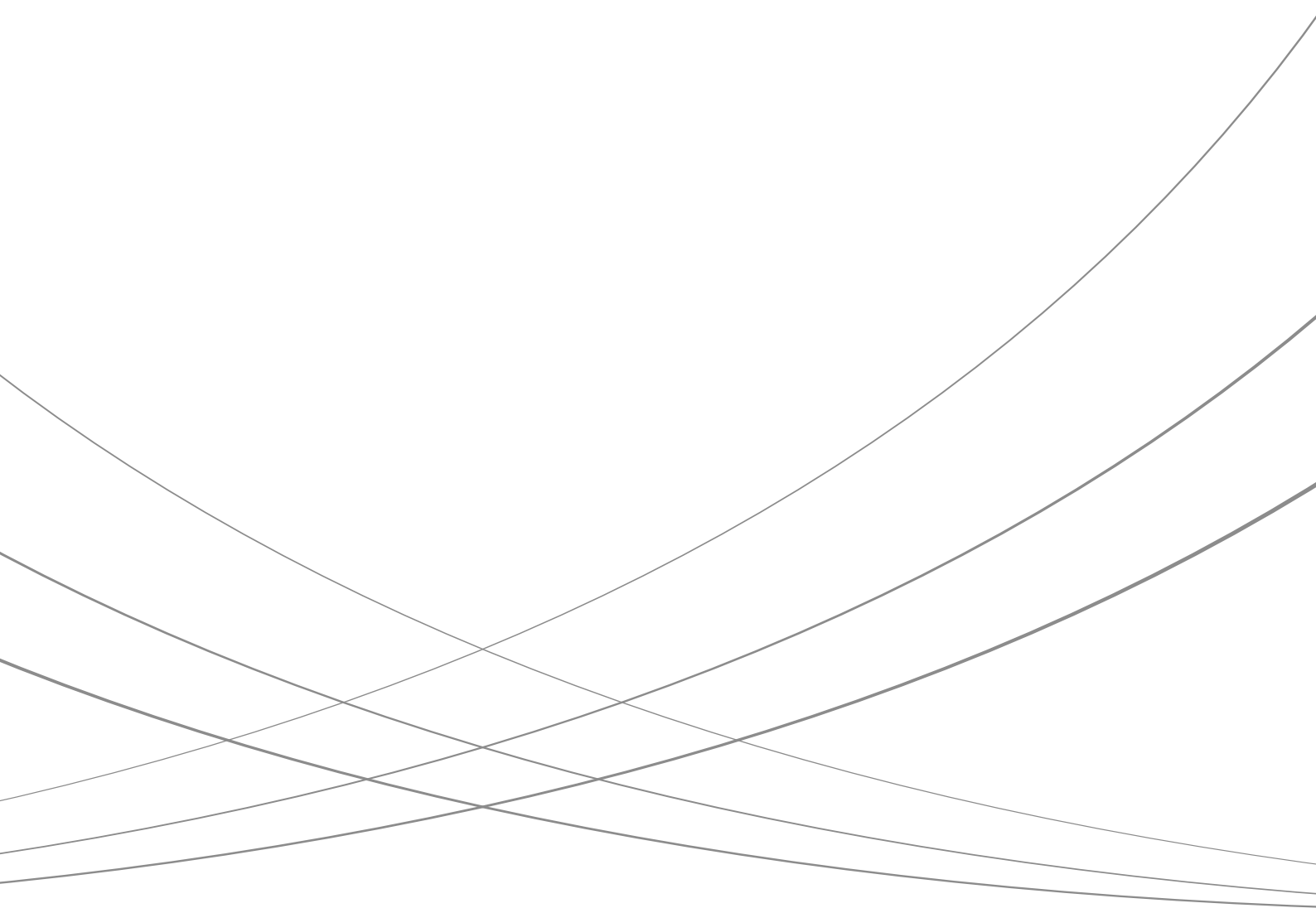


# Crude2Pure 系统

## 应用文集



# 前 言

岛津全自动纯化系统，即 Crude2Pure 系统包括制备液相色谱系统和目标馏分固体粉末化系统，后者提供了一种全新的制备分离所得馏分后处理模式，可在短暂的时间内完成从馏分溶液到目标物固体粉末的获得。并且在这一过程中，可以有效地除去流动相中加入的添加剂，避免了目标化合物分解的危险。由于可以直接生成固体粉末，免去了转移等操作，极大程度的降低了由于多步骤操作而引入杂质或产物损失。

岛津企业管理（中国）有限公司  
分析中心

# 目 录

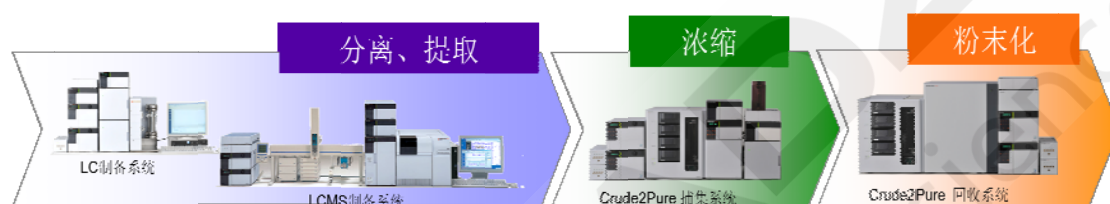
Crude2Pure 系统 .....	I
Crude2Pure 系统的工作方式介绍 .....	1
应用 C2P 系统对某甾体化合物纯化馏分的自动粉末化处理 .....	6
应用 C2P 系统自动粉末化处理功能实现化合物溶剂置换 .....	9
利用 C2P 系统快速获得游离碱形态有机合成产物 .....	12
Crude2Pure 系统在有机合成化合物纯化中的应用 .....	15



SHIMADZU  
Excellence in Science

## Crude2Pure 系统

岛津全自动纯化系统（Crude2Pure），简称 C2P 系统，是为应对有机合成化合物或天然产物等制备纯化及馏分后处理而研发的全自动、一体化装置。该系统由三部分构成，包括用于目标产物制备纯化的制备液相/制备液质色谱系统、目标馏分富集的捕集系统和对所捕集样品进行固体粉末化的回收系统。完整的 C2P 系统是指包含三个子系统的完整配置，由于制备液相/制备液质系统可以独立工作，所以一般情况下，也将捕集系统和回收系统称为 C2P 系统。



捕集系统根据化合物的极性和疏水特性通过一定比例和组成的流动相将馏分溶液输送通过 C2P 捕集柱，目标化合物将被保留在捕集柱中，捕集柱是甲基丙烯酸-二乙烯基苯聚合物为填料的特种色谱柱，具有 1-14 的宽 pH 范围。捕集结束后，将捕集柱架转移至回收系统，选择需要生成的化合物形态（盐、游离碱等）后，回收系统通过



C2P 捕集柱和捕集柱架

冲洗 C2P 捕集柱去

除多余的流动相添加剂，转化成盐形态，除水等步骤后，以二氯甲烷-甲醇溶剂洗脱目标化合物，同时辅以加热和氮气吹拂干燥，进而在 3 小时内得到目标化合物的固体粉末。

回收过程示意图

# Crude2Pure 系统的工作方式介绍

**摘要：**全自动纯化系统（Crude2Pure 系统）是利用化合物极性和疏水性特点，自动实现溶液中目标化合物富集和溶剂回收全过程的高度自动化系统。实验证明，该系统方便可靠、操作简便、省时省力，适用于大多数化合物的粉末化操作。

**关键词：**全自动纯化系统 C2P 制备 纯化 粉末化

全自动纯化系统，即 Crude2Pure 系统（以下简称 C2P 系统）是一种全新的制备分离所得馏分后处理方式，其特点是在短暂的时间内完成从馏分溶液到目标物固体粉末的获得。并且在这一过程中，有效地除去了流动相中加入的添加剂，即便是已经和化合物结合成盐的，也可以通过置换的手段得到满足后续实验要求的盐的形态，由于不像旋转蒸发需要升高温度，所以该方式有效降低了目标化合物分解的危险。直接生成在样品瓶中的固体粉末，免去了转移等操作，极大程度的降低了由于多步骤操作而引入杂质或损失产物的风险。

C2P 系统由捕集和回收两个子系统构成（图 1）。捕集系统根据化合物的极性和疏水特性通过一定比例和组成的流动相将馏分溶液输送通过 C2P 捕集柱，目标化合物将被保留在捕集柱中。将该捕集柱转移至回收系统，选择需要的化合物形态（盐，游离碱等）后，回收系统通过冲洗 C2P 捕集柱去除多余的流动相添加剂，转化成盐形态，除水等步骤后，以二氯甲烷-甲醇溶剂洗脱目标化合物，同时辅以加热和氮气干燥，进而在 3 小时内得到目标化合物的固体粉末。



图 1 C2P 系统的捕集系统（左）和回收系统（右）

## 1. 工作方式介绍

### 1.1 基本工作流程

C2P 系统由两个子系统构成，分别为捕集系统和回收系统。下图简要说明了该系统的工作流程。通过制备液相色谱获得的化合物目标馏分，根据在通用色谱方法下测定其保留时间

以获得其疏水作用特定，从而选择合适的流动相将馏分中的目标化合物捕集到 C2P 捕集柱后再通过回收系统将化合物从捕集柱洗脱并进行粉末化处理。回收系统在化合物处理完毕之后会自动进行捕集柱的清洗。

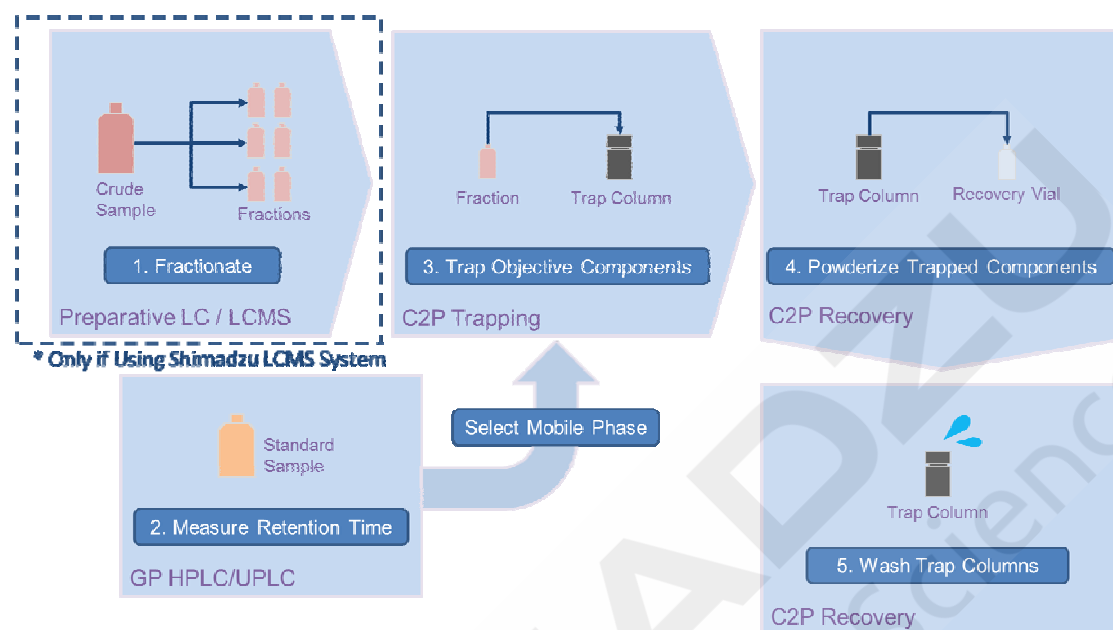


图 2 C2P 系统的工作流程图

## 1.2 溶液及流动相

含有酸的水相和有机相组成的反相色谱流动相是推荐的样品溶液，另外制备色谱分离时的化合物保留时间对捕集过程中流动相的选择是很有帮助的。为保证良好的效果，需要保证 C2P 捕集柱最大的上样体积在 50 mL 以内。

## 1.3 目标化合物的保留时间确认

C2P 系统中的捕集系统会根据目标化合物的保留时间判断化合物的疏水性能，从而确定捕集过程中所用流动相的类型和比例，以及上样泵和补偿泵的流速比例。

保留时间的确定可以使用反相高效液相色谱，如岛津 HPLC 或 UHPLC 系统来确定，使用通用的液相方法，如 0.1%甲酸或三氟醋酸水溶液-有机溶剂流动相体系，对于 HPLC 梯度变化可以为 0-10%B(0-2min)\_10-40%B(2-8min)\_40-60%B(8-12min)\_60-80%B(12-16min)\_80%B(16-20min)，对于 UHPLC 则为，0-10%B(0-0.5 min)\_10-40%B(0.5-2min)\_40-60%B(2-3min)\_60-80%B(3-4min)\_80%B(4-5min)。分析结果通过下表对应的数据来确定捕集系统流动相组成。

表 1 保留时间区带划分

#	时间区带	HPLC			UHPLC		
		区带宽度	起始	终止	区带宽度	起始	终止

1	A	2.0	0	2	0.5	0	0.5
2	B	6.0	2	8	1.5	0.5	2
3	C	4.0	8	12	1.0	2	3
4	D	4.0	12	16	1.0	4	4
5	E	-	16	-	-	4	-

#### 1.4 捕集系统流动相组成

捕集系统准备了 4 种流动相用于目标化合物在 C2P 捕集柱上的捕集，流动相类型同表 1 中的时间区带相对应关系如表 3。

表 2 捕集系统流动相组成

上样 流动相	A	Water/TFA = 1000 / 1
	B	(Water/TFA = 1000 / 1) / (DMSO/Acetonitrile = 9/1) = 73 / 27
	C	(Water/TFA = 1000 / 1) / (DMSO/Acetonitrile = 9/1) = 60 / 40
	D	(Water/TFA = 1000 / 1) / (DMSO/Acetonitrile = 9/1) = 44 / 56
补偿 流动相	A	Water/TFA = 1000 / 1
	B	(Water/TFA = 1000 / 1) / (DMSO/Acetonitrile = 9/1) = 73 / 27
	C	(Water/TFA = 1000 / 1) / (DMSO/Acetonitrile = 9/1) = 60 / 40
	D	(Water/TFA = 1000 / 1) / (DMSO/Acetonitrile = 9/1) = 44 / 56

在捕集操作时，输入所需捕集的化合物保留时间，捕集程序根据表 1 中保留时间的预先设置获得该化合物所在的区带信息，然后根据表 3 中设定自动选择对应的上样泵和补偿泵的溶剂及流速，完成对该样品的捕集操作。

表 3 捕集系统流动相比比例和流速

区带	输液泵	流动相	流速 (mL/min)
A	上样泵	A	10
	补偿泵	A	30
B	上样泵	B	10
	补偿泵	B	50
C	上样泵	C	10
	补偿泵	B	40

#### 1.5 回收过程

捕集进程结束后，开始样品回收过程。回收过程准备了前处理、后处理和洗脱三个过程多种流动相（见表 4）。前处理泵以前处理流动相 A 对已捕集过样品的捕集柱进行清洗，除去流动相中的背景物质后，再根据待测化合物粉末形态要求选择对应的流动相。

前处理结束后，洗脱泵输送洗脱流动相 A，利用极性差别而不能混溶的原理，顶替去除捕集柱中的前处理流动相，然后再使用洗脱流动相 A 洗脱目标样品于样品管中，在同步加热和氮吹作用下迅速挥干溶剂形成目标化合物固体粉末。

表 4 回收系统流动相类型

输液泵	流动相	流动相组成 (V/V)
前处理泵	A	水
	B	水/乙腈 = 98/2
	C	2M 氨水溶液 (-> 水/(28%氨水)=865/135)
	D	水
后处理泵	A	水
	B	乙腈
洗脱泵	A	水
	B	1M 氢氧化钠的水-甲醇(3/7)溶液

## 2. 操作过程简要介绍

### 2.1 捕集过程

捕集柱安装入专用的捕集柱架后，置入捕集系统中。通过软件 Open Solution C2P 设置捕集柱位置和对应化合物信息等内容后，启动捕集过程，单个样品的捕集在半小时之内完成。

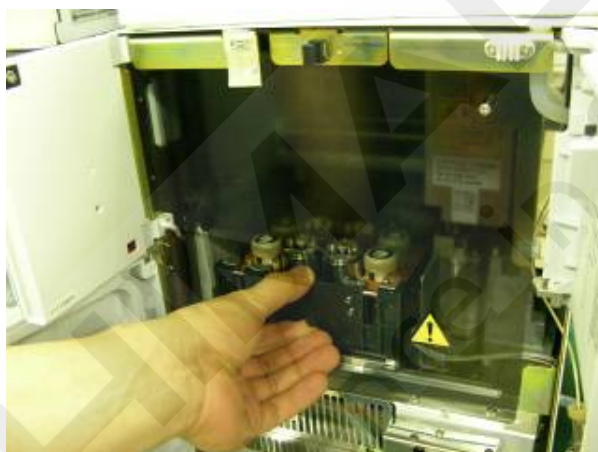


图 3 捕集系统准备

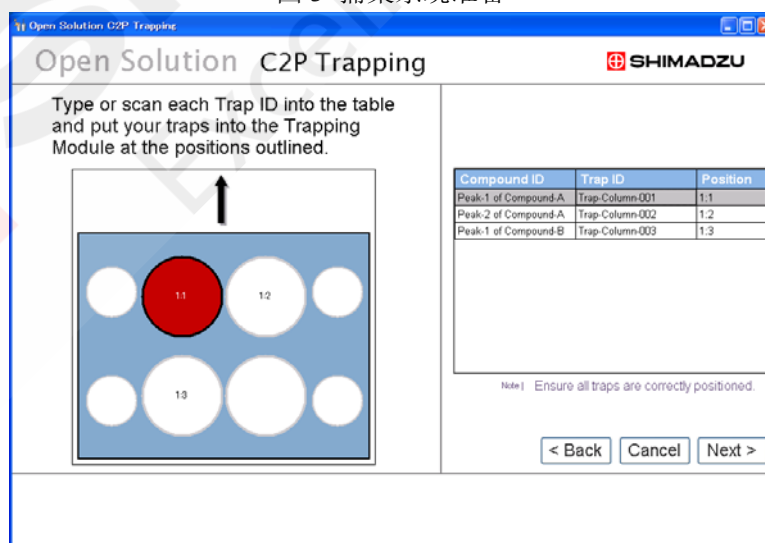


图 4 Open Solution C2P 捕集操作

### 2.2 回收过程

捕集结束后，将捕集柱架放置入回收系统的相应位置，启动 Open Solution C2P，系统进

行自动化溶剂回收处理，3 小时以内结束回收操作，最终粉末化结果如图 2 所示。

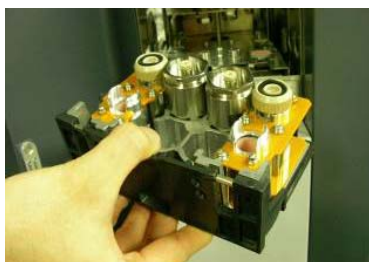


图 5 回收系统准备

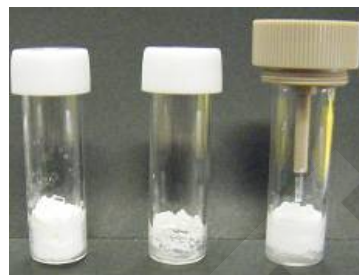


图 6 粉末化结果

### 3 结论

岛津 Crude2Pure 系统可以在 3 小时内快速完成目标化合物馏分的自动粉末化操作，比传统的样品分离纯化后处理方法节省处理时间 3 倍以上，并且该对样品的处理过程不受样品结构特点和性质的影响，实验证明可以适合大多数化合物的处理；操作方式快捷简便，易于掌握，因此，该系统在天然产物提取分离纯化和合成有机化合物的研究中有广泛的应用前景。

# 应用 C2P 系统对某甙体化合物纯化馏分的自动粉末化处理

**摘要：**岛津全自动纯化系统（Crude2Pure 系统）是利用化合物极性和疏水性特点，自动将已分离的目标化合物馏分溶液富集于 C2P 捕集柱上，并在线实现目标化合物粉末化的制备分离后处理系统。本实验对某甙体类化合物的制备纯化馏分进行处理，实验结果表明证明，50 mg 的该化合物可在 3 个小时内完成自动粉末化过程，并且回收率在 95% 以上。

**关键词：**全自动纯化系统 C2P 制备 纯化 粉末化 甙体

制备液相色谱所收集馏分的后处理方式一般常用的有减压旋转蒸发和低温冷冻干燥，两种方法各有特点，但都需要消耗大量的时间和人力，另外还具有样品污染、样品损耗等风险，在处理大规模样品数量时将尤为明显。

全自动纯化系统，即 Crude2Pure 系统（以下简称 C2P 系统）提供了一种全新的制备分离所得馏分后处理模式，可在短暂的时间内完成从馏分溶液到目标物固体粉末的获得。并且在这一过程中，有效地除去了流

动相中加入的添加剂，即便是已经和化合物结合成盐的，也可以通过置换的手段得到满足后续实验要求的盐的形态，有效降低了目标化合物分解的危险。由于可以直接生成固体粉末，免去了转移等操作，极大程度的降低了由于多步骤操作而引入杂质或损失产物的风险。

本实验对制备分离后的某甙体化合物进行粉末化处理，在 3 小时内得到目标化合物的固体粉末。



图 1 C2P 系统的捕集系统（左）和回收系统（右）

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器配置

#### 1.1.1 捕集系统

LC-20AP×2（上样泵和补偿泵），FCV-230AL×2（溶剂选择阀），SIL-10AP（自动进样器），FCV-20AH<sub>2</sub>（流路切换阀），Trapping Module（捕集模块），CBM-20A（系统控制器），Trapping Controller（捕集控制器）

#### 1.1.2 回收系统

LC-20AP×2（前处理泵和后处理泵），FCV-230AL×3（溶剂选择阀），FCV-14AH×2（流路切换阀），Recovery Module（回收模块），Option Box（辅助控制器）

## 1.2 实验条件

捕集柱：Shim-pack C2P 20 mm id×30 mm L, 40 μm

流动相和溶剂：超纯水；乙腈（色谱纯）；甲醇（色谱纯）；二氯甲烷（色谱纯）；

三氟乙酸（色谱纯）；甲酸（色谱纯）；氨水；二甲基亚砜（色谱纯）

## 1.3 实验过程

### 1.3.1 捕集过程

根据待处理化合物的极性、疏水特性特点，确定在捕集过程中选择使用的捕集流动相如表 1 所示。

表 1 捕集系统流动相组成类型

输液泵	流动相组成 (V/V)	流速 (mL/min)
上样泵	(Water/TFA = 1000/1)/(DMSO/ACN = 9/1) = 73/27	10
补偿泵	(Water/TFA = 1000/1)/(DMSO/ACN = 9/1) = 73/27	50

### 1.3.3 回收过程

捕集进程结束后，开始样品回收过程。回收过程由前处理、后处理和洗脱三个过程组成。前处理泵以前处理流动相 A 对已捕集过样品的捕集柱进行清洗，除去流动相中的背景物质。前处理结束后，洗脱泵输送洗脱流动相 A，利用极性差别而不能混溶的原理，顶替去除捕集柱中的前处理流动相，然后再使用洗脱流动相 A 洗脱目标样品于样品管中，在同步加热和氮吹作用下迅速挥干溶剂形成目标化合物固体粉末。

后处理泵的多种流动相用于 C2P 色谱柱的使用后清洗和日常维护。

表 2 回收系统流动相类型

输液泵	流动相	流动相组成 (V/V)
前处理泵	A	Water
后处理泵	A	Water
	B	Acetonitrile 100%
	C	1M NaOH in (Water/MeOH = 3/7)
	D	Water/Acetonitrile = 1/1
洗脱泵	A	DCM/Methanol = 9/1
	B	Acetonitrile 100%

## 2. 实验结果

本实验对约 50 mg 的某甾体类化合物的制备纯化馏分溶液进行溶剂回收及粉末化处理，在 3 小时内完成自动化全过程，回收率为 96%。样品粉末化形态如图 1 所示。

表 3 回收率测试结果

样品名称	处理量	回收量	回收率
T-HC-01	50 mg	48 mg	96%



图 2 粉末化效果

### 3. 结论

岛津 Crude2Pure 系统提供了一种快速、安全、有效的全新分离制备后处理方法。本实验使用该系统,对某甾体化合物进行了溶剂回收及固体粉末化处理,实验可在 3 小时内快速完成,同传统的样品分离纯化后处理方法相比,节省处理时间 3 倍以上;粉末直接生成于标准的样品瓶中,减少转移操作,避免了相互污染的产生,最终得到高纯度的化合物粉末,为合成产物的制备纯化后处理操作提供一种简便、实用和可靠的方式。本实验中所涉及的甾体化合物是含有环戊烷骈多氢菲母核的一类中等极性化合物,多数会含有多个羟基,从极性和疏水性考虑,在上样和补偿液均含有一定比例的有机相以增大溶解性防止捕集过程中析出损失;由于分离纯化过程中往往在流动相中加入了甲酸等挥发性酸来改善峰形和分离度,在溶剂回收和粉末化时以纯水洗除流动相中的添加剂,获得高纯度目标样品。



SHIMADZU  
Excellence in Science

# 应用 C2P 系统自动粉末化处理功能实现化合物溶剂置换

**摘要：**岛津全自动纯化系统（Crude2Pure 系统）是利用化合物极性和疏水性特点，自动将已分离的目标化合物馏分溶液富集于 C2P 捕集柱上，并在线实现目标化合物粉末化的制备分离后处理系统。本实验对某酸性有机化合物溶液进行处理，实验结果表明证明，10 mg 的该化合物可在 3 个小时内完成自动粉末化过程，并且回收率在 95% 以上。

**关键词：**全自动纯化系统 C2P 制备 纯化 粉末化 溶剂置换

溶液中溶剂如果需要更换，一般需要通过减压旋转蒸发或低温冷冻干燥除去原有溶剂而得到溶质，再以另外合适的溶剂溶解。上述传统的方法存在处理时间长，旋蒸过程由于温度升高可能导致样品分解，溶剂中不挥发性添加剂不能去除等缺点，另外处理的过程中还具有样品污染、样品损耗等风险，在处理大规模样品数量时和含量微小的样品时这些不足显得尤为明显。

全自动纯化系统，即 Crude2Pure 系统（以下简称 C2P 系统）提供了一种全新的制备分离所得馏分后处理模式，可在短暂的时间内完成从馏分溶液到目标物固体粉末的

获得。并且在这一过程中，有效地除去了流动相中加入的添加剂，即便是已经和化合物结合成盐的，也可以通过置换的手段得到满足后续实验要求的盐的形态，有效降低了目标化合物分解的危险。由于可以直接生成固体粉末，免去了转移等操作，极大程度的降低了由于多步骤操作而引入杂质或损失产物的风险。

本实验对某酸性有机化合物溶液进行粉末化干燥处理以实现溶剂置换的后续要求，通过实验样品在 3 小时内得到目标化合物的固体粉末。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器配置

#### 1.1.1 捕集系统

LC-20AP×2（上样泵和补偿泵），FCV-230AL×2（溶剂选择阀），SIL-10AP（自动进样器），FCV-20AH<sub>2</sub>（流路切换阀），Trapping Module（捕集模块），CBM-20A（系统控制器），Trapping Controller（捕集控制器）

#### 1.1.2 回收系统

LC-20AP×2（前处理泵和后处理泵），FCV-230AL×3（溶剂选择阀），FCV-14AH×2（流路切换阀），Recovery Module（回收模块），Option Box（辅助控制器）

### 1.2 实验条件

捕集柱：Shim-pack C2P 20 mm id×30 mm L, 40 μm

流动相和溶剂：超纯水；乙腈（色谱纯）；甲醇（色谱纯）；二氯甲烷（色谱纯）；

三氟乙酸（色谱纯）；甲酸（色谱纯）；氨水；二甲基亚砜（色谱纯）

## 1.3 实验过程

### 1.3.1 捕集过程

根据待处理化合物的极性、疏水特性特点，确定在捕集过程中选择使用的捕集流动相如表 1 所示。

表 1 捕集系统流动相组成类型

输液泵	流动相组成 (V/V)	流速 (mL/min)
上样泵	(Water/TFA = 1000/1)	10
补偿泵	(Water/TFA = 1000/1)	50

### 1.3.3 回收过程

捕集进程结束后，开始样品回收过程。回收过程由前处理、后处理和洗脱三个过程组成。前处理泵以前处理流动相 A 对已捕集过样品的捕集柱进行清洗，除去流动相中的背景物质，如 TFA 等。前处理结束后，洗脱泵输送洗脱流动相 A，利用极性差别而不能混溶的原理，顶替去除捕集柱中的前处理流动相，然后再使用洗脱流动相 A 洗脱目标样品于样品管中，在同步加热和氮吹作用下迅速挥发溶剂形成目标化合物固体粉末。



图 1 安置在回收系统中的 C2P 色谱柱及样品回收瓶  
后处理泵的多种流动相用于 C2P 色谱柱的使用后清洗和日常维护。

表 2 回收系统流动相类型

输液泵	流动相	流动相组成 (V/V)
前处理泵	A	Water
后处理泵	A	Water
	B	Acetonitrile 100%
	C	1M NaOH in (Water/MeOH = 3/7)
	D	Water/Acetonitrile = 1/1
洗脱泵	A	DCM/Methanol = 9/1
	B	Acetonitrile 100%

## 2. 实验结果

本实验对约 10 mg 的某酸性化合物溶液进行溶剂回收及粉末化处理，在 3 小时内完成自动化全过程，回收率为 99%。样品粉末化形态如图 2 所示。

表 3 回收率测试结果

样品名称	处理量	回收量	回收率
CS-01	10 mg	9.9 mg	99%



图 2 粉末化效果

### 3 结论

Crude2Pure 自动纯化系统提供了一种快速、安全、有效的全新分离制备后处理方法。本实验使用该系统对某酸性化合物溶液进行溶剂回收实验以方便之后的更换溶剂溶解。实验在 3 小时内快速完成目标化合物馏分的自动粉末化操作，同传统的样品分离纯化后处理方法相比，节省处理时间 3 倍以上；粉末直接生成于标准的样品瓶中，减少转移操作，避免了相互污染的产生，最终得到高纯度的化合物粉末，为合成产物的制备纯化后处理操作提供一种简便、实用和可靠的方式。



SHIMADZU  
Excellence in Science

# 利用 C2P 系统快速获得游离碱形态有机合成产物

**摘要：**本实验利用岛津全自动纯化系统 Crude2Pure 对 4 种制备分离的样品进行溶剂回收固体粉末化处理，根据化合物极性和疏水性特点，该系统以自动方式将馏分溶液中的目标化合物富集于 C2P 捕集柱上，并在线实现目标化合物粉末化过程。实验表明，使用该系统可以快速对样品馏分溶液进行回收处理，避免传统方式中交叉污染的可能。

**关键词：**全自动纯化系统 C2P 制备 纯化 粉末化 游离碱

全自动纯化系统，即 Crude2Pure 系统（以下简称 C2P 系统）提供了一种全新的制备分离所得馏分后处理模式，可在短暂的时间内完成从馏分溶液到目标物固体粉末的获得。并且在这一过程中，有效地除去了流动相中加入的添加剂，即便是已经和化合物结合成盐的，也可以通过置换的手段得到满足后续实验要求的盐的形态，有效降低了目标化合物分解的危险。由于可以直接生成固体粉末，免去了转移等操作，极大程度的降低了由于多步骤操作而引入杂质或损失产物的风险。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器配置

#### 1.1.1 捕集系统

LC-20AP×2（上样泵和补偿泵），FCV-230AL×2（溶剂选择阀），SIL-10AP（自动进样器），FCV-20AH<sub>2</sub>（流路切换阀），Trapping Module（捕集模块），CBM-20A（系统控制器），Trapping Controller（捕集控制器）

#### 1.1.2 回收系统

LC-20AP×2（前处理泵和后处理泵），FCV-230AL×3（溶剂选择阀），FCV-14AH×2（流路切换阀），Recovery Module（回收模块），Option Box（辅助控制器）

### 1.2 实验条件

捕集柱：Shim-pack C2P 20 mm id×30 mm L, 40 μm

流动相和溶剂：超纯水；乙腈（色谱纯）；甲醇（色谱纯）；二氯甲烷（色谱纯）；三氟乙酸（色谱纯）；甲酸（色谱纯），氨水

### 1.3 实验过程

#### 1.3.1 保留时间测定

利用化合物的极性与疏水特性，C2P 系统根据待测化合物的在反相高效液相（超快速液

C2P 系统由捕集系统和回收系统组成（图 1）。捕集系统根据化合物的极性和疏水特性通过一定比例和组成的流动相将馏分溶液输送通过 C2P 捕集柱，目标化合物将被保留在捕集柱中。将该捕集柱转移至回收系统，选择需要的化合物形态（盐，游离碱等）后，回收系统通过冲洗 C2P 捕集柱去除多余的流动相添加剂，转化成盐形态，除水等步骤后，以二氯甲烷-甲醇溶剂洗脱目标化合物，同时辅以加热和氮气干燥，进而在 3 小时内得到目标化合物的固体粉末。

相) 色谱分析的保留时间划分区带 (见表 1), 区带按照保留时间由小到大分布。

表 1 保留时间区带划分

区带	保留时间范围 (min)		乙腈浓度范围 (%)	
	起始	终止	起始	终止
A	0.00	0.75	5.00	53.21
B	0.75	1.15	53.21	78.93
C	1.15	1.40	78.93	95.00

测试色谱条件

色谱柱: C18, 2.1 mm ID×5 mm L, 2.5 μm

流动相: A 相-0.075%TFA B 相-乙腈

梯度: B% 0 min(5%)—1.4 min(95%)

### 1.3.2 捕集过程

捕集系统使用的上样泵和补偿泵分别准备了 3 种不同极性和酸碱性的捕集用和稀释用溶剂 (见表 2), 以满足不同保留特性样品的捕集需求。

表 2 捕集系统流动相组成类型

输液泵	流动相类别	流动相组成 (V/V)
上样泵	A	Water/NH <sub>3</sub> = 100/1
	B	Water/TFA = 1000/1
	C	Water/Acetonitrile/TFA = 700/300/1
补偿泵	A	Water/NH <sub>3</sub> = 100/1
	B	Water/TFA = 1000/1
	C	Water/Acetonitrile/TFA = 900/100/1

系统根据化合物保留时间匹配化合物所在的区带信息, 然后根据表 3 中设定自动选择对应的上样泵和补偿泵的溶剂及流速, 完成对该样品的捕集操作。

表 3 捕集系统流动相比例和流速

区带	输液泵	流动相	流速 (mL/min)
A	上样泵	A	10
	补偿泵	A	30
B	上样泵	B	10
	补偿泵	B	50
C	上样泵	C	10
	补偿泵	B	40

### 1.3.3 回收过程

回收过程包含前处理、后处理和洗脱三个过程, 所用流动相见表 4。

表 4 回收系统流动相类型

输液泵	流动相	流动相组成 (V/V)
前处理泵	A	Water
	B	Water/TFA = 1000/1

	C	Water/NH <sub>3</sub> = 100/1
	D	Water/Formic=100/1
后处理泵	A	Acetonitrile 100%
	B	Water/Acetonitrile/NH <sub>3</sub> =186/800/14
洗脱泵	A	DCM/Methanol = 9/1
	B	Acetonitrile 100%

## 2. 实验结果与讨论

### 2.1 样品粉末化结果

本实验共对 4 种有机合成化合物进行了全自动粉末化操作, 根据目标化合物在反相液相色谱中保留时间特点将其划分为 A、B、C 三个区带, 样品溶剂回收过程选择游离碱形态, 系统自动选择为前处理泵 C 路流动相, 各区带中样品的化合物形态和粉末化结果如表 5 所示。

表 5 样品测试结果

化合物#	保留时间 (min)	区带	化合物形态	粉末化结果
1	0.39	Band A	Free-base	Success
2	0.47	Band A	Free-base	Success
3	1.12	Band B	Free-base	Success
4	1.17	Band C	Free-base	Success



图 1 粉末化结果

## 3. 结论

本实验使用岛津 Crude2Pure 系统对 4 种化合物进行溶剂回收粉末化处理。该系统根据化合物 HPLC 保留时间划分区带, 自动确定各区带对应捕集使用的流动相组成, 根据需要得到的化合物游离碱形态确定 1%氨水溶液为回收系统的前处理流动相, 单个样品在 3h 内完成粉末化处理过程。该系统提供了一种快速、安全、有效的全新分离制备后处理方法, 同传统的样品分离纯化后处理方法相比节省处理时间 3 倍以上, 节省人力, 可以成为化学合成和天然产物分离等行业和领域高纯产品获得的一种有效手段。

# Crude2Pure 系统在有机合成化合物纯化中的应用

**摘要：**岛津全自动纯化系统（Crude2Pure 系统）是利用化合物极性和疏水性特点，自动将已分离的目标化合物馏分溶液富集于 C2P 捕集柱上，并在线实现目标化合物粉末化的制备分离后处理系统。实验证明，该系统适用于大多数化合物的粉末化操作，并且全部过程可在 3 个小时内完成，处理过程避免传统方式中交叉污染的可能，除去流动相添加剂的影响顺利实现粉末化并得到高纯度的样品，回收率在 90% 以上。

**关键词：**全自动纯化系统 C2P 制备 纯化 粉末化

制备液相分离技术广泛应用于合成化合物分离纯化，天然产物制备，代谢产物研究和生物制品纯化等领域。目前一般的操作流程是待分离的样品溶液经过高效液相制备系统，以紫外吸收特性或者质谱响应作为触发信号，在信号超过设定参数时引起馏分收集器收集，得到含有目标产物的溶液，后续通过旋转蒸发或者冷冻干燥等手段使得含有目标化合物的溶液浓缩、干燥，最终得到目标产物的固体状态。这种传统的工作流程在相关领域得到广泛使用。

然而，相对于前期的制备纯化工作，目标馏分的后处理经常是费时又费力的过程。含有大量水的样品往往需要 12-24 小时甚至更长的时间进行处理。流动相中加入的甲酸、三氟乙酸、氨水、乙酸铵等添加剂会与化合物上的官能团成盐或者以游离态存在而不能完全去除进而影响目标产物的纯度和后续生物活性实验的结果。并且更为严重的是，由于化合物的结构特性和制备色谱柱的柱效影响，在制备纯化过程中往往需要在流动相中添加易挥发的酸或者碱来调节流动相

的 pH 值以改善色谱峰峰形进而提高分离效率。但在分离完成后对馏分进行旋转蒸发或者冷冻干燥的过程中，随着溶剂的逐渐去除，剩余溶液中的酸或碱的浓度相对提高，当 pH 变化到超过目标化合物能够稳定存在的条件时，化合物结构发生变化，造成目标产物损失，使得前期的分离工作功亏一篑。

全自动纯化系统，即 Crude2Pure 系统（以下简称 C2P 系统）提供了一种全新的制备分离所得馏分后处理模式，可在短暂的时间内完成从馏分溶液到目标物固体粉末的获得。并且在这一过程中，有效地除去了流动相中加入的添加剂，即便是已经和化合物结合成盐的，也可以通过置换的手段得到满足后续实验要求的盐的形态，有效降低了目标化合物分解的危险。由于可以直接生成固体粉末，免去了转移等操作，极大程度的降低了由于多步骤操作而引入杂质或损失产物的风险。

C2P 系统由捕集系统和回收系统组成（图 1）。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器配置

#### 1.1.1 捕集系统

LC-20AP×2（上样泵和补偿泵），FCV-230AL×2（溶剂选择阀），SIL-10AP（自动进样器），FCV-20AH<sub>2</sub>（流路切换阀），Trapping Module（捕集模块），CBM-20A（系统控制

器), Trapping Controller (捕集控制器)



图 1 C2P 系统的捕集系统 (左) 和回收系统 (右)

### 1.1.2 回收系统

LC-20AP×2 (前处理泵和后处理泵), FCV-230AL×3 (溶剂选择阀), FCV-14AH×2 (流路切换阀), Recovery Module (回收模块), Option Box (辅助控制器)

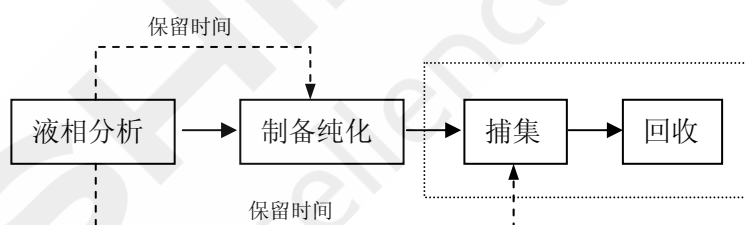
## 1.2 实验条件

捕集柱: Shim-pack C2P 20 mm id×30 mm L, 40 μm

流动相和溶剂: 超纯水; 乙腈 (色谱纯); 甲醇 (色谱纯); 二氯甲烷 (色谱纯); 三氟乙酸 (色谱纯); 甲酸 (色谱纯); 氨水

## 1.3 实验过程

### 1.3.1 实验流程



### 1.3.2 捕集过程

利用化合物的极性与疏水特性, C2P 系统根据待测化合物在反相高效液相(超快速液相)色谱分析的保留时间划分区带 (见表 1), 区带按照保留时间由小到大分布。

表 1 保留时间区带划分

区带	保留时间范围 (min)		乙腈浓度范围 (%)	
	起始	终止	起始	终止
A	0.00	0.75	5.00	53.21
B	0.75	1.15	53.21	78.93
C	1.15	1.40	78.93	95.00

测试色谱条件

色谱柱: C18, 2.1 mm ID×5 mm L, 2.5 μm

流动相: A相-0.075%TFA B相-乙腈  
 梯度: B% 0 min(5%)—1.4 min(95%)

根据保留时间划分的各区带在一定程度上反映了保留时间在该区带内的化合物的极性和疏水特性, 据此, 捕集系统使用的上样泵和补偿泵分别准备了3种不同极性和酸碱性的捕集用和稀释用溶剂(见表2), 以满足不同保留特性样品的捕集需求。

表2 捕集系统流动相组成类型

输液泵	流动相类别	流动相组成 (V/V)
上样泵	A	Water/NH <sub>3</sub> = 100/1
	B	Water/TFA = 1000/1
	C	Water/Acetonitrile/TFA = 700/300/1
补偿泵	A	Water/NH <sub>3</sub> = 100/1
	B	Water/TFA = 1000/1
	C	Water/Acetonitrile/TFA = 900/100/1

在捕集操作时, 输入所需捕集的化合物保留时间, 捕集程序根据表1中保留时间的预先设置获得该化合物所在的区带信息, 然后根据表3中设定自动选择对应的上样泵和补偿泵的溶剂及流速, 完成对该样品的捕集操作。

表3 捕集系统流动相比率和流速

区带	输液泵	流动相	流速 (mL/min)
A	上样泵	A	10
	补偿泵	A	30
B	上样泵	B	10
	补偿泵	B	50
C	上样泵	C	10
	补偿泵	B	40

### 1.3.3 回收过程

捕集进程结束后, 开始样品回收过程。回收过程准备了前处理、后处理和洗脱三个过程共计8种流动相(见表4)。前处理泵以前处理流动相A对已捕集过样品的捕集柱进行清洗, 除去流动相中的背景物质后, 再根据待测化合物粉末形态要求选择对应的流动相, 选择前处理流动相B形成TFA盐, 前处理流动相C形成游离碱, 前处理流动相D形成甲酸盐。

前处理结束后, 洗脱泵输送洗脱流动相A, 利用极性差别而不能混溶的原理, 顶替去除捕集柱中的前处理流动相, 然后再使用洗脱流动相A洗脱目标样品于样品管中, 在同步加热和氮吹作用下迅速挥干溶剂形成目标化合物固体粉末。

表4 回收系统流动相类型

输液泵	流动相	流动相组成 (V/V)	化合物形态
前处理泵	A	Water	

	B	Water/TFA = 1000/1	AS IS
	C	Water/NH <sub>3</sub> = 100/1	Free-base
	D	Water/Formic=100/1	Acidic
后处理泵	A	Acetonitrile 100%	
	B	Water/Acetonitrile/NH <sub>3</sub> =186/800/14	
洗脱泵	A	DCM/Methanol = 9/1	
	B	Acetonitrile 100%	

## 2. 实验结果与讨论

### 2.1 样品粉末化结果

本实验共对 35 种有机合成化合物进行了全自动粉末化操作，根据目标化合物在反相液相色谱中保留时间特点将其划分为 A、B、C 三个区带，各区带中样品的化合物形态和粉末化结果如表 5-表 7 所示。

表 5 样品测试结果（区带 A）

化合物名称	保留时间 (min)	区带	化合物形态	粉末化结果
A-01-LIB-Y123	0.39	Band A	Free-base	Success
A-02-LIB-2044	0.69	Band A	Free-base	Success
A-03-LIB-Y017	0.72	Band A	Free-base	Success
A-04-FTE-DMP	0.30	Band A	Free-base	Success
A-05-LIB-V126	0.36	Band A	Acidic	Success
A-06-LIB-V130	0.50	Band A	Acidic	Success
A-07-LIB-Y096	0.47	Band A	Free-base	Success
A-08-FTE-LWJ	0.69	Band A	Free-base	Success
A-09-LIB-X111	0.59	Band A	Free-base	Success
A-10-LIB-MS117	0.35	Band A	Free-base	Success
A-11-FTE-LYL	0.20	Band A	Free-base	Success
A-12-LIB-Y021	0.45	Band A	Acidic	Success
A-13-LIB-Y140	0.63	Band A	Acidic	Success
A-14-LIB-X081	0.72	Band A	Free-base	Success
			Acidic	Success
A-15-FTE-FR216	0.25	Band A	Free-base	Success
			AS IS	Failure
A-16-FTE-EPZ-1	0.45	Band A	Free-base(Line1)	Success
			Free-base(Line2)	Success
A-17-FTE-EPZ-2	0.45	Band A	Free-base	Failure

表 6 样品测试结果（区带 B）

化合物名称	保留时间 (min)	区带	化合物形态	粉末化结果
B-01-LIB-Y087	1.12	Band B	Free-base	Success

B-02-LIB-X146	0.85	Band B	Free-base	Success
B-03-LIB-SBYL	1.00	Band B	Free-base	Success
B-04-LIB-Y043	0.94	Band B	Free-base	Success
B-05-LIB-Y038	1.11	Band B	Free-base	Success
B-06-LIB-4575	0.78	Band B	Free-base	Success
B-07-FTE-ZLP	1.10	Band B	Free-base	Success
B-08-LIB-3167	0.79	Band B	Free-base	Success
B-09-LIB-Z34	1.02	Band B	Acidic	Failure
			Free-base	Failure
B-10-LIB-X063	0.78	Band B	Acidic	Success
B-11-LIB-065	0.95	Band B	AS IS	Success
B-12-LIB-810	1.07	Band B	AS IS	Success
B-13-LIB-Y001	0.90	Band B	Acidic	Success
B-14-LIB-Y004	0.89	Band B	Acidic	Success
B-15-LIB-7818	0.82	Band B	Acidic	Success

表 7 样品测试结果（区带 C）

化合物名称	保留时间 (min)	区带	化合物形态	粉末化结果
C-01-LIB-1592	1.17	Band C	Free-base	Success
			Acidic	Success
C-02-LIB-Y024	1.16	Band C	Acidic	Success
C-03-LIB-N16	1.17	Band C	AS IS	Success

35 个样品共计进行捕集-回收测试 40 次，整体粉末化成功率为 90%，位于三个区带中的样品粉末化成功率分别为 90%，87.5%和 100%。在未能成功粉末化的样品中，样品 A-15-FTE-FR216 选择回收化合物形态为 TFA 盐（AS IS）时，未能生成固体粉末，而选择游离碱（Free-base）的形态则可完成粉末化过程；样品 A-17-FTE-EPZ-2 和 B-09-LIB-Z34 均是由于回收过程中溶解性原因未能实现粉末化过程。对于大多数的化合物而言，在不考虑样品成盐形态和溶解性等因素时均能实现顺利粉末化。

部分样品粉末化形态如图 2 所示



图 2 粉末化结果

## 2.2 回收率测定结果

为考察 C2P 系统对样品回收粉末化处理的回收率，选择了四种样品进行测定，结果如表 8 所示。

表 8 回收率测试结果

样品名称	一次回收结果	二次回收结果	回收率
A-01-LIB-Y123	2.04 mg	2.02 mg	99%
B-03-LIB-SBYL	5.13 mg	5.08 mg	99%
B-04-LIB-Y043	10.09 mg	8.44 mg	84%
B-05-LIB-Y038	13.21 mg	13.16 mg	99%

表 8 中，一次回收结果是该样品分离后的目标馏分经过 C2P 系统粉末化后所得固体粉末质量，对于化学合成样品在定量投料后由于反应产率受较多因素影响而难于计算实际产物质量，所以需要一次捕集并回收后进行二次回收测定；二次回收结果是一次回收所得固体粉末以溶剂复溶后再次捕集和回收后所得粉末质量；以二次回收结果比上一次回收结果作为该样品的回收率表示。

实验结果表明，A-01-LIB-Y123，B-03-LIB-SBYL 和 B-05-LIB-Y038 这三种样品的回收率高达 99%，样品 B-04-LIB-Y043 在回收时表现为部分粉末附着于样品瓶“聪明帽”及喷嘴之上，使测试回收率较其他三者相差较大，但总的来看，回收率的平均测定结果为 90% 以上。

### 3 结论

岛津 Crude2Pure 系统提供了一种快速、安全、有效的全新分离制备后处理方法。使用 Crude2Pure 系统，可以在 3 小时内快速完成目标化合物馏分的自动粉末化操作，同传统的样品分离纯化后处理方法相比，节省处理时间 3 倍以上；该系统对样品的处理过程不受样品结构特点和性质的影响，实验证明可以适合大多数化合物的处理；样品回收过程是针对每个样品的独立过程，减少转移操作，避免了相互污染的产生；待制备样品被捕集的同时，馏分溶液中的流动相添加剂在回收过程中被有效的去除，不仅可以消除阻碍粉末化的因素并且可以根据样品最终回收形态的需要选择前处理溶剂，最终得到高纯度的化合物粉末，平均回收率在 90% 以上。基于以上特点，C2P 系统在天然产物提取分离纯化和合成有机化合物的研究中有广泛的应用前景。

分析测试仪器客服热线电话: 800-810-0439  
400-650-0439

本产品资料所宣传的内容,以本版本为准,资料中的试验数据除注明外均为本公司的试验数据。本资料所有信息仅供参考,如有变动恕不另行通知。

岛津企业管理(中国)有限公司 / 岛津(香港)有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

#### 北京

北京市朝阳区朝外大街16号中国人寿大厦14层  
邮政编码: 100020  
电话: (010)8525-2310/2312 传真: (010)8525-2531

#### 沈阳

沈阳市青年大街167号北方国际传媒中心11层  
邮政编码: 110016  
电话: 024-23255577 传真: (024)2325-5577

#### 西安

西安市锦业一路56号研祥城市广场A座501  
邮政编码: 710065  
电话: 029-62737878 传真: (029) 6273-7879

#### 乌鲁木齐

乌鲁木齐市中山路339号中泉广场14H座  
邮政编码: 830002  
电话: (0991)230-6271/6272 传真: (0991)230-6273

#### 郑州

郑州市中原路220号裕达国际贸易中心A座20层2011室  
邮政编码: 450007  
电话: (0371)8663-2981/2983 传真: (0371)8663-2982

#### 上海

上海市徐汇区宜州路180号华鑫慧享城B2栋  
邮政编码: 200233  
电话: (021)3419-3888 传真: (021)3419-3666

#### 成都

成都市锦江区创意产业商务区三色路38号博瑞·创意成都写字楼  
邮政编码: 610063 B座12层  
电话: (028)8619-8421/8422 传真: (028)8619-8420

#### 南京

南京市鼓楼区汉中路2号亚太商务楼27层B座  
邮政编码: 210005  
电话: (025)8689-0258 传真: (025)8689-0237

#### 重庆

重庆市渝中区长滨路2号来福士A座601  
邮政编码: 400011  
电话: (023)6380-6057 传真: (023)6380-6551

#### 武汉

武汉市武昌区临江大道96号武汉万达中心31层3112室  
邮政编码: 430060  
电话: (027) 5908-0488 传真: (027) 5908-0470

#### 广州

广州市天河区高唐路230号广电智慧大厦  
邮政编码: 510656  
电话: (020) 3718-3888 传真: (020) 3718-3804

#### 昆明

昆明市青年路432号天恒大酒店 908室  
邮政编码: 650021  
电话: (0871)6315-2986/2987 传真: (0871)6315-2991

#### 深圳

深圳市南山区粤海街道高新南七道18号高新技术产业园区R3-B座一楼  
邮政编码: 518057  
电话: (0755)8340-2852 传真: (0755)8389-3100

#### 长沙

湖南省长沙市芙蓉区解放西路188号国金中心T1大楼3115室  
邮政编码: 410005

#### 香港

香港九龙尖沙咀海洋中心1028室  
SUITE 1028,OCEAN CENTRE,HARBOUR CITY,  
TSIM SHA TSUI,KOWLOON,HONG KONG  
电话: (00852)2375-4979 传真: (00852)2199-7438

株式会社 岛津制作所

604-8511 京都市中京区西ノ京桑原町1  
电话: 81(75)823-1111 传真: 81(75)811-3188  
URL: <http://www.shimadzu.com>

本书中所记载的公司名称、产品服务名称及商标均为株式会社岛津制作所  
的注册商标或商标。本书中有未标明 TM 标志和 ® 标志之处。  
本书中所使用的其他公司的商号、商标的所有权非株式会社岛津制作所所有。