Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

APPLICATION HIGHLIGHT:

UPC²によるステロイド類の分析

Christopher J. Hudalla and Kenneth J. Fountain/Waters Corporation, Milford, MA, USA

はじめに

ステロイド生合成は単純な前駆体から複数のステロイド化合物を合成する複雑な代謝経路をたどります。この生合成経路は動物固有のものであり、抗生物質や他の抗感染症薬などの一般的な標的とされています。ステロイド化合物をベースにした治療薬の開発には正確で精度の高いステロイド類の分析が重要となります。GC/MS を用いる従来の分析方法ではサンプルの誘導体化と 25 分前後の長い分析時間を必要とします。また、LC/MS による分析時間は 4 ～ 12 分程度です。ステロイド化合物の多くは構造が類似しているため、質量分析計による選択性を用いたとしても分析が困難です。つまり、クロマトグラフィーによる分離はステロイド類の分析にとっては必須であるものの、誘導体化ステロイド化合物の分析には長い時間がかかります。UPC²® は主な移動相として CO_2 を用いることで、図 1 に示すような構造が類似した化合物を迅速かつ正確に分析できる唯一のシステムです。

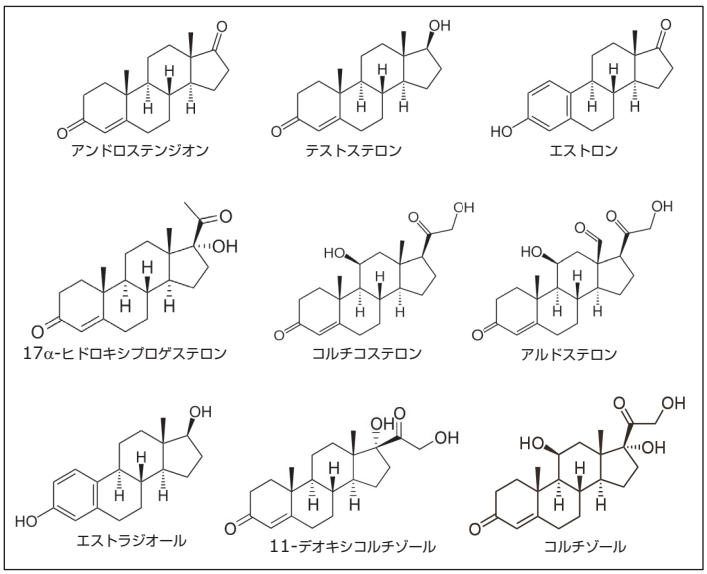

図 1. 今回用いたステロイド化合物の構造式

分析条件

アンドロステンジオン、エストロン、17 α - ヒドロキシプロゲステロン、テストステロン、11- デオキシコルチゾール、エストラジオール、コルチコステロン、アルドステロン、コルチゾール、以上、9 種類のステロイド化合物を 88：12 のメタノール / エタノールの希釈液を用いて 0.2 mg/mL の濃度になるよう混合溶液を調製しました。

全てのデータは、PDA 検出器付きの ACQUITY UPC²™ システムで取得し、3 種類の異なるケミストリー（BEH、BEH 2-EP、CSH Fluoro-Phenyl）の ACQUITY UPC² カラム　粒子径 1.7 µm、内径 3.0 mm、長さ 50 mm を用いてサンプルのスクリーニングを行いました。

移動相は CO_2 と、共溶媒としてメタノールを用いました。

サンプル注入量 1 µL、設定温度 40℃、出口圧力 1800 psi、流速 3.65 mL/ 分、メタノール 2% から 17% の 2 分間のスクリーニンググラジエントの条件を用いて、UV220 nm（補正 380 ～ 480 nm）のデータを取得しました。

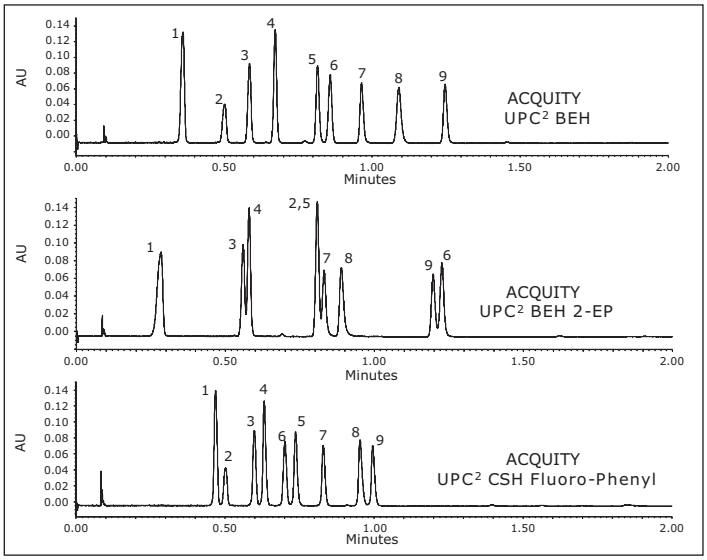

図 2. ACQUITY UPC² カラムの BEH（上段）、BEH 2-EP（中段）、CSH Fluoro-Phenyl（下段）によるステロイド化合物標準品の UPC² 分離（UV 検出）
カラムサイズは全て 1.7 µm、3.0 × 50.0 mm
ステロイド化合物：(1) アンドロステンジオン、(2) エストロン、(3) 17 α - ヒドロキシプロゲステロン、(4) テストステロン、(5) 11- デオキシコルチゾール、(6) エストラジオール、(7) コルチコステロン、(8) アルドステロン、(9) コルチゾール

結果

図 2 のクロマトグラムに示すように、ACQUITY UPC^2 の固定相の選択性の違いだけではなく、この分離技術特有のスピードにより、従来の技術に比べ大幅な分析時間の削減が可能でした。GC では必須であったサンプルの誘導体化を実施せずに有機溶媒で抽出したサンプル液を直接分析することができ、しかも、逆相 LC で必要とされていた極性溶媒への再調製の必要性を無くしました。以上のことから、分析時間やサンプル調製時間、溶媒コスト、溶媒廃棄処理を大幅に削減することにより、ワークフローが合理化されることが示されました。

オーダリングガイド

カラム	パーツ番号
ACQUITY UPC^2 BEH 3.0 × 50.0 mm、1.7 µm カラム	186006562
ACQUITY UPC^2 BEH 2-EP 3.0 × 50.0 mm、1.7 µm カラム	186006580
ACQUITY UPC^2 CSH Fluoro-Phenyl 3.0 × 50.0 mm、1.7 µm カラム	186006571

インターネット接続環境下でご覧の場合、パーツ番号をクリックしていただくと、アプリケーションに使用されている製品ページが表示されます。

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 サムティ新大阪フロントビル 11F TEL 06-6304-8888 FAX 06-6300-1734

ショールーム 東京 大阪

テクニカルセンター 東京 大阪 名古屋 福岡 札幌

Waters、UPC^2 および The Science of What's Possible は Waters Corporation の登録商標です。
ACQUITY UPC^2 は Waters Corporation の商標です。その他すべての登録商標はそれぞれの所有者に帰属します。

©2014 Waters Corporation. Printed in Japan. 2014年1月 720004527JA PDF