

## ●500 MHz クライオプローブ NMR による微量試料の測定

TN460

Measurement of Trace Samples by 500 MHz Cryoprobe NMR

### [概要]

クライオプローブとは検出コイル温度が極低温になっているプローブです。ノーマルプローブ（常温）と比較してサーマルノイズを著しく低減することが可能であるため、測定感度が大幅に向上します。このため、測定時間の短縮が可能となり、数日を要していたものが数時間になるなど、構造解析の効率化に繋がります。

さらに、感度向上により測定に必要な試料量を大幅に減らすことができ、医薬品の類縁物質等の微量試料の分取・精製に要する時間・コストの削減や、環境負荷の低減にも繋がります。具体的には、ノーマルプローブ NMR での測定に 5~10 mg 必要であった場合、クライオプローブ NMR では 0.2~1 mg で測定可能です。

本稿では、微量試料のモデル化合物としてリファンピシンを選択し、当社で保有する 500 MHz クライオプローブ NMR と 400 MHz ノーマルプローブ NMR で同一試料を測定して得られるスペクトルの比較を行いましたのでご紹介致します。

### [条件]

装置：500 MHz クライオプローブ NMR と 400 MHz ノーマルプローブ NMR

試料：リファンピシン（分子式  $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ 、分子量 822.95）の 0.6 mg/0.15 mL DMSO- $d_6$  溶液

試料管：5 mm マイクロボトムチューブ（下部外径 3 mm）

測定項目： $^{13}C$  NMR（積算回数 20000 回）及び HMBC（異核種間遠隔相関分光法）（積算回数 32 回）

### [結果]

$^{13}C$  NMR について、500 MHz クライオプローブ NMR ではほぼ全てのシグナルが検出されましたが、400 MHz ノーマルプローブ NMR ではノイズレベルのシグナルしか検出されず、解析不可能なスペクトルとなりました（図 1）。

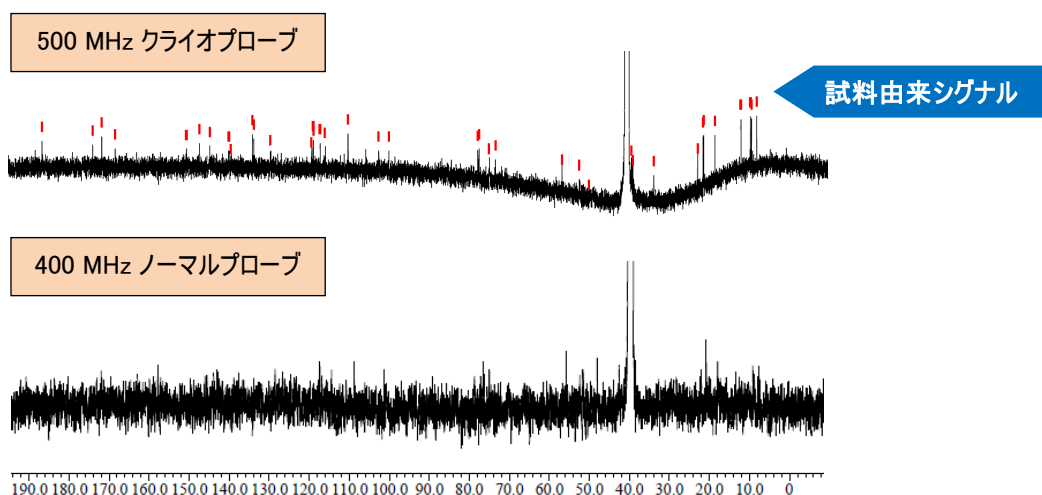


図 1.  $^{13}C$  NMR スペクトル

HMBCについても同様に、500 MHz クライオプローブ NMR では検出できていたシグナルが、400 MHz ノーマルプローブ NMR で測定した場合は、検出できていないケースがありました (図 2)。

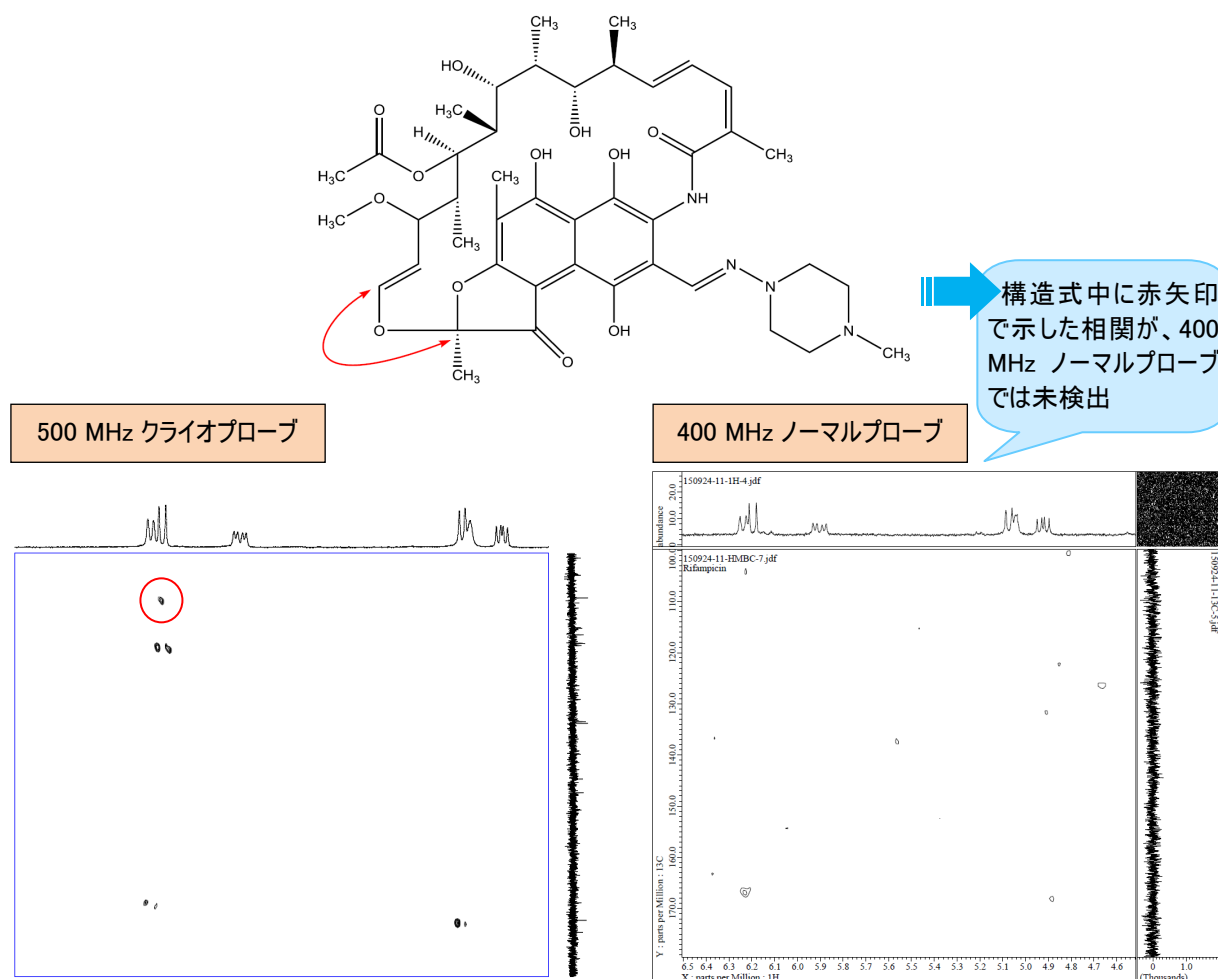


図 2. リファンピシンの構造式と HMBC スペクトル (拡大図)

### [まとめ]

500 MHz クライオプローブ NMR では、400 MHz ノーマルプローブ NMR と比較して大幅に測定感度が向上し、構造解析に威力を発揮します。

- ・ 従来検出できなかったシグナルの検出
- ・ 測定時間の短縮 (約 1/10 に短縮)
- ・ 測定に必要な試料量の低減 (5~10 mg → 0.2~1 mg)
- ・ 試料調製のための分取コスト及び時間の削減
- ・ 分取に要する溶媒量削減による環境負荷の低減 (図 3)

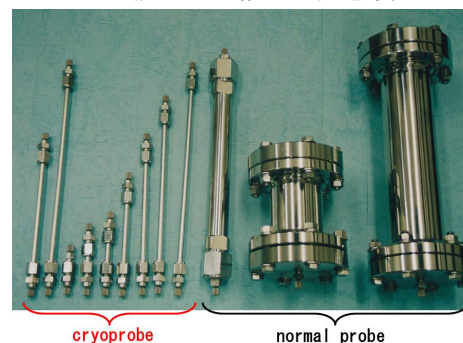


図 3. 必要な分取カラムの比較イメージ (左: クライオ用、右: ノーマル用)