

更なる高分離を提供！ 高安定性/高選択性C18 による分離の改善！

測定対象に適したシンプルな分析メソッドが
提供可能な耐熱・耐アルカリ性C18,
極性物質選択性C18について紹介いたします

2007/8/29 16:30-16:55 A-5会場

於：アパホテル&リゾート 東京ベイ幕張 ホール

ChromaNik (株)クロマニックテクノロジーズ

高安定性C18
POST-X² C18

オルガノシリケートグラフト型
高耐熱性C18カラム

高選択性C18
Sunrise C18
Sunrise C18-SAC

Silanol Activity Controlled C18 HPLC Column

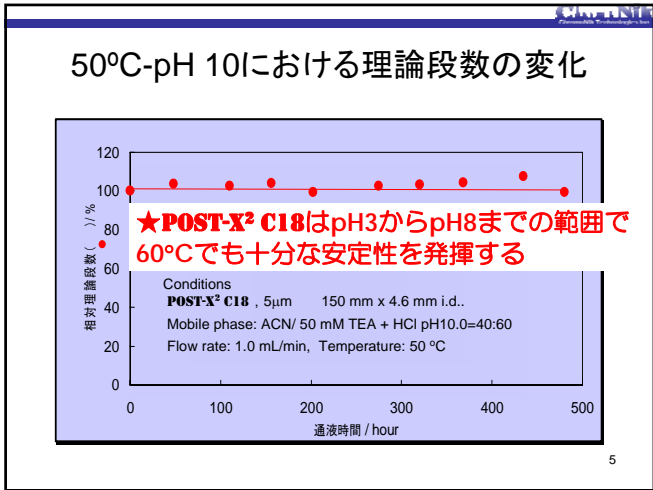
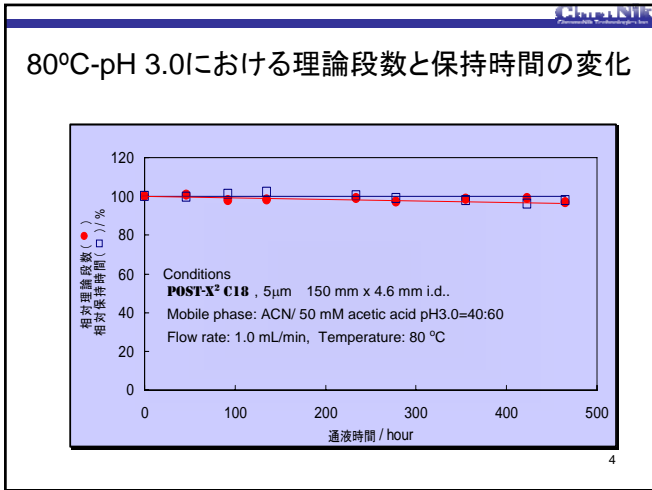
シリanol基を化学した活性調節型
逆相カラム

Isolated Silanol
Vicinal Silanol
Geminal Silanol

POST-X₂ C18の開発

- 近年、2μm以下の微小粒子径充填剤を充填した超高速HPLCカラムが市販されはじめています
- 微粒子化は高性能化の有効な手段ではあるが、装置側のリスクが大きく、また、汎用HPLCではその能力を十分に引き出すことはできない
- 高温下で使用することができれば拡散係数を大きくでき、高分解能を得ることができるが、一般的なシリカ系逆相固定相は50°C以上の長期使用は不可能である
- クロマチックテクノロジーは、シリカ系逆相固定相の耐熱性向上を目的として、有機シリケートグラフトによる基材シリカゲルの改質を行い、60°Cで十分に使用可能なC18カラムを開発した

3



カラム温度を上げるとどうなるか？

三環系抗うつ剤のような比較的分子量の大きく
拡散係数の低い試料は

↓

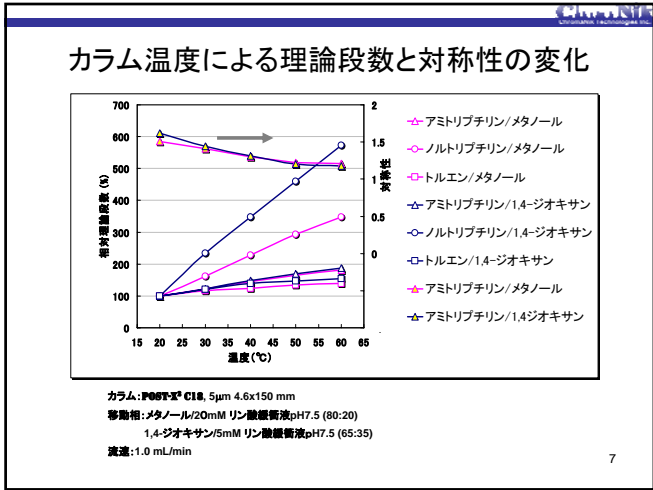
理論段数が上昇, 更に対称性も向上

高粘度有機溶媒も10MPa以下の低圧で使用可能になる

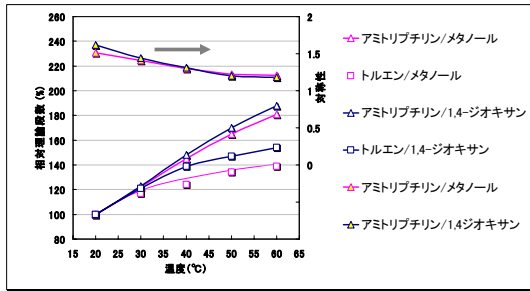
↓

溶出順序が逆転することもあり, 分離が改善

6



カラム温度による理論段数と対称性の変化

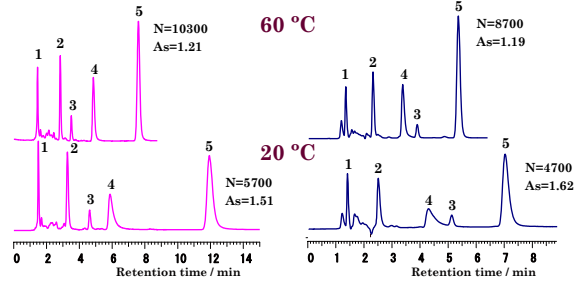


カラム: **POST-X² C18**, 5 μ m, 4.6x150 mm
 移動相: メタノール/20mM リン酸緩衝液 pH7.5 (80:20)
 1,4-ジオキサン/5mM リン酸緩衝液 pH7.5 (65:35)
 流速: 1.0 mL/min

8

60 °Cと20 °Cでのクロマトグラム

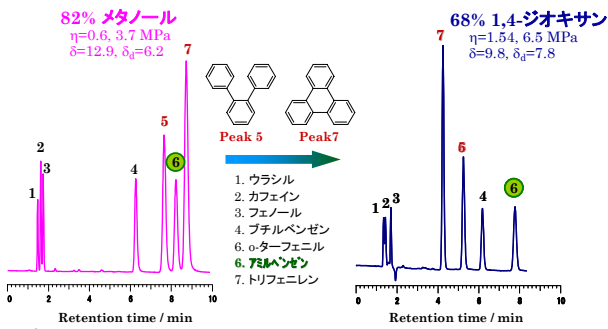
メタノール/20mM リン酸緩衝液 pH7.5(80:20) 1,4-ジオキサン/5mM リン酸緩衝液 pH7.5(65:35)



カラム: **POST-X² C18**, 5 μ m, 4.6 x 150 mm.
 カラム温度: 60 °C, 20 °C 検出: UV @ 250 nm.
 試料: 1=ウラシル, 2=プロプラノロール, 3=トルエン, 4=ノルトリプチリン, 5=アミトリプチリン

9

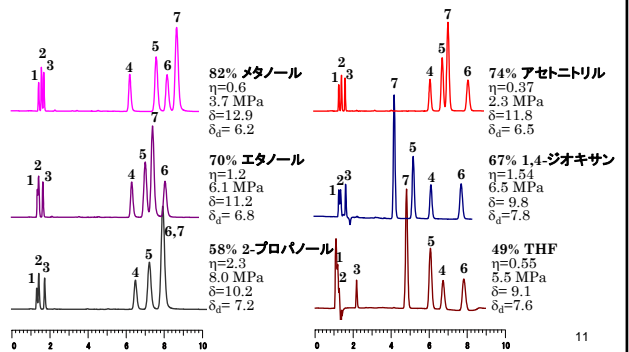
高粘性溶媒による選択性の変化



カラム: **POST-X² C18**, 5 μ m, 4.6 x 150 mm
 カラム温度: 60 °C, 検出: UV @ 250 nm.

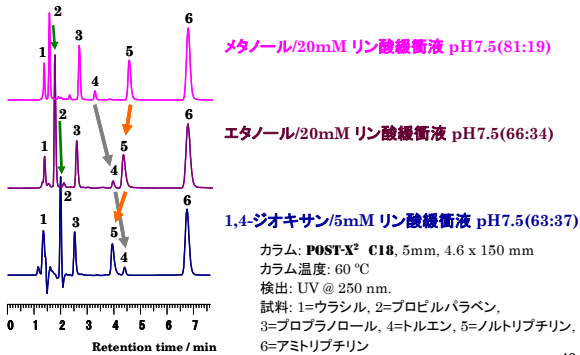
10

高粘性溶媒の使用— 選択性のコントロール I



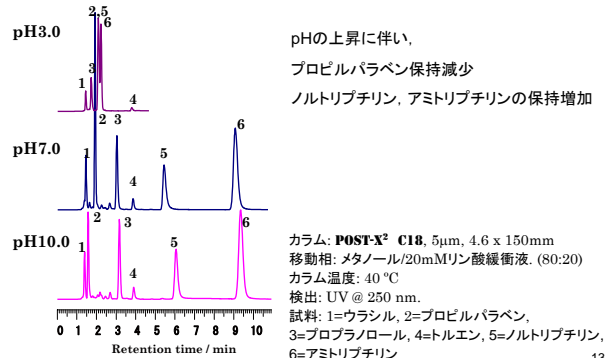
11

選択性のコントロール II

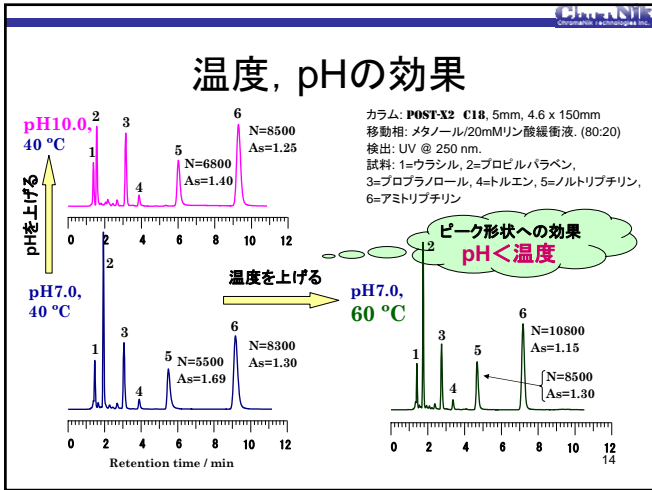


12

pHによる保持の変化

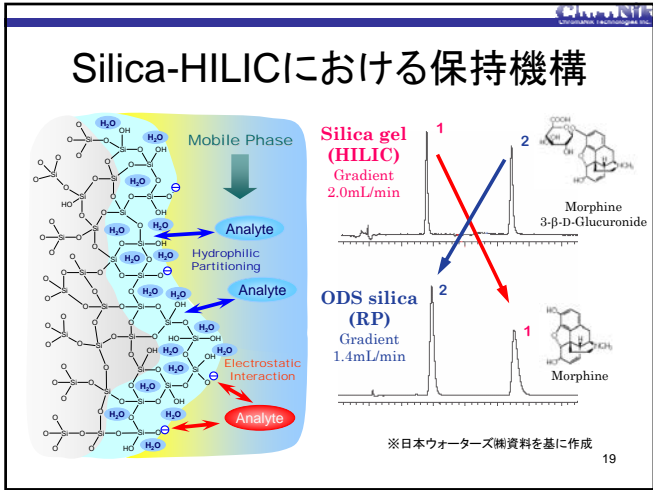
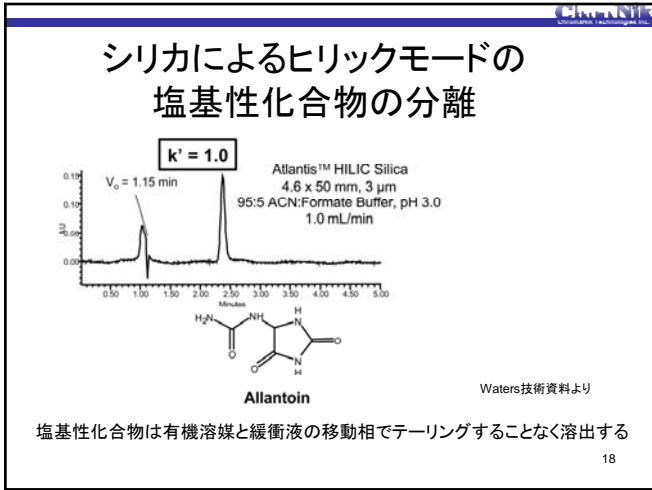
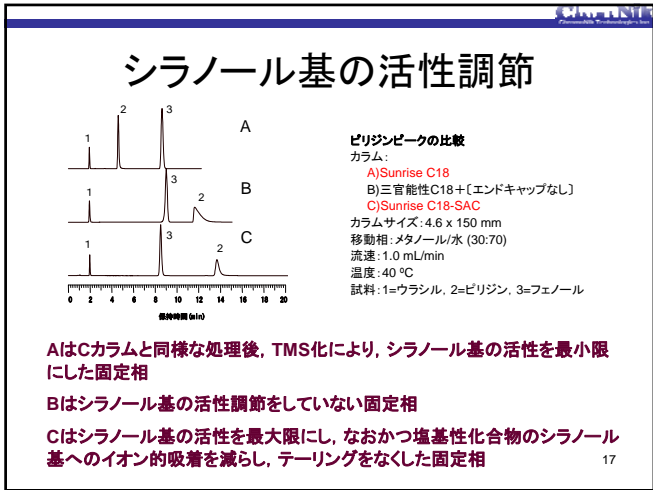


13



- ### 高安定性C18 POST-X² C18のまとめ
- カラム温度を60°Cに設定するだけで、理論段数が上がり、対称性が向上する
 - さらに、高粘度有機溶媒をカラム圧力を気にすることなく使用でき、選択性を大きく変化させることが可能となる
 - つまり一本のカラムで性能向上させ、しかも選択性を大きく変え、最適な分離条件を簡単に導き出せる

- ### Sunriseシリーズカラム
- 逆相型固定相中の残存シラノール基は、吸着やピークテーリング等の原因であるとされている
 - 残存シラノール基に基づく主な相互作用は、吸着、イオン交換、水素結合である
 - これらの二次効果相互作用を積極的に利用することで、極性化合物に対して特異的な保持を示す新規な逆相固定相の創出を目指す
 - シラノール基活性調節技術を用いて、シラノール基の状態を制御した上でシラノール基を活用したC18-SACと、シラノール基の制御とさらなるエンドキャッピング処理によりシラノール基の影響を最大限に削減したC18を開発した



逆相での塩基性化合物のテーリングの原因は？

シリカを用いるヒリックモードでは塩基性化合物良好

シリノール基が安定に水和している状態では塩基性化合物はテーリングしない

もし不完全な水和状態のシリノール基が存在すれば

イオン交換的吸着により塩基性化合物はテーリングする

疎水場の近くに存在するシリノール基は、疎水場の影響により水和が妨害され、不完全な水和状態である

20

Sunrise C18-SACのシリノール基

疎水場(C18)の近くのシリノール基はシロキサンになっている

塩基性化合物のテーリング抑制

疎水場(C18)から離れたシリノール基は水和した状態になっている

極性化合物や塩基性化合物の保持増加
中性化合物の保持は変化しない

21

キサントシン類の分離

Sunrise C18

Sunrise C18-SAC

1=テオブロミン 2=テオフィリン 3=カフェイン 4=フェノール

カラムサイズ: 4.6 x 150 mm
移動相: メタノール/20mMリン酸二水素カリウム (pH4.5)=(30:70)
流速: 1.0 mL/min
温度: 40 °C

22

プロカインアミドとN-アセチルプロカインアミドの分離

Sunrise C18

Sunrise C18-SAC

1=プロカインアミド 2=N-アセチルプロカインアミド

カラムサイズ: 4.6 x 150 mm
移動相: メタノール/アセトニトリル/20mMリン酸二水素カリウム (pH4.5)=(20:10:70)
流速: 1.0 mL/min
温度: 40 °C
試料: 1=プロカインアミド, 2=N-アセチルプロカインアミド

23

三環系抗うつ剤の分離

1=ウラシル 2=プロプラノロール 3=ノルトリプチリン 4=アミトリプチリン 5=トルエン

Sunrise C18
アセトニトリル/20mMリン酸緩衝液 pH6.0 (80:20)

Sunrise C18-SAC
アセトニトリル/20mMリン酸緩衝液 pH6.0 (80:20)

保持時間 (min)

24

移動相pHによる保持時間の制御

イオン交換相互作用の保持機構が働く成分は移動相pHにより保持を大きく変化させることが可能

カラム: Sunrise C18-SAC 5 μ m, 4.6 x 150 mm
エンテック C18, 4.6 x 150 mm

アセトニトリル/20mMリン酸緩衝液 pH3.0 (50:50)

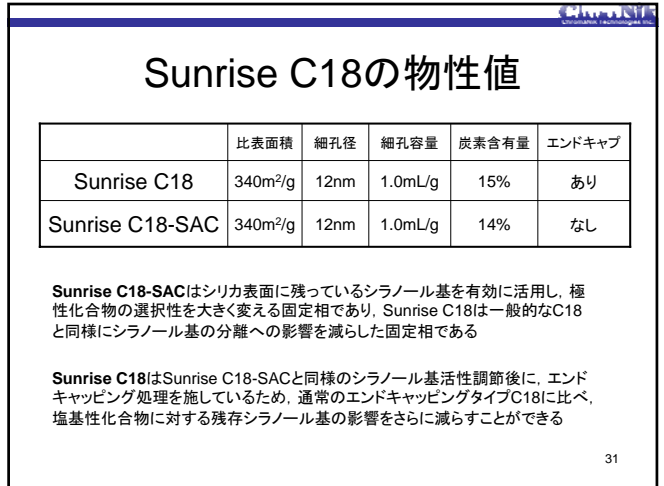
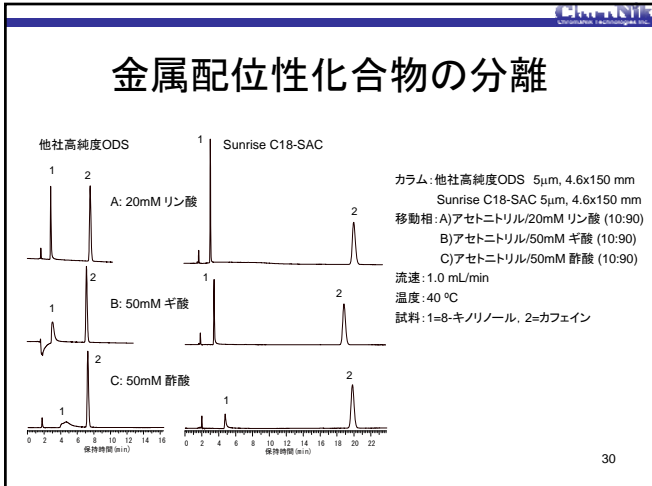
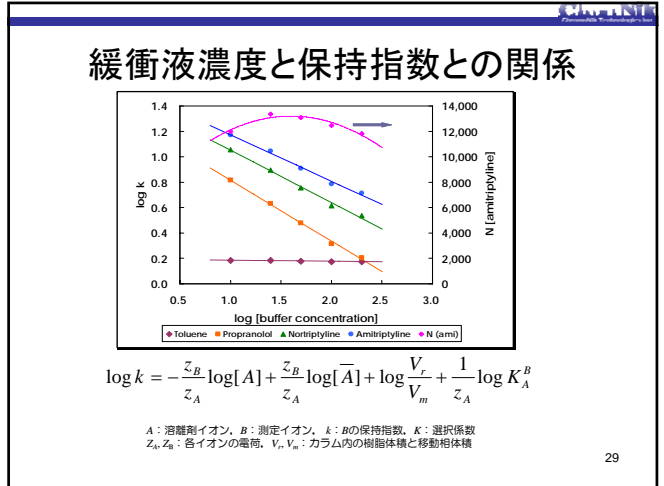
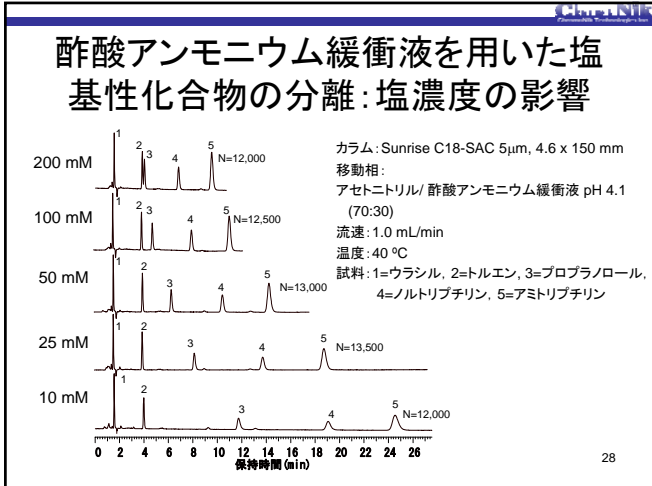
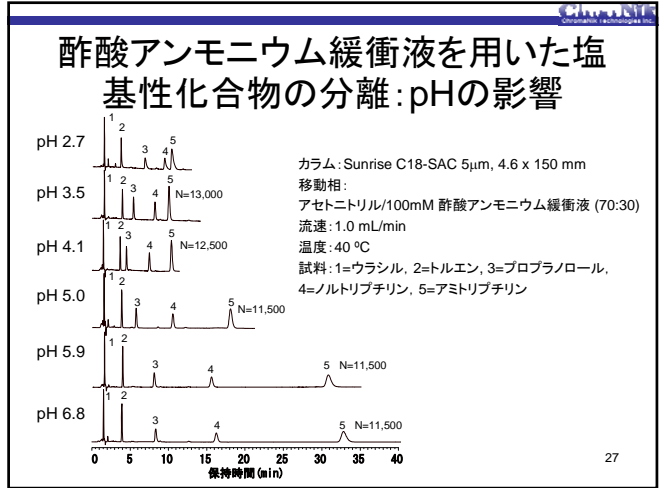
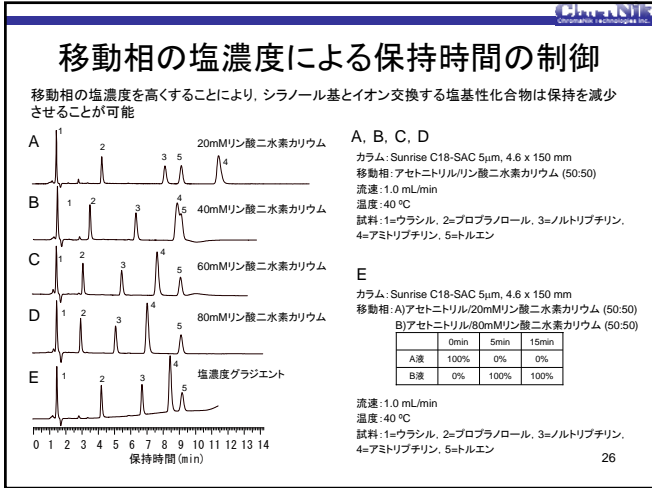
アセトニトリル/20mMリン酸緩衝液 pH4.5 (50:50)

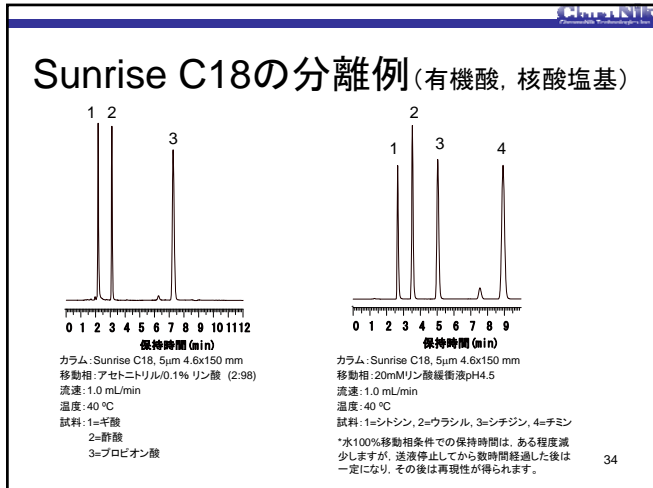
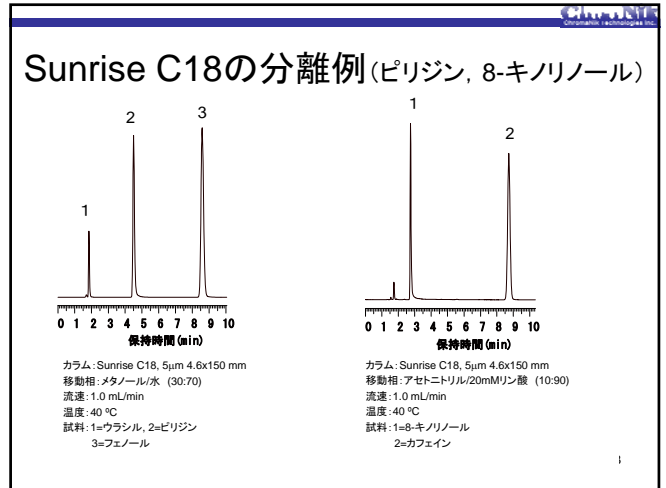
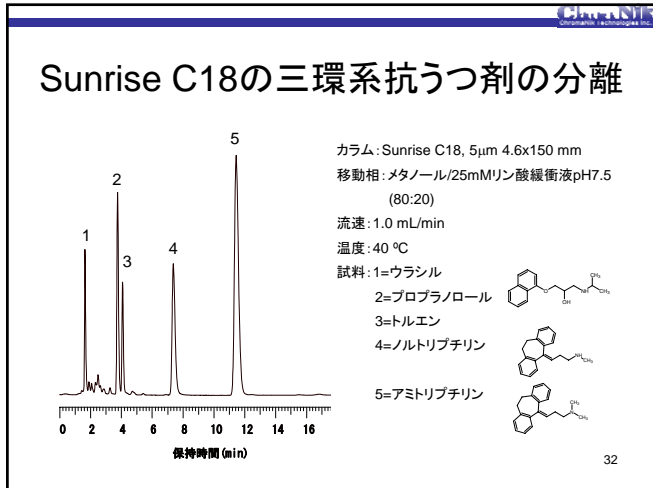
アセトニトリル/20mMリン酸緩衝液 pH6.0 (80:20)

流速: 1.0 mL/min
温度: 40 °C
試料: 1=ウラシル, 2=プロプラノロール, 3=ノルトリプチリン, 4=アミトリプチリン, 5=トルエン

保持時間 (min)

25





- ### Sunriseカラムのまとめ
- Sunrise C18-SACはシラノール基の状態を調節し、シラノール基活性を分離に最大限活かした固定相である
 - Sunrise C18-SACは中性化合物の保持は変わらず、極性化合物のみの保持を増大させることができ、移動相のpHや塩濃度によりイオン交換相互作用の働く塩基性化合物は保持時間を自由に変化させることができる
 - Sunrise C18は15%の炭素含有量でシラノール基の活性を抑制しており、多くの化合物に適用できる固定相である
- 35

