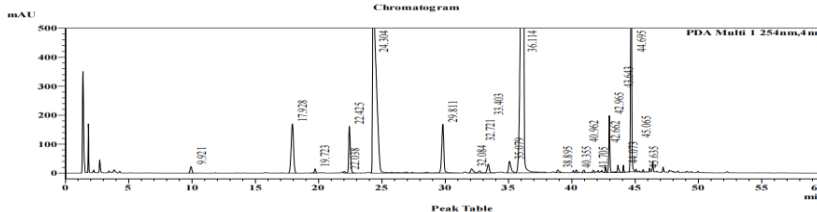


分离纯化报告

样品信息			
样品名称	API	项目编号	20230615-502
样品性状	红色干粉	样品重量	138mg
收样日期	2023/06/19	测试期间	2023/06/19~2023/07/07

目标物信息



Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area%	NTP	Resolution	Tailing Factor	Mark
1	9.921	215815	22590	0.42	22478	-	0.99	
2	17.928	2230896	169780	4.32	39793	25.66	0.97	V
3	19.723	119078	14892	0.23	143465	6.32	0.73	V
4	22.038	50428	5831	0.10	91784	9.27	-	V
5	22.425	1481775	161619	2.87	120705	1.41	1.38	V
6	24.304	12516924	629215	24.24	26377	4.39	3.30	SV
7	29.811	1959015	168178	3.79	151012	12.16	0.92	SV
8	32.084	215109	14547	0.42	118510	6.69	-	V
9	32.721	97545	7151	0.19	149565	1.79	-	V
10	33.403	361561	30495	0.70	180699	2.09	0.94	V
11	35.079	526202	39923	1.02	167672	5.10	1.62	V
12	36.114	23752435	1555431	45.99	123584	2.75	0.75	SV
13	38.895	129325	9547	0.25	264261	7.80	-	SV
14	40.355	74027	10030	0.14	597844	5.71	-	V
15	40.962	84961	9469	0.16	417810	2.63	-	V
16	41.705	79499	8341	0.15	463111	2.98	-	V
17	42.662	104889	18740	0.20	1126711	4.72	1.09	V
18	42.965	1147142	196532	2.22	1077459	1.86	0.94	SV
19	43.643	181729	26025	0.35	1128703	4.11	-	V
20	44.073	110913	25053	0.21	1833845	2.93	1.18	V
21	44.695	6093131	1151351	11.80	1278969	4.31	0.89	M
22	45.065	54039	9203	0.10	890558	2.12	-	V M
23	45.635	56936	8749	0.11	1149234	3.15	-	V
Total		51643394	4292692	100.00				

图 1 客户谱图

目标物保留时间	36.114min	面积归一化含量 (254nm, %)	45.99%
---------	-----------	-----------------------	--------

实验要求

筛选到合适的填料和方法,使用碳酸氢铵盐体系; 纯度要求>97%; 上样量 1%以上, 适合放大生产; 化合物稳定性差, 后处理尽量简洁快速; 最终制备产物需求游离态化合物、或者成钠盐的化合物, 无无机物残留。

试剂信息

试剂名称	级别	供应商
磷酸氢二钾	AR	西亚试剂
磷酸	AR	麦克林
乙腈	HPLC	月旭
碳酸氢铵	AR	麦克林

仪器信息

仪器名称	仪器型号	仪器厂家
高效液相色谱仪	岛津 LC-20AD	岛津

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



高效液相色谱仪	月旭 Wisys5000	月旭
半制备型高效液相色谱仪	月旭 WelPrep2000	月旭

## 1. 试验过程

### 1.1. 方法重现

样品配置：

粗品溶液：精确称取 1.4mg 样品溶于甲醇：乙腈（1：1），配成 1mg/mL 溶液，过滤至进样小瓶即可。

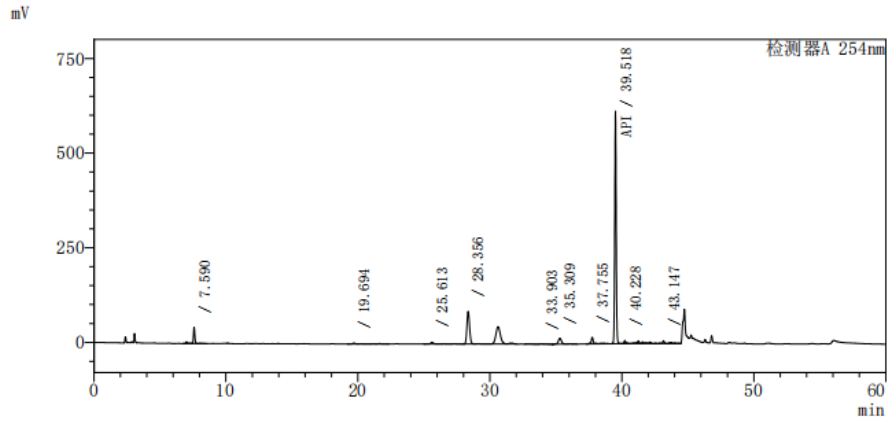
单标溶液：精确称取 1mg 样品溶于甲醇：乙腈（1：1），配成 1mg/mL 溶液，过滤至进样小瓶即可。

按照以下色谱分析方法进行分析：

仪器	岛津 LC-20AD		
色谱柱	Ultimate XB-C18(4.6×250mm,5μm)		
流动相 A	10mM 磷酸氢二钾，磷酸调 pH=2.0		
流动相 B	色谱级乙腈（含 0.1%H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> ）		
流速	1mL/min		
进样量	10μl		
柱温	40°C		
检测波长	254nm		
梯度洗脱程序	时间（min）	流动相 A（%）	流动相 B（%）
	0	70	30
	2	70	30
	8	60	40
	33	50	50
	43	20	80
	53	20	80
	54	70	30
	60	70	30

分析图谱如图 2 所示：





<峰表>

检测器A 254nm

峰号	化合物名	保留时间	面积	高度	理论塔板数(USP)	拖尾因子	分离度(USP)
1		7.590	349087	42928	25884	1.129	--
2		19.694	49003	2148	61052	1.081	47.699
3		25.613	85962	4608	86175	1.139	17.726
4		28.356	2383175	86614	89996	1.129	7.545
5		33.903	25456	888	113790	2.024	14.222
6		35.309	270107	15464	107526	1.040	3.378
7		37.755	263447	17876	385862	1.131	7.258
8	API	39.518	4622868	614815	585193	1.034	7.839
9		40.228	289908	8605	697408	1.681	3.558
10		43.147	143312	7834	654791	0.743	14.380
总计			8482326	801781			

图2 方法重现图谱

结论：通过与图1进行比较，可以确定 RT39.518min 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：

仪器	月旭 Wisys5000		
色谱柱	Ultimate XB-C18(4.6×250mm,10μm)		
流动相 A	20mM 碳酸氢铵		
流动相 B	色谱级乙腈		
流速	1mL/min		
进样量	10μl		
柱温	常温		
检测波长	254nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	70	30
	2	70	30
	8	60	40

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

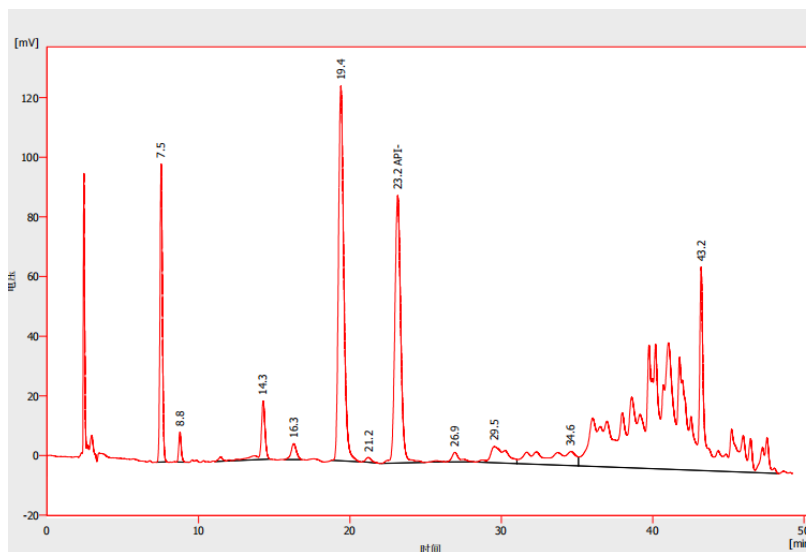
Add:江苏省南京市六合区天圣路 22 号 F 栋 4 楼

Tel:400-810-6969



	33	50	50
	43	20	80
	53	20	80
	54	70	30
	60	70	30

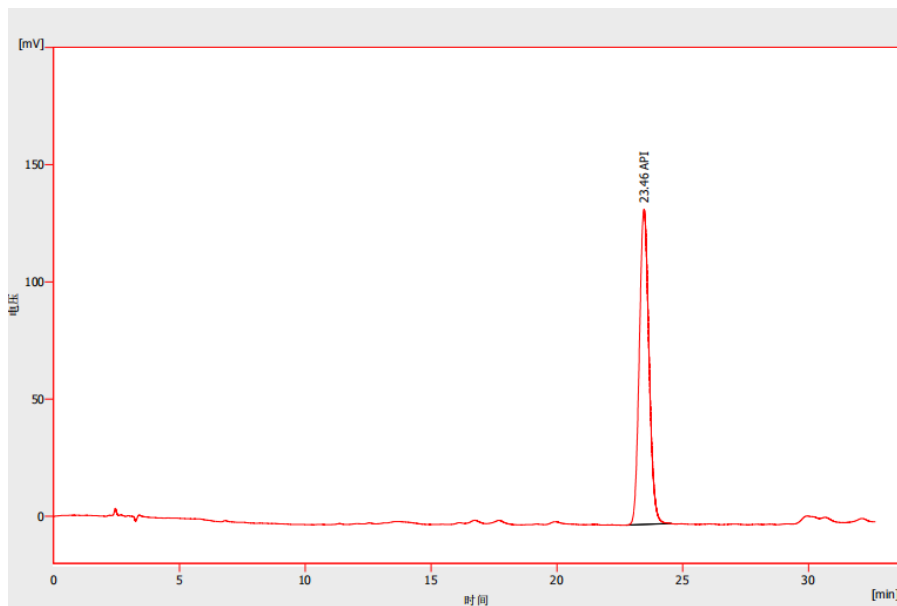
分析图谱如下图 3，4 所示：



	化合物名称	保留时间 [min]	峰面积 [mV.s]	面积 [%]	柱效 [th.p]	分离度 [-]	对称/拖尾因子 [-]
1		7.537	1130.623	5.7	10082		1.096
2		8.772	113.359	0.6	14464	4.184	1.245
3		14.275	427.538	2.1	18554	15.523	1.071
4		16.285	132.894	0.7	11129	3.888	0.967
5		19.405	3062.988	15.4	15238	5.020	1.273
6		21.222	44.305	0.2	15724	2.790	1.384
7	API-	23.158	2444.209	12.3	17675	2.827	1.132
8		26.948	126.896	0.6	23740	5.443	1.607
9		29.540	408.865	2.1	3472	1.921	1.220
10		34.613	779.275	3.9	455	1.197	0.569
11		43.202	11270.249	56.5	207302	2.506	0.717
		合计	19941.202	100.0			

图 3 粗品-方法开发图谱





	化合物名称	保留时间 [min]	峰面积 [mV.s]	面积 [%]	柱效 [th.pl]	分离度 [-]	对称/拖尾因子 [-]
1	API	23.463	3597.954	100.0	17568		1.115
		合计	3597.954	100.0			

图 4 单标-方法开发图谱

结论：图 3，4 通过进行对，可以确定 RT23min 为目标物。

### 1.2.2. 样品制备

仪器	月旭 WelPrep2000		
色谱柱	Ultimate XB-C18(10×250mm,10μm)		
流动相 A	20mM 碳酸氢铵		
流动相 B	制备级乙腈		
流速	5ml/min		
进样量	5mg		
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	60	40
	20	60	40
	21	10	90
	25	10	90
	20.01	60	40
	30	60	40

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



制备图谱如图 5 所示：

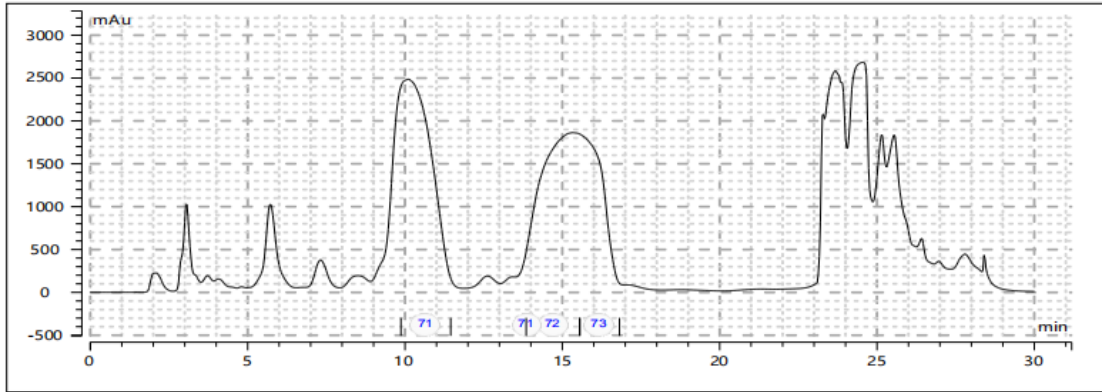
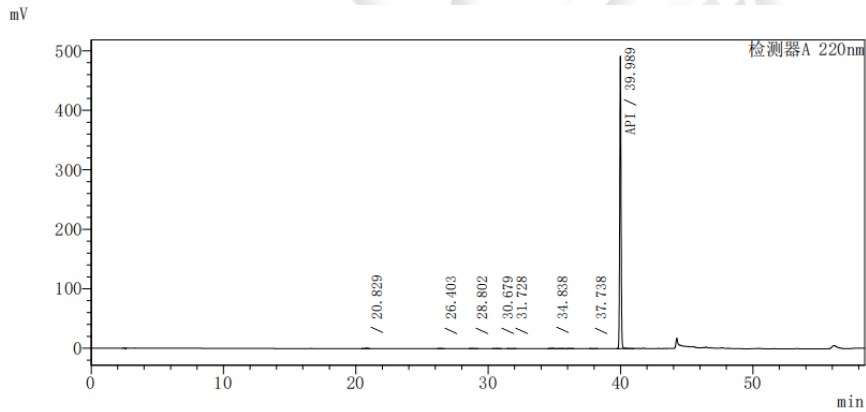


图 5 粗品制备图

经过制备，收集到 RT14-16.5min 目标馏分。

### 1.2.3. 馏分分析

将 1.2.2 中收集到的馏分进行液相色谱分析，具体分析条件同“步骤 1.1”一致。分析图谱如图 6，7 所示：



<峰表>

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		20.829	10057	0.290	78855	0.918	—
2		26.403	2598	0.075	94214	0.958	17.398
3		28.802	4899	0.141	90646	1.210	6.600
4		30.679	4551	0.131	105456	0.938	4.936
5		31.728	2210	0.064	117567	1.074	2.806
6		34.838	28424	0.819	123716	0.932	8.116
7		37.738	733	0.021	138178	2.863	7.229
8	API	39.989	3415528	98.459	688064	1.016	7.517
总计			3468999	100.000			

图 6 制备液分析图谱



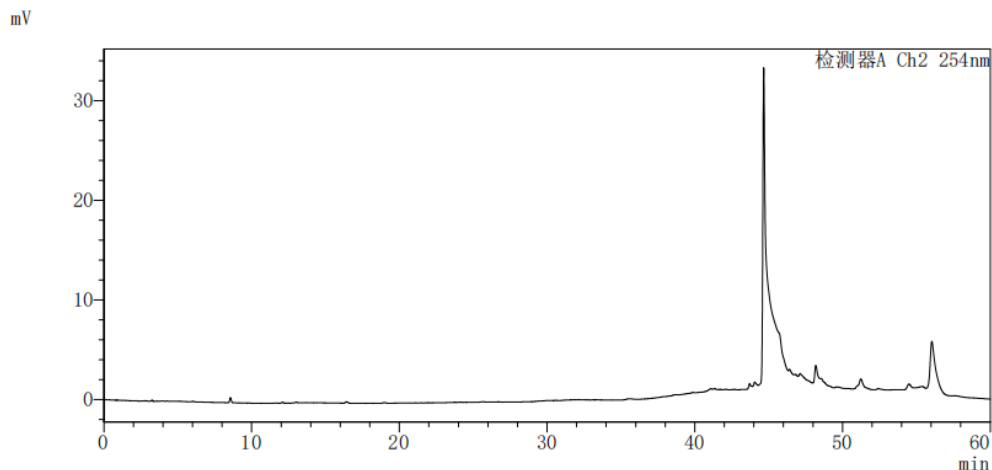


图 7 空白分析图谱（制备流动相）

结论：由图可见制备液面积归一化含量为 98.45%，纯度符合客户要求。

## 2. 结论

使用月旭 Ultimate XB-C18（10×250mm,10μm）在此色谱条件下进行制备，单针上样量为 5mg 时，制备收集到的目标物纯度为 98.45%，制备结果满足客户要求。

报告人：Queena

审核人：Jim

日期：2023/07/28

