

粉末 X-射线衍射法测定辛伐他汀片中晶型 I 的含量*

张淼¹, 李煜², 楼永军², 洪利娅^{1, 2**}

(1. 浙江工业大学化学工程学院, 杭州 310014; 2. 浙江省食品药品检验研究院, 杭州 310052)

摘要 目的: 采用粉末 X-射线衍射技术(PXRD)对2家公司的辛伐他汀片中晶型 I 的含量进行定量分析和比较。**方法:** 采用精细扫描方法, 扫描范围 6~19°, 扫描速度 5 s·步⁻¹, 步长 0.02°。**结果:** 2家公司的辛伐他汀片中晶型 I 含量测定方法的线性方程分别为 $Y=4.022 \times 10^4 X - 3.536 \times 10^3$ ($r=0.9950$) 和 $Y=4.506 \times 10^4 X + 19.54$ ($r=0.9937$), 检测下限分别为 1.3 mg·g⁻¹ 和 1.6 mg·g⁻¹, 定量下限分别为 6.6 mg·g⁻¹ 和 6.5 mg·g⁻¹, 含量分别为 60.5%~67.1% 和 98.3%~100.5%, 2家公司结果相差较大。**结论:** 本法操作简单, 在辅料没有干扰的情况下可用于辛伐他汀片中晶型 I 含量的定量分析和快速检测。

关键词: 辛伐他汀; 粉末 X-射线衍射; 定量测定; 晶型含量

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2019)08-1457-06

doi: 10.16155/j.0254-1793.2019.08.16

Quantitative analysis of crystal type I content in simvastatin tablets by powder X-ray diffraction*

ZHANG Miao¹, LI Yu², LOU Yong-jun², HONG Li-ya^{1, 2**}

(1. College of Chemical Engineering of Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China;

2. Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310052, China)

Abstract Objective: To establish a quantitative analysis of crystal type I content in simvastatin tablets from two companies by powder X-ray diffraction (PXRD) and comparative analysis of the contents of crystal type I. **Methods:** The fine scanning method was adopted. The scan range was 6~19°, the scan speed was 5 s per step and the step size was 0.02°. **Results:** The linear equations were $Y=4.022 \times 10^4 X - 3.536 \times 10^3$ ($r=0.9950$) and $Y=4.506 \times 10^4 X + 19.54$ ($r=0.9937$) for simvastatin tablets from two companies, respectively. The detection limit were 1.3 mg·g⁻¹ and 1.6 mg·g⁻¹. The quantitative limit were 6.6 mg·g⁻¹ and 6.5 mg·g⁻¹, respectively. The contents of crystal type I in simvastatin tablets were 60.5%~67.1% and 98.3%~100.5%, respectively. There were significant differences of the contents of crystal type I in simvastatin tablets from two companies. **Conclusion:** The method is simple in operation, which can be used for quantitative analysis of crystal type I content in

* 浙江省食品药品监管系统科技计划项目(2018015)

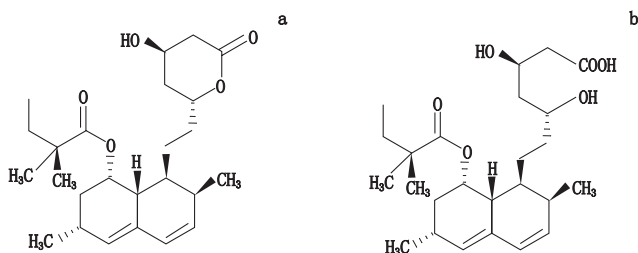
** 通信作者 Tel: (0571) 86454617; E-mail: hongliya@zjy.org.cn

第一作者 Tel: (0571) 86459761; E-mail: willzhang0506@gmail.com

simvastatin tablets with no interference of excipients. It can be a rapid detection method for control crystal type I content.

Keywords: simvastatin; powder X-ray diffraction; quantitative determination; crystal type content

辛伐他汀(simvastatin)化学名称为[1S-[1 α , 3 α , 7 β , 8 β , (2S*, 4S*) 8 α β]]-1, 2, 3, 7, 8, 8a-六氢-3, 7-二甲基-8-[2-(四氢-4-羟基-6-氧代-2H-吡喃-2-基)乙基]-1-萘基-2, 2-二甲基丁酸酯, 是一种羟甲戊二酰辅酶A(HMGCoA)还原酶抑制剂, 主要用于治疗高脂血症^[1-3]。辛伐他汀是一种前药, 为内酯环结构(图1-a), 它不是抑制HMGCoA还原酶的活性结构, 报道的晶型有I型、II型、III型和S型; 其开环酸式结构(图1-b)则是活性结构, 经体内代谢产生, 晶型有I型、II型、III型、IV型、V型^[4-8], 均为药用晶型。中国食品药品检定研究院辛伐他汀对照品及2家公司的原料药晶型相同, 均为内酯环结构的晶型I^[9]。本文对内酯环结构的晶型I含量进行测定。



a. 内酯环(lactone) b. 开环酸式(dihydroxy open-acid)

图1 辛伐他汀的结构

Fig. 1 The structures of simvastatin

制剂规格小和辅料干扰是目前定量测定制剂中晶型含量的屏障。粉末X-射线衍射技术(PXRD)常用于原料药的晶型鉴别, 在无辅料峰干扰时亦可用于制剂中晶型的定量。本文根据已知专利文献数据, 参照《中华人民共和国药典》2015年版通则0451第二法[粉末X-射线衍射法(标准曲线法)]进行定量分析, 建立了片剂中辛伐他汀晶型I的定量测定方法, 研究制剂中原料药的晶型I含量差异。本文为该品种的晶型I含量控制提供参考方法, 对于提高该类药品的有效性、安全性和质量可控性均具有一定的现实意义。

1 仪器与试药

D8 Advance 粉末X射线衍射仪(BRUKER公

司); 辛伐他汀对照品(批号100601-201003, 含量96.2%, 晶型I含量100.0%, 中国食品药品检定研究院); 辛伐他汀原料药(批号DK40-1601152, A公司; 批号130807, B公司); 辛伐他汀片[批号3425200、3425210、3425220(40 mg), 3427350、3427360、3427400(20 mg)(A公司), 批号A1603191、1506111、1506121(40 mg)(B公司)]; 辛伐他汀片辅料(A公司, B公司)。

2 方法与结果

2.1 实验条件

采用CuK辐射配制石墨单色器; 设置管压40 kV, 管流40 mA, 采用LynxEye探测器, 探测器狭缝1 mm, 常规扫描设置扫描范围3~40°, 扫描速度0.02 s·步⁻¹, 步长0.02°。精细扫描设置扫描范围6~19°, 扫描速度5 s·步⁻¹, 步长0.02°。

2.2 特征峰选取

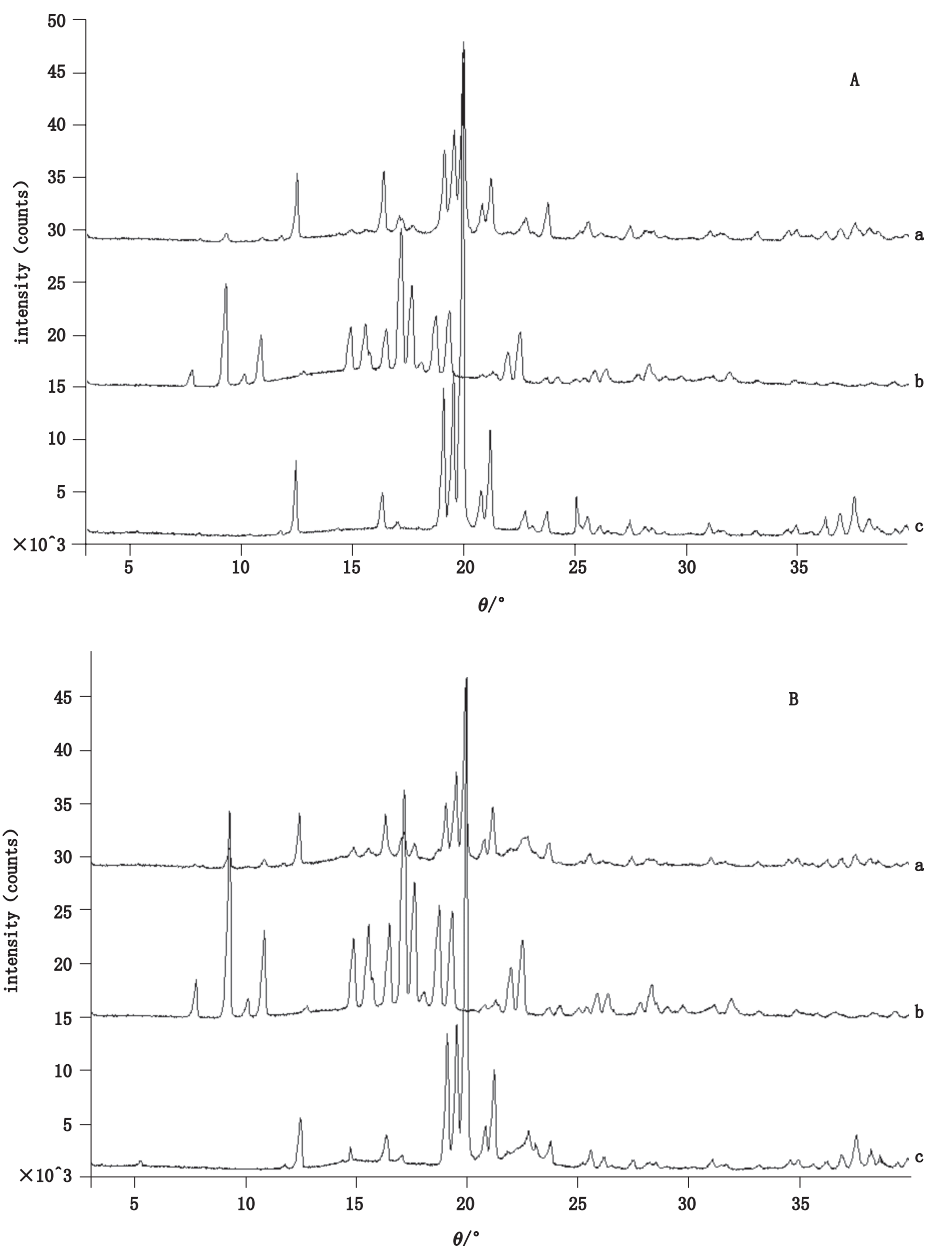
A公司和B公司片剂所用辅料不同, 故分别取辛伐他汀对照品、原料药[批号DK40-1601152, (A公司), 批号130807(B公司)], 辅料与片剂[批号3427350(A公司)、A1603191(B公司)], 分别取10片研细, 过100目筛]适量, 各精密称取50 mg样品用于粉末X-射线衍射检测常规扫描, 图谱见图2。从对比图中可以看出, 原料药9.315°、10.892°、14.920°和15.274°处的特征峰辅料无干扰。原料药的特征衍射峰见表1, 9.3°处的峰强度最强, 故选择2 θ =9.3°衍射峰为定量检测峰。

2.3 仪器精密度

取批号3427350(A公司)和批号A1603191(B公司)批片剂20片研细, 过100目筛, 分别称取50.08 mg和50.24 mg, 采用粉末X-射线衍射法常规扫描和精细扫描分别测定晶型特征衍射峰绝对强度数据, 实验发现常规扫描RSD较大, 故采用精细扫描的方法进行测定。根据峰高值计算精密度, 批号3427350和A1603191的样品的仪器精密密度为1.3%(n=6)和0.83%(n=6)。

2.4 线性关系

根据2家公司提供的处方量, 精密称取辛伐他汀



a. 制剂 (preparation) b. 原料药 (API) c. 辅料 (excipient)
A. A 公司 (A company) B. B 公司 (B company)

图 2 辅料、原料药、制剂比对扫描图

Fig. 2 The scanning spectrum of excipient, API, preparation

表 1 原料药特征衍射峰

Tab. 1 Characteristic diffraction peaks of API

参数 (parameter)	特征峰 (characteristic peaks)			
	1	2	3	4
$2\theta / ^\circ$	9.315	10.892	14.920	15.274
$d/\text{\AA}$	9.487	8.116	5.933	5.685

原料药 (见表 2) 与对应质量 (A 公司 0.18 g, B 公司 0.11 g) 的辅料均匀混合后研磨, 过 100 目筛, 获得

6 个样品进行粉末 X-射线衍射法精细扫描。选取 $2\theta = 9.3^\circ$ 的位置为特征衍射峰, 采用粉末 X-射线衍射法精细扫描测定晶型特征衍射峰绝对强度数据, 根据实验样品量对绝对峰强度数据根据实验样品量, 将峰强度校准为以 50 mg 计时的强度, 以绝对峰强度对原料药含量和晶型含量进行线性拟合, 得到 A 公司和 B 公司的线性方程:

$$Y = 4.022 \times 10^4 X - 3.536 \times 10^3 \quad r = 0.9950$$

$$Y = 4.506 \times 10^4 X + 19.54 \quad r = 0.9937$$

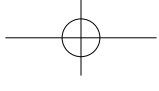


表 2 称量数据 (mg)

Tab. 2 The mass data

编号 (No.)	质量 (mass)/mg	
	A	B
1	4.380	4.270
2	10.17	10.53
3	16.42	16.14
4	20.13	19.65
5	30.33	24.65
6	36.49	29.01
7	/	37.70

实验数据如表 3, 线性中相对标示量含量为 100% 的图谱如图 3 所示。

表 3 测定值

Tab. 3 The measured values

公司 (company)	次数 (No.)	称量 (mass)/mg	强度 (intensity)/CPS	
			测量值 (measured value)	校准值 (calibrated value)
A	1	50.49	7 144	7 075
	2	50.87	17 359	17 062
	3	50.20	29 000	28 885
	4	50.15	32 900	32 802
	5	49.99	60 401	60 413
	6	50.62	70 558	69 694
B	1	50.93	9 448	9 275
	2	50.26	24 326	24 200
	3	50.38	36 449	36 174
	4	50.74	48 963	48 249
	5	51.43	55 332	53 794
	6	50.02	60 668	60 644
	7	50.47	88 584	87 759

2.5 重复性

取批号 3427350 和 A1603191 样品研细、混合均匀, 精密称取 50 mg, 共计 6 份, 选取 $2\theta=9.3^\circ$ 的位置为特征衍射峰, 采用 PXRD 精细扫描测定晶型特征衍射峰绝对强度数据, 计算得到片剂中原料药晶型 I 的含量, 批号 3427350 平均值 ($n=6$) 为 59.4%, RSD 为 1.5%; 批号 A1603191 平均值 ($n=6$) 为 100.3%, RSD 为

1.1%。

2.6 回收率

精密称取辛伐他汀原料药和辅料, A 公司原料药 16.42 mg 与辅料 0.1796 g, B 公司原料药 16.14 mg 与辅料 0.1054 g, 均匀混合后研磨, 过 100 目筛, 获得的实验用样品进行粉末 X-射线衍射分析。选取 $2\theta=9.3^\circ$ 的位置为特征衍射峰, 采用粉末 X-射线衍射法精细扫描测定晶型特征衍射峰绝对强度数据, 制备该浓度水平的供试品 6 份, 用 6 份测定结果进行评价, 计算回收率 ($n=6$), A 公司为 99.5% (RSD 为 0.58%), B 公司为 99.5% (RSD 为 1.0%)。

2.7 检测下限

分别在 2 家公司辅料中添加不同质量的辛伐他汀原料药, 选取 $2\theta=9.3^\circ$ 的位置为特征衍射峰, 采用 PXRD 精细扫描测定晶型特征衍射峰绝对强度数据。A 公司的检测下限为 $1.3 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (S/N 为 4.7), 定量下限为 $6.6 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (S/N 为 12.6); B 公司的检测下限为 $1.6 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (S/N 为 5.6), 定量下限为 $6.5 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (S/N 为 11.1)。

2.8 样品测定

取 2 家公司 9 批样品, 按表 4 中的称量, 选取 $2\theta=9.3^\circ$ 的位置为特征衍射峰, 采用粉末 X-射线衍射法精细扫描测定晶型特征衍射峰绝对强度数据, 根据实验样品量, 将峰强度校准为以 50 mg 计时的强度, 利用线性方程计算含量。结果见表 4。

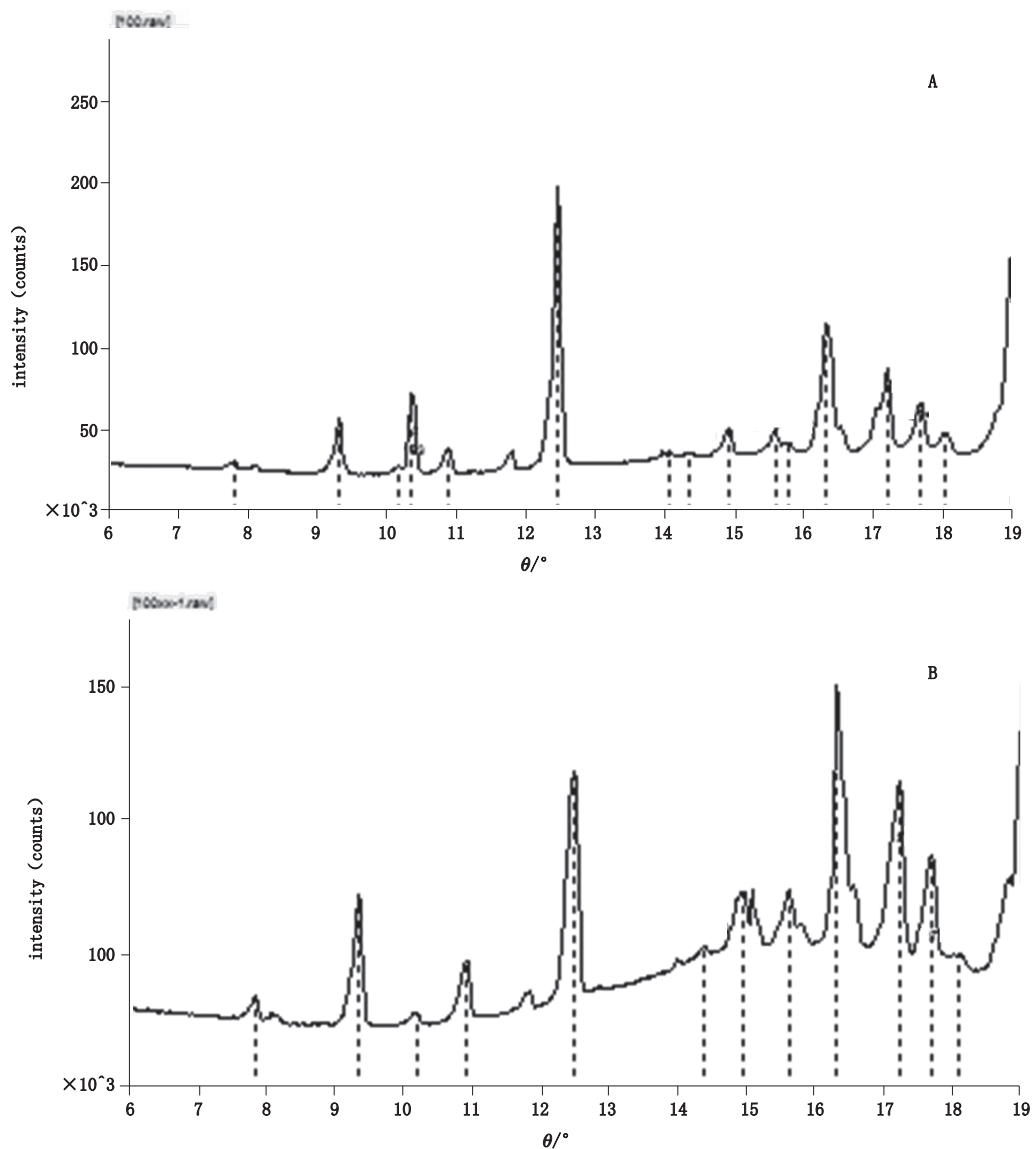
3 讨论

3.1 原辅料混合均匀度

待测样品中原料药与辅料的混匀是保证实验结果准确的重要因素之一, 由于实验设备所限, 本文混匀方式无法做到与公司制剂生产时相同, 只能采用分别称取原料药和辅料, 将原料药加入辅料中并手动振摇 5 min 的方法。本方法线性良好, 表明手动振摇 5 min 已混合均匀。

3.2 方法适用范围

本文采用单峰法, 选择原料药晶型中 4 个无辅料干扰特征衍射峰中强度最高的峰进行实验, 采用精细扫描, 绘制标准曲线, 扫描范围小, 灵敏度高, 方法简单, 适合大批量样品晶型定量检测^[10]。国内辛伐他汀片由于不同厂家所使用的辅料不同, $2\theta=9.3^\circ$ 衍射峰可能存在辅料干扰情况。本方法仅适用于辅料对特征峰无干扰的制剂。



A. A 公司 (A company) B. B 公司 (B company)

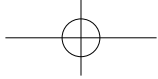
图 3 相对标示量含量 100% 的图谱

Fig. 3 The spectrum of relative labeling content (100%)

表 4 辛伐他汀片剂中晶型 I 含量测定结果

Tab. 4 The results of crystal type I content in simvastatin tablets

公司 (company)	批号 (batch No.)	质量 (mass)/mg	峰强度校准值 (calibrated Intensity value)	晶型 I 含量 (content of crystal type I)/%
A	3427350	50.80	21 114	61.3
	3427360	51.86	20 816	60.5
	3427400	50.16	22 471	64.7
	3425200	49.79	21 792	63.0
	3425210	50.41	22 142	63.8
	3425220	50.47	23 441	67.1
	A1603191	50.78	44 851	99.5
B	1506111	51.89	45 315	100.5
	1506121	50.92	44 317	98.3



3.3 其他晶型干扰的可能性

本文所用原料药经检测并及与文献图谱对比,确认为晶型 I。文献报道低温状态时内酯环结构的 I 型、II 型、III 型可进行转化^[11],从制剂工艺中的温度条件来看,产生晶型转化的可能性较小,此外未见文献报道 I 型、II 型和 III 型与 S 型之间的晶型转化现象,故基本排除其他晶型对晶型 I 测定的影响。

3.4 制剂晶型测定结果差异的原因推测

从实验结果可知, A 公司片剂中晶型 I 含量偏低,均为 60% 左右, B 公司片剂中晶型 I 含量接近 100%。2 家公司辅料用量和部分辅料种类均不同,文献报道片剂中的晶型含量变化可能与辅料相容性有关^[12], 2 家公司晶型含量差异较大的原因有待进一步研究。

3.5 研磨对原料药晶型的影响

本文对 2 家公司辛伐他汀原料药研磨前后进行对比,发现研磨对辛伐他汀原料药晶型无影响。

3.6 不同规格制剂的方法适用性

A 公司 2 个规格的处方和工艺一致,仅原辅料比例不同,故 2 个规格片剂适合于同一线性方程。

参考文献

- [1] HOFFMAN WF, SMITH RL, WIIHARD AK. Antihypercholesterolemic Compounds: United States, 4444784 [P]. 1984-04-24
- [2] LEE KH, CHOI KD, KIM JW, *et al.* Process for Producing Simvastatin: United States, 6576775 [P]. 2003-06-10
- [3] WEERATUNGA G, YOUNG S, HORNE S, *et al.* Process for Producing Simvastatin: Europe, 1284264A1 [P]. 2003-02-19

- [4] TILLYER RD, REIDER PJ, GRABAOWSKI EJJ, *et al.* Dihydroxy Open-Acid Salt of Simvastatin: International Application Published under the patent cooperation treaty (PCT), WO, 02/20457 A1 [P]. 2002-03-14
 - [5] POORNAPRAJNA A, METHEW J, SAJANKILA J, *et al.* Novel form of Simvastatin: International Application Published under the Patent Cooperation Treaty (PCT), WO, 2004/069819 A1 [P]. 2004-08-19
 - [6] VENKATARAMAN S, MANOJ RK, SESA RY, *et al.* Amorphous Simvastatin: United States, 2006/0223882 [P]. 2006-10-05
 - [7] FRANS VD, JACOBUS ML. Simvastatin Dosage Forms: United States, 2003/0153617 A1 [P]. 2003-08-14
 - [8] KORODL F, FEHER E, SZABO C, *et al.* Amorphous Simvastatin Ealcium and Methods for the Preparation Thereof: International Application Published under The Patent Cooperation Treaty (PCT), WO, 2004/089868 A1 [P]. 2004-10-21
 - [9] TAN N Y, ZEITLER JA. Probing phase transitions in simvastatin with terahertz time-domain spectroscopy [J]. Mol Pharm, 2015, 12 (3): 810
 - [10] 周新波, 吴素香, 孙梦莹, 等. 埃索美拉唑镁盐多晶型的 X-射线粉末衍射定量分析 [J]. 药物分析杂志, 2015, 35 (11): 1934
ZHOU XB, WU SX, SUN MY, *et al.* Quantitative determination of esomeprazole magnesium polymorphs by X-ray powder diffractometry [J]. Chin J Pharm Anal, 2015, 35 (11): 1934
 - [11] HUŠÁK M, KRATOCHVÍL B, JEGOROV A, *et al.* Simvastatin: structure solution of two new low-temperature phases from synchrotron powder diffraction and ss-NMR [J]. Struct Chem, 2010, 21 (3): 511
 - [12] 杜冠华, 吕扬. 仿制药一致性评价相关药物晶型的问题分析 [J]. 医药导报, 2017, 36 (6): 593
DU GH, LÜ Y. Discussion on polymorphs in the consistency assessment of generic drugs [J]. Her Med, 2017, 36 (6): 593
- (本文于 2018 年 8 月 8 日收到)