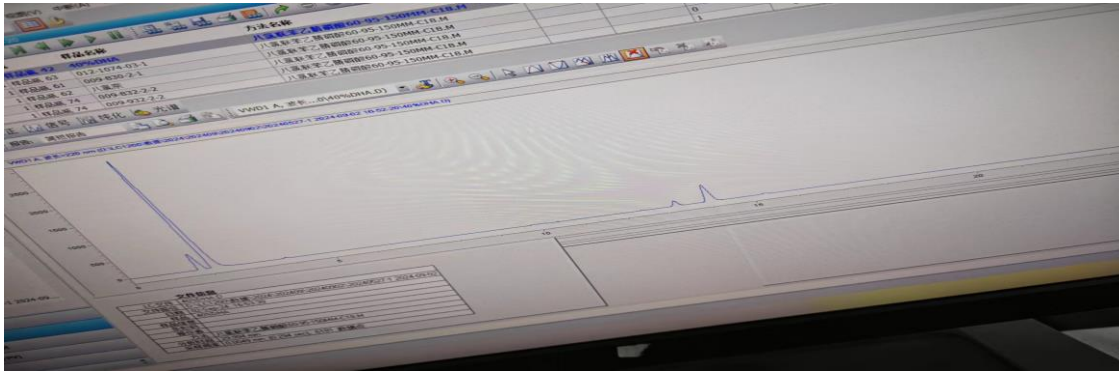


## 分离纯化报告

样品信息			
样品名称	DHA	项目编号	20241008-962
样品性状	黄色油状物	样品重量	1g
收样日期	2024/10/11	测试期间	2024/10/11-2024/10/15
目标物信息			
粗品分析图：			
			
图 1 粗品分析图			
目标物保留时间	杂质 1: /	面积归一化含量 (220nm, %)	/
实验要求			
筛选合适色谱柱，开发制备方法，要求单针上样量达到最佳，制备目标物要求纯度 98%。			
试剂信息			
试剂名称	级别	供应商	
磷酸	AR	麦克林	
TFA	AR	阿拉丁	
乙腈	色谱级	月旭	
乙腈	制备级	月旭	
纯水	一级	月旭	
仪器信息			
仪器名称	仪器型号	仪器厂家	
分析型高效液相色谱仪	LC-20AD	岛津	
分析型高效液相色谱仪	Agilent1260	安捷伦	
制备型高效液相色谱仪	Sail 1000	月旭	

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 1 页 共 6 页

邮编：201600

邮编：321000

邮编：211500



## 1. 试验过程

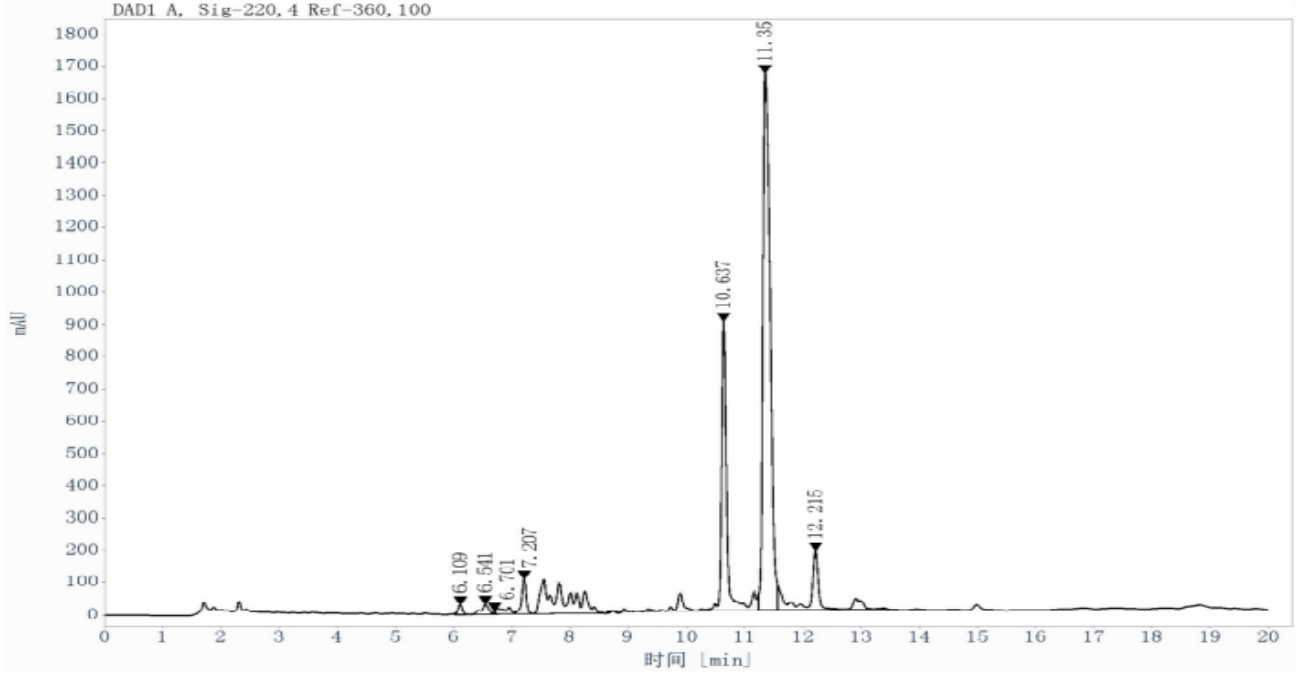
### 1.1. 方法重现

移取样品 50ul，置于 1.5mL 离心管中，加入 950ul 乙腈溶解，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 Plus C18 4.6×150mm,3μm		
流动相 A	0.1%磷酸水		
流动相 B	色谱级乙腈		
流速	1ml/min		
进样量	5μl		
柱温	30°C		
检测波长	220nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	40	60
	2	40	60
	8	10	90
	15	5	95
	18	5	95
	20	40	60

分析图谱如图 2 所示：





信号: DAD1 A, Sig=220, 4 Ref=360, 100

化合物名称	保留时间 [min]	峰面积	峰面积百分比	分离度USP	拖尾因子	理论塔板USP
	6.11	152.38	0.5619		0.99	32455.4
	6.54	274.43	1.012	2.69	0.86	19874.0
	6.70	11.65	0.04297	1.70	0.50	74632594.2
	7.21	3724.11	13.73	7.51	0.80	47869.3
	10.64	6194.12	22.84	25.47	1.34	95626.2
	11.35	14424.71	53.19	3.97	1.64	41771.1
	12.21	2337.70	8.620	4.58	1.01	98529.8

图2 方法重现图谱

结论：通过与图1进行比较，可以确定 11.35min 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 XB-C18 4.6×250mm,5μm
流动相 A	0.1%TFA 水
流动相 B	色谱级乙腈
流速	1ml/min
进样量	5μl
柱温	30°C
检测波长	220nm

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



梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	20	80
	30	20	80

分析图谱如下图 3 所示：

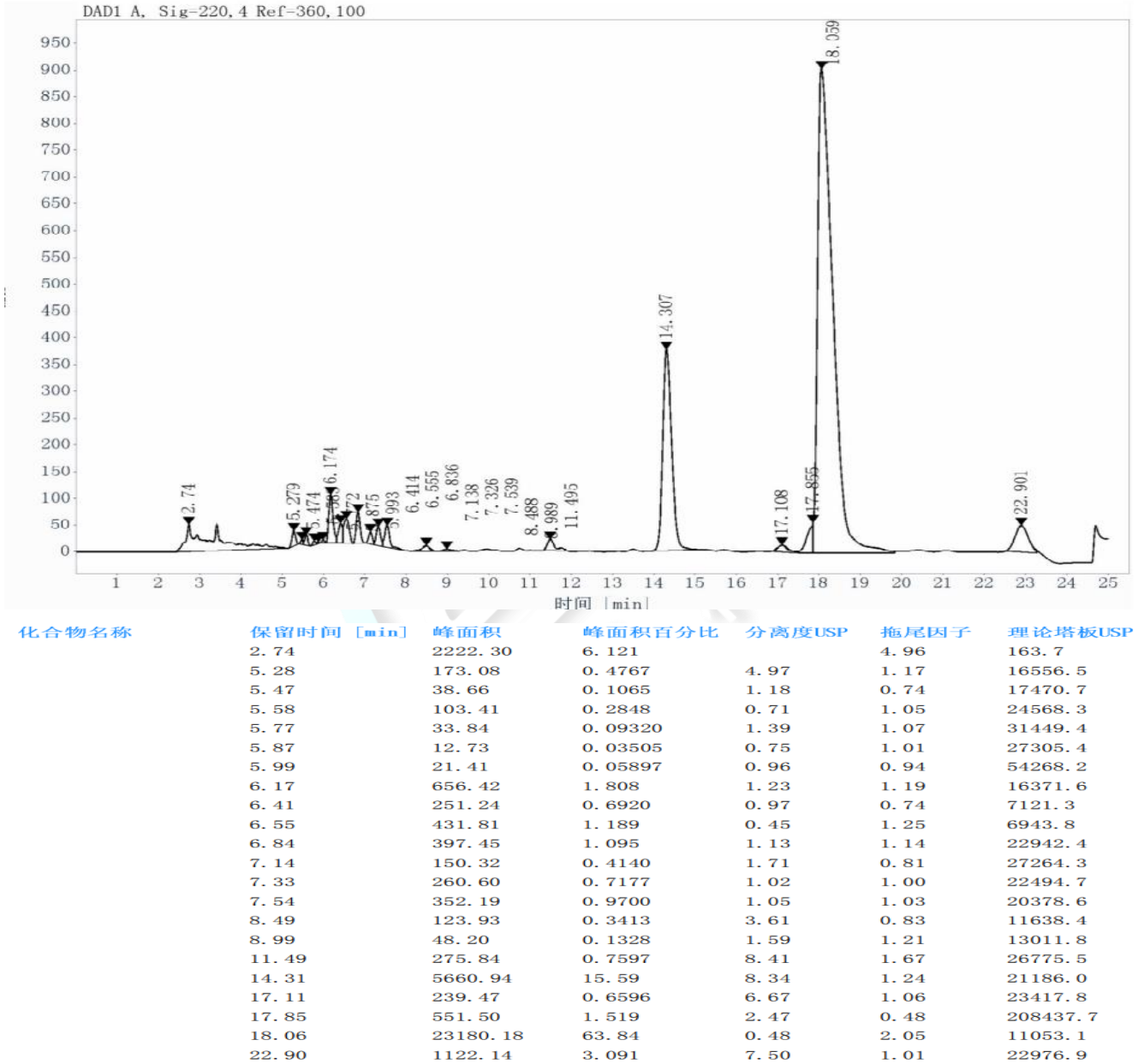


图 3 方法开发图谱

### 1.2.2. 样品制备

称取 190mg 样品，加入 5ml 乙腈溶解稀释，过滤，使其浓度为 38mg/ml，制备液相条件如下所示：



仪器	Sail1000		
色谱柱	Ultimate XB-C18 21.2×250mm, 5μm		
流动相 A	0.1%TFA 水		
流动相 B	制备级乙腈		
流速	20ml/min		
进样量	190mg		
柱温	室温		
检测波长	220nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	20	80
	30	20	80

制备图谱如图 4 所示：

### 色谱图

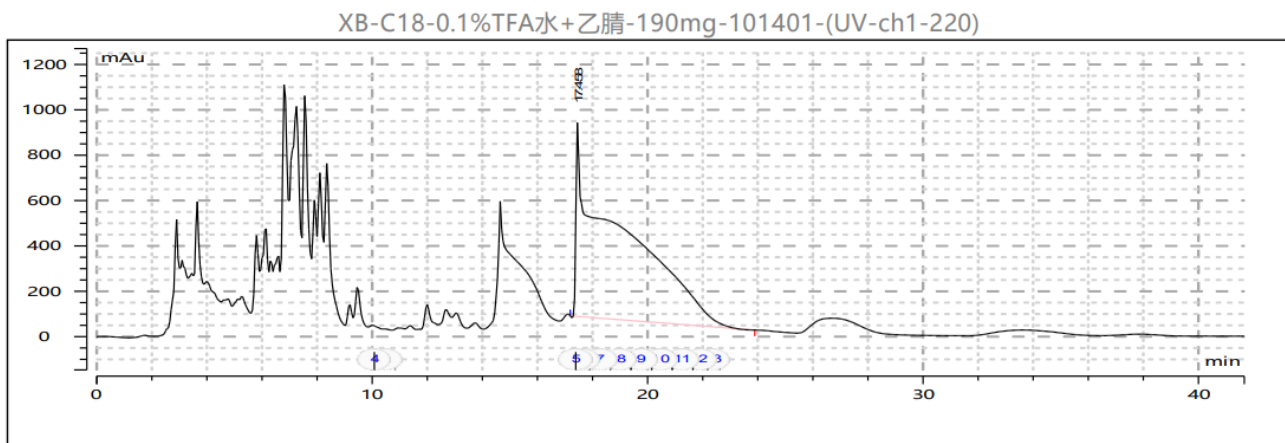


图 4 粗品制备图

经过制备，将目标峰分段收集到各馏分收集瓶中。

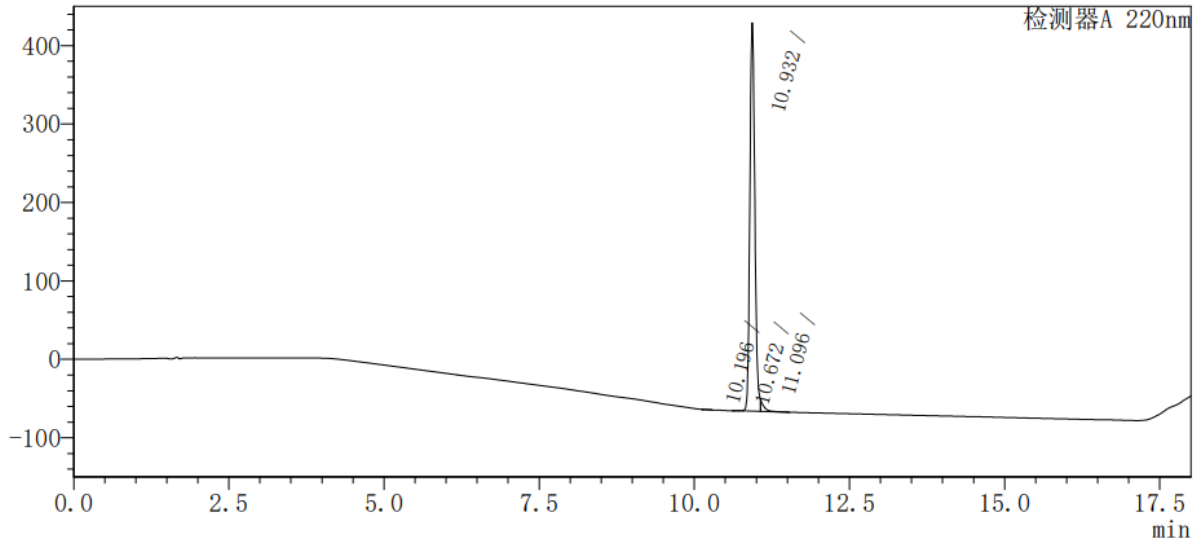
### 1.2.3. 杂质分析

从 1.2.2 中的 7-10 馏分瓶中各取适量样液混合后进行液相色谱分析，具体分析条件同“步骤 1.1”一致，分析图谱如图 5 所示：



<色谱图>

mV



<峰表>

检测器A 220nm

峰号	化合物名	保留时间	面积	面积%	理论塔板数 (USP)	拖尾因子	分离度 (USP)
1		10.20	992	0.04	145565	1.22	--
2		10.67	519	0.02	178415	0.97	4.6
3		10.93	2762381	98.18	75593	1.17	2.0
4		11.10	49630	1.76	--	--	--
总计			2813521	100.00			

图5 制备液分析图谱

结论：由图可见制备液面积归一化含量为 98%（220nm），纯度符合客户要求。

2. 结论

使用月旭 Ultimate® XB-C18, 21.2×250mm,5μm 在此色谱条件下进行制备，单针上样量为 190mg 时，制备收集到的目标物纯度为 98%（220nm），制备结果满足客户要求。

报告人:Ada

审核人: Jim

日期: 2024/10/16

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

