

機械学習による高速液体クロマトグラフィーの保持時間予測

高速液体クロマトグラフィーの保持時間の予測は、チャレンジングな課題である。これは、試料、固定相、移動相間の相互作用が単一ではなく、複数の相互作用から成り立っているからである。汎用的なシリカ系の C18 固定相の主な相互作用は、疎水性相互作用である。しかし、その表面にわずかに存在する酸性の官能基であるシラノール基と異なる相互作用が働く。中性からアルカリ性の移動相において、陽イオン交換能が生じ、酸性の移動相においては、水素結合が生じる。これにより、保持の遅延が生じる場合がある。さらに、C18 の官能基密度、基材シリカの比表面積や細孔径により保持は大きく異なる。つまり、同じ C18 カラムでもブランドやメーカーが異なれば、保持時間の予測は困難である。

Choi¹⁾らは、液体クロマトグラフィー質量分析法 (LC/MS) により試料をダンシルクロリドで誘導体化したダンシル化合物の保持時間予測モデルを開発した。化合物の誘導体化により、C18 カラムとダンシル基との疎水性相互作用の影響が相対的に大きくなる。これにより、保持時間の予測精度を高めた。このベースとなるのは、315 種のダンシル化合物を分析し、得られた保持時間と分子記述子計算ソフトウェアである mordred²⁾ から算出された記述子である。保持時間を用いて記述子を 1613 から 58 に絞り込み、機械学習モデルを構築した。さらに、LC/MS の精密質量を利用することで、未知化合物の同定を強力にサポートした。これらにより、ダンシル化合物の保持時間を予測するためのグラフィカルユーザーインターフェース (GUI) を備えたスタンドアロンのソフトウェアを開発することに成功した。この保持時間予測モデルは、使いやすい GUI に組み込まれており、精密質量とともに未知の保持時間を持つターゲットのダンシル化代謝物の識別に使用することができる。開発したソフトウェアが健康な妊娠女性の尿サンプルから薬物の代謝物を識別するのに役立つことが示された。

このような機械学習の技術による保持予測は、複雑なデータセットを処理し、ほとんどのクロマトグラフィー技術で化合物の同定と分離という重要なタスクを容易にする能力であり、今後も指数関数的に成長する。

- 1) E. Choi, W. J. Yoo, H.-Y. Jang, T.-Y. Jamg, S. K. Lee, H. B. Oh : *J. Chromatogr. A*, **1705**, 464167 (2023).
- 2) H. Moriwaki, Y. Tian, N. Kawashita, T. Takagi : *J. Cheminform.*, **10**, 4 (2018).

〔化学物質評価研究機構 坂牧 寛〕

温故知新：キャピラリー電気泳動による

医薬品とタンパク質との相互作用解析

医薬品と血漿タンパク質との相互作用は、薬物動態や薬力学に大いに影響する。このため、医薬品開発において定量的かつ定性的な相互作用解析は重要である。定量的な相互作用解析には、液体クロマトグラフィー、表面プラズモン共鳴法、等温滴定型カロリメトリーをはじめ実に様々な手法を利用可能である。

これら手法の中で、キャピラリー電気泳動 (capillary electrophoresis, CE) は、平衡論に基づく定量的な相互作用 (結合定数) 解析が可能であり、(1) リガンド/アクセプターの固定化を要せず、少ない試料消費量で相互作用を解析可能である。(2) 試料が混合物の場合でも、成分分離が可能であれば、混合物中の各成分との相互作用解析が可能である。(3) mobility shift assay, frontal analysis をはじめ様々な相互作用解析法および解析例がある。という特徴を有している¹⁾。

Deeb らのグループはこの様な CE の特徴に着目し、血清アルブミン (serum albumin, SA) を用いて、医薬品エナンチオマーの分離、そして SA と医薬品エナンチオマーとの結合定数の評価を mobility shift assay にて評価している²⁾。Amlodipine および Verapamil 両エナンチオマーを SA によって分離後、SA と Amlodipine のエナンチオマーとの結合定数 (K_a) の解析に成功した (K_a : 2.2×10^4 , 2.5×10^4 [M^{-1}])。一方、Verapamil に関しては相互作用が極端に弱いため、エナンチオマー分離を達成したが、理論式に従う測定結果を得られなかったと報告している。この結果から、CE の mobility shift assay は、 $K_a > 10^4$ [M^{-1}] の弱い相互作用を解析可能であると判断できる。

1980 年代以降、CE に関する基礎研究が始まり、40 年近く経た現在、CE による相互作用解析は完成された感が筆者にあった。しかし、今回紹介した CE による結合定数の解析に加え、結合サイト数の解析や、CE による速度論解析も報告されている³⁾。また、ソフトウェアによるデータ処理の高性能化は⁴⁾、CE による相互作用の解析精度の向上、ならびに測定から解析までのスループット化も可能だと考えられる。この様な状況および、CE による相互作用解析の例は枚挙に暇がないほどであることを考えると、今後、CE をベースとする新規の相互作用解析法、既存の相互作用解析法の高性能化、CE による相互作用解析例の益々の増加が期待される。

- 1) M. Olabi, M. Stein, H. Wätzig : *Methods*, **146**, 76 (2018).
- 2) R. Rati, H. Wätzig, M. Stein, S. E. Deeb : *J. SepSci.*, **43**, 3960 (2020).
- 3) A. T. H. Le, S. M. Krylova, S. N. Krylov : *Anal. Chem.*, **91**, 8532 (2019).
- 4) P. Dubský, M. Ůrdögová, M. Malý, M. Riesová : *J. Chromatogr. A*, **1445**, 158 (2016).

〔大阪大学大学院基礎工学研究科 岡本 行広〕