

PoraPak Rxn CX 分离强极性碱性化合物的研究

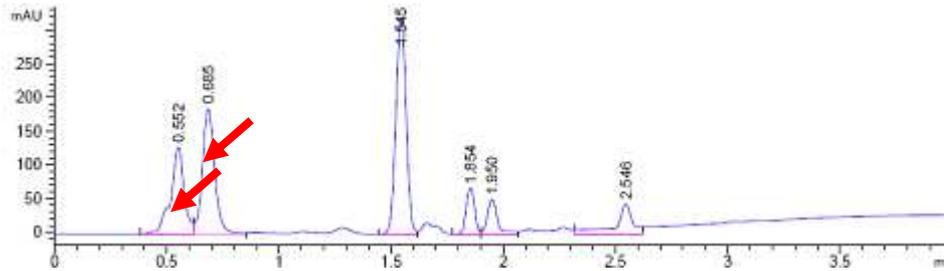
周迎春

康龙化成（北京）新药技术有限公司

我们采用沃特世公司 PoraPak Rxn CX 6cc/400mg 小柱对含有目标化合物的合成反应混和溶液（总体积约为 5 mL，质量约 300 mg）进行纯化，其中目标化合物为强极性碱性化合物，分子量为 317。

实验过程：

- 1、用 LC/PDA/MS 对合成反应混和液进行分析，经过 MS 确证，保留时间为 0.552 和 0.685min 的峰为目标化合物（部分成盐）；利用面积归一化法计算，目标化合物的纯度约为 30%：



色谱条件（如下的分析采用同样的色谱条件）：

流动相 A：0.1%甲酸水溶液

流动相 B：乙腈

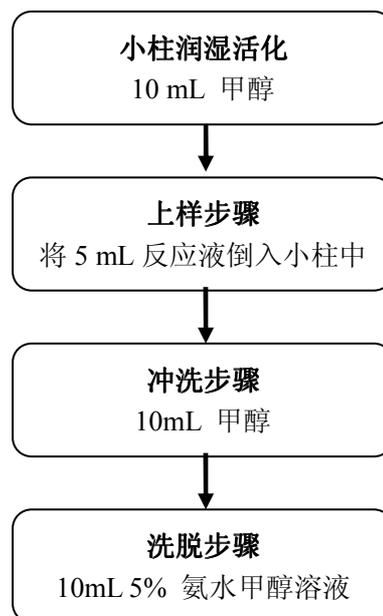
梯度方法：3 min 由 5% B 升至 100% B，保持 100%B 1 min

流速：1.5ml/min

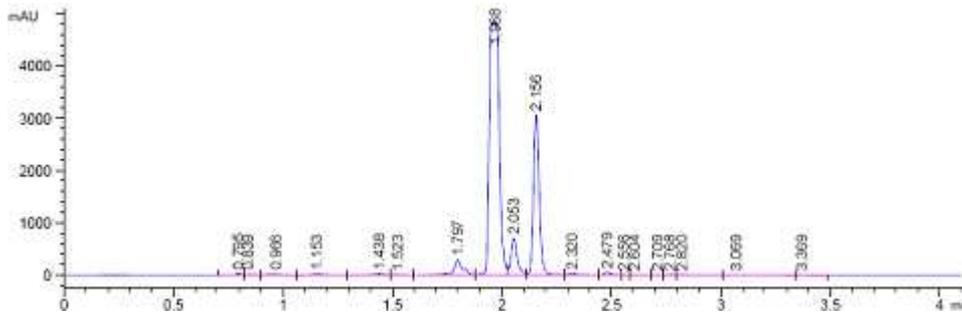
色谱柱：Waters XBridge C18 5u, 4.6*50mm

检测器：二极管阵列检测器串联单四极质谱检测器，提取 254nm 光谱数据

- 2、用 PoraPak Rxn CX 6cc/400mg 小柱进行纯化，具体步骤如下：

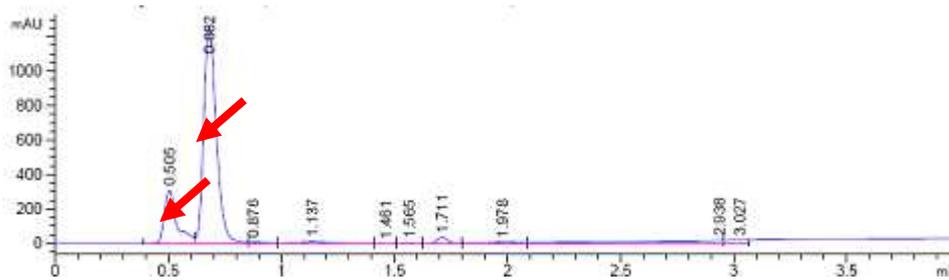


- 3、用 LC/PDA/MS 对冲洗步骤收集到的流出液进行分析，得到如下色谱图：
从色谱图中可以看出大部分杂质被冲洗下来，而产物得以保留在小柱上。



4、用 LC/PDA/MS 对洗脱步骤收集到的流出液进行分析，得到如下色谱图：

从色谱图中可以看出绝大部分的杂质被去除，0.505 min 和 0.682 min 的峰都为目标产物，利用面积归一化法计算，目标物纯度超过 95%；用单四极杆质谱对保留时间为 0.505 min 和 0.682 min 的峰进行确证，证明两个峰都是纯的。



实验总结：

强极性碱性化合物分离纯化是一个令人头疼的工作，采用低 pH 条件下进行反相分离的一个很大的问题是强极性碱不保留（从 LC 的分析图谱中可以看出，本实验中的目标化合物在接近死时间出峰），这样会影响上样量和纯化的效果；尽管可以通过调高流动相 pH 来增加碱性化合物的反相保留，或者使用 HILIC 方法增强强极性碱的保留，但反应液中的反应溶剂、过量的反应物等都会占据反相制备色谱柱的结合位点，从而降低纯化实际样品的上样量。

本实验中使用的 PoraPak Rxn CX 小柱使用的是聚合物基质的强阳离子交换填料，碱性化合物通过强阳离子交换作用力结合到小柱上，通过甲醇清洗步骤去除其它杂质后，可以通过氨水甲醇溶液洗脱得到目标化合物。

使用 PoraPak Rxn CX 小柱纯化强极性碱性化合物，简单、快速且回收率高，并且溶剂回收简单、快速。如果需要一次性纯化大量样品，可以购买填料自己装柱，可降低成本。