

复方熊胆眼用即型凝胶的制备和质量控制

★ 龚楚良 黄志元 (江西珍视明药业有限公司 抚州 344000)

摘要:目的:探讨复方熊胆眼用即型凝胶的制备和质量控制方法。方法:采用液相色谱法对其中的熊胆粉进行含量测定。结果:牛磺熊去氧胆酸含量在 0.175~1.4 mg 之间呈良好的线性关系, $y=83.1902x-55.2683$, $r=0.9995$ 。结论:复方熊胆眼用即型凝胶处方工艺成熟,质量稳定可控。

关键词:复方熊胆;泊洛沙姆;眼用即型凝胶

中图分类号:R 461 **文献标识码:**B

复方熊胆滴眼液是以熊胆为主药,配伍冰片等,属纯中药制剂,多用于治疗结膜炎、角膜炎、麦粒肿,消除眼部疲劳。用于眼科疾病疗效确切,副作用少,已得到公认。但其使用过程中存在在眼部的停留时间短,易流失,相应地影响到疗效的发挥。将复方熊胆滴眼液制成复方熊胆眼用即型凝胶,旨在改善药物在结膜囊内的滞留时间,减少给药次数,提高药物生物利用度的目的。

1 仪器与试剂

SP2000 高效液相色谱仪(美国光谱物理公司),1790 气相色谱仪(安捷伦科技上海分析仪器有限公司);旋转式蒸发仪(上海申生科技有限公司)。电子分析天平(沈阳龙腾电子有限公司)。牛磺熊去氧胆酸对照品(中国药品生物制品检定所);熊胆粉(广州市永福堂药业有限公司);天然冰片(吉安市林科天然冰片厂);泊洛沙姆(上海励成实业有限公司);甘油(浙江遂昌惠康药业有限公司);硼砂(北京燕京制药厂);硼酸(北京燕京制药厂);羟苯乙酯(昆山市双友化工厂);乙醇(湖南尔康制药有限公司)、磷酸(分析纯);甲醇(色谱纯)。

2 处方与制备

处方:熊胆粉 3 g,天然冰片 1 g,硼酸,硼砂,甘油,羟苯乙酯,泊洛沙姆,乙醇,注射用水至 1 000 mL。

制法:以上二味,取熊胆粉,加 10 倍量水溶解,再加乙醇至醇浓度为 50%,回流 1 小时,滤过,滤液减压蒸干,粉碎,加入处方量 20% 的水中,混匀,滤过,备用;取硼酸、硼砂、甘油、羟苯乙酯,搅拌溶于 80% 处方量的水中,冷却至 20℃ 以下。于搅拌下缓缓加入泊洛沙姆,混匀。取冰片溶于 3 倍乙醇中,于

搅拌下缓缓加入上述溶液中,混匀。合并上述两种溶液,混匀,即得。

3 质量控制

3.1 性状 本品为淡黄色黏稠状液体,气清香,味苦。

3.2 鉴别 (1)天然冰片的显色鉴别。精密称取右旋龙脑对照品 10 mg,加 10 mL 乙醇使溶解,作为对照品溶液;取不含冰片的其他原辅料溶液按处方量配制,作为阴性对照溶液。取样品、对照品溶液、阴性对照溶液各 1 mL,分别加入新配制的 1% 香草醛硫酸溶液 20 滴,观察现象。结果阴性对照不显紫色,对照品溶液和样品均显紫色。

(2)熊胆粉的薄层鉴别。取样品 2 mL,加 30% 氢氧化钠溶液 1.5 mL,置沸水浴上水解 10 小时,放冷,滴加盐酸调节 pH 值至 1~2,用醋酸乙酯提取四次,每次 10 mL,合并提取液,置水浴上蒸发至干,残渣用甲醇溶解移至 2 mL 量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。精密称取牛磺熊去氧胆酸对照品和熊去氧胆酸对照品,加甲醇制成每 1 mL 各含 0.6 mg 的混合溶液,作为对照品溶液。按其他原辅料(不含冰片)的处方量配制阴性样品,取阴性样品 2 mL,加 30% 氢氧化钠溶液 1.5 mL,置沸水浴上水解 10 小时,放冷,滴加盐酸调节 pH 值至 1~2,用醋酸乙酯提取四次,每次 10 mL,合并提取液,置水浴上蒸发至干,残渣用甲醇溶解移至 2 mL 量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,作为阴性对照溶液。照薄层色谱法(中国药典 2005 年版一部附录 VIB)试验,吸取上述四种溶液各 1 μ L,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G 薄层板上,以异辛烷-异丙醚-冰醋酸-正丁醇-水(6:3:3:1.8:0.6)的上层溶液为

展开剂,展开、取出,晾干,喷以 20% 硫酸乙醇溶液,在 105 ℃ 烘数分钟,取出,置紫外光灯(365 nm)下检视,供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,阴性对照溶液无此斑点。

4 检查

4.1 pH 值 取样品照中国药典 2005 年版一部附录 VII G pH 值测定法进行检查。结果为 7.8,符合复方熊胆滴眼液的国家药品标准 pH 值应为 7.4~8.0 之间的规定。

4.2 相变温度 参照中国药典 2005 年版一部附录 VII D 凝点测定法测定,三批样品相变温度分别为 27.7、27.5、27.4 ℃。三批样品的相变温度界于 25~34 ℃ 之间,符合规定。

5 熊胆粉含量测定

5.1 熊胆粉含量测定方法

熊胆粉照高效液相色谱法(中国药典 2005 年版一部附录 VID)测定。

色谱条件与系统适应性试验:用十八烷基硅烷键合硅胶为填充柱;甲醇-磷酸二氢钠(0.03 mol/l)(62:38)为流动相,并用磷酸调节 pH 值为 4.4,检测波长为 210 nm;理论塔板数按牛磺熊去氧胆酸峰计算应不低于 1000。

对照品溶液的制备:取经五氧化二磷容器中减压干燥至恒重的牛磺熊去氧胆酸对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液,摇匀,即得。

供试品溶液的制备:精密量取本品 5 mL,置于 10 mL 容量瓶中,加水至刻度,摇匀,即得。

测定法:分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 20 μL,注入液相色谱仪,测定,即得。

5.2 标准曲线的制备

精密称取干燥至恒重的牛磺熊去氧胆酸对照品 7.0 mg,置于 10 mL 容量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,进样量为 2.5、5、10、15、20 μL,按上述色谱条件进行测定,记录色谱图得峰面积依次为 94.7、229.5、539.2、797.8、1119.7,以峰面积为纵坐标,进样量(μg)为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程 $y = 83.190 2x - 55.268 3$,相关系数 $r = 0.999 5$,牛磺熊去氧胆酸含量在 0.175~1.4 mg 之间呈良好的线性关系。

5.3 辅料对含量测定的干扰试验

辅料溶液的制备:取不含熊胆粉的其他原辅料按处方量配制溶液,再精密量取 5 mL,置于 10 mL 容量瓶中,加水至刻度,摇匀,即得。

精密吸取 20 μL 注入液相色谱仪,测定,结果在与对照品相应位置处未见有吸收峰,说明辅料溶液对熊胆粉含量测定无影响。

5.4 精密度试验

精密吸取牛磺熊去氧胆酸对照品溶液 20 μL,在选定的色谱条件下连续进样 5 次,测定其峰面积,平均为 743.1, RSD 为 1.2%。

5.5 重复性试验

取同一样品,按供试品制备方法制备 5 份供试品,依法测定,计算得熊胆粉平均含量为 0.73 mg/mL, RSD 为 1.3%。

5.6 稳定性试验

精密吸取供试品溶液 20 μL,分别在 0、2、4、6、8、24 小时测定一次,峰面积依次 594.1、590.5、594.5、593.1、598.0、616.4, RSD 为 1.6%,表明样品在 24 小时内稳定。

5.7 回收率试验

对照品溶液的配制:精密称取牛磺熊去氧胆酸对照品 0.46 mg,置 10 mL 容量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

供试品溶液的配制:精密量取第 1 批样品 2.5 mL 置 10 mL 容量瓶中,分取 3 份,分别加对照液 3、4、7 mL,加水至刻度,摇匀,即得。

照熊胆粉含量测定法测定,即得。结果见表 1。

表 1 回收率试验测定结果

样品量/mg	加入对照量/mg	测定量/mg	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1.83	1.38	3.22	100.5		
1.83	1.38	3.19	98.9		
1.83	1.38	3.2	99.5		
1.83	1.84	3.71	102.2		
1.83	1.84	3.69	101.1	100.2	1.33
1.83	1.84	3.7	101.6		
1.83	3.22	5.02	98.4		
1.83	3.22	5.06	100.5		
1.83	3.22	5.03	98.9		

5.8 样品的含量测定

根据上述确定的方法,取 3 批样品进行含量测定,熊胆粉的含量分别为 0.73 (RSD = 1.3%)、0.75 (RSD = 1.2%)、0.74 mg/mL (RSD = 1.4%)。根据测定结果,本品含量测定项标准暂定为:本品每 1 mL 含熊胆粉以牛磺熊去氧胆酸(C₂₆H₄₅NO₈S)计,不得少于 0.67 mg。

6 刺激性试验

取健康且双眼正常的家兔 5 只(体重 1.5~2.0 kg),左眼滴入 0.05 mL 复方滴眼液,右眼滴入 0.05 mL 生理盐水作对照。滴眼后每 30、45、60 分钟及 24 小时观察 1 次。结果,均无结膜充血、红肿、溃

数种吴茱萸炮制品中吴茱萸碱和吴茱萸次碱的含量比较*

★ 彭永红¹ 罗习珍² 伍泽红³ 袁金斌^{2**} (1. 江西省新余市人民医院药剂科 新余 338025; 2. 江西中医药大学现代中药制剂教育部重点实验室 南昌 330004; 3. 江南机器集团职工医院 湘潭 411207)

关键词: 吴茱萸; 炮制品; 吴茱萸碱; 吴茱萸次碱; HPLC

中图分类号: R 283 文献标识码: A

吴茱萸(*Fructus Evodiae*)为常用中药,始载于《神农本草经》,列为中品。药典^[1]收录的吴茱萸为芸香科(*Rutaceae*)植物吴茱萸 *Evodia rulaecarpa* (Juss.) Benth、石虎 *Evodia rlllaecarpa* (Juss.) Benth. var *officinalis* (Dode) Huang 或疏毛吴茱萸 *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. var *bodinieri* (Dode) Huang 的干燥近成熟果实。吴茱萸生品味苦、性温、有毒,

多外用,散寒、定痛力强,多用于口腔溃疡、牙痛、湿疹;炮制后味苦微甘、性温、降低毒性、缓和燥性,可内服,用于厥阴头痛、寒疝腹痛、寒湿脚气、经行腹痛、腕腹胀痛、呕吐吞酸、五更泄泻等^[2]。历代文献记茱萸的炮制方法很多,所用的辅料有醋、姜、盐、黑豆、大豆、甘草、米泔水等。《中国药典》^[1]将甘草制吴茱萸作为法定制法。

7 稳定性实验

7.1 影响因素实验

取样品,进行高温试验(60 ± 2) °C 和光照试验(4000 lx),分别于第5、10天取样,对有关项目进行检查,结果本品对光较为稳定,而对高温不稳定。因此,本品应密封、在凉处保存。

7.2 加速实验和长期实验

由于本品在40 °C时不稳定,因此参照《原料药与药物制剂稳定性试验指导原则》将样品置于恒温(30 ± 2) °C 相对湿度 $20\% \pm 2\%$ 条件下放置6个月。分别于1、2、3和6个月取样一次检测有关指标。同时将样品于(25 ± 2) °C 相对湿度 $20\% \pm 2\%$ 条件下放置,分别于0、3、6、9、12个月取样一次检测有关项目。结果经6个月的加速试验和12个月的长期试验,本品的各项指标均无明显变化。

8 讨论

因复方熊胆眼用即型凝胶黏度较大,不能经

0.45 μm 的滤膜过滤,为了保护色谱柱。因此,在熊胆粉含量测定中将供试品溶液的制备改为:精密量取本品5 mL,置于10 mL容量瓶中,加水至刻度,摇匀。

本品是温敏型凝胶制剂,在室温下为溶液状态,在体温环境下能够发生相转变,形成非化学交联型半固体凝胶。泊洛沙姆为聚氧乙烯和聚氧丙烯组成的嵌段共聚物,是目前研究较多的一种温敏型凝胶材料。泊洛沙姆对皮肤无刺激性和过敏性,对粘膜的刺激性较小、无毒,不溶血,与人体有良好的相容性,化学性质稳定。泊洛沙姆具有热敏溶胶-凝胶转变特性,在较低温度时为液体,在人体温时呈软凝胶状。以其制备的眼用凝胶,不但可以显著改善药物在结膜囊内的滞留时间,同时具有给药剂量准确、使用方便、不引起视力模糊等优点,是极具前景的新型眼用制剂。左氧氟沙星热敏型眼用凝胶即选用泊洛沙姆作为热敏型凝胶基质。此次研究的复方熊胆眼用即型凝胶亦选用泊洛沙姆。

(收稿日期:2008-12-09 责任编辑:曹征)

* 基金项目:江西省教育厅课题(GJJ09277)

** 通讯作者:理学硕士,副教授。研究方向为天然产物的研究开发及其质量控制。Tel:0791-7118657, Email:kings_008@yahoo.com.cn