

## 28R-am08

ステロイドのピリジンカルボキシレート誘導体のLC/ESI-MSに関する研究 (V)  
ーカテコールエストロゲンの誘導体化と一斉微量定量への応用ー

○山下 幸和<sup>1</sup>, 沼澤 光輝<sup>1</sup>, 奥山 光伸<sup>2</sup>, 本間 誠次郎<sup>2</sup> (<sup>1</sup>東北薬大, <sup>2</sup>帝国臓器製薬メディカル)

【目的】LC-ESI-MS (/MS)によるステロイド分子の検出において、高感度化および汎用性を指向した実用的な誘導体として、ピリジンカルボン酸エステルを見出し、中でもピコリン酸エステルが優れた特性を有することを明らかにした。今回演者らは、乳がん細胞の増殖に関わるとされるカテコールエストロゲンの一斉定量分析に本誘導体化を応用すべく、その基礎的検討を行った。

【実験】誘導体調製：2-Hydroxyestrone (2-OH-E1), 4-hydroxyestrone (4-OH-E1), 2-hydroxyestradiol (2-OH-E2), 4-hydroxyestradiol (4-OH-E2)を THF 中、4-dimethylaminopyridine, triethylamine 存在下、picolinic acid および 2-methyl-6-nitrobenzoic anhydride と反応させ、目的とするエステル体を調製した。過剰の試薬は Oasis HLB を用いる固相抽出法で除去した。内標準物質の合成：[1,2,3,4-<sup>13</sup>C<sub>4</sub>]-E1 または [1,2,3,4-<sup>13</sup>C<sub>4</sub>]-E2 を樹脂固定化 2-iodoxybenzoic acid で酸化後、HPLC で分画し各カテコールエストロゲンに対応する同位体標識体を得た。LC-ESI-MS(/MS)：TSQ Quantum, positive mode, spray voltage 4500V; column, Cadenza CDC-18, 50 mm x 2 mm i.d., 3μm; mobile phase, CH<sub>3</sub>CN-0.1%CH<sub>3</sub>COOH=70:30, 0.2 mL/min; Collision gas, Ar。

【結果及び考察】本誘導化法は、これらカテコールエストロゲンを ng レベルで、1ステップで定量的に誘導体化でき、過剰の試薬除去も固相抽出法で容易に行えること、さらにプロトン化分子イオンが基準ピークとする単純な positive-ESI スペクトルを与えた。MS/MS においては、プロトン化分子イオンからピコリン酸の脱離による product ion の生成が主で、この遷移を SRM におけるモニタリングイオンとして使用した。カテコールエストロゲンの本誘導体化による感度および特異性の検討、ならびに安定同位体を内標準物質に用いた定量法開発について報告する。