文章编号:1000-5404(2006)15-1573-02

论著

紫杉醇聚乳酸纳米粒的制备

傅若秋,何凤慈,孟德胜,陈 亮 (第三军医大学大坪医院野战外科研究所药剂科,重庆 400042)

提 要:目的 制备紫杉醇聚乳酸纳米粒。**方法** 采用乳化溶剂挥发法制备紫杉醇聚乳酸纳米粒,以载药量为主要评价指标,选择氢氧化钠用量、超声强度、卵磷脂用量、二氯甲烷体积为考察因素,采用均匀设计试验优化制备工艺。**结果** 4个因素中,卵磷脂用量对载药量影响最大,其次是氢氧化钠用量和超声强度,而二氯甲烷体积的影响很小。优化工艺制备的紫杉醇聚乳酸纳米粒粒径范围为(32.9±12.3)nm,载药量为8.70%,包封率为99.44%。**结论** 该制备工艺简便稳定,具有应用前景。

关键词:紫杉醇;聚乳酸;纳米粒;均匀设计
中图法分类号:R282;R944.9;TQ460.6 **文献标识码**:A

Preparation of paclitaxel-loaded poly (D, L-lactic acid) nanoparticles

FU Ruo-qiu, HE Feng-ci, MENG De-sheng, CHENG Liang (Department of Pharmacy, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To prepare the paclitaxel-loaded poly(D, L-lactic acid) nanoparticles (TAX-PLA-NP). Methods An emulsion solvent evaporation technique was developed. Four factors, including the amount of NaOH, sonic intensity, the amount of lecithin and the volume of dichlormethane were selected to establish the optimal conditions by a homogeneous design. The drug loading was introduced as an index for the nanoparticles formulation. Results The four factors affected drug loading differently, in descending order: the amount of lecithin, the amount of NaOH and sonic intensity, the volume of dichlormethane. The average diameter of TAX-PLA-NP was (32.9±12.3) nm, and the drug loading and the envelope ratio of TAX-PLA-NP were 8.70% and 99.44%. Conclusion The preparation procedure is good, simple and reproducible.

Key words: paclitaxel; poly(D, L-lactic acid); nanoparticles; homogeneous design

紫杉醇(paclitaxel,TAX)是从红豆杉中提取的一种复杂的二萜类化合物,对乳腺癌、卵巢癌等有独特的治疗作用,临床上已作为一线抗癌药而广泛应用[1]。由于其水溶性差,临床上现用制剂均以聚氧乙烯蓖麻油和无水乙醇(50∶50)为助溶载体,但聚氧乙烯蓖麻油可促进组胺释放,常引起严重的过敏反应[2]。为了增加紫杉醇的溶解度,避免聚氧乙烯蓖麻油的使用,降低毒副作用,并在一定程度上提高药物疗效,人们进行了各种探索,如制成环糊精包合物、纳米囊及纳米球、聚乙二醇衍生物、乳剂等[3],其中又以纳米制剂为研究热点,已在脂质体、固体脂质体纳米粒,白蛋白纳米颗粒等方面进行了研究,本研究选用具有良好生物相容性的可生物降解材料聚乳酸[poly(D, L-lactic acid), PLA]作为载体,采用乳化溶剂挥发法制备紫杉醇聚乳酸纳米粒(TAX-PLA-NP),进行了制备工艺优化,以期提高载药量。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药品与试剂 紫杉醇原料(纯度≥99.5%,上海紫杉醇新技术有限公司),D,L-聚乳酸(山东医疗器械研究所),卵磷脂(LCAT,取自大豆,德国Sigma公司),聚乙烯醇(PVA,重庆北碚化学试剂厂分装),其余试剂均为分析纯。

1.1.2 仪器设备 HJ-3恒温磁力搅拌器(江苏国华电器有限公司),VCX750超声破碎仪(美国Sonic&Materials有限公司),CS-15R低温离心机(美国Beckman公司),JEM-2000EX透射电子显微镜(日本电子公司JEOL),3000HSA激光粒度测定仪(英国MALVERN公司)。

1.2 方法

1.2.1 TAX-PLA-NP的制备 采用乳化溶剂挥发法制备TAX-PLA-NP:取一定浓度的PVA溶液,加入适量的0.1 mol/L NaOH溶液,作为水相备用;另称取TAX、PLA、LCAT等药物及

基金项目:重庆市科委攻关课题(2002)
Supported by the Sci & Tech Research Project of Scientific Committee of Chongqing(2002)
作者简介:傅若秋(1971-),男,重庆市人,主管药师,主要从事制剂及临床药学方面的研究。电话:(023)68898867, E-mail: zxmfrq@163.com
收稿日期:2005-07-25;修回日期:2005-09-26

材料溶于一定量的 CH_2Cl_2 中，混合均匀后用注射器加入到水相中，以一定超声强度超声乳化数分钟，乳液于 30 ℃ 搅拌挥发 3 ~4 h，挥去有机溶剂，定容，经 4 000 r/min 离心 15 min，除去较大的颗粒及少量聚集物，收集上清液即得纳米粒的胶体溶液。

1.2.2 优化指标选择及测定 根据预试及单因素试验结果，选取载药量作为优化工艺的评价指标。其测定方法采用高效液相色谱法：ODS C_{18} 为固定相，甲醇-水(75∶25)为流动相，检测波长 227 nm，流速 1.0 ml/min。取 TAX-PLA-NP 胶体溶液 1.0 ml，置 5 ml 容量瓶中，用丙酮-乙醇(1∶1)溶液溶解定容混匀，10 000 r/min 离心 15 min，取上清液 20 μl 进样，测得胶体溶液中总 TAX 浓度为 C_1；另取 TAX-PLA-NP 胶体溶液 0.5 ml，置 3K 超滤浓缩管中，12 000 r/min 离心 30 min，取超滤液 100 μl，加丙酮∶乙醇(1∶1) 200 μl 混匀，10 000 r/min 离心 15 min，取上清液 20 μl 进样，测得胶体溶液中游离 TAX 浓度为 C_2。

载药量 $=(C_1-C_2)/C_{PLA}\times 100\%$

包封率 $=(C_1-C_2)/C_1\times 100\%$

1.2.3 均匀设计试验 选取 NaOH 用量(X_1)、超声强度(X_2)、LCAT 用量(X_3)、CH_2Cl_2 体积(X_4)作为优化工艺的考察因素，各因素取 3 ~5 个水平，根据实际情况将各因素所取水平重复使用进行拟水平[4]，使各因素水平数均为 9，选用 $U_9(9^5)$ 均匀表及其使用表构成优化试验设计表(表 1)。

表 1 优化试验设计表

试验号	0.1 mol/L NaOH (X_1,ml)	超声强度 (X_2,%)	LCAT (X_3,mg)	CH_2Cl_2 (X_4,ml)
1	0.0	30	40	5
2	0.1	40	60	5
3	0.1	40	30	4
4	0.2	50	50	4
5	0.2	30	30	3
6	0.2	30	50	3
7	0.3	40	20	2
8	0.3	50	40	2
9	0.4	50	60	6

1.2.4 纳米粒显微形态观察 取胶体溶液适量，滴于电镜制样铜网上，用 1.0% 磷钨酸负染制片，干燥后放入透射电子显微镜上观察形态，并拍摄照片。

1.2.5 纳米粒粒径大小及分布测定 取纳米胶体溶液适量，用 Zetasizer 3000HSA 激光粒度测定仪测定粒径大小及分布范围。

1.3 统计学处理

采用均匀设计分析软件[4]行多元逐步回归分析。

2 结果

2.1 工艺优化结果

按优化试验设计表安排试验，测定优化指标，数据用多元逐步回归程序分析，得回归方程：$DL(\%)=3.00+3.27X_1-0.016\,6X_2+0.098\,7X_3-0.045\,1X_4$，复相关系数 $R=0.972\,5$，经 F 检验回归方程显著。由回归方程可知因素 X_1、X_3 与 DL 正相关，而因素 X_2 和 X_4 与 DL 负相关；根据偏回归平方和考察，各因素对实验结果的影响大小分别为 $X_3>X_1>X_2>X_4$。确定各因素的取值，得 TAX-PLA-NP 的优化制备条件，求得其理论载药量为 8.90%。按优化条件安排 3 次实验，得平均载药量为 (8.70 ±0.19)%，平均包封率为(99.44 ±0.08)%。

2.2 TAX-PLA-NP 形态观察及粒径测定

所制备的 TAX-PLA-NP 胶体溶液为透明的带浅蓝色乳光的液体，在透射电镜下，TAX-PLA-NP 呈规则的圆球型(图 1)，经激光粒度测定仪测定，其平均粒径为(32.9 ± 12.3) nm，99.8% 纳米粒的粒径小于 44.2 nm。

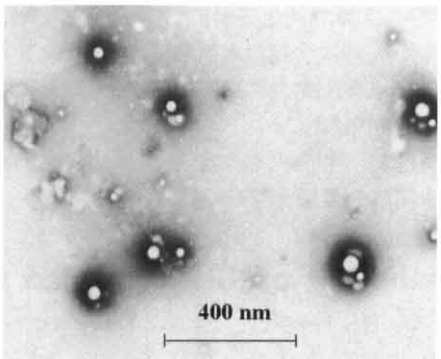


图 1 TAX-PLA-NP 透射电镜观察 (×34 000)

3 讨论

纳米粒的质量考察指标主要有载药量、包封率和粒径[5]，本研究中由于紫杉醇不溶于水，在制备过程中，未被纳米粒包裹或吸附的 TAX 将沉淀而被离心除去，预试验也显示纳米胶体溶液中游离 TAX 浓度极低，TAX-PLA-NP 包封率均可达 99% 左右，因此在优化工艺考察时不把包封率作为主要评价指标。同时预试验显示，采用本研究所描述方法制备的 TAX-PLA-NP 其平均粒径均为几十个纳米，能满足研究最初的设计要求，故优化工艺考察时也不把粒径作为主要评价指标。

优化工艺制备的 TAX-PLA-NP 其平均载药量为 8.70%，与预测值 8.90% 相比，相对误差为 -2.25%，误差较小，说明均匀设计所得回归方程有较好预报能力，基本揭示了各因素对结果的影响规律。

参考文献：

[1] LORIGAN P C, CROSBY T, COLEMAN R E. Current drug treatment guidelines for epithelial ovarian cancer[J]. Drugs, 1996, 51(4): 571 -584.

[2] LASSUS M, SCOTT D, LEYLAND-JONES B. Allergic reactions associated with cremophor containing antineoplastics[J]. Proc Am Soc Clin Oncol, 1985, 4: 268 -275.

[3] 邱晓航. 抗癌药物紫杉醇水溶性制剂的研究进展[J]. 中国生化药物杂志, 2000, 21(1): 44 -45.

[4] 李瑞雪. 均匀设计在药物研究开发中的应用[M]. 成都：四川科学技术出版社, 2000: 21.

[5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(二部)[M]. 北京：化学工业出版社, 2005.

(编辑 王 红)