[技术简报]

从Agilent 1100系列LC系统到ACQUITY Arc系统的盐酸甲氧氯普胺及相关物质分析的HPLC方法转换

Margaret Maziarz和Mark Wrona

目的

将盐酸甲氧氯普胺相关物质分析的HPLC方法从Agilent 1100系列LC系统转换到ACQUITY® Arc™系统，重现色谱分离并满足系统适应性要求。

背景

用于测试制药原料和最终产品的分析方法常常需要在机构间转换，或者转换至使用不同供应商仪器的合同实验室。因此对于分析实验室来说，成功实现方法转换对于确保产品一致性和合规性来说至关重要。有效的方法转换能够让同一分析方法始终得出相当的结果，不受仪器、实验室或样品来源的影响。这对于免去昂贵且耗时的方法重复验证步骤来说也是非常重要。

本文介绍了从Agilent 1100系列LC系统到ACQUITY Arc系统的盐酸甲氧氯普胺相关物质分析的HPLC方法转换。是否成功实现方法转换的评判方法是通过检验色谱分离结果是否相似以及验证系统适应性结果是否符合USP通用章节<621>色谱法[1]中定义的要求。

ACQUITY Arc系统成功重现了Agilent 1100系列LC系统的色谱分离，获得了可靠、稳定且准确的结果。

化合物	常用名
API	盐酸甲氧氯普胺
杂质 A	4-乙酰氨基-5-氯-N-(2-(二乙氨基)乙基)-2-甲氧基苯甲酰胺
杂质 B	4-乙酰氨基-5-氯-2-甲氧基苯甲酸甲酯
杂质 C	4-氨基-5-氯-2-甲氧基苯甲酸
杂质 D	4-乙酰氨基-2-甲氧基苯甲酸甲酯
杂质 F	4-氨基-5-氯-N-(2-(二乙氨基)乙基)-2-羟基苯甲酰胺
杂质 G	2-(4-氨基-5-氯-2-羟基苯甲酰胺)-N,N-二乙基乙酰胺氧化物
杂质 H	4-乙酰氨基-2-羟基苯甲酸
杂质 9	4-氨基-2-甲氧基苯甲酸甲酯

表1. 方法转换中USP指定的盐酸甲氧氯普胺相关物质的列表。

解决方案

本研究中使用的盐酸甲氧氯普胺的相关化合物列于表1。分离储液使用甲醇配制，浓度为1.0 mg/mL。用水将甲氧氯普胺储液稀释至0.5 mg/mL，相关物质的加标量为1.0%。系统适应性测试制备溶液将各种储液均移至一个样品瓶中，用水稀释，使每种分析物的浓度均为0.05mg/mL。然后使用标准稀释液(50:50甲醇/水)将混合溶液稀释至15 µg/mL，以进行系统适应性测定。

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

首先在Agilent 1100系列LC系统上运行HPLC方法，然后转换至ACQUITY Arc系统。ACQUITY Arc系统采用了新型Multi-flow path™技术，该技术可高效转换使用上一代LC仪器开发的传统方法。用于HPLC方法转换的仪器条件如图1所示。

Agilent 1100系列LC系统和ACQUITY Arc系统得到的样品(含0.5 mg/mL的甲氧氯普胺API和1.0%相关物质)色谱数据如图2所示。数据表明，ACQUITY Arc系统重现了Agilent 1100系列LC系统的色谱分离。

采用质谱检测的方法，使用与ACQUITY Arc系统联用的ACQUITY QDa®检测器得到的质谱数据确证甲氧氯普胺及其相关物质的鉴定结果。Empower® 3软件的质谱分析窗口(图3)展示了单个结果的UV和质谱数据。辅以质谱数据的UV检测可快速确证样品组分。

ACQUITY Arc系统上HPLC方法的性能表现是根据USP通用章节<621>色谱法1中的要求使用系统适应性溶液重复进样五次所得的系统适应性结果进行评判，同时按此要求与Agilent1100系列LC系统所得的实验结果进行比对。

两个系统所得的系统适应性结果均符合USP规定，结果汇总于表2。在ACQUITY Arc系统上运行方法时的保留时间和峰面积重复性良好，RSD远低于小于2.0%的USP规定，并且与Agilent 1100系列LC系统相当。两个系统的结果中所有峰之间的USP分离度值相当，表明方法转换时无分离度损失。USP峰拖尾因子也相当。

参数	说明
LC 系统	**配备四元泵和DAD检测器的**Agilent 1100系列LC系统 **配备2998 PDA和ACQUITY QDa检测器**、被动预加热器以及流路1的ACQUITY Arc系统
色谱柱	XSelect™ CSH C_{18}, 4.6 x 150 mm, 5 µm
柱温	45 °C
流速	2.9 mL/min
进样体积	10.0 µL
流动相	A: 0.1% 甲酸水溶液 B: 0.1% 甲酸的甲醇溶液
梯度	1 Initial 2.900 95.0 5.0 0.0 2 15.00 2.900 40.0 60.0 0.0 3 16.50 2.900 40.0 60.0 0.0 4 16.80 2.900 95.0 5.0 0.0 5 21.00 2.900 95.0 5.0 0.0
清洗溶剂	冲洗液：50:50水/甲醇 样品清洗液：50:50水/甲醇 密封清洗液：90:10水/乙腈
PDA检测条件	λ范围：210–400 nm，提取270 nm的谱图 采样速率：20 pt/s
质谱检测	ACQUITY QDa检测器(仅ACQUITY Arc系统) 电离模式：ESI+, ESI- 采集范围：100 – 440*m/z*

图1. 从Agilent 1100系列LC系统向ACQUITY Arc系统进行盐酸甲氧氯普胺及其USP相关物质的HPLC方法转换的仪器条件。

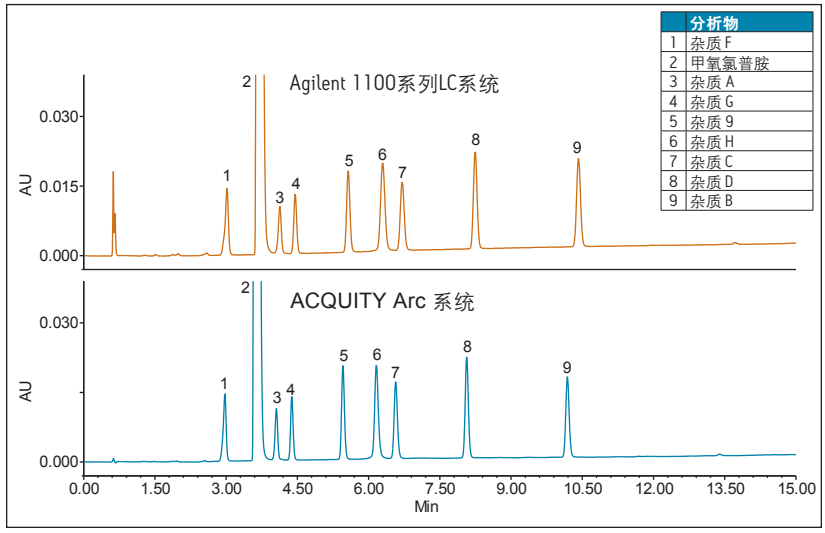

图2. 从Agilent 1100系列LC系统到ACQUITY Arc系统的方法转换中，含1.0%相关物质的0.5 mg/mL甲氧氯普胺API的色谱数据。

化合物	保留时间%RSD		峰面积% RSD		USP 分离度		USP 峰拖尾因子	
	Agilent 1100	ACQUITY Arc	Agilent 1100	ACQUITY Arc	Agilent 1100	ACQUITY Arc	Agilent 1100	ACQUITY Arc
杂质 F	0.02	0.09	0.26	0.04	n/a	n/a	0.8	0.9
API	0.01	0.05	0.28	0.10	6.1	6.5	1.0	1.1
杂质 A	0.02	0.04	0.32	0.02	3.3	3.6	0.9	1.0
杂质 G	0.02	0.03	0.35	0.13	2.8	3.3	1.1	1.1
杂质 9	0.01	0.03	0.45	0.18	9.1	10.3	1.1	1.1
杂质 H	0.01	0.03	0.31	0.20	4.8	5.6	1.1	1.1
杂质 C	0.01	0.02	0.34	0.36	2.5	3.1	1.1	1.1
杂质 D	0.01	0.04	0.31	0.16	10.1	11.8	1.1	1.1
杂质 B	0.01	0.03	0.66	0.22	14.3	16.5	1.1	1.1

表2. 针对Agilent 1100 系列 LC系统和ACQUITY Arc系统间的方法转换，使用系统适应性溶液重复进样五次得到的系统适应性结果。

得益于独有的Multi-flow path技术，ACQUITY Arc系统能够从各种平台轻松接受并重现方法且无需折中方法完整性[2]。

ACQUITY Arc系统具有强大的LC性能，能够通过整合诸如ACQUITY QDa检测器和Empower色谱数据系统(CDS)软件等新技术来保障实验室投资。

总结

甲氧氯普胺及其相关物质的HPLC方法成功地从Agilent 1100系列LC系统转换到了ACQUITY Arc系统。ACQUITY Arc系统成功重现了Agilent 1100系列LC系统的色谱分离水平，并且其系统适应性符合USP规定。满足系统适应性要求对于确保实验室始终符合良好实验室规范来说至关重要。

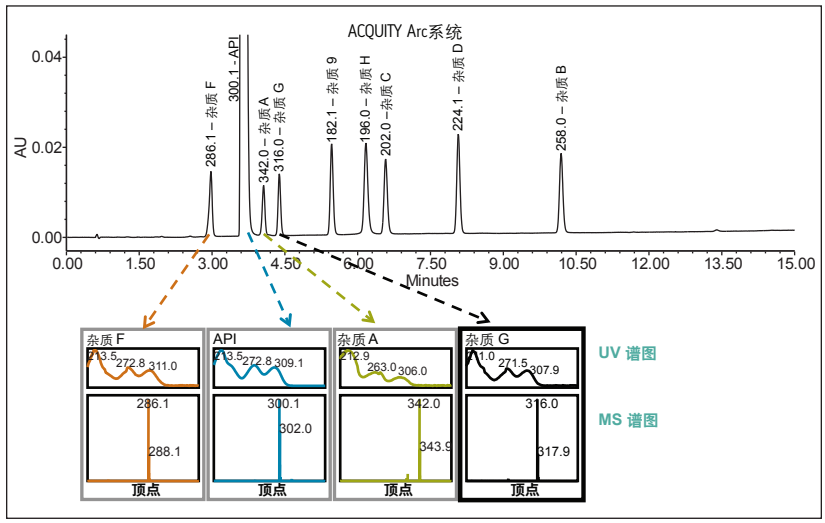

图3.通过质谱检测，使用ACQUITY QDa检测器获得的质谱数据确证峰。Empower 3软件的质谱分析窗口显示了单个结果的UV和质谱数据。

此外，与UV检测配合使用的ACQUITY QDa检测器能够通过质谱检测快速确证峰。总体而言，ACQUITY Arc系统能够提供可靠、稳定、可重现的结果，这是提升QC实验室常规检测通量和效率的关键要素。

扫一扫，关注沃特世微信

参考文献

1. USP General Chapter, <621> Chromatography, USP 37-NF 32, The United States Pharmacopeia Convention, Official December 1, 2014.
2. ACQUITY Arc System, http://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=134844390

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

Waters、The Science of What's Possible、ACQUITY、QDa、XSelect和Empower是沃特世公司的注册商标。
Arc和Multi-flow path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8月 720005467ZH 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