

蛍光誘導体化試薬4-(5,6-ジメトキシ-2-フタルイミジニル)- 2-メトキシフェニルスルホニルクロリドを用いる テトラヒドロイソキノリン類の高速液体クロマトグラフ法 による同時定量

井上裕文、松原大祐、鶴田泰人

Journal of Chromatography B, 867 (1), 32-36 (2008)

Simultaneous analysis of 1,2,3,4-tetrahydroisoquinolines by high-performance liquid chromatography using 4-(5,6-dimethoxy-2-phthalimidinyl)- 2-methoxyphenylsulfonyl chloride as a fluorescent labeling reagent

Hirofumi Inoue, Daisuke Matsubara, Yasuto Tsuruta

ABSTRACT A highly sensitive high-performance liquid chromatographic method for the simultaneous analysis of 1,2,3,4-tetrahydroisoquinolines (TIQs) in the rat brain was developed. 1,2,3,4-Tetrahydroisoquinoline (TIQ), 1-methyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (1-MeTIQ) and 1-benzyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (1-BeTIQ) were derivatized with 4-(5,6-dimethoxy-2-phthalimidinyl)-2-methoxyphenylsulfonyl chloride to produce fluorescent sulfonamides. The labeling reaction was carried out at 50°C for 15 min at pH 8.5. The fluorescent derivatives were separated on a reversed-phase column by gradient elution using (A) water-(B) acetonitrile/methanol (55:45) at 55°C and detected by fluorescence measurement at 318 nm (excitation) and 398 nm (emission). The detection limits (signal-to-noise ratio = 3) were 8-10 fmol per injection. The relative standard deviations (n = 6) of TIQs were 2.6-10.5% and the recoveries were 87.6, 101.8 and 75.2%, respectively. The concentrations of TIQ, 1-MeTIQ and 1-BeTIQ in normal rat brains (n=6) were 0.7 ± 0.3 (0.10 ± 0.04), 3.4 ± 1.5 (0.50 ± 0.22) and 1.3 ± 1.8 pmol/g (0.30 ± 0.41 ng/g), respectively.

抄録 テトラヒドロイソキノリン類(TIQs)の同時定量のための高感度なHPLC分析法を開発した。1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン(TIQ), 1-メチル-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン(1-MeTIQ)及び1-ベンジル-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン(1-BeTIQ)は4-(5,6-ジメトキシ-2-フタルイミジニル)-2-メトキシフェニルスルホニルクロリドにより誘導体化され、発蛍光性のスルホンアミドを生成した。誘導体化反応は、pH 8.5において50°C、15分間行った。蛍光誘導体は逆相系カラム(55°C)を用いた水-アセトニトリル-メタノール系のグラジエント溶出法により分離され、励起波長318nm、蛍光波長398nmにおける蛍光で検出された。検出限界は注入量あたり8-10 fmol (S/N=3)であった。繰り返し精度(相対標準偏差, n=6)は2.6-10.5%であり、添加回収率は87.6(TIQ)、

101.8(1-MeTIQ)及び75.2%(1-BeTIQ)であった。正常ラット脳中のTIQ、1-MeTIQ及び1-BeTIQ はそれぞれ 0.7 ± 0.3 (0.10 ± 0.04), 3.4 ± 1.5 (0.50 ± 0.22) and 1.3 ± 1.8 pmol/g (0.30 ± 0.41 ng/g)であった。