

高效液相色谱法测定苯扎贝特有关物质

刘天姝, 张佳佳, 王惠玉

(海能未来技术集团股份有限公司, 山东 济南 250104)

摘要: 本文使用悟空 K2025 高效液相色谱仪测定苯扎贝特有关物质。色谱条件: C₁₈ 4.6×250mm, 5μm, 流速为 1.0mL/min, 柱温为 25°C, 进样量为 20μL, 检测波长为 228nm。实验结果: 苯扎贝特和杂质 I (N-(4-氯苯甲酰基)-酪胺) 的分离度为 6.98, 苯扎贝特峰的理论塔板数为 9868; 将对照溶液进行重复性测试, 苯扎贝特保留时间的 RSD 为 0.223%, 峰面积的 RSD 为 0.161%; 灵敏度溶液的信噪比 S/N 为 33.4, 均满足《中国药典(2020 年版)》的要求。

关键词: 苯扎贝特; 测定

苯扎贝特 (Bezafibrate), 别名葡萄糖酸钠, 化学名为 2-[4-[2-(4-氯苯甲酰氨基)乙基]苯氧基]-2-甲基丙酸, 分子式为 C₁₉H₂₀ClNO₄, 为白色或类白色结晶或结晶性粉末, 无臭, 在甲醇中溶解, 在乙醇中略溶, 在水中几乎不溶。苯扎贝特为调血脂药, 临床上主要用于高脂蛋白血症 I 型、高脂蛋白血症 II 型、高脂蛋白血症 III 型、高脂蛋白血症 IV 型和高脂蛋白血症 V 型。

适用于苯扎贝特有关物质的测定。

苯扎贝特在 228nm 处有紫外吸收, 使用高效液相色谱法测定。

1 试剂与材料

水: 符合 GB/T6682 的一级水;

甲醇: 色谱纯;

磷酸二氢钾: 优级纯;

苯扎贝特;

N-(4-氯苯甲酰基)-酪胺 (杂质 I)。

2 仪器与设备

高效液相色谱仪: K2025 P2 二元高压输液泵、K2025 AS 自动进样器、K2025 CO 柱温箱、K2025 UVD 紫外-可见光检测器、Wookinglab 色谱工作站;

分析天平: 精确到 0.0001g;

涡旋振荡器;

pH 计；

容量瓶：10mL、100mL，棕色带刻度。

3 测定步骤

3.1 溶液配制

系统适用性溶液：取苯扎贝特与杂质I对照品各适量，加流动相溶解并稀释制成每1 mL 中分别约含0.1 mg的溶液。

供试品溶液：取苯扎贝特，加流动相溶解并稀释制成每1 mL中约含0.5 mg的溶液。

对照溶液：精密量取供试品溶液1 mL，置100 mL容量瓶中，用流动相稀释至刻度，摇匀。

灵敏度溶液：供试品溶液用流动相稀释2000倍。

3.2 色谱条件

- a) 色谱柱：C₁₈ 4.6×250mm，5μm 或者相当的色谱柱；
- b) 流动相：甲醇：0.01mol/L 磷酸二氢钾溶液（用磷酸调节 pH 值至 3.8）（64:36）；
- c) 柱温：25℃；
- d) 进样量：20μL；
- e) 流速：1.0mL/min；
- f) 波长：228nm。

系统适用性溶液色谱图中，苯扎贝特峰与杂质I峰之间的分离度应大于 5.0，理论板数按苯扎贝特峰计算不低于 3000。

4 结果

按照上述色谱条件（5.2）进行采集，系统适用性溶液的色谱图如图 1 所示，积分结果如表 1 所示。

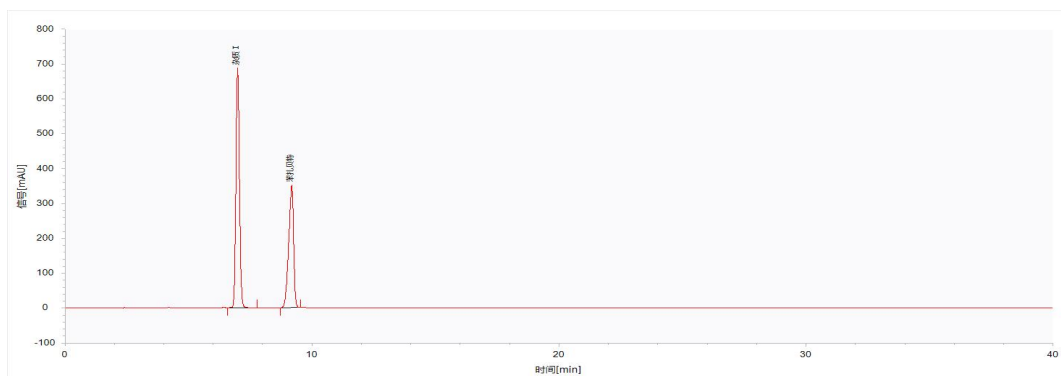


图 1 系统适用性溶液的色谱图

表 1 系统适用性溶液色谱图积分结果

目标物	保留时间 (min)	峰面积 (mAU.s)	峰高 (mAU)	理论塔板数	分离度	对称/拖尾因子
杂质I	7.008	6774.684	687.893	11828	-	1.07
苯扎贝特	9.200	4921.100	351.135	9868	6.98	0.80

由表 1 可知，苯扎贝特和杂质I (N-(4-氯苯甲酰基)-酰胺) 的分离度为 6.98，满足《中国药典（2020 年版）》中苯扎贝特和杂质I 分离度应大于 5.0 的要求；苯扎贝特峰的理论塔板数为 9868，满足《中国药典（2020 年版）》中规定的理论塔板数不低于 3000 的要求。

将对照溶液连续进样 7 针，结果见表 2，叠加的色谱图如图 2 所示。

表 2 对照溶液连续进样 7 针重复性数据统计

目标物	标准品	1	2	3	4	5	6	7	平均值	RSD%
苯扎贝特	保留时间	9.050	9.100	9.067	9.100	9.100	9.092	9.100	9.087	0.223
	峰面积	250.414	250.544	250.363	250.097	250.860	250.243	251.279	250.543	0.161

由表 2 可知，对照溶液连续进样 7 针重复性测试，苯扎贝特保留时间的 RSD 为 0.223%，峰面积的 RSD 为 0.161%。

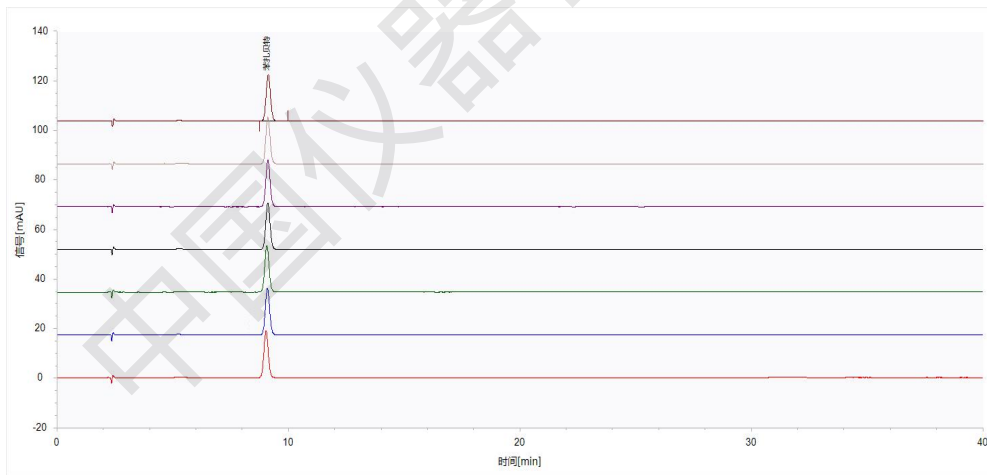


图 2 对照溶液连续进样 7 针叠加的色谱图

供试品溶液的色谱图如图 3 所示。

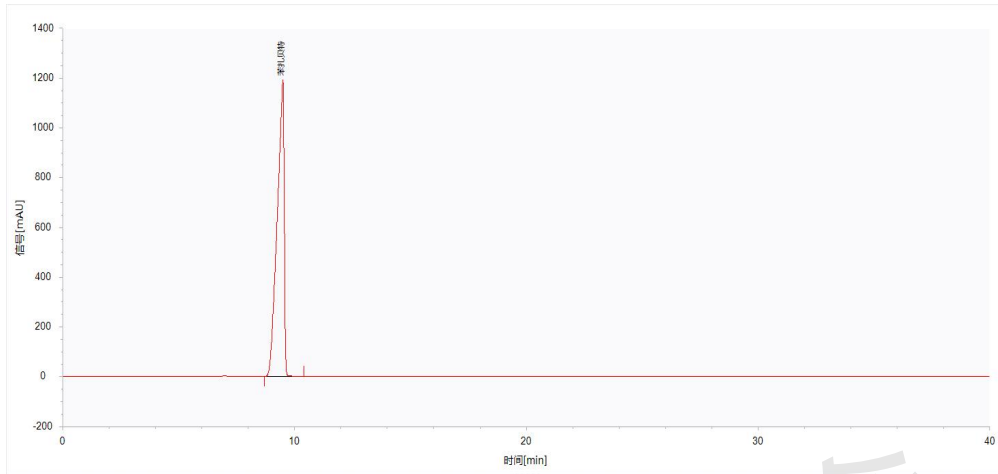


图 3 供试品溶液的色谱图

将供试品溶液稀释 2000 倍进行灵敏度测试，如图 4 所示，灵敏度计算结果见表 3。

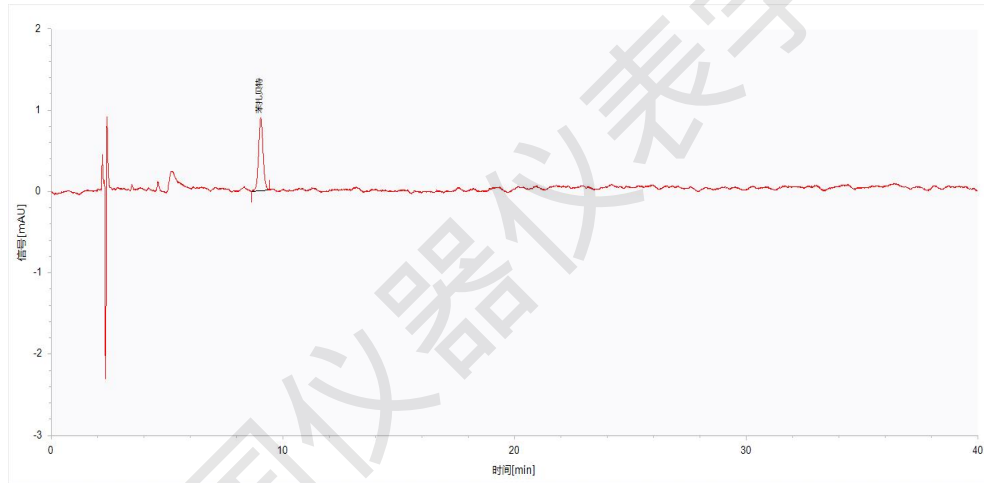


图 4 灵敏度溶液的色谱图

表 3 苯扎贝特灵敏度计算结果

目标物	峰高 (mAU)	噪声 (mAU)	S/N
苯扎贝特	0.903	0.027	33.4

通过计算，灵敏度溶液的信噪比 S/N 为 33.4，满足定量检测时，信噪比应不小于 10 的要求。

5 结论

实验结果：苯扎贝特和杂质 I (N-(4-氯苯甲酰基)-酪胺) 分离度为 6.98，苯扎贝特峰的理论塔板数为 9868；将对照溶液进行重复性测试，苯扎贝特保留时间的 RSD 为 0.223%，

峰面积的 RSD 为 0.161%；灵敏度测试中，信噪比 S/N 为 33.4。因此，Wooking K2025 高效液相色谱仪对苯扎贝特有关物质的测定，在分离度、重复性以及灵敏度等方面均满足《中国药典（2020 年版）》的要求。

附 1：仪器配置清单

序号	单元
K2025 二元高压梯度系统	
A) <u>Pump Unit</u> 泵单元	
1	62Mpa 二元高压输液泵（内置溶剂托盘）
2	流动相瓶（肖特瓶，1L）
3	脱气机
4	四通道溶剂切换阀
5	自动在线清洗系统
B) <u>Sample Injector</u> 进样器	
1	自动进样器
2	样品瓶（2mL，含瓶盖）
3	脱气组件
4	100 μ L 定量环
C) <u>Column Oven</u> 柱温箱	
1	色谱柱恒温箱（室温以下 10 $^{\circ}$ C 至 85 $^{\circ}$ C）
2	色谱柱：C ₁₈ 4.6 \times 250mm，5 μ m
D) <u>Detector</u> 检测器	
1	紫外-可见光检测器
E) <u>Workstation</u> 工作站	
1	Wookinglab（中文版）

附 2：悟空 Wooking K2025 高效液相色谱仪（可靠、精准、友好、合规）



中国仪器仪表表