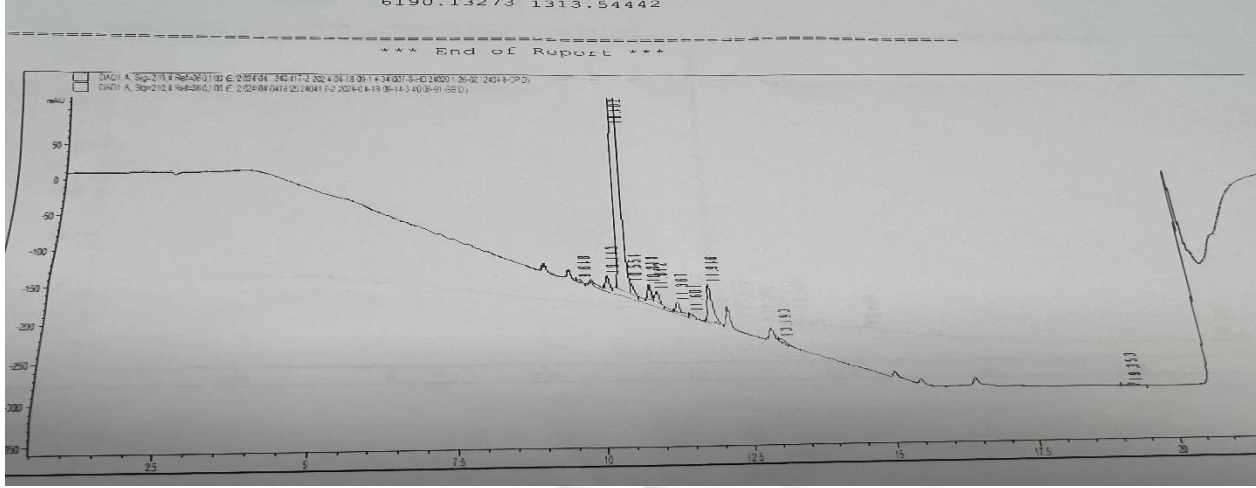


## 分离纯化报告

| 样品信息  |                      |                       |                       |
|---|----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 样品名称  | HD240201-26-02124048 | 项目编号                  | 20240422-370          |
| 样品性状  | 白色粉末                 | 样品重量                  | 1g                    |
| 收样日期  | 2024/04/23           | 测试期间                  | 2024/04/23~2024/04/30 |
| 目标物信息   |                      |                       |                       |
|  |                      |                       |                       |
| 目标物保留时间   | 目标物：10.1min          | 面积归一化含量<br>(210nm, %) | 88.2%                 |
| 实验要求  |                      |                       |                       |
| 目标物纯度大于 98%，单杂小于 0.5%，收率大于 78%  |                      |                       |                       |
| 试剂信息  |                      |                       |                       |
| 试剂名称  | 级别                   | 供应商                   |                       |
| 乙酸铵   | AR                   | GENERAL-REAGENT       |                       |
| 纯水  | 二级                   | 月旭                    |                       |
| 乙腈  | HPLC                 | 月旭                    |                       |
| 仪器信息  |                      |                       |                       |
| 仪器名称  | 仪器型号                 | 仪器厂家                  |                       |
| 分析液相  | 岛津 20AD              | 岛津                    |                       |
| 制备液相  | Sail 1000            | 月旭                    |                       |



## 1. 试验过程

### 1.1. 方法重现

取 2mg 样品，置于 2mL 离心管中，加入 2ml 50%乙腈水溶液进行溶解，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    | Xtimate C18 (4.6×250mm, 5μm) |           |           |
| 流动相 A  | 10mMol/L 乙酸铵溶液               |           |           |
| 流动相 B  | 色谱级乙腈                        |           |           |
| 流速     | 0.8ml/min                    |           |           |
| 进样量    | 10μl                         |           |           |
| 柱温     | 30°C                         |           |           |
| 检测波长   | 210nm                        |           |           |
| 梯度洗脱程序 | 时间 (min)                     | 流动相 A (%) | 流动相 B (%) |
|        | 0                            | 80        | 20        |
|        | 30                           | 20        | 80        |
|        | 40                           | 20        | 80        |
|        | 41                           | 80        | 20        |
|        | 51                           | 80        | 20        |

分析图谱如图 1 所示：

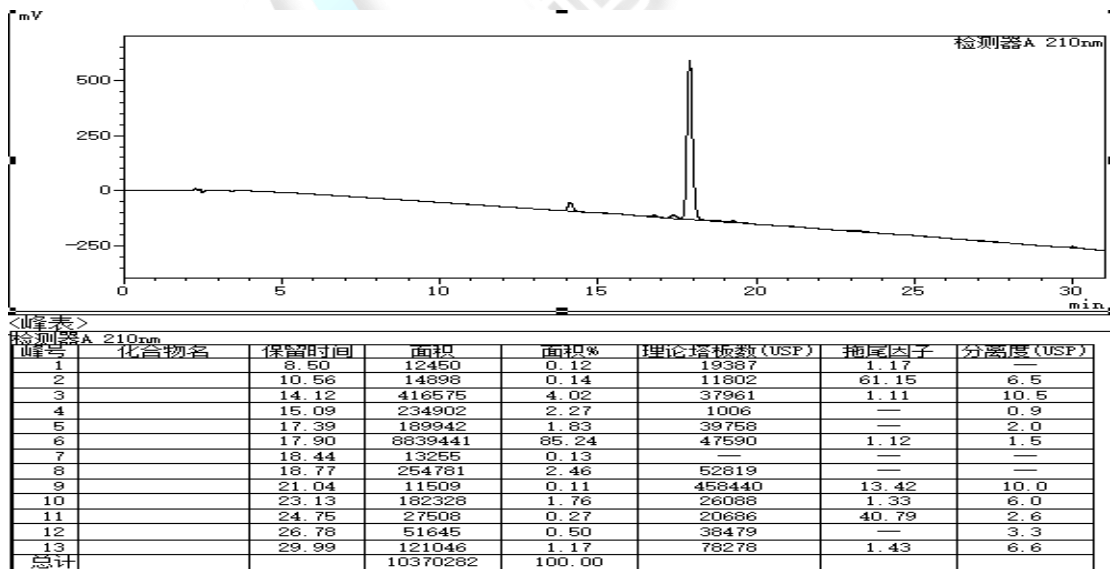


图 1 粗品分析图谱

结论：通过与客户图谱进行比较，可以确定 17.9min 为目标物，面积归一化含量为 85.24 (210nm, %)。



1.2. 分离纯化过程

1.2.1. 方法开发

取 1.1 项下的进样小瓶按以下方法进行分析：

|        |                                   |           |           |
|--------|-----------------------------------|-----------|-----------|
| 色谱柱    | Ultimate XB-C18 (4.6×250mm, 10μm) |           |           |
| 流动相 A  | 10mMol/L 乙酸铵+0.1%三氟乙酸溶液           |           |           |
| 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   | 210nm                             |           |           |
| 梯度洗脱程序 | 时间 (min)                          | 流动相 A (%) | 流动相 B (%) |
|        | 0                                 | 80        | 20        |
|        | 30                                | 20        | 80        |
|        | 40                                | 20        | 80        |
|        | 41                                | 80        | 20        |
|        | 51                                | 80        | 20        |

分析图谱如下图 2 所示：

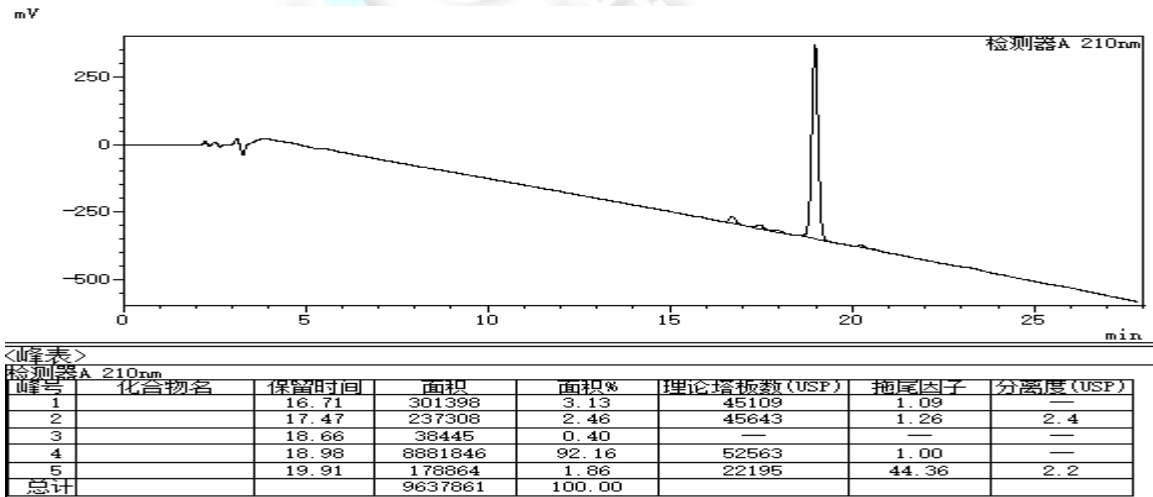


图 2 粗品方法开发图谱

结论：通过与图 1 进行比较，确定 16.58min 为目标物，面积归一化含量为 84.78（210nm，%）。



### 1.2.2. 样品制备

称取适量样品，加入纯水和乙腈溶解稀释，过滤，使其浓度为 10mg/ml，制备液相条件如下所示：

|      |  |    |    |
|------|--|----|----|
| 仪器信息 | Sail 1000                              |    |    |
| 色谱柱  | Ultimate XB-C18(21.2*250mm, 10um)      |    |    |
| 柱压   | 3.5MPa                                 |    |    |
| 流动相  | 流动相 A:10Nm 乙酸铵溶液+0.1%三氟乙酸<br>流动相 B:纯乙腈 |    |    |
| 柱温   | 室温                                     |    |    |
| 检测波长 | 210nm                                  |    |    |
| 流速   | 15ml/min                               |    |    |
| 进样量  | 160mg（进样量/填料量=0.33%）                   |    |    |
| 洗脱程序 | 时间                                     | A  | B  |
|      | 0                                      | 65 | 35 |
|      | 30                                     | 45 | 55 |
|      | 40                                     | 20 | 80 |
|      | 41                                     | 65 | 35 |
|      | 51                                     | 65 | 35 |

制备图谱如图 3 所示：

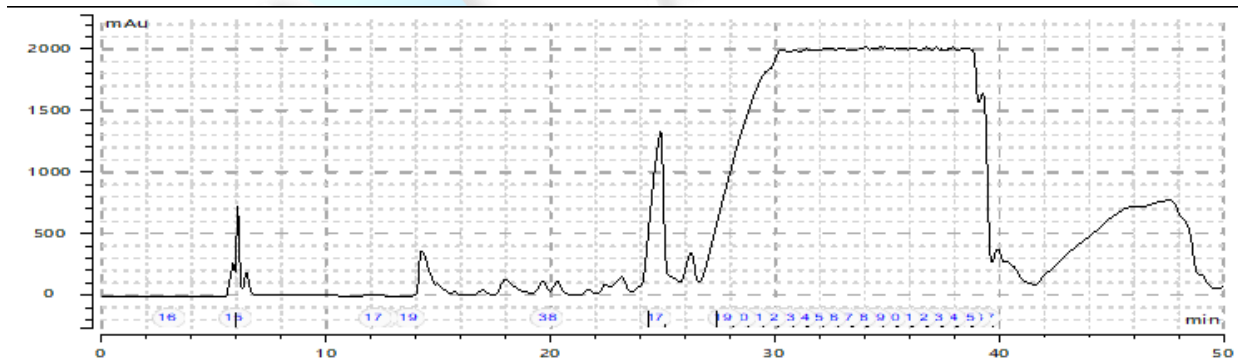


图 3 粗品制备图

经过制备，收集到目标馏分，用干冰加乙醇预冻，然后挂冻干机冻干。

### 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 4 所示：



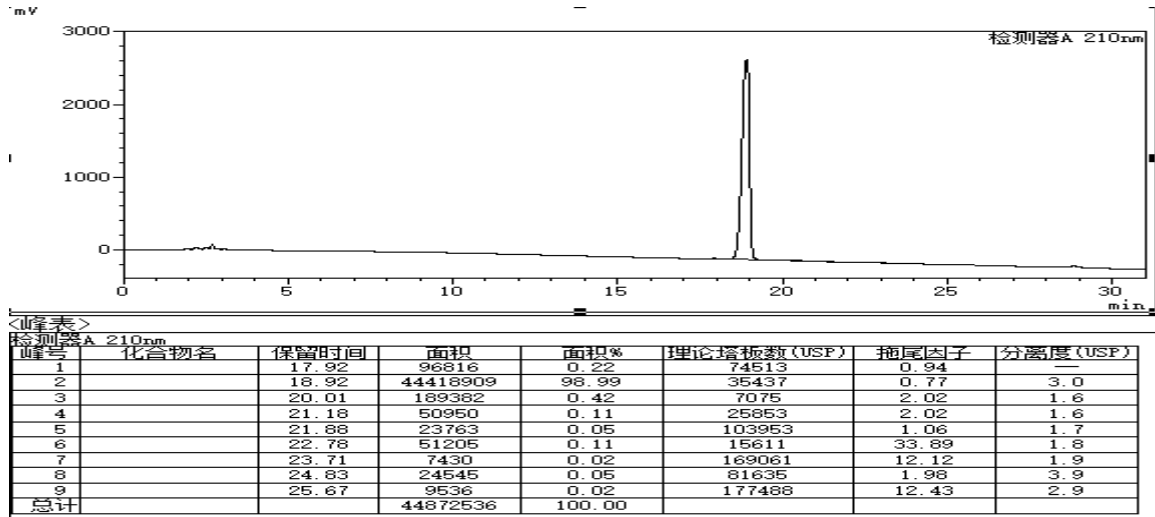


图 4 制备液分析图谱

结论：由图可见制备液面积归一化含量为 98.99%（210nm），单杂小于 0.5%，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 160mg 时（进样量/填料量=0.33%），制备收集到的目标物纯度为 98.99%（210nm），冻干后称重计算样品回收率为 87%，制备结果满足客户要求。

报告人:Mia

审核人: Jim

日期: 2024/05/06

