

阿奇霉素滴眼剂的制备及质量控制

刘洋^{1,2*}, 李志², 郭新红², 唐星^{1#}(1.沈阳药科大学药学院, 沈阳 110016; 2.郑州大学药学院, 郑州 450001)

中图分类号 R444.1; R988.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)33-3131-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.33.19

摘要 目的:制备阿奇霉素滴眼剂并对其质量进行控制。方法:以海藻糖为渗透压调节剂、柠檬酸为助溶剂、氢氧化钠调节pH、尼泊金乙酯为抑菌剂,制备阿奇霉素滴眼剂。采用高效液相色谱法,测定药物含量,初步考察其稳定性和家兔眼部刺激性。结果:制备的阿奇霉素滴眼剂为无色澄明液体,pH为6.7~6.9,渗透压为0.287~0.296 Osmol/kg,与泪液等渗,鉴别、检查项均符合《中国药典》中的相关规定;阿奇霉素检测质量浓度的线性范围为200~1 200 μg/ml($r=0.999\ 8$),回收率为99.15%~100.4%,RSD为1.047%~1.909%;与0时比较,高温、高湿、强光、加速、长期试验下该制剂检查指标均无明显变化;该制剂对家兔眼部刺激性评分均小于1。结论:该制剂制备工艺简单可行,质量稳定可控,有效期初步预测为2年,对眼无刺激性。

关键词 阿奇霉素;滴眼剂;制备;刺激性;稳定性;高效液相色谱法

Preparation and Quality Control of Azithromycin Eye Drops

LIU Yang^{1,2}, LI Zhi², GUO Xin-hong², TANG Xing¹(1.School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China; 2.School of Pharmacy, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To prepare Azithromycin eye drops and control its quality. METHODS: Azithromycin eye drops were prepared using fucose as osmotic pressure regulator, citric acid as latent solvent, sodium hydroxide as pH regulator and ethylparaben as bacteriostat. HPLC was used to measure the content of azithromycin. We investigated the stability of the preparation and eye irritation to rabbit eyes. RESULTS: Azithromycin eye drops were colorless and transparent liquid with pH of 6.7-6.9 and osmotic pressure of 0.287-0.296 Osmol/kg; it was isotonic to tear, and the identification and examination items met the requirements of *Chinese Pharmacopeia*. The linear range of azithromycin were 200-1 200 μg/ml ($r=0.999\ 8$) with average recoveries of 99.15%-100.4% (RSD=1.047%-1.909%). No significant changes in indexes were found in high-temperature, high-humidity, accelerated and long-term tests, compared with 0 h; the drops had no irritation to rabbit eyes. CONCLUSIONS: The preparation is simple, feasible in technology and controllable in quality without eye irritation; the period of validity forecast is 2 years preliminarily.

KEYWORDS Azithromycin; Eye drops; Preparation; Irritation; Stability; HPLC

阿奇霉素(Azithromycin)是将红霉素A9-酮基脂化后经贝尔曼重排、N-甲基化等一系列反应得到的15元氮杂化合物;其抗菌机制是通过与细菌细胞中核糖体50S亚基结合,阻碍细菌转肽过程,抑制依赖于核糖核酸(RNA)的蛋白质合成。阿奇霉素比红霉素具有更广泛的抗菌谱,能抑制多种革兰阳性球菌、支原体、衣原体和嗜肺军团菌,其对流感嗜血杆菌的作用强度比红霉素及罗红霉素高4~8倍,且对酸稳定,耐受性好,已成为目前治疗感染的一线药物^[1-2]。目前临床应用的剂型主要有注射剂、片剂、干混悬剂、胶囊剂。2007年美国FDA批准了InSite Vision公司生产的1%阿奇霉素滴眼剂(AzaSite)上市,用于治疗成人及1岁以上儿童的细菌性结膜炎,该制剂属眼用缓释原位凝胶剂,受美国专利保护至2019年^[3],国内同品种尚未上市。在2项Ⅲ期临床研究中,AzaSite最常见的不良反应是眼部刺激,推测是由于缓释凝胶剂减少了给药次数,增大了给药剂量,眼部滞留时间较长,凝胶黏度大且易染菌,为保证稳定性往往会添加更大量的防腐剂,药物和辅料均

对眼部造成了较大刺激^[4]。本试验开发的阿奇霉素滴眼剂规格与AzaSite相同,给药间隔比AzaSite短,目的在于起效迅速的同时降低刺激性,避免凝胶剂长期在眼部滞留而导致的视觉模糊、流泪、分泌物增多、全身副作用等不良反应,又比眼用凝胶更加澄明、稳定、用药量少、使用方便,同时眼部亲和力强,具有适宜的滞留性,可比一般滴眼液作用持久。本文主要介绍该阿奇霉素滴眼剂的制备及其质量控制方法。

1 材料

1.1 仪器

HTZ-312型摇床(上海精宏实验设备有限公司);LC-2010A HT高效液相色谱仪(日本岛津公司);OSMOMAT-030渗透压仪(德国Gonotec公司)。

1.2 药品与试剂

阿奇霉素对照品(中国食品药品检定研究院,批号:130593,纯度:99%);阿奇霉素原料药(郑州天耀科技有限公司,纯度:99.9%);阿奇霉素滴眼剂(沈阳药科大学药学院自制,批号:20090418、20090419、20090420,规格:100 mg:10 ml);海藻糖(上海励瑞生物科技有限公司);柠檬酸(天津市凯通化学试剂有限公司,批号:20100321);氢氧化钠(天津市恒兴化学试剂制造有限公司,批号:20100119);尼泊金乙酯(天津市

* 讲师,博士。研究方向:药剂学。电话:0371-67781901。E-mail:liuyang8016@126.com

通信作者:教授,博士。研究方向:药物分析。电话:024-23986343。E-mail:tangpharma@126.com

瑞金特化学品有限公司,批号:20100123);乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

1.3 动物

日本大耳白家兔,♀♂兼用,体质量2.0~2.5 kg,由河南康达实验动物有限公司提供,合格证号:SCXK(豫)2011-0001。

2 方法与结果

2.1 处方

阿奇霉素 0.1 g,海藻糖 0.5 g,1 mol/L 氢氧化钠 500 μ l,0.25 mol/L 的柠檬酸溶液 1 ml,含 0.015% 尼泊金乙酯的磷酸盐缓冲溶液(PBS)(pH 6.8)100 μ l,pH 6.8 的 PBS 定容至 10 ml。

2.2 制备

精密量取阿奇霉素原料药约 0.1 g,加入处方量的 0.25 mol/L 柠檬酸溶液使阿奇霉素溶解,再加入处方量的 1 mol/L 氢氧化钠和含 0.015% 尼泊金乙酯的 PBS(pH 6.8),摇匀,定容至 10 ml,过 0.22 μ m 的微孔滤膜,无菌分装,即得。

2.3 质量控制

2.3.1 性状。本品为无色澄明液体。

2.3.2 鉴别。取供试品溶液,样品主峰的保留时间与对照品主峰保留时间一致。

2.3.3 检查。pH 为 6.7~6.9,其余项目都符合 2010 年版《中国药典》二部“滴眼剂”项下的各项规定^[5]。

2.3.4 含量测定^[6]。(1)系统适用性试验。色谱柱:Platisil™ ODS C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μ m);流动相:0.067 mol/L 磷酸二氢铵溶液(三乙胺调节 pH 至 6.5)-乙腈(55:45);流速:1 ml/min;柱温:室温;检测波长:215 nm;进样量:10 μ l。该色谱条件下,理论板数按阿奇霉素峰计不低于 3 000,阿奇霉素峰与其他辅料及杂质峰分离良好。对照品和供试品的色谱图见图 1。

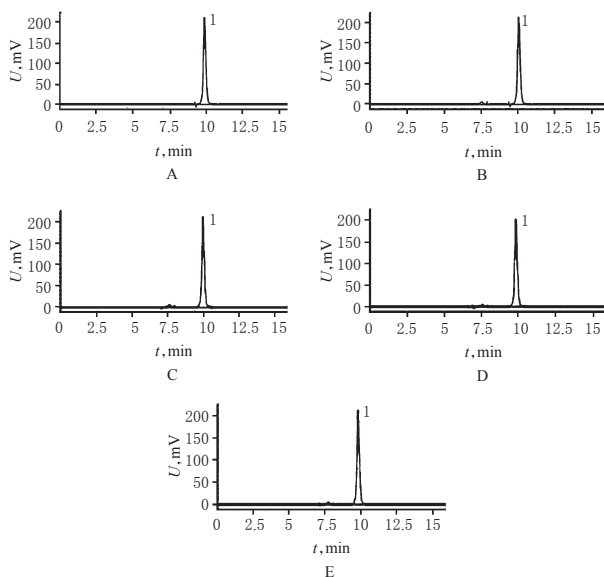


图 1 高效液相色谱图

A. 对照品;B. 供试品;C. 高温后供试品;D. 高湿后供试品;E. 强光后供试品;1. 阿奇霉素

Fig 1 HPLC chromatograms

A. substance control; B. test sample; C. test sample after high temperature; D. test sample after high humidity; E. test sample after high light; 1. azithromycin

(2)线性关系考察。精密量取阿奇霉素对照品,加流动相制成质量浓度分别为 0.2、0.3、0.4、0.6、0.8、1.2 mg/ml 的溶液,进样测定,记录色谱。以峰面积(y)为纵坐标、质量浓度(x)为横坐标进行线性回归,得回归方程为 $y=45.196x-2\ 736.7$ ($r=0.999\ 8$)。结果表明,阿奇霉素检测质量浓度的线性范围为 0.2~1.2 mg/ml。

(3)精密度试验。制备质量浓度分别为 0.2、0.6、1.2 mg/ml 的阿奇霉素对照品溶液,进样测定,同日内测定 5 次,考察日内精密度;每日测定 1 次,连续测定 5 d,考察日间精密度。结果表明,日内 RSD 为 1.14%~2.21% ($n=5$),日间 RSD 为 4.11%~6.49% ($n=5$),满足测定要求。

(4)回收率试验。按除阿奇霉素外的处方量制备空白辅料溶液,加入阿奇霉素对照品,制备成质量浓度分别为 0.5、0.8、1.2 mg/ml 的样品溶液,各 3 份,进样测定,计算回收率,结果见表 1。

表 1 回收率试验结果($n=3$)

Tab 1 Results of recovery test($n=3$)

加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	平均回收率,%	RSD,%
5.030	5.090	101.2	99.15	1.909
5.070	5.010	98.82		
5.100	4.970	97.45		
8.160	8.280	101.5	100.4	1.047
8.080	8.100	100.2		
8.040	7.990	99.38		
12.12	12.04	99.34	100.0	1.297
12.31	12.21	99.19		
11.95	12.13	101.5		

(5)制剂含量测定。取阿奇霉素对照品和供试品溶液,进样测定,记录色谱,按外标法定量,计算阿奇霉素滴眼剂中阿奇霉素的含量,结果其为标示量的 90.0%~110.0%。

2.3.5 制剂稳定性。(1)高温试验。将同一批号(批号:20100418)阿奇霉素滴眼剂,除去包装后置于 60 $^{\circ}$ C 下放置 10 d,分别于第 5、10 天取样,进样测定,考察是否产生其他降解产物。结果与 0 时比较,色谱中没有杂质生成,第 10 天的色谱图见图 1。

(2)高湿试验。将同一批号(批号:20100418)阿奇霉素滴眼剂,除去包装后置于 25 $^{\circ}$ C、相对湿度 90.5% 下放置 10 d,分别于第 5、10 天取样,进样测定,考察是否产生其他降解产物。结果与 0 时比较,色谱中没有杂质生成,第 10 天的色谱图见图 1。

(3)强光试验。将同一批号(批号:20100418)阿奇霉素滴眼剂,除去包装后置于 4 500 lx 下放置 10 d,分别于第 5、10 天取样,进样测定,考察是否产生其他降解产物。结果与 0 时比较,色谱中没有杂质生成,第 10 天的色谱图见图 1。

(4)加速试验。取 3 批(批号:20090418,20090419,20090420)阿奇霉素滴眼剂,除去包装后置于 40 $^{\circ}$ C、相对湿度(75 \pm 5)% 下放置 6 个月。分别于 0、1、2、3、6 个月取样,进样测定,考察其颜色、澄明度、pH、渗透压和药物含量,结果见表 2。

(5)长期试验。取 3 批(批号:20090418,20090419,20090420)阿奇霉素滴眼剂,除去包装后置于(25 \pm 2) $^{\circ}$ C、相对湿度(60 \pm 10)% 下放置 24 个月。分别于第 0、3、6、9、12、18、24 个月取样,考察其颜色、澄明度、pH、渗透压和药物含量,结果见表 3。

考察结果表明,该制剂长期稳定性较好,有效期至少2年。

表2 加速试验结果(n=3)

Tab 2 Results of accelerating test(n=3)

时间,个月	颜色	澄明度	pH	渗透压,Osmol/kg	含量,%
0	无色	澄明	6.74	0.296	100.4±0.4
1	无色	澄明	6.77	0.291	101.7±0.3
2	无色	澄明	6.81	0.290	98.72±0.3
3	无色	澄明	6.84	0.287	101.3±0.2
6	无色	澄明	6.74	0.286	100.4±0.4

表3 长期试验结果(n=3)

Tab 3 Results of long-term test(n=3)

时间,个月	颜色	澄明度	pH	渗透压,Osmol/kg	含量,%
0	无色	澄明	6.74	0.296	100.4±0.4
3	无色	澄明	6.84	0.292	101.1±0.2
6	无色	澄明	6.78	0.291	100.3±0.3
9	无色	澄明	6.87	0.290	99.50±0.3
12	无色	澄明	6.79	0.288	99.17±0.3
18	无色	澄明	6.88	0.287	98.72±0.3
24	无色	澄明	6.90	0.285	98.61±0.4

2.3.6 眼刺激性实验。(1)单次刺激实验。取家兔6只,♀♂兼用,左眼滴100 μl生理氯化钠溶液作对照,右眼滴100 μl阿奇霉素滴眼剂,让受试兔眼被动闭合5~10 s后,分别于1、2、4、6、8、24 h,用荧光素钠检查兔眼角膜损害情况,用裂隙灯检查角膜、虹膜、巩膜、结膜及是否有分泌物生产。采用Draize眼部刺激试验进行刺激性评分^[7-8],评分标准为:0~3分表示无刺激性、4~8分表示轻度刺激性、9~12分表示中度刺激性、13~16分表示重度刺激性。观察结果显示,家兔双眼角膜透明、无浑浊,巩膜纹理清晰,结膜无充血、无水肿,有少量分泌物,未见家兔骚动不安,与对照眼比较差异无统计学意义,刺激性评分结果见表4。

表4 眼刺激性实验评分结果

Tab 4 Results of eyes irritation test

给药方式	药物	动物只数	观察时间点	眼部刺激反应分值总和	眼刺激反应平均分值
单次	生理氯化钠溶液	6	1、2、4、6、8、24 h	1	0.2
	阿奇霉素滴眼剂	6	1、2、4、6、8、24 h	2	0.4
多次	生理氯化钠溶液	6	5、6、7、8、9、10、11、12 d	1	0.2
	阿奇霉素滴眼剂	6	5、6、7、8、9、10、11、12 d	3	0.6
持续	生理氯化钠溶液	6	2 h	1	0.2
	阿奇霉素滴眼剂	6	2 h	3	0.6

(2)多次刺激实验。取家兔及给药剂量同单次刺激试验,每日9:00、11:00、13:00、15:00、17:00各给药1次,连续给药5 d停药,于末次给药后连续观察8 d,即5、6、7、8、9、10、11、12 d,对家兔眼刺激性进行评分,结果见表4。

(3)持续刺激实验。取家兔及给药剂量同单次刺激试验,每隔15 min给药1次,连续8次,即2 h,末次给药后对家兔眼刺

激性进行评分,结果见表4。

由表4结果可知,阿奇霉素滴眼剂对兔眼几乎无刺激性。

3 讨论

该制剂处方设计规格为100 mg/10 ml。阿奇霉素在水中难溶,经测定,37 ℃时阿奇霉素在生理适宜pH范围均达不到有效药物浓度。而药物在眼部的刺激性大小与药物的pH、浓度和渗透压密切相关。人眼所能耐受pH为5.0~9.0,本试验选择生理最适宜的近中性的pH 6.8的PBS作溶剂,研究的关键是使阿奇霉素达到规格浓度,并确保其生理适应条件下的稳定性。根据阿奇霉素弱碱性的特点试验曾采用β-环糊精包合、表面活性剂增溶及有机酸助溶法以增加其溶解量的方法来改善溶出行为。结果阿奇霉素在柠檬酸中溶解最完全、速度最快,其他方法达不到阿奇霉素滴眼剂拟制备浓度的要求。

家兔眼部刺激性实验按照目前国际上最常用的Draize眼部刺激实验法,在此基础上进行了单次、多次和持续性刺激实验,更全面地研究了滴眼剂的刺激性。剂量为每次0.05 ml,即1滴,与人的给药剂量1~2滴基本一致,兔眼睁开时无滴眼液溢出眼眶。结果证明,该制剂几乎无眼刺激性。眼用溶液的渗透压在0.230~0.490 Osmol/kg均可耐受,渗透压过高或过低不仅会导致角膜和结膜上皮脱水或水肿,产生刺激,还会反射性增加泪液分泌,造成药物稀释或流失。本试验中,阿奇霉素滴眼剂的渗透压为0.290 Osmol/kg左右,与泪液等渗,对眼无刺激。

参考文献

- [1] 徐玉侠.阿奇霉素的药理作用及临床应用[J].北方药学,2013,10(9):30.
- [2] 王宏,王超.阿奇霉素的临床应用[J].中国医药指南,2012,10(11):101.
- [3] 中国医药123网.加拿大卫生署批准细菌性结膜炎治疗药:AzaSite[EB/OL].(2009-04-08)[2014-03-14].http://www.cyy123.com/news.asp?id=46394.
- [4] 李妍,李金伟.缓释滴眼剂的研究进展[J].西藏科技,2013(10):52.
- [5] 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9.
- [6] 张琳,刘葵葵,王伶.阿奇霉素滴眼液有关物质检查方法的研究[J].药学研究,2013,32(1):20.
- [7] 梁光江,王延东,叶成添,等.滴眼剂中几种常用抑菌剂的兔眼刺激性实验[J].中国药房,2010,21(21):1964.
- [8] 董贤慧,钱涛,高维娟,等.纳他霉素滴眼剂对兔眼的刺激性研究[J].华西药学期刊,2011,26(1):34.

(收稿日期:2014-03-10 修回日期:2014-06-27)

《中国药房》杂志——中国科技论文统计源期刊,欢迎投稿、订阅