



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 112386565 B

(45) 授权公告日 2024.09.13

(21) 申请号 201910709653.X

(22) 申请日 2019.08.02

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 112386565 A

(43) 申请公布日 2021.02.23

(73) 专利权人 北京盈科瑞创新医药股份有限公
司

地址 102299 北京市昌平区科技园区双营
西路79号院云谷园24号楼6层

(72) 发明人 张保献 胡杰 吴珍珍 赵倩
薛春美 李文慧 曹瑛

(51) Int. Cl.

A61K 9/06 (2006.01)

A61K 47/38 (2006.01)

A61K 47/36 (2006.01)

A61K 47/42 (2017.01)

A61K 47/32 (2006.01)

A61K 31/475 (2006.01)

A61P 19/02 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 102008476 A, 2011.04.13

邓向涛等.马钱子碱固体脂质纳米粒凝胶骨
架缓释片的研制.《中草药》.2018,第49卷(第22
期),第5298-5304页.

陈志鹏等.用于关节腔注射的马钱子碱壳聚
糖温敏凝胶的研究.《药学学报》.2012,第47卷
(第5期),第652-656页.

WU Zhenzhen等.Tissue distribution and
pharmacokinetics of brucine niosomal gels
in rats after topical and oral
application.《Journal of Chinese
Pharmaceutical Sciences》.2018,第27卷(第2
期),第92-98页.

WU,P.等.A Novel Brucine Gel
Transdermal Delivery System Designed for
Anti-Inflammatory and Analgesic
Activities.INTERNATIONAL JOURNAL OF
MOLECULAR SCIENCES》.2017,第18卷文献号757.

张卫华等.不同促渗剂对马钱子碱囊泡凝胶
体外渗透性能的影响.中国实验方剂学杂志
.2015,第21卷(第07期),第14-16页.

审查员 陈红霞

权利要求书1页 说明书11页

(54) 发明名称

一种马钱子碱凝胶制剂及其制备方法

(57) 摘要

本发明属于药物制剂领域,具体涉及一种马
钱子碱凝胶制剂及其制备方法。该凝胶制剂包含
0.5% - 1% 的马钱子碱,0.5% - 3% 凝胶骨架,
10% - 30% 助溶剂,余量为水。制备得到的马钱子
碱水凝胶,使用简单的药用辅料,不使用透皮促
进剂但透皮效果优异,易涂展,生物相容性好、皮
肤吸收良好、药膜附着性好、对皮肤和黏膜无刺
激性。

1. 一种马钱子碱外用凝胶制剂,其特征在于,按重量百分比计算,所述凝胶制剂包括0.5%-1%的马钱子碱,0.5%-3%凝胶骨架,10%-30%助溶剂,余量为水;按重量百分比计算,所述凝胶制剂中含有68%-80%水;所述助溶剂为乙醇、苯甲醇、丙二醇、甘油、聚乙二醇400、异丙醇中的一种或两种或两种以上的组合;所述凝胶骨架为羟丙基甲基纤维素。

2. 根据权利要求1所述的凝胶制剂,其特征在于,所述凝胶制剂还包括pH调节剂,所述pH调节剂为有机胺类、氢氧化钠、碳酸氢钠、碳酸钠、醋酸、柠檬酸、磷酸盐缓冲液。

3. 根据权利要求1所述的凝胶制剂,其特征在于,所述有机胺类为三乙醇胺、三乙胺、二乙胺、月桂胺。

4. 根据权利要求1所述的凝胶制剂,其特征在于,按重量百分比计算,所述凝胶制剂还包括0.01%-0.1%抗氧化剂,所述抗氧化剂为无水亚硫酸钠、焦亚硫酸钠、亚硫酸氢钠、硫代硫酸钠、叔丁基对羟基茴香醚、二丁基苯酚、维生素C、维生素C棕榈酸酯、乙二胺四乙酸及其钠盐中的一种或两种或两种以上的组合。

5. 根据权利要求1所述的凝胶制剂,其特征在于,按重量百分比计算,所述凝胶制剂还包括0.01%-0.15%抑菌剂,所述抑菌剂为三氯叔丁醇、尼泊金乙酯、苯甲醇、尼泊金甲酯、尼泊金丁酯、山梨酸及其钾盐、苯甲酸及其钠盐中的一种或两种或两种以上的组合。

6. 权利要求1-5任一项所述的凝胶制剂的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:(1)溶胀凝胶骨架得到凝胶基质I;(2)马钱子碱和助溶剂溶解于水得到马钱子碱溶液II;(3)凝胶基质I与马钱子碱溶液II混合得到马钱子碱凝胶制剂,其中,步骤(1)中还可以加入pH调节剂调节pH值至5.5-6.5;步骤(2)中还可以加入抗氧化剂、抑菌剂和透皮剂;步骤(3)中还可以加入pH调节剂调节pH值至6.5-7.5。

7. 权利要求1-5中任一项的马钱子碱凝胶制剂在制备用于膝骨关节炎的药物中的应用。

一种马钱子碱凝胶制剂及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于药物制剂领域,具体涉及一种马钱子碱凝胶制剂及其制备方法。

背景技术

[0002] 膝骨关节炎是一种以退行性病理改变为基础的疾患,膝骨关节炎发作时,疼痛剧烈,而且这种疼痛显现出局部的程度重、部位深的特点,需要药物能快速达到患病部位,并且持久起效。

[0003] 马钱子性苦,温;有大毒。具有通络止痛,散结消肿的功效。用于跌打损伤,骨折肿痛,风湿顽痹,麻木瘫痪等。马钱子的主要有效成分是总生物碱,其包括马钱子碱、土的宁、番木鳖次碱、马钱子新碱、番木鳖甙、依卡精等;其中,马钱子碱具有抗炎、镇痛作用;土的宁基本无抗炎、镇痛作用,并且,土的宁是马钱子的主要毒性成分。

[0004] 马钱子及其制剂的药动学研究表明,马钱子碱吸收后能够被快速消除,半衰期较短,不利于镇痛作用的发挥,而且马钱子的治疗剂量和中毒剂量接近,口服难以控制最佳剂量,大大限制了它的临床应用。

[0005] 目前,已上市的马钱子相关制剂有口服十三味马钱子丸和马钱子散,没有马钱子碱单体相关外用制剂存在,有关马钱子碱的研究趋势是如何将其开发成安全、有效的药用新剂型,充分发挥其镇痛、抗炎、抗癌等生物活性,同时又能避免中枢毒性,使其更好地服务于临床。

[0006] 目前在凝胶制剂的处方中通常要加入透皮促进剂以提高活性成分的透皮效果,例如氮酮。氮酮有很强的皮肤促渗作用,但由于氮酮具有高亲脂性,长期使用会在皮肤中长期蓄积,破坏角质层,导致不可逆的皮肤损伤,具有很强的刺激性。

发明内容

[0007] 本发明的目的就是针对现有技术存在的缺陷,提供一种安全、透皮效果优异的新型马钱子碱凝胶制剂及其制备方法和用途。

[0008] 本发明的第一个目的在于提供一种马钱子碱凝胶制剂,按重量百分比计算,该凝胶制剂包含0.5%-1%的马钱子碱,0.5%-3%凝胶骨架,10%-30%助溶剂,余量为水。

[0009] 上述马钱子碱凝胶制剂中,所述凝胶骨架为卡波姆、羧甲基纤维素钠、羟丙基甲基纤维素HPMC、海藻酸钠、阿拉伯胶、西黄芪胶、明胶、壳聚糖、聚丙烯酸及其钠盐中的一种或两种或两种以上的组合,优选的,所述凝胶骨架为羟丙基甲基纤维素HPMC。

[0010] 上述马钱子碱凝胶制剂中,所述助溶剂为乙醇、苯甲醇、丙二醇、甘油、聚乙二醇400、异丙醇中的一种或两种或两种以上的组合。

[0011] 上述马钱子碱凝胶制剂中,所述凝胶制剂还包含pH调节剂,所述pH调节剂为有机胺类、氢氧化钠、碳酸氢钠、碳酸钠、醋酸、柠檬酸、磷酸盐缓冲液,所述有机胺类为三乙醇胺、三乙胺、二乙胺、月桂胺。

[0012] 上述马钱子碱凝胶制剂中,按重量百分比计算,所述凝胶制剂还包含0.01% -

0.1%抗氧剂,所述抗氧剂为无水亚硫酸钠、焦亚硫酸钠、亚硫酸氢钠、硫代硫酸钠、叔丁基对羟基茴香醚、二丁基苯酚、维生素C、维生素C棕榈酸酯、乙二胺四乙酸及其钠盐中的一种或两种或两种以上的组合。

[0013] 上述马钱子碱凝胶制剂中,按重量百分比计算,所述凝胶制剂还包含0.01%-0.15%抑菌剂,所述抑菌剂为三氯叔丁醇、尼泊金乙酯、苯甲醇、尼泊金甲酯、尼泊金丁酯、山梨酸及其钾盐、苯甲酸及其钠盐中的一种或两种或两种以上的组合。

[0014] 上述马钱子碱凝胶制剂中,按重量百分比计算,所述凝胶制剂中含有68%-80%水。

[0015] 本发明的另一目的,是提供本发明凝胶制剂的制备方法。包括以下步骤:(1)溶胀凝胶骨架得到凝胶基质I;(2)马钱子碱和助溶剂溶解于水得到马钱子碱溶液II;(3)凝胶基质I与马钱子碱溶液II混合得到马钱子碱凝胶制剂。

[0016] 其中,根据凝胶基质的酸碱性不同,可在步骤(1)中加入pH调节剂调节pH值至5.5-6.5。

[0017] 步骤(2)中还可以加入抗氧剂或/和抑菌剂或/和透皮剂。

[0018] 根据测定马钱子碱凝胶制剂的pH值,步骤(3)中还可以加入pH调节剂调节pH值至6.5-7.5。

[0019] 上述制备方法仅对本发明所提制法进行列举,但不应将此理解为本发明制备方法仅仅限于上述所列举方法。

[0020] 本发明的第三个目的,是提供马钱子碱凝胶制剂在制备用于膝骨关节炎的药物中的应用。

[0021] 与现有技术相比,本发明具有以下有益效果:

[0022] 1、马钱子碱口服治疗关节炎毒副作用大,开发马钱子碱局部外用凝胶制剂,避免了口服毒性,提高药物的生物利用度,提高治疗效果。

[0023] 2、制备得到的马钱子碱水凝胶,使用简单的药用辅料,不使用透皮促进剂但透皮效果优异,易涂展,生物相容性好、皮肤吸收良好、药膜附着性好、对皮肤和黏膜无刺激性。

具体实施方式

[0024] 下面将结合实施例对本发明的实施方案进行详细描述,但本领域技术人员将会理解,下列实施例仅用于说明本发明,而不应视为限定本发明的范围。实施例中未注明具体条件者,按照常规条件或制造商建议的条件进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者,均为可以通过市购获得的常规产品。

[0025] 实施例1

[0026]

配方	用量 (g)
马钱子碱	10.0
卡波姆	8.3
无水乙醇	166.7
丙二醇	250.0
5M氢氧化钠	0.05
乙二胺四乙酸	0.83

尼泊金乙酯	1.67
水	1230.0

[0027] 制备方法:

[0028] (1) 将8.3g卡波姆加入水中溶胀完全,用5M氢氧化钠调pH值至6左右得到凝胶基质I;(2) 将1.67g尼泊金乙酯溶于丙二醇得溶液a,0.83g乙二胺四乙酸溶于适量水得溶液b,10g马钱子碱溶于无水乙醇和溶液a得到溶液c,将溶液c和b混合均匀得到马钱子碱溶液II;(3) 凝胶基质I与马钱子碱溶液II混合,搅拌均匀,得到马钱子碱凝胶制剂。

[0029] 实施例2

[0030]	配方	用量 (g)
	马钱子碱	10.0
	羟丙基甲基纤维素	33.33
	无水乙醇	250.0
	丙二醇	250.0
	0.1M柠檬酸	0.08
	乙二胺四乙酸	0.83
	尼泊金乙酯	1.67
	水	1120.0

[0031] 制备方法:

[0032] (1) 将33.33g羟丙基甲基纤维素加入水中溶胀完全得到凝胶基质I;(2) 将1.67g尼泊金乙酯溶于丙二醇得溶液a,0.83g乙二胺四乙酸溶于适量水得溶液b,10.0g马钱子碱溶于无水乙醇和溶液a得到溶液c,将溶液c和b混合均匀得到马钱子碱溶液II;(3) 凝胶基质I与马钱子碱溶液II混合,搅拌均匀,加入0.1M柠檬酸调pH值至7左右,得到马钱子碱凝胶制剂。

[0033] 实施例3

[0034]	配方	用量 (g)
	马钱子碱	10.0
	羟丙基甲基纤维素	40.0
	无水乙醇	200.0
	丙二醇	300.0
	0.1M柠檬酸	0.10
	水	1450.0

[0035] 制备方法:

[0036] (1) 将40g羟丙基甲基纤维素加入水中溶胀完全得到凝胶基质I;(2) 10g马钱子碱溶于无水乙醇和丙二醇,混入剩余处方量的水,搅拌均匀得到马钱子碱溶液II;(3) 凝胶基质I与马钱子碱溶液II混合,搅拌均匀,加入0.1M柠檬酸调pH值至7左右,得到马钱子碱凝胶制剂。

[0037] 实施例4

[0038]	配方	用量 (g)
--------	----	--------

马钱子碱	10.0
卡波姆	10.0
无水乙醇	200.0
丙二醇	300.0
5M氢氧化钠	0.04
水	1480.0

[0039] 制备方法:

[0040] (1) 将10g卡波姆加入水中溶胀完全,用5M氢氧化钠调pH值至6左右得到凝胶基质I;(2) 10g马钱子碱溶于无水乙醇和丙二醇,混入剩余处方量的水,搅拌均匀得到马钱子碱溶液II;(3) 凝胶基质I与马钱子碱溶液II混合,搅拌均匀,得到马钱子碱凝胶制剂。

[0041] 实施例5

配方	用量 (g)
马钱子碱	10.0
聚丙烯酸钠	20.0
无水乙醇	200.0
丙二醇	300.0
水	1470.0

[0043] 制备方法:

[0044] (1) 将20g聚丙烯酸钠加入水中溶胀完全得到凝胶基质I;(2) 10g马钱子碱溶于无水乙醇和丙二醇,混入剩余处方量的水,搅拌均匀得到马钱子碱溶液II;(3) 凝胶基质I与马钱子碱溶液II混合,搅拌均匀,得到马钱子碱凝胶制剂。

[0045] 实施例6

配方	用量 (g)
马钱子碱	10.0
羧甲基纤维素钠	30.0
无水乙醇	100.0
甘油	100.0
水	760.0

[0048] 制备方法:

[0049] (1) 将30g羧甲基纤维素钠加入水中溶胀完全得到凝胶基质I;(2) 10g马钱子碱溶于无水乙醇和甘油,混入剩余处方量的水,搅拌均匀得到马钱子碱溶液II;(3) 凝胶基质I与马钱子碱溶液II混合,搅拌均匀,得到马钱子碱凝胶制剂。

[0050] 实施例7

配方	用量 (g)
马钱子碱	10.0
羟丙基甲基纤维素	25.0
聚乙二醇400	300.0

0.1M柠檬酸	0.02
水	665.0

[0052] 制备方法:

[0053] (1) 将25g羟丙基甲基纤维素加入水中溶胀完全得到凝胶基质I; (2) 10g马钱子碱溶于聚乙二醇400, 混入剩余处方量的水, 搅拌均匀得到马钱子碱溶液II; (3) 凝胶基质I与马钱子碱溶液II混合, 加入0.1M柠檬酸调pH值至7左右, 搅拌均匀, 得到马钱子碱凝胶制剂。

[0054] 实施例8

配方	用量 (g)
马钱子碱	10.0
阿拉伯胶	8.33
苯甲醇	167.0
水	1480.0

[0056] 制备方法:

[0057] (1) 将8.33g阿拉伯胶加入水中溶胀完全得到凝胶基质I; (2) 10g马钱子碱溶于苯甲醇, 混入剩余处方量的水, 搅拌均匀得到马钱子碱溶液II; (3) 凝胶基质I与马钱子碱溶液II混合, 搅拌均匀, 得到马钱子碱凝胶制剂。

[0058] 实施例9

配方	用量 (g)
马钱子碱	10.0
卡波姆	30.0
甘油	100.0
异丙醇	400.0
5M氢氧化钠	0.06
水	1460.0

[0060] 制备方法:

[0061] (1) 将30g卡波姆加入水中溶胀完全, 用5M氢氧化钠调pH值至6左右得到凝胶基质I; (2) 10g马钱子碱溶于甘油和异丙醇, 混入剩余处方量的水, 搅拌均匀得到马钱子碱溶液II; (3) 凝胶基质I与马钱子碱溶液II混合, 搅拌均匀, 得到马钱子碱凝胶制剂。

[0062] 实施例10

配方	用量 (g)
马钱子碱	10.0
羟丙基甲基纤维素	30.0
甘油	100.0
0.1M柠檬酸	0.02
水	880.0

[0064] 制备方法:

[0065] (1) 将30g羟丙基甲基纤维素加入水中溶胀完全得到凝胶基质I; (2) 10g马钱子碱溶于甘油, 混入剩余处方量的水, 搅拌均匀得到马钱子碱溶液II; (3) 凝胶基质I与马钱子碱

溶液II混合,加入0.1M柠檬酸调pH值至7左右,搅拌均匀,得到马钱子碱凝胶制剂。

[0066] 对比例1

配方	用量 (g)
马钱子碱	10.0
羟丙基甲基纤维素	40.0
无水乙醇	200.0
丙二醇	300.0
0.1M柠檬酸	0.04
氮酮	60.0
水	1390.0

[0068] 制备方法:

[0069] (1) 将40.0g羟丙基甲基纤维素加入水中溶胀完全得到凝胶基质I; (2) 10g马钱子碱溶于无水乙醇和丙二醇,混入剩余处方量的水,搅拌均匀得到马钱子碱溶液II; (3) 凝胶基质I与马钱子碱溶液II混合,加入50g氮酮,搅拌均匀,再加入0.1M柠檬酸调pH值至7左右,搅拌均匀,得到马钱子碱凝胶制剂。

[0070] 对比例2

配方	用量 (g)
马钱子总碱	含有10.0g马钱子碱和10.0g土的宁
羟丙基甲基纤维素	40.0
无水乙醇	200.0
丙二醇	300.0
0.1M柠檬酸	0.10
水	1440.0

[0072] 制备方法:

[0073] (1) 将40g羟丙基甲基纤维素加入水中溶胀完全得到凝胶基质I; (2) 20g马钱子总碱溶于无水乙醇和丙二醇,混入剩余处方量的水,搅拌均匀得到马钱子碱溶液II; (3) 凝胶基质I与马钱子碱溶液II混合,搅拌均匀,加入0.1M柠檬酸调pH值至7左右,得到马钱子总碱凝胶制剂。对比例3

配方	用量 (g)
马钱子碱	10.0
羟丙基甲基纤维素	8.0
无水乙醇	200.0
丙二醇	300.0
0.1M 柠檬酸	0.06
水	1482.0

[0076] 制备方法:

[0077] (1) 将8g羟丙基甲基纤维素加入水中溶胀完全得到凝胶基质I; (2) 10g马钱子碱溶

于无水乙醇和丙二醇,混入剩余处方量的水,搅拌均匀得到马钱子碱溶液II;(3)凝胶基质I与马钱子碱溶液II混合,搅拌均匀,加入0.1M柠檬酸调pH值至7左右,即得。

[0078] 对比例4

配方	用量(g)
马钱子碱	10.0
羟丙基甲基纤维素	80.0
无水乙醇	200.0
丙二醇	300.0
0.1M柠檬酸	0.06
水	1410.0

[0080] 制备方法:

[0081] (1)将80g羟丙基甲基纤维素加入水中溶胀完全得到凝胶基质I;(2)10g马钱子碱溶于无水乙醇和丙二醇,混入剩余处方量的水,搅拌均匀得到马钱子碱溶液II;(3)凝胶基质I与马钱子碱溶液II混合,搅拌均匀,加入0.1M柠檬酸调pH值至7左右,即得。

[0082] 试验例1:本发明马钱子碱凝胶制剂的性状研究

[0083] 对根据实施例1-10、对比例1-3制备的凝胶制剂进行物理性状的肉眼观察。

[0084] 表1:凝胶制剂的物理性状

凝胶	肉眼观察
实施例 1	粘度适中
实施例 2	粘度适中
实施例 3	粘度适中
实施例 4	粘度适中
实施例 5	粘度适中
实施例 6	粘度适中
实施例 7	粘度适中
实施例 8	粘度适中
实施例 9	粘度适中
实施例 10	粘度适中
对比例 1	粘度适中
对比例 2	粘度适中
对比例 3	不成形
对比例 4	流动性差

[0087] 结果显示,除对比例3和对比例4的粘度不理想外,其他产品均符合凝胶制剂的粘度要求。

[0088] 试验例2:本发明马钱子碱凝胶制剂皮肤给药关节液药代动力学研究

[0089] 1、实验动物、药物与仪器

[0090] 1.1实验动物

[0091] Wistar大鼠,SPF级(无特定病原体级实验动物):体重210-250g,雌性,动物年龄10-11周,购自斯贝福(北京)生物技术有限公司;许可证编号:11401500036047。

[0092] 动物房:试验期间动物饲养于北京盈科瑞药物安全有效性研究有限公司,实验设施许可证:SYXK(京)2017-0026;设施管理遵循中华人民共和国国家标准GB14925-2001《实验动物环境及设施》。

[0093] 喂养条件:采用人工光照12小时明暗周期,环境温度维持在20~24℃,湿度在40%~70%,每小时换气15次;动物饲养于聚碳酸酯小鼠饲养笼,每笼饲养同组的6只同性别大鼠;每2天更换一次清洁动物笼和垫料。

[0094] 饲料:大小鼠生长维持饲料,购自斯贝福(北京)生物技术有限公司

[0095] 饮用水:试验动物饮用水,动物可自由摄取,每日更换新的水瓶和新鲜水。

[0096] 1.2药物

[0097] 根据实施例3、实施例4、实施例5、对比例2制备方法分别得到凝胶1、凝胶2、凝胶3、凝胶4。

[0098] 1.3仪器与试剂

[0099] 仪器:

[0100] 三重四级杆-离子阱质谱仪AB Sciex QTRAP5500 Applied Biosystem公司;液相:超高效液相色谱ExionLC AC Applied Biosystem公司;微透析采样设备:CMA微透析采样系统

[0101] 试剂和药品:

[0102] 水合氯醛,生产厂家:上海山浦化工有限公司

[0103] 1.4分析方法

[0104] 1.4.1 LC-MS/MS测定马钱子碱在大鼠关节液中药物浓度的分析方法

[0105] 透析液样品中马钱子碱的浓度在北京盈科瑞药物安全有效性研究有限公司分析,分析使用非确证的液相色谱-串联质谱联用方法(LC-MS/MS)。凝胶1、2和3的标准曲线范围均为0.2至200ng/mL,定量下限均为0.2ng/mL。

[0106] 大鼠关节腔透析液添加华法林内标后,通过LC-MS/MS分析。

[0107] 待测透析液样品直接取10 μ L再加2 μ L乙腈处理。将标曲(浓度分别为0.20ng/mL、0.60ng/mL、2.00ng/mL、6.00ng/mL、20.0ng/mL、60.0ng/mL、200ng/mL)(除Double Blank外)、质控和待测样本,加入100 μ L内标(华法林,100ng/mL),涡旋混匀;取10 μ L Double Blank样本,加入102 μ L乙腈,涡旋混匀;吸取上清液,按顺序放置于进样盘,进样测定。所有的透析液均存储于-80℃冰箱中。

[0108] HPLC条件:

[0109] HPLC色谱柱:ACQUITY UPLC BEH C8 1.7 μ m 2.1 \times 50mm Colume(Waters)

[0110] 流速:0.5mL/min;流动相A:水/甲酸(99.9/0.1,v/v)

- [0111] 流动相B:乙腈/甲酸(99.9/0.1,v/v);进样量:10 μ L;柱温:40 $^{\circ}$ C
 [0112] 运行时间:3.0分钟
 [0113] MS条件:
 [0114] 离子源:ESI;扫描类型:正离子MRM(多反应监测);
 [0115] CUR Gas:30.00;喷雾电压:5500.00;源温度:500 $^{\circ}$ C;
 [0116] GS1:55.00;GS2:55.00;CAD:Medium
 [0117] 表2:马钱子碱和内标的监测离子参数

-	Q1 质量 (amu)	Q3 质量 (amu)	停留时间 (msec)	DP	CE	CXP
[0118] 马钱子碱	395.2	244.1	100	110	51	12
华法林	309.1	163.1	100	100	19	12

- [0119] 计算:
 [0120] 通过Analyst 1.6.3软件线性程序拟合,在权重为 $1/x^2$ 下马钱子碱与内标峰面积比和浓度之间拟合一个线性方程(标准曲线),此方程用于推算马钱子碱在透析液中的浓度。
 [0121] 1.4.2药代动力学数据分析
 [0122] 个体动物的血浆浓度-时间数据用WinNonlin(专业版,版本5.2;Pharsight公司)软件进行分析。非房室模型被用于浓度分析。本发明中的药代动力学参数总结如下:
 [0123] C_{max} (ng/mL):最大(峰值)透析液药物浓度
 [0124] T_{max} (h):达峰时间
 [0125] $t_{1/2}$ (h):半衰期
 [0126] AUC_{0-inf} (ng*h/mL):给予受试品后,药物浓度-时间曲线下面积
 [0127] 2、实验方法
 [0128] 取SD大鼠,雄性,随机分组为4组,每组12只。
 [0129] 研究分为三组各组动物分别组单次经皮给药(给与凝胶1、凝胶2、凝胶3、凝胶4),剂量均为10mg/kg。动物在实验前无需禁食。
 [0130] 各组动物在给药后,调节微透析采样设备以1 μ L/min流速采样。样品收集前探针灌流平衡1h,每30min采集一个样,共采集10h(采集时大鼠置于38 $^{\circ}$ C电热毯上观测呼吸频率,调节温度),透析液放于-80 $^{\circ}$ C保存直到分析。实验过程中,采用水合氯醛对动物进行麻醉,采集过程中若大鼠清醒,补0.3mL 10%水合氯醛(腹腔注射)。
 [0131] 表3:马钱子碱凝胶皮肤给药关节液的主要药代动力学参数总结

凝胶类别	凝胶 1	凝胶 2	凝胶 3	凝胶 4
剂量(mg/kg)	10	10	10	10
消除半衰期 $t_{1/2}$ (h)	2.12	1.54	3.39	1.67
[0132] 达峰时间 T_{max} (h)	1.25	1.75	4.50	1.75
峰浓度 C_{max} (ng/mL)	2834	655	1553	495
药物浓度-时间曲线下面积 AUC_{0-inf} (ng*h/mL)	1656	484	932	366

[0133] 凝胶1、凝胶2、凝胶3均具有较好的药代动力学特性,且凝胶1的暴露量(AUC)高于凝胶2与凝胶3,可见凝胶1具有更好的药代动力学特性,吸收快且暴露量高,透皮效果高,含有土的宁的马钱子总碱透皮效果低于马钱子单体制成的凝胶。

[0134] 试验例3:本发明马钱子碱凝胶制剂的治疗关节肿胀效果实验

[0135] 1、实验动物与药物

[0136] 1.1实验动物和药物同试验例2

[0137] 1.2药物

[0138] 完全弗氏佐剂(CFA),生产厂家:碧云天生物技术有限公司

[0139] 扶他林(双氯芬酸二乙胺乳胶剂),生产厂家:北京诺华制药有限公司

[0140] 根据实施例3、实施例4、实施例5、对比例2、对比例1制备方法分别得到的凝胶1、凝胶2、凝胶3、凝胶4、凝胶5。

[0141] 2、实验方法

[0142] 动物使用麻醉机麻醉后,在每只大鼠左后足趾皮内注射0.1ml完全弗氏佐剂(CFA),其中卡介苗(BCG)浓度为10mg/ml,以诱发关节炎的发生。

[0143] 根据大鼠关节炎临床评分随机分组,分为空白对照组、模型对照组、阳性对照组(扶他林、50mg/kg)、凝胶1组(5mg/kg)、凝胶2组(5mg/kg)、凝胶3组(5mg/kg)、凝胶4组(5mg/kg)、凝胶5组(5mg/kg)。

[0144] 称取不同量凝胶涂抹于大鼠左侧足及踝关节周围,注意轻轻按摩数下,用离型纸包裹,先用一层医用橡皮膏粘上,再缠上医用橡皮膏防止药物脱落。4h后去医用橡皮膏等,洗净大鼠左足。所有组每日均给药1次,连续给药7天,给药开始时间每天基本一致。

[0145] 关节炎临床评分:建模前一次、分组时一次、分组后一次。采用0-4级评分法,测量右后足和左后足,每足最高得分4分,评分标准如下:

[0146] 0分:无红肿

[0147] 1分:趾关节红肿及脚面轻度红肿

[0148] 2分:趾关节和足趾肿胀

[0149] 3分:踝关节以下的足爪肿胀

[0150] 4分:包括踝关节在内的全部足爪肿胀

[0151] 肿胀率测定:造模前一次、分组前一次、给药后每周一次测定左后足足跖厚度,计算肿胀率。

[0152] 肿胀率 = (造模后每次测定数据 - 造模前 / 造模前) × 100 %

[0153] 结果如下:

[0154] 表4: 马钱子碱凝胶制剂治疗关节肿胀的肿胀率结果

序号	组别	剂量	足趾肿胀率	趾关节肿胀率	
				右后足	左后足
G1	空白对照组	-	4.71±0.18	0.00±0.00	0.00±0.00
G2	模型对照组	-	7.46±0.83 ^{◆◆}	1.75±1.41	3.50±1.00 ^{◆◆}
G3	阳性对照组	50mg/kg	5.69±0.13 [■]	0.50±0.5 [■]	2.75±0.50 [■]
[0155] G4	凝胶1组(实施例3)	5.0mg/kg	5.77±0.38 [■]	0.50±0.16 [■]	2.25±0.50 [■]
G5	凝胶2组(实施例4)	5.0mg/kg	7.03±0.75	0.75±0.58 [■]	3.00±1.16
G6	凝胶3组(实施例5)	5.0mg/kg	6.36±0.38	1.50±1.00	3.75±0.96
G7	凝胶4组(对比例2)	5.0mg/kg	6.73±0.69 [■]	1.25±1.50 [■]	3.00±1.41 [■]
G8	凝胶5组(对比例1)	5.0mg/kg	5.67±0.24 [■]	0.50±0.13 [■]	2.25±0.51 [■]

[0156] 与空白组比: ^{◆◆}P<0.01, [◆]P<0.05; 与模型组相比: [■]P<0.01, [■]P<0.05

[0157] 从表中可以看出,大鼠左足底皮内注射0.1ml完全弗氏佐剂后模型组(G3、G4)大鼠足趾肿胀度、左后足趾关节肿胀度均与空白组有极显著差异(P<0.01),说明模型构建成功。

[0158] 经皮给予扶他林和马钱子碱凝胶、马钱子总碱凝胶均能减轻肿胀度,其中马钱子碱凝胶1和添加透皮促进剂的马钱子碱凝胶5效果最优,且具有相同的治疗效果。