



测试报告

| 样品信息 | | | |
|---|----------------------|------|------------------|
| 样品名称 | 雷迪帕韦中间体 | 样品性状 | 固体 |
| 收样日期 | 2024/01/07 | 测试期间 | 2024/01/07~01/26 |
| 测试成分及结构式 | | | |
| 4-溴-1,2-苯二胺(2); 4-溴-1,2-苯二胺对位酰化产物(3a); 4-溴-1,2-苯二胺邻位酰化产物(3b); 4-溴-1,2-苯二胺双酰化产物(3s); 环化产物(4) | | | |
| 实验要求 | | | |
| 在同一个液相色谱条件下把以上5个化合物完全分开, 出峰尽量靠后一些(5min以后), 具有好的分离度、峰型尽量对称; | | | |
| 参考方法 | | | |
| 客户提供 | | | |
| 试剂信息 | | | |
| 试剂名称 | 级别 | 品牌 | |
| 磷酸二氢钾 | AR | 国药 | |
| 六氟磷酸钾 | AR | 阿拉丁 | |
| N-N 二甲基甲酰胺 | AR | 阿拉丁 | |
| 甲醇 | 色谱纯 | 月旭 | |
| 异丙醇 | 色谱纯 | 月旭 | |
| 仪器信息 | | | |
| 测试仪器 | 仪器型号 | | |
| 高效液相色谱仪 | 安捷伦 1260 Infinity II | | |

1. 试验过程

1.1. 色谱条件

| | |
|------|---|
| 色谱柱: | Ultimate [®] XS-C18 (4.6×250mm, 5μm) |
| 流动相: | 流动相 A: (10mmol/L 磷酸二氢钾 2g/L 六氟磷酸钾): (甲醇+10%异丙醇)=50:50 流动相 B: 甲醇+10%异丙醇 |

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

Web: www.welchmat.com

邮编: 201600

邮编: 321000

邮编: 211500



| | | | |
|------|--|-------|-------|
| 流速: | 1.0mL/min | | |
| 进样量: | 10 μ L | | |
| 柱温: | 40 $^{\circ}$ C | | |
| 检测器: | UV 254nm | | |
| 梯度程序 | 时间 | 流动相 A | 流动相 B |
| | 0 | 100 | 0 |
| | 40 | 40 | 60 |
| | 45 | 40 | 60 |
| | 46 | 100 | 0 |
| 55 | 100 | 0 | |
| 注意事项 | 在不同仪器上测试,发现缓冲盐和有机相混匀时会出现复现性问题,因此流动相 A 改用预混的方式,能有效缓解该问题。客户后续可以根据实际情况进行调整。 | | |

1.2. 溶液配制

1.2.1. 流动相配制

缓冲溶液:称取 1.36g 磷酸二氢钾和 2g 六氟磷酸钾,并用水稀释至 900 mL,用磷酸调节 pH 值至 2.5,混匀,过膜,备用;

流动相 A:取 500mL 缓冲溶液和 500mL 流动相 B 混匀,超声;

流动相 B:取 900mL 甲醇与 100mL 异丙醇混匀,超声。

1.2.2. 溶剂: DMF、甲醇;

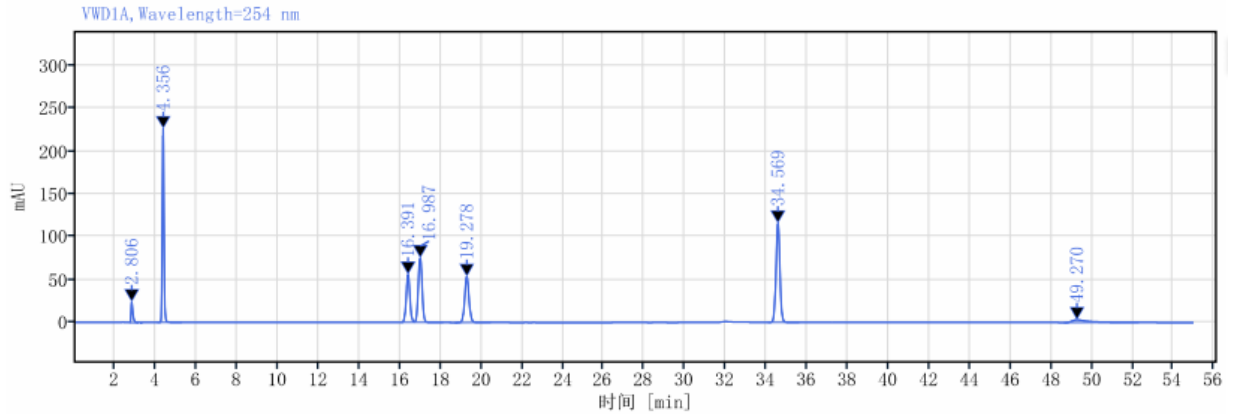
1.2.3. 对照品(化合物 2、化合物 3a、化合物 3b、化合物 4):分别取适量样品,用 DMF 溶剂溶解稀释至浓度为 1mg/mL 的溶液,混匀即得;

1.2.4. 对照溶液(化合物 3s):取适量样品,用甲醇溶剂溶解稀释至浓度为 1mg/mL 的溶液,混匀即得;

1.2.5. 混标溶液(100 μ g/mL):取各对照品溶液 100 μ L,用甲醇定容至 1mL。

2. 谱图和数据

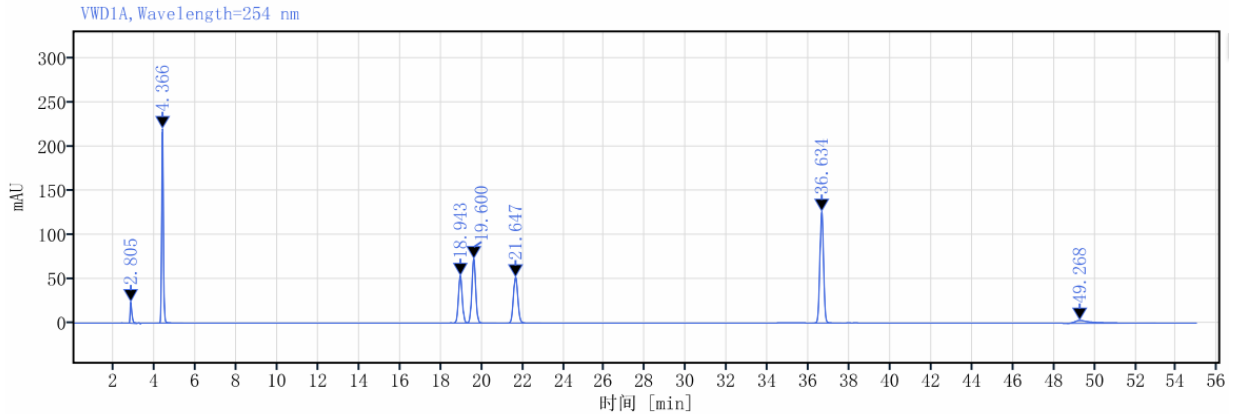
(1) 对照品溶液(出峰顺序为化合物 2、化合物 3a、化合物 3b、化合物 4、化合物 3S)



信号: VWD1A, Wavelength=254 nm

| 保留时间 [min] | 峰宽 [min] | 峰面积 | 峰高 | 峰拖尾因子 | 峰理论塔板数 USP | 峰分离度 USP |
|------------|----------|---------|--------|---------|--------------|----------|
| 2.806 | 0.41 | 158.92 | 24.34 | 1.83720 | 5081.89418 | |
| 4.356 | 1.18 | 1315.80 | 226.31 | 1.04390 | 13086.28940 | 10.00912 |
| 16.391 | 0.62 | 719.92 | 56.17 | 1.03215 | 37167.47295 | 48.88939 |
| 16.987 | 1.42 | 982.73 | 75.38 | 1.03450 | 38629.78375 | 1.73991 |
| 19.278 | 1.75 | 803.19 | 53.64 | 1.06487 | 38270.83792 | 6.18967 |
| 34.569 | 1.53 | 1557.45 | 115.80 | 1.03226 | 149729.33182 | 40.68980 |
| 49.270 | 3.66 | 194.81 | 3.31 | 3.64999 | 26148.60684 | 18.65388 |

(2) 保持初始流动相 A(100%) 5min, 能增加 3a 和 3b 之间分离度, 减少 3b 和 4 之间的分离度



信号: VWD1A, Wavelength=254 nm

| 保留时间 [min] | 峰宽 [min] | 峰面积 | 峰高 | 峰拖尾因子 | 峰理论塔板数 USP | 峰分离度 USP |
|------------|----------|---------|--------|---------|--------------|----------|
| 2.805 | 0.42 | 153.72 | 24.09 | 1.74292 | 5157.71981 | |
| 4.366 | 1.26 | 1312.38 | 220.31 | 1.04573 | 12517.57286 | 9.98867 |
| 18.943 | 0.68 | 715.90 | 53.71 | 1.04128 | 45410.03503 | 56.97924 |
| 19.600 | 1.41 | 979.56 | 72.83 | 1.04863 | 48244.43589 | 1.84331 |
| 21.647 | 1.68 | 798.27 | 52.11 | 1.08200 | 45638.45094 | 5.37034 |
| 36.634 | 1.41 | 1562.80 | 126.28 | 1.02555 | 199423.59297 | 40.87565 |

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

Web: www.welchmat.com

邮编: 201600

邮编: 321000

邮编: 211500



3. 结论

使用色谱柱 Ultimate® XS-C18 (4.6×250mm,5μm), 能够分离 4-溴-1,2-苯二胺 (2); 4-溴-1,2-苯二胺对位酰化产物 (3a); 4-溴-1,2-苯二胺邻位酰化产物 (3b); 4-溴-1,2-苯二胺双酰化产物 (3s); 环化产物 (4) 且峰型良好, 降低有机相比比例能增加化合物 2 的保留时间, 但是会导致 3a 和 3b 的分离度不足。



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

邮编: 201600

邮编: 321000

邮编: 211500

Web: www.welchmat.com