

文章编号 1006-8147(2016)01-0076-04

论 著

复方阿托伐他汀依折麦布胶囊的质量控制

李 晗, 李继斌, 邢正英, 戴学文, 房志仲

(天津医科大学药学院, 天津市临床药物关键技术重点实验室, 天津 300070)

摘要 目的: 建立复方阿托伐他汀依折麦布胶囊的质量控制方法。方法: 利用 HPLC 法测定复方阿托伐他汀依折麦布胶囊中主药的含量与制剂的含量均匀度, 色谱条件为: TIANHE[®] Kromasil C₁₈ 色谱柱 (200 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-0.05 mol/L KH₂PO₄ (磷酸调节 pH 至 3.0)-乙腈 (5:45:50); 检测波长为 λ=236 nm; 流速 1.0 mL/min; 进样量 20 μL; 柱温为 25 ℃。结果: 阿托伐他汀在 1.12~16.8 μg/mL 的浓度范围内线性关系良好 (r=0.999 9), 依折麦布在 1.14~17.1 μg/mL 的浓度范围内线性关系良好 (r=0.999 9); 阿托伐他汀和依折麦布的平均加样回收率分别为 100.58% 和 100.64%, RSD 分别为 1.18% 和 0.92%。结论: 该 HPLC 测定条件和含量测定方法能够有效地测定样品的含量, 且简便易行。

关键词 阿托伐他汀; 依折麦布; 高效液相色谱法; 质量控制; 含量均匀度

中图分类号 R927.2

文献标志码 A

Quality control of compound atorvastatin and ezetimibe capsule

LI Han, LI Ji-bin, XING Zheng-ying, DAI Xue-wen, FANG Zhi-zhong

(College of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin Key Laboratory on Technologies Enabling Development of Clinical Therapeutics and Diagnostics (Theranostics), Tianjin 300070, China)

Abstract Objective: To establish an appropriate method to determine contents of atorvastatin and ezetimibe in compound atorvastatin and ezetimibe capsule. **Methods:** Content and content uniformity of compound atorvastatin and ezetimibe capsule were determined by an HPLC method, in which a TIANHE[®] Kromasil C₁₈ column (200 mm×4.6 mm, 5 μm) was used as stationary phase and a mix of methanol-0.05 mol/L KH₂PO₄ (adjusted to pH 3.0 with phosphoric acid)-acetonitrile (5:45:50) was used as mobile phase. The detection wavelength was 236 nm and flow rate was 1.0 mL/min. Column temperature was set at 25 ℃. **Results:** The concentration detection of atorvastatin showed a fine linearity between 1.12~16.8 μg/mL (r=0.999 9), while the concentration detection of ezetimibe showed a fine linearity between 1.14~17.1 μg/mL (r=0.999 9); the average recoveries of atorvastatin and ezetimibe were 100.58% and 100.64%, respectively, and corresponding RSD values were 1.18% and 0.92%, respectively. **Conclusion:** The detection method in this study is simple and accuracy, so it is appropriate to be used in the quality control of the compound atorvastatin and ezetimibe capsule.

Key words atorvastatin; ezetimibe; HPLC; quality control; content uniformity

高脂血症是指由于脂肪代谢和运转异常导致血浆中几种类型的脂质高于正常水平的一种疾病。这几种脂质通常指血中总胆固醇(TC)和三酰甘油酯(TG)以及低密度脂蛋白(LDL-C), 此外高密度脂蛋白(HDL-C)水平的降低也会导致高脂血症。近年来, 随着人们生活水平的不断提高和社会压力的增大, 高脂血症等血脂异常疾病的发病率也呈现出逐年上升的趋势, 疾病的多发人群也不再只是集中于老年人, 而是逐渐年轻化。这些疾病严重威胁着人们的健康, 因此对于高脂血症的治疗刻不容缓。阿托伐他汀是一种羟甲基戊二酰辅酶 A (HMG-CoA) 还原酶抑制剂, 与选择性胆固醇吸收抑制剂依折麦布联合应用, 可分别从胆固醇的内、外源性途径对血脂水平进行调节, 产生协同作用, 强力降低血浆

LDL-C 水平, 以达到最佳的调脂效果^[1-3]。本课题对自制的复方阿托伐他汀依折麦布胶囊剂进行了质量控制方面的研究, 摸索高效液相色谱法条件, 建立检测自制制剂中两种药物的质量控制方法, 确保所建立的方法准确、可靠、简便、易行。

1 材料与方法

1.1 试药 供试品: 复方阿托伐他汀依折麦布胶囊 (自制); 对照品: 阿托伐他汀钙 (AVAIAMJ02A, 印度卡迪拉公司, 批号: 20121103); 依折麦布 (自制, 批号: 20140821); 甲醇 (天津市风船化学试剂科技有限公司, 色谱纯); 乙腈 (天津市风船化学试剂科技有限公司, 色谱纯); 其它试剂均为市售分析纯; 重蒸水 (自制)。

1.2 仪器 高效液相色谱仪 (美国 Spectra-Physics); 柱温箱 (Model 100, 天津科贝尔公司); 色谱柱 (Kromasil C₁₈, 200 mm×4.6 mm, 5 μm); Anstar

作者简介 李晗 (1990-), 男, 硕士在读, 研究方向: 药物制剂与质量控制研究; 通信作者: 房志仲, E-mail: fangzhizhong@tjmu.edu.cn。

色谱工作站(天津奥特赛恩斯仪器有限公司);ALC-210.4 电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司);电热真空干燥箱 DZG-403(天津市天宇实验仪器有限公司制造);KQ-100B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);酸度计 PHS-25(数显)pH 计(上海精密科学仪器有限公司)。

1.3 方法^[4-7]

1.3.1 色谱条件^[8-10] 色谱柱:TIANHE® Kromasil C₁₈(200 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.05 mol/L KH₂PO₄(调节 pH 至 3.0)-甲醇(50:45:5);检测波长 λ 为 236 nm;柱温为 25 ℃;流速 1.0 mL/min;进样量 20 μL。

1.3.2 溶液制备 (1)对照品溶液的制备:精密称取依折麦布对照品 5.7 mg 与阿托伐他汀对照品 5.6 mg, 分别置于 50 mL 量瓶中, 加入甲醇溶解并定容, 摇匀得贮备液;然后分别精密量取 1 mL 上述贮备液, 共同置于 10 mL 量瓶中, 加入流动相溶解并定容, 摇匀得对照品溶液;再分别精密量取 1 mL 上述贮备液, 分别置于 10 mL 量瓶中, 用流动相溶解并定容, 摇匀则分别得到阿托伐他汀与依折麦布的单一对照品溶液。(2)供试品溶液的制备:取适量自制样品研磨均匀, 精密称定 51.3 mg 置于 25 mL 量瓶中, 加入适量甲醇超声, 使完全溶解后, 定容至刻度。取一定量的溶液离心, 2 000 r/min, 5 min。取上清液, 用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 精密量取续滤液 2.0 mL 置于 10 mL 量瓶中, 用流动相定容至刻度, 即得供试品溶液。(3)阴性对照溶液的制备:按照自制处方制得不含阿托伐他汀与依折麦布的空白制剂, 根据上述供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。

1.3.3 系统适用性试验 分别吸取对照品溶液和阿托伐他汀与依折麦布的单一对照品溶液以及阴性对照溶液各 20 μL 并进样, 根据“1.3.1 项下”的色谱条件进行测定并记录色谱图。

1.3.4 线性关系考察^[11-12] 用移液管分别精密移取依折麦布/阿托伐他汀贮备液 0.1/0.1、0.2/0.2、0.5/0.5、0.8/0.8、1.0/1.0、1.2/1.2 和 1.5/1.5 mL 置于 10 mL 量瓶中, 用流动相稀释定容至刻度, 可以得到依折麦布/阿托伐他汀浓度系列为 1.14/1.12、2.28/2.24、5.7/5.6、9.12/8.96、11.4/11.2、13.68/13.44 和 17.1/16.8 μg/mL 的样品溶液, 分别进样, 根据“1.3.1 项下”的色谱条件进行测定并记录峰面积。

1.3.5 精密度试验 (1)日内精密度:取“1.3.2 项下”所制对照品溶液, 同一天内连续进样 6 次, 按照“1.3.1 项下”色谱条件进行测定, 计算峰面积的 RSD。(2)日间精密度:取“1.3.2 项下”所制对照品溶

液, 连续进样 6 d, 按照“1.3.1 项下”色谱条件进行测定, 计算峰面积的 RSD。

1.3.6 稳定性试验 取“1.3.2 项下”所制对照品溶液, 分别于第 0、3、6、9、12 和 24 h 进样, 按照“1.3.1 项下”色谱条件进行测定, 计算峰面积的 RSD。

1.3.7 重复性试验 根据“1.3.2 项下”供试品溶液的制备方法对同一批样品进行处理得到样品溶液, 重复进样 6 次, 按照“1.3.1 项下”色谱条件进行测定, 计算峰面积的 RSD。

1.3.8 回收率试验 精密称取 9 份自制样品的粉末 51.3 mg 置于 25 mL 量瓶中, 分成 3 组, 分别按照 80%、100% 和 120% 的比例加入阿托伐他汀和依折麦布对照品, 按照“1.3.2 项下”供试品溶液的制备方法进行处理, 进样, 按照“1.3.1 项下”色谱条件进行含量的测定, 计算回收率。

1.3.9 含量测定 根据“1.3.2 项下”供试品溶液的制备方法对 3 批样品进行处理得到样品溶液, 进样, 按照“1.3.1 项下”色谱条件进行测定, 使用外标一点法计算阿托伐他汀与依折麦布的含量。

1.3.10 含量均匀度的测定 取 1 粒待测自制样品称重后研磨均匀, 全部转移至 100 mL 量瓶中, 加入适量甲醇, 超声至粉末全部溶解后, 继续用甲醇稀释定容至刻度。取一定量的溶液离心, 2 000 r/min, 5 min。取上清液, 用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 精密量取续滤液 1 mL 置于 10 mL 量瓶中, 用流动相稀释定容, 即制得样品溶液, 进样, 按照“1.3.1 项下”色谱条件进行含量的测定。继续按照该方法, 重复测定 10 粒, 计算每一粒的主药含量, 同时统计其均值和标准差, 按照《中国药典》2010 版(二部)附录 XE 规定^[13]进行测定。

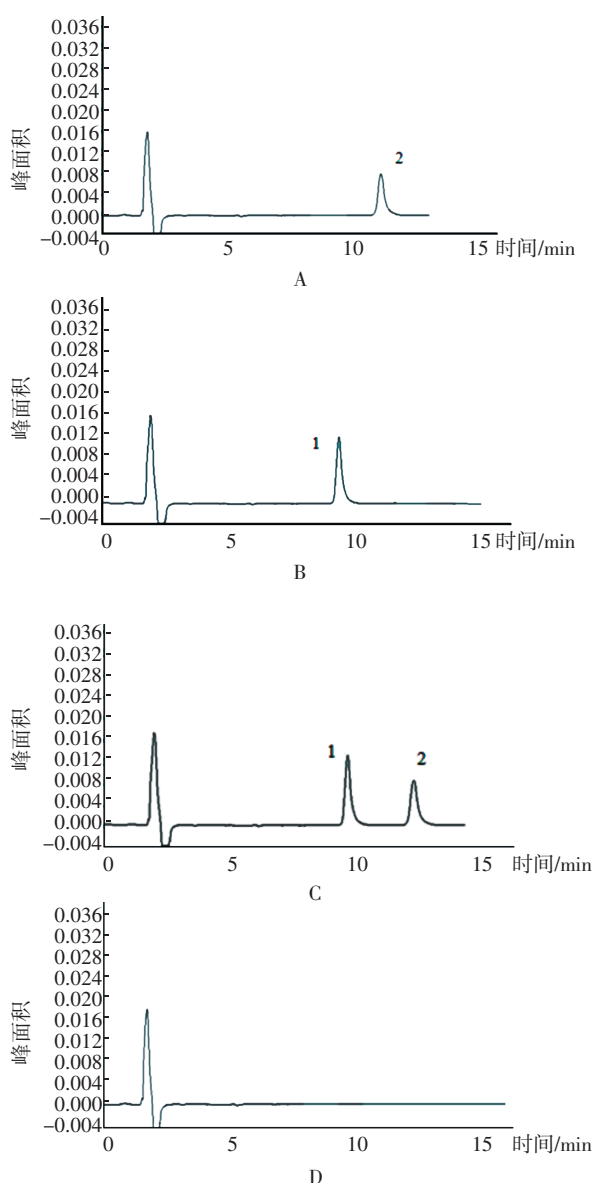
2 结果

2.1 系统适用性试验色谱图 见图 1。在“1.3.1 项下”的色谱条件下, 两主药之间、主药与辅料之间可明显分离, 互不干扰。

2.2 线性关系考察结果 以阿托伐他汀的峰面积(A)对浓度(C)做线性回归的标准曲线, 得到线性方程为 $A=49\ 864C+2\ 333.3$, $r=0.999\ 9$, 表明阿托伐他汀在 1.12~16.8 μg/mL 的浓度范围内线性关系良好; 以依折麦布的峰面积(A)对浓度(C)做线性回归的标准曲线, 得到线性方程为 $A=46\ 607C+3\ 202.6$, $r=0.999\ 9$, 表明依折麦布在 1.14~17.1 μg/mL 的浓度范围内线性关系良好。

2.3 精密度试验结果 阿托伐他汀和依折麦布的日内精密度试验的 RSD 分别为 0.78% 和 0.84% ($n=6$); 日间精密度试验的 RSD 分别为 0.83% 和 0.53% ($n=6$), 表明精密度良好。

2.4 稳定性试验结果 阿托伐他汀和依折麦布的



1.依折麦布;2.阿托伐他汀(A.阿托伐他汀单一对照品;B.依折麦布单一对照品;C.对照品溶液;D.阴性对照溶液)

图 1 系统适用性试验

Fig 1 System adaptability test

RSD 分别为 0.88%和 0.72%($n=6$),表明阿托伐他汀和依折麦布在 24 h 内稳定性良好。

2.5 重复性试验结果 阿托伐他汀和依折麦布的 RSD 分别为 0.29%和 0.63%($n=6$),表明阿托伐他汀和依折麦布重复性良好。

2.6 回收率试验结果 自制复方阿托伐他汀依折麦布胶囊中阿托伐他汀与依折麦布的平均加样回收率分别是 100.58%和 100.64%, RSD 分别是 1.18%和 0.92%,符合要求,详细测定结果见表 1、2。

2.7 含量测定结果 3 批样品中阿托伐他汀和依折麦布的含量测定结果见表 3。

表 1 阿托伐他汀的回收率试验

Tab 1 The recovery tests of atorvastatin

加样率/ %	测得量/ mg	本底量/ mg	加入量/ mg	回收率/ %	平均回收率/ %	RSD / %
80	2.32	1.25	1.06	100.43	100.58	1.18
	2.34	1.26	1.06	100.86		
	2.37	1.25	1.06	102.60		
100	2.51	1.24	1.26	100.40	100.58	1.18
	2.55	1.22	1.27	102.41		
	2.48	1.22	1.26	100.00		
120	2.71	1.25	1.48	99.27	99.64	99.64
	2.73	1.26	1.48	99.64		
	2.74	1.26	1.49	99.64		

表 2 依折麦布的回收率试验

Tab 2 The recovery tests of ezetimibe

加样率/ %	测得量/ mg	本底量/ mg	加入量/ mg	回收率/ %	平均回收率/ %	RSD / %
80	2.37	1.27	1.06	101.72	100.64	0.92
	2.34	1.26	1.06	100.86		
	2.36	1.27	1.06	101.29		
100	2.51	1.24	1.25	100.80	100.64	0.92
	2.49	1.22	1.25	100.81		
	2.48	1.24	1.26	99.20		
120	2.84	1.28	1.53	101.07	98.95	98.95
	2.83	1.28	1.52	101.07		
	2.83	1.27	1.49	98.95		

表 3 阿托伐他汀和依折麦布的含量测定结果

Tab 3 Content determination of atorvastatin and ezetimibe

批号	药物	标示量/%	RSD /%
140709	阿托伐他汀	105.69	0.92
	依折麦布	99.21	0.66
140710	阿托伐他汀	103.27	0.87
	依折麦布	97.65	0.84
140712	阿托伐他汀	106.90	0.90
	依折麦布	101.77	0.18

2.8 含量均匀度的测定结果 根据测得含量计算 $A+1.80S$,结果如下:样品中阿托伐他汀的平均标示量为 105.62%, $A+1.80S=7.63<15.0$;样品中依折麦布的平均标示量为 105.09%, $A+1.80S=8.54<15.0$ 。表明自制复方阿托伐他汀依折麦布胶囊中,阿托伐他汀和依折麦布的含量均匀度良好。

3 讨论

3.1 色谱条件的确定 经查阅相关文献^[9]得到同时测定阿托伐他汀和依折麦布含量的色谱条件为:流动相 0.05 mol/L KH_2PO_4 (调节 pH 至 3.0)-乙腈 (45:55),流速 1.0 mL/min,检测波长为 236 nm。将混

合对照品在上述色谱条件下进行进样分析,两种主药分离度较低。调慢流速为 0.8 mL/min,分离度仍没有明显改善,调回流速为 1.0 mL/min,调节流动相的组成和比例,增加极性相对较小的甲醇,多次改变甲醇、乙腈和磷酸盐的比例后得到最终流动相为 0.05 mol/L KH_2PO_4 (调节 pH 至 3.0)–甲醇–乙腈 (45:5:50),流速为 1.0 mL/min。

3.2 测定波长的选择 经查阅文献^[9]得到同时测定阿托伐他汀和依折麦布含量时的检测波长为 236 nm,而试验中对混合对照品进行紫外扫描时,得到的检测波长为 246 nm。故分别在 246 nm 和 236 nm 两个波长处进行含量测定,结果显示,在 236 nm 时检测阿托伐他汀和依折麦布两个组份更加灵敏。因此我们选择 236 nm 为此 HPLC 法的检测波长。

3.3 供试品溶液的制备方法 阿托伐他汀和依折麦布水溶性均较差,而易溶于甲醇^[14-16]。故本试验中用甲醇作为稀释溶液溶解药品颗粒,此时,药品稳定性好,且进样分析时色谱峰的峰形好。

参考文献:

- [1] 杜晓明,庞露,孙浩,等. 阿托伐他汀联合依折麦布降脂有效性及安全性 Meta 分析[J]. 医药导报,2012,31(8):1007
- [2] 刘龙华. 阿托伐他汀联合依折麦布治疗高脂血症疗效观察[J]. 右江医学,2013,41(4):534
- [3] 刘峰,刘海波. 依折麦布联合阿托伐他汀钙治疗高胆固醇血症的疗效观察[J]. 现代诊断与治疗,2013,24(17):3909
- [4] 崔祥祯,任英,吕永超. HPLC 法测定阿托伐他汀钙片的含量[J]. 药学研究,2013,32(6):340
- [5] 邱思婕. 高效液相法测定依折麦布片的含量[J]. 广州化工,2012,40(16):134
- [6] Sama J R, Kalakuntla R R, Rao V N, et al. Simultaneous estimation of atorvastatin and ezetimibe in pharmaceutical formulations by RP–HPLC method[J]. Der Pharmacia Lettre, 2010,2(1):427
- [7] 迟敏,黄文杰,张红,等. 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[J]. 中国药房,2014,25(8):749
- [8] Kumar P. Stability indicating method development for simultaneous estimation of ezetimibe and atorvastatin in pharmaceutical formulations by RP–HPLC[J]. Pharm Anal Acta,2012(Suppl 7):S7
- [9] Goel A, Baboota S, Sahni J K, et al. Development and validation of stability –indicating assay method by UPLC for a fixed dose combination of atorvastatin and ezetimibe[J]. J Chromatogr Sci, 2013, 51(3):222
- [10] 赖庆宽,王磊,谢婷,等. 依折麦布辛伐他汀片溶出度的 HPLC 法测定[J]. 中国医药工业杂志,2013,44(12):1275
- [11] 汪秋兰,王文清,施春阳,等. 高效液相色谱法测定阿托伐他汀钙片中阿托伐他汀钙的含量[J]. 医药导报,2013,32(3):366
- [12] 于鑫,周增慧,袁慧雅,等. HPLC 同时测定依折麦布辛伐他汀片中两种成分的含量[J]. 中国现代应用药学,2013,30(9):1008
- [13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(二部)[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010
- [14] 李丹丹,陶涛. 他汀类药物化学结构和理化性质对其药效及药动学特性的影响[J]. 中国医药工业杂志,2012,43(6):497
- [15] Taupitz T, Dressman J B, Klein S. New formulation approaches to improve solubility and drug release from fixed dose combinations: case examples pioglitazone/glimepiride and ezetimibe/simvastatin[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2013,84(1):208
- [16] Srivalli K R, Mishra B. Improved aqueous solubility and antihypercholesterolemic activity of ezetimibe on formulating with hydroxypropyl- β -cyclodextrin and hydrophilic auxiliary substances [J]. AAPS Pharm Sci Tech, 2015, [Epub ahead of print]

(2015-05-22 收稿)

(上接第 75 页)

参考文献:

- [1] Keating G M. Clevidipine: a review of its use for managing blood pressure in perioperative and intensive care settings[J]. Drugs, 2014, 74(16): 1947
- [2] Wei H H, Gu Y, Liu Y P, et al. Quantitation of clevidipine in dog blood by liquid chromatography tandem mass spectrometry: application to a pharmacokinetic study[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2014, 971: 52
- [3] Kurnutala L N, Soghomonian S, Bergese S D. Perioperative acute hypertension–role of clevidipine butyrate [J]. Front Pharmacol, 2014, 5: 197
- [4] Mirtallo J M, Dasta J F, Kleinschmidt K C, et al. State of the art review: Intravenous fat emulsions: Current applications, safety profile, and clinical implications[J]. Ann Pharmacother, 2010, 44(4): 688
- [5] He J Q, Zhang H Y, Yang L, et al. Preparation and evaluation of intravenous tetrandrine emulsion[J]. Chin Pharm J, 2011, 46(22): 1734
- [6] Xiao S G. The latest national standard pharmaceutical excipients[M]. Beijing: The Medicine Science and Technology Press of China, 2010: 50–50
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2010 版 (二部)[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010: 1206
- [8] 欧洲药典.6.0 版[S]. 2008:234

(2015-08-25 收稿)