

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リドを用いる尿中遊離型及びN-アセチル化ポリアミンのセミマイクロ高速液体クロマトグラフ法による同時定量

井上裕文、福永佳子、宗村小夜香、鶴田泰人

Analytical Biochemistry, **339** (2), 191-197 (2005)

Simultaneous determination of free and N-acetylated polyamines in urine by semi-micro high-performance liquid chromatography using 4-(5,6-dimethoxy-2-phthalimidinyl)-2-methoxyphenylsulfonyl chloride as a fluorescent labeling reagent

Hirofumi Inoue, Keiko Fukunaga, Sayaka Munemura and Yasuto Tsuruta

ABSTRACT : We have developed a simple and highly sensitive semi-micro high-performance liquid chromatographic method for the simultaneous determination of free and N-acetylated polyamines in urine. Polyamines and N-acetylated polyamines were derivatized with 4-(5,6-dimethoxy-2-phthalimidinyl)-2-methoxyphenylsulfonyl chloride to produce fluorescent sulfonamides. The labeling reaction was carried out at 50°C for 15 min at pH 9. The fluorescent derivatives were separated on a reversed-phase column with a gradient elution using water-acetonitrile-methanol at 50°C and detected by fluorescence measurement at 318 nm (excitation) and 406 nm (emission). The detection limits (signal-to-noise ratio=3) of the polyamines and N-acetylated polyamines were 0.7-4.5 fmol per injection. The within-day and day-to-day relative standard deviations were 3.2-7.9% and 3.0-7.7%, respectively. Significant differences were found in the urinary excretion of polyamines between cancer patients and normal subjects.

抄録 尿中遊離型及びN-アセチル化ポリアミンの同時定量のための簡便で高感度なセミマイクロHPLC分析法を開発した。ポリアミン及びN-アセチルポリアミンは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リ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50°C、15分間行った。蛍光誘導体は逆相系カラム(50°C)を用いた水-アセトニトリル-メタノールのグラジエント溶出法により分離され、励起波長318 nm、蛍光波長406 nmにおける蛍光で検出された。ポリアミン及びN-アセチルポリアミンの検出限界は注入量あたり0.7-4.5 fmol (S/N=3)であった。日内及び日差変動はそれぞれ3.2-7.9及び3.0-7.7%であった。がん患者と健常人におけるポリアミンの尿中排泄量には有意な差が認められた。