

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.10.018

复方倍他米松注射液粒度及粒度分布测定方法研究*

姜学美^{1,2}, 肖波³, 邹玉明^{1,2}, 沈丹丹^{1,2,Δ}

(1. 重庆市食品药品检验检测研究院, 重庆 401121; 2. 国家药品监督管理局麻醉精神药品质量监测重点实验室, 重庆 401121; 3. 重庆仁泽医药科技有限公司, 重庆 400021)

摘要:目的 建立激光粒度仪测定复方倍他米松注射液中微晶形态的二丙酸倍他米松粒度分布的方法,并评价微粉工艺及灭菌工艺对制剂中二丙酸倍他米松粒度的影响。方法 采用 Malvern Mastersizer 2000 型激光粒度仪,表面活性剂为 0.04% (W/W) 吐温 80,分散剂为水 800 mL,遮光度界限为 5%~10%,泵转速为 2 000 r/min,超声能量为 12.5,超声时间为 120 s,背景测量时间为 10 s,背景测量快照为 10 000,样品测量时间为 10 s,样品测量快照为 10 000。测定灭菌前的微粉化二丙酸倍他米松原料药及灭菌后的复方倍他米松注射液的粒度及其分布。结果 微粉工艺中,通过调整气流粉碎工艺参数,可制备出不同粒径的微粉化二丙酸倍他米松,并用于热压灭菌工艺研究;灭菌工艺中,激光粒度仪器系统环形腔喷嘴压力为 4~5 bar、文氏管压力为 5~6 bar 时,自制复方倍他米松注射液样品可获得与原研产品近似的粒度分布。不同粒度微粉化二丙酸倍他米松灭菌后,粒度均有增加。结论 灭菌过程会引起二丙酸倍他米松的晶体微小增长,从而导致粒度增加。通过控制灭菌前的微粉化二丙酸倍他米松原料药的粒度,可有效控制灭菌后的二丙酸倍他米松制剂的粒度,从而与原研产品保持质量一致。

关键词:复方倍他米松注射液;二丙酸倍他米松;粒度;微粉工艺;灭菌工艺

中图分类号:R917;R944.1

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2021)10-0068-05

Determination Method of Particle Size and Particle Size Distribution of Compound Betamethasone Injection

JIANG Xuemei^{1,2}, XIAO Bo³, ZOU Yuming^{1,2}, SHEN Dandan^{1,2}

(1. Chongqing Research Academy of Pharmaceutical Industry, Chongqing, China 401121; 2. NMPA Key Laboratory of Quality monitoring of Anaesthetic and Psychotropic Substances, Chongqing, China 401121; 3. Chongqing Renzai Pharmaceutical Technology Co., Ltd., Chongqing, China 400021)

Abstract: Objective To establish a method for determination of the particle size distribution of betamethasone dipropionate in Compound Betamethasone Injection by laser particle size analyzer, and to evaluate the effect of micronization process and sterilization process on the particle size of betamethasone dipropionate in the preparation. **Methods** The Malvern Mastersizer 2 000 laser particle size analyzer was used. The surfactant was 0.04% (W/W) Tween 80, the dispersant was 800 mL water, the laser obscuration was 5%~10%, the speed of pump was 2 000 r/min, the ultrasonic energy was 12.5, the ultrasonic time was 120 s, the background measurement time was 10 s, the background measurement snapshot was 10 000, the sample measurement time was 10 s, and the sample measurement snapshot was 10 000. Under the above conditions, the particle size and particle size distribution of micronized active pharmaceutical ingredients (API) of betamethasone dipropionate before sterilization and Compound Betamethasone Injection after sterilization were determined. **Results** In the micronization process, betamethasone dipropionate with different particle sizes could be prepared by adjusting the parameters of the air jet pulverization process, and it could be used in the research of hot pressing sterilization process. In the sterilization process, with the pressure of the annular cavity nozzle of laser particle size instrument system of 4~5 bar and the pressure of venturi tube of 5~6 bar, the self-made Compound Betamethasone Injection could obtain the similar particle size distribution to the original product. The particle size of betamethasone dipropionate micronized with different particle sizes was increased after sterilization. **Conclusion** The sterilization process can cause the tiny crystal growth of betamethasone dipropionate, and thus increase the particle sizes. By controlling the particle size of the API of micronized betamethasone dipropionate before sterilization, the particle size of the sterilized betamethasone dipropionate preparation can be effectively controlled to keep its quality consistent with the original product.

Key words: Compound Betamethasone Injection; betamethasone dipropionate; particle size; micronization process; sterilization process

2020年5月14日,国家药品监督管理局药品审评中心正式发布《化学药品注射剂仿制药质量和疗效一致性评价技术要求》《化学药品注射剂(特殊注射剂)仿制

药质量和疗效一致性评价技术要求》,对注射剂一致性评价指出了研究方向及提出了技术要求,特殊注射剂(如脂质体、静脉乳、微球、混悬注射剂等)一致性评价在

*基金项目:重庆市科研机构绩效激励引导专项[estc2019jxj1X0006]。

第一作者:姜学美,女,大学本科,工程师,研究方向为药物分析,(电子信箱)11535442@qq.com。

Δ通信作者:沈丹丹,女,硕士,工程师,研究方向为药物分析,(电子信箱)499258077@qq.com。

按相关技术要求开展研究的同时,还应根据特殊注射剂的特点,对其关键质量属性进行研究,如 Zeta 电位、粒子形态、粒径及粒径分布,以及体外溶出/释放行为等。复方倍他米松注射液为长效、缓释、混悬的特殊注射剂,属倍他米松酯类[倍他米松磷酸钠(BSP)和二丙酸倍他米松(BD)]构成的复方药物剂型,有抗炎、抗过敏和抗风湿作用^[1-4]。微粉化的活性成分 BD 混悬于处方中,可起到延长药物活性的作用,从而延长疗效,因此,处方中 BD 粒度会影响体外溶出行为及药代动力学。本课题组已研究了 BD 粒度对溶出行为的影响^[5]。现行进口注册标准^[6]及国家药监局标准^[7]均无粒度检查项。在此,按 2020 年版《中国药典(四部)》通则 0982“粒度和粒度分布测定法第三法”^[8],建立了微粉化 BD 的粒径分布测定法,并进行方法学验证,用于评价微粉工艺及灭菌工艺对复方倍他米松注射液中 BD 粒度的影响,达到与原研产品粒度及粒度分布一致,同时也为该品种一致性评价提供研究基础。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

激光粒度仪器系统(主机 Mastersizer 2000 型激光粒度仪、样品处理单元 Hydro MU、软件版本 Mastersizer 2000 版 5.12C),Morphologi G3 型颗粒粒度及粒形图像分析仪,均购自英国 Malvern 公司。

1.2 试剂

吐温 80(南京化学试剂股份有限公司,批号为 20161104,含量为 99.0%);BD 原料(A 厂,批号为 20191009);微粉化 BD(课题组自制,批号分别为 20200115-1,20200115-2,20200115-3,20200115-4,20200115-5,20200115-6);中间体 1(课题组自制,批号分别为 20200301-1,20200301-2,20200301-3,20200301-4,20200301-5,20200301-6);复方倍他米松注射液(原研上市品,杭州默沙东制药有限公司,批号为 3BBKA03A01;课题组自制,批号为 20200309);去离子水(课题组自制)。

2 方法与结果

2.1 测定参数

样品处理单元设置:泵转速 2 000 r/min;超声时间 120 s,超声能量 12.5。

仪器检测参数设置:光学特性项样品物质名称设为默认(Default);遮光度界限下限为 5%,上限为 10%;重复测量 2 个循环,之间延迟 10 s;样品、背景测量时间均为 10 s,测量快照均为 10 000。分散剂为经 0.22 μm 微孔滤膜滤过的去离子水或注射用水;表面活性剂为 0.04%(W/W)吐温 80。

2.2 粒度测定

溶液配制:取吐温 80 适量,加入 2.1 项下分散剂,配制成含 0.04%(W/W)吐温 80 的水溶液。取 0.05 g 微粉化的 BD,加入 0.04%(W/W)吐温 80 水溶液 10 mL,混匀,即得供试品溶液 I。取复方倍他米松注射液,临用前充分振摇混匀,即得供试品溶液 II。

测定法:于分散池中加入 2.1 项下分散剂 800 mL,选择手动测定模式。按 2.1 项下参数设置、操作,测量背景后,缓缓加入供试品溶液 I 6.25 mL,至遮光度达 5%~10%时,开始测量。

2.3 方法学考察

2.3.1 专属性试验

取吐温 80 约 0.202 g,精密称定,加入去离子水 500 mL,制成含 0.04%(W/W)吐温 80 的水溶液,精密量取 6.25 mL,置 800 mL 去离子水中,按 2.1 项下参数设置操作。结果表明,空白样品遮光度为 0,说明分散剂、表面活性剂在该测定条件下不影响微粉化 BD 的粒度测定。

2.3.2 分散稳定性考察

为了考察测定过程中的 BD 是否充分分散,并达到稳定分散阶段,设定等时间距的测量之间延迟和测量循环数,分别跟踪考察搅拌和泵分散阶段、超声分散阶段、超声后测定阶段实时粒径变化;同时考察 BD 是否在测定过程中有溶解行为。取样品(批号为 20200115-5),依法制备供试品溶液 I(测定参数除超声时间为 140 s 及测量循环数为 20 外,其余参数同 2.1 项)。遮光度与粒度实时监测结果见表 1。由表 1 可见,搅拌和泵分散阶段,未见遮光度迅速下降,说明分散剂和表面活性剂选择合理。超声分散阶段,随着超声时间的延长,粒径趋于稳定的平台期,说明在超声过程中未发生颗粒碎裂现象。超声后测定阶段,粒径和遮光度均保持不变,证明分散条件合理。

2.3.3 精密度试验

取 2.2 项下供试品溶液 I,按 2.1 项下参数及条件连续测定同一样品 6 次,记录粒度检测结果。结果 $d_{0.1}$, $d_{0.5}$, $d_{0.9}$ 的 RSD 均小于 1.0%($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.3.4 重复性试验

取同一批(批号为 20200115-5)样品,依法制备供试品溶液,按 2.1 项下参数及条件测定粒度。结果 $d_{0.1}$, $d_{0.5}$, $d_{0.9}$ 的 RSD 分别为 0.31%,1.41%,5.11%,同一批次微粉化 BD 3 次代表性取样的变异系数均符合美国药典^[9]的规定,表明方法重复性好。

2.3.5 耐用性试验

泵转速:设定泵转速分别为 300,500,700,1 000,

表1 不同分散阶段遮光度与粒度实时监测结果

Tab. 1 Real-time monitoring results of laser obscuration and particle size at different dispersion stages

分散阶段	测量次数	遮光度(%)	粒度(μm)		
			$d_{0.1}$	$d_{0.5}$	$d_{0.9}$
搅拌和泵分散	1	5.50	2.326	11.150	36.083
	2	5.65	2.163	10.633	34.142
	3	5.73	2.467	9.822	23.291
	4	5.84	2.279	9.467	22.267
	5	5.90	2.146	9.199	21.602
超声分散	6	6.76	1.411	7.334	16.974
	7	7.62	1.322	5.827	14.842
	8	7.90	1.249	5.352	14.565
	9	8.05	1.218	5.144	14.575
超声后测定	10	8.10	1.200	5.050	14.567
	11	8.10	1.202	5.050	14.547
	12	8.08	1.200	5.044	14.499
	13	8.08	1.201	5.051	14.589
	14	8.08	1.200	5.055	14.696
	15	8.07	1.204	5.058	14.571
	16	8.06	1.204	5.049	14.543
	17	8.06	1.203	5.052	14.576
	18	8.05	1.199	5.044	14.556
	19	8.04	1.201	5.055	14.623
	20	8.04	1.200	5.053	14.586
	$\bar{X}$	8.07	1.201	5.051	14.578
RSD(%)		0.26	0.14	0.09	0.34

表2 不同泵转速的粒度检测结果

Tab. 2 Results of different pump speed on particle size measurement

泵转速(r/min)	粒度(μm)		
	$d_{0.1}$	$d_{0.5}$	$d_{0.9}$
300	1.297	5.499	14.604
500	1.285	5.402	14.426
700	1.269	5.350	14.958
1 000	1.261	5.269	14.947
1 500	1.236	5.185	14.917
2 000	1.212	5.137	14.931
2 500	1.204	5.138	15.539
3 000	1.294	6.209	107.021

1 500, 2 000, 2 500, 3 000 r/min, 其余参数同 2.1 项下, 考察粒径随泵转速增加的变化。结果见表 2。可见, 泵转速较低(300~1 000 r/min)时, 粒径测定值较大, 泵转速较高(1 000~2 500 r/min)时, 粒径测定值基本保持不变, 综合考虑, 确定泵转速为 2 000 r/min。

供试品溶液量: 供试品溶液 I 加样量分别为 2.75, 4.75, 6.25, 7.75, 12.75, 15.75 mL, 其余参数同 2.1 项下, 考察粒径与遮光度的变化。结果见表 3。可见, 供试

品溶液 I 的量低于 4.75 mL 时, 遮光度偏低, 粒度略大; 供试品溶液 I 的量为 6.25 mL 时, 遮光度稍升高, 粒度基本保持不变; 供试品溶液 I 的量继续增大时, 测得遮光度较高(>10%), 粒径测定值略有变小, 可能因发生了多重散射。故确定供试品溶液 I 的量为 6.25 mL。

表3 不同供试品溶液的量的遮光度和粒度检测结果

Tab. 3 Influence of test solution with different injection volume on the laser obscuration and particle size

加样量 (mL)	遮光度 (%)	粒度(μm)		
		$d_{0.1}$	$d_{0.5}$	$d_{0.9}$
2.75	3.02	1.372	5.651	14.813
4.75	5.59	1.261	5.236	14.696
6.25	7.66	1.209	5.095	14.583
7.75	9.64	1.171	5.001	14.465
12.75	15.92	1.117	4.978	14.235
15.75	20.08	1.066	4.807	14.064

超声时间: 设定超声时间分别为 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240 s, 其余参数同 2.1 项下, 考察粒径随超声时间延长的变化。结果见表 4。可见, 超声时间超过 90 s 时, 粒度测定结果基本保持不变, 但过长时间的超声可能造成颗粒碎裂。故确定超声时间为 120 s。

表4 不同超声时间对粒度检测结果的影响

Tab. 4 Influence of different ultrasonic time on the particle size

超声时间(s)	粒度(μm)		
	$d_{0.1}$	$d_{0.5}$	$d_{0.9}$
0	1.728	8.423	20.941
30	1.407	6.252	15.073
60	1.305	5.677	14.449
90	1.264	5.416	14.255
120	1.239	5.268	14.190
150	1.220	5.177	14.276
180	1.208	5.107	14.230
210	1.205	5.073	14.297
240	1.195	5.031	14.238

超声强度: 设定超声强度分别为 5.0, 7.5, 10.0, 12.5, 15.0, 其余参数同 2.1 项下, 考察粒径随超声强度增加的变化。结果见表 5。可见, 超声强度超过 7.5 时, 粒度测定结果基本保持不变, 但应避免强烈超声可能造成的颗粒碎裂。因此确定超声强度为 12.5。

样品测定时间: 设定样品(BD 原料)及背景测量时间均分别为 5, 10, 15, 20, 30 s, 样品及背景测量快照分别为 5 000, 10 000, 15 000, 20 000, 30 000, 其余参数同 2.1 项下, 考察粒径随样品测定时间延长的变化。结果见表 6。可见, 样品测定时间和背景测量时间在 5~30 s 范围内, 粒度测定结果基本保持不变。

表5 不同超声强度对粒度检测结果的影响

Tab. 5 Influence of different ultrasonic energy on the particle size

超声强度	粒度(μm)		
	$d_{0.1}$	$d_{0.5}$	$d_{0.9}$
5.00	1.212	6.074	14.439
7.50	1.290	5.548	14.219
10.00	1.229	5.195	14.137
12.50	1.195	5.014	14.109
15.00	1.174	4.917	14.128

表6 不同样品测定时间对粒度检测结果的影响

Tab. 6 Influence of different measurement time on the particle size of samples

样品测定时间(s)	背景测量时间(s)	粒度(μm)		
		$d_{0.1}$	$d_{0.5}$	$d_{0.9}$
5	5	1.226	5.297	14.537
10	10	1.229	5.311	14.635
15	15	1.227	5.307	14.536
20	20	1.229	5.325	14.711
30	30	1.229	5.324	14.633

2.4 灭菌前后工艺影响试验

微粉工艺:采用气流粉碎工艺,在不同工艺参数下(关键可控参数为环形腔喷嘴压力和文氏管压力,批号分别为20200115-1, 20200115-2, 20200115-3, 20200115-4, 20200115-5, 20200115-6,样品分别设为1.0, 2.0 bar, 2.0, 3.0 bar, 3.0, 4.0 bar, 4.0, 5.0 bar, 5.0, 6.0 bar, 1.5, 2.5 bar),将BD原料药进行粉碎,得到不同粉碎工艺的灭菌前的微粉化BD。按2.1项下参数及条件和2.2项下供试品溶液I的配制方法配制溶液,测定。结果见表7。可见,通过调整气流粉碎工艺参数后,可制

备出不同粒径的微粉化BD,并用于热压灭菌工艺研究。

灭菌工艺:以不同工艺的灭菌前的微粉化BD,按专利处方及工艺配制方法,采用热压灭菌工艺制备中间体1(灭菌后的BD混悬液)。按2.1项下参数及条件和2.2项下供试品溶液I、II配制方法配制溶液,测定。结果见表8。原研产品灭菌后的粒度分别为 $d_{0.1}=1.194\mu\text{m}$, $d_{0.5}=6.298\mu\text{m}$, $d_{0.9}=13.644\mu\text{m}$ 。可见,当气流粉碎工艺控制环形腔喷嘴压力为4~5 bar,文氏管压力为5~6 bar时,即可获得与原研产品近似的粒度分布。

3 讨论

3.1 分散剂选择

由于原研参比制剂处方中含有表面活性剂吐温80,故本研究中未对表面活性剂的种类和浓度进行考察,参照原研处方,以0.04%(W/W)吐温80作表面活性剂,以水为分散剂,测定BD粒度。

3.2 微粉工艺及灭菌工艺对粒度测定的影响

无论灭菌前的微粉化BD的粒度如何分布,在灭菌后粒度均有增加,说明在灭菌过程中会引起BD的晶体微小增长,从而导致粒度增加。但可通过控制气流粉碎关键工艺参数,从而控制微粉化的BD粒度分布,并有效控制灭菌后的粒径,达到与原研产品粒度分布基本一致的水平。

3.3 方法评价

本研究中建立了BD激光粒度测定方法,该方法简单、快速、准确、耐用性好,可用于复方倍他米松注射液的质量评价,为本品处方工艺参数优化提供了评价方法,同时为本品一致性评价奠定了研究基础。粒度及其分布作为特殊注射剂的关键质量属性,将影响产品体外与体内溶出行为的差异,建议生产企业将BD激光粒度测定方法收入现行质量标准,以更好地保证产品全生命周期的质量。

表7 灭菌前原料二丙酸倍他米松粒度检测结果

Tab. 7 Results of particle size of betamethasone dipropionate API before the sterilization

参数	未粉碎	20200115-1	20200115-2	20200115-3	20200115-4	20200115-5	20200115-6
遮光度(%)	6.80	6.84	8.36	9.04	6.91	7.55	7.62
粒度 $d_{0.1}$	2.221	1.352	1.032	1.054	1.012	1.087	1.191
(μm) $d_{0.5}$	11.262	6.723	3.553	3.475	3.074	2.835	4.930
$d_{0.9}$	34.194	19.556	7.306	6.631	5.885	5.173	14.659

表8 灭菌后微粉化二丙酸倍他米松粒度检测结果

Tab. 8 Results of particle size of micronized betamethasone dipropionate after the sterilization

中间体1 批号	粉碎参数(bar)		灭菌前粒度(μm)			灭菌后粒度(μm)		
	环形腔喷嘴压力	文氏管压力	$d_{0.1}$	$d_{0.5}$	$d_{0.9}$	$d_{0.1}$	$d_{0.5}$	$d_{0.9}$
20200301-1	5.0	6.0	1.080	2.843	5.179	0.917	6.133	12.188
20200301-2	4.0	5.0	1.016	3.076	5.887	1.029	6.861	13.313
20200301-3	3.0	4.0	1.052	3.475	6.633	1.140	7.325	13.879
20200301-4	2.0	3.0	1.033	3.558	7.309	1.532	8.268	15.069
20200301-5	1.5	2.5	1.191	4.933	14.656	3.630	10.754	21.291
20200301-6	1.0	2.0	1.358	6.720	19.553	5.105	12.857	25.596