

应用纪要

不同仪器之间的无缝方法转换和迁移：在Arc HPLC系统上重现阿司匹林及相关物质分析方法

Margaret Maziarz, Paul D. Rainville

Waters Corporation

摘要

为相同分析重现结果并证明具有等效性能，对于方法成功迁移至不同液相色谱系统或在实验室之间进行方法转换至关重要。本研究将阿司匹林活性药物成分(API)的相关物质分析方法无缝迁移到Arc HPLC系统，展示了等效的方法性能。Arc HPLC系统成功重现了在其他同类HPLC系统上所产生的色谱分离质量、系统适应性和相关物质分析结果。

优势

- 轻松将HPLC方法无缝迁移至Arc HPLC系统
- Arc HPLC系统具有稳定、可靠和可重现的性能
- 提升实验室效率并大幅提高分析通量

简介

经验证的分析方法通常需要在实验室之间进行转换并转移给合作伙伴（例如CRO和CMO），而这些接收方法的环境可能配备来自不同供应商的液相色谱系统。方法转移后，接收实验室需要为相同分析生成等效结果，确保符合质控以及法规指南的要求¹。此外，如果将新型现代仪器引入实验室，这些仪器也必须能够重现所有经验证方法的性能属性。

在不同液相色谱系统（尤其是不同制造商的产品）之间迁移色谱方法有一定的难度。这些仪器的系统体积通常有所差异，而这可能导致梯度方法的色谱分离效果较差或者峰畸变。相同分析采用不同仪器时，可能会产生不同的结果。

本研究介绍了阿司匹林API相关物质的HPLC分析方法到Arc HPLC系统的迁移。通过检查色谱分离、系统适应性结果和相关物质分析结果，证明了性能的等效性。研究结果表明，Arc HPLC系统成功重现了方法，获得的色谱分离和分析结果与同类液相色谱系统上获得的结果相同。

Arc HPLC系统是一种稳定、可靠且可重现的现代仪器，适用于常规检测，可重现成熟的HPLC方法²。

实验

样品描述

阿司匹林及杂质混标

用稀释剂（含0.1%甲酸的60:40水/乙腈）制备相关物质及阿司匹林API的独立储备液，浓度分别为1.0 mg/mL和5.0 mg/mL。用稀释剂将API储备液稀释至0.1 mg/mL，并添加浓度为10%的相关物质。

欧洲药典³中规定的阿司匹林及其相关物质见表1。

化合物	名称	分子式	单同位素质 量数(Da)	结构
阿司匹林API	2-乙酰氧基苯甲酸、 O-乙酰水杨酸	C ₉ H ₈ O ₄	180.04	
杂质A	对水杨酸、 4-羟基苯甲酸	C ₇ H ₆ O ₃	138.03	
杂质B	4-羟基-1,3-苯二甲酸、 4-羟基间苯二甲酸	C ₈ H ₆ O ₅	182.02	
杂质C	水杨酸、 2-羟基苯甲酸、 邻羟基苯甲酸	C ₇ H ₆ O ₃	138.03	
杂质D	乙酰水杨酰水杨酸、 2-(乙酰氧基)苯甲酸	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	300.06	
杂质E	2-((2-羟基苯甲酰基)氧基) 苯甲酸、双水杨酯	C ₁₄ H ₁₀ O ₅	258.05	
杂质F	2-乙酰氧基苯甲酸酐、 O-乙酰水杨酸酐	C ₁₈ H ₁₄ O ₇	342.07	

表1.用于方法开发的化合物列表。阿司匹林API的相关物质（杂质）。

阿司匹林药片

通过超声处理10 min，将磨碎的片剂溶于稀释剂（含0.1%甲酸的60:40水/乙腈）中，使阿司匹林的浓度达到1.6 mg/mL。萃取后，将样品测试溶液在3000 rpm下离心10 min，并用稀释剂稀释至0.5 mg/mL。临分析之前，通过0.2 μm尼龙注射器（沃特世部件号WAT200524 <<https://www.waters.com/nextgen/us/en/shop/sample-preparation--filtration/wat200524-acrodisc-syringe-filter-nylon-13-mm-02--m-aqueous-100-pk.html>>）过滤溶液。

条件

液相色谱系统：

配备DAD检测器的Agilent 1260 Infinity II液相色谱

系统

配备2998 PDA检测器、带制热/冷功能的柱温箱
(配备被动预加热器)的Alliance e2695 HPLC系
统

配备2998 PDA检测器、带制热/冷功能的柱温箱
(配备被动预加热器)的Arc HPLC系统

样品瓶:	LCMS最大回收样品瓶, 容积2 mL (部件号 600000670CV)
色谱柱:	XSelect HSS T3, 4.6 × 150 mm, 3.5 μm (部件号 186004786)
柱温:	40 °C
样品温度:	10 °C
进样体积:	15 μL
流动相:	A: 0.1%甲酸水溶液 B: 0.1%甲酸的乙腈溶液
清洗溶剂:	灌注/样品清洗: 60:40水/乙腈 密封件清洗液: 90:10水/乙腈
检测器设置:	PDA: 210-400 nm (提取237 nm下的谱图)

梯度

时间 (min)	流速 (mL/min)	%A	%B	曲线
初始	1.8	95.0	5.0	6
0.10	1.8	95.0	5.0	6
7.60	1.8	5.0	95.0	6
9.20	1.8	5.0	95.0	6
9.30	1.8	95.0	5.0	6
13.00	1.8	95.0	5.0	6

软件

色谱数据软件(CDS):

Empower 3 FR4 SR2

结果与讨论

基于先前开发的方法，在兼容MS的条件下分析阿司匹林及其相关物质⁴。使用方法转换计算器⁵将该方法缩放至使用粒径3.5 μm 的色谱柱，并且在Agilent 1260 Infinity II、Alliance e2695和Arc HPLC系统上运行。ACQUITY Arc系统所得的色谱分离结果与Agilent和Alliance HPLC系统得到的结果相当（图1）。Arc HPLC系统使所有分析物之间的USP分离度 ≥ 5.8 ，峰拖尾因子为1.1-1.2，保留因子 ≥ 2.0 。

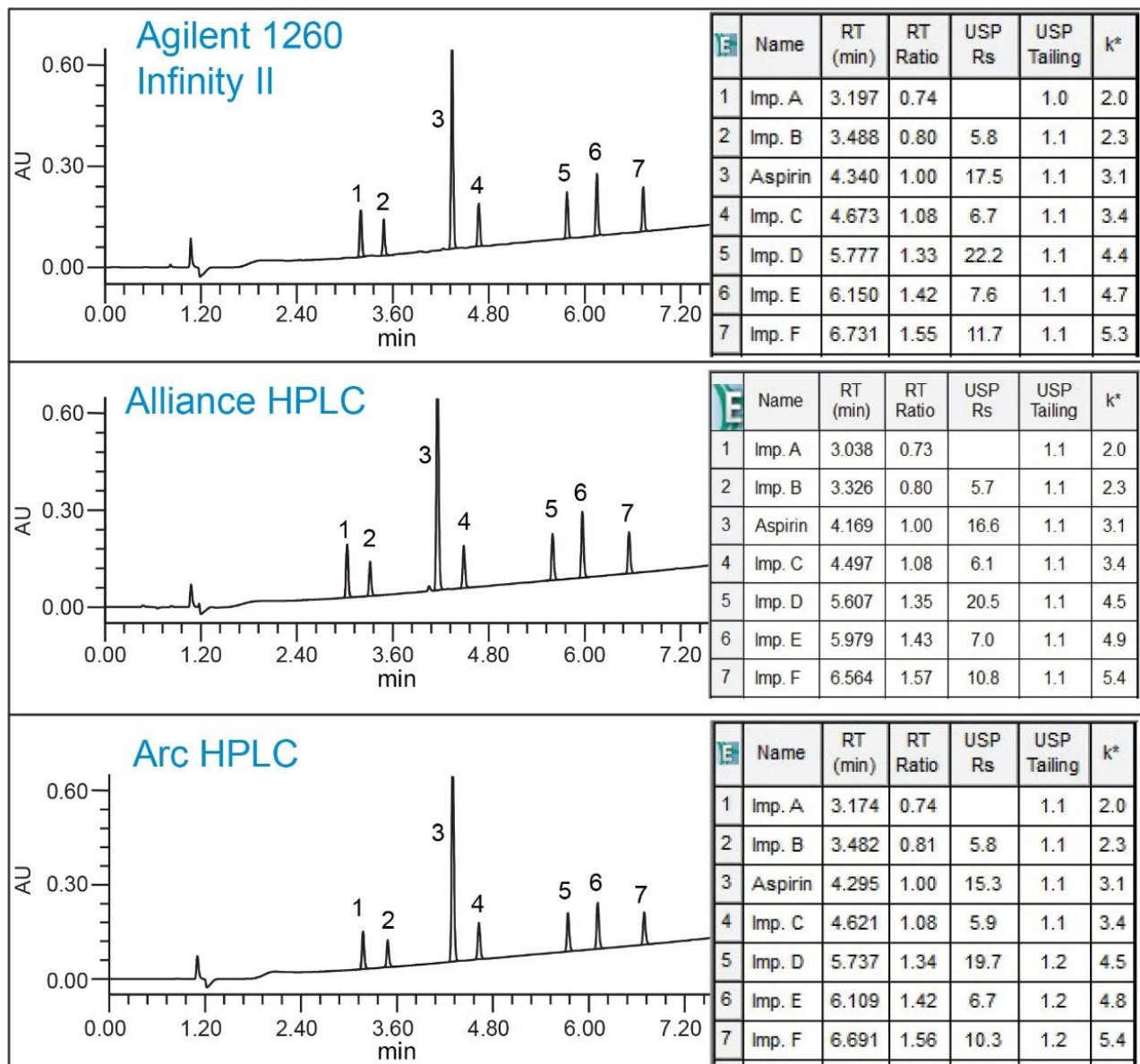


图1.在不同系统之间进行方法转换时，阿司匹林及其杂质的色谱分离结果。UV检测波长为237 nm。

此外，还比较了不同系统之间相关物质的相对保留时间(RRT)。RRT值在色谱分离中通常用于辅助峰鉴定，因此，在另一套系统上转换相关物质分析方法时，RRT值必须相同。本研究通过比较每种相关物质的保留时间与阿司匹林的保留时间来计算RRT。所得数据表明，Arc HPLC系统所得的RRT值与Agilent和Alliance HPLC系统得到的结果一致（图2）。总体而言，Arc HPLC系统在不改变方法的情况下成功重现了色谱分离质量。

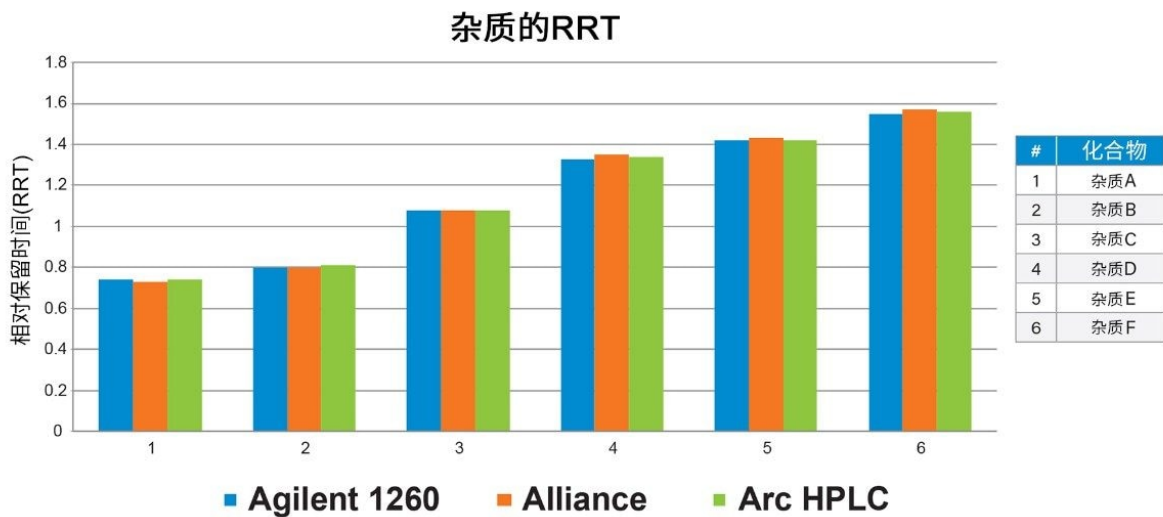


图2.相关物质（杂质）相对于阿司匹林的相对保留时间(RRT)比

按照USP专论中所列有关阿司匹林片剂的要求⁵，将混标重复进样五次，测量系统适应性以评估Arc HPLC系统上的方法性能，并与其他系统进行比较。USP系统适应性要求包括：

- 分离度：水杨酸（杂质C）与阿司匹林之间的分离度不低于(NLT) 2.0
- 相对标准偏差(RSD)：对于水杨酸（杂质C），不超过(NMT) 4.0%

三套系统上得到的系统适应性结果均符合USP标准（图3）。不仅如此，Arc HPLC系统上杂质C峰面积和保留时间的RSD甚至优于USP要求(NMT 4.0%)以及其他液相色谱系统获得的结果。

Agilent 1260 Infinity II					Alliance HPLC					Arc HPLC				
	Name	RT	Area	USP Tailing		Name	RT	Area	USP Tailing		Name	RT	Area	USP Tailing
1	Aspirin	4.339	1229256	1.1	1	Aspirin	4.158	1498891	1.1	1	Aspirin	4.295	1325317	1.1
2	Aspirin	4.340	1238239	1.1	2	Aspirin	4.158	1510420	1.1	2	Aspirin	4.295	1329299	1.1
3	Aspirin	4.341	1248433	1.1	3	Aspirin	4.159	1519427	1.1	3	Aspirin	4.295	1332941	1.1
4	Aspirin	4.341	1250097	1.1	4	Aspirin	4.159	1520922	1.1	4	Aspirin	4.296	1323094	1.1
5	Aspirin	4.341	1237316	1.1	5	Aspirin	4.163	1532817	1.1	5	Aspirin	4.296	1326136	1.1
Mean		4.340	1240668	1.1	Mean		4.159	1516496	1.1	Mean		4.295	1327357	1.1
Std. Dev.		0.001	8610.283		Std. Dev.		0.002	12662.992		Std. Dev.		0.001	3833.233	
% RSD		0.02	0.69		% RSD		0.05	0.84		% RSD		0.02	0.29	

	Name	RT	Area	USP Rs	USP Tailing		Name	RT	Area	USP Rs	USP Tailing		Name	RT	Area	USP Rs	USP Tailing
1	Imp. C	4.673	237451	6.9	1.1	1	Imp. C	4.487	272883	6.1	1.1	1	Imp. C	4.621	250711	5.9	1.1
2	Imp. C	4.673	241529	6.8	1.1	2	Imp. C	4.487	275287	6.2	1.1	2	Imp. C	4.622	250396	5.9	1.1
3	Imp. C	4.674	238658	6.9	1.1	3	Imp. C	4.488	276095	6.1	1.1	3	Imp. C	4.623	252695	5.9	1.1
4	Imp. C	4.675	241209	6.8	1.1	4	Imp. C	4.488	276920	6.2	1.1	4	Imp. C	4.623	250344	5.9	1.1
5	Imp. C	4.675	238978	6.8	1.1	5	Imp. C	4.491	277389	6.1	1.1	5	Imp. C	4.624	250915	5.9	1.1
Mean		4.674	239565	6.8	1.1	Mean		4.488	275715	6.2	1.1	Mean		4.623	251012	5.9	1.1
Std. Dev.		0.001	1746.229			Std. Dev.		0.002	1775.039			Std. Dev.		0.001	969.299		
% RSD		0.02	0.73			% RSD		0.04	0.64			% RSD		0.02	0.39		

图3.系统间方法转换的系统适应性结果

相关物质分析结果

通过比较每种相关物质的峰面积与阿司匹林峰面积来确定相关物质含量（%杂质）的分析结果。使用Arc HPLC系统分析片剂样品溶液所得到的色谱数据示例见图4。将分析结果与USP专论中针对阿司匹林片剂杂质分析程序规定的标准进行比较⁵。包衣片中杂质的USP可接受标准为：水杨酸（杂质C）不超过(NMT) 3.0%。Agilent 1260、Alliance和Arc HPLC系统上生成的相关物质结果均符合该USP标准（表2）。

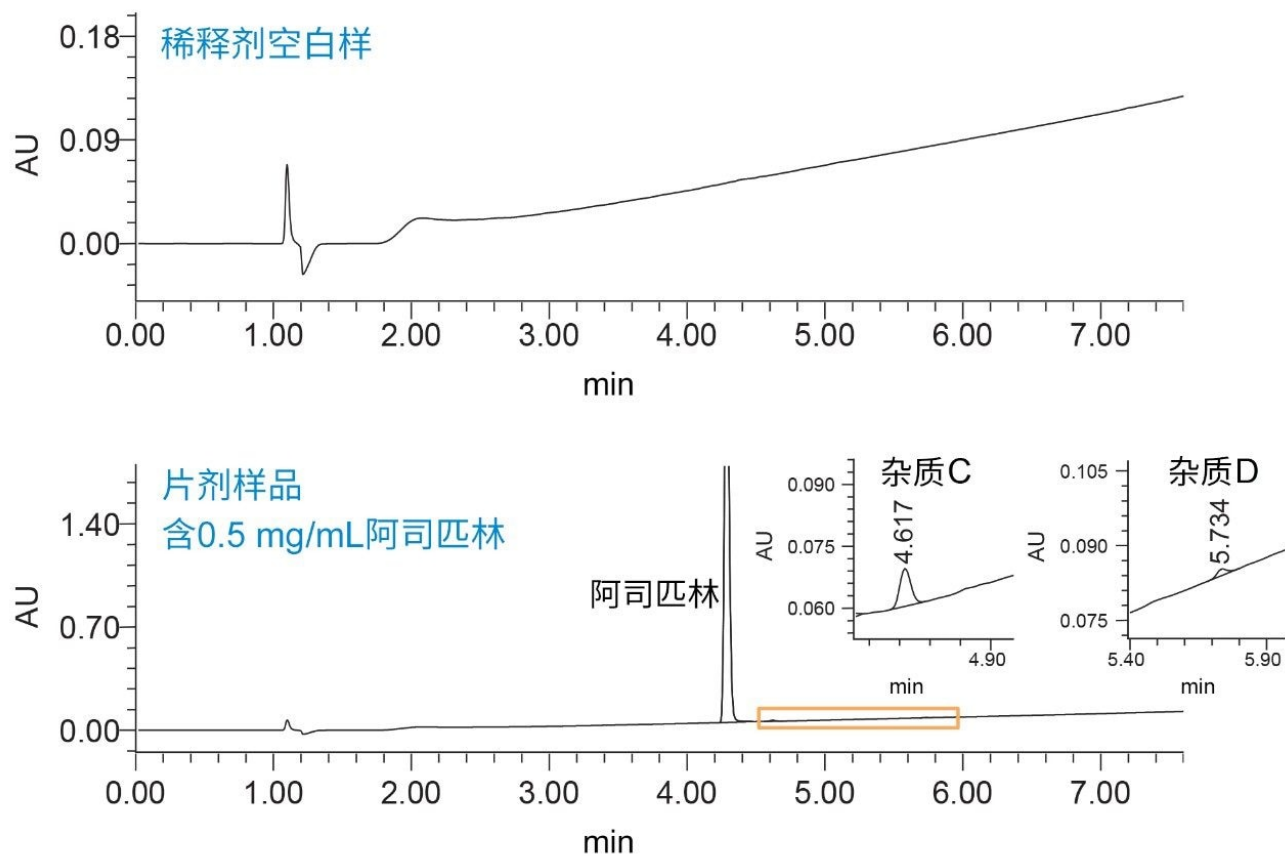


图4.片剂样品溶液中相关物质含量的分析。使用Arc HPLC系统分析阿司匹林浓度为0.5 mg/mL的样品。UV检测波长为237 nm。

系统	% 杂质C	% 杂质D
Agilent 1260 Infinity II	0.41	0.04
Alliance HPLC	0.37	0.05
Arc HPLC	0.38	0.04

表2.片剂样品溶液中相关物质的分析结果(%)符合有关水杨酸（杂质C）的 USP标准(NMT 3.0%)。

结论

Arc HPLC系统成功重现了在Agilent 1260 Infinity II和Alliance HPLC系统上运行的阿司匹林活性成分相关物质的分析方法。Arc HPLC系统上产生的色谱分离、相对保留时间值、系统适应性和相关物质分析结果均符合可接受标准。

总体而言，Arc HPLC系统可轻松接受并重现来自各种平台的现有液相色谱方法，在不影响方法完整性的情况下产生等效的检测结果。该系统无需更改和重新验证现有方法，并且仍然符合监管指南的要求，因为这种设备变更无需进行任何调整（可能被视为方法变更）。Arc HPLC是一种现代仪器，提供了强大的性能、高进样精度、低残留和高反压耐受性。

参考资料

1. USP General Chapter (1224), Transfer of Analytical Procedures. United States Pharmacopeia USP 43-NF 38, official prior 2013.
2. Arc HPLC系统. https://www.waters.com/waters/en_US/Arc-HPLC-System/nav.htm?locale=en_US&cid=135068659 <https://www.waters.com/waters/en_US/Arc-HPLC-System/nav.htm?locale=en_US&cid=135068659> .
3. Ph.Eur. Monograph. Acetylsalicylic Acid. The European Pharmacopeia 10.0.01/2017:0309.
4. Maziarz M, Rainville P, Tran Pham. Development of a Robust Method for Analysis of Aspirin and Related Substances Using a Statistical Software and Quality-by-Design Approach. Waters Application Note 720007177EN <<https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2021/development-of-a-robust-method-for-analysis-of-aspirin-and-related-substances-using-a-statistical-software-and-quality-by-design-approach.html>> .2021.
5. 沃特世方法转换计算器.
<https://www.waters.com/waters/support.htm?lid=134891632&lcid=134891631&type=DWNL> <
<https://www.waters.com/waters/support.htm?lid=134891632&lcid=134891631&type=DWNL>> .

6. USP Monograph for Aspirin Tablets. United States Pharmacopeia USP 43-NF 38, official 1 May 2020.

特色产品

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

2998光电二极管阵列(PDA)检测器 <<https://www.waters.com/1001362>>

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

720007258ZH, 2021年6月

© 2022 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私](#) [商标](#) [网站地图](#) [招聘](#) [Cookie](#) [Cookie](#) [设置](#)

沪 ICP 备06003546号-2

京公网安备 31011502007476号