

分离纯化报告

样品信息			
样品名称	植物提取物	项目编号	20230410-275
样品性状	固体粉末	样品重量	5 g
收样日期	2023/04/12	测试期间	2303/04/15~2023/05/08

目标物信息			
-------	--	--	--

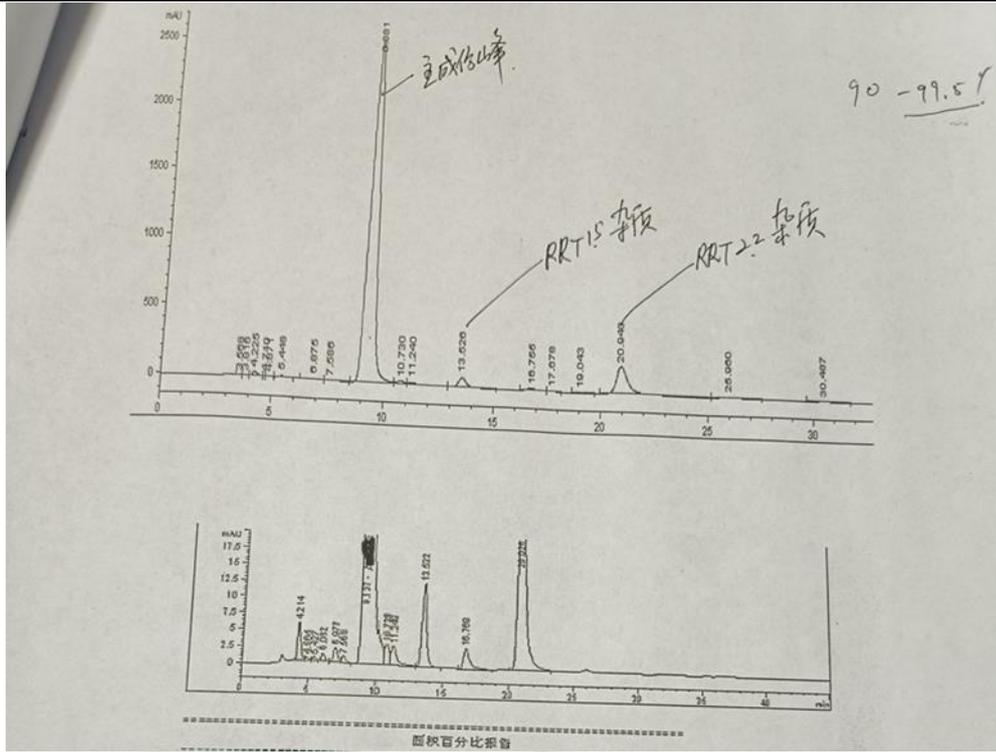


图 1 客户图谱

目标物保留时间	9.147 min	面积归一化含量 (228nm, %)	89.668
---------	-----------	-----------------------	--------

实验要求			
------	--	--	--

提纯样品去除主物质峰后的杂质 RRT1.5 和杂质 RRT2.2，制备上样量单个小时达到填料质量 1%

试剂信息			
------	--	--	--

试剂名称	级别	供应商
甲醇	色谱级	月旭
乙腈	色谱级	月旭
乙腈	制备级	月旭
甲酸铵	分析级	麦克林
三乙胺	分析级	阿拉丁



磷酸	分析级	麦克林
仪器信息		
仪器名称	仪器型号	仪器厂家
赛默飞 U3000	高效液相色谱仪	赛默飞
月旭 Sail 1000-50ml	制备型高效液相色谱仪	月旭

1. 试验过程

1.1. 方法重现

样品配置：精确称取 10mg 样品置于 10mL 容量瓶中，加入 8ml 乙腈震荡溶解并用 20mmol 甲酸铵溶液定容至刻度线，即得；

吸取适量样品溶液过滤至进样小瓶中，按照以下色谱分析方法进行分析：

色谱柱	Ultimate XB-C18, 4.6×250mm,5μm		
流动相 A	磷酸三乙胺缓冲液（三乙胺 7%，磷酸调节 pH=6.5）		
流动相 B	色谱级甲醇		
流速	1 mL/min		
进样量	10μl		
柱温	/		
检测波长	228nm		
梯度洗脱程序	时间（min）	流动相 A（%）	流动相 B（%）
	0	25	75
	0-35	25	75

分析图谱如图 2 所示：



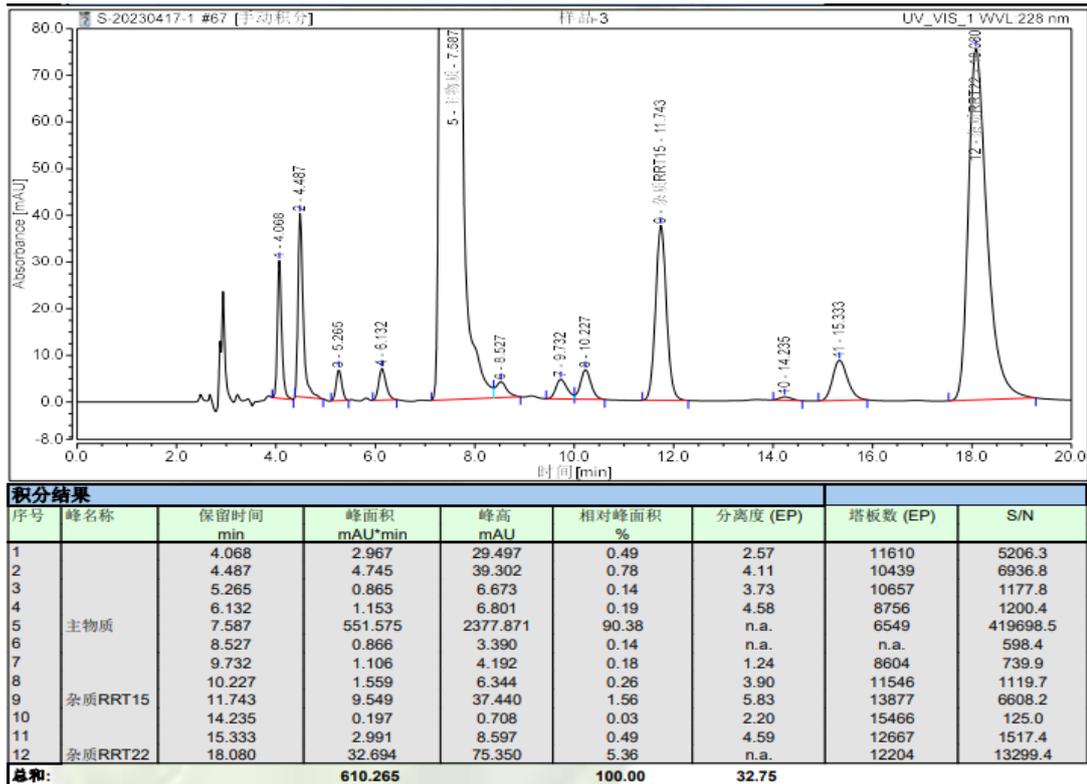


图 2 方法重现图谱

结论：通过与图 1 进行比较，可以确定保留时间 7.587min 处色谱峰为目标物，主要杂质 RRT1.5 保留时间为 11.74min，主要杂质 RRT2.2 在保留时间 18.08min 处。

1.2. 分离纯化过程

1.2.1. 方法开发

取 1.1 项下的进样小瓶进行分析：

仪器	赛默飞 U3000		
色谱柱	Ultimate SiO ₂ , 4.6×250mm, 10μm		
流动相 A	20 mmol 甲酸铵溶液		
流动相 B	色谱级乙腈		
流速	1mL/min		
进样量	10μl		
柱温	/		
检测波长	228nm		
洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	20	80
	20	20	80

声明：除非另有说明，此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可，不可复制。

Add:上海市松江区明南路 85 号启迪漕河泾（中山）科技园·紫荆园 10 号楼

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Add:江苏省南京市六合区天圣路 22 号 F 栋 4 楼

Tel:400-810-6969



分析图谱如图 3 所示：

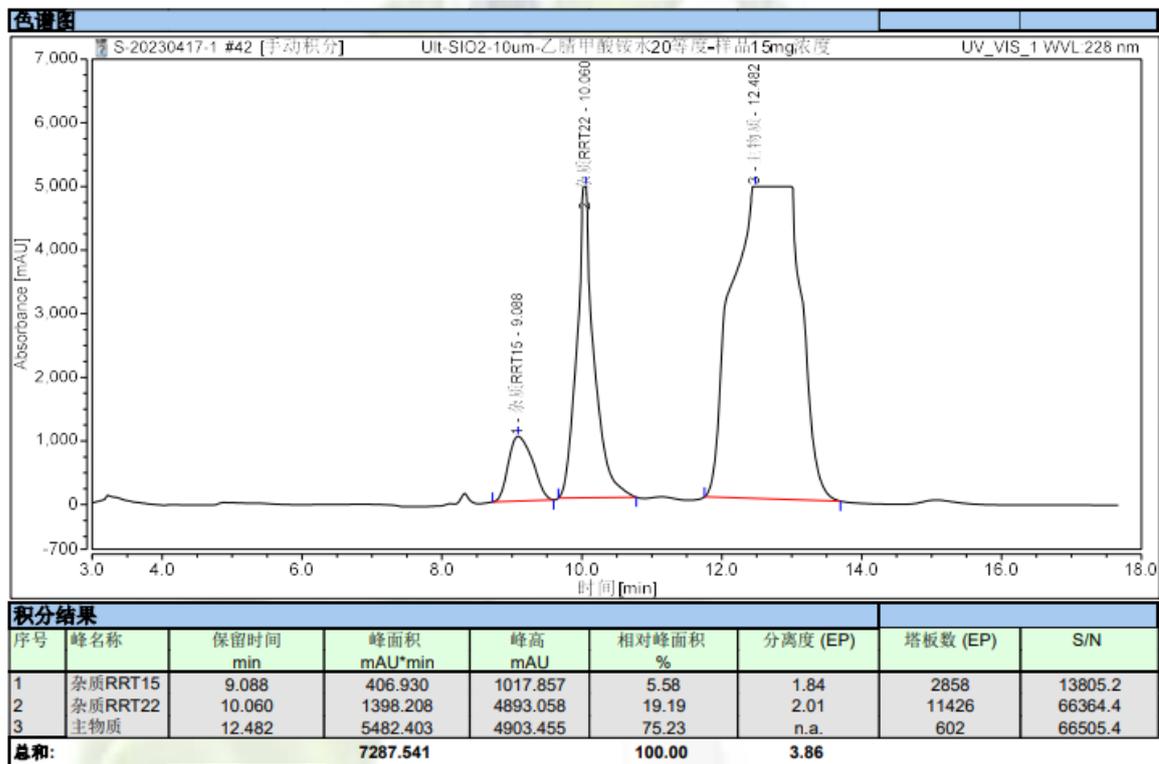


图 3 方法开发图谱

结论：根据与图 2 比对，参考色谱峰面积比可确定 12.48min 处为目标物，杂质 RRT1.5 及 RRT2.2 分别在 9.09min 与 10.06min 处。

1.2.2. 样品制备

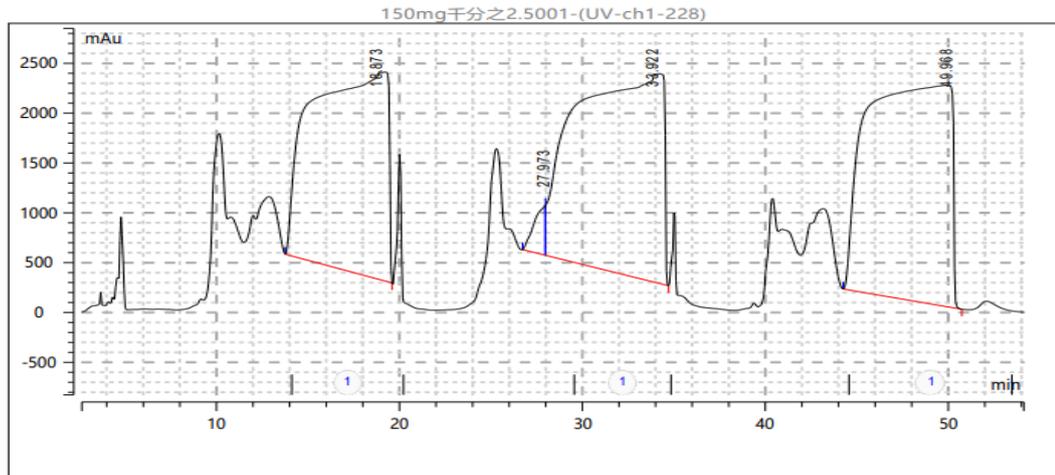
称取适量样品，加入初始比例流动相溶解过滤，使其浓度为 15mg/ml，制备液相条件如下所示：

仪器	月旭 Sail 1000		
色谱柱	Ultimate SiO ₂ , 21.2×250mm, 10 μm		
流动相 A	20 mmol 甲酸铵溶液		
流动相 B	色谱级乙腈		
流速	20 mL/min		
进样量	9 mL		
柱温	/		
检测波长	228nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	20	80
	60	20	80



每隔 15min 进样一次，循环制备图谱如图 4 所示：

色谱图



峰列表

150mg干分之2.5001-(UV-ch1-228)							
No	名称	保留时间 (min)	峰面积 (mAu*s)	峰宽 (min)	半峰宽 (min)	峰高 (mAu)	面积百分比 (%)
1	N.A.	18.873	570245.604	5.663	5.193	2088.373	29.569
2	N.A.	27.973	20297.007	26.901	0.554	499.273	1.052
3	N.A.	33.922	657454.581	1.830	5.943	2096.443	34.091
4	N.A.	49.968	680517.497	5.929	5.466	2226.287	35.287
5	N.A.	57.473	12.673	0.332	0.531	0.251	0.001
6	总计						

图 4 循环制备图图谱

1.2.3. 杂质分析

将 1.2.2 中得到的目标物馏分进行液相色谱分析，分析条件同“步骤 1.1”一致，分析图谱如图：



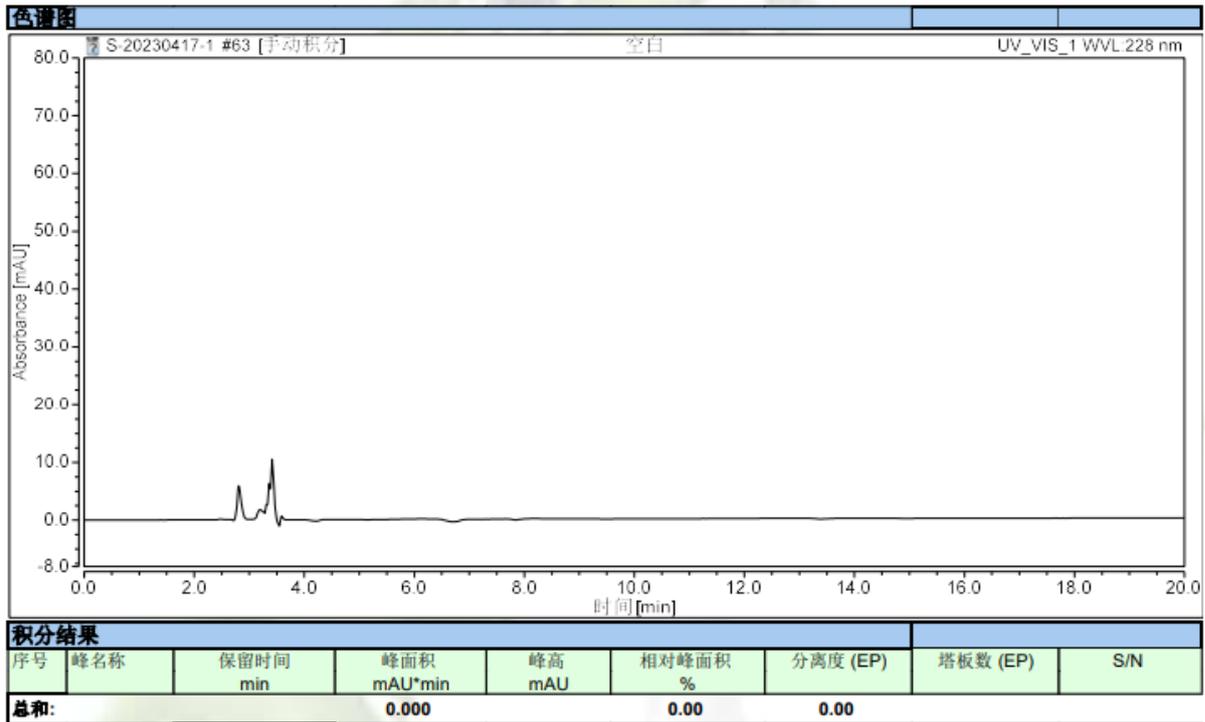


图 5.1 馏分液空白溶剂分析图谱

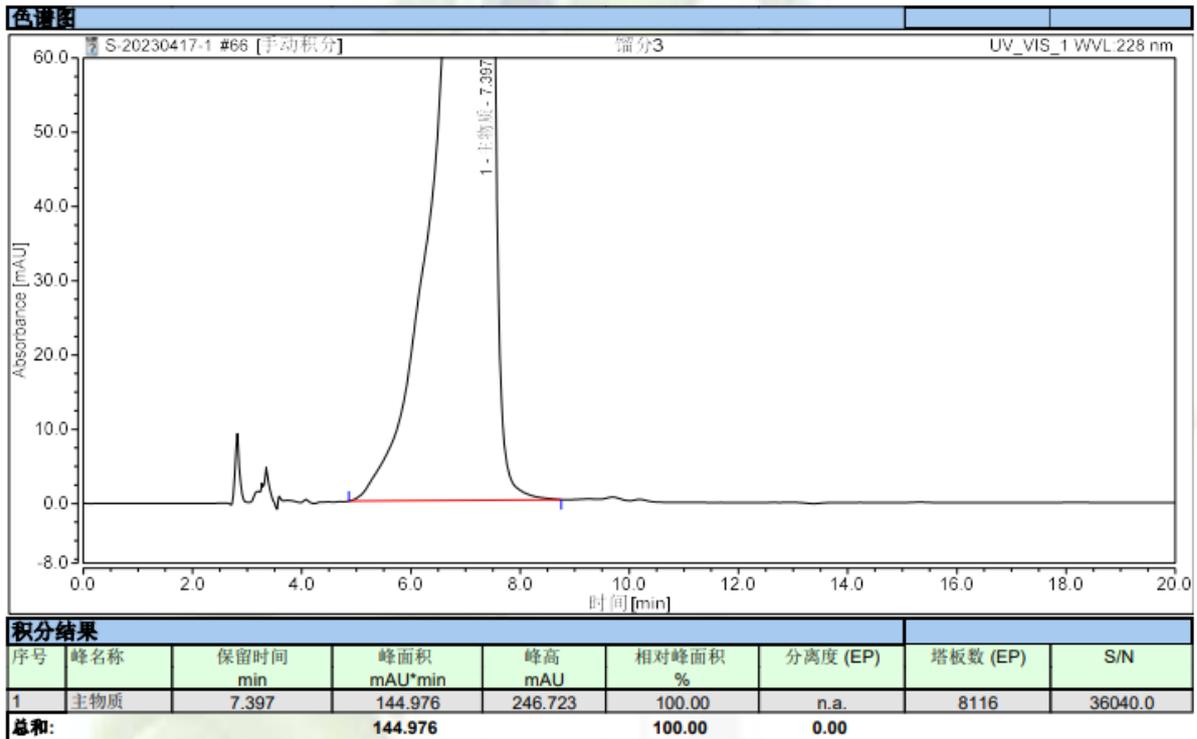


图 5.2 馏分液分析图谱

结论：由图可见馏分液中不含杂质 RRT1.5 及 RRT2.2，符合客户要求。



2. 结论

使用月旭 Ultimate® SiO₂, 10μm 在此色谱条件下, 制备结果中不含有杂质 RRT1.5 与杂质 RRT2.2, 且单针上样量为填料质量 0.254%, 运行时间为 20min, 循环制备单个小时内上样量为填料质量 1.02%, 符合客户要求。

日期: 2023/05/09

