

清开灵眼用即型凝胶的制备及质量评价

付庆霞*

(临沂市人民医院, 山东 临沂 276000)

[摘要] **目的:**制备温度敏感型清开灵眼用即型凝胶并对其质量进行评价。**方法:**采用单因素试验优选清开灵眼用即型凝胶基质,通过考察该制剂的渗透压、眼部滞留能力、黏度和体外释放度以评价其质量。**结果:**采用16%泊洛沙姆407与0.1%透明质酸钠的混合液作为凝胶基质时较好,清开灵注射液在9.9 min即流失完毕,而眼用即型凝胶剂的滞留时间可达30.6 min,眼部滞留能力明显延长。**结论:**制备的清开灵眼用即型凝胶具有良好成型性,符合即型凝胶的要求。与清开灵注射液相比,本品在用药部位停留时间较长,黏度显著增加,具有较好的缓释特性。

[关键词] 温度敏感型;清开灵眼用即型凝胶;泊洛沙姆407;透明质酸钠;质量评价

[中图分类号] R283.6;R284.1;R289.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)20-0006-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014200006

Preparation and Quality Evaluation of Qingkailing Ophthalmic *in situ* Gels

FU Qing-xia*

(Linyi People's Hospital, Linyi 276000, China)

[Abstract] **Objective:** To prepare temperature sensitive type of Qingkailing ophthalmic *in situ* gels and evaluate its quality. **Method:** Gels matrix was optimized by single factor tests, Qingkailing ophthalmic *in situ* gels was prepared by the 2010 edition of <Chinese Pharmacopoeia>, its quality was measured by factors of osmotic pressure, eye retention capacity, viscosity and *in vitro* release. **Result:** Taking mixture of 16% poloxamer 407 and 0.1% sodium hyaluronate as gel matrix, Qingkailing injections lost completely in 9.9 min, while Qingkailing ophthalmic *in situ* gels could stay for a longer time of 30.6 min. **Conclusion:** Qingkailing ophthalmic *in situ* gels has good formability, namely accords with requirement of *in situ* gels. Compared with injections, this product can stay a longer time in application site and significantly increase viscosity with a good sustained release characteristics.

[Key words] temperature sensitive type; Qingkailing ophthalmic *in situ* gels; poloxamer 407; sodium hyaluronate; quality evaluation

清开灵制剂源自2010年版《中国药典》,由胆酸、珍珠母、猪去氧胆酸、栀子、水牛角等组成,具有清热解毒、化痰通络、镇静安神、醒脑开窍等功效,临床发现其用于治疗葡萄膜炎等症疗效较好。但该药临床尚无眼用制剂应用,为了更好地发挥其治疗眼用疾病的功效,本实验拟将其研制成眼用制剂。眼用即型凝胶剂在用药前以溶液形式存在,而给药后

可立即在用药部位发生相变,形成化学交联的半固体制剂,可避免普通滴眼剂易被泪液冲洗、眼部停留时间短的缺点,克服普通眼用凝胶因高黏度而缺乏良好铺展性、剂量不易控制的问题。为提高清开灵制剂对眼部疾病的治疗效果,本实验拟制备清开灵温度敏感眼用即型凝胶,通过单因素试验优选制备工艺并对该制剂进行质量评价,为清开灵制剂的临

[收稿日期] 20140317(023)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81072961)

[通讯作者] *付庆霞,硕士,主管中药师,从事中药新制剂新剂型研究, Tel:15254887177, E-mail:15254887177@163.com

床应用提供参考。

1 材料

AL204 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司), NDJ-5S 型数字旋转黏度计(上海科学仪器研究所), SMC-30 型渗透压仪(天津天河医疗仪器有限公司)。

泊洛沙姆 407, 188(德国 BASF 公司), 羟丙甲纤维素 E10M(HPMC E10M, 美国卡乐康公司), 透明质酸钠(HA, 济南博士伦福瑞达制药有限公司), 羧甲基纤维素钠(CMC-Na, 美国 Aqualon 公司), 甲基纤维素(天津市科密欧化学试剂开发中心), 黄芩苷、胆酸对照品(中国食品药品检定研究院, 批号分别为 110715-201117, 100078-200414), 清开灵注射液(石家庄神威药业股份有限公司), 水为蒸馏水或去离子水, 其他试剂均为分析纯。

家兔 10 只, 普通级, 雌雄各半, 体重约 2 kg, 购自山东中医药大学实验动物中心, 合格证号 SCXK(鲁)20130003。

2 方法与结果

2.1 眼用即型凝胶的制备工艺考察

2.1.1 人工泪液的配制^[1] 精密称取氯化钠 6.7 g, 碳酸氢钠 2.0 g, 二水合氯化钙 0.08 g, 置于 1 L 量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.1.2 凝胶基质浓度考察 采用冷溶法^[2] 制备凝胶溶液。精密量取适量水, 置于冰水浴中, 边搅拌边缓缓加入定量泊洛沙姆, 使泊洛沙姆颗粒均被水润湿, 于 4 ℃ 冰箱中保存 >24 h, 至得到澄清、无团块、分散均匀的溶液。按上述方法配置 30% 泊洛沙姆 407 溶液, 冷藏过夜, 加水稀释成不同浓度溶液, 分别置于 4, 20, 25 ℃ 水浴中考察基质成型性, 并考察不同浓度泊洛沙姆 407 溶液在 34 ℃ 人工泪液中状态, 见表 1。结果表明在 4 ℃ 时均为液态, 当泊洛沙姆 407 质量分数为 18% 时, 在 4, 20 ℃ 时为液态, 流动性好, 在 25 ℃ 时变为凝胶, 在人工泪液试验中亦为凝胶态, 基本符合即型凝胶的制剂要求; 但国内夏天温度多 >25 ℃, 提示即型凝胶的相变温度应控制在 30 ℃ 左右, 且泊洛沙姆 407 浓度太高会对患者角膜造成损伤, 故应对凝胶基质进一步考察。

2.1.3 泊洛沙姆 407 与 188 混合基质筛选^[3] 按 2.1.2 项下方法配制 30% 泊洛沙姆 407 溶液, 冷藏过夜, 备用; 同法配制 20% 泊洛沙姆 188 溶液, 将上述 2 种溶液分别按 20: 10, 19: 10, 18: 10, 17: 10, 16: 10 混合。结果混合基质在 4, 25 ℃ 时均为液态, 而且按 20: 10 比例混合时在 25 ℃ 时比较黏; 比例

表 1 清开灵眼用即型凝胶中泊洛沙姆 407 用量筛选

质量分数/%	状态		
	20 ℃	25 ℃	34 ℃ 人工泪液
14	液态	液态	液态
16	液态	液态	液态
18	液态	凝胶	凝胶
20	凝胶	凝胶	凝胶
22	凝胶	凝胶	凝胶

20: 10, 19: 10 的混合基质在 34 ℃ 人工泪液中为凝胶状, 其他比例时均为液态。表明泊洛沙姆 407 在 16% ~ 20% 时, 随质量分数的增加, 混合基质的相转变温度呈先升后降趋势, 不符合凝胶剂成型要求, 需进一步考察其他基质类型。

2.1.4 泊洛沙姆 407/HPMC E10M 基质用量筛选^[4] 配制 30% 泊洛沙姆 407 溶液, 冷藏过夜, 另取 HPMC E10M 适量, 加水制成质量分数 2% 的溶液, 将上述 2 种溶液按不同比例混合均匀, 泊洛沙姆 407 质量分数分别为 12%, 14%, 16%, 18%, 每个浓度对应 3 个质量分数(0.3%, 0.5%, 1.0%) 的 HPMC E10M 溶液, 分别置于 4, 25 ℃ 条件下考察成型性, 并置于 34 ℃ 人工泪液中考察状态。结果表明 HPMC E10M 与泊洛沙姆 407 混合应用时, 在 4 ℃ 时均为澄清溶液, 当温度升高达 25 ℃ 时, 混合物会出现絮凝沉淀物, 说明 2 种基质混合存在不稳定性, HPMC E10M 不适合作为泊洛沙姆 407 温度敏感型即型凝胶的增稠剂。

2.1.5 泊洛沙姆 407/CMC-Na 基质用量筛选 配制 30% 泊洛沙姆 407 溶液, 冷藏过夜; 另取 CMC-Na 适量, 加水制成 0.6% 的溶液, 将上述 2 种溶液按不同比例混合均匀, 泊洛沙姆 407 质量分数分别为 12%, 14%, 16%, 18%, 每个浓度对应 2 个质量分数(0.1%, 0.3%) 的 CMC-Na 溶液, 结果发现混合液在 4 ℃ 时均为液态; 在 25 ℃ 时, 除了泊洛沙姆 407 质量分数 18% 时为黏稠液态, 其他均为液态; 在 34 ℃ 人工泪液中, 除了泊洛沙姆 407 质量分数 18% 时为凝胶状, 泊洛沙姆 407-CMC-Na(16% : 0.3%) 时为黏稠液态, 其他情况均为液态。表明 CMC-Na 与泊洛沙姆 407 混合应用时可降低泊洛沙姆 407 的相变温度, 但对减少其用量作用不强, 且 CMC-Na 的使用增加了混合基质在 25 ℃ 的黏度。

2.1.6 泊洛沙姆 407/HA 混合基质筛选^[5] 配制 30% 泊洛沙姆 407 溶液, 冷藏过夜; 另取 HA 适量, 加水制成 1% 的溶液, 将上述 2 种溶液按不同比例

混合均匀,泊洛沙姆 407 质量分数分别为 12%, 14%, 16%, 18%, 每个浓度对应 2 个质量分数 (0.1%, 0.2%) 的 HA 溶液, 结果发现混合液在 4 ℃ 时均为液态; 在 25 ℃ 时, 除了泊洛沙姆 407 质量分数 18% 和泊洛沙姆 407-HA (16% : 0.2%) 时为黏稠液态, 其他均为液态; 在 34 ℃ 人工泪液中, 泊洛沙姆 407 质量分数 12% 时为液态, 14% 时为黏稠液体, 其他情况均为凝胶态。表明采用 0.1% HA 与 16% 泊洛沙姆 407 混合液作为凝胶基质时, 符合眼用即型凝胶的制剂要求。

2.2 清开灵眼用即型凝胶成型工艺 制剂处方为胆酸 1.3 g, 珍珠母 20 g, 猪去氧胆酸 1.5 g, 栀子 10 g, 水牛角 10 g, 板蓝根 80 g, 黄芩苷 2 g, 金银花 8 g, 制成 1 kg。参照 2010 年版《中国药典》清开灵注射液项下方法^[6] 对方剂进行提取, 制备注射液 700 mL, 均匀撒入泊洛沙姆 407 160 g, 冷藏过夜, 搅拌使溶解; 另取注射用水 100 mL, 均匀撒入 HA 1 g, 制成质量分数 1% 的溶液; 将上述 2 种溶液混合均匀, 加注射用水至 1 kg, 即得。

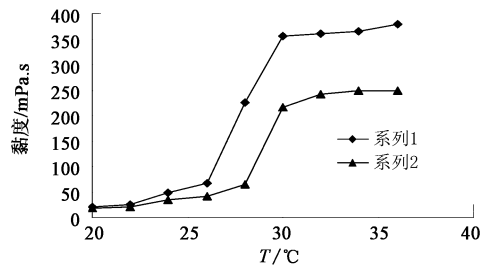
2.3 质量评价

2.3.1 渗透压的测定及控制 采用渗透压仪测定 2 批样品的渗透压分别为 369.5, 367.0 mOsmol, 眼用制剂渗透压可调节在 300 ~ 400 mOsmol, 说明制备的眼用凝胶符合要求。

2.3.2 眼部滞留能力测试 取制备的清开灵眼用即型凝胶和市售清开灵注射液, 分别加入 2% 荧光素钠, 混匀。选择健康无眼疾的家兔 10 只, 随机等分为 2 组, 用移液枪向 1 组家兔左眼内精密加入凝胶溶液 50 μL, 向另 1 组家兔左眼内滴入含荧光素钠的清开灵注射液 50 μL, 使家兔眼睛被动闭合 8 ~ 10 s, 每隔一定时间用裂隙灯显微镜在 365 nm 下观察眼角膜表面连续荧光层强弱, 角膜表面连续荧光层消失的时间即为眼部滞留时间, 结果发现清开灵注射液在 9.9 min 即流失完毕, 而眼用即型凝胶剂的滞留时间可达 30.6 min, 眼部滞留能力明显延长。

2.3.3 黏度的测定^[7] 取清开灵眼用即型凝胶适量, 按药物-人工泪液 (40:7) 加入人工泪液稀释, 测定不同温度下黏度, 绘制黏度-温度曲线, 见图 1。结果表明该制剂在体外 26 ℃ 黏度开始增加, 而与人工泪液混合后, 其相变温度有所增加, 至 30 ℃ 附近时该制剂才具有较大黏度。

2.3.4 体外释放试验^[8] 以胆酸和黄芩苷含量为指标^[6] 进行体外释放试验。取 < 10 ℃ 的液态清开灵眼用即型凝胶 5 g 装入圆柱形容器中, 置于



系列 1. 与人工泪液混合前; 系列 2. 与人工泪液混合后
图 1 清开灵眼用即型凝胶与人工泪液混合前后黏度-温度曲线

34.5 ℃ 空气浴振荡器中加热 30 min, 使制剂形成凝胶, 加入经预热 (34 ℃) 的人工泪液 2 mL 作为药物释放介质, 于一定频率下恒温振荡 20 min, 立即将释放介质全部倒出, 迅速称定质量并记录, 重新放入振荡器内平衡 15 min, 补充人工泪液并继续振荡 20 min。如此反复操作, 计算凝胶累积溶蚀量和药物的体外释放规律, 见表 2。结果表明基质溶蚀和成分释放均在约 80 min 达最大值, 对 80 min 内清开灵眼用凝胶中胆酸和黄芩苷的释放曲线进行模型拟合, 发现基本符合零级释放, 二者的释放曲线方程分别为 $Y = 0.081 \ 3X + 0.228$ ($R^2 = 0.976$), $Y = 0.108 \ 1X + 0.794$ ($R^2 = 0.964$)。

表 2 清开灵眼用即型凝胶体外释药试验

t/min	溶蚀量/g	胆酸/mg	黄芩苷/mg
0	0	0	0
20	1.37	2.15	3.75
40	2.55	3.21	5.69
60	3.22	5.66	6.92
80	4.69	6.37	9.22
100	4.92	6.49	9.63
120	5.10	6.53	9.86

3 讨论

眼用即型凝胶剂是近几年发展起来的眼科新剂型, 该剂型操作过程简单, 生产效率高, 制剂的成型性、澄明度好, 且延缓了药物的释放, 提高了药物生物利用度, 是眼科药物剂型中最具发展潜力的剂型。泊洛沙姆为眼用凝胶剂最常用的辅料之一, 在前期研究基础上, 确定选择泊洛沙姆 407 为眼用即型凝胶的主要基质; HA 又名玻璃酸, 是人体内自然存在的一种由葡萄糖酸-N-乙酰氨基葡萄糖为双糖单位组成的直链高分子多糖, 具有生物可吸附性、生物相容性、黏稠性及保水性等重要特性, 为眼用制剂常用的辅料, 可增加制剂的黏度并提高其生物利用度, 常

正交试验法研究艳山姜挥发油保护脂多糖 诱导 HUVEC 损伤的活性组分

张彦燕, 令狐克刚, 陈妍, 陶玲, 张小金, 文波, 沈祥春*
(贵阳医学院天然药物优效利用重点实验室, 贵阳 550004)

[摘要] 目的:分析艳山姜挥发油(EOF AZ)保护脂多糖(LPS)诱导人脐静脉内皮细胞(HUVECs)损伤的主要活性组分。方法:将 EOF AZ 中含量较高的 4 个成分(α -蒎烯, β -蒎烯,1,8-桉叶油醇,莰烯)作为考察因素,每个因素选取有或无共 2 个水平,按 $L_8(2^7)$ 正交表设计分组与给药。运用四甲基偶氮唑盐(MTT)法和 NO 检测法,以细胞活力和细胞分泌 NO 为指标分析 EOF AZ 的主要药效物质基础。采用单成分分析法测定各成分不同浓度给药保护后细胞活力及培养上清液 NO 含量,观察 4 个成分对 LPS 诱导损伤的 HUVECs 的保护作用。结果:挥发油中 4 个成分均能明显提高细胞存活率,保护作用主次顺序为莰烯 > α -蒎烯 > 1,8-桉叶油醇 > β -蒎烯,4 个成分间均存在明显差异。单成分分析表明 4 个成分作用于 HUVECs 后,可提高细胞活力及培养上清液 NO 含量,且呈一定剂量相关性。结论:EOF AZ 对 LPS 诱导损伤的 HUVECs 具有保护作用,其中莰烯, α -蒎烯,1,8-桉叶油醇和 β -蒎烯为主要药效组分。

[关键词] 艳山姜挥发油; 脂多糖; 人脐静脉内皮细胞; 单成分分析法; 细胞活力

[中图分类号] R283.6;R285.5;R284.1;R282.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)20-0009-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014200009

[收稿日期] 20140627(006)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81360650,81102664);贵州省科学技术基金项目(黔科合 J 字[2011]2285 号);贵州省卫生厅科学技术基金项目(gzkwj2011-1-019);贵州省中药现代化科技产业研究开发专项(黔科合中药字[2012]5051 号);贵州省大学生创新创业训练项目(021203102)

[第一作者] 张彦燕, 硕士, 讲师, 从事心血管药理学研究, Tel:0851-6908628, E-mail: chinazyy201@163.com

[通讯作者] * 沈祥春, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药民族药活性及效应机制研究, Tel:0851-6908108, E-mail: shenxiangchun@126.com

用质量分数 0.1% ~ 0.3%, 本文采用泊洛沙姆 407 和 HA 的混合基质作为温度敏感型眼用即型凝胶的基质, 通过质量分析, 符合制剂要求。

[参考文献]

[1] Rozier A, Mazuel C, Grove J, et al. Gelrite: A novel, ion-activated, *in-situ* gelling polymer for ophthalmic vehicles. Effect on bioavailability of timolol[J]. Int J Pharm, 1989, 57(1):163.

[2] Pital S S, Paradkar A R, Mahadik K R, et al. Pluronic gels for nasal delivery of Vitamin B12. Part I: preformulation study[J]. Int J Pharm, 2004, 270(1):37.

[3] 魏刚. 体温敏感型眼用凝胶的研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2002.

[4] Balasubramaniam J, Kant S, Pandit J K. *In vitro* and *in vivo* evaluation of the Gelrite gellan gum-based ocular delivery system for indomethacin[J]. Acta Pharm, 2003, 53(4):251.

[5] 王豫辉. 透明质酸及其钠盐在药物制剂中的应用[J]. 食品与药品, 2005, 7(8A):10.

[6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010:1110.

[7] 代龙. 熊胆眼用即型凝胶的制备及评价[J]. 中成药, 2009, 31(8):1203.

[8] 王志钢, 臧琛, 李慧, 等. 丹葛明目即型凝胶的定量测定及体外释放研究[J]. 中成药, 2012, 34(4):682.

[责任编辑 刘德文]