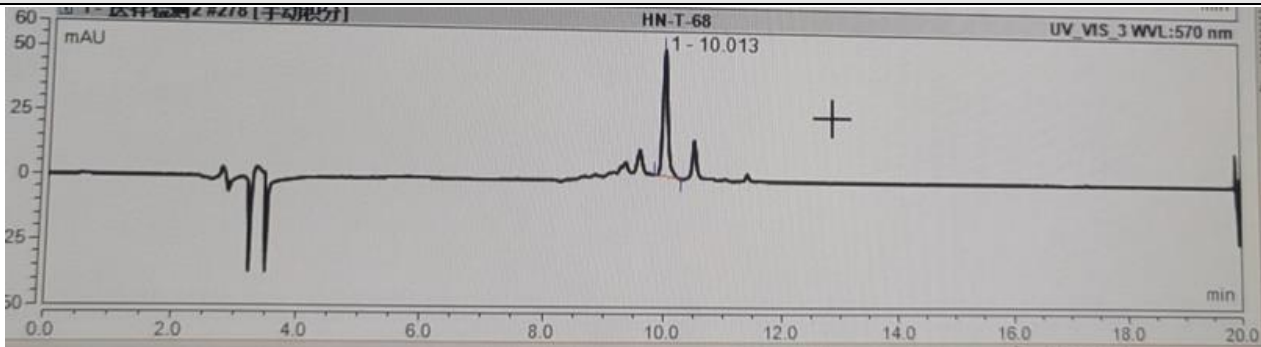


分离纯化报告

样品信息			
样品名称	HN-T	项目编号	202320511-374
样品性状	红色溶液	样品重量	287mg
收样日期	2023/6/9	测试期间	2023/6/9~2023/6/12
目标物信息			
			
目标物保留时间	10.013min	面积归一化含量 (570nm, %)	56.4%
实验要求			
在 21.2mm×250mm, 5μm 色谱柱下上样量不小于 10ml, 面积归一化含量不小于 99.0% (570nm)			
试剂信息			
试剂名称	级别	供应商	
三乙胺	AR	麦克林	
纯水	二级	月旭	
仪器信息			
仪器名称	仪器型号	仪器厂家	
制备液相	Sail1000	月旭	
分析液相	Waters e2695	Waters	



1. 试验过程

1.1. 方法重现

取适量样品，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 ALK-C18(4.6×250mm, 5μm)		
流动相 A	50mM/L TEAB(pH=8.0)		
流动相 B	色谱级乙腈		
流速	1ml/min		
进样量	10μl		
柱温	25°C		
检测波长	570nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	85	15
	3	85	15
	12	30	70
	14	10	90
	17	10	90
	17.1	85	15
	20	85	15

分析图谱如图 1 所示：

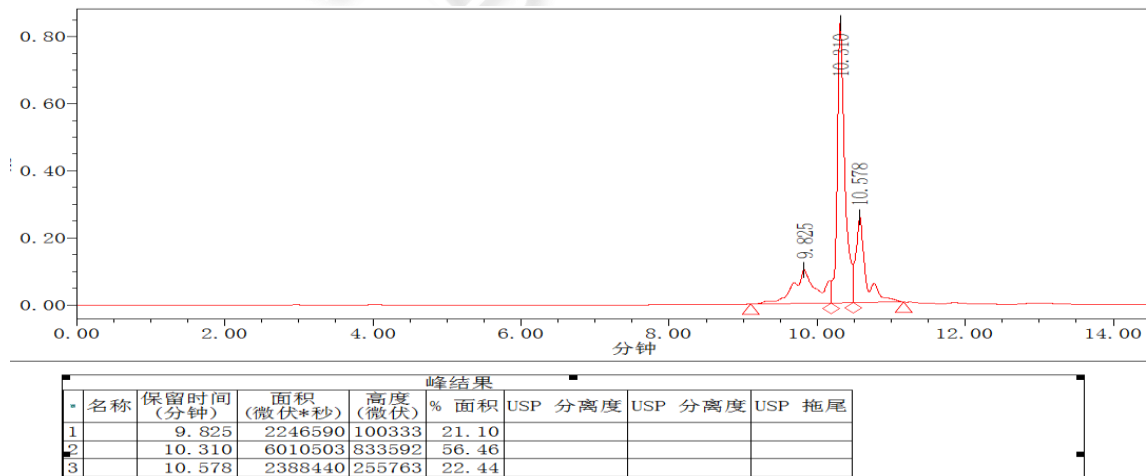


图 1 方法重现图谱

结论：通过与图 1 进行比较，可以确定 10.31min 为目标物。



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：

分析图谱如下图 3 所示：

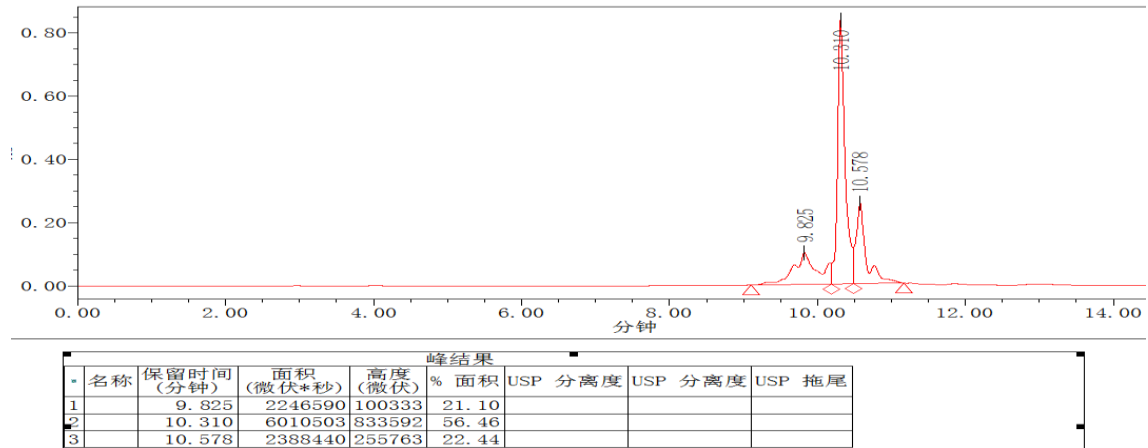


图 2 分析图谱

1.2.2. 样品制备

将客户寄送的样品溶液直接进行制备，制备液相条件如下所示：

仪器	Sail1000		
色谱柱	Ultimate ALK-C18(10×250mm, 5μm)		
流动相 A	50mM/L TEAB(pH=8.0)		
流动相 B	制备级乙腈		
流速	5ml/min		
进样量	1mL		
柱温	室温		
检测波长	570nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	85	15
	3	85	15
	17	47	53
	18	5	95
	19.5	5	95

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 号楼邮编：201600

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号邮编：321000

Add:江苏省南京市六合区天圣路 22 号 F 栋 4 楼邮编：211500

Tel:400-810-6969



	19.6	85	15
	24	85	15

制备图谱如图 4 所示：

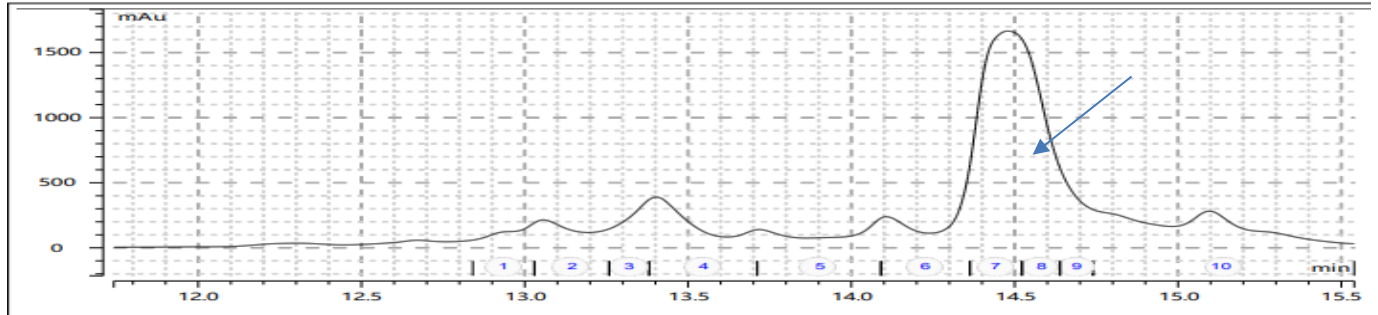


图 3 粗品制备图

经过制备，收集到目标馏分，将馏分 7、馏分 8、馏分 9 合并并进行分析。

1.2.3. 目标馏分分析

将空白溶剂和 1.2.2 中收集到目标馏分进行液相色谱分析，具体分析条件同“步骤 1.1”一致。分析图谱如图 4、图 5 所示：

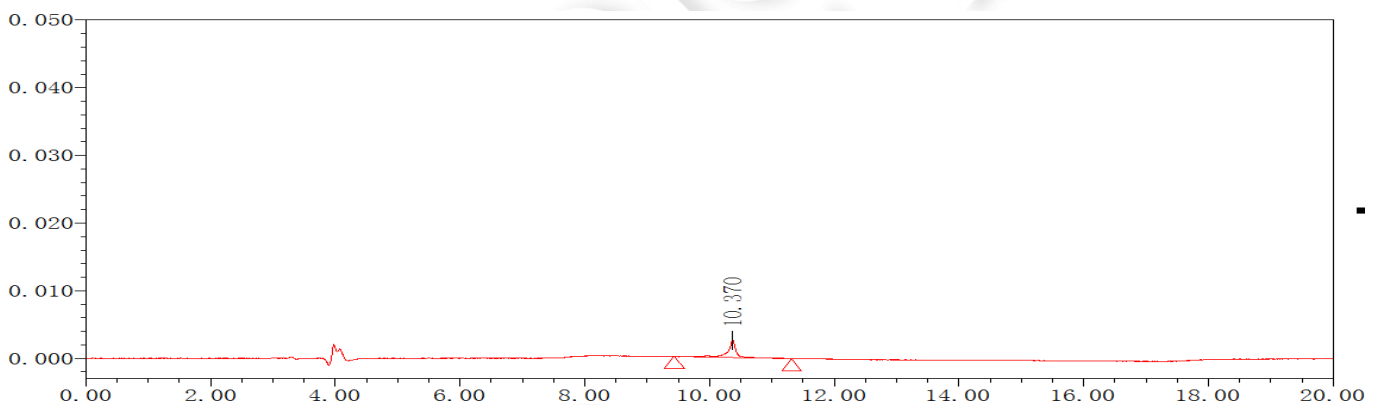
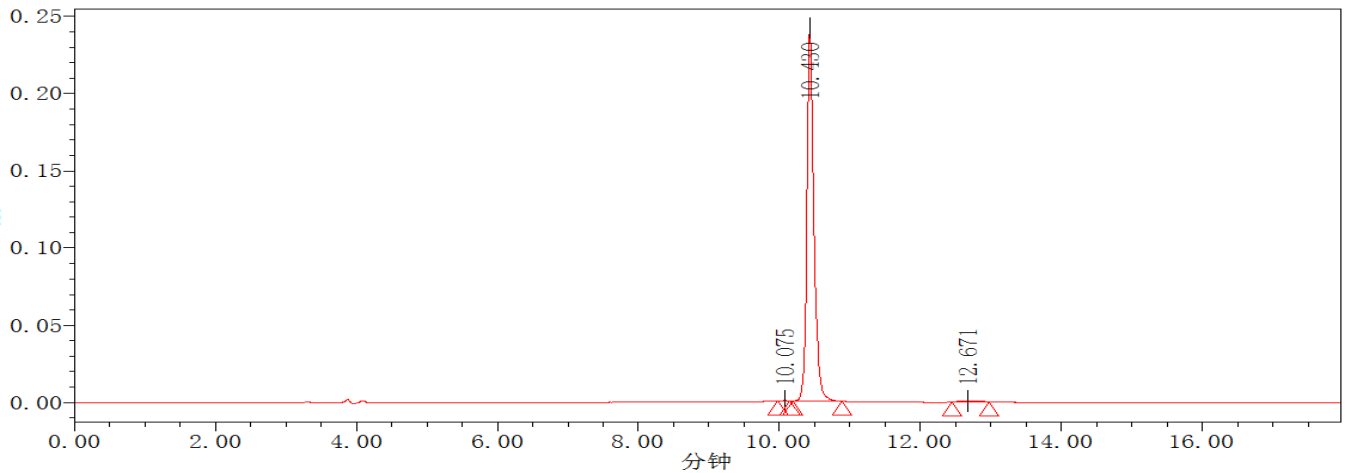


图 4 空白分析图谱





峰结果							
名称	保留时间 (分钟)	面积 (微伏*秒)	高度 (微伏)	% 面积	USP 分离度	USP 分离度	USP 拖尾
1	10.075	1998	469	0.12			
2	10.430	1675288	241261	99.02			
3	12.671	14513	844	0.86			

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 99.02%（570nm），纯度符合客户要求。

1.2.4. 增加上样量

制备上样量增加到 2ml，方法同 1.2.2.制备图谱如图 6 所示

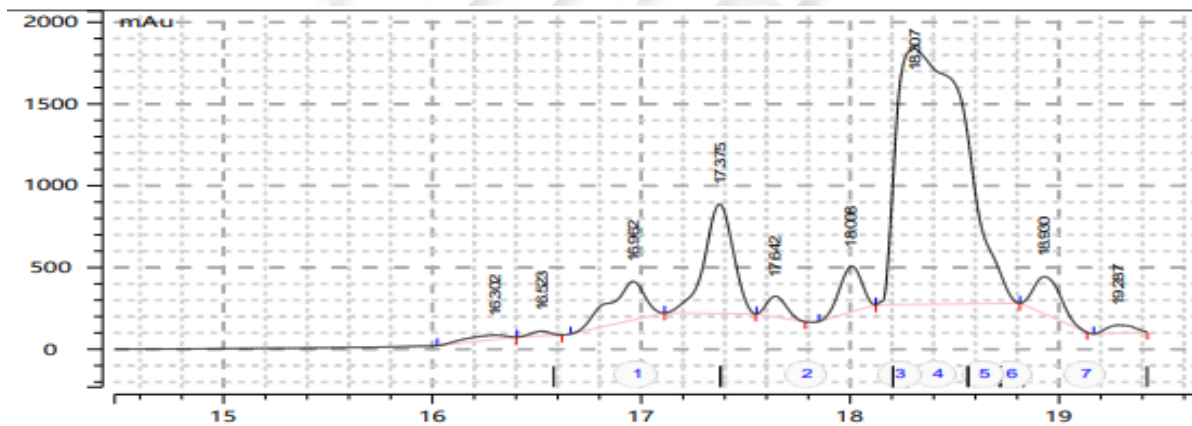
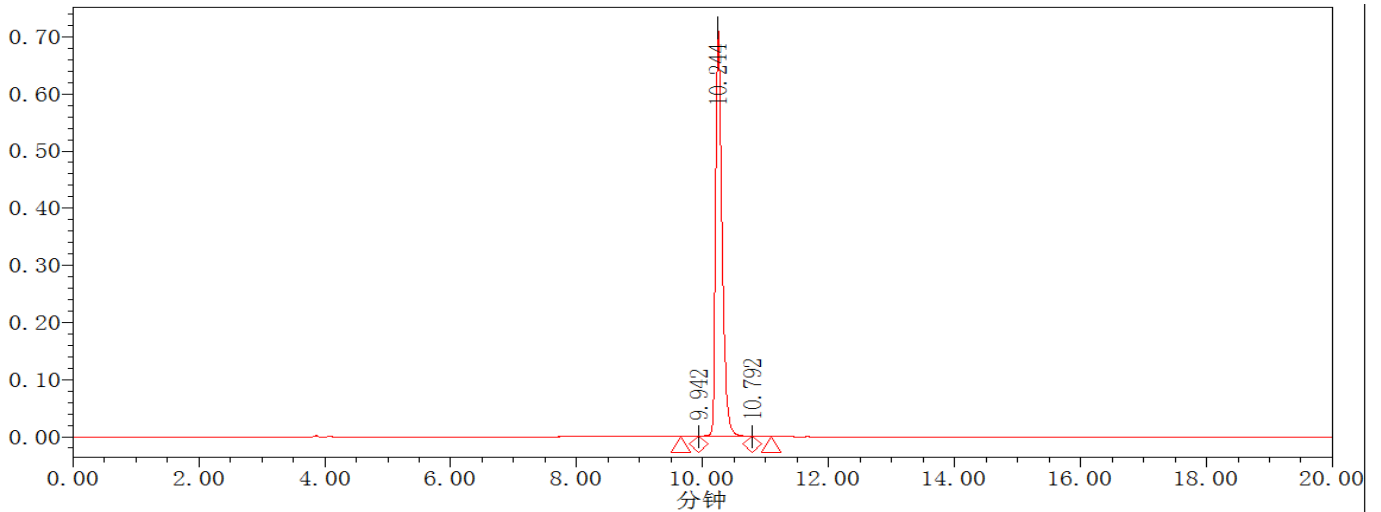


图6 2ml 粗品制备图谱

经过制备，收集到目标馏分，将馏分 3、馏分 4、馏分 5 合并并进行分析，分析图谱如图 7 所示





峰结果							
名称	保留时间 (分钟)	面积 (微伏*秒)	高度 (微伏)	% 面积	USP 分离度	USP 分离度	USP 拖尾
1	9.942	3833	753	0.08			
2	10.244	5098440	714747	99.84			
3	10.792	4197	442	0.08			

图7 2ml 制备分析图谱

结论：由图可见制备液面积归一化含量为 99.84%（570nm），纯度符合客户要求。

1.2.5. 增加上样量

制备上样量增加到 3ml，方法同 1.2.2.制备图谱如图 8 所示

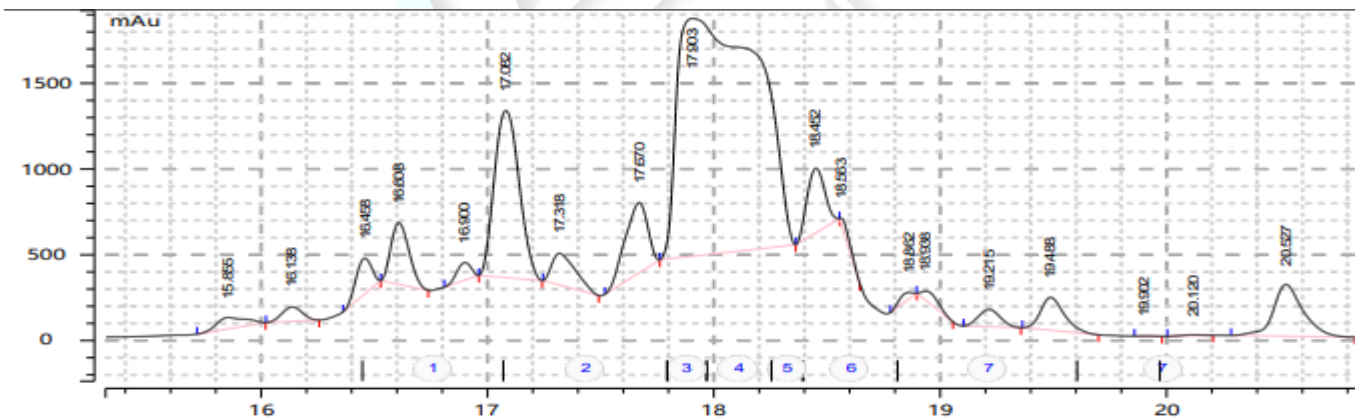
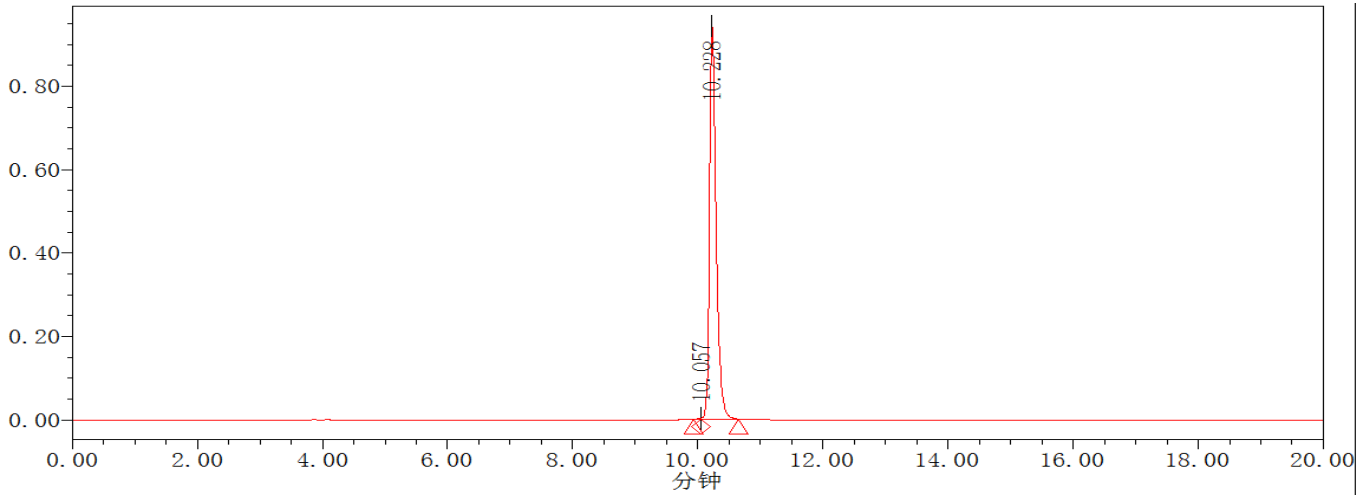


图8 3ml 粗品制备图谱

经过制备，收集到目标馏分 3 和馏分 4 合并并进行分析,分析图谱如图 9 所示





峰结果							
名称	保留时间 (分钟)	面积 (微伏*秒)	高度 (微伏)	% 面积	USP 分离度	USP 分离度	USP 拖尾
1	10.057	9760	3428	0.14			
2	10.228	6801431	942509	99.86			

图 9 3ml 制备分析图谱

结论：由图可见制备液面积归一化含量为 99.86%（570nm），纯度符合客户要求。

2. 结论

使用月旭 Ultimate ALK-C18（10mm×250mm，5μm）在此色谱条件下进行制备，单针上样量为 3ml 时，制备收集到的目标物纯度为 99.86%（570nm），换算 Ultimate ALK-C18（21.2mm×250mm，5μm）制备柱的最大单针上样量为 13.4ml 结果满足客户要求。

报告人:Mia

审核人: Jim

日期: 2023/06/13

