

基于 AQbD 理念的酒石酸美托洛尔有关物质分析方法开发

LC-382

摘要： 本实验采用岛津方法开发系统，结合 LabSolutions MD 软件，对酒石酸美托洛尔有关物质有效分离进行了方法开发。LabSolutions MD 软件是基于 AQbD 理念的方法开发软件，支持方法开发的整个流程。该软件可根据实验设计 (DoE) 分析样品，使用峰追踪 (i-PeakTracer) 功能自动识别色谱峰，对设计空间进行精确构建，从而开发出稳健可靠的综合分析方法，界面直观可视，即使缺乏经验的分析人员也同样能够轻松驾驭。

关键词： LabSolutions MD AQbD 方法开发 酒石酸美托洛尔

技术特点：

- ❖ 基于 AQbD 理念，使用 LabSolutions MD 开发出酒石酸美托洛尔有关物质的分析方法。
- ❖ 峰追踪 (i-PeakTracer) 功能自动识别色谱峰，从而实现了对设计空间的精确构建。

有关物质的研究是新药研究及仿制药一致性评价中所关注的药品关键质量属性重要部分。传统的方法开发采用的试错法用于单因素单水平的试验，需要不断试错和摸索，最后幸运地找到一个合适的方法。这种方法开发的模式比较盲目，费时费力费成本，方法开发时不会考虑各参数的空间，耐用性差，不同实验室转移时常出现方法测试不能重现的现象。ICH Q14 为分析方法开发提供实践指南，将分析质量源于设计 (AQbD) 的纳入方法开发过程中。AQbD 是基于分析质量源于设计的理念，对方法进行系统性的研究，多因素多水平同时评估。利用方法开发工具和统计学软件进行数据的分析与处理，最后得到一个高性能的方法。这类方法耐用性好，设计空间可靠，准确性高，收集的方法知识多，使用的生命周期长，大大节省人力和时间成本。

在本例中，研究了 β 受体阻滞剂 - 酒石酸美托洛

尔有关物质的分析方法开发，对比国内外药典标准，酒石酸美托洛尔原料药及其片剂有关物质检查项所用检测方法、限度均不大相同。ChP2020 采用 HPLC 法控制已知杂质 I。BP2022 采用 HPLC 法控制已知杂质 A~H、J，其中杂质 C 即为 ChP2020 的杂质 I；采用 TLC 法控制已知杂质 M、N、O。USP44 采用 HPLC 法控制已知杂质 A~D，其中杂质 A、C 与 BP 中的杂质 A、C 相同，杂质 D 为 BP 中的杂质 O，USP44 收载的杂质 B 并未收载于 BP 中，但 USP 杂质 B 结构包含警示结构单元，具有潜在遗传毒性。因此全面检测各个杂质是十分有必要的。

本文参考国内外药典中酒石酸美托洛尔片有关物质检查的色谱条件，使用岛津符合 AQbD 理念的 LabSolutions MD 软件对杂质 A~H、J、B(USP) 进行参数优化，最终建立了酒石酸美托洛尔有关物质稳定可靠的分析方法。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津高效液相色谱仪，具体配置为：

系统控制器：CBM-40

柱温箱：CTO-40C

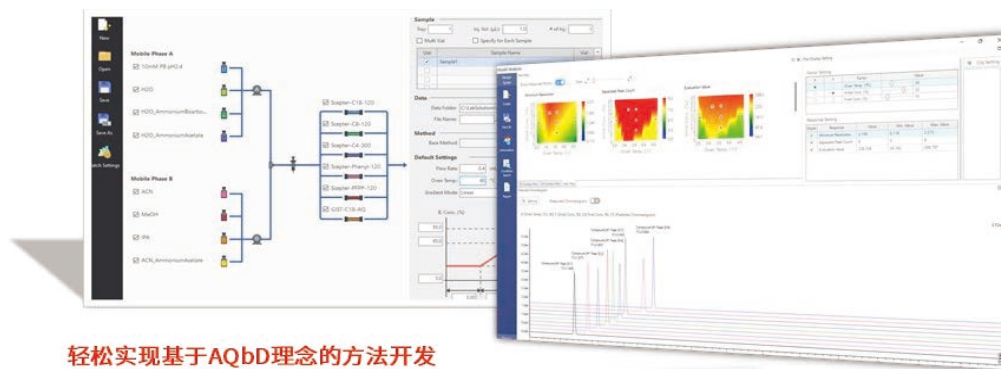
检测器：SPD-M40

输液泵：LC-40D XS x 2

自动进样器：SIL-40C XS

软件：Labsolutions Ver. 5.106

LabSolutions MD Ver. 1.01



轻松实现基于AQbD理念的方法开发

- +** **高效**
通过实验设计
提高分析条件筛选的效率
- +** **直观**
构建设计空间
将分析方法的稳健性可视化
- +** **合规**
集中管理数据库中的所有实验结果
确保数据完整性



图 1 Labsolutions MD 软件的特点

1.2 样品信息

表 1. 样品信息

No.	中文名称	英文名称	CAS 号
1	杂质 A	Metoprolol Tartrate Impurity A	109632-08-8
2	杂质 B	Metoprolol Tartrate Impurity B	56718-71-9
3	杂质 C	Metoprolol Tartrate Impurity C	29122-74-5
4	杂质 D	Metoprolol Tartrate Impurity D	62572-90-1
5	杂质 E	Metoprolol Tartrate Impurity E	163685-38-9
6	杂质 F	Metoprolol Tartrate Impurity F	7695-63-8
7	杂质 G	Metoprolol Tartrate Impurity G	501-94-0
8	杂质 H	Metoprolol Tartrate Impurity H	62572-94-5
9	杂质 J	Metoprolol Tartrate Impurity J	163685-37-8
10	杂质 O	Metoprolol Tartrate Impurity O	154784-36-8
11	杂质 B(USP)	Metoprolol Tartrate Impurity B(USP)	56718-76-4
13	酒石酸美托洛尔	Metoprolol Tartrate	56392-17-7

分别称取表 1 中各对照品适量，精密称定，加入适量溶剂溶解，分别制成 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的溶液，作为标准品储备液。分别取各杂质对照品储备液适量，加入乙腈稀释成分别含酒石酸美托洛尔 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、杂质 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的混合标准品溶液，即得。

■ 结果与讨论

2.1 实验设计

从色谱分离原理看，影响分离要素第一位的是固定相类型。本例是在已经确定了色谱柱的基础上进行后续研究，考察了流动相的组成变化、柱温箱温度以及流速大小对酒石酸美托洛尔与有关物质的分离的影响，酒石酸美托洛尔有关物质的实验设计如表 2 所示。

表 2 筛选阶段实验设计表

流 动 相 :	
A	相 : 50m 乙酸铵 -1% 乙酸溶液
B	相 : ACN
色 谱 柱 :	
Inertsil ODS-3 (250 mm × 4.6 mm I.D., 5 μ m) , S/N: 1A5153356	
分 析 条 件 :	
B 相 起 始 浓 度 : 10, 15, 20% (3 水平)	B 相 终 止 浓 度 : 60%
流 速 : 0.8, 1.0, 1.2 mL/min (3 水平)	柱 温 : 20, 30, 40 $^{\circ}$ C (3 水平)
洗 脱 方 式 : 梯 度 洗 脱, 时 间 程 序 如 下,	
B conc 10% (0 min) ~20% (15min) ~60% (30 min) ~ 90% (30.1-35 min) ~ 10% (35.1-40 min)	
进 样 量 : 1 μ L	检 测 波 长 : 275 nm

2.2 峰追踪 (i-PeakTracer) 功能自动识别色谱峰

为了构建准确的相应曲面, 需要在每个条件下准确识别所有化合物峰。峰追踪功能可以使用峰洗脱顺序、UV 光谱、MS 质谱相似度、峰面积及峰面积百分比、峰高度及峰高度百分比等多种参数对色谱峰进行自动追踪鉴定, 从而实现对设计空间的精确构建, 大大减少手动识别的繁琐程度, 提高工作效率。本实验采用峰洗脱顺序、UV 光谱相似度大于 0.9 对色谱峰进行追踪, 图 2 为不同条件下峰追踪的色谱图。

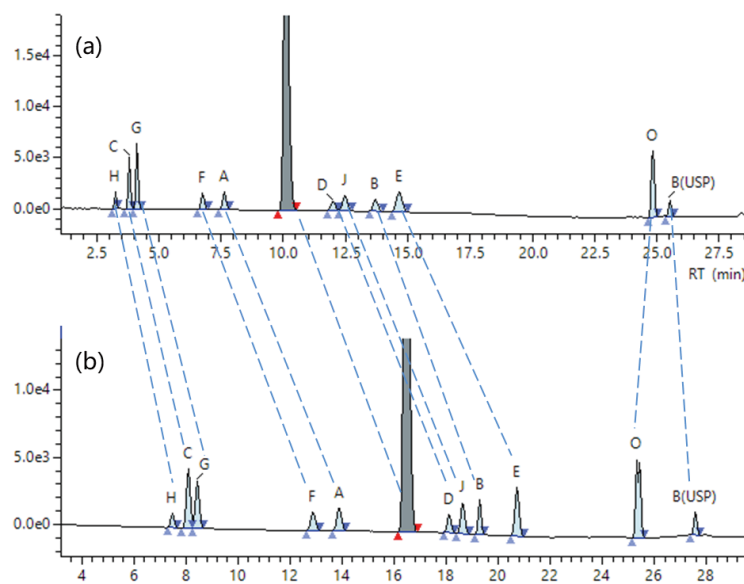


图 2 峰追踪色谱图

(a) B 相起始浓度: 15%, 流速: 1.2 mL/min, 柱温: 40 $^{\circ}$ C

(b) B 相起始浓度: 10%, 流速: 1.0 mL/min, 柱温: 20 $^{\circ}$ C

2.3 设计空间——分析条件的可视化

LabSolutions MD 软件可以绘制设计空间, 可以将分析条件和分离关系进行评价。根据化合物的保留时间, 将流速与柱温, B 相起始浓度与柱温绘制最小分离度的设计空间, 可以同时研究流速、柱温、B 相起始浓度关键参数对分离度的影响, 如图 3 所示。

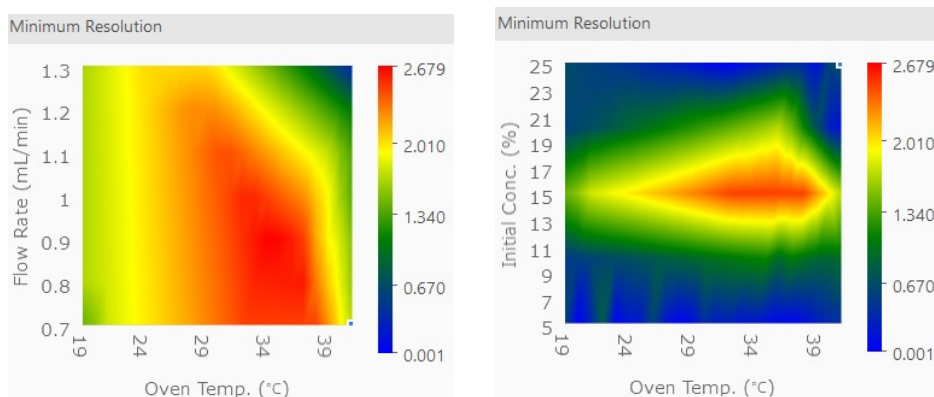


图3 最小分离度的设计空间

对有关物质的分析方法开发而言我们可能更为关注主成分与周围杂质或者难分离杂质之间的分离度。LabSolutions MD 还能够绘制特定化合物的设计空间，酒石酸美托洛尔的分度度的设计空间如图 4 所示，因此我们可以比较直观地确认酒石酸分离良好的分析条件。

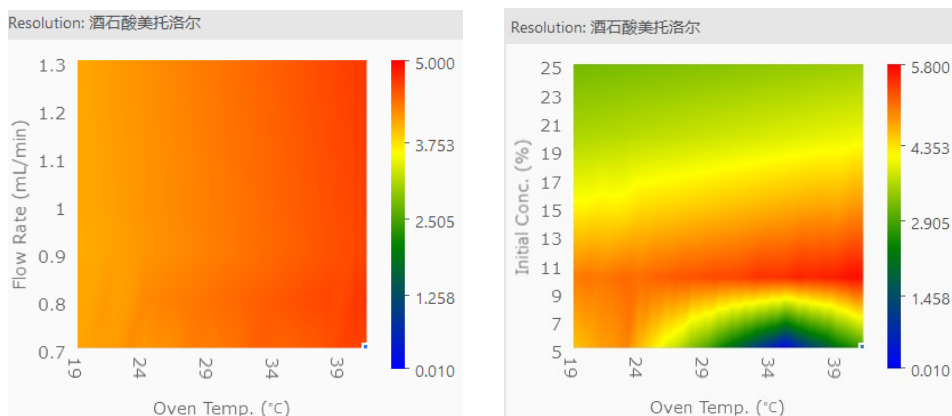


图4 酒石酸美托洛尔最小分离度的设计空间

2.4 计算最佳条件分析条件

LabSolutions MD 软件可以根据绘制的设计空间来预测出最佳的分析条件，无需依赖分析员的经验和直觉。图 5 蓝色正方形为 LabSolutions MD 给出最佳分析参数，预测的色谱图如图 6 所示。根据 LabSolutions MD 给出的最佳分析参数上机分析，实测色谱图如图 7 所示，各峰分离度均大于 1.5，结果参见表 3。

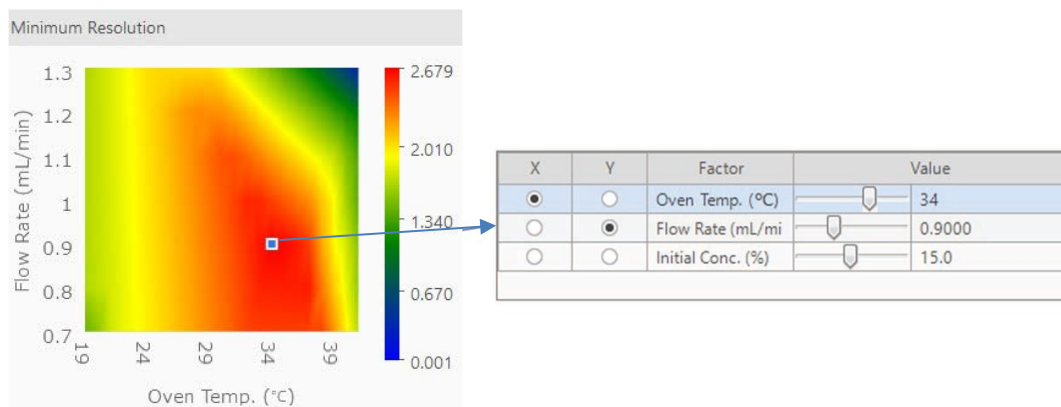


图5 最佳分析参数

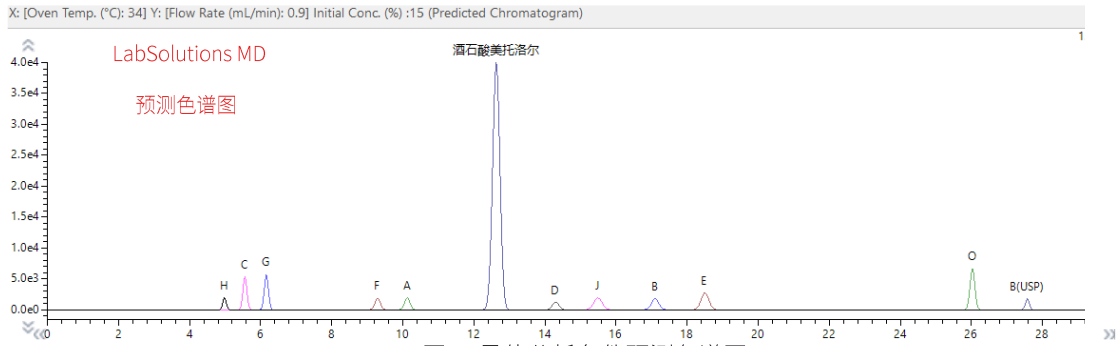


图 6. 最佳分析条件预测色谱图

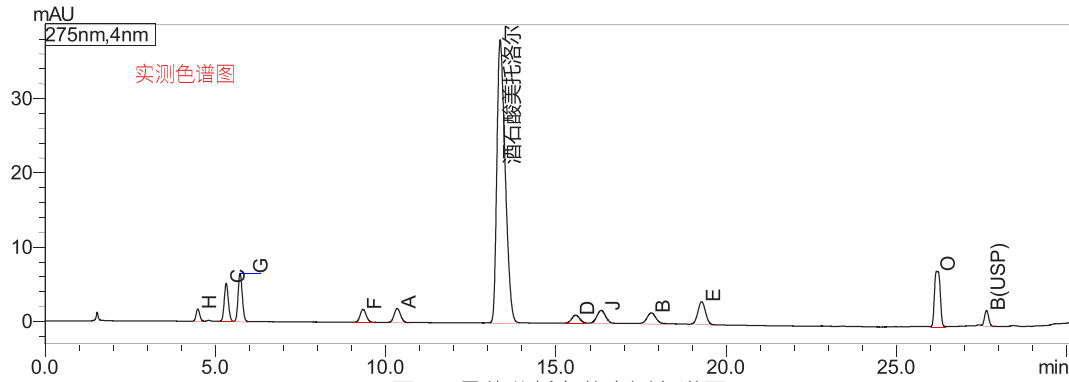


图 7 最佳分析条件实测色谱图

表 3. 最佳条件实测色谱图各峰分离度结果

化合物名称	杂质 H	杂质 C	杂质 G	杂质 F	杂质 A	酒石酸美托洛尔	杂质 D	杂质 J	杂质 B	杂质 E	杂质 O	杂质 B(USP)
分离度	-	3.955	1.797	12.964	2.946	7.485	5.013	1.67	3.162	3.391	20.332	5.964

2.5 耐用性分析

借用 LabSolutions MD 软件进行耐用性分析，在软件中输入分析条件波动的允许范围，软件自动根据序贯设计创建批处理表，进行耐用性评估。在本例中，流速波动 0.1 mL/min，柱温波动 1°C（图 8 中黑色方框），从而验证对分离的影响。图 9 为耐用性评估的色谱图，各峰分离良好，方法的耐用性好。

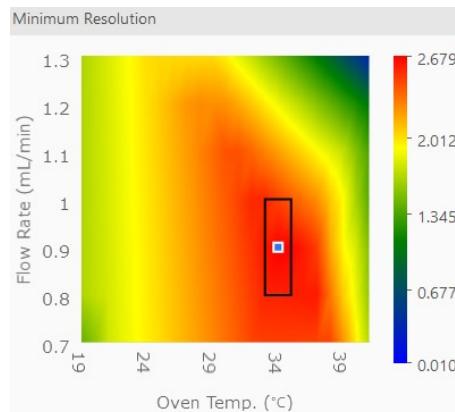


图 8 耐用性评估区域

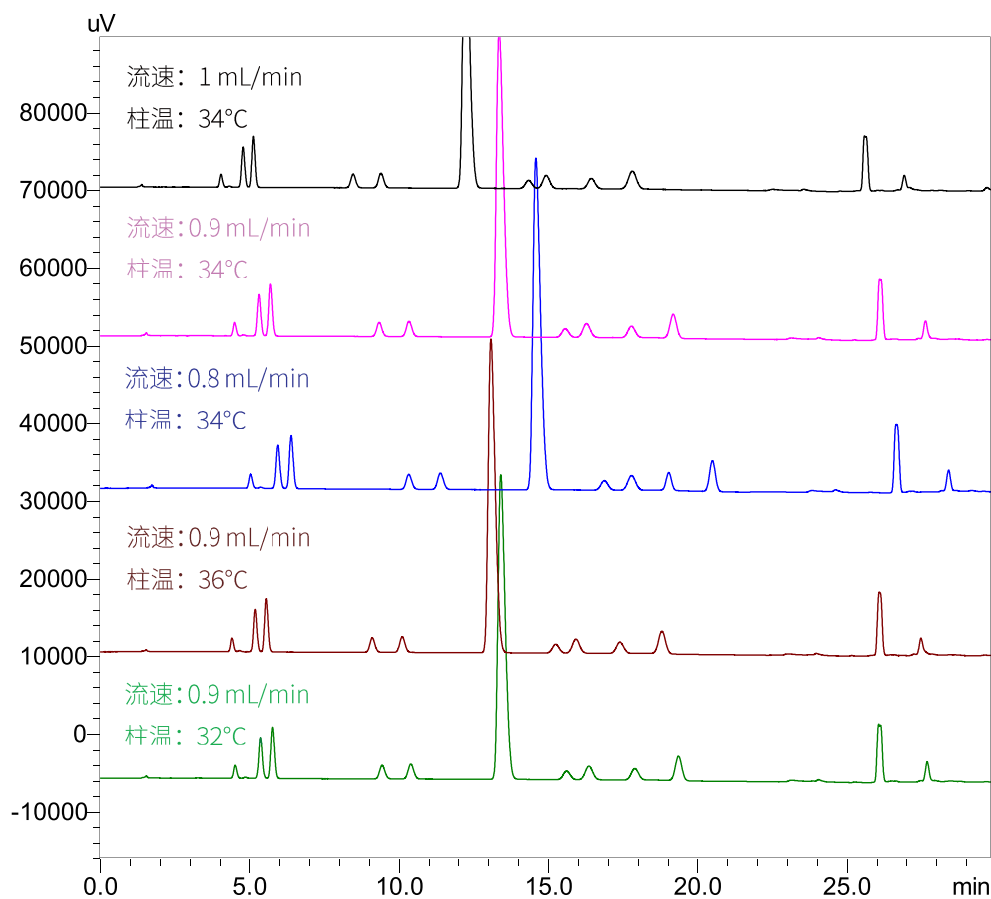


图9 耐用性分析色谱图

■ 结论

本文使用基于 AQbD 理念的 LabSolutions MD 软件开发酒石酸美托洛尔有关物质的分析方法，为 HPLC 的方法开发提供了新的思路。峰追踪功能通过使用多个参数，对不同分析条件的数据实现了色谱峰的自动鉴定。通过绘制设计空间，可以直观地掌握各种参数变化对分离度的影响，并且可以给出最佳分析条件，预测出该条件下的色谱图。LabSolutions MD 软件基于科学方法的工作流程，能够开发研究出不依赖经验的综合分析方法。

岛津应用云

