

分离纯化报告

样品信息			
样品名称	EA378-AG0051-P13-M	项目编号	20230519-402
样品性状	粘状物体	样品重量	/
收样日期	2023/05/18	测试期间	2303/05/18~2023/05/23

目标物信息

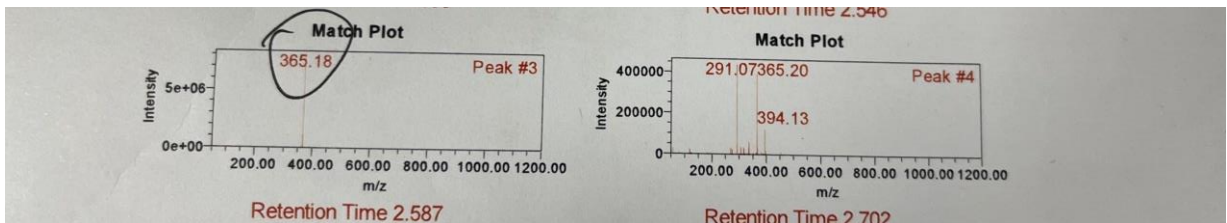
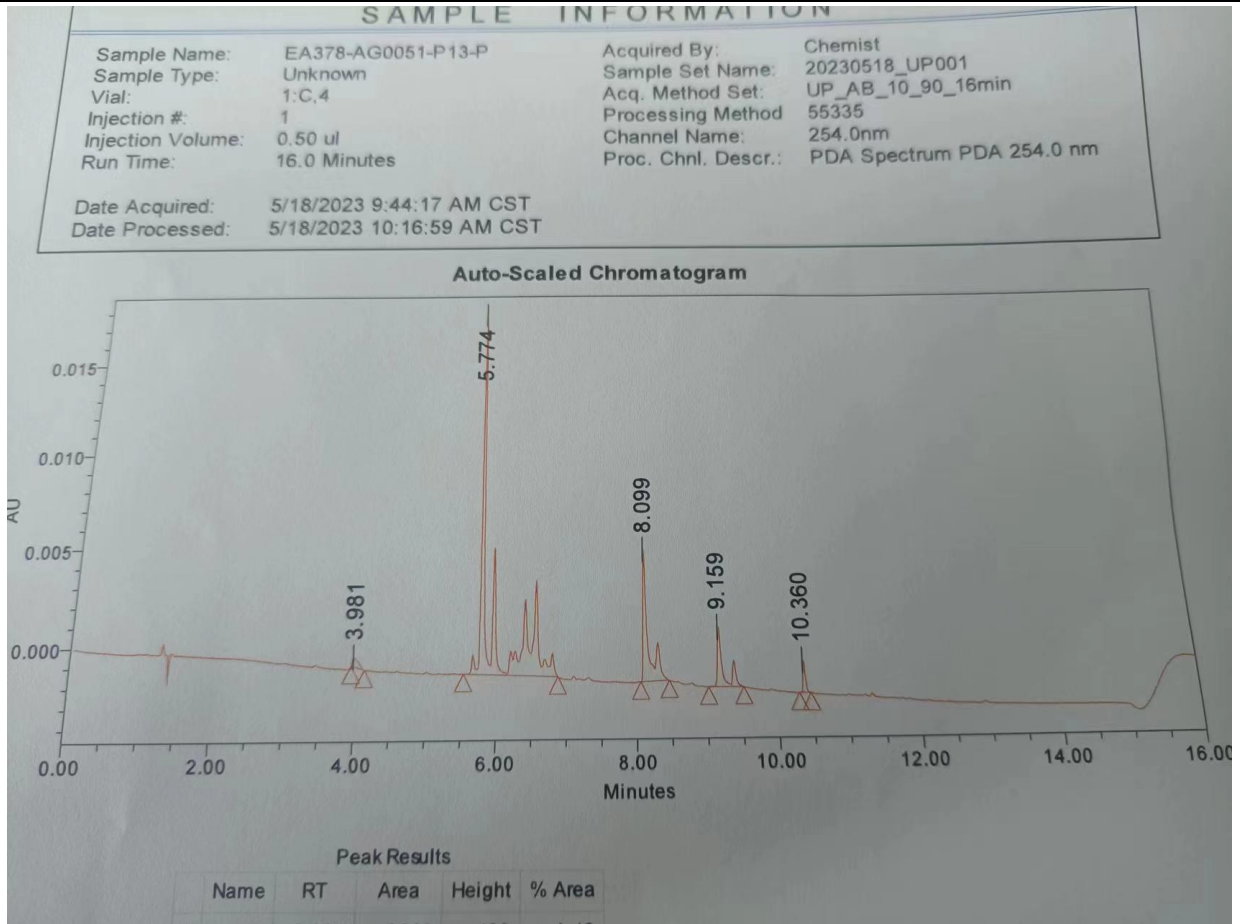


图1 客户图谱

目标物保留时间	5.774 min	面积归一化含量 (210nm, %)	33.6%
---------	-----------	-----------------------	-------

实验要求

收集主峰（相对分子质量为 365）及相邻物质（相对分子质量为 394），纯度达到 90%



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
甲酸	分析级	国药
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仪	Waters 2695	沃特世
制备型高效液相色谱仪	Sail 1000-50ml	月旭

1. 试验过程

1.1. 方法重现

样品配置：称取粗品 1.5 mg 样品置于离心管中，加入 1 mL 乙腈，震荡溶解，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 (4.6×250 mm, 5 μm)		
流动相 A	0.05%甲酸水		
流动相 B	色谱级乙腈		
流速	1 mL/min		
进样量	10 μl		
柱温	30 °C		
检测波长	210 nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	90	10
	16.7	10	90
	21.7	10	90
	21.8	90	10
	30	90	10

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

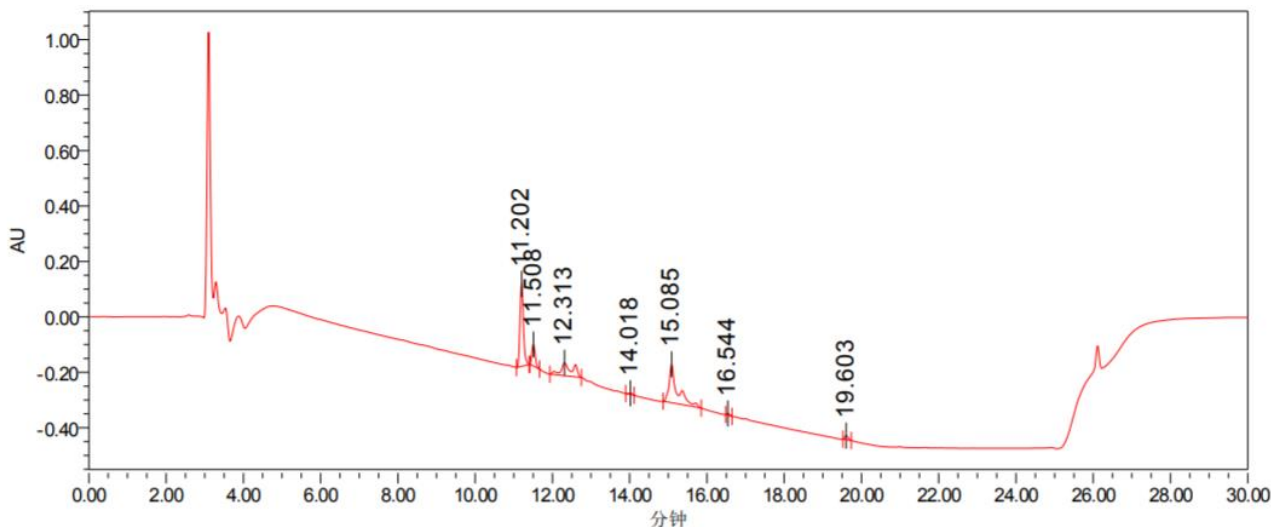
第 2 页 共 8 页

邮编：201600

邮编：321000

邮编：211500





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 理论塔板数	USP 拖尾
1	11.202	1850924	297562	33.62		77103.0162	1.1842
2	11.508	475360	78237	8.63	1.8618	79291.0499	1.2872
3	12.313	970964	46195	17.64	2.7904	24722.2752	1.0891
4	14.018	29865	4688	0.54	5.8699	110224.8234	1.7307
5	15.085	2056117	139313	37.35	4.8614	65897.0192	2.5816
6	16.544	32912	6090	0.60	7.0085	207167.0136	1.3474
7	19.603	89503	14560	1.63	19.4348	215253.9655	1.2272

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 11.202 min 处色谱峰为目标物，相邻物质保留时间为 11.508 min，分离度较差，需要进行调整梯度洗脱程序。

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	Waters 2695		
色谱柱	Ultimate XB-C18 (4.6×250 mm, 5 μm)		
流动相 A	0.05% 甲酸水		
流动相 B	色谱级乙腈		
流速	1 mL/min		
进样量	10 μL		
柱温	/		
检测波长	210 nm		
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

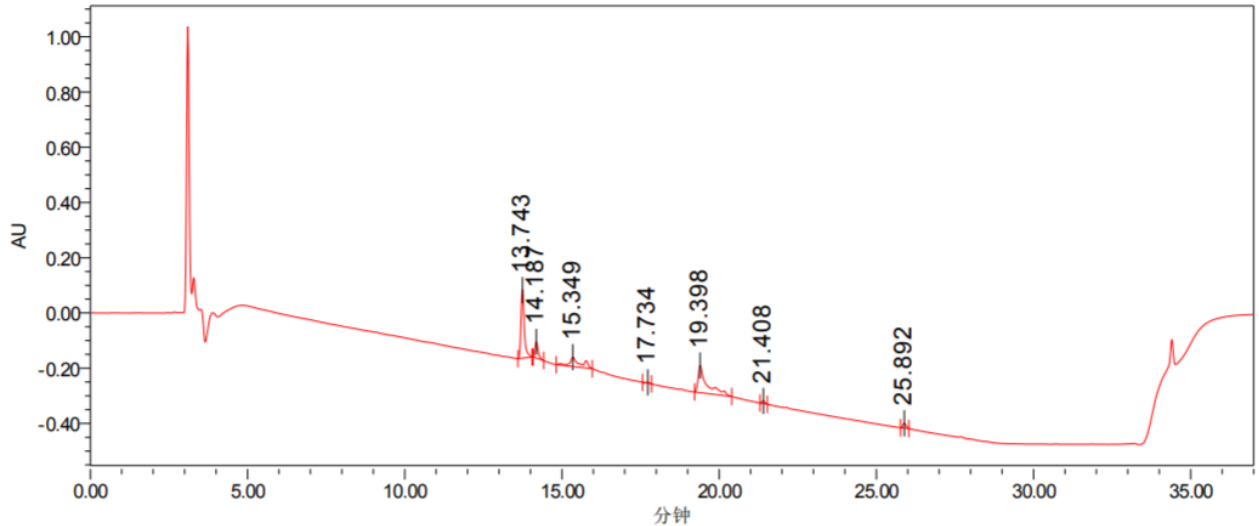
Add:江苏省南京市六合区天圣路 22 号 F 栋 4 楼

Tel:400-810-6969



	0	90	10
	25	10	90
	30	10	90
	30.1	90	10
	37	90	10

分析图谱如图 3 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 理论塔板数	USP 拖尾
1	13.743	1796347	248208	35.05		92744.9198	1.4271
2	14.187	413457	58462	8.07	2.3941	94155.4672	1.5205
3	15.349	811786	34048	15.84	3.6511	31025.6774	1.1042
4	17.734	28493	3580	0.56	6.9676	85473.7364	3.4619
5	19.398	1884781	98041	36.78	5.0513	51425.5889	3.6241
6	21.408	65915	9888	1.29	6.6317	220836.7197	1.1403
7	25.892	124198	17490	2.42	23.6399	293471.3032	1.1082

图 3 方法开发图谱

结论：根据与图 2 比对，13.743 min 处为目标物，相邻杂质保留时间为 14.187 min，分离度 R 为 2.4。

1.2.2. 样品制备

由于客户提供粗品难以称重，加入约 20 mL 乙腈，超声使其全部溶解，浓度未知，制备液相条件如下所示：

仪器	月旭 Sail 1000
色谱柱	Ultimate XB-C18 (21.2×250 mm, 5 μm)



流动相 A	0.05%甲酸水		
流动相 B	制备级乙腈		
流速	20 mL/min		
进样量	1 mL		
柱温	/		
检测波长	210 nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	90	10
	25	10	90
	30	10	90
	30.1	90	10
	37	90	10

制备图谱如图 4 所示：

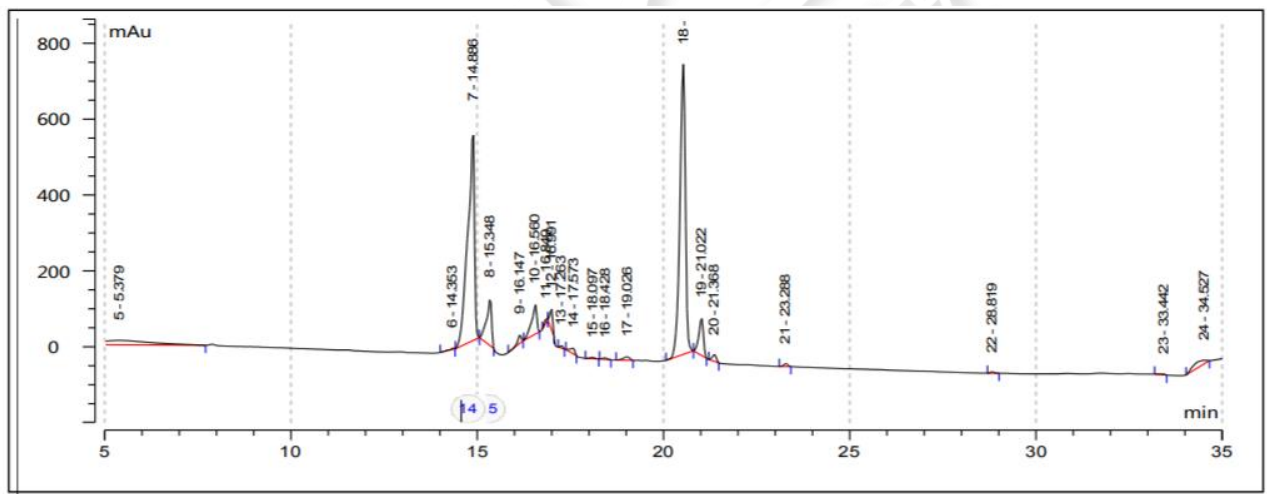


图 4 制备图图谱

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 1.2.1”一致，分析图谱如图：



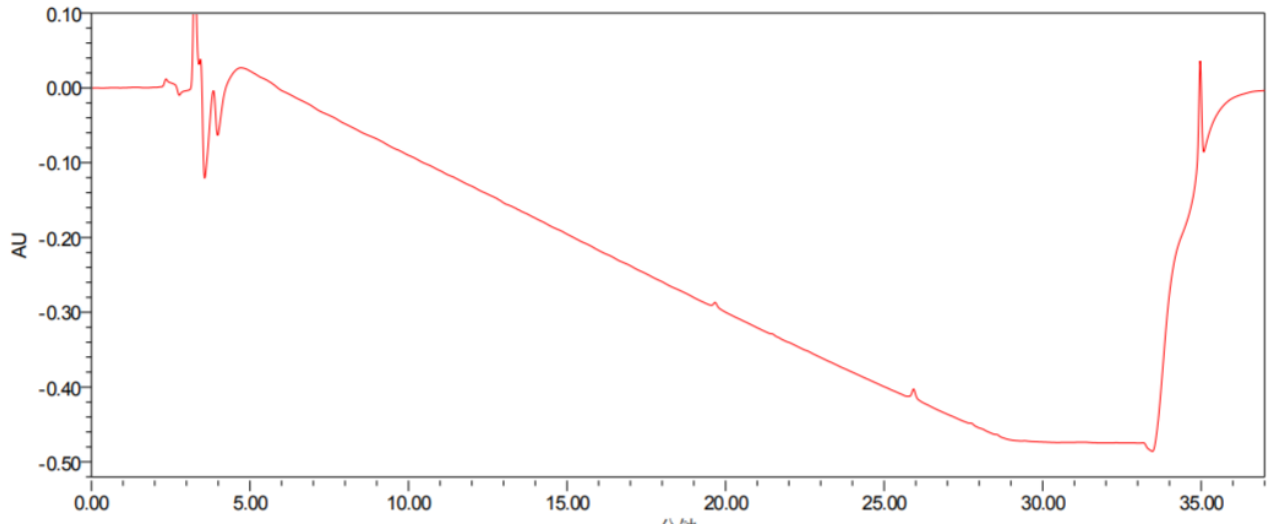


图 5 空白进样分析图谱

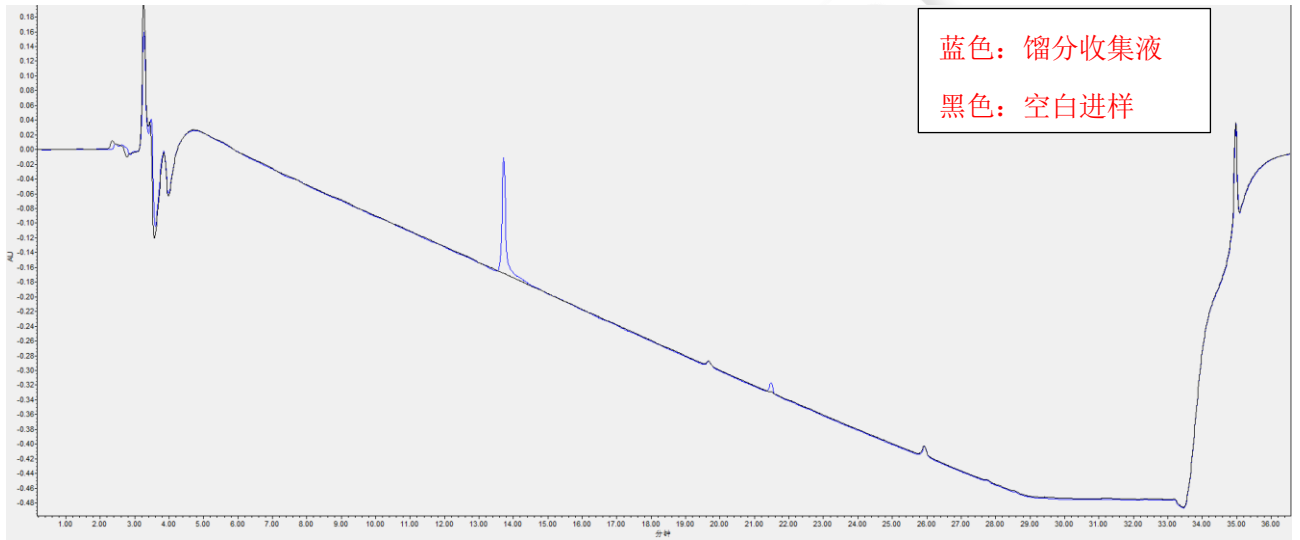
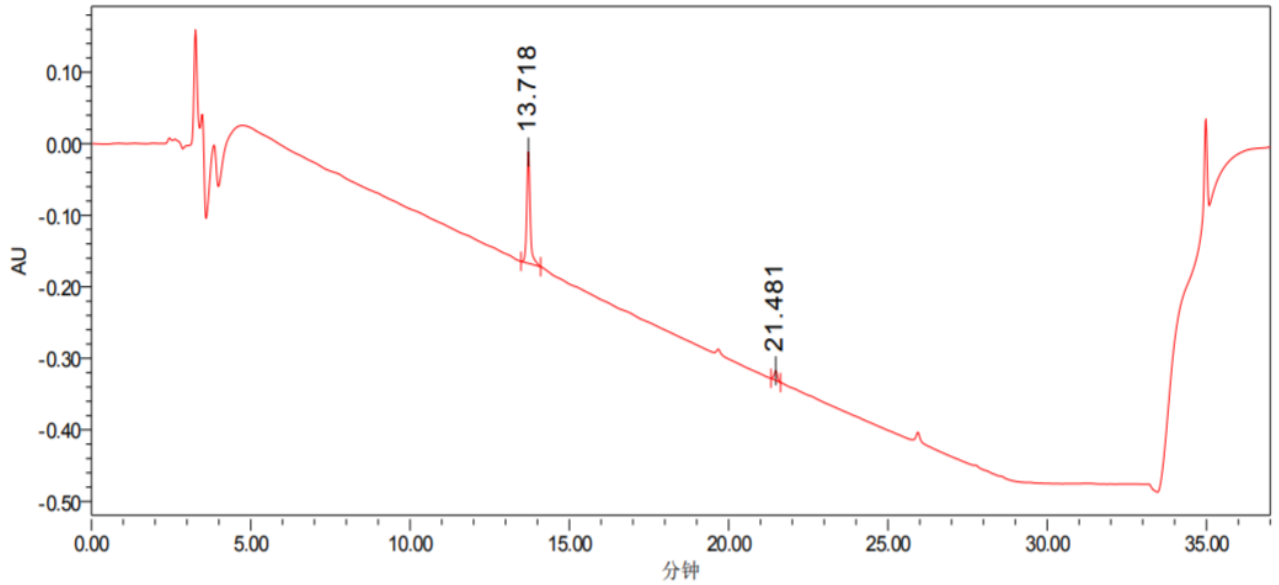


图 6 空白进样和馏分液对比图谱





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 理论塔板数	USP 拖尾
1	13.718	1170735	155406	92.37		92166.3305	1.4543
2	21.481	96679	13604	7.63	40.4866	204117.8293	1.0823

图 7 馏分液分析图谱

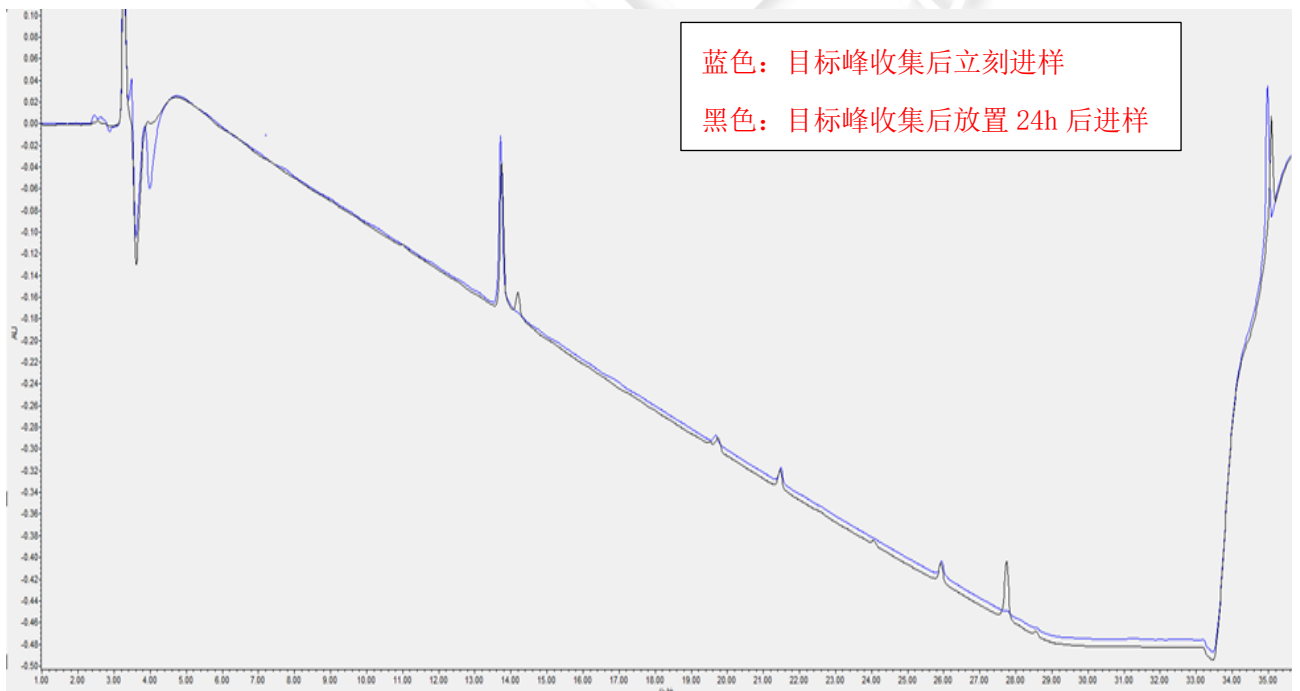


图 8 目标峰收集后立刻进样和收集后放置 24h 后进样

结论：扣除空白波动，目标峰峰面积比为 92.37%，符合客户要求，但样品在此流动相体系下稳定性差。



2. 结论

使用月旭 Ultimate® XB-C18 (21.2*250 mm, 5 μm) 在此色谱条件下, 制备后目标峰峰面积比为 92.37%, 符合客户要求。但因样品在此流动相体系中稳定性差, 无法获得高纯度固体。

报告人: Dido

审核人: Jim

日期: 2023/05/29

