

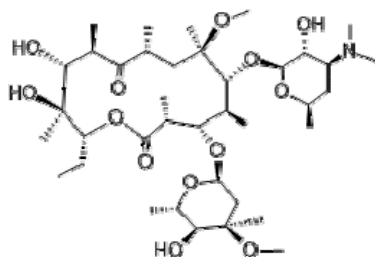
克拉霉素缓释制剂释放曲线对比研究与一致性评价

摘要：本文使用岛津溶出度仪 SNTR-8400AT 结合液相色谱方法对克拉霉素缓释制剂进行释放度研究。克拉霉素缓释制剂经溶出实验，用高效液相色谱系统进行含量测定，计算溶出量。本实验分别评价了五个不同生产企业两种不同剂型在五种溶出介质中的溶出情况。

关键词：克拉霉素 缓释制剂 溶出度仪 一致性评价 高效液相色谱

克拉霉素（Clarithromycin）是红霉素的衍生物，20 世纪 90 年代初由日本大正公司开发成功，并以商品名 Clarith 注册。而后，大正公司首先将其技术转让给美国雅培公司生产；1990 年在爱尔兰、意大利上市，1991 年 10 月获 FDA 批准定为 IB 类新药上市，商品名 Biaxin，1993 年以 Klacid 在中国香港上市，在欧洲和亚洲的商品名为克拉仙，已在全球 50 多个国家上市，市场用量稳步增长，并在临床中发挥了重要作用。

本研究使用岛津 SNTR-8400AT 溶出度仪和高效液相色谱系统进行了五个生产企业两种克拉霉素缓释制剂的释放度评价工作。



1. 实验部分

1.1 药品与试剂

克拉霉素缓释片（生产企业 A、B、C、D）；克拉霉素缓释胶囊（生产企业 E）；乙腈（Merck 公司，HPLC 级别）；纯水由 Milli-Q 超纯水系统制得，其他化学试剂均为分析纯。

1.2 仪器

本实验使用岛津 SNTR-8400AT 溶出度仪，具体配置包括 FST-6000 自动过滤器工作站，SSAS-6000 自动取样器。高效液相色谱仪 LC-20A 系统，具体配置为 LC-20AD×2 输液泵，DGU-20A_{5R} 在线脱气机，SIL-20AC 自动进样器，CTO-20A 柱温箱，SPD-M20A 二极管阵列检测器，CBM-20A 系统控制器，LabSolutions Ver.5.60 色谱工作站。



1.3 分析条件

液相条件

色谱柱: Inertsil ODS-SP (4.6 mm I.D.× 150 mm L., 5 μm)

流动相 A: 乙腈-磷酸盐缓冲液 (pH 5.5) (40:60, v/v)

洗脱方式: 等度洗脱

检测波长: 210 nm

流速: 1 mL/min

进样量: 20 μL

柱温: 45℃

溶出度测定条件

参考中国药典 2010 年版二部, 桨法, 50 转/min; 分别在五种溶出介质中释放, 溶出介质体积为 900 mL。0.1 mol/L 盐酸溶液: 选择于 30、60 和 120 分钟分别取样 2 mL, 滤过, 精密量取滤液 1 mL, 精密加入 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液 1 mL。pH 4.0 磷酸盐缓冲液和水: 选择于 2、4、6、8、12、20 和 28 h 分别取样 1.5 mL, 滤过。pH 5.5 醋酸钠缓冲液和含 0.5% SDS 的 pH 6.8 磷酸盐缓冲液: 选择于 1、2、4、6、8、12、20 和 24 h 分别取样 1.5 mL, 滤过。

1.4 五种溶出介质的配制

0.1 mol/L 盐酸溶液: 取 9 mL 盐酸, 加水稀释至 1000 mL, 摇匀即得。

pH 4.0 磷酸盐缓冲液: 取磷酸二氢钾 6.8 g 与氯化钠 9.35 g, 加水 900 mL, 使溶解, 充分混匀, 用 0.1 mol/L 磷酸溶液调节 pH 值至 4.0, 加水使成 1000 mL。(同雅培原研克拉霉素缓释片标准 JX20060203 释放度测定介质)。

pH 5.5 醋酸盐缓冲液: 取醋酸钠 5.98 g, 2 mol/L 醋酸溶液 3 mL, 加水稀释至 1000 mL, 摇匀即得。

pH 6.8 磷酸盐缓冲液 (含 0.5% SDS): 取 0.2 mol/L 磷酸二氢钾溶液 250 mL, 0.2 mol/L 氢氧化钠溶液 112 mL, 加水稀释至 1000 mL, 摇匀, 再加入 5 g SDS, 溶解。

水: Milli-Q 超纯水系统制得。

2. 结果与讨论

2.1 五家生产企业克拉霉素缓释制剂溶出结果

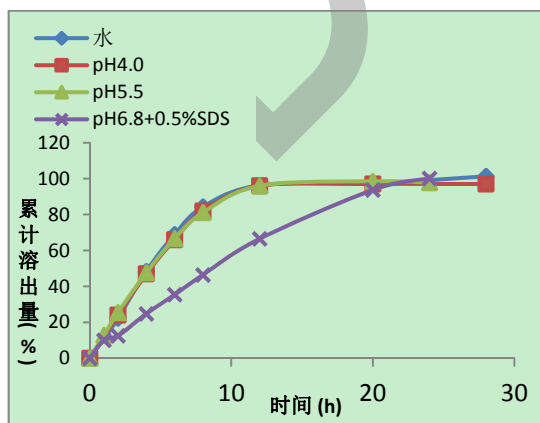


图 1 生产企业 A 四种介质释放曲线

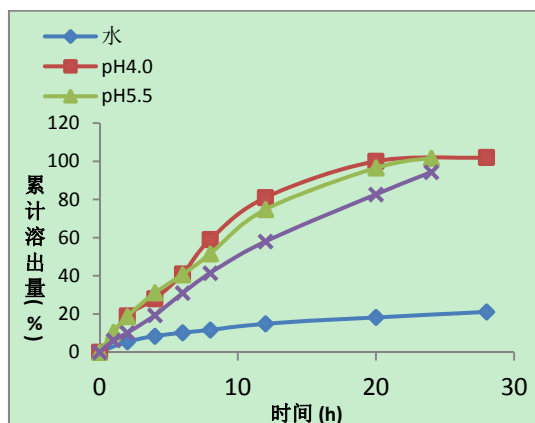


图 2 生产企业 B 四种介质释放曲线

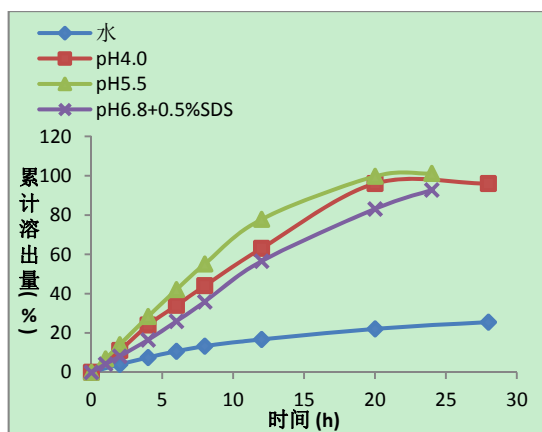


图3 生产企业C四种介质释放曲线

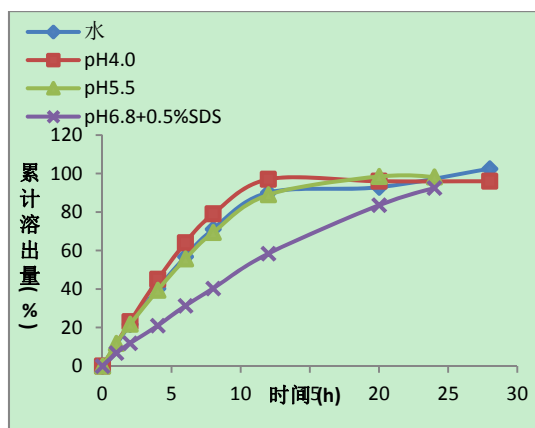


图4 生产企业D四种介质释放曲线

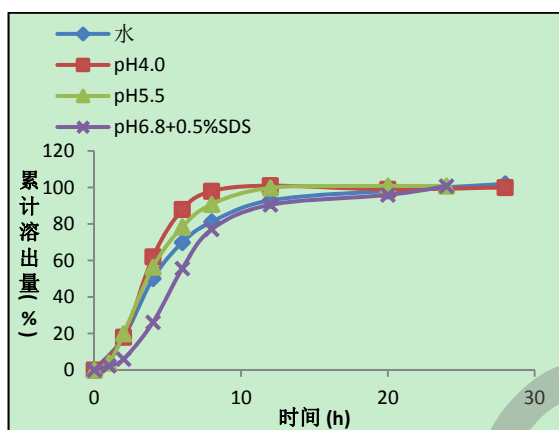


图5 生产企业E四种介质释放曲线

2.2 不同溶出介质中溶出对比结果

表1 0.1mol/L 盐酸溶液中克拉霉素缓释制剂溶出量

取样时间 (min)	生产企业A 缓释片	生产企业B 缓释片	生产企业C 缓释片	生产企业D 缓释片	生产企业E 缓释胶囊
0	0	0	0	0	0
30	10	6	6	6	4
60	21	12	11	13	26
120	37	24	21	26	58

0.1mol/L HCl中不同生产企业溶出曲线对比图

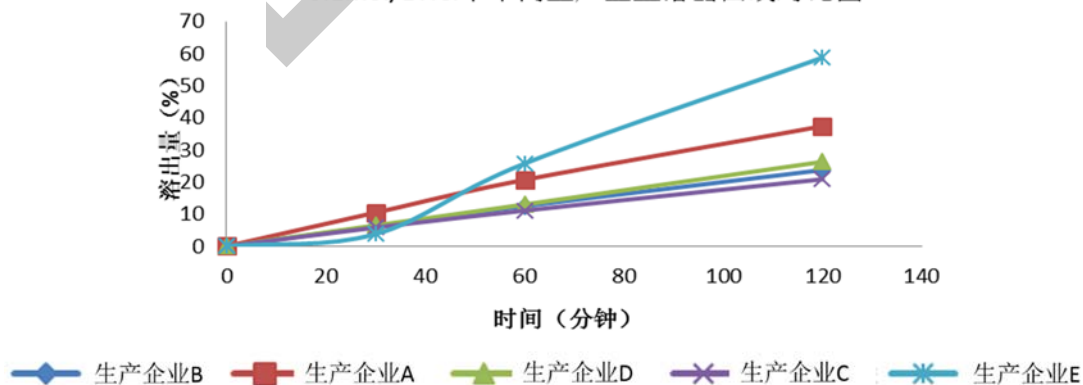


表 2 pH 4.0 磷酸盐缓冲液中克拉霉素缓释制剂溶出量

取样时间 (h)	雅培自检 缓释片	生产企业 A 缓释片	生产企业 B 缓释片	生产企业 C 缓释片	生产企业 D 缓释片	生产企业 E 缓释胶囊
0	/	0	0	0	0	0
2	9	24	19	11	23	18
4	/	47	28	24	45	62
6	/	66	41	34	64	88
8	50	82	59	44	79	98
12	/	96	81	63	97	101
20	80	97	100	96	96	99
28	/	97	102	96	96	100

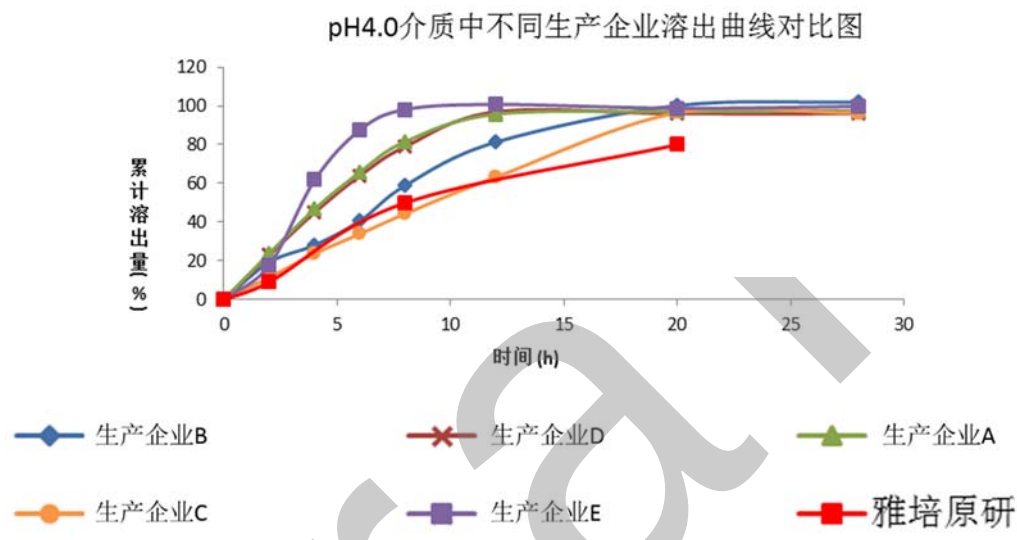


表 3 pH 5.5 醋酸盐缓冲液中克拉霉素缓释制剂溶出量

取样时间 (h)	生产企业 A 缓释片	生产企业 B 缓释片	生产企业 C 缓释片	生产企业 D 缓释片	生产企业 E 缓释胶囊
0	0	0	0	0	0
1	13	10	7	12	4
2	25	19	14	22	20
4	48	31	28	39	56
6	67	41	42	56	78
8	81	52	55	69	91
12	96	75	78	89	100
20	99	97	100	98	101
24	98	102	101	98	101

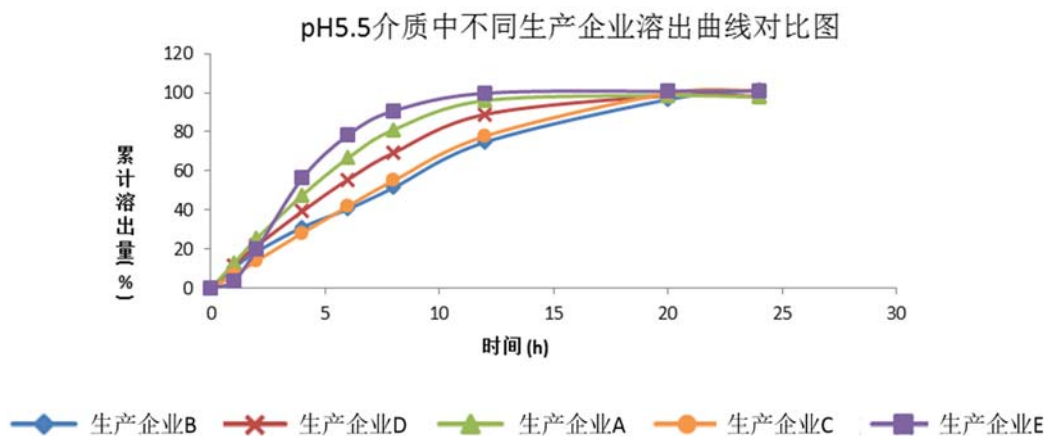


表 4 0.5%SDS-pH 6.8 磷酸盐缓冲液中克拉霉素缓释制剂溶出量

取样时间 (h)	生产企业 A 缓释片	生产企业 B 缓释片	生产企业 C 缓释片	生产企业 D 缓释片	生产企业 E 缓释胶囊
0	0	0	0	0	0
1	10	6	4	7	2
2	13	10	8	12	6
4	25	19	16	21	26
6	35	31	26	31	56
8	46	41	36	40	77
12	67	58	57	58	91
20	94	83	83	84	96
24	100	94	93	92	101

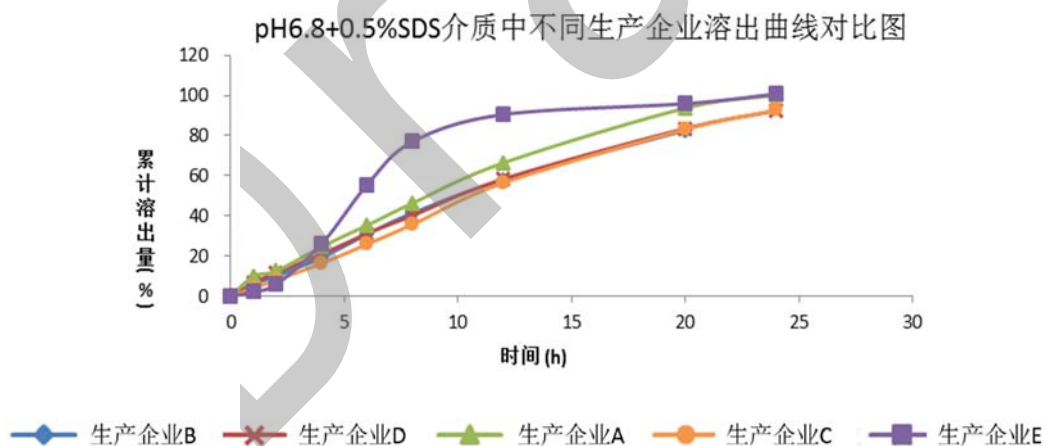
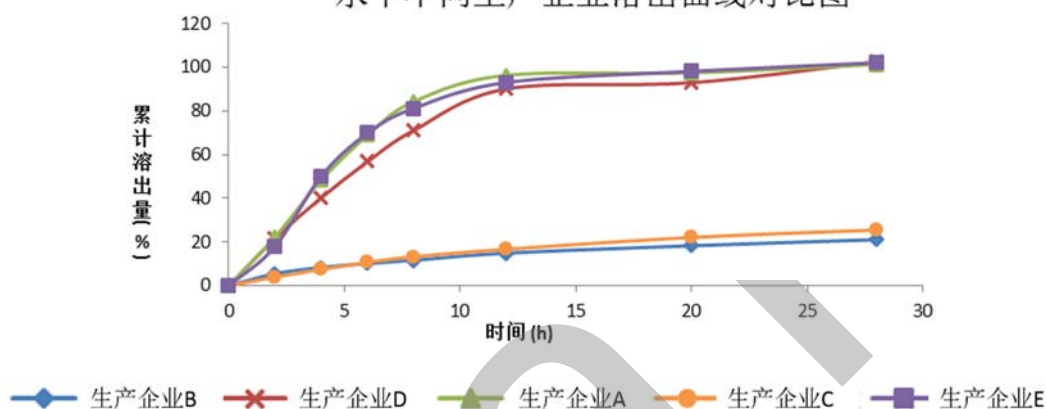


表 5 水中克拉霉素缓释制剂溶出量

取样时间 (h)	生产企业 A 缓释片	生产企业 B 缓释片	生产企业 C 缓释片	生产企业 D 缓释片	生产企业 E 缓释胶囊
0	0	0	0	0	0
2	22	6	4	22	18
4	48	8	8	40	50
6	69	10	11	57	70
8	84	12	13	71	81
12	96	15	17	90	93
20	97	18	22	93	98
28	101	21	26	103	102

水中不同生产企业溶出曲线对比图



克拉霉素胶囊在溶出介质 pH 4.0 磷酸盐缓冲液中溶出较为理想，所考察 5 个企业样品 20 h 后溶出量均达到 80% 以上，考虑原研样品就试验介质为 pH 4.0 磷酸盐缓冲液且其区分力较好。在水中部分企业样品 24 h 后溶出量不到 30%，溶出不理想。含 0.5% SDS 的 pH 6.8 磷酸盐缓冲液介质中各企业克拉霉素缓释制剂溶出情况较一致，区分力不够。在溶出介质 0.1 mol/L 盐酸溶液中极不稳定，溶出同时降解。

总体考察结果显示，生产企业 B 与 C 溶出较慢，其余 A、D 和 E（缓释胶囊）溶出较快，其中生产企业 E（缓释胶囊）溶出最快。此 2 类产品在水中区别特别明显，在含 0.5% SDS 的 pH 6.8 磷酸盐缓冲液中区别最小。

2.3 与原研制剂的一致性评价

我国现行药典所采用的溶出度检查法，采用单个时间点测定，有很大的局限性，这些都无法准确客观地反应药物溶出情况。我们对五个企业各一个批次样品进行了溶出曲线相似性（ f_2 因子）评价研究。

参比制剂的选择：

克拉霉素缓释片原研药为雅培公司生产的克拉霉素缓释片。因未拿到原研样品，仅有雅培公司提供的在溶出介质（pH 4.0 磷酸盐缓冲液）中自检报告的 3 个时间点的释放量数据，因此按雅培进口注册标准 JX20060203 对其他厂家的克拉霉素缓释制剂在溶出介质（pH

4.0 磷酸盐缓冲液) 中溶出度试验数据进行溶出曲线相似度分析, 以原研雅培生产克拉霉素缓释片的自检报告值为比较基准 ($f_2=100$), $f_2 \geq 50$, 相似; $f_2 < 50$, 不相似。结果见下表。可见, 生产企业 C 的克拉霉素缓释片与原研相似。故后续相似度分析以生产企业 C 的样品为参比制剂。

表 6 克拉霉素缓释制剂溶出度相似性分析结果

生产厂家	f_2 因子	相似性分析结论
A	32	结果不相似
B	42	结果不相似
C	50	结果相似
D	34	结果不相似
E (缓释胶囊)	26	结果不相似

测定结果:

因 pH 1.2 盐酸溶液介质中无一个厂家最终释放达到 80% 以上或是平台期, 故无法计算在此介质中的相似 f_2 因子。克拉霉素缓释片及缓释胶囊在其余 4 种不同溶出介质中溶出度试验数据进行溶出曲线相似度分析, 以生产企业 C 生产的克拉霉素缓释片为比较基准 ($f_2=100$), $f_2 \geq 50$, 相似; $f_2 < 50$, 不相似。结果见下表。

表 7 4 种介质中克拉霉素缓释制剂溶出度相似性 f_2 因子分析结果

生产厂家	f_2 因子				相似性分析
	水	pH 4.0	pH 5.5	pH 6.8+0.5%SDS	
A	12	30	38	54	结果不相似
B	83	61	74	75	结果相似
D	15	32	49	72	结果不相似
E*	12	24	31	32	结果不相似

注: 其中生产企业 E 的产品为缓释胶囊

由相似性分析结果可见, 各仿制制剂之间相似情况总体较差。由于原研雅培的样品无法得到, 但从其提供的自检报告可见其溶出速率较慢, 因此相似性较好的企业均为溶出较慢但最终达到较大释放量的企业。与生产企业 C 产品相比, 4 种介质中 f_2 因子均大于 50 的仅有生产企业 B 一家; 生产企业 A 和 D 两家企业仅一种介质中的 f_2 因子大于 50; 生产企业 E 的缓释胶囊, 溶出行为与生产企业 C 的产品完全不相似。

4 种不同介质中, 水中相似性最差, 除生产企业 B 产品外其余都快速释放; 而含 0.5%SDS 的 pH 6.8 介质中相似性最好, 但此条曲线区分力不够。

3 结论

本研究建立了使用岛津SNTR-8400AT和高效液相色谱法进行了克拉霉素缓释制剂释放度研究的方法。根据各厂家药品在不同介质中的释放曲线情况, 可以比较仿制制剂和原研制剂的差异, 从而可以判断各药品制剂工艺等, 帮助提高仿制制剂质量。