

HPLC法测定阿齐沙坦片含量

张敏^{1*}, 霍立茹², 公晓伟², 徐家根^{1#} (1.南京医科大学附属南京儿童医院, 南京 210008; 2.南京济群医药科技有限公司, 南京 210009)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)41-3907-02

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.41.22

摘要 目的:建立测定阿齐沙坦片含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Kromasil C₁₈,流动相为乙腈-水-三氟乙酸(35:65:0.1, V/V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为251 nm,进样量为20 μl。结果:阿齐沙坦检测质量浓度的线性范围为39.64~356.8 μg/ml($r=0.999\ 9$),平均回收率为99.30%(RSD=0.51%, $n=3$)。结论:本方法操作简便、快捷,结果准确、可靠,可用于阿齐沙坦片的质量控制。

关键词 高效液相色谱法;阿齐沙坦片;含量测定

Content Determination of Azilsartan Tablets by HPLC

ZHANG Min¹, HUO Li-ru², GONG Xiao-wei², XU Jia-gen¹ (1.Nanjing Children's Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing 210008, China; 2.Nanjing Jiqun Pharmaceutical & Technology Co., Ltd., Nanjing 210009, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of Azilsartan tablets. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Kromasil C₁₈ with mobile phase consisted of acetonitrile-water-trifluoroacetic acid (35:65:0.1, V/V/V) at flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was 251 nm and the sample size was 20 μl. RESULTS: The linear range of azilsartan was 39.64-356.8 μg/ml($r=0.999\ 9$) with an average recovery of 99.30% (RSD=0.51%, $n=3$). CONCLUSIONS: This method is simple, rapid, accurate and reliable, and it is applicable for the quality control of Azilsartan tablets.

KEYWORDS HPLC; Azilsartan tablets; Content determination

阿齐沙坦是新一代选择性血管紧张素 II 受体 1(AT₁)拮抗药(ARBs)类抗高血压药,其与血管紧张素转化酶抑制剂(ACEI)类降压药物相比,具有平稳降压、不会引起干咳的优点^[1]。研究显示,阿齐沙坦作为新一代双重功能 ARBs,不仅拮抗 AT₁受体,还可能通过多种机制降低心血管疾病及糖尿病发生的风险^[1-2]。阿齐沙坦由日本武田公司研发,于2012年1月在日本获准上市,其片剂商品名为 Azilva。该药在我国尚未上市,正处于研究阶段,阿齐沙坦原料药及片剂的含量测定未见有文献报道。为此,本文建立了测定其含量的高效液相色谱(HPLC)法,为阿齐沙坦片的质量评价和标准的建立提供了科学依据。

1 材料

1.1 仪器

HPLC 仪,包括 Alltech 系列泵、Alltech 系列紫外检测器、CSChrom Plus 色谱工作站(美国奥泰公司);UV-2401PC 紫外-可见分光光度计(日本 Shimadzu 公司)。

1.2 药品与试剂

阿齐沙坦片(批号:140301、140302、140303,规格:每片40 mg)、阿齐沙坦对照品(批号:131227,纯度:99.7%)、阿齐沙坦杂质 A{2-乙氧基-1-[(2'- (甲酰胺基)联苯-4-基)甲基]苯并咪唑-7-羧酸甲酯}对照品(批号:131022,纯度:99.1%)、阿齐沙坦杂质 E{3-氨基-2-[4-(2'- 氰基双苯)甲酰胺基]苯甲酸乙酯}对照品(批号:131030,纯度:99.3%)、阿齐沙坦杂质 F{3-氨基-2-

[[2'-(甲酰胺基)联苯-4-基]甲基]苯并咪唑-4-羧酸甲酯}对照品(批号:131107,纯度:99.0%)均来源于南京济群医药科技有限公司;乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 检测波长的选择

取阿齐沙坦对照品及片剂粉末适量,分别用流动相配制质量浓度约为 50 μg/ml 的对照品、供试品溶液;另取“2.3”项下系统适用性溶液及空白辅料的流动相溶液,按紫外分光光度法^[3]操作,于 200~400 nm 波长范围内进行测定。结果,对照品、供试品溶液均于 212、251 nm 波长处有最大吸收,合成各步中间体即各杂质(系统适用性溶液)于 251 nm 波长处均有最大吸收,空白辅料溶液 251 nm 波长处无吸收,故检测波长选为 251 nm。紫外扫描光谱图见图 1。

2.2 色谱条件

色谱柱:Kromasil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水-三氟乙酸(35:65:0.1, V/V/V),流速:1.0 ml/min;检测波长:251 nm;进样量:20 μl。

2.3 溶液的制备

2.3.1 供试品溶液:取阿齐沙坦片粉末适量,约相当于阿齐沙坦 10 mg,精密称定,置于 50 ml 量瓶中,用流动相溶解并稀释至刻度,滤过,取续滤液即得。

2.3.2 对照品溶液:取阿齐沙坦对照品,用流动相溶解并制成每 1 ml 中含阿齐沙坦 200 μg 的溶液,即得。

2.3.3 系统适用性溶液:取阿齐沙坦已知杂质 A、E、F 各 10 mg,精密称定,分别置于 100 ml 量瓶中,用流动相溶解并稀释至刻度;另取阿齐沙坦对照品约 10 mg,精密称定,置于 50 ml 量瓶中,加入上述杂质对照品溶液各 1 ml 后,用流动相溶解并

* 主管药师。研究方向:医院药学。电话:025-83117241。E-mail:etyzym@163.com

通信作者:副主任药师。研究方向:医院药学。电话:025-83117241。E-mail:xjg.234@163.com

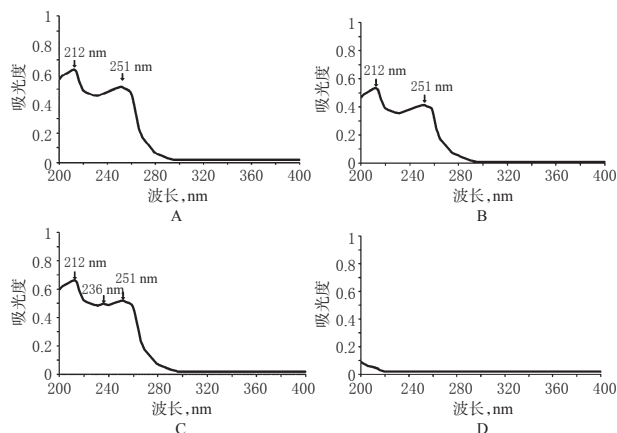


图1 紫外扫描光谱图

A. 对照品溶液; B. 供试品溶液; C. 系统适用性溶液; D. 空白辅料溶液

Fig 1 UV scanning spectrum

A. substance control solution; B. test sample solution; C. system suitability solution; D. blank excipients solution

稀释至刻度,即得。

2.4 系统适用性试验

精密量取“2.3”项下3种溶液各20 μl,按“2.2”项下色谱条件进样,并以空白辅料的流动相溶液作为对照。结果,在上述色谱条件下,阿齐沙坦的理论板数为14 303,保留时间为20.462 min,峰形对称;杂质E与杂质F的分离度为7.1,杂质F与杂质A的分离度为3.8,杂质A与阿齐沙坦主峰的分度为6.2。色谱图见图2。

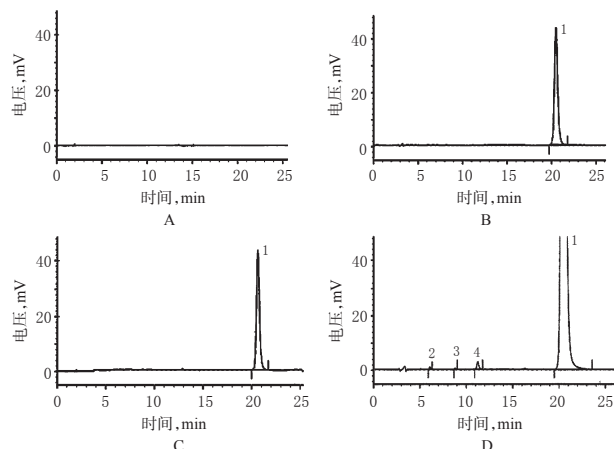


图2 高效液相色谱图

A. 空白辅料溶液; B. 对照品溶液; C. 供试品溶液(批号:140301); D. 系统适用性溶液; 1. 阿齐沙坦; 2. 杂质E; 3. 杂质F; 4. 杂质A

Fig 2 HPLC chromatograms

A. blank excipients solution; B. substance control solution; C. test sample solution (lot No. 140301); D. system suitability solution; 1. azilsartan; 2. impurity E; 3. impurity F; 4. impurity A

2.5 线性关系与定量限考察

取阿齐沙坦对照品,用流动相溶解并稀释制成阿齐沙坦质量浓度分别为39.64、118.9、198.2、277.5、356.8 μg/ml的溶液,精密量取上述溶液各20 μl分别注入色谱仪,记录色谱图。以质量浓度(c)为横坐标、阿齐沙坦的峰面积(A)为纵坐标进行线性回归,得回归方程为 $A = -5.5867 \times 10^4 + 3.0182 \times 10^5 c$ ($r = 0.9999, n = 5$)。结果表明,阿齐沙坦检测质量浓度的线性范围为39.64~356.8 μg/ml。以信噪比为10计算,阿齐沙坦的

定量限为2 ng。

2.6 精密度试验

取阿齐沙坦对照品适量,按“2.3.2”项下方法制备对照品溶液,连续进样5次。结果,峰面积的RSD=0.21% ($n = 5$)。

2.7 重复性试验

精密称取批号为140301的样品6份,按“2.3”项下方法制备供试品和对照品溶液,各进样20 μl,在“2.2”项色谱条件下,分别测定每份样品的含量。结果平均含量为98.73%,RSD=0.84% ($n = 6$),表明本方法重复性良好。

2.8 稳定性试验

取供试品溶液1份,在0、1、2、4、8 h时分别进样20 μl,以峰面积计算RSD=0.33% ($n = 5$),结果表明供试品溶液在8 h内稳定。

2.9 回收率试验

取批号为140301的样品,按测试浓度的80%、100%、120% 3个梯度分别加入阿齐沙坦对照品,各制备3份,按“2.10”项下方法操作,计算回收率,结果详见表1。

表1 回收率试验结果($n = 3$)

Tab 1 Results of recovery test ($n = 3$)

已知量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	平均回收率,%	RSD,%
19.56	20.28	39.56	98.62		
19.90	20.03	39.74	99.05		
19.50	19.79	39.31	100.1		
24.52	24.67	49.10	99.64		
24.04	25.28	49.23	99.64	99.30	0.51
24.78	25.10	49.69	99.24		
29.45	30.20	59.37	99.07		
29.94	29.67	59.53	99.73		
29.25	29.99	58.83	98.63		

2.10 样品含量测定

取阿齐沙坦片粉末、对照品适量,按“2.3”项下方法分别制备成供试品、对照品溶液,分别精密量取20 μl注入色谱仪,记录峰面积,并按外标法以峰面积计算含量。结果3批样品含量分别为98.73%、99.47%、97.98%。

3 讨论

在前期试验中,当采用乙腈-水(50:50)为流动相时,阿齐沙坦主峰保留时间为9 min左右,但杂质A和杂质F的分离度达不到要求;当采用乙腈-水(35:65)为流动相时,发现阿齐沙坦主峰拖尾因子为1.2以上,拖尾比较严重;采用乙腈-水-三氟乙酸(35:65:0.1)为流动相时,阿齐沙坦的峰形对称,与其杂质A、E、F均能有很好的分离,故以此为流动相。采用本方法可有效测定阿齐沙坦片的含量,且操作简便、快捷,结果准确、可靠,可用于阿齐沙坦片的质量控制。

参考文献

- [1] Zaiken K, Cheng JW. Azilsartan medoxomil: a new angiotensin receptor blocker[J]. *Clin Ther*, 2011, 33(11): 1577.
- [2] Kusumoto K, Igata H, Ojima M, et al. Antihypertensive, insulin-sensitising and renoprotective effects of a novel, potent and long-acting angiotensin II type 1 receptor blocker, azilsartan medoxomil, in rat and dog models[J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 669(1/3): 84.
- [3] 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: 附录IV A. (收稿日期: 2014-07-04 修回日期: 2014-08-20)