

使用 Poroshell 120 EC-C18 管柱分析 Naproxen：化繁為簡的調整分析法

應用備註

製藥

作者

William J. Long
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19809-1610
USA

摘要

美國藥典 (USP) 記載的 Naproxen 分析法，需使用 Eclipse Plus C18 管柱與 Poroshell 120 EC-C18 管柱。使用 4.6 x 50 mm 的 Poroshell 120 EC-C18 管柱時，若採用改良型分析法，則能將原本分析法的分析時間縮短 22%，且不須再確效。



Agilent Technologies

緒論

檢測藥物製劑的成本相當可觀，因此許多實驗室的負責人，無不尋求降低成本的解決之道，期待能減少溶劑用量、提升產能，並能繼續使用原有的液相層析儀 (LC)。

美國藥典 (USP) 刊載的分析法，普遍用於檢驗藥物製劑及原料，不過 USP 裡的各種分析法，並非全數使用新技術，因此耗費的時間可能比期望中更長。因此可遵循 USP 第 621 章的建議，可依照需求，適時的更新、調整分析方法。本分析法調整的部分如下：管柱長度、管柱材質、充填顆粒大小、注入量等。雖然其他參數則可按照 USP 載明的方式調整，但改善本分析法的處理量時，不需調整其他參數。若調整前述部分以外的參數，則會改變分析法，需再次確效。

Naproxen 屬非類固醇抗發炎藥物，簡稱 NSAID，市面上已有其學名藥錠劑。USP 明列出一種分析 Naproxen 錠劑的方法，該法採用 L1 (C18)、5 μm 的管柱。Naproxen 的結構如圖 1 所示。

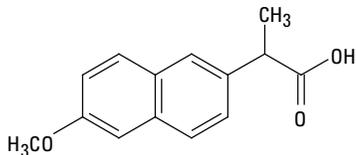


圖 1. Naproxen 的化學結構

安捷倫 Poroshell 120 管柱為能提升效能的 LC 管柱，此類管柱填充 2.7 μm 的表面多孔性顆粒，管柱較短，能加快分析速度、提高解析度，僅需搭配現有的 LC 儀，便能在較短的時間內，檢驗更多的樣品。管柱以 C18 為鍵結相，C18 為一般的 L1 材質。圖 1 顯示，本分析法一開始採用 4.6 mm \times 150 mm、5 μm 的 L1 (C18) 管柱，而後固定分析條件，再以 4.6 mm \times 100 mm、2.7 μm 的安捷倫 Poroshell 120 EC-C18 管柱，及 4.6 mm \times 50 mm、2.7 μm 的安捷倫 Poroshell 管柱分別進行分析，比較其結果。

實驗

- 安捷倫 1200 系列二元幫浦 SL，移動相 A：乙腈：水：冰醋酸 = 500:490:10，流速為 1.2 mL/分鐘，部分分析將流速提高至 2.2 mL/分鐘 (G1312B)
- 安捷倫 1200 系列自動液體注射器 SL (ALS)，150 mm 管柱的注入量為 20 μL ；100 mm 管柱為 13.34 μL ；50 mm 管柱為 6.67 μL (G1376C)
- 安捷倫 1200 系列恆溫管柱室 SL(TCC)，溫度設定為 25 $^{\circ}\text{C}$ (G1316B)
- 安捷倫 1200 系列雙極行列檢出器 SL (DAD)，使用的波長為 254、4 nm，搭配 G1315-60024 微流動液槽（光徑 5 mm，容積 6 μL ）(G1316C)

安捷倫 ZORBAX 管柱：

- 安捷倫 Eclipse Plus C18 管柱，4.6 mm \times 150 mm、5 μm ，p/n 959993-902
- 安捷倫 Eclipse Plus C18 管柱，4.6 mm \times 100 mm、3.5 μm ，p/n 959961-902
- 安捷倫 Poroshell 120 EC-C18 管柱，4.6 mm \times 100 mm、2.7 μm ，p/n 695975-902
- 安捷倫 Poroshell 120 EC-C18 管柱，4.6 mm \times 50 mm、2.7 μm ，p/n 699975-902

乙腈購自 Honeywell 公司，已通過 Burdick & Jackson 試藥級 (ACS) HPLC 溶劑的認證；冰醋酸使用 USP/ACS 級溶劑，購自 VWR 公司；水則採用以密理博 Millipore Milli-Q 系統現場製造，以 18 M Ω 過濾至 0.2 μm 的水。USP 級的 Naproxen，購自美國藥典編輯委員會；Butyrophenone 購自 Sigma-Aldrich 公司。樣品及移動相，均依照 USP 規定的方法配製。[1]

移動相製備

混合乙腈、水及冰醋酸 (500 mL:490 mL:10 mL)，製備移動相。
[1]

樣品製備

樣品及內標準品溶於乙腈與水 (90:10) 的混合液中。取 5 mL 的 butyrophenone，以乙腈稀釋成 100 mL 的內標準品。再取 1 mL 的上述混合液，以乙腈稀釋成 100 mL 的溶液，則每 ml (毫升) 溶液中，含有 0.5 μ L 的 butyrophenone。

精確稱取 USP 級分離標準品：USP 級 Naproxen 分離標準品 (RS)，溶於溶劑混合液，製備成濃度 2.5 mg/mL 的溶液。再取 1.0 mL 的上述溶液，及 2.0 mL 的內標準品溶液，倒入 1 個 100 mL 的容量瓶，並以移動相稀釋至標線後混合。每毫升的此溶液中，含有 25 μ g 的 USP 級 Naproxen RS。[1]

本分析法的層析及效能要求，請見 USP 分析法，摘要如下：[1]

- 4.6 mm \times 150 mm 管柱，L1 管柱 (C18)
- 分析物的理論板數 (N) 不得少於 4000 個
- 分析物波峰與內標準品波峰的解析度解析度，不得低於 11.5

USP 分析法的效率及其他層析效能要求，很容易便能達到，如圖 2 所示。使用 150 mm、5- μ m 的管柱，進行本文所述的 USP 分析法時，每 9 分鐘便能完成 1 次分析，產能為每小時完成 6-7 次分析，若以 9 分鐘注射一次計算，一天約注射 160 次，一週注射 1120 次。多數分析能有如此產能便已足夠，但此分析法稍做調整後，更能提高產能。USP 修訂後的第 621 章，對於分析法的「調整」範圍，提出建議：[2]

- 管柱長度 \pm 70%
- 管柱內徑 \pm 25%
- 充填顆粒顆粒大小：至多縮小 50%，不得增大
- 流速 \pm 50%
- 只要符合系統適合性測試 (SST) 的標準，便能改變注入量

- 管柱溫度 \pm 10%
- 移動相的 pH 值 \pm 0.2
- 紫外光 (UV) 波長：不得改變成製造商規格以外的數據
- 緩衝液的鹽類濃度 \pm 10%

超出上述範圍的調整，將「改變」分析法，需再行確效。若選用較短的管柱，如圖 2 所示的 4.6 mm \times 100 mm、3.5- μ m 管柱，同樣的分析可在原先的 67% 時間內完成，即每項樣品約 6 分鐘完成分析。此分析法可輕易套用至 4.6 mm \times 100 mm，及 4.6 mm \times 50 mm 的 2.7 μ m 安捷倫 Poroshell EC-C18 管柱。50 mm 管柱仍在容許的調整範圍內，且可輕易將分析時間，縮短為原先分析時間的 33%。

為了發揮 Poroshell 120 或其他小容量管柱的最佳效能，必須提高偵測器的速度，並減少多餘的管柱容積。資料收集速率一般設定為 40 Hz。[3] 管柱容量減少時，注入量應進行等比例調整，以防管柱過載，例如 150 mm 管柱的注入量為 20 μ L，則 100 mm 管柱的注入量，應調整為 $20 \times (100/150) = 13.67 \mu\text{L}$ ；50 mm 的管柱應調整為 $20 \times (50/150) = 6.67 \mu\text{L}$ 。

將 5 μ m 的 L1 管柱，換成以 2.7 μ m 表面多孔性顆粒填充的 C18 管柱時，效能將優於本分析法的效能要求。100 mm 長的管柱，分析速度為原先分析法的 2 倍快；50 mm 長的管柱，則為原先分析法的 4.5 倍快，而兩種管柱都能提升處理量。

其中可容許的調整為將流速調整在 \pm 50% 的範圍內，因此本分析法可將流速調高至 1.8 mL/分鐘，而讓管柱的直線速度與顆粒保持恆定，並將流速提高將近 100% (為 2.4 mL/分鐘)，是否需再行確效即在接下來的文章中進行討論。[4] 調整前述項目後，產能將能進一步提升。

圖 3 顯示，4.6 mm \times 100 mm 的安捷倫 Poroshell 120 EC-C18 管柱，提高流速後的變化。此例將 1.2 mL/分鐘的流速，提高為 2 mL/分鐘後，效能及解析度解析度均優於要求的範圍，但背壓仍保持在 400 bar 以內。再將流速提高為 2.2 mL/分鐘時，效能及解析度解析度仍符合要求，但背壓卻微微高於 400 bar 的門檻。

分析法要求：N > 4000，解析度解析度 (Rs) 高於 11.5

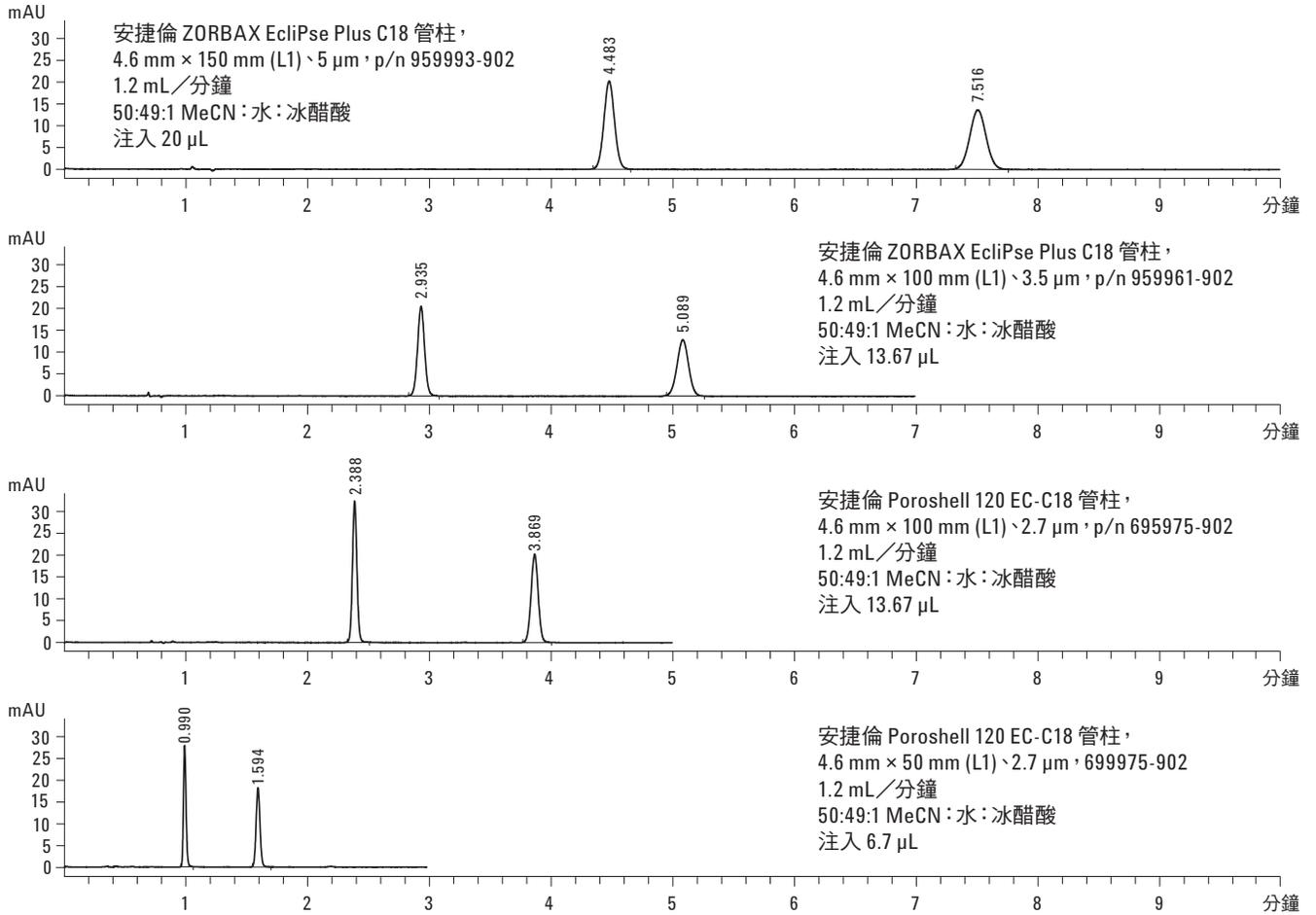


圖 2. 以各種全多孔性顆粒充填管柱，及表面多孔性顆粒充填管柱，執行 USP Naproxen 分析法的結果

分析法要求：N > 4000，解析度解析度 (Rs) 高於 11.5

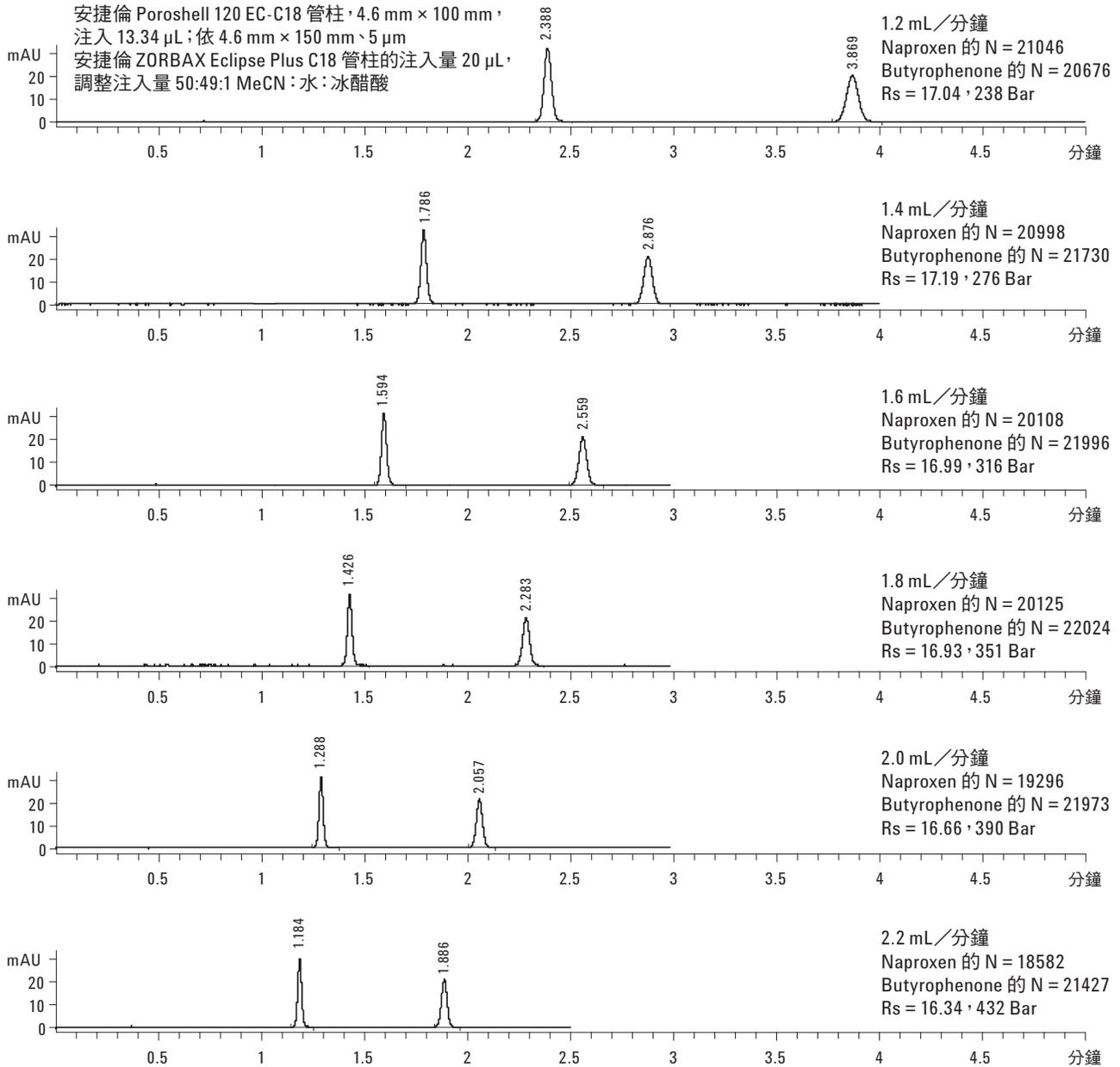


圖 3. 4.6 mm × 100 mm 的安捷倫 Poroshell 120 EC-C18 管柱，以各種流速執行 USP Naproxen 分析法的結果

圖 4 顯示，4.6 mm × 50 mm 的安捷倫 Poroshell 120 EC-C18 管柱，提高流速後的變化。此例將 1.2 mL/分鐘的流速，提高為 2.4 mL/分鐘後，效能及解析度均優於要求的範圍，但回壓仍保持在 300 bar 以內。

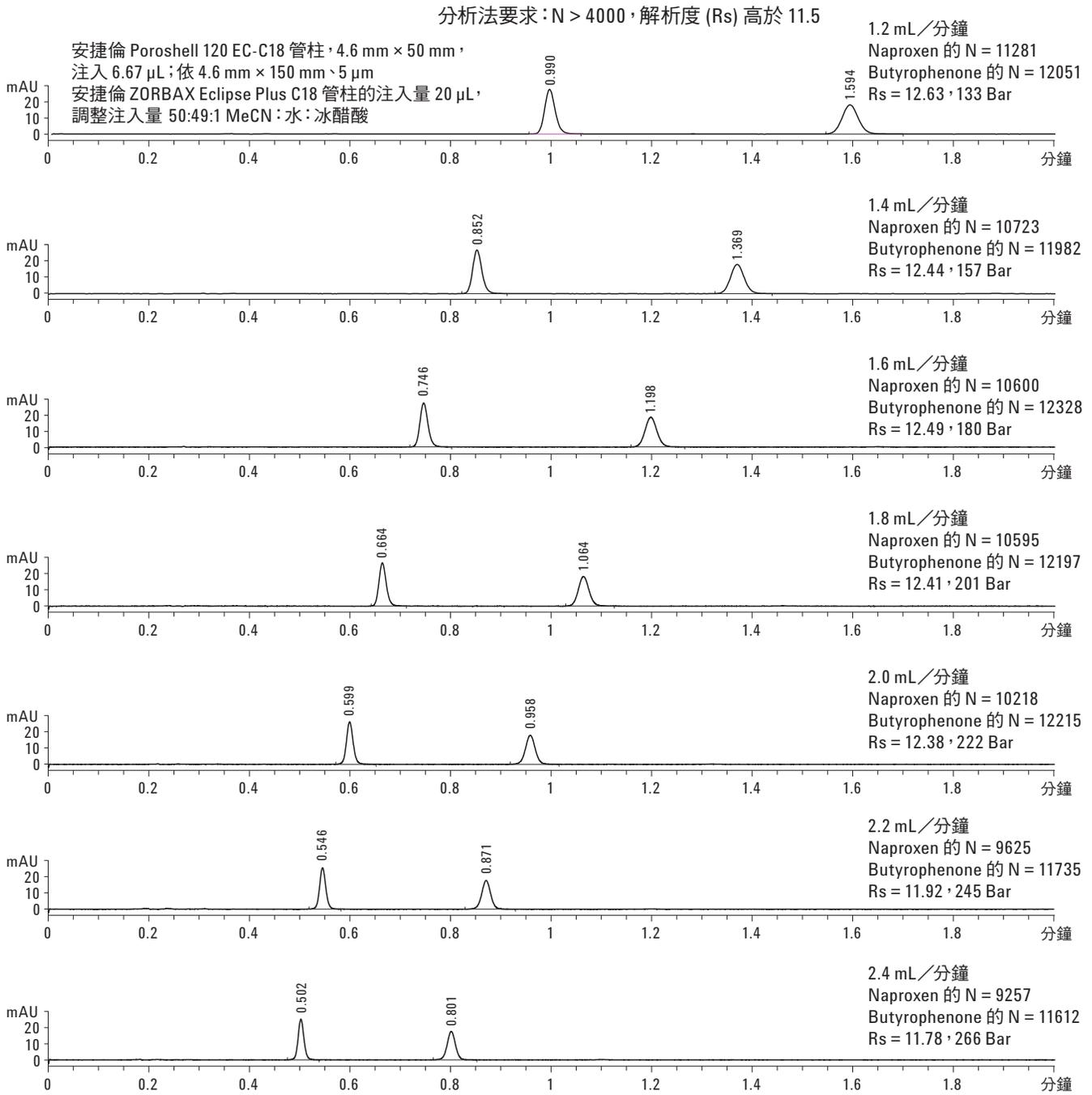


圖 4. 4.6 mm × 50 mm 的安捷倫 Poroshell 120 EC-C18 管柱，以各種流速執行 USP Naproxen 分析法的結果

結論

使用全多孔性顆粒充填的 LC 管柱，執行藥典分析法的實驗室人員，可改用表面多孔性顆粒充填的安捷倫 Poroshell 120 管柱，完全不需更換現有的儀器，便能擁有分析速度、解析度及靈敏度均提升的好處。使用安捷倫 Poroshell 120 管柱，可加快分析速度，提高處理量及產能。適度調整各種藥典分析法，改用較短的管柱，及以較小的 2.7 µm 顆粒充填，其結果便有大幅改善。

參考資料

1. 美國藥典 Naproxen 錠劑分析法。《美國藥典 31 版，美國國家處方集 26 版》(United States Pharmacopeia 31 NF 26)。麻里蘭州羅克維爾 (Rockville)。2008 年。
2. 美國藥典分析法確效指引 (USP Method Validation Guidance.)。《美國藥典 30 版增補 2：系統適合性測試》(United States Pharmacopeia 30 Supplement 2: System Suitability Testing) 第 621 章。麻里蘭州羅克維爾。2007 年。
3. William J. Long、Anne E. Mack、John W. Henderson, Jr.。《使用 Poroshell 120 管柱提升 HPLC 儀效能》(Optimization of HPLC Instrument for Use with Poroshell 120 Columns)。海報編號 2080-9 美國佛羅里達州奧蘭多市匹茲堡會議。2010 年。
4. Uwe D. Neue、Doug McCabe、Vijaya Ramesh、Horacio Pappa、Jim DeMuthc。將高效液相層析方法移轉至尺寸較小及充填顆粒較小的適當管柱 (Transfer of HPLC Procedures to Suitable Columns of Reduced Dimensions and Particle Sizes)。藥劑論壇 (Pharmacoepial Forum)，第 35 冊，第 6 卷。2009 年 11 月至 12 月。

詳細資訊

有關本公司產品與服務的其他資訊，請造訪本公司的網站：
www.agilent.com/chem。

www.agilent.com/chem

本文內容如有任何錯誤，或是因為提供、實行或使用本資料，造成附帶或衍生損害，安捷倫恕不負責。

本文件中的資訊、說明和規格可能隨時變更，恕不另行通知。

© 安捷倫科技公司，2011 年
於美國印製
2011 年 2 月 11 日
5990-7456CHTW



Agilent Technologies