

蛍光誘導体化試薬 4-(5,6-ジメトキシ-2-フタルイミジニル)-2-メトキシフェニルスルホニルクロライドを用いる血清中ピペコリン酸の高速液体クロマトグラフィーによる高感度定量

井上裕文、阪田安彦、福永佳子、西尾廣昭、鶴田泰人

*Analytica Chimica Acta*, **511** (2), 267-271 (2004)

**Sensitive determination of pipecolic acid in serum by high-performance liquid chromatography using 4-(5,6-dimethoxy-2-phthalimidinyl)-2-methoxyphenylsulfonyl chloride as a fluorescent labelling reagent**

Hirofumi Inoue, Yasuhiko Sakata, Keiko Fukunaga,  
Hiroaki Nishio, and Yasuto Tsuruta

**ABSTRACT** : A simple and highly sensitive high-performance liquid chromatography for the determination of pipecolic acid in serum was developed. Pipecolic acid and nipecotic acid (internal standard) were derivatized with 4-(5,6-dimethoxy-2-phthalimidinyl)-2-methoxyphenylsulfonyl chloride to produce fluorescent sulfonamides. The labelling reaction was carried out at 70°C for 15 min at pH 9.0. The fluorescent derivatives were separated on a reversed-phase column (45°C) with a stepwise elution using methanol/acetonitrile/10 mmol l<sup>-1</sup> acetic acid = (42:5:53) and methanol at a flow rate of 1.0 ml/min and detected at excitation and emission wavelengths of 316 nm and 403 nm, respectively. The labelling yield was 100.8%. The detection limit of pipecolic acid was 4 fmol at signal-to-noise ratio of 3. The within-day and day-to-day relative standard deviations were 3.3 - 8.1% and 1.4 - 6.4%, respectively. The concentration of pipecolic acid in normal human serum was 1.09 ± 0.37 μmol l<sup>-1</sup>.

抄録 血清中ピペコリン酸の簡便な高感度プレラベルHPLC分析法を開発した。ピペコリン酸及びニペコチン酸(内標)は4-(5,6-ジメトキシ-2-フタルイミジニル)-2-メトキシフェニルスルホニルクロライドにより誘導体化され、発蛍光性のスルホンアミドを生成した。誘導体化反応は、pH 9.0において70°C、15分間行った。蛍光誘導体は逆相系カラム(45°C)を用いたメタノール/アセトニトリル/10 mmol l<sup>-1</sup> 酢酸=(42:5:53)-メタノールのステップワイズ溶出法(流速: 1mL/min)により分離され、励起波長 316 nm、蛍光波長 403 nm における蛍光で検出された。誘導体化率は 100.8%であった。ピペコリン酸の検出限界は 4 fmol (S/N = 3)であった。日内及び日差変動はそれぞれ 3.3-8.1 及び 1.4-6.4%であった。健康人血清中のピペコリン酸の濃度は 1.09 ± 0.37 μmol l<sup>-1</sup>であった。