

生体成分の高感度蛍光プレラベルHPLC分析に関する研究

井上裕文

YAKUGAKU ZASSHI, 126 (5), 321-326 (2006)

Development of Highly Sensitive Determination of Biogenic Compounds by High-performance Liquid Chromatography with Pre-column Fluorescence Derivatization

Hirofumi Inoue

ABSTRACT : A sensitive fluorescent labeling reagents, 4-(5,6-dimethoxy-2-phthalimidinyl)-2-methoxyphenylsulfonyl chloride (DMS-Cl), for determination of amino compounds in HPLC was developed. DMS-Cl reacted with amino compounds in the basic medium to produce the corresponding fluorescent sulfonamides (Ex 318 nm, Em 406 nm: in aqueous acetonitrile). When amino acids were analyzed by reversed phase HPLC, the detection limits (signal-to-noise ratio=3) of almost amino acids labeled DMS-Cl were less than 5 fmol/injection. DMS-Cl was utilized for highly sensitive determination of amino compounds in biological sample and HPLC methods for determination of prolyl dipeptides, Pro and Hyp in serum and urine, pipecolic acid in serum, taurine in plasma, and free and N-acetylated polyamine in urine were established. As these proposed methods are highly sensitive and reproducible and requires only a small amount of biological sample, it may be useful for clinical and biochemical research.

抄録 アミノ化合物に対する HPLC 用の高感度な蛍光誘導体化試薬 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(DMS-Cl)を開発した。DMS-Cl はアミノ化合物と反応して発蛍光性のスルホンアミド誘導体(Ex 318 nm, Em 406 nm)を生成した。アミノ酸類を逆相系 HPLC で分析するとき、検出限界(S/N=3)はほとんどのアミノ酸で注入量あたり 5 fmol であった。DMS-Cl を生体成分の分析に応用し、血清及び尿中のプロリルジペプチド、プロリン及びヒドロキシプロリン、血清中ピペコリン酸、血漿中タウリン、尿中遊離型及び N-アセチル化ポリアミンの HPLC 分析法を確立した。確立したこれらの分析法は、高感度で精度良く、少量の生体試料しか必要としないので、臨床化学及び生化学分野で有用であると考えられる。