



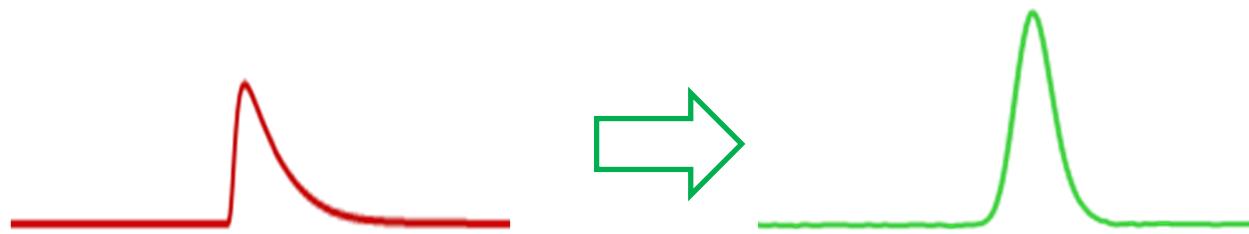
# 進化したエンドキャップ技術： C18 も NH<sub>2</sub> も驚きの耐久性実現

クロマニックテクノロジーズ  
塚本友康 佐藤誠 長江徳和

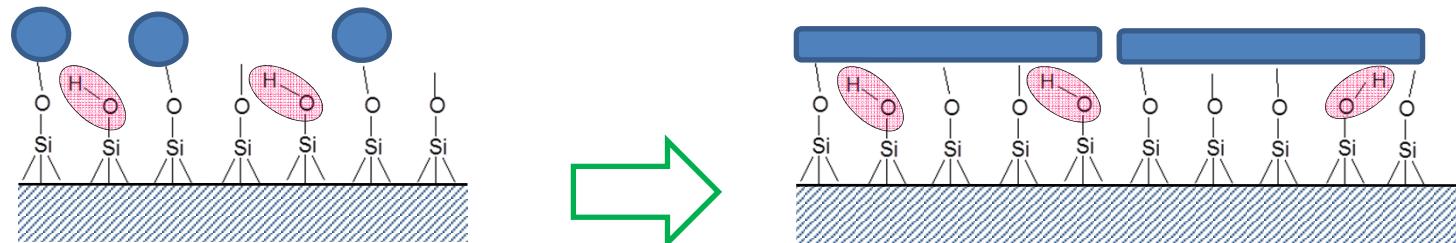
Email: [info@chromanik.co.jp](mailto:info@chromanik.co.jp)  
<http://chromanik.co.jp>



# エンドキャッピング



塩基性化合物のピーク形状の改善



ピンポイントな  
エンドキャッピング

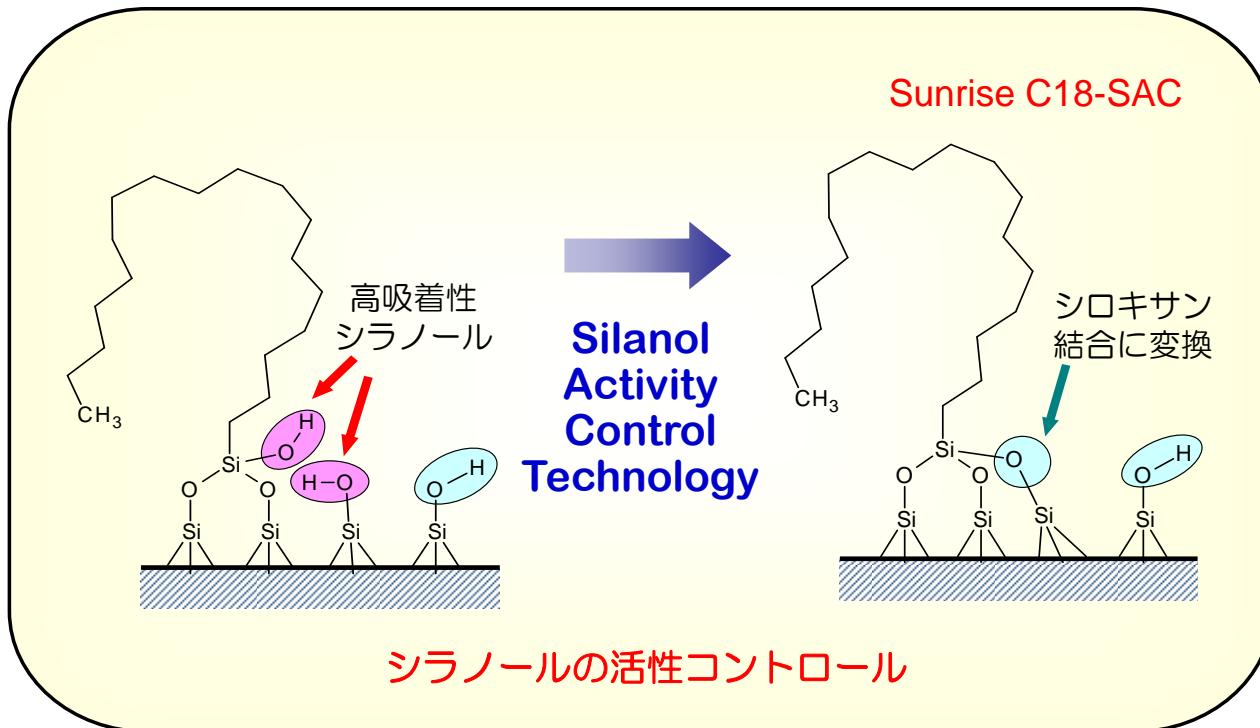
表面を覆うような  
エンドキャッピング

手法

TMS化、マルチステージタイプ、  
ポリメリックエンドキャッピング  
高温気相エンドキャッピング  
**Sunniest エンドキャッピング**  
シラノールアクティビティコントロール



# シラノールアクティビティコントロール



シリカは結晶構造ではなくアモルファス

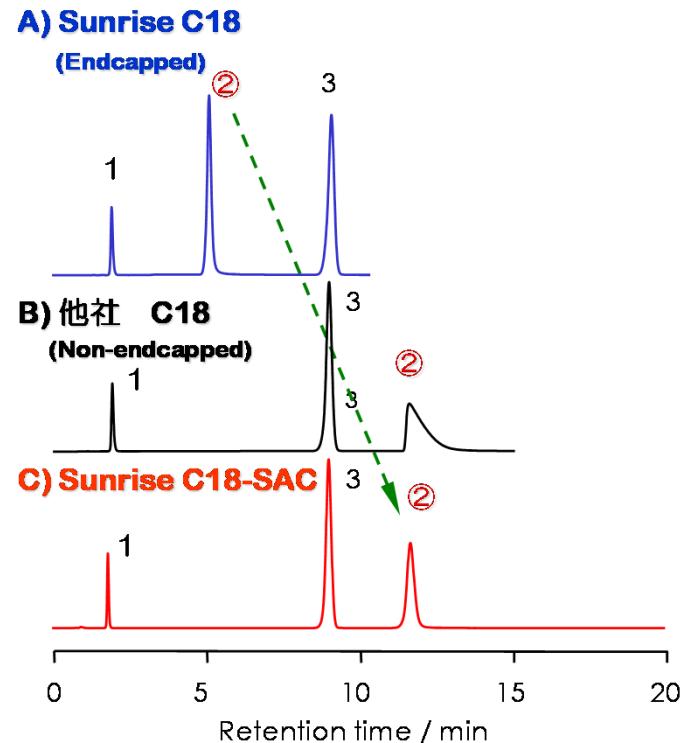


条件次第では原子を動かすことができる



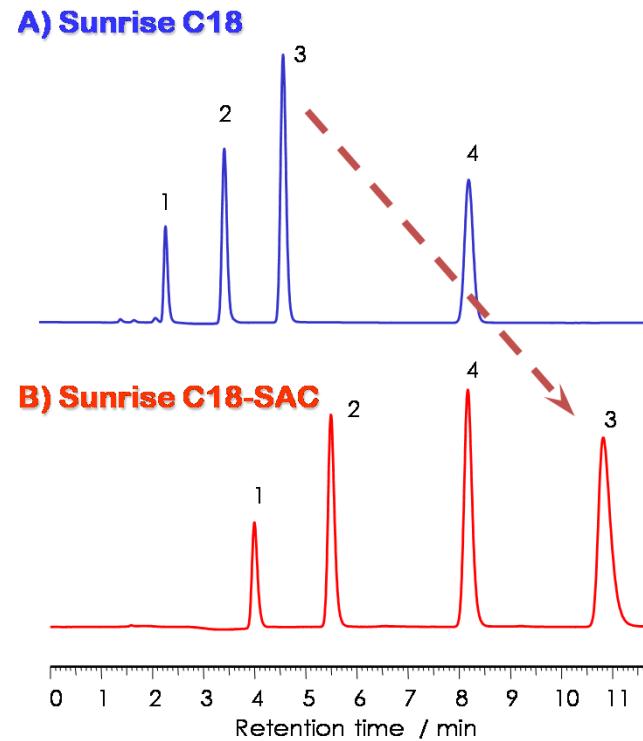
# シラノールによる分離の変化

## ■ ピリジンの溶出順とピーク形状の比較



Column size: 4.6 X 150mm  
Mobile phase:  $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O} = 30:70$   
Sample: 1 = Uracil, 2 = Pyridine, 3 = Phenol

## ■ カフェインの保持の比較



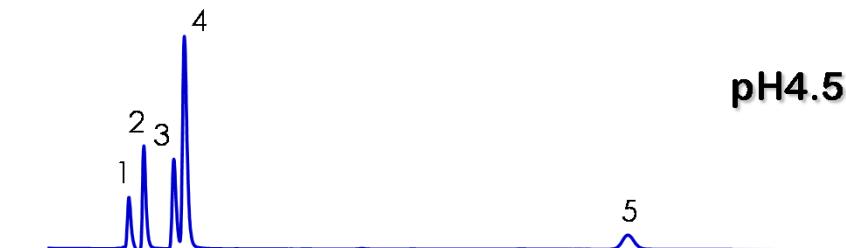
Column size: 4.6x150 mm  
Mobile phase:  
 $\text{CH}_3\text{OH}/20\text{mM Phosphate buffer pH4.5} = 30:70$   
Flow rate: 1.0 mL/min, Temperature: 40 °C  
Sample: 1 = Theobromine, 2 = Theophylline  
3 = Caffeine, 4 = Phenol



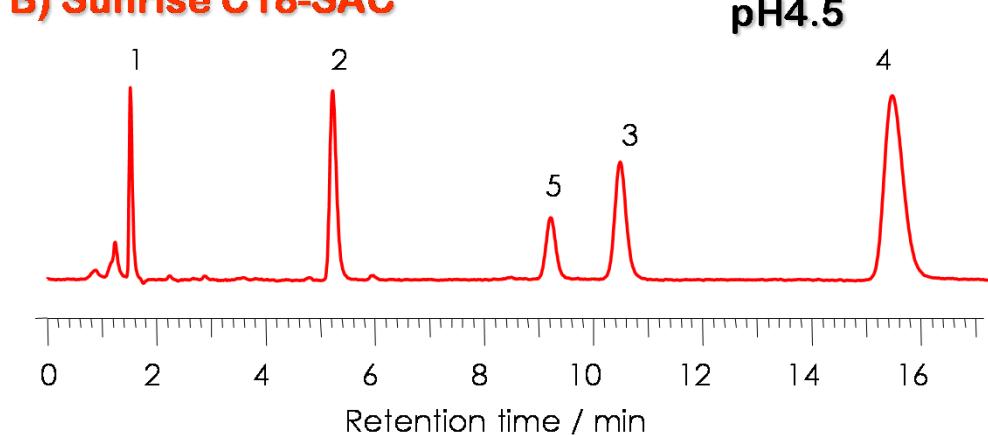


# 塩基性化合物の選択性の比較

A) Sunrise C18



B) Sunrise C18-SAC



Column size: 4.6x150 mm

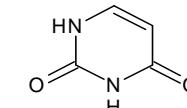
Mobile phase:

$\text{CH}_3\text{CN}/20\text{mM Phosphate buffer pH3.0 or pH4.5} = 50:50$

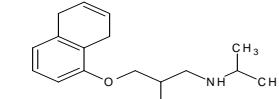
Flow rate: 1.0 mL/min

Temperature: 40 °C

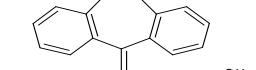
Sample: 1 = Uracil



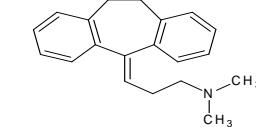
2 = Propranolol



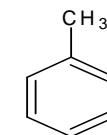
3 = Nortriptyline



4 = Amitriptyline



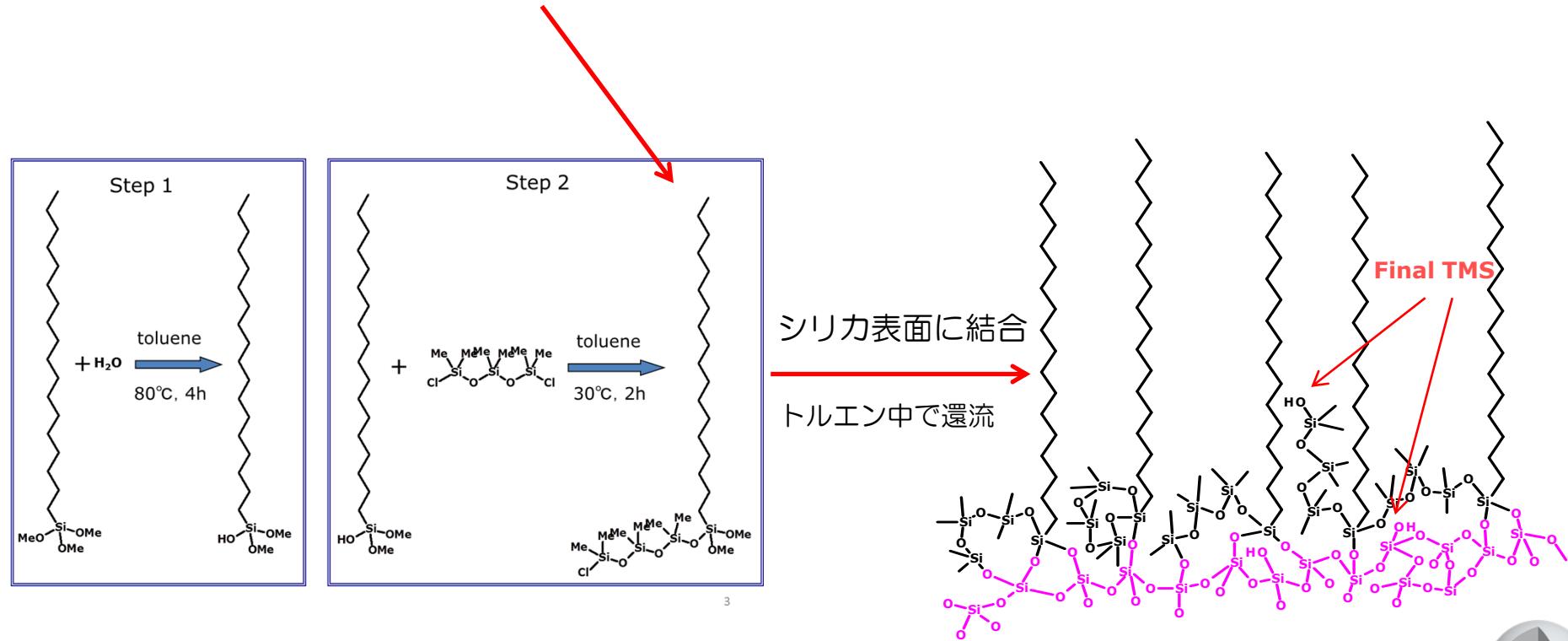
5 = Toluene



# 弊社の技術

## サニエスト結合（エンドキャッピング）技術

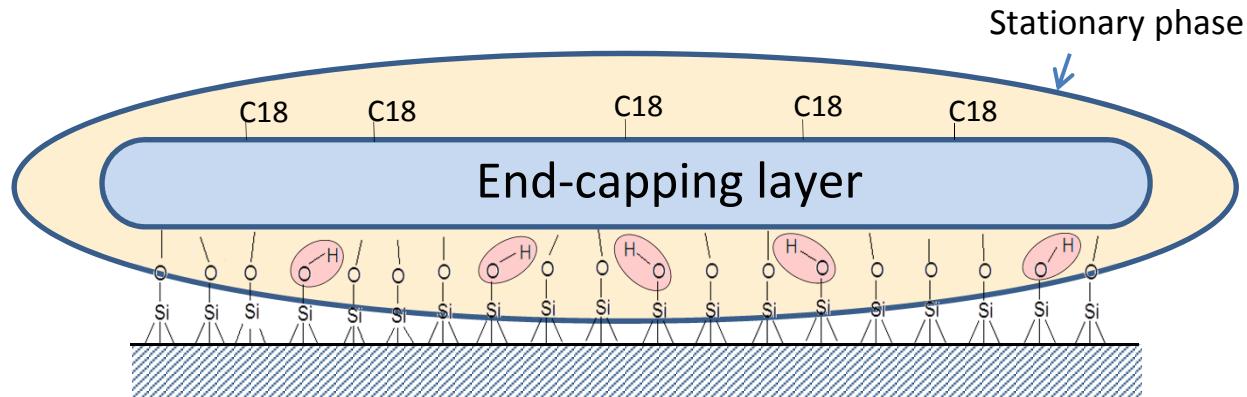
### Hexamethyloctadecyltetrasilane (C18 reagent A)の合成





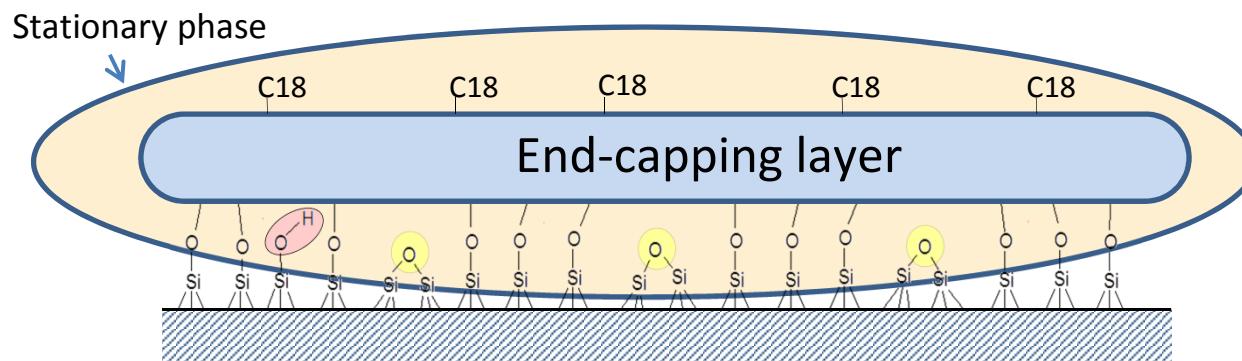
# シリカ表面の疎水性

## 既存のエンドキャッピング



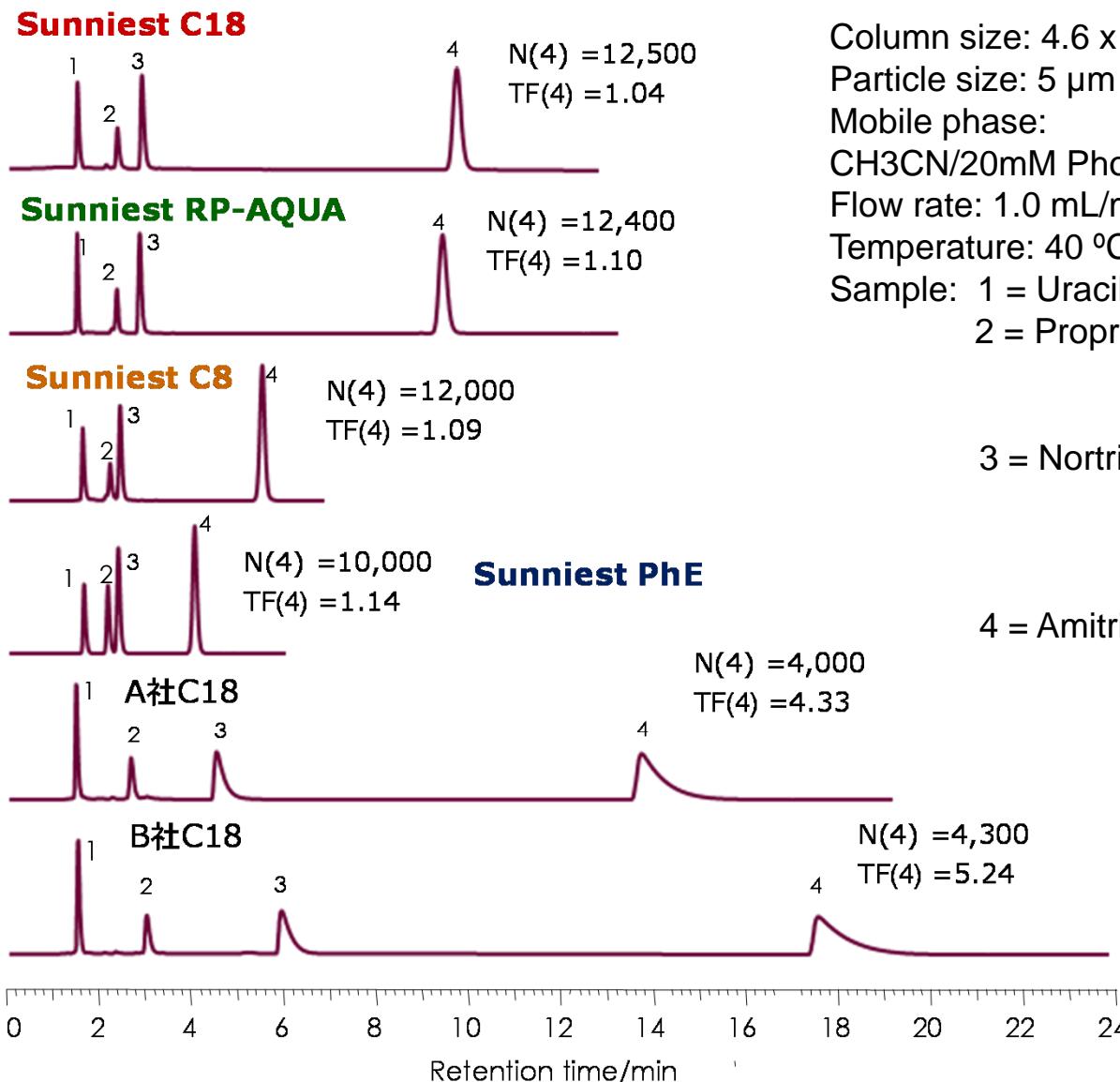
低  
疎水性  
高

## Sunniest エンドキャッピング





# Sunniestエンドキャッピングの効果



Column size: 4.6 x 150 mm

Particle size: 5  $\mu$ m

Mobile phase:

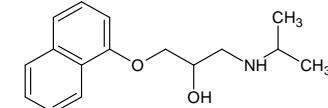
CH3CN/20mM Phosphate buffer pH7.0 =60/40

Flow rate: 1.0 mL/min

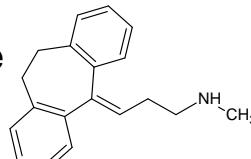
Temperature: 40 °C or 22 °C

Sample: 1 = Uracil

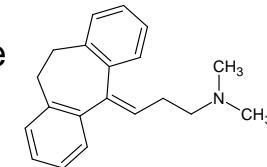
2 = Propranolol



3 = Nortriptyline

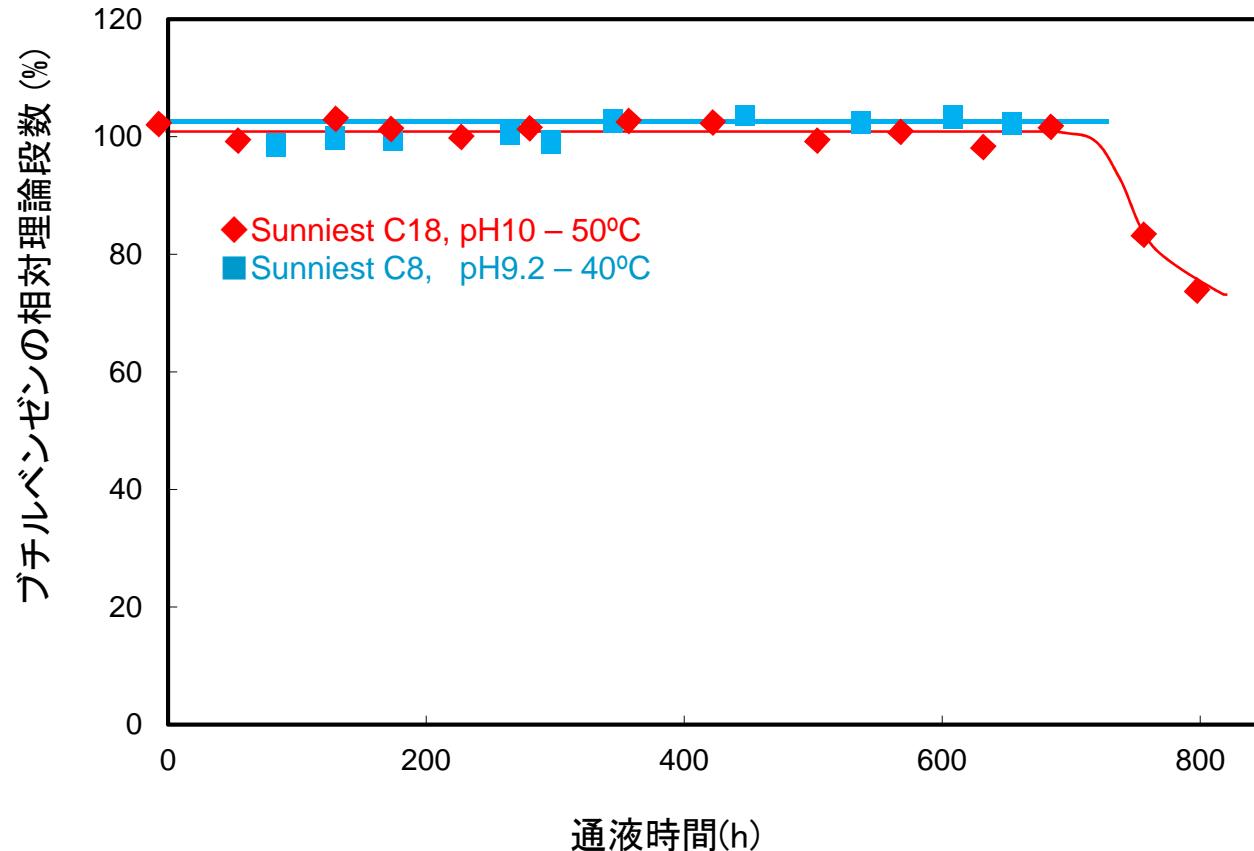


4 = Amitriptyline





# 耐アルカリ性試験



Column: Sunniest C18, C8, 5  $\mu$ m 4.6 x 150 mm

Mobile phase:

C18:  $\text{CH}_3\text{OH}/20\text{mM Sodium borate}/10\text{mM NaOH}=30/21/49$  (pH10)

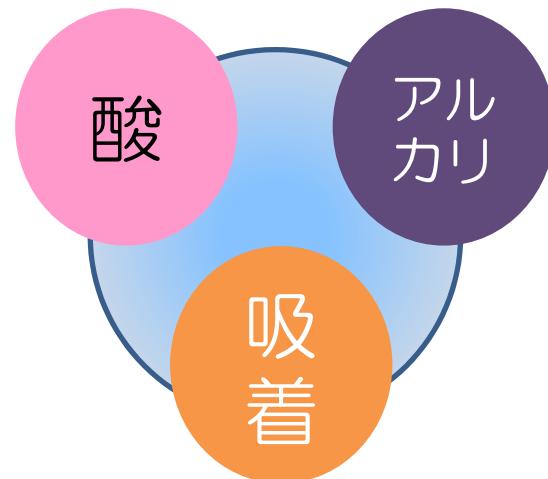
C8:  $\text{CH}_3\text{OH}/20\text{mM Sodium borate}$  (pH9.2) =30/70

Flow rate: 1.0 mL/min, Temperature: C18 - 50 °C, C8 - 40 °C

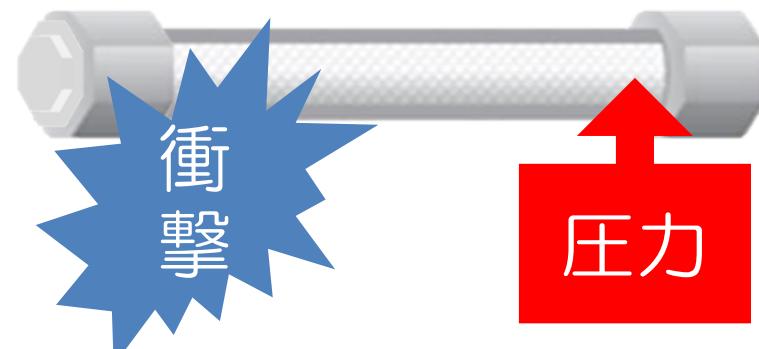


# カラム劣化

## 充填剤の劣化



## 充填状態の変化



- 酸やアルカリによる加水分解
- 物質の吸着

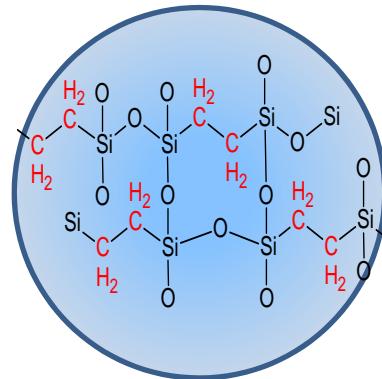
- 衝撃や圧力による充填ベッドの崩れ



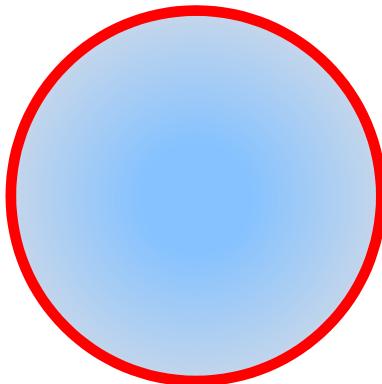
段数の低下、ピーク形状の悪化、保持時間の変化

# 耐アルカリ性を高めるための手段

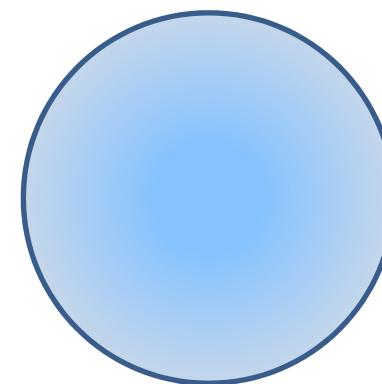
ハイブリッド基材



コーティング



エンドキャッピング



溶け難くする



接触を減らす

エンドキャッピングをさらに高効率に

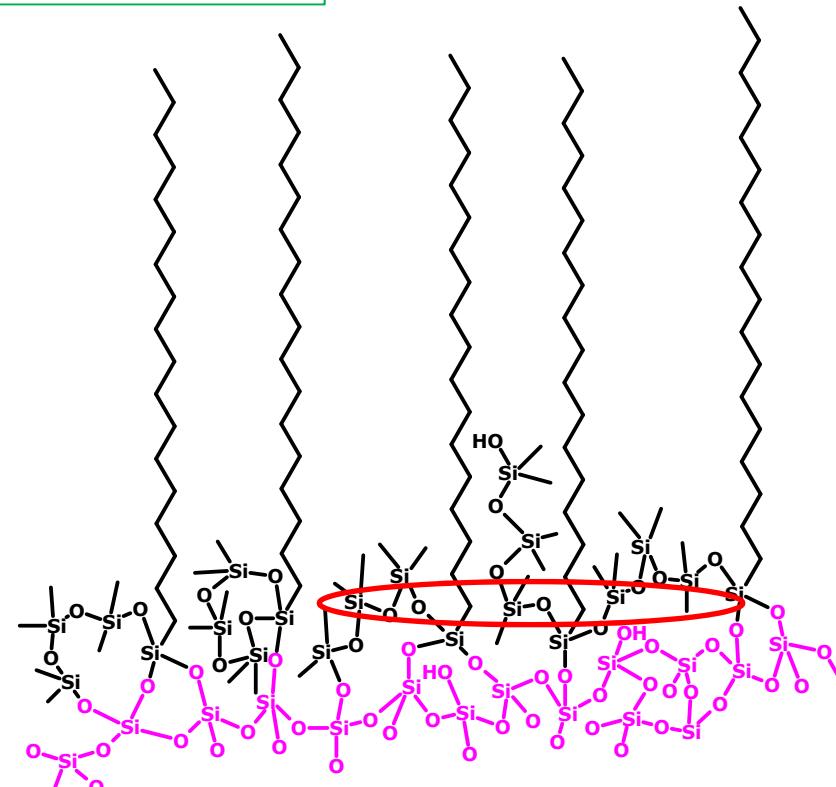


高い耐アルカリ性カラムの製造可能



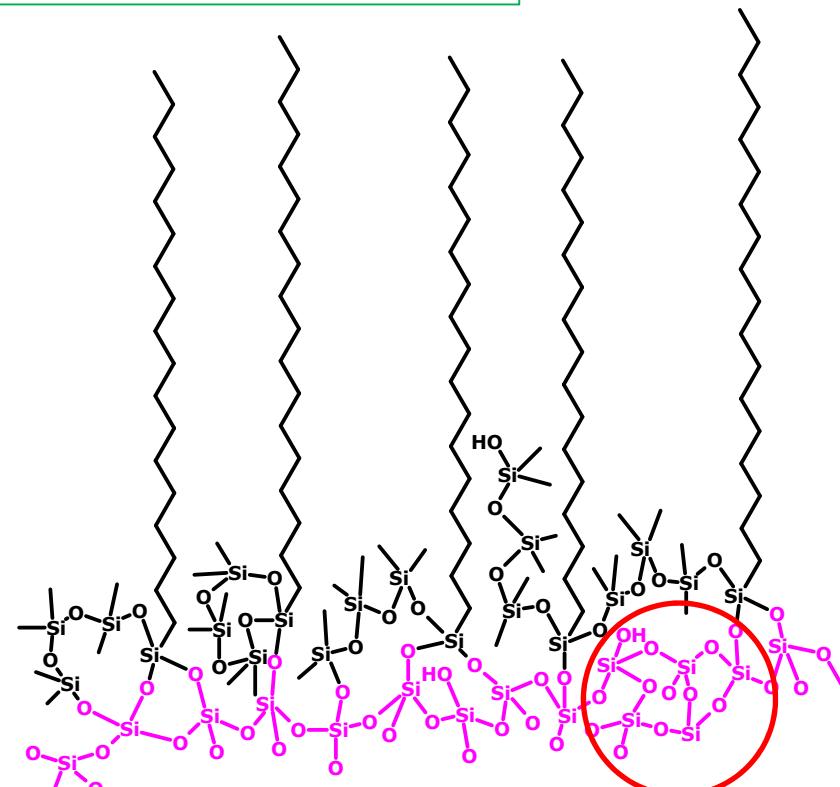
# 劣化の仕方の違い

## 酸での劣化



C18基やエンドキャップの脱離

## アルカリでの劣化



シリカの溶解



# アルカリ性移動相による劣化



アルカリ性下における劣化  
はシリカに対する加水分解

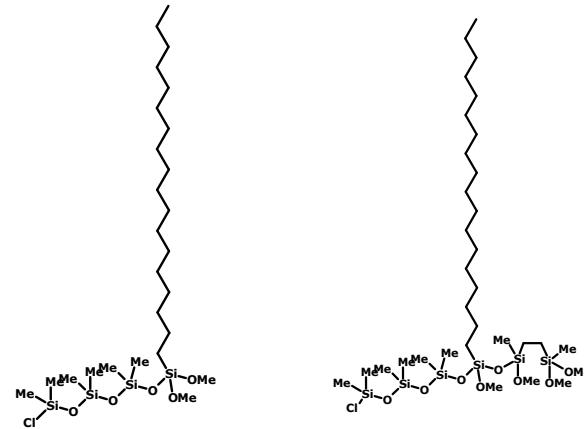


結果としてシリカが  
溶け出す。



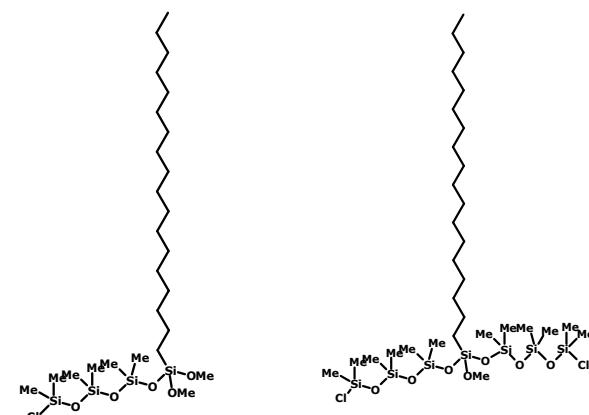
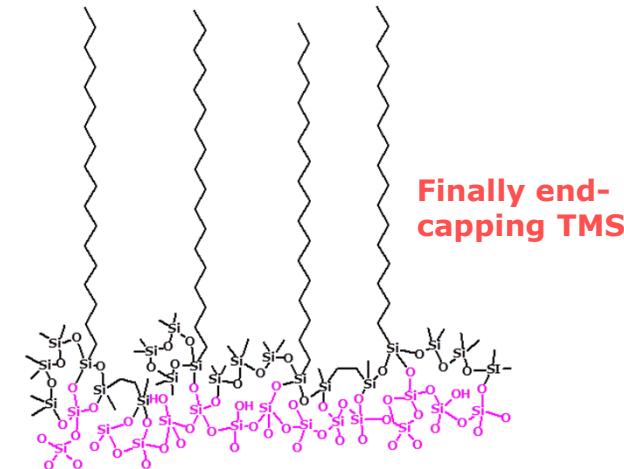
理論段数の低下、ピークの広がり

# シリカへの結合



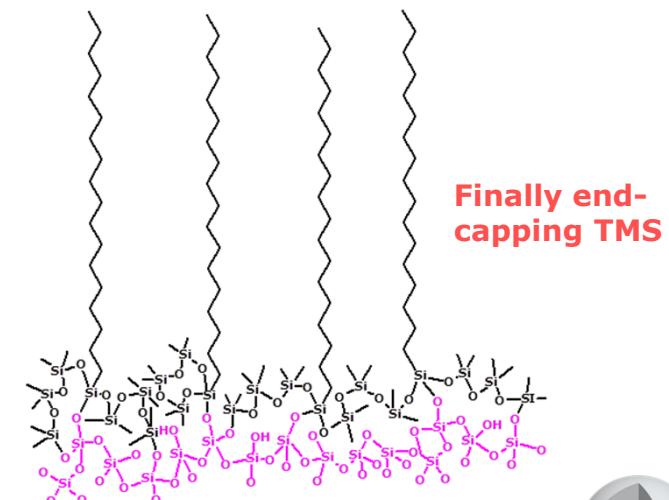
Mixture of reagent A and B

AとBの混合比率  
(2:1) (1:1) (1:2)  
トルエン中で還流  
シリカゲル  
5 μm, 340 m<sup>2</sup>/g



Mixture of reagent A and C

AとCの混合比率  
(2:1) (1:1) (1:2)  
トルエン中で還流  
シリカゲル  
5 μm, 340 m<sup>2</sup>/g





# 耐アルカリ性評価

	試薬比率	炭素含有量	通液時間	カラムの凹み量	段数(相対値)
従来 C18	A	15.6%	14 時間	1.3 mm	90%
Prototype 501	A:B=2:1	15.8%	34 時間	2.7 mm	83%
Prototype 502	A:B=1:1	16.1%	34 時間	2.2 mm	90%
Prototype 504	A:B=1:2	14.7%	34 時間	4.3 mm	62%
Prototype 505	A:C=2:1	15.7%	34 時間	3.0 mm	85%
Prototype 507	A:C=1:1	16.3%	34 時間	2.0 mm	91%
Prototype 508	A:C=1:2	14.9%	20 時間	3.3 mm	82%
Prototype 513	A:D=1:1	16.3%	50 時間	1.0 mm	92%

## アルカリ性移動相の通液

Column dimension: 150 x 4.6 mm

Mobile phase:

$\text{CH}_3\text{OH}/50\text{mM Sodium phosphate buffer 10 / 90}$  (pH11.5)

Flow rate: 1 mL/min, Temperature: 40 °C

## カラム性能の確認 (凹み量)

Mobile phase:  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}=70/30$

Flow rate: 1 mL/min

Temperature: 40 °C

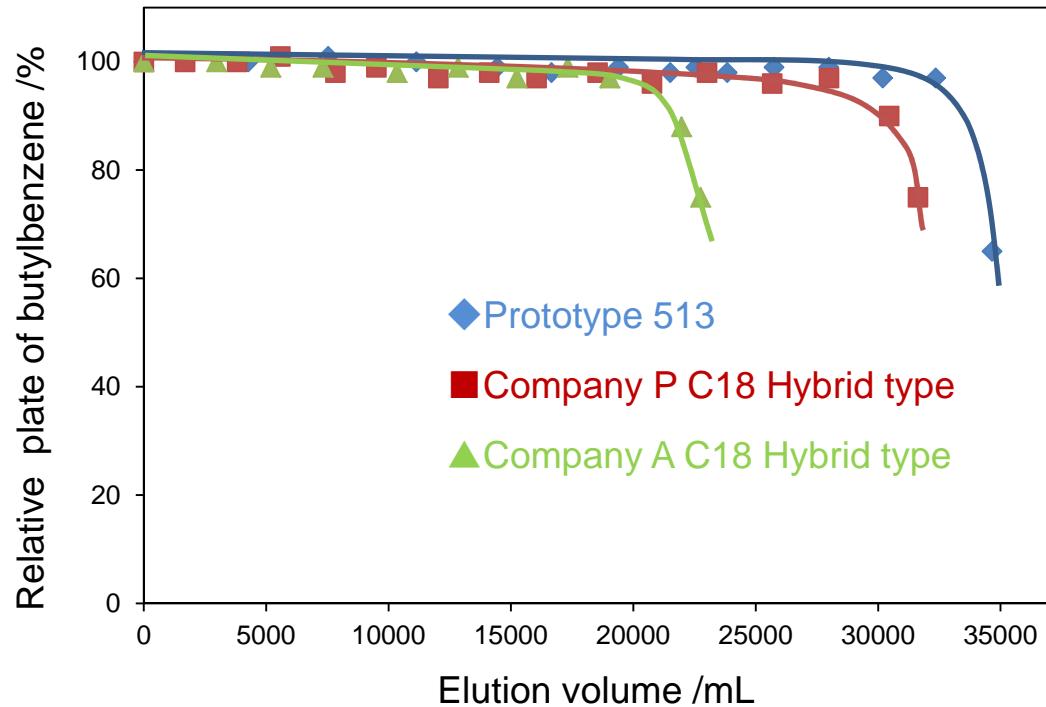
Sample: 1 = Butylbenzene

試薬B,Cを使用した方法では  
限界がある



新たな方法を使用した結果  
耐久性が向上した

# pH10.5, 60°Cでの安定性評価



## Durable test condition

Column dimension: 50 x 2.1 mm

Mobile phase:

$\text{CH}_3\text{OH}/10\text{mM Ammonium bicarbonate (pH 10.5)}=30/70$

Flow rate: 0.8 mL/min

Temperature: 60 °C

## Measurement condition

Column dimension: 50 x 2.1 mm

Mobile phase:  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}=60/40$

Flow rate: 0.2 mL/min

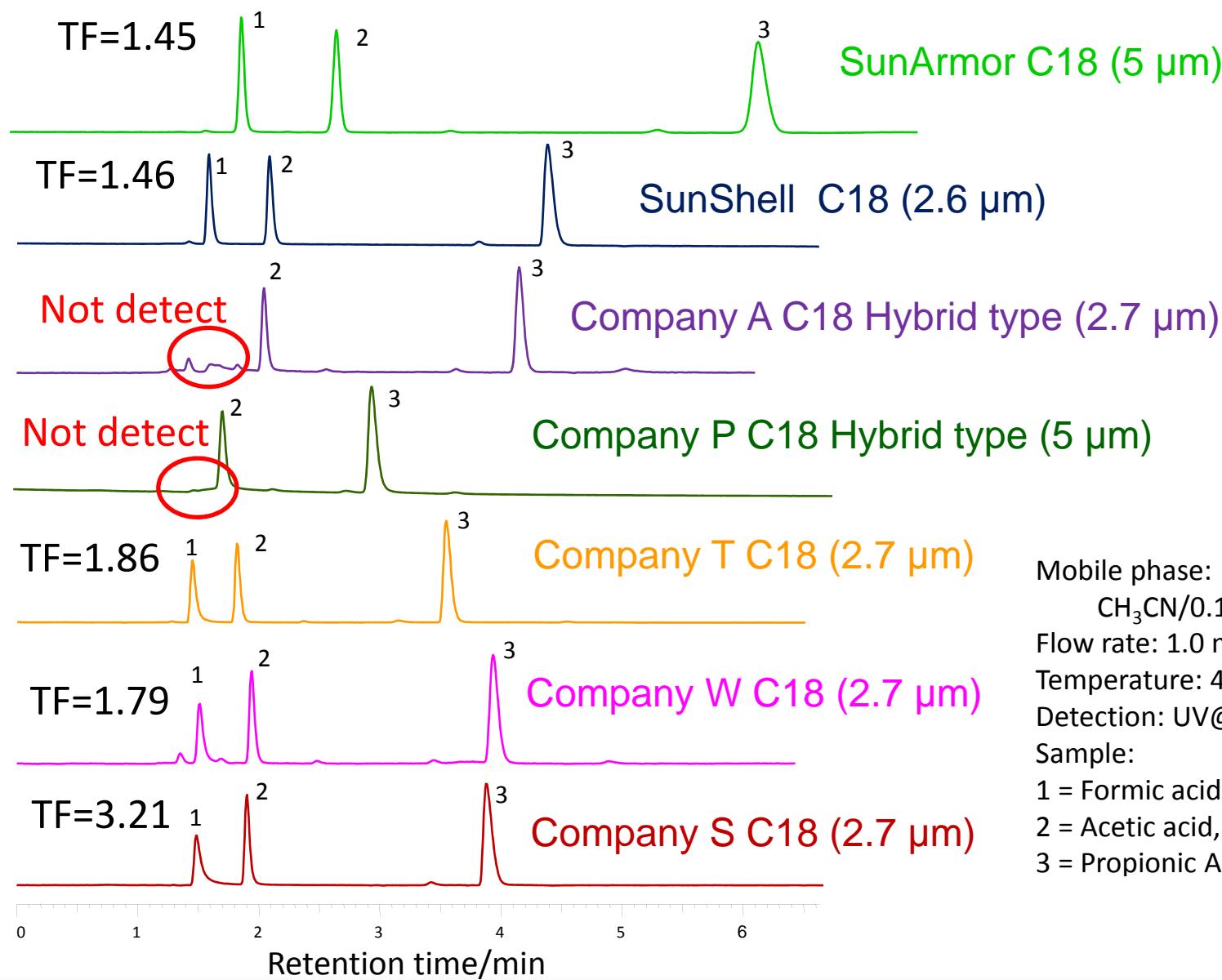
Temperature: 40 °C

Sample: 1 = Butylbenzene

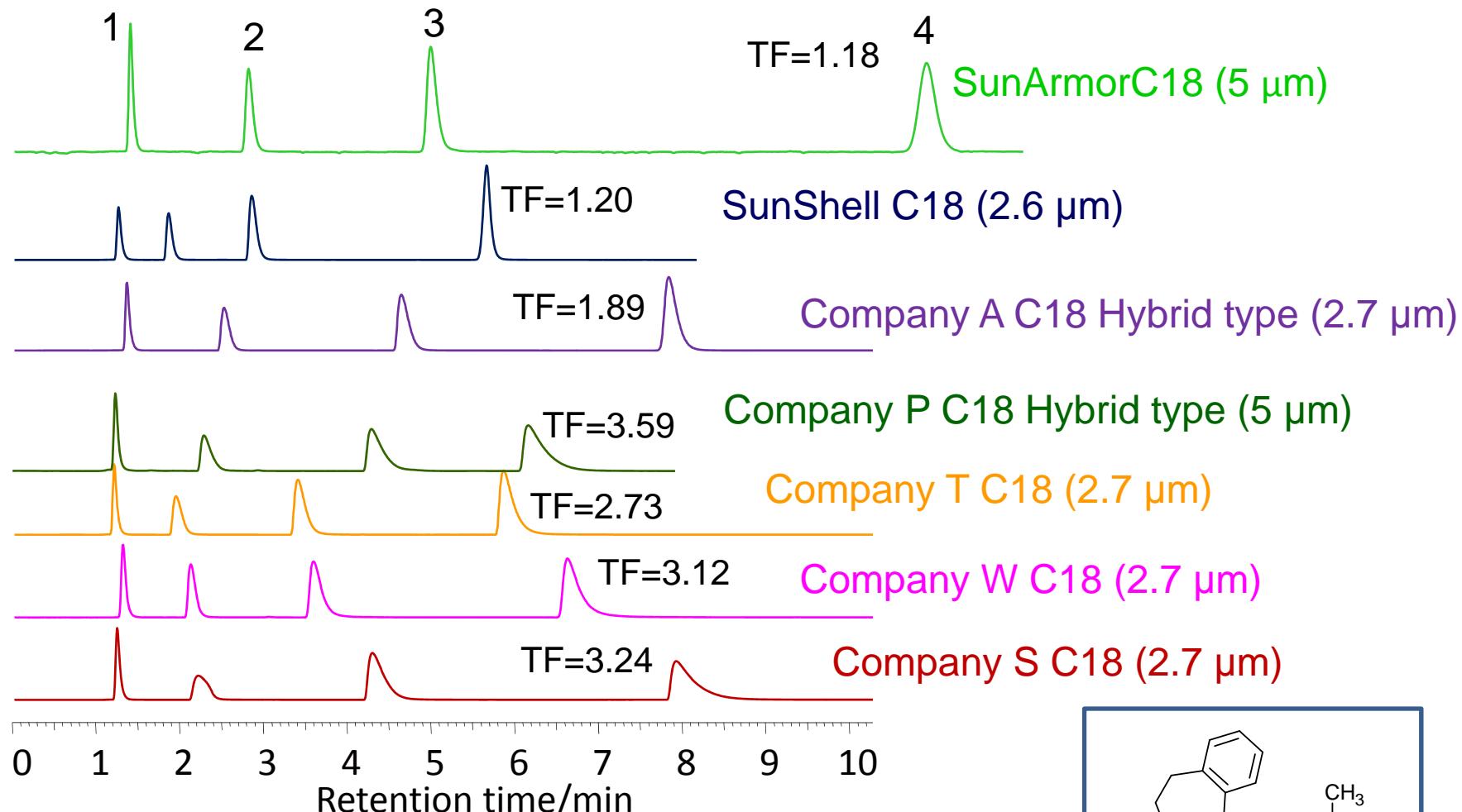
他社ハイブリッドタイプのカラムと比較しても  
それ以上の耐久性を示した



# ギ酸ピークの比較

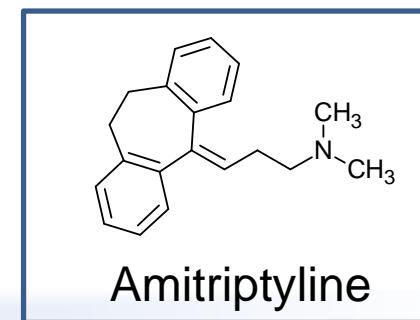


# 塩基性化合物アミトリプチリンの比較



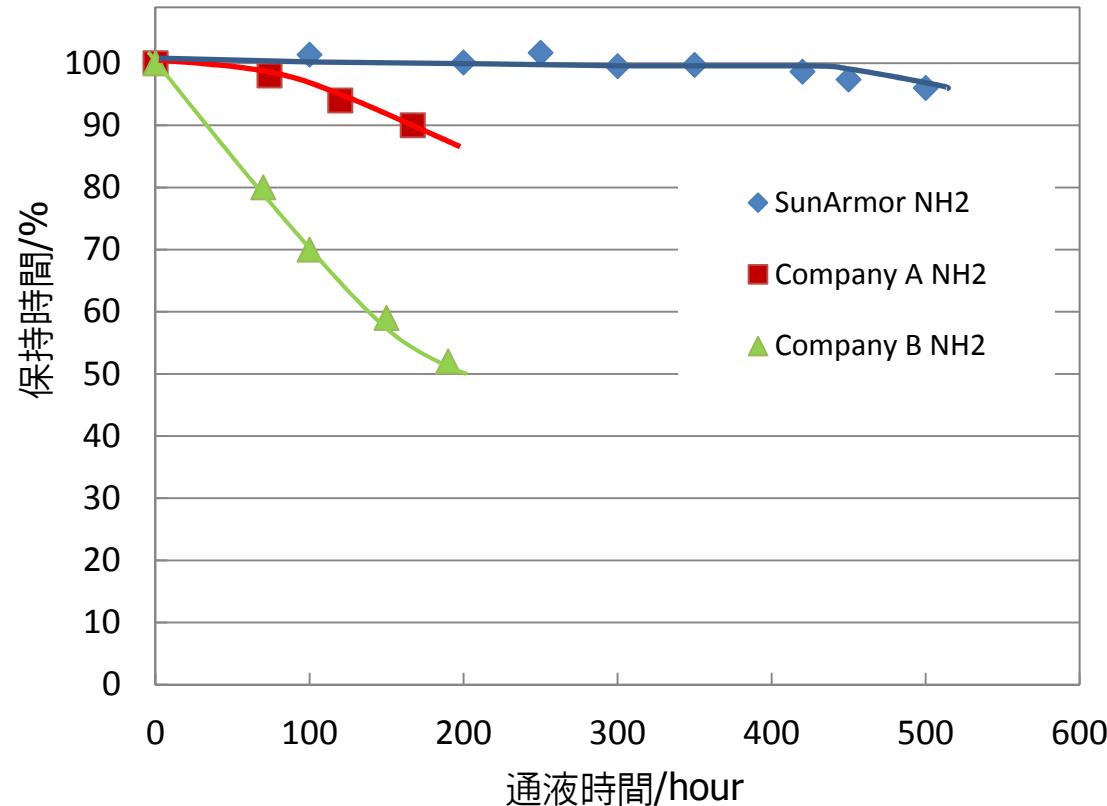
Mobile phase: Acetonitrile/10mM ammonium acetate pH6.8=(40:60)  
 Column dimension: 150 x 4.6 mm, Flow rate: 1.0 mL/min, Temp.: 40°C

Sample: 1=Uracil, 2=Propranolol, 3= Nortriptyline, 4=Amitriptyline





# NH<sub>2</sub>カラムの耐久性比較



Durable test condition

Column size: 250 x 4.6 mm

Mobile phase: CH<sub>3</sub>CN/water,  
=75/25

Flow rate: 1 mL/min

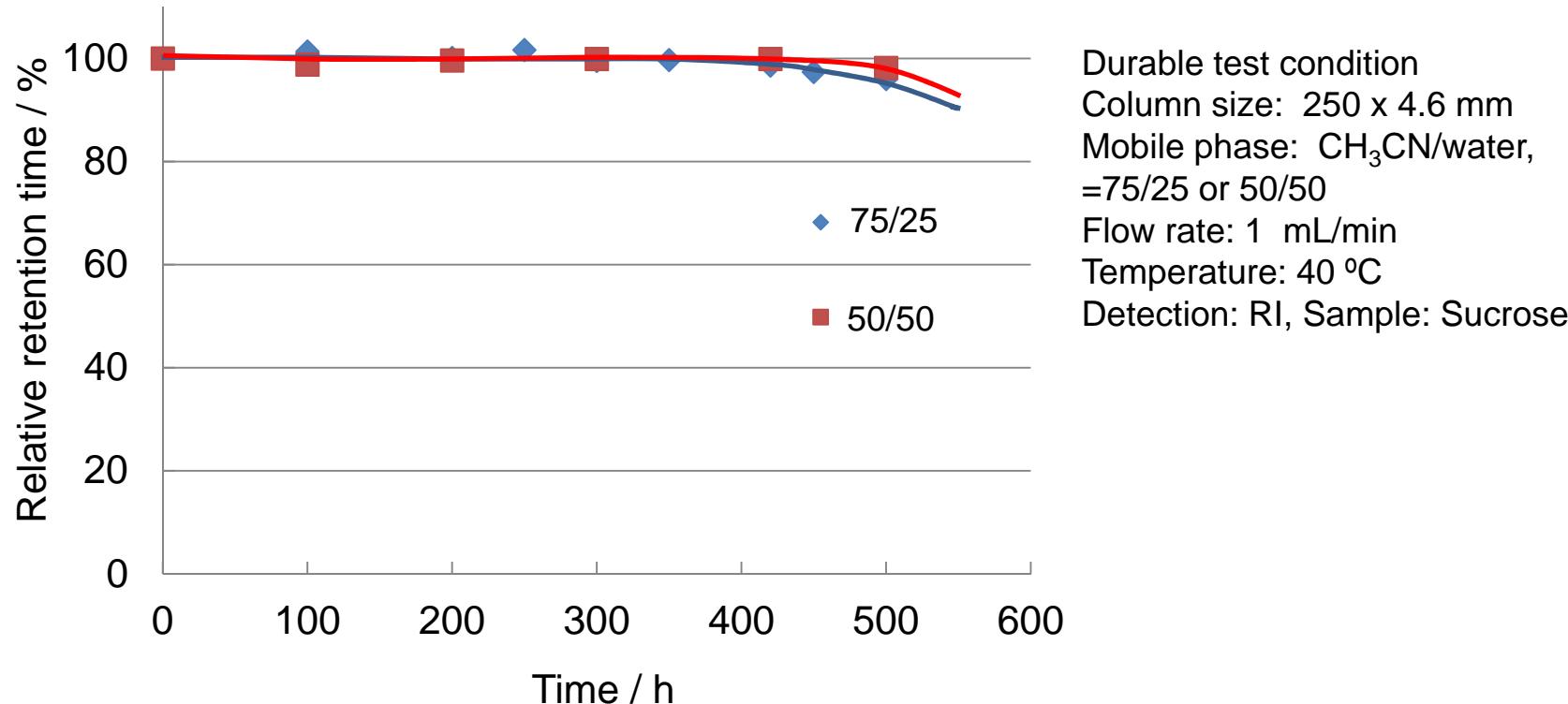
Temperature: 40 °C

Detection: RI, Sample: Sucrose

一般的なアミノプロピルカラムの3倍以上の耐久性を実現



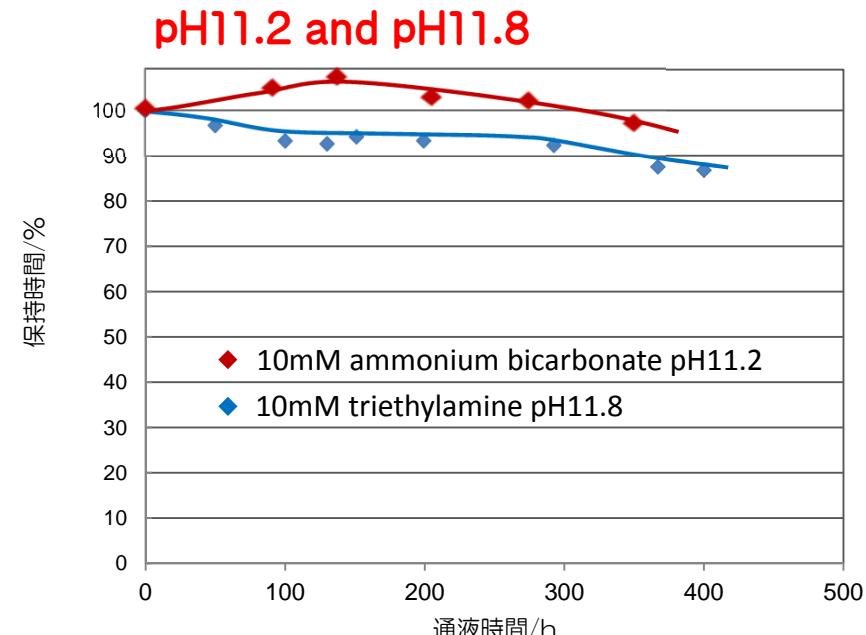
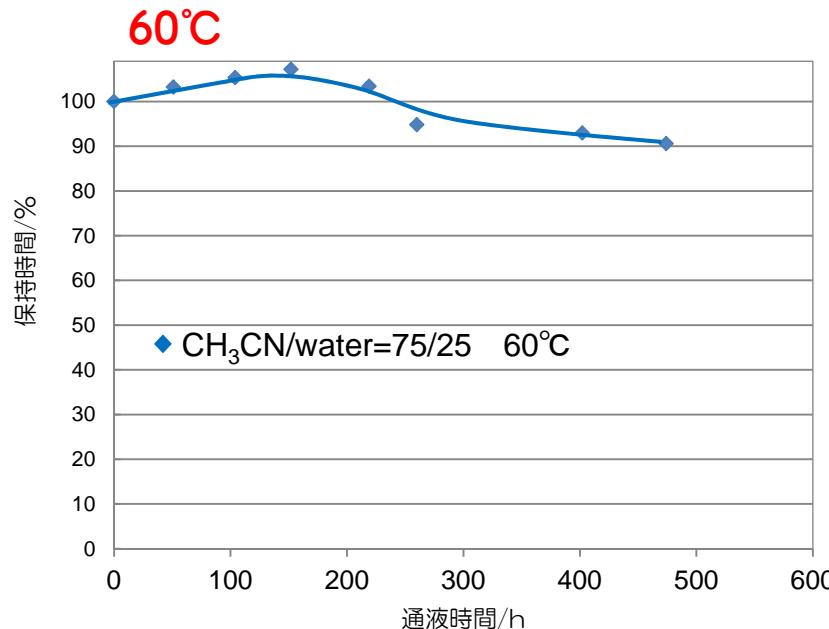
# SunArmorNH<sub>2</sub>の耐久性



移動相中の水の割合が増えても耐久性を  
維持



# SunArmorNH<sub>2</sub>の耐久性2



Measurement condition  
Column size: 250 x 4.6 mm  
Mobile phase: CH<sub>3</sub>CN/water=75/25  
Flow rate: 1 mL/min, Temperature: 40 °C  
Detection: RI, Sample: Sucrose

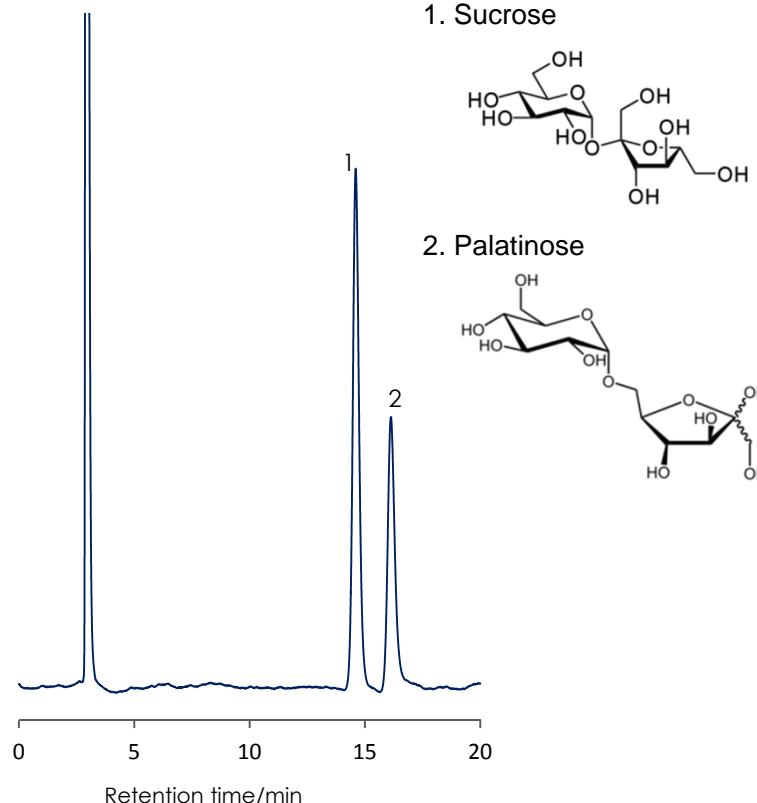
耐熱性、耐アルカリ性ともに高い  
耐久性を実現



# アプリケーション

糖の分離に！

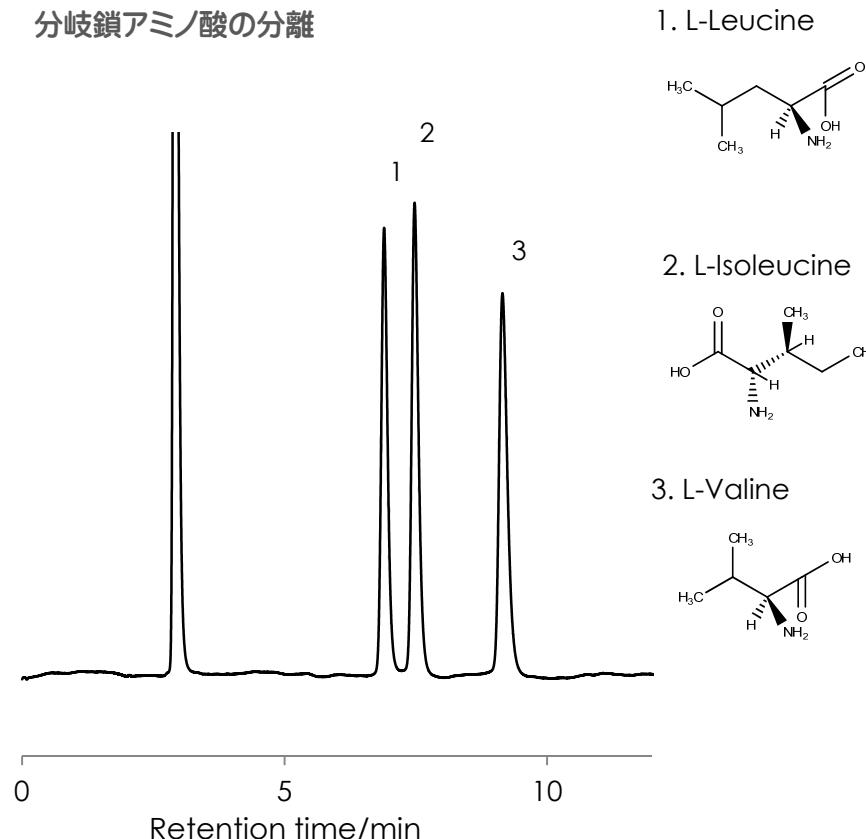
スクロースとパラチノースの分離



Column: SunArmor NH<sub>2</sub>, 5 µm 250 x 4.6 mm  
Mobile phase:  
Acetonitrile/50 mM ammonium acetate=75/25  
Flow rate: 1.0 mL/min  
Temperature: 40 °C  
Detection: RI

アミノ酸の分離に！

分岐鎖アミノ酸の分離

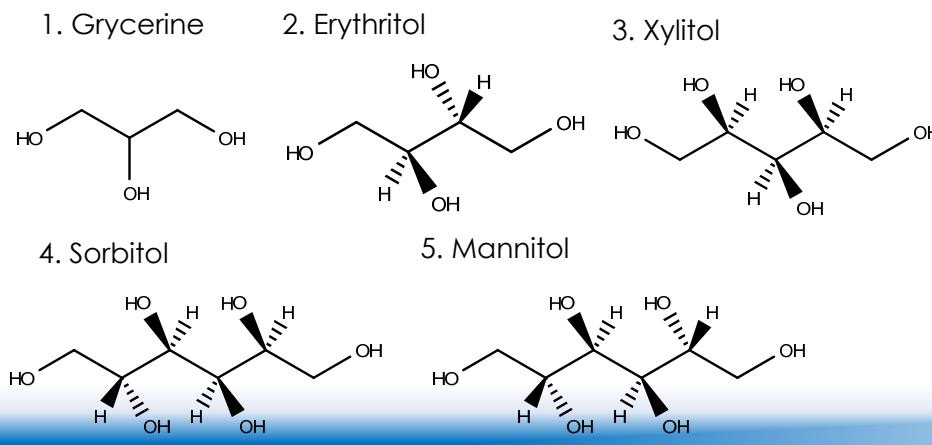
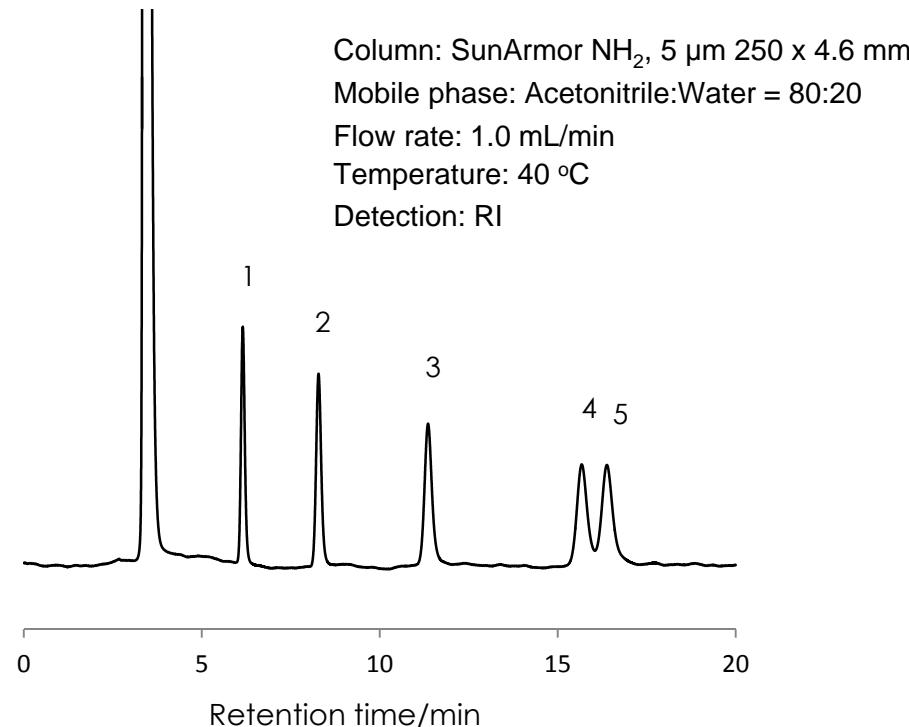


Column: SunArmor NH<sub>2</sub>, 5 µm 250 x 4.6 mm  
Mobile phase:  
Acetonitrile:10mM ammonium acetate=70:30  
Flow rate: 1.0 mL/min  
Temperature: 40 °C  
Detection: RI

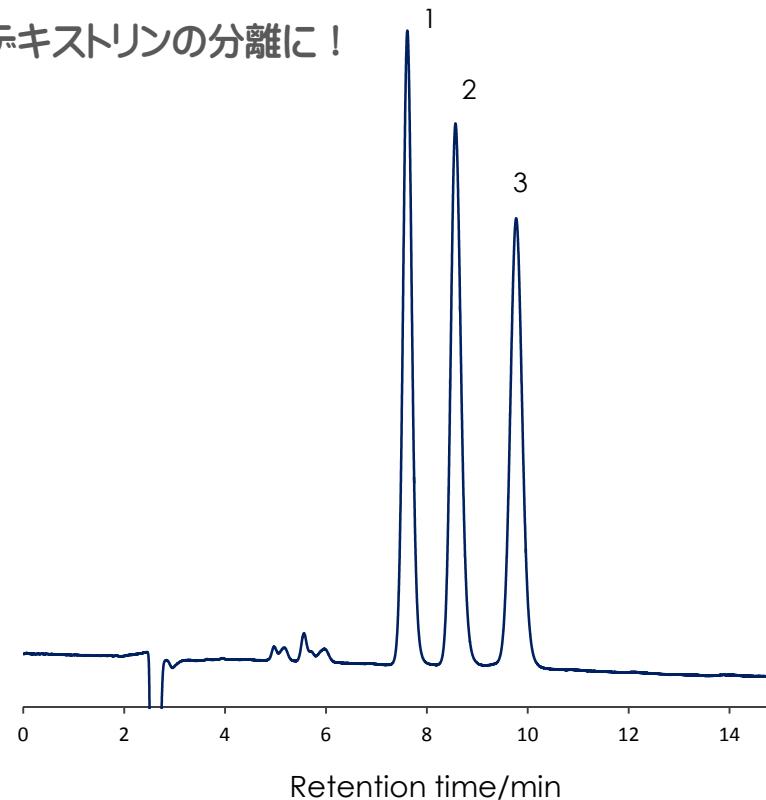


# アプリケーション2

糖アルコールの分離に！



テキストリンの分離に！



Column: SunArmor NH<sub>2</sub>, 5  $\mu$ m 250 x 4.6 mm  
Mobile phase: Acetonitrile/Water = 60/40  
Flow rate: 1.0 mL/min, Temperature: 25 °C  
Detection: RI, Sample: 1=  $\alpha$ -Cyclodextrin, 2=  $\beta$ -Cyclodextrin, 3=  $\gamma$ -Cyclodextrin



## まとめ

- ・他社ハイブリッドタイプとの比較から、エンドキャッピングのみでも十分な耐久性を示した
- ・作成したカラムでは酸性、塩基性物質共に良好なピーク形状が得られた。
- ・エンドキャッピング技術を応用することでアルカリ性条件下での耐久性を向上させることができた。
- ・順相カラムに耐アルカリ性エンドキャッピング技術を応用することで、耐久性を改善することができた。