DAICEL
Sustainable Value Together

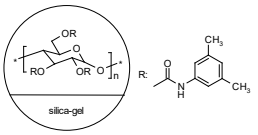
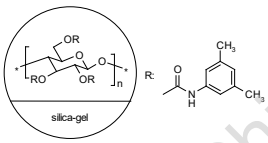
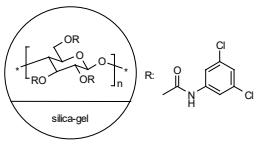
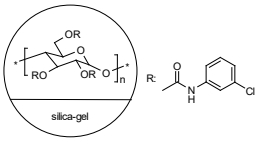
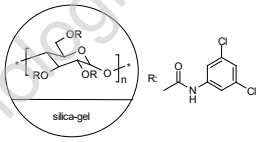
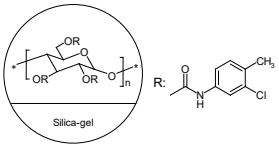
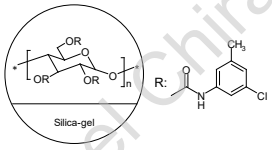
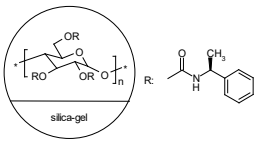
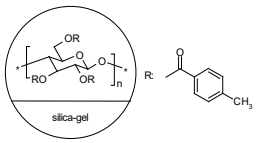
# CHIRALPAK® IA-3/ IB-3/ IB N-3/ IC-3 ID-3/ IE-3/ IF-3/ IG-3/ IH-3/ IJ-3

# 色谱柱使用手册

**请在使用前仔细阅读本《使用手册》**

**CHIRALPAK®多糖键合型手性柱也可以使用反相模式。更具体的内容请见配套的使用手册页。**

## 色谱柱描述

| 项目 | CHIRALPAK® IA-3 | CHIRALPAK® IB-3 / IB N-3 | CHIRALPAK® IC-3 |
|---|---|---|---|
| 填料 | 硅胶表面共价键合直链淀粉-三（3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯）  | 硅胶表面共价键合纤维素-三（3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯）  | 硅胶表面共价键合纤维素-三（3,5-二氯苯基氨基甲酸酯）  |
| 项目 | CHIRALPAK® ID-3 | CHIRALPAK® IE-3 | CHIRALPAK® IF-3 |
| 填料 | 硅胶表面共价键合直链淀粉-三（3-氯苯基氨基甲酸酯）  | 硅胶表面共价键合直链淀粉-三（3,5-二氯苯基氨基甲酸酯）  | 硅胶表面共价键合直链淀粉-三（3-氯-4-甲基苯基氨基甲酸酯）  |
| 项目 | CHIRALPAK® IG-3 | CHIRALPAK® IH-3 | CHIRALPAK® IJ-3 |
| 填料 | 硅胶表面共价键合直链淀粉-三（3-氯-5-甲基苯基氨基甲酸酯）  | 硅胶表面共价键合直链淀粉-三[(S)- α-甲基苯基氨基甲酸酯]  | 硅胶表面共价键合纤维素-三（4-甲基苯甲酸酯）  |
| 粒径 | 3μm | | |
| 接头 | Waters type | | |
| 出厂保存溶剂 | 正己烷/异丙醇 (90:10 v/v) | | |

所有色谱柱在出厂前都经过检测。检测条件、结果及批号请查阅《出厂检测报告》。

*本使用手册不适用于其他的大赛璐手性柱*

## 操作条件

| | |
|---|---|
| 流动相方向 | 色谱柱标签上的指示 |
| 压力限制①② | 30MPa |

Daicel Chiral Technologies (China) CO., LTD.

地址：中国上海市自由贸易试验区荷香路 32 号　邮编：200131
电话：+86-21-5046-0086　传真：+86-21-5046-2321
网址：www.daicelchiraltech.cn

| | |
|---|---|
| 柱温 | 0～40°C |

☞ 说明：在 HPLC 的压力范围内操作，色谱柱填料稳定。
给定柱温下，柱后压与流速是线性关系。
对于一些难分离的对映体，推荐使用长柱。

① 最大流速要根据流动相黏度而定（流动相组成），注意不要超过压力值上限(例如 300 Bar)。

② 柱后压是指由色谱柱本身引起的压力。其值为总压（液相体系+色谱柱）与液相体系（不接色谱柱时）压力之差。

## 方法开发/正相

### *A- 流动相*

CHIRALPAK® 多糖键合型手性柱可以使用*所有的能互溶的有机溶剂*作流动相，除了在大赛璐其他柱上用的传统流动相（如烷烃/醇，100%醇或乙腈），还可以使用含甲基叔丁基醚(MtBE)、四氢呋喃(THF)、二氯甲烷(DCM)、氯仿($CHCl_3$)、乙酸乙酯 (EtOAc) 的流动相。

### *B- 方法开发 –筛选*

方法开发的筛选流程。

1. 使用表 1 中的条件做初筛。
2. 如果化合物或系列化合物不能在表 1 中的流动相溶解，则推荐直接选择复筛条件（见表 2）。

**表 1. 键合柱初筛流动相**

| 初筛流动相 | 烷烃❶/异丙醇 | 烷烃❶/乙醇 | 甲基叔丁基醚/乙醇❷ | 烷烃❶/二氯甲烷❸ |
|---|---|---|---|---|
| **常规起始条件** | 80:20 | 80:20 | 98:2 | 50:50 |
| **推荐的优化范围** | 99:1 ~ 50:50 | 99:1 ~ 50:50 | 60:40 ~ 100:0 | 85:15 ~ 0:100 |

❶ 烷烃：正己烷，异己烷或正庚烷，不同的烷烃可能有不同的分离效果。

❷ 在没有烷烃的流动相中，用甲醇代替乙醇来和甲基叔丁基醚组合，洗脱能力会更好。

❸ 对强保留的样品，在二氯甲烷里加入 20%以内的乙醇，有利于洗脱。

如键合柱初筛没能得到满意的分离效果，推荐使用以下的键合柱复筛条件：

**表 2. 键合柱复筛流动相❻**

| 复筛流动相 | 烷烃❶/四氢呋喃 | 烷烃❶/乙酸乙酯❹ | 烷烃❶/氯仿 | 乙腈/醇❺ | 甲醇/其他醇 |
|---|---|---|---|---|---|
| **常规起始条件** | 70:30 | 50:50 | 30:70 | 100:0 | 100:0 |
| **推荐的优化范围** | 99:1 ~ 50:50 | 99:1 ~ 50:50 | 60:40 ~ 0:100 | 100:0 ~ 0:100 | 100:0 ~ 0:100 |

❹ 对强保留的化合物，可以在乙酸乙酯中加些醇（❺）或者四氢呋喃来增强洗脱。

❺ 醇：甲醇、乙醇、异丙醇。

❻ 如流动相（尤其是丙酮、乙酸乙酯、甲苯、高比例氯仿等）的背景吸收强，样品本身的紫外响应弱，这种情况下，用紫外检测器较难检测，建议使用示差检测器（RI）或蒸发光散射检测器（ELSD）。

**注意：**本手册中出现的所有溶剂比例都是体积比。

Daicel Chiral Technologies (China) CO., LTD.

## *C- 综述*

⇨ CHIRALPAK® 多糖键合型手性柱还可以使用氯仿/烷烃、1,4-二氧六环/烷烃、甲苯/烷烃、丙酮/烷烃等流动相组合。

⇨ 常规起始条件是具有中强洗脱能力的流动相，在这些条件下，多数的化合物都能在合理的时间范围内洗脱并实现与对映体的基线分离。

⇨ 可以用 100%甲苯，甲基叔丁基醚和有机氯溶剂作为流动相。

⇨ 对于一些具有快速洗脱能力的溶剂，比如四氢呋喃，建议加入烷烃来调节保留时间。

⇨ 对一些样品或流动相（如乙酸乙酯，高比例二氯甲烷流动相），紫外检测器较难检测时，需要使用其他的检测器，如示差折光检测器（RI）和蒸发光散射检测器（ELSD）。

## *D- 添加剂*

对碱性或酸性样品，为实现较好的手性分离效果，可在流动相中加入合适的添加剂。

| 碱性样品需要碱性添加剂 | 酸性样品需要酸性添加剂 |
|---|---|
| 二乙胺 (DEA)<br>2-氨基乙醇 (AE)❶<br>乙二胺 (EDA)❶<br>丁胺 (BA) | 三氟乙酸 (TFA)<br>乙酸<br>甲酸 |
| < 0.5%<br>通常 0.1% | < 0.5%<br>通常 0.1% |

❶ 实验中发现，对于一些特殊的碱性化合物，使用特殊的碱性添加剂，比如乙二胺和 2-氨基乙醇，比常规的碱性添加剂二乙胺的优化效果好。

☞ *对于小极性的流动相，需加入低比例的醇（例如 2%乙醇或甲醇），才能使乙二胺和 2-氨基乙醇更好地溶解。*

⇨强碱性的添加剂或样品溶液不能进色谱柱，以免破坏色谱柱硅胶。

## 色谱柱保养/维护

- ❑ 为延长柱子使用寿命，强烈建议使用保护柱。
- ❑ 样品需用流动相来溶解，流动相和样品溶液需经 0.5μm 滤膜过滤以确保在使用前无任何沉淀。

### ☞ *色谱柱清洗与再生*

色谱柱在不同的溶剂中长时间使用后，手性分离能力可能会发生变化。为恢复之前的分离效果，可以通过再生的方法消除因记忆效应（流动相、添加剂等）带来的手性分离的变化。

***以下流速适用于内径 4.6mm 的分析柱***

1) 对于 CHIRALPAK® IA-3, CHIRALPAK® ID-3, CHIRALPAK® IF-3
   - 用乙醇以 0.5 ml/min 冲洗 30 分钟，然后用 N,N-二甲基甲酰胺 (DMF) 以 0.4 ml/min 冲洗 4 小时。
   - 用乙醇以 0.05 ml/min(*)冲洗 10 小时，然后用正己烷/异丙醇=90/10 (v/v)以 0.5ml/min 冲洗平衡 1 小时以上，再复测下柱效（见柱盒内检测报告）。

2) 对于 CHIRALPAK® IE-3, CHIRALPAK® IH-3
   - 用乙醇以 0.5 ml/min 冲洗 30 分钟，然后用 N,N-二甲基甲酰胺 (DMF) 以 0.3 ml/min 冲洗 3 小时。
   - 用乙醇以 0.3 ml/min 冲洗 50 分钟，然后用正己烷/异丙醇=90/10 (v/v)以 0.5ml/min 冲洗平衡 1 小时以上，再复测下柱效（见柱盒内检测报告）。

3) 对于 CHIRALPAK® IB-3, CHIRALPAK® IB N-3 和 CHIRALPAK® IC-3
   - 用乙酸乙酯以 1.0 ml/min 冲洗 30 分钟 (流动相中加过添加剂的，冲洗 2 小时以上)，色谱柱塞上堵头，室温下保存 48 小时以上。
   - 然后用正己烷/异丙醇=90/10 (v/v)以 0.5ml/min 冲洗平衡 1 小时以上，再复测下柱效（见柱盒内检测报告）。

4) 对于 CHIRALPAK® IG-3
   - 用乙酸乙酯以 1.0 mL/min 室温下冲洗 60 分钟 (流动相中有添加剂的，冲洗 2 小时以上)。
   - 然后用正己烷/异丙醇=90/10 (v/v)以 0.5ml/min 冲洗平衡 1 小时以上，再复测下柱效（见柱盒内检测报告）。

Daicel Chiral Technologies (China) CO., LTD.

5) 对于 CHIRALPAK® IJ-3

- 用乙醇以 0.5 mL/min 冲洗 30 分钟，然后用二氯甲烷以 0.4 mL/min 冲洗 4 小时。
- 用乙醇以 0.05 ml/min(*)冲洗 10 小时，然后用正己烷/异丙醇=90/10 (v/v)以 0.5ml/min 冲洗平衡 1 小时以上，再复测下柱效（见柱盒内检测报告）。

*(*) 此处的低流速冲洗对色谱柱性能恢复非常关键。*

## 色谱柱保存

❑ 色谱柱使用后，先用不含酸性或碱性添加剂的中性流动相冲洗，以除去添加剂。可用中性流动相来保存色谱柱。

⇨ 如您在手性柱使用中有任何疑问，请联系我们(chiral@dctc.daicel.com)。

*严格按照《使用手册》使用色谱柱，可延长色谱柱使用寿命。*

## 换算表

❑ 色谱柱内径/流速

| 柱内径(mm) | 2.1 | 3.0 | 4.6 | 10 | 20 | 30 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 流速(ml/min) | 0.21 | 0.43 | 1.0 | 4.7 | 19 | 43 |

❑ 压力

| MPa | bar | kg/cm$^2$ | psi |
|---|---|---|---|
| 1 | 10 | 10.197 | 145.038 |
| 0.1 | 1 | 1.020 | 14.504 |
| $9.807\times10^{-2}$ | 0.981 | 1 | 14.223 |
| $6.895\times10^{-3}$ | $6.895\times10^{-2}$ | $7.031\times10^{-2}$ | 1 |

**严格按照《使用手册》使用色谱柱，可延长色谱柱使用寿命。**

**本《使用手册》不适用于其他的大赛璐手性柱**

若您在手性柱使用中有任何疑问，
请联系大赛璐药物手性技术（上海）有限公司（chiral@dctc.daicel.com）。

**CHIRALCEL®，CHIRALPAK®，CROWNPAK®和 DAICEL DCpak®是**
**大赛璐公司（DAICEL CORPORATION）**的注册商标。

Daicel Chiral Technologies (China) CO., LTD.

DAICEL
Sustainable Value Together

# CHIRALPAK® IA-3/ IB-3/ IB N-3/ IC-3 ID-3/ IE-3/ IF-3/ IG-3/ IH-3/ IJ-3

# 色谱柱使用手册

**请在使用前仔细阅读本《使用手册》**

*〈反相〉*

**CHIRALPAK® 多糖键合型手性柱也可以使用正相模式。更具体的内容请见配套的使用手册页。**

## 反相模式和正相模式的切换

从反相模式切换到正相模式，必须用互溶的溶剂充分地冲洗置换。反之亦然。

强烈建议采用正相模式使用手册中所述的**再生流程**进行反相-正相模式切换。不过要注意的是，在此之前需要用不含任何盐或缓冲溶液的流动相充分地冲洗，确保无任何盐的残留。

## 方法开发/反相

### *E- 流动相/适用于紫外(UV)和质谱(MS)检测器*

| | 酸性<br>(及两性)<br>化合物 | 中性<br>化合物 | 碱性<br>化合物❹ |
|---|---|---|---|
| 水相❶ | 甲酸水溶液<br>pH 2.0 | 水 | 20mM 碳酸氢铵水溶液<br>pH 9.0<br>（碱性添加剂来调节 pH 值）❶ |
| 有机相❷ | 乙腈，甲醇，乙醇，异丙醇，四氢呋喃 | | |
| 常规起始条件❸ | 水相 60%<br>乙腈 40%❺ | | |

*☞ NOTE 1: 如果没有得到较好的分离效果，请尝试补充部分的流动相:*

### *F- 补充水相和缓冲溶液/适用于紫外(UV)检测器*

| | 酸性<br>(及两性)<br>化合物 | 中性<br>化合物 | 碱性<br>化合物❹ |
|---|---|---|---|
| 水相❶ | 50-100mM 磷酸盐缓冲液<br>pH 2.0<br>或<br>pH 2.0 磷酸水溶液<br>或<br>100mM 六氟磷酸钾 (或六氟磷酸钠)水溶液<br>pH 2.0<br>（磷酸调节 pH 值） | 水 | 20mM 硼酸盐缓冲液<br>pH 9.0<br>或<br>20mM 磷酸盐缓冲液<br>pH 8.0<br>或<br>100mM 六氟磷酸钾 (或六氟磷酸钠)水溶液 |
| 有机相❷ | 乙腈，甲醇，乙醇，异丙醇 | | |

Daicel Chiral Technologies (China) CO., LTD.

| | | |
|---|---|---|
| 常规起始条件 ❸ | 水相 | 60% |
| | 乙腈 | 40% ❺ |

☞ *NOTE 2: 所有缓冲盐溶液的浓度必须低于 500mM。*

❶ 水相溶液的配制及碱性添加剂的选择请参考**"C "部分**。

❷ ❑ 建议优先考虑乙腈。
❑ 在这些色谱柱上，有机相洗脱能力的顺序：乙腈＞乙醇＞甲醇：50%乙腈≈65-70%乙醇≈75-80%甲醇。
❑ 未考察过其他有机相溶剂，如使用，可能会损伤色谱柱。
❑ 使用醇作为有机相会比用乙腈柱压高，因为醇和水混合的黏度大。

❸ ❑ 保留时间可通过改变乙腈的比例来调节。乙腈在流动相中的比例对保留时间影响很大。
❑ 降低柱温可以增加保留时间和手性选择性。

❹ ❑ **使用碱性条件时，使用保护柱可延长色谱柱使用寿命。**
❑ 禁止使用 pH 大于 9 的强碱性流动相，否则会损伤硅胶基质。
❑ 如使用 pH 大于 7 的流动相，**为使色谱柱达到最大使用寿命，请在 5-25℃柱温下使用。**

❺ 高比例的有机相可能会导致**盐在流动相中析出**，堵塞柱子（推荐的流动相比例请见如下表格）。

| 水相 / 有机相 |
|---|
| **90 / 10 ~ 0 / 100** |

## *G- 缓冲盐溶液的配制 – 举例*

➢ *pH2 磷酸盐缓冲溶液的配制:*

**溶液 A**：50mM 磷酸二氢钾溶液

3.40g $KH_2PO_4$ / FW 136.09，色谱级纯水溶解并定容至 500ml

**溶液 B**：磷酸 ($H_3PO_4$ 85% by weight)

使用 B 相来调节 A 相至 pH2.0

➢ *pH9 碳酸氢铵缓冲溶液的配制:*

**溶液 A**：20mM 碳酸氢铵溶液

0.79g $NH_4HCO_3$ / FW 79.06，色谱级纯水溶解并定容至 500ml

**溶液 B**：碱性添加剂，比如二乙胺 (DEA)，三乙胺 (TEA)，氨水 ($NH_3$) 等。

** 使用二乙胺（DEA）调节 pH 值，出峰的峰形比用其他碱好。*

使用 B 相来调节 A 相至 pH9.0

➢ *pH9 硼酸盐缓冲溶液的配制:*

**溶液 A**：20mM 四硼酸钠溶液

3.81g $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ / FW 381.37，色谱级纯水溶解并定容至 500ml

**溶液 B**：20mM 硼酸水溶液

0.62g $H_3BO_3$ / FW 61.83，色谱级纯水溶解并定容至 500ml

使用 B 相来调节 A 相至 pH9.0

## 色谱柱保养/维护

❑ 色谱柱在保存前或切换到 100%有机溶剂前必须先将盐除去（例如使用水/乙腈 60:40 (v/v)）。

**正相模式及色谱柱保养/维护请参考使用手册主册**

地址：中国上海市自由贸易试验区荷香路 32 号　邮编：200131
电话：+86-21-5046-0086　传真：+86-21-5046-2321
网址：www.daicelchiraltech.cn



Daicel Chiral Technologies (China) CO.,LTD.