

## 特別寄稿

松大Topics:

有機合成のチカラを分析化学に利用する  
～ 新たな  $^{13}\text{C}$  呼気試験の開発研究 ～

松山大学薬学部 薬品分析化学研究室 見留 英路

## 【はじめに】

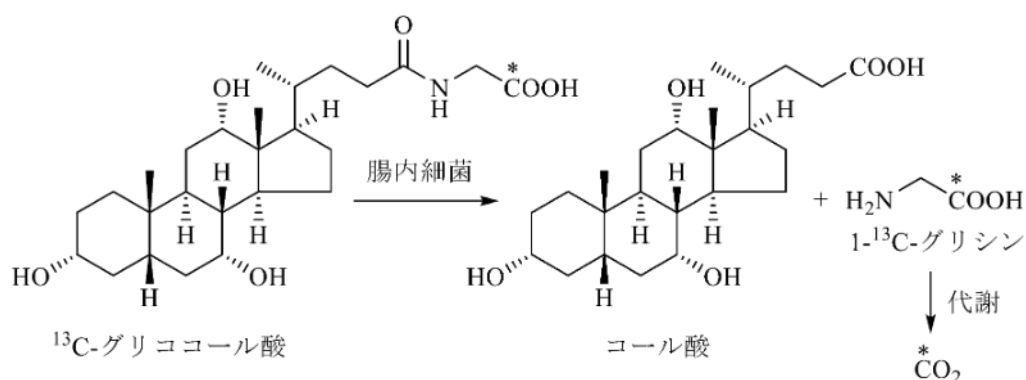
分析化学は、検出・解析・定量などを対象とした学術分野であり、薬学領域での基礎研究から疾病の診断まで全ての段階で必要な分析技術を探求する学問である。我々の研究室では、核磁気共鳴 (NMR) スペクトルを利用し尿中の代謝物を網羅的に計測してプロファイルを解析する NMR ユリノミクスに関する研究<sup>1)</sup>、院内製剤の安定性評価<sup>2)</sup>や医療安全のための除染法評価<sup>3,4)</sup>など医療現場での問題解決に関する研究、安定同位体 ( $^{13}\text{C}$  など) で標識した化合物を利用した分析法の研究などを行っている。著者は、研究の過程で得られる有機化合物の構造解析、基礎研究や診断で利用可能な有機化合物のデザインおよびそれらの化合物や他の分析に必要な標品を必要な規模で合成供給する手法の開発を主に担当している。

【 $^{13}\text{C}$  呼気試験について】

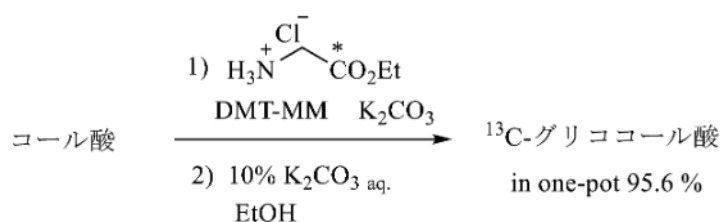
胃潰瘍の原因菌である *Helicobacter pylori* (ピロリ菌) は、生存のために尿素を酵素 (ウレアーゼ) でアンモニア ( $\text{NH}_3$ ) と二酸化炭素 ( $\text{CO}_2$ ) に分解し、生じた  $\text{NH}_3$  で胃酸 ( $\text{HCl}$ ) を中和する。この性質を利用して、炭素を  $^{13}\text{C}$  に置き換えた尿素を投与し、呼気中に排出される  $^{13}\text{CO}_2$  の濃度変化 ( $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$  比) を計測する  $^{13}\text{C}$ -尿素呼気試験がピロリ菌感染の診断法として実用化された。また、生体内の代謝経路にも  $\text{CO}_2$  を生じる段階は数多く存在するため、適切な  $^{13}\text{C}$  標識化合物をプローブとして選択すればピンポイントでその段階の代謝活性を測定することが可能になる。 $^{13}\text{C}$  呼気試験は、痛みを伴わずに検体が採集でき迅速に結果が得られる優れた診断法になる可能性があり、 $^{13}\text{C}$ -尿素呼気試験の成功により  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$  比測定装置が広く普及して環境が整ったことから、新たな  $^{13}\text{C}$  呼気試験法に関する開発研究の進展が期待されている。

【 $^{13}\text{C}$  呼気試験を利用した小腸内細菌異常増殖症 (SIBO) の診断に関する検討】

通常、腸内細菌は大腸から小腸下部で腸内フローラを形成しているが、SIBO ではそれらの細菌が過剰に増殖して小腸上部まで達し、体重減少、慢性的下痢、腹痛、吐気、腹部膨満等の症状が現れる。現在の診断法としては、小腸上部液の培養による方法、グルコースやラクツロースを投与し嫌気性発酵で呼気中に排出される水素やメタン濃度を測定する方法が用いられている。しかし、小腸上部液の採取は苦痛を伴ううえ判定にも時間がかかり、水素やメタン濃度の測定にはガスクロマトグラフィーなど特別な装置が必要であるため、SIBO の簡便な診断は難しいのが現状である。そこで、新たな診断法として  $^{13}\text{C}$ -グリココール酸呼気試験が検討されている。グリココール酸は、コール酸とグリシンがアミド結合した抱合型胆汁酸であり、肝臓で合成されて胆汁の主成分として分泌される。脂質の消化促進に利用された後、腸内細菌によりそのほとんどが脱抱合され、コール酸は再吸収されて肝臓に戻る (腸肝循環)。一方、グリシンは代謝によりカルボキシ基に由来する二酸化炭素を生じることから、グリシンの 1 位を  $^{13}\text{C}$  標識した  $^{13}\text{C}$ -グリココール酸を投与すれば、呼気中  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$  比の上昇から腸内細菌の存在が判定できる (図 1)。

図1  $^{13}\text{C}$ -グリココール酸の脱抱合による $^{13}\text{CO}_2$ の生成

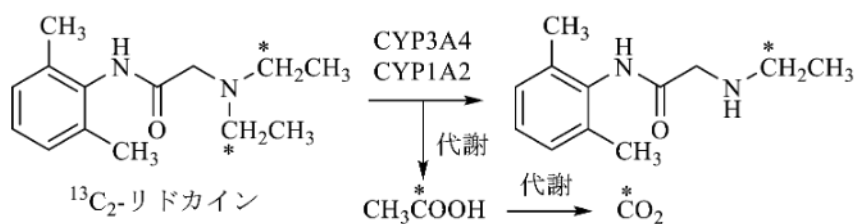
しかし、 $^{13}\text{C}$ -グリココール酸は非常に高価で、ヒトに投与する検討に必要な量を入手するのは困難であった。そこで我々は、比較的安価で入手容易な 1- $^{13}\text{C}$ -グリシンから短工程かつ高収率で  $^{13}\text{C}$ -グリココール酸を供給する方法を開発した (図2)<sup>5)</sup>。

図2  $^{13}\text{C}$ -グリココール酸のワンポット合成

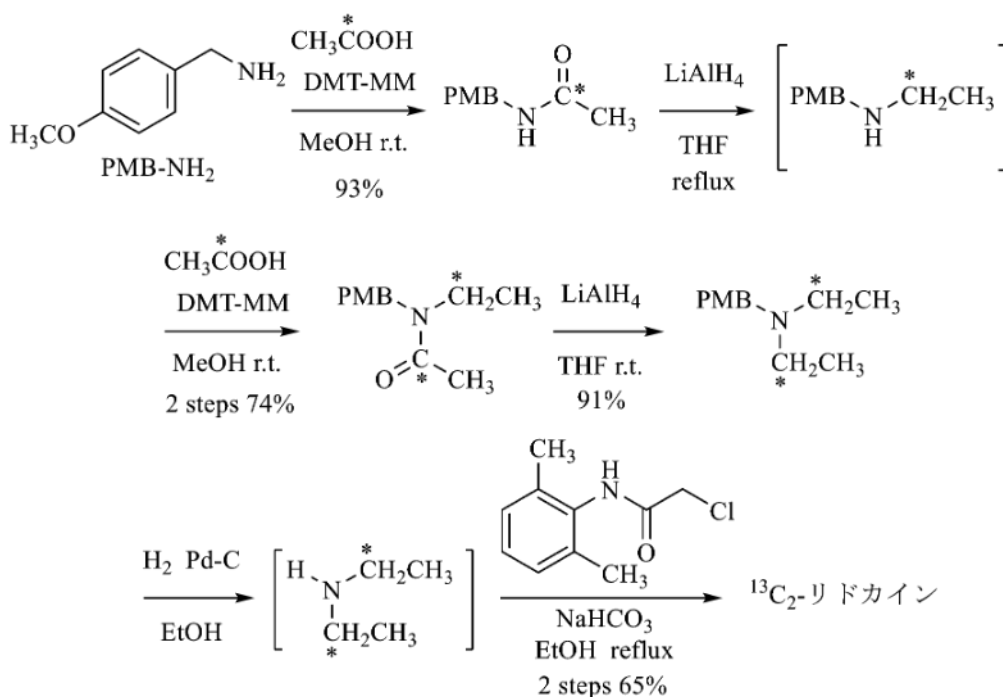
我々が合成した  $^{13}\text{C}$ -グリココール酸を用いた検討により、SIBO 患者では健常者よりも早いタイミングで  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$  比の上昇が観測されることが判明し<sup>6)</sup>、現在も引き続き SIBO の診断に向けた検討が進められている。

### 【 $^{13}\text{C}$ 呼気試験を利用した薬物代謝酵素の活性測定に関する検討】

薬物代謝酵素であるシトクロム P450 (CYPs) は、遺伝的な要因、医薬品や食品成分による阻害・誘導などの影響で発現量や活性に違いが生じることが知られている。CYPs のサブタイプのうち CYP3A4 は肝臓や小腸に多く発現しており、経口投与された薬物の初回通過効果に大きく関わっているため、簡便かつ迅速な活性試験の確立が求められている。エリスロマイシン (EM) は、CYP3A4 の代表的な基質であり、*N*-エチル基の酸化的除去に続く代謝で  $\text{CO}_2$  を生じることから  $^{13}\text{C}$ -EM を用いた呼気試験による CYP3A4 活性測定が検討された。しかし、EM は分子量が大きいため投与量が増えること、点滴による投与が必要なこと、抗生物質であるため耐性菌の出現を助長することなどの課題があった。リドカインは、CYP1A2 および 3A4 により EM と同様に *N*-エチル基が除去されて  $\text{CO}_2$  を生じ、また、経口投与での初回通過効果が高いことから、 $^{13}\text{C}_2$ -リドカインを新たなプローブとして利用できると考えた (図3)。

図3 CYPによる $^{13}\text{C}_2$ -リドカインの脱エチル化と $^{13}\text{CO}_2$ の生成

そこで我々は、 $^{13}\text{C}$ 源として安価な1- $^{13}\text{C}$ -酢酸を用いた $^{13}\text{C}_2$ -リドカインの合成供給法を開発した(図4)<sup>7)</sup>。

図4  $^{13}\text{C}$ -酢酸を $^{13}\text{C}$ 源として用いた $^{13}\text{C}_2$ -リドカインの合成

現在、合成した $^{13}\text{C}_2$ -リドカインを用いて薬物代謝能評価系への応用を目指した検討を行っている。

#### 【まとめ】

著者らは現在も継続して、生体内の代謝反応をターゲットとした $^{13}\text{C}$ 呼気試験に向けて利用可能なプローブ分子のデザインと効果的な合成法の開発を行っており、今後、それらの化合物を用いて新たな $^{13}\text{C}$ 呼気試験を検討していく予定である。また、薬学の基礎研究を行ううえで必要に関わらず、入手が困難な酵素基質や分析用標品などの合成も行っており、それらの利用により新たな知見を得て薬学や医療の発展に貢献していきたいと考えている。

【参考文献】

- 1) Akira K., Hichiya H., Morita M., Shimizu A., Mitome H. Metabonomic study on the biochemical response of spontaneously hypertensive rats to chronic taurine supplementation using <sup>1</sup>H NMR spectroscopic urinalysis. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **85**, 155-161 (2013).
- 2) Akira K., Nohara A., Utsunomiya Y., Mitome H., Watanabe S., Tanaka M., Tanaka A. Application of quantitative NMR spectroscopy to the quality evaluation of diclofenac gargles as hospital preparations. *Chem. Pharm. Bull.*, **69**(8), 721-726 (2021).
- 3) Kato G., Mitome H., Shigematsu S., Utsunomiya A., Shimasaki M., Sasaki Y., Maki T., Yamamoto H., Tanabe T., Funahashi, T., Hatae N., Hidaka N., Tanaka M., Akira K. Degradation and inactivation efficacy of ozone water for antineoplastic drugs in hospital settings. *J. Oncol. Pharm. Pract.*, **28**(8), 1781-1789 (2022).
- 4) Kato G., Mitome H., Teshima K., Tawa K., Hakuba Y., Tanabe T., Funahashi, T., Hatae N., Koike Y., Hasebe M., Hidaka N., Tanaka M., Akira K. Study on the use of ozone water as a chemical decontamination agent for antineoplastic drugs in clinical settings. *Ann. Work Expo. Health*, **67**(2), 241-251 (2023).
- 5) Mitome H., Tokumasu N., Tando Y., Nakamura T., Akira K. An efficient laboratory-scale preparative method for [1-<sup>13</sup>C]glycocholic acid. *J. Labelled Compd. Radiopharm.*, **56**(11), 587-588 (2013).
- 6) Yanagimachi S., Tando Y., Yanagimachi M., Matsumoto A., Hasegawa N., Akira K. Mitome H., Nakamura T. Development and clinical application of a <sup>13</sup>C-glycocholic acid breath test to diagnose bacterial overgrowth syndrome. *Antei Doitai to Seitai Gasu Igaku Oyo*, **4**(1), 18-30 (2012).
- 7) Mitome H., Sugiyama E., Sato H., Akira K. Synthesis of <sup>13</sup>C-lidocaine as a probe of breath test for the evaluation of cytochrome P450 activity. *Chem. Pharm. Bull.*, **62**(8), 806-809 (2014).



**選択的NK<sub>1</sub>受容体拮抗型制吐剤**  
 ホスネツピタント塩化物塩酸塩注射剤  
劇薬、処方箋医薬品 (注意—医師等の処方箋により使用すること)

**アロカリス® 点滴静注 235mg**  
**Arokaris. I.V. infusion**

薬価基準収載

効能又は効果、用法及び用量、禁忌を含む注意事項等情報は電子添文をご確認ください。

文献請求先及び問い合わせ先  
 大鵬薬品工業株式会社 提携先 **HELSINN** スイス  
 〒101-8444 東京都千代田区神田錦町1-27  
 TEL.0120-20-4527 <https://www.taiho.co.jp/>

製造販売元 **TAIHO**

2023年4月作成