク水と比べて疎水的な環境であるためと考えられる。溶媒の極性の尺度である誘電率と溶媒中のナフチルアミン誘導体の最大発光波長（ λ_{\max} ）との関係を図 8(B)に示す。溶媒の誘電率と λ_{\max} の間には高い相関関係があり、 λ_{\max} 値から溶媒としての性質を推測できると考えられる。微細気泡を含む水中の λ_{\max} 値は酢酸エチル中の値に近かった。気液界面は高極性溶媒のなかでも比較的疎水的な部類の溶媒特性を持ち、このことが薬物の選択的捕捉に有利に働いたと推測される。

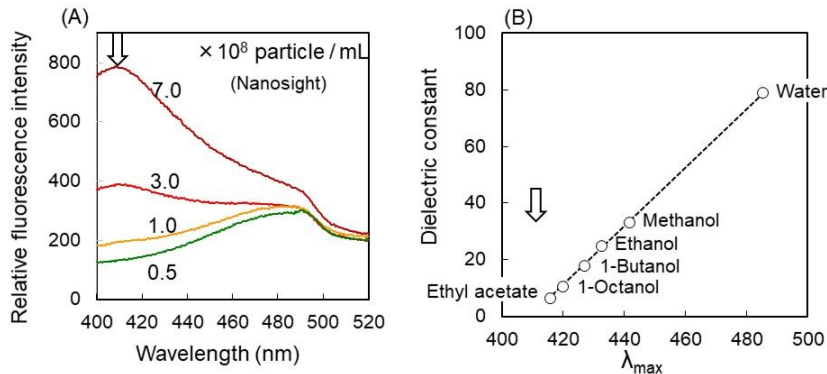


図 8 微細気泡含有水中の蛍光プローブの発光スペクトル(A)と誘電率と最大発光波長 λ_{\max} の関係(B)

(3) 動的表面張力測定による界面吸着挙動解析

物質の気液界面の占有により水の表面張力は低下する。このことから、表面張力の低下から各成分の界面への吸着を知ることができる。図 9 に水の動的表面張力に及ぼす CQ と DCQ 濃度の影響を示す。DCQ による表面張力の低下はほとんど見られなかったのに対し、CQ 濃度の増加につれて表面張力は低下し、CQ が選択的に気液界面に吸着することが分かった。CQ 濃度が溶解度をを超えて析出した後も表面張力が低下したことから、析出物も気液界面に吸着することが確認された。気泡分離により CQ が水面付近で濃縮されて析出し、析出物が水面に集まることを裏付ける結果となった。

(4) 分子動力学シミュレーションによる予測

分子動力学シミュレーションは、古典的な分子間力の式とニュートン力学の式を用いる計算であり、溶液内の分子やイオンの挙動に留まらず、気液界面におけるイオンの挙動の予測もされている。この手法をクロロキンの気液界面における配向予測に適用した結果を図 10 に示す。水中にランダムに配置した CQ が気液界面に吸着した。また、複数の CQ が気液界面で凝集する現象も再現された。このことから、分子動力学シミュレーションは、選択性の予測や系の最適化に有用と考えられる。

(5) まとめと展望

気液界面への薬物の選択的吸着を利用する薬物の迅速精製技術としての気泡分離法を創案した。空気を吸着材とすることにより、資源消費や廃棄物の発生を最小限に抑えることができるだけでなく、従来の分離技術に比べて桁違いに迅速な精製が可能となることから、パンデミックのような大量の新薬の製造と供給が必要となる場面に有効な方法の候補と成り得る。適用範囲の確認と拡大に向けた研究の進展が期待される。

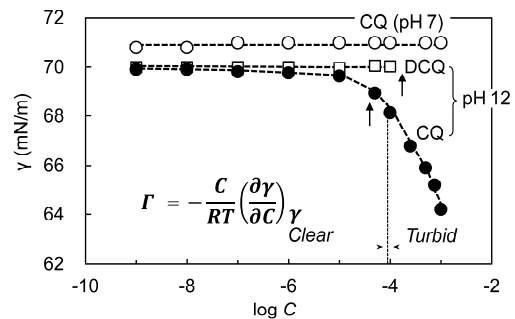


図 9 動的表面張力の各成分濃度依存性

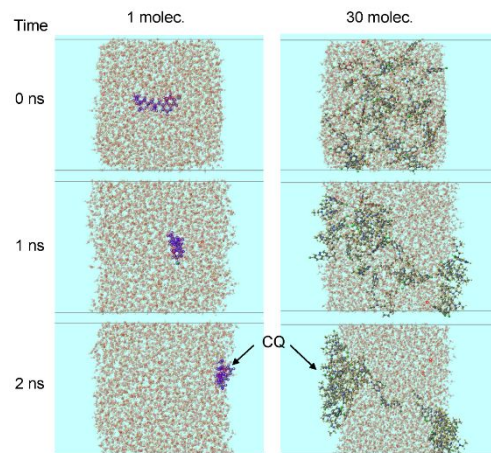


図 10 CQ の分子動力学シミュレーション)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Koki Kodama, Mako Oiwa, Tohru Saitoh	4. 巻 94
2. 論文標題 Rapid purification of Rhodamine B by alcohol-modified air bubble flotation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bulletin of the Chemical Society of Japa	6. 最初と最後の頁 1210-1214
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1246/bcsj.20200395	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kodama Koki, Saitoh Tohru	4. 巻 39
2. 論文標題 Surfactant-free air bubble flotation?coagulation for the rapid purification of chloroquine	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Analytical Sciences	6. 最初と最後の頁 43 ~ 49
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s44211-022-00196-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 児玉 康輝, 山崎広夢, 大岩真子, 齋藤 徹
2. 発表標題 気泡を用いる薬物の迅速かつ選択的な分離技術の開発
3. 学会等名 日本分析化学会第70年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 児玉 康輝, 大岩真子, 齋藤 徹
2. 発表標題 気泡を分離媒体とするクロロキンの迅速精製技術
3. 学会等名 化学工学会第52回秋季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山崎 広夢, 児玉 康輝, 大岩 真子, 齋藤 徹
2. 発表標題 アルコール修飾気泡分離によるキサントゲン色素の迅速分離
3. 学会等名 CSJ化学フェスタ2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Koki Kodama, Mako Oiwa, Tohru Saitoh
2. 発表標題 Rapid purification of Rhodamine B by alcohol-modified air bubble flotation
3. 学会等名 The 2021 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2021) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tohru Saitoh, Mako Oiwa, Koki Kodama
2. 発表標題 Use of air-water interfaces for efficient and sustainable separation of pharmaceuticals and dyes in water
3. 学会等名 The 2021 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2021) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 児玉 康輝, 齋藤 徹,
2. 発表標題 気泡を利用した精密ろ過(MF)膜の物質阻止能力向上
3. 学会等名 第82回分析化学討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 齋藤 徹, 児玉 康輝
2. 発表標題 気液界面を用いる持続可能な水系反応・分離工学の開拓
3. 学会等名 第83回分析化学討論会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織			
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)		備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関