

分离纯化报告

| 样品信息 | | | | | | |
|--|--------------|-----------------------|----------------------|-----------|-------|------|
| 样品名称 | 中间体 | 项目编号 | 20240710-641 | | | |
| 样品性状 | 白色粉末 | 样品重量 | / | | | |
| 收样日期 | 2024/07/15 | 测试期间 | 2024/07/15~2024/7/17 | | | |
| 目标物信息 | | | | | | |
|  | | | | | | |
| 峰结果 | | | | | | |
| 保留时间 (分钟) | 面积 (微伏*秒) | % 面积 | 峰高 (微伏) | USP 理论塔板数 | 分高度 | 积分类型 |
| 1 | 5.195 | 10566 | 0.101 | 1815 | 18306 | BB |
| 2 | 6.977 | 13111 | 0.126 | 1893 | 25777 | BB |
| 3 | 8.868 | 15584 | 0.149 | 2002 | 30178 | BV |
| 4 | 9.256 | 52638 | 0.504 | 6786 | 32986 | VB |
| 5 | 13.210 | 10035 | 0.096 | 790 | 37241 | VB |
| 6 | 14.283 | 10090242 | 96.695 | 1090519 | 54651 | BV |
| 7 | 14.998 | 89568 | 0.858 | 9207 | 56441 | VV |
| 目标物保留时间 | 杂质：14.998min | 面积归一化含量 (240nm, %) | 2.9% | | | |
| 实验要求 | | | | | | |
| 制备目标杂质 | | | | | | |
| 试剂信息 | | | | | | |
| 试剂名称 | 级别 | 供应商 | | | | |
| 磷酸 | AR | 麦克林 | | | | |
| 三氟乙酸 | AR | 阿拉丁 | | | | |
| 纯水 | 二级 | 月旭 | | | | |
| 乙腈 | HPLC | 月旭 | | | | |
| 仪器信息 | | | | | | |
| 仪器名称 | 仪器型号 | 仪器厂家 | | | | |
| 分析液相 | Waters e2695 | Waters | | | | |
| 制备液相 | Sail 1000 | 月旭 | | | | |



1. 试验过程

1.1. 方法重现

取 2g 样品，置于 2mL 离心管中，加入 2ml 异丙醇进行溶解，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 ALK C18 (4.6×150mm, 5μm) | | |
| 流动相 A | 0.1%磷酸水 | | |
| 流动相 B | 色谱级乙腈 | | |
| 流速 | 1ml/min | | |
| 进样量 | 10μl | | |
| 柱温 | 35°C | | |
| 检测波长 | 2140nm | | |
| 梯度洗脱程序 | 时间 (min) | 流动相 A (%) | 流动相 B (%) |
| | 0 | 60 | 40 |
| | 23 | 37 | 63 |
| | 30 | 10 | 90 |
| | 32 | 10 | 90 |
| | 33 | 60 | 40 |
| | 40 | 60 | 40 |

分析图谱如图 2 所示：

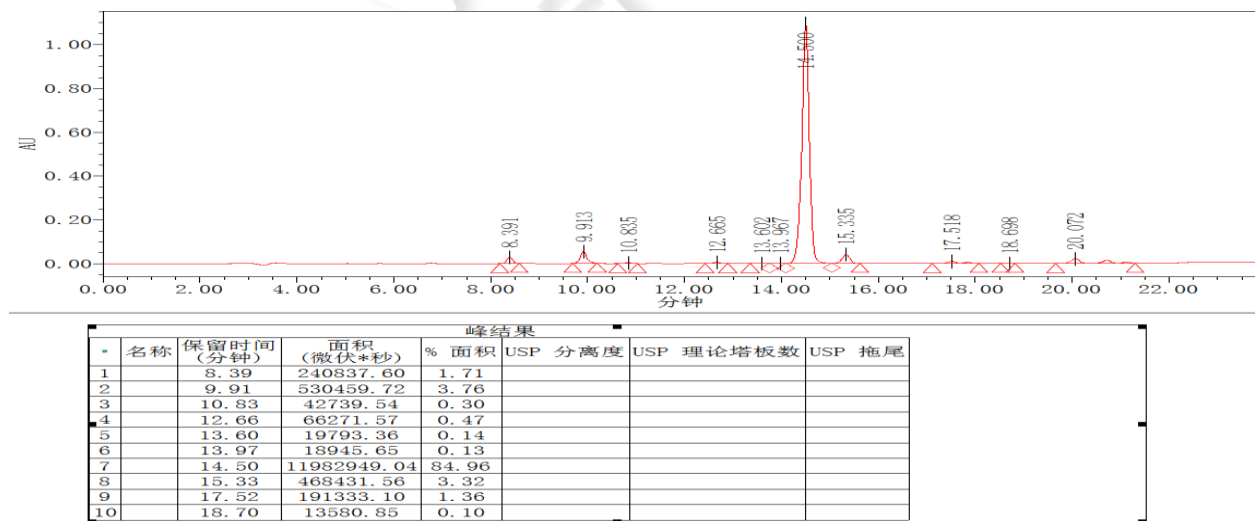


图 2 方法重现图谱

结论：通过与图 1 进行比较，可以确定 15.335min 为目标物。



1.2. 分离纯化过程

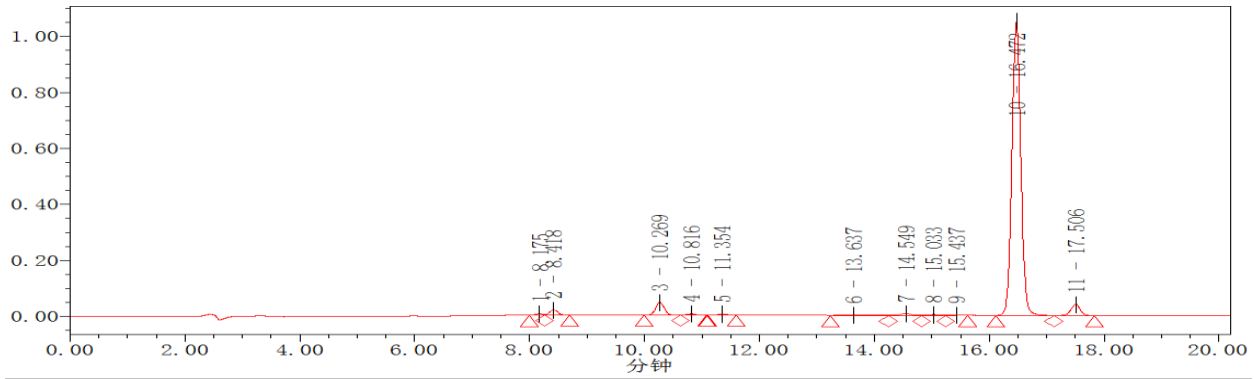
1.2.1. 方法开发

取 4.1 项下的进样小瓶按以下方法进行分析

| | | | |
|------|---------------------------------|----|----|
| 仪器信息 | Waters e2695 | | |
| 色谱柱 | Ultimate XS-C18 (4.6×250mm,5μm) | | |
| 柱压 | 11.5MPa | | |
| 流动相 | 流动相 A:0.1%三氟乙酸 流动相 B:纯乙腈 | | |
| 柱温 | 35°C | | |
| 检测波长 | 240nm | | |
| 流速 | 1ml/min | | |
| 进样量 | 10ul | | |
| 洗脱程序 | 时间 | A | B |
| | 0 | 60 | 40 |
| | 23 | 37 | 63 |
| | 30 | 10 | 90 |
| | 32 | 10 | 90 |
| | 33 | 60 | 40 |
| | 40 | 60 | 40 |

分析图谱如下图 3 所示：





| 峰结果 | | | | | | |
|-----|--------------|--------------|-------|---------|-----------|--------|
| 名称 | 保留时间 (分钟) | 面积 (微伏*秒) | % 面积 | USP 分离度 | USP 理论塔板数 | USP 拖尾 |
| 1 | 8.18 | 48286.32 | 0.38 | | 15795.68 | |
| 2 | 8.42 | 186364.89 | 1.46 | | 15826.73 | |
| 3 | 10.27 | 481309.07 | 3.76 | 6.77 | 22783.92 | 1.04 |
| 4 | 10.82 | 47545.97 | 0.37 | 2.03 | 25755.49 | |
| 5 | 11.35 | 43052.46 | 0.34 | 2.02 | 27154.89 | 0.99 |
| 6 | 13.64 | 109304.33 | 0.85 | | | |
| 7 | 14.55 | 105302.89 | 0.82 | | 31404.73 | |
| 8 | 15.03 | 35939.59 | 0.28 | 1.31 | 29026.08 | |
| 9 | 15.44 | 25427.19 | 0.20 | 1.12 | 33325.89 | |
| 10 | 16.47 | 11273291.45 | 88.05 | 3.37 | 55498.55 | 1.04 |
| 11 | 17.51 | 446907.75 | 3.49 | 3.55 | 56950.65 | 0.99 |

图 3 XS-C18 分析图谱

1.2.2. 样品制备

称取 20mg 样品，加入 3ml 甲醇超声溶解，在加入 2ml 纯水稀释，过滤，使其浓度为 4mg/ml，制备液相条件如下所示：

| | | | |
|--------|---------------------------------|-----------|-----------|
| 仪器 | Sail1000 | | |
| 色谱柱 | Ultimate XS-C18 (30×250mm, 5μm) | | |
| 流动相 A | 0.1%TFA | | |
| 流动相 B | 制备级乙腈 | | |
| 流速 | 30ml/min | | |
| 进样量 | 20mg | | |
| 柱温 | 室温 | | |
| 检测波长 | 2400nm | | |
| 梯度洗脱程序 | 时间 (min) | 流动相 A (%) | 流动相 B (%) |
| | 0 | 60 | 40 |
| | 35 | 45 | 55 |
| | 55 | 20 | 80 |
| | 56 | 60 | 40 |
| | 66 | 60 | 40 |



制备图谱如图 4 所示：

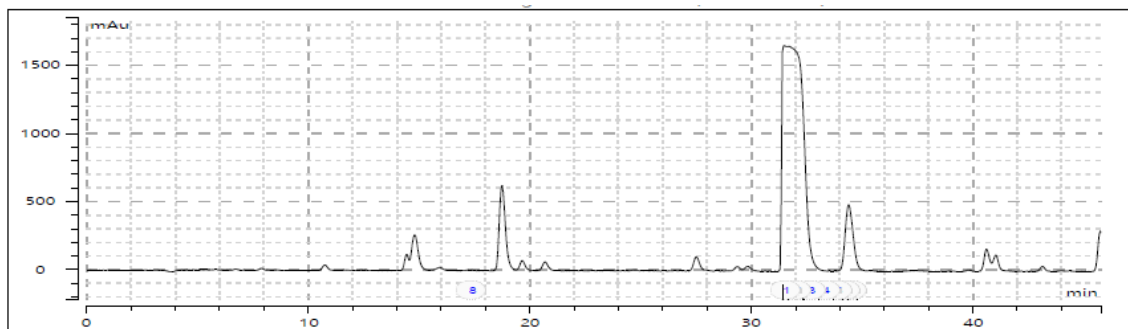


图 4 粗品制备图

经过制备，收集到目标馏分，用干冰加乙醇预冻，然后挂冻干机冻干。

1.2.3. 杂质分析

将 1.2.2 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 5 所示：

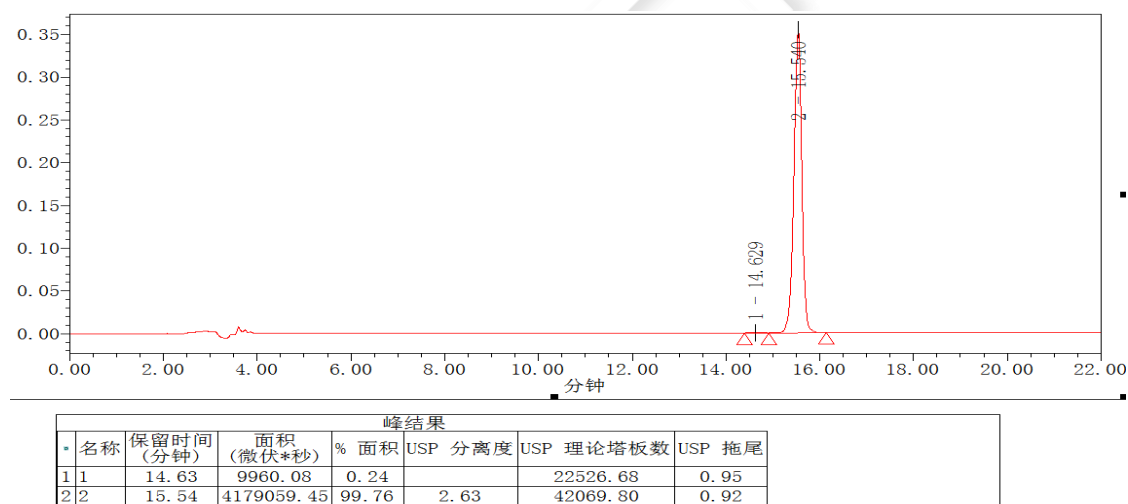


图 5 制备液分析图谱

结论：由图可见制备液面积归一化含量为 99.76%（240nm），纯度符合客户要求。

2. 结论

使用月旭 Ultimate® XS-C18（30×250mm,5μm）在此色谱条件下进行制备，单针上样量为 20mg 时，制备收集到的目标物纯度为 99.76%（240nm），制备结果满足客户要求。

报告人:Mia

审核人:Jim

日期:2024/7/18

