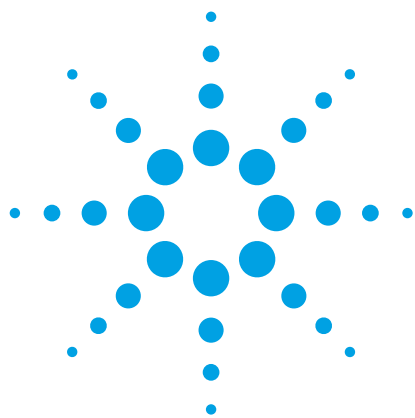




使用 Agilent Poroshell 120 EC-CN 和 EC-C8 色谱柱对炔诺酮和美雌醇药片进行 USP 分析

应用简报

制药业

作者

Anne Mack
安捷伦科技有限公司

摘要

根据美国药典 (USP) 中炔诺酮和美雌醇药片的分析方法对炔诺酮、美雌醇和黄体酮进行分析。与 USP 建议的 5 μm 色谱柱相比，表面多孔 Agilent Poroshell 120 色谱柱能够改善溶出度分析。根据 USP 第 621 章的指导原则对每种方法进行调整，使得 Poroshell 120 色谱柱能够达到节省时间和溶剂的目的。改进后所采用的表面多孔色谱柱符合所有的色谱系统要求。

前言

在 LC 方法中，将较大的 5 μm 全多孔颗粒转换为表面多孔的颗粒有着重要的意义。表面多孔颗粒具有与亚 2 μm 全多孔颗粒相似的高柱效。这主要是因为其传质距离较短并且粒径分布较窄。此外，较大的粒径可产生较低背压，从而使这类色谱柱能够应用于任何在 LC 系统中运行的方法。将较大颗粒色谱柱转换为表面多孔颗粒色谱柱的优势在于可以显著节省时间和成本，因为后者在较高流速下的运行效果最佳，并且通过更短的色谱柱长度即可获得相似的分辨率 [1,2]。

本应用简报介绍了来自 USP 的两种方法，用于分析炔诺酮和美雌醇药片，并将这些方法从建议的 5 μm 色谱柱转移到较短的 2.7 μm 表面多孔 Agilent Poroshell 120 色谱柱上进行。每种分析方法均与 USP 色谱系统的要求进行了比较，以确保色谱柱适用于该分析。对方法作出的所有修改均在 USP 第 621 章的许可范围内。

材料与方法

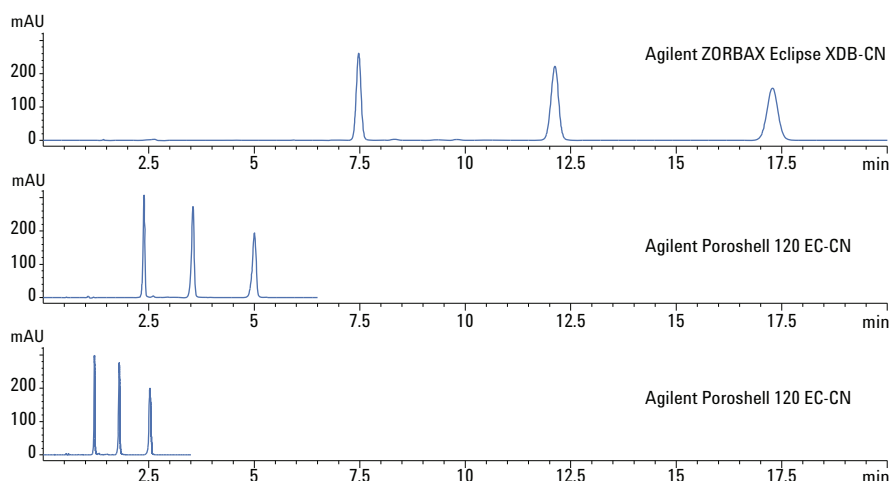
使用安捷伦超低扩散套装（部件号 5067-5189）中的 0.075 mm 内径短毛细管，以及安捷伦液相色谱系统支架（部件号 5001-3726），对仪器安装进行优化，以获得尽可能低的柱外体积 [3]。

炔诺酮、美雌醇和黄体酮均购自西格玛奥德里奇公司。乙腈购自霍尼韦尔国际公司。采用的水为 18 Mohm.cm Milli-Q 超纯水。

结果与讨论

炔诺酮和美雌醇药片的 USP 溶出度分析

图 1 显示了炔诺酮和美雌醇药片的 USP 溶出度分析，其中使用黄体酮作为内标。上方色谱图显示了按照 USP 的规定使用 4.6×250 mm、 $5 \mu\text{m}$ 色谱柱以及 L10 填料执行的分析，在本示例中使用 Agilent ZORBAX Eclipse XDB-CN 色谱柱。这三种化合物在大约 18 min 左右可轻松完成分离。



洗脱顺序

1. 炔诺酮 (0.5 mg/mL)
2. 黄体酮 (0.5 mg/mL)
3. 美雌醇 (0.05 mg/mL)

条件

色谱柱:	Agilent Poroshell 120 EC-CN, 3.0×100 mm, $2.7 \mu\text{m}$ (部件号 695975-305) Agilent ZORBAX Eclipse XDB-CN, 4.6×250 mm, $5 \mu\text{m}$ (部件号 990967-905)
样品:	炔诺酮、美雌醇、黄体酮
洗脱液:	A = 水 B = 乙腈
进样量:	$5 \mu\text{L}$ (4.6×250 mm 色谱柱), $1 \mu\text{L}$ (3.0×100 mm 色谱柱)
流速:	1 mL/min (4.6×250 mm 色谱柱), 0.43 mL/min 或 0.85 mL/min (3.0×100 mm 色谱柱)
等梯度:	40% B
温度:	25°C
检测器:	205 nm
仪器:	Agilent 1290 Infinity LC

图 1. 使用 Agilent ZORBAX Eclipse XDB-CN 和 Agilent Poroshell 120 EC-CN 色谱柱进行炔诺酮和美雌醇药片的 USP 溶出度分析。下方的色谱图显示了在最佳流速下使用 Poroshell 120 EC-CN 色谱柱的分析结果。

根据 USP 第 621 章的指导原则，可将 4.6×250 mm、 $5\ \mu\text{m}$ 色谱柱进行的分析转移到 3.0×100 mm、 $2.7\ \mu\text{m}$ 的 Poroshell 120 EC-CN 色谱柱上，如图 1 中间的色谱图所示。最下面的色谱图显示了使用同一根 Poroshell 120 EC-CN 色谱柱，在其最佳流速下，2.5 min 内便可实现期望的分离效果。

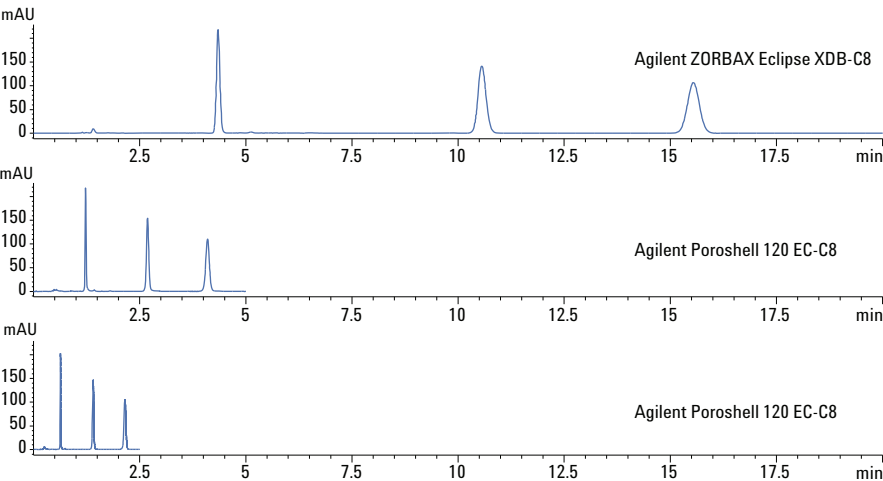
表 1 列出了 USP 色谱系统要求，以及图 1 所示三个色谱图各自的测定值。由此可见， $5\ \mu\text{m}$ 色谱柱和 $2.7\ \mu\text{m}$ Poroshell 120 色谱柱均适用于该分析。此外，与初始分析相比，在最佳流速下使用 Poroshell 120 色谱柱时，不仅可以节省大量的时间和溶剂，还能提高效率并大幅降低成本。

表 1. 炔诺酮和美雌醇药片溶出度分析的 USP 色谱系统要求和测定值（N、P、M 分别表示炔诺酮、黄体酮和美雌醇的测定值）

USP 色谱系统要求	$5\ \mu\text{m}$ (2 mL/min)	$2.7\ \mu\text{m}$ (0.43 mL/min)	$2.7\ \mu\text{m}$ (0.85 mL/min)
重复进样的相对标准偏差不超过 3.0%	N: 0.26% P: 0.24% M: 0.23%	N: 0.92% P: 0.56% M: 0.39%	N: 0.51% P: 0.56% M: 0.39%
美雌醇的最小理论塔板数为 4000	M: 20304	M: 14790	M: 16297
炔诺酮和美雌醇色谱峰的拖尾因子不超过 1.5	N: 1.01 M: 1.00	N: 0.87 M: 0.83	N: 0.92 M: 0.86
炔诺酮和美雌醇的相对保留时间分别约为 0.4 和 1.0	N: 0.43 M: 1.0	N: 0.48 M: 1.0	N: 0.48 M: 1.0

炔诺酮和美雌醇药片的 USP 检测分析

图 2 显示了炔诺酮和美雌醇药片的 USP 检测分析，其中黄体酮作为内标（洗脱顺序同上）。上方色谱图使用 USP 指定的 4.6×150 mm、 $5 \mu\text{m}$ L7 (ZORBAX Eclipse XDB-C8) 色谱柱得出。中间的色谱图则直接转移到了 4.6×50 mm、 $2.7 \mu\text{m}$ Poroshell 120 EC-C8 色谱柱上。下方的色谱图显示了在最佳流速下使用 Poroshell 120 色谱柱的分析结果。使用 Poroshell 120 色谱柱时，这三种化合物的分析时间从 16 min 缩减到 2.5 min 以内。



条件

色谱柱:	Agilent Poroshell 120 EC-C8, 4.6×50 mm, $2.7 \mu\text{m}$ (部件号 699975-906) Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C8, 4.6×150 mm, $5 \mu\text{m}$ (部件号 993967-906)
样品:	炔诺酮、美雌醇、黄体酮
洗脱液:	A = 水 B = 乙腈
进样量:	$3 \mu\text{L}$ (4.6×150 mm 色谱柱), $1 \mu\text{L}$ (4.6×50 mm 色谱柱)
流速:	1 mL/min (4.6×150 mm 色谱柱), 1 mL/min 或 2 mL/min (4.6×50 mm 色谱柱)
等梯度:	50% B
温度:	25°C
检测器:	200 nm
仪器:	Agilent 1290 Infinity LC

图 2. 使用 Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C8 和 Agilent Poroshell 120 EC-C8 色谱柱进行炔诺酮和美雌醇药片 USP 的检测分析。下方的色谱图显示了在最佳流速下使用 Agilent Poroshell 120 EC-CN 色谱柱的分析结果。

由表 2 可见，所有色谱图均符合 USP 色谱系统要求。表面多孔的 Poroshell 120 色谱柱可轻松替代传统的 5 μm 色谱柱，以节省成本并提高效率。

表 2. 炔诺酮和美雌醇药片检测分析的 USP 色谱系统要求和测定值（N、P、M 分别表示炔诺酮、黄体酮和美雌醇的测定值）

USP 色谱系统要求	5 μm (1 mL/min)	2.7 μm (1 mL/min)	2.7 μm (2 mL/min)
美雌醇色谱峰测定的柱效理论塔板数不低于 6000	M: 13571	M: 10718	M: 10480
黄体酮和美雌醇之间的分离度不低于 5.0	Rs (P,M): 11.1	Rs (P,M): 10.9	Rs (P,M): 10.8
重复进样的相对标准偏差不超过 2.0%	N: 0.26%	N: 0.91%	N: 1.4%
	P: 0.29%	P: 0.78%	P: 0.95%
	M: 0.28%	M: 0.59%	M: 0.71%
美雌醇和炔诺酮的相对保留时间分别约为 2.5 和 1.0	M: 3.6	M: 3.3	M: 3.4
	N: 1.0	N: 1.0	N: 1.0

结论

在炔诺酮和美雌醇药片的 USP 溶出度分析中，表面多孔的 Agilent Poroshell 120 色谱柱成功替代了传统的 5 μm 色谱柱。与较大的 5 μm 色谱柱相比，尺寸更小的 Poroshell 120 色谱柱可以提高效率并节省时间和成本，同时满足所有的 USP 色谱系统要求。

参考文献

1. A. Gratzfeld-Hüsgen, E. Naegele. “Maximizing efficiency using Agilent Poroshell 120 columns” (使用 Agilent Poroshell 120 色谱柱实现效率最大化)。应用简报, 安捷伦科技有限公司。出版号 5990-5602EN (2010 年)。

2. V. R. Meyer. *Practical High Performance Liquid Chromatography*, Fourth Ed., p. 34. Wiley (2004).

3. A. Mack. “通过改善安捷伦 1290 Infinity 液相色谱系统的超低扩散性能, 实现安捷伦 ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18 色谱柱性能的最大化”。应用简报, 安捷伦科技有限公司。出版号 5990-9502CHCN (2011 年)。

更多信息

这些数据仅代表典型结果。有关我们的产品和服务的详细信息, 请访问我们的网站: www.agilent.com/chem。

www.agilent.com/chem/cn

安捷伦对本资料中可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本资料中的信息、说明和指标如有变更, 恕不另行通知。

© 安捷伦科技(中国)有限公司, 2013

中国印制

2013 年 1 月 7 日

5991-1688CHCN



Agilent Technologies