

星点设计-效应面法优化制备酒石酸溴莫尼定眼用温度敏感型原位凝胶

彭艺飞^{1*}, 黄 华^{1#}, 王 慧², 朱玉莲¹, 黄 波¹(1.重庆医科大学药剂学研究室, 重庆 400016; 2.重庆医药工业研究院, 重庆 400061)

中图分类号 R943;R988.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)45-4279-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.45.17

摘要 目的:制备酒石酸溴莫尼定眼用温度敏感型原位凝胶。方法:以泊洛沙姆407(P407)和泊洛沙姆188(P188)为凝胶基质,用冷溶法制备凝胶。采用星点设计-效应面法以相变温度(T_1)和模拟泪液稀释后的相变温度(T_2)为考察指标对P407、P188浓度进行二项式拟合,通过等高线重叠选择优化处方,对预测结果进行验证,并观察其外观、pH等。结果:优化后处方为50 ml凝胶中含有100 mg酒石酸溴莫尼定、26%P407、1.5%P188;所制制剂在室温(25℃)下为自由流动的液体,大于32℃时相变形成淡黄绿色透明凝胶; T_1 、 T_2 分别为26.3、31.8℃,pH为6.41。结论:成功制得符合眼用标准的酒石酸溴莫尼定眼用温度敏感型原位凝胶。

关键词 酒石酸溴莫尼定;星点设计-效应面法;温度敏感型原位凝胶;泊洛沙姆

Optimization of the Preparation Technology of Brimonidine Tartrate Ophthalmic Thermosensitive in Situ Gel by Central Composite Design-response Surface Methodology

PENG Yi-fei¹, HUANG Hua¹, WANG Hui², ZHU Yu-lian¹, HUANG Bo¹ (1. Pharmacy Research Laboratory, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China; 2. Chongqing Institute for Pharmaceutical Industry, Chongqing 400061, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To prepare Brimonidine tartrate ophthalmic thermosensitive in situ gel. METHODS: Using poloxamer 407 (P407) and poloxamer 188 (P188) as gel matrix, the gel was prepared by cold-dissolving method. The binomial model of P407 and P188 concentrations were fitted by central composite design-response surface methodology using phase-transition temperature (T_1) and phase-transition temperature (T_2) of simulated tear after diluted as index. The prescription was optimized with contour plot. The predictive data was validated, and the appearance and pH were observed. RESULTS: The optimized formulation was as follows: 100 mg brimonidine tartrate, 26% P407 and 1.5% P188 in 50 ml in situ gel; the preparation was free-flowing liquid at room temperature (25℃), and converted to pistac transparent gels when the trial temperature was higher than 32℃; T_1 and T_2 were 26.3℃ and 31.8℃, and pH was 6.41. CONCLUSIONS: Brimonidine tartrate thermosensitive in situ gel which meets the requirements for ophthalmic application is prepared successfully.

KEYWORDS Brimonidine tartrate; Central composite design-response surface methodology; Thermosensitive in situ gel; Poloxamer

眼睛是非常敏感的器官,其特殊的解剖学结构、生理学特征及特有的保护机制能有效避免外来刺激,同时由于泪液分泌、鼻泪管排出及眨眼反射等,使常规眼部给药时药物停留时间短、易流失^[1]。酒石酸溴莫尼定是一种新型高度选择性 α_2 肾上腺素能受体激动药,对 α_2 受体的选择性比可乐定高7~12倍,是用于治疗开角型青光眼的良药^[2]。

为了延长药物在眼球表面的滞留时间,提高药物对角膜的通透性,科研工作者设计了多种给药系统,其中凝胶剂是研究较多的眼用新剂型之一^[3]。眼用温度敏感型原位凝胶在室温贮存时为溶液状态,滴入结膜囊内后能迅速随环境温度的改变发生相的转变,形成凝胶,黏附于角膜和结膜囊表面,使药物在眼部的滞留时间延长,从而提高其生物利用度^[4]。

泊洛沙姆是目前制备温度敏感型原位凝胶中应用较多的

一种高分子材料,其包含疏水和亲水嵌段结构,由于温度变化改变了其内部氢键或疏水作用而导致物理形态发生变化^[5]。本研究采用星点设计-效应面法,以泊洛沙姆为辅料,制备了酒石酸溴莫尼定眼用温度敏感型原位凝胶,旨在解决眼用液体制剂滞留时间短、在眼部生物利用度低的问题。

1 材料

1.1 仪器

78-1 磁力加热搅拌器(常州市凯航仪器有限公司); HSG-C-4 电热恒温水浴锅(上海仪表供销公司); SQP 电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司); PHS-3C 型 pH 计(上海智光仪器仪表有限公司); UV2800 紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

泊洛沙姆 407 (P407, 批号: WPDH630B)、泊洛沙姆 188 (P188, 批号: WPOG565B) 均来自德国 BASF 公司; 酒石酸溴莫尼定原料药(武汉远成共创科技有限公司, 批号: Y1311005, 纯度: >99.0%); 酒石酸溴莫尼定对照品(山东博士伦福瑞达制

* 硕士研究生。研究方向:药剂学。电话:023-86502492。E-mail:84953939@qq.com

通信作者:教授。研究方向:药物新制剂与新剂型。电话:023-86502492。E-mail:huangh6001@163.com

药有限公司,批号:20000526A,纯度:99.8%);试验用水均为超纯水,所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 酒石酸溴莫尼定眼用温度敏感型原位凝胶的制备

采用冷溶法制备酒石酸溴莫尼定眼用温度敏感型原位凝胶,精密称取处方量P407、P188缓慢加入超纯水中,搅拌润湿,然后放入4℃冰箱过夜,等待充分溶胀,得到空白凝胶溶液。取酒石酸溴莫尼定原料药100 mg,加入空白凝胶溶液50 ml搅拌至完全溶解,即得。

2.2 相变温度的测定^[6]

取凝胶溶液2 ml倒入西林瓶,放入恒温水浴锅中,以0.5℃/min的速率缓慢升高水浴锅温度,每10 s倾斜西林瓶45°,观察瓶中液体的流动情况,液体不再流动时即为凝胶相变温度(T)。

2.3 泪液稀释对凝胶的影响

根据文献^[7]报道,结膜囊内泪液体积约为7 μ l,而溶液型眼用制剂每滴平均体积为40 μ l,因此本试验将凝胶制剂与模拟泪液(STF)按体积比40:7混合稀释,考察其相变能力,进行处方筛选优化。

按照 STF 配制方法,取6.7 g氯化钠、2.0 g碳酸氢钙和0.08 g二水氯化钙,用超纯水定容至1 L,用0.5 mol/L氢氧化钠调节pH为7.4^[8]。将制备的凝胶制剂与STF按体积比40:7的比例混合,测定混合前后的相变温度,以此反映凝胶的体内过程。

2.4 星点设计-效应面法优化处方

笔者前期单因素考察结果表明,P407和P188不同的用量对相变温度有显著影响,P407用量在20%~28%、P188用量在0~8%时,所得凝胶的相变温度在21~43℃,而其他用量P407与P188的处方所制凝胶的相变温度均不在此范围内。因此,考察因素定为P407的浓度(X_1 ,%, W/W)、P188的浓度(X_2 ,%, W/W),浓度的极值范围为 X_1 :20%~28%, X_2 :0~8%。根据星点设计-效应面法排列做13组试验,采用二项式回归分析,考察STF稀释前、后的相变温度 T_1 、 T_2 ,并对预测结果进行验证。

2.4.1 试验设计。按中心复合设计原理确定5个水平,求得星点设计因素水平见表1;共有13个组合,每个组合为1个处方,测量酒石酸溴莫尼定眼用温度敏感型原位凝胶经STF稀释前、后的相变温度 T_1 、 T_2 ,结果见表2(9~13号为重复试验)。

表1 星点设计因素水平取值

因素	-1.414	-1	0	1	1.414
X_1 , %	20	21.17	24	26.83	28
X_2 , %	0	1.17	4	6.83	8

表2 星点设计试验结果

序号	X_1 , %	X_2 , %	T_1 , °C	T_2 , °C
1	21.17	6.83	43.4	48.1
2	26.83	6.83	34.8	39.6
3	26.83	1.17	24.5	28.6
4	21.17	1.17	32.3	38.1
5	28	1.17	21.5	26.2
6	20	4	43.6	48.6
7	24	8	40.1	45.2
8	24	0	31.6	36.4
9~13	24	4	33.4	38.5

2.4.2 模型拟合。根据试验结果,采用SAS8.2统计软件,分别以 T_1 、 T_2 为指标对各因素进行二项式回归,所得二项式方程如下: $T_1=87.0486-2.8992X_1+0.3012X_2+0.0198X_1^2+0.0905X_2^2+0.0207X_1X_2$ ($r=0.9712$), $T_2=93.6582-2.8186X_1-0.5656X_2+0.0136X_1^2+0.0583X_2^2+0.0837X_1X_2$ ($r=0.9778$)。

2.4.3 效应面优化。采用Origin8.0软件绘制 T_1 、 T_2 的三维效应面图和二维等高线图。 T_1 、 T_2 与 X_1 、 X_2 的三维效应面图见图1,等高线图见图2。

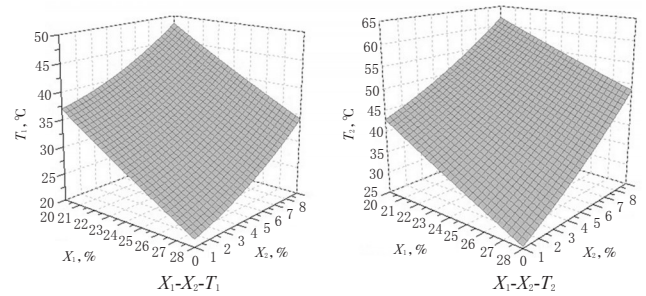


图1 X_1 、 X_2 与 T_1 、 T_2 的三维效应面图

Fig 1 Three-dimensional response surface of X_1 and X_2 to T_1 and T_2

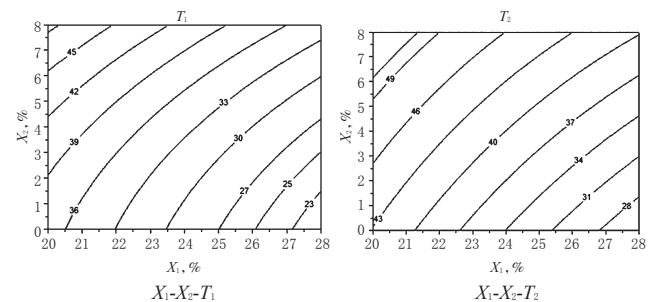


图2 X_1 、 X_2 与 T_1 、 T_2 的等高线图

Fig 2 Contour map of X_1 and X_2 to T_1 and T_2

由图1可见,当固定P407的浓度,随P188浓度增加,相变温度呈先升后降趋势;当固定P188的浓度,相变温度随P407浓度的增加而降低。根据眼部的特殊生理构造,理想的眼用温度敏感型原位凝胶制剂应在室温下为液体,滴入眼结膜囊内能迅速形成凝胶,即 $T_1 \geq 25$ ℃, $T_2 \leq 34$ ℃。因此将图2中 T_1 、 T_2 等高线图叠加,阴影部分即为优化区域,叠加图见图3。

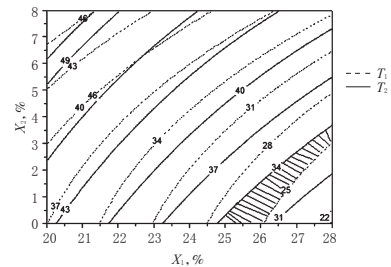


图3 二维等高线叠加图

Fig 3 Superimposed two-dimensional contour diagrams

2.4.4 处方验证。采用Design-Expert 8.0软件优化,给出5个处方。根据处方制备凝胶,分别测其STF稀释前后的相变温度,对预测值和实测值进行偏差分析。结果显示,处方2偏差值最小,且 T_1 、 T_2 实测值符合眼部用药标准。所以,处方2为最优处方,即50 ml眼用温度敏感型原位凝胶中含有100 mg酒石

酸溴莫尼定以及26% P407和1.5% P188。该处方配制的用眼温度敏感型原位凝胶在室温(25℃)下为可流动的液体,温度上升至32℃后形成凝胶。处方验证及偏差见表3。

表3 处方验证及偏差

Tab 3 Formulation validation and deviation

处方编号	$X_1, \%$	$X_2, \%$	T_1			T_2		
			预测,℃	实测,℃	偏差, %	预测,℃	实测,℃	偏差, %
1	25.5	1	26.9	26.6	1.13	32.2	32.0	0.63
2	26	1.5	26.5	26.3	0.76	32.0	31.8	0.63
3	26.5	2	26.2	25.8	1.55	31.9	31.5	1.27
4	27	2.5	25.9	25.6	1.17	31.8	31.5	0.95
5	27.5	3	25.7	25.3	1.58	31.8	31.2	1.92

2.5 外观、黏度和pH测定

2.5.1 外观形态。结果表明,最优处方所制制剂在室温(25℃)时外观为淡黄绿色澄明液体,当温度大于32℃时为淡黄绿色透明凝胶。

2.5.2 黏度测定。分别取一定量STF稀释前、后的酒石酸溴莫尼定眼用温度敏感型原位凝胶放入烧杯中,缓慢升高凝胶溶液温度,用NDJ-1型旋转黏度计测定其在室温(25℃)以及加热胶凝后的黏度。结果显示,该凝胶在25℃经STF稀释前、后黏度分别为(0.260 7 ± 0.026 6) Pa·s和(0.221 0 ± 0.031 0) Pa·s;在32℃经STF稀释前、后黏度分别为(0.510 0 ± 0.026 5) Pa·s和(0.480 0 ± 0.030 0) Pa·s。表明所制凝胶在非生理条件下(25℃)为黏度小、流动性良好的液体制剂,经过STF稀释前、后,在32℃时能发生胶凝形成黏度较大的凝胶,从而增加在眼部滞留的时间。

2.5.3 pH测定。对所制酒石酸溴莫尼定眼用温度敏感型原位凝胶的pH进行测定,结果为6.41,表明符合眼用制剂标准。

2.6 含量测定方法学验证

2.6.1 最大吸收波长的确定。采用紫外-可见分光光度法,在200~600 nm波长范围对酒石酸溴莫尼定溶液进行紫外扫描,测得其最大吸收波长为246 nm,对空白凝胶溶液预处理后扫描在246 nm波长处无最大吸收峰。

2.6.2 标准曲线的制备。精确配制质量浓度分别为4.0、6.0、8.0、10.0、12.0、14.0 μg/ml的酒石酸溴莫尼定溶液,在246 nm波长处测定其吸光度,以吸光度值(A)和质量浓度(c)进行线性回归,得到回归方程 $c=0.047\ 5A+0.090\ 4$ ($r=0.999\ 6$),表明线性关系良好。

2.6.3 精密度试验。取同一酒石酸溴莫尼定溶液,依法测定其吸光度值5次,RSD为1.14%,表明此法精密度良好。

2.6.4 重现性试验。取5份酒石酸溴莫尼定溶液,依法测定,得到吸光度的RSD为0.92%,表明此法重现性良好。

2.6.5 回收率试验。在空白凝胶中加入适量的酒石酸溴莫尼定,混匀后测定其吸光度,平行测定3次,计算平均回收率为

96.45%,RSD为0.73%($n=3$)。

2.6.6 稳定性试验。取同一酒石酸溴莫尼定眼用温度敏感型原位凝胶,室温下放置2、4、8、12、24 h,测得溶液吸光度的RSD为0.96%,表明酒石酸溴莫尼定凝胶在24 h内稳定性良好。

2.6.7 含量测定。精密称取酒石酸溴莫尼定对照品适量,加水溶解并稀释成每1 ml中含约10 μg的溶液,按照紫外-可见分光光度法在246 nm波长处测定吸光度;另取3份所制酒石酸溴莫尼定眼用温度敏感型原位凝胶,用水定量稀释成每1 ml中含约酒石酸溴莫尼定10 μg的溶液,预处理后测定,计算含量结果分别为95.6%、98.4%、96.2%。

3 讨论

本文选用倾斜西林瓶法测定凝胶相变温度,该法较搅拌子法操作更加方便,影响因素仅为水浴锅升温速率。对所制得的凝胶黏度、pH等进行测定,均符合《中国药典》标准。

相比于采用的正交设计和均匀设计筛选处方,星点设计-效应面法通过球面设计的原理,在中心极值点周围对试验重复验证,并建立数学模型绘制效应面图,将等高线重叠,便于直观确定优化处方。该法试验次数少,精度更准确。

参考文献

- [1] Kaur IP, Kanwar M. Ocular preparations: the formulation approach[J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2002, 28(5): 473.
- [2] 付梦军,张浩润,王锐,等.0.2%酒石酸溴莫尼定滴眼液在改善近视患者屈光手术后夜间视觉质量的研究[J]. *临床眼科杂志*, 2012, 20(3): 229.
- [3] 徐蓓蓓,钱海滨,叶琼,等.新型眼部给药缓控释系统的研究进展[J]. *医学信息:上旬刊*, 2011, 24(5): 3 190.
- [4] Nanjawade BK, Manvi FV, Manjappa AS. In situ-forming hydrogels for sustained ophthalmic drug delivery[J]. *J Control Release*, 2007, 122(2): 119.
- [5] 项佳音,杨洪军,熊欣,等.常见温度敏感型原位凝胶载体的研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(2): 252.
- [6] 孙思雨,马涛,王清清.星点设计-效应面法优化及制备安妥沙星眼用温度敏感原位凝胶[J]. *蚌埠医学院学报*, 2013, (38)7: 869.
- [7] Wei G, Xu H, Ding PT, et al. Thermosetting gels with modulated gelation temperature for ophthalmic use: the rheological and gamma scintigraphic studies[J]. *J Control Release*, 2002, 83(1): 65.
- [8] 郝吉福,赵雪梅,王建筑,等.温度敏感型盐酸小檗碱眼用原位凝胶的制备研究[J]. *中草药*, 2010, 41(4): 550.

(收稿日期:2014-06-19 修回日期:2014-09-06)

《中国药房》杂志——《化学文摘》(CA)收录期刊,欢迎投稿、订阅