

HPLC 测定比沙可啶肠溶片体外释放度

孙婷, 姜建国*, 郭永辉(河北省药品检验研究院, 石家庄 050011)

摘要: 目的 建立高效液相色谱法测定比沙可啶肠溶片的体外释放度。方法 采用 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm), 以 20 mmol·L⁻¹ 的乙酸铵溶液(冰醋酸调节 pH 5.0)-乙腈(45 : 55)为流动相, 检测波长为 265 nm。结果 比沙可啶在 1.0~15 μg·mL⁻¹ 内线性关系良好; 平均回收率为 100.4%, RSD 为 0.8%。A 企业 3 批样品 45 min 内比沙可啶肠溶片的释放度分别为 83%, 81%, 79%; B 企业 3 批样品 45 min 内比沙可啶肠溶片的释放度分别为 56%, 59%, 61%。结论 该释放度实验条件可以较客观地反映产品的内在质量, 为不同厂家同一制剂质量的区分提供可靠依据。

关键词: 比沙可啶肠溶片; 高效液相色谱法; 体外释放度

中图分类号: R917.101 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2017)01-0081-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2017.01.019

Determination of the *in Vitro* Release of Bisacodyl Enteric-coated Tablets by HPLC

SUN Ting, JIANG Jianguo*, GUO Yonghui(Hebei Institute for Drug Control, Shijiazhuang 050011, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an HPLC method for the determination of the release rate of bisacodyl enteric-coated tablets. **METHODS** Agilent ZORBAX SB-C₁₈ column(4.6 mm×150 mm, 5 μm) was used with the mobile phase of 20 mmol·L⁻¹ ammonium acetate (acetic acid adjust pH 5.0)-acetonitrile(45 : 55), at the detection wavelength of 265 nm.

RESULTS The calibration curve of bisacodyl was linear in the range of 1.0–15 μg·mL⁻¹. The average recovery was 100.4%, with RSD of 0.8%. The bisacodyl release rate at 45 min of three batches of A samples were 83%, 81% and 79%; the bisacodyl release rate at 45 min of three batches of B samples were 56%, 59% and 61%. **CONCLUSION** The inherent quality of the product can be objectively reflected in the above conditions. Furthermore, it has a significant distinction of the same agents from different sources.

KEY WORDS: bisacodyl enteric-coated tablet; HPLC; *in vitro* release

比沙可啶肠溶片为 OTC 甲类药物, 系非国家基本药物, 原研企业为德国勃林格殷格翰集团, 1952 年首次在德国上市^[1]。比沙可啶肠溶片给药后, 可刺激感觉神经末梢, 引起肠反射性蠕动增加而导致排便; 还可刺激局部轴突反射和节段反射, 产生广泛的结肠蠕动; 同时可抑制结肠内钠、氯和水分吸收, 使肠内容积增大, 引起反射性排便。其临床上主要用于便秘的治疗、腹部 X 射线检查或内镜检查前清洁肠道使肠道排空, 以及手术前后清洁肠道用。不良反应有: 可引起轻度腹痛, 偶可引起明显的腹部绞痛, 停药后即消失; 可引起过度腹泻。现行质量标准收载于中国药典 2015 年版二部^[2]。该标准中缺少溶出度检查项, 仅设置崩解时限检查项。而崩解时限检查不能有效区分企业间溶出行为的差异。关于该制剂的药理、临床等已有相关报道^[3-4], 但尚未见其释放度

测定方法的报道。本研究参考相关文献^[5-7], 建立了 HPLC 测定比沙可啶肠溶片的体外释放度检查法。

1 仪器与试剂

印度 EDT-14Lx 智能试验溶出仪(上海仪真分析仪器有限公司); Agilent1260 型 HPLC 仪, 包括 G1311C 四元泵、G1329B 自动进样器、G1316A 柱温箱、G1314 紫外可变波长检测器等(美国 Agilent 公司); XS105 型十万分之一电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司)。

比沙可啶对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 100181-200402, 含量: 100.0%, 105 °C 干燥 2 h); 比沙可啶肠溶片(A 企业, 批号: 140102; 131101; 140101; B 企业, 批号: 131211; 130937; 140201, 规格: 均为 5 mg); 乙腈(Fisher chemical 公司, 色谱纯); 磷酸二氢钾、氢氧化钠、十二烷基硫酸钠和乙酸铵为分析纯, 购自国药集团化学

作者简介: 孙婷, 女, 硕士, 主管药师 Tel: (0311)85212009
Tel: (0311)85212009 E-mail: 1343777894@qq.com

E-mail: 122547652@qq.com *通信作者: 姜建国, 男, 硕士, 主任药师

试剂有限公司；冰醋酸(天津市风船化学试剂科技有限公司，分析纯)。试验用水为去离子纯净水。

2 方法与结果

2.1 释放度测定方法

2.1.1 供试品溶液的制备 取6片，按照中国药典2015年版(四部)通则0931，先在盐酸溶液(9→1 000)中检查2 h，每片不得有裂缝、崩解或软化等现象。再按上述方法以2% SDS-pH 6.8磷酸盐缓冲液1 000 mL为溶出介质，转速75 r·min⁻¹，依法操作。经45 min时，取溶液10 mL，经0.45 μm滤膜过滤，取续滤液作为供试品溶液。

2.1.2 对照品贮备溶液的制备 精密称取比沙可啶对照品10 mg，置20 mL量瓶中，用2%SDS-pH 6.8磷酸盐缓冲液溶解并稀释至刻度，制成浓度为0.5 mg·mL⁻¹的对照品贮备液。

2.1.3 对照品溶液的制备 精密量取“2.1.2”项下溶液1 mL，置100 mL量瓶中，用2%SDS-pH 6.8磷酸盐缓冲液溶解并稀释至刻度，摇匀，作为对照品溶液。

2.1.4 空白辅料溶液的制备 精密称取生产厂家处方中所有辅料，按“2.1.1”项下方法，以2% SDS-pH 6.8磷酸盐缓冲液稀释成1倍空白辅料浓度的溶液，振摇溶解，经0.45 μm滤膜过滤，取续滤液即得。

2.1.5 色谱条件与系统适用性试验 Agilent ZORBAX SB-C₁₈(4.6 mm×150 mm, 5 μm)；流动相：20 mmol·L⁻¹的乙酸铵溶液(冰醋酸调节pH 5.0)-乙腈(45:55)；流速：1.0 mL·min⁻¹；检测波长：265 nm；进样量：100 μL；柱温：30℃。理论板数按比沙可啶计均≥2 000，比沙可啶与相邻杂质峰分离度应>1.5。

2.1.6 溶出介质 取A企业样品(批号：140102)12片，分别先在盐酸溶液(9→1000)中检查2 h，均未出现裂缝、崩解或软化等现象。再按“2.1”项下方法分别加入2%SDS的pH 6.8磷酸盐缓冲液、pH 6.0磷酸盐缓冲液、水1 000 mL为溶出介质，采用浆法^[8]，转速75 r·min⁻¹，温度(37±0.5)℃，分别在5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360 min取溶液5 mL，过滤，按“2.1.5”项下色谱条件测定并计算释放度，见图1。结果显示，比沙可啶在2% SDS-pH 6.8磷酸盐缓冲液

中，释放行为较好。且在中国药典中最常选用pH 6.8磷酸盐缓冲液考察肠溶制剂释放度。因此，本研究选择2% SDS-pH 6.8磷酸盐缓冲液作为溶出介质。

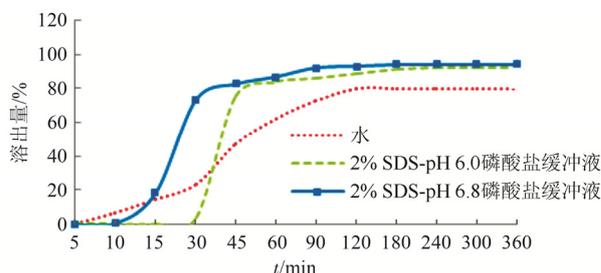


图1 3种介质中溶出曲线

Fig. 1 Dissolution curves in three dissolution mediums

2.1.7 表面活性剂 比沙可啶难溶于水，在pH 6.8磷酸盐缓冲液、pH 6.0磷酸盐缓冲液、水3种溶出介质中，均未添加表面活性剂。结果释放度仅为20%~30%。依据文献[8-9]，拟定释放度质量标准时，在结果不理想的情况下，可适度加入表面活性剂。选用最常用的表面活性剂SDS，加入量以0.05%至3.0%依次考察。结果发现，加入量为2.0%时，释放量即能满足释放基本要求，又未超过拟定质量标准中最极端条件。因此，表面活性剂加入量拟定为2.0%SDS。

2.1.8 转速 根据文献[8]，浆法一般选用50~75 r·min⁻¹的转速。在低转速的情况下，比沙可啶释放量较低，而过高的转速不仅会降低不同溶出性能制剂的区分力，也会降低体内相关性^[5]。因此，转速选择75 r·min⁻¹。

2.1.9 溶出时间及限度 结合中国药典2015年版(四部)通则0931^[2]，制定本品的溶出度限度为45 min时，溶出量为标示量的70%。

2.2 释放度测定方法的验证

2.2.1 专属性 分别取空白辅料溶液、对照品溶液及样品溶液，分别按“2.1.5”项下色谱条件测定，其液相色谱图显示辅料对释放度测定基本无干扰。见图2。

2.2.2 线性关系 精密量取对照品贮备液0.2, 0.5, 1, 2和3 mL，各置100 mL量瓶中，用2%SDS-pH 6.8磷酸盐缓冲液溶解并稀释至刻度，摇匀，分别进样。以浓度(C)为横坐标，峰面积(A)为纵坐标，进行线性回归，得回归方程 $A=1.12 \times 10^6 C-$

3.18×10^5 , $r=0.9999$ ($n=6$)。结果表明在 $1.0 \sim 15 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好。

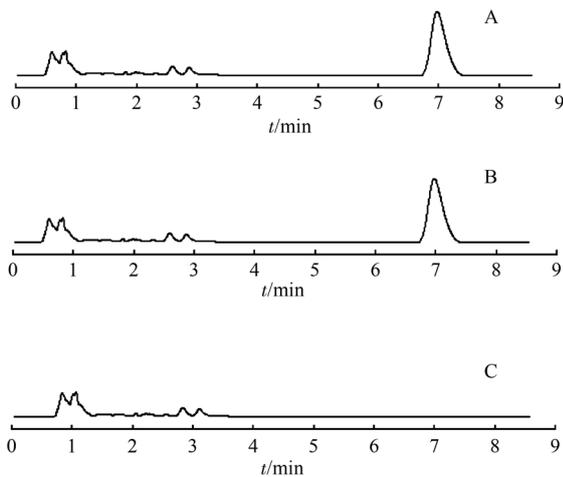


图2 专属性考察色谱图

A-对照品溶液; B-供试品溶液; C-空白辅料溶液。

Fig. 2 The specificity HPLC chromatograms

A-standard solution; B-sample solution; C-blank.

2.2.3 回收率 精密称取比沙可啶对照品 10, 12.5, 15 mg, 各 3 份, 再分别置 25 mL 量瓶中, 加入处方比例的其他辅料, 加 2%SDS-pH 6.8 磷酸盐缓冲液溶解并定容, 摇匀。精密量取续滤液 1 mL, 置 100 mL 量瓶中, 加上述溶液定容, 摇匀。按“2.1.5”项下方法测定, 计算回收率。结果平均回收率为 100.4%, RSD 为 0.8% ($n=9$)。

2.2.4 重复性 按“2.1.1”项下方法平行配制 6 份供试品溶液, 按“2.1.5”项下色谱条件分别进样, 测定峰面积。结果比沙可啶峰面积的 RSD 为 0.52%, 表明方法重复性良好。

2.2.5 稳定性 取“2.1.1”项下供试品溶液, 于室温下放置, 分别于 0, 4, 8, 12, 24 h 进样。测定峰面积。结果显示, 供试品溶液峰面积 RSD 为 0.38%, 表明供试品溶液在室温放置 24 h 稳定性良好。

2.2.6 耐用性 取供试品溶液, 按“2.1.5”项下条件, 考察供试品溶液改变色谱柱及色谱柱柱温 (25, 30 °C) 对分析结果的影响。结果表明, 在上述不同条件下, 峰面积的 RSD 为 0.43%。

2.2.7 释放度测定 取 3 批样品, 按“2.1.1”项下方法分别制备供试品溶液, 进行溶出度测定, 结果 A 厂家 3 批样品 45 min 内比沙可啶溶出度分别为 83%, 81%, 79%。B 厂家 3 批样品 45 min

内比沙可啶肠溶片的溶出度分别为 56%, 59% 和 61%。

3 讨论

溶出度试验在评价口服固体制剂内在品质方面发挥着崩解时限难以替代的重大作用。现今, 该试验具有为建立体内相关性而设立的宗旨, 且已成为证明药物体内释放特性的一种简单、廉价而不失严谨的实验室检测方法^[9]。

3.1 质量标准中溶出度方法的制定

质量标准检测样品溶出度, 仅是一种介质, 一个时间点, 一个限度, 应尽量考虑测定的方便, 使其操控性良好。但对于肠溶制剂, 如比沙可啶肠溶片等, 肠溶衣及片芯辅料较易干扰紫外测定。因此, 本实验建立了专属性强、精密度高、准确度好的高效液相色谱法测定比沙可啶肠溶片溶出度。结果表明, 该方法适合检测比沙可啶肠溶片溶出度。

3.2 溶出介质的选择

本实验研究的剂型为肠溶制剂, 而 pH 6.8 磷酸盐缓冲液被认为是最接近人体小肠环境的。因此, 在不存在特殊情况时, 仍选择 pH 6.8 磷酸盐缓冲液作为溶出介质。

3.3 表面活性剂添加的原因

比沙可啶, 化学名称为 4,4'-(2-吡啶亚甲基)-二苯酚醋酸酯。为白色或类白色结晶性粉末。本品在氯仿中易溶, 在丙酮中溶解, 在乙醇或乙醚中微溶, 在水中不溶。且比沙可啶临床上主要作用之一为腹部 X 射线检查或内镜检查前清洁肠道使肠道排空, 以及手术前后清洁肠道用。需此类治疗的患者多数为中老年人, 该类患者体内存在胆碱类物质, 可用表面活性剂表达^[9]。

3.4 崩解时限与溶出度结果比较

2 企业 6 批样品崩解时限均合格, 而溶出度结果差异较大。由此可见, 对药物体外研究, 不应仅停留在是否能够崩解的程度, 应更加深入地检测出样品溶出的程度甚至是溶出的行为、溶出曲线等。而溶出度也已成为体现口服固体制剂内在品质的一种外在表现, 成为仿制药研发进程以及提高生物等效性试验成功率所必须进行的试验^[9]。

3.5 色谱条件与系统适用性试验依据

本实验在欧洲药典 2014 版^[10]比沙可啶原料有

关物质项下色谱条件基础上,采用了更适合检测条件的乙酸铵及冰醋酸。结果显示,该色谱条件不仅适合检测比沙可啶有关物质,更能够满足肠溶制剂释放度的检查。

综上所述,崩解可认为是溶出的前提,但无法取代溶出度检测项目。而本实验也进行了相关方法学验证,结果准确合理。现国内外均已开展溶出度及溶出曲线、仿制药质量一致性评价等研究,应跟上时代的脚步,尽可能地开发固体制剂的溶出度研究,只有把握了这一原则,才能提高比沙可啶肠溶片溶出度的质量评价与控制水平,切实提高固体肠溶制剂内在品质,为监督用药安全提供科学数据,提升药物的安全性及有效性,较好地保证人民用药安全有效。

REFERENCES

[1] ZHANG J H, LIU Y H, LI J L. Synthesis of bisacodyl [J]. *Fine Chem Intermed*(精细化工中间体), 2012, 42(2): 30-32.

- [2] 中国药典. 二部[S]. 2015: 74-75.
- [3] LIU R S. Cisapride combined with bisacodyl and doxepin in treating functional constipation [J]. *Chin J New Drugs Clin Rem*(中国新药与临床杂志), 2002, 21(1): 26-27.
- [4] 沈立, 梅师祖, 韩光曙. 比沙可啶栓剂与片剂治疗便秘的临床比较[J]. *药学进展*, 1997, 21 (4): 237-239.
- [5] QIN B, TAN Z X, YIN G. Dissolution determination of Ketotifen Fumarate tablets [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2015, 32(1): 72-75.
- [6] HUANG H B, CHEN L F, WU D Y. HPLC Determination of the drug release of Glipizide Sustained Release capsules [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2006, 23(7): 653-655.
- [7] ZHAO X J, ZHAO W M. Preparation and investigation of *in vitro* release of Indomethacin cream [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2014, 31(11): 1362-1366.
- [8] XIE M F. How to develop and validate the dissolution test on the quality criteria [J]. *Chin J Pharm*(中国医药工业杂志), 2012, 43(3): A23-A32.
- [9] XUE M F, CAO H X. Problems in the dissolution test [J]. *Chin J Pharm*(中国医药工业杂志), 2006, 37(12): 859-862.
- [10] British Pharmacopoeia [EB/OL]. [2014-05-11]. <http://www.pharmacopoeia.gov.uk/>.

收稿日期: 2015-11-02