

将USP富马酸喹硫平杂质方法成功迁移至Alliance™ iS HPLC System

Amanda B. Dlugasch, Lise Gauthier, Paula Hong

Waters Corporation

摘要

在受法规监管的实验室中，要将既有方法从一套高效液相色谱(HPLC)系统转移到相同或不同类型的其他HPLC系统，方法迁移是非常重要的方面。由于实验室配备来自相同或不同供应商的各种HPLC仪器，许多受法规监管的实验室都需要迁移方法。此外，为了跟上通量的增长，这些实验室还可能有升级旧设备，引进新技术的需求¹。仪器间的差异可能会影响色谱结果，因此要想成功将方法迁移到新的HPLC系统，很有挑战性。Alliance iS HPLC System的许多关键功能和属性能够为方法迁移提供支持，有助于获得与原方法相当甚至更优的结果。本应用纪要将介绍Alliance iS HPLC System帮助我们成功迁移方法的诸多要素。本研究分别在两套传统HPLC系统和Alliance iS HPLC System上运行富马酸喹硫平杂质的USP方法分析原料药未知样，以根据USP方法中的系统适应性要求来比较和评估该方法²。

优势

- 成功将USP各论杂质分析方法直接迁移至Alliance iS HPLC System
- 获得可重现的富马酸喹硫平原料药定量结果
- 在Alliance iS HPLC System上实现更高的进样精密度

简介

迁移方法时，力求在不同的HPLC系统上获得一致、可重现的结果非常重要。HPLC系统的设计差异可能导致色谱结果发生变化。本研究将在两套传统HPLC系统以及新推出的Alliance iS HPLC System上运行富马酸喹硫平杂质的梯度USP方法，根据系统适应性要求评估每套HPLC系统得到的峰面积和保留时间%RSD、拖尾因子，以及两个关键峰的分离度。除了按系统适应性要求进行评估之外，还将分析富马酸喹硫平原料药样品中的杂质，以证明三套HPLC系统所生成的定量结果之间的一致性。本研究所得的结果将证明，使用Alliance iS HPLC System可以轻松将方法迁移至现代化仪器系统。

实验

样品描述

USP方法需要使用富马酸喹硫平参比标准品和系统适应性参比标准品。使用USP富马酸喹硫平参比标准品（目录号：1592704）和稀释剂（溶液A:溶液B (86:14)）制备浓度为0.001 mg/mL的喹硫平标准溶液。系统适应性溶液由USP喹硫平系统适应性RS (USP P/N 1592715)制得，包含喹硫平、脱乙氧基喹硫平(1%~5%)、相关化合物G和相关化合物B标准品的混合物。使用稀释剂（溶液A:溶液B (86:14)）制备浓度为1 mg/mL的系统适应性溶液。

喹硫平原料药购自杭州思诺科生物医药有限公司，已过期。用溶液A制备浓度为1.0 mg/mL的样品。

液相色谱条件

液相色谱系统：	HPLC系统1、HPLC系统2、Alliance iS HPLC System
检测：	所有系统均使用UV/Vis检测
波长：	250 nm
色谱柱：	XBridge BEH C ₈ , 3.5 µm, 4.6 x 150 mm (P/N: 186003055)

柱温:	45 °C
样品温度:	10 °C
进样体积:	20 µL
流速:	1.50 mL/min
流动相A:	溶液A: 乙腈和缓冲液(75:25)
流动相B:	溶剂B: 乙腈
缓冲液:	3.1 g/L醋酸铵水溶液。每升溶液中加入2 mL 25%氨水。最终pH不低于(NLT) 9.2
密封清洗液:	水:乙腈(90:10)
清除溶剂:	水:乙腈(50:50)
清洗溶剂:	水:乙腈(50:50)

梯度

时间 (min)	流速 (mL/min)	%A	%B	曲线
初始	1.50	100.0	0.0	初始
25.00	1.50	100.0	0.0	6
60.0	1.50	29.3	70.7	6
60.1	1.50	100.0	0.0	6
70.0	1.50	100.0	0.0	6

结果与讨论

将现代化HPLC系统引入受法规监管的实验室时，必须确保旧HPLC系统的数据和结果可以在新的现代化HPLC系统上成功重现。Alliance iS HPLC System的许多仪器特性都与传统HPLC系统类似，例如四元溶剂管理器、流通针式(FTN)样品管理器和TUV检测器，而且可用性和设计都有所改进。得益于这些特性，该系统可以获得与传统系统相当的定量结果，系统适应性结果也与这些系统不相上下甚至更加出色。在本应用纪要中，我们将在Alliance iS HPLC System和两套传统HPLC系统上运行富马酸喹硫平杂质的USP各论方法（一种梯度方法），并比较所得结果。为评估方法迁移是否成功，我们将按系统适应性要求进行评估。此外，还将分析和定量原料药中的有机杂质。所有结果和分析均遵循USP方法标准，基于6次重复进样的结果。

喹硫平标准品的系统适应性：进样精密度和重复性

系统适应性要求是每种USP方法的重要组成部分，旨在确保LC系统适合运行USP方法。USP富马酸喹硫平杂质分析方法的系统适应性要求包括针对富马酸喹硫平标准溶液的两条标准：峰面积和保留时间的相对标准差(%RSD)不超过(NMT) 5.0%。三套HPLC系统的峰面积和保留时间均完全符合%RSD要求（表1）。

进样精密度是衡量HPLC系统性能的一项重要指标。系统适应性要求描述的是系统性能，峰面积%RSD则描述了规定方法条件下进样机制的精密度。三套HPLC系统均得到了良好的%RSD值，符合不超过5%的要求，不过其中Alliance iS HPLC System的结果最优。Alliance iS HPLC System采用经过重新设计的进样机制，包括一个高压样品计量装置。这使得系统的峰面积RSD可低至0.085%。根据系统适应性要求评估Alliance iS HPLC System获得的峰面积%RSD，结果表明，由于配备了新设计的样品计量装置，该系统的进样精密度值优于其他两套HPLC系统（图1）。

此外，标准溶液的系统适应性要求还包括保留时间(RT)的%RSD和拖尾因子。根据RT的%RSD评估三套HPLC系统的重复性，结果显示这三套系统都表现出良好的重复性（表1）。三套HPLC系统的拖尾因子都很出色，完全符合不低于(NLT) 2.0的系统适应性要求（表1）。

标准	HPLC系统1	HPLC系统2	Alliance iS HPLC System	USP 要求
峰面积%RSD	0.131	0.337	0.085	NMT 5.0
保留时间%RSD	0.018	0.220	0.014	NMT 5.0
拖尾因子	0.997	1.010	0.973	NMT 2.0

表1.根据系统适应性要求评估HPLC系统1、HPLC系统2和Alliance iS HPLC System的峰面积%RSD、保留时间%RSD和拖尾因子所得的结果。三套系统均满足系统适应性要求

。

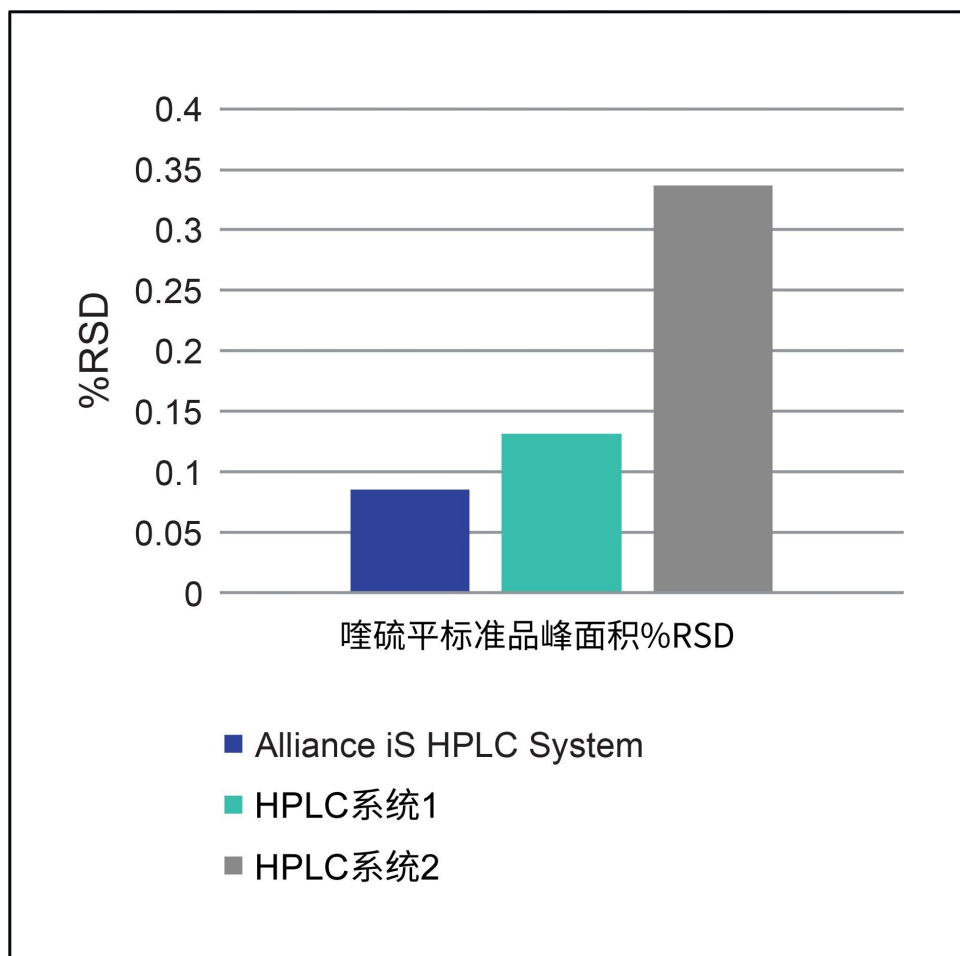


图1.在HPLC系统1、HPLC系统2和Alliance iS HPLC System上分析富马酸喹硫平有机杂质标准品(1 µg/mL)所得的结果。Alliance iS HPLC System在该应用中表现出更高的精密程度。

USP系统适应性要求中的分离度计算方法修订

最近《USP通则<621>色谱法》的修订对分离度计算方法有一定影响³。修订后的<621>要求在峰半高处计算两个峰的分离度，而之前的计算方法基于峰的切线宽度⁴。我们分别采用修订后和修订前的计算方法计算了富马酸喹硫平杂质方法中两对关键化合物的分离度（表2）。根据收集到的数据，对于所有HPLC系统，两种方法得到的计算结果都非常相近，因此分离度计算方法的变化对系统适应性结果没有显著影响。分离度1是脱乙氧基喹硫平（峰3）和喹硫平（API，峰4）这对关键分析物的分离度。分离度2是相关化合物G（峰1）和相关化合物B（峰2）这对

关键分析物的分离度。比较三套HPLC系统的分离度1和分离度2可知，Alliance iS HPLC System的分离度最高（图2）。

系统	分离度1 (50%峰高/半峰高)	分离度1 (切线峰宽)	分离度2 (50%峰高/半峰高)	分离度2 (切线峰宽)
HPLC系统1	7.7	7.6	13.3	13.1
HPLC系统2	7.8	7.7	13.8	13.6
Alliance iS HPLC System	8.0	7.9	14.8	14.5
USP要求	NLT 4.0	NLT 4.0	NLT 3.0	NLT 3.0

表2.使用新旧USP计算方法得到的三套HPLC系统的分离度结果。分离度1是脱乙氧基喹硫平与喹硫平之间的分离度。分离度2是化合物B与化合物G之间的分离度。

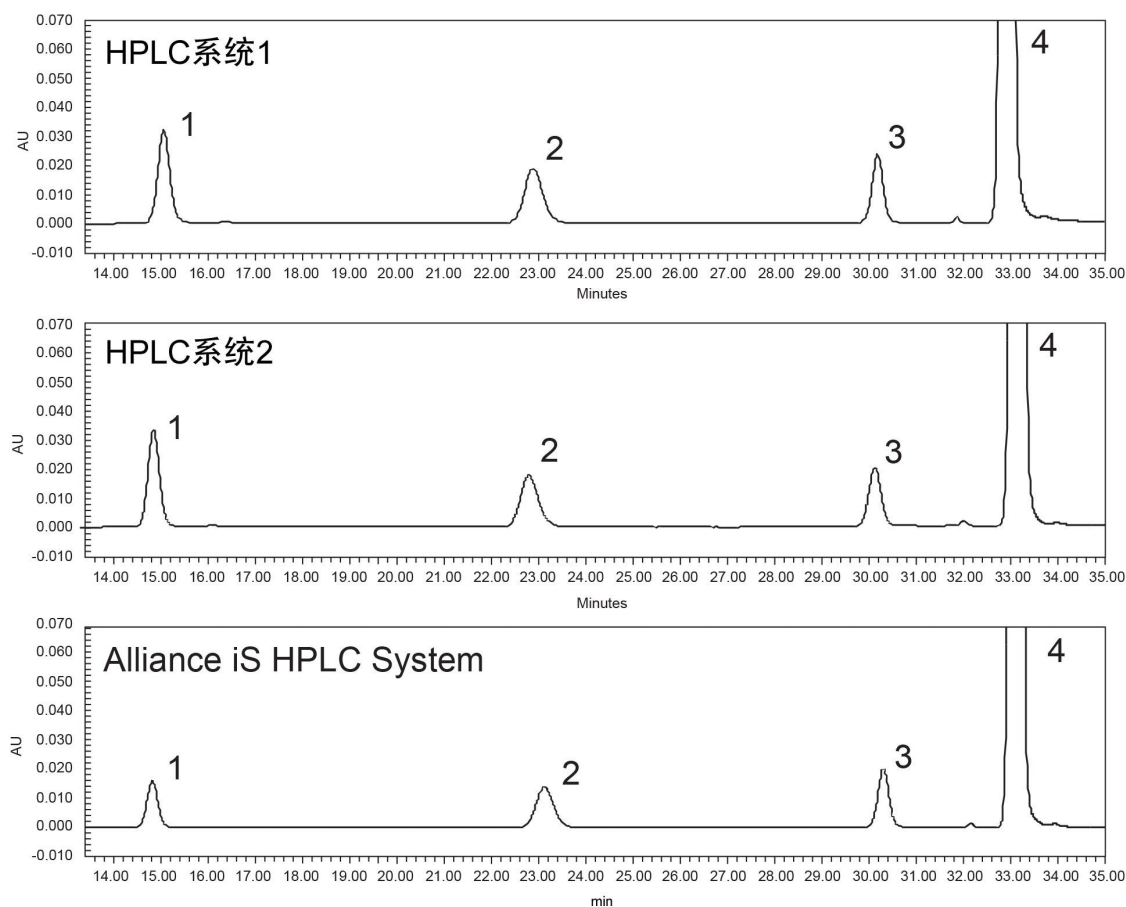


图2.HPLC系统1（上图）、HPLC系统2（中图）和Alliance iS HPLC System（下图）得到的系统适应性溶液色谱结果。峰鉴定结果：峰1为喹硫平为相关化合物G，峰2为喹硫平为相关化合物B，峰3为脱乙氧基喹硫平，峰4为喹硫平。

原料药定量结果

将方法从一套系统迁移至另一套系统时，一个很重要方面是确认所有系统都能获得相同的定量结果。富马酸喹硫平杂质的USP各论方法还用于测定原料药中杂质的相对含量。因此，在所有系统上运行该方法都必须获得一致的定量数据。我们在三套HPLC系统上检测了富马酸喹硫平原料药。三套HPLC系统上的每一次分析都单独进行样品前处理（图3）。在HPLC系统1、HPLC系统2和Alliance iS HPLC System上分析原料药得到的定量数据相近，偏差都在0.01%以内（表3）。

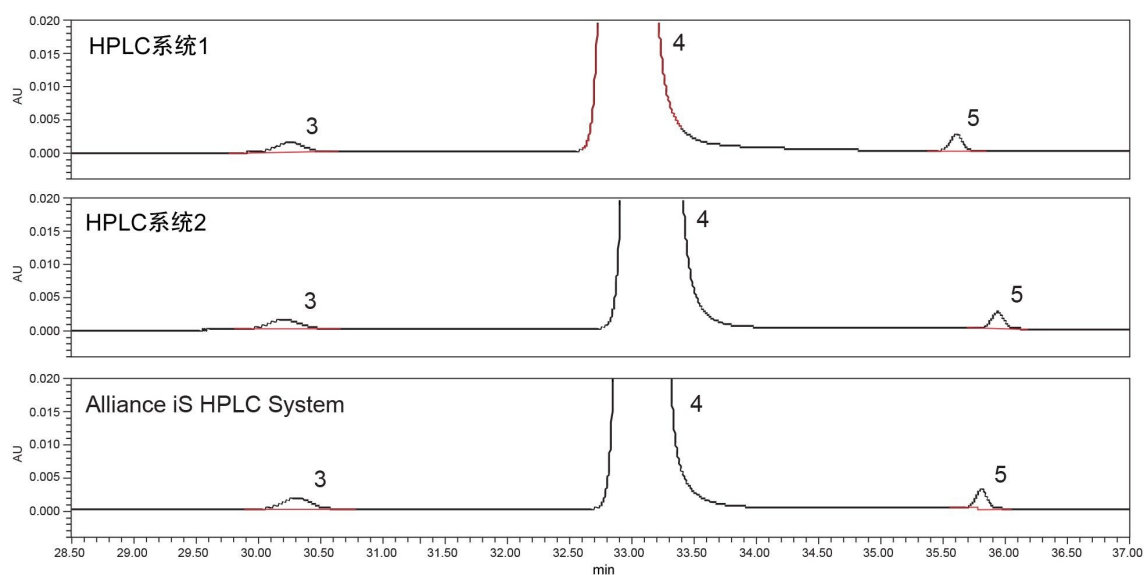


图3.在HPLC系统1（上图）、HPLC系统2（中图）和Alliance iS HPLC System（下图）上分析样品溶液得到的色谱结果。各系统所有定量结果的偏差都在0.01%以内。峰鉴定结果：峰3为脱乙氧基喹硫平，峰4为喹硫平，峰5为未知杂质。

	HPLC系统1	HPLC系统2	Alliance iS HPLC System	USP要求
脱乙氧基喹硫平(%)	0.10	0.11	0.10	NMT 0.15
未知杂质(%)	0.07	0.07	0.07	NMT 0.15
总杂质(%)	0.17	0.18	0.17	NMT 0.50

表3.在HPLC系统1、HPLC系统2和Alliance iS HPLC System上分析原料药得到的定量结果。

结论

为了保证既有的HPLC方法能获得一致、可重现的结果，方法迁移对于受法规监管的实验室而言至关重要。在本应用纪要中，我们在三套HPLC系统上运行了富马酸喹硫平杂质的USP分析方法，包括两套传统HPLC系统和一套全新Alliance iS HPLC System。这三套HPLC系统都轻松满足系统适应性要求，且Alliance iS HPLC System上的进

样精密度和两个关键分析物对的分离度更加出色。在所有系统上获得得相同的定量结果是成功迁移方法的一项关键要求。在本研究中，三套HPLC系统对富马酸喹硫平原料药的定量分析结果相差无几。以上数据表明，受监管的实验室完全可以将既有HPLC方法迁移至Alliance iS HPLC System。

参考资料

1. Stephanie Harden and Phil Nethercote. Error Mitigation in Pharmaceutical Quality Assurance and Control. *Innovations in Pharmaceutical Technology*. 13 Dec 2022.
2. GUID-DBEED03E-7C75-4167-BD21-4E30BA2EFF2B_2_en-US (Quet Imp. Method).
3. GUID-6C3DF8B8-D12E-4253-A0E7-6855670CDB7B_6_en-US (USP 621 current).
4. GUID-6C3DF8B8-D12E-4253-A0E7-6855670CDB7B_1_en-US (USP 621 old version).

特色产品

Alliance iS HPLC System <<https://www.waters.com/534293>>

ACQUITY UPLC可变波长紫外检测器 <<https://www.waters.com/514228>>

Empower色谱数据系统 <<https://www.waters.com/10190669>>

720007944ZH, 2023年7月



© 2023 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私](#) [商标](#) [招聘](#) [危险化学品生产经营许可证](#) [Cookie](#) [Cookie设置](#)

沪ICP备06003546号-2 京公网安备 31011502007476号