親水性化合物の HPLC 分析に対する血清試料の オンライン除蛋白法とそのゲンタマイシンへの適用

玉井 元, 今井日出夫, 吉田 久信*

Chromatographia, 21, 519-522(1986).

On-line Deproteinization of Serum Sample for HPLC Analysis of Hydrophilic Compounds and Its Application to Gentamicin

Gen TAMAI, Hideo IMAI and Hisanobu YOSIHDA*

ABSTRACT: The binding of serum proteins with Butyl Toyopearl (BT)650-M has been investigated and applied to on-line deproteinization for the HPLC determination of gentamicin components, C_1 , C_{1a} , C_2 , in serum. It was found that in 0.4% perchloric acid medium about 36 mg of BSA was adsorbed on 1ml of wet gel. Under this condition hydrophilic components such as gentamicin passed through the precolumn packed with BT 650-M, while serum proteins and hydrophobic components were trapped in the pre-column. The ion pair between gentamicin components and pentanesulfonate anion was effectively trapped in a reversed-phase analytical column. It was then eluted and fluorometrically determined by post-column derivatization with o-phthalaldehyde. The recovery was quantitative with good reproducibility at therapeutic concentrations in sera. Several clinical samples were analyzed by the method.

抄録 血清タンパク質のブチルトョパール 650-M との結合を検討し、血清中のゲンタマイシン C_1 , C_{1a} , C_2 成分の HPLC 分析に対するオンライン除タンパクに応用した。0.4%過塩素酸溶液中で BSAの約 36mg が 1 ml 湿潤樹脂に吸着されることが見出された。この条件下でゲンタマイシンのような親水性成分はブチルトョパール 650-M を充填したプレカラムを通過し、タンパク質や疎水性成分はプレカラムに捕捉される。ゲンタマイシン各成分とペンタンスルホン酸アニオンとのイオン対は効果的に逆相カラムに捕捉され、溶離されて、OPAとの誘導体化で蛍光検出される。血中治療濃度において、回収率は定量的で、かつ再現性も良かった。本法は患者の試料にも適用されている。

* Hiroshima University School of Medicine 広島大学医学部