

26P-am009

電気化学検出 HPLC による中鎖脂肪酸の定量と吸収動態解析への応用

○山口 章¹, 袴田 秀樹¹, 山本 法央¹, 楠 文代¹(¹東京薬大薬)

【緒言】中鎖脂肪酸はエネルギーとして生体内で効率良く利用されるため、栄養輸液の構成成分として臨床的に注目されている。しかし、腸管上皮細胞における取り込み経路については、解明すべき点が多く残されている。その解決のためには、煩雑な前処理を必要とせず、汎用性に優れた高感度な分離定量法の開発が必要である。そこで本研究では、電気化学検出 HPLC (HPLC-ECD) による定量法を開発し、CaCo-2 細胞における吸収動態解析へと応用した。

【実験】2 流路系の HPLC-ECD システムを構築し、キノンの電解還元を中鎖脂肪酸の検出系として利用した。カラムに Deverosil Packed Column C30-UG-3 (1.0 mm i.d.×250 mm, 3 μm)、移動相にはアセトニトリル/水 (7:3, v/v)、キノン溶液には 6 mM DBBQ と 20 mM 過塩素酸リチウムを含むアセトニトリル/水 (7:3, v/v) 溶液、電気化学検出器の作用電極にはグラシックカーボン電極を用いた。前処理はアセトニトリルによる除タンパクと抽出を行った。in vitro 小腸モデルとして、Transwell®にて分化誘導させた CaCo-2 細胞を用いた。

【結果・考察】検出電位-450 mV vs. Ag/AgCl において 5~100 μM の範囲で中鎖脂肪酸を定量できた。その併行精度は RSD=0.61%(n=10 100 μM)以下であった。前処理法の添加回収率は、オクタン酸、デカン酸において、99.4、98.8%(250pmol 添加)であった。その併行精度は RSD=3.74%(n=6)以下、日間精度についても RSD=2.63%(n=3)以下であった。Transwell®の apical side に残存する中鎖脂肪酸量は経時的に減少し、逆に basolateral side の脂肪酸量は経時的に増加した。その増加量はオクタン酸の方が大きいことから、遊離体の吸収効率はオクタン酸の方が高いと考えられる。以上から、本法の吸収動態の解析への有用性が示された。