

プレカラム蛍光ラベル化試薬として4-
(2-フタルイミジル)ベンゾヒドラジドを
用いた高速液体クロマトグラフ法による
マロンジアルデヒドの定量

鶴田泰人、伊達有子、殿垣内浩*、杉原成美、
古野浩二、小橋一彌

Analyst, 119(5), 1047-1050(1994)

**Determination of Malondialdehyde by High-performance
Liquid Chromatography Using 4-(2-Phthalimidyl)-
benzohydrazide as a Pre-column Fluorescent Labelling
Reagent**

Yasuto Tsuruta, Yuuko Date, Hiroshi Tonogaito*,
Narumi Sugihara, Koji Furuno and Kazuya Kohashi

Abstract A high-performance liquid chromatographic method was developed for the determination of malondialdehyde after conversion into 1-[4-(2-phthalimidyl)benzo-yl]pyrazole with the fluorescent labelling reagent 4-(2-phthalimidyl)benzohydrazide. The labelling reaction was carried out at 50°C for 60 min in the presence of phosphoric acid. The extent of conversion of malondialdehyde into the fluorescent derivative was approximately 100%. The fluorescent derivative was separated on an ODP-50 column with elution using 40% aqueous acetonitrile and detected by fluorescence at 320 nm (excitation) and 385 nm (emission). The detection limit (signal-to-noise ratio = 3) was 8 fmol per injection (20 μ l). The relative standard deviations for within-day and day-to-day precision were 3.18 and 3.53% ($0.5 \mu\text{mol l}^{-1}$, $n=8$), respectively. The method was applied to the determination of malondialdehyde generated from isolated rat hepatocytes stimulated with tert-butyl hydroperoxide.

マロンジアルデヒドを蛍光誘導体化試薬4-(2-フタルイミジル)ベンゾヒドラジド

で1-[4-(2-フタルイミジル)ベンゾイル]ピラゾールへ導き、HPLCで分離分析するマロンジアルデヒドの定量法を開発した。リン酸存在下、50℃、60分で誘導体化反応を行った。誘導体率はおよそ100%であった。蛍光誘導体は40%水系アセトニトリル溶出によりODP-50カラムで分離され、320nm (励起) 及び385nm (蛍光) において蛍光検出された。検出限界($s/n=3$)は注入量 (20 μ l) 当たり 8 fmolであった。日内、日差の相対標準偏差はそれぞれ3.18及び3.53% (0.5 μ mol/l, $n=8$) であった。本法を、単離ラット肝細胞を用いた実験系で生じるマロンジアルデヒドの定量に応用した。

本学以外の共著者の所属

* PIAS R&D Laboratory ピアス株式会社 中央研究所