

GC-MSを用いた高感度分析法と異性体識別法の開発



研究ノート

角井伸次*

Development of highly sensitive analytical methods
and isomer discrimination methods using GC-MSKey Words : Selective fragmentation, Isomer discrimination,
Chemical ionization, Silicone compounds

はじめに

ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS) は、ガスクロマトグラフと質量分析計をつないだ複合分析装置であるが、どちらをメインにして利用するかによって、使用方法は大きく2つに分類できる。

1つはガスクロマトグラフ (GC) をメインとした利用で、質量分析計 (MS) は高感度な検出器としての役割を果たす、もう1つは MS をメインとした利用となり、この場合 GC は分離能の高いサンプル導入装置の役割を果たす。

GC-MS では、GC で分離された成分は、MS でイオン化され検出される。定量は検出されたイオンで行われるため、高感度な検出が可能になる。さらに特定のイオンが選択的に生成する化合物に変換できれば、より高感度に検出・定量することが可能になる。

一方、GC は分離能に優れた装置であるが、一般に使用される FID (水素炎イオン化型検出器) などの検出器では、分離された成分を定性することはできない。GC-MS では分離した成分についてマススペクトルが得られるため、非常に強力な複合分析装置となっている。しかしながら、構造異性体のマススペクトルには、ほとんど差が見られない。筆者らは、識別することが困難な薬物の異性体の分析を行った。

本稿において GC-MS を用いた高感度分析法と異性体識別法について紹介する。

選択的開裂を用いた高感度分析法

GC は高い分離能を持った分析法であるが、カルボン酸は極性が高いため、分析にはシリル化やアルキル化などの誘導体化が必要となる。シリル化は高感度な誘導体を生成するが、湿気に不安定であるという欠点がある。一方、メチル化やペンタフルオロベンジル化などのアルキル化は安定な誘導体を与える。メチル誘導体の電子イオン化 (EI) マススペクトルは McLafferty 転位により比較的低質量のイオンがベースピークになるため、定量には不利となる。ペンタフルオロベンジル (PFB) 誘導体の場合、生成する PFB カチオン (m/z 181) がベースピークになるため、マススペクトルから化合物を同定することは困難となる。

そこで筆者らは、GC-MS 用の誘導体化法として、4-*t*-ブチルベンジル誘導体化を考えた。この誘導体は安定で、質量分析によりメチルラジカルの脱離とともに、安定な第三級ベンジルカチオン (図1, path *b*) が、path *a* より生成する一級ベンジルカチオンより優先的に生成することが期待され、その結果定量イオンの強度が高くなるのではないかと予想した¹⁾。

まず、相間移動触媒条件下で酢酸の4-*t*-ブチル

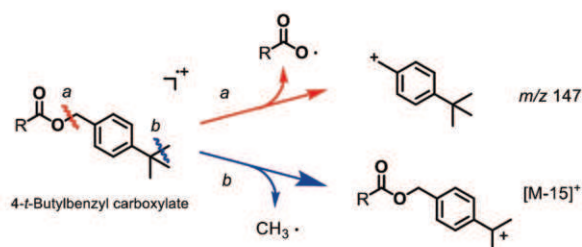


図1 カルボン酸の4-*t*-ブチルベンジル誘導体の開裂



* Shinji TSUNOI

1963年3月生まれ
大阪大学大学院 工学研究科 応用精密
化学専攻博士前期課程 (1987年)
現在、大阪大学大学院 環境安全研究管
理センター 准教授 博士(工学)
専門/分析化学
TEL : 06-6879-8977
FAX : 06-6879-8978
E-mail : tsunoi@epc.osaka-u.ac.jp

ベンジル誘導体を合成し、そのEIマスペクトルを測定した(図2)ところ、 m/z 191のピークがベースピークとして検出された。このイオンは、分子イオンからメチルラジカルが脱離して生成した三級ベンジルカチオン $[M-15]^+$ に対応する。マスペクトルからは、図1の path a の4-*t*-ブチルベンジルカチオン (m/z 147) の生成が抑制され、三級ベンジルカチオンである m/z 191のピークが高強度で生成した。分子イオンの強度は非常に小さいものの、期待どおりの結果が得られた。

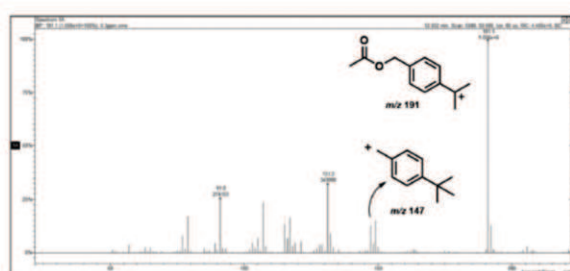


図2 酢酸 4-*t*-ブチルベンジル誘導体のEIマスペクトル

次に、*n*-オクタン酸と分岐した異性体である2,2-ジメチルヘキサン酸について検討した。オクタン酸の4-*t*-ブチルベンジル誘導体は、高強度で三級ベンジルカチオン (m/z 275) が生成した(図3a)。メチル誘導体で容易に起こる McLafferty 転位によって生成されるイオン (m/z 206) の形成は抑制された。一方、2,2-ジメチルヘキサン酸は m/z 275のイオンの強度がかなり低くなった(図3b)。これは、

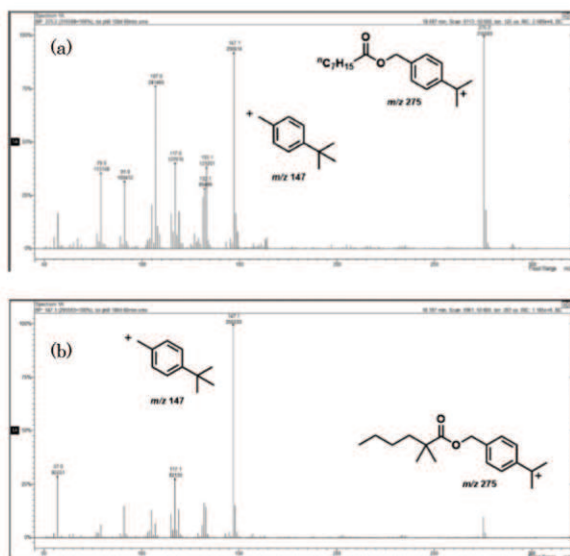


図3 オクタン酸(a)および2,2-ジメチルヘキサン酸(b)の4-*t*-ブチルベンジル誘導体のEIマスペクトル

図4に示した4-*t*-ブチルベンジルカチオン (m/z 147) とともに生成するカルボキシレートラジカルが脱炭酸し、比較的安定な三級ラジカルが生成するためと考えられる。

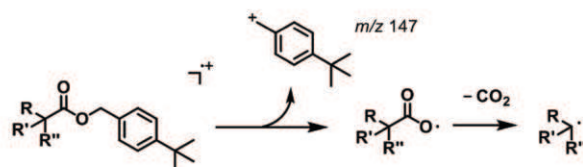


図4 分岐を持つカルボン酸の開裂

最後に、*n*-オクタン酸の4-*t*-ブチルベンジル誘導体の感度を、メチル誘導体と比較した。メチル化はトリメチルシリルジアゾメタンを使用して行った。4-*t*-ブチルベンジル誘導体はメチル誘導体の7倍の感度を示した。また、分岐を持つカルボン酸である2-エチルヘキサン酸の場合にも2倍の感度を示した。このように、4-*t*-ブチルベンジル誘導体化により、カルボン酸の高感度分析が達成された。

ケイ素化合物を用いた化学イオン化質量分析による異性体識別

通常、化学イオン化質量分析(CI-MS)はメタン、イソブタン、アンモニアなどの試薬ガスを使って分析対象物質をイオン化する。CIはソフトなイオン化で開裂が起こりにくく分子量関連イオン ($[M+H]^+$ など) が生成しやすい。筆者らは、液体CI試薬が導入可能な装置を用い、試薬ガスとしてケイ素化合物を使った質量分析の研究を行っている。今回、一般に識別が困難な薬物の位置異性体分析に試薬ガスとしてケイ素化合物を使うことを考えた。ケイ素化合物から生成するケイ素カチオン特有の反応を期待し、ビニルトリメチルシラン(VTMS)をCI試薬

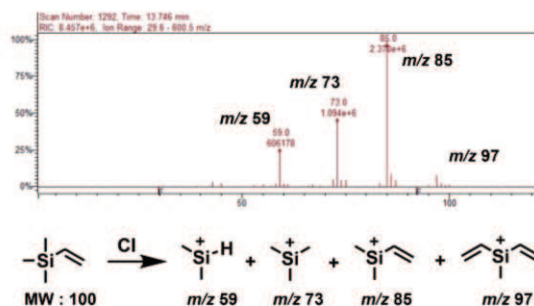


図5 VTMSより生成する試薬イオン

ガスとして使用した。VTMS は CI 条件下、イオン-分子反応によって図 5 に示した様々なシリルカチオンを生成した。

分析対象には、カチノン系薬物であるメチルプフェドロン (MeBPs) およびメトキシプフェドロン (MeOBPs) の 3 種類の芳香族位置異性体を用い、分析はヘプタフルオロブチリル誘導體化 (HFB) の後に行った (図 6)²⁾。以下、主にメトキシプフェドロン (MeOBPs) について検討した結果を示した。

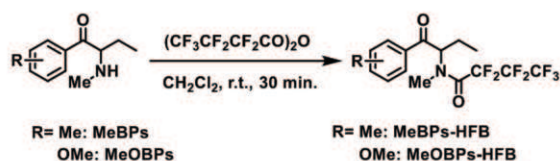


図 6 プフェドロン類の HFB 誘導體化

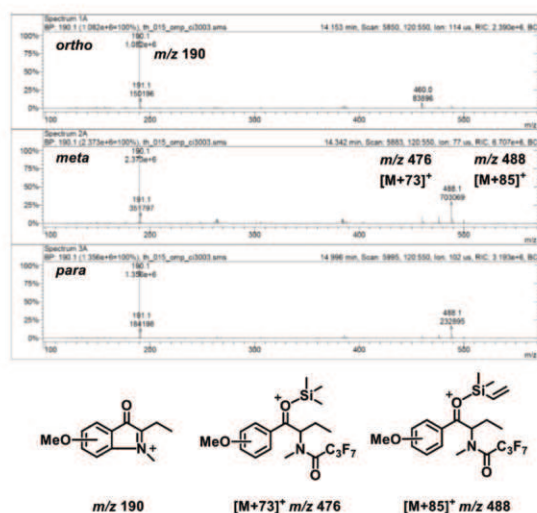


図 7 MeOBPs-HFB の VTMS-CI マスペクトル (上からオルト、メタ、パラ体)

図 7 に VTMS による MeOBPs-HFB (MW 403) の CI マスペクトルを示した。化学イオン化でよく検出されるプロトン化分子 $[M+H]^+$ (m/z 404) はあまり検出されなかった。代わりに、すべての異性体において、 m/z 190、476、および 488 のイオンが検出された。 m/z 190 のフラグメントイオンは、環状イミニウムイオンと推定された。分子イオンよりも大きい m/z 476 および 488 の 2 つのイオンは、それぞれトリメチルシリルカチオンおよびビニルジメチルシリルカチオンの付加イオン (それぞれ $[M+73]^+$ および $[M+85]^+$) である。同様のマスペクトルが MeBPs-HFB でも観察された。

MeBPs-HFB と MeOBPs-HFB の両方について、CI スペクトルは 3 種の位置異性体で同じイオンを生成したため、異性体を明確に識別することはできなかった。

次に、MeOBPs-HFB の位置異性体に対するビニルジメチルシリルカチオン $[M+85]^+$ の付加イオンである m/z 488 をプレカーサーイオンとしてのタンデム質量分析を行った (図 8)。オルト体では m/z 386 および 460 の 2 つのプロダクトイオンの強度が強かったため、この 2 つのイオンに着目した。メタ体では、オルト体に比べて m/z 386 のプロダクトイオンの強度が弱かった。一方、パラ体では m/z 460 のイオンの強度が弱かった。 m/z 386 および 460 のイオンの構造をスペクトルの下に示した。これらの結果は、VTMS CI-MS/MS における m/z 386 および 460 のピークの強度比の大きな違いによって、MeOBPs-HFB の 3 つの位置異性体が簡単に区別できることを示している。MeBPs-HFB の場合も同様の結果が得られた。

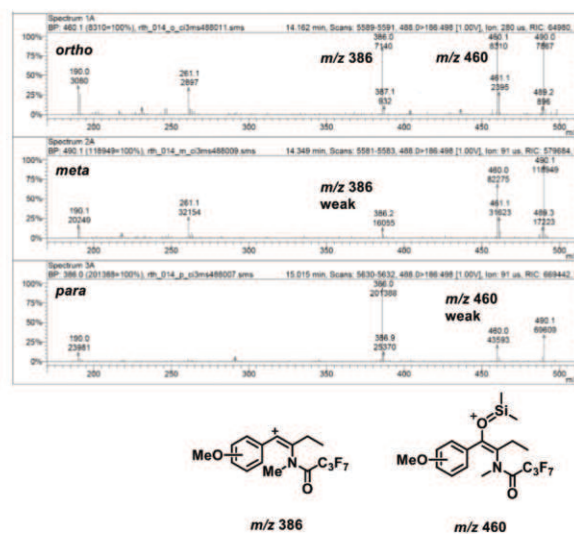


図 8 MeOBPs-HFB の VTMS-CI タンデムマスペクトル (上からオルト、メタ、パラ体、プレカーサーイオン m/z 488)

図 9 には、MeOBPs-HFB の m/z 488 ($[M+85]^+$) のプレカーサーイオンから生成する m/z 386 と 460 のイオンの生成機構について示した。 m/z 460 のプロダクトイオンは、酸性度が高いカルボニル基の α プロトンがビニル基に転位し、続いて 2-シリルエチルカチオン I からエチレンが脱離することによって形成されたものと考えられる。2-シリルエチル

カチオン I が生成したのは、 β カチオンのケイ素による安定化によるものと考えられる。また、オルトおよびメタ異性体の場合、 o -[M+85]⁺ などのオルト MeO 基の立体障害により、ビニルシラン部分とカルボニル基の α プロトンが近接しているため、カチ

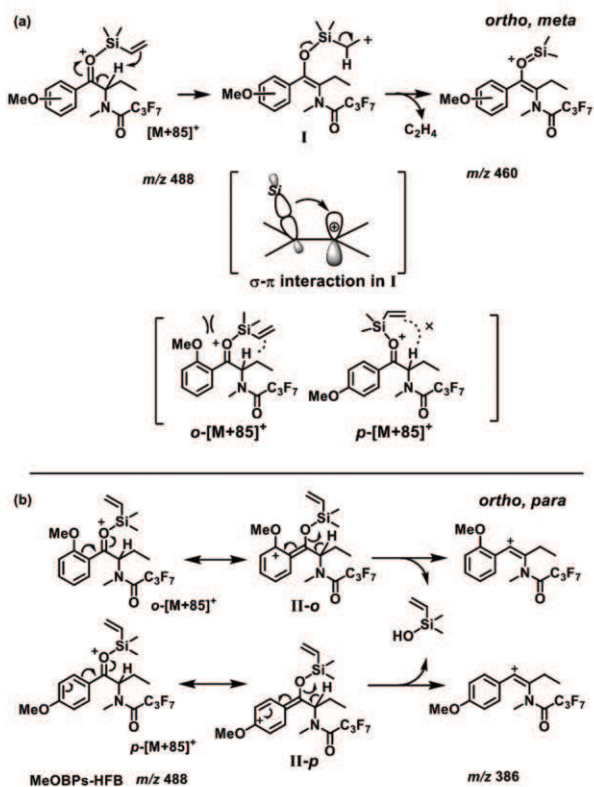


図9 VTMS-CI タンデムマススペクトルより生成したイオン m/z 460 (a) および 386 (b) の生成機構

オン I が形成されやすいと考えられる (図 9a)。MeOBPs-HFB の m/z 386 のプロダクトイオンは、シラノールが脱離した結果であると推定される (図 9b)。オルトおよびパラ異性体は、MeOBP のメトキシ基の共鳴効果により、安定した中間体 II- o および II- p を生成することができる。MeOBPs-HFB のメタ異性体では、メトキシ基の共鳴効果がないため、 m/z 386 の生成は少なかった。また、メチル基に共鳴効果がないため、すべての MeOBPs-HFB 異性体でシラノールの脱離は観察されなかった。

おわりに

本稿では、GC-MS を用いた高感度分析法と異性体識別法について紹介した。

様々な新しい化学物質が大量に生み出され環境中に放出されるようになり、より高感度な分析法が必要になってきている。また、薬物が社会に蔓延し、構造の類似した薬物がどんどん出回るようになり、法規制といたちごっこの状態を呈しており、薬物関係の異性体の識別はますます重要な課題になってきている。

本技術が、分析化学の発展に寄与することができれば幸いである。

参考文献

- 1) <https://doi.org/10.1007/s42452-020-2646-y>
- 2) <https://doi.org/10.1002/ansa.202300064>

