

分离纯化报告

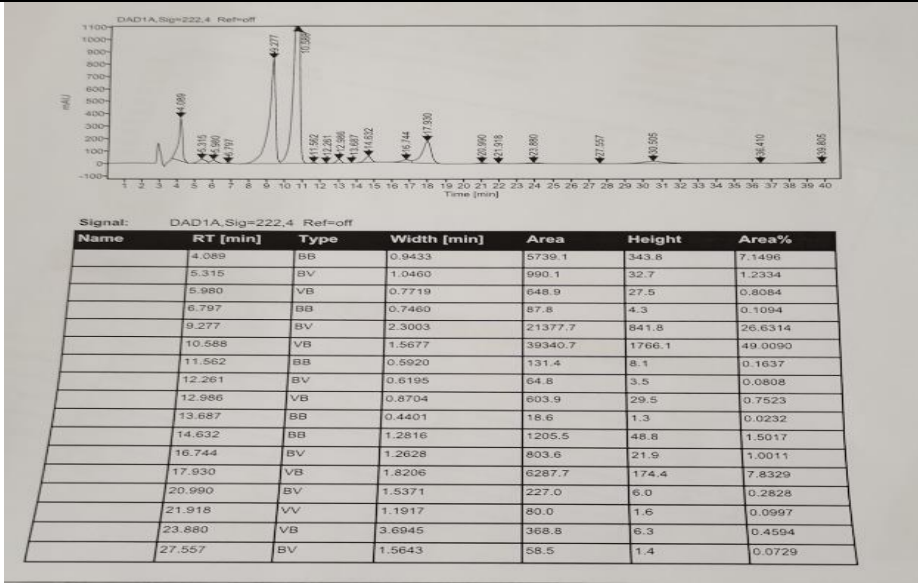
样品信息																																																																																																																																	
样品名称	杂质 L	项目编号	20230515-385																																																																																																																														
样品性状	液体	样品重量	/																																																																																																																														
收样日期	2023/05/22	测试期间	2303/05/22~2023/05/23																																																																																																																														
目标物信息																																																																																																																																	
 <p>Figure 1: Customer chromatogram showing the separation of impurity L at 9.277 min. The x-axis represents Time (min) from 1 to 40, and the y-axis represents AU (Absorbance Units) from -100 to 1100. The peak at 9.277 min is the target impurity L.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Name</th> <th>RT [min]</th> <th>Type</th> <th>Width [min]</th> <th>Area</th> <th>Height</th> <th>Area%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td></td><td>4.089</td><td>BB</td><td>0.9433</td><td>5739.1</td><td>343.8</td><td>7.1496</td></tr> <tr><td></td><td>5.315</td><td>BV</td><td>1.0460</td><td>990.1</td><td>32.7</td><td>1.2334</td></tr> <tr><td></td><td>5.980</td><td>VB</td><td>0.7719</td><td>648.9</td><td>27.5</td><td>0.8084</td></tr> <tr><td></td><td>6.797</td><td>BB</td><td>0.7460</td><td>87.8</td><td>4.3</td><td>0.1094</td></tr> <tr><td></td><td>9.277</td><td>BV</td><td>2.3003</td><td>21377.7</td><td>841.8</td><td>26.6314</td></tr> <tr><td></td><td>10.588</td><td>VB</td><td>1.5677</td><td>39340.7</td><td>1766.1</td><td>49.0090</td></tr> <tr><td></td><td>11.562</td><td>BB</td><td>0.8920</td><td>131.4</td><td>8.1</td><td>0.1637</td></tr> <tr><td></td><td>12.261</td><td>BV</td><td>0.6195</td><td>64.8</td><td>3.5</td><td>0.0808</td></tr> <tr><td></td><td>12.986</td><td>VB</td><td>0.8704</td><td>603.9</td><td>29.5</td><td>0.7523</td></tr> <tr><td></td><td>13.687</td><td>BB</td><td>0.4401</td><td>18.6</td><td>1.3</td><td>0.0232</td></tr> <tr><td></td><td>14.632</td><td>BB</td><td>1.2816</td><td>1205.5</td><td>48.8</td><td>1.5017</td></tr> <tr><td></td><td>16.744</td><td>BV</td><td>1.2628</td><td>803.6</td><td>21.9</td><td>1.0011</td></tr> <tr><td></td><td>17.930</td><td>VB</td><td>1.8206</td><td>6287.7</td><td>174.4</td><td>7.8329</td></tr> <tr><td></td><td>20.990</td><td>BV</td><td>1.5371</td><td>227.0</td><td>6.0</td><td>0.2828</td></tr> <tr><td></td><td>21.918</td><td>VV</td><td>1.1917</td><td>80.0</td><td>1.6</td><td>0.0997</td></tr> <tr><td></td><td>23.880</td><td>VB</td><td>3.6945</td><td>368.8</td><td>6.3</td><td>0.4594</td></tr> <tr><td></td><td>27.557</td><td>BV</td><td>1.5643</td><td>58.5</td><td>1.4</td><td>0.0729</td></tr> </tbody> </table>				Name	RT [min]	Type	Width [min]	Area	Height	Area%		4.089	BB	0.9433	5739.1	343.8	7.1496		5.315	BV	1.0460	990.1	32.7	1.2334		5.980	VB	0.7719	648.9	27.5	0.8084		6.797	BB	0.7460	87.8	4.3	0.1094		9.277	BV	2.3003	21377.7	841.8	26.6314		10.588	VB	1.5677	39340.7	1766.1	49.0090		11.562	BB	0.8920	131.4	8.1	0.1637		12.261	BV	0.6195	64.8	3.5	0.0808		12.986	VB	0.8704	603.9	29.5	0.7523		13.687	BB	0.4401	18.6	1.3	0.0232		14.632	BB	1.2816	1205.5	48.8	1.5017		16.744	BV	1.2628	803.6	21.9	1.0011		17.930	VB	1.8206	6287.7	174.4	7.8329		20.990	BV	1.5371	227.0	6.0	0.2828		21.918	VV	1.1917	80.0	1.6	0.0997		23.880	VB	3.6945	368.8	6.3	0.4594		27.557	BV	1.5643	58.5	1.4	0.0729
Name	RT [min]	Type	Width [min]	Area	Height	Area%																																																																																																																											
	4.089	BB	0.9433	5739.1	343.8	7.1496																																																																																																																											
	5.315	BV	1.0460	990.1	32.7	1.2334																																																																																																																											
	5.980	VB	0.7719	648.9	27.5	0.8084																																																																																																																											
	6.797	BB	0.7460	87.8	4.3	0.1094																																																																																																																											
	9.277	BV	2.3003	21377.7	841.8	26.6314																																																																																																																											
	10.588	VB	1.5677	39340.7	1766.1	49.0090																																																																																																																											
	11.562	BB	0.8920	131.4	8.1	0.1637																																																																																																																											
	12.261	BV	0.6195	64.8	3.5	0.0808																																																																																																																											
	12.986	VB	0.8704	603.9	29.5	0.7523																																																																																																																											
	13.687	BB	0.4401	18.6	1.3	0.0232																																																																																																																											
	14.632	BB	1.2816	1205.5	48.8	1.5017																																																																																																																											
	16.744	BV	1.2628	803.6	21.9	1.0011																																																																																																																											
	17.930	VB	1.8206	6287.7	174.4	7.8329																																																																																																																											
	20.990	BV	1.5371	227.0	6.0	0.2828																																																																																																																											
	21.918	VV	1.1917	80.0	1.6	0.0997																																																																																																																											
	23.880	VB	3.6945	368.8	6.3	0.4594																																																																																																																											
	27.557	BV	1.5643	58.5	1.4	0.0729																																																																																																																											
目标物保留时间	9.277 min	面积归一化含量 (222nm, %)	26.6314																																																																																																																														
实验要求																																																																																																																																	
提纯得到的目标杂质为 RT9.277min 处的杂质 L，纯度 99.5%																																																																																																																																	
试剂信息																																																																																																																																	
试剂名称	级别		供应商																																																																																																																														
甲醇	色谱级		月旭																																																																																																																														
冰乙酸	分析级		阿拉丁																																																																																																																														
三乙胺	分析级		麦克林																																																																																																																														
氨水	分析级		阿拉丁																																																																																																																														
仪器信息																																																																																																																																	
仪器名称	仪器型号		仪器厂家																																																																																																																														
月旭 Wisys5000	高效液相色谱仪		月旭																																																																																																																														

图 1 客户图谱



1. 试验过程

1.1. 方法重现

流动相配置：

流动相：量筒分别量取 500mL 甲醇和水加入试剂瓶，加入 1mL 冰醋酸和三乙胺，混匀后抽滤至试剂瓶，超声脱气后待用。

样品配置：

杂质 L 料液：直接吸取样品过滤至进样小瓶。

杂质 L 对照液：直接进样。

色谱柱	Ultimate ODS-3, 4.6×250mm,5μm		
流动相 A	甲醇：水：冰醋酸：三乙胺=500：500：1：1		
流动相 B	色谱级甲醇		
流速	0.9 mL/min		
进样量	1μl		
柱温	30℃		
检测波长	222nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	100	0
	25	100	0
	25.01	0	100
	40	0	100
	40.01	100	0
	50	100	0

分析图谱如图 2, 3 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 7 页

邮编：201600

邮编：321000

邮编：211500



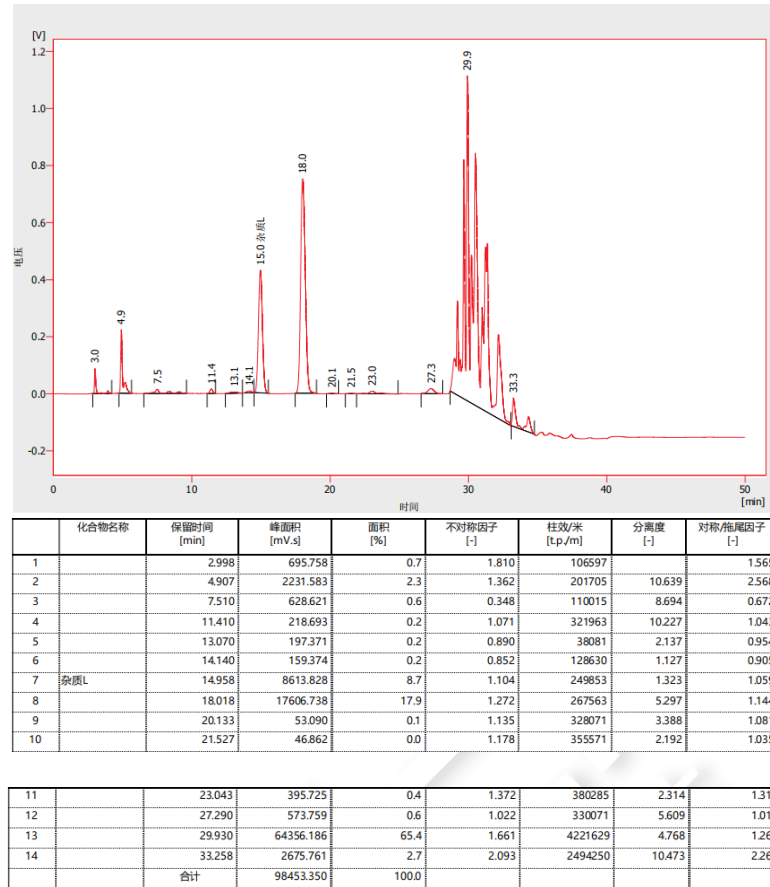


图 2 料液-方法重现图谱

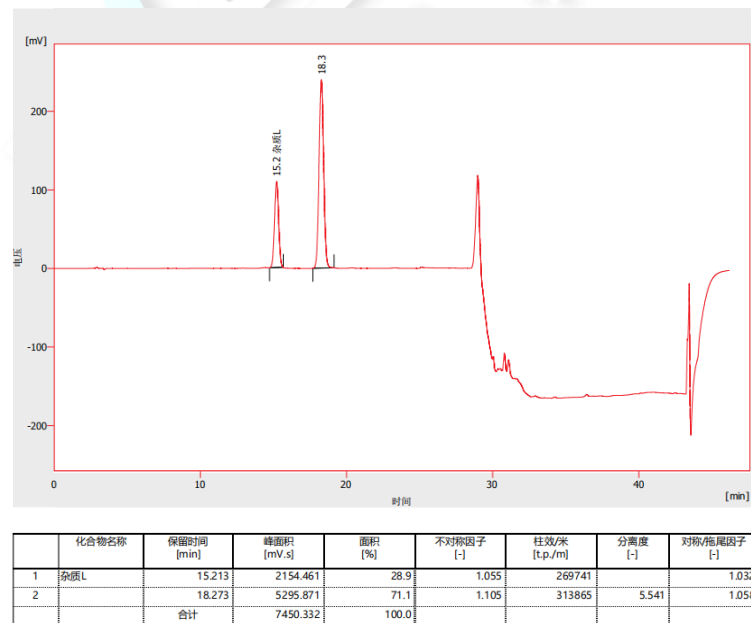


图 2 对照液-方法重现图谱

结论：通过与图 1 和对照液进行比较，可以确定保留时间 14.958min 处色谱峰为目标物，主要杂质保留时间为 18.018min。



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	月旭 Wisys5000		
色谱柱	Ultimate ODS-3, 4.6×250mm,5μm		
流动相 A	水：冰醋酸=500：1（氨水调节 pH=5.5）		
流动相 B	色谱级甲醇		
流速	0.9mL/min		
进样量	1μl		
柱温	/		
检测波长	222nm		
洗脱程序	时间（min）	流动相 A（%）	流动相 B（%）
	0	60	40
	35	60	40
	35.01	0	100
	45	0	100
	45.01	60	40
	55	60	40

分析图谱如图 4，5 所示：



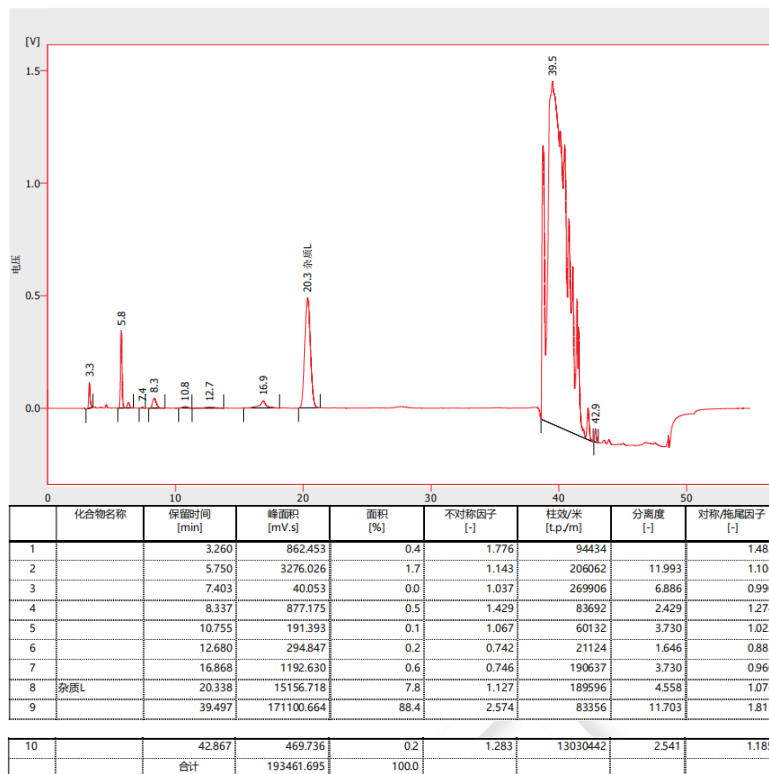


图 4 料液-方法开发图谱

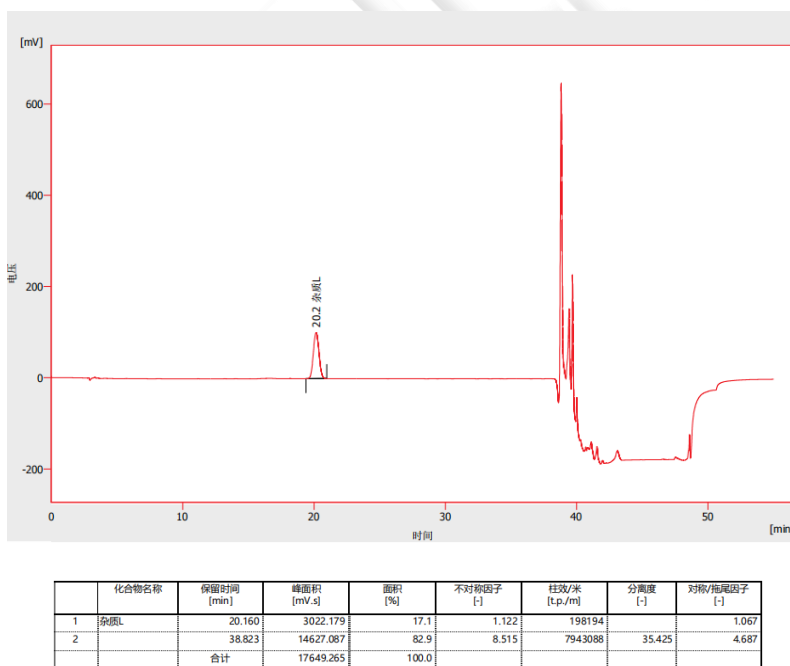


图 5 对照液-方法开发图谱

结论：根据与图 2 及对照液比对，参考色谱峰面积比可确定 RT20.338min 处为目标物，杂质在高比例有机相冲洗时 RT38.8min 出峰。

1.2.2. 样品制备

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



取 1.1 项下的进样小瓶，制备液相条件如下所示：

仪器	月旭 Wisys5000		
色谱柱	Ultimate ODS-3, 4.6×250mm,5μm		
流动相 A	水：冰醋酸=500：1（氨水调节 pH=5.5）		
流动相 B	色谱级甲醇		
流速	0.9mL/min		
进样量	40μl		
柱温	/		
检测波长	222nm		
梯度洗脱程序	时间（min）	流动相 A（%）	流动相 B（%）
	0	60	40
	28	60	40
	28.01	0	100
	40	0	100
	40.01	60	40
	50	60	40

制备图谱如图 7 所示：

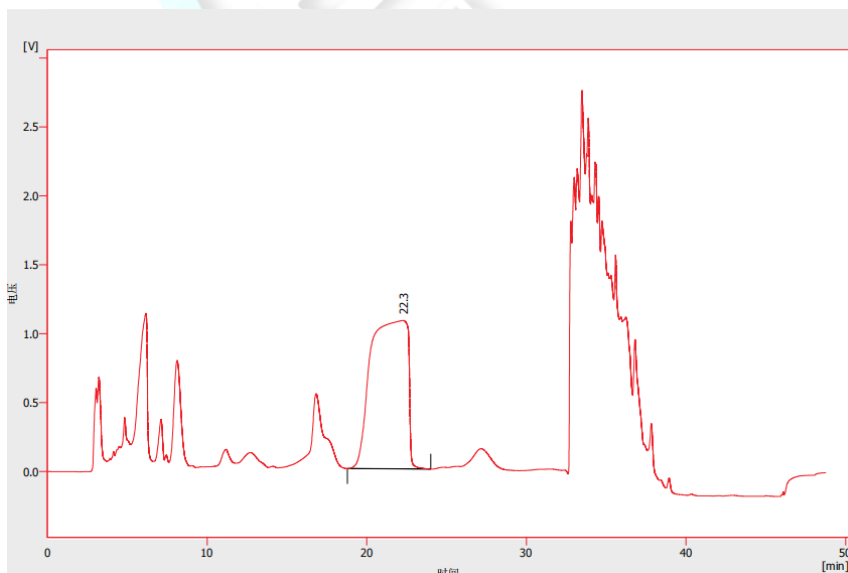


图 7 制备图谱

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 1.1”一致，分析图谱如下图所示：



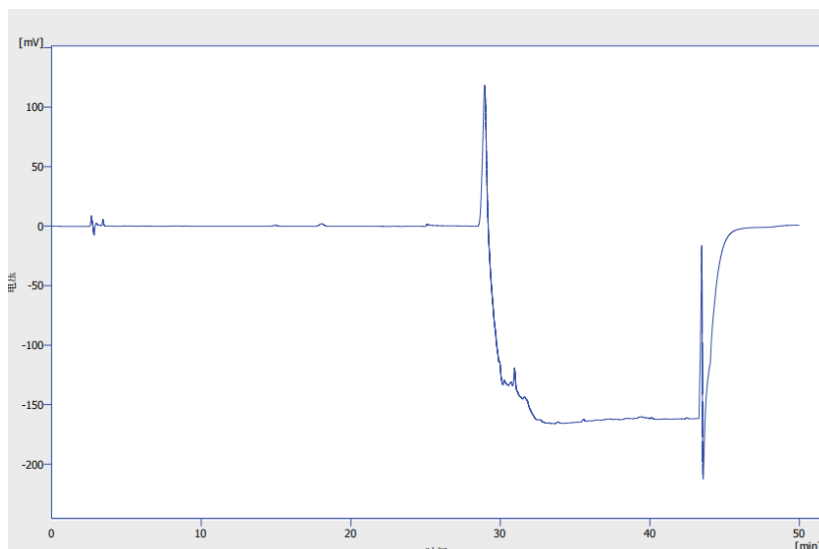
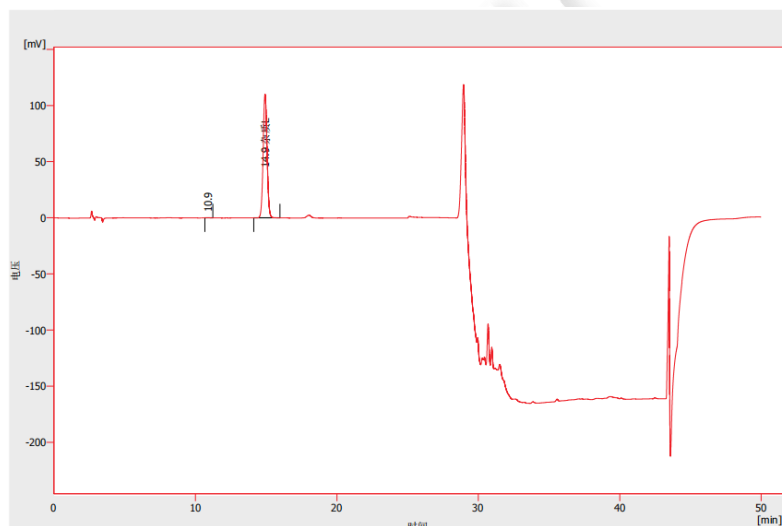


图 8 馏分液空白溶剂分析图谱



	化合物名称	保留时间 [min]	峰面积 [mV.s]	面积 [%]	不对称因子 [-]	柱效/米 [t.p./m]	分离度 [-]	对称/拖尾因子 [-]
1		10.900	3.772	0.2	1.031	238373		1.066
2	杂质L	14.925	2167.481	99.8	1.067	265319	8.795	1.037
	合计		2171.253	100.0				

图 9 馏分液分析图谱

结论：由图可见馏分液面积归一化含量为 99.8%（222nm），大于 99.5%，纯度符合客户要求。

2. 结论

使用月旭 Ultimate® ODS-3, 5 μ m 在此色谱条件下，制备结果面积归一化含量为 99.8%（222nm），大于 99.5%，纯度符合客户要求。

日期：2023/05/24

