
手性化合物的快速方法探索

Rapid Method Scouting of Chiral Compounds

山口 忠行¹、寺田 英敏¹、坂井 健朗¹、早川 禎宏¹

Abstract:

制药领域的新药研发合成部门正在开展基于手性柱的高效快速的光学分割法研究。但是，为了从种类繁多手性柱中找出适合分析物的柱子和最为适宜的流动相条件，需要花费莫大的人力与时间，因此，分析工作者期待实现手性分离条件探索的快速化。

本报告介绍组合适宜岛津公司的方法探索系统“Nexera Method Scouting”与多糖衍生物耐溶剂型手性柱“iCHIRAL-6”（大赛璐公司制），建立手性化合物高分离条件的事例。

Keywords:

UHPLC、Nexera Method Scouting、手性柱、iCHIRAL-6、手性化合物

1. 前言

以纯粹的形态（对映异构体）使用与分析手性化合物，对于放心・安全地利用医药品等直接作用于生物体的化合物而言非常重要。获取手性化合物的具有代表性的方法有基于HPLC的光学分割法（手性分离）为人熟知。此HPLC法需要寻找适合手性化合物的流动相与分离柱，既需要实施方法探索，这需要耗费莫大的人力与时间。因此，在当今的新药研发合成、医药中间体领域，为提升新药开发的速度急需实现手性分离条件探索的快速化。

另外，近年来，以提高分析工作的效率与生产率为目的高通量化不断取得进展，在HPLC方面，超快速液相色谱法（UHPLC）为人瞩目。为提高分析总通量以及节省溶剂，UHPLC正被引入到方法探索之中。

本报告介绍使用岛津方法探索系统“Nexera Method Scouting”与多糖衍生物耐溶剂型手性柱“iCHIRAL-6”，建立3种手性化合物（Bromacil、 α -Methyl- α -Acethyl- γ -Butyrolactone、Methylclothiazide）的高分离条件的实例。

2. 实验

2-1. 系统

Fig. 1表示此次建立的“Nexera Method Scouting”系统的流程图。在超快速液相色谱仪“Nexera”中组合使用溶剂切换阀与柱切换阀而构筑起此系统，可自动连续地切换最多达大96种的柱与流动相组合，同时全面地获得数据。

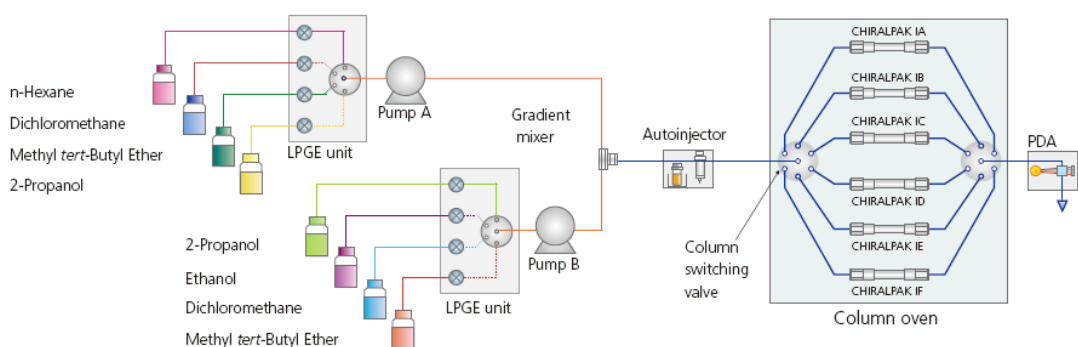


Fig. 1 Nexera Method Scouting系统的流程图

2-2. 样品

分析目标物使用了3种手性化合物 (Bromacil、 α -Methyl- α -Acetyl- γ -Butyrolactone、Methylclothiazide)。Fig. 2表示其结构式。

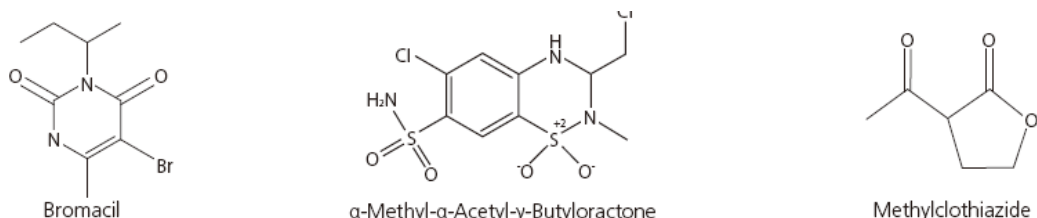


Fig. 2 手性化合物的结构式

2-3. 手性柱

建立如Fig. 2所示的手性化合物的高分离条件时，分离柱采用了大赛璐公司生产的多糖衍生物耐溶剂型手性柱“*i*CHIRAL-6” (CHIRALPAK® IA/IB/IC/ID/IE/IF)。柱的详细信息情况如Fig. 3所示。“*i*CHIRAL-6”可用于各种有机溶剂，因此是比较适合用于手性化合物方法探索的柱子。

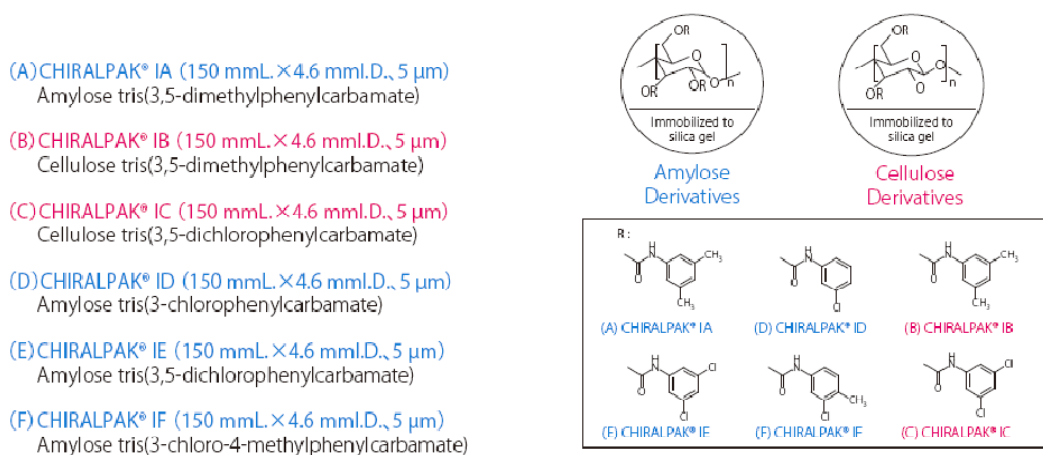


Fig. 3 手性选型

2-4. 分离条件

流动相使用了按任意比率混合的己烷、2-丙醇、乙醇、二氯甲烷以及甲基叔丁醚等8种混合溶剂。它们的分离条件的详细情况如Table 1所示。从流动相（8种）与柱（6种）总计48种组合中全面探索了适合各手性化合物的条件。

Table 1 分析条件

分离条件 No.	流动相	流速	分析时间	其他
1	Hexane / 2-Propanol = 9 / 1 (v/v)	3 mL/min	9 min	色谱柱温度 : 40℃ 进样量 : 10 µL 检测 : 230 nm
2	Hexane / 2-Propanol = 6 / 4 (v/v)	3 mL/min	9 min	
3	Hexane / Ethanol = 8 / 2 (v/v)	3 mL/min	14 min	
4	Ethanol	1 mL/min	18 min	
5	Hexane / Dichloromethane = 9 / 1 (v/v)	3 mL/min	4 min	
6	Dichloromethane / Ethanol = 100 / 2 (v/v)	3 mL/min	4 min	
7	Hexane / Methyl <i>tert</i> -Butyl Ether = 9 / 1 (v/v)	3 mL/min	4 min	
8	Methyl <i>tert</i> -Butyl Ether / Ethanol = 9 / 1 (v/v)	3 mL/min	4 min	

※在 Methylclothiazide分析中，各流动相0.1%添加了Diethylamine。

3. 结果

Bromacil分析中所有48个条件的色谱图如图Fig. 4所示，各手性化合物最为适宜的条件如图Fig. 5所示。

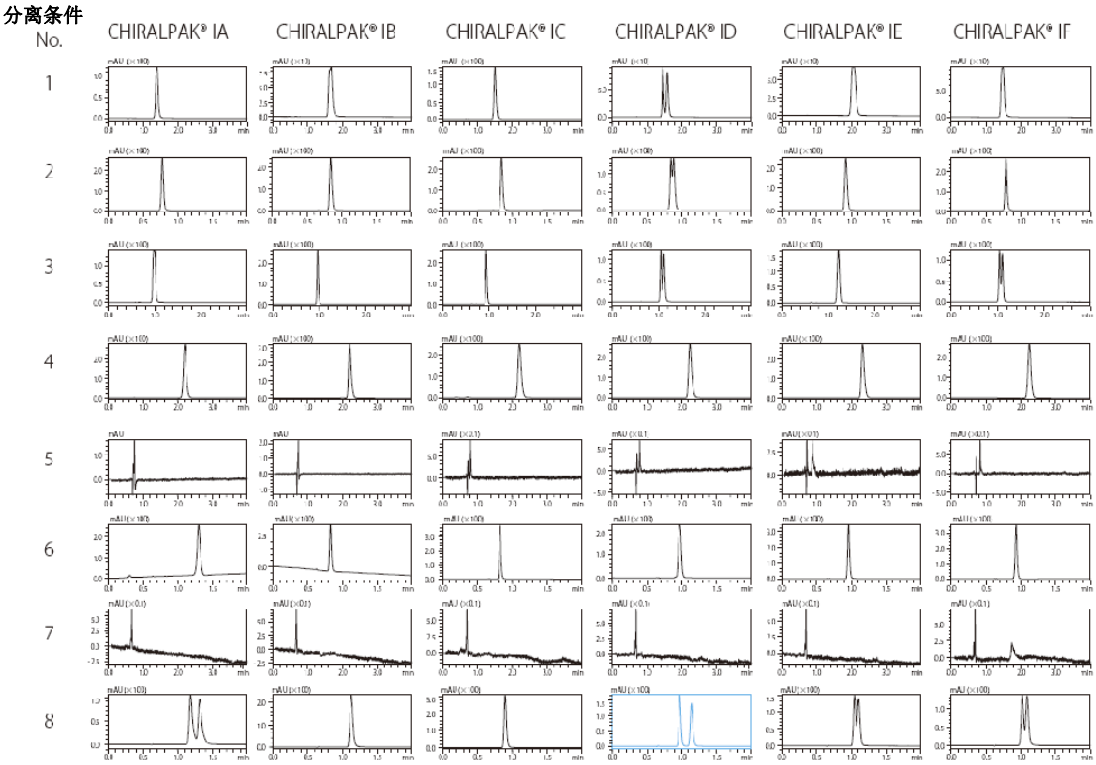


Fig. 4 Bromacil的方法探索结果

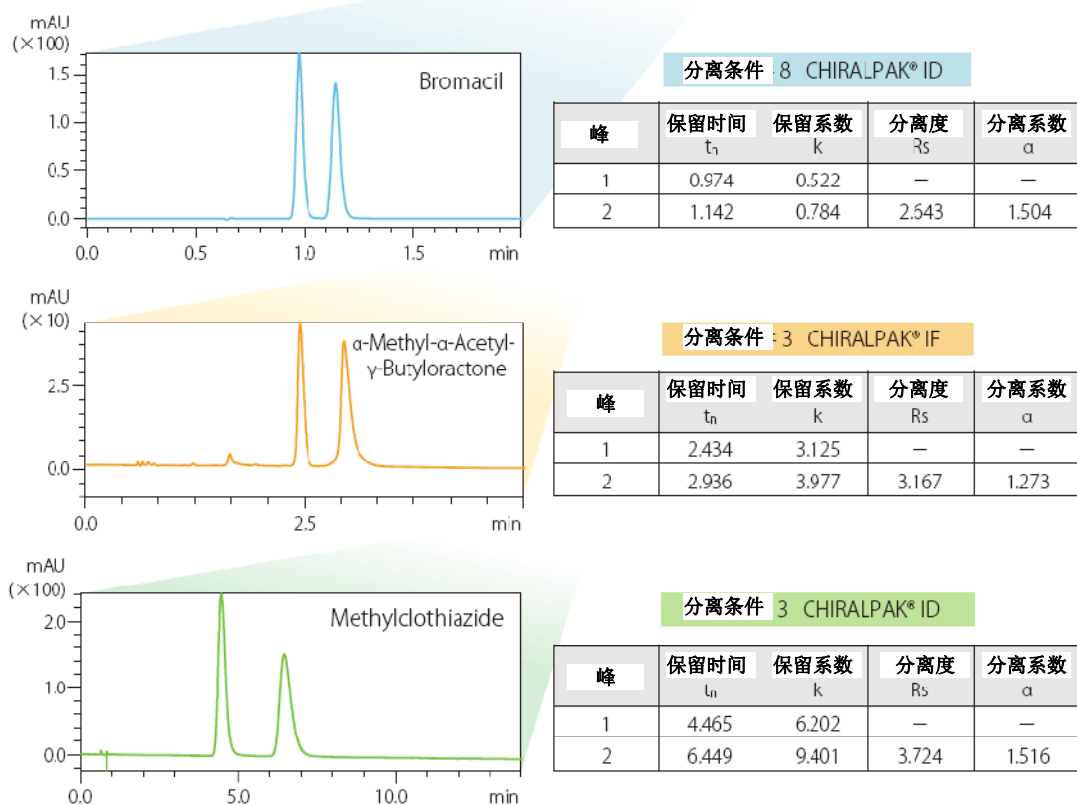


Fig. 5 Bromacil、 α -Methyl- α -Acetyl- γ -Butyrolactone
以及 Methylclothiazide的色谱图

4. 解析

使用数据处理软件“CLASS-Agent Report”(岛津制作所生产),可以利用微软的Excel,基于分离度、峰数等进行计算,实现数值化与图表化。不但可以视觉比较色谱图,还可以进行定量判断,因此,有助于提高数据解析的效率。

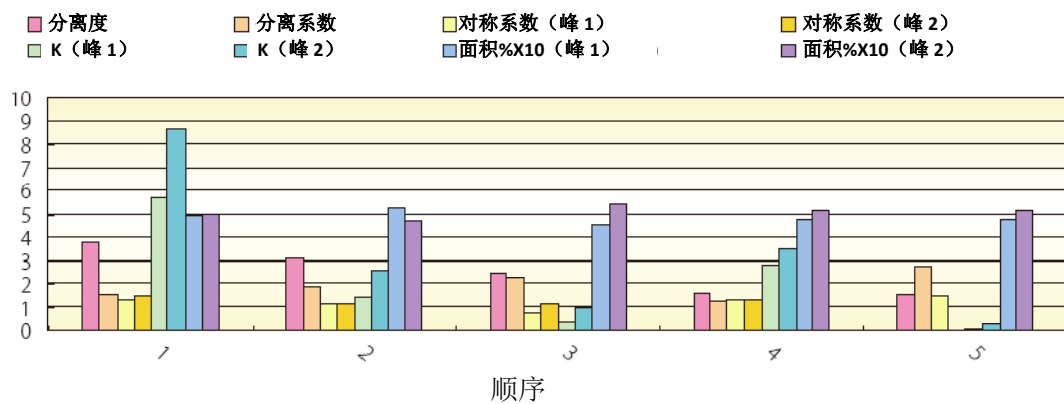


Fig. 6 基于CLASS-Agent Report的色谱图定量比较

Table 2 Methylclothiazide的分析结果

顺序	Run No.	分析条件	分离度	分离系数	对称系数				k		面积%		峰检测数
					峰 1	峰 2	峰 1	峰 2	峰 1	峰 2	峰 1	峰 2	
1	18	Methylclothiazide_ID_n-Hex_EtOH_3_analysis_B20%_14 min	3.785	1.523	1.31	1.463	5.665	8.626	49.777	50.223	2		2
2	27	Methylclothiazide_IF_MC_EtOH_6_analysis_B2%_4 min	3.086	1.858	1.127	1.094	1.39	2.583	52.748	47.252	2		2
3	6	Methylclothiazide_IB_MC_EtOH_6_analysis_B2%_4 min	2.456	2.248	0.715	1.094	0.443	0.995	45.633	54.367	2		2
4	13	Methylclothiazide_IC_n-Hex_EtOH_3_analysis_B20%_14 min	1.577	1.238	1.264	1.3	2.821	3.493	47.96	52.04	2		2
5	30	Methylclothiazide_IF_n-Hex_EtOH_4_analysis_B100%_18 min	1.515	2.759	1.465	0	0.102	0.282	48.153	51.847	2		2

5. 结论

使用Nexera Method Scouting系统与多糖衍生物耐溶剂型手性柱“iCHIRAL-6”全面分析3种手性化合物的结果，快速找到了适于各手性化合物的分离柱和分离条件。另外，使用“CLASS-Agent Report”进行各色谱图的分离度、对称系数等数值，不但可以视觉比较评价色谱图，还可以进行定量性评价，提高数据的解析效率。

本研究中使用的系统和柱子，不但可应用在进行手性分析的新药研发合成部门、医药中间体部门，还可有效地应用在制药的CMC部门以及化学领域、食品领域等新方法开发部门。

参考文献

- 1) Technical Report「超高速方法探索（C190-0381）」
- 2) Technical Report「方法开发的高速化提高R&D效率（3）（C190-0382）」

感谢

向在本研究过程中密切合作并给予指导的大赛璐公司表示诚挚的感谢。

※CHIRALPAK为株式会社大赛璐的注册商标。