

Nexera UC Prep 应用于合成原料药的分析 和制备

SFC-019

摘要： 本文利用岛津 Nexera UC Prep 超临界流体制备色谱系统建立了合成原料药的分析 and 制备方法。以满足合成原料药快速分析和大量制备纯化的目的。重复性实验结果显示，色谱峰的保留时间 RSD% 为 0.18%，峰面积 RSD% 为 1.8%，重复性良好。Nexera UC Prep 对合成原料药的制备回收率为 80.4%。

关键词： Nexera UC Prep 合成原料药 超临界流体色谱

超临界流体色谱 (Supercritical Fluid Chromatography, SFC) 是以超临界流体为主要流动相，具有分析速度快、立体选择性好、分离效率高、溶剂消耗少特点的分 离技术，已成为手性药物分离和制备的研究新热点。目前，超临界 CO₂ 因其对环境良好，廉价易得，

后处理简单等特点，常用作 SFC 的流动相。

本文利用岛津 Nexera UC Prep 超临界流体制备色谱系统建立了针对合成原料药的快速分析和大量制备纯化的方法，以提升分析和制备效率。

■ 实验部分

1.1 仪器

岛津 Nexera LC-40 液相色谱系统。具体配置为 LC-40B XR 输液泵，DGU-403 在线脱气机，SIL-40C XR 自动进样器，CTO-40C 柱温箱，SPD-40V 紫外检测器，LabSolutions Ver. 5.98 色谱工作站。

岛津 Nexera UC 超临界流体色谱分析系统。具体配置为 LC-30AD SF CO₂ 输液泵，LC-30AD 改性剂输液泵，SIL-30AC 自动进样器，CTO-20AC 柱温箱，SPD-M20A 二极管阵列检测器，SFC-30A 背压调节器，CBM-20A 控制器，LabSolutions Ver. 5.98 色谱工作站。

岛津 Nexera UC Prep 超临界流体制备色谱系统。具体配置为 LC-40P SF CO₂ 输液泵，LC-20AP 改性剂输液泵，FRS-40 自动进样器和馏分收集器，CTO-40C 柱温箱，SPD-M40 二极管阵列检测器，SFC-40P 背压调节器，HEX-40 热交换器，CBM-40 控制器，LabSolutions Ver. 5.98 色谱工作站。



图 1 Nexera UC Prep 超临界流体制备色谱系统图

1.2 分析条件

HPLC 色谱条件

色谱柱: Inertsil ODS-3 (150 mm × 4.6 mm I.D., 5 μm)

P/N: 5020-01731, 岛津 (上海) 实验器材有限公司

流动相: A 相 - 超纯水 B 相 - 乙腈

流速: 1.5 mL/min

柱温: 50°C

进样量: 10 μL

洗脱方式: 梯度洗脱, B 相初始浓度为 5%, 时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0	Pump	B.Conc	5
10	Pump	B.Conc	95
12	Pump	B.Conc	95
13	Pump	B.Conc	5
15	Controller	Stop	

Nexera UC 色谱条件:

色谱柱: Nexera UC Chiral CC4 (150 mm × 4.6 mm I.D., 5 μm)

P/N: 220-91625-11, 岛津 (上海) 实验器材有限公司

流动相: A 相 - scCO₂ B 相 - 乙醇

流速: 3.0 mL/min

BPR 压力: 10 MPa

柱温: 40°C

BPR 温度: 50°C

进样量: 1 μL

洗脱程序: 等度洗脱, 25% B 相

Nexera UC Prep 色谱条件:

色谱柱: Nexera UC Chiral CC4 (250 mm × 20 mm I.D., 5 μm)

P/N: 220-97337-24, 岛津 (上海) 实验器材有限公司

流动相: A 相 - scCO₂ B 相 - 乙醇

流速: 94.5 mL/min

BPR 压力: 10 MPa

柱温: 40°C

BPR 温度: 50°C

进样量: 500 μL

洗脱程序: 等度洗脱, 25% B 相

1.3 样品前处理方法

样品储备液: 准确称取 1.3 g 合成原料药样品, 直接吸取 5 mL 异丙醇, 溶解样品, 作为样品储备液。

HPLC 系统样品测试液: 吸取 1 mL 样品储备液, 用异丙醇稀释至 1 mg/mL, 进样 10 μL。

Nexera UC 系统样品测试液: 吸取 1 mL 样品储备液, 用异丙醇稀释并定容至 10 mL, 进样 1 μL。

Nexera UC Prep 系统样品测试液: 吸取 3 mL 样品储备液, 用异丙醇稀释并定容至 10 mL, 进样 500 μL。

■ 结果与讨论

2.1 合成原料药 HPLC 色谱图

按照 1.3 配制成 1 mg/mL 的合成原料药溶液，上机分析，所得 HPLC 色谱图如图 2 所示，主峰 1 和杂质峰 2 分离度良好，色谱峰 1 出峰时间约为 9 min。

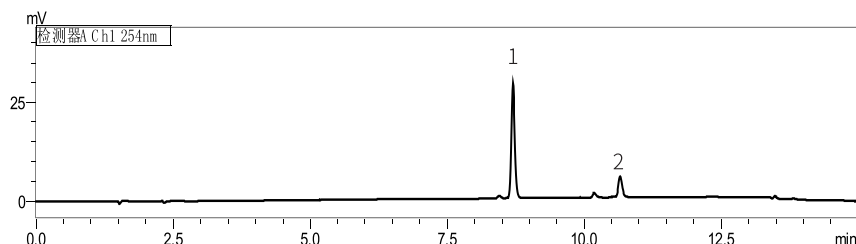


图 2 合成原料药 HPLC 色谱图

2.2 合成原料药 Nexera UC 测试色谱图

Nexera UC 系统样品测试液所得 SFC 色谱图如图 3 所示，主峰 1 和杂质峰 2 分离度良好，且分析结果显示与 HPLC 分离情况匹配，主要色谱峰面积比见表 2，并确证了目标色谱峰在 SFC 分析色谱图中的出峰位置。色谱峰 1 出峰时间约为 3.5min，较 HPLC 分析，SFC 在保证良好分离度基础上，出峰时间提前，达到快速分析目的，提升分析效率。

表 1 梯度洗脱时间程序

Peak	SFC	HPLC
1	74.43%	74.33%
2	16.15%	16.22%

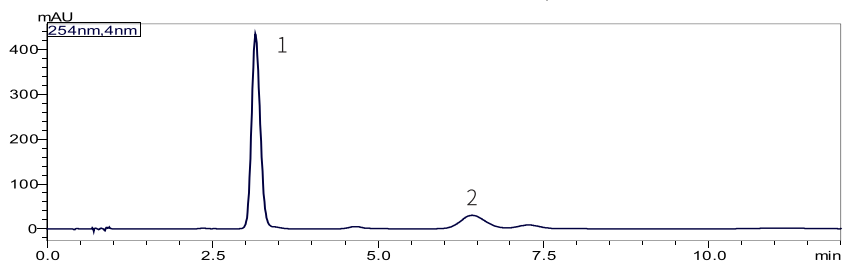


图 3 合成原料药 SFC 色谱图

2.3 合成原料药 Nexera UC Prep 测试色谱图

通过 SFC 和 SFC Prep 色谱柱横截面积，计算 SFC Prep 流速为 56.7 mL/min，并根据色谱柱柱长差异，调整流速为 94.5 mL/min，且进样量设为 500 uL。Nexera UC Prep 系统样品测试液所得 SFC Prep 色谱图如图 4 所示，主峰 1 和杂质峰 2 分离度良好，分析结果显示与 SFC 分离情况一致，主要色谱峰面积比见表 3。SFC Prep 在快速分析的情况下，流速和进样量大幅增大，可以满足合成原料药大规模制备纯化要求，快速分析的同时，大量制备纯化。

表 3 主要色谱峰面积比

Peak	SFC Prep	SFC
1	75.85%	74.43%
2	16.18%	16.15%

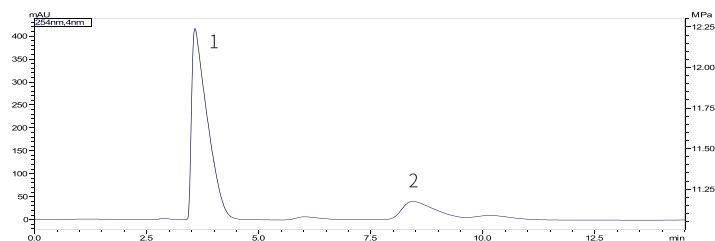


图 4 合成原料药 SFC Prep 色谱图

2.4 Nexera UC Prep 测试重复性考察

Nexera UC Prep 测试重复性结果如下表 4 所示。色谱峰 1 和色谱峰 2 的保留时间 RSD% 分为 0.21% 和 0.36%，峰面积 RSD% 分别为 1.8% 和 3.6%，重复性良好。

表 4 SC Prep 重复性测试 (n=6)

名称	Peak1		Peak2	
	R.T.	Area	R.T.	Area
1	3.57	10208069	8.36	2167231
2	3.56	10301560	8.33	2062976
3	3.57	9954299	8.4	2018029
4	3.58	10409134	8.33	2116172
5	3.57	10398221	8.39	2212913
6	3.56	10052700	8.38	2037156
AVG	3.57	10220663	8.37	2102412
RSD/%	0.21	1.8	0.36	3.6

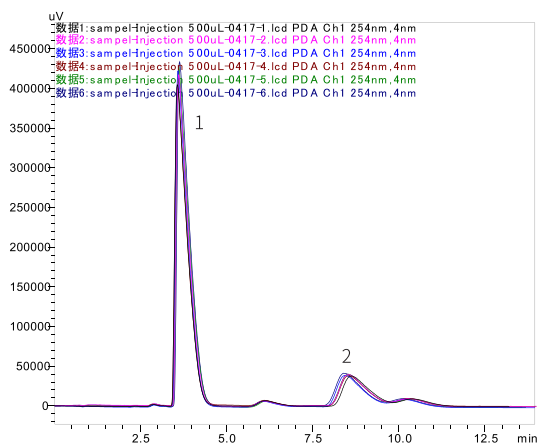


图 5 SFC Prep 重复性测试色谱图

2.5 Nexera UC Prep 制备回收率

针对主峰 1 进行制备回收率考察，结果如下表 5 所示，制备回收率为 80.4%，且纯度合格，满足要求。

表 5 主峰 1 回收率

	Area	Recovery	Average
Initial	299715	N/A	N/A
Fraction	240804	80.3%	80.4%
	241222	80.5%	

注: $\text{Recovery} = \text{Fraction Area} / \text{Initial Area} * 100\%$

Initial: 取 500 μL Nexera UC Prep 系统样品测试溶液，定容至 10 mL，进样 1 μL

Fraction: 色谱峰 1 馏分定容至 10 mL，进样 1 μL

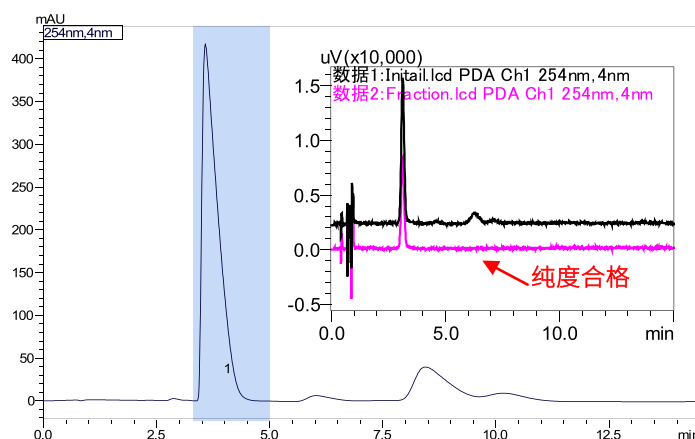


图 6 主峰 1 制备回收率色谱图

■ 结论

本文采用岛津 Nexera UC Prep 超临界流体制备色谱系统，建立了针对合成原料药的快速分析和大规模制备纯化的方法。重复性实验结果显示，色谱峰的保留时间 RSD% 为 0.18%，峰面积 RSD% 为 1.8%，重复性良好。Nexera UC Prep 对合成原料药的制备回收率为 80.4%，且纯度合格。相较于 HPLC 常规分析，SFC 具有分析速度快特点，在保证良好分离度情况下，SFC Prep 增大流速和进样量，大大提升分析和制备效率，以满足合成原料药大规模制备纯化的目的。

岛津应用云

