

## 利用单四极杆质谱仪对药物杂质进行高效的方法开发

01-00443-CN

Shinichi Fujisaki 和 Masataka Nikko

### 特点描述

- ◆ 使用 LCMS-2050 单四极杆质谱仪进行峰跟踪，可通过准确跟踪具有相似紫外光谱的各种杂质来支持高度可靠的方法开发。
- ◆ 使用 LabSolutions MD 开发的分析方法不仅能够提供出色分离度还能缩短分析时间。

### 简介

由于药物杂质需要严格控制来确保药品的安全性，开发高度可靠的杂质分析方法就至关重要。LabSolutions MD 是一款岛津公司进行方法开发的新软件，支持基于分析质量源于设计 (AQbD) 的高效方法开发。基于 AQbD 的分析方法开发包括初始筛选、优化和稳健性评估等阶段。本文介绍了其在开发孟鲁司特钠（一种用于哮喘维持治疗的药物）杂质的 LC 分析方法中的应用。通过“设计空间”进行可视化以及改变梯度程序的各个参数来评估孟鲁司特钠和各种杂质的分离度。虽然以前很难用光电二极管阵列检测器 (PDA) 准确跟踪具有相似紫外光谱的各种杂质，但 LCMS-2050 可以解决这个问题。此外，利用分离度和最后一个洗脱峰的 RT 的设计空间，可以有效地开发出既能提供出色分离度又能缩短分析时间的方法。

### 分析条件

表 1 显示了孟鲁司特钠及其杂质分离的优化研究中使用的分析条件（杂质 1 到 6：图 1）。通过改变最终梯度浓度和梯度程序的斜率，研究了孟鲁司特钠及其杂质的分离度，以找到最佳条件。具体来说，最终浓度的变化范围为 75% 至 85%，增量为 5%（3 个水平），梯度斜率的变化范围为 8 min 至 18 min，增量为 5 分钟（3 个水平）。

表 1 优化的分析条件

液相色谱条件	: Nexera™ X3 (方法开发系统)
流动相:	
泵 A:	0.15% 甲酸水溶液
泵 B:	0.1% 甲酸乙腈溶液
色谱柱:	
	Shim-pack™Scepter Phenyl-120 (100 mm×3.0 mm 内径, 1.9 μm) *1
分析条件	
初始 B 浓度	: 45%
最终 B 浓度	: 75、80、85% (3 种图谱)
梯度斜率	: 8、13、18 min (3 种图谱)
时间程序	: B 浓度 45% (0-3 min) → 75% (11 min) → 85% (11.01-13 min) → 45% (13.01-18 min) 注: 如果最终 B 浓度为 75%，梯度斜率为 8 min
柱温	: 30° C
流速	: 0.5 mL/min
进样量	: 10 μL (1000 mg/L)
检测 (PDA)	: 238 nm (SPD-M40, UHPLC 流通池)

\*1 P/N: 227-31064-03

质谱条件	: LCMS-2050
离子化	: ESI/APCI (DUIS™), 正负离子模式
型号	: SCAN (m/z400-800)
雾化气流量	: 2.0 L/min
干燥气流量	: 5.0 L/min
加热气流量	: 7.0 L/min
DL 温度	: 200° C
脱溶温度	: 450° C
接口电压	: +3.0 kV / -2.0 kV
Qarray 电压	: +20 V

### 利用 LCMS-2050 准确跟踪峰

图 1 显示了在最终梯度浓度为 80%，梯度斜率为 8 min 和 18 min 时获得的 LC 色谱图，以及各杂质（杂质 1 到 6）的 m/z。图 2 显示了杂质 1 到杂质 6 的紫外光谱。杂质 1 和杂质 6（相似度 >0.99）、杂质 2 和杂质 4（相似度 >0.9）以及杂质 3 和杂质 5（相似度 >0.999）的紫外光谱之间的相似度表明，基于紫外光谱进行峰跟踪难度很高。相比之下，LabSolutions MD 通过 LCMS-2050 进行了基于 m/z 的峰跟踪，以准确鉴定具有相似紫外光谱的杂质（图 1）。

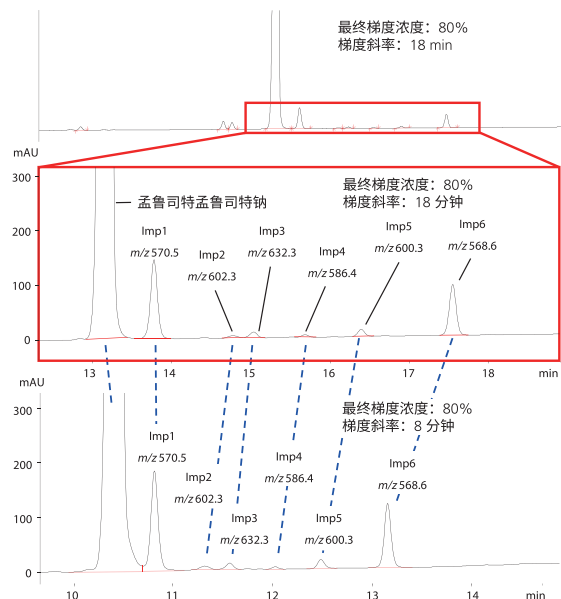


图 1 最终梯度浓度为 80%、  
梯度斜率为 8 (下) 和 18 min (上) 的 LC 色谱图

- 虚线表示基于 m/z 跟踪杂质。
- 杂质 1 到 6 与《日本药典》中指出的杂质不同。

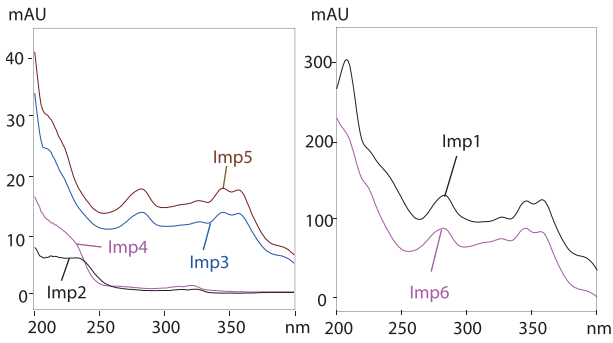


图2 孟鲁司特孟鲁司特钠杂质（杂质1到6）的紫外光谱

接下来，为了确定最佳的分析条件，当最终浓度和梯度斜率发生变化时，通过设计空间对分离度进行了可视化。

## 最佳分析条件的设计空间评估

图3显示了孟鲁司特钠和杂质1分离度的设计空间。红色区域表示分离度较高，蓝色区域表示分离度较低。通过设计空间对分离度进行可视化，表明较低的终浓度和较长的梯度斜率可以实现更好的分离。

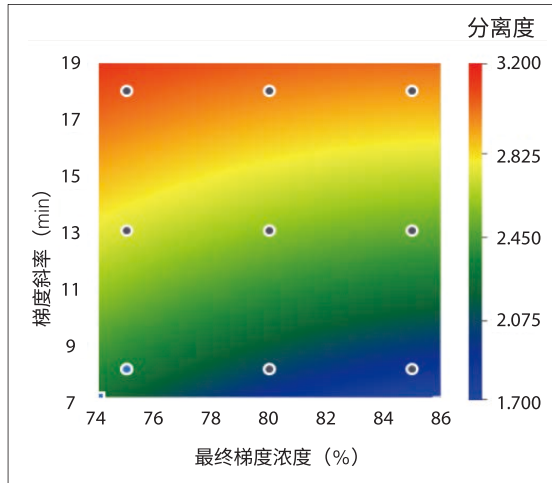


图3 孟鲁司特钠和杂质1分离度的设计空间

LabSolutions MD 可以通过叠加设计空间来简化对最佳分析条件的搜索。图4显示了满足孟鲁司特钠和杂质1分离度 >2.6 时的分析条件面积，各化合物的最小分离度 >1.2，最后一个洗脱峰（杂质6）的 RT < 17 min。图中绿线围成的区域是最小分离度 <1.2 的区域，蓝线围成的区域是孟鲁司特钠和杂质1分离度 <2.6 的区域，粉线围成的区域是最后一个洗脱峰的 RT > 17 min 的区域，剩下的区域（由黑色阴影线所示）是满足所有标准的情况。在画有阴影线的面积内，分析时间最短的最佳点在 A 点附近，该点用红色圈出。因此，通过叠加分离度和最后一个洗脱峰的 RT 的设计空间，可以很容易地找到提供足够分离度和较短分析时间的最佳条件。

利用设计空间能够很容易地了解 LC 参数如何影响相关参数，如分离度和 RT。这意味着可以在不依靠用户经验的情况下确定一个可靠的分析方法。

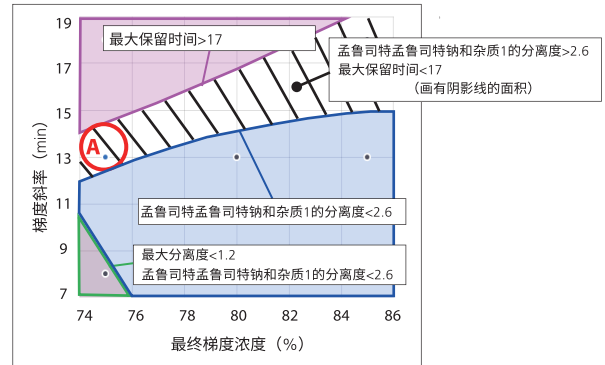


图4 分离度和最后一个洗脱峰的设计空间的叠加

## 最佳条件下的色谱图

在最佳条件下得到的色谱图（A点）如图5所示。结果显示，孟鲁司特钠和杂质1的分离度为2.7，各杂质的最小分离度为1.4（杂质3），最后一个洗脱峰的 RT 小于 17 分钟，成功满足了标准。

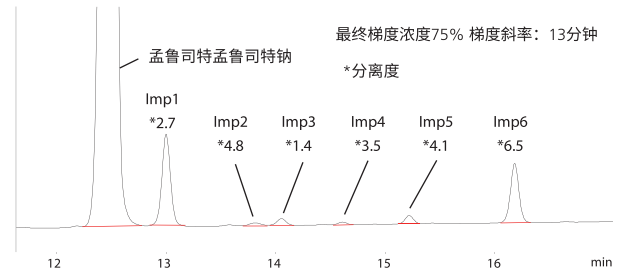


图5 在最佳条件下获得的 LC 色谱图  
最终梯度浓度为 75%，梯度斜率为 13 分钟

## 结论

本文介绍了通过使用 LabSolutions MD 和 LCMS-2050 对药物杂质进行高效的方法开发。基于 m/z 的峰跟踪，即使在紫外光谱相似的情况下，也能准确鉴别各种杂质。将每个化合物的分离度和最后一个洗脱峰的 RT 的图谱进行可视化和叠加，可以轻松开发出更高效（分离度）且快速（分析时间）的方法，无需考虑用户体验。

岛津应用云



LabSolutions、Nexera、Shim-pack 和 DUIS 是岛津制作所或其附属公司在日本和 / 或其他国家的商标。



岛津企业管理（中国）有限公司  
岛津（香港）有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话：800-810-0439  
400-650-0439

免责声明：

\* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售；  
\* 本资料中的所有信息仅供参考，不予任何保证。  
如有变动，恕不另行通知。

第一版发行日：2022 年 10 月