

将布洛芬含量测定和有机杂质分析的USP方法迁移至Alliance™ iS HPLC System

Corey E. Reed, Paula Hong

Waters Corporation

摘要

方法迁移，或将方法从一套高效液相色谱(HPLC)系统转移到另一套系统，是许多受管制实验室的常规做法，这类实验室的一间实验室中可能有各种来自不同供应商和不同型号的HPLC系统。然而，跨系统转移方法可能具有挑战性，因为仪器设计之间的差异可能会导致色谱变化，进而影响关键结果。或者，不熟悉系统的正确设置或操作也会导致结果不佳，最终用户可能更难识别。Alliance iS HPLC System旨在通过提高可用性，限制分析人员出错并改善系统可靠性，同时保持色谱和定量性能，使方法迁移更加直接。本研究在两套传统HPLC系统上复制了美国药典(USP)中关于布洛芬和相关杂质分析的各论方法，随后迁移到Alliance iS HPLC System上。分析并比较了所得结果，三套系统的结果相当，并且都满足USP系统适应性要求。

优势

- 能够将USP各论方法迁移到Alliance iS HPLC System，并满足系统适应性要求
- 一致且可靠的定量结果
- 减少用户错误

简介

方法迁移，或在两套不同的LC系统之间转移方法，是任何受管制实验室的重要事项。由于系统可用性和/或利用了系统改进，通常需要对分析设备进行现代化改造。系统差异会导致色谱变化，从而影响关键结果。此外，不熟悉系统可能会导致系统设置和/或操作不当。

在本研究中，我们使用有关布洛芬和相关有机杂质测定的等度美国药典(USP)各论方法来评估HPLC系统之间的方法迁移。研究将评估系统适应性标准，包括峰面积%RSD、保留时间%RSD、USP拖尾、信噪比(s/n)和USP分离度。分析在两套传统HPLC系统和一套现代HPLC (Alliance iS HPLC System)上进行（图1）。所得结果证明，能够将方法迁移到较新的LC系统，实现了实验室HPLC系统的现代化。



图1. Alliance iS HPLC System

实验

所有样品均按照USP 41-NF 36制备：

含量测定

- 标准溶液为含有10.0 mg/mL布洛芬 (P/N I4883-5G, Sigma-Aldrich) 的流动相溶液。

有机杂质

- 灵敏度溶液为含有0.005 mg/mL布洛芬的流动相溶液。
- 标准溶液为含有0.2 mg/mL布洛芬、0.01 mg/mL布洛芬相关化合物J (RCJ) (P/N: PHR1978-50MG, MilliporeSigma) 和0.01 mg/mL布洛芬相关化合物C (RCC) (P/N: PHR1146-500MG, MilliporeSigma) 的流动相溶液。
- 系统适应性溶液为含有10.0 mg/mL布洛芬、0.01 mg/mL布洛芬相关化合物J (RCJ) (P/N: PHR1978-50MG, MilliporeSigma) 和0.01 mg/mL布洛芬相关化合物C (RCC) (P/N: PHR1146-500MG, MilliporeSigma) 的流动相溶液。

样品

- 含有标示浓度10.0 mg/mL布洛芬的流动相溶液。从药房购买的仿制药布洛芬片，在过期后进行分析。

液相色谱条件

液相色谱系统:

- 1.传统系统1
- 2.传统系统2
3. Alliance iS HPLC System

检测:

- 1.2489紫外/可见光检测器, 波长254 nm, 采集速率2点/秒
- 2.二极管阵列检测器(DAD), 波长254 nm, 采集速率2.5 Hz
- 3.双波长UV检测器, 波长254 nm, 采集速率2点/秒

样品瓶:

TruView pH控制LCMS认证样品瓶,
P/N: 186005666CV

色谱柱:

XBridge C₁₈, 250 x 4.6 mm, 5

	μm (P/N: 186003117)
柱温:	25.0 °C
样品温度:	15.0 °C
进样体积:	10.0 μL
流速:	2.0 mL/min
流动相:	4 g/L氯乙酸 (P/N: C19627, MilliporeSigma) 的40:60 Milli-Q水:乙腈(ACN)溶液, pH 3.0
方法:	等度方法, 10分钟。

数据管理

色谱软件:	Empower™ 3 FR 4
-------	-----------------

结果与讨论

从传统HPLC系统迁移含量测定和有机杂质分析方法

由于市面上的HPLC系统种类繁多, 实验室多年来购买的系统通常来自不同的制造商。将现代HPLC系统引入实验室后, 需要确保经验证的方法提供的结果与在传统系统上获得的结果相当。本研究通过布洛芬含量测定和有机杂质分析的各论方法来评估两套传统HPLC系统和一套Alliance iS HPLC System的系统性能。

每套系统上的分析都使用独立的流动相和样品前处理运行。遵循各论方法, 并且始终使用相同的色谱柱, 以减少非仪器相关的变异性。含量测定和有机杂质分析方法都使用相同的流动相和色谱柱, 但每种方法指定的样品不同

。

使用传统方法计算系统适应性，包括从灵敏度溶液进样内的基线区段计算s/n，含量测定和有机杂质分析的结果分别见表1和表2。含量测定需要五次重复进样布洛芬标准品，所有系统均符合系统适应性标准，所有值均远低于相关规定（表1）。在每套系统上，完成含量测定样品组的分析后，立即进样有机杂质分析样品组，分别是（按顺序）灵敏度溶液、系统适应性标准品和标准品。有机杂质系统适应性溶液在每套系统上的代表性色谱图见图2。三套系统均表现良好，满足USP对有机杂质分析的所有要求（表2）。两种标准品在Alliance iS HPLC System上的峰面积和保留时间标准偏差均最低，有机杂质标准品还展示了出色的分离度和s/n。Alliance iS HPLC System的重复性如图3所示，通过六次重复进样有机杂质标准溶液得到该图。

表1

USP布洛芬片含量测定				
标准	USP规定	系统		
		传统系统1	传统系统2	Alliance iS HPLC System
标准峰面积%RSD	NMT 2.0%	0.1%	0.1%	0.1%
标准保留时间%RSD	NMT 2.0%	0.0%	0.1%	0.0%
标准拖尾因子	NMT 2.5	1.5%	1.7%	1.8%
样品中的布洛芬含量%	标示量的90.0-110.0%	99.2%	104.6%	103.6%

表2

USP布洛芬片有机杂质系统适用性				
标准	USP规定	系统		
		传统系统1	传统系统2	Alliance iS HPLC System
布洛芬峰面积RSD	NMT 6.0%	3.3%	0.6%	0.4%
RC J峰面积RSD	NMT 6.0%	0.1%	0.3%	0.1%
RC C峰面积RSD	NMT 6.0%	0.3%	0.1%	0.1%
布洛芬保留时间RSD	NMT 6.0%	0.0%	0.1%	0.0%
RC J保留时间RSD	NMT 6.0%	0.0%	0.1%	0.0%
RC C保留时间RSD	NMT 6.0%	0.0%	0.1%	0.0%
系统适用性溶液				
分离度(HH): RC J - 布洛芬	NLT 2.5	13.5	13.8	15.5
分离度(HH): 布洛芬 - RC C	NLT 2.5	8.2	8.1	8.7
灵敏度溶液				
信噪比	NLT 10	12	52	79
样品				
% RC J	NMT 0.2%	0.0%	0.0%	0.0%
% RC C	NMT 0.25%	0.00%	0.00%	0.00%
%未指定杂质1	NMT 0.2%	0.1%	0.1%	0.1%
%未指定杂质2	NMT 0.2%	0.7%	1.0%	1.1%
%未指定杂质总量	NMT 1.5%	0.8%	1.1%	1.2%

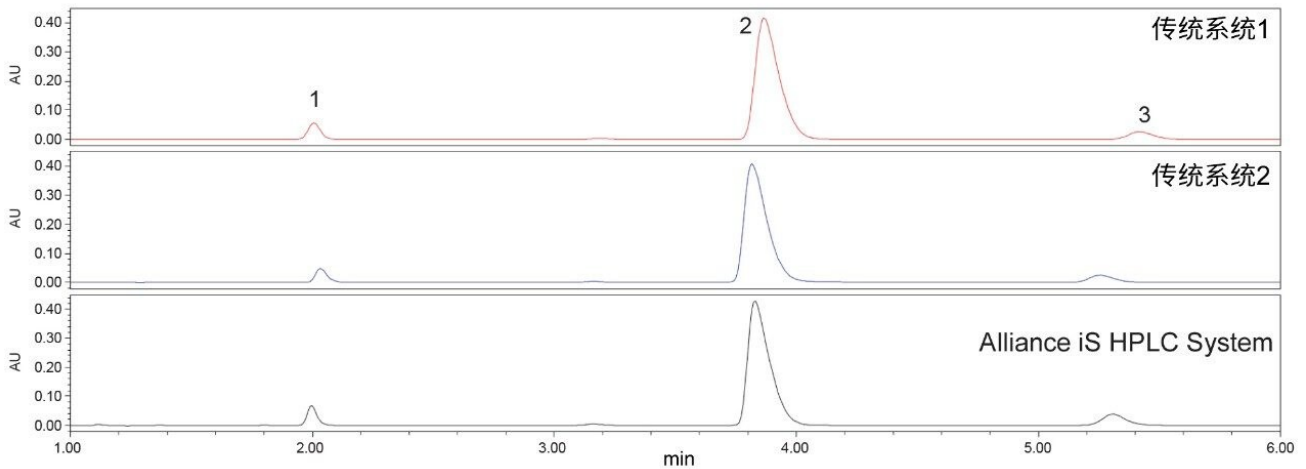


图2：有机杂质系统适应性溶液在每套系统上的代表性色谱图。峰1 = 相关化合物J。峰2 = 布洛芬。峰3 = 相关化合物C。

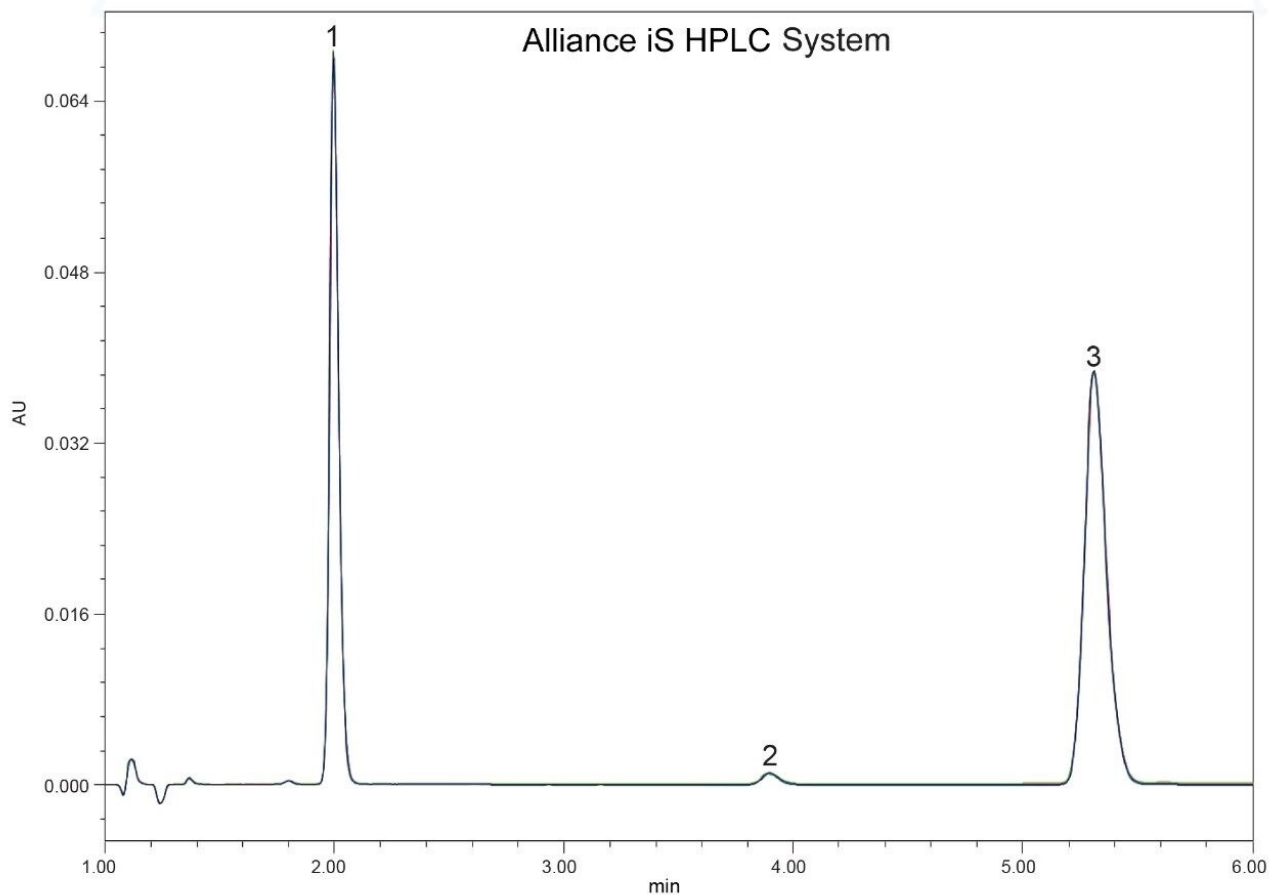


图3：有机杂质标准溶液在Alliance iS HPLC System上的叠加色谱图。N=6。峰1 = 相关化合物J。峰2 = 布洛芬。峰3 = 相关化合物C。

更新分离度和信噪比的系统适应性计算

621最近的更新涉及USP分离度和USP s/n的计算¹。USP分离度的报告之前与基线有关，现在更新为在半高处测量。这两个值均由部署了系统适应性功能的Empower报告。如表2所示，报告半高处的USP分离度不会影响满足系统适应性标准的能力。

除USP分离度更新外，s/n的测定也进行了更改。过去，s/n可以使用色谱图中的空白进样或稳定基线来计算²。对于基线充分稳定的等度方法，使用色谱图中的稳定基线部分可简化处理。最近的更新建议使用空白进样和20倍或5倍半高峰宽的噪音，以目标峰为中心（图4）。鉴于此指南，使用三种方法在三套系统上计算了有机杂质灵敏度样品的s/n（表3）。在传统系统1和Alliance iS HPLC System上，所有测定方法都满足s/n标准，使用20倍半高峰

宽观察到最低s/n。在传统系统2上，使用20倍峰宽时的s/n不满足NLT 10的系统适应性标准，表明更改过去的USP计算存在挑战。值得注意的是，Alliance iS HPLC System在20倍测量时s/n最高，表明与传统系统相比，整个色谱图中的基线稳定性更高。

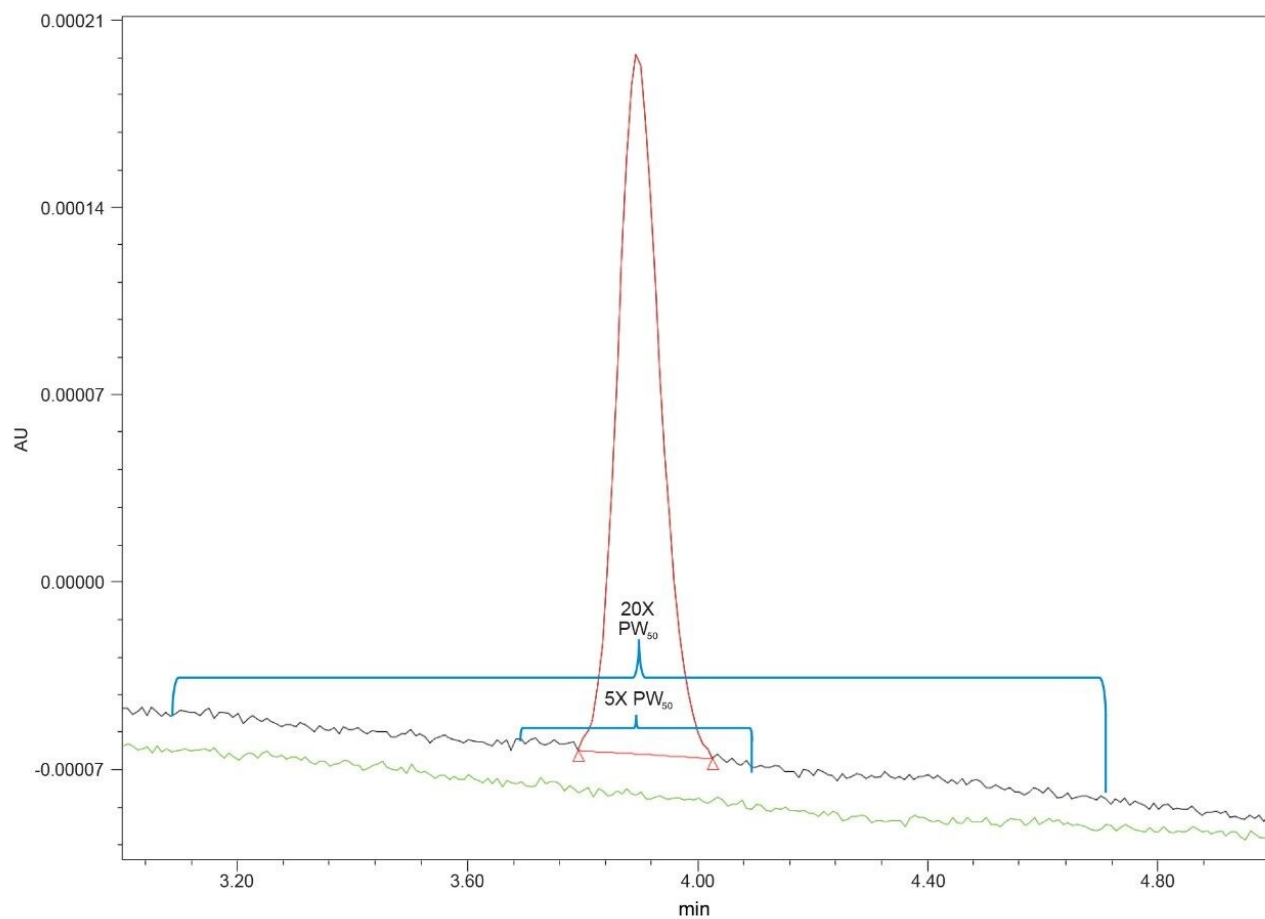


图4: Alliance iS HPLC System上灵敏度溶液和空白进样的叠加色谱图。PW₅₀ = 半高峰宽。

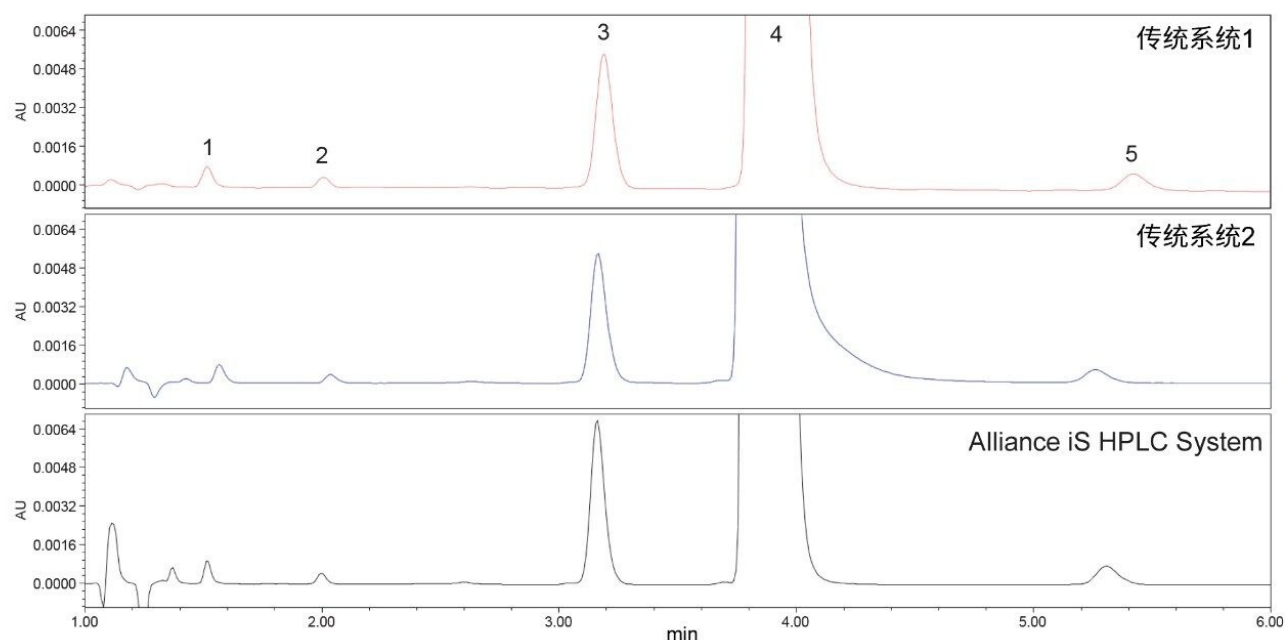


图5：在分析的有机杂质部分运行并用于已知和未知杂质测量的样品溶液的叠加色谱图。色谱图取自2次进样中的第2次。峰1 = 未知物1。峰2 = 相关化合物J。峰3 = 未知物2。峰4 = 布洛芬。峰5 = 相关化合物C。

表3

		USP信噪比		
方法	USP要求	系统		
		传统系统1	传统系统2	Alliance iS HPLC System
进样内	NLT 10	12	52	79
5X PW ₅₀ (空白)		21	94	84
20X PW ₅₀ (空白)		7	28	39

样品中有机杂质的定量

在三套系统上定量分析仿制药布洛芬片样品，以证明能够迁移方法并获得类似的定量结果。布洛芬片的USP各论方法旨在监测布洛芬片中活性成分的百分比，确保其在标示量的90.0%~110.0%的可接受范围内，同时监测溶液中的降解产物³。必须监测并报告降解产物的浓度，忽略任何小于样品总峰面积0.05%的峰。在受管制的环境中执

行方法迁移时，必须确保这些降解产物的含量在不同系统中保持一致，因为报告量增加可能导致批次失败。图5显示了在每套系统上运行的布洛芬片样品的代表性色谱图，表2报告了溶液中每个峰的浓度。三个已知峰（布洛芬、相关化合物J和相关化合物C）以及未知峰（未指定的降解产物）的浓度在不同系统中是一致的。

结论

由于系统可用性或实验室现代化，通常需要在HPLC系统之间移动既定方法。本研究在两套传统HPLC系统和Alliance iS HPLC System上运行了一种经过充分测试的布洛芬和有机杂质USP分析方法。Alliance iS HPLC System满足所有系统适应性标准，包括信噪比，并且在布洛芬片仿制药的纯度测定和杂质定量方面，提供了与两套传统系统相当的定量分析结果。这些结果表明，Alliance iS HPLC System允许从传统仪器轻松进行方法迁移，同时还实现了高性能和实验室现代化。

参考资料

1. GUID-6C3DF8B8-D12E-4253-A0E7-6855670CDB7B_6_en-US; 美国药典, 2022.
2. GUID-6C3DF8B8-D12E-4253-A0E7-6855670CDB7B_1_en-US; 美国药典, 2017.
3. GUID-B108D32E-F28B-41A3-84C7-62D1C4F37646_1_en-US; 美国药典, 2016.

特色产品

[Alliance iS HPLC System </nextgen/cn/zh/products/chromatography/chromatography-systems/alliance-is-hplc-system.html>](#)

[2489紫外可见光\(UV/Vis\)检测器 <https://www.waters.com/515198>](https://www.waters.com/515198)

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

720007866ZH, 2023年2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](#)