



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ホシゴマシズ筋肉脂質由来1-0-アルキルグリセロールのキラル高速液体クロマトグラフィー/大気圧化学イオン化質量分析
Author(s)	山科, 智裕; 李, 鍾壽; 板橋, 豊
Citation	北海道大学水産科学研究彙報, 57(3), 43-48
Issue Date	2007-12
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/32488
Type	departmental bulletin paper
File Information	P43-48.pdf



ホシゴマシズ筋肉脂質由来 1-O-アルキルグリセロールの キラル高速液体クロマトグラフィー/大気圧化学イオン化質量分析

山科 智裕¹⁾・李 鍾壽²⁾・板橋 豊³⁾

(2006 年 10 月 13 日受付, 2007 年 3 月 5 日受理)

Chiral-phase High-performance Liquid Chromatography/Atmospheric Pressure Chemical Ionization Mass Spectrometry of 1-O-alkylglycerols Derived from Muscle Lipids of *Stromateus stellatus*

Tomohiro YAMASHINA¹⁾, Jong-Soo LEE²⁾ and Yutaka ITABASHI³⁾

Abstract

The chirality and molecular species of 1-O-alkylglycerols derived from muscle lipids from a Stromateidei fish, *Stromateus Stellatus*, were determined by chiral-phase high-performance liquid chromatography (HPLC) and mass spectrometry (MS). For this purpose, 1-O-alkylglycerols were derived from 1-O-alkyl-2,3-diacylglycerols by methanolysis and were then converted into bis-3,5-dinitrophenylurethane (DNPU) derivatives. These were then analyzed by chiral-phase HPLC in conjunction with atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry (APCI-MS). The HPLC separation was performed on a column (25 cm×4.6 mm i.d., 5 μm particle size) having a chiral phase of *N*-[(*S*)-1-(1-naphthyl)ethylaminocarbonyl]-(*S*)-*tert*-leucine and using hexane/dichloromethane/ethanol (40:12:4, by vol) as the mobile phase. The APCI-MS was carried out using an ion-trap mass spectrometer. Post-column addition of 2-propanol was used to assure APCI in the negative mode. In addition to a prominent solvent adduct ion [DNPU+CH₃CH(OH)CH₃-H]⁻ (base peak), the spectra showed [M-DNPU]⁻, [M-DNPU+Cl]⁻ and [M+Cl]⁻ ions, from which the major molecular species could be identified. The results clearly showed that the glycerol moieties in all the alkylglycerols had an *S*-configuration (*sn*-1-O-) and that the major molecular species were 14:0, 16:0, and 18:1. The fragment ions related to the minor components (18:0, 16:1, 17:0 and 20:1), which were previously detected by chiral-phase HPLC/electrospray ionization MS [Yamashina, Lee and Itabashi: *Bunseki Kagaku*, 55, 643-650 (2006)], were not observed under the conditions employed. Thus, the present method demonstrates that the chiral-phase HPLC/APCI-MS provides unambiguous information about the chirality and can be used for identification of the major molecular species of natural 1-O-alkylglycerols.

Key words: Alkylglycerol, Alkyldiacylglycerol, Atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry, Chiral-phase HPLC, 3,5-Dinitrophenylurethane, Enantiomer, Molecular species, Post-column solvent addition, *Stromateus Stellatus*

はじめに

ホシゴマシズ *Stromateus stellatus* は南米の太平洋沿岸に分布する体長約 25 cm のマナガツオ科の魚である (阿部, 1987)。1999 年に、アルゼンチン沖で捕獲され我が国に輸入された本魚の摂取が原因とみられる下痢や腹痛を主症状とした食中毒が長野や大阪で発生し、その原因物質として分子中にエーテル結合を有する脂質 (アルキルジアシルグリセロールやその加水分解物であるアルキルグリセロール)

が疑われた (佐藤ら, 2002)。分子中のエーテル結合がリパーゼによる加水分解を受けないことから消化吸収に大きな影響を及ぼしたものと推測されている。マウス経口急性毒性試験での毒性の強さはアルキルグリセロール>アルキルモノアシルグリセロール>アルキルジアシルグリセロールであり、アシル基を失った方がより強い毒性を示すことが報告されているが、エーテル結合の位置、アシル基及びアルキル基の毒性に及ぼす影響については明らかではない (佐藤ら, 2002)。海産食品中のエーテル脂質の構造を

¹⁾ 北海道大学大学院水産科学院海洋応用生命科学専攻生物資源化学講座
(Division of Marine Life Science, Chair of Bioresources Chemistry, Graduate School of Fisheries Sciences, Hokkaido University)
²⁾ 慶尚大学校海洋生命科学部
(Division of Marine Bioscience, Gyeongsang National University, Korea)
³⁾ 北海道大学大学院水産科学研究院海洋応用生命科学部門生物資源化学分野
(Division of Marine Life Science, Laboratory of Bioresources Chemistry, Faculty of Fisheries Sciences, Hokkaido University)

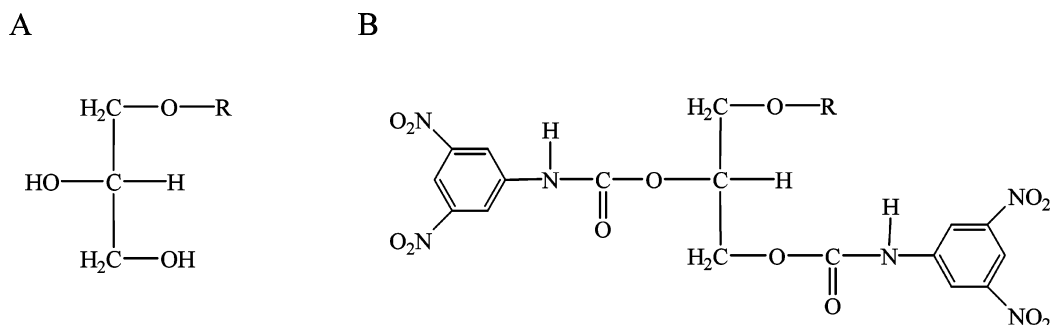


Fig. 1. Structures of 1-*O*-alkylglycerol (A) and its bis(3,5-dinitrophenylurethane) derivative (B).

正確に把握することは、エーテル脂質の機能と代謝を研究する上で不可欠であるばかりでなく、食品衛生の観点から重要であると考えられる。

エーテル脂質分子中のエーテル結合の位置は、そのエナンチオマーを分離することにより決定できる。アルキルジアシルグリセロールのエナンチオマー (1-*O*-アルキル-2,3-ジアシル-*sn*-グリセロールと 3-*O*-アルキル-1,2-ジアシル-*sn*-グリセロール) をクロマトグラフィーで分離することは極めて困難であるが (Itabashi, 2005), これを加水分解して得られるアルキルグリセロールをビス-3,5-ジニトロフェニルウレタン (DNPU) 誘導体 (Fig. 1) に変換してキラル高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で分析することにより、1-*O*-アルキル-*sn*-グリセロールと 3-*O*-アルキル-*sn*-グリセロールの両エナンチオマーは明瞭に分離され、エーテル結合の位置を容易に決定することができる (Takagi and Itabashi, 1986; Itabashi *et al.*, 1997; 板橋・津田, 2000)。一方、アルキルグリセロールの分子種組成 (アルキル基の組成) はイソプロピリデン、トリメチルシリルエーテル、アセテートなどの誘導体に変換した後、気液分配クロマトグラフィー (GLC) で分析することにより明らかにすることができる (Myher, 1978; Christie, 1989)。これらの方法は共に正確な結果を与えるが、両者を併用するのは煩雑で分析に長時間を要する。著者らは前報において、キラル HPLC/エレクトロスプレーイオン化質量分析法 (ESI-MS) を用いてアルキルグリセロールの立体配置 (エーテル結合の位置) と分子種組成を同時に決定する簡便な方法を開発し、ホシゴマシズ由来 1-*O*-アルキルグリセロールの構造解析に適用した。この方法は、キラル HPLC によってエナンチオマー (*sn*-1-*O*- 及び *sn*-3-*O*-) を識別し、かつ ESI-MS によって得られる [M-DNPU]⁺ イオンを利用して個々の分子種を同定するものである (山科ら, 2006)。

本研究では、ESI 法と並び低極性化合物の構造解析に広く利用されている大気圧化学イオン化 (APCI) 法のアルキルグリセロールへの適用について検討した。すなわち、キラル HPLC/APCI-MS を用いてホシゴマシズ由来 1-*O*-アルキルグリセロールを分析し、得られた結果を ESI-MS 法と比較することにより、その特徴を明らかにした。そ

の結果、APCI-MS は少量成分の検出には不向きであるが、主要成分のキラリティーと分子種の決定には ESI-MS と同様に有効であることが認められたので報告する。

実験方法

試料および誘導体の調製

2000 年にチリ沖で捕獲され、韓国に輸入されたホシゴマシズを本研究に使用した。筋肉からアルキルジアシルグリセロール含有脂質を抽出し、その約 20 mg に 5% 塩酸-メタノール溶液を 2 ml 加え、90°C で 2 時間反応させてアルキルグリセロールを調製した (山科ら, 2006)。反応混合物から薄層クロマトグラフィー (TLC) {Merck 製シリカゲル 60GF₂₅₄ プレート (厚さ 0.5 mm, 20×20 cm), 移動相: ヘキサン-ジエチルエーテル-酢酸 (30:70:1, v/v/v)} を用いてアルキルグリセロール (*R_f*=0.12) を単離した。標準品として、Sigma 製の 1-*O*-, 2-*O*-, 及び 3-*O*-ヘキサデシル-*sn*-グリセロール (16:0) を使用した。

アルキルグリセロール (1 mg) を乾燥トルエン (関東化学製, 1 ml) に溶解した後、3,5-ジニトロフェニルイソシアネート (5 mg) を加え、乾燥ピリジン (関東化学製, 40 µl) 存在下で 70°C で 1 時間反応させて、対応するビス-3,5-ジニトロフェニルウレタン (ビス-DNPU) 誘導体を調製した。反応混合物から TLC {Merck 製シリカゲル 60GF₂₅₄ プレート (厚さ 0.5 mm, 20×20 cm), 移動相: ヘキサン-ジクロロメタン-エタノール (40:10:3, v/v/v)} を用いて誘導体画分を分離した。UV 照射下で誘導体を示すバンド (*R_f*=0.18) を確認した後、ジエチルエーテルを用いてシリカゲルから回収した (山科ら, 2006)。

キラル HPLC/APCI-MS

キラル HPLC/APCI-MS 分析には住化分析センター製のカラム (スミキラル OA-4600, 250×4.6 mm i.d., 5 µm) を使用した。カラム入口側に同社製のガードカラム (スミパックスフィルター PG-ODS, 10×4.0 mm i.d.) を取り付けた。OA-4600 はキラルセクターとして *N*-[(*S*)-1-(1-ナフチル)エチルアミノカルボニル]-(*S*)-*tert*-ロイシンを固定相に含むカラムであり、アルキルグリセロールのエナ

ンチオマー (ビス-DNPU 誘導体) を良好に分離することが知られている (Itabashi *et al.*, 1997)。OA-4600 を P4000 ポンプ (Finnigan 製) に接続し、分析温度を 20°C に設定した。移動相にはヘキサン-ジクロロメタン-エタノール (40:12:4, v/v/v) の混液を使用した。流量は 0.5 ml/min とし、イソクラティック溶離法で分析した。また、APCI-MS での溶出成分のイオン化を促進するために、2-プロパノール (流量: 0.3 ml/min) または 2-プロパノール-28% アンモニア水 (99.5:0.5, v/v, 流量: 0.3 ml/min) の混液を LC-6A ポンプ (島津製) を用いてポストカラム法により APCI 源に導入し、それぞれ負及び正イオンモードでマスペクトルを測定した。ヘキサン、ジクロロメタン、エタノール及び 2-プロパノールは HPLC 用 (和光純薬工業製) を用い、28% アンモニア水は特級試薬 (関東化学製) を使用した。

アルキルグリセロール誘導体 (ビス-DNPU) を 10 µg/ml の濃度になるようにヘキサン-ジクロロメタン-エタノール (40:12:4, v/v/v) の混液に溶解し、オートインジェクター (AS3000, Finnigan 製) を用いて、その 3~5 µl をカラムに注入した。移動相の送液には P4000 ポンプ (Finnigan 製) を用いた。MS には、イオントラップ型質量分析計 LCQ (Finnigan 製) を使用し、加熱キャピラリー温度 200°C、気化温度 450°C、ソース電圧 6.0 kV、シースガス (窒素) 流量 70 arbitrary units、キャピラリー電圧 38 V、チューブレングオフセット 60 V に設定し、負イオンスペクトルを測定した (質量範囲 200~1,000 amu)。正イオンスペクトルは、キャピラリー電圧とチューブレングオフセット電圧の符号を正に切り替えて測定した。

結果と考察

標準品の分析

HPLC/APCI-MS は低極性化合物の構造解析に広く利用されている。ヘキサンなどプロトン供与性や受容性のない移動相は溶出成分をイオン化しにくいいため APCI-MS には適さないが、ポストカラム法で溶出液にアルコールやアンモニアなどのプロトン性溶媒を加えることにより、測

定対象のイオン化効率を向上させることができる (Ågren and Kuksis, 2002; Lindmark *et al.*, 2002; Chen *et al.*, 2005)。本研究で用いたキラル HPLC の移動相はヘキサン-ジクロロメタン-エタノール (40:12:4, v/v/v) であり、少量のアルコールを含むが、安定した良好な APCI-MS スペクトルを得るには不十分な量であった。このため、ポストカラム法で 2-プロパノールまたは 2-プロパノール-28% アンモニア水 (99.5:0.5, v/v) を 0.3 ml/min の流量で APCI 源に導入してイオン化効率を高めることを試みた (Fig. 2)。その結果、2-プロパノールを使用した負イオンモードで安定したベースラインと再現性のある良好なスペクトルが得られた。Fig. 3 に、キラル HPLC/APCI-MS で得られたアルキルグリセロール標準品混合物 (*sn*-1-*O*-16:0, *sn*-2-*O*-16:0, *sn*-3-*O*-16:0) のビス-DNPU 誘導体の総イオンカレントクロマトグラム (TIC) とマスペクトルを示す。キラル HPLC/ESI 実には MS (山科ら, 2006) と同様に、キラル HPLC/APCI-MS でもエナンチオマー (*sn*-1-*O*-16:0 と *sn*-3-*O*-16:0) と位置異性体 (*sn*-2-*O*-16:0) は互いに明瞭に分離された (Fig. 3A)。いずれの異性体からも、DNPU に 2-プロパノールの付加した強い $[\text{DNPU} + \text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3 - \text{H}]^-$ (m/z 268, ベースピーク) と DNPU が *sn*-2 位または *sn*-3 位から脱離した $[\text{M} - \text{DNPU}]^-$ (m/z 524), 及びジクロロメタン由来と考えられる塩化物イオンが付加した $[\text{M} - \text{DNPU} + ^{35}\text{Cl}]^-$ (m/z 560) と $[\text{M} - \text{DNPU} + ^{37}\text{Cl}]^-$ (m/z 562) のフラグメントイオンが生成した (Figs. 3B-3D)。脱プロトン化分子 ($[\text{M} - \text{H}]^-$, m/z 733) は *sn*-1-*O*-16:0 と *sn*-3-*O*-16:0 の両エナンチオマーからは検出されなかったが、*sn*-2-*O*-16:0 の位置異性体からはごく弱い強度で検出された (Fig. 3C)。このことは、グリセロールの第 1 級ヒドロキシル基に結合した DNPU のアミド基の水素が第 2 級のそれよりも幾分脱離しやすいことを示唆する。また塩化物イオンの付加した $[\text{M} + ^{35}\text{Cl}]^-$ (m/z 769) と $[\text{M} + ^{37}\text{Cl}]^-$ (m/z 771) が 3:1 の強度比で検出された。一方、ポストカラム法で 2-プロパノール-28% アンモニア水 (99.5:0.5, v/v) の混液を 0.3 ml/min で送液し、分子種の同定に役立つアンモニア付加

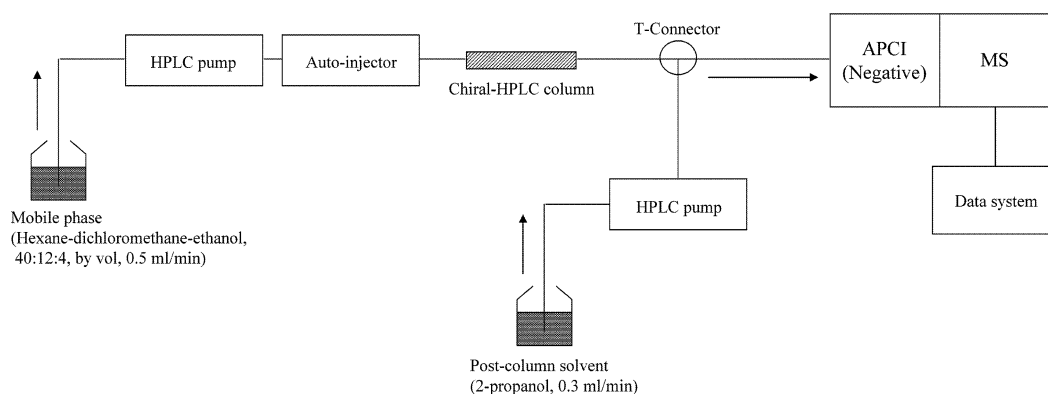


Fig. 2. Schematic diagram of chiral-phase HPLC/APCI-MS equipment set-up with post-column solvent addition employed in this study.

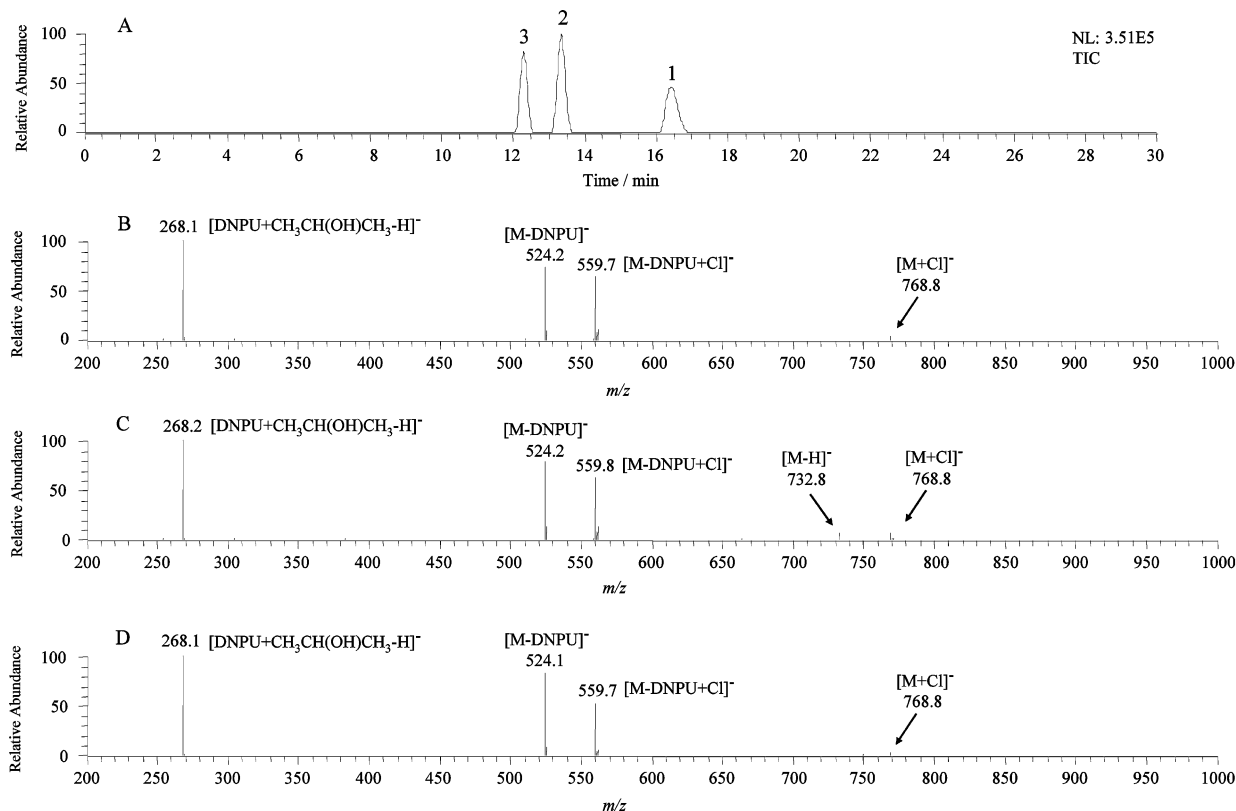


Fig. 3. Chiral-phase HPLC/APCI-MS profiles of the bis(3,5-dinitrophenylurethane) derivatives of enantiomeric and regioisomeric hexadecylglycerols. A, total ion chromatogram (TIC); B, mass spectra averaged over the peak 3 between 12.1 and 12.4 min on the TIC; C, mass spectra averaged over the peak 2 between 13.2 and 13.5 min on the TIC; D, mass spectra averaged over the peak 1 between 16.2 and 16.5 min on the TIC. Post-column solvent addition of 2-propanol was used to assure APCI in the negative mode. Column: OA-4600. Other HPLC conditions as given in text. APCI-MS conditions: capillary temp., 200°C; vaporizer temp., 450°C; source voltage, 6.0 kV; sheath gas (N_2) flow-rate, 70 arb; capillary voltage, -38 V; tube lens offset, -60 V.

Table 1 Relative intensities (%) of the fragment ions of the bis(3,5-dinitrophenylurethane) derivatives of enantiomeric and regioisomeric hexadecylglycerols

Fragment ion ^{a)}	<i>m/z</i>	APCI-MS ^{b)}		ESI-MS ^{c)}	
		<i>sn</i> -1(3)- <i>O</i> -	<i>sn</i> -2- <i>O</i> -	<i>sn</i> -1(3)- <i>O</i> -	<i>sn</i> -2- <i>O</i> -
[DNPU+CH ₃ CH(OH)CH ₃ -H] ⁻	269.0	100.0	100.0	29.5	37.3
[M-DNPU] ⁻	524.3	78.0	78.6	100.0	100.0
[M-H] ⁻	733.3	0.0	6.7	0.1	23.1
[M+Cl] ⁻	769.8	2.4	6.0	22.5	16.4
[M-DNPU+Cl] ⁻	559.8	58.0	62.5	0.0	0.0

^{a)} DNPU=3,5-dinitrophenylurethane.

^{b)} Chiral-phase HPLC/APCI-MS conditions as given in text.

^{c)} Date from Yamashina *et al.* (2006).

イオン等 (正イオン) の生成を試みたが、有効な正イオンは検出されなかった。

キラル HPLC/APCI-MS で得られた各異性体 (ビス-DNPU 誘導体) のフラグメントイオンの相対強度を先に報告したキラル HPLC/ESI-MS と比較して Table 1 に示す。フラグメンテーションは両イオン化法で類似したが、

得られた各イオンの相対強度は両者で大きく異なった。ESI-MS では分子種の同定に有効な [M-DNPU]⁻ が最も強く、次いで [DNPU+CH₃CH(OH)CH₃-H]⁻、そして [M+Cl]⁻ または [M-H]⁻ であった (山科ら, 2006)。一方、本研究で検討した APCI-MS では、分子種情報の得られない [DNPU+CH₃CH(OH)CH₃-H]⁻ イオンが最も強

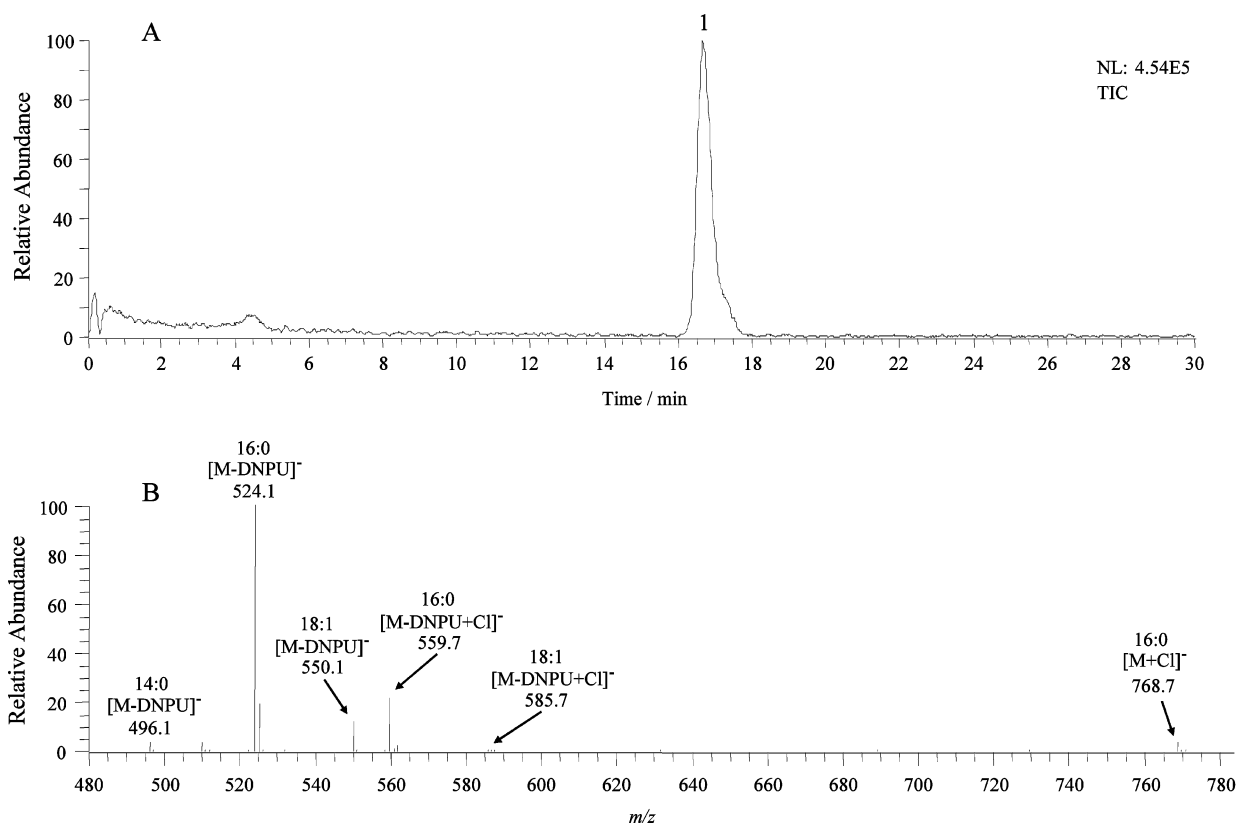


Fig. 4. Chiral-phase HPLC/APCI-MS profiles of the bis (3,5-dinitrophenylurethane) derivatives of 1-*O*-alkyl-*sn*-glycerols derived from the muscle lipids of *Stromateus stellatus*. A, total ion chromatogram (TIC); B, mass spectra averaged over the peak 1 between 16.2 and 17.6 min on the TIC. Chiral-phase HPLC/APCI-MS conditions are the same as those in Fig. 3.

く、次いで $[M-DNPU]^-$ 、そして $[M-DNPU+Cl]^-$ であった。*sn*-2-*O*-16:0 異性体から検出された脱プロトン化分子は ESI-MS では 23.1% であったが、APCI-MS では弱く 6.7% に過ぎなかった。 $[M+Cl]^-$ についても同様の傾向が認められ、*sn*-2-*O*-16:0 由来の $[M-H]^-$ は APCI-MS では 6.0%，ESI-MS ではより強く 16.4% であった。

実試料の分析

ホシゴマシズのアルキルジアシルグリセロールから調製したアルキルグリセロールのキラル HPLC/APCI-MS によって得られた TIC とそのマススペクトルを Fig. 4 に示す。キラル HPLC/ESI-MS の場合と同様に (山科ら, 2006), *sn*-1-*O*-エナンチオマー (*S* 配置) を示す単一ピークが得られた。このピークの APCI-MS スペクトルを測定した結果, $[M-DNPU]^-$, $[M-DNPU+Cl]^-$ 及び $[M+Cl]^-$ イオンが m/z 450 ~ m/z 800 の範囲に観察された (Fig. 4B)。これらのイオンを用いて 14:0, 16:0 及び 18:1 の 3 種類の分子種が同定されたが, キラル HPLC/ESI-MS (山科ら, 2006) で見出された 15:0, 16:1, 17:0, 18:0, 18:2 及び 20:1 の少量成分についてはフラグメントイオンが検出されず, 同定には至らなかった (Table 2)。キラル HPLC/MS で得られるフラグメントイオンの相対強度が

Table 2 Fragment ion intensities of the bis(3,5-dinitrophenylurethane) derivatives of 1-*O*-alkylglycerols derived from the muscle lipids of *Stromateus stellatus*

Molecular species	$[M-DNPU]^-$ (m/z)	Intensity (%) ^{a)}	
		APCI-MS	ESI-MS ^{b)}
14:0	496.3	2.7	16.8
15:0	510.3	— ^{c)}	tr. ^{d)}
16:0	524.3	87.0	58.0
16:1	522.3	—	3.6
17:0	538.3	—	0.6
18:0	552.3	—	9.4
18:1	550.3	10.3	11.3
18:2	548.3	—	tr.
20:1	578.3	—	0.3

^{a)} Average values of three analyses.

^{b)} Data from Yamashina *et al.* (2006).

^{c)} Not detected.

^{d)} Trace (less than 0.1%).

ら正確な分子種組成 (%) を求めるためには各成分の濃度とイオン強度の相関を明らかにすることが必要であるが、16:0 が最多成分であり、次いで 18:1 そして 14:0 を多く含むことは Endo *et al.* (2001) の逆相 HPLC/ESI-TOF-MS 分析の結果及び佐藤ら (2002) の GLC 分析の結果と一致する。

同一量 (約 50 pmol) の試料をキラル HPLC カラムに導入し、APCI-MS と ESI-MS のイオン化を比較した結果、APCI-MS で得られた感度 ($1.5 \times 10^5 \sim 4.5 \times 10^5$) は ESI-MS ($8.5 \times 10^5 \sim 1.5 \times 10^6$) よりも幾分小さいことが認められた。また、APCI-MS ではアルキル基の同定に役立つフラグメントイオンの強度が ESI-MS の場合よりも小さく (Table 1 参照), 少量成分の存在を示すフラグメントイオンも検出されなかったことから、キラル HPLC/APCI-MS はアルキルグリセロールのキラリティーと主要な分子種の同定には有効であるが、少量成分の同定には ESI-MS が優れていることが明らかになった。

お わ り に

エーテル脂質は深海性サメの肝油中に多量に存在する他、種々の生物組織に通常は少量成分として広く分布し、浮力調節に関わったり、血小板活性化因子としての機能を有することが知られている (Mangold and Paltauf, 1983; 林, 1982)。また、最近では免疫機能の活性化や紫外線防御など多様な機能を有することも明らかにされている (玉井・西川, 2004; 西川・玉井, 2005)。本研究で検討したキラル HPLC/APCI-MS 法はエーテル脂質の立体構造と主要アルキル基の簡易同定法として有効であり、海洋生物中のエーテル脂質の構造と機能に関する研究に役立つと思われる。

文 献

- 阿部宗明 (監修) (1987) 原色魚類大図鑑, p. 898, 北隆館, 東京.
- Ågren, J.J. and Kuksis, A. (2002) Analysis of diastereomeric DAG naphthylethylurethanes by normal-phase HPLC with on-line electrospray MS. *Lipids*, **37**, 613-619.
- Christie, W.W. (1989) *Gas Chromatography and Lipids*, p. 64, The Oily Press, Ayr, Scotland.
- Chen, J., Korfmaier, W.A. and Hsieh, Y. (2005) Chiral liquid chromatography-tandem mass spectrometric methods for stereoisomeric pharmaceutical determinations. *J. Chromatogr. B*, **820**, 1-8.
- Endo, Y., Tagiri-Endo, M., Seo, H.-S. and Fujimoto, K. (2001) Identification and quantification of molecular species of diacyl glyceryl ether by reversed-phase high-performance liquid chromatography with refractive index detection and mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, **911**, 39-45.
- 林 賢治 (1982) エーテル脂質の代謝, pp. 101-114, 日本水産学会 (編), 海洋動物の非グリセリド脂質, 恒星社厚生閣, 東京.
- Itabashi, Y., Yamaguchi, A. and Nakaya, K. (1997) Liver oil composition of the megamouth shark, *Megachasma pelagios*. pp. 151-159, Yano, K., Morrissey, J.F., Yabumoto, Y. and Nakaya, K. (eds), *Biology of the Megamouth Shark*, Tokai University Press, Tokyo.
- 板橋 豊・津田孝雄 (2000) スラリー充填キラルキャピラリーカラムを用いる高速液体クロマトグラフィーによる 1-O-アルキルグリセロールの光学異性体分離, 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **49**, 1033-1036.
- Itabashi, Y. (2005) Chiral-phase HPLC of glycerolipids. pp. 167-197, Lin, J.-T. and McKeon, T.A. (eds), *HPLC of Acyl Lipids*, HNB Publishing, New York.
- Lindmark, B., Ahnoff, M. and Persson, B.-A. (2002) Enantioselective determination of felodipine in human plasma by chiral normal-phase liquid chromatography and electrospray ionisation mass spectrometry. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **27**, 489-495.
- Myher, J.J. (1978) Separation and determination of the structure of acylglycerols and their ether analogues. pp. 123-196, Kuksis, A. (ed), *Fatty acids and Glycerides*, Plenum Press, New York and London.
- Mangold, H.K. and Paltauf, F. (1983) *Ether Lipids-Biochemical and Biomedical Aspect*, Mangold, H.K. and Paltauf, F. (eds), Academic Press, New York.
- 西川正純・玉井忠和 (2005) サメ肝油成分ジアシルグリセリルエーテル (DAGE) の生理機能, 月刊フードケミカル, **9**, 38-42.
- 佐藤 剛・徐 還淑・遠藤泰志・藤本健四郎 (2002) ホシゴマシズから抽出したジアシルグリセリルエーテルのリパーゼ加水分解性とマウス急性経口毒性, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **68**, 569-575.
- Takagi, T. and Itabashi, Y. (1986) High-performance liquid chromatographic separation of monoalkylglycerol enantiomers on a chiral stationary phase. *J. Chromatogr.*, **366**, 451-455.
- 玉井忠和・西川正純 (2004) ジアシルグリセリルエーテル (DAGE) の機能性, 食品と開発, **39**, 54-55.
- 山科智裕・李 鍾壽・板橋 豊 (2006) キラル高速液体クロマトグラフィー/質量分析法による 1-O-アルキルグリセロール光学異性体の分離とアルキル基の同定, 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **55**, 643-650.