

UPLC法同时测定缬沙坦氢氯噻嗪片中缬沙坦和氢氯噻嗪的含量

纪宏*,刘晶,王威#,祁进,刘清华(北京市药品检验所生命园实验室,北京 102206)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)15-2131-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.15.32

摘要 目的:建立同时测定缬沙坦氢氯噻嗪片中缬沙坦和氢氯噻嗪含量的方法。方法:采用超高效液相色谱法。色谱柱为Phenomenex C₁₈,流动相为[0.1%磷酸溶液-乙腈(95:5, V/V)]-[0.1%磷酸溶液-乙腈(5:95, V/V)](梯度洗脱),流速为0.25 mL/min,检测波长为272 nm,柱温为35 ℃,进样量为1.5 μL。结果:缬沙坦和氢氯噻嗪检测质量浓度线性范围分别为8.1~324.2 μg/mL($r=0.999\ 9$)、1.2~50.1 μg/mL($r=0.999\ 9$);定量限分别为0.24、0.04 ng,检测限分别为0.06、0.01 ng;精密性、稳定性、重复性试验的RSD<2.0%;加样回收率分别为97.69%~100.35%(RSD=1.03%, $n=9$)、98.27%~100.60%(RSD=0.83%, $n=9$)。结论:该方法操作简单、快速,结果准确,可用于缬沙坦氢氯噻嗪片中缬沙坦和氢氯噻嗪含量的同时测定。
关键词 超高效液相色谱法;缬沙坦氢氯噻嗪片;缬沙坦;氢氯噻嗪;含量

Simultaneous Determination of Valsartan and Hydrochlorothiazide in Valsartan Hydrochlorothiazide Tablets by UPLC

Ji Hong, Liu Jing, Wang Wei, Qi Jin, Liu Qinghua (Shengmingyuan Laboratory, Beijing Institute for Drug Control, Beijing 102206, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for simultaneous determination of valsartan and hydrochlorothiazide in Valsartan hydrochlorothiazide tablets. METHODS: UPLC was adopted. The determination was performed on Phenomenex C₁₈ column with mobile phase consisted of [0.1% phosphoric acid solution-acetonitrile (95:5, V/V)]-[0.1% phosphoric acid solution-acetonitrile (5:95, V/V)] (gradient elution) at the flow rate of 0.25 mL/min. The detection wavelength was set at 272 nm, and the column temperature was 35 ℃. The sample size was 1.5 μL. RESULTS: The linear range were 8.1-324.2 μg/mL for valsartan ($r=0.999\ 9$) and 1.2-50.1 μg/mL for hydrochlorothiazide ($r=0.999\ 9$). The limits of quantitation were 0.24, 0.04 ng, and the limits of detection were 0.06, 0.01 ng. RSDs of precision, stability and reproducibility tests were less than 2.0%; recoveries were 97.69%-100.35% for valsartan (RSD=1.03%, $n=9$) and 98.27%-100.60% for hydrochlorothiazide (RSD=0.83%, $n=9$). CONCLUSIONS: The method is simple, rapid and accurate, and can be used for the simultaneous determination of valsartan and hydrochlorothiazide in Valsartan hydrochlorothiazide tablets.

KEYWORDS UPLC; Valsartan hydrochlorothiazide tablet; Valsartan; Hydrochlorothiazide; Content

缬沙坦氢氯噻嗪片(Co-Diovan)是由缬沙坦和氢氯噻嗪组成的复方制剂,为瑞士诺华公司研发。该制剂的主要成分缬沙坦属血管紧张素Ⅱ受体拮抗药^[1-2],辅助成分氢氯噻嗪则为利尿药^[1-3],二者可协同治疗单一药物不能有效控制的轻、中度原发性高血压^[3-4]。该制剂在强效降压的同时还具有保护心、脑、肾等靶器官的作用^[1-4]。目前,2015年版《中国药典》^[5]仅收录了测定缬沙坦、氢氯噻嗪单一成分的制剂,未收录复方制剂;且现有文献^[6-10]测定缬沙坦氢氯噻嗪复方制剂含量的方法主要是高效液相色谱法,操作较为烦琐、耗时。因此,为更快速、准确地测定该复方制剂中缬沙坦和氢氯噻嗪的含量,笔者采用超高效液相色谱法(UPLC)建立了同时测定其中上述两种成分含量的方法。

*副主任药师,硕士。研究方向:药物质量控制分析。电话:010-51159668。E-mail:jihong@bidc.org.cn

#通信作者:副主任药师,硕士。研究方向:药物质量控制分析。电话:010-51159668。E-mail:wangwei@bidc.org.cn

1 材料

1.1 仪器

Acquity型UPLC仪,包括二元高压梯度混合系统、标准型自动进样器、柱温箱、二极管阵列检测器和Empower色谱工作站(美国Waters公司);XT105型电子天平(瑞士Mettler-Toledo公司);SB-25-12D型超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司,功率:250 W,频率:40 kHz);培英DZ-900型振荡器(太仓市实验设备厂)。

1.2 药品与试剂

缬沙坦氢氯噻嗪片(某企业,批号:T7038、T7039、T7017,规格:每片含缬沙坦80 mg、氢氯噻嗪12.5 mg);缬沙坦对照品(欧洲药典委员会,批号:H3409,纯度:99.0%);氢氯噻嗪对照品(欧洲药典委员会,批号:H3020,纯度:99.9%);乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Phenomenex C₁₈(50 mm×2.1 mm,1.7 μm);流动相:[0.1%磷酸溶液-乙腈(95:5,V/V)](A)-[0.1%磷酸溶液-乙腈(5:95,V/V)](B),采用梯度洗脱(洗脱程序见表1);流速:0.25 mL/min;检测波长:272 nm;柱温:35 ℃;进样量:1.5 μL。

表1 梯度洗脱程序

Tab 1 Gradient elution procedure

时间,min	A,%	B,%
0.00	95	5
2.00	20	80
2.33	20	80
2.67	0	100
2.70	95	5
4.67	95	5

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 精密称取缬沙坦和氢氯噻嗪对照品各适量,加50%乙腈溶液溶解制成缬沙坦、氢氯噻嗪质量浓度分别为810.5、125.2 μg/mL的单一对照品溶液。取上述单一对照品溶液各适量,置于同一50 mL量瓶中,加50%乙腈溶液溶解制成缬沙坦、氢氯噻嗪质量浓度分别为8.00、1.25 μg/mL的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取样品20片,精密称定,研细,精密称取适量(约相当于缬沙坦80 mg),置于100 mL量瓶中,加50%乙腈溶液80 mL,超声处理25 min,振摇40 min,放冷,加50%乙腈溶液稀释至刻度,摇匀,滤过,精密量取续滤液5 mL,置于50 mL量瓶中,加50%乙腈溶液稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.3 阴性对照溶液 按样品的处方比例和制备工艺制备缺缬沙坦和氢氯噻嗪的阴性样品,再按“2.2.2”项下方法制备阴性对照溶液。

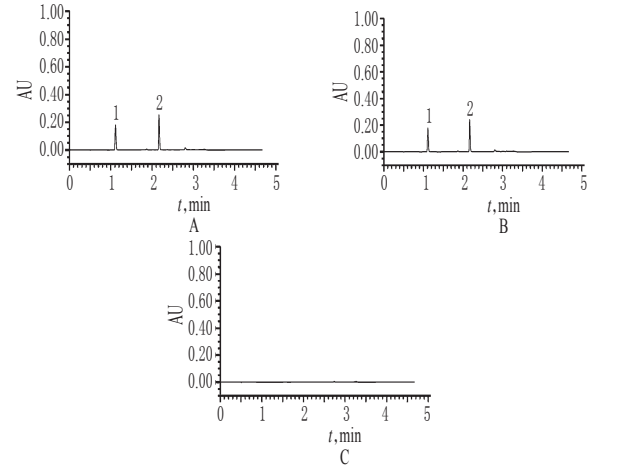
2.3 系统适用性试验

精密量取“2.2”项下混合对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图1。由图1可知,在该色谱条件下,各成分均能达到基线分离,分离度>2.0;理论板数以缬沙坦峰计为10 000,以氢氯噻嗪峰计为35 000,保留时间分别为2.11、1.12 min。结果表明,其他成分对测定不干扰。

2.4 线性关系考察

分别精密量取“2.2.1”项下缬沙坦、氢氯噻嗪单一对照品溶液各0.1、0.2、0.6、1.0、1.4、2.0、4.0 mL,置于同一10 mL量瓶中,加50%乙腈溶液定容,摇匀,制成系列混合对照品溶液。精密量取上述系列混合对照品溶液各1.5 μL,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以缬沙坦和氢氯噻嗪质量浓度(x , μg/mL)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得二者回归方程分别为 $y=4\,537\,410x+5\,789.3(r=0.999\,9)$ 、 $y=$

$23\,498\,311x-641.40(r=0.999\,9)$ 。结果表明,缬沙坦和氢氯噻嗪检测质量浓度线性范围分别为8.1~324.2、1.2~50.1 μg/mL。



A.混合对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.氢氯噻嗪;2.缬沙坦
A. mixed control; B. test sample; C. negative control; 1. hydrochlorothiazide; 2. valsartan

图1 超高效液相色谱图

Fig 1 UPLC chromatograms

2.5 定量限与检测限考察

取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,倍比稀释,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。当信噪比为10:1时,得定量限(LOQ);当信噪比为3:1时,得检测限(LOD)。结果,缬沙坦和氢氯噻嗪的LOQ分别为0.24、0.04 ng,LOD分别为0.06、0.01 ng。

2.6 精密度试验

取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,缬沙坦和氢氯噻嗪峰面积的RSD分别为0.27%、0.29%($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

精密量取同一供试品溶液(批号:T7038)适量,分别于室温下放置0、2、4、8、12 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,缬沙坦和氢氯噻嗪峰面积的RSD分别为0.42%、0.67%($n=5$),表明供试品溶液在室温下放置12 h内稳定性良好。

2.8 重复性试验

取样品(批号:T7038)适量,共6份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算含量。结果,缬沙坦和氢氯噻嗪的平均含量分别为95.30%和97.69%,RSD分别为0.97%、1.06%($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.9 加样回收率试验

取已知含量的样品(批号:T7039)适量,共9份,各置于50 mL量瓶中,分别加入低、中、高质量的缬沙坦、氢氯噻嗪对照品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加

样回收率,结果见表2。

表2 加样回收率试验结果(n=9)

Tab 2 Results of recovery tests(n=9)

待测成分	取样量,g	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
缬沙坦	0.123 8	3.937 0	2.375 4	6.320 8	100.35	98.61	1.03
	0.123 8	3.937 0	2.375 4	6.317 0	100.19		
	0.123 8	3.937 0	2.375 4	6.288 3	98.98		
	0.123 8	3.937 0	3.959 0	7.810 7	97.84		
	0.123 8	3.937 0	3.959 0	7.814 7	97.94		
	0.123 8	3.937 0	3.959 0	7.821 7	98.12		
	0.123 8	3.937 0	5.542 6	9.387 0	98.33		
	0.123 8	3.937 0	5.542 6	9.351 8	97.69		
	0.123 8	3.937 0	5.542 6	9.368 6	98.00		
	0.123 8	0.623 8	0.374 3	1.000 4	100.60		
氢氯噻嗪	0.123 8	0.623 8	0.374 3	0.997 2	99.75	99.24	0.83
	0.123 8	0.623 8	0.374 3	0.998 0	99.97		
	0.123 8	0.623 8	0.623 9	1.244 1	99.42		
	0.123 8	0.623 8	0.623 9	1.244 2	99.44		
	0.123 8	0.623 8	0.623 9	1.237 0	98.28		
	0.123 8	0.623 8	0.873 4	1.488 2	98.97		
	0.123 8	0.623 8	0.873 4	1.482 1	98.27		
	0.123 8	0.623 8	0.873 4	1.483 1	98.38		

2.10 样品含量测定

取3批样品各适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并按外标法以峰面积计算缬沙坦和氢氯噻嗪的含量,结果见表3。

表3 样品含量测定结果(n=3, %)

Tab 3 Results of content determination of samples(n=3, %)

样品批号	缬沙坦	氢氯噻嗪
T7038	95.22	97.73
T7039	96.82	98.18
T7017	96.50	97.97

3 讨论

3.1 检测波长的选择

分别取“2.2.1”项下缬沙坦、氢氯噻嗪的单一对照品溶液各适量,在210~400 nm波长范围内进行扫描。结果显示,缬沙坦在250 nm波长处、氢氯噻嗪在272 nm和323 nm波长处有较强吸收。因此,为使色谱基线平稳,干扰少,吸收峰更强,同时兼顾两种成分的测定,选择272 nm作为本试验的检测波长。

3.2 柱温的选择

本试验考察了不同柱温(15、25、35 ℃)对色谱峰分

离的影响。结果,以35 ℃时的分离度最好,洗脱时间最短。因此,综合考虑色谱柱的使用情况等因素,最终本试验将柱温定为35 ℃。

3.3 溶剂的选择

本试验的溶剂先后考察了甲醇、乙腈、流动相等,结果采用乙腈的溶解性最好,对色谱柱的损伤也较小,且相对节约成本;同时,还考察了不同体积分数(25%、50%、75%)乙腈的溶解效果,结果采用50%乙腈溶液为溶剂时样品可以溶解完全。因此,本试验最终选择50%乙腈溶液为溶剂。

综上所述,本方法操作简单、快速,结果准确,可用于缬沙坦氢氯噻嗪片中缬沙坦和氢氯噻嗪含量的同时测定。

参考文献

[1] 李文举,李敏,张伟.血管紧张素转换酶抑制剂的临床应用进展[J].中国药房,2010,21(20):1918-1920.

[2] 张石革.抗高血压药发展新趋向:复方制剂的进展与临床评价[J].中国医院用药评价与分析,2011,11(2):102-104.

[3] 张石革,王文.抗高血压药联合治疗的进展与评价:心血管疾病合理用药专家圆桌会议纪要[J].中国医院用药评价与分析,2011,11(2):97-99.

[4] 杜海洲,刘娜,刘桂玲,等.国际抗高血压复方制剂研发进展[J].中国新药杂志,2010,19(18):1676-1679.

[5] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:771、1548-1549.

[6] 吴善霞,刘延凤.HPLC法同时测定缬沙坦氢氯噻嗪片中两组分的含量[J].药学研究,2013,32(3):153-154.

[7] 吴迪,郭伟英.HPLC法同时测定缬沙坦氢氯噻嗪胶囊中缬沙坦和氢氯噻嗪的含量[J].中国药房,2012,23(9):846-848.

[8] 廖红娟,张涛.高效液相色谱法测定缬沙坦片的含量[J].中国药业,2010,19(9):36-38.

[9] 杨卿.高效液相色谱法测定复方缬沙坦片中缬沙坦的含量[J].山西医科大学学报,2009,40(12):1093-1095.

[10] 饶五湖,林瑞群.高效液相色谱法测定氢氯噻嗪片的含量[J].中国药业,2009,18(17):22-24.

(收稿日期:2016-05-31 修回日期:2017-03-01)

(编辑:刘 柳)