

ChiroSil

1. はじめに

アプリケーション

ChiroSil カラムは、各種の中性および非中性のαアミノ酸や一級アミンの鏡像異性体（エナンチオマー）の分析にとっても有効です。

他にも、アミノアルコール（β-遮断薬）、二級アミン、一級アミンや二級アミンを含有する薬物などのラセミ化合物も、ChiroSil カラムでの分離が期待できます。

ChiroSil 固定相の構造

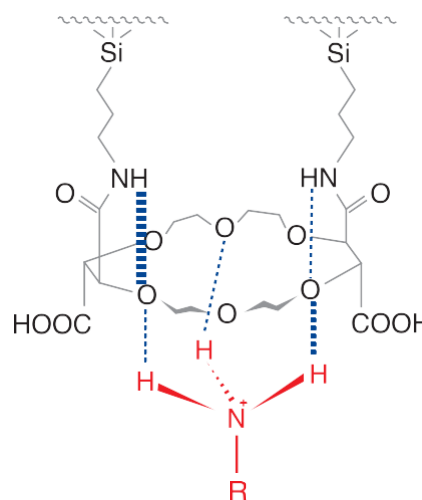
ChiroSil RCA(+) と SCA(-) のキラル固定相は、(+)もしくは(-)-(18-クラウン-6)-テトラカルボン酸の3官能性の複合結合をアミノプロピルシリカゲルに対するキラルセクターとして使用しています。

分離のメカニズム

キラルクラウンエーテルをベースにした ChiroSil のメカニズムは、下記の異なる二種類に基づくと考えられる。

一つ目は、ChiroSil CSP の18-クラウン-6 環のキャビティ内での、酸性条件下でプロトン化したαアミノ酸と一級アミンによって形成される第一級アンモニウム基 (R-NH₃⁺) の錯体形成です。

二つ目は、ChiroSil CSP の2つのカルボン酸基があるサイドが、立体障害基、もしくは水素結合のドナー基がアクセプター基として作用するものです。



Product List

	Particle size (μm)	Length (mm)	2.1 mm ID	3.0 mm ID	3.9 mm ID	4.6 mm ID	7.8 mm ID	10.0 mm ID	21.2 mm ID
RCA	3	50	RCA-51000521	RCA-51000530	RCA-51000539	RCA-51000546	-	-	-
		70	RCA-51000721	RCA-51000730	RCA-51000739	RCA-51000746	-	-	-
		100	RCA-51001021	RCA-51001030	RCA-51001039	RCA-51001046	-	-	-
		150	RCA-51001521	RCA-51001530	RCA-51001539	RCA-51001546	RCA-51001578	-	RCA-510015200
		250	RCA-51002521	RCA-51002530	RCA-51002539	RCA-51002546	RCA-51002578	RCA-510025100	RCA-510025200
SCA	5	50	SCA-51000521	SCA-51000530	SCA-51000539	SCA-51000546	-	-	-
		70	SCA-51000721	SCA-51000730	SCA-51000739	SCA-51000746	-	-	-
		100	SCA-51001021	SCA-51001030	SCA-51001039	SCA-51001046	-	-	-
		150	SCA-51001521	SCA-51001530	SCA-51001539	SCA-51001546	SCA-51001578	-	SCA-510015200
		250	SCA-51002521	SCA-51002530	SCA-51002539	SCA-51002546	SCA-51002578	SCA-510025100	SCA-510025200

2. ChiroSil の利点

ユニバーサルな溶媒適用性

ChiroSil カラムは他社製のクラウンエーテルカラムと比べて、より多くの種類の移動相の使用が可能です。ChiroSil のキラルセクターはシリカゲルと共有結合している為、キラル認識能を損なうことはありません。

ChiroSil のキラル固定相は、順相、逆相のどちらの溶媒でも使用することが可能です。例えば、ChiroSil カラムでラセミ化合物を分析する場合には、100 % メタノールを移動相として使用することが可能です。

溶出順序の入れ替え

ChiroSil はカラムを切り替えることで、鏡像異性体（エナンチオマー）の溶出順序を入れ替えることが可能です。ChiroSil RCA(+) カラムでアミノ酸を分析すると、ほとんどの L 型 鏡像異性体（エナンチオマー）は先に溶出します。一方、ChiroSil SCA(-) カラムでは、D 型 鏡像異性体（エナンチオマー）が先に溶出します。

優れたカラム耐久性

ChiroSil の安定性は高い酸性条件下でテストされています。300 時間の継続使用の後でも、 α と k' に変化は認められません。



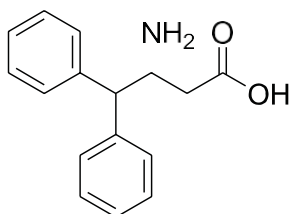
3. メソッド開発

ChiroSil[®] カラムは、水系の酸性条件で使用します。

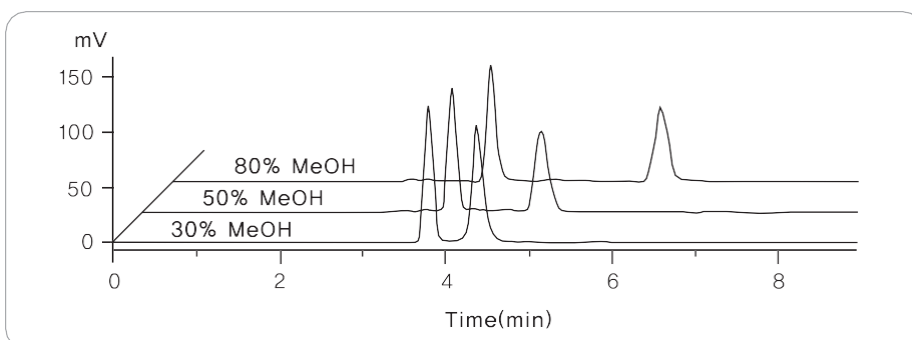
有機モディファイヤー

有機モディファイヤーの比率が高くなると、水系の移動相の極性は弱くなり、より疎水性となります。この場合、極性プロトン性の分析対象物と移動相の親水性相互作用は少なくなるので、水系移動相の有機モディファイヤーの量が増えると、保持力は強くなります。

有機モディファイヤーの比率が高くなると、通常キャパシティーファクター (k') も高くなります。また、分離係数 (α) と分離度 (Rs) も、水系移動相の有機モディファイヤー比率が高くなると大きくなります。



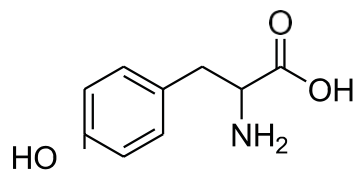
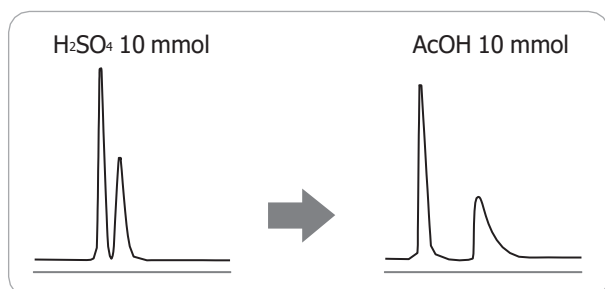
Mobile phase: Methanol in H₂O+ sulfuric acid (10mM)
Column: ChiroSil RCA type
Flow rate: 0.5ml/min
Detector: UV 210nm
Sample: 3-amino-4,4-diphenylbutyric acid



酸性モディファイヤーと酸濃度

* 酸性モディファイヤー
酢酸、過塩素酸、硫酸、リン酸、トリフルオロ酢酸等、各種の酸を ChiroSil カラムで使用可能です。

それぞれの酸のエナンチオ選択性は異なる為、トライアル&エラーで良い分解能の得られる適切な酸を探すことが推奨されます。

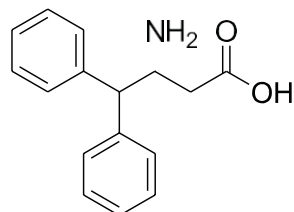


Column : ChiroSil SCA(-)
150x4.6mm Flow rate: 1.0ml/min
Detector : UV 210nm
Sample: Tyrosine

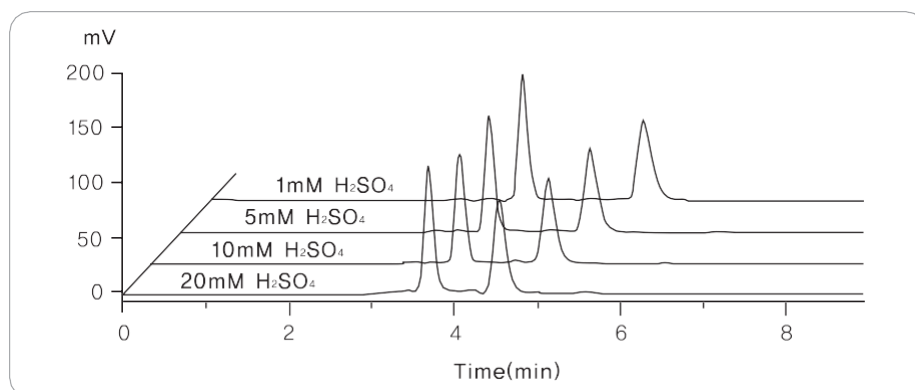
*酸濃度

水系の移動相の酸性モディファイヤーの比率が高くなると、移動相のイオン強度は高くなり、極性プロトン性の分析対象物の水和反応や溶解度は高くなります。この場合、極性プロトン性の分析対象物の溶出時間は、移動相の酸性モディファイヤーの量が増えるにつれて早くなります。

一般的に、酸性モディファイヤーの比率が高くなるとキャパシティーファクター (k') は低くなりますが、新しい分析対象物の分離を試す場合には酸性モディファイヤーの比率は低くすることを推奨します。これは、移動相の酸性モディファイヤー比率が高くなっても、必ずしも高い分解能を実現するとは限らないことによります。

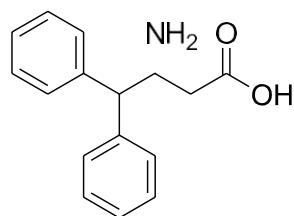


Mobile phase: 50% Methanol in H₂O+ sulfuric acid (10mM)
 Column: ChiroSil RCA type
 Flow rate:
 0.5ml/min
 Detector: UV
 210nm
 Sample: 3-amino-4, 4-diphenylbutyric acid

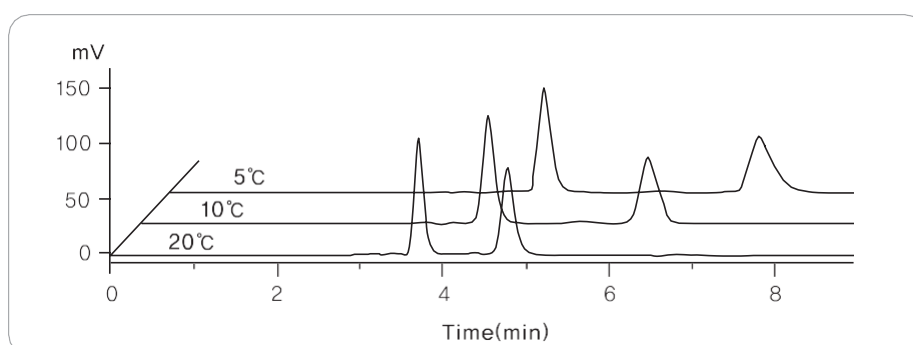


温度

温度が低い場合、CSPのクラウンエーテル環のキャビティ内の二種類のラセミ化合物エナンチオマーで形成されるジアステレオマー複合体の生成は、より不安定なジアステレオマー複合体の生成よりも生じやすくなります。カラムの温度が低い程、ジアステレオマー複合体の生成の安定性の差はより大きくなり、キャパシティーファクター (k')、分離係数 (α) と分離度 (R_s) は改善されます。



Mobile phase: 50% Methanol in H₂O+ sulfuric acid (10mM)
 Column: ChiroSil RCA type
 Flow rate:
 0.5ml/min
 Detector: UV
 210nm
 Sample: 3-amino-4, 4-diphenylbutyric acid



4. 一般的な使用条件

保管

ChiroSil カラムの出荷溶媒は 100% メタノールです。

温度

安全に使用できる温度はすべての溶媒モードで -5°C から 50°C です。多くのケースで、温度が低い程より高い分解能を示します。

pH 範囲

ChiroSil カラムの使用 pH 範囲は 1.5 ~ 7.5 となります。

圧力

ChiroSil カラムの一般的な使用可能な圧力範囲は 1000 psi ~ 5000psi となります。

カラムの洗浄

ChiroSil カラムを酸性条件下で使用した後、絶対に酸性物質を含んだ状態で保管しないでください。

分析が完了したら、20mL の蒸留水で洗浄します。始めは流速 1mL/min で洗浄し、徐々にメタノールを増やします。最終的に、20mL のメタノールで、流速 1.0L/min で洗浄します。

洗浄後は ChiroSil カラムは 100% メタノールで保管することが推奨されます。

平衡化時間

ChiroSil カラムで安定した保持係数を実現させるためには、十分な時間をかけて平衡化させることが必要となります。（下表参照）

移動相の平衡化の間、すべての分析対象物に対してエナンチオ選択的分離が見られますが、その後、保持係数は安定するまで徐々に低下し続けます。

Mode	コンディショニング前	コンディショニング後	流速	温度	平衡化時間
逆相 (RP)	100% MeOH	有機溶媒 / 水 + x mM 酸	1.0mL/min	20°C	7hrs
	有機溶媒 / 水 + x mM 酸	有機溶媒 / 水 + x mM 酸	1.0mL/min	20°C	2hrs
順相 (NP)	100% MeOH	EtOH もしくは IPA 30 分 → 溶媒 / EtOH + mM 酸	1.0mL/min	20°C	7hrs
	有機溶媒 / 水 + x mM 酸	有機溶媒 / 水 + x mM 酸	1.0mL/min	20°C	2hrs