

# 30E02-pm09S

高性能新規パークル型キラル固定相の開発とタンパク質構成全アミノ酸の光学分割  
○草野 尚<sup>1</sup>, 三次 百合香<sup>1</sup>, 東條 洋介<sup>2</sup>, 三田 真史<sup>2</sup>, 浜瀬 健司<sup>1</sup>(<sup>1</sup>九大院薬,  
<sup>2</sup>資生堂)

【目的】近年、哺乳類体内で様々な D-アミノ酸が発見され、新規機能性物質及びバイオマーカーとして精密含量解析が期待されている。生体内の微量 D-アミノ酸分析には逆相分離と光学分割を組み合わせた二次元 HPLC が有用であり、特に二次元目においてタンパク質構成全アミノ酸を良好に光学分割可能なキラル固定相が切望されている。そこで本研究では、全てのアミノ酸について微量成分である D 体が L 体よりも早く溶出する新規高性能キラル固定相の設計開発を行った。

【方法】L-Leucine と 3,5-Dinitrophenyl isocyanate を反応させ、N-(3,5-Dinitrophenylaminocarbonyl)-L-leucine (DNP-L-Leu)を得た。これをアミノプロピルシリカ粒子と化学結合させ、スラリー法によりステンレス管に充填した。アミノ酸はホウ酸塩緩衝液(pH8.0)中で 4-Fluoro-7-nitro-2,1,3-benzoxadiazole (NBD-F)により蛍光誘導体化した後、作製したカラムを用いて光学分割を行った。

【結果・考察】DNP-L-Leu の無色針状結晶について純度評価を行った結果、NMR 及び逆相 HPLC において不純物は認められず、光学純度は 99.8%以上であった。本キラルセクターをカルボキシル基を介して粒径 4.5  $\mu\text{m}$  のアミノプロピルシリカと結合させ、新規キラル固定相を得た。これを用いて内径 1.5 mm 全長 250 mm のセミマイクロキラルカラムを作製し、タンパク質構成アミノ酸 20 種に Thr、Ile のアロ体を加えた 22 種について分離挙動を検討した。その結果、クエン酸またはギ酸を含むメタノールとアセトニトリルの混液を移動相として、検討した全てのアミノ酸で  $\alpha=1.1$  以上の良好な光学分割が達成された。また全てのアミノ酸において D 体が L 体より早く溶出した。今後は本カラムを用いて生体内の D-アミノ酸一斉分析を行い、分布や機能、由来の解析を行う予定である。