

使用质谱检测评估西曲溴铵制药原料的质量和纯度的优势

Margaret Maziarz¹、Mark Wrona¹、Dominic Moore²和Chengxia O'Shea² ¹沃特世公司(美国马萨诸塞州米尔福德) ²赛诺菲集团旗下健赞公司(美国诺斯伯勒)

应用优势

- 采用ACQUITY® QDa质谱检测器便捷直观 地对无发色团成分进行确认和定量
- 采用ACQUITY QDa质量数检测功能对组 分进行准确鉴定
- 无需复杂耗时的样品前处理步骤
- 与现有UPLC系统和方法完美兼容

沃特世解决方案

ACQUITY UPLC® H-Class系统 ACQUITY UPLC色谱柱 ACQUITY QDa质谱检测器 Empower® 3 CDS软件

关键词

UPLC, QDa, 无发色团化合物, 制药原料, 西曲溴铵, 亚2 μm颗粒色谱柱, 质谱检测器

简介

制药原料是用于生产不同药品的基质或元素,包括活性药物成分(API)、辅料和其它非活性成分。辅料和非活性成分通常不具有药理作用,但它们是用作填充剂、粘合剂、崩解剂、润滑剂、着色剂和防腐剂的重要组分¹。辅料和非活性成分的质量及纯度对制剂的安全性至关重要,因此必须对其进行控制²。低纯度或含有污染物的辅料通常都会影响制剂的安全性和有效性。因此,我们需要建立能够准确评估制药原料质量和纯度的可靠方法。

无紫外发色团或紫外吸光系数低的化合物通常难以进行快速准确的分析。这些化合物无法直接通过UV进行检测,因此必须寻找能够对其进行准确定性和定量的替代方法。以无发色团制药原料西曲溴铵为例,美国药典(USP)专论中收载的检测方法为基于氯仿的多步液液萃取滴定法。该方法复杂且耗时,并不是QC实验室进行常规检测的理想方法。而质谱检测能够快速、直接、准确地分析无发色团化合物,并且无需复杂的样品前处理步骤。

在本篇应用纪要中,我们介绍了一种能够稳定快速地分析西曲溴铵原料的UPLC方法,该方法是我们与赛诺菲集团旗下健赞公司合作开发的。采用UPLC串联ACQUITY QDa检测器,能够快速、准确地对原料进行质量和纯度评估,并给出信息量丰富的分析结果。我们展示了采用质谱检测时该方法的系统适应性和线性,然后将该方法应用于购自三个不同供应商的西曲溴铵原料,对其进行分析、确证和纯度评估。

总体而言,质谱检测可快速鉴定和准确分析制药原料,因此该技术 是QC实验室进行常规检测的理想选择。

1

实验

溶液制备

标准品

用水配制浓度为0.5 mg/mL的西曲溴铵USP标准品(USP部件号: 1102974)储备液。将储备液用水(Fisher Scientific, Optima)稀释至浓度为20.0 μg/mL的标准溶液。用水稀释该溶液制备标准曲线。标准曲线的浓度配制如下: 0.10、0.25、0.50、0.75、1.0、2.0和3.0 μg/mL。

原料样品

本研究使用的西曲溴铵原料购自三个不同的供应商:

■ Sigma-Aldrich, 产品编号: H9151-25G

■ Alfa Aesar, 产品编号: A15235

■ TCI, 产品编号: H0081

制备浓度为 $0.5 \, \text{mg/mL}$ 的样品储备液,然后用水将其稀释至 $1.0 \, \mu\text{g/mL}$ 。

UPLC 条件

LC 系统: ACQUITY UPLC H-Class

色谱柱: ACQUITY UPLC CSH™ C,,,

2.1 x 50 mm, 1.7 μm

柱温: 40℃

流速: 0.6 mL/min

进样体积: 1.0 µL

溶剂A: 1%甲酸水溶液

溶剂B: 水

溶剂C: 乙腈

分离: 梯度洗脱

步骤 时间 溶剂A 溶剂C 曲线 溶剂B (<u>min</u>) (%) (%) (%) 1 10.0 40.0 50.0 初始 初始 2 2.0 10.0 0.0 90.0 6 3 2.5 10.0 0.0 90.0 6 4 2.6 10.0 40.0 50.0 6 5 4.5 10.0 50.0 6 40.0

灌注/样品清洗: 50:50 水/乙腈 柱塞杆清洗: 90:10 水/乙腈

UV检测器: ACQUITY UPLC PDA: 200-500 nm

MS 条件

质谱检测器: ACQUITY QDa (performance option)

电离模式: ESI+

MS采集范围: 150-350 Da 选择离子扫描: 284.3 Da 采样速率: 10 pts/sec

毛细管电压: 0.8 kV 锥孔电压: 15 V

探头温度: 600 °C 数据格式: 棒状图

数据管理

Empower 3 FR2色谱数据系统(CDS)软件

结果与讨论

西曲溴铵是一种季胺盐、缺少UV检测所必需的 发色团(图1)。因此,它不能通过W直接进行检 测。但是它易于电离,可在ACQUITY QDa检测器 中产生稳定的MS信号。

西曲溴铵的色谱分析数据如图2所示。215 nm下 的UV结果(图2a)显示未检测到峰,与我们预期 的结果一致。

ACQUITY QDa在质量数范围150-350 Da内采集的总 离子流色谱图 (TIC) 显示了一个质量数为284.3 Da 的主要峰(图2b),该峰就是西曲溴铵。

从TC数据中可以提取特定的目标质量数、生成 提取离子色谱图(XIC),如图2c所示。

如需进行靶标分析,可以使用选择离子(SR)扫 描模式采集数据,该模式将记录特定离子的信 号强度。

SR可以简化分析和定量,进一步提高信噪比 (SN), 非常适用干靶标分析(图2d)。

系统适应性

根据USP通用章节<621>色谱法中的要求4, 我 们评估了USP标准品(2.0 μg/mL)六次重复进样 的结果重复性(图3)、以此验证本研究所开发 的UPLC方法性能。通过处理284.3 Da处的SIR扫 描数据获得UPLC系统的适应性结果(图4)。保 留时间和峰面积重复性偏差(RSD)远低于USP 规定的2.0%以下。

西曲溴铵

• 分子式: C19H42BrN • 平均质量数: 364.45 Da • 单同位素质量数: 363.25 Da

•游离碱单同位素质量数: 284.33 Da

• 检测质量数: M+ = 284.3 Da

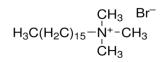


图1. 西曲溴铵的结构和分子信息。

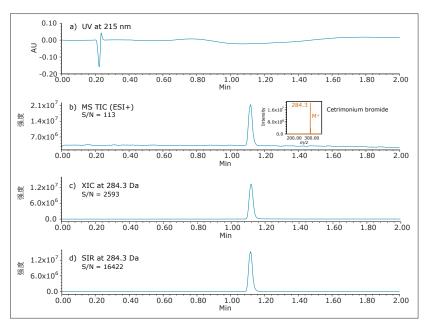


图2. 采用配备ACQUITY PDA和ACQUITY QDa检测器的ACQUITY UPLC H-Class系统采集的 西曲溴铵的UV和MS谱图。

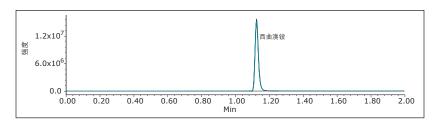


图3. 西曲溴铵USP标准品六次重复进样的叠加谱图(SIR: 284.3 Da)。

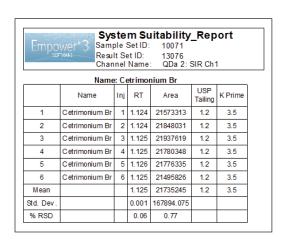


图4. 西曲溴铵USP标准品 六次重复进样的系统适应 性结果(SIR: 284.3 Da)。

线性

我们选取 $0.1 \sim 3 \mu g/m L$ 范围内的7个浓度评估了该西曲溴铵(SR: 284.3 Da) 检测方法的线性,获得了可接受的线性结果,相关系数(R²) ≥ 0.9969 (图5)。此外, X值或浓度的计算偏差百分比小于10%,只有 $0.2585 \mu g/m L$ 的标准溶液除外,其偏差百分比小于18.0% (图6)。

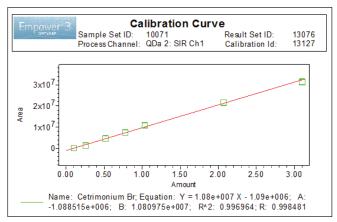


图5. 西曲溴铵检测方法的线性(SIR: 284.3 Da)。

Cal Curve % Deviation_Accuracy Sample Set ID: 10071 Result Set ID: 13076 Channel Name: QDa 2: SIR Ch1												
_	Peak: Cetrimonium BrX Value (ug/mL): 0.10340						Peak: Cetrimonium BrX Value (ug/mL): 1.03400					
	Injection	Response	X Value (ug/mL)	Calc. Value (ug/mL)	% Deviation		Injection	Response	X Value (ug/mL)	Calc. Value (ug/mL)	% Deviation	
1	1	103451	0.10340	0.11027	6.642	1	1	10724680	1.03400	1.09283	5.689	
2	2	110301	0.10340	0.11090	7.255	2	2	10704598	1.03400	1.09097	5.510	
3	3	94141	0.10340	0.10941	5.809	3	3	11081568	1.03400	1.12584	8.882	
Peak: Cetrimonium BrX Value (ug/mL): 0.25850 Peak: Cetrimonium BrX Value (ug/mL): 2.06800											.06800	
	Injection	Response	X Value (ug/mL)	Calc. Value (ug/mL)	% Deviation		Injection	Response	X Value (ug/mL)	Calc. Value (ug/mL)	% Deviation	
1	1	1266680	0.25850	0.21788	-15.715	1	1	21569343	2.06800	2.09606	1.357	
2	2	1220622	0.25850	0.21362	-17.363	2	2	21569445	2.06800	2.09607	1.357	
3	3	1292652	0.25850	0.22028	-14.785	3	3	21684750	2.06800	2.10673	1.873	
	Peak:	Cetrimoniu	m BrX Val	ue (ug/mL): 0	.51700		Peak: Cetrimonium BrX Value (ug/mL): 3.10200					
	Injection	Response	X Value (ug/mL)	Calc. Value (ug/mL)	% Deviation			Response	X Value (ug/mL)	Calc. Value (ug/mL)	% Deviation	
1	1	4658207	0.51700	0.53162	2.829	1	1	31475067	3.10200	3.01243	-2.888	
2	2	4578027	0.51700	0.52421	1.394	2	2	31625936	3.10200	3.02638	-2.438	
3	3	4662449	0.51700	0.53202	2.905	3	3	31234155	3.10200	2.99014	-3.606	
Peak: Cetrimonium BrX Value (ug/mL): 0.77550												
	Injection	Response	X Value (ug/mL)	Calc. Value (ug/mL)	% Deviation							
1	1	7480280	0.77550	0.79269	2.217							
2	2	7513669	0.77550	0.79578	2.615							
3	3	7333195	0.77550	0.77908	0.462							
_												

图6. 校准曲线数据处理结果 (SIR: 284.3 Da)。x值或浓度的计算偏差百分比小于10%,只有 $0.2585 \mu g/mL$ 的标准溶液除外,其偏差百分比小于18.0%。

样品分析

使用UPLC-MS分析购自三个不同供应商的西曲 溴铵。ACQUITY QDa能够通过质谱检测快速确 证色谱峰。

我们采用在ACQUITY QDa 在150-350 Da质量数范围内采集的TIC数据进行峰纯度评估。除了质量数284.3 (±0.2) Da (对应西曲溴铵的质量数)处的峰,我们对TIC谱图中出现的其它所有峰的MS数据都进行了评估。如TIC通道(图7)所示,进样中仅检测到一个主峰,其具有西曲溴铵特定的质量数。此外,峰的前沿、顶端和后沿处的质谱数据显示,仅存在一个对应西曲溴铵的质量数。这表示西曲溴铵并未与其它峰共洗脱。总的来说,TIC质量数数据显示,本研究分析的西曲溴铵制药原料中没有污染物。

我们利用USP标准品对购自三个不同供应商的西曲溴铵原料进行分析检测。使用284.3 Da的选择离子扫描得到的分析结果(图8)显示,所有原料的纯度均在98.4~100.4%范围内,符合USP指导原则中定义的可接受标准(96.0~101.0%)。

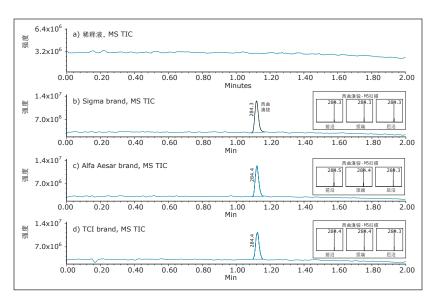


图7.购自三个不同供应商的西曲溴铵原料。总离子流色谱图和峰的前沿、顶端和后沿处的质谱图。

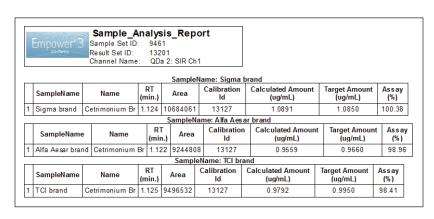


图8. 购自三个不同供应商的西曲溴铵原料的分析结果(SIR: 284.3 Da)。

结论

ACQUITY QDa与UPLC联用,能够通过质谱检测快速便捷地分析无发色团的西曲溴铵原料。这一新方法无需复杂的滴定步骤,因此提升了工作效率。此外,LC-MS方法还提高了西曲溴铵制药原料的样品确认、纯度准确评估及分析的可靠性。用质谱数据计算得出的系统适应性和方法线性良好。

总的来说,ACQUITY QDa是一款性能稳定且简单易用的质谱检测器,可作为正交检测技术对UV检测进行补充。它可以提供准确可靠的结果,是QC实验室进行制药原料常规检测的理想技术。

参考文献

- 1. Overview of pharmaceutical excipients used in tablets and capsules, October 24 2008.
- 2. The United States Pharmacopeia (USP) Monograph <u>Excipients Introduction.</u>
- 3. USP Monograph, Cetrimonium Bromide, USP37-NF32, The United States Pharmacopeia Convention, official August 1, 2014.
- 4. USP General Chapter, <621>, Chromatography, USP37-NF32, The United States Pharmacopeia Convention, official August 2, 2014.



扫一扫,关注沃特世微信

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

Waters、The Science of What's Possible、ACQUITY UPLC、ACQUITY、QDa和Empower是沃特世公司的注册商标。CSH是沃特世公司的商标。其它所有商标均归各自的拥有者所有。

©2015年 沃特世公司 中国印刷 2015年3月 720005324ZH AG-PDF

沃特斯中国有限公司 沃特世科技(上海)有限公司

北京: 010-5209 3866 上海: 021-6156 2666 广州: 020-2829 5999 成都: 028-6765 3588 香港: 852-2964 1800

免费售后服务热线: 800 (400) 820 2676

www.waters.com