

RP-HPLC同时测定复方阿托伐他汀钙苯磺酸氨氯地平片中两种药物含量

果秋婷

(咸阳职业技术学院医学院, 陕西咸阳 712046)

摘要:目的: 建立测定复方阿托伐他汀钙苯磺酸氨氯地平片中两种药物含量的反相高效液相色谱(RP-HPLC)法。方法: 采用 Gemini-NX C18色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以20 mM磷酸二氢钾溶液(用磷酸调至pH值至4.0)-乙腈-甲醇(30:10:60, v/v/v)为流动相, 流速为1.0 ml·min⁻¹, 检测波长240 nm, 柱温30℃。结果: 阿托伐他汀与氨氯地平保留时间分别为10.6 min和4.5 min, 阿托伐他汀的质量浓度在0.4~40.0 μg·ml⁻¹内, 氨氯地平质量浓度在0.2~20.0 μg·ml⁻¹内与峰面积呈良好的线性关系。阿托伐他汀和氨氯地平的回收率分别为100.6%和99.7% (n=9), RSD分别为0.92%和0.85% (n=9)。结论: 该方法对两种药物分离效果较好, 辅料无干扰, 专属性强、稳定可靠, 适用于复方阿托伐他汀钙苯磺酸氨氯地平片中的药物含量测定。

关键词: 阿托伐他汀钙; 苯磺酸氨氯地平; 含量测定; 反相高效液相色谱

中图分类号: R927.2

文献标识码: A

文章编号: 94047-(2015)04-036-04

阿托伐他汀钙(Atorvastatin calcium)是HMG-CoA还原酶选择性抑制剂, 通过抑制HMG-CoA还原酶和胆固醇在肝脏的生物合成而降低血浆胆固醇和脂蛋白水平, 并能通过增加肝脏细胞表面低密度脂蛋白受体数目而增加低密度脂蛋白的摄取和分解代谢^[1-2]。苯磺酸氨氯地平(Amlodipine besylate)是二氢吡啶类钙拮抗剂(钙离子拮抗剂或慢通道阻滞剂), 直接作用于血管平滑肌, 降低外周血管阻力, 从而降低血压^[3]。复方阿托伐他汀钙苯磺酸氨氯地平片是由美国辉瑞制药公司开发的复方制剂, 商品名为: CADUET[®]。临床上主要用于治疗高血压、慢性稳定性心绞痛、血管痉挛型心绞痛(或称变异性心绞痛)、各种家族性或非家族性血脂异常等疾病。近期临床研究表明复方阿托伐他汀钙苯磺酸氨氯地平片对老年急性脑梗死高血压疗效确切^[4]。本研究开发了复方阿托伐他汀钙苯磺酸氨氯地平片, 用于临床上相关疾病的治疗。为控制其质量, 笔者通过试验经反复探索, 建立了高效液相色谱法同时测定复方阿托伐他汀钙苯磺酸氨氯地平片中两种药物的含量, 该方法简便

快捷, 专属性强, 结果准确, 适用于该制剂的质量控制。

1 仪器与材料

安捷伦1200高效液相色谱系统(美国安捷伦科技有限公司); ME104电子天平(瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司); S20K型台式pH计(德国梅特勒-托利多仪器公司); KQ-250超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司)

阿托伐他汀钙原料药(浙江新东港药业股份有限公司, 批号: 20140524, 以阿托伐他汀计, 纯度>99.0%); 阿托伐他汀钙对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 100590-201303, 以阿托伐他汀计, 纯度>99.5%); 苯磺酸氨氯地平原料药(苏州东瑞制药有限公司, 批号: 20140912, 以氨氯地平计, 纯度>99.0%); 苯磺酸氨氯地平对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 100374-201204, 以氨氯地平计, 纯度>99.5%); 碳酸钙(药用级, 上海远宏化工制剂辅料技术有限公司, 批号: D8392N001); 交联羧甲基纤维素钠(药用

收稿日期: 2015-09-20

作者简介: 果秋婷(1984年9月—), 女, 陕西咸阳市人, 硕士, 主要从事药物新剂型与新制剂研究。

级,美国FMC辅料公司,批号:C2221982-003);微晶纤维素(药用级,美国FMC辅料公司,批号:P1128379006);预交化淀粉(药用级,上海卡乐康包衣技术公司,批号:28396183);羟丙基纤维素(HPC,美国亚什兰公司,批号:48900);吐温80(上海申宇医药化工有限公司,批号:20140812);硬脂酸镁(药用级,浙江湖州展望化学药业有限公司,批号:131201);微粉硅胶(药用级,浙江湖州展望化学药业有限公司,批号:140103);甲醇;乙腈、磷酸、磷酸二氢钾为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

复方阿托伐他汀钙苯磺酸氨氯地平片(自制,规格:阿托伐他汀钙/苯磺酸氨氯地平20mg/10mg,以阿托伐他汀/氨氯地平计,批号:PD14-1201/PD14-1202/PD14-1203)。

2 方法与结果

2.1 复方阿托伐他汀钙片的处方组成与制备工艺

处方组成:参照CADUET[®]说明书中描述的处方组成,通过处方筛选,得到最优处方,见表1。

表1 复方奥美沙坦酯片的处方组成

处方组成	用量/mg	作用
阿托伐他汀钙	21.7	活性成分
碳酸钙	60.0	填充剂
微晶纤维素	30.0	填充剂
预交化淀粉	36.0	填充剂
交联羧甲基纤维素钠	7.5	崩解剂
HPC	1.0	黏合剂
吐温80	0.7	增溶剂
纯化水*	65.0	润湿剂
苯磺酸氨氯地平	12.6	活性成分
交联羧甲基纤维素钠	7.5	崩解剂
硬脂酸镁	1.5	润滑剂
微粉硅胶	1.5	助流剂

*:表示在干燥过程中除去。

制备工艺:①阿托伐他汀钙颗粒制备:将阿托伐他汀钙通过100目筛整粒,辅料通过40目筛整粒,按照表1所描述的处方称取阿托伐他汀钙、碳酸钙、微晶纤维素、预交化淀粉、交联羧甲基纤维素钠,采用等量递加法混合均匀,将含有吐温80的HPC溶液喷入到上述物料中制软材,软材经20目筛网制粒,在50℃下烘干,备用;②混合:将制备好的阿托伐他汀钙颗粒和处方量的苯磺酸氨氯地

平、交联羧甲基纤维素钠混合均匀后,分别加入处方量的交联羧甲基纤维素钠、微粉硅胶和硬脂酸镁,总混;③压片:将总混物料转移到旋转式压片机上进行压片,冲模选用Φ8.5 mm浅凹冲,片重为180 mg/片,硬度约为70~120 N,即得复方阿托伐他汀钙苯磺酸氨氯地平片。

2.2 色谱条件

色谱柱: Gemini-NX C18色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相: 20 mM磷酸二氢钾溶液(用磷酸调至pH值至4.0)-乙腈-甲醇(30:10:60, v/v/v);流速: 1.0 ml · min⁻¹;检测波长: 240 nm;柱温: 30℃;进样量: 20 μl。

2.3 溶液制备

2.3.1 对照品溶液制备 分别精密称取阿托伐他汀钙对照品21.7 mg(相当于阿托伐他汀20.0 mg)与苯磺酸氨氯地平对照品约12.6 mg(相当于氨氯地平10.0 mg)置100 ml棕色量瓶中,加入少量甲醇,水浴超声溶解,放冷至室温,加流动相稀释至刻度,摇匀,既得对照品储备液(含阿托伐他汀200 μg · ml⁻¹,氨氯地平100 μg · ml⁻¹)。精密移取对照品储备液5.0 ml置50 ml棕色量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,既得阿托伐他汀钙与苯磺酸氨氯地平对照溶液。每1 ml中含阿托伐他汀20 μg,氨氯地平10 μg。

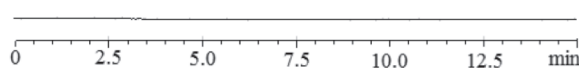
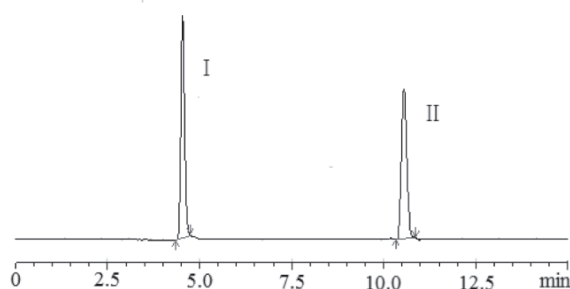
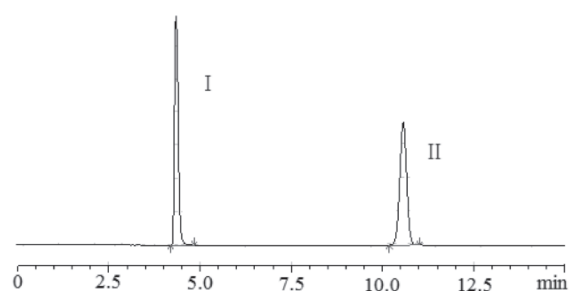
2.3.2 供试品溶液制备 取复方阿托伐他汀钙苯磺酸氨氯地平片(批号:PD14-1201)10片,精密称定,研细,精密称取适量(约相当于阿托伐他汀20 mg,氨氯地平10 mg)粉末,置100 ml棕色量瓶中,加入少量甲醇,水浴超声溶解,放冷至室温,加流动相至刻度,摇匀,过滤。精密移取续滤液5 ml置50 ml棕色量瓶中,加流动相至刻度,摇匀,即得供试品溶液。

2.3.3 辅料溶液制备 取只含处方量辅料的片剂10片,研碎,精密称定相当于1片重量的粉末,置100 ml棕色量瓶中,加入少量甲醇,水浴超声溶解,放冷至室温,加流动相至刻度,摇匀,过滤。精密移取续滤液5 ml置50 ml棕色量瓶中,加流动相至刻度,摇匀,即得辅料溶液。

2.4 系统适用性试验

分别取上述三种溶液按照色谱条件进样检测,得到对照品、供试品、辅料色谱图(图1),计算

分离度,理论塔板数。由色谱图可见,辅料不干扰阿托伐他汀和氨氯地平的含量测定,且两者分离度 R 大于1.5,理论塔板数均不低于5000,拖尾因子均在0.95~1.05内。阿托伐他汀和氨氯地平主峰保留时间分别为10.6 min和4.5 min。



(A): 对照品溶液, (B): 供试品溶液, (C): 空白辅料溶液

I. 氨氯地平, II. 阿托伐他汀

图1 HPLC图谱

2.5 线性关系考察

精密移取“2.2.1”项下对照品储备液0.1、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 ml,分别置于50 ml棕色量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,既得系列对照品溶液,其中含阿托伐他汀质量浓度为0.4、2.0、4.0、8.0、20.0、40.0 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$,含氨氯地平(以氨氯地平计)质量浓度为0.2、1.0、2.0、4.0、10.0、20.0 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 。按照色谱条件进样检测,记录色谱图。以峰面积(A)为纵坐标,以质量浓度(C)为横坐标进行线性回归,绘制标准曲线。结果,阿托伐他汀回归方程为 $A=3.213 \times 105C+9.257 \times 104$,

$r=0.9999$,氨氯地平回归方程 $A=4.246 \times 105C+1.258 \times 105$, $r=0.9999$ 。表明阿托伐他汀在0.4~40.0 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 内,氨氯地平在0.2~20.0 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 内浓度与峰面积呈良好的线性关系。

2.6 检测限与定量限

逐级稀释“2.4”项下对照品溶液,精密量取20 ml,按照色谱条件进样检测,记录色谱图。当 $S/N=3/1$ 时,确定为检测限,阿托伐他汀和氨氯地平检测限浓度分别为0.08 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 和0.04 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$;当 $S/N=10/1$ 时,确定为定量限,阿托伐他汀和氨氯地平定量限浓度分别为0.2 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 和0.1 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 。

2.7 进样精密度试验

按“2.2.1”项下制备1份对照品溶液,按照色谱条件重复进样6次,记录色谱图,测定阿托伐他汀和氨氯地平的峰面积,并计算6份对照品溶液峰面积平均值及RSD。结果,阿托伐他汀和氨氯地平对照品溶液峰面积的RSD分别为0.62%和0.71% ($n=6$),表明仪器精密度良好,符合含量测定要求。

2.8 方法重复性试验

取自制复方阿托伐他汀钙苯磺酸氨氯地平片(批号:PD14-1201),按“2.2.2”项下制备6份供试品溶液,按照色谱条件重复进样6次;同时取对照品溶液进样测定,按外标法计算阿托伐他汀和氨氯地平相当于标示量的质量百分数。阿托伐他汀和氨氯地平的平均含量分别为100.9%和99.5% ($n=6$),RSD分别为1.13%和0.73% ($n=6$),表明方法重复性良好,符合含量测定要求。

2.9 回收率试验

按制剂处方量的80%、100%、120%比例精密称取阿托伐他汀钙和苯磺酸氨氯地平对照品,各3份,加入处方量辅料,按“2.2.2”项下供试品溶液制备方法制成低、中、高浓度的回收率试验溶液,进样测定;同时取对照溶液进样测定,按照外标法计算两主成分的回收率。结果,阿托伐他汀和氨氯地平的平均回收率分别为100.6%和99.7% ($n=9$),RSD分别为0.92%和0.85% ($n=9$),表明回收率良好,符合含量测定要求。

2.10 稳定性试验

按“2.2.1”项下制备1份对照品溶液,室温避光放置,分别于0、2、4、8、12、24 h按色谱条件

进样分析,记录色谱图,考察阿托伐他汀和氨氯地平溶液的稳定性。

表2 阿托伐他汀钙和苯磺酸氨氯地平溶液稳定性

时间(h)	0	2	4	8	12	24%RSD
阿托伐他汀(%)	100.0	99.1	98.9	98.4	100.2	99.6
氨氯地平(%)	100.0	99.5	100.3	100.8	98.9	99.1

由结果可知,阿托伐他汀和氨氯地平两组分峰面积在24 h内的RSD分别为0.69%和0.73%,表明阿托伐他汀钙和苯磺酸氨氯地平对照品溶液在室温避光条件下放置24 h内稳定。

2.11 制剂中药物含量测定

取自制复方阿托伐他汀钙苯磺酸氨氯地平片(规格:阿托伐他汀钙/苯磺酸氨氯地平20 mg/10 mg,以阿托伐他汀/氨氯地平计;批号:PD14-1201/PD14-1202/PD14-1203)三批,按照“2.3.2”项下制备3份供试品溶液。取供试品溶液,按色谱条件进样检测,记录色谱图,同时取对照溶液进样测定,按照外标法计算3批复方阿托伐他汀钙苯磺酸氨氯地平片中两种主成分的含量,结果见表3。

表3 复方阿托伐他汀钙苯磺酸氨氯地平片含量测定结果 (n=6)

批号	有效成分	标示量 (mg)	测定含量 (%)
PD14-1201	阿托伐他汀	20	100.7±1.2
	氨氯地平	10	99.6±0.9
PD14-1202	阿托伐他汀	20	99.2±0.8
	氨氯地平	10	100.4±1.0
PD14-1203	阿托伐他汀	20	99.8±1.1
	氨氯地平	10	100.4±0.6

由结果表明,3批复方阿托伐他汀钙苯磺酸氨氯地平片中两种药物含量符合规定。

3 讨论

经紫外光谱扫描得知,阿托伐他汀钙在252 nm处有最大吸收,苯磺酸氨氯地平在237 nm处有最大吸收,考虑2种药物检测的灵敏度以及在240 nm处两主药有相似的吸收值,故选择240 nm为检测波长。

本研究参照文献优化了不同的流动相条件,包括:缓冲盐种类、缓冲盐浓度、有机相种类、缓冲液的pH值、水相与有机相配比,最终选择峰形好、分离度符合要求的20 mM磷酸二氢钾溶液(用磷酸调至pH值至4.0)-乙腈-甲醇(30:10:60, v/v/v)为流动相。在此色谱条件下,阿托伐他汀和氨氯地平主峰保留时间分别为10.6 min和4.5 min,两种药物色谱峰理论塔板数、分离度和拖尾因子均符合要求。

复方阿托伐他汀钙苯磺酸氨氯地平片中药物含量测定方法学结果表明:本方法操作简便、快速,对两种药物分离效果较好,通过对进样精密度、方法重复性、回收率试验及3批样品中阿托伐他汀和氨氯地平的含量测定,能够保证检测时数据的真实性、可靠性,适用于该制剂的质量控制。

参考文献

- [1] Budavari S. The Merck Index. 12th ed. Whitehouse station (NJ): Merck and Co Inc, 1996, p897.
- [2] Gennaro AE. Remington's-The science and practice of pharmacy. 20th ed. Vol 2. Easton (PA): Mack Publishing Co, 2000, p1294.
- [3] O'Neil MJ. The Merck Index. 13th ed. Whitehouse Station, NJ: Merck and Co Inc, 2001, p86.
- [4] 吴莞尔,周春霞,方央,王均.氨氯地平联合阿托伐他汀治疗老年急性脑梗死高血压的疗效观察[J].中国药师, 2014,17 (12):2075-2077.

[责任编辑、校对:王军利]