

使用光纤技术的在线紫外溶出方法的方法开发和验证

前言

在线光纤和多池紫外溶出系统在制药行业中的应用日益广泛。光纤与传统的手动取样和自动取样方法相比，具有许多优势。光纤紫外系统的主要优点之一是快速时间点采集。密集的时间点能够对传统方法无法分析的速释剂型进行分析，并使改良释放剂型得到更好的表征。原位分析无需对样品进行过滤，能够分析微粒和纳米颗粒制剂。

光纤的另一优势在于能够实时分析样品。这对于稳定性差的样品非常有利，因为这些样品可能在分析之前发生降解。实时分析还能更好地呈现和解析溶出过程，因为可以在分析的同时进行观察。这将提供更详细的数据和更快速的周转时间，有助于制剂开发活动。



光纤与其他自动化系统类似，还能够改善溶出过程的精密度。所有溶出杯中的取样区域一致，取样分析的时间点相同。另外，软件可在 21 CFR Part 11 环境下执行计算并自动创建记录完整溶出分析和统计结果的报告，因此可大大减少分析人员付出的时间。

使用光纤需要经过适当的验证，以确保不会与 USP <1092> *Dissolution Method Development and Validation*（《溶出方法开发和验证》）中规定的手动方法产生偏差。验证应包括但不限于清洁验证、流体动力学干扰以及校正颗粒影响的能力证明。确定成功验证的参数需要：

- 调查溶出过程
- 确定手动方法和自动方法之间的不同步骤
- 确保每个步骤均保持准确和精密

光纤方法面临的挑战

对光纤系统的适当验证必须考虑到与手动方法的所有差异，并确保这些差异不会造成偏差。USP <1092> 推荐了若干个验证方面，其中涵盖溶出过程和分析方法¹。

关于溶出环境，首先要对驻留探头的影响进行验证。在执行手动取样时，取样探头仅在溶出杯中停留较短的时间，对溶出杯的流体动力学影响极小。光纤系统可使用驻留探头（始终浸于溶媒中的探头）或非驻留探头。研究证明，驻留探头可能影响多种药物的溶出速率。如果使用驻留探头，则必须确定其对于结果的影响（如有）。就非驻留浸入式探头而言，如果探头的横截面类似于手动取样探针的横截面，并且探头在溶出杯内的停留时间极短，则可能无需进行这种验证。

USP <1092> 规定，“应当考虑取样探头对溶出杯流体动力学的扰动并进行充分验证，以确保探头不会使溶出速率发生显著改变”¹。这是最重要的验证方面。已经表明，流体动力学干扰会引起溶解速率加快，且溶解速率的增加与探头尺寸和探头在溶媒中停留的时长成正比²。

USP <1092> 规定，如果认为自动方法和手动方法可互换，则必须以满足适中精度要求的方式完成验证。相关章节的具体规定为：“典型的合格标准是：在强度相同的任何两种条件下，溶出结果之间的平均值之差在溶解小于 85% 的时间点处不超过 10%（绝对值），并且在溶解大于 85% 的时间点处不超过 5%。合格标准可能因产品不同而适用不同的统计测试和限值”¹。

此外，可使用 f1 和 f2 计算结果显示由自动方法和手动方法生成曲线的相似性。关于验证的分析部分，必须对若干其他方面进行验证。其中包括：

- 范围
- 线性
- 精密度
- 准确度
- 稳定性

另外，光纤系统验证需要确保未溶解的药物和赋形剂颗粒不使数据产生偏差，得到的结果与样品过滤后的结果相当，因为光纤系统无法进行过滤。通常以基线校正的方式对未溶解物质进行校正，该方法在多数情况下有效³。

为确保溶出过程之间实现适当的清洁并消除交叉污染，还需要对光纤系统进行清洁验证。事实证明，这个步骤体现出该系统的一个关键优势，因为从分光光度计中移开光比从溶出杯中取出样品“干净”得多。像任何自动化系统一样，还应验证光纤读数时间间隔的准确性，并保证对正确的 USP 取样位置进行读数。

验证差异

流体动力学

应根据所用光纤探头的类型以及探头在溶媒中的停留时间来确定流体动力学干扰。光纤探头包括三种基本类型。请参见表 1。

表 1. 探头说明⁴

探头	驻留或非驻留	特性和属性
浸入式	任意	不锈钢探头的横截面尺寸与插管大小相同，可容纳光纤，探头配有过滤头
拱形探头	驻留	一条薄金属管线容纳光纤组件
轴内探头	驻留	光纤探头位于金属桨或篮轴的中心

应完成验证以确保保持流体动力学完整性，并确保在非 USP 位置采集的任何读数都不会导致结果偏差。在非 USP 位置取样可能不均匀，因为已经发现，在早期时间点处从溶出杯壁附近采集的溶出度值 % 偏高。方法需要验证靠近轴的旋转中心处不存在对应的较低值。能够提升光纤探头的系统其优势在于，减小了溶出杯中的流体动力学变化。

当比较光纤取样与手动取样时，通过溶出分析运行可以确定光纤探头对测试产生的任何影响（尤其是在早期时间点处）。应完成针对两种取样方法的测试 ($n = 12$)，并对数据进行比较。手动取样和光纤取样不应在同一测试中执行，因为这样无法分析流体动力学干扰，而只能比较分析终点。但是，在光纤测量中手动取样将有助于验证基线校正，如下一节所述。

采集至少 $n = 12$ 的数据后，应通过比较多个时间点的两个平均值或通过 $f1/f2$ 统计分析，对结果进行比较。最常用的方法是将 $f2$ 与大于 50 的结果进行比较，或对每个时间点的平均值进行比较，满足溶解度小于 85% 时相差 10% 以内和溶解度大于 85% 时相差 5% 以内⁵。此外，两种方法的 % 相对标准偏差 (RSD) 应相当，且光纤不应成为额外变异性的来源。

过滤与基线校正

需要验证溶出杯中存在的未溶解药物和赋形剂的影响。由于不使用过滤，因此光纤系统必须采取措施解决颗粒的吸收和光散射问题。其中最常用的方法是基线校正。基线校正理论基于以下原理：未溶解的颗粒将对所有波长产生均等的光吸收。因此，可以扣除药物不吸收的基线区域的吸光度，然后从目标波长的峰中扣除该吸光度。这样得到的吸光度结果与过滤后样品的吸光度相当。见图 1。

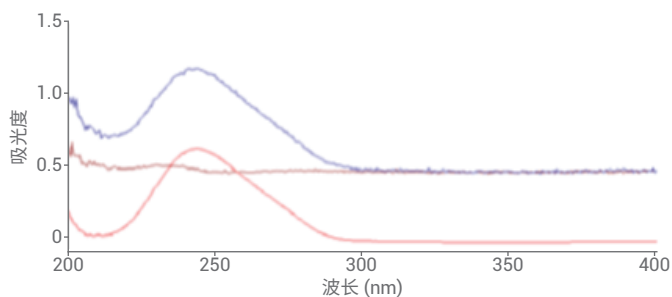


图 1. 扫描对象包括泼尼松标准品、赋形剂混合物以及泼尼松与赋形剂混合物。赋形剂混合物的吸光度在整个波长范围内相对不变，因为颗粒在各个波长下均匀地阻挡光线。因此，赋形剂在泼尼松不吸收的波长（如 350 nm）下的吸光度值可以从标准品化合物的最大吸收值中扣除，从而得到经过校正的读数

为验证基线校正，应通过 UV 读取过滤后的手动取样的读数，以显示可比性。应在溶出时活性药物成分 (API) 的预期最高和最低浓度下取样。这些样品可以是实际溶出样品，其中在初始时间点和最终时间点同步取样，或加入的安慰剂样品。本实验应使用至少三次重复测定，且过滤后样品和光纤读取样品之间的结果应保持一致，两者之差的绝对值应在 2% 以内⁶。

清洁验证

应完成清洁验证，确保从一次运行到下一次运行间无交叉污染。验证可通过读取空白溶液，然后读取 100% 溶解的标准品或加标安慰剂轻松完成。在执行最终空白读数之前进行清洁。清洁后的空白读数应小于标准品在最大吸光度波长下的吸光度的 1%。或者，可以在执行剂量运行之后完成空白运行以验证清洁过程，而无需进行单独测试⁶。

时间

根据 USP <711>，需要验证取样时间点是否在取样时间设定点的 2% 误差范围之内⁷。此外，应验证样品探头的位置是否在 USP 取样区域内。就轴内光纤探头而言，需要通过验证证明样品足够均匀，以便能够在非 USP 位置进行取样。最有效的验证方法是光纤分析的同时在 USP 位置手动取样；结果误差应在 2% 以内。

标准品

大多数溶出方法需要重复测定或每 1-2 个时间点读取一次标准品，以证明 UV 能够提供一致的结果并且读数值得信赖。光纤分析要求在开始样品原位分析之前读取标准品。验证应证明运行过程中吸光度值的重现性。

使用三个或三个以上溶出杯中的标准溶液以及方法中指定时间点处的样品读数，可轻松显示 UV 系统的重现性并确保吸光度值一致。在整个运行过程中，读数偏差应在 1%-2% 以内，并注意控制蒸发损失。根据 USP <1092>，标准品一致性应为 98%-102%，这一范围内的结果可用作证明。

光纤测量适用于多种溶出测试。由于结合了 Agilent Cary 60 分光光度计，安捷伦光纤系统具有扩展的线性光度范围 (± 3.5 Abs)，能够测量高浓度样品。安捷伦系统采用 0.5-10 mm 的多种端头尺寸，可提供 1-20 mm 的光程。这些不同的端头尺寸可支持宽浓度范围测量，从而使该系统可用于各种样品和剂量分析。

结论

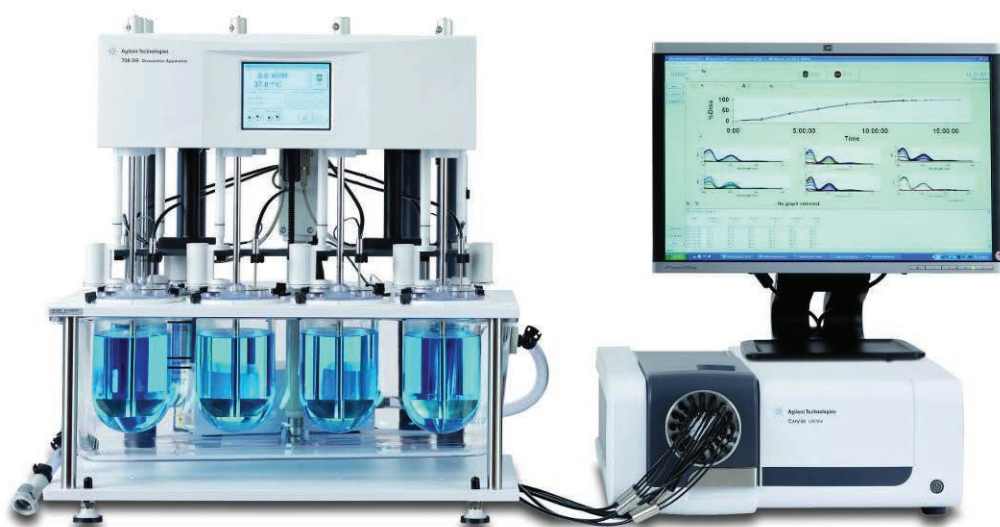
光纤经适当验证后将是实验室中一种极其有用的工具，而验证是任何自动化溶出方法的必需步骤。光纤为制剂和方法开发以及常规分析提供了更丰富的信息。光纤系统还通过执行计算和管理报告功能大大减少了分析人员付出的时间。实时数据的优势还在于能够同步比较观测和分析，有助于更好地理解剂型的行为。

为确保分析方法的测量结果准确且精密，需要对此类系统进行验证。应采用每种剂型对自动化系统进行适当验证，因为各剂型对相同扰动具有不同的表现。在具备适当验证的前提下，光纤可提供比传统方法质量更高的数据。

除上述科学和省时优势之外，光纤系统还有许多其他优势。由于光纤不涉及液体转移或过滤，因而有助于节省长期成本。无需购买与泵吸取样系统相关联的常规消耗品，例如过滤器、管线、注射器、插管等。使用光纤系统还能够缩短清洁时间并减少污染问题。紫外光纤溶出系统中需要日常清洁的部件只有光纤头和溶出度仪本身。

参考文献

1. US Pharmacopeia 40, NF 35, <1092> The Dissolution Procedure: Development and Validation, US Pharmacopeia, Rockville, MD, USA
2. Wells, C. Effect of Sampling Probe Size on Dissolution of Tableted Drug Samples. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **1981**, 70, 232
3. Xujin, L.; Ruben, L.; Pankaj, S. *In Situ* Dissolution Testing Using Different UV Fiber-optic Probes and Instruments. *Dissolution Technologies* [Online] **2003**, 10, 3-15
4. Li L.; et al. Technical Evaluation of a Fiber-Optic Probe Dissolution System. *Dissolution Technologies* [Online] **2003**, 10, 10-20
5. Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms. *FDA Guidance for Industry* **1997**
6. Gray, V. A. Dissolution Testing Using Fiber Optics – A Regulatory Perspective. *Dissolution Technologies* [Online] **2003**, 10, 33-36
7. US Pharmacopeia 40, NF 35, <711> Dissolution, *US Pharmacopeia*, Rockville, MD, USA



查找当地的安捷伦客户中心：

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

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

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，2017
2017年12月4日，中国出版
5991-8787ZHCN