

分离纯化报告

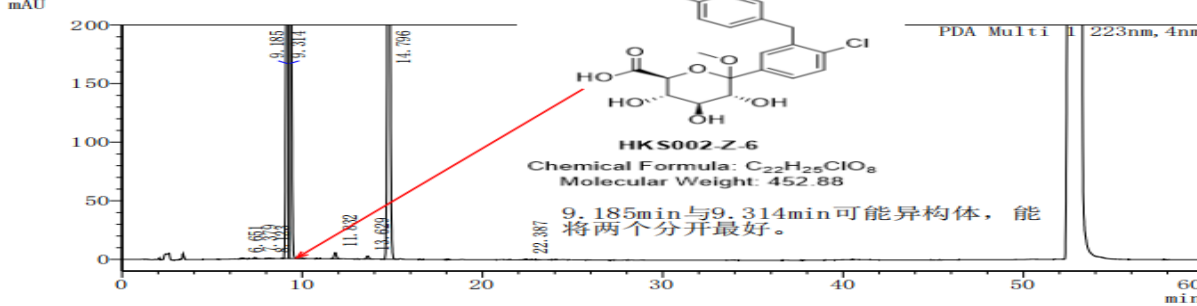
样品信息			
样品名称	杂质 3	项目编号	FLCHFWLC-20240813-001-01
样品性状	白色固体	样品重量	2.2g
收样日期	2024/08/16	测试期间	2024/08/16-2024/08/23

目标物信息

杂质 3 粗品分析图如下图 1 所示：

数据文件名 : 有关方法10-HKS002-Z-3-24071601-1 (白色固体) .1cd
 方法文件名 : 有关方法10.lcm
 批处理文件名 : 20240717.1cb
 样品瓶号 : 1-26
 进样体积 : 10 µL
 分析日期 : 2024/7/17 18:02:11
 处理日期 : 2024/7/18 8:34:52
 样品类型 : 未知
 分析者 : HZR
 处理者 : HZR

<色谱图>



<峰表>

峰号	保留时间	面积	面积%	高度	分离度(USP)	理论塔板数(USP)	拖尾因子
1	6.651	11140	0.054	801	—	5067	1.358
2	7.379	6889	0.033	953	2.500	19976	1.074
3	8.123	5953	0.029	445	2.529	7323	1.142
4	9.185	8356946	40.326	1017499	2.812	9574	—
5	9.314	6665673	32.165	909451	0.316	7071	—
6	11.832	47201	0.228	5349	7.301	36830	1.051
7	13.629	24326	0.117	2571	7.049	42933	1.056
8	14.796	5597893	27.012	606496	4.484	52774	1.053
9	22.387	7468	0.036	667	26.778	83806	1.138
总计		20723488	100.000	2544232			

图 1 粗品分析图

目标物保留时间	杂质 1: 9.185min 杂质 2: 9.314min	面积归一化含量 (223nm, %)	杂质 1: 40.32% 杂质 2: 32.16%
---------	----------------------------------	-----------------------	------------------------------

实验要求

筛选合适色谱柱和流动相，制备目标物，要求纯度大≥95%

试剂信息

试剂名称	级别	供应商
乙腈	色谱级	月旭
乙腈	制备级	月旭
磷酸二氢钠	AR	阿拉丁

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



氢氧化钠	AR	麦克林
纯水	一级	月旭
仪器信息		
仪器名称	仪器型号	仪器厂家
分析型高效液相色谱	LC-20AD	岛津
分析型高效液相色谱	U3000	赛默飞
制备型高效液相色谱	Sail 1000	月旭

1. 试验过程

1.1. 方法重现

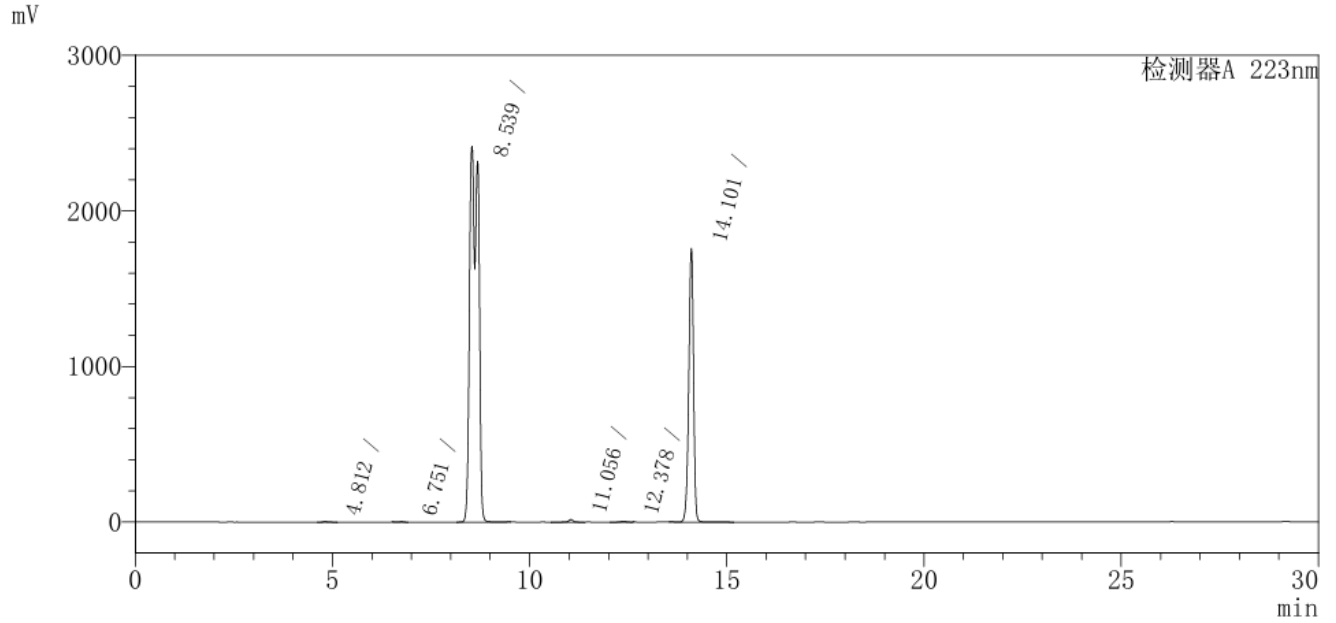
称取杂质 3 样品 25mg，置于 5mL 离心管中，加入 1ml 乙腈+4ml 水溶解后，过滤至进样小瓶中，按照以下色谱分析方法进行分析：

色谱柱	Xtimate C18 4.6×250mm, 5μm		
流动相 A	5mM 磷酸二氢钠（用 1M 氢氧化钠条件溶液调节 pH 至 6.3）		
流动相 B	色谱级乙腈		
流速	1ml/min		
进样量	5μl		
柱温	35°C		
检测波长	223nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	70	30
	50	5	95
	50.1	70	30
	60	70	30

分析图谱如图 2 所示：



<色谱图>



<峰表>

检测器A 223nm

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		4.81	32447	0.06	5782	1.59	--
2		6.75	20226	0.04	23332	0.98	9.0
3		8.54	37262698	71.33	8980	1.41	6.7
4		11.06	135498	0.26	45575	0.93	8.9
5		12.38	58037	0.11	50562	0.93	6.2
6		14.10	14729588	28.20	62224	0.91	7.7
总计			52238493	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 8.539min 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, 5μm
流动相 A	水
流动相 B	色谱级乙腈
流速	1ml/min
进样量	5μl
柱温	35°C
检测波长	223nm

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	70	30
	50	5	95
	50.1	70	30
	60	70	30

分析图谱如下图 3 所示：

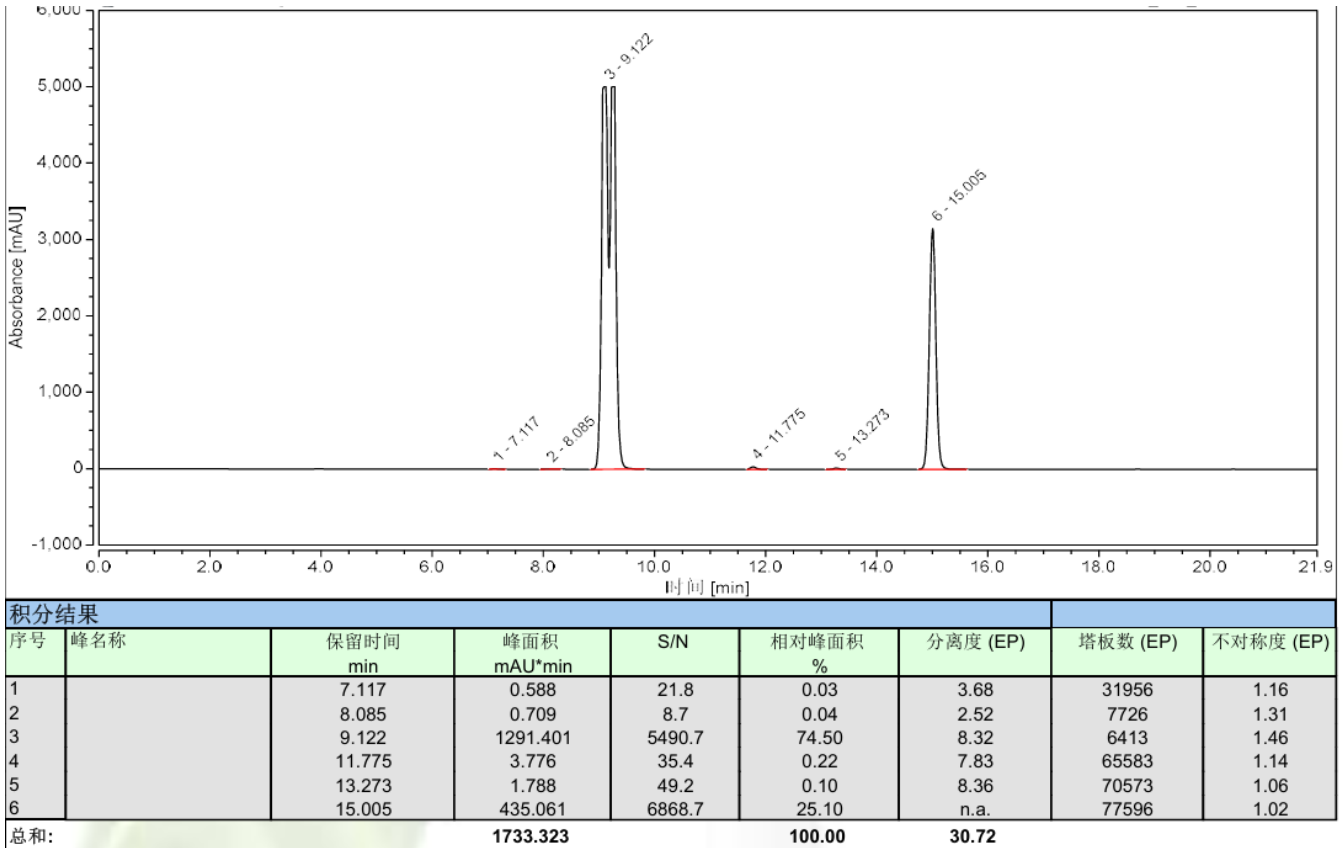


图 3 方法分析图谱

1.2.2. 样品制备

称取杂质 3 样品 200mg，加入 6ml 纯水和 4ml 乙腈溶解稀释，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 21.2×250mm, 5μm
流动相 A	水
流动相 B	制备级乙腈
流速	20ml/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

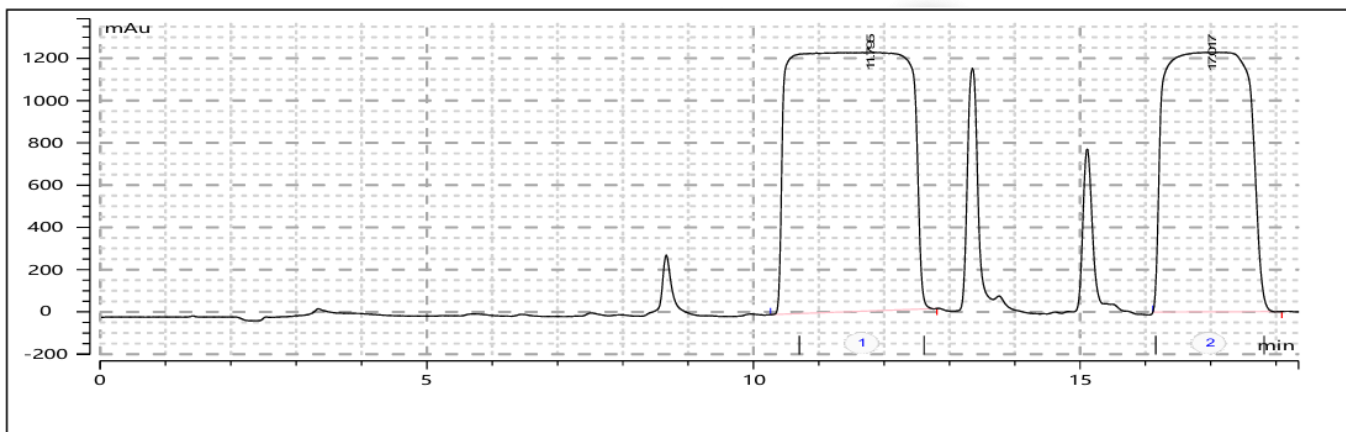
Add:江苏省南京市六合区天圣路 22 号 F 栋 4 楼

Tel:400-810-6969



进样量	200mg		
柱温	室温		
检测波长	223nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	70	30
	50	5	95
	50.1	70	30
	60	70	30

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.	11.795	152941.853	2.178	2.091	1223.254	58.642	BB*	0	
2	N.A.	17.017	107863.674	1.622	1.484	1227.913	41.358	BB*	0	
3	总计									

图 4 粗品制备图

经过制备，将目标馏分 1（11.7min）收集到馏分瓶中，待分析合格后，冻干，同时按照此制备方法将剩余粗品制备完成。

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：



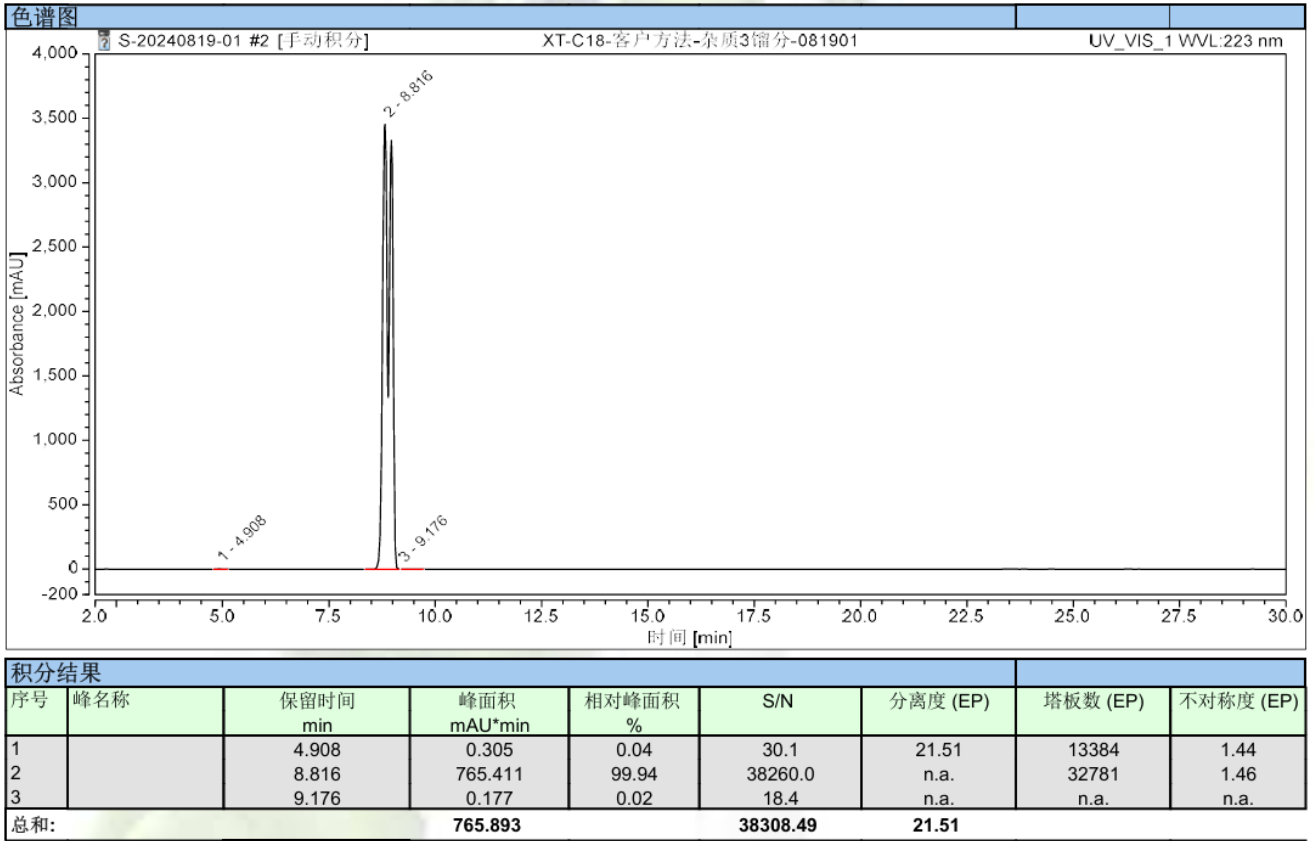


图 5 制备液分析图谱

结论：由图可见制备液面积归一化含量为 99.94%（223nm），纯度符合客户要求（≥95%）。

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，制备收集到的目标物纯度为 99.94%（223nm），收集目标物总量 986mg。

报告人:Ada

审核人: Jim

日期: 2024/08/23

