

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 14 日現在

機関番号：37111

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25870994

研究課題名(和文)フルオラスかつノンコバレントな相互作用を利用した前処理技術の開発と分析化学的応用

研究課題名(英文) Development and Analytical Applications of Pretreatment Technique utilizing Fluorous and Non-Covalent Interactions

研究代表者

巴山 忠 (Hayama, Tadashi)

福岡大学・薬学部・准教授

研究者番号：90549693

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、パーフルオロアルキルアミン試薬をイオンペア剤として用い、ヌクレオチド類を対象としたノンコバレントなフルオラス二相系抽出法の開発を行った。本法において、パーフルオロアルキルアミンとヌクレオチドのイオンペアは、フルオラス相互作用によってフルオラス溶媒中に選択的に抽出させることが可能であった。フルオラス溶媒中に抽出されたヌクレオチドは、アンモニアを含む水及びアセトニトリルの混合溶液にて容易に逆抽出され、アルカリ移動相を用いた親水性相互作用クロマトグラフィーにて分析することが可能であった。本法は、種々の細胞試料中におけるヌクレオチド類の測定へと応用することも可能であった。

研究成果の概要(英文)： A novel and selective extraction method for nucleotides based on non-covalent fluorous biphasic extraction system in the presence of perfluoroalkylamine as an ion-pair reagent. The ion-pairs between nucleotides and perfluoroalkylamine were selectively extracted to a fluorous solvent via the affinity of perfluoroalkyl-containing compounds with each other, i.e. fluorous interaction. Then, the nucleotides in the fluorous solvent could be back-extracted with aqueous ammonia in acetonitrile as non-fluorous solvent, and the extracts were directly injected to LC system. A hydrophilic interaction chromatography was utilized for separation of the nucleotides by gradient elution with the mixture of acetonitrile, water, and ammonium carbonate buffer as mobile phase. This method was successfully applied to the determination of nucleotides in some cell samples.

研究分野：分析化学

キーワード：フルオラスケミストリー 溶媒抽出 ヌクレオチド 細胞試料

### 1. 研究開始当初の背景

近年、クロマトグラフィーを始めとする分析機器技術の発展によって、測定対象となる物質の超高感度分析が容易に達成可能となった。その反面、従来までは見ることができなかった試料夾雑成分などに由来するピークがクロマトグラム上に出現し、対象の同定・定量の妨げとなる場合も少なくはない。この問題点を改善するためには、機器分析の前に何らかの前処理を施し、対象のみを精製・抽出することが極めて重要となる。しかしながら、既存の前処理法には未だ多くの学際的研究の余地が残されており、より簡便で、効果的かつ効率的な方法の開発が強く求められている。

### 2. 研究の目的

今回我々は、フルオラス (fluorous) かつノンコバレント (non-covalent) な相互作用を利用した新しい前処理法の構築を試みた。フルオラスとは、パーフルオロアルキル鎖をもつ化合物同士が示す極性に依存しない親和性のことを指し、これまでに目的対象物質にフルオラス基を導入・誘導体化し、得られたフルオラス誘導体のみをフルオラス LC カラムで選択的に保持・分離させるという手法を開発してきた。この方法は、測定対象物を極めて選択的に測定することが可能であり、とくに LC-MS/MS 測定においてマトリックス干渉を受けることのない画期的な方法として注目されている。しかしながら、誘導体化という対象の化学修飾を要すること、あるいはフルオラス LC カラムにおけるフルオラス誘導体同士の分離能が必ずしも良いわけではないということ、などといった改善すべき点があることは否めなかった。そこで本研究では、イオンペアといったノンコバレントな相互作用とフルオラスとを組み合わせた誘導体化フリーかつ特異性・選択性の高い試料前処理法を開発を行うことを目的とした。

### 3. 研究の方法

フルオラスイオンペア剤として使用した 4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-heptadecafluoroundecylamine (HFUA) を Fig. 1 に示す。パーフルオロアルキル基は電子吸引性が極めて高く、イオンペアの核となる窒素原子との距離が炭化水素アルキル基をスペーサーとして、 $-(CH_2)_n-$  ( $n=3\sim5$ ) 程度離れていることが望ましい。そこで本研究では、市販の HFUA を利用することとし、分子内にリン酸基を有するヌクレオチド類の選択的抽出へと供した。HFUA の存在下、フルオラス溶媒へ選択的に抽出されたヌクレオチド類は、さらに適当な非フルオラス溶媒で逆抽出後、HPLC (HILIC カラム) にて測定した。

まずは、標準試料を用いた基礎的条件の検討 (抽出条件及び HPLC 分析条件) の確立の後、本法を種々の細胞試料中ヌクレオチド類の測定へと供し、本法の実試料に対する有用

性と実用性を評価した。

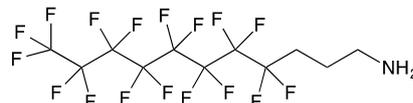


Fig. 1. Chemical structure of fluoros ion-pair reagent, HFUA.

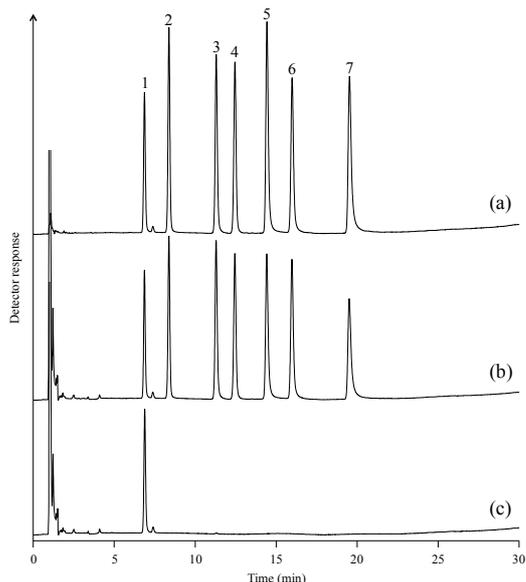
### 4. 研究成果

#### (1) 標準試料を用いた基礎的条件の検討

ヌクレオチド類標準試料 (AMP, ADP, ATP, GMP, GDP 及び GTP) を用い、本抽出に関する基礎的条件の検討を行った。まずは抽出に用いるフルオラス溶媒の種類を検討を行った。一般に、フルオラス溶媒抽出法では、tetradecafluorohexane (TDFH) などに代表されるパーフルオロアルカン類を「フルオラス溶媒」として利用する。これらフルオラス溶媒は、パーフルオロアルキル (フルオラス) 化合物のみを選択的に抽出することができる。一方、対象となるフルオラス化合物は、そのパーフルオロアルキル鎖長によってヘビーフルオラス体 (同一分子内に概ね 39 個以上のフッ素原子を有する) とライトフルオラス (同一分子内に概ね 9~17 個程度のフッ素原子を有する) 体」に分類されるが、フルオラス溶媒抽出法にて対象となるのはヘビーフルオラス体の方である。一方、ヘビーフルオラス体は選択性が高い反面、非フルオラスな一般の有機溶媒への溶解性が極めて低く、汎用性に欠けるといったことが問題点としてしばしば挙げられる。そのため、一般の有機溶媒にも溶解でき、汎用性の高い「ライトフルオラス体」の利用を指向した「solvent tuning」と呼ばれるフルオラス溶媒抽出法の開発も試みられている。これは、フルオラス層として、パーフルオロアルカン類とともに、極性基を有するパーフルオロエーテルやパーフルオロアルコールなどの「親フルオラス (fluorophilic) 溶媒」を使用すると同時に、非フルオラス層として、水、*N,N*-ジメチルホルムアミド (DMF) やジクロロメタンなど「疎フルオラス (fluorophobic) 溶媒」を用い、その組み合わせを調整することで、ライトフルオラス体のフルオラス溶媒への抽出効率を向上させるといった手法である。今回、フルオラスイオンペア剤として用いている HFUA も「ライトフルオラス」であり、TDFH のみを溶媒として用いた場合、そのヌクレオチド類とのイオンペアを抽出させることができなかった。そこで、パーフルオロアルコールである 1*H*,1*H*,2*H*,2*H*-tridecafluoro-1-*n*-octanol (TFO) を、solvent tuning 用の溶媒として利用することとした。本法では、TDFH 及び TFO を 3:1 (v/v) で混合して用いた場合、HFUA とヌクレオチド類のイオンペア体を良好に

抽出することが可能であった。フルオラス溶媒に抽出されたヌクレオチド類は、重炭酸アンモニウムを含む水、アセトニトリルの混合液を用いることで、容易に逆抽出することが可能であった。次に、イオンペア剤として用いる HFUA の濃度 (0~80 mM) の検討を行った。今回対象としたヌクレオチドのうち、AMP や GMP のようなモノリン酸化体は、HFUA の濃度の上昇に伴って、抽出効率が向上した。一方、ジリン酸化体及びトリリン酸化体は、高濃度の HFUA の存在下において、抽出効率が減少した。これは、リン酸基の数に応じて強固なイオンペアを形成しているものと考えられる。従って、本法では、HFUA の濃度は 40 mM に設定することとした。その他、抽出の際に用いる緩衝液の pH 値などを最適化した後、本法の特異性についての検証を行った。本抽出法を、ヌクレオチドの類縁体であるアデノシンやサイクリック AMP に適用したところ、それらの抽出を行うことができなかった。すなわち、本法のヌクレオチド類 (リン酸基含有物質) への特異性を証明することができた。

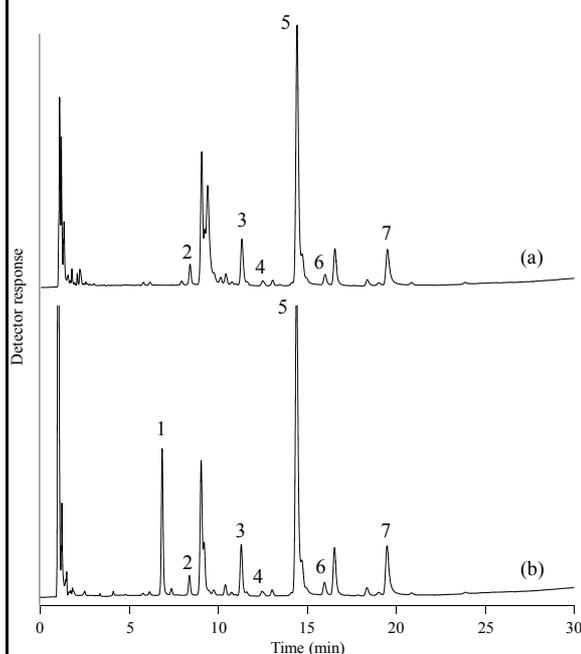
一方、本研究にて対象としているヌクレオチド類は、高極性化合物であるため、一般に利用される逆相 HPLC による分析は困難である。そこで、本法では親水性相互作用クロマトグラフィー (HILIC) を利用した分析を行うこととした。Fig. 2 に示すとおり、アミド型の HILIC カラムを用いることで、対象としたヌクレオチド類の良好な分析を行うことが可能であった。なお、本法におけるヌクレオチド類の回収率は、70.4~96.8%、検量線の直線性は、相関係数として 0.9998 以上、検出限界は、9.7~24 nM と、十分な結果を得ることができた。



**Fig. 2.** Chromatograms of (a) non-extracted, (b) extracted standard solution, and (c) blank solution with this method. Peaks: 1; 6-Cl-PuDP (IS), 2; AMP, 3; ADP, 4; GMP, 5; ATP, 6; GDP, 7; GTP (each 10  $\mu$ M).

## (2) ヒト乳がん由来細胞中ヌクレオチド類の測定

本抽出法の実試料分析への有用性を確認すべく、ヒト乳がん由来細胞である MCF-7 及びそのコントロール細胞である MCF-10A を用い、それらの細胞内ヌクレオチド濃度の測定を試みた。細胞試料は、その一定量 ( $1 \times 10^6$  cell) をとり、PBS にて洗浄後、冷メタノール及び冷水を用いて処理し、本フルオラスイオンペア抽出を施した。MCF-7 細胞試料の測定結果 (クロマトグラム) を Fig. 3b に示す。本抽出法及び HILIC 分析法を利用することで、細胞試料中におけるヌクレオチド類の測定が可能であった。本法の有用性及びヌクレオチド類への選択性を確認すべく、フルオラスイオンペア抽出を行うことなく、細胞試料を直接測定した結果 (クロマトグラム) も Fig. 3a に示す。その結果、抽出の有無によって、クロマトグラム上のピークプロファイルに変化が見られた。抽出を行なわなかった場合、保持時間約 9 分付近に、



**Fig. 3.** Chromatograms obtained from MCF-7 cell samples. (a) Non-extracted cell sample; (b) cell sample extracted with the present fluoruous ion-pair extraction method. Peaks: 1; 6-Cl-PuDP (IS), 2; AMP, 3; ADP, 4; GMP, 5; ATP, 6; GDP, 7; GTP.

細胞試料由来のものと考えられる夾雑ピークが出現しているのに対し、本抽出法を適用した場合、そのピークが除去されていることが確認できる。すなわち、細胞試料中における何らかの非リン酸系化合物とヌクレオチド類を本抽出法によって容易に分別可能であることが示された。これらの結果より、本法が、実試料を対象にした場合においても、測定対象物質 (ヌクレオチド類) への選択性を損なうことなく、良好な分析を行うことが可能であることが示された。

(3) 急性白血病細胞試料中ヌクレオチド類の測定

さらに、本フルオラスイオンペア抽出によるヌクレオチド類の分析法を応用させるべく、急性白血病細胞試料 (MT-2, HL60 及び Jurkat 細胞) を用いた検討を行った。また、ヌクレオチド類の種類を、糖化ヌクレオチドを含む 18 種類 (AMP, ADP, ATP, GMP, GDP, GTP, UMP, UDP, UTP, CMP, CDP, CTP, IMP, ITP, UDP-GluNAc, UDP-GalNAc, UDP-Glu 及び UDP-Gal) まで拡張した。細胞試料の処理については、前述のものと同様に行った。ヒト乳がん細胞試料のときと同様、急性白血病細胞試料についても、それらの細胞内ヌクレオチド濃度を良好に測定することが可能であり、細胞試料を用いたバリデーションの結果も満足できるものであった。さらに、本法を用いて、細胞試料を培養時間ごとに測定し、それぞれのヌクレオチド濃度の定量結果に、主成分分析による多変量解析を施したところ、Fig. 4 のような結果が得られた。

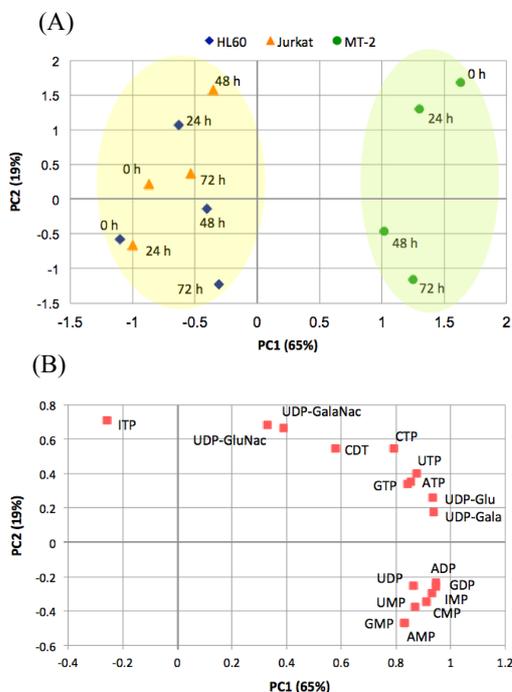


Fig. 4. (A) Score plot and (B) loading plot obtained with principle component analysis for determination results of nucleotides in MT-2, HL60, and Jurkat cell samples.

本結果より、培養時間ごとの差は確認できなかったが、「HL60 及び Jurkat 細胞試料の群」と「MT-2 細胞試料の群」に大別することが可能であった。これらは、前者がヒト T 細胞白血病ウイルス (HTLV-1) 感染株であり、後者が非感染株であることから、その差がヌクレオチドの定量結果から得られた主成分分析により可視化できているものと考えられる。すなわち、今後、本法を用いることで、ヌクレオチドに焦点を当てたターゲットメタボロミクスを行うことが可能となること

が示唆される結果であった。

以上のように、本研究では、フルオラスの選択性をノンコバレントな相互作用を用いて利用する方法の構築に成功した。本法は、実試料に対しても有用であることから拡張性が高く、今後、本法の更なる検討・検証を行っていくことで、さらに発展させていくことができるものと思われる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

(雑誌論文)(計 10 件)

- (1) Tadashi Hayama, Development of Analytical Methods Utilizing Selectivity of Fluorous Affinity and Their Applications, *Chromatography*, 査読有, **37** (2016) 1-8.  
DOI: 10.15583/jpchrom2015.039
- (2) Erina Tamashima, Tadashi Hayama, Hideyuki Yoshida, Osamu Imakyure, Masatoshi Yamaguchi, Hitoshi Nohta, Direct Tandem Mass Spectrometric Analysis of Amino Acids in Plasma Using Fluorous Derivatization and Monolithic Solid-phase Purification, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 査読有, **115** (2015) 201-207.  
DOI: 10.1016/j.jpba.2015.07.008
- (3) Yohei Sakaguchi, Jun Ikenaga, Hideyuki Yoshida, Tadashi Hayama, Miki Itoyama, Kenichiro Todoroki, Osamu Imakyure, Masatoshi Yamaguchi, Hitoshi Nohta, Selective and Sensitive Liquid Chromatographic Determination Method of 5-Hydroxyindoles with Fluorous and Fluorogenic derivatization, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 査読有, **114** (2015) 348-354  
DOI: 10.1016/j.jpba.2015.06.003
- (4) Tadashi Hayama, Ena Kiyokawa, Hideyuki Yoshida, Osamu Imakyure, Masatoshi Yamaguchi, Hitoshi Nohta, Selective Extraction of Nucleotides with Fluorous Biphasic System Utilizing Perfluoroalkylamine As an Ion-pair reagent, *Chromatography*, 査読有, **36** (2015) 13-18.  
DOI: 10.15583/jpchrom2015.001
- (5) 巴山 忠, フルオラスケミストリーを駆使した生体関連物質の高選択的分析, *薬学雑誌*, 査読有, **135** (2015) 205-212.  
DOI: 10.1248/yakushi.14-00213-3
- (6) Yohei Sakaguchi, Tadashi Hayama, Hideyuki Yoshida, Miki Itoyama, Kenichiro Todoroki, Masatoshi Yamaguchi, Hitoshi Nohta, Liquid

- Chromatography/Tandem Mass Spectrometry with Fluorous Derivatization Method for Selective Analysis of Sialyl Oligosaccharides, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 査読有, **28** (2014) 2481-2489.  
DOI: 10.1002/rcm7042
- (7) Tadashi Hayama, Hideyuki Yoshida, Masatoshi Yamaguchi, Hitoshi Nohta, Fluorous Affinity-based Separation Techniques for the Analysis of Biogenic and Related Molecules, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 査読有, **101** (2014) 151-160.  
DOI: 10.1016/j.jpba.2014.04.035
- (8) Tadashi Hayama, Yurika Yabuuchi, Tomomi Iwamatsu, Erina Tamashima, Yusuke Kawami, Miki Itoyama, Hideyuki Yoshida, Masatoshi Yamaguchi, Hitoshi Nohta, Concerted Derivatization and Concentration Method with Dispersive Liquid-liquid Microextraction for Liquid Chromatographic Analysis of 5-Hydroxyindoles in Human Serum, *Talanta*, 査読有, **117** (2013) 27-31.  
DOI: 10.1016/j.talanta.2013.08.035
- (9) 玉嶋江莉奈, 甲斐知美, 轟木堅一郎, 川見祐介, 糸山美紀, 巴山 忠, 吉田秀幸, 山口政俊, 能田 均, ヒト唾液中コルチゾール及びコルチゾンの分散液液マイクロ抽出/HPLC分析, *分析化学*, 査読有, **62** (2013) 719-723  
DOI: 10.2116/bunsekikagaku.62.719
- (10) 川見祐介, 坂口洋平, 吉田秀幸, 玉嶋江莉奈, 糸山美紀, 巴山 忠, 轟木堅一郎, 山口政俊, 能田 均, ペンタフルオロフェニル構造を用いる分離指向性誘導体化-HPLC 分析法の開発, *分析化学*, 査読有, **62** (2013) 713-717  
DOI: 10.2116/bunsekikagaku.62.713
- 〔学会発表〕(計27件)
- (1) 清川恵奈, 巴山 忠, 相川晃慶, 川見祐介, 糸山美紀, 小迫知弘, 吉田秀幸, 添田泰司, 山口政俊, 能田 均, アポトーシス誘導 Jurkat 細胞中モノヌクレオチド類の選択的抽出とその定量的解析, 日本薬学会第136年会, 2016年3月, パシフィコ横浜(横浜市)
- (2) 巴山 忠, フルオラスアフィニティーの選択性を利用した分析法の開発とその応用, 第26回クロマトグラフィー科学会議, 2015年11月, 九州大学(福岡市)
- (3) 清川恵奈, 巴山 忠, 川見祐介, 糸山美紀, 吉田秀幸, 能田 均, 山口政俊, Ion-pair fluorous biphasic extraction 及び HILIC によるヌクレオチド類の選択的分析法開発, 第13回次世代を担う若手のためのフィジカル・ファーマフォーラム, 2015年8月, 長崎ホテル清風(長崎市)
- (4) 玉嶋江莉奈, 巴山 忠, 川見祐介, 糸山美紀, 吉田秀幸, 能田 均, 山口政俊, フルオラス相互作用を利用したアミノ酸のタンデムマス分析と疾患モデルマウス試料への適用, 第13回次世代を担う若手のためのフィジカル・ファーマフォーラム, 2015年8月, 長崎ホテル清風(長崎市)
- (5) 長野元貴, 巴山 忠, 川見祐介, 糸山美紀, 吉田秀幸, 能田 均, 山口政俊, フルオラス-金属キレートアフィニティー抽出を利用したプロテインキナーゼ活性の傾向測定, 第33回九州分析化学若手の会 夏季セミナー, 2015年7月, 亀屋ホテル 華椿(上天草市)
- (6) 清川恵奈, 巴山 忠, 川見祐介, 糸山美紀, 吉田秀幸, 能田 均, 山口政俊, フルオラスイオンペア抽出法によるヌクレオチド類の選択的分析と白血由来細胞試料への適用, 第22回クロマトグラフィーシンポジウム, 2015年5月, 近畿大学(東大阪市)
- (7) 富田陵子, 西田 翔, 巴山 忠, 轟木堅一郎, 吉田秀幸, 丸岡 博, 中島 学, 能田 均, 山口政俊, 藤岡総大, LC-MS/MS によるアミノ酸メタボロミクス-低酸素・栄養飢餓状態で培養した大腸がん細胞 DLD1 について-, 日本薬学会第135年会, 2015年3月, 神戸サンボーホール(神戸市)
- (8) 古森貴子, 清川恵奈, 巴山 忠, 川見祐介, 糸山美紀, 吉田秀幸, 能田 均, 山口政俊, 亜鉛固定化 Krytox を利用したテトラサイクリン系薬剤の選択的フルオラス二相系抽出, 第31回日本薬学会九州支部大会, 2014年12月, 第一薬科大学(福岡市)
- (9) 巴山 忠, 薬師寺寿世, 川見祐介, 糸山美紀, 吉田秀幸, 能田 均, 山口政俊, フルオラスの選択性を利用した細胞試料中ヌクレオチド類の金属キレートアフィニティー抽出, 第25回クロマトグラフィー科学会議, 2014年12月, 京都大学(京都市)
- (10) 清川恵奈, 古森貴子, 巴山 忠, 川見祐介, 糸山美紀, 吉田秀幸, 能田 均, 山口政俊, 金属固定化フルオラス試薬を利用したテトラサイクリン系抗生物質の選択的抽出法の開発, 第27回バイオメディカル分析科学シンポジウム, 2014年8月, 帝京大学(東京)
- (11) 大塚恵未, 川見祐介, 糸山美紀, 巴山 忠, 吉田秀幸, 能田 均, 山口政俊, ジルコニア-リン酸基間の特異的親和性を利用した分離指向性誘導体化法の開発, 第32回九州分析化学若手の会 夏季セミナー, 2014年7月, かんぼの宿北九州(北九州市)

- (12) 林 英里奈, 寺崎友里, 巴山 忠, 川見祐介, 糸山美紀, 吉田秀幸, 能田 均, 山口政俊, マイケル付加反応を利用したクルクミンのフルオラス誘導体化と選択的 HPLC 分析, 第 32 回九州分析化学若手の会 夏季セミナー, 2014 年 7 月, かんぼの宿北九州 (北九州市)
- (13) 竹下理紗, 玉嶋江莉奈, 巴山 忠, 川見祐介, 糸山美紀, 吉田秀幸, 能田 均, 山口政俊, フルオラス誘導体化-LC-MS/MS によるバソプレシンの高感度かつ高選択的分析法の開発, 第 32 回九州分析化学若手の会 夏季セミナー, 2014 年 7 月, かんぼの宿北九州 (北九州市)
- (14) 薬師寺寿世, 濱古賀 好, 巴山 忠, 川見祐介, 糸山美紀, 吉田秀幸, 能田 均, 山口政俊, イミノ二酢酸型フルオラス試薬を利用したリン酸基含有化合物の金属キレートアフィニティー/フルオラス二相系抽出, 第 32 回九州分析化学若手の会 夏季セミナー, 2014 年 7 月, かんぼの宿北九州 (北九州市)
- (15) 巴山 忠, 井上裕也, 川見祐介, 糸山美紀, 吉田秀幸, 能田 均, 山口政俊, フルオラス-金属器レートアフィニティー試薬を用いたリン酸基含有化合物の選択的抽出法の開発, 第 21 回クロマトグラフィシンポジウム, 2014 年 6 月, 名古屋市工業研究所 (名古屋市)
- (16) 玉嶋江莉奈, 巴山 忠, 川見祐介, 糸山美紀, 吉田秀幸, 能田 均, 山口政俊, モノリス型フルオラス固相カラムを用いたパーフルオロアルキル化アミノ酸の選択的抽出と LC-MS/MS 分析, 第 21 回クロマトグラフィシンポジウム, 2014 年 6 月, 名古屋市工業研究所 (名古屋市)
- (17) 巴山 忠, フルオラスケミストリーを駆使した生体関連物質の高選択的分析, 日本薬学会第 134 年会, 2014 年 3 月, くまもと県民交流会館 (熊本市)
- (18) 玉嶋江莉奈, 兼田直樹, 巴山 忠, 川見祐介, 糸山美紀, 吉田秀幸, 能田 均, 山口政俊, 短鎖パーフルオロアルキル試薬を用いたポリアミン類の多重ラベル化と LC-MS/MS 分析, 日本薬学会第 134 年会, 2014 年 3 月, 熊本市総合体育館 (熊本市)
- (19) 福本麻美, 巴山 忠, 川見祐介, 糸山美紀, 吉田秀幸, 能田 均, 山口政俊, フルオラスイオンペア剤を利用したアミン類の選択的抽出, 第 30 回日本薬学会九州支部大会, 2013 年 12 月, 長崎国際大学 (佐世保市)
- (20) 巴山 忠, 部谷本知佐子, 田尾智美, 川見祐介, 糸山美紀, 吉田秀幸, 能田 均, 山口政俊, フルオラス試薬をイオンペア剤として利用したリン酸基含有化合物の選択的抽出, 第 24 回クロマトグラフィ科学会議, 2013 年 11 月, 東京大学 (東京)
- (21) 玉嶋江莉奈, 福田恵未, 巴山 忠, 川見祐介, 糸山美紀, 吉田秀幸, 能田 均, 山口政俊, 多重フルオラス誘導体化によるポリアミン類の選択的 LC-MS/MS 分析, 第 11 回次世代を担う若手のためのフィジカル・ファーマフォーラム, 2013 年 8 月, 清水テルサ (清水市)
- (22) 川見祐介, 堀之内友里, 糸山美紀, 巴山 忠, 吉田秀幸, 能田 均, 山口政俊, ペンタフルオロフェニル構造の特異的親和性を利用した選択的 HPLC 分析-アルデヒド類への応用, 第 11 回次世代を担う若手のためのフィジカル・ファーマフォーラム, 2013 年 8 月, 清水テルサ (清水市)
- (23) 吉田秀幸, 池田成見, 坂口洋平, 川見祐介, 糸山美紀, 巴山 忠, 能田 均, 山口政俊, 蛍光誘導体化-フルオラス LC 法によるパーフルオロオクタン酸の高選択的分析, 第 26 回バイオメディカル分析科学シンポジウム, 2013 年 8 月, 昭和大学 (東京)
- (24) 堀之内友里, 川見祐介, 糸山美紀, 巴山 忠, 吉田秀幸, 能田 均, 山口政俊, ペンタフルオロフェニル誘導体化によるアルデヒド類の選択的 HPLC 分析, 第 31 回九州分析化学若手の会 夏季セミナー, 2013 年 7 月, 長崎ホテル清風 (長崎市)
- (25) 部谷本知佐子, 田尾智美, 巴山 忠, 松本太一, 川見祐介, 糸山美紀, 吉田秀幸, 能田 均, 山口政俊, フルオラスイオンペア抽出によるヌクレオチド類の選択的分析, 第 31 回九州分析化学若手の会 夏季セミナー, 2013 年 7 月, 長崎ホテル清風 (長崎市)
- (26) 福田恵未, 玉嶋江莉奈, 巴山 忠, 川見祐介, 糸山美紀, 吉田秀幸, 能田 均, 山口政俊, 多重フルオラス化によるポリアミン類の選択的分析, 第 31 回九州分析化学若手の会 夏季セミナー, 2013 年 7 月, 長崎ホテル清風 (長崎市)
- (27) Tadashi Hayama, Yohei Sakaguchi, Erina Tamashima, Kenichiro Todoroki, Hideyuki Yoshida, Hitoshi Nohta, Masatoshi Yamaguchi, Fluorous derivatization for matrix effect-free LC-MS/MS analysis: application to biogenic amine analysis, 39<sup>th</sup> International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations & Related Techniques, 2013 年 6 月, Amsterdam (Netherlands)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

巴山 忠 (HAYAMA TADASHI)

福岡大学・薬学部・准教授

研究者番号: 90549693