

28V-am07

親水性アミノ酸を有する新規 Pirkle 型キラル固定相の開発と NBD-アミノ酸の分離挙動解析

○吉岡 夏輝¹, 植木 健治¹, 秋田 健行¹, 三田 真史², 浜瀬 健司¹ (¹九大院薬, ²資生堂)

【目的】分析技術の向上に伴って、D-アミノ酸は生体内における存在や分布、機能解明が進み、新しい創薬やバイオマーカー研究の対象として注目を集めている。我々は、多くの成分が共存する生体試料中で微量にしか存在しない D-アミノ酸を選択的に分析するため、複数の分離モードを組み合わせた多次元 HPLC を開発している。多次元化に際し様々な固定相を設計・実用化してきたが、新たな分離モードとして親水性基をキラル中心に有する Pirkle 型固定相の開発が切望されていた。そこで本研究では、セリン誘導体を光学認識部位に有する新規固定相を開発すると共に、NBD-アミノ酸鏡像異性体の保持、分離特性を解析した。

【方法】3,5-Dinitrophenyl isocyanate とセリンを反応させた後、粒径 5 μm のアミノプロピルシリカと化学結合させた。これをスラリー法によりステンレス管 (1.5 x 250 mm) に充填し、新規固定相 (KSAACSP-009) とした。アミノ酸は 4-Fluoro-7-nitro-2,1,3-benzoxadiazole (NBD-F) と反応させて蛍光標識し、HPLC で分析した。

【結果・考察】KSAACSP-009 の元素分析結果から、キラルセクターは 0.430 mmolg で良好に導入されていた。本固定相について、0.10%ギ酸を含む MeCN と MeOH の混液 (75/25) を移動相とし、種々の NBD-アミノ酸の保持をロイシン型キラル固定相 KSAACSP-001 と比較した。その結果、NBD-Gly の保持時間は双方とも約 20 分であったが、001 では Pro、Phe が Gly より強く保持されたのに対し、009 では両アミノ酸の保持は Gly より弱く、保持特性が異なることが示された。また両固定相における Leu に対する Ser の保持係数を比較した結果、001 では 2.65、009 では 3.90 倍であり、KSAACSP-009 は親水性アミノ酸を強く保持する傾向が認められた。今後は更なる固定相設計を行うと共に、生体試料分析に適用する予定である。