

分离纯化报告

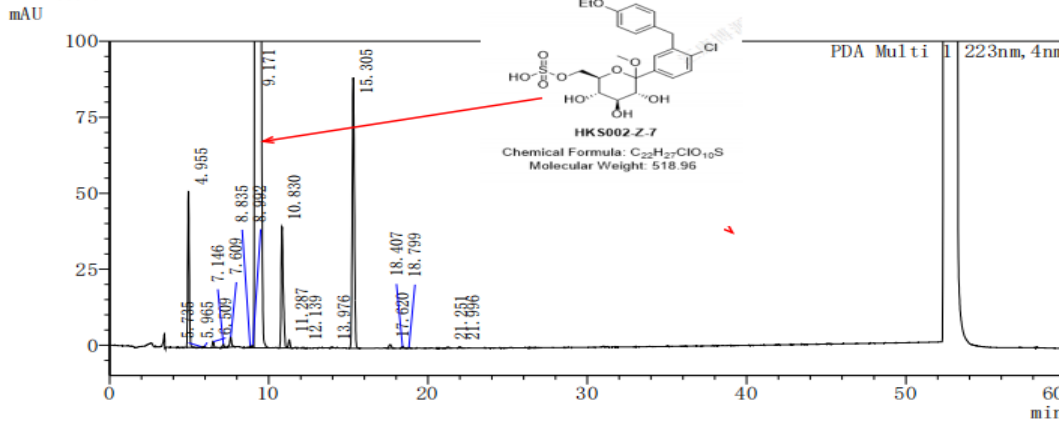
样品信息			
样品名称	杂质 7	项目编号	FLCHFWLC-20240813-001-03
样品性状	类白色泡沫状固体	样品重量	1.5g
收样日期	2024/08/16	测试期间	2024/08/16-2024/08/23

目标物信息

杂质 7 粗品分析图如下图 1 所示：

数据文件名 : 有关方法10-HKS002-Z-7-24062801-1 (类白色泡沫状固体).lcd
 方法文件名 : 有关方法10.lcm
 批处理文件名 : 20240704.lcb
 样品瓶号 : 1-29
 进样体积 : 10 uL
 分析日期 : 2024/7/4 11:07:52
 处理日期 : 2024/7/4 12:30:21
 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	4.955	330152	1.766	51248	—	11357	1.194
2	5.735	2896	0.015	337	3.669	9167	0.835
3	5.965	3119	0.017	480	1.041	13910	1.084
4	6.509	13393	0.072	2002	2.736	17820	1.024
5	7.146	7161	0.038	1152	3.359	24095	0.972
6	7.609	26869	0.144	3254	2.314	19823	0.913
7	8.835	4962	0.027	705	5.581	25012	—
8	8.992	5111	0.027	877	0.626	16897	—
9	9.171	17077552	91.335	1093042	0.476	5957	2.794
10	10.830	364191	1.948	39880	4.559	29355	1.363
11	11.287	19417	0.104	2693	1.979	46682	1.036
12	12.139	2044	0.011	268	3.887	44812	1.155
13	13.976	2103	0.011	304	8.409	72578	0.933
14	15.305	812006	4.343	89093	5.736	57294	1.073

图 1 粗品分析图

目标物保留时间	杂质 1: 9.17min	面积归一化含量 (223nm, %)	杂质 1: 91.33%
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
乙酸铵	AR	阿拉丁
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 7 样品 7mg，置于 5mL 离心管中，加入 1ml 乙腈+1ml 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

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

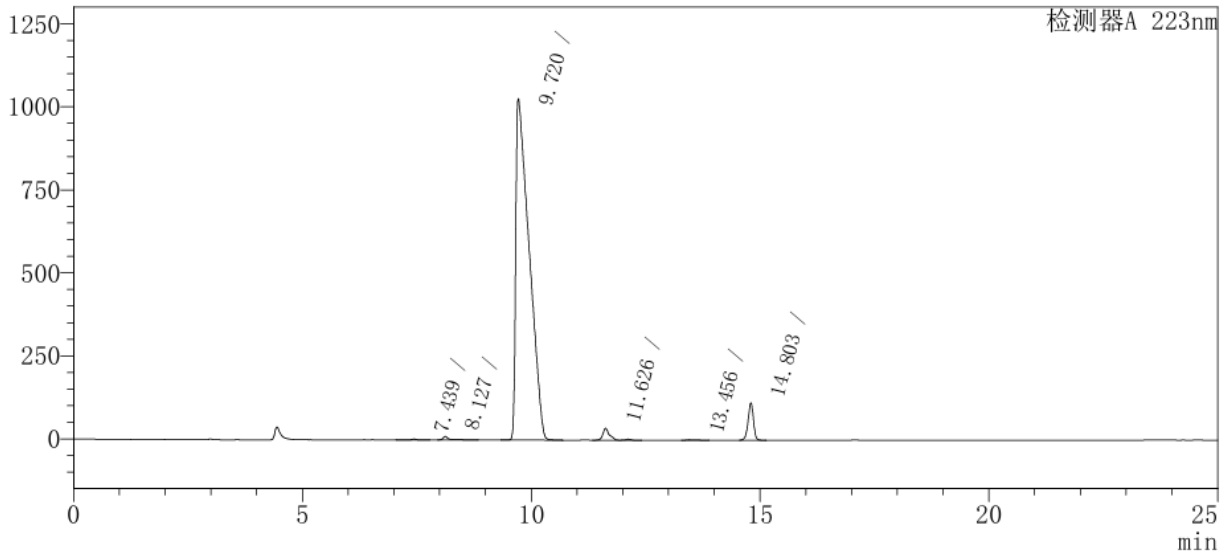
邮编：211500



分析图谱如图 2 所示：

<色谱图>

mV



<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		7.44	17392	0.08	28026	1.07	--
2		8.13	97011	0.44	26215	2.24	3.6
3		9.72	20864566	93.66	4020	2.80	3.9
4		11.63	374414	1.68	38131	1.28	4.5
5		13.46	15999	0.07	58214	1.48	7.9
6		14.80	907730	4.07	71806	0.93	6.1
总计			22277112	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 9.72min 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	20mM 乙酸铵
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：

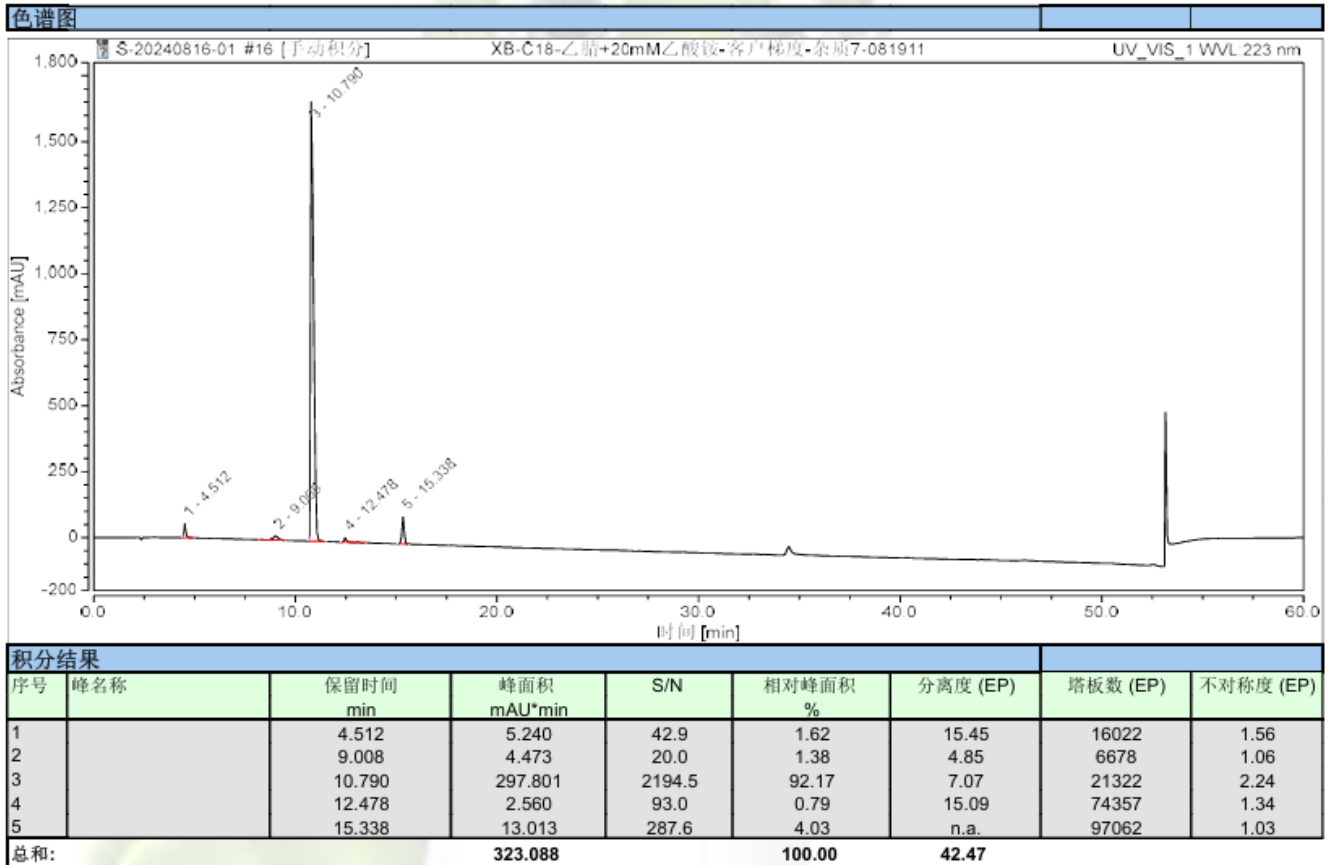


图 3 方法分析图谱

1.2.2. 样品制备

称取杂质 7 样品 300mg，加入 6ml 纯水和 4ml 乙腈溶解稀释，过滤，使其浓度为 30mg/ml，制备液相条件如下所示：

仪器	Sail1000
色谱柱	Ultimate XB-C18 50×250mm, 5μm
流动相 A	20mM 乙酸铵
流动相 B	制备级乙腈

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

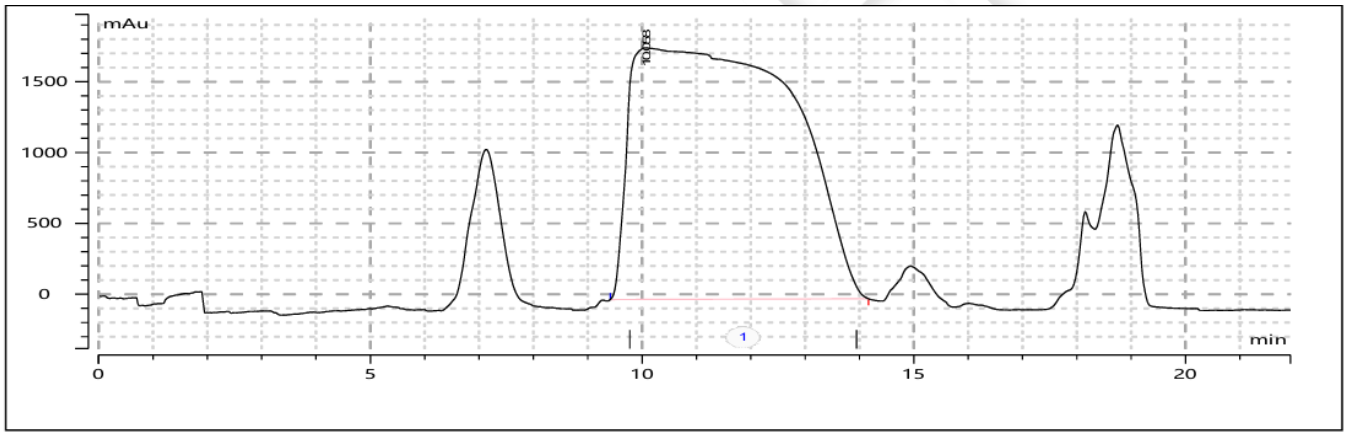
Add:江苏省南京市六合区天圣路 22 号 F 栋 4 楼

Tel:400-810-6969



流速	80ml/min		
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.	10.058	371415.220	4.305	3.637	1776.82 1	100.000	BB*	0	
2	总计									

图 4 粗品制备图

经过制备，将目标馏分 1（10min）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。

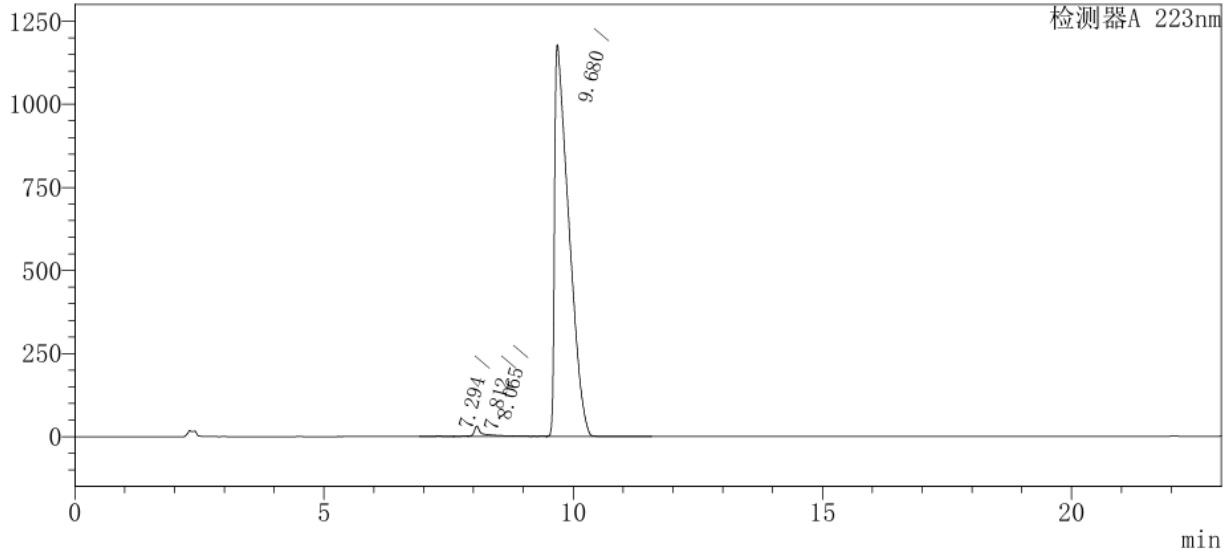
1.2.3. 杂质分析

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：



<色谱图>

mV



<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		7.29	18159	0.08	22423	--	--
2		7.81	15166	0.06	15983	--	2.3
3		8.07	416738	1.74	23800	3.25	1.1
4		9.68	23449055	98.12	4419	3.12	4.1
总计			23899119	100.00			

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 98.12%（223nm），纯度符合客户要求（ $\geq 95\%$ ）。

2. 结论

使用月旭 Ultimate® XB-C18, 50×250mm,5μm 在此色谱条件下进行制备，制备收集到的目标物纯度为 98.12%（223nm），收集目标物总量 1g。

报告人:Ada

审核人: Jim

日期: 2024/08/23

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

