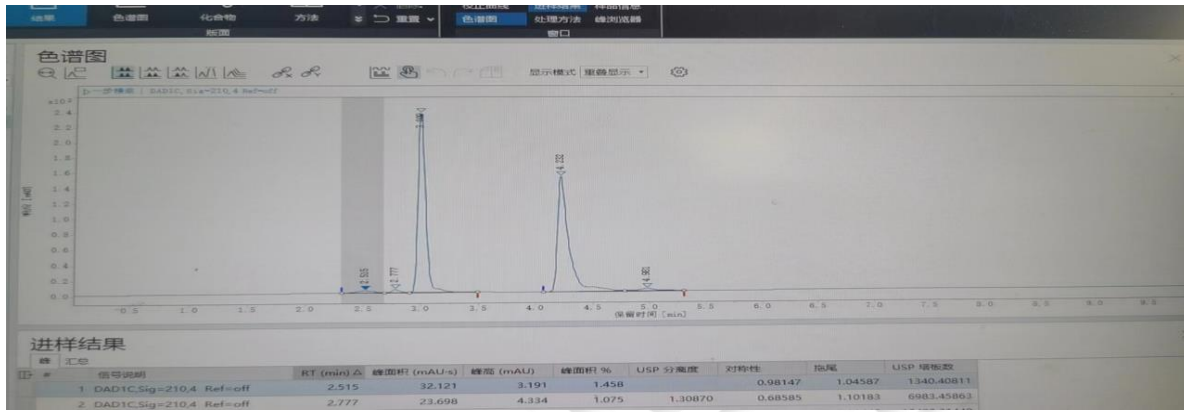


分离纯化报告

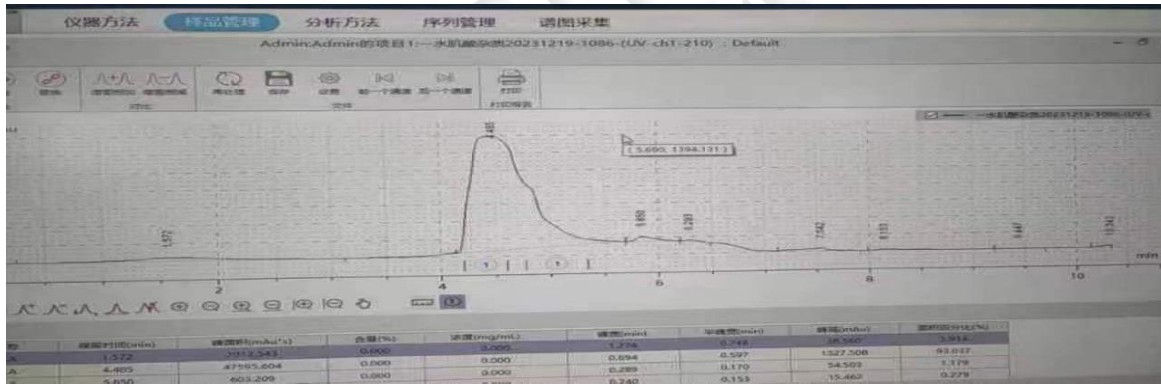
样品信息			
样品名称	胞磷胆碱	项目编号	20240109-027
样品性状	凝胶状透明固体	样品重量	400mg
收样日期	2024/01/08	测试期间	2024/01/09-2024/01/11

目标物信息

分析图 1:



制备图 2:



目标物保留时间	杂质 1: 4.2min	面积归一化含量 (210nm, %)	/
---------	--------------	--------------------	---

实验要求

要求验证制备色谱柱 AQ-C18 是否可以重现在分析图谱, 客户反应分析两个峰, 但制备上只有一个峰

试剂信息

试剂名称	级别	供应商
磷酸	AR	麦克林
三乙胺	AR	麦克林
乙腈	色谱级	月旭



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

纯水	一级	月旭
仪器信息		
仪器名称	仪器型号	仪器厂家
分析液相色谱仪	LC-20AD	岛津
制备液相色谱仪	Sail1000	月旭

1. 试验过程

1.1. 方法重现

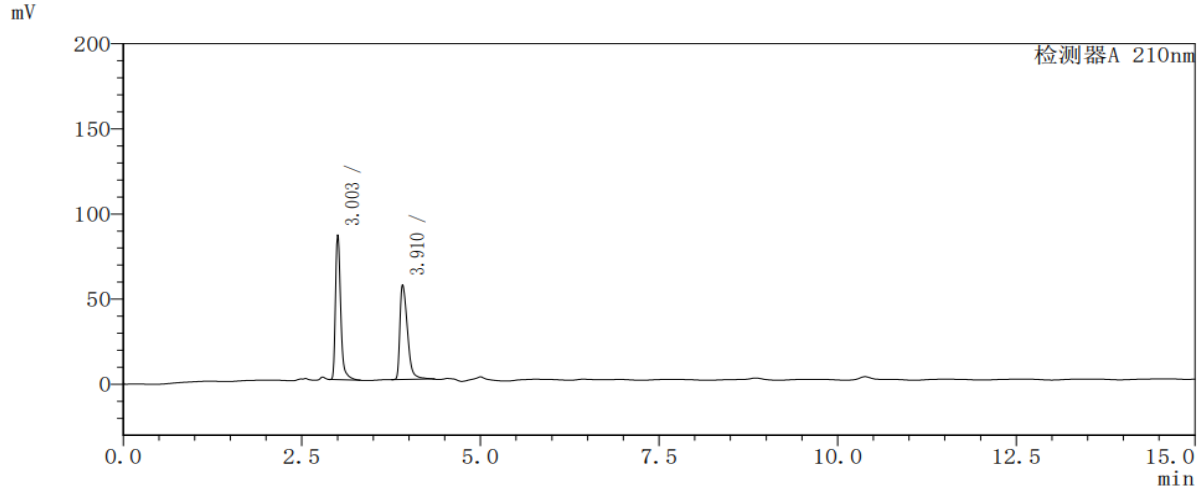
称取粗品约 10mg，用 2ml 纯水溶解，过滤后备用，过滤至进样小瓶中，按照以下色谱分析方法进行分析：

色谱柱	Ultimate AQ-C18 4.6×250mm, 5μm		
流动相 A	0.06%磷酸水（用三乙胺调 pH=6.0）		
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	210nm		
梯度洗脱程序	时间（min）	流动相 A（%）	流动相 B（%）
	0	99	1
	20	99	1

分析图谱如图 3 所示：



<色谱图>



<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		3.003	413741	50.316	7636	1.411	—
2		3.910	408538	49.684	6119	1.633	5.376
总计			822279	100.000			

图3 方法重现图谱

结论：通过与分析图1进行比较，可以确定3.9min为目标物。

1.2. 分离纯化过程

1.2.1. 样品制备

将剩余样品约390mg粗品，溶解到6ml水中，过滤后备用，溶液浓度为65mg/ml，制备液相条件如下所示：

仪器	Sail1000		
色谱柱	Ultimate AQ-C18 21.2×250mm, 5μm		
流动相 A	0.06%磷酸水（用三乙胺调 pH=6.0）		
流动相 B	制备级乙腈		
流速	20ml/min		
进样量	0.5mL(32.5mg)/1ml(65mg)/2ml(130mg)		
柱温	室温		
检测波长	210nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	99	1
	20	99	1

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3页共6页

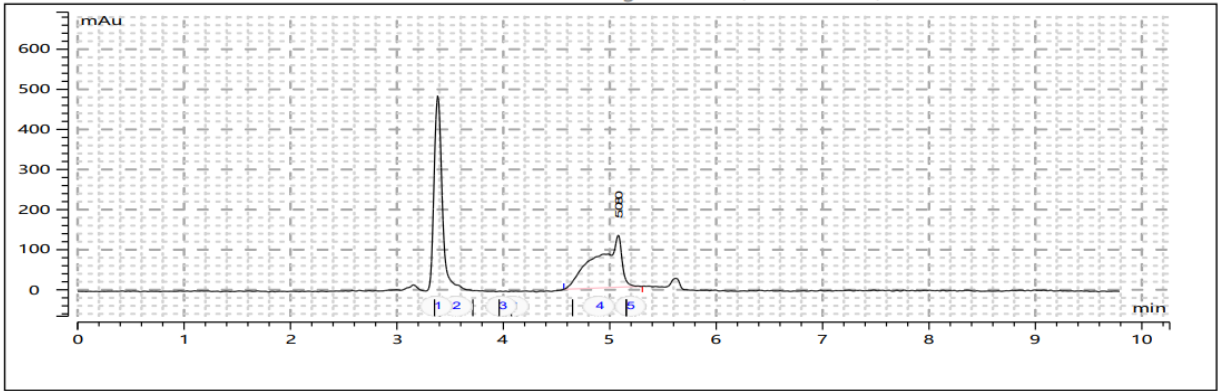
邮编：201600

邮编：321000

邮编：211500

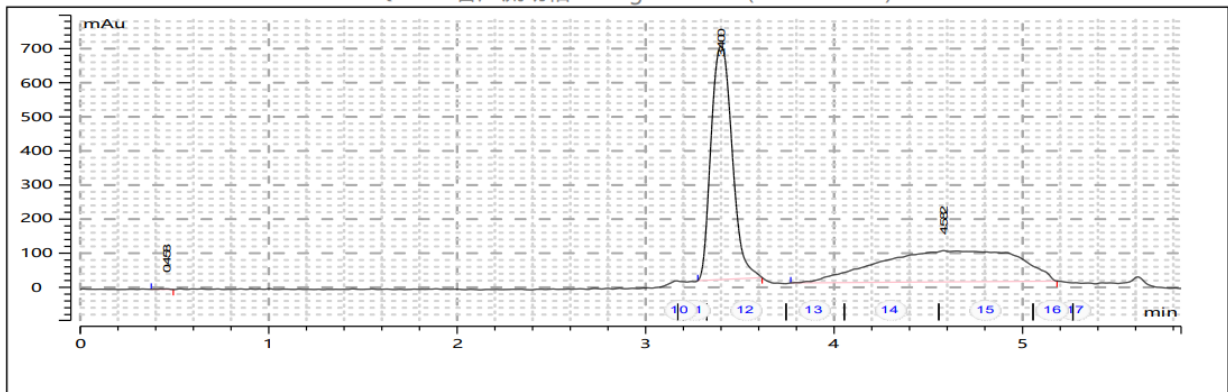


制备图谱如图 4，图 5，图 6 所示：



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.	5.080	2192.764	0.162	0.330	130.236	100.000	BB*	0	
2	总计									

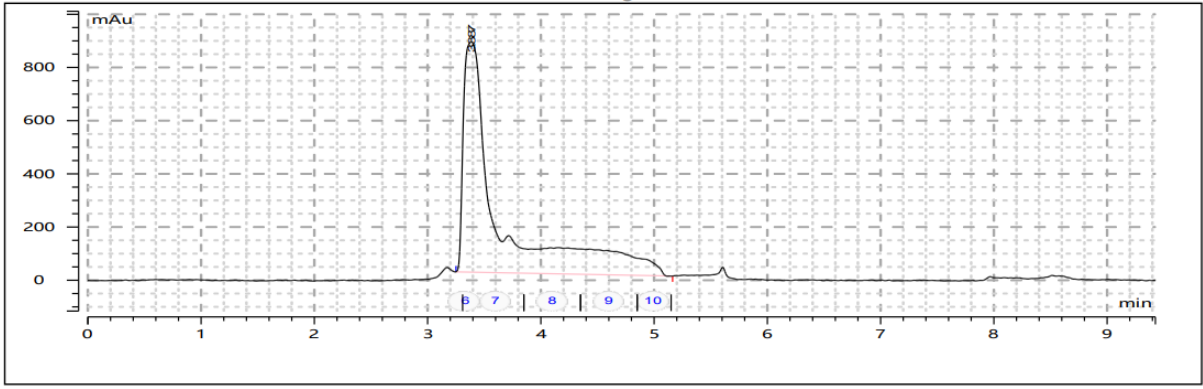
图 4 粗品制备 1 图谱（32.5mg）



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.	0.458	5.312	0.080	0.059	1.538	0.052	BB	0	
2	N.A.	3.400	5330.111	0.197	0.123	685.877	52.659	BB*	0	
3	N.A.	4.582	4786.512	1.279	0.889	91.635	47.289	BB*	0	
4	总计									

图 5 粗品制备 2 图谱（65mg）





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.	3.387	18244.058	0.269	0.187	868.300	100.000	BB*	0	
2	总计									

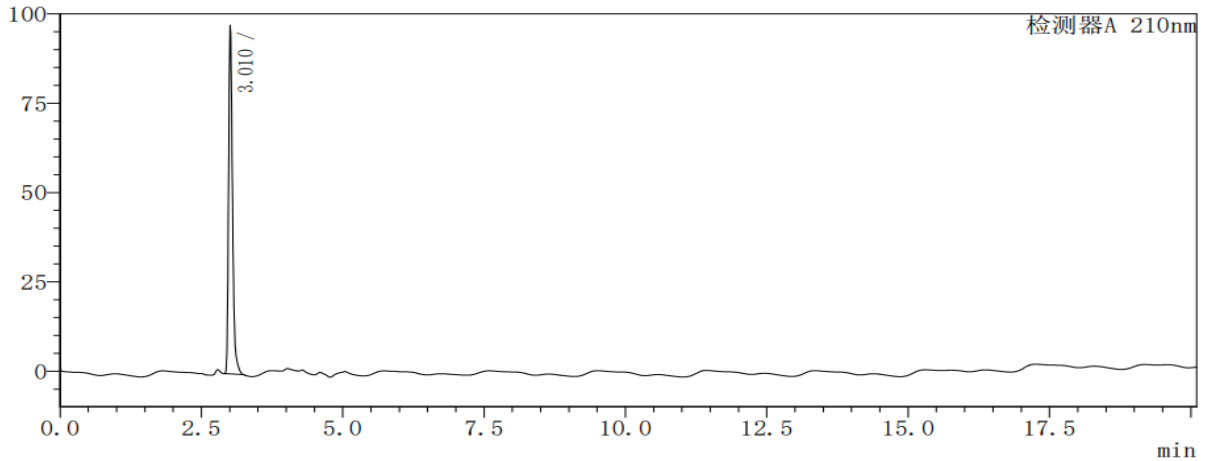
图 6 粗品制备 3 图谱 (130mg)

1.2.2. 杂质分析

从 1.2.1 中第二次制备 (65mg) 的馏分 12 中取 1ml 至进样小瓶；另将馏分 13-15 合并混合，取 1ml 至进样小瓶，分别进行液相色谱分析，具体分析条件同“步骤 1.1”一致。分析图谱如图 7，图 8 所示：

<色谱图>

mV



<峰表>

检测器A 210nm

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		3.010	468827	100.000	7551	1.363	--
总计			468827	100.000			

图 7 馏分 12 分析图谱

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

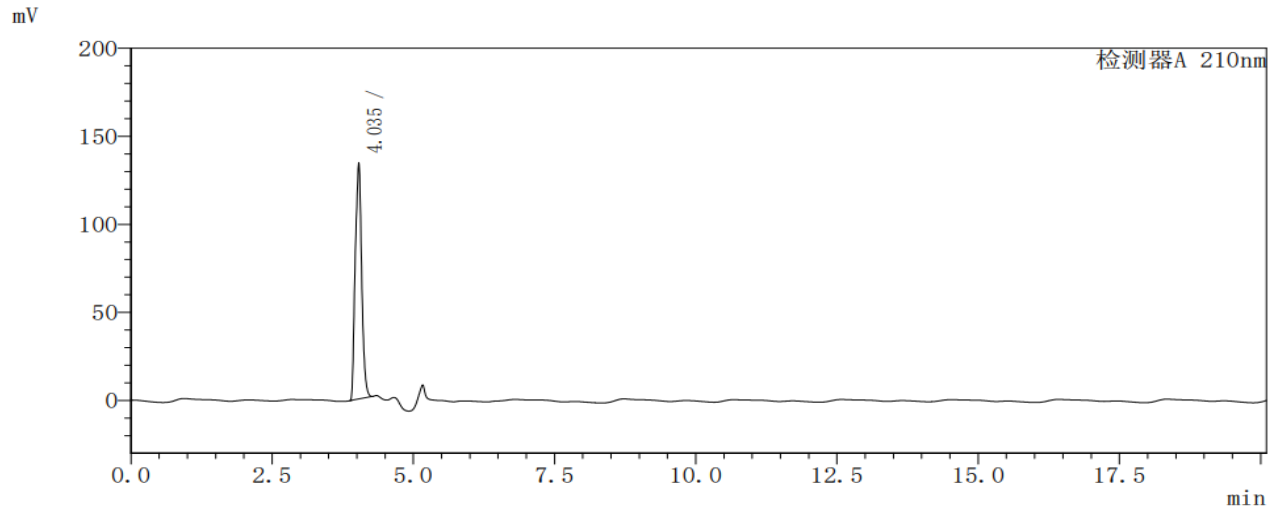
Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Add:江苏省南京市六合区天圣路 22 号 F 栋 4 楼

Tel:400-810-6969



<色谱图>



<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		4.035	1056880	100.000	5412	1.076	--
总计			1056880	100.000			

图 8 馏分 13-15 分析图谱

结论：由图可见第二次制备（65mg）中的馏分 12 出峰时间为 3.0min，对比粗品分析图谱 1，可以确定该峰就是目标物质前面的杂质峰（3.0min），另一个馏分 13-15 出峰时间为 4.0min，对比粗品分析图谱 1，可以确定该峰就是目标物质。

2. 结论

使用月旭 Ultimate® AQ-C18, 21.2×250mm,5μm 在此色谱条件下制备该样品，随着上样量的增加，粗品中的两个峰的分度逐渐变差，当上样量升到 130mg 时，两个峰完全包一起。

报告人:Ada

审核人: Jim

日期: 2024/01/16

