

分离纯化报告

样品信息			
样品名称	七叶皂苷	项目编号	20240506-416
样品性状	褐色固体	样品重量	80g
收样日期	2024/05/06	测试期间	2024/05/06-2024/07/23
目标物信息			
			
目标物保留时间	杂质 1: 12.7min 杂质 2: 14.4min 杂质 3: 16.2min 杂质 4: 17.9min	面积归一化含量 (220nm, %)	/
实验要求			
要求筛选合适的填料，开发制备七叶皂苷的工艺方法，纯度 $\geq 85\%$ ，并测试与记录上样量。			
试剂信息			
试剂名称	级别	供应商	
磷酸	AR	麦克林	
TFA	AR	阿拉丁	
乙腈	色谱级	月旭	
乙腈	制备级	月旭	

图1 客户分析图谱

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

第1页共6页

邮编: 201600

邮编: 321000

邮编: 211500



纯水	一级	月旭
仪器信息		
仪器名称	仪器型号	仪器厂家
分析型液相色谱仪	LC-20AD	岛津
制备型液相色谱仪	Sail 1000	月旭

1. 试验过程

1.1. 方法重现

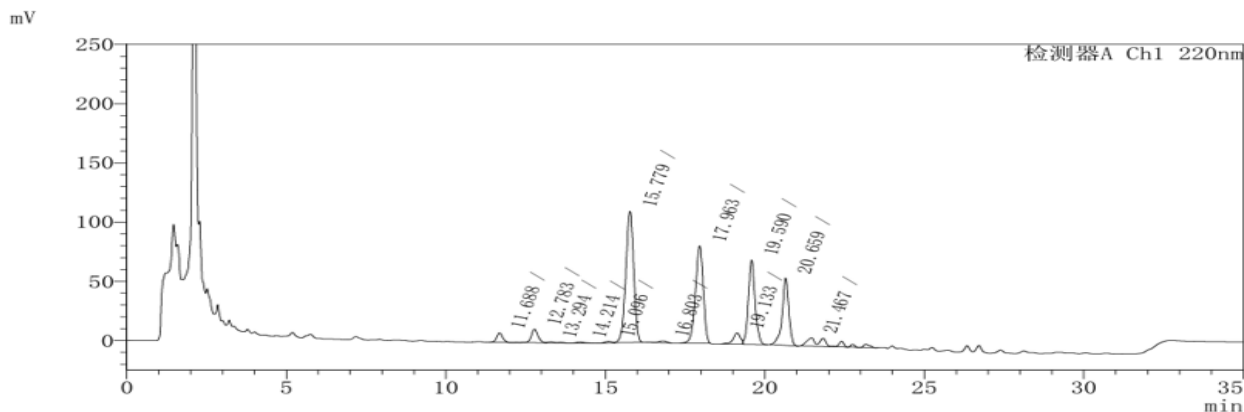
称取样品 6mg，置于 5mL 离心管中，加入 2ml 水溶解，过滤至进样小瓶中，按照以下色谱分析方法进行分析：

色谱柱	Ultimate XB-C18 4.6×150mm, 3μm		
流动相 A	0.1%磷酸水		
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	220nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	66	34
	1	66	34
	10	62	38
	25	62	38
	35	50	50
	40	50	50
	40.1	66	34
	45	66	34

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		11.69	103639	1.73	18839	1.09	--

2		12.78	169433	2.83	18297	1.06	3.0
3		13.29	19308	0.32	18272	--	1.3
4		14.21	19190	0.32	14168	1.35	2.1
5		15.10	20854	0.35	19810	--	1.9
6		15.78	1907144	31.86	18905	0.93	1.5
7		16.80	28874	0.48	22205	0.75	2.3
8		17.96	1393653	23.28	25138	0.90	2.6
9		19.13	146855	2.45	34006	--	2.7
10		19.59	1041793	17.40	42709	1.08	1.2
11		20.66	824713	13.78	52017	0.86	2.9
12		21.47	311413	5.20	32792	1.39	1.9
总计			5986869	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 15.7min, 17.9min, 19.5min, 20.6min 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, 10μm		
流动相 A	0.1%TFA 水		
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	220nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	62	38

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

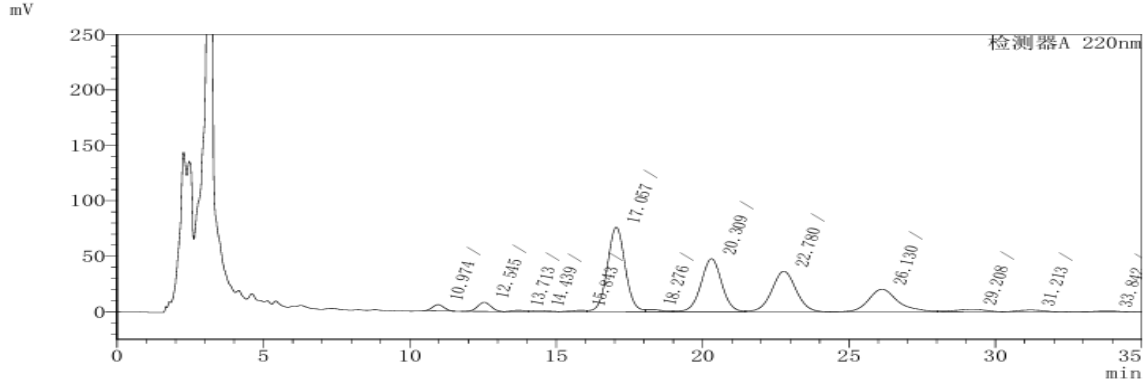
Tel:400-810-6969



	60	62	38
--	----	----	----

分析图谱如下图 3 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		10.97	157871	1.55	3402	1.02	—
2		12.54	258125	2.54	3561	1.01	2.0
3		13.71	32933	0.32	3688	—	1.3
4		14.44	28889	0.28	2085	—	0.7
5		15.84	37557	0.37	1020	—	0.9
6		17.06	3214584	31.62	3813	1.04	0.8
7		18.28	67800	0.67	711	—	0.6
8		20.31	2349218	23.11	4013	1.01	1.0
9		22.78	2111767	20.77	3644	1.02	1.8
10		26.13	1440943	14.17	3662	1.27	2.1
11		29.21	192868	1.90	2908	—	1.6
12		31.21	129563	1.27	4992	—	1.0
13		33.84	77309	0.76	4576	—	1.4
14		36.76	67765	0.67	4067	0.97	1.4
总计			10167192	100.00			

图 3 方法开发图谱

1.2.2. 样品制备

称取样品（乙醇处理）1.1g，加入 30ml 纯水溶解稀释，过滤，使其浓度为 36.6mg/ml，制备液相条件如下所示：

仪器	Sail1000		
色谱柱	Ultimate XB-C18 21.2×250mm, 10μm		
流动相 A	0.1%TFA 水		
流动相 B	制备级乙腈		
流速	20ml/min		
进样量	1.1g		
柱温	室温		
检测波长	220nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	62	38

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

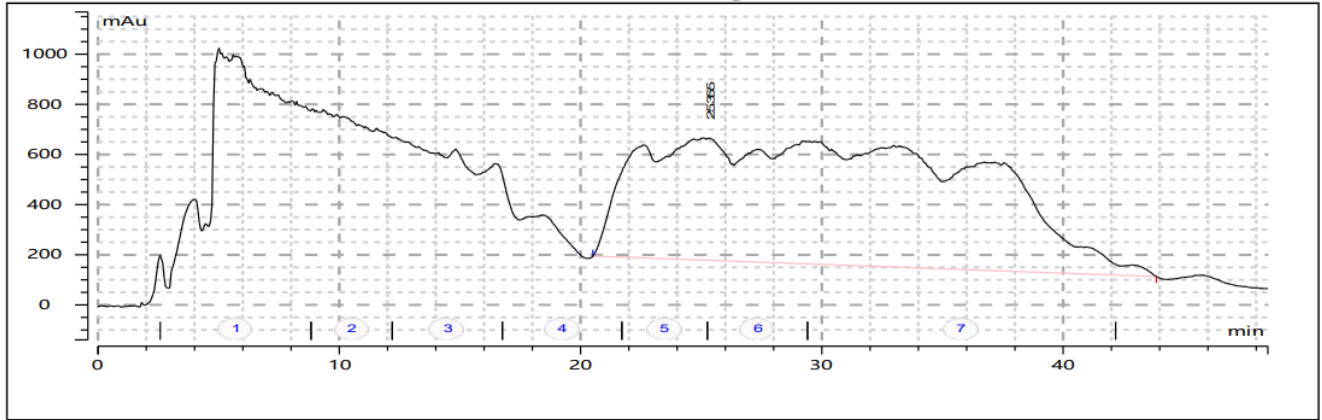
Add:江苏省南京市六合区天圣路 22 号 F 栋 4 楼

Tel:400-810-6969



	60	62	38
--	----	----	----

制备图谱如图 4 所示：



峰列表

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.	25.355	483602.811	11.426	17.600	493.948	100.000	BB*	0	
2	总计									

图 4 粗品制备图

经过制备，将目标馏分段收集到各馏分瓶中，待组分分析合格后，冻干。

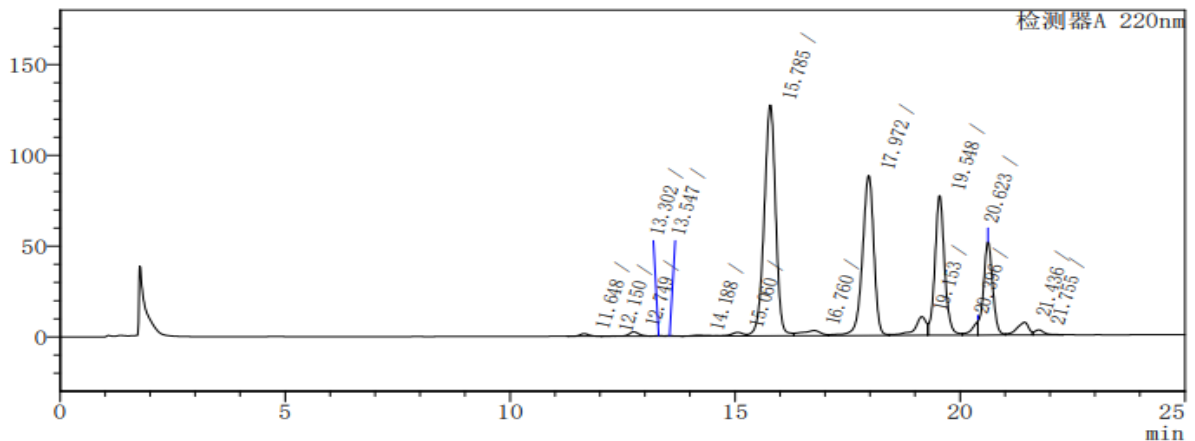
1.2.3. 杂质分析

将 1.2.2 中的馏分 5-7 各取适量合并后，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 220nm

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		11.65	20498	0.33	16839	1.14	—
2		12.15	1316	0.02	—	—	—
3		12.75	37517	0.60	16873	1.09	—
4		13.30	3185	0.05	8873	—	1.2
5		13.55	2625	0.04	8609	—	0.4
6		14.19	11019	0.18	4583	—	0.9
7		15.06	35970	0.57	15292	—	1.3
8		15.79	2254817	35.84	18409	0.94	1.5
9		16.76	82991	1.32	3483	—	1.2
10		17.97	1548692	24.62	24857	0.90	1.5
11		19.15	183547	2.92	25129	—	2.5
12		19.55	1144033	18.19	41496	—	0.9
13		20.40	67876	1.08	—	—	—
14		20.62	726694	11.55	48440	—	—
15		21.44	127645	2.03	30566	—	1.9
16		21.75	42601	0.68	37997	—	0.7
总计			6291027	100.00			

图5 制备液分析图谱

结论：由图可见馏分 5-7 面积归一化含量为 90.2%（220nm），纯度符合客户要求。

2. 结论

使用月旭 Ultimate® XB-C18, 21.2×250mm,10μm 在此色谱条件下进行制备，单针上样量为 1.1g 时，制备收集到的目标物纯度为 90.2%（220nm），冻干后收集到纯品 210mg。

报告人:Ada

审核人: Jim

日期: 2024/07/30

