

3 讨论

市场上独活品种比较混乱,混淆品较多,除属五加科的九眼独活外,多属伞形科独活属(*Heracleum L.*)和当归属(*Angelica L.*)植物。牛尾独活为伞形科独活属植物牛尾独活 *Heracleum hemsleyanum* Diels 的干燥根^[3]。短毛独活为伞形科独活属植物短毛独活 *Heracleum moellendorffii* Hance 的干燥根及根茎^[4]。药典收载的独活为伞形科当归属植物重齿毛当归的干燥根,其他品种均不可当独活使用。

独活属的牛尾独活和短毛独活,外观性状和独活较相似,所以易混淆使用,曾有相关的文献报道,但均无详细描述和深入分析比较,现笔者将独活和混淆品牛尾独活、短毛独活从显微特征、薄层色谱、液相色谱等方面进行比较实验,发现有明显的区别。通过此鉴别方法可以简便地将独活与其混淆品区分。为了便于检索,笔者将这 3 个品种的主要鉴别特征列出,见表 1。

表 1 区别表

Tab 1 Identification of sample

品名	独活	牛尾独活	短毛独活
来源	当归属	独活属	独活属
性状	外表皮灰褐色,皮部灰白色至灰褐色;味苦、辛,微麻舌。	外表皮灰黄色,皮部黄棕色;味微甘而辛。	外表皮黑褐色,皮部棕褐色;味微苦麻舌。
显微	韧皮部约占根半径的 1/2	韧皮部占根半径的 1/2 以上	韧皮部占根半径的 2/3
薄层	检出蛇床子素、二氢欧芹醇当归酸酯	未检出	未检出
液相	检出蛇床子素、二氢欧芹醇当归酸酯	未检出	未检出

REFERENCES

- [1] Ch.P(2010) Vol I (中国药典 2010 年版. 一部)[S]. 2010: 246.
- [2] XIAO P G. Modern Chinese Materia Medica(新编中药志) [M]. Vol 5. Beijing: Chemical Industry Press, 2007: 555-561.
- [3] JIANGSU NEW MEDICAL SCHOOL. Chinese Medicine Dictionary(中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai People's Publishing House, 1977: 1703.
- [4] JIANGSU INSTITUTE OF BOTANY. Chinese Herbal Synopsis(新华本草纲要) [M]. Shanghai: Shanghai Technology Press, 1988: 363.

收稿日期: 2012-11-19

辅酶 Q10 眼用微乳的研制

董少华^{1,2}, 陈鹰^{1*}, 苏卫¹, 胡晓¹, 胡静波¹(1.广州军区武汉总医院, 武汉 430070; 2. 湖北省中医院, 武汉 430061)

摘要: 目的 研制适合眼部用药的辅酶 Q10 微乳制剂。方法 以溶解度、乳化效率及伪三元相图法筛选最佳油相、乳化剂及助乳化剂;以星点设计-效应面法及制备工艺的单因素考察,优化处方和工艺;并进行了辅酶 Q10 微乳制剂在角膜的滞留时间,辅酶 Q10 眼用微乳的稳定性初步评价以及家兔眼部刺激性实验的考察。结果 经处方筛选和星点效应面法优化得出最佳处方为: MCT, Cremophor EL, Capmul MCM C8 EP 分别为油相,乳化剂和助乳化剂,比例为 3:5:2,药用浓度为 10 mg·mL⁻¹;乳化温度和时间对粒径没有明显影响;高温、强光考察 10 d,粒径、pH 值和含量均有明显变化,低温保存各指标没有变化明显;辅酶 Q10 微乳在家兔角膜滞留可达 2 h;刺激性实验显示该制剂对家兔眼部无刺激性。结论 该处方及工艺筛选、优化法简便可行,容易控制,制备的眼用微乳可延长在角膜的滞留时间,安全无刺激,低温避光保存稳定,适合眼部用药。

关键词: 辅酶 Q10; 微乳; 眼用; 稳定性; 滞留性; 刺激性

中图分类号: R944.1

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2013)08-0866-08

Study on Coenzyme Q10 Microemulsion for Ocular Application

DONG Shaohua^{1,2}, CHEN Ying^{1*}, SU Wei¹, HU Xiao¹, HU Jingbo¹(1.Wuhan General Hospital of Guangzhou Military, Wuhan 430070, China; 2.Hubei Provincial Hospital of TCM, Wuhan 430061, China)

作者简介: 董少华,女,硕士,药师 Tel: 15927362806 E-mail: dshzt198684@163.com
硕导 Tel: (027)87649309 E-mail: cy9262005@yahoo.com.cn

*通信作者: 陈鹰,女,博士,副主任药师,

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare coenzyme Q10 microemulsion for topical ocular drug delivery. **METHODS** Select oil, surfactant and cosurfactant by solubility, emulsification efficiency and pseudo-ternary phase diagram method. Central composite design-response surface methodology and preparation of single factor was used to optimize formulation and process. Stability of coenzyme Q10 microemulsion, retention time of coenzyme Q10 microemulsion in the cornea as well as the rabbit eye irritation were tested. **RESULTS** The obtained best formulation was MCT, Cremophor EL, Capmul MCM C8 EP respectively as oil, surfactant and cosurfactant, the ratio was 3 : 5 : 2, coenzyme Q10 concentration was 10 mg·mL⁻¹. The emulsification temperature and time had no obvious influence. Stability experiment showed that particle size, pH value and content at low temperature had no obvious change, while at high temperature and strong light microemulsion was not stable. The coenzyme Q10 microemulsion could stay up 2 h in the rabbit cornea. Irritating experiments showed that the preparation had no irritation to rabbit eye. **CONCLUSION** The optimization method of prescription and process is simple, feasible, and easy to control, the preparation can prolong residence time in the cornea, no irritation, and is stable saved under avoiding light and low temperature, suitable for eye drug use.

KEY WORDS: coenzyme Q10; microemulsion; ocular; stability; residence time; irritating

辅酶 Q10(coenzyme Q10), 又称泛醌, 是一种脂溶性醌类化合物, 广泛存在于动植物体内, 具有抗氧化、消除自由基、抑制脂质过氧化的作用^[1]。临床上主要用于治疗充血性心力衰竭, 对急、慢性病毒性肝炎、帕金森病、牙周炎也有一定疗效^[2]。近年来, 辅酶 Q10 在眼部氧化损伤中的治疗作用正日益受到关注, 有文献报道^[3]口服辅酶 Q10 对紫外线角膜损伤有保护作用, 但采用全身给药治疗存在到达眼局部的药物浓度低、治疗效果相对较差的问题。目前, 辅酶 Q10 市售制剂主要有片剂, 胶囊剂和注射剂, 有少量辅酶 Q10 眼用剂型的报道, 如壳聚糖包覆的辅酶 Q10 脂质体眼用制剂用于保护紫外线损伤的晶状体细胞^[4]。鉴于辅酶 Q10 水溶性差, 脂溶性强, 本实验将辅酶 Q10 制备成眼用微乳, 以达到增加药物溶解度和促进眼部吸收并发挥疗效的目的, 为进一步开发辅酶 Q10 新型眼用制剂提供实验依据。

1 材料与仪器

1.1 材料

辅酶 Q10(杭州华东医药集团康润制药有限公司, 批号: 20110706), 大豆油(铁岭北亚药用油有限公司); 蓖麻油(湖南尔康制药有限公司); 维生素 E、聚氧乙烯蓖麻油(Cremophor EL)、聚氧乙烯氢化蓖麻油(Cremophor RH40, 德国 BASF); 中链甘油三酯(MCT)、Labrasol、乙二醇单乙基醚(transcutol P, 法国 Gattefesse 公司); Capmul MCM C8 EP、Capmul MCO-50 EP NF(美国 ABITEC 公司); 丙二醇、乙二醇、吐温-80、PEG400(中国医药集团化学试剂公司)。

1.2 仪器

SHZ-82恒温摇床(国华企业); Nano-ZS90激光粒度分析仪(Malvern Instruments); TGL-16B离心

机(上海安亭科学仪器厂); WH-2涡旋混合器(上海沪西分析仪器有限公司); Lab Alliance SeriesIII 高效液相色谱仪(天津市兰博实验仪器设备有限公司); AB204-N电子分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司); KT-300Y超声波药品处理机(济宁中冠超声波有限责任公司); DF-2集热式磁力加热搅拌器(上海浦东物理光学仪器)。

1.3 动物

普通级日本大耳白兔 4 只, ♀ ♂ 各半, 体重 2.0 kg(武汉市万千佳兴生物科技有限公司, 合格证: 00068978)。

2 方法

2.1 测定方法

2.1.1 色谱条件 色谱柱: HyPersil ODS C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-无水乙醇(1:1), 流速: 1.0 mL·min⁻¹, 波长: 275 nm, 柱温: 35 °C, 进样量: 20 μL。

2.1.2 对照品储备液的制备 精密称取辅酶 Q10 对照品约 10 mg, 置于 10 mL 量瓶中, 用无水乙醇稀释至刻度, 37 °C 水浴溶解, 摇匀, 备用。

2.1.3 线性 精密量取储备液适量, 用无水乙醇稀释配制成浓度分别为 10, 20, 30, 40, 50, 60 μg·L⁻¹ 的溶液, 摇匀, 依次进样 20 μL, 以峰面积(Y)对对照品溶液浓度(X)进行线性回归。

2.1.4 精密度实验 取辅酶 Q10 储备液适量, 无水乙醇分别稀释成高、中、低系列浓度, 于 1 d 内重复进样 5 次, 记录峰面积, 计算日内精密度; 连续 5 d 重复进样 5 次, 记录峰面积, 计算日间精密度, 日内精密度。

2.2 处方筛选

2.2.1 溶解度实验 将过量辅酶 Q10 分别加入到含有不同油相、乳化剂、助乳化剂的带塞离心管

中,置于 34 °C 恒温摇床中水平振荡 72 h。取出一部分置于 EP 管中, 6 000 r·min⁻¹ 离心 20 min, 取上清液适量, 适量无水乙醇稀释后用高效液相法测定。

2.2.2 乳化剂的筛选 选取油相与乳化剂的比例依次为 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 二者充分混匀后, 取混合物适量, 以 1:10 比例加蒸馏水搅拌制微乳。观察各组变化, 以离心(13 000 r·min⁻¹, 30 min)稳定性和乳滴粒径作为评价标准, 级别为 A、离心稳定不分层的判为微乳。微乳乳滴粒径采用文献[5]的目测等级方法: A: 形成澄清微微泛蓝的微乳(乳滴粒径通常<50 nm); B: 形成蓝白色微乳(乳滴粒径 50 nm~100 nm); C: 形成亮白色奶状乳剂(乳滴粒径在 100 nm 以上); D: 液体呈暗灰白色, 外观略带油状; E: 分散乳化困难, 无法形成均一体系, 有油滴存在。

2.2.3 助乳化剂的筛选 在初步确定油相和表面活性剂的条件下, 通过制备伪三元相图, 来筛选助乳化剂。称取不同质量比例的MCT、Cremphor EL和各助乳化剂于干燥洁净玻璃管中, 涡旋混合均匀后, 取混合物适量, 以10倍体积的水稀释, 检测形成微乳的粒径。利用Oringin 7.5软件分别以MCT、Cremphor EL和各助乳化剂为伪三元相图的3个顶点, 将每个考察点的组成标在伪三元相图上, 将粒径<50 nm的微乳的点连起来, 所示区域即为形成微乳区。

取油相-乳化剂-助乳化剂(3:5:2)混合油相加入一定量的药物, 待药物完全溶解后, 以 1:10 加入水相, 搅拌制备成含药微乳(10 mg·mL⁻¹)。通过观察加入药物后含药微乳的粒径及外观变化, 进一步确定本实验助乳化剂的种类。

2.3 星点设计处方优化

为获得分散后粒径<50 nm的辅酶 Q10 微乳制剂, 在前期试验基础上, 采用 2 因素 5 水平星点设计, 以分散后形成乳剂粒径大小及跨度为因变量, 选择对微乳粒径影响较显著的两个因素作为自变量考察对象, 即油相质量百分比(X_1)和乳化剂与助乳化剂质量比(X_2), 根据辅料筛选及前期预实验结果, 确定 X_1 和 X_2 极值范围分别为 20%~40% 和 1.0~4.0。各因素水平代码值和实际操作物理量值见表 1。按星点设计原理进行 13 次实验, 结果见表 4。

表 1 各因素水平代码值和实际操作物理量值

Tab 1 Independent variables and the correspondent values in coded and physical form

变量	水平				
	-1.414	-1	0	1	1.414
X_1	20	22.93	30	37.07	40
X_2	1	1.44	2.5	3.56	4

2.4 载药量的确定

将过量辅酶 Q10 加入乳化介质中, 室温下涡旋混合均匀, 6 000 r·min⁻¹ 离心 20 min, 取上清液适量用无水乙醇定容后测定辅酶 Q10 的含量, 测得药物在混合油相中的溶解度, 根据理论溶解度、实际制备的微乳外观和粒径、前期药效学和药动学的预实验等来确定微乳的用药浓度。

2.5 制备工艺的单因素考察

采用自乳化方法制备微乳, 即取处方量的油相、乳化剂、助乳化剂和主药, 置恒温水浴中搅拌混溶一定时间, 待药物溶解完全, 加入10倍水, 搅拌乳化, 制得微乳。单因素考察乳化温度和搅拌乳化时间对微乳乳滴粒径的影响, 确定最优的工艺条件。

2.6 微乳理化性质的考察

根据处方、工艺优化结果, 制备辅酶Q10眼用微乳, 在室温条件下, 按中国药典2010年版滴眼液和微乳制剂的要求测定该实验微乳的pH值、渗透压及乳滴的粒径和分布。

2.7 稳定性的初步考察

取辅酶 Q10 眼用微乳适量, 分别于高温(60 °C)、强光(4 500±500)lx、低温(4 °C)条件下放置 10 d, 于第 5, 10 天取样, 进行 pH 值、乳滴粒径和含量等各指标的测定。

2.8 辅酶 Q10 微乳制剂兔眼角膜滞留性实验研究

用微量取样器给家兔左眼结膜囊内滴 10 mg·mL⁻¹微乳 50 μL, 右眼滴 10 mg·mL⁻¹辅酶 Q10 蓖麻油液 50 μL。轻轻闭合眼睑约 30 s, 滴眼后分别于不同时间点将预先称重的直径为 8 mm 的滤纸片插入上眼睑, 保留 1 min, 取出后立即称重。样品储存于 -20 °C 以备提取测定, 药物浓度用 HPLC 测定。

泪液处理方法: 将滤纸片至于带塞的 1.5 mL EP 管中, 用氮气 40 °C 水浴吹干, 50 μL 无水乙醇溶解, 涡旋 5 min, 12 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取出 20 μL 注入液相色谱仪。

2.9 眼刺激性试验

轻轻拉开家兔眼结膜囊，将50 μL实验药物滴入右侧眼结膜囊内，左侧给予生理盐水作为对照。给药后使眼睛被动闭合5~10 s，记录给药后6, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168 h内眼的损伤情况。依据Draize评分标准，将角膜、虹膜和结膜的刺激性分数累加作为每只兔的眼部刺激分值。

3 结果

3.1 测定方法

以峰面积(Y)对对照品溶液浓度(X)进行线性回归，得回归方程为： $Y=1756.4X+775.07$ ， $r=0.9999$ ，说明辅酶 Q10 在 $10\sim60\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 内呈现良好的线性；高、中、低浓度溶液日内精密度的 RSD 为 0.98%，1.02%，0.90%，日间精密度的 RSD 为 1.05%，0.95%，1.10%，符合 HPLC 的方法学要求。

3.2 处方筛选

3.2.1 油相的选择 辅酶 Q10 在各种辅料中溶解度见表 2。载药脂肪乳制备中的一个决定性因素是药物在油相中的溶解度大小，由于辅酶 Q10 眼用微乳的用药浓度比较大，故尽量选择对辅酶 Q10 溶解度较大的油相，由表 2 可知，MCT、VE 以及大豆油对辅酶 Q10 都有很好的溶解性，但大豆油相对难乳化，维生素 E 易氧化、不稳定，所以选 MCT 为油相。

表 2 溶解度实验(n=3)

Tab 2 Solubility of CoQ10 in various vehicles at 34 °C (n=3)

	溶媒	平均溶解度/mg·g ⁻¹
油相	MCT	409.38
	蓖麻油	26.56
	大豆油	203.28
	VE	>500
乳化剂	Tween-80	34.42
	Cremophor EL35	13.21
	Cremophor RH40	13.57
助乳化剂	Transcutol P	54.84
	Labrasol	22.53
	Capmul MCM C8 EP	82.83
	Capmul MCO-50 EP,NF	71.24
	丙二醇	0.200
	PEG400	2.97
	乙二醇	4.23

3.2.2 乳化剂的选择 乳化剂和油相形成的微乳目测等级结果及离心稳定性见表 3。虽然 Tween80 的溶解度最大，但乳化剂乳化能力更重要，由表 3 可知：Cremophor EL 和 Cremophor RH40 对 MCT 的乳化能力较 Tween-80 好；Cremophor EL，Cremophor RH40 二者药物溶解度相似，但 Cremophor EL 乳化性能优于 Cremophor RH40。故选择乳化性能优良，对眼部刺激性小的非离子表面活性剂的 Cremophor EL 为本实验的乳化剂。

表 3 乳化剂的筛选

Tab 3 The result of surfactant selection

油相+乳化剂	比例	等级	离心
MCT+Cremophor EL	3 : 7	A	未分层
	4 : 6	A~B	未分层
	5 : 5	C	分层
	6 : 4	D	分层
MCT+Cremophor RH40	3 : 7	A	未分层
	4 : 6	A~B	未分层
	5 : 5	C~D	分层
	6 : 4	D	分层
MCT+Tween-80	3 : 7	B	未分层
	4 : 6	B~C	分层
	5 : 5	D	分层
	6 : 4	E	分层

3.2.3 助乳化剂的选择 由于本实验药用剂量比较大，所以溶解度小的助乳化剂不予考虑。由表 2 的溶解度实验可知 Capmul MCM C8 EP>Capmul MCO-50 EP NF>Transcutol P>Labrasol，所以绘制 MCT、Cremophor EL 和上述 4 种不同的助溶剂间的伪三元相图，结果见图 1。乳化区域大小依次为 Capmul MCM C8 EP≈Labrasol>Transcutol P>Capmul MCO-50 EP NF。根据上述实验结果，Capmul MCM C8 EP、Labrasol 两者是较佳的助乳化剂。

微乳载药后 Capmul MCM C8 EP 组仍为澄清透明微乳，粒径变化不明显，但是 Labrasol 组微乳变的混浊且乳白色加重，粒径明显增大。所以本实验选取 Capmul MCM C8 EP 为助乳化剂。

本实验通过伪三元相图和载药量的比较，发现助乳化剂 Capmul MCM C8 EP 不但可以提高药物的溶解度，还可以减小微乳粒径，提高药物的分散情况，选作本实验的助乳化剂。

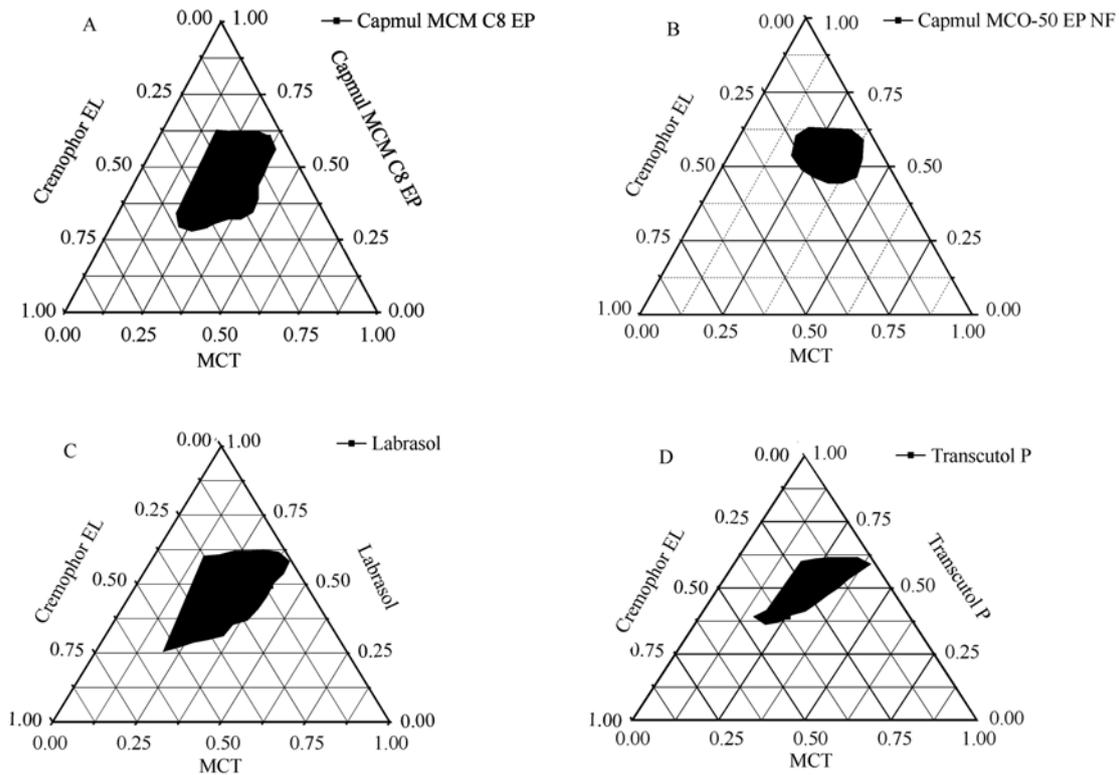


图1 伪三元相图结果

A-MCT-Cremophor EL35-CapmulMCM C8 EP; B-MCT-Cremophor EL35-Capmul MCO-50 EP NF; C-MCT-Cremophor EL35-Labrasol; D-MCT-Cremophor EL35-Transcutol P

Fig 1 The results of pseudo-ternary phase diagram

A-MCT-Cremophor EL35-CapmulMCM C8 EP; B-MCT-Cremophor EL35-Capmul MCO-50 EP NF; C-MCT-Cremophor EL35-Labrasol; D-MCT-Cremophor EL35-Transcutol P

3.3 处方优化

按照星点设计原理进行了13次试验,结果见表4。

表4 星点设计与实验结果

Tab 4 Results of central composite design

编号	X ₁	X ₂	粒径/nm	跨度/nm	PDI
1	22.93	1.44	23.89	5.396	0.002
2	37.07	1.44	123.2	100.5	0.289
3	22.93	3.56	21.56	4.498	0.006
4	37.07	3.56	34.65	13.7	0.108
5	20.00	2.50	20.99	4.508	0.008
6	40.00	2.50	102	71.92	0.271
7	30.00	1.00	60.52	79.13	0.263
8	30.00	4.00	26.73	8.03	0.082
9	30.00	2.50	27.44	8.383	0.068
10	30.00	2.50	27.48	8.742	0.065
11	30.00	2.50	28.53	10.3	0.090
12	30.00	2.50	28.3	9.194	0.066
13	30.00	2.50	26.43	6.941	0.051

采用 Design8.0 软件绘制星点设计试验结果的三维效应面图和二维等高线图,见图2。由图可知,随油相比的增加,粒径及跨度增大;当油相比恒定时,粒径及跨度随着乳化剂与助乳化剂比值的增加先减小后增大。本实验规定粒径 ≤ 50 nm,跨度 ≤ 10 nm,根据拟合方程,三维效应面图和二维等高线图综合分析评价,星点效应面法给出的最优处方范围为 $X_1=25\% \sim 30\%$, $X_2=2.5 \sim 3$,以含较多油量和较少乳化为原则,在此优化区中选择处方: $X_1=30\%$, $X_2=2.5$ 。

3.4 微乳浓度的确定

实验测得混合油相中药物溶解度为 $(159.60 \pm 13.748) \text{mg} \cdot \text{g}^{-1} (n=3)$,故混合油相的最大载药量为 15.96%。但试验中发现,当混合油相中药物含量 $> 10\%$ 时,向混合油相中加水时会逐渐析出药物结晶,说明载药量过大时,微乳界面膜的稳定性降低,药物逐步从界面膜释放出来,聚集后析出。且在药动学预实验和试验中混合油相最大载药量

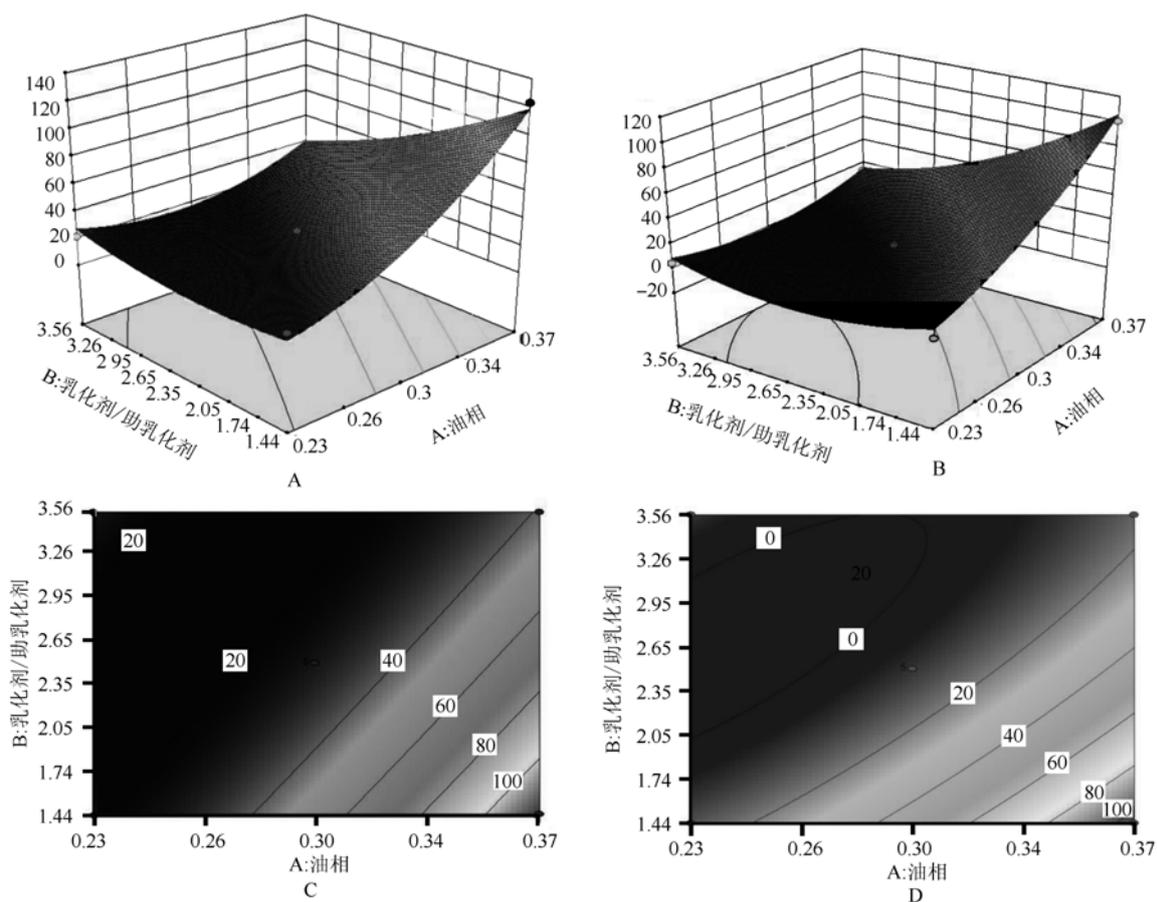


图2 星点设计三维图和等高线图

A-粒径值对 X_1 和 X_2 的三维效应面图; B-跨度值对 X_1 和 X_2 的三维效应面图; C-粒径值对 X_1 和 X_2 的二维等高线图; D-跨度值对 X_1 和 X_2 的二维等高线图

Fig 2 Three-dimensional diagram and contour map of central composite design

A-the response surface graph (3D) illustrating the effects of X_1 and X_2 on the droplet size; B-the response surface graph (3D) illustrating the effects of X_1 and X_2 on the width; C-two-dimensional contour plot illustrating the effects of X_1 and X_2 on the droplet size; D-two-dimensional contour plot illustrating the effects of X_1 and X_2 on the width

数据基础上, 确定水相加入量为 1 : 10 最终制备成 $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 辅酶 Q10 眼用微乳制剂。

本实验最终处方为辅酶 Q10 1%, MCT 3%, Cremophor EL 5%, Capmul MCM C8 EP 2%, 加入适量的苯扎溴铵和氯化钠, 加水至 10 mL 制备成眼用微乳, 进行进一步考察。

3.5 制备工艺的单因素考察

在上述建立的微乳处方基础上, 以乳滴粒径为评价标准, 对乳化温度和搅拌乳化时间进行单因素考察, 结果见表5。

方差分析结果表明, 在显著水平0.05上乳化温度和乳化时间对微乳的乳滴粒径没有显著性影响。所以制备微乳的工艺条件确定为: 取处方量的油相、乳化剂、助乳化剂和主药, 混合研磨待药物溶解完全, 迅速加水搅拌乳化, 制得微乳。

表5 乳化时间和温度对微乳乳滴粒径的影响($n=3$)

Tab 5 Influence of mulling time and emulsification temperature on average diameter($n=3$)

温度/℃	平均粒径/nm	乳化时间/min	平均粒径/nm
25	28.93	5	28.27
35	27.50	15	27.50
45	27.81	25	27.31
60	28.06	35	27.25

3.6 微乳的理化性质研究

根据上述优化结果, 制备辅酶Q10眼用微乳。参照中国药典2010年版测定滴眼液的理化参数为: pH值为(6.90 ± 0.02), 渗透压为(305 ± 3) $\text{mOsm} \cdot \text{kg}^{-1}$, 平均粒径为(27.48 ± 1.1)nm(每个参数值均测3次取平均值)。

3.7 稳定性初步研究

辅酶Q10眼用微乳经高温(60 °C)、强光(4500 ± 500)lx、低温(4 °C)条件下考察10 d, 各项指标检查结果见表6。

表6 辅酶Q10眼用微乳稳定性实验结果(n=3)

Tab 6 The results of stability test about CoQ10 micro emulsion ophthalmic(n=3)

条件	pH值	平均粒径/nm	浓度/mg·(10 mL) ⁻¹
0 d	6.90	27.48	99.87
60 °C, 5 d	5.59	38.23	81.29
60 °C, 10 d	5.78	40.27	79.46
(4 500±500)lx, 5 d	6.88	39.45	80.03
(4 500±500)lx, 10 d	6.88	42.59	76.54
4 °C, 5 d	6.89	28.57	98.88
4 °C, 10 d	6.87	27.90	97.12

以pH、乳滴粒径和含量为评价指标, 辅酶Q10眼用微乳经高温、强光条件下放置10 d, pH值、乳滴粒径和含量有显著变化, 低温下各项指标没有明显变化, 说明制得的辅酶Q10眼用微乳应低温避光保存。

3.8 辅酶Q10微乳制剂兔眼角膜滞留性

辅酶Q10眼用微乳和蓖麻油制剂在角膜滞留时间将近2 h, 说明两者都有可延长药物在角膜的滞留时间, 而微乳制剂较蓖麻油制剂有更长的滞留时间且每个时间点药物在泪液中更高, 表现出良好的滞留性及抗泪液冲浊性, 结果见图3。

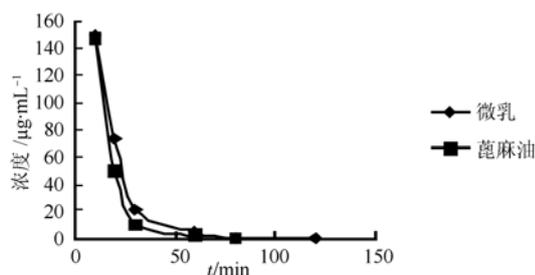


图3 药物角膜滞留时间考察

Fig 3 The results of residence time of drug in corneal

3.9 眼刺激性试验

辅酶Q10单次眼部给药后, 观察7 d, 其角膜、虹膜、结膜组织均无明显变化, 根据眼刺激性评价标准可判断辅酶Q10眼用微乳制剂无刺激性。

4 讨论

辅酶Q10作为天然抗氧化物, 近年来在眼部的应用受到关注, 但应用于眼部的剂型很少, 由

于辅酶Q10为天然的脂溶性化合物, 所以将其制备成微乳制剂, 国内外还未见类似报道。微乳为热力学稳定、各向同性的油水混合系统, 可以提高难溶性药物溶解性及在眼部组织的生物利用度, 增加药物在角膜的吸收, 延长药物在眼部的滞留时间, 降低药物在眼部或全身的不良反应。微乳处方组成多为刺激性小、有良好生物相容性的辅料, 制备方法简单且可以通过无菌过滤, 适合作为眼部给药的载体, 是目前国内外研究应用较多的眼用剂型, 所以本实验将辅酶Q10制备成微乳制剂进行进一步考察。

对于制备微乳的油相, 一般长碳氢链的油不适宜制备微乳, 通常油的碳氢链越短, 有机相穿入界面膜越深, 微乳就越稳定^[6]; 中链甘油三酯为中链油相, 且对辅酶Q10有很好的溶解性, 选作本实验的油相。

对于处方优化方法, 目前使用较多的实验设计优化法为均匀设计和正交设计, 但是两者仍然存在着一些问题: 首先实验精度不够, 选择的实验取值仅仅是接近最佳取值, 无法精确找到最佳点; 其次, 条件优选主要凭经验, 不能灵敏地考察各因素间的交互作用; 再次, 建立的数学模型预测性较差等^[7]。近年来国内外常用集数学和统计学方法为一体的星点设计-效应面优化法(central composite design-response surface methodology; CCD-RSM)进行试验设计。这种设计具有实验次数少, 实验精度高, 且适用于二次以上数学模拟方程等优点; 其应用于药学研究中收到了显著的成效^[8]。本文在前期预实验的基础上采用2因素5水平星点设计-效应面优化法对辅酶Q10眼用微乳处方进行了优化, 最终确定本实验的混合油相组成为MCT: Cremophor EL: Capmul MCM C8=3: 5: 2。

滴眼液是最常见的眼用制剂, 但大部分滴眼液在角膜滞留时间短, 需要多次反复给药来维持眼部组织的药物浓度。为了克服此不利因素, 一些新型眼用药物载体如: 眼用乳剂、纳米粒、纳米囊、凝胶和脂质体等研究主要目的是延长药物与眼球表面的接触时间, 增强药物在角膜的通透性, 提高药物眼部生物利用度, 增加眼用制剂的临床疗效。所以眼用新制剂在角膜滞留时间的考察十分重要, 是考察新制剂质量的重要指标之一。

实验显示,辅酶 Q10 微乳制剂和辅酶 Q10 蓖麻油制剂都能在角膜滞留达 2 h 之久,但是蓖麻油为油溶液,粘度大且容易造成视力模糊,但是微乳为水溶剂,眼部用药方便。所以本实验制备的辅酶 Q10 微乳制剂既提高了辅酶 Q10 溶解性,同时增加了该制剂在角膜的滞留时间,显示出良好性能。

辅酶 Q10 眼用微乳制剂中所用的辅料均有眼部给药的文献报道^[9-10],且用量均在耐受范围内,刺激性实验也表明该制剂具有良好的生理相容性。

综上所述,辅酶 Q10 微乳制剂制备方法简单,质量容易控制,具有良好的角膜滞留特性,且刺激性小,为良好的眼部释药系统。

REFERENCES

- [1] LIU Z, WEI X Y, SHANG F, et al. Preparation and stability evaluation of self- microemulsifying drug delivery system for coenzyme Q10 [J]. Pharm Biotechnol(药物生物技术), 2011, 18(2): 133-137.
- [2] ZHANG C X, YING D E, WANG D K, et al. Preparation and physico-chemical property of coenzyme Q10 submicro-emulsion [J]. J China Pharm(中国药房), 2007, 18(19): 1476-1478.
- [3] GOU C F, LIU Q, HAO B A, et al. Protective effect of

- coenzyme Q10 on ultraviolet irradiation induced injury of rats corneal epithelium [J]. Int J Ophthalmol(国际眼科杂志), 2009, 9(12): 2286-2288.
- [4] WANG S, ZHANG J, JIANG T, et al. Protective effect of coenzyme Q10 against oxidative damage in human lens epithelial cells by novel ocular drug carriers [J]. Int J Pharm, 2011, 403(1/2): 219-229.
- [5] KHOO S M, HUMBERSTONE A J, PORTER C J H, et al. Formulation design and bioavailability assessment of lipidic self-emulsifying formulations of halofantrine [J]. Int J Pharm, 1998, 167(1/2): 155-164.
- [6] LIN Y Q, GAN Y, GAN L, et al. Preparation of dexamethasone for ocular application [J]. Chin Pharm J (中国药学杂志), 2006, 41(5): 358-362.
- [7] HE Y, LI G, WU X C, et al. Optimization of barnidipine selfmicroemulsifying drug delivery system by central composite design-response surface methodology [J]. China Pharm(中国药师), 2010, 13(1): 11-13.
- [8] LIU S J, XIANG R W. Application of central composite design/response surface methodology in pharmacy experiment design [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2007, 24(6): 455-457.
- [9] KLANG S H, FRUCHT P J, HOFFMAN A, et al. Physic-chemical characterization and acute toxicity evaluation of a positively-charged submicron emulsion vehicle [J]. J Pharm Pharmacol, 1994, 46(12): 986-993.
- [10] KWON J W, HAN Y K, LEE W J, et al. Biocompatibility of poloxamer hydrogel as an injectable intraocular lens: a pilot study [J]. J Cataract Refract Surg, 2005, 31(3): 607-613.

收稿日期: 2013-01-01

三元相图法研究更昔洛韦自微乳化释药系统处方

李芙蓉¹, 吴瑶², 黄学荪¹, 朱海燕¹, 许巧巧¹, 张秀华^{1*} (1.温州医学院附属第一医院, 浙江 温州 325000; 2.温州医学院, 浙江 温州 325000)

摘要: 目的 采用自微乳化技术, 研究更昔洛韦自微乳化释药系统, 探究其最佳处方配比。方法 通过溶解度实验对油相、表面活性剂、助表面活性剂进行选择, 找到最佳组份; 通过三元相图实验并结合乳液粒径的测定寻找出更昔洛韦最佳的处方配比。结果 更昔洛韦自微乳化处方油相为 IPM, 乳化剂为 cremophor RH40, 助乳化剂为 PEG 400(1 : 1.5 : 1.5)。结论 初步成功地制备了更昔洛韦自微乳化释药系统。

关键词: 更昔洛韦; 自微乳化释药系统; 处方; 三元相图

中图分类号: R944.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2013)08-0873-04

Preparation of Ganciclovir Self-microemulsifying System by Ternary Phase Diagram Method

LI Furong¹, WU Yao², HUANG Xuesun¹, ZHU Haiyan¹, XU Qiaoqiao¹, ZHANG Xiuhua^{1*} (1. The First Affiliated Hospital, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325000, China; 2. Wenzhou Medical College, Wenzhou 325000, China)

基金项目: 温州市社会发展科学研究项目(S20100046)

作者简介: 李芙蓉, 女, 硕士, 药师 Tel: 13587668736 E-mail: lfrwzmc@sina.com *通信作者: 张秀华, 女, 硕士, 主任药师, 硕士 Tel: (0577)88069558 E-mail: wzzhangxiuhua@yahoo.cn