

文章编号 1006-8147(2014)06-0490-04

论 著

## 复方更昔洛韦眼用凝胶剂制备及质量控制

戴学文, 王姿婧, 刘 青, 房志仲

(天津医科大学药学院, 天津市临床药物关键技术重点实验室, 天津 300070)

**摘要** 目的: 制备复方更昔洛韦眼用凝胶剂, 并建立该制剂的质量控制方法。方法: 经处方筛选, 确定了该处方的组成; 采用高效液相色谱法同时测定复方更昔洛韦眼用凝胶剂中更昔洛韦和地塞米松的含量: TIANHE® Kromasil C<sub>18</sub> 色谱柱(200 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水(70:30), 流速为 0.8 mL/min; 检测波长: 248 nm; 柱温: 室温。结果: 更昔洛韦在 4.08~28.56 μg/mL 的浓度范围内与峰面积线性良好( $r=0.999\ 8$ ), 地塞米松在 4.96~24.60 μg/mL 的浓度范围内与峰面积线性良好( $r=0.999\ 8$ )。加样回收试验中, 更昔洛韦和地塞米松的平均回收率分别为 100.74%、100.44%, RSD 分别为 1.04%、1.17%。结论: 该凝胶剂制备方法简单, 易于操作; 其检测方法简便、准确、快速, 重复性好, 可作为复方更昔洛韦眼用凝胶剂的质量控制方法。

**关键词** 更昔洛韦; 地塞米松; 眼用凝胶剂; 含量; 高效液相色谱法

中图分类号 R9

文献标志码 A

### Preparation and content determination of compound ganciclovir ophthalmic gel

DAI Xue-wen, WANG Zi-jing, LIU Qing, FANG Zhi-zhong

(College of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin Key Laboratory on Technologies Enabling Development of Clinical Therapeutics and Diagnostics (Theranostics), Tianjin 300070, China)

**Abstract Objective:** To prepare the compound ganciclovir ophthalmic gel and establish an appropriate method to determine its contents.

**Methods:** The composition of the prescription was defined by prescription screening. The content of ganciclovir and dexamethasone were determined in the ophthalmic gel simultaneously by HPLC method, in which a TIANHE® Kromasil C<sub>18</sub> column (200 mm×4.6 mm, 5 μm) was used. And the mobile phase composition was methanol-water (70:30). The flow rate was 0.8 mL/min, and the detecting wavelength was 248 nm. Column temperature was set at room temperature. **Results:** The detection concentration of ganciclovir showed a fine linearity with peak areas between 4.08~56 μg/mL ( $r=0.999\ 8$ ) while the detection concentration of dexamethasone showed a fine linear relation with peak areas between 4.96~24.60 μg/mL ( $r=0.999\ 8$ ). In the recovery test, the average recoveries of ganciclovir and dexamethasone were 100.74% and 100.44%, respectively. And the corresponding RSD values were 1.04% and 1.17%, respectively. **Conclusion:** The gel preparation method is convenient and easy to operate. The detection method in this study is simple, and accurate with high sensitivity, so it is appropriate to be used in the quality control of the compound ganciclovir ophthalmic gel.

**Key words** ganciclovir; dexamethasone; ophthalmic gel; content; HPLC

更昔洛韦是新一代选择性抗疱疹病毒药, 临床中 0.15% 更昔洛韦眼用凝胶治疗单纯疱疹病毒性角膜炎安全有效, 可以较早改善患者的症状和缩短病程<sup>[1]</sup>。地塞米松是肾上腺皮质激素类药, 经眼局部给药, 对房水内大量前列腺素的产生能起到明显地抑制作用, 同时可减少炎症细胞向炎症处的移动, 阻止炎症介质发挥作用<sup>[2]</sup>。相关文献中报道, 更昔洛韦眼用凝胶联合小剂量地塞米松治疗深层单纯疱疹性角膜炎, 可以明显改善眼部早期临床症状<sup>[3]</sup>, 可以作为由水痘带状疱疹引起的急性视网膜坏死的辅助治疗<sup>[4]</sup>。同时更昔洛韦与地塞米松合用比阿昔洛韦与地塞米松合用治疗带状疱疹疗效快<sup>[5]</sup>。眼用凝胶剂不仅可解决普通滴眼剂眼内滞留时间短、生物

利用度不高的问题, 而且也克服了眼膏剂油腻感强、使用后视力模糊, 顺应性差的问题<sup>[6]</sup>。本课题对复方更昔洛韦眼用凝胶剂的处方用量、处方制备等进行研究, 并运用高效液相色谱法制定质量控制标准及方法, 为申报医院制剂提供理论依据。

### 1 材料与方法

1.1 仪器 美国高效液相色谱仪(Spectra-physics), 输液泵(SP8810 precision isocratic), 检测器(Spectra 100 variable wavelength detector), Anastar 色谱工作站, Kromasil C<sub>18</sub> 色谱柱(200 mm×4.6 mm, 5 μm), KQ-100B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司), ALC-210.4 电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司, 精密密度: 万分之一), U3310 紫外可见分光光度计(日本, 日立公司), 渗透压摩尔浓度测定仪(SMC30, 天津医药仪器有限公司); 黏度计

作者简介 戴学文(1992-), 女, 硕士在读, 研究方向: 药物制剂与质量控制研究; 通信作者: 房志仲, E-mail: fangzhizhong@tjmu.edu.cn。

(NDS-8S型,上海天平仪器厂);pHs-25型(数显)pH计(上海精密科学仪器有限公司)。

1.2 试药 更昔洛韦对照品(中国药品生物制品检定所,批号:100380-201002,供含量测定用),地塞米松对照品(中国药品生物制品检定所,批号:100129-201105,供含量测定用),更昔洛韦供试品(湖北科益药业股份有限公司,批号:120503-1,注射级),地塞米松供试品(天津药业有限公司,批号:110901,注射级),卡波姆 C980(路博润公司,批号:EC863CC625),家兔(北京沙河通利实验动物养殖场,合格证号 SLXK 京 2010-0004),甲醇(天津市风船化学试剂有限公司,色谱纯),其它试剂为市售分析纯,重蒸水(自制)。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 复方更昔洛韦眼用凝胶剂的制备

1.3.1.1 处方:更昔洛韦 1.5 g;地塞米松 0.19 g;卡波姆 980 粉末 0.5 g;氢氧化钠 0.2 g;1,2-丙二醇 100 mL;乙醇 20 mL;重蒸水加至 1 000 mL。

1.3.1.2 制备:(1)精密称取卡波姆 980 粉末 0.5 g,加入盛有 200 mL 重蒸水的烧杯中,边水浴加热边搅拌,待充分膨胀后,精密称取氢氧化钠 0.2 g,加入至烧杯中,搅拌均匀即得凝胶基质。(2)称取更昔洛韦 1.5 g,加入重蒸水至完全溶解后加入到凝胶基质中。(3)精密称取地塞米松 0.19 g,加入 95%乙醇 20 mL,待其完全溶解后加入 100 mL 1,2-丙二醇。(4)将(2)、(3)分别搅拌均匀后转移至(1)中,混匀,加重蒸水至全量,分装,即得。

1.3.1.3 影响因素试验<sup>[7]</sup>:(1)高温试验(于 60℃、40℃放置 10 d);(2)高湿试验[于相对湿度(75%±5%)下放置 10 d];(3)强光照试验(于 4 500 lx±500 lx,光照 10 d)。

#### 1.3.2 含量测定<sup>[8-10]</sup>

1.3.2.1 色谱条件:色谱柱:TIANHE® Kromasil C<sub>18</sub>(200 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:甲醇-水(70:30);流速为 0.8 mL/min;检测波长为 248 nm;柱温:室温;进样量 20 μL。

1.3.2.2 溶液制备:(1)对照品溶液的制备 精密称取更昔洛韦对照品 10.20 mg,地塞米松对照品 8.20 mg,分别置 50 mL 量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,得贮备液,再分别精密量取上述贮备液 1 mL 于 10 mL 量瓶中,用流动相定容至刻度,摇匀,即得对照品溶液;(2)供试品溶液的制备 取复方更昔洛韦眼用凝胶剂,精密量取 0.10 mL,置 10 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀即得更昔洛韦供试品溶液。精密量取 1.0 mL,置 10 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀即得地塞米松供试品溶液;

(3)阴性对照溶液的制备 按处方比例配成不含更昔洛韦、地塞米松的眼用凝胶剂阴性对照样品,照(2)供试品溶液的配制方法,制成阴性对照溶液。

1.3.2.3 系统适用性试验:分别取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照液各 20 μL,按照“1.3.2.1 项下”色谱条件进样测定,记录色谱峰。

1.3.2.4 线性关系考察:分别精密量取“1.3.2.2 项下”制得的更昔洛韦/地塞米松贮备液 0.2/0.3、0.4/0.5、0.6/0.7、0.8/0.9、1.0/1.1、1.2/1.3 和 1.4/1.5 mL,置 10 mL 量瓶中,用流动相稀释定容,在“1.3.2.1 项下”色谱条件下进样测定,记录峰面积。

1.3.2.5 精密度试验:(1)日内精密度 取“1.3.2.2 项下”制得的更昔洛韦/地塞米松对照液,按“1.3.2.1 项下”色谱条件连续进样 6 次,记录峰面积,计算 RSD;(2)日间精密度 取“1.3.2.2 项下”制得的更昔洛韦/地塞米松对照液,按“1.3.2.1 项下”色谱条件连续 6 d 进样,记录峰面积,计算 RSD。

1.3.2.6 稳定性试验:取“1.3.2.2 项下”制得的更昔洛韦/地塞米松对照液,按“1.3.2.1 项下”色谱条件,分别于 0、3、6、9、12 和 24 h 进样测定,记录峰面积,计算 RSD。

1.3.2.7 重复性试验:取同一批样品,按照“1.3.2.2 项下”供试品溶液的制备进行处理,按照“1.3.2.1 项下”色谱条件测定,记录峰面积,计算 RSD。

1.3.2.8 回收率试验:取已知含量的样品 9 份,分别按照 80%、100%、120%的量,加入更昔洛韦和地塞米松对照品,按照“1.3.2.2 项下”供试品溶液的制备进行处理。按照在“1.3.2.1 项下”色谱条件测定其含量,计算回收率。

1.3.2.9 含量测定:取供试品按“1.3.2.2 项下”供试品溶液的制备处理后,按“1.3.2.1 项下”色谱条件测定 3 批样品中更昔洛韦和地塞米松的含量,用外标法计算。

1.3.2.10 凝胶剂的质量检查:取各批次样品,按照《中国药典》(二部)2010 年版滴眼剂附录项下要求检查其外观性状、pH 值、黏度和渗透压。

1.3.2.11 眼部刺激试验<sup>[11]</sup>:取体质量 2.0~2.5 kg 健康新西兰大耳白兔,每组 4 只,雌雄各半,分为 2 组,标号。右眼为实验眼,滴入复方更昔洛韦凝胶剂 1 滴;左眼为对照眼,给予生理盐水 1 滴,1 日 3 次,每次用药后观察。

## 2 结果

2.1 系统适用性试验 按照 HPLC 测定法及相应浓度,绘制色谱图,见图 1。由图形可知,该色谱条件下,更昔洛韦和地塞米松出峰时间适宜,分离良好,

且辅料无干扰。

2.2 线性关系考察 分别以更昔洛韦和地塞米松峰面积(A)对浓度(C)做线性回归的标准曲线,得更昔洛韦和地塞米松的回归方程分别为:更昔洛韦  $Y=120\,481X-52\,063, r=0.999\,8(n=3)$ ;地塞米松  $Y=117\,077X+49455, r=0.999\,8(n=3)$ 。结果表明,更昔洛韦和地塞米松分别在  $4.08\sim28.56\,\mu\text{g/mL}$  和  $4.96\sim24.60\,\mu\text{g/mL}$  浓度范围内线性关系良好。

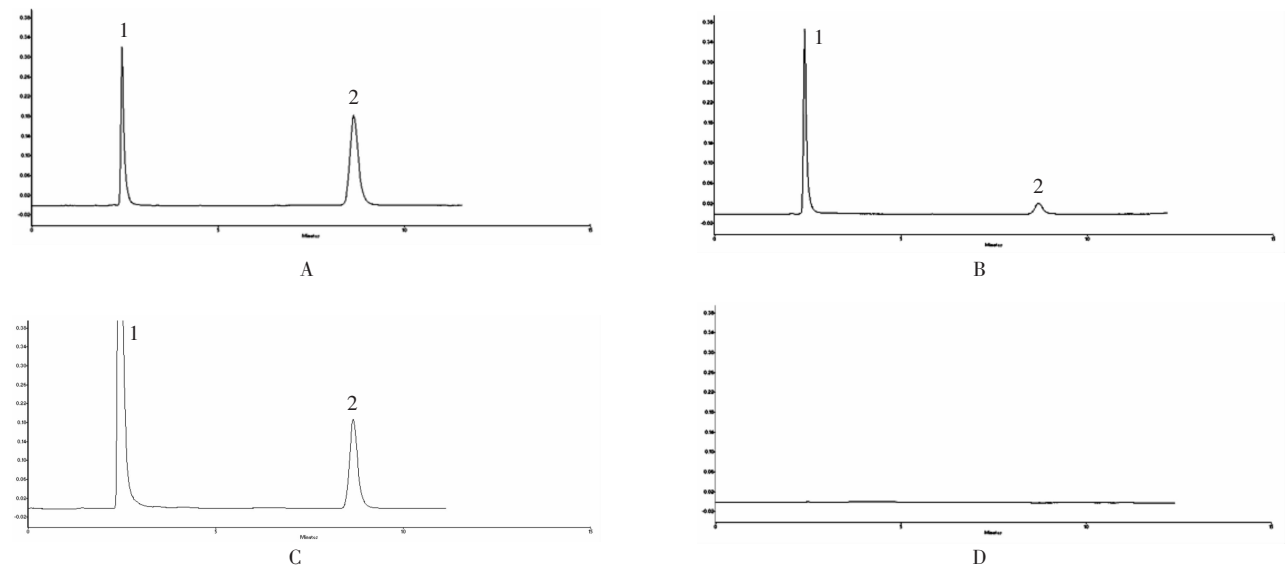
2.3 精密度试验 更昔洛韦和地塞米松的日内精密度试验 *RSD* 分别为 0.56%和 0.65%( $n=6$ ); 日间精密度试验 *RSD* 分别为 0.88%和 0.86%( $n=6$ ),精

密度良好。

2.4 稳定性试验 更昔洛韦和地塞米松的 *RSD* 分别为 0.59%和 0.94%( $n=6$ )。结果说明更昔洛韦和地塞米松在 24 h 内稳定性良好。

2.5 重复性试验 重复性试验更昔洛韦/地塞米松的 *RSD* 分别为 1.29%、0.52%( $n=6$ ),表明该试验重复性良好。

2.6 回收率试验 更昔洛韦复方凝胶剂中更昔洛韦与地塞米松的平均加样回收率分别为 100.74%、100.44%,*RSD* 分别为 1.04%、1.17%,符合规定。测定结果见表 1。



A.对照品;B.更昔洛韦供试品;C.地塞米松供试品;D.阴性对照;1.更昔洛韦;2.地塞米松

图 1 复方更昔洛韦眼用凝胶剂高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatogram of compound ganciclovir ophthalmic gel

表 1 复方更昔洛韦眼用凝胶剂加样回收试验结果( $n=6$ )

Tab 1 Recovery test of compound ganciclovir ophthalmic gel( $n=6$ )

成分	加入比例/%	样品体积/mL	样品中的含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	<i>RSD</i> %
更昔洛韦	80	50	81.18	61.20	141.62	98.76	100.74	1.04
		50	80.06	61.20	141.98	101.18		
		50	80.03	61.20	142.06	101.36		
	100	50	81.95	81.60	162.73	98.99		
		50	80.11	81.60	163.06	101.65		
		50	80.83	81.60	163.66	101.51		
	120	50	79.37	102.00	182.94	101.54		
		50	77.59	102.00	180.86	101.24		
		50	79.86	102.00	182.28	100.41		
地塞米松	80	50	9.29	8.20	17.62	101.58	100.44	1.17
		50	9.31	8.20	17.67	101.95		
		50	9.22	8.20	17.56	101.71		
	100	50	9.13	9.84	19.12	101.52		
		50	9.17	9.84	19.01	100.00		
		50	9.25	9.84	19.01	99.19		
	120	50	9.42	11.48	20.77	98.87		
		50	9.16	11.48	20.54	99.13		
		50	9.21	11.48	20.69	100.00		

2.7 含量测定 3批样品中更昔洛韦和地塞米松的含量测定结果见表2。

表2 更昔洛韦和地塞米松含量测定结果

Tab 2 Content determination of ganciclovir and dexamethasone

批号	更昔洛韦含量/(mg·50mL)	地塞米松含量/(mg·50mL)
130428	80.42	9.27
130512	80.96	9.18
130515	78.94	9.26

2.8 影响因素试验 试验结果表明,高温试验 60℃条件下放置 5、10 d 凝胶剂有变干现象,检测指标符合要求,有关物质未超过限量但明显增多。40℃条件下放置 5、10 d,外观未见明显变化,检测指标符合要求。光照和高湿试验 10 d 后凝胶剂无变化,经检测质量符合要求。因此初步确定该处方稳定可行。



正常家兔角膜病理切片(HE, 10×10)

图2 家兔眼部病理切片图

Fig 2 Pictures of rabbit ocular pathology

### 3 讨论

3.1 眼用凝胶剂特点 随着生物药剂学的发展和眼部药物动力学研究的深入,发现滴眼液存在持续时间短,药物生物利用度低(1%~10%)和给药频繁等问题<sup>[12]</sup>。眼用凝胶剂与普通滴眼剂相比,具有局部药物浓度高,滞留时间长的优点,并能产生缓释的作用,因而疗效更佳。已有文献报道,用卡波姆 980NF 作为基质制备阿昔洛韦眼用 pH 敏感原位凝胶剂,结果表明该凝胶剂的刺激性低,眼部滞留时间长,具有一定的缓释效果<sup>[13]</sup>。

3.2 处方的确定 据文献报道,凝胶剂在用于眼用时应特别注意 pH 的调节<sup>[6,12,14]</sup>。《中国药典》(二部)2010 年版规定,眼用制剂的 pH 为 5.0~9.0。本处方采用 NaOH 调节 pH 值。在制备卡波姆凝胶基质时,根据眼用制剂 pH 的规定范围及卡波姆基质的成胶性,最终优化结果为处方中加入氢氧化钠的量为 0.2 g 至 1 000 mL 制剂中。

3.3 流动相的确定 据文献报道<sup>[8-10]</sup>和《中国药典》

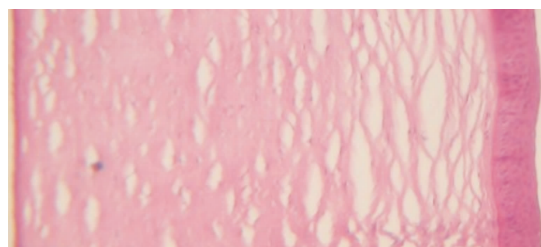
2.9 凝胶剂的质量检查 复方更昔洛韦眼用凝胶剂的质量检查结果表明,该复方制剂的外观性状、pH 值、黏度和渗透压均符合《中国药典》规定,结果见表3。

表3 复方更昔洛韦眼用凝胶剂质量检查

Tab 3 Quality control of compound ganciclovir ophthalmic gel

批号	外观性状	pH	渗透压/(mOsmol/kg)	黏度/(mPa·s)
130428	均一透明	7.09	354	92
130512	均一透明	7.10	381	91
130515	均一透明	7.08	368	91

2.10 眼部刺激实验 眼部刺激实验结果表明该制剂对兔眼均无明显影响,双眼角膜透明,无混浊,虹膜纹理清晰,结膜无充血、水肿、分泌物增多等现象。连续用药两周后随机抽取 1 只家兔处死,取眼部组织作病理切片检查,未发现任何病理变化,见图2。



受试家兔角膜病理切片(HE, 10×10)

(二部)2010 年版规定,单独进行含量测定时,更昔洛韦的流动相为甲醇-水(5:95),地塞米松的流动相为甲醇-水(70:30),虽然两者流动相的极性相差较大,也适时调整了流动相的比例,但是在甲醇-水(70:30)时更昔洛韦和地塞米松的出峰时间满足要求,且有较好的分离度,所以最终确定该复方凝胶剂的流动相为甲醇-水(70:30)。

本试验制备了复方更昔洛韦眼用凝胶剂,并采用高效液相色谱法对制剂进行质量控制研究。通过对该制剂的初步处方筛选及稳定性考察,表明该制剂稳定;所建立的 HPLC 方法,能有效控制该复方制剂的质量分析。本文所建立的方法简便、可靠、快捷,且符合《中国药典》2010 年版二部的要求,本分析方法能较好地满足本研究中的各项分析要求。

#### 参考文献:

- [1] Croxtall J D. Ganciclovir Ophthalmic Gel 0.15% in acute herpetic keratitis[J]. Drugs, 2011, 71(5): 603
- [2] 王洪亮. 地塞米松治疗急性虹膜睫状体炎局部给药的疗效分析

(下转第 498 页)

最近也被认为是独立于其他危险因素的静脉血栓危险因素<sup>[9]</sup>。

本病例高度怀疑为易栓症。为明确患者高凝易栓状态的病因,曾进一步筛查凝血、免疫病相关指标均正常,结合患者病史及体格检查,可除外系统性红斑狼疮、白塞病、大动脉炎等可致血栓形成的免疫系统疾病;而凝血方面,测定蛋白 C 活性正常,游离蛋白 S 含量略偏低(78.7%),抗凝血酶Ⅲ正常(参考值>80%)。结合患者中年男性,血小板减少症、无心血管危险因素,除外免疫系统异常及肿瘤性疾病,先后以肺栓塞、急性心肌梗死为表现的动静脉系统血栓的病史及存在异常 FIB 血症、高 D-二聚体浓度、服用激素病史的获得性血栓危险因素容易导致易栓症,考虑该患者为易栓症可能性大。

实验室检查有易栓症危险因素的人发生血栓的危险性明显增高,寻找其潜在病因及给予合理的治疗干预是预防血栓事件再发的根本。由于血栓性疾病已逐步取代肿瘤等疾病,成为威胁中老年人健康的首要疾病,提高对易栓症的认识及诊治水平势在必行。

#### 参考文献:

- [1] 中华医学会血液学分会血栓与止血学组. 易栓症诊断中国专家共识(2012 年版)[J]. 中华血液学杂志, 2012,33(11):253
- [2] 王秉林,戈小虎. FV Leiden 与 FⅡ G20210A 突变在不同种族人群易栓症中表达的研究现状[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2012, 19(7):793
- [3] 曹勇军,张艳林,李瑞霞,等. 纤维蛋白原或纤维蛋白参与动脉粥样硬化的炎症反应途径及其调控[J]. 中国卒中杂志, 2009,4 (8):670
- [4] 李积凤,王辰,王军. 纤维蛋白原编码区 SNP 与血栓性疾病的关系及机制[J]. 首都医科大学学报, 2010,31(5):558
- [5] 王梅. D-二聚体检测的临床应用进展[J]. 国际检验医学杂志, 2011,32(1):82
- [6] 周颖,王勇,李宪伦,等. 急性冠状动脉综合征与血清高敏 C 反应蛋白及尿酸、纤维蛋白原水平的相关性[J]. 中日友好医院学报, 2011,25(2):71
- [7] 郑明慧,张宏宇,赵慧颖. 高纤维蛋白原血症与冠脉病变程度及稳定性的相关性研究[J]. 中国现代医学杂志, 2011,21(24):2989
- [8] Bosevski M, Kostoska S, Tosev S, et al. Usefulness of D-Dimers and fibrinogen plasma determination in patients with polyvascular disease[J]. Angiol Sosud Khir, 2006,12(2):9
- [9] 王增智,赵秀清,郭伟,等. 肺血栓栓塞症患者易栓症的分析研究[J]. 心肺血管病杂志, 2010,29(5):357

(2014-09-11 收稿)

+++++

(上接第 493 页)

- [J]. 中国现代医生, 2011, 49(35): 157
- [3] 张一蓉. 更昔洛韦联合地塞米松治疗深层单纯疱疹性角膜炎[J]. 现代中西医结合杂志, 2008, 17(12): 1849
- [4] Kisore K, Jain S, Zarbin M A. Intravitreal ganciclovir and dexamethasone as adjunctive therapy in the management of acute retinal necrosis caused by varicella zoster virus[J]. Ophthalmic Surg Lasers Imaging, 2011, 42: e87
- [5] 储久红,张敏. 更昔洛韦配合小剂量地塞米松治疗带状疱疹疗效观察[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2006, 22(10): 874
- [6] 刘翔,高申,原永芳. 眼用凝胶给药系统研究进展[J]. 中国药师, 2009, 12(11): 1637
- [7] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典 2010 年版(二部)[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2010: 附录 XIX C;附录 199

- [8] 李大平,刘志武. 高效液相色谱法测定醋酸地塞米松搽剂 2 号中醋酸地塞米松的含量[J]. 中南药学, 2009, 7(7): 557
- [9] 刘潇潇. 更昔洛韦眼用即型凝胶剂的制备及质量评价[J]. 海峡药学, 2012, 24(3): 24
- [10] 顾平荣. 醋酸地塞米松凝胶的制备与含量测定[J]. 中国药师, 2005, 8(2): 124
- [11] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社, 1996: 164-164
- [12] 郭炎荣. 眼用凝胶剂临床应用概述[J]. 海峡药学, 2008, 20(4): 74
- [13] 李馨儒,雷耀龙,沈传勇,等. 阿昔洛韦眼用 pH 敏感原位凝胶剂的制备和评价[J]. 中国新药杂志, 2009, 18(24): 2360
- [14] 张利,毕宏生,解孝锋. 眼用原位凝胶的药学研究进展[J]. 国际眼科杂志, 2011, 11(10): 1740

(2014-05-20 收稿)