

使用基于质量源于设计 (QbD) 原则的 LC 方法开发软件提高化药分析方法开发效率

熊亮 张艳海 秦旭阳 金燕 赛默飞世尔科技(中国)有限公司

关键词:

方法开发, QbD

摘要

本应用采用质量源于设计 (QbD) 原则在常规色谱柱上开发一套分析方法。其中包括在不同色谱条件 (涉及流动相、流速、柱温等多重组合) 下对不同色谱柱进行固定相筛选。结果清晰的表明使用 Fusion QbD 软件, 搭配 Thermo UltiMate3000 高效液相色谱系统和变色龙色谱数据软件能够快速有效的筛选出合适化药杂质分析方法的色谱柱及液相色谱条件。

前言

在药物开发过程中有各种具有特定分析需求且复杂程度不同的样品, 整个制药企业进行的方法开发相关工作可能既花钱又耗时。简化方法开发过程能使产品更快上市, 并更具有成本效益。现如今, 满足 ICH Q8 (R2) 和 ICH Q2 (R2) 指导原则的基于 QbD 的方法开发是制药行业分析研发领域的热点。QbD 原则中建立了关键方法属性, 并利用多变量统计分析和建模方法对关键方法参数之间的相互作用对这些关键方法属性产生的影响进行了表征。满足 QbD 原则液相色谱方法的开发目标为建立稳定设计空间, 实验设计、实验自动化和多变量分析可用于构建上述稳定设计空间, 从而减少现场方法错误与超标研究结果。这一原则有助于在方法开发过程中确保方法稳定性。



图1 QbD理念

实验方法

1、仪器

包括下列模块和组件的 Thermo UltiMate3000 高效液相色谱系统 (U3000):

- 配有在线脱气单元 (P/N: 5035.9200) 的 LPG-3400SD 四元泵 (P/N: 5040.0031)
- WPS-3000SL 自动进样器 (P/N: 5822.0010)
- 带两个 6 位 7 通阀 (P/N: PD715-105) 的 TCC-3000SD 柱温箱 (P/N: 5730.0010)
- WWD-3100 紫外检测器 (P/N: 5074.0005)

2、软件

变色龙色谱数据软件 (版本: 7.2.8)

Fusion QbD 自动化液相色谱方法开发软件 (版本: 9.8.1.135)

3、试剂

所有溶剂均为 HPLC 级, 其他样品来自于供应商。

4、样品前处理

取布地奈德样品适量, 用纯乙腈溶解后稀释至所需浓度。

工作流程

Fusion QbD 是基于质量源于设计 (QbD) 原理的 LC 方法开发软件。Fusion QbD 与控制 U3000 高效液相色谱系统的 Chromeleon CDS 联动, 利用来自 Chromeleon CDS 的色谱分析结果, Fusion QbD 可管理复杂的统计信息并自动进行方法筛选和优化 (图 2 所示)。

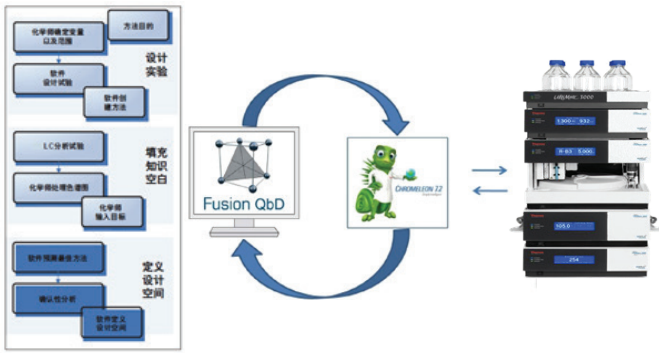


图2 方法开发工作流程

方法开发工作流程为Fusion QbD自动创建实验，设计实验范围，并选择最有效的统计学实验设计，然后软件将实验设计导出至Chromleon CDS，自动创建仪器方法开展实验。（图3、图4所示）

使用U3000系统运行并处理所得的色谱数据，并将结果导回至Fusion QbD软件，Fusion QbD软件统计分析并模拟定量设计空间中种的方法性能响应。以报告和图表的形式迅速诠释数据，从而便于方法结果和变量间相互作用的直观显示。该软件无需进行额外的实验即可定量评估方法的耐用型，并识别出在平均性能和方法耐用性上均最优的方法。

#	Name	Type	Level	Position	Volume [μl]	Instrument Method
1	None	Column Switching	Blank	BA1	1.000	ColumnSwitching
2	None	Condition Column - 1	Blank	BA1	0.001	Condition Column - 1
3	None	Column Switching	Blank	BA1	1.000	ColumnSwitching
4	None	Condition Column - 2	Blank	BA1	0.001	Condition Column - 2
5	None	Column Switching	Blank	BA1	1.000	ColumnSwitching
6	None	Condition Column - 3	Blank	BA1	0.001	Condition Column - 3
7	None	Column Switching	Blank	BA1	1.000	ColumnSwitching
8	None	Condition Column - 4	Blank	BA1	0.001	Condition Column - 4
9	None	Column Switching	Blank	BA1	1.000	ColumnSwitching
10	None	Condition Column - 5	Blank	BA1	0.001	Condition Column - 5
11	None	Column Switching	Blank	BA1	1.000	ColumnSwitching
12	None	1	Unknown	BA1	5.000	1
13	None	2	Unknown	BA1	5.000	2
14	None	Column Switching	Blank	BA1	1.000	ColumnSwitching
15	None	3	Unknown	BA1	5.000	3
16	None	Column Switching	Blank	BA1	1.000	ColumnSwitching
17	None	4	Unknown	BA1	5.000	4
18	None	5	Unknown	BA1	5.000	5
19	None	Column Switching	Blank	BA1	1.000	ColumnSwitching
20	None	6	Unknown	BA1	5.000	6
21	None	Column Switching	Blank	BA1	1.000	ColumnSwitching
22	None	7	Unknown	BA1	5.000	7
23	None	Column Switching	Blank	BA1	1.000	ColumnSwitching

图5 变色龙软件中的序列

实验结果和讨论

为示范本方法开发工作流程，采用了纯度不高的布地奈德原料药配制的溶液，并利用Fusion QbD软件进行HPLC方法开发。同时在多个变量的条件（表1）下进行快速筛选实验。

色谱柱	柱温	溶剂
<ul style="list-style-type: none"> •Acclaim RSLC 120 C18 •Hypersil GOLD C8 •Syncronis C18 •Accucore RPMS •Accucore C30 	<ul style="list-style-type: none"> •30°C •35°C •40°C 	<ul style="list-style-type: none"> •甲醇 •乙腈 •有机溶剂比例在60%~70%(v/v)内变化

表1 变量筛选条件

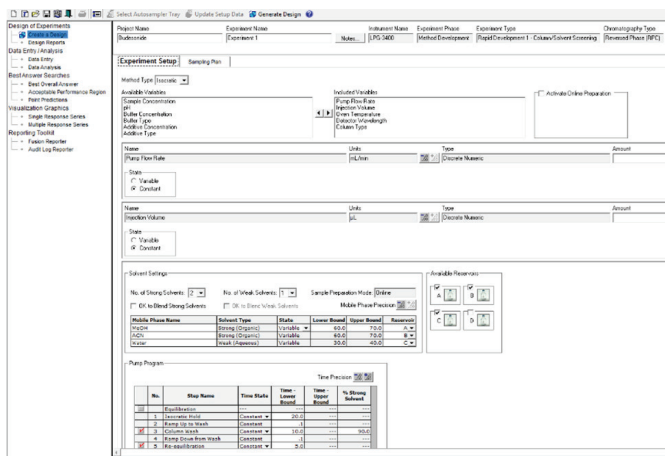


图3 Fusion软件中选择预研究的变量

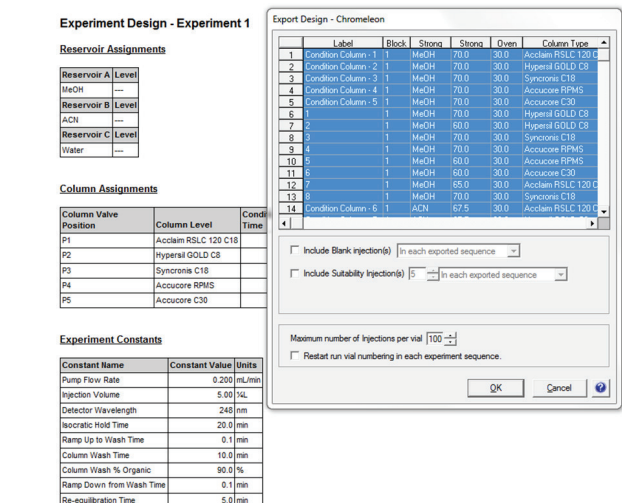


图4 Fusion软件生成实验设计再导入变色龙软件执行序列

Fusion QbD软件产生170次进样的实验设计在变色龙软件执行完序列后（图5），再将结果导入Fusion QbD软件并予以分析。对结果设定如下筛选条件：

- 峰总数以及峰总数大于10
- 分离度大于1.0的峰个数
- 拖尾因子小于1.5的峰个数

利用Fusion QbD软件中的叠加图即可轻易直观的呈现五个色谱柱的结果，叠加图中不同的色块代表上述的筛选条件，色块覆盖区域则代表无法满足上述筛选条件的色谱方法（图6）。叠加图非阴影区内清楚地呈现出满足我们平均性能目标和耐用性标准的条件，并将该区域定义为设计空间。设计空间越大的叠加图则表明变量对色谱柱性能的影响越小。因此可确定Acclaim C18色谱柱具有最佳性能。（图7）

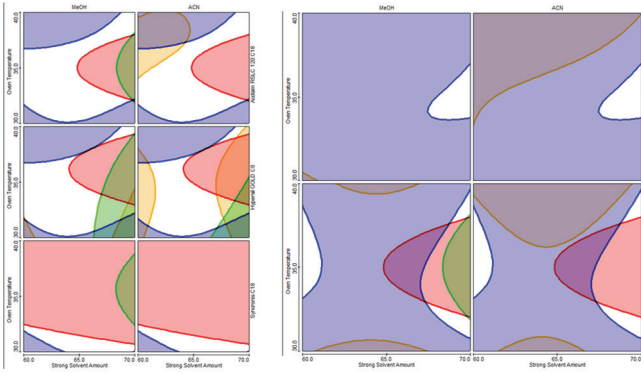


图6 色谱柱筛选条件叠加图

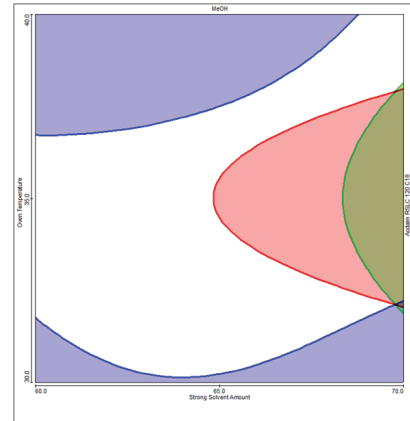


图7 Acclaim C18筛选条件叠加图

查看Acclaim C18的多反应曲面图和多反应效应图等（图8）观察变量之间的多种相互作用，最后Fusion QbD软件可给出最佳的预测结果和色谱图（表2、图9）。

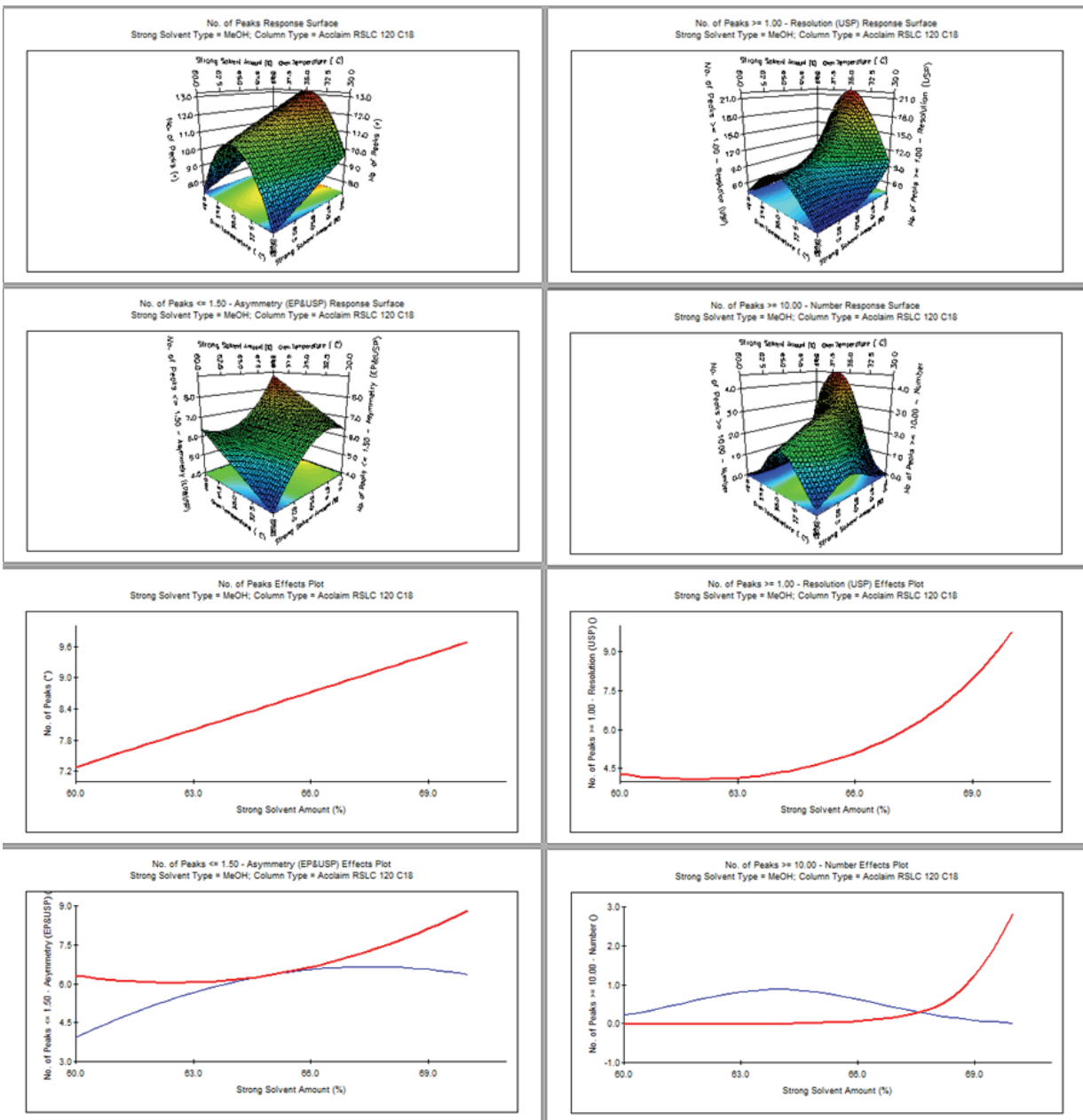


图8 Acclaim C18多反应曲面图和多反应效应图

Study Variable Data

Study Variable Name	Prediction Point Level Setting
Strong Solvent Type	MeOH
Strong Solvent Amount	70.0
Oven Temperature	40.0
Column Type	Acclaim RSLC 120 C18

表2 最佳色谱条件

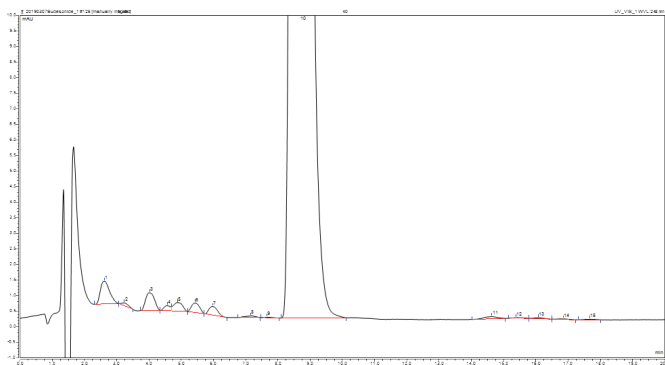


图9 最佳色谱条件下的色谱图

结论

本文使用基于质量源于设计（QbD）原则的LC方法开发软件 Fusion QbD，搭配Thermo UltiMate3000 高效液相色谱系统和 CDS变色龙色谱数据软件进行布地奈德杂质分析方法的开发。整个方法开发过程只需要三天，大大提高了方法开发的效率。



赛默飞
官方微信

热线 800 810 5118
电话 400 650 5118
www.thermofisher.com