

分离纯化报告

样品信息			
样品名称	ddNTP	项目编号	20240508-428
样品性状	液体	样品重量	/
收样日期	2024/05/10	测试期间	2024/05/11-2024/05/15

目标物信息

粗品分析图:

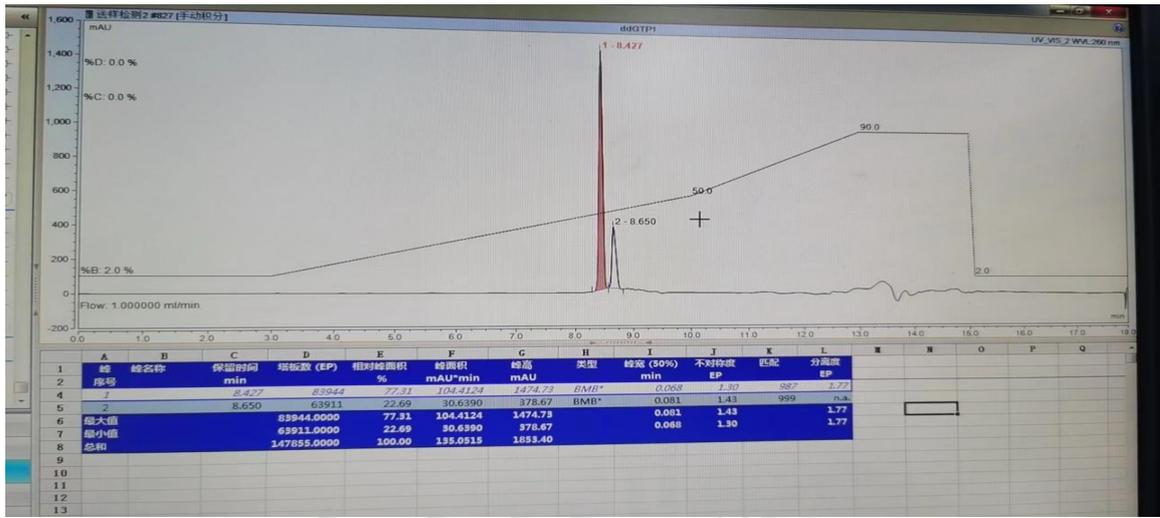


图 1: 粗品分析图

目标物保留时间	API: 8.4min	面积归一化含量 (260nm, %)	API: 77%
---------	-------------	--------------------	----------

实验要求

筛选合适的中压填料，开发制备 ddNTP 工艺方法，纯度≥99%，要求流动相不可变。

试剂信息

试剂名称	级别	供应商
三乙胺	AR	麦克林
乙腈	色谱级	月旭
乙腈	制备级	月旭
纯水	一级	月旭

仪器信息

仪器名称	仪器型号	仪器厂家
分析型高效液相色谱	LC-20AD	岛津
制备型高效液相色谱	Easy Flash	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

1. 试验过程

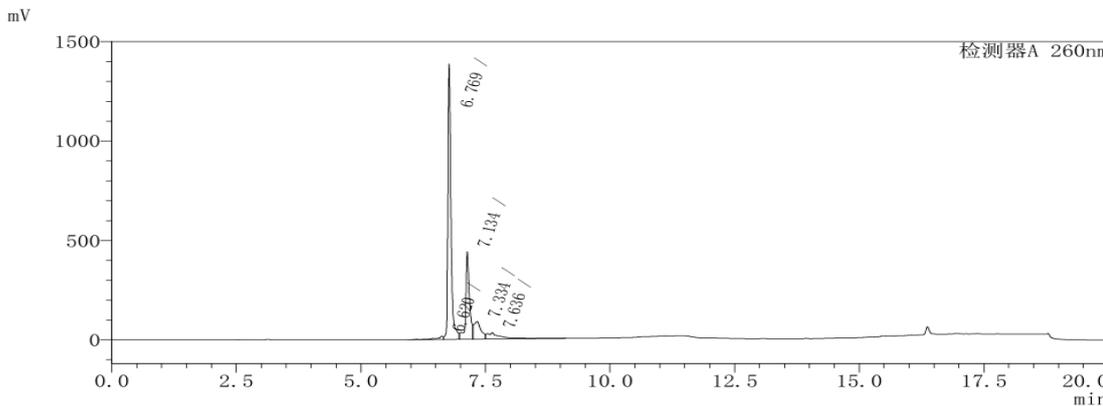
1.1. 方法重现

移取样品 100ul，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	Xtimate C18 4.6×150mm, 5μm		
流动相 A	50mM TEAB		
流动相 B	色谱级乙腈		
流速	1ml/min		
进样量	5μl		
柱温	25°C		
检测波长	260nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	98	2
	3	98	2
	12	50	50
	14	10	90
	17	10	90
	17.1	98	2
	20	98	2

分析图谱如图 2 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		6.62	159809	1.62	12369	--	--
2		6.77	5895908	59.79	51399	1.52	0.8
3		7.13	2314281	23.47	43950	--	2.9
4		7.33	874648	8.87	3340	--	0.6
5		7.64	616437	6.25	3740	--	0.6
总计			9861082	100.00			

图 2 方法重现图谱

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



结论：通过与图 1 进行比较，可以确定 6.76min 为目标物。

1.2. 分离纯化过程

1.2.1. 方法开发

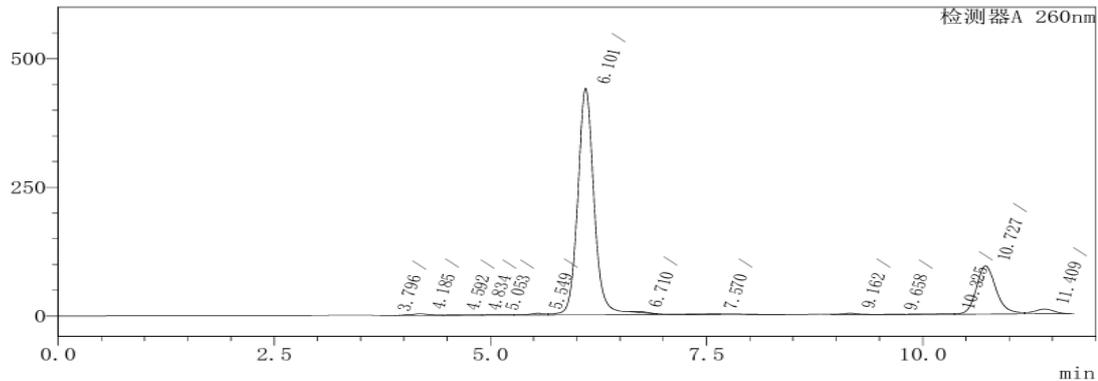
取 1.1 项下的进样小瓶进行分析：

色谱柱	Ultimate AQ-C18 4.6×250mm, 10μm		
流动相 A	50mM TEAB		
流动相 B	色谱级乙腈		
流速	1ml/min		
进样量	5μl		
柱温	30℃		
检测波长	260nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	98	2
	30	98	2

分析图谱如下图 3 所示：

<色谱图>

mV



<峰表>

检测器A 260nm

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		3.80	2317	0.03	29	--	--
2		4.18	45550	0.59	2858	--	0.2
3		4.59	5777	0.07	63	--	0.3
4		4.83	7094	0.09	1118	--	0.2
5		5.05	20196	0.26	2079	--	0.4
6		5.55	44971	0.58	3218	--	1.2
7		6.10	5908570	76.18	5283	1.11	1.5
8		6.71	19373	0.25	10163	1.47	2.0
9		7.57	11452	0.15	1074	--	1.4
10		9.16	32599	0.42	10221	--	2.5
11		9.66	1837	0.02	18085	0.91	1.5
12		10.33	18598	0.24	894	--	0.8
13		10.73	1490259	19.21	10942	1.20	0.4
14		11.41	147288	1.90	11240	--	1.6
总计			7755881	100.00			

图 3 分析开发图谱

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

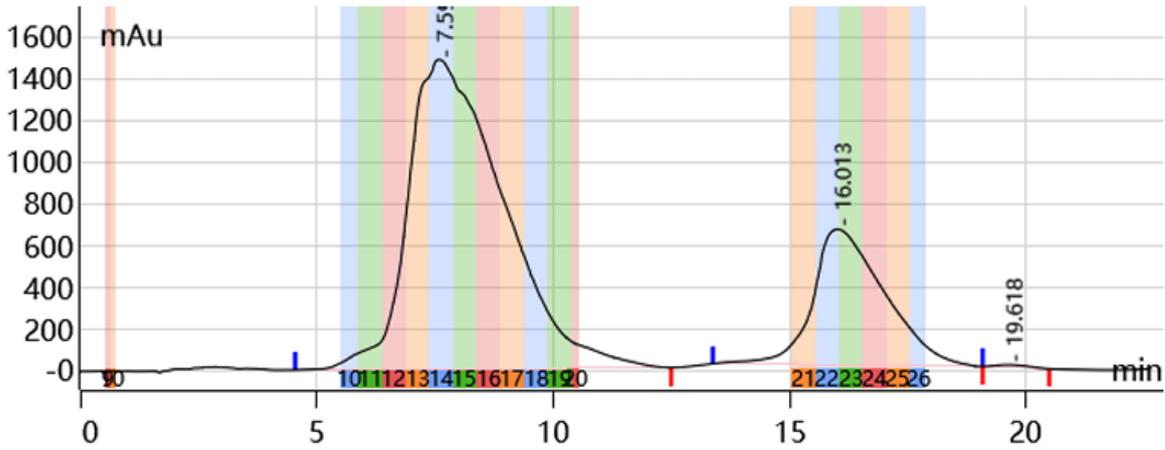


1.2.2. 样品制备

移取样品 7ml，用水稀释至 10ml，即得，制备液相条件如下所示：

仪器	Easy Flash		
色谱柱	WelFlash AQ-C18, Regular 20-40um,40g		
流动相 A	50mM TEAB		
流动相 B	制备级乙腈		
流速	30ml/min		
进样量	10mL		
柱温	室温		
检测波长	260nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	98	2
	30	90	10

制备图谱如图 4 所示：



峰列表					
序号	名称	保留时间	峰面积	半峰宽	峰高
1	N.A.	7.595	208083.71204	2.17	1478.70983
2	N.A.	16.013	68388.78471	1.56	649.15585
3	N.A.	19.618	577.90696	0.80	12.10165
	总计		277050.40371		2139.96733

图 4 粗品制备图

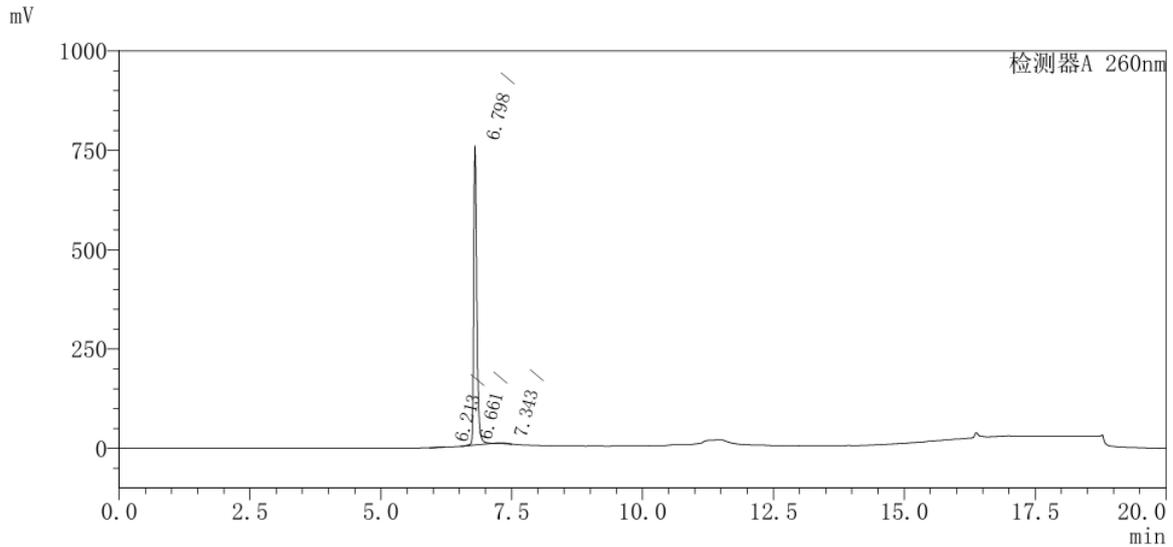
经过制备，将各馏分段收集到馏分瓶中，待色谱检测。



1.2.3. 杂质分析

将 1.2.2 中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 5 所示：

<色谱图>



<峰表>

检测器A 260nm

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		6.21	3394	0.11	11195	--	--
2		6.66	7324	0.23	23421	--	2.2
3		6.80	3089231	99.04	54075	1.47	0.9
4		7.34	19135	0.61	10179	0.89	2.7
总计			3119085	100.00			

图 5 制备液 13-18 分析图谱

结论：由图可见制备液面积归一化含量为 99.04%（260nm），纯度符合客户要求。

2. 结论

使用月旭 WelFlash AQ-C18, Regular 20-40um,40g 在此色谱条件下进行制备，粗品单针上样量为 7ml 时，制备收集到的目标物纯度为 99.04%（260nm），制备结果满足客户要求。

报告人:Ada

审核人:Jim

日期:2024/05/17

