

聊聊“溶出度分析方法验证关键点”

原创 白云飘飘 药事纵横 2022-06-09 06:00 发表于北京

溶出度是评价口服固体制剂的一个关键指标，其测定方法涉及到溶出板块和分析板块，对于溶出度的分析方法验证与其他分析方法验证有相同之处，也有其特殊之处，今天老王和大家聊一聊“溶出度分析方法验证关键点”，或可供参考。

1.方法验证前准备工作？

1.1合适的人员、有效的培训（此项为所有验证前的通用的关键内容）

(1) 合适的人员：

认真、悟性好、执行力强、熟练的分析人员

最好熟悉方法验证流程及相关法规

(2) 有效的培训：

一定要对方案内容、验证中的注意事项进行培训

验证实施人员能够正确理解方案，才能正确执行方案

空白溶剂、供试品、空白辅料等

(1) 空白溶剂：每一个序列中使用到的空白溶剂尽量一次配制充足

(2) 空白辅料：建议使用和方法验证用的供试品同批辅料制备成的空白样品。

(3) 供试品：建议使用中试及以上规模的产品，因为处方、工艺可能与验证批的一致（最好选择一批合格且批内差异小的产品做分析方法验证）。

1.3对照品

保存条件是否合适？（是否需要低温保存，但实际保存在常温的情况）

使用前需要看对照品是否为定量用（有赋值），如为定性用，需要进行标定

如为定量用，还需要区分用途是否正确（用于HPLC还是UV或其他）

对照品的称量条件、称量环境的温度、相对湿度是否能满足要求

.....

1.4色谱柱、玻璃量器、仪器等

色谱柱：选择合适的色谱柱（填料、内径、规格等）

玻璃量器：要经过校准，且在校准有效期内

溶出仪、UV、HPLC等：经过校准/确认，且在有效期内

溶出度分析方法验证内容及要点概括

(1) 专属性：要排除辅料、胶囊壳对待测成分的干扰。

(2) 精密度：重复性，中间精密度（不同人员、不同设备、不同日期，注意并非不同时间）或重现性。

(3) 准确度：如果需要进行溶出曲线，则需要考虑到溶出第一个点及最高点的浓度。

(4) 线性和范围：至少5个浓度。

(5) 溶液稳定性：可以单独做，也可以放在方法验证耐用性项目中一起做。考察时间主要考虑包括多个样品检验时（如验证批多点检验）和发生异常/OOS 事件的调查时限。

(6) 过滤研究：不同厂家、不同规格、不同材质滤膜、初滤液弃去体积等。

(7) 耐用性：除了色谱系统耐用性，溶出度测定一定要考察不同溶出仪之间的差异（2016年CFDA关于一致性评价申报资料要求）。

3.各项目验证过程中的关键点

3.1专属性：

3.1.1排除空白溶剂对待测成分干扰，空白溶剂干扰不能超过1%（USP 1092）；

3.1.2排除空白辅料对待测成分干扰，空白辅料干扰不能超过2%（1 USP 1092），如超出可能需要对方法进行改进（如更改检测波长，减小空白吸收等）

3.1.3排除胶囊壳对待测成分的干扰。胶囊剂溶出度检查时，严格按照样品测定的步骤，取6粒空白胶囊壳进行试验，尽可能地完全除尽内容物（排除人为干扰），置同一容器中用该品种项下规定体积的溶出介质溶解空胶囊壳，并按照规定的方法测定，作必要的校正。

(1) 如果校正值不大于标示量的2%，可忽略不计；

(2) 如校正值低于标示量的25%，可进行校正；

(3) 如校正值大于标示量的25%，试验无效。

3.1.4实验过程中注意：

(1) 6粒对应1个溶出杯，而不是6个

(2) 一定要除尽内容物，避免人为原因干扰（最好是同批次空白胶囊）

(3) 胶囊处方改变或更换胶囊生产厂家时还需要再次做干扰试验

3.1.5 专属性中常见问题

(1) 人员忘记进行空胶囊干扰试验

(2) 人员在干扰试验时，将6粒空胶囊分别投入1个溶出杯中

3.2 精密度：

溶出度分析方法验证精密度中要选取质量特性较好的产品、批内差异小的，否则精密度结果容易受到批内差异影响

3.2.1 重复性：

(1) 方法及取样方法重复性：需要进行同一溶出杯中重复取样6次。

(2) 溶出方法重复性：6个杯中分别取样 $n = 6$ 均符合质量标准要求，或计算RSD（容易受批内差异影响）

(3) 如用自动取样仪器：还需进行手动取样与自动取样对比（相差2%以内）

3.2.2 中间精密度：同一实验室（分析员2，采用不同仪器、不同色谱柱、不同日期进行，操作同重复性）

3.2.3 重现性：不同实验室（分析员2，采用不同仪器、不同色谱柱、不同日期进行，操作同重复性）

3.2.4 精密度可接受标准：

(1) 分别计算重复性和中间精密度结果的RSD

(2) 一定计算12份结果的RSD

(3) 分析员1与分析员2的溶出度平均值的差值。

3.3 准确度：

(1) 溶出度因其涉及到溶出方法及检测方法，准确度不适用于溶出步骤（ICH Q2 (R2) 仅能通过模拟试验考察检测方法的准确度。通常模拟产品的处方，制备3个浓度，每个浓度平行制备3份的方式进行。建议：低限需要考虑溶出曲线的最低点或可从定量限做起，高限通常至标示量的120%或130%即可。

(2) USP (1092) 中建议回收率95-105%

(3) 应记录活性成分加入量、活性成分测得量、回收率 (%)计算值、回收率 (%)的相对标准偏差RSD%)

3.4线性和范围:

- (1) 浓度范围: 低于药物释放过程中的最低点浓度至高于药物释放过程中最高点的浓度
- (2) 报告相关系数 r (≥ 0.999)
- (3) 至少5个浓度, 分布尽量均匀

3.5溶液稳定性:

溶出度分析方法验证中, 供试品溶液的稳定性考察时间主要考虑日常检测中的最长序列、发生OOS时溶液需要保留至调查结束的时间, 同时结合每针运行的时间计算考察时间。

如果计划贮备对照品溶液, 通常放置在2-8°C保存, 使用前取出放置到室温 (一般约30min), 在每个时间点配制新鲜的对照溶液 (平行制备2份) 进行对比, 计算每个时间的变化 (通常可接受标准通常98-102%)

3.6过滤考察

溶出度测定中, 溶出液通常经过滤膜滤过以得到澄清的溶液 (中国药典规定滤膜孔径不大于 $0.8\mu\text{m}$, 并使用惰性材料制成的滤器, 以免吸附活性成分或干扰分析测定)。过滤时可能发生吸附, 故可通过过滤考察选择合适的滤膜和弃去初滤液的体积, 通常要求滤膜不能明显吸附溶出液中的有效成分; 也不能被溶出介质溶出一些干扰测定的物质。老王在《如何针对产品和检验项目选择合适的滤膜?》详细聊过溶出度测定中的过滤考察, 不再赘述。

3.7耐用性

耐用性考察主要为**减少日常检测中的偏差**, 也为**出现偏差时解决问题提供指导**, 通常在方法开发阶段进行 (ICH Q14)。分析方法除用于产品的过程控制、放行检测、稳定性检测之外, 还要接受重重考验。上市前: 药检所的复核检验 (对于方法和产品质量的复核); 上市后: 全国各地药检所的抽检、国家评价性抽检、公司内的不同实验室等等。所以进行方法耐用性考察中要考虑**相关的偏差**因素。溶出度分析方法耐用性考察包含了两个板块的内容:

3.7.1溶出板块:

- (1) 溶出介质浓度 ($\pm 5\%$)
- (2) 溶出介质PH (± 0.05)
- (3) 缓冲剂或表面活性剂浓度
- (4) 沉降篮的使用

- (5) 溶出介质中如有表面活性剂，还需考察其浓度 ($\pm 5\%$)
- (6) 脱气与不脱气的影响
- (7) 溶出介质体积、搅拌速率、采样时间等
- (8) 如为溶出度或溶出曲线，一定要考察不同型号或不同品牌溶出仪对于溶出结果的影响（不同型号的溶出仪可能会影响溶出结果）

3.7.2 分析方法板块（要考虑到仪器误差）：

如紫外方法的采样间隔、狭缝宽度等；

如为HPLC法、考虑因素如下（可视方法实际参数增减耐用性考察参数）：

- (1) 流速 $\pm 0.2\text{ml/min}$
- (2) 柱温 $\pm 3^\circ\text{C}$
- (3) 流动相比例、PH
- (4) 不同品牌色谱柱（方法研究时选择色谱柱除了考虑适用性之外，一定要考虑便于购买、可长久供货、性价比高，最好不同厂家。如无特殊，最好不同厂家都进行筛选，方便未来的采购和选择。
- (5) 必要的波长变动 $\pm 2\text{nm}$ 等（根据项不同检验项目评估进行，不进行考察需要说明合理理由，如，采用对照品外标法的可以不进行波长耐用性考察）。

3.7.3 耐用性结果评价及应用

- (1) 参数变动后系统适用性是否符合要求
- (2) 参数变动后对于溶出度检测结果是否有影响（这个很关键，有一部分人耐用性中仅考察了系统适用性是否符合要求，忽略了耐用性中参数变动对测定结果的影响）
- (3) 如果发现分析条件对测定结果影响很大，必须在方法中予以说明（增加提示）
- (4) 耐用性考察结果一定要详细加入SOP中，用于指导日常检测

结语：以上为老王总结的溶出度分析方法验证中的关键点提示，可能还需要结合自己产品的特性，增加需要特殊考察或考虑的内容。

参考文献：

USP (1092) 溶出度试验开发与验证

ICH Q2 (R2) 分析方法验证 (草案)

ICH Q14 分析方法开发 (草案)

END

药事纵横投稿须知：稿费已上调，欢迎投稿



推广合作/整合营销联系：

张经理15057280775 (微信同号)
周经理15858667450 (微信同号)

药事纵横
技术分享，信息传递

药融圈
全球前沿即时医药资讯
医药大数据平台




喜欢此内容的人还喜欢

文 | 失去的，没关系

梦里启航

要弄明白对你来讲，活在这世上真正重要的是什么？

职事

提升认知水平的方法之三：打造“精致思维”

职事