

分析测试

卡培他滨的定性鉴别与定量测定

于 淼¹, 丁惠平¹, 赵 瑞^{1,2}, 李 涛², 任保增^{2*}

(1. 河南化工技师学院, 河南 开封 475000; 2. 郑州大学化工与能源学院, 河南 郑州 450001)

摘要:卡培他滨的定性鉴别与定量测定是保证该药安全、有效、质量可控的基础和前提。为了使卡培他滨定性鉴别与定量测定结果准确、可靠,建立了红外分光光度法、旋光度测定法、高效液相色谱法、X 射线衍射法、同步热分析法、有机氟化物的鉴别反应和化学分析滴定法等 7 种测定卡培他滨质量分数的方法,实现多角度、多层次方法验证,进而达到控制药品质量的目的。

关键词:卡培他滨;定性鉴别;定量测定

中图分类号:R927.11

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2018)10-0235-05

DOI:10.16606/j.cnki.issn 0253-4320.2018.10.053

Qualitative identification and quantitative determination of capecitabine

YU Miao¹, DING Hui-ping¹, ZHAO Rui^{1,2}, LI Tao², REN Bao-zeng^{2*}

(1. Henan Chemical Technician College, Kaifeng 475000, China;

2. School of Chemical Engineering and Energy, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: The qualitative identification and quantitative determination of capecitabine can ensure the product to meet prescribed standards of safety, efficiency and controllable quality. For the purposes of gaining accurate and reliable results from qualitative identification and quantitative determination of capecitabine, seven alternative determination methods for capecitabine are established, such as IR spectrophotometry, optical rotation, high performance liquid chromatography, X-ray diffraction, simultaneous thermal analysis, differential reaction of organic fluorides and chemical analysis titration. Through multi angle and multi-layer verification, the goal of controlling drug quality can be achieved.

Key words: capecitabine; qualitative identification; quantitative determination

卡培他滨(5'-脱氧-5-氟-N-[(戊氧基) 羰基]-胞嘧啶核苷, C₁₅H₂₂FN₃O₆, CAS: 154361-50-9) 为白色或类白色结晶粉末, 无臭, 易溶于低碳醇类^[1]、乙酸酯类和氯代烷烃类, 略溶于水, 其结构式如图 1 所示。卡培他滨具有靶向释放的优点^[2-4], 主要用于原发性或转移性结直肠癌、乳腺癌的治疗^[5]。

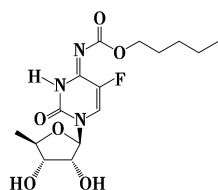


图 1 卡培他滨的分子结构
(分子质量为 359.35 g/mol)

卡培他滨定性鉴别与定量测定的研究是保证该药安全、有效、质量可控的基础和前提。2015 年版

《中国药典》尚未收载该药,也未见卡培他滨定性鉴别与定量测定的系统研究。为达到工业生产对卡培他滨质量控制的目的,笔者建立多个测试项目来多角度、多层次控制药品质量^[6-8],以期能全面考察该药质量并指导工业生产的质量控制和质量标准的制定。

1 实验仪器、材料和方法

1.1 仪器

傅里叶变换红外光谱仪, NICOLET iS50 型, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司生产; 旋光计, WZZ-2A 型, 上海化科实验器材有限公司生产; 高效液相色谱仪, Agilent 1100LC 型, 美国安捷伦公司生产; 粉末 X 射线衍射仪, D8 ADVANCE 型, 德国布鲁克 AXS 公司生产; 同步热分析仪, STA 409 PC 型, 德国耐驰公司生产; 酸式滴定管, 郑州玻璃仪器厂生产。

收稿日期: 2018-04-26; 修回日期: 2018-08-07

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(21646011)

作者简介: 于淼(1982-), 女, 硕士, 讲师, 研究方向为绿色化工, yumiaozr@163.com; 任保增(1962-), 男, 博士, 教授, 研究方向为溶液热力学, 通讯联系人, renbz@zzu.edu.cn。

1.2 材料

卡培他滨原料药,连云港贵科药业有限公司生产,批号 003160701,质量分数为 99.4%;卡培他滨对照品,中国食品药品检定研究院生产,批号 420018-201501,质量分数为 99.7%。其他试剂及其规格如表 1 所示。

表 1 试剂药品一览表

药品名称	级别及质量分数/%	生产厂家
溴化钾	光谱纯, ≥99.9	天津市科密欧化学试剂有限公司
甲醇	分析纯, ≥99.5	天津市风船化学试剂科技有限公司
甲醇	一级色谱纯, ≥99.9	天津市四友精细化学品有限公司
乙腈	一级色谱纯, ≥99.9	天津市四友精细化学品有限公司
冰乙酸	分析纯, ≥99.5	天津市风船化学试剂科技有限公司
硝酸亚铈	分析纯, ≥99	国药集团化学试剂有限公司
高氯酸	分析纯, 70.0~72.0	国药集团化学试剂有限公司
邻苯二甲酸氢钾	基准试剂, ≥99.5	天津市科密欧化学试剂有限公司
纯水	≥99.9	实验室自制

1.3 实验方法

1.3.1 红外分光光度法(IR spectrophotometry)

红外分光光度法用于化合物的鉴别、检查或含量测定,具有专属性和准确度^[9]。

供试品的制备与测定:卡培他滨供试品采用压片法进行测定。将 2 mg 卡培他滨样品混在 300 mg 溴化钾中压片并进行测定。光谱分辨率为 4 cm⁻¹。

供试品制备时,研磨程度的差异或吸水程度不

(上接第 234 页)

在进行变换流程选择时,要兼顾全厂能效及运行可靠性。三段绝热变换可以副产中压过热蒸汽作为动力蒸汽,但是流程长、占地多、系统阻力降大。两段等温变换虽然克服了上述三段绝热变换的缺点,但是由于其只能副产中压饱和蒸汽,适用于有中压饱和蒸汽用户的项目。如果没有合适的用户,只能减压至低压管网,造成能效的降低。相比而言,绝热+等温变换有效地整合了前 2 种流程的优点,具有更强的适用性。

另外,等温变换是近些年新推广的技术,等温变换炉尚缺乏大型化、长周期的运行业绩。粗煤气中腐蚀组分多,如开停车维护不当,等温变换炉内换热管存在腐蚀破裂风险,同时等温变换炉催化剂存在装卸难度大等问题,这些风险因素影响制约装置的

同等均会影响光谱的形状。因此,进行光谱比对时,应考虑各种因素可能造成的影响。鉴别时,卡培他滨对照品与样品实测谱带的波数误差应小于规定值的 ±5 cm⁻¹ (0.5%)。

1.3.2 旋光度测定法(Optical Rotation)

在一定波长与温度下,偏振光透过每 1 mL 含有 1 g 旋光性物质的溶液且光路为长 1 dm 时,测得的旋光度为比旋度。比旋度用于鉴别或检查光学活性药品的纯杂程度,亦可用于测定光学活性药品的质量分数。

待测液制备:精密称量卡培他滨,加甲醇溶解并定量稀释制成每 1 mL 中约含 10 mg 卡培他滨的溶液(1.0%)。

采用钠光谱的 D 线(589.3 nm)测定旋光度,测定管长度为 1 dm,测定温度为 20℃。待测液配制后 30 min 内应完成旋光度测定,测定时将测定管用供试液体冲洗数次,注入供试液体时应避免产生气泡。

1.3.3 高效液相色谱法(High-Pressure Liquid Chromatography, HPLC)

高效液相色谱法是采用高压输液泵将规定的流动相泵入装有填充剂的色谱柱,并对供试品进行分离测定。本研究中采用外标法计算供试品中卡培他滨含量。

色谱条件与操作参数:色谱柱为 25 cm×4.6 mm 不锈钢色谱柱,填充剂为粒径 5 μm 的十八烷基硅烷键合硅胶;柱温为 40℃;进样供试品温度为 5℃,进样量为 10 μL;检测器为紫外-可见光检测器,检测波长为 250 nm^[10]。

稳定运行和等温变换的技术推广。因此,需要继续优化等温变换炉的选材和结构,并建立起严格有效的开停车保护程序,保证变换装置“安、稳、长、满、优”运行,等温变换才能为越来越多的用户接受。

参考文献

- [1] 李庆勋,刘晓彤,刘克峰,等.大规模工业制氢工艺技术及其经济性比较[J].天然气化工:CI 化学与化工,2015,40(1):78-82.
- [2] 赵鹏飞,徐春华.煤制油配套变换技术方案的比选探讨[J].现代化工,2017,37(8):186-189.
- [3] 王照成,严义刚,李繁荣.耐硫变换技术及其在煤化工中的应用[J].化肥设计,2017,55(3):22-26.
- [4] 汪寿建.现代煤气化技术发展趋势及应用综述[J].化工进展,2016,35(3):653-664.
- [5] 戴厚良,何祚云.煤气化技术发展的现状和进展[J].石油炼制与化工,2014,45(4):1-7. ■

供试品溶液制备:稀释剂甲醇/乙腈/水的体积比为7/1/12;供试品溶液:精密称量适量卡培他滨样品,溶解于稀释剂中,制成0.6 mg/mL溶液;对照溶液:精密量取供试品溶液1 mL,置于100 mL量瓶中,用稀释剂稀释至刻度,摇匀,制成6 μg/mL的溶液。

流动相:对色谱柱内供试品的分离采用梯度洗脱法,梯度洗脱程序如表2所示。

表2 梯度洗脱表

时间/ min	w(甲醇)/ %(A)	w(乙腈)/ %(B)	w(0.1%冰 乙酸)/%(C)	流速/ (mL·min ⁻¹)	最大 压力/Pa
0.00	35.0	5.0	60.0	1.000	4×10 ⁷
5.00	35.0	5.0	60.0	1.000	4×10 ⁷
20.00	58.0	5.0	37.0	1.000	4×10 ⁷
30.00	58.0	5.0	37.0	1.000	4×10 ⁷
31.00	35.0	5.0	60.0	1.000	4×10 ⁷
40.00	35.0	5.0	60.0	1.000	4×10 ⁷

系统适用性试验:在上述测试条件下,卡培他滨的HPLC理论板数不低于1500;拖尾因子不大于1.5;分离度大于1.0;重复性要求主成分峰面积测量值的RSD不大于2.0%。

1.3.4 X射线衍射法(X-Ray Diffraction, XRD)

X射线衍射法是一种利用单色X射线光束照射到被测样品上,检测样品的三维立体结构或成分的分析方法,X射线衍射法具有专属性和准确度。X射线衍射法有单晶X射线衍射法和粉末X射线衍射法。本研究中卡培他滨的定性鉴别与定量分析采用粉末X射线衍射法。

为排除择优取向对实验结果的干扰,对卡培他滨样品增加研磨并过筛(100目)前处理步骤。使用Cu靶进行实验,卡培他滨试样铺板高度与板面平行,衍射数据收集的范围(2θ)为3.00~40.00°之间,步长为0.02°,步长时间为0.5 s。

1.3.5 同步热分析法(TGA/DSC simultaneous thermal analyzer)

同步热分析法是利用温度和时间的关系来测定待测物质物理/化学性质的变化。

约4~5 mg卡培他滨粉末置于盖上刺孔的瓷坩锅中,同样的空瓷坩锅作为参比。卡培他滨原料药样品在60 mL/min的氦气载气下,以5 K/min的升温速率,从303.15 K升温至433.15 K。同步热分析仪在测试前须经空白实验和标准物质标定。

1.3.6 一般鉴别试验(General Identification Test)

卡培他滨因分子结构中含有氟离子,故可对其进行鉴别试验。

有机氟化物中氟大多以化合形态存在,直接检测的难度很大,现有有机氟化物的鉴别与测试方法需要将有机氟转化为无机氟离子,进而进行分析测试。

有机氟转化为无机氟的方法有3种:氧瓶燃烧法^[9,11-12]、马弗炉燃烧法、仪器法灰化^[13-14]。本研究中采用马弗炉燃烧法。

无机氟含量检测技术主要分2大类:化学分析法和仪器分析法。化学分析法常用的有3种:一种是无机氟离子与硝酸钍反应,茜素磺酸钠为指示剂;另一种是硝酸镧与无机氟离子反应,以苏木精为指示剂;第3种是无机氟离子与硝酸亚铈反应,以茜素氟蓝为指示剂。用于氟含量测定的仪器分析法主要有分光光度法、原子吸收光谱法、电感耦合等离子体法-质谱法等^[15]。本研究中采用第3种化学分析法。

1.3.7 化学分析滴定法测定卡培他滨含量(Nonaqueous Titration)

由卡培他滨分子结构可知,其分子中含有胺基结构,可以与高氯酸发生反应,用于测定卡培他滨含量^[16]。反应方程式如图2所示。

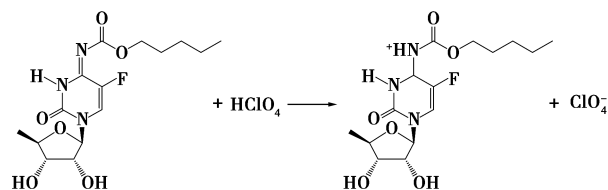


图2 化学滴定法测定卡培他滨含量反应方程式

分析滴定步骤为:①精密称取卡培他滨样品0.26 g,加入100倍质量的冰乙酸纯溶剂中溶解(相当于25 mL冰乙酸);②滴加0.05~0.10 mL(约1~2滴)结晶紫指示剂;③用0.1 mol/L的高氯酸滴定液滴定,连续滴定5次,空白实验校正5次;④计算卡培他滨样品含量并计算平均值,得样品中卡培他滨质量分数:

$$\text{质量分数}(\%) =$$

$$0.3594 \times C \times [(V - V_0)/m] \times 100\% \quad (1)$$

式中:C为高氯酸浓度,mol/L;V为滴定试样消耗高氯酸体积,mL;V₀为滴定空白消耗高氯酸体积,mL;M为卡培他滨试样质量,g。

2 实验结果与讨论

2.1 卡培他滨定性鉴别与定量测定

卡培他滨定性鉴别与定量测定结果如表 3 所示。

表 3 卡培他滨定性鉴别与定量测定结果

序号	性状	比旋度	质量分数/% (HPLC 法)	质量分数/% (滴定法)	有机氟 鉴别试验
1	白色结晶粉末	+97.8°	99.31	99.48	显
2	白色结晶粉末	+98.5°	99.52	99.62	显
3	白色结晶粉末	+98.5°	99.50	99.55	显
4	白色结晶粉末	+98.6°	99.47	99.60	显
5	白色结晶粉末	+99.2°	99.62	99.51	显
			99.48	99.55	

由表 3 可以看出,卡培他滨为白色或类白色结晶粉末,20℃下在 1.0%(W/V)甲醇溶液中的比旋度在+96°~+100°范围内,符合美国药典 USP37 和印度药典 IP2010 要求。通过有机氟化物鉴别反应可知,在被分析物质结构中含有氟。在供试品卡培他滨质量分数的测定中,HPLC 法和化学滴定法均能满足准确度、精密度和线性的要求,RSD 分别为 0.08 和 0.05。在供试品卡培他滨质量分数测定中,HPLC 法虽专属性较强,但操作较复杂,2 种方法结合能起到互相补充的作用。

2.2 红外谱图

卡培他滨对照品和原料药的红外谱图如图 3 所示。

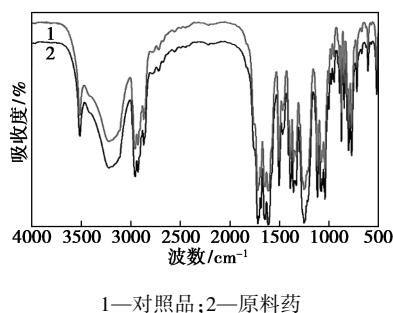


图 3 卡培他滨对照品与原料药的红外谱图

由图 3 可以看出,在 4 000~400 cm^{-1} 波数范围内卡培他滨对照品与样品实测谱带的波数误差小于 $\pm 5 \text{ cm}^{-1}$ (0.5%)。表明原料药和对照品结构相同,且前述拟定的红外谱图测试条件合适。

2.3 HPLC 谱图

卡培他滨对照品和原料药的高效液相色谱谱图

如图 4 所示。

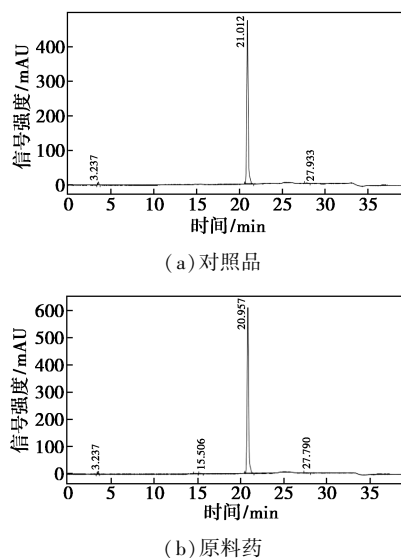


图 4 卡培他滨对照品和原料药高效液相色谱图

由图 4 可以看出,在建立的色谱条件下,卡培他滨原料药和对照品的主峰保留时间一致,因此,可作为卡培他滨定性鉴别的专属方法。

在上述建立的测试条件下,卡培他滨的 HPLC 理论板数 $n \geq 6\ 000$,拖尾因子不大于 1.5,分离度大于 1.0,满足高效液相色谱系统适用性试验要求。

2.4 粉末 X 射线衍射谱图

卡培他滨对照品(RS)和原料药(API)的粉末 X 射线衍射谱图如图 5、图 6 所示。

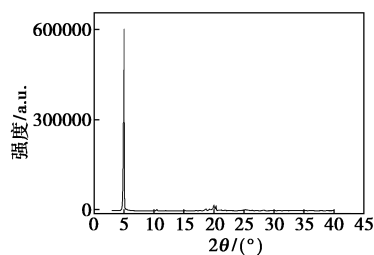


图 5 卡培他滨对照品 X 射线衍射谱图

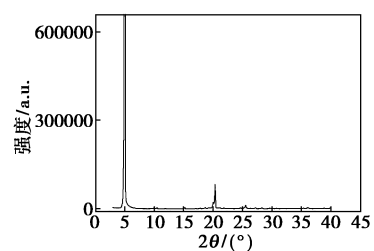


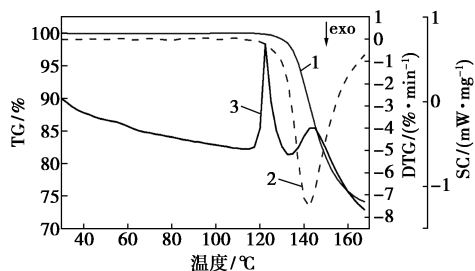
图 6 卡培他滨原料药 X 射线衍射谱图

由图 5 和图 6 可以看出,为增加粉末 X 射线衍射法的专属性,卡培他滨的特征衍射峰可确定 12 个, 2θ 数据分别为 $(5.0 \pm 0.2)^\circ$ 、 $(10.5 \pm 0.2)^\circ$ 、

(15.2±0.2)°、(17.1±0.2)°、(17.8±0.2)°、(18.7±0.2)°、(19.3±0.2)°、(20.0±0.2)°、(20.3±0.2)°、(21.2±0.2)°、(21.9±0.2)°和(28.4±0.2)°。

2.5 同步热分析谱图

卡培他滨原料药的同步热分析谱图如图7所示。



1—TG 热失重曲线;2—DTG 热失重速率曲线;
3—DSC 差示扫描量热曲线

图7 卡培他滨原料药的同步热分析谱图

由图7可以看出,卡培他滨在131.0°C热分解之前有1个明显的吸热峰,其起始温度为119.9°C,说明卡培他滨在热分解之前先吸热熔化。实验分析测定卡培他滨的熔融焓为27.19 kJ/mol,熔点为119.9°C。

3 结论

通过建立红外分光光度法、旋光度测定法、高效液相色谱法等7种方法对卡培他滨进行定性鉴别与定量测定。通过卡培他滨对照品和原料药的红外谱图、粉末X射线衍射谱图、HPLC主峰保留时间、同步热分析谱图及是否显示有机氟化物反应等判定被分析物是目标化合物。其中卡培他滨对照品和原料药的红外谱图、粉末X射线衍射谱图、HPLC主峰保留时间3种定性鉴别方法具有较强的专属性和准确度。在定性鉴别的基础上,通过高效液相色谱法和化学分析滴定法测定了被分析物中卡培他滨的质量分数。结果表明,供试品中卡培他滨的质量分数在设计的测定范围内能够达到准确度、精密度和线性的要求。在测定供试品中卡培他滨的质量分数时,高效液相色谱法具有较强的专属性,但若同时采用高效液相色谱法和化学分析滴定法,可加强卡培他滨质量分数测定的整体专属性,起到相互补充的作用。

参考文献

[1] Zhao R, Yu M, Zhang P, *et al.* Solubility and dissolution characteris-

tics of capecitabine in pure lower alcohols and water with methanol mixture solvents at atmospheric pressure and different temperatures [J]. *Fluid Phase Equilibria*, 2018, 460: 23-35.

- [2] Miwa M, Ura M, Nishida M, *et al.* Design of a novel oral fluoropyrimidine carbamate, capecitabine, which generates 5-fluorouracil selectively in tumours by enzymes concentrated in human liver and cancer tissue [J]. *European Journal of Cancer*, 1998, 34(8): 1274-1281.
- [3] Prel Budman D R, Meropol N J, Reigner B, *et al.* Preliminary studies of a novel oral fluoropyrimidine carbamate; Capecitabine [J]. *J Clin Oncol*, 1998, 16: 1795-1802.
- [4] Schuller J, Cassidy J, Dumont E, *et al.* Preferential activation of capecitabine in tumor following oral administration to colorectal cancer patients [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2000, 45: 291-297.
- [5] FDA. XELODA (capecitabine) tablets, for oral use [EB/OL]. (2015-03-24). http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2015/020896s0371bl.pdf.
- [6] 国家食品药品监督管理局. 化学药物质量控制分析方法验证技术指导原则 [EB/OL]. (2005-03-18). <http://samr.cfda.gov.cn/WS01/CL1616/83418.html>
- [7] FDA. Guidance for industry analytical procedures and methods validation, chemistry, manufacturing, and controls documentation (Draft) [EB/OL]. (2000-08). www.fda.gov/cber/guidelines.htm.
- [8] FDA. Analytical procedures and methods validation for drugs and biologics, guidance for industry [EB/OL]. (2015-07). www.fda.gov/cber/guidelines.htm.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(10版四部) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
- [10] The United States Pharmacopoeia Convention. United States pharmacopoeia 37 ed. [S]. Rockville: United Book Press, 2014-05-01: 2104-2105.
- [11] Borda P. Determination of Sulphur in organometallic compounds by the oxygen flask method [J]. *Anal Chim Acta*, 1987, 196: 355-357.
- [12] Geng Wenhua, Tsunenori Nakajima, Hirokazu Takanashi, *et al.* Determination of total fluorine in coal by use of oxygen flask combustion method with catalyst [J]. *Fuel*, 2007, 86: 715-721.
- [13] Éder Lisandro de Moraes Flores, Juliano Smanioto Barin, Érico Marlon de Moraes Flores, *et al.* A new approach for fluorine determination by solid sampling graphite furnace molecular absorption spectrometry [J]. *Spectrochimica Acta part B*, 2007, 62: 918-923.
- [14] 陈剑刚, 吕妹清, 阮永道. 血清总氟的石墨炉分子吸收光谱法研究 [J]. *中国卫生检验杂志*, 1999, 5: 336-338.
- [15] 陈红梅. 有机氟含量测试技术研究进展 [J]. *有机氟工业*, 2009, 2: 53-59.
- [16] 杨国英. 一种非水滴定法测定卡培他滨含量的分析方法: 中国, CN102353674A [P]. 2012-02-15. ■