

激光粒度散射法测定曲安奈德注射液粒度

丁怡, 章娟

(广州市药品检验所, 广州 510160)

摘要 目的: 建立激光粒度散射法测定曲安奈德注射液粒度及粒度分布的方法。**方法:** Malvern Mastersizer 2000 激光粒度分析仪, Hydro 2000SM 进样器; 背景及样品的扫描时间为 15 s, 搅拌速率为 $850 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$; 分散液为水, 分散助剂为聚山梨酯 80 和磷酸二氢钠; 颗粒折射率为 1.50; 颗粒的吸收率为 0.001; 遮光度为 5% ~ 15%。**结果:** 激光散射法可以测定曲安奈德注射液的粒度及其分布, 由体积平均粒径 $D[4, 3]$ 可以直观的表征不同批号的曲安奈德注射液颗粒的大小差异, 由 $d(0.1)$ 、 $d(0.5)$ 、 $d(0.9)$ 数值表示其粒度分布的特征。方法学考察结果和样品测定结果的 $d(0.1)$ 、 $d(0.5)$ 和 $d(0.9)$ 的 RSD 均小于 6%。**结论:** 本方法适合曲安奈德注射液的粒度及粒度分布的测定。

关键词: 激光散射法; 粒度测定; 曲安奈德; 混悬剂; 湿法测定

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2017)11-2038-05

doi: 10.16155/j.0254-1793.2017.11.18

Determination of particle size of triamcinolone acetonide injection by laser scattering analyzer

DING Yi, ZHANG Juan

(Guangzhou Institute for Drug Control, Guangzhou 510160, China)

Abstract Objective: To establish a method for determination of the particle size distribution of triamcinolone acetonide injection. **Methods:** The Malvern Mastersizer 2000 laser size analyzer with a Hydro 2000SM wet auto sampler were used. The determination conditions were as follows, measurement time for background and samples: 15 s, pump speed: $850 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, obscuration: 5%–15%, dispersion solvent: water, dispersant: polysorbate 80 and sodium dihydrogen phosphate; particle RI: 1.50, particle AI: 0.001. **Results:** A variety of triamcinolone acetonide injection products could be analyzed by laser light scattering method. The $D[4, 3]$ could show the size difference between different patch products. The profile of the particle size distribution could be reflected by the $d(0.1)$ 、 $d(0.5)$ and $d(0.9)$. The RSDs of methodological study and sample results for $d(0.1)$ 、 $d(0.5)$ and $d(0.9)$ values were lower than 6%. **Conclusion:** The method was simple, accurate and producible, which was suitable for the particle size control of triamcinolone acetonide injection.

Keywords: laser light scattering method; particle size distribution analysis; triamcinolone acetonide; suspensions; wet measurement

曲安奈德是一种合成的肾上腺皮质类激素药物,属于糖皮质激素。其治疗量主要起抗炎和抗过敏作用,临床上用于过敏性疾病、皮肤和结缔组织疾病、骨关节-软组织疾病、眼科非特异性炎症及免疫性疾病和脑外伤;临床上的给药方式为肌肉注射、关节腔内注射和患处皮内注射^[1-2]。曲安奈德注射液收载于中国药典 2015 年版二部,是由曲安奈德原料药与适宜的符合注射用质量要求的辅料制成的混悬型注射液^[3]。粒度检查是评价曲安奈德注射液安全性和有效性的重要项目之一,是混悬制剂的生产工艺和质量控制的关键项目;该品种项下粒度检查测定采用显微镜法。

激光散射法是测量粒度中较为常用的一种方法,优点是测试精度高测量速度快、重复性好,测量范围为 $0.02\ \mu\text{m}$ ~ $3\ 500\ \mu\text{m}$ 。该法广泛用于河流海洋工程、材料学研究、工业粉体研究等粒度的研究^[4-6];而在药品领域中粒度测试应用不广泛^[7-11]。本文建立了激光散射法测定曲安奈德注射液的粒度的方法并进行方法学研究,结果表明本法测定速度快,耐用性和重现性较好,适用于曲安奈德注射液的粒度检查。

1 仪器与试药

Mastersizer 2000 激光粒度分析仪 (Malvern), Mastersizer 2000 工作站 (Malvern), HYDRO 2000SM 进样器 (Malvern); 奥林巴斯显微镜 (BX60), QIMAGING 专业显微成像系统; Elma 水浴超声仪 (功率 200 W, 频率 37 kHz) 水为经 $0.22\ \mu\text{m}$ 滤膜过滤的一级水。样品为曲安奈德注射液 (Laboratorio Italiano Biochimico Pharmaceutico Lisapharma S.P.A.), 批号 (60102, 60103, 60104, 60105, 60106, 60108), 聚山梨酯 80 (广州化学试剂厂, 化学纯, 20150201-1), 十二烷基硫酸钠 (以下简称 SDS-Na) (广州南方化玻公司进口分装, 化学纯, 20160725), 磷酸二氢钠 (广州化学试剂厂, 分析纯, 20140401-1), 油酸钠 (德国利保益, 药用级, 520400-2140525-01)。

2 试剂和供试品制备

2.1 试剂

溶液 I: 称取磷酸二氢钠 20 g, 加入 200 mL 水, 搅拌, 超声 (功率 200 W, 频率 37 kHz), $0.45\ \mu\text{m}$ 滤膜过滤; 溶液 II: 称取聚山梨酯 80 2 g, 加入 500 mL 水, 轻轻搅拌, 超声, $0.45\ \mu\text{m}$ 滤膜过滤;

2.2 供试品

取 3 支样品 (样品批号为 60102) 混合后, 称取 0.25 g 至 100 mL 烧杯中, 加溶液 I 5 mL、溶液 II

10 mL, 搅拌均匀, 超声 (200 W, 37 kHz) 10 min, 超声过程中间隔 2~3 min, 并搅拌均匀样品; 再加溶液 I 5 mL、溶液 II 50 mL, 轻轻搅拌, 小心混匀, 避免产生泡沫。

3 方法的优化

3.1 激光粒度仪的参数设置

背景及样品的扫描时间为 15 s, 搅拌速率为 $850\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$; 分散液为水; 分散助剂为聚山梨酯 80 和磷酸二氢钠, 颗粒折射率为 1.50; 颗粒吸收率为 0.001; 遮光度为 5%~15%。

3.2 样品分散液

曲安奈德在水中极微溶解^[3], 因此可以水为分散液。

3.3 分散助剂的考察

经显微镜下观察曲安奈德注射液的混悬粒子的状态, 其颗粒成絮凝状态, 采用激光粒度法湿法测定粒度时需确保被测粒子为单独分散的颗粒^[14]; 采用显微镜观察三组不同分散助剂 SDS-Na/磷酸二氢钠、聚山梨酯 80/磷酸二氢钠、油酸钠 (磷酸二氢钠与油酸钠混合时生成油酸不溶物, 因而考察油酸钠单独使用的情况) 对样品颗粒的分散效果, 以及观察分散体系产生气泡的情况。其中 SDS-Na 和油酸钠均为阴离子表面活性剂其分散原理为表面离子化和空间稳定作用, 聚山梨酯 80 为非离子表面活性剂其分散原理为空间稳定作用, 磷酸二氢钠属离子化合物其分散原理为空间稳定作用。结果显示, 使用 SDS-Na/磷酸二氢钠分散的样品极易产生泡沫, 且泡沫细小, 且放置 2 h 以上泡沫无法消除, 显微镜下观察样品颗粒基本分散; 使用聚山梨酯 80/磷酸二氢钠分散的样品产生的泡沫放置 10 min 即可消除, 镜检观察颗粒全部分散; 使用油酸钠作为分散助剂, 样品完全溶解, 无法继续测试。根据样品分散和起泡性的结果, 聚山梨酯 80/磷酸二氢钠混合使用的分散效果较好。

通过对聚山梨酯 80 浓度为 0.1%、0.2%、0.4%、0.8% 的考察 (磷酸二氢钠溶液的浓度不变), 考察测试体系的外观、是否有气泡、显微镜检查颗粒的分散程度, 结果表明 0.4% 的聚山梨酯 80 与磷酸二氢钠混合使用, 颗粒分散最好无团聚, 测试溶液的气泡少, 符合激光粒度法测试要求。

聚山梨酯 80 作为非离子表面活性剂, 具有增溶、降低表面张力、增加亲水性的作用^[12]。经考察^[13], 曲安奈德在 0.4% 聚山梨酯 80 溶液中几乎不溶。

3.4 光学参数的考察

激光粒度测试分为湿法和干法测定,湿法测定中需要设定的光学参数有测试介质折射率、样品折射率和样品吸收率 3 个参数,其中测试介质为水(折射率为 1.33),考察样品折射率 1.40、1.45、1.50、1.55 4 个水平,样品吸收率分别考察 0、0.001、0.01、0.1 4 个水平。以结果残差和加权残差均满足小于 1% 的条件,结合样品在显微镜下呈透明晶体的形态,选择吸收率 0.001 和折射率 1.50 为光学参数。

3.5 分散条件的考察

激光粒度法在粒度测试过程中最为关键的是测试样品的代表性和样品的分散程度,其决定了测试结果的准确度和重复性^[14-15]。按照“2.2”制备样品,分别考察样品制备过程中的超声时间(5

min、10 min、15 min),搅拌速度($850 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 、 $1000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 、 $1200 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$)以及样品浓度(遮光度 5%、10%、15%)3 个重要参数对粒度结果的影响。结果表明超声 5 min 的测试结果精密度不能满足 RSD 小于 6% 的要求,10 min 和 15 min 超声时间可使样品分散达到稳定状态;由于测试体系中含有表面活性剂类的分散助剂,在样品制备及测试过程中易产生泡沫引起测定结果的偏差,转速 $1200 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的测试结果检测到气泡,因此在满足测试精密度和残差小于 1% 的条件下,选择低转速 $850 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$;样品浓度由遮光度体现,遮光度在 5%~15% 范围的测试结果精密度、残差和粒度及其分布的结果一致,因此遮光度选择为 5%~15%。各参数条件下测试 5 次,结果见表 1。

表 1 分散条件、光学参数对粒度测定的考察 ($n=5$)

Tab. 1 Investigation results of sample dispersing condition and optical parameters

项目 (item)		$d(0.1) \mu\text{m}$	$d(0.5) \mu\text{m}$	$d(0.9) \mu\text{m}$	$D[4,3] \mu\text{m}$	残差 /% (residual)
超声时间 (ultrasonic time) / min	5	3.274 (6.0)*	5.269 (7.6)	8.610 (8.6)	5.659 (5.7)	0.537
	10	2.900 (3.1)	4.596 (2.3)	7.469 (2.5)	4.936 (2.3)	0.655
	15	3.332 (1.2)	5.390 (1.5)	8.804 (1.8)	5.781 (1.6)	0.651
测试转速 / $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ (pump speed)	850	2.843 (2.8)	4.606 (3.5)	7.676 (3.3)	4.980 (3.5)	0.826
	1000	2.965 (4.3)	4.661 (3.3)	7.506 (4.2)	4.995 (3.8)	0.562
	1200	2.972 (4.5)	4.724 (3.5)	8.056 (8.2)	11.552 (61.2)	0.556
遮光度 (obscurtion) /%	5	3.015 (4.9)	4.975 (3.5)	7.878 (5.9)	5.399 (3.6)	0.606
	10	3.335 (3.2)	4.757 (4.5)	7.687 (4.6)	5.103 (4.6)	0.559
	15	3.171 (5.9)	4.996 (5.9)	7.824 (5.5)	5.323 (5.4)	0.565

*: 括号内为 RSD% (RSD%)

3.6 测试样品稳定性考察

按“2.2”处理样品,在测试条件下在 2 h 内重复测定多次,考察遮光度、粒度及其分布、残差的变化;结果发现上述 3 个参数均没有发生显著变化, $d(0.1)$ 、 $d(0.5)$ 、 $d(0.9)$ 、 $D[4,3]$ 和遮光度的 RSD 均小于 6%。说明样品经处理后 2h 内稳定,未出现团聚现象。

3.7 精密度考察

3.7.1 日内精密度 按“2.2”处理样品,各测试 5 次。统计测定结果的粒度分布数据和粒度结果,进行分析比较并计算 RSD ($n=5$),平均值结果为 $d(0.1)$ 为 $2.975 \mu\text{m}$, $d(0.5)$ 为 $4.725 \mu\text{m}$, $d(0.9)$ 为 $7.688 \mu\text{m}$, $D[4,3]$ 为 $5.076 \mu\text{m}$; RSD 分别为 4.2%, 4.0%, 3.9%, 3.9%, 均小于 6%,符合要求。

3.7.2 日间精密度 按“2.2”处理样品,连续测定

3 d; 统计测定结果的粒度分布数据和粒度结果,进行分析比较并计算 RSD ($n=3$),平均值结果为 $d(0.1)$ 为 $2.960 \mu\text{m}$, $d(0.5)$ 为 $4.668 \mu\text{m}$, $d(0.9)$ 为 $7.538 \mu\text{m}$, $D[4,3]$ 为 $5.005 \mu\text{m}$; RSD 分别为 2.5%、2.5%、2.5%、2.5%,均小于 6%,符合要求。

3.8 样品测试结果

取 6 批经按中国药典方法检验合格的曲安奈德注射剂产品,分别按“2.2”处理样品测试,记录样品体积累计结果 $d(0.1)$ 、 $d(0.5)$ 、 $d(0.9)$ 、 $D[4,3]$ 及残差;采用工作站粒度分级功能,分别列出样品中小于 $5 \mu\text{m}$ 、 $6 \mu\text{m}$ 、 $7 \mu\text{m}$ 、 $8 \mu\text{m}$ 、 $10 \mu\text{m}$ 和 $15 \mu\text{m}$ 的计数量累计百分数结果;其中小于 $5 \mu\text{m}$ 的体积累计百分数为 50%~58%,小于 $10 \mu\text{m}$ 的体积累计百分数为 95%~98%,各批次的粒度数据结果见表 2。

表 2 激光粒度仪和显微镜测试样品的结果

Tab. 2 Results of particle size distribution by laser scattering analyzer and microscope

批号 (Lot No.)	体积累计 (volume type) / μm				残差 /% (residual)	计数累计百分数 (number type) /%						
	d (0.1)	d (0.5)	d (0.9)	D [4, 3] / μm		<5 μm	<6 μm	<7 μm	<8 μm	<10 μm	<15 μm	> 15 μm
	1 法* (method 1*)	1 法 (method 1)	1 法 (method 1)	1 法 (method 1)	1 法 (method 1)	1 法 / 2 法* (method 1/2*)	1 法 (method 1)	1 法 (method 1)	1 法 (method 1)	1 法 / 2 法 (method 1/2)	1 法 (method 1)	2 法 (method 2)
60102	3.041	4.800	7.751	5.147	0.590	54/74	72	84	92	98/99	100	未检出 (not detected)
60103	2.907	4.628	7.538	4.972	0.605	58/83	75	86	93	99/99	100	未检出 (not detected)
60104	2.990	4.707	7.579	5.043	0.573	56/85	74	85	92	99/99	100	未检出 (not detected)
60105	3.136	4.989	8.108	5.357	0.599	50/78	60	74	89	97/99	100	未检出 (not detected)
60106	3.035	4.793	7.747	5.141	0.578	56/80	73	85	92	98/100	100	未检出 (not detected)
60108	3.352	5.427	8.865	5.820	0.458	52/72	60	74	84	95/99	100	未检出 (not detected)

*: 1 法 (method 1) 为激光粒度散射法 (laser scattering method), 2 法 (method 2) 为显微镜法 (microscopy);

4 结果与讨论

4.1 激光散射法测试原理

激光散射法的测试原理是单色光束照射到颗粒供试品后发生散射现象, 由于散射光能量分布与颗粒大小相关, 因此通过测量散射光的能量分布, 依据米氏散射理论和弗朗霍夫理论计算出颗粒的粒度分布^[14]; 其粒度结果是通过计算拟合后得到的数据, 并不是待测物质的真实颗粒直径; 其粒度分布结果是以拟合后得到的体积比与粒径之间的关系来表示。鉴于曲安奈德注射液属于混悬注射剂, 优先采用湿法分散测定样品的粒度及其粒度分布。根据湿法分散液选择的原则^[14], 水作为测试分散液具有环保安全, 被测物在水中不溶解、透明、粘度较低等特点, 可以作为曲安奈德注射液的测试分散液。

4.2 样品分散条件的优选

激光散射法测定的技术不能分辨所测定的样品是单一粒子还是团聚的粒子, 因此样品分散的有效性是激光粒度测定方法中影响测试结果的最重要因素

之一。曲安奈德注射液属于混悬剂, 具有混悬剂物理化学的特殊性—絮凝, 其未经前处理的样品在显微镜下观察颗粒均呈团聚现象; 为能获得单一粒子的供试品, 分别对分散助剂、超声时间、测试转速 3 个分散条件进行考察。分散助剂中加入磷酸二氢钠可以使颗粒表面离子化, 表面电位 Zeta 电位达到 30 mV 以上, 使分散体系更加稳定; 加入聚山梨酯 80 能够显著降低曲安奈德颗粒和分散液之间的界面张力并吸附在曲安奈德颗粒表面形成空间稳定的作用。机械能外力打开测试体系团块效应的方法有研磨、搅拌、超声, 其中超声波比研磨和搅拌打开团块所使用的摩擦力小, 为实验室制备分散体系的首选方法。

4.3 激光散射法与显微镜法结果比较

对曲安奈德注射液 6 个批次的样品测试结果显示, 小于 5 μm 的体积累计百分数为 50% ~ 58%, 小于 10 μm 的体积累计百分数为 95% ~ 98%, 与中国药典项下的要求有所不同, 药典标准要求颗粒均应小于 15 μm , 其中 5 μm 以下的颗粒不得少于 70%, 10 μm

以下的颗粒不得少于 97%^[3]。主要原因是中国药典显微镜法的结果表述采用计数百分比,激光散射法结果表述采用体积累积百分比,由于测定的原理和表述的方式均有不同^[16],因此在满足临床安全性颗粒均应小于 15 μm 要求的前提下,在激光散射法测定粒度及其分布结果的基础上,如何评价产品质量可在今后的研究中再探讨。

对粒度测试结果的准确度和精密度影响最大的因素是样品代表性和样品分散效果,其次是测量方法原理不同以及测试方法不同带入的系统误差。中国药典 2015 年版二部中收载曲安奈德注射液及进口药品标准均采用显微镜法对粒度进行检查,显微镜法测试取样量按方法项下取样量为 1 滴,需观测 3 个视野或至少 600 个粒子,其取样代表性、肉眼观测大量颗粒和肉眼测量精度三方面对测试结果均会造成较大的影响。激光散射法与显微镜法相比取样更具代表性,测试速度快,不受检测人员的主观肉眼观察因素影响,适合作为曲安奈德注射剂(混悬液)的粒度及粒度分布的测定方法。

参考文献

- [1] 汤光. 曲安奈德混悬剂注射液[J]. 中国医院药学杂志, 2002, 22(12): 770
TANG G. Triamcinolone acetonide injection[J]. Chin J Hosp Pharm, 2002, 22(12): 770
- [2] 郭敏, 刘宏, 季可非, 等. 曲安奈德局部给药制剂的研究进展[J]. 中国药师, 2016, 19(3): 559
GUO M, LIU H, JI KF, *et al.* Advances in local administration preparations of triamcinolone acetonide[J]. China Pharm, 2016, 19(3): 559
- [3] 中国药典 2015 年版. 二部[S]. 2015: 361
ChP 2015. Vol II[S]. 2015: 361
- [4] 范北林, 闵凤阳, 黎礼刚, 等. 几种模型沙激光粒度仪测试结果与筛析-沉降法的比较[J]. 长江科学院院报, 2009, 26(12): 6
FAN BL, MIN FY, LI LG, *et al.* Comparison between grain sizes measured by laser diffract instrument and sieve-pipette methods for several model sediments[J]. J Yangtze River Sci Res Ins, 2009, 26(12): 6
- [5] 谭立新, 余志明, 蔡一湘. 激光粒度法测试结果与库尔特法、沉降法的比较[J]. 中国粉体技术, 2009, 15(3): 60
TAN LX, YU ZM, CAI YX. Measurement results comparison between laser particle analyzer, coulter counter and pipette methods[J]. China Powder Sci Technol, 2009, 15(3): 60
- [6] 舒霞, 吴玉程, 程继贵, 等. Mastersizer 2000 激光粒度分析仪及其应用[J]. 合肥工业大学学报, 2007, 30(2): 164
SHU X, WU YC, CHENG JG, *et al.* Mastersizer 2000 laser particle size analyzer and its applications[J]. J Hefei Univ Technol, 2007, 30(2): 164
- [7] 谷广智, 王也牧, 刘蔚, 等. 依非韦伦原料药的激光散射法测定[J]. 中国医药工业杂志, 2016, 47(1): 67
GU GZ, WANG YM, LIU W, *et al.* Determination of efavirenz particle size by laser light scattering method[J]. Chin J Pharm, 2016, 47(1): 67
- [8] 狄天云, 高原雨, 朱捷, 等. 激光粒度仪测定醋酸肤轻松乳膏粒度的方法学研究[J]. 药物分析杂志, 2016, 36(1): 181
DI TY, GAO YY, ZHU J, *et al.* Methodological study of particle size of fluocinonide cream by laser particle analyzer[J]. Chin J Pharm Anal, 2016, 36(1): 181
- [9] 李文凯, 吴玉新, 黄志民, 等. 激光粒度分析和筛分法测粒径分布的比较[J]. 中国粉体技术, 2007, 13(5): 10
LI WK, WU YX, HUANG ZM, *et al.* Measurement results comparison between laser particle analyzer and sieving method in particle size distribution[J]. China Powder Sci Technol, 2007, 13(5): 10
- [10] 邹文博, 许铭哲, 王晨, 等. 激光散射法测定的乳糖的粒度[J]. 药物分析杂志, 2007, 27(9): 1420
ZOU WB, XU MZ, WANG C, *et al.* Measurement of particles size distribution of lactose by laser light scattering method[J]. Chin J Pharm Anal, 2007, 27(9): 1420
- [11] 陈祝康, 陈桂良, 李惠义. 药物及其制剂粒度测定法的探讨[J]. 中国药品标准, 2012, 13(6): 405
CHEN ZK, CHEN GL, LI HY. Discussion about particle size analysis of drug and pharmaceuticals[J]. Drug Stand China, 2012, 13(6): 405
- [12] 谢守霞, 李高. 复方曲安奈德混悬型注射液的处方优化及物理稳定性考察[J]. 中国医院药学杂志, 2003, 23(9): 534
XIE SX, LI G. Optimization of prescription for triamcinonide compound injection by orthogonal design method and investigation of physical stability[J]. Chin Hosp Pharm J, 2003, 23(9): 534
- [13] 中国药典 2015 年版. 二部[S]. 2015: XIII
ChP 2015. Vol II[S]. 2015: XIII
- [14] GB/T 19077.1—2008 粒度分析 激光衍射法 第 1 部分: 通则[S]. 2008
GB/T 19077.1—2008 Particle Size Analysis—Laser Diffraction Methods—Part 1: General Principles[S]. 2008
- [15] GB/T 20099—2006 样品制备 粉末在液体中的分散方法[S]. 2006
GB/T 20099—2006 Sample Preparation—Dispersing Procedures for Powders in Liquids[S]. 2006
- [16] 谭立新, 蔡一湘, 余志明, 等. 各种粒度表征技术的相关性研究[J]. 材料研究与应用, 2011, 5(1): 57
TAN LX, CAI YX, YU ZM, *et al.* Research of the technology on different characterization of particle size[J]. Mater Res Appl, 2011, 5(1): 57

(本文于 2016 年 12 月 7 日收到)