

薬物とアルミニウム(Ⅲ)との錯生成判定のための簡易スクリーニング法

宮地加奈子,^a 中尾昌弘,^b 黒川 央,^b 富田真由,^b
神野伸一郎,^b 森山健三,^a 山口敬子,^b 藤田芳一^{*,b}

Simple Screening Method for Judging the Complex Formation between Drug and Aluminum (III)

Kanako MIYACHI,^a Masahiro NAKAO,^b Hisashi KUROKAWA,^b Mayu TOMIDA,^b
Shinichiro KAMINO,^b Kenzo MORIYAMA,^a Takako YAMAGUCHI,^b and Yoshikazu FUJITA^{*,b}

^aDepartment of Hospital Pharmacy School of Medicine, Kinki University, 377-2 Ohno-Higashi,
Osaka-Sayama 589-8511, Japan, and ^bOsaka University of Pharmaceutical Sciences,
4-20-1 Nasahara, Takatsuki, Osaka 569-1094, Japan

(Received August 10, 2009; Accepted September 15, 2009)

We examined a simple screening method for judging the complex formation between a drug and aluminum (III) on a spot plate. As few drug had color reaction by basing on the binary complex formation of drug-aluminum (III), the ternary complex formation of drug-aluminum (III)-dye was studied this time using 50 kinds of drugs. The dyes used were Chromazurol S and Erythrosin. As a result, in the drug that the complex formation with aluminum (III) was assumed, a remarkable coloration difference was recognized in comparison with the blank prepared under the same conditions. The proposed simple screening method should be very useful for judging instantly the complex formation between a drug and aluminum (III).

Key words—simple screening method; complex formation with aluminum (III); ternary complex formation; Chromazurol S; Erythrosin

緒 言

今日の医療現場では多剤併用療法であることが多いが、この場合必然的に薬物の相互作用が発現し薬物治療に多大な影響を与えるので、その相互作用を回避することは治療上重要な条件となる。薬物相互作用の回避は、一般に医薬品添付文章中の情報を手がかりとするが、添付文章中の相互作用に関する情報はかならずしも十分ではなく、その詳細については未記載のものが多い。また近年、セルフケアやセルフメディケーションの高揚により摂取する機会が非常に多くなってきたビタミン剤、鉄剤、亜鉛等の栄養補助食品のような健康食品関連物質も多く、われわれの日常における多種多様な飲食物と薬物との相互作用^{1,2)}についても十分検討されていないのが現状である。現在、薬物と金属イオンの相互作用については、薬物が、鉄、亜鉛、マグネシウム、カル

シウム、アルミニウム等の金属イオンと錯生成し、消化管内で不溶性あるいは可溶性の塩となり薬物の体内への吸収量に変化し、薬物治療の妨害や金属過剰症のような弊害として一般的に知られている。¹⁻³⁾ これら種々の金属のうち、アルミニウムはアルミ缶やアルミ製の食器等のアルミ製品を始め、ミョウバンのような食品添加物、スクラルファート、アルジオキサ、乾燥水酸化アルミニウムゲル等のような胃腸薬、アスピリンアルミニウム等の抗炎症薬を始め種々の医薬品製剤の成分として含まれ、非常に多用されている金属である。さらに、临床上においてはアルミニウムを含有している市販の胃腸薬を健康人に長期連用することが禁忌になったこと、⁴⁾ 脳梗塞患者に対する低用量アスピリン製剤の長期連用によるアルツハイマー病のリスクが高まるという報告など、アルミニウムを過度に摂取することによる脳症や骨症等のアルミニウム蓄積症が多くの方面で議論されている⁵⁻¹⁰⁾にもかかわらず、鉄と薬物との相互作用に関する研究¹¹⁾等に比べて、その報告例、並び

^a近畿大学医学部附属病院薬剤部, ^b大阪薬科大学

*e-mail: fujitay@gly.oups.ac.jp

に添付文章中のアルミニウムに関する記載例は少ない。したがって、アルミニウム(Ⅲ)と薬物の相互作用を探索することは医療現場において非常に重要な課題である。アルミニウム(Ⅲ)と薬物の錯生成を簡便に検出する方法としては、色調差を観察する目視法が優れていると考えられるが、アルミニウム(Ⅲ)と薬物の二者間の反応で呈色するものは極めて少ない。

当研究室では従来より、色素、金属イオン及び被分析物質の三者間で生成する三元錯体生成反応を利用する薬物及び生体関連化合物の吸光光度定量法を開発¹¹⁻¹⁵⁾しているが、本三元錯体利用法は、簡便性、再現性、感度、選択性、ブランクとの呈色差などの面で優れていることを認めているが、金属イオンとしてアルミニウム(Ⅲ)を用いたものとして、アルミニウム(Ⅲ)と9-(2'-カルボキシ)-4,5-ジブromo-2,3,7-トリヒドロキシ-6-フルオロン¹⁶⁾を用いるβ-フェニルピリビン酸、アルミニウム(Ⅲ)とクロムアズロールSを用いるアンストラサイクリン系抗がん剤¹⁷⁾及びアルミニウム(Ⅲ)とエリスロシンを用いるキノロン系抗菌剤¹⁸⁾の吸光光度分析法を報告している。今回、これらの方法のうち、市販色素を用いた後二者を選び、アルミニウム(Ⅲ)と薬物の錯生成判定の簡易スクリーニング法の確立を目的として検討した。なお、日本薬局方で微量アルミニウム試験法¹⁹⁾に記載されている8-キノリノールあるいはルモガリオンのような有機試薬では、三元錯体生成による呈色差は認められなかった。

実 験

以下の実験において、クロムアズロールSをCAS, CASを用いる方法をCAS法, エリスロシンをERY, ERYを用いる方法をERY法, 並びにアルミニウム(Ⅲ)をAl(Ⅲ)と記載する。

1. 試薬と装置

1-1. CAS法

緩衝液：0.4 M 酢酸/酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 6.4) を調製して用いた。

界面活性剤：Brij 78 の1.0%水溶液を調製して使用した。

CAS溶液：クロムアズロールS (CAS, 和光純薬工業株式会社製) の 1.0×10^{-3} M水溶液を調製して用いた。

1-2. ERY法

緩衝液：0.2 M 酢酸/酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 5.4) を調製して用いた。

界面活性剤：メチルセルロース (MC, 350-550 cps) の0.25%水溶液を調製して使用した。

ERY溶液：エリスロシン (ERY, 和光純薬工業株式会社製) の 1.0×10^{-3} M水溶液を調製して用いた。

また、以下の項目は両法に共通である。

薬物標準液：すべての薬物 (3. に記載) は、 5.0×10^{-2} M溶液として調製し、直後、冷暗所に保存し、適宜希釈して使用した。

Al(Ⅲ)溶液：アルミニウム標準液 (和光純薬工業株式会社製) を、 1.0×10^{-3} Mに希釈して使用した。

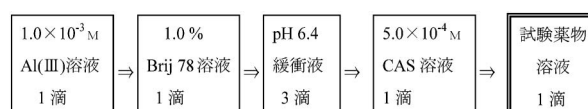
なお、使用した試薬はいずれも試薬特級品を精製せずそのまま用いた。溶液の調製、実験及び器具の洗浄には、Milli-Q水を用いた。

また、pHの測定には堀場製F-51型複合ガラス電極pHメーターを用いた。

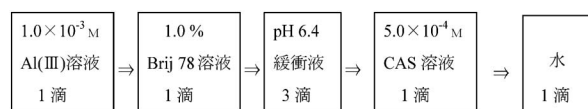
2. 標準操作

2-1. CAS法 矢印の順に従って溶液を添加、混合した後、両液の呈色差 (Blank溶液→赤紫色, Sample溶液→青色) を目視し比較した。

[Sample溶液]

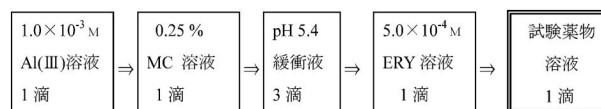


[Blank溶液]

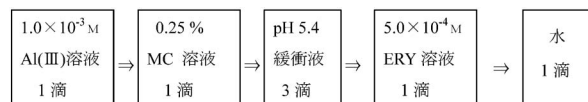


2-2. ERY法 矢印の順に従って溶液を添加、混合した後、両液の呈色差 (Blank溶液→淡橙赤色, Sample溶液→赤色) を目視し比較した。

[Sample溶液]



[Blank溶液]



白色滴板上に、調製した試薬溶液を用いて CAS 法、ERY 法についてそれぞれ Sample 溶液、Blank 溶液を調製した。滴加した溶液は、すべて 2 ml の駒込ピペットを使用し、その 1 滴は約 70 μ l である。試薬溶液を滴加量よく混合した後に 2 ml の駒込ピペットを使用し試験薬物溶液を 1 滴 (約 70 μ l) 加えた。

判別には試験液混合直後、また時間の経過による呈色の確認のために 15 分後、30 分後と合計 3 回にわたり混合した Sample 液と薬物のみを除いて同様に調製した Blank 液の色調を肉眼で観察し、その色調変化を A-D の 4 段階のグレードに分類した。Blank 液との色調差が観察される薬物については、マイクロピペットを用いて試験薬物溶液の滴加量から各々の確認限界量 (μ g) を示した。また、Al(III) を除いた {薬物-色素} 間における錯体生成による色調変化の有無も同時に精査した。

グレード A : 混合直後に顕著な色調差を確認できたもの

グレード B : 色調変化の微弱なもの

グレード C : 薬物と色素が直接反応し色調変化したもの

グレード D : 色調変化が全く認められなかったもの

3. CAS 法及び ERY 法における被験薬物

Al(III) との錯生成の判別に用いた薬物は次の通りである。

アスピリン、アザチオプリン、アスコルビン酸、アモキシシリン、アロプリノール、イブプロフェン、エチルコハク酸エリスロマイシン、塩酸アミトリプチリン、塩酸イソプロテレノール、塩酸イミプラミン、塩酸クロチアゼパム、塩酸クロルプロマジン、塩酸ジブカイン、塩酸ダウノルピシン、塩酸チアミン、塩酸パパベリン、塩酸バンコマイシン、塩酸ヒドララジン、塩酸ピロカルピン、塩酸ピリドキシリン、塩酸プロカインアミド、塩酸プロプラノロール、塩酸ミノサイクリン、オフロキサシン、カプトプリル、サラゾスルファピリジン、サリチル酸、シアノコバラミン、臭化水素酸デキストロメトルファン、スルファメトキサゾール、セフォペラゾンナトリウム、テオフィリン、トルブタミド、ノスカピン、ノルアドレナリン、バルビタール、ファモチジン、フマル酸ケトチフェン、フルフェナジン、ペニ

シラミン、マレイン酸エルゴメトリン、メサラジン、メトトレキサート、葉酸、酪酸リボフラビン、リファンピシン、硫酸キニーネ、硫酸ストレプトマイシン、レセルピン、レボドパ。

実験結果

1. CAS 法の検討

1-1. 白色滴板上での呈色反応条件の検討 予備的検討として、文献値を参考に pH 6.4 付近における、Al(III)、CAS、テトラサイクリン系抗生物質のミノサイクリン (MYC) の三者間における三元錯体生成による白色滴版上での呈色反応の有無を確認した。方法としては、 1.0×10^{-3} M の CAS 溶液、 1.0×10^{-3} M Al(III) 溶液、1.0% Brij 78 溶液、0.4 M 酢酸/酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 6.4, 最適 pH 6.3-6.6)、 1.0×10^{-3} M の MYC 溶液をそれぞれ 2 ml の駒込ピペットを用いて 1 滴ずつ滴板上に滴加し、よく混合した Sample 溶液に対して、MYC を除いた Blank 溶液を対照にその色調差を観察した。その結果、Al(III)、色素混合溶液に MYC を滴加した際、瞬時に呈色反応を示し、Blank 溶液と Sample 溶液の間に色調差が現れることを確認したので、次に、Al(III) 濃度、界面活性剤の有無、CAS 濃度、緩衝液の量等を詳細に検討した。まず界面活性剤の有無を検討したところ、界面活性剤を有する方が Sample 溶液と Blank 溶液の間に顕著な色調差が認められたので、以後の実験では界面活性剤として、1.0% Brij 78 溶液を 1 滴加えることとした。次に、緩衝液の量についても検討したところ、3 滴加えたときに最も顕著な呈色体を生成した。Al(III) 濃度について、 1.0×10^{-3} M、 2.0×10^{-3} M、 3.0×10^{-3} M、 4.0×10^{-3} M 溶液の各濃度において検討したが、どの濃度においても同様の呈色反応を示したので、 1.0×10^{-3} M 溶液を 1 滴加えることとした。最後に CAS の濃度について 1.0×10^{-3} M、 5.0×10^{-4} M、 1.0×10^{-4} M の各 CAS 濃度であり、それぞれ 1 滴加えたときの色調差を観察した。その結果、 5.0×10^{-4} M 溶液を 1 滴用いたとき、その色調差が最も顕著であったので、以後の操作においては、 5.0×10^{-4} M CAS 溶液を 1 滴用いることとした。

1-2. 試薬添加順序の影響と安定性 試薬の添加順序の変更による呈色反応への影響を検討したが、特に色調差の違いは認められなかった。また、

CAS と {MYC-Al(III)} 錯体との呈色反応は室温において瞬時に起こるが、2時間以上室温で放置するとき、水分の蒸発に伴う試薬の濃縮により呈色反応の確認が困難になった。したがって、薬物溶液滴加直後、15分後、30分後での色調差を観察した。

1-3. CAS 法における白色滴板上での呈色反応
「実験」2. の標準操作に準じて、薬物として MYC を用いたときの色調差を確認したところ、Fig. 1 の a)–d) に示すような結果を観察することができた。a) は {Al(III)+CAS} 溶液であり、 1.0×10^{-3} M Al(III) 溶液、1.0% Brij 78 溶液、をそれぞれ 1 滴、0.4 M 酢酸/酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 6.4) を 3 滴、それに 1.0×10^{-3} M の CAS 溶液 1 滴及び水を滴板上でよく混合して得た Blank 溶液である。b) は {MYC+Al(III)+CAS} 溶液であり、 1.0×10^{-3} M Al(III) 溶液、1.0% Brij 78 溶液、をそれぞれ 1 滴、0.4 M 酢酸/酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 6.4, 最適 pH 4.8–5.7) を 3 滴、次に 1.0×10^{-3} M の CAS 溶液 1 滴を滴板上でよく混合し、そこに試験薬物である 5.0×10^{-2} M の MYC 溶液 1 滴を滴加した Sample 溶液である。c) は色素と薬物で直接反応がないことを確認するための確認溶液で {薬物+CAS} 混合溶液で、1.0% Brij 78 溶液 1 滴、

0.4 M 酢酸/酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 6.4) 緩衝液を 3 滴、それに 1.0×10^{-3} M の CAS 溶液 1 滴及び水を滴板上でよく混合し、そこに試験薬物を添加したものである。最後に、対照として、同量の CAS 溶液と 0.4 M 酢酸/酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 6.4) と界面活性剤である 1.0% Brij 78 溶液及び水の混合溶液の図を d) に示す。

1-4. 各種医薬品との呈色反応 種々の反応条件の検討結果より「実験」2. の標準操作を設定し、それに従って簡易スクリーニングを行った。簡易スクリーニングに用いた薬物は、医薬品添付文章中で金属とのキレート形成による相互作用発現の可能性が示唆されているか、若しくは記載がなくとも、その構造から Al(III) とのキレート形成を起こす可能性があると考えられるものである。その判別方法は「実験」2. に記載した通り、混合直後に顕著な色調差を確認できたものをグレード A、色調変化の微弱なものをグレード B、薬物と色素が直接反応し呈色したものをグレード C、色調差が認められなかったものをグレード D の 4 段階で判定し、またグレード A と B の薬物については、その色調差が目視で確認できる限界量をマイクログラムであわせて表記し、グレード C と D については一括してその薬物名を記載した (Table 1)。

2. ERY 法の検討

2-1. 白色滴板上での呈色反応条件の検討 CAS 法を参考に、 1.0×10^{-3} M の ERY 溶液、 4.0×10^{-3} M Al(III) 溶液、0.2 M 酢酸/酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 5.4)、 1.0×10^{-3} M オフロキサシン (OFX) 溶液をそれぞれ 2 ml の駒込ピペットを用いて 1 滴ずつ滴板上に添加し、よく混合した Sample 溶液と、OFX を除いて調製した試薬ブランク溶液、Al(III) を除いた ERY と OFX の混合溶液を対照にその呈色反応を観察した。その結果、Al(III)、色素混合溶液では、OFX を滴加した際、瞬時に呈色反応するが、Al(III) を除いた色素溶液では色素と薬物間の反応は起こらず、試薬ブランク溶液と同様の色調であった。このことより、滴板上ではまず Al(III) と OFX が反応し、その後色素と錯生成することで呈色反応が生じていると考えられる。この結果に基づき、CAS 法と同様に反応条件を詳細に検討した結果、 1.0×10^{-3} M の Al(III) 溶液 1 滴、0.25% MC 溶液を 1 滴、0.2 M 酢酸/酢酸ナトリウム緩衝液

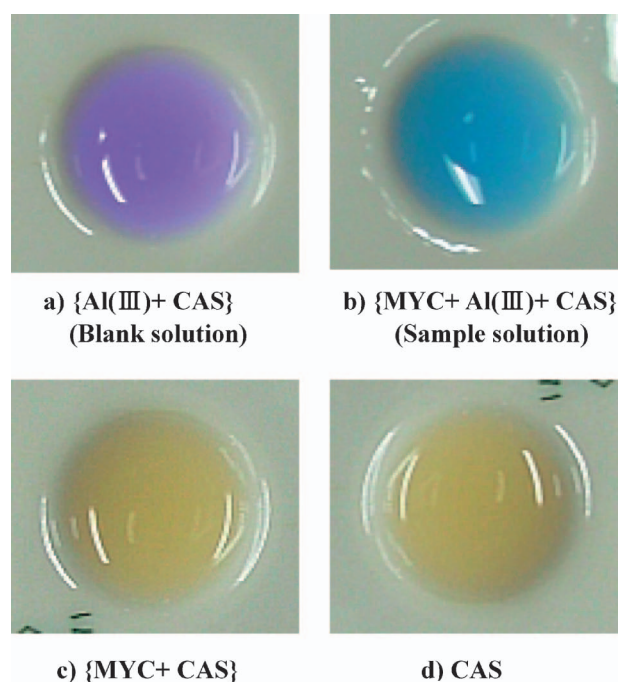


Fig. 1. Color Reaction on White Spot Plate

a) Al(III)-CAS solution (Blank solution); b) MYC-Al(III)-CAS solution (Sample solution); c) MYC-CAS solution; d) CAS solution.

Table 1. Grade of Color Reaction after Mixing Drug, Al (III) and CAS Solutions

Grade A {Drug, Detection Limit (μg)}
Ofloxacin (1.8), Chlorpromazine (1.8), Minocycline (2.5), Daunorubicin (2.8), Fluphenazine (3.3), Salazosulfapyridine (4.0), Imipramine (7.9), Dibucaine (9.5), Propranolol (14.8), Amitriptyline (15.7), Ergometrine (22.1), Streptomycin (36.4), Quinine (39.1), Hydralazine (49.1), Pyridoxine (77.1)
Grade B {Drug, Detection Limit (μg)}
Methotrexate (113.6), Amoxicillin (209.8), Cefoperazone (333.9), Thiamine (409.2), Folic acid (1102.5)
Grade C
Reserpine, Papaverine, Levodopa, Noradrenaline, Ketotifen, Cyanocobalamin, Vancomycin
Grade D
Erythromycin, Rifampicin, Azathioprine, Tolbutamide, Isopterenol, Penicillamine, Captopril, Riboflavin, Clotiazepam, Noscapine, Dextromethorphan, Ibuprofen, Mesalazine, Sulfamethoxazole, Procainamide, Barbitol, Salicylic acid, Aspirin, Theophylline, Famotidine, Allopurinol, Pilocarpine, Ascorbic acid

(pH 5.4) を 1 滴, $1.0 \times 10^{-3} \text{ M}$ の ERY 溶液を 1 滴, 試験薬物溶液を 1 滴加えたものを Sample 溶液とし, 試験薬物溶液を除いて同様に調製して得た Blank 溶液を対照としてその色調差を確認することとした。

2-2. 試薬添加順序の影響と安定性 試薬の添加順序の変更による呈色反応への影響を検討したが, 特に色調差の違いは認められなかった。また, ERY と OFX-Al(III) 錯体との呈色反応は室温において瞬時に起こるが, 2 時間以上室温で放置するとき, 水分の蒸発に伴う試薬の濃縮により呈色反応の確認が困難になった。したがって, 薬物溶液滴下直後, 15 分後, 30 分後での色調差を観察した。

2-3. ERY 法における白色滴板上での呈色反応

「実験」2. の標準操作に準じて, 薬物として OFX を用いたときの色調差を確認したところ, Fig. 2 の a)-d) に示す結果を観察することができた。

a) は {Al(III)+ERY} 溶液であり, $1.0 \times 10^{-3} \text{ M}$ の Al(III) 溶液, 0.25% MC 溶液, をそれぞれ 1 滴, 0.2 M 酢酸/酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 5.4) 緩衝液を 3 滴, それに $1.0 \times 10^{-3} \text{ M}$ の ERY 溶液 1 滴及び水を滴板上でよく混合して得た Blank 溶液であ

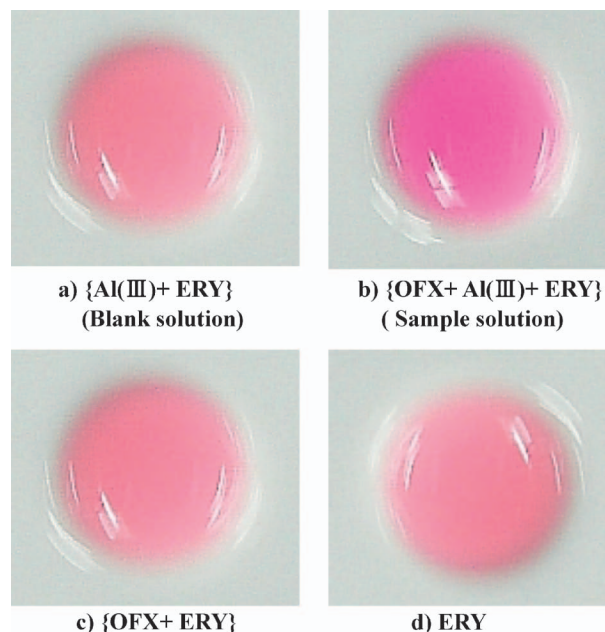


Fig. 2. Color Reaction on White Spot Plate

a) Al(III)-ERY solution (Blank solution); b) OFX-Al(III)-ERY solution (Sample solution); c) OFX-ERY solution; d) ERY solution.

る。b) は {OFX + Al(III) + ERY} 溶液であり, $1.0 \times 10^{-3} \text{ M}$ の Al(III) 溶液, 0.25% MC 溶液をそれぞれ 1 滴, 0.2 M 酢酸/酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 5.4) 緩衝液を 3 滴, それに $1.0 \times 10^{-3} \text{ M}$ の ERY 溶液 1 滴を滴板上でよく混合し, そこに試験薬物を滴加した Sample 溶液である。c) は色素と薬物が直接反応ないことを確認するための確認溶液で {OFX+ERY} 混合溶液で, 0.25% MC 溶液 1 滴, 0.2 M 酢酸/酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 5.4) を 3 滴, それに $1.0 \times 10^{-3} \text{ M}$ の ERY 溶液 1 滴及び水を滴板上でよく混合し, そこに試験薬物を滴加したものである。最後に対照として, 同量の ERY と 0.2 M 酢酸/酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 5.4) と界面活性剤である 0.25% MC 溶液の混合溶液の色調の図を d) に示す。

2-4. 各種医薬品との呈色反応 種々の反応条件の検討結果より「実験」2. の標準操作を設定し, それに従って簡易スクリーニングを行った。簡易スクリーニングに用いた薬物は「実験」3. に示した。これらの薬物は, 医薬品添付文章中で金属とのキレート形成による相互作用発現の可能性が示唆されているか, 若しくは記載がなくとも, その構造から Al(III) とのキレート形成を起こす可能性があると考えられるものである。その判別方法は「実験」2.

に記載した通り、混合直後に顕著な色調差を確認できたものをグレード A、色調変化の微弱なものをグレード B、薬物と色素が直接反応し呈色したものをグレード C、呈色反応が認められなかったものをグレード D と、4 段階で判定した。またグレード A と B の薬物については、その色調差が目視で確認できる限界量をマイクログラムであわせて表記し、グレード C、D の薬物についてはそれぞれ一括して記載する (Table 2)。

3. {薬物-アルミニウム(III)} 錯体の吸収スペクトル

CAS 法、ERY 法ともに顕著な色調差を示した OFX, MYC, ダウノルピシン (DAU), ピリドキシン (PYD), 並びに両法において色調差の認められなかったファモチジン (FTD) について、薬物と Al(III) の混液と、薬物だけの吸収スペクトルを測定することにより、本簡易スクリーニング法の有効性を検討した。その結果、Al(III) と錯体を生成していると推定される薬物では、顕著な吸収スペクトル変化が認められ、簡易スクリーニング法での陽性判定と一致する良好な相関関係がみられた。また、色調差が全くみられず陰性と判定された FTD

Table 2. Grade of Color Reaction after Mixing Drug, Al (III) and ERY Solutions

Grade A {Drug, Detection Limit (μg)}
Ofloxacin (1.8), Minocycline (2.5), Daunorubicin (2.8), Pyridoxine (10.4), Methotrexate (13.6), Salazosulapyridine (19.9), Ergometrine (22.1)
Grade B {Drug, Detection Limit (μg)}
Cyanocobalamin, Amoxicillin (104.9), Thaimine (163.7), Cefoperazone (166.9), Folic acid (1102.5)
Grade C
Chlorpromazine, Reserpine, Papaverine, Vancomycin, Imipramine, Dibucaine, Amitriptyline, Propranolol, Hydralazine, Quinine, Ketotifen, Fluphenazine
Grade D
Streptomycin, Erythromycin, Rifampicin, Levodopa, Noradrenaline, Isoproterenol, Penicillamine, Captopril, Riboflavin, Clotiazepam, Noscipine, Dextromethorphan, Ibuprofen, Mesalazine, Sulfamethoxazole, Procainamide, Barbitol, Salicylic acid, Aspirin, Theophylline, Famotidine, Allopurinol, Pilocarpine, Azathioprine, Ascorbic acid, Tolbutamide

では、吸収スペクトルの変化は全くみられなかった。これらの結果を Figs. 3-7 に示す。

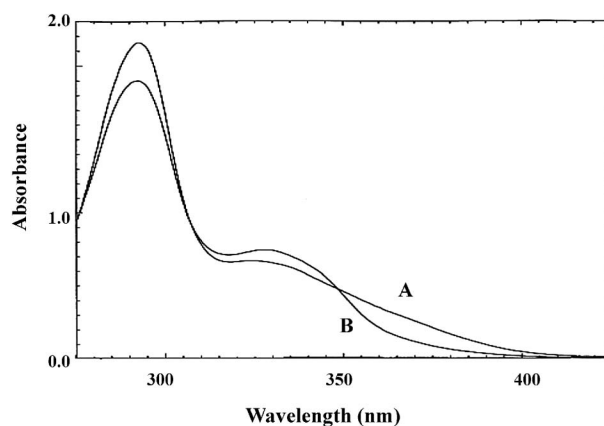


Fig. 3. Absorption Spectra of {OFX-Al(III)} and OFX solutions

OFX: 1.0×10^{-4} M; Al(III): 1.0×10^{-4} M; MC: 0.025%; pH: 5.4; Curve A: {OFX-Al(III)} solution; Curve B: OFX solution.

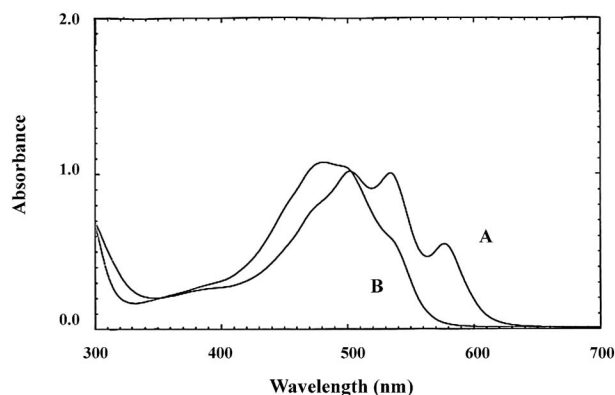


Fig. 4. Absorption Spectra of {DAU-Al(III)} and DAU Solutions

DAU: 1.0×10^{-4} M; Al(III): 1.0×10^{-4} M; MC: 0.025%; pH: 5.4; Curve A: {DAU-Al(III)} solution; Curve B: DAU solution.

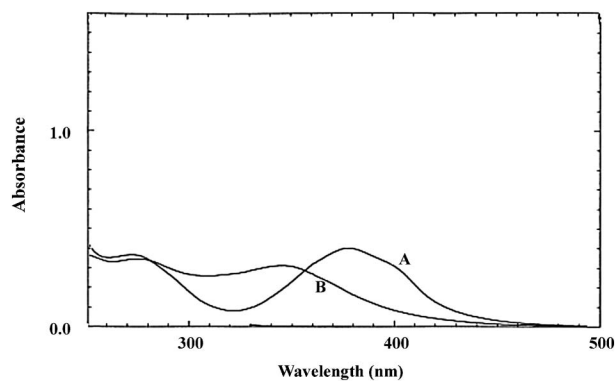


Fig. 5. Absorption Spectra of {MYC-Al(III)} and MYC Solutions

MYC: 1.0×10^{-4} M; Al(III): 1.0×10^{-4} M; MC: 0.025%; pH: 5.4; Curve A: {MYC-Al(III)} solution; Curve B: MYC solution.

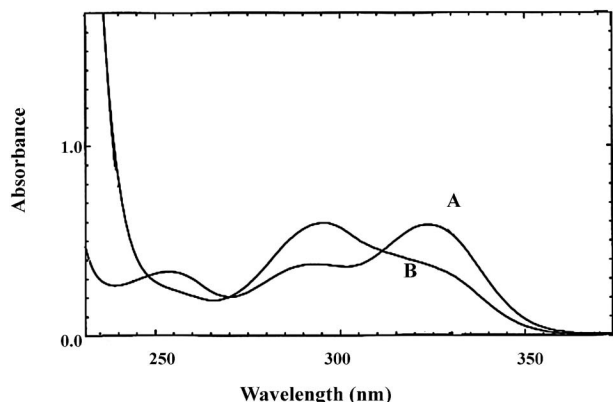


Fig. 6. Absorption Spectra of {PYD-Al(III)} and PYD Solutions
 PYD: 1.0×10^{-4} M; Al(III): 1.0×10^{-4} M; MC: 0.025%; pH: 5.4; Curve A: {PYD-Al(III)} solution; Curve B: PYD solution.

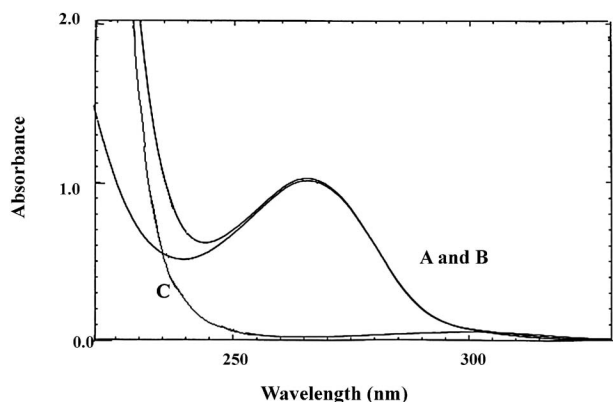


Fig. 7. Absorption Spectra of {FTD-Al(III)} and FTD Solutions
 FTD: 1.0×10^{-4} M; Al(III): 1.0×10^{-4} M; MC: 0.025%; pH: 5.4; Curve A: {FTD-Al(III)} solution; Curve B: FTD solution; Curve C: Al(III) solution.

結果と考察

CAS 法による Table 1 及び ERY 法による Table 2 の結果を薬物毎に Table 3 にまとめるが、両法とも薬物と同モル濃度の鉄(III)、銅(II)、カルシウム(II)、クエン酸イオンなどの共存の影響は全くみられなかった。グレード A と B を陽性とした場合、CAS 法の場合、50 種中 20 種が、ERY 法を用いた場合では 50 種中 12 種で陽性と判定された。また、両法で陽性と判断されたのは 11 種であった。このうち、医薬品添付文書中、アルミニウムと相互作用し、併用が注意されている薬物はオフロキサシンとミノサイクリンの 2 種のみであった。陽性と判断された薬物の構造の類似性を検索すると、互いに近接

Table 3. Summary of Color Reactions of Drugs Tested by CAS and ERY Methods

Drug	CAS ERY		Drug	CAS ERY	
	Grade	Grade		Grade	Grade
Ofloxacin	A	A	Minocycline	A	A
Daunorubicin	A	A	Salazosulfapyridine	A	A
Ergometrine	A	A	Pyridoxine	A	A
Methotrexate	B	A	Amoxicillin	B	B
Cefoperazone	B	B	Thaimine	B	B
Amitriptyline	A	C	Folic acid	B	B
Chlorpromazine	A	C	Imipramine	A	C
Fluphenazine	A	C	Hydralazine	A	C
Quinine	A	C	Propranolol	A	C
Streptomycin	A	D	Dibucaine	A	C
Cyanocobalamin	C	B	Ketotifen	C	C
Vancomycin	C	C	Papaverine	C	C
Reserpine	C	C	Noradrenaline	C	D
Levodopa	C	D	Aspirin	D	D
Ascorbic acid	D	D	Azathioprine	D	D
Isoproterenol	D	D	Ibuprofen	D	D
Procainamide	D	D	Pilocarpine	D	D
Salicylic acid	D	D	Captopril	D	D
Dextromethorphan	D	D	Sulfamethoxazole	D	D
Theophylline	D	D	Clotiazepam	D	D
Noscapine	D	D	Tolbutamide	D	D
Penicillamine	D	D	Barbital	D	D
Allopurinol	D	D	Mesalazine	D	D
Famotidine	D	D	Erythromycin	D	D
Riboflavin	D	D	Rifampicin	D	D

するカルボキシル基、水酸基などの酸素原子含有官能基、あるいは酸素原子含有官能基とそれと近接するアミノ基などの窒素原子含有官能基を持つ薬物が多いことがわかった。すなわち Al(III)は、(O, O) 配位又は (O, N) 配位によって薬物と錯生成しているものと考えられる。一方、ERY 法で陰性を呈し、CAS 法で陽性を示した薬物は、CAS と直接反応し、(薬物-CAS) 型のイオン会合体を生成することにより CAS との色調差となってあらわれたものと推定された。したがって、Al(III)と薬物との錯生成から考えると擬陽性と判断できるので、Al(III)との錯生成を推測する場合、CAS 法より ERY 法が優れていると判断できる。しかしながら、CAS 法の方がサンプルとブランクとの呈色差がより鮮明なこと、さらには擬陽性薬物も多剤併用療法時や生体内のような多成分反応系においては、{対象薬物-[Al(III)-他成分]} 型の三元錯体が生成す

る可能性も十分考えられる。また、Dと判定された薬物の中には、色素と薬物のAl(III)に対する競合反応の結果、色素-Al(III)呈色錯体の退色を伴う薬物が含まれる可能性があるが、これについては今後検討する必要がある。

次に、CAS法及びERY法において両スクリーニング試験において陽性と判定された薬物及び陰性と判定された2,3の薬物と薬物-Al(III)の吸収スペクトルを測定したところ、陽性と判定された薬物では、Al(III)共存下では、顕著な吸収極大波長のシフトが認められたが、陰性の薬物ではこのようなスペクトルの変化は認められず、吸収スペクトルで得られた結果と簡易スクリーニング法での結果はよく一致した。また、Al(III)と薬物が錯生成することによるこのようなスペクトルの変化は、ダウノリピシン以外は紫外領域におけるものが多く、肉眼による色調変化として確認できるものはほとんどなかった。

今回提案した薬物、Al(III)及び色素の三元錯体生成反応を利用する簡易スクリーニング法は、従来では容易に目視できなかつたAl(III)錯体の生成を、目視によって瞬時に判別することができ、非常に有効な方法であると考えられる。さらに、本呈色反応系、すなわち三元錯体生成反応系は、これまでに確認されていなかったAl(III)を始めとする金属イオンと薬物あるいは生体関連化合物との錯生成、薬物の薬効への影響、あるいは薬物相互作用などを推察するための1つのツールに十分なり得ると考えられる。

REFERENCES

- 1) Koizumi H., Arashi Y., "Inshokubutsu Shikouhin to Iyakuhin no Sougosayou," 3rd ed., Yakujijihousha, Tokyo, 1998.
- 2) Ohnishi N., "Iyakuhin to Inshokubutsu Supplement no Sougosayou to Management," Fuji Medical Publishing, Osaka, 2003.
- 3) Sugiyama M., "Kusuri no Sougosayou to Shikumi," 7th ed., Ishiyaku Publishers, Inc., Tokyo, 2005.
- 4) Ministry of Health, Labour and Welfare, "Pharmaceuticals and Medical Devices Safety Information," No. 179, 2002.
- 5) McLachlan D. R., *Neurobiol. Aging*, **7**, 525-532 (1986).
- 6) Kawahara M., *J. Alzheimers Dis.*, **8**, 209-215 (2005).
- 7) Gupta V. D., Antha S., Hegde M. L., Zecca L., Garruto R. M., Ravid R., Shankar S. K., Stein R., Shanmugavelu P., Jaganna Rao K. S., *Cell. Mol. Life Sci.*, **62**, 143-151 (2005).
- 8) Hardy J., *Neuron*, **52**, 3-13 (2006).
- 9) Domingo J. L., *J. Alzheimers Dis.*, **10**, 331-341 (2006).
- 10) Shcherbatykh I., Carpenter D. O., *J. Alzheimers Dis.*, **11**, 191-205 (2007).
- 11) Sunagane N., Yoshinobu E., Murayama N., Terawaki N., Kamimura N., Uruno T., *Yakugaku Zasshi*, **125**, 197-203 (2005).
- 12) Yamaguchi T., Murase H., Mori I., Fujita Y., *Bunseki Kagaku*, **50**, 563-566 (2001).
- 13) Fujita Y., Mori I., Matsuo T., Hoshino M., Shigemura Y., Shimano M., *Anal. Sci.*, **17**, 853-857 (2001).
- 14) Yamazaki C., Suzaki N., Nakao M., Kamino S., Yamaguchi T., Fujita Y., *Bunseki Kagaku*, **55**, 733-737 (2006).
- 15) Yamazaki C., Tominaga H., Samma M., Isono R., Kamino S., Yamaguchi T., Fujita Y., *Bunseki Kagaku*, **56**, 879-884 (2007).
- 16) Fujita Y., Mori I., Kitano S., Koshiyama Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 242-248 (1985).
- 17) Nakao M., Yamazaki C., Tominaga H., Yamaguchi T., Fujita Y., *Anal. Sci.*, **22**, 313-316 (2006).
- 18) Yamaguchi T., Nakao M., Nakahara R., Nishioka Y., Ikeda C., Fujita Y., *Anal. Sci.*, **25**, 125-128 (2009).
- 19) "Commentary on the Japanese Pharmacopoeia," 15th ed., F-199, Hirokawa Shoten Ltd., Tokyo, 2006.