

分离纯化报告

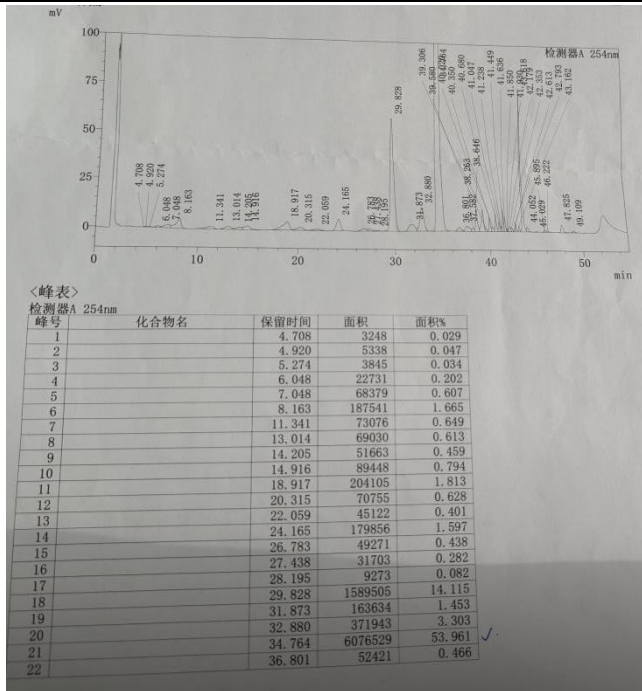
样品信息																																																																																																																						
样品名称	JX-37	项目编号	20231115-1075																																																																																																																			
样品性状	暗红色粉末	样品重量	/																																																																																																																			
收样日期	2023/11/20	测试期间	2023/11/10~2023/12/27																																																																																																																			
目标物信息																																																																																																																						
 <table border="1"> <caption><峰表> 检测器A 254nm</caption> <thead> <tr> <th>峰号</th> <th>化合物名</th> <th>保留时间</th> <th>面积</th> <th>面积%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>1</td><td></td><td>4.708</td><td>3248</td><td>0.029</td></tr> <tr><td>2</td><td></td><td>4.920</td><td>5338</td><td>0.047</td></tr> <tr><td>3</td><td></td><td>5.274</td><td>3845</td><td>0.034</td></tr> <tr><td>4</td><td></td><td>6.048</td><td>22731</td><td>0.202</td></tr> <tr><td>5</td><td></td><td>7.048</td><td>68379</td><td>0.607</td></tr> <tr><td>6</td><td></td><td>8.163</td><td>187541</td><td>1.665</td></tr> <tr><td>7</td><td></td><td>11.341</td><td>73076</td><td>0.649</td></tr> <tr><td>8</td><td></td><td>13.014</td><td>69030</td><td>0.613</td></tr> <tr><td>9</td><td></td><td>14.205</td><td>51663</td><td>0.459</td></tr> <tr><td>10</td><td></td><td>14.916</td><td>89448</td><td>0.794</td></tr> <tr><td>11</td><td></td><td>18.917</td><td>204105</td><td>1.813</td></tr> <tr><td>12</td><td></td><td>20.315</td><td>70755</td><td>0.628</td></tr> <tr><td>13</td><td></td><td>22.059</td><td>45122</td><td>0.401</td></tr> <tr><td>14</td><td></td><td>24.165</td><td>179856</td><td>1.597</td></tr> <tr><td>15</td><td></td><td>26.783</td><td>49271</td><td>0.438</td></tr> <tr><td>16</td><td></td><td>27.438</td><td>31703</td><td>0.282</td></tr> <tr><td>17</td><td></td><td>28.195</td><td>9273</td><td>0.082</td></tr> <tr><td>18</td><td></td><td>29.828</td><td>1589506</td><td>14.115</td></tr> <tr><td>19</td><td></td><td>31.873</td><td>163634</td><td>1.453</td></tr> <tr><td>20</td><td></td><td>32.880</td><td>371943</td><td>3.303</td></tr> <tr><td>21</td><td></td><td>34.764</td><td>6076529</td><td>53.961</td></tr> <tr><td>22</td><td></td><td>36.801</td><td>52421</td><td>0.466</td></tr> </tbody> </table>				峰号	化合物名	保留时间	面积	面积%	1		4.708	3248	0.029	2		4.920	5338	0.047	3		5.274	3845	0.034	4		6.048	22731	0.202	5		7.048	68379	0.607	6		8.163	187541	1.665	7		11.341	73076	0.649	8		13.014	69030	0.613	9		14.205	51663	0.459	10		14.916	89448	0.794	11		18.917	204105	1.813	12		20.315	70755	0.628	13		22.059	45122	0.401	14		24.165	179856	1.597	15		26.783	49271	0.438	16		27.438	31703	0.282	17		28.195	9273	0.082	18		29.828	1589506	14.115	19		31.873	163634	1.453	20		32.880	371943	3.303	21		34.764	6076529	53.961	22		36.801	52421	0.466
峰号	化合物名	保留时间	面积	面积%																																																																																																																		
1		4.708	3248	0.029																																																																																																																		
2		4.920	5338	0.047																																																																																																																		
3		5.274	3845	0.034																																																																																																																		
4		6.048	22731	0.202																																																																																																																		
5		7.048	68379	0.607																																																																																																																		
6		8.163	187541	1.665																																																																																																																		
7		11.341	73076	0.649																																																																																																																		
8		13.014	69030	0.613																																																																																																																		
9		14.205	51663	0.459																																																																																																																		
10		14.916	89448	0.794																																																																																																																		
11		18.917	204105	1.813																																																																																																																		
12		20.315	70755	0.628																																																																																																																		
13		22.059	45122	0.401																																																																																																																		
14		24.165	179856	1.597																																																																																																																		
15		26.783	49271	0.438																																																																																																																		
16		27.438	31703	0.282																																																																																																																		
17		28.195	9273	0.082																																																																																																																		
18		29.828	1589506	14.115																																																																																																																		
19		31.873	163634	1.453																																																																																																																		
20		32.880	371943	3.303																																																																																																																		
21		34.764	6076529	53.961																																																																																																																		
22		36.801	52421	0.466																																																																																																																		
目标物保留时间	34.764min	面积归一化含量 (254nm, %)	53.96%																																																																																																																			
实验要求																																																																																																																						
产物纯度：95%以上，原料≤0.1%，其他杂质≤1% 筛选合适填料和溶剂成本粗略计算（计算消耗溶剂体积）																																																																																																																						
试剂信息																																																																																																																						
试剂名称	级别	供应商																																																																																																																				
三乙胺	AR	麦克林																																																																																																																				
磷酸	AR	麦克林																																																																																																																				
碳酸氢铵	AR	麦克林																																																																																																																				
氨水	AR	阿拉丁																																																																																																																				
甲醇	HPLC	月旭科技																																																																																																																				

图 1 客户分析谱图



乙腈	HPLC	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	岛津 LC-20AD	岛津
制备型高效液相色谱仪	月旭 WelPrep	月旭科技

1. 试验过程

1.1. 方法重现

流动相 A：2mL 三乙胺溶于 1000mL 水，磷酸调至 pH=2.32，过滤超声待用

流动相 B：纯甲醇过滤超声待用即可

样品配置：2mg/mL 溶于 50%乙腈水

按照以下色谱分析方法进行分析：

仪器	岛津 LC-20AD		
色谱柱	Xtimate C18 (4.6×150mm,5μm)		
流动相 A	0.2%三乙胺 (pH2.32)		
流动相 B	色谱级甲醇		
流速	1mL/min		
进样量	10μl		
柱温	30℃		
检测波长	254nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	45	55
	10	45	55
	35	30	70
	40	10	90
	45	10	90
	46	45	55
	50	45	55

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

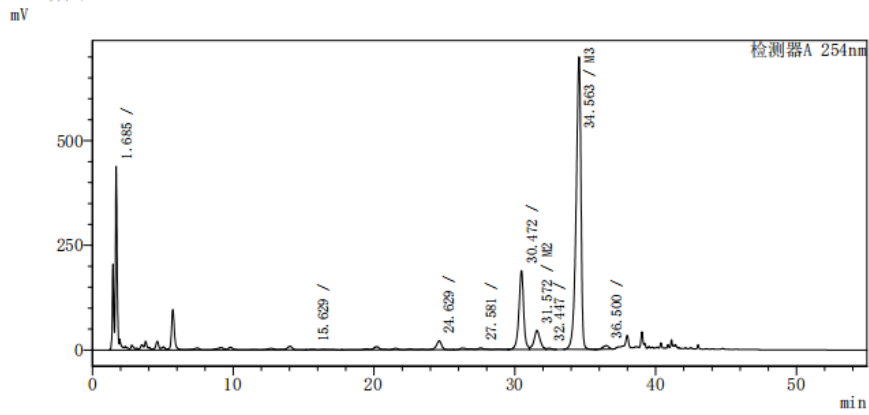
第 2 页 共 9 页

邮编：201600

邮编：321000

邮编：211500

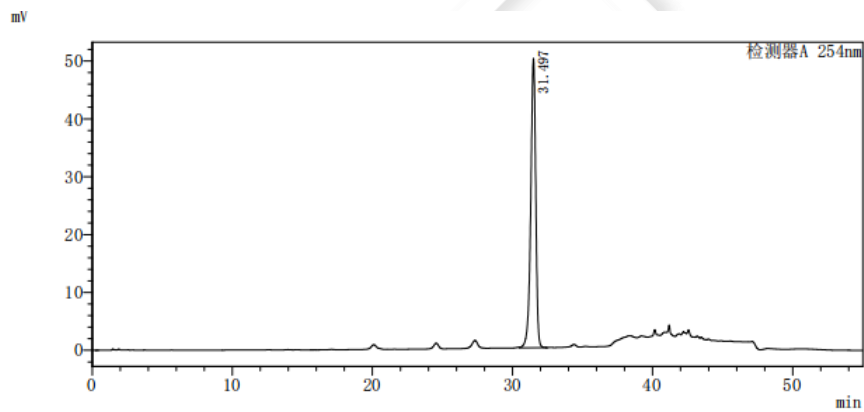




<峰表>

峰号	化合物名	保留时间	面积	面积%	理论塔板数(USP)	拖尾因子	分离度(USP)
1		1.685	8716985	26.532	971	0.772	—
2		15.629	99751	0.304	7454	2.699	29.656
3		24.629	1032398	3.142	23307	0.861	13.144
4		27.581	288720	0.879	29456	0.698	4.584
5		30.472	4431784	13.489	42409	0.952	4.682
6	M2	31.572	1347605	4.102	27936	--	1.633
7		32.447	60444	0.184	33863	--	1.199
8	M3	34.563	16632741	50.626	50096	0.795	3.198
9		36.500	243998	0.743	34408	0.871	2.758
总计			32854427	100.000			

图2 粗品-方法重现图谱



<峰表>

峰号	化合物名	保留时间	面积	面积%	理论塔板数(USP)	拖尾因子	分离度(USP)
1	M2	31.497	1236802	100.000	39146	0.879	—
总计			1236802	100.000			

图3 M2-方法重现图谱

结论：通过定位，可以确定 RT31.57min 为原料峰，RT34.6min 为目标产物峰。

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,10μm)
流动相	20mM 碳酸氢铵（氨水调节 pH=10）：乙腈
流速	1mL/min

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

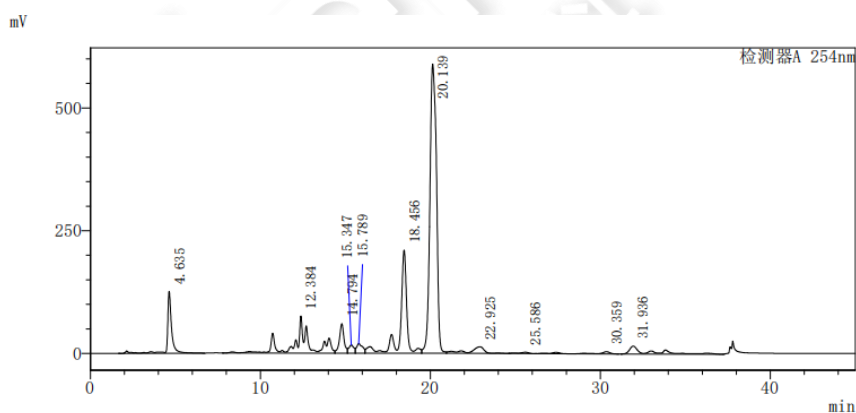
Add:江苏省南京市六合区天圣路 22 号 F 栋 4 楼

Tel:400-810-6969



进样量	10 μ l		
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	70	30
	5	70	30
	10	50	50
	15	45	55
	20	40	60
	30	35	65
	30.01	35	80
	35	30	80
	35.01	70	30
45	70	30	

分析图谱如图 4 所示



<峰表>

峰号	化合物名	保留时间	面积	面积%	理论塔板数(USP)	拖尾因子	分离度(USP)
1		4.635	2180605	6.877	2822	1.866	--
2		12.384	3955209	12.473	27230	1.078	23.872
3	M2	14.794	1119441	3.530	16686	--	6.355
4		15.347	350963	1.107	7716	--	0.956
5		15.789	479862	1.513	6509	--	0.598
6		18.456	5495693	17.332	21760	1.028	4.156
7	M3	20.139	15797106	49.819	14487	1.049	2.878
8		22.925	804179	2.536	8159	--	3.308
9		25.586	105789	0.334	15708	0.732	2.905
10		30.359	324681	1.024	26042	0.639	6.084
11		31.936	1095553	3.455	23857	5.331	1.998
总计			31709079	100.000			

图 4 粗品-方法开发图谱

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

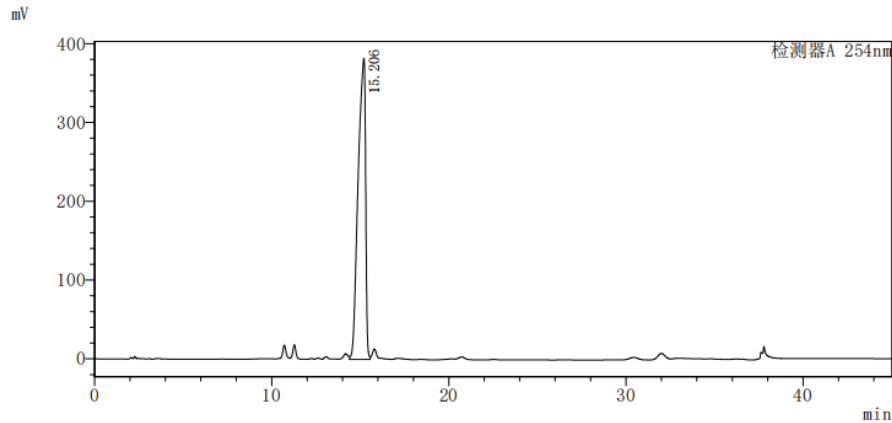
第 4 页 共 9 页

邮编：201600

邮编：321000

邮编：211500

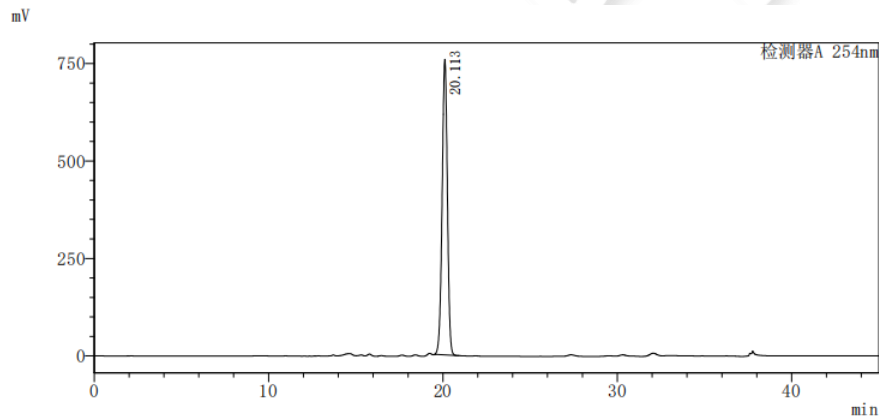




<峰表>

峰号	化合物名	保留时间	面积	面积%	理论塔板数(USP)	拖尾因子	分离度(USP)
1	M2	15.206	11085563	100.000	6099	0.675	--
总计			11085563	100.000			

图 5 M2-方法开发图谱



<峰表>

峰号	化合物名	保留时间	面积	面积%	理论塔板数(USP)	拖尾因子	分离度(USP)
1	M3	20.113	15896882	100.000	20953	0.970	--
总计			15896882	100.000			

图 6 M3-方法开发图谱

结论：通过单标定位，可以确定 RT15.2min 为原料峰，RT20.1min 为目标产物峰。

1.2.2. 样品制备 1

仪器	月旭 WelPrep2000
色谱柱	Xtimate C18(21.2×250mm,10μm)
流动相	20mM 碳酸氢铵（氨水调节 pH=10）：乙腈
流速	20mL/min
进样量	60mg
柱温	/
检测波长	254nm

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



梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	60	40
	37	60	40
	38	10	90
	43	10	90
	44	60	40
	50	60	40

制备图谱如下图 7 所示:

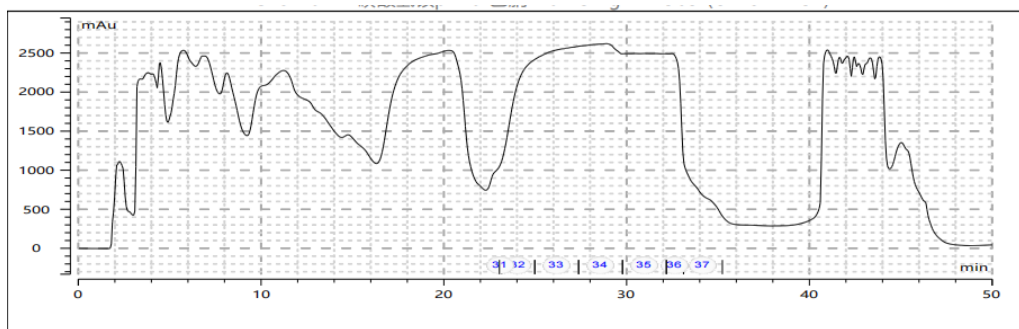


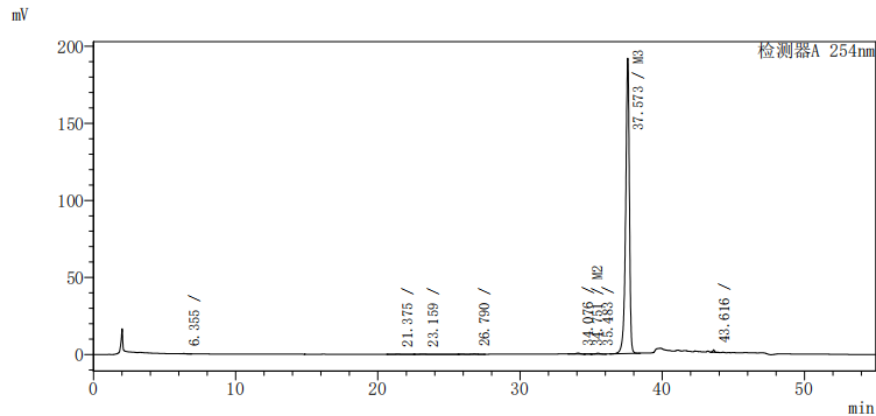
图 7 60mg 样品制备图谱

制备收集 RT24-34min 的目标馏分并检测。

1.2.3. 馏分分析 1

将 1.2.1 中收集到的馏分冻干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：





<峰表>

峰号	化合物名	保留时间	面积	面积%	理论塔板数(USP)	拖尾因子	分离度(USP)
1		6.355	2823	0.080	4078	1.169	--
2		21.375	2283	0.065	18944	2.020	29.472
3		23.159	1304	0.037	25914	0.991	2.982
4		26.790	4606	0.130	38528	0.895	6.476
5		34.076	10321	0.292	76351	0.952	14.020
6	M2	34.751	902	0.026	100356	0.974	1.448
7		35.483	9251	0.262	77580	0.934	1.544
8	M3	37.573	3490944	98.768	103558	0.844	4.282
9		43.616	12041	0.341	683675	0.973	17.825
总计			3534475	100.000			

图 8 馏分分析图

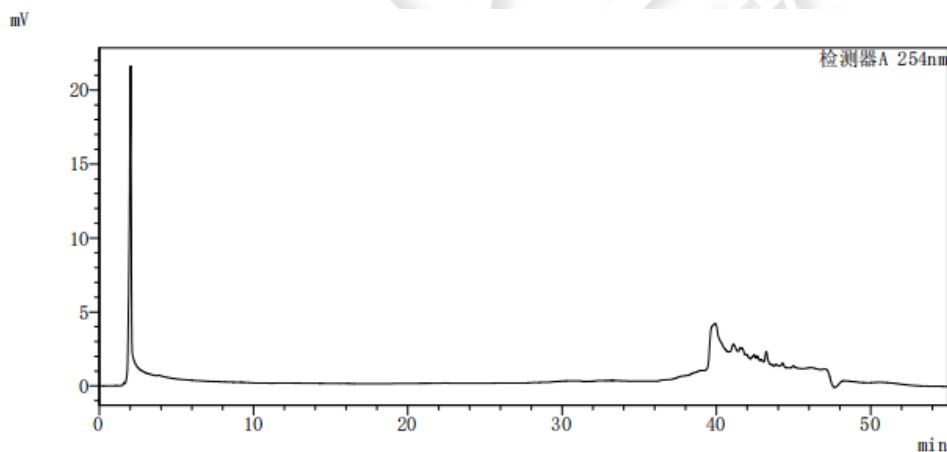


图 9 空白分析图

结论：由图可见，当上样量为填料量的 0.12% 时，制备液中产物纯度为 98.7%，大于 95%，原料含量 0.02%，小于 0.1%，满足客户要求，回收率为 84%。

1.2.4. 样品制备 2

仪器	月旭 WelPrep2000
色谱柱	Xtimate C18(21.2×250mm,10μm)
流动相	20mM 碳酸氢铵（氨水调节 pH=10）：乙腈
流速	5mL/min
进样量	200mg



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	60	40
	37	60	40
	38	10	90
	43	10	90
	44	60	40
	50	60	40

制备图谱如下图 10 所示：

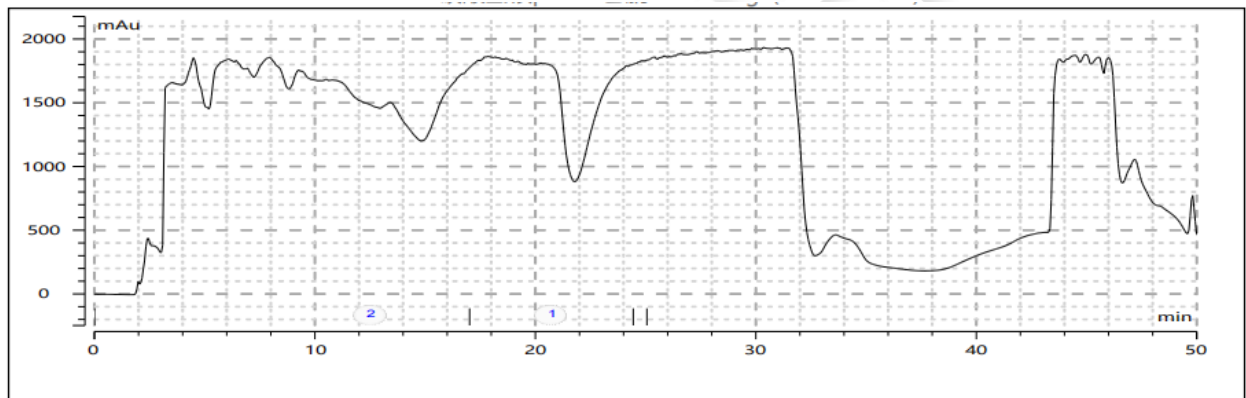


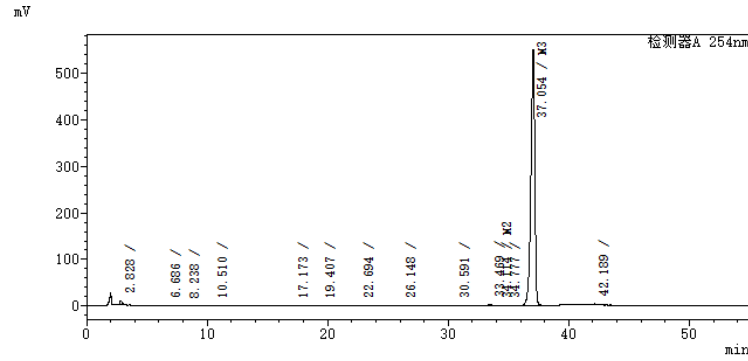
图 10 200mg 样品制备图谱

制备收集 RT26-31min 的目标馏分并检测。

1.2.5. 馏分分析 1

将 1.2.4 中收集到的馏分冻干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：





<峰表>
检测器A 254nm

峰号	化合物名	保留时间	面积	面积%	理论塔板数(USP)	拖尾因子	分离度(USP)
1		2.828	120475	0.949	954	1.499	--
2		6.686	4477	0.035	6078	1.012	10.876
3		8.238	5393	0.043	5039	1.067	3.843
4		10.510	11189	0.088	6459	1.014	4.603
5		17.173	12089	0.095	14571	0.941	12.203
6		19.407	17102	0.135	17422	1.795	3.862
7		22.694	17687	0.139	16271	0.861	5.057
8		26.148	17439	0.137	36175	0.634	5.475
9		30.591	9848	0.078	52170	1.013	8.187
10		33.469	65084	0.513	66984	0.936	5.465
11	M2	34.114	9742	0.077	47778	--	1.130
12		34.777	24060	0.190	67878	--	1.145
13	M3	37.054	12361175	97.420	65217	0.809	4.087
14		42.189	12757	0.101	1091221	1.008	13.843
总计			12688516	100.000			

图 11 馏分分析图

结论：由图可见，当上样量为填料量的 0.42% 时，制备液中产物纯度为 97.4%，大于 95%，原料含量 0.07%，小于 0.1%，满足客户要求，回收率为 62%。

2. 结论

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

报告人：Queena

审核人：Jim

日期：2023/01/03

