

他克莫司软膏的制备及体外经皮渗透评价

单瑞平^{1,2}, 鲍毅², 尚海萍², 沈珉霖², 李范珠^{1*} (1.浙江中医药大学药学院, 杭州 311402; 2.浙江万晟药业有限公司, 杭州 311305)

摘要: 目的 研制与原研制剂经皮渗透性能一致的他克莫司软膏。方法 用 LC-MS/MS 测定样品中他克莫司的含量; 以剪切应力、复合黏度等流变性参数和累积释放量为指标, 筛选他克莫司软膏处方; 采用改良 Franz 扩散池, 以小型猪皮肤为渗透屏障, 研究他克莫司软膏的经皮渗透性能。结果 自制他克莫司软膏的剪切应力(剪切速率: 30 s⁻¹)为 145.8 Pa、复合黏度为 16.11 Pa·s、释放速率为(1 400±243)ng·cm⁻²·h^{-1/2}、经皮渗透速率为(40.28±3.11)ng·cm⁻²·h⁻¹、皮肤内滞留量为(9.515±1.096)ng·mg⁻¹; 原研制剂的剪切应力(剪切速率: 30 s⁻¹)为 141.8 Pa、复合黏度为 15.88 Pa·s、释放速率为(1 243±133)ng·cm⁻²·h^{-1/2}、经皮渗透速率为(37.61±9.09)ng·cm⁻²·h⁻¹、皮肤内滞留量为(8.463±1.770)ng·mg⁻¹。结论 自制他克莫司软膏与原研制剂的流变性和释放速率相似, 经皮渗透性无显著性差异。

关键词: 他克莫司软膏; 处方筛选; 释放速率; 经皮渗透性

中图分类号: R943 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2022)08-1082-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.08.012

引用本文: 单瑞平, 鲍毅, 尚海萍, 等. 他克莫司软膏的制备及体外经皮渗透评价[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(8): 1082-1087.

Preparation and *in Vitro* Evaluation of Percutaneous Permeability of Tacrolimus Ointment

SHAN Ruiping^{1,2}, BAO Yi², SHANG Haiping², SHEN Minji², LI Fanzhu^{1*} (1.College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 311402, China; 2.Zhejiang Wansheng Pharmaceutical Co., Ltd., Hangzhou 311305, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop tacrolimus ointment with the same transdermal permeability as the original preparation. **METHODS** The content of tacrolimus was determined by LC-MS/MS. Theological parameters(shear stress, compound viscosity, and etc.) and cumulative release amount of tacrolimus ointment were used as the evaluation index to screen the formulation of tacrolimus ointment. The improved Franz diffusion cells and the skin of miniature pig were used to investigate the percutaneous permeability of tacrolimus ointment. **RESULTS** The self-made tacrolimus ointment and original preparation had shear stress(shear velocity: 30 s⁻¹) of 145.8, 141.8 Pa, compound viscosity of 16.11 and 15.88 Pa·s, release velocity of (1 400±243)ng·cm⁻²·h^{-1/2} and (1 243±133)ng·cm⁻²·h^{-1/2}, percutaneous penetration velocity of (40.28±3.11)ng·cm⁻²·h⁻¹ and (37.61±9.09)ng·cm⁻²·h⁻¹, residue in skin of (9.515±1.096)ng·mg⁻¹ and (8.463±1.770)ng·mg⁻¹, respectively. **CONCLUSION** There is no significant difference in the rheology, release velocity, and transdermal permeability between the self-made tacrolimus ointment and the original preparation.

KEYWORDS: tacrolimus ointment; formulation screening; release rate; percutaneous penetration

他克莫司是一种大环内酯类免疫抑制剂, 通过抑制 T 淋巴细胞免疫活性、阻止组胺释放等发挥作用, 临床应用广泛, 可用于器官移植和肾病、眼表疾病、皮肤病等治疗, 疗效显著^[1-3]。由于他克莫司的全身系统性治疗具有一定的不良反应, 因此, 不良反应相对较小的他克莫司皮肤外用制剂的研制成为近年来研究热点之一^[4]。

软膏剂是指药物与水溶性或油性基质混合制成的均匀半固体外用制剂, 临床上主要用于皮肤、黏膜表面, 起治疗和局部保护作用, 可作为他克莫司的良好制剂载体^[5]。

他克莫司软膏已在美国获得正式批准用于治疗中度至重度异位性皮炎^[1,6]。虽然原研厂家(日本安斯泰来制药有限公司)处方已明确其以油脂性基质为主, 但处方中的油脂比例对软膏流动性等指标影响很大, 需要科学筛选。

本研究参考他克莫司软膏原研处方, 并以自制他克莫司软膏与原研制剂的复合黏度 $|\eta^*|$ 等流变性参数和累积释放量为指标, 筛选他克莫司软膏处方, 制备与原研制剂具有相似透皮性能的他克莫司软膏, 为该制剂的生产和临床使用提供科学依据。

作者简介: 单瑞平, 男, 硕士 E-mail: srp168@163.com *通信作者: 李范珠, 男, 博士, 教授 E-mail: lifanzhu@zcmu.edu.cn

1 仪器与试剂

1.1 仪器

TK-12B 型透皮扩散试验仪(上海锺凯科技贸易有限公司); MARS40 流变仪(爱尔兰 HAAKE 公司); 锥入度仪(天大天发科技有限公司); 1290 高效液相色谱仪、6460 三重串联四级杆高效液相色谱质谱联用仪(美国 Agilent 公司); CP225D 电子天平(德国 Sartorius 公司); DF-101S 集热式磁力搅拌器(上海越众仪器设备有限公司)。

1.2 试剂

他克莫司[海正药业(杭州)有限公司, 批号: TAB0171104]; 他克莫司对照品(USP, 批号: R055E0; 含量: 97.9%); 他克莫司软膏(Astellas Pharma Tech C., Ltd. Toyama Technology Center, 批号: 052550, 规格: 0.1% : 10 g); 0.45 μm 聚偏氟乙烯微孔滤膜(上海兴亚净化材料厂, 批号: 20180618); 石蜡(沧州森林蜡业有限公司, 批号: 2017-1); 液状石蜡(吉林市吉化江城油脂化工有限责任公司, 批号: 171002); 白凡士林(南京长江江宇石化有限公司, 批号: 20190808); 白蜂蜡(沧州森林蜡业有限公司, 批号: 2019-1); 碳酸丙烯酯(旭化成株式会社, 批号: ZRMVI); 其余试剂均为分析纯。

1.3 动物皮肤

2 个月巴马小型猪腹部皮肤, 购自重庆宗申医达生物技术有限公司, 实验动物生产许可证号: SCXK(渝)2015-0001。去除皮下组织及脂肪, 用生理盐水冲洗干净后切割成小片, 置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温冰箱中保存备用。

2 方法

2.1 软膏的制备

称取适量他克莫司, 溶于碳酸丙烯酯后, 加入到熔融的油溶性基质(白凡士林、白蜂蜡、液状石蜡、石蜡)中, 在 $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下均质 15 min(均质速率: $3\ 200\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$), 冷却至室温, 即得, 并于常温环境下保存。

2.2 体外释放试验

取人工膜($0.45\text{ }\mu\text{m}$ 聚偏氟乙烯微孔滤膜), 固定于扩散池(扩散池面积 3.14 cm^2 , 接受室最大容量为 7.7 mL)的供给室与接受室之间。排尽气泡, 循环水保持(32 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 。接受室以 50%乙醇水溶液作为接受介质(他克莫司在 50%乙醇水溶液中的溶解度 $>2\ 000\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 符合漏槽条件), 加搅拌子以 $600\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速度搅拌。供给室中加入他克莫司软

膏约 0.5 g 并使均匀涂布于人工膜表面。分别于 1, 2, 4, 6, 8, 10 h 从接受室中取出 5.0 mL 接受液, 并同时补加等体积等温的接受介质。取出的样品经 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤, 续滤液按“2.4”项下方法测定他克莫司含量, 计算累积释放量。

2.3 体外经皮渗透试验

取冷冻贮藏小型猪腹部皮肤, 置生理盐水中自然解冻, 滤纸擦干后固定于扩散池的供给室与接受室之间, 使皮肤表面层面向供给室。排尽气泡, 循环水保持(32 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 。接受室以 25%乙醇作为接受介质(他克莫司在 25%乙醇水溶液中的溶解度 $>60\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 符合漏槽条件), 加搅拌子以 $600\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速度搅拌。供给室中加入他克莫司软膏约 1 g 并使均匀涂布于皮肤表面。分别于 8, 12, 16, 20, 24 h 从接受室中取出 5.0 mL 接受液, 并同时补加等体积等温的接受介质。取出的样品经 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤, 续滤液按“2.4”项下方法测定他克莫司含量, 计算累积渗透量。

经皮渗透试验结束后, 先用棉签取下留在皮肤表面的他克莫司软膏, 然后用棉签蘸四氢呋喃擦洗皮肤表面 3 次, 再用胶黏带剥离皮肤角质层 1 次。

取去除表皮残留的他克莫司软膏后的皮肤, 按有效扩散面剪取皮肤并称重(约 0.5 g), 剪细捣碎, 置于具塞试管中, 用 3.5 mL 乙腈超声提取 2 次(乙腈用量分别为 2, 1.5 mL), 每次超声 40 min。合并提取液, 用孔径 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 的滤膜过滤, 取续滤液作为他克莫司皮肤内滞留量测试样品。

2.4 含量测定

2.4.1 色谱条件 色谱柱: Zorbax SB C_{18} ($2.1\text{ mm}\times 150\text{ mm}$, $3.5\text{ }\mu\text{m}$); 柱温: $30\text{ }^{\circ}\text{C}$; 流动相: 甲醇(A)-0.1%甲酸(含 $5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 醋酸铵)(B), 梯度洗脱: 0~0.5 min, 80%A; 0.5~5 min, 80% $\rightarrow$ 95%A; 5~7 min, 95% $\rightarrow$ 100%A, 维持 2 min; 流速: $0.3\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 进样量: $10\text{ }\mu\text{L}$; 检测波长: 222 nm 。

2.4.2 质谱条件 ESI 离子源, 正离子模式。离子源参数如下: 干燥器温度 $325\text{ }^{\circ}\text{C}$; 干燥气流量 $5\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$; 雾化器压力 45 psi; 鞘气温度 $350\text{ }^{\circ}\text{C}$; 鞘气流量 $11\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$; 毛细管电压 $3\ 000\text{ V}$ 。采用 MRM 模式进行检测, 测定他克莫司的质谱参数见表 1。

2.4.3 专属性试验 将他克莫司对照品、各阴性对照品和供试品, 按“2.4.1”“2.4.2”项下方法检测。结果表明, 他克莫司软膏中的辅料、渗透介质和皮

表 1 测定他克莫司含量的质谱参数表

Tab. 1 Mass spectrometric parameter for the determination of tacrolimus

母离子/ <i>m/z</i>	子离子/ <i>m/z</i>	碰撞解离电压/V	碰撞能量/eV	定量/定性离子
821.5	768.4	162	20	定量离子
821.5	786.4	162	16	定性离子

肤成分对相应样品中他克莫司含量测定基本没有干扰,阴性对照品的峰面积不到样品峰面积的1%,得到的相关色谱图见图1。

2.4.4 标准曲线 称取适量他克莫司对照品,分别用空白基质(以他克莫司软膏阴性对照品进行实验得到的释放接受液、经皮渗透接受液、皮肤内滞留量样品)定容至10 mL,按“2.4.1”“2.4.2”项下色谱条件检测。以测定峰面积(*A*)为纵坐标 *Y*,他克莫司浓度($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)为横坐标 *X*,以1/*C*加权线性回归,得标准曲线方程。在相应的浓度范围内,峰面积与浓度呈良好线性关系,结果见表2。

表 2 他克莫司含量的标准曲线方程

Tab. 2 Standard curve equation of tacrolimus content

样品	标准曲线方程	<i>R</i> ²	线性范围/ $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$
释放试验接受液	$Y=1\,248.38X+944.6$	0.999 4	9.448~2 834.4
经皮渗透试验接受液	$Y=1\,825.77X+25\,433.0$	0.999 8	2.46~492.0
皮肤内滞留量样品	$Y=2\,037.76X+307\,533.7$	0.997 1	98.4~2 952

2.4.5 仪器精密度试验 用空白基质配制不同浓度的他克莫司对照品溶液,各自连续5次进样,测定峰面积,结果显示RSD<7%,表明仪器精密度良好,结果见表3。

2.4.6 稳定性试验 用空白基质配制不同浓度的他克莫司溶液样品,在4℃下保存,分别于0,12,24,36,48,72 h测定峰面积,样品在72 h内稳

定性试验 RSD<5%,表明样品稳定性良好,结果见表4。

表 3 他克莫司含量的精密度试验结果(*n*=5)

Tab. 3 Precision test results of tacrolimus content(*n*=5)

样品	对照品溶液浓度/ $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	RSD/%
释放试验接受液	98.4	5.40
	492.0	6.39
经皮渗透试验接受液	10.26	2.17
	205.2	1.07
	513.0	3.91
皮肤内滞留量样品	820.8	2.58
	1 436.4	3.80
	1 846.8	1.20

表 4 他克莫司含量的稳定性试验结果

Tab. 4 Stability test results of tacrolimus content

样品	样品溶液浓度/ $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	RSD/%
释放试验接受液	94.64	3.158
	525.8	3.063
经皮渗透试验接受液	14.76	1.46
	196.8	0.84
皮肤内滞留量样品	492.0	3.61
	1 771.2	4.54

2.4.7 回收率试验 用空白基质配制不同浓度的他克莫司溶液样品,考察回收率,结果见表5。

表 5 他克莫司含量的回收率试验结果

Tab. 5 Test results of recovery rate of tacrolimus content

样品	加入量/ $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	回收率/%	<i>n</i>
释放试验接受液	39.68	92.34±3.18	3
	158.72	91.35±2.85	
	510.8	97.74±4.10	
经皮渗透试验接受液	102.16	100.7±1.23	6
	204.32	99.81±1.34	
	715.12	84.37±10.43	
皮肤内滞留量样品	3 575.60	101.81±7.17	6
	7 151.20	94.24±2.02	

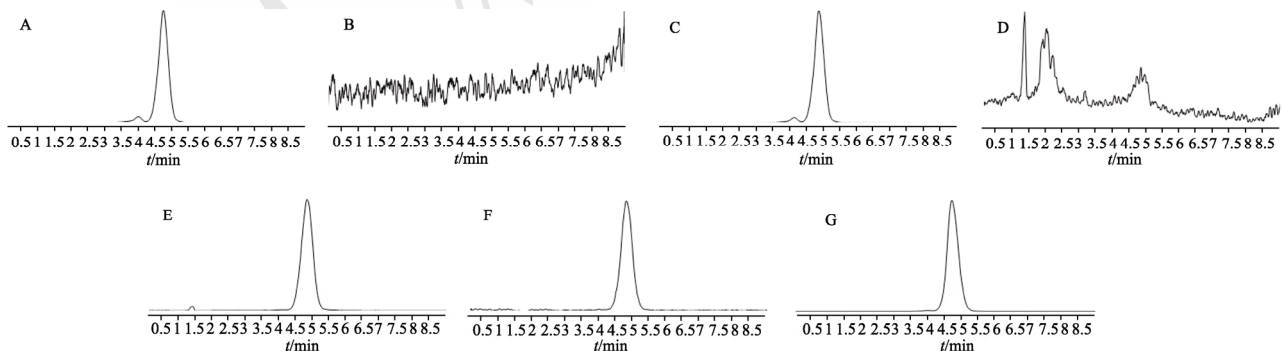


图 1 液相色谱图

A-他克莫司对照品; B-他克莫司释放试验接受液阴性对照品; C-他克莫司释放试验接受液样品; D-他克莫司经皮渗透试验接受液阴性对照品; E-他克莫司经皮渗透试验接受液样品; F-他克莫司皮肤内滞留量阴性对照品; G-他克莫司皮肤内滞留量样品。

Fig. 1 Liquid chromatograms

A-the reference substance of tacrolimus; B-the negative reference substance of receiving solution in tacrolimus release test; C-the receiving solution sample in tacrolimus release test; D-the negative reference substance of receiving solution in tacrolimus transdermal penetration test; E-the receiving solution sample in tacrolimus transdermal penetration test; F-the negative reference substance of tacrolimus retention in the skin; G-the sample of tacrolimus retention in the skin.

2.5 软膏的性能表征

2.5.1 外观形态与液滴粒径 取适量软膏,均匀地涂抹在显微载玻片上,25℃环境中显微镜观察软膏外观形态。

2.5.2 锥入度与黏度的测定 取适量他克莫司软膏,参照中国药典 2020 年版四部附录中锥入度与黏度项下要求进行测定。

2.5.3 流变学检测 采用直径为 25 mm 的平行板,板间距为 0.5 mm,温度为 25℃,在振荡剪切变形模式下测试软膏的剪切应力 F (剪切速率: 30 s^{-1})、黏度 η 、弹性模量 G' (扫描频率: 1 Hz)、黏性模量 G'' 和复合黏度 $|\eta^*|$ 等流变学特性。

2.6 处方设计

参考专利 CN91108796.6 及参比制剂说明书,参比制剂包装规格为每支 10 g,其中含凡士林 8.0 g,碳酸丙烯酯用量 0.50 g。本研究选用白凡士林、碳酸丙烯酯、液状石蜡、白蜂蜡和石蜡作为软膏辅料,其中白凡士林和碳酸丙烯酯用量与参比制剂相同,对液状石蜡、白蜂蜡、石蜡用量进行优化筛选。

本研究试验筛选了二十多个处方,其中按 3 个处方所制得的软膏外观与参比制剂相似,黏稠度与参比制剂接近,结果见表 6。

表 7 他克莫司软膏理化性质

Tab. 7 Physical and chemical properties of tacrolimus ointment

指标	外观性状	他克莫司 含量/%	F/Pa	$\eta/\text{Pa}\cdot\text{s}$	G'/kPa	G''/kPa	$ \eta^* /\text{Pa}\cdot\text{s}$	60℃黏度/ $\text{Pa}\cdot\text{s}$	液滴粒径/ μm	锥入度 (I号椎体)
参比制剂	类白色软膏	99.8	141.8	4.664	81.21	50.38	15.88	0.05	8.91	185.50
处方 1	类白色软膏	99.7	194.0	6.56	117.6	72.69	23.07	0.03	8.54	155.56
处方 2	类白色软膏	99.6	188.3	6.343	102.6	64.09	20.18	0.03	8.56	170.38
处方 3	类白色软膏	99.8	145.8	4.910	82.36	50.47	16.11	0.05	8.67	181.87

表 8 他克莫司软膏单位面积累积释放量($n=6$)

Tab. 8 Cumulative release amount of tacrolimus ointment per unit area($n=6$)

处方	1 h	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h
处方 1	653.0±117.1	741.0±143.7	878.1±162.8	986.0±181.1	1051.3±185.8	1127.9±194.9
参比制剂	160.2±13.4	198.4±16.7	257.5±21.9	290.2±24.4	328.9±27.0	349.6±28.2
$P(t\text{ 检验})^a$	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
处方 2	217.1±68.4	328.0±95.1	459.7±113.6	516.9±117.6	560.6±119.3	596.4±119.4
参比制剂	146.0±17.4	201.1±21.9	306.4±26.6	365.1±33.5	424.1±37.5	475.7±41.2
$P(t\text{ 检验})^b$	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
处方 3	133.6±45.7	216.2±58.1	304.1±72.9	361.4±79.5	404.8±85.0	440.7±87.7
参比制剂	166.9±18.9	250.7±20.7	326.0±28.3	373.4±31.8	413.0±35.4	443.1±37.1
$P(t\text{ 检验})^c$	0.1446	0.2185	0.5174	0.7433	0.8342	0.9514

注: ^a处方 1 与参比制剂比较, ^b处方 2 与参比制剂比较, ^c处方 3 与参比制剂比较。

Note: ^aprescription 1 was compared with the reference preparation; ^bprescription 2 was compared with the reference preparation; ^cprescription 3 was compared with the reference preparation.

表 6 他克莫司软膏处方设计表

Tab. 6 Design table of tacrolimus ointment prescription

组分	含量/%					
	他克莫司	白凡士林	碳酸丙烯酯	液状石蜡	白蜂蜡	石蜡
处方 1	0.1	80.0	5.0	9.0	3.0	2.9
处方 2	0.1	80.0	5.0	11.0	2.0	1.9
处方 3	0.1	80.0	5.0	13.0	1.0	0.9

3 结果

3.1 理化性质测定结果

按“2.1”项下方法制备他克莫司软膏,观察软膏外观并测得剪切应力 F (剪切速率: 30 s^{-1})、黏度 η 、弹性模量 G' (扫描频率: 1 Hz)、黏性模量 G'' 和复合黏度 $|\eta^*|$ 、60℃黏度、液滴粒径、锥入度等理化参数,结果见表 7。

剪切应力 F 和黏度 η 是评价软膏涂抹效果的流变性参数,弹性模量 G' 、黏性模量 G'' 和复合黏度 $|\eta^*|$ 是评价软膏挤压硬度和稠度的流变性参数。表 7 的结果显示,处方 3 的这些流变性参数均与参比制剂非常接近。

3.2 体外释放试验

为了进一步评价上述处方,对其进行了体外释放试验,结果见表 8。

结果表明, 处方 1 和处方 2 在各取样点的累积释放量均明显大于参比制剂($P<0.05$), 处方 3 在各取样点的累积释放量与参比制剂接近, 其比值(自制制剂/参比制剂)为 0.800 3~0.994 5, 经 t 检验, P 值为 0.184 6~0.951 4, 两者无显著性差异。

用单位面积累积释放量相对时间平方根进行线性回归(相关系数平方 R^2 均 >0.97), 直线的斜率代表制剂的释放率。结果显示, 自制制剂(处方 3)和参比制剂的释放率分别为 $(1\,400\pm243)\text{ng}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1/2}$ 和 $(1\,243\pm133)\text{ng}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1/2}$ 。根据 FDA 指导原则^[7], 将 36 个释放率比值(自制制剂/参比制剂)升序排列后, 第 8 个和第 29 个比值分别为 0.930 9 和 1.308 8, 即中位体外释放率比值的 90% 置信区间在 75%~133.33% 的限度范围内。

根据上述实验结果, 初步确定处方 3 为自制他克莫司软膏处方。

3.3 体外经皮渗透试验结果

对处方 3 进行体外经皮渗透试验, 结果见图 2, 表 9~10。

表 9 他克莫司软膏单位面积累积透过量($n=6$)

Tab. 9 Cumulative permeation per unit area of tacrolimus ointment($n=6$)					
	ng·cm ⁻²				
制剂	8 h	12 h	16 h	20 h	24 h
自制制剂	33.13±6.54	116.9±18.5	263.8±38.6	459.4±31.3	667.7±59.2
参比制剂	39.07±8.21	123.4±22.6	255.7±51.1	430.1±95.9	638.1±145.9
$P(t$ 检验)	0.197 3	0.598 7	0.763 5	0.504 0	0.654 9

表 10 他克莫司软膏经皮渗透速率和皮肤内滞留量($n=6$)

Tab. 10 Permeation rate of tacrolimus ointment through the skin and the amount of retention in the skin($n=6$)		
时间/h	经皮渗透速率/ng·cm ⁻² ·h ⁻¹	皮肤内滞留量/ng·mg ⁻¹
自制制剂	40.28±3.11	9.515±1.096
参比制剂	37.61±9.09	8.463±1.770
$P(t$ 检验)	0.520 7	0.244

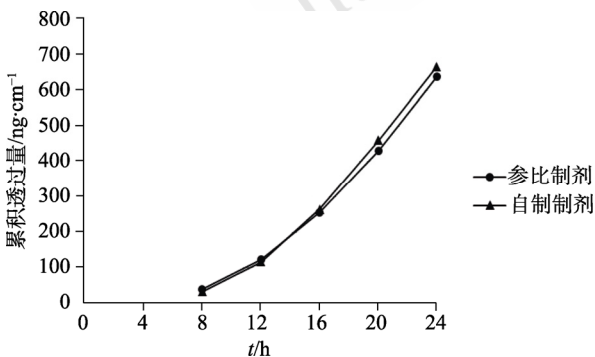


图 2 他克莫司单位面积累积透过量-时间曲线

Fig. 2 Cumulative penetration amounts of tacrolimus-time curve

用单位面积累积透过量相对时间进行线性回归(相关系数平方 R^2 均 >0.96)。直线的斜率代表制剂的经皮渗透速率。表 9~10 的结果表明, 自制制剂(处方 3)和参比制剂在各取样点的单位面积累积透过量、经皮渗透速率和皮肤内滞留量(皮肤内滞留量以单位质量皮肤中的他克莫司量表示)均无显著性差异。

根据欧盟指导原则《Quality and Equivalence of Topical Products》^[8], 计算得到自制制剂与参比制剂 24 h 单位面积累积透过量比值的 90% 置信区间为 83.11%~106.30%, 自制制剂与参比制剂经皮渗透速率比值的 90% 置信区间为 80.81%~103.78%, 均在 80.00%~125.00% 的接受区间内。

4 讨论

本研究以他克莫司软膏原研处方成分为基础, 研究了他克莫司软膏处方配比和制备工艺。

根据处方中固体辅料的熔点: 白凡士林 45~60 °C, 石蜡 50~65 °C, 白蜂蜡 62~67 °C, 确定均质温度为 70 °C。在该温度下, 这些辅料都能完全熔化; 以含量均匀度和液滴粒径为指标, 对均质速率(3 200, 4 000, 5 000 r·min⁻¹)和均质时间(10, 15, 20 min)进行了考察。结果表明, 在 70 °C 下以均质速率 3 200 r·min⁻¹ 均质 15 min 制得的软膏含量均匀且液滴粒径与参比制剂非常接近。

透皮预试验结果显示, 当起始取样时间为 4 h 时, 接受液浓度均 $<10\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, 个别甚至检测不到。为了确保接受液浓度达到定量检测限, 本研究选择取样时间点从 8 h 开始, 取样间隔 4 h。实验测得第 1 个取样样品的浓度为 11.25~19 ng·mL⁻¹ (12 个样品), 其余 48 个样品的浓度为 29.51~166.44 ng·mL⁻¹, 均高于定量限。

5 结论

本研究通过处方筛选, 确定了制备他克莫司软膏的处方和工艺, 即称取 1 g 他克莫司原料药, 溶于 50 g 碳酸丙烯酯后, 加入到熔融的油溶性基质(白凡士林 800 g、白蜂蜡 10 g、液状石蜡 130 g、石蜡 9 g)中, 在 70 °C 下均质 15 min (均质速率: 3 200 r·min⁻¹), 冷却至室温。该处方制得的他克莫司软膏, 其外观、流变学性质、体外释放速率和经皮渗透性均与原研制剂一致。

REFERENCES

- [1] KINO T, HATANAKA H, HASHIMOTO M, et al. FK-506, a novel immunosuppressant isolated from a Streptomyces. I.

- Fermentation, isolation, and physico-chemical and biological characteristics[J]. J Antibiot, 1987, 40(9): 1249-1255.
- [2] MÜLLER G G, JOSÉ N K, DE CASTRO R S, et al. Long-term use of topical tacrolimus ointment: A safe and effective option for the treatment of vernal keratoconjunctivitis [J]. Arq Bras Oftalmol, 2019, 82(2): 119-123.
- [3] LIU Y L, ZHAO W, WANG J, et al. Clinical efficacy of tacrolimus in the treatment of nephrotic syndrome and its influence on T lymphocyte subsets[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2021, 38(9): 1084-1088.
- [4] LI M, TAN W, DU J J, et al. Tacrolimus ointment in the treatment of hormone-dependent dermatitis: A protocol of systematic review[J]. Medicine, 2020, 99(37): e22159. Doi: 10.1097/MD.00000000000022159.
- [5] RANI Z, KAZMI A H, SHEIKH R A, et al. Efficacy, safety and tolerability of mometasone fluorate 0.1% ointment in chronic eczema[J]. J Pak Assoc Dermatol, 2007, 17(1): 21-27.
- [6] REMITZ A, HARPER J, RUSTIN M, et al. Long-term safety and efficacy of tacrolimus ointment for the treatment of atopic dermatitis in children[J]. Acta Derm Venereol, 2007, 87(1): 54-61.
- [7] U.S. Food and Drug Administration. Nonsterile semisolid dosage forms scale-up and post-approval changes: Chemistry, manufacturing and controls; *in vitro* release testing and *in vivo* bioequivalence documentation[EB/OL]. (1997-05)[2020-07-08]. <https://www.fda.gov/media/71141/download>.
- [8] European Medicines Agency. Quality and equivalence of topical products[EB/OL]. (2018-10-18)[2020-07-08]. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/draft-guidelinequality-equivalence-topical-products_en.pdf.
- 收稿日期: 2021-05-24
(本文责编: 李艳芳)