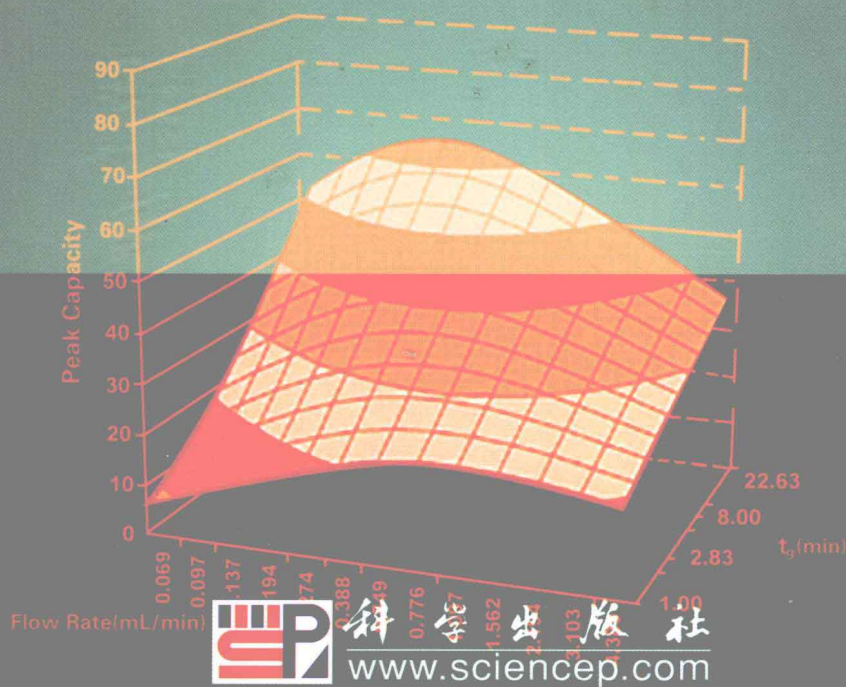


HPLC Method Development for Pharmaceuticals

高效液相色谱在制药 工业中的创新性应用

Satinder Ahuja , Henrik Rasmussen



HPLC Method Development for Pharmaceuticals

高效液相色谱在制药工业中 的创新性应用

Satinder Ahuja, Henrik Rasmussen

科学出版社
北京

图字:01-2008-1811 号

This is an annotated version of

HPLC Method Development for Pharmaceuticals

Satinder Ahuja, Henrik Rasmussen

Copyright © 2007 Elsevier Inc.

ISBN:978-0-12-370540-2

All rights reserved.

No part of this publication may be reproduced or transmitted in any form or by any means, electronic or mechanical, including photocopy, recording, or any information storage and retrieval system, without permission in writing from the publisher.

AUTHORIZED EDITION FOR SALE IN P. R. CHINA ONLY

本版本只限于在中华人民共和国境内销售

图书在版编目(CIP)数据

高效液相色谱在制药工业中的创新性应用=HPLC Method Development for Pharmaceuticals;英文/(美)阿休贾(Ahuja,S.), (美)拉斯马森(Rasmussen, H.)主编. —影印本. —北京:科学出版社,2008

ISBN 978-7-03-021559-8

I. 高… II. ①阿…②拉… III. 液相色谱-应用-制药工业-英文
IV. TQ46

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 045590 号

责任编辑:邹凯 霍志国/责任印制:钱玉芬/封面设计:耕者设计工作室

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

双青印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2008 年 5 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2008 年 5 月第一次印刷 印张:34

印数:1—1 500 字数:807 000

定价:128.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈双青〉)



导 读

2007 年,美国科学出版社—ELSEVIER 出版了《分离科学和技术》专业书的第八卷,即由 Satinder Ahuja 和 Henrik Rasmussen 主编的《高效液相色谱在制药工业中的创新性应用》专著。不同于以前出版的有关高效液相色谱方法的专著,它不仅全面介绍了当代高效液相色谱在理论、方法、仪器装置等方面取得的最新进展,还特别突出的全面阐述了在药物开发过程中,为实现对药物主体成分、微量杂质或降解产物的监测进行高效液相色谱测定方法研制的过程和策略,充分表达了高效液相色谱测定方法在药物开发研制过程的重要作用。

参与本书编写的作者包括两位主编在内共有 35 人,他们分别来自 HPLC 仪器制造商 Waters 公司(5 人)、各大学和研究所(10 人)、制药公司及开发实验室(20 人),如此庞大的写作队伍,在一般专著中并不多见,他们对 HPLC 方法、仪器设备、应用和药物研制、开发过程皆有深厚的专业知识背景。

本书主编 Satinder Ahuja 是一位具有国际声望的药物分析化学家,他于 20 世纪 60 年代毕业于美国费城药理学和理学院(The Philadelphia college of Pharmacy and Science),现称费城理科大学(University of Sciences in Philadelphia),获得药物分析化学博士学位,为美国化学会会员,曾供职于汽巴-盖基(Ciba-Geigy)公司,为物理和分析化学部高级科学家。后在 Novartis 公司领导岗位任职 25 年,并在一些大学兼任教授,现为 Ahuja 咨询公司总裁,并对顶级药物公司提供切实有效的帮助。1986—2007 年,他先后主编了 12 本有关 HPLC 和药物分析的专著和手册。内容涉及在 HPLC 中选择性和可检测性的优化;使用 HPLC 的微量和超微量分析;使用色谱的手性分离、应用和技术;药物及其他化合物的超微量分析;现代药物分析手册;生物分离手册;在药物中杂质分离和特殊表征手册;使用 HPLC 的药物分析手册和用于药物的 HPLC 方法的研制。上述内容已充分显示了 Ahuja 在 HPLC 分析领域和药物分析领域具有的深厚科学功底。

本书的另一主编 Henrik Rasmussen 在弗吉尼亚工业学院和州立大学(Virginia Polytechnic Institute and State University, Virginia Tech)获得博士学位,现任 Johnson & Johnson 药物研究和开发部的药物产品和物理特性表征室的主任,他还是全球首创的在方法研制和确认策略协调方面的负责人。

本书遵循“人用药品注册技术规范国际协调会”(International Conference on Harmonisation of technical requirements for registration of Pharmaceutical for human use, ICH)提出的技术要求,以药物开发从预临床研究到后批准的全过程,突出了高效液相色谱技术在药剂发现、预临床和临床各个阶段发挥的重要作用,强调在药物开发的早期和后期,生产过程的控制及快速药物代谢动力学检验中,对高效液相色谱方法研究制订的策略,这种首次全面的阐述也正是本书具有的最大参考价值。

读者在阅读本书时,应首先仔细阅读第 1 章——用于药物的 HPLC 方法研制的全

貌。在此章中,主编扼要阐述了全书各章的中心内容,其中第2~8章、第17~18章全面描述了HPLC的理论、HPLC色谱柱和填料、色谱柱的特性和选性、手性分离、用于HPLC方法研制的当代液相色谱系统(主要介绍了Waters公司生产的超高效液相色谱仪ACQUITY UPLC系统)、HPLC-MS/NMR联用技术、HPLC样品制备方法、HPLC仪器的故障排除和分子印迹聚合物作为分离和萃取吸附剂的应用。

第9~16章阐述了在药物开发过程中,研究和制定HPLC测定方法应遵循的技术要求,包括对HPLC仪器的鉴定和对软件(操作规范)的确认、在药物开发从预临床到后批准的全过程、研究和制订HPLC测定方法的特殊要求。

在药物开发早期,研制HPLC测定方法的主要目的是获得药物及其产品的基础知识,以利于优化化学合成方案和药物产品的配方,确定药物的主体成分、所含微量杂质和降解产物。使用的HPLC测定方法应能支撑临床药物释放、考察药物稳定性和安全性的需求。为了寻求药物在人的生理活动中其所含杂质和降解产物发生的变化,可采用多因素的正交筛选方法,以收集作为一种研制测定方法,必须预先具备适用于控制药物商业供应所需的知识。

在药物开发的后期,采用的HPLC测定方法要满足药品管理部门的规章要求,并用于对批量生产的药物进行临床释放稳定性的研究,此时由研究开发实验室制定的HPLC测定方法需转移到进行质量控制(quality control, QC)的应用实验室,在理想情况下,已制定的HPLC测定方法可具有较长的使用期限。显然,操作快速、耐用、结果可靠、易于转移的HPLC测定方法是最有价值的。HPLC测定方法由开发向应用实验室的转移,是对测定方法可靠性的真实挑战,开发和应用实验室都急于了解测定方法转移的结果,在大多数情况下,转移的结果是满意的;而在某些情况下,测定方法转移的失败会延误药物开发的正常周期,因此研制HPLC测定方法 and 应用HPLC测定方法的团队之间必须建立良好的沟通。

在药物生产的全部工业过程中,必须建立完整的过程控制体系,生产的药物必须符合质量标准,必须监测反应、分离、重结晶、干燥过程的中间产品的质量,并可利用多种分析测定技术。

由上述对本书内容的简介可知,适合于本书的读者是现正从事药物开发的高级技术人员;在药物开发工作中从事HPLC分析,但又不太了解ICH技术要求的分析工作者;在众多制药企业中,从事药物生产和质量控制的、可以阅读英文科技文献的中级技术人员;从事药物研究的高等院校的教师和高年级制药专业的本科生,以及硕士和博士生。

阅读本书的读者应了解高效液相色谱方法的基本原理、高效液相色谱仪的操作方法以及化学药物合成的基本知识。对国内大多数读者不大了解ICH的技术要求,可以通过阅读本书补足缺少的知识。此外,读者还应补充在产品质量保证、计量、质量管理方面的基本知识,如仪器鉴定(instrument qualification)、方法确认(method validation)、质量控制(quality control)等基本概念的理解。

本书的不足之处是缺少对系统确认(system validation)的阐述,但此内容已在Ahuja主编的另一本专著《Handbook of Pharmaceutical Analysis by HPLC, Elsevier, Amsterdam》(2005)中有完整的介绍。

现在国内对化学合成药物的开发处于起步阶段，仅有少量专利及文献报导，而对中药的开发利用报导很多，已有多本色谱或高效液相色谱在中药分析中的应用专著出版，如

(1) 李萍，刘丽芳，毕志明等编著. 常用中药液相与气相色谱鉴定. 北京：化学工业出版社，2005.

(2) 赵陆化编著. 中药高效液相色谱法应用. 北京：中国医药科技出版社，2005.

(3) 蔡宝昌，刘训红主编. 常用中药材 HPLC 指纹图谱测定技术. 北京：化学工业出版社，2005.

(4) 田颂九，胡昌勤，马双成等编著. 色谱在药物分析中的应用. 北京：化学工业出版社，2006.

上述专著多为中药或药物产品的成分鉴定，而对色谱方法如何应用于药物开发的全部过程的报导甚少。

在 2000 年前后，国内出版的有关 HPLC 的专著有

(1) 邹汉法，张玉奎，卢佩琴著. 高效液相色谱法. 北京：科学出版社，1998.

(2) 于世林编著. 高效液相色谱法及应用（第 2 版）. 北京：化学工业出版社，2005.

上述专著阐述的内容与本书对当代 HPLC 进展的介绍相呼应。

最后应指出，本书各章中引用的参考文献十分齐全，对扩展读者的知识面十分有益。

于世林
北京化工大学

前 言

高压，或高效，液相色谱（HPLC）是选择用于检验新药候选物纯度的方法，监测按比例扩大生产或修改合成方法的变化，评价新的配方，以及对最终药物产品的经营控制和质量保证。

在 HPLC 领域，众多的参考材料是可利用的，但与药物关联的一些特殊性内容在以前出版的单一书中并未被探讨，例如：

- 对仪器鉴定和确认已被发展成为满足不同规章要求的对策。
- 当 HPLC 被用来对任何药物进行评价之前，它们需要满足必须遵守的确认要求。
- 必须分离的杂质和降解产物经常是未知的，并须阐明其作为方法研制过程的一部分。

本书的宗旨是提供当代 HPLC 方法研制的一个广阔的全貌，并包容上述特殊性内容。为实现提供一个独立信息来源的目的，期望做到包容呈现在 HPLC 方法研制中的所有课题，本书由两个主要部分组成：

（1）综述并更新 HPLC 技术和科学的现状，包括理论、HPLC 操作模式、柱化学、保留机理、手性分离、现代仪器装置（包括超高压系统）和样品制备。重点已放在执行并提供一种实践观点。

（2）在一套药物装置中，对 HPLC 集中在特殊的需求包括：

- 对软件和硬件确认的对策是用于一个管理实验室中。
- 药物开发过程的一个概观（临床期间、化学和药物开发活动）会导致方法研制讨论进入争论。
- HPLC 怎样用于药物开发的每个时期和何种方法被开拓以支撑每个时期的活动，做了一场全面的讨论。
- 方法确认活动的一场讨论，可提供一种扩展的 ICH 指导路线（即提供一种 ICH 指导路线的说明）。
- 对 HPLC 仪器故障排除和预防做了一个全面的讨论。
- 对分子印迹聚合物的前沿领域和它们在药物分析中的潜在应用做了一个综述。

本书企图满足两类读者的特殊使用，即在药物工业中的初学者和有经验的 HPLC 方法开拓的化学家；对管理人员可满足更新已有知识的需求。我们十分感谢众作者对本书做出的贡献，使得本书对药物工业的研究人员、分析家、经营者和管理者，可作为 HPLC 方法研制的一个权威的参考文献来源。

Satinder (Sut) Ahuja
Henrik Rasmussen

（于世林 译）

PREFACE

High pressure, or high performance, liquid chromatography (HPLC) is the method of choice for checking purity of new drug candidates, monitoring changes during scale up or revision of synthetic procedures, evaluating new formulations, and running control/assurance of the final drug product.

While numerous texts on HPLC are available, there are several unique concerns for pharmaceuticals that have not been discussed previously in one single book:

- Strategies have to be developed for instrument qualification and validation to meet various regulatory requirements.
- HPLC methods need to meet stringent validation requirements before they are utilized for any pharmaceutical evaluations.
- Impurities and degradation products to be separated are frequently not known and must be elucidated as part of the method development process.

The aim of this book is to provide an extensive overview of modern HPLC method development that addresses these unique concerns. For the purpose of providing a single source of information, an attempt has to been made to address all topics relevant to HPLC method development. The book is comprised of two major sections:

1. Review and update of the current state of the art and science of HPLC, including theory, modes of HPLC, column chemistry, retention mechanisms, chiral separations, modern instrumentation (including ultrahigh-pressure systems), and sample preparation.

Emphasis has been placed on implementation and on providing a practical perspective.

2. Focus on unique requirements for HPLC in a pharmaceutical setting. These include:
 - Strategies for software and hardware validation to allow for use in a regulated laboratory.
 - An overview of the pharmaceutical development process (clinical phases, chemical, and pharmaceutical development activities) to bring method development discussion into context.
 - A comprehensive discussion of how HPLC is used in each phase of pharmaceutical development and how methods are developed to support activities in each phase.
 - A discussion of method validation activities that provides an extension of ICH guidelines (i.e., provides an interpretation of ICH guidelines).
 - A comprehensive discussion of troubleshooting and prevention of problems.
 - A review of the emerging field of molecularly imprinted polymers and its potential applications in pharmaceutical analyses.

The book is intended to be particularly useful for both novice and experienced HPLC method development chemists in the pharmaceutical industry and for managers who are seeking to update their knowledge. We would like to thank the authors for their contributions that will make this book serve as a definitive reference source of HPLC method development for researchers, analysts, managers, and regulators of the pharmaceutical industry.

Satinder (Sut) Ahuja
Henrik Rasmussen

CONTRIBUTORS

Satinder Ahuja Ahuja Consulting, Inc., 1061 Rutledge Court, Calabash, NC 28467, USA

Bonnie A. Alden Waters Corporation, 34 Maple Street, Milford, MA 01757, USA

Kevin C. Bynum Novartis Pharmaceuticals Corporation, One Health Plaza, East Hanover, NJ 07936, USA

Maurits De Smet Johnson and Johnson Pharmaceutical Research and Development, A Division of Janssen Pharmaceutica N.V., Turnhoutseweg 30, B-2340 Beerse, Belgium

Julee L. Driver Department of Chemistry and Biochemistry, Shepard Hall 121, Box 2202, South Dakota State University, Brookings, SD 57007, USA

Thomas N. Feinberg Cardinal Health, P.O. Box 13341, Research Triangle Park, NC 27709, USA

Sheetal Gaiki Johnson and Johnson Pharmaceutical Research and Development, LLC, 1000 Route 202, P.O. Box 300, Raritan, NJ 08869, USA

Edward R. Grover Waters Corporation, 34 Maple Street, Milford, MA 01757, USA

Eric S. Grumbach Waters Corporation, 34 Maple Street, Milford, MA 01757, USA

Patrick Heylen Johnson and Johnson Pharmaceutical Research and Development, A Division of Janssen Pharmaceutica N.V., Turnhoutseweg 30, B-2340 Beerse, Belgium

Pamela C. Iraneta Waters Corporation, 34 Maple Street, Milford, MA 01757, USA

- M. Ilias Jimidar** Johnson and Johnson Pharmaceutical Research and Development, A Division of Janssen Pharmaceutica N.V., Turnhoutseweg 30, B-2340 Beerse, Belgium
- Y. V. Kazakevich** Department of Chemistry and Biochemistry, Seton Hall University, 400 South Orange Avenue, South Orange, NJ 07079, USA
- Myra T. Koesdjojo** Department of Chemistry, Oregon State University, 249 Gilbert Hall, Corvallis, OR 97331, USA
- Walter Korfmacher** Schering-Plough Research Institute, 2015 Galloping Hill Road, Kenilworth, NJ 07033, USA
- Weiyong Li** Johnson and Johnson Pharmaceutical Research and Development, LLC., Welsh & McKean Roads, Spring House, PA 19477, USA
- Harold McNair** Department of Chemistry, Virginia Tech, Blacksburg, VA 24061, USA
- Alberto Méndez** Waters Corporation, 34 Maple Street, Milford, MA 01757, USA
- James O. Mullis** Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Inc., 900 Ridgebury Rd., P.O. Box 368, Ridgefield, CT 06877-0368, USA
- Uwe D. Neue** Waters Corporation, 34 Maple Street, Milford, MA 01757, USA
- Daniel L. Norwood** Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Inc., 900 Ridgebury Rd., P.O. Box 368, Ridgefield, CT 06877-0368, USA
- Lee N. Polite** Axion Labs, 14 N Peoria St., Chicago, IL 60607, USA
- Henrik T. Rasmussen** Johnson and Johnson Pharmaceutical Research and Development, LLC 1000 Route 202, P. O. Box 300, Raritan, NJ 08869, USA
- Douglas E. Raynie** Department of Chemistry and Biochemistry, Shepard Hall 121, Box 2202, South Dakota State University, Brookings, SD 57007, USA
- Vincent T. Remcho** Department of Chemistry, Oregon State University, 249 Gilbert Hall, Corvallis, OR 97331, USA
- Christine F. Richardson** Process R&D, Kilolab Novartis Pharma AG, Muttentz, Switzerland
- Gregory C. Slack** Clarkson University, 8 Clarkson Avenue, Potsdam, NY 13699, USA
- Nicholas H. Snow** Department of Chemistry and Biochemistry, Seton Hall University, 400 South Orange Avenue, South Orange, NJ 07079, USA
- Michael E. Swartz** Waters Corporation, 34 Maple St., Dept. GC, Milford, MA 01757, USA
- Kelly A. Swinney** Johnson and Johnson Pharmaceutical Research and Development, LLC, A Division of Janssen Pharmaceutica N.V., Global Analytical Development, Turnhoutseweg 30, B-2340 Beerse, Belgium
- Yolanda H. Tennico** Department of Chemistry, Oregon State University, 249 Gilbert Hall, Corvallis, OR 97331, USA

Dave Van Geel Altran Belgium sa, Avenue de Tervurenlaan 142–144,
B1150 Brussels, Belgium

Dóra Visky Johnson and Johnson Pharmaceutical Research and
Development, LLC 1000 Route 202, P.O. Box 300, Raritan,
NJ 08869, USA

Xiande Wang Cordis Corporation, a Johnson and Johnson Company,
7 Powderhorn Drive, Warren, NJ 07059, USA

Xiaoying Xu Schering-Plough Research Institute, 2015 Galloping Hill
Road, Kenilworth, NJ 07033, USA

目 录

前言

撰写作者

1 用于药物的 HPLC 方法研制的全貌

I 引言	1
II 理论考察	2
III HPLC 色谱柱和柱填料	2
IV 色谱柱选择	3
V 手性分离	3
VI 当代的 HPLC	4
VII 联用方法	5
VIII 样品制备	5
IX 仪器鉴定和软件确认	6
X 药物的开发	6
XI 药物的发现	7
XII 早期方法的开发	8
XIII 后期的开发	8
XIV 在线(过程)检验	9
XV 用于生物分子方法的开发	9
XVI 方法确认	10
XVII 故障排除	10
XVIII 分子印迹聚合物	10
参考文献	11

2 HPLC 理论

摘要	13
I 引言	13
II 基本的色谱描述符	14
III 柱效	15
IV 分离度	20
V 保留机理的主要组成	22
VI 一般色谱柱的质量平衡	24
VII 分配模式	27
VIII 吸附模式	28

IX	死体积考察	29
X	热力学关系式	31
XI	二级平衡	35
XII	盐效应	37
XIII	不同对(反荷)离子的影响	38
XIV	在质量平衡中二级平衡的包含	40
XV	结论	43
	参考文献	43
3	HPLC 色谱柱和填料	
	摘要	45
I	引言	46
II	色谱柱化学	47
III	速度和分离度	68
IV	由纳米孔径到制备色谱的特制色谱柱	77
V	总结	80
	参考文献	80
4	色谱柱特性和选择性	
	摘要	85
I	引言	86
II	RP-HPLC 色谱柱的特殊性和色谱检验	90
III	色谱性分类和选择性	101
IV	结论	104
	感谢	105
	参考文献	105
5	手性分离	
	摘要	111
I	引言	112
II	在 HPLC 手性固定相上对映体的分离	115
III	对药物手性 HPLC 的实用指导	135
IV	结论	137
	参考文献	138
6	用于方法研制的当代液相色谱系统	
	摘要	145
I	引言	146
II	用于 HPLC 方法研制的传统仪器	147

III 当代的方法研制体系.....	153
IV 由 HPLC 到 UPLC 的迁移方法	169
V 在药物分析中 UPLC 的应用	174
VI 总结和结论.....	183
感谢.....	184
参考文献.....	185
进一步的阅读材料.....	186
7 联用技术	
摘要.....	189
I 引言和背景.....	190
II 液相色谱/质谱联用	191
III 液相色谱/核磁共振波谱联用	218
IV 结论.....	231
感谢.....	231
参考文献.....	232
8 HPLC 样品制备	
摘要.....	237
I 引言.....	238
II 萃取和化学平衡原理.....	239
III 样品制备方法的选择.....	245
IV 直接进样.....	246
V 液-液萃取	247
VI 固相萃取.....	248
VII 固体样品.....	254
VIII 附加的样品制备方法.....	256
IX 结论.....	263
参考文献.....	263
9 仪器鉴定和软件确认	
摘要.....	270
I 引言.....	270
II 定义.....	271
III 鉴定模式.....	278
IV 讨论: HPLC 实例研究	291
V 总结和结论.....	294
感谢.....	295
参考文献.....	295

10 药物开发：从预临床到后批准

摘要	297
I 引言	298
II 在药剂发现中 HPLC 的作用	300
III 在预临床开发中 HPLC 的作用	303
IV 在临床开发中 HPLC 的作用	307
V 后批准	312
VI 结论	315
参考文献	315

11 在快速药物代谢动力学 (PK) 应用中，用于药物发现 LC-MS 检验的 HPLC 方法的研制

摘要	318
I 引言	318
II 串联 MS 选择性反应监测 (SRM) 的进展	319
III HPLC 方法的研制	322
IV 样品制备	324
V 基体效应	329
VI 背景干扰：增强质量分离度的策略	334
VII 定量限度、动力学范围和线性	340
VIII 检验样品和生成药物动力学报告	344
IX 结论	345
感谢	345
参考文献	345

12 在早期药物开发中 HPLC 方法的研制

摘要	353
I 引言	354
II 强制分解和杂质确定	355
III 正交筛选	357
IV 方法选择和优化	362
V 附加的方法	366
VI 用于后期 HPLC 方法研制制定的策略	367
VII 结论	369
感谢	369
参考文献	369

13 在后期药物开发中 HPLC 方法的研制

摘要	373
----	-----

I	引言	374
II	开发的目	375
III	计划期	377
IV	方法研制期	382
V	方法评价期	394
VI	方法转移期	398
VII	方法性能监测和反馈	400
VIII	方法开拓循环周期和档案	403
IX	结论	403
	参考文献	404
14	HPLC 用于加工过程检验	
	摘要	407
I	引言	407
II	在药物开发中过程检验的各种实例	409
III	快速 HPLC	419
IV	在化学品生产中的过程检验	420
V	在药物生产中的过程检验	422
VI	结论和未来的方向	423
	感谢	423
	参考文献	423
15	用于生物分子的方法开拓	
	摘要	425
I	引言	426
II	用 HPLC 的蛋白质和肽的分离	430
III	条件研究	434
IV	总结和结论	437
	缩略词	438
	参考文献	438
16	方法确认	
	摘要	441
I	引言	442
II	确认过程	444
III	确认的特性	444
IV	附加的确认特性	450
V	稳定性检验	452
VI	结论	457