

## 立他司特滴眼液处方工艺优化及对干眼症疗效评价

颜 喜<sup>1</sup>, 潘宇南<sup>2</sup>, 王锴莉<sup>3</sup>, 徐千姿<sup>3</sup>, 沈 雁<sup>3\*</sup>, 陆 洋<sup>1\*\*</sup>

(<sup>1</sup> 北京中医药大学中药学院制药系, 北京 102488; <sup>2</sup> 广州市药品检验所, 广州 510160;

<sup>3</sup> 中国药科大学药学院药剂系, 南京 211198)

**摘要** 为了研制更有效的用于治疗干眼症的药物, 进行了立他司特滴眼液的制备研究, 并进行了体内外的安全性和有效性考察。首先开发了滴眼液中立他司特的含量测定方法。通过文献调研及单因素实验确定了制剂的处方组成和制备工艺。最后通过 Draize 眼刺激性试验和 HE 染色进行滴眼液安全性评价, 以泪液分泌试验及 ELISA 试验评价其对于干眼兔的治疗有效性。结果表明, 立他司特滴眼液的最终处方组成为立他司特 5%、氯化钠 0.4%、无水磷酸氢二钠 0.3%~0.4%、五水硫酸钠 0.3%, 氢氧化钠 0.3%, 外观为透明略带棕黄色的溶液, pH 满足  $7.75 \pm 0.05$ , 渗透压 200~330 mOsmol/kg 范围内, 且 60 °C 下 3 个月内稳定性良好。刺激性研究与生理盐水对比无显著差异, 立他司特滴眼液治疗后兔泪液分泌增加且泪液中炎症因子 IL-6 和 IL-1β、TNF-α 表达均显著性降低, 且相比于市售乳剂环孢素滴眼液起效更快。结果表明, 立他司特滴眼液制备方法简单, 稳定性好, 是干眼症快速治疗更优的选择。

**关键词** 立他司特; 制备工艺; 方法学; 体内外评价; 干眼症

中图分类号 R943 文献标志码 A

文章编号 1000-5048(2024)02-0209-08

doi: [10.11665/j.issn.1000-5048.2023051701](https://doi.org/10.11665/j.issn.1000-5048.2023051701)

引用本文 颜喜, 潘宇南, 王锴莉, 等. 立他司特滴眼液处方工艺优化及对干眼症疗效评价 [J]. 中国药科大学学报, 2024, 55(2): 209–216.

Cite this article as: YAN Xi, PAN Yunan, WANG Kaili, et al. Optimization of prescription process of lifitegrast eye drops and evaluation of its efficacy for dry eye disease[J]. J China Pharm Univ, 2024, 55(2): 209–216.

## Optimization of prescription process of lifitegrast eye drops and evaluation of its efficacy for dry eye disease

YAN Xi<sup>1</sup>, PAN Yunan<sup>2</sup>, WANG Kaili<sup>3</sup>, XU Qianzi<sup>3</sup>, SHEN Yan<sup>3\*</sup>, LU Yang<sup>1\*\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Pharmaceutics, School of Chinese Pharmacy, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488; <sup>2</sup>Guangzhou Institute for Drug Control, Guangzhou 510160; <sup>3</sup>Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China

**Abstract** In order to develop a more effective drug for dry eye disease, the preparation of lifitegrast eye drops was carried out, and the safety and efficacy of lifitegrast eye drops *in vitro* and *in vivo* were investigated. First the method for the determination of lifitegrast content was established, and then the composition and preparation process of the preparation were determined by literature review and single factor experiment. Finally, the safety of lifitegrast eye drops was evaluated by Draize eye irritation test and HE staining, and the therapeutic efficacy was evaluated by Schirmer test and ELISA test. The results showed that the final prescription of lifitegrast eye drops consisted of 5% lifitegrast, 0.4% sodium chloride, 0.3%~0.4% anhydrous disodium hydrogen phosphate, 0.3% sodium thiosulfate pentahydrate and 0.3% sodium hydroxide. The appearance of lifitegrast eye drops was transparent and slightly brownish yellow solution, the pH was  $7.75 \pm 0.05$ , the osmotic pressure was in the range of 200~330 mOsmol/kg and it had good stability at 60 °C for 3 months. There was no significant difference in irritation study compared with normal saline. Schirmer test showed that tear secretion was increased and the

收稿日期 2023-05-17 通信作者 \*Tel: 13814045497 E-mail: [shenyan19820801@126.com](mailto:shenyan19820801@126.com)

\*\*Tel: 15901119729 E-mail: [luyang@bucm.edu.cn](mailto:luyang@bucm.edu.cn)

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 82173989)

expression of inflammatory factors IL-6, IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in tears were significantly decreased after treatment with lifitegrast eye drops and compared to the commercially available emulsion cyclosporine eye drops, it takes effect faster. The above results indicate that lifitegrast eye drops are simple to prepare and stable, which is a better choice for the rapid treatment of dry eye disease.

**Key words** lifitegrast; preparation process; methodology; *in vivo-in vitro* evaluation; dry eye disease

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 82173989)

干眼症(dry eye disease, DED)又称干燥性角膜结膜炎。2017年,美国泪膜与眼表学会TFOS DEWS II工作组将DED定义为泪膜不稳定、渗透压升高、眼表炎症、眼表损伤和神经感觉异常引起的泪膜稳态丧失和眼部症状的眼表疾病<sup>[1]</sup>。眼睛干涩、异物感、烧灼感、视物模糊、视疲劳等是干眼的常见症状,严重者可出现角结膜病变,还可能影响视力,导致视力不可逆地衰退。全球DED患病率为5%~50%,并随年龄线性增加,其中亚洲患病率较高<sup>[2]</sup>。流行病学研究显示,我国DED患病率为21.0%~30.0%,与其他亚洲国家接近,但高于美国和欧洲,且呈逐年增高趋势<sup>[3]</sup>。

依据DED严重程度有不同治疗方法:对于轻度DED患者主要通过营养补充剂(如亚油酸、 $\gamma$ -亚油酸等)改善饮食,眼睑物理治疗以恢复睑板腺,使用人工泪液等对症治疗;对于中重度DED,除了可以在轻度DED治疗基础上佩戴湿房镜,接受泪液栓塞术,口服刺激泪液分泌的药物或应用自体血清滴眼液外,对于伴有眼表炎症的患者,抗炎和免疫抑制治疗是必不可少的<sup>[3~4]</sup>,如外用局部抗生素(如四环素)、免疫抑制剂(如环孢素)、皮质类固醇、非甾体抗炎药和淋巴细胞功能相关抗原-1拮抗剂。四环素及其衍生物是具有抗炎特性的广谱抗生素,是常用的眼表抗炎药物,然而其长期使用相关风险未知且可能导致潜在的抗生素耐药性;糖皮质激素使用2~4周可明显改善DED症状,但长期使用可引起高眼压、白内障等并发症<sup>[5]</sup>;环孢素是一种强效免疫抑制剂,0.05%环孢素眼用乳剂是美国FDA此前批准用于中重度DED的治疗,但也有报道显示患者用药后可能发生不同程度不适,如引起烧灼感等副作用<sup>[6]</sup>;非甾体抗炎药克服了糖皮质激素药物不良反应多、药物依赖性强的缺陷且适用于多种类型干眼症,但它可能延缓角膜创伤的早期修复及上皮愈合,眼部刺激引起的表层点状角膜炎,角膜穿孔等严重并发症也偶有报道<sup>[7]</sup>。

立他司特(lifitegrast)是一种新型小分子整合素抑制剂,结构式见图1。它通过抑制淋巴细胞功能相关抗原1(lymphocyte function associated antigen-1, LFA-1)与细胞间黏附分子1(intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1)的结合,从而减少由T淋巴细胞介导的炎症水平<sup>[8~9]</sup>。在大鼠和狗眼中给予立他司特后可在绝大多数眼部组织中检测到药物,尤其在眼球根部、睑结膜、眼角膜有较高浓度,同时可迅速从体循环中清除,总体上具有良好的总体药代动力学特征<sup>[10~11]</sup>。此外,该药物目前已在多项临床研究中显示出对干眼症的治疗作用<sup>[12~14]</sup>。

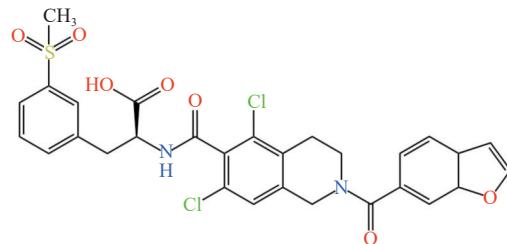


Figure 1 Structure of lifitegrast

本研究制备了一种溶液型立他司特滴眼液,建立了其含量测定分析方法;通过筛选了抗氧化剂、渗透压调节剂、缓冲盐处方用量考察对制剂渗透压及含量质量属性的影响,确定了最佳处方组成,同时考察了其在60℃的长期稳定性。通过将制剂滴入家兔眼部后眨眼次数变化、Draize评分及病理组织学观察,评价了制剂在眼部的耐受性;通过泪液分泌实验(Schirmer test, STT)及泪液中炎症因子在给予立他司特治疗前后变化,评价其治疗有效性。本研究内容为DED的治疗提供了新的研究思路,具有良好的应用前景和社会价值。

## 1 材 料

### 1.1 药品与试剂

立他司特(鲁南制药有限公司);氯化钠(西陇科学股份有限公司);无水磷酸氢二钠(成都华邑

药用辅料制造有限责任公司);五水硫代硫酸钠(上海源叶生物科技有限公司);氢氧化钠(成都华邑药用辅料制造有限责任公司);三氟乙酸(南京化学试剂有限公司);乙腈(美国 Tedia 公司);Xtimate® HPLC 色谱柱(月旭科技股份有限公司);ELISA 试剂盒(上海钰博生物科技有限公司)。超纯水(实验室自制);硫酸阿托品凝胶(沈阳兴齐眼药股份有限公司);0.9% 生理盐水(华润双鹤药业股份有限公司);乙腈为色谱纯, 其他试剂均为市售分析纯。

## 1.2 仪器

Ultimate 3000 高效液相色谱仪(美国赛默飞世尔科技有限公司);BSA124S 电子分析天平(德国赛多利斯公司);FE28 pH 计(美国梅特勒托利多公司);Osmomat 3000 冰点渗透压仪(德国高能泰克公司);380CGS&500GS 药物稳定性试验箱(北京兰贝石恒温技术有限公司)。

## 1.3 动物

普通级新西兰大白兔, 雌性和雄性, 体重 2.0~2.5 kg, 由南京市浦口区莱芙养殖场提供, 合格证号: SCXK(苏)2019-0005。所有动物实验均符合动物伦理委员会标准。

## 2 方法

### 2.1 含量测定分析方法

色谱条件: 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(Xtimate® HPLC C<sub>18</sub> 色谱柱, 4.6 mm×250 mm, 5 μm), 0.01%~1% 三氟乙酸水溶液作为流动相 A, 乙腈为流动相 B; 进行梯度洗脱; 流速为 1 mL/min; 柱温度为 30 ℃; 检测波长为 220 nm; 进样体积为 10 μL。

梯度洗脱程序: 0~20 min 为 75% 流动相 A; 20~25 min 为 35% 流动相 A; 25~25.01 min 为 75% 流动相 A; 25.01~40 min 为 75% 流动相 A。

2.1.1 线性关系考察 精密称取立他司特原料药 100 mg 至 20 mL 量瓶中, 加 75% 的乙腈水溶解稀释至刻度, 摆匀, 作为立他司特贮备液(5 mg/mL)。分别精密量取立他司特贮备液 1.25、2、2.5、3.0、3.75 mL 依次至 5 个 5 mL 的量瓶中, 加 75% 乙腈水溶解稀释至刻度, 摆匀, 制得质量浓度分别为 0.25、0.4、0.5、0.6、0.75 mg/mL 的系列线性溶液。按色谱条件进样, 记录色谱图, 列出回归方程、相关系数和线形图, 相关系数  $R^2 \geq 0.999$ 。

2.1.2 准确度试验 取处方量的辅料(按配制 100 mL 制剂的处方量), 精密称定, 置 10 mL 量瓶中, 加稀释液溶解并稀释至刻度, 摆匀, 配制成空白辅料贮备液。精密称定空白辅料贮备液各 1 mL 以及“2.1.1”项下配制的立他司特贮备液(5 mg/mL)各 0.8、1.0、1.2 mL 分别至 3 个 5 mL 量瓶中, 用 75% 的乙腈溶解并稀释定容至刻度, 混匀, 得相对标示量浓度为 80%, 100%, 120% 的回收率测定溶液。同法平行配制 3 份。按色谱条件进样, 以含量计, 高、中、低 3 个浓度的回收率可接受范围为 98%~102%, 其 RSD 均不得大于 2.0%。

### 2.1.3 精密度试验

重复性试验: 平行配制 6 份供试品溶液。

中间精密度试验: 第 2 个分析员在不同日期用同一批制剂重新平行配制 6 份供试品溶液。每份溶液进样 1 针, 以含量计, 重复性、中间精密度及其全部 12 份溶液的 RSD 均不得大于 2.0%。

## 2.2 立他司特滴眼液的制备

通过文献调研及相关预实验, 确定基本处方和工艺: 称量立他司特适量, 至 40% 超纯水中配制成质量分数为 5% 的溶液, 搅拌均匀。溶液呈乳白色混悬状, pH 在 6.20~6.30。加入 0.4% 氯化钠、0.3% 无水磷酸氢二钠、0.3% 五水硫代硫酸钠, 用 5% 的 NaOH 溶液调节 pH 至 7.55 ± 0.05, 加水至足量。根据内控标准, 制剂应为透明、无色至略带棕黄色的等渗溶液, pH 为 7.0~8.0, 渗透压范围为 200~330 mOsmol/kg。

### 2.3 处方用量单因素考察

2.3.1 抗氧剂五水硫代硫酸钠处方用量 处方中其他辅料用量不变, 调整抗氧剂五水硫代硫酸钠的质量分数为 0.2%、0.3%、0.4%, 按照“2.2”项下方法制备立他司特滴眼液。在高温条件下放样, 以含量和渗透压为主要指标对其进行考察评价。

2.3.2 渗透压调节剂氯化钠处方用量 处方中其他辅料用量不变, 调整渗透压调节剂氯化钠的质量分数为 0.3%、0.4%、0.5%, 按照“2.2”项下方法制备立他司特滴眼液, 以渗透压为主要指标对其进行评价。

2.3.3 缓冲盐无水磷酸氢二钠处方用量 处方中其他辅料用量不变, 调整缓冲盐无水磷酸氢二钠的质量分数为 0.2%、0.3%、0.4%, 按照“2.2”项下方法制备立他司特滴眼液, 以渗透压为主要指标对其

进行评价。

#### 2.4 工艺验证及稳定性研究

pH 筛选及溶液稳定性试验：分别配制体系 pH 为 7.0、7.5、8.0、8.5 的立他司特滴眼液，在 25 ℃ 和 60 ℃ 下放样检测，以含量为关键指标，比较不同 pH 环节下溶液的稳定性情况。

#### 2.5 在体眼部耐受性考察

2.5.1 眨眼次数测定 眼部刺激实验可通过 Karn 等<sup>[15]</sup> 描述的眨眼法进行评估。在该方法中，取预选健康动物 3 只，雌雄兼备。采用动物同体左右侧自身对比法，左侧眼结膜囊内分别滴入立他司特滴眼液 50 μL，右眼滴注生理盐水 50 μL。给药后使兔眼被动闭合 10 s，使药液与眼局部有充分接触。记录各家兔 10 min 内眨眼次数，以右眼作为对照，比较刺激效果。

2.5.2 多次给药眼刺激性试验 预选健康动物 3 只，雌雄兼备。将其用兔夹固定，左眼结膜囊内滴入立他司特滴眼液制剂 50 μL，右侧结膜囊内给予生理盐水作为对照，滴眼后轻轻闭合眼睑 10 s。每日给药 2 次(8:30、16:30)，持续 7 d，采用 Draize 的评分标准判断本研究制剂是否具有刺激性，评分标准和眼刺激性评价标准为：(1)角膜无浑浊，记为 0 分；角膜散在或弥漫性浑浊，虹膜清晰可见，记为 1 分；角膜半透明区易分辨，虹膜模糊不清，记为 2 分；角膜出现灰白色半透明区，虹膜细节不清，瞳孔大小勉强看清，记为 3 分；角膜不透明，虹膜无法辨认，记为 4 分。(2)虹膜正常，记为 0 分；虹膜褶皱明显加深，充血、肿胀、角膜周围有轻度充血，瞳孔对光仍有反应，记为 1 分；虹膜出血、肉眼可见坏死、对光无反应(或出现其中一种反应)，记为 2 分。(3)结膜充血(系指睑结膜、球结膜部位)血管正常、血管充血呈鲜红色、血管充血呈鲜红色且血管不易分辨、血管弥散性充血呈紫红色分别记为 0、1、2、3 分；结膜无水肿、轻微水肿(包括眼睑)、明显水肿且伴有眼睑部分眼睑外翻、水肿至眼睑近半闭合、水肿至超过半闭合分别记为 0、1、2、3、4 分；结膜无分泌物、有少量分泌物、分泌物使眼睑和睫毛潮湿或黏着、分泌物使整个眼区潮湿或黏着分别记为 0、1、2、3 分。眼刺激性综合平均分 0~3 分为无刺激性，4~8 分为轻度刺激性，9~12 分为中度刺激性，13~16 分强度刺激性。

2.5.3 眼球组织病理切片 为了进一步验证

Draize 实验观察结果，多次给药试验最后一次评分结束后，耳缘静脉注射空气处死家兔，在 30 min 内用眼科剪刀和眼科镊子小心分离出角膜、巩膜、虹膜，4% 多聚甲醛固定(组织必须完全浸没在固定液中)，经 HE 染色后进行病理组织学观察。观察各表皮细胞与基底细胞形态是否正常，有无炎症性细胞(嗜曙红细胞、嗜中性粒细胞、肥大细胞)和淋巴细胞的浸润及组织形态改变。

#### 2.6 药效学实验

2.6.1 泪液分泌实验 预选 9 只健康大白兔，分成正常组(A)、干眼模型组<sup>[16]</sup>(B)，立他司特滴眼液治疗组(C)，每组 3 只。测定 9 只家兔 0 d 泪液分泌量，操作如下：将泪液检测滤纸条(5 mm×35 mm)一端反折，置于家兔下眼睑外侧 1/3 处结膜囊内，5 min 后取出，室温干燥 30 s，记录泪液浸湿长度。向 B、C 组所有家兔双眼滴入 1 滴 1% 硫酸阿托品(atropine sulfate, AS)眼用凝胶，每日两次，连续 7 d，A 组给予等量生理盐水。第 4 天开始，滴加 1% AS 眼用凝胶 30 min 后，向 C 组兔双眼给予 5% 立他司特滴眼液 50 μL 治疗，分别于第 3、4、5、6、7 天测定所有家兔泪液分泌量。

2.6.2 干眼兔泪液中炎症因子表达 预选 9 只健康大白兔，分成干眼模型组(A)，立他司特滴眼液治疗组(B)，环孢素(cyclosporin, CSA)滴眼液治疗组(C)，每组 3 只。向 A、B、C 组所有家兔双眼滴入 1 滴 1% AS 眼用凝胶，每日两次，连续 7 d，从第 4 天开始，向 B、C 组家兔双眼分别给予立他司特滴眼液和环孢素滴眼液 50 μL，于第 0、3、7 天，收集各组家兔泪液，以 ELISA 法测定炎症因子表达水平变化。操作如下：轻拉兔的下睑结膜，于结膜囊中滴入无菌生理盐水 80 μL，轻微转动眼球，使生理盐水和泪液充分混合，将毛细玻璃管置于球结膜与穹窿结膜交界处收集泪液，−20 ℃ 冷存待用。采用 ELISA 法，按照试剂盒说明书操作流程测定样品中 IL-6、IL-17α、IL-1β、TNF-α 的水平，并于 450 nm 波长下测定吸收度，并以标准曲线换算泪液样本中所测炎症因子的浓度。

#### 2.7 统计分析

数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。单因素方差分析(ANOVA)和 SNK-q 测验用来确定统计显著性。所有计算均使用 SPSS 软件 20.0 版进行， $P < 0.05$  被认为具有统计学意义。

### 3 结 果

#### 3.1 含量测定分析方法开发

该方法线性良好: 以峰面积  $A$  为纵坐标, 样品质量浓度  $c$ (mg/mL) 为横坐标, 进行线性回归, 得到线性方程  $A = 716.74c + 22.666$ ,  $R^2 = 0.9995$ 。所以, 立他司特质量浓度在 0.25~0.75 mg/mL 范围内的线性良好。

该方法准确度良好: 取 9 份回收率测定溶液进样分析, 计算回收率, 结果如表 1 所示。高、中、低 3 个浓度回收率溶液的回收率( $n = 3$ )分别为 101.55%、101.88% 和 101.13%, 结果均在 98.0%~102.0% 范围内, 且  $RSD(n = 9)$  为 0.7%, 小于 2.0%, 证明该方法准确度良好。

**Table 1** Accuracy test results of lifitegrast eye drops

Solution	Added/(mg/mL)	Measured/(mg/mL)	Average/%	SD/%
80%	0.4018	0.4081	101.55	0.8124
100%	0.5023	0.5117	101.88	0.6113
120%	0.6028	0.6096	101.13	0.7079

精密度试验结果如表 2 所示, 按外标法以峰面积计算, 重复性试验溶液中立他司特百分含量的平均值为 102.93%,  $RSD$  为 0.5%, 中间精密度试验溶液中立他司特百分含量的平均值为 103.17%,  $RSD$  为 1.5%, 全部 12 份溶液的  $RSD$  为 1.07%, 均小于 2%, 说明该方法精密度良好。

**Table 2** Precision test results of lifitegrast eye drops

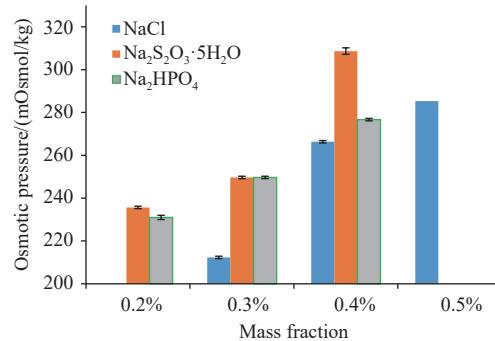
Solution	Added/(mg/mL)	Measured/(mg/mL)	Content/%	RSD/%
Repeatability-1		0.5189	103.79	
Repeatability-2		0.5153	103.06	
Repeatability-3		0.5134	102.68	
Repeatability-4		0.5149	102.97	0.5
Repeatability-5		0.5128	102.56	
Repeatability-6	0.5	0.5126	102.51	
Intermediate precision-1		0.5230	104.60	
Intermediate precision-2		0.5134	102.68	
Intermediate precision-3		0.5141	102.83	
Intermediate precision-4		0.5189	103.78	1.5
Intermediate precision-5		0.5026	100.52	
Intermediate precision-6		0.5230	104.61	

综上所述, 该方法线性、准确度、精密度良好, 在 0.25~0.75 mg/mL 质量浓度内具有良好的线性关系, 科学准确, 可用于立他司特滴眼液的含量

测定。

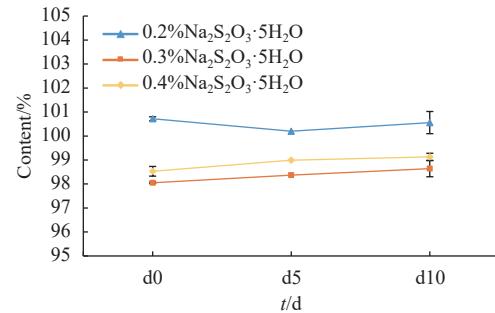
#### 3.2 处方用量单因素考察

氯化钠为渗透压调节剂, 五水硫代硫酸钠在滴眼液中作为抗氧剂, 磷酸氢二钠可起到缓冲剂和螯合剂的作用。从试验结果可见, 随着氯化钠、五水硫代硫酸钠和无水磷酸氢二钠的处方用量增加, 渗透压物质的量浓度均会上升, 其中氯化钠和五水硫代硫酸钠对渗透压的影响最大, 但考察用量的最终渗透压均在 200~330 mOsmol/kg 范围内, 其中, 氯化钠用量 0.4%, 五水硫代硫酸钠用量 0.3% 时, 渗透压结果最佳, 如图 2 所示。磷酸氢二钠在 0.3% 和 0.4% 用量下的渗透压均满足考察范围, 可确定磷酸氢二钠的处方用量范围为 0.3%~0.4%。



**Figure 2** Influence of excipient prescription dosage on osmotic pressure ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

参考 FDA 辅料最大用量标准(眼用溶液硫代硫酸钠最大用量为 0.5%)选取 0.2%、0.3%、0.4% 3 个水平进行考察。五水硫代硫酸钠 3 个处方放样后的变化情况如图 3 所示, 第 5 天、第 10 天相对于 0 d 的含量变化均小于 0.6%, 无明显差别, 考察的 3 个水平均能起到良好的抗氧化作用, 维持制剂含量稳定。结合渗透压结果考虑, 0.3% 的用量为最佳选择。长期稳定性情况仍在持续研究中。



**Figure 3** Effect of sodium thiosulfate pentahydrate dosage on content stability ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

因此,可确定处方为立他司特 5%(50 mg/mL)、氯化钠 0.4%、无水磷酸氢二钠 0.3%~0.4%、五水硫酸代硫酸钠 0.3%、氢氧化钠(调节 pH),该处方可满足立他司特滴眼液的性状、pH、渗透压等基本要求。

### 3.3 稳定性考察

在 pH 7.5~8.5 环境下,60 °C 下 3 个月内含量变化均小于 5%,说明制剂在该 pH 范围内稳定性较好,如图 4 所示。pH 5.0~9.0 为正常眼睛可耐受的范围,pH 6.0~8.0 时较为舒适。综合考虑,pH 的接受范围可控制在 7.5~8.0,并对氢氧化钠的用量进行了定量试验,可得到立他司特滴眼液的工艺:(1)称量处方量的立他司特、五水硫酸代硫酸钠、氯化钠和无水磷酸氢二钠于 40% 超纯水中;磁力搅拌,一边搅拌一边滴加 5% 氢氧化钠溶液调节 pH 至  $7.75 \pm 0.05$ ,补水至足量。(2)称量处方量的立他司特、五水硫酸代硫酸钠、氯化钠和无水磷酸氢二钠于 40% 超纯水中;磁力搅拌,使溶液混匀,加入 0.30% 的氢氧化钠继续搅拌至溶液澄清透明成淡黄色液体,补水至足量。

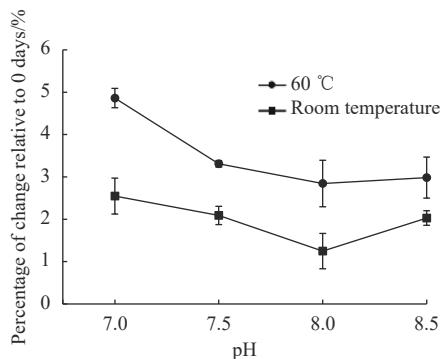


Figure 4 变化在稳定性测试中的立他司特含量( $\bar{x} \pm s$ , n=3)

### 3.4 在体眼部耐受性考察

**3.4.1 眨眼次数测定** 自制立他司特滴眼液与生理盐水组家兔眨眼次数实验结果为自制制剂组家兔眨眼次数分别为 5、11、12 次(AVE $\pm$ SD: 9.33 $\pm$ 3.79),生理盐水组家兔眨眼次数分别为 4、5、5 次(AVE $\pm$ SD: 4.67 $\pm$ 0.58),表明自制滴眼液组与生理盐水组在 10 min 内眨眼次数无显著性差异,表明其低眼刺激性。

**3.4.2 多次给药眼刺激性试验** Draize 评分结果(家兔分别用 Assesment 1、Assesment 2、Assesment 3 表示,记为 A1、A2、A3)列于表 3,结果表明连续给药 7 d,立他司特滴眼液组 Draize 评分小于 3.0,经判断该制剂对兔眼无刺激性。

Table 3 Ocular irritation result of lifitegrast eye drops

t/d	Left eye					Right eye				
	A1	A2	A3	Total	Average	A1	A2	A3	Total	Average
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0.25	0.25	0	0.25	0.16	0	0	0	0	0
7	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0	0	0	0	0

A1: Assesment 1; A2: Assesment 2; A3: Assesment 3

**3.4.3 眼球组织病理切片** 结果如图 5 显示,给予立他司特滴眼液后,兔眼未见组织损伤和炎症反应,角膜、巩膜、虹膜结构正常与生理盐水组相比均无差异,表明其安全无眼刺激性。

### 3.5 体内药效学评价

**3.5.1 泪液分泌实验** 给予 1% 阿托品(atropine, AS)3 d 后,实验组兔泪液分泌较对照组显著减少(分泌量满足  $\leq 10 \text{ mm}/5 \text{ min}$ )表明干眼模型造模成功,随 1% AS 给药时间延长,模型组家兔泪液分泌持续降低,而给予立他司特治疗后,泪液分泌增加,治疗 7 d 时可基本恢复至初始水平,且自制的 CsA 纳米乳剂对由 AS 引起的泪液分泌减少也具有治疗作用,并且与市售制剂的治疗效果无显著性差异,如图 6 所示。

**3.5.2 干眼兔泪液中炎症因子表达** 从图 7 可以看出给予 3 d AS 后兔泪液中炎症因子表达增加;除 IL-17 $\alpha$  外,其余 3 个因子在给予 AS 7 d 时与 0 d 相比均有显著性差异,表明干眼模型造模是成功的,而给予立他司特滴眼液治疗 4 d 后,IL-6 和 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  表达均显著降低,环孢素滴眼液治疗 4 d 后,仅 TNF- $\alpha$  表达显著降低,从该结果可以看出立他司特相比于环孢素治疗起效更快,治疗效果更佳。实验中 IL-17 $\alpha$  表达在给药后未有显著变化可能还需延长给药时间。

## 4 总结

眼睛是人类获取信息的主要器官,其重要性不言而喻。由于电子设备及生活方式的改变,患上干眼症的人群呈现逐渐扩大的趋势。立他司特是全球首个治疗干眼症症状和体征的处方药,其他类似药物只有环孢素。该药物可通过增加泪液的生成、抑制 T 细胞激活和外周血单核细胞释放的各种

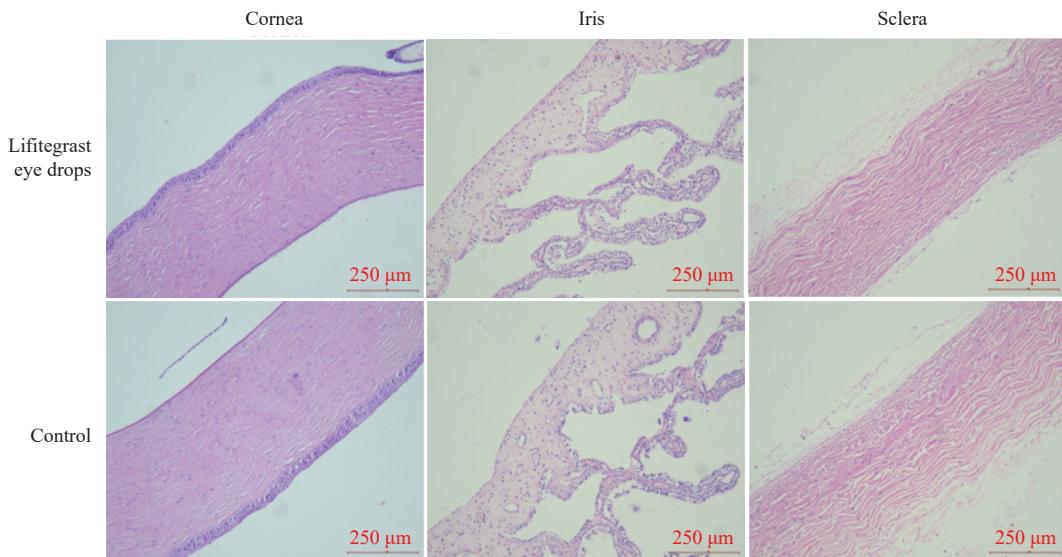


Figure 5 Histological cross-sections of external ocular tissues stained by HE ( $\times 100$ )

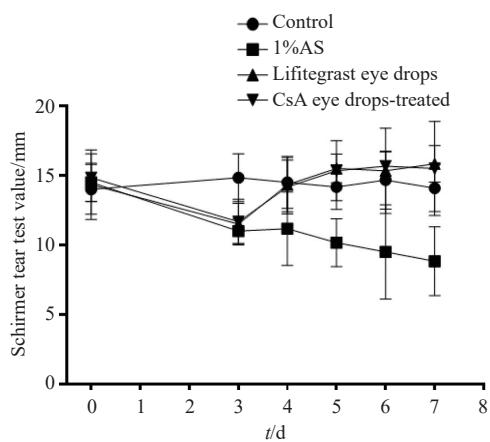


Figure 6 Results of Schirmer test ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

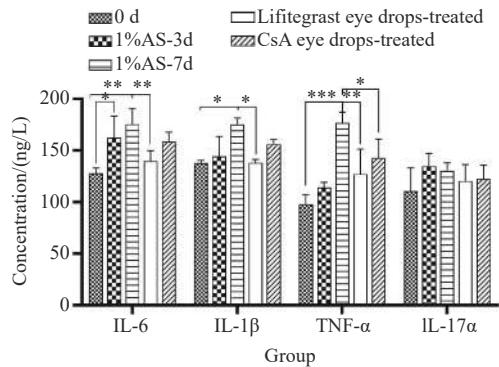


Figure 7 Comparison of IL-6, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  and IL-17 $\alpha$  between lifitegrast eye drops and CsA eye drops ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

\* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$  vs 0 d group

炎症因子(如 IL-6 和 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  等)来治疗由于炎症导致的眼泪减少的干眼症<sup>[11]</sup>, 作为眼局部治疗药物, 其起效迅速、效果明显、耐受性好、副作用轻

微, 其市场潜力巨大, 本文制备的立他司特滴眼液稳定性良好, 且安全有效, 有望进入中国干眼症治疗市场, 为患者提供其他可靠的治疗选择。

## References

- [1] Stapleton F, Alves M, Bunya VY, et al. TFOS DEWS II epidemiology report[J]. *Ocul Surf*, 2017, **15**(3): 334-365.
- [2] Ling JW, Chan BCL, Tsang MSM, et al. Current advances in mechanisms and treatment of dry eye disease: toward anti-inflammatory and immunomodulatory therapy and traditional Chinese medicine[J]. *Front Med*, 2022, **8**: 815075.
- [3] Fang M, Wang DG, Liu PQ. Advances in drug use for dry eye disease[J]. *World Clin Drug*(世界临床药物), 2022, **43**(05): 620-627.
- [4] Wolffsohn JS, Huarte ST, Jones L, et al. Clinical practice patterns in the management of dry eye disease: a TFOS international survey[J]. *Ocul Surf*, 2021, **21**: 78-86.
- [5] Jones L, Downie LE, Korb D, et al. TFOS DEWS II management and therapy report[J]. *Ocul Surf*, 2017, **15**(3): 575-628.
- [6] Sheppard JD, Scoper SV, Samudre S. Topical loteprednol pretreatment reduces cyclosporine stinging in chronic dry eye disease[J]. *J Ocul Pharmacol Ther*, 2011, **27**(1): 23-27.
- [7] He H, Xiao QG. Recent advances of non-steroidal anti-inflammatory drugs in treatment of dry eye[J]. *Int J Ophthalmol* (国际眼科杂志), 2011, **11**(7): 1182-1184.
- [8] Chan CC, Prokopic CL. Lifitegrast ophthalmic solution 5.0% for treatment of dry eye disease: overview of clinical trial program[J]. *J Pharm Pharm Sci*, 2019, **22**(1): 49-56.
- [9] Shen Lee B, Toyos M, Karpecki P, et al. Selective pharmacologic therapies for dry eye disease treatment: efficacy, tolerability

- ty, and safety data review from preclinical studies and pivotal trials[J]. *Ophthalmol Ther*, 2022, **11**(4): 1333-1369.
- [10] Godin MR, Gupta PK. Lifitegrast ophthalmic solution in the treatment of signs and symptoms of dry eye disease: design, development, and place in therapy[J]. *Clin Ophthalmol*, 2017, **11**: 951-957.
- [11] Zheng F, Wang YM, Zhang Q, et al. Lifitegrast: a novel inhibitor of integrin for dry eye disease[J]. *Drug Eval Res* (药物评价研究), 2017, **40**(6): 880-884.
- [12] Li JX, Tsai YY, Lai CT, et al. Lifitegrast ophthalmic solution 5% is a safe and efficient eyedrop for dry eye disease: a systematic review and meta-analysis[J]. *J Clin Med*, 2022, **11**(17): 5014.
- [13] Hovanesian JA, Nichols KK, Jackson M, et al. Real-world experience with lifitegrast ophthalmic solution (Xiidra®) in the US and Canada: retrospective study of patient characteristics, treat-  
ment patterns, and clinical effectiveness in 600 patients with dry eye disease[J]. *Clin Ophthalmol*, 2021, **15**: 1041-1054.
- [14] Pepose JS, Qazi MA, Devries DK. Longitudinal changes in dry eye symptoms and signs following lifitegrast therapy and relationship to tear osmolarity[J]. *Clin Ophthalmol*, 2019, **13**: 571-579.
- [15] Karn PR, Do Kim H, Kang H, et al. Supercritical fluid-mediated liposomes containing cyclosporin A for the treatment of dry eye syndrome in a rabbit model: comparative study with the conventional cyclosporin A emulsion[J]. *Int J Nanomedicine*, 2014, **9**: 3791-3800.
- [16] Sánchez-Ríos A, Correa-Gallegos EY, Medina-Espinosa JM, et al. Validation of a preclinical dry eye model in New Zealand white rabbits during and following topical instillation of 1% ophthalmic atropine sulfate[J]. *Animal Model Exp Med*, 2022, **5**(3): 266-273.

· 校园信息 ·

本刊编委刘畅教授团队在 *Advanced Materials* 上发表  
神经胶质母细胞瘤治疗的最新研究成果

近日,我校生命科学与技术学院刘畅教授团队在国际著名期刊 *Advanced Materials* (IF=29.40) 发表最新研究成果“Efficient Delivery of Lomitapide Using Hybrid Membrane-Coated Tetrahedral DNA Nanostructures for Glioblastoma Therapy”。宋明博士后和 2022 级硕士研究生田嘉蕙为并列第一作者,刘畅教授为通讯作者,中国药科大学为论文唯一通讯单位。

该团队通过高通量药物筛选平台从 1430 个小分子化合物中筛选得到一种新型抗神经胶质母细胞瘤(GBM)药物洛美他派(LMP)。此外,他们构建了一种主动靶向 GBM 的仿生纳米给药系统(RFA-NP),该系统主要以负载 LMP 四面体 DNA 纳米笼(tFNA-NP)为核心、以叶酸修饰的红细胞-癌细胞-巨噬细胞杂化膜(FRUR)为外壳所组成。结果表明,LMP-RFA-NPs 在荷瘤小鼠中表现出优越的抗 GBM 活性,减少脱靶效应,显著延长 GBM 模型小鼠的寿命,并且副作用可以忽略不计。该研究将高通量药物筛选与仿生纳米给药系统技术相结合,为 GBM 治疗的药物开发和临床治疗策略优化提供了理论和实践依据。

以上工作获得国家自然科学基金重大研究计划培育项目、国家重点研发计划项目、江苏省自然科学基金、新疆维吾尔自治区自然科学基金以及中国药科大学多靶标天然药物全国重点实验室研究项目的资助。

(供稿单位: 生命科学与技术学院)