

Technical Report

キラル化合物の迅速メソッドスカウティング

Rapid Method Scouting of Chiral Compounds

山口 忠行¹、寺田 英敏¹、坂井 健朗¹、早川 禎宏¹

Abstract:

製薬分野における創薬合成部門ではキラルカラムを用いた効率的かつ迅速な光学分割法が研究されています。しかし、多種多様なキラルカラムから分析種に適したカラムと最適な移動相条件を見出すには多大な労力と時間を要することから、キラル分離条件スカウティングの迅速化が求められています。

本レポートでは、メソッドスカウティングシステム“Nexera Method Scouting”と多糖誘導体耐溶剤型キラルカラム“iCHIRAL-6”（ダイセル製）を組み合わせ、キラル化合物の高分離条件の構築へ適用した事例についてご紹介します。

Keywords: UHPLC、Nexera Method Scouting、キラルカラム、iCHIRAL-6、キラル化合物

1. はじめに

キラル化合物を純粋な形（エナンチオマー）で使用することや分析することは医薬品などの生体に直接働きかける化合物の安心・安全な利用に重要とされています。キラル化合物を得る代表的な手法としてHPLCを用いた光学分割法（キラル分離）が知られています。このHPLC法はキラル化合物に適した移動相や分離カラムを探索する、いわゆるメソッドスカウティングを行う必要があり、これら作業には多大な労力と時間を要することが知られています。

昨今では新薬開発のスピードアップの観点から、創薬合成や医薬中間体分野においてキラル分離条件スカウティングの迅速化が求められています。

また、近年では分析業務の効率化や生産性の向上を目的としたハイスループット化が進んできており、HPLCにおいても超高速液体クロマトグラフィー（UHPLC）が注目されています。メソッドスカウティングにおいてもトータルスループットの向上や省溶媒の観点からUHPLCの導入が進められています。

本レポートでは、メソッドスカウティングシステム“Nexera Method Scouting”と多糖誘導体耐溶剤型キラルカラム“iCHIRAL-6”を用いて3種類のキラル化合物（Bromacil、 α -Methyl- α -Acethyl- γ -Butyrolactone、Methylclothiazide）の高分離条件構築へ適用した結果についてご紹介します。

2. 実験

2-1. システム

Fig. 1に今回構築した“Nexera Method Scouting”システムの流路図を示します。このシステムは超高速液体クロマトグラフ“Nexera”に溶媒切換バルブとカラム切換バルブを組み合わせて構

成されており、最大96通りのカラムと移動相の組み合わせを自動かつ連続的に切り換えながら網羅的にデータを取得することができます。

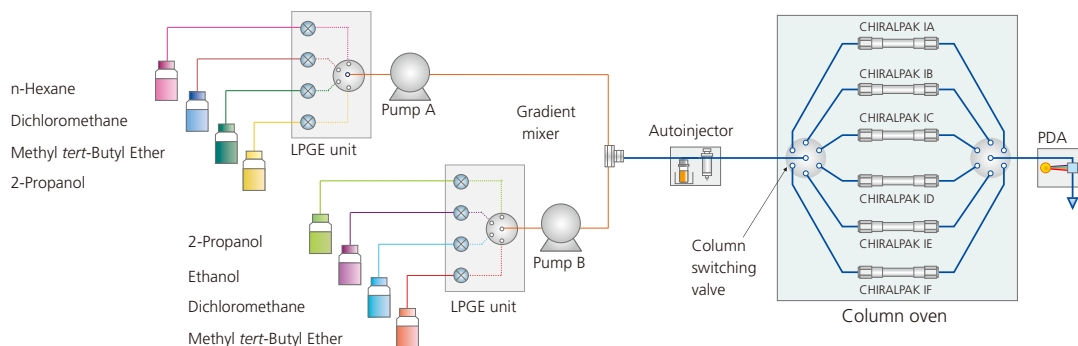


Fig. 1 Nexera Method Scoutingシステムの流路図

2-2. サンプル

分析対象物として、3種のキラル化合物 (Bromacil、 α -Methyl- α -Acetyl- γ -Butyrolactone、Methylclothiazide) を用いました。Fig. 2に構造式を示します。

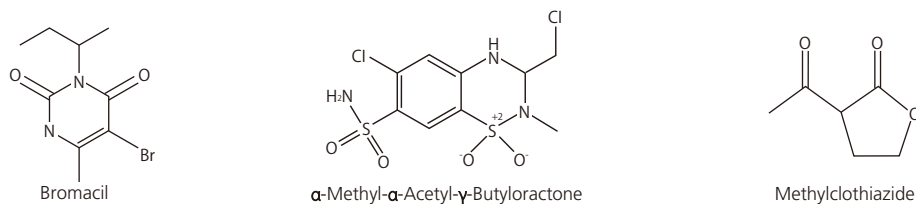


Fig. 2 キラル化合物の構造式

2-3. キラルカラム

Fig. 2に示すキラル化合物の高分離条件を構築するにあたり、分離カラムにはダイセル製の多糖誘導体耐溶剤型キラルカラム“iCHIRAL-6” (CHIRALPAK® IA/IB/IC/ID/IE/IF) を用いました。カラム

の詳細をFig. 3に示します。“iCHIRAL-6”は様々な有機溶媒に使用することができるため、キラル化合物のメソッドスカウティングに適したカラムといえます。

- (A) CHIRALPAK® IA (150 mL. × 4.6 mmI.D., 5 μ m)
Amylose tris(3,5-dimethylphenylcarbamate)
- (B) CHIRALPAK® IB (150 mL. × 4.6 mmI.D., 5 μ m)
Cellulose tris(3,5-dimethylphenylcarbamate)
- (C) CHIRALPAK® IC (150 mL. × 4.6 mmI.D., 5 μ m)
Cellulose tris(3,5-dichlorophenylcarbamate)
- (D) CHIRALPAK® ID (150 mL. × 4.6 mmI.D., 5 μ m)
Amylose tris(3-chlorophenylcarbamate)
- (E) CHIRALPAK® IE (150 mL. × 4.6 mmI.D., 5 μ m)
Amylose tris(3,5-dichlorophenylcarbamate)
- (F) CHIRALPAK® IF (150 mL. × 4.6 mmI.D., 5 μ m)
Amylose tris(3-chloro-4-methylphenylcarbamate)

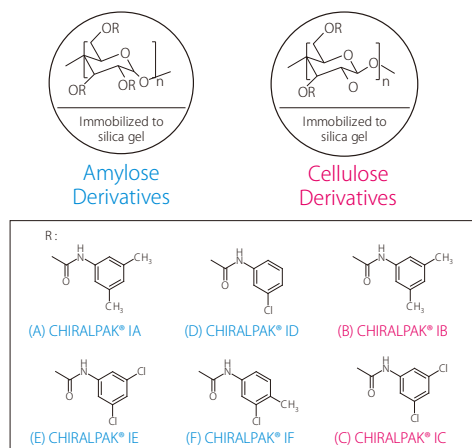


Fig. 3 キラルセクター

2-4. 分離条件

移動相にはヘキサン、2-プロパノール、エタノール、ジクロロメタンおよびメチル-*t*-ブチルエーテルなどを任意の比率に混合した8種類の混合溶媒を用いました。それら分離条件の詳細を

Table 1に示します。移動相 (8種) とカラム (6種) の計48通りの組み合わせから、各々のキラル化合物に適した条件を網羅的に探索しました。

Table 1 分析条件

分離条件 No.	移動相	流速	分析時間	その他
1	Hexane / 2-Propanol = 9 / 1 (v/v)	3 mL/min	9 min	カラム温度: 40°C 注入量: 10 μ L 検出: 230 nm
2	Hexane / 2-Propanol = 6 / 4 (v/v)	3 mL/min	9 min	
3	Hexane / Ethanol = 8 / 2 (v/v)	3 mL/min	14 min	
4	Ethanol	1 mL/min	18 min	
5	Hexane / Dichloromethane = 9 / 1 (v/v)	3 mL/min	4 min	
6	Dichloromethane / Ethanol = 100 / 2 (v/v)	3 mL/min	4 min	
7	Hexane / Methyl <i>tert</i> -Butyl Ether = 9 / 1 (v/v)	3 mL/min	4 min	
8	Methyl <i>tert</i> -Butyl Ether / Ethanol = 9 / 1 (v/v)	3 mL/min	4 min	

※ Methylclothiazide分析では、各移動相にDiethylamineを0.1%添加しました。

3. 結果

Bromacil分析における全48条件のクロマトグラムをFig. 4に、各キラル化合物の最適条件をFig. 5に示しました。

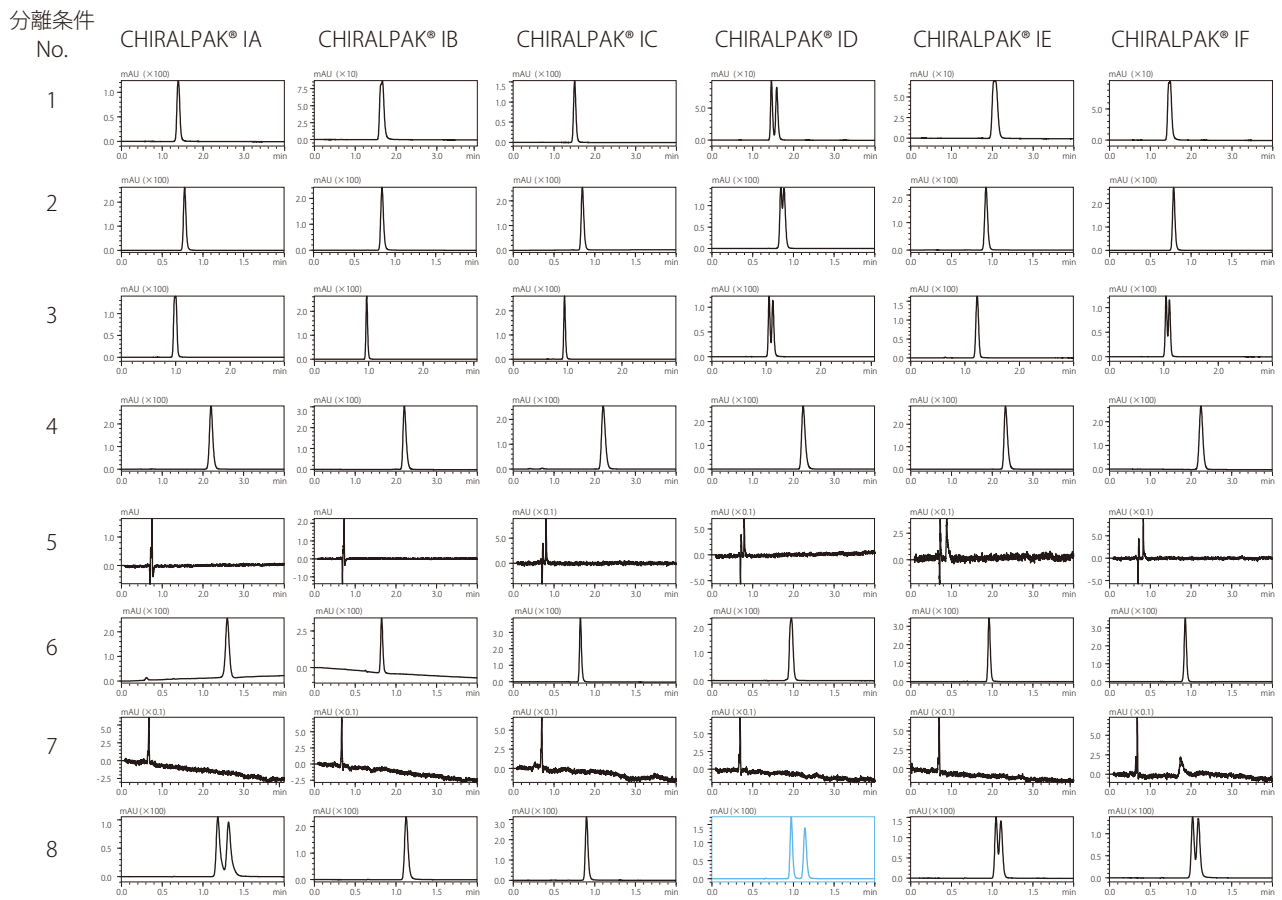
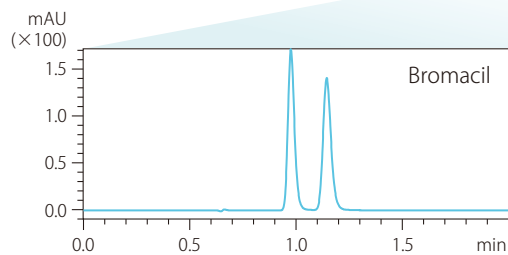
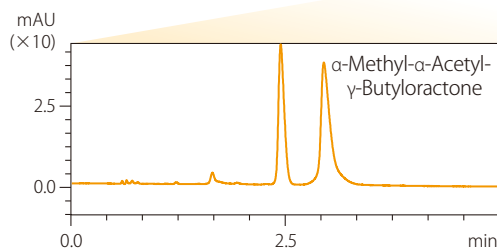


Fig. 4 Bromacilのメソッドスカウティング結果



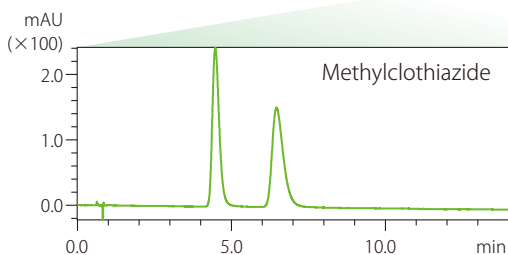
分離条件 8 CHIRALPAK® ID

ピーク	保持時間 t_n	保持係数 k	分離度 R_s	分離係数 α
1	0.974	0.522	—	—
2	1.142	0.784	2.643	1.504



分離条件 3 CHIRALPAK® IF

ピーク	保持時間 t_n	保持係数 k	分離度 R_s	分離係数 α
1	2.434	3.125	—	—
2	2.936	3.977	3.167	1.273



分離条件 3 CHIRALPAK® ID

ピーク	保持時間 t_n	保持係数 k	分離度 R_s	分離係数 α
1	4.465	6.202	—	—
2	6.449	9.401	3.724	1.516

Fig. 5 Bromacil, α -Methyl- α -Acetyl- γ -Butyrolactone および Methylclothiazideのクロマトグラム

4. 解析

データ処理ソフトウェア“CLASS-Agent Report”（島津製作所製）はマイクロソフトExcelを用いて、分離度やピーク数などに基づく計算による数値化やグラフ化が可能です。これにより、視覚的なクロ

マトグラムの比較に加えて定量的な判断も可能となるため、データ解析効率の一助となります。

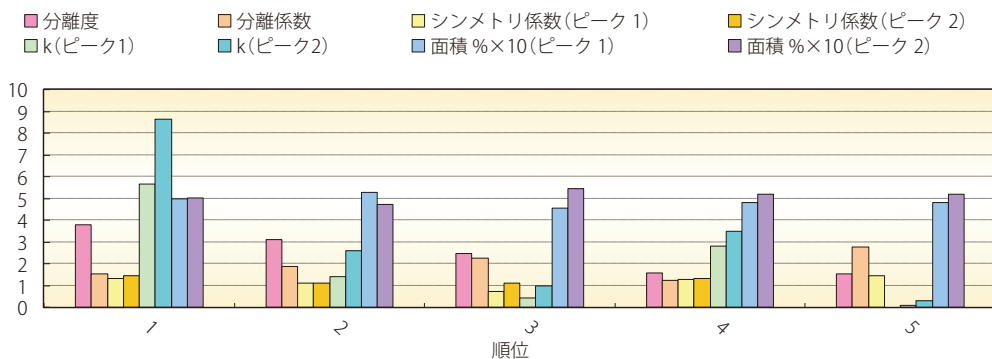


Fig. 6 CLASS-Agent Reportによるクロマトグラムの定量比較

Table 2 Methylclothiazideの分析結果

順位	Run No.	分析条件	分離度	分離係数	シンメトリ係数		k		面積%		ピーク検出数
					ピーク1	ピーク2	ピーク1	ピーク2	ピーク1	ピーク2	
1	18	Methylclothiazide_ID_n-Hex_EtOH_3_analysis_B20%_14 min	3.785	1.523	1.31	1.463	5.665	8.626	49.777	50.223	2
2	27	Methylclothiazide_IF_MC_EtOH_6_analysis_B2%_4 min	3.086	1.858	1.127	1.094	1.39	2.583	52.748	47.252	2
3	6	Methylclothiazide_IB_MC_EtOH_6_analysis_B2%_4 min	2.456	2.248	0.715	1.094	0.443	0.995	45.633	54.367	2
4	13	Methylclothiazide_IC_n-Hex_EtOH_3_analysis_B20%_14 min	1.577	1.238	1.264	1.3	2.821	3.493	47.96	52.04	2
5	30	Methylclothiazide_IF_n-Hex_EtOH_4_analysis_B100%_18 min	1.515	2.759	1.465	0	0.102	0.282	48.153	51.847	2

5. 結論

Nexera Method Scoutingシステムと多糖誘導体耐溶剤型キラルカラム“iCHIRAL-6”を用いて3種類のキラル化合物について網羅的に分析した結果、各キラル化合物に適した分離カラムと分離条件を迅速に見出すことができました。また“CLASS-Agent Report”を用いて各クロマトグラムの分離度やシンメトリ係数などを数値比較することにより、クロマトグラムを視覚的に比較評価するだ

けでなく定量的に評価し、データの解析効率の向上を図ることができました。

本研究で使用したシステムとカラムはキラル分析を担う創薬合成部門や医薬中間体部門はもとより、製薬のCMC部門や化学分野、食品分野などにおける新規メソッド開発部門にも有用であると考えています。

参考文献

- 1) Technical Report「超高速メソッドスカウティング (C190-0381)」
- 2) Technical Report「メソッド開発の高速化によるR&D効率の向上 (3) (C190-0382)」

謝辞

本研究を進めるにあたり、ご協力ならびにご指導いただきました株式会社ダイセル様に深く御礼申し上げます。

※CHIRALPAKは、株式会社ダイセルの登録商標です。

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

本資料の掲載情報に関する著作権は当社または原著者に帰属しており、権利者の事前の書面による許可なく、本資料を複製、転用、改ざん、販売等することはできません。掲載情報については十分検討を行っていますが、当社はその正確性や完全性を保証するものではありません。また、本資料の使用により生じたいかなる損害に対しても当社は一切責任を負いません。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。

初版発行：2013年8月
© Shimadzu Corporation, 2013