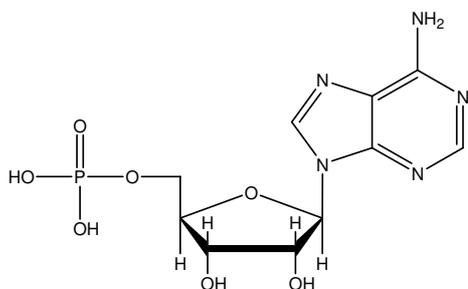
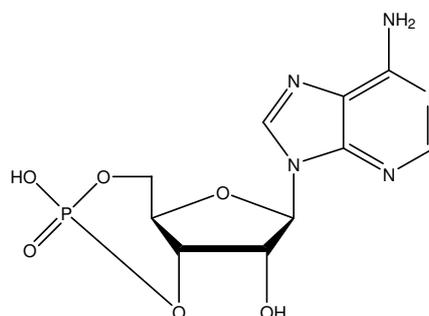


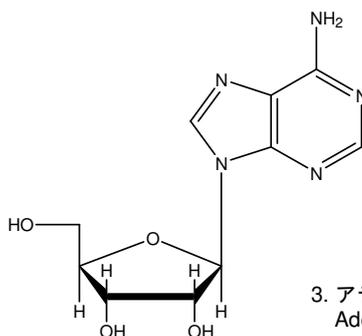
構造の似通っているアデノシン類縁体 3 化合物を CAPCELL PAK INERT ADME-HR S3 (2.0 mm i.d. x 100 mm) を用いた分析例を示します。ここでは水系移動相に中性、酸性、酸性緩衝液の 3 種類を選び、3 液性におけるアデノシン類縁体の構造と保持との関係を調べました。ヌクレオチドである AMP は構造の中にイオン化する部位として、酸性を示すリン酸基と塩基性を示すアデニンをもっています。リン酸基はその pKa が 2 付近であるため、中性条件あるいは、pH 3 程度の酸性条件下ではイオン型へ平衡が寄っています。したがって中性、酸性条件下でも AMP は非常に保持が小さくなっています。一方 cAMP は AMP と似た構造にも関わらず、中性条件下で保持が大きくなっています。このことから、リン酸基の 1 つが糖の水酸基と結合している cAMP の pKa は、AMP と大きく異なっていると考えられます。次に、酸性条件下での溶出挙動はどの化合物も保持が小さくなっていますが、これは塩基性を示すアデニンの影響であると考えられます。アデニンの pKa はおよそ 4.2 であるため、中性条件下では分子型、酸性条件下ではイオン型へ平衡が寄っています。したがって中性では分子であった cAMP やアデノシンは液性が酸性になることでイオン化し大きく保持が弱まることとなります。さらに酸性条件下で塩を加えたことによる影響を調べました。塩の存在は各化合物それぞれに影響を及ぼしてはいますがわずかであり、劇的に保持を変化させるには至りません。以上より、移動相の液性、化合物の pKa 及び保持とは非常に深い関係があることがわかります。



1. アデノシンリン酸 (25 µg/mL)  
Adenosine monophosphate (M.W. 347.2)

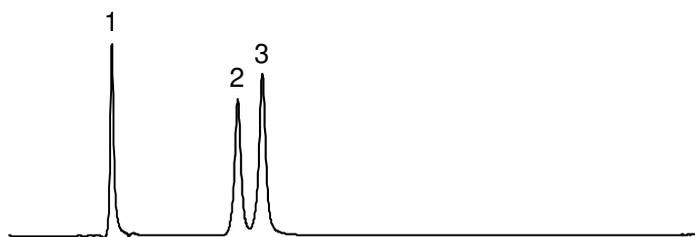


2. 環状アデノシンリン酸 (25 µg/mL)  
Cyclic AMP (M.W. 329.2)

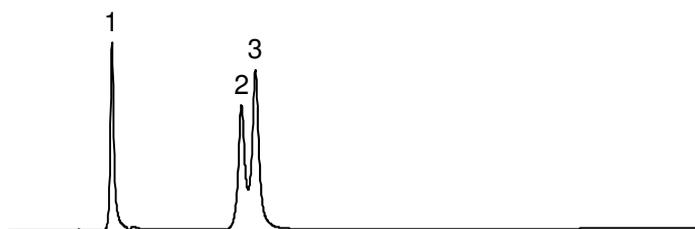


3. アデノシン (25 µg/mL)  
Adenosine (M.W. 267.2)

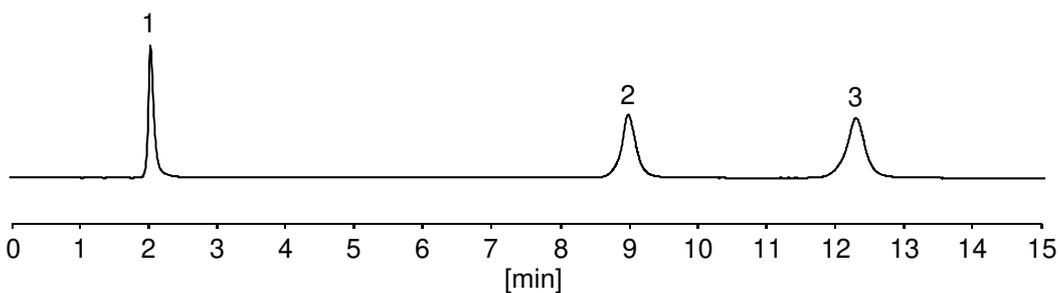
(a) 10 mmol/L HCOONH<sub>4</sub> (adjusted at pH 2.70 with formic acid)



(b) 0.1 vol% HCOOH (pH 2.68)



(c) 10 mmol/L HCOONH<sub>4</sub> (pH 6.40)



**【HPLC Conditions】**

Column : CAPCELL PAK INERT ADME-HR S3 2.0 mm i.d. x 100 mm  
Mobile phase : (a), (b), (c) / CH<sub>3</sub>CN = 98 / 2  
Flow rate : 200  $\mu$ L/min  
Temperature : 40 °C  
Detection : UV 260 nm  
Inj. vol. : 2  $\mu$ L  
Sample dissolved in : H<sub>2</sub>O  
※ 1  $\mu$ g/mL = 1 ppm