

# 盐酸克仑特罗双层缓释片的研制及体内外评价

丁盛<sup>1</sup>, 张洪记<sup>1</sup>, 顾王文<sup>2\*</sup>, 陈伶俐<sup>2</sup>, 李亚平<sup>2</sup> (1. 江苏大学药学院, 江苏 镇江 212013; 2. 中国科学院上海药物研究所, 上海 201203)

**摘要:**目的 研制盐酸克仑特罗缓释双层片并考察其体外释放及犬体内药动学。方法 以羟丙甲纤维素和乙基纤维素为骨架材料, 分别采用粉末直接压片和湿法制粒技术制备盐酸克仑特罗双层缓释片。测定其体外释放度和 Beagle 犬口服单剂量盐酸克仑特罗普通片和双层缓释片后血浆中药物的浓度, 推算药动学参数。结果 盐酸克仑特罗双层缓释片体外释放符合 Higuchi 方程。盐酸克仑特罗双层缓释片和普通片的有关药动学参数如下:  $t_{1/2}$  分别为  $(11.90 \pm 1.42)$ ,  $(6.18 \pm 0.81)$  h;  $C_{max}$  为  $(5.86 \pm 0.33)$ ,  $(11.43 \pm 0.64)$  ng · mL<sup>-1</sup>;  $t_{max}$  为  $(3.17 \pm 0.73)$ ,  $(2.02 \pm 0.35)$  h;  $AUC_{0-1}$  为  $(65.08 \pm 2.63)$ ,  $(68.00 \pm 2.89)$  ng · h · mL<sup>-1</sup>。结论 盐酸克仑特罗双层缓释片体外具有明显的速释和缓释特性。体内平均滞留时间长于普通片。体外释放和体内吸收有良好的相关性。

**关键词:** 盐酸克仑特罗; 双层缓释片; 体内外相关性

中图分类号: R943.41; R945.1

文献标识码: A

文章编号: 1007-7693(2009)01-0046-04

## Preparation and Evaluation *in vivo* and *in vitro* of Clenbuterol Hydrochloride Sustained-release Bilayer Tablets

DING Sheng<sup>1</sup>, ZHANG Hongji<sup>1</sup>, GU Wangwen<sup>2\*</sup>, CHEN Lingli<sup>2</sup>, LI Yaping<sup>2</sup> (1. School of Pharmacy, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China; 2. Shanghai Institute of Materia Medica Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To prepare clenbuterol hydrochloride sustained-release bilayer tablets and study its pharmaceutical characteristics *in vivo* and *in vitro*. **METHODS** HPMC and EC mixed matrix were used to prepare clenbuterol hydrochloride sustained-release bilayer tablets by direct compression technique and wet granulation technique. The release characteristics *in vitro* and pharmacokinetics in dogs of clenbuterol hydrochloride sustained-release bilayer tablets were investigated. **RESULTS** The drug dissolution of sustained-release bilayer tablets was consistent with Higuchi equation. The peak levels ( $C_{max}$ ) after administration of sustained-release bilayer tablets and reference tablets were  $(5.86 \pm 0.33)$  and  $(11.43 \pm 0.64)$  ng · mL<sup>-1</sup> at  $(3.17 \pm 0.73)$  and  $(2.02 \pm 0.35)$  h, respectively. The mean elimination half lives ( $t_{1/2}$ ) were found to be  $(11.90 \pm 1.42)$  and  $(6.18 \pm 0.81)$  h, respectively.  $AUC_{0-1}$  were calculated to be  $(65.08 \pm 2.63)$  and  $(68.00 \pm 2.89)$  ng · h · mL<sup>-1</sup>, respectively. **CONCLUSION** The clenbuterol hydrochloride sustained-release bilayer tablets exhibited both sustained-and rapid-release characteristics *in vitro*. The calculated MRT of sustained-release bilayer tablets was significantly more than that of reference tablets. There existed correlation between the *in vitro* release and *in vivo* absorption.

**KEY WORDS:** clenbuterol Hydrochloride; sustained-release bilayer tablets; *in vitro* and *in vivo* correlation

盐酸克仑特罗 (clenbuterol hydrochloride) 为强效的选择性肾上腺素  $\beta_2$  受体激动剂, 能舒张支气管平滑肌, 用于治疗支气管哮喘、喘息性支气管炎和伴肺气肿的支气管炎等<sup>[1-2]</sup>。已上市的制剂主要有普通片剂、气雾剂、栓剂、膜剂、贴剂等。这些制剂的缺点是作用时间较短, 血药浓度波动较大。为了弥补上市制剂的不足, 综合药物本身的理化性质以及哮喘的发病特点, 笔者设计了盐酸克仑特罗的双层缓释片。速释层在哮喘发作时舌下含服迅速释放有效

剂量的药物, 用以缓解症状, 减小哮喘发作带给病人的危害。缓释层用于维持体内的血药浓度, 减少给药次数和副作用, 提高病人的顺应性。

### 1 材料和仪器

Agilent1100 高效液相色谱仪 (安捷伦公司); FETTE102i 型压片机 (德国菲特); ZRD6-B 型药物溶出度仪 (上海黄海药检仪器厂); YPD200C 硬度测定仪 (上海黄海药检仪器厂)。

盐酸克仑特罗原料及其对照品 (常州亚邦制药有

限公司,批号:M061201,纯度99.8%);羟丙基甲基纤维素 HPMC K100M(上海卡乐康包衣技术有限公司);乙基纤维素 EC 10 CP STD(上海卡乐康包衣技术有限公司);甘露醇 PEARLITOL 100SD(法国罗盖特);喷雾干燥乳糖-纤维素预混物 Cellactose<sup>®</sup>80(德国美剂乐);微晶纤维素 CEOLUS<sup>®</sup> PH-302(日本旭化成);聚乙烯吡咯烷酮 PVP K30(国际特品);交联聚维酮 PVPP XL-10(国际特品);盐酸克仑特罗普通片(商品名:咳喘舒,河北邢台明神制药厂,批号:20070315,含盐酸克仑特罗 40 μg·片<sup>-1</sup>)。

6条健康,成年 Beagle 犬,♀ ♂ 各半,8~10 kg(上海药物研究所实验动物房)。

## 2 方法与结果

### 2.1 处方与制备工艺

称取过 80 目筛的盐酸克仑特罗 40 mg, PVPP 2 g, Cellactose<sup>[3]</sup> 13 g, 甘露醇 24 g 和硬脂酸镁 400 mg, 等量递加混匀后得速释层粉末;称取过 80 目筛的盐酸克仑特罗 80 mg, 乳糖 12 g, 羟丙基甲基纤维素 24 g 和乙基纤维素 24 g, 等量递加混匀后用 5% 的 PVP 乙醇溶液制软材后过 20 目筛制粒, 干燥后用 20 目筛整粒。将制得的颗粒和 1% 硬脂酸镁混匀后得缓释层颗粒。选择 6 mm 平冲, 先将缓释层颗粒填入压片机, 预压力大约为 20 N, 缓释层预压后填入速释层粉末, 压片制备 1 000 片盐酸克仑特罗缓释双层片, 其中缓释层重 60 mg, 含盐酸克仑特罗 80 μg; 速释层重 40 mg, 含盐酸克仑特罗 40 μg。

### 2.2 体外释放度

色谱条件<sup>[4]</sup>: 色谱柱 ZORBAX-C<sub>18</sub> 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相为 乙腈-甲醇-水-三乙胺(160:90:750:1), 用磷酸调节 pH 至 3; 柱温 25 °C; 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 检测波长 215 nm; 进样量为 100 μL。

释放度测定方法: 依照中国药典 2005 版二部体外释放度试验第一法转篮法测定, 释放介质为 250 mL pH3 的盐酸溶液, 温度为 (37 ± 0.5) °C, 转速为 100 r·min<sup>-1</sup>。分别于 0, 12, 1, 2, 5, 8, 10, 12 h 取样 5 mL(并补充释放介质 5 mL), 过滤, 取续滤液作为供试品溶液。分别取供试品溶液和 0.4 μg·mL<sup>-1</sup> 的盐酸克仑特罗对照品溶液进样, 按外标法以峰面积计算不同时间的释放度。

### 2.3 处方筛选及工艺验证

**2.3.1 缓释层的处方筛选** 盐酸克仑特罗为水易溶性药物, 因此选用高黏度的 HPMC 和 EC 混合骨架用于阻滞药物的释放<sup>[5-6]</sup>。在预实验的基础上, 确定骨架用量为 80% 的情况下, 考察骨架中 HPMC 和

EC 的不同比例 100:0(处方 1); 70:30(处方 2); 50:50(处方 3); 30:70(处方 4); 0:100(处方 5) 对药物释放速率的影响, 结果见图 1。

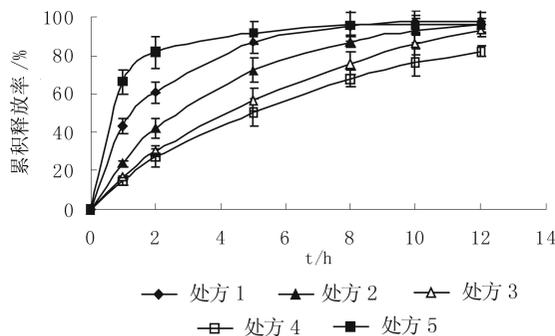


图 1 盐酸克仑特罗缓释层释放曲线(n=6)

Fig 1 Cumulative release profiles of Clenbuterol Hydrochloride sustained-release part (n=6)

由图 1 可见, 采用 HPMC(处方 1) 或 EC(处方 5) 作为缓释材料的缓释层在前 2 h 释放很快, 分别达到了 60.8% 和 81.6%, 可见单独使用两种骨架材料并不能阻滞盐酸克仑特罗的突释。两种骨架混合使用时, 随着 EC 在骨架所占的比例增大, 阻滞药物突释的效果越明显。但当 HPMC: EC 为 3:7(处方 4) 时, 药物的后期释放比较缓慢, 12 h 仅释放了 80% 左右, 根据中国药典 2005 版二部附录 XIX D 规定一个给药间隔累积释放百分率要求达到 90% 以上, 因此, 处方 4 是不符合规定的。HPMC: EC 的比例为 5:5(处方 3) 时, 盐酸克仑特罗缓释层的累积释放率分别为: 2 h 释药 30% 左右, 5 h 释药 40~60%, 10 h 释药 > 80%, 符合预期的缓释效果。

### 2.3.2 工艺验证

按照“2.1”项下方法制备 3 批盐酸克仑特罗双层缓释片, 分别测定释放度, 结果见图 2。由图 2 可见, 3 批样品的释放曲线基本相同, 批间差异较小, 工艺重现性好。

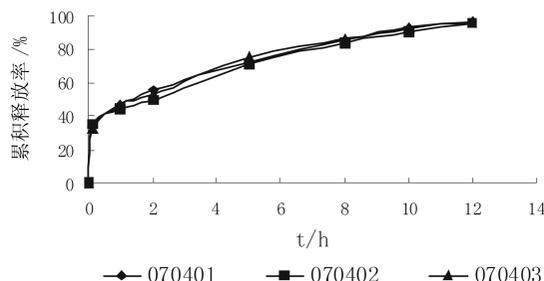


图 2 3 批样品体外释放曲线(070401, 070402 和 070403)

Fig 2 Cumulative release profiles of three batches (070401, 070402, and 070403) of clenbuterol hydrochloride sustained-release tablets

## 2.4 盐酸克仑特罗双层片的体外释药研究

**2.4.1 数学模型拟合** 盐酸克仑特罗双层缓释片中药物的累积释放按下式进行:  $F = Q + M_t/M_\infty$ 。式中,  $F$  为 0 ~  $t$  时间内盐酸克仑特罗表观释放度(%),  $Q$  为速释层中盐酸克仑特罗溶出度(%),  $M_t/M_\infty$  为  $t$  时间缓释层中盐酸克仑特罗累积释放百分率(%). 根据 3 批平均体外释放数据,按零级、一级、Higuchi 和 Peppas 方程分别拟合 1 ~ 12 h 与 0 ~ 12 h 释药行为,结果见表 1。由表 1 可见,盐酸克仑特罗双层缓释片(0 ~ 12 h) 释药行为接近一级方程和 Higuchi 方程,而缓释层(1 ~ 12 h) 释药行为更接近 Higuchi 方程和 Peppas 方程。拟合结果表明盐酸克仑特罗双层缓释片在释放过程中首先是速释层的药物快速释放,然后是缓释层中的药物通过扩散缓慢释放,具有明显的速释和缓释双向控制释放特征。

表 1 盐酸克仑特罗缓释双层片体外释药拟合结果

Tab 1 Fitting results for releasing profiles of clenbuterol hydrochloride sustained-release bilayer tablets

线性方程	拟合结果	$r$
1 ~ 12 h		
零级方程	$F = 4.6072t + 45.623$	0.9851
一级方程	$\ln(100 - F) = -0.2438t + 4.3684$	0.9824
Higuchi 方程	$F = 20.955t^{1/2} + 25.54$	0.9993
Peppas 方程	$\ln F = 0.3046\ln t + 3.8137$	0.9991
0 ~ 12 h		
零级方程	$F = 6.3532t + 30.103$	0.9049
一级方程	$\ln(100 - F) = -0.2465t + 4.3917$	0.9878
Higuchi 方程	$F = 24.625t^{1/2} + 15.893$	0.9722

**2.4.2 释药机制** 根据 Peppas 方程<sup>[7]</sup>:  $M_t/M_\infty = Kt^n$ 。其中  $n$  为释放参数,该参数是 Peppas 方程中表征释放机制的特征参数。对于圆柱状骨架,当  $n < 0.45$  时,药物的释放机制为 Fick's 扩散;当  $0.45 < n < 0.89$  时,药物的释放机制为非 Fick's 扩散,即药物扩散和骨架溶蚀协同作用;当  $n > 0.89$  时,药物的释放机制为骨架溶蚀机制。由表 1 可见:盐酸克仑特罗双层缓释片缓释层(1 ~ 12 h) 的释放参数  $n$  为 0.30,释药机制为 Fick's 扩散。

## 2.5 犬体内药动学研究

**2.5.1 给药方案** 6 条 Beagle 犬,采用双周期交叉设计给药。受试动物随机分成两组,给药前禁食 12 h,自由饮水,并取空白血,给药后经食道给水 50 mL。两组分别口服 120  $\mu\text{g}$  盐酸克仑特罗双层缓释片(受试制剂)和盐酸克仑特罗普通片 120  $\mu\text{g}$  (40  $\mu\text{g} \cdot \text{片}^{-1} \times 3$ , 参比制剂)。给药后分别于 0.5, 0.75, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 24 h 前肢静脉取血 3

mL,血样置于肝素化采血管中,5 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min 后取上清液置 -20  $^{\circ}\text{C}$  冰箱中保存备用,1 周后交叉给药,同法处理。

**2.5.2 药物动力学与生物等效性** 6 条 Beagle 犬单剂量给予盐酸克仑特罗双层缓释片与普通片后的血药浓度-时间曲线见图 3。所得血药浓度-时间数据经 3P97 程序采用非房室模型法计算药代动力学参数,结果见表 2。按面积法( $\text{AUC}_{0-t}$ ) 估算:盐酸克仑特罗双层缓释片相对于普通片的平均相对生物利用度为  $(95.85 \pm 5.47)\%$ 。对受试制剂和参比制剂进行生物等效性评价,对  $\text{AUC}_{0-t}$ 、 $C_{\text{max}}$  经对数转换后进行方差分析,双单侧  $t$  检验和 90% 置信区间分析,  $t_{\text{max}}$  进行非参数秩和检验,结果表明:盐酸克仑特罗双层缓释片和普通片的  $\text{AUC}_{0-t}$  无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 90% 置信区间为 90.6% ~ 101.1%, 生物等效;  $t_{\text{max}}$  和  $C_{\text{max}}$  有差异,具有明显的缓释特征。

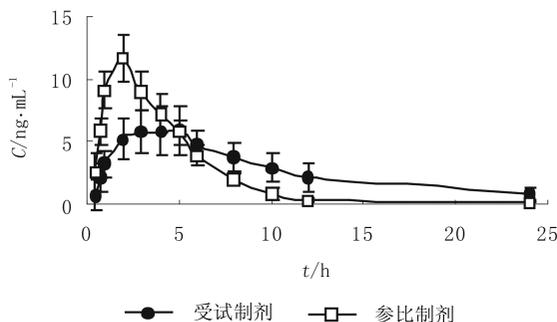


图 3 Beagle 犬单剂量口服普通片和双层缓释片后的平均药-时曲线 ( $n = 6$ )

Fig 3 Mean plasma concentration-time profiles of clenbuterol hydrochloride after oral administration of two preparations ( $n = 6$ )

表 2 单剂量口服盐酸克仑特罗 Beagle 犬体内药动学参数 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

Tab 2 Pharmacokinetic parameters of clenbuterol hydrochloride after oral administration of two preparations to Beagle dogs ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

参数	试验组	参照组
$t_{1/2}/\text{h}$	$11.90 \pm 1.42$	$6.18 \pm 0.81$
$\text{MRT}_{0-t}/\text{h}$	$7.99 \pm 1.36$	$4.58 \pm 0.34$
$\text{MRT}_{0-\infty}/\text{h}$	$11.82 \pm 1.57$	$4.95 \pm 0.45$
$C_{\text{max}}/\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	$5.86 \pm 0.33$	$11.43 \pm 0.64$
$t_{\text{max}}/\text{h}$	$3.17 \pm 0.73$	$2.02 \pm 0.35$
$\text{AUC}_{0-t}/\text{ng} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$	$65.08 \pm 2.63$	$68.00 \pm 2.89$
$\text{AUC}_{0-\infty}/\text{ng} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$	$75.43 \pm 2.94$	$68.99 \pm 2.59$

## 2.6 体内外相关性

以盐酸克仑特罗普通片作为标准速释制剂,根据盐酸克仑特罗普通片各时间段的血药浓度-时间

曲线下面积 (AUC) 和双层缓释片对应时间点的血药浓度 ( $C_t$ ), 运用反卷积分法<sup>[8]</sup> 计算出双层缓释片各时间间隔的体内输入函数 (R), 反卷积分参数见表 3。以盐酸克仑特罗双层缓释片各时间点的累积释放率 (F) 为应变量, 体内输入函数 (R) 为自变量进行线性回归, 得回归方程  $F = 5.3719R + 53.081$ ,  $r = 0.9492$ 。当自由度  $df = n - 2 = 4$  时, 临界值  $r_{4,0.05} = 0.811$ , 相关系数  $r > r_{4,0.05}$ 。表明盐酸克仑特罗双层缓释片的体外释放与体内吸收相关性良好, 通过体外释放度测定能够有效控制产品质量。

表 3 盐酸克仑特罗双层缓释片反卷积分参数

Tab 3 Deconvolution parameters of clenbuterol hydrochloride sustained release tablets

时间/h	F/%	AUC/ng · h · mL <sup>-1</sup>	C <sub>t</sub> /ng · mL <sup>-1</sup>	R
1	45.99	4.75	3.15	0.66
2	55.19	10.27	5.23	0.33
3	61.28	10.19	5.86	0.53
4	72.93	14.38	5.65	2.66
5	85.57	10.41	3.52	5.70
6	96.85	5.84	2.13	8.61

### 3 讨论

盐酸克仑特罗普通片的规格是  $40 \mu\text{g} \cdot \text{片}^{-1}$ , 成人一次口服剂量为 1~2 片, 日剂量为 3~6 片, 即总剂量为每天 120~240  $\mu\text{g}$ , 分 3 次服用。因此, 研制的速释层剂量定为一个普通片的剂量 (40  $\mu\text{g}$ ), 缓释层剂量定为 80  $\mu\text{g}$  (日剩余剂量的最小值)。另外市售的盐酸克仑特罗双层膜, 河北沧州康平药业有限公司 (国药准字: H13024547) 的产品, 每格含盐酸克仑特罗 120  $\mu\text{g}$  (速效膜 40  $\mu\text{g}$ , 长效膜 80  $\mu\text{g}$ )。研制的双层缓释片的规格与这个产品的剂量规格保持一致。

直接压片技术制备盐酸克仑特罗速释层可使其在短时间内快速崩解, 但要求辅料具有良好的流动性和可压性。微晶纤维素因具有良好的流动性和可压性, 是直接压片工艺广泛应用的辅料之一。但由于其水不溶特性<sup>[9]</sup>, 常使得病人有砂砾感。为此, 本处方选择水溶性、流动性、可压性和口感均很好的 Cellactose<sup>®</sup> 和甘露醇替代微晶纤维素, 在保证快速崩解和工艺重现性的前提下改善了病人的口感。

体内、外相关性研究的方法较常用的是利用模型参数  $K_e$  求算药物的体内吸收分数 (一室模型药物用 Wangner-Nelson 法; 二室模型药物用 Loo-Riegelman 法)。但室模型拟合的方法吸收分数的计算引入了消除速率常数  $K$ ,  $K$  是血药浓度-时间曲线尾段数据回归得到。由于缓 (控) 释制剂体内消除

时间长, 所以根据缓 (控) 释制剂的药时数据得到的  $K$  值常与静脉注射或速释制剂药时数据得到的  $K$  值有一定偏差。而直接以实验数据进行计算的反卷积分法是研究缓释制剂体外释放与体内吸收相关性的较好方法。本实验以盐酸克仑特罗普通片为标准速释制剂, 研究盐酸克仑特罗双层缓释片的体内外相关性。

本实验制备的盐酸克仑特罗双层缓释片具有明显的缓释作用, 但从药-时曲线可知速释层在短时间内增加犬体内药物浓度的效果并不十分明显。推测是与给药方式有关。本制剂的理想给药方式是给药后先舌下含服, 等速释层全部崩解后再吞服, 这样, 速释层中的大部分药物经口腔吸收, 起效快, 首过效应小。而做犬体内药动学研究时, 由于采用这种给药方式有很大的难度, 所以只能采取直接用水灌服给药, 因此得到的数据没有很好的体现出速释层的效果。本课题下一步的工作将通过人体药动学研究进一步确证本制剂的临床疗效。

### REFERENCES

- [1] WALDECK B.  $\beta$ -Adrenoceptor agonists and asthma-100 years of development [J]. Eur J Pharmacol, 2002, 445(1-2): 1-12.
- [2] LÖTVALL J. The Long and Short of  $\beta_2$ -agonists [J]. Pulm Pharmacol Ther, 2002, 15(6): 497-501.
- [3] GAO C S, WANG W, HUANG J, et al. Study on compressibility and tablet-forming ability of Cellactose<sup>®</sup> 80 [J]. Chin Pharm J (中国药学杂志), 2007, 4(22): 128-131.
- [4] TAN S J, ZHANG Q M, LIU G, et al. HPLC determination of ipratropine and clenbuterol hydrochloride in compound yiwei-beike aerosol [J]. Chin J Pharm Anal (药物分析杂志), 2005, 25(9): 1070-1072.
- [5] GAO Y C, ZHANG L, BIAN Z Z. Effects of matrix material content on soluble drug release from matrix [J]. J Chem Ind Eng (化工学报), 2005, 56(10): 2024-2028.
- [6] LIN X, CHEN J M. Several approaches to prepare matrix containing soluble drug with zero-order release kinetics [J]. Chin Pharm J (中国药学杂志), 2002, 37(3): 192-195.
- [7] RITGER P L, PEPPAS N A. A single equation for description of solute release. I. Fickian and anomalous release from non-swelling devices [J]. J Controlled Release, 1987, 5(1): 37-42.
- [8] VENG-PEDERSEN P. Noncompartmentally-based pharmacokinetic modeling [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2001, 48(2-3): 265-300.
- [9] ZHENG J M. Hand book of pharmaceutical excipients (药用辅料手册) [M]. 4th ed. Beijing: Chemical Industry Press, 2005: 130.

收稿日期: 2007-11-27