

29amL-002

硫酸アルミニウム試薬とポストカラム光照射反応による 3-ニトロチロシンの蛍光定量

○矢部 毬奈¹, 立川 奈々¹, 馬渡 健一¹, 安田 誠¹, 福内 友子¹, 山岡 法子¹, 金子 希代子¹, 中込 和哉¹ (¹帝京大薬)

【目的】3-ニトロチロシン(NTyr)は生体内でペルオキシ亜硝酸により生成し、炎症性疾患や一酸化窒素産生のマーカーになると報告されている。当研究室ではピコリン酸(2-ピリジンカルボン酸)が、酢酸亜鉛共存下で UV 光を照射すると、新たな蛍光が生成することを見いだした。この方法はピラジナミドなど類似構造を有する医薬品やチロシンの測定法に応用され、HPLC 蛍光定量法として開発が進行している¹⁾。今回、NTyr が硫酸アルミニウム試薬共存下、UV 照射で発蛍光することを見いだした。この蛍光反応を HPLC ポストカラム光照射反応システムに応用し、血清中 NTyr 定量法の開発を試みた。

【方法】移動相は 150 mmol/L 酢酸塩緩衝液に 3 mmol/L 硫酸アルミニウムを含有した溶液 (pH 3.4 に調節) と N,N-ジメチルホルムアミドを 9:1 に混合し、流速 0.6 mL/min で送液した。カラムは Capcell Pak C18 MG II (250×4.6 mm i.d., Shiseido) を使い、ポストカラム光照射反応は ETFE チューブ(10 m×0.25 mm i.d.)を 15 ワットの殺菌灯 (GL-15) に巻きつけた装置で行った。生成した蛍光は励起波長 330 nm、蛍光波長 415 nm で検出した。

【結果及び考察】pH を 2.8 ~ 4.2 まで変化させたところ、pH 4.2 で一番感度が良くなったが沈殿を生じることがあるため、pH 3.4 に設定した。有機溶媒はメタノール、アセトニトリル、テトラヒドロフランなどを検討したが N,N-ジメチルホルムアミドの添加が高感度でかつピークがシャープになった。これらの条件下で、NTyr は 15.2 min に溶出し、検量線は 1.5-100 ng まで直線性を示した (RSD=1.4%, 50ng, n=3)。今後さらに感度の向上を目指して条件検討を行う予定である。

1)田中陽介、矢部毬奈、馬渡健一、中込和哉他:日本薬学会第 133 年会(2013)28B-111