

分离纯化报告

样品信息			
样品名称	垂体后叶粉	项目编号	20231218-1197
样品性状	透明液体	样品重量	/
收样日期	2023/12/20	测试期间	2023/12/20~2024/01/15

目标物信息

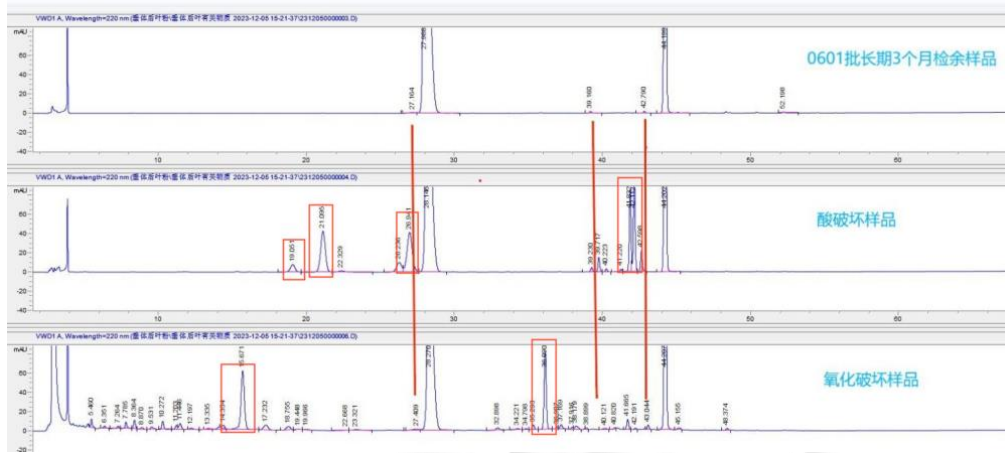


图 1 客户分析谱图

目标物保留时间	/	面积归一化含量 (220nm, %)	/
---------	---	-----------------------	---

实验要求

开发方法能制备纯度大于 95%目标杂质

试剂信息

试剂名称	级别	供应商
磷酸	AR	麦克林
氢氧化钠	AR	麦克林
三氟乙酸	AR	阿拉丁
乙腈	HPLC	月旭科技
水	二级	月旭科技

仪器信息

仪器名称	仪器型号	仪器厂家
高效液相色谱仪	Agilent1260	安捷伦
制备型高效液相色谱仪	月旭 Sail000	月旭科技

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



1. 试验过程

1.1. 方法重现

流动相配置：

流动相 A：磷酸缓冲液(称取磷酸加入纯化水配置成 4.66g/L，用饱和氢氧化钠调节 pH 至 5.00，用滤膜过滤即得，超声脱气后待用。

流动相 B：流动相 A：乙腈=1：1 样品配置：

样品溶液： 客户提供液体样品直接进样。

按照以下色谱分析方法进行分析：

仪器	Agilent 1260		
色谱柱	Ultimate LP-C18 (4.6×250mm,5μm)		
流动相 A	磷酸缓冲液		
流动相 B	磷酸缓冲液：乙腈=1：1		
流速	1mL/min		
进样量	50μl		
柱温	50°C		
检测波长	220nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	80	20
	5	77	23
	20	77	23
	25	75	25
	45	50	50
	65	10	90
	65.1	80	20
	75	80	20

分析图谱如下图所示：

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 2 页 共 18

邮编：201600

邮编：321000

邮编：211500



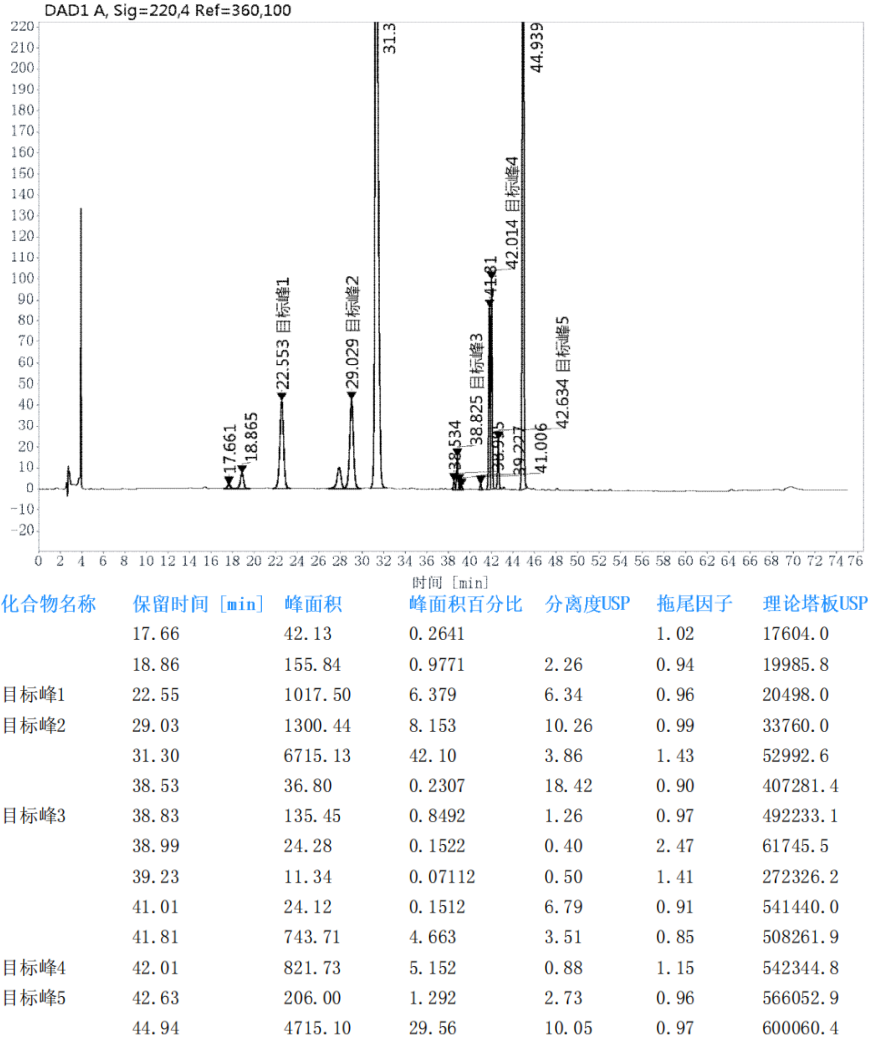
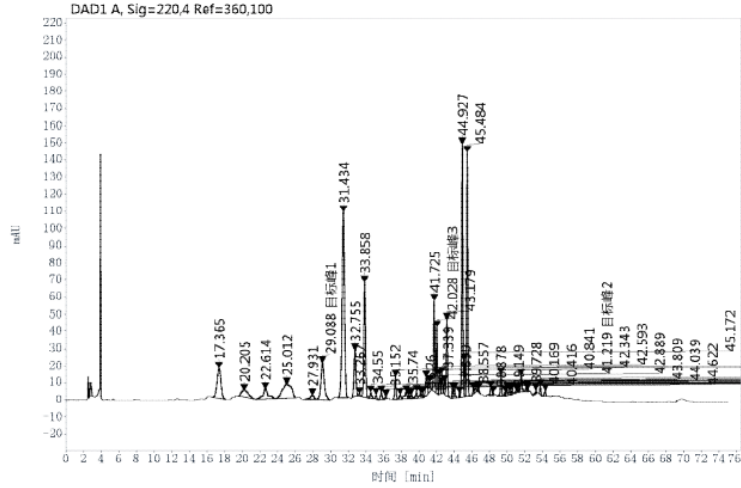


图2 酸破坏样品-方法重现图谱



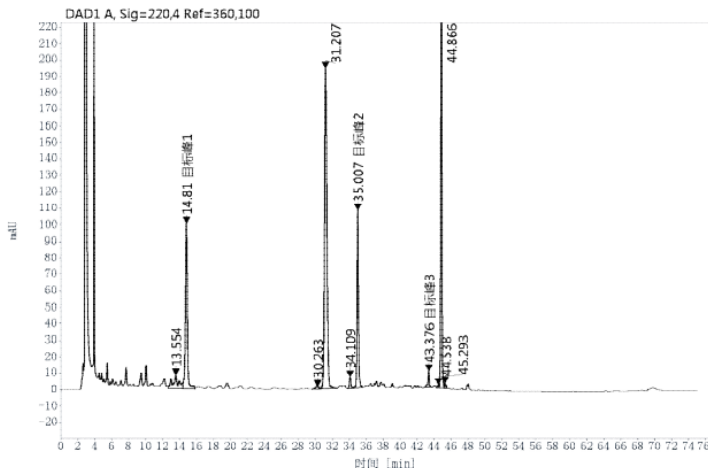


信号: DAD1 A, Sig=220,4 Ref=360,100

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	信噪比 USP
	17.36	530.42	4.665	0.87	7792.2		
	20.20	224.67	1.976	2.43	1.04	2730.0	
	22.61	246.15	2.165	2.03	1.18	11963.5	
	25.01	589.63	5.185	1.84	1.01	3136.2	
	27.93	70.28	0.6181	2.34	0.76	24656.7	
目标峰1	29.09	559.67	4.922	1.70	1.13	32390.2	
	31.43	2075.64	18.25	4.11	0.94	64692.0	
	32.75	401.89	3.534	2.97	1.04	109774.6	
	33.27	11.91	0.1047	1.46	0.89	189407.1	
	33.86	920.97	8.099	1.77	1.01	140981.7	
	34.55	49.61	0.4363	1.92	0.98	149224.0	
	35.15	26.51	0.2331	1.92	0.79	271905.6	
	35.74	55.73	0.4901	1.91	1.07	169184.0	
	36.26	12.13	0.1067	1.70	1.16	299731.8	
	37.34	144.15	1.268	3.94	0.97	279324.9	
	37.90	32.59	0.2866	1.83	0.87	213910.3	
	38.56	75.16	0.6610	1.43	0.75	67332.7	
	38.88	15.91	0.1399	0.78	0.97	476653.5	
	39.15	26.45	0.2326	0.97	1.03	217380.8	
	39.73	47.07	0.4139	1.84	0.77	293395.1	
	40.17	40.76	0.3584	1.44	0.71	251907.4	
	40.42	24.45	0.2150	0.67	1.00	155000.6	
	40.84	168.86	1.485	0.99	1.09	132662.3	
目标峰2	41.22	77.10	0.6780	0.84	1.16	135305.8	
	41.72	505.06	4.441	1.45	1.05	456728.7	
目标峰3	42.03	310.97	2.735	1.31	0.95	616800.2	
	42.34	91.44	0.8041	1.42	1.01	536044.3	
	42.59	106.32	0.9350	1.04	1.10	472805.4	

图3 碱破坏样品-方法重现图谱





信号:		DADI A, Sig=220,4 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	信噪比_USP
	13.55	350.43	3.551	0.96	17234.6		
目标峰1	14.81	1605.36	16.27	3.14	0.94	23347.7	
	30.26	40.84	0.4139	30.39	0.78	37000.5	
	31.21	3812.93	38.64	1.65	1.20	59013.1	
	34.11	81.90	0.8299	7.17	1.79	212665.3	
目标峰2	35.01	1230.98	12.47	3.07	1.10	235217.1	
目标峰3	43.38	105.56	1.070	32.28	0.72	569780.8	
	44.54	23.58	0.2390	3.70	0.65	200197.4	
	44.87	2581.77	26.16	1.04	0.98	608385.9	
	45.29	34.42	0.3488	1.51	1.41	291151.5	

图 4 氧化破坏样品-方法重现图谱

结论：通过与客户图谱进行比较，可以确定酸破坏样品中 RT22.5、29.0、38.8、42.0、42.6min 为目标杂质，碱破坏样品中 RT29.1、41.2、42.0min 为目标杂质，氧化破坏样品中 RT14.8、35.0、43.4min 为目标杂质。

1.2. 分离纯化过程

1.2.1. 方法开发 1

取 1.1 项下的进样小瓶进行分析：

色谱柱	Xtimate C18(4.6×250mm,5μm)		
流动相	0.1%TFA: 50%乙腈水		
流速	1mL/min		
进样量	50μl		
柱温	/		
检测波长	220nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	70	30
	30	50	50

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 5 页 共 18

邮编：201600

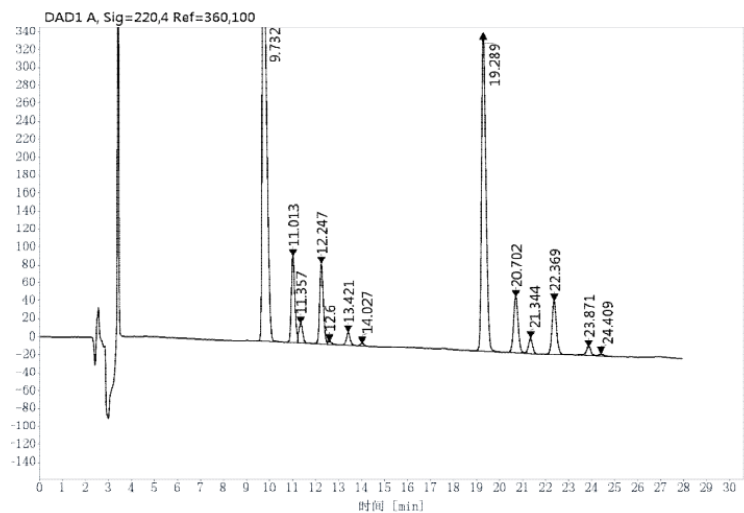
邮编：321000

邮编：211500



	40	10	90
	45	10	90
	45.01	70	30
	55	70	30

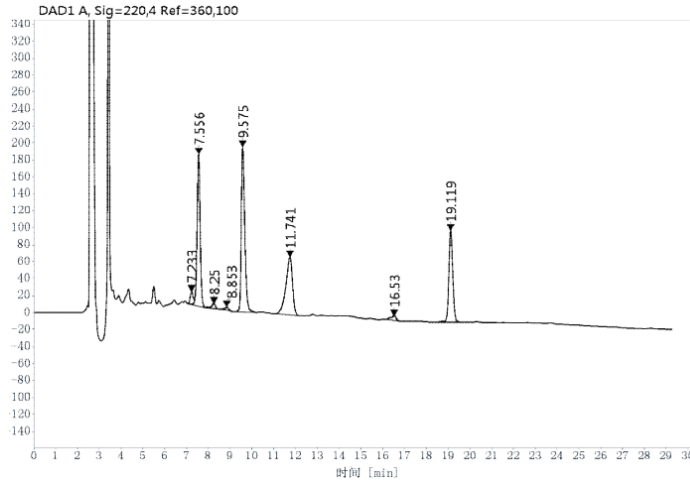
分析图谱如下图所示



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
9.73	6467.27	41.38		1.91	11257.7
11.01	1007.71	6.447	3.99	1.22	25747.6
11.36	248.87	1.592	1.12	1.17	18148.4
12.25	977.63	6.255	2.84	1.19	28868.1
12.60	34.47	0.2205	0.90	1.93	10297.8
13.42	160.70	1.028	2.07	0.98	32884.0
14.03	34.69	0.2220	1.96	0.86	29989.1
19.29	4673.84	29.90	15.57	1.42	47999.8
20.70	840.18	5.375	3.98	1.06	53398.6
21.34	200.45	1.282	1.91	0.90	73774.8
22.37	796.13	5.094	3.11	1.14	67635.5
23.87	154.10	0.9859	4.13	0.72	62117.7
24.41	34.04	0.2178	1.51	0.95	87294.8

图 5 酸破坏样品方法开发图谱





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
7.23	147.74	2.116		1.12	
7.56	1735.70	24.85		0.95	14765.2
8.25	58.39	0.8361	2.68	0.68	15090.2
8.85	45.80	0.6559	1.89	0.79	9142.4
9.58	2165.42	31.01	2.20	1.40	17887.1
11.74	1432.94	20.52	5.23	0.76	7491.6
16.53	82.01	1.174	10.51	0.69	32227.2
19.12	1315.71	18.84	7.52	1.11	57202.7

图 6 氧化破坏样品方法开发图谱

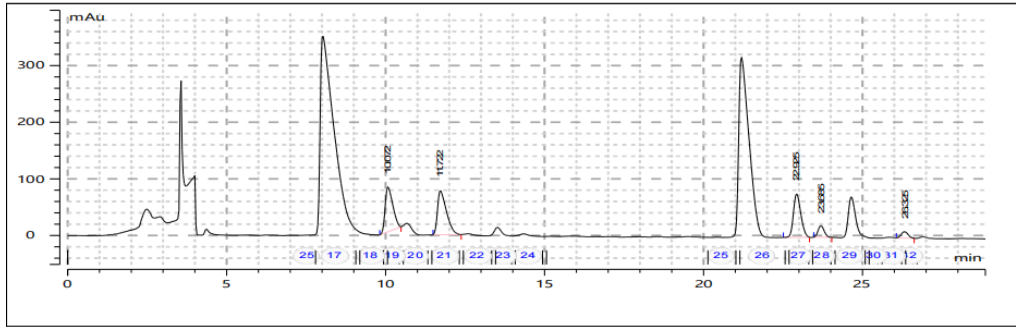
结论：样品中峰分离度较大，数量相同，使用该方法制备样品并确认目标峰。

1.2.2. 样品制备 1

仪器	月旭 Sail1000		
色谱柱	Xtimate C18 (10×250mm,5μm)		
流动相	0.1%TFA 水：50%乙腈水		
流速	5mL/min		
进样量	1mL		
柱温	/		
检测波长	220nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	70	30
	30	50	50

制备图谱如下图所示：





No	保留时间 (min)	峰面积 (mAu*s)	峰高 (mAu)	面积百分比 (%)	峰分离度 (EP)	拖尾因子 (EP)	理论塔板数 (EP)
1	10.072	1322.556	79.554	29.251	3.4	1.483	7996
2	11.722	1513.911	78.124	33.483	23.9	1.799	8390
3	22.925	1239.917	76.979	27.423	1.9	1.246	46217
4	23.685	273.626	20.513	6.052	6.8	1.209	70294
5	26.325	171.442	11.464	3.792	0.0	1.052	64144

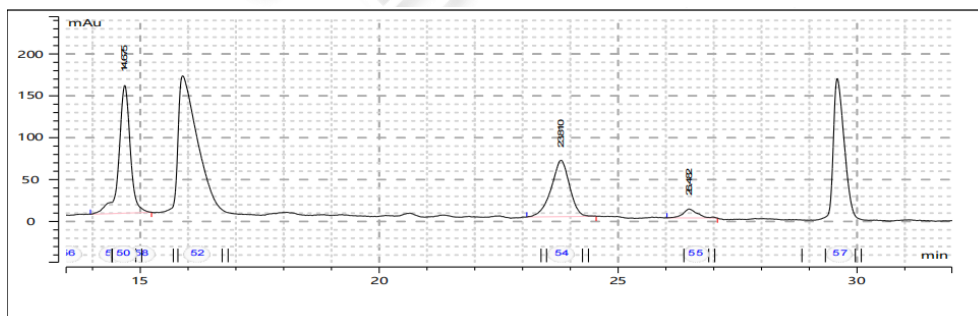
图 7 酸破坏样品制备图谱

收集目标杂质馏分并检测。

1.2.3. 样品制备 2

色谱柱	Xtimate C18 (10×250mm,5μm)		
流动相	0.1%TFA 水: 50%乙腈水		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	70	25
	30	55	45
	35	50	50

制备图谱如下图所示:



No	保留时间 (min)	峰面积 (mAu*s)	峰高 (mAu)	面积百分比 (%)	峰分离度 (EP)	拖尾因子 (EP)	理论塔板数 (EP)
1	14.675	2531.624	152.928	55.658	17.2	0.842	22715
2	23.810	1797.075	67.375	39.509	4.6	0.897	19859
3	26.482	219.824	10.784	4.833	0.0	1.337	45751

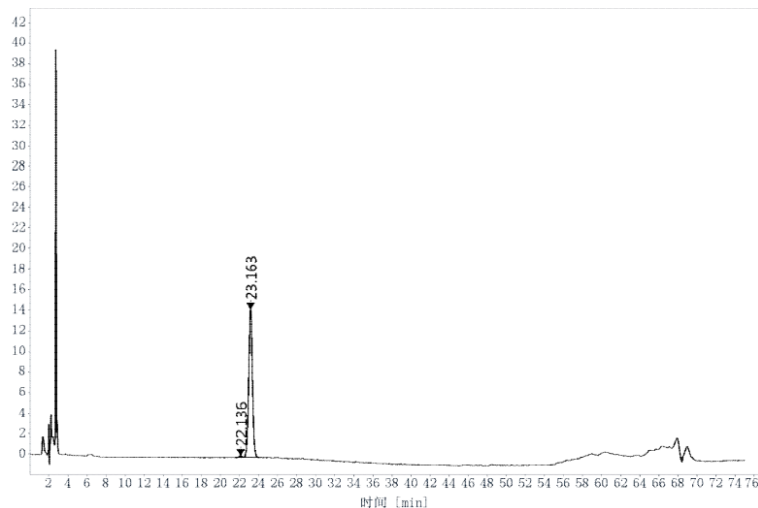
图 7 氧化破坏样品制备图谱



收集目标杂质馏分并检测。

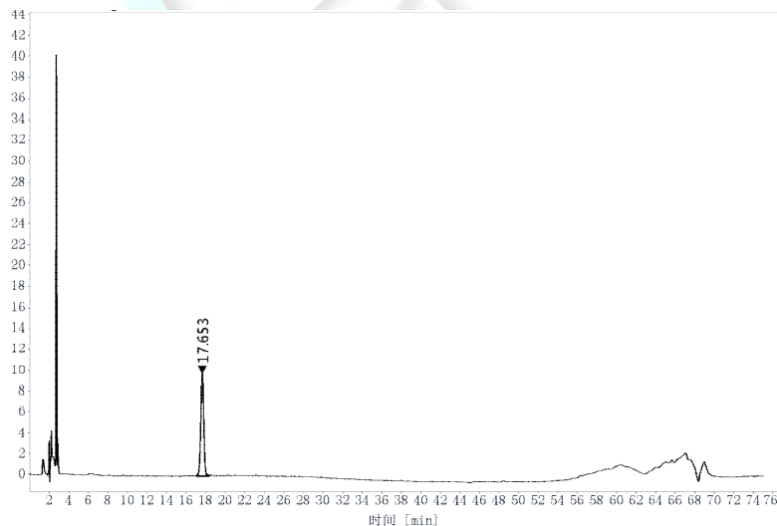
1.2.4. 馏分分析 1

将 1.2.2 和 1.2.3 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。分析图谱如下图所示：



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
22.14	3.83	0.9714		0.87	75201.0
23.16	390.56	99.03	2.00	1.00	17354.0

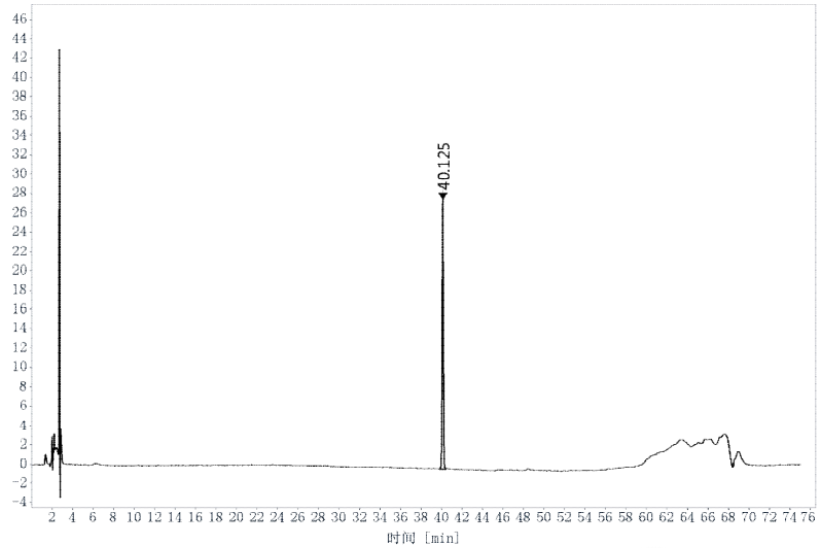
图 8 酸破坏样品-制备 RT10.07 馏分分析图



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
17.65	204.76	100.0		0.99	16981.0

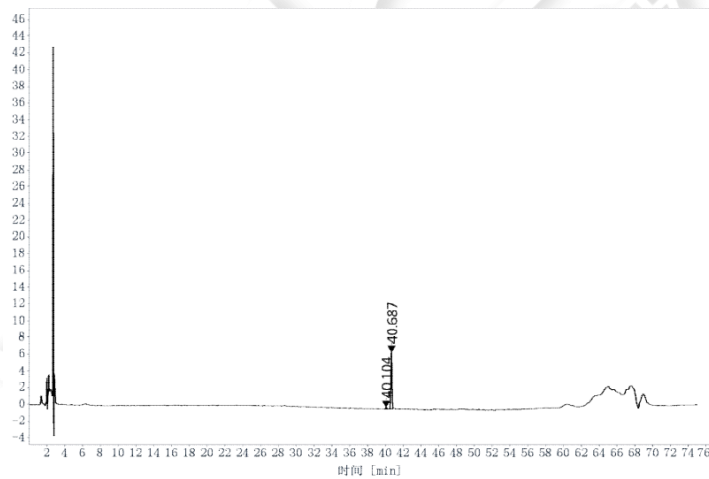
图 9 酸破坏样品-制备 RT11.72 馏分分析图





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
40.12	237.22	100.0		1.01	515486.6

图 10 酸破坏样品-制备 RT22.9 馏分分析图



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
40.10	2.13	3.484		0.95	503015.9
40.69	58.90	96.52	2.54	0.98	490062.3

图 11 酸破坏样品-制备 RT23.7 馏分分析图

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。

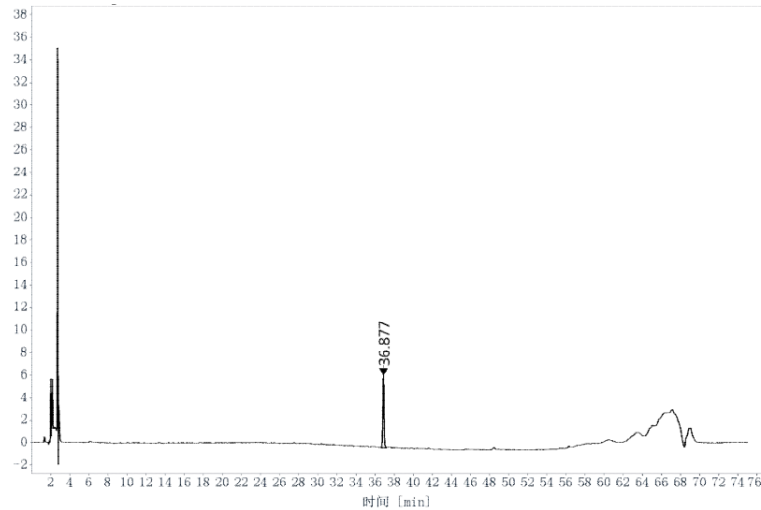
Add:上海市松江区明南路 85 号启迪漕河泾（中山）科技园.紫荆园 10 号楼

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

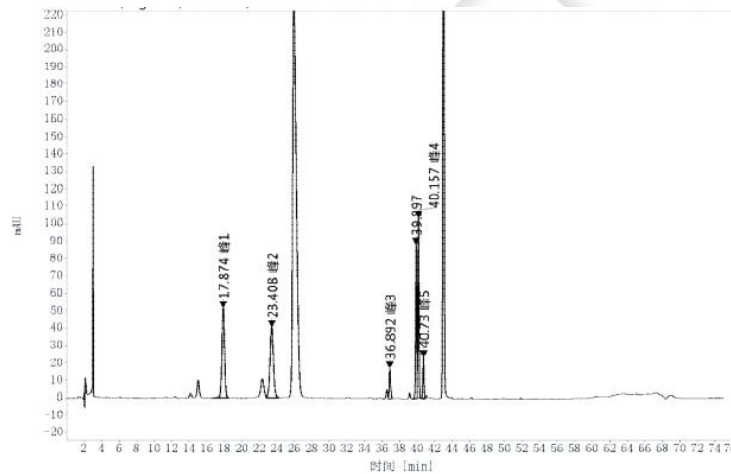
Tel:400-810-6969





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
36.88	54.83	100.0		0.98	439848.3

图 12 酸破坏样品-制备 RT26.3 馏分分析图



信号: DAD1 A, Sig=220,4 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	信噪比_USP
峰1	17.87	1067.61	25.64		1.00	17657.9	
峰2	23.41	1078.09	25.91	8.99	1.03	18252.3	
峰3	36.89	175.79	4.222	28.55	1.18	344018.1	
	39.90	762.84	18.32	12.52	0.93	486957.9	
峰4	40.16	873.27	20.97	1.15	1.02	523673.2	
峰5	40.73	205.73	4.941	2.53	0.97	501134.4	

图 13 酸破坏样品分析图

结论：酸破坏样品中，目标峰 1-峰 5 分别对应制备图中 RT11.72、RT10.07、RT26.3、RT22.9、RT23.7min 的色谱峰。



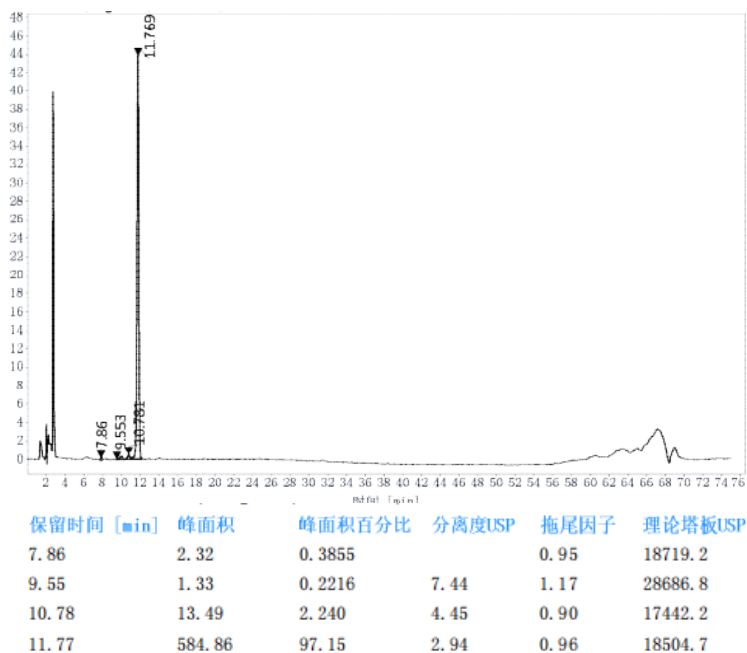


图 14 氧化破坏样品-制备 RT14.7 馏分分析图

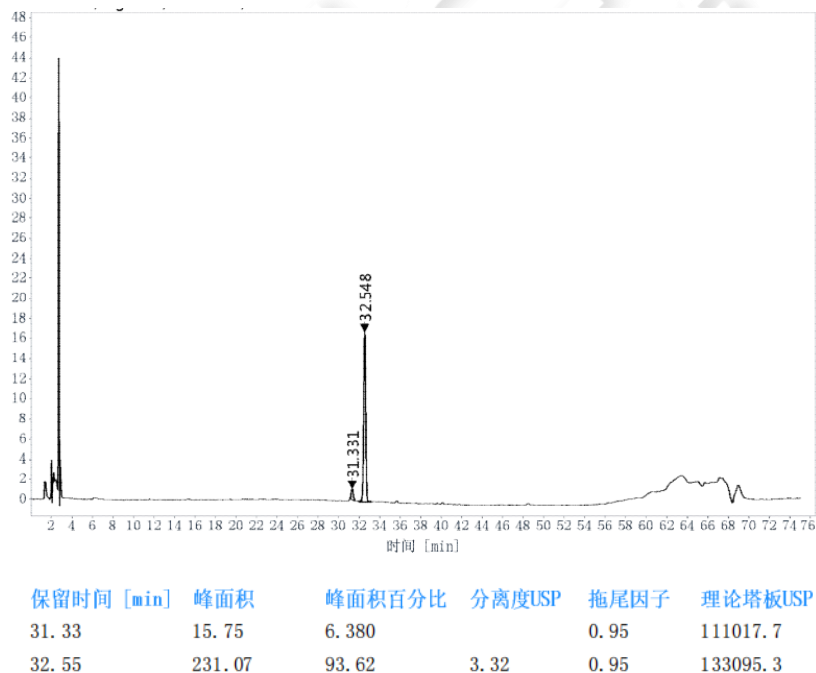


图 15 氧化破坏样品-制备 RT23.8 馏分分析图



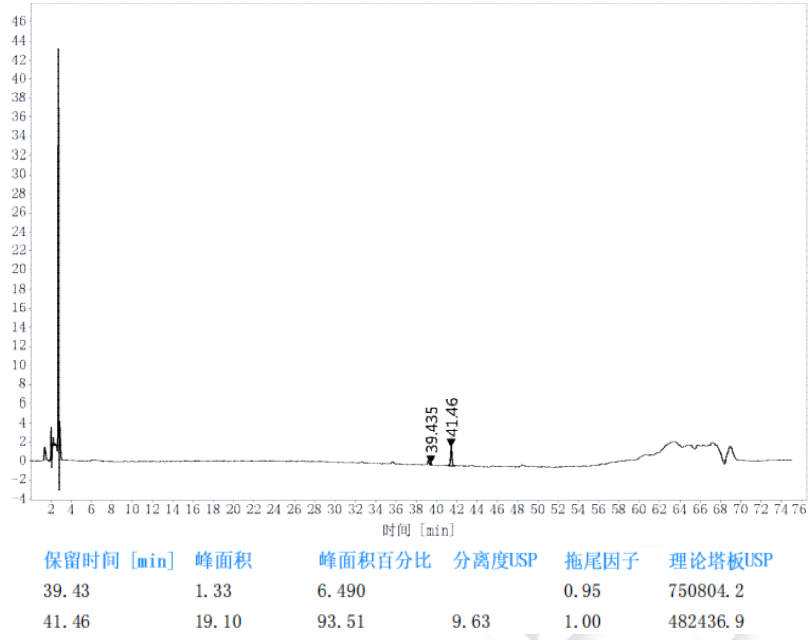


图 16 氧化破坏样品-制备 RT26.5 馏分分析图

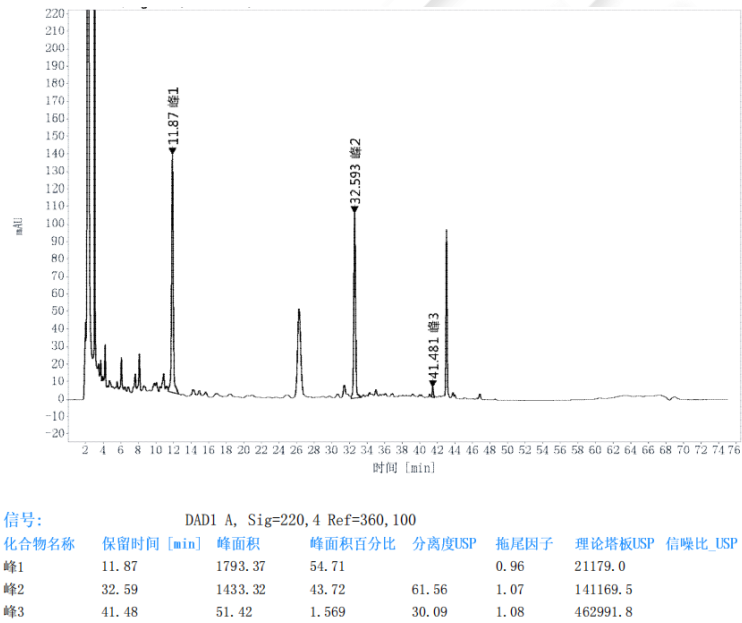


图 17 氧化破坏样品分析图



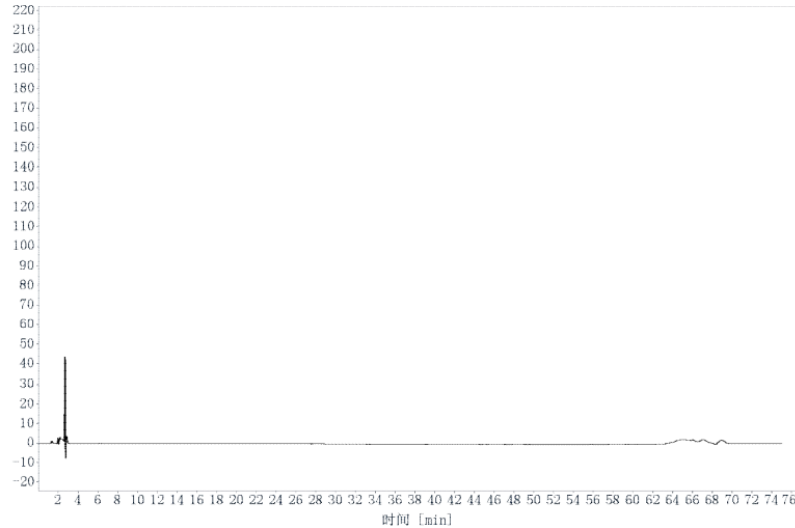


图 18 空白分析图（制备流动相）

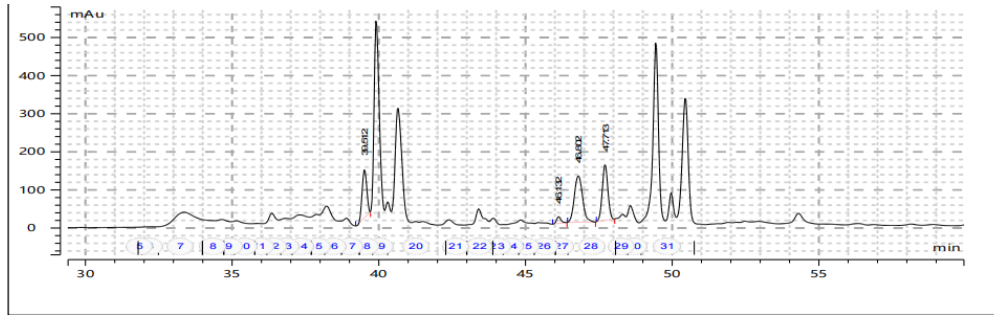
结论：氧化破坏样品中，目标峰 1-峰 3 分别对应制备图中 RT14.7、RT23.8、RT26.5min 的色谱峰。

1.2.5. 样品制备 2

仪器	月旭 Sail1000		
色谱柱	Ultimate LP-C18 (10×250mm,5μm)		
流动相 A	磷酸缓冲液		
流动相 B	磷酸缓冲液：乙腈=1：1		
流速	5mL/min		
进样量	1mL		
柱温	/		
检测波长	220nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	80	20
	5	77	23
	20	77	23
	25	75	25
	45	50	50
	65	10	90
	65.1	80	20
	75	80	20

制备图谱如下图所示：





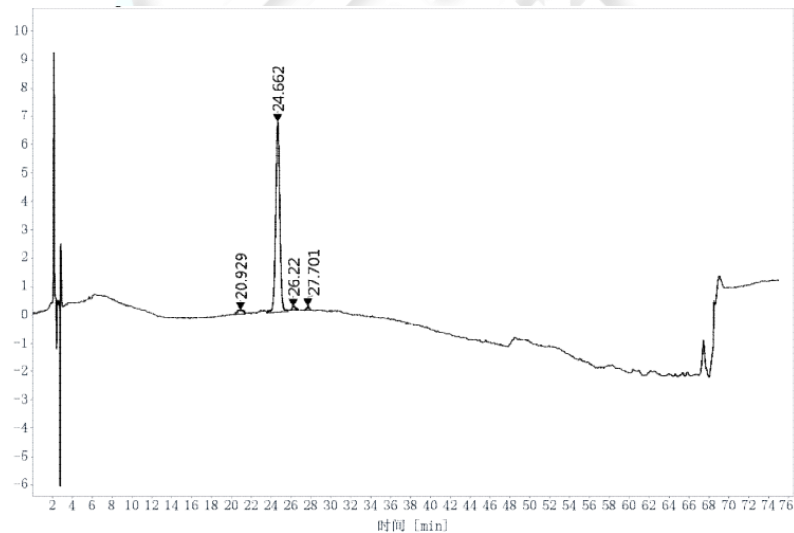
No	保留时间 (min)	峰面积 (mAu*s)	峰高 (mAu)	面积百分比 (%)	峰分离度 (EP)	拖尾因子 (EP)	理论塔板数 (EP)
1	39.512	1368.916	127.355	23.424	23.7	1.015	276809
2	46.132	183.391	18.225	3.138	1.7	1.194	502961
3	46.802	2355.791	121.626	40.311	2.1	1.146	133320
4	47.713	1935.892	147.318	33.126	0.0	1.016	301998

图 19 碱破坏样品制备图谱

收集目标杂质馏分并检测。

1.2.6. 馏分分析 2

将 1.2.5 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。分析图谱如下图所示：



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
20.93	5.39	2.665	0.95	11510.3	
24.66	191.97	94.94	4.92	17946.1	
26.22	2.52	1.245	2.24	25484.2	
27.70	2.33	1.153	2.85	84506.9	

图 20 碱破坏样品-制备 RT39.5 馏分分析图



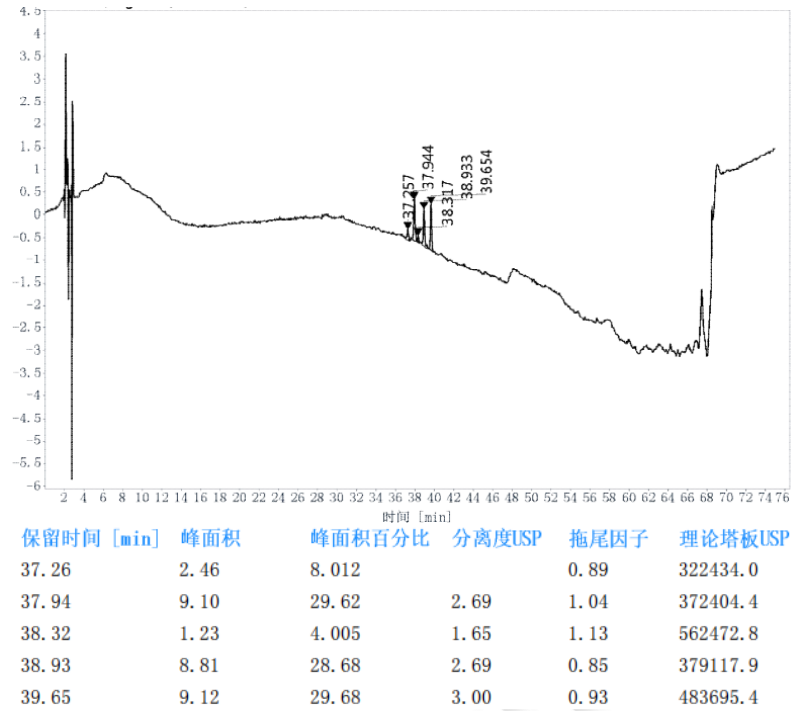


图 21 碱破坏样品-制备 RT46.1 馏分分析图

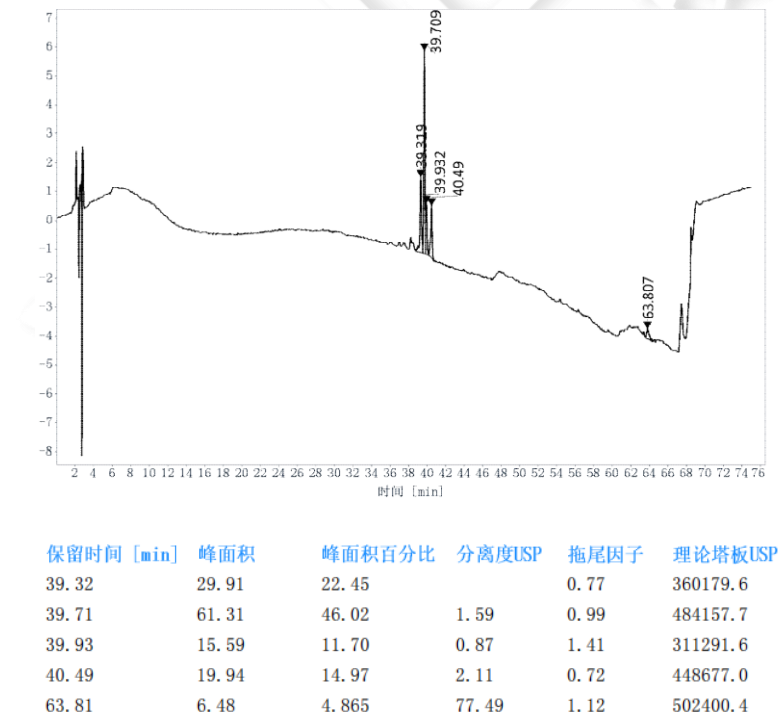
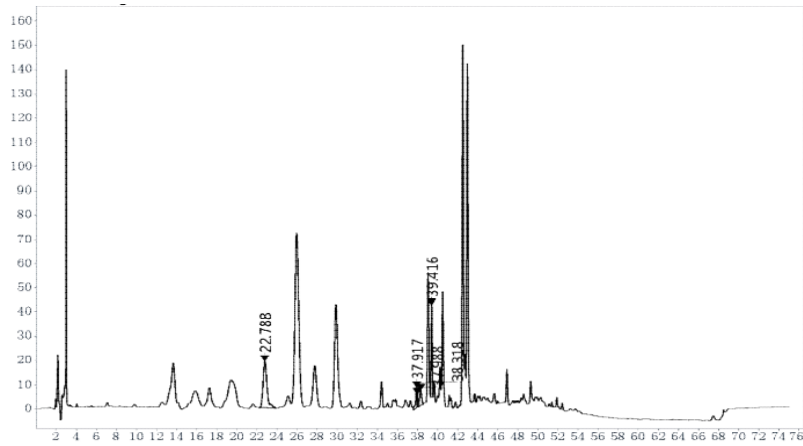


图 22 碱破坏样品-制备 RT47 馏分分析图





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
22.79	524.53	51.51		1.51	18037.4
37.92	91.53	8.988	30.99	0.62	259699.7
37.99	36.83	3.617			
38.32	80.85	7.939		1.28	177900.0
39.42	284.59	27.95	3.88	0.97	602650.9

图 23 碱破坏样品分析图

结论：碱破坏样品中，收集的三个馏分分别含有三个目标峰，峰 1 纯度达标，开发方法二次纯化峰 2 和峰 3。

1.2.7. 方法开发 1

取 1.1 项下的进样小瓶进行分析：

色谱柱	Ultimate Alk-C18(4.6×250mm,5µm)		
流动相	10mM 乙酸铵（乙酸调节 pH=5）：50%乙腈水		
流速	1mL/min		
进样量	50µl		
柱温	/		
检测波长	220nm		
梯度洗脱程序	时间（min）	流动相 A（%）	流动相 B（%）
	0	80	20
	30	40	60
	40	10	90
	45	10	90
	45.01	80	20
	55	80	20

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

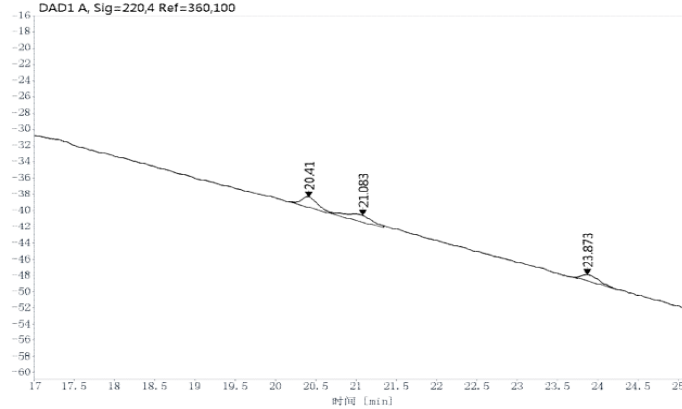
Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Add:江苏省南京市六合区天圣路 22 号 F 栋 4 楼

Tel:400-810-6969

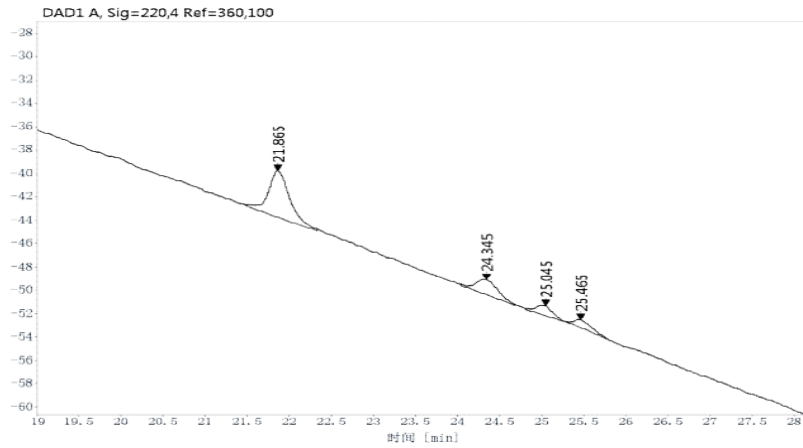


分析图谱如下图所示：



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
20.41	17.86	37.36		0.86	52104.0
21.08	18.26	38.21	1.51	0.83	24540.3
23.87	11.68	24.44	6.09	0.95	63197.9

图 24 碱破坏样品-制备 RT46.1 馏分方法开发图



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
21.87	69.64	60.80		0.82	45189.9
24.35	23.44	20.47	5.88	0.84	50482.2
25.05	11.07	9.664	1.84	0.92	92219.1
25.47	10.39	9.072	1.23	0.93	83538.3

图 25 碱破坏样品-制备 RT47 馏分方法开发分析图

结论：样品中峰分离度较大，可使用该方法进行二次纯化。

2. 结论

使用月旭 Xtimate C18 在对应色谱条件下进行制备并收集目标峰，制备结果满足客户要求。

报告人：Queena

审核人：Jim

日期：2024/01/19

