

HPLC 测定复方甘草酸苷片的溶出度

陈传莹¹, 单亮², 李强¹ (1.江西天施康中药股份有限公司, 江西 鹰潭 335000; 2.安徽新华学院药学院, 合肥 230088)

摘要: 目的 采用 HPLC 测定复方甘草酸苷片中甘草酸单铵的溶出度。方法 采用 Kromasil 100A C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以 2% 的醋酸-乙腈 (65:35) 为流动相; 检测波长为 254 nm; 流速为 1.0 mL·min⁻¹。结果 甘草酸单铵在 80~800 μg·mL⁻¹ 范围内有良好的线性关系 ($r = 0.999\ 9$), 平均加样回收率为 98.74%, RSD 为 0.9%。结论 该法简便可靠, 精密度高, 分离度好, 可用于复方甘草酸苷片的溶出度测定。

关键词: 高效液相色谱法; 复方甘草酸苷片; 溶出度

作者简介: 陈传莹, 女, 工程师 Tel: 13805780968 E-mail: lq888@126.com

Determination of Dissolution of Compound Glycyrrhizin Tablets by HPLC

CHEN Chuanying¹, SHAN Liang², LI Qiang¹ (1.Jiangxi Herbi-sky Co., Ltd, Yingtan 335000, China; 2.Anhui Xinhua College, Hefei 230088, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop an HPLC method for the determination of dissolution of compound glycyrrhizin tablets.

METHODS The analytical column was a shim-pack Kromasil 100A C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm). The mobile phase consisted of 2% acetic acid solution-acetonitrile (35 : 65). The detection wavelength was 254 nm, and the flow-rate was 1.0 mL·min⁻¹.

RESULTS Ammonium glycyrrhizinate showed good linear relationship at the range of 80-800 μg·mL⁻¹ ($r=0.999\ 9$). The average recovery was 98.74%, RSD 0.9%. **CONCLUSION** The results showed that this method was reliable and accurate, and can be used for dissolution of compound glycyrrhizin tablets.

KEY WORDS: HPLC; compound glycyrrhizin tablets; dissolution

复方甘草酸苷片是由豆科植物甘草提取出的甘草酸单铵、甘氨酸和蛋氨酸经加工而成的片剂,其主要成分为甘草酸单铵,临床上主要用于治疗慢性肝病,改善肝功能异常^[1]。复方甘草酸苷片中甘草酸单铵的溶出方法尚未见报道,本实验建立 HPLC 测定复方甘草酸苷片中甘草酸单铵溶出度,该法快速,准确,专属性强。

1 仪器与药品

岛津高效液相色谱仪(泵 LC-10AT; 检测器 SPD-10A, 浙大 N-2000 色谱工作站); 色谱柱: Kromasil 100A C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); ZRS-8G 智能溶出试验仪(天津大学无线电厂)。

甘草酸单铵对照品(批号: 20040811, 由甘草酸单铵原料精制而成, 含量为 99.05%, 有关物质为 0.57%)。

复方甘草酸苷片供试样品(规格: 甘草酸单铵 25 mg、甘氨酸 25 mg、蛋氨酸 25 mg; 批号: 20041215、20041219、20041223)

复方甘草酸苷片上市样品(规格: 甘草酸单铵 25 mg、甘氨酸 25 mg、蛋氨酸 25 mg; 进口药品注册证号: H20030184; 生产批号: 2004018; 生产单位: 日本美能发源制药公司)。

2 方法与结果

2.1 溶出条件的初选

参照中国药典 2005 年版二部, 结合本品原料在水溶液中溶解的特性, 初步选择溶出度测定法(第三法), 水为溶出介质。

2.2 溶剂的选择

分别选用 0.1 mol·L⁻¹ 盐酸 100 mL、水 100 mL 为溶剂, 按溶出度测定法(第三法)操作, 采用 HPLC 测定溶出度。对 20041215 批号样品进行溶出度测

定, 结果表明, 甘草酸苷在水中的平均溶出度为 84.04%, 在 0.1 mol·L⁻¹ 盐酸中的平均溶出度为 87.53%, 用水作为溶剂和用 0.1 mol·L⁻¹ 盐酸作为溶剂, 均能够将甘草酸苷完全溶出, 且溶出均一性好。选用水 100 mL 作为溶出溶剂。

2.3 溶出度测定法

取本品, 照溶出度测定法(中国药典 2005 年版二部附录 X C 第三法), 以水 100 mL 为溶剂, 转速为 100 r·min⁻¹, 依法操作, 经 45 min 取样, 滤过, 取续滤液, 作为供试品溶液。另取 105 °C 干燥至恒重的复方甘草酸单铵对照品适量, 加水溶解并同法稀释成每 1 mL 中约含 250 μg 的溶液, 作为对照品溶液。HPLC 测定溶出度。限度为标示量的 70%, 符合规定。

2.4 色谱条件

色谱柱: Kromasil 100A C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 2%醋酸-乙腈(65 : 35); 检测波长: 254 nm; 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 进样量: 20 μL。注入色谱仪, 记录色谱图及峰面积, 见图 1。

2.5 空白处方的影响

分别称取复方甘草酸苷片中的除甘草酸单铵的各原辅料, 加水溶解后分别过滤, 取续滤液, 照 HPLC 测定, 并记录液相图谱, 见图 1。结果各原辅料在甘草酸单铵峰处无吸收, 表明本品空白处方对其溶出度测定无影响。

2.6 标准曲线及线性范围试验

取甘草酸单铵对照品适量, 用水制成每 1 mL 中各含 80, 160, 320, 480, 800 μg 的溶液, 分别量取 20 μL, 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 以进样浓度(C)和甘草酸单铵峰峰面积(A)计算直线回归方程, 并绘制标准曲线, 得回归方程为 $A=17\ 696\ C$

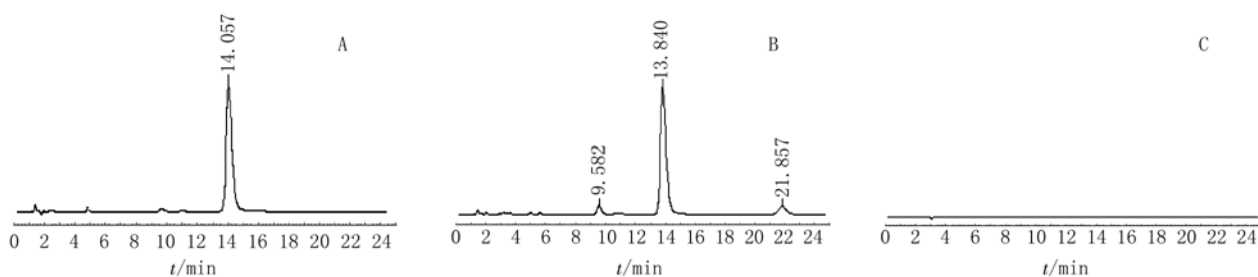


图1 高效液相色谱图

A-对照品; B-样品; C-空白处方; 1-甘草酸单铵

Fig 1 HPLC chromatograms

A-standard substances; B-sample solution; C-negative sample; 1-ammonium glycyrrhizinate

+113 064($r=0.999\ 9$), 结果表明甘草酸单铵在 $80\sim 800\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 呈良好的线性关系^[2]。

2.7 日内精密性试验

取复方甘草酸苷片, 按“2.3”项下方法试验, 经 45 min 取样, 滤过, 取续滤液, 连续进样 6 次, 计算溶液的精密性, 结果 RSD 为 2.2%。说明日内精密性良好^[3]。

2.8 日间精密性试验

取复方甘草酸苷片, 按“2.3”项下方法试验, 经 45 min 取样, 滤过, 取续滤液, 连续 5 d 内进样 5 次, 计算溶液的精密性, 结果 RSD 为 2.4%。说明日间精密性良好。

2.9 溶液稳定性试验

取复方甘草酸苷片, 按“2.3”项下方法试验, 经 45 min 取样, 滤过, 取续滤液, 室温放置, 分别于 0, 2, 4, 8, 12 h 进样, 计算溶液的稳定性。结果甘草酸苷含量 RSD 为 1.5%。表明供试品溶液在 12 h 内基本稳定^[4]。

2.10 回收率试验

取甘草酸单铵对照品约 10, 25, 35 mg 各 2 份, 精密称定, 分置 100 mL 量瓶中, 并同时称取处方的空白辅料分置量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 滤过。注入 HPLC, 计算回收率, 结果见表 1。结果表明: 本方法的回收率结果符合规定。

表1 回收率实验结果($n=6$)

Tab 1 Result of recovery test ($n=6$)

加入量 /mg	测得量 /mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
10.08	10.07	99.90	98.63	1.12
10.08	9.78	97.02		
25.02	24.52	98.00		
25.02	24.54	98.08		
35.04	34.81	99.34		
35.04	34.85	99.45		

2.11 溶出速率试验和溶出均一性试验

取样品(批号: 20041215), 照溶出度测定法(第三法)操作, 以水 100 mL 为溶剂, 转速为 $100\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$, 分别在 5, 10, 15, 30, 45, 60 min 取样, 滤过, 取续滤液, 作为供试品溶液。用 HPLC 测定甘草酸单铵的含量, 计算每片在不同时间的溶出量。取样同时及时补充同等体积的溶出介质。结果见表 2。

表2 溶出度平行实验结果

Tab 2 Results of dissolution homogeneity test

序号	时间/min					
	5	10	15	30	45	60
1	34.91	59.92	62.00	67.80	85.58	100.94
2	52.79	57.39	62.36	66.97	86.03	99.27
3	52.23	58.43	61.15	70.54	93.53	98.46
4	48.01	60.67	61.23	72.75	95.73	97.90
5	52.83	55.91	61.52	65.09	93.09	99.31
6	38.08	56.19	59.24	68.43	89.31	102.47
平均值	40.55	51.22	54.65	63.08	84.04	94.05
SD	17.29	18.26	17.51	14.79	17.64	15.09

由以上结果可以看出, 本品在 45 min 内能够完全溶出, 因此拟订取样时间为 45 min; 另样品溶出均一性较好, 表明本品的工艺稳定。

2.12 3 批样品及上市样品溶出度的测定

取本品及上市样品, 照溶出度测定法(中国药典 2005 年版二部附录 X C 第三法), 以水 100 mL 为溶剂, $100\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$, 依法操作, 经 45 min 取样, 滤过, 取续滤液, 作为供试品溶液。用 HPLC 测定甘草酸苷的含量, 计算出每片的溶出量。测定样品 3 批及市售复方甘草酸苷片, 结果见表 3, 均符合规定, 且本实验采用相似因子法对溶出度数据进行分析, 相似因子 f_2 均在 50 与 100 之间, 表示两制剂的溶出度曲线相似。

表 3 3 批样品的溶出度实验结果(%)

Tab 3 Dissolution of the three batches of samples results(%)

序号	20041215	20041219	20041223	上市样品
1	85.58	85.80	87.36	99.68
2	86.03	91.12	90.54	98.86
3	93.53	90.39	84.72	100.27
4	95.73	91.27	90.51	101.97
5	93.09	85.52	86.65	98.86
6	89.31	83.76	85.96	99.53
平均值	84.04	87.98	87.62	99.86

3 结果与讨论

本实验在转速的选择上分别考察了 50, 100 和 150 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$, 发现转速在 50 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 时溶出度较低, 而 100 和 150 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 时溶出度结果均符合规定, 且结果相差较小, 因此将本实验的转速定为 100 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

本实验以水为溶出介质, 采用 HPLC 测定复方甘草酸苷片中甘草酸单铵的溶出度, 该法操作简便,

快速, 3 批样品溶出度测定结果均一性较好, 且均在标示量的 80% 以上。该法简便可靠, 精密度高, 分离度好, 可用于复方甘草酸苷片的溶出度测定。

REFERENCES

- [1] HE G X. Clinical therapeutic observation of kushenin plus compound Glycyrrhizin in the treatment of chronic type B hepatitis China [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2008, 33(4): 443-444.
- [2] FU Y H. Determination of ammonium glycyrrhizinate in compound glycyrrhizin injection by HPLC [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2006, 28(6): 913-914.
- [3] LI Y F, LI Z H, ZHU Z H. HPLC determination of glycyrrhizic acid in Chenxianglubailu tablets [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2008, 28(2): 304-305.
- [4] DU Q, CAI G M, XIA X H, et al. Determination of two components in compound propolis spray by HPLC simultaneous [J]. Pharm J Chin PLA (解放军药学报), 2008, 24(1): 67-69.

收稿日期: 2009-02-27