

講演番号

事務局使用欄

アミノ酪酸構造異性体を対象とする三次元キラル HPLC 分析法の開発と  
ヒト尿中含量解析

○古賀鈴依子<sup>1</sup>、川添奈倫<sup>1</sup>、石井千晴<sup>2</sup>、三田真史<sup>3</sup>、井手友美<sup>4</sup>、  
吉田秀幸<sup>1</sup>、能田 均<sup>1</sup>、浜瀬健司<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>福岡大薬、<sup>2</sup>九大院薬、<sup>3</sup>KAGAMI、<sup>4</sup>九大院医)

Development of a Three-Dimensional Chiral HPLC System  
for the Highly Selective Determination of Aminobutyric Acids in Human Urine  
○Reiko Koga<sup>1</sup>, Namichi Kawazoe<sup>1</sup>, Chiharu Ishii<sup>2</sup>, Masashi Mita<sup>3</sup>, Tomomi Ide<sup>4</sup>,  
Hideyuki Yoshida<sup>1</sup>, Hitoshi Nohta<sup>1</sup>, Kenji Hamase<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>Faculty of Pharmaceutical Sciences, Fukuoka University, <sup>2</sup>Graduate School of  
Pharmaceutical Sciences, Kyushu University, <sup>3</sup>KAGAMI, Inc., <sup>4</sup>Graduate School  
of Medical Sciences, Kyushu University)

#### 【目的】

アミノ酪酸にはアミノ基の位置が異なる 3 種の構造異性体として  $\alpha$ -アミノ酪酸 (AABA)、 $\beta$ -アミノ酪酸 (BABA) および  $\gamma$ -アミノ酪酸 (GABA) が存在し、神経変性疾患をはじめとする様々な疾患との関連が報告されている。これらのうち AABA および BABA は光学中心を有するが、分析法の欠如により鏡像異性体を区別した詳細な生体内含量解析はほとんど行われていない。タンパク質構成アミノ酸と比較してアミノ酪酸は内在性含量が少なく、多種多様な夾雑成分の妨害を受けるため、それらの精確な生体内含量解析には高選択的な分析法が必須である。そこで本研究では、三次元キラル HPLC を用いてアミノ酪酸構造異性体を分析対象とする高選択的な分析法を開発し、ヒト尿中含量解析へと適用した。

#### 【実験】

試料溶液にホウ酸塩緩衝液 (pH 8.0) および 4-Fluoro-7-nitro-2,1,3-benzoxadiazole (NBD-F) のアセトニトリル溶液を加えて 60°C で 2 分間加熱し、蛍光誘導体化を行った。ヒト尿試料については水で希釈したものを誘導体化に用いた。加熱後、反応液に希トリフルオロ酢酸を加え、その一部を逆相分配、陰イオン交換分離および光学分割を組み合わせた三次元 HPLC に注入した。NBD 誘導体化アミノ酸の検出は、励起波長 470 nm における 530 nm の蛍光発光により行った。

#### 【結果・考察】

一次元目の逆相分配に Singularity RP18 カラム (1.0 mm × 250 mm) を、二次元目の陰イオン交換分離に Singularity AX カラム (1.0 mm × 250 mm) を、三次元目の光学分割に Singularity CSP-013S カラム (1.5 mm × 250 mm) を用いてアミノ酪酸構造異性体を対象とする三次元キラル HPLC システムを構築した。アミノ酸標品水溶液およびヒト尿試料を用いて検討した結果、構築した分析法は全ての対象アミノ酸について良好な定量性 ( $r^2 \geq 0.9998$ )、再現性 (RSD  $\leq 6.2\%$ ) および真度 (90.7-104.1%) を示したため、ヒト尿中の含量解析へと適用した。その結果、健常人の早朝第一尿における D-AABA (0.4  $\mu\text{M}$ )、L-AABA (9.0  $\mu\text{M}$ )、D-BABA (2.6  $\mu\text{M}$ )、L-BABA (0.8  $\mu\text{M}$ ) および GABA (1.4  $\mu\text{M}$ ) の存在が示された。本分析法を用いることでヒト尿試料に含まれるアミノ酪酸構造異性体の高選択的なキラル分析が可能であり、今後、疾患による含量変化や生理的意義の解明への貢献が期待される。