

RP-HPLC法同时测定复方美托洛尔尼群地平胶囊中3种组分含量

王 慧*(洛阳市食品药品检验所,河南 洛阳 471023)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)37-3515-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.37.20

摘要 目的:建立同时测定复方美托洛尔尼群地平胶囊中3种组分(氢氯噻嗪、酒石酸美托洛尔、尼群地平)含量的方法。方法:采用反相高效液相色谱法。色谱柱为Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈,流动相为醋酸盐缓冲液-乙腈,梯度洗脱,流速为2.0 ml/min,柱温为30 ℃,检测波长为275 nm。结果:氢氯噻嗪、酒石酸美托洛尔、尼群地平检测质量浓度线性范围分别为45.8~687、92.4~1 386、46.1~692 μg/ml(*r*均为0.999 9);平均加样回收率分别为100.27%、100.51%、99.42%,RSD分别为0.69%、1.06%、0.90%(*n*=6)。结论:该方法简便、准确、重复性好,可为复方美托洛尔尼群地平胶囊质量标准的改进提供参考。

关键词 氢氯噻嗪;酒石酸美托洛尔;尼群地平;高效液相色谱法;含量测定

Simultaneous Determination of 3 Components in Compound Metoprolol Nitrendipine Capsules by RP-HPLC

WANG Hui(Luoyang Institute for Food and Drug Control, Henan Luoyang 471023, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of hydrochlorothiazide, metoprolol tartrate and nitrendipine in Compound metoprolol nitrendipine capsules. METHODS: RP-HPLC method was adopted. The determination was performed on Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ column with mobile phase consisted of acetate buffer-acetonitrile (gradient elution) at the flow rate of 2.0 ml/min. The column temperature was 30 ℃, and the detection wavelength was set at 275 nm. RESULTS: The linear ranges of hydrochlorothiazide, metoprolol tartrate and nitrendipine were 45.8-687 μg/ml (*r*=0.999 9), 92.4-1 386 μg/ml (*r*=0.999 9) and 46.1-692 μg/ml (*r*=0.999 9), respectively. The average recoveries were 100.27% (RSD=0.69%, *n*=6), 100.51% (RSD=1.06%, *n*=6) and 99.42% (RSD=0.90%, *n*=6), respectively. CONCLUSIONS: The method is sensitive, accurate and reproducible for the improvement of quality standard of Compound metoprolol nitrendipine capsules.

KEYWORDS Hydrochlorothiazide; Metoprolol tartrate; Nitrendipine; HPLC; Content determination

复方美托洛尔尼群地平胶囊是由氢氯噻嗪、尼群地平、酒石酸美托洛尔3种组分及辅料淀粉组成的复方制剂。氢氯噻嗪为常用降压药、中效利尿剂,主要用于治疗肾病综合征、急性肾小球肾炎、慢性肾功能衰竭以及肾上腺皮质激素与雌激素过多引起的水肿、高血压、尿崩症等;尼群地平为二氢吡啶类钙拮抗药,系钙通道阻滞药,具有显著而持久的降压及血管扩张作用;酒石酸美托洛尔为β受体阻滞药,有较弱的膜稳定作用,对心脏的β受体有较大的选择性作用,具有减慢房室传导、使窦性心率减慢的作用^[1-3]。本文报道的复方美托洛尔尼

群地平胶囊是由河南科技大学第二附属医院(原第四人民医院)制剂室自制的复方制剂,含氢氯噻嗪、尼群地平和酒石酸美托洛尔。本制剂将3种作用机制不同的药物联合使用,可减少各自单用时的用药剂量,用于治疗高血压合并心率快及不适用血管紧张素转换酶抑制剂的患者,并可减少不良反应^[4-5]。相关文献^[6]仅对制剂中酒石酸美托洛尔进行了质量控制,未控制所有组分质量,本文则建立了采用反相高效液相色谱(RP-HPLC)法同时测定氢氯噻嗪、酒石酸美托洛尔和尼群地平3种组分含量的方法。结果表明,建立的方法简便、准确、快

保温温度应不超过45 ℃,供试液的制备若需用水浴加温时,不应超过45 ℃,30 min。

羟苯乙酯醇溶液中的羟苯乙酯和乙醇对微生物有抑菌作用,本文验证结果表明,采用常规法不能消除细菌、霉菌和酵母菌的抑菌性,而采用培养基稀释法回收率均高于70%,可消除其抑菌活性。同时,控制菌采用常规法验证检出阳性菌,阴性菌未检出。本试验结果证实,可采用培养基稀释法与常规法相结合进行羟苯乙酯醇溶液的微生物限度检查。

参考文献

[1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010年

*药师。研究方向:药物分析。电话:0379-63935767。E-mail:wang.hui83@163.com

版.北京:中国医药科技出版社,2010:附录XIJ。

[2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2005年版.北京:化学工业出版社,2005:附录XIJ。

[3] 总后勤部卫生部.中国人民解放军医疗机构制剂规范[S].2002年版.北京:人民军医出版社,2002:12。

[4] 刘春栋,李惠梅.清露酞微生物限度检查方法的建立与方法验证[J].天津药学,2010,22(6):7。

[5] 钟长鸣,陈希,吴燕红.微生物限度和无菌检查方法验证中存在的问题[J].中国药品标准,2011,12(1):12。

[6] 张婷,郑绍忠,刘全芳.复方呋喃西林滴鼻液微生物限度检查的验证[J].中国药房,2011,22(45):4 275。

(收稿日期:2013-12-02 修回日期:2014-05-04)

速、重复性好,可为该制剂质量标准的改进提供参考。

1 材料

1.1 仪器

1260 系列 HPLC 仪,包括 G1314F 紫外检测器、G1316A 柱温箱、G1329B 自动进样器、G1311C 四元泵、ChemStation 色谱工作站(美国 Agilent 公司);UV-2401PC 紫外-可见分光光度计(日本岛津公司);Precisa 92SM-202A-DR 电子分析天平(瑞士 Precisa 公司)。

1.2 药品与试剂

氢氯噻嗪、酒石酸美托洛尔、尼群地平对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100309-201103、100084-200101、100585-200602,供含量测定用,质量分数均为 100.0%);复方美托洛尔尼群地平胶囊(河南科技大学第二附属医院制剂室提供,批号:20121126、20130313、20130528,规格:每粒含氢氯噻嗪 5 mg、尼群地平 5 mg、酒石酸美托洛尔 10 mg);乙腈为色谱纯,水为娃哈哈纯净水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:醋酸盐缓冲液(取醋酸铵 3.9 g,加水 810 ml 溶解,加三乙胺 2.0 ml、冰醋酸 10 ml、磷酸 3 ml,摇匀)为流动相 A,乙腈为流动相 B,梯度洗脱,流速:2.0 ml/min;检测波长:275 nm;柱温:30 ℃;进样量:10 μl。梯度洗脱程序见表 1。

表 1 流动相梯度洗脱程序

Tab 1 Gradient elution process of mobile phase

时间, min	流动相 B 比例, %	流动相 A 比例, %
0	15	85
9	15	85
13	45	55
23	45	55
30	15	85

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品贮备液的制备。分别取已干燥的氢氯噻嗪对照品约 50 mg、酒石酸美托洛尔对照品约 100 mg、尼群地平对照品约 50 mg,精密称定,置于同一 20 ml 量瓶中,加乙腈适量,超声 10 min,加流动相适量,超声 10 min 使溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.2 对照品溶液的制备。精密量取“2.2.1”项下贮备液 5 ml,置于 25 ml 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,用 0.45 μm 的微孔滤膜滤过,取滤液即得。

2.2.3 供试品溶液的制备。取胶囊 20 粒,倾出内容物,精密称定,研细,精密称取 1.2 g(约相当于氢氯噻嗪 25 mg),置于 50 ml 量瓶中,加乙腈 10 ml,超声 10 min(200 W, 40 KHz),加流动相 20 ml 超声 10 min,使溶解并稀释至刻度,摇匀,用 0.45 μm 的微孔滤膜滤过,取滤液即得。

2.2.4 阴性对照溶液的制备。按处方比例及相同工艺制备不含 3 种组分的阴性样品,按“2.2.3”项下方法制备阴性对照溶液。

2.3 专属性试验

分别精密吸取“2.2”项下对照品溶液、供试品溶液(批号:20130528)、阴性对照溶液各 10 μl,注入液相色谱仪,进样,色谱图见图 1。

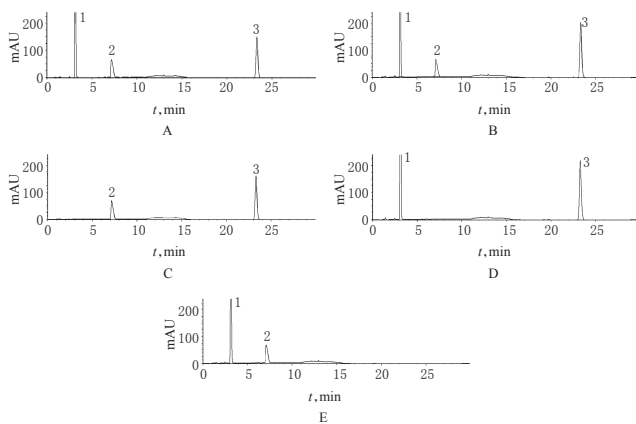


图 1 高效液相色谱图

A. 对照品; B. 样品; C. 缺氢氯噻嗪阴性样品; D. 缺酒石酸美托洛尔样品; E. 缺尼群地平样品; 1. 氢氯噻嗪; 2. 酒石酸美托洛尔; 3. 尼群地平

Fig 1 HPLC chromatograms

A. substance control; B. sample; C. negative sample without hydrochlorothiazide; D. sample without metoprolol tartrate; E. sample without nitrendipine

由图 1 可见,辅料淀粉对 3 种组分的分析未见干扰,氢氯噻嗪、酒石酸美托洛尔和尼群地平理论板数依次为 6 807、61 670,氢氯噻嗪与酒石酸美托洛尔分离度为 2.28,酒石酸美托洛尔与尼群地平分离度为 3.27。表明该测定方法专属性良好。

2.4 线性关系考察

分别精密吸取“2.2.2”项下对照品溶液 1、2、5、8、10、15 μl 注入色谱仪,测定色谱峰峰面积。以各成分峰面积(y)为纵坐标、检测质量浓度(x, μg/ml)为横坐标,进行线性回归,其回归方程和线性范围见表 2。

表 2 3 种组分线性试验结果

Tab 2 Results of linear tests of 3 components

组分	回归方程	r	线性范围, μg/ml
氢氯噻嗪	$y=0.0016x-0.0554$	0.9999	45.8~687
酒石酸美托洛尔	$y=0.0091x-0.0022$	0.9999	92.4~1386
尼群地平	$y=0.0045x-0.1695$	0.9999	46.1~692

2.5 精密度试验

精密吸取“2.2.2”项下对照品溶液,连续进样 6 次,每次 10 μl,测定峰面积。结果氢氯噻嗪、酒石酸美托洛尔、尼群地平色谱峰保留时间波动均小于 0.2 min,峰面积的 RSD 分别为 0.6%、0.7%、0.4%(n=6),表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取“2.2.3”项下供试品溶液适量(批号:20130528),于室温下放置,分别于配制后 0、2、4、6、8、12 h 时进样,测定各成分峰面积。结果氢氯噻嗪、酒石酸美托洛尔、尼群地平峰面积的 RSD 分别为 0.8%、1.0%、0.7%(n=6),表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.7 重复性试验

取同一批样品(批号:20130528)内容物,每份约 1.2 g,共 6 份,精密称定,按“2.2.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,进样测定并计算各成分含量。结果,氢氯噻嗪、酒石酸美托洛尔、尼群地平含量分别为 4.93、10.23、4.97 mg/g, RSD 分别为 0.9%、1.1%、0.6%(n=6),表明本方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

精密称取已知各成分含量的样品(批号:20130528)内容物共6份,每份约0.6 g(约相当于氢氯噻嗪12.5 mg),分别置于50 ml量瓶中,加流动相适量,超声使溶解;各精密加入“2.2.1”项下对照品贮备液5 ml,用流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,进样测定并计算加样回收率,结果见表3。

表3 回收率试验结果($n=6$)
Tab 3 Results of recovery tests($n=6$)

组分	原含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收 率,%	平均加样 回收率,%	RSD, %
氢氯噻嗪	12.42	12.57	25.01	100.08	100.27	0.69
	12.63	12.57	25.13	99.72		
	12.41	12.57	25.05	100.28		
	12.66	12.57	25.22	99.96		
	12.58	12.57	25.14	99.96		
	12.65	12.57	25.63	101.63		
酒石酸美托洛尔	25.21	25.14	51.68	102.64	100.51	1.06
	25.16	25.14	50.21	99.82		
	25.23	25.14	50.47	100.20		
	25.18	25.14	50.50	100.36		
	25.23	25.14	50.43	100.12		
	25.17	25.14	50.27	99.92		
尼群地平	12.33	12.52	24.95	100.40	99.42	0.90
	12.31	12.52	24.62	99.15		
	12.35	12.52	24.83	99.84		
	12.41	12.52	24.76	99.32		
	12.32	12.52	24.31	97.87		
	12.29	12.52	24.80	99.96		

2.9 样品含量测定

精密称取3批复方美托洛尔尼群地平胶囊,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,并按“2.1”项下色谱条件下进样测定,记录色谱,按外标法以峰面积计算各组分含量,结果见表4。

表4 样品测定结果($n=3$)

Tab 4 Results of sample determination($n=3$)

组分	含量,mg/g			标示百分含量,%		
	20121126	20130313	20130528	20121126	20130313	20130528
氢氯噻嗪	4.96	5.02	4.99	99.2	100.4	99.8
酒石酸美托洛尔	10.26	10.15	10.16	102.6	101.5	101.6
尼群地平	4.93	5.06	4.95	98.6	101.2	99.0

3 讨论

3.1 流动相的选择

由于制剂中各化合物极性差别大,参照现行药典^[7]选择流动相,发现醋酸盐缓冲液-乙腈(85:15)能将氢氯噻嗪和酒石酸美托洛尔洗脱出且分离良好,但极性相对较小的尼群地平出峰时间较为拖后。因此,本试验选择了梯度洗脱的方式,开始

以较低比例的乙腈(15%)洗脱,然后慢慢增大乙腈的比例,结果各色谱峰分离良好。

3.2 检测波长的选择

通过扫描紫外吸收光谱发现酒石酸美托洛尔在275 nm波长处有最大吸收,氢氯噻嗪也在该波长附近有最大吸收,尼群地平则在233 nm波长处有最大吸收。故试验初期选择波长转换来同时测定3种组分,但结果发现基线漂移太大,不理想;后又选择275 nm进行单波长测定,结果3种组分也都洗脱出来且基本无干扰峰。故最后选择275 nm作为检测波长。

3.3 溶剂的选择

氢氯噻嗪是弱极性化合物,几乎不溶于水^[8],需用有机溶剂溶解。曾选择单用流动相或乙腈作为溶剂,但试验表明尼群地平无法溶于流动相且酒石酸美托洛尔在乙腈中也不能完全溶解。故最终选择先用乙腈超声溶解,再加流动相超声溶解,结果表明3种组分均能良好溶解,峰形较好。

综上所述,本文采用RP-HPLC法同时测定复方美托洛尔尼群地平胶囊中3种组分的含量,此方法目前并未见文献报道,且方法简便、快速、准确、重复性好,故对复方美托洛尔尼群地平胶囊的质量控制具有积极意义。

参考文献

- [1] 张秋荣,查岭,郑东娜,等.HPLC测定复方尼群地平片中尼群地平和氢氯噻嗪的含量[J].中国药学杂志,2007,42(20):1585.
- [2] 彭东明,黄可龙,刘艳飞,等.HPLC测定注射用尼莫地平的含量及有关物质[J].华西药理学杂志,2006,21(2):194.
- [3] 姚五湖,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.
- [4] 赵建颖.RP-HPLC-UV波长切换法同时测定复方硝酸异山梨酯胶囊中5种成分的含量[J].中国药房,2013,24(44):4210.
- [5] 惠芳,宋敏,杭太俊.厄贝沙坦氢氯噻嗪片的含量测定和有关物质研究[J].中国新药杂志,2010,19(3):236.
- [6] 王璐.高效液相色谱法测定复方美托洛尔胶囊中酒石酸美托洛尔的含量[J].海峡药学,2012,151(8):61.
- [7] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:232、556、864.
- [8] 饶金华,陆红柳,李东辉,等.HPLC法同时测定复方利血平氨苯蝶啶片中3种成分的含量[J].中国药师,2012,15(1):66.

(收稿日期:2013-11-22 修回日期:2014-01-08)

《中国药房》杂志——中国科技论文统计源期刊,欢迎投稿、订阅