

SFC 系统在原料药手性杂质拆分中的应用

SFE-SFC-003

摘要：本实验使用岛津 Nexera UC SFC-UV 系统对原料药 ZYJ-I 手性杂质进行拆分。考察了色谱柱、改性剂及压力对分离的影响。结果发现使用 DAICEL OD-H 色谱柱和甲醇为改性剂时可将两者拆分开，分离度可达 1.5；在各个影响因素中色谱柱的影响最大，改性剂和背压均有一定的影响。同时考察了使用最终条件时系统的精密度，结果显示仪器精密度良好，杂质 R-ZYJ-I 的保留时间和峰面积的 RSD% 分别为 0.78 和 2.95。

关键词：Nexera UC SFC 药物杂质 手性拆分

含手性因素的化学药物对映体在人体内的药理活性、代谢过程及毒性存在显著的差异。对于手性药物，一个异构体可能是有效的，而另一个异构体可能是无效甚至是有害的。当前手性药物的研究已成为国际新药研究的主要方向之一。

超临界流体色谱 (Supercritical Fluid Chromatography, SFC) 是以超临界流体为主要流动相，添加改性剂或微量添加剂的二元或三元流动相的新型色谱分离技术。超临界流体具有低黏度、高扩散性和高溶解性等特点，使得 SFC 分析具有快速、高效、高分离等优势。

ZYJ-I 是一种医用造影剂，其有效成分为 S-ZYJ-I，

而 R-ZYJ-I 则作为杂质需要被监测。长期以来，该药物的拆分使用高效液相色谱的方法，但是拆分效果差。目前未见有报道将两个对映异构体拆分达到基线分离。

本文使用岛津 Nexera UC SFC-UV 系统，对 ZYJ-I 原料药的手性药物进行分离，考察了色谱柱、改性剂及压力对分离的影响。Nexera UC SFC-UV 系统是岛津公司最新的超临界流体色谱仪系列产品，具有系统耐压高、背压阀 (BPR) 内部体积小、灵敏度高、操作界面通用性好等特点。

实验部分

1.1 仪器

Nexera UC SFC-UV 系统

具体配置为：LC-30ADSF(CO₂ 输液泵)，LC-20ADXR(输液泵，含 LPGU 低压梯度比例阀)，DGU-20A5(在线脱气机)，SIL-30AC(自动进样器)，CTO-20AC(柱温箱)，SFC-30A(背压调节单元)，SPD-20A(紫外检测器)，CBM-20A(系统控制器)，LabSolutions Ver5.8(色谱工作站)。

1.2 样品信息

称取 5 mg R-ZYJ-I 和 5 mg S-ZYJ-I 置于 10 mL 容量瓶中，用乙醇定容，超声至完全溶解，得到 0.5 mg/mL 的标准品溶液，上机分析。

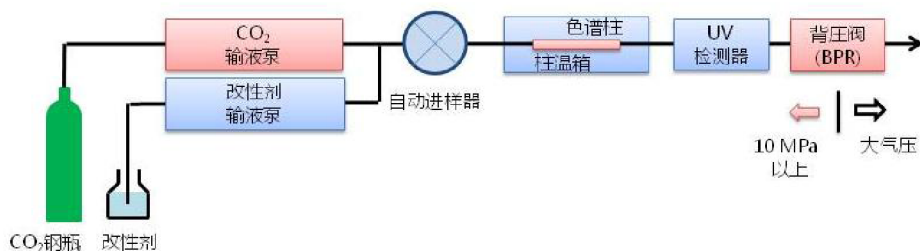


图1 Nexera UC SFC-UV系统

结果讨论

2.1 色谱柱填料对分离的影响

手性物质的拆分，色谱柱的类型选择十分重要。实验考察了 Daicel 的两款手性色谱柱 AD-H 和 OD-H，所用规格均为 4.6 mm I.D.×150 mm L., 5 μm。在 scCO₂-MeOH 体系中对 R-ZYJ-I 和 S-ZYJ-I 混合标准品进行分析，结果显示 AD-H 色谱柱对样品没有任何分离能力，OD-H 色谱柱表现出了较好的分离能力 (见图 2)。

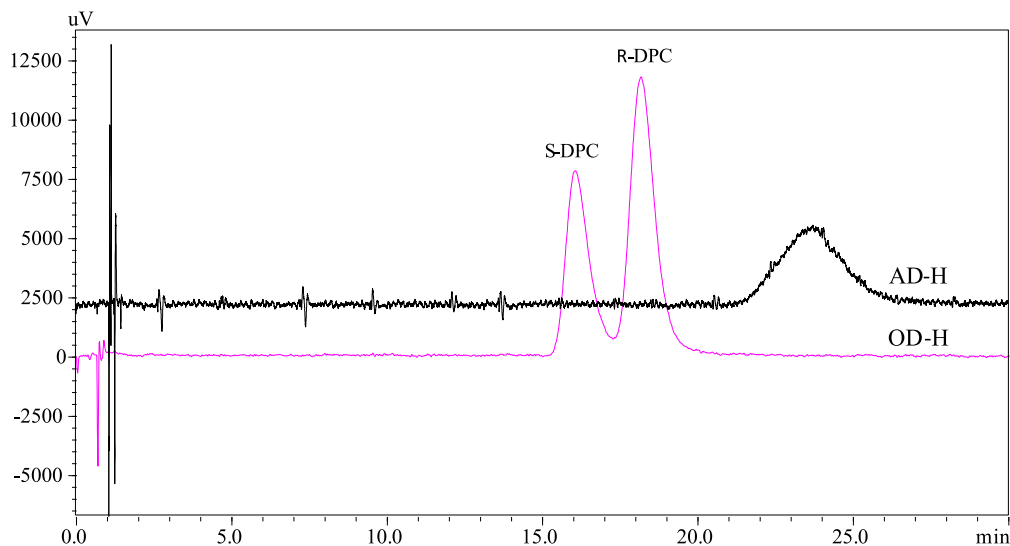


图2 不同色谱柱分离效果对比图

2.2 改性剂对分离的影响

手性物质的拆分，改性剂的种类和比例影响也很大。本文考察了两种改性剂甲醇和乙醇，及不同比例的甲醇对分离的影响。结果显示甲醇相比乙醇对两个手性物质的分离能力相当，但甲醇的洗脱能力更强（见图3），从而提高分析效率，节省运营成本；当增加改性剂甲醇的比例时，样品的保留减弱、分离度减小。（见图4）

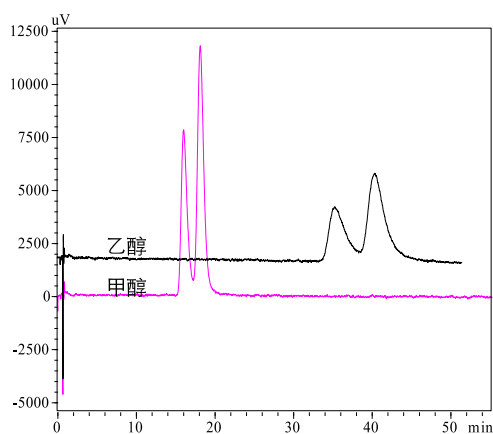


图3 不同类型改性剂分离效果对比图

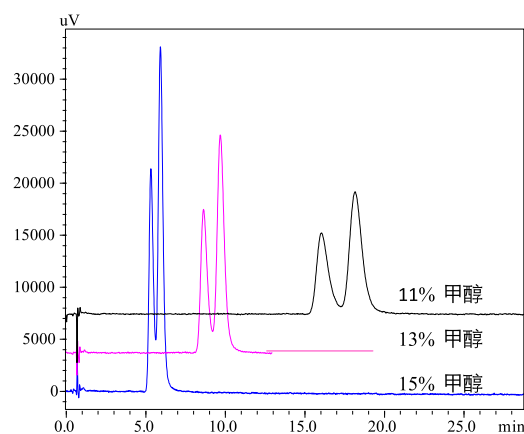


图4 不同比例改性剂分离效果对比图

2.3 背压对分离的影响

改变背压可以改变超临界流体的粘度从而对分离产生影响。本文考察了背压分别为 15 MPa、20 MPa、25 MPa 和 30 MPa 对分离的影响，结果显示保留时间和分离度均随着背压的增加而减小（见图5）。

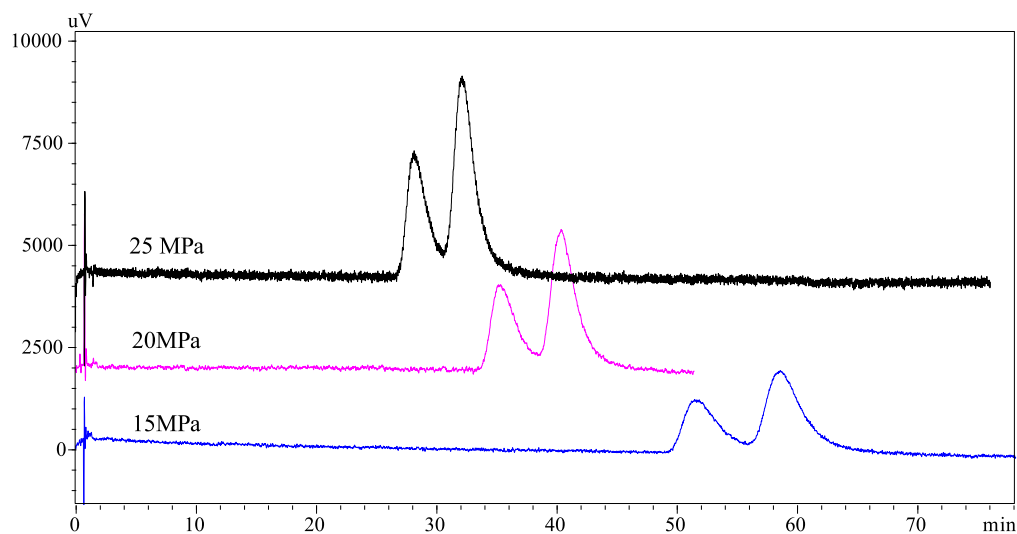


图5 不同背压下分离效果对比图

考虑分离度和运行成本等方面，最终确定分析条件如下：

SFC 色谱条件

色谱柱：DAICEL OD-H 4.6 mm I.D.×150 mm L.,
5 μm
流动相：scCO₂/ 甲醇 =89/11
流速：3 mL/min

柱温：40℃
检测波长：242 nm
背压：20 MPa
进样量：5 μL

使用上述条件进行测试，结果如图 6 所示，两者的分离度为 1.5。

同时考察了该条件下杂质 R-ZYJ-I 的精密度，重复 6 针进样，仪器精密度良好，保留时间和峰面积的 RSD% 分别为 0.78 和 2.95，结果列于表 1。

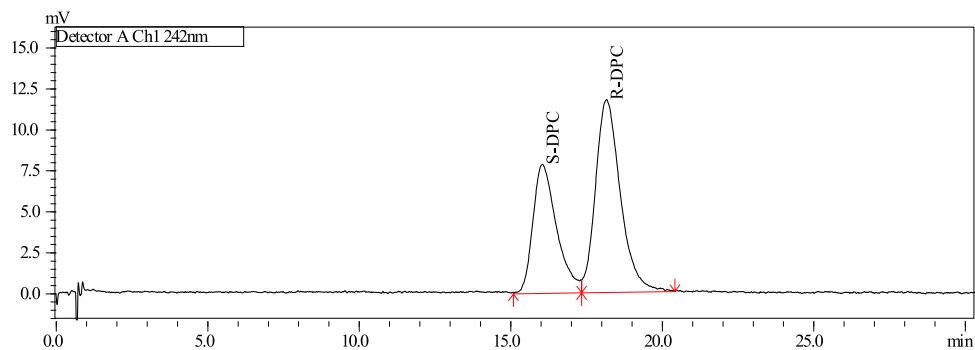


图6 最优条件下ZYJ-I手性物质拆分的色谱图

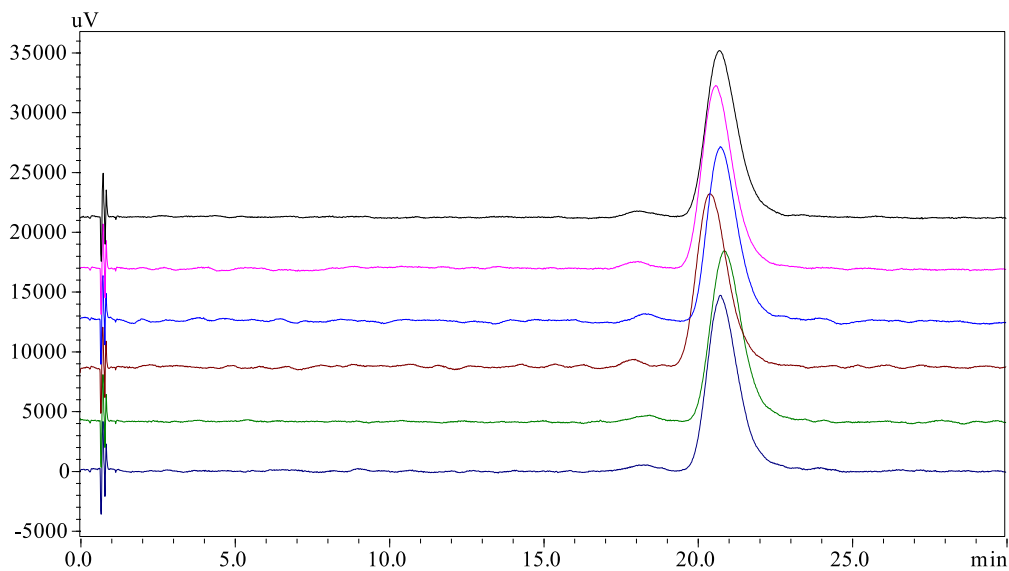


图7 R-ZYJ-I重复6针色谱图

表1 R-ZYJ-I(0.5mg/mL)重复性分析结果(n=6)

	保留时间 (min)	峰面积
1	20.717	1,013,150
2	20.746	1,041,992
3	20.870	1,039,973
4	20.600	1,087,075
5	20.755	1,001,589
6	20.404	1,057,297
平均值	20.682	1,040,179
RSD%	0.78	2.95

■ 结论

本文使用岛津 Nexera UC SFC-UV 系统对原料药 ZYJ-I 的两个对映异构体的拆分参数条件进行了研究。优化了色谱柱、改性剂类型及比例、背压等参数，最终将两个对映异构体拆分开来。由于 SFC 分析具有快速、高效、高分离等优势，使得其在手性杂质拆分方面有广阔的应用前景。