

# HPLC法测定辛伐他汀片含量的方法验证

沈建飞\*, 瞿丰萍(太仓市中医医院药剂科, 江苏 太仓 215400)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)04-0376-02

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.04.31

**摘要** 目的: 确认《中国药典》辛伐他汀片项下含量测定方法的可靠性, 以利于推广应用。方法: 采用高效液相色谱法。色谱柱为 Ultimate XB-C<sub>18</sub> 柱, 流动相为乙腈-0.025 mol/L 磷酸二氢钠溶液 (pH 4.5, 65:35, V/V), 流速为 1.0 ml/min, 检测波长为 238 nm, 进样量为 20 μl, 柱温为 20 ℃。结果: 该色谱条件下, 辛伐他汀可与其分解杂质等得到良好分离且峰形良好; 其检测质量浓度在 24.97~174.8 μg/ml 范围内与峰面积积分值线性关系良好 ( $r=0.999\ 9$ ), 平均回收率为 99.7%, RSD=0.92% ( $n=9$ ); 重复性、中间精密密度、稳定性及样品含量测定结果均符合要求。结论: 《中国药典》收录的辛伐他汀片含量测定方法专属性良好, 准确度高, 结果稳定、可靠, 适用性强, 可推广其实际应用。

**关键词** 辛伐他汀; 高效液相色谱法; 方法验证

## Verification of the Method for the Content Determination of Simvastatin Tablets by HPLC

SHEN Jian-fei, QU Feng-ping (Dept. of Pharmacy, Taicang Municipal Hospital of TCM, Jiangsu Taicang 215400, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To confirm the reliability of the method for the content determination of Simvastatin tablets stated in Chinese Pharmacopoeia, which is good for popularization and application. METHODS: HPLC method was adopted. The separation was performed on Ultimate XB-C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.025 mol/L NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (pH 4.5, 65:35, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 238 nm and the injection volume was 20 μl. RESULTS: Under this chromatographic condition, simvastatin was well-separated from impurity and got a good peak profile. The linear range of simvastatin was 24.97-174.8 μg/ml ( $r=0.999\ 9$ ) with an average recovery of 99.7% (RSD=0.92%,  $n=9$ ). The repeatability, intermediate precision, stability and sample determination can meet demand. CONCLUSION: The method stated in Chinese Pharmacopoeia is specific, accurate, stable, reliable and applicable, and it is worthy of spreading in the clinic.

**KEY WORDS** Simvastatin; HPLC; Analytical method validation

辛伐他汀 (Simvastatin) 是他汀类 (Statin) 的降血脂药物<sup>[1]</sup>, 是调控血液中胆固醇的水平以及预防心血管疾病的一线药物, 必须严格控制其质量, 保证用药安全<sup>[2-3]</sup>。《中国药典》2010 年版新增收录了辛伐他汀片的质量控制项<sup>[4-5]</sup>, 规定用高效液相色谱 (HPLC) 法 (外标法) 进行含量测定。本试验对该法进行验证, 以确认该法在辛伐他汀片的日常质量控制中稳定、可靠、适用性广。

## 1 材料

### 1.1 仪器

LC-10ATvp HPLC 系统, 含 SPD-10Avp 紫外检测器 (日本岛津公司); AB135-S 电子天平 (瑞士梅特勒-托利多公司, 最小称量值: 0.01 mg)。

### 1.2 药品与试剂

辛伐他汀、洛伐他汀对照品 (中国食品药品检定研究院提供, 批号: 100601-200502、100600-200502); 辛伐他汀片样品 1 (杭州默沙东制药有限公司, 批号: 100493、100540); 辛伐他汀片样品 2 (浙江京新药业股份有限公司, 批号: 10022502、10051502); 乙腈、磷酸二氢钠为色谱纯, 水为重蒸馏水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

\* 副主任药师。研究方向: 医院药事管理、临床药学。电话: 0512-53516061。E-mail: tcsj002@163.com

色谱柱: Ultimate XB-C<sub>18</sub> 柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.025 mol/L 磷酸二氢钠溶液 (pH 4.5, 65:35, V/V); 流速: 1.0 ml/min; 检测波长: 238 nm; 进样量: 20 μl, 柱温: 20 ℃。辛伐他汀与洛伐他汀两峰之间的分离度应大于 3, 理论板数按辛伐他汀峰计算应不低于 2 000。

### 2.2 溶液的制备

对照品溶液: 取辛伐他汀对照品和洛伐他汀对照品各适量, 精密称定, 按《中国药典》<sup>[4]</sup> 方法, 加溶液 1 [乙腈-0.05 mol/L 醋酸钠溶液 (pH 4.0, 8:2, V/V)] 分别溶解配制成质量浓度约为 249.7、20 μg/ml 的溶液, 即得; 供试品溶液: 取辛伐他汀片 20 片, 研细, 精密称取细粉适量 (约相当于辛伐他汀 10 mg), 置于 100 ml 量瓶中, 加溶液 1 适量, 超声使辛伐他汀溶解, 用溶液 1 稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 即得; 阴性对照溶液: 按辛伐他汀片处方制备不含辛伐他汀的阴性样品, 按“供试品溶液”制备方法制成阴性对照溶液。

取上述 3 种溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样, 色谱见图 1。

### 2.3 专属性试验

取辛伐他汀片细粉适量 (约相当于辛伐他汀 80 mg), 置于试管中, 按下述条件进行破坏, 破坏条件: (1) 高温破坏——置 105 ℃ 下加热 24 h; (2) 强酸破坏——加稀盐酸 0.8 ml 于 80 ℃ 水浴中 2.5 h; (3) 强碱破坏——加氢氧化钠试液 0.8 ml 于 80 ℃ 水浴中 40 min; (4) 氧化破坏——加 30% 过氧化氢溶液 0.8 ml 于 80 ℃ 水浴中 40 min; (5) 金属离子破坏——加 0.1 mol/L 氯

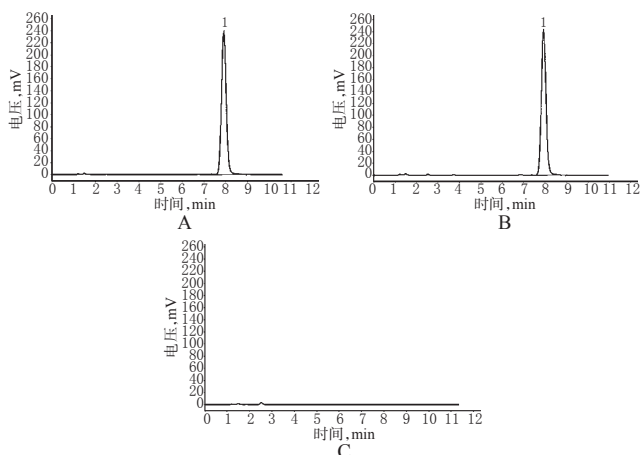


图1 高效液相色谱图

A.对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.辛伐他汀

Fig 1 HPLC chromatograms

A. substance control; B. samples; C. negative control; 1. simvastatin  
化亚铁溶液 0.8 ml 于 80 °C 水浴中 3 h。经破坏后,按“2.2”项下方法处理得供试品溶液,另取平行处理得到的同比例阴性对照溶液,分别按“2.1”项下色谱条件进样测定。

辛伐他汀片对热、酸、碱很不稳定,易产生杂质,但经破坏后产生的杂质峰均可与主药辛伐他汀的峰达到基线分离,说明《中国药典》收录的检测辛伐他汀片的含量测定方法专属性良好,方法可行。

#### 2.4 系统适用性试验

取“2.2”项下供试品溶液,连续进样 10 次,分别记录每次色谱的主峰面积、保留时间、理论板数。结果,峰面积平均值为 3 611 289.925, RSD=0.71%,表明本法用于测定辛伐他汀片含量的系统适用性良好。

#### 2.5 线性关系考察

精密量取不同量的辛伐他汀对照品溶液,分别置于 10 ml 量瓶中,用溶液 1 定容,得到质量浓度分别为 24.97、49.94、74.91、99.88、124.9、149.8、174.8 μg/ml 的系列溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定。以峰面积为纵坐标(y),辛伐他汀质量浓度(x, μg/ml)为横坐标,进行线性回归,得回归方程  $y = 34\ 377.976x + 28\ 122.170$  ( $x = 0.999\ 9$ )。结果表明,辛伐他汀检测质量浓度在 24.97~174.8 μg/ml 范围内与峰面积积分值线性关系良好。纵截距与标示浓度响应值百分比为 0.81%,小于 2%,说明曲线通过原点,可采用外标一点法进行计算。

#### 2.6 重复性试验

取同批均质样品连续取样 10 次,分别测定每份样品含量。结果,平均质量分数为 99.15%, RSD=1.18%,表明本法测定辛伐他汀片含量重复性良好。

#### 2.7 中间精密度试验

取“2.6”项下的均质样品,在另一台 HPLC 仪上由另一操作人员同法进行测定。结果,平均质量分数为 99.30%, RSD=1.34%,可见与本试验所用仪器的测定结果比较差异无统计学意义,表明本法的中间精密度良好。

#### 2.8 稳定性试验

取“2.2”项下的供试品溶液,分别于 0、2、4、6、8、12、24 h 进样分析,记录主峰面积。结果,峰面积平均值为 3 261 210.625, RSD=0.64%,表明供试品溶液在 24 h 内的稳定性良好。

#### 2.9 回收率试验

取不含辛伐他汀的空白基质 90 mg,精密称定,共 9 份,按

处方比例精密加入低、中、高不同量的辛伐他汀对照品,用适量溶液 1 溶解,按“2.2”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;另取辛伐他汀对照品溶液(100 μg/ml),加上述溶液 1 稀释至刻度,作为对照品溶液,同法测定,按外标一点法以峰面积计算含量,并计算回收率,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	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	平均回收率,%	RSD,%
1	7.05	7.15	101.4		
2	7.16	7.13	99.6		
3	7.19	7.14	99.3		
4	10.19	10.21	100.2		
5	10.28	10.19	99.1	99.7	0.92
6	10.36	10.20	98.5		
7	13.05	13.14	100.7		
8	13.19	13.15	99.7		
9	13.27	13.14	99.0		

结果表明,本法测定辛伐他汀片质量分数及质量分数均匀度方法回收率在 98.0%~102.0% 范围内,可见本法准确度良好。

#### 2.10 样品含量测定

取样品 1、2 各 2 批,按上述方法测定含量,结果见表 2。

表2 样品含量测定结果(n=3)

Tab 2 Results of content determination of samples(n=3)

样品批号	平均片质量,g	质量分数,%
100593	0.202 1	100.28
100540	0.201 5	99.97
10022502	0.202 6	100.60
10051502	0.204 9	98.91

结果表明,4 批样品含量均符合规定。

### 3 讨论

《中国药典》2010 年版用 HPLC 法(外标法)作为辛伐他汀片的含量控制方法,本试验对该法进行了验证,以期推广实际应用,控制我院辛伐他汀片的质量。

笔者对辛伐他汀片主药含量测定方法的专属性、系统适用性、线性范围、回收率、重复性、中间精密度、稳定性、不同厂家的样品含量等各方面进行了考察,发现《中国药典》2010 年版收录的方法专属性好,准确度高,结果稳定、可靠,适用性强。

通过含量测定专属性试验,笔者发现应避免温度、酸碱度等不稳定条件对辛伐他汀片产品质量产生影响。

试验过程中发现本法对进样精确性要求高,操作中以自动进样器或定量环进样为好。

#### 参考文献

- [1] 周进辉,蔡大明.辛伐他汀治疗高脂血症的临床观察[J].河北医药,2010,32(8):947.
- [2] 黄萍,陈庆宪,谭荣.重庆市 18 家医院 2004~2006 年调脂药应用分析[J].中国药房,2008,19(26):2 013.
- [3] 陈敏玲,张顺国,李岚.2004~2006 年上海市 83 家医院调脂药应用分析[J].中国药房,2007,18(35):2 742.
- [4] 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 V D.
- [5] 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,2010:369.

(收稿日期:2012-08-24 修回日期:2012-12-04)