

# 27PE-am113

Ion-pair chromatography/ESI-TOF MSによるグリコサミノグリカン類の分析  
劉 人慈<sup>1</sup>, 梶 直孝<sup>1</sup>, 〇木下 充弘<sup>1</sup>, 掛樋 一晃<sup>1</sup>(<sup>1</sup>近畿大・薬)

【緒言】グリコサミノグリカン (GAG) 類は高い親水性と強い酸性ゆえに、クロマトグラフィーによる分離と質量分析法によるイオン化が難しく、他の複合糖質に比べ解析が難しい対象である。本研究では、トリブチルアミン (TBA) をイオンペア剤として用いるイオンペアクロマトグラフィーにより、重合度と硫酸化度の異なる GAG 由来オリゴ糖の混合物を分離した後、オンラインで ESI-TOF MS によりオリゴ糖を直接解析する方法について検討したので報告する。

【方法】試料：ヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸、ヘパリンを酵素消化し得られたオリゴ糖混合物及び化学的に合成した多硫酸化 GAG オリゴ糖 イオンペアクロマトグラフィー：カラムはナカライテスク 5C<sub>18</sub>-PAQ (2.0x150 mm) を用いた。溶離液にはアセトニトリルを含む 2 mM TBA 水溶液 (pH 4.0) を使い、溶出はアセトニトリルのリニアグラジエントにより行った (流速、0.2 mL/min)。ESI-TOF MS：装置には Shimadzu LCMS-IT-TOF を使い、イオン化は Shimadzu 製の SUS 製エミッターを使用し、spray voltage は 3.5KV とした。

【結果・考察】ヒアルロン酸のオリゴ糖混合物について、イオンペアクロマトグラフィーによる分離について検討したところ、4 糖から 16 糖までのオリゴ糖を 15 分以内にベースライン分離できた。また、各オリゴ糖の MS スペクトルについては 4 及び 6 糖は 1 価、8 糖～12 糖は 2 価、14 糖以上は 3 価の負イオンとして観察された。コンドロイチン硫酸のヒアルロニダーゼ消化物については、すべてのオリゴ糖が重合度ごとに分離され、TBA が硫酸基数に対応して付加した正イオンとして検出できた。本手法は低分子量ヘパリンの分析にも応用可能であり、GAGs を原料とする医薬品製剤の評価法としても期待できる。