

混合と純物質：FTIRによるアミノ酸サンプル異性体評価

著者

Jaspreet Singh, Ph.D.
Application Scientist
Thermo Fisher Scientific



Nicolet Summit X FTIR

序章

フーリエ変換赤外分光法 (FTIR) は、分析物の適合性と分類を迅速にスクリーニングするための有用なツールです。本アプリケーションノートでは、全反射 (ATR) アクセサリーを装備したThermo Scientific™ Nicolet™ Summit™ X FTIRを用いて、純粋なエナンチオアミノ酸と鏡像関係にあるラセミ体アミノ酸を迅速に区別するため、判別分析分類法と組み合わせて利用しました。

イントロダクション

製薬業界では、治療薬の立体構造化学が薬物動態学および薬力学的プロファイルにおいて重要な役割を果たしています¹⁻³。ある化合物の1つのエナンチオマーが治療効果をもたらす一方で、その立体異性体が効果を低下させたり、有害な効果をもたらすことさえあります。よく知られている例として、サリドマイドがあります。サリドマイドはつわりの治療薬で、当初はラセミ体として上市されましたが、後に (S) -エナンチオマーに催奇性があることが判明しました^{4,5}。したがって、立体構造化学を理解することは極めて重要です。医薬化合物は、望ましい治療効果を得るために、特定のエナンチオマー形態で単離されるか、あるいはラセミ混合物として、適切な方法で提供されなければなりません。

フーリエ変換赤外分光法は、迅速、非破壊で、環境に優しく、費用対効果の高い分析技術です。製薬業界では、製造工程における最終製品の確認に広く使用されています。FTIRでは、試料の化学構造に関する情報を提供し、ユニークな構造により、明確で特徴的なスペクトルが得られます。定義上、立体異性体は同じ化学構造を持ちますが、原子の空間的配置のみが異なるため、FTIRでは異なる形態のエナンチオマーを区別することはできません。しかしFTIRやラマンを含む振動分光法によって、結晶対称性、幾何学的パラメーターの違い、水素結合の違いから、化合物のラセミ体やエナンチオマー体を区別できるという報告^{6,7}があります。ここでは、2つのアミノ酸のラセミ体と純粋なエナンチオ体を迅速に区別するためのFTIRに基づく分類法について説明します。

実験

バリンとフェニルアラニンのD-、L-、DL-型の粉末はSigma-Aldrich社 (MO, USA) から入手しました。それらの化学構造を図1に示します。

重水素化トリグリシン硫酸塩 (DTGS) 検出器を装備した Nicolet Summit X FTIR分光計とThermo Scientific™ Everest™ ATRアクセサリ (ダイヤモンドクリスタル) を使用し、Thermo Scientific™ OMNIC™ Paradigmソフトウェアで測定しました。サンプルは4 cm⁻¹のスペクトル分解能でスキャンされ、各スペクトルに対し64回積算を適用しました。粉末試料をダイヤモンドクリスタル上に直接置き、Everest ATRアクセサリのスリックラッチ圧力タワーを用いて圧力をかけました。カプセル試料を評価する場合は、カプセルを切断し、中の粉末をATRクリスタル上に堆積させて分析しました。測定結果はThermo Scientific™ TQ Analyst™ソフトウェアを使用して分類モデルを構築しました。

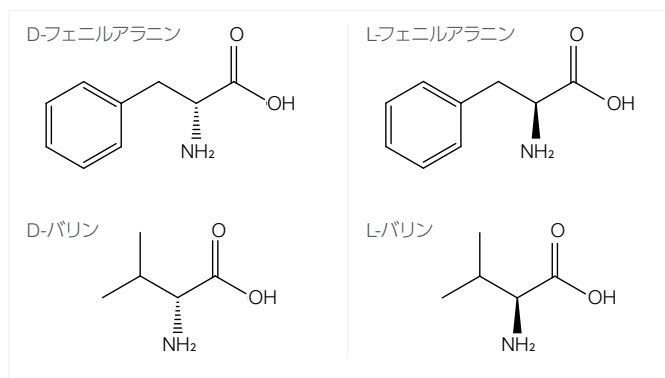


図1. フェニルアラニンとバリンの立体異性体

結果と考察

図2は、DL-、D-、L-バリンの赤外スペクトルです。今回の実験ではSN比を向上させるために64回積算を採用しました。D-およびL-バリンエナンチオマーのスペクトルは、化学構造が同じであるため同一と予想されていました。しかし、純粋なエナンチオ体 (D-およびL-) とラセミ体 (DL-) のスペクトルを比較すると、明確に識別できるスペクトルの違いが認められました (赤でハイライト)。

純粋なエナンチオアミノ酸とラセミ体アミノ酸のスペクトルの違いは、図3に示すように、フェニルアラニンを用いてさらに詳細に示されます。図3Aは、4,000~650 cm⁻¹のスペクトル範囲における純粋なエナンチオ体とラセミ混合物の比較を示します。図3Bと3Cは、1,583、1,555、1,035、1,025、1,003 cm⁻¹のスペクトルが純粋なエナンチオ体とラセミ体間で顕著に異なるスペクトル領域を拡大して示しています。

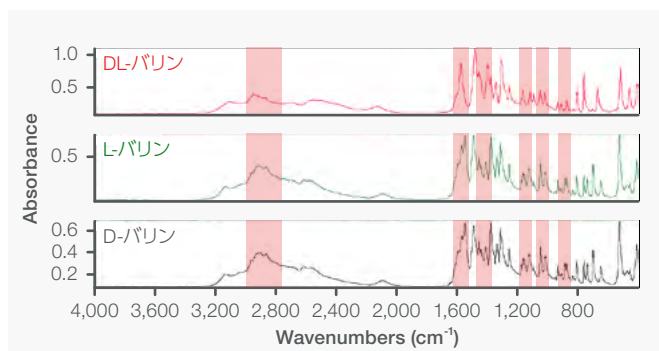


図2. DL- (上)、L- (中)、D-バリン (下) の赤外スペクトル

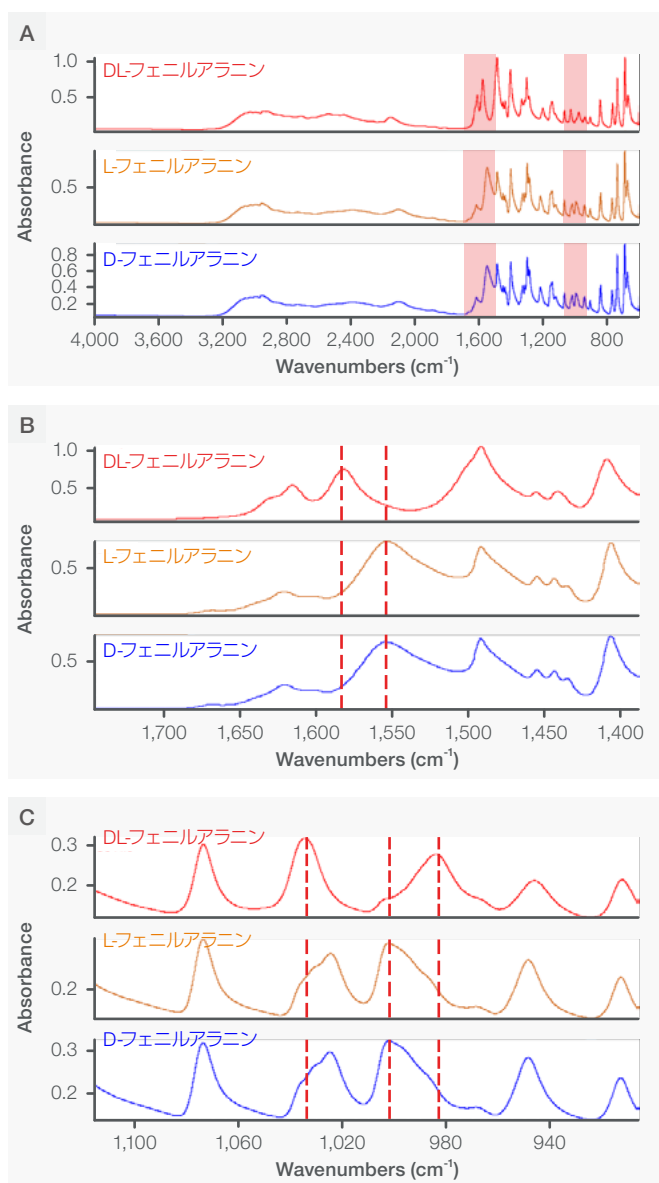


図3. (A) DL- (上)、L- (中)、D-フェニルアラニン (下) の赤外スペクトル、(B) 1,700~1,500 cm⁻¹間の赤外スペクトル、(C) 1,200~900 cm⁻¹間の赤外スペクトル

判別分析 (DA) 分類法は、各サンプルがどの既知の材料に最も似ているかを決定するために、受け入れ材料のスクリーニングによく使用されます。ラセミ体のDL-フェニルアラニンと純粋なエナンチオL-フェニルアラニンを分類するために、TQ Analystソフトウェアを使用して判別分析モデルを開発しました。両グループのニート粉末から10サンプルが分析され、その後、各グループから7スペクトルをキャリブレーションとして利用し、残りの3つのスペクトルをモデルの検証として利用しました。また、全測定スペクトル範囲を分類モデルに利用しました。次に、開発したモデルをDL-フェニルアラニンまたはL-フェニルアラニンと表示されている市販製品の評価にも適用しました。各クラスでは2つの形態が取得され、1つは粉末の形態、もう1つはカプセルの形態でした。分類結果を表1にまとめます。粉末サンプルはいずれも、それぞれのクラスに正しく分類されました。一方、カプセル試料については、2つの試料はそれぞれの化学クラスに正しく分類されましたが、分類警告が表示されました。この結果は、DL-フェニルアラニンカプセルを例にとると、カプセルサンプルのスペクトルは、モデルで使用されたL-フェニルアラニンのリファレンススペクトルよりもDL-フェニルアラニンのリファレンススペクトルに類似していることがわかり、警告とさらなる調査が必要であることを示しています。図4からわかるように、どちらのカプセル試料にも2,916 cm⁻¹と2,849 cm⁻¹に追加の吸収帯があり、おそらくこの原因は植物性ステアリン酸塩のような製品に含まれる追加成分に起因すると思われる。

表1. 市販のフェニルアラニン製品の判別分析による分類

製品ラベル	判別クラス	数値	Pass/Fail
DL-フェニルアラニン 粉末	DL-フェニルアラニン	0.25	PASS
L-フェニルアラニン 粉末	L-フェニルアラニン	0.54	PASS
DL-フェニルアラニン カプセル	DL-フェニルアラニン	1.47	FAIL
L-フェニルアラニン カプセル	L-フェニルアラニン	1.46	FAIL

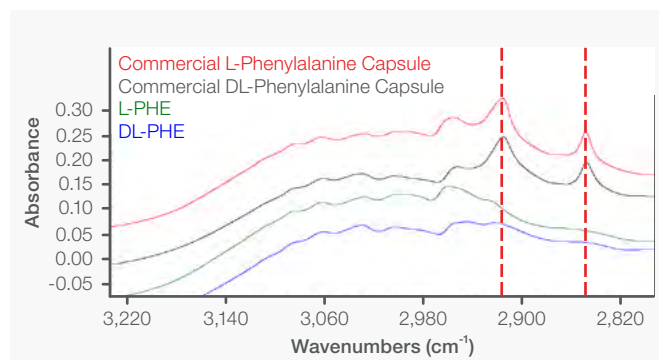


図4. フェニルアラニンカプセルサンプルとニートフェニルアラニンの赤外スペクトル

まとめ

このアプリケーションノートでは、ラセミ体と純粋エナンチオ体化合物を区別するために、赤外分光法を迅速なスクリーニング、分類、同定技術として使用できることを実証しました。分析時間が短く、試料調製が最小限で済み、非破壊的であることから、FTIRは分析対象物の迅速な同定と分類のための魅力的な選択肢として利用できます。

参考

- Mr, I.; Jg, M.; Id, B. Pharmacological Importance of Stereochemical Resolution of Enantiomeric Drugs. *Drug Saf.* **1997**, *17* (3). <https://doi.org/10.2165/00002018-199717030-00002>.
- Hutt, A. J.; Tan, S. C. Drug Chirality and Its Clinical Significance. *Drugs* **1996**, *52* (5), 1–12. <https://doi.org/10.2165/00003495-199600525-00003>.
- Alkadi, H.; Jbeily, R. Role of Chirality in Drugs: An Overview. *Infect. Disord. Drug Targets* **2018**, *18* (2), 88–95. <https://doi.org/10.2174/1871526517666170329123845>.
- Lenz, W. A Short History of Thalidomide Embryopathy. *Teratology* **1988**, *38* (3), 203–215. <https://doi.org/10.1002/tera.1420380303>.
- Tokunaga, E.; Yamamoto, T.; Ito, E.; Shibata, N. Understanding the Thalidomide Chirality in Biological Processes by the Self-Disproportionation of Enantiomers. *Sci. Rep.* **2018**, *8* (1), 17131. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35457-6>.
- Barańska, H.; Kuduk-Jaworska, J.; Szostak, R.; Romaniewska, A. Vibrational Spectra of Racemic and Enantiomeric Malic Acids. *J. Raman Spectrosc.* **2003**, *34* (1), 68–76. <https://doi.org/10.1002/jrs.953>.
- Gosar, A.; Shaikh, T.; Sindwani, A. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopic Analysis of Amino Acid Serine for Its Chiral Identification. *J. Pharm. Qual. Assur. Qual. Control* **2022**, 1–4.

詳細はこちらをご覧ください thermofisher.com/summit

研究用のみ使用できます。診断用には使用いただけません。

© 2024 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified.

実際の価格は、弊社販売代理店までお問い合わせください。

価格、製品の仕様、外観、記載内容は予告なしに変更する場合がありますのであらかじめご了承ください。

標準販売条件はこちらをご覧ください。 thermofisher.com/jp-tc FTIR238-A2408OB

サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社

お問い合わせはこちら thermofisher.com/contact

thermo scientific