

盐酸克林霉素棕榈酸酯制剂的一致性评价研究*

黄昕¹, 张超², 林锋¹, 周翠兰², 苏薇薇¹, 彭维¹
(1. 中山大学生命科学大学院, 广东 广州 510275;
2. 广州一品红制药有限公司, 广东 广州 510760)

摘要: 对国产盐酸克林霉素棕榈酸酯分散片及国外原研产品盐酸克林霉素棕榈酸酯干混悬剂进行一致性评价研究。采用高效液相色谱法, 流动相 A 为乙腈, 流动相 B 为 5 mmol · L⁻¹ 醋酸铵溶液 - 乙腈(50:50), 进行梯度洗脱, 检测其有关物质; 采用浆法, 以 $w = 0.4\%$ 十二烷基硫酸钠为溶出介质, 转速为 75 r/min 测定其溶出度。研究发现: 国产盐酸克林霉素棕榈酸酯分散片有关物质种类及总量均低于国外原研产品干混悬剂; 在 20 min 时, 溶出度均达标示量的 94% 以上。

关键词: 盐酸克林霉素棕榈酸酯; 有关物质; 溶出度

中图分类号: R94 文献标志码: A 文章编号: 0529-6579(2015)03-0115-04

Consistency Evaluation of Two Clindamycin Palmitate Hydrochloride Preparations

HUANG Xin¹, ZHANG Chao², LIN Feng¹, ZHOU Cuilan², SU Weiwei¹, PENG Wei¹

(1. School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China;
2. Guangzhou Yipinhong Pharmaceutical Company Limited, Guangzhou 510760, China)

Abstract: Consistency evaluation was processed between domestic clindamycin palmitate hydrochloride dispersible tablets and the original oral solution. HPLC method was applied to detect related substances with acetate (A) and 5 mmol/L ammonium acetatesolution-acetonitrile (50:50) (B) as mobile phase eluting in gradient. Dissolution was conducted by stirring paddle method with $w = 0.4\%$ SDS as dissolution medium, at the rotate speed of 75 r/min for quality comparison between two products. The results showed that the kinds and total contents of related substances in clindamycin palmitate hydrochloride dispersible tablets were lower than that of the original oral solution products and the dissolution rates of both products reached more than 94% in 20 minutes.

Key words: clindamycin palmitate hydrochloride; related substances; dissolution

盐酸克林霉素棕榈酸酯是克林霉素的衍生物, 体外无抗菌活性, 在体内经酯酶水解形成克林霉素而发挥抗菌活性, 主要作用于革兰阳性球菌和厌氧菌感染^[1-2]。美国辉瑞公司的原研产品是干混悬剂, 国内广州一品红制药有限公司的产品剂型为分散片, 与原研产品干混悬剂相比具有服用方便、吸

收快等特点。

国内制剂与国外原研产品无论在原料来源还是制剂工艺上都有一定的差异, 因此国家强制要求进行一致性评价, 以确保药品的有效性与安全性。这项工作意义重大^[3-5], 但尚处于发轫阶段。笔者从有关物质、溶出度分析入手, 对国内该产品与国外

* 收稿日期: 2014-07-10

基金项目: 广东省科技计划资助项目(2012B090600020)

作者简介: 黄昕(1989年生), 女; 研究方向: 天然药物分析; 通讯作者: 彭维; E-mail: pweiyu929@126.com

原研产品进行了一致性评价研究, 现报道如下。

1 仪器与试剂

Dionex Ultimate 3000 DGLC 液相色谱仪 (配有 DAD 检测器和 VWD 检测器、双三元梯度泵、在线脱气装置、自动进样器); Chromeleon 6.8 工作站; 色谱柱 1 (Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C8, 3 mm × 150 mm, 3.5 μm); 色谱柱 2 (Dionex Bonded Silica Products, C18, 4.6 mm × 150 mm, 3 μm); ZRS-8G 溶出试验仪 (天津市天大天发科技有限公司); 电子分析天平 (NewClassic MS, METTLER TOLEDO)。

甲醇 (色谱纯, Burdick & Jackson); 乙腈 (光谱纯, Burdick & Jackson); 醋酸铵 (FOR HPLC, 美国 Fluka 公司, 17836-50G); 十二烷基硫酸钠 (分析纯, 天津市大茂化学试剂厂, 20091103); 丁二酸二辛酯磺酸钠 (BioUltra, sigma, 86139-50G); 盐酸 (分析纯, 广州化学试剂厂, 20110730); 醋酸 (分析纯, 广州化学试剂厂, 20101001); 醋酸钠 (分析纯, 广东光华化学试剂厂, 20110507); 氢氧化钠 (分析纯, 广东光华化学试剂厂, 20090803); 磷酸二氢钾 (分析纯, 广东光华化学试剂厂, 20110901); 超纯水 (美国 Millipore 公司, Simplicity SIMS00000); 盐酸克林霉素棕榈酸酯对照品 (CAT. NO. 1137005 USP ROCKVILLE, MD LOT H01037, 以克林霉素计含 595 μg/mg 或 $w = 59.5\%$); 样品 1 (盐酸克林霉素棕榈酸酯干混悬剂, 75 mg/5 mL, 美国辉瑞制药有限公司, 批号 G63105); 样品 2 (盐酸克林霉素棕榈酸酯分散片, 75 mg, 广州一品红制药有限公司, 批号 20130301); 样品 3 (盐酸克林霉素棕榈酸酯分散片, 75 mg, 广州一品红制药有限公司, 批号 20130302); 样品 4 (盐酸克林霉素棕榈酸酯分散片, 75 mg, 广州一品红制药有限公司, 批号 20130303)。

2 方法与结果

2.1 有关物质检查

2.1.1 色谱条件^[1] 用辛烷基硅烷键合硅胶为填充剂 (ZORBAX Eclipse XDB-C8, 3 × 150 mm, 3.5 μm), 流动相 A 为 5 mmol/L 醋酸铵溶液 - 乙腈 (50:50), 流动相 B 为乙腈, 液相色谱条件 0~30 min (100%~0% A); 30~80 min (0% A); 80~

81 min (0%~100% A); 81~90 min (100% A) 进行梯度洗脱。流速: 0.4 mL/min; 检测波长: 230 nm; 柱温: 30 °C; 进样量: 10 μL。

2.1.2 供试品溶液的制备 取本品细粉适量, 加甲醇溶解并稀释制成每 1 mL 中约含克林霉素 5.7 mg 溶液, 滤过, 作为供试品溶液; 精密量吸取供试品溶液适量, 用甲醇稀释制成每 1 mL 中含克林霉素 114 μg 的溶液, 作为对照溶液。取盐酸克林霉素棕榈酸酯对照品, 精密称定, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释成每 1 mL 中含克林霉素 2.22 mg 的溶液, 作为对照品溶液。

2.1.3 测定法 照高效液相色谱法 (中国药典 2010 版二部附录 V D), 在“2.1.1 项”色谱条件下, 取盐酸克林霉素棕榈酸酯对照品溶液 10 μL, 注入液相色谱仪, 记录色谱图。

2.1.4 方法学考察

1) 系统适用性试验。

在“2.1.1 项”色谱条件下, 取同一供试品溶液 (批号 20130301) 重复进样 6 次, 理论塔板数、拖尾因子、分离度均符合要求。

2) 专属性试验。

分别采用 1.0 mol/L 盐酸、0.015 mol/L 氢氧化钠、 $\varphi = 3\%$ 双氧水、高温以及强光条件下对空白辅料和供试品 (批号 20130301) 进行破坏, 以验证方法的专属性。结果表明, 在 1.0 mol/L 盐酸、0.015 mol/L 氢氧化钠、 $\varphi = 3\%$ 双氧水、高温以及强光条件下, 在“2.1.1 项”液相色谱分析条件下降解产物均能与主成分盐酸克林霉素棕榈酸酯分离。

3) 重复性试验。

在“2.1.1 项”色谱条件下, 对 6 份供试品溶液 (批号 20130301) 进行重复性考察, 结果各有关物质峰面积的 RSD 均小于 5%, 表明方法重复性良好。

4) 供试品稳定性试验。

在“2.1.1 项”色谱条件下, 取供试品溶液 (批号 20130301), 于 0、3、6、9、12、24、48 h 分别进样, 对样品进行稳定性考察。结果各有关物质峰面积 RSD 均小于 5%, 表明供试品稳定性良好。

2.1.5 有关物质测定结果 采用峰面积归一化法, 计算各有关物质相对含量, 得到杂质峰的相对含量结果, 见图 1、图 2 和表 1。

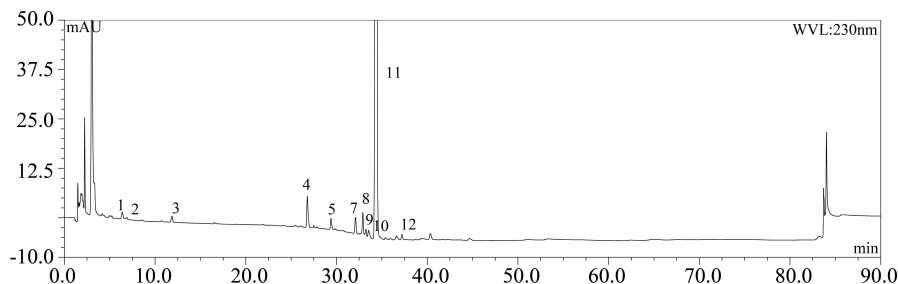


图 1 国外原研盐酸克林霉素棕榈酸酯干混悬剂有关物质色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram of the related substances of clindamycin palmitate hydrochloride original oral solution

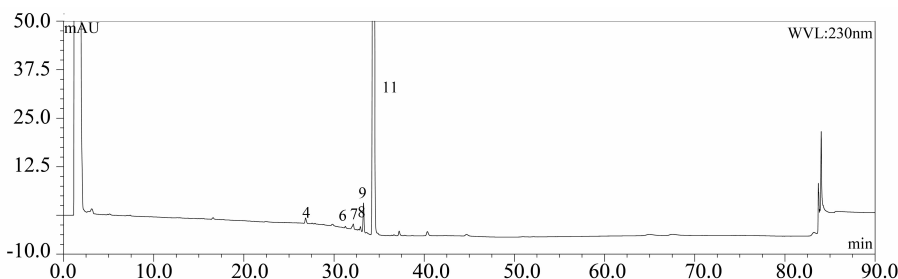


图 2 盐酸克林霉素棕榈酸酯分散片有关物质色谱图

Fig. 2 HPLC chromatogram of the related substances of clindamycin palmitate hydrochloride dispersible tablets

表 1 各样品中有关物质相对百分含量(峰面积归一化法)¹⁾

Table 1 Relative content of the related substances in each sample

峰号	相对保留 时间/min	样品批号			
		G63105	20130301	20130302	20130303
1	0.185	0.34	-	-	-
2	0.200	0.12	-	-	-
3	0.345	0.26	-	-	-
4	0.779	1.26	0.28	0.26	0.28
5	0.854	0.42	-	-	-
6	0.908	-	0.07	0.06	0.09
7	0.933	0.65	0.32	0.25	0.26
8	0.939	0.69	0.14	0.20	0.21
9	0.956	0.21	1.13	1.24	1.21
10	0.974	0.31	-	-	-
11	1.000	95.11	98.06	97.99	97.95
12	1.063	0.23	-	-	-
杂质 总和		4.49	1.94	2.01	2.05

1) “-”为未在样品中检测到；色谱峰 11 为盐酸克林霉素棕榈酸酯

检测结果表明，国产分散片有关物质种类及含量均低于国外原研产品。国外原研产品检测到 10 种不同有关物质，而 3 批国产分散片样品仅检测到 5 种不同有关物质。峰号为 4、7、8、9 的有关物质在国外原研产品与国内产品中均能检测到。根

据¹³C-MS 分析^[1,6]：杂质 4 为克林霉素十酸酯；杂质 7 为克林霉素十四酸酯；杂质 8 为克林霉素棕榈酸酯异构体；杂质 9 为克林霉素 B 棕榈酸酯。

2.2 溶出度分析

2.2.1 色谱条件 用辛烷基硅烷键合硅胶为填充剂 (Dionex Silica Products C18, 4.6 mm × 150 mm, 3 μm)，流动相：醋酸铵溶液 (取醋酸铵 3.85 g, 加 φ=5% 醋酸溶液溶解并稀释至 100 mL) - w = 0.21% 丁二酸二辛酯磺酸钠甲醇溶液 (20:480)；流速：1.0 mL/min；检测器：示差折光检测器；进样量：50 μL。

2.2.2 溶出介质的选择 考察 2 种制剂分别在 pH 1.0 盐酸溶液、pH 4.0 醋酸盐缓冲液、pH 6.8 磷酸盐缓冲液、w = 0.4% SDS 溶液作为溶出介质下的溶出情况。30 min 内，2 种制剂在 pH 1.0 盐酸溶液、pH 4.0 醋酸盐缓冲液、pH 6.8 磷酸盐缓冲液中的溶出度均小于 20%。故选用 w = 0.4% SDS 溶液作为溶出介质。

2.2.3 溶出方法学考察

1) 专属性试验。

按分散片处方比例，制成不含主药的空白样品，取适量 (约相当于 1 片的用量)，置 100 mL 容量瓶中，加 w = 0.4% SDS 溶液至刻度，超声振荡，摇匀，滤过，取滤液照“2.2.1 项”的色谱条件测定，结果表明辅料对测定无干扰，方法专属性良好。

2) 线性及线性范围。

精密称取盐酸克林霉素棕榈酸酯对照品 25.13 mg, 用 $w = 0.4\%$ 十二烷基硫酸钠溶解并稀释成含克林霉素 29.10、43.65、58.20、72.75、87.30、101.85 和 116.40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 系列质量浓度溶液, 按“2.2.1 项”色谱条件测定。采用最小二乘法拟合, 得到回归方程: $y = 0.0091x - 0.0465$, 相关系数 $r = 0.9999$ 。试验表明, 对照品溶液质量浓度在 29.10 ~ 116.40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的范围内与峰面积有良好线性关系。

3) 稳定性试验。

取盐酸克林霉素棕榈酸酯对照品溶液适量, 溶于 $w = 0.4\%$ SDS 溶液, 于 0、1、2、4、8、12、24 h 进样, 结果各样品测得的 RSD 为 0.66%, 表明样品在测定的 24 h 内稳定性良好。

4) 回收率试验。

分别精密称取相当于样品标示量的 50%、80% 和 100% 的盐酸克林霉素棕榈酸酯对照品及相应量的空白辅料, 加 $w = 0.4\%$ SDS 溶液适量, 振荡使盐酸克林霉素棕榈酸酯溶解, 并加 $w = 0.4\%$

SDS 溶液至规定质量浓度, 摇匀, 滤过, 照“2.2.1 项”色谱条件测定。样品平均回收率为 100.21%, RSD 为 1.23%。

2.3.4 溶出度测定结果 照溶出度测定法(中国药典 2010 年版二部附录 X C 第二法), 以 $w = 0.4\%$ 十二烷基硫酸钠溶液 900 mL 为溶出介质, 转速为 75 r/min, 依法操作, 在 2、4、7、10、15 和 20 min 时, 分别取溶液 5 mL, 滤过, 并及时在操作容器中补充上述溶剂 5 mL。另取盐酸克林霉素棕榈酸酯对照品适量, 精密称定, 用上述溶出介质溶解并稀释制成含克林霉素 81.55 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 作为对照品溶液。照“2.2.1 项”的色谱条件, 精密量取上述溶液各 50 μL , 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 按外标法以峰面积计算出每片的溶出度(表 2)。

检测结果表明, 各批盐酸克林霉素棕榈酸酯制剂样品在 7 min 以后, 累积溶出量没有显著性差异; 在 20 min 时各批样品累积溶出量均达到 94% 以上, 符合标准要求。

表 2 溶出度测定结果 ($n = 6$)

Table 2 Determination results of dissolution rate ($n = 6$)

样品批号	取样时间/min					
	2	4	7	10	15	20
G63105	76.92 ± 3.58	88.13 ± 3.86	90.98 ± 3.94	92.57 ± 3.07	93.35 ± 1.67	94.14 ± 1.53
20130301	50.21 ± 8.57	85.58 ± 2.65	89.45 ± 2.47	92.52 ± 1.23	94.15 ± 1.56	94.26 ± 1.46
20130302	53.39 ± 10.98	83.40 ± 7.43	89.03 ± 1.53	92.01 ± 1.32	93.95 ± 1.14	95.32 ± 1.46
20130303	53.57 ± 3.58	82.84 ± 3.58	88.76 ± 3.58	91.88 ± 3.58	93.11 ± 3.58	94.05 ± 3.58

3 讨论

有关物质主要反映原料药的纯度, 而溶出度则是衡量固体制剂质量的关键指标^[7], 它们是药物一致性评价的重要指标。有关物质检测结果表明, 国产分散片产品检出的有关物质种类与含量均低于国外原研产品; 而溶出度方面, 当参比制剂与受试制剂都在 15 min 内溶出达到 85% 时, 可以认为体内吸收与溶出速率无关, 不需进行溶出过程的比较。国产分散片与国外原研产品干混悬剂, 在 7 min 后溶出度均达到 85% 以上, 20 min 时各批样品累积溶出量均达到 94% 以上, 符合标准要求。

由于国内药物的一致性评价研究才刚刚起步, 因此本研究不仅对确保盐酸克林霉素棕榈酸酯分散片的质量有重要价值, 而且对其他产品的一致性评价具有示范作用。

参考文献:

- [1] 黄昕, 张超, 周翠兰, 等. 基于 UFLC-Q-TOF-MS/MS 技术的盐酸克林霉素棕榈酸酯分散片杂质的研究[J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2014, 53(4): 27-32.
- [2] 王建, 王红波, 洪利娅. 梯度洗脱 HPLC 法测定盐酸克林霉素棕榈酸酯及制剂的有关物质[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(2): 314-317.
- [3] 郁庆华. 我国仿制药与原研药的一致性评价[J]. 上海医药, 2013(5): 35-37.
- [4] 李红琴. 仿制药开发策略思考[J]. 药学与临床研究, 2010, 18(2): 182-183.
- [5] 胡欣, 金鹏飞. 仿制药和专利药临床疗效差异的技术思考[J]. 中国新药杂志, 2012, 21(6): 601-604.
- [6] BHARATHI C H, JAYARAM P, SUNDER R J, et al. Identification, isolation and characterization of impurities of clindamycin palmitate hydrochloride[J]. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, 2008, 48(4): 1211-1218.
- [7] 彭维, 吴万征, 邹威, 等. 原创中药红珠胶囊基于 RRLC-ESI-MS/MS 技术的化学成分分析[J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2014, 53(4): 119-122.