

## 分离纯化报告

样品信息			
样品名称	杂质 B	项目编号	20230613-494
样品性状	微黄色固体	样品重量	1g
收样日期	2023/06/16	测试期间	2023/06/16~2023/06/19
目标物信息			
目标物保留时间	21.4min	面积归一化含量 (220nm, %)	15.7%
实验要求			
提纯杂质 B, 提纯后杂质 B 的含量 95%以上			
试剂信息			
试剂名称	级别	供应商	
磷酸二氢钠	AR	阿拉丁	
乙腈	HPLC	月旭	
纯水	二级	月旭	
碳酸氢铵	AR	麦克林	
仪器信息			
仪器名称	仪器型号	仪器厂家	
分析液相	Waterse2695	Waters	
制备液相	Sail1000	月旭	

## 1. 试验过程

### 1.1. 方法重现

取 10mg 样品, 置于 10mL 离心管中, 加入 10ml50%乙腈水溶液, 超声溶解过滤, 取 1ml 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	1g 磷酸二氢钠到 900ml 水+100ml 乙腈		
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	95	5
	10	95	5
	20	5	95
	30	5	95
	35	95	5
	40	95	5

分析图谱如图 2 所示：

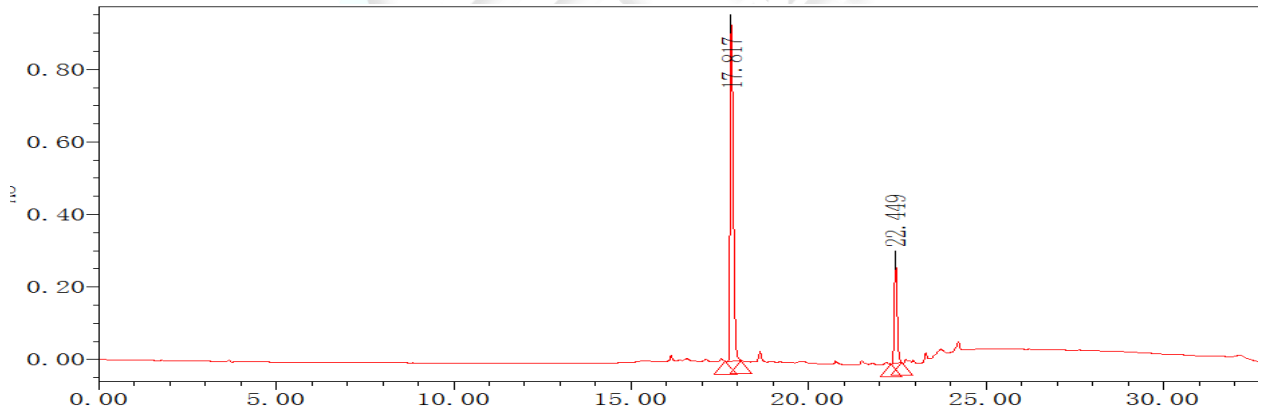


图 2 方法重现图谱

结论：通过与图 1 进行比较，可以确定 22.449min 为目标物。

## 1.2. 分离纯化过程

### 1.2.1. 方法开发

色谱柱	Xtimate C18 4.6×150mm, 5μm		
流动相 A	1.5g 碳酸氢铵到 900ml 水+100ml 乙腈		
流动相 B	色谱级乙腈		



流速	1ml/min		
进样量	10 $\mu$ l		
柱温	30 $^{\circ}$ C		
检测波长	220nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	95	5
	10	95	5
	20	5	95
	30	5	95
	35	95	5
	40	95	5

取 1.1 项下的进样小瓶进行分析：

分析图谱如下图 3 所示：

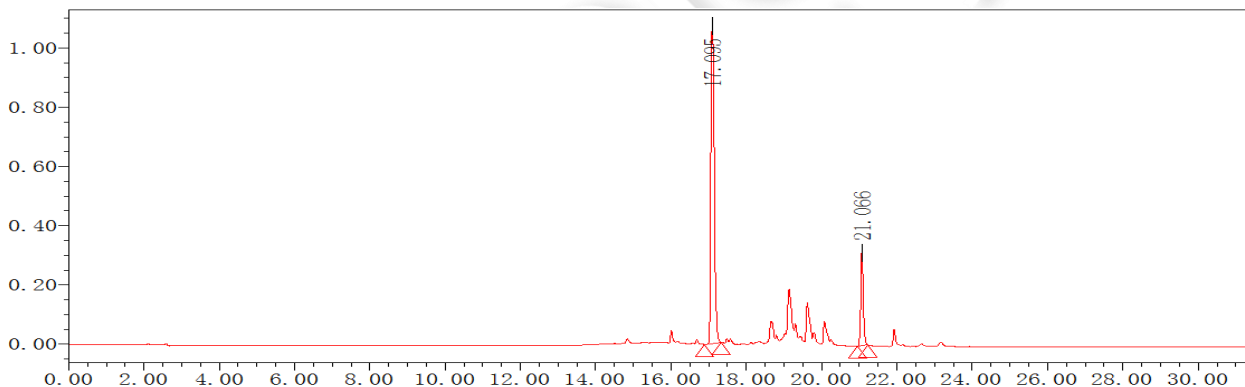


图 3 XT-C18 碳酸氢铵分析图

### 1.2.2. 样品制备

取方法 1.1 溶解的样品 2ml，制备液相条件如下所示：

仪器	Sail1000
色谱柱	Xtimate C18(10 $\times$ 250mm,5 $\mu$ m)
流动相 A	1.5g 碳酸氢铵到 900ml 水+100ml 乙腈
流动相 B	制备级乙腈
流速	5ml/min



进样量	2mL		
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	80	20
	5	80	20
	6	70	30
	36	15	85
	46	15	85
	47	5	95
	57	5	95
	58	80	20
	68	80	20

制备图谱如图 4 所示：

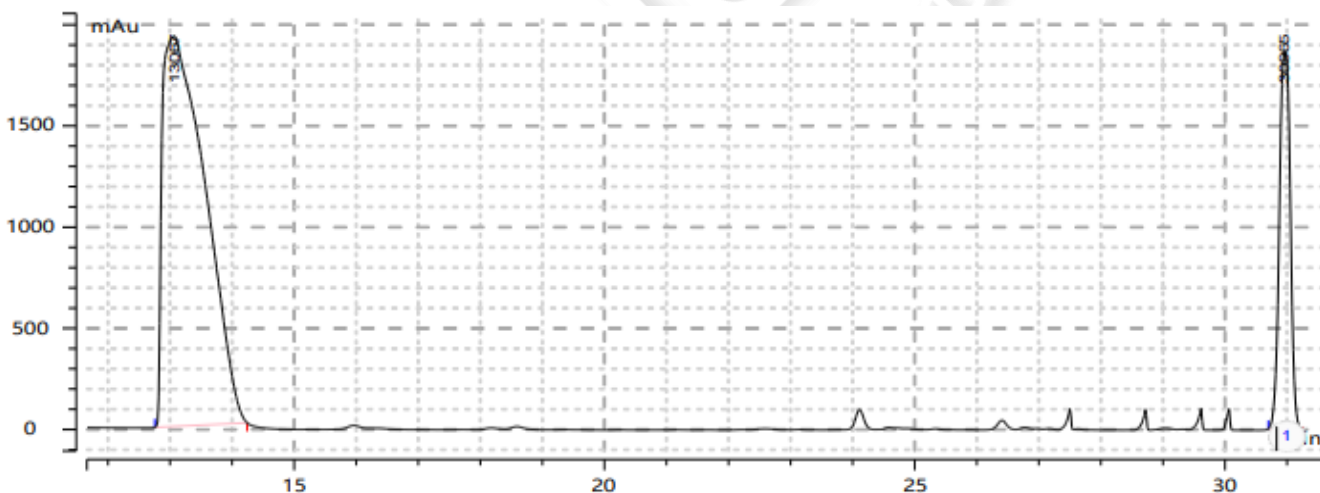


图 4 粗品制备图

经过制备，收集到目标馏分 1，取 1ml 至进样小瓶中进行分析。

### 1.2.3. 杂质分析

将 1.2.2 中的进样小瓶进行液相色谱分析，具体分析条件同“步骤 1.1”一致。分析图谱如图 5 所示：



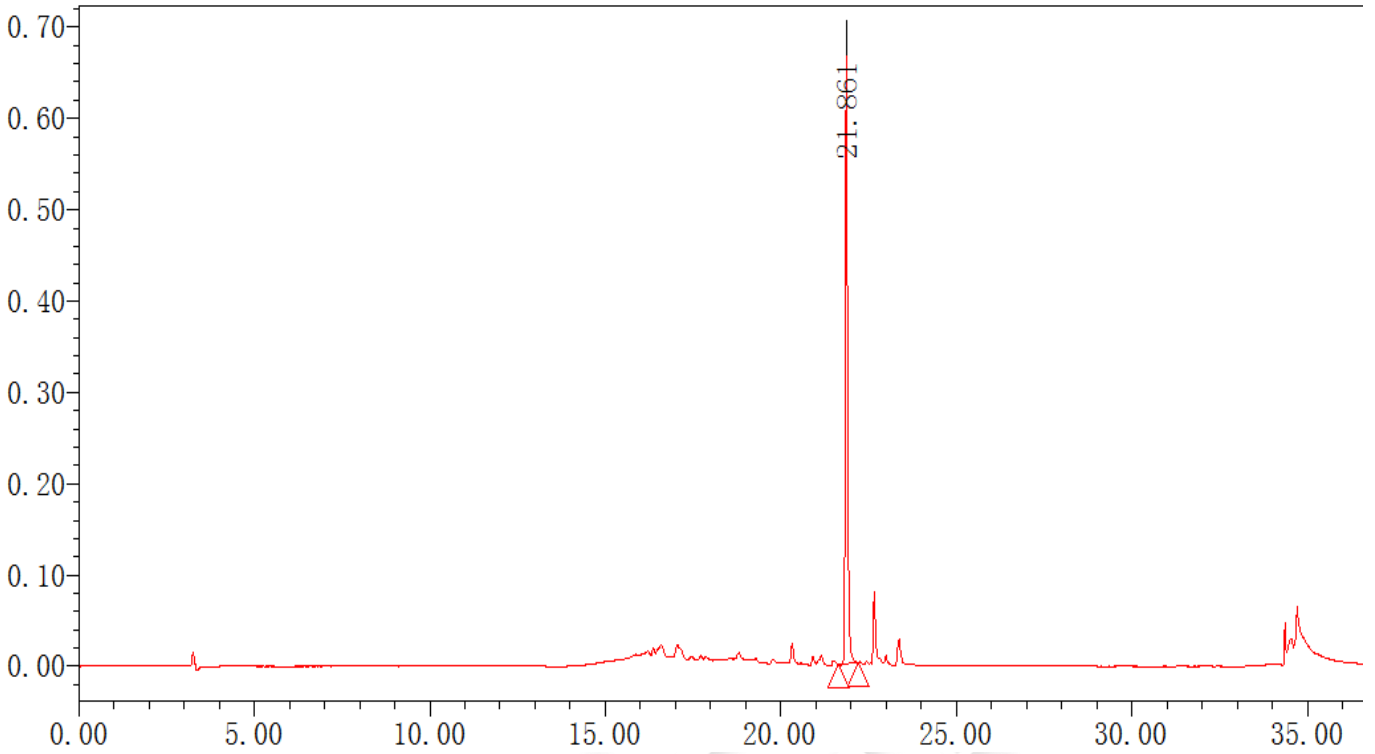


图5 制备液分析图谱

空白分析图谱如图6所示

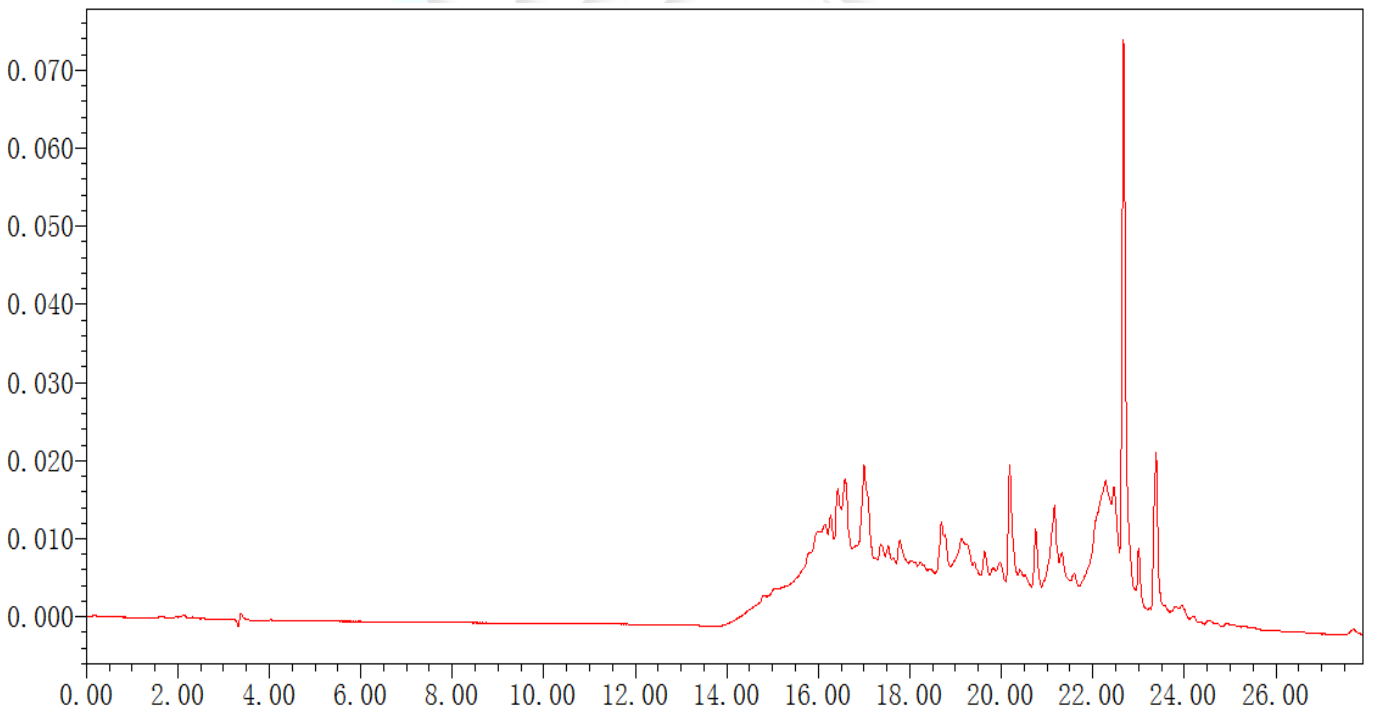


图6 空白分析图谱

结论：由图可见去除空白里的杂质后纯度符合客户要求。



## 2. 结论

使用月旭 Xtimate C18，10×250mm,5μm 在此色谱条件下进行制备，收集到的目标物纯度符合客户要求，制备结果满足客户要求。

报告人：Mia

审核人：Jim

日期：2023/06/20

