

# 呋达帕胺有关物质的测定 高效液相色谱法

## 一、背景

呋达帕胺化学名为 N- (2-甲基-2, 3-二氢-1H-吡啶-1-基) -3-氨基磺酰基-4-氯-苯甲酰胺, 为白色或类白色结晶性粉末; 无臭; 在三氯甲烷中易溶, 在丙酮或二氧六环中略溶, 在乙醇或乙醚中微溶, 在水中不溶。呋达帕胺为磺胺类利尿剂, 具有利尿和钙拮抗作用, 是一种强效、长效的降压药。

## 二、实验过程

### 1 原理

呋达帕胺及其有关物质在 240nm 处有紫外吸收, 使用高效液相色谱法测定。

### 2 试剂与材料

2.1 水: 符合 GB/T 6682 的一级水;

2.2 甲醇: 色谱纯;

2.3 冰醋酸: 色谱纯;

2.4 流动相: 准确量取甲醇 (2.2) 450mL、水 (2.1) 550mL 和冰醋酸 (2.3) 1mL, 混匀, 超声后备用;

2.5 氢氧化钠: 分析纯;

2.6 1mol/L 氢氧化钠溶液: 称取氢氧化钠 (2.5) 4.0g, 加入少量水 (2.1) 溶解, 放冷后用水 (2.1) 定容至 100mL, 混匀, 备用;

2.7 浓盐酸: 分析纯;

2.8 1mol/L 盐酸溶液: 量取 11mL 水 (2.1), 加入 1mL 浓盐酸 (2.7), 混匀, 备用;

2.9 吲达帕胺对照品。

### 3 仪器与设备

3.1 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、K2025 DAD 二极管阵列检测器、Wookinglab 色谱工作站;

3.2 分析天平: 精确到 0.0001g;

3.3 涡旋振荡器;

3.4 超声波清洗机;

3.5 容量瓶: 50mL、100mL、1000mL, 棕色带刻度;

3.6 抽滤装置: 带真空泵;

3.7 抽滤滤膜: 0.45 $\mu$ m, 水系;

3.8 移液器: 100 $\mu$ L, 1000 $\mu$ L。

### 4 测定步骤

#### 4.1 溶液配制

##### 4.1.1 系统适用性溶液的配制

准确称取吲达帕胺对照品 (2.9) 20mg, 加入甲醇 (2.2) 5mL溶解, 用流动相 (2.4) 稀释至100mL, 摇匀。取5mL, 加1mol/L氢氧化钠溶液 (2.6) 2mL, 摇匀, 置于水浴锅

中加热1小时（沸水浴），放冷，加入1mol/L盐酸溶液（2.8）调节至中性，用流动相（2.4）稀释至50mL，摇匀。

#### 4.1.2 供试品溶液的配制

准确称取吲达帕胺对照品（2.9）5mg，加入流动相（2.4）10mL溶解，混匀，配制成每1mL中含有0.5mg的溶液。

#### 4.1.3 对照溶液的配制

精密量取供试品溶液（4.1.2）1mL，置于100mL容量瓶中，用流动相（2.4）稀释至刻度，混匀，配制成每1mL中含有5 $\mu$ g的溶液。

#### 4.1.4 灵敏度溶液的配制

精密量取对照溶液（4.1.3）1mL，置于50mL容量瓶中，用流动相（2.4）稀释至刻度，混匀。

### 4.2 色谱条件

- a) 色谱柱: C<sub>18</sub> 色谱柱, 4.6 $\times$ 250mm, 5 $\mu$ m 或者相当的色谱柱;
- b) 流动相: 详见 2.4;
- c) 流速: 1.0mL/min;
- d) 进样量: 20 $\mu$ L;
- e) 洗针液: 甲醇-水=90: 10;
- f) 柱温: 40 $^{\circ}$ C;
- g) 检测器及检测波长: 紫外-可见光检测器和二极管阵列检测器, 检测波长均为 240nm;
- h) 采集时间: 记录色谱图至主成分峰保留时间的 3 倍。

## 5 系统适用性要求及限度

系统适用性溶液色谱图中，吲达帕胺峰的保留时间约为 12min，吲达帕胺峰与相对保留时间约为 1.26 的降解产物峰之间的分离度应大于 6.0。

限度：供试品溶液色谱图中如有杂质峰，单个杂质峰面积不得大于对照溶液主峰面积的 0.5 倍（0.5%），各杂质峰面积的和不得大于对照溶液的主峰面积（1.0%），小于对照溶液主峰面积 0.02 倍的色谱峰忽略不计。

## 6 实验结果

### 6.1 系统适用性溶液色谱图

按照上述色谱条件（4.2）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。

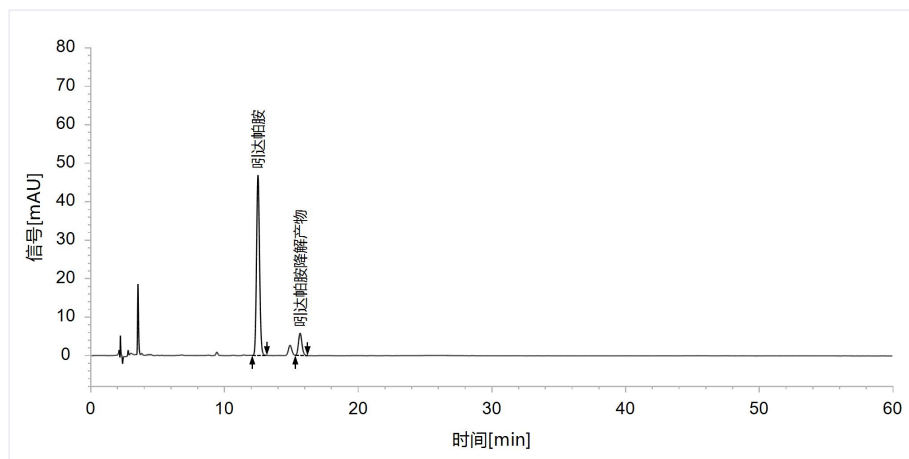


图 1 系统适用性溶液的色谱图

表 1 系统适用性溶液色谱图积分结果

| 目标物  | 保留时间<br>(min) | 峰面积<br>(mAU.s) | 峰高<br>(mAU) | 理论塔板数 | 分离度  | 对称/拖尾因子 | 相对保留时间 |
|------|---------------|----------------|-------------|-------|------|---------|--------|
| 吲达帕胺 | 12.500        | 735.845        | 46.903      | 14909 | -    | 1.10    | -      |
| 降解产物 | 15.650        | 105.845        | 5.822       | 17183 | 7.10 | 1.11    | 1.25   |

由表 1 中数据可知，吲达帕胺的保留时间为 12.500min，吲达帕胺降解产物的保留时间为 15.650min，两者的相对保留时间为 1.25，满足《中国药典（2020 年版）》二部中对吲达帕胺峰保留时间的要求；吲达帕胺降解产物与吲达帕胺峰之间的分离度为 7.10，满足《中国药典（2020 年版）》二部中吲达帕胺降解产物与吲达帕胺峰之间的分离度应大于 6.0 的要求。

6.2 供试品溶液色谱图

供试品溶液的色谱图如图 2 所示，积分结果见表 2。

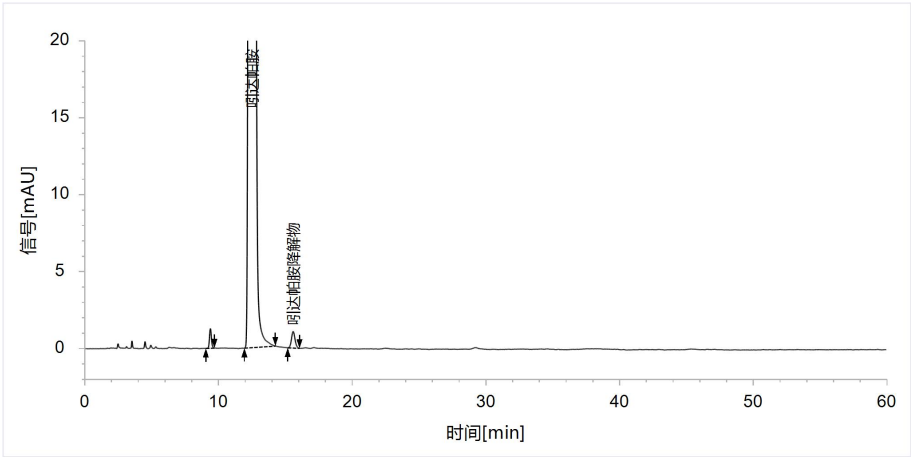


图 2 供试品溶液的色谱图

\*本报告仅供委托方进行科研、产品研发之目的使用。  
\*本报告有关的检测数据、结果不具有向委托方之外的任何主体、社会公众的证明、验证作用。

表 2 供试品溶液色谱图积分结果

| 目标物  | 保留时间<br>(min) | 峰面积<br>(mAU.s) | 峰高<br>(mAU) | 理论塔板数 | 分离度  | 对称/拖尾因子 |
|------|---------------|----------------|-------------|-------|------|---------|
| 吲达帕胺 | 12.500        | 30711.216      | 2052.886    | 16699 | 9.61 | 0.97    |
| 降解产物 | 15.583        | 20.007         | 1.086       | 16792 | 7.11 | 1.05    |
| 最大单杂 | 9.392         | 12.964         | 1.284       | 20810 | 5.46 | 1.15    |
| 总杂   | -             | 32.971         | -           | -     | -    | -       |

由表 2 中数据可知, 吲达帕胺降解产物的峰面积为 20.007mAU.s, 最大单杂的峰面积为 12.964mAU.s, 均小于对照溶液主峰面积的 0.5 倍 (155.384mAU.s); 总杂峰面积为 32.971mAU.s, 小于对照溶液主峰面积 (310.767mAU.s), 满足《中国药典 (2020 年版)》二部中对吲达帕胺限度的要求。

### 6.3 对照溶液色谱图

对照溶液的色谱图如图 3 所示, 积分结果见表 3。

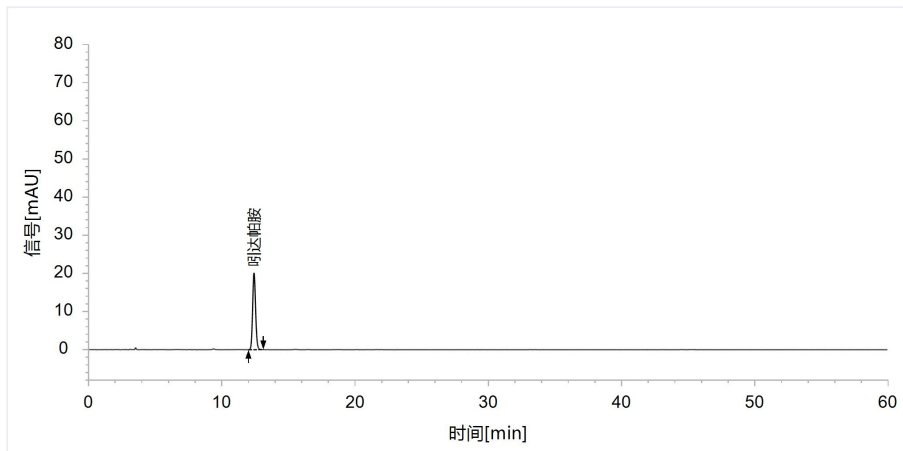


图 3 对照溶液的色谱图

表 3 对照溶液色谱图积分结果

| 目标物  | 保留时间<br>(min) | 峰面积<br>(mAU.s) | 峰高<br>(mAU) | 理论塔板数 | 分离度 | 对称/拖尾因子 |
|------|---------------|----------------|-------------|-------|-----|---------|
| 吲达帕胺 | 12.417        | 310.767        | 20.160      | 15226 | -   | 1.10    |

将对照溶液连续进样 7 针, 叠加的色谱图如图 4 所示, 结果见表 4。

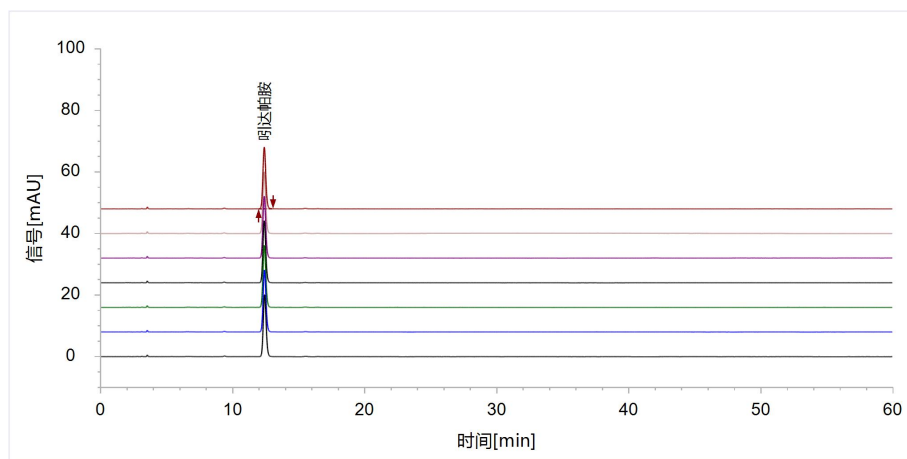


图 4 对照溶液连续进样 7 针叠加的色谱图

表 4 对照溶液连续进样 7 针重复性数据统计

| 目标物  | 项目             | 1       | 2       | 3       | 4       | 5       | 6       | 7       | 平均值     | RSD%  |
|------|----------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|-------|
| 吲达帕胺 | 保留时间<br>(min)  | 12.417  | 12.408  | 12.392  | 12.392  | 12.383  | 12.383  | 12.392  | 12.395  | 0.102 |
|      | 峰面积<br>(mAU.s) | 310.767 | 309.687 | 310.165 | 309.755 | 308.772 | 308.737 | 308.159 | 309.435 | 0.296 |

由表 4 中数据可知，对照溶液连续进样 7 针重复性测试，吲达帕胺保留时间的 RSD 为 0.102%，峰面积的 RSD 为 0.296%，具有良好的定性定量重复性。

## 6.4 光谱图

使用二极管阵列检测器，对吲达帕胺对照溶液（4.1.3）进行分析，吲达帕胺的紫外光谱图如图 5 所示。

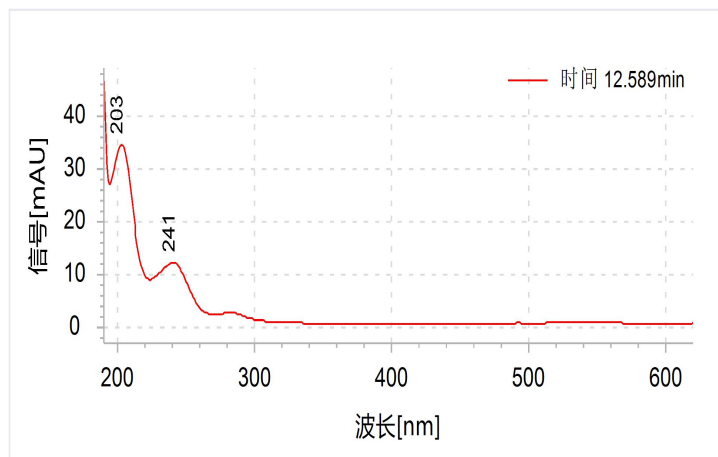


图 5 哌达帕胺的光谱图

由图 5 可知，哌达帕胺的特征吸收波长为 203nm 和 241nm。

### 6.5 灵敏度溶液色谱图

按照色谱条件（4.2），对灵敏度溶液（4.1.4）进行分析，其色谱图如图 6 所示，灵敏度计算结果见表 5。

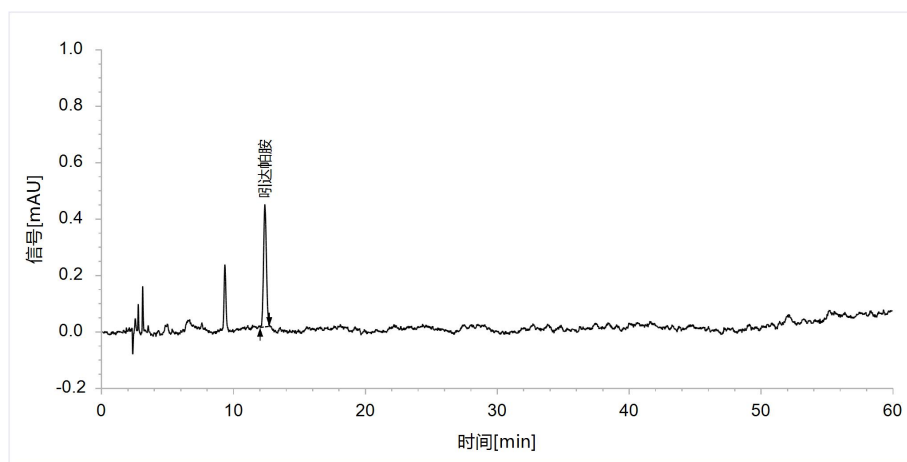


图 6 灵敏度溶液的色谱图

表 5 哌达帕胺灵敏度计算结果

| 目标物  | 峰高<br>(mAU) | 噪声<br>(mAU) | S/N  |
|------|-------------|-------------|------|
| 哌达帕胺 | 0.394       | 0.016       | 24.6 |

由表 5 中数据可知，哌达帕胺灵敏度溶液的信噪比 S/N 为 24.6。

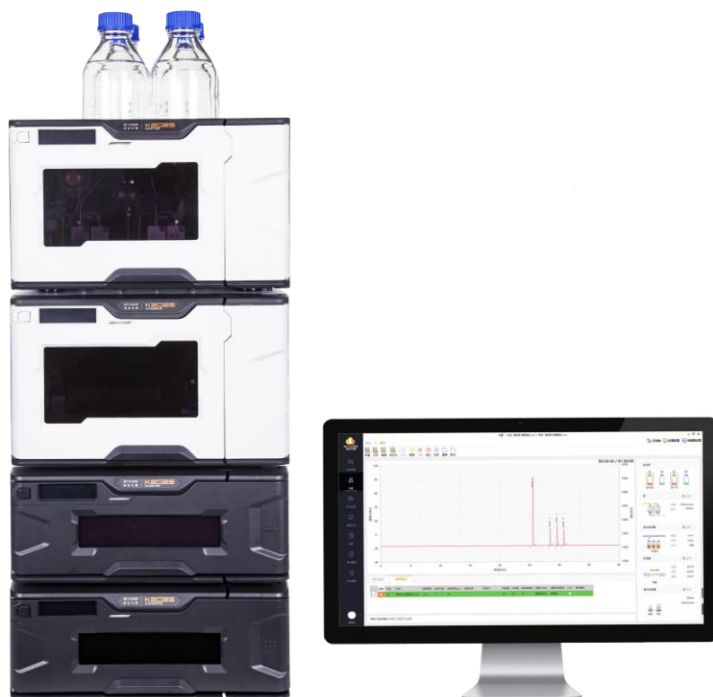
### 三、结论

本文使用悟空 K2025 高效液相色谱仪测定吲达帕胺及其有关物质。实验结果表明：吲达帕胺的保留时间为 12.500min，吲达帕胺降解产物的保留时间为 15.650min，两者的相对保留时间为 1.25，满足《中国药典（2020 年版）》二部中对吲达帕胺峰保留时间的要求；吲达帕胺降解产物与吲达帕胺峰之间的分离度为 7.10，满足《中国药典（2020 年版）》二部中吲达帕胺降解产物与吲达帕胺峰之间的分离度应大于 6.0 的要求；吲达帕胺降解产物的峰面积为 20.007mAU.s，最大单杂的峰面积为 12.964mAU.s，均小于对照溶液主峰面积的 0.5 倍；总杂峰面积为 32.971mAU.s，小于对照溶液主峰面积，满足《中国药典（2020 年版）》二部中对吲达帕胺限度的要求；对照溶液连续进样 7 针重复性测试中，吲达帕胺保留时间的 RSD 为 0.102%，峰面积的 RSD 为 0.296%，具有良好的定性定量重复性；吲达帕胺的特征吸收波长为 203nm 和 241nm；吲达帕胺灵敏度溶液的信噪比 S/N 为 24.6。因此，悟空 K2025 高效液相色谱仪满足《中国药典（2020 年版）》二部中吲达帕胺有关物质测定的需求。

# 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 泵单元</u>                                 |
| 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              | 四通道溶剂选择阀                                             |
| 5              | 自动在线清洗系统                                             |
| B)             | <u>Sample Injector 进样器</u>                           |
| 1              | 自动进样器                                                |
| 2              | 样品瓶（2mL，含瓶盖）                                         |
| 3              | 脱气组件                                                 |
| 4              | 100μL 定量环                                            |
| C)             | <u>Column Oven 柱温箱</u>                               |
| 1              | 色谱柱恒温箱（室温以下 10℃至 85℃）                                |
| 2              | 色谱柱: Kromasil 100-5-C <sub>18</sub> , 4.6×250mm, 5μm |
| D)             | <u>Detector 检测器</u>                                  |
| 1              | 紫外-可见光检测器                                            |
|                | 二极管阵列检测器                                             |
| E)             | <u>Workstation 工作站</u>                               |
| 1              | Wookinglab（中文版）00.03.58.05                           |

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



报告人: 李文聪

联系方式: 18871767327