

Application News

No. L526

高效液相色谱法

利用 Prominence™ UFPLC 对布洛芬和相关物质进行制备纯化

液相色谱制备纯化技术是一种广泛应用于制药、食品、化工等行业的药物合成、天然产物中有效化合物的发现、微量未知化合物的结构分析等领域的技术。Prominence™ UFPLC^{†1}（以下简称 UFPLC）不仅实现了目标化合物的分离自动化，而且实现了浓缩、纯化、回收等相关过程的自动化，大大节省了制备纯化的劳动力。本文介绍了利用岛津公司先进的 UFPLC 系统制备药物布洛芬及其类似物混合样品的工艺纯化应用（图 1）。

* 1 UFPLC: Ultra Fast Preparative and Purification Liquid Chromatograph 的简称

N. Kosuke



图 1 Prominence UFPLC (先进系统)

■ 利用 UFPLC 进行分取提纯的流程

UFPLC 利用制备 LC 和捕集柱的组合自动进行与目标化合物制备分离相关的各种过程。这些过程的细节如下。

1. 用制备液相色谱法分离复杂样品中的目标化合物，并将其注入捕集柱
2. 用超纯水置换捕集柱中的溶剂
3. 使用有机溶剂对捕集柱中目标化合物进行洗脱。（各个过程的流程图如图 2 所示。）

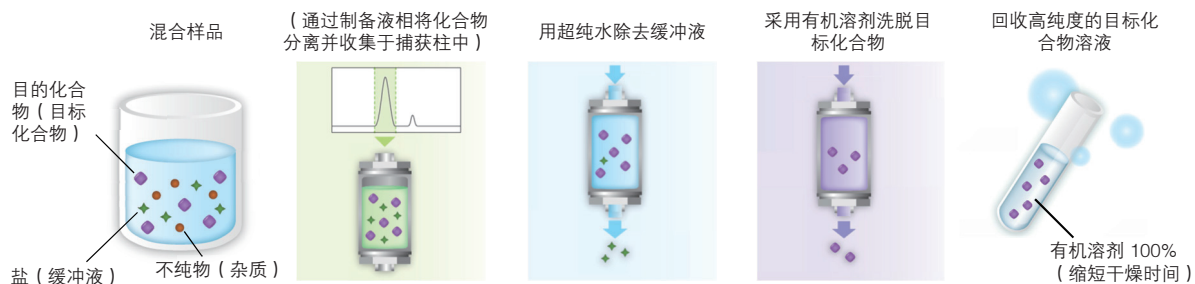


图 2 通过 Prominence UFPLC 进行分离、浓缩、净化、洗脱的流程

■ 布洛芬及其类似物的制备与纯化

布洛芬是非甾体抗炎药 (NSAIDs) 中的一种，是一种解热镇痛药。美国药典 (USP) 收录了布洛芬及其类似物 4-异丁烯酮的分析方法，以戊烯酮为内标。本文介绍了利用 UFPLC 制备纯化这三种化合物的方法（图 3）。

制备纯化条件如表 1 所示，混合溶液的制备 LC 色谱分离图如图 4 所示。将三个目标化合物用流动相溶解制备混合溶液，使各组分含量分别为 5000 mg/L。

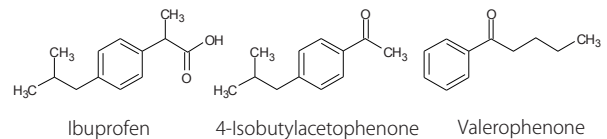


图 3 布洛芬及其类似物的结构式

表 1 制备提纯条件 (UFPLC)

Prep LC conditions

Column	: Shim-pack™ VP-ODS (250 mmL × 10.0 mm I.D., 5 μm)
Mobile phase	: A: 1% (wt/v) chloroacetic acid aq. sol. (pH 3.0 adjusted with ammonium hydroxide) B: Acetonitrile A/B = 2/3 (v/v)
Flow rate	: 9.0 mL/min
Column temp.	: Ambient
Injection vol.	: 100 μL
Detection	: UV 230 nm (prep cell)

Rinse conditions

Column	: Shim-pack™ C2P-H (30 mmL × 20 mm I.D., 25 μm)
Rinse solvent	: A: 2% (v/v) acetonitrile aq. sol., B: water
Time program	: A 15 mL/min (0-2 min) → A 8 mL/min (2.01-4 min) → B 8 mL/min (4.01-8 min)

Elution conditions

Eluent	: acetonitrile
Flow rate	: 4.5 mL/min
Detection	: UV 230 nm (prep cell)

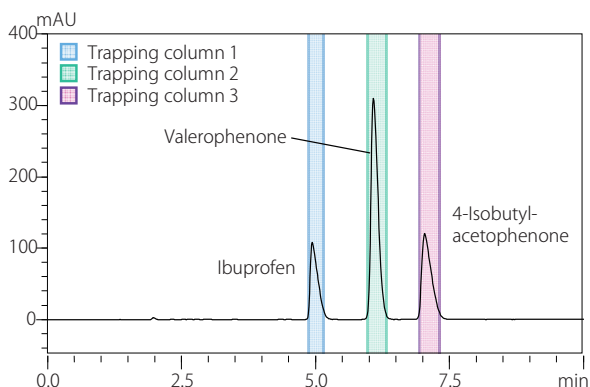


图 4 布洛芬和亲缘物质的分取色谱 (UFPLC)

布洛芬及其类似物的纯度验证

通过“Prominence”对由 UFPLC 收集的布洛芬、苯戊酮、4-异丁基苯乙酮的组分进行分析,并进行了纯度验证。分析条件如表 2 所示,色谱图如图 5 所示。此外,表 3 通过在 UV230nm 波长下检测结果,使用面积归一化计算得到各组分中目标化合物的纯度。

表 2 纯度验证的分析条件 (Prominence)

Column	: Shim-pack™ VP-ODS (250 mmL. × 4.6 mmL.D., 5 μm)
Mobile phase	: A: 1% (wt/v) chloroacetic acid aq. sol. (pH 3.0 adjusted with ammonium hydroxide) B: acetonitrile A/B = 2/3 (v/v)
Flow rate	: 2.0 mL/min
Column temp	: 30 °C
Injection Vol.	: 10 μL
Detection	: UV 230 nm (analytical cell)

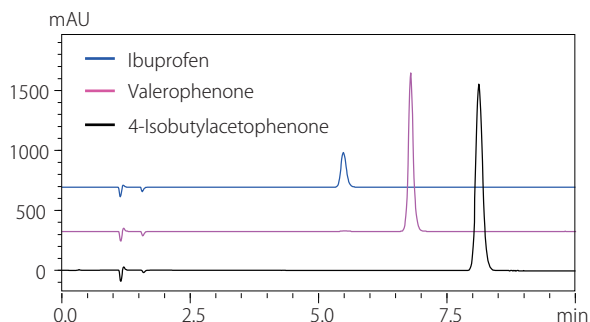


图 5 通过 UFPLC 得到的各组分的色谱图 (Prominence)

表 3 组分中包含的目标成分的纯度 (面积百分比 UV 230 nm)

	Area %
Ibuprofen	99.2
Valerophenone	99.6
4-Isobutylacetophenone	99.8

超高效液相色谱法与制备液相色谱法制备馏分干燥时间的比较

利用制备液相分离并回收目标化合物时,为了下一步使用目标物必须进行溶剂干燥。然而,由于流动相中含有水分,传统的反相制备液相色谱需要非常长的干燥时间。此外,在流动相中使用非挥发性缓冲盐的情况下,盐有时会在干燥后沉淀析出。在 UFPLC 制备纯化过程中,由于捕集柱是脱盐的,因此可以去除分离过程中使用的非挥发性盐。由于使用有机溶剂从捕集柱中回收样品,干燥时间大大缩短

为验证干燥时间的缩短,采用离心浓缩仪对 UFPLC 收集的布洛芬进行了干燥。同时也测定了制备液相收集的布洛芬馏分的干燥时间,并对二者的干燥时间进行了比较。普通制备液相馏分干燥需约 180 min,而 UFPLC 馏分的干燥时间约 20 min (图 6),在制备液相的馏分中分别评估了干燥产率,发现了流动相中的氯乙酸和铵盐。因此,它不能用于下一步制备。在 UFPLC 的馏分中,因为捕集柱脱盐干燥而制得的晶体被确认是布洛芬晶体 (图 7)。

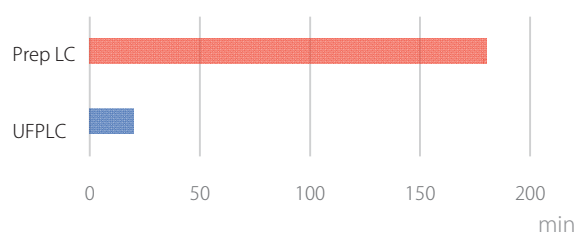


图 6 溶剂干燥时间的比较

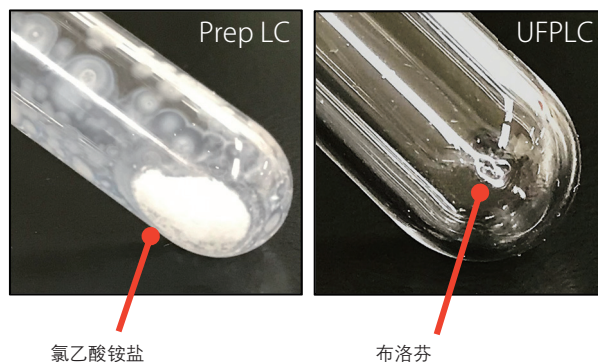


图 7 布洛芬组分干燥后的状态

Prominence 以及 Shim-pack 是岛津制作所株式会社的商标。



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: 2018 年 4 月