

手性固定相HPLC法测定阿托伐他汀钙片中对映异构体的含量

汪秋兰^{1*}, 施春阳^{1#}, 王文清¹, 谢斌², 林蒙¹, 方建国¹(1.华中科技大学同济医学院附属同济医院药学部, 武汉 430030; 2.湖北丝宝药业有限公司, 武汉 430019)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)16-1521-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.16.26

摘要 目的: 建立测定阿托伐他汀钙片中对映异构体含量的方法。方法: 采用手性固定相高效液相色谱法。色谱柱为 Chiralpak AD-H 手性柱, 流动相为正己烷-无水乙醇-三氟乙酸(93:7:0.1, V/V/V), 检测波长为 246 nm, 流速为 1 ml/min, 柱温为 30 °C, 进样量为 10 μl。结果: 对映异构体检测质量浓度在 0.63~3.15 μg/ml 范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系($r=0.9998$); 平均加样回收率为 102.07%, RSD=1.53% ($n=9$); 4 批试样和 1 批市售样品均未检出对映异构体。结论: 该方法专属性强、重复性好、准确度高, 适用于阿托伐他汀钙片中对映异构体的检测。

关键词 高效液相色谱法; 阿托伐他汀钙片; 对映异构体; 含量测定

Content Determination of Enantiomer in Atorvastatin Calcium Tablet by HPLC Using Chiral Stationary Phase

WANG Qiu-lan¹, SHI Chun-yang¹, WANG Wen-qing¹, XIE Bin², LIN Meng¹, FANG Jian-guo¹(1.Dept. of Pharmacy, Tongji Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China; 2.Hubei C-Bons Pharmaceutical Co., Ltd., Wuhan 430019, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of the enantiomer in Atorvastatin calcium tablet. METHODS: Chiral stationary phase HPLC was adopted. The determination was performed on Chiralpak AD-H chiral column with mobile phase consisted of hexane-dehydrated alcohol-trifluoroacetic acid (93:7:0.1, V/V/V) at the flow rate of 1 ml/min. The detection wavelength was set at 246 nm, and column temperature was 30 °C. The sample size was 10 μl. RESULTS: The linear range of enantiomer was 0.63-3.15 μg/ml ($r=0.9998$) with an average recovery of 102.07% (RSD=1.53%, $n=9$); None of enantiomer was found in 4 batches of samples and 1 batches of market samples. CONCLUSION: The method is specific, reproducible and accurate, and it is suitable for the determination of enantiomer in Atorvastatin calcium tablet.

KEY WORDS HPLC; Atorvastatin calcium tablet; Enantiomer; Content determination

阿托伐他汀钙(Atorvastatin calcium)为他汀类血脂调节药,是一种高选择性 3-羟基-3 甲基-戊二酰辅酶 A(HMG-CoA)还原酶抑制剂,适用于原发性高胆固醇血症和混合性高脂血症,可降低升高的总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、载脂蛋白 B(ApoB)和甘油三酯(TG)水平,也可用于高胆固醇血症合并有动脉粥样硬化危险的患者^[1-4]。阿托伐他汀钙结构中有 2 个手性碳原子、4 个光学异构体,具有药理活性的为(R,R)型,非对映异构体可用反相高效液相色谱(RP-HPLC)法进行分离,对映异构体(S,S)型需采用正相 HPLC 法进行分离。目前,文献对其对映异构体的研究报道很少,本研究采用手性固定相 HPLC 法对阿托伐他汀钙片中对映异构体的分离条件、方法进行了筛选,测定了其含量。本方法专属性强、重复性好、准确度高,可用于阿托伐他汀钙片的质量控制。

1 材料

LC-20AD 型 HPLC 仪,包括 LCsolution 工作站、LC-20AD 泵、SIL-20A 型自动进样器、SPD-M20A 型二极管阵列检测器

* 药师,本科。研究方向:药物分析。电话:027-83649095。E-mail: qiulan1110@126.com

通信作者:主管药师,博士。研究方向:医院药学和药物制剂。电话:027-83649095。E-mail: scy730512@yahoo.com.cn

(190~800 nm,日本岛津公司);AUW 220D 型双量程分析天平(日本岛津公司,感量:0.1 mg/0.01 mg)。

阿托伐他汀钙对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100590-200802,按无水阿托伐他汀钙计,供 HPLC 测定,本品质量分数为 95.0%;供 UV 测定,本品质量分数为 95.5%);阿托伐他汀钙片(湖北丝宝药业有限公司,批号:101001、110101、110102、110103,规格:10 mg/片);阿托伐他汀钙片市售样品(辉瑞制药有限公司,批号:111010K);阿托伐他汀钙对映异构体对照品(浙江新东港药业股份有限公司,批号:20100701,质量分数:94.4%);甲醇、正己烷和无水乙醇均为色谱纯(美国天地公司),三氟乙酸为分析纯,水为新制多效蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Chiralpak AD-H 手性柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);流动相:正己烷-无水乙醇-三氟乙酸(93:7:0.1, V/V/V);检测波长:246 nm;流速:1 ml/min;柱温:30 °C;进样量:10 μl。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取对映异构体对照品 8.35 mg(按含量换算后为 7.88 mg),置于 10 ml 棕色量瓶中,加甲醇 2 ml 使溶解,再用正己烷-无水乙醇(1:1, V/V)稀释至刻度,摇匀,作为对照品贮备液。取上述贮备液 0.2 ml,置于 50 ml 棕色量瓶

中,用正己烷-无水乙醇(1:1, *V/V*)稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.2 系统适用性溶液 分别精密称取阿托伐他汀钙对照品和对映异构体对照品适量,置于10 ml棕色量瓶中,加甲醇2 ml,超声使溶解,用正己烷-无水乙醇(1:1, *V/V*)稀释制成每1 ml中约含阿托伐他汀1 mg、对映异构体3 μg的混合溶液,即得。

2.2.3 供试品溶液 取本品20片,精密称定,研细,精密称取适量(约相当于阿托伐他汀10 mg),置于10 ml量瓶中,加甲醇2 ml使溶解,再用正己烷-无水乙醇(1:1, *V/V*)稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.4 空白对照溶液 按阿托伐他汀钙片处方制备不含阿托伐他汀钙的空白样品,再按照供试品溶液的制备方法制备空白对照溶液。

2.3 系统适用性试验

按“2.1”项下色谱条件,精密量取对照品溶液、系统适用性溶液、供试品溶液、空白对照溶液各10 μl进样,记录色谱图,见图1。对照品溶液色谱图中,对映异构体主峰 t_R 为20.33 min;系统适用性溶液色谱图中,阿托伐他汀峰 t_R 为34.13 min,与对映异构体分离度为4.32;供试品溶液色谱图中,各色谱峰之间分离度良好;空白对照溶液色谱图在与对照品溶液主峰保留时间相应位置无色谱峰,说明空白对照溶液无干扰。

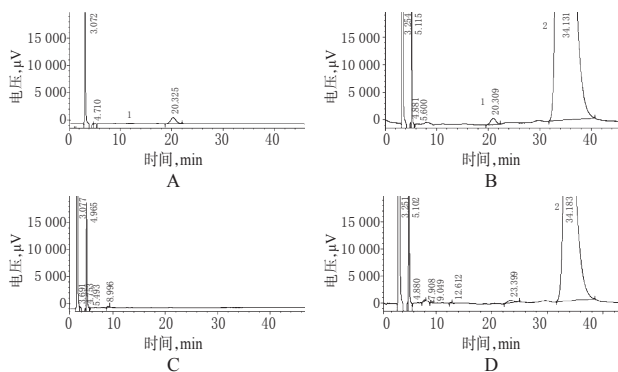


图1 高效液相色谱图

A.对照品溶液;B.系统适用性溶液;C.空白对照溶液;D.供试品溶液;1.对映异构体;2.阿托伐他汀

Fig 1 HPLC chromatograms

A. reference substance; B. system suitability; C. blank control; D. test sample; 1. enantiomer; 2. atorvastatin

2.4 线性关系考察

精密量取“2.2.1”项下对照品贮备液(浓度为788 μg/ml)1 ml,置于25 ml量瓶中,用正己烷-无水乙醇(1:1, *V/V*)稀释至刻度,摇匀。再精密量取上述溶液1、1.5、2、3、5 ml,分别置于50 ml棕色量瓶中,用正己烷-无水乙醇(1:1, *V/V*)稀释至刻度,摇匀,作为对照品系列溶液。分别取上述溶液各10 μl进样,记录色谱图。以对映异构体检测质量浓度(x , μg/ml)为横坐标,色谱峰面积(y)为纵坐标,进行线性回归,得回归方程 $y = 25\ 319x - 813.3$ ($r = 0.999\ 8$)。结果表明,阿托伐他汀钙对映异构体检测质量浓度在0.63~3.15 μg/ml范围内与峰面积积分值线性关系良好。

2.5 定量限和检测限考察

精密量取“2.2.1”项下对照品溶液适量,用正己烷-无水乙醇(1:1, *V/V*)稀释,按“2.1”项下色谱条件进样测定。结果,当主峰的响应值约为噪声水平的10倍时,即其定量限,为9.45

ng;当主峰的响应值约为噪声水平的3倍时,即其检测限,为3.15 ng。

2.6 相对响应因子的计算

分别精密量取阿托伐他汀钙对照品和对映异构体对照品适量,用正己烷-无水乙醇(1:1, *V/V*)稀释制成每1 ml约各含3 μg的混合溶液,精密量取10 μl,重复进样5次,记录色谱图,按峰面积/质量浓度计算对映异构体与阿托伐他汀的相对响应因子。结果,对映异构体的相对响应因子为1.08,在0.9~1.1之间。故在对映异构体难以获得或价格较贵时,可采用不加校正因子的主成分自身对照法计算其含量。

2.7 精密度试验

精密量取“2.5”项下经稀释的对映异构体对照品溶液10 μl,连续进样5次。结果,测得对映异构体峰面积的RSD=1.59%,即方法精密度良好。

2.8 稳定性试验

取“2.2.3”项下的供试品溶液1份,于室温(20~25℃)下放置,分别在强光(4 500 Lx)照射、避光及未避光条件下于不同时间段(0、2、4、6、8、10 h)分别进样测定。结果,供试品溶液在强光照射条件下放置10 h,其对映异构体的峰面积逐渐增加;在未避光条件下放置10 h时,可检测出对映异构体;在避光条件下放置10 h,未检测出对映异构体,故本品需在室温避光条件下10 h内测定其对映异构体的含量。

2.9 加样回收率试验

取本品(批号:101001)粉末9份,每份约0.2 g,分别置于10 ml量瓶中,分别精密添加对映异构体溶液(质量浓度为0.95 μg/ml)1、2、3 ml,各3份,制成模拟样品,再按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,分别进样并计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果($n=9$)

Tab 1 Results of recovery tests($n=9$)

序号	称样量, g	加入量, μg	测得量, μg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
1	0.201 5	0.95	0.98	103.16		
2	0.199 3	0.95	0.97	102.11		
3	0.202 8	0.95	0.96	101.05		
4	0.198 4	1.90	1.93	101.58		
5	0.201 1	1.90	1.88	98.95	102.07	1.53
6	0.202 9	1.90	1.95	102.63		
7	0.199 6	2.85	2.95	103.51		
8	0.203 7	2.85	2.97	104.21		
9	0.200 4	2.85	2.89	101.40		

2.10 样品含量测定

分别精密量取“2.2”项下对照品溶液及供试品溶液各10 μl,注入HPLC仪,记录色谱图。供试品溶液色谱图在与对照品溶液主峰保留时间相应位置如有色谱峰,供试品溶液中对映异构体的峰面积不得大于对照品溶液主峰面积(0.3%)。

结果,4批阿托伐他汀钙片及1批市售样品中均未检出对映异构体,结果符合规定。

3 讨论

本试验采用正相HPLC法,选用Chiralpak AD-H手性柱,实现了阿托伐他汀钙与对映异构体的分离。阿托伐他汀呈弱酸性,pKa约为4.5,具亲脂性,加入一定浓度的冰醋酸或三氟乙酸,用来调节流动相的pH值,以减缓手性固定相与阿托

浅析我国农村用药安全现状、存在的问题与对策

刘军^{1*}, 陈丹镛^{1#}, 张龙¹, 李凯² (1. 四川大学华西公共卫生学院, 成都 610041; 2. 隆化县食品药品监督管理局, 河北隆化 068150)

中图分类号 R95 文献标志码 C 文章编号 1001-0408(2013)16-1523-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.16.27

摘要 目的: 为我国制定改善农村用药安全状况的政策提供参考。方法: 结合我国国家基本药物制度, 分析目前我国农村用药安全方面存在的主要问题, 进而提出对策建议。结果与结论: 目前我国农村存在药品安全监管人员配备和经费投入均不足, 药品安全监管制度执行不严, 农村基层医疗卫生机构和零售药店药品质量管理薄弱, 农村居民用药安全知识匮乏等方面的问题, 致使农村用药安全得不到有效保障。为此, 建议政府加大对农村药品安全监管的支持与资源投入, 完善农村药品安全监管网络体系和国家基本药物制度及其配套政策, 完善企业诚信监管体系, 督促农村基层医疗卫生机构宣传用药安全知识。

关键词 农村; 用药安全; 现状; 问题; 对策

Analysis of Situation, Problems and Countermeasures of the Safety of Drug Use in Rural China

LIU Jun¹, CHEN Dan-di¹, ZHANG Long¹, LI Kai² (1. West China School of Public Health, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Longhua County Food and Drug Administration, Hebei Longhua 068150, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To provide reference for the formulation of the countermeasures for improving the the situation of drug use safety in rural China. METHODS: The main problems of drug use safety in rural China were analyzed, combined with current national essential drug system. Suggestions and countermeasures were put forward. RESULTS & CONCLUSION: At present, there are no enough officers or funds for rural drug safety supervision, no strict implementation of monitoring system either. The quality management is very weak in rural primary medical institutions and retail pharmacies. In addition, rural residents are in lack of the knowledge of drug use safety. So the rural drug safety can't be effectively protected. Government should provide more support and resources for rural drug safety supervision, and improve the rural safety supervision system and essential drug system, including its supporting policies. Government should also perfect enterprise credit system, and supervise and urge rural primary medical institutions to propagandize the knowledge of drug use safety.

KEY WORDS Rural; Drug use safety; Situation; Problems; Countermeasures

伐他汀之间的分子间作用, 缩短其保留时间。本试验参考标准^[5-6]中对映异构体检查项下的色谱条件, 分别选用正己烷-无水乙醇-三氟乙酸(94:6:0.1, V/V/V)及正己烷-无水乙醇-冰醋酸(92:8:0.3, V/V/V)作为流动相, 试验发现选用酸性更强的三氟乙酸来调节流动相的pH值时, 可有效地改善主峰峰形、抑制色谱峰拖尾。经过色谱条件优化, 最终选用的流动相为正己烷-无水乙醇-三氟乙酸(93:7:0.1, V/V/V), 在此条件下, 阿托伐他汀主峰与对映异构体峰之间的分离度大于1.5。

精密量取系统适用性项下的混合溶液, 在200~400 nm波长范围内作紫外扫描, 结果阿托伐他汀和对映异构体均在246 nm波长处具有最大吸收峰, 故选择246 nm作为本试验的紫外检测波长。

阿托伐他汀钙原料药标准^[6]中对映异构体检查项下的限

* 硕士研究生。研究方向: 医院管理与卫生政策。电话: 028-85503548。E-mail: ysyn07@163.com

通信作者: 副教授, 硕士研究生导师, 博士。研究方向: 医药投融资管理、医药卫生产业化、医疗机构治理结构。电话: 028-85503548。E-mail: cdcdd@sohu.com

度规定为0.3%, 本试验经过详细的方法学研究, 用该方法对生产的4批样品及1批市售样品进行测定, 均未检出对映异构体, 故暂按照原料药标准限度对阿托伐他汀钙片中对映异构体的含量进行控制。

参考文献

- [1] 陈新谦, 金有豫, 汤光. 新编药理学[M]. 17版. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 420.
- [2] Sean C Sweetman. 马丁代尔大药典[S]. 李大魁, 金有豫, 汤光, 等, 译. 35版. 北京: 化学工业出版社, 2009: 955.
- [3] 张象麟. 药物临床信息参考[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 2005: 547.
- [4] 赵冰. 阿托伐他汀的临床研究进展[J]. 中国药房, 2010; 21(24): 2 303.
- [5] The United States Pharmacopeial Convention. USP 34-NF 29[S]. 2011: 1 949.
- [6] 国家食品药品监督管理局. YBH00262010 阿托伐他汀钙标准[S]. 2010.

(收稿日期: 2012-06-30 修回日期: 2013-02-25)