

DOI:10.15923/j.cnki.cn22-1382/t.2018.6.12

高效液相色谱法测定单硝酸异山梨酯含量

王林林, 姜亚玲, 刘秋伟

(郑州工业应用技术学院 药学院, 河南 郑州 451100)

摘要: 采用高效液相色谱法,用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,以甲醇-水(25:75)为流动相,波长为210 nm,来检测单硝酸异山梨酯缓释片中单硝酸异山梨酯的含量。结果表明,单硝酸异山梨酯峰理论板数为11 271.511,单硝酸异山梨酯峰与2-单硝酸异山梨酯峰的分度为3.792,线性单硝酸异山梨酯浓度在20.40~153.00 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内,标准曲线的相关系数为 $R^2=0.999 8$,平均回收率为99.17%~100.76%, $\text{RSD}\%=0.54$,精密度的 $\text{RSD}\%=0.23$,重复性的 $\text{RSD}\%=0.63$,表明方法可行。

关键词: 单硝酸异山梨酯缓释片;液相色谱法;含量

中图分类号: R 927 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-1374(2018)06-0582-05

Determination of isosorbide mononitrate concentration with high performance liquid chromatography

WANG Linlin, JIANG Yaling, LIU Qiuwei

(School of Pharmacy, Zhengzhou Institute of Applied Technology, Zhengzhou 451100, China)

Abstract: With high performance liquid chromatography at 210 nm detection wavelength, we use octadecylsilane bonded silica as a filler and methanol-water (25 : 75) as mobile phase to determine isosorbide mononitrate concentration in isosorbide mononitrate sustained-release tablets. Results are as following: theoretical plate number of isosorbide mononitrate is 11 271.511; separation rate between isosorbide mononitrate peak and 2-isosorbide mononitrate peak 3.792; linear isosorbide mononitrate concentration distribution between 20.40 and 153.00 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; correlation coefficient of the standard curve $R^2 = 0.999 8$; average recovery between 99.17% and 100.76%; $\text{RSD}\% = 0.54$; precision $\text{RSD}\% = 0.23$; repeatability $\text{RSD}\% = 0.63$. It indicates that the method is feasible.

Key words: isosorbide mononitrate sustained-release tablets; high performance liquid chromatography; concentration.

收稿日期: 2018-05-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(17BSH044)

作者简介: 王林林(1995-),女,汉族,河南周口人,郑州工业应用技术学院助教,主要从事药物制剂方向研究, E-mail: hhyly@163.com.

0 引言

单硝酸异山梨酯属于硝酸酯类抗心绞痛药,为硝酸异山梨酯的活性代谢产物,是新一代长效抗心绞痛药物,药理作用与机制和硝酸甘油十分类似^[1],主要通过扩张外周静脉、动脉和冠状动脉发挥作用。本品水溶性增大,不易透过血脑屏障,故与脂溶性大的硝酸异山梨酯比较中枢神经系统不良反应较轻,但本品起效较慢,不宜用于心绞痛急性发作,适用于冠心病的长期治疗和预防心绞痛发作^[2-3]。单硝酸异山梨酯缓释片采用特别工艺,达到一天一次用药即可有效控制心绞痛疾病

发作的效果,极大改善病人对药物的顺应性。缓释片使长期用药变得十分方便,对医生和患者都很有帮助。本研究是为了给仿制药单硝酸异山梨酯缓释片建立一种科学、合理的含量检测方法,要求证明采用的方法适合于相应的检测需求,准确度、重复性、精密度、专属性、线性和范围以及溶液稳定性都达到2010版药典的相关要求^[4-5]。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

实验所用仪器和试剂分别见表1和表2。

表1 仪器

仪器	型号	生产厂家
电子分析天平	AL204	梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司
电子分析天平	AB135-S	梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司
pH计	PHS-25	上海精密科学仪器有限公司
超声波清洗机	KQ-500E	昆山禾创超声仪器有限公司
高效液相色谱 色谱柱	岛津高效液相色谱仪 C18柱 4.6 × 250 mm, 5 μm	北京科普分析科技有限公司 AgiLent

表2 试剂

试药/试剂	级别	生产厂家
甲醇	分析纯	北京化工厂
磷酸	分析纯	北京化工厂
乙腈	色谱纯(Fisher)	Fisher Scientific
单硝酸异山梨酯对照品	100705-200902	中国药品生物制品检定所
单硝酸异山梨酯缓释片	090201	北京京丰制药有限公司
上市品依姆多	0901035	阿斯利康制药有限公司
硝酸异山梨酯对照品	100250-200503	中国药品生物制品检定所
单硝酸异山梨酯对照品	100694-200401	中国药品生物制品检定所
2-单硝酸异山梨酯对照品	100695-200401	中国药品生物制品检定所
试验用水	纯化水	—

1.2 含量检查

1.2.1 溶液的制备

1.2.1.1 供试品溶液

取本品适量,研细,加流动相溶解并稀释制成每1 mL中约含单硝酸异山梨酯5 μg的溶液,作为供试品溶液;取本品20片,精密称定,研细,精

密称取适量(约相当于单硝酸异山梨酯25 mg),置250 mL量瓶中,加流动相适量,振摇20 min,使单硝酸异山梨酯溶解,用流动相稀释至刻度,摇匀,过滤,作为供试品溶液^[6-7]。

1.2.1.2 对照溶液

精密量取供试品适量,用流动相定量稀释制

成每 1 mL 中约含单硝酸异山梨酯 5 μg 的溶液作为对照溶液。

1.2.2 测定法

试验操作:精密量取供试品溶液 20 μL 注入

液相色谱仪,记录色谱图。另取单硝酸异山梨酯对照品适量,同法测定^[8-10]。按外标法以峰面积计算。

计算公式:

$$\text{含量}(\%) = \frac{A_{\text{样}} \times W_{\text{对}} \times D_{\text{样}} \times \text{对照品含量} \times W_{\text{平}}}{A_{\text{对}} \times W_{\text{样}} \times D_{\text{对}} \times \text{规格}} \times 100\%$$

式中: $A_{\text{样}}/A_{\text{对}}$ ——供试品/对照品溶液中单硝酸异山梨酯的峰面积;

$W_{\text{样}}/W_{\text{对}}$ ——供试品/对照品溶液的称样量,g;

$D_{\text{样}}/D_{\text{对}}$ ——供试品/对照品溶液的稀释倍

数;

$W_{\text{平}}$ ——平均片重,g;

规格——60 mg。

1.2.3 含量结果

含量方法学(1)验证结果见表 3。

表 3 含量方法学(1)验证结果

项目	验证结果
专属性	辅料不干扰测定。
线性和范围	标准曲线的相关系数为 $R^2 = 0.9998$, 20.40~153.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内, 线性良好。
准确度	单硝酸异山梨酯回收率为 99.17%~100.76%, $\text{RSD}\% = 0.54$
精密度	精密度 $\text{RSD}\% = 0.23$, 重复性 $\text{RSD}\% = 0.63$
溶液稳定性	本样品溶液室温放置 48 h, 溶液稳定性良好。

1.3 含量方法学建立

1.3.1 色谱条件的选择

参照文献^[16]单硝酸异山梨酯片的含量测定,用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,以甲醇-水(25:75)为流动相;检测波长为 210 nm;柱温为 35 $^{\circ}\text{C}$ 。

1.3.2 干扰试验

取本品辅料适量,精密称定,加水溶解并定量稀释制成相当于每 1 mL 中约含单硝酸异山梨酯 0.1 mg 的溶液,分别精密量取此溶液、水、流动相 20 μL 注入液相色谱仪,记录色谱图。

本品空白辅料、流动相、溶剂水在单硝酸异山梨酯峰附近无吸收峰,故本品辅料、流动相、溶剂水不干扰本品含量测定^[11]。

1.3.3 线性试验与范围

取单硝酸异山梨酯原料 0.0255 g,置 50 mL 量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,作为贮备液,精密量取贮备液 1、2、4、5、6、7.5 mL 分别置

25 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,即得^[12],分别取上述溶液 20 μL 注入液相色谱仪,照含量测定方法在 210 nm 波长处测定,记录色谱图。以浓度($\mu\text{g}/\text{mL}$)对峰面积进行线性回归,结果见表 4 和图 1。

表 4 单硝酸异山梨酯测定的线性范围考察结果

$C/(\mu\text{g}/\text{mL})$	峰面积
20.40	294 649
40.80	591 463
81.60	1 261 077
102.00	1 596 481
122.40	1 909 019
153.00	2 404 146

试验表明,单硝酸异山梨酯在 20.40~153.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内,线性关系良好。

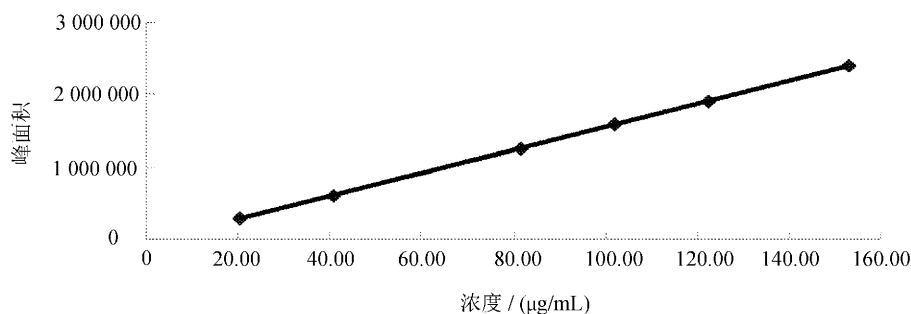


图1 单硝酸异山梨酯线性关系

1.3.4 准确度试验

1.3.4.1 对照品溶液的制备

精密称定单硝酸异山梨酯对照品 25 mg,置 50 mL 量瓶中,加水振摇使之溶解后,再用水稀释至刻度,摇匀,精密量取溶液 5 mL 置 25 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液^[13-14]。

1.3.4.2 样品溶液的制备

分别取单硝酸异山梨酯原料 20、25、30 mg,精密称定,置 250 mL 量瓶中,再按处方加相应辅料,加水约 200 mL,振摇 20 min,使单硝酸异山梨酯溶解,用水稀释至刻度,使溶液中含主药为处方量的 80%、100%、120%,过滤,摇匀,即得样品溶液(1)、(2)、(3),每个浓度平行制备 3 份样品溶液,按照含量测定方法在 210 nm 的波长处测定峰面积,计算样品的回收率及其 RSD%,测定结果见表 5。

表5 回收率测定结果

主药为处方量/%	组号	回收率/%
80	1	99.83
	2	99.83
	3	99.87
100	1	99.17
	2	100.76
	3	100.71
120	1	99.78
	2	99.45
	3	99.50
平均回收率:99.88%; RSD%:0.54		

由试验结果可知,本方法测定单硝酸异山梨

酯缓释片的含量,平均回收率为 99.88%,RSD 为 0.54%,且回收率均在 98.0%~102.0% 范围内,本方法测定单硝酸异山梨酯准确度良好。

1.3.5 重复性试验

取本品细粉适量(约为单硝酸异山梨酯 25 mg),精密称定 6 份样品,分别置 250 mL 容量瓶中,加水约 200 mL,振摇使之溶解,再用水稀释至刻度,摇匀,过滤,为样品溶液。另取单硝酸异山梨酯对照品适量,加水振摇至单硝酸异山梨酯溶解,用水稀释制成每 1 mL 中约含 0.1 mg 的溶液,摇匀,为对照品溶液^[15-16]。分别精密量取 6 份对照品和样品溶液 20 μL,依次注入液相色谱仪,记录色谱图。按照含量测定方法测定样品峰面积,计算其 RSD%,见表 6。

表6 重复性测定结果

编号	含量/%
1	101.50
2	100.78
3	100.76
4	100.77
5	102.30
6	100.71
平均值:101.14; RSD%:0.63	

由试验结果可知,此方法测定本品含量时重复性良好。

2 结 语

由上述试验可知,对本含量测定方法进行的线性、精密性、重复性、溶液稳定性、回收率等验证,试验结果均符合药品质量标准分析方法验证

指导原则(文献[16]附录 XIXA)的要求,表明此含量测定方法精密度好,准确度高,适用于本品的含量测定。

参考文献:

- [1] 李静,程务本.硝酸异山梨酯缓释剂的作用机制、耐药性及临床应用[J].中国临床药理学杂志,1998,2(3):45-48.
- [2] 马受群,胡大一.心血管病学[M].北京:人民卫生出版社,2005:356-357.
- [3] 国家药典委员会.中华人民共和国药典二部[M].北京:中国医药科技出版社,2010:29-31.
- [4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典临床用药须知化学药和生物制品卷 2010 年版[M].北京:人民卫生出版社,2010:239.
- [5] 缪玉山,倪冲,戴永健,等.单硝酸异山梨酯缓释片的研究[J].中国药学杂志,2000,12(22):9235-9237.
- [6] 朱志鸿,蒋立新.长效 5-单硝酸异山梨酯缓释片的临床治疗优势及其在无症状心肌缺血中的使用[J].北方药学,2013,6(10):63-64.
- [7] 郭毅,张为军,张秋菊.单硝酸异山梨酯口崩片的制备及质量评价[J].齐鲁药事,2011,5(30):260-262.
- [8] 崔颖,吕凌,陆宇,等.HPLC 法测定复方单硝酸异山梨酯缓释片中单硝酸异山梨酯和阿司匹林的含量[J].安徽医药,2003,7(2):131-132.
- [9] 吴燕,郭继红,肖健,等.单硝酸异山梨酯缓释微丸胶囊的制备及质量控制[J].中国新药杂志,2014(19):2320-2324.
- [10] 陈岐信,孙艳华,黄桂华.阿司匹林单硝酸异山梨酯复方缓释片含量测定的方法研究[J].齐鲁药事,2012,4(3):217-218.
- [11] 国家药典委员会.中华人民共和国药典二部[M].北京:中国医药科技出版社,2010:494-497.
- [12] 毕同香,王波.单硝酸异山梨酯片的 HPLC 法测定[J].中国工业医药杂志,1999,3(11):57-59.
- [13] 吕莉.HPLC 法同时测定复方单硝酸异山梨酯阿司匹林含量[J].药物分析杂志,2002,1(1):45-46.
- [14] [Anon]. European Directorate for the Quality of Medicines & healthcare (EDQM)[C]//European Pharmacopeia 7th ed. Strasbourg: Council of Europe,2010.
- [15] [Anon]. The british pharmacopeial convention [C]//British Pharmacopeial 2011 ed. London: The Stationery Office,2010.
- [16] 国家药典委员会.中华人民共和国药典二部[M].北京:中国医药科技出版社,2010:194-195.