

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	カルニチンおよび類縁体の高感度かつ高選択的なキラル分離分析法の開発				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・助教	氏名	古庄 仰
	研究分担者	所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	薬学部・助教	氏名	古庄 仰

講演題目	カルニチンおよび類縁体の高感度かつ高選択的なキラル分離分析法の開発
------	-----------------------------------

研究の目的、成果及び今後の展望

カルニチンとそのアシル化体は、生体内のエネルギー産生に関わる物質であり、いずれも分子内に不斉炭素を有することから鏡像異性体の関係にある D 体と L 体が存在する。生体内では L 体が活性を持ち、代謝異常症の治療薬として上市されている他、脂肪燃焼をうたったサプリメントも市販されている。一方で、D 体については生理作用が報告されておらず、L 体の吸収阻害によるカルニチン欠乏症の誘発や肝毒性が懸念されている。そのため、L-カルニチン製剤の原薬や製品の品質管理のために、D 体含量の精密測定が求められる。また、カルニチン類は動物性食品に多く含まれ、食の安全性の観点から食品中 D 体含量も注目されている。カルニチン類のキラルを識別した分析では、液体クロマトグラフィー (LC) を用いて試料内の成分を分離した後、UV 検出や蛍光検出する手法が報告されている。しかしこれらの方法では、鏡像異性体の分離が不十分な場合や検出感度が低いという課題が存在した。そこで本研究では、カルニチン (CA) およびアシルカルニチンの一種であるアセチルカルニチン (ACA) を対象に、高感度かつ高選択的なキラル分離分析法の開発を試みた。具体的な手法として、誘導體化により分離の向上をはかり、検出器に三連四重極型質量分析計 (MS/MS) を使用することで高感度かつ高選択な検出を試みた。

LC の分離カラムには、光学分割カラムである CHIRALPAK ZWIX (-) を使用した。CA および ACA はともにカルボキシ基を有することから、カルボン酸用誘導體化試薬 7 種を検討した。その結果、CA について 3-または 4-ニトロフェニルヒドラジン (NPH) での誘導體化により、キラル分離を達成した。特に 4-NPH については分析条件の最適化により、分析時間 20 分で分離度 1.70 の良好な分離が得られた。また、MS/MS で μM レベルでの高感度検出が可能であった。決定した条件でサプリメントおよび鶏・豚・牛の食肉試料を分析した結果、いずれの試料からも D 体は検出されなかった一方で、L 体を選択的に検出することが可能であった。簡易的に得られた定量値は過去の文献での報告値と一致し、本分析法が実試料の分析に適用可能であることが示された。

ACA については、誘導體化を行わない未標識体の状態でキラル分離が認められ、分析時間 5 分で分離度 1.51 の分離が得られた。ACA についてもサプリメントおよび食肉試料を分析した結果、全ての試料で L 体のみが認められ、D 体と区別して検出することが可能であった。

今回、ACA を 4-NPH で誘導體化した際には分離が認められず、CA と ACA の同時分析は困難であった。今後、同時分析法の構築を目指して誘導體化試薬および分析条件の精査を行う。また、個々の分析法を用いて様々な食品試料や生体試料の分析を進める予定である。