



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;

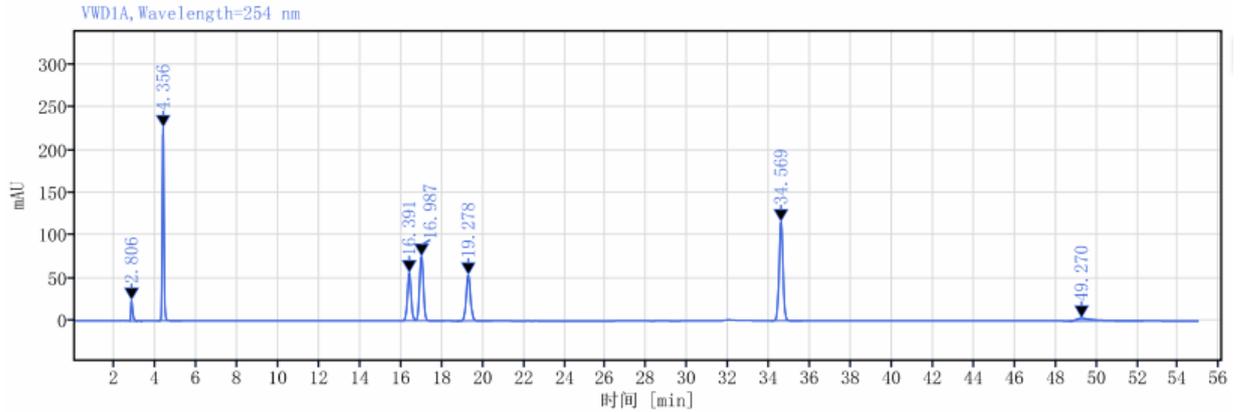
1.2.3. 对照品(化合物 2、化合物 3a、化合物 3b、化合物 4):分别取适量样品,用 DMF 溶剂溶解稀释至浓度为 1mg/mL 的溶液,混匀即得;

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

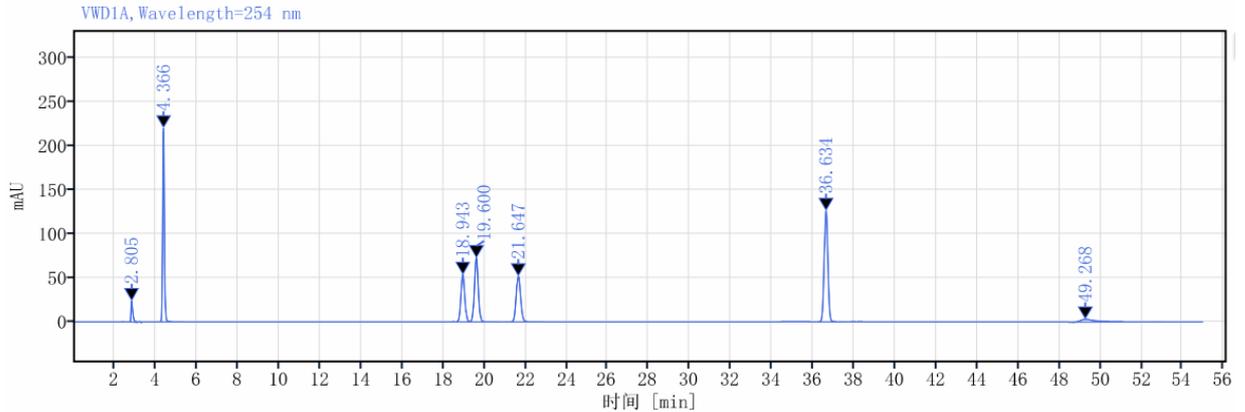
(1) 对照品溶液(出峰顺序为化合物 2、化合物 3a、化合物 3b、化合物 4、化合物 3S)



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

邮编: 201600

邮编: 321000

邮编: 211500

Web: www.welchmat.com



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