

RP-HPLC法测定卡博替尼原料药中卡博替尼的含量

徐伟*,詹长娟#,王华,王翼,郭琪(南京理工大学泰州科技学院环境与制药工程学院,江苏泰州225300)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)12-1696-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.12.31

摘要 目的:建立测定卡博替尼原料药中卡博替尼含量的方法。方法:采用反相高效液相色谱法。色谱柱为Inertsil ODS-SP C₁₈,流动相为乙腈-0.02 mol/L 乙酸铵缓冲溶液(pH 5.2)(52:48, V/V),流速为1.0 mL/min,检测波长为241 nm,柱温为38 ℃,进样量为20 μL。结果:卡博替尼检测质量浓度线性范围为9.88~49.40 μg/mL($r=0.9999$);定量限为11.46 ng,检测限为3.36 ng;精密、稳定性、重复性试验的RSD<2.0%;加样回收率为98.5~101.7%(RSD=1.2%, $n=9$)。结论:该方法操作简便、结果准确,可用于卡博替尼原料药中卡博替尼的含量测定。

关键词 卡博替尼;反相高效液相色谱法;含量测定

Content Determination of Cabozantinib in Its Raw Material by RP-HPLC

XU Wei, ZHAN Changjuan, WANG Hua, WANG Yi, GUO Qi (School of Environmental and Pharmaceutical Engineering, Taizhou Institute of Sci. & Tech., Nanjing University of Science & Technology, Jiangsu Taizhou 225300, China)

数据来进行准确判定。但该模式需样品提供足够浓度来保证二级子离子全扫描图的完整性,而样品浓度过高会使得进样针、定量环甚至样品注射器中存在样品残留,进而可能导致后续样品出现假阳性现象。

笔者采用MRM联合IDA和EPI的扫描方式,在IDA-EPI模式下,当MRM获得的信号强度超过阈值后,机器开始启动普通三重四级杆(QQQ)与线性离子阱(Trap)模式的高频切换,在Trap模式下,Q3除具备测定碎片离子的功能外,还可同时对碎片离子进行富集,因此能在更低的样品浓度条件下采集更为完整的二级子离子全扫描图。将样品的二级子离子全扫描图谱与对照品图谱进行比对后可对样品进行定性判断,从而进一步减少复杂基质造成的影响;同时因可使用更低的样品浓度,在样品配制时能增加稀释倍数以避免样品残留,减少样品浓度过大而造成的假阳性现象。

参考文献

- [1] 鲁艺,韩东岐,黎雪清,等.安神类和抗风湿类中药和保健食品中非法添加化学成分的案例分析[J].中国药事,2015,29(8):775-781.
- [2] 倪晓霓.中成药非法添加化学成分的现状及对策[J].药学研究,2014,33(3):172-175.
- [3] 符江,荆文光,章军,等.中药中非法添加问题研究现状与分析[J].中草药,2014,45(3):437-442.
- [4] 刘伟,蔡喜生,谷波,等.保健品中违法添加化学药品分析[J].临床医药文献电子杂志,2015(29):6136-6137.

- [5] 阳怡,自兆平.合理应用糖皮质激素类药物分析[J].中外医学研究,2015,13(15):152-154.
- [6] 苏健.薄层色谱法检测抗风湿类中成药中解热镇痛非甾体抗炎药的非法添加[J].云南中医中药杂志,2014,35(5):74-74.
- [7] 池浩波,张梦虹,李国毅,等.抗风湿类中成药和保健食品中非法添加双氯芬酸钠快速筛查方法研究[J].中成药,2011,33(6):1084-1086.
- [8] 黄萍,凌霄.HPLC-MS/MS法测定抗风湿中药制剂中糖皮质激素类化学药[J].中国药师,2009,12(47):138-140.
- [9] 黎雪清,谭渺,蒋创杰,等.HPLC法快速筛查抗风湿类中成药和保健食品中24种非法添加化学成分[J].中成药,2014,36(9):1891-1894.
- [10] 来国防,程宾.LC-MS法测定抗风湿类中药非法添加化学药物成分[J].中国药师,2010,13(4):453-455.
- [11] 宋宁宁,张科明,刘向红,等.QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法快速测定凉茶中非法添加的12种化学物质[J].色谱,2015,33(10):1026-1031.
- [12] 陈日檬,柯春文,万晓明,等.高效液相色谱-质谱联用法检测抗鼻炎喷剂中非法添加盐酸萘甲唑林[J].中国药业,2015,24(13):33-34.
- [13] 蒋丽萍,涂婕红,徐宏祥,等.UPLC-MS/MS法测定抗疲劳类保健食品中非法添加的9中壮阳类化学药物[J].中草药,2015,46(15):2238-2245.
- [14] 王海东,程聪,高山,等.超高效液相色谱-串联质谱法快速测定人血浆中氯吡格雷及其代谢物浓度[J].中国新药与临床杂志,2015,34(12):955-961.

* 讲师,硕士。研究方向:药物化学。电话:0523-86150675。
E-mail:541175674@qq.com

通信作者:讲师,硕士。研究方向:药物分析。E-mail:
Jenny_yz@sina.com

(收稿日期:2016-05-07 修回日期:2016-08-21)

(编辑:张静)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of cabozantinib in its raw material. METHODS: RP-HPLC method was adopted. The determination was performed on Inertsil ODS-SP C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.02 mol/L ammonium acetate buffer (pH 5.2, 52:48, V/V) at the flow rate of 1.0 mL/min. Detection wavelength was set at 241 nm, the column temperature was 38 °C, and sample size was 20 μL. RESULTS: The linear range of cabozantinib were 9.88-49.40 μg/mL ($r=0.9999$). The limit of quantitation was 11.46 ng, and the limit of detection was 3.36 ng. The RSDs of precision, stability, repeatability tests were all lower than 2.0%; recoveries were 98.5%-101.7% (RSD=1.2%, $n=9$). CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and suitable for the content determination of cabozantinib in its raw material.

KEYWORDS Cabozantinib; RP-HPLC; Content determination

卡博替尼(Cabozantinib)是一种多靶点分子靶向药物,具有显著的抗癌活性,可用于治疗甲状腺髓样癌(Medullary thyroid carcinoma, MTC),开创了MTC靶向治疗的新时代^[1-2]。该药于2012年11月由FDA批准上市,用于不可手术切除的恶性局部晚期或转移性MTC的治疗^[3-4]。临床试验已证实,其在治疗MTC时具有快速、明确且显著的临床疗效和安全性,其为进展性、转移性MTC患者带来了希望,具有良好的应用前景^[5-7]。但目前尚未见测定卡博替尼原料药中卡博替尼含量的报道。因此,笔者采用反相高效液相色谱法(RP-HPLC)建立了测定卡博替尼原料药中卡博替尼的含量,以期为卡博替尼原料药的质量控制提供参考。

1 材料

1.1 仪器

LC-20AT型HPLC仪,包括UV-2450紫外分光光度计、SPD-20A检测器、CTO-10AS VP柱温箱、LC-20AT AB泵、DGU-20A3在线脱气机(日本Shimadzu公司);MJF-300型超声波清洗机(无锡市美极超声波清洗机设备公司,功率:300 W,频率:40 kHz);MP511型实验室pH计(上海精密仪器仪表有限公司)。

1.2 药品与试剂

卡博替尼原料药(南京理工大学泰州科技学院环境与制药工程学院实验室自制,批号:20150101、20150102、20150103);卡博替尼对照品(南京理工大学泰州科技学院环境与制药工程学院实验室自制,批号:20141220,纯度:98.8%);乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为娃哈哈纯净水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Inertsil ODS-SP C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.02 mol/L乙酸铵缓冲溶液(pH 5.2)(52:48, V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长:241 nm;柱温:38 °C;进样量:20 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 取卡博替尼对照品约50 mg,精密称定,置于500 mL量瓶中,加乙腈定容,称定质量,超声处理10 min使其溶解,放冷,再次称定质量,用乙腈补足减失的质量,摇匀,即得对照品贮备液。取上述对照品贮备液1 mL,置于10 mL量瓶中,加流动相定容,摇匀,

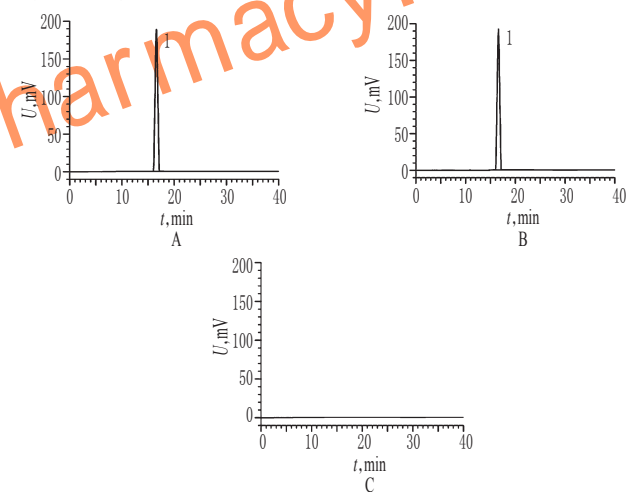
即得。

2.2.2 供试品溶液 取样品约50 mg,精密称定,置于500 mL量瓶中,加乙腈定容,称定质量,超声处理10 min使其溶解,放冷,再次称定质量,用乙腈补足减失的质量,摇匀,即得供试品贮备液。取上述供试品贮备液1 mL,置于10 mL量瓶中,加乙腈定容,摇匀,即得。

2.2.3 空白溶液 取流动相适量作为空白溶液。

2.3 系统适用性试验

精密量取“2.2”项下对照品溶液、供试品溶液和空白溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图1。由图1可知,在该色谱条件下,各成分均能达到基线分离,分离度>1.5;理论板数以卡博替尼峰计为13 698,保留时间为16.6 min。结果表明,其他成分对测定无干扰。



A. 对照品; B. 供试品; C. 空白; 1. 卡博替尼

A. substance control; B. test sample; C. blank solvent; 1. cabozantinib

图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

2.4 线性关系考察

精密量取“2.2.1”项下对照品贮备液1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL,分别置于10 mL量瓶中,加乙腈定容,摇匀,即得系列对照品溶液。取上述系列对照品溶液各20 μL,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以卡博替尼质量浓度($x, \mu\text{g/mL}$)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得卡博替尼回归方程为 $y=1.319 \times 10^8 x + 4.126 \times 10^3$ ($r=0.9999$)。结果表明,卡博替尼检测质量浓度线性范围为9.88~49.40 μg/mL。

2.5 定量限与检测限考察

取“2.2.1”项下对照品溶液适量,倍比稀释,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。当信噪比为10:1时,得定量限(LOQ);当信噪比为3:1时,得检测限(LOD)。结果,卡博替尼的LOQ为11.46 ng, LOD为3.36 ng。

2.6 精密度试验

取“2.2.1”项下对照品溶液20 μL ,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,卡博替尼峰面积的RSD=1.7% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液(批号:20150101)适量,分别于室温下放置0、2、4、6、8 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,卡博替尼峰面积的RSD=1.4% ($n=5$),表明供试品溶液在室温放置8 h内稳定性良好。

2.8 重复性试验

取样品(批号:20150101)适量,共6份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算样品含量。结果,卡博替尼的平均含量为97.8%, RSD=1.4% ($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.9 加样回收率试验

取样品(批号:20150101)约10 mg,共9份,分别置于100 mL量瓶中,加入低、中、高质量的卡博替尼对照品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果($n=9$)

Tab 1 Result of recovery test($n=9$)

取样量, mg	样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
10.34	10.12	8.05	18.30	101.6		
10.27	10.05	8.16	18.14	99.1		
10.46	10.24	8.23	18.38	98.9		
10.34	10.12	10.25	20.51	101.4		
10.66	10.44	10.33	20.74	99.7	100.0	1.2
10.56	10.34	10.05	20.56	101.7		
10.28	10.06	12.24	22.20	99.2		
10.38	10.16	12.15	22.31	100.0		
10.58	10.36	12.32	22.49	98.5		

2.10 样品含量测定

取3批样品(批号:20150101、20150102、20150103)各适量,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算卡博替尼的含量。结果,3批样品中卡博替尼的含量分别为97.9%、98.3%、98.6% ($n=3$)。

3 讨论

笔者曾考察乙腈-水、乙腈-0.02 mol/L 乙酸铵缓冲溶液(pH5.2)作为本研究的流动相对色谱峰分离的影响。结果,当乙腈-水为流动相时,调节流动相的比例,各色谱峰分离均不理想;当乙腈-0.02 mol/L 乙酸铵缓冲溶液(pH5.2)为流动相时,乙腈与0.02 mol/L 乙酸铵缓冲溶液体积比在45:55~45:55之间时各色谱峰均可达到基线分离,且乙腈比例越高,保留时间越小,因此选择乙腈-0.02 mol/L 乙酸铵缓冲溶液(pH5.2)(52:48, V/V)为本试验的流动相。

综上所述,本方法操作简便、结果准确,可用于卡博替尼原料药中卡博替尼的含量测定。

参考文献

- [1] Bowles DW, Kessler ER, Jimeno A. Multitargeted tyrosine kinase inhibitors in clinical development: focus on XL-184 (cabozantinib) [J]. *Drugs Today: Barc*, 2011, 47(11):857-868.
- [2] 张秀颖,刘尧,白秋江,等.新型分子靶向抗癌药物卡博替尼[J]. *医药导报*, 2013, 32(11):1468-1470.
- [3] 夏训明.美国FDA批准Cometriq (cabozantinib)治疗甲状腺髓样癌[J]. *广东药学院学报*, 2012, 28(6):627.
- [4] 陈惠玲,张志叶,杨彦彪.治疗转移性甲状腺髓样癌的新药: Cabozantinib[J]. *中国药房*, 2014, 25(29): 2766-2769.
- [5] 郑希元,姜汉杰,蒲小平.抗甲状腺髓样癌新药卡博替尼[J]. *中国新药杂志*, 2013, 22(17):1990-1993.
- [6] 吕娟丽,刘洋,孙慧萍.甲状腺髓样癌治疗新药 Cabozantinib 苹果酸盐[J]. *中国临床药理学杂志*, 2014, 23(1): 28-62.
- [7] 赵锐,张喜全,孟庆义.以c-Met为靶点的小分子酪氨酸激酶抑制剂的研究进展[J]. *药物与临床研究*, 2012, 20(6):519-522.

(收稿日期:2016-04-30 修回日期:2017-01-12)

(编辑:刘柳)

《中国药房》杂志——《化学文摘》(CA)收录期刊,欢迎投稿、订阅