

分离纯化报告

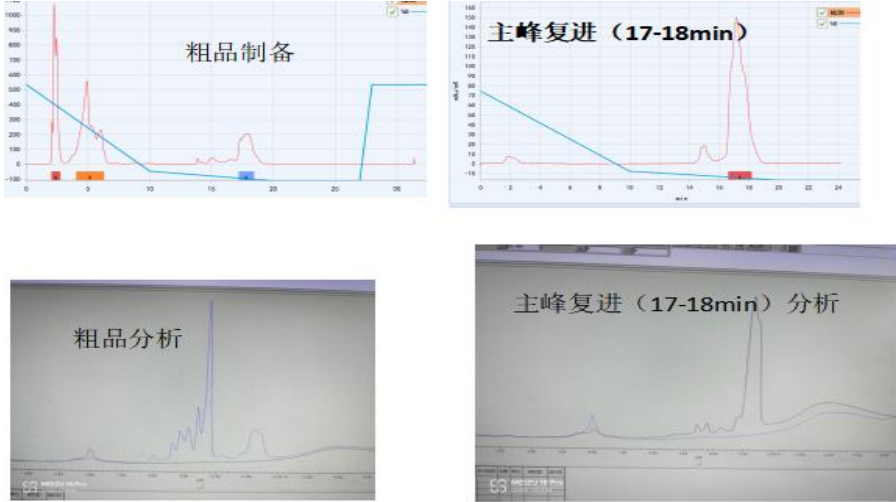
样品信息			
样品名称	Cppd	项目编号	20230421-312
样品性状	白色粉末	样品重量	115mg
收样日期	2023/04/23	测试期间	2023/04/23-2023/04/25
目标物信息			
			
目标物保留时间	17-18min	面积归一化含量 (254nm, %)	/
实验要求			
确认色谱柱，并开发方法使样品不变质			
试剂信息			
试剂名称	级别	供应商	
水	二级	月旭	
三乙胺	AR	麦克林	
冰乙酸	AR	阿拉丁	
乙腈	HPLC	月旭	
仪器信息			
仪器名称	仪器型号	仪器厂家	
U3000	高效液相色谱仪	赛默飞	
LC20AD	高效液相色谱仪	岛津	

图 1 客户图谱



1. 试验过程

1.1. 方法重现

流动相配置：

2mol/L TEAA:量取 56.1mL 三乙胺和 20mL 乙腈至 250mL 烧杯中，用纯水定容至 200mL，加冰乙酸调节 pH 至 8.0。

流动相 A：量取 1000mL 纯水至试剂瓶中，加入 25ml 2mol/L TEAA，即配置成 50mmol/L TEAA 。混匀，过滤转移至 1000ml 试剂瓶中，超声脱气后待用。

流动相 B：纯乙腈过滤转移至 1000mL 试剂瓶即可。

样品配置：

样品溶液：精确称取 2mg 样品并用 2mL 乙腈溶解，过滤至进样小瓶即得。

按照以下色谱分析方法进行分析：

色谱柱	Xtimate Polar RP, 4.6*250mm,5 μ m		
流动相 A	50mMTEAA		
流动相 B	色谱级乙腈		
流速	1mL/min		
进样量	5 μ l		
柱温	常温		
检测波长	254nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	80	20
	10	80	20
	20	0	100
	30	0	100
	35	80	20
	35.01	80	20

分析图谱如图 1, 2 所示：



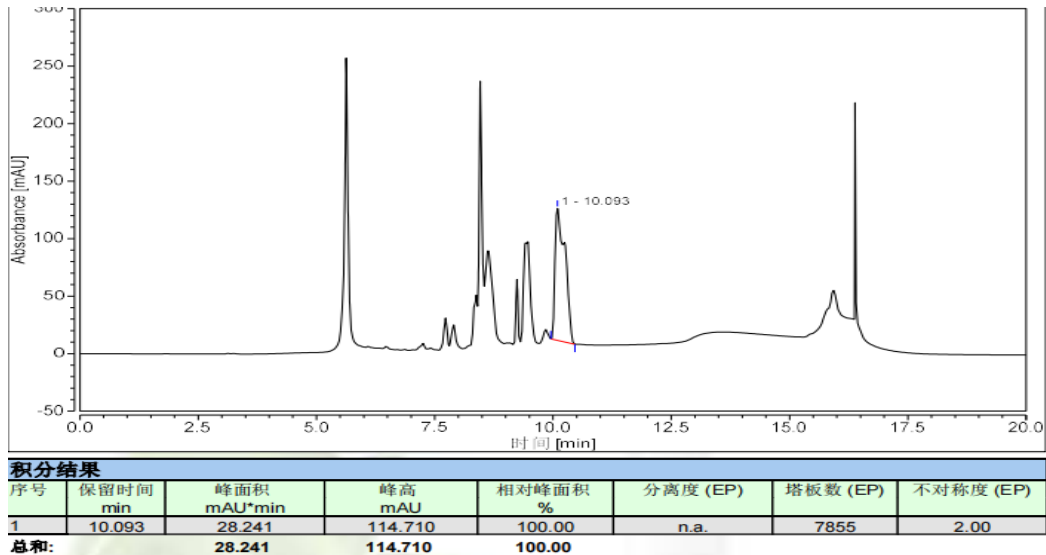


图 2 方法重现图谱

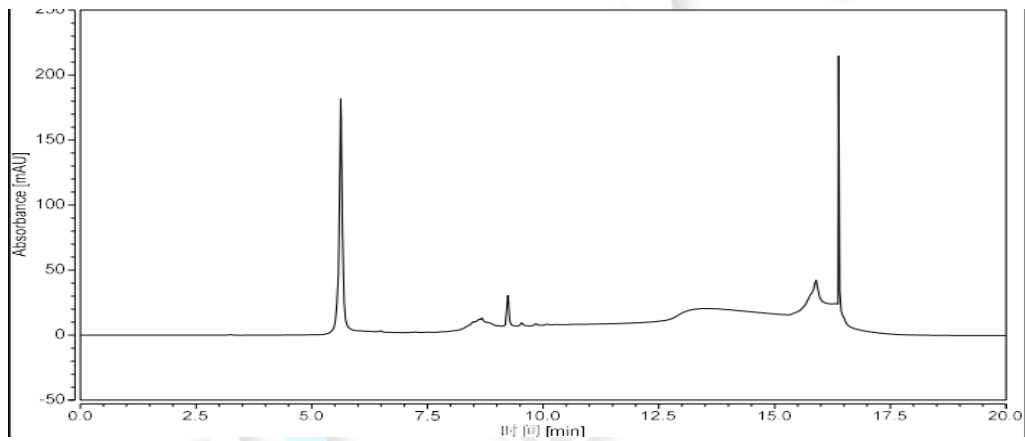


图 3 空白-方法重现图谱（乙腈）

结论：通过与图 1 进行比较，可以确定 10.093min 处为目标物，主物质里含有杂质同时出峰，客户怀疑的 RT5min 左右的大极性杂质在空白对照里出现。

1.2. 分离纯化过程

1.2.1. 方法开发

取 1.1 项下的进样小瓶进行分析：

仪器	岛津 LC-20AD
色谱柱	Xtimate Polar RP, 4.6*250mm,5μm
流动相 A	50mMTEAA
流动相 B	色谱级乙腈
流速	1mL/min

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



进样量	5 μ l		
柱温	常温		
检测波长	254nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	25	75
	20	5	95
	20.01	0	100
	23	0	100
	23.01	25	75
	28	25	75

分析图谱如下图 4 所示：

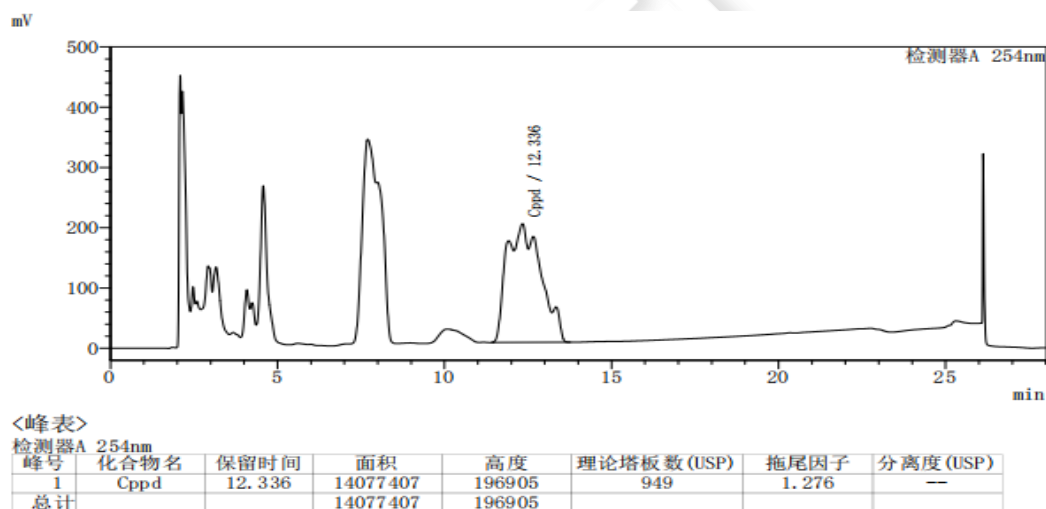


图 4 方法开发梯度图谱

结论：根据与图 2 比对，可确定 12.336min 为目标物。

1.2.2. 样品制备

进样 50 μ l，制备图谱如图 5 所示：



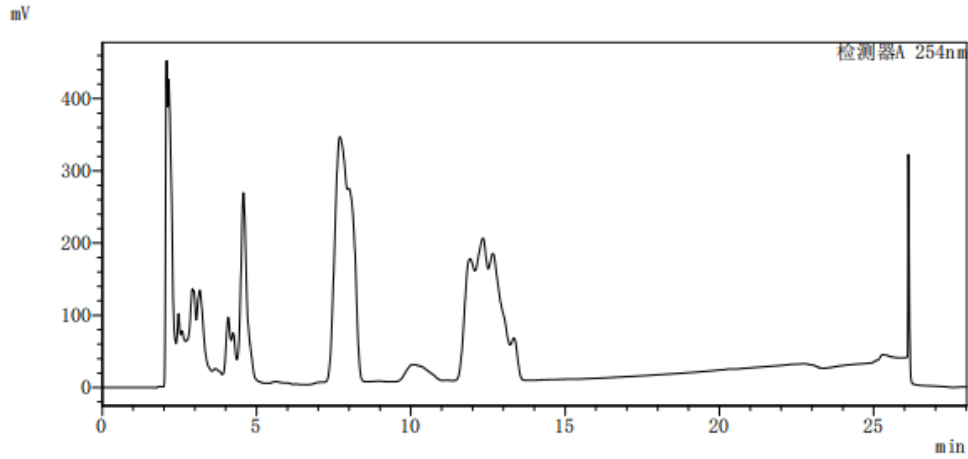
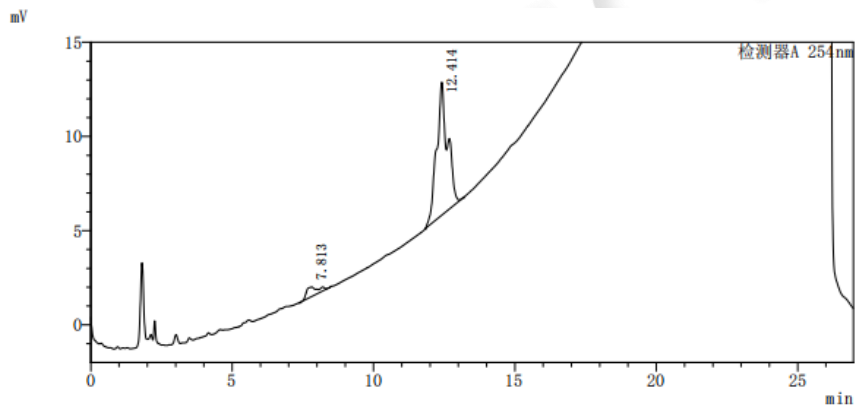


图 5 粗品制备图

收集 RT12-14min 的色谱峰的馏分，同方法分析，如图 6 所示：



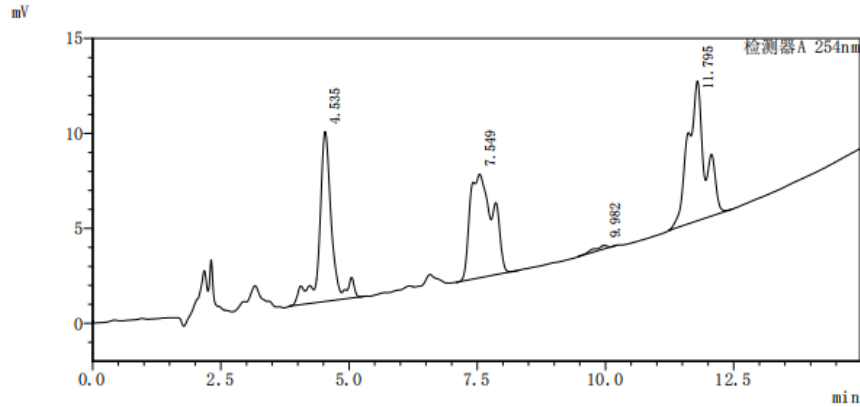
<峰表>

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	7.813	14137	6.955	500	3570	1.335	—
2	12.414	189146	93.045	7062	11537	1.065	9.339
总计		203283	100.000	7562			

图 6 制备液分析图

将馏分收集室温放置过夜后同方法同进样量再次检测，如图 7 所示：





<峰表>

检测器A 254nm

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	4.535	152743	30.642	8956	2484	0.766	—
2	7.549	168977	33.899	5461	2003	1.279	5.801
3	9.982	3877	0.778	180	16531	0.605	4.940
4	11.795	172880	34.682	7354	8301	1.006	4.378
总计		498476	100.000	21951			

图7 制备液再次分析图

结果：该物质不稳定，室温会降解产生其他杂质。

2. 结论

使用月旭 Xtimate Polar RP 在此色谱条件下，制备结果符合客户要求，但目标物稳定性差，室温会降解产生其他杂质。

日期：2023.05.08

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6页共6页

邮编：201600

邮编：321000

邮编：211500

