

## 提高药品的有关物质稳健试验法的开发效率

藤崎 真一、周 毅婷

### 使用者效益

- ◆ 通过可视化药品主要成分和有关物质的分离度、流动相组成及柱温箱温度等各种参数之间的关系，能够高效地搜索分离良好且确保稳健性的条件。
- ◆ 针对各个色谱柱批次，通过可视化稳健的参数区域并进行比较，能够高效地对批次之间的差异进行稳健性评价。

### 前言

为确保安全，需要严格管理药品中的有关物质并开发具有高可靠性的分析方法。LabSolutions MD 是一款分析方法开发支持软件，基于开发分析方法的分析质量源于设计 (AQbD) 并充分考虑科学依据与风险，为高效的分析方法开发提供支持。基于 AQbD 的分析方法开发由分析方法的初筛、优化和稳健性评价等阶段组成。本文介绍了以提高酪洛芬中有关物质稳健试验法的开发效率为目的，对初筛中选中的色谱柱及流动相进行优化和稳健性评价的示例。具体而言，就是在综合调整流动相组成、柱温箱温度、流速等各种参数时，将各种化合物的分离度可视化（设计空间），并优化了分析条件。此外，在优化后的稳健性评价中，通过将设计空间应用于不同批次的色谱柱，并在整个变化区域内将各种参数变化对分离造成的影响进行可视化，使色谱柱批次之间差异的稳健性评价更为高效。

### 分析条件

用于酪洛芬与有关物质分离优化研究的分析条件如表 1 所示。除对分离影响较大的流动相组成外，还通过改变柱温箱温度及流速，对酪洛芬与有关物质的分离进行了全面研究和优化。以 5% 为单位将乙腈比例从 40% 变为 60%（5 个级别），以 5°C 为单位将柱温箱温度从 35°C 变为 45°C（3 个级别），并以 0.1 mL/min 为单位将流速从 0.6 mL/min 变为 0.8 mL/min（3 个级别）。

表 1 优化研究条件

System:Nexera™X3(Method Scouting System)	
Mobile Phase :	
Pump A:	0.1%Formic acid in water
Pump B :	Acetonitrile
Column :	
Shim-pack™Velox C18 (100 mm x3.0 mm I.D., 2.7 μm)-1	
Analytical Conditions(Isocratic)	
B Conc. (Acetonitrile)	: 40, 45, 50, 55, 60% (5 patterns)
Column Temp.	: 35, 40, 45°C (3 patterns)
Flow Rate	: 0.6, 0.7, 0.8 mL/min (3 patterns)
Injection Vol.	: 0.1 μL
Detection (PDA)	: 254 nm (SPD-M40, UHPLC cell)

\*1 P/N: 227-32010-03

### 酪洛芬与有关物质的分离

首先，将等度洗脱时的乙腈比例变为 60% 和 40% 时的色谱图分别列为图 1 和图 2（柱温箱温度和流速分别为 40°C 和 0.7 mL/min）。此外，色谱图中的 Imp1 ~ 3 为有关物质，当乙腈比例为 60% 时，Imp2 和 Imp3 在酪洛芬波峰的肩峰处洗脱。另一方面，当乙腈比例为 40% 时，Imp1 ~ 3 的峰相互分离，表明流动相中的乙腈比例对分离有显著影响。之后，为确定最佳分析条件，我们通过综合调整乙腈比例、柱温箱温度和流速时的设计空间，对分离度进行了可视化。

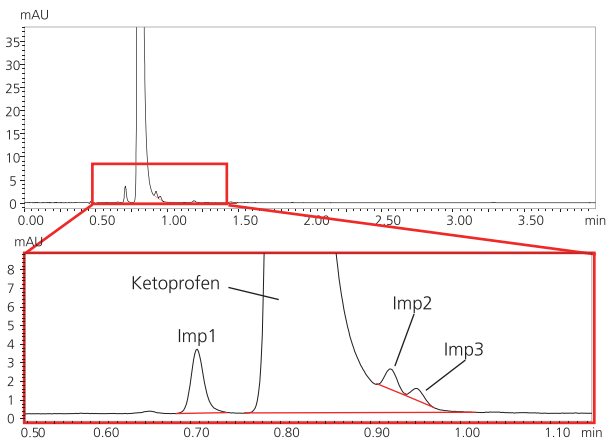


图 1 B Conc. 60%、柱温箱温度 40°C、流速 0.7 mL/min 时的色谱图

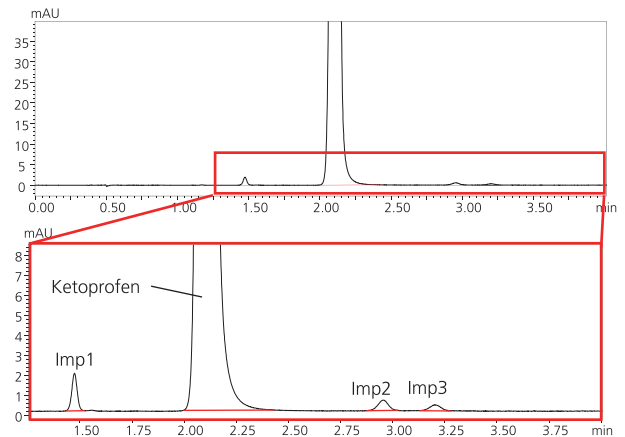


图 2 B Conc. 40%、柱温箱温度 40°C、流速 0.7 mL/min 时的色谱图

## 通过设计空间对分离度进行可视化

酪洛芬与 Imp2, 以及 Imp2 与 Imp3 的分离度的设计空间如图 3 所示。图中的红色区域表示分离度大, 蓝色区域表示分离度小。LabSolutions MD 能够在各种参数的整个变化区域内给出具有良好分离和高稳健性的条件。通过酪洛芬与 Imp2, 以及 Imp2 与 Imp3 的相互分离, 均表明乙腈比例 40%、柱温箱温度 35°C、流速 0.6 mL/min 是最佳条件 (图 3 左下的蓝色点)。通过设计空间, 能够轻松掌握各种参数的变化对分离度的影响, 实现具有科学依据支持的优化, 而无需依赖分析员的直觉和经验。

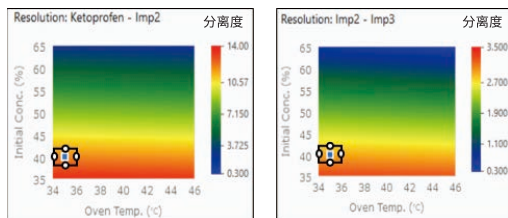


图 3 酪洛芬与 Imp2 的分离度的设计空间 (左)  
Imp2 与 Imp3 的分离度的设计空间 (右)  
\*流速: 0.6 mL/min 时 (LabSolutions MD 给出的最优值、省略 0.7、0.8 mL/min 时的设计空间)  
\*Initial Conc: 乙腈比例、\*对批次 1 的色谱柱实施

## 稳健性评价

关于酪洛芬与有关物质的分离, 我们对通过设计空间获得的最佳条件 (乙腈比例 40%、柱温箱温度 35°C、流速 0.6 mL/min) 进行了稳健性评价。具体而言, 就是以 1% 为单位对乙腈比例 (39%、40%、41%)、以 1°C 为单位对柱温箱温度 (34°C、35°C、36°C) 进行变化 (图 3 中的蓝色点和 4 个白圈, 共 5 点), 验证了该变化对分离的影响。图 4 为通过设计空间分别将酪洛芬与 Imp2, 以及 Imp2 与 Imp3 的分离度进行可视化的结果, 分离度较大的区域 (橙色和红色) 分布在整张图中。这意味着酪洛芬与 Imp2、以及 Imp2 与 Imp3 的分离在乙腈比例和柱温箱温度的整个变化区域内均得到了充分保证, 显示出通过设计空间优化的分析方法具备较高的稳健性。此外, 为评价色谱柱批次间差异的稳健性, 我们还为另外两个批次的色谱柱创建了设计空间 (图 5、图 6)。制得的色谱图如图 7 所示。在图 4~图 6 中, 可知分离度较大的区域分布在整张图中, 表明优化后的条件的稳健性较高, 并与色谱柱批次无关。

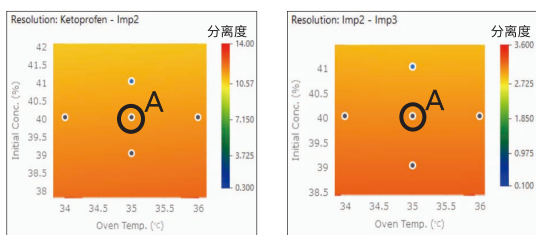


图 4 酪洛芬与 Imp2 的分离度的设计空间 (左)  
Imp2 与 Imp3 的分离度的设计空间 (右)  
\*图中的圆圈 (共 5 点) 表示进行了分析的点 (色谱柱批次 1)

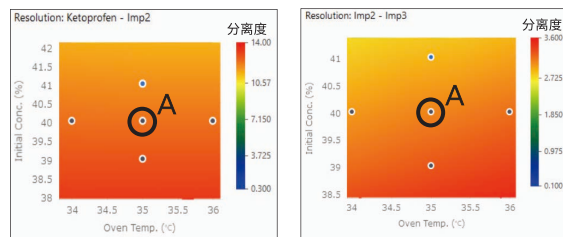


图 5 酪洛芬与 Imp2 的分离度的设计空间 (左)  
Imp2 与 Imp3 的分离度的设计空间 (右)  
\*图中的圆圈 (共 5 点) 表示进行了分析的点 (色谱柱批次 2)

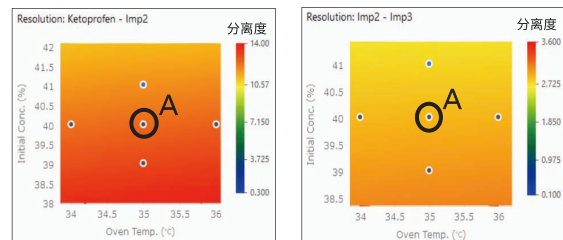


图 6 酪洛芬与 Imp2 的分离度的设计空间 (左)  
Imp2 与 Imp3 的分离度的设计空间 (右)  
\*图中的圆圈 (共 5 点) 表示进行了分析的点 (色谱柱批次 3)

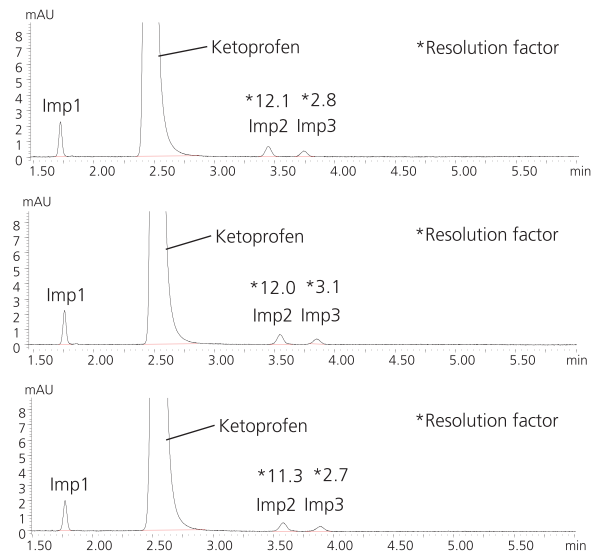


图 7 通过不同批次的色谱柱获取 (图 4~图 6 的点 A) 的色谱图

## 总结

本文介绍了通过 LabSolutions MD 使药品有关物质试验方法开发更为高效的示例。通过设计空间, 在各种参数变化的情况下对药品主要成分与有关物质的分离度进行可视化, 使分析方法的优化和稳健性评价更为高效, 而无需依赖直觉和经验。此外, 通过将设计空间应用于不同批次的色谱柱评价, 使色谱柱的批次间差异的稳健性评价成为可能。由于本文介绍的有关物质试验方法开发的效率改进工序还有助于提升分析方法的可靠性, 因此该工序有望改进分析方法验证的效率。

岛津应用云

