

应用

盐酸二甲双胍片的USP溶出度测试3

Laura Snow和Wenmin (Grace) Guo
Phenomenex公司, 411 Madrid Ave., Torrance, CA 90501 USA

概述

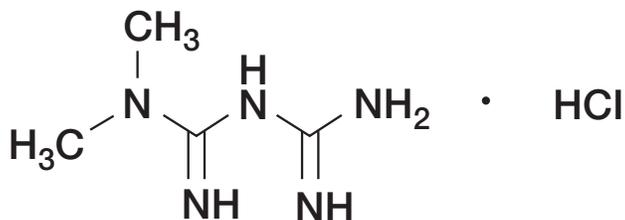
二甲双胍是一种经美国食品药品监督管理局批准, 用于治疗二型糖尿病 (也称为非胰岛素依赖性糖尿病) 的药品。随着全球二型糖尿病确诊数量的不断增多, 预计二甲双胍的使用量将继续增加, 二甲双胍口服药产品的质量控制测试的重要性也会随之提升, 并且以溶出度和相关生物等效性 (BE) 研究为代表的基于USP方法的分析测试也需要寻求更加稳定高效的方法。

与非专利药制药公司采取的常见生物等效性研究一样, 我们将采用建议使用的Prodigy™ ODS-3 5 μm 250 x 4.6 mm分析柱来按照USP方法 (溶出度测试3) 进行盐酸二甲双胍片溶出度的色谱分析。本研究还将展示与其粒径和尺寸相似的Kinetex®核-壳分析柱的色谱分析。与我们的预期一样, 由于Kinetex核-壳颗粒带来的固有优势, Kinetex展现出了优于USP文献中所用分析柱的分析速度和灵敏度。

材料

盐酸二甲双胍

分子式: $C_4H_{11}N_5 \cdot HCl$



盐酸二甲双胍标准品以及其它助剂和化学品均采购自Sigma Aldrich。

实验条件

溶出流程

根据盐酸二甲双胍标准品和片剂的USP文献 (溶出度测试3) 来制备溶出批次和样品。通过将 1.38 g 磷酸二氢钠溶于约1800 mL水来制备溶出介质; 加入 3.484 g 戊烷磺酸钠盐, 然后用稀释磷酸将 pH 值调节至 3.00 ± 0.05 , 在量瓶中装入2000 mL。将500 mg盐酸二甲双胍片溶于pH 6.8的磷酸盐缓冲溶出介质。

仪器: 篮法, 100 RPM, 1000 mL

时间点: 60分钟时取单个时间点

标准溶液: 0.05 mg/mL 溶解于溶出介质

用0.45 μm 的 Phenex Nylon针头式过滤器 (货号: [AF0-2107-12](#)) 过滤样品。如有必要, 可用介质来稀释样品, 以便获取与标准溶液浓度相近的溶液。

流动相制备

流动相为乙腈和缓冲液(1:19)。缓冲液制备方式参见上文的溶出流程。

LC-UV条件:

分析柱1: Prodigy 5 μm ODS-3, 250 x 4.6 mm

货号: 00G-4097-E0

分析柱2: Kinetex 5 μm C18, 250 x 4.6 mm

货号: 00G-4601-E0

流动相: 乙腈和缓冲液(1:19)

LC条件: 等度

流速: 1.0 mL/min

进样量: 40 μL

温度: 室温

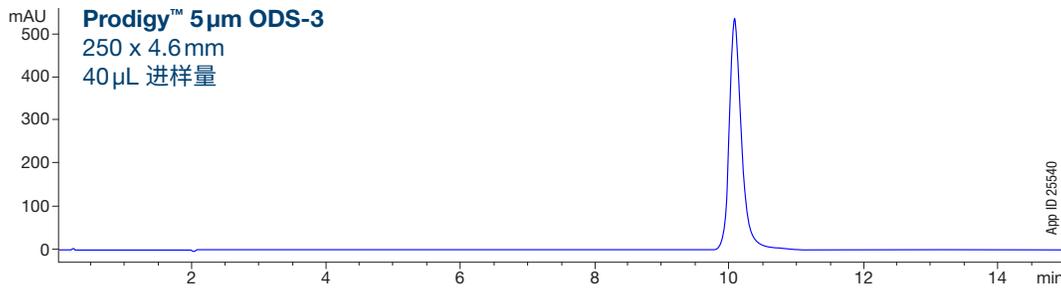
检测: UV @ 230 nm

HPLC 系统: Agilent® 1100 (Agilent Technologies®, Santa Clara, CA, USA)

运行时间: 30分钟



图 1
二甲双胍标准品 (0.05 mg/mL) 色谱图



所有分析柱的LC-UV条件:

分析柱1: Prodigy 5 μm ODS-3, 250 x 4.6 mm
 货号: 00G-4097-E0
 分析柱2: Kinetex 5 μm C18, 250 x 4.6 mm
 货号: 00G-4601-E0
 流动相: 乙腈和缓冲液(1:19)
 LC条件: 等度
 流速: 1.0 mL/min
 进样量: 40 μL
 温度: 室温
 检测: UV @ 230 nm
 HPLC 系统: Agilent 1100 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)
 运行时间: 30分钟

盐酸二甲双胍

分子式: $C_4H_{11}N_5 \cdot HCl$

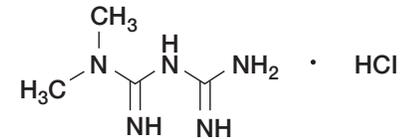


图 2
500 mg片剂溶于1L缓冲液, 稀释10倍 (0.05 mg/mL) 色谱图

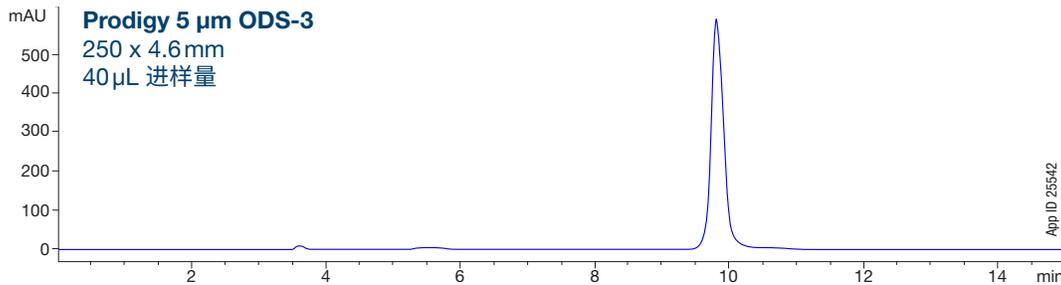


图 3
二甲双胍标准品 (0.05 mg/mL) 色谱图

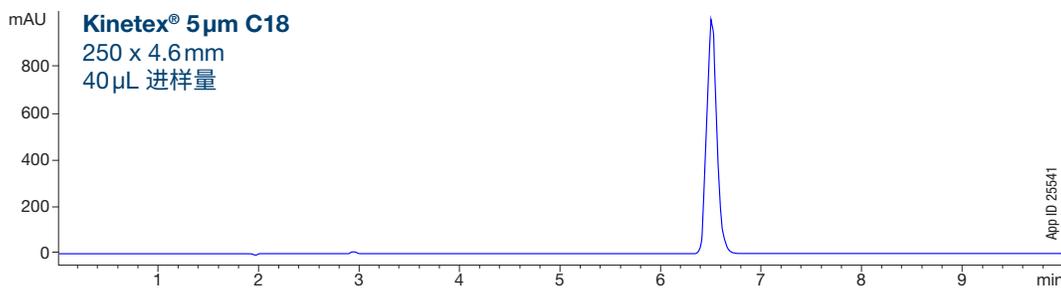
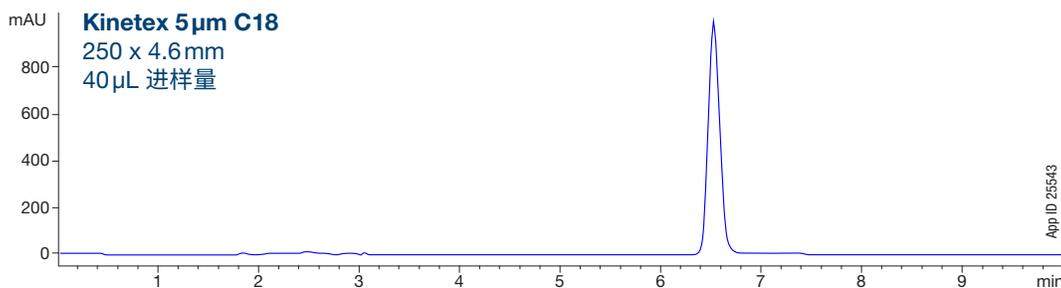


图 4
500 mg片剂溶于1L缓冲液, 稀释10倍 (0.05 mg/mL) 色谱图



对比分离不能代表所有应用。

表 1

Prodigy™ ODS-3, 5 μm, 250 x 4.6 mm (进样量40 μL)			Kinetex® C18, 5 μm, 250 x 4.6 mm (进样量40 μL)		
样品浓度: 0.05 mg/mL					
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)
0.67	536.5	14,361	0.81	999.4	18,731
样品浓度: 0.05 mg/mL					
0.784	592.2	12,959	0.83	991.9	15,087

结果与讨论

图1和图2显示了采用USP溶出度测试3建议使用的Prodigy ODS-3分析柱进行盐酸二甲双胍标准品和片剂溶出度测试得到的色谱图。二甲双胍的保留时间约为10.0分钟。图3和图4为采用 Kinetex C18 分析柱进行盐酸二甲双胍标准品和片剂溶出度测试得到的色谱图。二甲双胍的保留时间约为6.5分钟。

与全多孔的Prodigy C18分析柱不同, Kinetex C18 分析柱的核-壳颗粒由一层多孔硅胶薄壳包围的固体硅胶核组成。该核-壳颗粒形态的优势在于其峰宽通常更窄, 峰高更大, 这要归功于核-壳颗粒表达出的更高柱效。此外, 该颗粒的比表面积更小, 因此保留时间和分析时间更短, 且不会影响其色谱分离能力。如图所示, 在相同尺寸下, 二甲双胍在Kinetex C18 分析柱上的保留时间(约6.5分钟)要远短于在Prodigy C18分析柱上的保留时间(约10.0分钟)。如表1所示, Kinetex C18的柱效远高于 Prodigy ODS-3, 相同浓度的标准品和样品的峰强度也明显高于后者。这表明我们可以在降低进样浓度(例如需要扩展释放配方或需要在溶出度分析中取更早的时间点)或减少进样体积的同时仍然维持良好的峰高和峰形。

盐酸二甲双胍片溶出度的USP溶出度测试3的系统适用性要求为: 拖尾因子不超过(NMT) 2.0, 柱效不低于(NLT)1500理论塔板数。如表1所示, Prodigy ODS-3和Kinetex C18都能轻松满足上述要求。

结论

体外溶出度测试是用于评估非处方药安全性和有效性的一种重要工具。在本技术说明中, 我们展示了采用两种不同的分析柱 (USP文献中建议使用的全多孔 Prodigy ODS-3 分析柱, 以及相同粒径和尺寸的 Kinetex C18 核-壳分析柱) 来进行盐酸二甲双胍片 USP溶出度测试 3 得到的结果。Kinetex核-壳分析柱的优势之一在于色谱分析效率的提升, 使峰宽更窄。此外, Kinetex核-壳微粒的表面积更小, 因此二甲双胍的保留时间更短, 分析花费的时间也会随之缩短。Kinetex分析柱的分析速度更快, 这将对那些希望提高样品通量(例如需要对很多溶出样品进行分析)的实验室大有帮助, 而且不会对生物等效性 (BE) 研究的结果产生任何不良影响。

订购信息

Prodigy LC 分析柱

5 μm 分析柱 (mm)	SecurityGuard 柱芯*					
相	30 x 4.6	50 x 4.6	100 x 4.6	150 x 4.6	250 x 4.6	10/pk
ODS-3	00A-4097-E0	00B-4097-E0	00D-4097-E0	00F-4097-E0	00G-4097-E0	AJ0-9532
适用于 3.2-8.0 mm ID						

Kinetex® 核-壳分析柱

5 μm 分析柱 (mm)	SecurityGuard ULTRA 柱芯*				
相	50 x 4.6	100 x 4.6	150 x 4.6	250 x 4.6	3/pk
C18	00B-4601-E0	00D-4601-E0	00F-4601-E0	00G-4601-E0	AJ0-8768
适用于 4.6 mm ID					

* SecurityGuard 标准柱芯需要搭配柱套, 货号: KJ0-4282.

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



无法重现该方法?我们很乐意帮忙!
欢迎访问 www.phenomenex.com/LiveChat 与我们的技术专家联系

澳大利亚 电话: +61 (0)2-9428-6444 auinfo@phenomenex.com	墨西哥 电话: 01-800-844-5226 tecnicomx@phenomenex.com
奥地利 电话: +43 (0)1-319-1301 anfrage@phenomenex.com	荷兰 电话: +31 (0)30-2418700 nlinfo@phenomenex.com
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	新西兰 电话: +64 (0)9-4780951 nzinfo@phenomenex.com
加拿大 电话: +1 (800) 543-3681 info@phenomenex.com	挪威 电话: +47 810 02 005 nordicinfo@phenomenex.com
中国 电话: +86 400-606-8099 cninfo@phenomenex.com	葡萄牙 电话: +351 221 450 488 ptinfo@phenomenex.com
丹麦 电话: +45 4824 8048 nordicinfo@phenomenex.com	新加坡 电话: +65 800-852-3944 sginfo@phenomenex.com
芬兰 电话: +358 (0)9 4789 0063 nordicinfo@phenomenex.com	西班牙 电话: +34 91-413-8613 espinfo@phenomenex.com
法国 电话: +33 (0)1 30 09 21 10 franceinfo@phenomenex.com	瑞典 电话: +46 (0)8 611 6950 nordicinfo@phenomenex.com
德国 电话: +49 (0)6021-58830-0 anfrage@phenomenex.com	瑞士 电话: +41 (0)61 692 20 20 swissinfo@phenomenex.com
印度 电话: +91 (0)40-3012 2400 indiainfo@phenomenex.com	英国 电话: +44 (0)1625-501367 ukinfo@phenomenex.com
爱尔兰 电话: +353 (0)1 247 5405 eireinfo@phenomenex.com	美国 电话: +1 (310) 212-0555 info@phenomenex.com
意大利 电话: +39 051 6327511 italiainfo@phenomenex.com	其它国家  美国总部 电话: +1 (310) 212-0555 info@phenomenex.com
卢森堡 电话: +31 (0)30-2418700 nlinfo@phenomenex.com	



www.phenomenex.com

Phenomenex 的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/TermsAndConditions。

商标

Prodigy和BeHappy是Phenomenex的商标。Kinetex、SecurityGuard是Phenomenex的注册商标。

免责声明

对比分离不能代表所有应用。

仅用于研究目的。不可用于临床诊断程序。

© 2019 Phenomenex, Inc. 版权所有。