

## 医薬品成分の精製ワークフローの効率化 ～精製時間・乾燥時間・溶媒コストの削減～

中嶋 康介

### ユーザーベネフィット

- ◆ 分取HPLCで課題となる、精製溶媒の乾燥にかかる労力を削減できます。
- ◆ 多量の粗試料を連続的に処理可能なため、分取精製の時間を短縮できます。
- ◆ 精製操作で大量に使用する有機溶媒の消費を抑え、溶媒の購入と廃棄にかかるコストを削減できます。

### ■はじめに

分取HPLCは医薬品分野において、合成化合物の精製や不純物の構造解析に必要な精製など、様々な目的で利用されています。その一方で、大量の粗試料の精製や回収液の乾燥には多大な時間が必要となります。また分取HPLCによる精製は大量の溶媒を使用するため、溶媒の購入や廃棄にかかるコストも課題とされています。

本稿では、セミ分取スケールの超臨界流体クロマトグラフ“Nexera UC Prep”を用い、分取HPLCによる精製のワークフローを効率化した例をご紹介します。

### ■分取HPLCによる医薬品2成分の精製例

HPLCで一般的に用いられる逆相分離モードは幅広い化合物に対応し、分離性能も良いことが知られています。一方で、多くの場合、移動相として水を使用することから、得られた回収溶液の乾燥に多大な時間を要します。

下記に医薬品2成分を分取HPLCで精製した例を示します(表1、図1)。本稿では分取HPLCで精製した化合物と同じ化合物を、超臨界流体クロマトグラフィーにより処理し、精製ワークフローの効率化を検討しました。

表1 分取条件 (HPLC)

Column	: Shim-pack™ Scepter C18-120*1 (50 mm×20 mm I.D., 5 μm)
Mobile phases	: A: water (containing 0.1 % (v/v) formic acid) B: acetonitrile
Flow rate	: 20 mL/min
Time program	: B conc. 10 % (0-1 min) → 90 % (7-9 min) → 10 % (9.01-10 min)
Column temp.	: Ambient
Injection vol.	: 500 μL Acetonitrile (containing 10 mg/mL for each compound)
Vial	: 10 mL screw vial*2
Detection	: PDA 250 nm

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

\*2 P/N : 18 09 1306-1 (島津ジーエルシー)

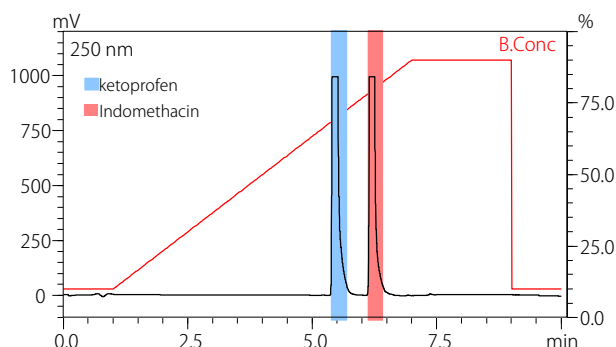


図1 分取HPLCによる医薬品の分取クロマトグラム

### ■分取SFCによる精製の利点

超臨界流体クロマトグラフィー (Supercritical Fluid Chromatography, SFC) は移動相として超臨界流体を使用するクロマトグラフィーの総称で、特に二酸化炭素を使用する手法が広く知られています。

多くの場合、二酸化炭素は有機溶媒と比較して安価であるため、溶媒コストを削減することができます。また二酸化炭素は、大気圧下となる回収時には自然気化するため、回収溶液の乾燥にかかる時間を削減することも可能です。

### ■グラジエント分析による保持の確認

SFCでは化合物のカラムへの保持力や保持時間を調整するため、少量の有機溶媒 (モディファイア) を使用します。また、分析時間に合わせてモディファイアの添加量を変化させるグラジエント分析により、化合物の保持を確認できます。

表2と図2に、医薬品2成分をグラジエント分析によって分取した条件と結果を示します。分析カラムにShim-pack UC Diol IIを使用することで、目的成分の良好な分離が確認され、それぞれを分取することができました。

表2 分取条件 (SFC、グラジエント分析)

Column	: Shim-pack UC Diol II*3 (250 mm×20 mm I.D., 5 μm)
Mobile phases	: A: CO <sub>2</sub> B: Methanol
Flow rate	: 60 mL/min
Time program	: B conc. 0 % (0-1 min) → 40 % (7-9 min) → 0 % (9.01-10 min)
Column temp.	: 40 °C
Injection vol.	: 500 μL n-Heptane/IPA = 2:1 (containing 10 mg/mL for each compound)
Vial	: 10 mL screw vial*2
BPR Parameter	: 10 MPa
Detection	: PDA 250 nm

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

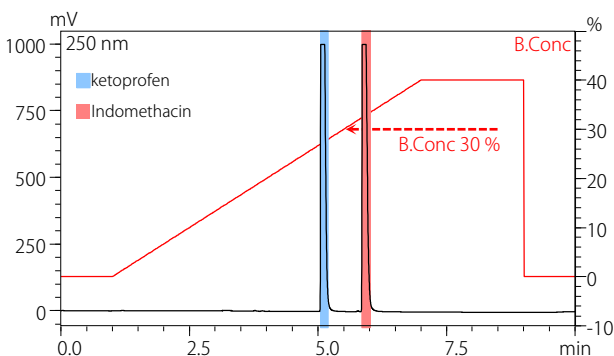


図2 分取SFCによる医薬品の分取クロマトグラム

## ■ スタックインジェクションによる多量の精製処理

スタックインジェクションはカラムに対し粗試料を連続的に注入する手法で、インジェクションから最初のピークが溶出するまでの待ち時間を活用し効率的に分取を行うことができます。（参照：テクニカルレポート C190-0502）本稿ではスタックインジェクションを用いることで、精製時間の短縮と消費溶媒量の削減を検討しました。

スタックインジェクションでは、分析中に試料を連続的に注入するため、分析中に移動相の組成が変化しないアイソクラティックモードを用います。グラジエントモードでの化合物溶出がモディファイア濃度30%であったことを踏まえ（図2）、モディファイア濃度を30%としたアイソクラティックモードの分取条件を作成しました（表3）。得られた分取クロマトグラムをもとにスタックインジェクションの設定を行い、5回のスタックインジェクションを実施しました（図3、図4、図5）。

表3 分取条件（SFC、アイソクラティック分析）

Column	: Shim-pack UC Diol II *3 (250 mm×20 mm I.D., 5 μm)
Mobile phases	: A: CO <sub>2</sub> B: methanol
Flow rate	: 60 mL/min
Time program	: B conc. 30 % (0-4 min)
Column temp.	: 40 °C
Injection vol.	: 500 μL n-Heptane/IPA = 2:1 (containing 10 mg/mL for each compound)
Vial	: 10 mL screw vial *2
BPR Parameter	: 10 MPa
Detection	: PDA 250 nm

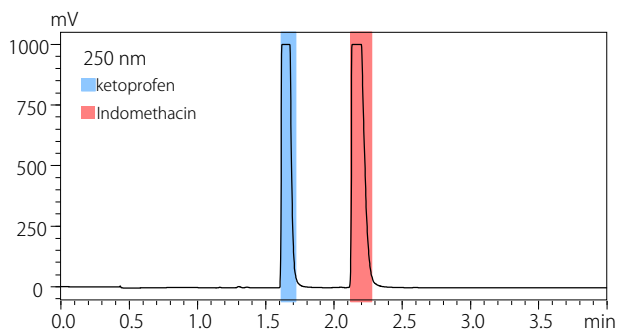


図3 分取クロマトグラム（アイソクラティック条件）

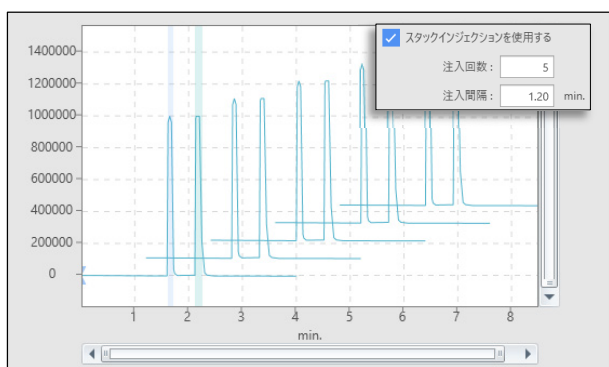


図4 専用ソフト\*4によるスタックインジェクションの設定

\*4 Prep Solution : Nexera UC Prepの操作を簡便にするソフトウェア。グラフィカルなユーザーインターフェースで、装置パラメータ設定、分取実行、データ解析が可能です。

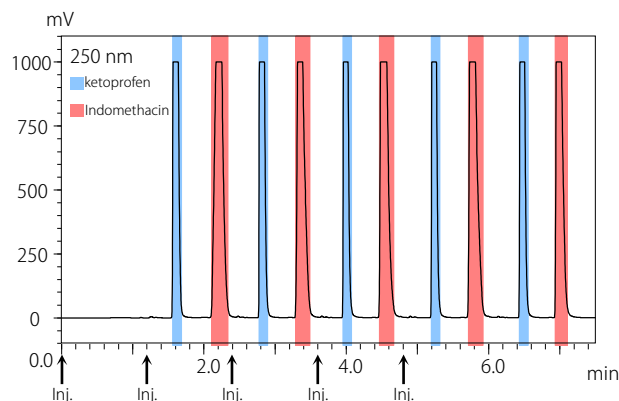


図5 スタックインジェクションを利用し、多量の粗試料を分取したクロマトグラム

## ■ 分取HPLCとの溶媒消費量、処理時間乾燥時間の比較

本実験で対象とした粗試料を分取HPLCでも精製し、消費した溶媒量と処理時間の比較を行いました（表4）。分取HPLCは移動相として大量の超純水や有機溶媒を使用したことがわかります。一方で分取SFCでは移動相の大部分に有機溶媒と比較して安価な二酸化炭素を使用するため、有機溶媒の消費量およびコストを削減することができました。またスタックインジェクションにより連続的に多量の粗試料を処理することで、溶媒消費量と分析時間をさらに削減することができました。

回収液の乾燥時間の比較を図6に示します。分取SFCで使用する二酸化炭素は大気圧で揮発するため、回収した液量が少なくなります。また移動相に水を含まないため、回収液の乾燥時間を分取HPLCの1/21に短縮できました。

表4 分取HPLCと分取SFCの溶媒消費量、処理時間の比較

	Mobile Phase	Volume	Mobile Phase	Volume	Total time
Preparative HPLC	Water	630 mL	Acetonitrile	470 mL	55 min
Preparative SFC	CO <sub>2</sub>	315 mL	Methanol	135 mL	7 min

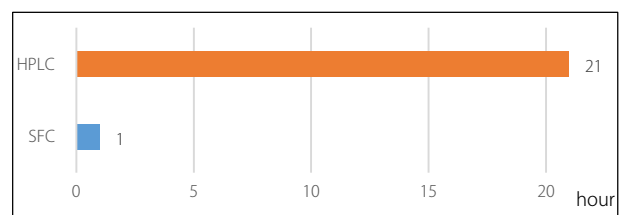


図6 分取HPLCと分取SFCにおける回収液の乾燥時間の比較

## ■ まとめ

本稿では超臨界流体クロマトグラフを用い、医薬品の分取精製と乾燥の実施例を紹介しました。分取HPLCによる医薬品化合物の精製は、処理時間やその後にかかる労力、溶媒の購入や廃棄に関わるコストなど、多くの課題を抱えています。分取HPLCと比較して多くの長所を持つ分取SFCは、新規化合物への適用に限らず、既存の分取精製のワークフロー効率化への応用が期待できます。

NexeraおよびShim-packは、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。

**株式会社 島津製作所** 分析計測事業部  
グローバルアプリケーション開発センター

01-00134-JP 初版発行：2021年 3月

島津コールセンター ☎ 0120-131691