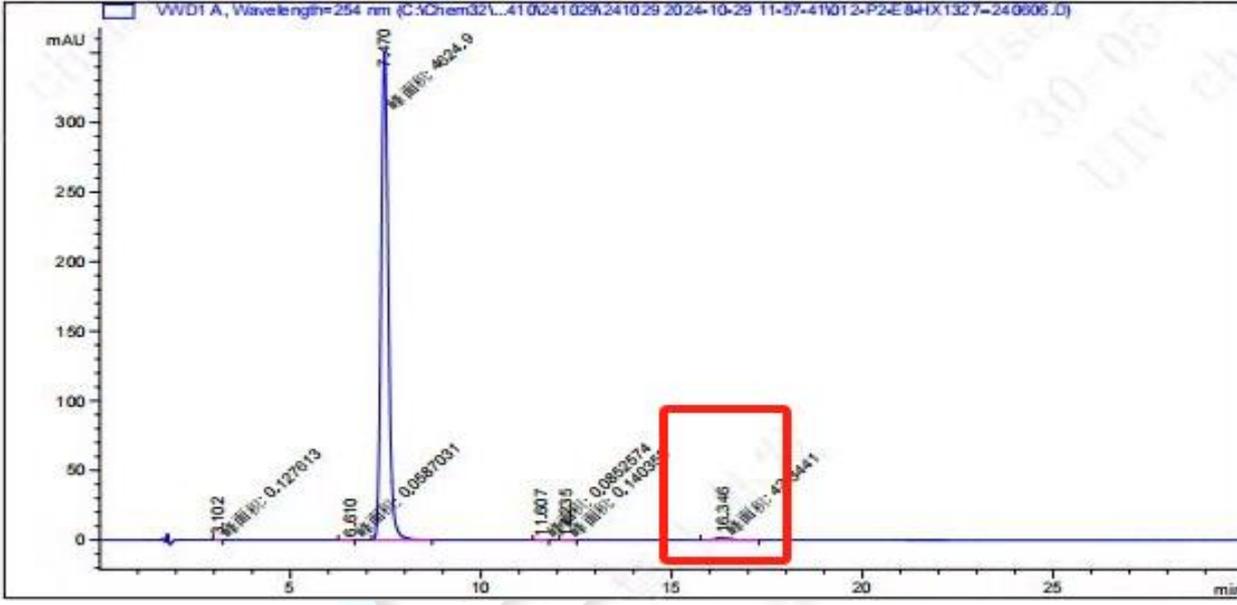


## 分离纯化报告

| 样品信息  |                |                       |                     |
|---|----------------|-----------------------|---------------------|
| 样品名称  | HX1327         | 项目编号                  | 20241031-1040       |
| 样品性状  | 白色粉末           | 样品重量                  | 200g                |
| 收样日期  | 2024/11/1      | 测试期间                  | 2024/11/1~2024/11/8 |
| 目标物信息   |                |                       |                     |
|  |                |                       |                     |
| 目标物保留时间   | 目标杂质：16.346min | 面积归一化含量<br>(254nm, %) | 0.9%                |
| 实验要求  |                |                       |                     |
| 制备目标杂质，纯度达到 99%以上，交付杂质 300mg  |                |                       |                     |
| 试剂信息  |                |                       |                     |
| 试剂名称  | 级别             | 供应商                   |                     |
| 三乙胺   | AR             | 麦克林                   |                     |
| 纯水  | 二级             | 月旭                    |                     |
| 甲醇  | HPLC           | 月旭                    |                     |
| 四氢呋喃  | HPLC           | GENERAL-REAGENT       |                     |
| 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  | Sail 1000      | 月旭                    |                     |



## 1. 试验过程

### 1.1. 方法重现

取 5mg 样品，置于 5mL 离心管中，加入 5ml 四氢呋喃进行溶解，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    | Xtimate C18 (4.6×50mm, 3μm) |           |           |
| 流动相 A  | 0.02%三乙胺                    |           |           |
| 流动相 B  | 色谱级甲醇                       |           |           |
| 流速     | 1.2ml/min                   |           |           |
| 进样量    | 5μl                         |           |           |
| 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                           | 1         | 99        |
|        | 30                          | 1         | 99        |

分析图谱如图所示：

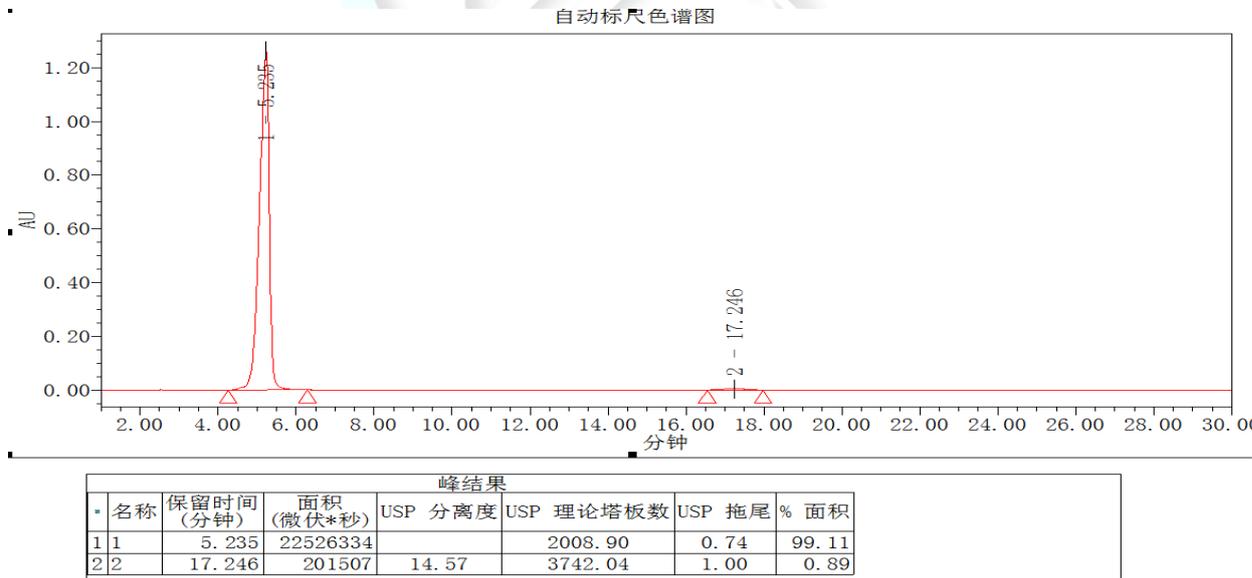


图 方法重现图谱

结论：通过与图 1 进行比较，可以确定 17.246min 为目标物。

### 1.2. 分离纯化过程

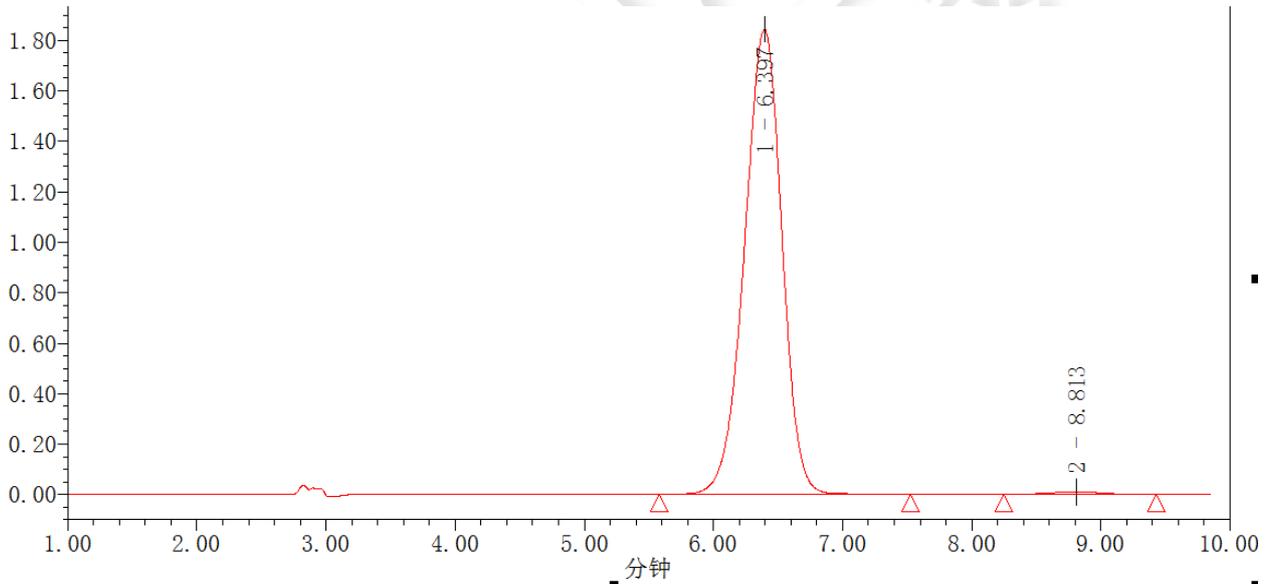
#### 1.2.1. 方法开发



取 1.1 项下的进样小瓶按以下方法进行分析：

|        |                             |           |           |
|--------|-----------------------------|-----------|-----------|
| 色谱柱    | Xtimate C18 (4.6×50mm, 3μm) |           |           |
| 流动相 A  | 甲醇                          |           |           |
| 流动相 B  | 四氢呋喃                        |           |           |
| 流速     | 1.2ml/min                   |           |           |
| 进样量    | 5μl                         |           |           |
| 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                           | 80        | 20        |
|        | 30                          | 80        | 20        |

分析图谱如下图 2 所示：



| 峰结果 |           |           |         |           |        |       |
|-----|-----------|-----------|---------|-----------|--------|-------|
| 名称  | 保留时间 (分钟) | 面积 (微伏*秒) | USP 分离度 | USP 理论塔板数 | USP 拖尾 | % 面积  |
| 1 1 | 6.397     | 37110177  |         | 2353.68   | 0.93   | 99.14 |
| 2 2 | 8.813     | 323015    | 3.73    | 2188.48   | 1.00   | 0.86  |

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 3 页 共 5 页

邮编：201600

邮编：321000

邮编：211500



### 1.2.2. 一分样品制备

称取 1.5g 样品，加入四氢呋喃溶解稀释，过滤，制备液相条件如下所示：

|        |                              |           |           |
|--------|------------------------------|-----------|-----------|
| 仪器     | Sai11000                     |           |           |
| 色谱柱    | Xtimate C18 (50×250mm, 10μm) |           |           |
| 流动相 A  | 甲醇                           |           |           |
| 流动相 B  | 四氢呋喃                         |           |           |
| 流速     | 80ml/min                     |           |           |
| 进样量    | 1.5g                         |           |           |
| 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                            | 80        | 20        |
|        | 20                           | 80        | 20        |

制备图谱如图 3 所示：

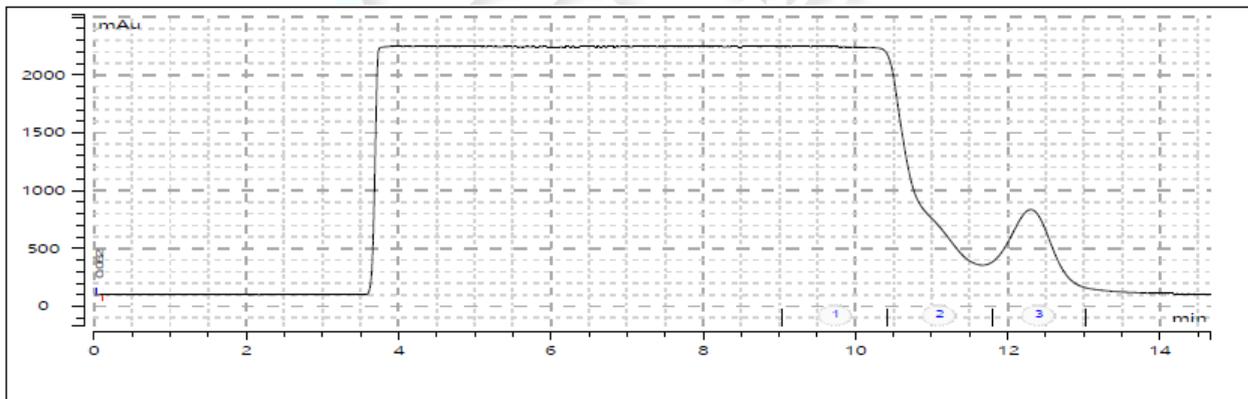


图 3 粗品制备图

经过制备，收集到目标馏分旋蒸浓缩，干燥。

### 1.2.3. 二分制备

制备方法同方法 1.2.2，制备图谱如图 4 所示



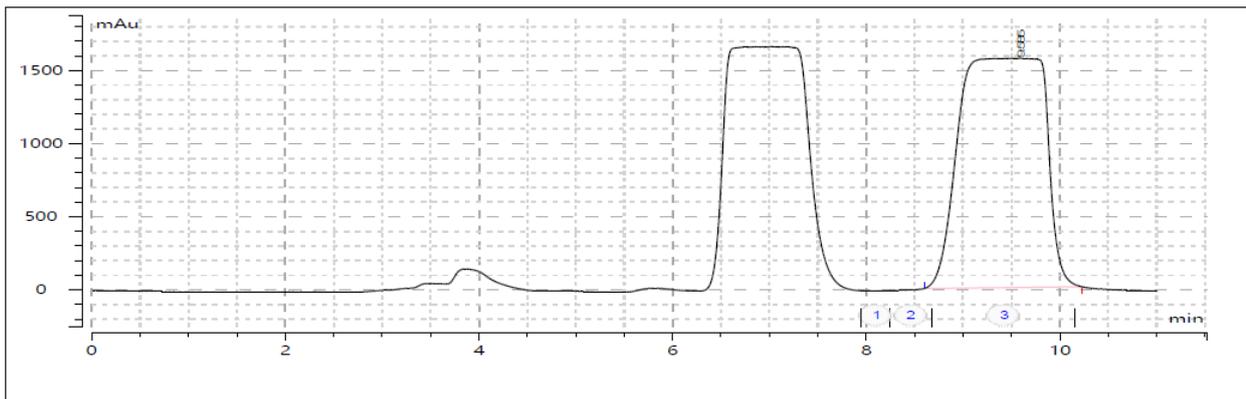
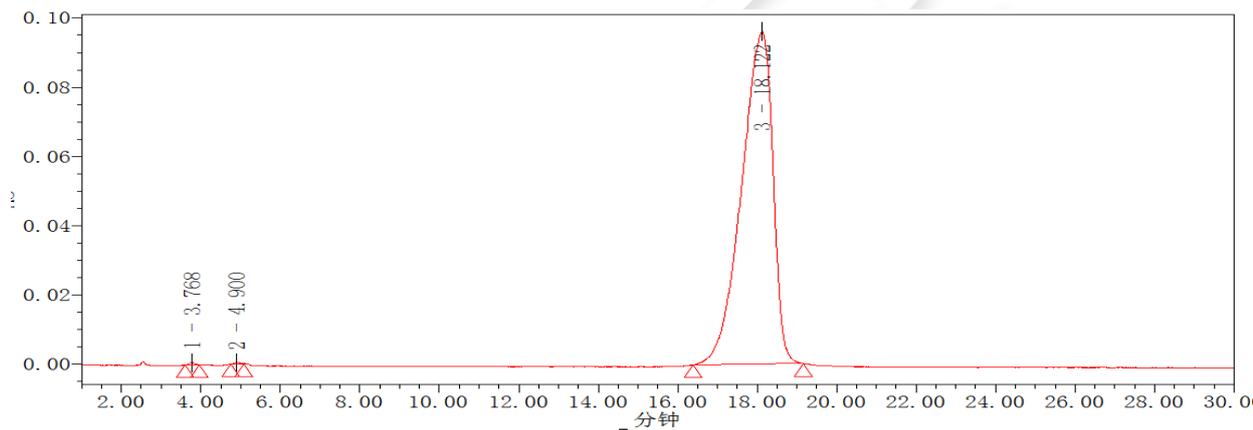


图 4 二分制备图谱

经过制备，收集到目标馏分旋蒸浓缩，干燥。

#### 1.2.4. 杂质分析

将 1.2.3 中旋干的杂质进行液相色谱分析，具体分析条件同“步骤 1.1”一致。分析图谱如图 5 所示：



| 峰结果 |              |              |         |           |        |       |
|-----|--------------|--------------|---------|-----------|--------|-------|
| 名称  | 保留时间<br>(分钟) | 面积<br>(微伏*秒) | USP 分离度 | USP 理论塔板数 | USP 拖尾 | % 面积  |
| 1   | 3.768        | 6546         |         | 3141.58   | 1.13   | 0.12  |
| 2   | 4.900        | 4341         | 4.20    | 5828.32   | 1.02   | 0.08  |
| 3   | 18.122       | 5247561      | 15.46   | 2520.83   | 0.75   | 99.79 |

结论：由图可见制备液面积归一化含量为 99.79%（254nm），纯度符合客户要求。

## 2. 结论

按以上方法经过制备样品 130g，最终得到目标杂质 400mg，杂质纯度 99.79%（254nm）。

报告人:Mia

审核人:Jim

日期:2024/11/08

