

莫匹罗星外用温敏即型凝胶的制备与质量控制

李维超*, 张 因, 陈贵起, 陈双璐, 钱宇坤(天津市儿童医院, 天津 300074)

中图分类号 R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)16-2273-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.16.36

摘要 目的:制备莫匹罗星外用温敏即型凝胶并建立其质量方法。方法:采用正交试验法,以胶凝温度与32℃偏差的绝对值为考察指标,以凝胶基质泊洛沙姆P407、P188的比例和乙醇的体积分数为因素筛选莫匹罗星外用温敏即型凝胶的最优处方,并进行验证。按2010年版《中国药典》相关要求对所制制剂进行质量评价,采用高效液相色谱法测定其中莫匹罗星的含量,考察其180 min内的释药情况。结果:最优处方为每1 000 ml凝胶中含P407 20%、P188 5%、乙醇20%,平均胶凝温度为31.7℃;所制制剂为无色透明澄清黏稠状液体,鉴别、检查等均符合要求,180 min内已基本释放完毕,释放符合Ritger-Peppas方程($r^2=0.9924$)。结论:该制剂制备工艺简便、质量可控。

关键词 莫匹罗星;温敏即型凝胶;研制;质量控制;正交试验

Preparation and Quality Control of Mupirocin External Thermosensitive *in situ* Gel

LI Wei-chao, ZHANG Nan, CHEN Gui-qi, CHEN Shuang-lu, QIAN Yu-kun (Tianjin Children's Hospital, Tianjin 300074, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To prepare Mupirocin external thermosensitive *in situ* gel and establish the quality standard. METHODS: With orthogonal test, the optimal formulation of Mupirocin external thermosensitive *in situ* gel was screened with following verification test, with the index of the absolute value between gelatinization temperature and 32℃ deviation, and factors of the proportion of poloxamer P407 and P188 and the volume fraction of ethanol. According to the relative requirements in *Chinese Pharmacopoeia* (2010 edition), the quality of the preparation was evaluated. HPLC was conducted to determine the content of mupirocin and detect its release within 180 min. RESULTS: The optimal formulation was P407 20%, P188 5% and ethanol 20% per 1 000 ml gel and average gelatinization temperature was 31.7℃. The preparation was the colorless, transparent, clear and viscous liquid. The identification and examination were all conformed to the requirements. It was basically released within 180 min and the release was conformed to the Ritger-Peppas equation ($r^2=0.9924$). CONCLUSIONS: The preparation method is simple with controlled quality.

KEYWORDS Mupirocin; Thermosensitive *in situ* gel; Development; Quality control; Orthogonal test

温敏即型凝胶是一类利用某些高分子材料溶于溶剂后,在生理温度下作出响应而发生相变,由液态转化形成非化学交联半固体凝胶的给药系统。其能达到延长药物在用药部位滞留时间的目的,提高药物生物利用度^[1]。作为一种新型的药剂型,温敏即型凝胶被广泛用于缓控释及脉冲释放等中,可应用于皮肤、眼部、鼻腔、口腔、阴道、直肠多种给药途径^[2]。笔者以莫匹罗星为主药,制备了一种适用于革兰阳性球菌引起的皮肤感染的外用温敏即型凝胶,其喷涂于皮肤上后可随体温呈膜状凝胶。同时,采用正交试验对其处方进行优化,对所制制剂进行质量评价,具体内容报道如下。

1 材料

1.1 仪器

LC-2010A型高效液相色谱仪,包括紫外检测器、LCsolution型工作站(日本岛津公司);ZRS-4型智能溶出试验仪(天津大学无线电厂);FE20K型酸度计、XS型分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司)。

1.2 药品与试剂

莫匹罗星对照品(中国食品药品检定研究院,批号:

*主管药师,硕士。研究方向:医院制剂开发与质量检验。电话:022-23962655。E-mail:tju_lwc@163.com

1130568-200501,纯度:94.2%);莫匹罗星原料药(英国Smith-Kline Beecham公司,批号:W642519,纯度:99.5%);莫匹罗星外用温敏即型凝胶(天津市儿童医院自制,批号:20130701、20130702、20130703,规格:2 g:100 ml);泊洛沙姆P407、P188(上海运宏化工制剂辅料技术有限公司);无水乙醇(天津风船化学试剂科技有限公司,分析纯);乙腈、磷酸二氢钾、磷酸氢二钾为色谱纯,水为纯化水。

2 制备

2.1 处方筛选

根据相关文献报道^[3-6]和单因素考察预试验结果综合考虑,确定以凝胶基质P407(A)、P188(B)比例[% (即g/100 ml)]和乙醇的体积分数(C,%)为因素,设计L₉(3³)正交试验,因素与水平见表1。

表1 因素与水平(1 000 ml)

水平	因素		
	A, %	B, %	C, %
1	16	0	15
2	20	5	20
3	24	10	25

取所制制剂2 ml置于10 ml具塞玻璃试管中,放入20℃

水浴中,以1~2℃/min升温至50℃,每升高0.5℃,迅速倒转试管,观察液体流动情况。由于希望药液在体表能发生黏度的突增形成半固体凝胶,即胶凝温度应略低于体表皮肤温度且高于室温,故选择32℃为标准,所测胶凝温度偏离32℃(|T-32|)越小为越佳。正交试验结果与极差分析见表2,方差分析结果见表3。

表2 正交试验结果与极差分析

试验号	A	B	C	T-32 ,℃
1	1	1	1	14.0
2	1	2	2	8.5
3	1	3	3	16.5
4	2	1	2	1.5
5	2	2	3	1.0
6	2	3	1	0.5
7	3	1	3	10.5
8	3	2	1	3.5
9	3	3	2	7.5
K ₁	13.000	8.667	6.000	
K ₂	1.000	4.333	5.833	
K ₃	7.167	8.167	9.333	
R	12.000	4.334	3.500	

表3 方差分析结果

方差来源	离均差平方和	自由度	均方	F	P
A	216.056	2	108.028	138.853	<0.01
B	33.722	2	16.861	21.672	0.01<P<0.05
C	23.389	2	11.695	15.031	>0.05
D(误差)	1.556	2	0.778	1.000	

注: $F_{0.05}(2,2)=19.00$; $F_{0.01}(2,2)=99.00$

Note: $F_{0.05}(2,2)=19.00$; $F_{0.01}(2,2)=99.00$

由表2和表3结果可知,各因素对|T-32|影响的大小依次为A>B>C,其中A、B有显著性影响。最优处方为A₂B₂C₂,即处方中P407占20%、P188占5%、乙醇占20%。

2.2 验证试验

称取莫匹罗星20g,加200ml乙醇,搅拌使溶解;另取500ml纯化水,加入P407 200g和P188 50g,冷却至4℃,静置24h使之充分溶胀消泡,待其充分溶胀后呈澄清黏稠液体。两液合并,加纯化水至1000ml,搅匀,滤过分装即得。所制备的3批莫匹罗星外用温敏即型凝胶的平均胶凝温度为31.7℃,RSD为0.91%(n=3)。

3 质量控制

3.1 性状

本品为无色透明澄清黏稠状液体。

3.2 鉴别

在“3.4”项下记录的色谱图中,供试品主峰的保留时间应与对照品主峰的保留时间一致。

3.3 检查

pH值:取本品适量加纯化水30ml,搅匀,滤过,溶液pH应为5.5~6.5。微生物限度检查:依照2010年版《中国药典》生物限度检查法检验,细菌总数小于100CFU/ml,真菌总数100CFU/ml,金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌不得检出^[7]。

3.4 含量测定

3.4.1 溶液的制备 对照品贮备液:精密称取莫匹罗星对照品10.24mg,置于50ml量瓶中,加流动相适量,超声处理10min,溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。样品溶液:精密量取样品1ml(约相当于莫匹罗星20mg),置于100ml量瓶中,加入流动相适量,超声处理10min,流动相稀释至刻度,摇匀,滤过,即得。阴性对照溶液:按处方比例,称取除莫匹罗星外的其他辅料,加20%乙醇,滤过,制成阴性对照溶液。

3.4.2 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱:Shim-pack VP-ODS(150mm×4.6mm,5μm);流动相:磷酸盐缓冲液(pH 5.8)-乙腈(78:22,V/V),流速:1ml/min;柱温:30℃;检测波长:230nm;进样量:10μl。取对照品溶液、样品溶液和阴性对照溶液进样测定,结果显示,该色谱条件下,理论板数按莫匹罗星计为9408.513,色谱峰与其他杂峰基线分离。色谱图见图1。

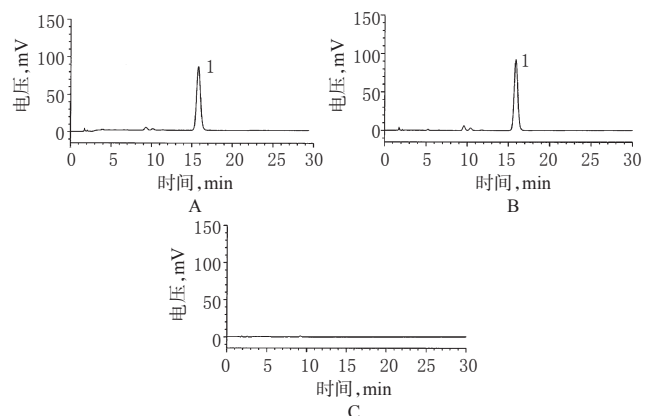


图1 高效液相色谱图

A.对照品;B.样品;C.阴性对照;1.莫匹罗星

Fig 1 HPLC chromatograms

A. substance control; B. sample; C. negative control; 1. mupirocin

3.4.3 标准曲线的制备 分别精密吸取莫匹罗星对照品贮备液适量,稀释成质量浓度为0.8192、1.2288、1.6384、2.048、2.4576、3.2768mg/ml的标准溶液,进样测定峰面积。以峰面积(y)对莫匹罗星的质量浓度(x)进行线性回归,得回归方程为 $y=1345786.458x-17868.2998$ ($r=0.9998$)。结果表明,莫匹罗星在0.8192~3.2768mg/ml质量浓度范围内与峰面积有良好的线性关系。

3.4.4 精密度试验 取莫匹罗星对照品溶液重复进样6次,测定峰面积。结果,峰面积的RSD为0.36%(n=6),表明精密度良好。

3.4.5 重复性试验 取同一批样品(批号:20130701)5份,制备成样品溶液后进样测定峰面积。结果,峰面积的RSD为0.78%(n=5),表明方法重复性良好。

3.4.6 稳定性试验 取同一批样品(批号:20130701),制备成样品溶液,放置0、2、4、8、12h后进样测定峰面积。结果,12h的峰面积的RSD为0.46%(n=5),表明溶液稳定性良好。

3.4.7 回收率试验 精密称取莫匹罗星适量9份,加入处方比例的辅料,制备成相当于处方量80%、100%、120%的样品(各3份),制成溶液后进样测定,计算回收率,结果见表4。

表4 回收率试验结果(n=3)

Tab 4 Results of recovery test(n=3)

加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	平均回收率,%	RSD,%
15.89	15.97	100.50		
15.89	16.01	100.76		
15.89	16.23	102.14		
19.86	20.04	100.91		
19.86	19.78	99.60	99.98	1.21
19.86	19.94	100.41		
23.83	23.66	99.29		
23.83	23.45	98.41		
23.83	23.77	98.75		

3.4.8 样品含量测定 取3批样品,制备成样品溶液,进样测定,计算含量。结果,3批样品中莫匹罗星的含量分别为19.81%、20.26%、19.44%,RSD分别为0.45%、0.26%、0.31%(n=3)。

3.5 稳定性考察

将样品装入塑料瓶中,密闭常温避光贮存12个月,结果外观、均匀度、黏度均无明显变化,莫匹罗星的含量和微生物限度检查结果均符合规定。

3.6 体外释放度考察

参照2010年版《中国药典》(二部)释放度测定法(附录XD第三法)^[7],以磷酸盐缓冲液为溶出介质,温度为(35±1)℃,检测3、10、20、40、90、180 min时溶出液中的莫匹罗星,计算累积释放度(Q)。Q=c_nV_n+V_sΣc_{n-1},式中,c_n为实测质量浓度,V_n为介质体积,V_s为每次取样体积。体外释放度曲线见图2。

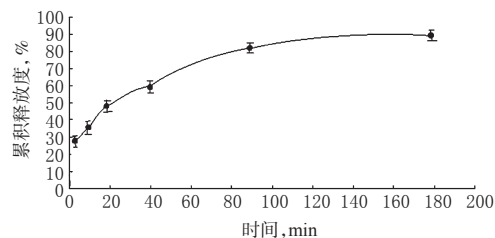


图2 体外释放度曲线

Fig 2 Curves of solubility in vitro

对温敏即型凝胶的累积释放度(Q)与时间(t)进行零级、一级、Higuchi、Ritger-Peppas方程拟合,结果见表5。

表5 拟合方程结果

Tab 5 Results of fitting equation

动力学方程	拟合方程	r ²
零级释放	Q=0.003 5t+0.346 9	0.877 9
一级释放	lnQ=0.006 3t-1.058 9	0.761 7
Higuchi方程	Q=0.058 2t ^{1/2} +0.174 9	0.977 7
Ritger-Peppas方程	lnQ=0.329 3ln t-1.782	0.992 4

当释放参数(n,变量x前的常数)≤0.45时,药物释放以Fick扩散为主;当0.45<n<0.89时,为非Fick扩散,即药物扩散和骨架溶蚀协同作用;当n>0.89时,代表骨架溶蚀机制^[8]。释放参数n=0.329 3,说明该药从泊洛沙姆中释放符合Fick定律,即随着浓度梯度降低释放速率也逐渐减慢。药物在180

min释放基本完毕,说明即型凝胶剂具有一定的缓释作用。

4 讨论

本研究以20% P407和5% P188为基质制备即型凝胶。该凝胶在常温下为无色透明黏稠液体,喷涂在皮肤上产生相变呈膜状凝胶;经体外释放度试验证明其具有缓释作用。

莫匹罗星温敏即型凝胶为抗生素制剂且基质中含乙醇20%,留样微生物限度检查符合2010年版《中国药典》标准,故不另加防腐剂。

莫匹罗星外用制剂目前国内仅有软膏剂上市,其被公认为符合期望标准的外用抗菌药^[9]。温敏即型凝胶结合了软膏剂和喷雾剂二者优势,分剂量准确,给药方便且有缓释作用。

目前莫匹罗星原料药及其制剂未收录在2010年版《中国药典》^[7],参考相关文献^[10]和《美国药典》^[11],本试验选择ODS色谱柱(对映USP L1色谱柱)为固定相;选择磷酸盐缓冲液(pH 5.8)^[7]-乙腈为流动相,试验筛选了3个流动相比比例(70:30、78:22、75:25),莫匹罗星的保留时间分别为7、16、26 min,且在78:22比例下峰形最佳、柱效最高,故选择流动相为磷酸盐缓冲液-乙腈(78:22)。本研究结果表明,本方法简便、重复性好,适用于莫匹罗星即型凝胶的定量分析。

参考文献

- [1] 赵健铤,刘衡,李贵轲,等.常见温度敏感型原位凝胶研究及应用进展[J].广州化工,2013,41(24):9.
- [2] 仇海镇,李娟.原位凝胶的研究进展及其在药剂学中的应用[J].医学信息,2010,23(2):1 524.
- [3] 谢悦良.川陈皮素鼻用原位凝胶的制备及其脑靶向性研究[D].长沙:中南大学,2010:5.
- [4] 戴助,蒋学斌.阴道用塞克硝唑温敏型原位凝胶的研制[J].中国医院药学杂志,2011,31(11):948.
- [5] 孔志峰,郝吉福,郭丰广,等.氯霉素温敏型眼用原位凝胶的研制[J].中国生化药物杂志,2010,31(3):185.
- [6] 张洪,申献玲.吡啶酮水凝胶栓剂的制备及含量测定[J].中国药房,2005,16(22):1 710.
- [7] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:附录XD、附录XII、附录XVD.
- [8] 王琳.非索伪麻双层缓释片的制备及盐酸非索非那定在大鼠离体小肠吸收机制的研究[D].沈阳:沈阳药科大学,2003:6.
- [9] 王腾云.莫匹罗星软膏预防创伤骨科术后切口感染的临床研究[D].重庆:重庆医科大学,2013:4.
- [10] 范莹,杨钊. HPLC法测定莫匹罗星喷雾剂的含量[J].中国药房,2013,24(33):3 143.
- [11] 美国药典委员会.美国药典:35版-国家处方集:30版[S].华盛顿:美国药典委员会,2012:3 962-3 963.

(收稿日期:2014-12-23 修回日期:2015-01-28)

(编辑:邹丽娟)