

分离纯化报告

样品信息			
样品名称	YAPN-657	项目编号	20230719-623
样品性状	淡黄色粉末	样品重量	/
收样日期	2023/07/30	测试期间	2023/07/30~2023/08/04
目标物信息			
目标物保留时间	9.595min	面积归一化含量 (220nm, %)	/
实验要求			
筛选色谱柱填料，让相邻的峰分开，纯度达到 95%以上			
试剂信息			
试剂名称	级别	供应商	
磷酸氢二钾	AR	阿拉丁	
磷酸	AR	麦克林	
甲酸	AR	西亚试剂	
甲酸铵	AR	西亚试剂	
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	Waters e2695	Waters	
制备液相	Welprep 2000	月旭	



## 1. 试验过程

### 1.1. 方法重现

称取 2mg 样品，加入 2ml 纯水进行溶解，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	Ultimate LP- C18 (4.6×150mm, 5μm)		
流动相 A	3.5g 磷酸氢二钾加入 2ml 磷酸用 1L 水溶解，pH=3.1		
流动相 B	色谱级乙腈		
流速	1ml/min		
进样量	10μl		
柱温	室温		
检测波长	313nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	90	10
	2	90	10
	3	87	13
	15	86	14
	16	50	50
	20	50	50

分析图谱如图 2 所示：

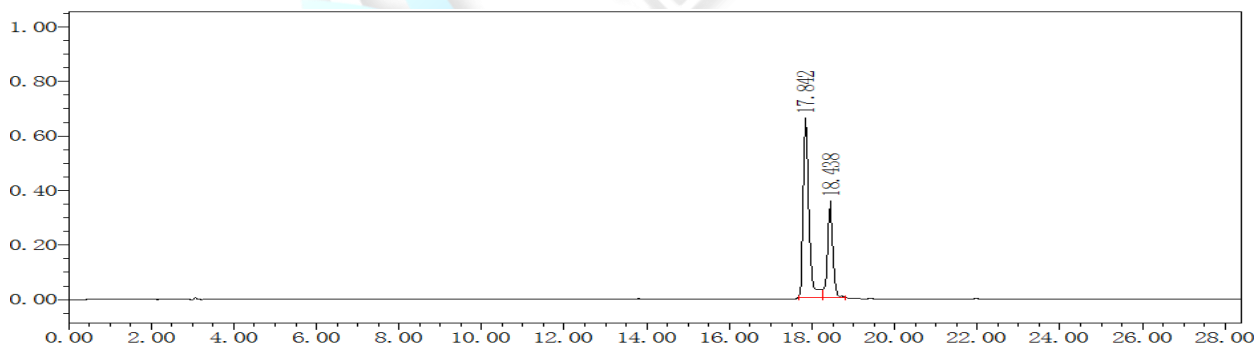


图 2 方法重现图谱

结论：通过与图 1 进行比较，可以确定 17.842min 为峰 1、 18.438min 为峰 2。

### 1.2. 分离纯化过程

#### 1.2.1. 方法开发

流动相配置：称取 630mg 甲酸铵加入到 500ml 纯水中，过滤到流动相瓶中，即得。



取 1.1 项下的进样小瓶进行分析：

按照以下色谱分析方法进行分析：

色谱柱	Ultimate LP- C18 (4.6×150mm, 10μm)		
流动相 A	20Mmol/L 甲酸铵溶液		
流动相 B	色谱级乙腈		
流速	1ml/min		
进样量	10μl		
柱温	室温		
检测波长	313nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	95	5
	30	75	25
	40	50	50
	41	95	5
	50	95	5

分析图谱如下图 3 所示：

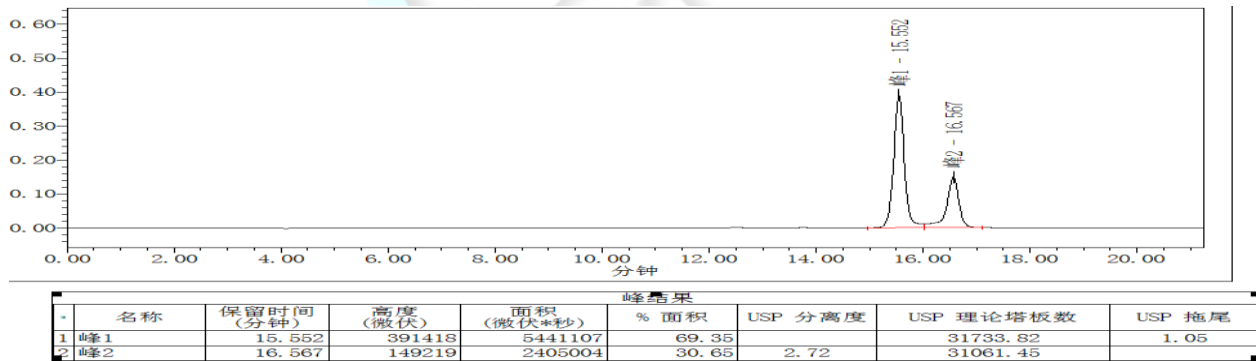


图 3 LP-C18 分析图谱

### 1.2.2. 样品制备

称取 5mg 样品，加入纯水溶解稀释，过滤，使其浓度为 1mg/ml，制备液相条件如下所示：

仪器	Welprep 2000
色谱柱	Ultimate LP-C18 (10×250mm, 10μm)
流动相 A	20Mmol/L 甲酸铵溶液

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



流动相 B	制备级乙腈		
流速	5ml/min		
进样量	1mL		
柱温	室温		
检测波长	313nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	60	5
	30	30	20
	40	5	50
	41	5	5
	50	60	5

制备图谱如图 4 所示：

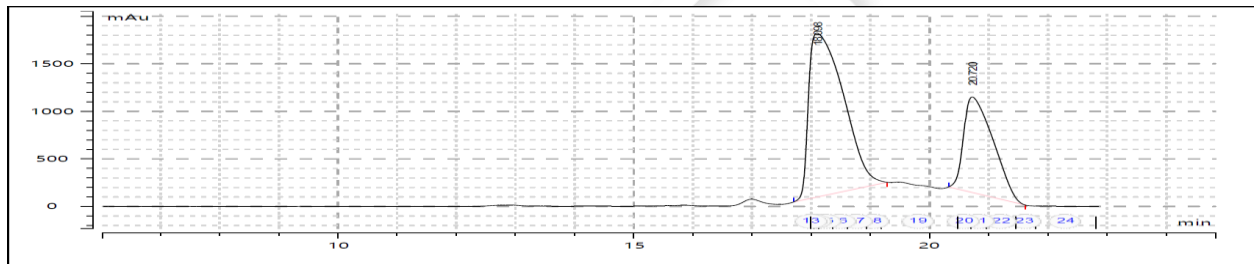


图 4 粗品制备图

经过制备，收集峰 1 馏分和峰 2 馏分。

### 1.2.3. 杂质分析

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 1.2.1”一致。分析图谱如图 5、图 6 所示：

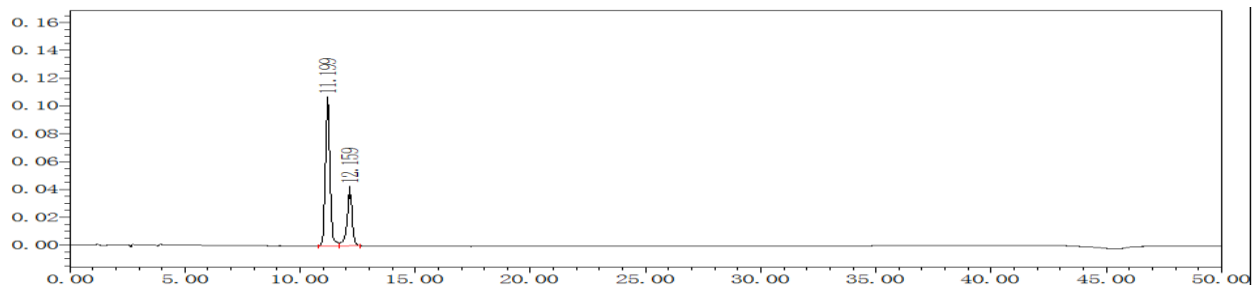


图 5 峰 1 分析图谱



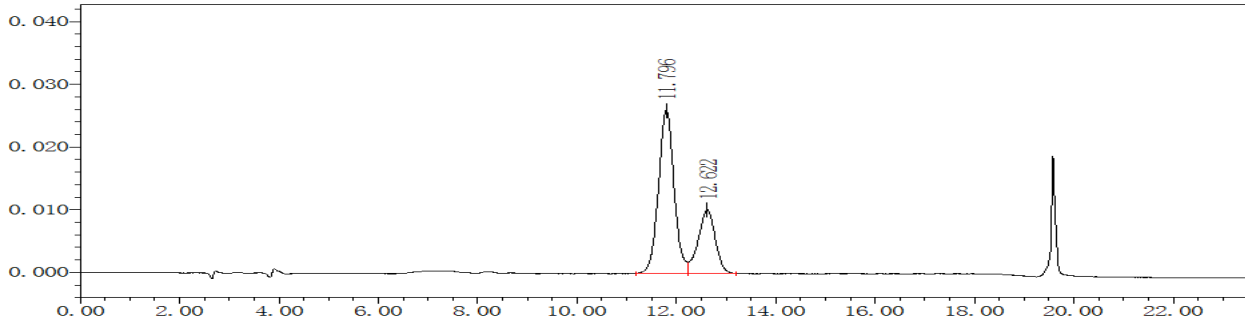


图 6 峰 2 分析图谱

结论：样品在此方法中不稳定。

#### 1.2.4. 样品制备 2

流动相配置：称取 630mg 甲酸铵加入到 500ml 纯水中，过滤到流动相瓶中，即得。

收样溶剂配置：量取 100ml 纯水加入 2ml 甲酸，即得。

操作方法：在接样架的试管中峰别加入 1ml 的收样溶剂，进行样品制备。

制备方法同方法 1.2.2

制备图谱如图 7 所示：

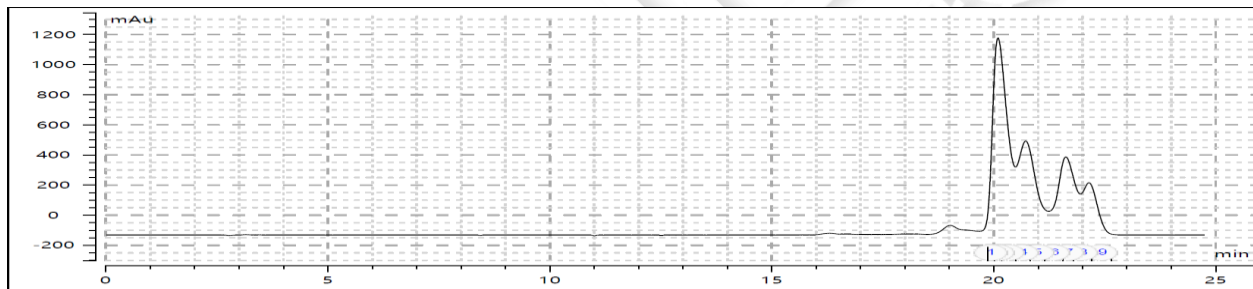


图 7 LP-C18 甲酸铵制备图

结论：样品已经发生了变性，把收集到的峰 1 馏分进行分析。

#### 1.2.5. 杂质分析 2

将 1.2.4 中收集到的馏分进行液相色谱分析，具体分析条件同“步骤 1.2.1”一致。分析图谱如图 8 所示：

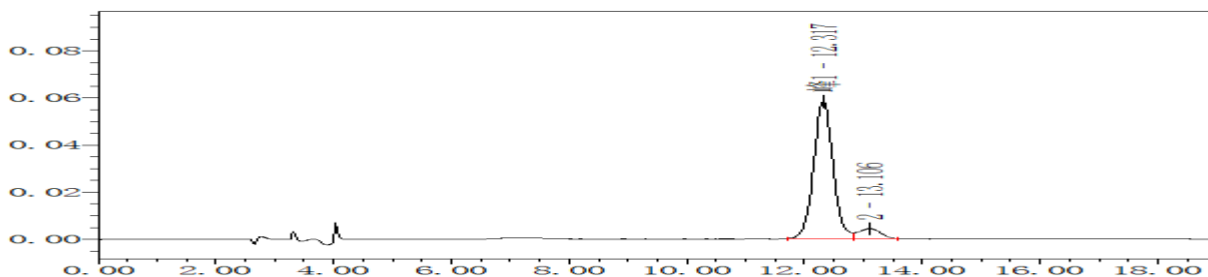


图 8 LP-C18 甲酸铵制备图



## 2. 结论

使用月旭 Ultimate® LP-C18, (10×250mm,10μm)在甲酸铵条件下可以进行制备，从制备图谱可以确定两个物质有很好的分离度，但是在此体系下两个物质稳定性差，降低馏分 pH 可以增加稳定性，但无法达到客户要求纯度。

报告人：Mia

审核人：Jim

日期：2023/08/04



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

