

注射用克拉霉素乳剂稳定性及影响因素考察

秦凌浩¹, 冷巍², 唐星³ (1.广东药学院, 广州 510006; 2.香港澳美制药厂 R&D, 香港; 3.沈阳药科大学, 沈阳 110016)

摘要: 目的 考察克拉霉素乳剂稳定性及其影响因素。方法 以乳剂粒径, pH 值变化和药物含量作为指标, 考察了不同温度对克拉霉素乳剂稳定性的影响。结果 乳剂在低温保存时稳定性良好, 温度升高会显著影响乳剂稳定性, 导致粒径增大和 pH 降低。根据 Arrhenius 公式求得储存温度为 5℃ 时, $T_{0.9}=9.06$ 年, 长期稳定性试验结果表明, 载药乳剂在 12 个月理化性质稳定。结论 低温保存有利于提高该乳剂的稳定性。

关键词: 克拉霉素; 乳剂; 稳定性

中图分类号: R944.17

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2010)07-0630-05

Study on the Formulation Stability and Its Influence Factors of Clarithromycin Emulsion for Injection

QIN Linghao¹, LENG Wei², TANG Xing³ (1. *Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China;* 2. *Hongkong Bright Future Pharmaceutical Laboratory R&D, Hongkong, China;* 3. *Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the formulation stability and influence factor of clarithromycin emulsing. **METHODS** The particle size, pH reduction and drug content were used as the indexes to investigate the clarithromycin

作者简介: 秦凌浩, 男, 硕士, 讲师 Tel: (020)39352117 E-mail: dor_qin@yahoo.com.cn

emulsion stability in different storage temperature. **RESULTS** The drug loaded emulsion was stable when at low storage temperature. As the storage temperature increased, the particle size of clarithromycin emulsion increased significantly. And lead to pH reduction. Based on Arrhenius equation, $T_{0.9}$ would increase to 9.06 years, when storage temperature was 5 °C. Long term stability testing results indicate that the physical and chemical properties of clarithromycin emulsion was stable within 12 months. **CONCLUSION** Low storage temperature is helpful to improve the formulation stability.

KEY WORDS: clarithromycin; emulsion; stability

克拉霉素(clarithromycin)是大环内酯类抗生素第三代衍生物,对 G^+ 和 G^- 以及厌氧菌、支原体引起的呼吸道感染、皮肤软组织感染和泌尿系统感染都有良好的治疗作用^[1-2]。克拉霉素的静脉注射剂是 Klacid® (Abbott Laboratories), 由于静脉注射剂给药后具有明显的刺激性^[3-5], 可引起局部注射疼痛, 严重时可导致静脉炎, 影响药物静脉给药的临床应用和推广。

为了降低克拉霉素静脉使用时引起的刺激性, 增加病人给药的顺应性, 可以通过制备混合胶束溶液或脂肪乳剂对克拉霉素药物进行包裹以掩蔽克拉霉素的药物分子, 避免静脉给药时药物与血管的直接接触和相互作用。笔者在前期的研究中制备了载药注射用克拉霉素乳剂^[6], 并对其进行了刺激性和体内药动学的考察, 结果表明载药乳剂可以明显降低静脉注射药物引起的刺激性, 其体内特征与水溶液注射剂相当。本试验对已制备的克拉霉素乳剂的稳定性以及影响稳定性的因素进行考察, 以保证制剂的质量并为临床研究提供确实可靠的数据。

1 仪器与试药

克拉霉素(clarithromycin)(浙江华义药业有限公司, 批号: 20070708, 纯度: 98%); Pluronic F-68(上海协泰化工有限公司); 卵磷脂 LIPOID E80(德国 Lipoid); 油酸(天津市博迪化工有限公司); 正己酸(北京科华特种试剂联合开发中心); 注射用大豆油(LCT)(铁岭北亚注射用油厂); 注射用中链脂肪酸甘油酯(MCT)(德国 Lipoid); 注射用甘油(浙江遂昌甘油厂)。

NS1001L 高压均质机(Via M. da Erba, Pharm, Italy); Nicomp380 动态光散射粒度测定仪(Santa Barbara, California, USA); DS-1 高速组织捣碎机(上海标本模型厂); 超速离心机(HITACHI, Japan)。其他药品或试剂均为药用规格或分析纯。

2 方法和结果

2.1 克拉霉素乳剂的制备^[6]

将处方量的油酸和正己酸混合, 磁力搅拌下

加入处方量的克拉霉素, 直至克拉霉素完全溶解, 再加入处方量的大豆油和 MCT, 磁力搅拌后作为油相。

将卵磷脂和 Pluronic F-68、甘油加注射用水 60 mL, 50 °C 磁力搅拌, 分散均匀, 作为水相。将同温度的油相趁热加入到水相中, 置于高速组织捣碎机中, 17 000 r·min⁻¹ 搅拌 3 次, 每次 5 min, 即得初乳。将此初乳在高压均质条件 80 MPa 下均质 8~10 次后, 调节 pH 值, 定容, 过 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 即可制得克拉霉素乳剂。

2.2 克拉霉素乳剂粒径和 zeta 电位测定

粒径测定: 取克拉霉素乳剂用注射用水稀释 500 倍, 适当调节光强度至 300 左右, 室温进行测定, 开始测定后至 Time history 曲线趋于直线时停止测定, 保存数据。每个样品测定 3 次, 取平均值。

Zeta 电位测定: 将载药乳剂稀释 500 倍, 放入样品池内, 适当调节光强度, 散射角 $\theta=18.9^\circ$, 电场强度 $E=15 \text{ V}\cdot\text{cm}^{-1}$, 室温测定。每个样品测定 3 次, 取平均值。

2.3 克拉霉素乳剂包封率的测定

通过超速离心法测定克拉霉素乳剂中药物的包封率。将克拉霉素乳剂样品加入离心管中, 在 40 000 r·min⁻¹ 条件下离心 4 h, 保持 10 °C 恒温, 离心后用注射针头小心吸取下层清液, 通过 HPLC 测定其中的药物浓度水平并通过下面的公式计算乳剂中药物的包封率(EE%)。

$$EE\% = \frac{CLA_o}{CLA_T} \times 100\% = (1 - \frac{CLA_w}{CLA_T}) \times 100\%$$

其中: CLA_o 是油相与乳化剂层中药物量; CLA_w 是水相中药物量; CLA_T 是乳剂中药物量。

2.4 HPLC 分析

2.4.1 色谱条件 HiQ sil C₁₈ 柱(KYA TECH Corporation, 4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 磷酸盐缓冲液(取磷酸二氢钾 9.11 g, 加水溶解并稀释至 1 000 mL, 加三乙胺 2 mL, 用磷酸调节 pH 值至 5.5)-乙腈(600 : 400), 0.45 μm 微孔滤膜过滤; 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长: 210 nm; 柱温:

45℃; 进样量 20 μL。

2.4.2 样品制备 精密量取乳剂 0.7 mL 以异丙醇稀释并定容至 10 mL, 过 0.22 μm 微孔滤膜作为供试液。

方法学结果表明, 辅料对样品的测定无干扰, 克拉霉素在 50~600 μg·mL⁻¹ 内浓度与峰面积线性关系良好($A=15.147C+84.246$, $r=0.9997$), 回收率、精密度、重复性和稳定性结果分别为: 99.3%~100.7%, 0.45%~1.14%, 0.95%和 0.66%, 符合测定要求。

2.5 制剂稳定性研究

样品在 4, 25, 40, 60℃条件下避光保存, 定期移取样品, 观察是否出现分层、絮凝等现象, 并测定其药物含量、pH、粒径、zeta 电位和包封率, 每个样品测定 3 次, 取平均值。在 40, 50, 60, 80℃条件下进行加速试验, 其结果用以求得药物在不同温度下降解速率常数 K 和 Arrhenius 方程。

2.5.1 处方组成 克拉霉素在水中的溶解度和在油中的溶解度均不好, 为了制备克拉霉素乳剂, 首先要增加其在油中的溶解度。处方中的正己酸和油酸是脂溶性中长链脂肪酸, 其在油相中可以充当脂溶性反离子成分, 屏蔽克拉霉素分子中的极性基团, 增加克拉霉素在油中的溶解度。根据前期试验结果, 当正己酸和油酸的用量分别为 0.3 g 和 0.6 g 时, 可以溶解 500 mg 克拉霉素, 达到 500 mg·(100 mL)⁻¹ 药用规格。通过处方中使用辅料品种和用量的筛选与优化, 最终确定该载药乳剂处方如下: 正己酸(0.3%)、油酸(0.6%)、卵磷脂(3%)、大豆油(5%)、MCT(5%)、克拉霉素(0.5%)。

2.5.2 温度对载药乳剂粒径的影响 不同的保存温度下载药乳剂粒子粒径的变化情况见图 1。由图中结果可以看出粒子的粒径随着储存时间的延长和保存温度的升高而明显变大。4℃条件储存 6 个月粒径由(156±14)nm 增大至(193±23)nm; 而 40℃条件下, 粒径增大更为明显, 由(156±14)nm 增大至(224±28)nm。

2.5.3 温度对载药乳剂 pH 的影响 乳剂最初的 pH 为 6.0, 将样品放置在不同温度下进行考察。不同储存温度对载药乳剂 pH 的变化影响情况结果见图 2。在 4~60℃的保存条件下, 乳剂 pH 的变化随着温度的升高和保存时间的延长而明显加剧。4℃储存条件下, 乳剂的 pH 在 30 d 内几乎没

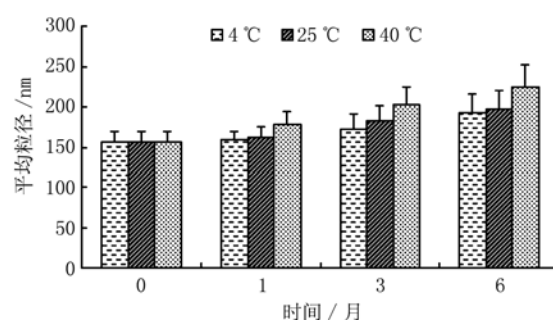


图 1 储存温度对载药乳剂粒径的影响

Fig 1 Effect of storage temperature on the change in particle size of drug-loaded emulsion

有变化; 当温度升高到 60℃时, 乳剂的 pH 在 30 d 内下降了 0.78 个单位。这种现象产生的原因可能是由于较高温度条件下, 乳化剂磷脂的水解速度加快, 释放出的游离脂肪酸使体系 pH 降低所致。40℃和 60℃保存条件下储存时间和 pH 降低的关系曲线见图 3。由图可知, pH 值的降低和时间近似正比例关系(相关系数 R^2 分别为 0.983 6 和 0.966 5)。2 个温度条件下 pH 降低速率分别是 0.008 7 d⁻¹ 和 0.025 7 d⁻¹。

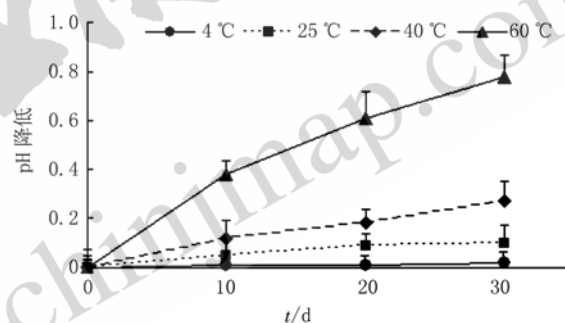


图 2 不同储存温度对载药乳剂 pH 降低程度的影响

Fig 2 Effect of storage temperature on the reduction in pH of drug-loaded emulsion

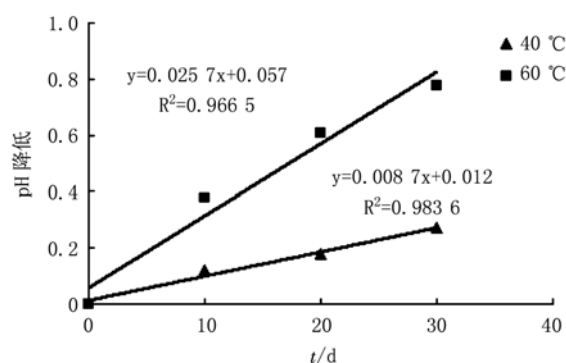


图 3 在 40℃和 60℃储存条件下, pH 降低对时间的关系曲线

Fig 3 Plot of correlation between storage time and the reduction in pH of drug-loaded emulsions at 40℃ and 60℃

2.5.4 温度对载药乳剂药物含量的影响 当载药乳剂储存温度较低时,药物的降解速率很慢,前期试验表明,25℃条件下,将载药克拉霉素乳剂放置3个月,药物含量没有明显变化。但当保存温度升高时,会引起药物降解加快,导致药物的含量降低。随着保存温度的升高,载药乳剂的降解速度逐渐加快,40℃时,样品储存9个月后,剩余药量是初始含量的76.4%,而在50℃,6个月的储存条件下,药物含量已降至38.6%。在80℃的条件下,储存0.4个月,药量下降为58.8%。温度变化从40℃到80℃,反应速率常数从每月2.48%提高到101.63%。不同温度下药物降解速率方程见表1,根据所得数据求出的Arrhenius关系曲线见图4。根据Arrhenius公式求得,储存温度5℃条件下,克拉霉素乳剂中药物的降解速率常数为每月0.093%, $T_{0.9}$ =9.06年。

表1 不同温度下药物降解速率方程

Tab 1 Drug degradation rate at different temperature

温度/℃	速率方程	R ²	每月速率常数/%
40	$y = -2.4808x + 101.53$	0.928 4	2.480 8
50	$y = -10.158x + 100.13$	0.994 2	10.158
60	$y = -28.554x + 102.35$	0.982 0	28.554
80	$y = -101.63x + 98.66$	0.994 8	101.630

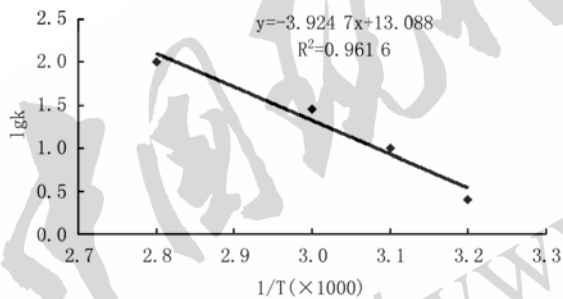


图4 载药乳剂降解速率常数与温度的关系曲线(Arrhenius方程)

Fig 4 Arrhenius plot data at different storage temperature

2.5.5 载药乳剂的包封率测定 通过高速离心法测定载药乳剂中药物的存在位置,测定结果表明,油相和乳化剂中药物的比例约为70%。这表明仍然有一部分药物存在于水相中,由于克拉霉素是一种油水难溶性药物,在该体系的pH条件下溶解度很低,最初认为是由于离心的转速不够或是离心的时间偏短造成,但是将离心的条件调整为60000 r·min⁻¹,或是离心6 h,得到的结果并没有显著差异。因此笔者推测原因可能为:①处方中添加了己酸和油酸作为脂溶性增溶剂成分,但该成分在

水中同样具有一定的溶解度,在高压均质过程中,油相不断由大粒子变为小粒子,而该过程也是己酸和油酸在油水中分配平衡的过程。虽然水相中的少量己酸并不足以改变整个体系的pH值,但是对于提高克拉霉素在水中的溶解度却有显著作用,在对比试验中,将溶解了克拉霉素的己酸和水相经过充分分散后,测定水相中的药物含量,证明溶解度确有明显升高,而体系的pH值无变化。②该处方中加入的磷脂作为乳化剂,其加入量为3%,该比例远远高于一般的脂肪乳剂中磷脂的含量(0.6%~1.2%),笔者推测,在制备过程中不可避免会有少部分的磷脂在水相中形成脂质体,对克拉霉素进行了包裹,并且该脂质体的粒径很小,以致在高速离心过程中并没有破坏其结构,使其仍然保存在水相中,使测得值偏低。

2.5.6 克拉霉素乳剂长期稳定性 对克拉霉素乳剂样品4℃放置12个月,对相关指标进行考察,结果在12个月储存期中克拉霉素乳剂的外观无明显可见变化,为均匀乳白色乳浊液。粒径变化从(156±14)nm增加到(211±17)nm, zeta电位略有降低,药物含量(103.9%~101.9%)与包封率(71.7%~68.8%)无明显变化。证明在此保存条件下,克拉霉素乳剂稳定性良好。

3 讨论

温度对于乳剂的稳定性影响较大,随着温度的升高,乳剂的粒径,pH值和药物的含量都会有不同程度的变化。根据Arrhenius公式求得5℃的降解速率常数和长期稳定性考察结果可知,克拉霉素乳剂在较低温度保存,其理化性质无明显变化,制剂性质稳定。

克拉霉素乳剂的制备过程中加入了脂肪酸成分,这种脂溶性的反离子一方面可以提高难溶性药物克拉霉素在油相中的溶解度,使载药乳剂易于形成,但另一方面,这种脂溶性的成分在较高温度储存条件下可能会使药物产生降解,上述实验结果也证明了这种现象。因此该制剂应在低温条件下储存,以保证制剂的稳定性。

Arrhenius方程主要用于考察温度对于制剂稳定性的影响,对于该制剂的研究,笔者选择不同温度条件对制剂进行加速试验。尽管该制剂中药物的降解情况不但受到温度的影响,还会受到其中加入的脂肪酸的影响,但是相关测定的结果表明,对于不同温度下药物的降解情况仍然具有一

定的线性规律, 因此可以采用 Arrhenius 方程用于推断药物在不同储存温度条件下的保存期。

REFERENCES

- [1] PETER D H, CLISSOLD S P. Clarithromycin: A review of its antimicrobial activity, pharmaceutic properties and therapeutic potential [J]. Drugs, 1992, 44(1): 117-164.
- [2] LANGTRY H D, BROGDEN R N. Clarithromycin: A review of its efficacy in the treatment of respiratory tract infections in immunocompetent patients [J]. Drugs, 1997, 53(6): 973-1004.
- [3] ANDERSON R, JOONE G, RENSBURG C E. An *in-vitro* evaluation of the cellular uptake and intraphagocytic bioactivity of clarithromycin, a new macrolide antimicrobial agent [J]. J Antimicrob Chemother, 1988, 22(6): 923-933.
- [4] CELIS G, GEA E, ROIG J, et al. Comparative tolerability of intravenous erythromycin and clarithromycin in hospitalised patients with community-acquired pneumonia results of a double-blind, randomised, prospective study [J]. Clin Drug Invest, 2002, 22(6): 393-398.
- [5] ZIMMERMANN T, LAUFEN H, RIEDEL K D, et al. Comparative tolerability of intravenous azithromycin, clarithromycin and erythromycin in healthy volunteers results of a double-blind, double-dummy, four-way crossover study [J]. Clin Drug Invest, 2001, 21(8): 527-536.
- [6] QIN L H, TANG X. Preparation and evaluation of clarithromycin emulsion for injection [J]. Acta Pharm Sin(药学报), 2006, 41(10): 945-949.

收稿日期: 2009-09-24