

分离纯化报告

样品信息			
样品名称	硫酸依替米星中间体	项目编号	XMGLLC-20230307
样品性状	固体	样品重量	/
收样日期	2023/03/26	测试期间	2023/03/27-2023/07/07
目标物信息			
<p>用户提供样品为硫酸依替米星中间体，纯度大于 50%，无紫外吸收，结构未知，硫酸依替米星结构如下：</p> 			
目标物保留时间	13.8min	面积归一化含量	90%
实验要求			
<p>利用 HPLC-ELSD 仪器在酸碱性条件下进行方法开发，使目标物保留时间在 10min~20min 之间，选择杂质多且纯度低的方法；优化工艺，计算上样量与回收率，获得商业效益最高的方法。</p>			
试剂信息			
试剂名称	级别	供应商	
甲醇	色谱级	月旭	
纯水	超纯水	月旭	
TFA	色谱级	阿拉丁	
仪器信息			
仪器名称	仪器型号	仪器厂家	
分析液相	WIsys5000	月旭	
制备液相	Sail1000	月旭	



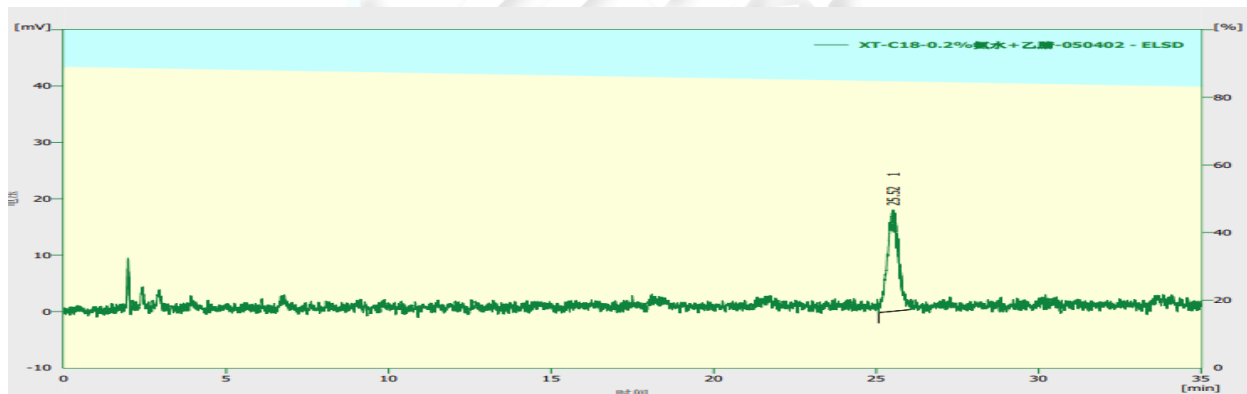
1. 试验过程

1.1. 方法重现

取适量样品，取样品 4.6mg，用 1ml 乙腈+8.2ml 水溶解，过滤至进样小瓶中，即浓度为 0.5mg/ml 按照以下色谱分析方法进行分析：

色谱柱	XT -C18 4.6×250mm,10μm		
流动相 A	0.2%氨水+水		
流动相 B	色谱级甲醇		
流速	1ml/min		
进样量	50μl		
柱温	室温		
检测器	ELSD		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	89	11
	48	82	18

分析图谱如图 1 所示：



	保留时间 [min]	峰面积 [mV.s]	峰高 [mV]	不对称因子 [-]	柱效/米 [tp/m]	分离度 [-]	对称/拖尾因子 [-]
1	25.523	434.474	17.975	0.949	528807		0.992
2	45.766	9.677	2.114	0.230	43154385	53.948	0.618
	合计	444.152	20.090				

图 1 方法重现图谱

结论：25.523min 为目标物，但在碱性条件下，基线毛刺太大

1.2. 分离纯化过程

1.2.1. 方法开发 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



1.2.1.1. 方法开发

取 4.1 项下的进样小瓶进行分析：

色谱柱	XT -C18 4.6×250mm,10μm		
流动相 A	0.1%TFA+水		
流动相 B	色谱级甲醇		
流速	1ml/min		
进样量	50ul		
柱温	室温		
检测器	ELSD		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	90	10
	30	60	40

分析图谱如下图 2 所示：

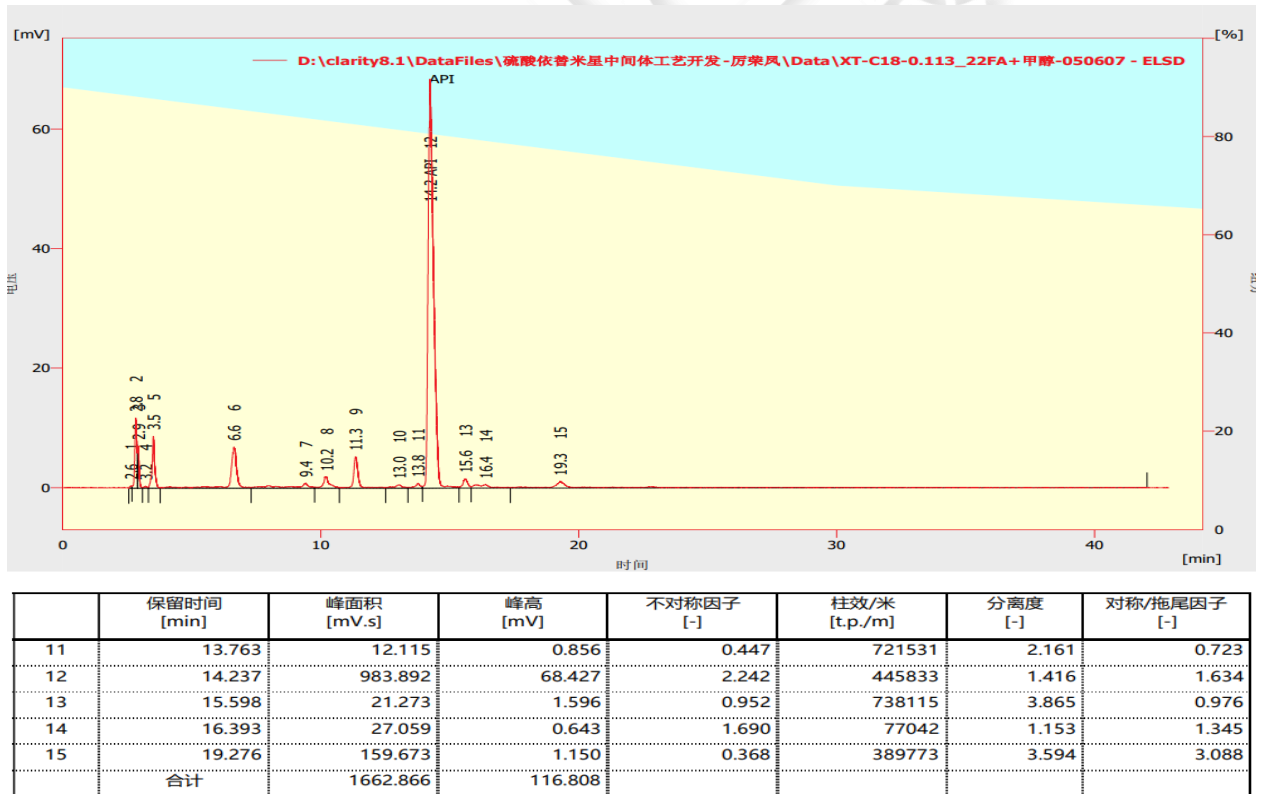


图 2 方法开发图谱

1.2.1.2. 样品制备 1

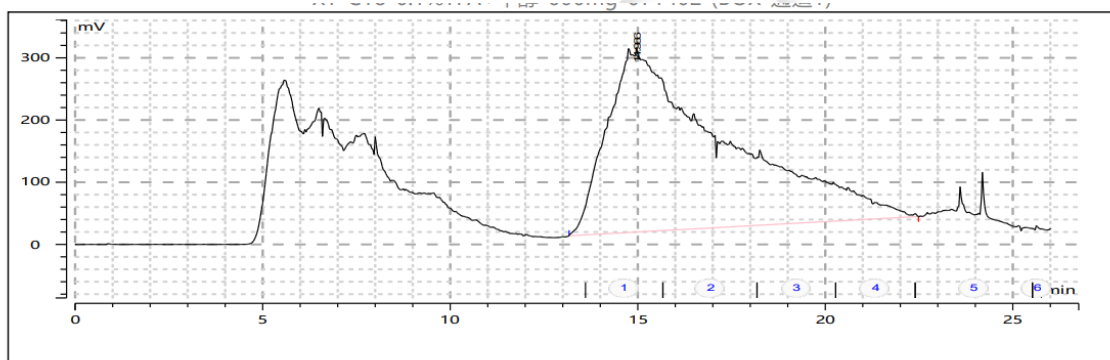
称取样品约 400mg，加入纯水溶解，过滤，制备液相条件如下所示：

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



仪器	Sail 1000 (100ml)		
色谱柱	XT -C18 21.2×250mm,10μm		
流动相 A	0.1%TFA+水		
流动相 B	色谱级甲醇		
流速	25ml/min		
进样量	400mg		
柱温	室温		
检测器	ELSD		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	95	5
	35	75	25

制备图谱如图 3 所示：



No	名称	保留时间 (min)	峰面积 (mV*s)	峰宽 (min)	半峰宽 (min)	峰高 (mV)	面积百分比 (%)	峰类型	峰纯度	PDA 匹配名称
1	N.A.	14.966	64530.407	3.088	2.999	296.983	100.000	BB*	0	
2	总计									

图 3 方法开发 1 制备图谱

经过制备，将目标峰制备液分段收集到馏分收集瓶中。

1.2.1.3. 杂质分析 1

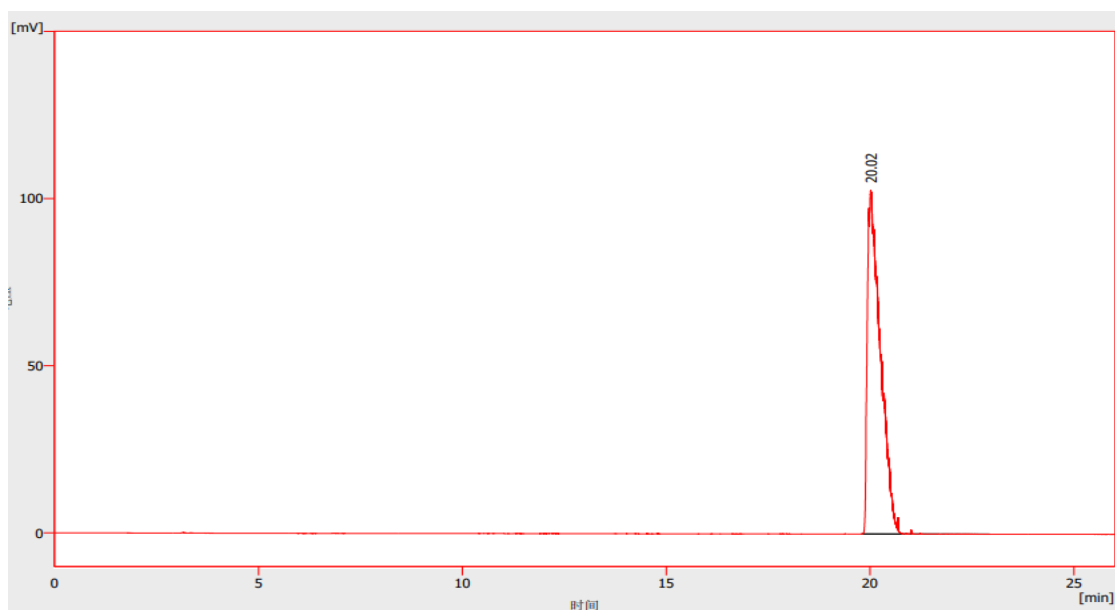
将 1.2.1.2 中制备馏分 1-3 进行液相色谱分析，具体分析条件如下所示：

仪器	WIsys5000
色谱柱	XT -C18 4.6×250mm,10μm
流动相 A	0.1%TFA+水
流动相 B	色谱级甲醇



流速	1ml/min		
进样量	20ul		
柱温	室温		
检测器	ELSD		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	92	8
	30	72	28

分析图谱如图 4 所示：



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	20.019	2292.658	100.0	18067		2.471
	合计	2292.658	100.0			

图 4 方法开发 1 制备液 1-3 分析图谱

结论：由图可见，20.01min 为目标物，使用 XT-C18(21.2×250mm,10μm)，单针上样量 400mg，制得纯品 145.67mg，回收率 36.4%，制备液面积归一化含量为 100%，纯度符合客户要求。

1.2.2. 方法开发 2

1.2.2.1. 方法开发

称取样品 5.6mg，用 5ml 水溶解，过滤至进样小瓶，按照以下色谱条件进行分析：

色谱柱	XB-C18 4.6×250mm,10μm
流动相 A	0.1%TFA+水

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

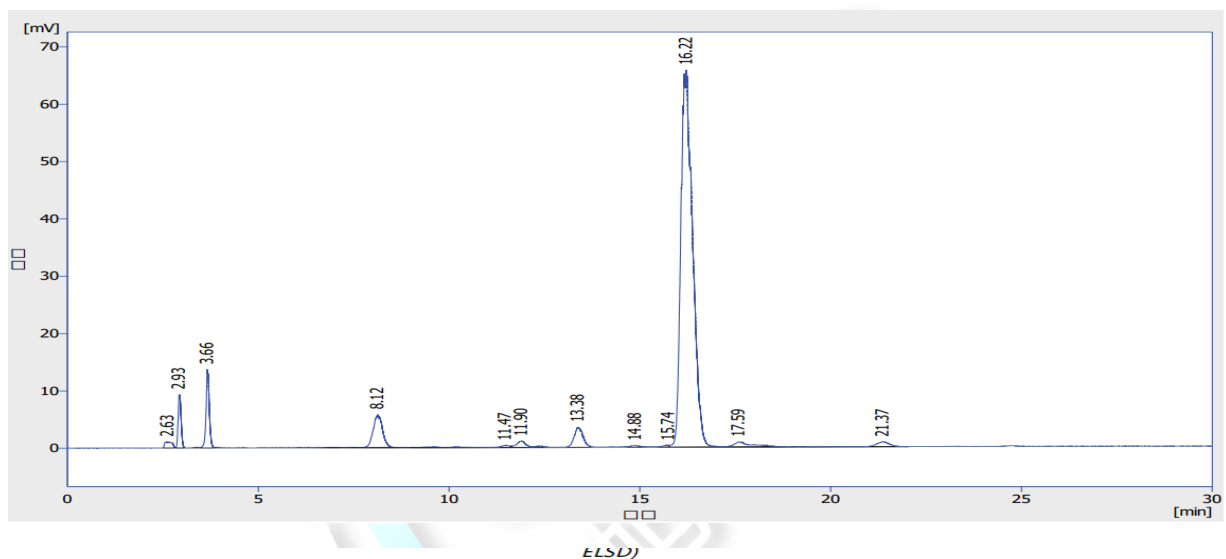
Add:江苏省南京市六合区天圣路 22 号 F 栋 4 楼

Tel:400-810-6969



流动相 B	色谱级甲醇		
流速	1ml/min		
进样量	20ul		
柱温	室温		
检测器	ELSD		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	92	8
	30	72	28

分析图谱如下图 5 所示：



化合物名称	保留时间 [min]	峰面积 [mV.s]	面积 [%]	柱效 [th.pl]	对称/拖尾因子 [-]
1	2.627	14.748	0.8	667	1.384
2	2.930	50.442	2.8	6332	1.246
3	3.664	83.976	4.6	10571	1.121
4	8.124	106.939	5.9	5341	1.065
5	11.466	16.258	0.9	9217	0.532
6	11.901	22.455	1.2	14689	1.836
7	13.376	57.413	3.2	15176	1.170
8	14.879	7.433	0.4	14040	0.709
9	15.745	4.177	0.2	54784	0.519

化合物名称	保留时间 [min]	峰面积 [mV.s]	面积 [%]	柱效 [th.pl]	对称/拖尾因子 [-]
10	16.216	1401.133	77.0	12643	1.292
11	17.587	31.408	1.7	17027	1.695
12	21.371	24.254	1.3	21816	1.050
合计		1820.637	100.0		

图 5 方法开发 2 图谱

1.2.2.2. 样品制备 2

称取样品 600mg，加入纯水溶解，过滤，制备液相条件如下所示：

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

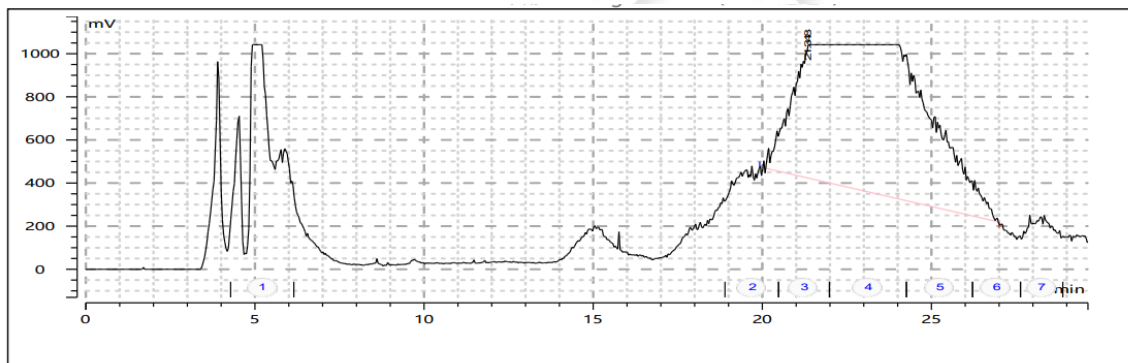
Add:江苏省南京市六合区天圣路 22 号 F 栋 4 楼

Tel:400-810-6969



仪器	Sail1000		
色谱柱	XB -C18 50×250mm,10μm		
流动相 A	0.1%TFA+水		
流动相 B	色谱级甲醇		
流速	80ml/min		
进样量	600mg		
柱温	室温		
检测器	ELSD		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	97	3
	30	77	23

制备图谱如图 6 所示：



AD-C18-0.1%TFA+甲醇-600mg-071104-(DJA-速进1)

No	名称	保留时间 (min)	峰面积 (mV*s)	峰宽 (min)	半峰宽 (min)	峰高 (mV)	面积百分比 (%)	峰类型	峰纯度	PDA 匹配名称
1	N.A.	21.348	185389.872	4.674	5.100	618.716	100.000	BB*	0	
2	总计									

图 6 方法开发 2 制备图谱

经过制备，将目标峰制备液分段收集到馏分收集瓶中。

1.2.2.3. 杂质分析 2

将 1.2.2.2 中馏分 4-5 进行液相色谱分析，具体分析条件如下所示，

仪器	WIsys5000
色谱柱	XT -C18 4.6×250mm,10μm
流动相 A	0.1%TFA+水
流动相 B	色谱级甲醇

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

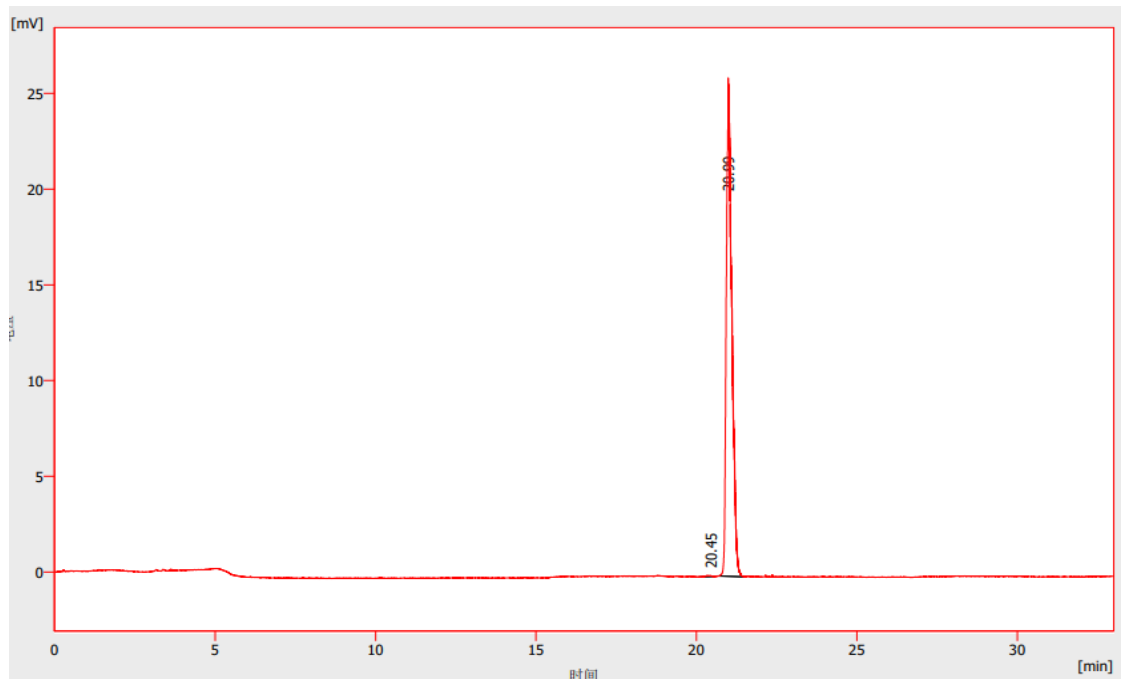
Add:江苏省南京市六合区天圣路 22 号 F 栋 4 楼

Tel:400-810-6969



流速	1ml/min		
进样量	20ul		
柱温	室温		
检测器	ELSD		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	92	8
	30	72	28

分析图谱如图 6 所示：



	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		20.452	0.754	0.2	100742		0.678
2		20.992	309.035	99.8	66452	1.854	1.603
		合计	309.789	100.0			

图 7 方法开发 2 制备液 4-5 分析图谱

结论：由图可见，20.45min 为目标物，使用 XB-C18（50*250mm,10um），单针上样量 600mg，制得纯品 256.27mg，回收率 42.7%，制备液面积归一化含量为 100%，纯度符合客户要求。

2. 结论

使用月旭 Ultimate® XB-C18 和 Ultimate® XT-C18，在此色谱条件下进行制备，制备收集到的目标物纯度为 99%，制备结果满足客户要求。

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



报告人:Ada

审核人: Jim

日期: 2023.08.25



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

