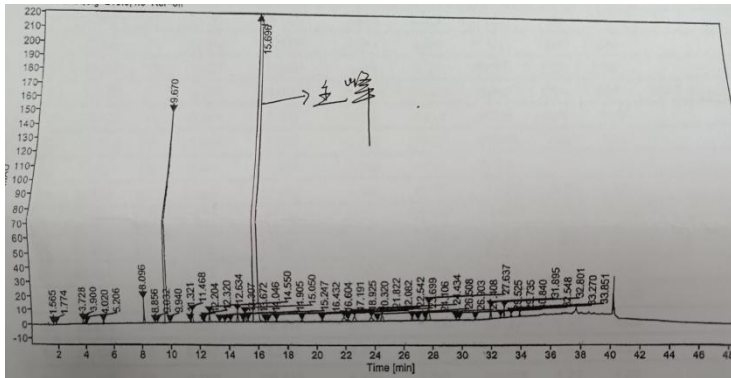


分离纯化报告

样品信息			
样品名称	HS-002ZS	项目编号	20230410-273
样品性状	黄色粉末	样品重量	10g
收样日期	2023/04/12	测试期间	2023/04/12~2023/04/26
目标物信息			
			
图 1 客户分析谱图			
目标物保留时间	15.69min	面积归一化含量 (210nm, %)	83.338
实验要求			
提纯 RT15.69min 的目标物，该峰纯化后纯度 97%以上，单杂不大于 0.5%			
试剂信息			
试剂名称	级别	供应商	
正己烷	HPLC	麦克林	
乙醇	HPLC	Greagent	
乙腈	HPLC	月旭	
磷酸	AR	麦克林	
仪器信息			
仪器名称	仪器型号	仪器厂家	
高效液相色谱仪	月旭 Wisys5000	月旭	
制备型高效液相色谱仪	月旭 Sail1000	月旭	

1. 试验过程

1.1. 方法重现

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



流动相配置：

流动相 A：量筒量取 1000mL 纯水加入试剂瓶，加入 700μl 磷酸，混匀抽滤至试剂瓶中，脱气待用。

流动相 B：纯乙腈抽滤至试剂瓶即可。样品配置：

样品溶液：称取样品 2mg，用 2mL 甲醇溶解并过滤至进样小瓶，即得。

按照以下色谱分析方法进行分析：

仪器	月旭 Wisys5000		
色谱柱	Ultimate LP-C18 (4.0×250mm,5μm)		
流动相 A	0.07%磷酸水		
流动相 B	色谱级乙腈		
流速	1mL/min		
进样量	10μl		
柱温	40℃		
检测波长	210nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	85	15
	12	62	38
	17	62	38
	30	52	48
	36	10	90
	39	10	90
	39.1	85	15
	49	85	15

分析图谱如图 2, 3 所示：



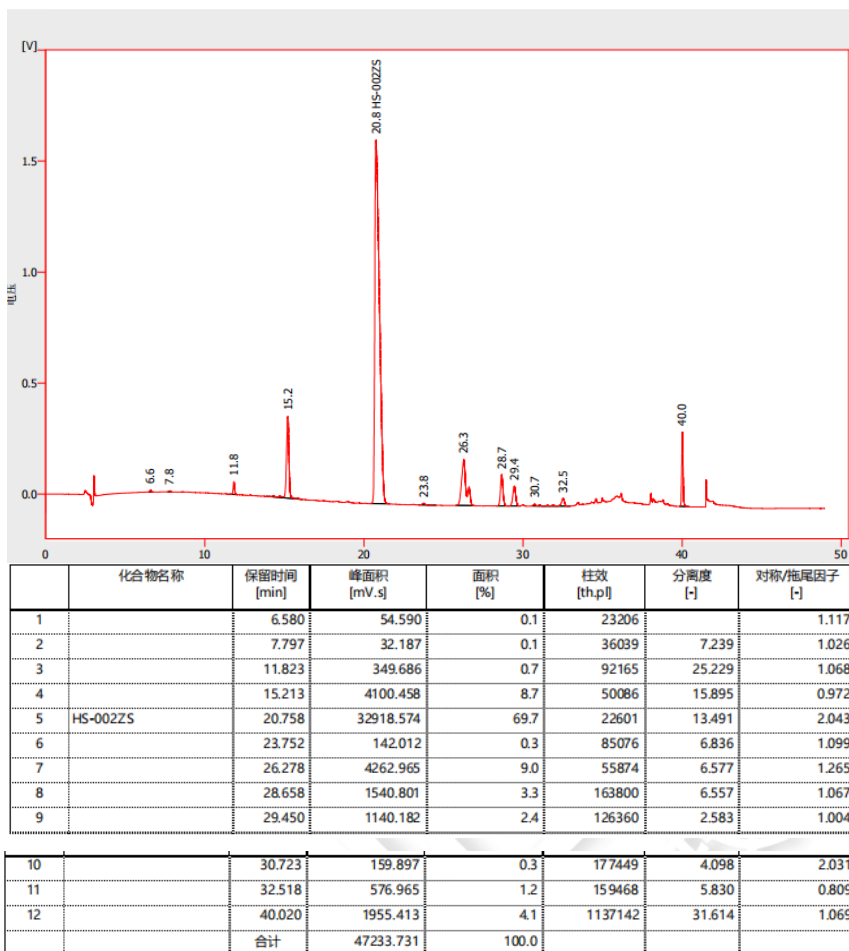


图2 方法重现图谱

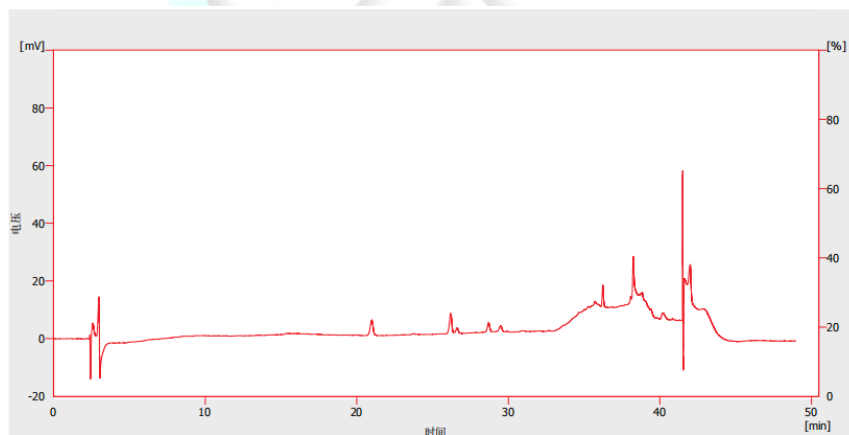


图3 空白图谱

结论：通过与图1进行比较，确认目标物为 RT20.835min 处色谱峰。

1.2. 分离纯化过程

1.2.1. 方法开发

样品溶液：称取样品 3mg，用 2mL 异丙醇溶解并过滤至进样小瓶，即得。

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

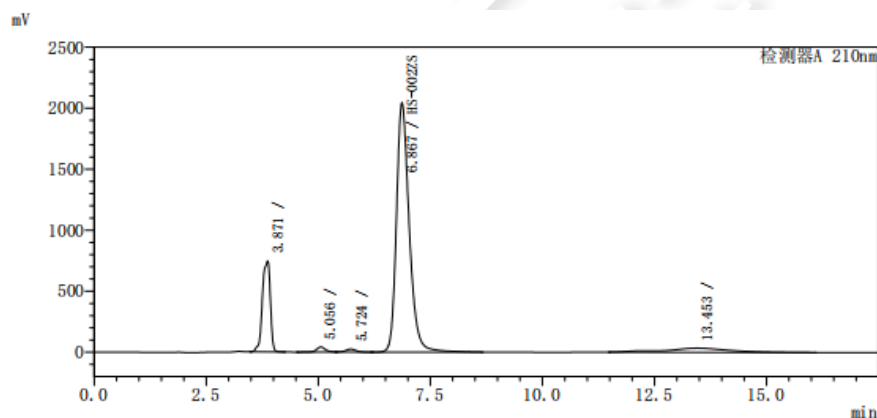
Tel:400-810-6969



按照以下色谱分析方法进行分析:

仪器	岛津 LC-20AD		
色谱柱	Ultimate SIO ₂ (4.6×250mm,10μm)		
流动相 A	色谱级正己烷		
流动相 B	色谱级乙醇		
流速	1mL/min		
进样量	10μl		
柱温	/		
检测波长	210nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	50	50
	20	50	50

分析图谱如图 4 所示:



<峰表>

检测器A 210nm

峰号	化合物名	保留时间	面积	高度	理论塔板数(USP)	拖尾因子	分离度(USP)
1		3.871	9161527	744417	2649	0.777	—
2		5.056	547452	41186	3376	1.073	3.651
3		5.724	356226	23692	3177	1.060	1.772
4	HS-002S	6.867	40581724	2045805	2904	1.277	2.495
5		13.453	3326126	33982	599	1.026	4.864
总计			53973054	2889083			

图 4 方法开发图谱

结论: 通过与图 1 和图 2 进行比较, 确认目标物为 RT6.867min 处色谱峰。

1.2.2. 样品制备

仪器	月旭 Sail1000
色谱柱	Ultimate SIO ₂ (20-40μm, 装 WelRacker DAC50)
进样量	2g 溶于乙醇
流动相 A	正己烷

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



流动相 B	乙醇		
流速	80mL/min		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	65	35
	38	65	35
	39	40	60
	52	40	60
	53	20	80
	90	20	80

制备图谱如图 5 所示：

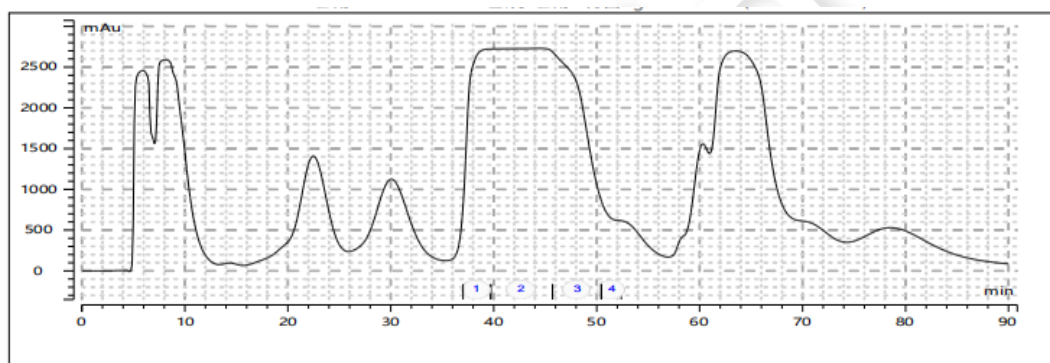


图 5 粗品制备图

经过制备，收集到 RT37-50min 目标馏分。制备图谱显示，该方法得到的目标物与前杂的分离度较大，仍可增大上样量。

1.2.3. 馏分分析

将 1.2.2 中收集到的馏分编号为 1，2，3 并进行液相色谱分析，仪器使用赛默飞 U3000，具体分析条件同“步骤 1.1”一致。分析图谱如图 6，7，8，9 所示：



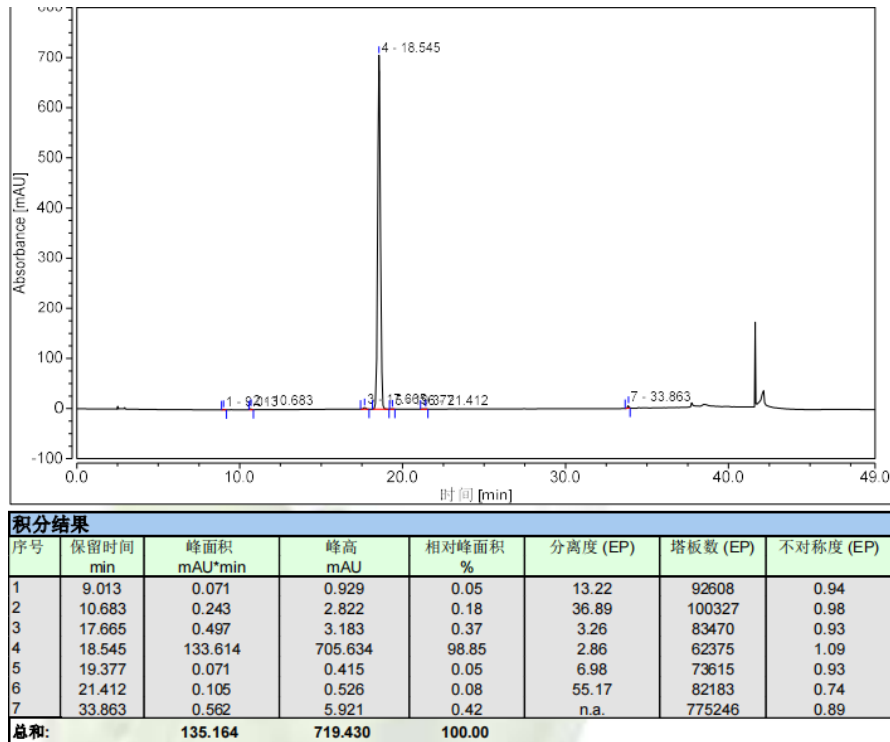


图 6 制备液 1 分析图谱

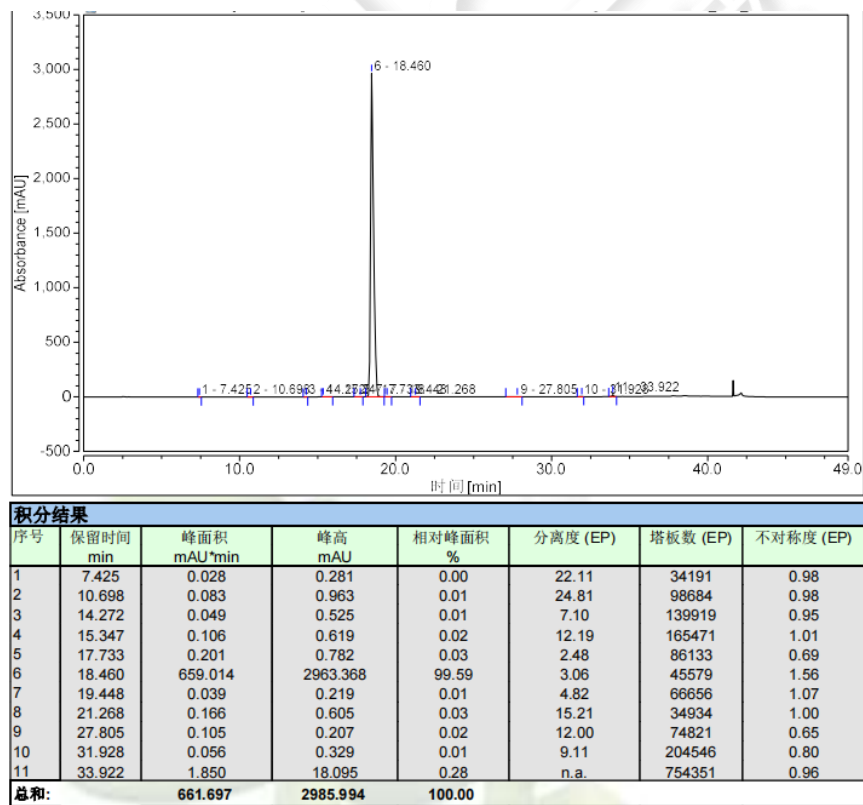


图 7 制备液 2 分析图谱

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

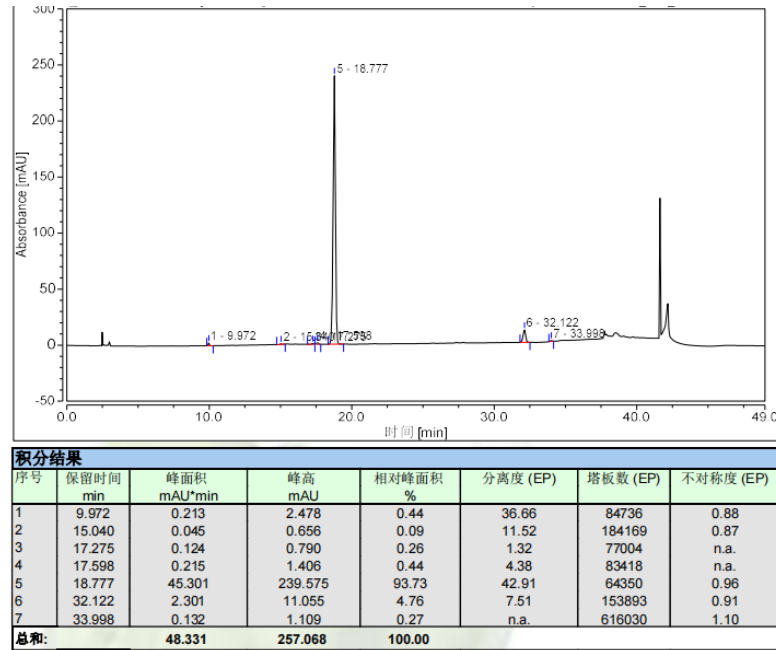


图 8 制备液 3 分析图谱

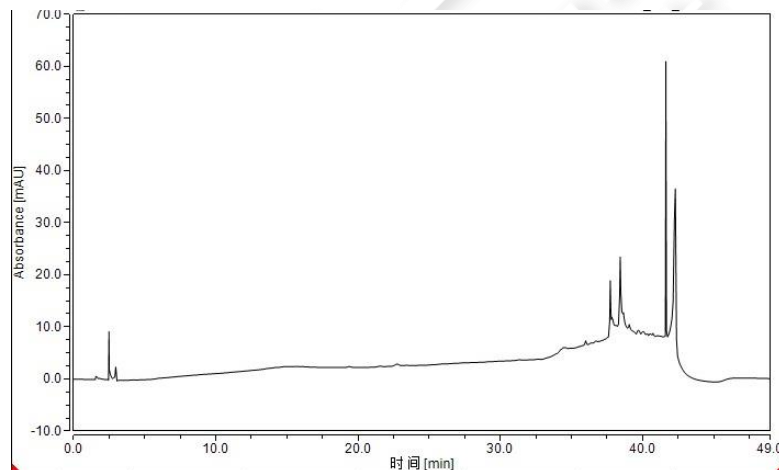


图 9 空白分析图谱

结果: 制备液 1, 2 纯度达标, 制备液 3 纯度不达标。将制备液 1, 2 使用旋转蒸发仪旋干, 得到产物 0.92g, 回收率 46%。

2. 结论

使用月旭 Ultimate SIO₂ 在此色谱条件下进行制备, 单针上样量为填料量 0.7% 时, 制备收集到的目标杂质纯度为 98.8%, 大于 97% 且单杂不大于 0.5%, 回收率为 46%, 单针运行时间为 90min。

报告人: Queena

审核人: Jim

日期: 2023/07/19

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

