

26M-am06

Heck coupling反応を利用する末端アルケンの蛍光標識法の開発

○大熊 瑞穂¹, 岸川 直哉¹, 和田 光弘¹, 中島 憲一郎¹, 黒田 直敬¹ (長崎大院医歯薬)

【目的】蛍光標識 HPLC 定量法は、その優れた感度と選択性のため生体中の微量化合物の分析法として広く用いられている。しかし、医薬品の中には標識可能な官能基を持たない化合物も多く、これらの高感度な蛍光定量は困難である。今回、我々はアリールハライドと末端アルケンとのカップリング反応である Heck coupling 反応を利用し、末端アルケン構造を有する医薬品である塩酸アルプレノロールの蛍光標識定量法の開発を試みた。蛍光標識試薬としては、Heck coupling 反応での反応性がアリールハライドの中で最も高いアリールヨウダイド構造を有する、4-(4,5-diphenyl-1H-imidazole-2-yl)iodobenzene (DIB-I) を開発し、用いた。

【方法】蛍光標識操作：塩酸アルプレノロールの *N*-methylpyrrolidone (NMP) 溶液 50 μ L に 4 mM DIB-I の NMP 溶液、0.04 mM 酢酸パラジウムの NMP 溶液及び 4 mM トリエチルアミン (TEA) 水溶液 50 μ L を順次加え、100 $^{\circ}$ C で 60 分間加熱を行い、この 20 μ L を HPLC に注入する。HPLC 条件：分離カラムは LiChrosorb Si60 (250 x 4.0 mm, i.d.: Merck) を使用し、移動相として 0.02 % 酢酸及び 0.02 % TEA を含むアセトニトリル/水混液 (90:10, v/v) を用いた。検出は Ex 330 nm, Em 420 nm で行った。

【結果及び考察】塩酸アルプレノロールは DIB-I によって蛍光標識され、標識体ピークは 16.5 分に溶出した。塩酸アルプレノロールの標準溶液を用いて検量線を作成したところ、濃度とピーク高さとの間に良好な直線関係が得られた。末端アルケンは従来の蛍光標識試薬では標識不可能な部位であり、生体試料に応用した場合、この部位を持つ生体成分は極めて少ないことから、選択的に薬物のみを蛍光標識できると考えられる。従って、今後は反応条件の最適化を行うと共に、本法の血清試料への適用性を評価していく予定である。