

23PO-am110S

イオン交換基と疎水基を併せ持つ逆相系カラムによるヌクレオチドの分析：移動相条件による比較

○秦 有優美¹, 細川 美香¹, 後藤 香菜子¹, 田中 章太¹, 上田 久美子¹, 岩川 精吾¹, 大河原 賢一¹ (¹神戸薬大)

【目的】イオン交換基と疎水性基を併せ持つ逆相ミックスモード系 ReDual™ カラムは、逆相系で高極性物質を保持可能なカラムとして期待されている。このカラムを用いてリン酸基を有するヌクレオチドを HPLC で分析したところ、移動相に中性のリン酸緩衝液を用いると、分析を重ねるごとに保持時間の短縮が認められた。そこで本研究では、移動相としてリン酸緩衝液とギ酸緩衝液とを比較し、ヌクレオチドの分析について最適条件の立案を試みた。

【方法】ヌクレオチドとして、ゲムシタピン (dFdc) のモノリン酸化体 (dFdcMP, logP=-4.1) を選択した。カラムは強カチオン交換基を持つ AX-C18 (島津 GLC) を用いた。移動相は 15 mM リン酸緩衝液 (pH6.0) またはギ酸緩衝液 (pH4.0) : メタノール=90 : 10 を使用し、カラム温度 35°C、流速 1.0 mL/min、波長 270 nm で内標準法により測定した。

【結果・考察】dFdcMP (0.2-16 μM) の測定において、検量線はリン酸緩衝液、ギ酸緩衝液共に $r^2 > 0.999$ となり直線性を示した。変動係数はいずれの緩衝液でも 20%以下であったが、低濃度で大きくなる傾向があった。検出限界は、リン酸緩衝液の方がわずかに低かった。dFdcMP のピーク形状を評価したところ、ギ酸緩衝液ではシンメトリー係数 2 付近のテーリングしたブロードな形状であったが、リン酸緩衝液では対称性のシャープなピーク形状であった。リン酸基はカラム中の金属とキレート形成しテーリングを起こすとされており、リン酸緩衝液はそれを抑制するが、ギ酸では抑制されなかったためと考えられた。以上より、ヌクレオチドの分析においてギ酸緩衝液は、リン酸緩衝液と比較して定量性はほぼ同等であり分析可能であるものの、ピーク形状では劣るため改善が必要と考えられた。