

HPLC 法测定依维莫司原料药中依维莫司

孙莉君¹, 沈海梅², 马海霞¹, 董大伟¹, 王越¹, 杨静¹

1. 大庆市人民医院, 黑龙江 大庆 163316

2. 哈尔滨莱博通药业有限公司, 黑龙江 哈尔滨 150025

摘要: 目的 建立 HPLC 法测定依维莫司原料药中依维莫司。方法 采用 Hypersil-ODS C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水 (70:30); 检测波长: 276 nm; 柱温: 50 °C; 体积流量: 0.8 mL/min; 进样量: 10 μL。结果 依维莫司在 63~1 008 μg/mL 线性关系良好 ($r=0.9997$), 平均回收率为 100.45%, RSD 值为 0.64% ($n=9$)。结论 所建立的操作简便, 专属性强, 可用于依维莫司原料药的质量控制。

关键词: 依维莫司原料药; 依维莫司; 高效液相色谱

中图分类号: R927.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2015)06-0663-03

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2015.06.012

Determination of everolimus in everolimus active pharmaceutical ingredient by HPLC

SUN Li-jun¹, SHEN Hai-mei², MA Hai-xia¹, DONG Da-wei¹, WANG Yue¹, YANG Jing¹

1. Department of Pharmacy, Daqing People's Hospital, Daqing 163316, China

2. Harbin Laiboten Pharmaceutical Co., Ltd, Harbin 150025, China

Abstract: Objective To establish an HPLC method for determination of everolimus in everolimus active pharmaceutical ingredient.

Methods The separation was performed on a Hypersil-ODS C₁₈ column with acetonitrile - water (70:30) as mobile phases. The detection wavelength was set at 276 nm. The column temperature was 50 °C. The flow rate was 0.8 mL/min with injection volume of 10 μL. **Results** Everolimus had good linearity in the ranges of 63 — 1 008 μg/mL ($r=0.9997$). The average recovery was 100.45% with RSD 0.64% ($n=9$). **Conclusion** The method is simple and specific, and can be used effectively for quality control of everolimus active pharmaceutical ingredient.

Key words: everolimus active pharmaceutical ingredient; everolimus; HPLC

依维莫司是免疫抑制剂西罗莫司 C₄₂ 位丙酸酯类衍生物, 结构式见图 1。由诺华公司研发, 临床上主要用于预防心脏移植和肾移植手术后的排异反应^[1]。依维莫司也是一种 mTOR 激酶抑制剂, 可阻断细胞周期从 G1 期到 S 期进程, 导致癌细胞死亡, 2009 年 FDA 批准其用于治疗使用舒尼替尼或索拉非尼无效的晚期肾癌^[2]。另外依维莫司还具有抑制血管内皮细胞增殖的作用, 用作药物支架的涂层药物可防止冠状动脉支架植入后血管再狭窄^[3]。本实验建立反相高效液相色谱法测定依维莫司原料药中依维莫司, 该方法操作简便, 专属性强, 为依维莫司原料药的质量控制提供了准确可行的分析方法。

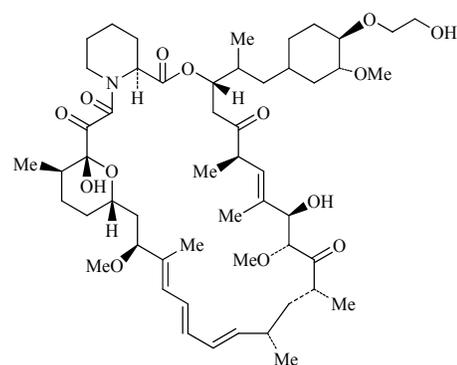


图 1 依维莫司的结构式
Fig. 1 Structure of everolimus

收稿日期: 2015-02-28

作者简介: 孙莉君, 女, 主管药师, 研究方向为医院药学、药品检验。Tel: (0459)6612281 E-mail: sunlijun993@163.com

1 材料

1.1 仪器

Agilent 1260 高效液相色谱仪, Agilent 色谱工作站; CPA225D 型电子天平 (北京赛多利斯仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

依维莫司原料药 (武汉贝尔卡生物医药有限公司), 依维莫司对照品 (质量分数 99%, Aladdin), 甲醇 (色谱纯, Fisher 公司)、乙腈 (色谱纯, Fisher 公司), 其他试剂均为分析纯, 水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Hypersil-ODS C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水 (70:30); 检测波长: 276 nm; 柱温: 50 °C; 体积流量: 0.8 mL/min; 进样量: 10 μL。

2.2 溶液的配制

取依维莫司原料药 10 mg, 精密称定, 置于 10 mL 量瓶中, 用流动相乙腈-水 (70:30) 溶解并加至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。取依维莫司对照品 10 mg, 精密称定, 置于 10 mL 量瓶中, 用流动相乙腈-水 (70:30) 溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得对照品溶液。

2.3 专属性试验

取供试品溶液适量, 分别经 2 mol/mL 硫酸溶液 (室温放置 1 h)、2 mol/L 氢氧化钠溶液 (室温放置 1 h)、10% 过氧化氢溶液 (室温放置 1 h)、80 °C 高温 1 h 进行破坏。精密量取上述溶液分别注入色谱仪, 记录色谱图。结果表明, 依维莫司经酸、碱、氧化、高温破坏, 所产生的降解产物与主成分均能完全分离, 不干扰依维莫司的测定。色谱图见图 2。

2.4 线性关系

称取依维莫司对照品 10 mg, 精密称定, 置于 10 mL 量瓶中, 用流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀后作为标准贮备液。分别精密量取储备液 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、5.0 mL, 置 10 mL 量瓶中, 并用流动相稀释至刻度。进样测定, 记录色谱图。以质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 进行线性拟合, 得回归方程为 $Y=32.123 X+183.27$, $r=0.999 7$, 结果表明, 依维莫司在 63~1 008 μg/mL 线性关系良好。

2.5 精密度试验

取批号 140528 依维莫司样品, 制备供试品溶

液, 精密量取 20 μL, 重复进样 6 次, 结果依维莫司峰面积的 RSD 值为 0.7%。

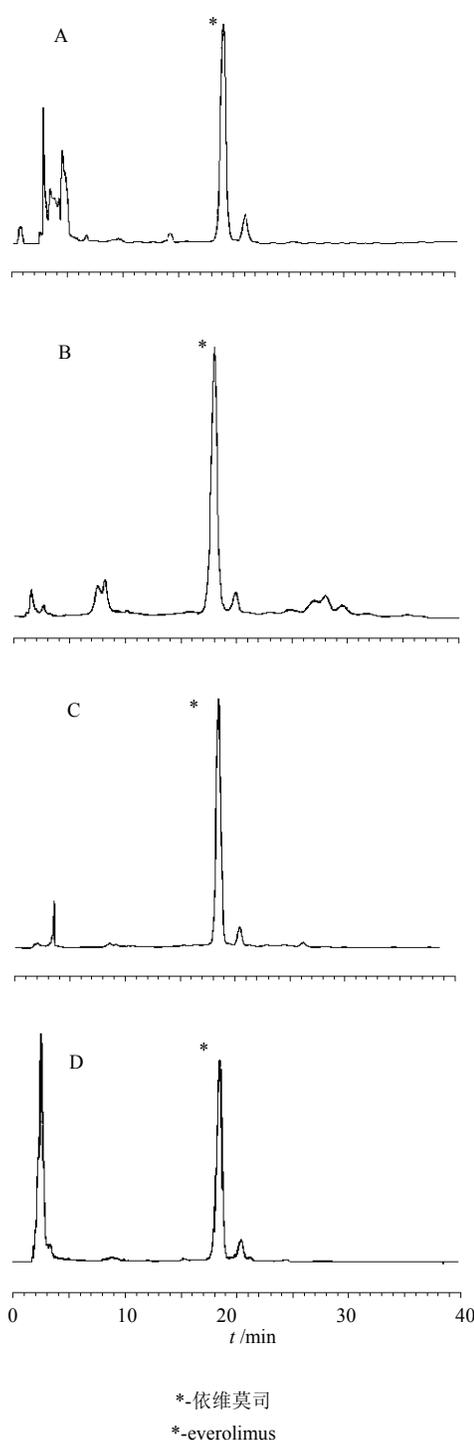


图2 酸破坏试验(A)、碱破坏试验(B)、氧化破坏试验(C)和高温破坏试验(D)的HPLC图谱

Fig. 2 HPLC chromatograms of destroyed by acid (A), destroyed by alkali (B), destroyed by oxidation (C), and destroyed by heating (D)

2.6 稳定性试验

取批号 140528 依维莫司样品适量, 制备供试品溶液, 于室温 (20~25 °C) 下放置, 分别于 0、2、4、6、8、10 h 分别进样测定, 记录主峰面积, 结果依维莫司峰面积的 RSD 值为 0.52%, 说明供试品溶液在 10 h 内稳定性良好。

2.7 重复性试验

取批号 140528 依维莫司样品 6 份, 制备供试品溶液, 分别进样测定, 记录峰面积, 计算依维莫司的质量分数, 结果其 RSD 值为 0.58%。

2.8 回收率试验

精密称取批号 140528 依维莫司样品 40 mg, 置于 100 mL 量瓶中, 共 9 份, 分别加入依维莫司对照品 32.03、39.95、45.77 mg, 制备供试品溶液, 进样测定, 计算回收率, 结果平均回收率为 100.45%, RSD 值为 0.64% (n=9)。

2.9 样品测定

取依维莫司原料药约 10 mg, 精密称定, 置于 10 mL 量瓶中, 加流动相溶解, 并稀释至刻度, 摇匀。再精密量取 2 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀。取上述溶液 10 μL 进行测定; 另精密称取 105 °C 干燥至恒定质量的依维莫司对照品适量, 同法测定作为对照, 按外标法计算依维莫司的质量分数, 结果见表 1。

3 讨论

3.1 检测波长的选择

取依维莫司适量, 加流动相稀释至适宜浓度, 以流动相为空白样品, 在 190~400 nm 波长进行扫描。结果依维莫司在 276 nm 处有最大吸收, 而空白样品无吸收, 故选择 276 nm 作为检测波长。

表 1 依维莫司原料药中依维莫司的测定结果 (n=3)

Table 1 Determination of everolimus in everolimus active pharmaceutical ingredient (n=3)

批号	依维莫司/%	RSD/%
140415	99.5	0.93
140528	98.9	1.70
140607	98.5	1.30
140630	99.8	0.67
140720	99.6	0.45
140731	98.0	1.30

3.2 流动相的选择

参考同类化合物的检测方法^[4], 对流动相进行筛选。根据试验结果, 确定用乙腈和水为流动相, 所得依维莫司峰形较好, 且主峰保留时间适宜。

综上所述, 本实验建立了利用高效液相色谱法测定依维莫司的方法, 方法学研究表明利用该方法测定依维莫司保留时间稳定, 方法精密度高, 结果准确, 是一种较理想的测定方法, 为依维莫司质量控制标准的建立提供参考。

参考文献

- [1] Motzerr J, Bacik J, Schwartz L H, et al. Prognostic factors for survival in previously treated patients with metastatic renal cell carcinoma [J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22(3): 454-463.
- [2] 张茹, 刘素娟, 秦莉伟. 雷帕霉素靶蛋白抑制剂——依维莫司 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2010, 9(26): 3399-3401.
- [3] 李红杰, 胡好, 睢大员. 第二代药物涂层支架的研究进展 [J]. *武警医学*, 2011, 22(11): 1001-1004.
- [4] 仲伟潭, 魏增辉, 常亮, 等. 发酵液中西罗莫司含量的测定 [J]. *河北化工*, 2009, 32(3): 68-70.