

## Nexera ASAPrepによる 分取精製業務の効率化支援

松田 倫太郎、増田 佑亮、寺田 英敏

### ユーザーベネフィット

- ◆ 独自のスケールアップアルゴリズムに基づく最適分取条件の自動生成機能により、分取精製作業を効率化します。
- ◆ 直感的なUI設計とシステムの自動コンディショニングにより、作業者の経験によらず簡単に分取精製を実行可能です。
- ◆ サンプルの分取難易度を自動判定する機能により、作業者の経験に合わせた分取精製作業の割り振りを支援します。

### ■はじめに

化合物の合成時には、通常、主成分だけでなく不純物も生成されるため、後工程の精度向上の観点から精製作業が必要となります。精製作業には、分取精製液体クロマトグラフ（分取LC）も多用されますが、この作業にはノウハウや多大な工数が必要とされるため、効率化が求められています。

逆相精製自動スケールアップシステムNexera ASAPrep (Automated Scale-up from Analytical to Preparative) は、サンプルの分取難易度の自動判定機能や最適分取条件の自動生成機能を搭載しています。更に、直感的なUI設計と移動相切り替え時のシステムの自動コンディショニングにより、作業者の経験によらず誰でも容易に分取精製を実施できます。これらの特徴を通じて、本システムは分取難易度に応じた分取精製作業の振り分けを支援できるため、分取精製業務を効率化します。

本稿では、主成分と複数種類の副成分を含む3種類の混合試料をモデルサンプルとし、Nexera ASAPrepによる分取精製作業のワークフローを用いた実施例をご紹介します。

### ■ HPLCを用いた分取精製作業のワークフロー

HPLCを用いた分取精製では、理想的には規定条件による分析を通じて分離状態の評価を行った後、フォーカス条件を用いた分析スケールでの分離最適化、最大負荷量の検討を経た上で、分取スケールでの再現確認や負荷量の調整を行います（図1緑矢印）。しかし、特に分離最適化を検討する過程において、分取LCのノウハウや多大な工数が必要とされます。そのため、精製作業を必要とする全ての合成物に上記のワークフローを適用させた場合には、ノウハウを有する分取LCの熟練者の業務の逼迫が懸念されます。

HPLCを用いた分取精製では、スループットの向上を目的として、規定条件での分析後、得られた目的成分の保持時間から分取条件を設定し、分取精製を実施するフローを取る場合もあります（図1赤矢印）。このフローでは、特に分離最適化の検討過程をショートカットするためにスループットの向上が見込める一方で、分取時に目的成分と不純物が共溶出してしまうリスクを避けられません。また、フローの選択をする際には、リスク低減のために分取LCの熟練者の判断が必要となるため、精製作業の属人性の解消は困難です。

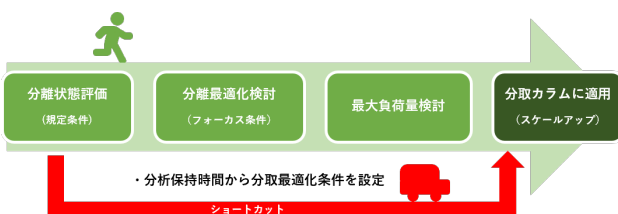


図1 LCを用いた分取精製の理想的なワークフロー（緑矢印）と精製フローショートカット時のワークフロー（赤矢印）

### ■ HPLCを用いた分取精製業務の効率化

Nexera ASAPrepにおける分析分取自動スケールアップ機能の概略図を図2に示します。本システムでは、酸・塩基2種類の規定分析条件（分析時間：2分）を用いたサンプルの分析（スクリーニング分析）の結果を元に、当該サンプルの分取難易度が自動的に判定されます。具体的には、スクリーニング分析で目的成分の十分なピーク分離が達成できている場合（緑判定）、スクリーニング分析で目的成分の十分なピーク分離が達成できていないなど、分取時に不純物の混入が懸念される場合（黄判定）、スクリーニング分析で目的成分が検出できていない場合（赤判定）の3段階です。3段階の判定の内、緑、黄判定の場合には、スクリーニング分析で得られた目的成分の保持時間から、目的成分由来のピーク付近の分離を最適化する分取条件が自動で生成されます。これらの機能を通じて、作業者はシステムに搭載されている規定条件を用いたスクリーニング分析を行うだけで、当該サンプルの分取難易度の判定結果と、自動生成された分取条件が得られます。そのため、緑判定のサンプル（難易度：低）においては、作業者が分取LCの熟練者による判断を必要とせず、分析スケールでの条件検討過程をショートカットして精製作業を行い、黄判定のサンプル（難易度：中）においては、自動生成された分取条件を基に、分取LCの熟練者が分離最適化を含む理想的な精製フローで精製作業を行う、といった業務の効率化を簡単に実施できます。

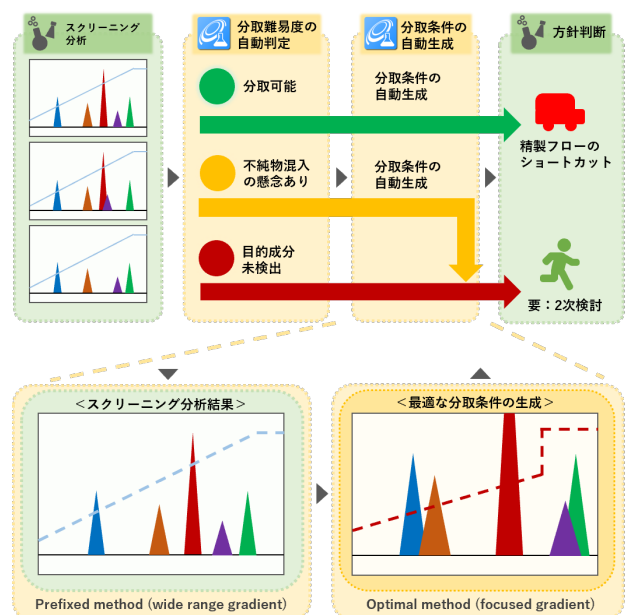


図2 Nexera ASAPrepの分析分取自動スケールアップ機能

## ■ 分析条件および対象成分

スクリーニング分析の条件と対象成分をそれぞれ表1、表2に示します。本稿では、主成分と複数種類の副成分を含む混合試料に対して、酸性条件・塩基性条件の2種類の規定分析条件を用いたスクリーニング分析をそれぞれ実施しました。

表1 スクリーニング分析条件

System	: Nexera ASAPrep_analytical system
Column	: Shim-pack Scepter™ C18-120 (50 mm×3.0 mm I.D., 3 μm <sup>1</sup> )
Sample Concentration:	Main: 10 mg/L
Mobile Phase (acidic condition)	: Pump A: 0.05 % formic acid in water : Pump B: 0.05 % formic acid in acetonitrile
Mobile Phase (basic condition)	: Pump A: 10 mmol/L ammonium hydrogen carbonate in water / acetonitrile = 90/10 : Pump B: 10 mmol/L ammonium hydrogen carbonate in water / acetonitrile = 10/90
Injection volume	: 2 μL
<b>LC Conditions</b>	
Time program	: B.Conc 5 % (0 min)→5-90 % (0-1 min)→90 % (1-2 min)
Column Temp.	: 40 °C
Flow rate	: 1.5 mL/min
Detection (PDA)	: 190 - 800 nm (SPD-M40, semi-micro cell <sup>2</sup> )
<b>MS Conditions</b>	
Ionization	: ESI/APCI (DUIS™), positive and negative
Mode	: SCAN (m/z 150-1000)
Nebulizing Gas Flow	: 2.0 L/min (N <sub>2</sub> )
Drying Gas Flow	: 5.0 L/min (N <sub>2</sub> )
Heating Gas Flow	: 7.0 L/min (N <sub>2</sub> )
DL Temp.	: 200 °C
Desolvation Temp.	: 450 °C
Interface Voltage	: 3.0/-2.0 kV (positive/negative)
	*1 P/N : 227-31015-01
	*2 P/N : 228-64725-41

表2 各混合試料中の主成分

	Mixture A	Mixture B	Mixture C
Main	Vanillin	Indomethacin	Bifonazole

## ■ スクリーニング分析

スクリーニング分析では、移動相と3種類の混合試料をスクリーニング分析用のシステムにセットした後、図3に示す手順に従って、「サンプルを設置した位置」、「サンプル名」、「注入量」、「ターゲットマス」の4項目の設定を行い、チェックマークのアイコンをクリックしました。以上の4項目の設定とアイコンのクリックを行うだけで、酸塩基2条件での各サンプルの連続分析だけでなく、条件の切替回数が最小となるよう分析順序を自動で調整したうえで、条件切替時には移動相置換とカラム平衡化が自動で実施されるため、作業者は簡単にスクリーニング分析を実行できます。

分析の結果得られたLCクロマトグラムと、分取難易度の判定結果をそれぞれ図4、図5に示します。各サンプルについて、分析時間2分の分析を酸塩基2種類の条件で行うことで、分取難易度の判定結果と分取時の初期B.Concが得られました。分取難易度の判定では、先述の緑、黄、赤の判定だけでなく、優先すべき条件（酸性または塩基性条件）や、ピーク分離についても併せて表示されます。そのため、難易度の判定結果が黄、赤のみで詳細な検討を必要とする場合であっても、判定理由を基にスムーズに検討を進めることができます。判定結果や分取時の初期B.Concは、自動でExcelファイルとして出力されます。

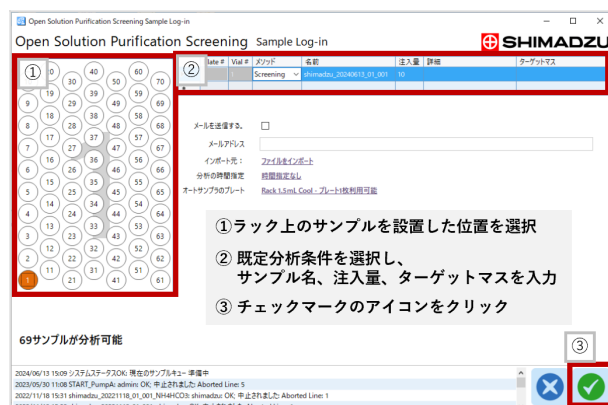


図3 スクリーニング分析の設定手順

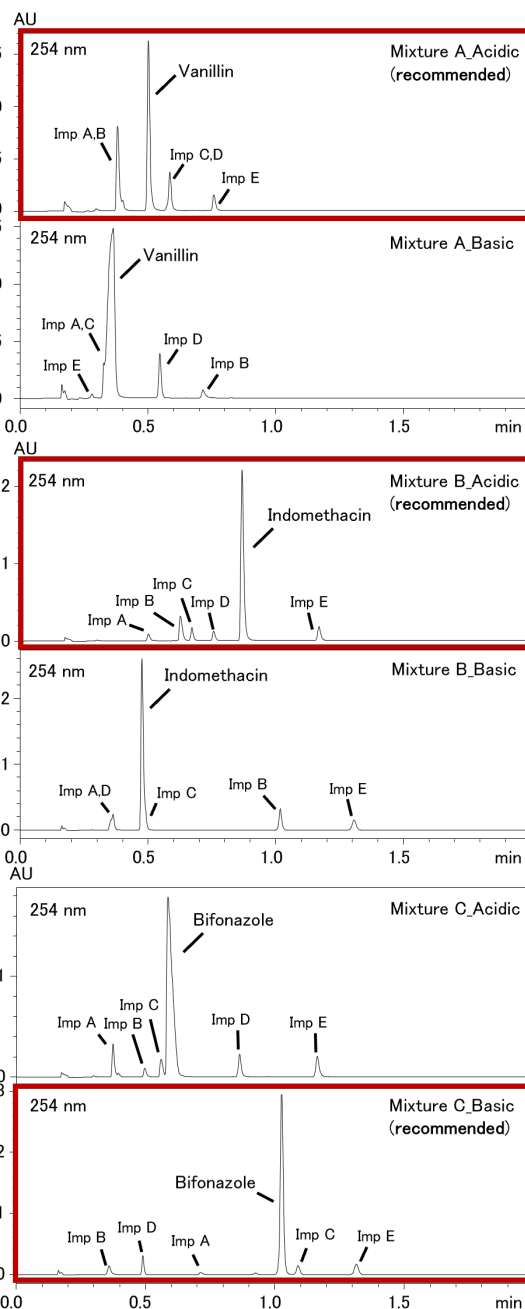


図4 スクリーニング分析で得られた各混合試料のLCクロマトグラム (上) Mixture A、(中) Mixture B、(下) Mixture C

サンプル名	コメント	Mass Found	質量	判定	NH4HCO <sub>2</sub> 保持時間	NH4HCO <sub>3</sub> B.Conc	NH4HCO <sub>3</sub> スクリーニング理由	HCOOH 保持時間	HCOOH B.Conc	HCOOH スクリーニング理由
C5_Vanillin	sub: C8...	152.1	152.1	HCOOH	0.36	2.4	B.Conc.の値がしきい値以下です	0.5	15.8	成功
B4_Indomethacin	sub: C4...	357.8	357.8	HCOOH	0.48	12.4	優先される移動相はHCOOHです	0.87	47.5	成功
B16_Bifonazole	sub: C...	310.4	310.4	NH4HC...	1.03	58.2	成功	0.59	20	優先される移動相はNH4HCO <sub>3</sub> です

図5 スクリーニング分析の結果に基づく分取難易度の判定結果

## ■ 分取の実行

スクリーニング分析の結果、表2に記載の全ての混合試料で分取が可能と判定され、VanillinとIndomethacinを主成分とする混合試料では酸性条件、Bifonazoleを主成分とする混合試料では塩基性条件が推奨されたため、それぞれ推奨条件での分取を実行しました。この時の分取条件を表3に示します。

分取を実行する際には、移動相と3種類の混合試料を分取用のシステムにセットした後、図6に示す手順に従って、スクリーニング分析時に出力された分取難易度の判定結果をまとめたExcelファイルのインポートを行い、チェックマークのアイコンをクリックしました。上記作業により、サンプルごとに自動生成された分取条件を用いた連続分取精製が移動相や時間の消費を最も抑えた順番で実施されます。

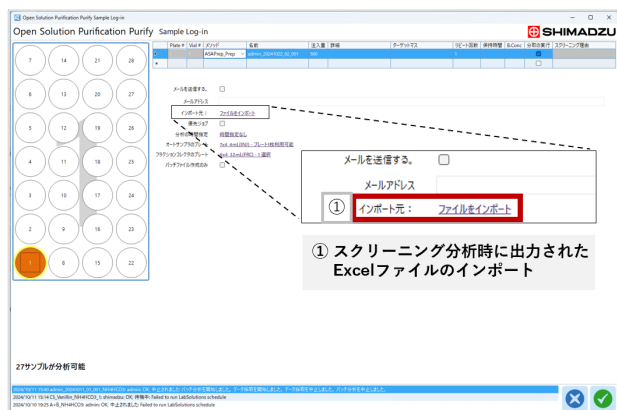
表3 分取条件

System	: Nexera ASAPrep_preparative system
Column	: Shim-pack Scepter C18-120 (150 mm×20 mm I.D., 5 μm <sup>3</sup> )
Sample Concentration	: Main : 10 mg/L
Mobile Phase (acidic condition)	: Pump A: 0.1 % formic acid in water Pump B: 0.1 % formic acid in acetonitrile
Mobile Phase (basic condition)	: Pump A: 10 mmol/L ammonium hydrogen carbonate in water / acetonitrile = 90/10 Pump B: 10 mmol/L ammonium hydrogen carbonate in water / acetonitrile = 10/90
Injection volume	: 500 μL
<b>LC Conditions</b>	
Time program	: B.Conc x <sup>4</sup> % (0 min)→x-x+20 % (0-9 min)→100 % (9-12 min)
Column Temp.	: Ambient
Flow rate	: 20 mL/min
Detection (PDA)	: 190 - 800 nm (SPD-M40, prep cell <sup>5</sup> )
<b>MS Conditions</b>	
MS makeup	: Methanol
Flow rate (makeup)	: 1.5 mL/min
Desolvation Temp.	: 100 °C
Interface Voltage	: 3.0/-2.0 kV (positive/negative)

\*3 P/N : 227-31102-03

\*4 x : Initial B.Conc. of focused gradient

\*5 P/N : 228-64727-41



① サンプル情報、分取条件の自動読み込み

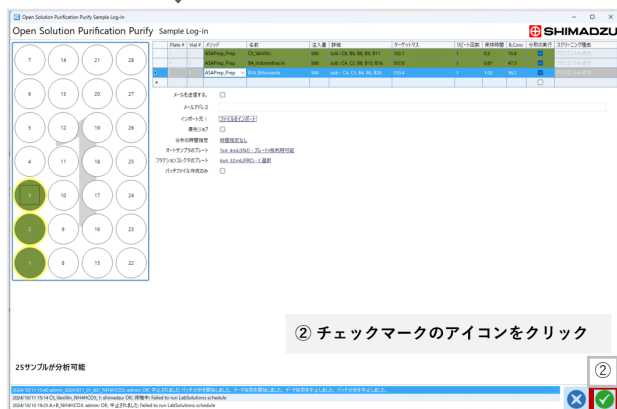
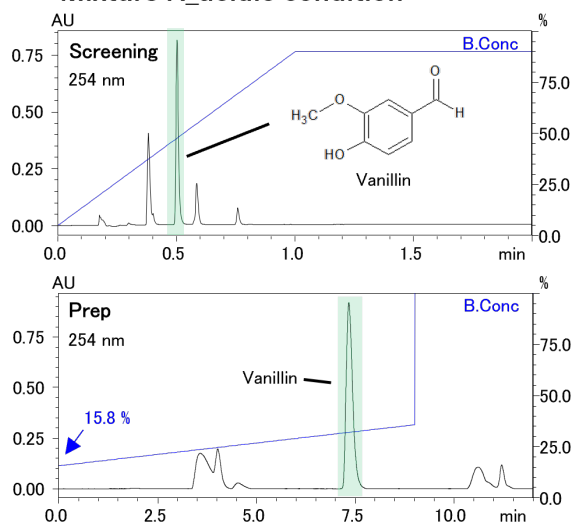


図6 分取の設定手順

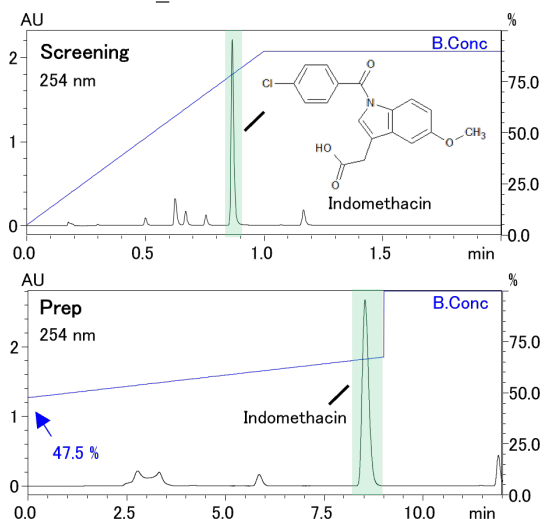
更に、移動相切替を伴う場合には移動相置換やカラム平衡化が自動で実施されます。そのため、作業者は簡単かつ効率的に分取を実行できます。

分取実行時に得られたLCクロマトグラムと、スクリーニング分析時に得られたLCクロマトグラムの比較を図7に示します。

### < Mixture A\_acidic condition >



### < Mixture B\_acidic condition >



### < Mixture C\_basic condition >

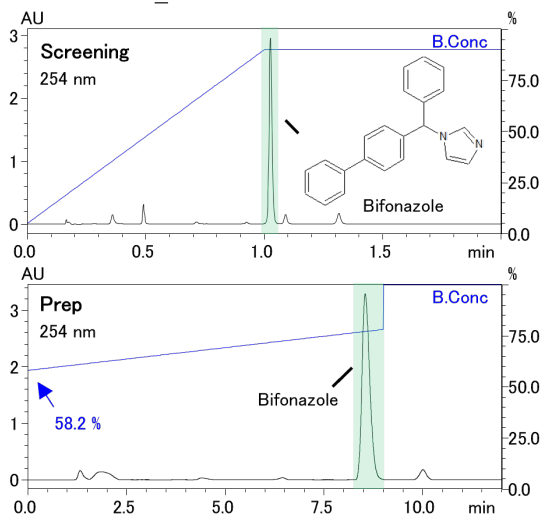


図7 分取時に得られた各混合試料のLCクロマトグラムとスクリーニング分析時に得られたLCクロマトグラムの比較 (上) Mixture A (酸性条件)、(中) Mixture B (酸性条件)、(下) Mixture C (塩基性条件)

スクリーニング分析と同じ濃度のサンプルについて、250倍の注入量で分取を実施しましたが、全ての混合試料において、主成分由来のピークはスクリーニング分析時と比べて良好な分離が得られました。また、酸性化合物であるVanillinとIndomethacinでは酸性条件が、塩基性化合物であるBifonazoleでは塩基性条件がそれぞれ推奨されており、酸性（塩基性）化合物の分取時には酸性（塩基性）条件が適していることが示唆されました。

## ■まとめ

Nexera ASAPrepによる分取精製作業のワークフローを用いた実施例をご紹介します。直感的なUI設計と移動相切り替え時のシステムの自動コンディショニング、分取条件の自動生成機能により、作業者の経験によらず誰でも容易にスクリーニング分析や分取精製を実施できます。また、スクリーニング結果に基づきサンプルの分取難易度を自動判定する機能により、分取スケールで主成分と不純物が共溶出するリスクを示すことができます。これらの機能を通じて、本システムは分取LCの熟練者による判断や分取条件の検討に要する工数を大幅に削減し、分取精製業務を効率化します。

Nexera、ASAPrep、Shim-pack Scepter、およびDUI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/>

01-00829-JP 初版発行：2024年 12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。

▶ 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

▶ 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