

应用纪要

剖析新型冠状病毒肺炎(COVID-19): 评估兼容MS的现代化USP专论方法分析磷酸氯喹片的系统适应性

Margaret Maziarz

Waters Corporation



需要帮助? 如需详细了解沃特世如何为您抗击新型冠状病毒肺炎(COVID-19)提供助

力，请联系 [新型冠状病毒肺炎\(COVID-19\)疫情创新响应团队](#)

这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

摘要

由于COVID-19大流行疫情正在全球蔓延，研究人员对大量小分子药物进行了重新研究，判断其是否能够用作新型冠状病毒的治疗药物。其中，氯喹受到广泛关注，该药物与其衍生物羟氯喹一样，长期以来一直作为抗疟药物使用。目前正在开展大规模的全球临床试验计划，研究氯喹对于预防前线医务人员感染SARS-CoV-2以及降低感染严重程度方面的能力¹。为辅助治疗药物开发过程中的分析表征，本应用简报为磷酸氯喹的分析提供了一种兼容MS的现代化方法。质谱分析(MS)有助于研究人员准确鉴定制剂过程或常规检测期间可能产生的新组分或未知组分。相较于现行的USP专论方法，新方法的分离度更高、拖尾更少且运行时间更短。

优势

- 兼容MS的方法
- 提高氯喹与阿莫地喹之间的分离度
- 使用更短的色谱柱和更快的流速缩短运行时间
- 减少氯喹峰拖尾

简介

氯喹(CQ)与其衍生物羟氯喹一样，长期以来一直作为抗疟疾的化学预防类药物使用，近来也开始用于慢性自身免疫性疾病的辅助治疗²。有趣的是，体外研究结果显示该活性药物成分可能对SARS-CoV-2感染有抑制作用³。目前认为CQ是通过干扰ACE2来阻止病毒感染³。根据体外研究和所提出的作用机制，COVID-19全球研究成果网(COVID-19 Research Outcomes Worldwide Network, CROWN)正计划针对全球的前线医务人员测试氯喹对于抗击新型冠状病毒感染的有效性。¹。

本应用简报介绍了一种现代化的改良版磷酸氯喹片剂分析方法，该方法既能够配合兼容MS的缓冲液使用，又能够满足USP系统适应性要求。

Chloroquine phosphate

- $C_{18}H_{29}ClN_3O_8P_2$
- Monoisotopic mass: 515.86 Da
- Free base monoisotopic mass: 319.18 Da

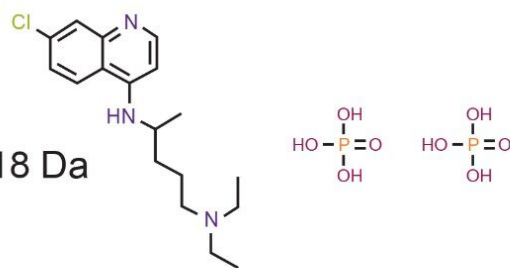


图1.磷酸氯喹

结果与讨论

兼容MS的现代化方法与现行USP方法的磷酸氯喹片剂分析条件汇总于表1中。

Parameter	Modernized MS compatible method	USP monograph method ⁴
LC system	ACQUITY Arc	ACQUITY Arc
Detection	PDA (derived at 224 nm) and ACQUITY QDa	PDA (derived at 224 nm)
Column(s)	XSelect CSH C ₁₈ , 4.6 × 100 mm, 3.5 μm	Symmetry C ₁₈ , 4.6 × 100 mm, 5 μm
Column temp.	40 °C	30 °C
Injection volume	10 μL	10 μL
Flow rate	1.5 mL/min	1.2 mL/min
Mobile phase	Acetonitrile/10 mM ammonium formate (10/90) with 0.1% formic acid	Methanol/buffer (22:78) Buffer: 6.8 g/L of monobasic potassium phosphate in water. Add 1 mL of perchloric acid, pH 2.5 adjusted with phosphoric acid
System suitability solution	0.05 mg/mL of amodiaquine HCl and 0.05 mg/mL of chloroquine phosphate in water	0.15 mg/mL of amodiaquine HCl and 0.15 mg/mL of chloroquine phosphate in water

表1.兼容MS的现代化方法与USP方法的条件

使用新方法分析系统适应性溶液时，氯喹与阿莫地喹峰之间的分离度比使用现行USP方法（图2）高。此外，在运行时间方面，改良方法(3 min)也比USP方法(7 min)更短。ACQUITY QDa检测器提供的质谱数据表明，通过质谱检测可实现快速、准确的峰鉴定（图3）。

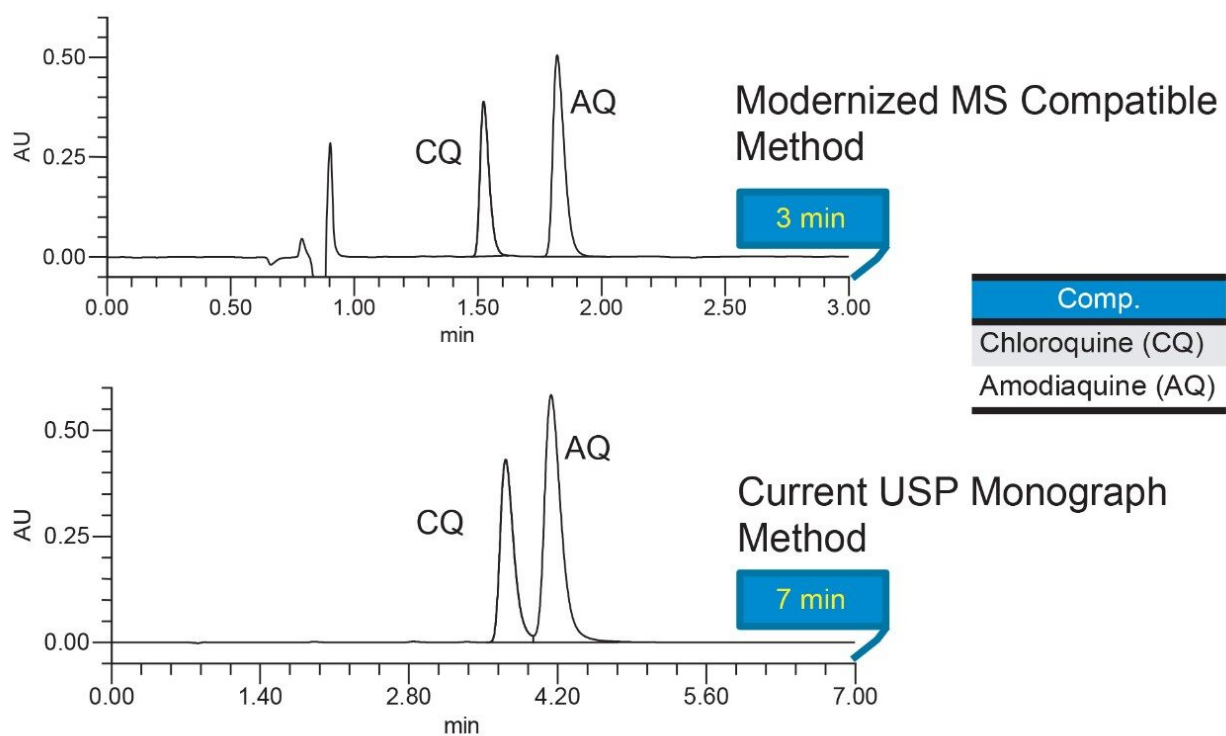


图2.使用兼容MS的现代化方法和USP方法分析磷酸氯喹片剂得到的系统适应性结果

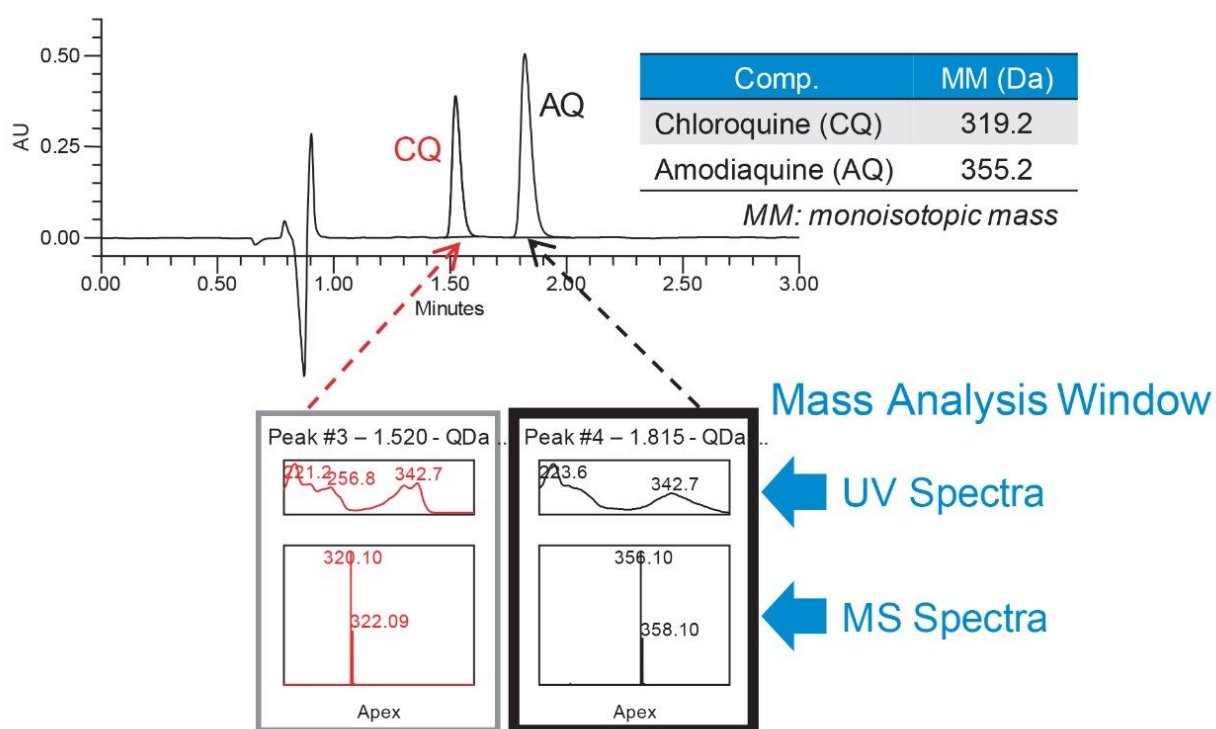


图3. Empower 3软件中用于峰鉴定结果确证的质谱分析窗口

通过将系统适应性溶液五次重复进样所得的结果与USP专论中针对磷酸氯喹片剂的标准进行比较，对MS兼容型现代化方法的性能进行了评估⁴。结果表明MS兼容型现代化方法的系统适应性符合USP标准（表2）。运行兼容MS的现代化方法时，与使用USP方法相比，氯喹与阿莫地喹之间的分离度明显提升。系统适应性溶液5次重复进样的峰面积和保留时间相对标准偏差均 $\leq 0.4\%$ 。此外，在兼容MS的现代化方法中氯喹的USP拖尾也略有改善，但阿莫地喹的USP拖尾未发生变化。

Parameter	USP requirement ^a	Modernized method	USP method
Resolution between AQ and CQ	Not less than (NLT) 1.5	3.8	1.7
Tailing factor for the AQ and CQ peaks	Not more than (NMT) 1.5	1.4 for CQ 1.5 for AQ	1.5 for CQ 1.5 for AQ
Relative standard deviation (RSD) for the AQ and CQ	Not more than (NMT) 2.0%	- Chloroquine peak -RSD of areas: 0.4% -RSD of retention times: 0.1% - Amodiaquine peak -RSD of areas: 0.1% -RSD of retention times: 0.3%	- Chloroquine peak -RSD of areas: 0.0% -RSD of retention times: 0.1% - Amodiaquine peak -RSD of areas: 0.1% -RSD of retention times: 0.1%

表2.使用MS兼容型现代化方法和USP方法分析磷酸氯喹片剂得到的系统适应性结果

结论

本应用简报介绍了一种兼容MS的方法用于分析磷酸氯喹片剂。由于能够进行MS分析，因此本方法增加了氯喹表征和开发时可用的分析工具组合。MS分析无需进行单标即可实现化合物的定性鉴定。此外，相较于现行的USP专论方法，本研究所采用的MS兼容型现代化方法的运行时间更短、分离度更高、峰拖尾减少。由于是将氯喹作为COVID-19的潜在治疗药物进行研究，因此对于有高时效要求的开发和后续生产，分析速度的提升有可能非常关键。而且在新型冠状病毒爆发期间，更稳定的分析性能可增强对关键开发和质量控制环境的信心。

参考文献

1. Dryden, Jim. Global study to test malaria drug to protect health workers from COVID-19: COVID-19 Therapeutics Accelerator to fund international trial of chloroquine 2020年5月 [2020年5月21日引用]. 参考网站: <https://medicine.wustl.edu/news/global-study-to-test-malaria-drug-to-protect-health-workers-from-covid-19/> <<https://medicine.wustl.edu/news/global-study-to-test-malaria-drug-to-protect-health-workers-from-covid-19/>>
2. Al-Bari, MA. Targeting endosomal acidification by chloroquine analogs as a promising strategy for the treatment of emerging viral diseases. *Pharmacol Res Perspect*. 5(1):e00293 (2017).
3. Zhong, Jixin *et al*. The immunology of COVID-19: is immune modulation an option for treatment?

Lancet Rheumatol. 2020 May 20. [https://doi.org/10.1016/S2665-9913\(20\)30120-X](https://doi.org/10.1016/S2665-9913(20)30120-X) <
[https://doi.org/10.1016/%20S2665-9913\(20\)30120-X](https://doi.org/10.1016/%20S2665-9913(20)30120-X)>

4. USP Monograph, Chloroquine Sulfate Tablets, USP42-N37, The United States Pharmacopeia Convention, official.

特色产品

ACQUITY Arc系统 <<https://www.waters.com/134844390>>

ACQUITY UPLC PDA检测器 <<https://www.waters.com/514225>>

ACQUITY QDa质谱检测器 <<https://www.waters.com/134761404>>

720006918ZH, 2020年5月