

分离纯化报告

样品信息			
样品名称	JX-37	项目编号	20231115-1075
样品性状	暗红色粉末	样品重量	/
收样日期	2023/11/20	测试期间	2023/11/10~2023/12/27

目标物信息

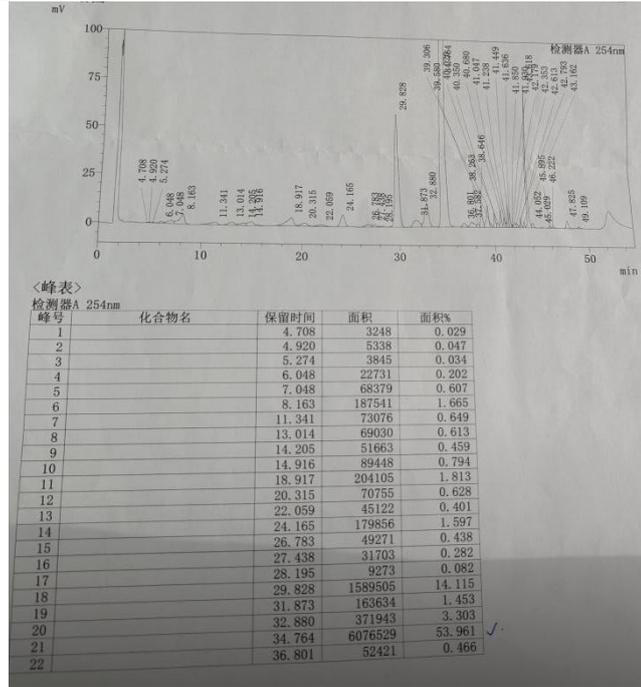


图 1 客户分析谱图

目标物保留时间	34.764min	面积归一化含量 (254nm, %)	53.96%
---------	-----------	-----------------------	--------

实验要求

产物纯度：95%以上，原料≤0.1%，其他杂质≤1%

筛选合适填料和溶剂成本粗略计算（计算消耗溶剂体积）

试剂信息

试剂名称	级别	供应商
三乙胺	AR	麦克林
磷酸	AR	麦克林
碳酸氢铵	AR	麦克林
氨水	AR	阿拉丁
甲醇	HPLC	月旭科技



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

乙腈	HPLC	月旭科技
仪器信息		
仪器名称	仪器型号	仪器厂家
高效液相色谱仪	岛津 LC-20AD	岛津
制备型高效液相色谱仪	月旭 WelPrep	月旭科技

1. 试验过程

1.1. 方法重现

流动相 A：2mL 三乙胺溶于 1000mL 水，磷酸调至 pH=2.32，过滤超声待用

流动相 B：纯甲醇过滤超声待用即可

样品配置：2mg/mL 溶于 50%乙腈水

按照以下色谱分析方法进行分析：

仪器	岛津 LC-20AD		
色谱柱	Xtimate C18 (4.6×150mm,5μm)		
流动相 A	0.2%三乙胺 (pH2.32)		
流动相 B	色谱级甲醇		
流速	1mL/min		
进样量	10μl		
柱温	30℃		
检测波长	254nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	45	55
	10	45	55
	35	30	70
	40	10	90
	45	10	90
	46	45	55
	50	45	55

分析图谱如图 2 所示：

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

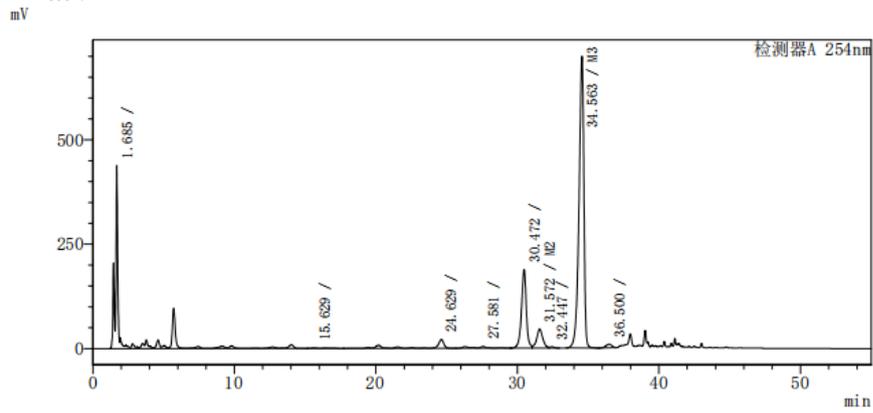
第 2 页 共 9 页

邮编：201600

邮编：321000

邮编：211500

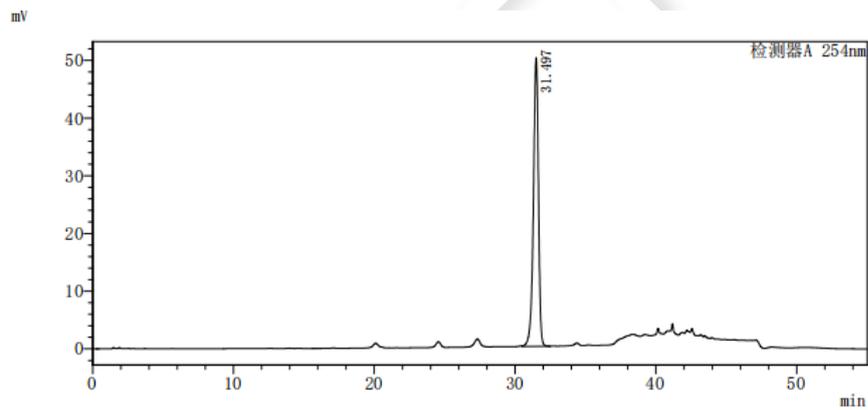




<峰表>
检测器A 254nm

峰号	化合物名	保留时间	面积	面积%	理论塔板数(USP)	拖尾因子	分离度(USP)
1		1.685	8716985	26.532	971	0.772	—
2		15.629	99751	0.304	7454	2.699	29.656
3		24.629	1032398	3.142	23307	0.861	13.144
4		27.581	288720	0.879	29456	0.698	4.584
5		30.472	4431784	13.489	42409	0.952	4.682
6	M2	31.572	1347605	4.102	27936	--	1.633
7		32.447	60444	0.184	33863	--	1.199
8	M3	34.563	16632741	50.626	50096	0.795	3.198
9		36.500	243998	0.743	34408	0.871	2.758
总计			32854427	100.000			

图2 粗品-方法重现图谱



<峰表>
检测器A 254nm

峰号	化合物名	保留时间	面积	面积%	理论塔板数(USP)	拖尾因子	分离度(USP)
1	M2	31.497	1236802	100.000	39146	0.879	—
总计			1236802	100.000			

图3 M2-方法重现图谱

结论：通过定位，可以确定 RT31.57min 为原料峰，RT34.6min 为目标产物峰。

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：

色谱柱	Xtimate C18(4.6×250mm,10μm)
流动相	20mM 碳酸氢铵（氨水调节 pH=10）：乙腈
流速	1mL/min

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

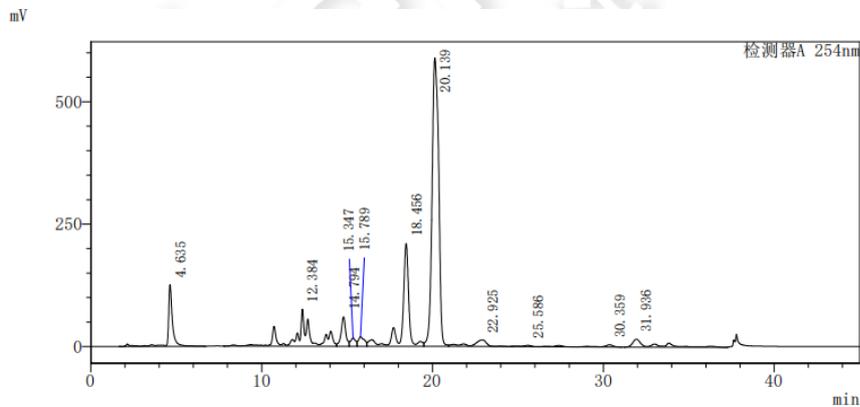
Add:江苏省南京市六合区天圣路 22 号 F 栋 4 楼

Tel:400-810-6969



进样量	10 μ l		
柱温	/		
检测波长	254nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	70	30
	5	70	30
	10	50	50
	15	45	55
	20	40	60
	30	35	65
	30.01	35	80
	35	30	80
	35.01	70	30
45	70	30	

分析图谱如图 4 所示

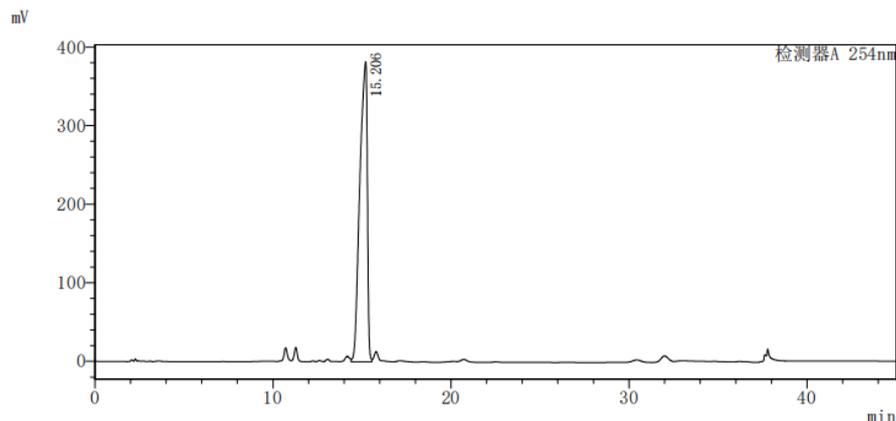


<峰表>

峰号	化合物名	保留时间	面积	面积%	理论塔板数(USP)	拖尾因子	分离度(USP)
1		4.635	2180605	6.877	2822	1.866	--
2		12.384	3955209	12.473	27230	1.078	23.872
3	M2	14.794	1119441	3.530	16686	--	6.355
4		15.347	350963	1.107	7716	--	0.956
5		15.789	479862	1.513	6509	--	0.598
6		18.456	5495693	17.332	21760	1.028	4.156
7	M3	20.139	15797106	49.819	14487	1.049	2.878
8		22.925	804179	2.536	8159	--	3.308
9		25.586	105789	0.334	15708	0.732	2.905
10		30.359	324681	1.024	26042	0.639	6.084
11		31.936	1095553	3.455	23857	5.331	1.998
总计			31709079	100.000			

图 4 粗品-方法开发图谱

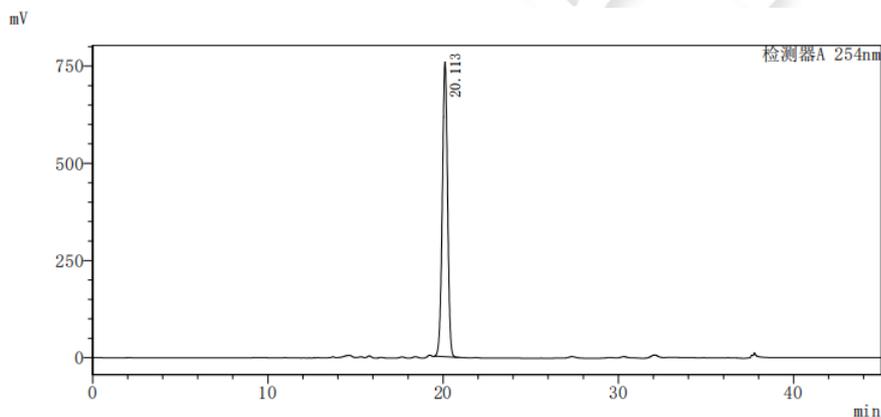




<峰表>

峰号	化合物名	保留时间	面积	面积%	理论塔板数(USP)	拖尾因子	分离度(USP)
1	M2	15.206	11085563	100.000	6099	0.675	--
总计			11085563	100.000			

图 5 M2-方法开发图谱



<峰表>

峰号	化合物名	保留时间	面积	面积%	理论塔板数(USP)	拖尾因子	分离度(USP)
1	M3	20.113	15896882	100.000	20953	0.970	--
总计			15896882	100.000			

图 6 M3-方法开发图谱

结论：通过单标定位，可以确定 RT15.2min 为原料峰，RT20.1min 为目标产物峰。

1.2.2. 样品制备 1

仪器	月旭 WelPrep2000
色谱柱	Xtimate C18(21.2×250mm,10μm)
流动相	20mM 碳酸氢铵（氨水调节 pH=10）：乙腈
流速	20mL/min
进样量	60mg
柱温	/
检测波长	254nm

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



梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	60	40
	37	60	40
	38	10	90
	43	10	90
	44	60	40
	50	60	40

制备图谱如下图 7 所示:

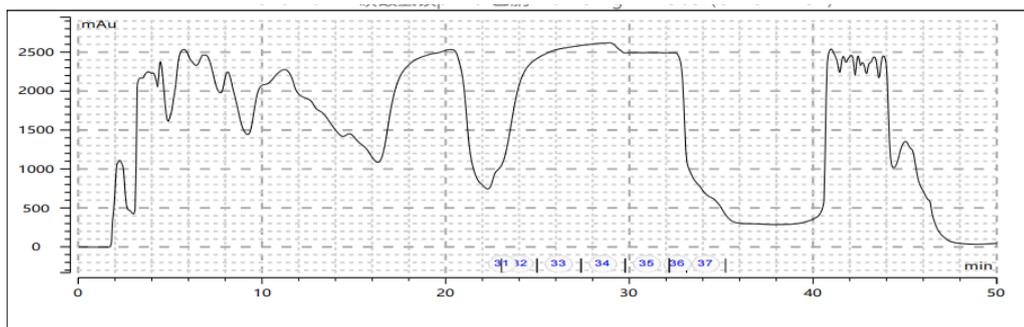


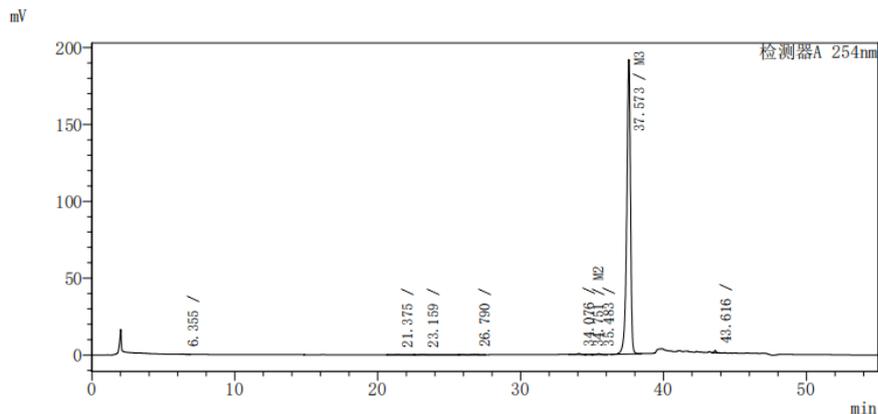
图 7 60mg 样品制备图谱

制备收集 RT24-34min 的目标馏分并检测。

1.2.3. 馏分分析 1

将 1.2.1 中收集到的馏分冻干后进行液相色谱分析，具体分析条件同“步骤 1.1”一致。分析图谱如下图所示：





<峰表>

峰号	化合物名	保留时间	面积	面积%	理论塔板数(USP)	拖尾因子	分离度(USP)
1		6.355	2823	0.080	4078	1.169	--
2		21.375	2283	0.065	18944	2.020	29.472
3		23.159	1304	0.037	25914	0.991	2.982
4		26.790	4606	0.130	38528	0.895	6.476
5		34.076	10321	0.292	76351	0.952	14.020
6	M2	34.751	902	0.026	100356	0.974	1.448
7		35.483	9251	0.262	77580	0.934	1.544
8	M3	37.573	3490944	98.768	103558	0.844	4.282
9		43.616	12041	0.341	683675	0.973	17.825
总计			3534475	100.000			

图 8 馏分分析图

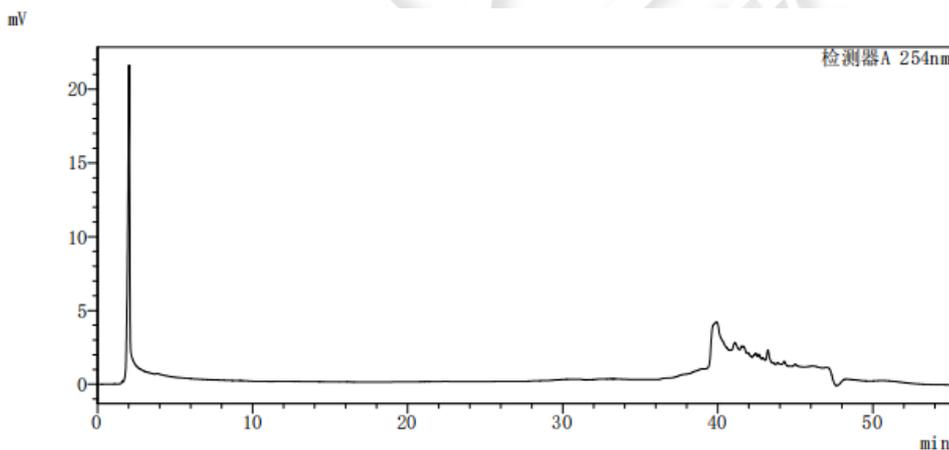


图 9 空白分析图

结论：由图可见，当上样量为填料量的 0.12% 时，制备液中产物纯度为 98.7%，大于 95%，原料含量 0.02%，小于 0.1%，满足客户要求，回收率为 84%。

1.2.4. 样品制备 2

仪器	月旭 WelPrep2000
色谱柱	Xtimate C18(21.2×250mm,10μm)
流动相	20mM 碳酸氢铵（氨水调节 pH=10）：乙腈
流速	5mL/min
进样量	200mg

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



柱温	/		
检测波长	254nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	60	40
	37	60	40
	38	10	90
	43	10	90
	44	60	40
	50	60	40

制备图谱如下图 10 所示：

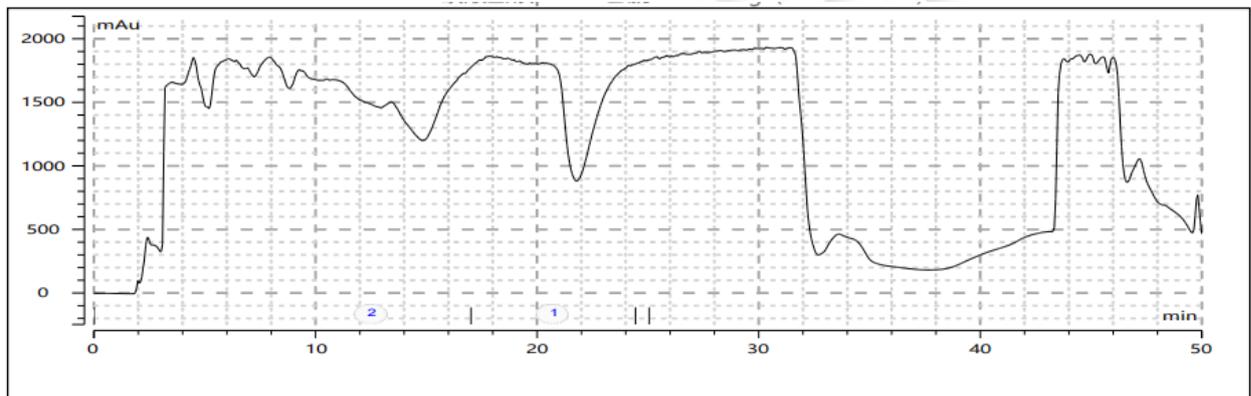


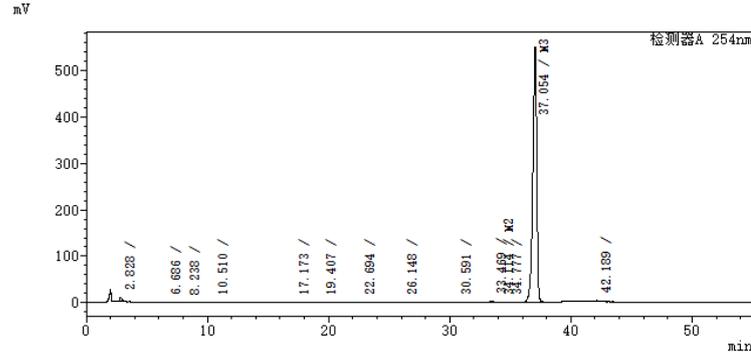
图 10 200mg 样品制备图谱

制备收集 RT26-31min 的目标馏分并检测。

1.2.5. 馏分分析 1

将 1.2.4 中收集到的馏分冻干后进行液相色谱分析，具体分析条件同“步骤 1.1”一致。分析图谱如下图所示：





<峰表>
检测器A 254nm

峰号	化合物名	保留时间	面积	面积%	理论塔板数(USP)	拖尾因子	分离度(USP)
1		2.828	120475	0.949	954	1.499	--
2		6.686	4477	0.035	6078	1.012	10.876
3		8.238	5393	0.043	5039	1.067	3.843
4		10.510	11189	0.088	6459	1.014	4.603
5		17.173	12089	0.095	14571	0.941	12.203
6		19.407	17102	0.135	17422	1.795	3.862
7		22.694	17687	0.139	16271	0.861	5.057
8		26.148	17439	0.137	36175	0.634	5.475
9		30.591	9848	0.078	52170	1.013	8.187
10		33.469	65084	0.513	66984	0.936	5.465
11	M2	34.114	9742	0.077	47778	--	1.130
12		34.777	24060	0.190	67878	--	1.145
13	M3	37.054	12361175	97.420	65217	0.809	4.087
14		42.189	12757	0.101	1091221	1.008	13.843
总计			12688516	100.000			

图 11 馏分分析图

结论：由图可见，当上样量为填料量的 0.42% 时，制备液中产物纯度为 97.4%，大于 95%，原料含量 0.07%，小于 0.1%，满足客户要求，回收率为 62%。

2. 结论

使用月旭 Xtimate C18 在此色谱条件下进行制备，制备结果满足客户要求。

报告人：Queena

审核人：Jim

日期：2023/01/03

