Ultron ES-0VMカラム: キラル化合物の直接HPLC分離用のオボムコイドタンパク質結合カラム



タンパク質の多くはキラル認識能を示し、キラルHPLCカラムの基盤として使用されます。オボムコイドタンパク質 (分子量28,000) は、鏡像異性体の分離に関して、特に優れた性質を備えています。このオボムコイドタンパク質は、 N, N^1 -ジスクシンイミジルカーボネートとの反応により、アミノプロピルシランで誘導体化した120Åの5- μ mシリカ粒子上で固定化され、Ultron ES-OVMカラムの充てん剤を形成しています。この共有結合オボムコイドカラムは、酸性、塩基性、中性化合物を用いた各種のキラル分離において、特に優れた性能を発揮します[1-10]。

この技術概要では、Ultron ES-OVMカラムのクロマトグラフィ特性の一部を解説するとともに、キラル分離メソッド開発の最適化に関する実用的なヒントを提供しています。さまざまな構造を持つ鏡像異性体の分離におけるこのHPLCカラムの性能を示すアプリケーションの実例も紹介しています。

保持力および鏡像異性体選択性における 移動相pHの影響

オボムコイドの等電点 (pI) は、3.8から4.3です。そのため、Ultron ES-OVM充てん剤は、移動相のpHがオボムコイドのpIを上回ったときには負電荷、下回ったときには正電荷になると考えられます。実際の研究においては、分離に使用する移動相のpHは、鏡像異性体化合物の保持力と選択性に大きく影響します。酸性化合物のイブプロフェン (pKa = 4.4)、中性化合物のヘキソバルビタール (pH $3.0\sim6.0$ で中性)、塩基性化合物のクロルフェニラミン (pKa = 4.0、9.2) について、最初の鏡像異性体ピークの容量ファクタ (\mathbf{k}'_1) と鏡像異性体選択性(α) における移動相pHの影響を測定しました。各化合物の構造を図1に示します。

イブプロフェン

$$CI \longrightarrow CH_3 \longrightarrow CH_2 CH_2 NH \longrightarrow CH_3 \longrightarrow CH_3 \longrightarrow CH_3 \longrightarrow CH_3 \longrightarrow CH_2 CH_2 NH \longrightarrow CH_3 \longrightarrow$$

図1. イブプロフェン、クロルフェニラミン、ヘキソバルビタールの酸塩基平衡

20 mMリン酸バッファ/エタノール (100/5) の移動相について、各ラセミ化合物のpH $3.0\sim6.0$ における最初の鏡像異性体ピークの k'_1 と分離係数 ($\alpha=k'_2/k'_1$)を図2と図3に示しています。オボムコイドはpH 3.0で正、pH $4.0\sim4.6$ で中性、pH 5.5で負の電荷を帯びます。図2は、非荷電のヘキソバルビタールの保持力が、pH $3.0\sim6.0$ の全範囲で一定を保っていることを示しています。この化合物で最初に溶出する鏡像異性体の k'_1 値は、ゼロをわずかに上回っています。これはおそらく、固定化されたオボムコイドと微弱な疎水性相互作用を起こすためと考えられます。

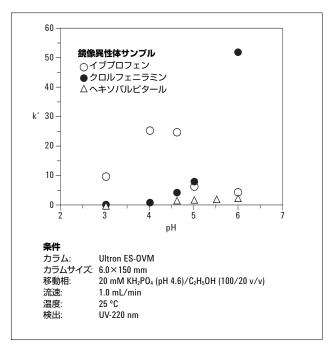


図2. pHの変化に伴うk'の変化

イブプロフェンについては、図2に示すように、pH 4.0~4.6 でk'1値が最大となっています。イブプロフェンのpKaは4.4なので、このpH範囲でオボムコイドが非荷電であるのに対し、イブプロフェンは部分的に荷電します。そのため、この保持力には、溶質とタンパク質固定相の強い疎水性相互作用が影響しているものと考えられます。高pH (5.0~6.0など) におけるk'1の低下は、負荷電のタンパク質固定相と負荷電の化合物とのイオン反発の結果と考えられます。pH 5.0~6.0の範囲において、ヘキソバルビタールと比べてイブプロフェンのk'1値が大きいのは、何らかの理由でイブプロフェンの疎水性相互作用が強くなるためと考えられます。pH 3.0でイブプロフェンのk'1値が低下するのは、このpHでオボムコイドの親水性が高くなるためと考えられます。しかし、保持力は依然として疎水性相互作用の影響を受けています。

図2からは、高pH域でクロルフェニラミンのk'1値が上昇することが見てとれます。クロルフェニラミンとオボムコイドは、いずれもpH 3.0で正電荷を帯びます。そのため、静電反発力により保持力が低くなります。pHがオボムコイドのpIよりも高くなると、クロルフェニラミンの保持力は高くなります。これは、通常の疎水性相互作用に加えて、強い静電力が働くためです。

図3は、塩基性化合物の鏡像異性体選択性係数 (α) がpHにより大きく変動することを示しています。クロルフェニラミンの α 値は、pHの上昇に伴い急激に上昇しています。一方で、他の2つの化合物の α 値は、わずかな変化にとどまっています。

これらの結果は、イオン性の鏡像異性体化合物のキラル分離を最適化する際には、移動相pHの設定が重要であることを示しています。ここで述べた影響を見ると、オボムコイド固定相による保持力は、静電相互作用と疎水性相互作用という2つのメカニズムにより左右されることがわかります。静電相互作用は移動相のイオン強度に大きく影響されるため、移動相のpHと塩濃度を慎重にコントロールしなければ、信頼性と再現性の高い分離を行なうことはできません。

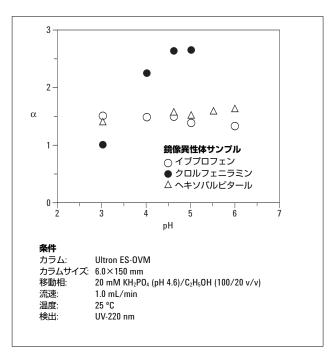


図3. pHの変化に伴うαの変化

保持力における移動相イオン強度の影響

すでに述べたように、イオン強度はオボムコイド固定相にお ける保持力に部分的な影響を及ぼします。ケトプロフェン るこの影響を、図4に示しています。ここでは、3種類の濃度 のpH 5.5リン酸バッファ(5、20、70 mM)/エタノール (100/10)を用いた場合の保持力を示しています。20および 70 mMのバッファでは、いずれの化合物もk'値がほぼ同じで したが、5 mMバッファでは、負電荷を帯びたケトプロフェン のk'値が大きくなっています。こうした影響は、イオン交換ク ロマトグラフィでよく見られるように、イオン強度が低いと きに生じる強い静電相互作用が原因と考えられます。これら の結果と、有機移動相修飾剤の濃度が高いとバッファが沈殿 する傾向があることを考え合わせると、多くの分離に適切な のは20 mMリン酸バッファであるといえます(溶解性を考慮 しなければならない場合には、カリウム塩が通常、ナトリウ ム塩よりも溶解性が高くなることに注意してください)。

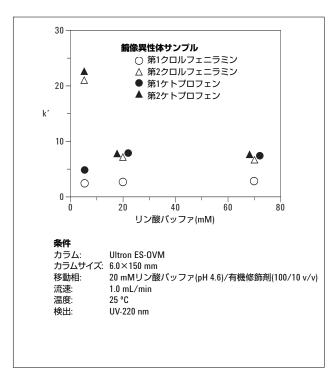


図4. 保持力におけるリン酸バッファイオン強度の影響

保持力および鏡像異性体選択性における 有機修飾剤の影響

移動相の有機修飾剤の種類は、Ultron ES-OVMカラムを用いた場合のキラル化合物の保持力 (k') と鏡像異性体のバンド間隔 (α) に大きな影響を及ぼすことがあります。リン酸バッファ $(pH\ 4.6)$ と4種類の修飾剤 $(x \neq y)$ ール、エタノール、イソプロパノール、アセトニトリル)の混合液を用いて、トルペリゾン (pKa=8.9) のキラル分離を行ないました。図5は、修飾剤が変わると、分離結果も変化することを示しています。同じ有機濃度 (v/v) における溶出強度の高さは、アセトニトリル>イソプロパノール>エタノール>メタノールの順番になります。

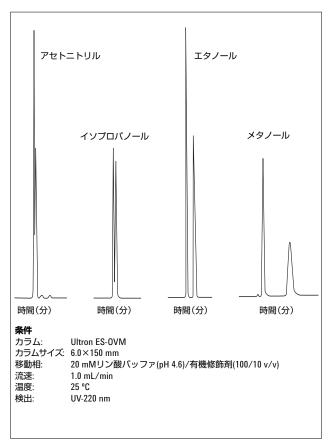


図5. 鏡像異性体トルペリゾンの溶出プロフィールにおける 有機修飾剤の種類の影響

表1のデータは、有機修飾剤の濃度の変化(たとえば5 v/vなど) により、保持力特性が大きく変化することを示しています。ここに示す結果は、比率100/5および100/10 (v/v) の20 mM リン酸バッファ (pH 4.6) とエタノールおよびアセトニトリルの混合液を移動相に用いて、酸性のイブプロフェン、中性のヘキソバルビタール、塩基性のクロルフェニラミンをキラル分離して得られたものです。

k'値がほぼ同じになる有機濃度を用いた場合、エタノールを修飾剤に用いると、アセトニトリルを用いた場合に比べて分析化合物の値が高くなりました(表2では、適切な比率のリン酸バッファと有機修飾剤を混合し、ほぼ同じk'値を得ました)。

値の差異は、オボムコイドの立体配座が変化し、各種の化合物の認識部位における構造変化が生じるためと考えられます。この点については、有機修飾剤の変更により、プロプラノロール鏡像異性体の溶出順序が逆転することが報告されています[5]。

こうした研究では、移動相に使用する有機修飾剤の種類や濃度が、キラル化合物の保持特性に大きく影響することが示されています。化合物構造が異なれば、適切な有機修飾剤も異なります。それぞれのシステムに最適な有機修飾剤を判断する必要があります。

表1. 移動相に用いる有機修飾剤の種類および濃度が、Ultron ES-0VMカラムの容量ファクタと 鏡像異性体選択性に及ぼす影響

		エタノール濃度							
		5 10		5		10			
物質の種類	化合物	k′ ₁	α	k′ 1	α	k′ ₁	α	k′ ₁	α
酸性。	イブプロフェン	24.76	1.45	12.38	1.40	24.29	1.25	3.10	1.06
塩基性 [®]	クロルフェニラミン	4.10	2.60	1.60	1.93	3.25	2.00	2.00	1.00
中性。	ヘキソバルビタール	1.70	1.52	*		1.15	1.23	*	

[®]移動相には、20 mMリン酸バッファ (pH 4.6) とエタノールまたはアセトニトリル (v/v) の混合液を使用しました。

表2. エタノールまたはアセトニトリルを同じ溶媒強度で含む移動相における鏡像異性体化合物の選択性の変化

	化合物					
物質の種類		I	タノール濃度	アセトニトリル濃度		
		k′ ₁	α	k′ ₁	α	
酸性 ^a	イブプロフェン	12.40	1.40	13.20	1.16	
塩基性 [®]	クロルフェニラミン	8.00	2.14	7.80	1.46	
中性 ^a	ヘキソバルビタール	2.19	1.59	1.85	1.42	

[®] 移動相には、20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)とエタノール(100/10、v/v) またはアセトニトリル(100/7、v/v)の混合液を使用しました。

[・]ヘキソバルビタールは保持されませんでした。

^b 移動相には、20 mMリン酸バッファ(pH 5.5)とエタノール(100/10、v/v) またはアセトニトリル(100/8、v/v)の混合液を使用しました。

[。]移動相には、20 mMリン酸バッファ (pH 6.0)とエタノール (100/5、v/v) またはアセトニトリル(100/4、v/v)の混合液を使用しました

保持力および鏡像異性体選択性における カラム温度の影響

Ultron ES-OVMカラムの保持力および選択性特性を最適化する際には、温度を利用することもできます。 20 mMリン酸バッファ (pH 4.6) /エタノール (100/10、v/v) の移動相を用いて、 $5\sim40$ \mathbb{C} までの異なる温度で分離したプロプラノロール鏡像異性体のクロマトグラフィ特性における温度の影響を、表3に示しています。表3には、本研究により得られたプロプラノロール鏡像異性体のk および α 値、段数 (N)、分離値 (Rs)をまとめています。温度が上昇すると、k および α 値は低下する一方、N位は上昇しました。分離値は19 \mathbb{C} で最高となりました。他の研究では、温度が高ければ分離能が高くなる化合物もあれば、低い温度で分離能が高くなる化合物もあることが示されています。したがって、ES-OVMにおけるキラル分離を最適化するためには、温度の影響を調べる必要があります。

表3. プロプラノロールのクロマトグラフィ特性における カラム温度の影響a

	5 °C	11 °C	19 °C	28 °C	40 °C
k′ ₁	18.67	11.49	7.79	4.97	2.59
k′ ₂	23.94	14.59	9.68	6.05	3.06
α	1.28	1.27	1.25	1.22	1.18
N_1	446	722	1059	1224	1899
N_2	380	563	798	890	1282
R_{s}	1.12	1.35	1.44	1.21	1.08

[『]移動相には、20 mMリン酸バッファ (pH 4.6) とエタノール(100/10、v/v)の 混合液を使用しました。

良好な分離再現性を得るためには、Ultron ES-OVMカラムの温度を正確にコントロールすることを推奨します。こうした特性は、図6のマレイン酸トリミプラミンのキラル分離データにも示されています。移動相にpH4.6のリン酸バッファ(20~mM)/アセトニトリル(100/20, v/v)を用いた場合、18~25 という狭い範囲でのカラム温度の変化により、リテンションタイムが大きく変化しました。ただし、このケースでは α 値はほぽ一定に保たれました。

一部のケースでは、高温になると鏡像異性体のラセミ化が生じるため、正しい鏡像異性体組成を調べるためには、低い温度での分析が求められることもあります。たとえば、移動相にpH 4.6のリン酸バッファ $(20\ mM)/1$ プロパノール $(100/10\ v/v)$ を用いたロラゼパムの分離では、こうした状況が生じます。15 $\mathbb C$ 以上になると、オボムコイドにおけるロラゼパムのラセミ化に起因するピーク合併が生じます。実際の鏡像異性体組成は、カラム温度7 $\mathbb C$ で分析すると得られます [8]。

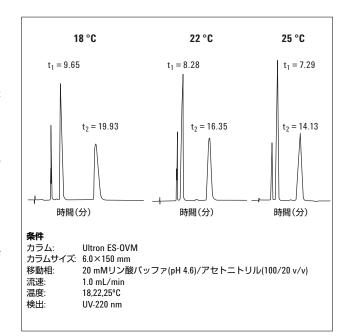


図6. 鏡像異性体マレイン酸トリミプラミンの分離における カラム温度の影響

サンプルロード量の影響

ほとんどのHPLCカラムと同じく、Ultron ES-OVMカラムでも、測定段数はカラムに注入したサンプル量の関数として表されます。 $4.6 \times 150~\text{mm}$ Ultron ES-OVMカラムにおけるサンプル質量の影響を図7に示しています。ここに示すクロマトグラムは、一定の量 $(0.5~\mu\text{L})$ でサンプル濃度を上げ、サンプルロード量を増やすことによって得られたものです。いくつかの研究では、 $4.6 \times 150~\text{mm}$ Ultron ES-OVMカラムの場合、サンプル充てん量が1.5から3~nmol/gになると、鏡像異性体の分離能が15%以下に低下する (カラム段数で30%の低下)ことが示されています[5]。このカラムを用いたほとんどの分離では、約 $2~\text{nmol}(1~\text{\mug})$ のサンプル量を採用するのが一般的です。この結果は、シャープなピークと最高の分離能を得るためには、サンプルロード量を小さくする必要があることを示しています。

カラム効率および分離能におけるサンプル量の影響は、同等の効率を持つHPLCカラムの場合と同様です。サンプル量の許容範囲は一般に $1{\sim}50~\mu$ Lで、通常のアプリケーションでは $10{\sim}25~\mu$ Lのサンプル量が用いられます[4]。HPLC分離と同様、サンプルロード量は、ピークが低いk位で溶出するときにもっとも重要となります。ピークが高いk位で溶出するように調整されている場合には、サンプル質量と体積はそれほど重要ではなく、通常はサンプル量を増やすことが可能です。

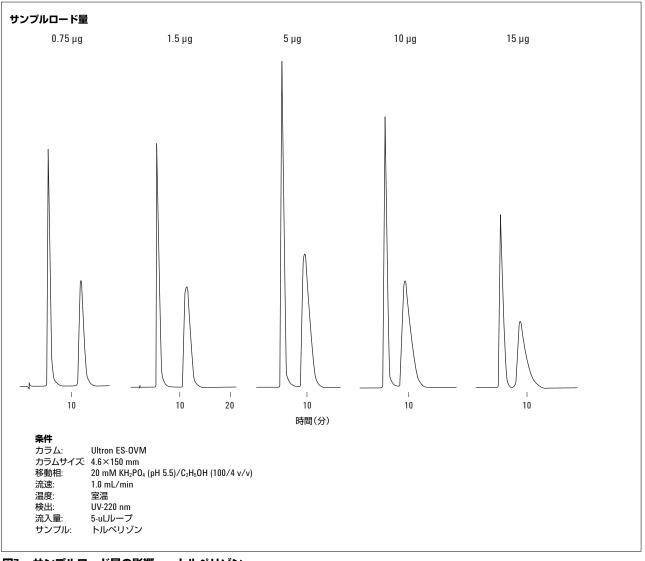


図7. サンプルロード量の影響――トルペリゾン

カラム効率における移動相流速の影響

他の一般的なHPLCカラムと同様、カラム効率は分離に使用する移動相流速に左右されます。内径の異なる2つのUltron ES-OVMカラムについて、段高に対して流速をプロットしたグラフを図8に示しています。この結果と他の研究結果は、これらの2つのカラムを用いた多くの分析では、約1.0 mL/minの流速で最高のカラム効率とピーク分離能が得られることを示唆しています。最高のカラム効率を得られる流速は、実際には有機修飾剤の種類や濃度、および分析温度に左右されます。最良の結果を得るためには、それぞれの分離システムに最適な流速を判断する必要があります。

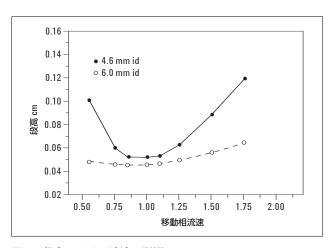


図8. 段高における流速の影響、Ultron ES-0VMカラム、 150 mm

Ultron ES-0VMカラムのクロマトグラフィ条件 の最適化

鏡像異性体分離の最適化に推奨される手順を図9に示しています。初期温度には25℃を推奨しています。これは、高温だとキラル化合物がラセミ化し、分離能が低下するほか、オボムコイド固定相の変性が生じる可能性があるためです。初期移動相には、アセトニトリル有機修飾剤を用いた20 mMリン酸が推奨されています[5]。酸性の鏡像異性体化合物の場合、開始pHを3.0とすることを推奨します。α値は通常、pH 3.0~4.6の範囲で一定となります。また、低pHでは一般に分離スピードが速くなります。望ましい分離結果が得られない場合

は、pHを4.0に上げ、必要に応じて別の有機修飾剤を追加してください。それでも望ましい分離結果が得られない場合は、別の修飾剤または別のバッファ(リン酸以外)を用いて、同じ手順を踏んでください。

塩基性または中性の鏡像異性体については、初期移動相にアセトニトリルを用いたリン酸バッファ (pH 4.6)を推奨します。望ましい分離結果が得られない場合は、pHを7.0に上げ、有機修飾剤の濃度を上げて分離を改善してください。それでの望ましい分離結果が得られない場合は、酸性サンプルと同様に、別の有機修飾剤または別のバッファ (リン酸以外)を用いて、同じ手順を踏んでください。

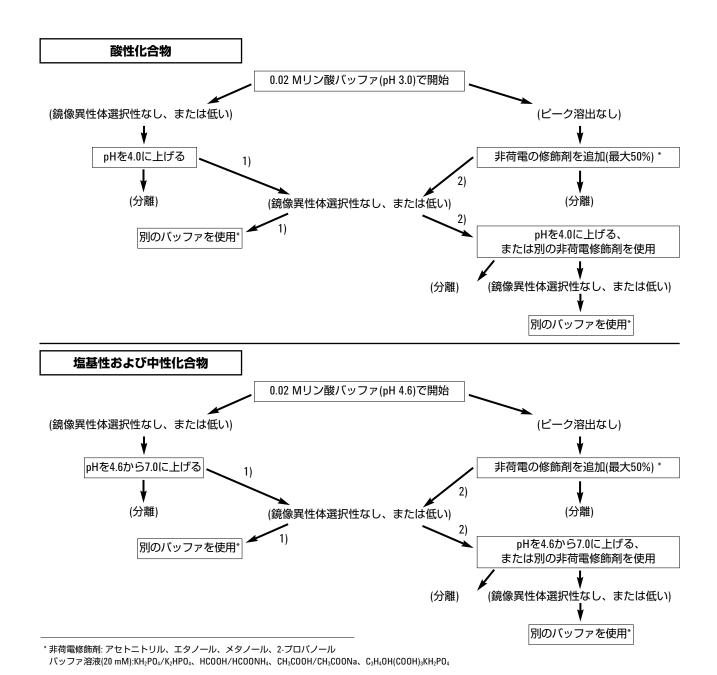


表4には、図9のアプローチを用いて得られた、43種類の鏡像 異性体対における分離能と最適な移動相をまとめています。 Ultron ES-OVMカラムに有効な他の最適化アプローチは、参 考文献4と5で紹介されています。

図4. Ultron ES-0VMを用いた鏡像異性体対の分離

物質	移動相	Rs
アセチルフェネトライド	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/7.5 v/v)	2.74
アリメマジン	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/25 v/v)	6.06
Bay K 8644	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/25 v/v)	5.92
ベンプロペリン	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/20 v/v)	3.27
ベンゾイン	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/10 v/v)	8.41
ビペリデン	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/10 v/v)	3.17
ブニトロロール	20 mMリン酸バッファ(pH 6.0)-エタノール(100/3 v/v)	3.08
ブピバカイン	20 mMリン酸バッファ(pH 5.5)-アセトニトリル(100/10 v/v)	1.26
クロルメザノン	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/10 v/v)	6.48
クロルフェネシン	20 mMリン酸バッファ(pH 5.5)	2.23
クロルフェニラミン	20 mMリン酸バッファ(pH 5.0)-アセトニトリル(100/5 v/v)	2.36
クロルプレナリン	20 mMリン酸バッファ(pH 5.5)-エタノール(100/3 v/v)	2.34
クロペラスチン	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/15 v/v)	2.85
ジメチンデン	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/15 v/v)	4.33
1,2-ジフェニルエチルアミン	20 mMリン酸バッファ(pH 5.5)	1.74
ジソピラミド	20 mMリン酸バッファ(pH 5.5)-エタノール(100/10 v/v)	2.04
エペリゾン	20 mMリン酸バッファ(pH 5.5)-エタノール(100/5 v/v)	1.15
エチアジド	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)	1.42
フルルビプロフェン	20 mMリン酸バッファ(pH 3.0)-エタノール(100/30 v/v)	1.26
グルテチミド	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/10 v/v)	1.36
グリコピロニウム	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)	1.73
ヘキソバルビタール	20 mMリン酸バッファ(pH 5.5)-エタノール(100/5 v/v)	1.70
ホモクロルシクリジン	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/10 v/v)	3.04
ヒドロキシジン	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/15 v/v)	2.15
イブプロフェン	20 mMリン酸バッファ(pH 3.0)-エタノール(100/10 v/v)	1.73
ケトプロフェン	20 mMリン酸バッファ(pH 3.0)-アセトニトリル(100/10 v/v)	1.37
メクリジン	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/35 v/v)	3.71
メペンゾラート	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)	1.40
メフォバルビタール	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/10 v/v)	1.70
メチルフェニデート	20 mMリン酸バッファ(pH 5.7)	1.13
オクスプレノロール	20 mMリン酸バッファ(pH 5.5)-エタノール(100/10 v/v)	1.38
ピンドロール	20 mMリン酸バッファ(pH 5.5)-エタノール(100/3 v/v)	2.04
プラノプロフェン	20 mMリン酸バッファ(pH 3.0)-アセトニトリル(100/8 v/v)	1.01
プレニラミン	20 mMリン酸バッファ(pH 5.0)-アセトニトリル(100/15 v/v)	1.02
プロフェナミン	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/25 v/v)	3.31
プログルミド	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/20 v/v)	1.32
プロメタジン	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/20 v/v)	0.98
プロプラノロール	20 mMリン酸バッファ(pH 6.8)-アセトニトリル(100/30 v/v)	1.24
チオリダジン	20 mMリン酸バッファ(pH 5.5)-アセトニトリル(100/30 v/v)	0.98
トルペリゾン	20 mMリン酸バッファ(pH 5.5)-エタノール(100/10 v/v)	1.50
トリヘキシフェニジル	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/10 v/v)	5.16
トリミプラミン	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/30 v/v)	3.69
ベラパミル	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/5 v/v)	1.49

カラムのケア

pH範囲2~7.5 (3~7が望ましい)のバッファ移動相と一般的な有機・水混和溶液(アセトニトリル、メタノール、エタノール、プロパノールなど)は、Ultron ES-OVMカラムで安全に使用できます。有機溶媒が50%を超える移動相の使用は避けてください。ほとんどのアプリケーションについては、分析カラムを有害な汚染物質、例えば、保持力が強い異物から保護するために、ガードカラムの装着を、強く推奨します。カラムが汚染され、ピーク形状が悪化した場合、カラム容量の20~40倍の50%アセトニトリル/希釈水で洗浄すれば、通常は回復します。長期間使用しない場合は、(それまでに使用したバッファを洗浄した後で)カラムを10~20%アセトニトリル/希釈水の移動相で保存することを推奨します。

アプリケーション例

付録では、Ultron ES-OVMカラムで良好に分離された、幅広い鏡像異性体化合物のクロマトグラムを紹介しています。いずれの例でも、結果を最適化する試みは行なっていません。ラセミ混合物の特性付けにおいて、明確な実用性を持つ分離をおもに選択しました。セミ分取サンプルに対応できる内径の大きいカラム $(6.0\times150~\mathrm{mm})$ を用いた分離も含まれています (図10)。

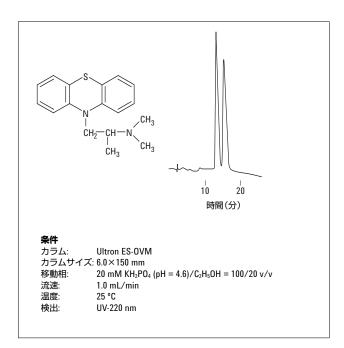


図10. プロメタジン

参考文献

- T. Miwa, T. Miyakawa, and M. Kayano, *Chem. Pharm. Bull.*, 35 (1987) 682.
- 2. T. Miwa, T. Miyakawa, and M. Kayano, *J. Chromatogr.*, 408 (1987) 316.
- M. Okamoto and H. Nakzawa, J. Chromatogr., 504 (1990) 445.
- Y. Hu and D. Kupfer, Drug Metabolism and Disposition, 30 (2002) 1329.
- K. M. Kirkland, K. L. Neilson, D. A. McCombs, and J. J. DeStefano, *LC-GC*, 10 (1992) 322.
- K. Ishii, S. Wakamoto, H. Nakai, and T. Sata, Chromatographia, 43 (1996) 413.
- K. M. Kirkland, K. L. Neilson, and D. A. McCombs., J. Chromatogr., 545 (1991) 43.
- 8. Y. Hu and D. Kupfer, Drug Metabolism and Disposition, 30 (2002) 1329.
- J. Haginaka, J. Wakai, K. Takahashi, H. Yasuda, and T. Takagi, *Chromatographia*, 29 (1990) 587.
- 10. P. Bonato, R. Bortocan, C. Gaitani, F. Paias, M. Ina, and R. Lima, *J. Braz. Chem. Soc.*, 13 (2), 2002.

詳細情報

アジレント製品とサービスの詳細については、アジレントのウェブサイト www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。

付録

カラム:

移動相:

流速:

温度:

検出器:

カラムサイズ:

抗炎症薬 フェノプロフェンカルシウム COO⁻ CHCH₃ Ca³⁺-2H₂O トロー 10 20 30 40 50 時間(分)

Ultron ES-0VM

20 mM KH₂PO₄ (pH 5.6)/

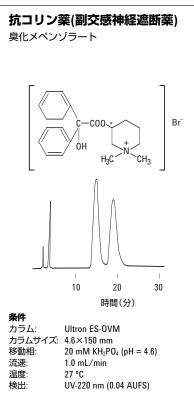
C₂H₅OH (100/10 v/v)

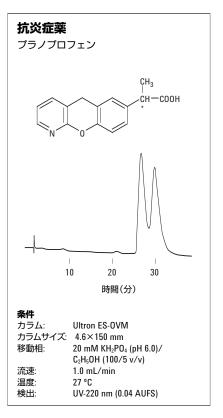
UV-220 nm (0.04 AUFS)

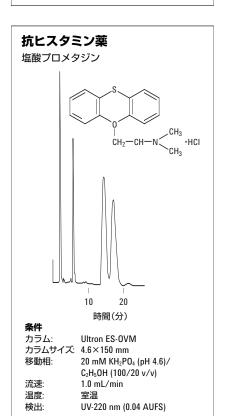
6.0×150 mm

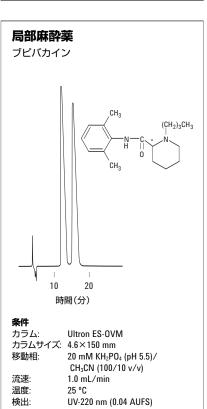
1.0 mL/min

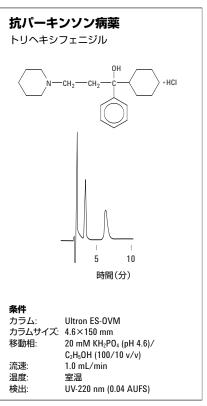
27 °C











抗精神病薬 塩酸チオリダジン CH₂--CH₂ HCI 10 20 40 30 時間(分) 条件

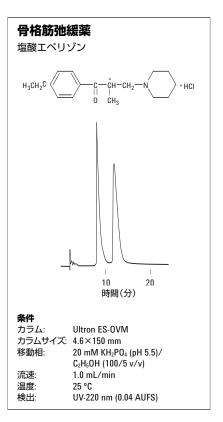
エチアジド 10 20 時間(分) 条件 カラム: Ultron ES-0VM

20 mM KH₂PO₄ (pH 4.6)

UV-220 nm (0.04 AUFS)

1.0 mL/min

25 °C



カラム: Ultron ES-0VM カラムサイズ: 4.6×150 mm

移動相: 20 mM KH₂PO₄ (pH 5.5)/ CH₃CN (100/30 v/v)

1,2-ジフェニルエチルアミン

流速: 1.0 mL/min

温度: 31 °C

検出:

UV-254 nm (0.04 AUFS)

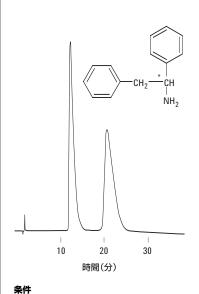
乳酸プレニラミン

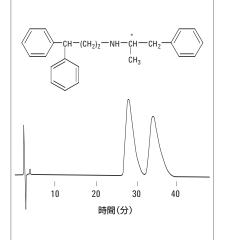
カラムサイズ: 4.6×150 mm

移動相:

検出:

利尿薬





カラムサイズ: 4.6×150 mm 20 mM KH₂PO₄ (pH 5.5) 移動相:

Ultron ES-0VM

流速· 1.0 mL/min

温度: 25 °C

カラム:

UV-220 nm (0.04 AUFS) 検出:

条件

カラム: Ultron ES-0VM カラムサイズ: 4.6×150 mm

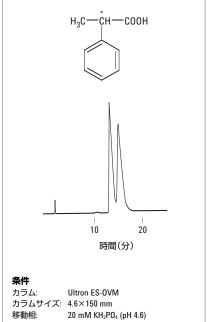
20 mM KH₂PO₄ (pH 5.0)/ CH₃CN (100/15 v/v) 移動相:

流速: 1.0 mL/min

温度: 25 °C

UV-220 nm (0.04 AUFS) 検出:

2-フェニルプロピオン酸



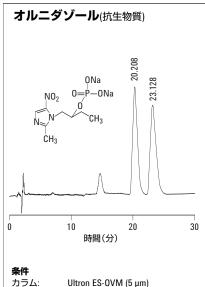
1.0 mL/min

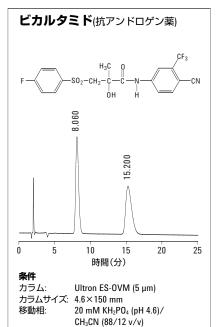
25 °C

流速:

温度:

検出:





 $1.0 \ mL/min$

UV-220 nm

0.1 mg/mL

ビカルタミドを含むCH₃CN

25 °C

3 μL

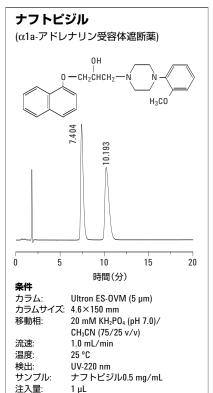
流速:

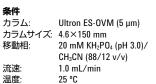
温度:

検出:

サンプル:

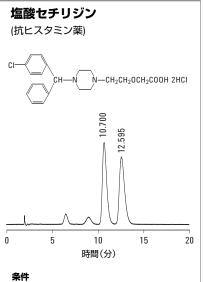
注入量:

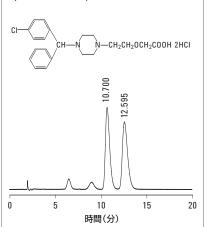




検出: UV-220 nm オルニダゾールリン酸ナトリウム サンプル:

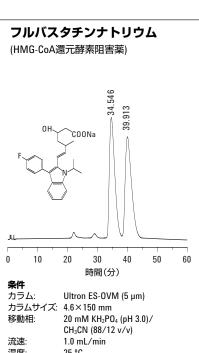
0.2 mg/mL注入量:



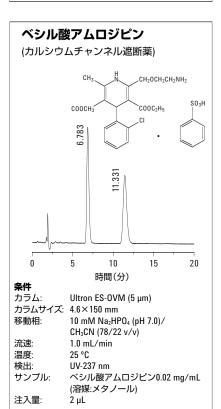


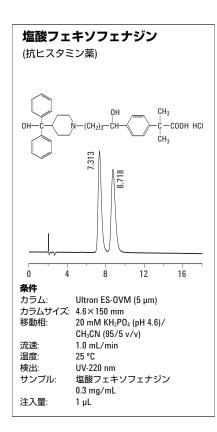
カラム: Ultron ES-OVM (5 µm) カラムサイズ: 4.6×150 mm 移動相: 20 mM KH₂PO₄ (pH 4.6) /CH₃CN (90/10 v/v) 流速: 1.0 mL/min 温度: 25 °C UV-235 nm 検出:

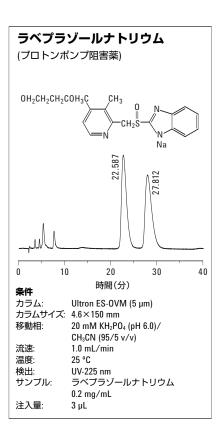
サンプル: 塩酸セチリジン0.2 mg/mL 注入量:



温度: 25 °C 検出: UV-235 nm フルバスタチンナトリウム サンプル: 0.5 mg/mL (溶媒:メタノール) 注入量:







www.agilent.com/chem/jp

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。

本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。 著作権法で許されている場合を除き、書面による事前の許可なく、本文書を複製、 翻案、翻訳することは禁じられています。

アジレント・テクノロジー株式会社 © Agilent Technologies, Inc. 2008

Printed in Japan July 11, 2008 5989-8748JAJP

