

1260 Infinity III LCで  
同等の結果を得られます

## 不均一な液/液反応のオンラインモニタリング

Snapdragon Chemistry SRS モジュールによる  
Agilent 1260 Infinity II オンライン LC システムと  
Mettler Toledo EasySampler 1210 の組み合わせ

### 著者

Matt Weisshaar, David Ford  
Snapdragon Chemistry  
Waltham, MA, USA

Haiko Herschbach,  
Edgar Naegele  
Agilent Technologies, Inc.  
Waldbronn, Germany

### 概要

このアプリケーションノートでは、不均一な反応をモニタリングする目的で、Snapdragon 化学サンプリングシステム (SRS) モジュールを使用して Agilent 1260 Infinity II オンライン LC と Mettler Toledo EasySampler 1210 を組み合わせることについて説明します。この組み合わせにより、不均一な液/液反応を伴う化学反応器からの自動サンプリングと希釈が可能になり、化学反応を継続的にモニタリングしながら化学反応器を無人で使用できるようになります。

## はじめに

低分子の化学反応は多くの場合、液/固や液/液溶媒などの不均一な混合物中で起こります。これらの反応の分析、特にオンライン LC による分析は、サンプリングプロセスにおける不均一性や固形物による LC キャピラリーやチューブの詰まりにより困難を伴うおそれがあります。さらに、クエンチングおよび LC 分析に適した濃度に希釈することにより、サンプル中の反応を停止させる必要があります。このプロセスは通常手動で行われますが、アットライン分析と、容器内の反応の進行に対して遅延を伴うという欠点があります。

このアプリケーションノートでは、不均一な液/液相反応のオンライン LC 分析について説明します。サンプリングは、不均一系のサンプリング用に特別に設計されたプローブによって行われます。プローブに接続された Mettler Toledo EasySampler は、サンプルを Snapdragon Chemistry SRS インタフェースに移動させ、クエンチ、希釈、混合を行って、最終的にサンプルを 1260 Infinity II オンライン LC に転送します。これにより、反応容器の内容物をほぼリアルタイムで分析できるようになり、反応を無人で監視できるようになります。

不均一な液/液反応の例として選択された反応は、安息香酸ベンジルの加水分解エステル開裂です (図 1)。遊離体の安息香酸ベンジルはメチルテトラヒドロフランに溶解し、生成物である安息香酸カリウムとベンジルアルコールは水相に溶解します。強力に攪拌して相間の接触面積を増大させ、相間移動触媒である水酸化テトラブチルホスホニウムを添加することで、遊離体の水性相への移動が促進されます。反応温度を 60 °C に上げると、反応速度がさらに速くなります。酸性水溶液でクエンチすると、安息香酸が生成されます。

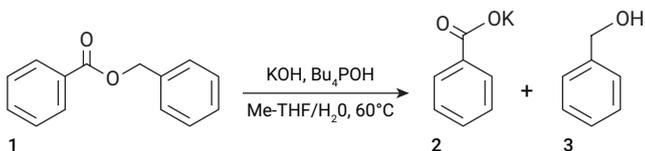


図 1. 安息香酸ベンジル (1) の加水分解による安息香酸カリウム (2) とベンジルアルコール (3) の生成

## 実験

本検討で使用する機器を表 1 に、メソッドパラメータの概要を表 2 および 3 に示します。機器とソフトウェアのセットアップについては、別の技術概要で詳しく説明しています。<sup>1</sup>

表 1. 装置構成

製品タイプ	アジレント製品名
装置	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Agilent 1290 Infinity II ハイスピードポンプ (G7120A)</li> <li>- Agilent 1260 Infinity II オンラインサンプルマネージャセット (G3167AA) :</li> <li>- Agilent 1260 Infinity II オンラインサンプルマネージャ (G3167A)、リアクタバルブポッド (部品番号 5067-6680) と Agilent オンライン LC モニタリングソフトウェアを備えた Agilent 1290 Infinity バルブドライブ (G1170A) クラスタリング</li> <li>- Agilent 1290 Infinity II マルチカラムサーモスタット (G7116B)</li> <li>- Agilent 1290 Infinity II ダイオードアレイ検出器 (G7117B)、Agilent InfinityLab Max-Light カートリッジセル付き (10 mm, G4212-60008)</li> </ul>
追加のハードウェア	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Snapdragon Chemistry SRS</li> <li>- Mettler Toledo EasySampler 1210、33 cm プローブ付属</li> <li>- Mettler Toledo EasyMax 102 リアクタ</li> <li>- Julabo クーラー</li> </ul>
カラム	Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18、3.0 × 50 mm、1.8 μm (部品番号 959757-302)
ソフトウェア	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Agilent OpenLab CDS、バージョン 2.6</li> <li>- Agilent オンライン LC モニタリングソフトウェア、バージョン 1.2 およびリモート制御ライセンス (G2956AA)</li> <li>- Snapdragon Chemistry SRS 制御ソフトウェア</li> </ul>

表 2. メソッドパラメータ

パラメータ	値
<b>分析メソッドの条件</b>	
溶媒	A) 水 + 0.1 % ギ酸 (FA) B) アセトニトリル (ACN) + 0.1 % FA
分析流量	1.0 mL/min
グラジエント	0 分 5 % B、2 分 95 % B、ストップタイム 2 分
カラム温度	45 °C
フィード速度	分析流量の 80 %
溶媒のフラッシュアウト	水:ACN 9:1 + 0.1 % FA (S2)
フラッシュアウト容量	自動
注入量	1 μL
ニードル洗浄	3 秒、水:メタノール 80:30 + 0.1 % FA (S1)
ダイオードアレイ検出器	215 ± 4 nm、リファレンス：オフ、データレート 40 Hz
<b>Agilent オンライン LC モニタリングソフトウェア</b>	
サンプリング	直接注入のみ
吸引スピード	設定 2 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 吸引スピード：100 μL/min</li> <li>- 待ち時間：3.6 秒</li> </ul>
スケジュール	必要なし、SRS ソフトウェアが制御

表 3. Snapdragon Chemistry SRS ソフトウェアおよびハードウェア設定、溶媒は Mettler Toledo EasySampler で使用のもの

Sample Relay System ソフトウェアセッティング	
希釈	1:200
混合時間	5 秒
洗浄容量	1.6 mL、2 回洗浄
Easy Sampler Single 溶媒	なし
サンプリング間隔	15 分
Sample Relay System ハードウェアセッティング	
圧力	- 機器入口で 30 psi - 機器前面のレギュレータで 15 psi - 流量計で 0.1 L/min
Mettler Toledo EasySampler	
溶媒	リアクタ溶媒：水 希釈：メタノール クエンチング：メタノール:水 80:20 + 1 % FA

### 反応条件

安息香酸ベンジル 25 mM (4.8 mL) を 60 mL のメチルテトラヒドロフランに溶解し、Mettler Toledo EasyMax 102 (内部温度センサーと EasySampler プローブを装備) の 100 mL 反応容器に移しました。KOH 1.5 当量 (2.1 g) を 40 mL の水に溶解し、リアクタに加えました。反応混合物を高速で攪拌し (500 rpm)、60 °C (リアクタ温度調節用の外部 Julabo クーラーでは 25 °C) まで加熱しました。反応は、相間移動触媒として作用する水酸化テトラブチルホスホニウム 0.1 当量 (1.8 mL、40 % 水溶液) の添加によって開始されました。

### 試薬

- 安息香酸ベンジル
- 水酸化カリウム
- 水酸化テトラブチルホスホニウム (40 % 水溶液)
- メチル テトラヒドロフラン
- ギ酸

### 溶媒と試薬

- 移動相には、Agilent InfinityLab アセトニトリル (ACN) HPLC 用 (部品番号 5191-5100) を使用しました。
- 試薬はドイツの VWR 社から購入しました。
- 超純水は、LC-Pak Polisher および 0.22 μm メンブレンユースポイントカートリッジ (Millipak) を装着した Milli-Q Integral システムで精製しました。

### 結果と考察

上述の反応のトレンドプロットを図 2 に示します。最初のサンプリングポイントでは、遊離体の安息香酸ベンジル (青いトレース) が 100 面積 % で示されています。15 分後、2 番目のサンプリングポイントでは、安息香酸 (紫のトレース) とベンジルアルコール (緑のトレース) の生成物が現れ始めます。3 番目のサンプリングポイントでは、遊離体が 73.7 面積 % に減少し、生成物である安息香酸とベンジルアルコールがそれぞれ 14.7 面積 % と 11.4 面積 % に増加したことがわかります。反応は 15 分ごとにサンプリングポイントを設けて 800 分間 (13.3 時間) モニタリングされました。最後のサンプリングポイントまでに、遊離体は 8.5 面積 % に減少し、生成物は 55.8 面積 % と 35.5 面積 % に増加しました (表 1)。

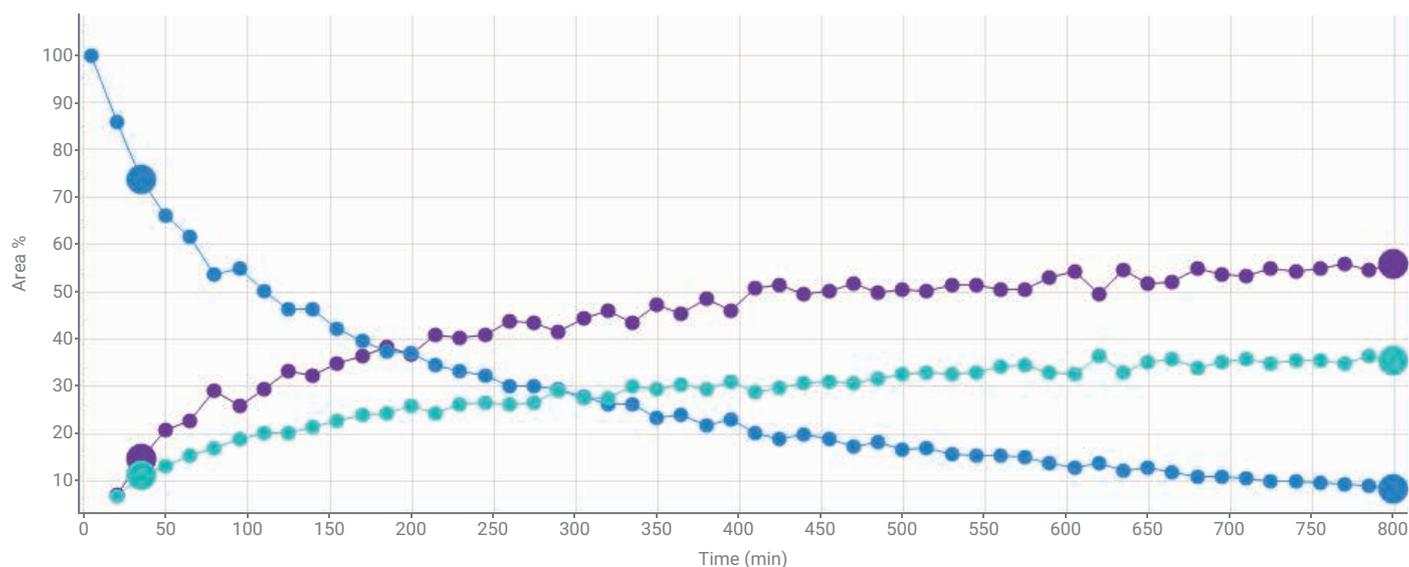


図 2. 安息香酸ベンジル (青) から安息香酸 (紫) およびベンジルアルコール (緑) への不均一液/液反応のトレンドプロット

遊離体と生成化合物のクロマトグラフィーによる分離は、短いグラジエントを使用して達成され、安息香酸ベンジルは 1.489 分で、安息香酸は 0.849 分で、ベンジルアルコールは 0.774 分で溶出しました (図 3)。

図 3 には、トレンドプロット (図 2) で強調表示されているサンプリングポイント 3 (青) と最後のサンプリングポイント (緑) の重ね表示も示されています。これらのクロマトグラムは、選択されたサンプリングポイントにおける安息香酸ベンジルのピーク面積の減少と、安息香酸およびベンジルアルコールのピーク面積の増大を示しています。

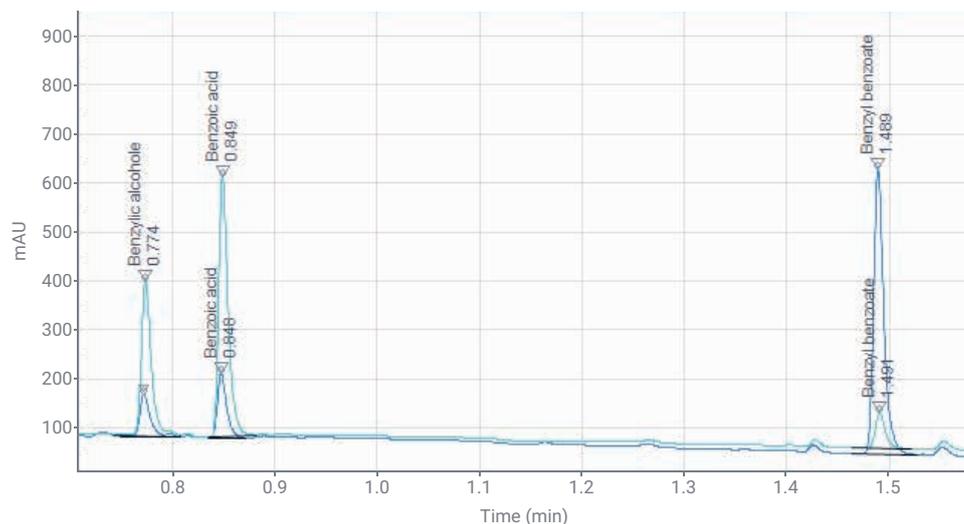


図 3. 安息香酸ベンジル (1.489 分)、安息香酸 (0.849 分)、およびベンジルアルコール (0.774 分) のクロマトグラフィーによる分離。サンプリングポイント 3 (青) と 800 分のサンプリングポイント (緑)

表 4. サンプリングポイント 3 (上 3 行) と、800 分経過後おける最後のサンプリングポイント (下 3 行) の詳細

化合物	RT (分)	面積 %	面積	高さ
ベンジルアルコール	0.772	11.44	63.36	87.98
安息香酸	0.848	14.97	81.95	129.87
安息香酸ベンジル	1.489	73.77	408.70	578.31
ベンジルアルコール	0.774	35.56	217.37	312.53
安息香酸	0.849	55.85	341.42	525.72
安息香酸ベンジル	1.491	8.59	52.49	71.82

## 結論

このアプリケーションノートでは、Agilent 1260 Infinity II オンライン LC と Mettler Toledo EasySampler および Snapdragon Chemistry SRS を使用したプローブを用いた不均一系化学反応のモニタリングについて説明しました。例として使用した不均一液/液反応を、15 分ごとのサンプリングポイントで 13 時間以上にわたってモニタリングしました。得られたデータとトレンドプロットは、移動・クエンチ・希釈・混合などでサンプルが適切にハンドリングされていることを示し、このような反応で予想されるトレンド曲線を明確に示しました。

## 参考資料

1. Performance Evaluation of a Reactor Sampling Device for Online LC. Agilent Technologies technical overview, publication number 5994-6983EN, **2024**.

ホームページ

[www.agilent.com/chem/jp](http://www.agilent.com/chem/jp)

カスタムコンタクトセンター

**0120-477-111**

[email\\_japan@agilent.com](mailto:email_japan@agilent.com)

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

DE80579198

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2024

Printed in Japan, October 15, 2024

5994-7000JAJP