

COSMOSIL

COSMOSIL PBr

抗老化作用が期待される

ニコチンアミド代謝物と TND1128 の一斉分析

Technical Note

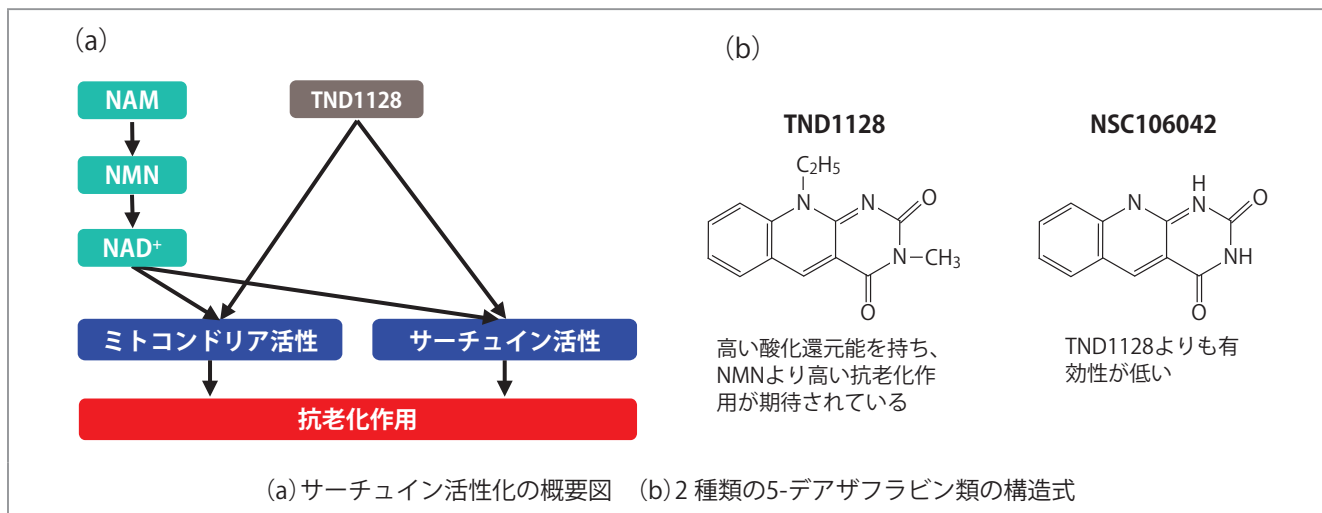
31

老化防止やがんの抑制に効果があるとされるニコチンアミドモノヌクレオチド (NMN) を含むニコチンアミド代謝物と、TND1128 を含む 5-デアザフラビン類をコスモシール PBr カラムで一斉分析できましたので紹介します。

はじめに

● TND1128 について

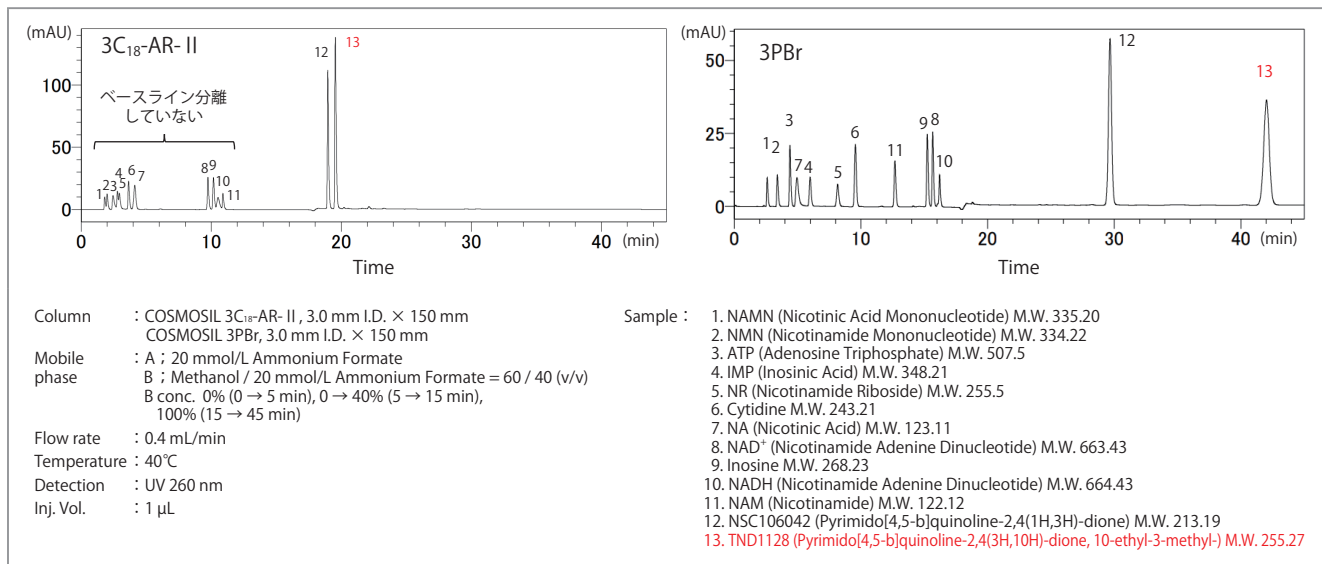
5-デアザフラビン誘導体である 10-エチル-3-メチル-5-デアザフラビン (TND1128) は、NAD や FAD のように酸化還元能を示すフラビン類縁体の一つです。TND1128 は、ニコチンアミド代謝物と同様に、ミトコンドリアやサーチュイン遺伝子の活性化に関与していることが報告されており、同成分を含むサプリメントも複数販売されています。5-デアザフラビンには複数の類縁体 (NSC106042 など) が存在しますが、中でも TND1128 は高い酸化還元能を持つことから、ニコチンアミド代謝物よりも高い抗老化作用が期待されています。ニコチンアミド代謝物に加えて、TND1128 も同時に分析することができれば、抗老化に関する各成分の体内動態をモニタリングすることなどが可能になると考えられます。



弊社ではこれまでに、コスモシール PBr カラムを用いることで、11 種類のニコチンアミド代謝物を分離することに成功しています^{1,2)}。そこで、これまでの分析条件をもとに、ニコチンアミド代謝物と 5-デアザフラビン類の一斉分析の最適化を試みました。

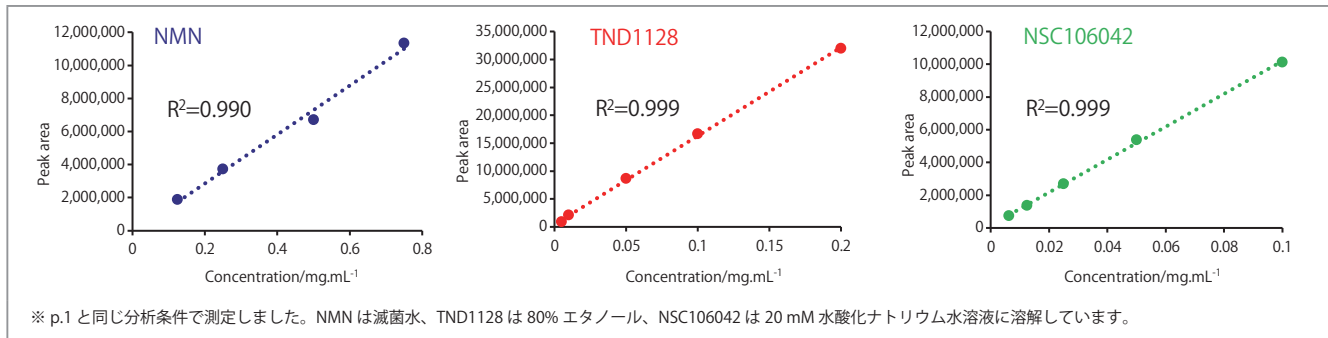
1) Anal. Biochem. 2022;655:114837. 2) MethodsX. 2023;10:102061.

■ C18 カラムと PBr カラムを用いたニコチンアミド代謝物と 5-デアザフラビン類の一斉分析



コスモシール PBr カラムを用いることで、親水性が高い 11 種類のニコチンアミド代謝物と 2 種類の 5-デアザフラビン類を、簡単なグラジエント条件で一斉分離することができました。また、移動相にはギ酸アンモニウムを使用しているため、LC-MS の分析にも適用可能です。

■ PBr カラムを用いた NMN と 5-デアザフラビン類の検量線



濃度の異なる NMN と 5-デアザフラビン類を分析したところ、直線的な検量線を作成することができました。

■ 市販サプリメント中の NMN および TND1128 の定量分析

● サプリメントの前処理

NMN と TND1128 はそれぞれ溶解させる溶媒が異なるため、分析対象ごとにサンプルを調製する必要があります。

遠心分離後の様子

- ① サンプルを 10 mg 秤量し、滅菌水または 80% エタノールを 10 mL 添加し、5 分超音波処理を行います。NMN は滅菌水に、TND1128 は 80% エタノールに溶解されます*。
- ② 12,000 × g で 10 分遠心分離し、得られた上清 300 μL を 5,000 × g で 10 分遠心ろ過します。
- ③ ろ液 200 μL を回収し、HPLC 分析を行います。

* NSC106042 を分析する場合は、20 mM 水酸化ナトリウム水溶液で溶解してください。

● 分析結果

前述の方法で前処理した 2 種類のサプリメントを用いて、NMN と TND1128 の定量分析を行いました。(分析条件は p.1 と同じ。)

Standard

サプリメント A

サプリメント B

N/A

<サプリメント A>

	メーカー記載含量	弊社分析値
NMN	200 mg	187.0 ± 14.0 mg
TND1128	10 mg	10.8 ± 0.6 mg

<サプリメント B>

	メーカー記載含量	弊社分析値
TND1128	30 mg	30.2 ± 3.6 mg

※サプリメント B では NSC106042 の分析を行いました。検出されませんでした。

HPLC 分析により得られたピーク面積と検量線の値から、各サプリメントに含まれる成分の含有量を算出した結果、メーカー記載の成分含量とほぼ一致することを確認しました。

■ 分析に用いた製品 (価格は、オンラインカタログ e-Nacalai Search Version (<https://www.e-nacalai.jp>) で検索していただくことでご覧になれます。)

分類	用途	製品名	規格	製品番号	サイズ 内径 × 長さ (mm) / 容量	
カラム	分析	コスモシール 3PBr パックドカラム	SP (高速液体クロマトグラフ用)	19352-91	3.0 mm I.D. × 150 mm	
		コスモシール 3C ₁₈ -AR-II パックドカラム		21782-91	3.0 mm I.D. × 150 mm	
試薬	移動相	メタノール	劇	SP (高速液体クロマトグラフ用)	21929-81	1 L
		ギ酸アンモニウム		GR	02509-55	500 g
試薬	サンプル前処理	エタノール (99.5V%)		SP (分子生物学用)	08948-25	500 mL
		滅菌水		SP (バイオテクノロジーグレード)	06442-95	500 mL
		4mol/l-水酸化ナトリウム溶液 (4N)	劇	—	37420-15	500 mL
器具		コスモスピンフィルター G(0.2 ミクロン)	—	06549-44	100 pkg	

COSMOSIL はナカライテスク株式会社の登録商標です。
コスモシール

ご注意ください 試験・研究用以外には使用しないでください。

※掲載内容は予告なく変更になる場合があります。

nacalai tesque
The quality for certainty.

● URL
<https://www.nacalai.co.jp/cosmosil/>

■ 販売取扱店

● 価格・納期のご照会
0120-489-552

ナカライテスク株式会社

〒604-0855 京都市中京区二条通烏丸西入東玉屋町498

● 製品に関する技術的なご照会
<https://www.nacalai.co.jp/ss/Contact/>
TEL:075-211-2703