

## LabSolutions MDを用いた キラル分離条件探索の効率化

増田 佑亮

### ユーザーベネフィット

- ◆ 超臨界流体クロマトグラフィーを用いることで、キラル化合物を短時間で分離できます。
- ◆ LabSolutions MDにより、新規化合物の分析条件を効率的に構築することができます。
- ◆ 酸性・塩基性化合物の分析ではモディファイアーに適切な添加剤を添加することでピーク形状を改善できます。

### ■はじめに

キラル化合物は分子内に不斉炭素を有し、互いに鏡像の関係にあり重ね合わせることができない化合物です。クロマトグラフィーによるこれらキラル化合物分離ではHPLCが主流でしたが、近年は超臨界流体クロマトグラフィー (Supercritical Fluid Chromatography: SFC) の適用が注目されています。SFCに用いる移動相は低極性・低粘性・高拡散の超臨界二酸化炭素が主であり、これに極性有機溶媒 (モディファイアー) を添加して分析種と固定相との相互作用を制御します。このことから、キラル化合物を分離する際は、HPLCの順相条件が一般的に使用されていますが、SFCを適用することにより高速化が期待できると共に、有機溶媒の使用量が抑えられるため低コスト、低環境負荷分析が可能です。

こうした背景から、製薬分野における創薬合成ではSFCを用いた迅速な光学分割法が研究されています。しかし、多種多様なキラルカラムから分析種に適した分析カラムと移動相 (モディファイアー) の組み合わせを見出すには多大な労力と時間を要することから、キラル分離条件スカウティングの迅速化が求められています。

本稿では、Nexera UCキラルスクリーニングシステムおよび分析法開発支援ソフトウェア LabSolutions MDを活用したキラル化合物の分離条件開発ワークフローを紹介します。

### ■ Nexera UC キラルスクリーニングシステム

Nexera UC キラルスクリーニングシステムは、SFCシステムと溶媒切換バルブやカラム切換バルブで構成されており、最大12本のカラムに対して自動かつ連続的にモディファイアーを変更し、網羅的にデータ採取することができます。また、最大7種類のモディファイアーを切替様々な分離条件で分析できることからキラル化合物の高分離条件の迅速化と省力化を図ることができます。



図1 Nexera™ UC キラルスクリーニングシステム

### ■ 分析対象試料

本稿では、クロルメザノン (中性化合物)、フルルビプロフェン (酸性化合物)、ジソピラミド (塩基性化合物) の3種類をターゲットに、それぞれ分析条件を最適化しました (図2)。いずれの化合物もに不斉炭素元素を1つ有しており、2種類の異性体が存在します。

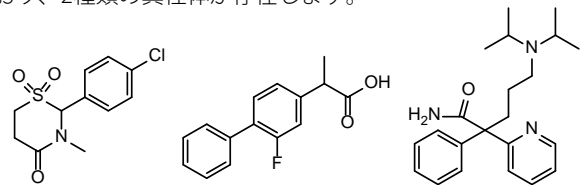


図2 各化合物の構造式  
(左からクロルメザノン、フルルビプロフェン、ジソピラミド)

### ■ カラムスクリーニングのスケジュール作成

LabSolutions MDを用いることで、簡便な操作で複数の分析条件を一括で自動作成することができ、効率よくスクリーニングを行うことができます。モディファイアーとカラムの設定は、あらかじめソフトウェア上のデータベース登録したものを選択するだけで、検討に用いることができます (図3)。手で条件を変更して検討する場合は、モディファイアーやカラムの交換、分析メソッドや分析バッチの作成など多く作業を必要としますが、LabSolutions MDを用いることで簡単な操作設定で全て自動化が可能です。

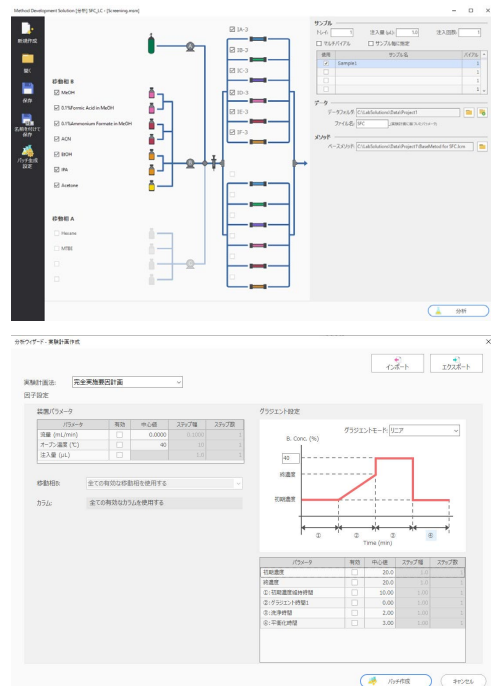


図3 分析スケジュール作成画面

ここでは、各化合物に対してカラム6種類とモディファイアー7種類の合計42種類の条件について、スクリーニングを実施しました。スクリーニング条件を表1に示します。

クロルメザノンを試料に用いた際のスクリーニング結果を図4に示します。

表1 モディファイアーとカラムのスクリーニング条件

System	: Nexera UC キラルスクリーニングシステム
Column	: CHIRALPAK® IA-3 (100 mm x 3.0 mmI.D., 3 μm) CHIRALPAK® IB-3 (100 mm x 3.0 mmI.D., 3 μm) CHIRALPAK® IC-3 (100 mm x 3.0 mmI.D., 3 μm) CHIRALPAK® ID-3 (100 mm x 3.0 mmI.D., 3 μm) CHIRALPAK® IE-3 (100 mm x 3.0 mmI.D., 3 μm) CHIRALPAK® IF-3 (100 mm x 3.0 mmI.D., 3 μm)
Mobile Phase A	: CO <sub>2</sub>
Mobile Phase B	: Methanol Acetonitrile Ethanol 2-Propanol Acetone 0.1% Formic acid in methanol 0.1% Ammonium formate in methanol
Flow Rate	: 3.0 mL/min
Time Program	: B.Conc. 20% (0-8 min) → 40% (8.01-10.0 min) → 20% (10.01-12.0 min)
Column Temp.	: 40 °C
Injection Volume	: 2 μL in ethanol
BPR Pressure	: 10 MPa
Detection	: 220 nm (for chlormezanone) 245 nm (for flurbiprofen) 260 nm (for disopyramide) (PDA with a high pressure flow cell)

## ■ スクリーニング結果から最適条件を迅速に探索

カラムスクリーニングの段階では図4に示すように検討した条件の数だけクロマトグラムが得られるため、どの条件で目的の分離が得られているかを評価する必要があります。しかし、これはクロマトグラフィーに対する知見と、多大な労力を要する作業です。LabSolutions MDは、各条件におけるターゲットピーク間の分離度に基づき順位付けができるため、分析者の勤や経験に依存せず、誰でも素早く簡単に最適条件を探索できます (図5)。

分離対象が複数の不斉炭素を有する場合など多数のピーク検出が想定されるケースでは、ターゲットピーク間の分離度だけでなく、ピーク検出数、あるいはピーク検出数 (P) と分離度 (Rs) の総和から計算される評価値 (式1) に基づく順位付けも可能です。

$$(\text{評価値}) = P \times (Rs_1 + Rs_2 + \dots + Rs_{P-1}) \dots (\text{式1})$$

評価値の最も高いクロマトグラムを図4中に赤枠で示します。その結果、クロルメザノンのキラル分離においては、モディファイアーにメタノール、カラムにCHIRALPAK®IC-3を用いた場合に最も良好な分離を示すことがわかりました。

サンプル名	移動相B 略称	カラム 略称	最小分離	応答
Chlormezanone	MeOH	IA-3	11.049	
Chlormezanone	0.1%Ammo...	IF-3	10.872	
Chlormezanone	0.1%Ammo...	IA-3	10.727	
Chlormezanone	EtOH	IF-3	10.629	
Chlormezanone	0.1%Formi...	IA-3	10.628	
Chlormezanone	EtOH	IA-3	10.445	
Chlormezanone	MeOH	ID-3	10.193	
Chlormezanone	0.1%Ammo...	ID-3	10.005	
Chlormezanone	0.1%Formi...	ID-3	9.928	
Chlormezanone	MeOH	IF-3	8.102	

図5 各条件の評価値による順位付け (評価値が高い順に上位10条件を表示)

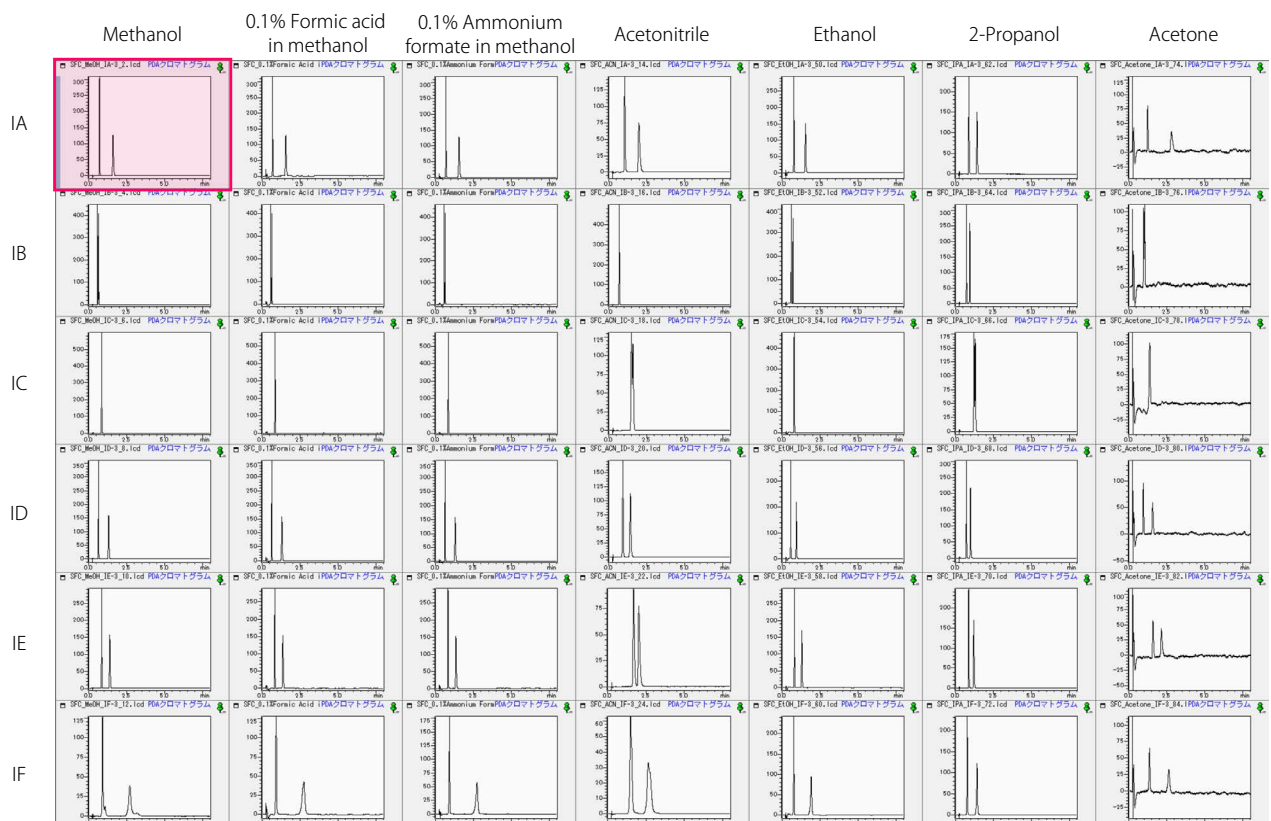


図4 スクリーニングにより得られたクロルメザノンのクロマトグラム (赤枠: 評価値最も高いクロマトグラム)

## ■ 添加剤による分離調整、ピーク形状の改善

HPLCによる分析では、分離選択性を変えることやピーク形状の改善を目的として、緩衝液やイオンペア試薬などを移動相に添加して分離を行うことがありますが、SFCにおいても同様の目的で添加剤を使用します。SFCに用いる添加剤は、超臨界二酸化炭素ではなくモディファイアーに添加して用います。ギ酸などの酸や、アミン類などの塩基の添加により、対象成分のイオン化の抑制または固定相の副次的な官能基のマスクングにより、ピーク形状の改善効果が得られます。

## ■ フルルビプロフェンおよびジソピラミドの最適条件

酸性化合物であるフルルビプロフェンおよび塩基性化合物であるジソピラミドについても中性化合物のクオルメザノンと同様に最適な分析条件を探索しました。

各化合物における代表的なクロマトグラムを図6に示します。

酸性化合物であるフルルビプロフェンでは酸性添加剤をモディファイアーに加えない条件でも良好なピーク形状を示しました。LCと異なりSFCでは移動相として二酸化炭素を用いるため、移動相がわずかに酸性を示しており、多くの酸性化合物の分析において添加剤を加えずとも良好なピーク形状を示します。ただし、化合物によってはギ酸やトリフルオロ酢酸等の添加剤により、ピーク形状が改善する例もあります。

一方で、塩基性化合物であるジソピラミドでは、塩基性添加剤をモディファイアーに加えることにより、対象成分のイオン化の抑制または副次的な固定相の官能基へのマスクングにより非特異的な吸着が抑制され、分離およびピーク形状の改善が確認されました。

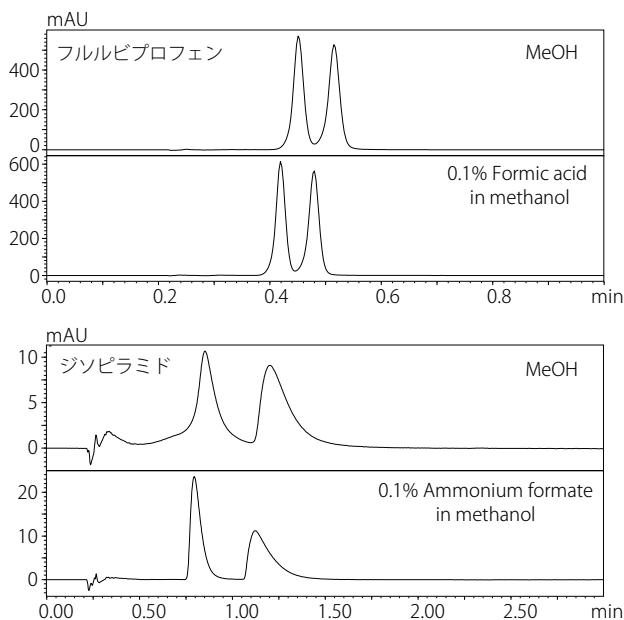


図6 フルルビプロフェン（上）およびジソピラミド（下）の代表的なクロマトグラム

## ■ まとめ

本稿では、Nexera UCキラルスクリーニングシステムおよび分析法開発支援ソフトウェア LabSolutions MDを用いたキラル化合物の分離条件探索ワークフローを紹介しました。LabSolutions MDを用いることで、分析条件検討の省力化、効率化を図ることができます。

SFCでは二酸化炭素に由来し移動相がわずかに酸性を示しており、多くの酸性化合物の分析において添加剤を加えずとも良好なピーク形状を示します。また、塩基性化合物の分析においてもモディファイアーに適切な添加剤を添加することで良好な分離が得られることを示しました。Nexera UC キラルスクリーニングシステムでは最大7種類のモディファイアーを切換えながら分析できるため、有機溶媒の種類だけでなく添加剤の検討も効率よく実施できます。

さらにSFCで用いる二酸化炭素は、HPLCで使用する多くの有機溶媒に比べて安価な上、廃液処理コスト等もかからないことから、分析にかかるランニングコストの削減効果も期待できます。また、SFCによる分析は分取精製処理にも応用が可能です。SFCは分析から分取精製にかけて幅広い適応性を有しており、キラル精製業務の効率化に大きく貢献できます。

Nexera、LabSolutions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。CHIRALPAKは、株式会社ダイセルの登録商標です。

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

01-00621-JP 初版発行：2024年 2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および製品名は、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。

## ＞ 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 UC

超臨界流体抽出／超臨界流体クロマトグラフシステム



### ＞ 分析法開発支援システム

分析法開発支援ソフトウェア

## 関連分野

＞ 医薬・バイオ医薬品

＞ 低分子医薬品

＞ 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