

分离纯化报告

样品信息			
样品名称	HH-2 (20220803-3)	项目编号	20230928-936
样品性状	白色粉末	样品重量	/
收样日期	2023/10/07	测试期间	2023/10/13~2023/10/31
目标物信息			
图 1 客户分析谱图			
目标物保留时间	/	面积归一化含量 (254nm, %)	/
实验要求			
杂质制备，大于 0.1%的杂质均需要收集			
试剂信息			
试剂名称	级别	供应商	
二甲亚砜	AR	麦克林	
甲酸	AR	西亚试剂	
甲醇	HPLC	月旭科技	
水	二级	月旭科技	
仪器信息			
仪器名称	仪器型号	仪器厂家	
高效液相色谱仪	赛默飞 Vanquish Horizon	赛默飞	
制备液相色谱仪	月旭 Sail 1000	月旭	



1. 试验过程

1.1. 方法重现

流动相配置：

流动相 A：纯水过滤超声脱气后待用。

流动相 B：量筒量取 500mL 纯甲醇至试剂瓶。加入 2.5mL 甲酸，混匀过滤超声脱气后待用。

样品配置：

样品溶液：取本品约 50mg，置于 10mL 量瓶中，加二甲亚砜 2mL 溶解，用甲醇稀释至刻度，制成每 1mL 中约含 5mg 的溶液，取部分过滤至进样小瓶。

按照以下色谱分析方法进行分析：

仪器	赛默飞 Vanquish Horizon		
色谱柱	Xtimate C18 (4.6×250mm,5μm)		
流动相 A	纯水		
流动相 B	色谱级甲醇(含 0.5%甲酸)		
流速	1mL/min		
进样量	10μl		
柱温	/		
检测波长	254nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	20	80
	10	10	90
	20	10	90
	25	5	95
	40	5	95
	41	20	80
	50	20	80

分析图谱如图 2 所示：



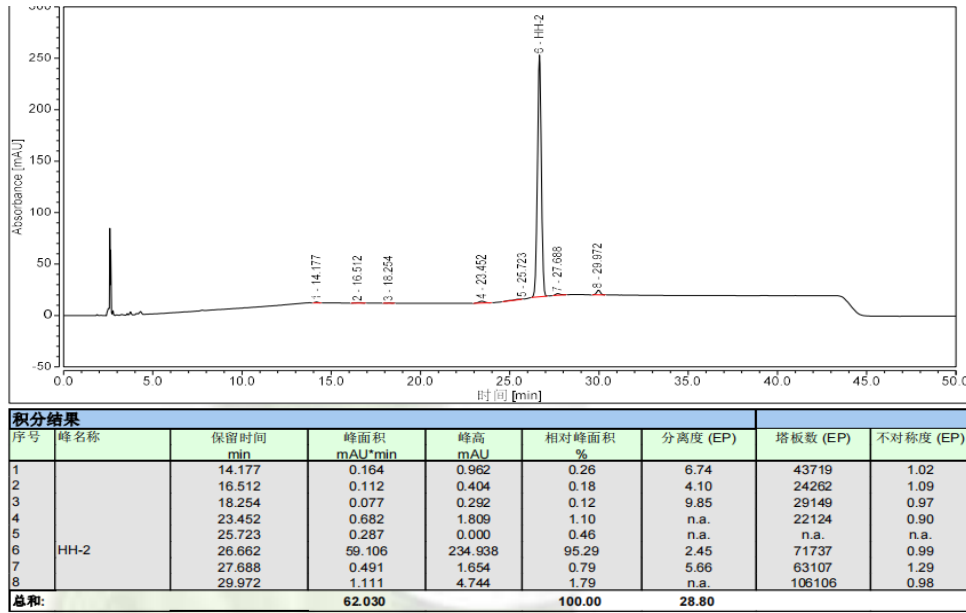


图 2 方法重现图谱

结论：通过与图 1 进行比较，可以确定需要收集的杂质分布情况。

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：

色谱柱	Xtimate C18(4.6×250mm,5μm)
流动相	色谱级甲醇(含 0.5%甲酸和 5%DMSO)
流速	0.5mL/min
进样量	10μl
柱温	/
检测波长	254nm
运行时间	20min

分析图谱如图 3 所示



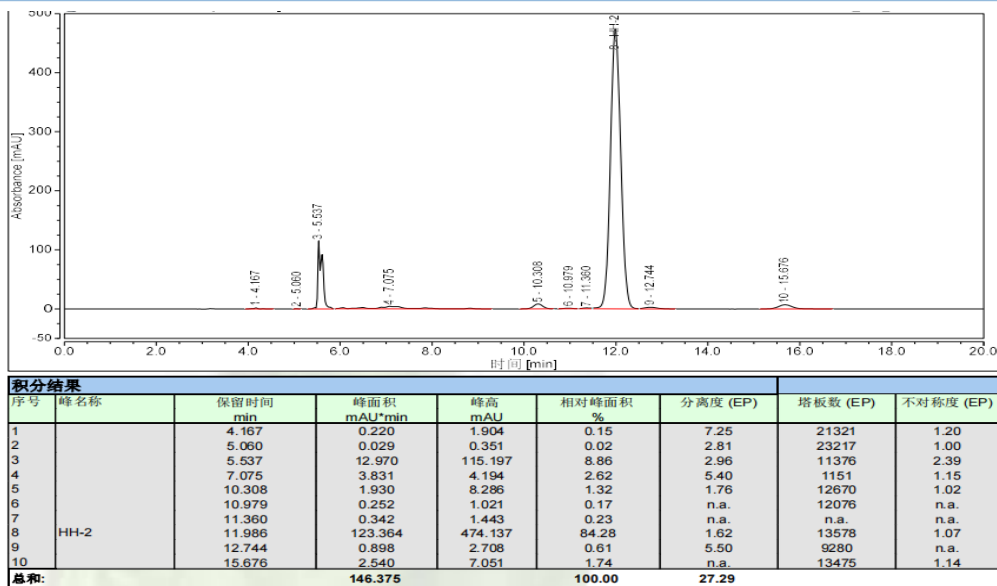


图 3 方法开发图谱

1.2.2. 样品制备

仪器	月旭 Sail 1000
色谱柱	Xtimate C18 (30×250mm,5μm)
流动相	制备级甲醇(含 0.5%甲酸和 5%DMSO)
流速	35mL/min
进样量	1ml
柱温	/
检测波长	254nm
运行时间	20min

制备图谱如下图 4 所示:

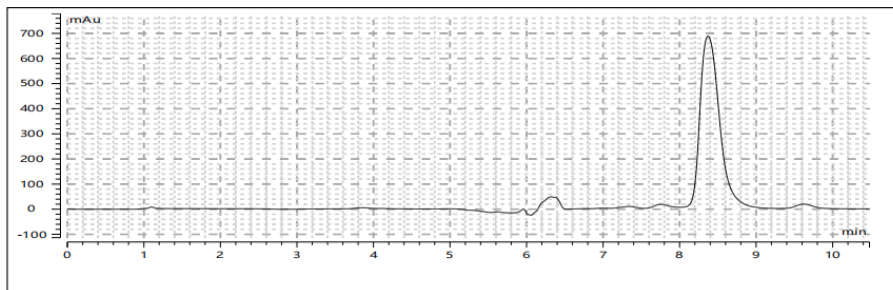


图 4 样品制备图谱

1.2.3. 馏分分析

将 1.2.1 中收集到的馏分浓缩后进行液相色谱分析，具体分析条件同“步骤 1.1”一致。分析图谱如下



图所示：

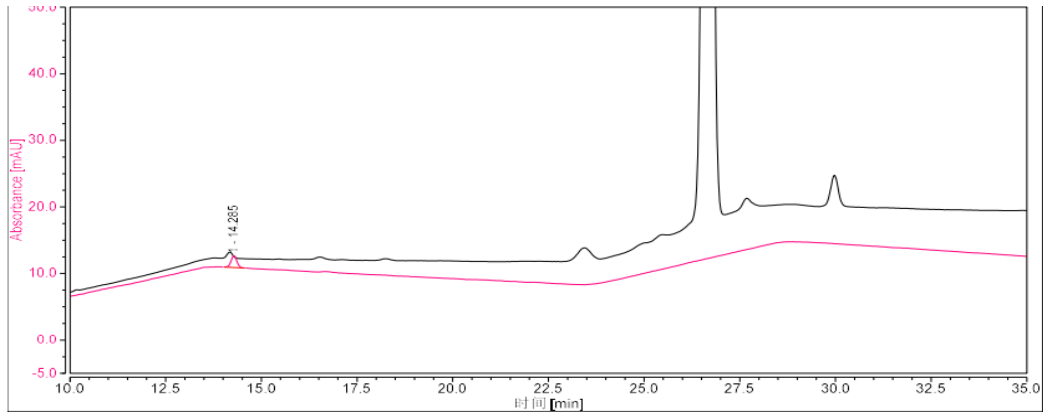
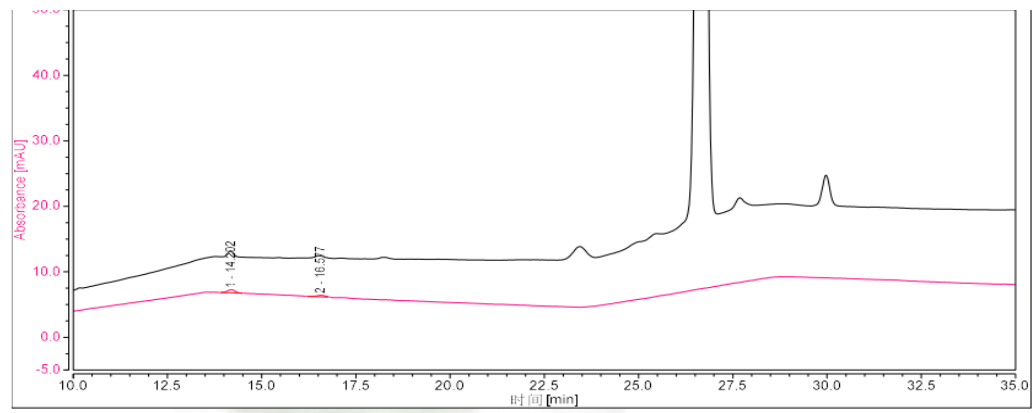
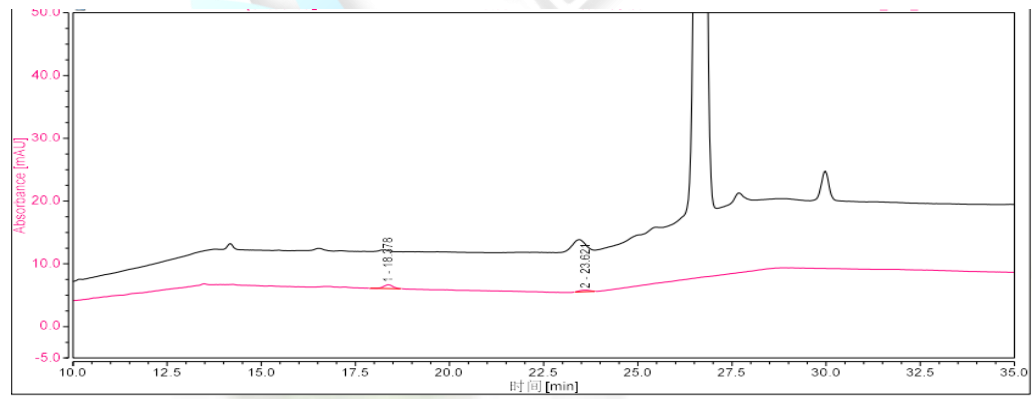


图 5 RT6.0-6.4min 馏分分析图



积分结果								
序号	峰名称	保留时间 min	峰面积 mAU*min	峰高 mAU	相对峰面积 %	分离度 (EP)	塔板数 (EP)	不对称度 (EP)
1		14.202	0.106	0.487	65.81	6.33	25991	0.94
2		16.577	0.055	0.240	34.19	n.a.	27449	0.94
总和:			0.160		100.00	6.33		

图 6 RT6.4-6.9min 馏分分析图



积分结果								
序号	峰名称	保留时间 min	峰面积 mAU*min	峰高 mAU	相对峰面积 %	分离度 (EP)	塔板数 (EP)	不对称度 (EP)
1		18.378	0.175	0.610	69.40	10.94	25770	0.98
2		23.621	0.077	0.259	30.60	n.a.	35273	0.85
总和:			0.252		100.00	10.94		

图 7 RT6.9-7.5min 馏分分析图

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



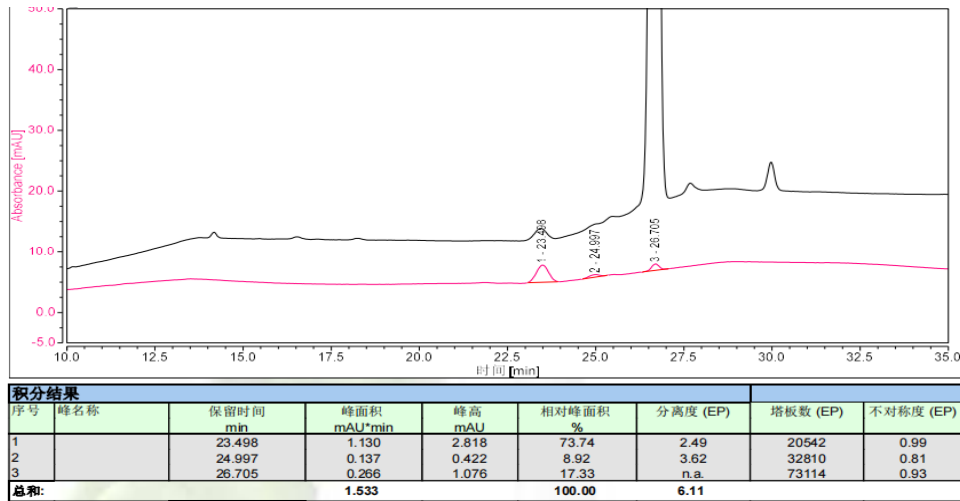


图 8 RT7.5-8.0min 馏分分析图

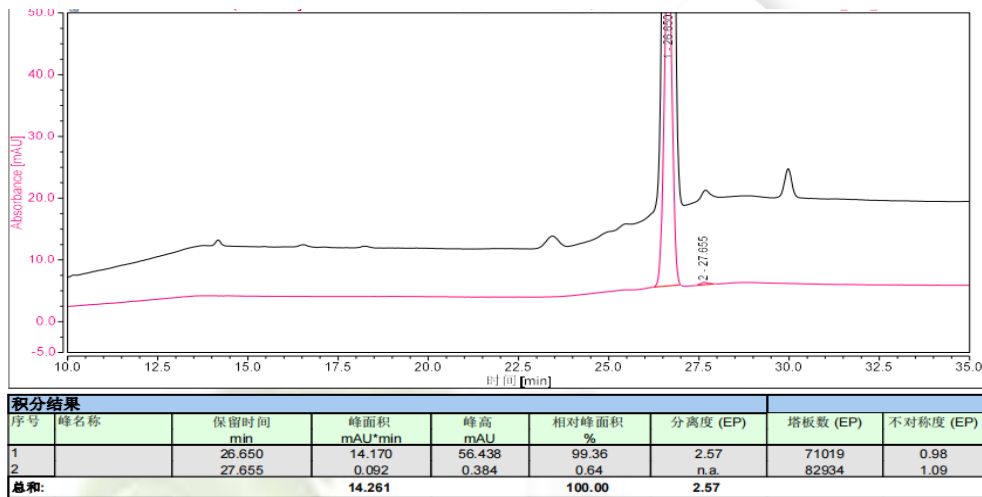


图 9 RT8.4min 馏分分析图

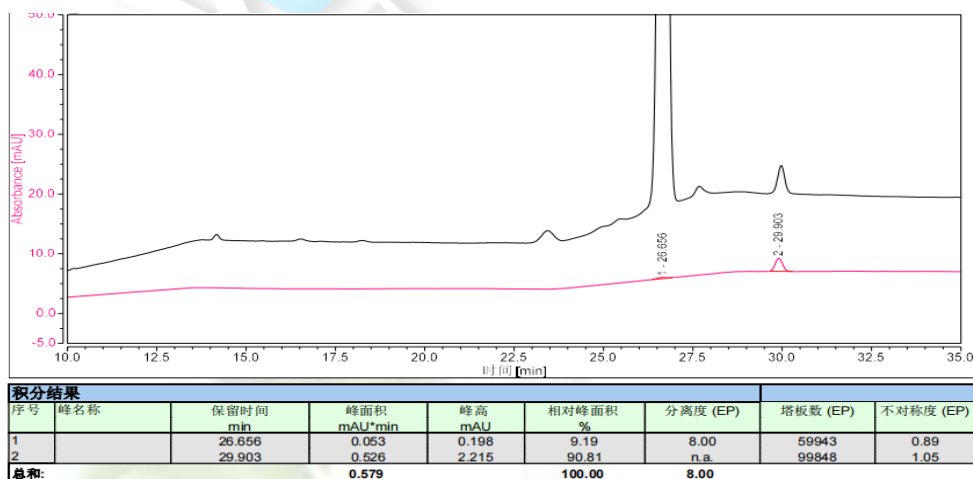


图 10 RT9.6min 馏分分析图

结论：由图可见制备液中 HH-2 与峰后 RT27min 杂质分离不开，个别杂质之间包裹出峰，可开发方法进行二分。

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



2. 结论

使用月旭 Xtimate C18 在此色谱条件下进行制备，杂质能够分离，制备结果满足客户要求。

报告人：Queena

审核人：Jim

日期：2023/11/07

