

ACQUITY™ RDa™ 検出器と RemoteAnalyzer® ソフトウェアを組み合わせることで、ワーク アップ環境においてシンプルかつ迅速で精密質 量情報を獲得

Chris Henry, Paul D. Rainville, Scott Campbell

Waters Corporation, SpectralWorks Ltd

要約

このアプリケーションノートでは、ACQUITY RDa 検出器をブラウザベースの RemoteAnalyzer ソフトウェア（SpectralWorks-Runcorn、UK）と組み合わせて使用することで、シンプルで直感的なプラットフォームが実現でき、合成化学者がワークアップ環境において精密質量測定を行えることを実証します。

アプリケーションのメリット

- 合成化学者が API（医薬品有効成分）および関連不純物の質量確認を行うための精密質量測定のルーチン利用が実現
 - RDa ToF（時間飛行型）検出器の高速スキャンレートにより、定性的データを損なうことなく UPLC™ グラジエントを迅速化
 - 電子メールで迅速に結果が得られ、反応結果に基づく意思決定が迅速かつ簡便に
 - 必要に応じてユーザーの役割ごとに特定のアクセス権を付与するように、RemoteAnalyzer ソフトウェアを柔軟に設定可能
-

はじめに

多くの有機化学者は、質量分析（MS）を、生成物および合成反応中に存在する不純物の簡便な確認ツールとして使用しています。

シングル四重極質量分析計ではノミナル質量データのみしか得られず、ターゲット化合物、分解物、不純物、または副反応生成物の誤割り当ての可能性を排除することができません。ToF 高分解能質量分析（HRMS）で得られる精密質量測定により、化合物の特性解析における信頼性が向上しますが、操作には高度な専門知識が求められる場合があります。

シンプルな自動セットアップが可能な ACQUITY RDa 検出器は、様々なレベルの化学者が精密質量の測定をより利用しやすいように設計されています。

直感的な「ポイントアンドクリック」ブラウザーベースの RemoteAnalyzer ソフトウェアにより、単一分析とバッチ分析の両方において、サンプル登録がさらにシンプルになります。

このアプローチのメリットを紹介するため、アンジオテンシン変換酵素（ACE）阻害薬であるラミプリル 2-[N-[(S)-1-エトキシカルボニル-3-フェニルプロピル]-ララニル]-(1S, 3S, 5S)-2-アザビシクロ[3.3.0]オクタン-3-カルボン酸（CAS 番号87333-19-5）に、4 種類の関連不純物（ラミプリルイソプロピルエステル、ラミプリルジケトピペラジン、ラミプリルメチルエステル、ヘキサヒドロラミプリル）を 0.1%（w/w）になるようにスパイクし、それぞれ A-D とラベル付けて ACQUITY RDa で分析しました。

（ACE）阻害薬は、高血圧を調節できる重要な治療薬のクラスを構成しています。

ラミプリルの化学構造およびその潜在的関連不純物を表 1 に示します。

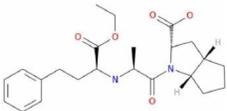
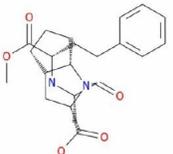
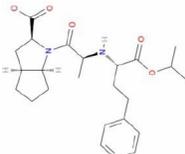
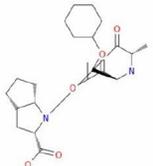
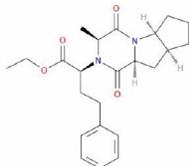
化合物	構造	実験式	モノアイソトピック質量
ラミプリル API		$C_{23}H_{32}N_2O_5$	416.2311
ラミプリルメチルエステル (A)		$C_{22}H_{30}N_2O_5$	402.2155
ラミプリルイソプロピルエステル (B)		$C_{24}H_{34}N_2O_5$	430.2468
ヘキサヒドロラミプリル (C)		$C_{23}H_{38}N_2O_5$	422.2781
ラミプリルジケトピペラジン (D)		$C_{23}H_{30}N_2O_4$	398.2206

表 1. ラミプリルの API および不純物 (A ~ D) の構造、実験式、およびモノアイソトピック質量

サンプル登録と解析は RemoteAnalyzer ソフトウェアによって制御しました。データ取り込みは UNIFI で行い、取り込んだ生データは RemoteAnalyzer の処理とは別にそのまま残しました。

実験方法

サンプルの説明

ラミプリルのサンプルに、4 種類の関連不純物 (A ~ D) を 0.1% w/w の濃度になるようにスパイクしました。すべて

の標準試料はヨーロッパ薬局方の標準試料であり、Merck（英国、Dorset）から入手しました。

メタノール中にラミプリルの 1 mg/mL 溶液を調製し、不純物（A～D）を 200 µg/mL の濃度で個別に調製しました。980 µL のラミプリル溶液を各 5 µL の不純物溶液とともにバイアルに移し、API について 0.1%（w/w）の不純物溶液を調製しました。この溶液を 100 µL バイアルに移し、900 µL のメタノール：水（80：20）で希釈しました。

分析には ACQUITY UPLC I-Class PLUS バイナリーシステムを使用し、実行時間 4 分間のシンプルなグラジエントで行いました。図 1 は、不純物をスパイクしたラミプリルサンプルの分析における、ワークフローにしたがった RemoteAnalyzer ブラウザーでの登録の概要です。



図 1. Remote Analyzer でのサンプル登録ワークフロー

LC 条件

LC システム:	ACQUITY™ UPLC™ I-Class PLUS
バイアル:	TruView マキシマムリカバリーバイアル（製品番号：186005668CV）
カラム:	ACQUITY™ UPLC™ BEH™ C ₁₈ 50 × 2.1 mm、1.7 µm（製品番号：186002350）
カラム温度:	80 °C
サンプル温度:	10 °C
注入量:	1 µL
流速:	0.5 mL/分

移動相 A: 2 mM ギ酸アンモニウム + 0.1% ギ酸

移動相 B: 0.1% ギ酸アセトニトリル溶液

グラジエントテーブル

時間 (分)	流速 (mL/分)	%A	%B	曲線
0.0	0.5	90	10	6
0.1	0.5	90	10	6
2.0	0.5	50	50	6
2.2	0.5	50	50	6
2.3	0.5	90	10	6
4.0	0.5	90	10	6

MS 条件

MS システム: ACQUITY RDa 検出器

イオン化モード: ポジティブ

取り込み範囲: m/z 50 ~ 2000

キャピラリー電圧: 1.5 kV (既定値)

コーン電圧: 30 V

データ管理

MS ソフトウェア:

UNIFI™ 2.1.2.14

RemoteAnalyser® SpectralWorks Ltd. バージョン

4.56.0.3447

インフォマティクス:

waters_connect™

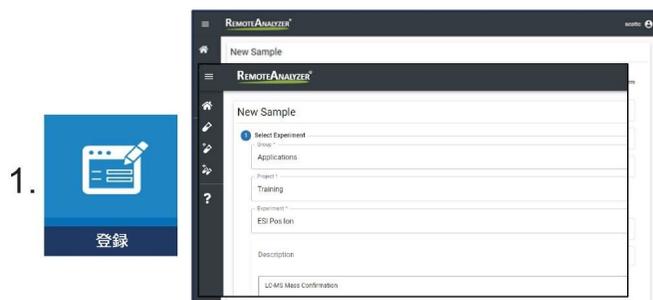
結果および考察

ACQUITY RDa 検出器は、検出器、自動チューニング、質量キャリブレーションを含めて、自動的にセットアップされました。このルーチンのセットアップの後、MS フルスキャンの精密質量データを、キャピラリー電圧 1.5 kV およびコーン電圧 30 V で取り込みました。

カラム温度 40 °C での初期のクロマトグラフィー条件では、保持時間約 2 分あたりに非常に広い共溶出ピークが見られました。プロトン性溶媒と非プロトン性溶媒のどちらで実験しても、クロマトグラフィーの不良の程度は軽減しませんでした。カラム温度を 80 °C に上げると、検出されたすべての化合物のピーク形状と分離が大幅に向上しました。エチレン架橋型パーティクルカラムテクノロジーはこのような温度での動作が保証されており、これを選択しても、酸性条件下でのカラムの寿命に悪影響が及ぶことはありません¹。

サンプルを登録すると、分析リクエストが正常に受信されたことを確認する電子メールが送信されます。サンプル分析が完了すると、分析ワークフローの手順 1 ~ 6 が正常に完了したことを確認する電子メールが届きます。

ワークフローのステップ 1 ~ 2



ステップ 1. スパイクしたサンプルを、Web ベースのブラウザを介して RemoteAnalyzer に登録しました（必要に応じて、優先度ステータスを割り当てることができます）。

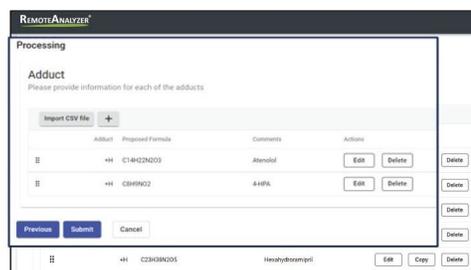


ステップ 2. サンプルを登録すると、バーコードを含む電子メールが送信されます。これを装置でスキャンすることができます。

ワークフローのステップ 3 ~ 4



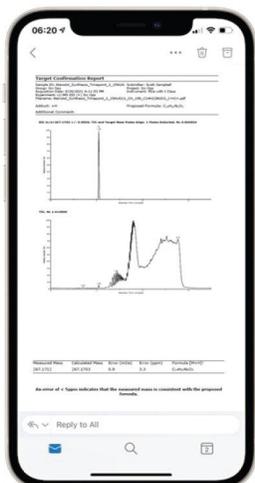
ステップ 3. サンプルがオートサンプラーに配置され、タブレットの指示に従って確認されました。



ステップ 4. ACQUITY RDa 検出器でデータが取り込まれ、RemoteAnalyzer に入力した提案の組成式に基づいて解析されました。ここでは、ラミプリルと不純物 A ~ D の組成式を示しています。

ワークフローのステップ 5 ~ 6

5.



ステップ 5. 完了すると、結果が自動的に電子メールで送信されます (PDF)。ここでは、分析の TIC と API の XIC が表示されています。検出された各不純物のレポートも生成されました。

6.



Prepared Formula	Adduct	Formula with Adduct	Calculated Mass (m/z)	Measured Mass (m/z)	Error (ppm)	Error (ppm)	Retention
C ₂₁ H ₂₄ N ₂ O ₄	(+H) ⁺	C ₂₁ H ₂₅ N ₂ O ₄	395.2078	394.2080	0.2	0.4	3112315

ステップ 6. 結果は RemoteAnalyzer のサマリータブにも表示されます。ここでは、ラミプリルジクピペラジンの質量確認が示されています。

電子メールで送信された結果には、提案されたすべての組成式を記載した PDF ドキュメントが含まれています (図 2)。また、電子メールにはハイパーリンク (強調表示) が含まれており、これをクリックすると、RemoteAnalyzer ソフトウェア内のサンプルレビューページに移動します。このページには、PDF のコピーと検出された個々の成分の .swrc ファイル (RemoteAnalyzer 固有のファイル型式) へのリンクがあります。 .swrc ファイルを選択すると、拡大可能な TIC (トータルイオンクロマトグラム) と EIC (抽出イオンクロマトグラム) および各分析種の抽出スペクトルが含まれるインタラクティブな結果ページが開きます (図 3)。

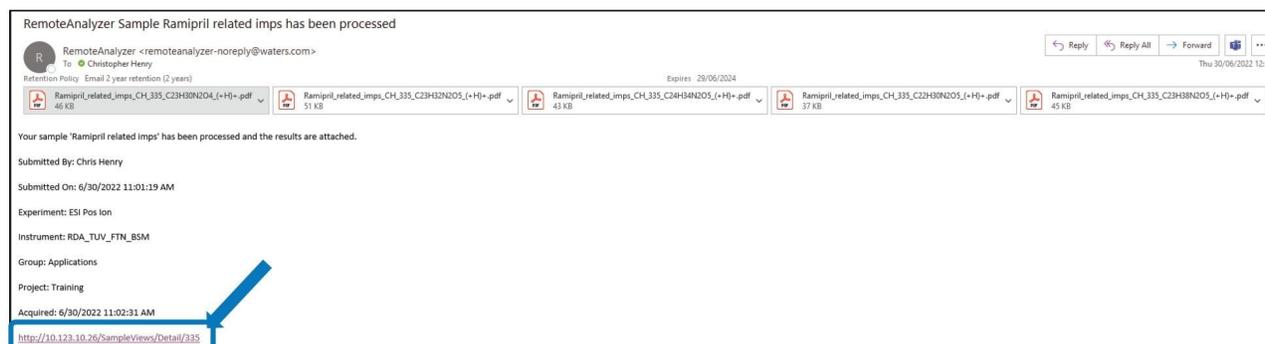


図 2. PDF 型式の結果およびインタラクティブな結果ページへのリンクを含む電子メールの例

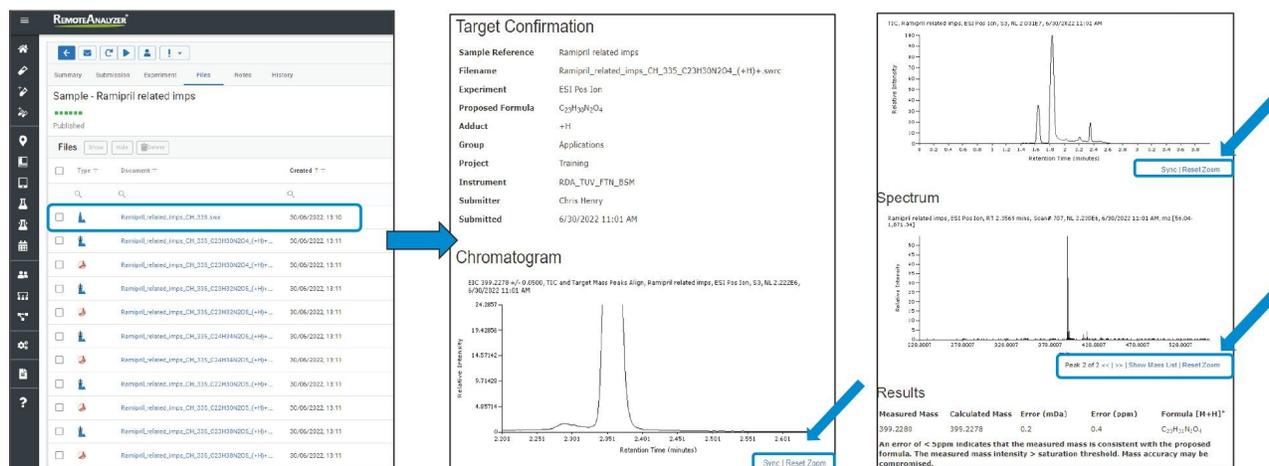
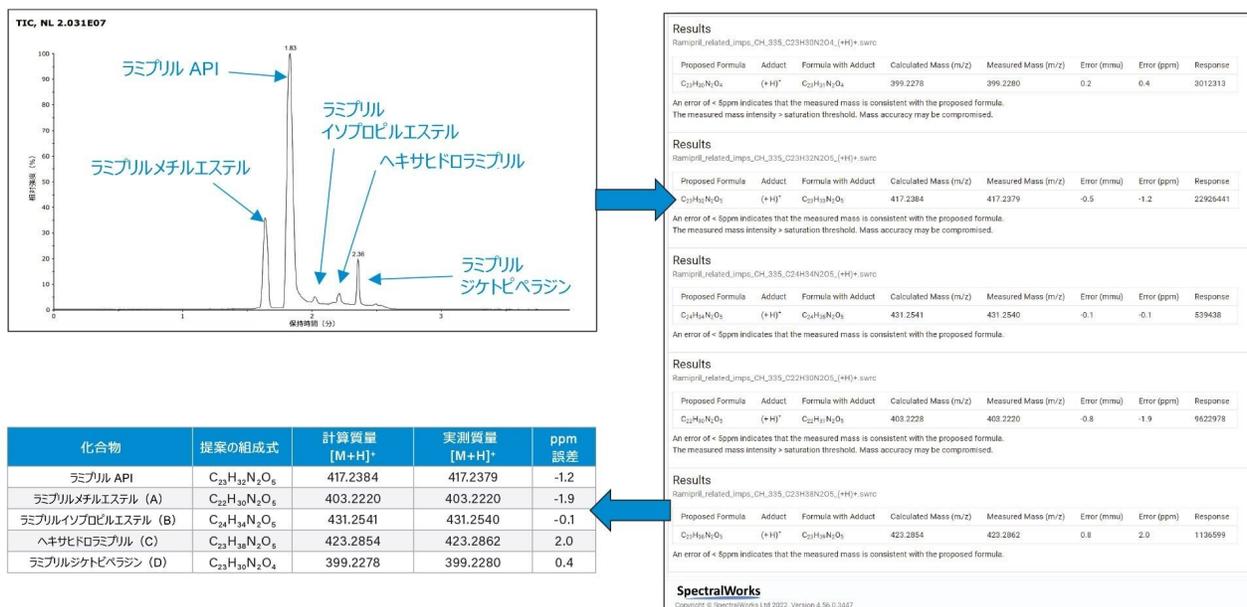


図 3. インタラクティブなクロマトグラム/スペクトルを含む結果ページ

図 4 に、RemoteAnalyzer ソフトウェアと得られたクロマトグラフィーから取得した TIC (トータルイオンクロマトグラム) を示します。RemoteAnalyzer で生成されたレポートを表 2 にまとめており、すべての化合物について優れた ppm 誤差レベルであることがわかります (すべての化合物について -0.1 ~ 2 ppm)。



化合物	提案の組成式	計算質量 [M+H] ⁺	実測質量 [M+H] ⁺	ppm 誤差
ラミプリル API	C ₂₃ H ₃₂ N ₂ O ₅	417.2384	417.2379	-1.2
ラミプリルメチルエステル (A)	C ₂₂ H ₃₀ N ₂ O ₅	403.2220	403.2220	-1.9
ラミプリルイソプロピルエステル (B)	C ₂₄ H ₃₄ N ₂ O ₅	431.2541	431.2540	-0.1
ヘキサヒドロラミプリル (C)	C ₂₃ H ₃₈ N ₂ O ₅	423.2854	423.2862	2.0
ラミプリルジケトピペラジン (D)	C ₂₃ H ₃₀ N ₂ O ₄	399.2278	399.2280	0.4

図 4/表 2. RemoteAnalyzer ソフトウェアから取得した TIC。API と不純物が正常に検出されたことを示す結果レポートも示します。結果は表 2 にまとめています。

このクロマトグラフィーでは、イソプロピルエステル不純物と API がわずかに共溶出していますが、飛行時間型検出のフルスキャンが高速であるため、正確な定量的波形解析と近接して溶出するピークの正確な割り当てが可能です²。

結論

ACQUITY RDa 検出器と RemoteAnalyzer ソフトウェアを組み合わせることで、合成化学者は精密質量測定をルーチン利用できます。

ラミプリルおよび 4 種類のスパイクした類縁物質がすべて、UPLC の実行時間 4 分で、2 ppm 以内という優れた質量精度で検出されました。

高速スキャンレート RDa 検出器では、定性的質量測定を損なうことなく、迅速な UPLC グラジエントを使用できるため、効率的で確実なサンプル処理時間が実現します。

RemoteAnalyzer ソフトウェアをベースにしたブラウザーによりサンプル登録と解析を制御することで、装置を制御する PC に戻る必要なく、どこからでもデータをリモートで読み出してレビューできます。

参考文献

1. A Review of Waters Hybrid Particle Technology.Part 2: Ethylene Bridged [BEH Technology™] Hybrids and Their Use in Liquid Chromatography.

2. Alelyunas YW, Wrona MD, Cook K, McDonald S, Rainville P: Effect of MS Scan Speed on UPLC Peak Separation and Metabolite Identification: Time-of-Flight HRMS v Orbitrap.

ソリューション提供製品

ACQUITY UPLC I-Class PLUS システム <<https://www.waters.com/134613317>>

ACQUITY RDa 検出器 <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135077027>>

UNIFI 科学情報システム <<https://www.waters.com/134801648>>

waters_connect <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135040165>>

720007690JA、2022 年 7 月

© 2022 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[利用規約](#)
[環境設定](#)

[プライバシー](#)

[商標](#)

[サイトマップ](#)

[キャリア](#)

[クッキー](#)

[クッキー](#)