

Technical Review

親水性化合物の測定に適したODSカラムの保持挙動

山崎浩行、伊藤誠治、三苦惠民

Retention behavior of newly developed ODS columns suitable for measurement of hydrophilic compounds

Hiroyuki Yamasaki, Seiji Itoh and Yasutami Mitoma

Separation Center, Scientific Instrument Division, Tosoh Corporation

Abstract

Octadecylsilane-bonded silica (ODS) columns are the most widely used columns for research and quality control in the pharmaceutical and chemical industries. We examined the retention behavior of various compounds on 2 kinds of newly developed ODS columns. Both packings were exhaustively reacted with end-capping reagent. Both columns showed excellent asymmetry factor with Desipramine, basic compound. It was confirmed that the retention of neutral compounds on ODS columns increased with ODS ligand density. On the other hand, TSKgel ODS-100 V, a column with low C 18 ligand density followed by exhaustive end-capping, strongly retained polar compounds compared with TSKgel ODS-100 Z, a column with high C 18 ligand density followed by exhaustive end-capping. Longer retention for polar compounds was assumed to be the ability of such analytes to interact with water-rich layers near the silica surface.

1. 緒言

シリカゲルの表面にオクタデシル基 (ODS) を導入したシリカ系逆相充てん剤は、医薬品などの低分子化合物の測定に最も広く使用されている。医薬品やそれらの代謝物は、アミノ基などの極性基を有することから、残存シラノール基のエンドキャップ効率に優れただけでなく、親水性化合物の保持が強い充てん剤が望まれている。我々は、充てん剤表面のODS濃度の異なる2種類の逆相充てん剤TSKgel ODS 100 V及びTSKgel ODS 100 Zを用いて疎水性の異なる低分子化合物の溶出挙動の検討を行った。本稿では、ODS表面濃度の違いによる親水性化合物の保持挙動及び残存シラノール基の影響について報告する。

2. 実験

HPLCシステムは、送液ポンプDP 8020、検出器UV 8020、カラムオープンCO 8020、オートサンプラーAS - 8020、データ処理装置LC 8020 model (いずれもTOSOH製)を用いた。逆相カラムは、100 の細孔径を有する高純度シリカゲルにODSをモノレイヤーで導入し、残存シラノール基を十分にエンドキャップした逆相充てん剤ODS 100 V (炭素量15% , 表面密度1.8 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$) とODS 100 Z (炭素量20% , 表面密度2.6 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$) を用いた。表1にODS 100 VとODS 100 Zの物性値を示す。

Table 1. Properties of stationary phase

Column	Particle size (μm)	Pore size (Angstrom)	Specific surface area (m^2/g)	Pore volume (mL/g)	Functionality	Carbon contents ^{*)} (%)	Bonding structure
TSKgel ODS 100 V	5	100	450	1.10	C 18	15	Monolayer
TSKgel ODS 100 Z	5	100	450	1.10	C 18	20	Monolayer

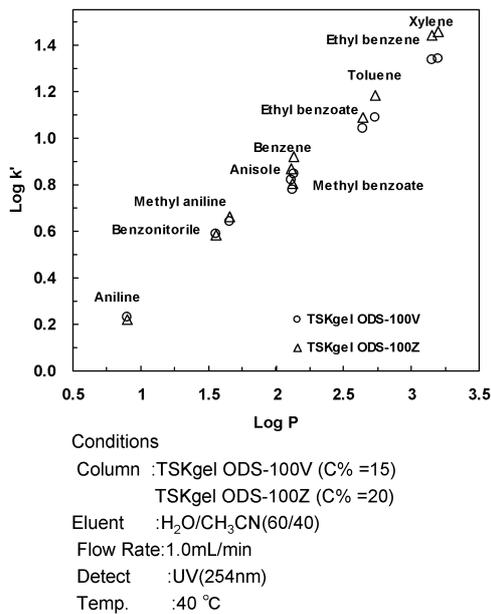


Fig.1 Relation between Log P and Log k'

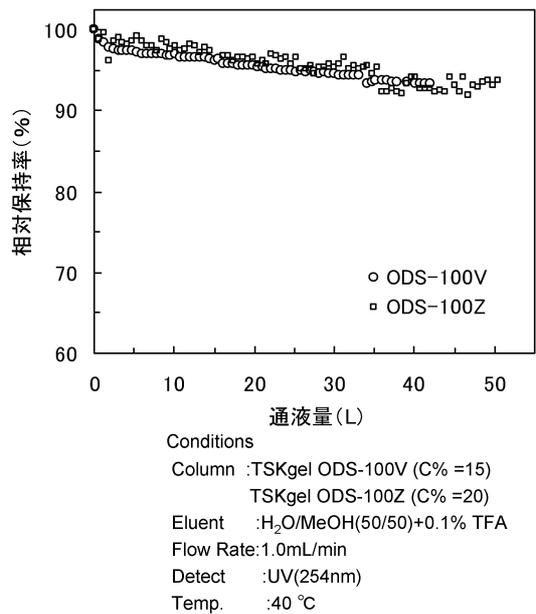


Fig.2 Column lifetime at low pH

3. 結果及び考察

1) ODS表面密度と親水性化合物の保持挙動

シリカ系逆相充てん剤の表面へのODSの導入量は、炭素量(C%)で表される。同じベースシリカでは、導入された炭素量が多いほど表面のODS密度が高く、保持力が強くなることが知られている。Fig.1に示すように検討に使用した各種化合物の疎水度パラメータ(Log P)と保持力(Log k')の間には、直線関係が得られた。トルエンやキシレンのようにLog Pの大きい(疎水性が高い)中性化合物は、ODS表面密度の低いODS 100 Vに比べ、ODS表面密度の高いODS 100 Zで強い保持力を示した。一方、極性基を有し、Log Pの小さい親水性化合物は、保持力は逆転してODS表面密度の低いODS 100 VでODS 100 Zよりも強い保持力を示した。これは、ODS表面密度を低く抑えたことによる、充てん剤表面の

極性部位と親水性化合物の相互作用の関与によると考えられる。しかしながら、一般にODS表面密度を下げて表面の極性を高くした充てん剤は、シロキサン結合の加水分解による官能基の脱離が生じやすく、酸性移動相での耐久性が悪くなる傾向を示す。ODS表面密度の低いODS 100 Vは、この問題点を解決するために、充てん剤の表面に導入するシリル化剤の濃度及び種類を最適化して、耐久性の向上を達成している。Fig.2に酸性移動相での耐久性を示す。

2) 残存シラノール基の影響

ODS導入後にシリカ系充てん剤の表面には、未反応のシラノール基が残る。この残存シラノール基は、アミノ基との静電的相互作用により塩基性化合物の保持とピーク形状に影響を与える。Fig.3にODS 100 Vを用いた移動相のpHの変化に

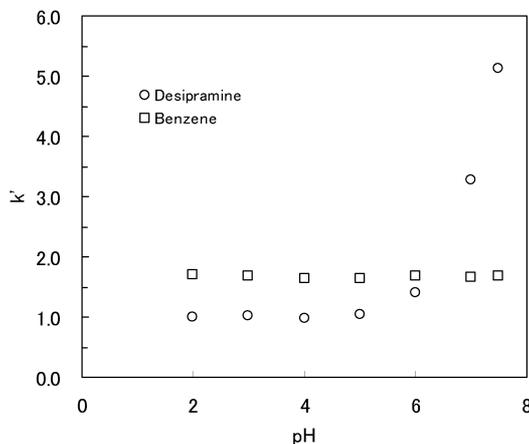
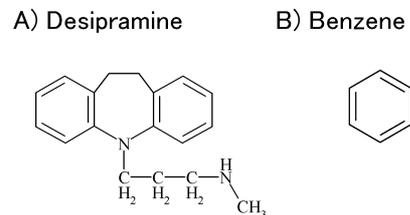


Fig.3 Influence of pH of mobile phase on k'



Conditions
 Column :TSKgel ODS-100V
 Eluent :50mmol/L P.B.(pH X)/MeOH (30/70)
 Flow rate;1.0mL/min
 Temp. :40°C

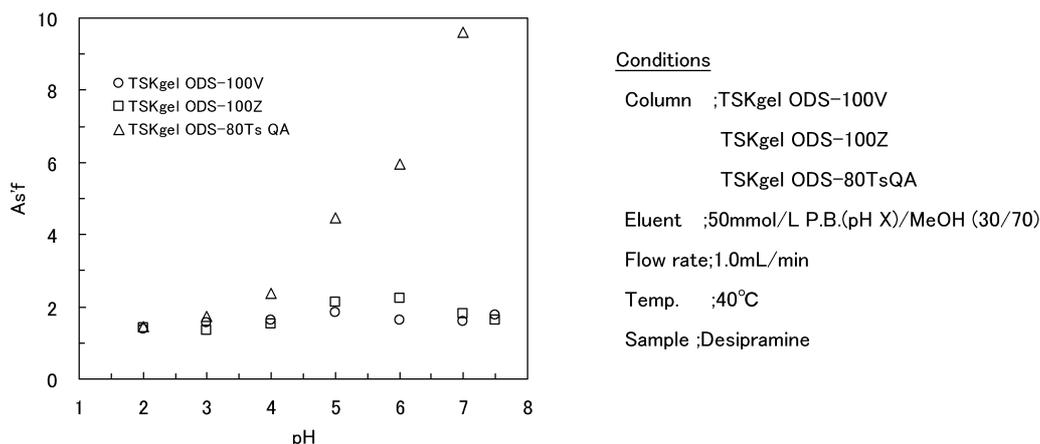


Fig.4 Influence of pH of mobile phase on As'f

よる中性化合物（ベンゼン）と塩基性化合物（デシプラミン）の保持挙動の変化を示す。中性化合物は、移動相のpHによる保持の変化がほとんど認められない。一方、塩基性化合物は、移動相のpHが高くなるにしたがってアミノ基の解離が抑えられ疎水性が高くなるために保持が増加した。残存シラノール基のエンドキャップ効率に若干劣るTSKgel ODS 80 TsQAでは、エンドキャップ効率に優れたODS 100 VやODS 100 Zに比べ、保持力が極端に大きくなった。これは、移動相のpHが高くなるにしたがって、残存シラノール基の解離度が高くなり、アミノ基との静電的相互作用による保持力が加味されたためと考えられる。

また、Fig 4に示すように移動相のpHが高くなり、残存シラノール基の解離度が高くなるとエンドキャップ効率の程度によりデシプラミンのピーク形状に大きな違いが認められた。ODS - 100 VやODS - 100 Zでは、移動相のpHの変化によるデシプラミンのピーク形状（非対称係数）の変化がほとんど認められないのに対して、ODS - 80 TsQAは、移動相のpHが高くなるにしたがって、ピークのテーリングが極端に

大きくなった。このように、エンドキャップ効率に優れたODS 100 Vは、塩基性化合物の保持が強くなる中性移動相において良好なピーク形状を得ることが可能となる優位点がある。Fig 5に中性移動相でのベンゼン及びデシプラミンのクロマトグラムを示す。

4.まとめ

ODS 100 V及びODS 100 Zは、残存シラノール基のエンドキャップ効率に優れていることから、塩基性化合物の保持力が強くなる中性の移動相で良好なピーク形状を得ることが可能である。アミノ基などの極性基を有し疎水性の低い親水性化合物の測定には、充てん剤のODS表面密度が最適となるようにODSを導入した表面極性の高いODS 100 Vが適している。一方、ODS表面密度の高いODS - 100 Zは、平面認識能が高く、疎水性の高い中性化合物の測定に適している。測定する化合物の疎水性によりODS表面密度の異なる逆相充てん剤を選択することにより最適な分離を達成することが可能である。

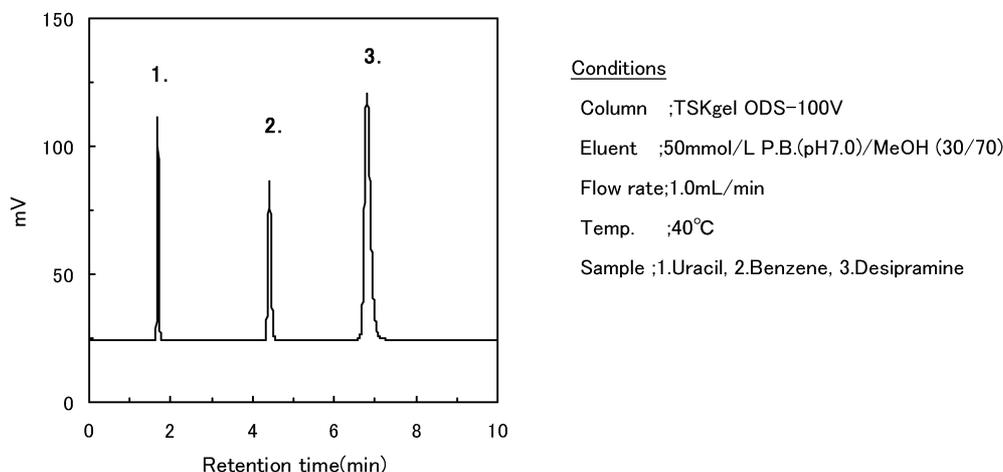


Fig 5 Chromatogram of benzene and desipramine

参考文献

- 1) Lold R. Snyder, Joseph J. Krikland, Joseph L. Glajch,
PRACTICAL HPLC METHOD DEVELOPMENT
- 2) N. Nagae and T. Enami, Bunseki Kagaku, 49 (2000) 887
- 3) N. Nagae, T. Enami, and S. Doshi, LC/GC Volume 10 Oct.
2002