doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2021.1.6

高效液相色谱法测定德拉昔布咀嚼片的体外溶出度

郭桂芳[1],于泓潇[2],李思鸿[2],张艺馨[2],程 平[2],张秀英[2*]

(1.中国兽医药品监察所,北京 100081;2.东北农业大学动物医学学院,哈尔滨 150030)

[收稿日期] 2020-08-07　[文献标识码]A　[文章编号]1002-1280(2021)01-0035-06　[中图分类号]S859.79

[摘　要]　建立了德拉昔布咀嚼片溶出度测定的高效液相色谱法,并对德拉昔布咀嚼片和Deramaxx咀嚼片的溶出度进行比较。方法为桨法,转速为 50 r/min,0.8%十二烷基硫酸钠为溶出介质,于 5、10、15、20、30、40、50 min 分别采样;采用 Waters XSelect H88 C18(4.6 mm×250 mm, 5 μm)色谱柱,磷酸盐缓冲液(pH4.5)-乙腈(52∶48,*V/V*)为流动相,检测波长 252 nm;柱温 30 ℃;外标法定量。结果表明,德拉昔布在 5 ~25 μg/mL 浓度范围内线性良好(r^2=0.9992),检测限与定量限分别为 0.81 μg/mL、2.57 μg/mL;平均回收率为 101.8% ±0.91%;德拉昔布咀嚼片与 Deramaxx 溶出度在 30 min 内分别为 87.78% ±1.91%和 88.76% ±2.05%,符合规定。试验所建立的方法简便、准确、专属性强,可用于德拉昔布咀嚼片的溶出度测定。

[关键词]　德拉昔布咀嚼片;HPLC 法;溶出度

The Dissolution Rate of Deracoxib Chewable Tablets *in vitro* Determinated by HPLC

GUO Gui-fang[1], YU Hong-xiao[2], LI Si-hong[2], ZHANG Yi-xin[2], CHENG Ping[2], ZHANG Xiu-ying[2*]

(1. *China Institute of Veterinary Drug Control*, *Beijing* 100081, *China*;

2. *College of Veterinary Medicine*, *Northeast Agricultural University*, *Harbin* 150030, *China*)

Corresponding author: *ZHANG Xiu-ying*, *E-mail*: *zhangxiuying@neau.edu.cn*

Abstract: A method for the determination of the dissolution of Deracoxib chewable tablets was developed by high performance liquid chromatography, and the dissolution of Deracoxib chewable tablets and Deramaxx chewable tablets were compared. The paddle method was used for 50 r/min, and the dissolution medium was 0.8% sodium dodecyl sulfate, sample solution was collected at 5, 10, 15, 20, 30, 40 and 50 min respectively. It was tested with Waters XSelect H88 C18 (4.6 mm×250 mm, 5 μm) chromatographic column. The mobile phase was phosphate buffer (pH4.5) - acetonitrile (52∶48, *V/V*), and detection wavelength was 252 nm, column temperature was 30 ℃. External standard method was adopted for quantitative analysis. The results demonstrated that Deracoxib showed a good linear response in the range of 5 ~25 μg/mL (r^2=0.9992). The detection limit

作者简介:郭桂芳,硕士,副研究员,从事兽用化学药品评审工作。

通讯作者:张秀英。E-mail: zhangxiuying@neau.edu.cn

and quantitative limit were 0.81 μg/mL and 2.57 μg/mL respectively. The average recovery of the method was 101.8% ±0.91%. The dissolution of Deracoxib chewable tablets 87.78% ±1.91% and Deramaxx 88.76% ± 2.05% were both above 85% in accordance with relevant regulations. The HPLC method was simple, accurate and specific, which could be used for the determination of the dissolution of Deracoxib chewable tablets.

Key words: Deracoxib chewable tablets; HPLC; dissolution

德拉昔布属于昔布类非甾体抗炎药物(Nonsteroidal Anti - inflammatory Drugs,NSAIDs),化学名为 4 - [5 - (3 - 氟 - 4 - 甲氧基苯基) - 3 - 二氟甲基 - 1H - 咪唑 - 1 - 基]苯磺酰胺,临床上用于治疗犬骨性关节炎及其引起的疼痛,并可预防犬牙科与骨科手术后的疼痛[1]。德拉昔布原研单位为诺华制药有限公司(Novartis Pharmaceuticals Corporation),商品名为 Deramaxx®,于 2002 年被美国食品与药品管理局(Food and Drug Administration,FDA)批准上市[2]。因良好的镇痛抗炎效果以及显著降低的胃肠道副作用,德拉昔布已成为美国兽医临床犬骨性关节炎治疗的一线药物[3]。

德拉昔布咀嚼片(Deracoxib chewable tablets)目前尚未在我国上市销售,对其溶出度与稳定性的检测也未见报道。本实验建立考察德拉昔布咀嚼片溶出度的方法 - 高效液相色谱法(HPLC),并对实验室研制的德拉昔布咀嚼片和美国 Novartis 公司生产的 Deramaxx 咀嚼片进行溶出度考察,以期为德拉昔布咀嚼片质量标准的建立及产品的质量控制提供依据。

1 材料与方法

1.1 试剂与材料 德拉昔布咀嚼片(实验室自制,规格:12 mg、25 mg,批号:20180507、20180514,20180521);德拉昔布标准品(北京 Absin 公司,CAS 号:169590 - 41 - 4,纯度 99%);Deramaxx(美国 Novartis 公司,购自美国,规格:12 mg、25 mg,批号:175227C);乙腈(色谱纯,美国 Sigma 公司)。

1.2 仪器 Waters e2695 高效液相色谱系统(美国 Waters 公司);Waters 2998 紫外检测器(美国 Waters 公司);THP - 10 压片机(天祺制药机械有限公司);RC - 8D 智能溶出度测定仪(北京凯德兴茂有限公司)。

1.3 色谱条件与系统适应性 色谱柱为 Waters XSelect H88 C18 色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm);流动相为磷酸盐缓冲液(pH4.5) - 乙腈(52∶48,*V*/*V*);检测波长 252 nm;流速 1 mL/min;柱温 30 ℃。

1.4 德拉昔布咀嚼片制片工艺 采用直接压片法[4],按表 1 中处方称取适量原辅料过 60 目筛,适当调整主药与淀粉比例,压片,制成每片含德拉昔布 12 mg/25 mg。

表 1 德拉昔布咀嚼片处方

Tab 1 Formulation of the deracoxib tablets

配方	比例/%	作用
淀粉	14	填充剂
阿斯巴甜	1	矫味剂
甘露醇	3	矫味剂,填充剂
微晶纤维素	30	粘合剂,崩解剂,助悬剂
聚维酮 K - 30	15	粘合剂
羧甲淀粉钠	15	崩解剂,赋形剂
十二烷基硫酸钠	1	表面活性剂
硬脂酸镁	5	助流剂
德拉昔布	16	主药

1.5 溶出度测定 溶出介质为 0.8% 十二烷基硫酸钠溶液,溶出方法为桨法,转速 50 r/min。取德拉昔布咀嚼片与 Deramaxx 各 6 片,投入装有 900 mL 0.8% 十二烷基硫酸钠溶液的溶出杯中,搅拌桨转速为 50 r/min,溶出杯内温度设定为 37 ℃。分别在 5、10、15、20、30、40 和 50 min 取样 1 mL,同时补充同体积的溶出介质。

1.6 溶液配制

1.6.1 对照品溶液配制 精密称取 25 mg 德拉昔布标准品,以适量 0.8% 十二烷基硫酸钠溶解,至 250 mL 容量瓶中定容,制成浓度为 0.1 mg/mL 德拉昔布溶液,作为对照品溶液。

1.6.2 供试品溶液配制 从溶出度测定仪中取得

的样品溶液，经 3000 r/min 离心 5 min，取上清，0.22 μm 滤膜过滤，作为供试品溶液。

1.7　*方法学考察*

1.7.1　*专属性*　取德拉昔布咀嚼片，Deramaxx 与空白辅料分别充分粉碎，以 0.8% 十二烷基硫酸钠溶液溶解，按方法 1.6.2 制成供试品溶液，取 10 μL 注入 HPLC 记录色谱图与峰面积。

1.7.2　*线性关系*　取不同体积 1.6.1 项下的对照品溶液，以 0.8% 十二烷基硫酸钠于 10 mL 容量瓶中定容，配成浓度为 5、10、15、20 和 25 μg/mL 的系列德拉昔布标准溶液，分别取 10 μL 注入液相色谱仪，应用 SPSS 22.0 建立标准曲线并进行相关性分析。

1.7.3　*精密度*　取 1.6.1 项下对照品溶液 2 mL 定容到 10 mL 容量瓶中，配成含量为 20 μg/mL 的德拉昔布溶液，连续进样 6 次，记录色谱图与峰面积。

1.7.4　*灵敏度*　取 1.6.1 项下对照品溶液，以 0.8% 十二烷基硫酸钠溶液逐步稀释进行检测，主峰响应值为噪音水平的 3 倍左右时，确定检测限，主峰响应值为噪音水平的 10 倍左右时，确定定量限。

1.7.5　*溶液稳定性*　取 1.6.1 项下的对照品溶液，分别在 0、2、4、8、16 和 24 h 测定，评价德拉昔布在 0.8% 十二烷基硫酸钠溶液中的稳定性。

1.7.6　*回收率*　采用加样回收率测定法，称取适量德拉昔布空白辅料 9 份，分别精密添加 20 mg（80%）、25 mg（100%）、30 mg（120%）的德拉昔布标准品，每个浓度 3 份平行，按方法 1.6.2 制成添加回收样品溶液，测定回收率。

1.8　*溶出度差异比较*　分别取德拉昔布咀嚼片、Deramaxx 各 6 片，按方法 1.5 进行溶出度测定，记录溶出度结果并绘制溶出度与时间曲线，考察不同规格德拉昔布咀嚼片溶出度的差异。

2　结果与分析

2.1　*专属性*　结果如图 1 – 图 3 所示，德拉昔布保留时间约为 11.3 min，主峰附近无杂峰干扰，表明方法的专属性良好。

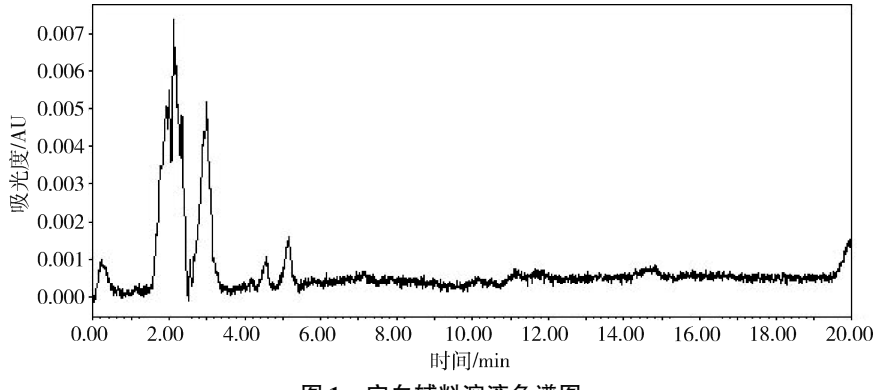


图 1　空白辅料溶液色谱图

Fig 1　The liquid chromatogram of the blank excipients

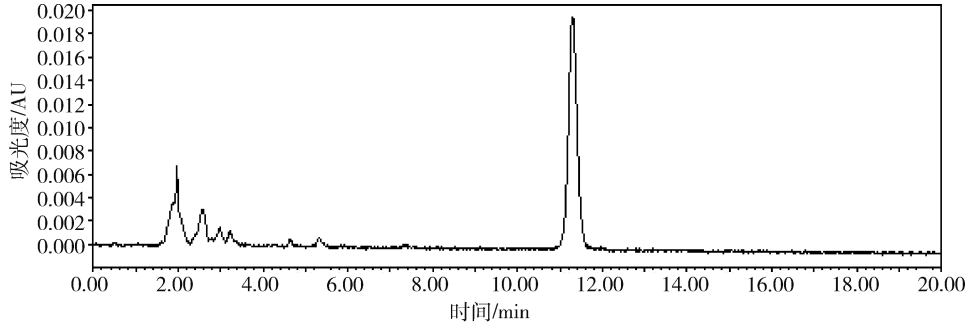


图 2　德拉昔布咀嚼片溶出度色谱图

Fig 2　Chromatogram of the dissolution of Deracoxib chewable tablets

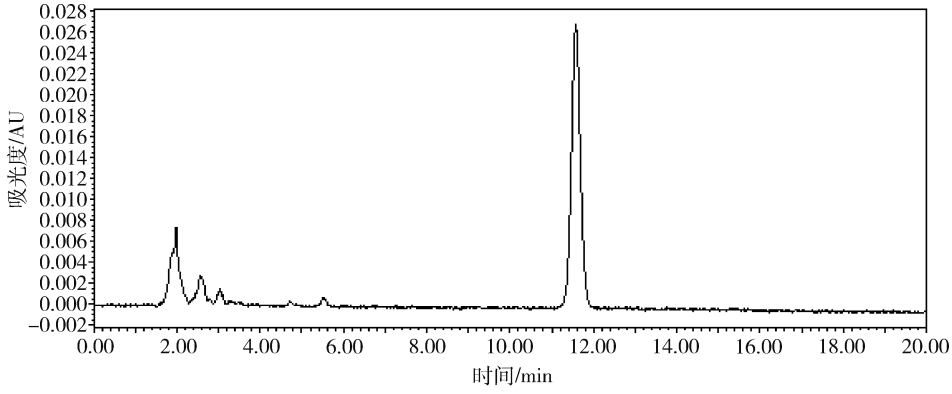


图 3　Deramaxx 溶出度色谱图

Fig 3　Chromatogram of the dissolution of Deramaxx

2.2　*方法学考察*　经 SPSS 22.0 处理数据得到样品浓度 C 与峰面积 A 的回归方程 $A = 31237C + 9.6559$（$r^2 = 0.9992$），说明在 5 ~ 25 μg/mL 的浓度范围内，德拉昔布的浓度与峰面积呈良好的线性响应。德拉昔布的检测限与定量限分别为 0.81 μg/mL 与 2.57 μg/mL；精密度测定结果为 98.66% ± 0.73%，表明仪器精密度良好；方法的平均回收率为 101.8% ±0.91%；99.09% ±0.68% 的溶液稳定性表明德拉昔布 24 h 以内在 0.8% 十二烷基硫酸钠溶剂中稳定。表 2 结果表明，HPLC 法检测德拉昔布溶出度的方法可行。

表 2　HPLC 法检测德拉昔布咀嚼片溶出度方法学考察结果

Tab 2　The validation of HPLC for the determination of Deracoxib chewable tablets

考察项目	德拉昔布
线性范围/(μg · mL^{-1})	5 ~ 25
线性公式/(μg · mL^{-1})	$A = 31237C + 9.6559$
相关性系数 r^2	0.9992
检测限/(μg · mL^{-1})	2.57
定量限/(μg · mL^{-1})	0.81
平均回收率/% ($\bar{x} \pm s$)	101.8 ±0.91
精密度/% ($\bar{x} \pm s$)	98.66 ±0.73
溶液稳定性/% ($\bar{x} \pm s$)	99.09 ±0.68

2.3　*溶出度测定*　结果见图 4。在30 min内，德拉昔布咀嚼片溶出度 87.78% ±1.91%，Deramaxx 溶出度 88.76% ±2.05%，均大于 85%，符合片剂的有关规定。

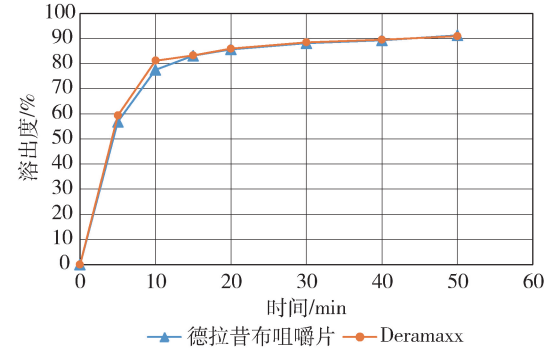


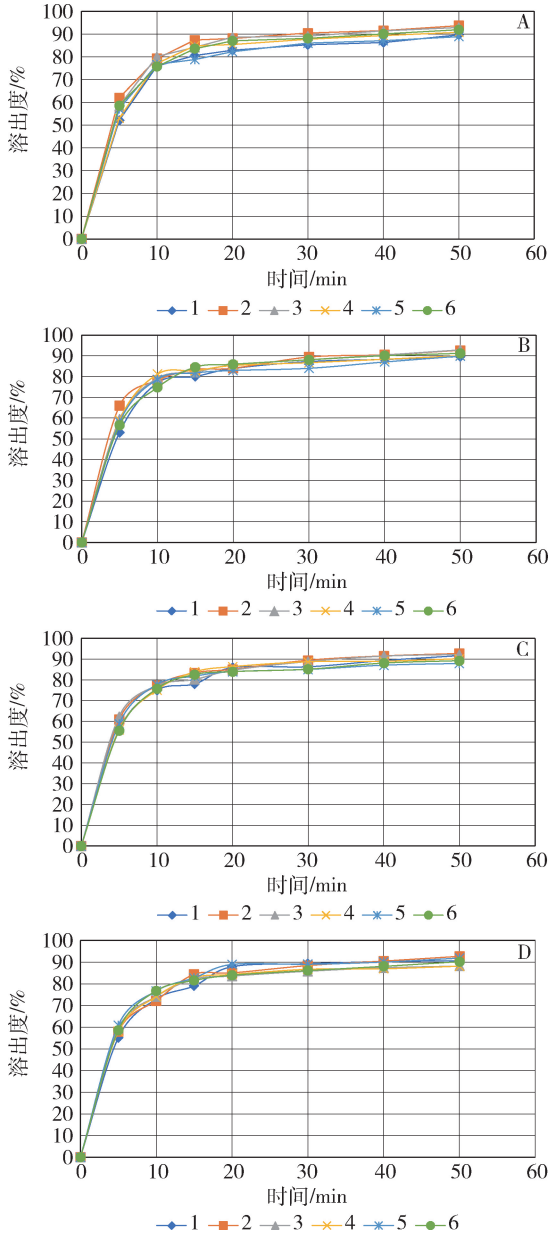
图 4　德拉昔布咀嚼片与 Deramaxx 溶出度结果

Fig 4　Dissolution rate Deracoxib chewable tablets and Deramaxx

2.4　*溶出度差异*　结果见图 5。25 mg/12 mg 德拉昔布咀嚼片与 Deramaxx 在 30 min 的溶出度差异 *RSD* 分别为 1.91%、1.84%、1.99%、1.52%，表明标示量为 25 mg 和 12 mg 的德拉昔布咀嚼片与 Deramaxx在 30 min 的溶出度无显著差异。

3　讨论与结论

3.1　*检测方法的确定*　一般检测药物溶出度的传统方法为紫外法，其优点是方便、快速、灵敏度高、应用范围广[5]，缺点是准确度不高。由于片剂中辅料使用较为复杂，可能存在干扰紫外吸收的辅料，造成最终的检测结果不准确，因此本文建立了检测德拉昔布溶出度的 HPLC 法，具有简单、快速、准确等优点，可有效分离辅料与主药，大大提高了药物溶出度检测的准确程度。



A、B、C、D 分别为同一批次 25 mg 德拉昔布咀嚼片、25 mg Deramaxx、12 mg 德拉昔布咀嚼片、12 mg Deramaxx 的溶出度图，其中 1、2、3、4、5、6 分别代表 1～6 号样品

图 5　同批次德拉昔布与 Deramaxx 的溶出度差异

Fig 5　Differences in dissolution rate in the same batch of Deracoxib chewable tablets and Deramaxx

3.2　溶出方法的确定　片剂、胶囊、丸剂的溶出度方法都选择为桨法。德拉昔布咀嚼片属于片剂，因此选择桨法进行试验，转速设定为 50 r/min（桨法一般默认转速），溶出温度为模拟体内环境选择为 37 ℃[7-9]。

3.3　溶出介质的确定　对于难溶性药物一般可以在溶出介质中添加适量的增溶剂（通常为表面活性剂）以增加药物的溶出程度。德拉昔布属于难容性药物，参考德拉昔布的同类药物——维他昔布的溶出方法[6]，选择 0.8% 十二烷基硫酸钠为溶出介质，此外溶出介质体积通过参考谢沐风的研究[10]，确定为 900 mL。

采用本文建立的 HPLC 法测定了德拉昔布咀嚼片的溶出度，自制的德拉昔布咀嚼片与美国 Deramaxx®在 30 min 内的溶出度均大于 85%，符合咀嚼片的相关规定，而且不同规格的德拉昔布咀嚼片与 Deramaxx®溶出度无明显差异，说明本文所建立的 HPLC 法简单、准确、重现性好，可用于德拉昔布咀嚼片溶出度的检测。

参考文献：

[1] Mcmillan S K, Boria P, Moore G E, *et al*. Antitumor effects of Deracoxib treatment in 26 dogs with transitional cell carcinoma of the urinary bladder[J]. Journal of the American Veterinary Medical Association, 2011, 239(8): 1084－1089.

[2] Roberts E S, Van Lare K A, Marable B R, *et al*. Safety and tolerability of 3 - week and 6 - month dosing of Deramaxx (Deracoxib) chewable tablets in dogs[J]. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 2009, 32(4): 329－337.

[3] Sennello K A, Leib M S. Effects of Deracoxib or buffered Aspirin on the gastric mucosa of healthy dogs[J]. Journal of Veterinary Internal Medicine, 2008, 20(6): 1291－1296.

[4] 谢向阳，廖祥茹，陈 晨，等. 粉末直接压片法制备阿卡波糖片[J]. 中国药师，2011，14(9)：1276－1278.
Xie X Y, Liao X R, Chen C, *et al*. Preparation of Acarbose tablets by direct powder compression[J]. China Pharmacist, 2011, 14(9): 1276－1278.

[5] 杜 松，周君龙，刘美凤，等. 盐酸曲美他嗪片溶出度测定方法的建立[J]. 中国药房，2012 (9)：72－74.
Du S, Zhou J L, Liu M F, *et al*. Establishment of dissolution tests for trimetazidine hydrochloride tablets[J]. China Pharmacy, 2012 (9): 72－74.

[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(2)：27－30.
Song S, Hua J, Zhou F J, *et al*. Determination of the dissolution of Vitacoxib chewable tablets[J]. Chinese Journal of Veterinary

Drug, 2013, 47(2): 27 – 30.

[7] 李雪梅, 易 蕾. 艾曲波帕片中溶出度方法研究[J]. 西南军医, 2020, 022(002):169 – 172.
Li X M, Yi L. Research on the dissolution of Ettrappa[J]. Journal of Military Surgeon in in Southwest China, 2020, 022(002):169 – 172.

[8] 吴俊伟, 曾忠良, 曾子建, 等. 恩诺沙星固体分散体片的制备及体外溶出度的研究[J]. 中国兽药杂志, 2000(2): 18 – 21.
Wu J W, Zeng Z L, Zeng Z J, *et al*. Preparation and *in vitro* dissolution of Enrofloxacin solid dispersions[J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2000(2): 18 – 21.

[9] 夏锦辉, 刘昌孝. 固体药物制剂的体外溶出度的统计学评价分析[J]. 中国药学杂志, 2000, 35(2): 130 – 131.
Xia J H, Liu C X. Statistical evaluation and analysis of dissolution rate of solid pharmaceutical preparations *in vitro*[J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2000, 35(2): 130 – 131.

[10] 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, 043(3): 3 – 12.
Xie M F. How to develop and validate the dissolution test on the quality criteria[J]. Chinese Journal of Pharmaceuticals, 2012, 043(3): 3 – 12.

(编 辑:李文平)