



ULTRAPERFORMANCE CONVERGENCE CHROMATOGRAPHY

キラル化合物とアキラル化合物の
困難を打破する分離テクノロジー

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

キラル分離と アキラル分離において 卓越したスピードと 比類ない信頼性を実現

ACQUITY UPC²

主な移動相として無害で安価な CO₂ を使用する ACQUITY UPC²® システムは、移動相強度、圧力、温度条件を正確に変更できます。分離と選択性を向上させるため、精密な調整によって分析種の保持時間をより正確にコントロールし、構造類似体、異性体、エナンチオマー / ジアステレオマー混合物の分離、検出、定量が可能になりました。これらはすべて、他の分析手法では分離が難しい化合物です。

ACQUITY® ファミリーの一つである ACQUITY UPC² システムは、カラムケミストリーからソフトウェアや各コンポーネント、セパレーションシステム全体の機能性を重視する、総合的な設計概念を取り入れています。

ACQUITY UPC² システムは、ACQUITY ユーザーが期待する性能と信頼性を伴い CO₂ を用いた分離技術を従来の SFC ベースの領域に技術的進歩もたらしました。

ACQUITY UPC² Trefoil™ と Torus™ カラムケミストリーとの組み合わせにより、順相クロマトグラフィーの能力を利用しながら逆相クロマトグラフィーの使いやすさと信頼性をもたらし、卓越したスピードと比類ない信頼性のキラル分離やアキラル分離を提供するように設計されています。



コンバージェンスクロマトグラフィー

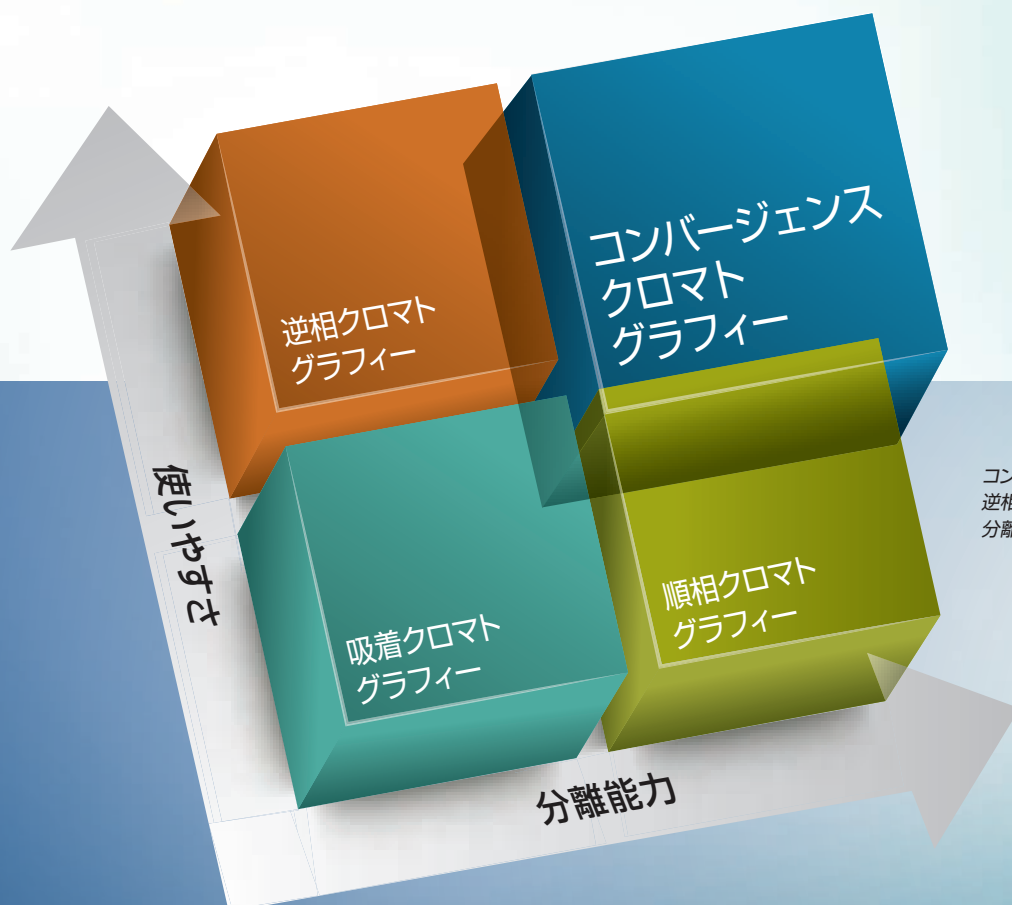
2012年、ウォーターズは Ultra Performance Convergence Chromatography™ (UPC²®) を発表しました。UPC² はクロマトグラフィーの選択性という点においてこれまでになかった幅広い選択肢をラボに提供する分離科学の新たなカテゴリーです。

また、CO₂ を主な移動相として使用するために総合的に設計されたクロマトグラフィー技術で、順相クロマトグラフィーの原理を活用して幅広い選択性を実現する一方、逆相 LC の使いやすさを備えており、分析法開発を容易に行うことができます。

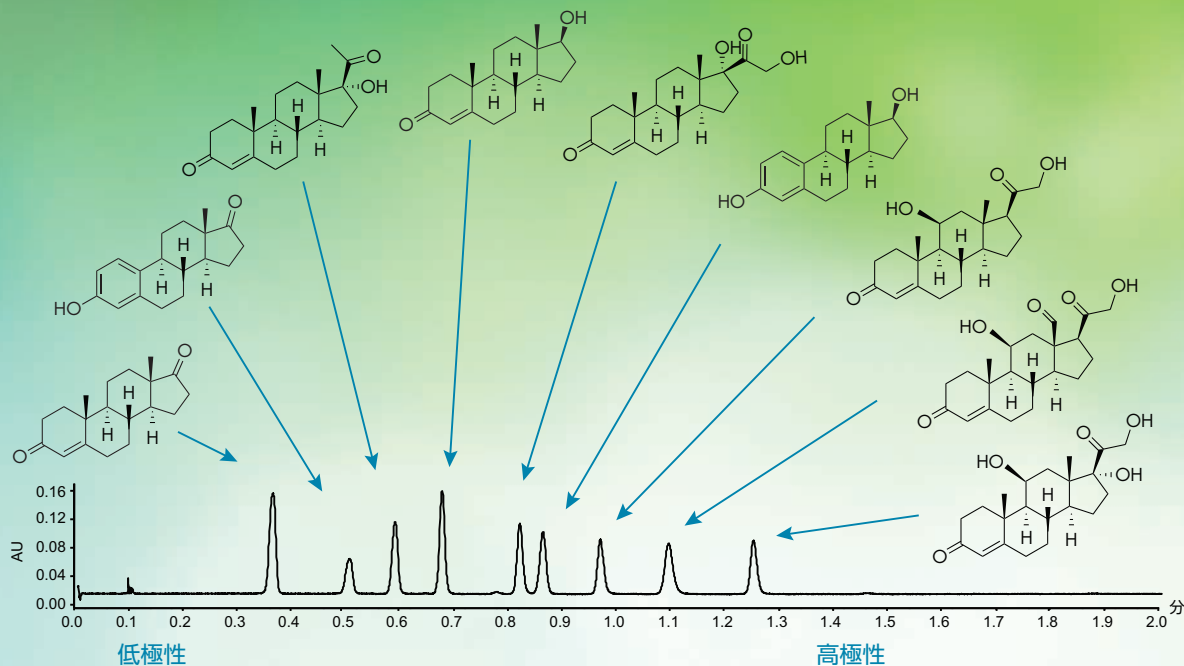
UPC² をその起源である SFC (超臨界流体クロマトグラフィー) まで遡ると、SFC は超臨界流体の密度差を利用していました。この技術は、亜臨界状態で共溶媒とともに使用するように進化しました。CO₂ ベースのクロマトグラフィーは、超臨界状態でも亜臨界状態でも行えることが実証されているため、「超臨界流体」クロマトグラフィー」ではない新しい表現が必要となりました。「コンバージェンスクロマトグラフィー」は、ウォーターズがその現代的形態の分析および分取技術を包括するために用いた用語です。

CO₂ は極性有機溶媒とも非極性有機溶媒とも混和する幅広い混和性を備えています。CO₂ ベースの移動相を使用することで、特に疎水性が高い化合物や高極性化合物、あるいはその両方を含む混合物の分離が可能になるなど、逆相クロマトグラフィーよりもはるかに広範囲の化合物の分離を可能にする汎用性を実現しました。このクロマトグラフィーは、CO₂ ベースの移動相を高極性および低極性の両方の固定相を使用できるだけでなく、キラルカラムなど使用できるカラム選択の幅も広がりました。質量分析計に互換性のある共溶媒を使う場合にも、溶媒グラジエントを調節することによって思い通りのクロマトグラフィー分離を実現できます。

コンバージェンスクロマトグラフィーが卓越している点は、溶媒の状態や条件ではなく、幅広い種類の化合物の分離を 1 台のクロマトグラフィーシステムで実現させることができる力、つまり融合 (コンバージェンス) させる能力です。



コンバージェンスクロマトグラフィーは、逆相 LC のような使いやすさと順相 LC の分離能力の両方を兼ね備えています。



コンバージェンスクロマトグラフィーでは、上に示した例のように類似構造を有するステロイド類も分子の全体的な極性に基づいて分離することができます。*

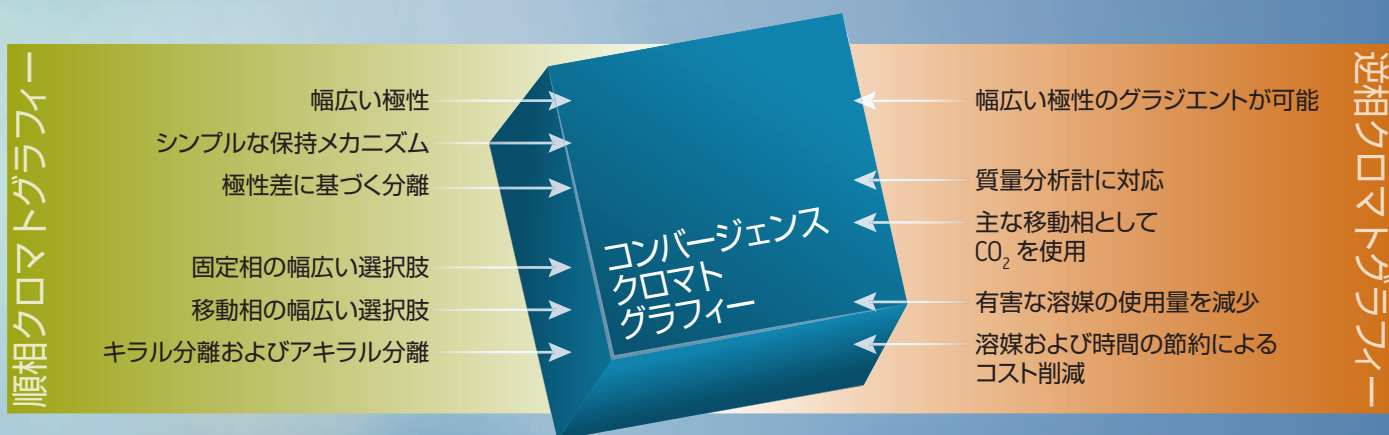
コンバージェンスクロマトグラフィーの保持メカニズム

コンバージェンスクロマトグラフィーの保持メカニズムは、移動相中での極性に依りて固定相から化合物が溶出する順相クロマトグラフィーと似ています。逆相クロマトグラフィーでは、高極性化合物が最初に溶出し、このことが分離を困難にすることが多くあります。一方で、コンバージェンスクロマトグラフィーでは極性化合物が保持され、後で溶出します。上に示したクロマトグラムは、低極性から高極性の中性ステロイド類の分離における、一般的な溶出プロファイルです。

このように順相分離を強力に補完する能力が、コンバージェンスクロマトグラフィーにおいてCO₂を主な移動相として使用する大きな原動力となりました。これにより、幅広い極性のグラジエントが使用可能となり、質量分析計をラボで日常的に使用できるようになりました。また、この技術では有機溶媒に溶解する大部分の化合物および混合物を分離することができます。さらに、他の分析法では分離が難しいことが多い、構造類似体、異性体、エナンチオマー/ジアステレオマー混合物などの化合物の分離も、コンバージェンスクロマトグラフィーを使用することで、さらにシンプルかつ容易に行うことができます。

コンバージェンスクロマトグラフィー：

順相クロマトグラフィーの分離能力と逆相クロマトグラフィーの使いやすさを兼ね備えた手法



* C. Hudalla *et al.*, Method Development for the Analysis of Endogenous Steroids Using Convergence Chromatography with Mass Spectrometric Detection. Waters Application Note 720004692EN, 2013.

ACQUITY UPC² システム

ACQUITY UPC² PDA 検出器 (A)

■ フォトダイオードアレイ検出器 (PDA) は、CO₂ と共溶媒の屈折率の差を補正する高強度シリカレンズを備えており、ベースラインノイズを大幅に低減します。

■ 高感度の小容量 10 mm セルが狭いピーク幅に適応し、ハイスループットスクリーニングの重要な要件である最適スペクトル性能を維持します。

カラムマネージャ (B)

■ 最新の温度制御機構と溶媒アクティブプレヒーターにより、温度設定を 0.1°C 単位で 90°C まで行えます。

■ 2、4、6、8、15 本カラム用と複数のカラムオープンの選択肢があり、キラルおよびアキラルカラムを 1 つのシステムに幅広く搭載できます。

コンバージェンスマネージャ (C)

■ 密度制御向上のための 2 段階アクティブおよびスタティック自動背圧調整器 (ABPR)

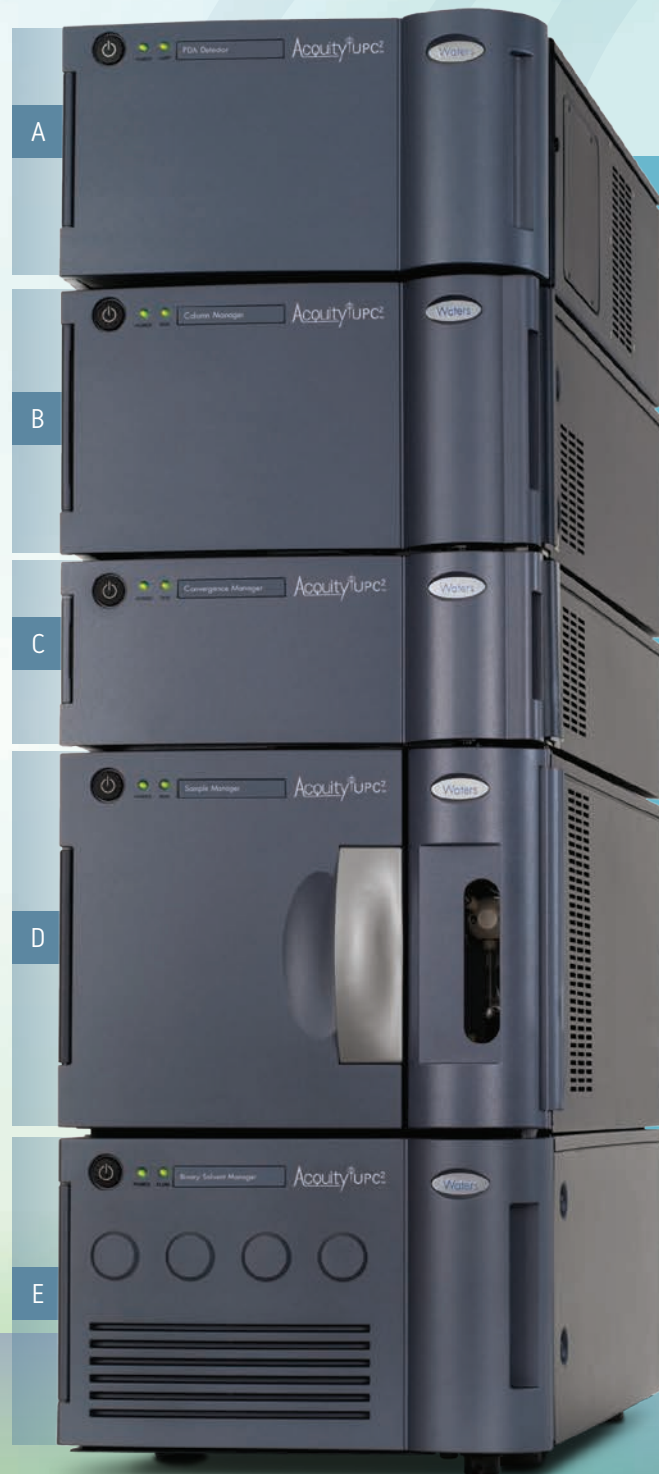
■ 革新的な ABPR 設計は、ACQUITY UPC² システム性能に求められる低ノイズのために必要不可欠です。

サンプルマネージャ (D)

■ パーシャルループインジェクターテクノロジーを標準装備

■ 正確性、精密性、再現性。0.1 ~ 50 µL の範囲、0.1 µL 刻みで注入量を設定可能

■ 極めて低いキャリーオーバー： (<0.005%) およびインジェクターの直線性： (>0.999 R²) が ACQUITY テクノロジーの利用により実現。



ACQUITY UPC² システムおよびカラム

分析法開発用カラムマネージャ

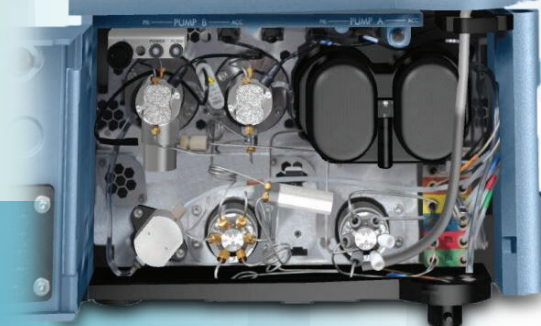
設置が容易な ACQUITY 30 cm シングルゾーンカラムマネージャ (CM-30S) を使用することにより、長さ 50 mm ~ 300 mm、内径 2.1 mm ~ 8.0 mm の最大 8 本のカラムを搭載でき、生産性が大きく向上します。

さまざまなカラムサイズで複数のカラムケミストリー、共溶媒比率、背圧設定、流量を選べる機能は、1つのシステムでキラルおよびアキラル分析を行うのに適した柔軟性の高い分析法開発プラットフォームを提供します。

MassLynx[®] ソフトウェアではカラムを 8 本搭載したカラムオープン、分取スケールアップ前の迅速スクリーニング、またはオープンアクセスで MS 分取のためのアッセイに使用できます。Empower[®] ソフトウェアでは、さらにこのオープンに 2 台連結して使用でき、最大 15 本のカラムを制御することができます。

スライディング引き出しの両側にあるカラムプレートは、長さ 50 mm ~ 300 mm のカラムを保持できます。プレートはレバーの簡単な操作で容易に設置や取り外しができ、より迅速な分析法開発が可能になります。

パッシブプレヒーターを各カラムに接続することで、温度が 8 本すべてのカラムで等しく平衡に保たれ、屈折率の影響が軽減されます。



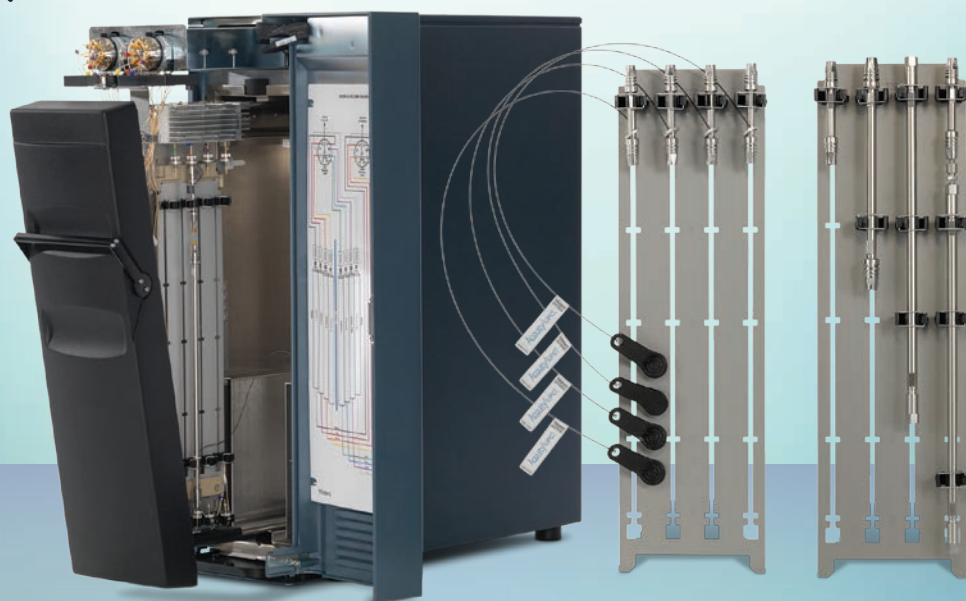
バイナリーソルベントマネージャ(E)

ACQUITY UPC² システムの中核は、独自のポンプ性能によって定義されます。CO₂ と共溶媒の計量には別々のポンプシステムを使用します。

いずれのポンプシステムも UPLC[®] ポンプですが、1つは CO₂ 専用に変更されており、2 段階のペルチェ冷却を特徴としています。

混合前に CO₂ を非圧縮性の共溶媒と同じ精度で正確に計量する能力は、分析の性能と頑健性に不可欠です。

100% CO₂ からスタートし、共溶媒を 0.1% ずつ 5% まで増やした時、ACQUITY UPC² システムの高い能力が最も顕著に見られます。これは、前世代システムに共通して見られる最も一般的な欠陥に対処するもので、システムの堅牢性と信頼性の評判の中核を成しています。



ACQUITY CM-30S およびカラムプレート

質量分析計との コンバージェンスクロマトグラフィーシステム構成

ACQUITY UPC²と ACQUITY QDa 検出器

PDA 検出を用いた標準 8 本 / 最大 15 本カラムスクリーニングシステムは、キラルおよびアキラルの両方の分析ラボで用いられています。ウォーターズの ACQUITY QDa[®] 検出器と ACQUITY アイソクラティックソルベントマネージャを加えることにより、はるかに高レベルな信頼度で質量分析によるトラッキングやトラブルシューティングが行えるようになり、分析法開発がより効率的になります。

コンバージェンスクロマトグラフィーで実現する大幅に向上した相補性により、ルーチン使用向けに設計されたこの質量検出ベースシステムは、キラルおよびアキラル分析に不可欠な日常のツールになっています。



ACQUITY UPC² システムと ACQUITY QDa 検出器

ACQUITY UPC² と Xevo TQ-S

バイオナリシス/DMPK 分野における分析には、最高レベルの分離能、感度、効率が必要です。

DMPK ラボに ACQUITY UPC² テクノロジーを加えることで、以下のような多くの逆相分離の課題に対処できます。

- 極性化合物または代謝物の保持
- 迅速なジェネリックグラジエントキラル分析
- キラル代謝物分離と高感度検出
- マトリックス干渉物質の影響を軽減させる逆相クロマトグラフィーとの相補的な分離



ACQUITY UPC² システムと Xevo[®] TQ-S

ACQUITY UPC²と 検出器3種類の組み合わせ

スクリーニングと検出に最大限の性能を発揮するシステムの拡張機能が、ACQUITY UPC² システムに検出器を3種類を組み合わせることで実現しました。

この分析法開発ツールは、最大限のカラムおよび溶媒スクリーニングと最高の検出機能を提供します。UV吸収がなくイオン化しにくい検出困難な対象化合物を分析する場合、第3のエバポレイト光散乱(ELS)検出器をシステムに追加することで、目的化合物を見落とさずに分析することができます。



ACQUITY UPC² システムと ACQUITY UPLC[®] ELS、
ACQUITY UPC² PDA、ACQUITY QDa 検出器

ACQUITY UPC² と Xevo G2-XS QTof

ACQUITY UPC² システムと QTof テクノロジーの併用は、科学者に脂質や天然物などの複雑な分析領域に対処するためのツールを提供します。

コンバージョンクロマトグラフィーの幅広い分離を利用し、カラムおよびグラジエント条件を簡単に切り替えて高分解能の精密質量情報を提供することにより、脂質などの極性および非極性化合物クラスに対処できます。システムソリューションは、同定、定量、確認を行うよう設計されています。

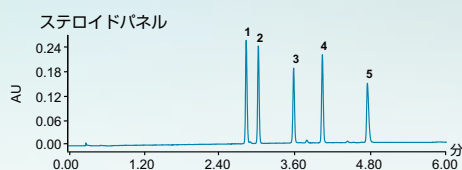


ACQUITY UPC² システムと Xevo G2-XS

ステロイド、ビタミンA、ビタミンEの分離の向上

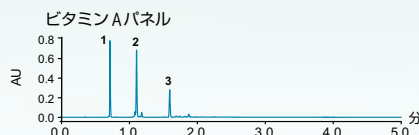
ACQUITY UPC² システムは、ステロイドや脂溶性ビタミンなど複雑な疎水性サンプルの分離において、超臨界流体クロマトグラフィーの有用性を最大限に発揮します。

ACQUITY UPC² Torus 1-AA カラムを用いることで、共溶媒比率が5%以下の低い条件が必要な疎水性の高いサンプルの分析を迅速に行うことができます。



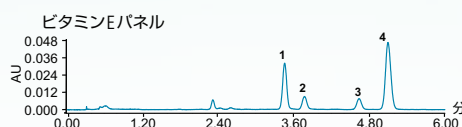
化合物: 1. 17 α -Hydroxyprogesterone
2. Esterone
3. Cortisol
4. Estradiol
5. Corticosterone

カラム: ACQUITY UPC² Torus 1-AA, 1.7 μ m, 3.0 \times 100 mm (P/N 186007629)
グラジエント: 3–30% メタノール
流量: 1.5 mL/min
温度: 40°C
圧力: 1800 psi
UV検出: 220 nm



化合物: 1. Retinyl acetate
2. Retinol palmitate
3. Retinol

カラム: ACQUITY UPC² Torus 1-AA, 1.7 μ m, 3.0 \times 100 mm (P/N 186007629)
グラジエント: 3–40% メタノール
流量: 1.5 mL/min
温度: 35°C
圧力: 1500 psi
UV検出: 310 nm



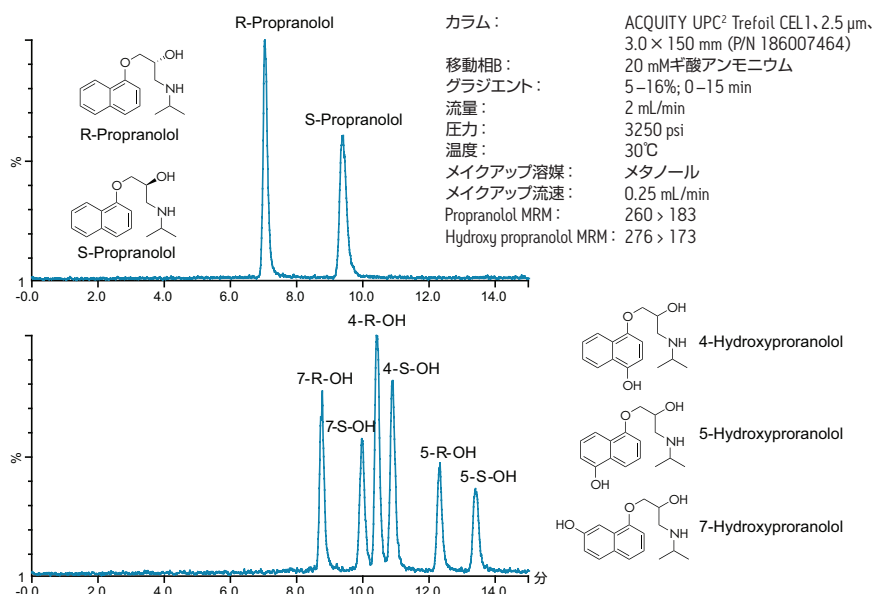
化合物: 1. α / β / γ -Tocopherol
2. δ -Tocopherol
3. γ -Tocotrienol
4. δ -Tocotrienol

カラム: ACQUITY UPC² Torus 1-AA, 1.7 μ m, 3.0 \times 100 mm (P/N 186007629)
アイソクラティック: 3% メタノール
流量: 1.5 mL/min
温度: 35°C
圧力: 1500 psi
UV検出: 290 nm

ACQUITY UPC² Torus 1-AA カラムを用いたステロイドおよびビタミンパネル

UPC²-MS/MSを用いた未変化体および代謝物のDMPK エナンチオマー分離

多くの開発化合物とその代謝物には1つ以上のキラル中心があります。化合物とその代謝物の各キラル型を特定しモニターすることは、医薬開発プロセスで欠かせないステップであり、コンバージェンスクロマトグラフィーを用いて容易に行うことができます。ACQUITY UPC² Trefoil CEL1 カラムと質量分析計を組み合わせることで、未変化体のプロプラノロールと3つのヒドロキシ代謝物である4-ヒドロキシプロプラノロール、5-ヒドロキシプロプラノロール、7-ヒドロキシプロプラノロールのエナンチオマーを15分未満で容易に分離することができました。



プロプラノロールとヒドロキシ代謝物の分離 (ヒドロキシ代謝物にはR型とS型があります)

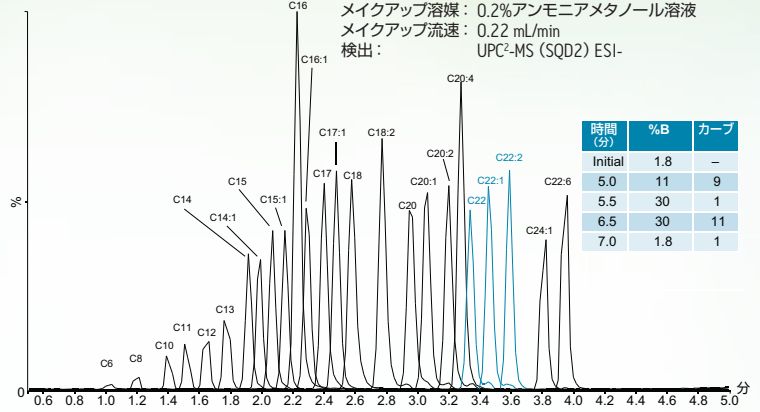
誘導体化を行わない遊離脂肪酸と脂質の分離

遊離脂肪酸 (FFA) が溶出する順序は、脂肪酸鎖の長さ
と二重結合の数で決まります。一般的な 逆相 LC 分離
では、アシル鎖が長く飽和度が高いほど、保持時間が
長くなります。

一方、ACQUITY UPC² Torus 1-AA カラムを用いて分離
すると、鎖長が長く不飽和度が高いほど、FFA の保持
時間が長くなります。これにより、炭素鎖長が異なる
飽和 FFA と不飽和 FFA が含まれる複雑な生物学的サン
プルを分離する際にも共溶出が抑制され、分析がより
シンプルになります。

さらに、脂質を含む有機層抽出物を直接システムにイン
ジェクションできるため、逆相 LC 用のようにサンプル
溶解溶媒を置換する必要がなくなります。

カラム: ACQUITY UPC² Torus 1-AA, 1.7 μm,
3.0 × 100 mm (P/N 186007629)
分離モード: グラジエント
移動相B: メタノール
流量: 1.9 mL/min
圧力: 2100 psi
温度: 50°C
メイクアップ溶媒: 0.2%アンモニアメタノール溶液
メイクアップ流速: 0.22 mL/min
検出: UPC²-MS (SQD2) ESI-



UPC²-MS を用いた FFA 分析では、FAME 誘導体化が必要な GC/MS などの他の方法と比較して、分析時間を大幅に短縮し、シンプルで迅速な分析法で分析が可能になります。

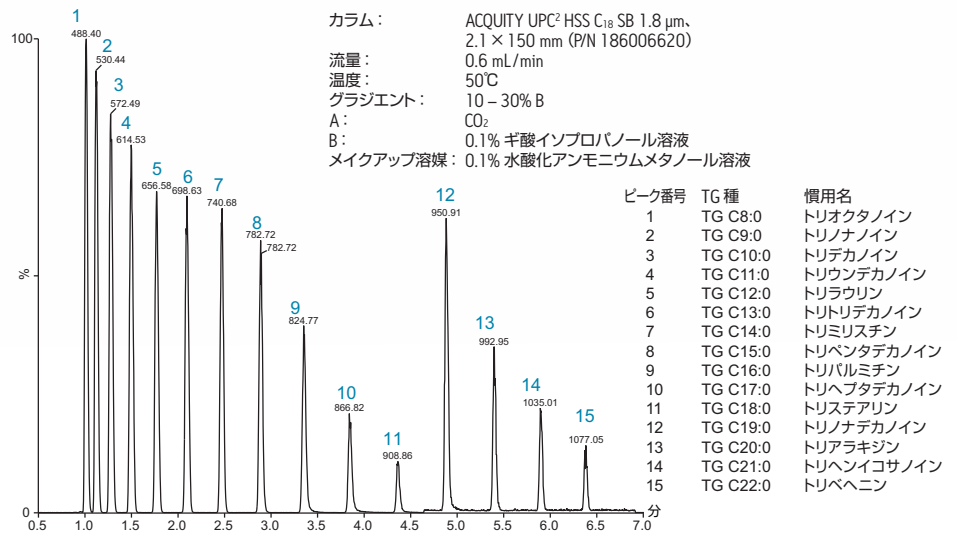
脂質分析

複数の種類の脂質が ACQUITY UPC² によって分析されて
います。

- プロスタグランジン
- エイコサノイド
- アシルグリセロール (モノ-、ジ-、トリ-)
- コレステロールエステル
- スフィンゴ脂質
- 糖異性体
- リン脂質

および多くのマトリックス中の脂質が
分析されています。:

- 組織 (脂肪)
- 全血
- 油藻類抽出物
- 牛乳
- 食用油
- バイオディーゼル



15 種の飽和トリアシルグリセロール (TAG) 標品 (Nu-Check GLC 768) を含むインタクト TAG 混合物の UPC²-MS を用いた分析。TAG の一般的なクロマトグラフィー分析法は、逆相クロマトグラフィーおよび GC-MS ですが、逆相クロマトグラフィー分析には長い分析時間 (2 ~ 3 時間) がかかる上、抽出液を蒸発乾固し、水性溶媒に再溶解する必要があります。GC-MS 分析では、TAG の FAME 誘導体化が必要になり手間がかかります。

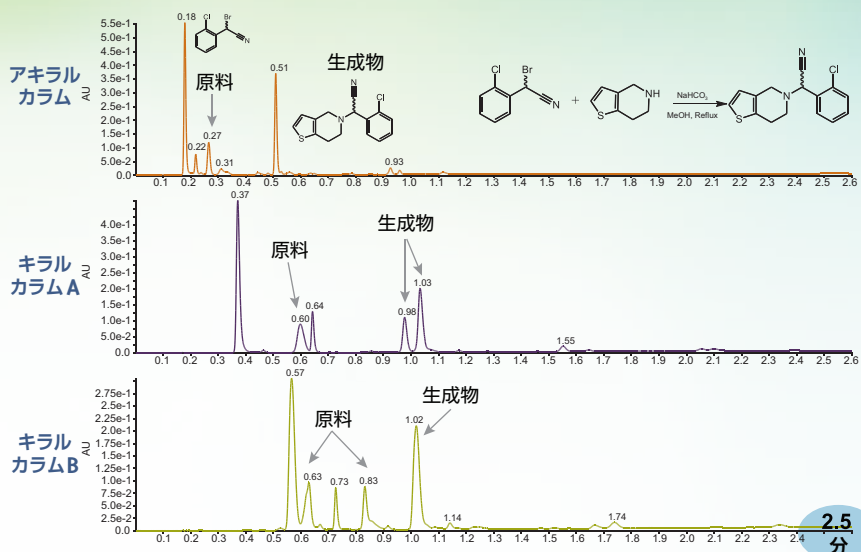
合成化学 — キラルおよびアキラル

合成化学 / 創薬化学ラボにおいて、ACQUITY UPC² はキラルおよびアキラルの両方の分析を支援します。

アキラル合成反応モニタリングおよび最適化に用いる場合も、不斉収率 (ee) のモニタリングに用いる場合も、同じシステム、移動相を利用できます。

1つのカラムオープンに8本のカラムを保持できるため、幅広いカラムおよび移動相を用いるオープンアクセスの使用が可能です。カラムは取り付けただけで、幅広いキラルおよびアキラル固定相を簡単に切り替えることができますので、分析法開発を容易に行えます。

また、簡単なソフトウェア制御で、迅速な分析法スカウティング用のサイズのカラムと、分析法最適化用のサイズのカラムとを切り替えることができます。



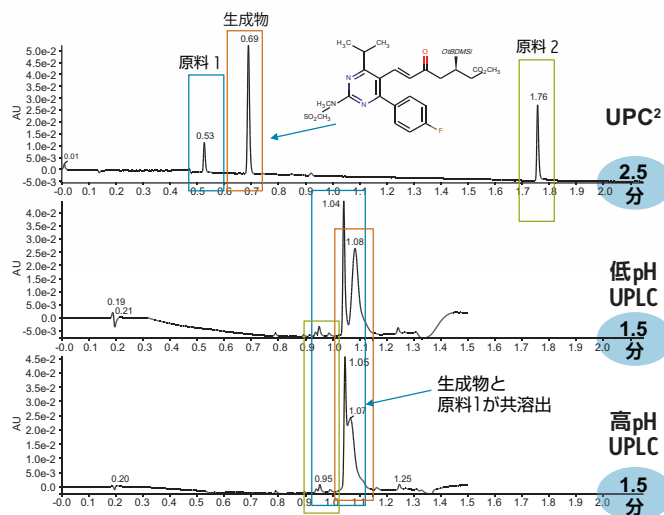
ACQUITY UPC² を用いると、キラルおよびアキラルの両方の分離を同じ移動相で装置を変えずに実施できます。右図に示すように、この特定の反応段階における原料および生成物は、エナンチオマーを分離するのに異なるキラルカラムが必要です。

合成化学 — 逆相に対する相補性

合成化学 / 創薬化学ラボにおいて、ACQUITY UPC² は分析支援ラボでもオープンアクセス環境下でも、逆相システムがあるラボに迅速なスクリーニング法の追加法として、用いられています。UPC² は、質量分析に容易に接続できる簡単で一般的なグラジエント法を用い、幅広い極性に対応する相補的な分離モードであるため、導入が急増しています。

ACQUITY UPC² は、構造が類似する化合物や高極性または非極性化合物が共溶出するなど、逆相分離では分離が困難で相補性が望まれる場合には特に有用です。

共通の溶媒および添加剤を用いた同じシステムでのキラルおよびアキラル分析、すべて搭載した一連のカラムを用いた簡単な操作など、多くの場合逆相 LC で困難なことが ACQUITY UPC² では簡単に行えます。

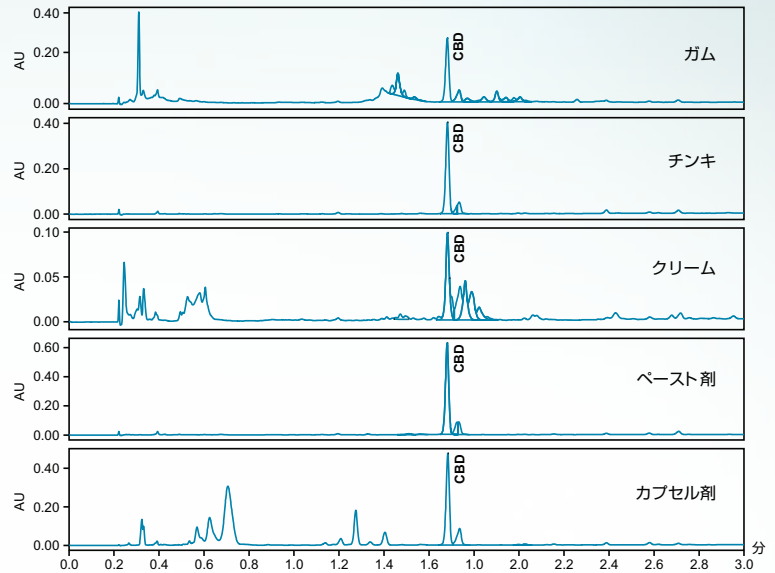
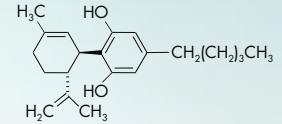


合成分析における困難な分離に対して逆相では高 / 低 pH 両方向アプローチが最も一般的ですが、さらに ACQUITY UPC² の相補性はこれに加えるべき分離技術であることが明確に分かります。

5種類の市販製品に含まれるカンナビジオール(CBD)の迅速定量分析

カンナビジオール酸(CBDA)は、医療用大麻の一部の品種に多量に含まれています。カンナビジオール(CBD)は、CBDAを加熱した際の脱カルボキシル体で、精神賦活性はなく、幅広い薬効を持つ可能性があると考えられています。CBDは従来、煙もしくは蒸気(これによりCBDAがCBDに変化)の吸引という形で投与されてきましたが、今日では別の剤形(外用クリームなど)も広く使用されています。医療用大麻は、製品に含まれるすべてのCBDAがCBDの状態では含有されるように加工されます。ACQUITY UPC²システムとACQUITY UPC² Torus 2-PICカラムによる分離は1サンプルあたり3分でCBDを賦形剤から分離でき、かつ定量に適していることが示されました。この方法は、さまざまな剤形の製剤におけるCBD含有量の品質管理と製品の品質モニタリングを行うラボに最適です。

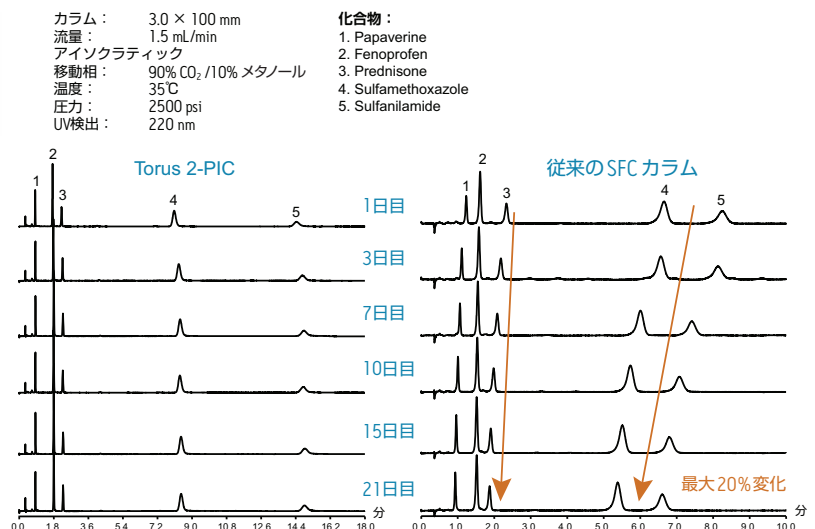
システム: ACQUITY UPC² PDA検出器
 カラム: ACQUITY UPC² Torus 2-PIC, 1.7 μm, 3.0 × 100 mm (P/N 186007602)
 移動相A: CO₂
 移動相B: メタノール
 流量: 2.0 mL/min
 グラジエント: 3 - 15 %B; 0 - 3 min
 温度: 50°C
 圧力: 1800 psi
 UV検出: 228 nm (補正: 500 - 600 nm)
 注入量: 1.0 μL



5種類の製剤に含まれるカンナビジオール(CBD)の分析

保持時間のドリフトを排除し頑健性が向上

シリカベースのSFCカラムにおける一般的な懸念事項の一つとして、使用中に保持時間が変化するという問題があります。この事象に対する研究においても、選択性と保持時間の両方が時間の経過とともに変化する可能性があることが示されています*。場合によっては、元の性能を取り戻すためにカラムを再生する必要がある場合もあります。ACQUITY UPC² Torus カラムは選択性と保持時間の変化が起こらないように設計されているため、分析法の頑健性がさらに高まり、カラム寿命も長くなっています。



ACQUITY UPC² Torus カラムは保持時間の安定性と選択性が長期間維持されるため、分析法開発とQCの両方にメリットをもたらします。

* K. Ebinger, H.N. Weller, *J. Chromatogr. A*, Comparative assessment of achiral stationary phases for highthroughput analysis in supercritical fluid chromatography. 2014 <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2014.01.060>

ACQUITY UPC² Trefoil カラム

迅速で頑健なキラル分離に最良なカラム

最適化した粒子径、カラムサイズ、流速

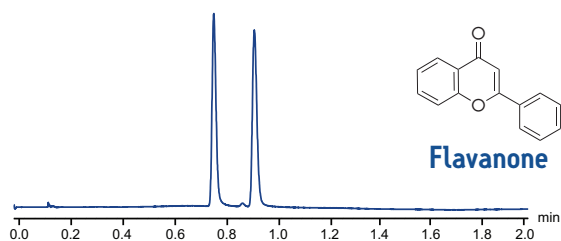
MS 検出を最大限に活用

分析法開発プロトコルにより迅速な結果

高品質で一貫性が高く、再現性の高いカラム

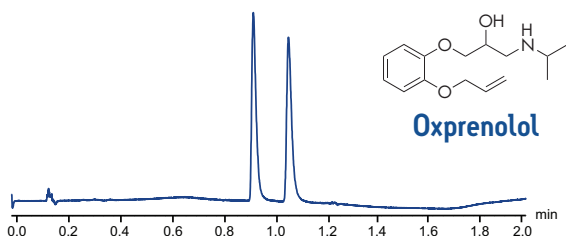
ACQUITY UPC² Trefoil AMY1、2.5 μm カラム

Amylose tris-(3,5-dimethylphenylcarbamate)



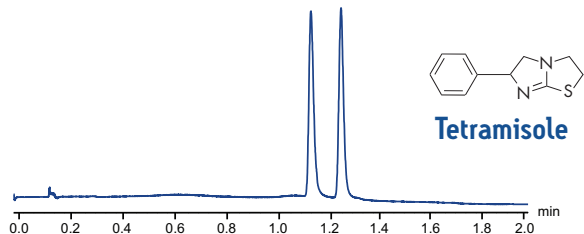
ACQUITY UPC² Trefoil CEL1、2.5 μm カラム

Cellulose tris-(3,5-dimethylphenylcarbamate)



ACQUITY UPC² Trefoil CEL2、2.5 μm カラム

Cellulose tris-(3-chloro-4-methylphenylcarbamate)

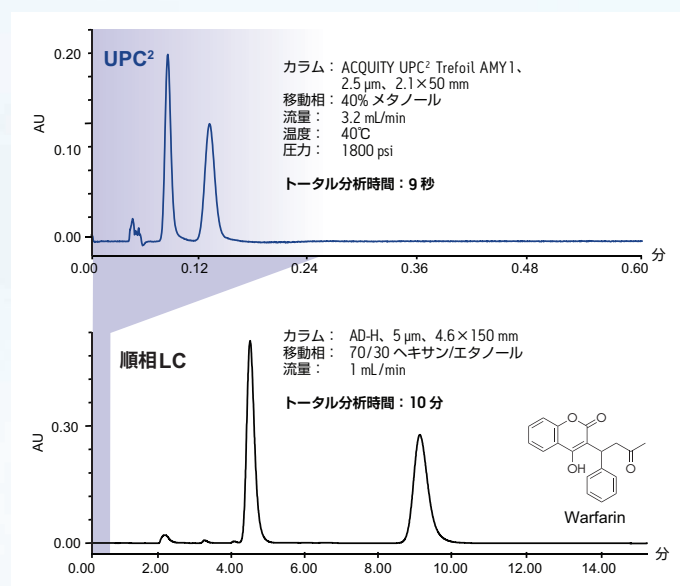


キラル分離は、すべて 2 分間のスクリーニングメソッドを用いて分析しました

ACQUITY UPC² Trefoil カラムは、ACQUITY UPC² システムにおいて、キラル分離の選択性の向上と分析時間短縮を実現し、分析法開発を迅速化するために独自に設計されたカラムです。Trefoil カラムでは、広範なキラル選択性を実現するために多糖誘導体ベースの固定相を採用しています。

順相キラル分析法から コンバージェンスキラル分析法への移管

ACQUITY UPC² Trefoil カラムを使用すると、従来の順相 LC キラル分析法を ACQUITY UPC² システムへ容易に移管することができます。これら従来の順相 LC 分析法の多くは、分析時間が長くなり、THF やヘキサンと塩素系溶媒を組み合わせる使用する場合が多く、購入時と廃棄時にコストがかさむといった短所があります。コンバージェンスキラル分析法では、従来の順相での分析法から、安価で無害な CO₂ を主な移動相として使用する、費用対効果の高い新しい分析法をシンプルに再開発できます。また、この新しい分析法と質量分析計を組み合わせることで、さらに多くの情報を得ることも可能です。



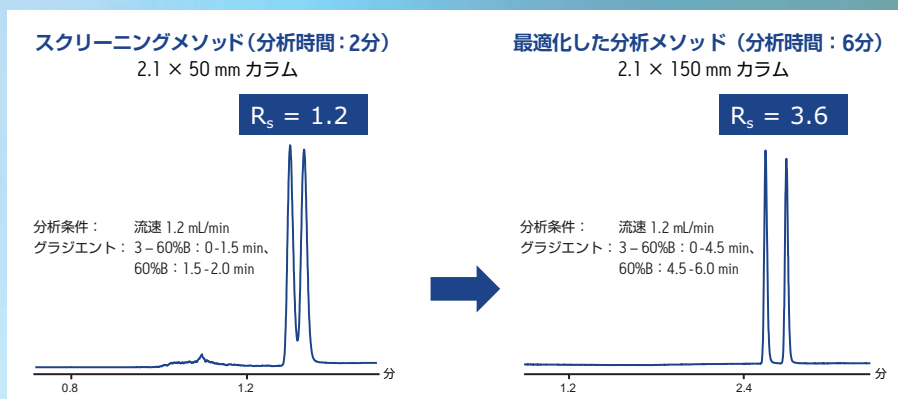
UPC² を使用することで、分析時間を 30 分の 1 に短縮、1 分析あたりの溶媒使用量を 75 分の 1、コストは 100 分の 1 に削減できます。

ACQUITY UPC²プラットフォームでコンバージェンスクロマトグラフィーを用いた新しいキラル分析法

高い信頼性と性能、低拡散の ACQUITY UPC² システムと Trefoil テクノロジーの固定相を組み合わせることで、分析法をさらに迅速に開発できます。内径の小さな短いカラム、少数の厳選された共溶媒、質量分析計に対応する添加剤を使用すると、ルーチンのグラジエントスクリーニング分析を 2 分で完了することが可能です。

内径の小さなカラム効率の高いカラムにより、使用する溶媒の量を従来の 4.6 mm カラムと比べて約 46 % 低減します。質量分析計での検出の感度向上、溶媒使用量の低減、分析時間の短縮によって、開発した分析法を再検証する余裕も生まれます。

分析法開発においては、目的のキラル分離が得られるまでの時間をできる限り短時間で、かつ分析法スクリーニングのためのインジェクション回数をできる限り少なくする方法が求められています。この探索を容易にするため、ウォーターズは ACQUITY UPC² Trefoil カラムと ACQUITY UPC² システムの組み合わせで、55 種類の多様なラセミ化合物を用いた検討を行いました。この検討で、共溶媒と質量分析計で使用可能な添加剤との 44 種類の組み合わせで 55 種類のラセミ化合物を分析する実験を実施し、最適なキラル認識ができる組み合わせを見出しました。ウォーターズはこの実験結果に基づいて、ACQUITY UPC² Trefoil カラムを使用する場合に最低限のステップでエナンチオマー分離を高い確率で成功させる推奨分析法開発ステップを提供します。



2 分間のスクリーニングメソッドから 6 分間の最適化メソッドに移管することで期待される分離能向上の例

3 種類のキラル固定相 (CSP) – ACQUITY UPC² Trefoil AMY1、CEL1、CEL2 – の検討結果の解析から、55 種類の化合物のうち 44 種類 (80%) が分離可能でした。これら分離可能な化合物のうち 96% は、混合溶媒と ACQUITY UPC² Trefoil カラムの最適な組み合わせによってわずか 4 回の分析で分離できました。最適な混合溶媒の代わりに単一の溶媒を用いた場合では、全化合物の 82% しか分離できませんでした。このことは、下記の表に記載されている溶媒と添加剤の混合溶媒を用いた最適経路スクリーニングを使用する利点を実証しています。

ステップ	カラムおよび共溶媒/ 添加剤の組み合わせ	累積 成功率
1	AMY1 エタノール/イソプロパノール/ アセトニトリル+酢酸アンモニウム	46%
2	CEL1 メタノール/ イソプロパノール+TFA	73%
3	CEL2 エタノール/ アセトニトリル+トリフルオロ酢酸	86%
4	AMY1 エタノール/ イソプロパノール+トリフルオロ酢酸	96%

スクリーニングメソッド
ACQUITY UPC² Trefoil 2.1 × 50 mm カラム
流量 1.2 mL/min
1 ステップ当たり 2.5 分のサイクル時間

キラル化合物のルーチン分析法開発は、3 種類の CSP と 4 種類グラジエント分析の組み合わせで 10 分以内で実施できることとなります。分析法開発ストラテジーとそのストラテジーを開発するための研究においては、コンバージェンスクロマトグラフィー用に最適化された分離効率の高い粒子径 2.5 μm の Trefoil テクノロジーケミストリーを内径の小さな短いカラムに充填したものをを用いて、2 分間の高速グラジエント分析を行いました。

ACQUITY UPC² Torus カラム

性能基準を新たなレベルに押し上げるアキラル分離ケミストリーラインアップ

添加剤の有無に関わらず卓越したピーク形状

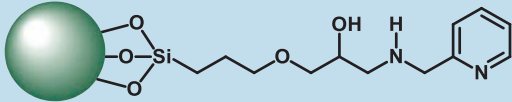
独自の官能基で幅広い独自の選択性

高いカラム効率でQCですぐに使える頑健性

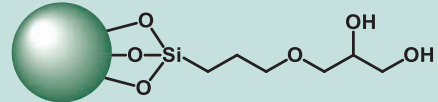
脂質や脂溶性ビタミンのための修飾官能基

ACQUITY UPC² Torus カラムは、ACQUITY UPC² システムの性能を最大限に利用し、迅速で頑健なアキラル分離を行うことを目指して設計されたカラムです。ACQUITY UPC² Torus カラムでは、コンバージェンスクロマトグラフィー用に全く新しい革新的な 4 種類の 1.7 μm ケミストリーを採用したことで、分析法の開発プロセスがよりシンプルになりました。また、添加剤を使用しなくても、あるいは添加量が少なくても優れたピーク形状が得られるように設計されており、幅広い化合物の選択性が向上するとともに高い頑健性を備えています。

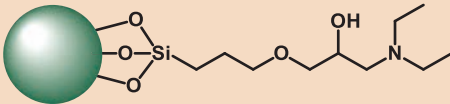
ACQUITY UPC² Torus 2-PIC、1.7 μm カラム
2-ピコリルアミン



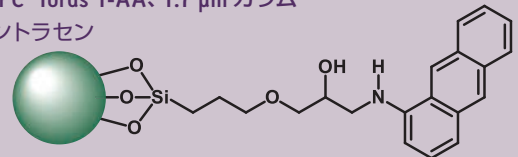
ACQUITY UPC² Torus DIOL、1.7 μm カラム
高密度ジオール



ACQUITY UPC² Torus DEA、1.7 μm カラム
ジエチルアミン



ACQUITY UPC² Torus 1-AA、1.7 μm カラム
1-アミノアントラセン



Torus カラムの固定相は、エチレン架橋型ハイブリッド (BEH) パーティクルの 2 段階官能基結合 (特許出願中) に基づいています。従来の SFC 分離中に固定相表面で起こる化学変化は、クロマトグラフィーにおけるばらつきの主な原因であることが確認されています。ACQUITY UPC² Torus カラムシリーズは、このような望ましくない反応を抑制するために固定相表面を保護する 2 段階結合プロセスを採用してこの問題に対処し、クロマトグラフィーで頑健な結果が得られます。充填剤の保持特性をコントロールする親水性層が最初の結合で形成されることで、時間経過とともに保持時間と選択性の変化をもたらす望ましくない表面相互作用が最低限に抑えられ、2 段階目に結合される官能基が、各 Torus ケミストリーの選択性とピーク形状特性を付与します。この 2 段階官能基結合によって、固定相の広範な選択性が実現し、頑健なクロマトグラフィー性能がカラムの使用期間を通して維持されます。

アキラルTorus UPC²分析法開発

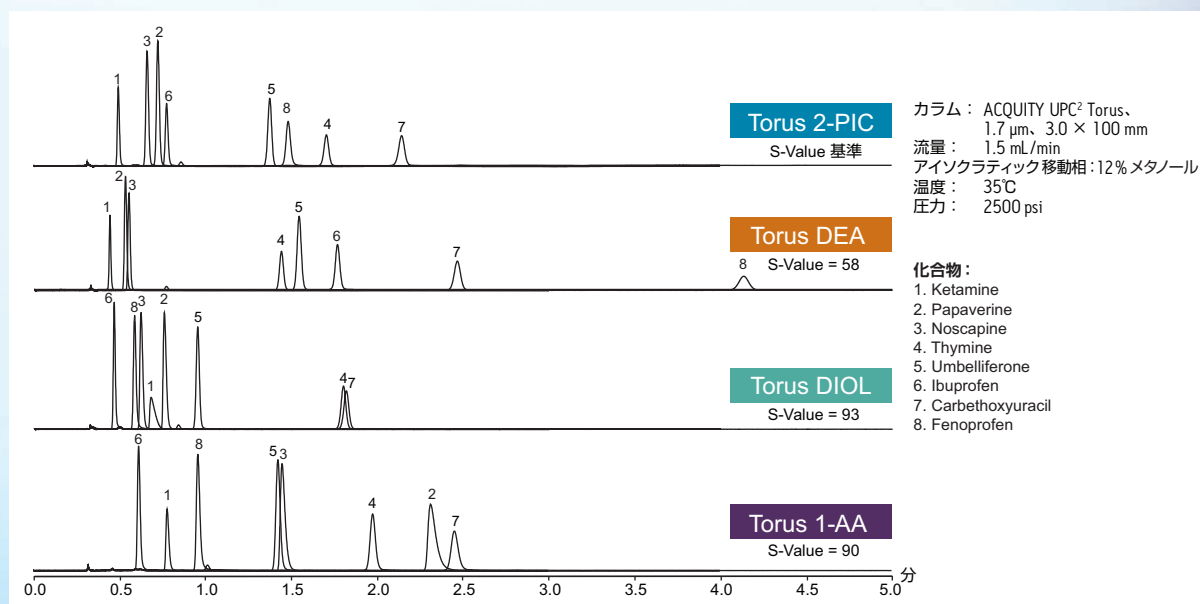
分析法開発では、選択性が大幅に異なりかつ保持力の優れた数種類のカラムを使うことが重要です。Torus ケミストリーは、酸性、塩基性、中性の分析種に対する幅広い選択性が得られるものを採用しました。添加剤の使用の有無に関わらず、固定相が優れたピーク特性とテーリング特性を示すよう、合成プロセスを最適化しています。頑健な分析法を開発するには、時間経過とともに性能（保持時間や選択性）が変化しないカラムが必要です。

ACQUITY UPC² Torus カラムに推奨される初期条件

塩基性化合物	酸性化合物	中性化合物	混合物または未知物質
TORUS 2-PIC	TORUS 2-PIC	TORUS 2-PIC	TORUS 2-PIC
TORUS DEA	TORUS DIOL	TORUS 1-AA + NH ₃	TORUS DIOL
	TORUS DIOL + NH ₃	TORUS 1-AA + TFA	TORUS DEA
			TORUS 1-AA + NH ₃
			TORUS 1-AA + TFA

推奨される ACQUITY UPC² Torus カラムおよび分離条件ステップに従うことで、分析法開発プロセスをさらに迅速化することができます

分析法開発では、最適なカラムと分離条件の選択が大きな課題となる場合があります。ACQUITY UPC² Torus カラムシリーズでは、最適なピーク形状と分離効率を実現しながら、選択性を変えるための最大限の選択肢を提供します。4 種類の Torus ケミストリーでは、分析法開発時の課題解決を容易にする幅広い選択性 (S-Value*) が得られます。



ACQUITY UPC² Torus カラムファミリーは、酸性、塩基性、中性の各化合物に対して異なる選択性が得られます

* (1) U.D. Neue, E.S. Grumbach, J.R. Mazzeo, K. Tran, and D.M. Wagrowski-Diehl "Method development in reversed-phase chromatography" Chap. 6 in: I.D. Wilson, ed. Bioanalytical Separations, Handbook of Analytical Separations, Vol. 4 Elsevier, Amsterdam (2003); (2) U.D. Neue, J.E. O'Gara, and A. Méndez "Selectivity in reversed-phase separations: influence of the stationary phase" *J. Chromatogr. A* 1127(1-2): 161-174 (2006); (3) U.D. Neue and A. Méndez "Selectivity in reversed-phase separations: general influence of solvent type and mobile phase pH" *J. Sep. Sci.* 30(7): 949-963 (2007).

UPC² 品質管理標準

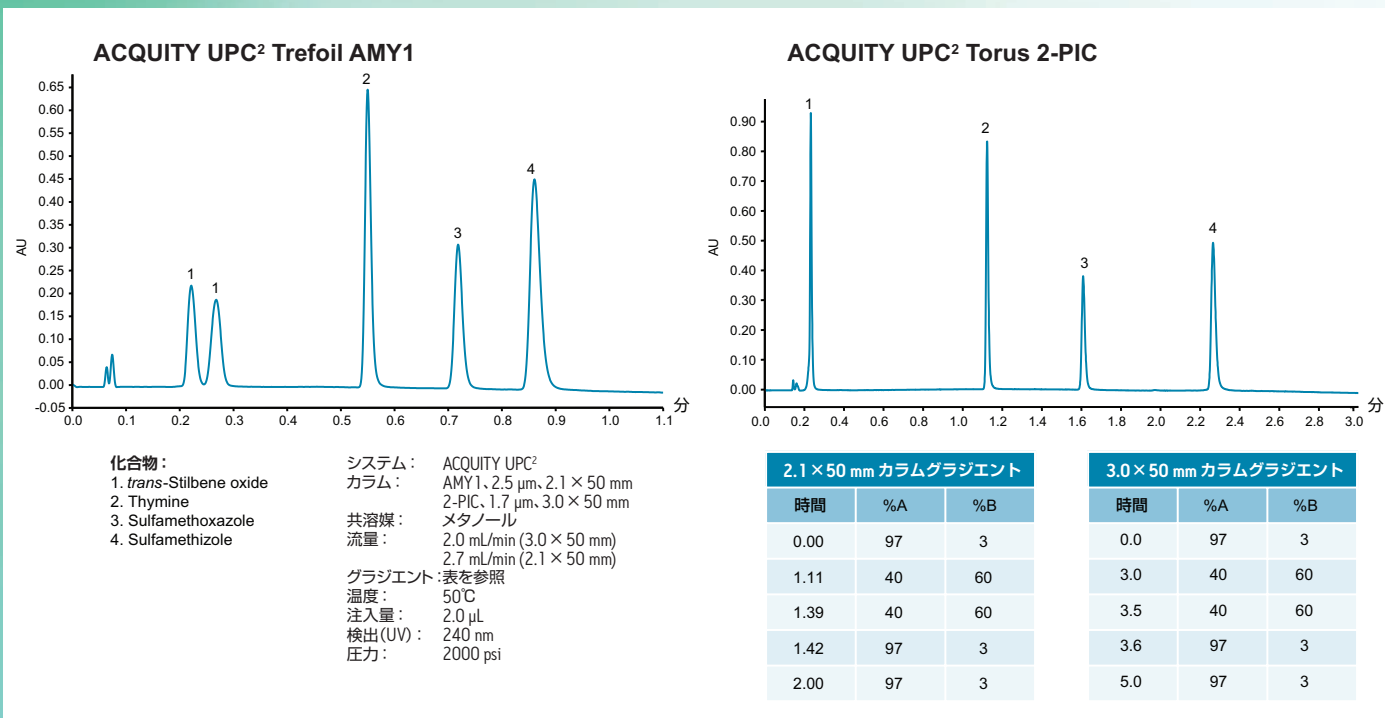
品質管理標準 (QCRM) は、さまざまなクロマトグラフィーシステムの性能を簡単かつ信頼のおける方法でモニタリングするために、特別に選定され最適に混合されたスタンダードです。QCRM を用いることで、カラムやシステムがサンプル分析を行える状態になっていることを確認できます。また QCRM を定期的に使うことで、クロマトグラフィーシステムの性能や経時的な性能の変化を評価することもできるため、問題が起る前に原因を特定し、より早い段階で迅速かつ簡単に解決することができます。



ACQUITY UPC² 品質管理標準 (QCRM)

使用目的	組成	製品番号
コンバージョンクロマトグラフィーのキラル分離およびアキラル分離の性能評価	1. 0.50 mg/mL (+/-) <i>trans</i> -Stilbene oxide 2. 0.50 mg/mL Thymine 3. 0.50 mg/mL Sulfamethoxazole 4. 0.50 mg/mL Sulfamethizole	186007950
	上記を75:25 アセトニトリル:メタノールの1 mLに含有	

ACQUITY UPC² システムで用いる ACQUITY UPC² Trefoil カラムおよび Torus カラム の両方に対応する QCRM



ACQUITY UPC² Trefoil および Torus カラムにおける UPC² QCRM 分析時のクロマトグラム

UPC² QCRM は、ACQUITY UPC² Trefoil カラムと Torus カラムの両方で使用できます。4 種類の化合物が混合された UPC² QCRM は、クロマトグラフィー性能に影響を及ぼす以下の主な要素を考慮して最適化されました。

- 確実に分離される化合物で、幅広いクロマトグラフィー溶出範囲を網羅
- キラル分離能力を検証できるキラル化合物を含有
- 質量分析計の性能を検証できるイオン性化合物を含有
- すべての化合物が UV 検出に対応

装置と検出器のキャリブレーション、適合性試験、チューニングに特化したスタンダードに関する詳細情報と、すべてのスタンダードおよび試薬の一覧については、asr.waters.com をご覧ください。

関連製品のオーダーインフォメーション

ACQUITY UPC² Trefoil カラム

カラムサイズ	粒子径	AMY1	CEL1	CEL2
2.1 x 50 mm	2.5 µm	186007457	186007461	186007654
2.1 x 150 mm	2.5 µm	186007458	186007462	186007655
3.0 x 50 mm	2.5 µm	186007459	186007463	186007656
3.0 x 150 mm	2.5 µm	186007460	186007464	186007657

ACQUITY UPC² Trefoil カラム分析法開発キット

キット内容	商品番号
ACQUITY UPC ² Trefoilカラムスクリーニングキット、 2.1 × 50 mm カラム (AMY1, CEL1, CEL2)、3/pk	176003577
ACQUITY UPC ² Trefoilカラム最適化キット、 3.0 × 150 mm カラム (AMY1, CEL1, CEL2)、3/pk	176003578

ACQUITY UPC² Trefoil カラム分析法バリデーションキット

キット内容	商品番号
ACQUITY UPC ² Trefoil AMY1 分析法バリデーションキット、2.5 µm、3.0 × 150 mmカラム、3/pk	186008030
ACQUITY UPC ² Trefoil CEL1 分析法バリデーションキット、2.5 µm、3.0 × 150 mmカラム、3/pk	186008031
ACQUITY UPC ² Trefoil CEL2 分析法バリデーションキット、2.5 µm、3.0 × 150 mmカラム、3/pk	186008032

ACQUITY UPC² Torus カラム

カラムサイズ	粒子径	2-PIC	DEA	DIOL	1-AA
2.1 x 50 mm	1.7 µm	186007596	186007614	186007605	186007623
2.1 x 75 mm	1.7 µm	186007597	186007615	186007606	186007624
2.1 x 100 mm	1.7 µm	186007598	186007616	186007607	186007625
2.1 x 150 mm	1.7 µm	186007599	186007617	186007608	186007626
3.0 x 50 mm	1.7 µm	186007600	186007618	186007609	186007627
3.0 x 75 mm	1.7 µm	186007601	186007619	186007610	186007628
3.0 x 100 mm	1.7 µm	186007602	186007620	186007611	186007629
3.0 x 150 mm	1.7 µm	186007603	186007621	186007612	186007630

ACQUITY UPC² Torusカラム分析法開発キット

キット内容	商品番号
ACQUITY UPC ² Torus カラム分析法開発キット、2.1 × 50 mmカラム (2-PIC、DEA、DIOL、1-AA)、4/pk	176003579
ACQUITY UPC ² Torus カラム分析法バリデーションキット、3.0 × 100 mmカラム (2-PIC、DEA、DIOL、1-AA)、4/pk	176003580

ACQUITY UPC² Torusカラム分析法バリデーションキット

キット内容	商品番号
ACQUITY UPC ² Torus 2-PIC 分析法バリデーションキット、1.7 µm、3.0 × 100 mmカラム、3/pk	186008033
ACQUITY UPC ² Torus DEA 分析法バリデーションキット、1.7 µm、3.0 × 100 mmカラム、3/pk	186008034
ACQUITY UPC ² Torus DIOL 分析法バリデーションキット、1.7 µm、3.0 × 100 mmカラム、3/pk	186008035
ACQUITY UPC ² Torus 1-AA 分析法バリデーションキット、1.7 µm、3.0 × 100 mmカラム、3/pk	186008036

ACQUITY UPC² BEH、CSH、HSS カラム

カラムサイズ	粒子径	BEH 2-EP	BEH	CSH Fluoro-Phenyl	HSS C ₁₈ SB, 1.8 µm
2.1 x 50 mm	1.7 µm	186006576	186006558	186006567	186006617
2.1 x 75 mm	1.7 µm	186006577	186006559	186006568	186006618
2.1 x 100 mm	1.7 µm	186006578	186006560	186006569	186006619
2.1 x 150 mm	1.7 µm	186006579	186006561	186006570	186006620
3.0 x 50 mm	1.7 µm	186006580	186006562	186006571	186006621
3.0 x 75 mm	1.7 µm	186006581	186006563	186006572	186006622
3.0 x 100 mm	1.7 µm	186006582	186006564	186006573	186006623
3.0 x 150 mm	1.7 µm	186006588	186006568	186006577	186006628

カラムサイズ	粒子径	BEH 2-EP	BEH	CSH Fluoro-Phenyl	HSS C ₁₈ SB
2.1 x 50 mm	3.5 µm	186006652	186006634	186006643	186006625
2.1 x 75 mm	3.5 µm	186006653	186006635	186006644	186006626
2.1 x 100 mm	3.5 µm	186006654	186006636	186006645	186006627
2.1 x 150 mm	3.5 µm	186006655	186006637	186006646	186006628
3.0 x 50 mm	3.5 µm	186006656	186006638	186006647	186006629
3.0 x 75 mm	3.5 µm	186006657	186006639	186006648	186006630
3.0 x 100 mm	3.5 µm	186006658	186006640	186006649	186006631
3.0 x 150 mm	3.5 µm	186006659	186006641	186006650	186006632

ACQUITY UPC² 分析法開発キット

キット内容	商品番号
ACQUITY UPC ² 分析法開発キット、3.0 × 100 mm (BEH 2-EP、BEH、CSHFluoro-Phenyl、HSS C ₁₈ SB)、4/pk	176003050
ACQUITY UPC ² カラムスクリーニングキット、2.1 × 50 mm (BEH 2-EP、BEH、CSHFluoro-Phenyl、HSS C ₁₈ SB)、4/pk	176003091

世界のウォーターズ

Australia 61 2 9933 1777
Austria 43 1 877 18 07
Belgium and Luxembourg 32 2 726 1000
Brazil 55 11 4134 3788
Canada 1 800 252 4752
China 86 21 6156 2666
Czech Republic 420 2 617 11384
Denmark 45 46 59 8080
Finland 358 9 5659 6288
France 33 1 30 48 72 00
Germany 49 6196 400 600
Hong Kong 852 2964 1800
Hungary 36 1 350 5086
India 91 080 49292200 03
Ireland 353 1 448 1500
Israel 9723 3731391
Italy 39 02 265 0983
Japan 81 3 3471 7191
Korea 82 2 6300 9200
Mexico 52 55 52 00 1860
The Netherlands 31 76 508 7200
Norway 47 6 384 6050
Poland 48 22 101 5900
Portugal 351 21 893 61 77
Puerto Rico 1 787 747 8445
Russia/CIS 7 495 727 4490 / 290 9737
Singapore 65 6593 7100
Spain 34 93 600 9300
Sweden 46 8 555 115 00
Switzerland 41 56 676 7000
Taiwan 886 2 2501 9928
UAE 971 4 214 62 38
UK 44 208 238 6100
US 1 800 252 4752

www.waters.com/upc2

upc2.waters.com

www.waters.com/upc2columns

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

日本ウォーターズ株式会社 www.waters.com

東京本社 〒140-0001 東京都品川区北品川1-3-12 第5小池ビル TEL 03-3471-7191 FAX 03-3471-7118
大阪支社 〒532-0011 大阪市淀川区西中島5-14-10 新大阪トヨタビル11F TEL 06-6304-8888 FAX 06-6300-1734
ショールーム 東京 大阪
サービス拠点 東京 大阪 札幌 福島 静岡 富山 名古屋 徳島 福岡

Waters、The Science of What's Possible、ACQUITY、ACQUITY UPLC、ACQUITY UPC²、Empower、MassLynx、UPC²、UPLC および Xevo は Waters Corporation の登録商標です。eCord、Trefoil、Torus、VanGuard および UltraPerformance Convergence Chromatography は Waters Corporation の商標です。その他すべての商標はそれぞれの所有者に帰属します。

©2015 Waters Corporation. Printed in Japan. 2015年7月 720004225JA 07E (A)



適用規格: JISQ9001:2008 (ISO9001:2008)
登録番号: JMAQA-331 登録日: 1999年05月31日