制药

使用 Vanquish Access HPLC 可靠复现呋塞米美国药典标准

作者

Sylvia Grosse，
Maria Gruebner
赛默飞世尔科技，德国

关键字

Vanquish Access HPLC 系统， 呋塞米，呋塞米有关物质 A，美国药典，USP，系统适应性检测，方法性能，含量，杂质分析

应用优势

- 使用 Thermo Scientific™ Vanquish™ Access HPLC 系统可轻松满足美国药典（USP）对于呋塞米检测和杂质分析方法的系统适用性要求。
- 配备 Thermo Scientific™ Hypersil GOLD™ 色谱柱的 Vanquish Access HPLC 系统可提供稳定的方法性能，确保保留时间和峰面积重现性。

目标

证明 Vanquish Access HPLC 系统在 USP 呋塞米检测和杂质分析中的适用性。

简介

可靠的质量控制方法在药物生产中对于确保药物的有效性（药物含量）以及安全性（杂质）至关重要。高效液相色谱（HPLC）作为一种常用的分析手段，经常作为药品的标准方法收录于各国药典（美国，欧洲，中国，日本等）之中，这些成熟的方法很容易在实验室中快速实施。其中系统适用性检测指标可以确保所用仪器和色谱柱满足稳健且一致的分析要求。

在本研究中，根据 USP 药物含量和杂质的方法对呋塞米进行评估。呋塞米是最常用的循环利尿剂，用于治疗因心脏衰竭，肝瘢痕或肾脏疾病引起的水肿[1]。大部分药典分析方法相对简单，易于操作， 不需要高级功能或复杂的设置。Vanquish Access HPLC 系统提供了此类方法所需的稳健性能，是常规 QC 分析的理想选择。

实验

化学品

- 来自 Thermo Scientific™ Barnstead™ Genpure™ xCAD Plus 超纯水净化系统（P/N 50136146）的去离子水，电阻率不低于 18.2 MΩ·cm
- 乙腈，Optima™ LC/MS 级，Fisher Chemical™（P/N A955-212）
- 四氢呋喃，HPLC 级，Fisher Chemical™（P/N T425）
- 乙酸，Optima™ LC/MS ，Fisher Chemical™（P/N A113）
- 呋塞米 RS，有证标准物质，Sigma-Aldrich（P/N PHR1057-1G）
- 呋塞米有关物质 A RS ，有证标准物质 Sigma-Aldrich（P/N PHR1817-100mg）

样品处理

Thermo Scientific™ Finnpipette™（P/N 4641010N）

Thermo Scientific™ SureSTART 2 mL 玻璃螺口样品瓶，2 级高通量应用（P/N 6ASV9-2P）

Thermo Scientific™ SureSTART 9 mm 螺口盖，3 级高性能应用（P/N 6PSC9ST101）

仪器

Vanquish Access HPLC 系统（P/N VA-S22-A-01），包括

- 四元泵
- 分流进样器
- 柱温箱
- 可变波长检测器
- 标准流通池，不锈钢， 11 µL

样品制备

溶液 A：乙腈和超纯水 50/50（v/v）。

稀释液：混合溶液 A 和乙酸（978:22, v/v）。

呋塞米标准溶液：称量 1.365 mg 呋塞米标准物质，将其溶解在 1.365 mL 稀释液中，浓度为 1 mg/mL。量取 800 µL 稀释液，加入 200 µL 该溶液，即得（浓度 0.2 mg/mL）。

呋塞米有关物质 A 标准溶液：称取 1.095 mg 呋塞米有关物质 A，用 1.095 mL 稀释液溶解并稀释，即得（浓度 1mg/mL）。

系统适用性检测溶液：将 20 µL 的 1 mg/mL 呋塞米标准溶液和 12 µL 的 1 mg/mL 呋塞米有关物质 A 标准溶液混合，并用稀释液稀释至 1 mL，即得。

色谱分析条件

表 1. 色谱分析条件

参数	设定值
色谱柱	Hypersil GOLD，250 × 4.6 µm，5 µm（P/N 25005-254630）
流动相	水 / 四氢呋喃 / 乙酸（70/30/1）（v/v/v）
流速	1 mL/min
柱温	25℃
自动进样器温度	10℃
进样体积	20 µL
UV 检测器	• 检测波长：272 nm • 数据采集速率：2 Hz • 响应时间：2.00 s

色谱分析数据系统

Thermo Scientific™ Chromeleon™ 7.3.1 色谱分析数据系统（CDS）用于数据采集和处理。

结果和讨论

根据 USP 各论中规定的方法，系统适用性检测（SST）溶液和标准溶液连续进样六针[2]。溶液的色谱图如图 1 所示。

表 2 列出了针对含量和杂质检测的系统适应性标准以及使用 Vanquish Access HPLC 系统和 Hypersil GOLD 色谱柱获得的结果。可以轻松满足美国药典对分离度和峰面积相对标准偏差（RSD）的要求。

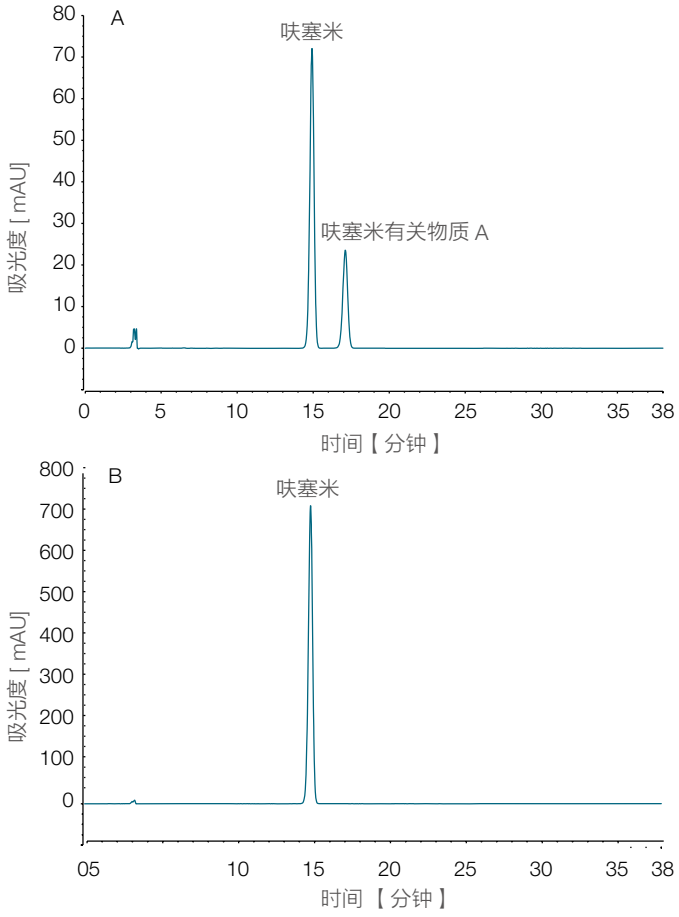

图 1. 波长为 272 nm 时检测到的（A）SST 溶液和（B）标准溶液的紫外色谱图

表 2 . 根据 USP 各论要求的系统适用性(n=6)

专论要求	结果
含量：分离度（呋塞米，呋塞米有关物质 A）NLT 1.5*， SST 溶液	3.95
含量： 峰面积 RSD NMT 0.73%**，标准溶液	0.02%
杂质：分离度 （呋塞米，呋塞米有关物质 A）NLT 2.5*， SST 溶液	3.95
杂质：峰面积 RSD NMT 2.0%**（呋塞米，SST 溶液）	0.04%

*NLT= 不小于；**NMT = 不大于

相对 保留时间（RRT），保留时间的相对标准偏差（RSD RT），以及峰面积相对标准偏差（RSD 峰面积）等性能参数见表 3。通过含量和杂质方法对呋塞米进行可靠和稳健 的分析，性能良好。结果与之前发布的使用 Thermo Scientific™ Vanquish™ Core HPLC 系统的应用报告相当，性能优于 Thermo Scientific™ UltiMate™ 3000 SD HPLC 系统 [3] 。

表 3 . 呋塞米分析的性能参数 （n=6）

化合物	参考溶液	RRT	RSD RT【%】	峰面积 RSD【%】
呋塞米	SST 溶液	1.00	0.10	0.04
呋塞米	标准溶液	1.00	0.28	0.02
呋塞米有关物质 A	SST 溶液	1.15	0.09	0.13

结论

本应用资料展示了 使用 Hypersil GOLD 色谱柱在 Vanquish Access HPLC 系统上直接分析 USP 呋塞米的测定方法。

- 轻松满足含量和杂质检测方法的系统适用性标准要求。
- 稳定的方法性能表现，保留时间 RSD ≤ 0.28% ，峰面积 RSD ≤ 0.13%。

参考文献

1. Furosemide Monograph for Professionals - Drugs.com，美国卫生系统药剂师学会（2023 年 12 月访问）。
2. 美国药典，USP 各论，furosemide，USP/NF（2020）。
3. Thermo Scientific 应用报告 001634：Thermo Scientific UltiMate 3000 和 Vanquish Core HPLC 仪器开箱即用，用于常见处方药物的药典分析，2023，https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/Application-Notes/an-001634-HPP-vanquish-core-Ultimate 3000- compendial-analysis-an001634-na-en.pdf