

清咽滴丸中没食子酸体外溶出度测定

李 强, 王 阳*, 王 倩, 王文娣, 刘晓丽, 张晓娟

天津中医药大学, 天津 300193

摘要: 目的 建立清咽滴丸中没食子酸溶出度的测定方法。方法 采用高效液相色谱法对没食子酸进行测定, 遴选溶出条件, 计算并绘制出没食子酸累积溶出曲线。采用浆法, 转速 100 r/min, 以蒸馏水为溶出介质。结果 没食子酸在 0.01~0.20 μg 线性关系良好 ($r=0.9999$), 样品回收率为 100.50%, RSD 为 1.60%。结论 本方法灵敏准确, 专属性强, 为该制剂的质量控制提供了良好保证。

关键词: 清咽滴丸; 没食子酸; 溶出度; 浆法; HPLC

中图分类号: R286.0; R287.7 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2011)03-0224-03

Dissolution test of gallic acid in Qingyan Dropping Pills *in vitro*

LI Qiang, WANG Yang, WANG Qian, WANG Wen-di, LIU Xiao-li, ZHANG Xiao-juan

Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To establish a method of dissolution determination of gallic acid in Qingyan Dropping Pills. **Methods** The content of gallic acid was determined by HPLC. The determination conditions of dissolution were selected, results were calculated, and cumulative dissolution curves were drawn. By slurry method, distilled water was taken as dissolution medium, at speed of 100 r/min. **Results** The linear range was of 0.01—0.20 μg for gallic acid and the correlation coefficient was 0.9999. The average recovery was 100.50% with RSD 1.60%. **Conclusion:** The method is simple, accurate, and could provide good guarantee for the quality control of the preparation.

Key words: Qingyan Dropping Pills; gallic acid; dissolution; slurry method; HPLC

清咽滴丸由薄荷、青黛、冰片、诃子、甘草、人工牛黄组成, 是治疗风热喉痹的常用药^[1-2]。方中诃子具有抗过敏、抗菌、抗病毒等功效, 没食子酸为诃子化学成分之一^[3]。清咽滴丸在体口腔黏膜给药与体内研究已有相关报道^[4]。本实验在此基础上继续考察清咽滴丸中没食子酸的体外释放, 为清咽滴丸中没食子酸体内外相关性研究提供数据。

1 仪器及试剂

高效液相色谱仪(美国 Waters515 泵, 2487 型紫外检测器), ZRS—8A 智能溶出试验仪(天津大学无线电厂), 清咽滴丸(天津中新药业天津第六中药厂, 批号 627051), 没食子酸对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 0785-0110), 甲醇(天津大学北方化工新技术开发公司), 其他试剂均为分析纯。

2 HPLC 方法学建立

2.1 色谱条件

采用依利特 C₁₈ODS (200 mm×4.6 mm, 5 μm)

色谱柱; 流动相为甲醇-0.1%的磷酸水溶液(5:95)^[5], 体积流量 1 mL/min, 检测波长 220 nm^[6], 进样量 20 μL 。色谱图见图 1。

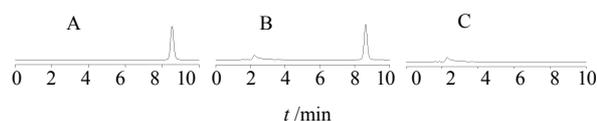


图 1 没食子酸对照品(A)、清咽滴丸(B)和阴性对照(C) HPLC 图

Fig. 1 HPLC chromatograms of gallic acid reference substance (A), Qingyan Dropping Pills (B), and negative sample (C)

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品储备液的制备 精密称取没食子酸对照品 5.0 mg, 置 50 mL 棕色量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 制成质量浓度为 100 mg/L 的对照品溶液, 放入冰箱保存。

收稿日期: 2011-03-15

基金项目: 天津市高等学校科技发展基金计划项目(20060302)

作者简介: 李 强(1982—), 山东省胶南人, 研究方向为中药制剂。Tel: 15063035791 E-mail: qianglibox@yahoo.com.cn

*通讯作者 王 阳 Tel: 15095362116 E-mail: wangysjw@yahoo.com.cn

2.2.2 供试品溶液的制备 精密称取清咽滴丸 0.5 g (25 粒), 置 250 mL 磨口瓶中, 加入 250 mL 蒸馏水, 超声波提取 45 min, 定性滤纸滤过, 定容至 250 mL, 即得。

2.2.3 阴性对照溶液的制备 将缺诃子药材的阴性制剂按处方量依照供试品制备方法制成阴性对照溶液。

2.3 线性关系考察

取对照品储备液 0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 mL 分别放置于 100 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 配制成质量浓度为 0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 $\mu\text{g/mL}$ 的系列溶液, 分别进样 20 μL 测定峰面积, 以没食子酸的峰面积 (Y) 对质量浓度 (X) 进行线性回归, 得回归方程为 $Y=1.238 \times 10^5 X - 3.392 \times 10^4$, $r=0.9999$, 表明没食子酸在 0.01~0.20 μg 线性关系良好。

2.4 精密度试验

取质量浓度 4.0 $\mu\text{g/mL}$ 的没食子酸对照品溶液分别连续进样 5 次, 每次进样 20 μL , 测定没食子酸峰面积, 结果 RSD 为 1.1%。

2.5 稳定性试验

取批号 627051 供试品溶液, 分别于 0、2、4、6、8 h 进样 20 μL , 测定没食子酸峰面积, 结果 RSD 为 1.2%, 表明没食子酸在 8 h 内稳定。

2.6 加样回收率试验

取批号 627051 清咽滴丸 9 份, 25 粒/份, 含没食子酸 39.50 μg /粒, 平均分为 3 组, 分别加入没食子酸对照品 0.790、0.988、1.119 mg, 制备供试品溶液, 测定, 计算回收率。结果平均加样回收率为 100.50%, RSD 为 1.60%。

3 溶出度测定

3.1 溶出条件的选择^[7-8]

3.1.1 篮法与浆法的比较 每个溶出杯滴丸加入量为 1.0 g (50 粒), 溶剂为 500 mL 蒸馏水, 温度为 $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$, 转速 100 r/min, 分别采用篮法和浆法, 于 5、10、20、30、45、60 min 取样, 进行溶出度测定, 结果浆法快于篮法。见图 2。

3.1.2 溶剂的选择 采用浆法, 温度 $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$, 转速 100 r/min, 溶剂选择蒸馏水和人工胃液 (按《中国药典》2010 年版二部附录 X A 制备) 各 500 mL, 采样时间及样品加入量同 3.1.1, 进行溶出度试验, 结果表明两种溶剂无显著性差异, 故选用简单的蒸馏水为溶剂, 见图 3。

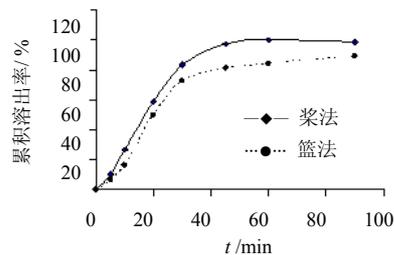


图 2 不同溶出方法累计溶出率比较

Fig. 2 Comparison of accumulated dissolution rates by different methods

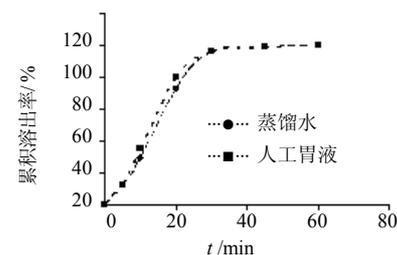


图 3 不同溶剂累积溶出率比较

Fig. 3 Comparison of accumulated dissolution rates in different solvents

3.1.3 转速的选择 采用浆法, 溶剂为 500 mL 蒸馏水, 温度 $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$, 分别采用转速 100、75、50 r/min, 取样时间点及样品加入量同 3.1.1, 结果表明转速为 100 r/min 时, 没食子酸的溶出较快且完全, 见图 4。

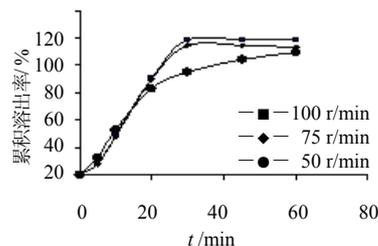


图 4 不同转速累积溶出率比较

Fig. 4 Comparison of accumulated dissolution rates at different speeds

3.2 溶出度的测定

参照《中国药典》2010 年版二部附录 X C 第二法浆法, 溶剂为 500 mL 蒸馏水 (脱气), 温度 $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$, 转速 100 r/min, 将清咽滴丸放入溶出杯中, 各 1.0 g (50 粒), 自滴丸接触水开始计时, 于 5、10、20、30、45、60、90、120 min 定时取样。每次取 5 mL 滤过后测峰面积, 随即补加同温、同体积的蒸馏水, 计算不同时间的累积溶出率。计算方法如下:

$$F_d = F_t / F_\infty \times 100\%$$

F_d : 累积溶出率; F_t : t 时间累积溶出质量浓度; F_∞ : 完全溶

出浓度

连续测定 3 批(批号 627050、627051、627052), 结果见图 5。采用 Weibull 分布方程拟合提取溶出参数^[9], $t_{50}=(12.96 \pm 0.9)$ min, $t_d=(16.51 \pm 0.3)$ min。

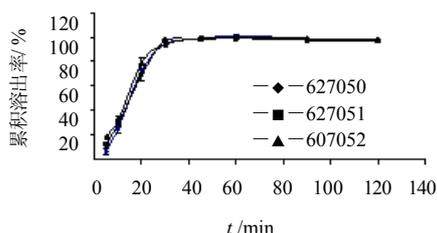


图 5 没食子酸溶出度曲线

Fig. 5 Dissolution curves of gallic acid

4 讨论

有文献^[10]报道用 50% 甲醇溶液提取没食子酸效果比较好。笔者试用纯甲醇和低体积分数甲醇提取, 虽然提取率略高, 但是峰形比较差。同样在绘制标准曲线过程中, 笔者曾采用甲醇、50% 甲醇和流动相来稀释对照品, 但效果均很不理想, 特别是纯甲醇溶液对没食子酸的峰型影响较大。而采用纯水稀释效果比较好。

曾用 15、30、45、60 min 作为没食子酸的超声提取时间, 发现 45 min 之后供试品没食子酸的质量浓度几乎不变, 建议使用 45 min 作为提取时间。

文献报道没食子酸在 220、270 nm 有最大吸收峰^[11], 但是 220 nm 没食子酸的吸收强度更大, 灵

敏度比较高, 且峰周围无干扰, 所以采用 220 nm 作为吸收波长。

参考文献

- [1] 姜玉凤, 许 岚, 边兴坤, 等. HPLC 法测定清咽滴丸中胆红素的含量 [J]. 中草药, 2004, 35(4): 411-412.
- [2] 张铁军, 韩世柳, 田成旺, 等. 清咽滴丸极性成分的高效液相指纹图谱及其模式识别的研究 [J]. 中草药, 2010, 41(8): 1282-1285.
- [3] 蔡小华, 谢 兵, 杜海军. 诃子化学成分及药理作用的研究进展 [J]. 药学进展, 2008, 32(5): 212-213.
- [4] 刘晓丽, 李 强, 王文娣, 等. 清咽滴丸中没食子酸的口腔黏膜吸收与大鼠体内药动学研究 [J]. 时珍国医国药, 2010, 21(12): 3198-3199.
- [5] 徐小平, 王 曙, 黄 英. HPLC 测定四种藏药中没食子酸的含量 [J]. 华西药学杂志, 2003, 18(6): 448-450.
- [6] 徐东辉, 古星妙, 周欣欣. HPLC 法测定宫炎平分散片中没食子酸的含量 [J]. 中国新药与临床药理, 2006, 17(4): 277-279.
- [7] 中国药典 [S]. 二部. 附录 X C. 2010.
- [8] 宋燕玲, 席志芳, 杨晓莉, 等. HPLC 法测定复方氨苄西林/丙磺舒胶囊溶出度 [J]. 中国抗生素杂志, 2003, 28(11): 656-658.
- [9] 邱家学. 充分利用 EXCEL 数据处理功能巧算 Weibull 分布位置参数 [J]. 药学进展, 2004, 28(10): 464-466.
- [10] 潘国庆, 卢永昌, 德吉措姆. HPLC 法测定藏成药七味诃子散中没食子酸 [J]. 中草药, 2006, 37(9): 1350-1351.
- [11] 周 萍. 高效液相色谱法测定生诃子及炒诃子中没食子酸含量 [J]. 时珍国医国药, 2001, 12(4): 291.