

# Application News

## No. L524

高效液相色谱法

### 根据《国际药典协调指南》草案对普拉克索进行快速分析

近年来,超高效液相色谱(UHPLC)在医药领域得到了广泛的应用,提高了分析工作的效率和生产率。针对这些情况,美国药典(USP)第40版《General Chapter<621>》和欧洲药典(EP)第8版《色谱条件的调整》(Adjustment of chromatographic condition)中允许在符合系统适用性测试的范围内改变快速分析的条件。另一方面,日本药典(JP)中关于分析条件的变更未记载明确的允许范围。此外,截至本文撰写时(2018.3),USP、EP均未实质性地允许高速梯度分离分析。

在这样的情况下,日美欧的各药典谋求国际性调整,逐步形成一个有统一分析条件允许范围的标准。其中关于梯度洗脱预计重新写明允许范围<sup>1)</sup>。

在此,将介绍根据日美欧三药典国际调整计划,使用本公司集成型LC系统Nexera™-i MT,对USP第40版中收录的普拉克索盐酸盐的结构类似物进行快速分析的方法。需要指出的是,本草案以2017年7月发布的《国际社会意见协调指南》草案为基础,可能与最终版本有所不同。

Y. Osaka

#### ■ 允许的梯度洗脱变化范围

国际调整计划中关于梯度洗脱详细记载了允许范围。在此,仅摘选主要项目。

**色谱柱尺寸:**柱长(L)与粒径(dp)以及L/dp之比应在-25%~+50%范围内。另外,关于表面多孔性粒子的色谱柱有其他规定。  
**流量:**当粒径改变时,需要调整流量。调整后的流量应符合以下公式。

$$F_2 = F_1 \times [(dc_2^2 \times dp_1) / (dc_1^2 \times dp_2)] \dots (A)$$

$F_1$  : 文件中注明的流速(mL/分钟)

$F_2$  : 变化后的流速(mL/分钟)

$dc_1$  : 文件中所述的柱的内径(mm)

$dc_2$  : 使用的色谱柱内径(mm)

$dp_1$  : 文件中所述的粒径( $\mu\text{m}$ )

$dp_2$  : 使用的柱粒径( $\mu\text{m}$ )

此外,将粒径从大于 $3\mu\text{m}$ 减小至不到 $3\mu\text{m}$ 时,允许在柱效不降低20%以上的范围内增加流速。

**梯度时间:**梯度容量与圆柱容量成比例变化。梯度容量是梯度时间( $t_G$ )与流量( $F$ )的积,为了使梯度容量对圆柱容量的比一定,使用以下计算公式。

$$t_{G2} = t_{G1} \times (F_1 / F_2) [(L_2 \times dc_2^2) / (L_1 \times dc_1^2)] \dots (B)$$

$t_{G1}$  : 原来的梯度时间

$t_{G2}$  : 变更后的梯度时间

#### ■ 快速分析 Pramipexole 盐酸盐的测试

普拉克索是用于治疗帕金森病的药物。药典指定将梯度洗脱方法作为试验方法,但进行快速分析时需要重新验证。如前所述,考虑到《国际协调统一指导意见草案》中允许梯度洗脱涉及快速分析的分析条件发生变化的可能性,所以,在此,本文根据意见草案的条件进行快速分析。关于分析条件的转变,在本公司智能终端LabSolutions™(以下,简称LabSolutions)中配备有Nexera™-i MT专用方法转换工具\*<sup>1</sup>。本方法转换从LabSolutions的现有方法读入梯度信息和流量等,仅输入所使用的色谱柱和流量梯度时间即可转换。而且可以直接记录到LabSolutions的方法文件中,所以,能防止因手动操作引起的转换错误。方法转换的画面如图1所示。此外,原来的USP条件和转变后的快速分析条件(UHPLC)如表1所示,详细分析条件如表2所示。

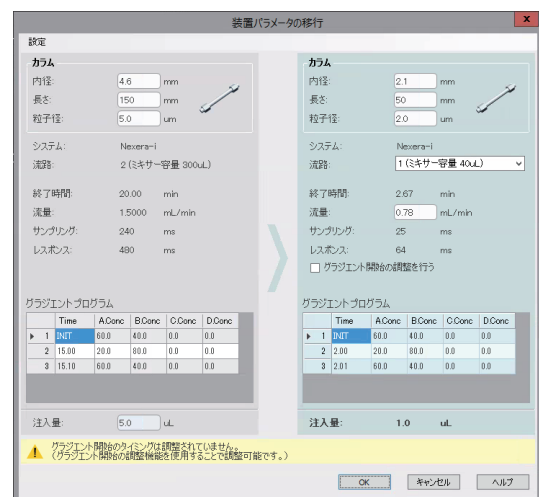


图1 Nexera™-i MT 专用方法转换

\* 1 2018年1月的版本配备有与国际调整计划大致相同的算法,但不是完全依照。

表 1 基于国际调整计划的分析条件的高速化

	USP	Transfer (UHPLC)	note
Column length (L) (mm)	150	50	User choice
Column diameter (dc) (mm)	4.6	2.1	User choice
Particle size (dp) (μm)	5.0	2.0	User choice
L/dp	30.0	25.0	-17%
Flow rate (mL/min)	1.5	0.78	(A)
Gradient factor		0.13	(B)
Gradient			
%B	Time (min)	Time (min)	
40	0	0	
80	15	2.00	
40	15.1	2.01	
40	20	3.5	*2
Injection Volume (μL)	5	1	*3

\* 2 完成时间是根据延迟体积调整的

\* 3 进样量与国际调整计划不同，与色谱柱截面积成正比减少。

表 2 依照 USP 的分析条件

Column	: Shim-pack™ VP-ODS : 150 mmL. × 4.6 mmI.D., 5.0 μm
Mobile phase	: A) 67 mmol/L (Potassium) Phosphate Buffer (pH 3.0) Containing 21 mmol/L 1-Octanesulfonic Acid Sodium Salt B) Solution A / Acetonitrile (1/1)
Flow rate	: 1.5 mL/min
Time program	: B Conc. 40% (0 min) → 80% (15 min) → 40% (15.1 - 20 min)
Column temp.	: 40 °C
Injection volume	: 5 μL
Detection	: UV 264 nm
Sample	: Pramipexole Dihydrochloride

表 3 UHPLC 分析条件

Column	: Shim-pack™ GIST C18 : 50 mmL. × 2.1 mmI.D., 2.0 μm
Mobile phase	: A) 67 mmol/L (Potassium) Phosphate Buffer (pH 3.0) Containing 21 mmol/L 1-Octanesulfonic Acid Sodium Salt B) Solution A / Acetonitrile (1/1)
Flow rate	: 0.78 mL/min
Time program	: B Conc. 40% (0 min) → 80% (2.00 min) → 40% (2.01 - 3.5 min)
Column temp.	: 40 °C
Injection volume	: 1 μL
Detection	: UV 264 nm
Sample	: Pramipexole Dihydrochloride

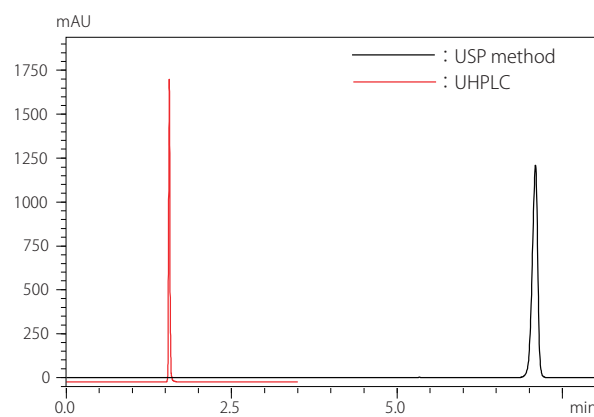


图 2 普拉克斯索盐酸盐的分析结果

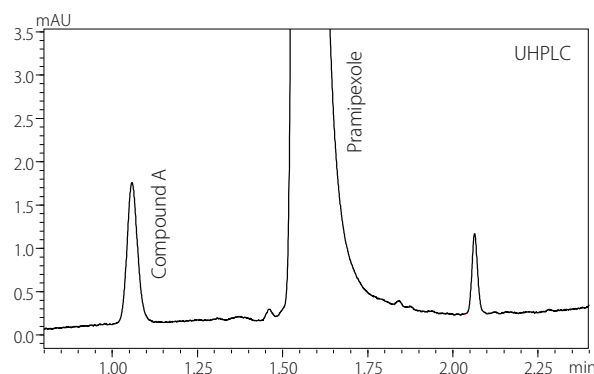
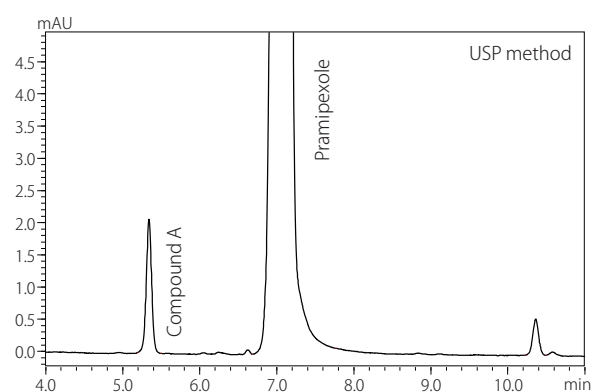


图 3 普拉克斯索盐酸盐附近的色谱的放大

## 分析结果

采用 USP 和超高效液相色谱法对盐酸普拉克斯索进行了分析如图 2 所示，盐酸普拉克斯索洗脱前后放大的色谱图如图 3 所示。系统适用性试验的结果如表 4 所示，可知，USP 依据、UHPLC 分析均满足系统适用性。

根据以上内容显示，能通过使用 Nexera™-i MT 专用的方法转换，顺利地进行方法转变。今后，预计药典中在梯度分析方面将允许变更方法，所以，为了提高实用性，方法转换这种工具的应用将变得更加重要。

表 4 系统适用性试验结果

Test item	Criteria	USP	UHPLC	Judgement
Resolution (between compound A and pramipexole)	≥6.0	12.3	10.7	PASSED
Tailing factor	≤2.0	0.83	1.10	PASSED
Relative standard deviation	≤5.0%	0.161	0.265	PASSED

[参考文献]

- 1) 国际调整计划 (Stage4)、独立行政法人 药物医疗设备综合机构 (<http://www.pmda.go.jp/rs-std-jp/standards-development/jp/pub-comments/pdg/0033.html>)
- 2) USP pharmacopoeia 40: 5795 "Pramipexole Dihydrochloride"

Nexera、LabSolutions、以及 Shim-pack 是岛津制作所株式会社的商标。



岛津企业管理（中国）有限公司  
岛津（香港）有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话： 800-810-0439  
400-650-0439

免责声明：

- \* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售；
  - \* 本资料中的所有信息仅供参考，不予任何保证。
- 如有变动，恕不另行通知。

第一版发行日：2018 年 3 月