

## 使用改为2.5 $\mu\text{m}$ 颗粒的MaxPeak™ Premier色谱柱提高USP专论方法分析对乙酰氨基酚的重现性

---

Gabrielle T. Zabala, Kenneth D. Berthelette, Weiqiang Gu, Kim Haynes

Waters Corporation

---

### 摘要

USP专论为特定药品的质量保证提供了指导原则。这些指导原则通常会概述活性成分的种类、有效性、纯度，还可能包括其他特定测试，例如杂质分析或溶出度。创建并验证这些测试后，可以根据这些指导原则来测试各种药物样品和溶液。USP专论非常适用于药物评价，为制药行业提供了产品评价的通用方法。这些方法非常严格，样品前处理、流动相制备或色谱柱功能和性能的任何细微变化都会对结果产生巨大影响。这可能会导致严重后果，例如产品批次不合格乃至遭到监管机构调查。在测试过程中使用可靠、耐用的色谱柱对于避免这些潜在的不良后果至关重要。MaxPeak Premier色谱柱采用的MaxPeak Premier高性能表面(HPS)技术旨在通过减少分析物与色谱柱金属表面可能发生的非特异性吸附相互作用，降低变异性，提高结果可信度。

在本应用纪要中，我们按照USP通则<621>指导原则，对USP专论中评估感冒药和止咳药所含对乙酰氨基酚浓度的方法进行了现代化改进。本研究比较了经过现代化改进的MaxPeak Premier色谱柱和不锈钢色谱柱。使用两种类型的色谱柱均满足并通过了专论中规定的所有要求，但MaxPeak Premier色谱柱在所有进样中的变异性均显著降低。

### 优势

- 使用MaxPeak Premier色谱柱提高进样间重现性
-

- 结果重现性高，消除峰鉴定的疑虑

---

## 简介

美国药典(USP)规定了药品、食品成分和其他膳食补充剂的质量、规格、纯度和鉴定标准。USP专论中规定了检测新仿制药的程序和相关法规。日常使用的大多数非处方药都使用最初失去专利保护时开发的USP专论方法进行测试。这些USP专论在最初制定时很可能使用了相比现在而言较为陈旧的色谱柱技术。该色谱柱技术可能需要更长的色谱柱配置（即4.6 x 250 mm）和/或大粒径（即5  $\mu\text{m}$ ）。使用这类色谱柱通常需要更长的运行时间，并且每次进样需要更多的溶剂。值得庆幸的是，采用较小粒径（即2.5  $\mu\text{m}$ ）的新型色谱柱技术可提供更高的柱效，从而缩短运行时间并减少流动相用量。但是，如果操作不当，USP专论方法的现代化可能会很复杂，这也是人们对现代化改进犹豫不决的原因之一。USP通则<621>提供了使方法现代化更容易的指导原则和程序<sup>1</sup>。这些指导原则介绍了为使专论方法正确现代化而允许更改的参数，包括运行时间、流速和色谱柱规格<sup>1</sup>。

此外，鉴于USP专论对系统适用性的要求非常严格，因此需要所用设备有足够的可信度和可靠性。当分析物与金属表面可能存在非特异性吸附等外部因素时，现代化改进可能会比较困难<sup>2</sup>。这种相互作用可能导致目标分析物的重现性差和峰形不佳。MaxPeak Premier色谱柱专为减少分析物的金属吸附而开发，可改善峰形和回收率，并提高重现性<sup>2</sup>。

本应用纪要展示了Waters™ MaxPeak Premier色谱柱与不锈钢色谱柱相比的优势。我们讨论了减少非特异性金属吸附的重要性，这种吸附可能会影响特定测试的结果和重现性，即使目标分析物初看可能不受金属的影响。

---

## 实验

### 样品描述

按照USP专论方法所述配制三种不同的溶液。标准溶液和系统适用性标准品含有来自纯化标准品的0.2 mg/mL对乙酰氨基酚。样品溶液含有0.2 mg/mL对乙酰氨基酚。对乙酰氨基酚样品取自OTC止咳糖浆。三种溶液均以45/55甲醇/水作为稀释剂制备。

### 液相色谱条件

---

液相色谱系统:	配备PDA检测器的ACQUITY™ H-Class Plus
检测:	UV 254 nm
色谱柱:	XBridge™ BEH™ C <sub>18</sub> , 2.5 μm, 2.1 x 100 mm (p/n: 186006031) XBridge Premier BEH C <sub>18</sub> , 2.5 μm, 2.1 x 100 mm (p/n: 186009828)
样品温度:	10 °C
进样体积:	0.8 μL
流速:	0.42 mL/min
流动相A:	100%甲醇
流动相B:	100%水
等度条件:	甲醇/水(45/55)

## 数据管理

色谱软件:	Empower™ 3 Feature Release 5 Hotfix 1
-------	---------------------------------------

---

## 结果与讨论

对专论方法进行现代化改进后，按照USP通则<621>指导原则，分别使用不锈钢色谱柱和MaxPeak Premier色谱柱完成标准溶液、系统适用性标准品和样品溶液的五次进样(n = 15)。所有三种溶液在两种色谱柱上最后一次进样的结果如图1所示。蓝色峰是MaxPeak Premier色谱柱的结果，橙色峰是不锈钢色谱柱的结果。系统适用性溶液和

标准溶液的USP拖尾因子、保留时间相对标准偏差、峰面积相对标准偏差以及对乙酰氨基酚百分比要求相同<sup>3</sup>。对乙酰氨基酚峰的USP拖尾因子不得超过2.0，相对标准偏差(%RSD)不得超过2.0%<sup>3</sup>。样品中对乙酰氨基酚的百分比必须在90%~110%范围内<sup>3</sup>。所用的每根色谱柱均符合专论标准。USP专论规定了止咳糖浆制剂中对乙酰氨基酚的规格标准。初看MaxPeak Premier色谱柱的准确度和结果重现性明显更高。

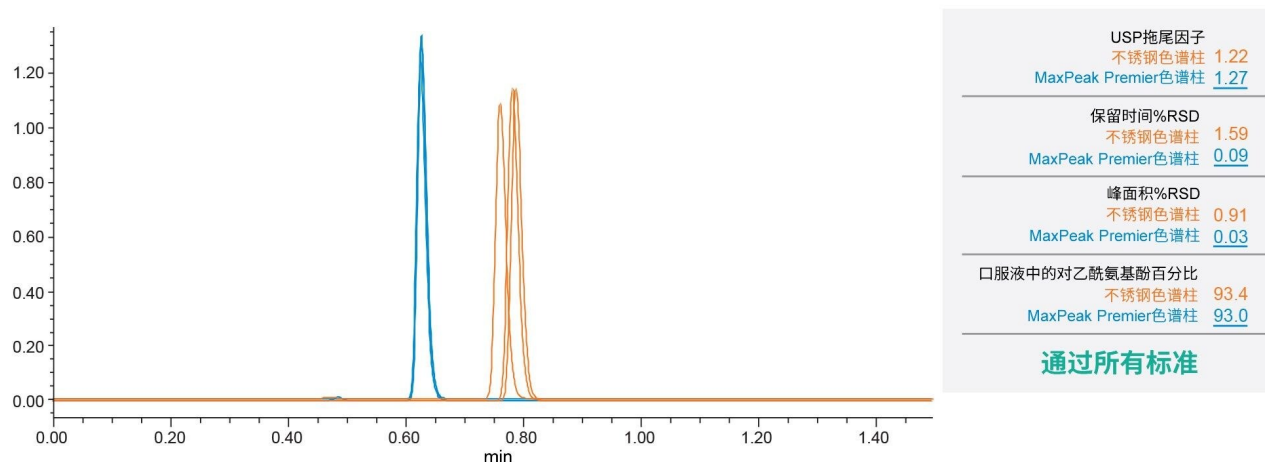


图1.使用ACQUITY H-Class系统、2.1 x 100 mm, 2.5 μm XBridge BEH C<sub>18</sub> Premier色谱柱和不锈钢色谱柱，在现代改进后的USP专论条件下分析对乙酰氨基酚标准溶液、系统适用性标准品和样品溶液的叠加色谱图。拖尾因子和相对标准偏差为所有进样(n=15)的平均值。

MaxPeak Premier色谱柱上15次进样的保留时间%RSD为0.09%，而不锈钢色谱柱的保留时间%RSD为1.59%。如图1的叠加色谱图所示，在MaxPeak Premier色谱柱上，三个样品完全重叠，而在不锈钢色谱柱上至少有一个样品偏离中心。在本例中，不锈钢色谱柱上差异最大的峰是样品溶液，该溶液中不仅含有对乙酰氨基酚，还含有来自口服液的其他活性成分和辅料。同样，使用MaxPeak Premier色谱柱获得的峰面积%RSD为0.03%，而使用不锈钢色谱柱获得的峰面积%RSD较高，为0.91%。最后，两种色谱柱测得的样品溶液中对乙酰氨基酚的百分比略有不同，相差0.4%。MaxPeak Premier色谱柱显示样品中的对乙酰氨基酚百分比为93.0%，而不锈钢色谱柱的计算结果为93.4%。由于两种色谱柱的性能都在合格标准范围内，因此差异可以忽略不计。鉴于MaxPeak Premier色谱柱上三种样品的15次进样结果全部一致，表明样品和流动相运行之间不存在溶剂不匹配的问题。在不锈钢色谱柱上，对乙酰氨基酚与口服液中的活性成分以及色谱柱的金属表面之间可能存在协同相互作用，导致保留时间漂移和变异性。

MaxPeak Premier色谱柱可减少样品与金属硬件之间的次级相互作用，从而提高多种样品的分析重现性。虽然对

乙酰氨基酚本身可能不与色谱柱金属表面相互作用，但样品中的其他组分可能会导致对乙酰氨基酚的保留发生细微变化。不锈钢色谱柱虽然通过了所有标准，但是，MaxPeak Premier色谱柱在不同样品类型之间的重现性方面表现出明确的改善，消除了关于结果是否准确和适用于批次放行检测方面的任何疑虑。

---

## 结论

美国药典规定的标准被广泛用于确保药品满足安全性和有效性要求。但是，这些方法通常使用较旧的LC技术和效率较低的色谱柱。由于USP通则<621>近期有所变化，因此可以使用更新的色谱柱技术和更小的粒径来减少分析时间和溶剂用量。这些变化还允许使用更新的色谱柱硬件，例如MaxPeak Premier色谱柱。

本应用纪要证明，虽然不锈钢色谱柱在USP专论方法现代化改进后能够提供合格的结果，但使用MaxPeak Premier色谱柱可以最终消除测试过程中关于准确度和重现性的疑虑。MaxPeak Premier色谱柱的使用大大减少了被测样品之间的保留时间和峰面积差异，且不会对分析结果或峰拖尾产生不利影响。这表明MaxPeak Premier色谱柱适用于各种分析。

## 致谢

感谢Kenneth Berthelette和Weiqiang Gu在本应用纪要的编撰过程中提供的指导和支持。

---

## 参考资料

1. USP General Chapter <621>.2022年4月25日访问。  
<https://www.usp.org/sites/default/files/usp/document/harmonization/gen-chapter/harmonization-november-2021-m99380.pdf> <  
<https://www.usp.org/sites/default/files/usp/document/harmonization/gen-chapter/harmonization-november-2021-m99380.pdf>>
2. Berthelette K., Turner J., 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.
3. USP monograph: Acetaminophen, Dextromethorphan Hydrobromide, Doxylamine Succinate, and Pseudoephedrine Hydrochloride Oral Solution.2022年4月25日访问.

[https://online.uspnf.com/uspnf/document/1\\_GUID-36376BA5-52C8-469D-AC2E-E17BD8223113\\_1\\_enUS?source=Search%20Results&highlight=acetaminophen](https://online.uspnf.com/uspnf/document/1_GUID-36376BA5-52C8-469D-AC2E-E17BD8223113_1_enUS?source=Search%20Results&highlight=acetaminophen) <  
[https://online.uspnf.com/uspnf/document/1\\_GUID-36376BA5-52C8-469D-AC2E-E17BD8223113\\_1\\_enUS?source=Search%20Results&highlight=acetaminophen](https://online.uspnf.com/uspnf/document/1_GUID-36376BA5-52C8-469D-AC2E-E17BD8223113_1_enUS?source=Search%20Results&highlight=acetaminophen)>

---

## 特色产品

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

ACQUITY UPLC可变波长紫外检测器 <<https://www.waters.com/514228>>

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

720007938ZH, 2023年7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