

## 分离纯化报告

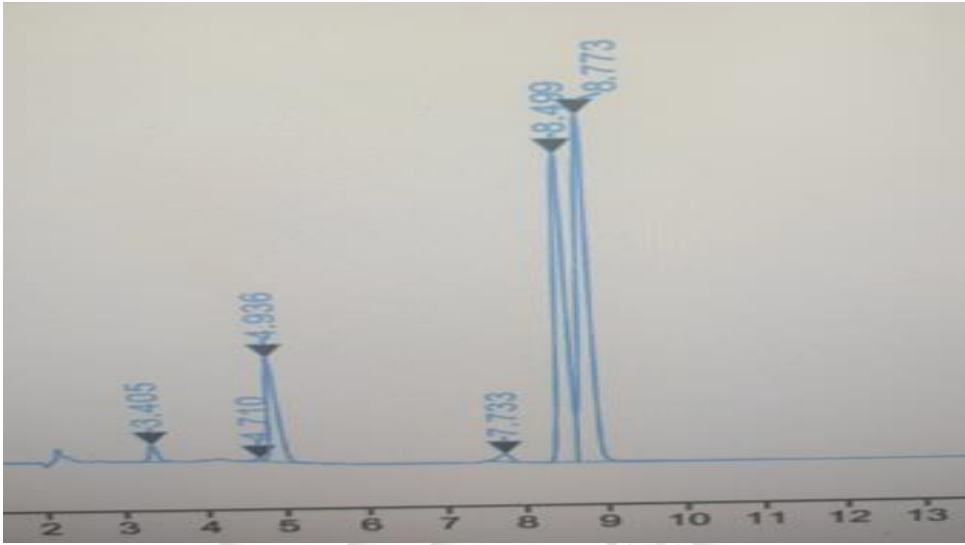
样品信息			
样品名称	苯磺酸米洛巴林杂质	项目编号	20240628-610
样品性状	液体	样品重量	约 500mg
收样日期	2024/07/02	测试期间	2024/07/03-2024/07/05
目标物信息			
			
目标物保留时间	杂质 1: 8.4min	面积归一化含量 (215nm, %)	/
实验要求			
筛选合适色谱柱，开发制备方法并测试最大上样量，要求制备目标物纯度≥90%			
试剂信息			
试剂名称	级别	供应商	
磷酸氢二钾	AR	阿拉丁	
甲酸铵	AR	阿拉丁	
乙腈	色谱级	月旭	
乙腈	制备级	月旭	
纯水	一级	月旭	
磷酸	AR	麦克林	
仪器信息			
仪器名称	仪器型号	仪器厂家	

图 1 客户分析图



分析型液相色谱仪	LC-20AD	岛津
分析型液相色谱仪	WIsys5000	月旭
制备型液相色谱仪	Sail1000	月旭

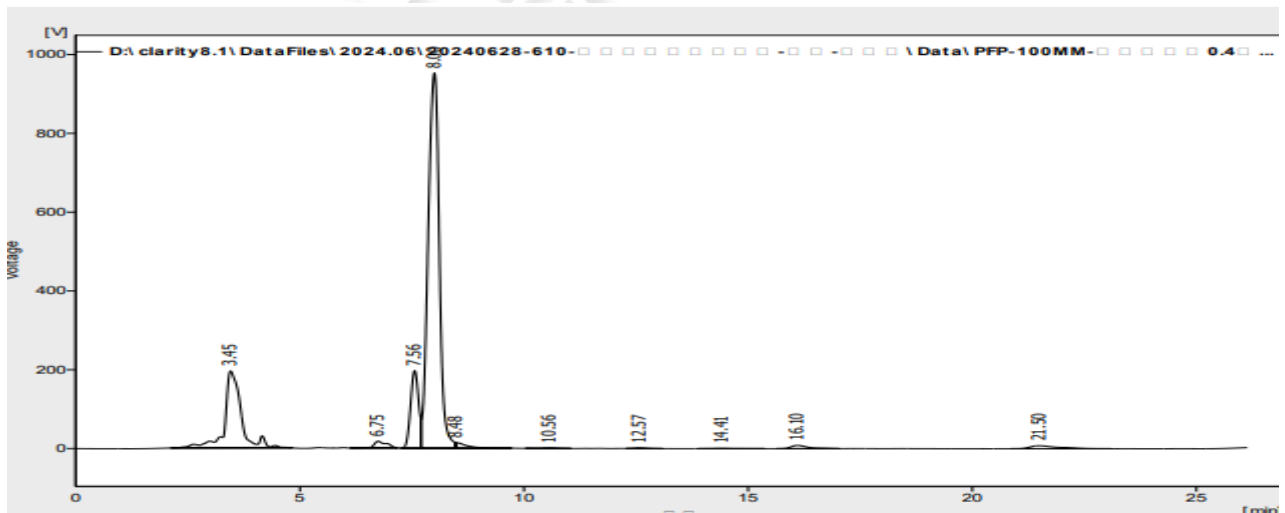
## 1. 试验过程

### 1.1. 方法重现

从客户提供的液体样品中移取 50ul 样品，用水稀释至 1ml，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 PFP 4.6×100mm,3μm		
流动相 A	10mM 磷酸氢二钾溶液（磷酸调 pH=5.8）		
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	215nm		
梯度洗脱程序	时间（min）	流动相 A（%）	流动相 B（%）
	0	80	20
	30	80	20

分析图谱如图 2 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



	化合物名称	保留时间 [min]	峰面积 [mV.s]	面积 [%]	柱效 [th.p]	不对称因子 [-]	分离度 [-]
1		3.453	4986.172	19.8	619	1.293	
2		6.745	342.339	1.4	2019	2.222	5.712
3		7.560	2423.042	9.6	7295	0.811	1.712
4		8.000	16493.961	65.7	4804	0.865	1.082
5		8.478	250037	1.0	7866	179.500	1.136
6		10.563	29.819	0.1	6718	1.382	4.657
7		12.573	31.187	0.1	12014	1.500	4.137
8		14.412	24.794	0.1	8961	1.796	3.452
9		16.102	211.884	0.8	10683	2.494	2.751
10		21.498	330.473	1.3	7112	2.641	6.588
		合计	25123.706	100.0			

图 2 方法重现图谱

结论：通过单标定位，可以确定 7.56min 为目标物。（注：客户寄过来的粗品与提供图谱的粗品不是同一批次，故杂质含量有差异）

## 1.2. 分离纯化过程

### 1.2.1. 方法开发

取 4.1 项下的进样小瓶进行分析：

色谱柱	Ultimate ALK-C18 4.6×250mm,5μm		
流动相 A	20mM 甲酸铵		
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	215nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	84	16
	30	84	16

分析图谱如下图 3 所示：



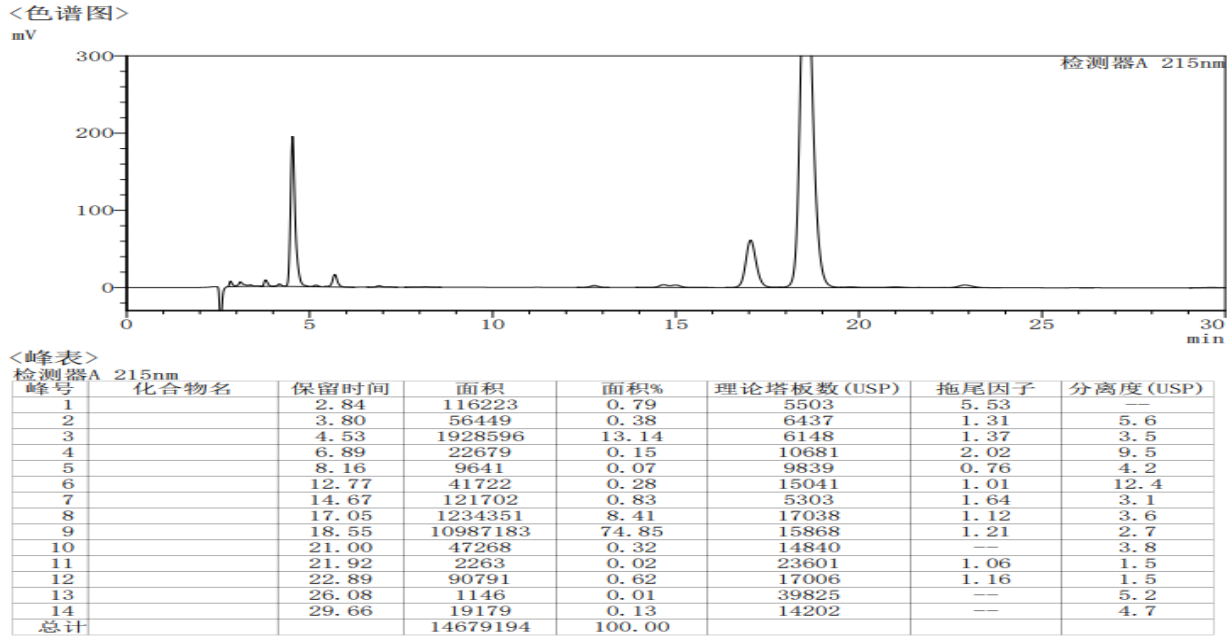


图3 方法开发图谱

### 1.2.2. 样品制备

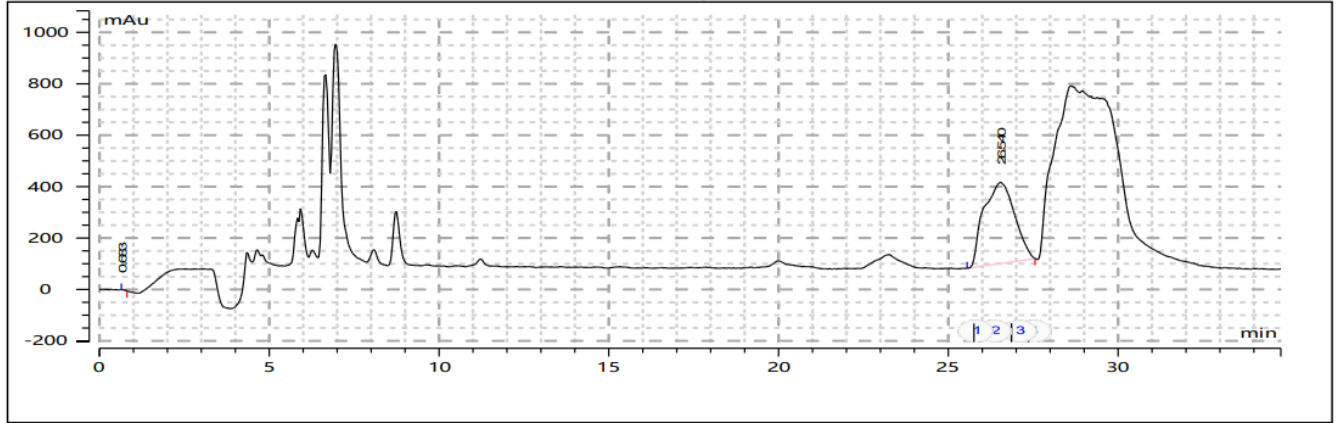
从客户提供的样品中移取 1ml(约 200mg)样品，用水稀释至 10ml，过滤，使其浓度为 20mg/ml，制备液相条件如下所示：

仪器	Sail1000		
色谱柱	Ultimate ALK-C18 30×250mm,5μm		
流动相 A	20mM 甲酸铵		
流动相 B	制备级乙腈		
流速	30ml/min		
进样量	100mg (5ml)		
柱温	室温		
检测波长	215nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	84	16
	30	84	16

制备图谱如图 4 所示：



ALK-30-20Mm甲酸铵+乙腈100mg-16%-070501-(UV-ch1-215)



### 峰列表

ALK-30-20Mm甲酸铵+乙腈100mg-16%-070501-(UV-ch1-215)

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.	0.683	19.499	0.155	0.125	2.818	0.098	BB	0	
2	N.A.	26.540	19938.800	1.460	1.110	317.111	99.902	BB*	0	
3	总计									

图 4 粗品制备图

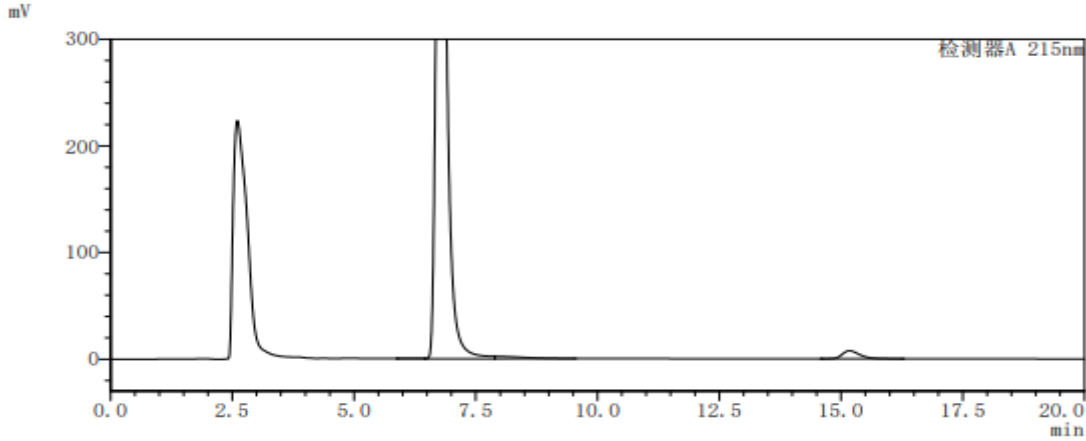
经过制备，将目标杂质峰分段收集到馏分瓶中。

#### 1.2.3. 杂质分析

将 1.2.2 中收集到馏分分别取适量装进进样小瓶进行液相色谱分析，另取一份制备流动相作为空白，具体分析条件同“步骤 1.1”一致，分析纯度合格的图谱以及空白图谱如图 5，图 6，图 7 所示：



<色谱图>

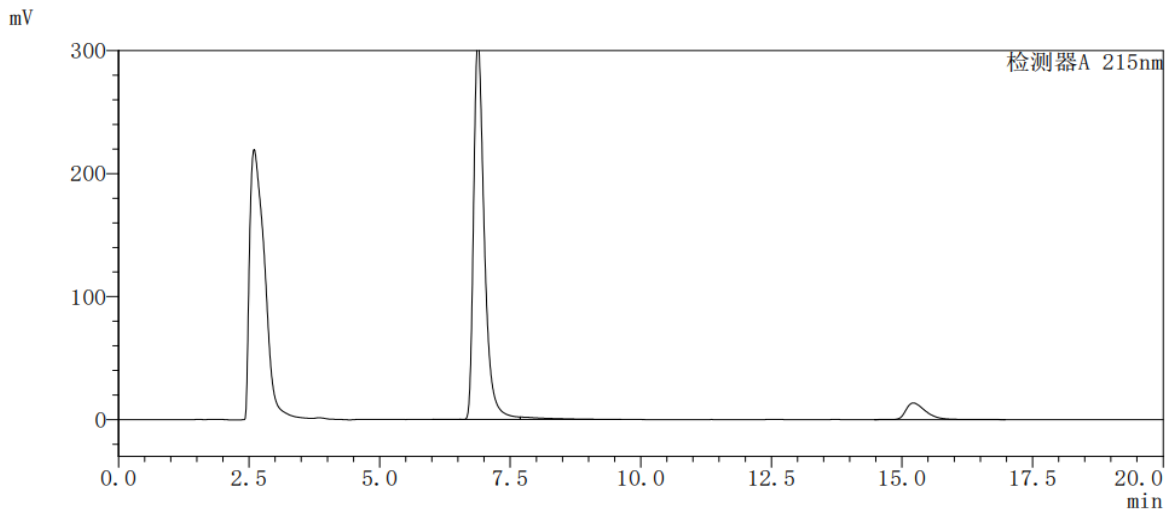


<峰表>

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		6.23	1586	0.02	3399	0.83	--
2		6.77	9655768	97.30	5377	1.42	1.4
3		7.90	83447	0.84	--	--	--
4		15.17	182816	1.84	8959	1.36	--
总计			9923618	100.00			

图5 制备馏分2分析图谱

<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		6.34	1681	0.03	2383	--	--
2		6.88	4409645	91.07	5703	1.50	1.2
3		7.70	74003	1.53	--	--	--
4		15.22	356458	7.36	8068	1.56	--
总计			4841788	100.00			

图6 制备馏分3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

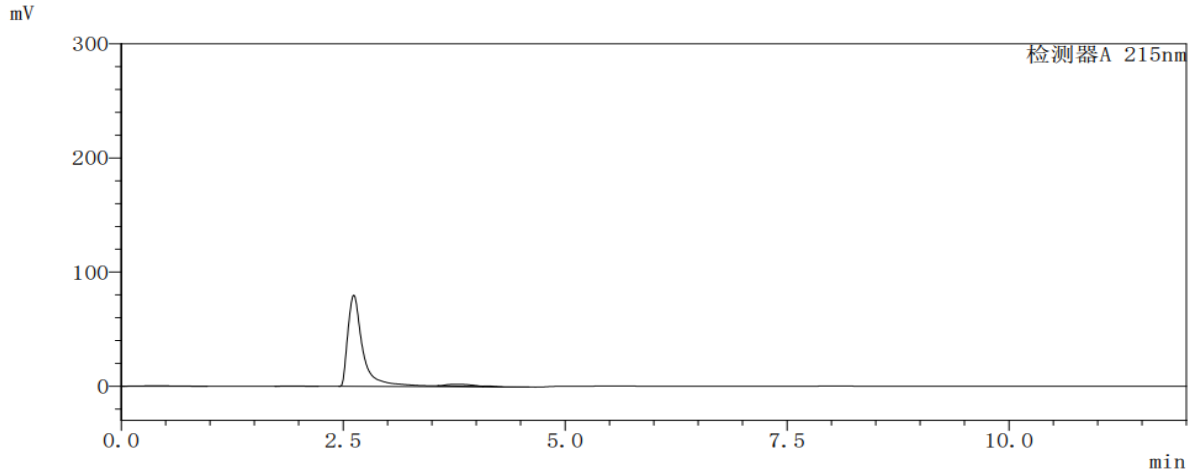
Add:浙江省金华市婺城区双林南街168号

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		0.39	9203	0.91	4	1.19	--
2		1.94	2526	0.25	340	--	2.7
3		2.62	959227	94.96	1415	1.87	2.0
4		3.79	34708	3.44	844	--	2.9
5		4.13	4486	0.44	4695	--	0.9
总计			1010150	100.00			

图 7 空白分析图谱

结论：由图可见制备馏分 2，馏分 3 面积归一化含量均大于 90%（215nm），2.62min 为空白峰，纯度符合客户要求（≥90%）。

## 2. 结论

使用月旭 Ultimate® ALK-C18, 30×250mm,5μm 在此色谱条件下进行制备，单针最大上样量为 100mg 时，制备收集到的馏分 2，馏分 3 纯度均大于 90%（215nm），制备结果满足客户要求（≥90%）。

报告人:Ada

审核人: Jim

日期: 2024/07/10

