

ガスクロマトグラフ-高分解能質量分析および核磁気共鳴による 有機合成化合物の構造確認を目的としたmsFineAnalysis AIの活用 - 直接導入プローブ測定 -

関連製品：質量分析計(MS)、核磁気共鳴装置(NM)

はじめに

有機合成化合物の化学組成と化学構造の同定手法として、ガスクロマトグラフ-高分解能質量分析(GC-HRMS)と核磁気共鳴分光分析(NMR)の両方を用いた測定法が広く利用されている。

ターゲット化合物がGCを通過しない高沸点化合物の場合、GC-MS測定は適しておらず、GCを介さないダイレクトMS測定が適している。GC-HRMSであるJMS-T2000GCには、1. サンプルを入れたガラスキャピラリーを加熱するDIP(Direct Insert Probe)、2. フィラメントタイプのDEP(Direct Exposure Probe)、そして3. ソフトイオン化法である電界脱離イオン化法(FD)プローブの3種類のダイレクトMS測定プローブがある。化学組成の推定と化学構造を予測できるソフトウェア、msFineAnalysis AIはGC-MSだけでなくダイレクトMS測定結果の解析にも適しており、NMR測定方法の決定およびNMR測定結果の解析に役立つ。

NMR装置であるJNM-ECZ600Rに搭載可能なROYALプローブ™ HFXはHF側(^1H , ^{19}F 側)のチューニングを1核、2核それぞれで行うことができ、測定によって使い分けができる。それによりLF側(^{13}C 等)と合わせて3核の同時チューニングを実現した C , H , F から成る有機合成化合物に対する強力な化学構造決定ツールである。

本アプリケーションノートでは、DEPを用いたEI法(DEI: Desorption Electron Ionization)とFDを用いたJMS-T2000GCとmsFineAnalysis AI、そしてJNM-ECZ600RとROYALプローブ™ HFXを用いて高沸点化合物の化学組成と化学構造を解析した事例について報告する。

Table 1. Measurement and analysis conditions

HRMS	JMS-T2000GC (JEOL Ltd.)
Ionization	DEI+ : 70eV, 300μA FD+ : -10kV
DEP current program	0A → 5.12A/min → 1A
FD emitter current program	0mA → 51.2mA/min → 40mA
Monitor ion range	m/z 10-800
Analysis software	msFineAnalysis AI (JEOL Ltd.)

NMR	JNM-ECZ 600R (JEOL Ltd.)
Proton observed frequency	600MHz
Probe	ROYALPROBE™ HFX (JEOL Ltd.)
Method	^1H , ^{19}F , ^{13}C [^1H , ^{19}F], ^1H - ^{13}C HSQC, ^1H - ^{13}C HMBC
Analysis software	NMR software Delta 5.3.3 (JEOL Ltd.)

測定

581.8°Cと高い沸点をもつciprofloxacinをサンプルとした。1mg/mLメタノール溶液に調製したサンプルをMS測定に用いた。また、重水と重水素化酢酸-d4を50:1の割合で混合した溶液0.6mLにサンプル10mgを溶解し、NMR測定を行った。HRMSおよびNMRの測定・解析条件の詳細をTable 1に示す。

測定結果

DEIマスペクトルおよびFDマスペクトルのmsFineAnalysis AI 解析結果をFigure 1に示す。自動解析結果により、ciprofloxacinが最有力候補として表示された。FDマスペクトルから確認された分子イオンの化学組成は $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{FN}_3\text{O}_3$ と推定された。分子イオンのアイソトープパターンは、計算された $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{FN}_3\text{O}_3$ のアイソトープパターンとよく一致した。また、EIフラグメントイオンの化学組成は $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{FN}_3\text{O}_3$ と矛盾のない結果を示した。さらに、NISTデータベース検索でもciprofloxacin が一番高い類似度を示した。

次に、NMR結果によるMS結果の確認を行った。測定核種と測定方法はmsFineAnalysis解析結果を基に考えた。

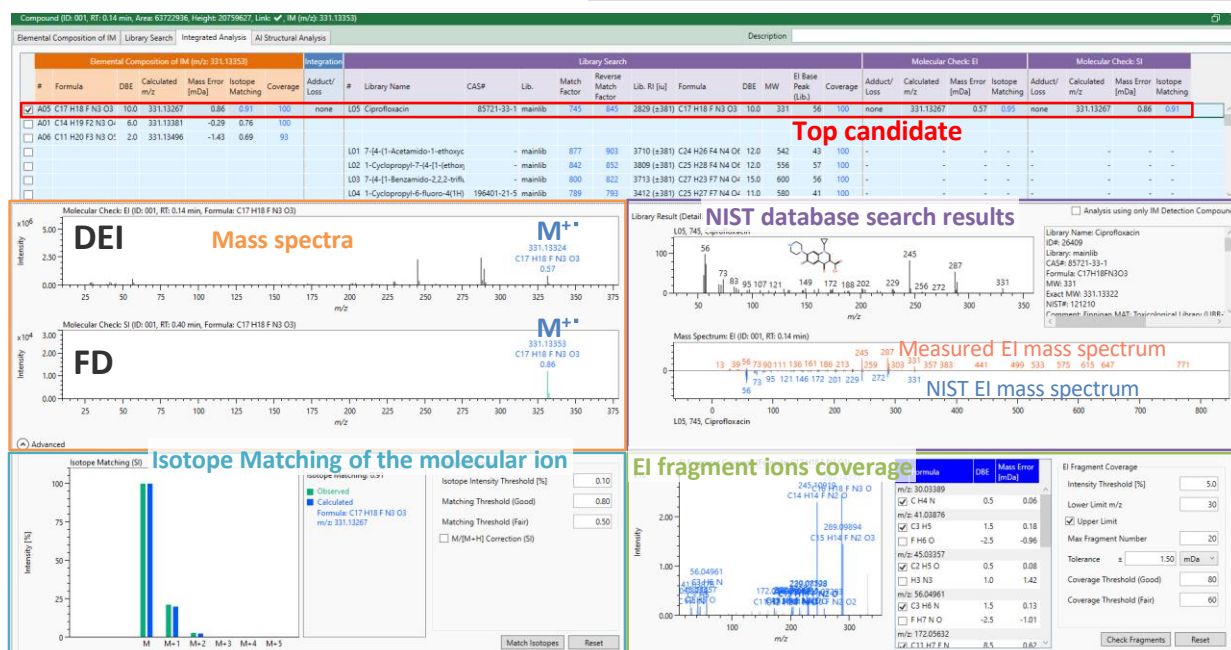


Figure 1. msFineAnalysis AI results

msFineAnalysis AI解析結果に基づき ^{19}F , ^1H , ^{13}C NMR測定を行った。具体的には、一次元 ^{19}F , ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}, ^{19}\text{F}\}$ 及び二次元HSQC (Heteronuclear Single Quantum Coherence)とHMBC(Heteronuclear Multiple Bond Correlation)測定を実施した。

得られた各NMRスペクトルをFigure 2およびFigure 3に示した。図中には参考文献1に示されるciprofloxacinの合成経路を基にした重要な帰属を赤字で示した。その他のNMRシグナルも含めてciprofloxacinの化学構造を示唆した。

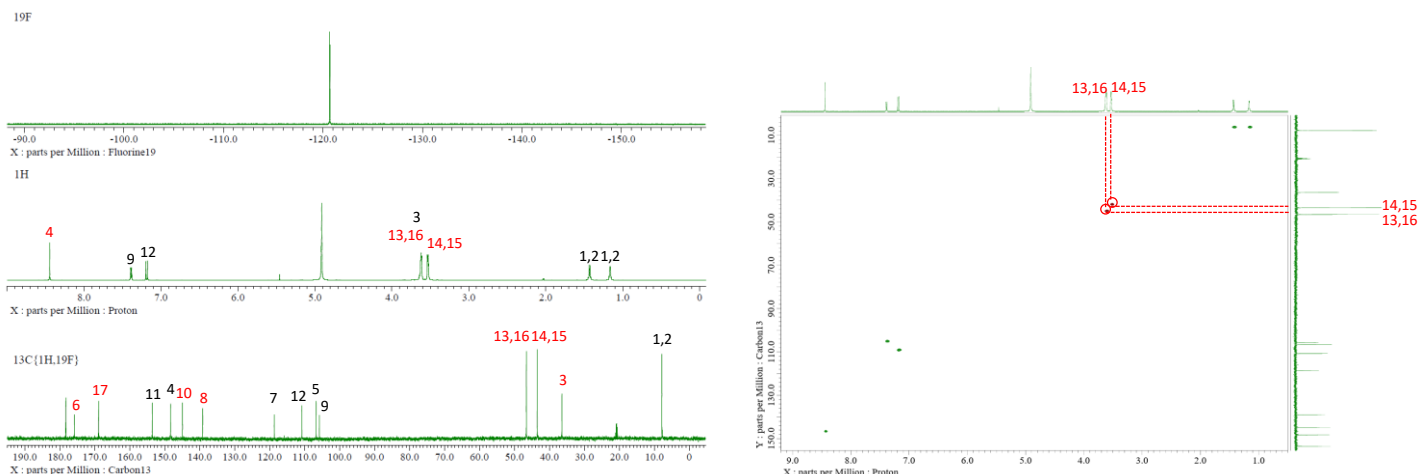
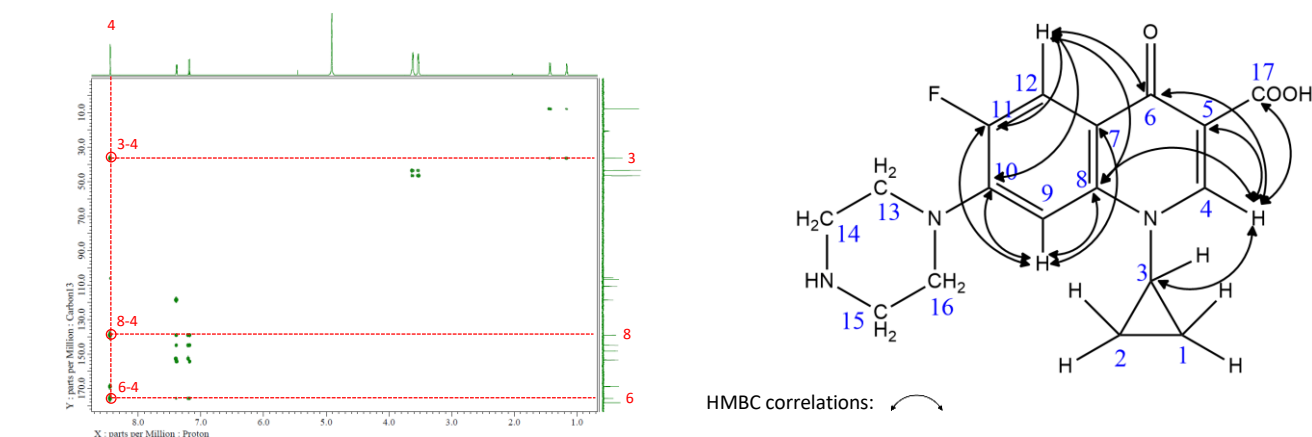


Figure 2. NMR spectra
Left: ^{19}F spectrum(top), ^1H spectrum(middle), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}, ^{19}\text{F}\}$ (bottom)
Right: HSQC



Position	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
^1H / ppm	1.43/1.16	1.43/1.16	3.63	8.45					7.39			7.19	3.62	3.53	3.53	3.62	—
^{13}C / ppm	7.9	7.9	36.5	148.3	106.7	175.8	118.7	139.1	105.8	144.9	153.5	110.8	46.6	43.5	43.5	46.6	168.9
$J_{\text{F-C}}$ / Hz							9.2			10.7	253	23.8	4.4				

Figure 3. Chemical shift table and HMBC spectrum and HMBC correlations on the chemical structure

まとめ

DEIおよびFDを用いたHRMS結果から化合物の化学組成および推定化学構造を得ることができた。このHRMS結果を基に行ったNMR測定の結果から骨格構造および官能基の位置に関わる情報を得ることができた。今回のサンプルではmsFineAnalysis AIの解析結果から正しい化学構造であるciprofloxacinを推定でき、かつNMR結果により正確に確認された。

本MSTipsで示したJMS-T2000GC + msFineAnalysis AIおよびJNM-ECZ600R + ROYALプローブ™ HFXを用いた有機合成化合物の化学構造の同定方法は、幅広い有機合成化合物のすべての合成段階での利用が期待される。

参考文献

- 1) N. Perrerr Tosso, Bimbisara K. Desai, Eliseu De Oliveira, Juekun Wen, John Tomlin, and B. Frank Gupton, J. Org. Chem. 2019, 84, 3370–3376.
DOI: 10.1021/acs.joc.8b03222