

环扁桃酯胶囊溶出度测定方法的研究

张锦, 龚士学, 董晓蓉

(重庆市食品药品检验所, 重庆 401121)

摘要 目的: 建立环扁桃酯胶囊溶出度试验的方法。方法: 参照中国药典 2010 年版二部附录溶出度测定项下第二法装置, 分别采用 3 台不同型号的溶出度检测仪, 以 0.5% 的十二烷基硫酸钠 1000 mL 为溶出介质, 转速 $75 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 测定溶出度。用高效液相色谱法以 Agilent Eclipse XDB-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱; 流动相: 乙腈-水 (4:1); 流速: $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 检测波长 228 nm; 柱温: 30 °C, 进样体积 10 μL。结果: 环扁桃酯在 $146.7 \sim 272.48 \text{ μg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度范围内呈良好的线性关系, $r = 0.9999$ 。高、中、低 3 种不同浓度的平均回收率范围为 99.8% ~ 99.2%, RSD 为 1.2% ($n = 9$), 溶出度测定结果限度为标示量的 75%。结论: 溶出度和测定方法简便, 灵敏, 结果准确, 可满足环扁桃酯胶囊溶出度质量控制的要求。

关键词: 溶出度; 环扁桃酯胶囊; 反相高效液相色谱法;

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2011)10-2001-04

Study on RP-HPLC determination of dissolution study of cyclandelate capsules

ZHANG Jin, Gong Shi-Xue, Dong Xiso-Rong

(Chongqing Institute for Drug Control, Chongqing 401121, China)

Abstract **Objective:** To carry out the dissolution test using 1000 mL of containing 0.5% of sodium lauryl sulfate as the dissolution medium, adjust the rotational speed of the paddle to $75 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ but three medicine dissolves the meter. To develop an RP-HPLC for determination of cyclandelate capsules and dissolution. **Method:** The chromatographic conditions were C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); With the mobile phase: acetonitrile-water (4:1), the flow rate was $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ and the detection wavelength was 228 nm, the injection volume was 20 μL. (The dissolution study was analyzed by three medicine dissolves the meter, following ChP procedure. **Results:** The calibration curves were linear over the concentration range of $146.7 \sim 272.48 \text{ μg} \cdot \text{mL}^{-1}$ and the average recovery was from 99.8% to 99.2% for three different levels of the added amount of cyclandelate capsules, RSD = 1.2% ($n = 9$). The minimal detectable concentration of cyclandelate capsules was 0.01 ng. **Conclusion:** The method is convenient, accurate and specific. It can be used for control of dissolution of cyclandelate capsules.

Key words: dissolution degrees; cyclandelate capsules; RP-HPLC

环扁桃酯胶囊是一种脂溶性 (cyclandelate) 的血管扩张药, 作用与罂粟碱相似, 药理研究表明, 能直接松弛血管平滑肌, 使血管扩张, 其血管扩张作用有一定的特异性, 它显著地扩张脑肾四肢末梢血管及冠状动脉, 增加血流量, 促进血液循环, 其作用比罂粟碱稍弱, 但较持久, 本品口服吸收 10 ~ 15 min 即可生效, 4 ~ 5 h 后达到顶峰, 对呼吸, 血压, 心率, 心肌血量和心肌氧耗基本无影响。

《日本药局方外医药品成分规格》^[1] 1989,

JP^[2]、USP^[3] 均对其原料有收载, 中国药典 2005 年版^[4] 及《卫生部药品标准》^[5] 均收载环扁桃酯原料及制剂的质量标准, 但不完善。以该药物的特性, 口服后能否及时显效与其溶出速度有关。查阅国内、国外相关标准, 及有关资料^[6] 并未对其品种进行溶出度检查。为了更好的控制药品的质量, 作者对其药物的溶出度的测定方法进行了研究。

1 仪器与试剂

药物溶出仪: 德国制造 SOTAX-AT7Smart, 天津大学制造: RC806, RCZ-8B, 高效液相色谱仪 Ag-

ilent 1100 系列 HPLC CG1322A 在线真空脱气相机, 四元梯度泵, G1313A 自动进样器 G1316A 柱温箱, Agilent 1100 高效液相色谱仪二极管阵列检测器及色谱工作站。

环扁桃酯胶囊(规格 0.1 g 批号 200801, 200802 2009101, 2009102, 2009103) 市售。混和辅料批号 2009006) 由重庆迪康药业提供。乙腈(色谱纯), 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 药物溶出条件的选择 溶出介质的筛选: 由于环扁桃酯为脂溶性药物亲水性极差, 选择采用表面活性剂十二烷基硫酸钠为溶媒, 并分别采用其浓度为 1%, 0.5%, 0.25% 的十二烷基硫酸钠溶液各 1000 mL 进行试验, 结果表明 1%, 0.5%, 0.25% 的十二烷基硫酸钠为溶媒时, 60 min 溶出量分别在 70%, 60%, 45% 以上。按国家药典委员会对国家药品标准中, 溶出度及释放度应用指导原则的修改建议指南和考察结果, 选择 0.5% 浓度的十二烷基硫酸钠 1000 mL 为溶媒。

2.2 溶出量测定方法的选择 精密称取环扁桃酯对照品 0.01036 g 加溶媒溶解, 制备成同溶出度检查的相同浓度, 在 200~400 nm 波长范围内扫描, 测定紫外吸收光谱, 结果环扁桃酯在 252, 258, 265 nm 波长处均有最大吸收, 但吸光度很低, 且吸收峰形不好, 有其他杂质包裹, 故选择 HPLC 检测方法。

2.3 溶出方法的选择 中国药典溶出度检测方法有 3 种: 转篮法、浆法、小杯浆法。以目前所收集样品的规格为每粒 0.1 g, 而淘汰对小杯法的试验研究。在转篮法与浆法中进行研究和筛选, 采用转篮法^[1] 转速 50, 75, 100 $r \cdot \min^{-1}$, 以 0.5% 浓度的十二烷基硫酸钠 1000 mL 为溶剂时, 60 min 溶出量分别为 25%, 45%, 50%。采用浆法, 溶出介质与时间不变, 溶出量分别为 45%, 63%, 75%。故以测量数据为依据, 选择浆法和转速为 75 $r \cdot \min^{-1}$ 。以目前筛选的条件为依据考察样品溶出曲线; 取本品 6 粒, 浆法, 转速 75 $r \cdot \min^{-1}$, 以 0.5% 浓度的十二烷基硫酸钠为溶液 1000 mL 为溶剂, 分别于 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180 min 时取溶液 5 mL, 用 0.45 μm 的滤头滤过, 同时补充 37 $^{\circ}\text{C}$ 的相同溶剂 5 mL。取续滤液为供试品溶液; 另取环扁桃酯对照品适量, 用同溶剂稀释成每 1 mL 约含同等浓度的溶液, 作为对照品溶液。依法测定, 按外标峰面积法计算累计溶出百分率。15 min 时溶出率为 32%~38%, 305 min 时溶出率为 44%~51%, 60 min 时溶出率达到 65%

以上。180 min 全部溶出。见图 1。

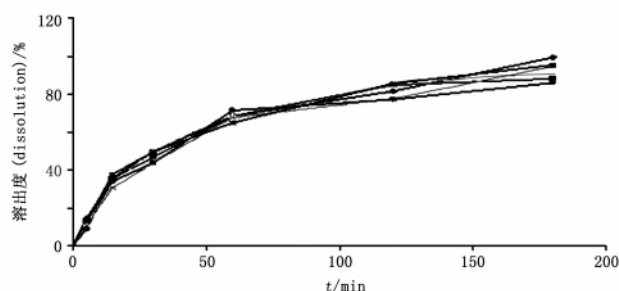


图1 累积溶出曲线

Tab1 Accumulation dissolution curves

结果表明, 随转速与时间的增加, 本品溶出量应相应增加, 且在 100 $r \cdot \min^{-1}$ 转速和 60 min 溶出时间溶出度较好, 但按国家药典委员会对溶出介质与转速的要求, 最后选择的溶出条件是浆法, 转速 75 $r \cdot \min^{-1}$, 60 min, 以 0.5% 浓度的十二烷基硫酸钠 1000 mL 为溶媒。

2.4 方法学考察

2.4.1 检测波长的选择 精密称取 0.1011 g 环扁桃酯对照品 用流动相溶解稀释至 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}$ 照分光光度法测定, 采用二台紫外分光光度仪, 测定供试品溶液的紫外吸收图谱, 分别在 228 nm、264 nm、258 nm 和 252 nm 的波长处均有最大吸收。用 Agilent 1100 高效液相色谱仪(配有紫外检测器及二极管阵列检测器) 进行 DAD 考察, 结果环扁桃酯在 228 nm 处的纯度因子达到 999.75, 该波长接近末端吸收, 无杂质峰干扰, 灵敏度较高, 故选择用 228 nm 为检测波长

2.4.2 色谱条件与系统适用性试验 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μm); 以乙腈-水(4:1) 为流动相; 检测波长为 228 nm; 取环扁桃酯对照品与邻苯二甲酸二环己酯各 0.1 g, 加乙腈溶解分别制成每 1 mL 中含 1 mg 的溶液。取上述两种溶液适量, 加流动相稀释制成每 1 mL 中含 0.2 mg 的混合溶液。取 10 μL 注入液相色谱仪, 记录色谱图。理论板数按环扁桃酯计算应不低于 3000, 环扁桃酯与邻苯二甲酸二环己酯的分离度应不小于 7, 见图 2。

2.4.3 空白辅料影响试验 精密称取按处方量配制的空白辅料 0.2691 g(相当于 1 粒的量), 加 0.5% 十二烷基硫酸钠 1000 mL, 置 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中超声(200 W, 45 kHz) 10 min, 放冷, 滤过, 取滤液适量作为辅料溶液, 在 400~200 nm 的波长范围内进行扫描, 同时在液相色谱仪上与供试品溶液进行了对

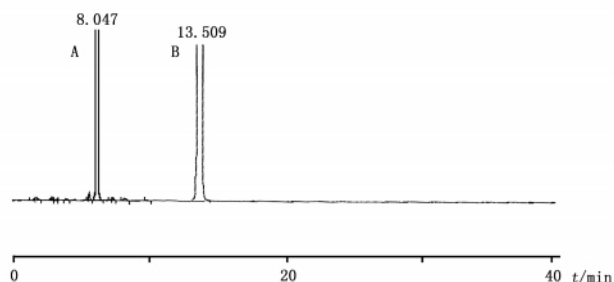


图2 环扁桃酯(A)和邻苯二甲酸二环己酯(B)色谱图

Fig 2 Chromatogram of cyclandelate(A) and dicyclohexyl phthalate(B)

比试验,结果表明,空白辅料对有效成分测定无影响,见图3。

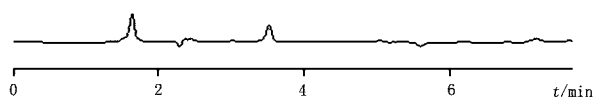


图3 空白辅料色谱图

Fig 3 Chromatogram of blank dissolution

2.4.4 囊壳溶出度试验 取6粒空胶囊,置37℃水浴中超声(200 W, 45 kHz) 10 min,放冷,滤过,取滤液适量在400~200 nm的波长范围内进行扫描,同时在液相色谱仪上与供试品溶液进行了对比试验,结果表明,囊壳对有效成分测定无影响。

2.4.5 流动相比比例的选择 先后选择了7种不同的比例:乙腈-水-三乙胺,用磷酸调节pH为5.4。最后选择乙腈-水(4:1), R_t 约为7 min,柱效好,峰形适中。

2.4.6 流速的选择 采用以乙腈-水(4:1)为流动相,对流速分别从1.5~1.1 mL·min⁻¹进行筛选,选择流速为1 mL·min⁻¹。

2.4.5 色谱柱的考察 在选定的色谱条件下,先后对多种色谱柱进行了耐用性考察,结果不同公司生产的色谱柱检测结果基本一致,RSD为0.48%,不同色谱柱对测定影响可以忽略不计。

2.4.6 柱温的选择 取检测溶液分别在柱温为20,25,30,35,40℃进样10 μL,峰面积的RSD为1.3%,柱温对测定影响不大。

2.4.7 线性关系 精密称取环扁桃酯对照品0.01036 g置100 mL量瓶中加5 mL乙醇溶解后,加0.5%十二烷基硫酸钠溶液稀释至刻度,摇匀即得。分别取储备液适量,用同溶剂制备成31.1,51.8,72.5,93.2,155.4,207.2,259.0 μg·mL⁻¹系列浓度进行线性回归,回归方程:

$$Y = 3.286X + 5.359$$

环扁桃酯浓度在31.1~259.0 μg·mL⁻¹范围内呈良好的线性关系。

2.4.8 精密度试验 取45 min时检测溶出度供试品溶液1份和相同浓度的对照品溶液,连续进样6次,进样量10 μL,以峰面积考察精密度。环扁桃酯对照品峰面积的RSD=0.12%。溶出介质溶液的样品峰面积RSD为0.75%,表明精密度良好。

2.4.9 稳定性试验 取45 min时溶出度供试品溶液1份,与相同浓度的对照品溶液在0,2,4,6,8,10,24 h进样测定。记录主峰面积,计算日内误差。结果表明24 h内样品溶液与对照品溶液稳定,两者的峰面积基本不变,环扁桃酯对照品峰面积的RSD=0.61%。溶出样品峰面积RSD=0.81%。(n=6)

2.4.10 重复性考察 取6份环扁桃酯胶囊同一批(批号:090103)45 min供试品溶液,按本法计算溶出量。结果表明:6份溶出介质复测定溶液的样品峰面RSD为0.6%,表明该方法重复性较好。

2.4.11 溶出度方法的回收试验 取45 min溶出供试品溶液,分别加入对照品溶液(精密称取环扁桃酯工作对照品0.01036 g置100 mL量瓶中加5 mL乙醇溶解后,用0.5%十二烷基硫酸钠溶液溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。),配制成高、中、低3种不同浓度的溶液(100%,80%,50%)各3份,置37℃水浴中超声10 min,放冷,滤过。取滤液测得高中低3种浓度的平均回收率分别为99.1%,99.4%,100.4%;RSD(n=9)为0.66%。

3 样品溶出度测定

取本品,照中国药典溶出度测定第二法装置,(浆法)每个溶出杯内加1000 mL脱气介质,溶出介质为0.5%十二烷基硫酸钠溶液,转速75 r·min⁻¹,依法操作,经时60 min取溶液,用0.45 μm的滤头滤过,取续滤液为供试品溶液,同时制备相同浓度的对照品溶液,分别精密量取供试品溶液与对照品溶液各20 μL照上述色谱条件同法测定(见图4)。按外标法以峰面积计算出每粒溶出量。结果按本法测定的批号为2008100,2008101,2009101,2009102,2009103 5批样品中环扁桃酯胶囊每批平均溶出量(n=6)分别为67%,65%,69%,71%,73%。

4 讨论

4.1 方法学考察结果表明,本方法方便可行,5批样品的溶出量均在60%以上,故溶出限度应订为标示量的60%。

4.2 经试验发现,提高流动相中有机相比例,则出

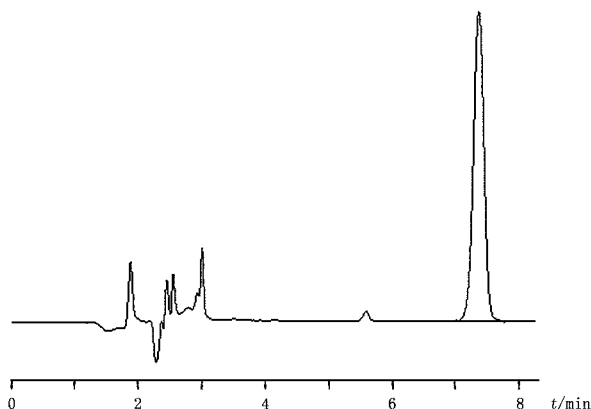


图4 环扁桃酯胶囊溶出度测定色谱图

Fig 4 Chromatogram of cyclandelate capsule dissolution

峰时间快,杂质与主峰分离不好,若提高水相比比例,则主峰出峰时间较晚,柱效降低,基线飘移,故选择本试验的流动相。

4.3 目前没有该对照品,故采用工作对照品,根据环扁桃酯的理化特性,对环扁桃酯原料采取了两种不同的精制方法;一种为无水乙醇精制法,另一种为丙酮精制法。取环扁桃酯两份样,各1.0 g左右分

别滴加无水乙醇和丙酮 2 mL 使环扁桃酯溶解后,再分别缓慢滴加水(共 4 mL)使环扁桃酯沉淀析出,冷风稍加干燥后,置干燥器中,用五氧化二磷减压干燥至恒重。获得工作对照品。通过以 HPLC 面积归一化法计算,乙醇精制结果较理想,含量为 98.24%, RSD = 0.9%。以此作为工作对照品。

4.4 色谱柱柱温的考察 取供试品溶液在 20, 25, 30, 35, 40 °C 分别进样 10 μL, 测试峰面积,结果 RSD 为 1.5%, 可见柱温对测定影响不大,采用常温即可。

参考文献

- 1 JP 1989, JP(12)
- 2 USP(31): 12037
- 3 ChP 2005. Vol II (二部): 1069, Appedix(附录): 75
- 4 Drug Standard by Health Ministry(卫生部药品标准). Vol II (二部), 3d(第三册), 1994. 34
- 5 HUANG Qin (黄勤), HU Jian - Ying (胡建英), FENG Xiao - zhen (冯小珍). HPLC determination of the dissolution of bumetanide tablets(高效液相色谱法测定布美他尼片的溶出度). Chin J Pharm Anal (药物分析杂志), 2007, 27(8): 1258, 1264

(本文于 2011 年 7 月 18 日修改回)

亚太经合组织生命科学论坛药品安全与检测技术研讨会在京召开

2011 年 9 月 27 - 28 日, 亚太经合组织(APEC) 生命科学论坛药品安全与检测技术研讨会在北京召开。研讨会由亚太经合组织(APEC) 和美国国际发展署(USAID) 主办, 中国国家食品药品监督管理局协办, 中国食品药品检定研究院承办。会议围绕药品安全与检测技术, 以加强合作打击假冒伪劣药品、提升药品质量作为讨论重点, 进行了深入广泛地研讨。美国商务部、美国 FDA、世界卫生组织、国际刑警组织、欧洲药品健康管理局和 APEC 成员国高级官员出席大会。APEC 各成员国的监管部门、海关、执法部门、相关政府部门、行业代表和检测技术供应商等多方代表共 200 余人参加会议。

本次研讨会的主题为: 药品安全与检测技术。旨在 APEC 成员国之间, 共享药品安全与质量的检测和预防技术等方面的信息; 研讨快检技术应用问题, 提高 APEC 成员国打击假劣药品的能力; 深入讨论如何实施 APEC 生命科学论坛“反假药行动计划”, 建立国际合作保障药品安全。

本次会议以 5 个分组讨论和会议总结的方式进行, 全面深入地探讨了“药品检测技术在亚太经合组织成员国中的使用”; “药品检测技术是保证药品质量整体策略的一部分”; “制药企业对药品检测技术的看法”; “编码技术在假劣药品预防和检测方面的作用”; “早期检测和数据收集”等议题。

中国食品药品检定研究院药品检定首席专家、《药物分析杂志》主编金少鸿在分组讨论中介绍了中国研发的药品检测车技术及其发挥的作用和在打击假药方面的进展和计划。为了打击分布在广大农村地区的假冒伪劣药品, 国家食品药品监督管理局委托中国食品药品检定研究院研制了药品检测车, 用于对药品的现场快速筛查。中国政府自 2006 年 3 月起, 为全国 330 个地级市、33 个县级市配备了共 400 辆药品检测车, 用于打击农村地区的假药、保护人民健康。截至目前, 共计培训技术人员 1500 名。在广东省已进行了第二代药品检测车的试运行, 运行结果令人满意。中国的药品快速检测技术得到了国际社会的关注。

详见: <http://www.nicpbp.org.cn>