

兰索拉唑肠溶胶囊释放度的 HPLC 测定

薛颖 陆烨 梁建英[△]

(复旦大学药学院药物分析教研室 上海 201203)

【摘要】 目的 建立测定兰索拉唑肠溶胶囊释放度的 HPLC 方法。方法 采用 Xtimate C18 柱(4.6mm×150 mm, 5 μm)色谱柱,流动相为水-乙腈-三乙胺(60:40:1),用磷酸调节 pH 至 7.0,流速 1.0 mL/min,检测波长为 285 nm,柱温 30℃。结果 兰索拉唑线性范围为 1~25 μg/mL($r=0.999\ 99$),平均回收率为 101.5%、100.8%、101.3% (RSD 为 0.39%~1.54%),日内精密性(RSD)为 0.68%~1.78%,日间精密性(RSD)为 0.55%~1.87%,测得释放度均>75%。结论 本方法作为兰索拉唑肠溶胶囊的体外溶出度测定简便、灵敏、准确、重现性好,可作为兰索拉唑肠溶胶囊的质量控制方法。

【关键词】 兰索拉唑肠溶胶囊; 高效液相色谱(HPLC); 释放度

【中图分类号】 **【文献标志码】** A **doi:** 10.3969/j.issn.1672-8467.2012.05.012

Determination of lansoprazole enteric-coated capsules's dissolution degree by HPLC

XUE Ying, LU Ye, LIANG Jian-ying[△]

(Department of Pharmaceutical Analysis, School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 201203, China)

【Abstract】 Objective To establish a method for the determination of lansoprazole enteric-coated capsules's dissolution degree by HPLC. **Methods** The determination was performed on a Xtimate C18 column (4.6mm×150 mm, 5 μm) with water-acetonitrile-triethylamine (60:40:1), adjusted with phosphoric acid to a pH of 7.0 as mobile phase, the flow rate was 1.0 mL/min, detection wavelength was set at 285 nm, and the column temperature was 30℃. **Results** The calibration curve was linear in the range of 1-25 μg/mL ($r=0.999\ 99$), the average recovery were 101.5%, 100.8% and 101.3% (RSD=0.39%-1.54%). The relative standard deviations of the inter-day and inter-day were 0.68%-1.78% and 0.55%-1.87%, respectively. The results of dissolution degree were over 75%. **Conclusions** The method is simple, sensitive and accurate with good reproducibility, which makes it suitable for the quality control of lansoprazole enteric-coated capsules.

【Key words】 lansoprazole enteric-coated capsule; HPLC; dissolution degree

兰索拉唑(Lansoprazole)是一种新型的抑制胃酸分泌的抗溃疡药物,在保护和促进胃黏膜溃疡愈合、降低溃疡复发率等方面具有良好的作用,是近年来临床应用广泛、疗效显著的药物,其不良反应少且

轻微,是一种发展前途广阔的抗酸剂。

目前兰索拉唑质量标准中采用紫外分光光度法^[1]测定兰索拉唑肠溶胶囊的释放度,但由于兰索拉唑稳定性差^[2-3],遇酸、遇热、见光均易发生降解且大

[△]Corresponding author E-mail: jyliang@shmu.edu.cn

多降解产物均有与兰索拉唑相似的共轭结构^[4-6],因此采用紫外法测定专属性不强,所以考虑采用专属性更强的 HPLC 法测定其释放度。为了给兰索拉唑的质量控制提供保障,本实验建立了测定兰索拉唑肠溶胶囊释放度的 HPLC 法,并对此方法进行了研究和条件优化。此方法目前国内未见文献报道。

材 料 和 方 法

仪器 L-2000 型高效液相色谱仪(日本 HITACHI 公司),含四元泵(L-2 130)柱温箱(L-2 300)、自动进样器(L-2 200)、二极管阵列检测器(L-2 455)和 D-2 000 工作站,ZRS-8G 智能溶出仪。

试剂 兰索拉唑肠溶胶囊(上海延安药业,规格 30 mg),兰索拉唑对照品(中国药品生物制品检定所,批号:100709—200501),甲醇(色谱纯,美国 Merck 公司),乙腈(色谱纯,北京百灵威科技公司),去离子水、三乙胺、磷酸钠、浓盐酸、氢氧化钠(分析纯,国药集团化学试剂有限公司)。

色谱条件 色谱柱为 Xtimate C18 柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm);流动相为水:乙腈:三乙胺(60:40:1),用磷酸调节 pH 至 7.0;流速 1.0 mL/min;柱温 30℃;检测波长为 285 nm。

方法专属性考察 取本品内容物,研细,各取细粉适量(约相当于兰索拉唑 50 mg)置 50 mL 容量瓶,分别进行酸破坏:加入 6 mol/L HCl 溶液 10 mL,室温放置 1 h,然后用碱中和;碱破坏:加入 6 mol/L NaOH 溶液 10 mL,室温放置 1 h,然后用酸中和;氧化破坏:加入 30% H₂O₂ 10 mL 室温放置 1 h;光照破坏:4 500 lx 光照条件下放置 10 h;高温破坏:100℃水浴加热 1 h。破坏后分别加流动相稀释至刻度,摇匀,经 0.45 μm 滤膜过滤,精密量取续滤液 5 mL,置 50 mL 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,照上述色谱条件,精密量取 20 μL 注入液相色谱仪,记录色谱图。

标准曲线和线性范围 精密称取兰索拉唑对照品 25 mg,置 50 mL 量瓶中,加甲醇超声溶解并稀释至刻度,精密量取 0.1、0.25、0.5、1.0、2.5 mL 于 50 mL 容量瓶,加磷酸盐缓冲液(pH 6.8)25 mL,用 0.2 mol/L NaOH 溶液稀释至刻度,摇匀,制成浓度分别为 1、2.5、5、10、25 μg/mL 的标准溶液。精密量取上述溶液各 20 μL,注入液相色谱仪,记录色谱图。

精密度 准确配制浓度为 1、5、25 μg/mL 的兰索拉唑对照品溶液各 3 份,进样分析,计算日内精密

度。连续 3 天,每天准确配制浓度为 1、5、25 μg/mL 的兰索拉唑对照品溶液各 3 份,进样分析,计算日间精密度。

回收率 按处方配比,精密称取处方量的空白辅料和标准品,置 50 mL 量瓶中,加甲醇超声溶解并稀释至刻度,离心,经滤膜(孔径 0.45 μm)滤过,精密量取续滤液 0.1、0.5、2.5 mL 于 50 mL 容量瓶,加磷酸盐缓冲液(pH 6.8)25 mL,用 0.2 mol/L NaOH 溶液稀释至刻度,摇匀,制成浓度分别为 1、5、25 μg/mL 的低、中、高测定溶液,依法测定,计算方法的回收率。

稳定性考察 对不同酸碱环境下的释放度供试品进行稳定性考察,取释放度供试品溶液分别用缓冲介质(pH 6.8 磷酸盐缓冲液)、0.1 mol/L HCl、0.2 mol/L NaOH 溶液稀释 1 倍,照上述色谱条件,进样分析,记录色谱图。

将上述缓冲介质供试品溶液和 0.2 mol/L NaOH 处理的供试品溶液室温放置,于 2 h、4 h、6 h 再次进样分析,考察其稳定性。

释放度测定 取兰索拉唑肠溶胶囊 6 粒,照释放度测定法^[7]《中华人民共和国药典》2010 年版二部附录 X D 第二法),采用溶出度测定第一法装置,以酸溶液(取氯化钠 2.0 g,加盐酸 7.0 mL,加水溶解并稀释至 1 000 mL,pH 值为 1.2) 500 mL 为溶剂,转速 150 r/min,依法操作,经 1 h 时停转,立即将转篮升出液面,将盐酸溶液弃去,随即移入预先热至 37℃的磷酸盐缓冲液(pH 6.8) 900 mL,继续依法操作。经 1 h 时取溶液 30 mL,经滤膜(孔径不得大于 0.5 μm)滤过,弃去初滤液 20 mL,取续滤液作为供试品溶液(规格 30 mg,精密量取续滤液 1 mL 分别用 pH 6.8 的磷酸盐缓冲液和 0.2 mol/L NaOH 溶液稀释至 2 mL),另精密称取兰索拉唑对照品 20 mg,置 25 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,精密量取 1 mL,置 50 mL 量瓶中,加 25 mL 磷酸盐缓冲液,用 0.2 mol/L NaOH 溶液稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。按照 HPLC 法测定并计算出每粒胶囊的溶出量。

结 果

标准曲线 以样品浓度(C)为横坐标,以峰面积(A)为纵坐标,进行线性回归,计算结果为 $A = 20\,295.34C - 1\,176.93$ ($r = 0.999\,99$)。结果表明在 1~25 μg/mL 浓度范围内,峰面积与浓度呈良好的

线性关系。

方法专属性结果 本品经酸、碱、强氧化、热、光

照破坏后,产生的杂峰均能与主峰分离,说明该色谱系统能有效检测降解产物,专属性强(图1)。

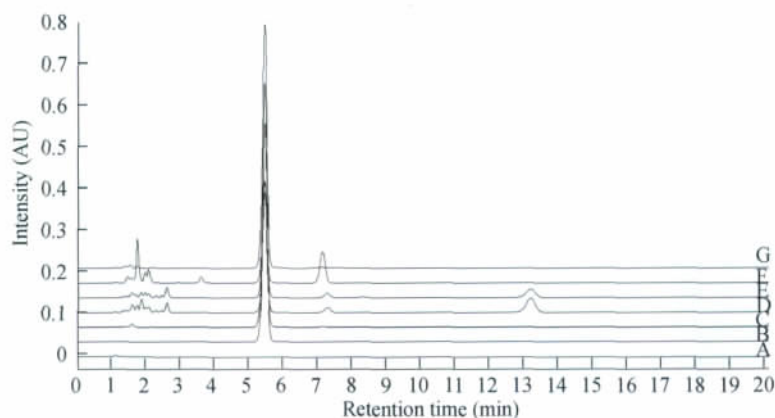


图1 兰索拉唑降解产物的色谱图

Fig 1 Chromatogram of lansoprazole's degradation products

A: Blank; B: Lansoprazole reference substance; C: Destoried by heating; D: Destoried by acid ; E: Destoried by alkali; F: Destoried by hydrogen peroxide; G: Destoried by light.

精密度 低、中、高3个浓度样品溶液的精密测定结果表明本法具有较好的精密度和重现性(表1)。

表1 测定方法的精密度

Tab 1 Precision of determination method (n=3)

Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Intra-day RSD (%)	Inter-day RSD (%)
1	1.78	1.87
5	0.74	0.60
25	0.68	0.55

回收率 低、中、高3个浓度样品溶液的平均回

收率及 RSD 结果见表2。

表2 测定方法的回收率

Tab 2 Recovery of determination method (n=3)

Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Recovery (%)	RSD (%)
1	101.5	1.54
5	100.8	0.39
25	101.3	0.97

稳定性考察 从色谱图(图2)可见兰索拉唑在 pH 6.8 磷酸盐缓冲液和 0.1 mol/L HCl 酸性条件下不稳定,在碱性条件下稳定。

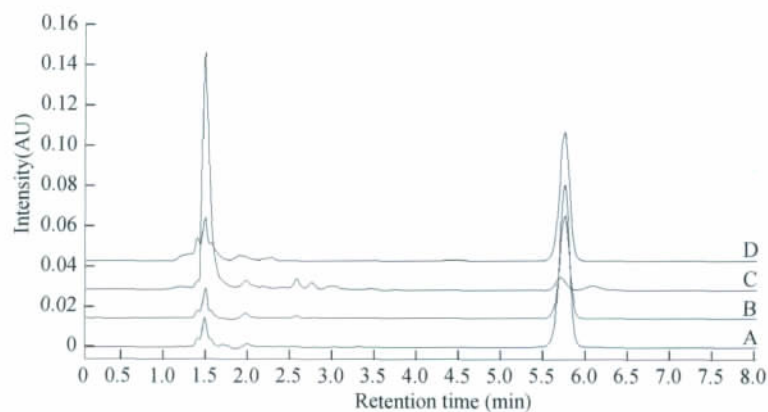


图2 稳定性考察色谱图

Fig 2 Chromatogram of lansoprazole's stability

A: Lansoprazole reference substance solution; B: Test solution processed by buffer solution; C: Test solution processed by 0.1 mol/L HCl; D: Test solution processed by 0.2 mol/L NaOH.

兰索拉唑在缓冲介质(pH 6.8)中稳定性差,用碱处理可大大提高其稳定性,从而提高测量准确度,故释放度测定方法设计中释放度供试品采用 0.2 mol/L NaOH 溶液进行处理(图 3)。

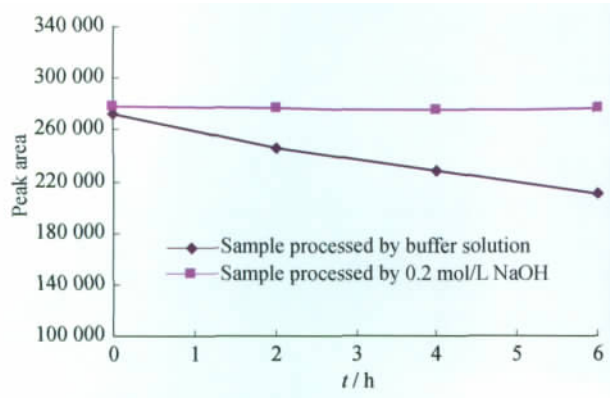


图 3 稳定性考察结果

Fig 3 Results of the stability study

释放度 按照 HPLC 法测兰索拉唑肠溶胶囊释放度,采用外标一点法计算其释放度,用缓冲介质(pH 6.8)处理和用 0.2 mol/L NaOH 溶液处理的供试品释放度结果见图 4。

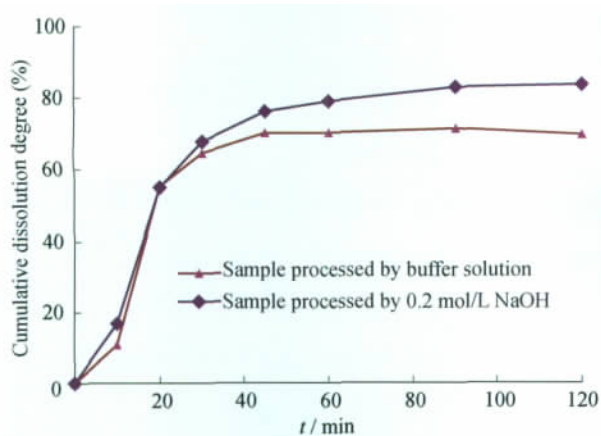


图 4 释放度测定结果

Fig 4 Determination results of the dissolution degree

讨 论

稳定性考察实验中,我们采用了 0.1、0.2 和 0.25 mol/L NaOH 3 种浓度的碱溶液稀释释放液,结果显示 0.2 和 0.25 mol/L NaOH 溶液处理的供试品稳定性均最好,考虑到柱子不耐强碱性,故实验最终采用 0.2 mol/L NaOH 溶液处理。HPLC 测量兰索拉唑肠溶胶囊释放度,灵敏度高,专属性强,再通过加碱处理释放度供试品,提高其稳定性,更加提高了测定的准确度。另外兰索拉唑对酸、热、光稳定性差,故实验过程中要注意避光,超声溶解过程中会产热,可加冰块处理以免样品遇热分解。

参 考 文 献

- [1] 何康伟,杜长春. 紫外分光光度法测定兰索拉唑胶囊的含量[J]. 中国医院药学杂志,2000,20(2):92-93.
- [2] 杨亚军,张志华,张亦弘,等. 兰索拉唑肠溶片的制备及稳定性考察[J]. 中国药剂学杂志,2009,7(1):6-10.
- [3] 王贺,孙备,李姜晖,等. 兰索拉唑肠溶片稳定性和溶出度的影响因素研究[J]. 中国药业,2010,19(14):32-33.
- [4] 刘哲鹏,邱大为,杨世霆,等. 兰索拉唑肠溶处方工艺及质量研究[J]. 中国医药工业杂志,2010,41(2):115-119.
- [5] 吴小平,刘放,孙洁胤. 不同厂家兰索拉唑口服制剂释放度比较[J]. 西北药学杂志,2009,24(3):201-206.
- [6] 缪玉山,倪冲,罗少华,等. RP-HPLC 测定兰索拉唑制剂中主药及有关物质的含量[J]. 中国现代应用药学杂志,2008,25(7):663-664.
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2010 年版(二部)[S]. 北京:化学工业出版社,2010:87-88.

(收稿日期:2011-11-05;编辑:王蔚)