

## Application News

高速液体クロマトグラフ Nexera™ FV

# Nexera FVを用いた合成反応のオンラインモニタリング

井星 大雅、坂本 勝正

### ユーザーベネフィット

- ◆ 合成反応のオンラインモニタリングが可能です。
- ◆ 専用ソフトウェアにより、設定したサンプリング間隔に応じて自動でサンプリング可能です。
- ◆ 自動前処理機能により、サンプリングから希釈までの作業を自動で実施できます。

### ■はじめに

医薬品やファインケミカル業界では、従来主流であったバッチ生産の手法から、原薬から製剤までの一貫した連続生産へ切り替える動きが広がっています。連続生産に期待される効果として環境負荷の低減、効率化（省力/省人化）、品質および安全性の向上が挙げられます。医薬品に関する国際ガイドラインを議論する医薬品規制調和国際会議（ICH）から、2022年に医薬品連続生産のガイドライン ICH Q13が発行されたことも後押しになり、国内外で連続生産の検討が活発に進められています。上記に伴い、各工程における品質管理などを目的としたプロセス解析工学（Process Analytical Technology: PAT）の需要が高まっています。

Nexera FVはオートサンプラーにフローバイアルを搭載した、フロー合成におけるオンライン分析に対応するHPLCシステムです（図1）。フローバイアルと外付けのシリンジユニットを用いることで、合成フラスコからのサンプリング、HPLC分析、レポート出力までの工程を自動で実施可能です。

今回はカルボン酸のエステル化反応をモデルケースとし、Nexera FVを用いたオンラインモニタリングを行った事例を紹介します。



図1 Nexera™ FV (batch用) およびフローバイアル

### ■実験条件

フェナシルプロミドはプロモアセチル基を有する化合物であり、HPLC用のラベル化剤としても用いられます。塩基性条件下でカルボキシル基と速やかに反応し、エステルを形成します。

今回はカルボン酸にフェニルプロピオン酸を用い、エステル化反応のオンラインモニタリングを行いました（図2）。150 mgのフェニルプロピオン酸と398 mgのフェナシルプロミドを溶解させた250 mLのアセトン溶液をA液としました。このA液を55℃に加熱した後、147 μLのトリエチルアミンをB液として滴下し、よく攪拌しました。

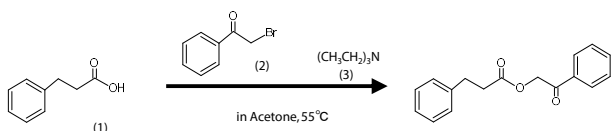


図2 フェニルプロピオン酸のエステル化反応  
(1) : 3-Phenylpropionic Acid, (2) : Phenacyl Bromide, (3) : Triethylamine

### ■Nexera FVによるオンラインモニタリング

Nexera FVは外付けのシリンジによる合成フラスコからの試料引き込みが可能です（図3）。今回、B液添加前の状態を0分として、作成した分析スケジュールに従い、合成フラスコからサンプリングを自動で行い、分析に供しました。

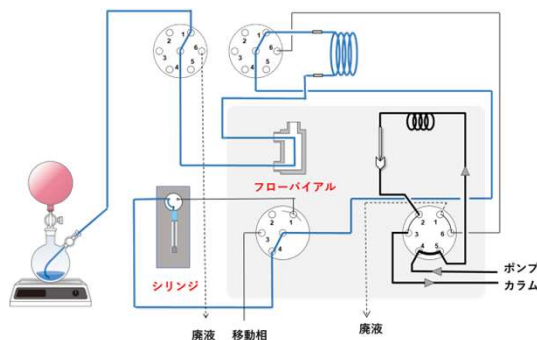


図3 合成フラスコからの試料引き込み機構

### ■LabSolutions™ FVによる簡便な分析スケジュール作成

オンラインモニタリング専用ソフトであるLabSolutions FVは、反応モニタリング時の分析スケジュール作成や条件設定などの煩雑な操作を簡便に実施可能です（図4）。HPLC条件やサンプリング間隔などの情報を入力するだけで分析スケジュールが自動で作成され、手間なくオンラインLC分析を開始できます。バイアルへの分画や希釈操作にも対応しています。外部信号入力や指定した時間でのサンプリング開始にも対応しており、他システムとの連携も可能です。

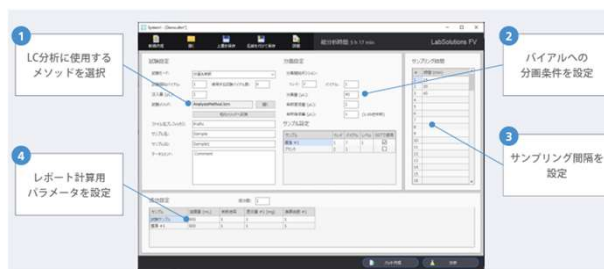


図4 LabSolutions FV の設定画面

## ■ 反応溶液の分析

今回の合成反応のモニタリングでは、反応溶液を外付けシリンジで引き込み、そのまま流路内に導入するダイレクト注入方式で測定を行いました。表1に分析条件を、図5にB液添加後、15分および、300分経過した時点でのクロマトグラムを示します。フェニルプロピオン酸は0.49分に、フェナシルプロミドは0.99分に生成物は1.4分にそれぞれピークが確認されました。

塩基性条件下、フェナシルプロミドはフェニルプロピオン酸と速やかに反応してエステルを形成しました。フェニルプロピオン酸の減少に伴い、生成物の収率が増加しました。60分で約50%の反応が進行したのち、反応の進行が遅くなり300分で85%程度の収率が得られました。フェニルプロピオン酸は生成物に比べて吸光度が面積比で1/28程度でしたが、時間経過に応じて面積が減少していくことを確認できました。

表 1 HPLC条件

|                   |                                                                       |
|-------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| System            | : Nexera FV                                                           |
| Column            | : Shim-pack™ Velox C18 <sup>*1</sup><br>(50 mm × 2.1 mm I.D., 1.8 μm) |
| Temperature       | : 40 °C                                                               |
| Injection volume  | : 1 μL                                                                |
| Mobile phase A    | : 0.5% formic acid in Water                                           |
| Mobile Phase B    | : Acetonitrile                                                        |
| Flow rate         | : 0.4 ml/min                                                          |
| Time program (%B) | : 30% (0 min)→95% (0.45-1.40 min)→<br>30% (1.41-3.5 min)              |

<sup>\*1</sup> P/N : 227-32001-02

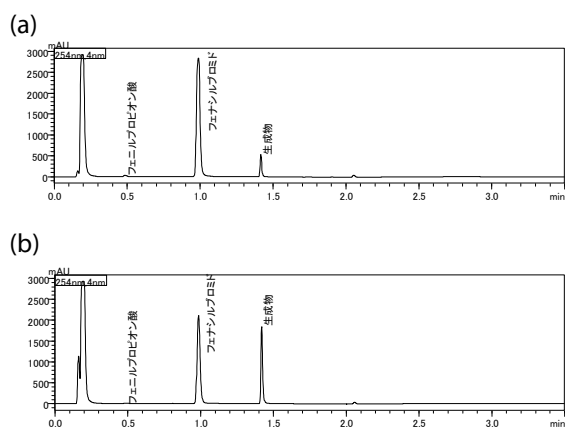


図5 B液添加後(a) 15分、(b) 300分経過時のクロマトグラム

## ■ トレンドプロットによる反応生成物の追跡

15, 30, 60, 120, 180および 300分でサンプリングした試料の分析結果より、フェニルプロピオン酸と生成物のピーク面積の増減についてLabSolutionsのマルチデータレポート<sup>\*2</sup>機能を用いて作成したトレンドプロットを示します(図6)。マルチデータレポート機能を用いることで、分析終了後に合成過程における収率や中間体の推移が視覚的に確認可能なレポートを自動出力(図7)できます。

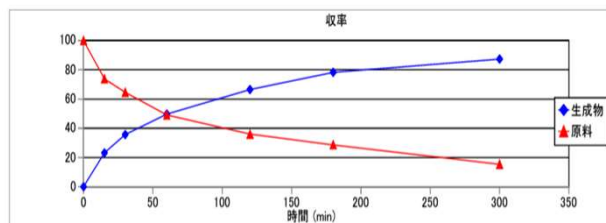


図6 フェニルプロピオン酸(原料)と生成物に関するトレンドプロット

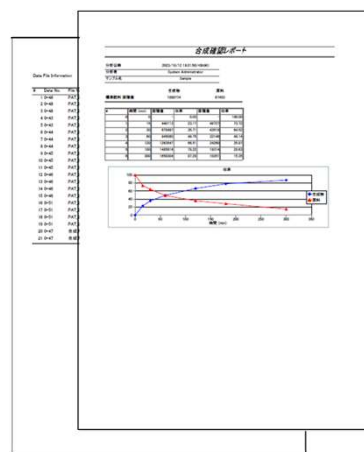


図7 マルチデータレポート<sup>\*2</sup>

<sup>\*2</sup> マルチデータレポートはLabSolutions DB/CSの機能となります。

## ■ まとめ

Nexera FVを用いてフェニルプロピオン酸のラベル化反応のオンラインモニタリングを実施しました。外付けシリンジを用いた試料引き込みにより、分析スケジュールに従い自動でサンプリングから分析までを実施できました。また、マルチデータレポート機能により、分析後にトレンドプロットを自動作成することで原料と生成物に関する反応追跡が可能でした。Nexera FVとLabSolutions FVを用いることにより、分析スケジュール作成の簡便化、さらにサンプリングやレポート出力を自動化でき、作業時間の削減と効率化が実現できます。

Nexera、LabSolutions、およびShim-pack Veloxは、株式会社島津製作所またはその関係会社の日本およびその他の国における商標です。

**株式会社 島津製作所** 分析計測事業部  
<https://www.an.shimadzu.co.jp/>

01-00603-JP 初版発行：2024年 2月

島津コールセンター ☎ 0120-131691

本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。  
 本文中に記載されている会社名、製品名、サービスマークおよびロゴは、各社の商標および登録商標です。  
 本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

© Shimadzu Corporation, 2024

＞ アンケート

**関連製品** 一部の製品は新しいモデルにアップデートされている場合があります。



＞ Nexera FV

オンライン分析用超高速液体クロマトグラフ

## 関連分野

＞ バイオ医薬品

＞ 低分子医薬品

＞ 価格お問い合わせ

＞ 製品お問い合わせ

＞ 技術お問い合わせ

＞ その他お問い合わせ