

Isolera 快速纯化系统简明操作教程

原创：顾云 Biotage

4月29日

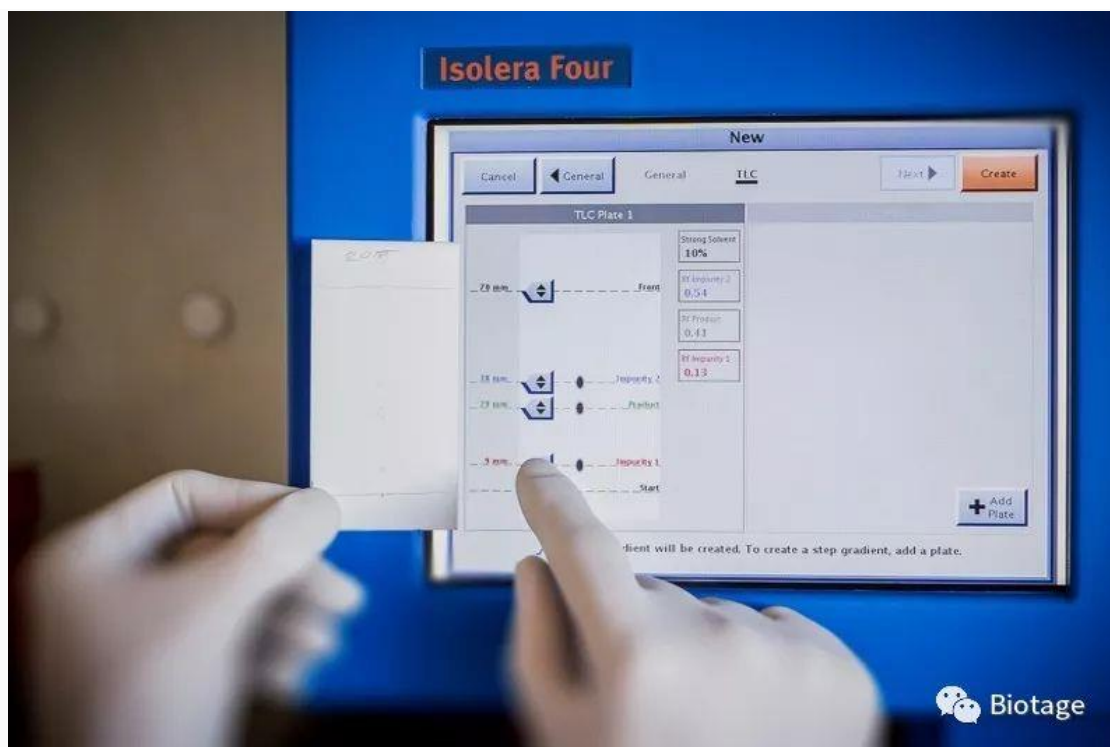
Isolera 快速使用手册



本次 Isolera 系统操作教程包含两部分：

1. “以 TLC 条件进行方法开发”，此部分简单明了，具有很高的通用性，初学者以及无经验人士可无障碍操作使用。
2. “通用方法设定”，此部分包含全部 Isolera 功能，非常适合熟练的经验丰富者。

1. 以 TLC 条件进行方法开发



在开始此方法之前，我们需要通过调整流动相极性，找到最佳的溶剂条件；找到条件后，即可开始方法设定和纯化实验。



点击“New”，进入 TLC 方法开发界面

用户选择



也可以通过Data Administration新建自己的用户名



Biotage

分离类型选择



Normal Phase

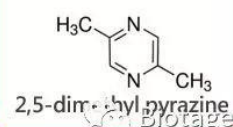
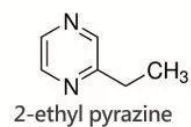
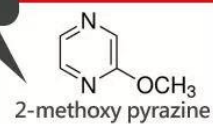
Reversed Phase



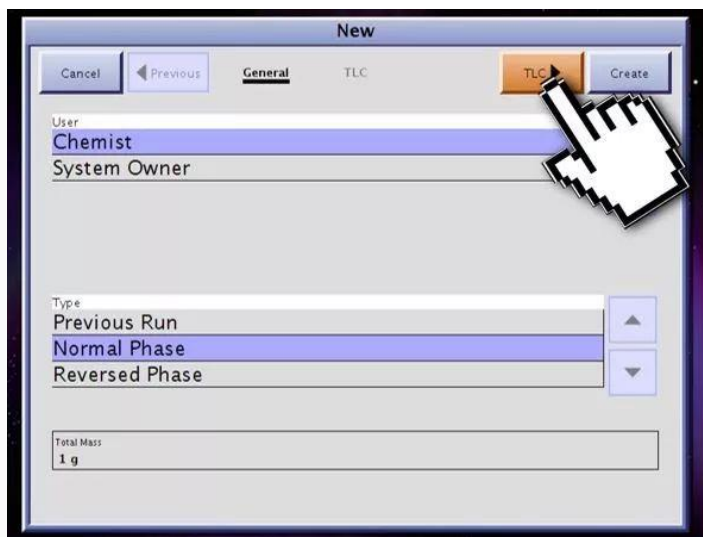
需分离粗品量



混合物 1g



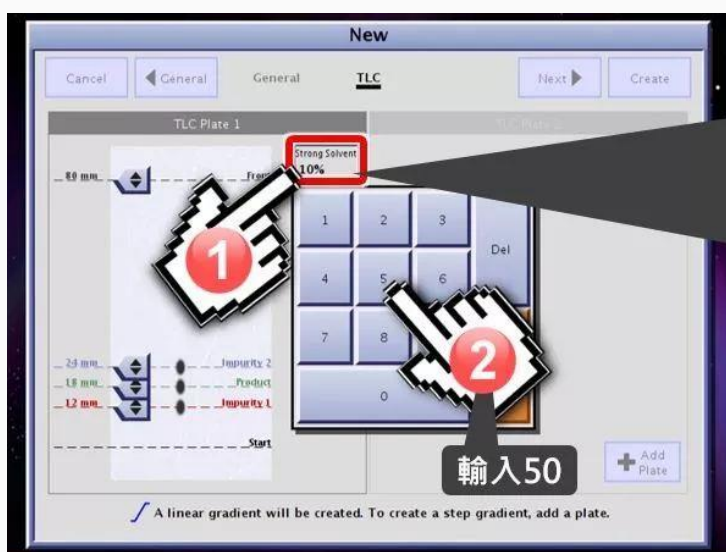
Biotage



Biotage拥有和色谱柱相同填料的TLC板，可供纯化前测试和方法开发之用



TLC 点板信息



Strong Solvent 为极性溶剂的比例

此次案例中TLC的极性条件为：
50% Ethyl acetate in Hexane

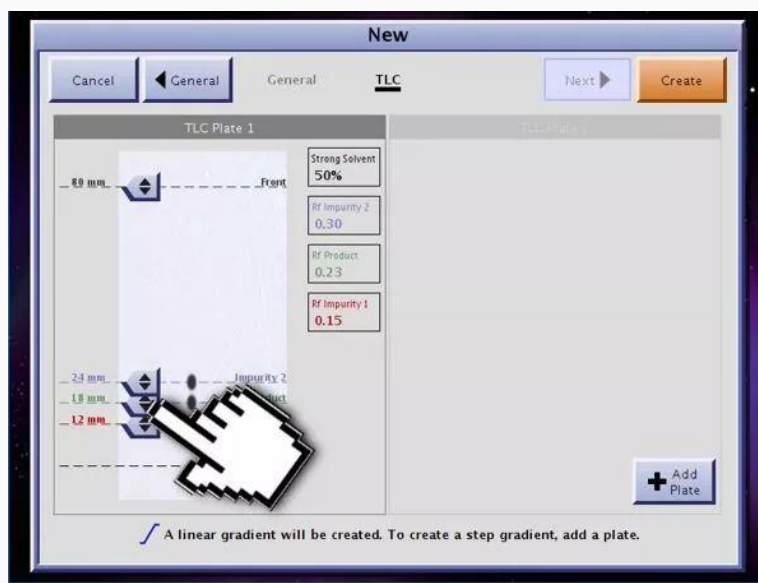
Ethyl acetate 为极性溶剂
Hexane 为非极性溶剂

常见溶剂极性顺序

- n-Hexane
- Cyclohexene
- Toluene
- Benzene
- Diethyl ether
- Chloroform
- Dichloromethane
- 1,2 dichloroethane
- Acetone
- Ethyl acetate
- Acetonitrile
- Propanol
- Methanol
- Acetic acid
- Water.

Increasing
polarity

TLC 点板信息输入和编辑



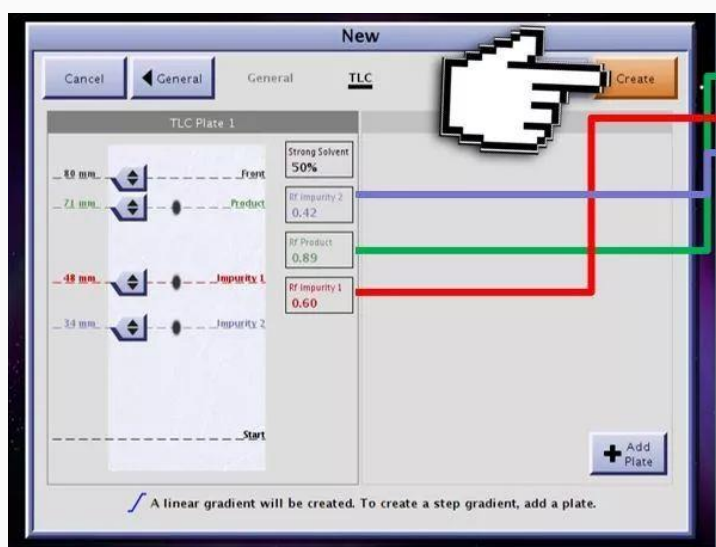
Compound	Rf
2-methoxy pyrazine	0.89
2-ethyl pyrazine	0.60
2,5-dimethyl pyrazine	0.42

Product :
COc1ccnnc1
p2-methoxy pyrazine

Impurity 1 :
CCc1ccnnc1
2-ethyl pyrazine

Impurity 2 :
Cc1cc(C)nnc1
2,5-dimethyl pyrazine

Rf 值，是色谱法中表示组分移动位置的一种方法的参数。定义为溶质迁移距离与流动相迁移距离之比。在一定的色谱条件下，特定化合物的 Rf 值是一个常数，因此有可能根据化合物的 Rf 值鉴定化合物。



Compound	Rf
2-methoxy pyrazine	0.89
2-ethyl pyrazine	0.60
2,5-dimethyl pyrazine	0.42

Product :
COc1ccnnc1
p2-methoxy pyrazine

Impurity 1 :
CCc1ccnnc1
2-ethyl pyrazine

Impurity 2 :
Cc1cc(C)nnc1
2,5-dimethyl pyrazine

输入完所有的数值之后，点击 Creat，系统会自动计算和生成纯化梯度方法。

色谱柱选择

但如果 ΔCV 太小，或loading量太大会有颜色警告不适用的色谱柱，绿色为最合适，黄色为合适，红色为不合适

Cartridge (Normal Phase)	Weight (mg)
FLASH 75L	27144 mg
SNAP KP-Sil 750g	25447 mg
SNAP KP-Sil 25g	848 mg
ZIP Sphere 10g	679 mg
SNAP HP-Sil 10g	679 mg
SNAP NH 28g	950 mg
SNAP NH 11g	373 mg
SNAP KP-Sil 10g	339 mg
ZIP KP-Sil 10g	339 mg

最佳选项

已生成的方法

此为系统建议的方法，无操作经验者推荐使用

基本上这时候还不到按Run的时候，因为操作至此还没设定管线与solvent溶剂的连接！但！还是先看看？

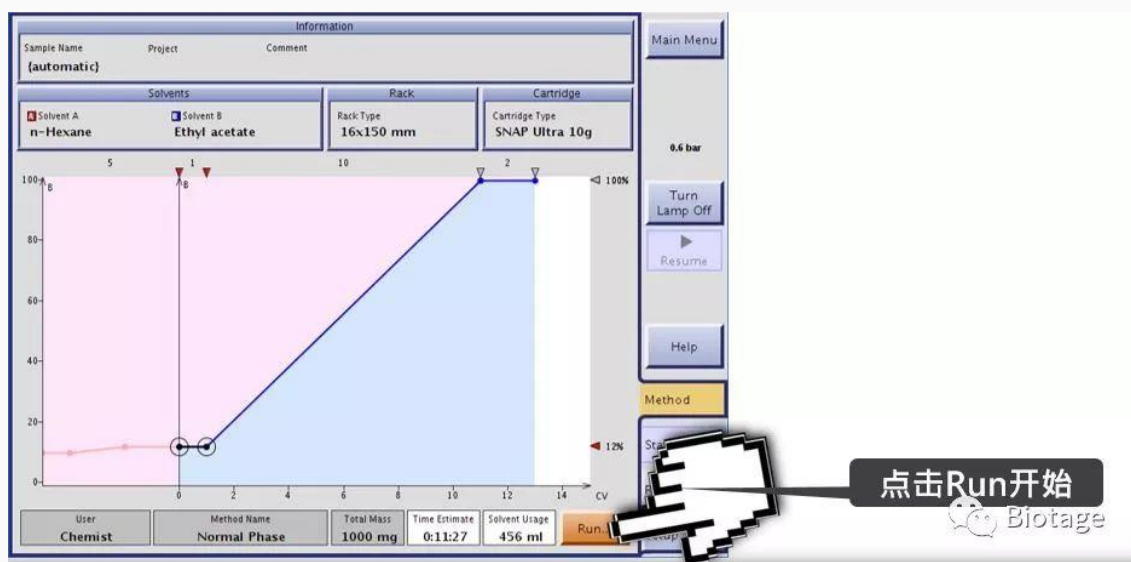
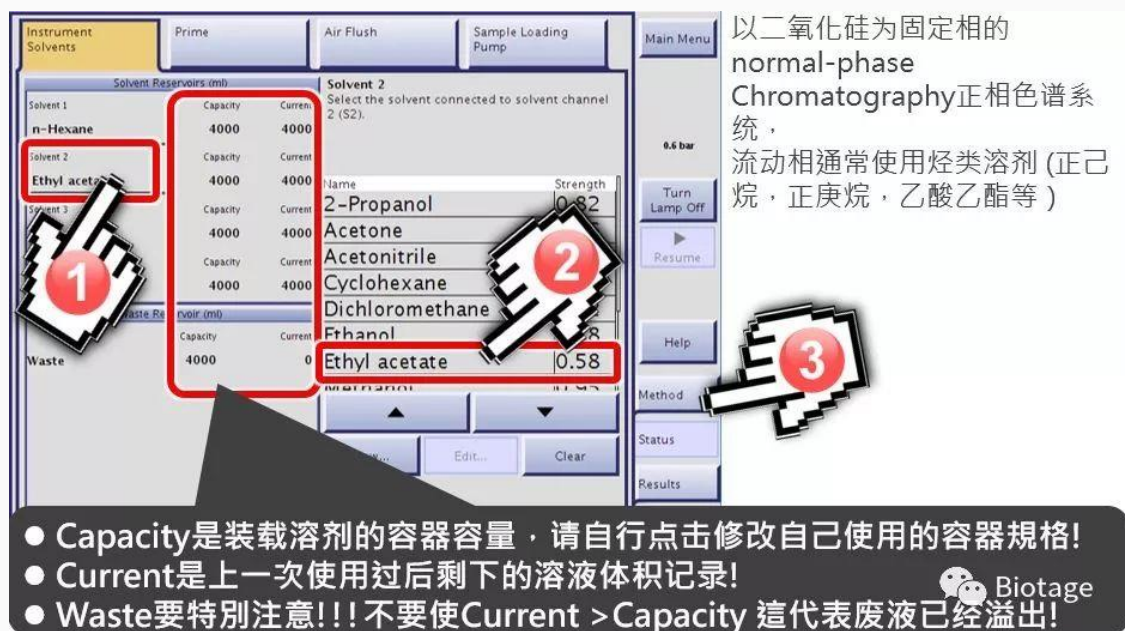
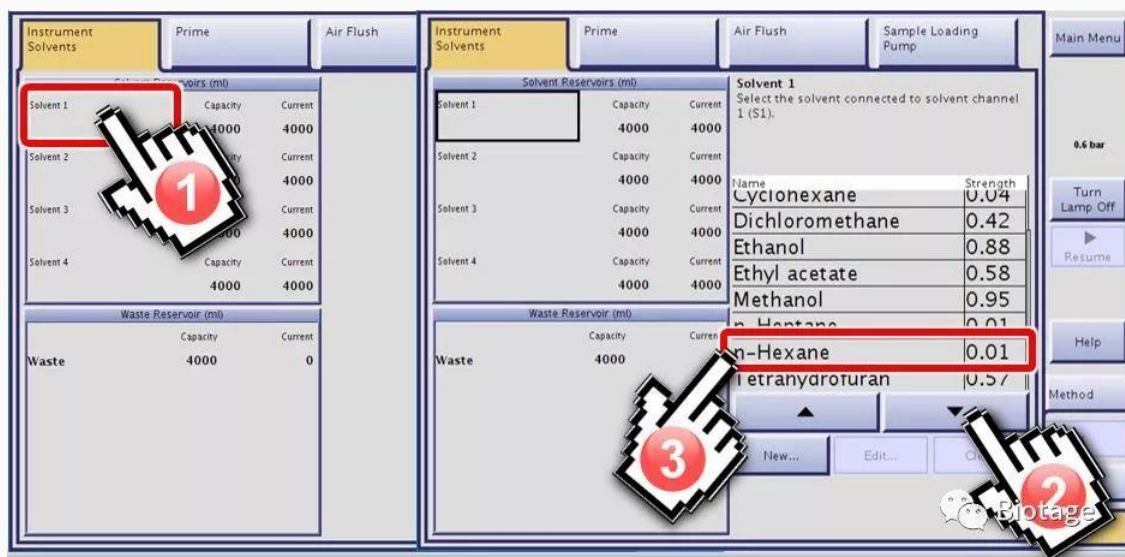
溶剂设定

系统提出警告！要进入 Setup 设定Solvent归属

1

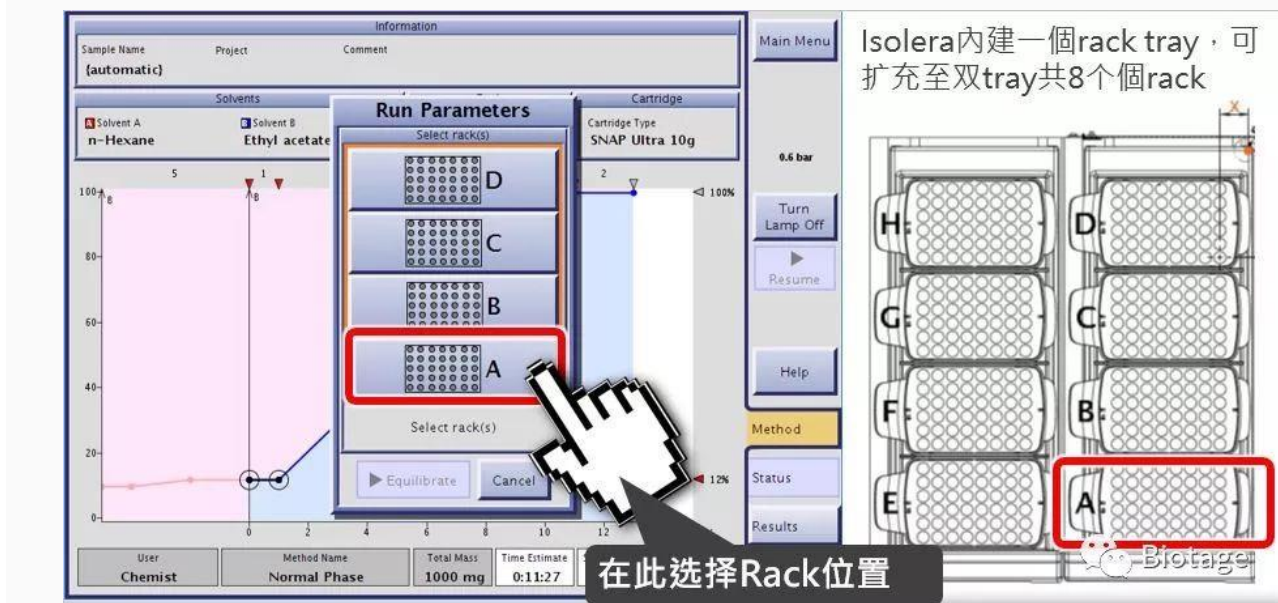
2

这时候需要设定系统管路的溶剂链接

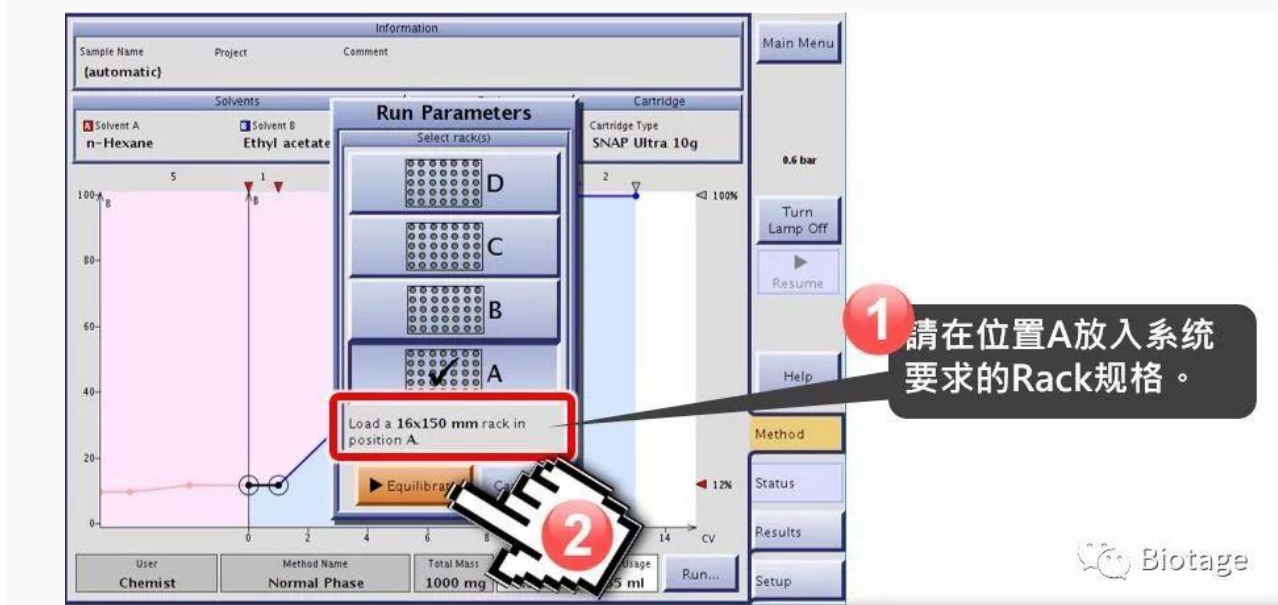


溶剂设定完后，将方法中的 Solvent A 和 B 对应到 S1, S2 (或者 S3, S4) 当中即可开始梯度方法。

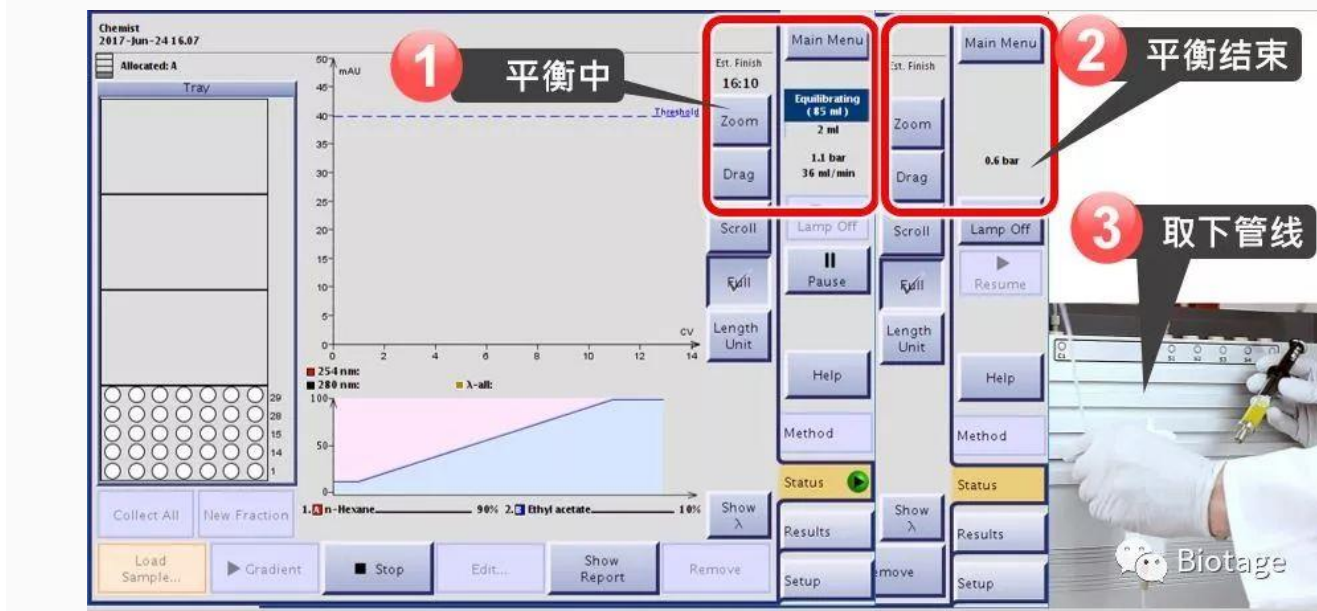
收集支架选择

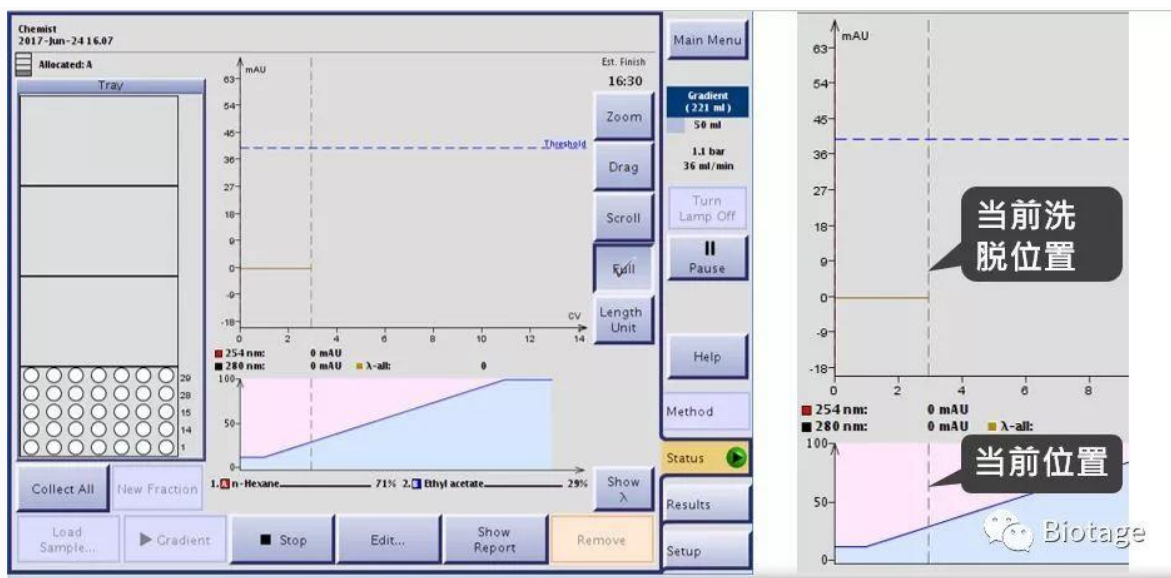


点击开始后，需要进行收集支架选择



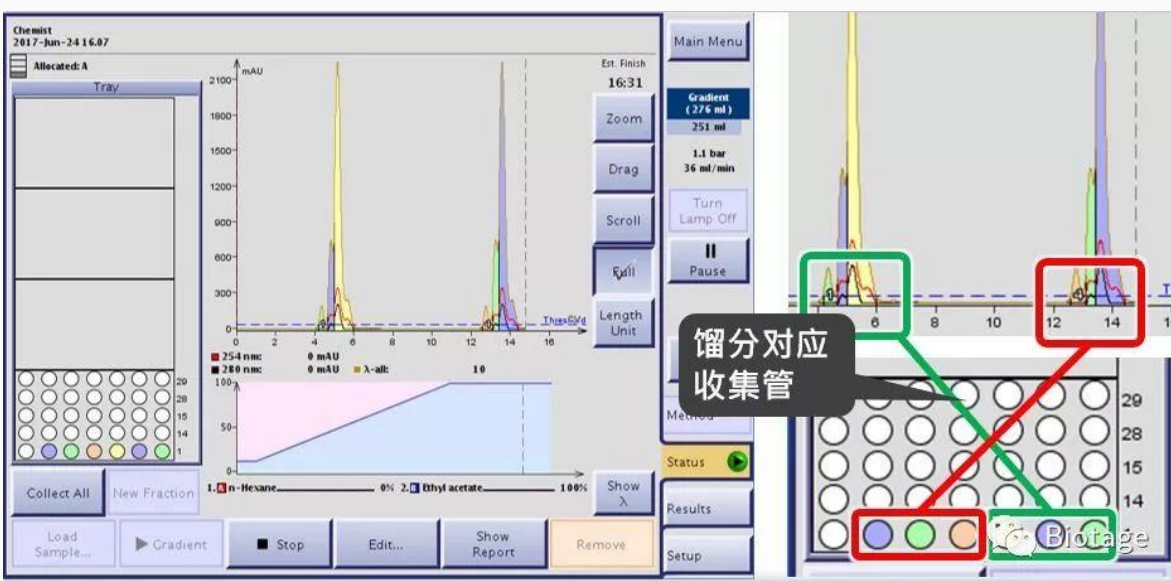
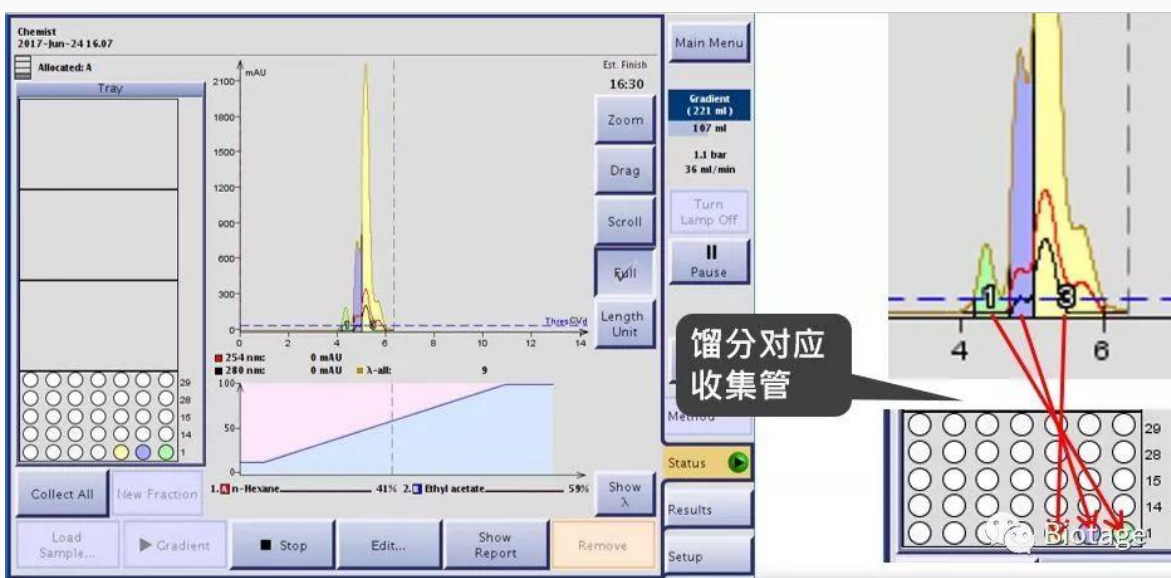
湿法上样



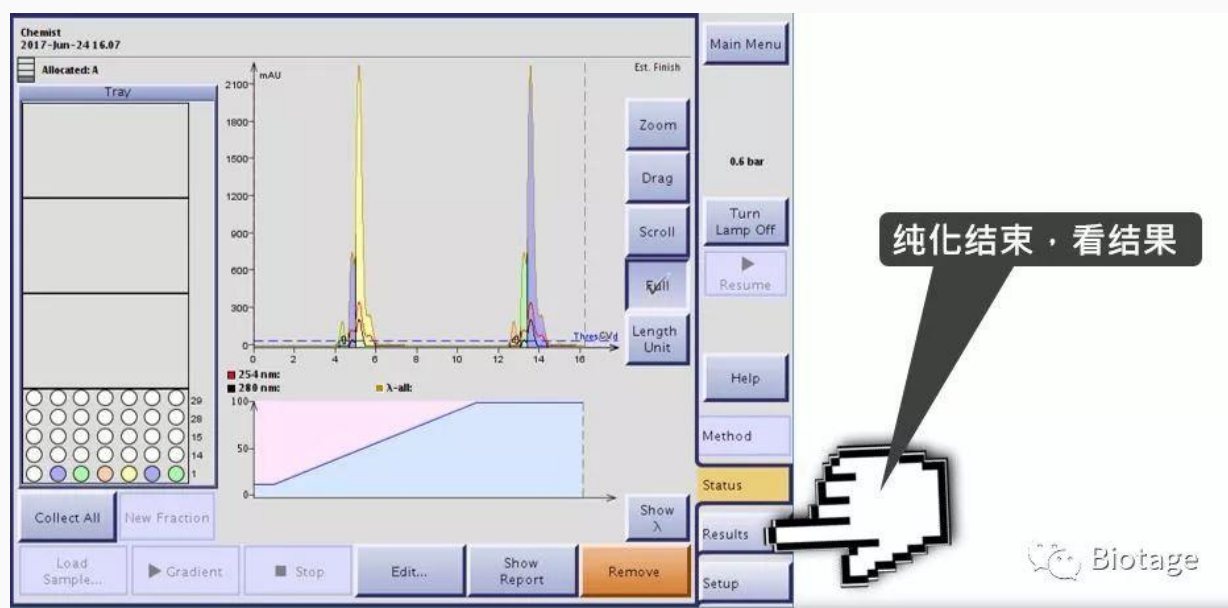


系统在进行分离时候的界面，您可以通过点击当前界面的 Edit 进行在线方法编辑

馏分收集指示



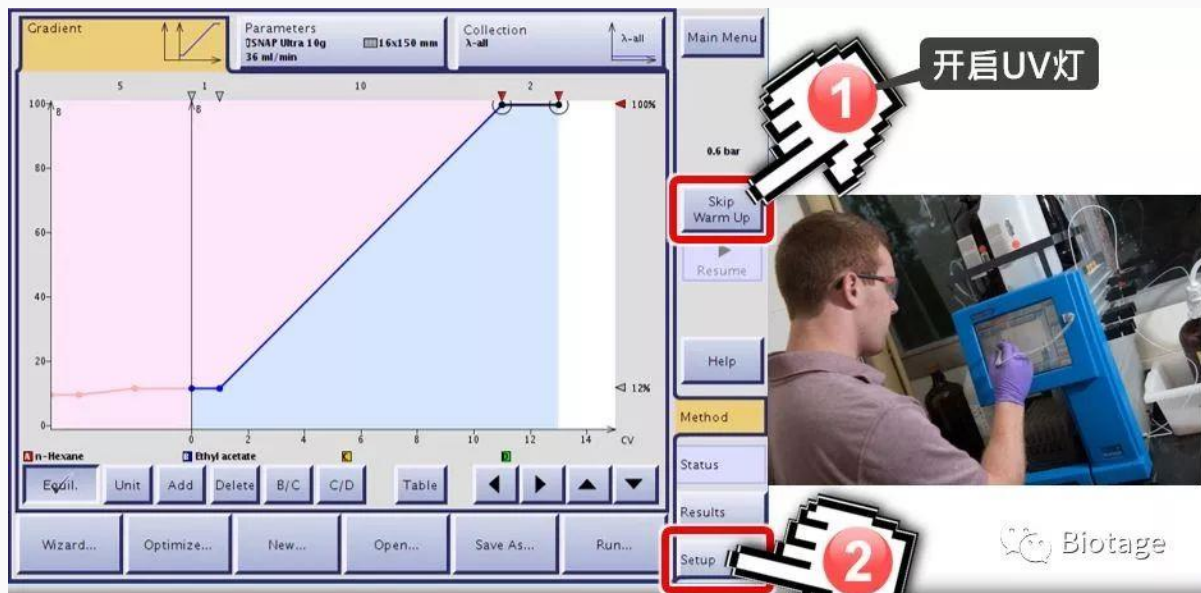
纯化结果报告



2. 通用方法设定

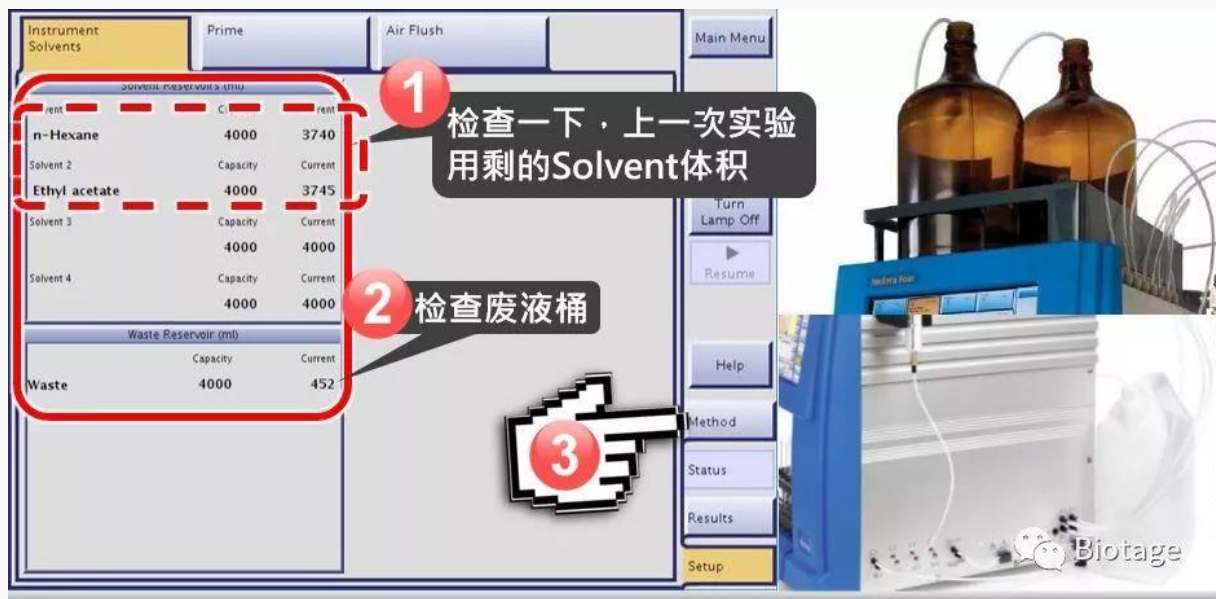
通用方法从起始屏幕画面的“Chemistry”开始，点击后，即可进入操作界面。

方法设定界面



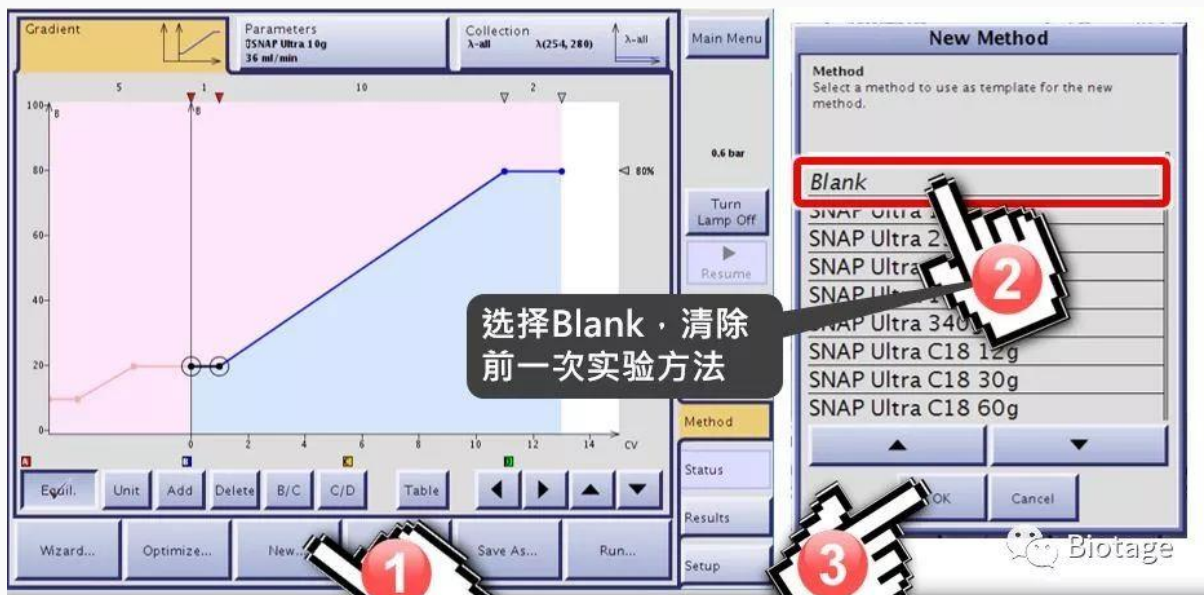
系统在开机后，氙灯需要进行预热。预热的时候，您可以先对系统溶剂进行设定。

溶剂设定界面

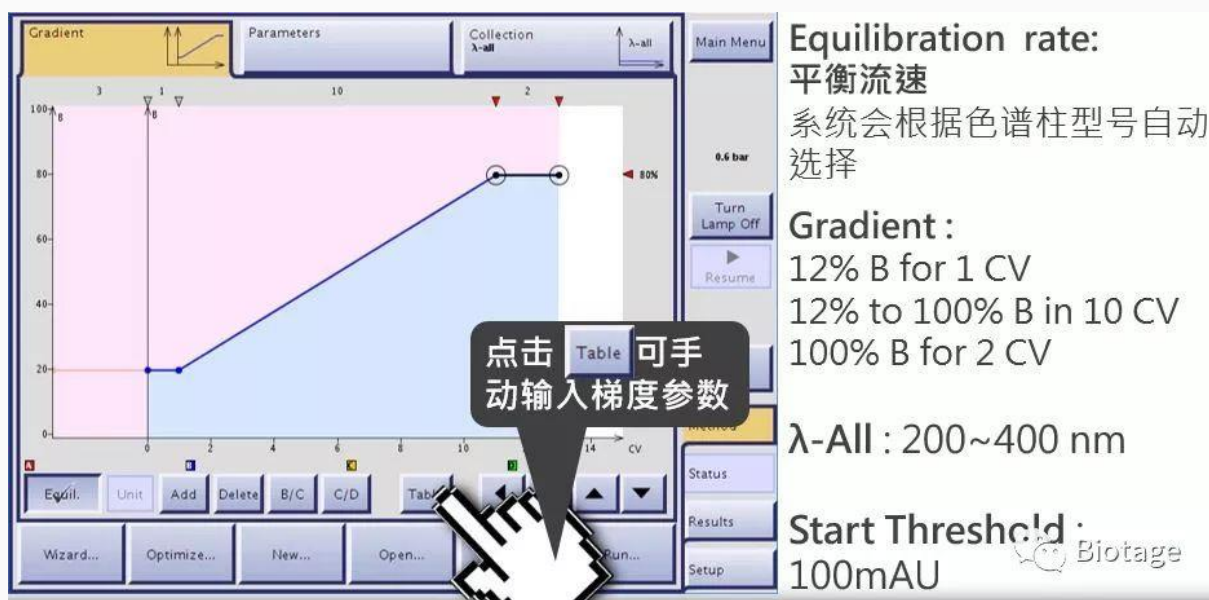


如果系统管路不干净，您可以在“setup”中的“Prime”进行管路清洗。

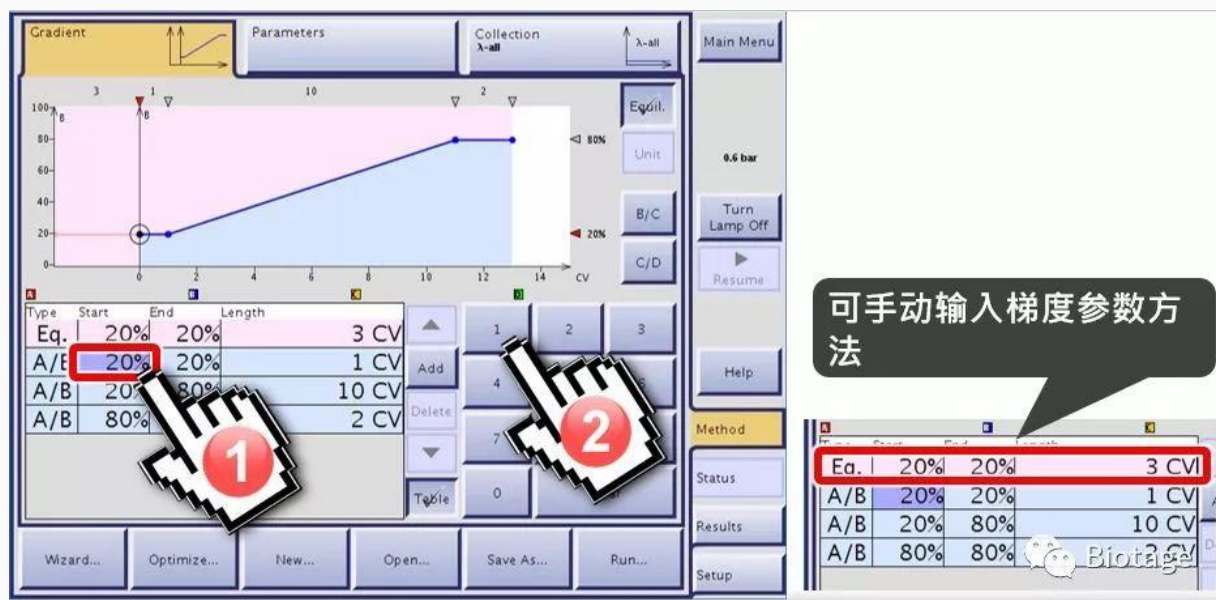
溶剂设定后，即可回到 Method 中，进行方法设定，可通过打开空白方法进行新方法的建立和编辑。



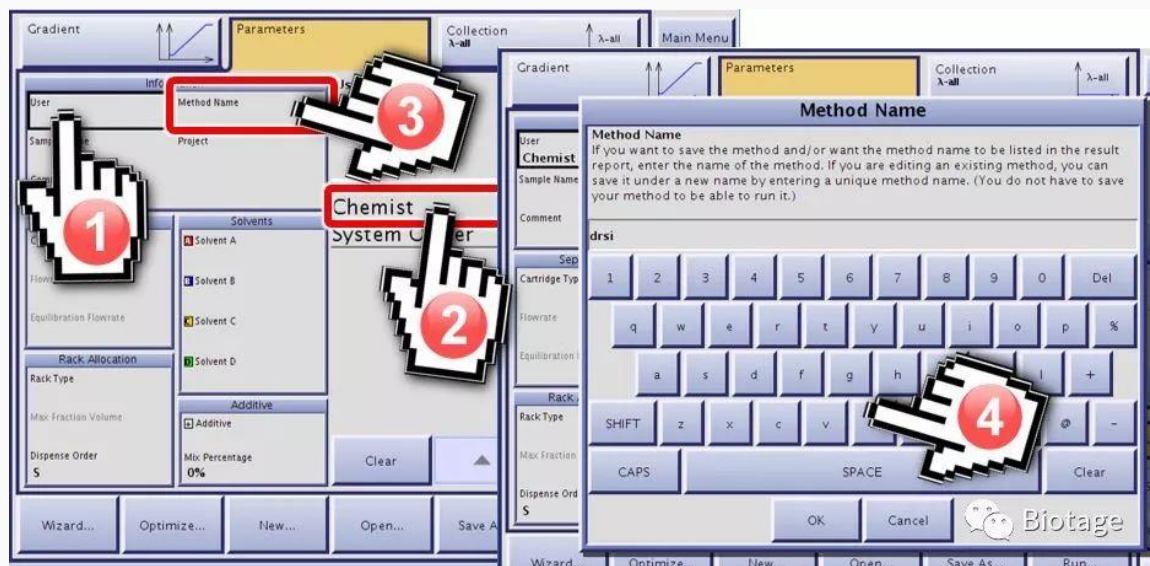
梯度编辑



梯度编辑



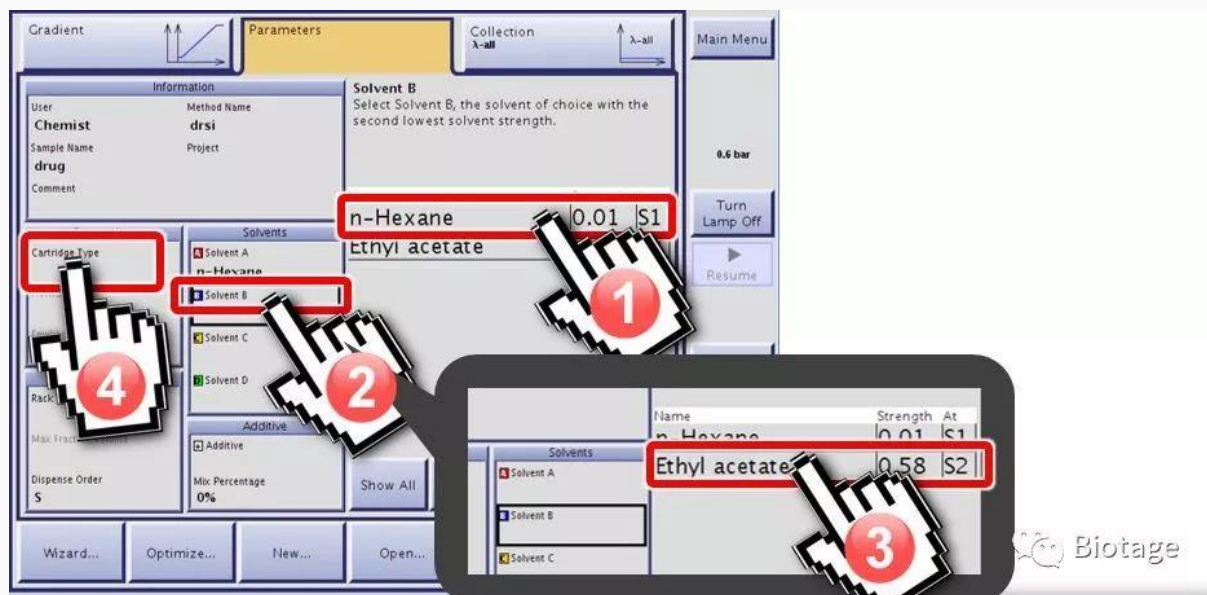
用户名，方法名



样品名称



色谱柱以及溶剂设定

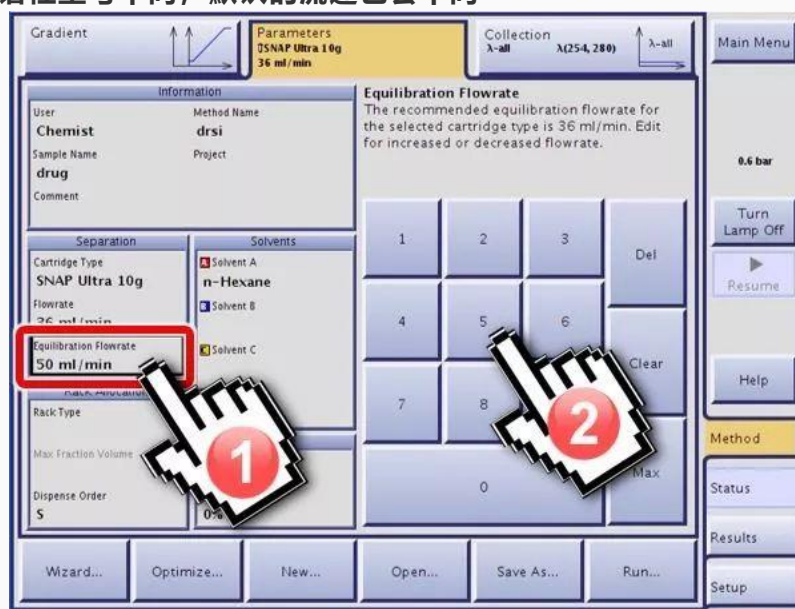


色谱柱选择



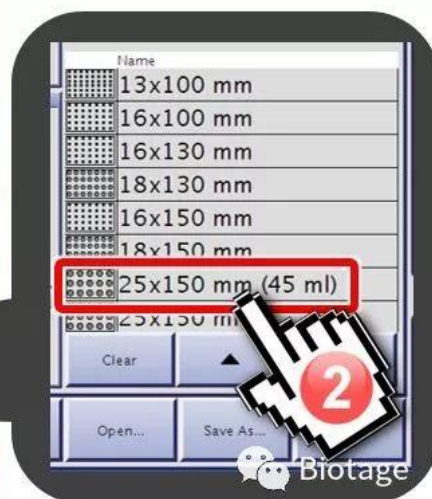
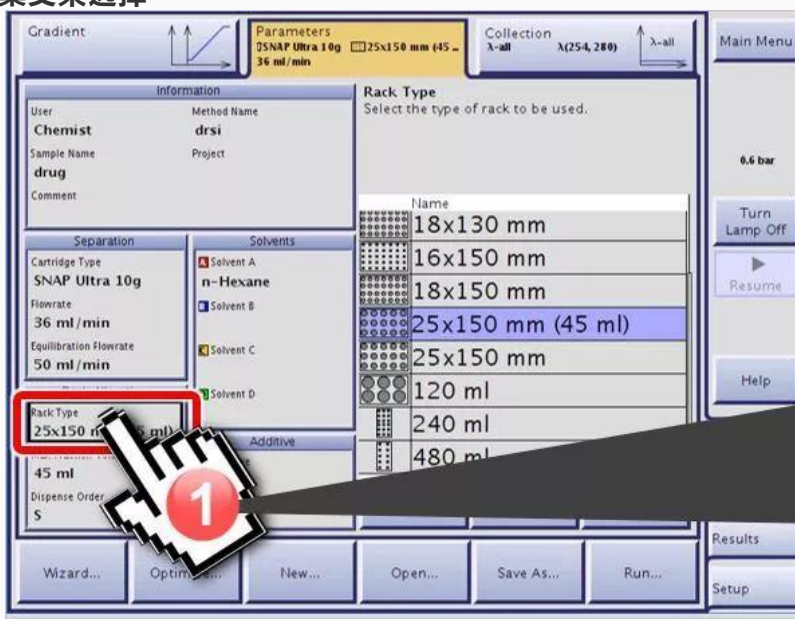
Biotage

色谱柱型号不同，默认的流速也会不同



Biotage

收集支架选择

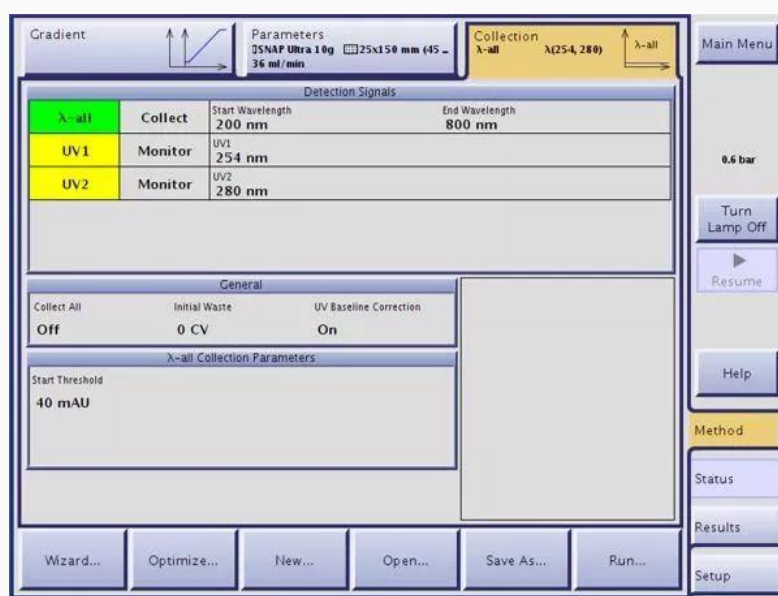


Biotage

馏分收集顺序



收集参数设定



λ-All :

可设定UV扫描，此次设定范围为200~400 nm

UV1、UV2 :

可设定两组特定波长

Threshold :

此为设定吸光度要过多少门槛才收集样品。



λ-All :

可设定UV扫描，此次设定范围为200~400 nm

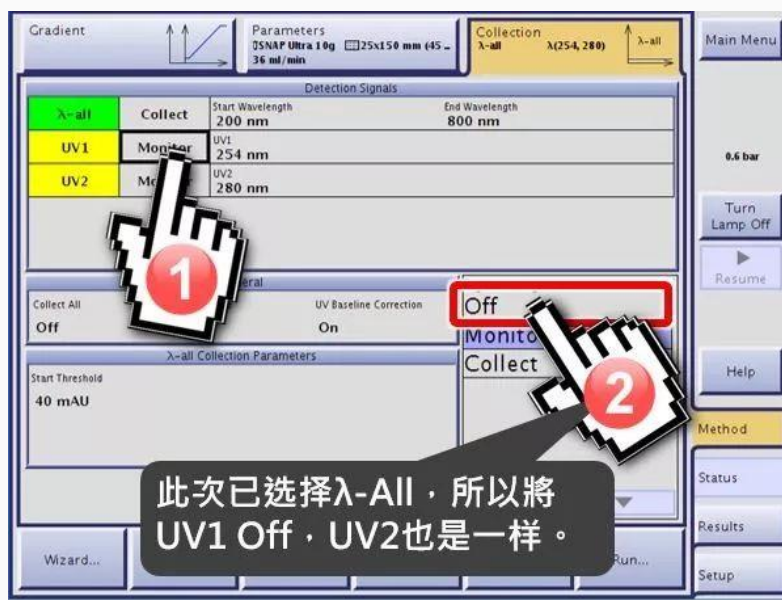
UV1、UV2 :

可设定两组特定波长

Threshold :

此为设定吸光度要过多少门槛才收集样品。



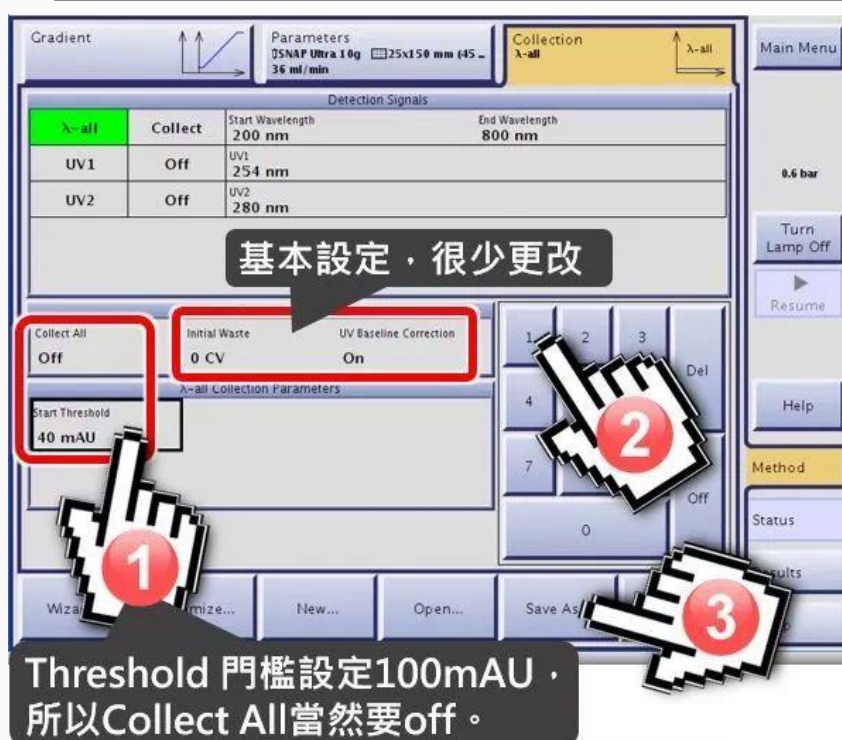


λ-All:
可设定UV扫描，此次设定范围为200~400 nm

UV1、UV2:
可设定两组特定波长

Threshold:
此为设定吸光度要过多少门槛才收集样品。

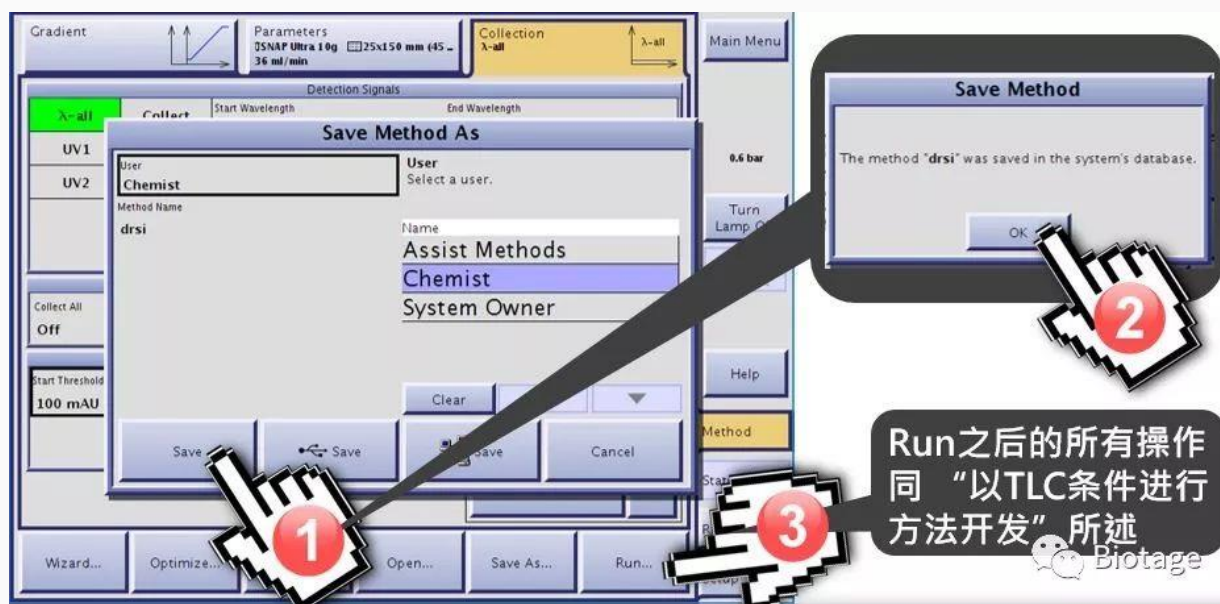
Biotage



Threshold 門檻設定100mAU，所以Collect All當然要off。

Biotage

方法保存



Run之后的所有操作同“以TLC条件进行方法开发”所述

Biotage

以上参数设定结束后，点击 Run，即可开始纯化实验，此后操作和上段“以 TLC 条件进行方法开发”一样。概不赘述。

以上即为简明 Isolera 系统操作教程，有兴趣的小伙伴，欢迎添加收藏。