

固有溶出测试法：快速评估工艺参数对药物溶出的影响

偶阵雨 药事纵横 前天

导读

药事纵横公众号在2017年3月15日发表了Herman的“API固有溶出怎么测，看USP怎么说？”一文，作者介绍了USP1087固有溶出——旋转浆碟法和固定浆碟法测试程序。而采用固有溶出测试方法（Intrinsic dissolution testing）来进行工艺参数的研究案例较少报道。

工艺参数对药物释放的影响往往通过最终制剂的溶出测试来评估，这是一项繁琐的工作，需要资源和时间，尤其是在未达到理想结果的时候。为了加快处方开发并降低成本和实验工作量，非常需要用于估计工艺参数对溶出影响的方法。

本文结合案例（阿替洛尔），应用固有溶出度测试来评估工艺参数对药物溶出的影响，为研究人员提供借鉴思路。

Intrinsic dissolution testing: A tool for determining the effect of processing on dissolution behavior of the drug

Amjad Khan^{1,*}, Zafar Iqbal², Ismail Khan², Abad Khan³, Lateef Ahmad³, Muhammad Akhlaq Mughal⁴, Aman Ullah², Maria Kakar¹

¹Department of Pharmacy, Abasyn University, Peshawar, Pakistan

²Department of Pharmacy, University of Peshawar, Peshawar, Pakistan

³Department of Pharmacy, University of Swabi, Swabi, Pakistan

⁴Department of Pharmacy, Abasyn University, Islamabad, Pakistan

e-mail: amjad@abacil.com
药事纵横

1、研究背景介绍

固有溶出速率（intrinsic dissolution rate，简称IDR）是在表面积，温度，搅拌，介质pH和离子强度保持恒定的情况下活性药物成分（API）的溶出度。

API通过不同的工艺生产，会导致可变的特征，如粒度，水合度和结晶形式。固有溶出度测试可以获得关于API化学纯度和等效性的数据，在新药开发过程中，这是一个关键的参数，因为这个测试可以用很少的量来执行，并且可以预测潜在的溶解问题。

IDR可以通过使用特定的装置来获得，其中压缩的药物以恒定表面积暴露于溶出介质中，其值以mg/cm²min表示。USP提供了两种确定IDR的方法：

- **旋转盘法：在此方法中，粉末压片在溶出介质中按照指定的速率旋转制备。**
- **固定盘法：在此方法中，盘在溶出介质中保持静止，桨叶以特定速度旋转来实现搅拌。**

这两种方法保持恒定的表面积。从盘中释放称为扩散控制过程，因此由改变旋转速度引起的流体动力学的任何变化将影响扩散层的厚度并因此影响溶出度。固有溶出度测试的一些问题是：

- **通过压缩制备盘片可能会导致固体结构发生变化，从而影响溶出行为。**
- **恒定表面积的假设仅在测定开始时有效。**
- **当盘片破碎或腐蚀时，表面积不能保持不变，因此盘片应适当压实以防止其腐蚀和崩解。此外，在溶出介质中观察到侵蚀颗粒时应停止测试。**
- **悬浮物溶出度的测量通常不包括对表面积固有变化的评估或测量。**

因为需要少量材料，因此可以采用固有溶出测试作为测定溶出度的替代方法。最近的研究已经证明了它在生物药剂学分类系统（BCS）领域的可用性，因为不是平衡，固有溶出测试确定了速率，并且预期有更好的相关性。在传统的溶解度试验中，一定量的药物在恒定的搅拌和温度下保持直至溶液饱和，由于可能发生再结晶，任何材料实际溶解度的测定都可能会受到影响，导致结晶形式和水合物或溶剂化物形成的改变。

阿替洛尔是一种β-肾上腺素阻滞剂，片剂有三种规格（25,50和100mg）。它是一种BCS III类药物，具有良好的水溶性和较差的渗透性。阿替洛尔是一种流动性和可压缩性差的白色结晶粉末。阿替洛尔片通过使用聚合物粘合剂的湿法制粒技术制备。

在本研究中，为阿替洛尔开发了固有溶出测试方法，并根据USP和ICH指南进行方法验证。所开发的方法被用于测定阿替洛尔固有溶出度并确定工艺对其溶出行为的影响。

2、溶出度测试方法的开发与验证

使用USP推荐的用于阿替洛尔片剂溶出测试的溶出介质开发旋转圆盘法来测试IDR。使用液压机将粉末压制成不分散的压块并进行溶出测试。

盘的压实压力和转速是影响API的IDR的两个主要参数。两个参数对阿替洛尔IDR的影响在三个水平上进行研究：

- **较低的压实压力（1000 psi）和转速（50rpm）**
- **中等水平的压实压力（2000 psi）和转速（100 rpm）**

■ 高水平的压实压力 (3000 psi) 和转速 (150 rpm)

选择最佳实验条件的标准是致密物的强度和溶出度。

根据USP和ICH指南，溶出方法对线性，专属性，准确度，精密度和稳定性等各种参数进行了验证。

(1) 线性

方法的线性在50-250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内由7个不同浓度点构建的校准曲线评估。校准曲线通过绘制溶液的浓度对峰面积来构建;斜率、截距由最小二乘法的回归分析，确定相关系数和相对标准偏差。

(2) 专属性

通过检查溶出介质对峰特性（面积，高度，保留时间和拖尾因子）的影响来评估溶出度方法的专属性。在没有药物（空白）和已知量的药物的情况下评估溶出介质，并比较结果。

(3) 准确度

使用三个浓度水平（80%，100%和120%）计算的回收率用于确定开发的溶出度方法的准确度。使用以下等式计算回收率：

$$\text{Percent recovery} = \frac{A}{B} \times 100 \text{ ----- Eq-1}$$

where

A = Peak area of the test solution

B = Peak area of standard solution



(4) 精密度

该方法的精密度是根据重复性和中间精密度来确定的。为了可重复性，在相同条件下在六个溶出测试仪器中进行溶出测试。中间精密度是在日内和日间研究的基础上进行评估的。通过每天重复溶解

试验三次（间隔8小时）进行日内研究，同时通过每天重复溶出测试（每24小时后）连续3天进行日间研究条件。比较结果的变异性。所有分析一式三份进行，结果以平均值 \pm SD表示；%RSD。

3、阿替洛尔溶液的稳定性

在三个条件（低温，2-8°C；环境温度，24 \pm 3°C；和高温，40 \pm 3°C）下测定溶液的稳定性7天。每天分析样品的药物含量并计算回收率。在每个采样点，分析一式三份。结果以平均值 \pm 标准差表示。

4、固有溶出速率的测定

阿替洛尔的固有溶出根据所开发的方法测定。通过使用液压机在高压（2000psi）下用平面圆形冲头压实样品（600mg）来制备12mm直径的非崩解致密块。为了尽量减少实验误差的影响，在整个研究过程中，与致密制备有关的工艺变量（压实，压实和喷射速度）保持不变。在每个压实过程之前，使用硬脂酸镁润滑冲头。

通过在0.1N醋酸盐缓冲液pH4.6（900mL）中以100rpm旋转圆盘方法进行固有溶出测试，在37 \pm 2°C下测定60分钟。在开始测试之前，将溶出介质脱气并平衡至37 \pm 2°C。将盘与支架一起浸入溶出介质中并以100rpm旋转。以指定的时间间隔（0、5、10、15、30、45和60分钟）取出等分试样（3mL），并分析一式三份释放的药物量（n = 3）。取样后，溶出介质的体积在相同的温度下保持相同的体积。构建药物释放量与时间的关系曲线，并从曲线确定IDR。通过回归分析检查曲线的线性。

5、API和赋形剂制粒

在制药生产中，湿法制粒是改善材料流动性和可压缩性的最有效和最常用的方法，特别是当大剂量的特性较差的原料药要加工时。阿替洛尔和赋形剂的加工通过标准的湿法制粒进行，包括以下步骤：

- 干粉的混匀
- 湿法制粒
- 湿颗粒的干燥
- 干燥颗粒的整粒

使用聚乙烯吡咯烷酮（PVP K-30）的水溶液作为粘合剂，阿替洛尔与其他赋形剂（按照表1）粒化。精确称量所有成分，然后通过孔径为600 μ m的网筛过筛，并装载到实验室规模的混合造粒机的混合盘中。阿替洛尔与赋形剂高速混合，叶轮低速混合。粘合剂溶液通过料斗以规定的速率加入，并且用低速进行湿团块并高速剪切3分钟。

Table 1. Composition of Atenolol Granules

Ingredients	Quantity (%w/w)
Atenolol	50.00
Micro crystalline cellulose	20.00
Lactose*	23.0/18.0/13.0
Primogel	2.00
Polyvinyl pyrolidone (PVP k-30)*	5.0/10.0/15.0
Purified water	Quantity Sufficient

**PVP was used in three different concentrations and corrections were made in quantity of lactose, accordingly.*

 药事纵横

湿颗粒在叶轮和切碎机两者的高速下造粒规定的时间（表2）。将湿颗粒收集在流化床干燥器中并使用流化床干燥器干燥、整粒。将干燥的颗粒收集在密闭容器中备用。

Table 2. Experimental Conditions for Processing of Atenolol Granules, Prepared by Wet Granulation Technique

Trial No.	Granulation Time (s)	Binder Concentration*
Trial 1	60	15% w/w
Trial 2	60	10% w/w
Trial 3	60	5% w/w
Trial 4	45	15% w/w
Trial 5	45	10% w/w
Trial 6	45	5% w/w
Trial 7	30	15% w/w
Trial 8	30	10% w/w
Trial 9	30	5% w/w

** Binder concentration is given as a percentage of the total weight of the granules.*

 药事纵横

混合造粒机的操作参数（叶轮和切碎机的速度）保持不变，造粒时间和粘合剂浓度作为过程变量，在表2中定义的三个水平（高，中和低）将阿替洛尔从颗粒中释放的速率作为反应变量。

6、颗粒的溶出测试

在溶出度研究中，在指定的时间间隔收集样品，并使用HPLC分析药物释放量。每个样品一式三份分析，取平均值（ $n = 3$ ）。

7、结果分析与讨论

（1）最佳实验条件的确定

盘的压实压力和旋转速度是影响API的IDR的两个主要参数。阿替洛尔在不同压实压力和转速下的IDR差异不显著（小于10%）。由于阿替洛尔在溶出介质中的溶解度较好，实验变量的影响不明显，即以较低速度旋转的较硬盘与以较高速度旋转的弱密集盘的溶出度几乎相同。

然而，如图1所示，在较低的压实压力下圆盘破碎（在48分钟内），试验必须停止。而且，在较低的压实度下，颗粒没有紧密堆积并且有可能从圆盘侵蚀颗粒表面。磁盘表面的颗粒侵蚀通过在不同点计算的IDR值和个别值之间的较高SD值的变化得到证实。

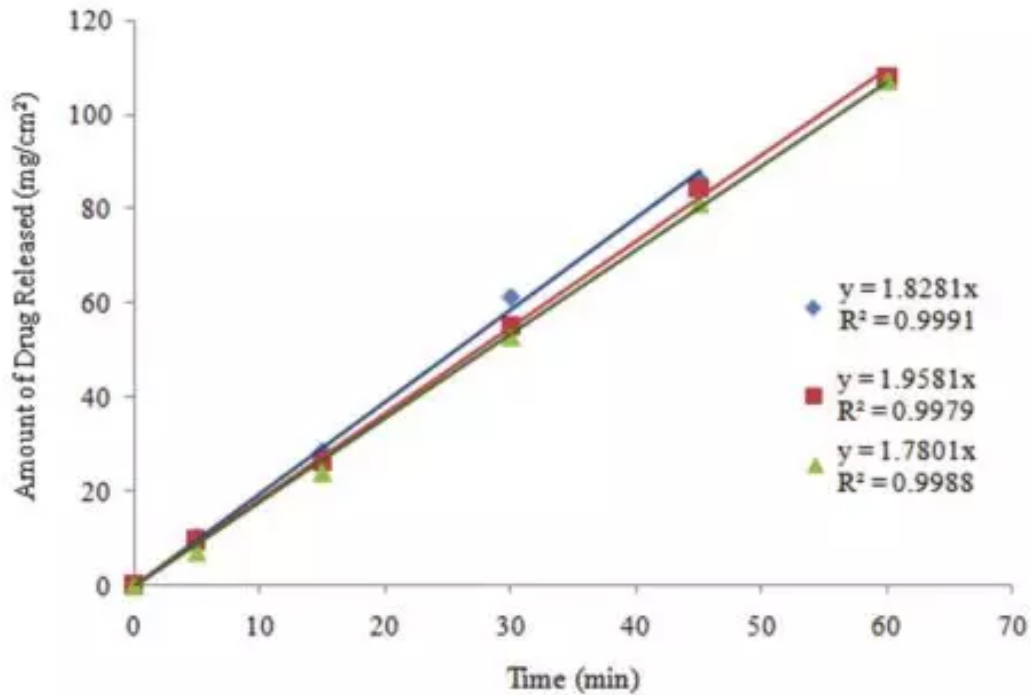
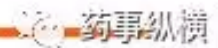


Figure 1. Intrinsic dissolution rate of atenolol, determined in 0.1 N acetate buffer (900 mL) at different experimental conditions; A) 1000 psi compression pressure and 50 rpm rotation speed; B) 2000 psi compression pressure and 100 rpm rotation speed; C) 3000 psi compression pressure and 150 rpm rotation speed.



通过增加压实压力，防止了盘的表面腐蚀和崩解，但是API的结晶结构可能改变，这可能会对结果产生不利影响。

因此，压实压力应该足以防止盘的崩解和表面侵蚀，并且不应该影响API的结晶结构。

基于最佳盘强度（在60分钟内不崩解）和溶出度，选择2000psi的压制压力和100rpm的转速作为实验条件。

（2）阿替洛尔的固有溶出度

IDR是当诸如表面积，温度，搅拌或搅拌速度，pH值和溶出介质的离子强度等条件保持恒定时API的溶出度。阿替洛尔>IDR根据开发的方法使用旋转盘测定。如图1所示，阿替洛尔>IDR相当好（ $1.84 \pm 0.13 \text{ mg/cm}^2 \text{ min}$ ），它在溶出介质中具有更好的溶解性。

IDR被用作与在相同条件下测定的阿替洛尔颗粒的溶出度的比较标准。

（3）颗粒的溶出测试

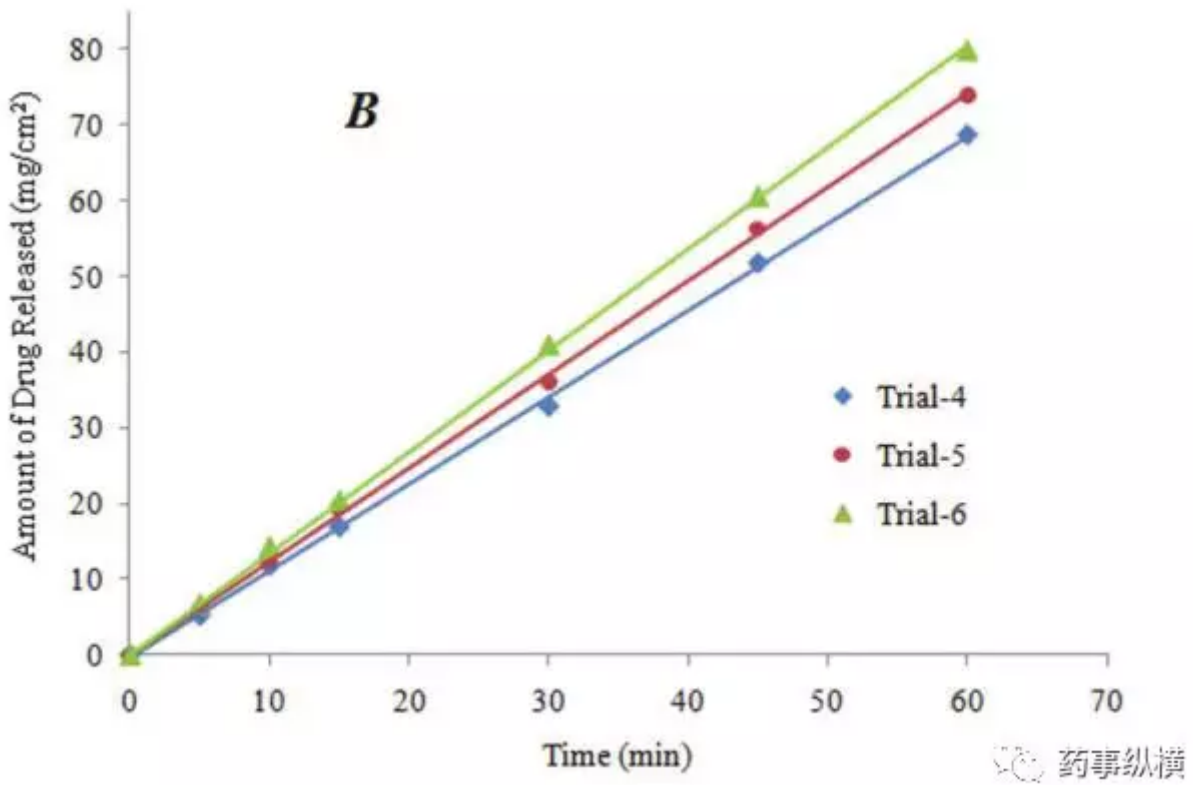
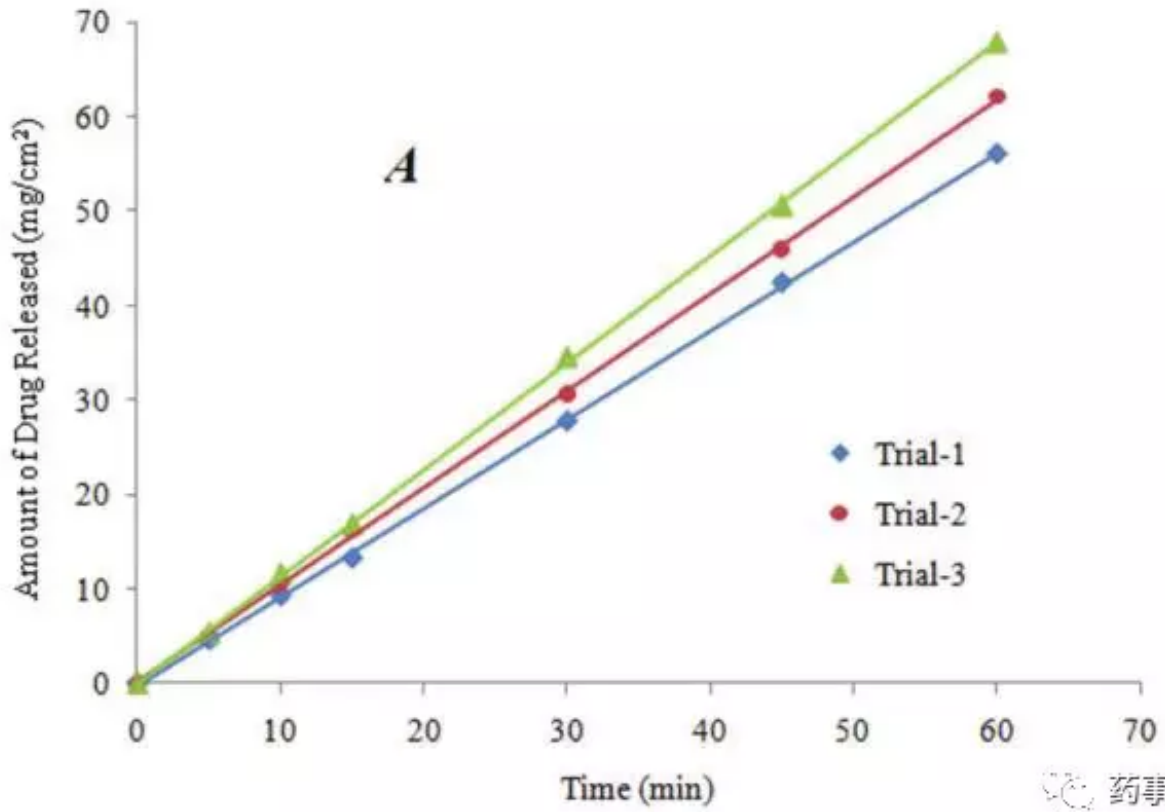
在相同的实验条件下，通过用于确定IDR的方法研究阿替洛尔从颗粒中的溶出度。将颗粒样品（600mg）在2000psi压力下压实并在0.1N乙酸盐缓冲液pH4.6（900mL）中以100rpm进行溶出测试。

阿替洛尔颗粒通过湿法制粒技术制备，以粘合剂浓度和造粒时间作为工艺变量。过程变量的各种组合在相同的实验条件下导致不同的溶出度。两个过程变量的增加都增加了颗粒的硬度。

粘合剂浓度的影响比造粒时间更显著，并且溶出度以浓度依赖的方式降低。在造粒过程中，PVP在颗粒之间形成牢固的结合，强烈地保持颗粒，并增加颗粒的硬度。此外，PVP是一种亲水性聚合物，与水接触后膨胀，形成凝胶层以控制药物释放。当浓度较高时，会形成一层厚厚的凝胶层，阻碍药物的释放。本研究中，PVP被用作三种不同浓度（5%，10%和15%，w/w）的粘合剂。较高浓度的粘合剂导致具有较高的较硬颗粒，具有较大的膨胀时间和较低的溶出度。

较高的粘合剂浓度也导致较硬的致密物。测定了颗粒的内聚指数（压块的压碎强度，在最大压力下压缩而没有压盖和层压），发现粘合剂浓度的增加导致更高的内聚指数，表明较高的内在强度颗粒。通过增加造粒时间，颗粒的硬度增加，使得溶出介质难以穿透和溶解药物。在恒定的聚合物浓度下，造粒时间的减少增加了溶出度，反之亦然。

粘合剂浓度的降低导致较高的溶出度。试验9观察到最高的溶出度（1.50mg/cm²min），其具有最低的粘合剂浓度（5%w/w）和最小的造粒时间（30秒）。类似地，如图3所示，试验1显示了最低的溶出度（0.94mg/cm²min），其具有最高的粘合剂浓度（15%w/w）和最大的造粒时间（60秒）。与如图4所示，阿替洛尔的内聚指数显著降低，最低溶出度（试验1）为IDR的51.09%，而最高溶出度（试验9）为81.52%。



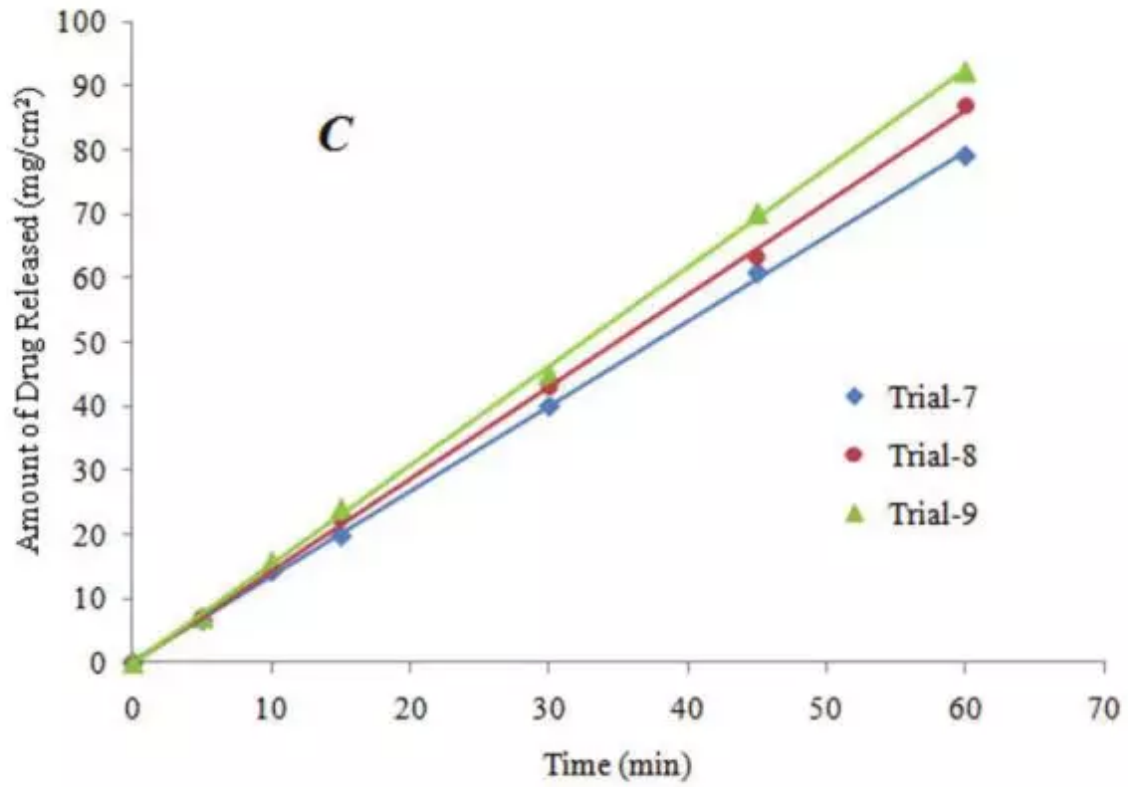
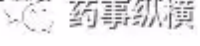


Figure 3. Dissolution rate of atenolol from granules processed under varying experimental conditions. 

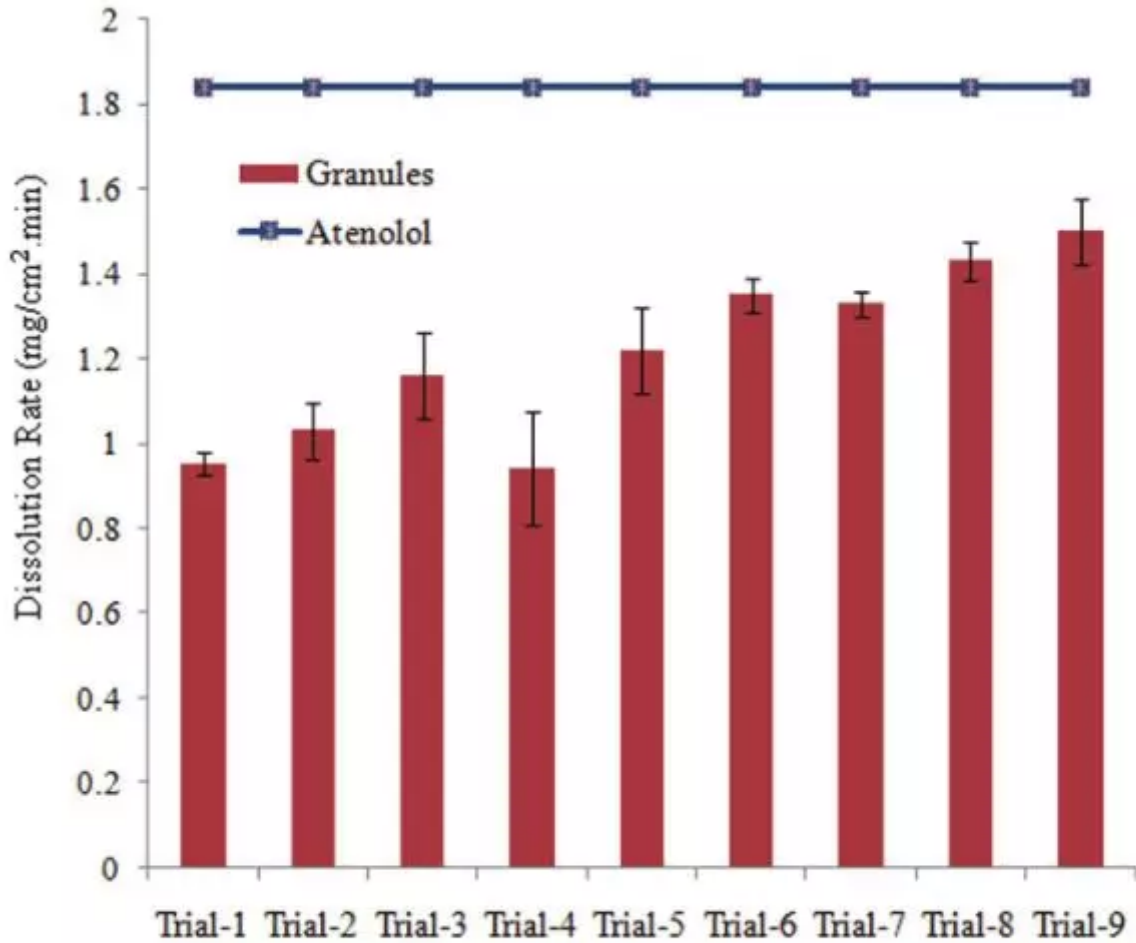


Figure 4. Comparison of intrinsic dissolution rate and dissolution rate of atenolol from processed granules.

8、结论

固有溶出度测试可以用于测定API和工艺加工过的API的溶出度并研究工艺参数的影响。通过正确开发和验证溶出度测试方法，可以在预压水平上评估工艺参数对溶出度的影响，缩短产品开发时间，降低成本和实验，值得借鉴。

相关阅读：[API固有溶出怎么测，看USP怎么说？](#)

【声明】：本文由药事纵横翻译团队偶阵雨翻译，转载本文务请注明来源和作者，否则一律认定为侵权。