

奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂的制备及其性能评价

李秋艳, 谢鹏*

唐山职业技术学院附属医院 药剂科, 河北 唐山 063099

摘要: **目的** 制备奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂, 并通过体外药物释放、渗透评价其质量。**方法** 通过单因素实验确定奈帕芬胺纳米混悬剂的处方组成和制备工艺; 以卡波姆 947P 质量浓度、剪切速度、剪切时间作为自变量, 以屈服应力和黏度作为评价指标, 采用 Box-Behnken 实验设计优化奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂的处方工艺。观察奈帕芬胺纳米混悬剂的微观形态、测定粒径, 比较体外药物释放和离体角膜渗透性。**结果** 奈帕芬胺纳米混悬剂的最佳制备工艺为: 泰洛沙泊的质量浓度为 0.1 mg/mL, 碾磨速度为 2 500 r/min, 碾磨时间为 4 h。经 Box-Behnken 实验设计优化得到奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂的最优处方为: 卡波姆 974P 质量浓度为 5.3 mg/mL, 剪切速度为 2 500 r/min, 剪切时间为 10 min。制备的奈帕芬胺纳米混悬剂的呈不规则状, 部分粒子小于 500 nm, 平均粒径为 (377.6 ± 18.5) nm。与 Nevanac® 的体外释药速率以及在羊眼角膜中的渗透率基本一致。**结论** 制备的奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂各项指标与市售 Nevanac® 无显著差别, 为奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂的仿制提供参考。

关键词: 奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂; 奈帕芬胺; 制备工艺; 释药速率; 渗透率

中图分类号: R944 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2024)11-2799-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2024.11.008

Preparation and performance evaluation of Nepafenac Nanosuspension Eye Drops

LI Qiuyan, XIE Peng

Department of Pharmacy, Tangshan Vocational and Technical College Affiliated Hospital, Tangshan 063099, China

Abstract: Objective To prepare Nepafenac Nanosuspension Eye Drops (Nep-NS-EDs) and evaluate its quality by *in vitro* drug release and permeability. **Methods** The formulation and preparation technology of Nepafenac Nanosuspension (Nep-NS) were determined by single factor test. The carbomer 947P concentration, shear rate, and shear time were taken as independent variables, and the yield stress and viscosity were taken as evaluation indexes. Box-Behnken test was used to optimize the formulation process of Nep-NS-EDs. The micromorphology of Nep-NS was investigated, and particle sizes were measured. The *in vitro* release rate and corneal permeability of Nep-NS-EDs were compared. **Results** The optimal preparation process of Nep-NS was as follows: the concentration was 1.0 mg/mL, milling speed was 2 500 r/min, and milling time was 4 h. The formulation process of Nep-NS-EDs was optimized by Box-Behnken design as follows: the concentration of carbomer 974P was 5.3 mg/mL, the shear speed was 2 500 r/min, and the shear time was 10 min. The prepared Nep-NS-EDs was irregular in shape, with some particles smaller than 500 nm. The average particle size was (377.6 ± 18.5) nm. The *in vitro* release rate and permeability rate of Nep-NS-EDs were basically consistent with those of Nevanac®. **Conclusion** The Nep-NS-EDs was prepared according to the optimized process parameters, and the product quality could be consistent with Nevanac®. The indicators of the prepared Nep-NS-EDs had no significant difference with those of Nevanac®, providing reference for the replication of Nep-NS-EDs.

Key words: Nepafenac Nanosuspension Eye Drops; nepafenac; preparation technology; release rate; permeability

眼部手术后通过局部外用非甾体类抗炎药是消炎止痛的有效方法, 目前眼科常用的非甾体类抗

炎药有吲哚美辛滴眼液、双氯芬酸钠滴眼液、酮咯酸氨丁三醇滴眼液等^[1]。上述药品刺激性大、渗透

收稿日期: 2024-06-18

作者简介: 李秋艳, 女。E-mail: yinqiangfeng@126.com

*通信作者: 谢鹏, 男。E-mail: xiepd@163.com

性弱,生物利用度低,不良反应较多,临床治疗效果有限。奈帕芬胺属于一种抑制环氧化酶生成的非甾体类抗炎药^[2],已被美国 Alcon 公司开发成纳米混悬型滴眼剂,并于 2005 年 8 月被美国食品药品监督管理局批准上市,用于治疗白内障手术后的疼痛和炎症^[3],其商品名为 Nevanac[®],规格为 0.1%。奈帕芬胺为前体药物,可以迅速透过角膜,在眼内水解酶作用下代谢为氨芬酸,产生药理活性^[4]。与其他眼部非甾体抗炎药相比,奈帕芬胺具有渗透性高、靶向性强、不良反应小等优点^[5]。为了减轻国内眼科患者的术后疼痛,提高治疗效果,本研究以奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂作为参比制剂进行研发工作,为本品在国内早日上市提供参考。

1 仪器与材料

ZLM-0.5 型实验室卧式砂磨机(众时机械有限公司);RMRH 型实验用数显高速分散均质机(上海鲁米机电科技有限公司);ARV-310P 真空混合机(日新基贸易有限公司);Mastersizer 3000 激光粒度仪(英国 Malvern 公司);FEI Apreo 型扫描电子显微镜(赛默飞世尔科技公司);TR-3000 透皮扩散试验仪(上海玉研科学仪器有限公司);TA-HR10 型旋转流变仪(美国 Waters 公司);STY-1A 渗透压检测仪(天津市天大天发科技有限公司);DGL-75B 立式实验室高压蒸汽灭菌锅(广州越特科学仪器有限公司)。

奈帕芬胺(广州仁恒医药科技股份有限公司,质量分数 99.8%,批号 S230812);卡波姆 974P(路博润先进材料公司,批号 P3925002);泰洛沙泊(江苏保易制药有限公司,批号 20230918);甘露醇(石家庄华旭药业有限责任公司,批号 230911);氯化钠(江苏省勤奋药业有限公司,批号 20231012);苯扎氯铵(湖北葛店人福药用辅料有限责任公司,批号 20230103);依地酸二钠(默克化工技术有限公司,批号 980723);氢氧化钠(四川金山制药有限公司,批号 20221205);自制模拟泪液(含有 NaCl 6.78 mg/mL, NaHCO₃ 2.18 mg/mL, KCl 1.38 mg/mL, CaCl₂·2H₂O 84 μg/mL, pH 7.4);其他试剂均为分析级。奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂,诺华制药公司生产,规格 0.1%(3 mL),批号 522306003;羊眼(宣庄畜禽定点屠宰厂)。

2 方法与结果

2.1 奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂的制备方法

2.1.1 奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂的处方组成 根

据药品说明书初步拟定奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂的处方组成和用量。奈帕芬胺作为活性成分,其用量为 1.0 mg/mL;卡波姆 974P 作为增稠剂,其用量为 4.0~6.0 mg/mL;泰洛沙泊作为稳定剂和表面活性剂,其用量为 0.05~0.15 mg/mL;甘露醇作为渗透压调节剂,其用量为 20.5~27.6 mg/mL;氯化钠也作为渗透压调节剂,其用量为 3.6~4.4 mg/mL;苯扎氯铵作为防腐剂,其用量为 0.05 mg/mL;依地酸二钠作为金属离子螯合剂,其用量为 0.1 mg/mL;氢氧化钠调节剂 pH 7.3~7.5。

2.1.2 奈帕芬胺纳米混悬剂的制备 按照处方比例称取一定量的泰洛沙泊加入到注射用水中,充分溶解形成透明状溶液,加注射用水定容至 100 mL,将该溶液密封后在 121 °C 灭菌 30 min,取出放置室温冷却;另称取奈帕芬胺 1.0 g 加入到上述溶液中,充分分散,再通过高速分散均质机剪切处理(剪切速度为 10 000 r/min,剪切时间为 10 min),初步降低药物粒径;最后将该药物混悬液加入到卧式砂磨机中,并填入直径为 0.2 mm 的氧化锆碾磨球珠进行碾磨,设定碾磨速度、碾磨时间,待药物粒径达到目标值后停机,取出药物混悬液,备用。

2.1.3 奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂的制备 按照处方比例依次称取处方量的甘露醇、氯化钠、苯扎氯铵、依地酸二钠加入到 800 mL 注射用水中,搅拌溶解,再按照处方比例称取一定量的卡波姆 974P 加入到上述溶液中,充分分散,并采用 0.2 mol/L 氢氧化钠溶液调节至 pH 7.4。将该溶液密封后在 121 °C 灭菌 30 min,取出放置室温冷却;使用高速分散均质机对上述溶液进行剪切,最后将剪切后的卡波姆 974P 溶液与奈帕芬胺纳米混悬剂混合,并加注射用水至 1 000 mL,将该溶液加入到真空混合机中,抽真空至 5 kPa 以下,以 1 000 r/min 混合 5 min,形成均匀透明状溶液,分装,即得。

2.2 粒径测定

使用 Mastersizer 3000 激光粒度仪测定奈帕芬胺纳米混悬剂的粒径分布。在分散器中加入 150 mL 经奈帕芬胺饱和过的澄清溶液,取待测样品溶液 1.0 mL 加入到分散其中,开启搅拌器,在 1 700 r/min 下分散 2 min,测定样品的粒径分布。测定参数:He-Ne 光源,功率 4 mW,波长 632.8 nm,角度 90°;温度 25 °C,每份样品重复测定 3 次,取平均值。

2.3 渗透压测定

开启渗透压检测仪,使用渗透压标准溶液校正

仪器, 校准通过后测定供试品的渗透压。

2.4 流变学测定

2.4.1 动力黏度测定 取奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂样品溶液 1.5 mL, 置流变仪锥板式测量系统上, 选用锥板式测量系统 (直径 40 mm, 锥角 4°), 设置测量温度为 25 °C, 采用流动剪切模式测定样品在剪切速率为 1、50、100 s⁻¹ 时的动力黏度, 记录动力黏度与剪切速率变化曲线。每份样品重复测定 3 次, 取平均值。

2.4.2 屈服应力测定 取奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂样品溶液 1.5 mL, 置流变仪锥板式测量系统上, 选用锥板式测量系统 (直径 40 mm, 锥角 4°), 设置测量温度为 25 °C, 扫描频率为 1 Hz, 应力范围为 0.05%~50%, 进行应力扫描, 测定屈服应力^[6]。每份样品重复测定 3 次, 取平均值。

2.5 奈帕芬胺纳米混悬剂的制备工艺考察

2.5.1 泰洛沙泊质量浓度的影响 泰洛沙泊属于高分子表面活性剂, 在奈帕芬胺纳米混悬剂处方中作为润湿剂和稳定剂, 抑制纳米粒子间聚集, 提高体系的物理稳定性。分别配制泰洛沙泊质量浓度分别为 0.5、1.0、1.5 mg/mL 溶液各 100 mL, 灭菌, 再称取奈帕芬胺各 1.0 g, 分别加入到上述 3 种稳定剂溶液中, 充分分散, 制备奈帕芬胺纳米混悬剂, 碾磨速度为 2 500 r/min, 定时取样测定药物粒径, 结果见图 1。

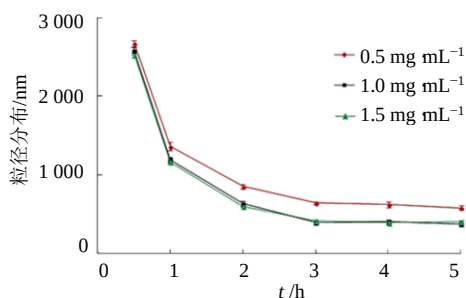


图 1 泰洛沙泊质量浓度对奈帕芬胺纳米混悬剂的粒径分布的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 1 Effect of tyloxapol concentration on particle size distribution of Nep-NS ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

结果显示, 在相同的工艺参数条件下, 不同泰洛沙泊质量浓度对奈帕芬胺纳米混悬剂的粒径具有一定的影响, 当泰洛沙泊的质量浓度较低时 (0.5 mg/mL), 制备的奈帕芬胺纳米混悬剂的粒径相对较大; 而当泰洛沙泊质量浓度提高到 1.0、1.5 mg/mL 后, 制备的奈帕芬胺纳米混悬剂粒径明显减小。因

此确定配制泰洛沙泊质量浓度为 1.0 mg/mL 时制备奈帕芬胺纳米混悬剂, 最终泰洛沙泊在奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂中的质量浓度为 0.1 mg/mL。

2.5.2 碾磨速度、碾磨时间的影响 配制泰洛沙泊质量浓度为 1.0 mg/mL 的溶液 400 mL, 灭菌, 分成 4 分, 每份 100 mL。称取奈帕芬胺各 1.0 g, 分别加入上述 4 份稳定剂溶液中, 充分分散, 制备奈帕芬胺纳米混悬剂。分别设置碾磨速度为 2 000、2 500、3 000、3 500 r/min, 定时取样, 测定药物粒径, 结果见图 2。

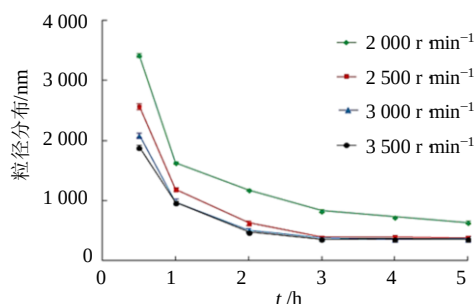


图 2 碾磨速度和碾磨时间对奈帕芬胺纳米混悬剂的粒径分布的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 2 Effect of grinding speed and grinding time on particle size distribution of Nep-NS ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

结果显示, 在相同的碾磨时间下, 提高碾磨速度有助于减小奈帕芬胺的粒径, 但增加碾磨速度会导致碾磨球珠氧化锆之间的剧烈碰撞, 珠粒碎裂, 污染药物, 因此根据设备情况在制备奈帕芬胺纳米混悬剂的碾磨速度不要超过 2 500 r/min。在相同的碾磨速度下, 延长研磨时间将有助于减小奈帕芬胺纳米混悬剂的粒径。当碾磨速度为 2 500 r/min 时, 碾磨时间超过 4 h 后奈帕芬胺纳米混悬剂的粒径很难再降低, 因此最终确定制备奈帕芬胺纳米混悬剂的碾磨速度为 2 500 r/min, 碾磨时间为 4 h。

2.6 奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂处方工艺考察

2.6.1 甘露醇质量浓度的影响 奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂处方中甘露醇起到渗透压调节剂作用, 而甘露醇的结构中存在多个羟基, 可以与卡波姆 974P 结构中的羧基形成氢键, 进一步增强其膨胀性, 有可能影响制剂的流变性, 因此需要对甘露醇的质量浓度进行考察。称取氯化钠 4.0 g、苯扎氯铵 0.05 g、依地酸二钠 0.1 g, 加入到 800 mL 注射用水中, 搅拌溶解, 同法配制 3 份; 另分别称取甘露醇 20.5、24.0、27.6 g, 依次加入到上述 3 份溶液中, 搅拌溶解; 再称取卡波姆 974P 5.0 g, 共 3 份, 分别加入到

上述 3 份溶液中,充分分散,采用 0.2 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 7.4,制备奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂,使 3 份制剂中甘露醇的质量浓度分别为 20.5、24.0、27.6 mg/mL。考察制剂中甘露醇的质量浓度对其流

变学性质的影响,结果见表 1。结果显示,处方中甘露醇的质量浓度变化对制剂的流变学性质影响较小,因此确定甘露醇在处方中的质量浓度为 24.0 mg/mL。

表 1 甘露醇质量浓度对制剂流变学的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Effect of mannitol concentration on rheology of the formulations ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

甘露醇质量浓度/ (mg mL ⁻¹)	屈服应力/mPa	黏度/(mPa s)			渗透压/ (mOsm kg ⁻¹)
		1 s ⁻¹	10 s ⁻¹	100 s ⁻¹	
20.5	43.7±10.1	356.3±10.5	185.7±4.6	127.6±1.6	267±2
24.0	49.1±12.9	361.2±12.4	187.5±4.8	129.4±4.2	303±1
27.6	62.4±13.1	359.6±11.6	189.5±3.7	131.6±3.9	337±1
Nevanac®	53.4±11.8	356.3±10.3	195.3±6.7	132.7±3.5	302±2

2.6.2 氯化钠质量浓度的影响 氯化钠在处方中也起到渗透压调节剂作用,因此需要对其质量浓度进行考察。称取甘露醇 24.0 g、苯扎氯铵 0.05 g、依地酸二钠 0.1 g,加入到 800 mL 注射用水中,搅拌溶解,同法配制 3 份;另分别称取氯化钠 3.6、4.0、4.4 g,依次加入到上述 3 份溶液中,搅拌溶解;再称取卡波姆 974P 5.0 g,3 份,分别加入到上述 3 份溶液中,充分分散,采用 0.2 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 7.4,制备奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂,使 3 份

制剂中氯化钠质量浓度分别为 3.6、4.0、4.4 mg/mL。考察制剂中氯化钠质量浓度对其流变学性质的影响,结果见表 2。结果显示,处方中氯化钠变化对制剂的流变学性质产生了较大的影响。这是由于氯化钠可以与卡波姆 974P 中的羧基相互作用,使其带负电荷的羧酸基团之间的静电斥力减少,凝胶结构受损,黏度降低。本研究确定氯化钠在处方中的质量浓度为 4.0 mg/mL,该处方下流变学性质、渗透压与 Nevanac®相似。

表 2 氯化钠质量浓度对制剂流变学的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Effect of NaCl concentration on the rheology of the formulations ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

氯化钠质量浓度/ (mg mL ⁻¹)	屈服应力/mPa	黏度/(mPa s)			渗透压/ (mOsm kg ⁻¹)
		1 s ⁻¹	10 s ⁻¹	100 s ⁻¹	
3.6	84.3±15.1	389.5±11.5	213.6±8.3	137.7±3.7	241±2
4.0	49.1±12.9	361.2±12.4	187.5±4.8	129.4±4.2	303±1
4.4	23.6±9.7	326.7±9.6	163.7±4.8	96.4±3.1	357±3
Nevanac®	53.4±11.8	356.3±10.3	195.3±6.7	132.7±3.5	302±2

2.6.3 卡波姆 974P 质量浓度的影响 处方中卡波姆 974P 质量浓度是影响制剂流变学性质的最关键因素^[7],因此需要对卡波姆 974P 的质量浓度进行研究。分别称取甘露醇 24.0 g、氯化钠 4.0 g、苯扎氯铵 0.05 g、依地酸二钠 0.1 g,加入到 800 mL 注射用水中,搅拌溶解,同法配制 3 份;另分别称取卡波姆 974P 4.0、5.0、6.0 g,依次加入到上述 3 份溶液中,充分分散,采用 0.2 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 7.4,制备奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂,使 3 份制剂中卡波姆 974P 的质量浓度分别为 4.0、5.0、6.0

mg/mL。考察制剂中卡波姆 974P 质量浓度对其流变学性质的影响,结果见表 3。结果显示,卡波姆 974P 质量浓度对奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂的屈服应力和黏度影响均较大,随着处方中卡波姆 974P 质量浓度增大,其屈服应力和黏度均明显增大。因此暂定卡波姆 974P 质量浓度为 5.0 mg/mL。

2.6.4 剪切速度的影响 卡波姆在通过高剪切乳化机剪切后流变学性质会出现显著变化^[8],因此需要对卡波姆 974P 的高剪切工艺参数进行研究。称取甘露醇 24.0 g、氯化钠 4.0 g、苯扎氯铵 0.05 g、

表 3 卡波姆 974P 质量浓度对制剂流变学的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 3 Effect of carbomer 974P concentration on rheology of the formulations ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

卡波姆质量浓度/ (mg mL ⁻¹)	屈服应力/mPa	黏度/(mPa s)		
		1 s ⁻¹	10 s ⁻¹	100 s ⁻¹
4.0	13.7±6.7	145.4±10.7	95.5±4.2	75.0±2.7
5.0	49.1±12.9	361.2±12.4	187.5±4.8	129.4±4.2
6.0	120.6±21.1	690.5±22.7	357.3±13.7	176.5±5.5
Nevanac®	53.4±11.8	356.3±10.3	195.3±6.7	132.7±3.5

依地酸二钠 0.1 g, 加入到 800 mL 注射用水中, 搅拌溶解, 同法配制 4 份; 另称取 4 份卡波姆 974P 5.0 g, 依次加入到上述溶液中, 充分分散后, 采用 0.2 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 7.4; 使用高速分散均质机对上述溶液进行剪切, 剪切速度为 0、1 500、2 500、3 500 r/min, 剪切时间均为 10 min; 最后将 4 份剪切后的卡波姆 974P 溶液与奈帕芬胺纳米混

悬剂混合, 制备奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂。考察不同剪切速度对制剂流变学性质的影响, 结果见表 4。结果显示, 在卡波姆 974P 质量浓度、剪切时间相同的条件下, 随着剪切速度的提高, 屈服应力和黏度均出现下降趋势, 说明在剪切过程破坏了卡波姆 974P 的结构, 使其黏度下降^[9]。因此暂定剪切速度为 2 500 r/min 进行后续研究。

表 4 剪切速度对制剂流变学的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 4 Effect of shear speed on rheology of the formulations ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

剪切速度/(r min ⁻¹)	屈服应力/mPa	黏度/(mPa s)		
		1 s ⁻¹	10 s ⁻¹	100 s ⁻¹
0	80.5±17.9	470.5±16.7	237.9±7.6	144.2±6.4
1 500	60.2±13.3	419.4±12.8	217.0±5.8	132.0±3.9
2 500	49.1±12.8	361.2±12.4	187.5±4.8	129.4±4.2
3 500	38.7±10.2	290.2±10.5	178.7±6.5	114.6±4.8
Nevanac®	53.4±11.8	356.3±10.3	195.3±6.7	132.7±3.5

2.6.5 剪切时间的影响 称取甘露醇 24.0 g、氯化钠 4.0 g、苯扎氯铵 0.05 g、依地酸二钠 0.1 g, 加入到 800 mL 注射用水中, 搅拌溶解, 同法配制 4 份; 另称取卡波姆 974P 5.0 g, 共 4 份依次加入上述溶液中, 充分分散, 采用 0.2 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 7.4; 对上述溶液进行剪切, 剪切速度为 2 500

r/min, 剪切时间为 0、5、10、15 min; 将剪切后的卡波姆 974P 溶液与奈帕芬胺纳米混悬剂混合, 制备奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂。考察不同剪切时间对制剂流变学性质影响, 见表 5。结果显示, 在卡波姆 974P 的质量浓度和剪切速度相同的条件下, 随着剪切时间延长, 屈服应力、黏度均出现下降趋势。

表 5 剪切时间对制剂流变学的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 5 Effect of shear time on rheology of the formulations ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

剪切时间/min	屈服应力/mPa	黏度/(mPa s)		
		1 s ⁻¹	10 s ⁻¹	100 s ⁻¹
0	80.5±17.9	470.5±16.7	237.9±7.6	144.2±6.4
5	65.3±15.3	432.1±10.8	226.8±6.2	137.1±4.6
10	49.1±12.9	361.2±12.4	187.5±4.8	129.4±4.2
15	42.5±10.4	335.4±9.6	171.5±4.7	107.6±3.6
Nevanac®	53.4±11.8	356.3±10.3	195.3±6.7	132.7±3.5

通过单因素考察实验可以初步确定卡波姆 974P 质量浓度、剪切速度、剪切时间对制剂流变学性质的影响,但是不同卡波姆 974P 质量浓度的处方通过不同的剪切工艺参数可能制备得到流变学性质相似的制剂。因此需要通过实验设计对影响制剂流变学性质关键的 3 个因素(卡波姆 974P 质量浓度、剪切速度、剪切时间)进行优化。

2.7 奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂的处方优化

通过单因素考察可知,奈帕芬胺纳米混悬滴眼

剂的制备工艺中涉及到卡波姆 974P 溶液的均质剪切工艺,该工艺参数对卡波姆 974P 溶液的流变学性质产生较大影响,进而会对奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂的流变学性质造成较大的风险。因此本研究以卡波姆 974P 质量浓度(X_1)、剪切速度(X_2)和剪切时间(X_3)为因素,以屈服应力(Y_1)、剪切速率 1 s^{-1} 黏度(Y_2)、剪切速率 10 s^{-1} 黏度(Y_3)和剪切速率 100 s^{-1} 黏度(Y_4)作为评价指标,采用 Box-Behnken 实验设计进行实验优化,见表 6。

表 6 实验设计和结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Table 6 Design and results of experiments ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

试验号	自变量			因变量			
	$X_1/(\text{mg mL}^{-1})$	$X_2/(\text{r min}^{-1})$	X_3/min	Y_1/mPa	$Y_2/(\text{mPa s})$	$Y_3/(\text{mPa s})$	$Y_4/(\text{mPa s})$
1	4.0	1 500	10	13.5±8.4	154.6±9.5	99.7±2.7	76.8±1.9
2	6.0	1 500	10	144.2±25.8	847.6±23.5	456.3±14.9	203.6±9.5
3	4.0	3 500	10	8.4±5.7	106.7±5.4	68.9±3.5	46.7±2.6
4	6.0	3 500	10	96.6±19.6	547.4±13.6	325.7±8.5	157.6±3.8
5	4.0	2 500	5	15.9±8.9	164.2±8.4	108.5±3.7	80.8±3.1
6	6.0	2 500	5	183.2±30.5	1054.4±35.7	574.6±10.6	235.7±7.8
7	4.0	2 500	15	9.6±6.4	121.9±7.7	85.4±3.7	67.4±2.1
8	6.0	2 500	15	92.7±19.8	504.7±16.9	317.8±9.5	150.5±5.8
9	5.0	1 500	5	72.5±15.6	535.6±13.2	256.7±7.4	143.2±4.7
10	5.0	3 500	5	46.3±11.4	358.4±9.5	179.3±5.3	122.5±4.3
11	5.0	1 500	15	51.5±12.4	403.2±8.5	201.6±4.2	131.7±2.5
12	5.0	3 500	15	30.7±7.5	241.8±7.5	146.8±3.7	89.5±3.1
13	5.0	2 500	10	49.0±11.7	358.9±8.4	183.7±3.8	129.6±3.6
14	5.0	2 500	10	50.1±10.5	369.2±9.5	187.8±4.3	130.6±4.3
15	5.0	2 500	10	48.6±11.7	365.1±10.6	183.7±3.6	127.3±3.7

通过 Design Expert 10.0 软件对表 6 中实验数据进行方差分析,确定采用多元二次(Quadratic)模型拟合,阐明了自变量(卡波姆 974P 质量浓度、剪切速度和剪切时间)与因变量(屈服应力和各个剪切速率下黏度)之间的相关性,拟合方程中各项系数、显著性检验结果见表 7。使用响应曲面图阐明了 X_1 、 X_2 和 X_3 3 个变量因素与 Y_1 、 Y_2 、 Y_3 和 Y_4 之间的关系,见图 3。

根据方差分析结果可知,卡波姆 974P 质量浓度对屈服应力和黏度呈正相关,即增加卡波姆 974P 质量浓度可使滴眼剂的屈服应力和黏度显著增加($P<0.01$);而剪切速度对屈服应力和黏度呈负相关,即增加剪切速度可使滴眼剂的屈服应力和黏度显著降低($P<0.01$);同样,剪切时间对屈服应力和黏度呈负相关,即延长剪切时间可使滴眼剂的屈

服应力和黏度显著降低($P<0.01$)。

为了制备与参比制剂相似的仿制制剂,要求奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂的屈服应力和黏度为 Nevanac®的 $\pm 30\%$ 是可以接受的^[10]。通过 Design Expert 10.0 软件拟合得到奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂的最优处方工艺为:卡波姆 974P 的质量浓度为 5.3 mg/mL ,剪切速度为 $2\ 500\text{ r/min}$,剪切时间为 10 min 。软件预测奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂的屈服应力为 52.0 mPa ,剪切速率 1 、 10 、 100 s^{-1} 的黏度分别为 359.0 、 199.0 、 128.5 mPa s 。

按该处方制备 3 批奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂,测定其屈服应力为 $(51.6\pm 9.6)\text{ mPa}$,剪切速率 1 、 10 、 100 s^{-1} 黏度分别为 (372.6 ± 10.8) 、 (189.3 ± 6.8) 、 $(128.3\pm 5.8)\text{ mPa s}$ 。实验值与预测值基本一致,模型预测准确性较高。

表 7 拟合方程中各项系数和显著性检验结果

Table 7 Coefficients in the fitting equation and the results of significance test

项目	Y ₁		Y ₂		Y ₃		Y ₄	
	系数	P 值	系数	P 值	系数	P 值	系数	P 值
模型		0.000 6		0.000 7		0.001 0		0.000 2
X ₁	58.66	<0.000 1	300.84	<0.000 1	163.99	<0.000 1	59.46	<0.000 1
X ₂	-12.46	0.022 3	-85.84	0.009 0	-36.70	0.027 2	-17.38	0.002 6
X ₃	-16.68	0.007 2	-105.13	0.003 9	-45.94	0.011 8	-17.89	0.002 3
X ₁ X ₂	-10.63	0.106 0	-63.08	0.084 1	-24.95	0.197 7	-3.97	0.411 2
X ₁ X ₃	-21.05	0.011 4	-126.85	0.007 5	-58.43	0.017 7	-17.95	0.009 9
X ₂ X ₃	1.35	0.812 4	3.95	0.898 1	5.65	0.750 3	-5.38	0.279 7
X ₁₂	20.77	0.014 0	63.11	0.093 5	66.03	0.014 6	1.94	0.695 1
X ₂₂	-4.33	0.475 6	-13.44	0.678 1	-11.45	0.541 7	-9.93	0.084 0
X ₃₂	5.35	0.384 9	33.79	0.318 7	22.48	0.254 9	2.49	0.612 5

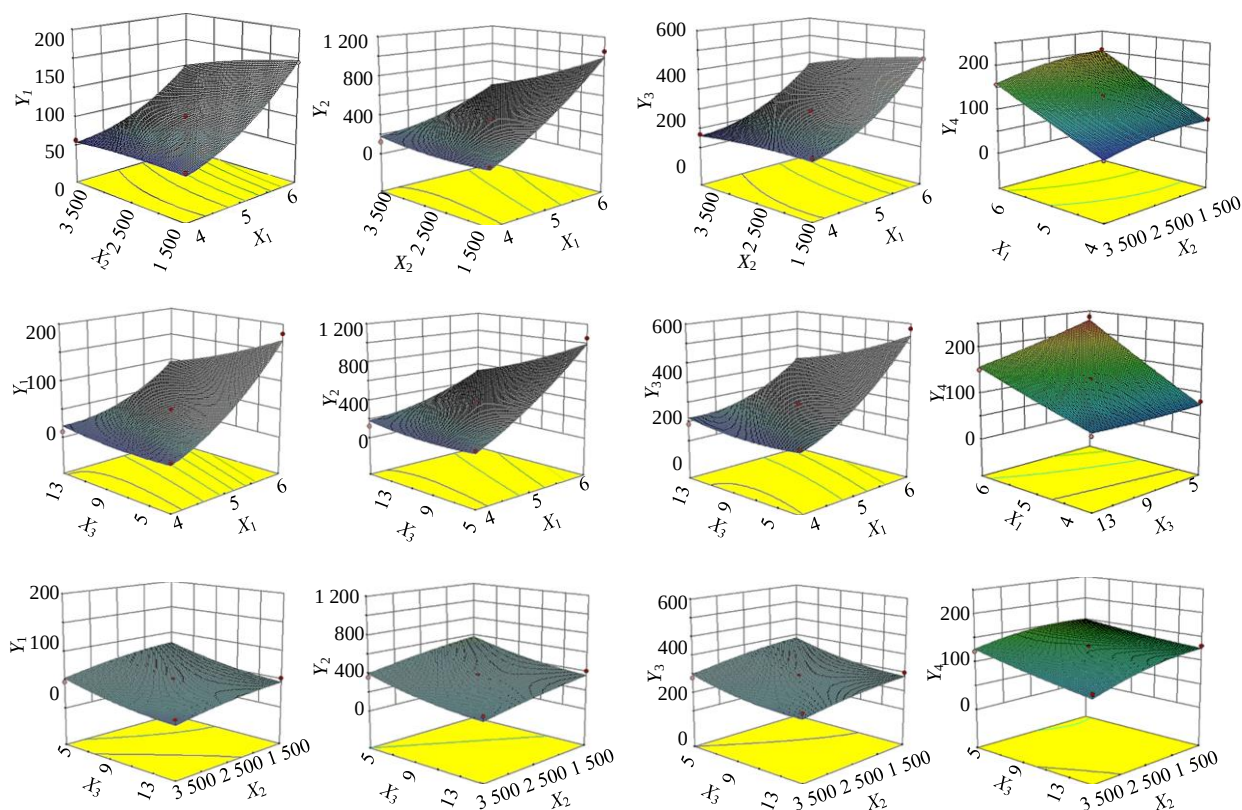


图 3 卡波姆 974P 质量浓度 (X₁)、剪切速度 (X₂) 和剪切时间 (X₃) 对奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂的屈服应力 (Y₁)、剪切速率 1 s⁻¹ 黏度 (Y₂)、剪切速率 10 s⁻¹ 黏度 (Y₃)、剪切速率 100 s⁻¹ 黏度 (Y₄) 影响的响应曲面图

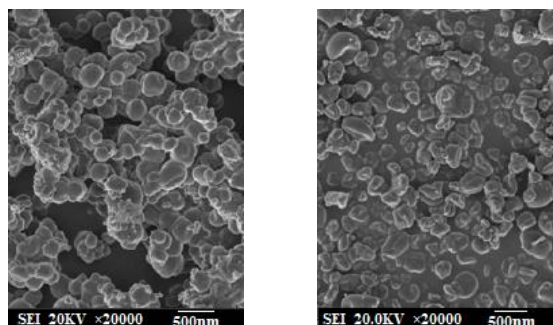
Fig. 3 Response surface diagram of the influence of Carbom-974P mass concentration (X₁), shear velocity (X₂) and shear time (X₃) on the yield stress (Y₁), the shear rate 1 s⁻¹ viscosity (Y₂), shear rate 10 s⁻¹ viscosity (Y₃), and shear rate 100 s⁻¹ viscosity (Y₄) of Nep-NS-EDs

2.8 奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂的性质研究

2.8.1 扫描电镜 (SEM) 观察微观形态 取奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂和 Nevanac[®] 分别经奈帕芬胺饱

和过的澄清溶液稀释, 各取一小滴样品均匀铺展在锡箔纸表面, 待风干后用导电胶带将样品黏附到样品台上, 真空镀金, 电压为 20 kV, 在扫描电镜下

观察样品的微观形态, 见图 4。结果显示, 奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂和 Nevanac® 中的药物颗粒均呈不规则状, 形态相似, 但粒子尺寸略有差异, 大部分粒子小于 500 nm。



奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂

Nevanac®

图 4 扫描电镜

Fig. 4 The scanning electron microscopy (SEM)

2.8.2 粒径测定 分别测定奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂和 Nevanac® 的粒径分布, 见图 5。结果显示, 奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂的平均粒径为 (377.6 ± 18.5) nm, Nevanac® 的平均粒径为 (392.3 ± 21.6) nm, 说明自制制剂与参比制剂粒径分布相似。

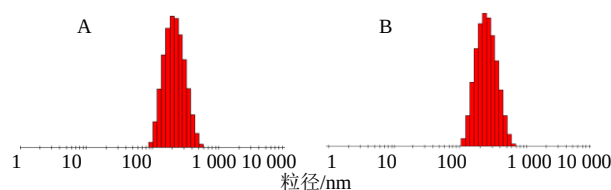
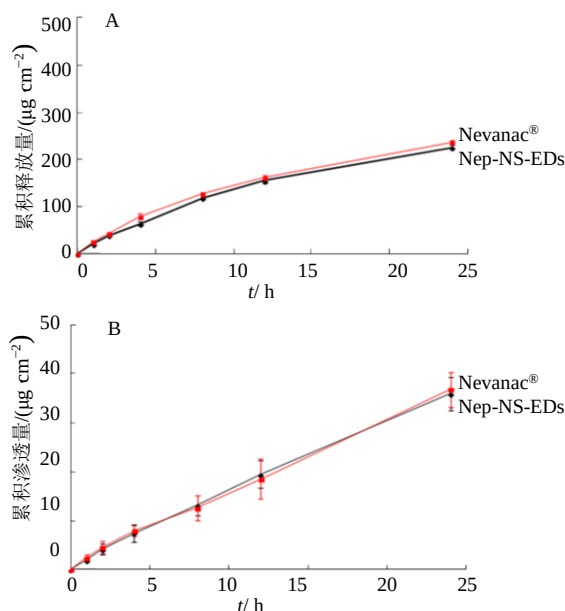


图 5 奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂 (A) 和 Nevanac® (B) 粒径分布

Fig. 5 Particle size distribution of Nep-NS-EDs (A) and Nevanac® (B)

2.8.3 体外药物释放和离体角膜渗透性 取醋酸纤维素膜 (孔径 $0.45 \mu\text{m}$, 直径 25 mm) 在自制模拟泪液 (含 10% 乙醇) 中浸泡过夜, 固定于垂直 Franz 扩散池的供给池与接收池之间 (扩散面积为 0.786 cm^2)。接收池中加入自制模拟泪液 (含 10% 乙醇) 6.0 mL, 水浴温度为 $(34.0 \pm 0.5) ^\circ\text{C}$, 磁力搅拌速度为 100 r/min, 供给池中加入奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂 1.0 mL, 分别于给药后 1、2、4、8、12、24 h 从接收池中取出接收液 1.0 mL (同时补加同温同体积模拟泪液), 经适当稀释, 采用 HPLC 法测定奈帕芬胺的质量浓度^[11], 计算药物累积释放量, 平行进行 6 次实验, 取平均值; 同法测定 Nevanac® 中的药物累积释放量。绘制释放度量-时间曲线图, 见图

6A。另取新鲜羊眼, 剥离眼角膜, 用生理盐水洗净血渍和异物, 将其固定于垂直 Franz 扩散池的供给池与接收池之间, 同法测定奈帕芬胺的质量浓度, 比较奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂和 Nevanac® 在离体角膜中的药物累积渗透量, 见图 6B。

图 6 奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂和 Nevanac® 的体外累积释放量 (A) 和累积渗透量 (B) 比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)Fig. 6 In vitro cumulative release (A) and permeability (B) of Nep-NS-EDs and Nevanac® ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

体外释放及渗透结果显示, 奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂与 Nevanac® 的体外释药速率以及在羊眼角膜中的渗透率基本一致, 进一步说明奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂与 Nevanac® 的质量一致。

3 讨论

纳米混悬剂由粒径为纳米级别的药物粒子及其辅料组成的混悬溶液体系, 在眼部给药后, 药物粒子在眼表泪液释放后渗透过眼角膜屏障, 被眼内组织吸收, 起到治疗目的。由于奈帕芬胺的水溶性极差 (为 $19.7 \mu\text{g/mL}$)^[12], 因此本研究将其制备成纳米混悬剂形式给药, 以增加药物的溶解速率和渗透性。

奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂为无菌制剂, 无菌制剂的生产工艺主要包括: 湿热灭菌、辐照灭菌和滤过除菌。本品处方中含有卡波姆 974P, 药液黏度较大, 且为混悬型制剂, 滤过除菌工艺不可行; 而辐照灭菌会使卡波姆 974P 的分子链断裂, 黏度降低, 会影响到产品的质量。因此本品最终选用湿热灭菌

工艺生产^[13]。

由于人体泪液更新时间小于 5 min^[14]，在眼部给药后，持续分泌的泪液可以很快地将角膜前的滴眼液冲洗掉，导致仅一小部分药物达到作用部位，且当眼睛有疾病或药物对眼睛产生刺激时，泪液更新时间甚至更短，因此需要在滴眼剂中加入增稠剂以延长角膜表面药物滞留时间^[15]。本品处方中卡波姆 974P 作为增稠剂时，奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂在剪切速率 100 s⁻¹（模拟眨眼动作）时的黏度约为 130 mPa s，在该黏度下药液不易流动性，可延长药物与角膜的接触时间，有利于药物吸收利用。

Franz 扩散池是评价眼用制剂体外药物释放的常用方法^[16]。本研究分别采用醋酸纤维素膜和离体羊角膜比较了奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂与 Nevanac®的体外释放速率和体外药物渗透性，结果显示，奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂与 Nevanac®相似。

本研究对奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂的处方和制备工艺进行了研究，结果表明自制制剂的各项指标与市售 Nevanac®无显著差别，且体外释放速率和体外药物渗透性与参比制剂相似，为奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂的仿制提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 杨诗语, 朱宝强, 张明名, 等. 围术期应用非甾体类抗炎滴眼液防治白内障术后并发症研究进展 [J]. 实用药物与临床, 2024, 27(4): 309-313.
- [2] Jones B M, Neville M W. Nepafenac: An ophthalmic nonsteroidal antiinflammatory drug for pain after cataract surgery [J]. *Ann Pharmacother*, 2013, 47(6): 892-896.
- [3] Gaynes B I, Onyekwulje A. Topical ophthalmic NSAIDs: A discussion with focus on nepafenac ophthalmic suspension [J]. *Clin Ophthalmol*, 2008, 2(2): 355-368.
- [4] 郭姗姗, 李草, 赵志刚. 眼用制剂的前药及其药动力学研究进展 [J]. 中国药学杂志, 2022, 57(9): 684-690.
- [5] Walters T, Raizman M, Ernest P, et al. *In vivo* pharmacokinetics and *in vitro* pharmacodynamics of nepafenac, amfenac, ketorolac, and bromfenac [J]. *J Cataract Refract Surg*, 2007, 33(9): 1539-1545.
- [6] Vo A, Feng X, Patel D, et al. *In vitro* physicochemical characterization and dissolution of brinzolamide ophthalmic suspensions with similar composition [J]. *Int J Pharm*, 2020, 588: 119761.
- [7] Kolman M, Smith C, Chakrabarty D, et al. Rheological stability of carbomer in hydroalcoholic gels: Influence of alcohol type [J]. *Int J Cosmet Sci*, 2021, 43(6): 748-763.
- [8] Vo A, Feng X, Patel D, et al. Factors affecting the particle size distribution and rheology of brinzolamide ophthalmic suspensions [J]. *Int J Pharm*, 2020, 586: 119495.
- [9] 熊佳佳, 王柏. 卡波姆凝胶流变学特性及其影响因素研究 [J]. 海峡药学, 2006, 18(4): 34-37.
- [10] Miron D S, Rădulescu F Ș, Voicu V A, et al. Rheological and *in vitro* release measurements of manufactured acyclovir 5% creams: Confirming sensitivity of the *in vitro* release [J]. *Pharm Dev Technol*, 2021, 26(7): 779-787.
- [11] Usman S, Akram M, Aziz A, et al. Development and validation of HPLC analytical method for nepafenac in ophthalmic dosage form (suspension) [J]. *Pak J Pharm Sci*, 2014, 27(5 Spec no): 1541-1546.
- [12] Shelley H, Grant M, Smith F T, et al. Improved ocular delivery of nepafenac by cyclodextrin complexation [J]. *AAPS PharmSciTech*, 2018, 19(6): 2554-2563.
- [13] Bindal A, Narsimhan G, Hem S L, et al. Effect of steam sterilization on the rheology of polymer solutions [J]. *Pharm Dev Technol*, 2003, 8(3): 219-228.
- [14] Almeida H, Amaral M H, Lobão P, et al. *In situ* gelling systems: A strategy to improve the bioavailability of ophthalmic pharmaceutical formulations [J]. *Drug Discov Today*, 2014, 19(4): 400-412.
- [15] Kaur I P, Kanwar M. Ocular preparations: The formulation approach [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2002, 28(5): 473-493.
- [16] Bao Q Y, Newman B, Wang Y, et al. *In vitro* and *ex vivo* correlation of drug release from ophthalmic ointments [J]. *J Control Release*, 2018, 276: 93-101.

【责任编辑 解学星】