

使用超临界流体色谱快速分离纯化手性医药中间体

SFC-023

摘要：超临界流体色谱（SFC）是一种很有潜力的色谱分离技术，可以弥补高效液相色谱（HPLC）和气相色谱（GC）在手性对映异构体分离方面的不足。本文利用 Nexera UC Prep 超临界流体色谱系统对 3-氨基-3-(4-氯苯基)-1-丙醇和 2-(4-氟苯基)环丙烷甲酸两组手性医药中间体进行快速分离纯化，利用重叠进样的方式，实现了制备效率的 4 倍提升，节省了 75% 的时间成本和试剂消耗。

关键词：超临界流体色谱 手性 3-氨基-3-(4-氯苯基)-1-丙醇 2-(4-氟苯基)环丙烷甲酸

技术特点：

- ❖ 利用制备 SFC 的重叠进样模式实现手性医药中间体的高效分离纯化，效率提升 4 倍
- ❖ 独创的 LotusStream 气液分离器能快速引导 CO₂ 逸散，有效避免溶剂散射，减少污染

超临界流体色谱（SFC）是以超临界流体作为流动相的新型色谱分离技术，它通常以亚临界或超临界状态的 CO₂ 替代 HPLC 中的液态水性溶剂来作为流动相。由于 CO₂ 具有无毒、不燃、化学惰性等特点，基于 SFC 的分离纯化技术对环境友好、同时兼具高效、低成本等特点。

利用超临界流体色谱法进行制备，可将目标化合物高度浓缩，并通过有机溶媒进行回收，因此不仅能缩短分析时间，也可节省制备结束后的后处理时间。随着 SFC 技术的发展，越来越多的制药工作者将其作为手性药物拆分的首选工具，贯穿于手性候选药物的研发进程中。

研究表明，在相同条件下，SFC 的流动相流速

可以比 HPLC 高 3~5 倍，在分离度不变的情况下，可以大大缩短进样周期的时间间隔，利用便捷高效的重叠进样 SFC 系统，SFC 制备的进样周期时间可进一步缩短到第一个峰的开始到第二个峰的尾部之间的时间差。

岛津的 Nexera UC Prep 超临界流体色谱系统专为精简纯化工作流程而设计，可以轻松实现毫克级到克级的手性纯化需求，其独特设计的气液分离器，可有效抑制洗脱液的飞散从而实现高回收率。

SFC 技术作为一种更快、更高效的纯化工具，在为企业节省大量的高纯溶剂成本的同时也守护了我们赖以生存的美好生态环境，助力“绿色化学”与可持续发展战略。

■ 仪器与配置

Nexera UC Prep 超临界流体色谱制备

系统控制器：CBM-40
CO₂ 输送泵：LC-40P_{SF}
热交换器：HEX-40
背压调节器：SFC-40P
自动进样及：FRS-40
馏分收集器

改性剂输液泵：LC-20AP
补偿泵：LC-20AR
柱温箱：CTO-40C
检测器：SPD-M40
色谱工作站：LabSolutions V.5.118
PrepSolution V.1.3.0

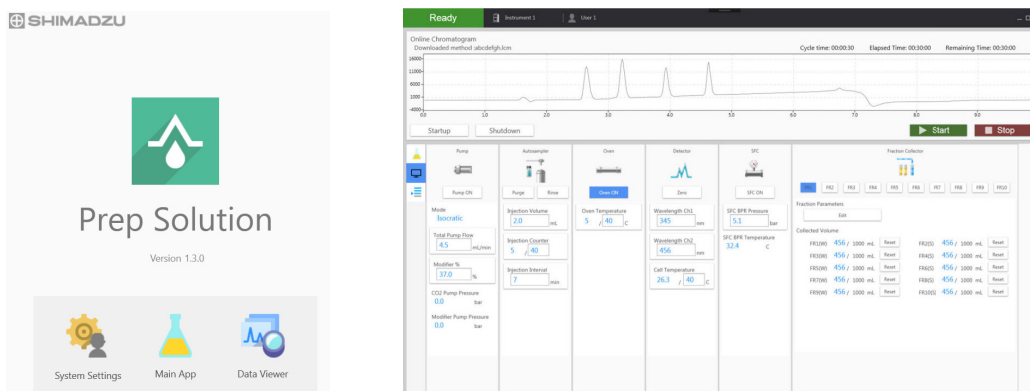


图1 Nexera UC Prep 超临界流体色谱制备系统及 PrepSolution 工作站软件

■ 两组手性医药中间体的纯化条件

3-氨基-3-(4-氯苯基)-1-丙醇和2-(4-氟苯基)环丙烷甲酸是两种重要的合成中间体，它们为神经系统类新药的研发提供了潜在的构建模块，由于这些中间体具有手性结构，为了控制后续合成产物的旋光一致性，通常会对其进行手性分离，以实现后续反应步骤中控制新的手性中心的形成。

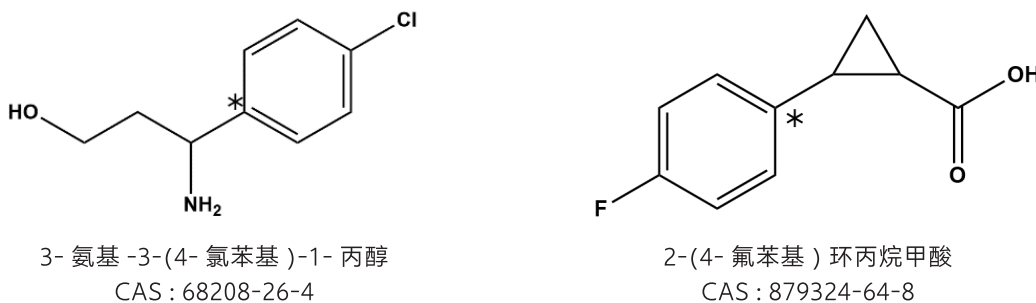


图2 两组手性医药中间体结构式 (*为手性中心)

表 1 色谱条件

色 谱 柱	: YMC Amlose-C Neo (250 mm x 30 mm I.D., 5 μ m)
流 动 相	: 3-氨基-3-(4-氯苯基)-1-丙醇: scCO ₂ /乙醇=90:10 2-(4-氟苯基)环丙烷甲酸: scCO ₂ /乙醇=85:15
流 速	: 60 mL/min
柱 温	: 38°C
进 样 量	: 1 mL
BPR 压 力	: 10 MPa
BPR 温 度	: 50°C
热交换器温度	: 50°C
检 测 波 长	: 190-800 nm

■ 结果与讨论

3.1 SFC 手性拆分条件的放大

相比于传统的 LC 手性拆分方法放大, SFC 的方法放大更加复杂, 因为 SFC 的流动相具有可压缩性, 这会导致色谱柱内和系统之间出现密度、压力和温度差异, 上述因素变化会直接影响到流动相的组成和强度, 进而影响保留性和选择性, 此外, 色谱柱、背压、温度等因素都会影响色谱峰的分离, 这进一步增大了分析型和制备型系统的分离结果转移的难度。

岛津的 Method Scouting 软件可应用于 SFC 分析方法的色谱柱快速筛选和改性剂比例优化, 能大大提高优化效率。本案例中的两组化合物在分析优化的基础上进行制备 SFC 放大转移, 色谱柱选择为了 YMC 的 Amlose-C Neo 填料手性柱, 以乙醇做为改性剂进行最终分离并转移至制备 SFC 考察分离情况。如图 3 和图 4 所示, 3-氨基-3-(4-氯苯基)-1-丙醇和 2-(4-氟苯基)环丙烷甲酸的各手性异构体均实现了基线分离, 分离度 >1.5, 可开展下一步制备纯化工作。

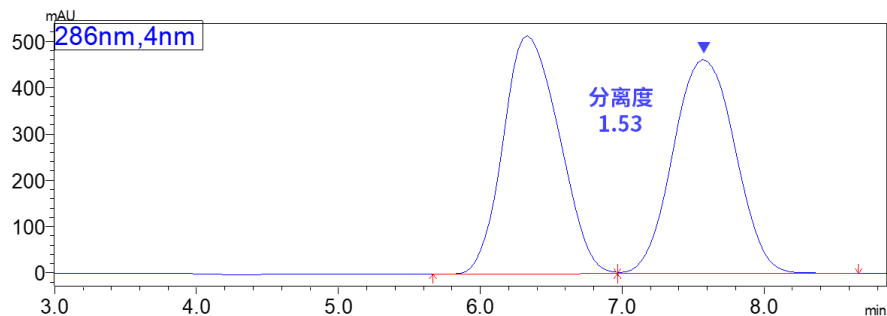


图 3 3-氨基-3-(4-氯苯基)-1-丙醇手性结构拆分 (进样 0.5 mL)

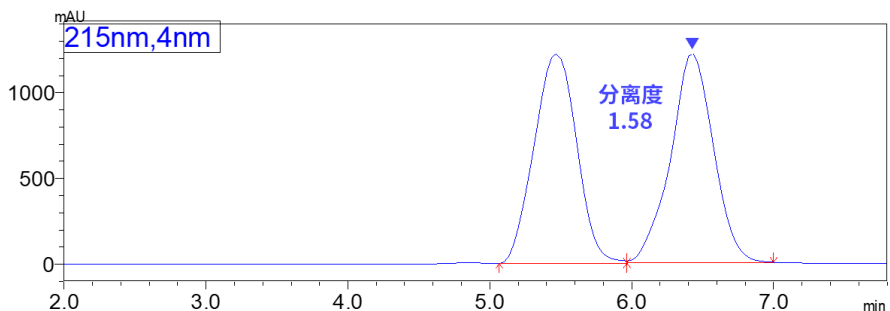


图 4 2-(4-氟苯基)环丙烷手性结构拆分 (进样 1 mL)

3.2 独创的气液分离器直线提升回收率

在使用 SFC 制备时，CO₂ 从超临界状态变为气体状的过程会带来急剧的体积膨胀效应，这使得流动相从色谱柱后端开始扩散，这是造成回收率降低的一大原因。岛津 Prep SFC 标配独创的 LotusStream 气液分离器，它能够快速引导 CO₂ 逸散，并利用 Coanda 效应使液体从下方流出，从而减少了样品扩散、避免溶剂的散射、降低污染。

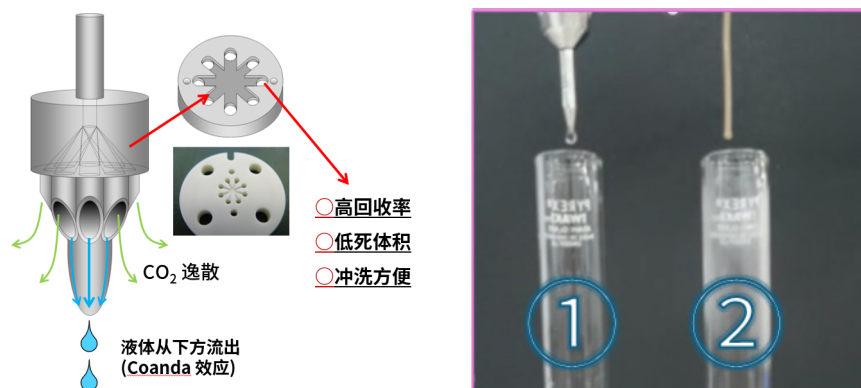


图 5 LotusStream 气液分离器使用效果对比
(①使用 LotusStream，无溶剂散射；②未使用 LotusStream，溶剂散射至瓶口)

3.3 利用 Prep Solution 实现高效制备

简洁易用的 Prep Solution 软件专为 Prep SFC 系统而设计，馏分的收集参数设置可在 peak integration 模式下可根据色谱峰的出峰做出起点和终点选择，并一键生成收集参数，点击模拟窗口可反馈参数设置效果。

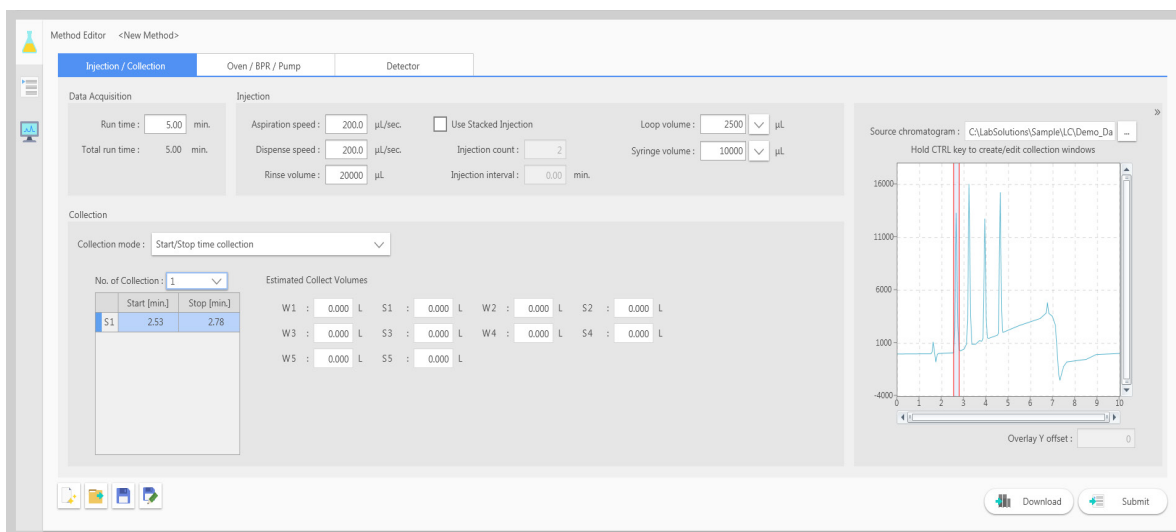


图 6 Prep Solution 收集参数设置界面

Prep Solution 软件的重叠进样功能是提升 Prep SFC 系统生产效率的重要功能，其原理是利用自动进样器的间隔连续进样，实现多次重叠注入样品，色谱柱进行连续分析，收集馏分相互紧挨，减少常规进样时的等待时间和柱后平衡时间，从而达到减少分析时间，提高制备效率的目的。

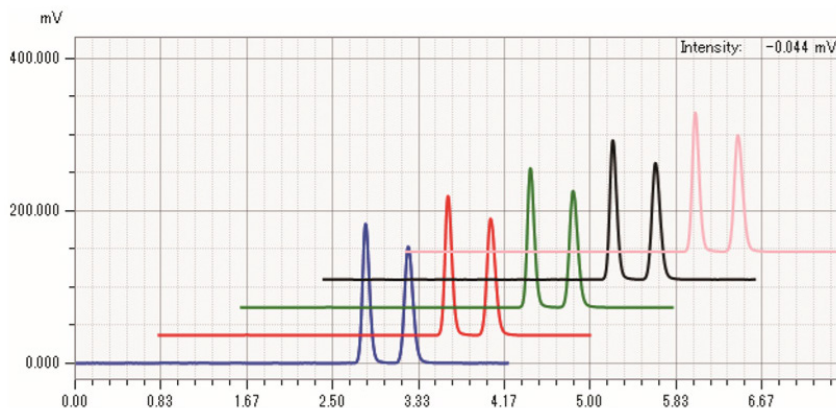


图 7 重叠进样模式原理图

本方案中, 通过 Prep Solution 软件的重叠进样功能, 分别对 3-氨基-3-(4-氯苯基)-1-丙醇和 2-(4-氟苯基)环丙烷甲酸两组手性医药中间体开展了高效纯化制备工作。

如图 8 所示, 3-氨基-3-(4-氯苯基)-1-丙醇在连续 55 次的重叠进样后完成制备任务, 总耗时 136 min, 而传统进样方式 55 次进样需耗时 550 min。

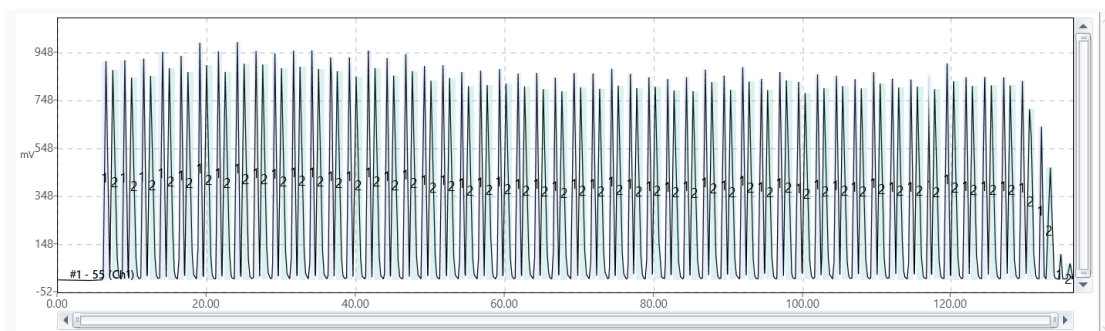


图 8 3-氨基-3-(4-氯苯基)-1-丙醇重叠进样 55 针的色谱图

如图 9 所示, 利用过载效应和重叠进样, 2-(4-氟苯基)环丙烷甲酸完成了 200 次进样制备任务, 总耗时 505 min, 而传统进样方式 200 次进样需耗时 2000 min。

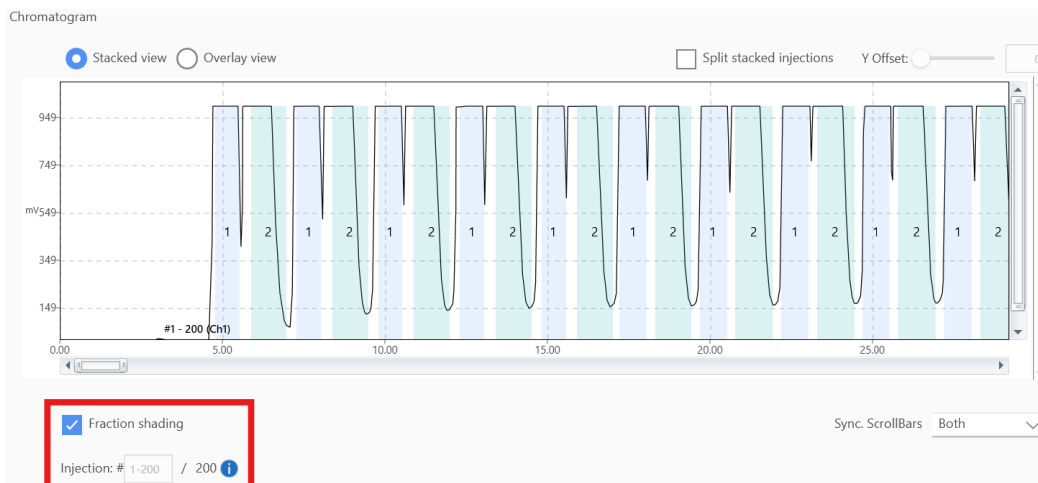
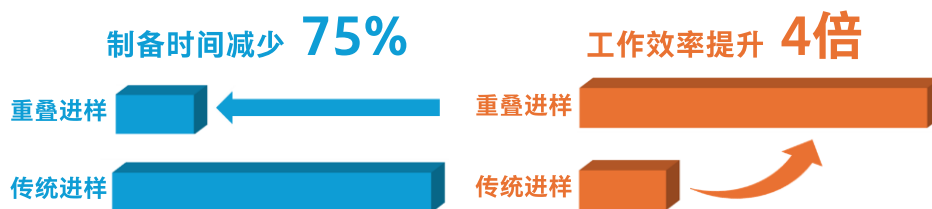


图 9 2-(4-氟苯基)环丙烷甲酸重叠进样 200 针的色谱图

从上述结果可知，通过重叠进样功能 SFC 制备时间可以减少 75%，从而实现纯化工作效率的 4 倍提升。



■ 结论

本文介绍了使用超临界流体色谱对两组医药中间体 3-氨基-3-(4-氯苯基)-1-丙醇和 2-(4-氟苯基)环丙烷甲酸行高效率纯化的示例，利用超临界流体色谱的快速分离性能，配合软件自带的重叠进样功能，可以实现 4 倍速生产效率提升，从而为制药企业节省了 75% 的时间成本和溶剂消耗成本，助力绿色化学与产能提升。

岛津应用云

