

水飞蓟宾葡甲胺眼凝胶的制备及其质量控制

刘友彬*, 陈 钧#, 杨学娟, 陈 华, 张春晓(江苏大学药学院, 江苏 镇江 212013)

中图分类号 R944;R988.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)33-3123-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.33.18

摘要 目的:制备水飞蓟宾葡甲胺眼凝胶剂,并建立其质量控制方法。方法:以水飞蓟宾葡甲胺为主药,卡波姆940为凝胶基质,制备水飞蓟宾葡甲胺眼凝胶。用高效液相色谱法测定主药的含量,并考察其粒度、pH值及微生物限度;在光照,4、40℃下各放置10d进行稳定性试验,分别考察其外观、含量、粒度、pH值。结果:所得凝胶为浅黄色透明半固体,质地均匀细腻,涂展性好。样品标示百分含量为96.35%~100.01%,粒度均小于50μm,pH值为7.89±0.06,微生物限度符合2010年版《中国药典》相关规定;样品在离心等条件下各项指标均无明显变化,但在40℃条件下,pH值略有升高。结论:本制剂制备工艺简便可行,质量稳定可控,应置于阴凉处保存。

关键词 水飞蓟宾葡甲胺;眼凝胶;制备;质量控制

Preparation and Quality Control of Silybin Meglumine Ophthalmic Gel

LIU You-bin, CHEN Jun, YANG Xue-juan, CHEN Hua, ZHANG Chun-xiao (College of Pharmacy, Jiangsu University, Jiangsu Zhenjiang 212013, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To prepare silybin meglumine ophthalmic gel and establish a method for its quality control. METHODS: Silybin meglumine ophthalmic gel was prepared with silybin meglumine as main component and carbomer 940 as matrix. HPLC method was adopted to determine the contents of main component, and the particle size, pH value and microbial limit were investigated; the stability test of the sample at 4, 40℃ and under light was conducted after 10 days, and the appearance, content, particle size and pH value were investigated. RESULTS: Prepared gel was light yellow transparent semisolid, showing homogeneous and fine and smooth structure and well-spread. The study showed that labeled amount of samples were between 96.35% and 100.01%, particle size were less than 50 μm, and pH value was 7.89 ± 0.06; microbial limit was in line with the regulations stated in *Chinese Pharmacopoeia* (2010 edition); the index of sample had no significant change under centrifugation, but pH value slightly increased at 40℃. CONCLUSIONS: The preparation technology is simple and feasible. The quality of the gel is stable and controllable, and it should be kept in a cool place.

KEY WORDS Silybin meglumine; Ophthalmic gel; Preparation; Quality control

白内障是一种眼科常见病,居世界上致盲眼病的首位。随着人口的增长及人口的老齡化,每年全世界新增白内障致盲者约40万人。白内障不仅严重影响人们的视力和健康,而且可造成巨大的经济损失^[1-3]。因此,白内障的防治成为一项亟待解决的课题,寻找疗效确切、高效廉价的抗白内障新药成为眼科研究的重点。经过本实验组前期研究证实,水飞蓟宾葡甲胺滴眼液对D-半乳糖致白内障及糖尿病性白内障大鼠的氧化损伤有较好的延缓作用,能有效降低晶状体可溶性蛋白、丙二醛(MDA)的含量,提高晶状体过氧化物歧化酶(SOD)的含量,防治效果良好。滴眼液虽然使用方便,但由于药物容易流失,不能维持有效药物浓度。而水飞蓟宾葡甲胺眼凝胶以

亲水性材料卡波姆940(以下简称卡波姆)为基质,有着良好的生物相容性,透明度好,且具有生物黏附性,可延长药物在角膜的滞留时间,延长作用时间,有较好的应用前景。本文在此报道水飞蓟宾葡甲胺眼凝胶的制备及其质量控制。

1 材料

1.1 仪器

LC-20AT高效液相色谱仪(日本岛津公司);N2000色谱数据工作站(SP1版,赛智科技有限公司);电子天平(德国 Sartorius AG公司);KQ-600DB数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);UV-2500紫外-可见分光光度计(日本岛津公司);DHG-9076A电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司);Olympus BX41显微镜(日本奥林巴斯公司);pHS-3TC酸度计(上海天达仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

水飞蓟宾葡甲胺粗品(自制,其中水飞蓟宾葡甲胺含量为

* 硕士研究生。研究方向:药物新剂型。E-mail:lyb_20062006@126.com

通信作者:教授,博士研究生导师。研究方向:药物新剂型。电话:0511-88780196。E-mail:syxchenjun@126.com

62.17%, 剩余物质为少量未复合的水飞蓟宾和其他杂质, 粗品中水飞蓟宾的总含量为47.89%); 水飞蓟宾对照品(自制, 纯度: 98.5%); 水飞蓟宾葡甲胺眼凝胶(自制, 批号: 20120720、20120721、20120722); 卡波姆(青岛天力源生物科技有限公司); 聚山梨酯80、冰乙酸等为分析纯, 甲醇为色谱纯, 水为重蒸馏水。

2 处方与制备

2.1 处方

卡波姆20 g, 水飞蓟宾葡甲胺粗品2.1 g(有效成分以水飞蓟宾计, 折算成水飞蓟宾1.0 g), 5%苯扎溴铵0.2 ml, 乙二胺四乙酸(EDTA)2 g, 5 ml 聚山梨酯80, 1 mol/L NaOH 适量, 加重蒸馏水(灭菌)至1 000 g。

2.2 制备方法

把装有500 ml 重蒸馏水的烧杯置于电磁搅拌器上, 取处方量的卡波姆, 缓慢倒入烧杯中使其分散均匀, 静置过夜溶胀为透明凝胶^[4]。将凝胶于121 °C 20 min 高压湿热灭菌, 备用; 用适量重蒸馏水溶解处方量的水飞蓟宾葡甲胺、EDTA, 并加入处方量的5%苯扎溴铵和聚山梨酯80, 将此溶液缓慢倒入凝胶中, 搅拌均匀, 补重蒸馏水至1 000 g, 并用1 mol/L NaOH 调pH值为8.0^[5-7]。无菌分装, 即得。

3 质量控制

3.1 性状

本品为浅黄色透明半固体, 质地均匀细腻, 涂展性好。

3.2 粒度检查

取供试品10支, 将内容物全部挤于合适的容器中, 搅拌均匀, 取适量(相当于主药10 μg) 置于载玻片上, 涂成薄层, 薄层面积相当于盖玻片面积, 共涂3片, 照粒度测定法检查^[8]。结果表明, 3批样品均符合规定, 粒子粒度均<50 μm, 且没有检出>90 μm的粒子。

3.3 pH

取凝胶样品3批, 测得样品pH均值为7.89 ± 0.06, 确定pH为6.0~8.0。

3.4 微生物限度检查

按照《中国药典》规定, 对凝胶剂进行微生物限度检查^[8], 3批样品检测结果均符合规定。

3.5 水飞蓟宾葡甲胺眼凝胶含量测定

3.5.1 色谱条件。色谱柱: Lichrospher C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 水(含2%冰醋酸)-甲醇(50:50), 流速: 1.0 ml/min; 检测波长: 288 nm; 柱温: 室温; 进样量: 20 μl。

3.5.2 溶液的制备。(1)对照品溶液: 精密称取105 °C干燥至恒重的水飞蓟宾对照品12.4 mg, 置于50 ml 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为贮备液; 精密量取贮备液2 ml, 用甲醇稀释至10 ml 摇匀, 稀释成49.6 μg/ml的水飞蓟宾对照品溶液。(2)供试品溶液: 取凝胶样品(批号: 20120720) 0.5 g, 加适量甲醇破胶, 转移至10 ml 量瓶中, 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 配制成约50 μg/ml的供试品溶液。(3)阴性样品对照溶液: 取空白凝胶按

“(2)”法制备成阴性样品对照溶液。

3.5.3 标准曲线的制备。各精密量取贮备液1、2、3、4、5 ml于5个10 ml 量瓶中, 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 得到含水飞蓟宾24.8、49.6、74.4、99.2、124.0 μg/ml的溶液, 分别取上述溶液各20 μl 进样, 每个浓度连续进样3次。以水飞蓟宾对照品溶液的质量浓度($c, \mu\text{g/ml}$)为横坐标, 峰面积(A)为纵坐标进行线性回归, 得回归方程: $A=54\ 759c+117\ 944$ ($r=0.999\ 9, n=5$)。水飞蓟宾检测质量浓度的线性范围为24.8~124.0 μg/ml。

3.5.4 鉴别试验。在“3.5.1”项色谱条件下, 取对照品溶液和供试品溶液分别进样20 μl。结果显示, 供试品溶液主药成分的保留时间与对照品溶液的保留时间一致, 均在12.271、13.839 min(同分异构体的峰)。结果见图1A、B。

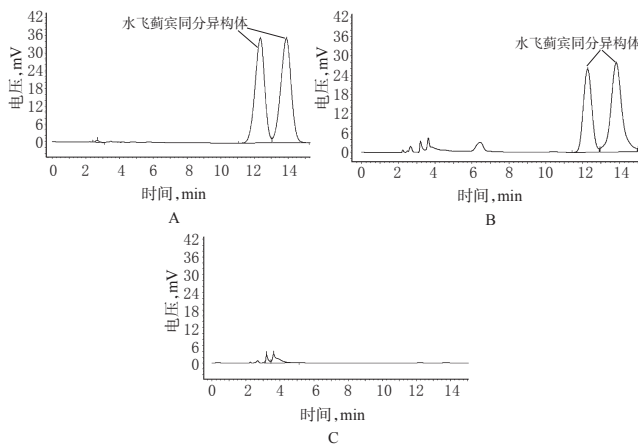


图1 高效液相色谱图

A. 对照品; B. 供试品; C. 空白样品

Fig 1 HPLC chromatograms

A. substance control; B. sample; C. blank sample

3.5.5 专属性试验。取阴性样品对照溶液20 μl 注入色谱仪, 结果阴性样品对照溶液在12.271、13.839 min左右未见出峰, 故辅料不会干扰水飞蓟宾的测定。结果见图1C。

3.5.6 精密度试验。精密量取对照品溶液20 μl 注入色谱仪, 重复测定5次, 按色谱条件测定峰面积积分值, 结果显示峰面积积分值的RSD=1.39% ($n=5$), 表明该仪器精密度良好。

3.5.7 稳定性试验。精密吸取同一份供试品溶液20 μl 注入色谱仪, 分别在0、4、12、20、28、32 h 进样1次, 按色谱条件测定峰面积积分值, 计算样品中水飞蓟宾含量, 结果显示水飞蓟宾含量的RSD=1.66% ($n=6$), 表明供试品溶液在32 h内基本稳定。

3.5.8 重复性试验。取同一批样品(批号: 20120720) 6份, 分别按“3.5.2(2)”项下方法制备供试品溶液, 在上述色谱条件下分析, 测定峰面积积分值, 计算样品中水飞蓟宾含量。结果水飞蓟宾含量的RSD=1.22% ($n=6$), 表明供试品重复性良好。

3.5.9 杂质检查试验。取适量样品用甲醇破胶并稀释至含水飞蓟宾500 mg/L的溶液, 过滤取续滤液为供试品溶液; 精密量取续滤液适量, 用甲醇稀释成5 mg/L的水飞蓟宾溶液为对照溶液。取对照溶液20 μl 进样, 同时调节检测灵敏度, 使主成分色谱峰峰高为满量程的10%~25%; 再取供试品溶液20 μl 进

样,记录时间,为主成分色谱峰保留时间的2倍。测量供试品溶液色谱图上各杂质峰面积的和,不得大于总峰面积的1.0%^[7-8]。用此法检查3批样品,结果杂质含量均小于1.0%。

3.5.10 回收率试验。按照处方和相同工艺,分别称取水飞蓟宾对照品和处方辅料制成模拟样品,水飞蓟宾对照品分别按处方量的80%、100%、120%加入,每个浓度制备3份,共得9份,进行回收率试验。模拟样品按“3.5.2(2)”项下方法制备供试品溶液,分别取20 μl注入色谱仪,计算样品中水飞蓟宾含量,以测得量与投入量之比计算回收率即得。结果显示平均回收率为98.90%,RSD=1.02%(n=9)。

3.5.11 样品含量测定。精密称取3份样品各3份,按“3.5.2(2)”项下方法制备供试品溶液,在上述色谱条件下分析,结果见表1。

表1 3批样品含量测定结果(n=3)

Tab 1 Results of content determinations of 3 batches of samples(n=3)

批号	标示百分含量/%			$\bar{x} \pm s, \%$
	1	2	3	
20120720	99.34	98.48	98.67	98.83 ± 0.5
20120721	100.01	97.13	96.35	97.83 ± 1.9
20120722	98.51	98.19	99.02	98.57 ± 0.4

4 稳定性考察

4.1 离心试验

分别称取3批样品各10 g,装入带有刻度的离心管中,以4 000 r/min离心30 min,凝胶未见分层和析出现象,涂展性好,性质稳定。

4.2 稳定性试验

取同一批凝胶(批号:20120720)置于照度为(4 500 ± 500) lx以及4 °C下放置10 d,分别于第0、5、10天取样检测。另取同一批凝胶(批号:20120720)于60 °C条件下放置10 d,外观颜色变深,黏度逐步下降,同时凝胶有少量颗粒出现聚集现象,所以进一步考察40 °C下的稳定性。将样品于40 °C高温条件下放置10 d,分别于第0、5、10天取样检测。稳定性试验结果详见表2。

由表2可见,凝胶经强光照射10 d以及在4 °C低温条件下放置10 d,外观、粒度变化不大,pH值、标示百分含量也比较稳定。凝胶在40 °C高温条件下放置10 d,外观颜色不变,标示百分含量无显著变化,凝胶有少量颗粒聚集现象,但是总体粒度均符合要求,pH值略有升高的趋势。说明本品对高温不太稳定,需在阴凉处保存。

5 讨论

表2 样品在光照、4 °C、40 °C条件下的稳定性试验结果

Tab 2 Results of stability test of samples at 4 °C, 40 °C and under light

项目	光照			4 °C			40 °C		
	0 d	5 d	10 d	0 d	5 d	10 d	0 d	5 d	10 d
外观色泽	浅黄色、 凝胶	浅黄色、 凝胶	浅黄色、 凝胶	浅黄色、 凝胶	浅黄色、 凝胶	浅黄色、 凝胶	浅黄色、 凝胶	浅黄色、 凝胶	浅黄色、 凝胶
粒度, μm	<50	<50	<50	<50	<50	<50	<50	<50	<50
pH值	7.89	7.85	7.69	7.89	7.96	7.79	7.89	8.13	8.21
标示百分含量, %	99.51	98.08	98.99	99.51	101.68	100.86	99.51	98.10	98.77

试验表明,样品的粒度、pH、标示百分含量、回收率等各项指标均符合眼用制剂要求。说明所制备的凝胶工艺合理,质量可控。样品在低温下稳定,各项指标均未见明显变化;在40 °C高温条件下,凝胶药物标示百分含量无显著变化,pH值略有升高的趋势。综合考虑,本品宜在阴凉处保存。本制剂灭菌工艺采用凝胶先高压湿热灭菌,再在无菌操作条件下加入药物,然后分装,解决了成品采用Co⁶⁰辐照灭菌可造成胶体黏度大幅下降的问题。水飞蓟宾本身没有毒性,制备成水溶性更好的水飞蓟宾葡甲胺后,有较好的应用前景。

参考文献

- [1] 田蕊,张辉,于维芹,等.半乳糖性白内障大鼠晶状体中二肽基肽酶II的表达[J].国际眼科杂志,2008,8(4):698.
- [2] 徐军,王大江,刘学政.糖尿病大鼠白内障免疫球蛋白的实验研究[J].国际眼科杂志,2009,9(5):848.
- [3] 张晓融,张亚超,宋秀君.牛磺酸与卡林-U滴眼液对实验性白内障大鼠治疗作用的比较[J].中国药房,2005,16(5):343.
- [4] Ceulemans J, Ludwig A. Optimisation of carbomer viscosus eye drops: an in vitro experimental design approach using rheological techniques[J]. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2002, 54(1):41.
- [5] 张立波.阿昔洛韦眼用凝胶制剂的研究[D].沈阳:沈阳药科大学,2006:25-26.
- [6] 宋成君.葛根素眼部传递系统的研究[D].沈阳:沈阳药科大学,2006:41-42.
- [7] 胡汉昆,吴东方,刘薇芝.阿昔洛韦眼凝胶的制备和质量控制[J].中国医院药学杂志,2010,30(22):1 943.
- [8] 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IXE、XIJ、VD.

(收稿日期:2012-11-16 修回日期:2012-12-10)

《中国药房》杂志——RCCSE中国核心学术期刊,欢迎投稿、订阅