

## · 论著 ·

## 紫杉醇自微乳滴丸的制备及体外释放考察

王可兴, 秦翠英, 韩 静, 李荣丽, 陈仁财 (沈阳药科大学, 辽宁 沈阳 110016)

**[摘要]** 目的 研究紫杉醇自微乳滴丸的最佳制备工艺, 考察其体外累积释药量。方法 以自微乳与基质的比例、滴距、滴制温度、滴速为考察因素, 采用正交试验法, 以丸重差异、硬度、圆整度为指标, 优选紫杉醇自微乳滴丸的最佳制备工艺, 并进行体外累积释药的测定。结果 优选的紫杉醇自微乳滴丸的最佳制备工艺: 自微乳与基质配比为 1:3, 滴距 15 cm, 滴制温度 80 °C, 滴速 30 滴/min。结论 优选的工艺稳定、可行, 制备的紫杉醇自微乳滴丸溶出度高。

**[关键词]** 紫杉醇; 自微乳; 滴丸; 正交试验; 体外释放度

**[中图分类号]** R979.1

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1006-0111(2016)04-0330-04

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2016.04.012

## The preparation of self-microemulsifying dropping pills of paclitaxel and its drug release *in vitro*

WANG Kexing, QIN Cuiying, HAN Jing, LI Rongli, CHEN Rencai (Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

**[Abstract]** **Objective** The research is about optimization of preparation procedure of self-microemulsifying dropping pills of paclitaxel (PTX-SM-DP). The drug release *in vitro* of PTX-SM-DP was investigated. **Methods** The ratio of SMEDDS and bases, dropping distance, temperature and speed of dripping were investigated by using the orthogonal test. The weight difference of dropping pill, hardness and roundness were evaluated to optimize the preparation conditions of PTX-SM-DP. Dissolution of *in vitro* was determined. **Results** The optimal preparation conditions were as follows: the ratio of SMEDDS and bases was 1:3, dropping distance was 15 cm, temperature of dripping preparation was 80 °C and dripping speed was 30 drops/min. **Conclusion** The optimized technical condition is stable and feasible. PTX-SM-DP can improve paclitaxel dissolution.

**[Key words]** paclitaxel; self-microemulsifying; dropping pills; orthogonal test; cumulative release

紫杉醇 (paclitaxel, PTX) 可通过促进微管的聚合、稳定已聚合的微管, 以阻止微管的正常解聚, 使细胞增殖阻滞于 G2/M 期, 从而发挥抗癌作用<sup>[1-3]</sup>。目前, PTX 主要用于乳腺癌、卵巢癌、非小细胞肺癌和头颈癌的治疗<sup>[4]</sup>。但 PTX 水溶性极低, 口服时生物利用度差, 临床应用受到限制。自微乳释药系统 (self-microemulsifying drug delivery systems, SMEDDS) 可以提高药物的生物利用度<sup>[5-8]</sup>, 通常把 SMEDDS 制成软胶囊, 但 SMEDDS 易使囊壳变软, 导致药物泄漏。本研究利用固体分散体技术将 PTX 自微乳释药系统 (PTX-SMEDDS) 制备成滴

丸, 提高了 PTX 的溶出度, 同时也避免了将 SMEDDS 制成软胶囊时囊壳变软的缺陷。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

**1.1.1 药物与试剂** PTX 原料药 (批号: 141022, 南京景竹生物科技有限公司); 肉豆蔻酸异丙酯 (IPM, 海盐县精细化工有限公司); 聚氧乙烯蓖麻油 (Cremopher EL, 德国 BASF 公司); 聚乙二醇 400 (PEG-400, 天津市博迪化工有限公司); 聚乙二醇 4000 (PEG-4000, 天津市科密欧化学试剂有限公司); 聚乙二醇 6000 (PEG-6000, 国药集团化学试剂有限公司); 泊洛沙姆 188 (西安天正药用辅料有限公司); 二甲基硅油 (天津市科密欧化学试剂有限公司); 液体石蜡 (天津市博迪化工股份有限公司); 浓盐酸 (山东禹王实业有限公司化工分公司); 磷酸二氢钾 (天津市博迪化工股份有限公司); 氢氧化钠 (天津瑞金特化学品有限公司); 甲醇、乙腈 (山东禹王实

**[基金项目]** 国家基础科学人才培养基金资助项目 (J1103606)

**[作者简介]** 王可兴, 本科. Tel: 18304019392; E-mail: elfinerray\_throne@163.com

**[通讯作者]** 韩 静, 教授, 硕士生导师. 研究方向: 天然活性物质提取分离技术应用研究, 纳米技术制药与工程研究. Tel: (024) 23986442; E-mail: huagonglou314@163.com

业有限公司);纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司);除甲醇、乙腈为色谱纯外,其余试剂均为分析纯。

**1.1.2 主要仪器** ALC-210.3型分析天平(北京赛多利斯仪器有限公司,精度:0.1 mg);高效液相色谱仪(UV Detector L-2400, Pump L-2130,日本HITACHI公司);TU-1810型紫外-可见分光光度计(北京普仪通用仪器有限责任公司);DF-101S型恒温加热磁力搅拌器(巩义市英峪予华仪器厂);XK96-A快速混匀器(姜堰市新康医疗器械有限公司);超声仪(上海冠特超声仪器有限公司);滴丸机(实验室自制);溶出仪 RCZ-6B2(北京维欣仪奥科技发展有限公司)。

## 1.2 方法

**1.2.1 PTX-SMEDDS的制备** 按处方<sup>[9]</sup>比例称取IPM、Cremopher EL和PEG-400,混合均匀后,加入适量PTX,置于37℃恒温水浴中搅拌,直至溶液均一、透明,即得PTX-SMEDDS。

**1.2.2 PTX-SMEDDS滴丸的制备** 称取一定量的基质置于烧杯中,水浴加热至熔融状态,加入适量的PTX-SMEDDS,混匀后转移到已设定好温度、滴距和滴速的滴丸机中,使药液均匀滴入冷凝剂中。一定时间后取出滴丸,于4℃冰箱中静置约30 min,使滴丸充分冷却凝固。用乙醚洗涤滴丸,除去其表面的冷凝剂,干燥后即得PTX-SMEDDS滴丸(PTX-SM-DP)备用。

**1.2.3 单因素考察** 基质的筛选:在SMEDDS:基质为1:3、滴制时药液温度75℃、滴速30滴/min、滴距10 cm、二甲基硅油为冷凝剂的条件下,以外观、硬度、丸重差异为考察指标,对PEG-4000、PEG-6000和泊洛沙姆188进行考察筛选。

冷凝剂的筛选:以泊洛沙姆188为基质,其他条件不变。根据冷凝剂的选择原则,选取二甲基硅油、液体石蜡为冷凝剂,以外观、硬度、丸重差异为指标,

对二甲基硅油、液体石蜡进行考察筛选。

冷凝剂温度的筛选:以泊洛沙姆188为基质,二甲基硅油为冷凝剂,其他条件不变。选择冷凝剂温度为5、10、20℃,以外观、硬度、丸重差异为指标,对冷凝剂温度进行考察。

滴制温度的筛选:药液温度过高会使药液变稀,易产生小丸或叠丸;药液温度过低则使药液变稠,易形成拖尾现象。根据所选基质的熔点,同时兼顾PTX的理化性质,选择70、75、80、85℃作为药液的滴制温度进行考察。

**1.2.4 PTX-SM-DP制备工艺的优化** 根据单因素实验,选择影响滴丸成型的因素和水平,详见表1。按照L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交设计安排试验,以丸重差异(y<sub>1</sub>)、硬度(y<sub>2</sub>)、圆整度(y<sub>3</sub>)为指标进行综合评分<sup>[10-13]</sup>。按《中华人民共和国药典(二部)》2010年版丸剂重量差异限度方法测定丸重差异(y<sub>1</sub>),将2.3%定为100分,其余各项按Y<sub>1</sub>=102.3-y<sub>1</sub>计算;按百分制对硬度(y<sub>2</sub>)进行评分;圆整度(y<sub>3</sub>)为随机抽取滴丸20粒,由最短径与最长径的比值计算圆整度,将0.948定为100分,其余各项按Y<sub>3</sub>=100y<sub>3</sub>/0.948计算。根据3个指标的重要程度,将权重系数分别定为0.3、0.3、0.4,综合评分=0.3Y<sub>1</sub>+0.3Y<sub>2</sub>+0.4Y<sub>3</sub>。正交试验结果见表2,方差分析见表3。

表1 PTX-SM-DP的正交设计因素水平表

水平	因素			
	SEMDDS: 基质(A)	滴距 (B, cm)	滴制温度 (C, °C)	滴速 (D, 滴/min)
1	1:1	5	70	10
2	1:2	10	75	20
3	1:3	15	80	30
4	1:4	20	85	40

表2 PTX-SM-DP制备工艺的直观分析结果

No.	A	B	C	D	E(空白)	丸重差异(%)	硬度	圆整度	综合评分
1	1	1	1	1	1	9.87	0.00	0.603	53.16
2	1	2	2	2	2	8.46	15.93	0.680	61.62
3	1	3	3	3	3	4.36	65.23	0.856	85.07
4	1	4	4	4	4	9.57	0.63	0.617	54.04
5	2	1	2	3	4	5.24	47.10	0.835	78.48
6	2	2	1	4	3	7.24	38.50	0.738	71.23
7	2	3	4	1	2	8.17	42.40	0.709	70.87
8	2	4	3	2	1	4.91	62.17	0.840	83.31
9	3	1	3	4	2	3.67	80.10	0.892	91.26
10	3	2	4	3	1	2.30	91.93	0.948	97.58

(续表 2)

No.	A	B	C	D	E(空白)	丸重差异(%)	硬度	圆整度	综合评分
11	3	3	1	2	4	3.15	83.20	0.914	93.27
12	3	4	2	1	3	5.78	47.23	0.819	77.68
13	4	1	4	2	3	7.81	38.57	0.721	70.34
14	4	2	3	1	4	4.08	69.80	0.871	87.16
15	4	3	2	4	1	6.42	45.20	0.783	75.36
16	4	4	1	3	2	6.83	43.23	0.760	73.68
$K_1$	63.472	73.310	72.835	72.218	77.353	—	—	—	—
$K_2$	75.972	79.398	73.285	77.135	74.358	—	—	—	—
$K_3$	89.948	81.142	86.700	83.703	76.080	—	—	—	—
$K_4$	76.635	72.178	73.208	72.973	78.238	—	—	—	—
$R$	26.476	8.964	13.865	11.485	3.880	—	—	—	—

表 3 方差分析表

方差来源	离差平方和	自由度	F 比	P 值
A	1 403.389	3	41.217	$P < 0.01$
B	235.233	3	6.909	$P > 0.05$
C	554.595	3	16.288	$P < 0.05$
D	332.248	3	9.758	$P < 0.05$
E(误差)	34.050	3	1.000	—

$$F_{0.10}(3,3)=5.390, F_{0.05}(3,3)=9.280, F_{0.01}(3,3)=29.500$$

**1.2.5 体外释放度的考察** 按照文献[14]中的溶出度测定第二法对 PTX-SM-DP 的体外累积释放度进行考察。分别以  $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$  经过脱气处理的 900 ml 蒸馏水、 $\text{pH}=1.2$  HCl,  $\text{pH}=6.8$  磷酸盐缓冲液(PBS)为溶出介质, 转速为 75 r/min, 分别于 5、10、20、30、45、60、90、120 min 取样 5 ml, 同时补充 5 ml 等温度的溶出介质。样品经甲醇稀释破乳后, 用  $0.45 \mu\text{m}$  微孔滤膜过滤, 采用 HPLC 法测定 PTX 的含量<sup>[14]</sup>, 结果见图 1。

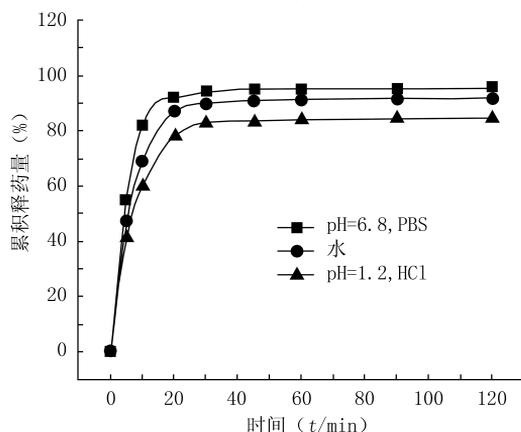


图 1 不同介质中 PTX-SM-DP 的释放曲线

## 2 结果

### 2.1 单因素考察结果

#### 2.1.1 基质的筛选

相较于 PEG-4000 和 PEG-6000, 用泊洛沙姆 188 所制备的滴丸不仅外观好、丸重差异小, 而且其硬度也明显优于 PEG-4000 和 PEG-6000, 故选择泊洛沙姆 188 为基质。

**2.1.2 冷凝剂的筛选** 制备滴丸时常用的冷凝剂为液体石蜡和二甲基硅油, 但在液体石蜡中, 滴丸成形性较差。此外, 在外观和丸重差异上, 二甲基硅油也明显优于液体石蜡。故以二甲基硅油为冷凝剂。

**2.1.3 冷凝剂温度的筛选** 当冷凝剂温度为  $10^\circ\text{C}$  时, PTX-SM-DP 的外观明显好于  $5^\circ\text{C}$  时, 而与  $20^\circ\text{C}$  时无明显区别, 但  $10^\circ\text{C}$  时滴丸的丸重差异稍优于  $20^\circ\text{C}$ 。故以  $10^\circ\text{C}$  为冷凝剂温度。

**2.2 正交法优化 PTX-SM-DP 的制备工艺** 由直观分析(表 2)和方差分析(表 3)结果可知: 各因素影响的主次顺序为  $A > C > D > B$ , 其中 A 因素对滴丸的制备工艺影响最为显著 ( $P < 0.01$ ), C 和 D 具有显著影响 ( $P < 0.05$ ), B 因素无明显影响。故 PTX-SM-DP 的最佳制备工艺为  $A_3 B_3 C_3 D_3$ , 即最佳制备工艺: SEMDDS: 基质为 1:3; 滴距 15 cm; 药液温度  $80^\circ\text{C}$ ; 滴速 30 滴/min。

**2.3 验证试验** 按照最佳制备工艺进行 3 次试验, 按上述指标进行考核。所制备的滴丸平均丸重差异为 2.14%、硬度为 96.14、圆整度为 0.957, 且质量检查均符合文献[14]相关规定。试验结果证明, 本研究优选的制备工艺条件稳定、方法可行。

**2.4 PTX-SM-DP 体外释放度的评价** 由图 1 可知, 制备的 PTX-SM-DP 在蒸馏水、 $\text{pH}=1.2$  HCl 和  $\text{pH}=6.8$  PBS 这 3 种溶出介质中, 在 20 min 时累积溶出率均  $\geq 80\%$ , 在  $\text{pH}=6.8$  PBS 中的最终释药量和溶出速率稍高于其他 2 种溶出介质。

## 3 讨论

PTX 的水溶性极低, 目前主要通过注射给药, 但易引起不良反应。有研究利用纳米技术制备

PTX-SEMDDS,旨在改善药物的溶解性,使其易于口服给药。本研究将其进一步制成滴丸,从而达到将自微乳固化的目的。

在进行基质的选择时,根据药物的性质和基质的选择原则,考虑水溶性、低毒性、价格低廉的基质,故本研究对 PEG-4000、PEG-6000 和泊洛沙姆 188 进行了筛选。在制备滴丸时,冷凝剂应不溶于药物和基质,安全无害,考虑到滴丸基质为水溶性,故选择二甲基硅油和液体石蜡进行实验。

利用正交试验法进行制备工艺的优化时,采用多指标分析对结果进行综合评分。结果表明,应用自微乳技术和固体分散体技术制备 PTX-SM-DP,操作简便,重复性好。溶出度实验结果表明,PTX-SM-DP 在 pH=1.2 HCl 和 pH =6.8 PBS 的条件下都能释药良好,说明该 PTX-SM-DP 从理论上能在胃肠道的 pH 条件下良好释放。

#### 【参考文献】

[1] 郭倩倩.紫杉醇纳米脂质体的研究进展[J].中国药科大学学报,2014,45(5):599-606.  
[2] El-Kareh AW, Labes RE, Secomb TW. Cell cycle checkpoint models for cellular pharmacology of paclitaxel and platinum drugs[J]. AAPS J, 2008, 10(1): 15-34.  
[3] 马雪莲, 查晓, 张国楠. 卵巢癌紫杉醇耐药机制的研究进展[J]. 肿瘤预防与治疗, 2008, 21(4): 436-439.

[4] 周丽娟, 陈曦, 刘清飞, 等. 紫杉醇自微乳释药体系的处方工艺及稳定性研究[J]. 医药导报, 2014, 33(8): 1063-1067.  
[5] Malingré MM, Beijnen JH, Schellens JH. Oral delivery of taxanes[J]. Invest New Drugs, 2001, 19(2): 155-162.  
[6] Gursoy RN, Benita S. Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) for improved oral delivery of lipophilic drugs[J]. Biomed Pharmacother, 2004, 58(3): 173-182.  
[7] Dosio F, Stella B, Arpicco S, et al. Macromolecules as taxane delivery systems[J]. Expert Opin Drug Deliv, 2011, 8(1): 33-55.  
[8] 赵佳丽, 温许, 张晶, 等. 口服固体自微乳化给药系统的研究进展[J]. 药学实践杂志, 2014, 32(4): 257-260.  
[9] 姚依婧, 郭秉玉, 韩静, 等. 星点设计-效应面法优化紫杉醇自微乳给药系统[J]. 中南药学, 2014, 12(5): 1069-1072.  
[10] 宋凤兰, 潘育方, 侯冬枝, 等. 葛根总黄酮滴丸的制备与溶出度研究[J]. 中草药, 2014, 45(9): 1252-1256.  
[11] Wang B. Orthogonal test design for optimisation of extraction of trans-resveratrol from Pinot Noir-grape pomace[J]. Nat Prod Res, 2012, 26(9): 821-829.  
[12] 周丽娟, 曹巍, 刘敏, 等. 正交试验法优化紫杉醇自微乳滴丸的制备工艺[J]. 中成药, 2015, 37(8): 1704-1708.  
[13] 夏海建, 张振海, 徐凤娟, 等. 正交试验法优化黄芩苷缓释滴丸的制备工艺[J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(10): 2937-2941.  
[14] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2010 年版二部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 1007-1008, 附录, 85-87.  
[收稿日期] 2015-08-27 [修回日期] 2016-01-08  
[本文编辑] 李睿旻

(上接第 304 页)

[16] Yu HA, Arcila ME, Rekhtman N, et al. Analysis of tumor specimens at the time of acquired resistance to EGFR-TKI therapy in 155 patients with EGFR-mutant lung cancers[J]. Clin Cancer Res, 2013, 19(8): 2240-2247.  
[17] Chong CR, Janne PA. The quest to overcome resistance to EGFR-targeted therapies in cancer[J]. Nat Med, 2013, 19(11): 1389-1400.  
[18] Li D, Ambrogio L, Shimamura T, et al. BIBW2992, an irreversible EGFR/HER2 inhibitor highly effective in preclinical lung cancer models[J]. Oncogene, 2008, 27(34): 4702-4711.  
[19] Soda M, Choi YL, Enomoto M, et al. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer[J]. Nature, 2007, 448(7153): 561-566.  
[20] Cameron L, Solomon B. New treatment options for ALK-rearranged non-small cell lung cancer[J]. Curr Treat Options Oncol, 2015, 16(10): 49.  
[21] Costa DB, Shaw AT, Ou SH, et al. Clinical experience with crizotinib in patients with advanced ALK-rearranged non-small-cell lung cancer and brain metastases[J]. J Clin Oncol, 2015, 33(17): 1881-1888.

[22] Lukas RV, Hasan Y, Nicholas MK, et al. ROS1 rearranged non-small cell lung cancer brain metastases respond to low dose radiotherapy[J]. J Clin Neurosci, 2015, 22(12): 1978-1979.  
[23] Marchetti A, Felicioni L, Malatesta S, et al. Clinical features and outcome of patients with non-small-cell lung cancer harboring BRAF mutations[J]. J Clin Oncol, 2011, 29(26): 3574-3579.  
[24] 石远凯, 孙燕, 于金明, 等. 中国晚期原发性肺癌诊治专家共识(2016年版)[J]. 中国肺癌杂志, 2016, 19(1): 1-15.  
[25] Lipson D, Capelletti M, Yelensky R, et al. Identification of new ALK and RET gene fusions from colorectal and lung cancer biopsies[J]. Nat Med, 2012, 18(3): 382-384.  
[26] Li BT, Ross DS, Aisner DL, et al. HER2 amplification and HER2 mutation are distinct molecular targets in lung cancers[J]. J Thorac Oncol, 2016, 11(3): 414-419.  
[27] Mar N, Vredenburg JJ, Wasser JS. Targeting HER2 in the treatment of non-small cell lung cancer[J]. Lung Cancer, 2015, 87(3): 220-225.  
[收稿日期] 2016-01-26 [修回日期] 2016-03-25  
[本文编辑] 李睿旻