

# RP-HPLC 法测定 (7-甲氧基-3,4-二氢-1-萘基)乙腈的含量及其有关物质\*

张红霞\*\* 徐利君 黄荣清\*\*\* 肖炳坤 杨建云

(军事医学科学院放射与辐射医学研究所 北京 100850)

**摘要** 目的: 采用反相高效液相色谱法测定 (7-甲氧基-3,4-二氢-1-萘基)乙腈含量及其有关物质。方法: 采用 Diamonsil™(钻石)C<sub>18</sub>(250mm×4.6mm,5 μm) 色谱柱, 流动相为甲醇-水(68:32), 检测波长 232nm, 流速 0.8mL/min。结果: 此色谱条件下 (7-甲氧基-3,4-二氢-1-萘基)乙腈与有关物质能达到有效分离, 在 40.48 ~ 161.92 μg/mL 范围内线性关系良好, r=0.9998; 仪器精密密度 RSD 为 0.94%; 方法重复性 RSD 为 1.3%; 最低检测限 4.9ng。结论: 该方法简便、准确、可行, 可用于 (7-甲氧基-3,4-二氢-1-萘基)乙腈的质量控制。

**关键词** 反相高效液相色谱法 (7-甲氧基-3,4-二氢-1-萘基)乙腈 含量测定 有关物质 7-甲氧基四氢萘-1-酮

(7-甲氧基-3,4-二氢-1-萘基)乙腈是一种重要药物的中间体, 由 7-甲氧基四氢萘-1-酮经过羰基加成, 在酸的催化下脱水而形成。实验表明: 在合成过程中, 中间体 (7-甲氧基-3,4-二氢-1-萘基)乙腈很难完全反应, 会带入最终产物, 加之合成药物在放置过程中, 很可能会重新生成 (7-甲氧基-3,4-二氢-1-萘基)乙腈, 因此, 测定 (7-甲氧基-3,4-二氢-1-萘基)乙腈不仅能够反应药物的含量, 而且是保证合成药品安全性的方法之一<sup>[1]</sup>。本文建立准确快速、简便的反相高效液相色谱法, 测定 (7-甲氧基-3,4-二氢-1-萘基)乙腈含量和有关物质。分析结果表明, 此方法能够很好地分离 (7-甲氧基-3,4-二氢-1-萘基)乙腈、7-甲氧基四氢萘-1-酮以及其他有关物质, 可以作为 (7-甲氧基-3,4-二氢-1-萘基)乙腈的质量控制方法。

## 1 仪器和试剂

Waters 2695-2996 型高效液相色谱仪; 二极管阵列检测器; Empower 数据处理系统; 色谱柱: Diamonsil™(钻石)C<sub>18</sub>(250mm×4.6mm,5 μm); 甲醇(色谱纯, 天津西华); 水(纯净水); (7-甲氧基-3,4-二氢-1-萘基)乙腈对照品(含量: 99.7%, 军事医学科学院放射与辐射医学研究所自制); 7-甲氧基四氢萘-1-酮对照品(含量: 99.8%, 军事

医学科学院放射与辐射医学研究所自制); (7-甲氧基-3,4-二氢-1-萘基)乙腈供试品(自制, 批号分别为 20090401、20090402、20090403)。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液制备

**2.1.1 对照品溶液** 取 (7-甲氧基-3,4-二氢-1-萘基)乙腈对照品约 10mg, 精密称定, 置 100mL 量瓶中, 加流动相溶解并稀释制成每 1mL 中约含 0.10 mg 的对照品溶液。

**2.1.2 供试品溶液** 取 (7-甲氧基-3,4-二氢-1-萘基)乙腈供试品约 10mg, 精密称定, 置 100mL 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液作为供试品溶液。

### 2.2 色谱条件与系统适应性试验

色谱柱是 Diamonsil™(钻石)C<sub>18</sub>(250mm×4.6mm, 5 μm) 柱; 流动相: 甲醇-水(68:32); 检测波长 232nm; 流速 0.8 mL/min; 进样量 20 μL; 柱温: 室温。理论塔板数以 (7-甲氧基-3,4-二氢-1-萘基)乙腈计不低于 5000, 对称因子 1.11, 且在 30min 内检测完成。

按上述色谱条件, 将 20 μL 对照品溶液、供试品溶液分别进样, (7-甲氧基-3,4-二氢-1-萘基)乙腈峰的保留时间为 12min 左右, 主成分与有关

\*基金项目: 国家科技重大专项“重大新药创制”综合性新药研究开发技术平台 (No.2009ZX09301-002) 资助, 国家自然科学基金项目 (No.20672143)

\*\*张红霞 (1977—), 女, 在读硕士, 研究方向: 新药质量标准; Tel: 15810018741; E-mail: zhanghongxia01@yahoo.com.cn

\*\*\*通讯作者: 黄荣清, Tel: (010) 66931341; E-mail: huangrq@tom.com

物质峰能得到良好分离, 分离度大于 2。对照品和供试品溶液的色谱图 (见图 1)。

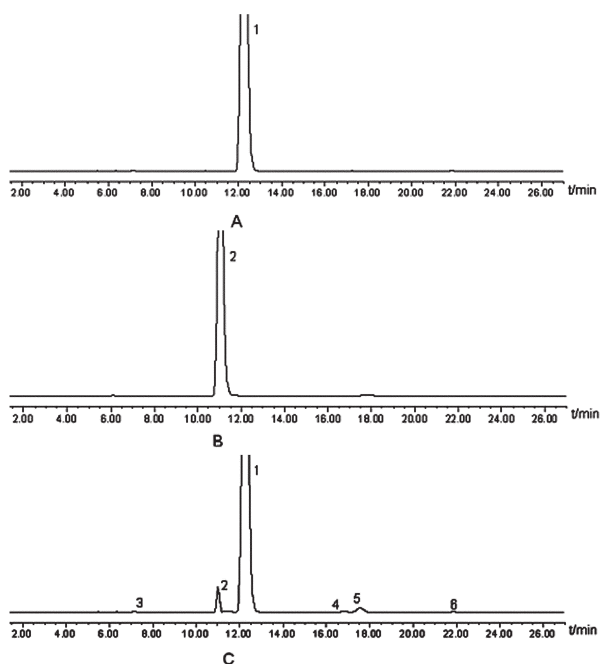


图 1 HPLC 图谱

A. (7-甲氧基-3,4-二氢-1-萘基)乙腈对照品; B. 7-甲氧基四氢萘-1-酮对照品; C. 供试品; 1. (7-甲氧基-3,4-二氢-1-萘基)乙腈; 2. 7-甲氧基四氢萘-1-酮; 3~6. 有关物质

### 2.3 线性关系考察<sup>[2]</sup>

取对照品约 20mg, 精密称定, 置 100mL 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品储备液。精密量取对照品储备液 2.0mL, 3.0mL, 4.0mL, 5.0mL, 6.0mL, 7.0mL, 8.0mL 分别置 10mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 得一系列浓度的标准溶液。分别取 20  $\mu$ L 进样测定, 记录色谱图, 平均峰面积依次为 1245468、1748312、2295413、2863692、3439839、4069217、4672190, 以浓度 C ( $\mu$ g/mL) 对峰面积 A 进行线性回归, 得线性方程:

$$A = 2.436 \times 10^4 C + 4.64 \times 10^5 \quad r = 0.9998$$

结果表明, (7-甲氧基-3,4-二氢-1-萘基)乙腈的浓度在 40.48 ~ 161.92  $\mu$ g/mL 范围内与峰面积线性良好。

### 2.4 仪器精密度

取“2.1.1 对照品溶液”, 连续进样 6 次, 每次 20  $\mu$ L, 峰面积分别为 2898291、2893321、2909621、2852984、2893353、2842951, RSD 为 0.94%。

### 2.5 重复性试验

分别精密称取样品 (批号 20090401) 6 份,

按“2.1.2”项下操作, 含量分别为 92.7%、94.6%、91.2%、92.5%、91.8%、93.2%, 平均含量为 92.7%, RSD 为 1.3%。

### 2.6 稳定性试验

取“2.3”项下对照品储备液, 用流动相配制相当于 (7-甲氧基-3,4-二氢-1-萘基)乙腈浓度为 81.02  $\mu$ g/mL, 101.23  $\mu$ g/mL, 121.56  $\mu$ g/mL 溶液, 在室温条件下放置, 分别在 0, 2h, 4h, 6h, 8h, 10h 内进样 20  $\mu$ L, 按“2.2”项下的色谱条件测定峰面积, 结果低、中、高 3 个浓度峰面积的 RSD 分别为 1.6%、1.5%、1.3%, 表明供试品溶液在 10h 内基本稳定, 测得峰面积结果 (见表 1)。

表 1 测得峰面积结果

时间 / 浓度	81.02 $\mu$ g/mL (80%)	101.23 $\mu$ g/mL (100%)	121.56 $\mu$ g/mL (120%)
0h	2162376	2829820	3524235
2h	2155548	2813621	3490855
4h	2139220	2797688	3464034
6h	2097934	2753654	3432654
8h	2090844	2742574	3423443
10h	2083981	2733244	3410145
平均值	2121651	2778434	3457561
RSD(%)	1.6	1.5	1.3

### 2.7 最低检测限与定量限

精密吸取“2.1.1 对照品溶液”, 加流动相逐级稀释成系列浓度, 精密量取 20  $\mu$ L 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 在信噪比 (S/N) 为 3 时测得的检测限为 4.9ng, 在信噪比 (S/N) 为 10 时测得的定量限为 16.3ng。

### 2.8 样品含量测定

按“2.1”项下的方法分别制备对照品溶液和供试品溶液, 分别进样 20  $\mu$ L, 按外标法以峰面积计算样品含量, 结果批号为 20090401, 20090402, 20090403 样品含量 (n = 2) 分别 92.67%, 92.71%, 92.70%。

### 2.9 有关物质测定

为控制 (7-甲氧基-3,4-二氢-1-萘基)乙腈质量, 保证用药安全, 应检查有关物质, 供试品溶液的色谱图中如显有关物质峰, 其中 7-甲氧基四氢萘-1-酮采用外标法控制质量; 因其它有关物质对照品难以获得, 所以采用自身对照法控制质量。

**2.9.1 7-甲氧基四氢萘-1-酮测定方法** 取 7-甲氧基四氢萘-1-酮对照品约 10 mg, 精密称定, 置 100mL 量瓶中, 用流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为 7-甲氧基四氢萘-1-酮对照溶液; 按“2.2”

项下的色谱条件实验,精密量取 7-甲氧基四氢萘-1-酮对照溶液 20  $\mu$ L 注入液相色谱仪,调节检测灵敏度,使主成分色谱峰的峰高约达满量程的 20%。分别精密量取“7-甲氧基四氢萘-1-酮对照品溶液”和“2.1.2 供试品溶液”各 20  $\mu$ L 分别注入液相色谱仪,记录色谱图至主峰保留时间的 2 倍(见图 1)。检测样品 3 批(20090401、20090402、20090403),7-甲氧基四氢萘-1-酮含量分别为 7.27%、7.27%、7.29%。结果表明:样品中 7-甲氧基四氢萘-1-酮含量在 7.28% 左右。

**2.9.2 其它有关物质测定方法** 精密取“2.1.2 供试品溶液”适量,加流动相溶解并稀释成浓度 1.00  $\mu$ g/mL 的溶液(约为“2.1.2 供试品溶液”浓度的 1%),作为自身对照溶液,按“2.2”项下的色谱条件实验,精密量取自身对照溶液 20  $\mu$ L 注入液相色谱仪,调节检测灵敏度,使主成分色谱峰的峰高约达满量程的 20%,分别精密量取“自身对照溶液”与“2.1.2 供试品溶液”各 20  $\mu$ L 分别注入液相色谱仪,记录色谱图至主峰保留时间的 2 倍(见图 1)。按照 1% 自身对照法计算样品(20090401、20090402、20090403)中的有关物质峰面积和(7-甲氧基四氢萘-1-酮除外)分别为 0.01%、0.02%、0.01%。结果表明:样品中有关物质含量在 0.01% 左右,证明方法可行。

### 3 讨论

#### 3.1 流动相的选择

**3.1.1 流动相组成的选择** 首先考察甲醇-水作为流动相,发现在此条件下,主药与有关物质分离度较好,且获得的峰形对称,所以选择甲醇-水作为流动相。为能在适宜的分析时间内完成对主药及有关物质的分析,曾采用梯度洗脱,但发现梯度洗脱时基线漂移严重,2 次进样之间的平衡时间较长(约 15min),进行实际测定非常耗时,故放弃梯度洗脱,后在等度洗脱条件下,降低有机相比例至 68%,药物及有关物质在 30min 内能完全出峰,且能达到良好分离。

**3.1.2 流动相比比例的考察** 在确定甲醇-水作为流动相后,对不同比例进行考察,结果有机相与水的比例为 68 : 32 时,主峰在 12min 左右出峰,且对称性好、分离度大,已达到色谱分离的要求,故选择流动相的比例为 68 : 23。同时还比较不同流速对分离效果的影响,最后选用流速为 0.8mL/min,该条件保留时间适中、分离效果好。

#### 3.2 波长的选择

经二极管阵列全波长扫描,得主药的最大吸收波长为:232.2nm, 258.1nm;有关物质最大吸收波长为:220.5nm, 综合考虑各峰峰高及峰面积比例,选 232nm 作为检测波长,在此波长条件下,结果显示主药和 7-甲氧基四氢萘-1-酮及其它有关物质均有较适宜的峰高响应值。主药与 7-甲氧基四氢萘-1-酮的紫外吸收光谱图(见图 2)。

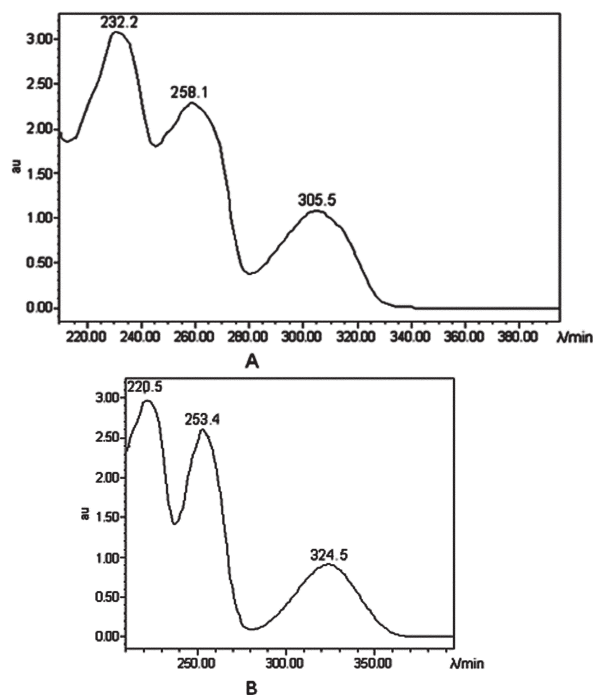


图 2 紫外图谱

A. (7-甲氧基-3,4-二氢-1-萘基)乙腈; B. 7-甲氧基四氢萘-1-酮

#### 3.3 有关物质 7-甲氧基四氢萘-1-酮的确定

7-甲氧基四氢萘-1-酮是(7-甲氧基-3,4-二氢-1-萘基)乙腈合成过程中的一步中间体,在实际检测过程中,由于此有关物质与 7-甲氧基四氢萘-1-酮对照品有相同的紫外吸收,且在相同浓度、相同色谱条件下,此有关物质与 7-甲氧基四氢萘-1-酮对照品有完全相同的色谱行为、出峰时间一致(约 11.0min)。为进一步确保结论的真实可靠,最后把 7-甲氧基四氢萘-1-酮对照品与样品混合,结果显示 11.0min 左右的峰明显增大且无其它杂峰出现,因此,可以断定此有关物质为 7-甲氧基四氢萘-1-酮。

#### 参考文献

- 1 高鹏辉,刘佳,夏愔愔等.我国药品安全定义和范畴的系统综述和定性访谈,中国卫生政策研究,2009,2(6):39~44
- 2 中国药典,2005,二部:附录

(下转第24页)

膜, 研究沉积参数对膜的结构和性能的影响。结果表明, 增加沉积过程中  $N_2$  的分压, 薄膜的组成由  $Cr_2N$  相转变成  $CrN$  相, 膜的表面形貌也由胞状转化为正四面体, 而膜的硬度下降。增加沉积过程中样品台的负偏压, 有利于沉积的膜层更加致密, 表面更加平坦, 偏压在 -200V 时, 膜的硬度达到极大值。

### 参考文献

- 1 Rodríguez R. J., García J. A., Medrano A., et al., Tribological behaviour of hard coatings deposited by arc-evaporation PVD, Vacuum, 2002, 67: 559~566
- 2 Schell N., J. Petersen H., Böttiger J., et al., On the development of texture during growth of magnetron-sputtered  $CrN$ , Thin Solid Films, 2003, 426: 100~110
- 3 Barata A., Cunha L. and Moura C., Characterisation of chromium nitride films produced by PVD techniques, Thin Solid Films, 2001 398~399:501~506
- 4 Zenghu Han, Jiawan Tian, Qianxi Lai, et al., Effect of  $N_2$  partial pressure on the microstructure and mechanical properties of magnetron sputtered  $CrN_x$  films, Surface and Coatings Technology, 2003, 162: 189~193
- 5 Han S., Lin J. H., Wang G. H. et al., The effect of preferred orientation on the mechanical properties of chromium nitride coatings deposited on SKD 11 by unbalanced magnetron sputtering, Materials Letters, 2003, 57 :1202~1209
- 6 Mayrhofer P. H., Willmann H. and Mitterer C., Oxidation kinetics of sputtered  $Cr-N$  hard coatings, Surface and Coatings Technology, 2001, 146~147: 222~228
- 7 Lee M K, Kim W W, Kim J S, et al., Adhesion and wear properties of TiN films deposited on martensitic stainless steel and stellite by reactive magnetron sputter ion plating, Journal of Nuclear Materials, 1998, 254 :42~48

## The influence of deposition parameters on structure and property of $CrN_x$ magnetron sputtering coatings

Li Yongliang<sup>1</sup> Kim Sunkyu<sup>2</sup>

(1. Analytical and Testing Center, Beijing Normal University, Beijing 100875)

(2. School of Materials and Engineering, University of Ulsan, Ulsan, 680-749, South Korea)

**Abstract** In this paper, Chromium nitride ( $CrN_x$ ) coatings were deposited with reactive D.C. magnetron sputtering method. The effect of surface morphology and hardness on  $N_2$  partial pressure and bias voltage was investigated. The  $\beta-Cr_2N$  was found in the coatings when the gas flow ratio ( $Ar/N_2$ ) was 0.2. The cubic  $CrN$  can be observed in the coatings with increasing the gas flow ratio ( $Ar/N_2$ ) more than 0.5. The surface morphology becomes glazed with increasing the bias voltage to -200V.

**Key words** D.C. magnetron sputtering Chromium nitride ( $CrN_x$ ) Deposition parameters Structure and property

(上接第21页)

## RP-HPLC determination of content of (7-methoxy-3,4-dihydro-1-naphthyl) acetonitrile and its related substances

Zhang Hongxia Xu Lijun Huang Rongqing\* Xiao Bingkun Yang Jianyun

(Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Science, Beijing 100850)

**Abstract** Objective: A reversed phase high performance liquid chromatography method for the determination of content of (7-methoxy-3,4-dihydro-1-naphthyl) acetonitrile and its related substances. Methods: The analysis was performed on Diamonsil  $C_{18}$  reversed-phase analytical column (250mm  $\times$  4.6mm, 5 $\mu$ m); the mobile phase consisted of a mixture of methanol-water (68 : 32); The ultraviolet detection wavelength was set at 232nm. The flow rate was 0.8 mL/min. Results: (7-methoxy-3,4-dihydro-1-naphthyl) acetonitrile and its related substances could be separated well. The linearity of the (7-methoxy-3,4-dihydro-1-naphthyl) acetonitrile curve was well correlated ( $r=0.9998$ ) within the range of 40.48~161.92 $\mu$ g/mL. The instrument precision RSD was 0.94%; The method precision RSD was 1.3%; The detection limit was 4.9ng. Conclusions: The method appeared to be simple, accurate and reproducible; It can be used to control the quality of (7-methoxy-3,4-dihydro-1-naphthyl) acetonitrile.

**Key words** RP-HPLC (7-methoxy-3,4-dihydro-1-naphthyl) acetonitrile Assay Related substances 7-Methoxy-tetrahydro-naphthalene-1-ketone