

RP-HPLC测定硝苯地平片的含量

张敏娟, 姜世贤, 黄秀梅, 魏文芝, 段广佩, 张海庆

(青海省药品检验所, 西宁 810016)

摘要 目的: 采用高效液相色谱法测定硝苯地平片含量。方法: 采用 Symmetry C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 以水-乙腈-甲醇 (30:35:35) 为流动相, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 235 nm, 进样量 20 μL。结果: 硝苯地平线性范围为 40~140 μg·mL⁻¹ ($r=0.9996$), 最小检测量为 7.7 ng。结论: 本法精密度好, 结果准确、可靠、灵敏, 可用于硝苯地平片的含量测定。

关键词: 高效液相色谱法; 硝苯地平片; 含量测定

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2011)02-0368-03

RP-HPLC determination of nifedipine tablets

ZHANG Min-juan, JIANG Shi-xian, HUANG Xiu-mei

WEI Wen-zhi, DUAN Guang-pe, ZHANG Hai-qing

(Qinghai Institute for Drug Control, Xining 810016, China)

Abstract Objective To develop an HPLC method for the determination of content of nifedipine. **Methods** The chromatography was performed on Symmetry C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) water, acetonitrile and methanol (30:35:35) as the mobile phase at a flow rate of 1.0 mL·min⁻¹ and the absorbance was monitored at 235 nm. The injection volume was 20 μL. **Results** The calibration curves of Nifedipine was linear in the range of 40~140 μg·mL⁻¹ ($r=0.9996$). The limit of detection was 7.7 ng. **Conclusion** The method is accurate, credible and sensitive. It can be used for controlling the quality of nifedipine tablets.

Key words HPLC; nifedipine tablets; determination

硝苯地平片为钙通道阻滞药, 能抑制心肌对钙离子的摄取, 降低心肌兴奋-收缩偶联中 ATP 酶的活性, 使 ATP 能减少, 心肌收缩力减弱, 降低心肌耗氧量^[1]。中国药典 2005 年版二部中收载的硝苯地平片含量测定方法为紫外-可见分光光度法^[2], 其较为烦琐, 且在分次定量转移时易造成损失。本文采用高效液相色谱法测定硝苯地平片含量, 结果该方法操作简便, 测定结果准确, 重复性好。

1 仪器与试剂

Waters 2695 高效液相色谱仪, Waters 2487 紫外检测器, Sartorius CP225D 电子天平。硝苯地平片, 标示规格为 10 mg·片⁻¹ (山西云鹏制药有限公司)。硝苯地平对照品购于中国药品生物制品检定所 (批号: 100338-200502), 甲醇、乙腈为色谱纯, 其他试剂为分析纯, 水为重蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液 精密称取硝苯地平对照品约 10 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇 5 mL, 振摇使溶解, 并用流动相稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.1.2 供试品溶液 取本品 20 片, 除去包衣后, 精密称定, 研细, 精密称取细粉适量 (约相当于硝苯地平 20 mg), 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇 10 mL, 振摇使硝苯地平溶解, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

2.2 色谱条件 Waters 2695 高效液相色谱仪, Waters 2487 紫外检测器 色谱柱: Symmetry C₁₈ 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相: 水-乙腈-甲醇 (30:35:35), 流速: 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长: 235 nm, 进样量: 20 μL。在上述色谱条件下理论塔板数为 4200, 色谱图见图 1。

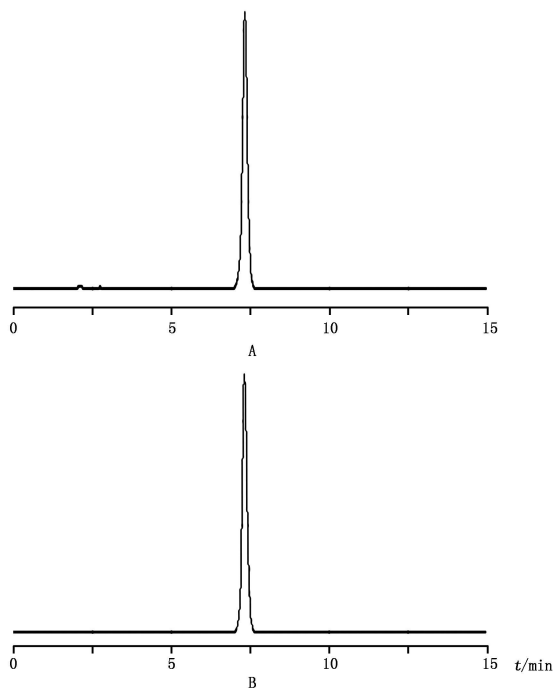


图 1 对照品 (A) 及样品 (B) 色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of reference substance (A) and sample (B)

2.3 耐用性和系统适用性 取供试品溶液, 在不同品牌的色谱柱 (SunFire C₁₈ 4.6 mm × 250 mm, 5.0 μm 或 Gemini C₁₈ 4.6 mm × 250 mm, 5.0 μm), 不同的液相色谱仪 (Waters 2695 系统 Empower 工作站、LC-20ATVP 岛津), 不同流动相系统, 不同的 pH 等试验条件下, 进行分析比较, 考察方法的耐用性, 测定结果见表 1。

表 1 耐用性和系统适用性试验结果

Tab 1 Test result of durability and system suitability

条件 (condition)	t_R /min	理论塔板数 (theoretical plate number)
1. 正文方法色谱条件 (original method chromatographic conditions)	9.760	9835
2. 调节流动相 pH 为 5.5 (adjust pH 5.5 for mobile phase)	8.191	9673
3. 调节流动相比 (3.5:3.5:3) (adjust mobile phase ratio)	5.073	8405

2.4 线性关系考察 精密量取硝苯地平对照品 25 mg 置 250 mL 量瓶中, 加 25 mL 甲醇溶解后, 以流动相定容至 250 mL 摇匀, 即得对照品储备液。精密

量取对照品储备液 2 3 4 5 6 7 mL, 分别置 50 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 制成系列溶液。在上述色谱条件下, 进样 20 μL 测定, 记录色谱图, 以峰面积 Y 对进样量 X (μg) 进行线性回归, 得回归方程为:

$$Y = 5.967 \times 10^5 X - 6.466 \times 10^4 \quad r = 0.9999$$

结果表明, 进样浓度在 40~140 μg·mL⁻¹ 范围内, 与峰面积呈线性关系。在选定的色谱条件下, 按信噪比 $S/N = 3$ 计算, 最低检测限为 7.7 ng。

2.5 重复性测定 按样品测定方法制备同一批号样品 6 份, 依次进样, 该样品平均含量分别为 99.8%, RSD 为 0.8%。

2.6 精密度试验 精密量取“2.1.1”项下对照品溶液 20 μL, 按“2.2”项下的色谱条件, 连续进样 6 针, 测得硝苯地平的平均峰面积 5564891, RSD 为 0.21%。

2.7 回收率试验 精密称取硝苯地平片处方量的 80%, 100%, 120% 的硝苯地平对照品各 3 份, 分别置预先按硝苯地平的其他处方量的 100 mL 量瓶中, 加 10 mL 甲醇溶解后, 以流动相定容至 100 mL 摇匀, 按“含量测定”项下方法测定, 按外标法计算。低、中、高 3 种浓度的回收率 ($n = 3$) 分别为 99.8% (RSD = 1.0%), 99.9% (RSD = 0.64%), 100.7% (RSD = 0.93%); 回收率平均值 ($n = 9$) 为 100.1%。

2.8 含量测定 精密称取硝苯地平样品 25 mg 于 250 mL 量瓶中, 加入 25 mL 甲醇溶解, 以流动相定容至 250 mL。精密量取供试品溶液 20 μL 注入液相色谱仪, 记录色谱图。另取硝苯地平对照品溶解于甲醇中 (约 1 mg·mL⁻¹), 以流动相稀释至 0.1 mg·mL⁻¹, 同法测定。按外标法以峰面积计算, 测得 3 批样品中硝苯地平含量分别为标示量的 98.1%, 101.7%, 98.8%。

2.9 2 种测定方法结果比较 对 361 批次硝苯地平片分别用紫外-分光光度法和高效液相色谱法进行含量测定, 测定结果见表 2。对 2 种方法获得的含量测定数据, 采用统计学单因素方差分析, F 值为 29.301, $P > 0.05$ 。结果表明采用 2 种方法进行测定, 无显著性差异。

表 2 2种测定结果比较 (%)

Tab 2 The comparison of 2 detem ination result

样品 (sample)	批号 (LotNo)	UV	HPLC
1	080807	94.5	95.8
2	080101	98.5	98.8
3	C080101	99.8	100.4
4	20080101	95.5	96.1
5	C071201	101.5	101.7
6	070607	96.6	95.7
7	0802011	92.2	92.9
8	0801035	94.4	93.6
9	C070703	96.3	96.8
10	080901	93.4	95.2
11	080601	96.0	96.5
12	080401	92.7	91.4
13	09015308	97.3	97.2
14	080811	93.1	92.8
15	0812019	94.5	95.9
16	C081101	97.0	95.9
17	0806172	93.9	91.9
18	200807003	96.7	95.6
19	081003	95.3	93.7
20	0901017	99.2	96.6
.....			

3 讨论

3.1 本品遇光极不稳定,由于分子内部发生光歧化作用,降解为硝基苯吡啉衍生物及亚硝基苯吡啉衍生物,分别为 4- (2- 硝基苯基) - 2, 6- 二甲基吡啉 - 3, 5- 二羧酸二甲酯 (I)和 4- (2- 亚硝基苯基) - 2, 6- 二甲基吡啉 - 3, 5- 二羧酸二甲酯 (II)^[3], 后者对人体极为有害, 注意生产及检验过

程中均应注意避光, 故本品在供试品液及对照品液制备以后避光测定, 防止光化性光的破坏。

3.2 检测波长的选择 鉴于硝苯地平杂质结构与主成分结构类似, 在 UV 图谱中吸收情况基本一致或相近, 进一步通过液质联用试验分析对照品与自制样品杂质的一致性, 结果确定主峰、杂质峰及大部分离子峰 *m/z* 相同, 结合紫外分光光度计记录紫外吸收曲线图, 最终确定最大吸收波长 235 nm 为检测波长。

3.3 流动相的选择 分别选用水 - 乙腈 - 甲醇 (50: 25: 25)^[4]、甲醇 - 水 (3: 2)为流动相系统, 均未达到理想的效果, 终因主成分保留时间过长等原因; 最终选择了水 - 乙腈 - 甲醇 (30: 35: 35)为流动相, 其基线稳定, 漂移和噪音极小, 提高了检测灵敏度。

3.4 小结 本品采用紫外 - 可见分光光度法进行含量测定, 受辅料干扰较大, 尤其在短波长处更甚, 在分次定量转移时易造成损失; 采用高效液相色谱法进行含量测定, 检测灵敏度高, 易区分结构相似的杂质, 可省略掉稀释试验步骤, 缩短检验时间, 尽可能避免遇光分解, 大大提高试验效率。

参考文献

1 YANG Bao-feng(杨宝峰). Pharmacology(药理学). 5th Ed(第五版). Beijing (北京): People's Medical Publishing House(人民卫生出版社), 2004. 203

2 ChP(中国药典). 2005 Vo II (二部): 704

3 Dokada bva J Occurrence & measurement of nifedipine & its nitro-pyridine derivative in human blood plasma. J Chromatogr, 1982, 231 (2): 541

4 USP 30. 2007. 307

(本文于 2010年 8月 18日修改回)