

～Application Note for DART～

TLC/MS への応用(1)

～DART 専用 TLC サンプラの基本性能と分析例～

薄層クロマトグラフィ(TLC)は有機合成成分の確認のために、広く使用されている技術である。TLCプレート上のスポットの質量情報を得るために、TLCと質量分析計(MS)を組み合わせたTLC/MSシステムは、過去にもいくつか開発されてきたが¹⁾、汎用性のあるシステムとまでには至っていない。

一方、DART(Direct Analysis in Real Time)は、様々な形態の試料のイオン化が可能であり、固体表面の有機物を大気圧下、且つ、開放系での分析が可能という特長を持つイオン化法である²⁾。これらの特長によりDARTは、TLC/MSを行うにあたり、非常に有効なイオン化法の一つに成り得る。

我々は DART を使用した TLC/MS 分析用サンプラを開発した。このサンプラによって試料展開後の TLC プレートから試料の質量情報を、直接かつ安定して得ることが可能となった。ここでは、DART 専用 TLC サンプラの基本性能と、これを用いた分析例として、TLC 展開した窒素含有色素 3 成分に対する直接質量分析結果を紹介する。

[DART専用TLCサンプラ 基本性能]

○適用可能なTLCプレート : 素材: ガラスプレート 幅: 10mm以内 長さ: 100mm以内

○測定方法 : 試料展開後の TLC プレートを TLC ホルダ (Fig.1) にセットする。そして TLC ホルダをスライダーに固定した後、試料サンプリング位置に水平移動させ (Fig.2)、そのスポットの成分を DART によってイオン化させ質量情報を得る。



Fig.1 TLCホルダ 写真

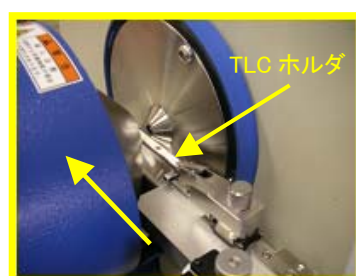


Fig.2 TLCサンプラ 写真

○スポット間距離と空間分解能 : スポット直径約 3.5mm、ほぼ未分離(約 1mm 分離)の 2 成分の分離検出が可能である。

[近接したスポットの分離検出の例]

Fig3 の TLC プレートを矢印方向にスライドさせ測定を行った。各成分のマスキログラムを比較すると、ピークトップの経過時間が異なっており、ほぼ重なった状態のスポットにおいて分離検出が可能であった。

サンプル①: 4-アミノアゾベンゼン ($C_{12}H_{11}N_3$; m/z 197)
サンプル②: o-ジアニジジン ($C_{14}H_{16}N_6O_2$; m/z 244)

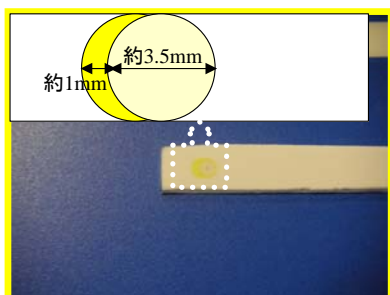


Fig.3 分離不十分なモデルケースの TLC プレート

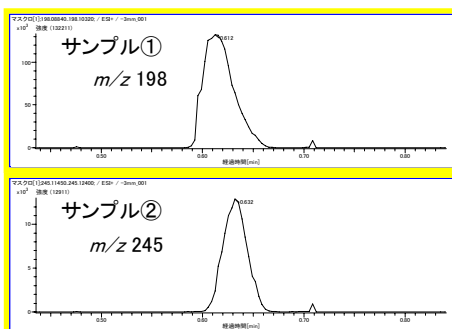


Fig.4 各成分のマスキログラム

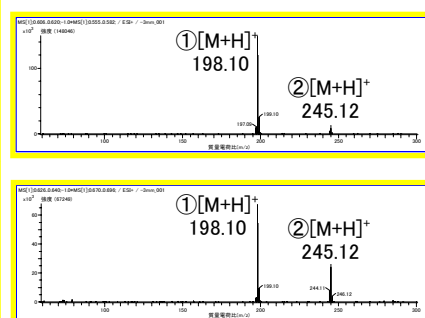


Fig.5 各成分のマスペクトル

[分析例:TLC展開した窒素含有色素 3 成分の直接質量分析]

窒素含有色素 3 成分に対して TLC 展開を行い、その TLC プレート上のスポットに対して TLC/MS 分析用サンプラ (Fig1,2) を使用し直接質量分析を行った。

○使用装置 : JMS-T100TD (AccuTOF TLC)

○試料 : Sample 1 : 4,4'-ジアミノ-3,3'-ジメチルジフェニルメタン ($C_{15}H_{18}N_2$, M.W. 226.32)
Sample 2 : 4-アミノアゾベンゼン ($C_6H_5N:NC_6H_4NH_2$, M.W. 197.24)
Sample 3 : o-ジアニシジン ($[CH_3O(NH_2)C_6H_3]_2$, M.W. 244.29)

○展開条件 : TLC プレート 7mm x 60mm
展開溶媒 酢酸エチル:ヘキサン:アセトン = 1 : 4 : 0.1

○測定条件 : DART(+) He ガス温度 300°C

○結果と考察 : Fig.6 に試料展開後の TLC プレートを示す。また、Fig. 7 に 3 成分のマスキロマトグラム、Fig. 8 にマススペクトルを示す。

展開後の各スポットに対して直接質量分析を行った結果、各成分が $[M+H]^+$ で検出された。Sample1 および 3 は分離不十分であり、TLCプレート上では重なった 1 つのスポット (Fig.6 中のスポットB) として観察されたが、各々のマスキロマトグラムとマススペクトル相補的に解析することによって、2 成分の存在を容易に認識・特定することができた。

このように、TLC プレート上では 1 成分に見えるスポットにおいても、検出器として MS を使用することで容易に複数成分の存在を確認できる点は、TLC サンプラの大きな特長の一つであると言える。

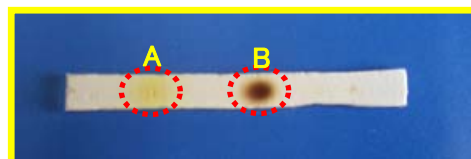


Fig.6 展開後の TLC プレート

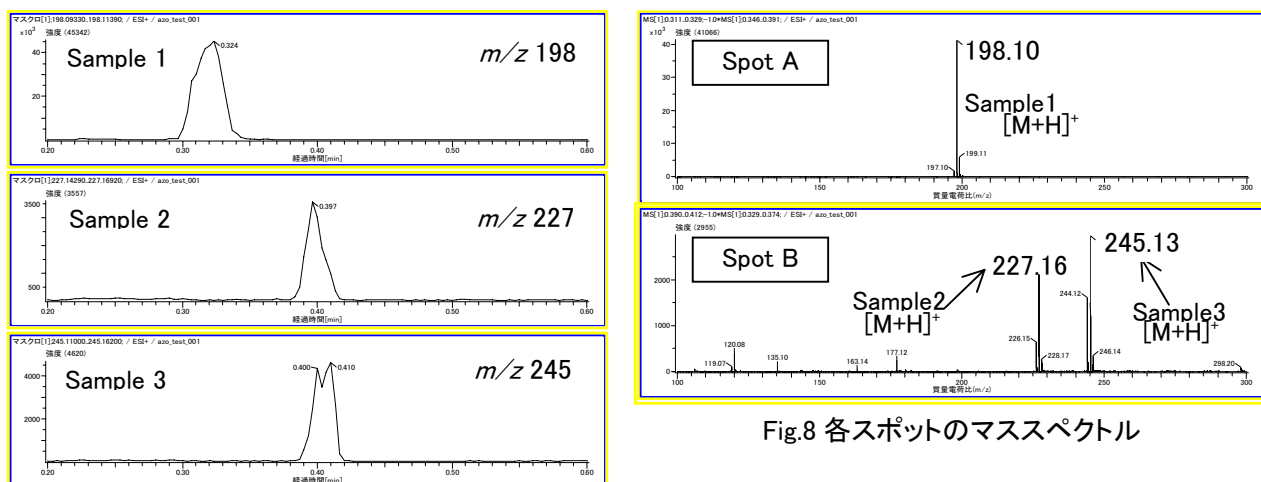


Fig.8 各スポットのマススペクトル

Fig. 7 各窒素含有色素に対するマスキロマトグラム

○まとめ:TLC サンプラを使用することで TLC プレートの直接分析を行うことが可能となり、溶媒展開後の TLC プレートを直接適用し、分離した各スポットの質量情報を簡単に得ることができる。

本手法は創薬・合成分野における反応生成物の確認段階での簡易的なスクリーニング分析法として十分に実用化できる可能性を持ち、かつ大幅なスループット性の向上が見込まれる画期的手法であると考えられる。

○参考文献 : 1) 田村淳;坂元真一郎;久保田英次,日本電子ニュース,27,1・2,6-11,(1987)
2) Cody, R. B.;Laramée, J. A.; Durst, H. D. Anal. Chem., 77 (8), 2297-2302, (2005).