

フェノール類のHPLC分析用蛍光誘導体化試薬
2-Methoxy-4-(2-phthalimidinyl)phenylsulfonyl
Chlorideの開発及び尿中フェノール及び
p-クレゾールの定量への応用

鶴田泰人、北井伸吾、渡邊祥二、井上裕文

Anal. Biochem., 280 (1), 36-41 (2000)

**2-Methoxy-4-(2-phthalimidinyl) phenylsulfonyl Chloride
as a Fluorescent Labeling Reagent for Determination of
Phenols in High-performance Liquid Chromatography,
and Application for Determination
of Urinary Phenol and p-Cresol**

Yasuto Tsuruta, Shingo Kitai,
Shouji Watanabe and Hirofumi Inoue

ABSTRACT: Highly sensitive fluorescent labeling reagents, 2-alkyloxy-4-(2-phthalimidinyl)phenylsulfonyl chlorides (alkyloxy = methoxy, ethoxy and propoxy; MPS-Cl, EPS-Cl and PPS-Cl, respectively), for determination of phenols by high-performance liquid chromatography (HPLC) have been developed. These reagents react with phenols in basic medium to produce the corresponding fluorescent sulfonyl esters. The maximum fluorescence wavelengths of the derivatives were 308 nm for excitation and 410 nm for emission. The peaks due to phenol labeled with MPS-Cl, EPS-Cl and PPS-Cl eluted at 6.3, 8.8 and 12.8 min, respectively, on a reversed-phase column with isocratic elution of methanol-water (2:1, v/v), and the detection limits (signal-to-noise=3) of the derivatives were 10, 12 and 17 fmol per injection, respectively. Among these reagents, MPS-Cl was advantageous because its derivatives had shorter retention times and higher sensitivities in HPLC. The efficiency of converting phenol to the fluorescent derivative by MPS-Cl was about 100%. When MPS-Cl was applied to the determination of urinary phenol and p-cresol by HPLC using p-ethylphenol as an internal standard, the derivatives were

separated at retention times of 6.3, 8.7 and 12.3 min, respectively, under the HPLC conditions described above. The concentrations of phenol and *p*-cresol in normal human urine were 11.9~293.5 and 8.2~346.1 nmol/mg creatinine, respectively.

抄録 フェノール類の定量のための高感度なHPLC用蛍光誘導体化試薬として 2-alkyloxy-4-(2-phthalimidinyl)phenylsulfonyl chloride類 (alkyloxy = methoxy, ethoxy and propoxy; MPS-Cl, EPS-Cl 及び PPS-Cl) を開発した。これらの試薬は、塩基性下、フェノール類と反応して発蛍光性のスルホン酸エステル誘導体を生成した。誘導体の蛍光極大波長は励起側 318 nm、蛍光側 406 nmであった。MPS-Cl, EPS-Cl 及び PPS-Clによりラベル化されたフェノールに基づくピークは逆相系カラムを用いたメタノール/水 (2:1, v/v) のイソクラティック溶出法によりそれぞれ 6.3、8.8 及び 12.8 分に溶出され、検出限界 (S/N=3) は注入量当たりそれぞれ 10、12 及び 17 fmol であった。これらの試薬のなかで、MPS-ClはHPLC分析において誘導体の保持時間が短く高感度であった。MPS-Clによるフェノールの誘導体化率は約100%であった。内標準物質として*p*-エチルフェノールを用いた尿中フェノール及び*p*-クレゾールのHPLC定量へ応用したとき、MPS誘導体はそれぞれ6.3、8.7及び12.3分に分離溶出された。人尿中フェノール及び*p*-クレゾールの濃度はそれぞれ11.9~293.5及び8.2~346.1 μ Mであった。