

HPLC法测定洛伐他汀分散片的含量及含量均匀度

裘一婧^{1*}, 孙婷^{2#}(1. 杭州市食品药品检验研究院, 杭州 310015; 2. 河北省药品检验研究院, 石家庄 050011)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)09-1285-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.09.42

摘要 目的: 建立测定洛伐他汀分散片含量及含量均匀度的方法, 为其仿制生产和贮存期质量控制提供参考。方法: 采用高效液相色谱法。色谱柱为 Waters MS C₁₈, 流动相为乙腈-0.01% 磷酸(55:45, V/V), 检测波长为 238 nm, 柱温为 30 ℃, 流速为 1.0 ml/min, 进样量为 20 μl。结果: 洛伐他汀检测质量浓度线性范围为 20.32~609.60 μg/ml ($r=0.999\ 9$); 精密性、稳定性、重复性试验的 RSD < 1%; 回收率为 99.60%~101.68%, RSD=0.8% ($n=9$)。结论: 该方法的重复性好、准确度高, 适于洛伐他汀分散片的质量控制。

关键词 高效液相色谱法; 洛伐他汀分散片; 含量; 含量均匀度

Determination of Content and Content Uniformity of Lovastatin Dispersible Tablet by HPLC

QIU Yijing¹, SUN Ting²(1. Hangzhou Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310015, China; 2. Hebei Institute for Drug Control, Shijiazhuang 050011, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the determination of content and content uniformity in Lovastatin dispersible tablet, to provide reference for the quality control of its perenic production and storage period. METHODS: HPLC method was adopted on the column of Waters MS C₁₈ with mobile phase of acetonitrile-0.01% phosphoric acid (55:45, V/V), detection wavelength was 238 nm, column temperature was 30 ℃, flow rate was 1.0 ml/min, and the volume injection was 20 μl. RESULTS: The linear range of lovastatin was 20.32-609.60 μg/ml ($r=0.999\ 9$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 1%; recovery was 99.60%-101.68% (RSD=0.8%, $n=9$). CONCLUSIONS: The method is reproducible with high accuracy, and suitable for the quality control of Lovastatin dispersible tablet.

KEYWORDS HPLC; Lovastatin dispersible tablets; Content; Content uniformity

3.3 内标的选择

有文献报道^[1], 在分析樟脑和薄荷脑时采用环己酮为内标。因此, 本试验对痲子粉中樟脑和薄荷脑的分析曾用环己酮为内标。然而, 加入等量的内标溶液后, 在样品中内标的响应值相比对照品中内标的响应值严重降低, 仅为后者的一半。这可能是由于样品未经分离直接测定过程中, 痲子粉中含有的硼酸在高温 ILs 的催化作用下与环己酮活泼的 α -H 发生了反应。因此, 本试验所需内标应该是惰性的, 不能与待测成分和样品基质中的物质发生反应。而正辛醇不与待测成分及基质中的物质发生反应, 且出峰时间与樟脑和薄荷脑的出峰时间相近但可以完全分离, 顶空效率较高。所以, 本试验最终采用正辛醇为内标。

综上所述, 本方法简单、准确、灵敏、重复性好, 适用于痲子粉中樟脑、薄荷脑的含量测定, 为固体药物制剂中半挥发性成分的定量分析提供了一个准确、可靠的分析手段。

参考文献

- [1] 刘翔, 孙飞. 气相法测定麝香壮骨膏中樟脑、薄荷脑、冰片、水杨酸甲酯含量[J]. 中成药, 2009, 31(2): 231.
- [2] 孙晓梅, 代冬梅, 常雪灵, 等. GC法同时测定麝香壮骨膏中樟脑、薄荷脑、冰片和水杨酸甲酯的含量[J]. 中成药, 2007, 29(7): 1 004.

- [3] 颜敏, 刘圆圆, 易必新. 贴敷类医疗器械中樟脑薄荷脑与冰片的含量测定[J]. 医药导报, 2012, 31(5): 637.
- [4] 常健, 王晓东, 李红, 等. 毛细管气相色谱法测定橡胶膏中樟脑、冰片的含量[J]. 辽宁化工, 2007, 36(6): 428.
- [5] 宋敏, 黄慧芬, 戴黎黎. 气相色谱法测定樟霜中樟脑和薄荷脑的含量[J]. 中国药师, 2008, 11(10): 1 202.
- [6] 王金观, 傅应华, 朱玲仙. 气相色谱法同时测定复方醋酸地塞米松乳膏中樟脑和薄荷脑的含量[J]. 中成药, 2008, 30(5): 685.
- [7] 倪美萍, 张福成, 董立华, 等. GC法同时测定麝香跌打风湿膏中的3种挥发性成分[J]. 华西药学杂志, 2013, 28(2): 178.
- [8] 吴燕, 何小稳, 刘彦, 等. 直接顶空GC测定罗浮山百草油中薄荷脑和水杨酸甲酯[J]. 华西药学杂志, 2009, 24(5): 524.
- [9] 张小溪, 郭星, 吴雪缘, 等. 顶空气相色谱法测定砂仁中樟脑、龙脑、乙酸龙脑酯的含量[J]. 中药材, 2009, 32(6): 904.
- [10] 唐庆华, 胡建英. 液固顶空气相色谱法测定阿拉普利中有有机溶剂残留[J]. 生物科技仪器, 2005, 3(6): 44.
- [11] 牟东升, 陈华兵, 牡丹荣, 等. 气相色谱法测定亚微乳凝胶中樟脑、薄荷脑、水杨酸甲酯的含量[J]. 药物分析杂志, 2007, 27(11): 1 824.

* 主管药师。研究方向: 药物分析及保健食品检验。电话: 0571-85463892

通信作者: 主管药师, 硕士。研究方向: 药物分析、仿制药质量一致性评价、杂质鉴定。电话: 0311-85212008

(收稿日期: 2015-04-27 修回日期: 2016-01-14)

(编辑: 周 箐)

洛伐他汀(Lovastatin)为美国默克公司产品,1987年首次应用于临床便引起普遍关注。本品为羟甲戊二酰辅酶A(HMG-CoA)还原酶抑制剂的前体药物,是临床应用范围较广泛的他汀类降血脂药物^[1]。本品主要在肝脏中发挥作用,对肝脏有高度的选择性,可用于降低血清总胆固醇、低密度脂蛋白、极低密度脂蛋白和三酰甘油,并能升高高密度脂蛋白。《美国药典》34版、《英国药典》2011版、《欧洲药典》7.0版和《日本药局方》现行版均未记载分散片剂型。在查阅相关文献^[2-6]的基础上,本试验对洛伐他汀分散片的含量及含量均匀度的测定方法进行了研究,旨在为该制剂的生产和贮存期质量控制提供参考。

1 材料

1.1 仪器

LC-20AT型高效液相色谱仪(HPLC),包括LC-20AT型二极阵列检测器和Lab Solution工作站(日本岛津公司);BP211D型十万分之一电子天平(德国Sartorius公司)。

1.2 药品与试剂

洛伐他汀对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100600-200502,纯度:99.4%);洛伐他汀原料药(齐鲁制药有限公司,批号:00323026);洛伐他汀分散片(齐鲁制药有限公司,批号:090101、090102、090103);甲醇、乙腈(色谱纯,美国Fisher Scientific公司);磷酸(分析纯,天津市风船化学试剂科技有限公司);磷酸二氢钠(分析纯,天津市赢达稀贵化学试剂厂);水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Waters MS C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.01%磷酸(55:45, V/V);检测波长:238 nm;柱温:30 ℃;流速:1.0 ml/min;进样量:20 μl。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品贮备溶液的制备 精密称定洛伐他汀对照品0.1 g,置于50 ml量瓶中,加乙腈溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品贮备溶液。

2.2.2 对照品溶液的制备 取“2.2.1”项下对照品贮备溶液适量,加乙腈溶解并稀释制成每1 ml含0.2 mg的溶液,作为对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取样品20片,精密称定,研细,取细粉适量(约相当于洛伐他汀20 mg),置于100 ml量瓶中,加乙腈约80 ml,振摇使洛伐他汀溶解,并用乙腈稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液。

2.2.4 空白辅料溶液的制备 精密称取生产厂家处方中的所有辅料适量,按“2.2.3”项下方法制成空白辅料溶液。

2.3 系统适用性和专属性试验

2.3.1 系统适用性试验 取“2.2”项下对照品溶液、供试品溶液、空白辅料溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图1。由图1可见,洛伐他汀峰保留时间约为20 min,理论板数按洛伐他汀峰计不低于3 000;待测成分峰与溶剂及其他杂质峰分离良好,辅料对测定无影响。

2.3.2 专属性试验 精密称取洛伐他汀原料药10 mg和按处方比例配制的混合辅料0.10 g,置于50 ml量瓶中,共6份,1份为未破坏样品,另5份分别按下述条件进行破坏——(1)酸破坏:加乙腈2 ml,加0.1 mol/L盐酸溶液1 ml,室温放置10 min,用0.1 mol/L氢氧化钠溶液调至中性,加乙腈稀释至刻度,摇匀,作为酸破坏样品。(2)碱破坏:加乙腈2 ml,加0.1 mol/L氢

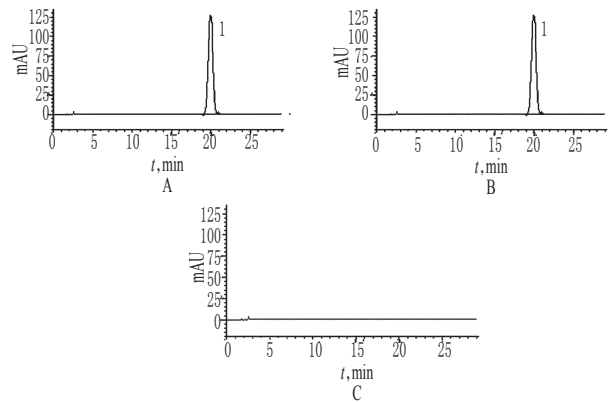


图1 系统适用性试验高效液相色谱图

A. 供试品; B. 对照品; C. 空白辅料; 1. 洛伐他汀

Fig 1 HPLC chromatograms for system suitability test

A. test sample; B. reference substance; C. blank control; 1. lovastatin
 氧化钠溶液0.1 ml,室温放置10 min,用0.1 mol/L盐酸溶液调至中性,加乙腈稀释至刻度,摇匀,作为碱破坏样品。(3)高温破坏:于150 ℃加热3 h后,直接将高温破坏后的样品用乙腈溶解,转移至50 ml量瓶中,加乙腈稀释至刻度,摇匀,作为高温破坏样品。(4)光破坏(紫外灯):加乙腈稀释至刻度,摇匀,在紫外灯(4 500 lx)中放置约24 h,作为光破坏样品。(5)氧化破坏:加乙腈2 ml溶解,加30%过氧化氢溶液2 ml,室温放置6 h,加乙腈稀释至刻度,摇匀,作为氧化破坏样品。取上述6份样品溶液各20 μl,注入HPLC仪,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图2。由图2可见,破坏后的样品与未破坏的样品图谱比较,主峰面积有所下降,杂质峰有所增多,杂质峰面积也有所增大,但主峰与相邻杂质峰之间分离度均>1.5,符合分离度要求,表明本方法专属性良好。

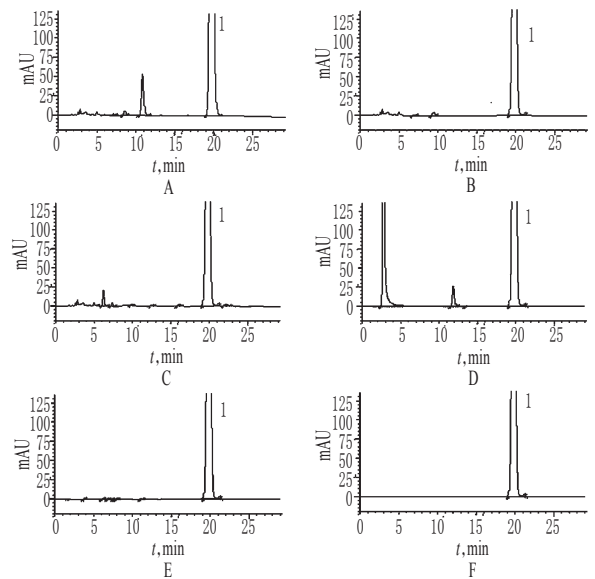


图2 专属性试验高效液相色谱图

A. 酸破坏样品; B. 碱破坏样品; C. 高温破坏样品; D. 氧化破坏样品; E. 光破坏样品; F. 未破坏样品; 1. 洛伐他汀

Fig 2 HPLC chromatograms of specificity test

A. sample treated with acid; B. sample treated with alkali; C. sample treated with high temperature; D. sample treated with oxidation; E. sample treated with light; F. untreated sample; 1. lovastatin

2.4 线性关系考察

精密称定洛伐他汀对照品200 mg,置于100 ml量瓶中,加

乙腈溶解并稀释至刻度,摇匀,分别精密量取0.1、0.25、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 ml,置于10 ml量瓶中,加乙腈溶解并稀释至刻度,摇匀,分别精密量取20 μ l,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,以洛伐他汀质量浓度(x , μ g/ml)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $y=3\ 060\ 055.98x+7\ 234.41$ ($r=0.999\ 9$)。结果表明,洛伐他汀检测质量浓度线性范围为20.32~609.60 μ g/ml。

2.5 精密度试验

精密量取“2.2.2”项下对照品溶液20 μ l,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,洛伐他汀峰面积的RSD=0.3% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

精密吸取“2.2.3”项下供试品溶液(批号:090101)适量,于室温下放置0、2、4、6、8、12 h时按“2.1”项下色谱条件分别进样20 μ l,记录峰面积。结果,洛伐他汀峰面积的RSD=0.9% ($n=6$),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:090101)适量,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液6份,分别按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并按外标法计算含量。结果,洛伐他汀含量的RSD=0.7% ($n=6$),表明该方法重复性较好。

2.8 回收率试验

按处方量取空白辅料9份,分别置于50 ml量瓶中,每3份精密加入“2.2.1”项下对照品贮备溶液4、5、6 ml,分别加乙腈适量,振摇使溶解,并加乙腈稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液注入HPLC仪,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算回收率,结果见表1。

表1 回收率试验结果($n=9$)

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

加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	平均回收率,%	RSD,%
7.93	8.03	101.26		
7.93	7.96	100.38		
7.93	7.96	100.38		
9.92	10.07	101.51		
9.92	9.88	99.60	100.9	0.8
9.92	9.92	100.00		
11.90	12.08	101.51		
11.90	12.10	101.68		
11.90	12.07	101.43		

2.9 样品含量及含量均匀度测定

2.9.1 含量测定 取样品20片,精密称定,研细,精密称取适量(约相当于洛伐他汀20 mg),置于100 ml量瓶中,加乙腈约80 ml,振摇使溶解,并用乙腈稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液。精密量取该溶液20 μ l,注入HPLC仪,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,按外标法以峰面积计算含量。结果,3批(批号090101、090102、090103)样品含量分别为96.1%、96.2%、96.3%。

2.9.2 含量均匀度测定 取样品1片,置于50 ml量瓶中,加乙腈约20 ml,振摇使溶解,并用乙腈稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液。精密量取该溶液20 μ l,注入HPLC仪,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,按外标法以峰面积计算含量,平行测定10片,通过含量均匀度公式 $A+$

$1.80S \leq 15.0$ (A :标示量与均值的绝对值; S :标准差)来判断其含量均匀度是否符合要求,结果见表2。

表2 样品含量均匀度测定结果($n=3$)

Tab 2 Determination results of content uniformity of samples($n=3$)

批号	平均含量,%	A	S	A+1.80S
090101	96.6	3.4	1.2	5.6
090102	96.5	3.5	0.7	4.8
090103	96.7	3.3	1.1	5.3

3 讨论

3.1 检测波长的选择

采用二极管阵列检测器测得洛伐他汀在238 nm波长处有最大吸收,辅料无吸收,故选择238 nm作为检测波长。

3.2 固定相的选择

《欧洲药典》7.0版和《英国药典》2011年版中收录的洛伐他汀原料药项下均选用 C_{18} 色谱柱测定,《美国药典》34版中收录的洛伐他汀原料药项下选用 C_{18} 色谱柱测定。因 C_{18} 色谱柱适用范围更广,笔者分别以Waters MS C_{18} (250 mm \times 4.6 mm,5 μ m)、Waters Symmetry RP C_{18} (150 mm \times 4.6 mm,5 μ m)、SHIMADZU VP-ODS C_{18} (150 mm \times 4.6 mm,5 μ m)、DiamonsilTM C_{18} (250 mm \times 4.6 mm,5 μ m)4根不同厂家、不同填料、不同柱长的 C_{18} 色谱柱进行试验,发现均可对洛伐他汀样品进行有效分离。故最终选择Waters MS C_{18} (250 mm \times 4.6 mm,5 μ m)为本试验的色谱柱。

3.3 耐用性考察

用“3.2”项下4根色谱柱对洛伐他汀分散片样品进行耐用性试验。结果显示,采用4种不同厂家、不同填料、不同柱长的 C_{18} 色谱柱,主峰的理论板数均 $>3\ 000$,峰型良好。表明该方法耐用性良好。

综上所述,本方法的重复性好、准确度高,适于洛伐他汀分散片的质量控制。

参考文献

- [1] 纪红,郭威早,严之红.洛伐他汀对心肌细胞外信号调节激酶信号传导水平及心脏营养素-1表达的影响[J].中国临床医学,2011,18(3):310.
- [2] 黄孝闻,陈平华,陈莉君,等.HPLC法测定水溶性红曲中Monacolin K的含量[J].浙江中医杂志,2014,49(9):685.
- [3] 王丽娟,陈四喜,杨雁冰,等.HPLC法测定血脂康胶囊中Monacolin类成分的含量[J].中国疗养医学,2015,24(5):479.
- [4] 陈东洋,冯家力,张昊,等.不同前处理方法对保健食品洛伐他汀含量测定的影响[J].食品工业科技,2014,35(11):295.
- [5] 李兰生,吴俊龙.反相色谱法测定洛伐他汀含量的方法[J].青岛化工学院学报,1999,20(4):353.
- [6] 吴永江,朱炜,邵青,等.高效液相色谱-质谱联用分析洛伐他汀中的杂质[J].分析化学,2006,34(1):115.

(收稿日期:2015-05-16 修回日期:2016-02-03)

(编辑:周 箫)