

# 复方地芬诺酯片体外溶出度试验方法的建立

刘晓哲\*(南阳市食品药品检验所,河南南阳 473061)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)21-1989-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.21.23

**摘要** 目的:建立复方地芬诺酯片的体外溶出度测定方法。方法:采用桨法,以盐酸溶液(9→1 000)为溶出介质,转速为75 r/min,溶出取样时间为60 min;采用高效液相色谱法测定制剂中主成分盐酸地芬诺酯的含量。色谱柱为Welchrom C<sub>18</sub>,流动相为三乙胺磷酸溶液-乙腈(45:55, pH 3.1),流速为1.0 ml/min,检测波长为230 nm,柱温为30 ℃。取同批样品6片进行溶出度均一性试验。结果:盐酸地芬诺酯检测质量浓度线性范围为0.634~6.34 μg/ml( $r=0.999\ 8$ ),平均回收率为99.30%(RSD=0.89%, $n=3$ );样品溶出度均一性良好(RSD=1.45%, $n=6$ )。11批样品溶出60 min时溶出量为72%~94%。结论:建立的方法快速、简便,可以用于复方地芬诺酯片的质量控制。

**关键词** 复方地芬诺酯片;溶出度;HPLC

## Establishment of the Method for Dissolution Test of Compound Diphenoxylae Tablets *in vitro*

LIU Xiao-zhe(Nanyang Institute for Food and Drug Control, Henan Nanyang 473061, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the method for dissolution test of Compound diphenoxylae tablets *in vitro*. METHODS: The paddle method was used with hydrochloric acid (9→1 000) as dissolution medium at rotation speed of 75 r/min with dissolution time of 60 min. The content of Compound diphenoxylae tablets was determined by HPLC. The separation was performed on Welchrom C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted of triethylamine phosphoric acid-acetonitrile (45:55, pH 3.1) at the flow rate of 1.0 ml/min. Detection wavelength was set at 230 nm, and column temperature was 30 ℃. The dissolution homogeneity test was conducted among 6 tablets from same batch. RESULTS: The linear range of diphenoxylae hydrochloride was 0.634-6.34 μg/ml ( $r=0.999\ 8$ ) with an average recovery of 99.30% (RSD=0.89%,  $n=3$ ). Those samples showed sound dissolution homogeneity (RSD=1.45%,  $n=6$ ). Accumulative dissolution of 11 batches of samples was 72%-94% within 60 min. CONCLUSIONS: The method is rapid and convenient. It can be applied for the quality control of Compound diphenoxylae tablets.

**KEYWORDS** Compound diphenoxylae tablets; Dissolution; HPLC

复方地芬诺酯片在临床上用于急慢性功能性腹泻及慢性肠炎,每片中含盐酸地芬诺酯2.5 mg和硫酸阿托品25 μg,收载于2010年版《中国药典》(二部)<sup>[1]</sup>。地芬诺酯具有中枢神经系

统抑制作用,可迅速止泻,因服药不正确导致中毒者屡见发生<sup>[2]</sup>。盐酸地芬诺酯是一种难溶于水的药物<sup>[1]</sup>,药典中尚无溶出度的测定方法,亦未见有关本品溶出度测定方法的文献报道,因此

《中国药典》2010年版(二部)<sup>[3]</sup>中硼酸的含量测定方法,也采用此方法。因为在多元醇中,甘露醇用量少、体积小、终点敏锐。另《中国医院制剂规范》中“硼酸甘油滴耳液”的硼酸含量测定方法<sup>[2]</sup>,则采用了中性甘油。在硼酸溶液含量测定的预试验中发现,采用加入中性甘油法,滴定后溶液显持久的淡红色,滴定终点的判断更加明确<sup>[4]</sup>。验证的结果也表明,加入中性甘油法回收率均在99%以上,重现性较好,RSD更小。因此,将原标准的加入甘露醇法改为加入中性甘油法。

另外,在硼酸的含量测定中,加入的中性甘油一定要足量才能使硼酸反应完全。根据陈新善等<sup>[5]</sup>的报道,该试验也对中性甘油的用量进行了考察。取样品,制备被测溶液3份,分别加入中性甘油3、5、7 ml,进行滴定终点颜色观察,各滴定至终点后,再各加入甘油1 ml,3份被测溶液的终点颜色未褪色。考虑检品的取量范围,认为加入5 ml的中性甘油较为合适。

本试验采用了微量滴定法进行含量测定,因此降低操作误差尤为重要。改进后的含量测定方法改变了供试品的取样量及稀释倍数,使标准滴定液最终消耗值在10 ml微量滴定管的合理范围,从而减少了仪器分析误差,同时也减少了转移

稀释的次数,降低了转移、定容等操作带入的误差。

### 3.3 方法的适用性

本试验采用了化学法和微量滴定法分别对硼酸溶液中的硼酸盐、盐酸萘甲唑啉和氯霉素进行鉴别及硼酸的含量测定,方法学的验证结果符合2010年版《中国药典》(二部)<sup>[2]</sup>要求。本方法操作简便、灵敏、准确度高,尤其对医院制剂的分析和质量控制尤为适宜,可用于硼酸溶液的质量控制。

### 参考文献

- [1] 邵丹,廖银根,叶发舜.硼酸湿敷药中的制备及质量控制[J].中国药房,2006,17(3):191.
- [2] 卫生部药政局.中国医院制剂规范:西药制剂[S].2版.北京:中国医药科技出版社,1995:36,附录39、157.
- [3] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:附录22、180、773、1 029、1 031、1 082.
- [4] 黄璞,严慧娟,肖娟,等.硼酸甘油滴耳液含量测定方法的改进[J].医药导报,2007,26(3):301.
- [5] 陈新善,崔新娟,田军.中和法测定复方硼酸软膏中硼酸的含量[J].解放军药学学报,2005,21(3):233.

(收稿日期:2014-02-07 修回日期:2014-03-17)

\*副主任药师。研究方向:药品检验。电话:0377-63183771。E-mail:lxz625@163.com

有必要增加溶出度检查项目用于研究其在体外的溶出行为,以确保对复方地芬诺酯片进行有效的质量控制。由于该制剂中盐酸地芬诺酯含量是硫酸阿托品含量的100倍,故本文以前者为主成分,建立了该制剂的溶出度测定方法。

## 1 材料

### 1.1 仪器

1200液相色谱仪(配有1200系统的四元泵、自动进样器、柱温箱、可变波长紫外检测器),色谱化学工作站(美国Agilent公司);RCZ-8M药物溶出仪(天津市天大天发科技有限公司);BP211D电子天平(德国Sartorius公司);WT-1200超声波清洗器(济宁万通超声仪器设备厂)。

### 1.2 药品与试剂

盐酸地芬诺酯对照品(批号:171202-200604,供含量测定用)、硫酸阿托品对照品(批号:100040-201011,供含量测定用)均购自中国食品药品检定研究院;复方地芬诺酯片(4家企业共11批样品,含盐酸地芬诺酯均为每片2.5 mg);乙腈为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件与系统适用性试验

有文献报道采用柱色谱法分离复方地芬诺酯片中的盐酸地芬诺酯,再用离子对萃取比色法测定<sup>[9]</sup>,或用高效液相色谱(HPLC)法同时测定复方地芬诺酯片两组分含量<sup>[4-5]</sup>。相比之下,2010年版《中国药典》盐酸地芬诺酯含量测定项下<sup>[1]</sup>色谱条件更简便、可行,故采用之:色谱柱为Welchrom C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为三乙胺磷酸溶液(取三乙胺4 ml,加水500 ml、磷酸2 ml,加水至1 000 ml,混匀)-乙腈(45:55),调节pH至3.1;检测波长为230 nm;流速为1.0 ml/min;柱温为30℃;进样量为20 μl。称取盐酸地芬诺酯与硫酸阿托品对照品适量,加流动相制成含盐酸地芬诺酯约5 μg/ml、硫酸阿托品约1.5 μg/ml的混合对照品溶液,按上述色谱条件测定,色谱图见图1A;取供试品溶液(批号:20100303,溶出度试验溶液),按上述色谱条件测定,色谱图见图1B。

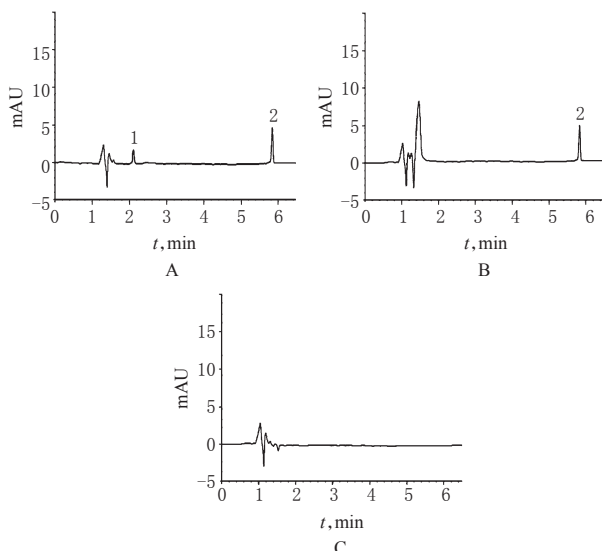


图1 高效液相色谱图

A.混合对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.硫酸阿托品;2.盐酸地芬诺酯

Fig 1 HPLC chromatograms

A. mixed control; B. test sample; C. negative control; 1. atropine sulfate; 2. diphenoxylae hydrochloride

### 2.2 辅料的干扰试验

分别取常用辅料(淀粉、二氧化硅、硬脂酸镁、糊精、羟丙甲纤维素、蔗糖、羧甲基淀粉钠),加流动相溶解并稀释成每1 ml约含0.25 mg(以淀粉计)的溶液,过滤,取续滤液作为阴性对照溶液。按“2.1”项下的色谱条件,取20 μl注入液相色谱仪,记录的色谱图中,结果除2 min以前的溶剂峰,均未见其他杂质峰,表明辅料无干扰,见图1C。

### 2.3 溶出度方法的建立

复方地芬诺酯片在药典标准中未收载溶出度检查项,由于盐酸地芬诺酯在水中几乎不溶<sup>[1]</sup>,故本文通过条件考察,参考有关文献<sup>[6-12]</sup>,建立了复方地芬诺酯片的溶出度检查方法。

2.3.1 溶出介质的选择。分别以本品在1 000 ml的水、盐酸溶液[(9→1 000),以下简称稀盐酸]、pH 4.5醋酸盐缓冲溶液、pH 6.8磷酸盐缓冲溶液及0.5%、1.0%、1.5%、2.0%十二烷基硫酸钠溶液为溶出介质,采用桨法、转速75 r/min的试验条件,对其溶出行为进行初步筛选。

结果表明,除稀盐酸外,盐酸地芬诺酯在上述其他溶出介质中的溶出行为基本一致,3 h的溶出量均不足60%,且1~3 h的溶出量未见显著增加,说明本品在上述试验条件下已基本达到饱和,难以全溶出。而有机溶剂与体内相关性不大,所以不推荐使用有机溶剂作为溶出介质。本品在稀盐酸中累积溶出量大于60%,较为理想,故考虑用稀盐酸作为该品种的溶出介质。

2.3.2 溶出介质体积的选择。本品规格为含盐酸地芬诺酯每片2.5 mg,采用稀盐酸500、600、900、1 000 ml作为溶出介质,以桨法、转速75 r/min进行试验。结果稀盐酸500 ml即可满足漏槽条件,因而确定溶出介质体积为500 ml。

2.3.3 篮法和桨法的比较。采用稀盐酸500 ml为溶出介质,分别采用篮法100 r/min和桨法75 r/min,计算每片在各时间点6片的平均溶出量。结果,采用桨法75 r/min较采用篮法100 r/min的各时间点溶出量略高,故拟定溶出度测定方法为桨法。

2.3.4 转速的比较。因本品为难溶药物,采用低转速时无法达到全溶出,故采用上述溶出介质,选取桨法50、75、100 r/min的转速分别测定溶出曲线。结果表明,转速快,达到溶出平台的时间短、溶出量高,但75 r/min与100 r/min比较无显著性差异,故拟定转速为75 r/min。

2.3.5 方法的确定。取本品,照溶出度测定法(2010年版《中国药典》附录XC第二法)<sup>[1]</sup>,以稀盐酸500 ml为溶出介质,转速75 r/min,依法操作。经60 min时,取溶液10 ml,用0.45 μm的微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液;另精密称取盐酸地芬诺酯对照品约12.5 mg,置于100 ml量瓶中,加乙腈溶解并稀释至刻度,精密量取1 ml,置于25 ml量瓶中,加稀盐酸制成5 μg/ml的溶液作为对照品溶液。精密量取对照品溶液和供试品溶液各20 μl,照“2.1”项下的色谱条件,注入液相色谱仪中,按外标法以峰面积计算,即得。根据4个不同厂家的11批供试品的测试结果,建议溶出度限度为70%。

### 2.4 溶出度方法的验证

2.4.1 线性关系考察。精密称取盐酸地芬诺酯对照品约12.5 mg,精密称定,置于100 ml量瓶中,加乙腈溶解并稀释至刻度作为对照品贮备液;再分别精密量取贮备液0.5、1、2、3、4、5 ml,分别置于100 ml量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀。按“2.1”项下的色谱条件测定,以质量浓度(x)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,回归方程为 $y=26\ 034x-955.36$  ( $r=0.999\ 8$ )。结果表明,盐酸地芬诺酯检测质量浓度线性范围为0.634~6.34 μg/ml。

2.4.2 精密度试验。取同一对照品溶液 20  $\mu\text{l}$ , 重复进样 5 次, 测定峰面积, 结果 RSD 为 0.35% ( $n=5$ ), 表明方法精密度良好。

2.4.3 稳定性试验。取复方地芬诺酯片细粉, 加稀盐酸溶解制成的溶液, 分别于 0、1、5、8 h 测定峰面积, RSD 为 1.15% ( $n=4$ ), 表明溶液在 8 h 内稳定。

2.4.4 回收率试验。按处方比例精密称取盐酸地芬诺酯对照品与混合辅料适量, 配制成供试品溶液后进样测定峰面积。另取盐酸地芬诺酯对照品溶液同法测定, 根据盐酸地芬诺酯的加入量 (80%、100%、120%) 与测得量计算回收率, 结果见表 1。

表 1 回收率试验结果 ( $n=3$ )

Tab 1 Results of recovery tests ( $n=3$ )

加入量, mg	测得量, mg	回收率, %	平均回收率, %	RSD, %
20.08	20.01	99.65		
19.48	19.15	98.31		
19.36	19.38	100.10		
25.31	25.23	99.68		
25.89	25.96	100.27	99.30	0.89
24.63	24.20	98.25		
30.31	30.28	99.90		
31.17	30.53	97.95		
30.15	30.03	99.60		

2.4.5 溶出曲线的均一性。取批号为 20100303 的样品 6 片, 以稀盐酸 500 ml 作为溶出介质, 转速为 75 r/min, 依法操作。经 60 min 时, 取溶液 10 ml, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液, 进样测定峰面积, 以外标法计算不同时间的溶出量。结果其 RSD 为 1.45% ( $n=6$ ), 表明复方地芬诺酯片溶出度均一性良好, 详见图 2。

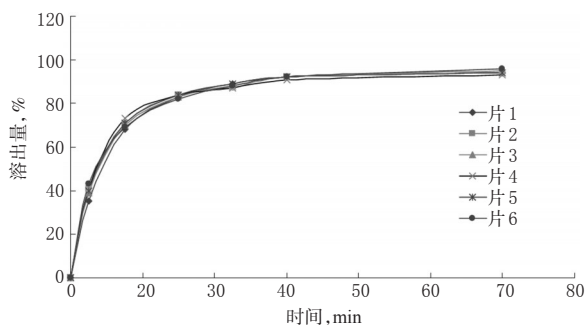


图 2 溶出曲线均一性结果

Fig 2 The homogeneity of dissolution curves of samples

2.4.6 样品溶出度的测定。取不同厂家的 11 批样品, 按“2.4.5”项下方法对其进行溶出度考察, 60 min 时取样测定, 结果见表 2。

### 3 讨论

#### 3.1 硫酸阿托品的影响

复方地芬诺酯片由盐酸地芬诺酯和硫酸阿托品组成。本试验结果显示, 在本文确定的流动相条件下, 硫酸阿托品与盐酸地芬诺酯分离良好 (见图 1A); 且本品中硫酸阿托品标示量为每片 25  $\mu\text{g}$ , 在该溶出度试验条件下, 达到全溶出的质量浓度为 0.05  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 不能检出 (见图 1B), 故不予考虑。

#### 3.2 滤膜及辅料的影响

取对照品溶液 6 份, 在经 0.45  $\mu\text{m}$  的微孔滤膜滤过前后的峰面积差值  $<0.2\%$ , 可以确定, 滤膜对测定结果无影响; 另相应浓度辅料溶液的 HPLC 图谱显示, 辅料对测定结果也无影响。

表 2 11 批样品的溶出度测定结果 ( $n=6$ )

Tab 2 The results of dissolution test of 11 batches of samples ( $n=6$ )

生产厂家	批号	溶出量	
		平均值, %	RSD, %
A	20100303	92	1.72
	20100602	93	1.59
	20110705	90	1.64
	080408	81	1.91
	080501	86	1.85
B	0908041	89	1.77
	0910081	94	1.68
C	1003032	91	1.94
	070328	78	2.56
	0710241	72	2.01
D	1009085	90	1.83

通过对溶出介质的筛选, 确定采用稀盐酸 500 ml 作为溶出介质, 相应的方法学验证均符合要求。本试验结果表明, 建立的方法快速、简便, 可以用于复方地芬诺酯片的质量控制。

地芬诺酯本身具有中枢神经系统抑制作用, 因此有必要建立溶出度检查方法来控制其体外溶出情况, 从而保证药品的质量。按照所建立的溶出度测定方法, 测定了不同厂家的样品在该条件下的溶出行为, 实验结果表明, 累积溶出量均超过 70%。综上所述, 本文所建立的方法能够控制本品的内在质量。

### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 二部[S]. 2010 年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 679, 579, 附录 X C.
- [2] 陈玉霞. 地芬诺酯中毒临床应用分析[J]. 医药论坛杂志, 2008, 29(12): 81.
- [3] 高敏四, 朱菁华, 陈军. 复方地芬诺酯片柱色谱法测定[J]. 中国医药工业杂志, 1991, 22(10): 457.
- [4] 姚克荣, 王玉, 纪宇, 等. HPLC 法同时测定复方地芬诺酯片中盐酸地芬诺酯和硫酸阿托品含量[J]. 江苏药学与临床研究, 2006, 14(6): 386.
- [5] 何建锋, 郭瑞锋, 鄢冰冰. 高效液相色谱法同时测定复方地芬诺酯片中两组分含量[J]. 中国药业, 2010, 19(5): 22.
- [6] 金英顺. 紫外分光光度法测定华法林钾片的溶出度[J]. 中国药房, 2008, 19(13): 1 014.
- [7] 苗燕飞, 戈文兰, 陈国广, 等. 阿戈美拉汀片在 4 种溶出介质中的体外溶出研究[J]. 中国药房, 2013, 24(29): 2 760.
- [8] 唐素芳. 药品溶出度测定中的影响因素分析[J]. 天津药学, 2009, 21(1): 72.
- [9] 谢沐风. 改善溶出度评价方法, 提高固体药物制剂水平[J]. 中国医药工业杂志, 2005, 36(7): 447.
- [10] 谢沐风, 操洪欣. 溶出度测定中的若干问题[J]. 中国医药工业杂志, 2006, 37(12): 859.
- [11] 谢沐风, 张启明, 陈洁, 等. 国外药政部门采用溶出曲线评价口服固体制剂内在品质情况简介[J]. 中国药事, 2008, 22(3): 257.
- [12] 唐素芳. 难溶性药物口服固体制剂的溶出度测定法和体内相关性研究进展[J]. 天津药学, 2007, 19(5): 58.

(收稿日期: 2013-08-21 修回日期: 2013-10-21)