

HPLC测定阿齐沙坦片的含量

司海霞

(鲁南制药集团股份有限公司, 山东 临沂 276000)

摘要: 目的 建立高效液相色谱法 (HPLC) 测定阿齐沙坦片含量的方法。方法 采用Welch Ultimate XB C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 流动相为乙腈-缓冲液 (pH 2.8) (取磷酸二氢钠1.56 g和戊烷磺酸钠0.87 g, 加入1000 ml水使溶解, 用磷酸调pH 2.8) (45:55), 检测波长251 nm, 流速1.0 ml/min。结果 阿齐沙坦浓度在0.021~0.5232 mg/ml范围内线性关系良好 ($r=1.0000$), 平均回收率为100.15%, RSD 为0.65%。结论 本方法专属强、准确度高, 可用于阿齐沙坦片的含量测定。

关键词: 阿齐沙坦片; 高效液相色谱法; 含量测定

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 1672-979X (2018) 05-0344-04

DOI: 10.3969/j.issn.1672-979X.2018.05.007

Determination of Azilsartan Tablets by HPLC

Si Hai-xia

(Lunan Pharmaceutical Group Co., Ltd., Linyi 276000, China)

Abstract: Objective To establish an HPLC method for the determination of Azilsartan Tablets. Methods A stable HPLC method was established, and the chromatography was accomplished on an Welch Ultimate XB C₁₈ column (150 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase consisted of acetonitrile-pH 2.8 buffer (1.56 g of sodium dihydrogen phosphate and 0.87 g of sodium pentane sulfonate were dissolved in 1000 ml of water, and the pH was adjusted to 2.8 with phosphoric acid) (45:55), the detection wavelength was 251 nm, and the flow rate was 1.0 ml/min. Results The calibration curve was linear in the range of 0.021-0.5232 mg/ml ($r=1$), the average recovery was 100.15%, with corresponding RSD of 0.65%. Conclusion This method has high specialty and accuracy, and can be used for the determination of Azilsartan Tablets.

Key Words: Azilsartan Tablets; HPLC; determination

阿齐沙坦是血管紧张素 II 受体 (AT1) 拮抗剂 (ARB), 能竞争性、可逆地阻断血管紧张素 II 与 AT1 受体的结合, 起到降低血压作用, 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^[1-4]。阿齐沙坦作为新一代双重功能的 ARB, 不仅能高选择性阻断 AT1 受体, 单独或联合用药均具有平稳持久降血压作用, 还能通过部分激活过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR- γ) 而对糖尿病患者产生潜在的保护作用, 显示出良好的治疗前

景^[5-6]。2011年2月, 阿齐沙坦的前药阿齐沙坦酯 (azilsartan medoxomil, 商品名: Edarbi) 由美国食品与药品管理局 (FDA) 批准在美国上市^[7]; 2012年1月, 阿齐沙坦 (商品名: Azilva, アジルバ) 由药品与医疗器械管理局 (PMDA) 批准在日本上市^[8]。目前, 国内尚无本品上市。

按中国药典以及相关要求^[9-10], 本文经过反复摸索, 建立了反相高效液相色谱法 (RP-HPLC) 测定阿齐沙坦片含量的方法, 测得结果准确可靠, 可用于阿齐沙坦片的含量测定。

收稿日期: 2017-03-10

作者简介: 司海霞, 助理工程师, 从事新药研发工作 E-mail: s.haixia@163.com

1 仪器与试剂

Agilent 1100高效液相色谱仪（安捷伦）；XS205DU型十万分之一电子天平（Mettler Toledo）；乙腈为色谱纯，磷酸二氢钠为分析纯，戊烷磺酸钠为分析纯，水为纯化水；阿齐沙坦对照品（标定纯度：99.8%，批号：151001，鲁南制药），阿齐沙坦中间体1{2-乙氧基-1-[[2'-(羟基脒基联苯-4-取代)甲基]-苯并咪唑]-7-羧酸甲酯，标定纯度：99.1%，批号：151001A，鲁南制药}，阿齐沙坦片（规格：20 mg，批号：151201，151202，151203，鲁南制药）。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱：Welch Ultimate XB C₁₈（150 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相：乙腈-缓冲液（pH 2.8）（取1.56 g磷酸二氢钠和0.87 g戊烷磺酸钠，加入1000 ml水使溶解，用磷酸调节pH 2.8）（45:55）；检测波长：251 nm；流速：1.0 ml/min；进样量：10 μl。取阿齐沙坦对照品适量，用甲醇溶解并稀释制成每1 ml含0.2 mg的溶液，理论板数按阿齐沙坦峰计算不低于30 000。

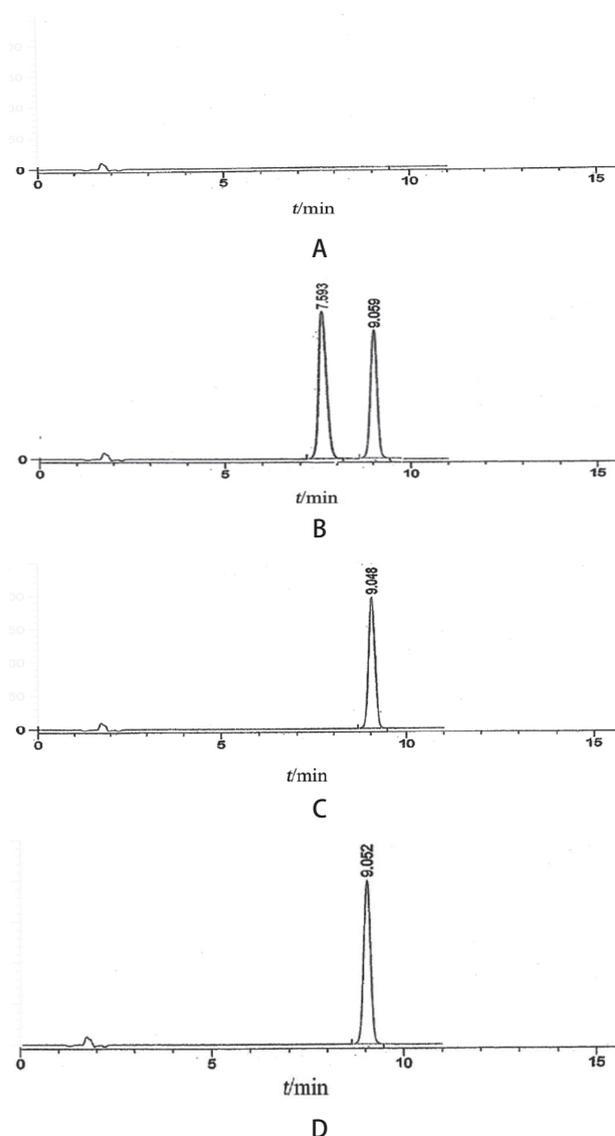
2.2 溶液制备

取本品20片，混匀，研细，精密称取细粉适量（约相当于阿齐沙坦20 mg），置入100 ml量瓶，加甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀，滤过，取续滤液作为供试品溶液。另取阿齐沙坦对照品适量，加甲醇溶解并稀释制成每1 ml约含0.2 mg的溶液，作为对照品溶液。取本品空白辅料适量（约相当于阿齐沙坦20 mg的处方比例量），置入100 ml量瓶，加甲醇适量，振摇并稀释至刻度，摇匀，滤过，取续滤液作为阴性空白溶液。

2.3 方法学考察

2.3.1 专属性试验 按上述色谱条件，取阿齐沙坦对照品和阿齐沙坦中间体1，精密称定，加甲醇溶解并稀释制成每1 ml约含0.2 mg的溶液，作为系统适用性溶液。分别取系统适用性溶液、对照品溶液、供试品溶液及阴性空白溶液各10 μl，分别注入液相色谱仪，记录色谱图，HPLC图谱见图1。实验结果表明：阿齐沙坦和阿齐沙坦中间

体1的分离度为2.45，理论板数按阿齐沙坦峰计为51 254，符合规定；空白辅料在阿齐沙坦主成分保留时间处无辅料峰，对阿齐沙坦的含量测定无干扰。



A: 空白辅料；B: 系统适用性溶液（7.593 min峰为阿齐沙坦中间体1）；C: 阿齐沙坦对照品；D: 阿齐沙坦片

图1 阿齐沙坦片含量测定HPLC图谱

2.3.2 线性与范围试验 称取阿齐沙坦对照品适量，加甲醇溶解并稀释制成每1 ml约含1 mg的溶液，作为对照品储备液。精密量取对照品储备液1，2，5，3，10，5，50 ml，分别置入50，50，50，20，50，20，100 ml量瓶，加甲醇稀释至刻度，摇匀。精密量取上述溶液各10 μl，分别注入液相色谱仪，记录色谱图，量取主峰面积，以浓度C（mg/ml）对主峰面积A进行线性回归，得回

归方程为： $A=10981C+11.98$ ， $r=1.0000$ 。结果表明：阿齐沙坦浓度在0.021~0.5232 mg/ml范围内呈良好线性关系。

2.3.3 精密度试验 取线性与范围试验项下对照品储备液，分别精密量取8, 10, 12 ml，各置入50 ml量瓶，加甲醇稀释至刻度，摇匀，制成浓度为0.1674 mg/ml (80%)，0.2092 mg/ml (100%)，0.251 mg/ml (120%)的溶液，各配制3份。依法测定，记录色谱图。以峰面积考察精密度，计算RSD分别为0.23%，0.09%，0.16%。表明精密度良好。

2.3.4 中间精密度试验 由不同操作者，在不同时间，用不同仪器照重复性项下测定方法测定本品含量，平均含量为99.6%，RSD为0.46% ($n=6$)。

2.3.5 溶液稳定性试验 取供试品溶液，在配制后0~8 h每隔1 h进样，按含量测定项下的方法测定，记录峰面积，以0 h的峰面积作为100%含量，其他时间与0 h峰面积相比，计算变化值。经试验，供试品溶液在8 h内峰面积变化最大值为0.92% < 2.0%，峰面积RSD为0.73%，溶液在8 h内稳定。

2.3.6 回收率试验 取阿齐沙坦对照品适量与处方量的辅料，混合均匀，精密称取适量，用甲醇制成每1 ml约含阿齐沙坦0.16, 0.2, 0.24 mg的溶液(80%, 100%, 120%)，各3份，作为供试品溶液，另精密称取阿齐沙坦对照品适量，精密称定，加甲醇溶解并稀释制成每1 ml约含阿齐沙坦0.2 mg的溶液，作为对照品溶液。分别精密量取供试品溶液及对照品溶液各10 μ l，注入色谱仪，记录色谱图。根据峰面积，按外标法计算回收率，平均回收率为100.15%，RSD为0.65% ($n=9$)。

2.3.7 重复性试验 取本品20片，混匀，研细，取细粉适量(约相当于阿齐沙坦20 mg)，置入100 ml量瓶，加甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀，过滤，取续滤液作为供试品溶液。另取阿齐沙坦对照品适量，加甲醇溶解并稀释制成每1 ml约含0.2 mg的溶液，摇匀，作为对照品溶液。分别精密量

取供试品及对照液各10 μ l，注入色谱仪，记录色谱图，按外标法以峰面积计算其含量，平均含量为100.8%，RSD为0.82% ($n=6$)。

2.3.8 耐用性试验 取含量测定项下对照品溶液及供试品溶液，通过改变流速，调整流动相比，更换同系列不同批的色谱柱进行试验(改变其中一项条件时，其余条件均保持标准条件不变)，计算含量，衡量本方法在微调各种色谱条件时的耐用性，结果见表1。

表1 阿齐沙坦片含量测定方法耐用性试验结果

研究项目	含量/%
标准条件	98.47
流速	
0.9 ml/min	99.48
1.1 ml/min	99.20
乙腈-缓冲液	
40:60	99.23
50:50	99.52
更换色谱柱	99.81

由表1可见，微调色谱条件后，测得含量符合规定，且无明显变化，本方法耐用性较好。

2.3.9 样品测定 取本品3批样品(批号：151201, 151202, 151203)及对照品，依法测定，含量分别为99.23%，99.78%，99.58%，均符合规定。

3 讨论

在方法摸索过程中，当以乙腈-缓冲液(pH 2.8)(称取1.56 g磷酸二氢钠，加入1000 ml水使溶解，用磷酸调节pH 2.8)(20:80)为流动相时，色谱图运行至30 min仍未出主峰；当以乙腈-缓冲液(pH 2.8)(称取1.56 g磷酸二氢钠，加入1000 ml水使溶解，用磷酸调节pH 2.8)(35:65)为流动相时，主峰保留时间约为17 min，对称因子1.83，主峰与各杂质都达到基线分离。当以乙腈-pH 2.8缓冲液(称取1.56 g磷酸二氢钠和0.87 g戊烷磺酸钠，加入1000 ml水使溶解，用磷酸调节pH至2.8)(45:55)为流动相时，主峰保留时间约为9 min，对称因子0.95，与未增加离子对相比，峰形更对称，即增加离子对试剂改善了主峰峰形。

方法学研究表明：通过线性与范围试验、精密度试验、溶液稳定性试验、回收率试验、重复性试验、中间精密度试验、耐用性试验等研究，本法的精密度良好，回收率高，线性范围广，耐

金刚藤总黄酮分离纯化工艺研究

况成裕¹, 殷成强², 刘大勇², 龙玉波², 王振², 王芳², 王玉环²

(1. 山东省药科学院 山东省生物药物重点实验室, 山东 济南 250101; 2. 山东明仁福瑞达制药股份有限公司, 山东 济南 250104)

摘要: 目的 筛选并优化金刚藤总黄酮分离纯化工艺。方法 分别通过静态、动态吸附的方法, 以吸附率、解析率及总黄酮含量为主要指标, 考察各因素对金刚藤总黄酮大孔吸附树脂纯化工艺的影响。结果 LS303型大孔树脂纯化金刚藤总黄酮效果最好, 最佳工艺条件为: 上样液含量45.87 mg/ml, 上样药液量4 BV, 吸附速率1 BV/h, 树脂柱高径比8.9:2, 水洗体积数2 BV, 洗脱液浓度60%, 洗脱体积数6 BV, 减压干燥温度60℃, 总黄酮含量达到58.37%。结论 LS303型大孔吸附树脂纯化金刚藤总黄酮操作简单、安全、成本低廉、有较高的应用价值。

关键词: 金刚藤; 大孔吸附树脂; 总黄酮; 纯化

中图分类号: R284.2 文献标识码: A 文章编号: 1672-979X (2018) 05-0347-05

DOI: 10.3969/j.issn.1672-979X.2018.05.008

Study on Separation and Purification Process of Total Flavonoids from *Smilax China L.*

KUANG Cheng-yu¹, YIN Cheng-qiang², LIU Da-yong², LONG Yu-bo², WANG Zhen², WANG Fang², WANG Yu-huan²

(1. Shandong Provincial Key Laboratory of Biopharmaceuticals, Shandong Academy of Pharmaceutical Sciences, Jinan 250014, China; 2. Shandong Mingren Freda Pharmaceutical Co., Ltd., Jinan 250104, China)

Abstract: Objective To screen and optimize the separation and purification process of total flavonoids from *Smilax china L.* Methods The effects of various factors on the purification process of total flavonoids from *Smilax china L.* by macroporous adsorption resin were investigated by static and dynamic adsorption methods, using adsorption rate, resolution rate and content of total flavonoids as main indicators. Results The LS303 macroporous resin showed the highest purification efficiency, the optimum conditions were as follows: the content of the sample solution was 45.87

收稿日期: 2018-01-22

作者简介: 况成裕, 副主任中药师, 从事中药学研究 E-mail: 18253132099@139.com

用性及溶液稳定性良好, 表明本方法适合阿齐沙坦片的含量测定。

参考文献

- [1] Zaiken K, Cheng J W. Azilsartan medoxomil: a new angiotensin receptor blocker[J]. Clin Ther, 2011, 33(11): 1577-1589.
- [2] 赵春艳, 王京晶, 刘洋, 等. 心血管疾病新药阿齐沙坦酯的药学与临床评价[J]. 中国新药杂志, 2011, 20(19): 1831-1834.
- [3] 张亚安, 傅志贤, 张征林, 等. 抗高血压新药选择性AT1亚型血管紧张素II受体拮抗剂-阿齐沙坦酯[J]. 药学与临床研究, 2011, 19(3): 262-264.
- [4] 高越, 邱彤, 郝砚彬, 等. 复方阿齐沙坦酯/氯噻酮药理作用研究进展[J]. 国际药学研究杂志, 2013, 40(5): 557-559, 583.
- [5] Iwai M, Chen R, Imura Y, et al. TAK-536, a new AT1 receptor blocker, improves glucose intolerance and adipocyte differentiation[J]. Am J Hypertens, 2007, 20(5): 579-586.
- [6] Kurtz T W, Klein U. Next generation multifunctional angiotensin receptor blockers[J]. Hypertens Res, 2009, 32(10): 826-834.
- [7] U.S. Food and Drug Administration. Highlights of prescribing information[EB/OL]. [2011-02-28]. http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2011/200796s000lbl.pdf.
- [8] 医薬品医療機器総合機構:承認情報[EB/OL]. [2012-01-18]. <http://www.pmda.go.jp/PmdaSearch/iyakuDetail/GeneralList/2149048F1>.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 2015年版(四部). 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 9101.
- [10] 成海平. 化学药物质量控制分析方法验证的原则和要求[J]. 中国新药杂志, 2009, 19(8): 688-689, 698.