

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷
A61K 31/7048
A61P 27/02



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 02145139.7

[43] 公开日 2004 年 5 月 26 日

[11] 公开号 CN 1498624A

[22] 申请日 2002. 11. 5 [21] 申请号 02145139. 7 [71] 申请人 浙江大学药业有限公司 地址 310029 浙江省杭州市凯旋路 268 号 [72] 发明人 韩红路 邹庆宇	[74] 专利代理机构 浙江杭州金通专利事务所有限公司 代理人 吴巧玲 权利要求书 1 页 说明书 10 页
---	--

[54] 发明名称 葛根素眼用凝胶及其制备方法
[57] 摘要

本发明涉及葛根素眼用凝胶，用于治疗各种类型的青光眼、视网膜动、静脉阻塞等慢性眼病，其主要成分为葛根素，凝胶基质为卡波姆，以硼砂、硼酸为 pH 值调节剂，按 100 份凝胶重量计，重量比葛根素为 0.5 ~ 2.0，凝胶基料为 0.1 ~ 1.0，调节 pH 值 5.0 ~ 7.0，其余为注射用水。本发明制成的葛根素凝胶，比滴眼液剂的药效作用时间早、发挥药效作用时间长，是一种较为理想的抗青光眼用药物。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1、一种葛根素眼用凝胶，其特征是由葛根素、凝胶基料、pH调节剂、注射用水组成，以100份凝胶重量计，重量比葛根素为0.5~2.0，凝胶基料为0.1~1.0，以硼砂、硼酸为pH调节剂，调节pH值5.0~7.0，其余为注射用水。

2、根据权利要求1所述的凝胶，其特征是以100份凝胶重量计，重量比葛根素为0.8~1.5，凝胶基料为0.2~0.6，以硼砂、硼酸为pH调节剂，调节pH值6.0~6.5，其余为注射用水。

3、根据权利要求1或2所述的凝胶，其特征是所述的凝胶基料是卡波姆。

4、根据权利要求1~3所述的凝胶的制备方法，其特征是：葛根素用注射用水溶解，然后将凝胶基料卡波姆浸泡其中12h。将pH调节剂硼砂、硼酸加入其中，搅拌均匀，控制pH值5.0~7.0，加注射用水至全量，充分搅拌，用220目筛布过滤，得透明凝胶，热压灭菌，冷却，分装进库。

葛根素眼用凝胶及其制备方法

技术领域

本发明涉及用于各种类型青光眼、视网膜动(静)脉阻塞等慢性眼病治疗的葛根素眼用凝胶，还涉及该凝胶的制备方法。

现有技术

葛根素(*puerarin*)为常用中药野葛 *pueraria labata* (willd.) Ohwi (*P.thunbergiana* S.et Z.) Benth.*P.pseudohirsuta* Tang et Wang 和甘葛藤(粉葛) *pueraria homsonii* Benth 根中分离出来的有效成份，其化学名 8- β -D 葡萄吡喃糖-4',7-二羟基异黄酮[眼科新进展 1999,19(2):73~77]。该品为白色针状结晶，能溶于水，但溶解度低(6.24g/L)，水溶液为无色或微黄色[眼科新进展 2000,20(6):454~455]。葛根素已被批准为西药新药，剂型有注射液和滴眼液，葛根素原料和注射液已被中国药典 2000 年版增补本收载。

青光眼是以眼压持续地或间断地增高、视野缺损、视乳头凹陷和萎缩及视力下降为主要特征的一种疾病。我国人群中发病率约为 1%~2%，在全盲人中，约有 10%盲人系青光眼所致。葛根素具有 β 受体阻滞作用，能降低眼内压[Intraocular Pressure, IOP]，并且能改善眼底微循环[中华眼科杂志 1999,29(6):336]。10g/L 葛根素滴眼液(南京药物研究所眼科药理研究中心研制)对慢性眼高压模型试验表明具降眼压作用、对急性眼高压模型试验表明具抑制眼压升高作用[中国药理学通报 1998,14(6):569~570]。1%葛根素滴眼液用于治疗慢性单纯性青光眼，眼压开始下降最快的是点眼药后 15min，最慢是 4h，眼压下降维持时间最短 3h，最长 10h[中西医结合眼科杂志 1992,10(2):65~67]。

发明内容

本发明的任务是提供一种葛根素眼用凝胶，该凝胶是由葛根素滴眼液通过改变剂型而得，在适应症与原滴眼液剂型完全一致的基础上，葛根素眼用凝胶具有比滴眼液起效快、易于涂布、无刺激性、药物在眼内停留时间长、药物作用时间长和疗效好等优点，特别适合青光眼、视网膜动、静脉阻塞这类需长期治疗的患者使用。

为实现上述任务，本发明采取了如下技术措施：

本发明葛根素眼用凝胶是以葛根素为主要活性成份，辅以凝胶基料、pH调节剂、注射用水，以100份凝胶重量计，葛根素为0.5~2.0，凝胶基料为0.1~1.0，以硼砂、硼酸为pH调节剂，调节pH值5.0~7.0，其余为注射用水。

本发明葛根素眼用凝胶的较佳配方为：以100份凝胶重量计，葛根素为0.8~1.5，凝胶基料为0.2~0.6，以硼砂、硼酸为pH调节剂，调节pH值6.0~6.5，其余为注射用水。

本发明所述的凝胶基料为卡波姆。

本发明所述的葛根素眼用凝胶的制备方法是：葛根素用注射用水溶解，然后将凝胶基料卡波姆浸泡其中12h。将pH值调节剂硼砂、硼酸加入其中，搅拌均匀，控制pH值5.0~7.0，加注射用水至全量，充分搅拌，用220目筛布过滤，得透明凝胶，然后热压灭菌，冷却，分装，即得到本发明凝胶。

本发明的积极效果在于：

青光眼，视网膜动、静脉阻塞作为一种慢性病，需要长期用药，并希望药物在眼内停留时间长，药物发挥最大作用。葛根素眼用凝胶以卡波姆为凝胶基质，卡波姆是由充满水份的聚合物组成的一个呈链状连接、粘连的骨架，该聚合物具有独特的触变性：即其结构在外力作用下，会被破坏，导致粘度降低；经过休整，其粘结的凝胶剂骨架又会重建，凝胶体恢复至原来的粘度。葛根素眼用凝胶剂滴入眼内后先是由于眨眼产生的碰撞作用，使凝胶剂表现出触变性，其次是眼内电解质的水解作用以及温度的影响，使凝胶剂中的水分会大量均衡地释放，快速弥

散在眼表，能同时替代二层泪膜(水液层和粘蛋白层)，延长在眼表的附着时间。因此，本发明制成的葛根素眼用凝胶具有释药快、无油腻性、易涂展、能与水溶液混合和能延长药物作用时间等特点。

眼内药代动力学研究表明，葛根素制成的眼用凝胶，通过这一局部用药途径，能够很好的被眼组织吸收，发挥药效作用，药物的高峰浓度出现在 2h，眼压下降的最低点在 4h，说明药效有滞后现象，药物在房水中消除半衰期($t_{1/2\beta}$)为 8.32h，一次滴药后 24h 仍能维持较低眼压，说明药效作用时间长；葛根素滴眼液一天滴 3 次，而葛根素眼用凝胶一天只需滴一次。

同时药效实验也表明，葛根素眼用凝胶具有抗大鼠血栓形成的作用；明显改变大鼠血瘀模型血液流变学参数；改善兔眼球结膜微循环；降低实验性兔高眼压，且葛根素眼用凝胶比滴眼液的药物作用时间早、发挥药效作用时间长，获得了意想不到的效果。

本发明详细说明

视网膜中央动脉阻塞是视网膜中央动脉因血管壁硬化导致管壁增厚、狭窄、血栓形成或血管痉挛，栓子脱落所致的视网膜动脉阻塞。视网膜中央静脉阻塞特征为视网膜静脉迂曲扩张沿受累静脉有出血、水肿和渗出等。本病病因比较复杂，常由多种因素造成，与高血压、动脉硬化、高血脂、血液粘滞度以及血液动力学等均有密接关系。葛根素属异黄酮类，具有广泛的 β -受体阻断作用，也具改善微循环作用。葛根素有降低眼压和改善眼微循环的双重作用，对治疗青光眼是很有利的。近期研究还发现葛根素有对抗谷氨酸引起神经细胞兴奋作用[中国药理学报 1998,19(4):339~342]，葛根素眼用制剂将成为一种优良的抗青光眼药物。

本发明涉及中药葛根素的特定眼用凝胶剂型，活性成分为葛根素。凝胶基质选择卡波姆，卡波姆[药典 2000 版(二部):P133]是丙烯酸与烷基蔗糖交联而成的丙烯酸聚合物，卡波姆易溶于水，形成胶体，在 pH 值 6~10 时，加入无机或有机碱可形成透明且稠厚的凝胶，对皮肤和粘膜无毒性和刺激性，并具有释药快，无油腻性、易涂展，能与水溶液混

合，理化性质稳定，是一种非常理想的药物赋型剂。pH 调节剂采用硼砂和硼酸。卡波姆为凝胶基质，硼砂、硼酸与卡波姆形成透明稳定的凝胶，并能保持 pH 值的稳定，添加活性成分葛根素制成的葛根素凝胶，滴入眼睑内后和泪液结合接近中性，对眼无刺激，释药快，能够很好的被眼组织吸收，发挥药效作用。

本发明葛根素眼用凝胶的药物学试验：

验证葛根素眼用凝胶活血化瘀(治疗视网膜静脉阻塞)和降眼压的作用，并与葛根素滴眼液比较。

葛根素眼用凝胶，含量为 1%，基质为 0.2%卡波姆；

葛根素滴眼液，含量为 1%；

1%甲基纤维素的制备：取 1g 甲基纤维素(上海试剂二厂生产)加煮沸的注射用林格氏液 30ml 中，冷却后再加入注射用林格氏液 70ml，高压消毒灭菌备用。

仪器 Schiotz 眼压计，苏州医疗器械厂生产。

Wistar 大鼠,体重 200g~300g，雌雄各半。日本大耳白家兔，体重 1.6g~2.3g，雌雄各半，均由中国医科大学第二临床医院实验动物中心提供。

1、抗大鼠血栓形成的作用

取上述 Wistar 种大鼠 40 只，体重 200g~300g，雌雄各半随机分为 4 组，每组 10 只即：空白对照组，葛根素滴眼液(20mg/kg)和葛根素眼用凝胶大、小剂量组(20mg/kg 和 10mg/kg)。各组大鼠均腹腔注射巴比妥钠 0.05g/kg，气管内插聚乙烯管后，分离右颈总动脉及左颈外静脉。在三段聚乙烯管的中段放入一根长 5cm 的 4 号手术线。将肝素生理盐水溶液(50u/ml)充满聚乙烯管腔，当管的一端插入左颈外静脉后，从聚乙烯管注入肝素 50u/kg，夹住管壁。将管的另一端插入右颈总动脉。手术后立即股静脉注射葛根素滴眼液、眼用凝胶或 2%卡波姆。5min 后开放血流，开放血流 15 min 后中断血流，迅速取出丝线称重，总重量减去丝线重即得血栓湿重。按如下公式计算抑制率，结果见表 1。

抑制率(%)=(对照组血栓重-给药组血栓重)/对照组血栓重×100%。

表 1 对大鼠血栓形成的影响(X±SD)

组别	剂量(mg/kg)	动物数(n)	血栓重量(mg)	抑制率(%)
对照组	等容量	10	22.3±2.1	0
滴眼液	20	10	13.2±2.3**	40.8
眼用凝胶大	20	10	12.3±1.8**	44.8
小	10	10	20.2±2.6	9.4

与对照组比较 **P<0.01

结果表明，葛根素眼用凝胶和滴眼液均使大鼠血栓湿重量显著减轻，与生理盐水组比较有显著性差异(P<0.01)。

2、对急性血瘀模型大鼠血液变学参数的影响

取 Wistar 种大鼠 40 只，雌雄各半，体重为 270g~290g，随机分为 4 组。每组 10 只。即空白对照组(腹腔注射 2%卡波姆)、葛根素滴眼液组(腹腔注射葛根素滴眼液 200mg/kg)和葛根素眼用凝胶大、小剂量组(腹腔注射葛根素眼用凝胶 20mg/kg 和 10mg/kg)，连续给药 7 天后各组动物均皮下注射肾上腺素注射液 0.5mg/kg，共 2 次，2 次间隔 4h。在 2 次注射肾上腺素注射液之间(前后各间隔 2h)将大鼠浸入冰水内 5min。各组大鼠停食 24h 后。取腹主动脉血。枸缘酸钠抗凝，取 0.5ml 以旋转式粘度计测定在低切变率(1.18s⁻¹)和高切变率(118s⁻¹)下的全血粘度；以毛细管法测定红细胞压积；以加热沉淀法测定血浆纤维蛋白原含量；取腹主动脉血以毛细管粘度计测定血浆粘度。结果见表 2。

表 2 对大鼠血液流变学参数的影响(X±SD，n=10)

组别	剂量 mg/kg	全血粘度 (mpa.sec) 118s ⁻¹	全血粘度 (mpa.sec) 1.18s ⁻¹	红细胞压 积 (%)	纤维蛋白 原 (%)	血浆 粘度
空白对照	等容量	4.53±0.41	10.9±1.9	45.6±8.0	4.74±0.66	2.62±0.74
滴眼液	20	3.94±0.36**	11.4±2.1	38.5±5.9*	4.69±0.70	1.97±0.18*
眼用凝胶大	20	3.93±0.25**	11.1±1.6	38.8±4.4*	4.80±0.92	1.98±0.28*
小	10	4.34±0.45	12.0±2.1	45.5±6.6	4.72±0.95	2.13±0.31

与生理盐水组相比较，*P<0.05 **P<0.01

结果表明，葛根素眼用凝胶和滴眼液一样，均可使高切变率下的全血粘度与红细胞压积明显降低，也可使血浆粘度明显降低。

3、对家兔眼球结膜微循环的影响

取健康无眼疾家兔 40 只，体重 1.6kg~2.3kg,雌雄各半，随机分为 4 组，每组 10 只。即模型对照组、葛根素滴眼液(1%)和葛根素眼用凝胶大、小剂量组(1%和 0.5%)。家兔眼球结膜微循环观察采用 XS-SI 微循环显微镜(6×8 倍)，兔清醒状态侧卧位固定，冷光源照射。观察指标：

(1) 流态描述，可将红细胞流态分为四级，评分标准见表 3-1。

(2) 毛细血管网交点计算方法，观察 1mm² 区域毛细血管的网交点变化，先观察正常左眼球结膜微循环，然后自耳缘静脉注入 10%高分子右旋糖酐生理盐水溶液 15ml/kg 造成微循环障碍(即血流缓慢，血细胞聚集)。此现象稳定后，对照组滴 2%卡波姆，给药组滴眼给 3 滴(0.15ml)，然后观察给药后 5min、10min、15min、20min 和 30min 微循环变化情况，结果见表 3-2 和表 3-3。

表 3-1 红细胞流态分级

分级	流态	分值
O	直线状	0
I	虚线状	1
II	粒状	2
III	瘀滞状(撒流现象)	3

表 3-2 对兔眼素结膜毛细血管细胞流态分值的影响(X±SD)

组别	剂量 %	动物 数 只	流动分值						
			造模前	给药前	给药后 5min	10min	15min	20min	30min
模型对 照组	—	10	0.30±0.48	2.50±0.53	2.40±0.52	2.44±0.53	2.30±0.48	2.20±0.63	2.10±0.57

滴眼液	1	10	0.30±0.48	2.70±0.48	2.20±0.63	1.22±0.83**	0.90±0.88**	1.10±0.74**	1.30±0.95*
眼用凝胶大	1	10	0.20±0.42	2.40±0.52	1.90±0.57	1.20±0.79**	0.80±0.63**	0.60±0.52**	0.60±0.69**
小	0.5	10	0.40±0.52	2.50±0.53	2.30±0.67	1.10±0.74**	1.10±0.74	1.50±0.53*	2.00±0.67

与模型对照组比较* $P<0.05$ ** $P<0.01$

表 3-3 对兔眼球结膜毛细血管网交点的影响($X\pm SD$)

组别	剂 量 %	动物 数 只	流动分值						
			造模前	给药前	给药后 5min	10min	15min	20min	30min
模型对照组	—	10	6.5±1.08	3.5±1.08	3.3±1.25	3.2±1.03	3.4±0.84	3.4±0.97	3.5±0.71
滴眼液	1	10	6.7±1.16	3.5±0.97	4.0±1.15	4.4±0.97**	4.9±0.99**	5.1±1.1**	5.2±1.03*
眼用凝胶大	1	10	6.8±1.32	3.2±1.03	4.0±0.82	5.0±1.15**	5.4±1.17**	5.5±1.72**	6.4±1.35** [△]
小	0.5	10	6.7±1.16	3.6±1.07	3.5±0.71	3.9±0.99	4.3±0.95*	4.6±0.97**	4.6±1.07*

与模型对照组比较, * $P<0.05$ ** $P<0.01$; 与滴眼液组比较[△] $P<0.05$

结果表明, 静脉注射高分子右旋糖酐后, 微循环由下去常流态变为 II—III 级, 并出现红色微小血栓, 血流速度显著减慢, 个别出现来回摆动和停流, 滴眼给药后, 血流流态显著改善。葛根素眼用凝胶大、小剂量组及滴眼液组滴眼后 10min~30min, 均可使血流基本恢复正常 ($P<0.05, 0.01$), 两药作用相当。但 30min 时, 葛根素眼用凝胶作用强于滴眼液($P<0.05$)。

4、对实验性兔高眼压模型的影响

取健康无眼疾家兔 30 只, 体重 1.6kg~2.1kg, 雌雄各半, 随机分为 5 组, 每组 6 只(12 只眼)。即: 空白对照组、模型组、葛根素滴眼液(1%)和葛根素眼用凝胶大、小剂量组(1%和 0.5%), 实验前先测每只眼眼压 2 次, 取平均值作为正常眼压值。然后各组家兔, 在无菌条件下抽取 0.2ml 房水, 代之注入 1%甲基纤维素或平衡盐溶液 0.2ml(空白对照组), 如此造模 2 次, 间隔 2 日。末次造模后次日开始滴眼给药, 每天 1 次, 每次

3滴(0.15ml)，连续给药7天，给药后0.5天、1天、3天、7天测各组动物眼压值，所有数据进行t检验，结果见表4。

表4 实验性兔高眼压模型的影响(X±SD)

组别	剂量%	动物数只	眼压值(Kpa)						
			正常眼压	造模后	给药后0.5天	1天	3天	5天	7天
空白对照	—	12	2.49±0.08	2.50±0.09	2.51±0.07	2.50±0.07	2.49±0.07	2.49±0.06	2.50±0.06
模型对照组	—	12	2.52±0.05	6.84±0.23 [△]	6.78±0.23 [△]	6.24±0.26 [△]	5.66±0.35 [△]	4.85±0.45 [△]	3.28±0.45
滴眼液	1	12	2.49±0.01	6.81±0.34	6.59±0.39	5.33±0.47**	4.11±0.49**	2.9±0.24**	2.55±0.13**
眼用凝胶大	1	12	2.50±0.02	6.86±0.28	6.46±0.36*	5.30±0.32**	3.22±0.25**	2.66±0.19**	2.50±0.10**
小	0.5	12	2.50±0.01	6.84±0.20	6.66±0.31	6.20±0.29	5.12±0.36**	3.56±0.43**	2.82±0.24**

与空白对照组比较[△]P<0.01；与模型组比较*P<0.05 **P<0.01

结果表明，模型组与空白对照组比较差异非常显著(P<0.01)，说明造模成功。葛根素眼用凝胶大、小剂量组与滴眼液组均可降低1%甲基纤维引起的兔眼高压值(P<0.05，0.01)。但葛根素眼用凝胶比滴眼液作用时间较早。

药效实验结果表明，葛根素眼用凝胶和滴眼液均有抗大鼠血栓形成的作用，均可改变急性血瘀模型大鼠血液流变学参数，明显改善兔眼球结膜循环，说明具有活血化瘀的作用，临床可用于治疗视网膜静脉阻塞。结果同时表明，葛根素眼用凝胶较滴眼液作用强。葛根素眼用凝胶可明显降低1%甲基纤维素引起的兔高眼压，且起效时间早于滴眼液。

5、葛根素眼用凝胶急性毒性试验

葛根素眼用凝胶小鼠腹腔注射给药的最大耐受量为0.1g/kg，相当于临床人用滴眼日剂量的1667倍，小鼠静脉注射给药的最大耐受量为0.05g/kg，相当于临床人用滴眼日剂量的833倍，说明本发明产品临床滴眼是安全的。

6、葛根素眼用凝胶眼刺激性和过敏性试验

葛根素眼用凝胶对兔眼一次或多次给药均未呈现局部刺激反应，对破损结膜也没有明显刺激反应；经豚鼠过敏实验，未发现过敏反应。

实施例 1：

制备本发明凝胶的配方：葛根素 8.0g，卡波姆 2.0g，硼砂 8.0g，硼酸 3.0g，注射用水加至 1000g。

制法：取葛根素 8.0g 用约 900ml 注射用水溶解，然后将凝胶基质卡波姆 2.0g 浸泡其中 12h。取硼砂 8.0g、硼酸 3.0g 加入其中，搅拌均匀，加注射用水至全量，充分搅拌，用 220 目筛布过滤，得透明凝胶，热压灭菌，冷却，分装得本发明产品，pH 为 6.3。

实施例 2：

制备本发明凝胶的配方：葛根素 15.0g，卡波姆 6.0g，硼砂 15.0g，硼酸 8.0g，注射用水加至 1000g。

制法：取葛根素 15.0g 用约 900ml 注射用水溶解，然后将凝胶基质卡波姆 8.0g 浸泡其中 12h。取硼砂 15.0g、硼酸 8.0g 加入其中，搅拌均匀，加注射用水至全量，充分搅拌，用 220 目筛布过滤，得透明凝胶，热压灭菌，冷却，分装得本发明产品，pH 为 6.2。

实施例 3：

制备本发明凝胶的配方：葛根素 10.0g，卡波姆 4.0g，硼砂 10.0g，硼酸 5.0g，注射用水加至 1000g。

制法：取葛根素 10.0g 用约 900ml 注射用水溶解，然后将凝胶基质卡波姆 4.0g 浸泡其中 12h。取硼砂 10.0g、硼酸 5.0g 加入其中，搅拌均匀，加注射用水至全量，充分搅拌，用 220 目筛布过滤，得透明凝胶，热压灭菌，冷却，分装得本发明产品，pH 值为 6.3。

实施例 4：

制备本发明凝胶的配方：葛根素 5.0g，卡波姆 2.0g，硼砂 5.0g，硼酸 3.0g，注射用水加至 1000g。

制法：取葛根素 5.0g 用约 900ml 注射用水溶解，然后将凝胶基质卡波姆 2.0g 浸泡其中 12h。取硼砂 5.0g、硼酸 3.0g 加入其中，搅拌均匀，加注射用水至全量，充分搅拌，用 220 目筛布过滤，得透明凝胶，热压灭菌，冷却，分装得本发明产品，pH 值为 5.5。

实施例 5：

制备本发明凝胶的配方：葛根素 20.0g，卡波姆 10.0g，硼砂 20.0g，硼酸 8.0g，注射用水加至 1000g。

制法：取葛根素 20.0g 用约 900ml 注射用水溶解，然后将凝胶基质卡波姆 10.0g 浸泡其中 12h。取硼砂 20.0g、硼酸 8.0g 加入其中，搅拌均匀，加注射用水至全量，充分搅拌，用 220 目筛布过滤，得透明凝胶，热压灭菌，冷却，分装得本发明产品，pH 为 6.6。