

克拉霉素缓释片中骨架辅料羟丙甲纤维素含量的 HPLC-RID 测定*

张丽娟¹, 谢升谷², 李小东¹, 阮昊², 陈悦², 洪利娅^{2**}

(1. 浙江工业大学, 杭州 310014; 2. 浙江省食品药品检验研究院, 杭州 310052)

摘要 目的: 建立 HPLC-RID 法测定和比较不同企业生产的克拉霉素缓释片中骨架辅料羟丙甲纤维素 (HPMC) 的含量, 同时评价该辅料与释放度之间可能存在的相关性。**方法:** 采用 TSK-Gel 3000 色谱柱 (300 mm × 7.5 mm, 10 μm), 以 50 mmol · L⁻¹ 氯化钠溶液为流动相进行洗脱, 流速 0.7 mL · min⁻¹, 柱温 30 °C, 检测温度 30 °C, 进样量 5 μL。**结果:** 本法可以有效测定 HPMC 且与其它峰能良好分离, 溶液在 24 h 内稳定; 样品中的 HPMC 含量为标示量的 85%~107%。**结论:** 本方法可以有效地测定克拉霉素缓释片中 HPMC 含量, 同时该辅料含量与该药品的体外释放存在一定的相关性。

关键词: 克拉霉素; 大环内酯类抗生素; 羟丙甲纤维素; 缓释片; 骨架辅料; 释放度; 高效液相色谱-示差折光检测器

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793 (2017) 04-0659-05

doi: 10.16155/j.0254-1793.2017.04.16

Assay of hydroxypropyl methyl cellulose as the skeleton excipient in clarithromycin sustained-release tablets by HPLC-RID method*

ZHANG Li-juan¹, XIE Sheng-gu², LI Xiao-dong¹,
RUAN Hao², CHEN Yue², HONG Li-ya^{2**}

(1. Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China;

2. Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310052, China)

Abstract Objective: To establish an HPLC-RID method for the assay and comparison of hydroxypropyl methyl cellulose (HPMC) as skeleton excipient in clarithromycin sustained-release tablets from different manufacturers, and to evaluate the correlation between the excipient contents and the sustained-release features. **Methods:** The separation was performed on a TSK-Gel 3000 column (300 mm × 7.5 mm, 10 μm), with a mobile phase of 50 mmol · L⁻¹ sodium chloride at a flow rate of 0.7 mL · min⁻¹. Both the column and the detector temperature were set at 30 °C, and a 5 μL aliquot was injected into HPLC for the assay. **Results:** HPMC was well separated from other components and the assay was accurate. The test solution was stable in 24 hours. The contents of HPMC in the tested samples were found to be in the range from 85% to 107% of labeled amount. **Conclusion:** The method

* 药品医疗器械审评审批制度改革专项课题 (ZG2016-4-06); 绿药协同创新课题; 浙江省科技厅公益研究社会发展项目 (2015C33168)

** 通信作者 Tel: (0571) 86454617; E-mail: hongliya@zjyi.org.cn

第一作者 Tel: (0571) 86459422; E-mail: zljwzf@126.com

was validated to be suitable for the assay of HPMC in clarithromycin sustained-release tablets. There was obvious correlation between the contents of HPMC in the clarithromycin sustained-release tablets and the *in vitro* drug release characteristics.

Keywords: clarithromycin; macrolide antibiotics; hydroxypropyl methyl cellulose; sustained-release tablets; skeleton excipient; drug release; HPLC-RID

克拉霉素缓释片为一类口服的大环内酯类抗生素,主要应用于上、下呼吸道感染,皮肤及软组织的轻中度感染,急性加重的慢性支气管炎^[1-5]。其普通片剂收载于中国药典 2015 年版二部^[6],规格为 0.25 g,缓释片规格为 0.5 g,质量标准收载于国家药监局标准^[7-8]。国外药典如 USP 39、EP 8.0 和 BP 2015 均未收载该品种。克拉霉素缓释片为骨架型缓释片,其主要骨架材料为羟丙甲纤维素(hydroxypropyl methyl cellulose,简称 HPMC)。HPMC 在药物中具有延缓药物释放,延长药物作用时间,提高了生物利用度、有利于药物吸收等作用^[9-11]。作为关键性辅料,HPMC 在制剂中含量对该药品的释放度以及体内的释药过程起着十分重要的影响^[12-15],故本文建立克拉霉素缓释片中 HPMC 的测定方法,并对不同企业的样品中每片 HPMC 含量与释放度进行可能的关联分析,以提示该辅料在工艺过程中关注点。

1 仪器与试剂

安捷伦公司 Agilent 1260 高效液相色谱仪,配置 G1362A RID 检测器。TOSOH 公司 TSK-Gel 3000 色谱柱(300 mm × 7.5 mm, 10 μm; 填料:以球型硅胶键合亲水化合物);Distek 公司 4100&7100 全自动溶出仪。梅特勒公司电子 AE-163 天平。

克拉霉素缓释片,规格为 0.5 g,分别由 A、B 2 个企业生产,A 企业批号分别为 150522 和 141158,B 企业批号分别为 1503201 和 1504151。HPMC 对照品由 A 企业提供,批号为 4085457,纯度以 100% 计。

氯化钠为分析纯,试验用水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备 取 HPMC 对照品适量,精密称定,加 50 mmol · L⁻¹ 氯化钠溶液适量,在 80 °C 水浴溶解后,放冷,定容,过滤后取续滤液作为对照品溶液(质量浓度约 1 mg · mL⁻¹)。取 A 企业样品 1 片置 200 mL 量瓶中,取 B 企业样品 1 片置 50 mL 量瓶中,分别加 50 mmol · L⁻¹ 氯化钠溶液适量,在 80 °C 水浴溶解后,放冷,定容,过滤后取续滤液作为供试品溶液(质量

浓度约 1 mg · mL⁻¹)。取 50 mmol · L⁻¹ 氯化钠溶液适量,在 80 °C 水浴放置适时,放冷,定容,过滤后取续滤液作为空白溶液。

2.2 色谱条件 采用 TSK-Gel 3000 色谱柱(300 mm × 7.5 mm, 10 μm),以 50 mmol · L⁻¹ 氯化钠溶液为流动相进行洗脱,流速 0.7 mL · min⁻¹,柱温 30 °C,检测温度 30 °C,进样量 5 μL。在上述色谱条件下,色谱图见图 1。

2.3 线性关系考察 取 HPMCHP MC 对照品适量,精密称定,用 50 mmol · L⁻¹ 氯化钠溶液溶解并定量稀释成 0.5、0.8、1.2、1.6、2.0 mg · mL⁻¹ 的溶液,作为对照品线性溶液,以峰面积 *Y* 对其浓度 *X* 进行线性关系考察,回归方程:

$$Y=13\ 590X-6.261\ 2\quad R^2=0.999\ 9$$

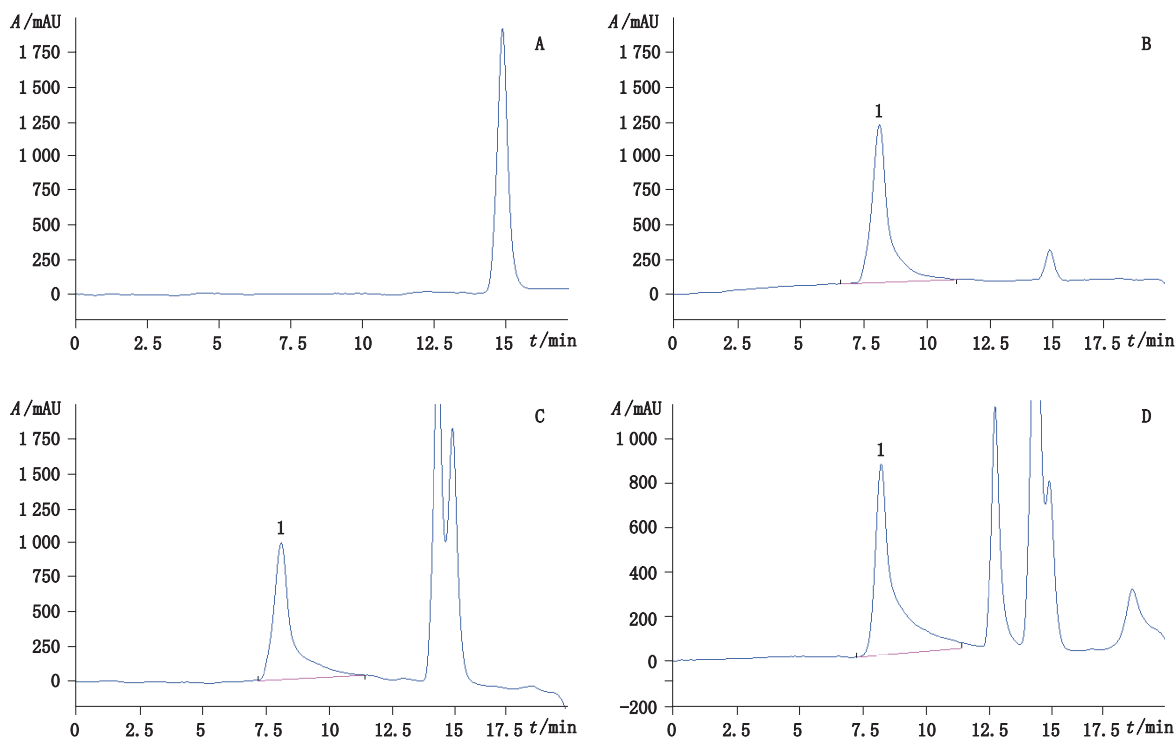
结果表明 HPMC 质量浓度在 0.5~2.0 mg · mL⁻¹ 范围内线性关系良好。

2.4 精密度的试验 取同一对照品溶液,在上述色谱条件下,连续进样 6 次,HPMC 峰面积的 RSD 为 1.1%,表明仪器精密度良好。

2.5 稳定性试验 精密吸取同一对照品溶液、A 企业和 B 企业的供试品溶液,分别于 0、2、4、8、16 和 24 h,在上述色谱条件下进样分析,测得 HPMC 峰面积的 RSD 分别为 0.8%、1.2% 和 0.9%,表明对照品和供试品溶液至少在 24 h 内稳定。

2.6 重复性试验 由于每片中 HPMC 含量不一致,不宜采用测定每片含量作为重复性试验。故取基质较为复杂的 A 企业样品(批号 150522)20 片研细,取约 1 片重的细粉,精密称定,按“2.1”项下方法制成供试品溶液,在上述色谱条件下测定,样品中 HPMC 含量平均值为 99.8%,RSD 为 1.3%,表明本法重复性良好。

2.7 加样回收率试验 取基质较为复杂的 A 企业样品细粉约半片量(批号 150522)共 9 份,精密称定,分别置 200 mL 量瓶中,精密加入 HPMC 对照品液 50.0、100.0、150.0 mL,用 50 mmol · L⁻¹ 氯化钠溶液定容至刻度,混匀,制成低、中、高浓度的供试溶液



1. HPMC

A. 空白溶液 (blank solution) B. 对照品溶液 (reference substance solution) C. A 企业供试品溶液 (sample solution of company A) D. B 企业供试品溶液 (sample solution of company B)

图 1 HPLC-RID 典型色谱图

Fig. 1 HPLC-RID chromatograms

各 3 份,在上述色谱条件下测定,计算加样回收率。结果 HPMC 见表 1。

表 1 加样回收率试验结果

Tab. 1 Results of recovery tests

回收率加入水平 (recovery level)/%	加入量 (amount spiked) / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	测得量 (amount found) / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	回收率 (recovery) / % ($n=3$)	平均回收率 (mean recovery) / % ($n=9$)	RSD / %
50	51.13	51.42	100.6	99.4	0.9
100	102.3	100.8	98.6		
150	153.4	151.9	99.0		

2.8 检测限和定量限 取对照品溶液 1.0 mL,用 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氯化钠溶液稀释至 100 mL,测得检测限 ($S/N=3$) 为 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$;取对照品溶液 4.0 mL,用 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氯化钠溶液稀释至 100 mL,测得定量限 ($S/N=11$) 为 $0.04 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.9 样品测定 取 4 批样品的供试品溶液,按上述方法进行测定 10 片药品中每片 HPMC 含量。A 企业处方标示量为 $165 \text{ mg} \cdot \text{片}^{-1}$,B 企业处方标示量为 $50 \text{ mg} \cdot \text{片}^{-1}$,样品测定结果均以每片处方标示量的百分比计,测定结果见表 2。

表 2 每片药品中 HPMC 含量 (%)

Tab. 2 Contents of HPMC in each tablet

生产企业 (manufacturer)	批号 (lot No.)	片号 (tablet No.)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	150522	96	98	90	101	104	99	108	94	104	89
	141158	104	103	100	104	107	104	103	108	107	110
B	1503201	100	102	99	99	99	105	102	96	85	108
	1504151	95	97	95	95	94	97	98	98	98	98

2.10 释放度测定 按法定质量标准^[5-6]测定释放度,其中质量标准1采用浆法,0.1 mol·L⁻¹ 醋酸盐缓冲液 900 mL 为释放介质,50 r·min⁻¹,分别于2、8、

20 h 取样;质量标准2采用篮法,0.1 mol·L⁻¹ 醋酸盐缓冲液 900 mL 为释放介质,100 r·min⁻¹,分别于2、6、12 h 取样。4 批样品结果见表3。

表3 不同样品 HPMC 含量与释放度数据比较

Tab. 3 Comparison of contents and drug release data of HPMC in different samples

生产企业 (manufacturer)	批号 (lot No.)	HPMC 平均含量 (mean content of HPMC)/%	HPMC 含量 RSD (RSD of HPMC content)/% (n=10)	第2点释放度 (2nd time release amount) /%	释放度 RSD (RSD of release amount) /(n=6)
A	150522	98	6.2	65	7.2
	141158	105	2.8	78	2.5
B	1503201	99	6.3	51	6.3
	1504151	97	0.8	44	1.6

由于释放度测定时间分别有3个时间点,第1个时间点溶出量较小,第3个时间点溶出量基本在溶出平台期,故选择最有代表性的第2个时间点的溶出量作为释放度批内稳定性的代表性指标进行比较。从2个厂家代表性数据可以看出,A企业10片样品中 HPMC 含量的 RSD 为 2.8% 时,释放度的 RSD 为 2.5%;当 HPMC 含量的 RSD 扩大至 6.2% 时,其释放度的 RSD 也相应地升高至 7.2%。

同时考虑对主成分和每片重量对释放度的影响,对上述4批样品的主成分含量和片重进行考察,其 RSD 均在 2% 以内 (n=10),故推测释放度的不均一性可能来源于 HPMC 的不均匀。同样的情况也发生在 B 企业。故可以推测同一企业同一批次样品每片药品释放度的不均一性很可能来源于骨架材料 HPMC 在每片之间分布的不均匀所引起。由于缓释制剂体外释放的主要影响因素为骨架材料,而其他因素,如片剂硬度等亦可能会产生因素。

3 讨论

药品质量控制主要项目为有关物质、溶出度(释放度)和含量测定等项目,而在药品制剂中对辅料,特别是关键性辅料的控制则较为缺乏。本文通过测定缓释片中的骨架材料含量分析其体外释放的差异,初步分析不同企业、不同批次间释放度差异的原因。本文亦曾经尝试采用近红外分光光度法(NIR)等无损定量方法测定每片 HPMC 的含量,然后对此片进行释放度研究。但由于 HPMC 在片剂处方量中所占比重较低,其他辅料和克拉霉素干扰较大,NIR 方法定量准确性有待于完善等原因,未能建立较合适的无损定量方法。

释放度是药品质量一致性评价的主要内容,而如何保证批内释放度的均一性则是保证药品质量均一的关键,也是药品制剂过程中应重点解决的问题之一。对于缓释制剂关键辅料的研究往往在处方筛选优化阶段^[16-17],通过不同比例的 HPMC 制成的药片和释放度进行研究。而对于上市产品中每片药物微量的 HPMC 差异对释放度的影响的研究则相对较少。本文通过对上市产品中 HPMC 含量的测定,重点提示了在制剂过程中应重点关注 HPMC 投料过程保证物料的充分混匀,其 HPMC 微量的差异也可能引起释放度的明显变化。

参考文献

- [1] GUAY DR, GUSTAVSON LE, DEVCICH KJ, *et al.* Pharmacokinetics and tolerability of extended-release clarithromycin [J]. *Clin Ther*, 2001, 23(4): 566
- [21] SOKOL WN, SULLIVAN JG, ACAMPORA MD, *et al.* A prospective, double-blind, multicenter study comparing clarithromycin extended-release with trovafloxacin in patients with community-acquired pneumonia [J]. *Clin Ther*, 2002, 24(4): 605
- [3] GOTTFRIED M, BUSMAN TA, NORRIS S, *et al.* Role for 5-day, once-daily extended-release clarithromycin in acute bacterial exacerbation of chronic bronchitis [J]. *Curr Med Res Opin*, 2007, 23(2): 459
- [4] KARDAS P. Comparison of patient compliance with once-daily and twice-daily antibiotic regimens in respiratory tract infections: results of a randomized trial [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2007, 59(3): 531
- [5] GOTTFRIED MH, DATTANI D, RIFFER E, *et al.* A controlled, double-blind, multicenter study comparing clarithromycin extended-release tablets with levofloxacin tablets in the treatment of community-acquired pneumonia [J]. *Clin Ther*, 2002, 24(5): 737
- [6] 中国药典 2015 年版. 二部[S]. 2015: 913

- ChP 2015. Vol II [S]. 2015: 913
- [7] YBH17582005 国家食品药品监督管理局标准[S]. 2005
YBH17582005 China Food and Drug Administration Drug Standards [S].2005
- [8] YBH25772005 国家食品药品监督管理局标准[S]. 2005
YBH25772005 China Food and Drug Administration Drug Standards [S]. 2005
- [9] 肖秋生, 蒋永培. 羟丙甲基纤维素控释、缓释骨架片研究进展[J]. 西北药学杂志, 2000, 15(3): 133
XIAO QS, JIANG YP. Progress on the controlled-release and sustained release matrix tablets of controlled hydroxypropyl methyl cellulose [J]. Northwest Pharm J, 2000, 15(3): 133
- [10] 董志超, 蒋雪涛. 羟丙甲基纤维素在凝胶骨架中的含量与水溶性药物释放机制的关系[J]. 药学学报, 1996, 31(1): 43
DONG ZC, JIANG XT. Mechanism of soluble drug release from hydrophilic matrices, the effect of hydroxypropylmethylcellulose content [J]. Acta Pharm Sin, 1996, 31(1): 43
- [11] 李洪奎, 李常春, 李蜀巍. 双氯芬酸钠缓释片人体内外相关性研究[J]. 中国药房, 1997, 8(5): 203
LI HK, LI CC, LI SW. Study on the correlation between *in vivo* and *in vitro* of diclofenac sodium sustained-release tablet [J]. China Pharm, 1997, 8(5): 203
- [12] SIEPMANN J, PEPPAS NA. Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) [J]. Adv Drug Deliver Rev, 2001, 48(2-3): 163
- [13] EBUBE NK, HIKAL AH, WYANDT CM, *et al.* Sustained release of acetaminophen from heterogeneous matrix tablets: influence of polymer ratio, polymer loading, and co-active on drug release [J]. Pharm Dev Technol, 1997, 2(2): 161
- [14] LIU CH, KAO YH, CHEN SC, *et al.* *In-vitro* and *in-vivo* studies of the diclofenac sodium controlled-release matrix tablets [J]. J Pharm Pharmacol, 1995, 47(5): 360
- [15] QIU Y, HUI HW, CHESKIN H. Formulation development of sustained-release hydrophilic matrix tablets of zileuton [J]. Pharm Dev Technol, 1997, 2(3): 197
- [16] 于素娟, 贺宝霞, 张文周, 等. 头孢克洛缓释片的制备与体外释放度考察[J]. 医药导报, 2016, 35(3): 296
YU SJ, HE BX, ZHANG WZ, *et al.* Cefaclor sustained release tablets' preparation and release rate *in vitro* [J]. Her Med, 2016, 35(3): 296
- [17] 王艺晓, 邝文珍. 克拉霉素缓释片处方及制剂工艺研究[J]. 北方药学, 2015, 12(12): 90
WANG YX, KUANG WZ. Study on the prescription and preparation technology of clarithromycin sustained release tablets [J]. J North Pharm, 2015, 12(12): 90

(本文于 2016 年 4 月 28 日收到)