[TECHNOLOGY BRIEF]

反応モニタリングにおいて重要な分離の選択性

Michael D. Jones, Sean M. McCarthy, and Paula Hong, Waters Corp, 34 Maple Street, Milford, MA, USA
James McKearin, Prime Organics Inc., 25 Olympia Ave, Woburn, MA, USA

目的

合成反応混合物を分析する際に、UPC^2 の LC と異なる選択性が与えるメリットの実証

背景

新規化学物質（new chemical entities, NCE）の開発では、反応混合物、合成中間体および単離した化合物を解析する必要があります。反応に用いた物質の純度を理解することにより、反応比率の向上、触媒のクエンチング機構の抑制、スケールアップ予測に関する情報が得られます。

反応混合物の複雑さゆえに、単一のクロマトグラフィーメソッドまたは手法による分析のみから、科学者が必要とする情報のすべてを得ることは困難で、分離の選択性が乏しいために不純物の分離が不十分となり、合成経路を通して目的物質の収率に影響を与えるケースもあります。

最近、LC を用いたハイスループットスクリーニング（HTS）では、分離の選択性を変化させるため、高 pH、低 pH 条件などのスクリーニング戦略が採用されています。しかし、この反応モニタリング過程では、合成過程で生じる構造的に類似した化合物の分離が求められ、このような戦略を持ってしても効果が不十分である場合もあります。NCE を化合物ライブラリーに提出する際には、化合物の固有性、純度の評価が極めて重要となり、別の相補的な分離戦略を立てることが解決策となります。

UPC^2 の異なるクロマトグラフィー選択性が頑健で正確な合成反応混合物の特性解析を可能に

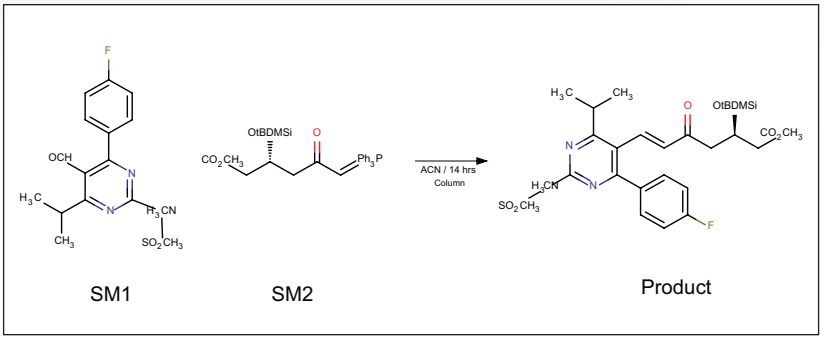

図 1. ロスバスタチン合成反応スキームの 1 反応段階

ソリューション

HMG-CoA 阻害剤であるロバスタチンの医薬品製剤原料の合成モニタリングについて、ACQUITY UPC^{2TM} に UV 検出のための ACQUITY UPC^2 PDA 検出器、質量検出のための ACQUITY® QDa® 検出器を組み合わせた装置構成で、コンバージェンスクロマトグラフィーの評価を行いました。わかりやすくするため、合成の 1 段階（図 1 参照）の ACQUITY UPC^2 の結果と高 / 低 pH スクリーニング法による逆相 UPLC の結果を比較しました。

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

図 2、図 3 に示したように、分離の選択性の相違が明らかに現れました。反応時間 0 では、ACQUITY UPC^2（A）、低 pH 条件での UPLC®（B）、高 pH 条件での UPLC（C）のすべてにおいて反応混合物中の出発物質である SM1 と SM2 が分離されました（図 2）。さらに数時間反応後にモニタリングを行ったところ、UPC^2 では混合物中の出発物質とともに最終産物を分離することができました（図 3）。一方、UPLC では高、低どちらの pH 条件においても最終産物（PDT）と出発物質（SM1）との間に分離の選択性が得られませんでした。また UPLC による逆相分析では、出発物質の SM2 はほとんど検出されず、反応が終了したように見られ、UPC^2® ではこの現象は見られませんでした。

UPLC によるモニタリングに使用した UV270 nm の波長は出発物質の検出には適していますが、生成物には適しませんので 3 次元 UV データを利用する必要があり、この実験では 210 - 410 nm の範囲の 3 次元データを用いました。これにより UV スペクトルの解析、選択した波長でのクロマトグラムの抽出も可能になります。UV スペクトルから生成物の最大吸収波長が 295 nm であることが示唆され、検出波長を変えたメソッドを作り直すことなく反応モニタリングに最適な波長のクロマトグラムを抽出しました。

興味深いことに、UPLC での逆相モードでは UV295 nm の波長での SM2 の検出が困難でした。移動相の UV 吸収が SM2 の検出を妨害したためで、これにより反応が終了したように見られたと考えられます。目的産物をモニターするためには検出波長を変える必要がありますが、PDA3 次元データを取得しておくことにより、出発物質の検出に適した 270 nm の波長データを確認できます。また、UV270 nm でのデータと MS データを組み合わせることで、最終産物の精製段階において SM2 の存在の確認が可能になります。

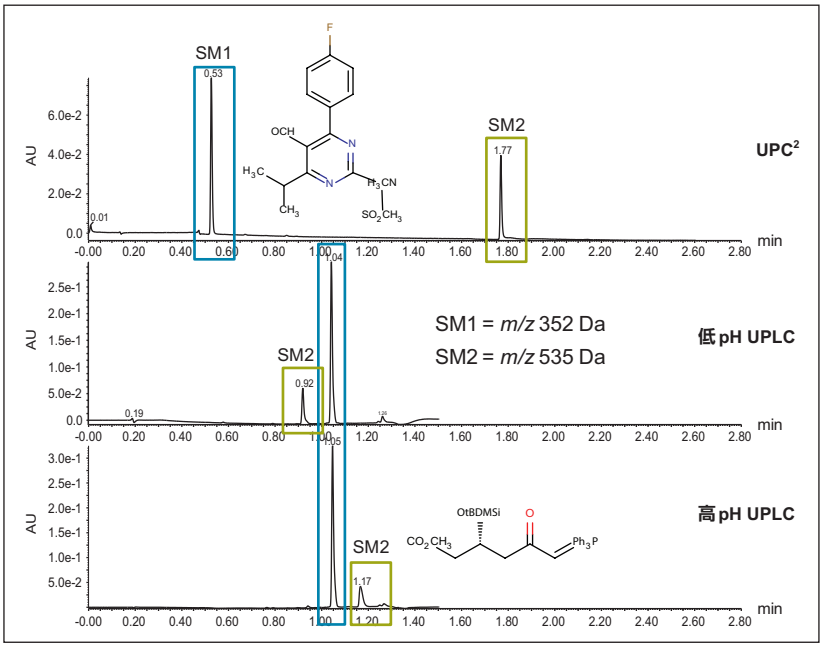

図 2. 反応時間 0 分での UV 270 nm の重ね書きクロマトグラム
(A) ACQUITY UPC^2、(B) UPLC 低 pH、(C) UPLC 高 pH
SM1、SM2 の構造については図 1 を参照

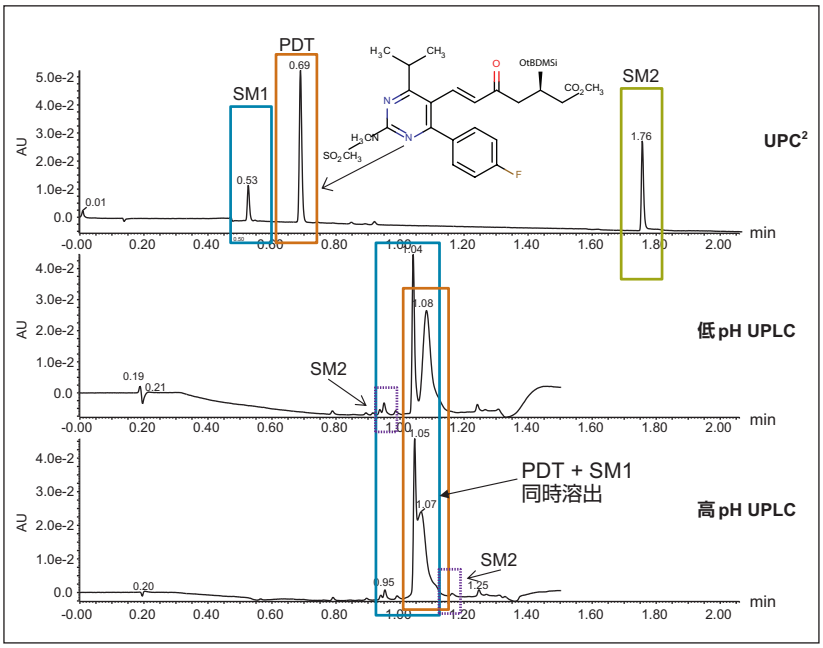

図 3. 反応時間 6 時間での UV 298 nm の重ね書きクロマトグラム
(A) ACQUITY UPC^2、(B) UPLC 低 pH、(C) UPLC 高 pH

まとめ

高 / 低 pH 移動相スクリーニングを利用する逆相 LC による反応混合物分析に、ACQUITY UPC^2 を加えることにより新たな分離の選択性、相補性が得られます。また、PDA の 3 次元 UV データから出発物質、最終産物それぞれに最適な波長データを抽出し、スペクトルのプロファイルを評価することにより、検出波長を変更して複数回の分析を行うことなく反応モニタリングを実施することができます。さらに、MS 検出、PDA 検出の両方の利用は、反応過程や純度についてより正確で定量的な評価を可能にします。

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 富山

Waters、ACQUITY、UPLC、UPC^2、QDa 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 8月 720005020JA PDF