·实验研究·

醋酸卡泊芬净标准物质的研制

张佳宁[1,2],马步芳[3],李　彬[1,2,4],刘永祥[1,2,4],董安妮[1,2,4],于　敏[1,2*],田　冶[1,2*]
(1 中国药品检定研究院安全评价研究所,北京 100176; 2 药品监管科学全国重点实验室,北京 102629;
3 中国药品检定研究院化学药品检定所,北京 102629; 4 沈阳药科大学,沈阳 110016)

[**摘要**] **目的**:本研究成功研制出首批醋酸卡泊芬净国家标准物质,为相关原料和制剂的质量控制提供保障。**方法**:综合采用高分辨质谱(HRMS)、核磁共振(NMR)、红外光谱(IR)等分析技术对醋酸卡泊芬净的结构进行确证,并对该化合物的核磁信号进行归属。采用质量平衡法(MBM)对醋酸卡泊芬净进行赋值,并利用核磁共振定量法(qNMR)和外标法(ESM)对上述结果进行佐证。**结果**:本批醋酸卡泊芬净标准物质以 $C_{52}H_{88}N_{10}O_{15}\cdot 2CH_3COOH$ 计,含量为 97.0%。**结论**:建立了首批醋酸卡泊芬净国家标准物质。

[**关键词**] 醋酸卡泊芬净;标准物质;质量控制;核磁共振定量法;质量平衡法
[**中图分类号**] R917　　[**文献标志码**] A　　[**文章编号**] 1003－3734(2026)19－2113－07

Establishment of national reference standard of caspofungin acetate

ZHANG Jia-ning[1,2], MA Bu-fang[3], LI Bin[1,2,4], LIU Yong-xiang[1,2,4], DONG An-ni[1,2,4], YU Min[1,2*], TIAN Ye[1,2*]
(1 *Institute for Safety Evaluation, National Institutes for Drug Control, Beijing* 100176, *China*; 2 *State Key Laboratory of Drug Regulatory Science, Beijing* 102629, *China*; 3 *Institute for Chemical Drug Control, National Institutes for Drug Control, Beijing* 102629, *China*; 4 *Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang* 110016, *China*)

[**Abstract**] **Objective**: This study successfully developed the first batch of national reference standards of caspofungin acetate to ensure quality control of related raw materials and finished products. **Methods**: The structure of the caspofungin acetate reference standard was confirmed by comprehensive analytical techniques including high-resolution mass spectrometry (HRMS), nuclear magnetic resonance (NMR), and infrared spectroscopy (IR), and the NMR signals of the compound were assigned. The content of caspofungin acetate was determined by the mass balance method (MBM), and the results were corroborated by quantitative nuclear magnetic resonance (qNMR) and the external standard method (ESM). **Results**: The content of this batch of caspofungin acetate reference standard, calculated as $C_{52}H_{88}N_{10}O_{15}\cdot 2CH_3COOH$, was 97.0%. **Conclusion**: The first batch of national reference standards of caspofungin acetate was successfully developed.

[**Key words**] caspofungin acetate; reference standard; quality control; NMR; mass balance method

醋酸卡泊芬净(caspofungin acetate)是全球首个获批的棘白菌素类抗真菌抗生素。该药物原研厂家为美国默沙东公司(商品名为科赛斯),于2001年被美国FDA批准上市。该产品于2002年进入中国,同时在印度及欧洲、美国均有仿制药公司在生产。该化合物是以微生物 *Glarea lozoyensis* 的发酵产物 pneumocandin B0 作为前体物质,对其进行化学结构修饰得来。为了优化临床使用时药物的溶

[**作者简介**] 张佳宁,男,硕士研究生,主要从事化学药物质量控制和安全性评价。E-mail: zhangjianing@nidc.org.cn。共同第一作者:马步芳,女,硕士研究生,主要从事药物分析与质量控制。E-mail: mabufang@nidc.org.cn。
[**通讯作者**] *田冶,男,研究员,主要从事化学药物质量控制和安全性评价。联系电话:(010)53851533, E-mail: tianye95950@163.com。*于敏,女,副研究员,主要从事药物安全性评价。E-mail: yumin@nifdc.org.cn。
[**DOI**]10.20251/j.cnki.1003-3734.2026.19.013

解性及生物利用度,其注射剂为醋酸卡泊芬净(结构见图 1)。醋酸卡泊芬净易溶于水,适合静脉注射,其临床主要用于治疗由念珠菌、烟曲霉菌和假丝酵母菌等引起的深部真菌感染疾病[1-2]。

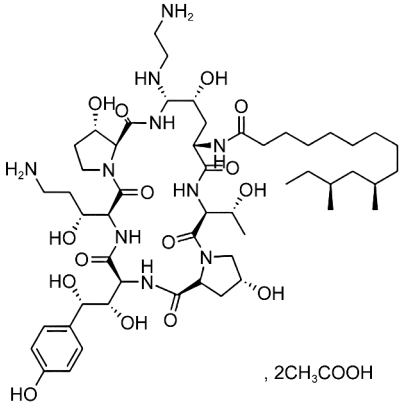


图 1 醋酸卡泊芬净的化学结构式

现行版《中华人民共和国药典》《美国药典》《欧洲药典》均尚未收载该品种,同时也无相对应的国家对照品。国家药品标准物质是衡量药品质量的关键标尺[3],对保障检验结果的可比性和溯源性、支撑药品研发生产以及维护公众用药安全和产业健康发展具有重要意义。其可溯源性和准确性是药品监管体系的核心支撑之一。因此,为确保药品安全、有效、质量可控,研制醋酸卡泊芬净国家标准物质至关重要。

本文综合采用红外光谱(infrared spectroscopy, IR)、高分辨质谱(high resolution mass spectrometry, HRMS)、一维核磁共振(1D-nuclear magnetic resonance, 1D-NMR)及 2D-NMR 对醋酸卡泊芬净对照品的结构进行确认及信号归属;对其引湿性、均匀性、稳定性进行了研究。在保证分装后标准物质均一、稳定的基础上,进一步进行了有关物质、残留溶剂、水分等测定。并以质量平衡法(mass balance method,MBM)对醋酸卡泊芬净的含量进行定值,同时采用外标法(external standard method,ESM)和核磁定量法(quantitative nuclear magnetic resonance,qNMR)对定值结果进行佐证,保证量值准确。

材料与方法

1 试药与试剂

醋酸卡泊芬净对照品(中国标准药物集团有限公司,含量:95.6%,批号:24804K-WJ-01);醋酸卡泊芬净待标供试品(中国食品药品检定研究院,批号:130679-202301);氯化钠(国药集团化学试剂有限公司,批号:20190614);高氯酸(国药集团化学试剂有限公司,批号:20220917);冰醋酸(国药集团化学试剂有限公司,批号:20160829);醋酸钠(SIGMA-ALDRICH 公司,批号:MKCB2916V;乙腈(Honeywell Burdick & Jackson 公司,批号:W9MA1H);氘代甲醇(SIGMA-ALDRICH 公司,批号:1003577210);拉米夫定(中国食品药品检定研究院,含量:99.9%,批号:101007-201803);马来酸(中国食品药品检定研究院,含量:99.6%,批号:190015-202003)。

2 仪器

LC-20AD 型液相色谱仪(日本岛津公司,包括 PDA 检测器,Labsolution 工作站);QE 型高分辨质谱仪(美国 Thermo 公司);Bruker Equinox 55 型红外光谱仪(德国 Bruker 公司);Bruker Avance Ⅱ 600 型核磁共振谱仪(德国 Bruker 公司);Metler Toledo V20 型水分测定仪(瑞士 Metler Toledo 公司);Yamato FO410C 型马弗炉(日本大和 Yamato 科技有限公司);Metler Toledo XP205 型电子天平(瑞士 Metler Toledo 公司);Vsorp Plus 型动态水分气体吸附仪(德国 ProUmid 公司);ICH260L 型人工气候箱(德国 memmert 公司);HYCD-290 型医用冷藏冷冻冰箱(Haier 集团公司)。

3 结构分析

3.1 HRMS 分析

称取供试品适量,用甲醇溶解并稀释成 100 μg·mL^{-1}溶液,摇匀备用。HPLC-HRMS 参数:进样量:50 μL;柱温:30 ℃;色谱柱:CAPCELL PAK C8;梯度洗脱:洗脱程序见表 1;扫描电压(+):3 500.0 V;毛细管温度(+):300.0 ℃;鞘气流速:55 L·h^{-1};辅助气流速(+):15 L·h^{-1};探针加热器温度(+):300.0 ℃;离子源:HESI;扫描范围:500 ~ 2 000 Da;一级质谱方法:正离子模式,分辨率为 35 000。

表 1 梯度洗脱程序 %

t/h	流动相 A(水)	流动相 B(甲醇)
0	20	80
1	20	80
4	0	100
5	20	80
6	20	80

3.2 IR 测定

按照《中华人民共和国药典》2020 年版四部通

则 0402 的测定方法进行测定。

3.3 NMR 结构鉴定

称取供试品适量,置于石英核磁管中,用氘代甲醇(methanol-d_4)为溶剂溶解,采用 Bruker Avance Ⅱ 600 核磁共振谱仪进行^{1}H-NMR、^{13}C-NMR、^{1}H-^{1}H COSY、DEPT、HSQC 和 HMBC 谱的测定。

4 标准物质的标定

4.1 引湿性评估

按照《中华人民共和国药典》2020 年版四部通则 9103 的测定方法进行测定。

4.2 均匀性评估

随机抽取供试品 12 瓶,每瓶称取 2 份,按照“**4.6**”项下纯度分析方法进行测定,以峰面积与对应称样量之比为评价指标,通过瓶间和瓶内方差的比较以判断样品的均匀性。如果两者之比 <95% 置信水平对应 F 检验的临界值,则认为样品均匀。

4.3 稳定性评估

4.3.1 固体稳定性 为了保证该标准物质分装后在运输条件储存下稳定,因此需考察其固体稳定性。在不同储存温度条件下(-20 ℃、4 ℃、26 ℃、40 ℃),每个条件随机抽取供试品 12 瓶,放置在相应的冰箱或人工气候箱中,分别在 0、3、5 和 10 d 取样,每个时间点各 3 支样品,按照有关物质方法测定,以峰面积归一化法测定纯度。

4.3.2 溶液稳定性 随机抽取供试品 3 瓶,按照“**4.6**”项下纯度分析方法配制成供试品溶液,放置在冰箱和恒温恒湿气候箱中,考察溶液在 4 ℃ 和 26 ℃ 条件下放置 6 h 和 12 h 的稳定性,通过峰面积归一化法测定纯度评价稳定性。

4.4 炽灼残渣和残留溶剂的测定

按照《中华人民共和国药典》2020 年版四部通则 0841 和 0861 的测定方法分别进行炽灼残渣和残留溶剂的测定。

4.5 水分测定

按照《中华人民共和国药典》2020 年版四部通则 0832 水分测定法第一法(费休氏法)进行测定。

4.6 纯度分析

按照醋酸卡泊芬净注册标准有关物质测定方法进行测定。采用岛津 LC-20AD 型液相色谱仪和 Labsolution 工作站。实验中使用的色谱柱为 Waters Symmetry C_{18}柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流速:1.0 mL·min^{-1};进样体积:10 μL;检测波长:220 nm;柱温:35 ℃;进样器温度:4 ℃。

4.7 杂质 A 检查

按照醋酸卡泊芬净注册标准杂质 A 测定方法进行测定。采用岛津 LC-20AD 型液相色谱仪和 Labsolution 工作站。实验中使用的色谱柱为 Merck ZIC-HILIC 柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流速:1.0 mL·min^{-1};进样体积:10 μL;检测波长:210 nm;柱温:25 ℃;进样器温度:5 ℃。

4.8 外标法定量

以中国标准药物集团有限公司提供的醋酸卡泊芬净对照品作为对照,按照醋酸卡泊芬净注册标准含量测定方法进行测定。

4.9 核磁共振法定量

采用 Bruker Avance Ⅱ 600 核磁共振谱仪,分别选择拉米夫定和马来酸作为内标,溶剂为氘代甲醇,按内标法计算含量。实验条件为:采集时间 8 s;接收增益 32;脉冲宽度 12.50 μs,延迟时间 30 s,溶剂为氘代甲醇,测定温度为 25 ℃,谱仪频率 600.13 MHZ,谱宽为 11 904.8,累计采样 32 次。

4.10 质量平衡法

质量平衡法以质量守恒定律为基础,假设药物样品中各组分的质量之和应为 100%。醋酸卡泊芬净以 $C_{52}H_{88}N_{10}O_{15}\cdot 2CH_3COOH$ 计,计算公式为:含量/% =(1-有关物质/%)×(1-水分/% -炽灼残渣/% -残留溶剂/%)×100%。

结 果

1 结构确证

国家药品标准物质的研制首先需要对供试品进行结构确认,保证其结构正确才能进行下一步的赋值研究。本研究综合采用 IR、高分辨质谱、1D-NMR 及 2D-NMR 等技术对其结构进行确认并首次对醋酸卡泊芬净的核磁信号进行归属。同时也进一步与醋酸卡泊芬净对照品的 IR、^{1}H-NMR 的化学位移、峰型及偶合常数、^{13}C-NMR 化学位移及高分辨质谱得到的精确分子量进行比对,对上述结果进一步确认。

1.1 IR 测定

由红外光谱结果可知,供试品和对照品的红外光谱图谱基本一致。

1.2 HRMS 测定

由 HRMS 分析结果可知,供试品的$[M+H]^+$分子准离子峰 m/z 为 1 093.647 9,和理论值精确分子量差异为 -2.184 5 ppm,推测主成分分子式为 $C_{52}H_{88}N_{10}O_{15}$(见图 2)。

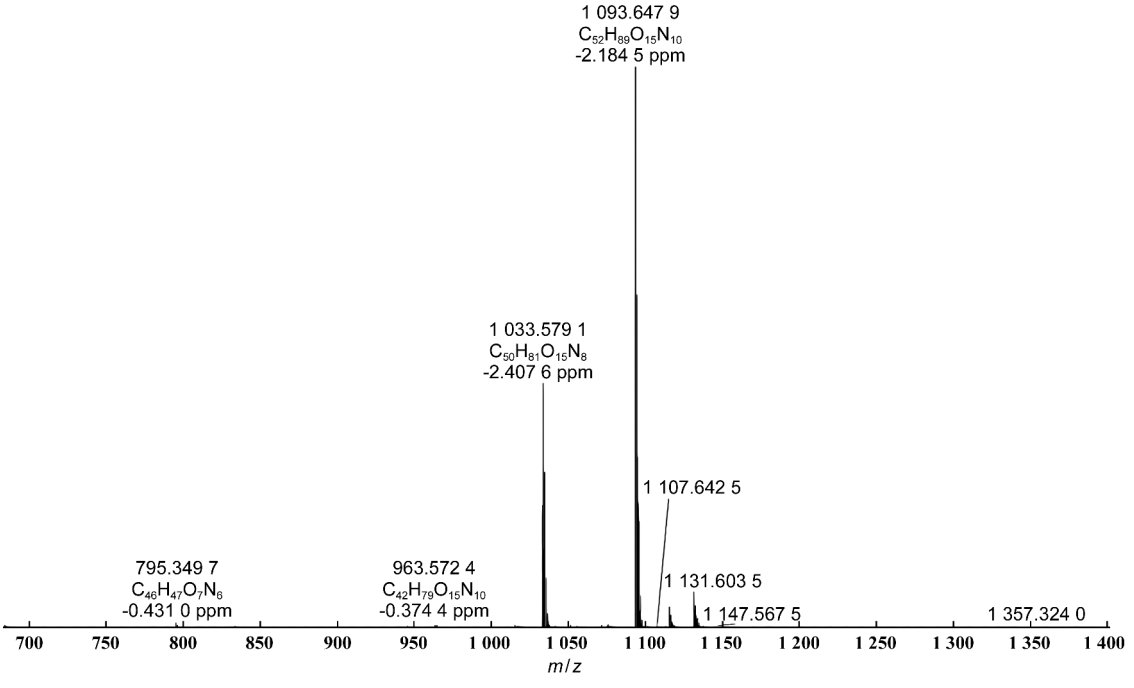


图 2　醋酸卡泊芬净供试品质谱图

1.3　NMR 结构鉴定

卡泊芬净是对 *Glarea lozoyensis* 菌种发酵产物 pneumocandin B0 进行化学结构修饰得来的半合成衍生物，其基本结构是由 6 个氨基酸首尾相连组成的环肽和连接在鸟氨酸上的肉豆蔻酸侧链组成。B0 肽环结构中的氨基酸按照逆时针方向依次为 3-羟基谷氨酰胺、3,4-二羟基高酪氨酸、4-羟基脯氨酸、苏氨酸、4,5-二羟基鸟氨酸、3-羟基脯氨酸。卡泊芬净与 B0 的结构差异有 2 处（见图 3），分别是肽环中 4,5-二羟基鸟氨酸 C5 位的半缩醛胺羟基替换为乙二胺基、3-羟基谷氨酰胺的酰胺被还原为伯胺（即 3-羟基谷氨酰胺变为 3-羟基鸟氨酸）。

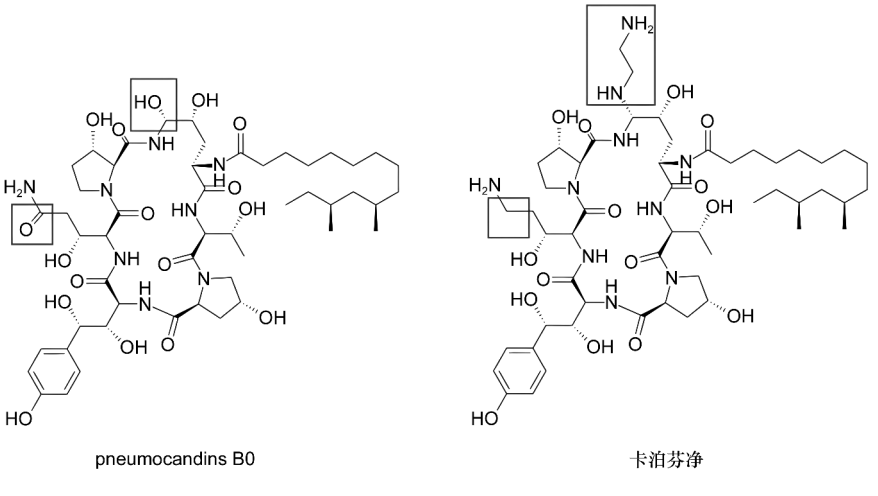


图 3　pneumocandin B0 和卡泊芬净结构对比

对 ^{1}H-NMR、^{13}C-NMR、^{1}H-^{1}H COSY、HMBC、HSQC 进行综合解析，可进一步确证其结构，并对醋酸卡泊芬净分子信号进行准确归属，具体的碳氢信息见表 2 和图 4。

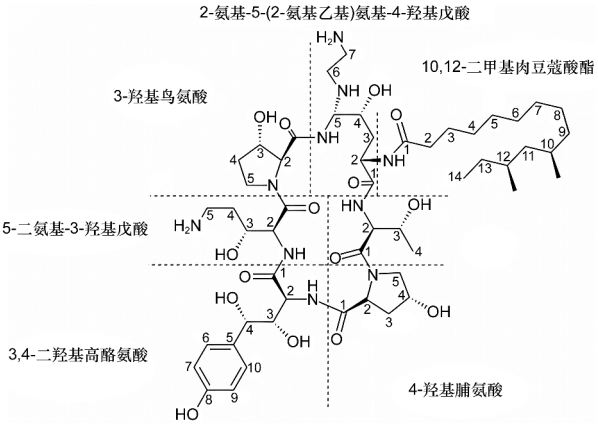


图 4 卡泊芬净的碳氢归属

表 2 卡泊芬净的碳氢归属数据

编号	^{1}H-NMR 数值	^{13}C-NMR 数值
3,4-二羟基高酪氨酸		
1		172.8
2	4.31 (1*H*,d,1.8)	56.0
3	4.23 (1*H*,dd,8,1.8)	77.3
4	4.32 (1*H*,d,7.8)	75.6
5		132.9
6,10	7.13 (1*H*,d,8.4)	129.6
7,9	6.76 (1*H*,d,8.4)	116.2
8		158.5
4-羟基脯氨酸		
1		173.5
2	4.54 (1*H*,dd,12.0,7.2)	62.8
3eq	2.42 (2*H*,dd,13.2,7.2)	38.5
3ax	2.04 (2*H*,m)	
4	4.52 (1*H*,br t,3.0)	71.3
5	3.98 (2*H*,dd,11.4,3.0)	57.2
	3.77 (2*H*,br d,11.4)	
苏氨酸		
1		172.8
2	4.98,(1*H*,d,3.0)	58.4
3	4.61 (1*H*,qd,6.0,3.0)	68.2
4	1.17 (3*H*,d,6.0)	19.9
2-氨基-5-(2-氨基乙基)氨基-4-羟基戊酸		
1		174.2
2	4.49 (1*H*,dd,13.2,4.8)	51.2
3	2.07 (2*H*,m);1.97(2*H*,m)	35.7
4	4.02 (1*H*,ddd,10.3,6.0,2.4)	70.1
5	4.67 (1*H*,d,2.4)	64.3
6	2.90 (2*H*,ddd,12.6,6.6,4.8)	43.7
	2.80 (2*H*,ddd,12.6,7.2,4.8)	
7	3.02 (2*H*,m)	40.3
	2.97 (2*H*,ddd,12.6,7.2,4.8)	
3-羟基鸟氨酸		
1		173.7
2	4.19 (1*H*,d,4.8)	69.3
3	4.31 (1*H*,dd,11.4,4.8)	75.1
4	2.26 (2*H*,m);1.97 (2*H*,m)	34.6
5	3.83 (2*H*,m)	47.0
2,5-二氨基-3-羟基戊酸		
1		168.9
2	4.92 (1*H*,d,6.0)	56.2
3	4.07 (1*H*,ddd,10.5,6.0,3.0)	72.0
4	2.04 (2*H*,m);1.85 (2*H*,m)	30.8
5	3.06 (2*H*,t,6.6)	39.0
10,12-二甲基肉豆蔻酸酯		
1		176.3
2	2.22 (2*H*,m)	36.9
3	1.58 (2*H*,m)	27.1
4	1.25 ~ 1.36 (2*H*)	30.4 c
5	1.25 ~ 1.36 (2*H*)	30.8c
6	1.25 ~ 1.36 (2*H*)	30.6 c
7	1.25 ~ 1.36 (2*H*)	31.2
8	1.30 (2*H*,m)	28.0
9	1.31(2*H*,m); 1.06(2*H*,m)	38.1
10	1.49 (1*H*,m)	31.2
10-甲基	0.86 (3*H*,d,6.6)	20.7
11	1.24 (2*H*,dt,13.2,6.6)	45.9
	0.92 (2*H*,dt,13.2,6.6)	
12	1.43 (1*H*,m)	32.9
12-甲基	0.86 (3*H*,d,6.6)	20.2
13	1.36(2*H*,m); 1.10(2*H*,m)	30.3
14	0.88 (3*H*,t,7.2)	11.6

2 均匀性评估

随机抽取供试品 12 瓶,每支平行称样 2 份,按“**4.6**”项纯度分析下的实验方法进行测定。共得到 24 组数据,对峰面积与称样量做 *F* 检验。经统计分析,置信区间为 95% 时组内与组间(即瓶间与瓶内)样品结果的 *F* 值小于 $F_{0.05(11,12)}$(2.79),均无显著性差异,故认为样品均匀性良好。

3 引湿性评估

卡泊芬净供试品在温度 25.0 ℃、相对湿度由 40%(环境湿度)降至 10% 时,减失重量约为 4.3%;随后,在温度 25.0 ℃、相对湿度 10% ~30% 放置时,样品引湿增重约为 2.8%;在温度 25.0 ℃、相对湿度 10% ~50% 放置时,样品引湿增重约为 5.8%;在温度 25.0 ℃、相对湿度 10% ~90% 放置时,样品引湿增重约为 25.4%。

4 有关物质稳定性评估

4.1 固体稳定性

在 -20 ℃条件下,放置 3、5、10 d 后卡泊芬净主成分和杂质种类及纯度较 0 d 均无明显变化,未发现样品有明显下降趋势,认为醋酸卡泊芬净在该条件下 10 d 内稳定。

在 4 ℃条件下,放置 3 d,卡泊芬净主峰纯度较 0 d 由 99.7% 下降至 99.6%,同时产生 1 个新杂质;放置 5 d,主峰纯度与 3 d 比较无变化;放置 10 d,主峰纯度进一步下降至 99.5%,产生的新降解杂质与 3 d 比较,含量约增加 0.03%。此外,4 ℃条件下放置 24 h 的稳定性结果显示,卡泊芬净主成分和杂质种类及纯度均无明显变化,认为醋酸卡泊芬净在该条件下 24 h 内基本稳定。

在 26 ℃条件下,醋酸卡泊芬净纯度明显下降,各单个杂质明显增大。对比 0 d 数据,放置 3 d,卡泊芬净主峰纯度由 99.7% 下降至 98.2%;放置 5 d,主峰纯度进一步下降至 97.8%;放置 10 d,主峰纯度进一步下降至 97.1%。因此,醋酸卡泊芬净在该条件下 3 d 后不稳定。

在 40 ℃条件下,醋酸卡泊芬净纯度明显下降,杂质种类及含量明显增加。对比 0 d 数据,放置 3 d,卡泊芬净主峰纯度由 99.7% 下降至 94.4%;放置 5 d,主峰纯度进一步下降至 93.1%;放置 10 d,主峰纯度进一步下降至 92.1%。认为醋酸卡泊芬净在该条件下 3 d 后不稳定。

4.2 溶液稳定性

对比 0 h 数据,在 4 ℃和 26 ℃条件下放置 6 h,卡泊芬净主成分和杂质种类及纯度均无明显变化,未发现样品有明显下降趋势,故认为醋酸卡泊芬净供试品溶液配制后在 4 ℃和 26 ℃条件下放置 6 h,基本稳定。推测由于部分二聚体杂质发生降解,导致主成分纯度升高 0.2%,所以关于溶液的使用,仍需要及时使用,现溶现进。

5 标准物质赋值

5.1 质量平衡法

对供试品中有关物质、杂质 A、水分、炽灼残渣以及残留溶剂进行测定,结果见表 3。将数值代入“**4.10**”项下的公式中,计算得到该供试品的含量为 97.0%(以 $C_{52}H_{88}N_{10}O_{15}\cdot 2CH_3COOH$ 计)。

表 3 供试品有关物质、水分、炽灼残渣以及残留溶剂实验结果 %

项目	有关物质(n=5)	水分(n=5)	残留溶剂(n=5)	炽灼残渣(n=2)	杂质 A(n=5)
含量	0.35	2.56	0.04	0.059	0.04
RSD	0.78	0.97	0.56	—	0.53

5.2 ^{1}H-NMR 测定

采用 zg30 脉冲序列测定样品的^{1}H-NMR 图谱。以化学位移 δ_H 6.77 和 δ_H 6.78 为定量峰,弛豫时间设定为 30 s。通过内标法计算,以拉米夫定为内标,醋酸卡泊芬净的含量为 97.8%(n=3,RSD=1.21%);以马来酸为内标,醋酸卡泊芬净的含量为 95.1%(n=3,RSD=1.32%)。

5.3 ESM 法

按照外标法计算并进行统计分析,得出本批样品中醋酸卡泊芬净的含量为 97.2%(n=25,RSD=1.05%)。

讨 论

本实验旨在对拟作为国家标准物质的醋酸卡泊芬净供试品开展定性和定量研究,研制国家首批标准物质。目的是填补本品种国内该领域的空白,而其关键的赋值准确性将直接关系到后续原料药及制剂含量测定的科学性与可靠性,对构建完善的药品质量控制体系具有重要意义。

醋酸卡泊芬净由微生物发酵产物经结构修饰制得,其物理和化学稳定性较差,为准确赋值及存储运输带来挑战。化学标准物质的物理不稳定性常表现在引湿性等物理特性上。而醋酸卡泊芬净具有易引湿的特性,即易持续吸收空气中的水分,吸湿量随时间累积而增加。上述特性对于标准物质主要会引发 2 个方面影响:① 在称量过程中引湿,影响称重准确性,进而造成标准物质赋值偏差;② 在分装操作过程中引湿,可能引发其他物理或化学不稳定现象,如晶型转变、水解反应等。为降低引湿性带来的负面影响,必须严格控制环境条件。实际分装中,需在温湿度可控的洁净分装台内进行快速分装作业。化学标准物质的化学不稳定性主要包括水解、氧化、光解和热分解等。醋酸卡泊芬净在储存运输过程中易发生降解产生杂质。本研究通过稳定性评估发现,

醋酸卡泊芬净固体在 -20 ℃避光条件下 10 d 内稳定,在 4 ℃避光条件下 24 h 内基本稳定;制成供试品溶液(0.5 mg·mL^{-1})后,在 4 ℃和 26 ℃条件下放置 6 h,部分杂质含量会降低从而导致主成分纯度升高,因此溶液仍需现配现用。

本研究采用质量平衡法对醋酸卡泊芬净进行赋值,采用核磁共振定量法和外标法进行辅助验证。醋酸卡泊芬净化学结构复杂,杂质种类繁多,各杂质校正因子差异可能较大,因此 qNMR 法可以作为赋值结果非常重要的佐证[4]。为保证核磁定量结果的准确性,内标物的选择至关重要[5-9]。核磁定量的内标物通常需要满足以下条件:内标峰需与待测样品的定量峰在核磁谱图上互不干扰、无重叠现象;同时,该内标物须具备在所选氘代试剂中良好的溶解性能,且自身化学稳定且与主成分相容性良好,以确保实验过程中内标物的浓度恒定,进而保障定量分析的精确性。本实验的待测物醋酸卡泊芬净水溶性较好,因此,内标物也需要具备较好的水溶性。核磁定量常用的内标物有马来酸、富马酸、1,3,5-三甲氧基苯、苯甲酸、对苯二甲酸甲酯、1,4-二硝基苯等。其中,马来酸、富马酸水溶性较好,但具有弱酸性。本实验首先采用马来酸作为内标进行测定,qNMR 测定结果为 95.1%(质量平衡法的结果为 97.0%)。qNMR 结果偏低的原因可能由于醋酸卡泊芬净是一种六元环肽类化合物,而其分子结构中肽键在酸性或碱性条件下均可能发生水解断裂,导致六元环结构被打开,所以醋酸卡泊芬净整体化学稳定性较差。此外,虽然卡泊芬净本身为醋酸盐,但无论是马来酸(pK_{a1} 约为 1.9;pK_{a2} 约为 6.1)还是富马酸(pK_{a1} 约为 3.0;pK_{a2} 约为 4.4),相对于醋酸(pK_a 为 4.74)的酸性均较强。因此,当选用马来酸或富马酸作为醋酸卡泊芬净核磁定量的内标时,上述内标可能会破坏卡泊芬净的环肽结构,造成主成分降解,从而导致 qNMR 法含量测定结果偏低。针对上述问题,我们挑选了水溶性好、与主成分相容性好且具有多个定量峰的拉米夫定作为内标,进行含量测定,含量测定结果为 97.8%,与 MBM 法的结果接近。本研究也为对酸碱不稳定的水溶性的核磁定量内标选择提供一个新的解决方案。

[参 考 文 献]

[1] 刘秀书, 邹爱英. 棘白菌素类抗真菌药临床应用研究进展[J]. 天津药学, 2014, 26(6): 70-72.

[2] 张诗琪, 程德云. 棘白菌素类抗真菌药物的临床应用进展[J]. 医学综述, 2020, 26(5): 986-990.

[3] 高志峰, 肖新月, 曹丽梅, 等. 国家药品标准物质一级直供的实施要点研究[J]. 中国新药杂志, 2021, 30(1): 13-16.

[4] MALZ F, JANCKE H. Validation of quantitative NMR[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2005, 38(5): 813-823.

[5] 陆天琪. 定量核磁内标候选物研究[D]. 天津: 天津理工大学, 2023.

[6] RUNDLÖF T, MATHIASSON M, BEKIROGLU S, *et al*. Survey and qualification of internal standards for quantification by 1H NMR spectroscopy[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 52(5): 645-651.

[7] HOLZGRABE U. Quantitative NMR, methods and applications[M]//Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry. Amsterdam: Elsevier, 2017: 816-823.

[8] 李香, 田光宗, 秦春君, 等. 肺炎球菌荚膜多糖中 C 多糖的定量 1H-NMR 和 31P-NMR 法测定[J]. 中国现代应用药学, 2025, 42(13): 2195-2202.

[9] 关皓月, 冯玉飞, 孙百浩, 等. 1-甲基-4-亚硝基哌嗪国家标准物质的研制及其核磁定量考察[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(24): 3399-3403.

编辑:刘卓越/接受日期:2026-04-18