

# 26W-pm07

システインおよびホモシステインの二次元キラル HPLC 分析法開発

○小林 健太郎<sup>1</sup>, 横井 佐智<sup>1</sup>, 三次 百合香<sup>1</sup>, 三田 真史<sup>2</sup>, 植田 正<sup>1</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、ヒトを含めた哺乳類体内の D-アミノ酸と様々な疾患との関連が示され、キラルアミノ酸分析は新規診断指標の探索につながると考えられている。含硫アミノ酸はホモシスチン尿症、シスタチオン尿症などの疾患における血中および尿中含量変化が報告されており、光学異性体を区別した含量評価が期待される。そこで本研究ではシステイン (Cys) およびホモシステイン (Hcy) の光学異性体を対象とした二次元キラル HPLC 分析法の開発を行った。

【方法】Cys、Hcy の塩酸水溶液に 400 mM ホウ酸塩緩衝液 (pH 8.0) を加えた後、4-Fluoro-7-nitro-2,1,3-benzoxadiazole (NBD-F)により誘導体化し、逆相カラムと光学分割カラムを用いる二次元 HPLC システムで分析した。検出は励起波長 470 nm における 530 nm の蛍光発光で行った。

【結果・考察】一次元目の逆相分離には内径 0.53 mm、全長 500 mm のキャピラリーモノリス型 ODS カラムを用いた。移動相を検討した結果、0.05%トリフルオロ酢酸を含む 30%アセトニトリル水溶液により、NBD-Cys と NBD-Hcy は 60 分以内に分離された。一次元目で分取した NBD-Cys と NBD-Hcy を二次元目に導入し、光学分割についてカラムおよび移動相の検討を行った。種々のパークル型キラル固定相による分離を試みた結果、内径 1.5 mm、全長 250 mm のセミミクロキラルカラム (KSAACSP-001S) を固定相として 20 分以内で良好な光学分割が得られた。移動相は 2%ギ酸を含むアセトニトリルとメタノールの混合溶液 (50/50) であり、NBD-Cys の分離係数は 1.24、NBD-Hcy の分離係数は 1.21 であった。今後本システムを用いた他の含硫アミノ酸の分析や、生体試料への適用が期待される。