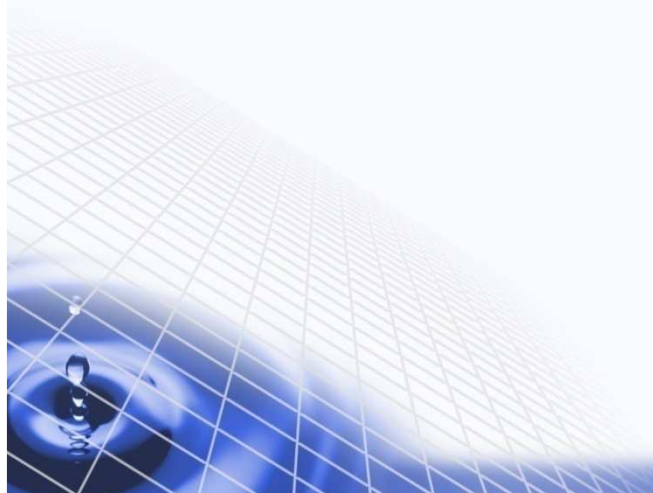


どこまで使えるの？ 超臨界流体クロマトグラフィーの分離



超臨界流体クロマトグラフィー (SFC)とは

移動相

液化又は超臨界CO₂ + 有機溶媒(モディファイヤー)

超臨界流体 → 高拡散係数 ⇒ 物質移動が速い ⇒ 高い分離効率
低粘度 ⇒ カラムの差圧が低い ⇒ 高流速

固定相

シリカゲル又は化学結合タイプの充填カラム

充填剤 粒子径 ⇒ 微粒子 ⇒ 高理論段数

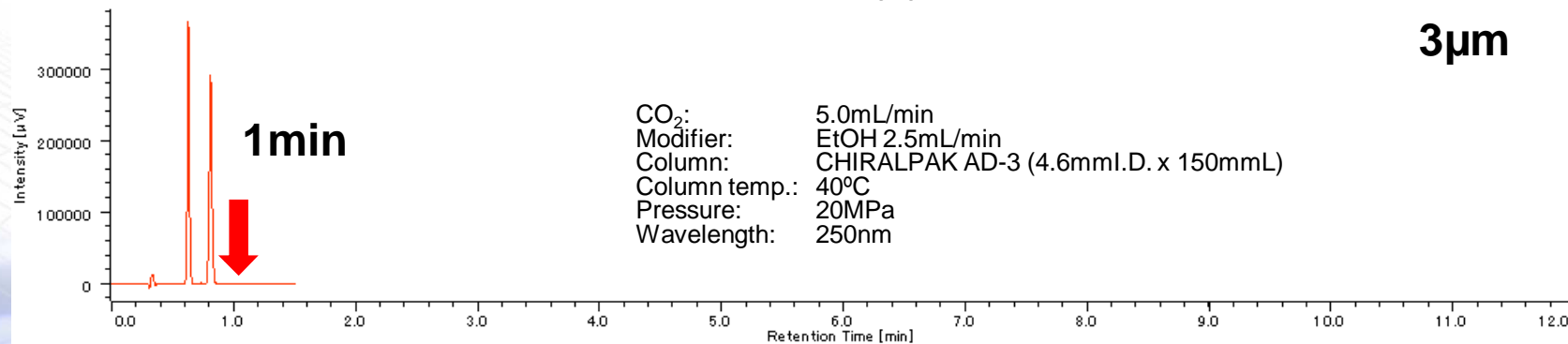
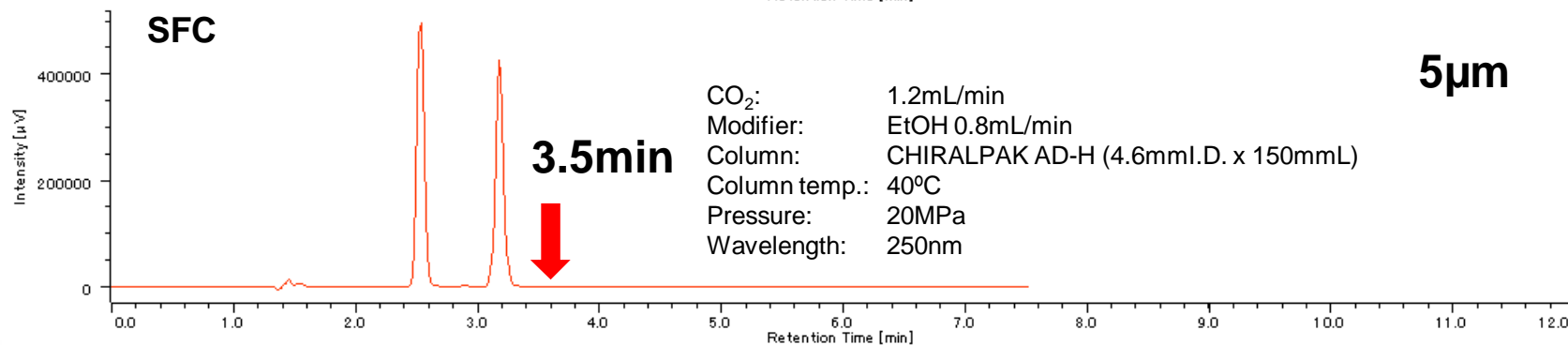
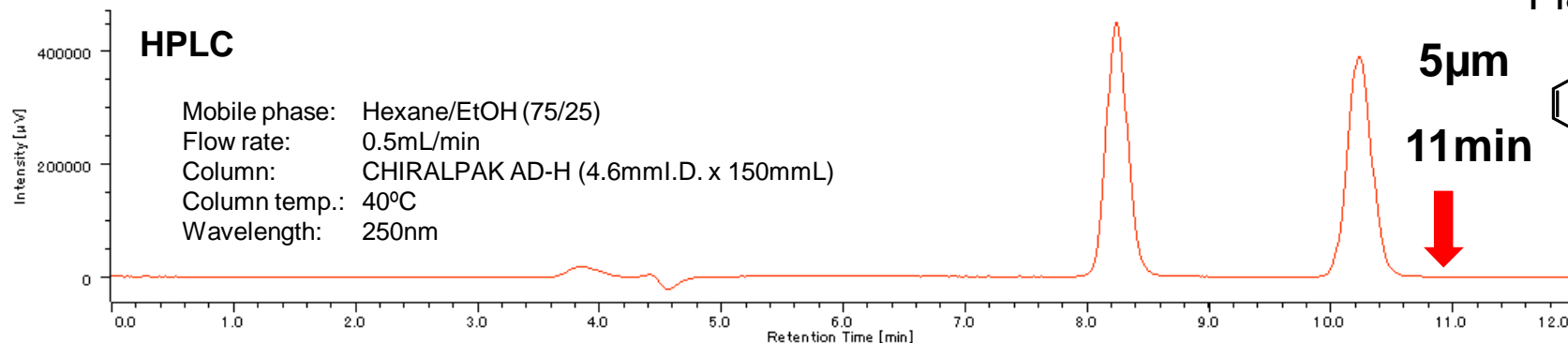
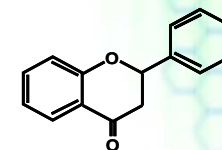


高速・高分離が可能

Green and Clean Separation

HPLC, SFCによる分析データの比較

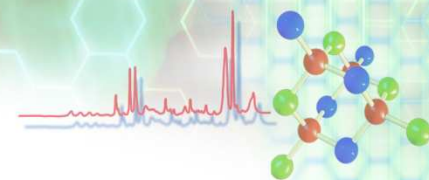
Flavanone



高速・高分離を実現

日本分光

SFCの分離挙動(1)



保持

密度(温度、圧力)

モディファイヤー(量)

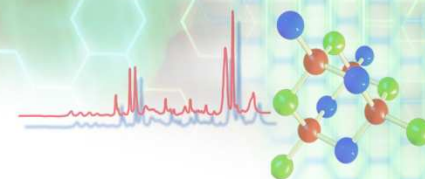
分離の
選択性

カラムの種類

モディファイヤー(種類、溶媒特性)

酸、塩基、揮発性の試薬の添加

SFCの分離挙動(2)



超臨界CO₂は、**ヘキサンと同等の極性**、順相クロマトグラフィーに類似

	SFC	順相クロマトグラフィー
移動相	CO ₂ + イソプロパノール	ヘキサン + イソプロパノール
	CO ₂ + エタノール	ヘキサン + エタノール
	CO ₂ + メタノール	ヘキサン + メタノール
	CO ₂ + アセトニトリル	ヘキサン + アセトニトリル
添加剤	無添加(酸性サンプル)	酢酸、TFA(酸性サンプル)
	ジエチルアミン、 酢酸アンモニウム(塩基性)	ジエチルアミン(塩基性)

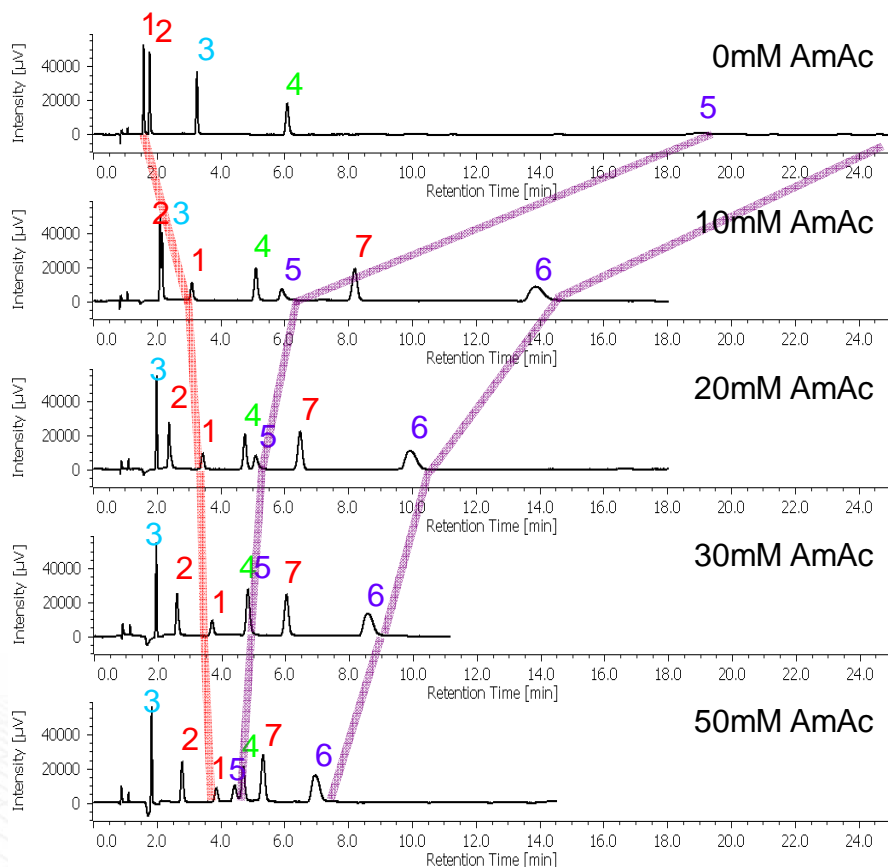
試薬の添加やグラジエント溶出法 → **極性物質**の溶出も可能

固定相のタイプ



逆相クロマトグラフィー
親水性相互作用クロマトグラフィー
(HILICモード)

添加剤(揮発性塩)による効果

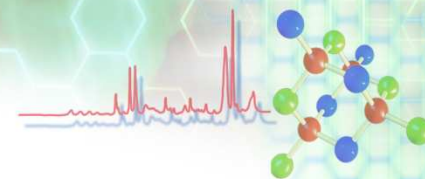


1. Flurbiprofen
2. Acetylsalicylic acid
3. Caffeine
4. Sulfamethoxazole
5. Adenine
6. Amitriptyline
7. p-Toluenesulfonic acid

Conditions

CO ₂ Flow Rate:	3.0 mL/min
Modifier Flow Rate:	0.5 mL/min
Column:	SFCpak SIL-5 (4.6 mm I.D. x 250 mmL, 5 μm)
Column Temp.:	40°C
Back Pressure:	20 MPa
Injection Volume:	5 μL (Full Loop)
Sample Concentration:	0.1 mg/mL

SFCシステム



分析用SFC

流量: 1~8 mL/min
カラム: 2~4.6 mml.D.



セミ分取用SFC

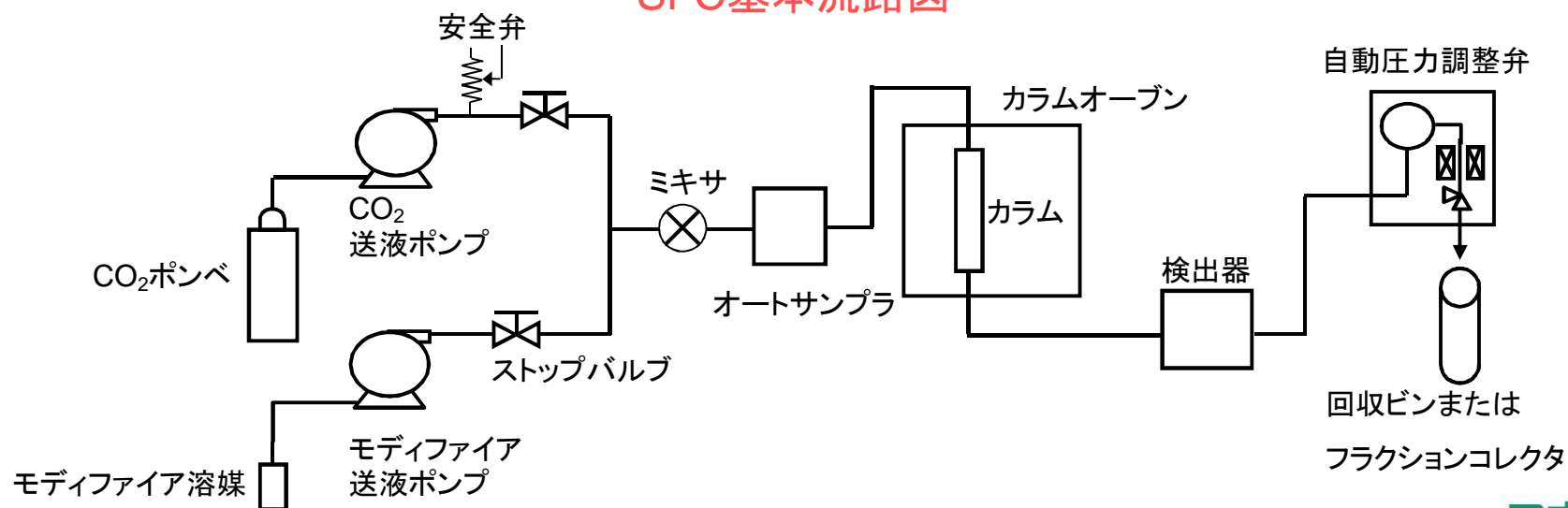
流量: ~20 mL/min
カラム: 4.6~10.0 mml.D.

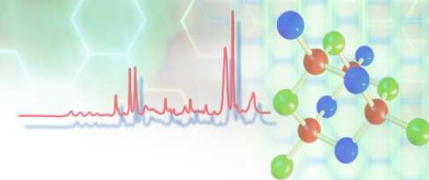


分取用SFC

流量: ~120 mL/min
カラム: 10.0~30.0 mml.D.

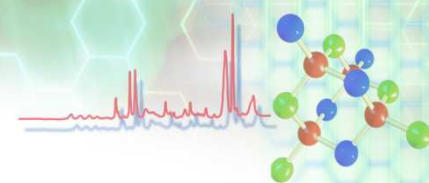
SFC基本流路図



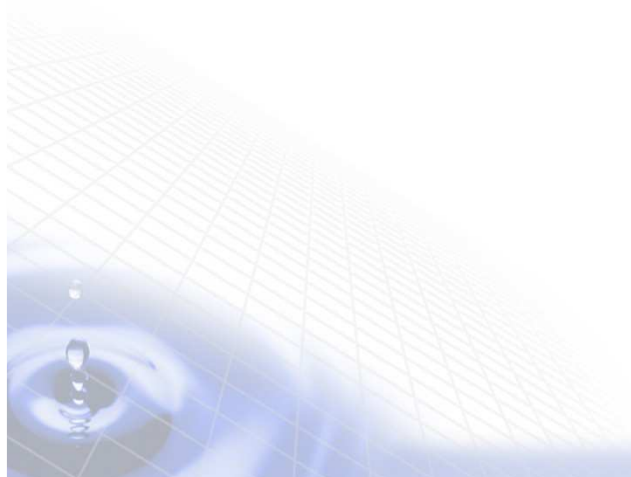


SFCの応用例

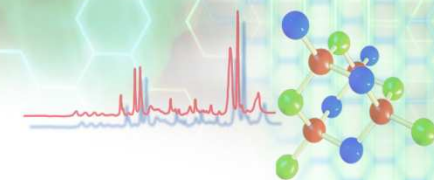
- 酸性・中性・塩基性・脂質・両性物質の一斉分析
- カラムスイッチング
キラル物質のカラムスクリーニング



酸性・中性・塩基性・脂質・両性物質の 一斉分析



分離条件



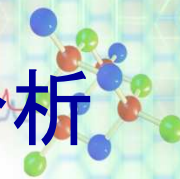
Column: 2-Ethylpyridine silica (4.6mmI.D. × 250mmL 5μm)
Column Temp.: 40°C
Pressure: 15MPa
Mobile Phase Flow Rate: 2mL/min
Mobile Phase A: CO₂
Mobile Phase B: 20mM Ammonium acetate in CH₃OH
Gradient Cycle Time: 30min

Gradient condition

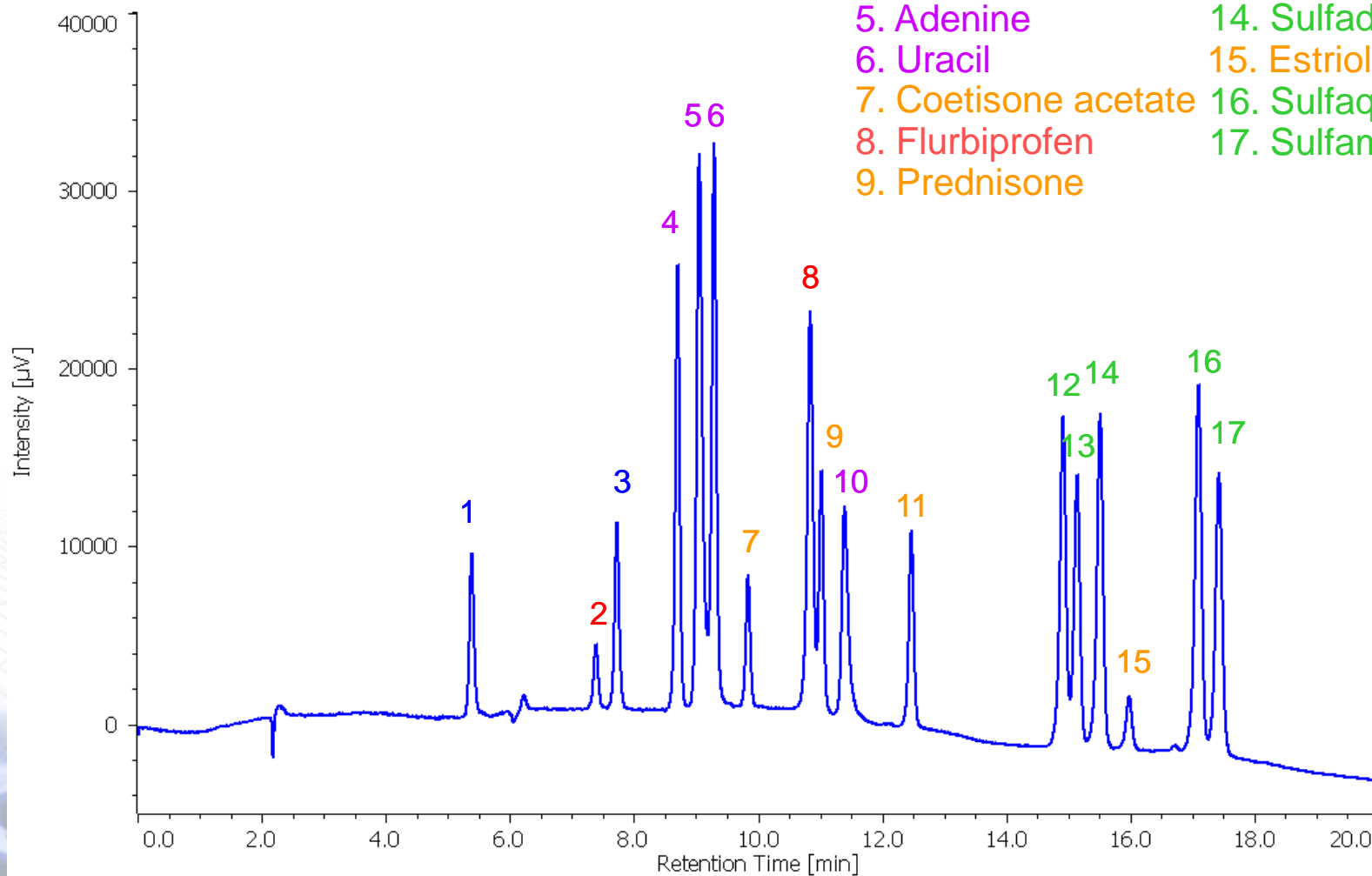
Time (min)	A(%)	B(%)
0	95	5
1	95	5
17.5	60	40
19	60	40
19.05	95	5

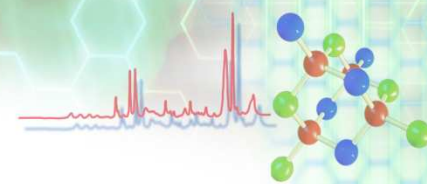
Green and Clean Separation

酸性・中性・塩基性・脂質・両性物質の一斉分析



- | | |
|----------------------|-----------------------|
| 1. Caffeine | 10. Cytosine |
| 2. Ibuprofen | 11. Hydrocortisone |
| 3. Theobromine | 12. Sulfamerazine |
| 4. Thymine | 13. Sulfamethoxazole |
| 5. Adenine | 14. Sulfadimethoxine |
| 6. Uracil | 15. Estriol |
| 7. Coetisone acetate | 16. Sulfaquinolone Na |
| 8. Flurbiprofen | 17. Sulfamethizole |
| 9. Prednisone | |

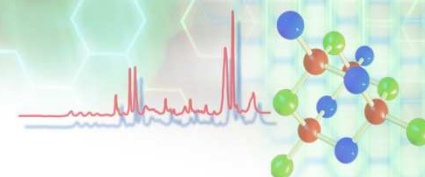




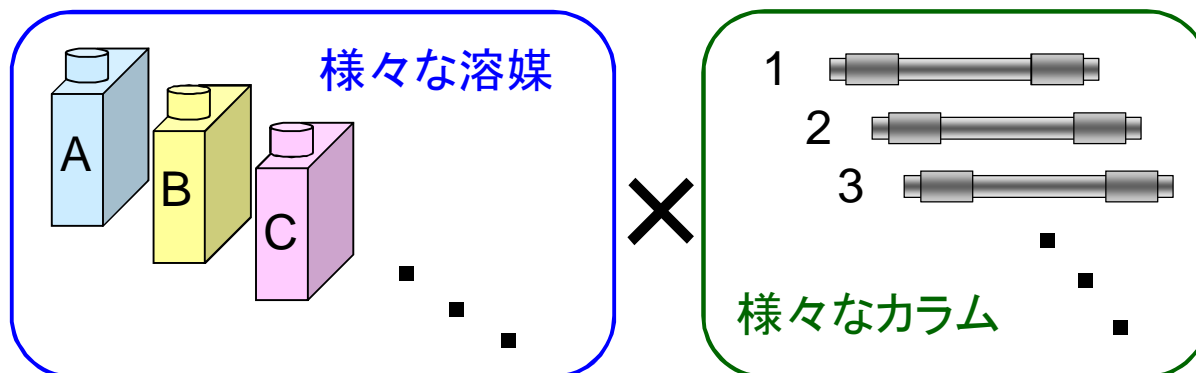
キラル物質のカラムスクリーニング



キラル分離



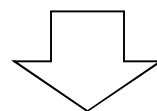
キラル分離は、個々の物質に対して**多種の溶媒**と**多様なカラム**とを組み合わせた**スクリーニング**を行うことで分離条件を選択



超臨界流体クロマトグラフィー(SFC)

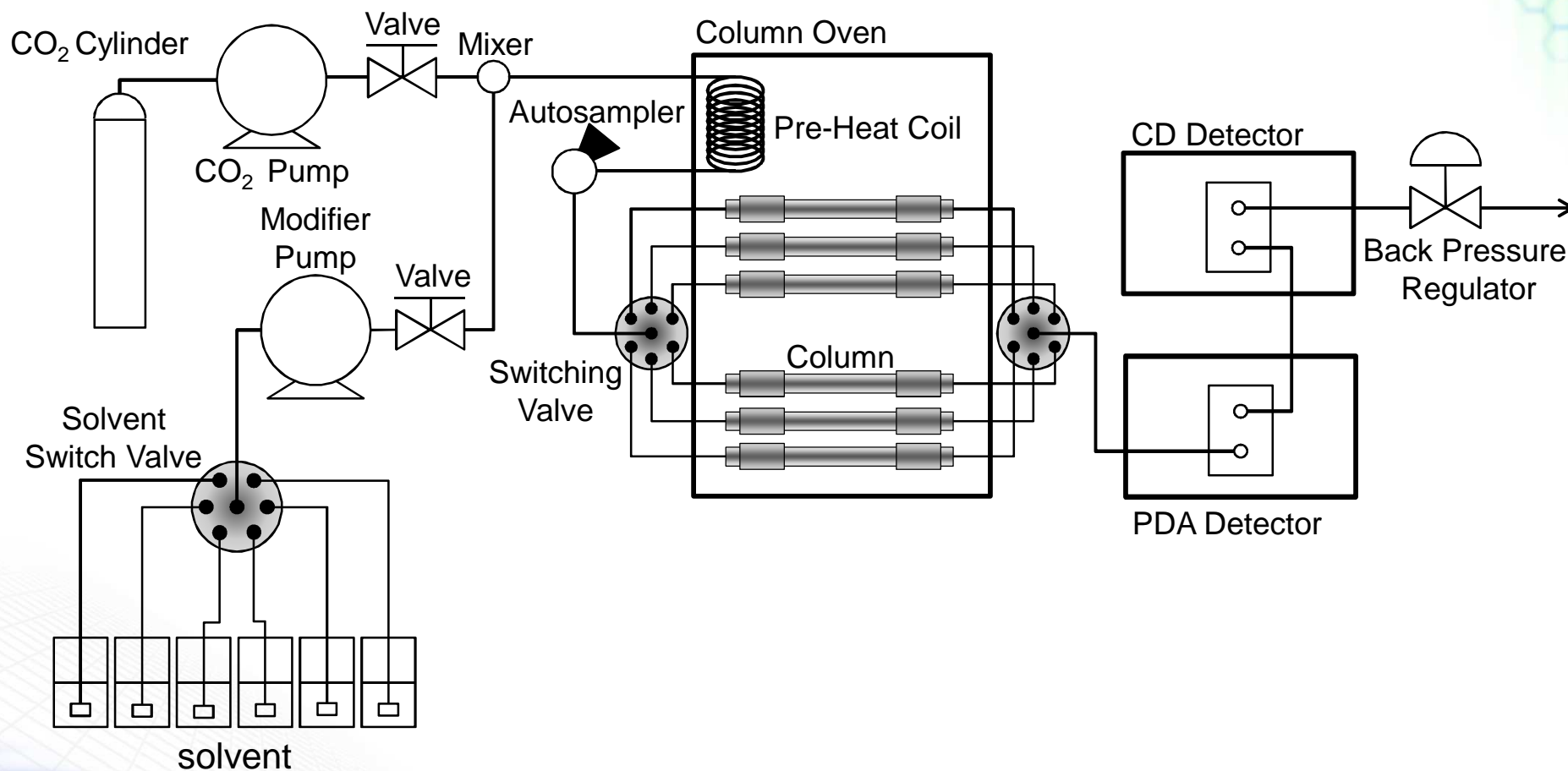
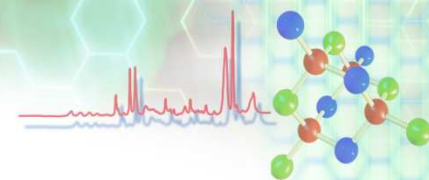
高速分離が可能で、分取後の後処理が容易

- SFCを用いたスクリーニングによる**キラル分離条件の迅速探査**

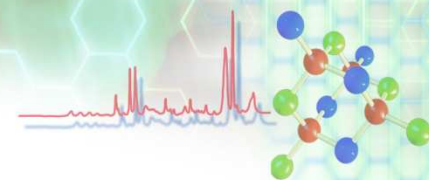


片方のエナンチオマーを使用することで高い薬効を得られる医薬品の早期発見に貢献

システム流路図



測定条件



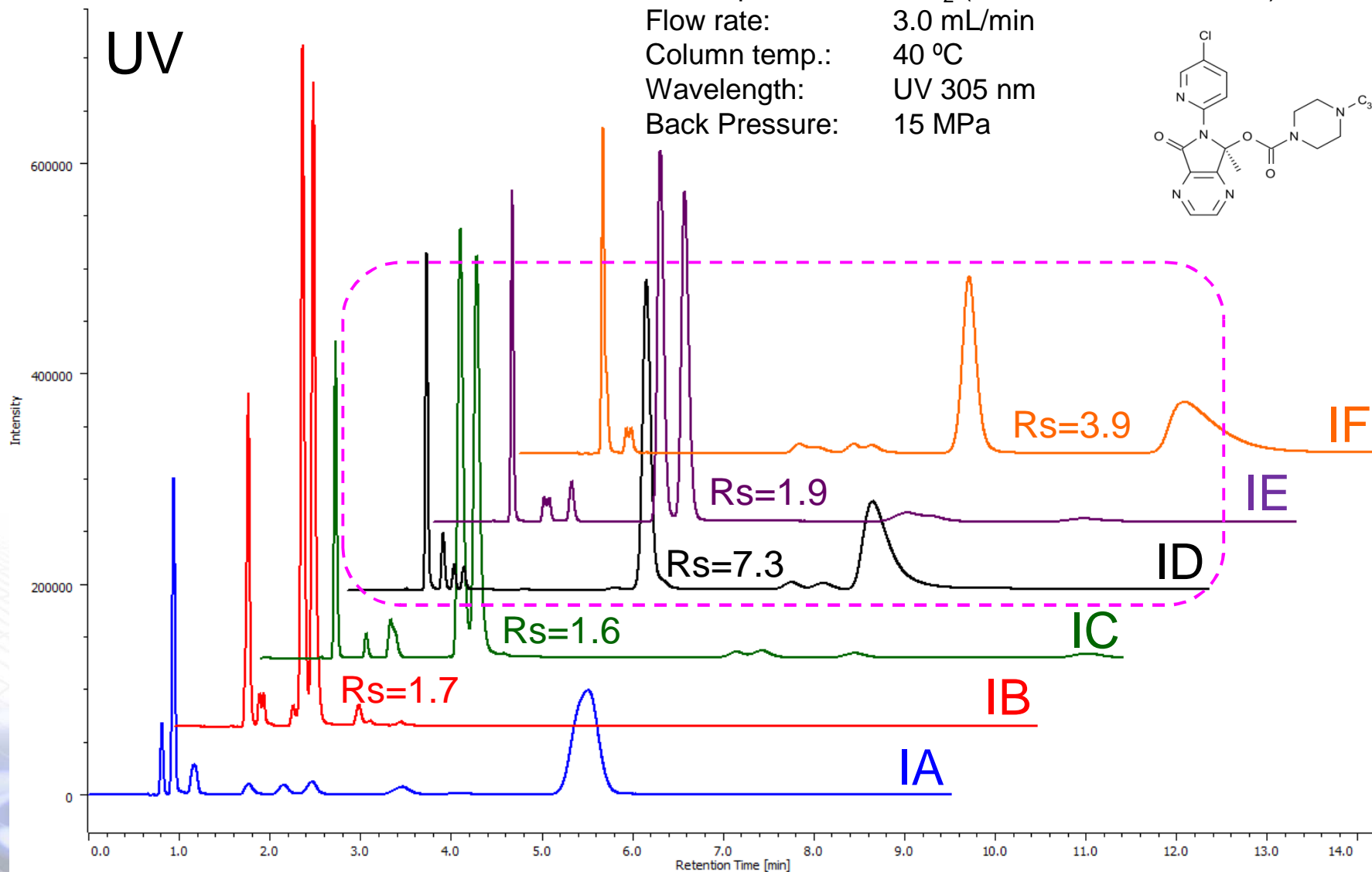
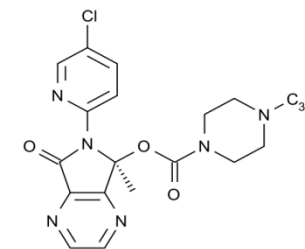
Column:	iCHIRAL-6 (CHIRALPAK IA,IB,IC,ID,IE and IF/SFC)
Column size:	4.6 mmI.D. x 150 mmL, 5 μm
Mobile phase:	1) CO ₂ /(Methanol/DEA=100/0.4)=60/40 2) CO ₂ /Acetonitrile/Ethanol/DEA(80/20/0.4)=60/40 3) CO ₂ /(t-Butylmethylether/Ethanol/DEA=80/20/0.4)=60/40
Flow rate:	Conditioning : 5 mL/min Analysis : 3 mL/min
Column temp.:	40°C
Wavelength:	PDA : 200 ~ 400 nm CD : 235, 238, 305 nm
Back pressure:	15 MPa

6種のカラム
3種の変性剤

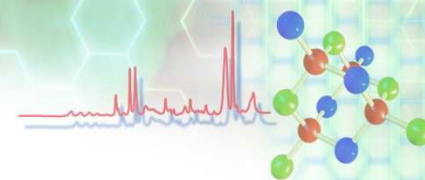
Screening Time: (Conditioning 10 min + Analysis 10 min) × 6-Column × 3-Modifier
= **360 min (6 hour)**

キラル物質のカラムスクリーニングの一例 (Zopiclone)

Mobile phase: CO₂/(Methanol/DEA)=60/40
Flow rate: 3.0 mL/min
Column temp.: 40 °C
Wavelength: UV 305 nm
Back Pressure: 15 MPa



まとめ



- 非極性から極性物質の一斉分析が可能です。
- カラムスイッチングスクリーニングシステムによる分離条件の自動検討が可能です。光学活性な医薬品のキラル分離条件を6時間で探索することができました。
- SFCは、分析から分取まで幅広く使用することができます。