

# 二芥酰磷脂酰胆碱有关物质检测方法的验证与质量控制研究

陈梅香

广东先导稀材股份有限公司 广东省清远市 511500

**摘要:** 目的: 探讨二芥酰磷脂酰胆碱有关物质检测方法的验证过程, 并评价其在质量控制中的适用性。方法: 采用高效液相色谱 (HPLC) - 蒸发光散射检测器 (ELSD) 对二芥酰磷脂酰胆碱及其主要有关物质 (芥酸、二环己基脲、单芥酰磷脂酰胆碱、总二酰基磷脂酰胆碱) 进行分离与检测。依据《中国药典》及 ICHQ2 指南, 验证项目包括专属性、系统适用性、检测限、线性、精密度、准确度、溶液稳定性和耐用性。结果: 方法学验证显示, 各组分峰分离度  $\geq 1.5$ , 理论板数均  $> 3000$ ; 检测限符合  $S/N=3-5$  标准; 线性相关系数  $r \geq 0.990$ ; 精密度与中间精密度  $RSD \leq 20\%$ ; 准确度回收率在  $90.0\% \sim 110.0\%$ ; 供试品溶液 24h 内稳定, 方法在温度及流速变动条件下仍保持可接受分离度和系统稳定性。结论: 该检测方法专属性强, 灵敏度高, 具有良好的重复性和准确度, 能够满足二芥酰磷脂酰胆碱制剂生产中质量控制的需求, 为临床药物安全提供可靠保障。

**关键词:** 二芥酰磷脂酰胆碱; 有关物质; 方法学验证; 高效液相色谱; 质量控制

二芥酰磷脂酰胆碱作为布比卡因脂质体混悬注射液重要辅料, 其质量直接关联制剂稳定性与临床应用安全性。研究显示该原料在生产及贮存过程中可能产生多种有关物质, 如芥酸、二环己基脲和单芥酰磷脂酰胆碱等, 这些杂质若出现超标情况将会影响制剂安全性和疗效, 所以建立科学稳定且可重复的分析方法并进行系统验证, 属于药品质量控制体系里的核心环节<sup>[1]</sup>。本文结合企业实际验证方案开展二芥酰磷脂酰胆碱有关物质检测方法学验证与质量控制研究。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

在本研究中, 采用 Agilent1260 高效液相色谱仪配合蒸发光散射检测器 (ELSD) 作为检测平台, 色谱分离条件为 WondaSil@C18-WR 色谱柱 (250mm  $\times$  4.6mm, 5  $\mu$ m), 流动相由甲醇 - 四氢呋喃 - 水 - 三氟乙酸按 950:50:10:1 比例组成, 流速 1.0mL/min, 柱温控制在 40  $^{\circ}$ C, 进样体积为 10  $\mu$ L。对照品选用芥酸、二环己基脲、单芥酰磷脂酰胆碱及二芥酰磷脂酰胆碱, 对照溶液及供试品溶液的配制均采用 HPLC 级甲醇、四氢呋喃和三氟乙酸, 以确保分析结果的可靠性和方法学的科学性。

### 1.2 方法

根据药典与 ICH 指南, 分别设置验证项目:

对照组: 采用对照品溶液, 考察专属性、检测限、线

性关系等。

观察组: 采用供试品溶液, 考察重复性、准确度、溶液稳定性和耐用性。

### 1.3 观察指标

(1) 专属性与系统适用性: 峰分离度、理论板数及空白干扰情况。

(2) 检测限 (LOD): 以  $S/N=3-5$  对应浓度确定。

(3) 线性: 浓度对数与峰面积对数的回归关系。

(4) 精密度: 日内重复性与日间中间精密度。

(5) 准确度: 各组分加样回收率。

(6) 溶液稳定性: 0、6、12、24h 各时间点峰面积比。

(7) 耐用性: 不同柱温、流速和漂移管温度下的系统稳定性。

### 1.4 数据处理

采用 Excel 和 SPSS 进行数据分析。计量资料以均数  $\pm$  标准差表示; 精密度和准确度以  $RSD\%$  评价; 线性关系采用最小二乘回归计算相关系数。

## 2 结果

### 2.1 专属性与系统适用性

结果显示, 供试品溶液中各目标峰的保留时间与对应对照品一致, 空白溶液中未见干扰峰; 各杂质峰间分离度均  $\geq 1.5$ , 理论板数均大于 3000, 系统适用性考察中 6 次进样

峰面积 RSD 均 < 5%，符合《中国药典》及 ICHQ2 相关要求，表明该方法具有良好的专属性与系统适用性。（如表 1）

表 1：专属性与系统适用性结果

检测项目	结果表现	接受标准
保留时间一致性	供试品峰与对照品峰保留时间一致	主峰保留时间一致
空白干扰	未见干扰峰	目标峰处无明显干扰
分离度	≥ 1.5	相邻峰分离度 ≥ 1.5
理论板数	> 3000	≥ 3000
峰面积 RSD (n=6)	< 5%	≤ 5%

### 2.2 检测限与线性

各有关物质在 HPLC-ELSD 条件下均显示良好的灵敏度，芥酸、二环己基脲、单芥酰磷脂酰胆碱及二芥酰磷脂酰胆碱的检测限（LOD）均满足 S/N=3-5 标准。线性考察结果表明，在规定浓度范围内，四种成分的浓度对数与峰面积对数呈良好线性关系，相关系数 r 均大于 0.990，符合《中国药典》及 ICHQ2 的要求，说明该方法在杂质定量分析中具有较好的适用性。（如表 2）

表 2：检测限与线性结果

成分	检测限 (S/N=3-5)	浓度范围 (μg/mL)	线性回归方程*	相关系数 r
芥酸	合格	0.1 - 0.3	y=ax+b	≥ 0.990
二环己基脲	合格	0.02 - 0.06	y=ax+b	≥ 0.990
单芥酰磷脂酰胆碱	合格	0.1 - 0.3	y=ax+b	≥ 0.990
二芥酰磷脂酰胆碱	合格	0.25 - 0.75	y=ax+b	≥ 0.990

### 2.3 精密度与准确度

通过日内重复性与日间中间精密度考察发现，供试品及对照品各组分的含量测定结果均较为稳定，RSD 值均 ≤ 20%，表明该方法具有良好的重复性和稳健性。准确度试验显示，各组分加标回收率在 90.0%~110.0% 之间，符合《中国药典》相关规定，说明该方法在实际检测中能够保证结果的准确性和可靠性。（如表 3）

表 3：精密度与准确度结果

成分	日内精密度 RSD (%)	日间精密度 RSD (%)	回收率范围 (%)	接受标准
芥酸	≤ 5.0	≤ 6.0	92.3 - 106.5	RSD ≤ 20%、回收率 90 - 110%
二环己基脲	≤ 4.8	≤ 5.5	93.1 - 108.2	同上
单芥酰磷脂酰胆碱	≤ 5.2	≤ 6.1	91.7 - 107.4	同上
二芥酰磷脂酰胆碱	≤ 4.5	≤ 5.2	94.0 - 109.1	同上

### 2.4 溶液稳定性与耐用性

溶液稳定性考察结果表明，供试品溶液在常温下放置 0、6、12、24 h 后，各目标峰的面积变化比值均在可接受范围内，RSD < 5%，说明样品溶液在分析时段内稳定。耐用性试验显示，在柱温（38℃、42℃）、漂移管温度（40℃、50℃）及流速（0.8 mL/min、1.2 mL/min）等条件下，目标峰与相邻峰分离度均 ≥ 1.5，理论板数均 > 3000，系统适用性指标稳定，表明该方法具有良好的耐用性和稳健性。（如表 4）

表 4：溶液稳定性与耐用性结果。

检测项目	条件设置	结果表现	接受标准
溶液稳定性	常温放置 0、6、12、24 h	峰面积比值变化 < 5%	各时间点与 0 h 比值稳定
柱温耐用性	38℃ / 42℃	分离度 ≥ 1.5，理论板数 > 3000	分离度 ≥ 1.5，理论板数 ≥ 3000
漂移管温度耐用性	40℃ / 50℃	系统适用性参数稳定	同上
流速耐用性	0.8 mL/min / 1.2 mL/min	峰形正常，分离度 ≥ 1.5	同上

### 3 讨论

本研究依据《中国药典》以及 ICH Q2 指南系统开展二芥酰磷脂酰胆碱有关物质检测方法验证工作，结果表明该方法在专属性灵敏度线性精密度准确度溶液稳定性及耐用性等方面均符合药典与企业标准要求，充分证明其在质量控制当中具备科学性与可行性<sup>[2]</sup>。

专属性与系统适用性结果表明供试品溶液各杂质峰和对照品峰保留时间一致，空白溶液对检测没有产生干扰，峰分离度都大于或等于 1.5，理论板数大于 3000 且 RSD 小于 5%，这意味着在所采用的色谱条件下各有关物质能够实现良好分离并准确被检出，可满足复杂制剂杂质分析方面的需求。

由检测限与线性结果能够看出，芥酸、二环己基脲、单芥酰磷脂酰胆碱以及二芥酰磷脂酰胆碱的最低检测浓度全都符合 S/N=3-5 的标准，并且浓度和峰面积对数的相关系数均大于 0.990。这一结果给出提示，该方法不但灵敏度比较高，而且能够在相对较宽的浓度范围之内实现定量分析，为生产过程以及成品检验当中低水平杂质的监控提供了可靠手段。

精密度与准确度考察显示，日内重复性与日间中间精密度均在 RSD ≤ 20% 的范围内，加标回收率在 90.0% - 110.0% 之间。这一结果充分表明该方法在不同操作人员、

不同时间条件下均具有良好重复性和一致性,符合药典对于方法学稳定性的要求<sup>[3]</sup>。同时,较高的准确度保证了该方法在日常质量检验中能够真实反映样品实际含量。

溶液稳定性与耐用性试验显示,供试品溶液在常温下 24 小时内保持稳定,不存在显著降解或峰面积波动;在不同柱温、漂移管温度和流速条件下,系统适用性参数仍然满足要求。这说明该方法在日常实验室检测和企业质控的操作环境下具有良好的稳健性和可操作性<sup>[4]</sup>。

总体而言,本研究验证的方法符合药典与 ICH Q2 对分析方法学的各项要求,可用于二芥酰磷脂酰胆碱制剂生产和质量控制。值得注意的是,本研究主要集中在短期稳定性和常见杂质范围,未来可进一步扩展验证长期贮存稳定性及潜在未知杂质的检测能力,以完善质量控制体系。综上,该方

法能够为布比卡因脂质体混悬注射液等制剂的质量评价提供科学依据,对保证临床用药安全性具有重要意义。

#### 参考文献:

- [1] 郑巧. 二芥酰磷脂酰胆碱的质量研究 [J]. 东南大学, 2019.
- [2] 杨勇. 多烯磷脂酰胆碱药物的质量分析方法研究 [D]. 浙江省: 浙江工业大学, 2020.
- [3] 曹然, 程勳, 李茜, 等. 多烯磷脂酰胆碱及其有关物质的分析方法探讨 [J]. 华西药学杂志, 2013, 28(05): 498-501.
- [4] 赵海云, 王春芳, 陈德俊, 等. HPLC-ELSD 法与薄层色谱扫描法用于测定二硬脂酰磷脂酰胆碱有关物质的对比研究 [J]. 广东化工, 2024, 51(18): 164-166, 221.