

プレカラム除タンパクを伴う高速液体クロマト
グラフィーによるトリプトファン代謝産物の
分析に対する血漿試料直接注入法

森田 幾江*, 升島 努*, 吉田 久信*, 今井 日出夫

Analytical Biochemistry, 151, 358-364(1985).

**Direct Plasma Injection Method for the Analysis of Tryptophan Metabolites
by High-Performance Liquid Chromatography Coupled
with Precolumn Deproteinization**

Ikue MORITA*, Tsutomu MASUJIMA*, Hisanobu YOSHIDA*, and Hideo IMAI

ABSTRACT: Reversed-phase HPLC method by direct plasma injection has been developed for the analysis of major tryptophan metabolites (both metabolites in kynurenine pathways and in indole pathways). Two columns were used: one was a short precolumn of protein-coated octadecylsilane (ODS) for deproteinization and also for trapping of tryptophan metabolites, and the other was an analytical column of the usual ODS. By a column-switching method, the metabolites trapped in the precolumn were allowed to be eluted through the analytical column. The recovery of the spiked metabolites in plasma by the present method was almost quantitative (98-102%) with good reproducibility (CV less than 3%, within-run), and the method is determined to be simple and reproducible for the analysis of total (free+protein-bound) tryptophan metabolites in plasma. The analysis of rabbit plasma showed several peaks corresponding to kynurenine, kynurenic acid, 5-hydroxyindole-3-acetic acid, indole-3-lactic acid, indole-3-acetic acid, indole-3-propionic acid, and 5-hydroxytryptamine in addition to tryptophan.

抄録 血漿試料直接注入による逆相 HPLC 法をトリプトファンの主要な代謝物（キヌレニン経路及びインドール経路両者を含む）の分析に発展させた。2本のカラム、一つは除蛋白とトリプトファン代謝物捕捉のためのタンパク質被覆 ODS の短いプレカラム、他は通常の ODS の分析カラムを用いた。血漿に添加した代謝物標品の本法による回収率はほぼ定量的（98-102%）で、CV 値は 3% 内と再現性も良かった。本法で、血漿中の遊離型及び蛋白結合型の合計全量が再現性良く定量される。

兎血漿の分析では、キヌレニン、キヌレニン酸、5-ヒドロキシインドール-3-酢酸、インドール-3-酪酸、インドール-3-酢酸、インドール-3-プロピオン酸、及び5-ヒドロキシトリプタミン、トリプトファンが定量できた。

* Hiroshima University School of Medicine 広島大学医学部