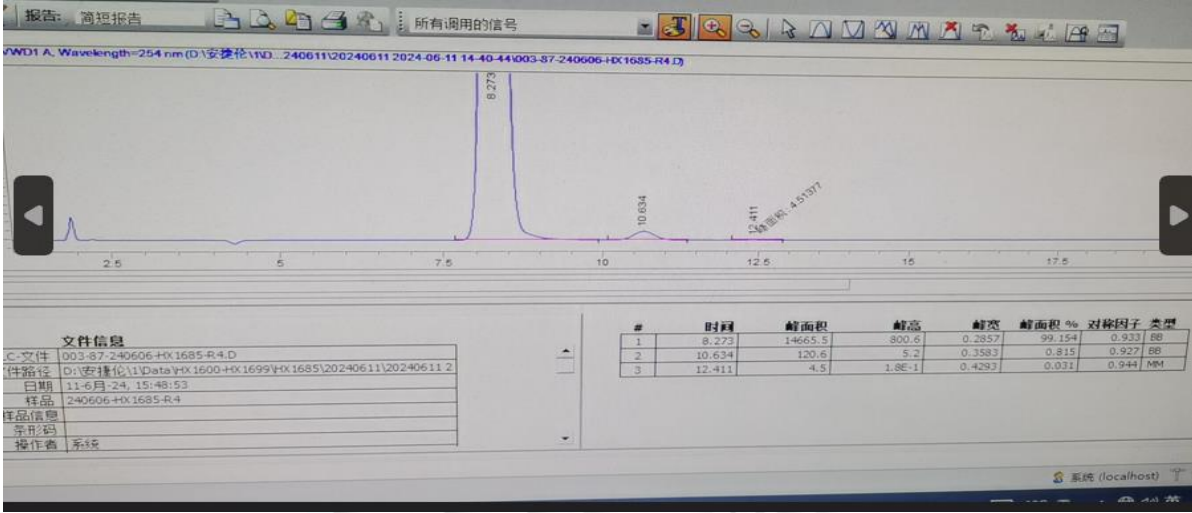


分离纯化报告

| 样品信息 | | | |
|---|-------------|-----------------------|-----------------------|
| 样品名称 | HX1685 | 项目编号 | 20240711-647 |
| 样品性状 | 白色粉末 | 样品重量 | 2.1g |
| 收样日期 | 2024/06/28 | 测试期间 | 2024/06/28-2024/07/08 |
| 目标物信息 | | | |
| 粗品分析图: | | | |
|  | | | |
| 图 1 客户分析图 | | | |
| 目标物保留时间 | API: 8.2min | 面积归一化含量 (254nm, %) | 99.154% |
| 实验要求 | | | |
| 要求筛选合适的色谱柱，开发制备方法制备目标物，纯度要求 99.99%，需求量：1g | | | |
| 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 | |
| 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 | Sail1000 | 月旭 | |

1. 试验过程

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 1 页 共 5 页

邮编：201600
邮编：321000
邮编：211500

1.1. 方法重现

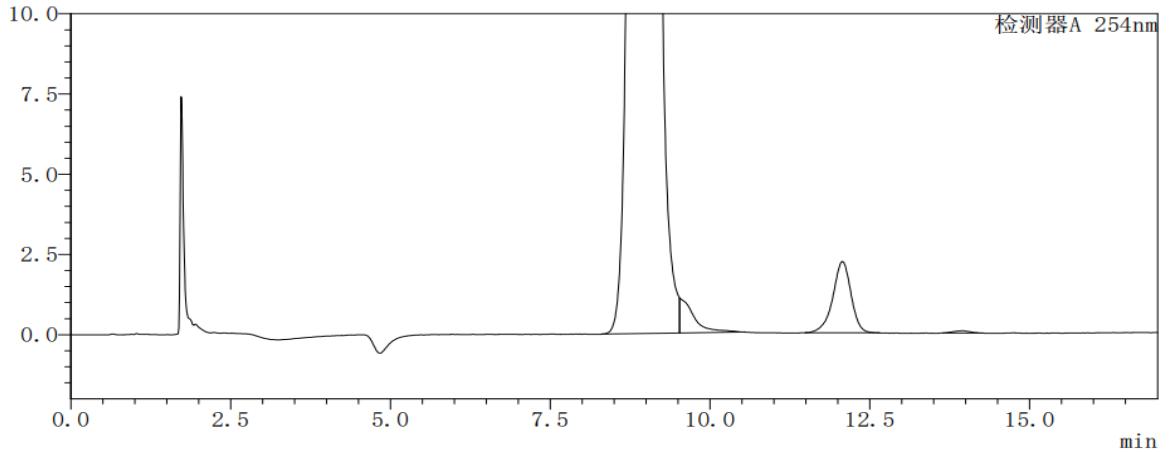
称取 HX1685-1 样品 4.3mg，用 1ml 二氯甲烷溶解后，移取 200ul 用乙腈稀释至 1ml，过滤至进样小瓶中，按照以下色谱分析方法进行分析：

| | | | |
|--------|---------------------------|-----------|-----------|
| 色谱柱 | Xtimate C18 4.6×150mm,3μm | | |
| 流动相 A | / | | |
| 流动相 B | 0.005%三乙胺乙腈溶液 | | |
| 流速 | 1ml/min | | |
| 进样量 | 6μl | | |
| 柱温 | 30°C | | |
| 检测波长 | 254nm | | |
| 梯度洗脱程序 | 时间 (min) | 流动相 A (%) | 流动相 B (%) |
| | 0 | 0 | 100 |
| | 30 | 0 | 100 |

分析图谱如图 2 所示：

<色谱图>

mV



<峰表>

检测器A 254nm

| 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 | | 8.97 | 5665495 | 98.92 | 8840 | 1.00 | — |
| 2 | | 9.54 | 16555 | 0.29 | — | — | — |
| 3 | | 12.07 | 44008 | 0.77 | 8898 | 0.92 | — |
| 4 | | 13.96 | 1197 | 0.02 | 13531 | 0.91 | 3.8 |
| 总计 | | | 5727255 | 100.00 | | | |

图 2 方法重现图谱

结论：通过与图 1 进行比较，可以确定 8.97min 为目标物。

1.2. 分离纯化过程

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. 方法开发

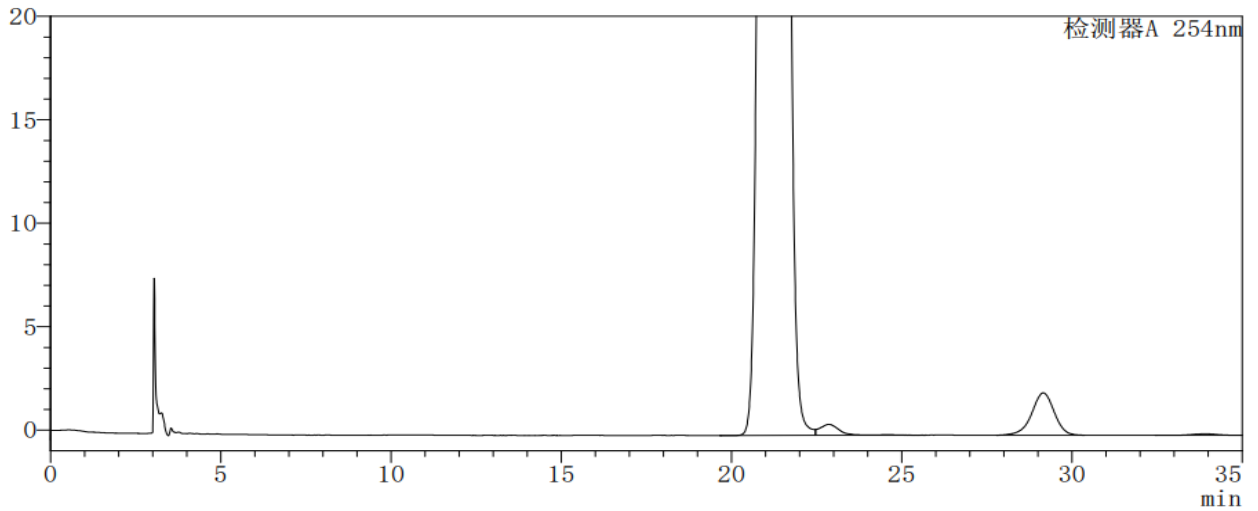
取 4.1 项下的进样小瓶进行分析：

| | | | |
|--------|-------------------------------|-----------|-----------|
| 色谱柱 | Ultimate XB-C18 4.6×250mm,5μm | | |
| 流动相 A | / | | |
| 流动相 B | 乙腈 | | |
| 流速 | 1ml/min | | |
| 进样量 | 6μl | | |
| 柱温 | 30°C | | |
| 检测波长 | 254nm | | |
| 梯度洗脱程序 | 时间 (min) | 流动相 A (%) | 流动相 B (%) |
| | 0 | 0 | 100 |
| | 30 | 0 | 100 |

分析图谱如下图 3 所示：

<色谱图>

mV



<峰表>

检测器A 254nm

| 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 | | 21.25 | 12033819 | 99.02 | 10003 | 1.01 | -- |
| 2 | | 22.86 | 21622 | 0.18 | 6173 | -- | 1.6 |
| 3 | | 29.16 | 93785 | 0.77 | 9655 | 0.94 | 5.4 |
| 4 | | 33.90 | 3827 | 0.03 | 12720 | 1.12 | 4.0 |
| 总计 | | | 12153052 | 100.00 | | | |

图 3 方法开发图谱

1.2.2. 样品制备

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

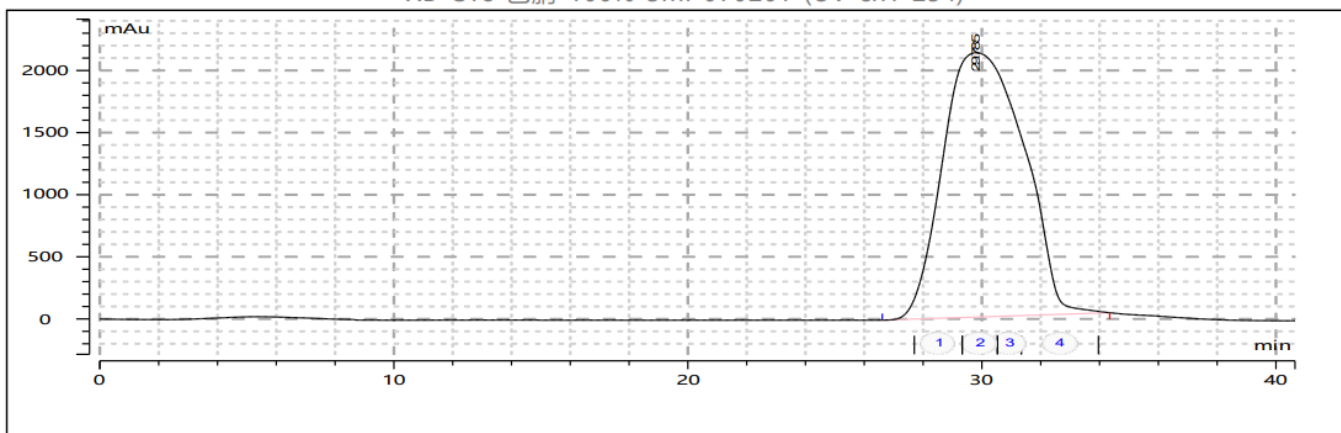
Tel:400-810-6969



取样品 230mg，用 15ml 二氯甲烷超声溶解，过滤，使其浓度为 15.33mg/ml，制备液相条件如下所示：

| | | | |
|--------|-------------------------------|-----------|-----------|
| 仪器 | Sail1000 | | |
| 色谱柱 | Ultimate XB-C18 50×250mm, 5μm | | |
| 流动相 A | / | | |
| 流动相 B | 制备级乙腈 | | |
| 流速 | 20ml/min | | |
| 进样量 | 45.9mg(3ml) | | |
| 柱温 | 室温 | | |
| 检测波长 | 254nm | | |
| 梯度洗脱程序 | 时间 (min) | 流动相 A (%) | 流动相 B (%) |
| | 0 | 0 | 100 |
| | 30 | 0 | 100 |

制备图谱如图 4 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. | 29.785 | 407769.979 | 4.678 | 3.267 | 2128.793 | 100.000 | BB* | 0 | |
| 2 | 总计 | | | | | | | | | |

图 4 粗品制备图

经过制备，将各馏分段收集到各馏分瓶中，待检测合格后冻干。

1.2.3. 杂质分析

将 1.2.2 中各馏分分别进行液相色谱分析，具体分析条件同“步骤 1.1”一致，典型合格分析图谱如图 5 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

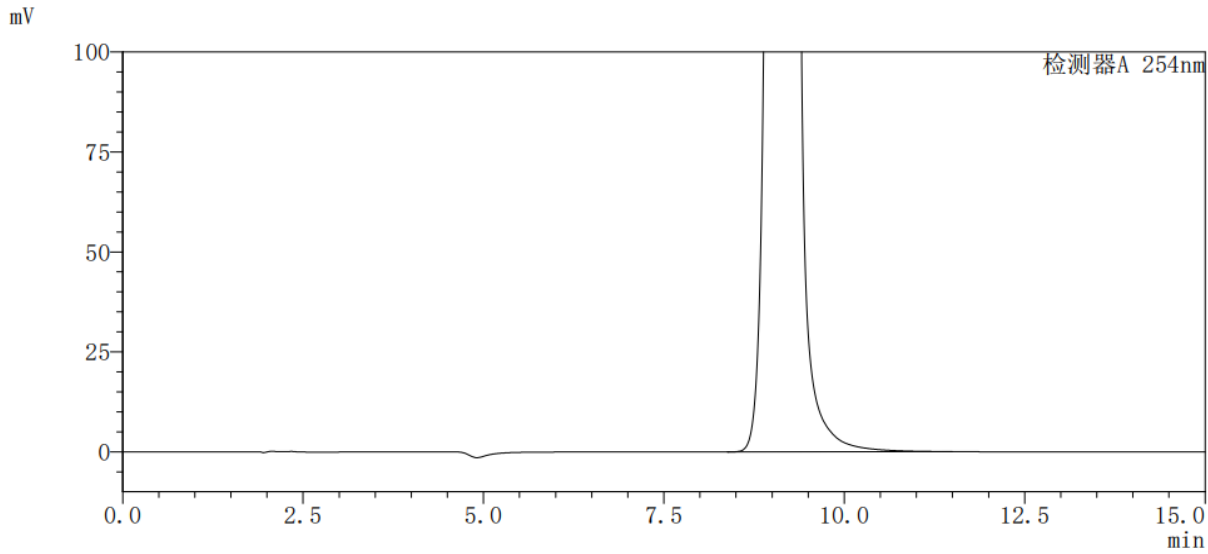
Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Add:江苏省南京市六合区天圣路 22 号 F 栋 4 楼

Tel:400-810-6969



<色谱图>



<峰表>

检测器A 254nm

| 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 | | 9.18 | 34691492 | 100.00 | 8194 | 0.89 | -- |
| 总计 | | | 34691492 | 100.00 | | | |

图5 制备液分析图谱

结论：由图可见，制备液馏分 1+馏分 2 面积归一化含量为 100%（254nm），纯度符合客户要求（ $\geq 99.99\%$ ），按此上样量制备，并最终收集到纯度 1.0g 交付。

2. 结论

使用月旭 Ultimate® XB-C18, 50×250mm,5μm 在此色谱条件下进行制备，最终收集到合格馏分 1.0g，制备收集到的目标物纯度为 100%（254nm），制备结果满足客户要求（ $\geq 99.99\%$ ）。

报告人:Ada

审核人: Jim

日期: 2024/07/11

