

HPLC法同时测定阿托伐他汀钙、阿司匹林、缬沙坦和苯磺酸氨氯地平制剂的含量^Δ

迟敏^{*}, 黄文杰, 张红, 齐永秀[#](泰山医学院药学院, 山东泰安 271016)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)08-0749-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.08.25

摘要 目的:建立同时测定阿托伐他汀钙、阿司匹林、缬沙坦和苯磺酸氨氯地平制剂含量的方法。方法:采用高效液相色谱法,内标为阿普唑仑。色谱柱为 Hypersil ODS2-C₁₈柱,流动相为甲醇-0.025 mol/L 乙酸铵缓冲溶液(pH4.0, 65:35, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为245 nm,进样量为10 μl,柱温为30 ℃。结果:阿托伐他汀钙、阿司匹林、缬沙坦和苯磺酸氨氯地平检测质量浓度均在5.0~40.0 μg/ml范围内与各自峰面积积分值呈良好的线性关系(*r*分别为0.999 4、0.999 4、0.999 2、0.999 8);精密性、稳定性、重复性试验的RSD≤2.67%;平均加样回收率分别为97.28%、99.09%、97.53%、97.53%,RSD分别为1.14%、1.98%、0.95%、1.58%(*n*=9)。结论:该方法简便、快速、准确,可用于同时测定阿托伐他汀钙、阿司匹林、缬沙坦和苯磺酸氨氯地平制剂的含量。

关键词 阿托伐他汀钙;阿司匹林;缬沙坦;苯磺酸氨氯地平;高效液相色谱法;含量测定

Simultaneous Determination of Atorvastatin Calcium, Aspirin, Valsartan and Amlodipine Besylate Preparations by HPLC

CHI Min, HUANG Wen-jie, ZHANG Hong, QI Yong-xiu (School of Pharmacy, Taishan Medical University, Shandong Taian 271016, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for simultaneous determination of Atorvastatin calcium, Aspirin, Valsartan and Amlodipine besylate preparations. METHODS: HPLC method was adopted using alprazolam as internal standard. The determination was performed on Hypersil ODS2-C₁₈ column with mobile phase consisted of methanol-0.025 mol/L ammonium acetate buffer solution (pH 4.0, 65:35, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 245 nm, and column temperature was 30 ℃. The sample size was 10 μl. RESULTS: The linear ranges of atorvastatin calcium, aspirin, valsartan and amlodipine besylate were 5.0-40.0 μg/ml (*r*=0.999 4, 0.999 4, 0.999 2, 0.999 8); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2.67%; average recoveries were 97.28% (RSD=1.14%, *n*=9), 99.09% (RSD=1.98%, *n*=9) and 97.53% (RSD=0.95%, *n*=9), 97.53% (RSD=1.58%, *n*=9). CONCLUSIONS: The method is simple, rapid and accurate, and can be used for the simultaneous determination of Atorvastatin calcium, Aspirin, Valsartan and Amlodipine besylate preparations.

KEYWORDS Atorvastatin calcium; Aspirin; Valsartan; Amlodipine besylate; HPLC; Content determination

阿托伐他汀钙为选择性3-羟基-3-甲基-戊二酰辅酶A (HMG-CoA)还原酶抑制剂,能降低血浆胆固醇和甘油三酯水平。小剂量的阿司匹林能够抑制血小板血栓素A₂(TXA₂)的合成,临床常用于预防血栓的形成,与阿托伐他汀钙联用能有效预防缺血性脑卒中的再发,在脑卒中的二级预防中具有比单用阿司匹林更好的效果^[1]。缬沙坦是AT₁受体阻滞药,主要用于治疗原发性高血压,与阿托伐他汀钙联用可以加强抑制炎症反应、稳定冠状动脉斑块的作用^[2]。苯磺酸氨氯地平是血管平滑肌Ca²⁺通道阻滞药,是临床常用的降压药,与阿托伐他汀钙联用能增加血管壁对该药扩血管作用的敏感性,从而使得血压降低程度明显高于单一用药,临床上可选择联合用药治疗高血压伴高血脂患者^[3-4]。目前,测定4种药物含量的方法主要有紫外分光光度(UV)法、高效液相色谱(HPLC)法等^[5-9]。

由于这4种药物在临床联合应用极为广泛,而目前尚未见同时测定四者血药浓度的有关报道,故笔者拟建立同时测定4种药物含量的方法,以为其临床血药浓度测定提供参考。HPLC法虽专属性强、灵敏度高,但采用外标法易产生操作误差。为此,笔者选用阿普唑仑为内标,采用HPLC法建立了同时测定阿托伐他汀钙、阿司匹林、缬沙坦和苯磺酸氨氯地平制剂含量的方法。

1 材料

LC-10AT HPLC仪,含SPD-10Avp紫外检测器、LC Solution工作站等(日本岛津公司);GR-202电子分析天平(日本AND公司);KQ-500E医用超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);0.45 μm微孔滤膜(上海密粒膜分离技术有限公司)。

阿司匹林、苯磺酸氨氯地平、阿托伐他汀钙、阿普唑仑对照品[中国食品药品检定研究院,批号:100113-201104、100374-201204、100590-200802、171218-200603,质量分数:100.0%、99.9%、95.0%(按三水合物计)、100.0%];缬沙坦对照品(美国Sigma-Alorich公司,批号:#091M4728V,质量分数:≥98.0%);阿托伐他汀钙片(山德士制药公司,批号:

Δ基金项目:山东省自然科学基金资助项目(No.ZR2012HL16)

* 硕士研究生。研究方向:药物分析。E-mail:417009641@qq.com

通信作者:教授,硕士。研究方向:体内药物分析。电话:0538-6229752。E-mail:yxqi@tsmc.edu.cn

100904,规格:10 mg);苯磺酸氨氯地平片(浙江得恩德制药有限公司,批号:1203123,规格:5 mg);缬沙坦胶囊(海南澳美华制药有限公司,批号:120615,规格:80 mg);阿司匹林肠溶片(辰欣药业股份有限公司,批号:1207212061,规格:25 mg);甲醇为色谱纯,乙酸铵、冰醋酸均为分析纯,水为重蒸水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Hypersil ODS2-C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:甲醇-0.025 mol/L 乙酸铵缓冲溶液(pH4.0,65:35,V/V);流速:1.0 ml/min;检测波长:245 nm;柱温:30 ℃;进样量:10 μl。在该色谱条件下,4种药物成分及内标可达到基线分离,理论板数按阿托伐他汀钙峰计不低于1500。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品贮备液的制备 取阿司匹林、缬沙坦、阿托伐他汀钙、苯磺酸氨氯地平对照品各10 mg,精密称定,分别用流动相溶解并定容至不同的50 ml量瓶中,摇匀,配成质量浓度均为200 μg/ml的对照品贮备液。

2.2.2 内标溶液的制备 取阿普唑仑对照品10 mg,精密称定,用流动相溶解并定容至50 ml量瓶中,摇匀,配成质量浓度为200 μg/ml的内标溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 分别取阿司匹林片20片、阿托伐他汀钙片20片、苯磺酸氨氯地平片20片、缬沙坦胶囊10粒内容物,研细,分别精密称取细粉适量(约相当于主成分10 mg),置于同一50 ml量瓶中,加入流动相适量溶解,超声(功率:500 W,频率:40 kHz)处理60 min,用流动相稀释至刻度,室温放置30 min,经0.45 μm微孔滤膜滤过,精密量取1.0 ml续滤液,置于10 ml量瓶中,加入“2.2.2”项下内标溶液1.0 ml,加流动相定容至刻度,摇匀,即得供试品溶液。

2.2.4 混合对照品溶液的制备 精密量取“2.2.1”项下的阿托伐他汀钙对照品贮备液0.25、0.5、1.0、1.5、2.0 ml,分别置于不同10 ml量瓶中,各精密加入阿司匹林、缬沙坦、苯磺酸氨氯地平对照品贮备液0.25、0.5、1.0、1.5、2.0 ml及“2.2.2”项下内标溶液1.0 ml,用流动相稀释至刻度,摇匀,配成4种成分质量浓度分别为5.0、10.0、20.0、30.0、40.0 μg/ml的系列混合对照品溶液。

2.2.5 空白溶液的制备 取处方量的空白辅料,按“2.2.3”项下方法制备成空白溶液。

2.3 专属性试验

取混合对照品溶液(20.0 μg/ml)、供试品溶液、空白溶液适量,按“2.1”项下色谱条件进样,记录色谱,详见图1。结果,空白溶液色谱在混合对照品溶液色谱相应位置处无吸收峰,而供试品溶液色谱在相应位置有吸收峰,表明在该色谱条件下,制剂辅料对测定结果无干扰,专属性较好。

2.4 线性关系考察

取“2.2.4”项下的系列混合对照品溶液,依次按“2.1”项下色谱条件进样,记录4种成分的峰面积(A_i)和内标物的峰面积(A_s),并计算二者的比值 A_i/A_s ,将4种成分峰面积与内标物峰面积比值(y)分别对4种成分的检测质量浓度(x)进行线性回归,分别得阿托伐他汀钙、阿司匹林、缬沙坦、苯磺酸氨氯地平回

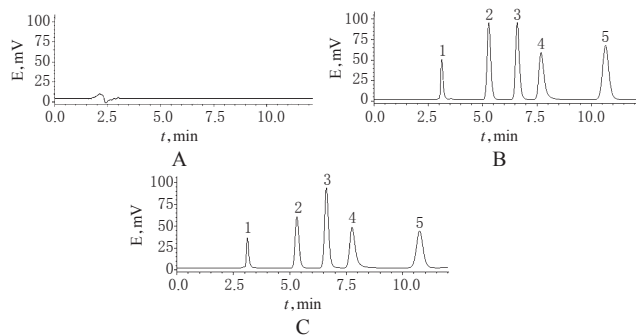


图1 高效液相色谱图

A.空白溶液;B.混合对照品溶液;C.供试品溶液;1.阿司匹林;2.缬沙坦;3.阿普唑仑;4.苯磺酸氨氯地平;5.阿托伐他汀钙

Fig 1 HPLC chromatograms

A.blank solution; B.mixed standard solution; C.test sample solution; 1.aspirin; 2.valsartan; 3.alprazolam; 4.amlodipine besylate; 5.atorvastatin calcium

归方程 $y=0.0383x-0.0274$ ($r=0.9994, n=5$)、 $y=0.0111x-0.0003$ ($r=0.9994, n=5$)、 $y=0.0317x-0.0159$ ($r=0.9992, n=5$)、 $y=0.0291x-0.01$ ($r=0.9998, n=5$)。结果表明,4种成分的检测质量浓度均在5.0~40.0 μg/ml范围内与各自峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验

配制4种药物制剂高、中、低(40、20、10 μg/ml)质量浓度的供试品溶液各3份,加入“2.2.2”项下内标溶液1.0 ml,分别在1 d内重复测定3次和连续测定5 d,以测得的阿托伐他汀钙、阿司匹林、缬沙坦、苯磺酸氨氯地平峰面积与内标物峰面积比值计算方法的精密度。结果,阿托伐他汀钙、阿司匹林、缬沙坦、苯磺酸氨氯地平日内精密密度RSD≤0.96%、1.33%、0.65%、0.49%($n=3$),日间精密密度RSD≤0.86%、2.67%、0.84%、2.37%($n=5$),表明本方法有较好的精密度。

2.6 稳定性试验

取“2.2.3”项下的供试品溶液适量,于室温下放置0、2、4、8、12 h时,按“2.1”项下色谱条件进样,测定峰面积。结果,阿托伐他汀钙、阿司匹林、缬沙坦、苯磺酸氨氯地平的RSD分别为1.50%、1.05%、1.21%、0.99%,表明4种药物成分的供试品溶液在12 h内稳定性良好。

2.7 重复性试验

取4种样品各适量,分别按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,平行制备5份,按“2.1”项下色谱条件进样测定。结果,阿托伐他汀钙、阿司匹林、缬沙坦、苯磺酸氨氯地平的RSD分别为1.41%、1.02%、1.28%、0.85%,表明本方法的重复性良好。

2.8 加样回收率试验

分别取已知含量的4种样品各适量,每种9份,共36份,每份分别准确加入一定量的阿托伐他汀钙、阿司匹林、缬沙坦、苯磺酸氨氯地平对照品贮备液,低、中、高质量浓度每种量取3份,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,并按“2.1”项下色谱条件进样,测定阿托伐他汀钙、阿司匹林、缬沙坦、苯磺酸氨氯地平的含量,计算加样回收率及RSD,结果见表1。

2.9 样品含量测定

取4种样品各适量,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,

并按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算标示百分含量及RSD,结果见表2。

表1 加样回收率试验结果($n=9$)
Tab 1 Results of recovery tests($n=9$)

药物成分	所含量, μg	加入量, μg	测得量, μg	加样回收率, %	平均加样 回收率, %	RSD, %
阿托伐他汀钙	104.52	80.8	185.13	99.76	97.28	1.14
	104.52	80.8	184.38	98.84		
	104.52	80.8	183.07	97.22		
	104.52	101	200.55	95.08		
	104.52	101	203.20	97.70		
	104.52	101	203.40	97.90		
	104.52	121.2	221.10	96.19		
	104.52	121.2	220.80	95.94		
	104.52	121.2	221.90	96.85		
阿司匹林	104.14	80.0	183.80	99.58	99.09	1.98
	104.14	80.0	180.86	95.90		
	104.14	80.0	183.42	99.10		
	104.14	100.0	206.67	102.53		
	104.14	100.0	206.59	102.45		
	104.14	100.0	202.13	97.99		
	104.14	120.0	221.10	97.47		
	104.14	120.0	223.66	99.60		
	104.14	120.0	220.83	97.24		
缬沙坦	101.07	80	179.55	98.10	97.53	0.95
	101.07	80	179.26	97.74		
	101.07	80	179.50	98.04		
	101.07	100	201.70	100.63		
	101.07	100	199.21	98.14		
	101.07	100	197.10	96.03		
	101.07	120	216.27	96.00		
	101.07	120	216.92	96.54		
	101.07	120	216.91	96.53		
苯磺酸氨氯地平	126.25	80.8	204.50	96.84	97.53	1.58
	126.25	80.8	205.01	97.48		
	126.25	80.8	204.00	96.23		
	126.25	101	222.50	95.30		
	126.25	101	226.00	98.76		
	126.25	101	223.40	96.19		
	126.25	121.2	243.30	96.58		
	126.25	121.2	248.60	100.95		
	126.25	121.2	246.80	99.46		

表2 样品含量测定结果($\%$, $n=3$)

Tab 2 Results of content determination of samples($\%$, $n=3$)

药物成分	标示百分含量	RSD
阿托伐他汀钙	103.48	1.19
阿司匹林	102.33	0.83
缬沙坦	100.34	0.48
苯磺酸氨氯地平	100.01	1.13

3 讨论

3.1 提取方法的选择

阿托伐他汀钙、阿司匹林、缬沙坦和苯磺酸氨氯地平在甲

醇中均有较大的溶解度,故本试验采用甲醇为提取溶剂,对冷浸法、超声提取法和热提取法进行了考察。结果显示,以甲醇超声提取60 min提取效果较好。

3.2 流动相的选择

本试验比较了甲醇-2%磷酸盐缓冲溶液(65:35, V/V)、乙醇-0.025 mol/L 乙酸铵缓冲溶液(pH4.0, 65:35, V/V)、甲醇-乙醇-0.025 mol/L 乙酸铵缓冲溶液(pH4.0, 32.5:32.5:35, $V/V/V$)、甲醇-0.025 mol/L 乙酸铵缓冲溶液(pH4.0, 65:35, V/V)几种不同的流动相系统。结果显示,流动相为甲醇-0.025 mol/L 乙酸铵缓冲溶液(pH4.0, 65:35, V/V)时能使阿托伐他汀、阿司匹林、缬沙坦、苯磺酸氨氯地平4种待测成分完全分离,且有合适的保留时间和分离度。

3.3 测定波长的选择

配制4种成分的对照品溶液,在分光光度计上200~400 nm波长范围内扫描,结果发现阿托伐他汀钙、阿司匹林、缬沙坦、苯磺酸氨氯地平的吸收峰波长分别是247、238、250、239 nm,且4种成分在245 nm波长处均有较好的吸收,故选择检测波长为245 nm。

综上所述,本方法简便、快速、准确,可用于同时测定阿托伐他汀钙、阿司匹林、缬沙坦和苯磺酸氨氯地平制剂的含量。

参考文献

- [1] 潘燕,李玲玲.阿托伐他汀钙预防缺血性卒中再发的临床观察[J].现代预防医学,2012,39(8):2072.
- [2] 赵季红,李玉明,李学文,等.阿托伐他汀联合缬沙坦对冠状动脉临界病变患者心血管的保护作用[J].中国动脉硬化杂志,2010,18(12):975.
- [3] 向薇,向毓明.氨氯地平联合阿托伐他汀钙治疗高血压合并高脂血症的疗效[J].中国老年学杂志,2013,2(33):918.
- [4] 吴文炎.氨氯地平联合阿托伐他汀钙治疗高血压伴高血脂29例临床观察[J].中国临床保健杂志,2009,12(3):278.
- [5] 蒲强红,姜成,吕秋菊.紫外可见分光光度法测定阿托伐他汀钙片含量[J].安徽医药,2009,13(3):273.
- [6] 孙成龙,梁浩,韩衍银,等.HPLC法同时测定阿托伐他汀钙片与普罗布考片中2主成分含量[J].中国药房,2011,22(41):3899.
- [7] 隋译,孙菲,赵明.HPLC测定阿司匹林肠溶片的含量[J].中国医药导报,2009,6(27):45.
- [8] 徐卫娟,曹青日,崔京浩.固体分散体中缬沙坦的含量测定[J].苏州大学学报:医学版,2011,31(5):761.
- [9] 赖可,晁若冰,李楠,等.HPLC测定复方苯磺酸氨氯地平胶囊的含量[J].华西药学杂志,2010,25(6):748.

(收稿日期:2013-09-18 修回日期:2014-01-02)

《中国药房》杂志——《化学文摘》(CA)收录期刊,欢迎投稿、订阅