

利用表面带电杂化颗粒技术改善复方药品的峰形

Kenneth D. Berthelette, Christopher Collins, Jamie Kalwood, Kim Haynes

Waters Corporation

摘要

固定剂量复合剂(FDC)包括多种非处方药和处方药。最常见的FDC是感冒药和止咳药，这些药物中含有多达四种活性药物成分(API)。这些药品在开发和分析过程中面临着多项挑战，包括制剂中API的浓度不同，导致某个分析峰过载或信号较高，而低剂量分子则几乎检测不到。因此需要使用多种LC方法来准确分析所有组分，避免出现峰过载问题。如果能够减轻高剂量分析物的过载情况，并改善峰形，就可以开发出用于检测所有API的单一方法，从而节省时间和费用。改善高浓度分析物的峰形可以通过多种方式实现。

在本应用纪要中，我们为处方药Contrave（不同剂量纳曲酮与安非他酮的组合）中的API开发了一种分析方法。Contrave是一种用于管理慢性肥胖的FDC，自2014年开始在美国和其他国家/地区获批上市。本文展示了两种改善安非他酮（高浓度API）峰形的不同方法，包括使用替代流动相添加剂和不同的固定相。

优势

- 为FDC药品Contrave开发单一的分析方法
- 使用表面带电杂化(CSH™)颗粒改善高剂量安非他酮的峰形
- 所开发的方法在两种API中均表现出良好的线性

简介

有多种药品以固定剂量复合剂(FDC)产品的形式在非处方药市场上销售。FDC的例子包括止咳糖浆、某些抗过敏药物以及复合维生素。FDC的设计初衷是通过整合多种活性成分，为特定用途提供综合疗效。例如，在止咳糖浆中，其中一种成分可能用作减充血剂，另一种用于退烧，还有一种则充当祛痰药。从消费者的角度来看，FDC的优势在于只需服用一颗胶囊或一剂药品。然而，从分析科学的角度来看，FDC的分析却面临诸多挑战。在FDC中，一种或多种API的浓度可能远高于其他成分，这种情况并不少见。这是由于各API的相对“强度”以及达到预期药效所需的剂量不同所导致的。在分析中，不同浓度的分析物会带来定量上的挑战，因为尝试分析浓度较低的峰可能会导致高剂量API过载。同时，如果在某些条件下分析较高剂量的API，则较低剂量的API可能在LC-UV分析中无法检出。

药物Contrave就是受此问题影响的产品之一，它是一种复方制剂，由用于管理酒精和阿片类药物依赖的药物（纳曲酮）与非典型抗抑郁药（安非他酮）组合而成。这两种药物都可以单独购买，但研究表明，将它们结合使用可以抑制食欲；在配合节食和运动时，有助于减轻体重¹⁻³。纳曲酮与安非他酮的缓释组合制剂于2014年在美国获批，随后分别于2015年和2018年在欧盟和加拿大获批。所列Contrave的剂量为每片缓释片中含8 mg纳曲酮和90 mg安非他酮。两种API之间的浓度差异为82 mg，安非他酮的浓度是纳曲酮的10倍，这可能导致两种分析物的LC-UV信号产生巨大差异。此外，这两种化合物都含有碱性基团，这种制剂的分析可能面临一些实际挑战。本应用纪要探讨了一种含有与缓释片中相同比例纳曲酮和安非他酮的纯标准品的分析方法，以模拟片剂稀释后的分析过程。本研究中将考察安非他酮的峰形改善，并展示包括线性测试在内的最终方法。使用配备ACQUITY™ Premier CSH苯己基柱的ACQUITY UPLC™ H-Class Plus系统分析该制剂，为这一制剂开发了一种单一分析方法，两种API均获得了良好的线性关系和可接受的峰形。

实验

样品描述

配制两种浓度为1 mg/mL的纳曲酮和安非他酮储备水溶液然后以水作为样品稀释剂，将两种储备液混合，得到包含80 µg/mL纳曲酮和900 µg/mL安非他酮的最终工作样品。这一配比为11.25:1（安非他酮:纳曲酮），与缓释片的浓度比一致。

液相色谱条件

| | |
|---------|--|
| 液相色谱系统: | ACQUITY UPLC H-Class Plus系统, 配备四元溶剂管理器(QSM)和可选的溶剂选择阀、流通针式样品管理器(SM-FTN)、色谱柱管理器、两台辅助色谱柱管理器和QDa™质谱检测器 |
| 检测: | UV 254 nm |
| 色谱柱: | ACQUITY Premier BEH™ C ₁₈ , 2.1 × 50 mm, 1.7 μm (P/N: 186009452) ACQUITY Premier CSH苯己基, 2.1 × 50 mm, 1.7 μm (P/N: 186009474) ACQUITY Premier CSH C ₁₈ , 2.1 × 50 mm, 1.7 μm (P/N: 186009460) CORTECS™ UPLC C ₁₈ +, 2.1 × 50 mm, 1.7 μm (P/N: 186007114) |
| 柱温: | 30 °C |
| 样品温度: | 10 °C |
| 进样体积: | 1.0 μL |
| 流速: | 0.50 mL/min |
| 流动相A: | Milli-Q水 |
| 流动相B: | 乙腈 |

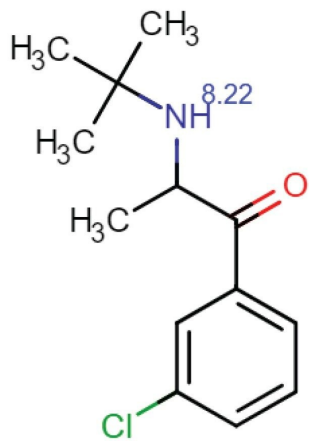
| | |
|---------|--|
| 流动相C: | 甲醇 |
| 流动相D1: | 2%甲酸的水溶液 |
| 筛选梯度条件: | 流动相Dx在整个梯度中保持5%不变。流动相B/C在6.86 min内以线性梯度从5%增加到95%，保持1.14分钟，恢复到5%并保持2.3分钟。总运行时间：10.30分钟。优化梯度条件见图片说明。 |

数据管理

| | |
|-------|------------------------------|
| 色谱软件: | Empower™ 3 Feature Release 4 |
|-------|------------------------------|

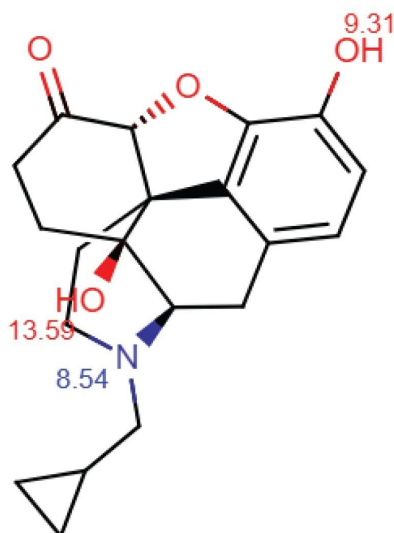
结果与讨论

分析固定剂量复合剂(FDC)时，通常会发现一种活性药物成分(API)的浓度远高于另一种。这是因为，为了达到预期的药效，不同API所需的剂量各不相同。对于试图在单次运行中同时定量两种化合物的分析科学家而言，这种浓度差异可能会导致较高剂量的化合物过饱和，或者无法检出较低剂量的化合物。在减肥药Contrave中，存在两种API，如图1所示。安非他酮的含量为90 mg，纳曲酮的含量仅为8 mg，安非他酮:纳曲酮的浓度比为11.25:1。除了浓度差异，这两种API均含有碱性官能团，而碱性官能团与基质颗粒之间会发生次级相互作用，在分析中引发峰拖尾问题。这种现象在使用低离子强度流动相（如甲酸）的低pH条件下尤为明显。



安非他酮

LogP: 3.266



纳曲酮

LogP: 1.175

图1. *Contrave* 减肥药中活性成分安非他酮和纳曲酮的化学结构、*pKa*值和Log*P*值。

使用硅胶基质固定相在低pH条件下分析碱性化合物时，带电的碱性官能团可能会与颗粒表面的硅醇残基相互作用，导致峰形畸变。这种畸变在高浓度下会更加明显，因为色谱柱上的峰会因样品过载而使峰形进一步变差⁴⁻⁶。图2展示了在低pH条件下，使用ACQUITY Premier BEH C₁₈色谱柱和甲酸改性的流动相分析安非他酮和纳曲酮得到的色谱图。

安非他酮峰(2)表现出较差的峰形，呈现出“鲨鱼鳍”的特征，这不仅表明样品过载，还提示了API的碱性官能团与基质颗粒上的硅醇基之间发生了次级相互作用。纳曲酮(1)的峰形也表现出轻微的峰不对称，这可能是由分析物与基质颗粒之间的次级相互作用造成的，而不是因为过载引起的。在这两种情况下，虽然两种分析物之间的分离效果较好，但改善其峰形将有助于提高积分质量，从而改善定量结果。

解决峰形问题的方法之一是减少柱上载样量，这样能减少样品过载现象，并改善峰形。然而，对于FDC而言，降低载样量也会对低剂量API产生影响，可能导致无法检测到峰。因此，对于FDC，减少载样量并不总是可行的方式。另一种分析方法是采用高pH流动相和杂化颗粒色谱柱（例如ACQUITY Premier BEH C₁₈色谱柱），如图3所示。

在高pH条件下，分析物的碱性官能团呈中性，不会与基质颗粒发生次级相互作用，同时还提高了固定相的载样量。在本示例中，安非他酮在高pH条件下的峰形比低pH条件下更加对称。虽然改变pH可以缓解这个问题，但根据所使用的方法或化合物的稳定性，这种调整可能并不总是适用。

另一种改善安非他酮峰形的方法是使用带电基质颗粒，该颗粒经过精心设计，通过在颗粒表面引入少量电荷来减少分析物与硅醇基之间的次级相互作用，从而使带电荷的碱性分析物被基质颗粒排斥，得到更尖锐、更对称的峰形⁷⁻⁸。CORTECS C₁₈+色谱柱以及整个CSH色谱柱系列在设计时均采用了带电基质颗粒设计，解决了碱性分析物在低pH条件下峰形不佳的问题。CORTECS C₁₈+色谱柱采用实心核硅胶颗粒，与全多孔颗粒相比其柱效更高⁹⁻¹¹。这种颗粒在制造过程中引入了少量正电荷，然后与全覆盖C₁₈键合相键合。CSH系列色谱柱（包括CSH C₁₈色谱柱、CSH苯己基柱和CSH PFP色谱柱）均基于杂化颗粒技术，不仅能够改善碱性化合物的峰形，还可以在方法开发过程中提供了高pH稳定性^{7-8, 12-14}。图4展示了四种不同色谱柱对纳曲酮和安非他酮的分析结果。

ACQUITY Premier BEH C₁₈色谱柱获得的峰形最差，考虑到初始结果，这是预期结果。两种CSH颗粒色谱柱均良好改善了安非他酮的峰形，其中CSH苯己基柱与CSH C₁₈色谱柱相比展现出更好的对称性。与BEH C₁₈色谱柱相比，CORTECS C₁₈+色谱柱略微改善了峰形，但仍未达到对称状态。在CORTECS C₁₈+色谱柱获得的峰形不佳可能是由于实心核颗粒与全多孔相相比载样量较低所致¹⁵。CSH C₁₈色谱柱和CSH苯己基柱上峰形的差异可以通过表面键合的键合相来解释。苯己基键合相增加了与基质颗粒之间的相互作用，通过排斥分析物使其更顺畅地穿过色谱柱，进一步改善了峰形。纳曲酮和安非他酮分析的最终方法条件选用了ACQUITY Premier CSH苯己基柱进行开发，因为该色谱柱在低pH条件下表现出理想的总体峰形，而相比高pH条件，低pH更适合此次分析。

经过方法优化，包括缩短运行周期和加快分析速度，我们在尽可能宽的动态范围内测试了两种化合物的线性。动态范围通过实验部分中提到的标准品的连续稀释来确定。标准曲线的绘制选择了低浓度标准品以确保能够检测到纳曲酮，同时选择高浓度标准品以避免检测器中安非他酮的峰过载。图5展示了纳曲酮和安非他酮标准曲线的叠加图。

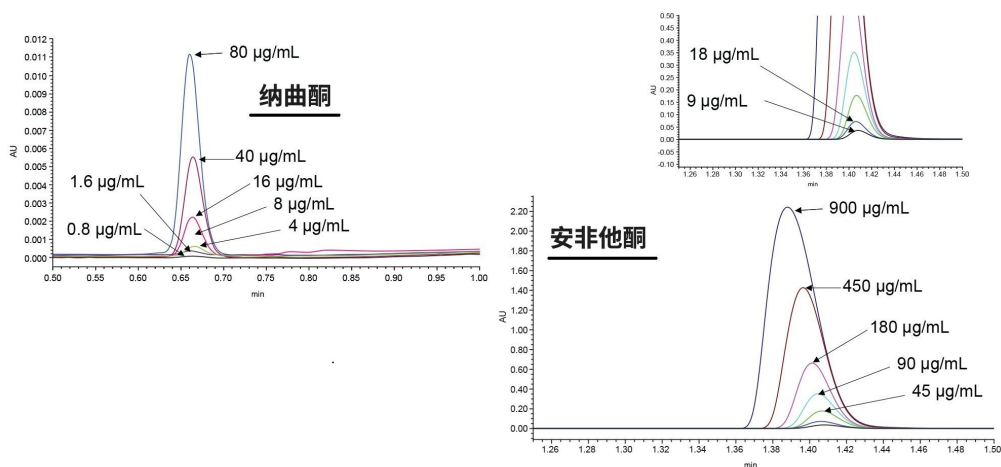


图5.纳曲酮和安非他酮标准曲线标准品的色谱图。插图为低浓度安非他酮标准品的色谱图。

纳曲酮在4~80 µg范围内可检出并定量，而1.6 µg/mL和0.8 µg/mL的浓度低于典型检测限（信噪比大于3）。安非他酮在9~900 µg/mL的范围内校准，因为高浓度标准品未显示出检测器饱和的迹象。图6展示了绘制的标准曲线，包括两种API在所动态范围内的 R^2 值。

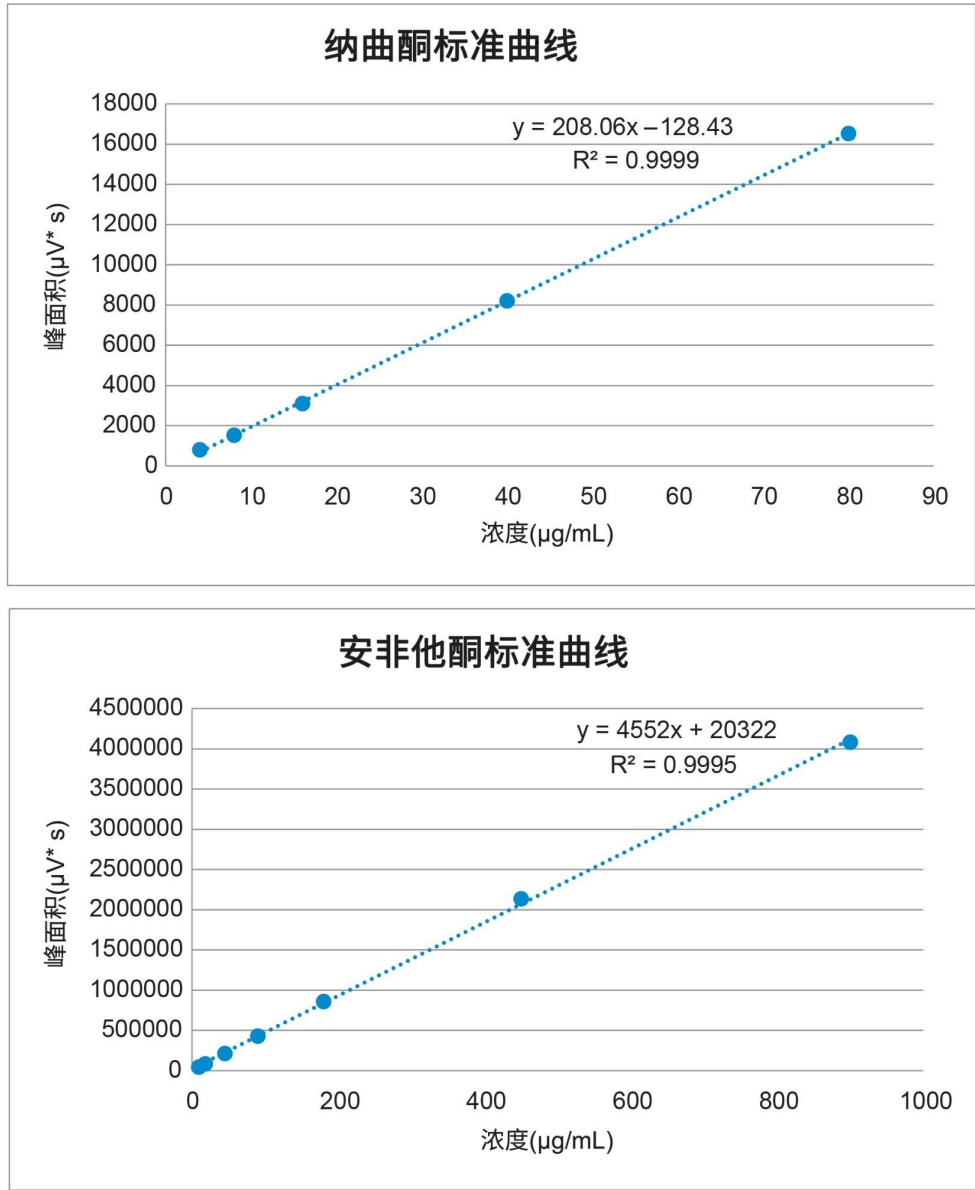


图6.分析物标准曲线。

在最终方法条件下，两种分析物均实现了良好的线性（定义为 R^2 值均大于0.999）。这种方法利用ACQUITY Premier CSH苯己基柱改善了安非他酮的峰形，现可用于批次产品放行检测或其他工作流程。如果不使用ACQUITY Premier CSH苯己基柱，对于高剂量的碱性分析物安非他酮，峰形可能会很差，可能需要使用专用流动相，甚至需要采用两种不同的分析条件来完成样品分析。本研究创建了一种方法，利用带电基质颗粒改善低pH条

件下碱性化合物的峰形，实现在单次运行中同时完成这两种化合物的分析。

结论

固定剂量复合剂(FDC)是一类常见药品，形式多样，包括片剂和糖浆。然而，由于活性药物成分(API)浓度的差异，这类药物在分析流程中常面临挑战，例如其中一种API过载，而另一些则几乎无法检出。过载峰本身也会带来问题，因为它们更难以实现可重现的积分和定量。改善过载峰的峰形可以通过多种方式来实现，包括使用高pH流动相或更换使用的固定相。这样的方法在对碱性分析物的分析中尤其适用，例如FDC药物Contrave，其中包含纳曲酮和安非他酮。对于该药品，使用带有苯己基键合相的带电基质颗粒，能够提供理想峰形，且无需使用高pH流动相。实验结果表明，ACQUITY Premier CSH苯己基柱在安非他酮的峰形表现上优于其他三种测试的色谱柱。随后，该色谱柱被用于测试纳曲酮和安非他酮分析方法的线性，结果显示线性关系良好，表明该方法现在可用于其他工作流程，例如批次产品放行检测。

参考资料

1. Contrave网站.<https://contrave.com/> <<https://contrave.com/>> Accessed 31-Jan-2024.
2. Padwal R. Contrave, a bupropion and naltrexone combination therapy for the potential treatment of obesity.*Current Opinion in Investigational Drugs*.(2009) 1117–1125.
3. Sherman M, Ungureanu S, Rey J. Newly Approved Treatment Option for Chronic Weight Management in Obese Adults.*P.T.* (2016) 164–72.
4. Common Peak Shape Distortions in HPLC and their Prevention.<https://lab-training.com/common-peak-shape-distortions-in-hplc-and-their-prevention/> <<https://lab-training.com/common-peak-shape-distortions-in-hplc-and-their-prevention/>> Accessed 31-Jan-2024.
5. Dolan J. Troubleshooting Basics, Part IV: Peak Shape Problems.*LCGC North America* (2012) 564–569.
6. Stoll D, McCalley D. But My Peaks Are Not Gaussian! Part III: Physicochemical Causes of Peak Tailing. *LCGC North America* (2021) 526-533.

7. Fountain K, Hewitson H, Iraneta P, Morrison D. Practical Applications of Charged Surface Hybrid (CSH) Technology.沃特世应用纪要.720003720ZH.2010年
8. CSH (表面带电杂化) 技术网页. <[---

特色产品](https://www.waters.com/waters/en_US/CSH-%28Charged-Surface-Hybrid%29-Technology/nav.htm?cid=134618101&locale=-#:~:text=CSH%20Technology%20provides%20exceptional%20loading,closely%20eluting%20impurities%20or%20> Accessed 31-Jan-2024.9. Berthelette K, Turner JE, Kalwood J, Haynes K. 借助采用实心核颗粒和MaxPeak Premier HPS技术的CORTECS™ Premier色谱柱提高分离效率.沃特世应用纪要.720007872ZH. 2023年10. Berthelette K, Nguyen JM, Turner JE.在Agilent 1290液相色谱系统上使用CORTECS色谱柱在保持选择性的同时提高峰容量.沃特世应用纪要.720007250ZH.2021年11. Berthelette K, Summers M, Fountain K. Improving Resolution Using CORTECS UPLC Columns.沃特世应用纪要.720004737. 2013年12. Berthelette K, Kalwood J, Turner JE, Haynes K. 使用MaxPeak Premier色谱柱和系统性筛选策略快速开发用于香料大麻素的LC方法.沃特世应用纪要.720007916ZH. 2023年13. Berthelette K, Nguyen JM, Trudeau M, Turner JE.使用XSelect CSH苯己基柱通过UHPLC-UV-MS分离和检测沙坦类原料药中的叠氮杂质.沃特世应用纪要.720007369ZH. 2021年14. Berthelette K, Nguyen JM, Turner JE.在配备UV和QDa检测器的ACQUITY Arc上使用系统性筛选策略对10种抗生素化合物进行方法开发.沃特世应用纪要.720007352ZH. 2021年15. DeStefano J, Schuster S, Lawhorn J, Kirkland J. Performance Characteristics of New Superficially Porous Particles.<i>Journal of Chromatography A.</i>(2012) 76-83.</div><div data-bbox=)

ACQUITY UPLC H-Class PLUS系统 <<https://www.waters.com/10138533>>

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

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

720008264ZH, 2024年2月



© 2025 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私策略](#) [商标](#) [招聘](#) [法律和隐私声明](#) [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](#)