

分离纯化报告

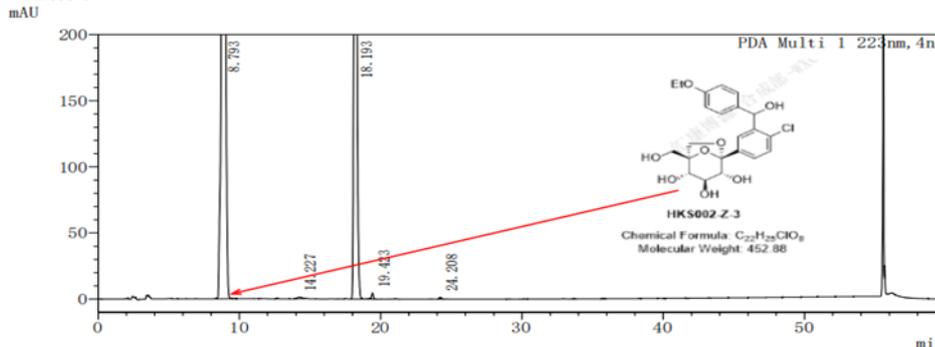
样品信息			
样品名称	杂质 6	项目编号	FLCHFWLC-20240813-001-02
样品性状	棕色固体	样品重量	3.7g
收样日期	2024/08/16	测试期间	2024/08/16-2024/08/23

目标物信息

杂质 6 粗品分析图如下图 1 所示：

数据文件名 : 082024
 方法文件名 : 方法10-HKS002-Z-6-24072501-3 (棕色固体).1cd
 批处理文件名 : 有关方法10.1cm
 批处理文件名 : 20240730.1cb
 样品瓶号 : 1-21
 进样体积 : 10 uL
 分析日期 : 2024/7/30 14:49:48
 处理日期 : 2024/7/30 15:54:48
 分析者 : HZR
 处理者 : HZR

<色谱图>



<峰表>

峰号	保留时间	面积	面积%	高度	理论塔板数(USP)	拖尾因子	分离度(USP)
1	8.793	11964017	52.792	756823	6345	1.275	—
2	14.227	23525	0.104	1165	11629	1.103	11.211
3	18.193	10613255	46.832	946295	57812	1.220	9.553
4	19.423	44699	0.197	4468	96689	0.745	4.450
5	24.208	17075	0.075	1417	87707	1.272	16.593
总计		22662571	100.000	1710168			

图 1 粗品分析图

目标物保留时间	杂质 1: 8.793min	面积归一化含量 (223nm, %)	杂质 1: 52%
实验要求			
筛选合适色谱柱和流动相, 制备目标物, 要求纯度大≥95%			
试剂信息			
试剂名称	级别		供应商
乙腈	色谱级		月旭
乙腈	制备级		月旭
乙酸铵	AR		阿拉丁

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



磷酸二氢钠	AR	阿拉丁
氢氧化钠	AR	麦克林
纯水	一级	月旭
仪器信息		
仪器名称	仪器型号	仪器厂家
分析型高效液相色谱	LC-20AD	岛津
分析型高效液相色谱	U3000	赛默飞
制备型高效液相色谱	Sail 1000	月旭

1. 试验过程

1.1. 方法重现

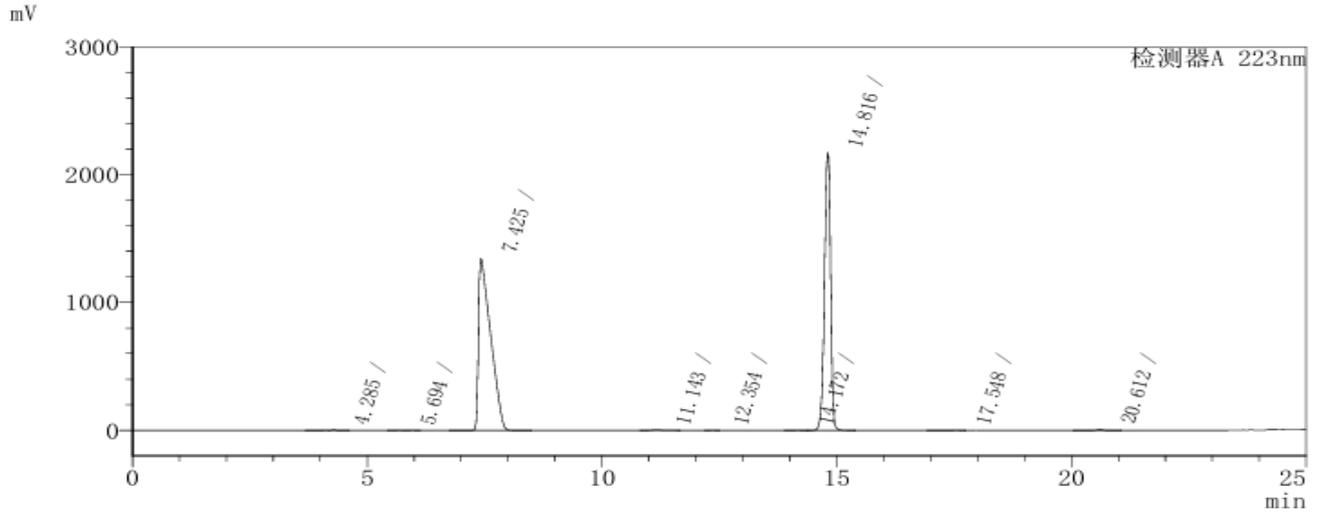
称取杂质 6 样品 4.5mg，置于 5mL 离心管中，加入 1ml 乙腈+1ml 水溶解后，过滤至进样小瓶中，按照以下色谱分析方法进行分析：

色谱柱	Xtimate C18 4.6×250mm, 5μm		
流动相 A	5mM 磷酸二氢钠（用 1M 氢氧化钠条件溶液调节 pH 至 6.3）		
流动相 B	色谱级乙腈		
流速	1ml/min		
进样量	5μl		
柱温	35°C		
检测波长	223nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	70	30
	50	5	95
	50.1	70	30
	60	70	30

分析图谱如图 2 所示：



<色谱图>



<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		4.28	36277	0.08	12177	0.72	--
2		5.69	18373	0.04	16219	1.27	8.4
3		7.43	24169629	54.48	3084	2.68	4.9
4		11.14	82556	0.19	11512	1.75	7.8
5		12.35	7005	0.02	65056	1.05	4.0
6		14.17	8215	0.02	69461	0.93	8.9
7		14.82	19976171	45.03	59812	0.89	2.8
8		17.55	9548	0.02	89517	1.15	11.5
9		20.61	56741	0.13	106348	0.96	12.6
总计			44364513	100.00			

图2 方法重现图谱

结论：通过与图1进行比较，可以确定7.43min为目标物。

1.2. 分离纯化过程

1.2.1. 方法开发

取4.1项下的进样小瓶进行分析：

色谱柱	Ultimate XB-C18 4.6×250mm, 5μm		
流动相 A	20mM 乙酸铵		
流动相 B	色谱级乙腈		
流速	1ml/min		
进样量	5μl		
柱温	35°C		
检测波长	223nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	70	30

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



	50	5	95
	50.1	70	30
	60	70	30

分析图谱如下图 3 所示：

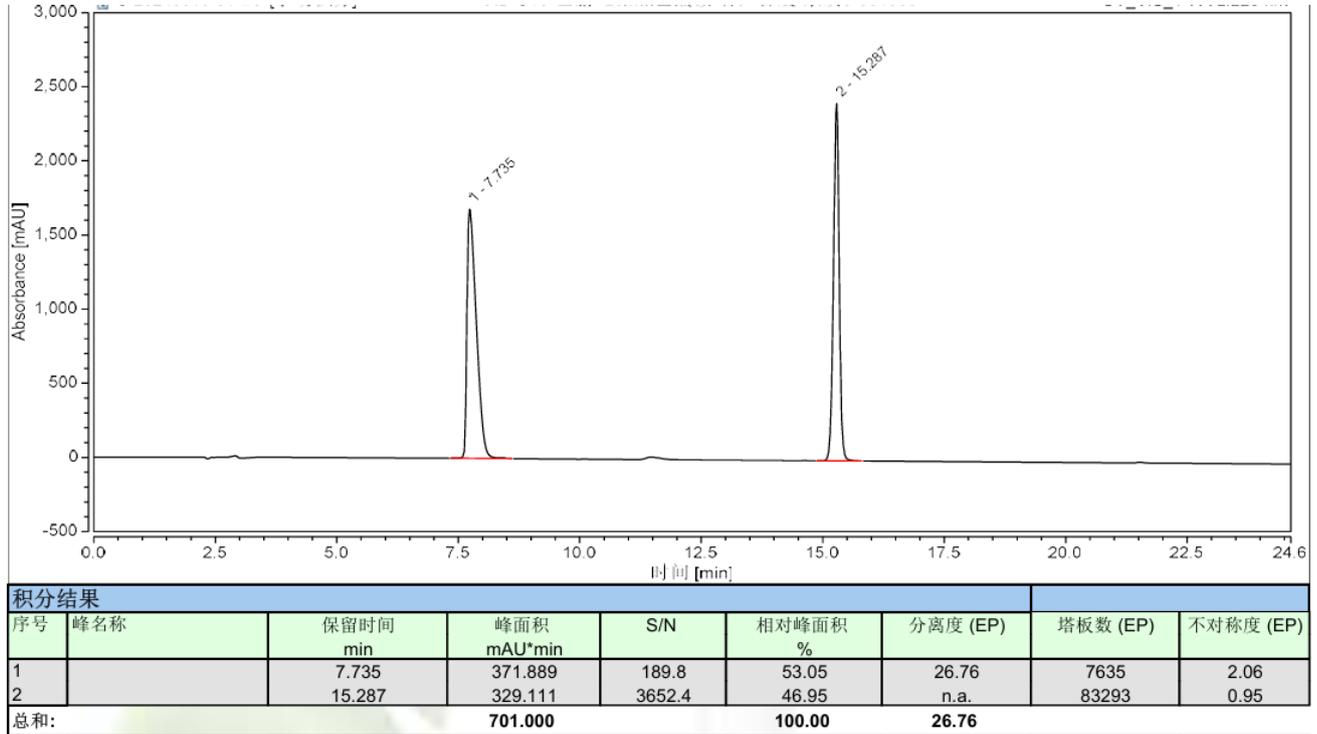


图 3 方法分析图谱

1.2.2. 样品制备

称取杂质 6 样品 340mg，加入 6ml 纯水和 4ml 乙腈溶解稀释，过滤，使其浓度为 34mg/ml，制备液相条件如下所示：

仪器	Sail1000		
色谱柱	Ultimate XB-C18 21.2×250mm, 5μm		
流动相 A	20mM 乙酸铵		
流动相 B	制备级乙腈		
流速	20ml/min		
进样量	340mg		
柱温	室温		
检测波长	223nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)

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

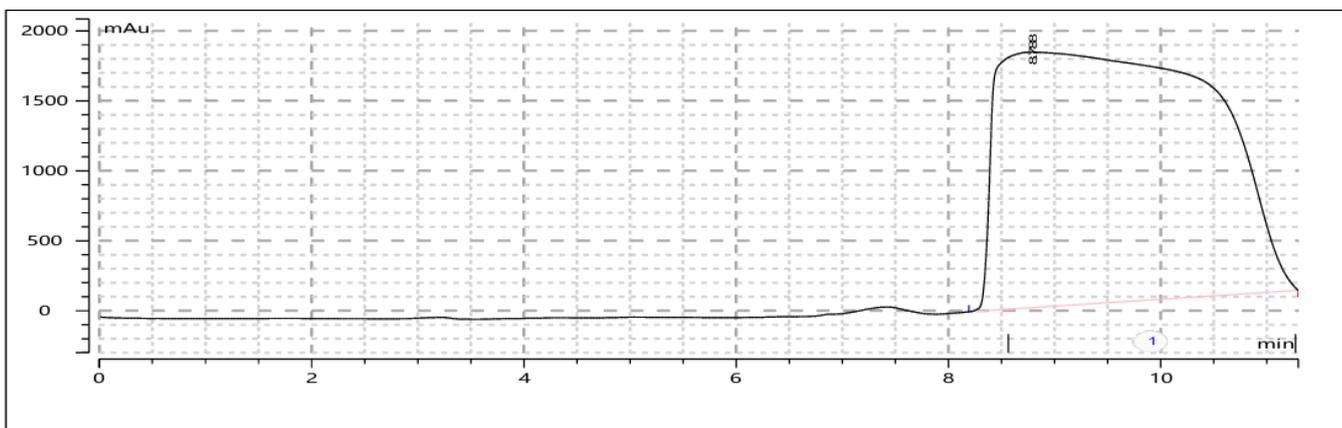
Add:江苏省南京市六合区天圣路 22 号 F 栋 4 楼

Tel:400-810-6969



	0	70	30
	50	5	95
	50.1	70	30
	60	70	30

制备图谱如图 4 所示：



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 (%)	峰类型	峰纯度	PDA 匹配名称
1	N.A.	8.788	254523.146	2.818	2.459	1825.240	100.000	BB*	0	
2	总计									

图 4 粗品制备图

经过制备，将目标馏分 1（8.7min）收集到馏分瓶中，待分析合格后，冻干，同时按照此制备方法将剩余粗品制备完成。

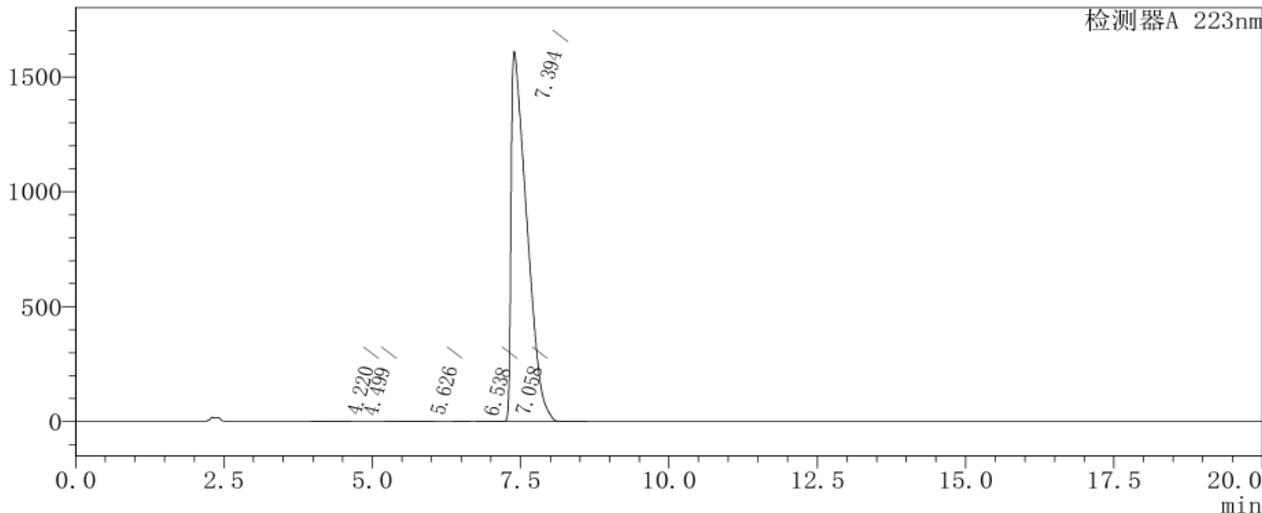
1.2.3. 杂质分析

将 1.2.2 中冻干的杂质进行液相色谱分析，具体分析条件同“步骤 1.1”一致。分析图谱如图 5 所示：



<色谱图>

mV



<峰表>

检测器A 223nm

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		4.22	6102	0.02	9996	1.12	--
2		4.50	746	0.00	8861	1.24	1.6
3		5.63	21011	0.07	16534	1.22	6.2
4		6.54	3679	0.01	17257	0.83	4.9
5		7.06	8934	0.03	22322	--	2.7
6		7.39	29610686	99.86	3099	3.09	0.9
总计			29651158	100.00			

图5 制备液分析图谱

结论：由图可见制备液面积归一化含量为 99.86%（223nm），纯度符合客户要求（ $\geq 95\%$ ）。

2. 结论

使用月旭 Ultimate® XB-C18, 21.2×250mm,5 μ m 在此色谱条件下进行制备，制备收集到的目标物纯度为 99.86%（223nm），收集目标物总量 1.3g。

报告人:Ada

审核人: Jim

日期: 2024/08/22

