

复方甘草片溶出度方法的建立和溶出曲线相似性评价

周晓力, 曾月林, 尹利辉*, 陈华*

(中国食品药品检定研究院, 北京 102629)

摘要 目的: 为了控制复方甘草片的质量, 进一步评价其生产工艺, 建立体外溶出实验方法及相关的 HPLC 检测方法。方法: 溶出条件为桨法, 转速为 $50 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 溶出介质为水, 检测方法为 HPLC 法, 以自身对照法进行溶出度计算。采用建立的溶出方法对 3 个厂家的复方甘草片中吗啡、磷酸可待因和甘草酸的溶出情况进行了考察, 并用 Weibull 模型对溶出数据进行拟合。结果: 通过比较拟合参数来评价各厂家的溶出情况, 发现不同厂家之间的 Weibull 拟合参数有显著差异, 说明各厂家的制剂工艺存在较大的区别; 通过批间均一性比较, 发现厂家 A 的生产工艺相对稳定, 但其不同年份生产的样品存在一定的差异性。结论: 采用建立的体外溶出实验方法对不同厂家的样品进行溶出曲线相似性评价, 为复方甘草片的质量研究提供参考。

关键词: 复方甘草片; 吗啡; 磷酸可待因; 甘草酸; 溶出度; 溶出曲线; 相似性; 高相液相色谱法

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254 - 1793(2023)02 - 0280 - 09

doi: 10.16155/j.0254 - 1793.2023.02.11

Establishment of dissolution method and similarity evaluation of dissolution curves of compound licorice tablets

ZHOU Xiao - li, ZENG Yue - lin, YIN Li - hui*, CHEN Hua*

(National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 102629, China)

Abstract Objective: To establish an *in vitro* dissolution test method in order to control the quality of compound licorice tablets, and further evaluate its production process. **Methods:** The dissolution conditions were the paddle method, the speed was $50 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, the dissolution medium was water, the detection method was the HPLC method, and the self - control method was used to calculate the dissolution. The established dissolution method was used to investigate the release of morphine, codeine phosphate and glycyrrhizic acid in compound licorice tablets from 3 companies. The Weibull model was used to fit the dissolution data. **Results:** The products from each company were evaluated by comparing the fitting parameters. There were significant differences between the Weibull fitting parameters of different manufacturers, indicating that there were a big difference in the preparation process of each manufacturer. Through the comparison of batch uniformity, it was found that the production process of manufacturer A was relatively stable, but there were certain differences in the samples produced in different years. **Conclusion:** An dissolution test method is established, and the method was used to evaluate the similarity of the dissolution curves of samples from different manufacturers, which provides a reference for the quality research of compound licorice tablets. **Keywords:** compound licorice tablets; morphine; codeine phosphate; glycyrrhizic acid; dissolution; dissolution curve; similarity; HPLC

* 通信作者 尹利辉 Tel: (010) 53851547; E - mail: yinlihui@nifdc.org.cn

陈华 Tel: (010) 53851620; E - mail: chenhu@nifdc.org.cn

第一作者 Tel: (010) 53851629; E - mail: zhousiaoli@nifdc.org.cn

复方甘草片配方源于布朗合剂,青海制药厂删除了布朗合剂中的酒石酸锑钾,研制出了复方甘草片^[1],其具有良好的镇痰止咳功效,应用广泛,效果好且经济实惠。2012年,国家卫生健康委员会将复方甘草片纳入国家基本药物目录;2014年,国家发改委将复方甘草片纳入国家低价短缺药物目录。自1963年版起,《中华人民共和国药典》(简称《中国药典》)收录了该品种,在后续不同版本中,其质量标准在不断地改进和优化^[2-4]。

随着中药现代化的发展,溶出度评价也逐渐应用于包含中药成分的复杂固体制剂的质量研究^[5-7]。大部分中药成分缺乏有效的体内生物利用度数据和参比制剂,虽然体外溶出度的评价并不能代替体内有效性评价,但合理的溶出度评价可反映出原料药、辅料和制剂工艺的差异性,可用于评价该类固体口服制剂的内在质量^[8-12]。复方甘草片为含天然药物的多组分复方制剂,处方为甘草浸膏粉(112.5 mg)、阿片粉或罂粟果提取粉(4 mg)、樟脑(2 mg)、八角茴香油(2 mg)和苯甲酸钠(2 mg),在实际制剂过程中会添加适量的磷酸可待因,来平衡不同年份产地之间的成分波动以保证止咳效果。本文选取主药成分甘草浸膏粉中的甘草酸、罂粟果提取物中的吗啡和可待因为考察目标物,根据本品的特性建立体外溶出曲线测定方法,并对不同厂家的复方甘草片溶出情况进行评价。采用Weibull模型进行溶出曲线拟合与评价,并研究溶出和崩解的相关性,以期能更合理、全面地评价复方甘草片的质量。

1 实验材料

1.1 仪器

高效液相色谱仪(Hitachi公司),708-DS溶出仪(Agilent公司),XS205DU十万分之一电子天平(Mettler公司),S220-B pH计(Mettler公司),SB25-12D超声仪(宁波新芝生物科技股份有限公司)。

1.2 试药

对照品吗啡(批号171201-201324,含量99.1%)、磷酸可待因(批号171203-201507,含量97.3%)、甘草酸铵(批号110731-201619,含量93.0%)均来自中国食品药品检定研究院。乙腈(色谱纯,批号JA065030,Merck公司),甲醇(色谱纯,批号163629,Fisher公司);磷酸(优级纯,批号20170714)、盐酸(分析纯,批号20170323)、氢氧化钠

(分析纯,批号20161013)、醋酸钠(分析纯,批号20140530)、磷酸二氢钾(分析纯,批号20160929)、醋酸(优级纯,批号20180315)均来自国药集团化学试剂有限公司。

选取了目前正在生产的A、B和C 3个厂家共9批的复方甘草片,A厂家共5批,标记为A1~A5,其中A1、A2和A3均为2018年生产,A4为2016年生产,A5为2015年生产;B厂家共3批,标记为B1~B3,C厂家1批,均为2018年生产。

2 实验方法

2.1 溶液的制备

按照《普通口服固体制剂溶出度试验技术指导原则》^[11]配制 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸溶液、pH 4.0缓冲溶液和pH 6.8缓冲溶液。

对照品溶液制备:用甲醇作为溶剂,配制质量浓度约为 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 吗啡储备溶液;用50%甲醇溶液作为溶剂,配制质量浓度为 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的磷酸可待因储备溶液;用50%甲醇溶液作为溶剂,配制质量浓度为 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的甘草酸铵储备溶液。取上述各储备溶液,用水作为溶剂,配制成约含吗啡 $0.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、磷酸可待因 $0.2 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 与甘草酸铵 $10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液。

2.2 检测条件

色谱柱:菲罗门Titank C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);基线稳定柱:菲罗门Baseline(50 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:0.1%磷酸溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0~5 min,5%B;5~12 min,5%B→12%B;12~20 min,12%B→25%B;20~29 min,25%B→38%B;29~41 min,38%B→48%B;41~42 min,48%B→100%B;42~43 min,100%B→5%B;43~58 min,5%B);流速: $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$;进样体积:20 μL;柱温:30 °C;检测波长:220 nm。

2.3 溶出条件

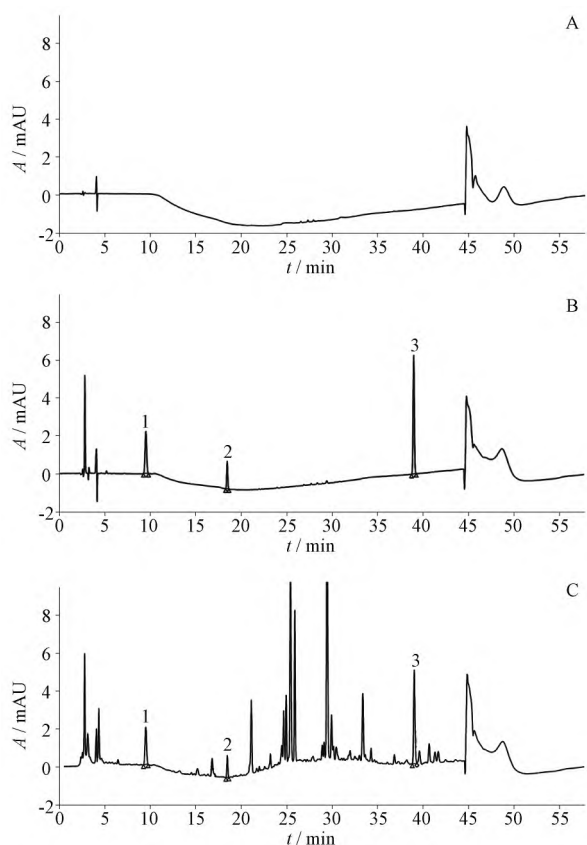
采用2020年版《中国药典》四部通则0931第二法装置浆法进行溶出试验,溶出介质为水,体积为900 mL,温度37 °C,转速为 $50 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

3 结果与讨论

3.1 色谱条件考察

3.1.1 专属性 取溶出曲线考察时溶出时间为45 min的样品溶液,0.45 μm滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。将溶剂空白溶液、对照品溶液和供试品溶液,分别按上述色谱条件进行测定,结果见图

1. 吗啡、可待因和甘草酸峰的保留时间分别约为 9.55、18.50 和 39.03 min, 甘草酸峰与后面邻近峰的分度为 1.98, 说明目标峰与其他峰分离良好, 且溶剂对目标峰无干扰。



1. 吗啡 (morphine) 2. 磷酸可待因 (codeine phosphate) 3. 甘草酸 (glycyrrhizic acid)
A. 空白溶液 (blank solution) B. 对照品溶液 (reference substance solution) C. 供试品溶液 (test solution)

图1 专属性考察色谱图

Fig.1 Exclusive investigation chromatography

3.1.2 线性关系 分别精密量取吗啡、磷酸可待因和甘草酸铵储备溶液适量, 用水稀释并定容, 制备含吗啡 0.73、0.51、0.26、0.08、0.04 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 磷酸可待因 0.37、0.26、0.13、0.04、0.02 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 甘草酸铵 18.6、13.0、6.5、2.0、1.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合对照品线性溶液, 按“2.2”项色谱条件进行测定, 记录峰面积, 以各对照品浓度 C 为横坐标, 峰面积 A 为纵坐标进行线性回归, 得到吗啡、磷酸可待因、甘草酸的线性方程分别为

$$A = 5.426 \times 10^4 C - 706.3 \quad r = 0.9999$$

$$A = 4.410 \times 10^4 C - 302.3 \quad r = 0.9998$$

$$A = 4.231 \times 10^3 C - 594.3 \quad r = 0.9999$$

结果表明, 吗啡、磷酸可待因、甘草酸质量浓度分别在 0.04 ~ 0.73 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、0.02 ~ 0.37 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、1.0 ~ 18.6 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内, 峰面积与质量浓度呈良好的线性关系。

3.1.3 回收率 取 1 批已准确测定含量的样品 (A1) 适量, 分别加入吗啡、磷酸可待因和甘草酸对照品储备溶液适量, 用水配制成相当于样品中吗啡、磷酸可待因和甘草酸含量 80%、100%、120% 的回收率溶液, 每个浓度配制 3 份, 按上述色谱条件进行测定, 计算回收率。吗啡、磷酸可待因和甘草酸的平均回收率分别为 102.0%、101.0% 和 101.2%, RSD 分别为 1.0%、1.4% 和 1.0%, 说明该方法的准确性良好。

3.1.4 定量限与检测限 用线性溶液的最低点, 按信噪比 (S/N) 为 10, 计算吗啡、磷酸可待因和甘草酸的定量限分别为 0.185 ng (相当于标示量的 2.0%)、0.155 ng (相当于标示量的 4.4%)、1.665 ng (相当于标示量的 0.8%); 按信噪比 (S/N) 为 3, 计算吗啡、磷酸可待因和甘草酸的检测限分别为 0.055 ng (相当于标示量的 0.6%)、0.046 ng (相当于标示量的 1.3%)、0.500 ng (相当于标示量的 0.2%)。

3.1.5 溶液稳定性 取本品 20 片 (A1), 研细, 各称取 1 片量置于 4 个 1000 mL 具塞玻璃瓶中, 分别加入水、pH 6.8 磷酸盐缓冲液、pH 4.0 磷酸盐缓冲液、0.1 mol $\cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸溶液 900 mL, 超声 (600 W, 40 kHz) 30 min 至完全溶解, 过滤, 得不同溶出介质配制的供试品溶液, 在室温条件下, 分别于第 0、12、24、36、52、72 和 96 h, 按“2.2”项色谱条件进样, 记录峰面积, 分别计算不同溶出介质条件下 3 个组分在 96 h 内的平均峰面积 A 及 RSD, 结果 (表 1) 表明, 不同溶出介质下的供试品溶液在室温下放置 96 h 内稳定。

3.2 溶出条件的选择

由于复方甘草片主药成分中的甘草酸来源于甘草浸膏粉, 吗啡及可待因来源于罂粟果提取物粉, 均为植物来源, 因此, 每批原材料的含量有可能会随当批植物来源有一定的波动。本研究采用自身对照法进行溶出行为的考察。本文参考《普通口服固体制剂溶出度试验技术指导原则》^[13] 对复方甘草片的溶出条件进行考察。

表 1 溶液稳定性(溶出介质为水)

Tab. 1 Solution stability (dissolution medium is water)

介质 (medium)	吗啡(morphine)		磷酸可待因(codeine phosphate)		甘草酸(glycyrrhizic acid)	
	A	RSD/%	A	RSD/%	A	RSD/%
水(water)	24 283	0.83	8 814	1.0	49 856	0.49
pH 6.8 磷酸盐缓冲液(phosphate buffer)	24 174	0.59	8 687	0.93	49 318	0.32
pH 4.0 磷酸盐缓冲液(phosphate buffer)	24 790	0.52	8 750	1.1	48 082	0.59
0.1 mol · L ⁻¹ 盐酸(hydrochloric acid)	25 058	0.41	8 759	0.64	40 514	0.46

3.2.1 转速 取3个不同厂家(A1、B3和C)的复方甘草片各1批,照溶出度与释放度测定法(2020年版《中国药典》四部通则0931第二法),以水900 mL为溶出介质,转速分别选择100、75、50 r · min⁻¹,溶出介质温度为37 °C,分别经5、10、20、30、45 min 取样6 mL (同时补充6 mL 同温度的溶出介质) 0.45 μm 滤膜滤

过,取续滤液作为供试品溶液;取各自厂家复方甘草片10片,研细,各精密称取1片量,置1 000 mL 流动相瓶中,加水900 mL,超声30 min,滤过,取续滤液,作为自身对照溶液。按上述液相色谱条件进样,采用自身对照法进行溶出量计算,结果见图2。转速为50 r · min⁻¹时,对3家企业产品的区分度最好。

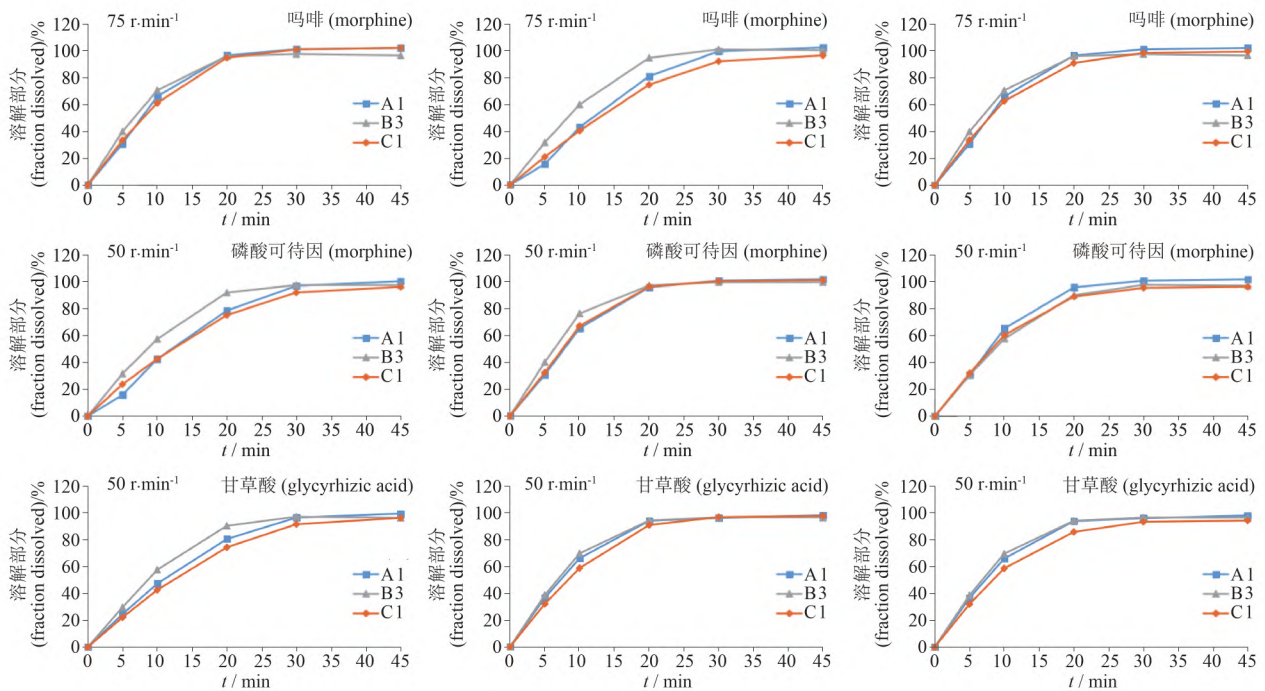


图 2 不同转速下各企业样品的吗啡、磷酸可待因及甘草酸溶出曲线

Fig.2 Dissolution curves of morphine, codeine phosphate and glycyrrhizic acid of samples from each companies at different rotational speeds

3.2.2 溶出介质 根据胃肠道不同部位 pH 不同的特点,参考日本橙皮书中列举的条件,按照《普通口服固体制剂溶出度试验技术指导原则》^[13],选取水、0.1 mol · L⁻¹ 盐酸溶液、pH 4.0 磷酸盐缓冲液和 pH 6.8 磷酸盐缓冲液作为溶出介质,由表 2 的峰面积数据可知,在 900 mL 的 0.1 mol · L⁻¹ 盐酸溶液中,甘草酸不能完全溶出,故仅采用水、pH 4.0 磷酸盐缓冲液

和 pH 6.8 磷酸盐缓冲液作为溶出介质进行选择考察。

采用浆法,以上述 3 种溶液为溶出介质,介质体积为 900 mL,转速 50 r · min⁻¹,自“溶出介质温度为 37 °C ……”起,按“3.2.1”项下方法,配制供试品溶液和自身对照溶液。按上述液相色谱条件进样,采用自身对照法进行溶出量计算,结果见图 3。

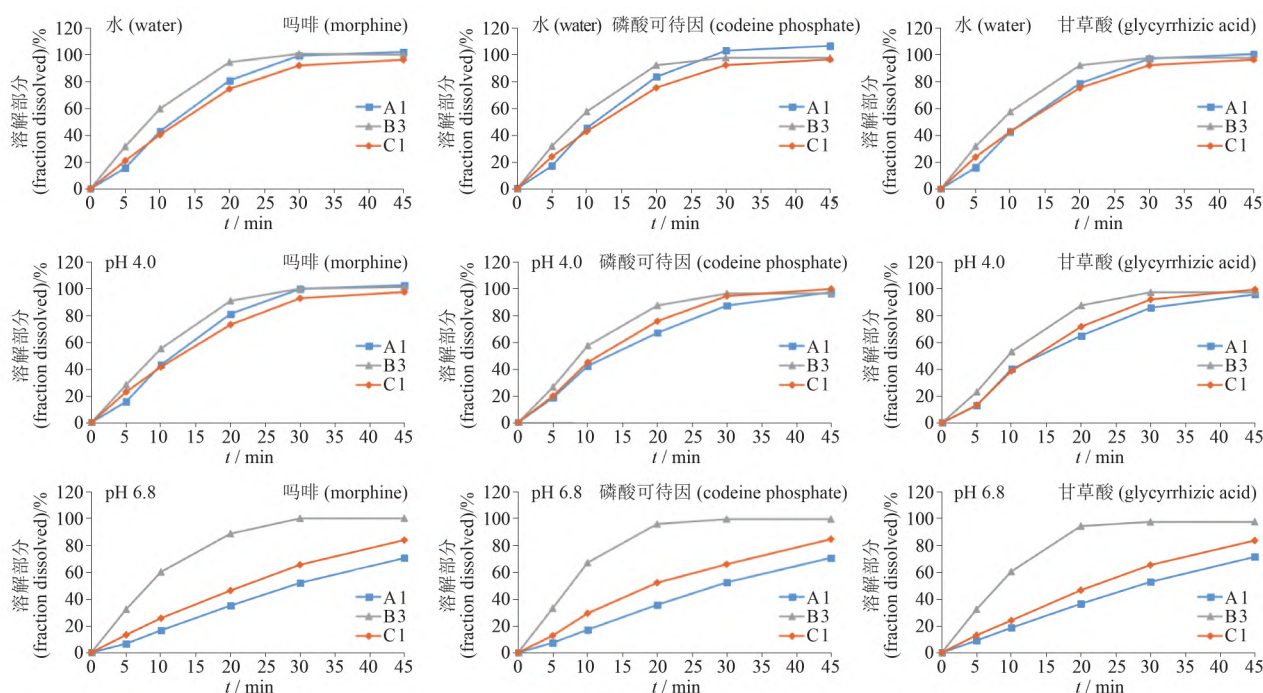


图3 不同溶出介质条件下各企业样品的吗啡、磷酸可待因及甘草酸溶出曲线

Fig. 3 Dissolution curves of morphine , codeine phosphate and glycyrrhizic acid of samples from each companies under different dissolution medium conditions

由转速考察结果可知,相比于 $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 和 $75 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 在 $50 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 时,水对3个厂家的样品有较好的区分性。由溶出介质条件考察结果可知,在溶出介质为 pH 6.8 磷酸盐缓冲液时,有的产品溶出较慢(45 min 时还未达 80%),不便于进行溶出考察,而 pH 4.0 磷酸盐缓冲液作为溶出介质时区分性较差,使用水作为溶出介质则易于制备,同时对于不同企业产品也具有适当的区分性,因此,选择水作为试验的溶出介质。最终确定溶出条件为:浆法,溶出

介质为水,转速为 $50 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,溶出介质为 900 mL。

3.3 各厂家的复方甘草片在水中的溶出行为考察

3.3.1 溶出测定结果 取 A、B 和 C 3 个厂家共 9 批复方甘草片,每批取 6 片,采用浆法,以水为溶出介质,介质体积为 900 mL,转速 $50 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,自“溶出介质温度为 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ ……”起,按“3.2.1”项下方法,配制供试品溶液和自身对照溶液。按上述液相色谱条件进样,采用自身对照法进行溶出量计算(已进行溶媒回补折算) 结果见表 2~4。

表2 在水中各取样点吗啡的溶出数据

Tab. 2 Dissolution data of morphine at each sampling time point in water

样品 - 生产年份 (sample - production year)	溶出度(dissolution) /% ($\bar{x} \pm s$ n=6)				
	5 min	10 min	20 min	30 min	45 min
A1 - 2018	22.39 ± 1.66	43.87 ± 3.63	77.43 ± 5.83	94.32 ± 4.21	96.84 ± 2.72
A2 - 2018	23.10 ± 3.36	44.69 ± 5.98	78.52 ± 8.57	96.26 ± 7.65	99.52 ± 3.80
A3 - 2018	23.69 ± 3.01	43.73 ± 4.85	77.44 ± 6.95	93.82 ± 4.82	97.54 ± 3.61
A4 - 2016	12.75 ± 1.87	20.05 ± 2.63	37.77 ± 4.06	55.99 ± 6.93	77.72 ± 8.38
A5 - 2015	10.78 ± 0.68	18.60 ± 1.49	35.30 ± 2.51	54.31 ± 2.52	73.75 ± 3.74
B1 - 2018	28.08 ± 3.44	48.05 ± 0.02	85.51 ± 4.46	92.84 ± 1.84	91.94 ± 2.46
B2 - 2018	27.70 ± 6.18	54.18 ± 9.13	86.40 ± 10.11	94.22 ± 3.01	95.99 ± 1.88
B3 - 2018	31.48 ± 3.53	59.64 ± 5.15	94.29 ± 13.54	100.49 ± 2.30	99.86 ± 2.92
C - 2018	20.84 ± 4.16	40.27 ± 7.74	74.39 ± 12.56	91.77 ± 12.22	96.06 ± 6.67

表3 在水中各取样时间点磷酸可待因的溶出数据

Tab. 3 Dissolution data of codeine phosphate at each sampling time point in water

样品 - 生产年份 (sample - production year)	溶出度(dissolution) /% ($\bar{x} \pm s$ $n=6$)				
	5 min	10 min	20 min	30 min	45 min
A1 - 2018	23.62 ± 1.08	44.90 ± 3.05	76.73 ± 4.22	92.44 ± 2.57	95.29 ± 1.92
A2 - 2018	25.21 ± 2.79	45.97 ± 4.94	77.74 ± 6.97	95.76 ± 4.87	99.29 ± 1.19
A3 - 2018	25.61 ± 3.99	46.80 ± 5.06	79.45 ± 7.80	95.27 ± 3.39	98.90 ± 1.29
A4 - 2016	12.11 ± 1.43	20.12 ± 2.13	39.95 ± 3.78	58.29 ± 6.27	76.94 ± 5.25
A5 - 2015	11.37 ± 0.77	20.63 ± 1.02	39.61 ± 1.75	56.28 ± 2.04	76.76 ± 2.36
B1 - 2018	28.69 ± 3.46	55.55 ± 3.56	79.82 ± 0.02	93.83 ± 1.75	92.74 ± 1.20
B2 - 2018	28.69 ± 6.09	54.61 ± 9.66	86.62 ± 10.35	94.72 ± 3.57	95.50 ± 1.65
B3 - 2018	31.53 ± 3.80	57.24 ± 6.28	90.39 ± 5.44	97.32 ± 1.34	97.20 ± 1.47
C - 2018	23.68 ± 5.11	42.48 ± 9.43	75.02 ± 13.20	91.85 ± 13.86	96.04 ± 8.14

表4 在水中各取样时间点甘草酸的溶出数据

Tab. 4 Dissolution data of glycyrrhizic acid at each sampling time point in water

样品 - 生产年份 (sample - production year)	溶出度(dissolution) /% ($\bar{x} \pm s$ $n=6$)				
	5 min	10 min	20 min	30 min	45 min
A1 - 2018	23.97 ± 1.76	44.60 ± 2.98	76.30 ± 4.28	92.56 ± 2.20	95.17 ± 1.47
A2 - 2018	23.58 ± 1.83	44.44 ± 4.87	74.98 ± 6.11	91.43 ± 3.93	96.32 ± 0.98
A3 - 2018	25.72 ± 3.54	45.05 ± 5.47	76.30 ± 7.65	90.92 ± 3.31	95.54 ± 0.61
A4 - 2016	8.96 ± 1.11	18.88 ± 2.26	38.98 ± 4.14	54.93 ± 5.37	76.35 ± 6.31
A5 - 2015	9.72 ± 0.43	19.87 ± 0.73	39.59 ± 0.94	56.96 ± 1.23	77.90 ± 1.76
B1 - 2018	29.26 ± 2.61	56.44 ± 4.38	89.26 ± 4.43	95.63 ± 1.33	94.95 ± 1.34
B2 - 2018	29.12 ± 5.90	55.47 ± 9.71	87.85 ± 10.77	95.78 ± 3.69	97.35 ± 1.28
B3 - 2018	29.58 ± 3.21	57.49 ± 6.05	90.18 ± 5.96	96.97 ± 1.09	96.12 ± 1.07
C - 2018	22.05 ± 4.99	42.50 ± 7.65	74.19 ± 11.80	91.37 ± 11.29	96.08 ± 5.81

3.3.2 Weibull 模型拟合 溶出行为的评价方法有非模型依赖法和模型依赖法,非模型依赖法应用最多的是相似因子法,后者虽然计算简单,但要求有12片样品的溶出数据。本试验供试品溶液的液相采集时间较长(58 min),且取样点较多,仅采用了6片复方甘草片进行试验,因此,溶出数据不能采用相似因子法进行计算处理,只能采用模型依赖法。模型依赖法除可以进行溶出曲线相似性比较外,还可以进行溶出预测,常用的模型包括零级速率模型、一级速率模型、Higuchi 方程和 Weibull 模型等,其中 Weibull 模型应用最为广泛。

Weibull 模型公式^[14]为 $m = 1 - \exp[-(t - T_i)^b / a]$ 。其中 m 为溶出量; T_i 、 b 和 a 是 Weibull 模型 3 个重要的参数: T_i 为位置参数,可反映药物在溶出时是否有延滞,大多数情况下约等于 0; a 为尺度参数,

与制剂的溶解过程有关^[15-17]; b 为形状参数,决定拟合曲线的基本形状。由该公式还可推导出线性形式: $\ln[-\ln(1 - m)] = b \cdot \ln(t - T_i) - \ln a$,其中, $\ln(t - T_i)$ 作为自变量, $\ln[-\ln(1 - m)]$ 作为因变量,形状参数 b 是斜率, $-\ln a$ 是截距。假设 T_i 为 0,当 t 为 1 时,可根据溶出量 m 求得尺度参数 a ,但 a 的值会受到时间单位的影响,所以增加假定时间为 T_d , $a = (T_d)^b$,与此对应, $-\ln(1 - m) = 1$, $m = 0.63212$,即 T_d 为溶出 63.2% 所需的时间,因此,可以在确定性状参数时,使用特征参数 T_d 来代替尺度参数 a 。

随着现代科技的发展,越来越多的数据分析软件应用于溶出数据处理,如 SPSS、SAS、METLAB 和 Origin 等。由于此次试验所选取的各厂家的复方甘草片均为非包衣片,故在溶出时基本不存在溶出延滞的情况,位置参数 T_i 设为 0,本次模型拟合采用

OriginPro 8.0 软件分别对复方甘草片的吗啡、磷酸可待因和甘草酸溶出数据进行 Weibull 模型拟合, 计算 b 和 T_d , 数据拟合结果见表 5, 校正决定系数(adjusted R square R_{adj}^2) 均大于 0.97, 表明复方甘草片的溶出曲线采用 Weibull 模型拟合结果良好。

表 5 拟合参数汇总表

Tab. 5 Summary of the fitting parameters

组分 (component)	样品 - 生产年份 (sample - production year)	参数($\bar{x} \pm s$ $n=6$)	
		b	T_d / min
吗啡(morphine)	A1 - 2018	1.34 ± 0.10	14.82 ± 1.68
	A2 - 2018	1.39 ± 0.09	14.49 ± 2.81
	A3 - 2018	1.32 ± 0.11	14.78 ± 1.91
	A4 - 2016	1.34 ± 0.06	33.72 ± 6.19
	A5 - 2015	1.27 ± 0.07	35.92 ± 2.73
	B1 - 2018	1.22 ± 0.10	13.13 ± 0.97
	B2 - 2018	1.32 ± 0.10	12.26 ± 2.73
	B3 - 2018	1.36 ± 0.08	10.88 ± 1.51
	C - 2018	1.38 ± 0.14	16.52 ± 4.96
	磷酸可待因 (codeine phosphate)	A1 - 2018	1.25 ± 0.05
A2 - 2018		1.31 ± 0.05	14.18 ± 2.01
A3 - 2018		1.31 ± 0.04	13.89 ± 1.99
A4 - 2016		1.28 ± 0.01	32.97 ± 4.26
A5 - 2015		1.29 ± 0.02	33.22 ± 1.66
B1 - 2018		1.08 ± 0.07	12.73 ± 0.77
B2 - 2018		1.31 ± 0.06	12.14 ± 3.02
甘草酸 (glycyrrhizic acid)	B3 - 2018	1.36 ± 0.08	10.88 ± 1.51
	C - 2018	1.29 ± 0.14	16.21 ± 5.88
	A1 - 2018	1.24 ± 0.04	14.91 ± 1.22
	A2 - 2018	1.24 ± 0.03	15.22 ± 1.96
	A3 - 2018	1.19 ± 0.04	14.92 ± 2.18
	A4 - 2016	1.34 ± 0.03	34.34 ± 4.74
	A5 - 2015	1.34 ± 0.02	32.81 ± 0.98
	B1 - 2018	1.32 ± 0.11	11.39 ± 1.14
B2 - 2018	1.35 ± 0.08	11.84 ± 2.97	
B3 - 2018	1.37 ± 0.07	11.13 ± 1.57	
C - 2018	1.31 ± 0.08	16.16 ± 5.03	

3.3.3 成分溶出均一性 取一批样品(A1), 利用 OriginPro 8.0 软件分别考察每批样品中吗啡、磷酸可待因和甘草酸的 Weibull 拟合参数之间是否有显著性差异, 结果见表 6。

以 $P > 0.05$ 为阈值进行显著性差异判断, 结果表明, 样品中吗啡、磷酸可待因和甘草酸溶出基本无显著性差异, 较为同步。因此, 在进行数据分析时,

表 6 不同成分拟合参数的 t - 检验结果

Tab. 6 Results of t - test of the fitting parameters between different components

成分 (component)	参数(parameter)	
	b	T_d / min
吗啡 - 磷酸可待因(morphine - codeine phosphate)	0.160 8	0.973 3
吗啡 - 甘草酸(morphine - glycyrrhizic acid)	0.115 7	0.916 6
磷酸可待因 - 甘草酸 (codeine phosphate - glycyrrhizic acid)	0.880 1	0.930 8

可选择其中 1 个代表成分进行数据分析, 本文以吗啡 Weibull 拟合参数进行数据分析。

3.3.4 同厂家批间均一性 采用 OriginPro 8.0 软件分别考察 A、B 2 个厂家 2018 年生产的样品的批间均一性, 分别对其拟合参数进行两两 t - 检验, 结果见表 7。

表 7 A、B 厂家吗啡拟合参数的 t - 检验结果

Tab. 7 Results of t - test of the fitting parameters of Morphine of manufacturer A and B

样品 (sample)	参数(parameter)	
	b	T_d / min
A1 - A2	0.407 3	0.810 8
A1 - A3	0.693 3	0.970 6
A2 - A3	0.253 3	0.838 9
B1 - B2	0.128 1	0.488 2
B1 - B3	0.017 7	3.520×10^{-4}
B2 - B3	0.224 7	0.133 4

以 $P > 0.05$ 为阈值进行显著性差异判断, 结果表明, A 厂家的 3 个批次间的吗啡 Weibull 拟合参数无显著性差异, B 厂家的 B1 和 B3 的吗啡 Weibull 特性值 T_d 存在显著性差异, 表明 A 厂家的 3 批样品批间均一性较好, B 厂家的 3 批样品批间相对不均一。

3.3.5 不同厂家批间均一性 由于 A 厂家 2018 年生产的 3 个批次间的吗啡 Weibull 拟合参数无显著性差异, 故选取其中 1 批(A1) 的拟合参数, 分别与该厂家 2016 年和 2015 年生产的样品, 以及其他厂家 2018 年生产的样品的 Weibull 拟合参数进行双侧 t - 检验, 结果见表 8。

以 $P > 0.05$ 为阈值进行显著性差异判断, 结果表明, A4 和 A5 的形状参数 b 与 A1 的无显著性差异, 但 A4 和 A5 的特性值 T_d 与 A1 的均有显著性

表 8 吗啡拟合参数的 t -检验结果

Tab. 8 Results of t -test of the fitting parameters of morphine

样品 - 生产年份 (sample - production year)	参数(parameter)	
	b	T_d /min
A4 - 2016	0.960 0	4.400×10^{-4}
A5 - 2015	0.153 6	1.740×10^{-8}
B1 - 2018	0.062 5	0.058 6
B2 - 2018	0.721 1	0.078 8
B3 - 2018	0.340 8	1.620×10^{-4}
C - 2018	0.646 4	0.659 8

差异,且明显低于 A1 的,说明 A 厂家不同年份生产的复方甘草片存在一定的差异性,该厂家的样品可能存在样品储存稳定性或原辅料质量变更的问题。与 A1 同年(2018)生产的 B 的 3 批样品除形状

参数 b 外,其特性值 T_d 与 A1 的有显著性差异或显著性检验结果接近临界值; C 厂家生产的复方甘草片的形状参数 b 、特性值 T_d 与 A1 的无显著性差异。这些差异需结合处方信息、制剂工艺和原辅料来源/质量进行考察,此外,这些差异与药物的体内溶出和疗效关系还有待于进一步研究。

3.4 各厂家的复方甘草片的崩解时限考察

中药成分复杂,药典没有规定进行中药口服固体制剂溶出度考察,但对某些中药口服固体制剂有崩解时限的要求,如对小柴胡泡腾片的崩解时限要求为,水温 60°C 下,照崩解时限检查法泡腾片项下检查,应在 10 min 内崩解^[18]。药典对复方甘草片没有溶出度和崩解时限的要求,为了考察复方甘草片崩解情况与溶出的关系,本文按 2020 年版《中国药典》崩解时限检查法片剂项下方法^[19]对各厂家样品进行了崩解时限考察,记录每片药品的崩解时间,结果见表 9。

表 9 崩解时限检查结果

Tab. 9 Results of determination of disintegration

样品 - 生产年份 (sample - production year)	崩解时间(time of disintegration) / min						均值(average)
	1	2	3	4	5	6	
A1 - 2018	16	16	17	17	18	18	17
A2 - 2018	16	17	17	18	18	20	18
A3 - 2018	16	17	17	18	18	19	18
A4 - 2016	31	33	33	34	34	34	33
A5 - 2015	33	33	34	35	36	37	35
B1 - 2018	13	13	13	13	13	13	13
B2 - 2018	12	12	12	12	12	13	12
B3 - 2018	13	13	14	14	15	15	14
C - 2018	16	17	17	17	17	18	17

结果发现,同一厂家同一年份生产的样品批间较为一致,不同厂家间 2018 年生产的样品崩解时限存在一定的差异性,A 厂家不同年份生产的复方甘草片的崩解时间存在一定的差异。

对 A 厂家生产的复方甘草片的崩解时间与生产时间的关系进行相关性分析, r 为 0.983 9; A 厂家不同批次样品的吗啡 T_d 与崩解时限的 r 为 0.897 6。结果表明, A 厂家不同年份生产的复方甘草片的崩解时间存在一定的相关性,生产年份越早,崩解时限越长; A 厂家生产的复方甘草片的崩解时限与 T_d 具有一定的相关性,崩解时限越长, T_d 越长。这可能与制剂工艺或样品本身有引湿性有关。

ICH 指导原则中指出,当崩解与溶出度或崩解比溶出度更能显示其特性时,则不必做溶出度实验。为了验证复方甘草片的崩解与溶出度的相关性,分别对同厂家不同年份生产的样品和不同厂家的样品的吗啡 T_d 与崩解时限进行相关性分析,不同厂家所有批次的吗啡 T_d 与崩解时限的 r 为 0.238 3,表明不同厂家复方甘草片的 T_d 与崩解时限基本无相关性,说明各厂家的制剂工艺差异大,不能用崩解时限检查来替代溶出实验。

参考文献

[1] 闫慧,孙万阳,孙国祥,等. 复方甘草片工艺变革和分析方法

- 进展及一致性评价流程研究[J]. *中南药学*, 2018, 16(1): 14
YAN H, SUN WY, SUN GX, *et al.* Progress in the preparation process and analytical methods and the consistency evaluation of compound licorice tablets[J]. *Cent South Pharm*, 2018, 16(1): 14
- [2] 中华人民共和国药典 1963 年版. 二部[S]: 1963: 570
ChP 1963. Vol II [S]. 1963: 570
- [3] 中华人民共和国药典 2005 年版. 二部[S]: 2005: 421
ChP 2005. Vol II [S]. 2005: 421
- [4] 中华人民共和国药典 2020 年版. 二部[S]: 2020: 960
ChP 2020. Vol II [S]. 2020: 960
- [5] 韦广辉. 常用中药固体制剂溶出度的研究概况[J]. *中国现代药物应用*, 2011, 5(3): 228
WEI GH. Overview of the research on the dissolution of commonly used traditional Chinese solid preparation [J]. *Chin J Mod Drug Appl*, 2011, 5(3): 228
- [6] 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
WENG SW. Application progress of dissolution rate in traditional Chinese medicine preparations [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol*, 2003, 14(4): 289
- [7] 姜雄平. 中成药固体制剂溶出度测定的探讨[J]. *中国药品标准*, 2005, 6(3): 66
JIANG XP. Discussion about dissolution or drug release test of solid preparations of traditional Chinese medicine [J]. *Drug Stand China*, 2005, 6(3): 66
- [8] 刘晓晴, 周益芬. 中西药复方制剂——谷参肠安胶囊溶出度测定方法研究[J]. *药物分析杂志*, 1995, 15(A01): 206
LIU XQ, ZHOU YF. Study on the dissolution determination method of Chinese and Western medicine compound preparation – Gushen Chang’ an capsules [J]. *Chin J Pharm Anal*, 1995, 15(A01): 206
- [9] 李霞, 徐升兵. 中西药复方制剂再评价的有关问题探讨[J]. *药物评价研究*, 2017, 40(5): 577
LI X, XU SB. Discussion about re-evaluation of compound preparation of Chinese – Western medicine on post-marketing drug [J]. *Drug Eval Res*, 2017, 40(5): 577
- [10] 严婷, 黄方威, 王金钱, 等. 不同厂家复方丹参片物质组溶出度研究[J]. *药物评价研究*, 2013, 36(6): 442
YAN T, HUANG FW, WANG JQ, *et al.* Study on dissolution of multi-components in compound Danshen tablets from different manufacturers [J]. *Drug Eval Res*, 2013, 36(6): 442
- [11] 程丹红, 赵艳玲, 杨宏博, 等. 左金丸及类方的体外溶出行为研究[J]. *中成药*, 2010, 32(11): 1895
CHENG DH, ZHAO YL, YANG HB, *et al.* Comparative study on exoteric dissolution of Zuojin pill and its similar prescriptions [J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2010, 32(11): 1895
- [12] 范吕林, 黄雪梅, 杨青. 功劳去火片的体外溶出度考察[J]. *海峡药学*, 2001, 13(2): 26
FAN LL, HUANG XM, YANG Q. Study on dissolution rate of Gonglaohuohuo tablets [J]. *Strait Pharm J*, 2001, 13(2): 26
- [13] 国家食品药品监督管理局. 普通口服固体制剂溶出度试验技术指导原则 [EB/OL]. [2015-02-05]. <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/qtggtg/20150205120001100.html>
National Medical Products Administration. Technical guidelines for dissolution testing of common oral solid dosage forms [EB/OL]. [2015-02-05] <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/qtggtg/20150205120001100.html>
- [14] 陈幼亭. 威布尔分布函数处理溶出数据应注意的问题[J]. *中国医院药学杂志*, 1998, 18(9): 419
CHEN YT. Problems to the processing of dissolution data by Weibull distribution function [J]. *Chin J Hosp Pharm*, 1998, 18(9): 419
- [15] 彭永富, 董慧. 药物溶出度 Weibull 分布的计算机求解[J]. *中国药理学杂志*, 1996, 31(10): 606
PENG YF, DONG H. The resolution with computer analysing for Weibull’s distribution of drug dissolution rate [J]. *Chin Pharm J*, 1996, 31(10): 606
- [16] 翟聪杰, 陈华, 南楠. 艾司唑仑片溶出数据的 Weibull 分布[J]. *药物分析杂志*, 2016, 36(6): 1089
ZHAI CJ, CHEN H, NAN N. Weibull distribution of dissolution data of estazolam tablets [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2016, 36(6): 1089
- [17] LANGENBUCHER F. Linearization of dissolution rate curves by the Weibull distribution. [J]. *J Pharm Pharmacol*, 1973, 24(12): 979
- [18] 中华人民共和国药典 2020 年版. 一部[S]: 2020: 603
ChP 2020. Vol I [S]. 2020: 603
- [19] 中华人民共和国药典 2020 年版. 四部[S]: 2020: 129
ChP 2020. Vol IV [S]. 2020: 129

(本文于 2023 年 1 月 16 日修改回)