

# HPLC 测定罗红霉素软胶囊的溶出度

张传学<sup>1</sup>, 王建<sup>2\*</sup> (1.浙江省武义县第一人民医院药剂科, 浙江 武义 321200; 2.浙江省食品药品检验研究院, 杭州 310004)

**摘要:** 目的 采用 HPLC 测定罗红霉素软胶囊的溶出度。方法 以醋酸盐缓冲液(pH 5.5)为溶出介质, 浆法, 转速为 100 r·min<sup>-1</sup>, 60 min 时取样, 取样后采用 HPLC 测定。结果 罗红霉素在 0.02~0.2 mg·mL<sup>-1</sup> 内呈良好的线性关系( $r=0.999\ 9$ ), 罗红霉素软胶囊的平均回收率为 100.1%(RSD=0.6%), 溶出液稳定, 3 批软胶囊在 60 min 时平均溶出度均在 75%以上并且有较好的均一性。结论 该法可用于罗红霉素软胶囊溶出度的测定。

**关键词:** 罗红霉素软胶囊; 溶出度; 高效液相色谱法

中图分类号: R917.4 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2013)03-0303-04

## Determination of the Dissolution of Roxithromycin Soft Capsules by HPLC

ZHANG Chuanxue<sup>1</sup>, WANG Jian<sup>2\*</sup> (1.Department of Pharmacy, the First People's Hospital of Wuyi, Wuyi 321200, China; 2.Zhejiang Institute for Drug Control, Hangzhou 310004, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To determine the dissolution of roxithromycin soft capsules by HPLC. **METHODS** The dissolution medium was acetate buffer (pH 5.5). Apparatus 2 was used with 100 r·min<sup>-1</sup>. The dissolution medium was taken and analyzed by HPLC at 60 minutes. **RESULTS** It showed that the standard curve was linear in the range of 0.02–0.2 mg·mL<sup>-1</sup>( $r=0.999\ 9$ ). The average recovery was 100.1%(RSD=0.6%) for roxithromycin soft capsules. The dissolutions of soft capsules from three batches were over 75%. **CONCLUSION** The established method can be used for determination of roxithromycin soft capsules dissolution.

**KEY WORDS:** roxithromycin soft capsules; dissolution; HPLC

罗红霉素为大环内酯类抗生素<sup>[1]</sup>, 罗红霉素软胶囊现行标准是国家食品药品监督管理局标准(试行)YBH05172010, 国外药典未收载。国家食品药品监督管理局标准 YBH05172010 中罗红霉素软胶囊的溶出度检查方法用硫酸显色, 缺乏专属性, 且硫酸质量影响显色的结果。将硫酸显色改为用荷移比色法, 试验结果也不理想。参考同类药的相关文献<sup>[2-4]</sup>, 笔者为中国药典 2010 年版二部起草了罗红霉素片、胶囊、颗粒和干混悬剂的溶出度测定方法<sup>[5]</sup>, 将硫酸显色法改为用专属性强的 HPLC, 在此基础上, 本实验进一步研究建立了罗红霉素软胶囊的溶出度测定方法。国家食品药品监督管理局标准 YBH05172010 中罗红霉素软胶囊的溶出度检查用的溶出介质为 0.01 mol·L<sup>-1</sup> 盐酸溶液, 经试验罗红霉素在 0.01 mol·L<sup>-1</sup> 盐酸溶液中不稳定, 因此试验了新的溶出介质。进行了方法学验证, 并用所建立的方法测定了浙江维康药业有限公司产品的溶出度, 为国家药品标准修订罗红霉素软胶囊溶出度检查方法提供科学依据。

## 1 仪器与试剂

ZRS-8B 智能型药物溶出仪(天津大学); Agilent1100 液相色谱仪(包括在线真空脱气机, 四元泵自动进样系统, 美国 Agilent 公司)。

水为蒸馏水; 乙腈为色谱纯; 醋酸钠和磷酸二氢铵为分析纯。罗红霉素对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 130577-201103, 含量: 94.70%); 罗红霉素软胶囊(浙江维康药业有限公司, 规格: 0.15, 批号: A110301, A110302, A110303)。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶出度测定方法

取本品(内容物如有沉降现象, 试验前用力振摇, 使内容物混悬均匀), 照溶出度测定法(附录 X C 第二法), 以醋酸盐缓冲液(pH 5.5) (取 0.04 mol·L<sup>-1</sup> 醋酸钠溶液, 用冰醋酸调节 pH 值至 5.5) 900 mL 为溶出介质, 转速为 100 r·min<sup>-1</sup>, 依法操作, 经 60 min 时, 取溶液, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液; 另取罗红霉素对照品适量, 精密称定, 用上述溶出介质溶解并稀释制成 0.16 mg·mL<sup>-1</sup>

基金项目: 国家药典委员会国家药品标准提高研究项目(国药典化发[2010]84 号)

作者简介: 张传学, 男, 副主任药师 Tel: (0579)87641919 E-mail: wyxzh@sohu.com \*通信作者: 王建, 男, 博士, 主任药师, 博导 Tel: (0571)86459458 E-mail: wangjianhw2000@yahoo.com.cn

的溶液, 作为对照品溶液。按“2.2”项下色谱条件, 精密量取上述两种溶液各 20  $\mu\text{L}$ , 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 按外标法以峰面积计算出每粒的溶出量。限度为标示量的 70%, 应符合规定。如不符合规定, 应以含胰酶(每 1mL 中含胰蛋白酶不少于 0.08 活性单位、胰淀粉酶不少于 1.1 活性单位和胰脂肪酶不少于 0.4 活性单位)的醋酸盐缓冲液(pH 5.5)为溶出介质, 按上述方法重新试验, 应符合规定。

## 2.2 色谱条件<sup>[2]</sup>

色谱柱: 岛津 Shim VP-ODS(4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu\text{m}$ )柱; 流动相: 0.067 mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 磷酸二氢铵溶液(用三乙胺调节 pH 值至 6.5)-乙腈(65 : 35); 流速: 1.0 mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>; 检测波长: 210 nm; 进样量: 20  $\mu\text{L}$ 。

## 2.3 溶出度方法学试验

**2.3.1 线性关系** 取罗红霉素对照品适量, 精密称定, 用醋酸盐缓冲液(pH 5.5)溶解并稀释制成系列浓度溶液, 按“2.2”项下色谱条件测定。结果回归方程:  $A = -0.355 + 1.827C$ , 相关系数  $r = 0.9999$ , 试验表明, 对照品溶液浓度在 20~200  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  内与峰面积有良好的线性关系。

**2.3.2 辅料的干扰试验** 按处方比例, 制成不含主药的空白样品, 取适量辅料及胶囊壳, 加醋酸盐缓冲液(pH 5.5)适量, 超声振荡, 并稀释至规定浓度, 摇匀。滤过, 取滤液按“2.2”项下色谱条件测定, 结果辅料及胶囊壳无干扰。

**2.3.3 回收率试验** 按处方比例, 分别精密称取相当于样品标示量的 50%, 75%, 100%的罗红霉素对照品及相应量的空白辅料、胶囊壳, 加醋酸盐缓冲液(pH 5.5)适量, 振摇使罗红霉素溶解, 并加醋酸盐缓冲液(pH 5.5)至规定浓度, 摇匀, 滤过, 按“2.2”项下色谱条件测定, 对本法的准确性进行考察。结果平均回收率为 100.1%(RSD=0.6%)。

**2.3.4 精密度试验** 取同一批号样品 6 份, 加醋酸盐缓冲液(pH 5.5)溶解并定量稀释后, 按“2.2”项下色谱条件测定, 结果 RSD 为 0.5%。

**2.3.5 溶液的稳定性** 取罗红霉素对照品溶液, 照上述测定方法, 于 0, 3, 8 h 测定, 结果 RSD 为 0.21%, 溶液在 8 h 内稳定。

**2.3.6 溶出曲线的绘制** 取本品, 照溶出度测定法(中国药典 2010 年版二部附录 X C 第二法), 以醋酸盐缓冲液(pH 5.5)为溶出介质, 转速为 100

r  $\cdot$  min<sup>-1</sup>, 依法操作, 在 15, 30, 45, 60, 75 min 时, 分别取溶液 5 mL, 滤过, 并及时在操作容器中补充上述溶剂 5 mL。另取罗红霉素对照品适量, 精密称定, 用上述溶出介质溶解并稀释制成 0.16 mg  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> 的溶液, 作为对照品溶液。按“2.2”项下色谱条件, 精密量取上述两种溶液各 20  $\mu\text{L}$ , 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 按外标法以峰面积计算出每粒的溶出量。结果见表 1 和图 1。根据溶出曲线试验结果, 将取样时间定为 60 min。

表 1 5 个时间点溶出度考察试验结果(n=6)

Tab 1 The results of five time points of the dissolution tests (n=6)

批号	溶出度/%				
	15 min	30 min	45 min	60 min	75 min
A110301	0	9.7	65.9	90.8	95.2
A110302	0.8	28.6	82.8	96.4	98.4
A110303	0	23.3	65.1	94.0	98.6

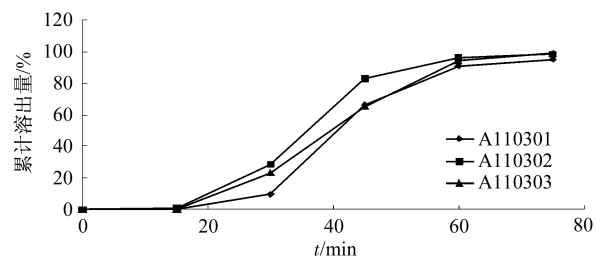


图 1 罗红霉素软胶囊溶出曲线

Fig 1 Dissolution curves of roxithromycin soft capsules

## 2.4 样品的溶出度测定结果

取浙江维康药业有限公司生产的罗红霉素软胶囊, 照确定的溶出度检查方法测定, 测得溶出度结果见表 2 和图 2。并与原方法测定结果对比, 结果基本一致。根据样品溶出度检查结果, 将溶出度检查限度定为 75%。

表 2 罗红霉素软胶囊溶出度测定结果

Tab 2 The dissolution results of roxithromycin soft capsules

批号	标准提高方法				原硫酸显色法			
	溶出度/%		平均溶出度/%		溶出度/%		平均溶出度/%	
A110301	95	93	81	91	98	83	97	98
	85	96	94		102	102	104	
A110302	97	98	101	96	103	100	104	100
	96	101	85		99	98	97	
A110303	97	100	87	94	103	104	103	101
	93	98	90		101	99	98	

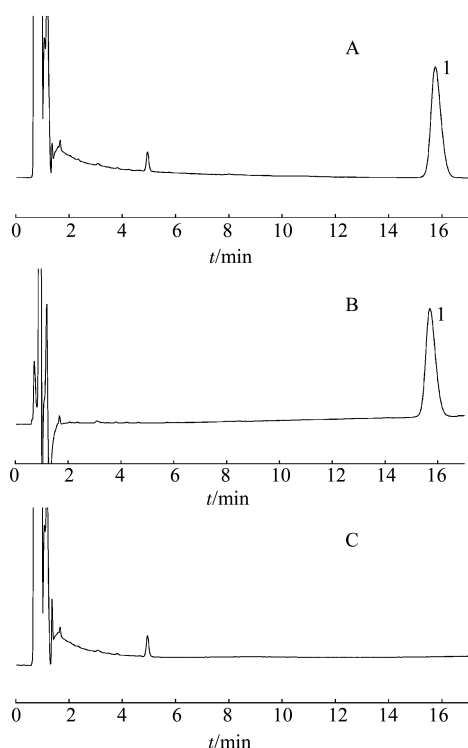


图2 溶出度检查样品(A)、对照品(B)和空白辅料(C)的色谱图

1-罗红霉素

Fig 2 HPLC chromatograms of roxithromycin soft capsules(A), reference substance(B) and blank(C) for the dissolution tests

1-roxithromycin

### 3 讨论

#### 3.1 溶出介质的选择

国家食品药品监督管理局 YBH05172010 标准中罗红霉素软胶囊溶出度检查用的溶出介质为  $0.01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  盐酸溶液, 经试验罗红霉素在  $0.01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  盐酸溶液中不稳定, 因此试验用新的溶出介质。罗红霉素在水中不溶, 在  $0.01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  盐酸溶液中溶解但不稳定, 参照同类药阿奇霉素和克拉霉素口服制剂溶出度检查用的溶出介质<sup>[2]</sup>, 选择用缓冲液作为溶出介质。试验了  $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  磷酸盐缓冲液(pH 6.0) 和  $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  醋酸盐缓冲液(pH 5.0), 结果用醋酸盐缓冲液较为理想。因此缓冲液选择用醋酸盐缓冲液。

#### 3.2 缓冲液 pH 值的选择

试验了 pH 值对溶出度的影响, 缓冲液 pH 值分别为 4.0, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 结果表明随着 pH 值的增大, 软胶囊容易崩解, 但罗红霉素的溶解度降低, 但 pH 值为 5.5 时, 罗红霉素软胶囊溶出度最大。因此缓冲液 pH 值选择用 5.5。

#### 3.3 缓冲液浓度的选择

试验了浓度对溶出度的影响, 缓冲液浓度分别为  $0.025, 0.038, 0.05, 0.075, 0.1, 0.2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 结果表明随着缓冲液浓度的增大, 软胶囊不易崩解, 但浓度为  $0.038 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时, 罗红霉素软胶囊溶出度最大。因此缓冲液浓度选择用  $0.04 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

#### 3.4 转速选择

比较了桨法转速为  $100 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  和转速为  $75 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  的溶出度, 结果表明, 转速为  $100 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ , 60 min 溶出可基本完全。考虑到软胶囊的剂型特点, 崩解较慢, 选择转速为  $100 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ , 60 min 取样。

罗红霉素软胶囊内容物为白色至淡黄色的混悬液。罗红霉素在水中几乎不溶, 在强酸性水溶液中易溶解, 但同时被酸开环分解。软胶囊在长期贮藏过程中内容物会沉降。由于大豆油和罗红霉素比重不同, 样品溶出过程软胶囊易上浮和不规则漂浮, 在溶出过程中软胶囊在溶出介质中易分成多个被薄薄一层软胶囊皮包裹的微球漂浮在液面上, 微球里大部分是罗红霉素, 微球外被油滴包裹着, 严重影响溶出量。如果将样品放入溶出杯之前, 将样品用力振摇, 使内容物混悬均匀, 将大大减少上述现象, 有利于药物溶出。

软胶囊在贮藏过程中, 因胶囊皮会出现胶联化和老化现象, 易导致囊壳溶胀不崩而导致不符合规定, 参照中国药典 2010 年版二部罗红霉素胶囊溶出度方法, 规定如不符合规定, 应以含胰酶(每 1 mL 中含胰蛋白酶不少于 0.08 活性单位、胰淀粉酶不少于 1.1 活性单位和胰脂肪酶不少于 0.4 活性单位)的醋酸盐缓冲液(pH 5.5)为溶出介质, 照上述方法重新试验, 应符合规定。

通过上述研究, 最终确定罗红霉素软胶囊溶出度检查的条件为: 桨法, 以醋酸盐缓冲液(pH 5.5) (取  $0.04 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  醋酸钠溶液, 用冰醋酸调节 pH 值至 5.5) 900 mL 为溶出介质, 转速为  $100 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ , 60 min 取样。

近效期样品(批号: 20100202), 用原方法检查溶出度, 6 粒中有 2 粒不崩解, 加胃蛋白酶后重新检查, 溶出度为 86%, 此批样品质量较差。样品用本方法检查, 溶出度不符合规定, 说明本法有区分性, 可区分出质量好的药品和质量差的药品, 可有效地控制产品质量。

## REFERENCES

- [1] WANG F, JIA F, GAO S Y. Determination of roxithromycin in plasma by LC-MS/MS and its application in the bioequivalence study [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2012, 29(12): 1128-1131.
- [2] Ch.P(2005) Volume II(中国药典 2005 年版.二部) [S]. 2005: 294, 233.
- [3] WANG S M, ZHOU S F, WANG C P. Study on the dissolution of roxithromycin capsules [J]. J Hebei Med Univ(河北医科大学学报), 2001, 22(1): 24-25.
- [4] ZHANG Y M, LIN L, CHEN Y P, et al. Study on the dissolubility of roxithromycin capsules and tablets from different manufactures [J]. Fujian Med J(福建医药杂志), 2005, 25(3): 105-107.
- [5] Ch.P(2010) Volume II(中国药典 2010 年版.二部) [S]. 2010: 462-466.

收稿日期: 2012-07-26

# 注射用克林霉素磷酸酯降压物质检查法的研究

刘骅(安徽省食品药品检验所, 合肥 230051)

**摘要:** 目的 建立注射用克林霉素磷酸酯降压物质检查法。方法 通过对注射用克林霉素磷酸酯与组织胺对照品引起麻醉猫血压下降程度比较的研究, 确定其降压物质检查法的限值。结果 注射用克林霉素磷酸酯降压物质检查限值确定为  $5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  较为合理。结论 注射用克林霉素磷酸酯降压物质检查拟定方法符合规定, 方法可行。

**关键词:** 注射用克林霉素磷酸酯; 降压物质检查法

中图分类号: R927.12 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2013)03-0306-03

## Study on the Depressor Substance Test of Clindamycin Phosphate Injection

LIU Hua(*Anhui Institute for Food and Drug Control, Hefei 230051, China*)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish the depressor substance test of Clindamycin Phosphate Injection. **METHODS** By investigating the regulating action of Clindamycin Phosphate Injection and histamine for the blood pressure in the anesthetic cats, the limit values were determined for Clindamycin Phosphate Injection. **RESULTS** The most suitable limit of test for depressor substances for Clindamycin Phosphate Injection was  $5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . **CONCLUSION** The setted method for Clindamycin Phosphate Injection will be available.

**KEY WORDS:** Clindamycin Phosphate Injection; depressor substance test

克林霉素磷酸酯(clindamycin phosphate)是一种通过化学半合成的克林霉素衍生物, 进入机体后迅速水解为克林霉素而显示其药理活性, 抗菌作用机制与大环内酯类抗生素相似<sup>[1]</sup>。由于抗菌谱广、吸收好、血药浓度高、组织分布好而广泛应用于临床。国内期刊<sup>[2-3]</sup>报道的不良反应主要为胃肠道反应和血压下降, 心电图变化和心跳、呼吸停止, 皮疹、水肿等。目前有克林霉素磷酸酯注射液和注射用克林霉素磷酸酯两种制剂, 现行标准中只对原料药进行了降压物质检查, 对制剂未做要求。笔者查阅了美国药典、欧洲药典、日本药典、英国药典, 发现目前国内与美国、欧盟的同行质量标准及有关检验方法有一些差异。国外对克林霉素磷酸酯降压物质、异常毒性均未做要

求, 在生物安全方面仅设热原检查项。为保障用药安全, 提高质量标准, 本实验参照中国药典 2010 年版二部附录中降压物质检查法, 对注射用克林霉素磷酸酯的降压物质检查法的必要性和可行性进行探讨, 以建立注射用克林霉素磷酸酯的降压物质检查法。

### 1 材料

#### 1.1 动物

猫, 2 只,  $2.0\sim 4.0 \text{ kg}$ , ♂, 购于南京青龙山动物养殖场。

#### 1.2 试药

注射用克林霉素磷酸酯(安徽 A 制药有限公司, 批号: 100801, 规格:  $0.3\text{g}\cdot\text{瓶}^{-1}$ ; 批号: 100802, 规格:  $0.6 \text{ g}\cdot\text{瓶}^{-1}$ ; 批号: 100805, 规格:  $0.9 \text{ g}\cdot\text{瓶}^{-1}$ 。