

高效液相色谱法测定 7-甲氧基-1-萘满酮的含量

赵安东, 黄荣清, 肖炳坤, 杨建云

[摘要] 目的 建立了高效液相色谱法测定 7-甲氧基-1-萘满酮含量和有关物质检查的方法。方法 采用 Diamonsil C₁₈ (5 μ m, 4.6 mm $\times$ 250 mm) 色谱柱, 流动相为甲醇-水 (68:32), 流速: 1.0 ml/min, 检测波长: 222 nm。结果 在所选定的液相色谱条件下, 有关物质与 7-甲氧基-1-萘满酮完全分离。而且 7-甲氧基-1-萘满酮在 8~32 μ g/ml ($r = 0.9996$) 范围内线性关系良好, 最低检测限为 0.8 ng。结论 本法重复性和精密度良好, 可用于 7-甲氧基-1-萘满酮的含量测定和有关物质检查, 方法简便, 结果准确。

[关键词] 7-甲氧基-1-萘满酮; 含量测定; 有关物质; 高效液相色谱法

[中图分类号] R927.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1008-9926(2011)03-0248-03

[DOI] 10.3969/j.issn.1008-9926.2011.03.021

Determination of 7-methoxy-1-tetralone by High Performance Liquid Chromatography

ZHAO An-dong HUANG Rong-qing XIAO Bing-kun YANG Jian-yun

Institute of Radiation Medicine Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China

[Abstract] **Objective** To establish an high performance liquid chromatography method for the determination of 7-methoxy-1-tetralone and its related substances. **Methods** The analysis was carried out on a Diamonsil C₁₈ (5 μ m, 4.6 mm $\times$ 250 mm) column and a mobile phase of methanol-water (68:32). The flow rate was 1.0 ml/min, and the detection wavelength was set at 222 nm. **Results** 7-methoxy-1-tetralone and its related substances were completely separated within a linear range of 8-32 μ g/ml ($r = 0.9996$). The detection limit of 0.8 ng was obtained with related substances less than 1%. **Conclusion** This method is simple, accurate and reproducible, which can be used to determine 7-methoxy-1-tetralone.

[Key words] 7-methoxy-1-tetralone; quantitative determination; related substances; high performance liquid chromatography

中国是世界精细化工中间体的出口大国, 很有必要提高研发和生产中的分析检测水平。7-甲氧基-1-萘满酮是经常出口的药物中间体, 可以参与众多化学物质的合成, 也是一种新型抗抑郁药阿戈美拉汀^[1]的重要反应原料^[2]。化学合成 7-甲氧基-1-萘满酮过程中会带入少量副产物^[3]。因此, 其含量的准确测定, 对于优化反应条件, 保证产率至关重要。本文用高效液相色谱法对 7-甲氧基-1-萘满酮及其有关物质进行了检测, 旨在控制原料药的质量, 也为提高最终目标化合物的产率奠定基础。

1 仪器与试剂

Waters 高效液相色谱仪, 包括 Waters2695 泵、2996 型二极管阵列检测器、自动进样器、Empower 数据处理系统 (美国沃特世公司); BP211D 型电子分析天平 (Sartorius 德国赛多利斯公司); UV-2501PC 紫外分光光度计 (日本岛津制作所); 甲醇为色谱纯; 水为纯净水; 7-甲氧基-1-萘满酮对照品 (含量 > 99.5%, 批号: 20100226)、样品 (批号: 20100302 20100310 20100316 均由军事医学科学院放射与辐射医学研究所提供)。

2 方法^[4]与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Diamonsil C₁₈ (5 μ m, 4.6 mm $\times$ 250 mm); 流动相: 甲醇-水 (68:32); 流速: 1.0 ml/min; 紫外检测波长: 222 nm; 进样量: 20 μ l。

2.2 溶液的制备 (1) 对照品溶液 取 7-甲氧基-

基金基目: 国家科技重大专项“重大新药创新”综合性新药研究开发技术大平台, No. 2009ZX09301-002 国家自然科学基金项目, No. 81072613

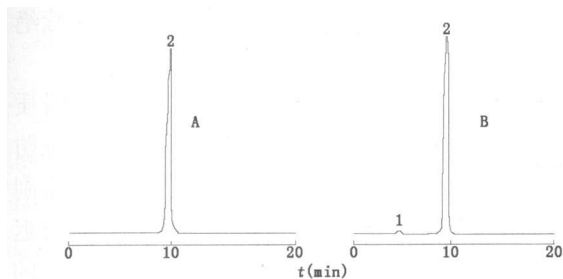
作者简介: 赵安东, 硕士研究生。研究方向: 新药质量标准。Tel: (010) 66930217; E-mail: zadwmm@sina.com

作者单位: 100850 北京, 军事医学科学院放射与辐射医学研究所

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

1-萘满酮对照品约 20 mg 精密称定,置 50 mL 的量瓶中,加流动相超声溶解并稀释至刻度,摇匀得对照品贮备液。再分别精密吸取适量配制成 8 12 16 20 24 28 32 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液。(2)供试品溶液分别称取 3 个批次的 7-甲氧基-1-萘满酮约 20 mg 精密称定,置 50 mL 的量瓶中,加流动相超声溶解并稀释至刻度,摇匀得供试品贮备液。再分别精密吸取适量配置成 16 20 24 $\mu\text{g/mL}$ 的 3 种供试品溶液。

2.3 专属性考察 在选定的色谱条件下,取对照品、供试品各 20 μL 进样,理论塔板数按 7-甲氧基-1-萘满酮计算为 7124 对称因子 1.038 杂质与 7-甲氧基-1-萘满酮分离度大于 1.5 可完全分离,主峰的保留时间在 10 min 左右,色谱行为良好。结果见图 1。表明该方法专属性良好。



A: 对照品; B 供试品; 1 有关物质; 2 7-甲氧基-1-萘满酮

图 1 7-甲氧基-1-萘满酮的高效液相色谱图

2.4 线性范围考察 取 2.2(1)项下已配好的 7 种对照品溶液各 20 μL 依 2.1 项下的色谱条件进样测定,记录色谱图。以 7-甲氧基-1-萘满酮峰面积 (Y) 为纵坐标,以溶液的浓度 (X) 为横坐标,作线性回归,得回归方程为:

$$Y = 195.84X - 137.9, r = 0.9996, n = 7$$

结果表明,7-甲氧基-1-萘满酮在 8~32 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性关系良好。

2.5 检测限和定量限 取 2.2(1)项下 20 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液适量,以流动相稀释至信噪比 (S/N) 为 3 作为检测限,以 S/N 为 10 作为定量限。依法测定 7-甲氧基-1-萘满酮的检测限为 0.8 ng 定量限为 5.0 ng

2.6 精密度试验 取 2.2(1)项下 20 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液适量,于 2.1 项下色谱条件下,进样 20 μL 连续进样 6 次,记录色谱峰面积。测定对照品 7-甲氧基-1-萘满酮含量的 RSD 为 0.18% ($n = 6$),结果表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验 取 2.2(2)项下 (批号: 20100302) 3 个浓度 (16 20 24 $\mu\text{g/mL}$) 的供试品溶液适量,在配制后的 2 4 6 8 10 h 各进样 20 μL 考

察日内精密度。结果 3 个浓度溶液峰面积的 RSD 分别为 0.4%, 0.6%, 0.2% ($n = 5$)。这 3 个浓度供试品溶液,分别连续 3 d 各进样 20 μL 考察日间精密度,结果 3 种溶液峰面积的 RSD 分别为 0.8%, 0.7%, 0.5% ($n = 3$)。结果表明,该方法的重复性良好,溶液在 3 d 内稳定。

2.8 回收率试验 取 7-甲氧基-1-萘满酮供试品 (批号为 20100302) 6 份,分别取 1 mg 精密称定,置 50 mL 的量瓶中,加入浓度为 1.01 mg/mL 的对照品溶液 1 mL 然后以流动相超声溶解并稀释至刻度。于选定色谱条件下进样 20 μL 。6 份供试品溶液均同法测定,按外标法计算。结果见表 1。

表 1 7-甲氧基-1-萘满酮回收率测定结果 ($n = 6$)

样品量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	$\bar{x}$ (%)	RSD (%)
1.02	1.01	2.07	103.96		
1.14	1.01	2.16	100.99		
1.09	1.01	2.12	101.98	101.98	1.74
1.16	1.01	2.20	102.97		
1.08	1.01	2.08	99.01		
1.13	1.01	2.17	102.97		

2.9 样品含量测定 取 2.2 项下的对照品和供试品溶液适量,各吸取 20 μL 进样,按外标法以峰面积进行定量。另取 2.2 项下的供试品贮备液,精密量取适量,用流动相稀释为其浓度的 1%,即得对照品溶液。以不加校正因子主成分自身对照法计算有关物质的含量。结果表明,3 批样品主峰含量均在 99.0% 以上,有关物质均在 1% 以下,见表 2。

表 2 含量测定结果 ($n = 3$)

批号	7-甲氧基-1-萘满酮 标示量 (%)	有关物质 标示量 (%)
20100302	99.17	0.72
20100310	99.26	0.55
20100316	99.23	0.45

3 讨论

3.1 色谱柱的考察 考察了 Diamonsil C₁₈ (5 μm , 4.6 mm $\times$ 250 mm) 和 Agilent Zorbax SB C₁₈ (5 μm , 4.6 mm $\times$ 250 mm) 两种色谱柱。在其他色谱条件相同的情况下,两种色谱柱均可将有关物质与 7-甲氧基-1-萘满酮完全分离, Diamonsil C₁₈ 主峰保留时间较 Agilent Zorbax SB C₁₈ 长约 3 min, 时间适中,主峰峰形更好,与有关物质分离度更大。

3.2 流动相的确立 试验了多种流动相系统, 其中甲醇-水 (68: 32) 系统的色谱峰对称性好, 供试品中有关物质峰与主峰完全分离, 无干扰。

3.3 吸收波长的确定 采用紫外分光光度计对供试品溶液进行了全光谱扫描, 7-甲氧基-1-萘满酮的最大吸收波长为 221.6 nm, 有关物质在 223.4 nm 和 248.5 nm 处有较强吸收。选择在 222 nm 测定, 组分均有较大吸收值, 且无溶剂干扰, 故选择 222 nm 为检测波长。采用二极管阵列检测器测定主峰纯度大于 99.9%, 表明主峰为单一峰, 在 210~400 nm 波长内扫描未漏检杂质峰。

该法灵敏度高, 重复性好, 结果准确, 可以控制

7-甲氧基-1-萘满酮的质量。

[参考文献]

- [1] 胡茂荣, 陈晋东, 李乐华, 等. 阿戈美拉汀: 一种新型抗抑郁药 [J]. 中国新药与临床杂志, 2009, 28(2): 81-85
- [2] 唐家邓, 岑均达. 阿戈美拉汀的合成 [J]. 中国医药工业杂志, 2008, 39(3): 161-162
- [3] 吴正铎, 黄冬梅. α -萘满酮的合成 [J]. 辽宁化工, 2001, 30(2): 91-92
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (二部) [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010 附录 194-195

(收稿日期: 2011-01-17; 修回日期: 2011-03-21)

(本文编辑 魏 萍)

(上接 220 页)

反映骨量的参数, 骨小梁厚度和单位面积骨小梁数目是反映骨结构的参数。本实验中, 模型组与对照组比较, 模型组的骨小梁面积百分率、骨小梁直径均有明显下降 ($P < 0.05$), 说明去除卵巢导致大鼠骨量减少。石斛低、高剂量组的单位面积内骨小梁面积百分比和骨小梁直径均有改善, 且对单位面积内骨小梁面积百分比的影响有剂量依赖性, 石斛高剂量组对骨小梁面积的增加比低剂量组作用更强。由此可以看出, 石斛能明显改善去卵巢大鼠骨质疏松症的骨组织形态学, 使骨量和骨结构明显改善, 可以阻止去卵巢大鼠骨量的进一步丢失和骨结构的进一步退化, 对去卵巢大鼠实验性骨质疏松有明显的改善和恢复作用。

血清 ALP 是成骨细胞的一种细胞外酶, 为骨质疏松症治疗和监测的一个有效手段。绝经后骨质疏松为高转换型, 血清 ALP 升高, 经治疗后 ALP 降低提示骨质疏松好转。骨源性 ALP 在总 ALP 中占较大比重 (40% ~ 75%)^[8], 故测定总 ALP 也可反映骨源性的变化。结果显示, 模型组大鼠 ALP 比对照组显著升高, 而石斛低、高剂量组大鼠 ALP 与模型组相比呈明显降低的趋势。实验结果能够反映石斛对骨代谢起到了一定的作用, 一定程度上改善了骨质疏松的病情。从结果中看到, 石斛高剂量组血钙和血清总蛋白水平显著比模型组和石斛低剂量组高, 提示石斛一定程度上影响了骨代谢。

中药的有效成分是天然存在的化合物, 在骨质疏松治疗上存在毒副作用小的优点, 成为新药开发的热点^[8]。骨质疏松症是气血阴阳俱虚, 以肾虚为主, 兼有脾气虚弱, 肝阴不足, 中医治疗骨质疏松症药物的使用频率依次为补阳药、补阴药、补气药、补

血药^[9]。如补肾中药骨康方具有提高血清雌二醇、血清 ALP, 血清 I 型前胶原羧基端前肽水平, 治疗绝经后骨质疏松的作用^[10]。

本实验初步证明石斛对去卵巢引起的大鼠骨质疏松症具有较好的疗效, 揭示它在骨质疏松的预防或治疗中起作用。石斛具有纯天然, 易于获得, 毒副作用小等优点, 能提高中老年妇女的生活质量、推迟衰老进程、延年益寿和节约医药费开支, 具有很好的开发前景。

[参考文献]

- [1] 章婷婷, 刚 君, 方小玲. 雌激素替代疗法的利与弊 [J]. 医学与哲学, 2006, 27(1): 46-47
- [2] 陈韶坤, 谢 芳. 中医药治疗原发性骨质疏松的研究进展 [J]. 河南中医, 2005, 25(2): 79-82
- [3] Wang X, Wu J, Chiba H, et al. Puerariae radix prevents bone loss in castrated male mice [J]. *Metabolism*, 2005, 54(11): 1536-1541
- [4] Muller JE, Kalkar NS, Leboff MS. Existing and emerging therapies for osteoporosis [J]. *Nature Clinical Practice Endocrinology & Metabolism*, 2006, 2: 670-680
- [5] 廖二元, 谭利华. 代谢性骨病学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003. 259-263
- [6] 鲍加荣, 杨继文, 李树峰, 等. 淫羊藿苷对去卵巢大鼠骨质疏松症的影响 [J]. 北京: 卫生研究, 2005, 34(2): 191-192
- [7] 殷 军, 王大为, 李发美, 等. 几种生药的提取部位对成骨样细胞的增殖作用 [J]. 沈阳药科大学学报, 2001, 8(4): 279-282
- [8] 曾炎辉, 张泽玫, 林永城, 等. 绝经后骨质疏松症患者骨代谢生化指标检测及淫羊藿作用初探 [J]. 国际医药卫生导报, 2005, 11(6): 24-26
- [9] 黄苏萍. 骨质疏松症中医药研究进展 [J]. 福建中医学院学报, 2006, 16(1): 67-69
- [10] 杨玉彬, 陈树清, 吕 音, 等. 中药对绝经后骨质疏松防治作用 [J]. 中山大学学报 (医学科学版), 2009, 30(4): 148-150

(收稿日期: 2011-02-23; 修回日期: 2011-04-08)

(本文编辑 金杨红)