



## 【vol.3】フラッシュ精製の時間とコストを減らすにはどうすればよいか？

May 8, 2019

これは私の同僚や私にも頻繁に聞かれる質問で、特に製薬会社のアカウントでは頻繁に聞かれています。なぜでしょうか？「時は金なり」という格言をご存知でしょうか。これは本当に当てはまります。医薬品として作られた新しい分子実体（NME）は、市場投入までに10年という月日と10億ドルのコストがかかる可能性があります。もちろん、最大のコストは臨床試験にかかっていますが、合成ルートと化合物を発見して作るまでの時間、そしてそれを精製するまでの時間は、創薬と開発の中で大きな役割を果たしています。このタイムラインは、今日の医薬品候補として研究されている化合物の合成がますます困難になっていることによって助けられていません。

そのことを念頭に置いて、この投稿では純度と収量を犠牲にすることなく精製プロセスをスピードアップする方法に焦点を当てます。

他の化学者とフラッシュクロマトグラフィーの話をするとき、なぜフラッシュクロマトグラフィーを使用するのか、そして何が最も重要なのか、化合物の純度、回収率、または速度について質問しました。これまでの答えは、一般的に「中間体には80-85%の純度と次の合成ステップを実行するのに十分な材料が必要です」というものでした。スピードは決して重要な要素ではありませんでした。申請/生物学的試験の準備ができた最終化合物については、高純度(98%以上)の化合物が必要であり、その後収率が続きます。精製速度は重要ではありませんでした。

しかし、今日では、構造活性相関(SAR)と生物学的活性の目標を満たす化合物をより早く成功させるために、化学者はより早い段階で失敗することが求められています。求められる特性をすべて備えた「正しい」化合物をより早く見つけることができれば、その化合物がスケールアップや試験の下流領域に素早く移動するため、研究費（工数や溶媒コスト）をより多く節約することができます。

純度、収量、速度のために精製方法を最適化しようとする、クロマトグラフィーの基本的な課題があります。ほとんどのフラッシュカラムでは、流量を速くする（時間を短縮する）と分離が悪くなります。これは、拡散、分散、その他の現象の増加に起因していますが、興味がある場合は、上のリンクをクリックして自分で調べることができます。

ここでわかるように、スピード、収率、純度は相互に関連しており、クロマトグラフィーの三角形（図1）で示されているように、3つのうち2つだけを最適化することができます。確かに、トレードオフに対処するためにさまざまな技術が開発されていますが、その妥協には限界がありました。

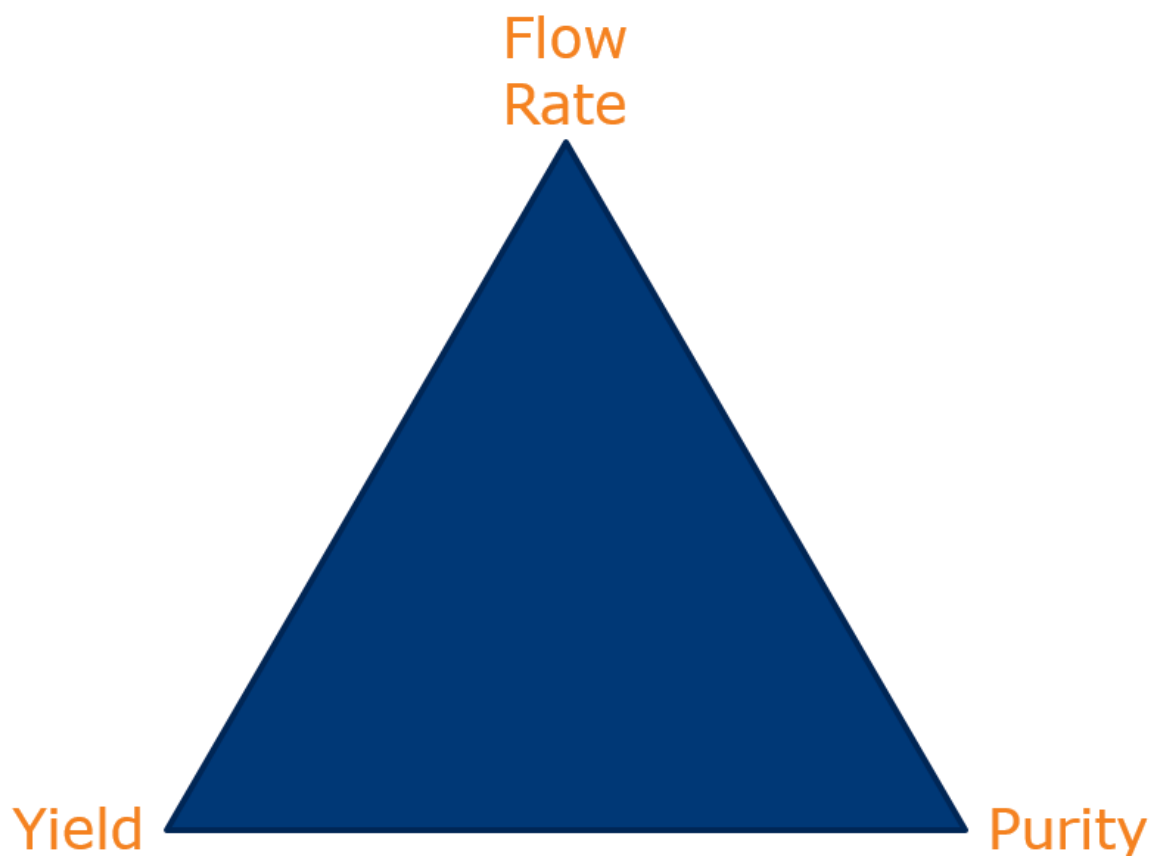


図 1.クロマトグラフィーの三角形は、流速(速度)、収率、純度のトレードオフを表しています。

幸いなことに、クロマトグラフ製品を研究・創出している研究者たちは、より良い手法の最適化技術だけでなく、改良された製品--ハードウェアとカラムの両方--を見つけ出しています。

その一例が、最近開発された Biotage® Sfär カラムと呼ばれる新しいフラッシュカラムラインです。この新しいカラムは、表面積が約  $750 \text{ m}^2/\text{g}$  の  $20 \mu\text{m}$  の球状シリカを使用しています。

ほとんどの方は、粒子径と分離効率の関係をご存知でしょう。粒子が小さいほど分離効率が高く、純度の高いフラクションや精製収量が向上し、カラムサイズを小さくできる可能性があります（溶媒と時間の節約になります）。この考え方の問題点は、粒子径を 50%小さくしても、分離または分離能が 41%しか向上しないことです。41%の分離能の向上は良いことですが、これだけでは創薬ラボで必要とされる効率向上は得られません。しかし、小さな粒子径と高い表面積（ローディング容量の増加）シリカの組み合わせは、創薬フラッシュクロマトグラフィーの考え方を根本的に変えることを可能にします。

シリカの表面積を通常の  $\sim 500 \text{ m}^2/\text{g}$  から  $\sim 750 \text{ m}^2/\text{g}$  に増加させることで、同じ粒子径のシリカの担持量を 2 倍にすることができます。  $750 \text{ m}^2/\text{g}$  の表面積を持つ小粒子 ( $20 \mu\text{m}$ ) シリカは、従来のシリカに比べて積載量を 3 倍から 4 倍に増加させることができ、化学者は、与えられたサンプルの積載量に対して、標準サイズの半分から 3 分の 1 のサイズのカラムを使用することで、フラッシュ精製を高速化する方法を提供します。

私は最近、これを自分の目で見ることができました。従来のフラッシュシリカ ( $40\text{-}63 \mu\text{m}$ ,  $\sim 500 \text{ m}^2/\text{g}$ ) を充填した 10 g の Biotage® KP-Sil カラムを使用して、分離が難しいパラベン（メチルとブチ

ル) の混合物 100 mg を精製しました。この分離は実際にはかなりまともなものでしたが、プログラムされた精製は 195 mL の溶媒を必要とし、完了するまでに 7.2 分かかりました (図 2)。

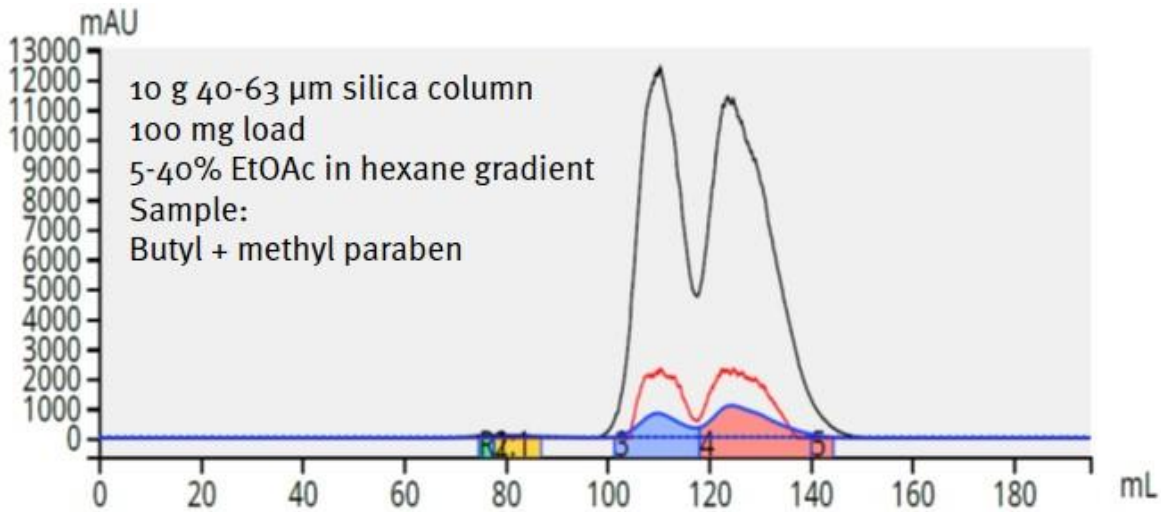


図 2. 従来の 40-63  $\mu$ m、500 $m^2/g$  シリカを充填した 10g フラッシュカラムを用いて 100mg のパラベンミックスを分離すると、良好な分離が得られるが、溶媒 195mL および 7.2 分を消費します。

次に、5g の Biotage® Sfär HC カラム (20  $\mu$ m、750  $m^2/g$ ) を使用して同量のパラベン混合物を精製し、同じ分離を達成しました (表面積が増加しているため、より多くの保持力があります)。それでも、5g のカラムを使用した場合、10g のカラムを使用した場合に比べて、必要な溶媒量 (わずか 117mL) と時間 (わずか 6.5 分) が少なくて済みました (図 3)。

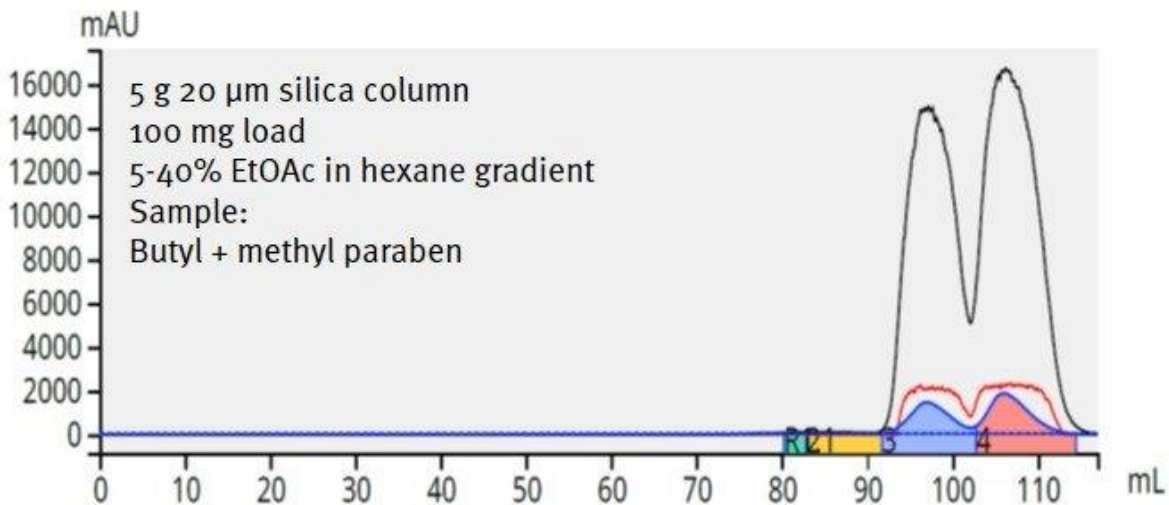


図 3. 5g、20  $\mu$ m、750  $m^2/g$  のシリカカラムを使用したパラベン混合物 100 mg の分離は、より大きな 10 グラムのカラムと同等の分離を提供しますが、消費量はわずか 117 mL で、完了までに必要な時間はわずか 6.5 分です。

さてさて、確かにデータは、シリカの 2 分の 1 の量のカラム (5g カラム) が 10 グラムカラムと同じ量のサンプルを精製し、40%少ない溶媒を使用して 11%速く精製したことを示しています。それは非常に印象的です。

したがって、適切なカラムとメディアを選択すれば、純度、収率、スピードを最大限に引き出すことができます。創薬プログラムの正しい処方箋のように聞こえます。

フラッシュクロマトグラフィーの詳細については、このテーマに関する私のウェビナーをお聞きください。

[Watch Webinar Now](#)

元の記事 ; <https://www.biotage.com/blog/how-can-i-reduce-flash-column-purification-time-and-cost>