

30D-am07

アリルホウ酸を用いた過酸化水素の蛍光定量法の開発と尿試料分析への応用
○江川 隼人¹, 佐野 明¹(¹東京理大薬)

【目的】昨年度の本年会で、アリルホウ酸を用いる過酸化水素の蛍光定量法を報告した(日本薬学会第 130 年会要旨集 4, p131)。今回は定量条件の再検討を行うとともに、尿中過酸化水素定量への応用を試みた。

【実験】過酸化水素溶液又は希釈尿 1 mL に、6-メトキシ-2-ナフタレンホウ酸(MNB)溶液を 1 mL、NaOH 水溶液を 0.2 mL 加えて混和後、室温で 10 分間反応させた。その後反応液を励起波長 373 nm、蛍光波長 443 nm で蛍光強度を測定した(日本分光 FP-6500)。

【結果・考察】標準溶液の定量：定量条件を検討した結果、MNB を 0.1 mM ジメチルスルホキシド溶液、NaOH を 6 mM とし、室温で 10 分間反応させることにより高い蛍光強度が得られた。検量線を作成したところ、過酸化水素濃度 20 μM まで良好な直線性を示し($R^2=0.9999$)、 $10\sigma/S$ (σ :試薬ブランクの標準偏差、 S :検量線の傾き)による定量下限は 0.036 μM となり、かなり高感度であることが分かった。また、他の活性酸素種と反応性を比較したところ、最大でもパーオキシナイトライトから過酸化水素の 16.8 %の蛍光しか得られず、過酸化水素に選択的であることが分かった。尿中過酸化水素の定量：尿試料の反応条件として、MNB を 0.2 mM エタノール溶液とし、塩基には NaOH の代わりに 50 mM テトラエチルアンモニウムヒドロキシドを用い、遮光下で反応を行うこととした。また、尿中過酸化水素の定量に際してはカタラーゼ処理を行った尿をブランクとすることとした。以上の条件で添加回収実験を行ったところ、尿中添加濃度 4~100 μM で良好な回収率と再現性が得られた。今後、多数の検体分析や既存の定量法による定量値との比較等について検討を行う予定である。