

9-芴甲醇的高效液相色谱分析

陈叶飞 张秀云

(上海宝钢化工有限公司技术中心, 上海 200942)

9-芴甲醇可用于制取氯代甲酸-9-芴甲酯(Fmoc-Cl)、9-芴甲基-N-琥珀酰亚胺基碳酸酯(Fmoc-Osu)^[1]等。Fmoc-Cl、Fmoc-Osu 是多肽合成中的氨基保护剂^[2-3], 在多肽合成中有独特的作用。因此, 随着生物制药领域的不断发展, 9-芴甲醇的需求量将大幅增加。目前, 国内外已有多家研究单位进行 9-芴甲醇合成方法的研究, 在简化合成步骤, 降低合成成本方面取得很大进展, 但对其含量的测定方法尚未见文献报道。本文采用高效液相色谱直接进样方法测定 9-芴甲醇的含量。

1 试验部分

1.1 主要仪器和试剂

Agilent 1100 型高效色谱仪, 配备在线真空脱气机, 四元梯度泵, 20 μ L 手动进样器, 多波长紫外检测器, 柱温箱, Agilent 1100 化学工作站。

9-芴甲醇对照品, 比利时 ACROS 公司提供, 产品编号 A0182055, 纯度 99.8%。样品经过红外光谱、质谱、核磁共振谱表征, 并与标准谱图比较, 结构得到确认。甲醇(色谱纯)购自上海国药集团。实验中流动相和溶液用水均为二次蒸馏水。

对照样品溶液: 称取 9-芴甲醇对照品 25mg (称准至 0.01mg) 于 100mL 容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 用超声波脱气溶解 10min, 混合摇匀。

待测样品溶液: 称取 9-芴甲醇试样 25mg 于 100mL 容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 用超声波脱气溶解 10min, 混合摇匀。

1.2 色谱条件

色谱柱: Inertsil ODS-3, 流动相: 甲醇: 水=90: 10 (体积比); 流速: 1.0mL/min; 检测波长: 254nm;

2 结果与讨论

2.1 谱图与计算

吸取对照样品和待测样品溶液各 20 μ L, 注入高效液相色谱, 得到的色谱图见图 1、2, 分离度和峰形都很好。

9-芴甲醇的含量按如下公式计算:

$$X_1 = X_{\text{标}} \times \frac{A_1}{A_2} \times \frac{m_2}{m_1}$$

X_1 —试样中 9-芴甲醇的含量, %;

$X_{\text{标}}$ —标样中 9-芴甲醇的含量, %;

A_1 —试样中 9-芴甲醇组分的峰面积;

A_2 —标样中 9-芴甲醇组分的峰面积;

m_1 —试样的质量, g;

m_2 —标样的质量, g。

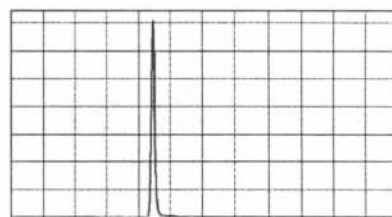


图 1 9-芴甲醇对照样品色谱图

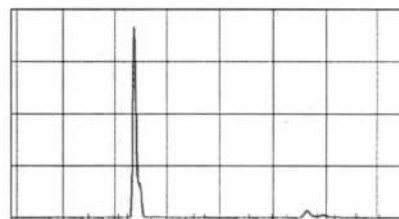


图 2 9-芴甲醇待测样品色谱图

表 1 精密度测试结果

编 号	峰面积	含量/%
1	9 721	92.69
2	9 784.8	93.31
3	9 752.7	93.16
4	9 756	93.19
5	9 767.2	93.30
相对标准偏差 (RSD) /%		0.214

2.2 精密度

称取 0.02130g 试样溶于 50mL 容量瓶中, 试样浓度 0.426mg/mL。同一操作者对实际试样平行测定 5 次, 得芴甲醇含量平均值 93.13%。精密度结果见表 1。

收稿日期: 2008-11-20

作者简介: 陈叶飞 (1974-), 女, 工程师

从表1中可以看出测定试样时含量的RSD只有0.214%，说明该方法精密度很高，随机误差小。

表2 加标回收试验结果

编号	试样应 测面积	标样应 测面积	实测 面积	实际回 收面积	回收率 /%
加标1	3 234.663	4 923.053	7 984.6	4 749.937	96.48
			8 047.3	4 812.637	97.76
			7 966.7	4 732.037	96.12
			7 980.2	4 745.54	96.39
			7 975.6	4 740.94	96.30
加标2	5 100.6	9 727.53	14 595.3	9 494.7	97.61
			14 644.1	9 543.5	98.11
			14 355.4	9 254.8	95.14
			14 349.9	9 249.3	95.08
			14 385.4	9 284.8	95.56

2.3 加标回收率

采用同一样品加入2个水平的对照样。首先称取0.013 87g平均含量93.13%的试样，加入10mL 1.975 7mg/mL对照品，溶解到100mL容量瓶中，按2.1所述测定含量，重复实验5次，计算回收

率。然后称取0.021 99g平均含量93.13%的试样，加入20mL 1.975 7mg/mL对照品，溶解到100mL容量瓶中，测定含量，重复实验5次，计算回收率。加标回收率实验结果见表2。

从表2中可知，不同水平的加标回收率在95.08%~98.11%之间，回收率都比较高，表明该方法测定9-芴甲醇含量的准确性高。

3 结论

高效液相色谱测定9-芴甲醇，精密度和准确性高，方法简单、易于操作，实际样品测定结果较准确。

参考文献

- [1] Carpinola, Hangy. The 9-fluorenylmethoxy carbonylamino protecting group J Org Chem, 1972, 37: 3404-3409.
- [2] Atherton E, Harkiss Fox H, Logand. J Chem. Soc. Chem. Commun, 1978: 537-539.
- [3] Chang CD, Meienhofer. Int J Peptide protein Res, 1978, 11: 246-249.

(上接第61页)

以便药剂和原料水充分混合，达到阻垢效果。实验时间为1个月。

3 数据分析

使用药剂A标定期间，原料水泵电流一直稳定在38A左右，未出现明显波动。在蒸氨塔底，压力平均值一直稳定在0.036MPa左右，蒸氨塔底和吸收塔顶之间的压差没有明显变化。在加药的1个月内，塔盘结垢现象不明显，所加药剂起到了明显的阻垢作用。

加阻垢剂B标定期间，原料水泵电流一直稳定在38~39A左右，未出现明显波动；蒸氨塔底压力出现过两次波动，但通过提高药剂浓度，第一次

提高到35mg/L，第二次提高到40mg/L后，塔压逐渐恢复正常，波动停止，蒸氨塔底和吸收塔顶之间的压差未出现明显变化。在加药的1个月内，塔盘结垢现象不明显，所加药剂起到了阻垢作用。

4 结论

通过加入A、B阻垢剂均可以有效解决蒸氨塔堵塞的问题，保证生产稳定。阻垢剂A的效果优于阻垢剂B。

我厂在生产中采用阻垢剂A，用计量泵在原料水泵前连续加入，蒸氨塔清扫周期由原来的20天延长到一年以上。

2003~2006年《燃料与化工》杂志光盘征订启事

2003~2006年《燃料与化工》杂志光盘已出版发行，共2张光盘，售价80元，含邮费。

原1970~2006年的《炼焦化学》和《燃料与化工》杂志光盘继续发行，全套共2张(DVD光盘)，售价530元，外加邮费50元。联系方式如下。

地址：辽宁省鞍山市胜利南路27号
汇款地址：鞍山焦耐设计研究总院图文制作中心
帐号：21001630103050012108

电话：0412-5560168 5510130 邮编：114002
联系人：李磊 传真：0412-5534944
开户行：建行鞍山分行营业部