



Test report

测试报告

Sample Information			
样品信息			
Sample Name 样品名称	Compound 3 and its related substances 化合物 3 及相关物质 (7 个)	Sample properties 样品性状	Solid 固体
Date of receipt 收样日期	2025/09/30	During testing 测试期间	2025/10/09 ~ 2025/10/20
Test the ingredients and structural formula			
测试成分及结构式			
化合物名称	化合物结构	化合物名称	化合物结构
化合物 3		化合物 J	
化合物 D		化合物 1	
化合物 U		化合物 N	
化合物 T		化合物 K	
Experimental Requirements			
实验要求			
Separate Compound 3 and related substances (Compound D, Compound U, Compound T, Compound J, Compound 1, Compound N, Compound K), with a focus on ensuring that the separation between Compound 3 and D, U, and T meets the requirements.			
分离化合物 3 及相关物质 (化合物 D、化合物 U、化合物 T、化合物 J、化合物 1、化合物 N、化合物 K),			

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



重点关注化合物 3 与 D、U 及 T 之间的分离情况应满足要求。

Reference Method**参考方法**

/

Reagent information**试剂信息**

Reagent Name 试剂名称	Grade 级别	Brand 品牌
Water 水	Ultrapure water 超纯水	Welch 月旭
Methanol 甲醇	HPLC 色谱级	Welch 月旭
Acetonitrile 乙腈	HPLC 色谱级	Welch 月旭
Potassium Dihydrogen Phosphate 磷酸二氢钾	AR 分析级	Aladdin 阿拉丁
Potassium Hydroxide 氢氧化钾	AR 分析级	Aladdin 阿拉丁

Instrument Information**仪器信息**

Test instruments 测试仪器	Instrument Model 仪器型号
High Performance liquid chromatograph 高效液相色谱仪	Agilent 1260 II

1. Test process:**试验过程****1.1. Chromatographic conditions:****色谱条件**

Chromatographic column: 色谱柱	Ultimate ALK-C18 (4.6×250mm,5μm)
Mobile phase: 流动相	6.8 g/L potassium dihydrogen phosphate (pH adjusted to 6.0 with potassium hydroxide solution)-methanol-acetonitrile (65:15:20); 6.8g/L 磷酸二氢钾(氢氧化钾溶液调 pH 至 6.0)-甲醇-乙腈(65:15:20);

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



Flow rate: 流 速	1.0 mL/min
Injection volume: 进样量	20 μ L
Column temperature: 柱 温	30 $^{\circ}$ C
Detector: 检测器	UV
Detection wavelength : 检测器波长	254nm/288nm
Gradient program 梯度程序	isocratic elution 等度
Notes 注意事项	/

1.2. Solution preparation (溶液配制)

1.2.1. Preparation of mobile phase (流动相配制):

Potassium hydroxide solution (5%): Weigh 5 g of potassium hydroxide, add 100 ml of purified water to dissolve it, and the solution is obtained.

氢氧化钾溶液 (5%): 称取 5g 氢氧化钾, 加 100ml 纯化水溶解, 即得。

Mobile Phase : Measure out 650 ml of 6.8 g/L potassium dihydrogen phosphate solution (weigh 6.8 g of potassium dihydrogen phosphate, dissolve it in 1000 ml of pure water, ensure complete dissolution, adjust the pH to 6.0 with potassium hydroxide solution, and the solution is obtained), 150 ml of methanol, and 200 ml of acetonitrile. Mix them thoroughly, then filter and sonicate to obtain the solution.

流动相: 量取 6.8g/L 磷酸二氢钾溶液 (称取磷酸二氢钾 6.8g 溶于至 1000ml 纯水中, 充分溶解, 用氢氧化钾溶液调节 pH 至 6.0, 即得。) 650ml, 甲醇 150ml, 乙腈 200ml, 充分混匀, 过滤超声即得。

1.2.2. Blank solution、Diluent (空白溶液、稀释剂):

Diluent 1:Methanol/Methanol-Water (60:40)

稀释剂 1: 甲醇/甲醇-水 (60:40)

Diluent 2:Mobile Phase

稀释剂 2: 流动相

1.2.3. Test solution (测试溶液):

Stock solution: Weigh appropriate amounts of Compound D, Compound U, Compound T, Compound J, Compound 1, Compound N, and Compound K separately, dissolve them in methanol/methanol-water (60:40), and dilute to prepare a solution containing approximately 1 mg per mL.



储备液: 分别称取化合物 D、化合物 U、化合物 T、化合物 J、化合物 1、化合物 N 及化合物 K 适量, 用甲醇/甲醇-水 (60:40) 溶解稀释制成每毫升约含 1mg 溶液。

Test solution: Weigh an appropriate amount of Compound 3, separately pipette appropriate amounts of each of the above compound stock solutions, add mobile phase to dissolve and dilute to prepare a mixed solution containing approximately 1 mg of Compound 3, 10 µg each of Compound D, Compound U, Compound J, Compound K, and Compound N, and 20 µg each of Compound 1 and Compound T per mL.

测试溶液: 称取化合物 3 适量, 分别移取上述各化合物储备液适量, 加流动相溶解稀释制成每毫升约含化合物 3 1mg, 化合物 D、化合物 U、化合物 J、化合物 K、化合物 N 10µg, 化合物 1 及化合物 T 20µg 的混合溶液。

2. Chromatogram and data (谱图和数据)

(1) Analysis spectrum of Test solution (测试溶液分析图谱):

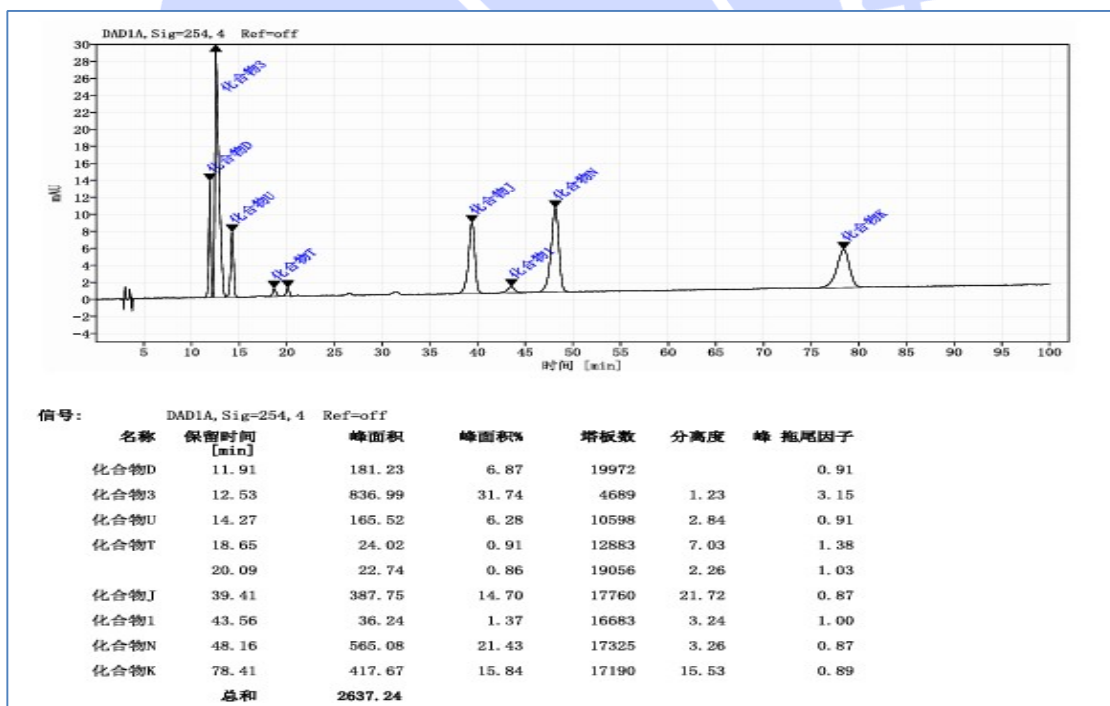


Figure 1: Acquired Results of the Test Solution at a Wavelength of 254 nm
图 1 测试溶液在 254nm 波长下采集结果

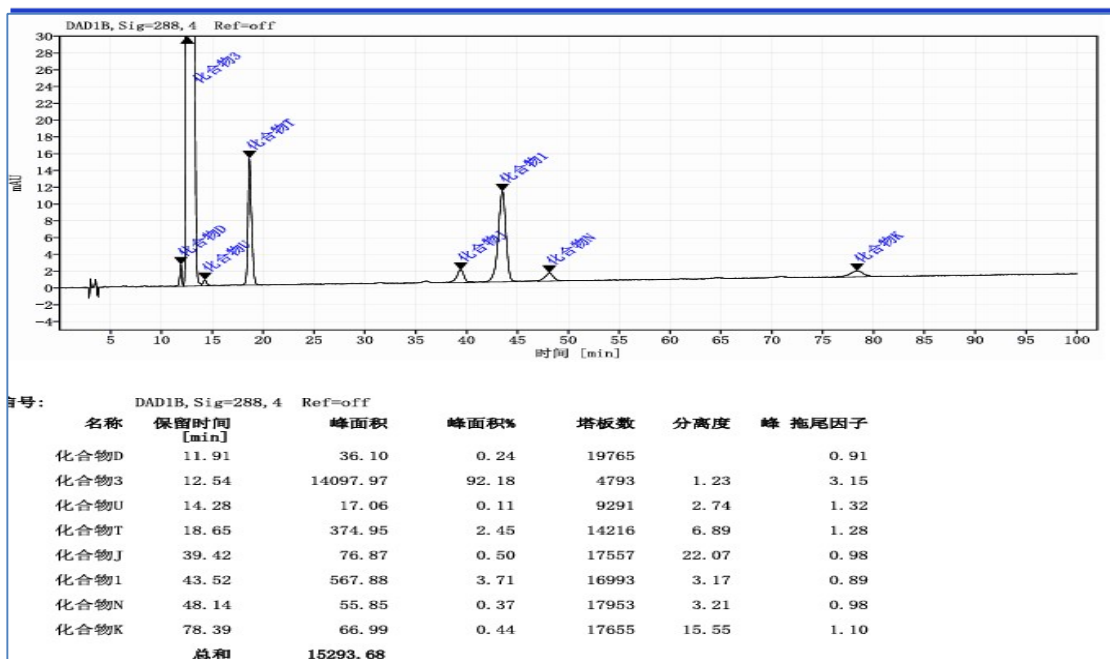


Figure 2: Acquired Results of the Test Solution at a Wavelength of 288 nm

图 2 测试溶液在 288nm 波长下采集结果

3. Conclusion (结论)

Using the Welch Materials Ultimate ALK-C18 chromatographic column (4.6×250 mm, 5 μm) under these chromatographic conditions, Compound 3 and its related substances can be effectively separated, and the separation between Compound 3 and D, U, and T all meet the requirements.

使用月旭色谱柱 Ultimate ALK-C18 (4.6×250mm, 5μm) 在此色谱条件下, 能够有效分离化合物 3 及其相关物质, 化合物 3 与 D、U 及 T 之间的分离情况均满足要求。

Report signature (报告签字)

Tester(测试): Kaden (王进富)

Date (日期): 2025/10/20

Reviewer(审核): Jeff (王祝超)

Date (日期): 2025/10/20

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