

帕博西尼的粒度激光散射测定方法的建立和验证

张银龙^{1,2}, 冯悦², 李巧霞², 高文远^{1*}, 霍彩霞²

(1. 天津大学药物科学与技术学院, 天津 300072; 2. 北京四环制药有限公司, 北京 101113)

摘要 目的: 建立激光散射法测定帕博西尼原料药的粒度分布。**方法:** 采用 Malvern Mastersizer 3000 型激光粒度分析仪, 干法测定模式, 标准文丘里管, 样品折射率 1.52, 样品吸收率 0.01, 遮光度 0.5%~5.0%, 背景和测定扫描时间 5 s, 气源压力 0.15 MPa, 进料速度 40%, 狭缝宽度 1.5 mm, 测定次数 5 次。**结果:** $d(0.5)$ 值的 RSD 均小于 3%, $d(0.1)$ 和 $d(0.9)$ 值的 RSD 均小于 5%。**结论:** 本法可用于测定帕博西尼原料药的粒度。

关键词: 激光散射法; 帕博西尼; 粒度测定; 气源压力; 进料速度; 狭缝宽度

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2019)03-0436-05

doi: 10.16155/j.0254-1793.2019.03.10

Establishment and verification of particle size test method of palbociclib by laser light scattering

ZHANG Yin-long^{1,2}, FENG Yue², LI Qiao-xia², GAO Wen-yuan^{1*}, HUO Cai-xia²

(1. School of Pharmaceutical Science and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China;

2. Beijing Sihuan Pharmaceutical Co., Ltd., Beijing 101113, China)

Abstract Objective: To establish a laser light scattering method for the determination of particle size distribution of palbociclib. **Methods:** A Malvern Mastersizer 3000 type laser size analyzer was used with a model of dry determination and standard venture tube. Determination conditions were selected as follows: sample refractive index of 1.52, sample absorbency of 0.01, shading degree of 0.5%~5.0%, measurement time for background and samples of 5 s, air press of 0.15 MPa, feed rate of 40%, slit width of 1.5 mm, measurement for 5 times. **Results:** The RSDs of methodological study for $d(0.5)$ values were lower than 3%, and lower than 5% for both $d(0.1)$ and $d(0.9)$ values. **Conclusion:** The established method can be used for the detection of particle size distribution of palbociclib.

Keywords: laser light scattering method; palbociclib; determination of particle size; air press; feed rate; slit width

帕博西尼为细胞周期蛋白依赖性激酶 (cellular-dependent kinase, CDK) 4/6 抑制剂, 2015 年 2 月 3 日, 被美国食品药品监督管理局经加速审评程序

批准, 联合来曲唑用于绝经后妇女雌激素受体阳性 (estrogen-receptor-positive, ER⁺)、人表皮生长因子受体 2 阴性 (human epidermal growth receptor negative,

* 通信作者 Tel: (020) 87401895; Email: pharmgao@ju.edu.cn

第一作者 Tel: (022) 87401895; E-mail: 15810974633@163.com

HER2⁺的晚期或转移性乳腺癌的初始内分泌治疗^[1-4]。帕博西尼几乎不溶于 pH 大于 4.5 的水性介质^[5],属于难溶性药物,原料药的粒度大小影响制剂的溶出度^[6],从而影响制剂的质量和疗效,因此,建立准确的帕博西尼颗粒粒度的测定方法并建立内控标准对开发帕博西尼制剂非常重要。

粒度测定方法有过筛法、光学显微镜法和激光粒度散射法^[7]。激光散射粒度分析仪通过测量散射光强的能量,根据米氏散射理论和弗朗霍夫近似理论,即可以计算出颗粒的粒度分布,测定方法简单、准确度高、重复性好、可测粒径范围宽,已经广泛应用于原料药的粒度大小和分布的质量控制^[8-13]。本文经过一系列的研究,建立了激光粒度散射法测定帕博西尼原料药粒度大小和分布的方法,该方法简单、准确、快速,可用于帕博西尼研究和生产中粒度的质量控制。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

Malvern Mastersizer 3000 型激光粒度分析仪 (Malvern 公司); FW100 高速万能粉碎机 (天津市泰斯特仪器有限公司); 帕博西尼原料药 (批号 20150801、20150916、20160103, 北京澳合药物研究院有限公司)。

1.2 粒度测定样品

取帕博西尼原料药机械粉碎过 100 目筛, 取样约 10~20 g 作为粒度测定样品, 见图 1。

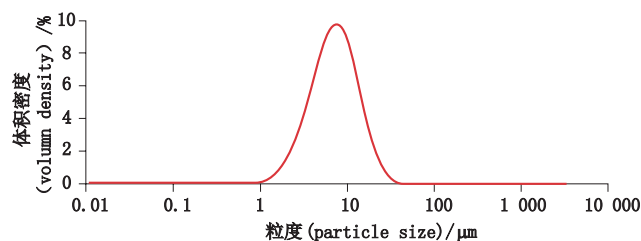


图 1 帕博西尼原料药的粒度分布图

Fig. 1 Particle size distribution pattern of palbociclib crude drug

1.3 仪器参数

分析模式: 通用模式; 测定模式: 干法; 文丘里管: 标准文丘里管; 折光度: 0.5%~5.0%; 分散介质折射率: 1.00; 样品折射率: 1.52; 样品吸收率: 0.01; 测量次数: 5; 测量时间: 5 s; 背景时间: 5 s; 气源压力: 0.15 MPa; 振动进样速度: 40%; 狭缝宽度: 1.5 mm。

1.4 评价指标

残差: 残差是表征测量结果和理论值的拟合差

值,通常认为残差值小,测量结果准确可靠^[14]。通过检测曲线的重现性和残差 (<1%) 来判断检测结果的有效性^[15]。

RSD^[7]: 取原料药, 平行测定 5 次, 平行测定的 $d(0.5)$ 的 RSD 不得过 3%, 平行测定的 $d(0.1)$ 和 $d(0.9)$ 的 RSD 均不得过 5%。

1.5 光学参数的考察

分散介质的折射率、样品的吸收率和样品的折射率是激光散射粒度分析仪在测定样品粒度分布时的 3 个光学参数。原料药粒度测定的分散介质为空气, 空气的折射率为 1.00, 因此主要考察样品的吸收率和折射率对测定结果的影响。

1.5.1 吸收率 取帕博西尼原料药, 设定仪器初始参数; 采用通用模式, 干法, 标准文丘里管, 设定分散介质折射率 1.00; 样品折射率 1.52; 测量次数 5; 测量时间 10 s; 背景时间 10 s; 气源压力 2.0 Bar; 振动进样速度 40%; 狭缝宽度 1.5 mm, 考察吸收率分别为 0、0.001、0.01、0.1 和 1 时的粒度测定结果。

1.5.2 折射率 取帕博西尼原料药, 设定样品吸收率设为 0.01, 其他参数保持不变, 考察样品折射率分别为 1.22、1.37、1.52、1.67 和 1.82 时的粒度测定结果。

1.6 测量时间与背景时间考察

取帕博西尼原料药, 设定样品吸收率设为 1.52, 其他参数保持不变, 考察测量时间 (背景时间同测定时间) 分别为 5、10 和 15 s 时的粒度测定结果。

1.7 气源压力的考察

取帕博西尼原料药, 设定测量时间 (背景时间同测定时间) 5 s, 其他参数保持不变, 考察气源压力分别为 0.5×10^5 、 1.0×10^5 、 1.5×10^5 、 2.0×10^5 和 2.5×10^5 Pa 时的粒度测定结果。

1.8 进料速度的考察

取帕博西尼原料药, 设定气源压力为 0.15 MPa, 其他参数保持不变, 考察进料速度分别为 30%、35%、40%、45% 和 50% 时的粒度测定结果。

1.9 狭缝宽度的考察

取帕博西尼原料药, 其他参数保持不变, 考察狭缝宽度分别为 1.0、1.2、1.5、1.7 和 2.0 mm 时的粒度测定结果。

2 结果

2.1 光学参数的考察

2.1.1 吸收度 统计不同吸收率条件下原料药粒度

$d(0.1)$ 、 $d(0.5)$ 和 $d(0.9)$ 的平均值及 RSD, 结果见表 1。帕博西尼样品吸收率对原料药粒度分布测定结果的 RSD 和拟合程度有较大影响。吸收率设为 0.01 和 1 时, 测定结果的 RSD 均符合限度要求, 但吸收率设为 0.01 时拟合残差最小, 综合考虑, 确定帕博西尼样品吸收率为 0.01。

表 1 不同吸收度的粒度测定结果 ($n=5$)

Tab. 1 Determination results of particle sizes with different absorbercy

吸收度 (absorbency)	$d(0.1)/\mu\text{m}$	$d(0.5)/\mu\text{m}$	$d(0.9)/\mu\text{m}$	平均残差 (mean residual)/%
0	2.00 (5.7)	6.73 (5.6)	14.72 (2.2)	2.6
0.001	1.28 (4.0)	6.20 (3.1)	14.72 (1.5)	1.0
0.01	0.97 (1.2)	5.80 (1.3)	14.02 (1.2)	0.62
0.1	0.87 (1.3)	5.92 (4.0)	13.82 (1.2)	1.4
1	0.42 (2.9)	5.40 (2.7)	12.50 (0.80)	2.7

注 (note): 括号内为 RSD (RSD in parentheses, %)

2.1.2 折射率 统计不同折射率条件下原料药粒度 $d(0.1)$ 、 $d(0.5)$ 和 $d(0.9)$ 的平均值及 RSD, 结果见表 2。不同折射率条件下, 帕博西尼原料药粒度分布测定结果的 RSD 均符合要求。折射率为 1.52 时, 拟合的残差最小, 因此确定样品的折射率为 1.52。

表 2 不同折射率的粒度测定结果 ($n=5$)

Tab. 2 Determination results of particle sizes with different refractive index

折射率 (refractive index)	$d(0.1)/\mu\text{m}$	$d(0.5)/\mu\text{m}$	$d(0.9)/\mu\text{m}$	平均残差 (mean residual)/%
1.22	0.26 (0.99)	3.80 (2.1)	12.51 (0.61)	2.0
1.37	0.47 (3.0)	5.32 (2.7)	13.57 (2.0)	0.83
1.52	0.97 (1.2)	5.80 (1.3)	14.02 (1.2)	0.62
1.67	1.06 (1.9)	5.94 (2.9)	14.06 (0.72)	1.5
1.82	1.10 (3.4)	5.96 (2.3)	14.04 (1.0)	1.7

注 (note): 括号内为 RSD (RSD in parentheses, %)

2.2 测量时间和背景时间考察

统计不同测量时间原料药粒度 $d(0.1)$ 、 $d(0.5)$ 和 $d(0.9)$ 的平均值及 RSD, 结果见表 3。所有测量时间下测定结果的 RSD 均符合限度要求, 平均残差均不大于 1%, 表明均能保证测量结果准确性, 为了尽量缩短分析周期, 故最终选择测量时间和背景时间均为 5 s。

表 3 不同测定时间的粒度测定结果 ($n=5$)

Tab. 3 Determination results of particle sizes with different determination time

测定时间 (determination time)/s	$d(0.1)/\mu\text{m}$	$d(0.5)/\mu\text{m}$	$d(0.9)/\mu\text{m}$	平均残差 (mean residual)/%
5	0.97 (1.1)	5.78 (0.97)	14.07 (1.3)	0.71
10	0.97 (1.2)	5.80 (1.3)	14.02 (1.2)	0.62
15	0.97 (0.74)	5.78 (1.8)	14.07 (1.3)	1.0

注 (note): 括号内为 RSD (RSD in parentheses, %)

2.3 气源压力的考察

统计不同气源压力下原料药粒度 $d(0.1)$ 、 $d(0.5)$ 和 $d(0.9)$ 的平均值及 RSD, 结果见表 4。所有气源压力条件下测定结果的 RSD 均符合限度要求, 气源压力为 0.15 和 0.2 MPa 时, 平均残差均小于 1%, 气源压力越大, 对检测仪器和管路的损耗越大, 因此选择气源压力为 0.15 MPa。

表 4 不同气源压力的粒度测定结果 ($n=5$)

Tab. 4 Determination results of particle sizes with different air press

气源压力 (air press)/bar	$d(0.1)/\mu\text{m}$	$d(0.5)/\mu\text{m}$	$d(0.9)/\mu\text{m}$	平均残差 (mean residual)/%
0.5	1.44 (4.6)	6.19 (1.6)	15.06 (0.87)	1.5
1.0	1.01 (2.3)	5.85 (0.63)	14.05 (1.3)	1.7
1.5	0.97 (1.0)	5.75 (1.0)	14.04 (0.78)	0.77
2.0	0.97 (1.1)	5.78 (0.97)	14.07 (1.3)	0.71
2.5	0.87 (1.)	5.41 (1.7)	13.05 (1.2)	1.1

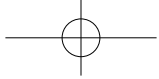
注 (note): 括号内为 RSD (RSD in parentheses, %)

2.4 进料速度的考察

统计不同进料速度下原料药粒度 $d(0.1)$ 、 $d(0.5)$ 和 $d(0.9)$ 的平均值及 RSD, 结果见表 5。所有进料速度条件下测定结果的 RSD 均符合限度要求, 进料速度为 35% 和 40% 时, 平均残差均小于 1%, 进料速度为 40% 时, 平均残差最小, 因此选择进料速度为 40%。

2.5 狭缝宽度的考察

统计不同狭缝宽度下原料药粒度 $d(0.1)$ 、 $d(0.5)$ 和 $d(0.9)$ 的平均值及 RSD, 结果见表 6。所有狭缝宽度条件下测定结果的 RSD 均符合限度要求, 狭缝宽度分别为 1.0、1.2 和 1.5 mm 时, 平均残差均小于 1%, 狭缝宽度为 1.0 mm 和 1.2 mm 时, 帕博西尼原料药容易堆积于进料盘上, 因此选择狭缝宽度为 1.5 mm。

表 5 不同进料速度的粒度测定结果 ($n=5$)

Tab. 5 Determination results of particle sizes with different feed rate

进料速度 (feed rate) /%	$d(0.1)/\mu\text{m}$	$d(0.5)/\mu\text{m}$	$d(0.9)/\mu\text{m}$	平均残差 (mean residual)/%
30	0.81(0.45)	5.56(0.93)	13.70(0.73)	1.5
35	0.88(0.74)	5.83(0.69)	13.93(0.83)	0.92
40	0.97(1.0)	5.75(1.0)	14.04(0.78)	0.77
45	0.89(0.69)	5.80(2.6)	14.15(0.93)	1.3
50	1.02(4.6)	6.66(1.8)	14.60(3.8)	1.4

注 (note): 括号内为 RSD (RSD in parentheses, %)

表 6 不同狭缝宽度的粒度测定结果 ($n=5$)

Tab. 6 Determination results of particle sizes with different slit width

狭缝宽度 (slit width)	$d(0.1)/\mu\text{m}$	$d(0.5)/\mu\text{m}$	$d(0.9)/\mu\text{m}$	平均残差 (mean residual)/%
1.0 mm	0.91(0.22)	5.79(0.65)	14.10(0.71)	0.82
1.2 mm	0.95(1.16)	5.76(1.28)	14.12(0.28)	0.69
1.5 mm	0.97(1.03)	5.75(1.00)	14.04(0.98)	0.77
1.7 mm	0.98(1.68)	5.79(2.60)	14.21(0.85)	1.57
2.0 mm	1.02(1.39)	6.23(3.53)	14.32(1.38)	2.41

注 (note): 括号内为 RSD (RSD in parentheses, %)

2.6 精密度试验

分析人员 1 取混匀的帕博西尼原料药样品 6 份,按“1.3”项下仪器参数测定,统计 6 份样品的 $d(0.1)$ 、 $d(0.5)$ 、 $d(0.9)$ 的平均值及 RSD; 由分析人员 2 对上述样品进行复检,并与分析人员 1 的结果进行比较,结果见表 7。

表 7 精密度试验结果 ($n=6$)

Tab. 7 Results of precision test

分析人员 (analysts)	$d(0.1)/\mu\text{m}$	$d(0.5)/\mu\text{m}$	$d(0.9)/\mu\text{m}$
分析人员 (analyst) 1	0.96(1.0)	5.73(0.75)	14.09(0.92)
分析人员 (analyst) 2	0.97(1.5)	5.74(1.0)	14.07(0.88)
平均值 (mean value)	0.96(1.4)	5.74(0.87)	14.08(0.86)

注 (note): 括号内为 RSD (RSD in parentheses, %)

由表 7 可知,分析人员 1 测得的 6 份样品的 $d(0.1)$ 、 $d(0.5)$ 和 $d(0.9)$ 值的 RSD 分别为 1.43%、0.75% 和 0.92%; 分析人员 2 测得的 6 份样品的 $d(0.1)$ 、 $d(0.5)$ 和 $d(0.9)$ 值的 RSD 分别为 1.5%、1.0% 和 0.88%,表明方法的重现性符合要求。2 名分析人员测定的共 12 份样品的 $d(0.1)$ 、 $d(0.5)$ 和 $d(0.9)$ 值的 RSD 分别为 1.4%、0.87% 和 0.86%,表明中间精密度符合要求。

2.7 样品粒度测定

按“1.3”项下仪器参数测定 3 批帕博西尼原料药粒度分布,统计各批次样品的 $d(0.1)$ 、 $d(0.5)$ 和 $d(0.9)$ 的平均值及 RSD,各批次原料药粒度分布测定结果的 RSD 均符合要求,详见表 8。

表 8 原料药的粒度测定结果 ($n=5$)

Tab. 8 Results of bulk drug particle size

批号 (batch No.)	$d(0.1)/\mu\text{m}$	$d(0.5)/\mu\text{m}$	$d(0.9)/\mu\text{m}$
20150801	0.97(1.7)	5.71(1.4)	14.12(0.71)
20150806	0.98(1.1)	5.87(1.0)	14.63(1.2)
20160103	0.99(0.91)	5.97(1.5)	14.85(0.65)

注 (note): 括号内为 RSD (RSD in parentheses, %)

3 讨论

3.1 测定方法及参数的选择

激光散射法可以采用湿法和干法 2 种测定模式。采用湿法测定样品粒度分布时,需要根据样品的特性,选择适宜的分散方法使样品分散成稳定的混悬液,需要考察分散介质种类、分散方法、表面活性剂种类和浓度对测定结果的影响,方法开发考察项较多。采用干法测定样品粒度分布时,分散介质即为空气,不需要进行样品配制,操作方法简单、准确,因此帕博西尼原料药粒度测定,首选干法测定模式。选择《中华人民共和国药典》附录建议的干法测定折光度范围: 0.5%~5.0%^[7]。

文丘里管选择: 马尔文激光粒度测定仪有标准文丘里管和高能文丘里管 2 种选择,高能文丘里管适用于粒度较小、静电较强、易于聚集成团、不易分散的样品。帕博西尼原料药静电弱、不易聚集,容易分散均匀,因此选择了标准文丘里管。

3.2 方法操作注意事项

样品粒度分布测定前,需要用甘露醇标准粒子对干法测定管路进行清洗,采用标准粒子对测量仪器进行评价,平行测定 5 次的甘露醇标准粒子的 $d(0.1)$ 、 $d(0.5)$ 和 $d(0.9)$ 的均值的与特征值的偏差、RSD 均应符合 2015 年版《中华人民共和国药典》的要求^[3]。

参考文献

- [1] 康健磊, 王彦明. 首个 CDK4/6 抑制剂新药 -Palbociclib[J]. 临床药物治疗杂志, 2016, 14(4): 85.
TANG JL, WANG YM. New drug of first-in-class CDK4/6 inhibitor-Palbociclib[J]. Clin Med J, 2016, 14(4): 85.
- [2] LU J. Palbociclib: a first-in-class CDK4/CDK6 inhibitor for the treatment of hormone-receptor positive advanced breast cancer[J]. J Hematol Oncol, 2015, 8(1): 98
- [3] KIM ES, SCOTT LJ. Palbociclib: a review in HR-positive, HER2-negative, advanced or metastatic breast cancer[J]. Targ Oncol, 2017, 12(3): 373
- [4] RUIZ-GARCIA A, PLOTKA A, O' GORMAN M, *et al.* Effect of food on the bioavailability of palbociclib[J]. Cancer Chemoth Pharm, 2017, 79(3): 527
- [5] SUN W, KLAMERUS KJ, YUHAS LM, *et al.* Impact of acid-reducing agents on the pharmacokinetics of palbociclib, a weak base with pH-dependent solubility, with different food Intake conditions[J]. Clin Pharm Drug Dev, 2017, 00(0): 1
- [6] TRAN TT, TRAN KA, TRAN PH. Modulation of particle size and molecular interactions by sonoprecipitation method for enhancing dissolution rate of poorly water-soluble drug[J]. Ultrason Sonochem, 2015, 24: 256
- [7] 中华人民共和国药典 2015 年版. 四部[S]. 2015: 132
ChP 2015. Vol IV[S]. 2015: 132
- [8] 谷广志, 王也牧, 刘蔚, 等. 依非韦伦原料药粒度的激光散射法测定[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
- [9] 吴芸, 孙小路. 激光散射法测定阿维 A 原料药粒度[J]. 中国药房, 2013, 24(17): 1606
WU Y, SUN XL. Determination of particle size of acitretin crude drug by laser light scattering method[J]. China Pharm, 2013, 24(17): 1606
- [10] 耿志鹏, 姜鹰雁, 李永东, 等. 缬沙坦原料药粒度的激光散射法测定[J]. 中国医药工业杂志, 2017, 48(5): 716
GENG ZP, JIANG YY, LI YD, *et al.* Determination of valsartan particle size by laser light scattering method[J]. Chin J Pharm, 2017, 48(5): 716
- [11] 邓银来, 徐静, 吴晓明. 激光散射法测定替格瑞洛原料药的粒度分布[J]. 中国药物评价, 2017, 34(3): 171
DENG YL, XU J, WU XM. Determination of particle size distribution of ticagrelor crude drug by laser light scattering method[J]. Chin J Drug Eval, 2017, 34(3): 171
- [12] 丁怡, 章娟. 激光粒度散射法测定曲安奈德注射液粒度[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(11): 2038
DING Y, ZHANG J. Determination of particle size of triamcinolone acetonide injection by laser scattering analyzer[J]. Chin J Pharm Anal, 2017, 37(11): 2038
- [13] 牟聪, 王燕, 孙元朋, 等. 激光散射法测定吉非替尼原料药粒度[J]. 中国药师, 2016(5): 876
MU C, WANG Y, SUN YP, *et al.* Determination of particle size of gefitinib by laser scattering method[J]. China Pharm, 2016(5): 876
- [14] 杨道媛, 马成良, 孙宏魏, 等. 马尔文激光粒度分析仪粒度检测方法及其优化研究[J]. 中国粉体技术, 2002, 8(5): 28
YANG DY, MA CL, SUN HW, *et al.* Research on particle size determination method and optimization of malvern lazer particle analyzer[J]. Chnia Powder Sci Technol, 2002, 8(5): 28
- [15] 郑敏侠, 辛芳, 刘晓峰. Mastersizer 2000 型激光粒度仪技术参数对粒度分布的影响[J]. 中国粉体技术, 2013, 19(1): 76
ZHENG MX, XIN F, LIU XF. Influence of mastersizer 2000 type laser particle analyzer technical parameters on particle size distribution[J]. Chnia Powder Sci Technol, 2013, 19(1): 76

(本文于 2018 年 12 月 19 日修改回)