

HPLC 法测定非诺贝特缓释片中非诺贝特

郭庆明^{1,2}, 张 晖^{1,2}, 苏晓峰^{1,2}, 陈宝来^{1,2}, 萧 伟^{1,2}

1. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001

2. 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏 连云港 222001

摘 要: **目的** 采用 HPLC 法测定非诺贝特缓释片中非诺贝特。**方法** 采用 Dikma C₁₈ 色谱柱 (200 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水 (90:10); 检测波长: 288 nm; 柱温: 25 ℃; 体积流量: 1.0 mL/min; 进样量 10 μL。**结果** 非诺贝特在 2.0~12.0 μg/mL 与其峰面积呈良好的线性关系 ($r=0.999\ 9$); 检测限和定量限分别为 10、30 ng/mL; 平均回收率为 99.86%, RSD 值为 0.72% ($n=9$)。**结论** 该方法准确、简便, 可用于非诺贝特缓释片中非诺贝特的质量控制。

关键词: 非诺贝特缓释片; 非诺贝特; 高效液相色谱

中图分类号: R927.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2014)05-0497-03

DOI:10.7501/j.issn.1674-5515.2014.05.011

Determination of fenofibrate in Fenofibrate Sustained-release Tablets by HPLC

GUO Qing-ming^{1,2}, ZHANG Hui^{1,2}, SU Xiao-feng^{1,2}, CHEN Bao-lai^{1,2}, XIAO Wei^{1,2}

1. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China

2. State Key Laboratory of New-tech for Chinese Medicine Pharmaceutical Process, Lianyungang 222001, China

Abstract: Objective To establish an HPLC method for determining fenofibrate in Fenofibrate Sustained-release Tablets. **Methods** HPLC was carried out on a Dikma C₁₈ column (200 mm × 4.6 mm, 5 μm) with methanol - water (90 : 10) as mobile phase. The detection wavelength was set at 288 nm. The injection volume was 20 μL at the flow rate of 1.0 mL/min. The temperature of column was set at 25 ℃. **Results** There were good linear relationship of fenofibrate in the range of 2 — 12 μg/mL ($r = 0.999\ 9$). The limits of detection and quantitation were 10 and 30 ng/mL, respectively. The average recoveries was 99.86% with RSD value of 0.72% ($n = 9$). **Conclusion** The method is accurate and simple for quality control of fenofibrate in Fenofibrate Sustained-release Tablets.

Key words: Fenofibrate Sustained-release Tablets; fenofibrate; HPLC

非诺贝特是第 3 代苯氧芳酸类调脂药, 具有显著降低血中升高的三酰甘油、总胆固醇及中度升高高密度脂蛋白胆固醇水平等调节血脂异常的作用^[1]。该药最先由法国 Fournier 公司于 1975 年开发上市, 现已在全球多达 85 个国家和地区上市, 是目前临床应用最广泛的贝特类药物, 可作为仅次于他汀类的二线调脂药而主要用于高三酰甘油血症和低高密度脂蛋白血症的治疗, 同时还可降低血尿酸水平, 对 2 型糖尿病和代谢综合征的治疗也有较好作用, 市场前景良好^[2]。有文献报道^[3]采用单扫描示波极谱法测定非诺贝特, 另外《中国药典》2010 年版采用高效液相色谱法 (HPLC 流动相为乙腈-水系统)

对其原料和制剂进行测定^[4]。本实验进行了改进, 采用甲醇-水系统作为流动相, 建立非诺贝特的 HPLC 测定方法, 结果表明该方法专属性强、准确、灵敏, 操作简便。

1 仪器和试剂

1.1 实验仪器

LC—10AT 液相色谱仪 (日本岛津公司)。

1.2 试剂

非诺贝特缓释片, 规格 0.25 g/片, 批号 081210、081216、081222, 江苏康缘药业股份有限公司提供; 非诺贝特对照品, 批号 100733-200401, 中国食品药品检定研究院提供; 甲醇为色谱纯, 超纯水。

收稿日期: 2014-03-12

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (973 计划) 项目 (2012CB724001)

作者简介: 郭庆明 (1970—), 男, 工程师, 主要从事新药的研究与开发。Tel: (0518)81152369 E-mail: guoqingmgmg7380@soho.com

*通信作者 萧 伟, 男, 博士, 研究方向为中药新药的研究与开发。Tel: (0518)81152337 E-mail: wzzhz-nj@163.net

2 方法和结果

2.1 色谱条件

Dikma C₁₈ 色谱柱 (200 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水 (90:10); 检测波长: 288 nm; 柱温: 25 °C; 体积流量: 1.0 mL/min; 进样量 10 μL。理论板数按非诺贝特峰计算应不低于 5 000。

2.2 溶液的制备

2.2.1 空白辅料溶液的制备 精密称取按比例配制好的空白辅料适量 (约相当于非诺贝特 20 mg), 置于 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 滤过。精密量取续滤液 2 mL 于 50 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.2 对照品溶液的配制 精密称取非诺贝特对照品 20 mg, 置于 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 滤过。精密量取续滤液 2 mL 于 50 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 即得 8 μg/mL 非诺贝特对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取非诺贝特缓释片 20 片, 除去包衣膜, 研细, 精密称取细粉适量 (约相当于非诺贝特 20 mg), 置于 100 mL 量瓶中, 加甲醇适量, 超声使溶解, 放冷, 加甲醇稀释至刻度, 静置, 滤过。精密量取续滤液 2 mL 于 50 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.3 线性关系考察

精密称取非诺贝特对照品 20 mg 于 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 滤过。分别精密量取 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mL, 置于 50 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 即得 2.0、4.0、6.0、8.0、10.0、12.0 μg/mL 系列不同质量浓度的对照品溶液。分别精密量取 20 μL 注入液相色谱仪中, 记录色谱图。以峰面积为纵坐标, 质量浓度为横坐标, 进行线性回归, 得回归方程 $A=29\,469\,C+88.467$, $r=0.999\,9$, 结果表明非诺贝特在 2.0~12.0 μg/mL 与其峰面积呈良好的线性关系。

2.4 检测限与定量限

取 2.0 μg/mL 非诺贝特对照品溶液, 用流动相逐次稀释。分别精密量取 20 μL 注入液相色谱仪, 结果 30 ng/mL 非诺贝特图谱中信噪比为 10:1, 故定量限为 30 ng/mL。10 ng/mL 非诺贝特图谱中信噪比为 3:1, 故检测限为 10 ng/mL。

2.5 专属性试验

分别量取空白辅料溶液、非诺贝特对照品溶液和非诺贝特缓释片供试品溶液 20 μL 注入色谱仪

中, 记录色谱图, 结果空白辅料对非诺贝特的测定无干扰, 专属性良好, 见图 1。

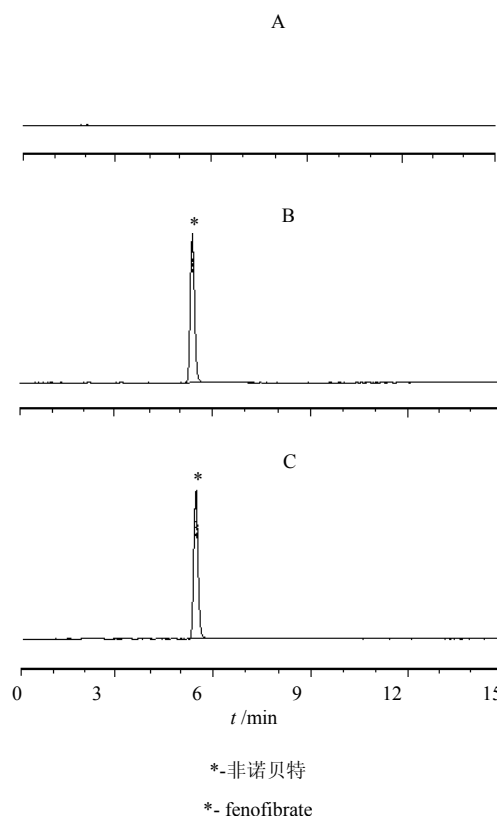


图 1 空白辅料 (A)、非诺贝特对照品 (B) 和非诺贝特缓释片 (C) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of blank material (A), fenofibrate reference substance (B), and Fenofibrate Sustained-release Tablets (C)

2.6 中间精密度试验

在同一实验室, 按不同日期、不同分析人员、不同设备, 取批号 081210 样品, 制备供试品溶液, 精密量取上述溶液 20 μL 注入液相色谱仪中, 记录色谱图, 计算得非诺贝特质量分数的 RSD 值为 0.08% ($n=6$), 结果表明由不同日期、不同实验人员在不同的液相色谱仪中分析测定的结果均没有明显差别。

2.7 稳定性试验

取批号 081210 样品, 制备供试品溶液, 室温下放置, 分别于 0、2、4、8、12、24 h 精密量取 20 μL 测定, 记录色谱图, 结果非诺贝特质量分数的 RSD 值为 0.43%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.8 重复性试验

取批号 081210 样品, 平行 6 份, 制备供试品溶

液,精密量取上述溶液 20 μL 进样,记录色谱图,计算得非诺贝特质量分数的 RSD 值为 0.16%。

2.9 回收率试验

分别按标示量的 80%、100%、120%精密称非诺贝特对照品 16、20、24 mg,各 3 份,分别置于 100 mL 量瓶中,分别加入相当于含非诺贝特 20 mg 的空白辅料,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,滤过;精密量取续滤液 2 mL 于 50 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,即得 80%、100%、120% 3 种质量浓度的供试品溶液。分别精密量取上述溶液 20 μL 注入液相色谱仪中,记录色谱图,按外标法计算回收率,结果非诺贝特的平均回收率为 99.86%,RSD 值为 0.72%。

2.10 样品的测定

取非诺贝特缓释片(批号分别为 081210、081216、081222) 20 片,制备供试品溶液;另取非诺贝特对照品适量,制备对照品溶液。分别精密量取上述两种溶液各 20 μL ,注入液相色谱仪,记录色谱图。按外标法以非诺贝特峰面积计算质量分数,结果见表 1。可见 3 批样品之间非诺贝特的质量分数差异较小,且符合规定。

表 1 非诺贝特缓释片中非诺贝特的测定结果 ($n=2$)

Table 1 Determination of fenofibrate in Fenofibrate Sustained-release Tablets ($n=2$)

批 号	非诺贝特/%
081210	99.2
081216	99.6
081222	99.3

3 讨论

3.1 检测波长的选择

取非诺贝特对照品甲醇溶液,在 200~400 nm 波长进行扫描,结果非诺贝特在 (288 ± 2) nm 波长处有最大吸收,故选择 288 nm 为检测波长。

3.2 流动相的选择

分别对甲醇-水(95:15)、甲醇-水(90:10)、甲醇-水(85:15)和甲醇-水(80:20) 4 种流动相进行试验,观察峰形和出峰时间,前 3 种流动相在 10 min 之前均出峰,且峰形良好,且以甲醇-水(90:10)为流动相时,出峰时间在 5.4 min 左右,较合适,故采用甲醇-水(90:10)作为流动相,最后 1 种流动相 10 min 内未出峰。

3.3 耐用性试验

通过改变流动相比比例、柱温、体积流量、色谱柱或换用不同色谱仪,考察主峰保留时间、峰面积理论板数和拖尾因子等主要参数,结果显示改变上述条件,理论板数均符合规定,表明该色谱系统耐用性良好。

本实验采用 HPLC 法测定非诺贝特缓释片中非诺贝特,并进行了方法确证。所采用的方法简单、精密度高、结果准确,可用于本品的质量控制。

参考文献

- [1] 沈 敏,李中东.非诺贝特非调脂作用的研究与应用[J].中国临床药学杂志,2010,19(4):253-256.
- [2] 李 芳,俸灵林,阎 超.非诺贝特制剂研究进展[J].世界临床药物,2011,3(9):552-557.
- [3] 孟召辉,王素红.单扫描示波极谱法测定非诺贝特的研究[J].南阳师范学院学报:自然科学版,2002,1(2):65-66.
- [4] 中国药典[S].二部.2010:455-456.