

分离纯化报告

样品信息			
样品名称	DFF-240204	项目编号	20240625-598
样品性状	白色粉末	样品重量	1g
收样日期	2024/06/27	测试期间	2024/06/27-2024/07/27

目标物信息

粗品分析图

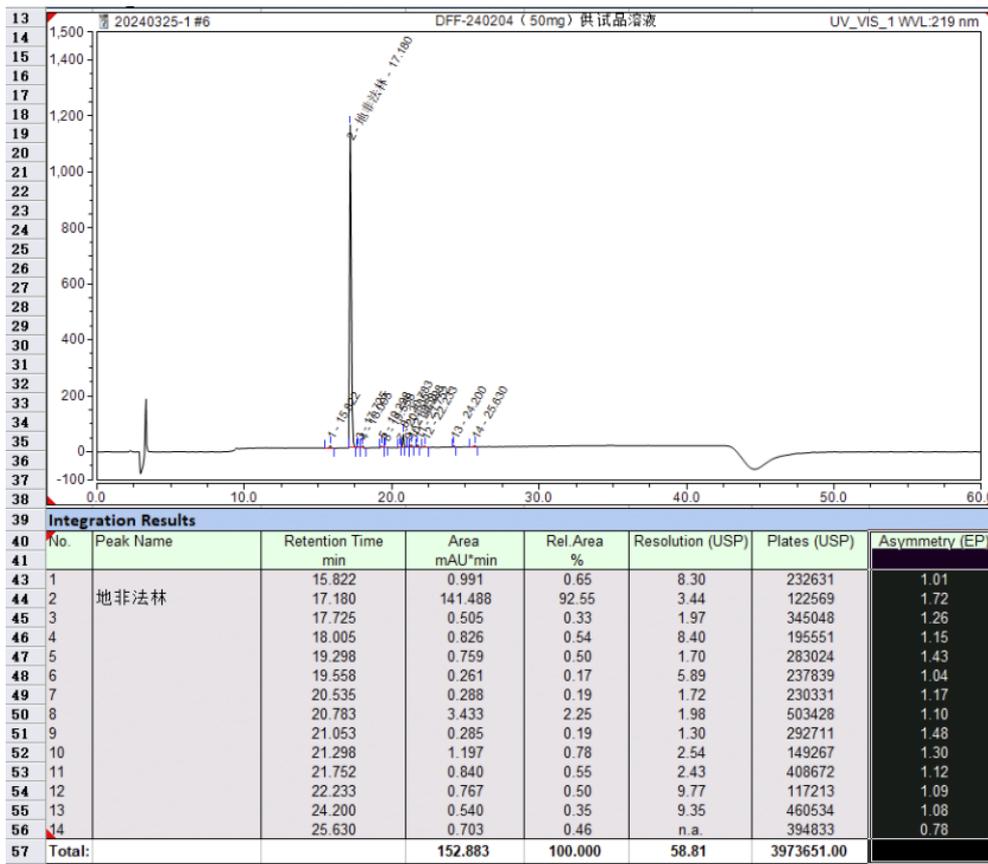


图 1 粗品分析图

目标物保留时间	API: 17.1min	面积归一化含量 (219nm, %)	92.5%
实验要求			
筛选合适的色谱柱，开发制备工艺方法，测试最佳上样量，回收率，要求纯度≥99%，单杂小于 0.5%			
试剂信息			
试剂名称	级别		供应商
TFA	AR		阿拉丁
乙酸铵	AR		阿拉丁



醋酸	AR	阿拉丁
乙腈	色谱级	月旭
乙腈	制备级	月旭
纯水	一级	月旭
仪器信息		
仪器名称	仪器型号	仪器厂家
分析型液相色谱仪	LC-20AD	岛津
制备型液相色谱仪	Sail1000	月旭

## 1. 试验过程

### 1.1. 方法重现

称取样品 11mg，用 5ml 纯水溶解，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 ODS-3 4.6×150mm, 3μm		
流动相 A	0.1%TFA 水		
流动相 B	色谱级乙腈		
流速	1ml/min		
进样量	5μl		
柱温	30°C		
检测波长	219nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	90	10
	5	90	10
	30	50	50
	40	50	50
	41	90	10
60	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 6 页

邮编：201600

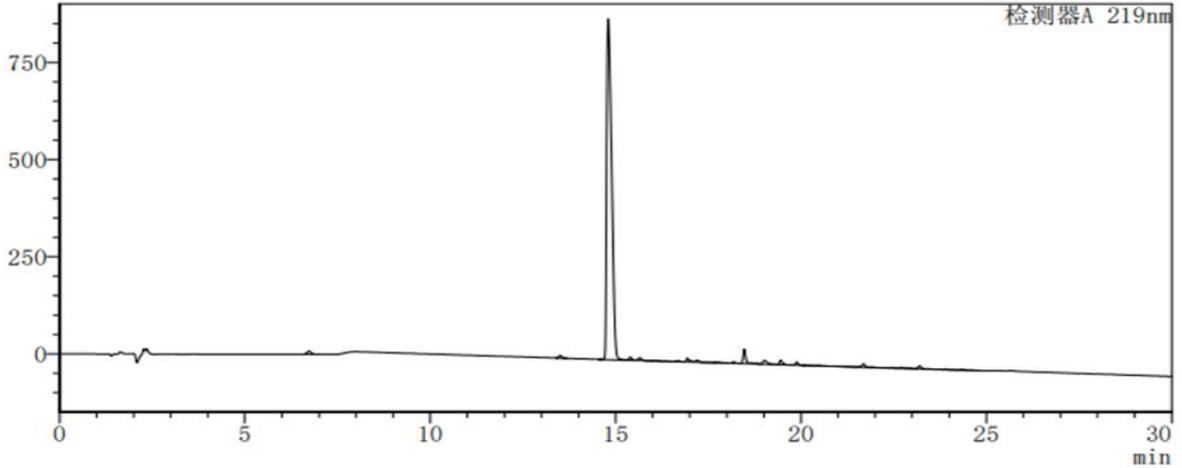
邮编：321000

邮编：211500



<色谱图>

mV



<峰表>

检测器A 219nm

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		6.73	68602	0.75	14521	1.11	—
2		13.50	32307	0.35	159257	1.19	37.8
3		14.80	8164147	89.60	50032	1.82	6.5
4		15.40	91054	1.00	169169	—	2.9
5		16.09	7007	0.08	167683	1.27	4.5
6		16.94	124755	1.37	199913	3.15	5.5
7		18.47	435913	4.78	288123	1.30	10.6
8		21.69	82186	0.90	292786	0.87	21.6
9		23.21	106269	1.17	336144	0.83	9.5
总计			9112240	100.00			

图2 方法重现图谱

结论：通过与图1进行比较，可以确定 14.8min 为目标物。

1.2. 分离纯化过程

1.2.1. 方法开发

取 4.1 项下的进样小瓶进行分析：

色谱柱	Ultimate XB-C18 4.6×250mm, 7μm		
流动相 A	0.5%醋酸水+40mM 乙酸铵		
流动相 B	色谱级乙腈		
流速	1ml/min		
进样量	5μl		
柱温	30°C		
检测波长	219nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	87	13

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

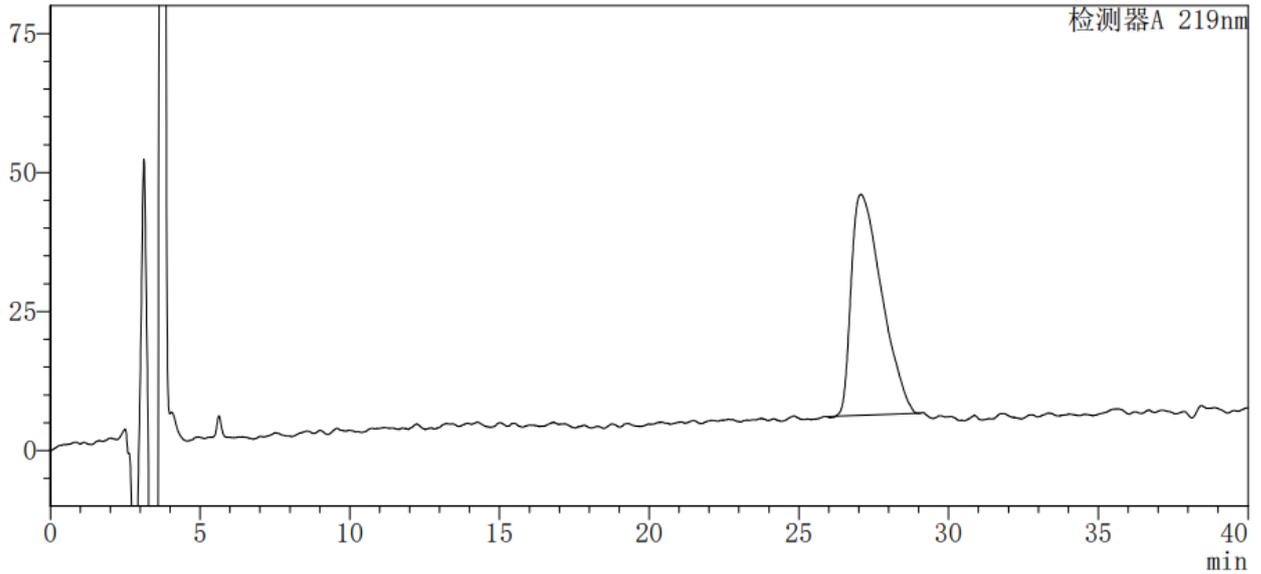


	30	87	13
--	----	----	----

分析图谱如下图 3 所示：

<色谱图>

mV



<峰表>

检测器A 219nm

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		27.07	2816984	100.00	3159	1.78	--
总计			2816984	100.00			

图 3 方法开发图谱

### 1.2.2. 样品制备

称取 80mg 样品，加入 4ml 纯水溶解稀释，过滤，使其浓度为 20mg/ml，制备液相条件如下所示：

仪器	Sail1000
色谱柱	Ultimate XB-C18 10×250mm, 7μm
流动相 A	0.5%醋酸水+40mM 乙酸铵
流动相 B	制备级乙腈
流速	5ml/min
进样量	1.5mL
柱温	室温
检测波长	219nm

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 6 页

邮编：201600

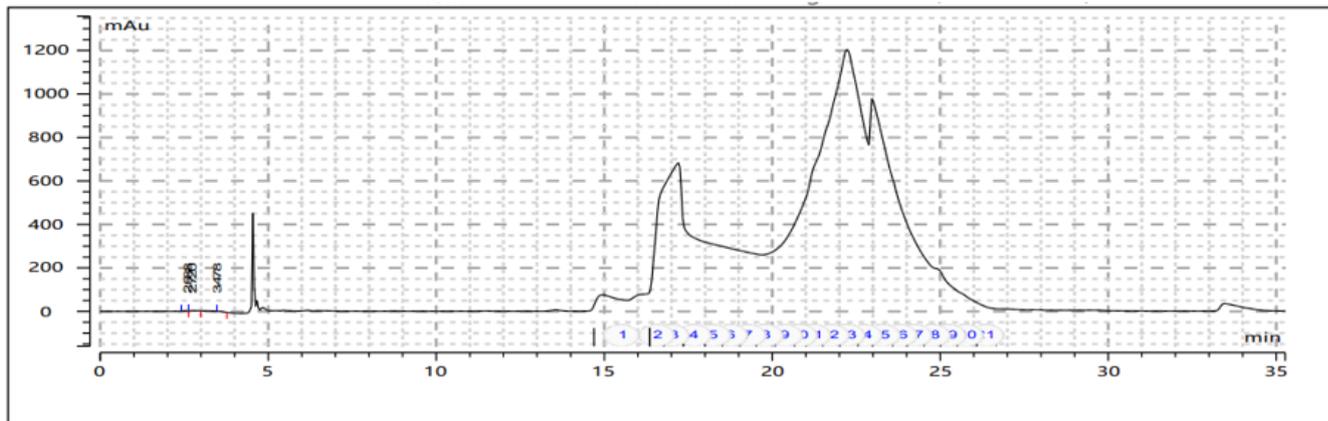
邮编：321000

邮编：211500



梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	91	9
	15	91	9
	18	84	16
	40	84	16

制备图谱如图 4 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.	2.588	5.149	0.194	0.164	0.347	20.752	BB	0	
2	N.A.	2.720	9.427	0.238	0.190	0.865	37.995	BB	0	
3	N.A.	3.478	10.236	0.237	0.263	0.151	41.253	BB	0	
4	总计									

图 4 粗品制备图

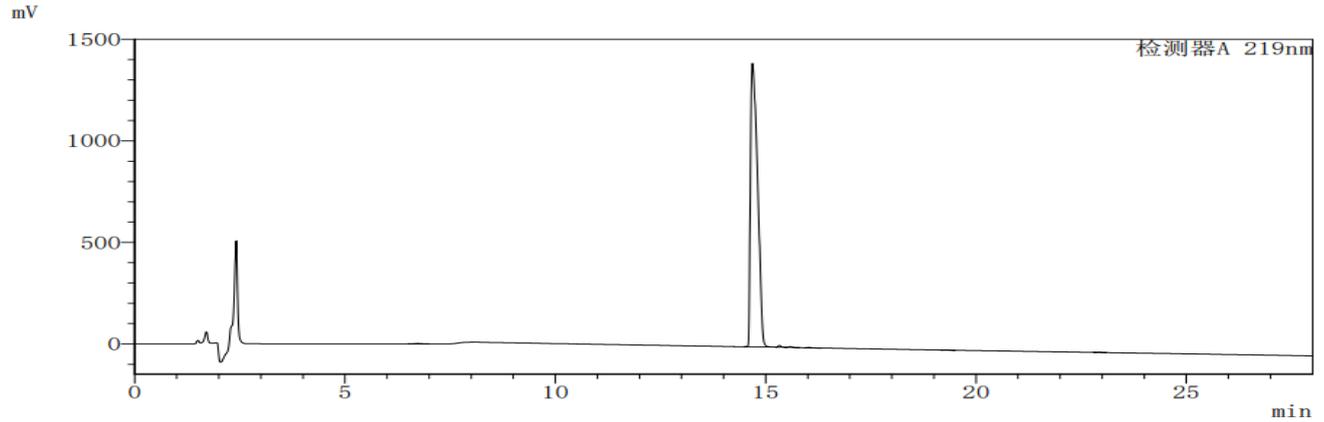
经过制备，将目标馏分段收集到馏分瓶中，待分析纯度合格后，合并测试回收率。

### 1.2.3. 杂质分析

将 1.2.2 中合格馏分液 4-17 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 5 所示：



<色谱图>



<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		6.73	12363	0.07	14378	0.90	--
2		14.69	16409202	99.33	32196	1.97	28.8
3		15.33	42193	0.26	188277	1.25	2.7
4		15.59	25585	0.15	135160	1.08	1.7
5		16.03	15364	0.09	128870	1.44	2.5
6		19.30	6138	0.04	306143	1.25	20.6
7		22.94	9654	0.06	373007	1.14	25.1
总计			16520498	100.00			

图 5 制备液 4-17 分析图谱

结论：由图可见制备液面积归一化含量为 99.33%（219nm），单杂小于 0.5%，纯度符合客户要求。

## 2. 结论

使用月旭 Ultimate® XB-C18, 10×250mm,7μm 在此色谱条件下进行制备，单针上样量为 80mg 时，制备收集到的目标物纯度为 99.33%（219nm），单杂小于 0.5%，按峰面积计算回收率为 81%，制备结果满足客户要求。

报告人:Ada

审核人: Jim

日期: 2024/08/01

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

