

3P098

高プロトン親和性 Cookson 型試薬によるステロイド誘導体の
ESI-MS 検出効率に及ぼすプロトン親和力の影響

(東京理大・薬) ○茶谷仁、島田洋輔、小川祥二郎、後藤了

Contribution of the proton affinity in Cookson-type reagents
pretreating the analytes to improve the detection efficiency of steroid
derivatives in ESI/MS analysis

(Fac., Pharm. Sci., Tokyo Univ. Sci.) ○Chatani Hitoshi, Shimada Yohsuke,
Ogawa Shoujiro, Goto Satoru

【背景・目的】

極微量の生体内関連物質の分析には高感度な手法が要求される。ステロイド代謝物は、ESI 応答性が低いものも多く、検出感度向上を目標として様々な誘導体試薬も導入されている。一方、*s-cis*-ジエンを有するステロイド代謝物に対して Diels-Alder 反応により誘導体化する Cookson 型試薬 (1,2,4-triazoline-3,5-dion, Figure 1) が知られるが、測定対象によっては、LC/ESI-MS/MS における検出感度は未だ十分ではない。ESI-MS では主にプロトン付加分子が基準ピークとして得られるため、誘導体の検出感度はプロトン親和力 (PA) と関係すると推察された。^[1]

本研究では、*s-cis*-ジエンを有する化合物として先天奇形症候群である Smith-Lemli-Opitz 症候群 (SLOS) の診断マーカーとされる 7-dehydrocholesterol (7-DHC) をモデルとして用い、Cookson 型試薬に対する ESI-MS/MS による検出限界 (LOD, S/N = 5) と PA の相関を検討し、より検出感度の高い新規 Cookson 型試薬のモデルを考察した。

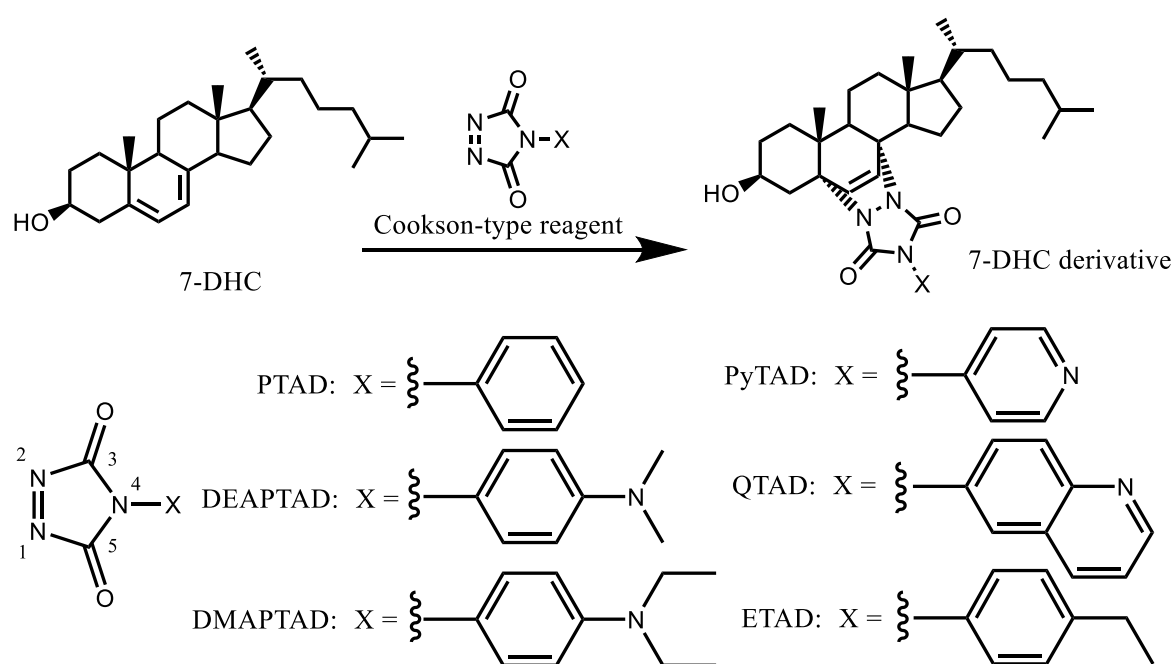


Figure 1. Cookson 型試薬の分子構造

【方法】

[装置, Waters Premier XE ; カラム, YMC Pack Pro C18 RS ; 移動相, MeOH-10 mM HCOONH₄ (14:1 v/v) ; 流速, 0.2 mL/min] という分析条件で LOD を測定した。

各窒素原子における PA は Gaussian 09 を用いて B3LYP/6-31g(d)による計算を行い構造最適化、振動解析により求めた。これと LOD との相関を回帰分析により検討した。

【結果・考察】

Cookson 型試薬の N1 及び 4-X 基における N 原子の PA 値と LOD の相関は Figure 2, 3 のようになり、相関係数はそれぞれ-0.731, 0.324 であった。各 N 原子の PA を算出した結果、ESI-MS に関わると考えられる部分は分子内で PA が大きく算出された 4-X 基における N 原子である。しかし、予想に反して 4-X 基における N 原子の PA には LOD との相関は認められなかった。強い相関が示された N1 は 7-DHC が誘導体化された際に結合している部分であることが明らかになった。(Figure 1) このことは、N1 の PA 値が誘導体化した際、ESI-MS/MS でのプロトン付加分子と深く関係していることを意味する。

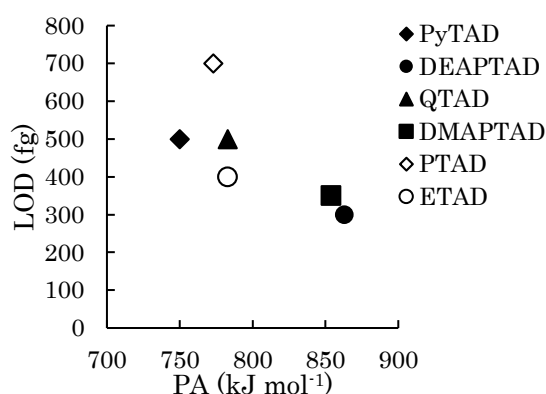


Figure 2. N1 の PA と LOD の相関

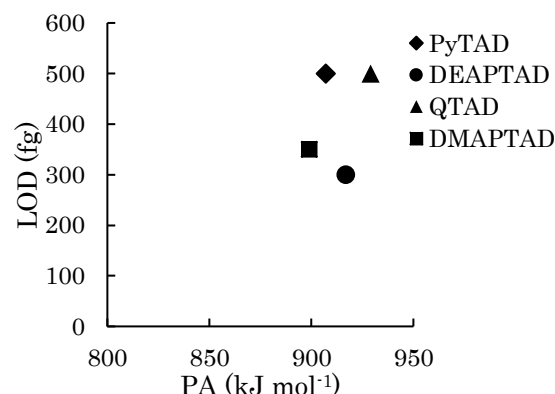


Figure 3. 4-X における N の PA と LOD の相関

次に Cookson 型試薬の 4 位置換基の違いによる N1 の PA の挙動を考察した。*p* 位置換フェニル基について電子吸引基、供与基ごとに算出した PA 値と Hammet 則における σ_p の相関が見出された。(Figure 4)^[2] これは、 σ_p と PA の相関係数は-0.893 となり、 σ_p が小さいと PA は大きくなることを示す。すなわち、Cookson 型試薬は *p* 位置換フェニル基に電子供与性の高い置換基を導入すると検出感度が向上すると考えられる。

【参考文献】

- [1] Ogawa S, Kittaka H, Shinoda K, Ooki S, Nakata A and Higashi T. Biomed. Chromatogr. 2016; 30: 938-945
- [2] Corwin Hansch, Albert Leo and David Hoekman. Exploring QSAR Hydrophobic, Electronic, and Steric Constants. ACS Professional Reference Book. 1995

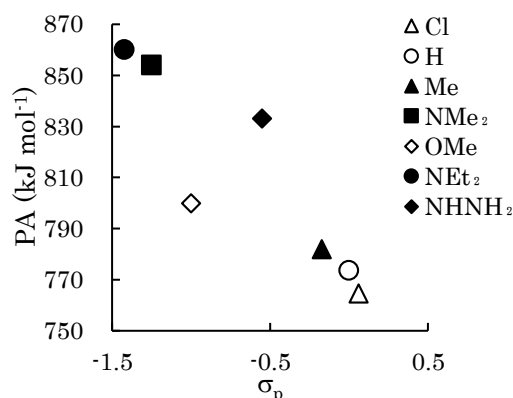


Figure 4. σ_p と PA の相関関係