

应用纪要

应用软件辅助的“分析方法质量源于设计”方法通过UPLC-MS分析福莫特罗、布地奈德及相关化合物

Fadi L. Alkhateeb, Paul D. Rainville

Waters Corporation



摘要

分析方法性能对于确保药品的质量、安全性和有效性至关重要。两种最常用的策略是“每次考察一种因素(OFAT)”和“分析方法质量源于设计(AQbD)”。在运行Empower 3和Fusion软件的ACQUITY UPLC H-Class PLUS系统上,使用“质量源于设计”理念开发出一种用于分析布地奈德、福莫特罗及相关化合物的可靠方法。

优势

- 使用Fusion QbD进行方法开发的优势。
- ACQUITY UPLC H-Class PLUS系统与Empower 3色谱数据系统(CDS)和S-Matrix Fusion QbD软件相结合能够实现直接有效的方法开发。
- 使用ACQUITY QDa质谱检测器进行分析方法开发的优势
- 开发高性能、稳定的方法用于福莫特罗、布地奈德及其相关化合物分析

简介

分析方法性能对于确保药品的质量、安全性和有效性至关重要。目前,分析领域中存在多种方法开发理念。两种最常用的策略是“每次考察一种因素(OFAT)”和“分析方法质量源于设计(AQbD)”¹⁻⁴。在OFAT方案中,仅改变一种参数,评估其对响应的影响,而其它参数保持不变。如果更改此因素无法进一步改善分析结果,则探讨另一种参数²。这种方法并不十分完善,且分离结果在分离度、峰形和稳定性方面通常不是最佳的。

而AQbD方法则采用一种更完善、系统化并且基于风险的策略,从预定义目的开始,来进行方法开发。利用这种方法,可以探讨多种参数和设置,从而更全面地了解所研究因素对方法性能的影响。了解的这些知识可用于确定方法操作设计区域(MODR),该区域对应于经验证满足方法性能标准的多维组合变量。利用这种方法可以获得一种适宜、经过精心设计、易于理解且稳定的方法,使方法能够在其整个生命周期内可靠地提供预期性能^{5,6}。在方法开发中采用AQbD理念的另一个主要优势是在改变分析方法方面可能具有法规灵活性²。因此,AQbD是分析方法开发中应遵循的可取的理念。

本研究的主要目的是采用软件辅助的AQbD方法开发一种超高效液相色谱-质谱(UPLC-MS)法用于福莫特罗、布地奈德和相关化合物分析。布地奈德(结构如图1A所示)是一种皮质类固醇,可控制和抑制炎症,用于哮喘的长期治疗。福莫特罗(图1B)等激动剂,也已广泛用于哮喘和慢性阻塞性肺病的治疗。经证明,将两种药

物成分合并作为一剂药置于联合吸入器中吸入具有更强的临床效果⁷,

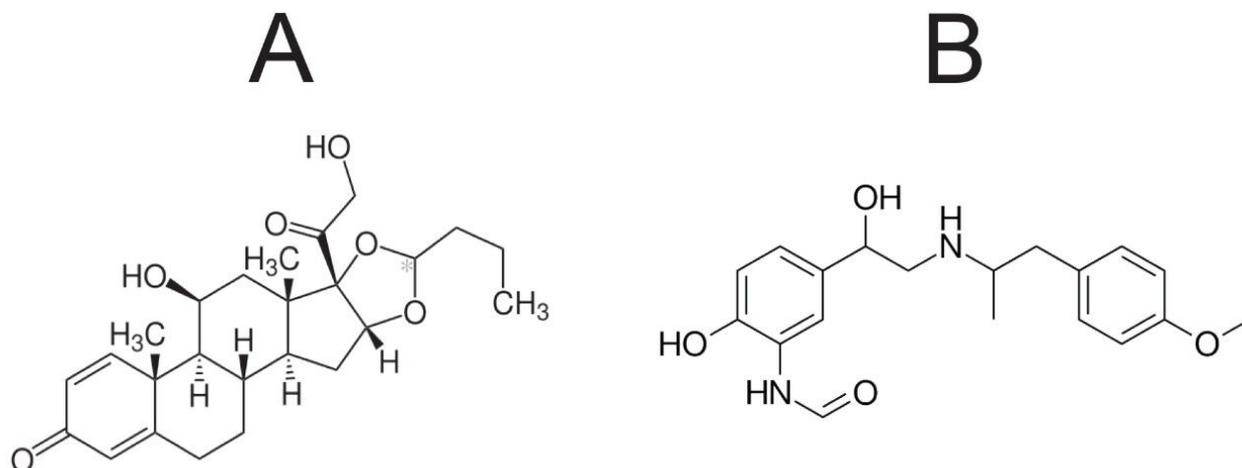


图1.布地奈德(A) (以一对差向异构体存在) 和富马酸福莫特罗(B)的化学结构

本应用纪要的主要目的在于探讨AQbD方法在实现福莫特罗、布地奈德及其相关化合物高性能分离方面的分析潜力。研究考察了多种关键色谱参数对分离效率的影响, 并对研究结果进行了介绍和讨论。本应用纪要将采用 Fusion QbD作为一种AQbD软件进行方法开发。

实验

参比物质和标准品制备

布地奈德和富马酸福莫特罗参比标准品均购自USP (美国马里兰州洛克维尔)。布地奈德相关化合物G、E和L也全部购自USP (美国马里兰州洛克维尔)。准确称量所需量的各标准品并将其溶于乙腈 (溶剂) 中, 制备上述化合物的储备液。然后利用储备液制备包含所有上述API和杂质的测试混合物。使用70:30 (v/v)水:乙腈作为样品溶剂稀释各标准品的储备液, 制备该混合物。测试混合物中各分析物的最终浓度大约为: 0.4 mg/mL⁻¹布地奈德, 0.15 mg/mL⁻¹福莫特罗, 0.005 mg/mL⁻¹相关化合物E和L, 以及0.01 mg/mL⁻¹相关化合物G。

LC条件

系统:

ACQUITY UPLC H-Class PLUS系统, 配备四元溶剂管理器(QSM)、样品管理器(FTN)、色谱柱管理

	器（配备两个辅助色谱柱管理器的CM）、PDA检测器、ACQUITY QDa质谱检测器
检测器：	eλ PDA和ACQUITY QDa
色谱柱：	<p>五种2.1 × 50 mm色谱柱：</p> <ul style="list-style-type: none"> · BEH C₁₈, 1.7 μm（全多孔柱体积[CVFP]=114 μL）；pH范围：1~12 · BEH Shield RP18, 1.7 μm (CVFP=114 μL)；pH范围：1~11 · CORTECS T3, 1.6 μm（表面多孔柱体积[CVSP]=85 μL）；pH范围：2~8 · CORTECS Phenyl 1.7 μm (CVSP=85 μL)；pH范围：2~8 · HSS PFP, 1.7 μm (CVFP=114 μL)；pH范围：2~8
流速：	0.5 mL/min
流动相A：	第一次筛选（0.1%三氟乙酸），第二次筛选（0.1%氢氧化铵）
流动相B：	乙腈（强溶剂[SS]）
流动相D：	<p>溶剂选择阀，用于在方法开发的不同阶段选择多种溶剂</p> <p>筛选：</p> <p>D1 20 mM乙酸铵</p> <p>优化：</p> <p>D1（20 mM乙酸铵/氢氧化铵缓冲液，pH=8.0），</p> <p>D2（20 mM乙酸铵/氢氧化铵缓冲液，</p>

pH=8.5) ,

D3 (20 mM乙酸铵/氢氧化铵缓冲液, pH=9.0)

梯度曲线:

以10%有机溶剂平衡3.0 min (13.2 CVFP和
17.64 CVSP)

以10%有机溶剂等度洗脱1.0 min (4.4 CVFP和
5.88 CVSP)

在5~12 min的梯度时间内, 有机溶剂从10%梯
度增加至60%

以60% SS等度洗脱1.0 min (4.27 CVFP和5.88
CVSP)

在0.1 min内, SS从60%递减至5%

以10% SS等度洗脱3.0 min (13.2 CVFP和17.64
CVSP)

注: 强溶剂百分比与弱溶剂百分比之和等于100%

柱温:

恒温, 40 °C

检测(UV):

244 nm

进样体积:

3 µL工作溶液

MS条件

系统:

ACQUITY QDa质谱检测器

电离模式:

ESI+

毛细管电压:

0.8 kV

锥孔电压:

15 V

离子源温度:	600 °C
数据管理:	Empower 3色谱数据系统(Empower CDS)和S-Matrix Fusion QbD

结果与讨论

在液相色谱方法开发过程中，通常会改变多个因素以实现所需的分离目标。其中一些因素（例如色谱柱固定相、强溶剂和pH值）会对分离效果造成很大影响，而另一些因素（例如梯度陡度和分离温度）则影响较小。通常根据改变这些因素所获得的响应来评估方法开发是否成功。这些响应的示例包括保留因子、分离度、拖尾、色谱图中的峰数量以及具有特定理想结果的峰数量。筛选的参数越多，对方法的了解就越全面。但是，筛选多种色谱参数可能非常耗时，尤其是在每种参数都存在多个数据点需要筛选的情况下。利用Fusion QbD作为AQbD软件平台的优势在于，它使用统计采样方法来创建完善且有代表性的实验设计，从而大大减少方法开发所需的实验数量。这是因为对于所有可能的因子组合，它都可以生成更小但具有代表性的子集，也可以对其进行建模，与广义的“全因子”设计占据相同的设计空间。例如，如果在五个不同的研究水平上对两个变量进行“全因子”研究，则运行所有可能的组合将需要进行25次实验。但是，如果利用Fusion QbD对代表所有这些因子的综合研究进行建模，则仅需要实施13次实验。实验数量显著减少是因为Fusion QbD的统计抽样设计并不运行所有组合点，而是运行某些点并预测其它点。这样可以全面了解整个色谱空间中所有重要因子的影响，且实际执行的实验更少。图2A展示了“全因子”设计的一般示意图，其中对设计空间的所有元素都进行了采样；图2B展示了相同设计空间的“部分析因”设计，由于采样合适，采样点减少。

考虑两个变量 - 每5个研究水平:

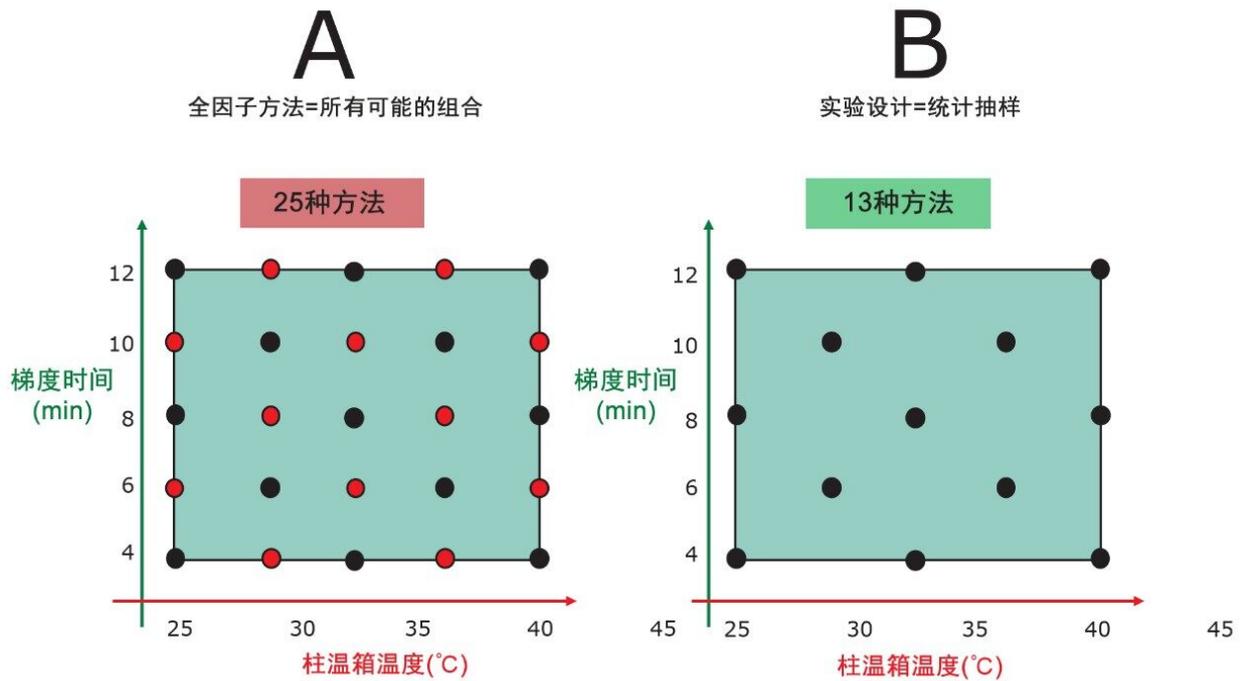


图2. “全因子”设计的一般示意图示例, 其中对表内的所有元素 (实验) 都进行了采样(A), 而在统计采样设计中, 仅对表内平衡且具有代表性的实验进行了采样(B)。

ICH将“实验设计”(DOE)定义为“一种结构化、有组织的方法, 用于确定影响过程的因素与该过程的输出结果之间的关系。” Fusion QbD是一款使用DOE方法开发稳定的液相色谱方法的软件。图3展示了Fusion QbD方法开发中通常执行的一般步骤。



图3. Fusion QbD中一般方法开发步骤的示意图

初始样品处理

此步骤的主要目的是找出可用作化学系统筛选步骤起点的初始色谱条件。这些条件通常应确保目标分析物最初得到保留，在运行结束之前洗脱下来，并使用适当的波长进行规模分析。这里需要注意的是，此时并不期望色谱峰得到充分分离并获得良好的峰形，只需得到保留并且能够积分即可。

为此，我们使用Fusion QbD中的“General Screening”模板创建了一个小型筛选实验。在该实验中，需要研究的变量数量有限。这些变量包括：进样体积(1~3 μL)、波长、初始保留时间(1~2 min)和两种不同的色谱柱填料(BEH C_{18} , CORTECS T3)。结果表明，起始有机相组成为10.0%时，所有目标化合物均能在1 min的初始保留时间得到保留。此外还发现，波长244 nm是合适的2D通道，能够检出所有分析物，而不会受到流动相的明显干扰。

化学系统筛选

1: 创建实验设计

本研究阶段的目的在于执行综合筛选实验，其中包括预期对方法性能影响最大的化学系统参数。因此，在该实验中，pH和固定相填料是探讨的两个主要色谱参数。探讨的pH值介于2.0~4.2之间，并以半个pH单位的量递增。讨论固定相填料的目的在于选择具有广泛选择性的色谱柱，同时提高取得成功的可能性。本阶段选择五种固定相进行研究。第一种色谱柱是BEH C_{18} ，它是最常用的液相色谱柱之一，适用的pH范围宽(1~14)。第二种色谱柱是BEH Shield RP18，它内嵌极性基团，因此与BEH C_{18} 相比具有专属选择性，并支持宽pH范围。第三种色谱柱是CORTECS T3，这是一种表面多孔 C_{18} 色谱柱，可增加对极性分析物的保留性能。本研究选择的第四种色谱柱是CORTECS Phenyl，这是另一种表面多孔色谱柱，并且由于存在潜在的pi-pi相互作用，可采用乙腈和甲醇提供专属选择性。选择的最后一种色谱柱是HSS PFP，因为它具有独特的选择性。这里需要注意的是，本实验考虑了合适的色谱柱尺寸，以便匹配仪器性能。例如，使用ACQUITY UPLC H-Class PLUS系统时，合适的色谱柱尺寸选择为内径2.1 mm，粒径1.1 μm 。同样，较短的色谱柱柱长适用于创建快速、高流速方法，因此选择长50 mm的色谱柱。

本实验中改变的最后一种色谱参数是梯度时间(5~12 min)。所有其它色谱参数（包括流速、温度和进样体积）均设为恒定值。图4展示了Fusion QbD软件的 Experiment Setup（实验设置）窗口图像，其中展示了本实验中包含的某些变量和常量。



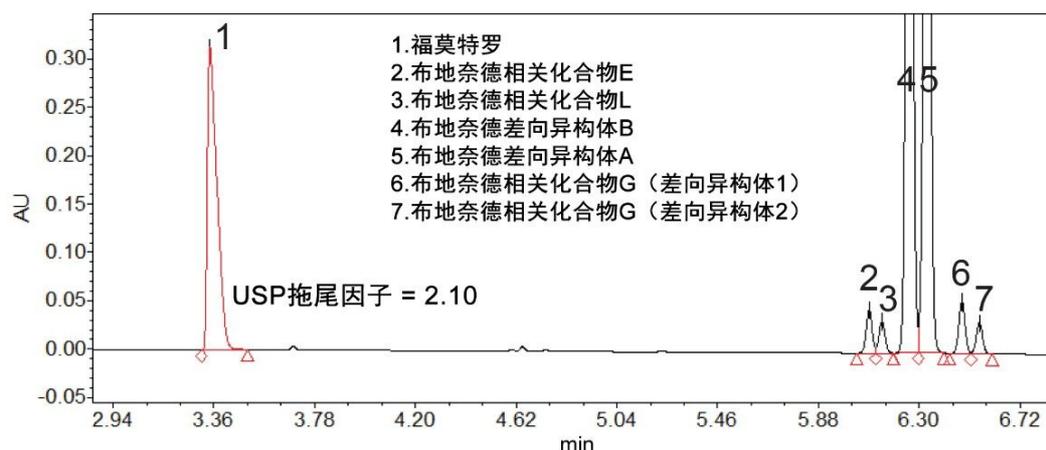
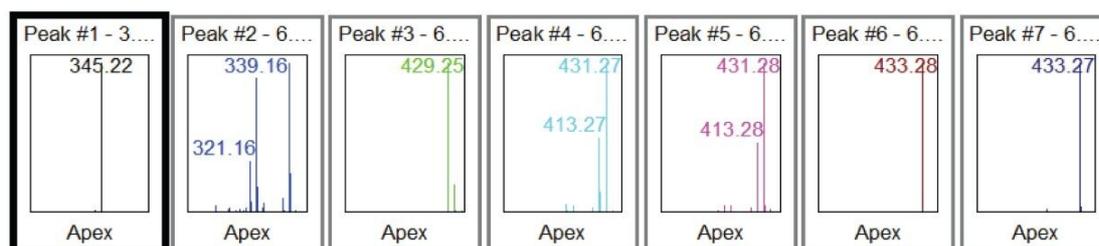
使用的所有色谱柱均为5 cm x 2.1 mm x 1.μm

图4. Fusion QbD屏幕图像，展示了第一次筛选实验中选择的pH和梯度时间。

在Fusion QbD中选择实验的所有变量和常量后，该软件会使用统计抽样方法针对所有必需的筛选实验创建实验设计方案，如前文所述。该软件为此筛选实验创建的运行总数为44次。创建实验设计后，将其导出至Empower，以创建这些运行所需的所有方法和方法组。该软件还可创建并导出所有必要的活化/平衡方法和方法组。这一点特别重要，因为可以通过消除为大量实验手动生成方法和方法组所需的时间，从而大大缩短方法开发时间。请注意，此DOE设计非常高效，因为所有可能的组合将需要125种方法（五个水平的tG × 五种pH × 五种色谱柱）。

2: 将数据导入Fusion QbD并开发知识空间

接下来，完成所有实验运行后，在Empower中处理数据，然后导入Fusion QbD软件。Empower中的处理包括，仅对所得色谱图中所有感兴趣的峰进行积分，并计算一些相关的色谱参数，例如这些峰的分度、拖尾因子和对称性。这些处理操作通过查看所有所得色谱图以找出“最佳外观”色谱图并基于该色谱图创建处理方法来完成。该色谱图通常是具有最多对应于实际分析物的可见峰且具有最多基线分离峰的色谱图。结果表明，该筛选实验的分离结果并未达到最佳，还需要通过更多实验来探讨其它色谱参数。例如，如图5所示，福莫特罗峰的拖尾因子非常高(2.10)，且布地奈德相关化合物未全部达到基线分离。这里需要提到的是，在方法开发过程的这一部分，使用QDa质谱检测器非常有利。这是因为该检测器使我们能够鉴定和追踪感兴趣的峰，即使这些峰的保留时间和/或洗脱顺序在不同运行中有所变化。



流动相: A: 乙腈
D: 乙酸铵/三氟乙酸缓冲液

pH: 4.16

色谱柱: BEH C₁₈, 1.7 μm, 2.1 × 50 mm

流速: 0.350 mL/min

柱温: 40 °C

梯度: 0-1.0 min: 5% A和95% D等度洗脱
1.0-12 min: A以线性梯度从5%增加至60%

图5.由化学筛选实验得到的“最佳外观”色谱图，对应于第33次运行。

在Empower中完成数据处理后，接下来将数据导入Fusion QbD，在其中自动创建数学模型并合并模型以预测“总体最佳答案(BOA)”。此筛选阶段选择的性能目标包括基于峰计数和峰结果的趋势响应。本分析中使用的峰计数趋势响应为各色谱图中的(1)色谱峰总数，和(2)USP分离度 ≥ 1.50 的峰数量。对于基于峰结果的特性，我们使用了Max Peak #2 USP分离度和Max Peak #3 USP拖尾因子。在Fusion QbD中，Max Peak #1是面积最大的峰，Max Peak #2是面积第二大的峰，以此类推。在我们的案例中，有三个主要峰，因为我们有两种活性药物成分，其中一种是一对差向异构体（布地奈德）。图6展示了Fusion QbD Import Responses（导入响应）对话框的图像，该对话框配置有所需的Trend Response（趋势响应）设置，这些设置自动取自实验色谱图并导入进行分析。

Select Responses

Channel:
PDA Ch1 244nm@4.8nm

Import Chromatogram Trace Data
 Import Prediction Chromatogram Data

Trend Responses

Add Delete Undo Changes Restore Defaults

		Operator	Value	Response	
1	<input checked="" type="checkbox"/>	No. of Peaks			
2	<input checked="" type="checkbox"/>	No. of Peaks >=	1.50	USPResolution	
3	<input checked="" type="checkbox"/>	No. of Peaks >=	2.00	USPResolution	
4	<input type="checkbox"/>	No. of Peaks <=	1.20	USPTailing	
5	<input checked="" type="checkbox"/>	Max Peak	3	USPTailing	
6	<input checked="" type="checkbox"/>	Max Peak	2	USPResolution	

Select All Select None I = Incomplete D = Duplicate

图6. Fusion QbD 屏幕图像，展示了配置为从化学筛选实验中自动导入的性能目标（目标响应）。

下一步是在Fusion QbD中“执行搜索”。在此步骤中，软件将使用测得的响应针对每个色谱结果进行模型计算。这些模型计算出的“累积期望结果”是一个从零到一的数值，表示色谱条件满足用户指定性能目标的概率。本研究发现，实现性能目标设定值的最佳条件组合是：BEH C₁₈色谱柱、乙腈溶剂、pH 4.2、梯度时间12 min。

Fusion QbD模型还提供了性能图，其中展示了可接受的性能区域(APR)，即BOA周围达到或超过预定筛选性能目标的无阴影区域。请注意，APR是在图上应用所有性能目标（空白区域）后，仍然保持无阴影的图形区域。该无阴影区域显示的设置组合达到或超过了所有所含性能目标的可接受范围。例如，如图7A所示，整个空间内无阴影，因为尚未应用任何性能目标（响应）。但是，在应用性能目标后，将看到更多阴影区域，直至应用了所有目标（图7B-7C）。

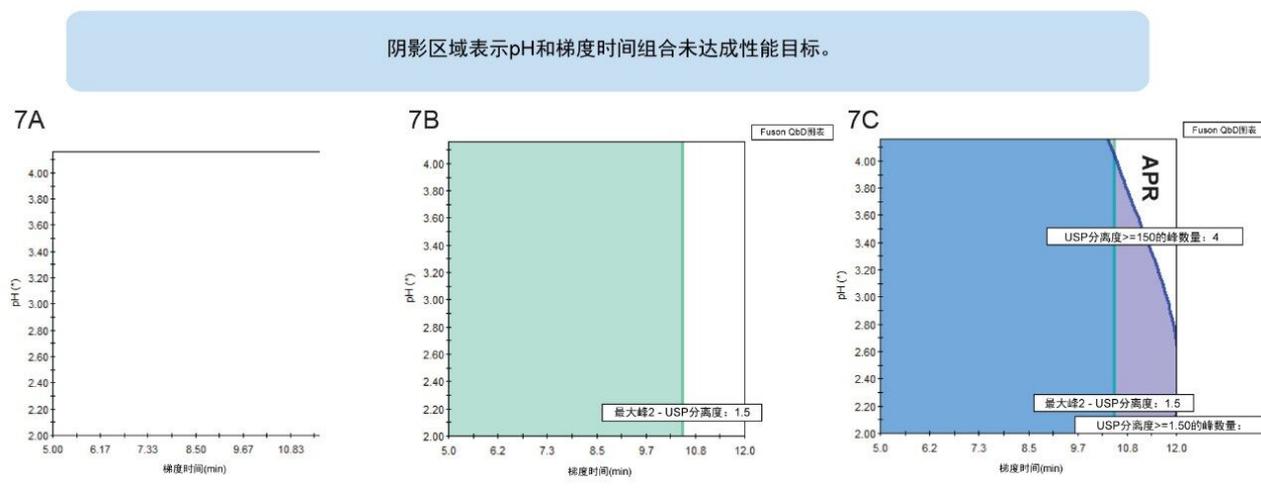


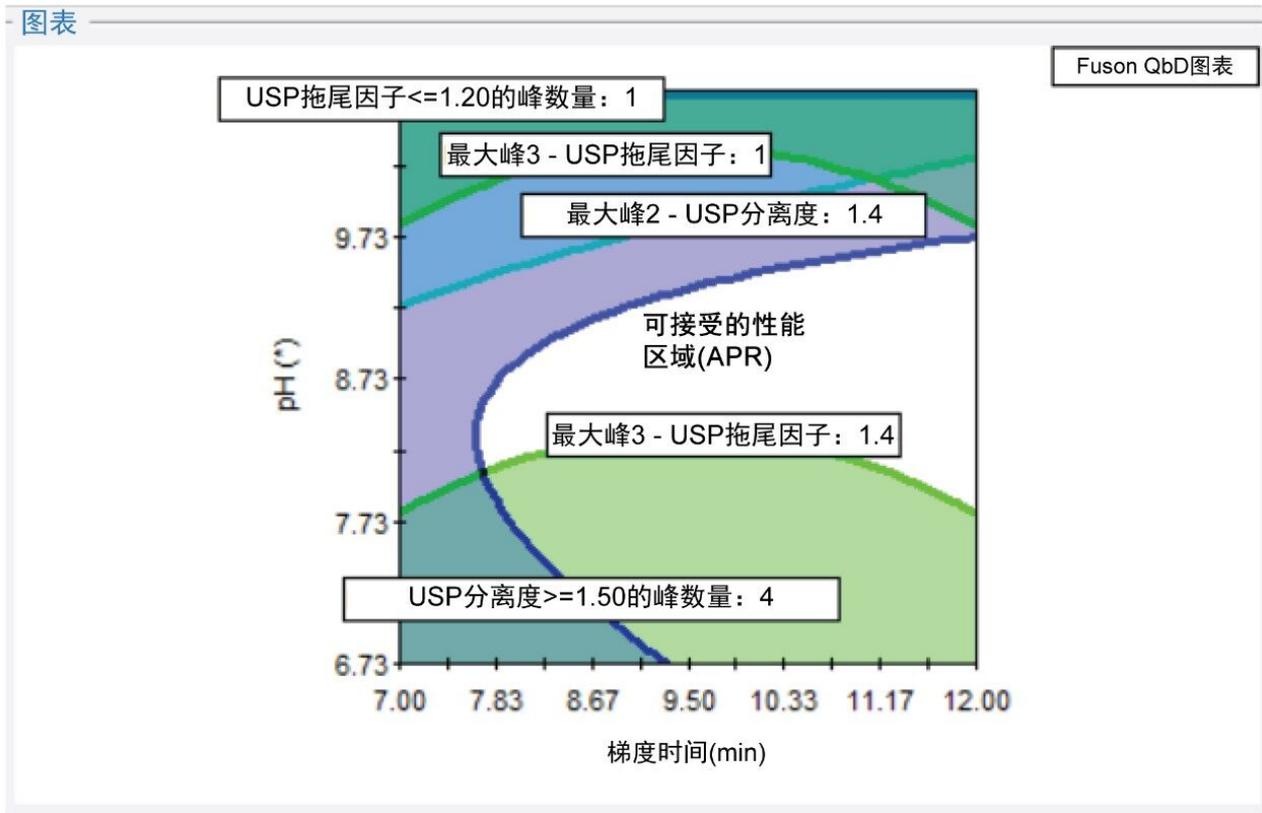
图7.Fusion QbD筛选设计图像，展示了筛选实验设计区域内可操作区域的创建过程。

第二次筛选（高pH）

我们的第一个化学筛选实验在分离某些目标分析物方面取得了一定的成功，但是，它并未达到所有期望的性能目标。例如，如前所述，某些分析物未得到基线分离，福莫特罗峰不对称，拖尾因子值介于1.44~2.88之间。因此，有必要实施第二次筛选实验，探讨在不同色谱条件下能否获得进一步改善。如前所述，pH是一种主要的色谱参数，对分离具有重要影响。因此，在不同pH条件下实施第二次筛选实验。这次实验使用了在先前的实验中发现的最佳色谱柱，并在高pH条件下进行筛选。本实验使用BEH C₁₈色谱柱，对6.7~10.7之间的pH值进行筛选。所有其它变量和常量均保持第一次筛选实验中所用的设置。本实验的结果表明，使用高pH流动相时，福莫特罗的峰形得到了显著改善。例如，在15次高pH筛选运行中，10次运行得到的福莫特罗峰的拖尾因子小于1.3。

接下来在Fusion QbD中对这些筛选运行的结果进行处理，找出BOA和APR。该搜索设定的主要性能目标包括

：至少四个峰得到基线分离且福莫特罗峰的目标拖尾因子为1.2。如图8所示，福莫特罗的拖尾因子随pH升高而减小。通过BOA搜索发现，使用BEH C₁₈色谱柱，pH 8.76和12 min运行时间是实施下一步优化实验的最佳条件。



响应设置

	Name	Goal	Lower Bound	Upper Bound	Pointer Predictions
<input checked="" type="checkbox"/>	No. of Peaks	Maximize ▼	6.0		7.016
<input checked="" type="checkbox"/>	No. of Peaks \geq 1.50 - USPResolution	Maximize ▼	4.0		4.83
<input checked="" type="checkbox"/>	Max Peak 3 - USPTailing	Target ▼	1.00	1.40	1.387
<input type="checkbox"/>	Max Peak 1 - USPResolution	---	---	---	---
<input checked="" type="checkbox"/>	Max Peak 2 - USPResolution	Maximize ▼	1.40		1.664
<input type="checkbox"/>	No. of Peaks \geq 2.00 - USPResolution	---	---	---	---
<input type="checkbox"/>	No. of Peaks \geq 1.20 - USPTailing	---	---	---	---
<input checked="" type="checkbox"/>	No. of Peaks \leq 1.20 - USPTailing	Maximize ▼	1.0		4.16

图8.Fusion QbD屏幕图像，展示了用于高pH筛选实验的实验区域内的可操作区域。

优化

液相色谱方法开发的优化通常通过微调某些不太重要的参数（例如，温度、梯度斜率、梯度时间和流速）来完成。本实验改变流速和温度。

本研究中包括两种流速，0.35和0.5 mL/min⁻¹，温度范围为30~50 °C。还研究了pH分别为8.0、8.5和9.0的三种缓冲液。由于已经表明BEH C₁₈固定相能够高效分离目标分析物，因此本优化实验将其选择为固定相。这里需要注意的是，使用10 cm BEH C₁₈ (2.1 mm × 1.7 μm)色谱柱代替筛选实验中所用的5 cm (2.1 mm × 1.7 μm)色谱柱。这样做是为了使所有分析物获得更出色的分离结果，因为色谱柱越长，其理论塔板数越高，进而使柱效更高。

使用Empower中的“方法转换器”工具将梯度时间从5 cm色谱柱转换至10 cm色谱柱。使用Fusion QbD软件再次创建实验设计，并使用该软件处理结果找出APR和BOA。结果表明，在各种实验条件下均可实现预期的性能目标。

例如，如图9所示，在各种温度(32.2~38.6 °C)和各种梯度时间(13~25 min)下，可以分离所有目标分析物（七个峰），获得的最小分离度为2.3，且拖尾因子小于1.2。图9中还展示了最终方法在设计空间中的位置 – 将目标方法点指定为“T”。

最终设计空间中的矩形展示了联合的“公认可接受范围(PAR)” – 设计空间的子集，其中可在批准后单独调整图形参数，而无需全面重新验证方法。这些发现表明，可以在APR空间中部创建一种能够实现所有所需性能目标的稳定方法。这里需要注意的是，从优化实验中获得的模型比筛选实验获得的模型更精确，因此现在可以将APR视为最终设计空间。分析结果确定了图9所示的设计空间，其中包含可以实现所需性能目标的各种实验因素。

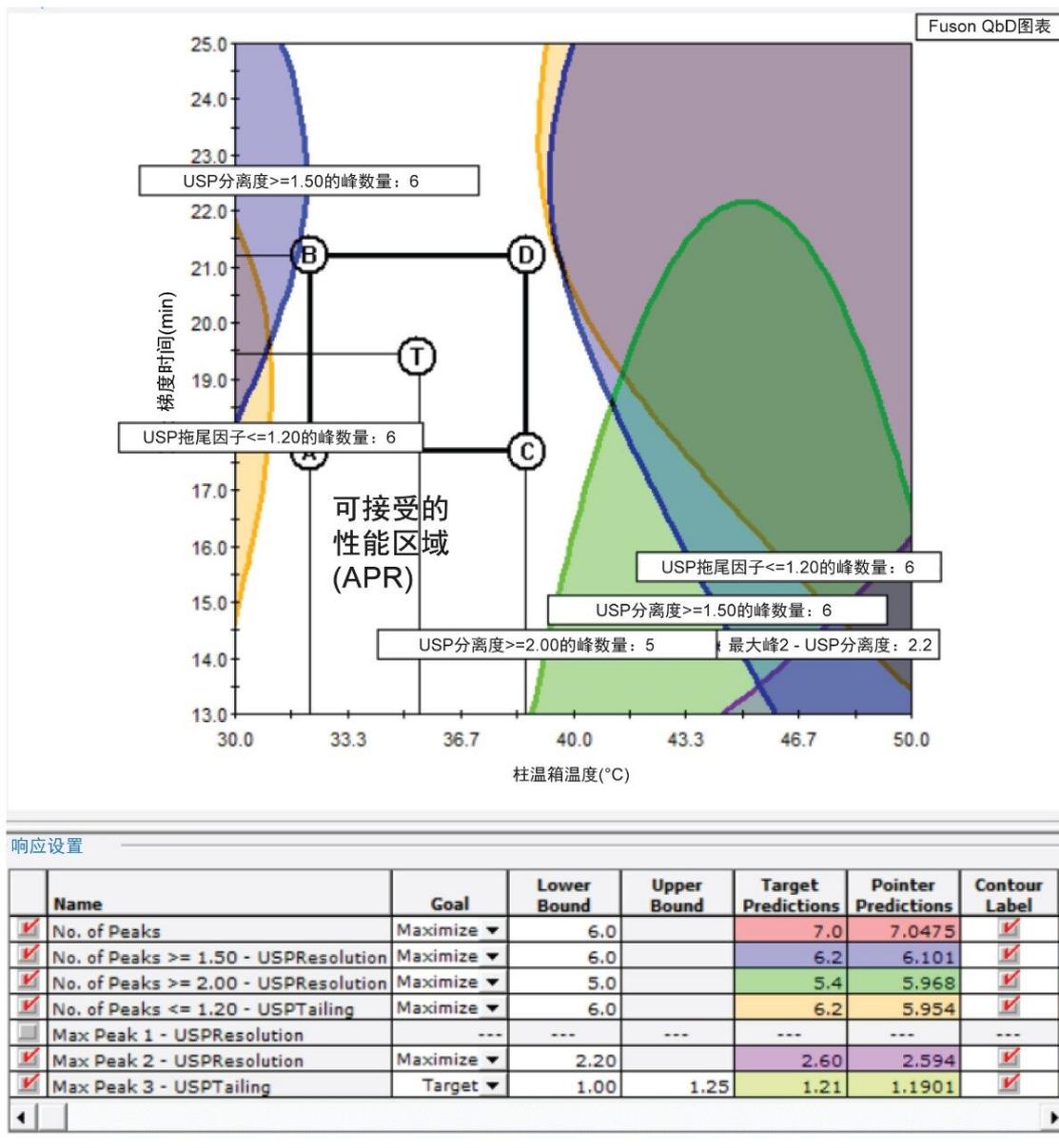


图9. Fusion QbD设计空间图以及根据优化实验获得的PAR。图下方的表格展示了此设计所实现的用户指定的性能目标。

验证

在本部分研究中，进行了多次验证分析，对Fusion QbD获得的结果与实际运行结果进行比较。结果表明，预测性能与实际性能相当吻合。例如，如图10所示，Fusion QbD预测在BOA条件下（如图中所详述）的峰数量为七个峰，而实际色谱图（图10）的结果也显示为七个峰。此外，Fusion QbD预测这七个峰中有六个峰的USP分离度将 ≥ 2 ，而实际色谱图也展示了相同的结果。最后，Fusion QbD软件预测所有七个峰的拖尾因子均等于或小于1.2，而实际色谱图显示七个峰中有六个峰的拖尾因子小于1.2。这里值得注意的是，Fusion QbD

软件还可以成功预测色谱图中特定峰的性能。例如，当执行五次不同的验证分析时，布地奈德差向异构体A的分离度预测值与实际值相差不到2%。



图10.在优化实验所获得的BOA条件下，四次重复进样得到的福莫特罗、布地奈德及其相关化合物的结果。这些条件为： $pH=8.2$ ，温度= $33^{\circ}C$ ，流速= $0.350\text{ mL}/\text{min}^{-1}$ 。梯度曲线为：在5%乙腈和95%氨水的起始条件下保持2 min，然后在25 min内，乙腈以线性梯度从5%增加至60%。

结论

在运行Empower 3和Fusion软件的ACQUITY UPLC H-Class PLUS系统上，使用“质量源于设计”理念开发出一种用于分析布地奈德、福莫特罗及相关化合物的可靠方法。

- 使用Fusion QbD作为液相色谱方法开发工具可能在以下方面具有优势：

自动完成整个方法开发过程

确定获得有效结果所需的最少实验次数，可节省时间

提供工具来量化并显示所有重要的仪器参数对所有方法性能特征的影响

- QbD方法开发软件与ACQUITY UPLC H-Class PLUS系统结合使用，可快速筛选各种色谱参数，例如色谱柱填料、流动相、温度和进样体积
- 在方法开发中使用ACQUITY QDa质谱检测器非常有利，因为它可以在不同色谱条件下快速、轻松地鉴定分析物。

参考文献

1. Dispas, A.; Avohou, H.T.; Lebrun, P.; Hubert, P.; Hubert, C. Quality by Design Approach for the Analysis of Impurities in Pharmaceutical Drug Products and Drug Substances. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2018, 101, 24-33.
2. Peraman, R.; Bhadraya, K.; Padmanabha Reddy, Y. Analytical Quality by Design: A Tool for Regulatory Flexibility and Robust Analytics. *Intl. J. Analy. Chem.* 2015, 2015, 1-9.
3. Shao, J.; Cao, W.; Qu, H.; Pan, J.; Gong, X. A Novel Quality by Design Approach for Developing an HPLC Method to Analyze Herbal Extracts: A Case Study of Sugar Content Analysis. *PloS One*. [Online] 2018, 13, e0198515.
4. Thakor, N.; Amrutkar, S. Implementing Quality by Design (QbD) in Chromatography. *Austin Journal of Analytical and Pharmaceutical Chemistry*. 2017, 4, 1-5.
5. Reid, G.L.; Morgado, J.; Barnett, K.; Harrington, B.; Wang, J.; Harwood, J. Fortin, D. Analytical Quality by Design (AQbD) in Pharmaceutical Development. *American Pharmaceutical Review*. [Online] 2013, 144191.
6. Argentine, M.; Barnett, K.; Chatfield, M.; Hewitt, E.; Jackson, P.; Karmarkar, S.; Marolewski, A.; Pless, A.M.; Rignall, A.; Semin, D.; Trone, M.D.; Wang, Q.; Williams, Z.; Zhao, Y. Evaluating Progress in Analytical Quality by Design. *Pharmaceutical Technology*. 2017, 41(4), 52-59.
7. Zetterström, O.; Buhl, R.; Mellem, H.; Perpina, M.; Hedman, J.; O'Neill, S.; Ekström, T. Improved Asthma Control with Budesonide/Formoterol in a Single Inhaler, Compared with Budesonide

Alone. *European Respiratory Journal*. 2001, 18, 262-268.

特色产品

Empower 3 色谱数据软件 <<https://www.waters.com/10190669>>

ACQUITY UPLC H-Class PLUS 系统 <<https://www.waters.com/10138533>>

ACQUITY UPLC PDA 检测器 <<https://www.waters.com/514225>>

ACQUITY QDa 质谱检测器 <<https://www.waters.com/134761404>>

可在线购买

ACQUITY UPLC BEH C18 色谱柱, 130Å, 1.7 μm, 2.1 mm × 100 mm, 1个/包 <
<https://www.waters.com/waters/partDetail.htm?partNumber=186002352>>

ACQUITY UPLC BEH Shield RP18 色谱柱, 130Å, 1.7 μm, 2.1 mm × 100 mm, 1个/包 <
<https://www.waters.com/waters/partDetail.htm?partNumber=186002854>>

CORTECS UPLC T3 色谱柱, 120Å, 1.6 μm, 2.1 mm × 100 mm, 1个/包 <
<https://www.waters.com/waters/partDetail.htm?partNumber=186008499>>

ACQUITY UPLC HSS PFP 色谱柱, 100Å, 1.8 μm, 2.1 mm × 100 mm, 1个/包 <
<https://www.waters.com/waters/partDetail.htm?partNumber=186005967>>

720006654ZH, 2019年8月