

## 分离纯化报告

样品信息																																																											
样品名称	杂质 6	项目编号	FLCHFWLC-20240813-001-02																																																								
样品性状	棕色固体	样品重量	3.7g																																																								
收样日期	2024/08/16	测试期间	2024/08/16-2024/08/23																																																								
目标物信息																																																											
杂质 6 粗品分析图如下图 1 所示：																																																											
数据文件名 : 082024 方法文件名 : 方法10-HKS002-Z-6-24072501-3 (棕色固体).lcb 批处理文件名 : 有关方法10.lcm 批处理文件名 : 20240730.lcb 样品瓶号 : 1-21 进样体积 : 10 uL 分析日期 : 2024/7/30 14:49:48 处理日期 : 2024/7/30 15:54:48 分析者 : HZR 处理者 : HZR																																																											
<p>&lt;色谱图&gt;</p> <p>&lt;峰表&gt;</p> <table><thead><tr><th>峰号</th><th>保留时间</th><th>面积</th><th>面积%</th><th>高度</th><th>理论塔板数(USP)</th><th>拖尾因子</th><th>分离度(USP)</th></tr></thead><tbody><tr><td>1</td><td>8.793</td><td>11964017</td><td>52.792</td><td>756823</td><td>6345</td><td>1.275</td><td>—</td></tr><tr><td>2</td><td>14.227</td><td>23525</td><td>0.104</td><td>1165</td><td>11629</td><td>1.103</td><td>11.211</td></tr><tr><td>3</td><td>18.193</td><td>10613255</td><td>46.832</td><td>946295</td><td>57812</td><td>1.220</td><td>9.553</td></tr><tr><td>4</td><td>19.423</td><td>44699</td><td>0.197</td><td>4468</td><td>96689</td><td>0.745</td><td>4.450</td></tr><tr><td>5</td><td>24.208</td><td>17075</td><td>0.075</td><td>1417</td><td>87707</td><td>1.272</td><td>16.593</td></tr><tr><td>总计</td><td></td><td>22662571</td><td>100.000</td><td>1710168</td><td></td><td></td><td></td></tr></tbody></table>				峰号	保留时间	面积	面积%	高度	理论塔板数(USP)	拖尾因子	分离度(USP)	1	8.793	11964017	52.792	756823	6345	1.275	—	2	14.227	23525	0.104	1165	11629	1.103	11.211	3	18.193	10613255	46.832	946295	57812	1.220	9.553	4	19.423	44699	0.197	4468	96689	0.745	4.450	5	24.208	17075	0.075	1417	87707	1.272	16.593	总计		22662571	100.000	1710168			
峰号	保留时间	面积	面积%	高度	理论塔板数(USP)	拖尾因子	分离度(USP)																																																				
1	8.793	11964017	52.792	756823	6345	1.275	—																																																				
2	14.227	23525	0.104	1165	11629	1.103	11.211																																																				
3	18.193	10613255	46.832	946295	57812	1.220	9.553																																																				
4	19.423	44699	0.197	4468	96689	0.745	4.450																																																				
5	24.208	17075	0.075	1417	87707	1.272	16.593																																																				
总计		22662571	100.000	1710168																																																							
图 1 粗品分析图																																																											
目标物保留时间	杂质 1: 8.793min	面积归一化含量 (223nm, %)	杂质 1: 52%																																																								
实验要求																																																											
筛选合适色谱柱和流动相, 制备目标物, 要求纯度大≥95%																																																											
试剂信息																																																											
试剂名称		级别	供应商																																																								
乙腈		色谱级	月旭																																																								
乙腈		制备级	月旭																																																								
乙酸铵		AR	阿拉丁																																																								

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 6 页

邮编: 201600

邮编: 321000

邮编: 211500

磷酸二氢钠	AR	阿拉丁
氢氧化钠	AR	麦克林
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
分析型高效液相色谱	U3000	赛默飞
制备型高效液相色谱	Sail 1000	月旭

## 1. 试验过程

### 1.1. 方法重现

称取杂质 6 样品 4.5mg，置于 5mL 离心管中，加入 1ml 乙腈+1ml 水溶解后，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 4.6×250mm, 5μm		
流动相 A	5mM 磷酸二氢钠（用 1M 氢氧化钠条件溶液调节 pH 至 6.3）		
流动相 B	色谱级乙腈		
流速	1ml/min		
进样量	5μl		
柱温	35°C		
检测波长	223nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	70	30
	50	5	95
	50.1	70	30
60	70	30	

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

第 2 页 共 6 页

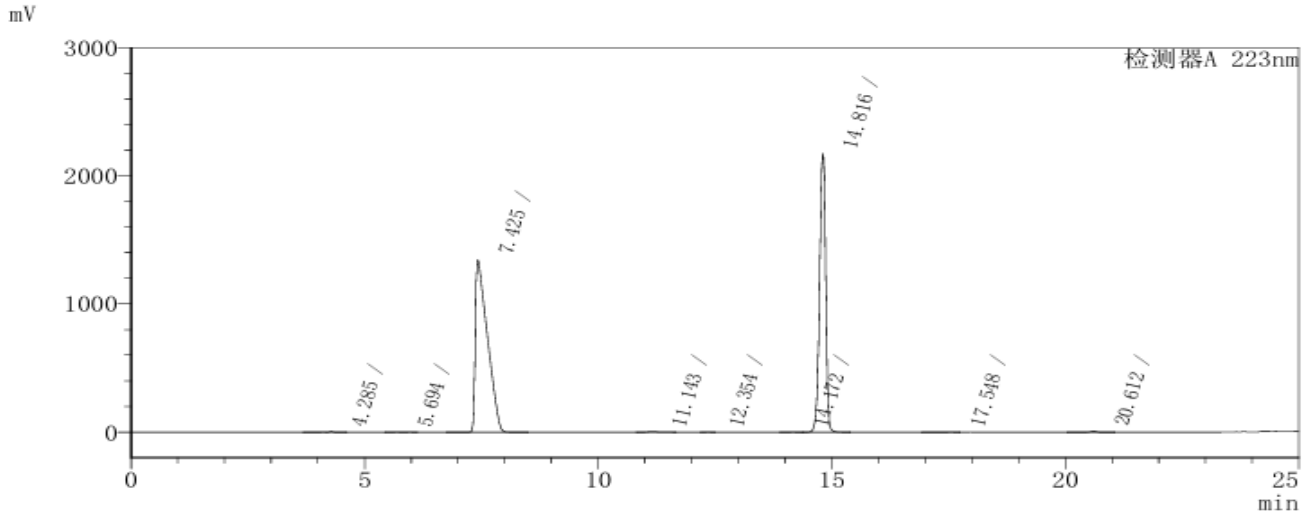
邮编：201600

邮编：321000

邮编：211500



<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		4.28	36277	0.08	12177	0.72	--
2		5.69	18373	0.04	16219	1.27	8.4
3		7.43	24169629	54.48	3084	2.68	4.9
4		11.14	82556	0.19	11512	1.75	7.8
5		12.35	7005	0.02	65056	1.05	4.0
6		14.17	8215	0.02	69461	0.93	8.9
7		14.82	19976171	45.03	59812	0.89	2.8
8		17.55	9548	0.02	89517	1.15	11.5
9		20.61	56741	0.13	106348	0.96	12.6
总计			44364513	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7.43min为目标物。

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 XB-C18 4.6×250mm, 5μm		
流动相 A	20mM 乙酸铵		
流动相 B	色谱级乙腈		
流速	1ml/min		
进样量	5μl		
柱温	35°C		
检测波长	223nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	70	30

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



	50	5	95
	50.1	70	30
	60	70	30

分析图谱如下图 3 所示：

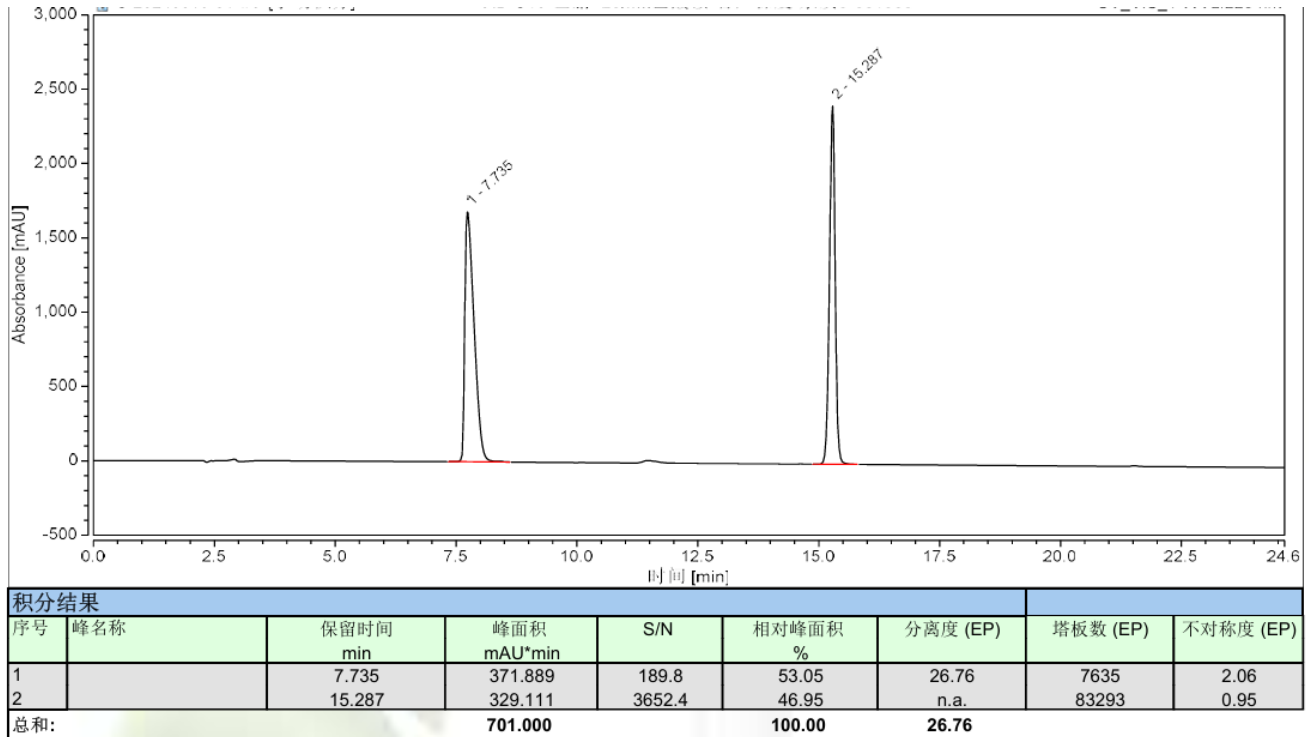


图 3 方法分析图谱

### 1.2.2. 样品制备

称取杂质 6 样品 340mg，加入 6ml 纯水和 4ml 乙腈溶解稀释，过滤，使其浓度为 34mg/ml，制备液相条件如下所示：

仪器	Sail1000		
色谱柱	Ultimate XB-C18 21.2×250mm, 5μm		
流动相 A	20mM 乙酸铵		
流动相 B	制备级乙腈		
流速	20ml/min		
进样量	340mg		
柱温	室温		
检测波长	223nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)

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

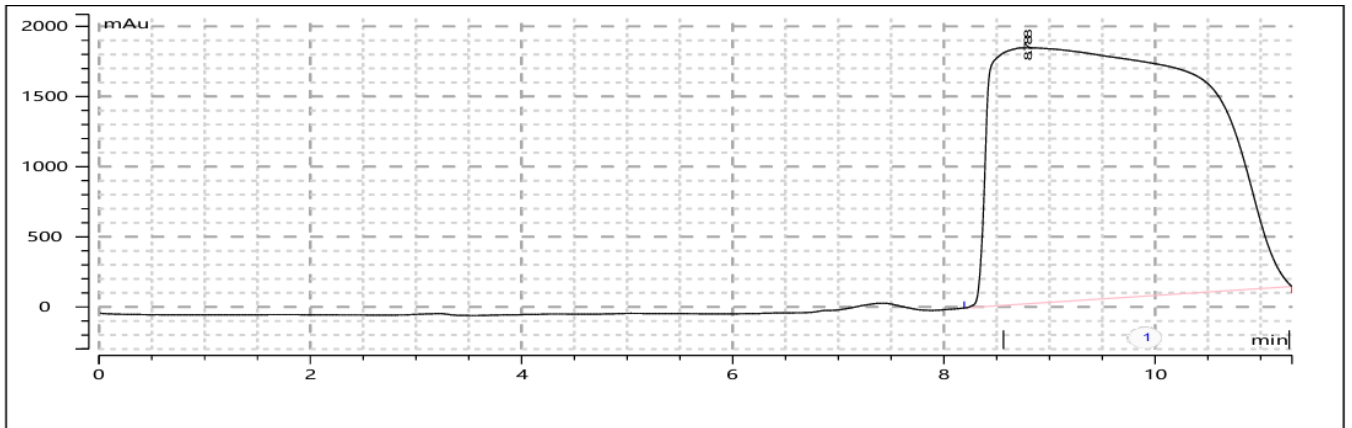
Add:江苏省南京市六合区天圣路 22 号 F 栋 4 楼

Tel:400-810-6969



	0	70	30
	50	5	95
	50.1	70	30
	60	70	30

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.	8.788	254523.146	2.818	2.459	1825.240	100.000	BB*	0	
2	总计									

图 4 粗品制备图

经过制备，将目标馏分 1（8.7min）收集到馏分瓶中，待分析合格后，冻干，同时按照此制备方法将剩余粗品制备完成。

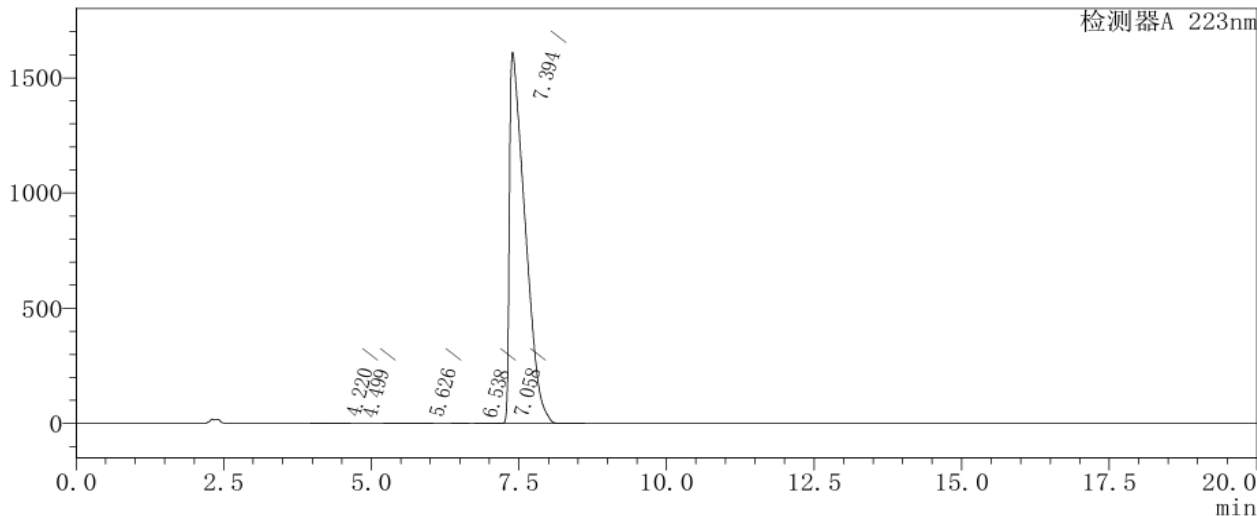
### 1.2.3. 杂质分析

将 1.2.2 中冻干的杂质进行液相色谱分析，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>

mV



<峰表>

检测器A 223nm

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		4.22	6102	0.02	9996	1.12	--
2		4.50	746	0.00	8861	1.24	1.6
3		5.63	21011	0.07	16534	1.22	6.2
4		6.54	3679	0.01	17257	0.83	4.9
5		7.06	8934	0.03	22322	--	2.7
6		7.39	29610686	99.86	3099	3.09	0.9
总计			29651158	100.00			

图5 制备液分析图谱

结论：由图可见制备液面积归一化含量为 99.86%（223nm），纯度符合客户要求（ $\geq 95\%$ ）。

## 2. 结论

使用月旭 Ultimate® XB-C18, 21.2×250mm,5 $\mu$ m 在此色谱条件下进行制备，制备收集到的目标物纯度为 99.86%（223nm），收集目标物总量 1.3g。

报告人:Ada

审核人: Jim

日期: 2024/08/22

