

# HPLC法同时测定复方坎地沙坦酯氢氯噻嗪片中的主成分含量

谢鹏<sup>1\*</sup>, 王敏<sup>1,2#</sup> (1.唐山市协和医院药剂科, 河北唐山 063004; 2.唐山职业技术学院, 河北唐山 063004)

中图分类号 R927.2; R972\*.4 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)25-2372-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.25.25

**摘要** 目的:建立同时测定复方坎地沙坦酯氢氯噻嗪片中主成分含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为 Venusil XBP-C<sub>18</sub>,以磷酸盐缓冲液(pH 7.0)为水相、甲醇-乙腈(2:1)混合液为有机相进行梯度洗脱,流速为1.0 ml/min,柱温为40 ℃,检测波长为262 nm。结果:氢氯噻嗪、坎地沙坦酯分离度均大于1.5,检测质量浓度线性范围分别为2.5~100.0、1.62~64.8 mg/L(*r*均为0.999 9),平均回收率分别为99.23%、99.78%,RSD分别为1.23%、0.84%(*n*=9)。结论:该方法对2种主成分分离效果较好,结果准确、可靠,适用于同时测定复方坎地沙坦酯氢氯噻嗪片剂中的2个主成分的含量。

**关键词** 坎地沙坦酯;氢氯噻嗪;片剂;含量测定;高效液相色谱法

## Simultaneous Determination of Main Components in Compound Hydrochlorothiazide/Candesartan Cilexetil Tablets by HPLC

XIE Peng<sup>1</sup>, WANG Min<sup>1,2</sup> (1.Dept. of Pharmacy, Tangshan Union Hospital, Hebei Tangshan 063004, China; 2. Tangshan Vocational & Technical College, Hebei Tangshan 063004, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the method for simultaneous determination of main components in Compound hydrochlorothiazide/candesartan cilexetil tablets. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Venusil XBP-C<sub>18</sub> column with phosphate buffer (pH 7.0) as water phase and methanol-acetonitrile (2:1) as organic phase (gradient elution) at the flow rate of 1.0 ml/min. The column temperature was 40 ℃, and detection wavelength was set at 262 nm. RESULTS: The separation rates of hydrochlorothiazide and candesartan cilexetil were all more than 1.5. The linear ranges were 2.5-100.0 mg/L for hydrochlorothiazide and 1.62-64.8 mg/L for candesartan cilexetil (all *r*=0.999 9). The mean recoveries were 99.23% (RSD=1.23%, *n*=9) and 99.78% (RSD=0.84%, *n*=9), respectively. CONCLUSIONS: 2 kinds of main components are well-separated by this method. The method is accurate and reliable, and suitable for simultaneous determination of 2 kinds of main components in Compound hydrochlorothiazide/candesartan cilexetil tablets.

**KEY WORDS** Candesartan cilexetil; Hydrochlorothiazide; Tablets; Content determination; HPLC

坎地沙坦酯是血管紧张素(Ang) II AT<sub>1</sub>受体亚型的高选择性竞争性拮抗药,能够有效降低轻、中度高血压患者的血压,且不良反应发生率较低<sup>[1-3]</sup>。氢氯噻嗪是一种噻嗪类利尿剂,其降压机制目前虽尚未完全明确,但已知其能影响肾小管对电解质的重吸收机制,直接增加钠和氯的排泄。两者合用对降低血压有相加作用,并且可以克服两药单独使用时引起的多种不良反应<sup>[4-5]</sup>。

复方坎地沙坦酯氢氯噻嗪片目前在各国药典中均未收载。在美国FDA规定的该药物溶出度的测定方法中,溶出介质中加入了聚山梨酯20<sup>[6]</sup>。而采用文献<sup>[7-9]</sup>报道的方法,笔者发

现溶出介质中的聚山梨酯20可影响氢氯噻嗪的含量测定,导致聚山梨酯20与氢氯噻嗪色谱峰不能完全分离。故笔者采用梯度洗脱的高效液相色谱(HPLC)法,建立了可同时测定复方坎地沙坦酯氢氯噻嗪片剂中2种成分含量的方法,为该复方制剂的质量控制提供了一种准确可靠的分析方法。

### 1 材料

1200 HPLC系统(美国Agilent公司);BP211D电子天平(德国Satorius公司)。

坎地沙坦酯原料药(浙江华海药业股份有限公司,批号:11-20120106,纯度:≥99.5%);氢氯噻嗪原料药(苏州立新医

转正质量标准[S].北京:化学工业出版社,2004:55.  
[8] 韩启银,张根元,陶伟博,等.高效液相色谱法测定苯磺酸氨氯地平分散片的含量[J].江苏药学与临床研究,2005,13(6):19.  
[9] 方顺干,俞佳,蒋振,等.高效液相色谱法测定苯磺酸氨氯地平片的含量[J].药物鉴定,2006,15(12):23.

\*副主任药师。研究方向:药学。E-mail: xiepd@163.com  
#通信作者:副教授。研究方向:药理学。E-mail: wangm65@163.com

[10] 徐国津,李新春.高效液相色谱法测定苯磺酸氨氯地平的含量及有关物质[J].中国药学杂志,2008,43(1):60.  
[11] 胡在林.反相液相色谱法测定苯磺酸氨氯地平胶囊的含量及有关物质[J].药物鉴定,2011,20(12):28.  
[12] 董煜,钱小平,孙晶晶.HPLC法测定苯磺酸氨氯地平片的有关物质[J].中国药品标准,2010,11(3):213.  
[13] 吕煜.苯磺酸氨氯地平片的质量控制研究[J].中国医院用药评价与分析,2012,12(3):236.

(收稿日期:2013-04-11 修回日期:2013-04-25)

药原料有限公司,批号:110106,纯度:≥99.8%);复方坎地沙坦酯氢氯噻嗪片中试样品(自制,批号:20120903,20121112、20121113、20121115,规格:坎地沙坦酯/氢氯噻嗪 8 mg/6.25 mg);坎地沙坦酯对照品(批号:100685-201201,供含量测定用)、氢氯噻嗪对照品(批号:100685-201201,供含量测定用)均来自中国食品药品检定研究院;乳糖、预胶化淀粉、硬脂酸镁均为药用级辅料,甲醇、乙腈、磷酸二氢钾为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱: Venusil XBP-C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: A为磷酸盐缓冲液(0.01 mmol/L磷酸二氢钾,用三乙胺调节到pH值7.0), B为甲醇-乙腈(2:1)混合液,梯度洗脱,流速: 1.0 ml/min; 检测波长: 262 nm; 柱温: 40 °C; 进样量: 20 μl。梯度洗脱程序见表1。

表1 梯度洗脱程序

Tab 1 Gradient elution process

t, min	A比例, %	B比例, %
0	80	20
6	80	20
15	15	85
25	15	85

### 2.2 溶液配制及系统适用性试验

2.2.1 对照品溶液配制。取氢氯噻嗪对照品约12.5 mg、坎地沙坦酯对照品约16 mg,精密称定,置于同一个100 ml量瓶中,加少量甲醇溶解后,加流动相至刻度,摇匀,即得对照品贮备液。精密量取贮备液5 ml置于100 ml量瓶中,加流动相至刻度,摇匀,即得。

2.2.2 供试品溶液配制。取样品(批号:20120903)10片,研碎,精密称定相当于1片质量的粉末,置于50 ml量瓶中,加少量甲醇溶解,水浴超声后,放冷至室温,加流动相至刻度,摇匀,过滤。精密量取续滤液5 ml置于50 ml量瓶中,加流动相至刻度,摇匀,即得。

2.2.3 辅料溶液的配制。取只含处方量辅料的片剂10片,其余操作同“2.2.2”项下方法,即得辅料溶液。

2.2.4 系统适用性试验。取上述3种溶液分别按照“2.1”项下的色谱条件进样。结果,氢氯噻嗪、坎地沙坦酯保留时间分别约为7.5、25.3 min;在此色谱条件下,辅料对测定无干扰;2种主成分色谱峰理论板数均不低于5 000,分离度大于1.5,拖尾因子均为0.95~1.05。3种溶液的色谱图见图1。

### 2.3 线性关系试验

精密称取氢氯噻嗪对照品约50 mg、坎地沙坦酯对照品约32 mg,精密称定,置于同一100 ml量瓶中,加少量甲醇溶解,加流动相至刻度,摇匀,作为贮备液。精密量取贮备液定量稀释成氢氯噻嗪为2.5、5.0、12.5、25.0、50.0、100.0 mg/L,坎地沙坦酯为1.62、3.24、8.1、16.2、32.4、64.8 mg/L的系列质量浓度对照品溶液,进样测定。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,氢氯噻嗪回归方程为 $A=48\ 843c-6\ 323.6$ ( $r=0.999\ 9$ ),坎地沙坦酯回归方程为 $A=36\ 145c+12\ 521$ ( $r=0.999\ 9$ ),表明氢氯噻嗪、坎地沙坦

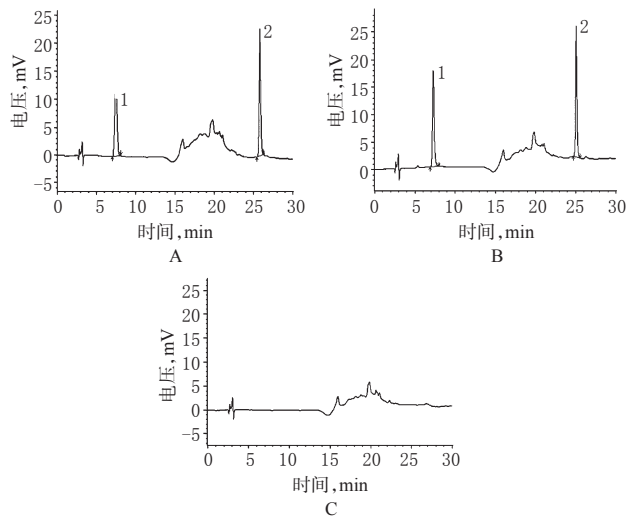


图1 高效液相色谱图

A. 对照品溶液; B. 供试品溶液; C. 辅料溶液; 1. 氢氯噻嗪; 2. 坎地沙坦酯

Fig 1 HPLC chromatograms

A. control solution; B. test sample solution; C. excipients solution; 1. hydrochlorothiazide; 2. candesartan cilexetil

酯的检测质量浓度线性范围分别为2.5~100.0、1.62~64.8 mg/L。

### 2.4 检测限与定量限试验

将“2.2.1”项下对照品贮备液用流动相逐步稀释,精密量取20 μl,注入色谱仪,当信噪比约为3时确定为检测限,结果,氢氯噻嗪和坎地沙坦酯检测限分别为0.2、0.08 μg/ml;当信噪比约为10时确定为定量限,结果,氢氯噻嗪和坎地沙坦酯定量限分别为0.4、0.16 μg/ml。

### 2.5 进样精密度试验

按“2.2.2”项下方法制备1份供试品溶液,重复进样6次,测定氢氯噻嗪和坎地沙坦酯的峰面积,并计算6次平均值及RSD。结果,2种成分的RSD分别为0.48%、0.57%,表明仪器精密度良好,符合含量测定要求。

### 2.6 重复性试验

按“2.2.2”项下方法制备6份供试品溶液,进样。结果,氢氯噻嗪和坎地沙坦酯的RSD分别为0.86%、0.98%,表明方法重复性较好。

### 2.7 回收率试验

按处方量的80%、100%、120%比例精密称取氢氯噻嗪和坎地沙坦酯对照品,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、高质量浓度的回收率试验溶液,进样测定;另按“2.2.1”项下方法制备对照品溶液,按外标法以峰面积计算2个主成分的回收率。结果氢氯噻嗪和坎地沙坦酯平均回收率为99.23%(RSD=1.23%)、99.78%(RSD=0.84%),表明方法准确度良好,见表2。

### 2.8 稳定性试验

取一份供试品溶液,室温放置,分别于0、2、4、8、24 h进样分析,记录氢氯噻嗪和坎地沙坦酯的峰面积,考察氢氯噻嗪和坎地沙坦酯的溶液稳定性。结果2个主成分峰面积的RSD分别为1.30%、1.09%,表明溶液在室温下放置24 h稳定。

表2 回收率试验结果(n=9)

Tab 2 Results of recovery tests(n=9)

主成分	处方比例, %	加入量, $\mu\text{g/ml}$	测得量, $\mu\text{g/ml}$	回收率, %	平均回收率, %	总平均回收率, %	RSD, %
氢氯噻嗪	80	5.42	5.44	100.42	99.50	99.23	1.23
		5.30	5.24	98.87			
		5.14	5.10	99.22			
	100	6.45	6.28	97.36	98.11		
		6.28	6.15	97.93			
		6.26	6.20	99.04			
	120	7.48	7.46	99.73	100.07		
		7.57	7.67	101.45			
		7.64	7.57	99.08			
坎地沙坦酯	80	6.50	6.52	100.31	100.15	99.78	0.84
		6.14	6.11	99.51			
		6.36	6.40	100.63			
	100	8.16	8.09	99.14	99.89		
		8.02	8.12	101.25			
		8.21	8.15	99.27			
	120	9.62	9.53	99.06	99.29		
		9.62	9.63	100.10			
		9.41	9.29	98.72			

### 2.9 样品含量测定

取复方坎地沙坦酯氢氯噻嗪片中试样品(批号:20121112、20121113、20121115)各10片,按“2.2.2”项下方法制备3份供试品溶液。取供试品溶液进样分析,记录色谱图,计算3批样品中氢氯噻嗪和坎地沙坦酯的含量。结果表明制备的中试3批样品含量符合规定,详见表3。

表3 3批样品含量测定结果

Tab 3 Content determination results of 3 batches of samples

批号	氢氯噻嗪含量, %	坎地沙坦酯含量, %
20121112	98.46	100.69
20121113	101.89	99.48
20121115	99.14	101.54

### 3 讨论

将对照品溶液进行紫外扫描后可知坎地沙坦酯在213、255、305 nm波长处有最大吸收,氢氯噻嗪在200~300 nm波长内均有吸收。由于制剂中坎地沙坦酯和氢氯噻嗪的质量比为1:1,在262 nm波长处2个主成分有相似的吸收值,故选择262 nm为检测波长。

由于氢氯噻嗪与坎地沙坦酯极性相差较大,在溶出度含量测定过程中发现,若采用文献<sup>[7]</sup>报道的方法进行等度洗脱[乙腈-0.1 mol/L磷酸二氢钠溶液(65:35)],氢氯噻嗪大约在2.5 min处出峰,此时聚山梨酯20对氢氯噻嗪测定会产生干扰;若提高流动相中水相比例[乙腈-0.1 mol/L磷酸二氢钠溶液(50:50)],氢氯噻嗪大约在5 min处出峰,此时聚山梨酯20不干扰氢氯噻嗪测定,但坎地沙坦酯不出峰。因此无法通过等度洗脱方法兼顾2个主成分的保留,所以最终选择梯度洗脱。

在流动相的选择中,笔者发现有机相如果单为甲醇,在氢氯噻嗪出峰后为使坎地沙坦酯尽快出峰,流动相梯度比例由于变化较大,基线会出现极为不平的现象,影响坎地沙坦酯色谱峰的准确积分。而采用甲醇和乙腈混合溶剂作为有机相,且当甲醇-乙腈之比为2:1时,基线较为平稳,氢氯噻嗪与坎地沙坦酯能够较好分离。

《美国药典》收录的氢氯噻嗪片剂的分析方法中流动相为:乙腈-0.1 mol/L磷酸二氢钠溶液(10:90),《日本药典》收录的坎地沙坦酯片剂的分析方法中流动相为:乙腈-水-冰醋酸(57:43:1)。采用氢氯噻嗪片剂分析方法测定本复方制剂药物含量时,坎地沙坦酯不出峰;而采用测定坎地沙坦酯片剂分析方法测定本复方制剂药物含量时,氢氯噻嗪保留时间约2.8 min,保留时间较短,聚山梨酯20干扰了氢氯噻嗪的含量测定。而本方法采用梯度洗脱,可同时测定复方制剂中坎地沙坦酯和氢氯噻嗪的含量,且方法快速、可靠。

### 参考文献

- [1] 李琼,左明兴.坎地沙坦的药理与临床[J].药物不良反应杂志,2000,3(3):202.
  - [2] 黄建庚,李高.高效液相色谱法测定人血浆中坎地沙坦的含量[J].中国药师,2005,8(4):293.
  - [3] Melian EB, Jarvis B. Candesartan cilexetil plus hydrochlorothiazide combination: a review of its use in hypertension[J]. *Drugs*, 2002, 62(5):787.
  - [4] 龚恒美,胡中伟,龚恒丽.硝苯地平控释片联合坎地沙坦酯治疗原发性高血压合并腹型肥胖的临床观察[J].中国药房,2012,23(28):2654.
  - [5] 吴红红,段磊,山奴佳.坎地沙坦酯联合吲达帕胺治疗老年原发性高血压的疗效观察[J].中国药房,2011,22(32):3012.
  - [6] FDA 药物溶出度数据库. *Dissolution method of candesartancilexetil/ hydrochlorothiazide tablets*. FDA[EB/OL]. (2010-01-29) [2011-10-10]. [http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/dsp\\_SearchResults\\_Dissolutions.cfm](http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/dsp_SearchResults_Dissolutions.cfm).
  - [7] 雷健,张小松,卓芝,等.HPLC-UV法同时测定复方坎地沙坦酯片中坎地沙坦酯和氢氯噻嗪的含量[J].药物分析杂志,2007,27(4):27.
  - [8] 韩俊.高效液相色谱法测定复方坎地沙坦酯片两组分的含量[J].时珍国医国药,2007,18(6):1408.
  - [9] Qutab SS, Razaq SN. Simple and sensitive LC-UV method for simultaneous analysis of hydrochlorothiazide and candesartan cilexetil in pharmaceutical formulations[J]. *Acta Chromatographica*, 2007, 19(1):119.
- (收稿日期:2013-01-29 修回日期:2013-03-27)

《中国药房》杂志——《文摘杂志》(AJ)收录期刊,欢迎投稿、订阅