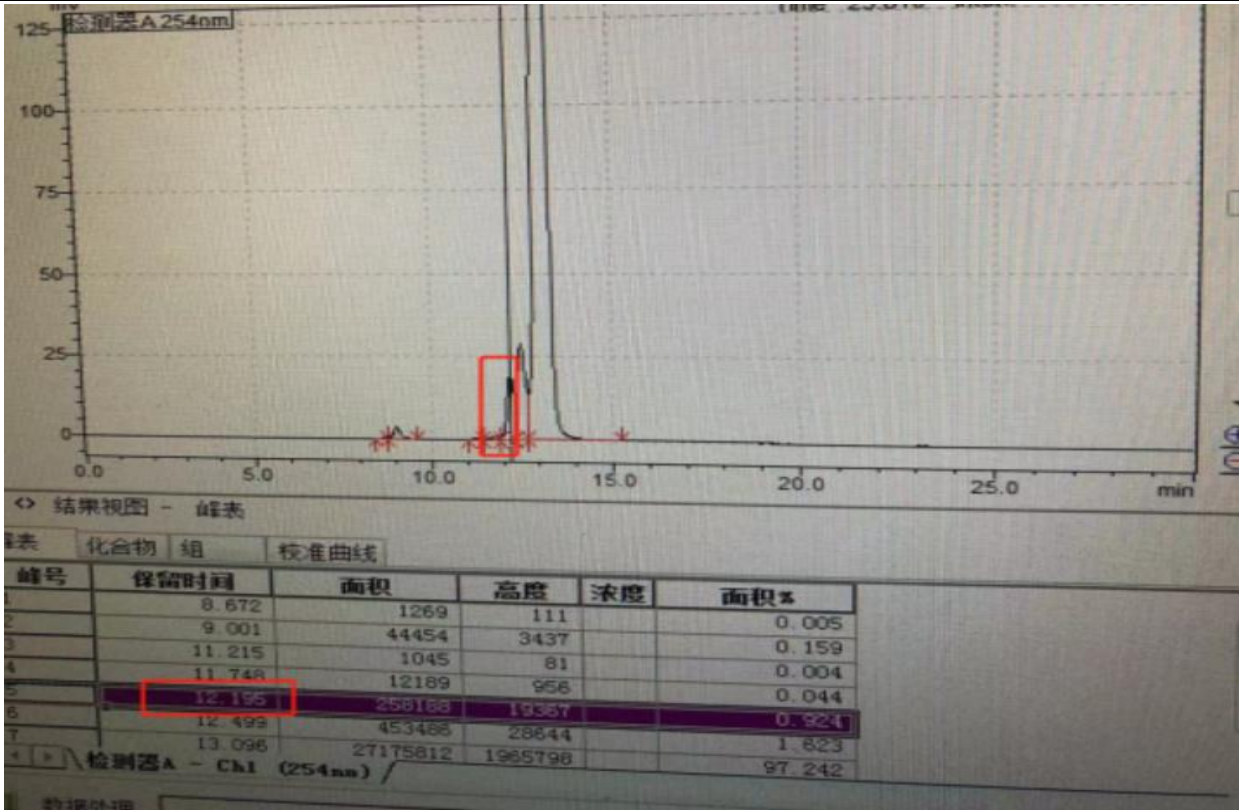


分离纯化报告

样品信息																																																			
样品名称	秋水仙碱	项目编号	20240201-113																																																
样品性状	白色固体粉末	样品重量	1g																																																
收样日期	2023/02/03	测试期间	2024/02/04-2024/03/13																																																
目标物信息																																																			
 <table><thead><tr><th>峰号</th><th>保留时间</th><th>面积</th><th>高度</th><th>浓度</th><th>面积%</th></tr></thead><tbody><tr><td>1</td><td>8.672</td><td>1269</td><td>111</td><td></td><td>0.005</td></tr><tr><td>2</td><td>9.001</td><td>44454</td><td>3437</td><td></td><td>0.159</td></tr><tr><td>3</td><td>11.215</td><td>1045</td><td>81</td><td></td><td>0.004</td></tr><tr><td>4</td><td>11.748</td><td>12189</td><td>956</td><td></td><td>0.044</td></tr><tr><td>5</td><td>12.195</td><td>358188</td><td>19367</td><td></td><td>0.924</td></tr><tr><td>6</td><td>12.499</td><td>453488</td><td>28644</td><td></td><td>1.823</td></tr><tr><td>7</td><td>13.096</td><td>27175812</td><td>1965798</td><td></td><td>97.242</td></tr></tbody></table>				峰号	保留时间	面积	高度	浓度	面积%	1	8.672	1269	111		0.005	2	9.001	44454	3437		0.159	3	11.215	1045	81		0.004	4	11.748	12189	956		0.044	5	12.195	358188	19367		0.924	6	12.499	453488	28644		1.823	7	13.096	27175812	1965798		97.242
峰号	保留时间	面积	高度	浓度	面积%																																														
1	8.672	1269	111		0.005																																														
2	9.001	44454	3437		0.159																																														
3	11.215	1045	81		0.004																																														
4	11.748	12189	956		0.044																																														
5	12.195	358188	19367		0.924																																														
6	12.499	453488	28644		1.823																																														
7	13.096	27175812	1965798		97.242																																														
目标物保留时间	杂质 1: 12.195min	面积归一化含量 (254nm, %)	0.924%																																																
实验要求																																																			
客户需要分离 12.195 分钟的杂质，杂质含量 0.9%，希望筛选合适的填料用于分离该杂质。																																																			
试剂信息																																																			
试剂名称	级别	供应商																																																	
甲醇	色谱级	月旭																																																	
甲醇	制备级	月旭																																																	
纯水	二级	月旭																																																	
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	LC-20AD	岛津
分析型高效液相色谱	Vanquish	赛默飞
制备型高效液相色谱	Sail1000	月旭

1. 试验过程

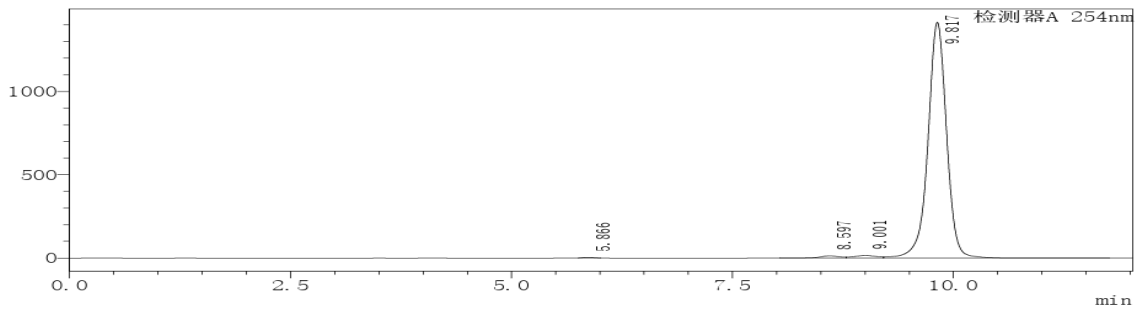
1.1. 方法重现

取样品 12mg，置于 5mL 离心管中，加入 2ml 水溶解，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 4.6×250mm, 5μm		
流动相 A	纯水		
流动相 B	色谱级甲醇		
流速	1ml/min		
进样量	2μl		
柱温	30°C		
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
	30	60	40

分析图谱如图 2 所示：

<色谱图>
mV



<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		5.866	23991	0.113	11404	1.143	--
2		8.597	193045	0.910	7780	--	8.962
3		9.001	264678	1.248	5762	--	0.934
4		9.817	20722656	97.728	10964	0.956	1.922
总计			21204370	100.000			

图 2 方法重现图谱

结论：通过与图 1 进行比较，可以确定 8.597min 为目标物。



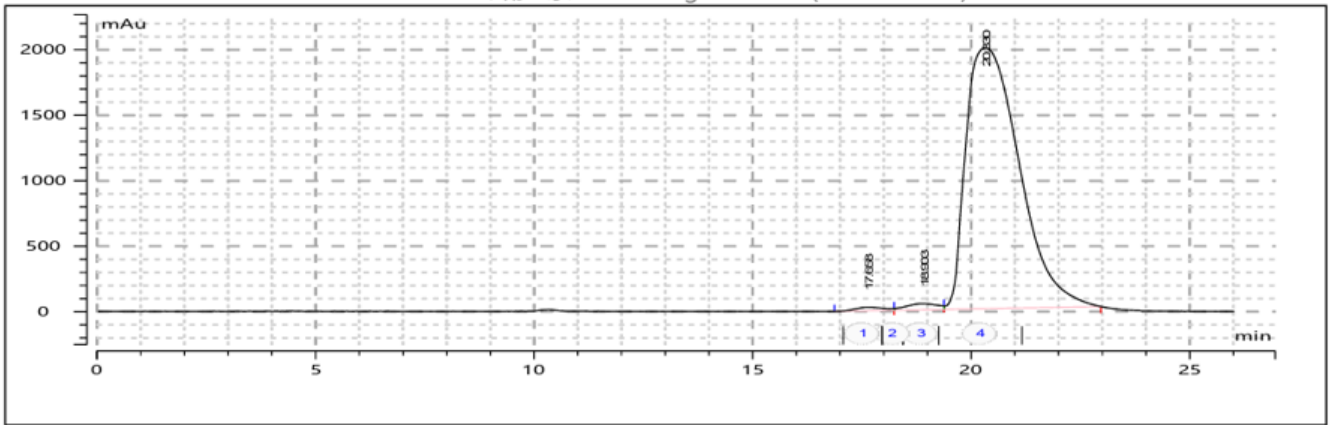
1.2. 分离纯化过程

1.2.1. 样品制备

称取样品 67mg，用 16ml 水溶解，过滤，使其浓度为 4.15mg/ml，制备液相条件如下所示：

仪器	Sail 1000 (100ml)		
色谱柱	Ultimate XB-C18 21.2×250mm, 5μm		
流动相 A	纯水		
流动相 B	制备级甲醇		
流速	20ml/min		
进样量	1mL (4.15mg)		
柱温	室温		
检测波长	254nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	62	38
	40	62	38

制备图谱如图 3 所示：



No	名称	保留时间 (min)	峰面积 (mAu*s)	峰宽 (min)	半峰宽 (min)	峰高 (mAu)	面积百分比 (%)	峰类型	峰纯度	PDA 匹配名称
1	N.A.	17.658	1203.857	1.196	0.760	26.925	0.698	BB*	0	
2	N.A.	18.903	2324.192	1.479	0.210	47.396	1.347	BB*	0	
3	N.A.	20.330	169053.992	2.088	1.344	1992.66 2	97.956	BB*	0	
4	总计									

图 3 粗品制备图



经过制备，将目标杂质馏分分段收集到馏分瓶中待分析。

1.2.2. 杂质分析

将 1.2.1 中冻干的杂质进行液相色谱分析，具体分析条件同“步骤 1.1”一致。分析图谱如图 4 所示：

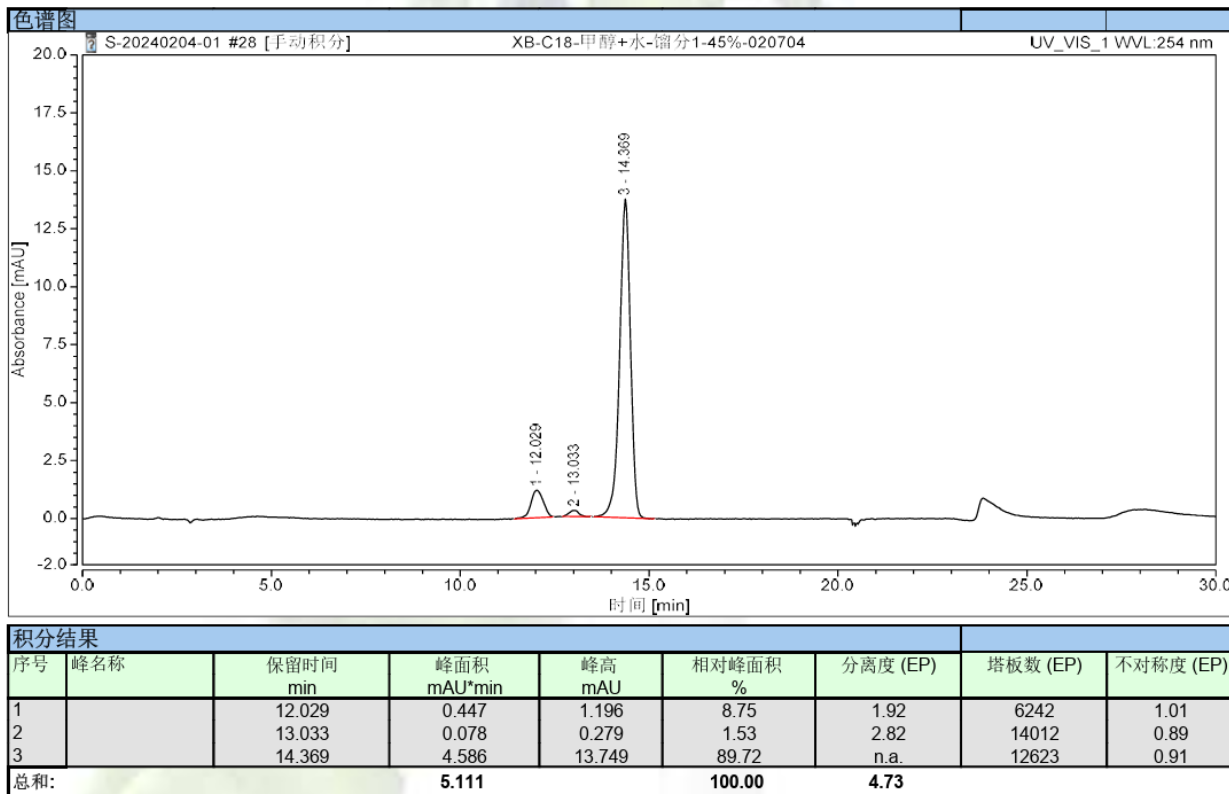


图 4 制备液馏分 1 分析图谱

结论：由图可见，目标杂质峰含量（相对峰面积）从粗品的 0.11% 提高到制备后的 8.75%。

2. 结论

使用月旭 Ultimate® XB-C18, 21.2×250mm, 5µm 在此色谱条件下进行制备，单针上样量为 4.15mg 时，目标杂质峰含量（相对峰面积）从粗品的 0.11% 提高到提纯后的 8.75%，粗品中目标杂质含量太低，无法一次提出，需要二分，后续制备客户自行完成，制备结果满足客户要求。

报告人:Ada

审核人:Jim

日期: 2024/03/13

