

Benz [a] anthracene 誘導体の高速液体 クロマトグラフィー (2)

— 含水アセトニトリルを移動相とした分離 —

川崎医療短期大学 放射線技術科

*川崎医療短期大学 臨床検査科

紺野 勝信 西村 明久 日地 啓夫

西下 創一 佐藤 彰一*

(昭和58年9月10日受理)

Hight Speed Liquid Chromatography of Benz [a] anthracene Derivatives II — Separation by acetonitrile/H₂O as a mobile phase —

Katsunobu KONNO, Akihisa NISHIMURA, Hiroo HIJI,
Soichi NISHISHITA, Shoichi SATO*

Department of Radiological Technology,

*Department of Medical Technology, Kawasaki College of Allied Health Professions

Kurashiki 701-01, Japan

(Received on Sep. 10, 1983)

Key words : benz [a] anthracene 誘導体, 多環芳香族炭化水素, 高速液体クロマト
グラフィー

概 要

主に7と12位に置換基のある benz [a] anthracene 誘導体, 16種を試料とし移動相に含水アセトニトリル, カラムにパーマフェーズ ODS (内径2.1mm×1000mm, ステンレス製) を用いた高速液体クロマトグラフィーを行い, 分離条件を検討した。

この結果, 最適分離条件はアセトニトリル濃度40%, カラム温度60°C, 圧力70 kg/cm² (流速1.50 ml/min) であった。更に濃度勾配溶出法を検討し, アセトニトリル濃度を変化率2%/minで, 30%から60%に変化させたとこ分離が改善された。

benz [a] anthracene 誘導体の ODS カラムにおける分離には, 移動相として含水メタノールより含水アセトニトリルを用いた方が, 全体に分離能を低下させずに保持時間の短縮がみられた。

1. 緒 言

高速液体クロマトグラフィー (HSLC) は芳香族炭化水素類の分離のために広く使用されてきた。吸着クロマトグラフィー¹⁾²⁾、逆相分配クロマトグラフィー^{3)~6)}で、これらの化合物を分離した報告が最も多く、イオン交換⁷⁾、ゲル浸透クロマトグラフィー⁸⁾を用いた例も見受けられる。

著者らは前報⁹⁾において、移動相に含水メタノール、固定相にパーマフェーズ ODS を用いた逆相分配クロマトグラフィーで、癌原性多環芳香族炭化水素類である benz[a]anthracene (BA) 類を分離した。

今回、移動相として含水アセトニトリルを採用し、BA 類 16 種、すなわち 7-bromo-BA (1)、7-chloro-BA (2)、BA-7-carbonitrile (3)、7, 12-diacetoxy-BA (4)、BA-7-carboxaldehyde (5)、BA-7-aldoxime (6)、7-nitro-BA (7)、7-amino-BA (8)、7-acetamido-BA (9)、7-methyl-BA (10)、12-methyl-BA (11)、5, 6-dimethyl-BA (12)、7, 12-dimethyl-BA (13)、BA (14)、di-benz(a, h)anthracene (15)、7, 12-diphenyl-BA (16) について、HSLC を行い分離条件を検討した。

2. 実 験

試料はジオキサンに溶かし、混合試料は各試料 1 mg/ml または 0.1 mg/ml 濃度の等量混合したものを用い、溶液 3.0 μ l をオンフロー方式で注入して各クロマトグラムを得た。溶剤および展開剤としてジオキサンはクロマトグラフ用、アセトニトリルは市販特級品を使用した。

検出器に 254nm 固定波長の紫外線検出器を備えた島津・デュポン 830 型高速液体クロマトグラフを用いた。分離カラムはパーマフェーズ ODS を充てんした内径 2.1mm、長さ 1000 mm のステンレススチール製である。

3. 結果と考察

3.1 分離に及ぼす影響

BA 類の分離挙動について、移動相組成、カラム温度、圧力 (流速) の 3 因子のうち、2 因子を固定してキャパシティーファクター (k')、保持時間 (t_R)、あるいは分離度 (R_s) に及ぼす影響を検討した。

その結果、移動相組成の影響 (Fig. 1) は前報と同様、有機溶媒含有量の増加に従い k' は対数的に減少した。

次にカラム温度の影響 (Fig. 2) は、 k' の対数値と絶対温度の逆数との間に直線関係が成立した。分離度は温度が上昇すると減少していたが、これは温度上昇、粘度低下などにもなる分配平衡 (疎水結合平衡) がはやくなることにより、流速の増加と溶媒に対する分配平衡の変化の影響が大きいと考えられる。

流速の影響 (Fig. 3) は、流速の増大に従い保持時間は対数的に減少した。各試料間の分離度

は流速の影響をあまり受けなかったが、これは流速の増大にともなう有効理論段高さHEETPの変化が小さいことによるものと思われた (Fig. 3)。

3.2 最適分離条件

3.1の分離に及ぼす影響の結果を参考として、試料に適した分離条件を求めた。その結果は Fig. 4 に示した。各試料の k' の変動係数はほとんどのものが2% ($n=5$) 以下であり、また

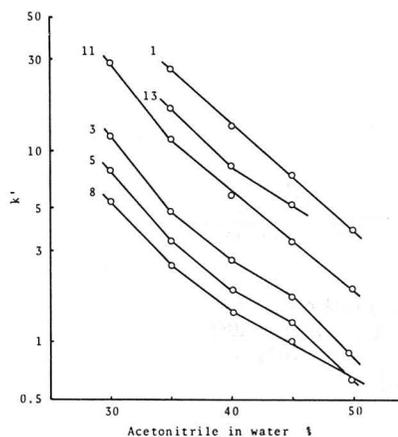


Fig. 1 Effect of acetonitrile concentration on k'
column temperature: 60°C,
pressure: 70 kg/cm²

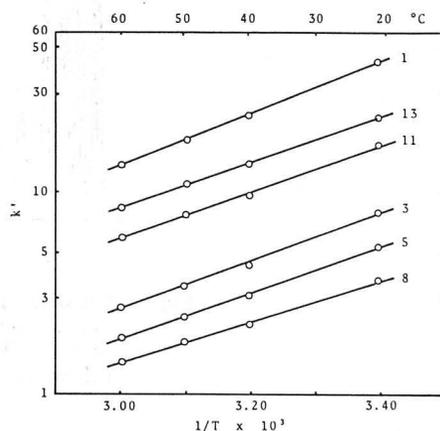


Fig. 2 Effect of column temperature on k'
solvent: 40% acetonitrile in water,
pressure: 70 kg/cm²

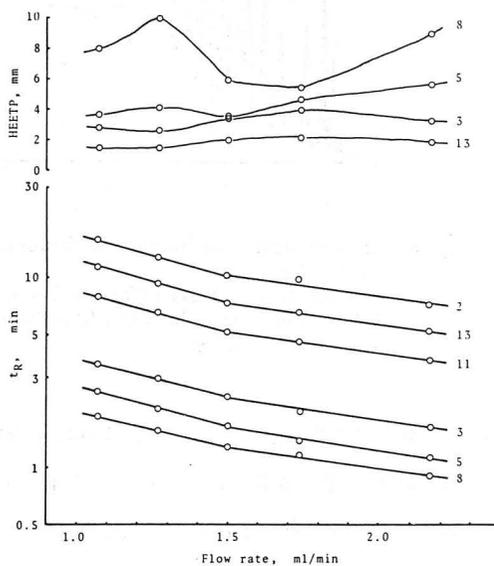


Fig. 3 Effect of flow rate on t_R and HEETP
solvent: 40% acetonitrile in water,
column temperature: 60°C

分離度は1以上であった。

Fig. 5 は濃度勾配溶出法を検討した結果で、各試料の k' の変動係数は1% ($n=5$) 以下と安定していた。

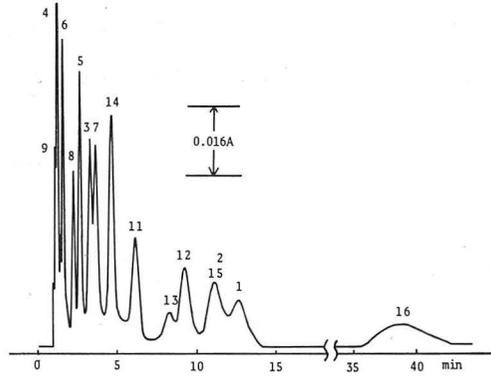


Fig. 4 Chromatogram of benz(a)anthracenes
column temperature: 60°C, solvent: 40%
acetonitrile in water, pressure: 70 kg/cm²
(flow rate: 1.50 ml/min)

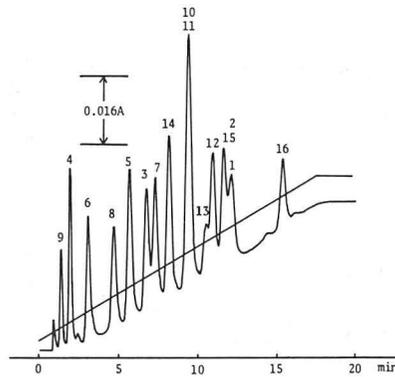


Fig. 5 Chromatogram of benz(a)anthracenes:
gradient elution
column temperature: 60°C, solvent: 30→
60%, acetonitrile in water (2%/min),
pressure: 70 kg/cm²

前報⁹⁾のメタノール・水系を移動相としたものより、全体に分離能を低下させずに保持時間の短縮がみられた。これは k' から予想されることであり、理由としては試料に対する特性及び溶媒の分配平衡への到達のしやすさが考えられる。また溶離液の溶出力は、アセトニトリルの方がメタノールより大きかった。

以上のことから、 π 電子系をもつBA誘導体のODSカラムによる逆相分配クロマトグラフィーにおいては、主としてその疎水性による相互作用が効果的に作用していると言える。従っ

て移動相の溶出力の強さは、各溶媒のプロトン受容体溶解度パラメータ δ_A でもっともよく説明されることができる。アセトニトリル、メタノールそれに水の δ_A の値は、それぞれ、2.5, 7.5, 大, である¹⁰⁾。

文 献

- 1) M. Popl, M. Stejskal : Anal. Chem., 47, 1947 (1975)
- 2) J. C. Suatoni, H. R. Garber : J. Chromatogr. Sci., 13, 367 (1975)
- 3) B. B. Wheals, C. G. Vaughan : J. Chromatogr., 106, 109 (1975)
- 4) Michael Dong, David C. Locke, Edward Ferrand : Anal. Chem., 48, 368 (1976)
- 5) M. A. Fox, S. W. Staley : ibid, 48, 992 (1976)
- 6) E. Johnson, A. Ahu-shumays, S. R. Abott : J. Chromatogr., 134, 107 (1977)
- 7) D. M. Ordemann, H. F. Walton : Anal. Chem., 48, 1728 (1976)
- 8) M. Popl, J. Fahrnich, M. Stejskal : J. Chromatogr. Sci., 14, 537 (1976)
- 9) 紺野勝信, 西村明久, 日地啓夫, 西下創一: 川崎医療短期大学紀要 2, 59 (1982)
- 10) J. J. Kirkland : "Modern Practice of Liquid Chromatography" John Wiley & Sons (1971),
平田・鴈野訳, 講談社

