



## 测试报告

| 样品信息                                                                                                                                                                        |           |          |                  |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|----------|------------------|
| 样品名称                                                                                                                                                                        | 叶酸片有关物质   | 样品性状     | 黄色片剂             |
| 收样日期                                                                                                                                                                        | 2025/2/17 | 测试期间     | 2025/02/17~03/04 |
| 测试成分及结构式                                                                                                                                                                    |           |          |                  |
| <div><div><chem>NC1=NC2=C(N1)C(=O)N(C2)C=C3C(=N1)N=CN=C3</chem><p>叶酸</p></div><div><chem>OC(=O)CC[C@H](NC(=O)c1ccc(cc1)CNCC2=CN=CN3C(=O)NC(=N3)C2=O)O</chem></div></div>    |           |          |                  |
| 实验要求                                                                                                                                                                        |           |          |                  |
| <p>开发方法，优先使用客户流动相体系，现有方法中的条件和柱子规格类型都可以更改。</p> <p>提供 11 种杂质:杂质 A、杂质 C、杂质 D、杂质 E、杂质 G、杂质 H、对氨基苯甲酸、杂质 J、杂质 K、杂质 L、杂质固体单标和叶酸片供试品。要求杂质分离度 1.5，峰形良好，空白溶剂不干扰。主峰前后杂质峰分离度大于 1.5。</p> |           |          |                  |
| 参考方法                                                                                                                                                                        |           |          |                  |
| 无                                                                                                                                                                           |           |          |                  |
| 试剂信息                                                                                                                                                                        |           |          |                  |
| 试剂名称                                                                                                                                                                        | 级别        | 品牌       |                  |
| 甲醇                                                                                                                                                                          | 色谱纯       | 月旭       |                  |
| 磷酸二氢钾                                                                                                                                                                       | 分析纯       | 国药       |                  |
| 氢氧化钠                                                                                                                                                                        | 分析纯       | 国药       |                  |
| 仪器信息                                                                                                                                                                        |           |          |                  |
| 测试仪器                                                                                                                                                                        |           | 仪器型号     |                  |
| 高效液相色谱仪                                                                                                                                                                     |           | 安捷伦 1260 |                  |

## 1. 试验过程

## 1.1. 色谱条件

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

邮编: 201600

邮编: 321000

邮编: 211500

Web: www.welchmat.com



|       |                                      |       |           |
|-------|--------------------------------------|-------|-----------|
| 色谱柱:  | Ultimate® Polar RP (4.6×250mm,5μm)   |       |           |
| 流动相:  | 流动相 A: 6.8g/L 磷酸二氢钾溶液 (0.15g/L 氢氧化钠) |       | 流动相 B: 甲醇 |
| 流 速:  | 0.9mL/min                            |       |           |
| 进样量:  | 20μL                                 |       |           |
| 柱 温:  | 30°C                                 |       |           |
| 检测器:  | UV                                   |       |           |
| 检测波长: | 280nm                                |       |           |
| 梯度程序  | 时间 (min)                             | A (%) | B (%)     |
|       | 0                                    | 100   | 0         |
|       | 10                                   | 100   | 0         |
|       | 23                                   | 88    | 12        |
|       | 35                                   | 87    | 13        |
|       | 45                                   | 65    | 35        |
|       | 52                                   | 100   | 0         |
|       | 70                                   | 100   | 0         |
| 注意事项  | /                                    |       |           |

## 1.2. 溶液配制

### 1.2.1. 流动相配制

取 6.8g 磷酸二氢钾和 150mg 氢氧化钠, 加入 1000mL 超纯水, 溶解后抽滤, 超声脱气, 即得。

甲醇: 取适量色谱纯甲醇, 超声, 即得。

### 1.2.2. 稀释剂 A:0.1N 氢氧化钠

### 1.2.3. 稀释剂 B:含有 11.16 g/L 磷酸二氢钾和 5.50 g/L 磷酸氢二钾的溶液混合:甲醇=90:10

1.2.4. 单标储备溶液(约 1mg/mL):取适量杂质单标加 1mL 稀释剂 A 溶解,加稀释剂 B 定容到 5mL, 进样。

1.2.5. 单标溶液 (约 20μL/mL): 单标储备溶液 20μL, 稀释剂 B 定容至 1mL。

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

邮编: 201600

邮编: 321000

邮编: 211500

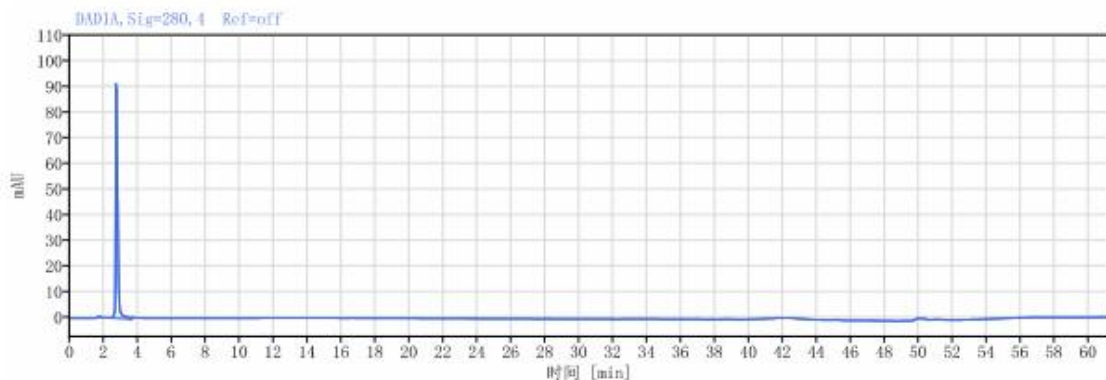
Web:www.welchmat.com



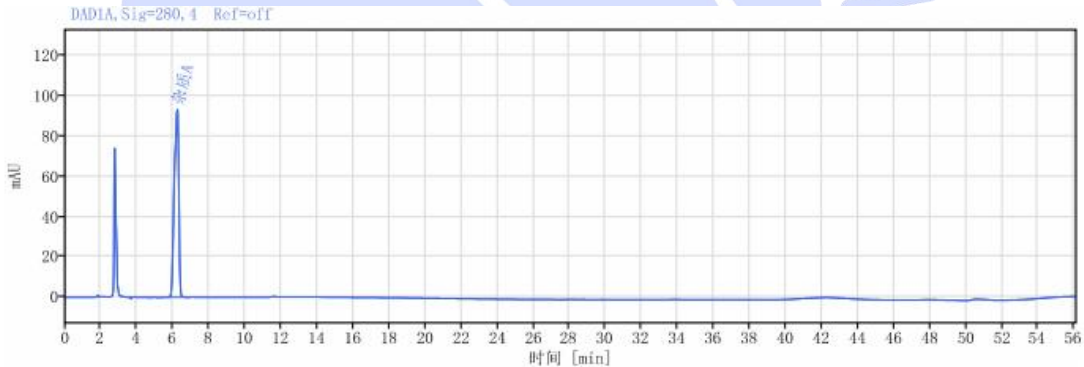
- 1.2.6. 混标溶液: 取 11 种单标储备溶液各 20 $\mu$ L, 稀释剂 B 定容至 1mL。
- 1.2.7. 空白溶液: 稀释剂 A 1mL 加稀释剂 B 定容至 5mL, 过滤, 进样。
- 1.2.8. 供试品溶液: 取本品 2 片至 10mL 量瓶中, 加稀释剂 A 超声 30min 使溶解, 放冷, 加稀释剂 A 定容, 离心取上清液 2mL 至 10mL 量瓶中, 加稀释剂 B 定容, 过滤, 进样。

## 2. 谱图和数据

### (1) 空白溶液图



### (2) 杂质 A 单标溶液图



| 信号: DAD1A, Sig=280, 4 Ref=off |            |         |        |       |          |         |            |      |  |
|-------------------------------|------------|---------|--------|-------|----------|---------|------------|------|--|
| 化合物名称                         | 保留时间 [min] | 峰面积     | 峰面积 %  | 峰高    | 峰分离度 USP | 峰拖尾因子   | 峰理论塔板数 USP | 峰信噪比 |  |
| 杂质A                           | 6.238      | 1594.46 | 100.00 | 93.32 |          | 0.76835 | 2870.79839 |      |  |
| 总和                            |            | 1594.46 |        |       |          |         |            |      |  |

### (3) 杂质对氨基苯甲酸单标溶液图

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

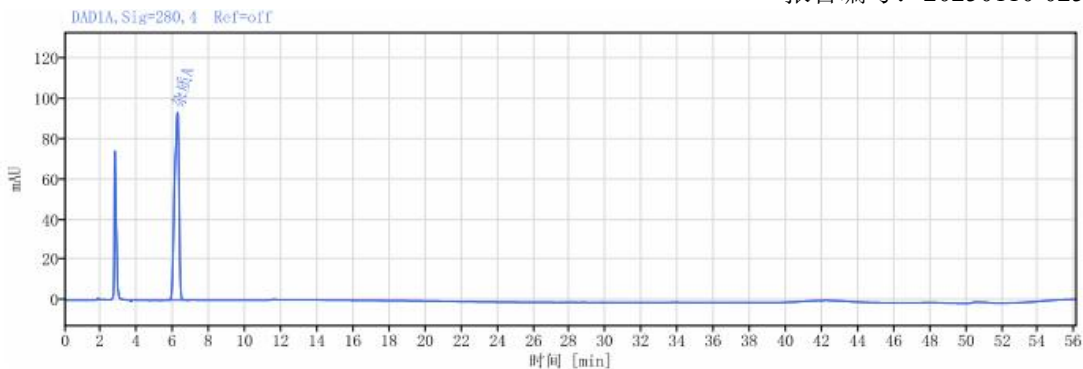
Tel: 400-810-6969

Web: www.welchmat.com

邮编: 201600

邮编: 321000

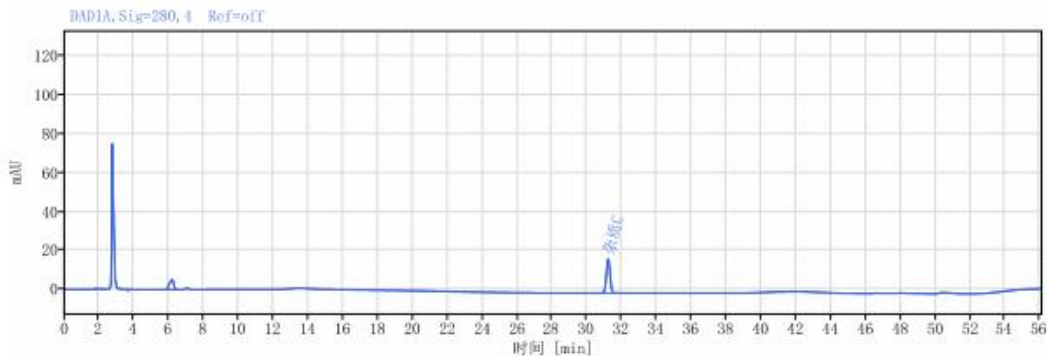
邮编: 211500



信号: DAD1A, Sig=280, 4 Ref=off

| 化合物 名称 | 保留时间 [min] | 峰面积     | 峰 峰面积 % | 峰高    | 峰 分离度 USP | 峰 拖尾因子  | 峰 理论塔板数 USP | 峰 信噪比 |
|--------|------------|---------|---------|-------|-----------|---------|-------------|-------|
| 杂质A    | 6.238      | 1594.46 | 100.00  | 93.32 |           | 0.76835 | 2870.79839  |       |
| 总和     |            | 1594.46 |         |       |           |         |             |       |

(4) 杂质 C 单标溶液图



信号: DAD1A, Sig=280, 4 Ref=off

| 化合物 名称 | 保留时间 [min] | 峰面积    | 峰 峰面积 % | 峰高    | 峰 分离度 USP | 峰 拖尾因子  | 峰 理论塔板数 USP  | 峰 信噪比 |
|--------|------------|--------|---------|-------|-----------|---------|--------------|-------|
|        | 6.202      | 86.69  | 25.20   | 5.12  |           | 0.77447 | 2905.13629   |       |
| 杂质C    | 31.225     | 257.25 | 74.80   | 17.51 | 58.89192  | 1.02948 | 102850.53771 |       |
| 总和     |            | 343.94 |         |       |           |         |              |       |

(5) 杂质 D 单标溶液图

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

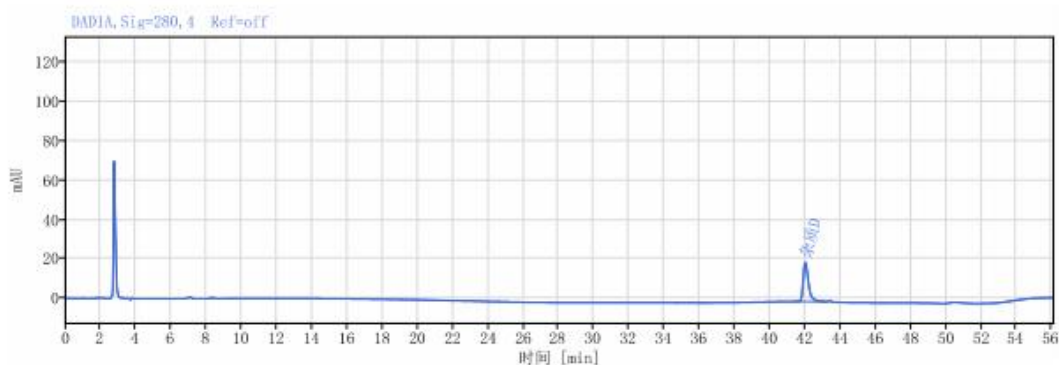
Tel: 400-810-6969

Web: www.welchmat.com

邮编: 201600

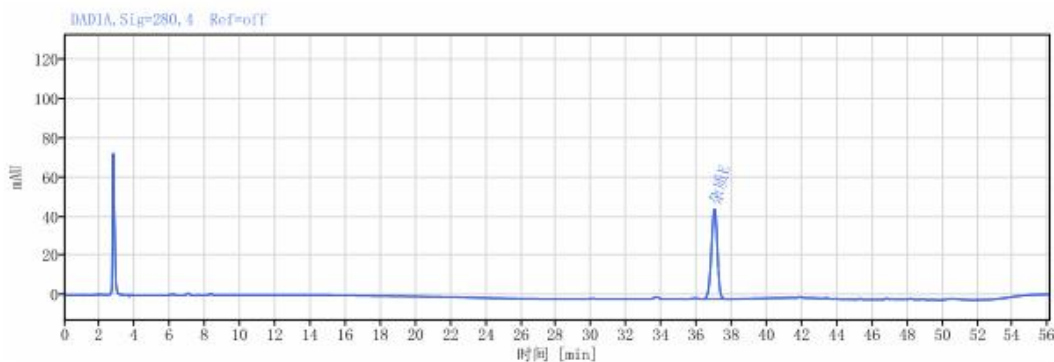
邮编: 321000

邮编: 211500



| 信号:   |            | DAD1A, Sig=280, 4 Ref=off |        |       |          |         |              |      |
|-------|------------|---------------------------|--------|-------|----------|---------|--------------|------|
| 化合物名称 | 保留时间 [min] | 峰面积                       | 峰面积 %  | 峰高    | 峰分离度 USP | 峰拖尾因子   | 峰理论塔板数 USP   | 峰信噪比 |
| 杂质D   | 42.012     | 420.68                    | 100.00 | 19.83 |          | 1.51008 | 104461.48778 |      |
| 总和    |            | 420.68                    |        |       |          |         |              |      |

(6) 杂质 E 单标溶液图



| 信号:   |            | DAD1A, Sig=280, 4 Ref=off |        |       |          |         |             |      |
|-------|------------|---------------------------|--------|-------|----------|---------|-------------|------|
| 化合物名称 | 保留时间 [min] | 峰面积                       | 峰面积 %  | 峰高    | 峰分离度 USP | 峰拖尾因子   | 峰理论塔板数 USP  | 峰信噪比 |
| 杂质E   | 37.009     | 1076.17                   | 100.00 | 45.79 |          | 0.94511 | 55781.43492 |      |
| 总和    |            | 1076.17                   |        |       |          |         |             |      |

(7) 杂质 F 单标溶液图

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

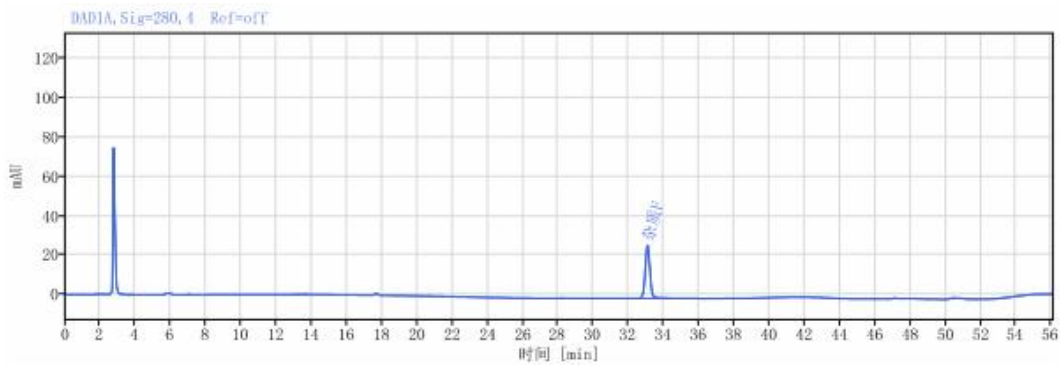
Tel:400-810-6969

Web:www.welchmat.com

邮编: 201600

邮编: 321000

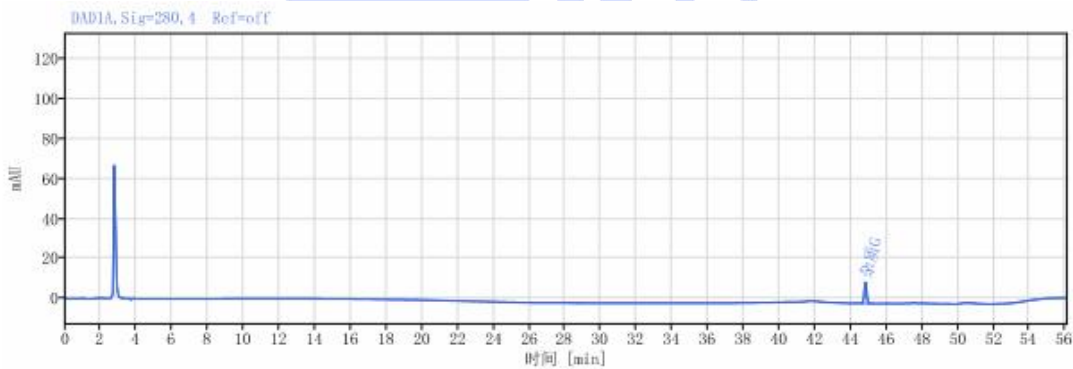
邮编: 211500



信号: DAD1A, Sig=280, 4 Ref=off

| 化合物 名称 | 保留时间 [min] | 峰面积    | 峰 峰面积 % | 峰高    | 峰 分离度 USP | 峰 拖尾因子  | 峰 理论塔板数 USP | 峰 信噪比 |
|--------|------------|--------|---------|-------|-----------|---------|-------------|-------|
| 杂质F    | 33.081     | 499.24 | 100.00  | 26.98 |           | 1.03910 | 75752.83415 |       |
| 总和     |            | 499.24 |         |       |           |         |             |       |

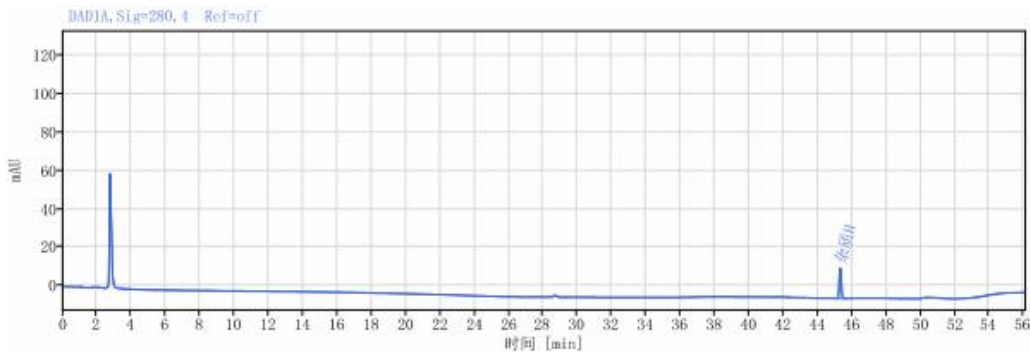
(8) 杂质 G 单标溶液图



信号: DAD1A, Sig=280, 4 Ref=off

| 化合物 名称 | 保留时间 [min] | 峰面积   | 峰 峰面积 % | 峰高    | 峰 分离度 USP | 峰 拖尾因子  | 峰 理论塔板数 USP  | 峰 信噪比 |
|--------|------------|-------|---------|-------|-----------|---------|--------------|-------|
| 杂质G    | 44.817     | 98.50 | 100.00  | 10.57 |           | 1.06011 | 516783.09883 |       |
| 总和     |            | 98.50 |         |       |           |         |              |       |

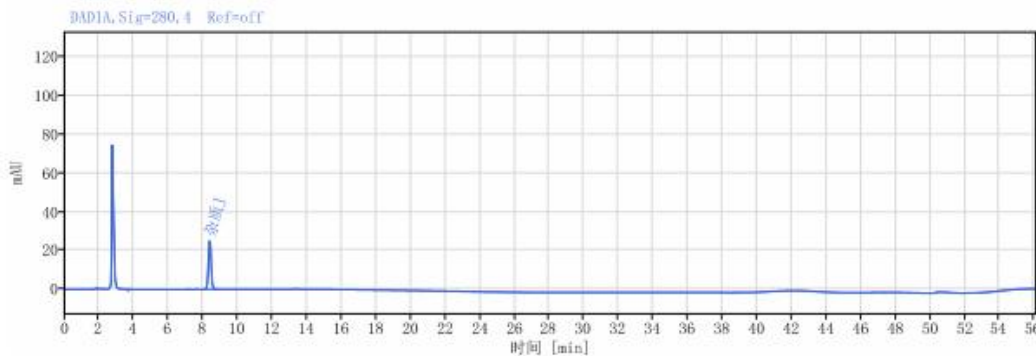
(9) 杂质 H 单标溶液图



信号: DAD1A, Sig=280, 4 Ref=off

| 化合物名称 | 保留时间<br>[min] | 峰面积    | 峰面积 %  | 峰高    | 峰分离度 USP | 峰拖尾因子   | 峰理论塔板数 USP   | 峰信噪比 |
|-------|---------------|--------|--------|-------|----------|---------|--------------|------|
| 杂质H   | 45.315        | 131.67 | 100.00 | 15.90 |          | 1.10496 | 680473.04984 |      |
| 总和    |               | 131.67 |        |       |          |         |              |      |

(10) 杂质 J 单标溶液图



信号: DAD1A, Sig=280, 4 Ref=off

| 化合物名称 | 保留时间<br>[min] | 峰面积    | 峰面积 %  | 峰高    | 峰分离度 USP | 峰拖尾因子   | 峰理论塔板数 USP  | 峰信噪比 |
|-------|---------------|--------|--------|-------|----------|---------|-------------|------|
| 杂质J   | 8.396         | 283.40 | 100.00 | 25.12 |          | 1.01043 | 12652.26426 |      |
| 总和    |               | 283.40 |        |       |          |         |             |      |

(11) 混标溶液图

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

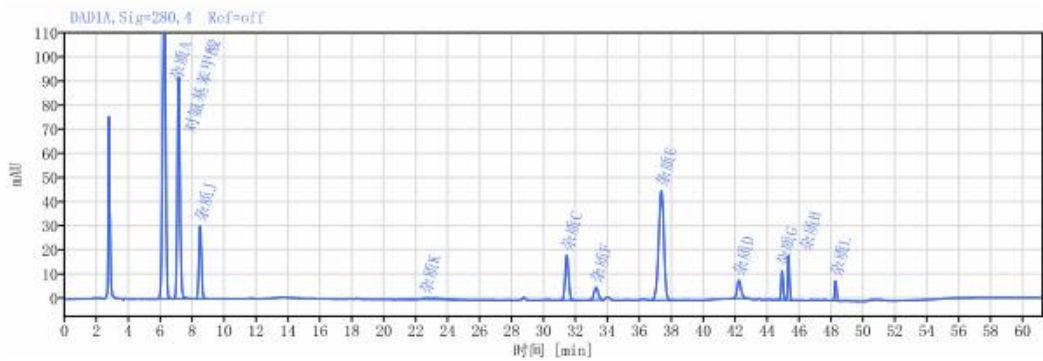
Tel: 400-810-6969

Web: www.welchmat.com

邮编: 201600

邮编: 321000

邮编: 211500



|                               |            |         |         |        |           |         |              |       |  |
|-------------------------------|------------|---------|---------|--------|-----------|---------|--------------|-------|--|
| 信号: DAD1A, Sig=280, 4 Ref=off |            |         |         |        |           |         |              |       |  |
| 化合物 名称                        | 保留时间 [min] | 峰面积     | 峰 峰面积 % | 峰高     | 峰 分离度 USP | 峰 拖尾因子  | 峰 理论塔板数 USP  | 峰 信噪比 |  |
| 杂质A                           | 6.270      | 1704.62 | 33.78   | 122.21 |           | 0.88865 | 4563.52020   |       |  |
| 对氨基苯甲酸                        | 7.159      | 1099.76 | 21.79   | 91.93  | 2.59545   | 1.07435 | 8426.00072   |       |  |
| 杂质J                           | 8.503      | 331.31  | 6.57    | 30.19  | 4.48281   | 1.01405 | 13865.48734  |       |  |
| 杂质K                           | 22.575     | 58.78   | 1.16    | 0.53   | 9.64475   | 1.10738 | 1180.21300   |       |  |
| 杂质C                           | 31.449     | 279.65  | 5.54    | 18.67  | 5.87129   | 1.01101 | 100505.29971 |       |  |
| 杂质F                           | 33.280     | 96.18   | 1.91    | 5.21   | 4.10412   | 1.08296 | 72803.50721  |       |  |
| 杂质E                           | 37.368     | 1040.94 | 20.63   | 45.37  | 7.40183   | 0.93806 | 59855.17375  |       |  |
| 杂质D                           | 42.209     | 132.47  | 2.63    | 7.61   | 9.03193   | 1.21187 | 133373.65633 |       |  |
| 杂质G                           | 44.919     | 99.72   | 1.98    | 12.23  | 7.97747   | 1.03932 | 690339.21075 |       |  |
| 杂质H                           | 45.326     | 137.02  | 2.72    | 18.63  | 1.98922   | 1.02143 | 885850.80738 |       |  |
| 杂质L                           | 48.265     | 65.70   | 1.30    | 8.35   | 14.76293  | 1.02356 | 881124.07240 |       |  |
| 总和                            |            | 5046.14 |         |        |           |         |              |       |  |

(12) 供试品溶液图

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

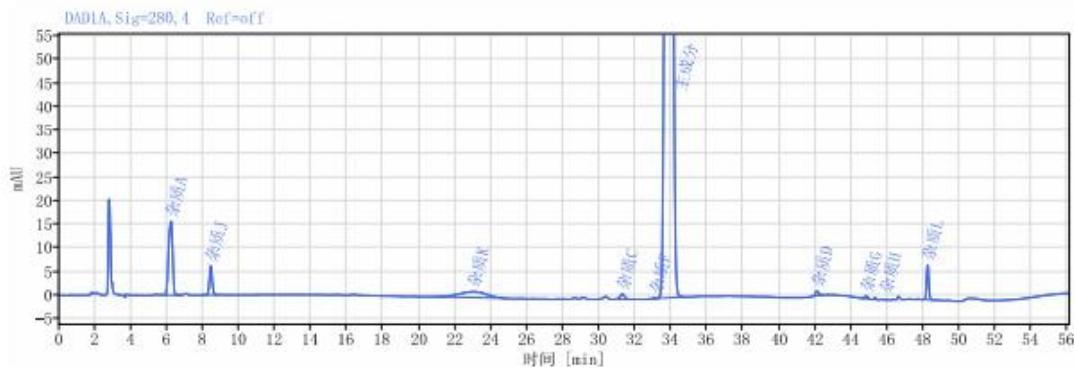
Tel:400-810-6969

邮编: 201600

邮编: 321000

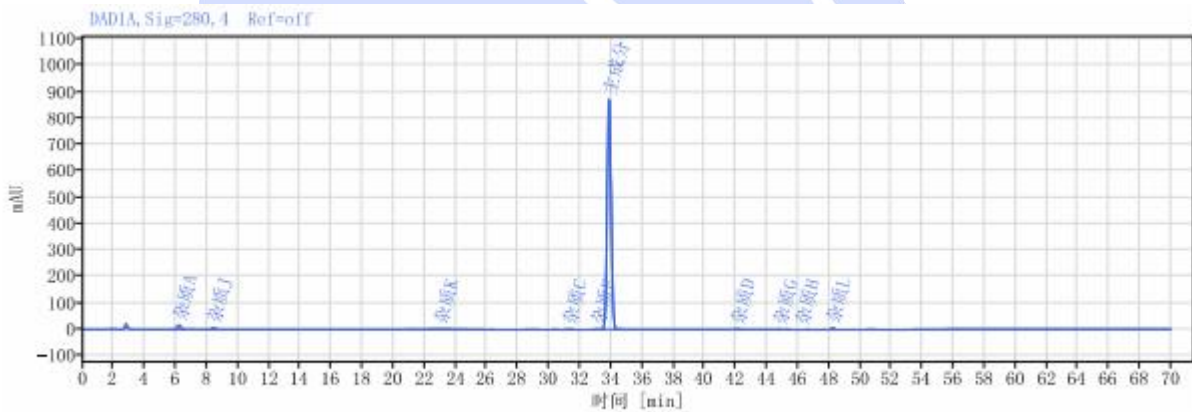
邮编: 211500

Web:www.welchmat.com



| 信号:    | DAD1A, Sig=280, 4 Ref=off |          |         |        |           |         |              |       |
|--------|---------------------------|----------|---------|--------|-----------|---------|--------------|-------|
| 化合物 名称 | 保留时间 [min]                | 峰面积      | 峰 峰面积 % | 峰高     | 峰 分离度 USP | 峰 拖尾因子  | 峰 理论塔板数 USP  | 峰 信噪比 |
| 杂质A    | 6.236                     | 242.52   | 1.50    | 15.64  |           | 0.84653 | 3821.54196   |       |
| 杂质J    | 8.445                     | 67.64    | 0.42    | 6.15   | 6.35357   | 1.01550 | 13481.90667  |       |
| 杂质K    | 23.020                    | 134.45   | 0.83    | 1.26   | 9.12958   | 0.80545 | 1006.94270   |       |
| 杂质C    | 31.293                    | 18.71    | 0.12    | 1.12   | 4.96162   | 0.93846 | 83439.58393  |       |
| 杂质F    | 33.122                    | 1.21     | 0.01    | 0.09   | 5.10762   | 0.88708 | 220759.63736 |       |
| 主成分    | 33.854                    | 15669.98 | 96.65   | 871.36 | 1.92842   | 1.06186 | 80046.52754  |       |
| 杂质D    | 42.104                    | 12.15    | 0.07    | 0.96   | 20.44472  | 1.35840 | 262414.87372 |       |
| 杂质G    | 44.824                    | 5.97     | 0.04    | 0.59   | 8.96875   | 0.88750 | 416669.54840 |       |
| 杂质H    | 45.312                    | 2.71     | 0.02    | 0.40   | 2.10347   | 0.92680 | 960306.24163 |       |
| 杂质I    | 48.240                    | 58.45    | 0.36    | 7.42   | 14.93369  | 1.04165 | 868914.15691 |       |
| 总和     |                           | 16213.78 |         |        |           |         |              |       |

(13) 供试品溶液满量程图



### 3. 结论

使用月旭 Ultimate® Polar RP (4.6×250mm,5μm), 在此色谱条件下, 能满足客户检测需求。

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

Web:www.welchmat.com

邮编: 201600

邮编: 321000

邮编: 211500