维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253－3626(2004)05－0696－03

环孢素 A 滴眼液的研制

左六一[1], 解 新[2], 赵 语[1], 王晓江[1]

(1.重庆医科大学临床学院药剂科,重庆 400016;2.重庆医科大学附属口腔医院药剂科,重庆 400001)

【摘 要】目的:建立了环孢素 A 滴眼液的制备方法。方法:采用蓖麻油制备环孢素 A 滴眼液,用 HLPC 测定制剂中环孢素 A 的含量,并对制剂的稳定性进行了考察。结果:本研究研制的环孢素 A 滴眼液制备工艺简单,质量稳定,含量测定快速、准确。结论:该制剂工艺可用于常规制备环孢素 A 滴眼液。

【关键词】环孢素 A;滴眼液;含量测定;稳定性

【中国图书分类法分类号】R978.1 【文献标识码】B 【收稿日期】2003－10－21

Research and preparation of cyclosporine A eyedrops

ZOU liuyi, et al

(*Department of Pharmacy, College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To establish the prescription and preparing procedure for the cyclosporine A eyedrops. *Methods*: The cyclosporine A eyedrops was prepared from castor oil. The cyclosporine A content of the preparation was determined by HPLC, and stability of the preparation was examined, too. *Results*: The results showed the procedure of preparation was simple, and the quantitative determination was quick, and accurate while the quality was reliable. *Conclusion*: The procedure described here can be uesed to prepare the cyclosporine A eyedrops.

【Key words】Cyclosporine A; Eyedrops; Quantitative determination; Stability

环孢素 A(Cyclosporine A, CsA)是由 11 种氨基酸组成的环状化合物;它是由霉菌培养而产生的代谢物再经提取而得。由于它具有强大的免疫抑制作用,临床上主要用于心、肝、肾、骨髓等器官移植后免疫反应的抑制和其他疾病治疗[1,2]。近年来,CsA 在眼科手术上得到了广泛的应用[3~5]。CsA 滴眼液可抑制因角膜移植而产生的免疫排斥反应。眼局部用药可在角膜中保持较高浓度,同时血药浓度很低[6],从而在提高疗效的情况下降低了毒副作用。本院自 1999 年开始,用蓖麻油制备 CsA 滴眼液,进行角膜移植术后治疗 80 余例,取得了良好的临床效果,且给药方法易于患者接受,避免了全身用药的高额费用。为了满足临床用药需求,本文对 CsA 滴眼液的处方、制备工艺、含量测定及稳定性进行了研究,经几年的临床应用,效果满意。现将研究结果报道如下。

作者介绍:左六一(1955－),男,副主任药师,
主要研究方向:药物制剂。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

日本岛津 LC－10A 高效液相色谱仪、SPD－10A 可调波长检测器、C－R7A eplus 数据处理器;日本岛津 UV－1240 可见紫外分光光度计;日本岛津 shim—pack 色谱柱(150mm×4.6mm);YB－3 型澄明度检测仪(天津大学精密仪器厂);HY－01 型恒温水浴(绍兴柯桥医疗器械厂);CsA 对照品(含量 99.40%,福州抗生素集团有限公司);药用蓖麻油(湖北天门市第二制药厂);无水乙醇(AR 重庆化学试剂总厂);乙腈(一级色谱纯,浙江省临海市有机化工二厂);重蒸馏水(自制)。

1.2 制备工艺

1.2.1 处方

环孢素 A20g,蓖麻油适量,全量 1000ml。

1.2.2 制法

在无菌条件下,称取 CsA20g,加入 1000ml 刻度烧瓶中,加经灭菌后的蓖麻油 900ml,置入 60℃恒温水浴中,搅拌至全溶解,加蓖麻油至全量,搅匀,含量测定合格后,60℃保温下滤过,分装即得。

维普资讯 http://www.cqvip.com

2 质量控制

2.1 性状

本品为淡黄色或黄色的澄明油状液体。

2.2 鉴别

取本品,照含量测定项下的方法试验,供试品主峰的保留时间应与对照品主峰的保留时间一致。

2.3 含量测定

2.3.1 色谱条件

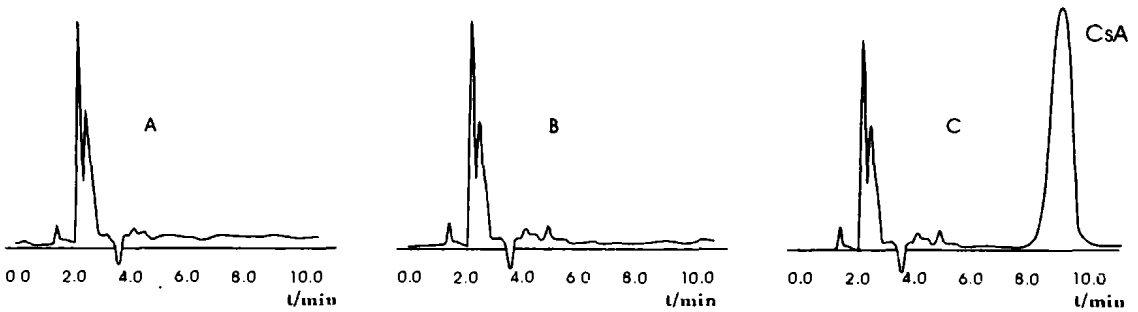
流动相:乙腈—水(75:25);检测波长:210nm;柱温:55℃;流速:1.0ml/min;灵敏度:0.5AUFS;保留时间:11min;进样量:10μl。

2.3.2 对照品储备液的配制

精密称取 CsA 对照品约 50mg,置于 50ml 量瓶中,用无水乙醇稀释至刻度,摇匀,用时稀释。

2.3.3 可行性试验

精密量取上述对照品储备液 0.5ml,置 10ml 量瓶中,用无水乙醇稀释至刻度(浓度为 50μg/ml),另取蓖麻油 0.5ml 用无水乙醇稀释至 50ml,用岛津 UV-1240 型可见紫外分光光度计,分别在波长 190~300nm 范围内扫描,测得 λ_{max} = 204nm。蓖麻油在 204nm 处无吸收。根据文献报道,选择检测波长为 210nm。分别取无水乙醇溶液,无水乙醇加蓖麻油(50ml 含蓖麻油 0.5ml)溶液,无水乙醇加蓖麻油加 CsA(含 CsA50μg/ml)溶液 10μl 依次注入高效液相色谱仪,记录色谱图,见图。CsA 保留时间为 11min,各峰分离良好。



A—无水乙醇　　B—无水乙醇+蓖麻油　　C—无水乙醇+蓖麻油+CsA

A—无水乙醇　　B—无水乙醇 + 蓖麻油　　C—无水乙醇 + 蓖麻油 + CsA

2.3.4 线性关系考察

精密量取对照品储备液 0.1、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0mL,分别置于 10ml 量瓶中,用无水乙醇稀释至刻度,摇匀,依次进样 10μl,以峰面积对对照品溶液浓度进行线性回归得到回归方程和相关系数为:$Y = 5.19 \times 10^{-7}X - 1.35 \times 10^{-2}$;r = 0.9998。CsA 的线性范围为 10~500μg/ml。

2.3.5 回收率测定

精密量取对照品储备液 0.5、2.0、4.0ml,分别置于 10ml 量瓶中,用无水乙醇(配成 100ml 中含蓖麻油 1.0ml)稀释至刻度,依照样品含量测定项下方法操作,计算回收率,结果见表 1。

表 1 CsA 的回收率测定结果(n = 5)

CsA 含量(μg·ml^{-1})	回收率(%)	RSD%
50	99.40	1.78
200	101.85	1.71
400	100.54	1.31

2.3.6 样品含量测定

精密量取对照品储备液 2.0ml,置于 10ml 量瓶中,用无水乙醇定溶,摇匀;另量取 CsA 滴眼液(5ml:100mg)1.0ml(或精密称取样品约 1g),置于 100ml 量瓶中,用无水乙醇定溶,摇匀。取上述对照液和样品液各 10μl 注入高效液相色谱仪,记录色谱图。用相同方法测定,按外标一点法,以峰面积计算制剂中 CsA 的含量。本品含 CsA 的量,应为标示量的 90%~110%。测得的 3 批样品含量见表 2。

表 2 3 批 CsA 滴眼液含量测定结果(n = 4)

样品批号	标示量(%)	RSD%
000128	93.30	1.50
000406	101.39	1.23
000412	99.84	1.36

2.4 澄明度检查

照澄明检查细则和判断标准的滴眼剂规定(《中国药典》)2000 版二部附录 XF)检查,应符合规定。

2.5 微生物限度

照微生物限度检查法(《中国药典》2000 版二部附录XIJ)检查,应符合规定。

2.6 其它

维普资讯 http://www.cqvip.com

应符合滴眼剂项下有关的各项规定(《中国药典》)2000 版二部附录 IJ)。

2.7 规格

5ml:100mg。

3 稳定性考察

3.1 光稳定性试验

将装有 CsA 滴眼液的安瓿封口,置于澄明度检测仪中,光强度调至 3000LX,室温光照 10 天,于 1、3、5、10 天取样测定,与相同批号闭光放置的 CsA 滴眼液比较,结果表明,本品在光照条件下稳定,各项指标均符合要求。

3.2 热稳定性试验

将装有 CsA 滴眼液的安瓿封口,置于 40、60、80℃的恒温箱中考察 10 天,于 1、3、5、10 天取样测定,与室温放置的相同批号的 CsA 滴眼液比较。结果表明,本品在 40℃和 60℃恒温考察 10 天,各项指标符合要求,但在 80℃时 CsA 含量显著降低,溶液颜色变深,高效液相色谱图可见明显降解产物峰。

3.3 恒温加速试验

将 3 批 CsA 滴眼液装入玻璃瓶中加塞、铝盖封口,置于 40℃及相对湿度 75%条件下的恒温水浴中,考察 3 个月,每日取样测定,与室温放置的相同批号的 CsA 滴眼液比较,结果表明,本品的物理化学稳定性良好,各项指标基本无变化。

4 讨 论

CsA 在蓖麻油中溶解缓慢,制备时加热到 60℃以缩短配制时间,温度应控制在 60℃以下,避免 CsA 的分解。灭菌蓖麻油是将蓖麻油装入高温瓶中,加塞封口,经 115℃热压灭菌 15min 后备用。

本品的含量测定是采用 HPLC 测定 CsA 含量,其分析方法快速、准确、可靠,有关方法学研究将另文发表。从色谱图看,保留时间为 10min,但在实际测定中,制剂的浓度高,其峰面积较宽,故保留时间定为 11min。

本制剂的稳定性与文献[7]报道的 CsA 其它相关制剂稳定性相近。但考虑到医院制剂的特点,储藏期在 3~6 个月为宜。

参 考 文 献

[1] Cohen DJ, Loertscher R, Rubin MF, et al. cyclosporine A: a new immunosuppressive agent for organ transportation[J]. Ann Intern Med, 1984;101:667.

[2] Borel JF. The cyclosporine[J]. transplant proc, 1989;21:810.

[3] Kiessebaeh GF, Haria. SJ, Kurijani, et al. cyclosporine drops after kerato plasty autspektum augen heikd[J]. Drug Lev Ind Pharm, 1987;1:89.

[4] 刘光远,张瑞雪,阎亦农. Mooren 角膜溃疡免疫治疗学研究[J]. 眼科研究,1990;8(4):214.

[5] 赵京城,金秀英. 环孢素 A 滴眼液治疗重症蚕食性角膜溃疡[J]. 中华眼科杂志,1992;28(3):139.

[6] 袁 成,蒋 华,王景祥,等. 兔角膜环孢素 A 含量测定及经时过程[J]. 中国临床药学杂志,1998;7(6):287.

[7] 叶国庆,严宝霞,张 强. 环孢素 A 微乳浓缩液的制备及稳定性研究[J]. 中国医药工业志,1999;30(7):299-301.

* *

(上接第 692 页)

colposcopy[J]. Obstet Gynecol, 1991;77:313-314.

[3] 宋学红,王秋曦,宋玉芬. 影视阴道镜在子宫颈病变诊断中的应用[J]. 中华妇产科杂志,2001;36:278-281.

[4] 章文华,孙建衡,吴爱如,等. 宫颈癌普查中应用阴道镜的初步报告[J]. 中华肿瘤杂志,1994;16:59-62.

[5] Hutchinson M, Isenstein L, Goodman A, et al. Homogeneous sampling accounts for the increased diagnostic accuracy using the ThinPrep R processor; subsampling - a problem with Pap smears[J]. Am J Pathol, 1994;101:215-219.

[6] Kierkegaard O, Byrjalsen C, Frandsen KH, et al. Diagnostic accuracy of cytology and colposcopy in cervicar squamous intraepithelial lesions[J]. Acta Obstet Gynecol Scand, 1994;73:648-651.