

超临界流体色谱分析仪 Nexera™ UC 分析方法开发软件 LabSolutions™ MD 使用 LabSolutions MD 提高手性化合物的分离效率

01-00621-CN

增田 佑亮

特点描述

- ◆ 使用超临界流体色谱法，能够在短时间内分离手性化合物。
- ◆ 通过 LabSolutions MD，能够高效构建新化合物的分析条件。
- ◆ 分析酸性和碱性化合物时，在改性剂中加入适当的添加剂，能够改善色谱峰峰型。

■ 引言

手性化合物是一种分子中含有不对称碳原子，互为镜像且不能叠加的化合物。HPLC 一直是分离手性化合物的主流方法，但近年来，超临界流体色谱分析法（Supercritical Fluid Chromatography: SFC）的应用引起了人们的关注。SFC 使用的流动相主要是超临界二氧化碳，具有低极性、低粘度、高扩散性的特点。在流动相中添加极性有机溶剂（改性剂）可以抑制目标化合物与固定相之间的相互作用。手性化合物通常使用 HPLC 正相条件进行分离，但上述 SFC 的独特性质使 SFC 分析更具优势，分离速度更快、有机溶剂使用量更少，从而降低成本并减少对环境的影响。

在此背景下，制药领域在新药研究合成的过程中广泛使用 SFC 进行手性化合物光学拆分。但是，从种类繁多的手性色谱柱中寻找适合分析物的分析柱和流动相（改性剂）组合需要花费大量的精力和时间，因此需要更快、更精简的方法，用于手性化合物的分离。

本文将介绍使用 Nexera UC 手性筛选系统及分析方法开发软件 LabSolutions MD 开发手性化合物分离条件的工作流程。

■ Nexera UC 手性筛选系统

Nexera UC 手性筛选系统由 SFC 系统、溶剂切换阀和色谱柱切换阀组成，能够自动连续在最多 12 根色谱柱，最多 7 种改性剂之间切换，研究各种分离条件，全面收集数据。与其他系统相比，Nexera UC 在各种分离条件下进行分析，可以更快地确定手性化合物的高效分离条件，从而节省劳动力。



图 1 Nexera™ UC 手性筛选系统

■ 目标分析样品

本文优化了三类目标的分析条件，即氯美扎酮（中性化合物）、氟比洛芬（酸性化合物）和丙吡胺（碱性化合物）（图 2）。所有化合物均有 1 个不对称碳元素，存在 2 种异构体。

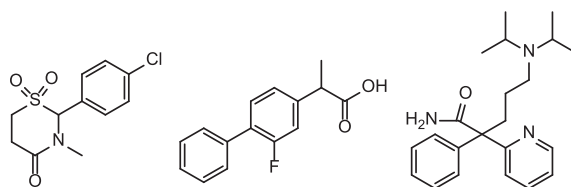


图 2 各化合物的结构式
(从左向右依次为氯美扎酮、氟比洛芬、丙吡胺)

■ 创建色谱柱筛选设计

通过使用 LabSolutions MD，可通过简单操作自动批量创建多种分析条件，高效地进行筛选。设置改性剂和色谱柱时，可选择预先在软件的数据库中注册的内容进行研究（图 3）。手动变更条件进行考察时，需要更换改性剂和色谱柱，创建分析方法及分析批次等大量工作，而使用 LabSolutions MD，可通过简单的操作设置实现完全自动化。

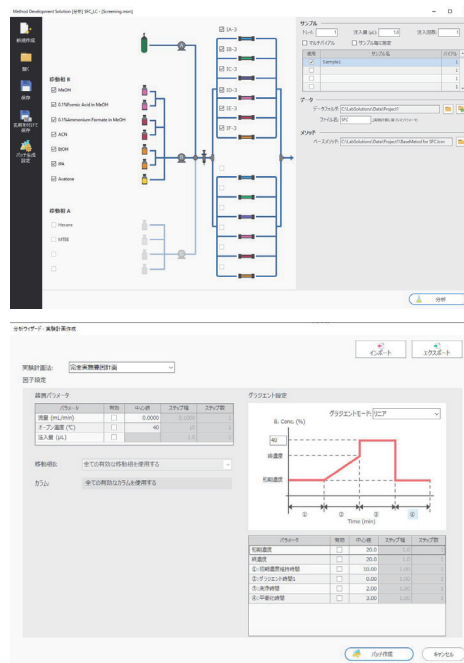


图 3 实验设计创建画面

本文对各种化合物进行了筛选，包括 6 种改性剂和 7 种色谱柱，合计 42 种条件。筛选条件如表 1 所示。

使用氯美扎酮作为样品进行筛选的结果如图 4 所示。

表 1 改性剂和色谱柱的考察条件

系统	: Nexera UC 手性筛选系统
色谱柱	: CHIRALPAK® IA-3 (100 mm x 3.0 mm I.D., 3 μm) CHIRALPAK® IB-3 (100 mm x 3.0 mm I.D., 3 μm) CHIRALPAK® IC-3 (100 mm x 3.0 mm I.D., 3 μm) CHIRALPAK® ID-3 (100 mm x 3.0 mm I.D., 3 μm) CHIRALPAK® IE-3 (100 mm x 3.0 mm I.D., 3 μm) CHIRALPAK® IF-3 (100 mm x 3.0 mm I.D., 3 μm)
流动相 A	: CO ₂
流动相 B	: 甲醇 乙腈 乙醇 异丙醇 丙酮 0.1% 甲酸甲醇溶液 0.1% 甲酸铵甲醇溶液
流速	: 3.0 mL/min
时间程序	: B 浓度 20% (0-8 min) → 40% (8.01-10.0 min) → 20% (10.01-12.0 min)
柱温	: 40°C
进样量	: 2 μL 乙醇溶液
BPR 压力	: 10 MPa
检测	: 220 nm (氯美扎酮) 245 nm (氟比洛芬) 260 nm (丙吡胺) (带高压流通池的 PDA)

■ 通过筛选结果快速预测最佳条件

如图 4 所示，由于色谱柱筛选阶段中获得的色谱图数量与考察条件数量相同，因此需要评估在哪种条件下可获得目标物的最佳分离效果。但是，该工作需要对比色谱法具有一定知识，同时会耗费大量精力。LabSolutions MD 能够根据各条件下目标谱峰之间的分离度进行排序，不依赖分析人员的感觉和经验，任何人都可以快速、轻松地预测最佳条件（图 5）。

在预计检测到大量谱峰的情况下，例如当分离目标具有多个不对称碳时，除根据目标谱峰之间的分离度之外，还能够根据谱峰检测数、或从谱峰检测数 (P) 与分离度 (Rs) 的总和计算的评价值 (公式 1) 进行排序。

$$(\text{评价值}) = P \times (Rs_1 + Rs_2 + \dots + Rs_{P-1}) \dots \dots \text{(公式 1)}$$

评价值最高的色谱图如图 4 中红框所示。根据筛选结果可知，对氯美扎酮进行手性分离时，当改性剂为甲醇，色谱柱为 CHIRALPAK®IC-3 时，可以获得最佳分离效果。

样品名	流动相 B 简称	色谱柱简称	响应
氯美扎酮	甲醇	IA-3	11.049
氯美扎酮	0.1% 甲酸铵甲醇溶液	IF-3	10.872
氯美扎酮	0.1% 甲酸铵甲醇溶液	IA-3	10.727
氯美扎酮	乙醇	IF-3	10.629
氯美扎酮	0.1% 甲酸铵甲醇溶液	IA-3	10.628
氯美扎酮	乙醇	IA-3	10.445
氯美扎酮	甲醇	ID-3	10.193
氯美扎酮	0.1% 甲酸铵甲醇溶液	ID-3	10.005
氯美扎酮	0.1% 甲酸铵甲醇溶液	ID-3	9.928
氯美扎酮	甲醇	IF-3	8.102

图 5 各条件通过评价值排序 (按照评价值从高到低的顺序显示前 10 的条件)

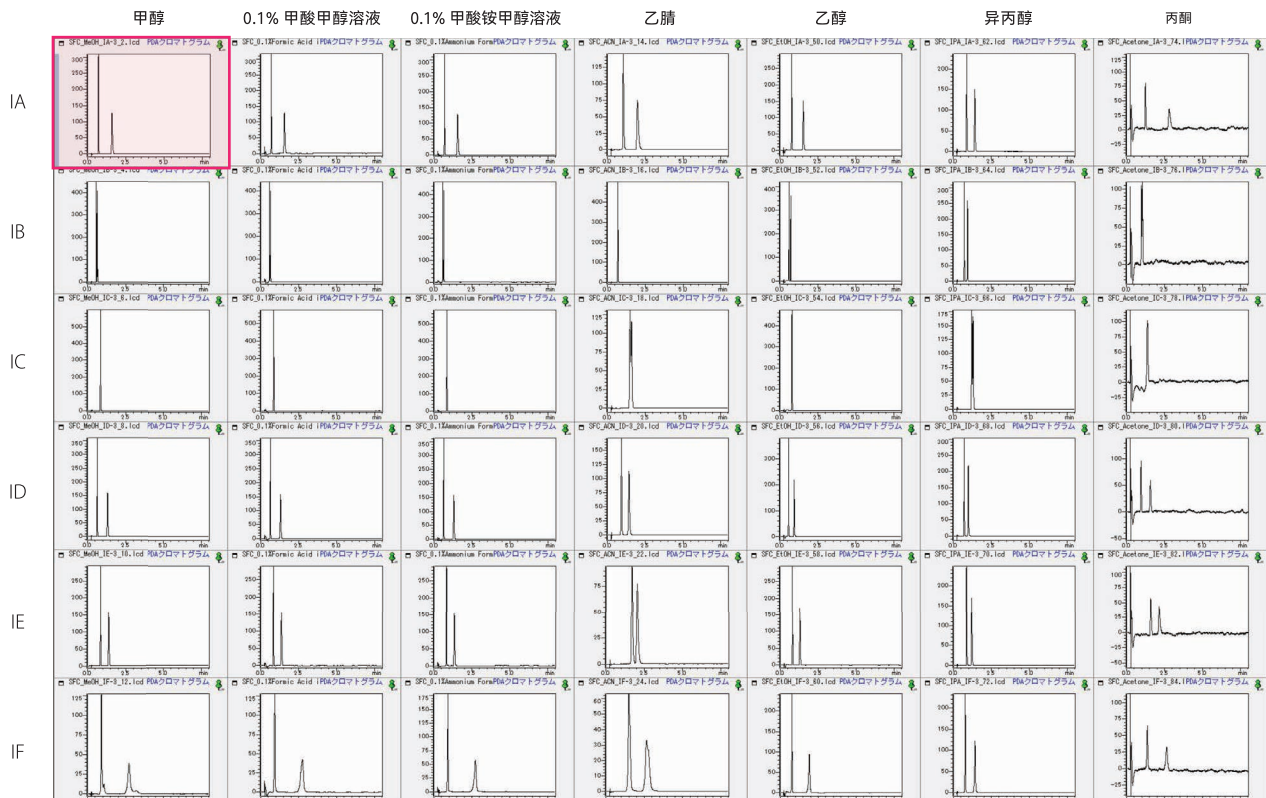


图 4 通过筛选得到的氯美扎酮色谱图 (红框: 评价值最高的色谱图)

■ 通过添加剂调整分离，改善峰形

使用 HPLC 进行分析时，有时会在流动相中添加缓冲剂、离子对试剂等进行分离，以改变分离选择性或改善峰形，而在 SFC 中也会出于同样目的使用添加剂。SFC 中使用的添加剂将添加剂加入到改性剂中，而不是超临界二氧化碳。通过添加酸（如甲酸）或碱（如胺类）等，能够抑制目标组分的电离或掩蔽固定相上的二级官能基团，由此达到改善峰形的效果。

■ 氟比洛芬及丙吡胺的最佳条件

我们还以与中性化合物氟美扎酮相同的方式，预测了酸性化合物氟比洛芬和碱性化合物丙吡胺的最佳分析条件。

各化合物具有代表性的色谱图如图 6 所示。

即使是不在改性剂中添加酸性添加剂的条件下，酸性化合物氟比洛芬仍呈现出良好的峰形。与 LC 不同，由于 SFC 采用二氧化碳作为流动相，因此流动相仅稍显酸性，在分析多个酸性化合物时，不加入添加剂仍能呈现良好的峰形。但是，不同的化合物，也存在通过添加甲酸或三氯乙酸等添加剂，使峰形得到改善的情况。

另一方面，碱性化合物丙吡胺在改性剂中添加了碱性添加剂，可以通过抑制目标组分的电离或掩蔽二级官能基团的官能基来抑制非特异性吸附，从而达到改善分离及峰形的效果。

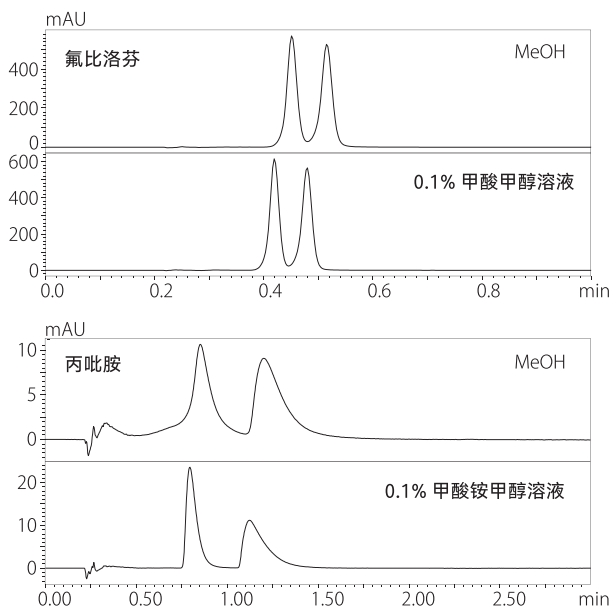


图 6 氟比洛芬（上）及丙吡胺（下）具有代表性的色谱图

■ 结论

本文介绍了使用 Nexera UC 手性筛选系统及分析方法开发软件 LabSolutions MD 预测手性化合物分离条件的工作流程。通过使用 LabSolutions MD，可以节省分析条件研究的时间和精力，提升研究效率。

SFC 流动相为二氧化碳，稍显酸性，在分析多个酸性化合物时，不加入添加剂仍能呈现良好的峰形。此外，分析碱性化合物时，通过在改性剂中添加适当的添加剂，也能够获得良好的分离效果。Nexera UC 手性筛选系统可以在最多 7 种改性剂之间切换并进行分析，不仅可以有效检查有机溶剂的种类，还可以有效检查添加剂。

此外，SFC 所使用的二氧化碳比 HPLC 所使用的许多有机溶剂价格更为便宜，而且无需花费废液处理成本，因此有望降低分析的运行成本。SFC 分析还可应用于分馏纯化处理。从分析到分馏纯化，SFC 具有广泛的适应性，能够为提高手性纯化业务的效率做出贡献。

岛津应用云



Nexera、LabSolutions 是岛津制作所株式会社或其相关公司在日本及其他国家 / 地区的商标。
CHIRALPAK 是株式会社 Daicel 的注册商标。



岛津企业管理（中国）有限公司
岛津（香港）有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话： 800-810-0439
400-650-0439

免责声明：

* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售；
* 本资料中的所有信息仅供参考，不予任何保证。
如有变动，恕不另行通知。

第一版发行日：2024 年 2 月