




論文審査結果の要旨および担当者

報告番号	※乙第 7 号	氏名	小松 祥子
論文審査担当者	主 査 教授	細野 雅祐	
	副 査 教授	山口 芳樹	
	副 査 教授	藤村 務	
<p>(論文審査の要旨)</p> <p>本論文は、生体試料中の低分子化合物の測定法として現在普及している分析技術を基に、簡便かつ信頼性の高い測定原理を利用し、より効率的に検出・評価できる測定法の開発を目的として取り組んだものである。</p> <p>第一章では、エストロゲン受容体 (ER) 結合アッセイに有用な蛍光標識リガンドの合成および結合活性について評価した。エストロゲン様化合物の同定および活性評価法として、ヒト組換え ER を用いた <i>in vitro</i> 結合アッセイに基づくスクリーニング手法が数多く考案されている。放射活性アッセイの代替として開発された蛍光偏光 (FP) 法は、B/F 分離操作が不要で操作が簡便であり、ハイスループットな分析には適しているが、FP 測定に対応した専用機器が必要である。本研究では、リガンドの標識と検出方法に着目し、通常のプレートリーダーによる蛍光測定で ER 結合を評価する測定法を提案した。今回合成したベンゾフラザン標識エストラジオール (BD-E2) は疎水性環境下で高い蛍光強度と大きなストークスシフトを持つ。BD-E2 は ER と複合体を形成し、ER 濃度に依存して蛍光強度が増加した。被験物質のエストロゲン活性を評価するため、10 種類のエストロゲン様化合物を用いた競合結合試験を実施した。その結果、本手法で解析された競合阻害のパラメーターは FP 法の報告値と良好な相関関係を示した。</p> <p>第二章では、ニトロキシルラジカル触媒を利用したアルコールの電気化学検出について検討した。電気化学分析は臨床分野において迅速、簡便な測定法として利用されている。また、生理活性物質や医薬品など、電気応答を示さない化合物の検出に対応した測定系として、酵素等を電極表面に固定化することで選択性の高いバイオセンサーの構築が可能である。本研究では、酵素反応に依らず電気信号に基づいて医薬品濃度を評価する手法の開発を目的とし、ニトロキシルラジカルを用いたアルコール検出</p>			

法を提案した。ノルトロピン-*N*-オキシル (NNO) は電位の印加に伴ってラジカル部位が活性化され、溶液中のアルコールを効率的に酸化した。第二級アルコールを持つ医薬品であるシクロスポリンの定量を検討した結果、検出可能範囲は 1 – 100 μM だった。本法は水酸基を持つ低分子化合物の定量においてイムノアッセイや質量分析の文献値よりも感度が低かったものの、薬物濃度の簡易的・直観的な検出法として応用可能性があると考えられた。

第三章では、ボロン酸試薬を用いたジオール化合物の高速原子衝撃質量分析 (FAB-MS) 測定について解析した。フェニルボロン酸 (PBA) は水溶液中で糖などの *cis*-ジオールと可逆的に結合するため、糖類の検出センサーとして利用されている。一方、移動相に水系溶媒を用いる LC-MS において PBA 誘導体は加水分解を受けやすいため、ジオール化合物の測定に PBA 誘導体化を利用するには専用のシステムを構築する必要がある。本研究では、ジオール化合物の定量における PBA 誘導体化の有用性を調査する目的で、種々の PBA との混合溶液について FAB-MS 測定を検討した。モデル化合物を 17 種類のボロン酸とそれぞれ混合し、誘導体のピーク強度を評価した結果、4-ピリジンボロン酸 (4-PyBA) が最もイオン化効率が高く、ジオールとの結合性にも優れていることが示唆された。

小松氏は、これらの研究成果を原著論文として *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, *International Journal of Electrochemical Science* 及び *Heterocycles* に筆頭著者として発表しており、本研究で得られた結果は、いずれも生体成分の定量分析の効率化を目指す研究として一石を投じる貴重な知見を数多く包含している。以上のことから本論文は、博士論文として相応しいものと判断する。