

Application News

No. L494

高效液相色谱
High Performance Liquid Chromatography

使用 i-Series 按照美国药典和日本药典 分析奥美拉唑

Analysis of Omeprazole by "i-Series" for USP and JP methods

奥美拉唑是一种能抑制胃酸过多的药物，常用于治疗胃溃疡、十二指肠溃疡和反流性食管炎等疾病。作为质子泵抑制剂（PPI）奥美拉唑被列在世界卫生组织的基本药物清单里，是基础医疗保健的重要组成部分之一。

本文依据美国药典和日本药典介绍了奥美拉唑的分析方法；并且实现快速分析；比 USP 中通则 621 指定方法所需时间都要短。

按照 USP 的分析中使用了一体化 UHPLC Nexera-i。Nexera-i 可支持 HPLC/UHPLC 中的任意分析条件。为符合日本药典分析要求（HPLC 条件），本文使用了一体化 HPLC Prominence-i。

■ USP 方法一指定条件

The USP Method—Original Method

表 1 为 USP 指定的分析条件。图 1 中的上图为奥美拉唑分析方法中系统适应性试验溶液（0.1 mg/mL、乙腈-硼酸溶液）的分析结果。由表 4 可知，系统适应性试验的拖尾因子（Tailing factor）和相对标准偏差（Relative standard deviation）（n=6）均满足要求。

表 1 分析条件
Analytical Conditions (USP Original Method)

仪器	: Nexera-i
色谱柱	: Shim-pack GIST C8 (150 mm L. × 4.6 mm I.D., 5 μm)
流动相	: 乙腈/磷酸盐 (钠盐) 缓冲液 (pH 7.6) = 1/3 (v/v)
流速	: 0.80 mL/min
柱温	: 40 °C
进样体积	: 20 μL
检测器	: UV 280 nm (池温 40 °C)

表 2 快速分析下的色谱柱选择
Selection of Column for Speed Enhancement

	Column size	L/dp	ratio
The USP Original Method	150 mm L. × 4.6 mm I.D., 5 μm	30000	1 (100 %)
The USP Fast Method	50 mm L. × 3.0 mm I.D., 2 μm	25000	0.83 (-17 %)

表 3 分析条件（USP 方法的快速分析）
Analytical Conditions (USP Fast Method)

仪器	: Nexera-i
色谱柱	: Shim-pack GIST C8 (50 mm L. × 3.0 mm I.D., 2 μm)
流动相	: 乙腈/磷酸盐 (钠盐) 缓冲液 (pH 7.6) = 1/3 (v/v)
流速	: 0.85 mL/min
柱温	: 40 °C
进样体积	: 8 μL
检测器	: UV 280 nm (池温 40 °C)

■ USP 方法的快速分析

Speed Enhancement for USP Method

USP 的通则 621 规定分析参数的更改允许范围。在该范围内更改参数后，可缩短分析时间。有关按照 USP 进行快速分析的详细内容请参考 ANL464。

缩短分析时间有两种方法：1) 缩短色谱柱长度；2) 提高流量（线速度）。

为保持色谱柱的分离能力，色谱柱的长度和粒径可以修改，只要将 L(色谱柱长度)/dp(粒径)比值保持在规定范围内(允许范围：-25%~+50%)。因此选择的色谱柱尺寸为 50 mm L. × 3.0 mm I.D., 2 μm。详细内容请参考表 2。

流量与色谱柱剖面面积成正比，与粒径成反比，计算后（允许范围参考本文）为 0.85 mL/min。

使用适用于分析多样品的 Nexera-i UHPLC 仪器进行分析。Nexera-i 无需更改流路和样品池即可进行 HPLC 和 UHPLC 分析。这种灵活性可以使传统 HPLC 方法快速转移成 UHPLC 方法。

表 3 为快速分析条件；图 1 中的下图为系统适应性试验溶液的色谱图。分析时间与表 1 的分析条件（图 1 中的上图）相比缩短了 80%。

表 4 为系统适应性试验结果。由表可知，在快速分析条件下也能满足要求。

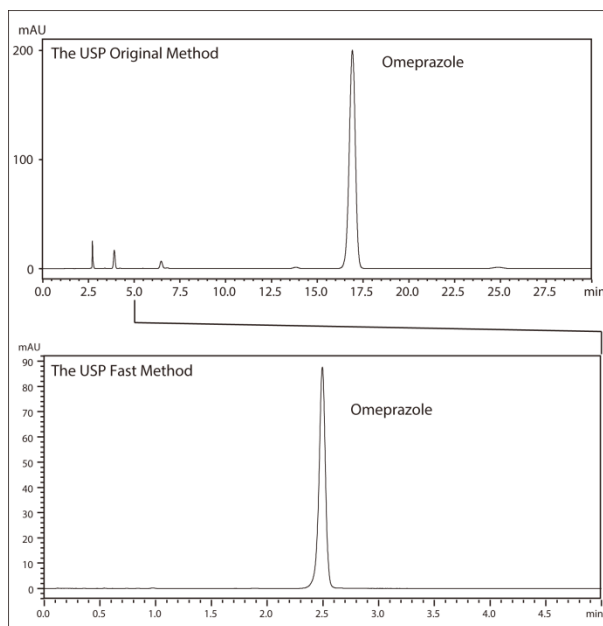


图 1 按照 USP 的色谱图（上：指定条件，下：快速分析条件）
Chromatograms Conforming to USP Method
(Upper: USP Original Method, Lower: USP Fast Method)

表 4 系统适应性试验结果 (按照 USP 指定条件和快速分析条件)
Results of System Suitability Test Using USP Method (Original Method and Fast Method)

System Suitability Requirements		Analytical Conditions			
		The USP Original Method (表 1)		The USP Fast Method (表 3)	
		Results	Judgments	Results	Judgments
USP Tailing Factor for Omeprazole	≤1.5	0.94	PASS	0.89	PASS
Relative Standard Deviation for Omeprazole (n=6)	≤1.0%	Rt 0.097 %	PASS	Rt 0.081 %	PASS
		Area 0.022 %	PASS	Area 0.121 %	PASS

按照日本药典进行分析

Analysis According to Japanese Pharmacopoeia

表 5 为日本药典第十六次修改版规定的分析条件。使用一体化 HPLC Prominence-i 进行了分析。

日本药典中规定系统适应性实验主要包含：检测限确认、系统性能、系统重复性等 3 个项目。图 2~4 为得到的色谱图。

检测限确认实验中，对系统适应性试验溶液（5 mg/L、以流动相制备）和使用流动相将本溶液稀释 5 倍而成的溶液进行测定，对得到的峰面积进行比较。稀释 5 倍的溶液中奥美拉唑的峰面积与系统适应性试验溶液的比较结果为 20 % 左右（允许范围为 15~25 %）。

系统性能实验中，将奥美拉唑与 1,2-二硝基苯溶于硼酸钠-乙醇溶液（各 100 mg/L、250 mg/L）。分析该溶液，确认奥美拉唑与 1,2-二硝基苯的分离度。得到的分离度约为 24（允许范围 10 以上）。

在进行系统重复性测定时，对系统适应性试验溶液反复分析 6 次，确认峰面积的相对标准偏差。得到的相对标准偏差为 0.2 %（允许范围 2.0 % 以下）。

表 6 为上述测定结果的汇总数据。

表 5 分析条件 (日本药典)
Analytical Conditions (JP Method)

仪器	: Prominence-i
色谱柱	: Shim-pack GIST C8 (150 mm L × 4.6 mm I.D., 5 μm)
流动相	: 磷酸盐 (钠盐) 缓冲液 (pH7.6) / 乙腈=29/11 (v/v)
流速	: 1.3 mL/min
柱温	: 25 °C
进样体积	: 10 μL
检测器	: UV 280 nm (池温 40 °C)

表 6 系统适应性试验结果 (日本药典)
Results of System Suitability Test (JP Method)

System Suitability Requirements		Results	Judgments
Detection	Area 15~25%	19.70 %	PASS
System Performance	Resolution ≥10	23.6	PASS
System Repeatability	%RSD Area ≤2.0%	0.20 %	PASS

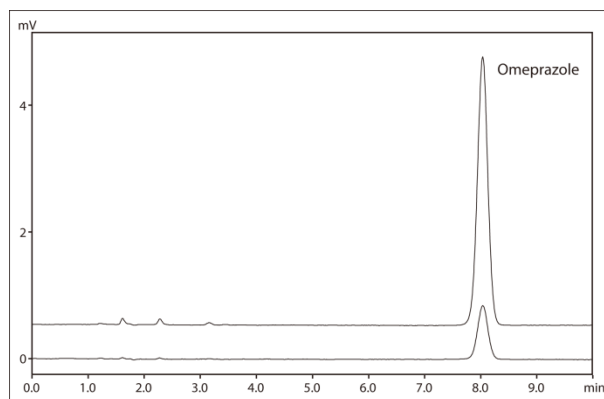


图 2 按照日本药典得到的色谱图 - 检测限确认 (上: 5 mg/L, 下: 1 mg/L)
Chromatogram According to Japanese Pharmacopoeia—Test for Required Detectability (Upper: 5 mg/L, Lower: 1 mg/L)

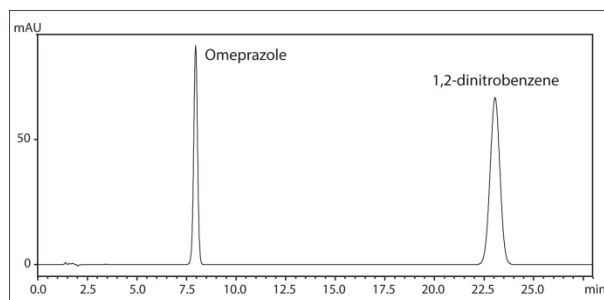


图 3 按照日本药典得到的色谱图 - 系统性能
Chromatogram According to JP Method—System Performance

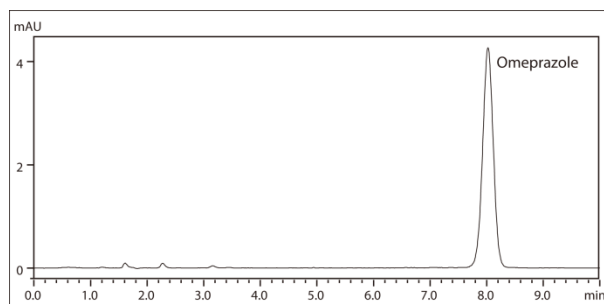


图 4 按照日本药典得到的色谱图 - 系统重复性
Chromatogram According to JP Method—System Repeatability