

信心倍增

在药物开发中实施质量源于设计的安捷伦解决方案

基础导论

The Measure of Confidence



Agilent Technologies

前言：质量源于设计概述..... 3

消除分析方法开发中的变异性..... 5

 用于评估设计空间的含多变量分析的自动化方法开发解决方案..... 7

 在 QbD 环境下用于稳健分析方法开发的仪器法规认证..... 14

消除分析方法转换中的变异性..... 17

 安捷伦智能系统模拟技术 17

 使用 Agilent 1290 Infinity 四元泵进行自动/动态在线混合 19

原料药与药品的质量风险评估和
关键质量属性评价..... 21

 用于 QbD 实施的溶出度测试解决方案 21

 提高杂质分析的精确度，实现质量风险评估 24

前言：质量源于设计概述

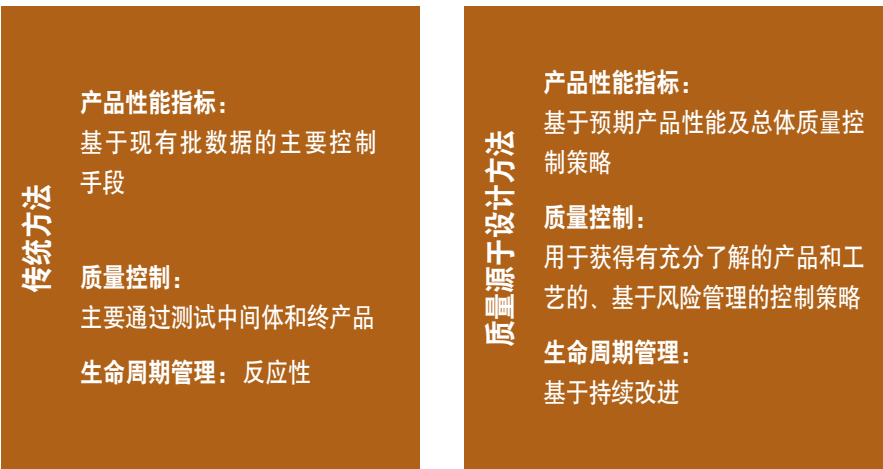
质量源于设计 (QbD) 是一种进行药物开发的系统方法，该方法始于预设目标，并应用科学和风险管理使我们对产品和工艺有更深入的了解，最终实现工艺控制。¹

在开发和生产的每一个步骤中均应用 QbD 原理，有助于提高工艺的稳定性，并避免在后续环节中出现问题。

实质上，QbD 能够确保药物质量始终如一，因为它不再使用传统的质量控制方法，而是采用针对基于风险的控制策略检测中间体和终产品，以获得有充分了解的产品和工艺。¹

QbD 特别强调通过详细科学调查来消除变异性的上游质量控制。³ 实现 QbD 还可保证人们对杂质和降解产物有更清晰的了解。

QbD 的理念由国际协调会议 (ICH) 文件 Q8 提出，并得到文件 Q9、Q10 和 Q11 的支持。美国食品药品监督管理局 (FDA) 和欧洲药物管理局 (EMA) 均支持制药工业实施 QbD。FDA 联合 EMA 于 2011 年 3 月推出了一项为期三年的试点计划，以确保文件 ICH Q8-11 执行一致。作为该试点计划的一部分，2013 年发布了两个系列的 Q&A 文件，明确了某些 QbD 要素。² 此外，这些机构还希望公司能够提供一份清单，内容包括原料药、成品和辅料的关键质量属性 (CQA) 和每个 CQA 可接受的限值，以及将这些性能参数作为 CQA 的理由。



比较药物开发和生产的传统方法和 QbD 方法。¹⁻³

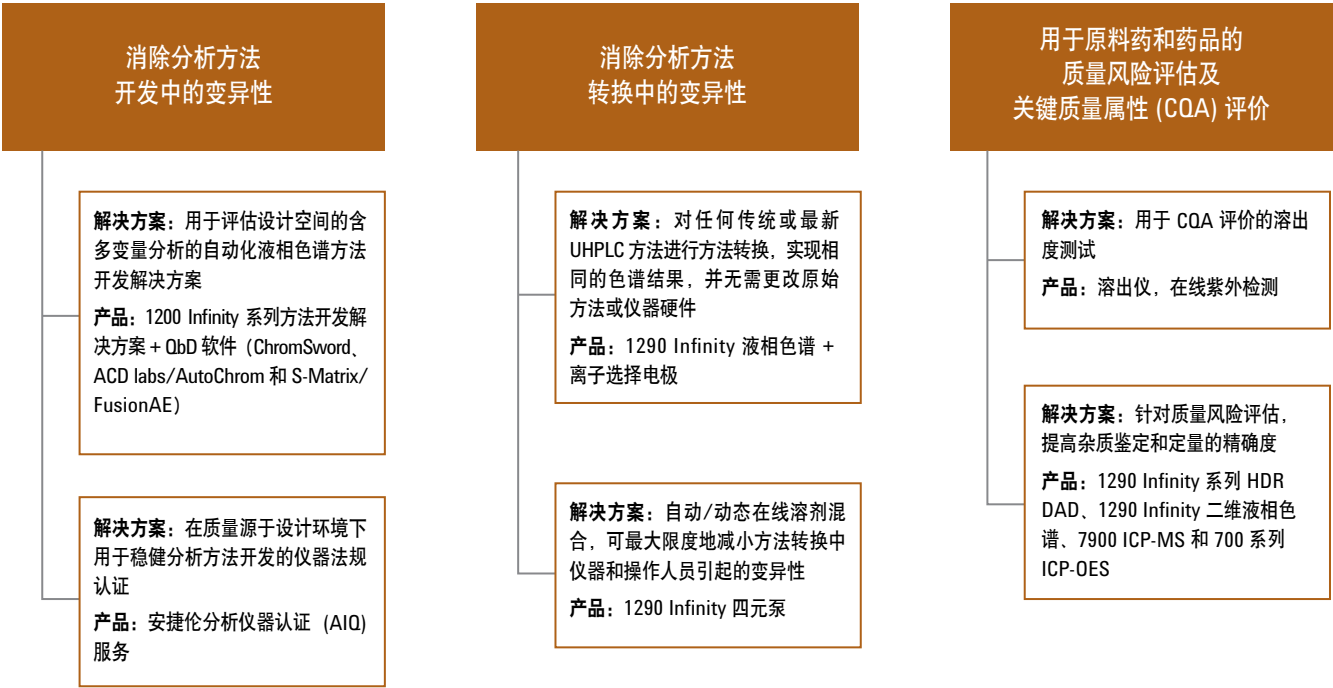
药物实验室已经开始应用 QbD 理念，将分析方法视为工艺。³ 这些实验室正在使用风险评估和统计设计的实验来为分析方法定义分析目标概况 (ATP) 和方法操作设计范围 (MODR)。

除了持续关注工艺认证外，对于开发用于产品整个生命周期的稳健分析方法来说，深入研究方法参数至关重要。人们普遍期待分析开发中的 QbD 能够显著减少与批准后变更有关的工作和成本。

用于分析方法的 QbD 方法应包括：了解输入参数的变化如何对分析结果产生影响；评估来自仪器、实验室、样品、方法参数和分析人员等的多变量相互作用；整合分析技术和方法的先验知识。

安捷伦一直致力于为您的成功提供多种工具和技术，并在合作实施解决方案中赢得您的信赖。本文介绍了安捷伦为支持在药物开发中实施 QbD 所提供工具的信息。安捷伦提供的工具，用于支持基于科学及风险管理的方法。我们的工具旨在通过对变异性的详细调查，确保产品质量始终如一。借助于我们这些工具，您就可以为稳健分析方法设定设计空间，消除方法转换的变异性并评价 CQA。

安捷伦解决方案支持 QbD 实施

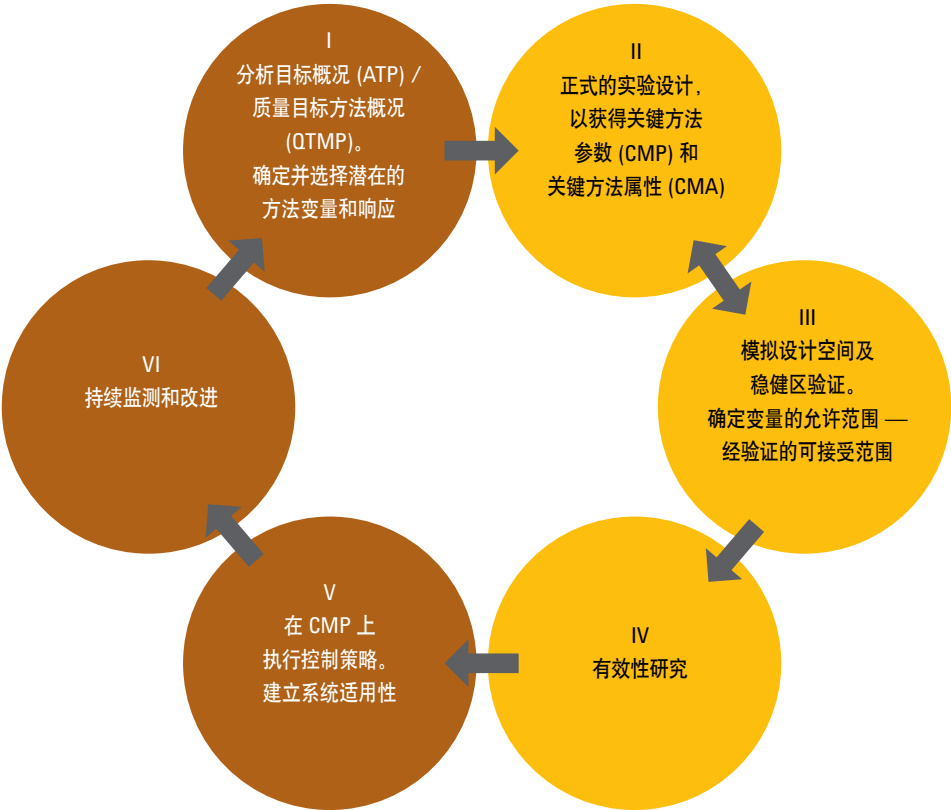


注意：本手册中提供的解决方案和实验数据仅用于说明，根据每个项目性质的不同，针对具体产品或工艺所使用实验的方法和程度可能会有所不同。所表达思想和观点不代表官方公司政策。我们建议读者咨询官方监管网站和其它可靠资源以获取最新信息。

消除分析方法开发中的变异性

QbD 要求在分析方法开发中应用基于科学和风险管理的方法，这涉及评估风险、定义设计空间、制定控制策略，以及持续提高方法的稳健性。基于 QbD 的分析方法开发有助于确定并最大限度地减少可能降低方法性能的变异源，还可确保方法在整个产品和方法生命周期内都能满足预期性能要求。将质量因素融入方法开发本身，从而改善了分离。在实验之前对变量进行系统检查还可让您关注实验中每个变量的最佳范围。³⁻⁵

下面是基于 QbD 的分析方法开发的典型工作流程，旨在建立一个在整个使用生命周期中始终可靠的方法：



基于 QbD 的分析方法开发的典型工作流程。步骤 II、III 和 IV 代表软件辅助部分

开发基于 QbD 的分析方法的第一步是在任何实验开始前确定目标并选择变量。分析目标概况 (ATP) 说明了预期目的——该方法测定的对象以及期望的响应是什么。³

在定义阶段，您需要彻底检查潜在变量，尤其是那些可能影响方法性能的变量及其范围。接下来，对关键变量及其属性/响应范围进行风险评估。然后，应用基于科学的统计实验设计，选择那些对选择性和方法性能影响最大的参数。您可利用统计软件模拟实验测量的响应，以确定设计空间。变量的允许偏差（即经验证的可接受范围）构成了稳健区，在这个区域内，即使故意改变了方法参数也不会改变关键的方法属性。研究变量和工艺参数的多元相互作用会加深您对方法性能变异性的理解，可进一步确保质量并防止下游方法失败。如果模拟实验没能获得预期结果，您可以调整方法变量并开展进一步实验来验证开发的方法。

接下来将要评估您的控制策略，以确定方法是否满足预期目标。另外还需要测试系统适用性，以确保获得期望的方法属性。基于 QbD 的分析方法开发的一个关键就是持续改进。如果在监测方法性能之后工艺需要更改，持续改进的实施有助于重新定义 ATP。

分析 QbD 术语	示例
分析目标概况 (ATP)	API 的准确定量，且不受降解物的干扰
质量目标方法概况 (QTMP)	pKa、Log P 和溶解度
关键方法参数 (CMP)	流速、温度和 pH
关键方法属性 (CMA)	分离度、峰拖尾和峰容量
控制策略	pH $\pm$ 0.1，波长 $\pm$ 2 nm

用于评估设计空间的含多变量分析的自动化方法开发解决方案



Agilent 1200 Infinity 系列方法开发解决方案



OpenLAB CDS 化学工作站与尖端的方法开发工具相结合



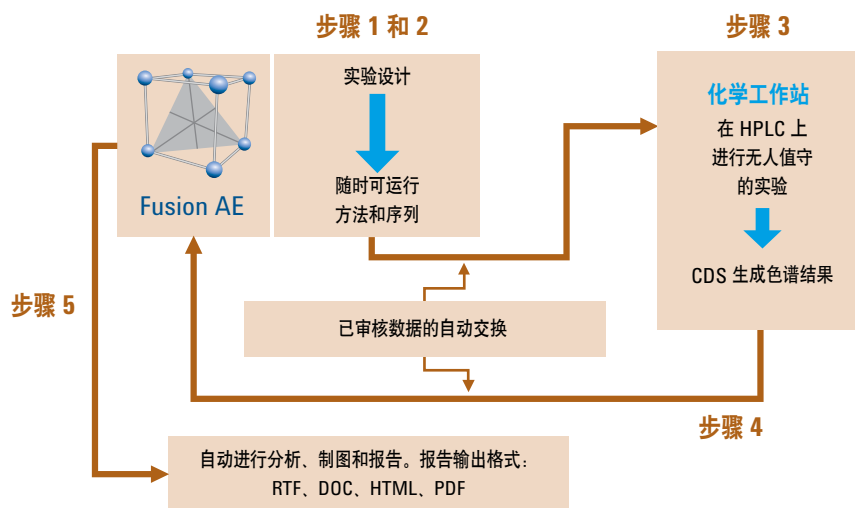
耐用的液相色谱柱产品套装

通过提供使过程自动化，以及方便开展实施 QbD 原理所需的多变量实验的仪器和软件工具，安捷伦支持将 QbD 方法用于分析方法开发。我们提供多种色谱柱选择。您可以利用这些色谱柱在不同条件下探索设计选择。可应用 1000 多种独特的分离条件。通过使用安捷伦方法筛选向导这一使用简单且高效的工具，您可以设定一个序列以及所有的方法来筛选色谱柱、溶剂、梯度程序和温度的多维组合。Agilent 1200 Infinity 系列方法开发解决方案可以和 ChromSword、ACD labs/AutoChrom 以及 S-Matrix/Fusion AE 等尖端 QbD 方法开发软件结合使用。⁶

- 多达 8 根色谱柱和 26 种溶剂
- 1000 多种独特的分离条件
- 4 到 6 个温度区域
- 色谱柱内径为 2.1-4.6 mm，柱长可达 300 mm
- 不同的配置/检测器
- 高度的可拓展性，从基于 1260 Infinity 液相色谱升级至基于 1290 Infinity 液相色谱的成熟解决方案，旧式 1100 或 1200 系列液相色谱也可升级
- 安捷伦方法筛选向导
 - 指导您完成样品序列设置；自动调整冲洗和色谱柱平衡
 - 根据色谱柱、溶剂、梯度程序和温度的多维组合来筛选样品
- 可联用 ChromSword、ACD labs/Autochrom 和 SMatrix/Fusion AE 等 QbD 软件
 - 应用 QbD 原理开发稳健的色谱方法
 - 方法设计空间的表征
 - 快速结果浏览及自动报告生成
- 可使用一系列不同选择性的固定相来优化分离度，包括能耐受极端 pH 和温度的固定相
- 不同的规格和耐压能力有助于提高您的实验效率
- 可提供多种批次产品以便进行彻底评价

应用 QbD 原理进行利拉利汀稳定性指示性方法开发

在如下所示的 Fusion AE 方法开发软件工作流程中，采用 Agilent 1200 Infinity 系列方法开发系统，将 QbD 原理应用于利拉利汀稳定性指示性方法开发。⁷ Fusion AE 软件可独立运行仪器、建立实验设计、跟踪组件并模拟响应。运用统计实验设计 (DoE) 理念来筛选流动相和色谱柱固定相，进行方法优化实验。对流动相组成、pH 及柱温等关键方法参数 (CMP) 进行多变量分析，以确定最终的设计空间。



Fusion AE 软件：无人值守地通宵运行

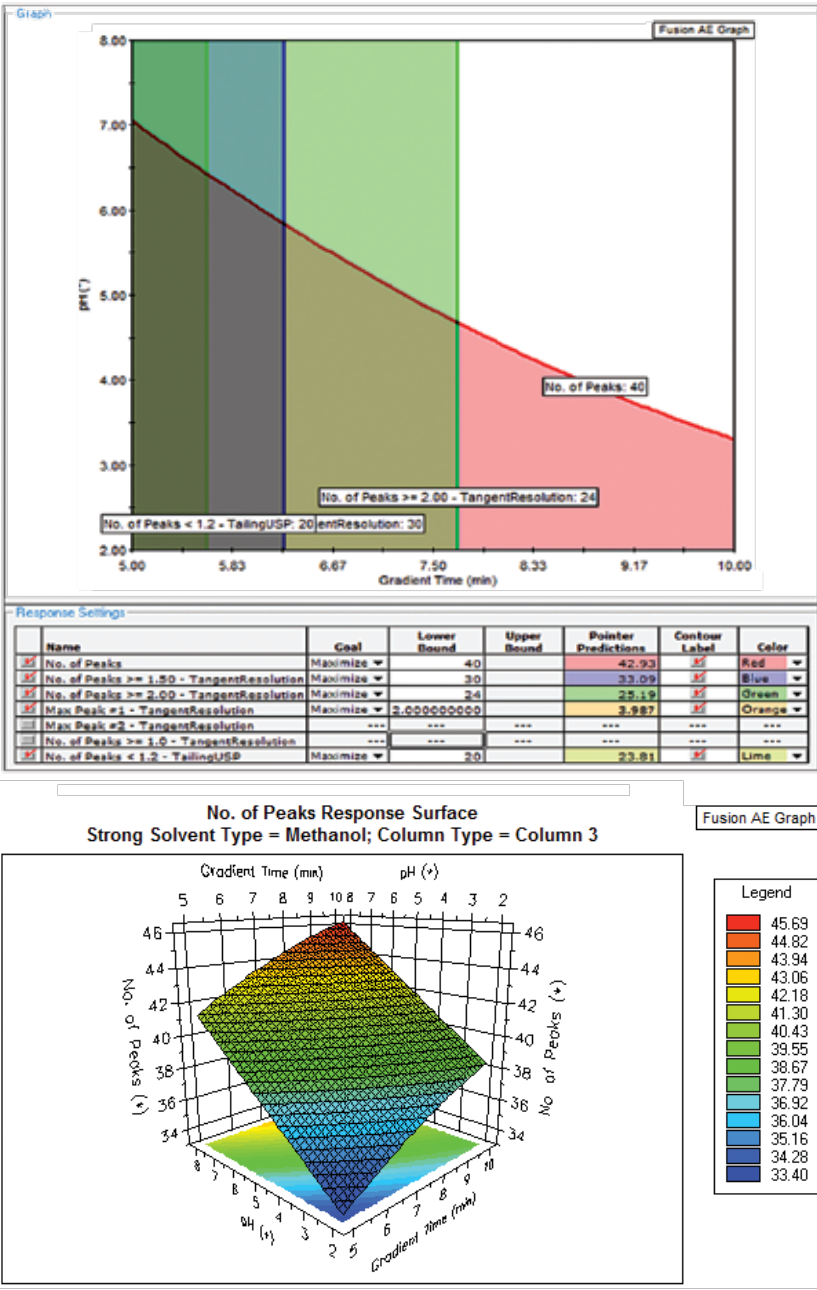
设置好质量目标方法概况 (QTMP) 后，接下来就可以根据先验知识和前期针对流动相类型、pH、色谱柱固定相，以及运行时间等变量进行的风险评估进行初步的固定相筛选了。根据 QTMP 选择梯度洗脱。您可以采用完全析因设计或其它默认设计进行统计实验设计。

筛选实验中使用的色谱柱、溶剂和梯度条件

色谱柱	
Agilent ZORBAX RRHD StableBond C18, 3.0 X 50 mm, 1.8 µm (部件号: 857700-302)	
Agilent ZORBAX RRHD Bonus-RP, 2.1 X 50 mm, 1.8 µm (部件号: 857768-901)	
Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C8, 3.0 x 50 mm, 1.8 µm (部件号: 959757-306)	
Agilent ZORBAX RRHD StableBond Phenyl, 3.0 X 50 mm, 1.8 µm (部件号: 857700-312)	
Agilent PLRP-S, 4.0 x 50 mm, 3.0 µm (部件号: PL1512-1300)	
Agilent ZORBAX RRHD Extend-C18, 3.0 X 50 mm, 1.8 µm (部件号: 757700-302)	
溶剂	
流动相 A1	pH 2.0, 10 mM TFA 水溶液
流动相 A2	pH 5.0, 10 mM 醋酸铵和 5 mM 醋酸水溶液
流动相 A3	pH 6.4, 10 mM 醋酸铵水溶液
流动相 A4	pH 8.0, 10 mM 碳酸氢铵水溶液
流动相 A5	pH 11.0, 10 mM 氨水*
流动相 B1	乙腈
流动相 B2	甲醇
梯度程序	
初始保持	0.6 min, 5 % B
梯度时间	条件 1, 5 min 内, B 从 5 % 升至 95 % 条件 2, 10 min 内, B 从 5 % 升至 95 %
保持	95% B, 1 min
再平衡	5 % B, 3 min
实验详情 (常量)	
泵流速	0.6 mL/min
进样量	1 µL
柱温:	40 °C
波长	292 nm ± 4 nm (参比波长 400 ± 20 nm)

更多信息，请参阅安捷伦出版物 5991-3834EN

色谱峰积分后，将数据输出到用于进行数据模拟的 Fusion AE 软件中。优化包括峰数、分离度和拖尾因子低于 1.2 的峰在内的关键方法属性，软件会模拟出不同色谱柱的等高线图。Zorbax Eclipse Plus C8 模拟数据的等高线图（下图）中，无阴影区即为能够满足所有关键属性要求的可接受区域。更下方的曲面图表明，梯度时间大于 8 分钟且 pH 大于 5.5 的区域中可积分峰的数目最多。在 Fusion AE 中建立模型时，尽量降低最大峰 (API) 的分离度也可以提供最佳的筛选条件，表明多个色谱峰在主峰附近流出。一般来说，该方法在一定范围内对 pH 和梯度时间/斜率很敏感，因此必须严格控制这些方法参数。



作为梯度时间函数的 pH 二维图 [a]。曲面图 [b] 展示了基于梯度时间和流动相 pH 的最大峰数。更多信息，请参阅安捷伦出版物 5991-3834EN

对比了包括 Agilent ZORBAX 快速分离高分辨 (RRHD) Eclipse Plus C18、ZORBAX RRHD Bonus-RP 和 ZORBAX RRHD Phenyl Hexyl 在内的六种色谱柱。ZORBAX RRHD Eclipse Plus C8 色谱柱在后续实验中提供了最佳的分离度。如下所示，根据筛选实验的最佳总体结果，所有筛选实验中最佳的条件是采用 Eclipse Plus C8 色谱柱、pH 7 以及 10 min 的梯度时间。在后续步骤中，这些参数可能会进一步小幅调整。

最佳总体结果

强溶剂	甲醇
梯度时间	10 min
pH	7
色谱柱类型	Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C8, 3 × 50 mm, 1.8 µm

更多信息，请参阅安捷伦出版物 5991-3834EN

下一步需要针对起始/结束梯度百分比/斜率、运行时间、更窄的 pH 范围，以及柱温这些变量进行均衡性能优化。为了测定最佳条件，色谱柱固定相和流动相 pH 保持不变。均衡性能优化的结果见下表。

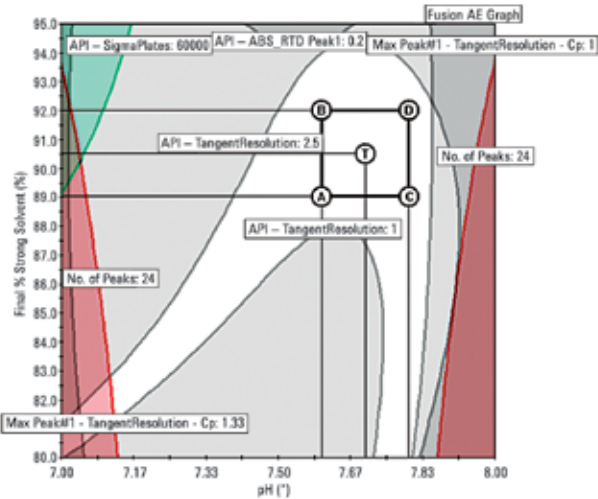
优化研究的最佳总体结果

梯度时间	15 min
强溶剂最终百分比	90.5 %
pH	7.7
柱温	45 °C

更多信息，请参阅安捷伦出版物 5991-3834EN

最后，为以关键方法参数 (CMP) 表示的关键方法属性 (CMA) 确定了设计空间。设计空间是一个区域，在其中方法参数有一些变化不会显著影响分析结果。在设计空间内操作可以得到更稳健的方法，因为小的方法偏差不会显著影响分析效果。设计空间结合了均衡方法性能和方法的稳健性（方法性能的变动）。下一页图中的无阴影区域以所研究关键方法参数的形式定义了关键响应的设计空间，因为此时的设计空间同时结合了均衡方法性能和方法的稳健性。

有机流动相的最终百分比与水相流动相的 pH



无阴影区域展示了设计空间（45 °C 时），正方形区域稳健性最强。更多信息，请参阅安捷伦出版物 5991-3834EN

随着对方法有更深入的了解（pH、强溶剂百分比和柱温引起的变异性），您就可以定义稳健的操作范围（控制限度）了。在设计空间内变量的偏差是允许的变动，此时您依然能满足分离度和峰拖尾等方法性能标准的要求。下表总结了基于目标方法属性的优化结果。可以通过实验来验证已开发方法的稳健性。

关键方法参数 (CMP)	已验证的可接受范围 (PAR)	关键方法属性 (CMA)
色谱柱: Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C8, 3.0 x 50 mm, 1.8 µm	—	峰数 (> 40) API 分离度 (> 1.5) 峰纯度 (≥ 98 %) 峰拖尾 (< 1.5)
强溶剂: 甲醇	—	
强溶剂百分比: 90.5 %	± 1.5 %	
水相溶剂 pH: 7.7	± 0.1	
梯度范围: 5 % 至 90.5 %	—	
柱温: 45 °C	—	
梯度时间: 15 min	—	
流速: 0.6 mL/min	—	
波长: 292 nm	—	

更多信息，请参阅安捷伦出版物 5991-3834EN

QbD 方法开发有助于更好地理解变量并定义稳健性参数和分离度限值。作为 QbD 实施的一部分，除了流动相和其它的方法参数外，还对一些色谱柱固定相进行了评价。（在验证实验进行后，您应该实施控制策略。随着时间的推移，您可以通过扩展稳健区域以纳入更多变量来实现方法的持续改善。）本文介绍的自动化方法开发不仅比手动方法开发耗时更少，而且在方法认证和转换中的失败率也很低。

安捷伦方法开发工具包和方法认证工具包有助于简化您的工作流程

安捷伦提供了包含多种色谱柱固定相和选择性的工具包，使您节省时间并实现完美分离。下表列出了用于 UHPLC 方法的方法开发工具包。如需获取完整的工具包列表，请访问 www.agilent.com/chem/methoddevkits。

安捷伦方法开发工具包

部件号	工具包内容
5190-6152	ZORBAX RRHD pH 方法开发工具包 (SB-C18、Eclipse Plus C18 和 Extend-C18)，2.1 x 50 mm
5190-6153	ZORBAX RRHD Eclipse Plus 方法开发工具包 (Eclipse Plus C18、Eclipse Plus C8 和 Eclipse Plus Phenyl-Hexyl)，2.1 x 50 mm
5190-6154	ZORBAX RRHD 亲水方法开发工具包 (SB-Aq、Bonus RP 和 Eclipse Plus Phenyl-Hexyl)，2.1 x 50 mm
5190-6155	Poroshell 120 选择性方法开发工具包 (EC-C18、Phenyl-Hexyl 和 Bonus RP)，2.1 x 50 mm
5190-6156	Poroshell 120 选择性方法开发工具包 (EC-C18、Phenyl-Hexyl 和 Bonus RP)，4.6 x 50 mm
5190-6157	Poroshell 120 亲水方法开发工具包 (SB-Aq、Phenyl-Hexyl 和 Bonus RP)，2.1 x 50 mm
5190-6158	Poroshell 120 亲水方法开发工具包 (SB-Aq、Phenyl-Hexyl 和 Bonus RP)，4.6 x 50 mm
5190-6159	Poroshell 120 L1、L7 和 L10 USP 方法开发工具包 (EC-C18、EC-C8 和 EC-CN)，4.6 x 100 mm
5190-6160	Poroshell 120 L1、L7 和 L10 USP 方法开发工具包 (EC-C18、EC-C8 和 EC-CN)，3.0 x 100 mm

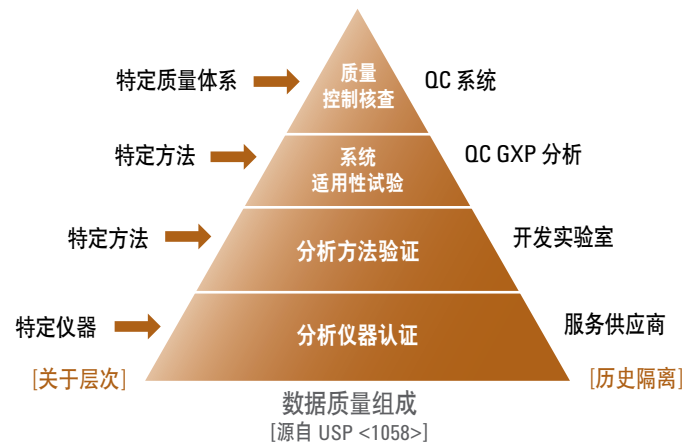
方法开发完成之后，您可以使用预装了三个不同批次相同固定相色谱柱的安捷伦方法认证工具包进行方法认证。如需了解有关这些工具包的更多信息，请访问 www.agilent.com/chem/methodvalidationkits

QbD 环境下用于稳健分析方法开发的仪器法规认证

美国药典委员会 (USP) 通则 <1058> (分析仪器认证) 定义了数据质量金字塔的组成，指出了如下关系：

- 了解仪器在正常工作（仪器资质）
- 了解分析方法适合其预期用途
- 了解系统（仪器、方法分析人员）届时在工作（系统适用性标准）

我们下面以通常会采用的角色分解和分层思想为例对此进行说明：



数据质量金字塔原理建立在良好科学基础上，因此可广泛用于所有实验室。当然，以这个角度考虑时，工作的分解与线性分层思想就清晰可见了。

在 QbD 环境中，应特别注重对产品和工艺的理解，以及对变异性的控制。金字塔的上三层可被看作连续的部分，而非分层模型。这意味着可根据预期用途设计合适的分析方法，并且能更深入地了解分析方法的变异性和性能。但是，在该 QbD 框架下，您还必须满足一个基本要求，即独立测试/验证并监测分析仪器的性能，以及分析方法的认证/设计空间和基于 QbD 的系统适用性。例如，对于 HPLC，在设备认证计划中即定义了仪器的性能。在药典通则如 USP <621> 中定义了应该实现的系统适用性原则（如进样精密度）。尽管诸如 USP <621> 章节的多种基本原则仍然适用，但我们期望更接近在分析方法中定义用于最终整体性测试的可接受标准（比如系统适用性标准）。在 QbD 环境中，某些分析方法的性能参数可能不再是固定的。尽管参数可变，但还是会通过具体设计实现预期的高质量检测或 CQA。

随着 QbD 原理被越来越多地应用到分析方法中，我们也期待 USP <1058> 中针对仪器认证的层次内容也能愈加完善。在 USP <1058> 中，分析仪器认证位于金字塔最底层 这一原则是不会改变的。如果分析仪器没能正确安装，或者环境不适合仪器，甚至仪器没能正常运行，那么结果也就无效了。由于驱动 QbD 的整体性思维，我们可以通过另一种方式来考虑数据质量金字塔的层次，从而反映仪器认证、设计空间，以及基于 QbD 的系统适用性之间的真正平衡。



将 QbD 原理应用于分析方法开发和认证，我们也许就能抛弃 ICH Q2 规定的固定方法认证标准，转而采用专为特定需求设计的标准。正如固定的方法认证要求可能会成为过去一样，固定的仪器认证标准（如那些通常需遵循的纸质协议）也会被淘汰。取而代之的是您很可能需要可配置的电子认证。其灵活性必须受到全面控制以满足监管要求，同时抛弃纸质协议而转向电子认证（包括电子审批选项，而非手写签名），也能满足 FDA 等监管机构对数据完整性的要求。

安捷伦自动法规认证引擎 (ACE) 软件是专为满足最严格的监管要求而设计的，同时它提供可控的灵活性以满足将来的需求。经认证的软件和分析仪器始终是实验室生成可靠数据的关键。在稳定的药物质量体系 (ICH Q10) 下监测和保持校准状态至关重要。

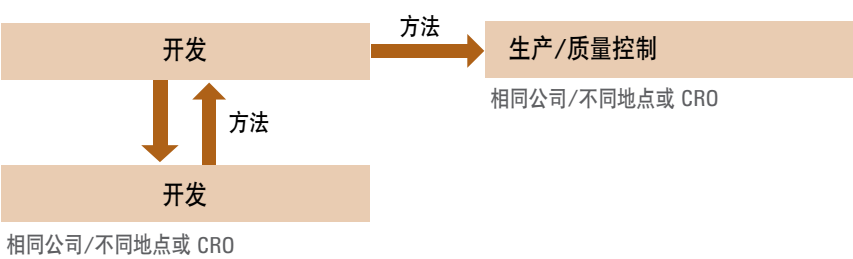
安捷伦为您的分析实验室提供了全面的认证服务。⁹ 安捷伦还拥有更多供应商系统，十多年来一直单独占据市场领先地位。所有服务均满足良好生产质量管理规范/良好实验室管理规范要求，并能够满足制药行业日益增多的认证需求。安捷伦按照合同协议提供适合您仪器性能指标的安装认证和操作认证。安捷伦认证服务可控的灵活性和源于设计的高质量，涵盖一系列具有基于科学风险评估的、协调及低成本方法的系统和技术，完全以您的业务需求为导向。

- 全球范围内已成功完成超过 15 万次认证服务，您可完全信赖我们的方法和结果
- 成熟的自动化方案、经校准的工具，以及认证的工程师，能快速可靠地交付认证报告和证书，实现低成本的解决方案
- 提供仪器法规遵循的全部文件，所有认证服务的审查和批准都非常简单。

安捷伦自 1995 年起连续 5 次在法规认证服务的独立调查中名列第一。⁹

消除分析方法转换中的变异性

一个新药品的生命周期中，在研究和开发部门、合同研究机构 (CRO) 以及生产部门之间进行分析方法转换是必不可少的。数百份 FDA 观察结果以及 USP <1224> 中新章节的一个提议——“分析程序转换”，都强调了方法转换的重要性。液相色谱仪器间的设计差异（诸如性能范围、延迟体积、混合行为、温度控制、柱外体积和检测池设计）、方法差异，以及重新开发方法中分析人员的经验水平等均会影响到您将方法从一个系统转换到另一个系统的能力。QbD 原理有助于消除方法转换过程中的变异性。



安捷伦智能系统模拟技术

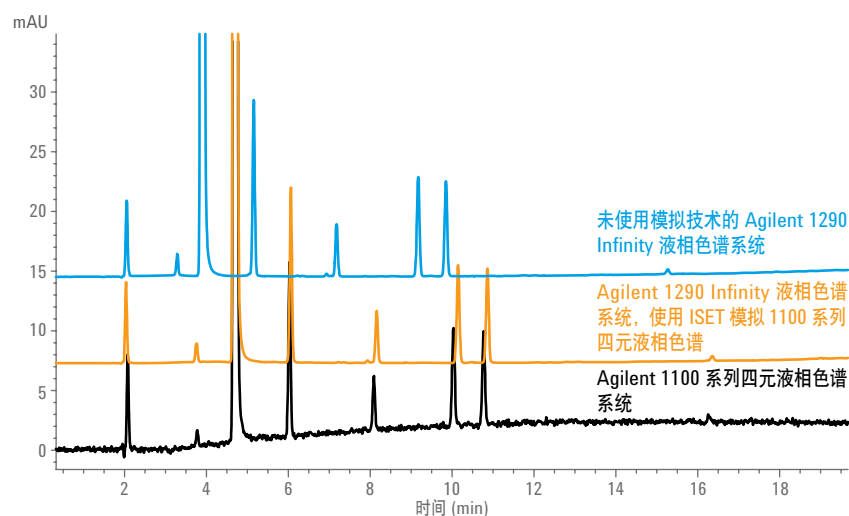
安捷伦智能系统模拟技术 (ISET) 能够执行所有传统 HPLC 或最新的 UHPLC 方法，并给出相同的色谱结果，无需改变原始方法或更改仪器硬件。¹⁰ 作为安捷伦革命性模拟算法的直接成果，这一新技术能够实现最佳性能。



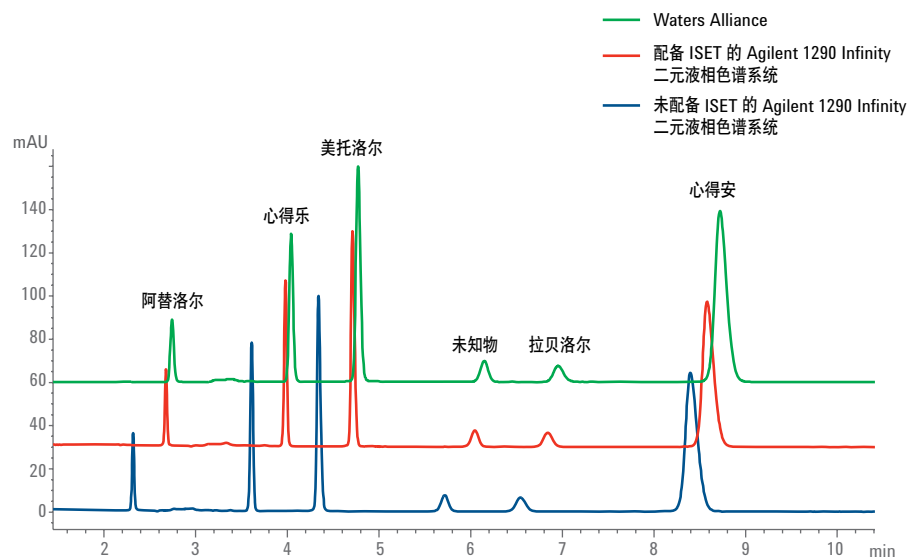
在准确了解所选液相色谱仪器性能的基础上，ISET 可建立一个模拟函数，以便 Agilent 1290 Infinity 液相色谱能实现与所选液相色谱相同的梯度条件，使保留时间和分离度均无变化。

- 只需轻击鼠标，即可模拟其它 (U)HPLC 仪器
- 运行现有 (U)HPLC 方法，无需修改方法或系统
- 无限卓越的方法转换性能，可得到相同的保留时间和色谱峰分离度

下述应用实例表明 ISET 可帮助您应对方法转换差异性带来的挑战。¹⁰



对乙酰氨基酚及其杂质在 Agilent 1290 Infinity 液相色谱系统（蓝色）、配备 ISET 的 Agilent 1290 Infinity 液相色谱系统（橙色），以及 Agilent 1100 系列四元液相色谱系统（黑色）上分析的叠加色谱图，检测波长 270 nm。更多信息，请参阅安捷伦出版物 5990-9715EN



β -受体阻断剂在 Alliance 色谱仪和配备/未配备 ISET 的 Agilent 1290 Infinity 二元液相色谱系统上分析的叠加色谱图。更多信息，请参阅安捷伦出版物 5991-1603EN

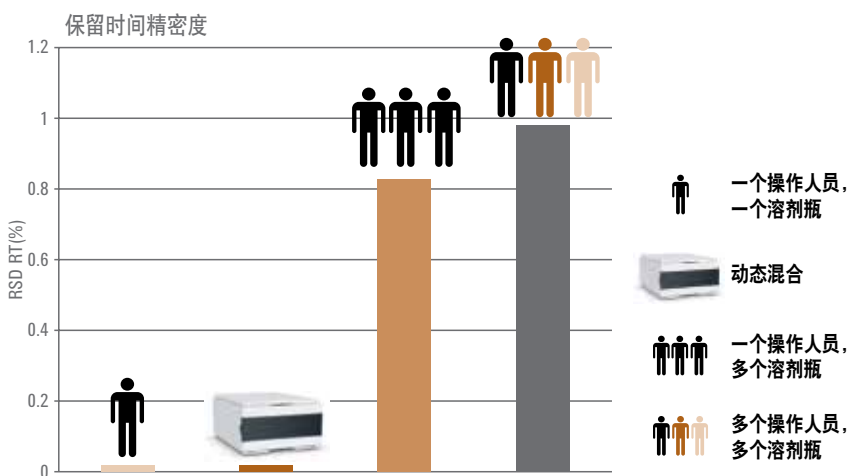
使用 Agilent 1290 Infinity 四元泵进行自动/动态在线混合



Agilent 1290 Infinity 四元泵

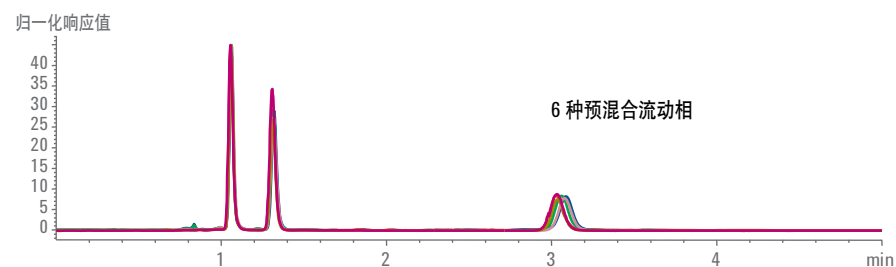
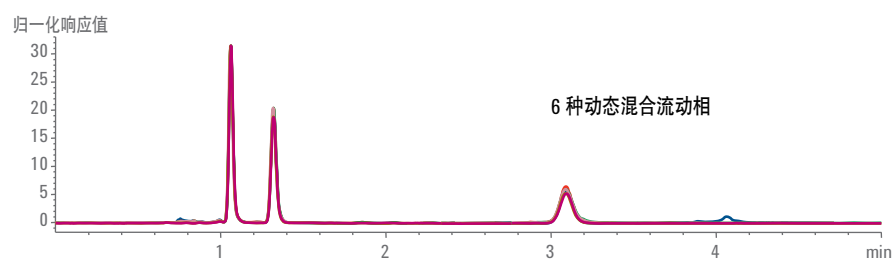
在制药行业，经常采用等度 UHPLC 条件进行药物制剂的质量控制分析。为了确保获得最高的保留时间精密度，通常首选预混合的流动相。为了确保预混合流动相具有相同的组成，混合步骤必须保持始终如一的重现性。不同批次以及不同用户制备的流动相间都可能存在组成上的轻微变化。对于那些对很小组成变化都很敏感的化合物来说，不重现的混合会降低保留时间的精密度。

Agilent 1290 Infinity 四元泵拥有混合功能，可帮助您满足接收实验室对方法性能的预期要求。¹¹ 该四元泵动态混合流动相，即使长时间运行也能为您提供最高精密度的保留时间。该保留时间的精密度可与不同比例预混合流动相获得的精密度相媲美。通过使用自动/动态在线泵混合来替代手动溶剂混合，不仅能够最大限度地降低特定仪器引起的差异，还能降低操作人员带来的差异。

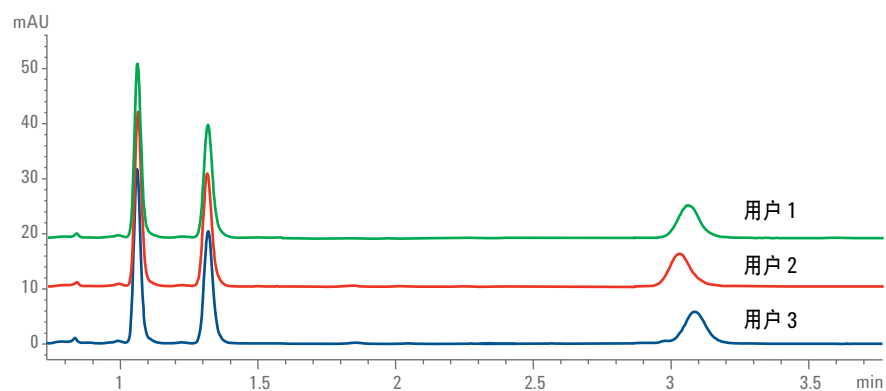


动态混合与预混合溶剂的流量准确度和精密度的变异性。仅用于说明。更多信息，请参阅安捷伦出版物 5991-0098EN

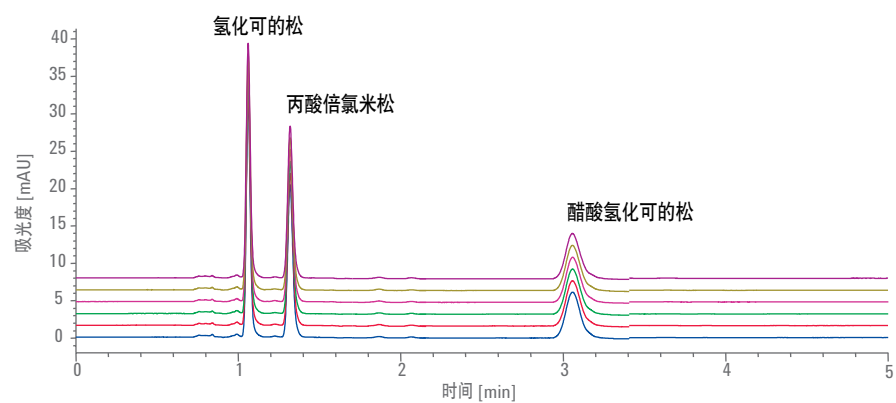
如下对三种糖皮质激素的分析结果表明，Agilent 1290 Infinity 四元泵无需预混合流动相即能获得更高的日常重现性。



6 个使用动态混合的序列与 6 种预混合流动相所得色谱图的对比



分别使用 3 个不同用户制备的预混合流动相得到的色谱图对比



使用动态混合流动相分析糖皮质激素

原料药与药品的质量风险评估和关键质量属性评价

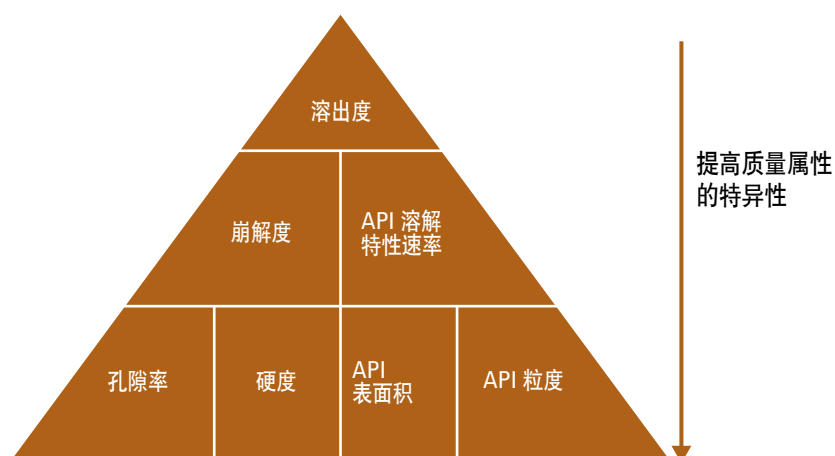
关键质量属性 (CQA) 是一种物理、化学、生物或者微生物的性质或特征，它应该在一个适当的界限、范围或者分布内，以确保预期的产品质量。¹ 正如 ICH Q11 中指出的，原料药的 CQA 通常包括那些影响药物特性、纯度、生物活性及稳定性的性质或特征。例如，固体口服制剂的溶出能力即可视为一种 CQA。体外溶出度测试在整个产品开发周期中都会用到，它对于阐明混合时间、制粒、辅料或片剂硬度等关键工艺参数 (CPP) 对溶出速率的影响至关重要。溶出度测试还可用于定义 CQA，如活性药物成分 (API) 的粒度等。溶出速率可能与粒度有关，并可通过调整粒度大小实现 API 的控制释放。

杂质是一类非常重要的潜在原料药的 CQA（正如 ICH Q11 中所指出的），因为它们对药物的安全性有潜在的影响。⁴ 根据监管指南，有机杂质（包括潜在的遗传毒性杂质）、无机杂质和残留溶剂是通常要进行评估的三类主要杂质。安捷伦的详细基础导论，“药物杂质分析解决方案”，涵盖了分析所有这三类杂质的一系列解决方案。¹³

用于 QbD 实施的溶出度测试解决方案

溶出度测试已逐步成为表征固体口服制剂生物药物性能的决定性工具。溶出度测试的传统目标是确保一致的批间质量、优化配方、监测药物的长期稳定性，以及在未来新制剂和通用配方之间建立生物等效性。当然，由于应用了 QbD 原理，溶出度测试在现代药品生产中的作用已愈加关键，它不仅贯穿产品开发全过程，而且还贯穿了整个溶出度分析方法开发步骤。通过建立科学合理的溶出方法和技术指标，我们就能够更好地鉴定并监测关键质量属性和产品性能特征。这也与 FDA 指南的要求一致，应用 API、辅料和生产工艺（以及对正在开发药品机制的深入了解）知识，通过一致可控的生产获得优质产品。

对于通过 QbD 了解产品性能，以及测定输入参数或工艺的改变所造成的影响来说，溶出度测定已成为更加关键的工具。在药物设计中应用机械方法，与根据设计空间进行溶出方法的智能设计一样重要。



在 QbD 实施中进行溶出度测试。⁸

传统的溶出方法是为了根据生物药物性能优化药物处方而设计的。这些方法有着众所周知的局限性，而且得到的方法有时会带有固有变异性。使用对于特定配方来说并不科学合理的溶出方法可能会使得方法识别力不足或识别力过度。从而导致对产品性能和性能指标设置的不恰当解读。不可靠的方法可能会导致一系列问题，它会模糊关键生产属性，导致体外/体内相关性变差，并最终导致代价高昂的产品提交、监管审查和批准延误，从而对开发过程产生不利影响。

将 QbD 原理运用到溶出方法开发中（目前推荐将这些原则用于制剂的设计、开发和生产），将有助于更一致、更精确地测定生物药物的性能。如果我们通过基于知识的方法进一步了解溶出方法开发中 QbD 原理的应用，我们将能够：

- 了解溶出方法的变异性及其来源
- 基于对 API 和辅料的认识，建立精确的方法
- 根据生物相关性确定溶出方法的关键属性
- 确定与产品性能有关的生产工艺的关键属性
- 设置有意义的产品放行指标
- 确保获得耐用可靠、具有分析设计空间的方法
- 针对将来分析方法可能的改变，具有法规监管的灵活性
- 持续改进方法
- 有助于完善用于未来产品开发的知识库

安捷伦提供了完整的溶出度测试解决方案，可帮助您在药物开发中成功落实 QbD 原理。¹² 科学合理地进行方法开发的基础取决于在溶出度仪上执行的 DoE，这有赖于安捷伦在创新设计、消除变异性，以及遵循最严格的机械认证指标和容差方面的业界领先优势。Agilent 708-DS 系统和 709-DS 无水系统是当前最先进的溶出度平台，您可以通过如下方式，利用它们的灵活性进行传统和新型制剂的测试：

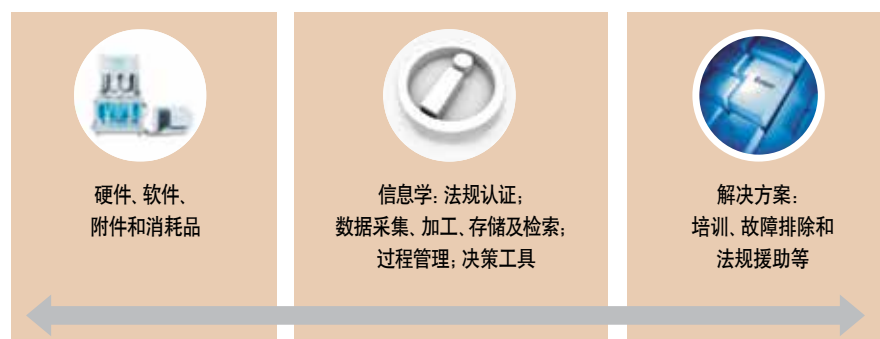


Agilent 708-DS 溶出仪

- 传统的浆法和篮法装置
- 特性溶出 — 对于测定溶出速率常数非常重要
- 手动或自动溶出取样
- 取样至加盖的 HPLC 样品瓶
- 无人值守运行的在线分析
- 大量溶出曲线数据点的光纤分析和微粒分析

依赖安捷伦溶出仪和 QbD 原理进行有意义的溶出方法开发，可以减少变异性和意料之外的重新组方问题，提高方法的稳健性，加深对产品的理解并鉴别出生产工艺的关键属性，从而降低制剂上市的整体成本。该方法最终会使产品和产品开发周期得到持续改善。

安捷伦溶出度测试系列产品



针对质量风险评估，提高杂质分析的精确度

采用 Agilent 1200 Infinity 系列高动态范围二极管阵列检测器 (HDR-DAD) 解决方案分析大量药物中的痕量有机杂质

鉴定并定量分析大量药物中的痕量杂质非常具有挑战性。例如，在测定固定剂量复方药物时，分析其中的痕量杂质会非常复杂，因为这些药物中活性成分的含量可能会因预期生理效应不同而差异很大。假如高剂量和低剂量成分同时存在，在使用传统 HPLC 和 UHPLC 二极管阵列检测器时，可能就需要至少两次进样，以确保能在检测器的线性范围内对所有化合物进行准确定量，并且实现痕量化合物可靠的积分和定量分析。



检测器 1，配备 60 mm 光程流通池



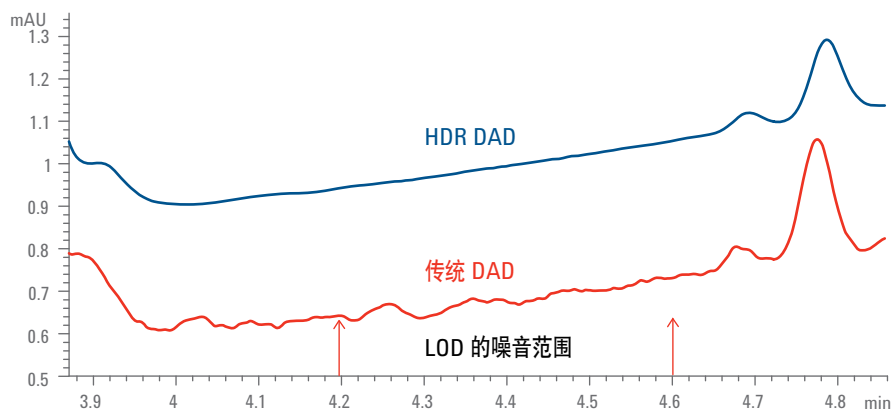
检测器 2，配备 3.7 mm 光程流通池

配备两组检测器的 Agilent 1200 Infinity 系列 HDR DAD 解决方案。更多信息，请参阅安捷伦出版物 5991-1409EN

Agilent 1290 Infinity HDR DAD 解决方案非常强大，这在分析 1:80 的对乙酰氨基酚和氯苯那敏样品中得到很好证明，与传统 DAD 检测相比，该解决方案显著提高了精密度并降低了检测限。¹⁴ 氯苯那敏的检测限降低了 10 倍。

	传统 DAD 的 LOD (S/N=3)	HDR DAD 的 LOD (S/N=3)
氯苯那敏	约 1 ng	约 0.1 ng

氯苯那敏在传统 DAD 和 HDR DAD 上分析的检测限。更多信息，请参阅安捷伦出版物 5991-0115EN



1:80 对乙酰氨基酚和氯苯那敏复方药物样品的分析，样品中还含有维生素 C、咖啡因及其它更少的未知杂质。与传统 DAD 相比，Agilent 1290 Infinity HDR-DAD 解决方案显著提高了精密度并降低了检测限。氯苯那敏的检测限降低了 10 倍。而对于高剂量成分对乙酰氨基酚来说，HDR DAD 信号的峰面积精密度提高了 30 倍。更多信息，请参阅安捷伦出版物 5991-0115EN

使用 Agilent 1290 Infinity 二维液相色谱解决方案分析与主成分共流出的痕量有机杂质

由于大部分杂质相互之间以及与主成分之间在结构上都很相似，要想分离它们通常极其困难，因为杂质可能会同时流出或者随主成分一起流出。最坏的情况是，所选择的固定相-洗脱剂组合根本无法分离它们。

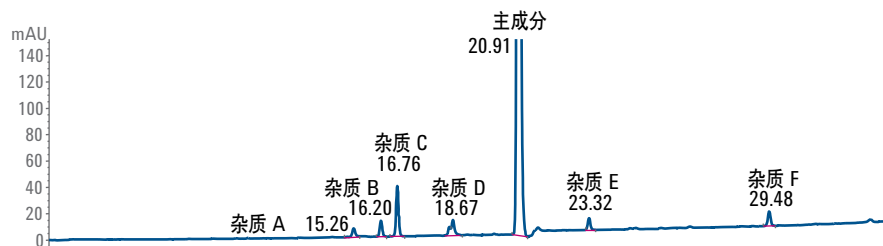
Agilent 1290 Infinity 二维液相色谱系统提供的解决方案可以应对这一挑战，您不仅能够进行全二维液相色谱 (LC×LC) 分析，还可进行中心切割二维液相色谱 (LC-LC) 分析。¹⁵ 中心切割实验中，第一维色谱柱中适量的洗脱液会被洗脱到定量环毛细管中，然后通过切换阀被转移到第二维色谱柱中。而第二根色谱柱是完全有可能分离来自第一维色谱柱的共流出化合物的，因为我们可以使用不同选择性的固定相-洗脱剂组合，以及更长、更合适的梯度洗脱程序。

用于中心切割二维液相色谱分析应用的仪器配置

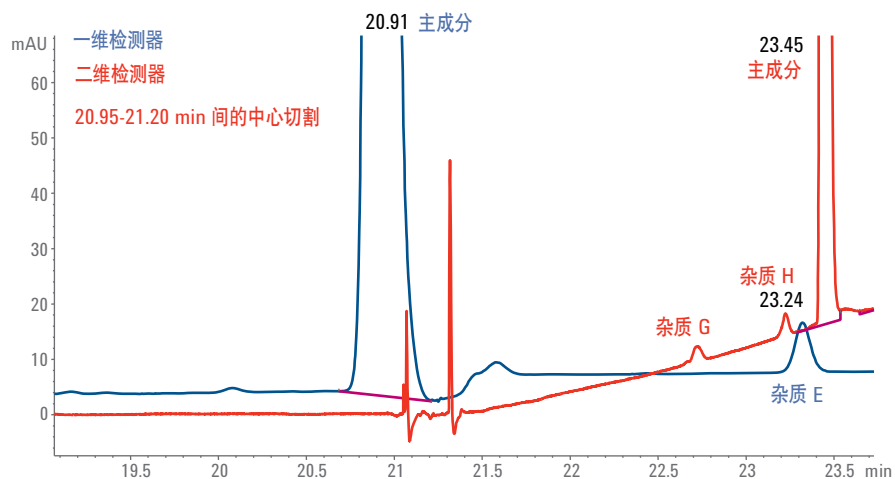


在该配置中，第一维和第二维的泵是完全相同的。通常，第二维泵必须是 1290 Infinity 泵，以实现第二维色谱柱的快速梯度洗脱。第一维泵的选择就比较灵活，可以是 1260/1290 Infinity 四元泵或 1260 Infinity 二元泵。更多信息，请参阅安捷伦出版物 5991-0834CHCN

如下数据表明了 Agilent 1290 Infinity 二维液相色谱解决方案非常适合中心切割分析应用。中心切割能够将微量杂质从共流出的主成分中分离出来。中心切割之后在第二根色谱柱上得到分离的微量杂质，通过另外加标和分离性能的统计评估进行验证。



主成分和检出的杂质 A 到 F。更多信息，请参阅安捷伦出版物 5991-0834CHCN



主色谱图（蓝色）和从主峰 20.75-21.00 min 中心切割的色谱图（红色）。主成分在 23.26 min 时从第二维色谱柱上流出。更多信息，请参阅安捷伦出版物 5991-0834CHCN

使用 ICP-MS 和 ICP-OES 分析元素杂质

ICH 于 2013 年发布了“Q3D元素杂质指导原则”，给出了潜在有毒元素杂质的可接受安全限量，或允许的每日摄入量相关信息。¹⁶ 指导原则中介绍了四类毒性等级，见下表。

	包括的元素杂质	是否需要风险评估？
1 类	As、Pb、Cd 和 Hg	是
2A 类	V、Mo、Se 和 Co	是
2B 类	Ag、Au、Tl、Pd、Pt、Ir、Os、Rh 和 Ru	是，仅在故意添加时
3 类	Sb、Ba、Li、Cr、Cu、Sn 和 Ni	取决于给药途径，见第 3 类的介绍
4 类	B、Fe、Zn、K、Ca、Na、Mn、Mg、W 和 Al	否

根据 ICH Q3D（STEP 2B 版本）进行元素杂质分类。¹⁶

生产商需要从供应商那里获取控制成分的数据，并测试终产品，以确定杂质是在生产，还是包装过程中产生的。正如指导原则草案中所描述的，“应该采用适用于预期目标的适当程序来测定元素杂质。除非另有说明，在风险评估中针对每个受控元素杂质的测试都应该是专属性的。在测定元素杂质含量水平时，应该使用药典规程或者其它合适的、经过验证的规程。”

目前监测药物样品中的无机污染物时，使用的是 USP 通则 <231> 中规定的一种 100 年前建立的比色法。除了主观视觉对比带来的明显潜在偏差外，USP<231> 也只能限于测定 10 种元素的总和，没法给出每个元素各自的浓度。USP<231> 有望被新通则 USP<232>（限量）和 <233>（规程）所取代。新方法能够很好地解决现有方法的局限性，尤其在可分析元素的种类、样品前处理、挥发性分析物的保留，以及使用密闭容器消解样品和使用现代仪器技术准确、高回收地测定单个分析物浓度等方面。

USP<232> 涵盖了更广泛的分析物，包括催化剂，而且它是根据毒性而非方法性能来定义最大允许水平的。新的重金属测试 (USP<233>) 要求使用仪器方法测定元素杂质，而且参考方法系基于电感耦合等离子体质谱 (ICP-MS) 或电感耦合等离子体发射光谱 (ICP-OES)，两者都使用密闭容器微波消解。这样就能消除先前比色法分析的特异性问题，去除了分析物在样品灰化过程中有所损失的局限，并且大大降低了检测限。

安捷伦拥有业界领先的 ICP-MS 和 ICP-OES 系统，能够满足严格的新法规要求。¹⁶⁻¹⁷ 使用这两种方法分析样品时，有三种方式可供选择：直接分析（非溶剂化）；用水或有机溶剂溶解样品后分析；或者使用密闭容器微波系统酸解后分析。

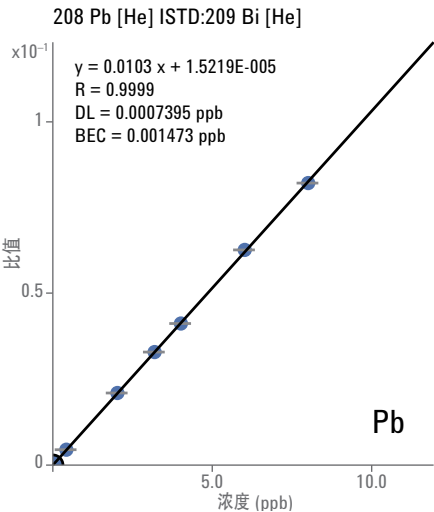


Agilent 7900 ICP-MS



Agilent 700 系列 ICP-OES

安捷伦元素杂质分析解决方案	
7900 ICP-MS	• 强大的高灵敏度系统，用于研究和常规的、高通量和含高度复杂基质的分析应用 • 即使样品需要高度稀释，也能够对所有在新版 USP <233> 方法监管水平及以下的 16 种元素提供可靠的分析（无干扰） • 7900 还具有独特的筛选功能，结合氦气 (He) 反应池模式，无论针对哪种样品基质，都能够有效消除所有分析物的多原子干扰。它的谱图简单且易于解读，只需一次快速扫描即可获得全面的元素组成
700 系列 ICP-OES	• 满足 USP<232> 的基本要求，它不要求最低的检测限 • 可满足所有用户的需求，包括那些预算有限及追求卓越 OES 性能的用户 • 提供极高的稳定性、分析速度和灵活性 • 对于大多数监管元素，可提供 ppb 级的检测限 • 所有型号都具有更宽动态范围、稳定的等离子体，并且可同步监测主要、微量和痕量元素成分
1200 Infinity 系列液相色谱 + 7900 ICP-MS	• 可对某些监管元素（As 和 Hg）进行形态分析 • 相同的仪器还可应用于研究
OpenLAB ECM、OpenLAB 数据存储或 Agilent SDA	• 在封闭系统中为 21 CFR Part 11 的所有强制执行的需求提供全面支持，包括 IQ/OQ 服务 • SDA 可以为 700 系列 ICP-OES 和 7900 ICP-MS 提供单台 PC 的法规认证解决方案
ICP-MS 及 ICP-OES 备件	• 提供安捷伦截取锥、雾化器、导管和炬管，确保最佳和可靠的仪器性能



He 模式下 Pb 的校准曲线，表明检测限为 1 ng/L 或更低，灵敏度高，线性关系良好。如需了解所有监管元素的数据，请查阅安捷伦出版物 5990-9365CHCN

- (1) (a) The International Conference on Harmonization (ICH), Tripartite Guideline, ICH Q8 (R2), 2009; Q9 Quality Risk Management, 2006; Q10 Pharmaceutical Quality System, 2008; Q11 Development and Manufacture of Drug Substances (chemical entities and biotechnological/biological entities), Step 2 Draft Consensus Document, 2011
- (2) (a) EMA-FDA pilot program for parallel assessment of quality-by-design applications: lessons learned and Q&A resulting from the first parallel assessment, 20 August 2013; (b) Questions and Answers on Design Space Verification; EMA-FDA pilot program for parallel assessment of quality-by-design applications, 24 October 2013
- (3) (a) QbD for better method validation and transfer, Phil Nethercote, Phil Borman, Tony Bennett, Gregory Martin, Pauline McGregor, *Pharmaceutical Manufacturing*, 37-47, April 2010; (b) Quality by Design-based Development of a Stability-Indicating HPLC Method for Drug and Impurities, Karmarkar S., Garber R., Genchanok Y., George S., Yang X., Hammon, R. *Journal of Chromatographic Science*, Vol. 49, July 2011, 439-446; (c) Quality by Design: Multi-dimensional Exploration of the Design Space in High-Performance Liquid Chromatography Method Development for Better Robustness Before Validation, Monks K., Molnar I., Rieger H, J, Bogati B., Szabo E., *Journal of Chromatography A*, 1232 (2012), 218-230
- (4) QbD for drug substance: An enhanced approach to drug-substance development manufacture, Angie Drakulich, *Pharmaceutical Technology*, 34-37, February 2012
- (5) Borman, Phil, et. al., "The Development Phase of an LC Method Using QbD Principles," *Separation Science*, 2012
- (6) (a) Agilent 1200 Infinity 系列多方法解决方案 — 无限卓越的多液相色谱分析方法，安捷伦出版物 5990-6226CHCN；(b) Agilent 1200 Infinity Series Method Development Solution – User Guide (Agilent 1200 Infinity 系列方法开发解决方案 — 用户指南)，安捷伦出版物 G4230- 90004
- (7) Quality-by-Design Approach to Stability Indicating Method Development for Linagliptin Drug Product (利拉利汀药品稳定性引导方法开发的质量源于设计方法)，安捷伦出版物 5991-3834EN
- (8) "A Biopharmaceutical Classification System Approach to Dissolution: Mechanisms and Strategies" W. E. Bowen, Q. Wang, W. P. Wuelfing, D. L. Thomas, E. Nelson, Y. Mao, B. Hill, M. Thompson, R. A. Reed In "Biopharmaceutics Applications in Drug Development" R. Krishna and Lawrence Yu, Ed.; Springer, 2008, 290
- (9) (a) 最大化实验室生产率：使用集成服务解决方案确保符合法规要求，安捷伦出版物 5990-8855CHCN；(b) 分析仪器认证中的隐性成本和潜在机遇，安捷伦出版物 5989-7054CHCN；(c) 分析仪器验证和系统认证，安捷伦出版物 5990-3288CHCN

- (10) (a) Method Development on the Agilent 1290 Infinity LC Using Intelligent System Emulation Technology (ISET) with Subsequent Transfer to an Agilent 1100 Series LC (使用智能系统模拟技术 (ISET) 在 Agilent 1290 Infinity 液相色谱上进行方法开发, 随后转换到 Agilent 1100 系列液相色谱), 安捷伦出版物 5990-9715EN; (b) Agilent 1290 Infinity Binary LC System with ISET-Emulation of the Waters Alliance 2695 LC system analyzing beta-blockers (使用配备 ISET 的 Agilent 1290 Infinity 二元液相色谱系统模拟 Waters Alliance 2695 液相色谱分析 β -受体阻滞剂), 安捷伦出版物 5991-1603EN; (c) Agilent 1290 Infinity LC with ISET under Waters Empower control – Emulation of Agilent 1100 Series LC (配备 ISET 的 Agilent 1290 Infinity 液相色谱通过 Waters Empower 控制软件模拟 Agilent 1100 系列液相色谱), 安捷伦出版物 5991-2275EN
- (11) Agilent 1290 Infinity Quaternary Pump: Comparing premixed isocratic conditions with dynamically-mixed conditions analysis of glucocorticoid drugs (Agilent 1290 Infinity 四元泵: 比较预混合等度条件与动态混合条件下对糖皮质激素药物进行的分析), 安捷伦出版物 5991-0098EN
- (12) Dissolution Testing and Analysis: Dissolution Systems Source Book (溶出度测试与分析: 溶出系统工作手册), 安捷伦出版物 5991-3085EN
- (13) (a) 药物杂质分析解决方案, 安捷伦出版物 5991-0090CHCN; (b) 药品中的遗传毒性杂质——法规和分析, 安捷伦出版物 5991-1876CHCN; (c) 纯度和杂质分析制药行业应用文集, 安捷伦出版物 5991-2796CHCN
- (14) (a) Single-Run Assay and Impurity Testing of Fixed-Dose Combination Drugs Using the Agilent 1200 Infinity Series High Dynamic Range Diode Array Detector Solution (使用 Agilent 1200 Infinity 系列高动态范围二极管阵列检测器解决方案对固定剂量复方药物进行单次运行分析和杂质检测), 安捷伦出版物 5991-0115EN; (b) Reliable and Automatic Integration of Trace Compounds Using the Agilent 1200 Infinity Series High Dynamic Range Diode Array Detector Solution (使用 Agilent 1200 Infinity 系列高动态范围二极管阵列检测器对痕量化合物进行可靠的自动积分), 安捷伦出版物 5991-1409EN
- (15) (a) 采用 Agilent 1290 Infinity 二维液相色谱解决方案通过中心切割法对杂质进行检测, 安捷伦出版物 5991-0834CHCN; (b) Heart-Cut 2D-LC/MS Approach for Pharmaceutical Impurity Identification Using an Agilent 6540 Q-TOF LC/MS System (使用 Agilent 6540 Q-TOF LC/MS 系统采用中心切割二维 LC/MS 方法进行药物杂质鉴定), 安捷伦出版物 5991-1873EN
- (16) GUIDELINE FOR ELEMENTAL IMPURITIES QbD: Current Step 2b version dated 26 July 2013
- (17) (a) Pharmaceutical Analysis by ICP-MS: New USP Test for Elemental Impurities to Provide Better Indication of Potentially Toxic Contaminants (通过 ICP-MS 进行药物分析: 针对元素杂质的新型 USP 测试方法能更好地指示潜在毒性污染物), 安捷伦出版物 5990-5427EN; (b) 参照美国药典通则 <232>/<233> 草案验证 Agilent 7700x ICP-MS 在测定原料药元素杂质中的应用, 安捷伦出版物 5990-9365CHCN



了解详细信息

www.agilent.com/chem/pharma

查找当地的安捷伦客户服务中心

www.agilent.com/chem/wheretobuy

安捷伦客户服务中心:

免费专线: **800-820-3278**

400-820-3278 (手机用户)

联系我们:

customer-cn@agilent.com

在线询价:

1-800-227-9770

www.agilent.com/chem/quote:cn

仅限研究使用。不可用于诊断目的。
本资料中的信息如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2014

2014 年 2 月 14 日，中国印刷

5991-2166CHCN



Agilent Technologies