

N-三甲基壳聚糖包覆的降钙素脂质体的制备及其体内外黏附性质研究[△]

黄爱文^{1*}, 竹内洋文², 宋洪涛^{1#}(1.南京军区福州总医院药学科, 福州 350025; 2.日本岐阜药科大学制剂学研究室, 岐阜 502-8585, 日本)

中图分类号 R944;TQ460.6 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)21-1975-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.21.20

摘要 目的:制备N-三甲基壳聚糖(TMC)包覆的降钙素脂质体,考察其理化性质以及体内外黏附性质。方法:采用两步反应法合成TMC;采用薄膜水化法制备降钙素脂质体,并用TMC对脂质体进行包覆,考察其粒径、多分散系数、Zeta电位、包封率及形态;采用猪胃黏膜蛋白微粒结合法评价TMC脂质体在pH 4.5、6.8时的体外黏附性质;取大鼠12只,随机分为4组,每组3只,采用C6标记法考察TMC脂质体在十二指肠、空肠、回肠上的体内黏附行为。结果:合成的TMC的季铵化度为78.10%;未包覆的降钙素脂质体带有较强的负电荷,包覆TMC后实现了电荷反转。制得的脂质体外观圆整,包覆层明显,粒径为262.9 nm,多分散系数为0.172,Zeta电位为(35.8±1.2) mV,包封率为(89.14±3.1)%。TMC脂质体在pH 4.5、6.8时均与黏蛋白纳米粒发生黏附作用,Zeta电位降低。在大鼠体内,2 h时,TMC包覆脂质体大部分黏附在小肠上部,尤其是十二指肠部位,到达回肠部位的脂质体较少;4 h时,TMC脂质体在各肠段仍然有黏附,但较2 h时明显减弱,并以回肠部位基底侧黏附最多。结论:TMC包覆脂质体具有良好的生物黏附性能,可以作为多肽类药物口服递送的新型载体进一步深入研究。

关键词 N-三甲基壳聚糖;降钙素;脂质体;合成;制备;黏膜黏附

Study on Preparation of N-trimethyl Chitosan Coated Calcitonin Liposome and Adhesion Properties of It *in vivo* and *in vitro*

HUANG Ai-wen¹, Takeuchi Hirofumi², SONG Hong-tao¹(1.Dept. of Pharmacy, Fuzhou General Hospital, Nanjing Military Command, Fuzhou 350025, China; 2.Laboratory of Pharmaceutical Engineering, Gifu Pharmaceutical University, Gifu 502-8585, Japan)

ABSTRACT OBJECTIVE: To prepare N-trimethyl chitosan (TMC) coated calcitonin liposome, and to investigate the physico-chemical properties and adhesion properties of it *in vitro* and *in vivo*. METHODS: 2-step reaction was adopted for the synthesis of TMC; calcitonin liposome was prepared by thin-film hydration method, and the liposomes were coated with TMC; the particle size, polydispersity index, Zeta potential, encapsulation efficiency and form were all investigated; the pig gastric mucosal protein particles combination method was used to evaluate *in vitro* adhesion properties of TMC liposome with pH of 4.5 and 6.8; 12 wistar rats were randomly divided into 4 groups, with 3 rats in each group; the adhesion behavior of TMC liposomes to duodenum, jejunum, ileum were investigated by C6 labeling. RESULTS: The degree of quaternization for synthesized TMC was 78.10%; the prepared uncoated calcitonin liposome showed strong negative charge, and charge reversal was achieved after coated with TMC; prepared liposomes was round in appearance and coated obviously with particle size of 262.9 nm, polydispersity index of 0.172, Zeta potential of (35.8±1.2) mV and entrapment efficiency of (89.14±3.1)%; TMC liposomes adhered to mucin nanoparticles under pH 4.5 and pH 6.8 conditions, and reduced the Zeta potential. In rats, at 2 h, most of TMC coated liposome adhered to upper part of small intestinal, especially the duodenum, while less of it adhered to ileum; at 4 h, TMC liposome still adhered to each intestinal segment, but the symptom relieved significantly compared to 2 h, and more adhesion was found in substrate side of the ileum. CONCLUSIONS: TMC coated liposomes show good biological adhesion performance, and can be used as carrier of oral delivery of peptide drugs to carry out further study.

KEY WORDS N-trimethyl chitosan; Calcitonin; Liposome; Synthesis; Preparation; Mucosal adhesion

随着生物化学与生物技术的发展,大量具有很强生物学活性的蛋白、多肽类药物不断出现。这类药物具有活性高、用量少、毒副作用小等优点,但也存在着分子质量大、多数为水

溶性、半衰期短、膜透过性差、易降解、不稳定、对制剂处方工艺要求高等缺点,使得其临床应用受到极大的限制^[1]。目前临床上常用的剂型为注射液和冻干粉末,给药途径单一、给药间隔短、患者的顺应性差。因此,研制开发多肽、蛋白质类药物新剂型和制剂新技术,增加药物的稳定性,延长其半衰期,增加其膜通透性,使能更好地应用于疾病的预防和治疗,已成为现代药剂学的热点之一。目前提高蛋白或多肽口服生物利用度的方法有很多,包括使用酶抑制剂、应用吸收促进剂、采用

△基金项目:福建省自然科学基金资助项目(No.2012J05159)

* 主管药师,博士。研究方向:药物新剂型与新技术。电话:0591-22859169。E-mail:haw83@163.com

通信作者:主任药师,博士。研究方向:药物新剂型与新技术、中药学、临床药学。电话:0591-22859459。E-mail:sohoto@vip.sohu.com

新型的给药载体与递送系统,如微囊、脂质体、纳米粒,以及结肠定位给药系统与生物黏附型给药系统(Bioadhesive drug delivery system, BDDS)等^[2-4]。生物黏附型脂质体口服递送系统结合了脂质体与生物黏附技术两者的优势,在蛋白与多肽口服递送的应用方面具有巨大的可挖掘潜质^[5-6]。

N-三甲基壳聚糖(TMC)是壳聚糖的衍生物,其与壳聚糖相比具有更好的溶解性,可以在较高的pH条件下溶解,带有稳定的正电荷。文献^[7]报道TMC可以在肠道pH环境中促进大分子水溶性药物透过肠道上皮细胞膜,其主要机制是打开细胞间的紧密连接,促进药物通过细胞旁路通道转运。本文选用鲑鱼降钙素为模型药物,制备了载有降钙素的TMC包覆脂质体(TMC-lips),评价了其理化性质,并对其体内外黏附性质进行了研究。

1 材料

AV-500核磁共振仪(丹麦Bruker公司);Sonifier 250探头超声仪(美国Branson公司);Zetasizer Nano ZS马尔文激光粒度仪(英国马尔文仪器有限公司);SCP85H超速离心机、F3010荧光分光光度计(日本日立公司);TH组织匀浆机(美国Omni公司);酶联免疫测定仪(美国赛默飞世尔公司);冷冻切片(日本莱卡公司);LSM510激光共聚焦显微镜(德国卡尔蔡司公司)。

壳聚糖(CS,分子质量:200 kDa)、1-甲基-2-吡咯烷酮(分析纯)、双十六烷基磷酸酯(DCP)、胆固醇(Chol)、香豆素6(C6)、猪胃黏膜蛋白(Mucin)均来自美国Sigma公司;碘化钠(分析纯)、氯化钠(分析纯)、乙醚(化学纯)、乙醇(化学纯)均来自日本Osaka Kishida化学公司;碘甲烷(日本Nacalai Tosque公司,分析纯);二硬脂酸磷脂酰胆碱(DSPC,日本Nippon Oil and Fats有限公司);降钙素(日本Asahi Chemical公司);Micro BCATM蛋白测定试剂盒(美国Pierce公司);O.C.T包埋剂(日本樱花公司)。

Wistar大鼠,♂,体质量180~220 g,由日本SLC动物中心提供。

2 方法与结果

2.1 TMC的合成与表征

根据文献报道,TMC的合成采用经典的两步反应法^[8]进行。具体过程如下:精密称取CS 2 g、碘化钠 4.8 g溶于80 ml 1-甲基-2-吡咯烷酮中,在搅拌状态下加入11 ml 15%氢氧化钠溶液、11.5 ml碘甲烷,60℃搅拌反应1 h,以250 ml乙醇沉淀反应产物,静置4 h后弃去上清液,乙醚洗涤3次,过夜抽干得第1步反应产物;将第1步反应产物溶于80 ml 1-甲基-2-吡咯烷酮,并加入4.8 g碘化钠、11 ml 15%氢氧化钠以及7 ml碘甲烷,60℃搅拌反应30 min后,再加入2 ml碘甲烷和0.6 g氢氧化钠,继续反应2 h,随后乙醇沉淀,乙醚洗涤,过夜抽干得第2步反应产物;将第2步反应产物溶于100 ml 10%氯化钠溶液中,搅拌4 h,使产物中的I⁻置换为Cl⁻,抽滤除去不溶物,用去离子水透析3 d,纯化后冻干即得最终产物——TMC的盐酸盐。为了排除样品中残留水的氢峰对样品的干扰,将TMC溶于重水中,在80℃条件下,扫描核磁氢谱。TMC的季铵化度(DQ,%)、二甲基化度(DD,%)和3位、6位氧甲基化度(DOM,%)的计算公式如下:

$$DQ = \frac{[(CH_3)_3]/[H] \times 1/9 \times 100 \times 100\%}{\dots} \quad (1)$$

$$DD = \frac{[(CH_3)_2]/[H] \times 1/3 \times 100 \times 100\%}{\dots} \quad (2)$$

$$DOM = \frac{[(CH_3)]/[H] \times 1/3 \times 100 \times 100\%}{\dots} \quad (3)$$

TMC的核磁共振氢谱见图1。

由图1可见,化学位移3.054 ppm处为[CH₃]₂的氢峰,3.312 ppm处为[CH₃]₃的氢峰,3.504 ppm处为3位氧甲基的氢峰,而

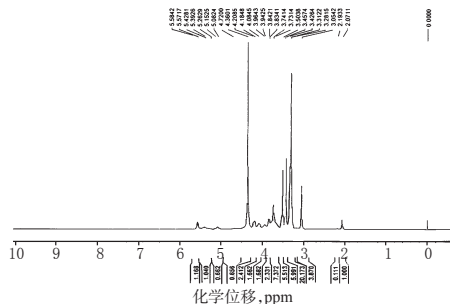


图1 TMC的核磁共振氢谱

Fig 1 ¹H-NMR spectrum of TMC

3.457 ppm处为6位氧甲基的氢峰,化学位移在4.7~5.7 ppm范围内的各峰为参考[H]的响应。根据公式计算得到合成的TMC的DQ为78.10%,DD为44.95%,3位DOM为64.03%,6位DOM为69.58%。

2.2 脂质体的制备

参考Takeuchi H等^[9]的制备方法将DSPC、DCP和胆固醇按8:2:1的物质的量之比溶于适量氯仿中,在40℃水浴下旋转蒸发除去有机溶剂在茄形瓶上形成均匀薄膜。用适当的水合介质在70℃水浴中浸浴10 s,涡旋洗脱,重复3次,10℃水浴孵育1 h,冰水浴中200 W探头超声5 min即得空白脂质体(Non-lips)。载药脂质体的制备是将水合介质换成降钙素溶液(最终制剂中降钙素的质量浓度为40 μg/ml)后水合,超声制得。将上述Non-lips逐滴滴加到等体积的质量分数为0.2%、0.4%、0.6%、0.8%、1.0%、1.28%、1.6%的TMC溶液中,室温下磁力搅拌1 h即得0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.64%、0.8%的TMC包覆脂质体(TMC-lips);同理,将上述Non-lips逐滴滴加到等体积的质量浓度为1.0%的CS溶液中,室温下磁力搅拌1 h即得0.5%的CS包覆脂质体(CS-lips)。

将DSPC、DCP和胆固醇按8:2:1的物质的量之比溶于适量氯仿中,同时加入处方量的C6,在40℃水浴下旋转蒸发除去有机溶剂在茄形瓶上形成均匀薄膜。用适当的水合介质在70℃水浴中浸浴10 s,涡旋洗脱,重复3次,10℃水浴孵育1 h,冰水浴中200 W探头超声5 min,过0.22 μm的微孔滤膜除去游离的C6,即得C6标记的脂质体。将制得的C6标记的脂质体缓慢滴加到等体积的1%TMC溶液中,室温下磁力搅拌1 h,即得0.5%TMC包覆的C6标记脂质体(TMC-C6-lips);另取TMC-C6-lips用等体积的PBS缓冲液稀释1/2,即得对照的未包覆的C6标记脂质体(Non-C6-lips),最终制剂中C6的理论质量浓度为25 μg/ml。以上操作均避光。

2.3 脂质体的性质研究

取脂质体混悬液,稀释适当的倍数后,测定其粒径、多分散指数(Polydispersity)以及Zeta电位。载有降钙素的脂质体的封装率(EE,%)的测定方法如下:取适量载药脂质体,在4℃以231 000×g的转速超速离心45 min后,取上清液用micro BCATM蛋白测定试剂盒测定降钙素含量。EE的计算公式如下:

$$EE = \frac{(A_{im} - A_{sup})/A_{im} \times 100\%}{\dots} \quad (4)$$

其中,A_{im}是降钙素理论加入量,A_{sup}是上清液中游离的降钙素的量。用酶联免疫测定仪测定吸光度,每次测定用降钙素标准溶液做随行标准曲线。

不同质量分数的TMC-lips的粒径和Zeta电位见图2。

Non-lips的电位为-56.8 mV;包覆TMC后,Zeta电位由负变正,且随着包覆量的增加,Zeta电位逐渐增大;当包覆的TMC浓度达到0.3%时,脂质体Zeta电位基本保持不变。包覆

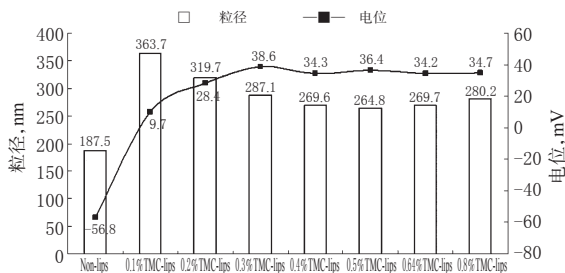


图2 不同质量分数TMC-lips的粒径和Zeta电位

Fig 2 Particle size and Zeta potential of different mass fraction of TMC liposomes

前降钙素脂质体粒径为187.5 nm;包覆后脂质体粒径也有所增大;但在包覆量为0.1%时,脂质体粒径增大最显著,随着包覆量的增加,粒径反而有下降趋势;在包覆量为0.5%时达到包覆后最小粒径。

取Non-lips,经CS和TMC包覆后得到0.5%的CS-lips和TMC-lips,将上述3种制剂经稀释后,用马尔文激光粒度仪分别测定其电位、粒径以及多分散指数,并测定其EE,结果见表1。

表1 3种脂质体样品的粒径、多分散指数、Zeta电位及EE测定结果

Tab 1 Particle size, polydispersity, Zeta potential, entrapment efficiency of 3 liposomes samples

样品	粒径, nm	多分散指数	Zeta电位, mV	EE, %
Non-lips	171.9	0.129	-57.2 ± 2.4	91.2 ± 2.6
CS-lips	337.5	0.312	46.4 ± 3.7	88.73 ± 1.7
TMC-lips	262.9	0.172	35.8 ± 1.2	89.14 ± 3.1

2.4 脂质体形态观察

2.4.1 原子力显微镜(AFM)观察脂质体形态。取Non-lips、CS-lips和TMC-lips用AFM观察各粒子表面特征详见图3。

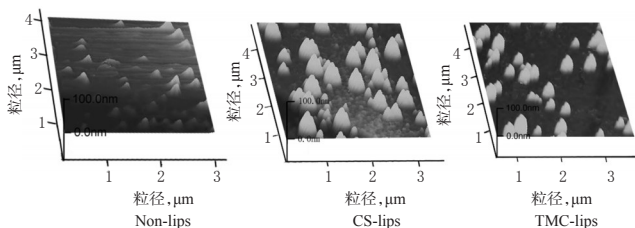


图3 3种脂质体的AFM图片

Fig 3 Atomic force microscopy images of 3 liposomes

由图3可见,未包覆前,脂质体粒径<200 nm,且粒径分布较为均匀;包覆了聚合物后脂质体粒径明显增大,CS-lips的粒径大于TMC-lips,粒径分布也明显大于TMC-lips,这一结果与表1基本吻合。

2.4.2 透射电镜(TEM)观察脂质体形态。将Non-lips、CS-lips和TMC-lips在TEM下观察粒子形态,结果见图4。

由图4可见,Non-lips外观圆整,有明显磷脂双分子层结构。脂质体包覆了正电性的聚合物后,脂质体粒径明显增大,并且周围有一圈明显的黑色区域环绕,应为包覆层。TEM观察到的脂质体粒径范围与表1以及AFM观察结果基本吻合。

2.5 黏蛋白微粒结合法评价TMC体外黏附性质

以黏蛋白微粒结合法评价TMC的体外黏附性质^[10]。取猪胃黏膜蛋白溶于磷酸盐缓冲液(PBS, pH 6.8)中,配成1%的混悬液,搅拌过夜使之充分混悬。将黏蛋白混悬液在冰水浴中探头超声10 min后以5 000 r/min的转速离心15 min,取上清液

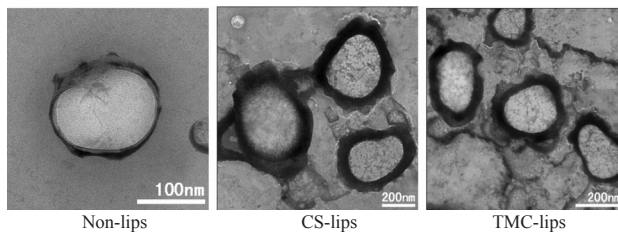


图4 3种脂质体的TEM图片(×100 000)

Fig 4 Transmission electron microphotograms of 3 liposomes(×100 000)

稀释至0.5%,经马尔文粒径测定仪测定其粒径为(146.7 ± 2.8) nm,即得到黏蛋白纳米粒混悬液。分别将合成的TMC溶于pH 4.5的醋酸盐缓冲液(ABS)和pH 6.8的PBS中,同时将CS溶解于pH 4.5的ABS中,均配制成0.05%的聚合物溶液。将不同体积的上述0.05%的聚合物溶液加入到1 ml 0.5%的黏蛋白纳米粒混悬液中,37 °C孵育1 h后测定电位,每份样品平行操作3份。

黏蛋白纳米粒的Zeta电位随聚合物体积变化的关系见图5。

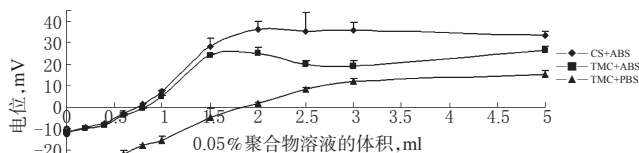


图5 黏蛋白纳米粒的Zeta电位随聚合物体积变化的关系图
Fig 5 Changes of Zeta potential of mucin nanoparticles with volumes of polymeric substance

在pH 4.5时,CS荷正电,可以通过静电及氢键作用在黏蛋白纳米粒表面黏附,进而在纳米粒表面包覆,从而改变Zeta电位;而TMC不仅可以在pH 4.5的酸性条件下与黏蛋白纳米粒发生黏附作用,而且在pH 6.8的中性条件下仍然保持与黏蛋白纳米粒的黏附作用,从而在黏蛋白纳米粒表面包覆,改变其Zeta电位。

2.6 C6标记的脂质体的体内黏附行为研究

取实验前禁食48 h的δ大鼠12只,随机分成4组,每组3只,分别灌胃给予1 ml Non-C6-lips(25 μg/ml)以及TMC-C6-lips,于给药后2、4 h处死,分别取其十二指肠、空肠、回肠,每个肠段分别平均取4小段,插入包埋管后,横切面朝上放入包埋模具中,加入包埋剂,液氮冷冻后放入冰箱冷冻室保存。用冷冻切片机冷冻切片后用激光共聚焦显微镜观察拍照,激发波长为488 nm。

2种C6标记的脂质体的理化性质见表2。

表2 2种C6标记脂质体的理化性质

Tab 2 Physico-chemical properties of 2 kinds of C6 labeled TMC liposomes

样品	粒径, nm	Zeta电位, mV	多分散指数
Non-C6-lips	132.2	-61.3 ± 3.4	0.174
TMC-C6-lips	239.3	29.4 ± 2.7	0.207

大鼠灌胃给予Non-C6-lips和TMC-C6-lips后2、4 h的各肠段切片的激光共聚焦显微镜照片见图6。

由图6可见,2 h时,Non-C6-lips仅在回肠段的黏膜侧和基底侧有明显的绿色荧光;而TMC-C6-lips在各肠段均有明显的绿色荧光,并且十二指肠部位的荧光强度强于后2个肠段,表

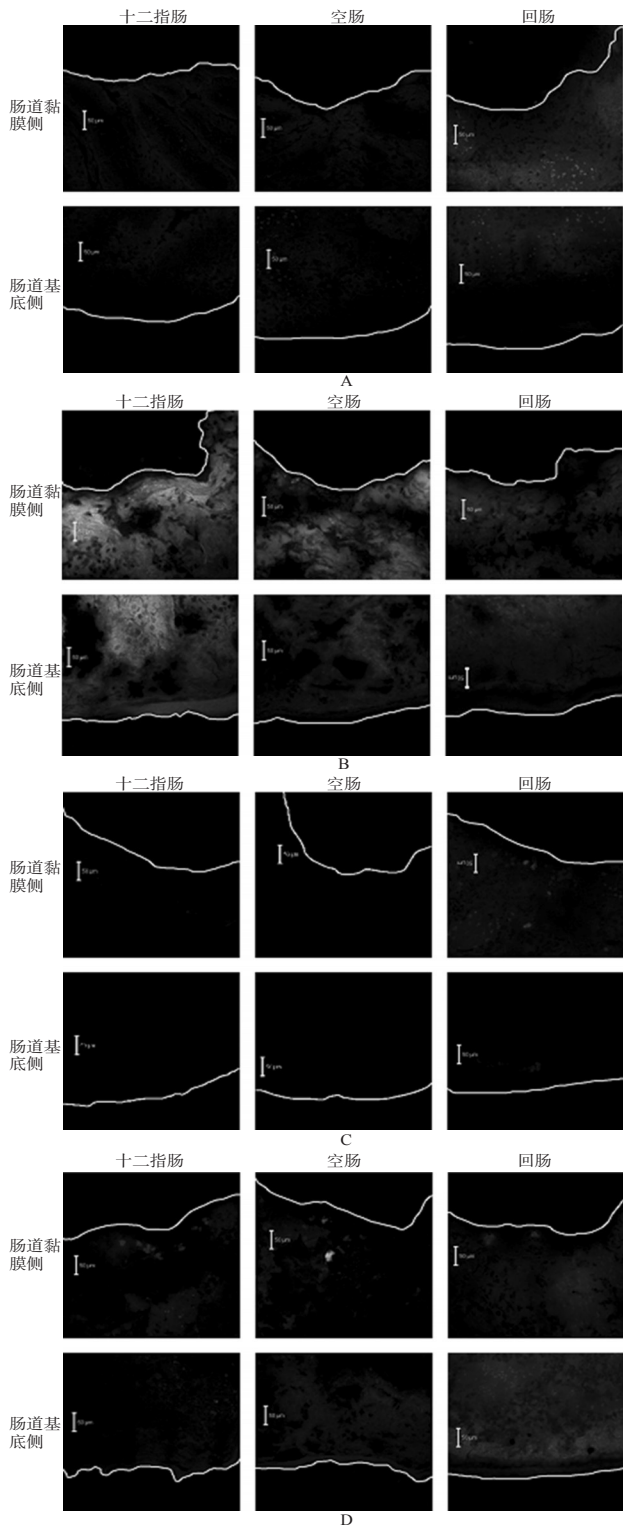


图6 大鼠灌胃给予2种C6标记脂质体后各肠段组织的激光共聚焦显微镜照片($\times 20$)

A. 2 h的 Non-C6-lips; B. 2 h的 TMC-C6-lips; C. 4 h的 Non-C6-lips; D. 4 h的 TMC-C6-lips

Fig 6 CLSM microphotographs of rat intestinal tissues after intragastric administration of Coumarin-6 labeled liposomes ($\times 20$)

A. Non-C6-lips at 2 h; B. TMC-C6-lips at 2 h; C. Non-C6-lips at 4 h; D. TMC-C6-lips at 4 h

明前者黏附较多。4 h时, Non-C6-lips除了回肠部位的一点微弱荧光发射外, 基本观察不到绿色荧光; 而TMC-C6-lips各肠段仍然具有荧光, 但较2 h时明显减弱, 并以回肠部位的基底侧的荧光最强。在2 h时, TMC-C6-lips大部分黏附在小肠上部, 尤其是十二指肠部位, 到达回肠部位的脂质体较少, 这说明TMC-C6-lips比Non-C6-lips表现出了更好的黏膜黏附性质。

3 讨论

表1的结果表明, CS-lips的粒径增加明显大于TMC-lips, 并且CS-lips的Zeta电位也稍大于TMC-lips。这是因为CS的包覆过程是在酸性条件下完成的, 酸性条件下, CS的伯氨基能够完全质子化, 带来较强的正电性; 而TMC的包覆过程是在中性条件下完成的, 在此条件下TMC剩余的伯氨基不能够质子化带来正电荷, 只能靠季铵基团的质子化带来正电荷, 因此TMC-lips的Zeta电位稍小于CS-lips。Non-lips的EE>90%, 表明降钙素被动载药也具有较高的EE; 脂质体包覆正电性聚合物后, EE略有下降, 这可能因为部分由于静电作用力吸附在脂质体表面的降钙素与正电性的聚合物包覆层因为静电斥力而脱落, 因此导致了EE的下降。

在黏蛋白微粒结合法评价TMC体外黏附性质的试验中, 所使用的黏蛋白属于一类大分子糖蛋白, 含有亲水性的糖基化部位和疏水性的蛋白链部位。在适当浓度时通过分子链之间的疏水力作用及分子结构中巯基氧化交联作用, 黏蛋白可自聚集成纳米粒。黏蛋白结构中的唾液酸残基以及硫酸糖残基使黏蛋白等电点较低, 在胃肠道生理pH值条件下, 黏蛋白纳米粒荷负电。图5中整个黏附过程呈S型曲线, 可以分为3个阶段, 即最初的接触阶段、随后的固结阶段和最后的饱和阶段。在接触阶段, 具有黏附性质的聚合物与黏蛋白纳米粒表面刚刚发生接触, 在此阶段聚合物量的增加不会引起黏蛋白纳米粒的Zeta电位明显的变化; 在固结阶段, 黏附性聚合物与黏蛋白纳米粒之间相互扩散和渗透, 从而生成次级键, 如静电、氢键、疏水性作用力以及范德华力, 巩固二者的结合导致持续的黏附作用, 在此阶段聚合物量的增加会引起黏蛋白纳米粒Zeta电位的明显变化; 而在最后的饱和阶段, 因为此时黏蛋白纳米粒表面已经被聚合物饱和, 无法再吸附聚合物, 因此此时聚合物量的增加不会引起黏蛋白纳米粒Zeta电位的变化。

4 结论

本试验制备了具有较高包封率的载降钙素的脂质体, 并以TMC为包覆材料对其进行包覆, 研究了包覆脂质体的粒径、电位和包封率的变化, 以及其体内外黏附性质。结果表明, 季铵化度为78.10%的TMC可以用来包覆降钙素脂质体, 包覆后的脂质体的Zeta电位由原先的-56.8 mV反转为35.8 mV, 包封率达到89.14%; AFM和TEM的照片直观地显示了包覆前后脂质体粒径、形态的变化; 黏蛋白微粒法结果表明TMC无论在酸性介质还是中性介质中都能较好地与黏蛋白微粒结合, 从而改变其Zeta电位; 大鼠肠段的激光共聚焦显微镜照片证明了TMC包覆脂质体比未包覆的脂质体表现出了更好的黏膜黏附性质。因此, TMC包覆脂质体具有良好的黏膜黏附性质, 可以作为多肽、蛋白质及核酸类亲水性大分子药物口服递送的有效载体。

参考文献

- [1] Mahato RI, Narang AS, Thoma L, *et al.* Emerging trends in oral delivery of peptide and protein drugs[J]. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*, 2003; 20(2/3): 153.

盐酸左氧氟沙星滴眼液的工艺优化研究

孟 丽^{1*}, 崔苏红²(1.盐城卫生职业技术学院, 江苏 盐城 224006; 2.扬子江药业集团, 江苏 泰州 225300)

中图分类号 R944;R978 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)21-1979-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.21.21

摘要 目的:筛选影响盐酸左氧氟沙星滴眼液成品得率的影响因素,优选最佳工艺。方法:统计2011年8月份连续生产的8批盐酸左氧氟沙星滴眼液的成品得率及其影响因素,采用原因分析法进一步分析影响成品得率的具体因素;之后以成品得率为考察指标,按 $L_9(3^3)$ 正交试验设计优化空瓶瓶质量、挤出机温度、封合模具真空延时时间,同时通过Minitab数理统计分析软件进行方差分析,并筛选最佳装量控制点。结果:8批盐酸左氧氟沙星滴眼液的平均成品得率为71.10%;成品得率偏低的影响因素主要为灌装过程、漏液及装量偏高损耗,具体为挤出机温度偏低、空瓶瓶质量控制偏低等11项。正交试验优化工艺后空瓶瓶质量为8.3 g/5瓶,挤出机温度为170℃,封合模具真空延时时间为0.4 s,最佳装量控制点为5.20 ml,平均成品得率为82.45%。结论:优化后的工艺可行,可提高盐酸左氧氟沙星滴眼液的成品得率。

关键词 盐酸左氧氟沙星;滴眼液;得率;制剂工艺;优化;正交试验

Process Optimization of Levofloxacin Hydrochloride Eye Drops

MENG Li¹, CUI Su-hong²(1.Yancheng Institute of Health Science, Jiangsu Yancheng 224006, China; 2.Yangtze River Pharmaceutical Group, Jiangsu Taizhou 225300, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To screen influential factors of yield of Levofloxacin hydrochloride eye drops, and to optimize the technology. METHODS: The yield and influential factors of 8 batches of Levofloxacin hydrochloride eye drops in Aug. 2011 were analyzed statistically. The method of reason analysis was used to further analyze influential factors of the yield; using yield as index, $L_9(3^3)$ orthogonal experimental design was adopted to optimize the weight of empty bottles, extruder temperature, delay time of sealing mould vacuum, at the same time variance analysis was conducted by Minitab statistical analysis software to select the optimal inventory control point. RESULTS: The average yield of 8 batches of Levofloxacin hydrochloride eye drops was 71.10%, and influential factors to yield were loss during filling, leakage loss and loss of high volume, i.e. 11 items such as low extruder temperature, low weight of empty bottles control. After optimizing the technology by orthogonal test, the weight of empty bottles was 8.3 g/5 bottles, extruder temperature was 170℃, delay time of sealing mould vacuum was 0.4 s, the optimal inventory control point was 5.20 ml, and the average yield was 82.45%. CONCLUSIONS: The optimized process is feasible and can improve the yield of Levofloxacin hydrochloride eye drops.

KEY WORDS Levofloxacin hydrochloride; Eye drops; Yield; Preparation process; Optimization; Orthogonal test

- [2] Werle M, Makhlof A, Takeuchi H. Oral protein delivery: a patent review of academic and industrial approaches[J]. *Recent Pat Drug Deliv Formul*, 2009, 3(2):94.
- [3] Woitiski CB, Carvalho RA, Ribeiro AJ, et al. Strategies toward the improved oral delivery of insulin nanoparticles via gastrointestinal uptake and translocation[J]. *Bio Drugs*, 2008, 22(4):223.
- [4] Werle M, Makhlof A, Takeuchi H. Carbopol-lectin conjugate coated liposomes for oral peptide delivery[J]. *Chem Pharm Bull*, 2010, 58(3):432.
- [5] Wong TW. Design of oral insulin delivery systems[J]. *J Drug Target*, 2010, 18(2):79.
- [6] Jintapattanakit A, Junyaprasert VB, Kissel T. The role of mucoadhesion of trimethyl chitosan and PEGylated trimethyl chitosan nanocomplexes in insulin uptake[J]. *J Pharm Sci*, 2009, 98(12):4 818.
- [7] Sinswat P, Tengamnuay P. Enhancing effect of chitosan on nasal absorption of salmon calcitonin in rats: comparison with hydroxypropyl- and dimethyl-beta-cyclodextrins[J]. *Int J Pharm*, 2003, 257(1/2):15.
- [8] Sieval AB, Thanou M, Kotz AF, et al. Preparation and NMR characterization of highly substituted N-trimethyl chitosan chloride[J]. *Carbohydr Polym*, 1998, 36(2):157.
- [9] Takeuchi H, Matsui Y, Sugihara H, et al. Effectiveness of submicron-sized, chitosan-coated liposomes in oral administration of peptide drugs[J]. *Int J Pharm*, 2005, 303(1/2):160.
- [10] Thongborisute J, Takeuchi H. Evaluation of mucoadhesiveness of polymers by BIACORE method and mucin-particle method[J]. *Int J Pharm*, 2008, 354(1/2):204.

(收稿日期:2012-08-07 修回日期:2012-12-10)

*讲师,硕士研究生。研究方向:中药制剂。电话:0515-88159951。
E-mail:li_972@163.com