

HPLC法测定非诺贝特软胶囊的有关物质及含量

李嘉宇,戴正琳

(湖北省医药工业研究院有限公司,湖北 武汉 430061)

摘要:采用高效液相色谱(HPLC)法测定非诺贝特软胶囊的有关物质及含量,用 C_{18} 色谱柱(Inertsil ODS-3 $5\mu\text{m}$, $4.6\text{ mm}\times 150\text{ mm}$),以水-乙腈(30:70)(v/v)磷酸调节 $\text{pH}2.5$ 为流动相,紫外检测波长为 286 nm ;线性范围 $40.7\sim 407.1\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($r=0.9999$);平均回收率为 99.8% , $\text{RSD}=0.3\%$;检测限为 0.4 ng ,结果表明本法具有操作简便,快速准确,干扰小等优点。

关键词:高效液相色谱法;非诺贝特软胶囊;有关物质;定量分析

中图分类号:O 652.63 **文献标识码:**A

0 引言

非诺贝特(fenofibrate)为氯贝丁酯类降血脂药,能抑制羟甲基戊二酰辅酶A(HMG. CoA)还原酶,从而减少胆固醇合成,临床常用于治疗高甘油三酯血症、高胆固醇血症和混合性高脂血症,对老年人动脉粥样硬化、心脑血管疾病的防治有重要意义^[1]。非诺贝特软胶囊剂具有生物利用度高的特点,经临床研究结果证明与进口非诺贝特胶囊(法国Fournier公司生产的Lipahyl胶囊)生物等效。

本实验建立了高效液相色谱法对非诺贝特软胶囊中的有关物质及含量进行分离、测定,能准确检测样品中的有关物质、主要降解产物非诺贝特酸^[2-5]、非诺贝特酚。操作简便,方法可行,准确度高。

1 实验部分

1.1 仪器

高效液相色谱仪(日本岛津)LC 10A 泵,SPD 10A 检测器;UV 240 型紫外-可见分光光度计(日本岛津)。

1.2 材料与试剂

非诺贝特对照品(开封制药厂提供),批号:20061003, HPLC 法检测纯度为 99.7% ;非诺贝特软胶囊(浙江爱生药业有限公司提供),批号:20070109、20070110、20070111;甲醇、乙腈为色谱纯,磷酸、盐酸为分析纯。

1.3 实验方法

1.3.1 溶液的制备

a. 供试品溶液的制备 取20粒非诺贝特软

件囊内容物,混合均匀,精密称取适量(约相当于非诺贝特 20 mg),加乙腈微温($40\text{ }^{\circ}\text{C}$)提取4次,每次 23 mL ,合并提取液,置 100 mL 量瓶中,分别加乙腈至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

b. 对照品溶液的制备 另取非诺贝特对照品各适量,精密称定,加乙腈溶解并稀释制成的每 1 mL 约含非诺贝特对照品 1 mg 溶液,作为对照品溶液。

c. 色谱条件 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以水-乙腈(30:70)(v/v)用磷酸调节 $\text{pH}2.5$ 为流动相;流速 $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$;检测波长 286 nm 。

d. 测定与计算 量取供试品溶液、对照品溶液各 $20\text{ }\mu\text{L}$ 注入液相色谱仪,记录色谱图,按外标法以峰面积计算,测得非诺贝特软胶囊中非诺贝特的含量。

2 结果与讨论

2.1 线性关系考察

准确称取非诺贝特对照品 40.71 mg ,置于 100 mL 量瓶中,加乙腈稀释至刻度,摇匀,分别精密量取上述溶液 1.0 、 3.0 、 5.0 、 7.0 、 9.0 、 10.0 mL 分别置 10 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀。照1.2.1项下色谱条件测定,以峰面积(A)为纵坐标,样品浓度(C)为横坐标,进行线性回归,其方程为: $A=5.2278\times 10^8 C-0.0029$, $r=0.9999$ 。表明非诺贝特在 $40.7\sim 407.1\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 质量浓度范围内与峰面积成良好的线性关系。

2.2 定量限与检测限

将1.2.1项下最低浓度溶液逐步稀释,当信

噪比(S/N)为 10 时,溶液浓度为 $0.06 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,即定量限为 1.2 ng;当信噪比(S/N)为 3 时,溶液浓度为 $0.02 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,即检测限为 0.4 ng.

2.3 回收率与精密度实验

按处方比例配制空白辅料,精密称取 9 份,每份约 35 mg,分别置烧杯中,各加入非诺贝特对照品 9 份,称样量为 $20 \text{ mg} \times (1 \pm 20\%)$,搅匀,加乙腈微温(40°C)提取 4 次,每次 23 mL,合并提取液,置 100 mL 量瓶中,分别加乙腈至刻度,摇匀,作为供试品溶液;另取非诺贝特对照品 20.14 mg,置 100 mL 量瓶中,加乙腈溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液.照 1.2.1 项下色谱条件测定.按外标法以峰面积计算回收率.平均回收率为 99.8%.

对照品溶液连续进样 5 次,获得日内精密度, $\text{RSD}=0.8\% (n=5)$;连续进样 5 d,获得日间精密度, $\text{RSD}=1.2\% (n=5)$.

2.4 专属性实验

取非诺贝特软胶囊内容物适量,加乙腈微温(40°C)提取 4 次,使非诺贝特溶解并稀释制成每 1 mL 中约含 1 mg 的溶液,作为供试品溶液;另取非诺贝特、非诺贝特酸、非诺贝特酚对照品各适量,精密称定,加乙腈溶解并稀释制成的每 1 mL 约含非诺贝特对照品 1 mg、非诺贝特酸、非诺贝特酚各 10 μg 的溶液,作为对照溶液;取供试品溶液 25 mL 置恒温光照箱中(5°C , 4 500 lx),照射 5 d;取供试品溶液置 25 mL 量瓶中,水浴加热 1 h,放冷至室温,加乙腈至刻度,摇匀;分别取本品内容物适量,精密称定置 100 mL 量瓶中,分别加 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸液、 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠液各 10 mL,加乙腈适量,摇匀,水浴加热 1 h,放冷至室温,加乙腈至刻度,摇匀,分别作为经光、热、酸、碱破坏样液,照 1.2.1 项下色谱条件测定.

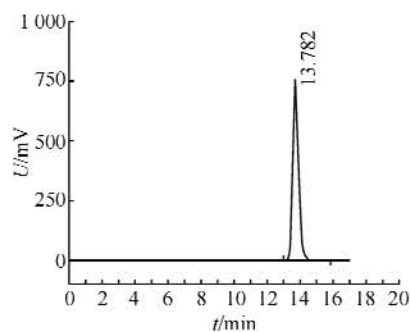
结果表明,非诺贝特对热、酸较稳定,经光破坏产生 3 个小杂质,保留时间分别为 3.5、4.6 和 20.5 min,经碱破坏产生的杂质较大,主要杂质保留时间为 4.6 min;证实该色谱条件能有效分离并检出降解产物.

2.5 溶剂及空白内容物的干扰实验

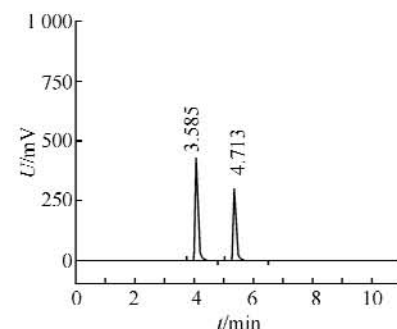
分别以乙腈及空白内容物乙腈提取,照 1.2.1 项下色谱条件试验,除 1.5~3 min 有细小的基质及溶剂峰外,无其他色谱峰,表明溶剂及基质对测定无干扰.

2.6 样品含量测定

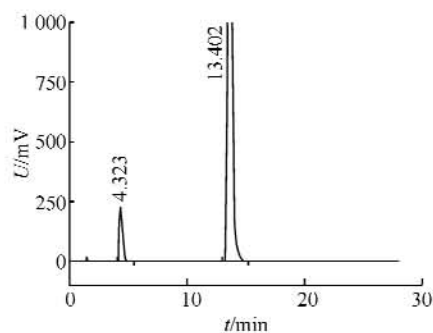
用 1.2.7 项下方法处理样品,用 1.2.1 项下色谱条件测定.结果如表 1 所示.



A. 非诺贝特对照品



B. 非诺贝特酚与非诺贝特酸对照品



C. 碱破坏样品

图 1 非诺贝特软胶囊专属性试验结果 HPLC 图谱
Fig. 1 Specification Test Result of HPLC Graph of Fenofibrate softspecification

表 1 样品质量分数测定结果

Table 1 Results of sample assay

样品批号	质量分数/%	RSD/%
20070109	99.5	0.7
20070110	101.3	0.5
20070111	100.7	0.6

注: $n=3$.

3 结 语

a. 经对水-乙腈系列流动相、水-甲醇系列流动相筛选,选择水-乙腈(30:70)(v/v),用磷酸调节 PH2.5 为流动相,非诺贝特峰与相邻杂质峰分离效果最好(分离度为 3 以上),主峰出峰时间适中(11~14 min),主峰峰形对称(拖尾因子 $T=1.01$).

b. 对用乙腈溶解并稀释制成每 1 mL 中约含 12 μg 的非诺贝特对照品溶液在 200 nm 至 400 nm

波长范围内扫描,最大吸收波长为 286 ± 1 nm,选择 286 nm 为检测波长。

c. 主药非诺贝特以微粒形式分散在软胶囊基质中,分别用甲醇、乙醇及乙腈为溶剂进行提取试验,乙腈提取效果最好。

d. 通过日内、日间精密度试验可知配制好的样液具有较长的稳定时间,可达 5 d。

e. 由专属性试验结果提示:杂质非诺贝特酸的相对保留时间为 0.33,非诺贝特酚的相对保留时间为 0.25,为主要有关物质及降解产物。

参考文献:

- [1] 郑俊民. 经皮给药新剂型[M]. 北京:人民卫生出版社,2006:48.
- [2] 王曼丽,余俊先,杨春秀,等. HPLC 法测定人血浆中非诺贝特酸的浓度,中国药房[J], 2008, 19(20): 1545-1546.
- [3] 耿立坚,李性天,周密妹,等. 反相高效液相色谱法测定人血浆中非诺贝特活性代谢物非诺贝酸[J]. 中国药房,2007,18(2):114-115.
- [4] 高志伟,李中东,焦正. 人血浆中非诺贝酸的 HPLC 测定及药物动力学研究[J]. 中国医药工业杂志,2006,37(1):32-34.
- [5] 徐帆,冯恩富,余■,等. HPLC 法测定血浆中非诺贝特活性代谢物非诺贝酸的浓度[J]. 中国药师,2007, 10(6):530-532.
- [6] 赵永红,黄毅慧,黄仲义,等. 非诺贝特胶囊(微粒化)人体生物利用度研究[J]. 中国药房,2006,17(14): 1082-1083.
- [7] 李学明,顾立,王永禄,等. 熔融乳化法制备非诺贝特纳米混悬剂[J]. 中国医药工业杂志,2009,(5):349-354.
- [8] 周霖,向建敏. 高效液相色谱法测定多溴联苯含量的研究[J]. 武汉工程大学学报,2008,30(3):18-21.

Determination of Fenofibrate Soft Capsules by HPLC Method

LI Jia -yu, DAI Zheng -lin

(Hubei Livscien Pharm Sci & Tech, co., Ltd., Wuhan 430061, China)

Abstract: A HPLC method was established for the determination of fenofibrate in the soft capsules. A C18 column (Inertsil ODS-35 μ m, 4.6 mm \times 150 mm) was used. The mobile phase was distilled water and acetonitrile (30 : 70) adjusted to PII 2.5 with phosphoric acid. The wavelength of detector was 286nm, The standard curve was a linear curve in the concentration range from 40.7 to 407.1 μ g \cdot mL⁻¹ and the correlation coefficient was 0.999 9. The average recovery rate was 99.8%, with RSD 0.3%, the detected limit 0.4 ng. The method is simple, rapid, accurate and reliable.

Key words: HPLC; fenofibrate soft capsules; related matter; quantitative analysis

本文编辑:张 瑞