

プロトポルフィリンIXのHPLC分析方法の開発

沼津工業高等専門学校物質工学科	堀内 愛	稲葉憲子	仲地智代	竹口昌之	蓮実文彦
株式会社ビーエル	渡部 聡	望月 剛			
日本大学医学部	土屋達夫	山本敏樹	大谷 豪	高橋勝幸	
沼津工業技術支援センター	太田俊也				
東京工業大学生命理工学部	大倉一郎				

Development of the HPLC analysis method for protoporphyrin IX

Ai Horiuchi, Noriko Inaba, Chiyo Nakachi, Masayuki Takeguchi, Fumihiko Hasumi,
Satoshi Watabe, Tsuyoshi Mochiduki, Katsuyuki Takahashi, Toshiki Yamamoto,
Tatsuyuki Tsuchiya, Toshiya Ohta and Ichiro Okura

沼津工業高等専門学校研究報告 第43号, 265-268, 2009年1月

プロトポルフィリンIX (PPIX)は、分子内に2つのカルボキシル基を有するものの平面構造を有することから、水に難溶性であり、比導電率の小さい溶液にしか溶解しない。従来、一般に用いられるHPLC展開溶媒組成の主成分は比導電率(χ) 2×10^{-8} のアセトニトリルである。これに対し、試料調製用の溶媒は比導電率 1×10^{-9} の酢酸エチルを用いてきた。この条件では、酢酸エチルに溶解していたPPIXは、酢酸エチルより比導電率の高いアセトニトリルを中心とした組成の展開溶媒中に導入されることにより、HPLC系内に析出してしまふことが考えられた。そこで本研究では、HPLC分析に用いる試料調製用の溶媒条件とHPLC分析に用いる展開溶

媒条件を検討した。

結果、HPLC分析用の試料調製用溶媒は、メタノール：イソプロパノール=3：1の混合溶液で良好であった。この条件では、PPIXを析出させず且つ比導電率を展開溶媒の値に近づけHPLC分析系内で試料が析出しないことがわかった。また、従来の展開条件ではPPIXのカラムへの強固な吸着が生じ、カラムからのPPIXを溶出しきれないことがわかった。そこで、酢酸エチル、solution A (アセトニトリル：酢酸：酢酸アンモニウム=80：7：13)及びB (アセトニトリル：酢酸：酢酸アンモニウム=10：4：86)を使用し、グラジエント分析することにより再現よくPPIXを分析可能なことがわかった。