

# 使用 Agilent NanoDis 系统对速释纳米颗粒制剂进行溶出测试

## 作者

Emre Türeli  
MyBiotech,  
德国于伯黑恩

Karen Krauel-Göllner  
安捷伦科技有限公司

## 摘要

现代药物开发所面临的主要挑战之一是许多候选药物的水溶性差。纳米颗粒制剂是提高低水溶性药物生物利用度的一种极具吸引力的解决方案。溶出度研究可在体外条件下表征预期的体内生物利用度。因此，在纳米颗粒开发过程中需要一个有效的溶出方法，以便选择预期具有更高生物利用度的先导化合物剂型。已溶出和未溶出药物的分离是影响所有溶出度研究最重要的因素之一。本研究使用 Agilent NanoDis 系统分析了布洛芬纳米颗粒的溶出曲线。

## 前言

现代药物开发所面临的主要挑战之一是许多候选药物的水溶性差。纳米颗粒制剂是提高低水溶性药物生物利用度的一种极具吸引力的解决方案<sup>[1]</sup>。溶出度研究可在体外条件下表征预期的体内生物利用度。因此，在纳米颗粒开发过程中需要一个有效的溶出方法，以便选择预期具有更高生物利用度的先导化合物剂型。在后期的产品质量控制阶段，有效的溶出方法也同样重要。因此，已溶出和未溶出药物的分离是影响所有溶出度研究最重要的因素之一。

研究表明，释放介质的组成（如 pH 值和盐浓度）会影响溶出曲线，因此正确选择释放介质非常重要<sup>[2]</sup>。选好释放介质后，还需要确定药物在释放介质中的溶解度，确保药物能达到可靠溶出研究所需的漏槽条件。药物在溶媒中的溶解度至少高于溶出杯中药物浓度的三倍时，即达到漏槽条件。没有在漏槽条件下进行的研究可能会低估释放动力学，从而掩盖制剂在体内条件下的爆发性释放。不过，如果因载药的释放动力学过快而无法在漏槽条件下区分不同制剂，则可以采用非漏槽条件进行研究。因此，非漏槽条件释放在制剂的常规质量控制中非常有用，甚至在体内性能受到影响之前就可以检测到产品的质量变化。

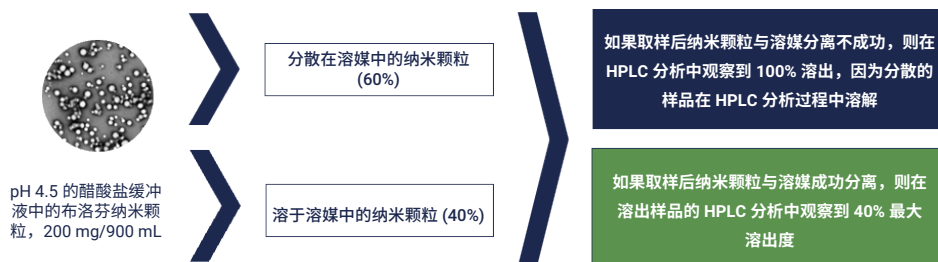


图 1. 布洛芬纳米颗粒与溶于 pH 4.5 醋酸盐缓冲液的布洛芬之间的差异

本研究在 pH 4.5 的条件下分析了布洛芬纳米颗粒的溶出曲线，布洛芬在该条件下溶解度受到限制。使用 pH 4.5 的缓冲液测试纳米颗粒与溶解 API 的分离情况。pH 值为 4.5 时，溶出杯中总 API 浓度仅 40% 溶出，剩余的 60% 仍以纳米颗粒的形式存在。这揭示了在样品前处理过程中使用标准针头过滤器和 Agilent NanoDis 系统中的切向流过滤器进行过滤的差异。有关 NanoDis 系统整体功能的更多信息，请参阅参考文献 3。

## 实验部分

### 用于定量分析溶出样品的 HPLC 方法

使用 HPLC-UV 方法对样品进行定量分析。

表 1. HPLC-UV 方法参数

参数	值																					
色谱柱	Merck Hibar 125-4 Purosher Star RP-18 封端 5.0 $\mu\text{m}$ 长 125 mm $\times$ 内径 4.0 mm																					
流动相	A) $\text{H}_3\text{PO}_4$ 水溶液, pH 2.5 B) 乙腈																					
流速	1.0 mL/min																					
梯度	<table border="1"><thead><tr><th>时间 (min)</th><th>A (%)</th><th>B (%)</th></tr></thead><tbody><tr><td>0.00</td><td>95</td><td>5</td></tr><tr><td>1.00</td><td>95</td><td>5</td></tr><tr><td>5.00</td><td>20</td><td>80</td></tr><tr><td>8.00</td><td>20</td><td>80</td></tr><tr><td>8.10</td><td>95</td><td>5</td></tr><tr><td>12.00</td><td>95</td><td>5</td></tr></tbody></table>	时间 (min)	A (%)	B (%)	0.00	95	5	1.00	95	5	5.00	20	80	8.00	20	80	8.10	95	5	12.00	95	5
时间 (min)	A (%)	B (%)																				
0.00	95	5																				
1.00	95	5																				
5.00	20	80																				
8.00	20	80																				
8.10	95	5																				
12.00	95	5																				
运行时间	12 分钟																					
温度	柱温箱: 30 $^{\circ}\text{C}$ 自动进样器: 25 $^{\circ}\text{C}$																					
进样量	5 $\mu\text{L}$																					
紫外检测波长	221 nm																					

使用 Malvern ZS90 Zetasizer 纳米粒径电位分析仪进行粒径测量。在测量粒径之前，用蒸馏水以 1:20 的比例稀释纳米颗粒。

## 溶出方法

溶出实验使用了配备 NanoDis 模块的 Agilent 708-DS 溶出度仪，以及 Agilent 850-DS 取样工作站。

表 2. 溶出实验参数

参数	值
溶出度仪	USP II
体积	900 mL
转速	50 rpm
采样时间	5、10、15、20、30、45、60 和 90 分钟
缓冲液	醋酸盐缓冲液 pH 4.5

在预定的时间点取出样品，或由 NanoDis 模块通过 300 kDa mPES 膜进行过滤。然后由取样工作站 (850-DS) 收集样品，或使用 0.02、0.2 或 0.45  $\mu\text{m}$  PES 针头过滤器进行手动过滤。整个工作流程由溶出工作站软件控制。

表 3. NanoDis 模块参数

操作	设置
<b>测试前</b>	
蠕动泵运转持续时间	240 s
注射器吹扫体积	4 mL
蠕动泵空气吹扫持续时间	60 s
<b>时间点前过滤器平衡</b>	
蠕动泵运转持续时间	60 s
注射器吹扫体积	2 mL
<b>时间点取样属性</b>	
样品量	5 mL
过滤器外筒冲洗体积	1 mL
蠕动泵取样持续时间	45 s
蠕动泵注射器重叠	0 s

## 结果与讨论

### 布洛芬纳米颗粒的粒径表征

制备 3 种不同的布洛芬纳米颗粒制剂，粒径分别为 112、187 和 301 nm，多分散度指数 (PDI) 分别为 0.19、0.22 和 0.26 (图 2)。

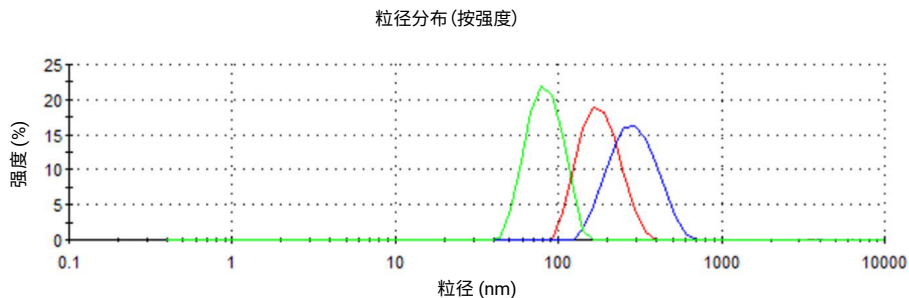


图 2. 布洛芬颗粒的粒径分布

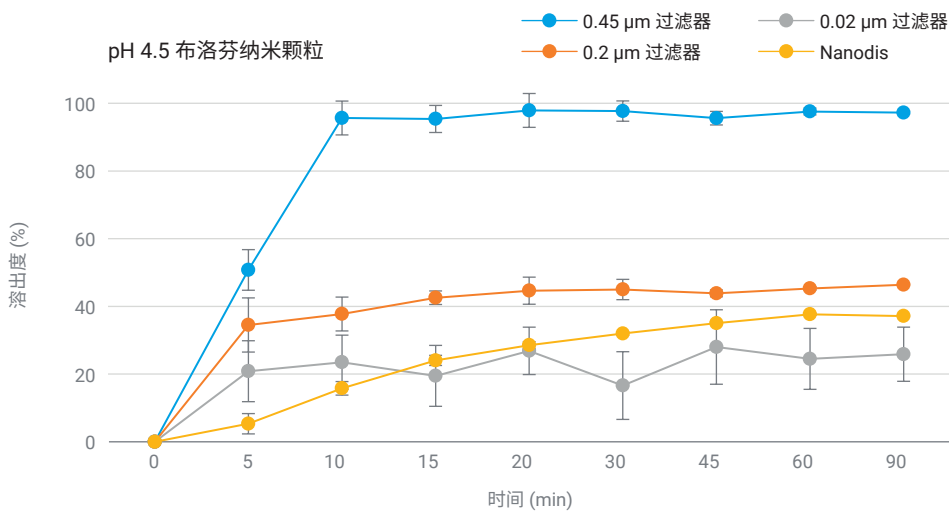


图 3. 使用不同的针头过滤器和 NanoDis 表征布洛芬纳米颗粒在 pH 4.5 缓冲液中的溶出

从图 4 可以看出，使用 0.45  $\mu\text{m}$  过滤器时，尽管 API 溶解度限制在 40% 以内，但达到了 100% 溶出。该数据表明纳米颗粒可以完全渗透通过 0.45  $\mu\text{m}$  过滤器。在样品分析过程中，未溶出颗粒溶于流动相中，加上 40% 溶出的 API，溶出样品中的 API 回收率为 100%。由于布洛芬的粒径较大，其中大量颗粒大于 220 nm，因此观察到使用 0.22  $\mu\text{m}$  过滤器时的溶出度值较低。0.02  $\mu\text{m}$  过滤器在采样过程中发生堵塞，导致溶出度较低且溶出曲线不一致。NanoDis 过滤原理成功表征了溶出 API 与未溶出 API。未溶出纳米颗粒完全保留在过滤器中，因此可进行特异性溶出测试。

在下一阶段，使用 NanoDis 系统和 0.22  $\mu\text{m}$  孔径针头过滤器对粒径为 112、187 和 301 nm 的布洛芬纳米颗粒进行表征。

使用 0.22  $\mu\text{m}$  针头过滤器采集的溶出曲线取决于颗粒通过 0.22  $\mu\text{m}$  过滤器的渗透度。由于颗粒均小于 0.22  $\mu\text{m}$  过滤器的孔径，粒径最小 (112 nm) 的制剂在第一个时间点内溶出率为 100%。通过过滤器的颗粒溶解于流动相中，并由 HPLC 分析检测。只能在粒径为 301 nm 的颗粒群

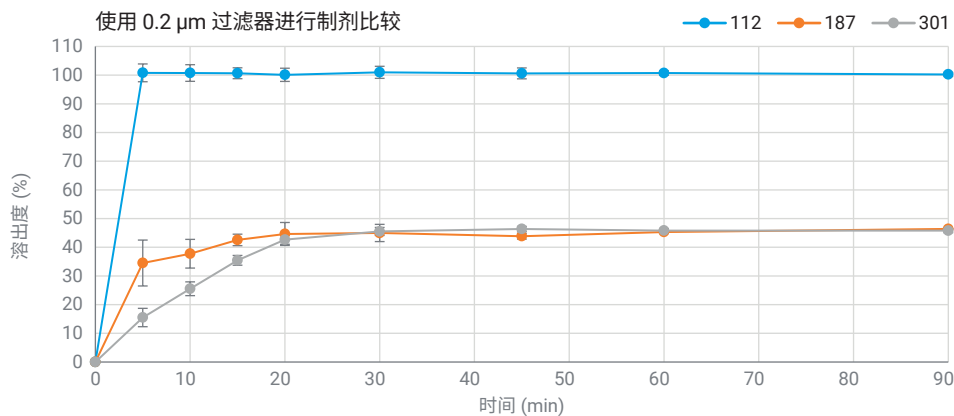


图 4. 使用 0.22  $\mu\text{m}$  过滤器获得的溶出曲线

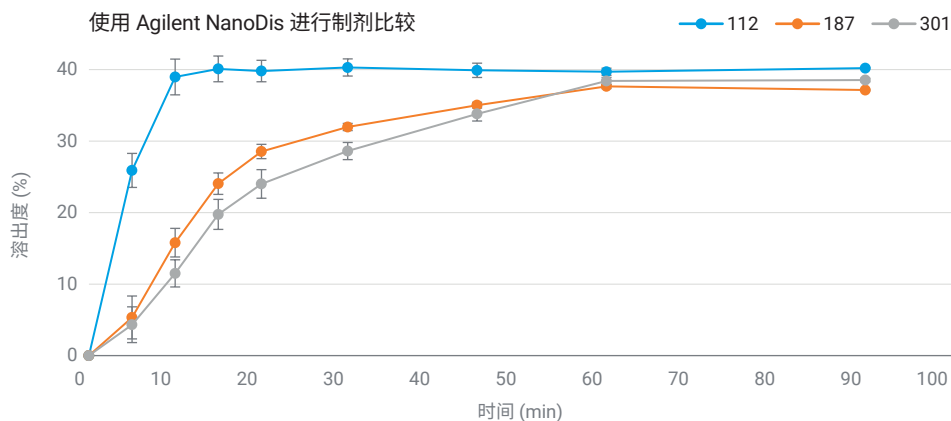


图 5. 使用 NanoDis 获得的溶出曲线

中定量分析溶出 API 的真实量，因为其中大多数颗粒的粒径都大于 220 nm 并被过滤器保留。

使用 NanoDis 系统成功揭示了布洛芬纳米颗粒溶出曲线的粒径依赖性差异。结果表明，112 nm 颗粒溶出速度最快，而 187 和 301 nm 颗粒的溶出速度无显著差异。

## 结论

目前已有多种用于纳米颗粒释放测试的技术被开发出来。最近，人们把更多的注意力放在了开发既能满足 ICH 指南要求，又可用于常规质量控制操作的自动化系统上。有效分离游离药物与纳米颗粒对于大多数技术而言仍然是一个难题，而这对准确测量药物释放至关重要。NanoDis 系统能够分离纳米颗粒与溶解的药物，从而准确测试不同制剂的性能。

## 参考文献

1. Fattal, E.; Vauthier, C. Drug Delivery: Nanoparticles. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* **2007**, *2*, 1183
2. Faisant, N. et al. Effects of the Type of Release Medium on Drug Release from PLGA-Based Microparticles: Experiment and Theory. *International Journal of Pharmaceutics* **2006**, *314*, 189–197, doi:10.1016/j.ijpharm.2005.07.030
3. Agilent NanoDis 系统方法开发指南, 安捷伦科技公司白皮书, 出版号 5994-2347ZH-CN, **2020**

查找当地的安捷伦客户中心:

[www.agilent.com/chem/contactus-cn](http://www.agilent.com/chem/contactus-cn)

免费专线:

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们:

[LSCA-China\\_800@agilent.com](mailto:LSCA-China_800@agilent.com)

在线询价:

[www.agilent.com/chem/erfq-cn](http://www.agilent.com/chem/erfq-cn)

[www.agilent.com](http://www.agilent.com)

DE72084104

本文中的信息、说明和指标如有变更,恕不另行通知。

© 安捷伦科技(中国)有限公司, 2022  
2022年12月9日, 中国出版  
5994-5537ZH-CN