

HPLC 法分析带保护基团的亚磷酰胺单体

SGLC-LC-392

摘要： 本文建立了亚磷酰胺单体 N-苯甲酰基-5'-O-(4,4-二甲氧基三苯甲基)-2'-O-甲基腺苷-3'-(2-氰基乙基-N,N-二异丙基)的 HPLC 测定方法。采用色谱柱 Shim-pack Scepter HD-C18、ShimNex UP C18 分析此亚磷酰胺单体，结果显示，此亚磷酰胺单体的两个手性同分异构体色谱峰峰型良好，分离度大于 1.5，满足分析要求。此方法可为带保护基团的亚磷酰胺单体的检测提供参考。

关键词： 带保护基团的亚磷酰胺单体 Shim-pack Scepter HD-C18 ShimNex UP C18 HPLC

1. 实验部分

1.1 实验仪器及耗材

Shimadzu LC-40D 高效液相色谱仪；

色谱柱： Shim-pack Scepter HD-C18 (5 μm, 4.6×250 mm; P/N: 227-31024-06)；

ShimNex UP C18 (5 μm, 4.6×250 mm; P/N: 380-01231-49)；

纯水机： PR-FP-0120α-MT1 (+ 60L 水箱 + 取水器)

SHIMSEN Disc HPTFE 针式过滤器 (P/N: 380-00341) ；

LC-MS 认证样品瓶 LabTotal Vial (P/N: 227-34001-01)；

SHIMSEN Pipet 移液枪： SHIMSEN Pipet PMII-10 (P/N: 380-00751-02)；

SHIMSEN Pipet PMII-100 (P/N: 380-00751-04)；

SHIMSEN Pipet PMII-1000 (P/N: 380-00751-06)。

1.2 分析条件

柱温： 20℃

检测波长： 235 nm

流速： 1.0 mL/min

进样量： 5 μL

流动相： A： 20 mM 甲酸铵

B： 乙腈： 甲醇=1： 2

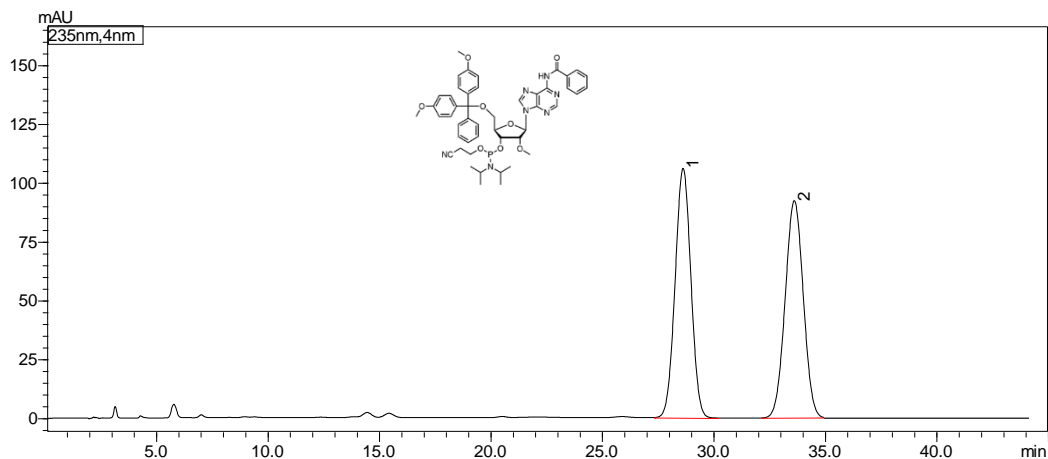
A： B=15： 85

2. 实验结果

2.1 色谱柱: Shim-pack Scepter HD-C18 (5 μm, 4.6×250 mm; P/N: 227-31024-06)

按照上述色谱条件 (1.2) 进行采集, 对照品溶液如下:

对照品溶液

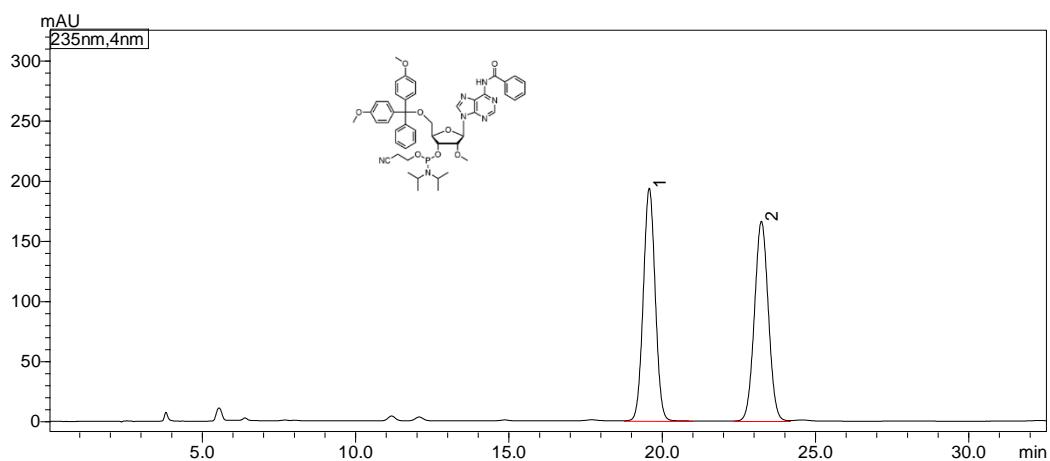


| 序号 | 目标物 | 保留时间 | 峰面积 | 峰高 | 理论塔板数 | 拖尾因子 | 分离度 |
|----|-------|--------|---------|--------|-------|-------|-------|
| 1 | 异构体 1 | 28.632 | 5209769 | 105978 | 7647 | 1.010 | -- |
| 2 | 异构体 2 | 33.622 | 5206486 | 92243 | 7976 | 1.007 | 3.545 |

2.2 色谱柱: ShimNex UP C18 (5 μm, 4.6×250 mm; P/N: 380-01231-49);

按照上述色谱条件 (1.2) 进行采集, 对照品溶液如下:

对照品溶液



| 序号 | 目标物 | 保留时间 | 峰面积 | 峰高 | 理论塔板数 | 拖尾因子 | 分离度 |
|----|-------|--------|---------|--------|-------|-------|-------|
| 1 | 异构体 1 | 19.592 | 5215210 | 193408 | 11929 | 1.023 | -- |
| 2 | 异构体 2 | 23.251 | 5234913 | 166109 | 12331 | 1.024 | 4.705 |

3. 结论

本文建立了带保护基团的亚磷酰胺单体 N-苯甲酰基-5'-O-(4,4-二甲氧基三苯甲基)-2'-O-甲基腺苷-3'-(2-氰基乙基-N,N-二异丙基)的 HPLC 测定方法。采用色谱柱 Shim-pack Scepter HD-C18、ShimNex UP C18 分析此亚磷酰胺单体，结果显示，此亚磷酰胺单体的两个手性同分异构体峰，峰型良好，分离度大于 1.5，满足分析要求。此方法可为带保护基团的亚磷酰胺单体的检测提供参考。