

分离纯化报告

样品信息			
样品名称	066	项目编号	20241128-1115
样品性状	褐色固体	样品重量	500mg
收样日期	2024/12/02	测试期间	2024/12/03-2024/12/06
目标物信息			
客户分析图：			
图 1 客户分析图			
目标物保留时间	杂质 1: 14.4min	面积归一化含量 (254nm, %)	/
实验要求			
筛选合适色谱柱和流动相，开发制备方法，要求测试最佳上样量以及制备目标物成品交付，要求纯度 ≥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	
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仪	Agilent 1260	安捷伦
制备型高效液相色谱仪	Sail 1000	月旭

1. 试验过程

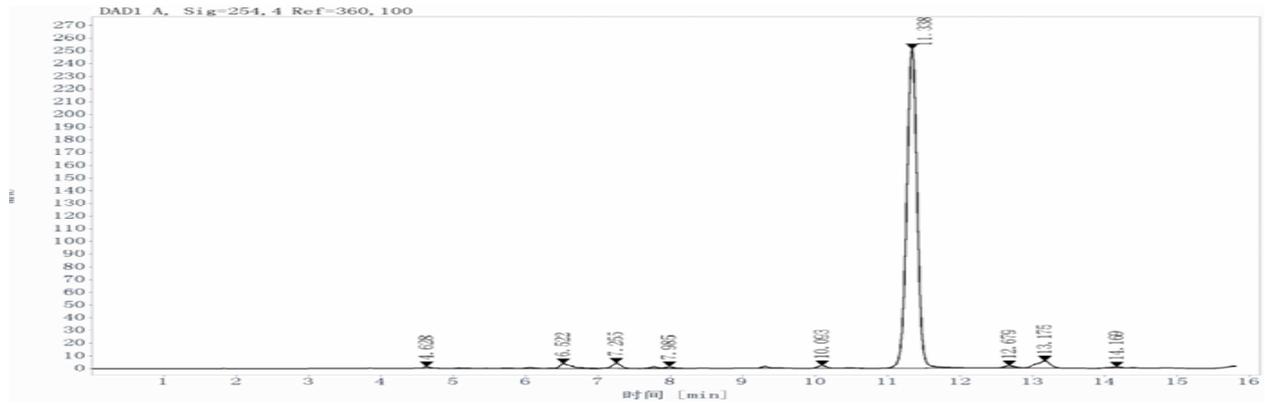
1.1. 方法重现

称取 2.8mg 样品，置 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	水		
流动相 B	色谱级乙腈		
流速	1ml/min		
进样量	10μl		
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	98	2
	20	0	100
	25	0	100
	26	98	2
	30	98	2

分析图谱如图 2 所示：





号:	DAD1 A, Sig=254.4 Ref=360,100					
化合物名称	保留时间 [min]	峰面积	峰面积百分比	分离度USP	拖尾因子	理论塔板USP
	4.63	9.69	0.3448		0.91	15424.9
	6.52	68.25	2.428	9.79	1.52	12031.4
	7.25	35.04	1.247	3.28	0.89	19353.9
	7.99	22.61	0.8046	2.29	0.84	5526.8
	10.09	42.74	1.521	6.41	2.49	31450.5
	11.34	2526.21	89.88	5.09	0.99	30159.9
	12.68	17.04	0.6063	5.07	1.13	35915.2
	13.17	75.32	2.680	1.55	0.82	20160.0
	14.17	13.64	0.4855	3.12	1.28	45108.9

图2 方法重现图谱

结论：通过与图1进行比较，可以确定 11.3min 为目标物。

1.2. 分离纯化过程

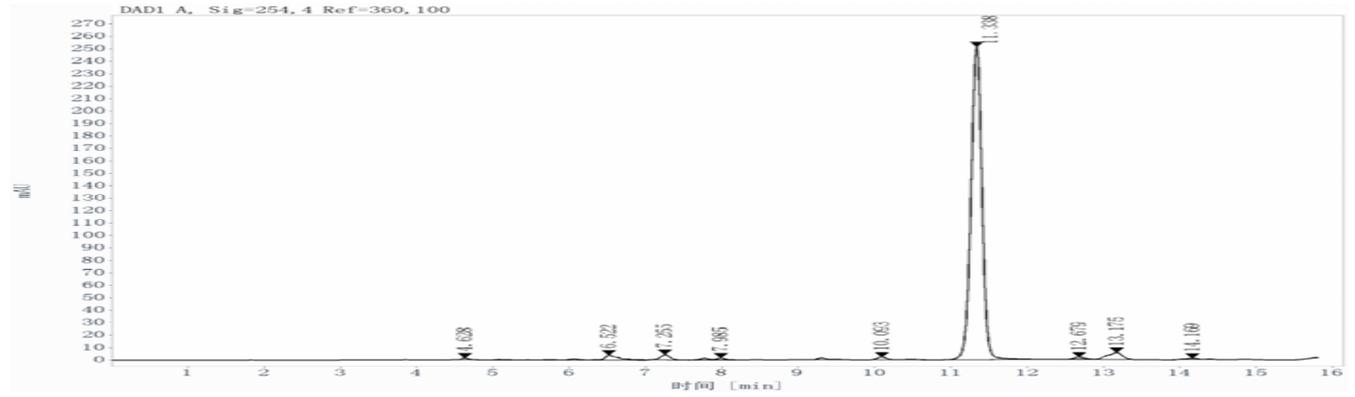
1.2.1. 方法开发

取 1.1 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	10μl		
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	65	35
	20	50	50

分析图谱如下图 3 所示：





信号: DAD1 A. Sig=254.4 Ref=360.100

化合物名称	保留时间 [min]	峰面积	峰面积百分比	分离度USP	拖尾因子	理论塔板USP
	4.63	9.69	0.3448		0.91	15424.9
	6.52	68.25	2.428	9.79	1.52	12031.4
	7.25	35.04	1.247	3.28	0.89	19353.9
	7.99	22.61	0.8046	2.29	0.84	5526.8
	10.09	42.74	1.521	6.41	2.49	31450.5
	11.34	2526.21	89.88	5.09	0.99	30159.9
	12.68	17.04	0.6063	5.07	1.13	35915.2
	13.17	75.32	2.680	1.55	0.82	20160.0
	14.17	13.64	0.4855	3.12	1.28	45108.9

图3 方法开发图谱

1.2.2. 样品制备

称取样品 200mg，加入 15ml 纯水和 5ml 甲醇溶解稀释，过滤，使其浓度为 10mg/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		
进样量	200mg		
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	65	35
	30	50	50

制备图谱如图 4 所示：



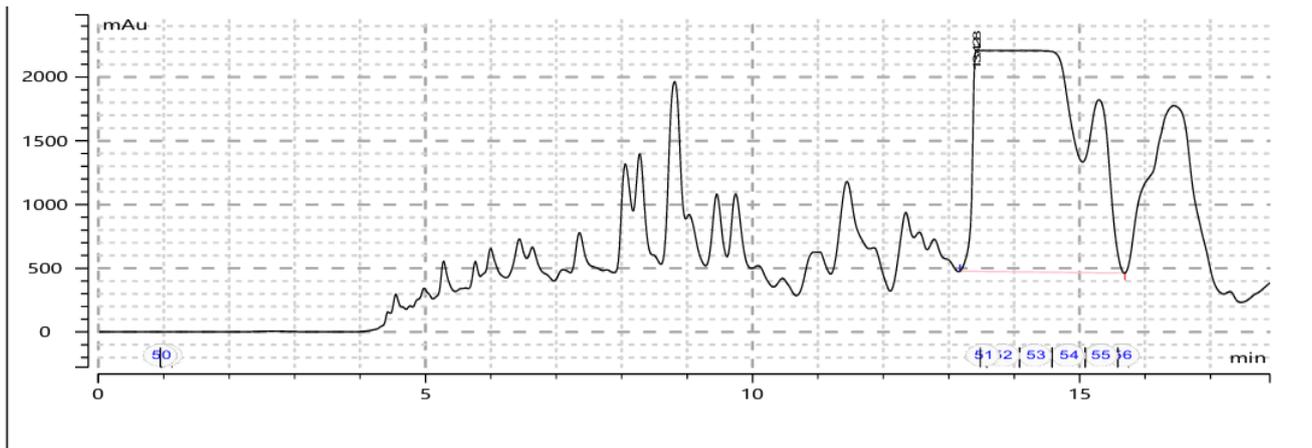


图 4 粗品制备图

经过制备，将目标馏分段收集到馏分瓶中并置于 4 度冰箱中，待纯度分析合格后合并冻干。

1.2.3. 杂质分析

从 1.2.2 中收集的馏分 53-55 分别取适量合并后进行液相色谱分析，具体分析条件同“步骤 1.1”一致。分析图谱如图 5 所示：

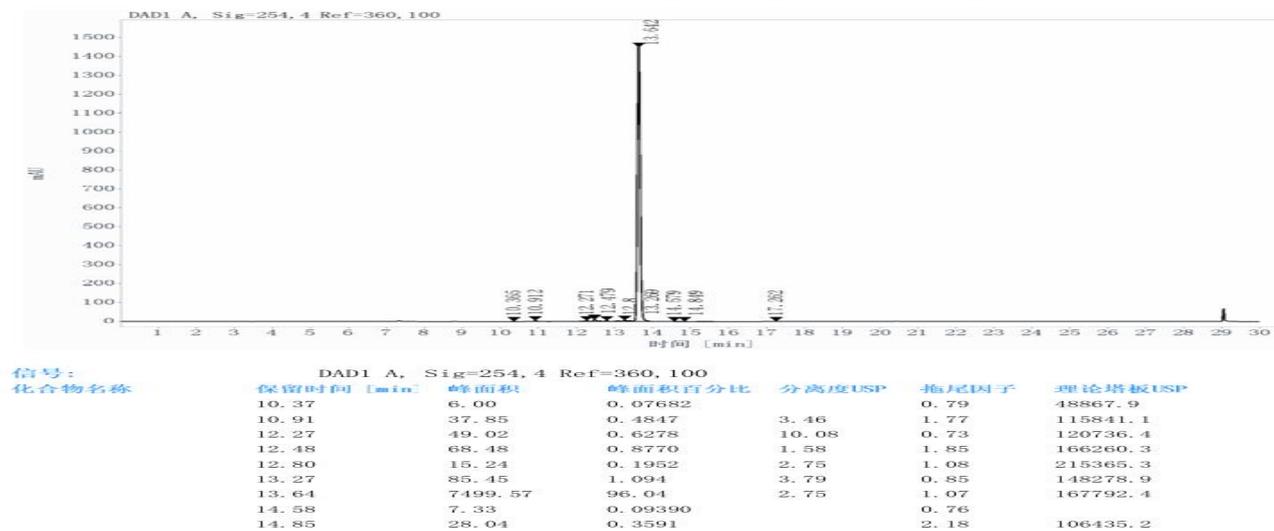


图 5 制备液分析图谱

结论：由图可见制备液面积归一化含量为 96.04%（254nm），纯度符合客户要求，同时收集到合格馏分 180mg。

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 200mg 时，制备收集目标物纯度为 96.04%（254nm），最终交付产品 180mg，制备结果满足客户要求。

