DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.03.034
第24卷第3期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 3
2002年3月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Mar. 2002

文章编号:1000-5404(2002)03-0317-03

论著

环孢素滴眼液的制备及质量控制

李永新,冉光炳,代 青,刘松青,王章阳 (第三军医大学附属西南医院药剂科,重庆 400038)

提 要:目的 研究环孢素滴眼液的制备,建立质量控制方法。方法 采用高效液相色谱法测定环孢素滴眼液含量,观察家兔刺激性试验、稳定性试验和初步临床使用。结果 环孢素标准曲线在1~5 μg(r=0.9999)之间有较好的线性关系,含量测定平均回收率为(102.18±1.18)%,日内、日间RSD分别小于1.71%、0.84%。结论 本制备工艺简单,质控方法可靠,可满足临床用药需要。

关键词:环孢素滴眼剂;制备;质量控制;HPLC
中图法分类号:R944.1;R988.1 文献标识码:A

Preparation and quality control of Ciclosporin eye-drops

LI Yong-xin, RAN Guang-bin, DAI Qing, LIU Song-qing, WANG Zhang-yang (Department of Pharmacy, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: **Objective** To establish the procedures to produce Ciclosporin eye-drops and a sound way for quality control. **Methods** Ciclosporin of 2 g was dissolved in sterilized-oil for injection and then adjusted to 100 ml. High performance liquid chromatography (HPLC) was used to determine the contents of Ciclosporin in the prepared eye-drops. Rabbit stimulation test, stability test, and primary clinical application test were carried out. **Results** The standard curve of Ciclosporin showed a better linear relation when the agent was within 1~5 μg. The average retrieval rate was (102.18±1.18)% in the testing of Ciclosporin content. The relative standard deviation (RSD) of internal and interval day discrepancy was lower than 1.71% and 0.84% respectively. The eye-drops showed no stimulation to rabbit eyes and better stability in 6-month storage. Its clinical efficiency was satisfactory. **Conclusion** The preparation of Ciclosporin eye-drops is easy in process, reliable in quality control, and stable in property, so it is suitable for clinical usage.

Key words: Ciclosporin eye-drop; preparation; quality control; high performance liquid chromatography

环孢素(Ciclosporin)是一种新型强效免疫抑制剂,广泛用于器官移植手术后的抗排斥反应[1]。环孢素口服给药,可有效地治疗多种与免疫有关的眼科疾病,但常引起严重的不良反应,如肝、肾损害等。因口服给药难以在角膜达到有效浓度,可能影响治疗效果。为提高角膜局部环孢素浓度,减少全身用药的不良反应,近年来已开展环孢素眼用制剂的研究和应用[2,3]。我们将环孢素配制成滴眼液应用于临床,取得较好疗效,现报道如下。

1 药品与仪器

1.1 药品

环孢素(福州抗生素集团有限公司,批号000807),环孢素对照品(瑞士山道士药厂提供),注射用大豆油(铁岭北亚药用油有限公司,批号001205)。

1.2 试剂

甲醇(色谱纯),氯仿(AR),去离子水。

1.3 仪器

Waters 2690液相色谱仪,996二极管阵列检测器。

2 处方与制备工艺

2.1 处方

环孢素2 g,注射用油加至100 ml。

2.2 制备

取注射用油适量,150 ℃干热灭菌2 h,冷却至50 ℃以下,加入环孢素,搅拌溶解并加至全量,搅匀,装于洁净的5 ml滴眼管中即可。

3 质量控制

3.1 性状

本品为无色或微黄色澄明油状液体。

3.2 标准

应符合《中国药典》(二部)2000年版附录滴眼剂项下有关规定。

3.3 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。

3.4 含量测定

3.4.1 对照品溶液的配制 精密称取环孢素对照品25 mg置25 ml量瓶中,用甲醇溶解并加至刻度,混匀,备用。取上述溶液5 ml于25 ml量瓶中,用甲醇:氯仿(4∶1)的混合液稀释至刻度,混匀;备用。

3.4.2 样品液的配制 取环孢素滴眼液1 ml置10 ml量瓶中,用氯仿稀释至刻度,混匀;取上述溶液1 ml于10 ml量瓶中,用甲醇:氯仿(4∶1)的混合液稀释至刻度,混匀,备用。

3.4.3 空白样品溶液制备 根据处方配制无环孢素空白样品,照样品液配制方法配制空白样品溶液。

3.4.4 色谱条件及色谱图 μ-Bondapak C18柱(9 mm×300 mm,10 μm);流动相:甲醇:水(83∶17,v/v);流速1.5 ml/min;检

作者简介:李永新(1963-),男,四川省眉山市人,主管药师,主要从事医院制剂方面的研究,发表论文13篇。电话:(23)68754576

收稿日期:2001-08-24;修回日期:2001-12-24

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

测波长 225 nm; 柱温 50 ℃。在上述色谱条件下, 空白、对照品及样品色谱图见图 1。由图 1 可见环孢素滴眼液中其它组分不干扰环孢素的测定。

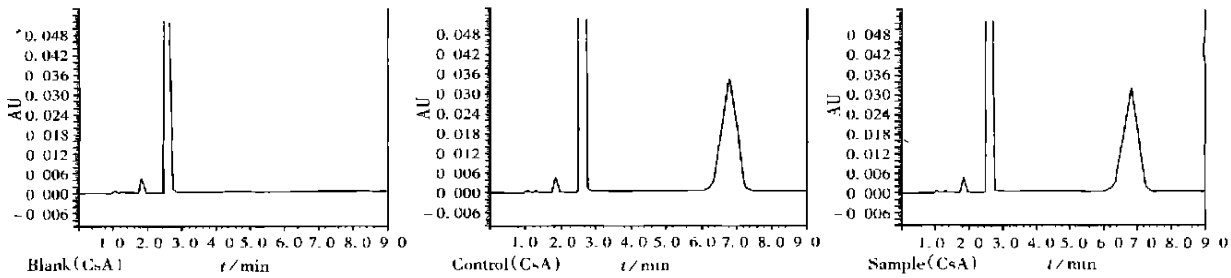


图 1 环孢素空白、对照品、样品色谱图

A: 空白色谱图; B: 对照品色谱图; C: 样品色谱图

Fig 1 Chromatogram of blank, control and sample ciclosporin

A: Blank; B: Control; C: Sample

3.4.5 标准曲线的制备 取 0.2 mg/ml 环孢素对照品溶液, 分别进样 5、10、15、20、25μl。在上述色谱条件下记录色谱图, 测定峰面积, 用对照品进样量(C, μg)对峰面积(R)进行线性回归, 得环孢素回归方程为: $C = -0.01849 + 1.942 \times 10^{-6} R$, r=0.9999, 环孢素在 1~5 μg 范围内有较好的线性关系。

3.4.6 加样回收率试验 取已知浓度的样品液(0.1922 mg/ml)0.5 ml 于 3 个量瓶中, 分别加入浓度为 0.2、0.4、0.8 mg/ml 的环孢素对照品溶液 0.5 ml, 混合, 进样 10μl, 测定其中环孢素含量, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 加样回收率测试结果

Tab 1 Results of determination and retrieval rates of the samples

Sample(μg)	Standard sam-ple(μg)	Measured-value(μg)	Retrieval rate(%)	Mean retri-eval rate(%)	Relative standard deviation(%)
0.9610	1	1.9780	100.87		
0.9610	2	3.0543	103.15	102.18±1.18	1.15
0.9610	4	5.0853	102.51		

3.4.7 精密度试验结果 取高、中、低三个浓度标准液于日内和日间分别进样, 结果见表 2、3。

表 2 日内精密度试验结果(RSD, $n=3$)

Tab 2 Results of precise determination on internal day ($n=3$)

Sample (μg)	Measured value(μg)	RSD(%)
1	1.018	1.71
3	3.003	0.92
5	4.996	0.18

表 3 日间精密度试验结果(RSD, $n=3$)

Tab 3 Results of precise determination at interval day ($n=3$)

Sample(μg)	Measured value(μg)	RSD(%)
1	0.970	0.84
3	2.978	0.14
5	4.973	0.20

3.4.8 样品测定 取环孢素滴眼液, 照样品液配制方法制备样品液, 进样 10μl, 记录色谱峰, 测定峰面积, 计算环孢素含量, 精密度试验经测定, 批号为 010106、010107、010108 的三批样品含量分别为 95.38%、96.10%、97.20%。

3.5 刺激性试验

选健康成年家兔 4 只, 体重 2.5~3 kg, 每只兔左眼滴入环孢素滴眼液 0.1 ml, 右眼滴入生理盐水 0.1 ml, 按文献[4]标准观察评分, 结果表明, 本品无刺激性, 眼用安全。

3.6 稳定性试验

将本品遮光, 密封, 在阴凉处保存 6 个月, 考察其性状, 色泽, 含量等各项指标均未见明显变化。

3.7 临床应用

角膜移植术后的抗排斥反应(40 例)和蚕蚀性角膜溃疡(2 例), 所有病例均未出现与应用环孢素滴眼液有关的全身性并发症, 85%以上病例用药后取得明显的治疗效果。

4 讨论

本制剂选用注射用大豆油作为溶剂, 使环孢素滴眼液剂具有较好的粘性, 作用时间长, 刺激性小等特点。与口服环孢素比, 无全身性并发症, 不良反应少见。个别患者可能出现睫毛脱落、过敏等症状, 停药后可自愈。

环孢素滴眼液按《中国药典》(二部)2000 年版滴眼剂通则下检测, 微生物限度和无菌检查均符合规定, 其他原辅料配制前均经灭菌处理。制备时严格按无菌操作法于 100 级净化台内进行。

HPLC 法应用于环孢素滴眼液含量测定, 专属性强, 分析速度快, 准确度和精密度均满足要求, 适用于

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

常规测定。

参考文献：

[1] 沙　波, 刘敦贵, 叶启发, 等. 肝、肠联合移植后的免疫抑制治疗体会[J]. 中华器官移植杂志, 2000, 21(5): 283－284.
[2] 高伟峰, 黎晓新. 局部应用环孢素 A 口服液防治角膜移植排斥反应的观察[J]. 中国实用眼科杂志, 1999, 17(3): 149－150.
[3] Chen J, Xie H, Wang Z, *et al*. Mooren's ulcer in China: a study of clinical characteristics and treatment[J]. Br J Ophthalmol, 2000, 849(11): 1 244－1 249.
[4] 章元沛. 药理学实验[M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1996. 223.

（编辑　陈聪连）

文章编号: 1000-5404(2002)03-0319-01

个案与短篇

重庆地区儿童肺吸虫病 175 例报告

A 175-case-report of child pulmonary trematodiasis in Chongqing area

邓丽娟, 符　州　（重庆医科大学儿童医院, 重庆 400014）

重庆地区是四川肺吸虫的主要流行区。四川肺吸虫病临床表现多样而复杂, 为提高对本病的认识, 现将我院 1978 至 1999 年 22 年间收治的儿童肺吸虫病 175 例报告如下。

1　临床资料

1.1　诊断标准

①有疫区生活史并有食生蟹史。②有肺吸虫病临床表现。③肺吸虫抗原皮试阳性, 周围血嗜酸性细胞增高。④游走性皮下包块或病理活检证实者。经抗肺吸虫治疗有效。

1.2　一般资料

175 例中农村 133 例(78.2%), 城镇 42 例(21.8%)。男 122 例, 女 53 例, 男∶女 2.4∶1, 年龄最小 2 岁, 平均 8.2 岁。有食生蟹史 162 例(92.6%), 饮溪水 7 例, 6 例不详。潜伏期平均 7.8 月, 最短者半月, 最长达 6 年。

1.3　临床表现

游走性皮下包块 62 例(35%), 包块最多者 10 个, 最大者 8.5 cm×7.0 cm, 包块存在时间 5 d 至 2.5 年。发热、乏力 155 例, ? 消瘦 37 例, 盗汗 32 例, 呕吐 54 例, 腹痛 46 例, 咳嗽 91 例, 均较轻, 咯痰 27 例, 3 例痰中带血。胸腔积液 61 例, 合并腹水 4 例, 合并心包积液 4 例, 心包积液 26 例。脑型 26 例, 分别表现为癫痫样发作、偏瘫、头痛、呕吐、语言障碍。

1.4　实验室及辅助检查

外周血白细胞计数超过 10×10^9/L 者 105 例, 嗜酸性粒细胞百分比均高于正常值, 最高达 80%, 嗜酸性粒细胞计数高于正常值者 165 例, 最高达 36.8×10^9/L。全部病例均查大便, 1 例发现肺吸虫虫卵。肺吸虫皮试 128 例, 阳性至强阳性 111 例。胸腹水及心包积液检查: 均为渗出液, 外观多样化, 主要为血性、黄浑、棕色、脓性。病理学检查: 6 例皮下包块活检, 5 例见大量嗜酸性细胞及夏科雷登晶体, 1 例仅见少量呈红细胞状及无结构的嗜伊红物质。

1.5　治疗及转归

用别丁治疗 84 例, 剂量为 50～60 mg(kg·d), 20 d 为 1 疗程, 满 1 疗程以上治愈者 26 例, 未满 1 疗程明显好转出院 54 例, 4 例无效改用吡喹酮治愈。用吡喹酮治疗 75 例, 剂量为 30 mg/kg, 总量分 2 d 服, 住院期间治愈者 24 例, 余好转出院。别丁和吡喹酮应用中均出现不同程度的副作用, 前者有 18 例出现恶心、呕吐、腹痛、腹泻及体温升高, 后者有 8 例出现神萎、头昏、头痛、腹痛、皮肤搔痒等, 均能耐受, 未影响治疗过程。

2　讨论

四川肺吸虫病因其幼虫在人体内不能发育为成虫, 可移行到身体各组织器官, 造成多系统损害, 临床表现及胸部 X 线大多无特异性, 可以看到多组织器官损害而出现的症状和体征[1], 往往易造成误诊, 应引起临床医生重视, 对于来自疫区患儿应详细询问有无食生蟹史, 游走性皮下包块为较特异表现, 对于外周血或胸腹水、脑脊液中嗜酸性细胞明显增高患儿, 应结合病史, 适时行肺吸虫皮试或用药物诊断性治疗, 以达到早期诊断、早期治疗。

治疗方面, 80 年代以前用别丁治疗为主, 获得较好疗效, 但服药时间长, 毒副作用相对较大, 90 年代逐渐代之以吡喹酮, 显出良好疗效, 且毒副作用较轻, 缺点是复发率相对较高, 若增加疗程数(平均 3 个疗程), 则可大大降低复发率[2,3]。

关键词: 肺吸虫病; 儿童
中图法分类号: R725.322　　文献标识码: B

参考文献：

[1] 吴仕孝, 陈永芬, 徐天鹤. 四川所见小儿肺吸虫病(附 185 例报告)[J]. 中华儿科杂志, 1979, 17(2): 92－95.
[2] 钱永如, 邓蕾丽, 陈　源, 等. 四川地区并殖(肺)吸虫病心包炎的诊断和治疗(附 61 例报告)[J]. 中华儿科杂志, 1984, 22(3): 150－153.
[3] 张　兵, 雷发国. 34 例肺吸虫病误诊临床分析[J]. 中华传染病杂志, 1998, 16(1): 54－55.

（编辑　王　红）

作者简介: 邓丽娟(1965－), 女, 四川省乐山市人, 主治医师, 主要从事儿科临床方面的研究。电话(0833)2443077

收稿日期: 2001-02-09; 修回日期: 2001-08-04

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net