

電気化学クロマトグラフィーを用いたオンカラム酸化還元化学種変換による
アドレノクロムの選択的分離に関する研究

日大生産工(院) ○小田 幹 日大生産工 齊藤 和憲, 中釜 達朗
ユタ大 Marc D. Porter 埼玉大院理工 渋川 雅美

【緒言】

高速液体クロマトグラフィー(HPLC)は、産業や研究の様々な分野に用いられている分離分析法である。近年では微量の化学物質によって人体に重大な影響を与えることが認知されているが、多成分混合物中の極微量成分の分離は必ずしも容易ではなく、新しい分離選択性をもつシステムの開発が常に望まれている。分析対象化合物に特異的な化学反応を利用する方法は、分離選択性を向上させるために効果的な方法のひとつである。そのうち、化学反応を二次的平衡(SCE)として利用する方法は、その化学平衡に関与する物質の保持を反応試薬の濃度で制御できるため、高い分離選択性を実現できる。最近、本研究室では、Porter らの開発した電気化学クロマトグラフィー(EMLC)を用い¹⁾、印加電位を制御することにより、ヒドロキノンとその酸化体である *p*-ベンゾキノンとの平衡混合物としてカラム内を移動できることを明らかにした²⁾。

本研究では、この方法により L-アドレナリンの酸化誘導体であるアドレノクロムの選択的分離を試みた結果について報告する。

【実験操作】

Fig.1 に EMLC カラムの概略図を示す。EMLC カラムは、多孔質ステンレス管に管状のナフィオン陽イオン交換膜を挿入し、

BTRcarbon(3.5 μm)を充填して作製した。参照電極は Ag/AgCl 電極 (飽和 NaCl) を用い、多孔質ステンレス管を浸漬した電解質溶液内に設置した。溶離液は pH 3.5 に調整した 0.1 M リン酸緩衝溶液に 40~50%(v/v)アセトニトリルを添加したものをを用いた。流量は 200 μl/min に設定し、注入試料体積は 5 μl とした。検出はフォトダイオードアレイ検出器を用い、200~500 nm の波長で測定した。EMLC カラムへの印加電位はポテンショスタットを用いて制御した。試料化合物にはアドレノクロムおよび L-アドレナリンを用い、0.1 M リン酸緩衝溶液(pH 3.5)で溶かして 10 mM に調製したものをストック溶液とした。試料溶液はストック溶液を溶離液で希釈し、0.1 mM に調製したものをを用いた。

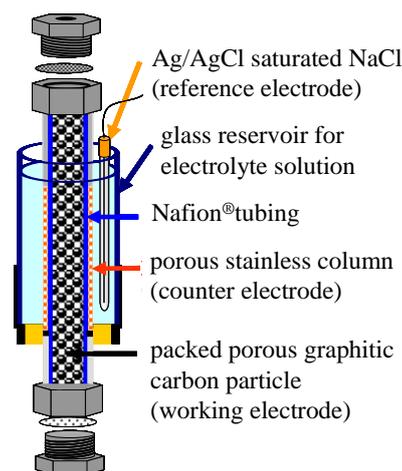


Fig.1 Schematic diagram of EMLC column.

Study on On-Column Electrochemical Redox Derivatization for Separation Selectivity of
Adrenochrome Using Electrochemically Modulated Liquid Chromatography

Takashi ODA, Kazunori SAITOH, Marc D. PORTER, Masami SHIBUKAWA and Tatsuro NAKAGAMA

【結果および考察】

Fig.2 は、印加電位に対するアドレノクロムと L-アドレナリンの保持時間の依存性を示したものである。アドレノクロムの保持時間は、印加電位+100~+200 mV の範囲内で一定であるが、-50 mV の電位を印加すると著しく増加している。また、-50 mV 以下の電位では、保持時間はなだらかに減少している。ピークのスペクトルを調べたところ、+100~+200 mV ではアドレノクロムとして、-50 mV 以下ではそれとは異なる化学種として溶出していることが明らかになった。Wang らは、低い pH の条件下でアドレノクロムを還元すると、生成した還元体であるロイコアドレノクロムが脱水反応を生じ、1-メチル-1*H*-インドール-5,6-ジオールに変換することを報告している³⁾。これより、-50 mV 以下では1-メチル-1*H*-インドール-5,6-ジオールとして溶出することが明らかになり、アドレノクロムの酸化還元反応を SCE として導入できないことが示唆された。一方、L-アドレナリンの保持時間は、全ての印加電位範囲において変化が見られず、また、ピークの吸収スペクトルから L-アドレナリンとして溶出していることを確認した。これは、-50 mV 以下の電位を印加し、アドレノクロムを還元および脱水変換することで L-アドレナリンと相互分離できることを示している。

Fig.3 に L-アドレナリンとアドレノクロムの分離を行ったクロマトグラムを示す。+200 mV では L-アドレナリンとアドレノクロムのピークが重なっている。しかし、-350 mV では、それぞれ単一のピークとして検出されており、本法により L-アドレナリンとアドレノクロムを分離できることが明らかになった。

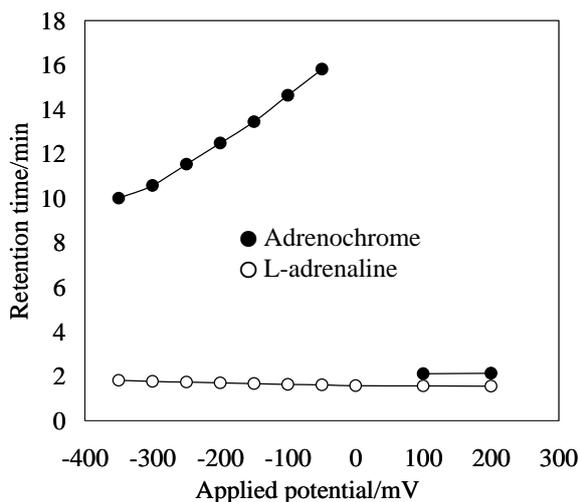


Fig.2 Dependence of retention time of adrenochrome and L-adrenaline on applied potential. Eluent: 0.1 M phosphate buffer (pH 3.5), 40% (v/v) acetonitrile

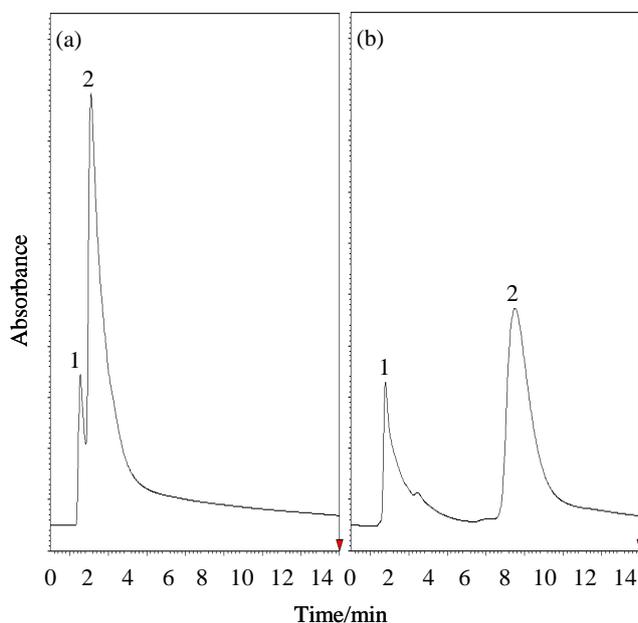


Fig.3 Separation of L- adrenalinae (1) and adrenochrome (2) by EMLC. Applied potential: (a) +200 mV, (b) -350 mV Eluent: 0.1 M phosphate buffer (pH 3.5), 50% (v/v) acetonitrile

【参考文献】

- 1) J. A. Harnisch, M. D. Poter, *Analyst*, 126, 2001, 1841.
- 2) K. Saitoh, K. Koichi, F. Yabiku, Y. Noda, M. D. Porter, M. Shibukawa, *J. Chromatogr. A*, 1180, 2008, 66
- 3) H.-S. Wang, D.-Q. Huang, R.-M. Liu, *J. Electroanal. Chem.*, 570, 2004, 83,