一种眼用药物组合物及其制备方法和应用

技术领域

本发明涉及药物制剂技术领域，具体涉及一种眼用药物组合物及其制备方法，以及其在制备用于缓解和/或改善干眼病症和/或治疗干眼的眼用制剂中的应用。

背景技术

干眼是指由于泪液或眼表异常引起的泪膜不稳定和眼部不适以及视觉障碍，并对眼表有潜在损害的一类疾病，其通常表现为干涩感、异物感、疼痛感、烧灼感、眼痒、视物模糊、眼红、畏光、流泪等，长期的眼部不适严重影响患者的生活质量，严重的干眼还可引起角膜炎、角膜新生血管、角膜溃疡甚至危害视力而致盲。目前在世界范围内，干眼已成为最常见的眼表疾病。流行病学调查显示，全世界干眼发病率大约在 5.5-33.7%不等，我国发病率约为 21-30%，估计全国有 3 亿以上干眼患者。近年来，随着空气污染的加重和视频终端使用的增多，干眼的发病呈快速增加的趋势并向低龄化发展。干眼患者在阅读、使用计算机、看电视、驾驶等日常活动及工作中都会受影响。因此，干眼已严重地影响着人们的工作效率和生活质量。

干眼的发生发展影响因素众多。诱发干眼的因素包括眼表炎症、药物滥用、长期佩戴角膜接触镜、更年期、长期使用电脑以及其他免疫因素等。研究表明，干眼的主要病理表现为：泪膜稳定性下降后，眼表上皮在干燥环境应激下发生的一系列损害，包括角膜上皮屏障功能损害、结膜杯状细胞密度下降、眼表上皮鳞状化生与眼表炎症。目前，干眼的主要治疗方法包括人工泪液，皮质类固醇激素以及环孢霉素 A（Cyclosporine A，CsA）等免疫抑制剂。但是，人工泪液仅是一种泪液替代品，其本身无治疗作用；皮质类固醇激素及 CsA 等药物长期使用对眼表均有一定的毒副作用，迄今为止，临床实践中尚无治疗干眼的特效药物。因此，当下亟需研发一种疗效好、可以长期使用且无明显局部及全身毒副作用的药物用于干眼的治疗。

发明内容

本发明提供一种眼用药物组合物及其制备方法，以及其在制备用于缓解和/或改善干眼病症和/或治疗干眼的眼用制剂中的应用。本发明的眼用药物组合物刺激性小、稳定性好且安全性高。

本发明是通过如下技术方案实现的：

一方面，本发明提供了一种眼用药物组合物，其包含混悬或溶解在眼可接受的等渗溶液中的丙谷二肽。

优选地，所述丙谷二肽的浓度为0.1-10%（w/v），优选为1-10%（w/v），更优选为1-5%（w/v），最优选为1%（w/v）。

优选地，所述等渗溶液由等渗剂配制而得；

优选地，所述等渗剂选自氯化钠、氯化钾、硼酸、硼砂、硫酸钠、硫酸钾、硝酸钠、硝酸钾、醋酸钠、甘露醇、甘油、丙二醇、2-（4-正辛基苯乙基）-2-氨基丙二醇盐酸盐和葡萄糖中的一种或多种；

优选地，所述等渗剂选自氯化钠和氯化钾中的一种或多种；

优选地，所述等渗剂为氯化钠；

优选地，所述等渗剂的浓度为0.01-3%（w/v），优选为0.1-1%（w/v），更优选为0.4-0.8%（w/v），最优选为0.5%（w/v）。

优选地，所述药物组合物可选地包含抑菌剂；

优选地，所述抑菌剂选自苯扎氯铵、苯扎溴铵、醋酸氯己定、葡萄糖氯己定、三氯叔丁醇、苯氧乙醇、羟苯甲酯、羟苯乙酯和羟苯丙酯中的一种或多种；

优选地，所述抑菌剂选自苯扎氯铵、苯扎溴铵和羟苯乙酯中的一种或多种；

优选地，所述抑菌剂为羟苯乙酯；

优选地，所述抑菌剂的浓度为0.003-0.5%（w/v），优选为0.01-0.05%（w/v），更优选为0.02-0.035%（w/v），最优选为0.03%（w/v）。

优选地，所述药物组合物可选地包括增粘剂；

优选地，所述增粘剂选自玻璃酸钠、羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、聚乙二醇、聚乙烯醇和聚维酮中的一种或多种；

优选地，所述增粘剂选自玻璃酸钠和羧甲基纤维素钠中的一种或多种；

优选地，所述增粘剂为玻璃酸钠；

优选地，所述增粘剂的浓度为0.01-0.5%(w/v)，优选为0.05-0.2%(w/v)，

更优选为 0.1-0.15%（w/v），最优选为 0.1%（w/v）。

优选地，所述药物组合物还包括选自磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、磷酸二氢钾、磷酸氢二钾、硼酸、硼砂、醋酸、醋酸钠、柠檬酸、柠檬酸钠、酒石酸、酒石酸钠、碳酸钠、碳酸钾、碳酸氢钠、碳酸氢钾、氢氧化钠、氢氧化钾、盐酸和磷酸中的一种或多种 pH 调节剂，所述 pH 调节剂调节 pH 值至 5.0-9.0，优选至 6.0-8.0，更优选至 6.5-7.5，最优选至 7.0；

优选地，所述 pH 调节剂选自碳酸钠、碳酸氢钠、氢氧化钠中的一种或多种。

优选地，所述 pH 调节剂为氢氧化钠；

优选地，所述氢氧化钠的浓度为 0.25mol/L。

另一方面，本发明还提供了一种制备上述药物组合物的方法，所述方法包括将丙谷二肽混悬或溶解在等渗溶液中，调节 pH 值至 5.0-9.0，优选至 6.0-8.0，更优选至 6.5-7.5，最优选至 7.0，所得溶液经微孔滤膜过滤、除菌；

优选地，所述方法包括将等渗剂加注射用水搅拌溶解，优选在 80-90℃，最优选在 85℃下搅拌，然后加入丙谷二肽，搅拌溶解，加入注射用水，加入 pH 调节剂调节 pH 值至 5.0-9.0，优选至 6.0-8.0，更优选至 6.5-7.5，最优选至 7.0，100℃煮沸消毒后经微孔滤膜过滤、除菌，无菌环境下分装至灭菌眼药瓶中；

优选地，所述方法包括依次将等渗剂、抑菌剂加注射用水搅拌溶解，优选在 80-90℃，最优选在 85℃下搅拌，溶解后，可选地在搅拌下加入增粘剂并继续搅拌至溶解，然后加入丙谷二肽，搅拌溶解，加入注射用水，加入 pH 调节剂调节最终 pH 值至 5.0-9.0，优选至 6.0-8.0，更优选至 6.5-7.5，最优选至 7.0，100℃煮沸消毒后经微孔滤膜过滤、除菌，无菌环境下分装至灭菌眼药瓶中。

又一方面，本发明还提供了上述药物组合物在制备用于缓解和/或改善干眼病症和/或治疗干眼的眼用制剂中的应用。

附图说明

图 1 示出了小鼠泪液分泌量统计情况，其中：NS 表示正常组，DS5 表示干眼组，DS5+Vehicle 表示溶剂对照组，DS5+AG 表示治疗组；其中，*P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001；

图 2 示出了小鼠结膜杯状细胞数量的统计情况，其中：NS 表示正常组，DS5 表示干眼组，DS5+Vehicle 表示溶剂对照组，DS5+AG 表示治疗组；其中，* P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001；

图 3 示出了小鼠角膜上皮缺损情况，其中，图 3A 为小鼠角膜 OGD 染色典型图片，图 3B 为小鼠角膜 OGD 染色荧光强度统计，NS 表示正常组，DS5 表示干眼组，DS5+Vehicle 表示溶剂对照组，DS5+AG 表示治疗组；其中，* P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001。

具体实施方式

下面将以实施例的方式具体说明本发明的技术方案，但以下实施例或制备例并不限制本发明的范围。

下述实施例中的实验方法，如无特殊说明，均为常规方法。下述实施例中所用的药材原料、试剂材料等，如无特殊说明，均为市售购买产品。

制备例 1

1、处方

玻璃酸钠	1.0g
羟苯乙酯	0.3g
氯化钠	5.0g
丙谷二肽	10.0g
注射用水加至	1000mL
NaOH	0.25mol/L，调节 pH 值至 7.0

2、制法：

称取氯化钠和羟苯乙酯加注射用水 800mL（85℃）搅拌溶解，溶解后，在搅拌下，加入玻璃酸钠，并不断搅拌至溶解，然后加入丙谷二肽，搅拌溶解，加入注射用水至 1000mL，加入氢氧化钠调节 pH 值至 7.0，100℃ 煮沸消毒 30min，0.22μm 微孔滤膜过滤，在无菌下分装至灭菌眼药瓶中，5ml/支。

制备例 2

1、处方

玻璃酸钠	1.2g
羟苯乙酯	0.3g
氯化钠	5.0g
丙谷二肽	0.2g
注射用水加至	1000mL
NaOH	0.25mol/L，调节 pH 值至 7.0

2、制法同制备例 1

制备例 3

1、处方

玻璃酸钠	1.5g
羟苯乙酯	0.35g
氯化钠	6.0g
丙谷二肽	50.0g
注射用水加至	1000mL
NaOH	0.25mol/L，调节 pH 值至 7.5

2、制法同制备例 1

制备例 4

1、处方

玻璃酸钠	1.0g
羟苯乙酯	0.2g
氯化钠	2.0g
丙谷二肽	10.0g
注射用水加至	1000mL
NaOH	0.25mol/L，调节 pH 值至 6.5

2、制法同制备例 1

制备例 5

1、处方

玻璃酸钠	2.0g
羟苯乙酯	0.5g
氯化钠	10.0g
丙谷二肽	100.0g
注射用水加至	1000mL
NaOH	0.25mol/L，调节 pH 值至 8.0

2、制法同制备例 1

制备例 6

1、处方

玻璃酸钠	0.5g
羟苯乙酯	0.1g
氯化钠	1.0g
丙谷二肽	10.0g
注射用水加至	1000mL
NaOH	0.25mol/L，调节 pH 值至 6.0

2、制法同制备例 1

制备例 7

1、处方

玻璃酸钠	5.0g
羟苯乙酯	5.0g
氯化钠	30.0g
丙谷二肽	100.0g
注射用水加至	1000mL
NaOH	0.25mol/L，调节 pH 值至 9.0

2、制法同制备例 1

制备例 8

1、处方

玻璃酸钠	0.1g
羟苯乙酯	0.03g
氯化钠	0.1g
丙谷二肽	1.0g
注射用水加至	1000mL
NaOH	0.25mol/L，调节 pH 值至 5.0

2、制法同制备例 1

制备例 9

1、处方

玻璃酸钠	1.0g
羟苯乙酯	0.3g
氯化钠	5.0g
丙谷二肽	1.0g
注射用水加至	1000mL
NaOH	0.25mol/L，调节 pH 值至 7.0

2、制法同制备例 1

制备例 10

1、处方

玻璃酸钠	1.0g
羟苯乙酯	0.3g
氯化钠	5.0g
丙谷二肽	50.0g
注射用水加至	1000mL
NaOH	0.25mol/L，调节 pH 值至 7.0

2、制法同制备例 1

制备例 11

1、处方

玻璃酸钠	1.0g
羟苯乙酯	0.3g
氯化钠	5.0g
丙谷二肽	100.0g
注射用水加至	1000mL
NaOH	0.25mol/L，调节 pH 值至 7.0

2、制法同制备例 1

制备例 12

1、处方

羧甲基纤维素钠	1.0g
苯扎氯铵	0.3g
氯化钾	5.0g
丙谷二肽	10.0g
注射用水加至	1000mL
NaOH	0.25mol/L，调节 pH 值至 7.0

2、制法

称取氯化钾和苯扎氯铵加注射用水 800mL（85℃）搅拌溶解，溶解后，在搅拌下，加入羧甲基纤维素钠，并不断搅拌至溶解，然后加入丙谷二肽，搅拌溶解，加入注射用水至 1000mL，加入氢氧化钠调节 pH 值至 7.0，100℃煮沸消毒 30min，0.22μm 微孔滤膜过滤，在无菌下分装至灭菌眼药瓶中，5ml/支。

制备例 13

1、处方

羧甲基纤维素钠	1.0g
苯扎溴铵	0.3g
氯化钾	5.0g
丙谷二肽	10.0g
注射用水加至	1000mL

NaOH	0.25mol/L，调节 pH 值至 7.0

2、制法

称取氯化钾和苯扎溴铵加注射用水 800mL（85℃）搅拌溶解，溶解后，在搅拌下，加入羧甲基纤维素钠，并不断搅拌至溶解，然后加入丙谷二肽，搅拌溶解，加入注射用水至 1000mL，加入氢氧化钠调节 pH 值至 7.0，100℃煮沸消毒 30min，0.22μm 微孔滤膜过滤，在无菌下分装至灭菌眼药瓶中，5ml/支。

制备例 14

1、处方

羟苯乙酯	0.3g
氯化钠	5.0g
丙谷二肽	10.0g
注射用水加至	1000mL
NaOH	0.25mol/L，调节 pH 值至 7.0

2、制法

称取氯化钠和羟苯乙酯加注射用水 800mL（85℃）搅拌溶解，溶解后，加入丙谷二肽，搅拌溶解，加入注射用水至 1000mL，加入氢氧化钠调节 pH 值至 7.0，100℃煮沸消毒 30min，0.22μm 微孔滤膜过滤，在无菌下分装至灭菌眼药瓶中，5ml/支。

制备例 15

1、处方

玻璃酸钠	1.0g
氯化钠	5.0g
丙谷二肽	10.0g
注射用水加至	1000mL
NaOH	0.25mol/L，调节 pH 值至 7.0

2、制法

称取氯化钠加注射用水 800mL（85℃）搅拌溶解，溶解后，在搅拌下，加入玻璃酸钠，并继续搅拌至溶解，然后加入丙谷二肽，搅拌溶解，加入注

射用水至 1000mL，加入氢氧化钠调节 pH 值至 7.0，100℃ 煮沸消毒 30min，0.22μm 微孔滤膜过滤，在无菌下分装至灭菌眼药瓶中，5ml/支。

制备例 16

1、处方

氯化钠	5.0g
丙谷二肽	10.0g
注射用水加至	1000mL
NaOH	0.25mol/L，调节 pH 值至 7.0

2、制法

称取氯化钠加注射用水 800mL（85℃）搅拌溶解，溶解后，加入丙谷二肽，搅拌溶解，加入注射用水至 1000mL，加入氢氧化钠调节 pH 值至 7.0，100℃ 煮沸消毒 30min，0.22μm 微孔滤膜过滤，在无菌下分装至灭菌眼药瓶中，5ml/支。

实验例

动物实验方法：

（1）小鼠干眼模型的建立及其分组处理

选用健康雌性 10-12 周龄的 C57/BL 小鼠，并将其随机平分为 4 组：正常组（NS）、干眼组（DS5）、溶剂对照组（DS5+Vehicle）和治疗组（DS5+AG）

干眼小鼠模型的建立方法：小鼠饲养于干燥环境（相对湿度：＜40%，温度：21-23℃）中并联合皮下注射东莨菪碱氢溴酸盐（0.5mg/0.2ml，每次 200ul，每天 4 次，连续 5 天），诱导出具有干眼表现的小鼠，建模成功。

正常组小鼠处理方法：正常组为正常小鼠，正常小鼠不进行滴眼处理，饲养于温度（21-23）℃，相对湿度 50-60%的标准环境中。

干眼组小鼠处理方法：该组干眼小鼠不经滴眼处理，饲养于温度（21-23）℃，相对湿度＜40%的环境中并联合皮下注射东莨菪碱氢溴酸盐（0.5mg/0.2ml，每次 200ul，每天 4 次，连续 5 天）。

溶剂对照组小鼠处理方法：给干眼小鼠眼部滴加不含丙谷二肽的本发明制剂的溶剂（每次 1 滴，每天四次，每次间隔 4 小时，持续处理 5 天），处理后的小鼠仍处于干燥环境（相对湿度：＜40%，温度：21-23℃）中。

治疗组小鼠处理方法：给干眼小鼠眼部滴加制备例 1-16 制备得到的眼用制剂（每次 1 滴，每天四次，每次间隔 4 小时，持续处理 5 天），处理后的小鼠仍处于干燥环境（相对湿度：＜40%，温度：21-23℃）中。

实验过程中对动物的处置符合科学技术部发布的《关于善待实验动物的指导性意见》。

（2）相关指标测定

各组小鼠处理完毕后，对小鼠进行检查，每次检查均由相同的处理人完成，每次检查的时间、地点、光照、温度相同。

对上述各组小鼠进行泪液分泌量测定、角膜 OGD 染色和结膜杯状细胞数量检测。

① 酚红棉线试验检测泪液分泌量：

检查应用酚红棉（Zone-Quick; Lacrimedics, Eastsound, WA）检测小鼠泪液分泌量。裂隙灯下，用眼科镊将酚红棉线置于小鼠眼外眦部下结膜穹窿处，15 秒后利用毫米尺测量酚红棉线染色的长度并记录。结果如表 1 所示。

表 1 泪液分泌量（mm）

制备例	正常组（NS）	干眼组（DS5）	溶剂对照组（DS5+Vehicle）	治疗组（DS5+AG）
1	4	0.86	1.85	3.04
2			1.71	2.66
3			1.75	2.57
4			1.73	2.90
5			1.58	2.45
6			1.64	2.80
7			1.54	2.40
8			1.55	2.35
9			1.85	2.53
10			1.85	2.58
11			1.85	2.54
12			1.53	2.70
13			1.52	2.68

14			1.45	2.40
15			1.76	2.83
16			1.47	2.33

② OGD 染色检测角膜上皮屏障功能：

将 0.5μl Oregongreen-dextran (OGD, 50 mg/ml, 70,000 molecular weight; Invitrogen)滴入小鼠下结膜囊内，处死小鼠，并用 1mL 生理盐水进行冲洗，然后活体荧光显微镜（AZ100，Nikon）下观察并拍摄角膜上皮荧光染色情况。应用 NIS-element 软件测量角膜染色荧光强度并进行记录。结果如表 2 所示。

表 2 染色荧光强度（a.u.）

制备例	正常组（NS）	干眼组（DS5）	溶剂对照组（DS5+Vehicle）	治疗组（DS5+AG）
1	6.87	19.09	16.49	10.76
2			16.58	11.23
3			16.73	11.53
4			16.64	10.88
5			16.89	11.81
6			16.90	11.05
7			17.11	11.93
8			17.24	12.03
9			16.49	11.70
10			16.49	11.40
11			16.49	11.74
12			17.45	11.20
13			17.50	11.17
14			17.62	12.23
15			17.20	11.15
16			17.70	12.34

③ 杯状细胞数量测量：

眼组织标本用10%的福尔马林固定，并石蜡包埋后进行切片。过碘酸-希夫(PAS)试剂染色，Nikon Eclipse 50i 拍照并进行结膜杯状细胞计数。结果如表 3 所示。

表 3 结膜杯状细胞数量

制备例	正常组（NS）	干眼组（DS5）	溶剂对照组（DS5+Vehicle）	治疗组（DS5+AG）
1	103.6	68.19	82.48	103.5
2			80.73	97.44
3			80.52	97.26
4			79.23	101.8
5			77.34	93.3
6			76.90	99.5
7			75.12	92.7
8			75.46	93.02
9			82.48	96
10			82.48	97.4
11			82.48	96.5
12			75.00	97.82
13			74.16	98.24
14			72.64	92.8
15			76.80	98.38
16			71.50	91.57

实验结果分析：

此外，针对上述实验，本发明还对制备例 1、9-11 的数据进行分析，分别如图 1-3 所示，其中：

图 1 结果显示造模后干眼组小鼠（DS5）的泪液分泌量明显下降，三组治疗组的泪液分泌量均显著高于溶剂组，且以 1%丙谷二肽浓度（制备例 1）治疗组（DS5+1%AG）的效果最为显著，***P<0.001。

图 2 结果显示造模后干眼组小鼠（DS5）的结膜杯状细胞数量明显下降，三组治疗组的杯状细胞数量均显著高于溶剂组，且以 1%浓度组（制备例 1）的效果最为显著，*P<0.05。

图 3 结果显示造模后干眼组小鼠角膜出现明显的 OGD 染色，三组治疗组的 OGD 染色较溶剂组明显减轻，且以 1%浓度组（制备例 1）的效果最为显著，***P<0.001。

应当理解的是，本文所述发明不限于特定的方法学、实验方案或试剂，因为这些是可以变化的。本文所提供的论述和实例仅是为了描述特定的实施方案呈现而非意在限制本发明的范围，本发明的范围仅受到权利要求的限定。