

应用

布洛芬片的美国药典 (USP) 溶出度检测： 一种可以替代传统 UV 的快速 HPLC 检测方法

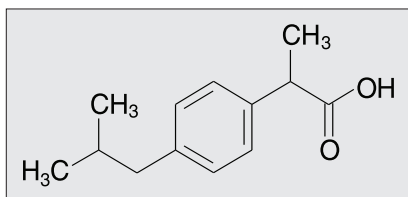
Xianrong (Jenny) Wei, Wenmin (Grace) Guo 和 J Preston
Phenomenex, Inc., 411 Madrid Ave, Torrance, CA 90501 USA

概述:

布洛芬是一种非类固醇类消炎药 (NSAID), 可用于缓解骨关节炎或类风湿性关节炎的症状, 也可用于缓解头痛, 牙痛, 关节疼痛和背痛等疼痛。布洛芬有多种制剂可供选择, 如片剂, 胶囊, 咀嚼片以及口服溶液。在本技术笔记中, 我们展示了一种对于布洛芬片溶出度检测的替代方法。与美国药典 (USP) 中关于布洛芬片溶出度检测推荐的UV检测方法不同, 这种快速的 HPLC 替代方法可以在较短的时间内得到更好的峰形。通过对两支不同规格但符合 USP 允许调整范围要求 (USP 通则 <621>) 的 L1 色谱柱进行对比。进行溶出度检测, 整体分析时间小于 2 分钟, 并且峰形可以和标液进样媲美。色谱柱的上样量也通过不同的进样体积进行了研究。

材料

溶出度测定法



布洛芬标样及所用试剂购于 Sigma-Aldrich。
布洛芬片采购于当地药店。

实验条件:

溶出度测定法

溶出剂的制备基于美国药典 (USP) 中关于布洛芬片溶出度检测的相关方法。600 mg 布洛芬片溶解于 pH 7.2 的磷酸盐缓冲介质中。关于溶出介质的制备, 将 6.89 g 的磷酸二氢钠单水合物 (NaH₂PO₄ 分子量 137.99) 加入 800 mL 纯水中, 然后用 50% NaOH 调节 pH 到 7.2。最后定容到 1000 mL。

仪器装置: 篮法, 50 RPM, 900 mL

时间点: 60 min 单个时间点

样品通过 0.45 μm RC 滤膜的针式过滤器进行过滤 (针式过滤器货号: AF0-2103-52, 塑料一次性注射器货号: AS0-8409)

标准溶液: 50 μg/mL 溶解于溶出介质

流动相制备

流动相按照布洛芬片 USP 相关方法进行制备, 将 4.0 g 氯乙酸溶于 400 mL 纯水中, 并通过氢氧化铵将其调节到 pH 3.0, 之后再与 600 mL 乙腈混匀。

LC-UV 测试条件:

色谱柱: Kinetex® 5 μm C18 (货号: 00F-4601-E0)
规格: 150 x 4.6 mm
货号: 00F-4601-E0
流动相: 4.0 g 氯乙酸溶于水, pH 3.0 / 乙腈 (40:60)
流速: 2.0 mL/min
进样体积: 5 μL
柱温: 室温
检测波长: UV @ 254 nm
运行时间: 4 分钟
柱压: ~170 bar
HPLC 系统: 安捷伦 1100 (Agilent Technologies Santa Clara, CA, USA)

LC-UV Conditions

在 USP 允许调整范围内的替代色谱柱 (L/dp 在 -25 % 到 +50 % 之间, 流速 ± 50 %)

色谱柱: Kinetex 2.6 μm C18 (货号: 00C-4462-E0)
规格: 75 x 4.6 mm
货号: 00C-4462-E0
流动相: 4.0 g 氯乙酸溶于水, pH 3.0 / 乙腈 (40:60)
流速: 1.8 mL/min
进样体积: 5 μL
柱温: 室温
检测波长: UV @ 254 nm
运行时间: 4 分钟
柱压: ~220 bar
HPLC 系统: 安捷伦 1100 (Agilent Technologies Santa Clara, CA, USA)

表1:

两支不同规格色谱柱上布洛芬片溶出度检测的 USP 拖尾因子、峰高以及柱效

Kinetex C18, 5 μm, 150 x 4.6 mm			Kinetex C18, 2.6 μm, 75 x 4.6 mm		
进样体积 (5 μL)					
USP 拖尾因子	峰高	柱效 (塔板数/米)	USP 拖尾因子	峰高	柱效 (塔板数/米)
1.122	12.11	89,607	0.963	18.94	121,107
进样体积 (30 μL)					
1.252	65.94	79,093	1.261	100.75	103,840
进样体积 (50 μL)					
1.395	106.29	74,007	1.242	159.4	93,880



无法重现该方法?我们很乐意帮忙!

欢迎访问 www.phenomenex.com.cn/Chatcn 与我们的技术专家联系

图 1:
标样与溶出样品的色谱图对比

Kinetex® C18 5 μm 150 x 4.6 mm, 流速 2.0 mL/min

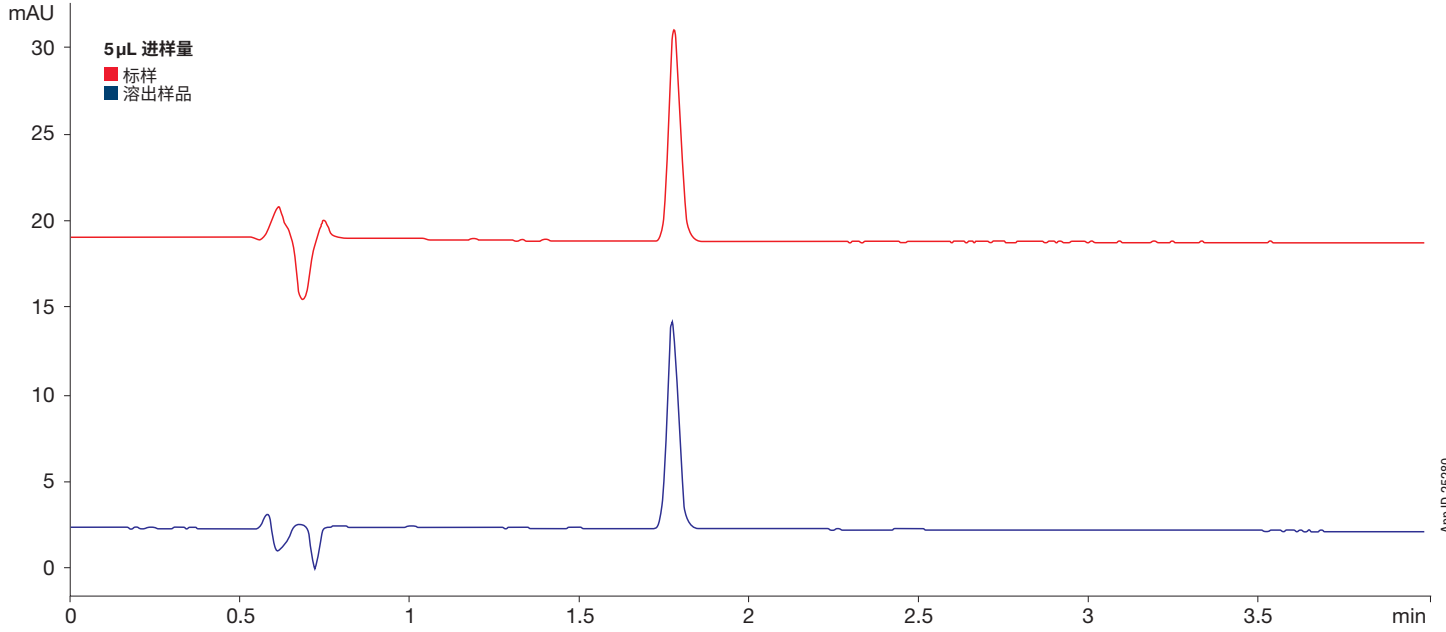


图 2:
色谱柱上样量测试

Kinetex C18 5 μm 150 x 4.6 mm, 流速 2.0 mL/min

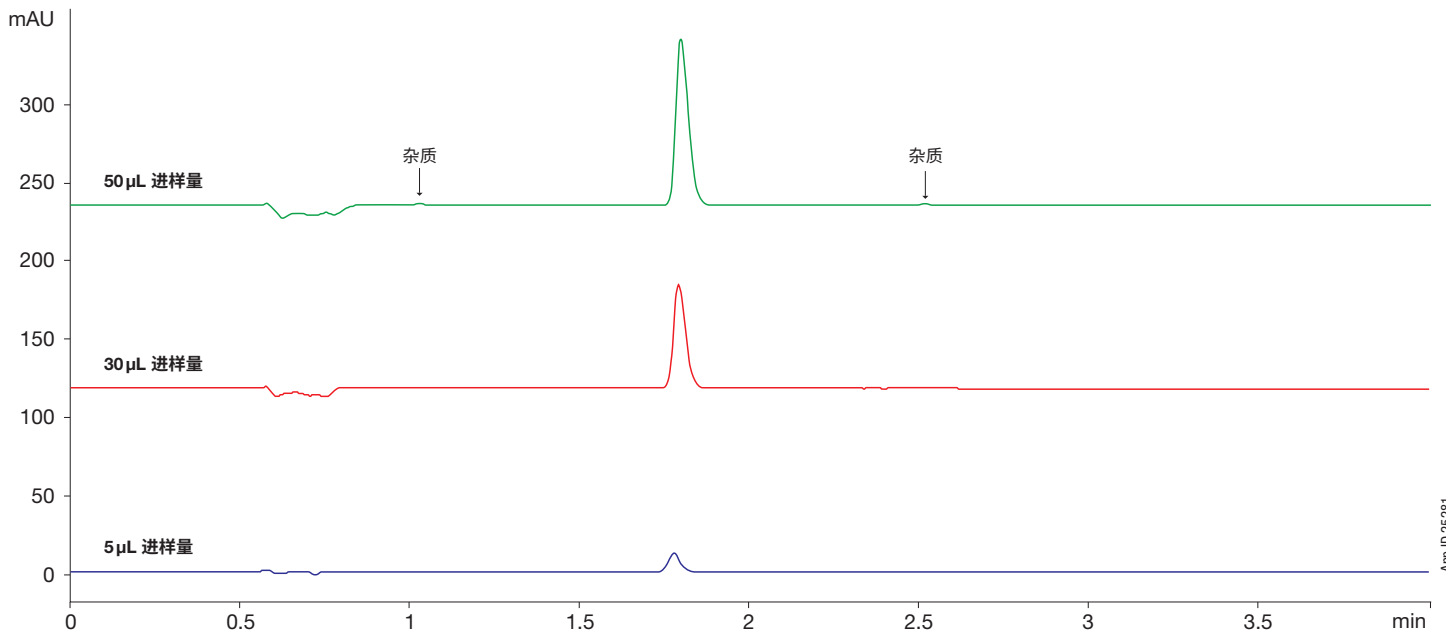
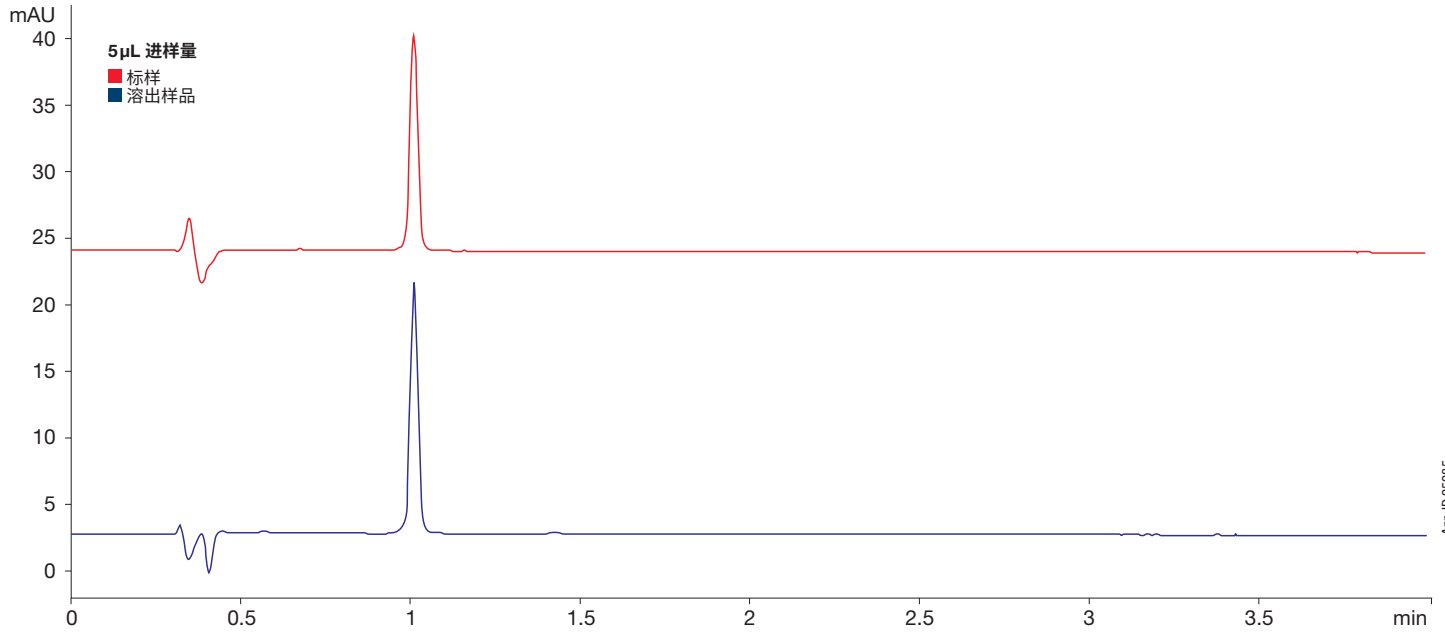


图 3:
标样与溶出样品的色谱图对比

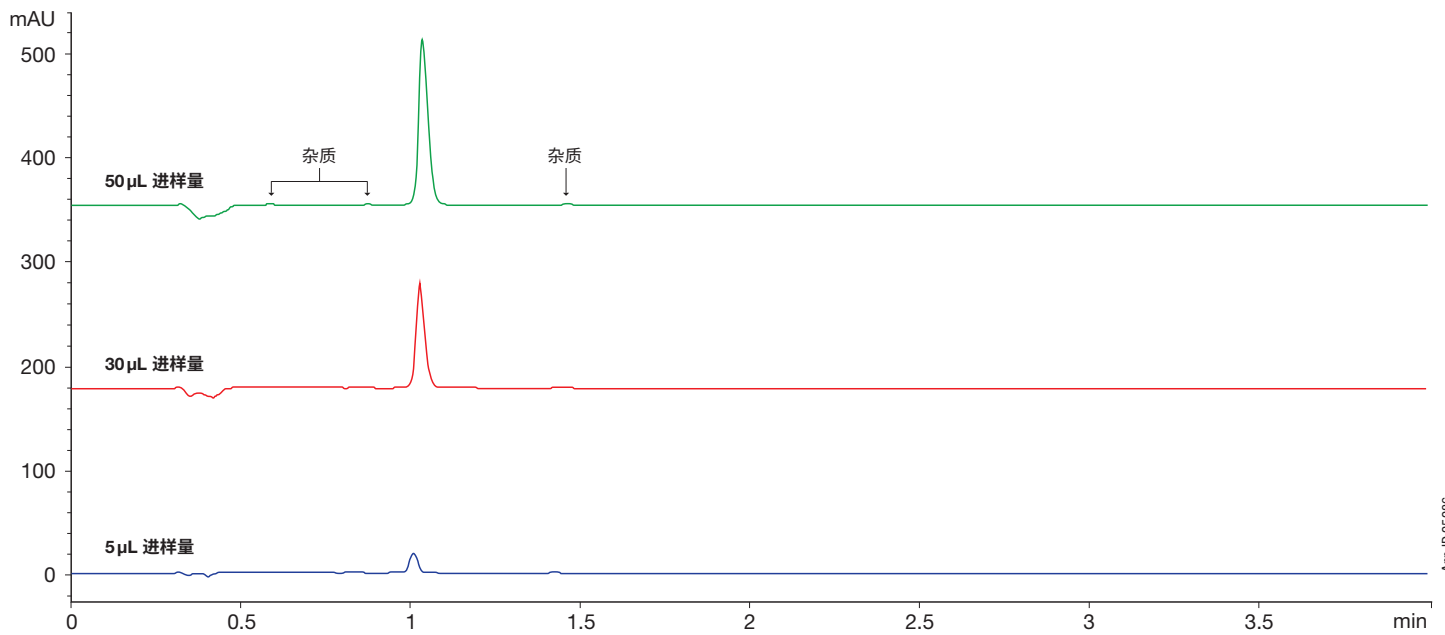
Kinetex® C18 2.6 μm 75 x 4.6 mm, 流速 1.8 mL/min



App ID 25285

图 4:
色谱柱上样量测试

Kinetex C18 2.6 μm 75 x 4.6 mm flow, 流速 1.8 mL/min



App ID 25286

结果与讨论

图 1 显示的是布洛芬标准溶液和溶出样品的对比图。该图使用的色谱柱为 Kinetex C18 5 μm 150 X 4.6 mm, 流速为 2.0 mL/min, 进样量 5 μL 。可以看出, 溶出样品的保留时间和峰形都与布洛芬标准溶液类似。为了测试色谱柱的上样量, 我们在该色谱柱上尝试了不同的进样量 (如图 2 所示)。随着进样量的增大, 分析物的峰高逐渐增大, 杂质的峰高也随之增大。但是, 杂质峰与主峰之间的分离度很好。因此, 增大进样量并不会对布洛芬溶出样品的定量分析造成困扰。

表 1 展示了两支不同规格 Kinetex 色谱柱的 USP 拖尾因子、峰高以及柱效。可以看出, 随着上样量的增大, USP 拖尾因子也随之增大。当进样量为 5 μL 时, 拖尾因子 1.122; 当进样量上升到 50 μL 时, 拖尾因子增加到了 1.395。USP 系统适应性测试要求对于布洛芬片, 拖尾因子不应超过 2.5 (NMT 2.5)。不同进样量溶出样品的拖尾因子完全符合方法要求。并且, 色谱峰的响应强度也使得准确定量溶出样品中的布洛芬含量成为可能。当需要检测低含量、缓释片剂, 或者比较短的溶出时间点时, 就需要较大的进样量来保证足够的峰强度以进行定量。本实验中验证的不同进样量显示, 即使达到 50 μL 的进样量, 色谱峰的峰形和强度依旧保持良好。

USP 通则 <621> 允许等度方法对色谱柱规格以及粒径大小进行调整。只需要保证色谱柱长度 (L) 和粒径 (dp) 的比值 (L/dp) 在 -25% 到 +50% 之间, 我们就可以通过使用较小的粒径以及不同长度的色谱柱来获得更佳的分选效果。第一支色谱柱 (Kinetex 5 μm C18 150 x 4.6mm) 的 L/dp 为 30,000 v Kinetex 2.6 μm C18 75 x 4.6mm) 的 L/dp 为 28,864。可以看出, 该调整在 USP 通则 <621> 允许的范围内。图 3 和图 4 为使用第二支色谱柱 (Kinetex 2.6 μm C18 75 x 4.6mm) 所获得的色谱图。所使用的样品与第一支色谱柱 Kinetex 5 μm C18 150 x 4.6mm 相同 (见图 1 与图 2)。由于使用了较小的粒径, 色谱柱的背压会明显升高, 因此我们将流速降低到 1.8 mL/min 来减小背压以使其仍在 HPLC 系统的背压范围内。根据 USP 通则 <621> 的规

定, 等度方法的流速可以在 $\pm 50\%$ 范围内进行调整。虽然该色谱柱 (75 x 4.6 mm) 只有前一支 (150 x 4.6 mm) 一半长度, 但其柱效 (塔板数/米) 却因为使用了较小的粒径 (2.6 μm) 而增大。因此, 在使用该色谱柱时, 可以观察到峰强度明显增加, 并且峰宽变窄。使用较小粒径的色谱柱可以缩短分析时间, 但是, 即使减小流速, 2.6 μm 粒径色谱柱的背压 (约 220 bar) 也会比 5 μm 粒径色谱柱的背压 (约 170 bar) 明显增大。如果 HPLC 系统对于压力的限制不大, 那么使用 Kinetex 2.6 μm 色谱柱对于缩短分析时间大有裨益。可以看到, 使用 2.6 μm 较短色谱柱可以将布洛芬的保留时间缩短 50%。

结论

在此关于布洛芬片的 USP 溶出度检测中, 布洛芬的溶出含量可以通过 HPLC-UV 色谱法进行检出。溶出样品和标准溶液都与传统 UV 吸收检测法进行了对比。可以看出, 通过采用 HPLC 色谱检测法, 色谱峰的强度足以对溶出样品中的布洛芬进行准确定量, 并且整个分析时间少于 2 分钟。本实验使用了两支符合 USP 通则 <621> 调整要求不同规格 Kinetex 色谱柱进行分析。该溶出度检测方法针对中国生物等效性 (BE) 市场进行调整的。该方法显示出一种与传统 UV 检测不同的新的 HPLC 色谱分析法。

订购信息

Kinetex 核-壳 LC 色谱柱

2.6 μm 分析柱 (mm)						SecurityGuard [®] ULTRA 柱芯 [†]
固定相	30 x 4.6	50 x 4.6	75 x 4.6	100 x 4.6	150 x 4.6	3 个/包
C18	00A-4462-E0	00B-4462-E0	00C-4462-E0	00D-4462-E0	00F-4462-E0	AJ0-8768

适用于 4.6mm ID

5 μm 分析柱 (mm)						SecurityGuard [®] ULTRA 柱芯 [†]
固定相	50 x 4.6	75 x 4.6	100 x 4.6	150 x 4.6		3 个/包
C18	00B-4601-E0	00D-4601-E0	00F-4601-E0	00G-4601-E0		AJ0-8768

适用于 4.6mm ID

[†]SecurityGuard ULTRA 柱芯需要搭配柱套, 货号: AJ0-9000

Australia 澳大利亚
电话: +61 (0)2-9428-6444
auiinfo@phenomenex.com

Austria 奥地利
电话: +43 (0)1-319-1301
anfrage@phenomenex.com

Belgium 比利时
电话: +32 (0)2 503 4015 (法语)
电话: +32 (0)2 511 8666 (荷兰语)
beinfo@phenomenex.com

Canada 加拿大
电话: +1 (800) 543-3681
info@phenomenex.com

China 中国
电话: +86 400-606-8099
cninfo@phenomenex.com

Denmark 丹麦
电话: +45 4824 8048
nordicinfo@phenomenex.com

Finland 芬兰
电话: +358 (0)9 4789 0063
nordicinfo@phenomenex.com

France 法国
电话: +33 (0)1 30 09 21 10
franceinfo@phenomenex.com

Germany 德国
电话: +49 (0)6021-58830-0
anfrage@phenomenex.com

India 印度
电话: +91 (0)40-3012 2400
indiainfo@phenomenex.com

Ireland 爱尔兰
电话: +353 (0)1 247 5405
eireinfo@phenomenex.com

Italy 意大利
电话: +39 051 6327511
italiainfo@phenomenex.com

Luxembourg 卢森堡
电话: +31 (0)30-2418700
nlinfo@phenomenex.com

Mexico 墨西哥
电话: 01-800-844-5226
tecnicomx@phenomenex.com

The Netherlands 荷兰
电话: +31 (0)30-2418700
nlinfo@phenomenex.com

New Zealand 新西兰
电话: +64 (0)9-4780951
nzinfo@phenomenex.com

Norway 挪威
电话: +47 810 02 005
nordicinfo@phenomenex.com

Portugal 葡萄牙
电话: +351 221 450 488
ptinfo@phenomenex.com

Singapore 新加坡
电话: +65 800-852-3944
sginfo@phenomenex.com

Spain 西班牙
电话: +34 91-413-8613
espinfo@phenomenex.com

Sweden 瑞典
电话: +46 (0)8 611 6950
nordicinfo@phenomenex.com

Switzerland 瑞士
电话: +41 (0)61 692 20 20
swissinfo@phenomenex.com

United Kingdom 英国
电话: +44 (0)1625-501367
ukinfo@phenomenex.com

USA 美国
电话: +1 (310) 212-0555
info@phenomenex.com

☎ 所有其他国家/地区
请联系美国总部
电话: +1 (310) 212-0555
info@phenomenex.com



www.phenomenex.com.cn

Phenomenex 产品在全世界范围内销售。欲查询您所在国家/地区的经销商，请联系 Phenomenex 美国总部：international@phenomenex.com

条款与条件

本文档受 Phenomenex 标准条款与条件的约束，具体详情请浏览 www.phenomenex.com.cn/TermsAndConditions。

商标

SecurityGuard 和 Kinetex 是 Phenomenex 的注册商标。

仅用于研究目的。不可用于临床诊断程序。

© 2019 Phenomenex, Inc. 版权所有。



无法重现该方法?我们很乐意帮忙!

欢迎访问 www.phenomenex.com.cn/Chatcn 与我们的技术专家联系