

分离纯化报告

样品信息			
样品名称	DNTP	项目编号	20230516-388
样品性状	橘粉色液体	样品重量	50mL(5mg/mL)
收样日期	2023/05/24	测试期间	2023/05/26~2023/06/13

目标物信息

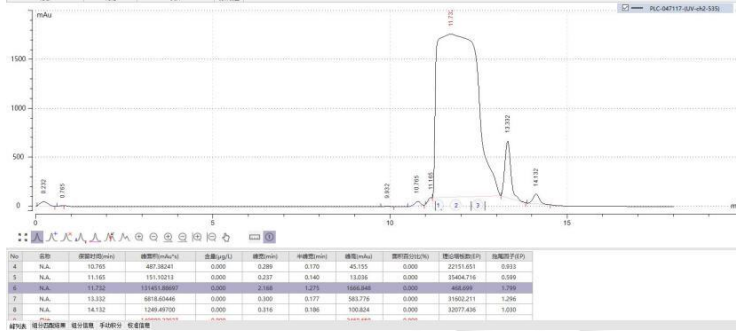


图 1 客户制备谱图

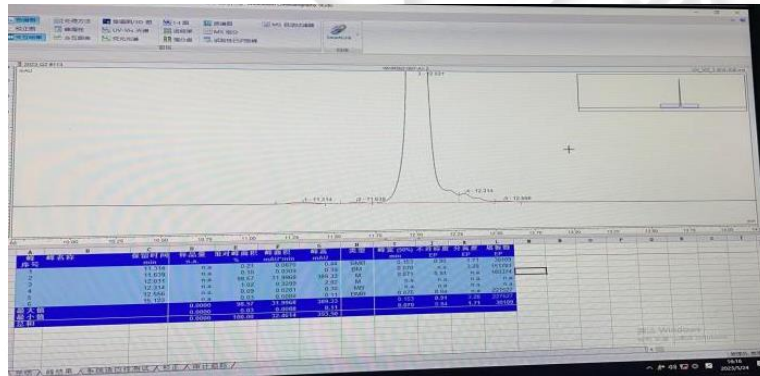


图 2 客户制备后分析谱图

目标物保留时间	12.031min	面积归一化含量 (254nm, %)	98.57%
---------	-----------	-----------------------	--------

实验要求

纯化后纯度要求 $\geq 99.7\%$ ；上样量：单针 150mg 样品（30*250mm 色谱柱）；方法时间 20min 左右

试剂信息

试剂名称	级别	供应商
三乙胺	AR	麦克林
乙腈	HPLC	月旭
磷酸二氢钾	AR	阿拉丁
磷酸氢二钾	AR	西亚试剂



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

仪器信息		
仪器名称	仪器型号	仪器厂家
高效液相色谱仪月旭	Wisys5000	月旭
半制备型高效液相色谱仪	WelPrep2000	月旭

1. 试验过程

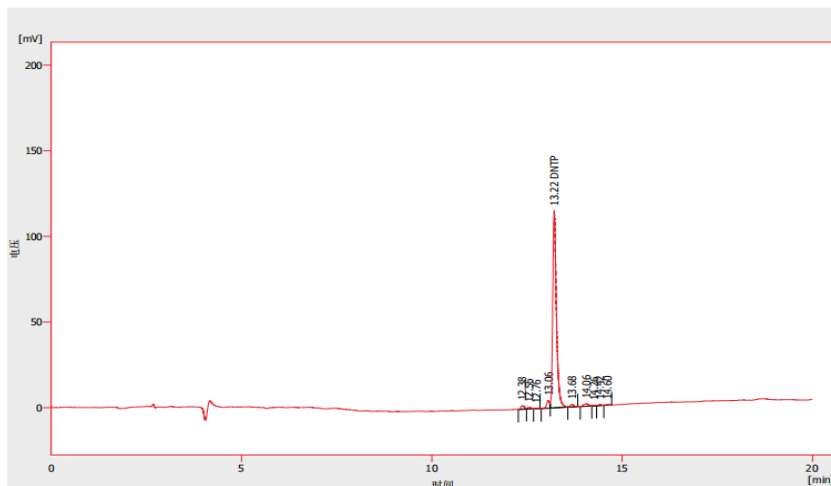
1.1. 方法重现

样品配置：吸取 200 μ l 样品置于进样小瓶中，加入 800 μ l 纯水稀释即得。按照以下色谱分析方法进行分析：

仪器	月旭 Wisys5000		
色谱柱	Ultimate Alk-C18 (4.6 \times 250mm,5 μ m)		
流动相 A	100mM 磷酸盐 (50mM 磷酸二氢钾和 50mM 磷酸氢二钾)		
流动相 B	色谱级乙腈		
流速	1mL/min		
进样量	10 μ l		
柱温	30 $^{\circ}$ C		
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
	3	80	20
	18	50	50
	18.01	80	20
	20	80	20

分析图谱如图 3 所示：





	化合物名称	保留时间 [min]	峰面积 [mV.s]	面积 [%]	不对称因子 [-]	柱效/米 [t.p./m]	分离度 [-]	对称/拖尾因子 [-]
1		12.382	14.486	1.7	1.370	1590806		1.106
2		12.558	7.083	0.8	1.442	1360468	0.962	1.279
3		12.758	1.521	0.2	0.849	1998391	1.133	0.943
4		13.058	24.695	2.9	0.600	2168911	1.880	0.683
5	DNP	13.215	774.339	90.4	1.795	2001117	0.965	1.451
6		13.675	10.612	1.2	1.082	2142856	2.760	1.107
7		14.058	14.358	1.7	1.118	837850	1.740	1.018
8		14.257	2.378	0.3	1.235	1979330	0.872	1.118
9		14.417	4.494	0.5	1.130	1473837	0.815	1.065
10		14.602	2.576	0.3	1.260	1362677	0.851	1.180
		合计	856.541	100.0				

图3 方法重现图谱

结论：通过与图2 进行比较，可以确定 7.342min 为目标物。

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：

色谱柱	Ultimate Alk-C18 (4.6×250mm,5μm)		
流动相 A	0.1M TEAB		
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	254nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	76	24
	20	76	24



分析图谱如下图 4 所示：

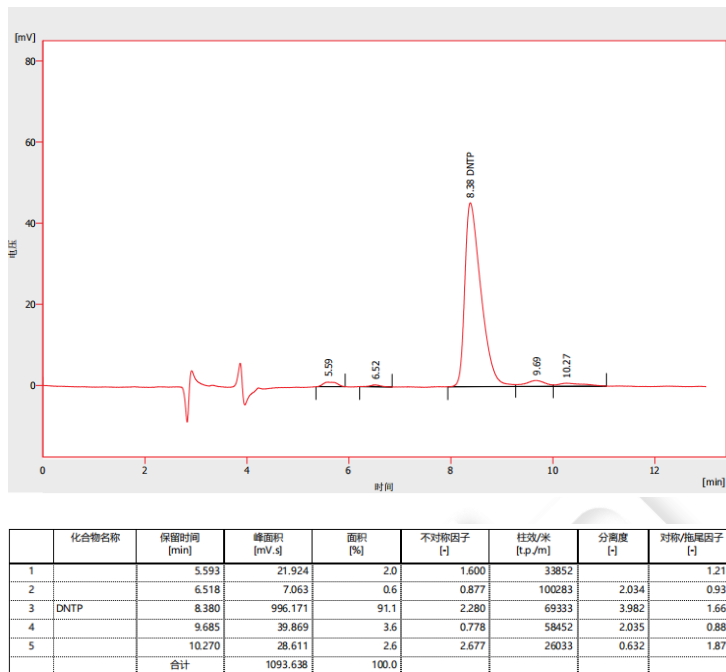


图 4 方法开发图谱

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	月旭 WelPrep2000		
色谱柱	Ultimate Alk-C18 (10×250mm,5μm)		
流动相 A	0.1M TEAB		
流动相 B	制备级乙腈		
流速	5ml/min		
进样量	4mL		
柱温	室温		
检测波长	254nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	77	23
	20	77	23

制备图谱如图 5 所示：



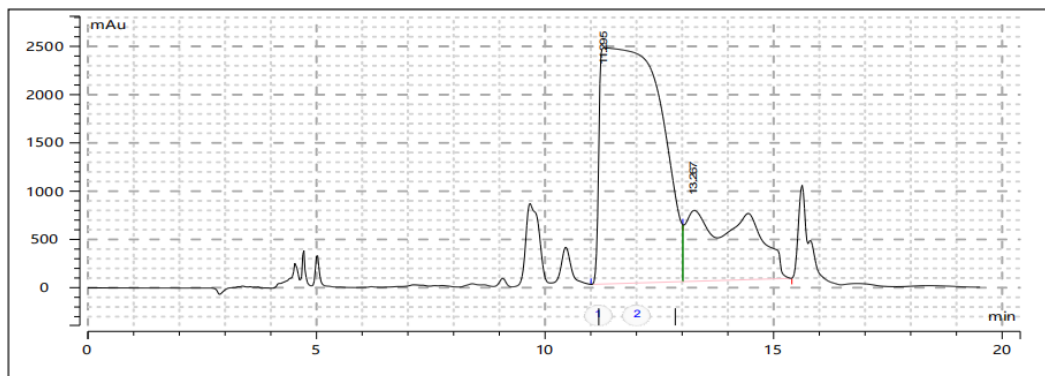
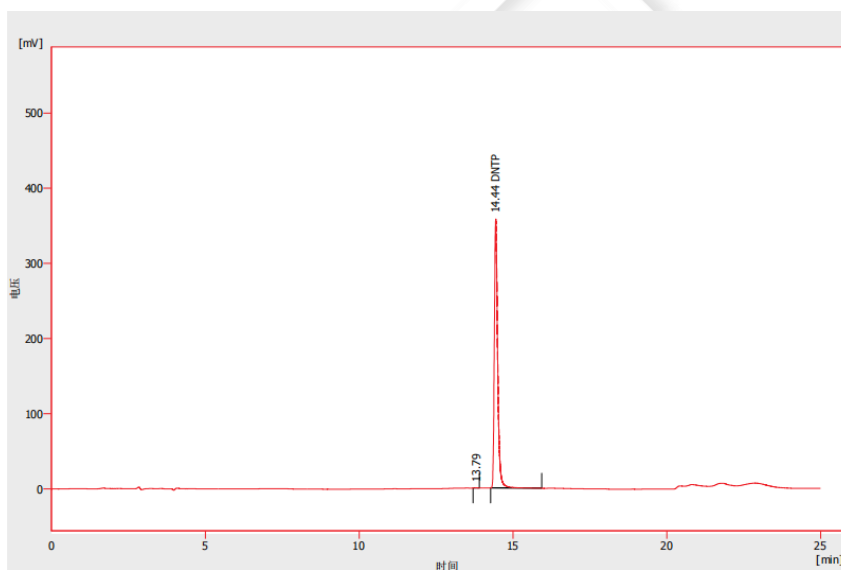


图 5 粗品制备图

经过制备，收集到 RT11-13min 目标馏分。

1.2.3. 馏分分析

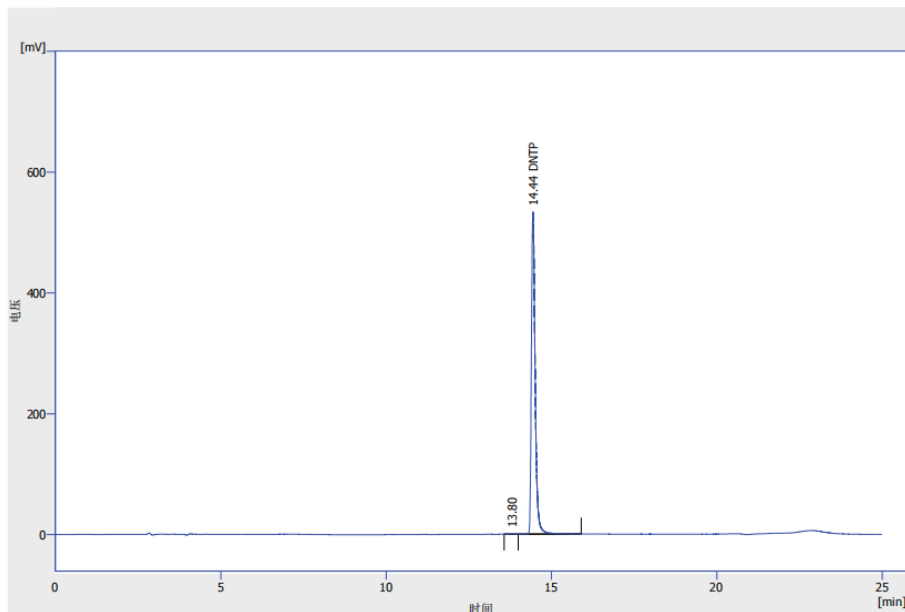
将 1.2.2 中收集到的馏分进行液相色谱分析，具体分析条件同“步骤 1.1”一致。分析图谱如图 6，7，8 所示：



	化合物名称	保留时间 [min]	峰面积 [mV.s]	面积 [%]	不对称因子 [-]	柱效/米 [t.p./m]	分离度 [-]	对称/拖尾因子 [-]
1		13.793	1.434	0.1	1.255	1690562		1.122
2	DNTP	14.440	2685.909	99.9	1.608	1852794	3.417	1.395
		合计	2687.342	100.0				

图 6 制备液分析图谱（254nm）





	化合物名称	保留时间 [min]	峰面积 [mV.s]	面积 [%]	不对称因子 [-]	柱效/米 [tp./m]	分离度 [-]	对称/拖尾因子 [-]
1		13.798	4.329	0.1	2.107	1425115		1.408
2	DNTP	14.442	4268.437	99.9	1.623	1650290	3.163	1.415
	合计		4272.766	100.0				

图 7 制备液分析图谱（535nm）

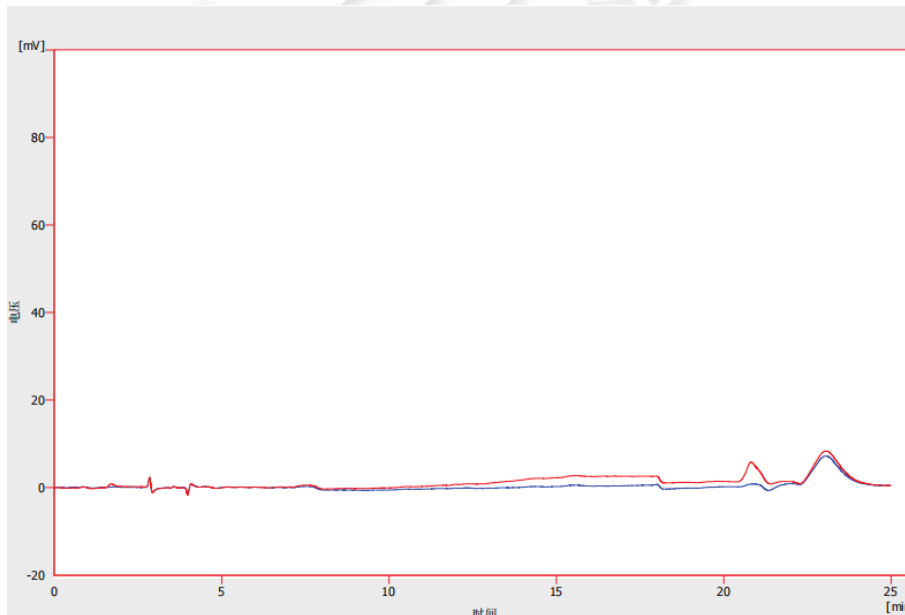


图 8 空白分析图谱（制备流动相）

结论：由图可见制备液面积归一化含量为 99.9%（254nm/535nm），纯度符合客户要求。

2. 结论

使用月旭 Ultimate Alk-C18（10×250mm,5μm）在此色谱条件下进行制备，单针上样量为 4mL 时，



制备收集到的目标物纯度为 99.9%（254nm/535nm），制备结果满足客户要求。

报告人：Queena

审核人：Jim

日期：2023/06/15



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 7 页 共 7 页

邮编：201600

邮编：321000

邮编：211500

