

## 提高药物组分纯化工作的效率、缩短纯化时间、干燥时间、降低溶媒成本

01-00134-CN

中岛 康介

### 方法优势

- ◆ 相对于常规 HPLC 制备而言，UC 制备可大大降低干燥纯化的人力成本。
- ◆ 可连续处理大批量样品，缩短纯化时间。
- ◆ 可降低纯化操作中大量使用的有机溶剂消耗，降低耗材费用。

### 简介

HPLC 制备在制药领域中被用于各种目标物的分析，例如合成化合物的纯化，杂质结构分析的纯化等。但此方法处理大量样品的纯化和回收液的干燥需要大量时间。此外，使用 HPLC 制备进行纯化会使用大量溶剂，因此购买和废弃溶剂所需的费用成为实验必须考虑的因素。本文介绍了使用超临界流体色谱制备仪“Nexera UC Prep”，通过与 HPLC 制备的对比，展示其在提升制备和纯化工作效率的案例。

### 使用 HPLC 制备纯化 2 种药物组分的案例

众所周知，通常情况下采用 HPLC 反相分离模式应对多种化合物，分离性能较好。但大多数情况下会使用水作为流动相，因此干燥样品回收溶液需要大量时间。

使用 HPLC 制备纯化 2 种药物组分的案例如下所示（表 1、图 1）。本文研讨了分别通过超临界流体色谱分析与利用常规 HPLC 制备纯化的化合物的差异，以提升 UC 纯化工作流程。

表 1 制备条件 (HPLC)

色谱柱	: Shim-pack™ Scepter C18-120 <sup>1</sup> (50 mm×20 mm I.D., 5 μm)
流动相	: A: 水 (含 0.1% (v/v) 的甲酸) B: 乙腈
流速	: 20 mL/min
时间程序	: B 浓度 10% (0-1 min) → 90% (7-9 min) → 10% (9.01-10 min)
柱温	: 室温
进样量	: 500 μL 乙腈 (每种化合物含 10 mg/mL)
样品瓶	: 10mL 螺旋瓶 <sup>*2</sup>
检测	: PDA 250 nm

\*1 P/N: 227-31102-01

\*2 P/N: 18 09 1306-1 (岛津 GLC)

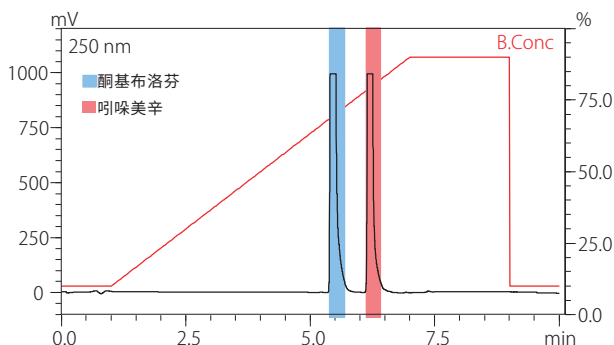


图 1 使用分取 HPLC 的药物分取色谱图

### 利用 SFC 纯化的优点

超临界流体色谱分析法 (Supercritical Fluid Chromatography, SFC) 是使用超临界流体作为流动相的色谱分析法的总称，特别是使用二氧化碳的方法广为人知。

多数情况下，二氧化碳比常规有机溶剂价格更低，可减少溶剂费用。此外，二氧化碳在大气压下回收时会自然气化，还可缩短溶液干燥回收所需的时间。

### 通过梯度分析确认保留

在 SFC 中，为调整化合物在色谱柱的保留力和保留时间，会使用少量有机溶剂 (改性剂)，通过梯度分析，改变改性剂的添加量，可调整各化合物的保留。表 2 和图 2 所示为通过梯度分析纯化 2 种药物组分的条件和结果。通过使用 Shim-pack UC Diol II 分析色谱柱，确认各目标组分已获得良好分离，可进行制备与纯化。

表 2 制备条件 (SFC、梯度分析)

色谱柱	: Shim-pack UC Diol II <sup>3</sup> (250 mm×20 mm I.D., 5 μm)
流动相	: A: CO <sub>2</sub> B: 甲醇
流速	: 60 mL/min
时间程序	: B conc.0 % (0-1 min) → 40 % (7-9 min) → 0 % (9.01-10 min)
柱温	: 40 °C
进样量	: 500 μL n-庚烷/IPA = 2:1 (每种化合物含 10 mg/mL)
样品瓶	: 10mL 螺旋瓶 <sup>*2</sup>
BPR 参数	: 10 MPa
检测	: PDA 250 nm

\*3 P/N: 227-32606-04

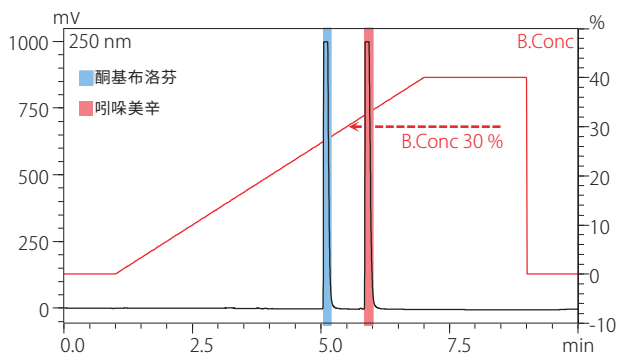


图 2 使用分取 SFC 的药物分取色谱图

## ■ 利用重叠进样方式，进行批量纯化处理

重叠进样是一种连续对色谱柱注入样品的方法，可充分利用从进样到分离出首个色谱峰的等待时间，提高制备效率。（参照：应用报告 C190-0502）本文研讨了通过使用重叠进样，缩短纯化和削减溶剂消耗量。

重叠进样时，会在分析过程中连续注入样品，因此在分析中采用不改变流动相组分比例的等度模式。结合梯度模式下化合物溶出时改性剂浓度为 30%（图 2），将等度模式的分析条件制定为改性剂浓度 30%（表 3）。根据图 2 制备色谱图设置 5 次重叠进样（图 3、图 4、图 5）。

表 3 分取条件（SFC、等度分析）

色谱柱	: Shim-pack UC Diol II <sup>TM</sup> (250 mm×20 mm I.D., 5 μm)
流动相	: A: CO <sub>2</sub> B: 甲醇
流速	: 60 mL/min
时间程序	: B 浓度 30% (0-4 min)
柱温	: 40 °C
进样量	: 500 μL n-庚烷/IPA = 2:1 (每种化合物含 10 mg/mL)
样品瓶	: 10mL 螺旋瓶 <sup>*2</sup>
BPR 参数	: 10 MPa
检测	: PDA 250 nm

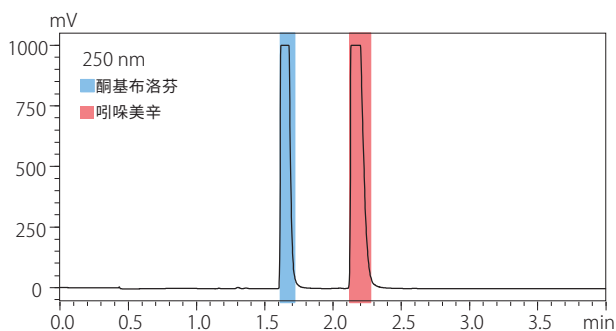


图 3 分取色谱图（等度条件）

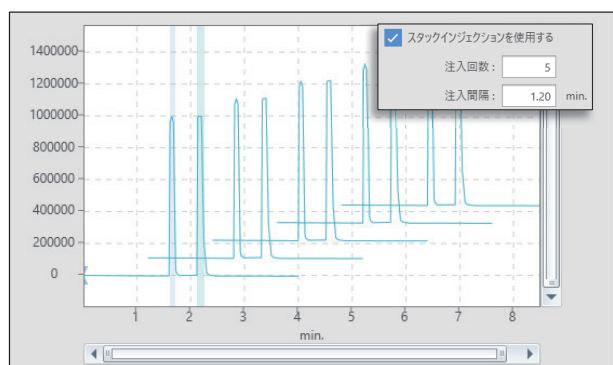


图 4 利用专用软件<sup>\*4</sup>设定重叠进样

<sup>\*4</sup> Prep Solution: 简化 Nexera UC Prep 操作的软件。通过图形化用户界面可设定装置参数、实施分取、分析数据。

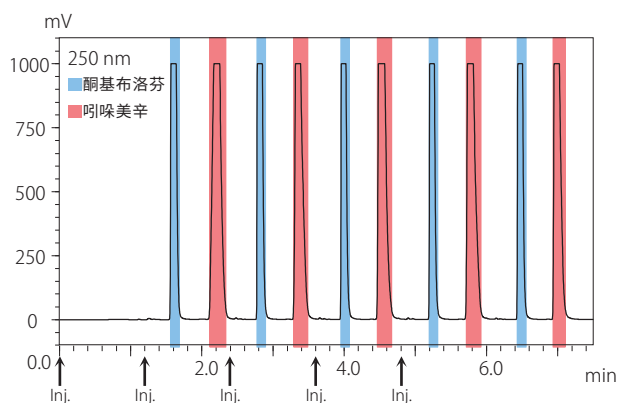


图 5 利用重叠进样制备粗样品的色谱图

## ■ 与常规 HPLC 制备比较，更节约溶剂和样品干燥时间

分别使用 SFC 和 HPLC 纯化本试验中的目标粗样品，并比较了所消耗的溶剂量和处理时间（表 4）。已知常规 HPLC 制备使用大量超纯水或有机溶媒作为流动相。而 SFC 制备则使用比有机溶剂量价格低的二氧化碳作为主要流动相，因此降低了有机溶剂量消耗。此外，通过重叠进样，连续处理大批量粗样品，进一步降低了溶剂消耗量和分析时间。

回收液干燥时间的比较如图 6 所示。SFC 制备中使用的二氧化碳会在大气压下挥发，因此回收的液量减少。此外，由于流动相中不含水，因此可将回收液的干燥时间缩短为 HPLC 制备纯化的 1/21。

表 4 不同制备纯化方式（HPLC 与 SFC）溶媒消耗量、处理时间比较

	流动相	体积	流动相	体积	总时间
制备型 HPLC	水	630 mL	乙腈	470 mL	55 min
制备型 SFC	CO <sub>2</sub>	315 mL	甲醇	135 mL	7 min

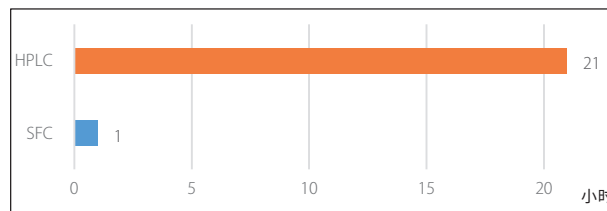


图 6 不同制备纯化方式（HPLC 与 SFC）回收液干燥时间比较

## ■ 结论

本文介绍了使用超临界流体色谱分析仪，进行药物制备纯化和干燥的案例。使用常规 HPLC 制备纯化药物化合物具有如下问题：处理时间长，劳力成本高、有机溶剂消耗大等。与此相比，SFC 制备纯化法具有多种优点，不仅适用于新化合物的分析，还可应用于常规化合物的纯化，提高其工作效率。

岛津应用云



Nexera 和 Shim-pack 是岛津制作所株式会社在日本和其他国家的商标。



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：2021 年 3 月