

# LabSolutions™ MDを用いたSFCメソッド開発 ワークフローの効率化

藤崎 真一

## ユーザーベネフィット

- ◆ SFCを用いた一連の分離条件検討をLabSolutions MDにより効率化できます。
- ◆ カラム切換バルブを用いることで、カラムスクリーニングを自動化できます。また、移動相切換バルブを用いることで、移動相調製およびモディファイア組成の検討を自動化できます。

## ■はじめに

超臨界流体クロマトグラフィー（Supercritical Fluid Chromatography：SFC）は、主たる移動相として超臨界二酸化炭素を用いる分離手法です。超臨界二酸化炭素は、その大きな拡散係数と低粘度により、液体クロマトグラフィー（LC）に比べて低いカラム背圧で高流量送液が可能であり、分析時間の短縮が期待できます。また、構造類似化合物の分離に優れる特長も有しています。一方、超臨界二酸化炭素はヘキサンと同程度の極性を持ち、単独では溶出力が低いため、移動相に有機溶媒（モディファイア）を添加して極性を調整する手法が一般的に用いられます。モディファイアとしてはメタノール、アセトニトリル、2-プロパノール、エタノール等が利用可能であり、これらを組み合わせることで分析種とカラム固定相との相互作用を制御し、多様な分離パターンを得ることができます。一方で、カラムおよびモディファイアの選択は保持挙動に大きく影響します。そのため、最適な分離を得るためには、複数種類のカラムとモディファイアにわたって検討することが理想的ですが、これには多大な労力と時間がかかることが課題です。さらに、グラジエント条件、カラムオープン温度、背圧制御弁の設定圧力等も分離選択性に寄与するため、これらパラメーターの最適化も必要です。本稿では、低分子医薬品6種の混合物をモデルサンプルとし、LabSolutions MDを用いてSFCの一連のメソッド開発を効率化した事例についてご紹介いたします。

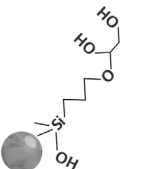

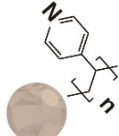
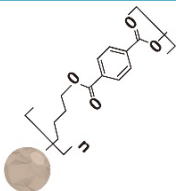
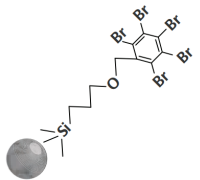
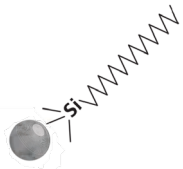
## ■ SFC用カラムの選び方

SFCとLCでは同じ固定相でも異なる保持挙動を示すことがあり、LCデータからの保持予測が難しいため、分離条件の最適化にはカラムスクリーニングが重要です。分離選択性の異なるSFC用カラム（Shim-pack™ UCシリーズ）の「6本カラムセット（表1）」は、ファーストチョイスに最適です。カラムの種類と特長を表1に示します。

## ■ SFC用メソッドスカウティングシステム

SFCのメソッド開発用システムの流路図を図1に示します。カラムおよび移動相切換バルブを活用することで、6種のカラムと7種のモディファイアを自動切換可能です。本システムをLabSolutions MDにより制御することで、カラムとモディファイアの網羅的なスクリーニングを自動化できるため、メソッド開発の大幅な省力化が実現できます。

表1 6本カラムセットの種類と特長

	Shim-pack UC-Diol II	Shim-pack UC-Sil II	Shim-pack UC-PolyVP
Chemistry			
Feature	分離モードは順相系。非特異的相互作用を抑制。	塩基性化合物の保持・立体構造の認識に優れる。	酸塩基無添加条件でも良好なピーク形状を発揮。
	Shim-pack UC-PolyBT	Shim-pack UC-PBr	Shim-pack UC-ODS
Chemistry			
Feature	$\pi$ - $\pi$ 相互作用により、芳香族化合物の認識性に優れる。	ODSでは保持が小さい化合物の分離改善。	分離モードは逆相系。疎水性作用により保持。

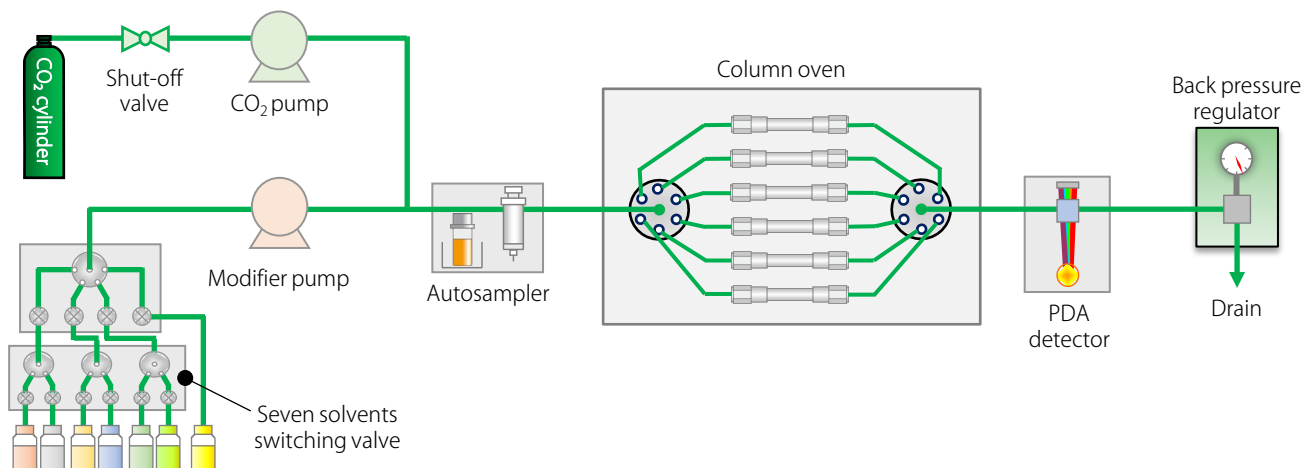


図1 SFC用メソッドスカウティングシステム (Nexera™ UC)

### ■ カラムとモディファイアのスクリーニング

スクリーニング条件を表2に、分析対象化合物を表3にそれぞれ示します。対象カラムとしては、固定相の異なる6種(表1)を検討しました。また、モディファイアとしては、メタノール中のアセトニトリル比率が0、50、100%の3種を検討しました。これらカラムとモディファイアの計18(6×3)条件で網羅的な分析スケジュールを作成し、最適な組み合わせを探索しました。LabSolutions MDは、カラムやモディファイア等の各種パラメータを組み合わせた多様な条件で、ミスなく分析スケジュールの自動生成(図2の(1)~(5)のステップ)が可能です。また、カラム切換バルブを用いることで、対象のカラム(図2の(2))を自動で切換可能です。さらに、モディファイア組成の変更は、移動相ブレンド機能を用いて自動調製にて実施しました。使用するモディファイアをクリックして選択する(図2の(1))だけで、選択された組成にてモディファイアが自動調製されるため、手動での調製作業の負担を大幅に削減するだけでなく、調製ミスも防げます。

表2 スクリーニング条件

System	: Nexera UC
Column 1	: Shim-pack UC-Poly VP *1
Column 2	: Shim-pack UC-Poly BT *2
Column 3	: Shim-pack UC-Diol II *3
Column 4	: Shim-pack UC-Sil II *4
Column 5	: Shim-pack UC-PBr *5
Column 6	: Shim-pack UC-ODS *6
	: (150 mm × 3.0 mm I.D., 3.0 μm)
Column Temp.	: 30 °C
Injection volume	: 5 μL (100 mg/L)
Sample solvent	: Methanol
Mobile phases	
Pump A	: CO <sub>2</sub>
Pump B	
	- Line A1 : Methanol
	- Line A2 : Methanol
	- Line B1 : Acetonitrile
	- Line B2 : 100 mmol/L ammonium formate in methanol
	- Line C1 : 100 mmol/L ammonium acetate in methanol
	- Line C2 : 0.5% formic acid in methanol
	- Line D : Water
Flow rate	: 1 mL/min
Time program (%B)	: 5% (0 min) → 70% (5 - 7 min) → 5% (7.01-12 min)
Detection	: 254 nm (SPD-M40、high-pressure flow cell)
BPR pressure	: 10 MPa
BPR Temp.	: 50 °C

\*1 P/N : 227-32507-03、\*2 P/N : 227-32501-03

\*3 P/N : 227-32606-29、\*4 P/N : 227-32607-29

\*5 P/N : 227-32602-09、\*6 P/N : 227-32608-24

表3 分析対象化合物

	Name		Name
(A)	Antipyrine	(D)	Hydrocortisone
(B)	Probenecid	(E)	Clozapine
(C)	Naproxen	(F)	Indomethacin

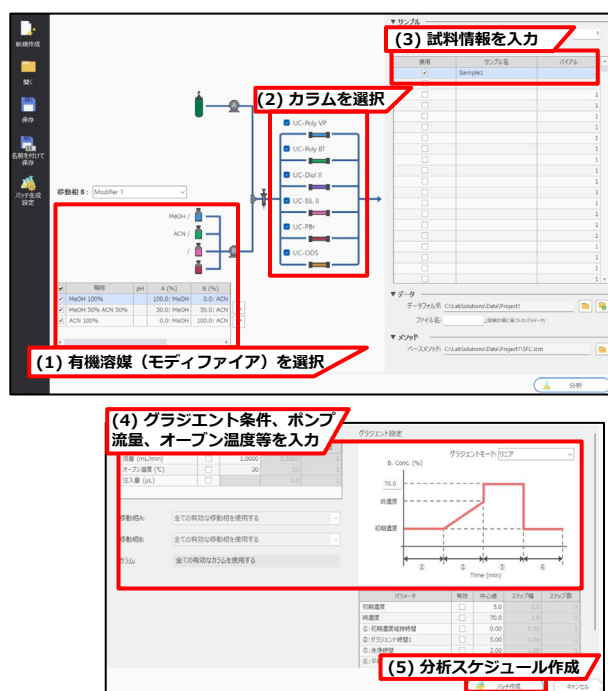


図2 分析スケジュール作成画面

### ■ スクリーニング結果

カラムとモディファイアのスクリーニング結果を、図3~5に示します。カラムおよびモディファイア組成を変更することで、各化合物の保持やピーク形状が大きく変わることが確認できました。また、モディファイアにメタノールを含まないアセトニトリル100%の条件では全てのカラムにおいてピーク強度が低下もしくは未検出となりました。

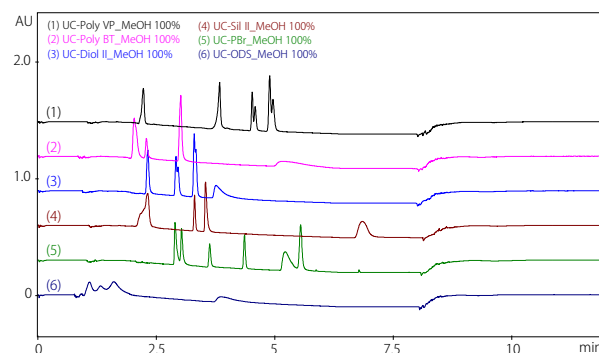


図3 カラムとモディファイアのスクリーニング結果 (Modifier : Methanol 100%)

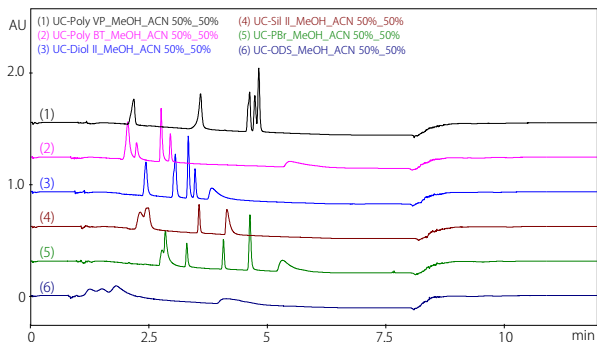


図4 カラムとモディファイアのスクリーニング結果 (Modifier : Methanol / Acetonitrile = 1:1)

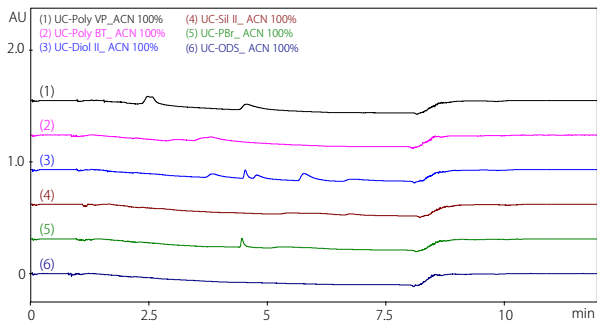


図5 カラムとモディファイアのスクリーニング結果 (Modifier : Acetonitrile 100%)

### ■スクリーニング結果から最適条件を迅速に探索

スクリーニングでは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が、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、各条件における分離の状態を以下の式1を用いて定量的に評価し順位付けできるため、分析者の勘や経験に依存せず、誰でも素早く簡単に最適条件を探索できます。

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

評価値はピーク検出数 (P) と分離度 (Rs) の総和の積により算出されます。カラムとモディファイアのスクリーニングで得られた評価値を高い順に表示した結果を図6に示します。また、評価値が最も高かったクロマトグラムを図7に示します。

カラム 略称	移動相B 略称	評価値
UC-PBr	MeOH 100%	107.428
UC-PBr	MeOH_ACN 50%_50%	105.380
UC-PolyVP	MeOH 100%	94.867
UC-Diol II	MeOH 100%	78.949
UC-PolyVP	MeOH_ACN 50%_50%	78.760
UC-Diol II	MeOH_ACN 50%_50%	76.209
UC-PolyBT	MeOH_ACN 50%_50%	70.629
UC-PolyBT	MeOH 100%	45.896
UC-SIL II	MeOH_ACN 50%_50%	43.175
UC-SIL II	MeOH 100%	36.768

図6 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)

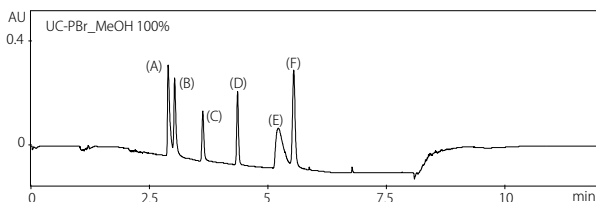


図7 最も評価値が高いクロマトグラム

(A) Antipyrine、(B) Probenecid、(C) Naproxen  
(D) Hydrocortisone、(E) Clozapine、(F) Indomethacin

最も評価値が高い条件は、カラムがUC-PBr、モディファイアがメタノール100%でした。また、clozapineのピーク(図7中(E))にはテーリングの傾向が見られました。引き続き、最も評価値が高かった条件に対して、モディファイアに添加剤を加えることで、分離およびピーク形状の改善を試みました。

### ■モディファイア組成の最適化

最も評価値が高かった条件(カラム: UC-PBr、モディファイア: メタノール100%)を考慮し、メタノールとメタノールに指定量のギ酸アンモニウム、酢酸アンモニウム、ギ酸を添加した溶液に対して、それぞれ水を0%から5%まで添加し、モディファイア組成の最適化を実施しました(検討条件一覧: 表4)。得られたクロマトグラムを図8~11に示します。メタノールに添加剤を加えた溶液をモディファイアとすることで、各化合物の保持やピーク形状が変化することが確認できました。ギ酸アンモニウムおよび酢酸アンモニウムを添加することで、clozapine(図中(E))のピーク形状がシャープになりました。また、水の添加比率を高くすることで、clozapine(図中(E))とindomethacin(図中(F))の分離が改善する傾向があることが分かりました。モディファイア組成の検討で得られたクロマトグラムに評価値を適用した結果を図12に示します。最も評価値が高い条件は、ギ酸アンモニウム(20 mmol/L)を添加したメタノールに5%の水を含む条件でした(図9中(6)のクロマトグラム)。本条件に対して、引き続きグラジエント条件、カラムオープン温度、背圧制御弁の設定圧力を変動させ、更なる分離の最適化を実施しました。

表4 モディファイア組成の検討条件一覧

	Modifier composition	Water addition ratio (%)
1	Methanol	0
2		1
3		2
4		3
5		4
6		5
7	20 mmol/L ammonium formate in methanol	0
8		1
9		2
10		3
11		4
12	5	
13	20 mmol/L ammonium acetate in methanol	0
14		1
15		2
16		3
17		4
18	5	
19	0.1% formic acid in methanol	0
20		1
21		2
22		3
23		4
24		5

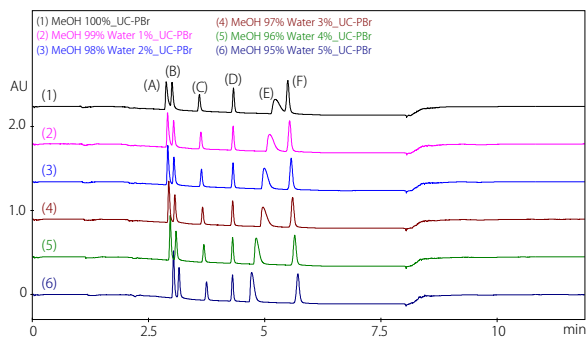


図8 モディファイア組成の最適化結果 (Methanol)

(A) Antipyrine, (B) Probenecid, (C) Naproxen  
(D) Hydrocortisone, (E) Clozapine, (F) Indomethacin

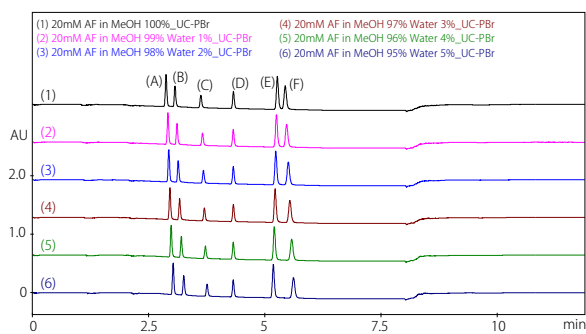


図9 モディファイア組成の最適化結果 (20 mmol/L ammonium formate in methanol)

(A) Antipyrine, (B) Probenecid, (C) Naproxen  
(D) Hydrocortisone, (E) Clozapine, (F) Indomethacin

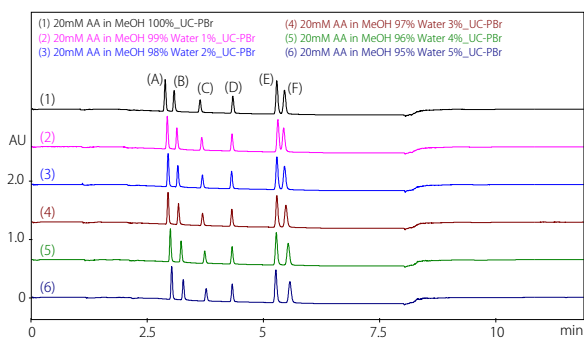


図10 モディファイア組成の最適化結果 (20 mmol/L ammonium acetate in methanol)

(A) Antipyrine, (B) Probenecid, (C) Naproxen  
(D) Hydrocortisone, (E) Clozapine, (F) Indomethacin

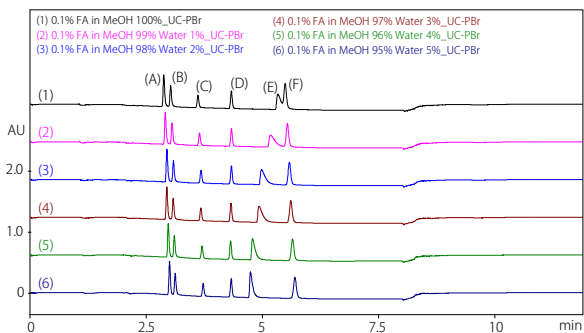


図11 モディファイア組成の最適化結果 (0.1% formic acid in methanol)

(A) Antipyrine, (B) Probenecid, (C) Naproxen  
(D) Hydrocortisone, (E) Clozapine, (F) Indomethacin

移動相B 略称	評価値
20mM AF in MeOH 95% Water 5%	137.400
20mM AF in MeOH 96% Water 4%	134.104
20mM AA in MeOH 95% Water 5%	131.409
20mM AF in MeOH 97% Water 3%	129.774
20mM AA in MeOH 96% Water 4%	128.512
0.1% FA in MeOH 96% Water 4%	127.790
0.1% FA in MeOH 97% Water 3%	126.468
0.1% FA in MeOH 95% Water 5%	126.454
MeOH 96% Water 4%	126.281
20mM AF in MeOH 98% Water 2%	126.240

図12 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)

## ■ グラジエント条件、カラムオープン温度、背圧値の最適化

モディファイア組成を最適化した条件 (図9中(6)のクロマトグラム) に対して、グラジエント時間を5、6、7 min (3条件)、カラムオープン温度を20、30、40 °C (3条件)、背圧値を10、15、20 MPa (3条件) で変動させ、分離への影響を確認しました。得られたクロマトグラムを図13~15に示します。また、全化合物の中で比較的分離度が小さい化合物(A)と(B)および化合物(E)と(F)の分離度を図中に示します。各パラメーターの変動により各化合物の保持挙動が変化し、分離に影響することから、これらの最適化が重要であることが示されました。また、背圧値を大きくすることで、全化合物の保持時間が短くなる傾向が見られました (図15)。背圧を高めることでCO<sub>2</sub>密度が増加し、それに伴い溶出が早くなったと考えられます。引き続き、各化合物の分離度をデザインスペースにより視覚化し、良好な分離かつ高い頑健性を有する最適分離条件の探索を行いました。

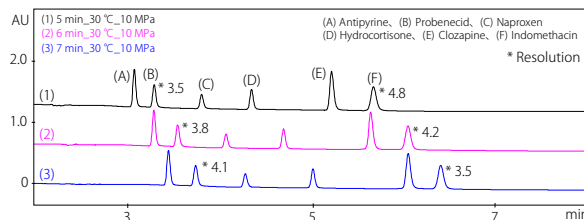


図13 グラジエント時間を変動させたクロマトグラム 5 min (1)、6 min (2)、7 min (3)

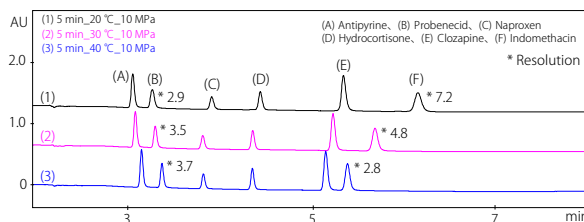


図14 カラムオープン温度を変動させたクロマトグラム 20 °C (1)、30 °C (2)、40 °C (3)

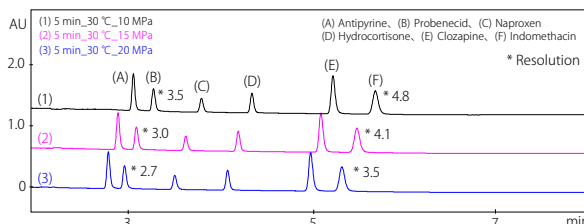


図15 背圧値を変動させたクロマトグラム 10 MPa (1)、15 MPa (2)、20 MPa (3)

## ■ デザインスペースによる最適分析条件探索

LabSolutions MDは、デザインスペースを重ね書きすることで、複数のクライテリアを満たす最適条件を自動探索することが可能です。例えば、化合物(A)と(B)の分離度が3.5以上、化合物(E)と(F)の分離度が3.5以上をクライテリアとし、これらを満たす条件領域をデザインスペースの重ね書きにより探索しました(図16)。図16の緑色枠内は化合物(A)と(B)の分離度が3.5未満の領域、オレンジ色枠内は化合物(E)と(F)の分離度が3.5未満の領域を表しており、これら以外の領域(黒線ハッチング)において、赤丸内の点Aが、最適条件(グラジエント時間: 6 min、カラムオープン温度: 30 °C、背圧値: 10 MPa)であると自動探索されました。このように、デザインスペースの重ね書きにより、複数ピークに対して任意に設定したクライテリアを満たす条件を簡単かつ迅速に探索可能です。

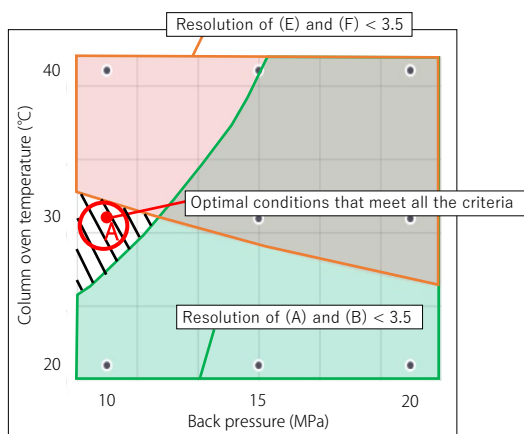


図16 デザインスペースの重ね書きによる最適条件探索  
(グラジエント時間: 6 min)

## ■ 最適分離条件でのクロマトグラム

デザインスペースにより探索された最適条件(点A)でのクロマトグラムを図17に示します。化合物(A)と(B)の分離度が3.5以上、化合物(E)と(F)の分離度が3.5以上となっており、設定したクライテリアを満たすことが確認できました。デザインスペースにて分離度を網羅的に視覚化することで、分析者の勘と経験に依存することなく、分離の最適化が可能です。

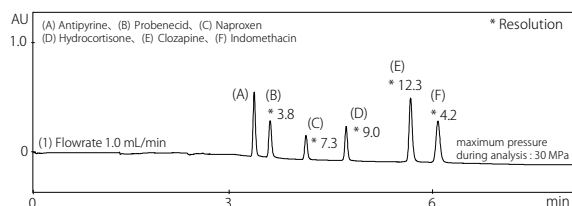


図17 最適条件でのクロマトグラム

## ■ まとめ

LabSolutions MDを用いてSFCの一連のメソッド開発を効率化した事例についてご紹介しました。カラムおよび移動相切換バルブを活用することで、6種のカラムと7種のモディファイアを自動切換でき、メソッド開発の大幅な省力化が実現できます。また、デザインスペースにて分離度を網羅的に視覚化することで、分析者の勘と経験に依存することなく、最適分離条件の探索が可能です。本稿では、SFCにおけるメソッド開発を対象としましたが、SFCとLCは分離特性が異なるため、これら両手法を併用してメソッド開発をすることで、最適分離条件探索の更なる効率化が期待できます。1台のシステムでLCとSFCを自動切換し、両手法において網羅的な条件検討の自動化を実施した事例については、[アプリケーションニュース「01-01058」](#)をご参照ください。

Nexera、LabSolutions、およびShim-pack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/>

01-01057-JP

初版発行: 2025年11月

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 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