



## Test report

## 测试报告

Sample Information			
样品信息			
Sample Name 样品名称	Reduction Reaction Solution 还原液	Sample properties 样品性状	Liquid 液体
Date of receipt 收样日期	2025/11/24	During testing 测试期间	2025/11/24~ 2025/11/26
Test ingredients and structural formula			
测试成分及结构式			
<p>Reaction 1: <chem>Nc1c(O)nc(=O)c1C=O + Na2CO3 + H2O -&gt; Nc1c(O)c(O)c(=O)c1 + 2NaHCO3</chem></p> <p>Reaction 2: <chem>Nc1c(O)c(O)c(=O)c1 + 2NaOH -&gt; Nc1c(O)c(O)c(=O)c1[Na] + 2H2O</chem></p>			
Experimental Requirements			
实验要求			
<p>For the reaction solution from step 2 of sample submission, develop a method for related substances of substance 3, requiring good column durability</p> <p>送样步骤 2 的反应液，开发物质 3 的有关物质方法，要求色谱柱耐用性较好。</p>			
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	

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



Acetonitrile 乙腈	HPLC 色谱级	Welch 月旭
Tetra-n-butylammonium hydroxide 四丁基氢氧化铵	25% aq. solution 25%水溶液	Aladdin 阿拉丁
Anhydrous sodium bicarbonate 无水碳酸氢钠	AR 分析纯	Aladdin 阿拉丁
<b>Instrument Information</b> 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	Shimadzu LC-20ADxr	

## 1. Test process (试验过程)

### 1.1. Chromatographic conditions (色谱条件)

Chromatographic column: 色谱柱	Xtimate C18 (4.6×250mm,5μm)		
Mobile phase: 流动相	Mobile phase A: buffer solution 流动相 A: 缓冲液 Mobile phase B: Acetonitrile 流动相 B: 乙腈		
Flow rate: 流速	1.0 mL/min		
Injection volume: 进样量	1 μL		
Column temperature: 柱温	25 °C		
Detector: 检测器	UV		
Detection Wavelength: 检测波长	254nm or 350nm		
Gradient program: 梯度程序	Time (min) 时间 (分钟)	缓冲液	乙腈
	0	95%	5%

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



	20	60%	40%
	20.1	95%	5%
	30	95%	5%
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):

Mobile phase A: Take 5.2ml of 25% tetrabutylammonium hydroxide aqueous solution, dissolve it in 1000ml of water, then add 1ml of ammonia water and adjust the pH to 9.0 with hydrochloric acid

流动相 A: 取 5.2ml 25%四丁基氢氧化铵水溶液、无水碳酸氢钠 1.68g, 加水 1000ml 溶解, 用 5mol/L 氢氧化钠溶液或盐酸调节 pH 至 10.0, 即得。

Mobile phase B: Acetonitrile of HPLC grade

流动相 B: 色谱纯乙腈

### 1.2.2. Reduction Reaction Solution 1 (还原液 1):

Provided by the customer, marked as TD0.

由客户提供,标记为“TD0”。

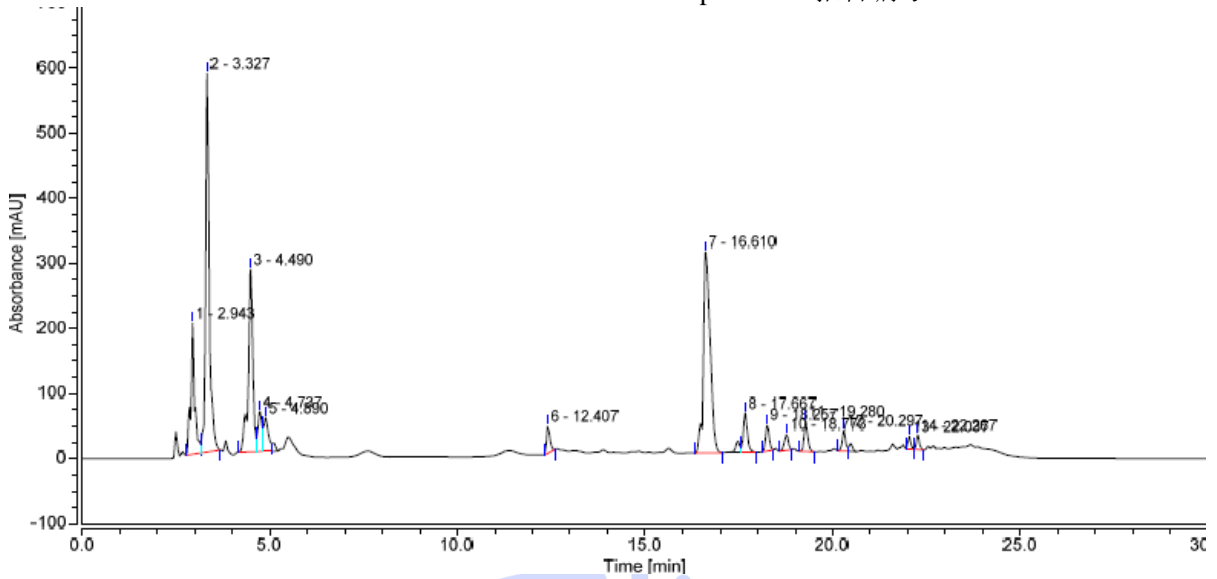
### 1.2.3. Reduction Reaction Solution 2 (还原液 2):

Provided by the customer, marked as 保 2.

由客户提供,标记为“保 2”。

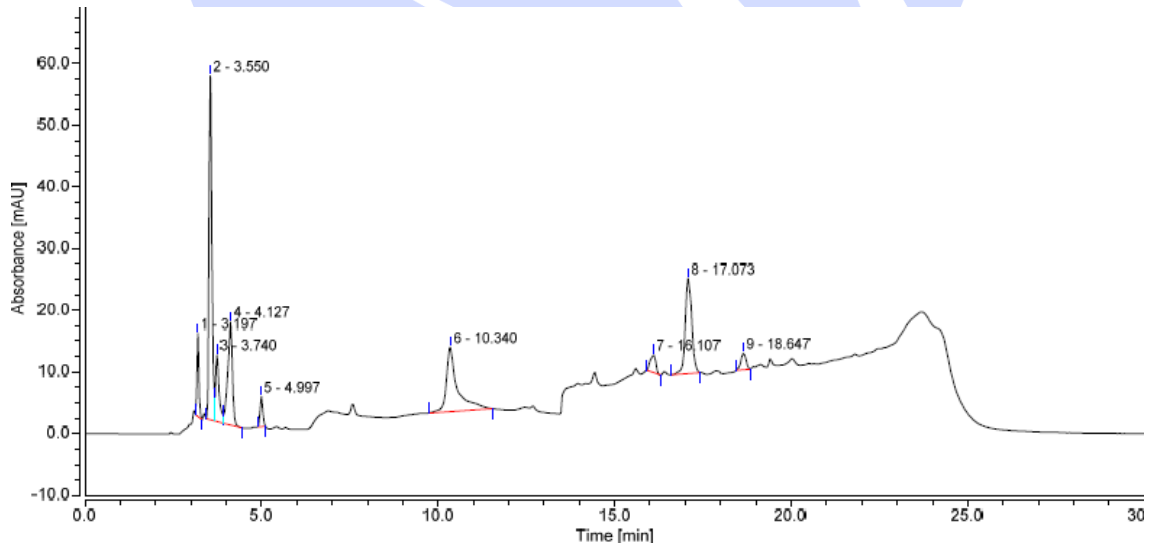
## 2. Chromatogram and data (谱图和数据)

(1) Chromatogram of Reduction Reaction Solution 1, 254 nm (还原液 1 色谱图, 进样 1 $\mu$ l):



Integration Results									
No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Height mAU	Relative Area %	Resolution USP	Asymmetry USP	Plates USP	S/N
1		2.943	23.677	201.263	9.86	2.87	n.a.	10836	10.0
2		3.327	67.027	581.718	27.90	6.83	1.27	7427	28.6
3		4.490	39.286	280.722	16.35	1.16	n.a.	9288	32.3
4		4.737	7.607	61.619	3.17	0.58	n.a.	6325	n.a.
5		4.890	7.508	51.733	3.12	33.53	n.a.	4649	n.a.
6		12.407	4.336	42.215	1.80	17.62	1.60	94430	9.6
7		16.610	63.890	308.832	26.59	4.20	1.20	44296	44.4
8		17.667	7.536	60.485	3.14	3.25	n.a.	141188	15.1
9		18.257	4.354	39.604	1.81	2.79	1.11	174268	21.0
10		18.773	2.996	24.583	1.25	2.79	0.85	148534	13.0
11		19.280	5.150	47.023	2.14	6.33	1.30	208663	23.4
12		20.297	3.193	31.374	1.33	12.09	n.a.	283454	8.0
13		22.037	1.717	19.291	0.71	1.69	n.a.	423497	2.8
14		22.267	1.973	22.208	0.82	n.a.	n.a.	420030	3.2
Total:			240.249	1772.671					211.50

## (2) Chromatogram of Reduction Reaction Solution 2, 254 nm (还原液 2 色谱图, 进样 2μl):



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

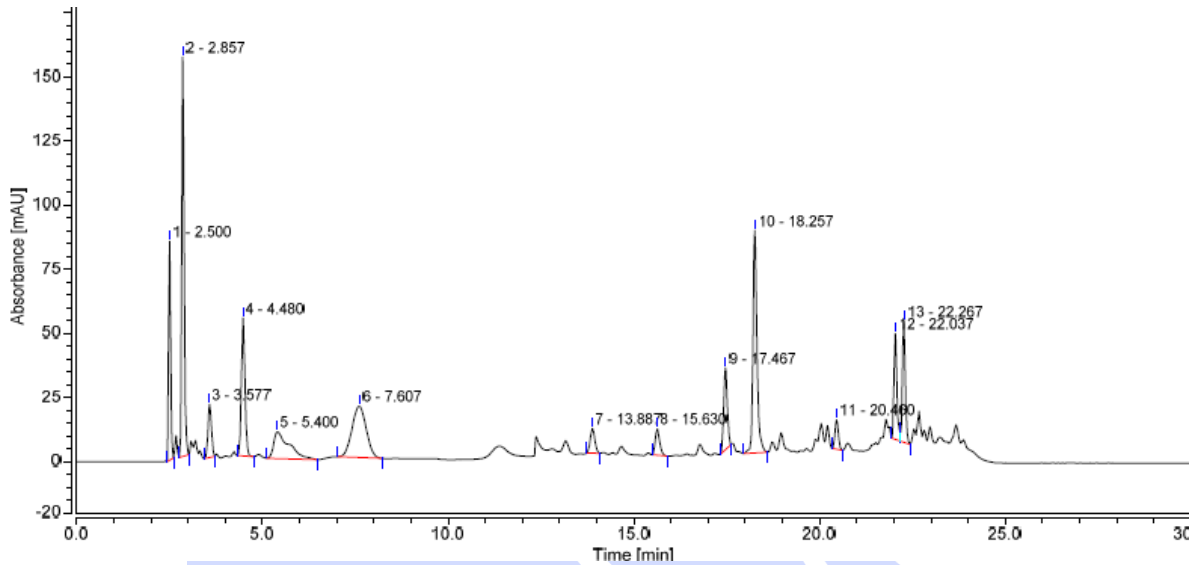
邮编: 211500

Web:www.welchmat.com



Integration Results									
No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Height mAU	Relative Area %	Resolution USP	Asymmetry USP	Plates USP	S/N
1		3.197	0.844	13.419	4.61	2.86	1.28	16809	9.3
2		3.550	5.310	55.793	28.99	1.22	n.a.	9196	118.8
3		3.740	1.209	10.778	6.60	2.05	n.a.	8434	22.9
4		4.127	2.501	16.703	13.65	4.97	n.a.	5926	9.3
5		4.997	0.416	4.884	2.27	20.04	1.17	21674	4.7
6		10.340	3.800	10.449	20.74	14.56	2.16	10825	4.1
7		16.107	0.498	2.821	2.72	2.73	0.84	26666	1.2
8		17.073	3.288	15.420	17.95	5.43	1.14	47081	43.8
9		18.647	0.453	2.630	2.47	n.a.	0.92	79259	3.2
Total:			18.319	132.897					217.34

(3) Chromatogram of Reduction Reaction Solution 1, 350 nm (还原液 1 色谱图, 进样 1 $\mu$ l):



Integration Results									
No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Height mAU	Relative Area %	Resolution USP	Asymmetry USP	Plates USP	S/N
1		2.500	5.145	85.381	7.94	3.47	1.22	11045	17.7
2		2.857	11.198	155.864	17.28	5.05	1.31	10690	32.3
3		3.577	2.237	20.751	3.45	5.17	1.09	6722	5.2
4		4.480	5.980	53.818	9.23	2.53	1.10	10464	53.8
5		5.400	5.019	10.462	7.74	3.49	2.72	1527	10.5
6		7.607	8.874	20.006	13.69	13.36	1.02	1821	5.1
7		13.887	1.369	9.682	2.11	7.90	1.07	59647	2.5
8		15.630	1.402	10.222	2.16	9.32	1.26	85470	4.3
9		17.467	3.584	31.910	5.53	4.37	1.06	149844	13.4
10		18.257	10.699	86.742	16.51	12.58	1.34	162678	16.6
11		20.460	1.210	11.406	1.87	10.22	1.07	233661	2.2
12		22.037	3.821	41.274	5.90	1.65	n.a.	400021	6.0
13		22.267	4.283	47.170	6.61	n.a.	n.a.	404753	6.9
Total:			64.821	584.688					176.37

(4) Chromatogram of Reduction Reaction Solution 2, 350 nm (还原液 2 色谱图, 进样 2 $\mu$ l):

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

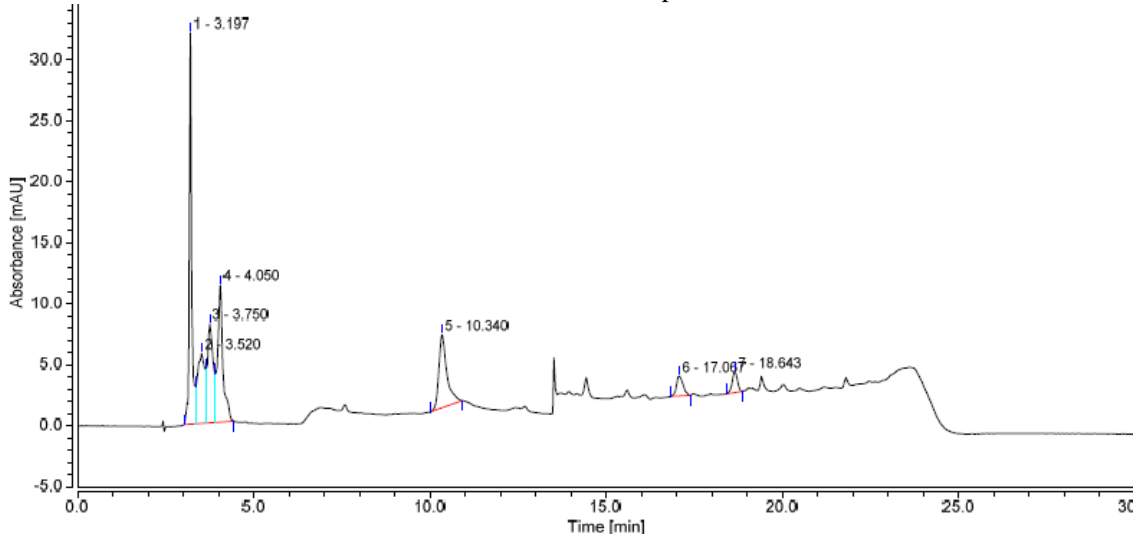
Tel: 400-810-6969

邮编: 201600

邮编: 321000

邮编: 211500

Web: www.welchmat.com



Integration Results									
No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Height mAU	Relative Area %	Resolution USP	Asymmetry USP	Plates USP	S/N
1		3.197	2.500	32.111	26.01	0.93	n.a.	14975	77.3
2		3.520	1.475	5.756	15.34	0.49	n.a.	569	n.a.
3		3.750	1.464	8.100	15.23	1.06	n.a.	1904	n.a.
4		4.050	1.944	11.223	20.23	21.40	n.a.	5422	20.1
5		10.340	1.576	5.985	16.40	17.18	1.61	12644	2.6
6		17.067	0.357	1.658	3.72	4.61	1.19	27027	0.7
7		18.643	0.295	1.703	3.07	n.a.	0.95	76840	2.5
Total:			9.611	66.536					103.13

### 3. Conclusion (结论)

Using the Welch chromatographic column Xtimate C18 (4.6 × 250mm, 5 μm), analyze the target substance under these chromatographic conditions. The results meet the detection requirements.

使用月旭色谱柱 Xtimate C18 (4.6×250mm, 5μm)，在此色谱条件下分析目标物，满足检测需求。

### Report signature (报告签字)

Tester(测试): Daniel (李兴尚)

Date (日期): 2025/11/28

Reviewer(审核): Jeff (王祝超)

Date (日期): 2025/11/28

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