本文引用:邓松岳,孟建升,蒋俊春. 华蟾素肠溶胶囊中 5-羟色胺溶出度测定方法考察[J]. 新乡医学院学报,2022,39(5):420-423. DOI:10.7683/xxyxyxb.2022.05.004.

【基础研究】

华蟾素肠溶胶囊中 5-羟色胺溶出度测定方法考察

邓松岳, 孟建升, 蒋俊春
(商丘市食品药品检验检测中心,河南 商丘 476000)

摘要: **目的** 建立华蟾素肠溶胶囊中 5-羟色胺的体外溶出度测定方法。**方法** 将 4 粒华蟾素胶囊样品加入到 100 mL 溶出杯中,溶出介质分别为 0.1 mol·L^{-1}盐酸溶液(模拟胃液)和酸碱度(pH)6.8 磷酸盐缓冲液(模拟肠液),溶出介质体积 100 mL,将溶出杯置于全自动溶出试验仪,溶出温度(37.0±0.5)℃,仪器转速 100 r·min^{-1},样品于 0.1 mol·L^{-1}盐酸溶液和 pH 6.8 磷酸盐缓冲液中的取样时间分别为 2 h 和 30 min。采用紫外-可见分光光度法检测华蟾素肠溶胶囊中 5-羟色胺在 0.1 mol·L^{-1}盐酸溶液和 pH 6.8 磷酸盐缓冲液中的溶出度。对本研究所建立的华蟾素肠溶胶囊中 5-羟色胺的体外溶出度测定方法进行精密度、重复性及回收率考察。**结果** 5-羟色胺对照品浓度在 4.802~21.008 mg·L^{-1}范围内与吸光度值呈良好的线性关系。华蟾素肠溶胶囊中 5-羟色胺在 0.1 mol·L^{-1}的盐酸溶液中的溶出度为(0.04±0.03)%,在磷酸盐缓冲液(pH 6.8)中的溶出度为(84.6±1.9)%。本研究所建立的华蟾素肠溶胶囊中 5-羟色胺的体外溶出度测定方法,精密度试验相对标准偏差(RSD)为 0.76%。华蟾素肠溶胶囊在 0.1 mol·L^{-1}的盐酸溶液中 5-羟色胺溶出度重复性测定的 RSD 为 0.04%,在 pH 6.8 磷酸盐缓冲液中重复性测定的 RSD 为 2.9%,重复性良好。华蟾素肠溶胶囊在 pH 6.8 磷酸盐缓冲液中 5-羟色胺的回收率为 97.47%,RSD 为 1.6%。**结论** 本研究所建立的华蟾素肠溶胶囊中 5-羟色胺的体外溶出度测定方法使华蟾素肠溶胶囊中 5-羟色胺在模拟胃液中的溶出度不超过 10%,在模拟肠液中的溶出度不低于 70%,精密度、重复性良好,回收率高,可为华蟾素胶囊的质量控制提供参考。

关键词: 华蟾素肠溶胶囊;5-羟色胺;溶出度
中图分类号: R94 **文献标志码**: A **文章编号**: 1004-7239(2022)05-0420-04

Study on dissolution determination method of 5-hydroxytryptamine in cinobufotalin enteric capsule

DENG Songyue, MENG Jiansheng, JIANG Junchun
(*Center of Inspection and Detection, Shangqiu Food and Drug Control, Shangqiu* 476000, *Henan Province, China*)

Abstract: **Objective** To establish a dissolution rate determination method of 5-hydroxytryptamine in cinobufotalin enteric capsule *in vitro*. **Methods** Four cinobufacini enteric capsule samples were added to a 100 mL dissolution vessel, and the dissolution medium was 0.1 mol·L^{-1} hydrochloric acid solution (simulated gastric juice) and hydrogen ion concentration (pH) 6.8 phosphate buffer (simulated intestinal juice), and the volume of the dissolution medium was 100 mL, and the dissolution vessel was placed in an automatic dissolution tester. The dissolution temperature was (37.0±0.5) ℃, and the instrument speed was 100 r·min^{-1}. The time of the sample taken out in 0.1 mol·L^{-1} hydrochloric acid solution and pH 6.8 phosphate buffer is 2 h and 30 min, respectively. The dissolution rate of 5-hydroxytryptamine in cinobufotalin enteric capsule in 0.1 mol·L^{-1} hydrochloric acid solution and pH 6.8 phosphate buffer was detected by ultraviolet-visible spectrophotometry. The precision, repeatability and recovery rate of the dissolution rate determination method of 5-hydroxytryptamine in cinobufotalin enteric capsule *in vitro* established in this study were investigated. **Results** The concentration of 5-hydroxytryptamine reference substance in the range of 4.802–21.008 mg·L^{-1} showed a good linear relationship with the absorbance value. The dissolution rate of 5-hydroxytryptamine in cinobufotalin enteric capsule in 0.1 mol·L^{-1} hydrochloric acid solution was (0.04±0.03)%, and the dissolution rate in pH 6.8 phosphate buffer was (84.6±1.9)%. The relative standard deviation (RSD) of the precision test was 0.76% for the *in vitro* dissolution determination method of 5-hydroxytryptamine in cinobufotalin enteric capsule established

DOI:10.7683/xxyxyxb.2022.05.004
收稿日期:2021-06-15
作者简介:邓松岳(1965-),男,河南登封人,学士,副主任药师,研究方向:药物分析及质量标准。
通信作者:蒋俊春(1981-),女,吉林辽源人,学士,副主任药师,研究方向:食品、药品检验和质量标准研究;E-mail:42540620@qq.com。

in this study. The RSD of the reproducible determination of 5-hydroxytryptamine dissolution rate in cinobufotalin enteric capsule in 0.1 mol · L^{-1} hydrochloric acid solution was 0.04%, and in pH 6.8 phosphate buffer was 2.9%, and the repeatability was good. The recovery rate of 5-hydroxytryptamine in cinobufotalin enteric capsule in pH 6.8 phosphate buffer was 97.47%, and the RSD was 1.6%. **Conclusion** The dissolution determination method of 5-hydroxytryptamine in cinobufotalin enteric capsule *in vitro* established in this study makes the dissolution rate of 5-hydroxytryptamine in cinobufotalin enteric capsule in simulated gastric juice not more than 10%, and the dissolution rate in simulated intestinal fluid is not lower than 70%. It has good properties and high recovery rate, which can provide reference for the quality control of cinobufotalin enteric capsule.

Key words: cinobufotalin enteric capsule; 5-hydroxytryptamine; dissolution rate

华蟾素有抗肿瘤、免疫调节等作用,其制剂是临床常用药物。对于肿瘤患者,经过积极的手术、放射治疗、化学治疗等综合治疗以后,同时配合使用华蟾素,可以起到一定的辅助治疗作用,对于防止肿瘤的复发、延缓疾病的进展、改善预后具有一定作用。华蟾素肠溶胶囊是由干蟾皮加工制成的中药制剂,蟾皮及其制品临床应用广泛,特别是以干蟾皮为主要原料制成的水溶性制剂华蟾素为我国自行研发的二类新药,对各种原发性恶性肿瘤具有较好的疗效。蟾皮的化学成分复杂,目前分离获得的主要单体有蟾蜍二烯羟酸内酯类、吲哚生物碱类、蟾蜍环酰胺等化合物;其中吲哚生物碱类化合物具有一定的药理作用,特别是抑制性神经递质 5-羟色胺。为了加强华蟾素肠溶胶囊的质量控制,保证产品疗效,本研究参照《中国药典》2020 年版四部通则(溶出度与释放度测定法)[1],采用第三法小杯法,以 5-羟色胺为测定指标,探讨华蟾素肠溶胶囊的体外溶出度测定方法,以期为该制剂的临床应用提供质量保障。

1　材料与方法

1.1　试剂与仪器　5-羟色胺盐酸盐对照品由中国食品药品检定研究院提供(批号:111656-200401),五氧化二磷、对二甲氨基苯甲醛(天津市大茂化学试剂厂)、盐酸(洛阳市化学试剂厂)、磷酸钠(天津市德恩化学试剂有限公司)均为分析纯,华蟾素肠溶胶囊购自陕西东泰制药有限公司(每粒 0.25 g;国药准字 Z20050846);紫外分光光度计购自安捷伦(中国)有限公司,电子分析天平购自岛津企业管理(中国)有限公司,全自动溶出试验仪购自禄亘仪器设备(上海)有限公司,真空干燥箱购自上海博迅实业有限公司,超声处理机购自深圳福洋科技集团有限公司。

1.2　方法

1.2.1　溶出方法　由于样品含量比较低,故采用小杯法测定华蟾素肠溶胶囊在盐酸和磷酸盐缓冲液中的溶出情况。将 4 粒华蟾素胶囊样品加入到 100 mL 溶出杯中,溶出介质分别为 0.1 mol · L^{-1} 盐酸溶液和酸碱度(hydrogen ion concentration, pH)6.8 磷酸盐缓冲液,溶出介质体积 100 mL,将溶出杯置于全自动溶出试验仪,溶出温度(37.0 ± 0.5)℃,仪器转速 100 r · min^{-1},样品于 0.1 mol · L^{-1} 盐酸溶液和 pH 6.8 磷酸盐缓冲液中的取样时间分别为 2 h 和 30 min。将溶出液经 0.45 μm 的微孔滤膜滤过,取续滤液。

1.2.2　建立标准曲线　取 5-羟色胺盐酸盐对照品适量,在真空干燥箱中干燥至恒重,称取约 10 mg(精确至 0.1 mg),加水制成浓度为 40 mg · L^{-1} 的溶液,作为对照品溶液。精密量取对照品溶液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 分别置于 10 mL 量瓶中,加水至 5.0 mL,再加入体积分数 15% 对二甲氨基苯甲醛盐酸溶液至刻度,摇匀,放置 30 min,以水作空白对照,使用紫外分光光度计于 555 nm 波长处测定吸光度值,以吸光度值为纵坐标(y),以对照品浓度为横坐标(x),绘制标准曲线。

1.2.3　紫外-可见分光光度法检测溶出度　取 1.2.1 所得续滤液 10 mL,置于 20 mL 量瓶中,用体积分数 15% 对二甲氨基苯甲醛盐酸溶液稀释至刻度摇匀,放置 30 min,以水作空白对照,使用紫外分光光度计在 555 nm 波长处测定吸光度值,带入标准曲线,计算华蟾素肠溶胶囊在 0.1 mol · L^{-1} 盐酸溶液和磷酸盐缓冲液(pH 6.8)中 5-羟色胺的溶出度。实验重复 3 次,取均值。《中国药典》[1] 中要求:肠溶制剂在酸中溶出度不大于标示量的 10%;在缓冲液中溶出度不低于标示量的 70%。

1.2.4　精密度试验　取 5 份 5-羟色胺对照品溶液 5 mL,分别置于 10 mL 量瓶中,加入体积分数 15% 对二甲氨基苯甲醛盐酸溶液至刻度,摇匀,放置 30 min,以水作空白对照,使用紫外分光光度计于 555 nm 波长处测定吸光度值。

1.2.5 重复性试验 取同一批华蟾素肠溶胶囊样品,按照拟定的溶出度测定方法检测华蟾素肠溶胶囊在 0.1 mol · L^{-1}盐酸溶液和 pH 6.8 磷酸盐缓冲液中 5-羟色胺的溶出度,实验重复 5 次,取均值。

1.2.6 回收率考察 取华蟾素肠溶胶囊 2 粒,置于 100 mL 量瓶中,精密加入 5-羟色胺盐酸盐对照品溶液(0.3 g · L^{-1})1.0 mL, 加入 pH 6.8 的磷酸盐缓冲溶液溶解后,再加 pH 6.8 的磷酸盐缓冲溶液至刻度,摇匀,精密量取该溶液 5 mL,置于另一 10 mL 量瓶中,加入体积分数 15% 对二甲氨基苯甲醛盐酸溶液至刻度,摇匀,放置 30 min,以水作空白对照,在 555 nm 波长处测定吸光度值,计算回收率。

2 结果

2.1 线性关系考察结果 标准曲线的回归方程为 $y = 0.021\,85x + 0.034\,29$,相关系数 $r = 0.999\,7$,5-羟色胺对照品浓度在 4.802 ~ 21.008 mg · L^{-1}范围内与吸光度值呈良好的线性关系。

2.2 溶出度测定结果 华蟾素肠溶胶囊在 0.1 mol · L^{-1}的盐酸溶液中的溶出度为(0.04 ± 0.03)%,在磷酸盐缓冲液(pH 6.8)中的溶出度为(84.6 ± 1.9)%,符合《中国药典》有关溶出度的要求。

2.3 精密度 相对标准偏差(relative standard deviation,RSD) 为 0.76%,精密度良好。

2.4 重复性 华蟾素肠溶胶囊在 0.1 mol · L^{-1}的盐酸溶液中 5-羟色胺溶出度重复性测定的 RSD 为 0.04%,在 pH 6.8 磷酸盐缓冲液中重复性测定的 RSD 为 2.9%,重复性良好。

2.5 回收率 华蟾素肠溶胶囊在 0.1 mol · L^{-1}磷酸盐缓冲液(pH 6.8)中 5-羟色胺的回收率为 97.47%,RSD 为 1.6%。

3 讨论

体外溶出度测定是考察口服固体制剂生物利用度的主要手段,溶出度测定方法在化学药品中的应用已经发展的比较成熟。因为中药制剂化学成分复杂,体外生物利用度的研究方法不够成熟,所以关于中药制剂体外溶出方法的研究发展相对较慢。但随着传统中药的发展和仪器、技术的不断更新,溶出度测定方法在中药制剂质量控制中的应用也逐渐增多[2-4]。目前,华蟾素片的溶出度测定方法已有文献报道[5-7]。华蟾素肠溶胶囊中华以蟾素毒基和酯蟾毒配基为测定指标的溶出度测定方法也有相关文献文献报道[8]。但华蟾素肠溶胶囊中 5-羟色胺在 0.1 mol · L^{-1}盐酸和 pH 6.8 磷酸盐缓冲液中的溶出度测定方法尚未见报道,肠溶胶囊可以有效地缓解药物的不良反应和胃部不适感,由于华蟾素肠溶胶囊有效成分的复杂性和难溶性,使得对其溶出度的测定研究意义重大。

华蟾素肠溶胶囊是以干蟾皮为主要原料加工制成的制剂。《中国药典》[6]中记载的蟾酥以华蟾酥毒基和酯蟾毒配基为测定有效成分。有研究报道,蟾酥药材的另一有效成分为 5-羟色胺,其生物活性也特别明显[10-14]。华蟾素肠溶胶囊中 5-羟色胺含量比华蟾酥毒基和酯蟾毒配基要高,在溶出介质中更易于溶出,且稳定性较好;而且采用紫外-可见分光光度法测定华蟾素肠溶胶囊中 5-羟色胺含量在保证准确性的同时较液相色谱法更易于操作且省时,减少了有机溶剂的使用,更利于环保。故本研究建立华蟾素肠溶胶囊中 5-羟色胺溶出度测定方法,以 0.1 mol · L^{-1}盐酸溶液模拟胃液,以磷酸盐缓冲液(pH 6.8)模拟肠液,采用紫外-可见分光光度法测定华蟾素肠溶胶囊的体外溶出情况,以期用于华蟾素肠溶胶囊的质量控制。

肠溶制剂在体内的溶出和定位吸收情况要通过溶出度的测定来进行评价[15-17]。本研究结果显示,华蟾素肠溶胶囊在 0.1 mol · L^{-1}盐酸溶液中的溶出度为(0.04 ± 0.03)%,在磷酸盐缓冲液(pH 6.8)中的溶出度为(84.6 ± 1.9)%,华蟾素肠溶胶囊在模拟胃液中的溶出度不超过 10%,在模拟肠液中的溶出度不低于 70%,符合《中国药典》的要求。本研究方法线性关系考察结果显示, 5-羟色胺盐酸盐对照品浓度在 4.802 ~ 21.008 mg · L^{-1}范围内与吸光度值呈良好的线性关系。本研究方法精密度、重复性良好,且华蟾素肠溶胶囊在 0.1 mol · L^{-1}磷酸盐缓冲液(pH 6.8)中 5-羟色胺的回收率较高。

综上所述,本研究所建立的华蟾素肠溶胶囊中 5-羟色胺的体外溶出测定方法在模拟胃液中的溶出度不超过 10%,在模拟肠液中的溶出度不低于 70%,精密度、重复性良好,回收率高,可为华蟾素胶囊的质量控制提供参考。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:四部(2020 年版)

[S]. 北京:中国医药科技出版社,2020:132-137.
NATIONAL PHARMACOPOEIA COMMISSION. Pharmacopoeia of the people's republic of China: volume Ⅳ (2020 edition) [S]. Beijing: China Medical Science and Technology Publishing House, 2020: 132-137.

[2] 周璟明,徐兰,陈秀明,等. 维生素 D_3 软胶囊溶出度测定方法的建立[J]. 药物分析杂志,2021,40(3):543-550.
ZHOU J M, XU L, CHEN X M, *et al*. Establishment of a dissolution method of vitamin D_3 soft capsules[J]. *Chin J Pharm Analysis*, 2021, 40(3): 543-550.

[3] 沈川,程义,曾令高,等. 阿莫西林胶囊溶出度测定方法研究[J]. 中国药业,2021,30(5):59-62.
SHEN C, CHENG Y, ZENG L G, *et al*. Dissolution determination of amoxicillin capsules[J]. *China Pharm*, 2021, 30(5): 59-62.

[4] 张嫱,黎翩,孙阳恩,等. 中药固体制剂溶出行为研究进展[J]. 中国新药杂志,2019,28(20):2498-2501.
ZHANG Q, LI P, SUN Y E, *et al*. Research progress on dissolution behavior of solid preparations of traditional Chinese medicine [J]. *Chin J New Drugs*, 2019, 28(20): 2498-2501.

[5] 田磊. 华蟾素片的含量及释放度测定[J]. 中国药业,2010,19(17):18-19.
TIAN L. Determination of content and release of cinonbufotalin tablets[J]. *China Pharmaceut*, 2010, 19(17): 18-19.

[6] 王元清,严建业,王义强,等. 华蟾素分散片溶出度的研究[J]. 中成药,2008,30(11):1667-1669.
WANG Y Q, YAN J Y, WANG Y Q, *et al*. Study on the dissolution rate of cinobufasu dispersible tablets[J]. *Chin Trad Patent Med*, 2008, 30(11): 1667-1669.

[7] 李霞,刘放,吴宏富. 华蟾素分散片的溶出度测定[J]. 中国药业,2010,19(24):37-39.
LI X, LIU F, WU H F. Study on dissolution rate of cinobufotoxin dispersible tablets[J]. *China Pharm*, 2010, 19(24): 37-39.

[8] 孟建升,吕斌,蒋俊春,等. 华蟾素胶囊释放度测定方法的研究[J]. 海峡药学,2019,31(2):21-23.
MENG J S, LYU B, JIANG J C, *et al*. Assaying method for release of cinobufacin capsules[J]. *Strait Pharm J*, 2019, 31(2): 21-23.

[9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部(2020 年版)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:401-402.
NATIONAL PHARMACOPOEIA COMMISSION. Pharmacopoeia of the people's republic of China: volume Ⅰ (2020 edition) [S]. Beijing: China Medical Science and Technology Publishing House, 2020: 401-402.

[10] 宋愿智,宋哲,李秋菲. 华蟾素胶囊中 5-羟色胺的含量测定方法研究[J]. 中国医药科学,2012,2(18):103-104.
SONG Y Z, SONG Z, LI Q F, *et al*. Study on determination of 5-hydroxytryptamine in cinobufagin capsules [J]. *China Med Pharm*, 2012, 2(18): 103-104.

[11] 刘月露,姜姗,李峰. 蟾酥商品药材中 5-羟色胺含量测定[J]. 辽宁中医药大学学报,2016,18(7):63-65.
LIU Y L, JIANG S, LI F, *et al*. Determination of 5-hydroxytryptamine in venenum bufonis [J]. *J Liaoning Univ Trad Chin Med*, 2016, 18(7): 63-65.

[12] 翁水旺. 溶出度在中药制剂中的应用进展[J]. 中药新药与临床药理,2003,14(4):289-292.
WENG S W. Application progress of dissolution in traditional Chinese medicine preparation[J]. *Trad Chin Drug Re Clin Pharm*, 2003, 14(4): 289-292.

[13] 张屏,崔征,刘雅姝,等. 蟾酥中吲哚烷胺类生物碱的分离与结构鉴定[J]. 沈阳药科大学学报,2006,23(4):216-219.
ZHANG P, CUI Z, LIU Y S, *et al*. Isolation and identification of the indolealkylamines from the traditional Chinese medicine tosd venom[J]. *J Shenyang Pharm Univ*, 2006, 23(4): 216-219.

[14] 李伟,王元清,严建业,等. 均匀设计优选干蟾中吲哚类生物碱的水提工艺[J]. 中国中医药现代远程教育,2014,4(12):144-146.
LI W, WANG Y Q, YAN J Y, *et al*. Optimizing the water extracting conditions of indole alkaloids from siccus bufo by uniform design[J]. *Chin Med Modern Dist Ed China*, 2014, 4(12): 144-146.

[15] 栾晓,娇杨俊,杨广雪,等. 国产布洛芬片溶出曲线考察及质量评价[J]. 沈阳药科大学学报,2021,38(4):335-341.
LUAN X, JIAO Y J, YANG G X, *et al*. Study on dissolution curve and quality evaluation of domestic ibuprofen tablets[J]. *J Shenyang Pharm Univ*, 2021, 38(4): 335-341.

[16] HUSSAIN M D, SAXENA V, BRAUSCH J F, *et al*. Ibuprofen-phospholipid solid dispersions: improved dissolution and gastric tolerance[J]. *Int J Pharm*, 2012, 422(1-2): 290-294.

[17] GAO Y, ZU H, ZHANG J. Enhanced dissolution and stability of adefovir dipivoxil by cocrystal formation[J]. *J Pharm Pharmacol*, 2011, 63(4): 483-490.

(本文编辑:郭　潇)