

## 滤膜吸附对复方甘草酸苷片溶出度的干扰试验

韩丽丽, 陈志恒, 巩峰贤 (潍坊食品药品检验检测中心, 潍坊 261000)

**摘要** 目的: 考察滤膜对不同介质中复方甘草酸苷片溶出度的吸附情况, 为其溶出试验的滤膜选择提供依据。方法: 取复方甘草酸苷片, 分别用水、pH 1.0 盐酸、pH 4.5 磷酸盐缓冲液、pH 6.8 磷酸盐缓冲液 4 种介质, 配制低、中、高 3 种浓度的供试品溶液, 经不同滤膜过滤, 用高效液相色谱法检测其溶出度并计算滤膜吸附率。结果: 微孔滤膜对复方甘草酸苷片中甘草酸单铵盐吸附作用较大, 在 pH 1.0 盐酸中吸附尤为明显; 对甘氨酸、DL-蛋氨酸吸附作用较小; 对低浓度供试品溶液的吸附作用大于高浓度供试品溶液。结论: 滤膜吸附对 4 种介质中的溶出度测定有不同程度的干扰, 在溶出试验前必须进行滤膜吸附试验, 以选择合适的滤膜, 排除干扰。

**关键词:** 复方甘草酸苷片; 溶出度; 微孔滤膜; 吸附率; 干扰试验; 溶解介质比较

中图分类号: R284 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2017)09-1039-06

doi:10.16153/j.1002-7777.2017.09.014

### Interference Test of Filter Film Adsorption for Dissolution of Compound Glycyrrhizin Tablets

Han Lili, Chen Zhiheng, Gong Fengxian (Weifang Food and Drug Inspection Test Center, Weifang 261000, China)

**Abstract Objective:** To investigate the membrane adsorption of compound glycyrrhizin tablets in dissolution test in different medium, so as to provide theoretical references for membrane filter choice. **Methods:** The test solution was prepared with compound glycyrrhizin tablets in four kinds of medium, including water, pH 1.0 hydrochloric acid, pH 4.5 phosphate buffer, and pH 6.8 phosphate buffer, in low, medium, and high concentration respectively. The test solution was filtered by different membrane, and then the dissolution was detected using HPLC method and membrane adsorption rate was calculated. **Results:** The adsorption of microporous membrane filter to Monoammonium Glycyrrhizinate in compound glycyrrhizin tablets was greater, especially in pH1.0 hydrochloric acid; the adsorption of glycine and methionine was weaker; the adsorption of low concentration solution was greater than the high concentration solution. **Conclusion:** The membrane adsorption has different interference to dissolution test of four kinds of media, so that membrane adsorption test must be conducted before dissolution test so as to guarantee the suitable membrane filter.

**Keywords:** compound glycyrrhizin tablets; dissolution; microporous membrane filter; adsorption rate; interference test; comparison of dissolution medium

溶出度试验是评价口服固体制剂内在质量的一  
种重要手段, 旨在保证不同企业所生产的同一口服  
固体制剂具有相同的品质和疗效。随着研究的不断

深入, 对其认识与理解亦在发生不断的变化<sup>[1-3]</sup>。  
药物在进行溶出度评价时, 进行多个介质中的测定  
和比较是十分必要的<sup>[4]</sup>。在进行复方甘草酸苷片制

剂工艺研究过程中发现, 滤膜吸附对不同介质中复方甘草酸苷片的溶出度均有不同程度的干扰, 在某些介质中吸附尤为严重。滤膜吸附饱和过程与滤膜的品牌和性质、药物的理化性质、是否经微粉化处理等因素有关。因此, 在建立溶出度测定方法前, 应进行详细的验证<sup>[5]</sup>。本文研究滤膜吸附对复方甘草酸苷片在不同介质中溶出度的干扰, 为其溶出度的测定提供依据。

## 1 仪器与试剂

Laballiance高效液相色谱仪, 包括SeriesIII型二元梯度泵Model 500检测器; 色谱柱为十八烷基硅烷键合硅胶 (Dikma C18, 4.6 mm × 150 mm, 5 μm)、TGL-18C型普通台式离心机 (上海安亭科学仪器厂); 电子天平 (AG135, METTLER TOLEDO); 4020P超声波清洗器 (Korea, JAC Company); PHS-3C型pH计 (上海精密科学仪器有限公司)。津隆滤膜 (有机系): 孔径0.45 μm, 天津市科亿隆实验设备有限公司生产; 津腾滤膜 (有机系): 孔径0.45 μm, 天津市津腾实验设备有限公司生产; 津腾滤膜 (水系): 孔径0.45 μm, 天津市津腾实验设备有限公司生产。

复方甘草酸苷片 (秋山片剂株式会社, 规格: 每片含甘草酸苷25 mg、甘氨酸25 mg、DL-蛋氨酸25 mg, 批号: 12154)。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件与系统适用性试验

甘草酸苷: C18色谱柱 (Dikma 4.6 mm ×

250 mm, 5 μm), 以乙腈-0.01M磷酸 (45:55) 为流动相, 检测波长为252 nm, 进样量为20 μL, 流速为1.0 mL · min<sup>-1</sup>。主峰分离度不得小于2.0, 拖尾因子不得大于2.0, 理论板数按甘草酸苷峰计算不低于2500。

甘氨酸、DL-蛋氨酸: C18色谱柱 (Dikma 250 mm × 4.6 mm 5 μm), 以乙腈-0.05M醋酸钠缓冲液 (40:60) 为流动相, 检测波长为360 nm, 进样量为20 μL, 流速为1.0 mL · min<sup>-1</sup>。主峰分离度不得小于1.5, 拖尾因子不得大于2.0, 理论板数分别按甘氨酸和DL-蛋氨酸衍生物色谱峰计, 不得小于2500。

### 2.2 供试品溶液制备

取复方甘草酸苷片20片, 研细, 取粉末适量, 分别以水、pH 1.0盐酸、pH 4.5磷酸盐缓冲液、pH 6.8磷酸盐缓冲液为溶剂, 配制高、中、低3种浓度的供试品溶液, 每一浓度的样品分别用3种不同滤膜过滤, 作为过滤样品, 并取适量离心上清液作为未过滤样品。

### 2.3 测定及结果

甘草酸苷: 直接取供试品溶液20 μL注入液相色谱仪, 记录峰面积。峰面积见表1。

甘氨酸、DL-蛋氨酸: 精密量取各供试品溶液1 mL, 置10 mL量瓶中, 衍生<sup>[6]</sup>后过滤, 取续滤液20 μL注入液相色谱仪, 记录峰面积。峰面积见表2、表3。

表1 甘草酸苷峰面积

甘草酸苷	pH 6.8			pH 1.0			pH 4.5			水		
	低浓度	中浓度	高浓度									
①-1	100385	200431	305579	104614	215990	325855	109533	195708	290808	109422	192530	297587
①-2	100175	200549	307431	104731	215465	322841	108384	195579	288482	110955	192207	298582
②-1	99142	200064	304963	20597	46867	162216	91173	177734	288923	103546	182496	287006
②-2	99123	199211	307306	20511	61703	164765	90296	177543	286438	103094	183305	287574
③-1	100709	199283	306473	11494	30528	105962	94589	183294	290659	110619	194568	302462
③-2	101014	201077	305987	11523	30027	106429	93769	180872	284067	109002	194171	294671
④-1	101792	199894	306868	78876	164730	251312	105411	190475	285008	105510	191245	301390
④-2	100807	198887	306095	78077	163423	248492	105048	192159	286001	107515	190656	296897
RSD	0.91%	0.38%	0.28%	77.54%	70.54%	42.10%	8.09%	4.12%	0.88%	2.87%	2.45%	1.95%

注: ①未过滤样品; ②津隆有机膜; ③津腾有机膜; ④津腾水膜。

表2 甘氨酸峰面积

甘氨酸	pH 6.8			pH 1.0			pH 4.5			水		
	低浓度	中浓度	高浓度									
①-1	135552	269693	387423	122995	235711	360465	82190	162583	250452	123775	236599	362283
①-2	134955	268478	383743	122270	238814	359429	82708	160127	252332	124189	234718	353844
②-1	134048	260465	383098	122007	235175	375117	80197	157021	243259	124183	234535	363549
②-2	135166	266472	380196	121677	237359	377093	79681	153964	240069	123567	238333	356151
③-1	134453	268088	379789	121676	241675	380677	80911	166857	246404	122792	235687	354442
③-2	134621	268266	386816	121873	239207	378932	82499	165984	245215	123848	238609	348590
④-1	135196	258087	385355	123208	244767	374489	78342	163022	245915	122619	239301	356715
④-2	135923	259873	386091	122014	241651	368894	77832	160236	246306	123351	236696	356368
RSD	0.45%	1.75%	0.76%	0.48%	1.37%	2.19%	2.32%	2.69%	1.56%	0.48%	0.76%	1.33%

注：①未过滤样品；②津隆有机膜；③津腾有机膜；④津腾水膜。

表3 蛋氨酸峰面积

蛋氨酸	pH 6.8			pH 1.0			pH 4.5			水		
	低浓度	中浓度	高浓度	低浓度	中浓度	高浓度	低浓度	中浓度	高浓度	低浓度	中浓度	高浓度
①-1	50675	121056	179111	50268	106020	165785	40075	89472	143684	57988	116216	181750
①-2	50448	120600	180801	50745	106020	165785	40075	89472	143684	59156	118848	176302
②-1	50233	116501	176487	49778	107765	165147	39924	88221	140346	57485	118598	183461
②-2	49595	116998	175074	47657	107201	175895	42206	81793	136801	55312	117789	181533
③-1	50393	118042	178607	50132	107276	173967	41392	83201	135589	57123	117363	181038
③-2	50761	116724	176600	49728	105700	180630	40128	88048	138410	55386	120636	173540
④-1	48071	113859	175234	50798	104956	176370	40903	89803	139633	56551	117541	177555
④-2	47961	116569	177720	50860	106442	175974	37684	88077	139280	54161	118213	181541
RSD	2.29%	2.00%	1.12%	2.09%	0.91%	3.11%	3.80%	3.37%	1.78%	2.88%	1.10%	1.89%

注：①未过滤样品；②津隆有机膜；③津腾有机膜；④津腾水膜。

### 2.4 吸附率的计算

计算公式：吸附率 =  $|A_x - A_0| / A_0 \times 100\%$ ，式中  $A_x$  为滤过液的峰面积平均值， $A_0$  为未滤过液峰面积

平均值，按照吸附率计算公式分别计算微孔滤膜对甘草酸苷、甘氨酸、蛋氨酸的吸附率，结果见表4~表6及图1~图3。

表4 甘草酸苷在不同介质中滤膜吸附率

%

	pH 6.8 磷酸盐缓冲液			pH 1.0 盐酸			pH 4.5 磷酸盐缓冲液			水		
	低浓度	中浓度	高浓度	低浓度	中浓度	高浓度	低浓度	中浓度	高浓度	低浓度	中浓度	高浓度
滤膜②	1.14	0.43	0.12	80.36	74.84	49.59	16.73	9.2	0.68	6.23	4.92	3.62
滤膜③	0.58	0.15	0.09	89.01	85.96	67.26	13.56	6.93	0.79	1.04	0.34	0.16
滤膜④	1.02	0.55	0.01	25.03	23.94	22.95	3.42	2.21	1.43	3.34	0.74	0.36

注：②津隆有机膜；③津腾有机膜；④津腾水膜。

表5 甘氨酸在不同介质中滤膜吸附率

%

	pH 6.8 磷酸盐缓冲液			pH 1.0 盐酸			pH 4.5 磷酸盐缓冲液			水		
	低浓度	中浓度	高浓度	低浓度	中浓度	高浓度	低浓度	中浓度	高浓度	低浓度	中浓度	高浓度
滤膜②	0.48	2.09	1.02	0.64	0.42	4.49	3.04	3.63	3.87	0.09	0.33	0.5
滤膜③	0.53	0.34	0.59	0.7	1.34	5.52	0.9	3.14	2.22	0.53	0.63	1.83
滤膜④	0.23	3.76	0.04	0.02	2.51	3.26	5.29	0.17	2.10	0.8	0.99	0.43

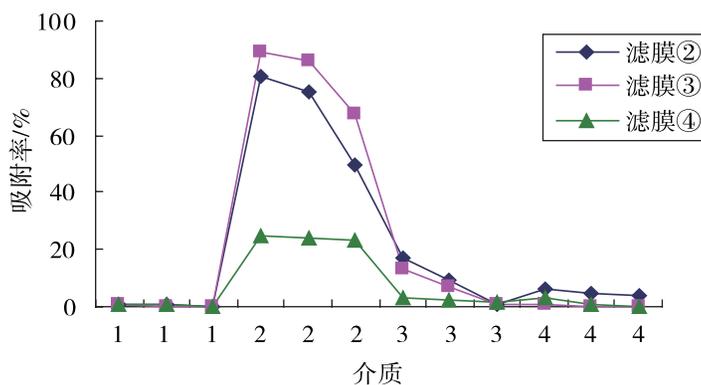
注：②津隆有机膜；③津腾有机膜；④津腾水膜。

表6 DL-蛋氨酸在不同介质中滤膜吸附率

%

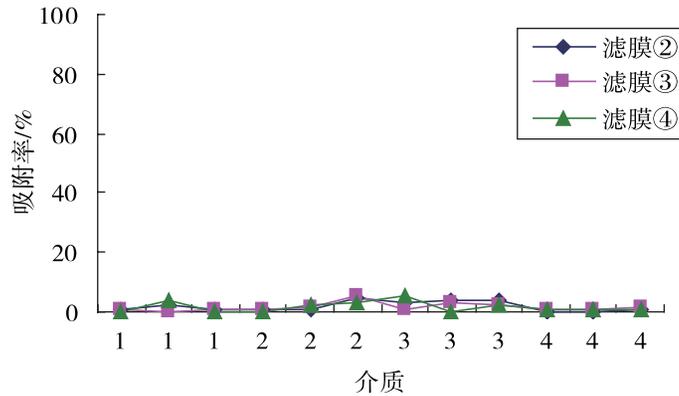
	pH 6.8 磷酸盐缓冲液			pH 1.0 盐酸			pH 4.5 磷酸盐缓冲液			水		
	低浓度	中浓度	高浓度	低浓度	中浓度	高浓度	低浓度	中浓度	高浓度	低浓度	中浓度	高浓度
滤膜②	1.28	3.38	2.32	3.54	1.38	2.86	2.47	4.99	3.56	3.71	0.56	1.94
滤膜③	0.03	2.85	1.31	1.14	0.44	6.94	1.71	4.3	4.65	3.96	1.25	0.97
滤膜④	5.03	4.65	1.93	0.64	0.3	6.27	1.95	0.59	2.94	5.49	0.29	0.29

注：②津隆有机膜；③津腾有机膜；④津腾水膜。



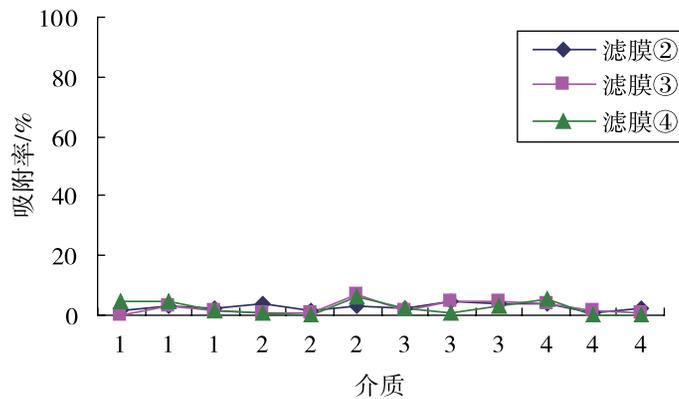
1. pH 6.8 磷酸盐缓冲液；2. pH 1.0 盐酸；3. pH 4.5 磷酸盐缓冲液；4. 水。

图1 滤膜吸附对甘草酸苷溶出度的影响



1. pH 6.8 磷酸盐缓冲液; 2. pH 1.0 盐酸; 3. pH 4.5 磷酸盐缓冲液; 4. 水。

图2 滤膜吸附对甘氨酸溶出度的影响



1. pH 6.8 磷酸盐缓冲液; 2. pH 1.0 盐酸; 3. pH 4.5 磷酸盐缓冲液; 4. 水。

图3 滤膜吸附对蛋氨酸溶出度的影响

### 3 讨论

滤膜吸附对复方甘草酸苷片的溶出度测定有不同程度的干扰：①不同滤膜吸附作用不同，2种有机膜的吸附作用大于水膜；②同一滤膜对不同成分吸附作用不同，对甘草酸苷的吸附作用较大，对甘氨酸和蛋氨酸吸附较小；③对不同浓度溶液吸附作用不同，总体而言，对低浓度溶液吸附作用大于对高浓度溶液吸附作用；④对不同介质中同一成分的吸附作用不同，尤其是在pH 1.0盐酸中，2种有机膜对甘草酸苷吸附率达到70%以上，水膜吸附率20%以上。

滤膜吸附对溶出度的干扰不可忽视，在进行溶出试验前必须根据所测品种的特点，对滤膜干扰进行充分验证，选择适当的滤膜或者适当的方

法降低及消除滤膜的干扰。通过蒸煮滤膜、更换大孔径滤膜、弃去初滤液的体积>5 mL、离心处理溶出液均能有效减少和防止滤膜对药物吸附产生的干扰<sup>[7-8]</sup>。谢沐风<sup>[5]</sup>等指出如滤膜对药物有吸附，可将滤膜在沸水中煮沸1 h，或加大初滤液体积等。但仍建议采用样品直接高速离心的方法。

笔者在实验过程中遇到大部分滤膜干扰试验只是针对一种介质进行的，尤其在仿制药与原研产品 $f_2$ 因子比较时，不同介质中滤膜吸附干扰程度不同，各介质中均应进行滤膜吸附试验。

### 参考文献:

[1] 谢沐风. 改善溶出度评价方法, 提高固体药物制剂水平[J]. 中国医药工业杂志, 2005, 7(36), 447-451.

- [2] 谢沐风. 溶出度研究系列: 一[J]. 中国药品标准, 2005, 6(6): 42-46.
- [3] 谢沐风. 溶出度研究系列: 二[J]. 中国药品标准, 2006, 1(7): 48-51.
- [4] 谢沐风. 简介“日本药品品质再评价”工程[J]. 中国药品标准, 2005, 4(4): 42-47.
- [5] 谢沐风, 操洪欣. 溶出度测定中的若干问题[J]. 中国医药工业杂志, 2006, 37(12): 859-861.
- [6] 曹玲, 张云楚. 柱前衍生化HPLC法同时测定注射用复方甘草酸苷中盐酸半胱氨酸和甘氨酸的含量[J]. 中国药品标准, 2007, 8(5): 31-33.
- [7] 迟雪梅, 王阿琴, 王新月, 等. 溶滤膜吸附对克拉霉素片溶出度的干扰试验[J]. 中国药师, 2014, 17(5): 875-878.
- [8] 单亚. 滤膜吸附对部分口服药物溶出度的干扰试验研究[J]. 安徽医药, 2007, 11(2): 118-119.

(收稿日期 2016年1月28日 编辑 邹宇玲)