

日本薬学会第136年会 28AB-am300

6種類のコアシェルC18充填剤の 分離及び物性の評価

Evaluation of Six Core Shell Columns Based on Both
Separation Behavior and Physical Property

○長江 徳和, 塚本 友康
(クロマニックテクノロジーズ)

ChromaNik Technologies Inc.

コアシェル型シリカの歴史

1969年カーランドにより発表されたHPLCで使用されていた充填剤 - 直径 $30\mu\text{m}$ の核に厚さ $0.5\mu\text{m}$ の多孔質層

1967・1968年に基本特許は出願されている。

2000年にカーランドらにより発表¹，タンパク質の高速分離用充填剤 - 直径 $4\mu\text{m}$ の核に厚さ $0.5\mu\text{m}$ の多孔質層（細孔径 30nm ）

2007年三度カーランドらにより発表²，全多孔性sub $2\mu\text{m}$ 充填剤に匹敵する充填剤 - 直径 $1.7\mu\text{m}$ の核に厚さ $0.5\mu\text{m}$ の多孔質層（細孔径 9nm ）



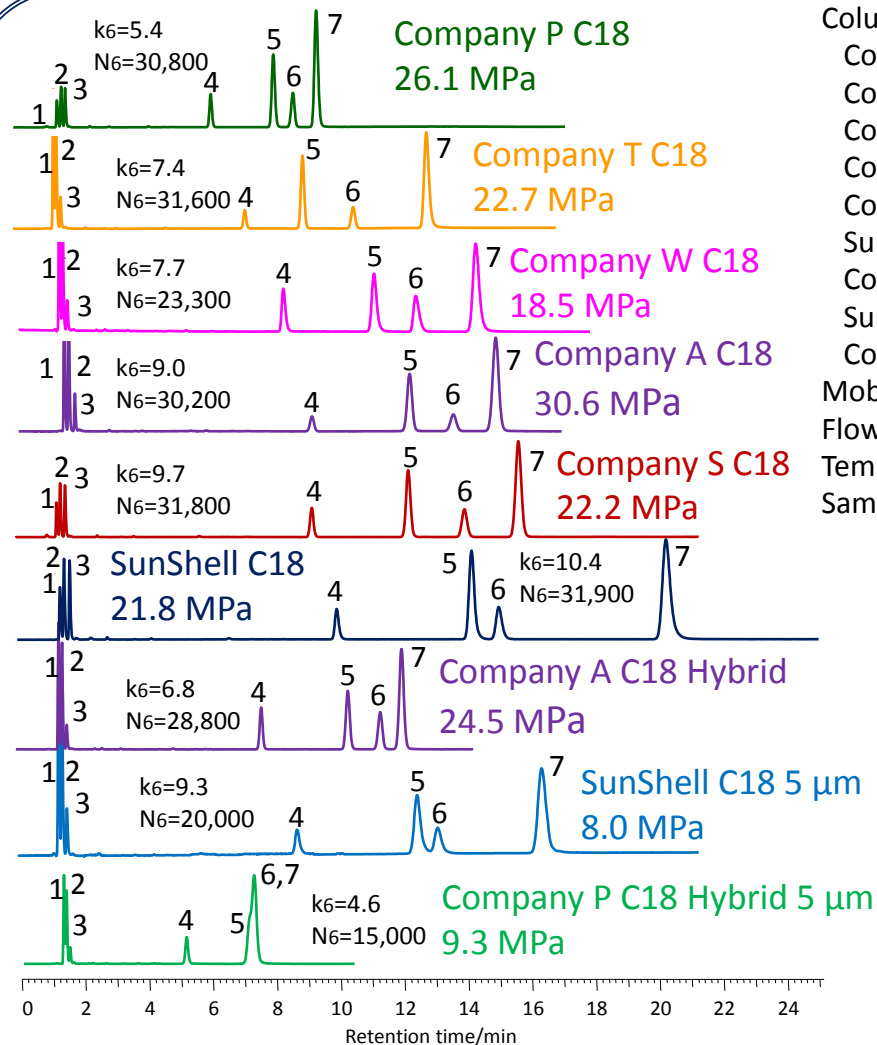
• *Fused-Core technology was developed by Jack Kirkland.*

(1) J.J. Kirkland, F.A. Truszkowski, C.H. Dilks, and G.S. Engel, J. Chromatogr., A 890, 3–13 (2000).

(2) J.J. Kirkland, T.J. Langlois, and J.J. DeStefano, Am. Lab. 39, 18–21 (2007).

2007年に微小粒子の製造法の特許が出願された。

標準試料の分離比較



Column:

Company P C18, 2.6 μ m 150 x 4.6 mm (26.1 Mpa, 30,800 plate)

Company T C18, 2.6 μ m 150 x 4.6 mm (22.7 Mpa, 31,600 plate)

Company W C18, 2.7 μ m 150 x 4.6 mm (18.5 Mpa, 23,300 plate)

Company A C18, 2.7 μ m 150 x 4.6 mm (30.6 Mpa, 30,200 plate)

Company S C18, 2.7 μ m 150 x 4.6 mm (22.2 Mpa, 31,800 plate)

SunShell C18, 2.6 μ m 150 x 4.6 mm (21.8 Mpa, 31,900 plate)

Company A C18 Hybrid, 2.7 μ m 150 x 4.6 mm (24.5 Mpa, 30,200 plate)

SunShell C18, 5 μ m 150 x 4.6 mm (21.8 Mpa, 31,900 plate)

Company P C18 Hybrid, 5 μ m 150 x 4.6 mm (26.1 Mpa, 30,800 plate)

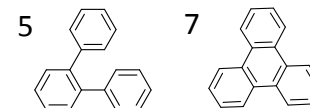
Mobile phase: CH₃OH/H₂O=75/25

Flow rate: 1.0 mL/min

Temperature: 40 °C

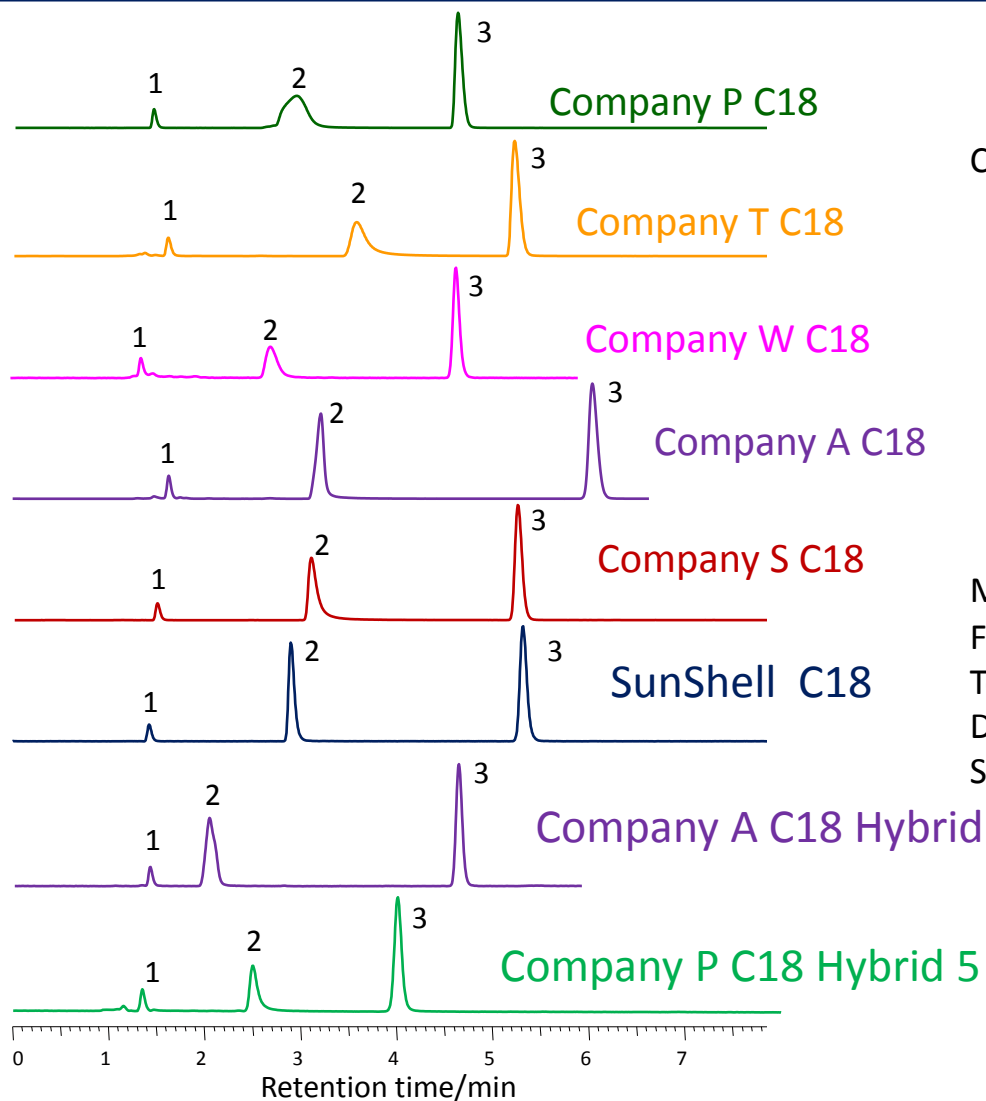
Sample: 1 = Uracil, 2 = Caffeine, 3 = Phenol, 4 = Butylbenzene

5 = o-Terphenyl, 6 = Amylbenzene, 7 = Triphenylene

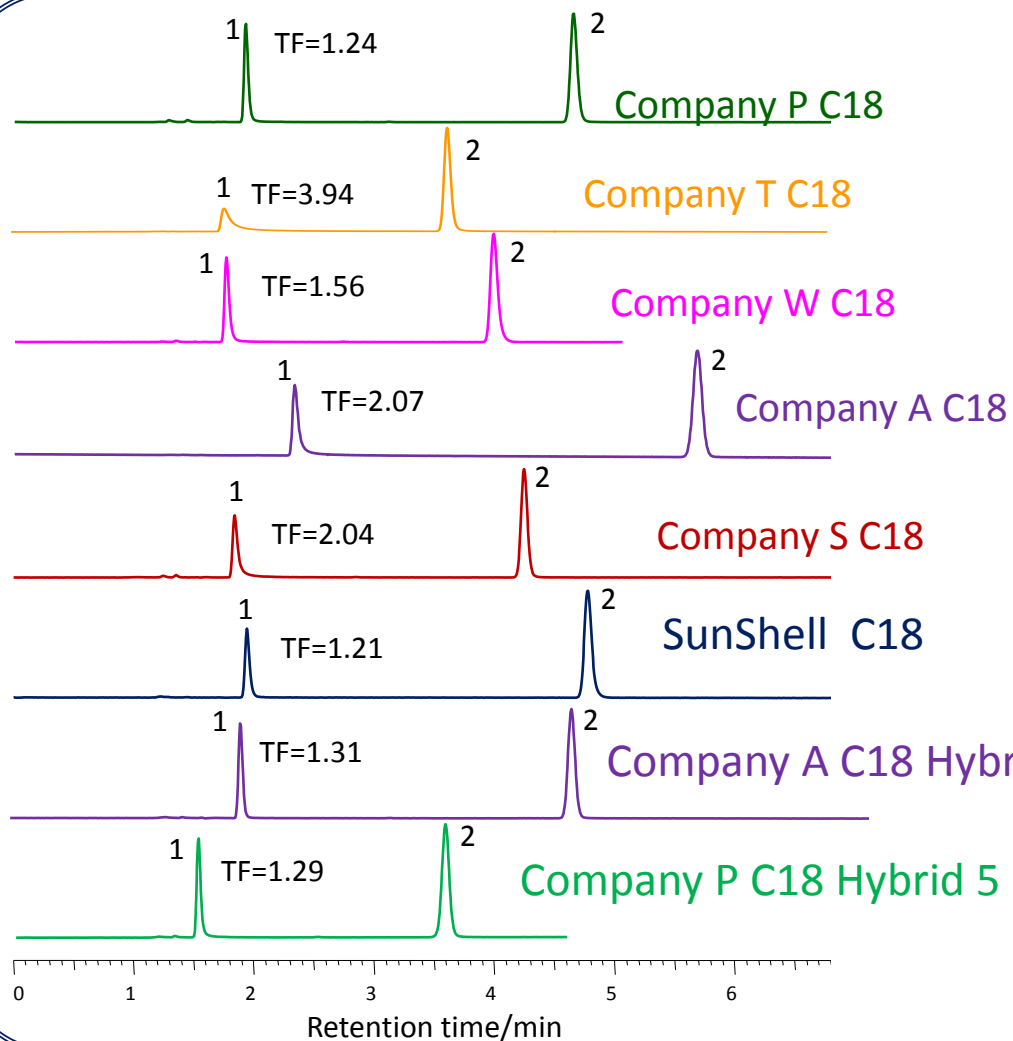


	水素結合性 (Caffeine/Phenol)	疎水性 (Amylbenzene/Butylbenzene)	立体選択性 (Triphenylene/o-Terphenyl)
Company P C18	0.48	1.54	1.20
Company T C18	0.35	1.56	1.50
Company W C18	0.38	1.59	1.32
Company A C18	0.42	1.57	1.25
Company S C18	0.44	1.60	1.31
SunShell C18	0.39	1.60	1.46
Company A C18 Hybrid	0.42	1.58	1.19
SunShell C18 5 μ m	0.42	1.59	1.35
Company P C18 Hybrid 5 μ m	0.40	1.45	1.02

ピリジンピークの比較



金属配位性化合物オキシンの比較



Column:

Company P C18, 2.6 μ m 150 x 4.6 mm
 Company T C18, 2.6 μ m 150 x 4.6 mm
 Company W C18, 2.7 μ m 150 x 4.6 mm
 Company A C18, 2.7 μ m 150 x 4.6 mm
 Company S C18, 2.7 μ m 150 x 4.6 mm
 SunShell C18, 2.6 μ m 150 x 4.6 mm
 Company A C18 Hybrid, 2.7 μ m 150 x 4.6 mm
 Company P C18 Hybrid, 5 μ m 150 x 4.6 mm

Mobile phase: CH₃CN/20mM H₃PO₄=10/90

Flow rate: 1.0 mL/min

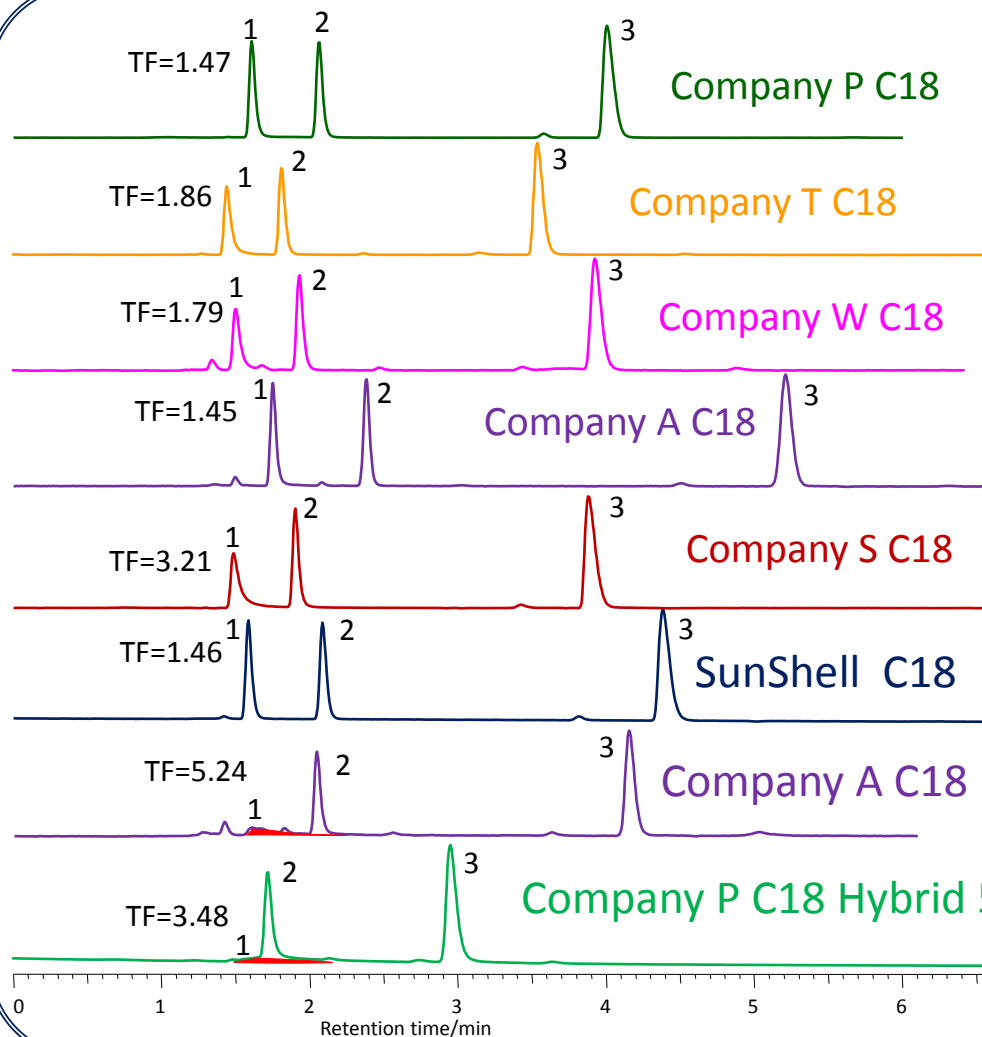
Temperature: 40 °C

Detection: UV@250nm

Sample: 1 = 8-Quinolinol (Oxine)

2 = Caffeine

ギ酸ピークの比較



Column:

Company P C18, 2.6 μ m 150 x 4.6 mm
 Company T C18, 2.6 μ m 150 x 4.6 mm
 Company W C18, 2.7 μ m 150 x 4.6 mm
 Company A C18, 2.7 μ m 150 x 4.6 mm
 Company S C18, 2.7 μ m 150 x 4.6 mm
 SunShell C18, 2.6 μ m 150 x 4.6 mm
 Company A C18 Hybrid, 2.7 μ m 150 x 4.6 mm
 Company P C18 Hybrid, 5 μ m 150 x 4.6 mm

Mobile phase: $\text{CH}_3\text{CN}/0.1\% \text{H}_3\text{PO}_4=2/98$

Flow rate: 1.0 mL/min

Temperature: 40 $^{\circ}\text{C}$

Detection: UV@210nm

Sample: 1 = Formic acid

2 = Acetic acid

3 = Propionic Acid

標準試料の分離比較のまとめ

	カラム圧 Pressure ^a	保持指数 Retention ^b	理論段数 Plate ^c	ピリジン Pyridine	オキシシン Oxine	ギ酸 Formic acid	Point	
SunShell C18	○21.8	10.4	◎31,900	◎	◎	◎	14	
Company S C18	○22.2	9.7	◎31,800	△	△	×	7	
Company A C18	×	30.6	◎30,200	◎	△	◎	10	
Company W C18	◎18.5	7.7	×	23,300	×	○	△	6
Company T C18	○22.7	7.4	◎31,600	×	×	△	6	
Company P C18	△26.1	5.4	◎30,800	×	◎	◎	10	

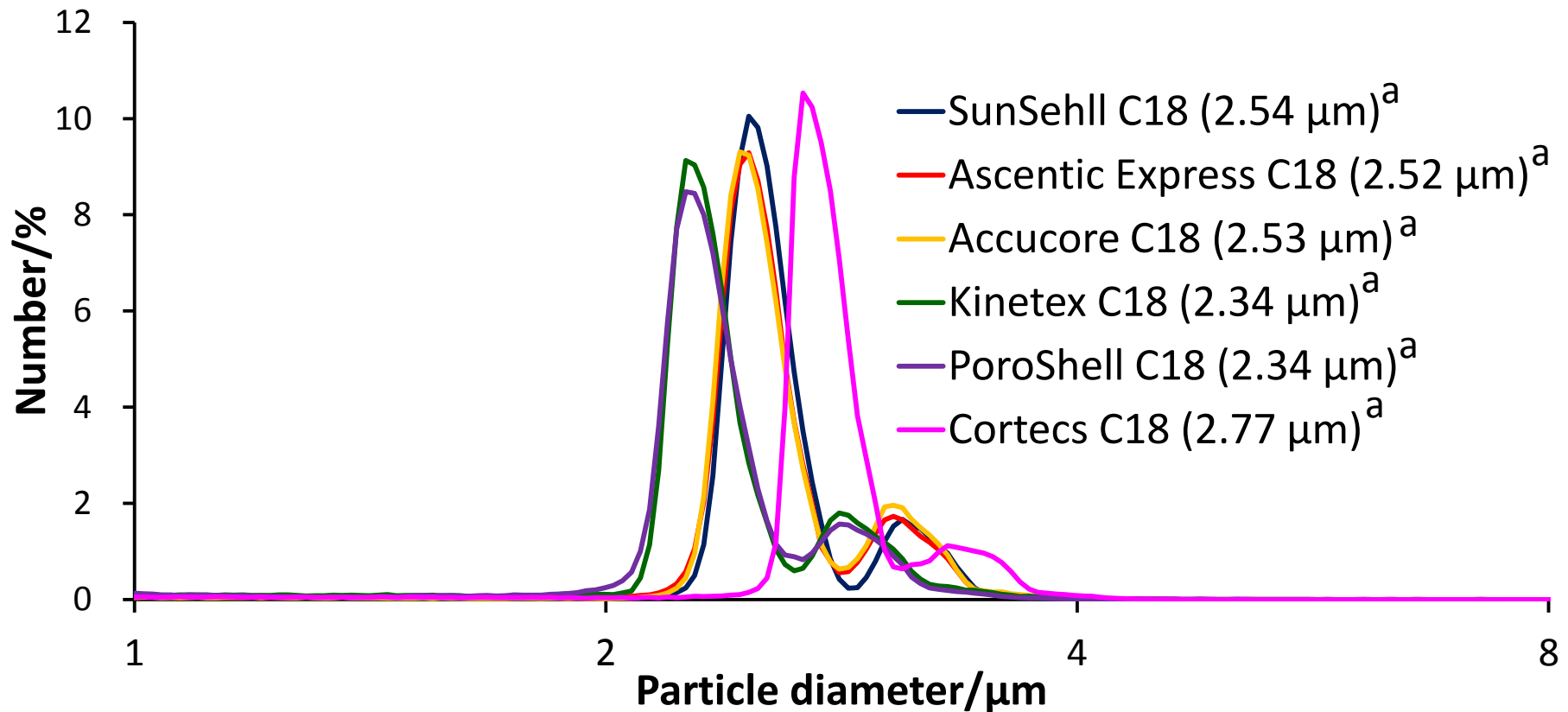
a. Mobile phase; methanol:water=75:25, 40 °C, 1mL/min, 150 x 4.6mm

b. Retention factor of amylbenzene

c. Theoretical plate of amylbenzene

◎: 3 point, ○: 2 point, △: 1 point, ×: 0 point

粒度分布



a. 中位径

*C18充填剤を600°Cで8時間焼成し、アルキル基を焼き飛ばした後のコアシェル粒子をBeckman Coulter Multisizer 3で測定しました。この測定値はオリジナルのコアシェル粒子の値とは異なります。

物性値

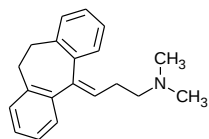
	炭素含有量 Carbon loading (%)	比表面積 Specific surface area ^a (m ² /g)	細孔容積 Pore volume ^a (mL)	細孔径 Pore diameter ^a (nm)
SunShell C18	7.3 (7) ^b	125 (150) ^b	0.261	8.34 (9) ^b
Company S C18	8.0	133 (150) ^b	0.278	8.20 (9) ^b
Company A C18	8.5 (8) ^b	135 (130) ^b	0.414	12.3 (12) ^b
Company T C18	8.8 (9) ^b	130 (130) ^b	0.273	8.39 (8) ^b
Company W C18	7.3 (6.6) ^b	113	0.264	9.32
Company P C18	4.9 (12 effective) ^b	102 (200 effective) ^b	0.237	9.25 (10) ^b

a. C18充填剤を600°Cで8時間焼成し、アルキル基を焼き飛ばした後のコアシェル粒子を測定しました。この測定値はオリジナルのコアシェル粒子の値より小さくなります。

b. カタログに記載されている値

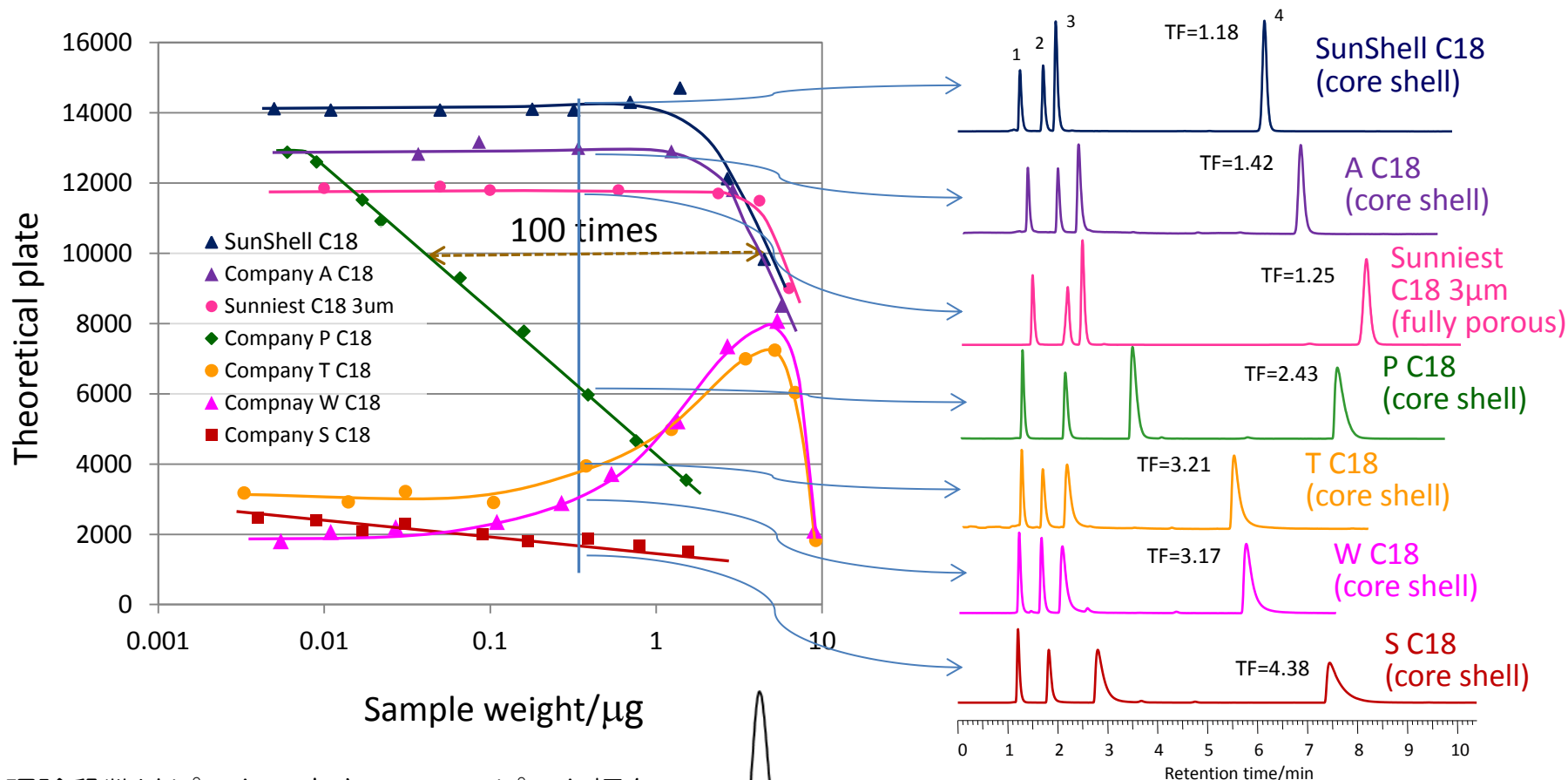
*全ての測定はクロマニックテクノロジーズ社内で行いました。

アミトリプチリンの負荷量比較 I

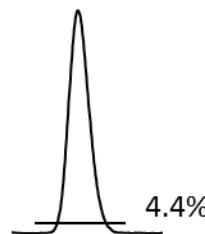


Mobile phase: Acetonitrile/**20mM phosphate buffer pH7.0**=(60:40)

Column dimension: 150 x 4.6 mm, Flow rate: 1.0 mL/min, Temp.: 40°C



理論段数はピークの高さの4.4%のピーク幅を用いる5シグマ法を用いました。

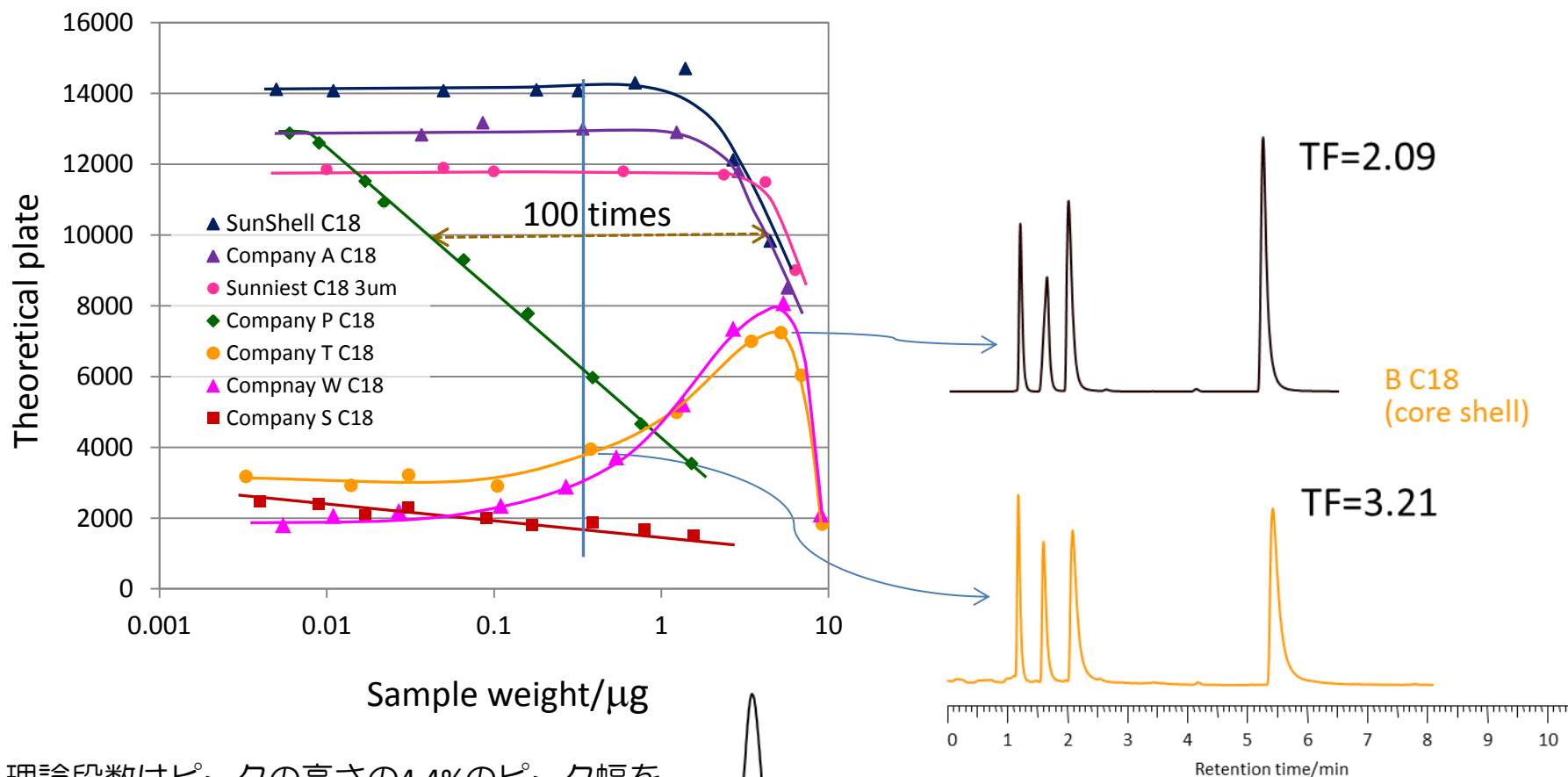


Sample: 1=Uracil, 2=Propranolol, 3= Nortriptyline, 4=Amitriptyline

アミトリプチリンの負荷量比較 I

Mobile phase: Acetonitrile/**20mM phosphate buffer pH7.0**=(60:40)

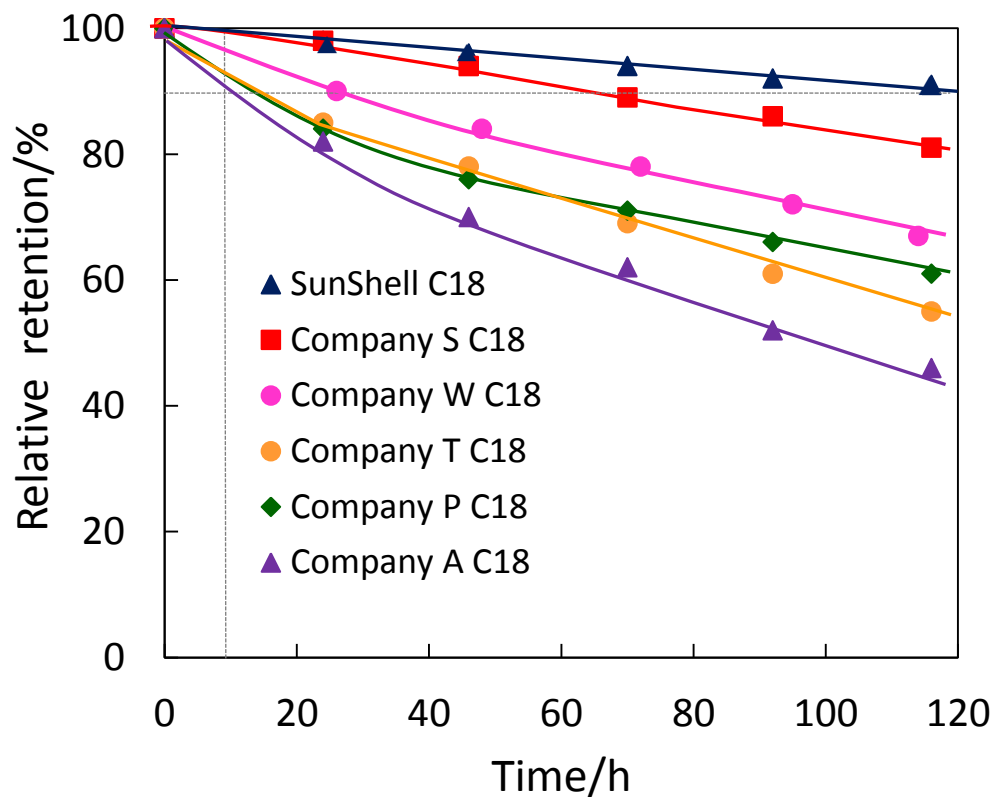
Column dimension: 150 x 4.6 mm, Flow rate: 1.0 mL/min, Temp.: 40°C



理論段数はピークの高さの4.4%のピーク幅を用いる5シグマ法を用いました。

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

酸性条件での耐久性 (加速試験)



Durable test condition

Column size: 50 x 2.1 mm

Mobile phase: CH₃CN/1.0% TFA,
pH1=10/90

Flow rate: 0.4 mL/min

Temperature: 80 °C

Measurement condition

Column size: 50 x 2.1 mm

Mobile phase: CH₃CN/H₂O=60/40

Flow rate: 0.4 mL/min

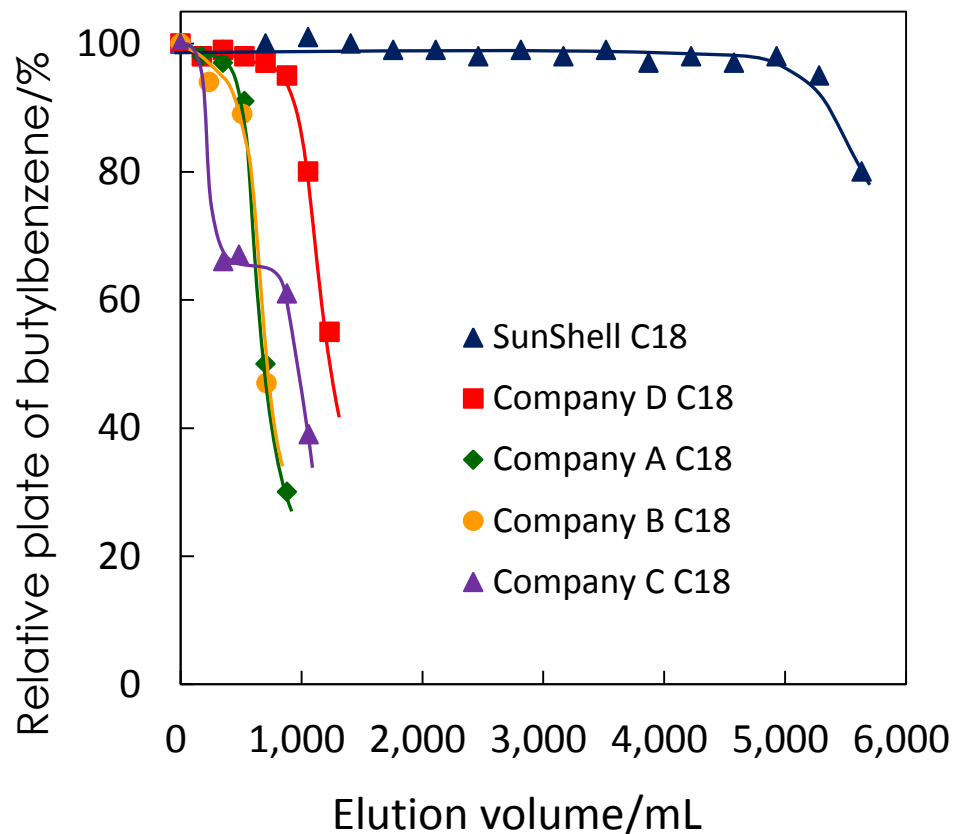
Temperature: 40 °C

Sample: 1 = Uracil

2 = Butylbenzene

加速試験としてpH1で80°Cの条件を用いました。疎水性試料のブチルベンゼンの保持が90%に減少することは、酸によりアルキル基が10%脱離することを意味しています。この10%のアルキル基の脱離でカラム劣化を判断しますとSunShell C18は他社のC18に比べ、2倍から10倍の耐久性を示しました。

アルカリ性条件での耐久性



Durable test condition

Column size: 50 x 2.1 mm

Mobile phase:

CH₃OH/20mM Sodium borate/10mM NaOH=30/21/49 (pH10)

Flow rate: 0.4 mL/min

Temperature: 50 °C

Measurement condition

Column size: 50 x 2.1 mm

Mobile phase: CH₃OH/H₂O=70/30

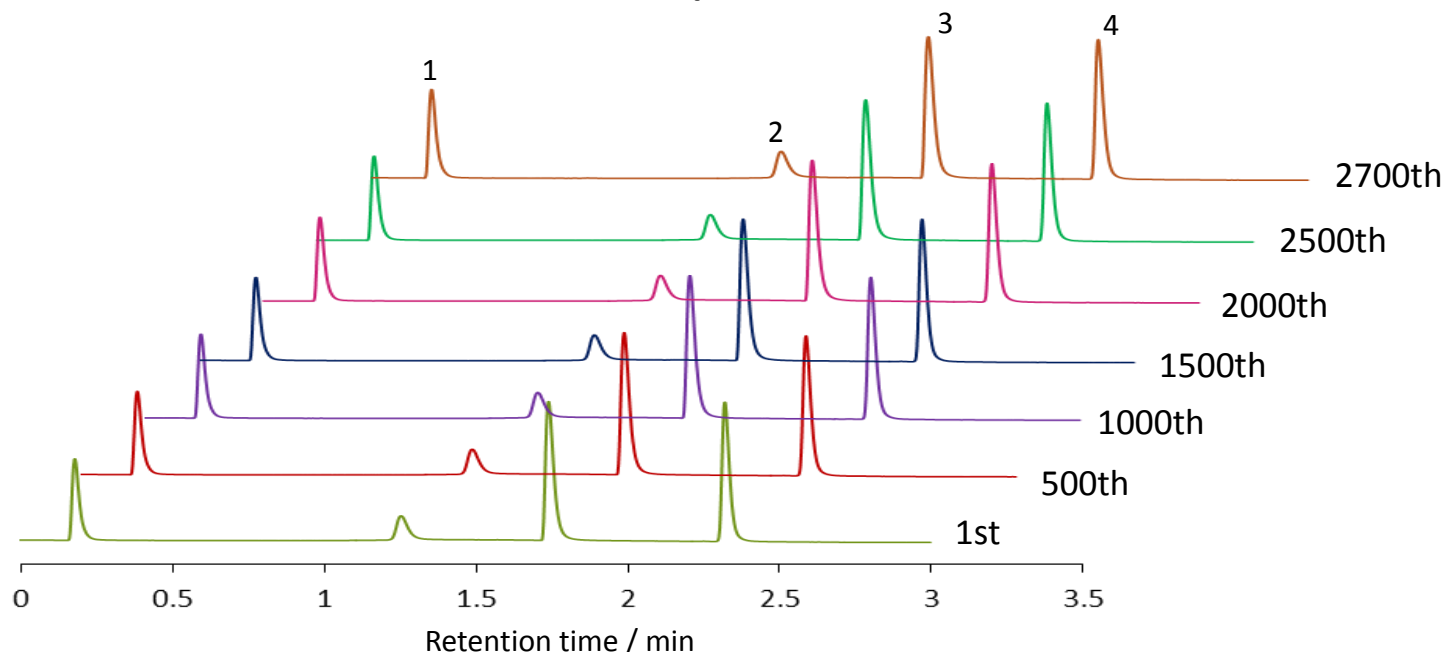
Flow rate: 0.4 mL/min

Temperature: 40 °C

Sample: 1 = Butylbenzene

有機溶媒の濃度が30%と比較的低く、pH 10で50°Cのアルカリ性条件での耐久性を比較しました。アルカリ性条件下ではシリカが溶け出すため、カラムの入口側がへこみ、段数が低下します。SunShell C18は他社C18の5倍から10倍の耐久性を示しました。

SunShell C18カラムを用いた アルカリ性条件(pH 9.5)での連続分析



Column: SunShell C18, 2.6 μ m 50 x 2.1 mm

Mobile phase: A) 10 mM Ammonium bicarbonate pH 9.5

B) Acetonitrile

Gradient program:

Time (min)	0	1	3	3.1	5
% B	30	90	90	30	30

Flow rate: 0.5 mL/min

Temperature: 40 °C

Detection: UV@250nm

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

pH 9.5 のアルカリ性条件下でも
2500回以上の分析が可能です。

耐久性のまとめ

	酸性条件 pH 1	アルカリ性 pH 10	カタログに記載のpH 範囲
SunShell C18	◎	◎	1.5 - 10
Company W C18	△	not tested	2 - 8
Company S C18	○	○	2 - 9
Company A C18	△	△	2 - 9
Company T C18	△	△	1 - 11
Company P C18	△	△	1.5 - 10

まとめ

- 1) 同じコアシェルC18でも、保持係数(k)は大きく異なり、最大2倍の差が確認された。
- 2) 用いられたカラムは粒子径 $2.6\text{ }\mu\text{m}$ または $2.7\text{ }\mu\text{m}$ であったが、カラム圧は大きく異なり、最大で1.65倍の差があった。これはカラムに充填されている充填剤の粒子径測定の結果、実際に粒子径が大きく異なる事が原因であった。
- 3) 塩基性・酸性・金属配位性化合物のピーク形状に差が認められた。
- 4) カラムの耐久性は、塩基性化合物のピーク形状の良い、エンドキャッピングの優れたカラムが優れていた。
- 5) SunShell C18カラムは保持が大きく、ピーク形状が優れており、更に耐久性が高いことが示された。