

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2019.12.05

伊维菌素吡喹酮咀嚼片溶出度方法的建立

杨 星,马秋冉,董玲玲,赵富华,于晓辉*

(中国兽医药品监察所,北京 100081)

[收稿日期] 2019-08-06 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2019) 12-0017-07 [中图分类号] S859.79

[摘 要] 为了建立同时测定伊维菌素吡喹酮咀嚼片两种主药溶出度的测定方法,采用高效液相色谱法测定在不同 pH 值溶出介质、不同浓度表面活性剂和不同转速的条件下伊维菌素吡喹酮咀嚼片两种主药的溶出曲线,确定了伊维菌素吡喹酮咀嚼片的溶出方法。结果显示,三批样品 45 min 时伊维菌素、吡喹酮两种主药的溶出度均大于 85%。建立的溶出度测定方法可用于伊维菌素吡喹酮咀嚼片溶出度的测定。

[关键词] 伊维菌素吡喹酮咀嚼片;溶出度;高效液相色谱法

Establishment of Dissolution Test Method of Ivermectin and Praziquantel Chewable Tablets

YANG Xing, MA Qiu-ran, DONG Ling-ling, ZHAO Fu-hua, YU Xiao-hui*

(China Institute of Veterinary Drug Control, Beijing 100081, China)

Corresponding author: YU Xiao-hui, E-mail: yuxiaohui@ivdc.org.cn

Abstract: The article established a method to simultaneously determine the dissolution of two main ingredients of ivermectin and praziquantel chewable tablets. The method was determined by the dissolution curves of ivermectin and praziquantel which were tested by high performance liquid chromatography method in different kinds of dissolution mediums at different rotation speeds. The dissolution of ivermectin and praziquantel in three batches of samples were above 85% at 45 minute. This method can be used for determining the dissolution of ivermectin and praziquantel chewable tablets.

Key words: ivermectin and praziquantel chewable tablets; dissolution; HPLC

伊维菌素吡喹酮咀嚼片是“十二五”国家科技支撑计划项目研制的新制剂,是由伊维菌素、吡喹酮和赋形剂制成的咀嚼片,用于宠物犬体内外寄生

虫的治疗^[1]。伊维菌素^[2]是大环内酯类体内外驱虫药,对丝虫、钩虫、圆虫、鞭虫、蛔虫等具有效果;吡喹酮^[3]对动物体内线虫、吸虫、绦虫有效。通过

基金项目:“十二五”科技支撑计划(2015BAD11B03-4)

作者简介:杨 星,助理研究员,从事兽用化学药品检验工作。

通讯作者:于晓辉。E-mail:Shuilon0220@sina.com

两种药物组合,扩大驱虫谱,可提高一次性驱虫效果。

溶出度试验技术是评价口服固体制剂内在质量的一种重要手段^[4],为有效控制伊维菌素吡喹酮咀嚼片的质量,需建立相应的溶出度测定方法。本文参考《普通口服固体制剂溶出度试验技术指导原则》^[5]及相关文献^[6-8],建立了同时测定伊维菌素与吡喹酮的溶出度方法。

1 材 料

1.1 仪器 高效液相色谱仪-二极管阵列检测器(Waters e2695 2998, Empower2 色谱工作站软件);分析天平(梅特勒 XS 205,十万分之一);RCZ-8B 溶出试验仪(天津市天大天发科技有限公司)。

1.2 试药 伊维菌素对照品(含量:91.0%,批号:K0191406,中国兽医药品监察所);吡喹酮对照品(含量:99.7%,批号:100046-201205,中国食品药品检定研究院);伊维菌素吡喹酮咀嚼片 3 批(批号:20170501、20170502、20170503,规格:伊维菌素 2 mg 与吡喹酮 50 mg,生产企业:东方澳龙制药有限公司);甲醇、乙腈为色谱纯,水(超纯水),十二烷基硫酸钠(Merck),其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(Agilent XDB-C18,75 mm×4.6 mm,3.5 μm);以水为流动相 A,乙腈为流动相 B,照表 1 进行梯度洗脱;流速 1.0 mL/min;进样量:伊维菌素 50 μL,吡喹酮 20 μL;柱温为 30℃;伊维菌素检测波长为 245 nm,吡喹酮检测波长为 210 nm。伊维菌素 H₂B_{1a}与 H₂B_{1b}峰的分离度应符合要求。

表 1 梯度洗脱条件

Tab 1 Procedure of gradient elution		
时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	64	36
7	64	36
7.01	0	100
12	0	100
12.01	64	36
15	64	36

2.2 溶液的制备

2.2.1 供试品溶液 取本品,照溶出度测定法(《中国兽药典》2015 年版一部附录 0931,第二法),以含 0.2% 十二烷基硫酸钠(SDS)的磷酸二氢钠溶液 500 mL 为溶出介质,转速为 50 转/min,依法操作,在 45 min 时,取溶液适量,滤过,取续滤液,作为伊维菌素供试品溶液;精密量取续滤液 1 mL,置 10 mL 量瓶中,加溶出介质稀释至刻度并摇匀,作为吡喹酮供试品溶液。

2.2.2 对照品溶液 取伊维菌素对照品 20 mg,吡喹酮对照品 50 mg,精密称定,置 100 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀;精密量取 2 mL,置 100 mL 量瓶中,用溶出介质稀释至刻度并摇匀,制成每 1 mL 中含伊维菌素 4 μg 和吡喹酮 10 μg 的溶液,作为对照品溶液。

2.2.3 溶出介质 含 0.2% SDS 的 pH1.0 盐酸溶液的配制:取盐酸 9.0 mL 与 SDS 2.0 g,加水使溶解并稀释至 1000 mL;含 0.2% SDS 的 pH4.0 醋酸盐缓冲液的配制:取 2 mol/L 醋酸溶液 20.5 mL、醋酸钠 1.22 g 与 SDS 2.0 g,加水使溶解并稀释至 1000 mL;含 0.2% SDS 的 pH7.0 磷酸盐缓冲液的配制:取无水磷酸二氢钠 1.2 g 与 SDS 2.0 g,加水 1000 mL 使溶解,用饱和氢氧化钠调节 pH 值至 7.0;含 0.05% SDS 的 pH7.0 磷酸盐缓冲液的配制:取无水磷酸二氢钠 1.2 g 与 SDS 0.5 g,加水 1000 mL 使溶解,用饱和氢氧化钠调节 pH 值至 7.0;含 0.1% SDS 的 pH7.0 磷酸盐缓冲液的配制:取无水磷酸二氢钠 1.2 g 与 SDS 1.0 g,加水 1000 mL 使溶解,用饱和氢氧化钠调节 pH 值至 7.0。

2.3 溶出方法的确定

2.3.1 溶出装置的选择 首选通用性强、耐用性好、广泛普及的篮法与桨法,对于片剂的溶出考察,通常采用桨法,故本方法采用桨法。

2.3.2 溶出介质 pH 值的选择 由于伊维菌素几乎不溶于水,吡喹酮在水中不溶^[9],根据《普通口服固体制剂溶出度试验技术指导原则》,对于不溶于水或难溶于水的药物,可考虑在溶出介质中加入十二烷基硫酸钠或其他适当的表面活性剂。参考《中

国兽药典》2015 年版一部“吡喹酮片”的溶出介质“含 0.2% SDS 的盐酸溶液 (9→1000)”与《USP 40-NF 35》“伊维菌素片”的溶出介质“含 0.5% SDS 的 pH7.0 磷酸盐缓冲液”,选择 SDS 作为表面活性剂。根据“溶出度试验应尽可能在生理条件下进行”^[5]的原则,尽量使用低浓度的表面活性剂,初步拟定 0.2% 作为表面活性剂的浓度,考察在 pH1.0 盐酸溶液(胃液 pH 值)、pH7.0 磷酸盐缓冲液(肠液 pH 值)和中间 pH 值 4.0 醋酸盐缓冲液的溶出介质中,伊维菌素吡喹酮片的溶出情况,结果如下。

伊维菌素在 pH1.0 盐酸溶液和 pH4.0 醋酸盐缓冲液中均不稳定,随着时间增加降解产物峰面积

逐渐增大,且 60 min 累积溶出量均小于 85%;伊维菌素在 pH7.0 磷酸盐缓冲液中稳定,未检出降解产物峰,60 min 累积溶出量大于 85% 且达到平台期(图 1~图 3)。因此,pH1.0 盐酸溶液和 pH4.0 醋酸盐缓冲液对伊维菌素不适用,pH7.0 磷酸盐缓冲液满足伊维菌素溶出度测定要求。

吡喹酮在不同 pH 值溶出介质中,60 min 累积溶出量均大于 80%,溶出曲线基本一致(图 4)。因此,不同 pH 值溶出介质对吡喹酮影响较小。

因此,初步选定含 0.2% SDS 的 pH7.0 磷酸盐缓冲液作为溶出介质。

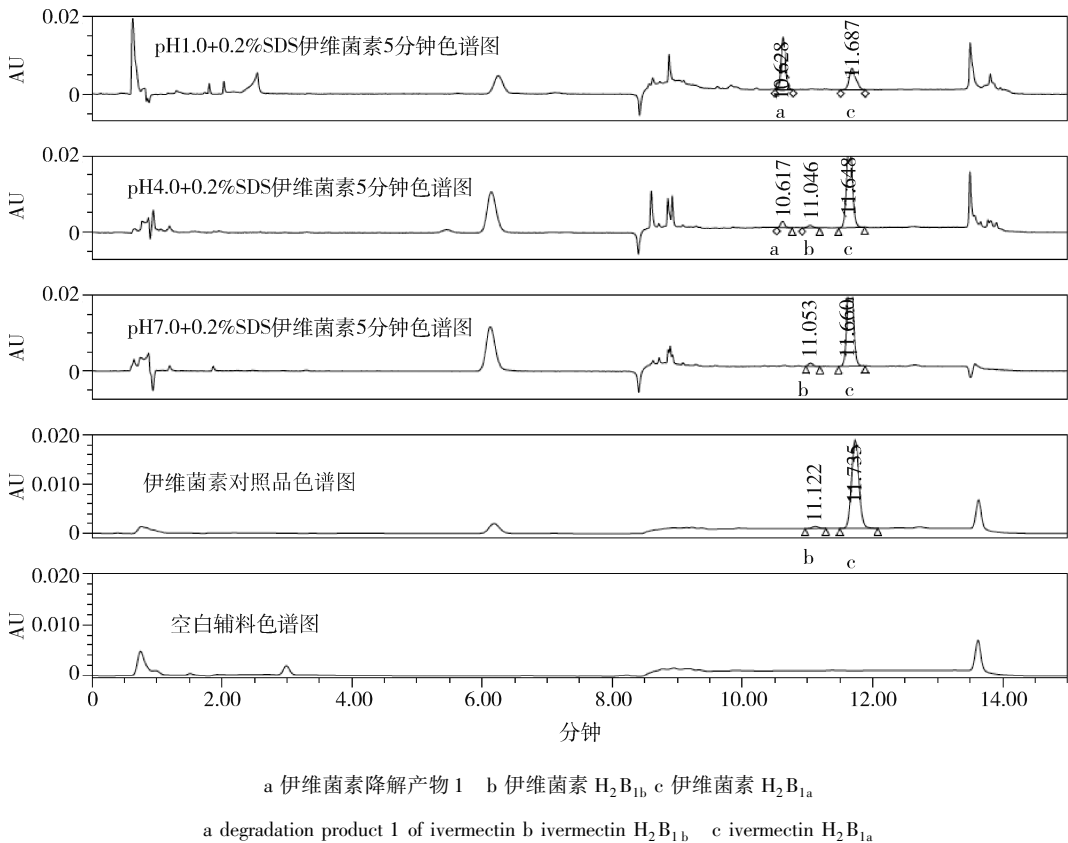


图 1 不同 pH 值溶出介质中伊维菌素 5 min 色谱图

Fig 1 The chromatograms of ivermectin in different pH of dissolution mediums at 5 minute

2.3.3 表面活性剂浓度的选择 为了避免过量使用表面活性剂,考察伊维菌素吡喹酮片在含 0.05%、0.1% 和 0.2% SDS pH7.0 磷酸盐缓冲液中的溶出情况,结果如下。

伊维菌素在含 0.05% SDS 的溶出介质中不能溶出,在含 0.1% SDS 的溶出介质中 60 min 累积溶出量小于 80% 且未达到平台期,在含 0.2% SDS 的溶出介质中 60 min 累积溶出量大于 85% 且达到平

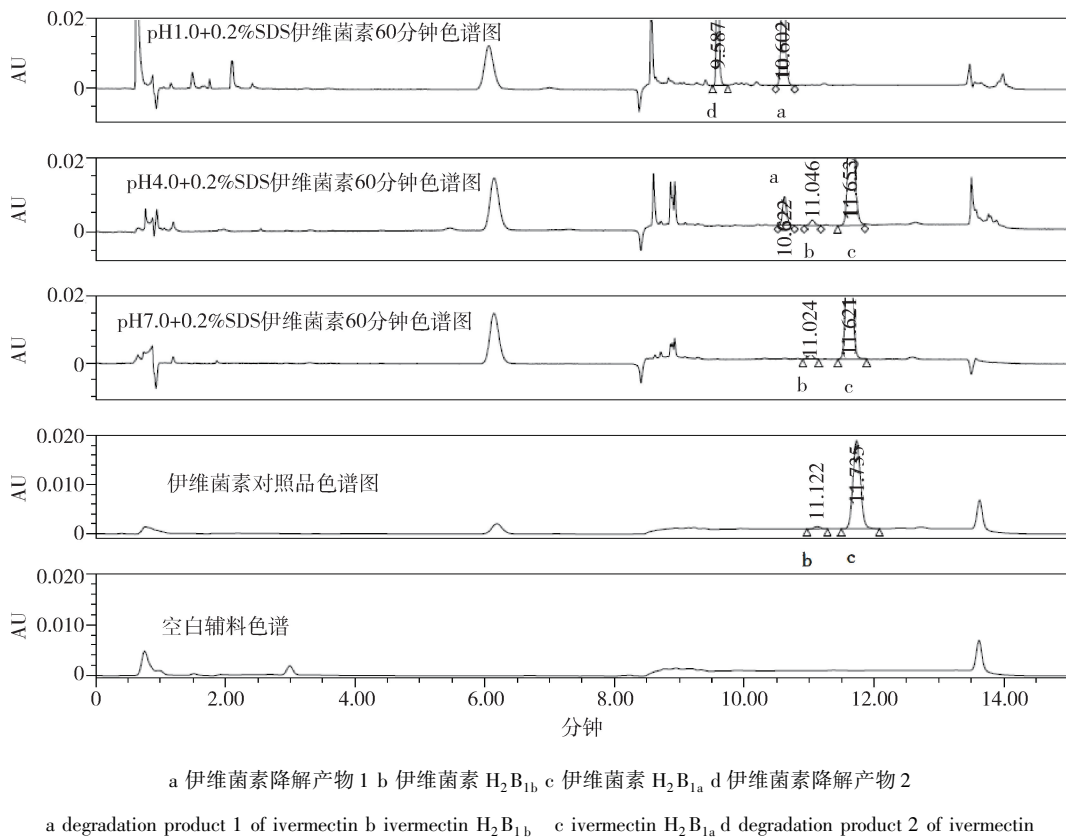


图 2 不同 pH 值溶出介质中伊维菌素 60 min 色谱图

Fig 2 The chromatograms of ivermectin in different pH of dissolution mediums at sixty minute

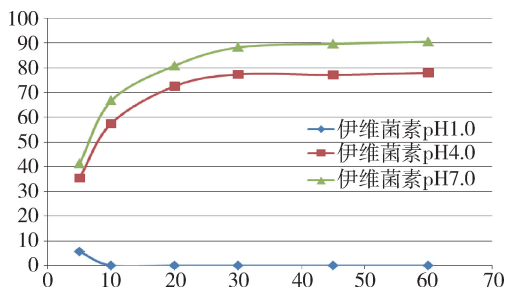


图 3 不同 pH 值溶出介质中伊维菌素溶出曲线

Fig 3 The dissolution curves of ivermectin in different pH of dissolution mediums

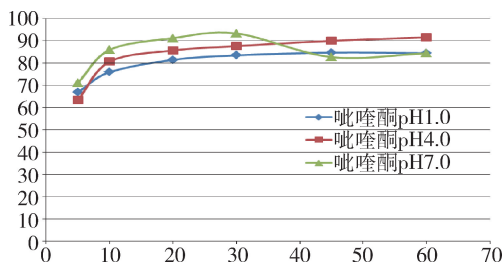


图 4 不同 pH 值溶出介质中吡喹酮溶出曲线

Fig 4 The dissolution curves of praziquantel in different pH of dissolution mediums

台期(图 5)。因此,0.2% SDS 为伊维菌素溶出度测定的最低浓度。

吡喹酮在不同 SDS 浓度的溶出介质中,60 min 累积溶出量均大于 80%,溶出曲线基本一致(图 6)。因此,不同 SDS 浓度对吡喹酮影响较小。

因此,确定 0.2% SDS 作为表面活性剂的使用浓度,溶出介质为含 0.2% SDS 的 pH7.0 磷酸盐缓

冲液。

2.3.4 转速的选择 通常桨法选用的转速为 50 和 75 r/min,为了使溶出方法具有更好的区分为^[10],考察伊维菌素吡喹酮片在含 0.2% SDS 的 pH7.0 磷酸盐缓冲液中转速分别为 50 和 75 r/min 的溶出情况,结果如下。

伊维菌素 50 r/min 比 75 r/min 在 5、10、20、30 min 时的累积溶出量低约 5% ~ 10%,在 45、

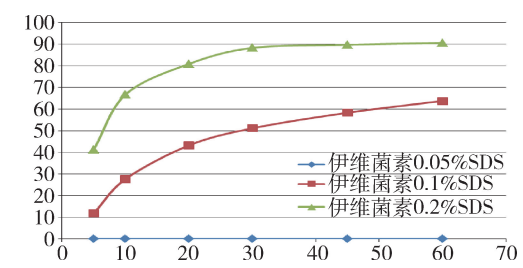


图 5 三种 SDS 添加浓度中伊维菌素溶出曲线

Fig 5 The dissolution curves of ivermectin in three concentrations of SDS

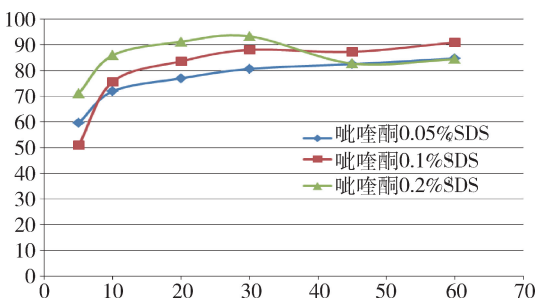


图 6 三种 SDS 添加浓度中吡喹酮溶出曲线

Fig 6 The dissolution curves of praziquantel in three concentrations of SDS

60 min 时的累积溶出量大于 85% 且达到平台期 (图 7)。因此,对于伊维菌素溶出度测定,50 r/min 的区分力优于 75 r/min。

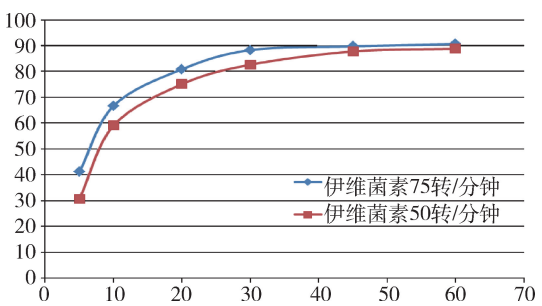


图 7 50 r/min 与 75 r/min 时伊维菌素溶出曲线

Fig 7 The dissolution curves of ivermectin at 50 r/min and 75 r/min

吡喹酮 50 r/min 比 75 r/min 在 5、10、20、30 min 时的累积溶出量低约 10% ~ 20%, 在 45、60 min 时的累积溶出量大于 85% 且达到平台期, 曲线平滑 (图 8)。因此,对于吡喹酮溶出度测定,

50 r/min 的区分力优于 75 r/min。因此,确定 50 r/min 作为转速。

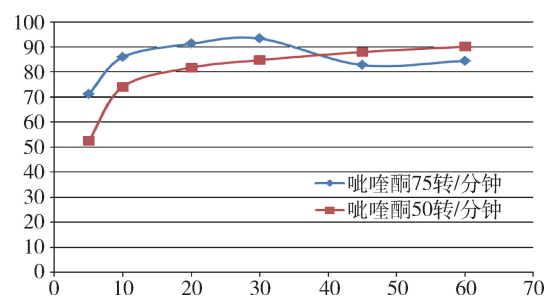


图 8 50 r/min 与 75 r/min 时吡喹酮溶出曲线

Fig 8 The dissolution curves of praziquantel at 50 r/min and 75 r/min

2.3.5 溶出介质体积的选择 伊维菌素吡喹酮片中伊维菌素规格为 2 mg/片,检测方法的定量限以伊维菌素 H_2B_{1b} 峰计约为 1.2 $\mu\text{g/mL}$ 。当溶出介质体积为 900 mL,溶出量小于 54% 时伊维菌素 H_2B_{1b} 浓度低于定量限浓度,影响溶出曲线绘制的准确性。当溶出介质体积为 500 mL,溶出量大于 30% 时伊维菌素 H_2B_{1b} 浓度即大于定量限浓度,更能保证溶出曲线绘制的准确性。因此,拟初步选择 500 mL 作为溶出介质体积。

考察伊维菌素和吡喹酮在含 0.2% SDS 的 pH7.0 磷酸盐缓冲液中的溶解情况,结果显示,50 mg 的吡喹酮和 2 mg 的伊维菌素分别在约 100 mL 和 150 mL 的溶出介质中达到饱和,500 mL 符合漏槽条件即“溶出介质体积一般至少为药物达到饱和溶液所需体积的三倍”的要求。

因此,确定 500 mL 为溶出介质体积。

2.3.6 取样时间与限度的选择 三批样品的伊维菌素和吡喹酮 30 min 累积溶出量均大于 85% 且达到平台期 (图 9 ~ 图 10), 根据“溶出度取样时间点常选择溶出曲线拐点处后推 10 至 20 min,并将该点溶出量减去 15% 作为限度”的原则^[11], 选择 45 min 作为取样时间点,并将 45 min 的累积溶出量减去 15% 作为溶出限度。因此,取样时间确定为 45 min,吡喹酮和伊维菌素的限度规定为不少于标示量的 70%。

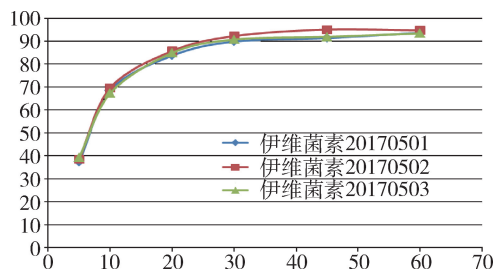


图9 三批样品伊维菌素溶出曲线

Fig 9 The dissolution curves of ivermectin for three batches of ivermectin and praziquantel chewable tablet

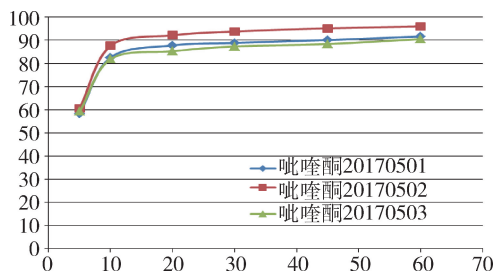


图10 三批样品吡喹酮溶出曲线

Fig 10 The dissolution curves of praziquantel for three batches of ivermectin and praziquantel chewable tablet

2.3.7 溶出方法的确定 综上所述,最终拟定溶出条件为:以含 0.2% 十二烷基硫酸钠的 pH7.0 磷酸盐缓冲液(称取 2 g 十二烷基硫酸钠,1.2 g 无水磷酸二氢钠,加水 1000 mL 使溶解,用饱和氢氧化钠溶液调节 pH 值至 7.0)500 mL 为溶出介质,转速为 50 r/min,在 45 min 取样测定,吡喹酮和伊维菌素的限度为不少于标示量的 70%。

3 讨论与结论

3.1 色谱条件的确定 由于篇幅原因,同时检测伊维菌素和吡喹酮溶出量的高效液相色谱法的建立过程及方法学验证不在此篇论述。

3.2 SDS 浓度的确定 在进行 SDS 浓度的选择时,通过伊维菌素溶出曲线的比较,确定了 0.2% SDS 作为表面活性剂的最低浓度,考虑到在该浓度水平下伊维菌素和吡喹酮的溶出曲线满足 30 min 累积溶出量大于 85%,以及“溶出度试验应尽可能在生理条件下进行”的原则,尽量使用低浓度表面活性剂,且更容易具有区分力,因此,未进一步增加 SDS 的浓度进行考察,确定 0.2% 作为 SDS 的浓度。

3.3 转速的确定 在进行转速的选择时,吡喹酮 75 r/min 的溶出曲线在 45 和 60 min 时发生下降,分析原因,可能是由于转速较高时,吡喹酮溶出过快,在 5 min 时大于 70%,10 min 时大于 85%,20 和 30 min 时达到 90%,溶出完全,而溶出曲线绘制时每个时间节点取液 5 mL 与补液 5 mL 存在一定的操作误差、精密量取 1 mL 稀释至 10 mL 的操作误差、仪器测定误差以及完全溶出后溶出杯中残余的不溶性辅料干扰取液等造成的,明确的原因有待进一步试验验证。对于伊维菌素和吡喹酮,50 r/min 的区分力均优于 75 r/min,因此,确定 50 r/min 作为溶出方法的转速。

3.4 结论 本文通过采用高效液相色谱法测定在不同 pH 值溶出介质、不同浓度表面活性剂和不同转速的条件下伊维菌素吡喹酮咀嚼片两种主药的溶出曲线,确定了伊维菌素吡喹酮咀嚼片的溶出条件,建立了同时测定伊维菌素吡喹酮咀嚼片两种主药溶出度的测定方法。该方法操作简便、快速、准确,可用于伊维菌素吡喹酮咀嚼片溶出度的测定。

参考文献:

- [1] 韩宁宇,赵富华,戴青,等.伊维菌素吡喹酮咀嚼片含量测定方法的建立[J].中国兽药杂志,2019,53(05):1-9.
Han N N, Zhao F H, Dai Q, *et al.* Establishment of the content determination method for ivermectin and praziquantel chewable tablets [J]. Chinese Journal of Veterinary Drugs, 2019, 53 (05): 1-9.
- [2] 杨森,熊尚清,杨敬,等.伊维菌素防治动物寄生虫病的研究进展[J].黑龙江畜牧兽医,2017(09):83-85.
Yang S, Xiong S Q, Yang J, *et al.* Advances of ivermectin in the control of animal parasitic diseases [J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2017 (09): 83-85.
- [3] 吴德智,马正,刘运峰,等.吡喹酮制剂的发展和应[J].中国血吸虫病防治杂志,2013,25(02):194-196.
Wu D Z, Ma Z, Liu Y F, *et al.* Development and application of Praziquantel preparations [J]. Chin J Schisto Control, 2013, 25 (02): 194-196.
- [4] 张启明,谢沐风,宁保明,等.采用多条溶出曲线评价口服固体制剂的内在质量[J].中国医药工业杂志,2009,40(12):946-950,955.
Zhang Q M, Xie M F, Ning B M, *et al.* Evaluation of solid oral products by dissolution profiles in different mediums [J]. Chinese Journal of Pharmaceuticals, 2009, 40(12): 946-950,955.

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2019.12.06

白头翁口服液质量标准研究

张璐, 龚旭昊, 董玲玲, 戴青, 范强*

(中国兽医药品监察所, 北京 100081)

[收稿日期] 2019-09-02 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2019) 12-0023-08 [中图分类号] S853.7

[摘要] 提高完善白头翁口服液质量标准。优化黄连及盐酸小檗碱的薄层色谱鉴别方法, 简化前处理步骤, 减小展开剂毒性对人体的伤害。建立白头翁口服液的高效液相色谱法, 通过测定关键指标成分盐酸巴马汀及盐酸小檗碱的含量对白头翁口服液进行科学的质量控制。用提高后的标准对市售白头翁口服液质量进行再评价, 结果表明, 标准的提高有助于判断样品的真伪优劣。

[关键词] 白头翁口服液; 质量标准; 薄层色谱法; 高效液相色谱法

Study on Quality Standard of Baitouweng Oral Solution

ZHANG Lu, GONG Xu-hao, DONG Ling-ling, DAI Qing, FAN Qiang*

(China Institute of Veterinary Drugs Control, Beijing 10081, China)

Corresponding author: FAN Qiang, E-mail: fanqiang@ivdc.org.cn

作者简介: 张璐, 硕士, 从事兽药检验及相关研究。

通讯作者: 范强。E-mail: tcmfanqiang@126.com

- [5] 国家食品药品监督管理总局. 普通口服固体制剂溶出度试验技术指导原则. [EB/OL]. [2015-02-05]. <http://www.nmpa.gov.cn/WS04/CL2138/300001.html>
State Food and Drug Administration. Guideline for dissolution test of immediate release solid oral dosage forms. [EB/OL]. [2015-02-05]. <http://www.nmpa.gov.cn/WS04/CL2138/300001.html>
- [6] 宋颂, 华洁, 周福军, 等. 维他昔布咀嚼片体外溶出度的测定[J]. 中国兽药杂志, 2013, 47(02): 27-30.
Song S, Hua J, Zhou F J, et al. Determination of the dissolution of vitacoxib chewable tablets [J]. Chinese Journal of Veterinary Drugs, 2013, 47(02): 27-30.
- [7] 张晖, 张伟, 陈叶廷, 等. 甲磺酸伊马替尼片溶出度方法的建立[J]. 药物分析杂志, 2015, 35(11): 2045-2049.
Zhang H, Zhang W, Chen E T, et al. Establishment of dissolution determination method of imatinib mesylate tablets [J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2015, 35(11): 2045-2049.
- [8] 董红环, 程显隆, 刘洋, 等. 雷奈酸锆干混悬剂溶出度方法的建立[J]. 药物分析杂志, 2015, 35(03): 543-547.
Dong H H, Cheng X L, Liu Y, et al. Establishment of dissolution method of Strontium ranelate for suspension [J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2015, 35(03): 543-547.
- [9] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典一部 2015 年版[S]. Chinese Veterinary Pharmacopoeia Committee. The first volume of Chinese Veterinary Pharmacopoeia, 2015 edition[S].
- [10] 谢沐风. 具有区分力的溶出曲线[J]. 中国医药工业杂志, 2014, 45(07): 687-689, 705.
Xie M F. The dissolution curve with distinguishing ability [J]. Chinese Journal of Pharmaceuticals, 2014, 45(07): 687-689, 705.
- [11] 谢沐风. 如何科学、客观地制订溶出度试验质量标准[J]. 中国医药工业杂志, 2012, 43(03): 243-252.
Xie M F. How to develop and validate the dissolution test on the quality criteria [J]. Chinese Journal of Pharmaceuticals, 2012, 43(03): 243-252.

(编辑: 陈希)