SHIMADZU
Excellence in Science

Application News

超高速分取トラップ精製システム　Nexera™ UFPLC

Nexera UFPLCによる イブプロフェンと類縁物質の分取精製

増田 佑亮、日光 政隆

ユーザーベネフィット

- ◆ 分取から濃縮、精製、回収までの工程をオンライン自動化し、省力化を図ることができます。
- ◆ 移動相中に含まれる塩を除去した状態で目的成分を回収できます。
- ◆ 有機溶媒比率の高い画分を回収することができるため、粉末化に要する時間を短縮できます。

■はじめに

LCによる分取精製は、医薬品の合成や天然物中の有効成分の探索、微量の未知化合物の構造解析など、医薬・食品・化学といった分野で広く用いられる手法です。超高速分取トラップ精製システムNexera UFPLC*1は分取に加え濃縮、精製、回収など分取に関わる工程をオンライン自動化することにより、分取精製の大幅な省力化を可能としました。本稿ではNexera UFPLC（図1）を用いて、医薬品イブプロフェンとその類縁物質の混合試料を分取精製した例を紹介します。

*1 UFPLC：Ultra Fast Preparative and Purification Liquid Chromatograph

図 1　超高速分取トラップ精製システム Nexera™ UFPLC

■UFPLCによる分取精製の流れ

UFPLCは分取LCにトラップカラムを組み合わせ、分取に関わる様々な工程を自動で実施するシステムです。以下に各工程の詳細を示します。

1. 分取LCにより混合試料中の成分を分離し目的成分をトラップカラムに導入（分取・濃縮）
2. トラップカラムのオンライン洗浄により不純物や対イオンを除去（精製）
3. 有機溶媒によりトラップカラムから目的成分を溶出（溶出）

各工程の概略を図2に、UFPLCの簡易的な流路図を図3に示します。

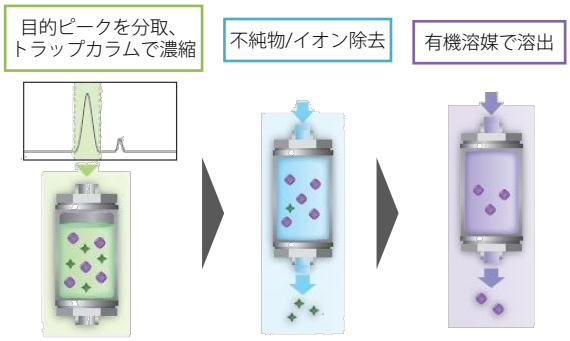

図 2　UFPLCによる分取・濃縮・精製・溶出の流れ

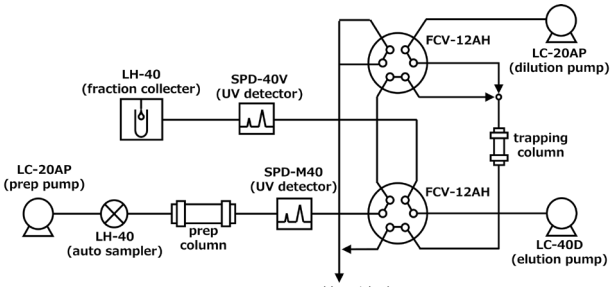

図 3　UFPLCの簡易流路図
（トラップカラムへ目的成分を導入している時の流路を表示）

■UFPLC専用ソフトウェア Purification Solution™

UFPLCを用いた分取精製では、専用のソフトウェアPurification Solutionを使用します。 Purification Solutionは、分取条件の設定から目的化合物の液体回収までの全工程をシンプルな画面で表示し、条件設定を簡単にします。Purification Solutionの操作画面を図4に示します。分取時のクロマトグラムや画分が導入されたトラップカラム、精製後の溶出クロマトグラムを一画面上に表示し、目的成分の回収挙動を一目で確認することができます。

図 4　Purification Solution™の操作画面

■イブプロフェンと類縁物質の分取精製

イブプロフェンは非ステロイド系抗炎症剤（NSAIDs）の一種で解熱や鎮痛剤として使用されている医薬品です。USPにはイブプロフェンと類縁物質である4-イソブチルアセトフェノン、また内部標準物質としてバレロフェノンを添加した試料の分析法が収載されています。Nexera UFPLCにより、これら3成分の混合溶液からそれぞれの成分を高純度で分取精製しました。

各成分の構造式を図5に、分取精製条件を表1に示します。混合溶液は対象とした3成分を移動相で溶解し、各成分が10 mg/mLになるように調整しました。

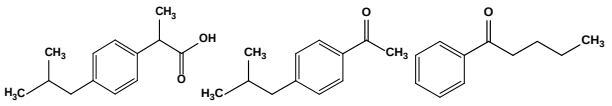

図 5　イブプロフェンと類縁物質の構造式

表 1　分取精製条件

System	：Nexera UFPLC
Preparative LC conditions	
Column	：Shim-pack™ Scepter C18-120*1 （150 mm × 20 mm I.D., 5 µm）
Mobile phase	：A) 1%（wt/v）Chloroacetic acid in water（pH 3*2） B) Acetonitrile A/B = 40 : 60（v/v）
Flow rate	：20 mL/min
Column temp.	：Ambient
Injection vol.	：200 µL（Fig. 6） 2000 µL（Fig. 9）
Detection	：230 nm（SPD-M40, High pressure preparative flow cell）
Rinsing conditions	
Column	：Shim-pack UFPLC 20x30*3 （30 mm × 20 mm I.D., 20-30 µm）
Rinse solvent	：A) Acetonitrile/water = 2 : 98（v/v） B) 0.2% Formic acid in water C) Water
Time program	：A 40 mL/min（0.01-3 min）→ B 15 mL/min（3.01-11 min）→ C 40 mL/min（11.01-15.9 min）
Elution conditions	
Eluent	：Acetonitrile
Flow rate	：9 mL/min
Detection	：230 nm（SPD-40V, Preparative flow cell）

*1 P/N：227-31102-03、*2 アンモニア水を用いてpHを調整
*3 P/N：228-80220-41

■イブプロフェンと類縁物質の純度確認

混合溶液を200 µL注入した際の分取クロマトグラムを図6に示します。Nexera UFPLCにより回収したイブプロフェン、バレロフェノン、4-イソブチルアセトフェノンの画分を"Nexera XR"により分析し、純度確認を行いました。表2に分析条件を、図7にクロマトグラムを示します。また表3にそれぞれの画分に含まれる目的成分の純度を面積百分率（ピーク検出範囲 2.5 – 15 min）で示します。

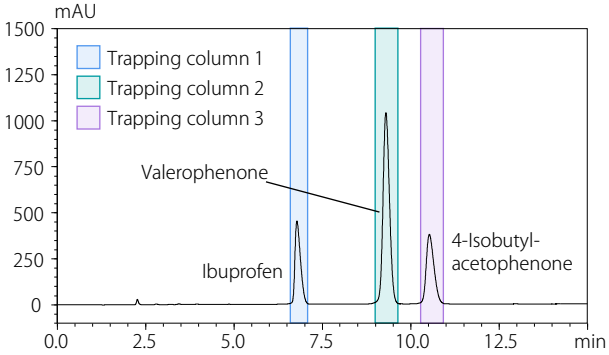

図 6　イブプロフェンと類縁物質の分取クロマトグラム
（Nexera UFPLC）

表 2　純度確認の分析条件

System	：Nexera XR*1
Column	：Shim-pack Scepter C18-120*2 （150 mm × 4.6 mm I.D., 5 µm）
Mobile phase	：A) 1%（wt/v）Chloroacetic acid in water（pH 3*3） B) Acetonitrile A/B = 40 : 60（v/v）
Flow rate	：0.8 mL/min
Column temp.	：30 ℃
Injection vol.	：10 µL
Detection	：230 nm（SPD-40V, Standard flow cell）

*1 オートサンプラー SIL-40C XRの出口配管に 0.3 mm I.D., × 600 mmの配管を使用
*2 P/N：227-31020-05、*3 アンモニア水を用いてpHを調整

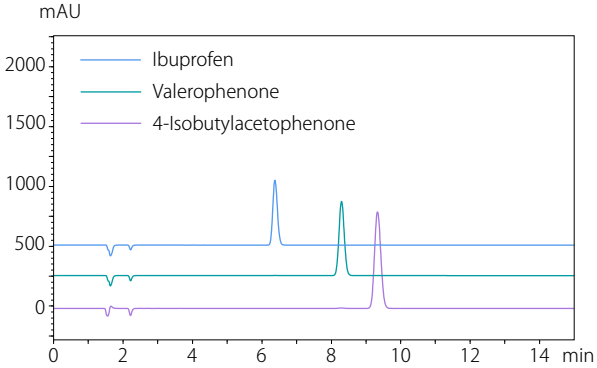

図 7　Nexera UFPLCにより得られた各画分のクロマトグラム
（Nexera XR）

表 3　画分に含まれる目的成分の純度
（面積百分率、ピーク検出範囲 2.5 – 15 min）

Compound	Area %
Ibuprofen	99.5
Valerophenone	99.8
4-Isobutylacetophenone	99.6

■イブプロフェンの濃縮・粉末化

混合物を分取LCにより分離回収した際、画分を次工程で使用するため溶媒を乾燥させることがあります。しかし、逆相モードで得られた画分には水が含まれるため、乾燥に多大な時間を要します。また移動相に不揮発性成分を含む場合、乾燥時にこれらが目的化合物と共に析出し、回収した目的化合物の純度を低下させることがあります。UFPLCによる分取精製では、目的成分を含む画分をトラップカラムに導入・捕集した後に、トラップカラム上で精製を行います。加えて、目的成分は有機溶媒で溶出・回収されるため、得られた画分の乾燥時間が大幅に短縮されます。

また、UFPLCは試料を繰り返し注入し、目的成分を含む画分を同一のトラップカラムに導入することで、トラップカラム内で目的成分を濃縮することができます。本稿で使用したトラップカラムShim-pack UFPLC 20x30は、最大負荷量の目安が100 mgで、分析試料に含まれる目的成分の濃度が低い場合でもトラップカラムへ繰り返し導入することで、濃縮・精製・回収作業を効率的に実施することが可能です。

ここでは、表1に示した条件で混合溶液2000 µLを注入して、イブプロフェンの画分をShim-pack UFPLC 20x30に5回繰り返し導入し、トラップカラム内で試料の濃縮・精製を行った後に、有機溶媒で目的成分を溶出しました（トラップカラムへの試料負荷量：100 mg）。本分取精製の流れを図8に、混合溶液の分取クロマトグラムを図9に示します。

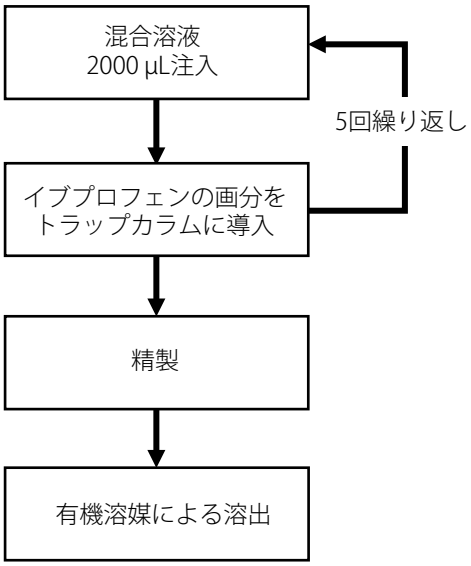

図 8　Nexera UFPLCによるイブプロフェン高濃度画分の回収の流れ

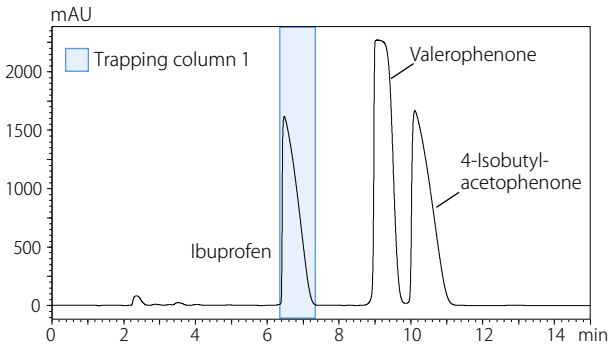

図 9　試料注入量2000 µLでのイブプロフェンの分取クロマトグラム
（Nexera UFPLC）

乾燥時間の短縮を確認するため、標準的な分取LCとNexera UFPLCとから回収したイブプロフェンの画分を、遠心濃縮機にて乾燥するのに要した時間を比較しました。比較結果を表4に示します。標準的な分取LCの画分は乾燥に約260分を要したのに対し、Nexera UFPLCの高濃度画分は約120分で乾燥が完了しました。またそれぞれの乾燥物を確認すると、分取LCの画分からは移動相由来の成分が析出し、そのままでは次工程で使用できない状態でした。一方、Nexera UFPLCの画分はトラップカラム上で精製を行っているため、乾燥後にイブプロフェン単体の粉末を確認することができました（図10）。

表 4　分取LCとNexera UFPLCの画分の比較

Method	Sample loading amount (mg)	Drying time (min)
Standard Preparative LC	20	260
Nexera UFPLC	100*1	120

*1 トラップカラムに繰り返し5回注入

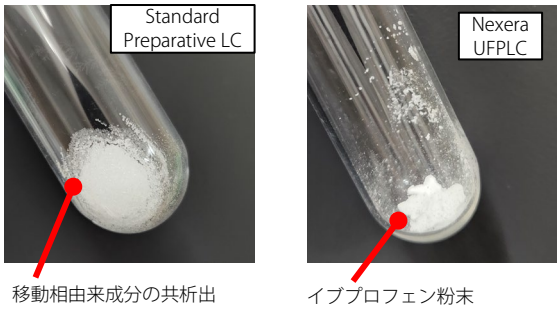

図 10　イブプロフェン画分の乾燥後の状態

■まとめ

本稿では、 UFPLCを用いて、医薬品イブプロフェンとその類縁物質の混合試料を分取精製した事例をご紹介しました。UFPLCで分取から濃縮、精製、回収を行うことで、イブプロフェンの高濃度画分を標準的な分取LCの約半分の時間で粉末化することができました。

濃縮、精製工程をオンラインで自動化することで、精製作業の省力化・作業時間の削減を図ることができます。

また、Nexera UFPLCでは、一般的な分取とトラップ精製分取のどちらも行うことができるため、目的に応じて使い分けることも可能です。

NexeraおよびShim-pack、Purification Solutionは、株式会社島津製作所またはその関係会社の日本およびその他の国における商標です。

株式会社 島津製作所　分析計測事業部
https://www.an.shimadzu.co.jp/

初版発行：2023年 2月
01-00464A-JP　A改訂版発行：2023年 7月

島津コールセンター　0120-131691

本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。
本文中に記載されている会社名、製品名、サービスマークおよびロゴは、各社の商標および登録商標です。
本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

© Shimadzu Corporation, 2023

アンケート

関連製品 一部の製品は新しいモデルにアップデートされている場合があります。

Nexera Prep
分取精製液体クロマトグラフ

関連分野

- 価格お問い合わせ
- 製品お問い合わせ
- 技術お問い合わせ
- その他お問い合わせ