

紫杉醇纳米混悬剂的制备与表征

程晓丹, 王永禄, 李学明*, 黄琴琴, 王悦, 毛利娟

(南京工业大学药学院, 江苏 南京 211816)

摘要: 目的 制备紫杉醇纳米混悬剂, 并表征其理化性质。方法 采用重结晶结合高压均质法制备紫杉醇纳米混悬剂, 以纳米粒的粒径和 Zeta 电位为指标, 考察紫杉醇纳米混悬剂的影响因素, 并对制得的纳米混悬剂进行表征。结果 紫杉醇纳米混悬剂的粒径为 214.4 nm, 跨距为 0.46, 平均 Zeta 电位为 -22.7 mV, 体系稳定。结论 制备的纳米混悬剂处方简单、工艺稳定。

关键词: 紫杉醇; 纳米混悬剂; 重结晶; 高压均质

中图分类号: R94

文献标志码: A

文章编号: 1006-0103(2011)02-0118-04

Preparation and characterization of Paclitaxel nanosuspension

CHENG Xiao-dan, WANG Yong-lu, LI Xue-ming*, HUANG Qin-qin, WANG Yue, MAO Li-juan

(College of Pharmacy, Nanjing University of Technology, Nanjing, Jiangsu, 211816 P. R. China)

Abstract: **OBJECTIVE** To prepare paclitaxel nanosuspension and characterize the physicochemical properties of Paclitaxel nanosuspension. **METHODS** Paclitaxel nanosuspension was prepared by high pressure homogenization combined with recrystallization method. Regarding the particle size and the Zeta electric potential as index, the influence factors of preparation of Paclitaxel nanosuspension were studied. **RESULTS** The particle size of Paclitaxel nanoparticle was 214.4 nm with span of 0.46, as well as the Zeta electric potential was -22.7 mV. The nanosuspension system was stable. **CONCLUSION** Paclitaxel nanosuspension was successfully prepared by high pressure homogenization combined with recrystallization method.

Key words: Paclitaxel; Nanosuspension; Recrystallization; High pressure homogenization

CLC number: R94

Document code: A

Article ID: 1006-0103(2011)02-0118-04

紫杉醇(Paclitaxel)为新型的微管稳定剂。临床上常用的泰素(Taxol®)是将紫杉醇溶于聚氧乙烯蓖麻油与无水乙醇的混合溶剂中制得的。由于聚氧乙烯蓖麻油易引起严重的不良反应,限制了其在临床上的应用^[1-2]。纳米混悬剂不需要使用大量载体材料和表面活性剂,即可实现高剂量和低体积的注射给药,具有生物利用度高、不良反应小等优点。现采用重结晶结合高压均质技术制备了紫杉醇纳米混悬剂,以粒径和 Zeta 电位为指标,研究了不同处方及工艺对纳米混悬剂的影响,并对所得样品进行了表征。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

NanoGenizer 高压均质机(苏州微流纳米生物技术有限公司);高剪切乳化器(上海弗鲁克流体机械制造有限公司);3000HS 型纳米粒度分析仪(英国 Malvern)。紫杉醇原料药(南京奥赛康医药有限公司);泊洛沙姆 188(德国 BASF WPIC630C);PEG400(广东汕头市西陇化工厂 061031);吐温 80(中国医药集团上海化学试剂公司);卵磷

作者简介:程晓丹(1985—)女,从事药物制剂研究工作。

* 通信作者(Correspondent author) Email: xuemingli@njut.edu.cn

脂(上海太伟药业有限公司);泰洛沙姆(tyloxapol, 上海晶纯化学试剂有限公司);羧甲基纤维素钠(CMC-Na, 汕头市西陇化工厂);卡波姆(carbomer, 北京市海淀会友精细化工厂)。

1.2 方法与结果

1.2.1 纳米混悬剂的制备 取适量紫杉醇溶于乙醇与乙酸乙酯的混合液中作为油相,将表面活性剂溶于蒸馏水作为水相,用注射器将油相缓慢匀速注入到水相中,同时用高剪切乳化机以 $1 \times 10^4 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 搅拌 10 min,析出药物结晶得初悬液。将初悬液旋转蒸发 1 h 除去有机溶剂,所得浓缩液置高压均质机中,分别在 300、500、800 bar 循环 6 次,然后加压到 $1 \times 10^3 \text{ bar}$ 循环 20 次,制得纳米混悬剂。

1.2.2 表面活性剂的筛选与优化 以纳米粒粒径及 Zeta 电位为指标,考察卵磷脂、卡波姆、泊洛沙姆 188、PEG400、吐温 80、CMC-Na、泰洛沙姆等较安全的表面活性剂对紫杉醇纳米混悬剂质量及稳定性的影响(表 1、2)。结果表明:应用不同的表面活性剂,得到的紫杉醇纳米结晶的粒径差别很大,纳米粒表面电位也不同。卵磷脂制备的纳米混悬液有严重的絮凝现象,且卵磷脂在高温下易氧化,容易染菌,

因此, 不适合作为辅料使用; 应用 CMC - Na 时, 制得的纳米粒粒径最大, 不符合纳米混悬剂的粒径要求; 泊洛沙姆、PEG400、吐温 80、泰洛沙姆制得的粒径符合要求, 但 Zeta 电位的绝对值较小, 即粒子之间的排斥作用较小, 不利于胶体分散体的长期稳定, 吐温 80 制备的混悬剂放置 24 h 以后, 有少量沉淀, 体系不稳定; 卡波姆制得的纳米粒粒径最小, 且电位符合要求, 但留样观察可发现 4 周后卡波姆制备的纳米混悬剂中有大块絮状物。这些表面活性剂单独使用都不能取得理想的效果, 故考虑处方的复配。以纳米粒粒径及 Zeta 电位为指标, 考察表面活性剂的复配处方对紫杉醇纳米混悬剂的影响(表 3)。由表 3 可见: 泊洛沙姆与 PEG - 400 复配使用粒径最小且均一, 3 周后粒径增至 268.8 nm, 放置 3 个月后观察, 纳米粒仍可均匀分散, 体系有淡蓝色乳光, 呈半透明状, 并且泊洛沙姆与 PEG400 注射使用较其他表面活性剂更安全^[3], 故研究选择泊洛沙姆与 PEG400 为制剂的稳定剂。

表 1 不同表面活性剂对纳米粒粒径和 Zeta 电位的影响 (n = 3)

Table 1 The influence of different surfactants on the size and Zeta potential of nanoparticles (n = 3)

Compounds	Particle size/nm	PI	Zeta potential/mV
Carbomer	255.9	0.267	-34.9
Poloxamer 188	294.9	0.143	26.6
PEG400	278.9	0.151	-23.6
Tween 80	334.2	0.204	-18.5
CMC - Na	735.5	0.302	-60
Tyloxapol	339.9	0.124	-7.4

表 2 表面活性剂对紫杉醇纳米结晶体系的稳定作用 (n = 3)

Table 2 The influence of different surfactant on the stability of Paclitaxel nanosystem (n = 3)

Compounds	Particle size/nm		
	0	2 weeks	4 weeks
Carbomer	255.9	268.9	253.2
Poloxamer 188	294.9	305.7	329.9
PEG400	278.9	296.2	272.5
Tween 80	334.2	375.5	338.7
CMC - Na	735.5	620.3	517.7
Tyloxapol	339.9	317.2	354.7

表 3 复方表面活性剂对纳米粒粒径及 Zeta 电位的影响 (n = 3)

Table 3 The influence of complex surfactants on the size and Zeta potential of Paclitaxel nanoparticles (n = 3)

Compounds	Particle size/nm	PI	Zeta potential/mV
Carbomer and tyloxapol	314.1	0.21	-33.4
Carbomer and poloxamer188	336.4	0.26	-36.3
Carbomer and PEG400	255.7	0.26	-34.8
Tyloxapol and poloxamer188	330.6	0.12	-22.6
Poloxamer188 and PEG400	210.6	0.16	-20.0
Poloxamer188 and CMC - Na	376.2	0.35	-45.1

当泊洛沙姆和 PEG400 总量一定时, 两者不同的比例导致的结果也略有不同。当药物浓度为 0.04%、表面活性剂浓度为 0.08%、Poloxamer 188 - PEG400 为 5 : 1 ~ 1 : 5 时所制得的紫杉醇纳米混悬剂粒径变化见图 1。由图 1A 可见, 当泊洛沙姆和 PEG400 以重量比 1 : 1 ~ 1 : 2 组成时, 产品粒径较小, 故优选的两者重量比为 1 : 1。表面活性剂能维持纳米混悬剂体系较长时间的稳定性, 同时有一定的助悬作用。表面活性剂用量太少, 颗粒间易发生团聚或絮凝, 不能达到制备要求; 表面活性剂用量太多, 并不能提高纳米混悬剂的稳定性, 反而会导致稳定性下降, 同时有可能增加制剂的毒性。图 1B 为表面活性剂与药物重量比对粒径的影响。药物浓度固定为 0.04%, 泊洛沙姆与 PEG400 的质量比为 1 : 1, 试验结果显示最优重量比为 1 : 1 ~ 3 : 1。

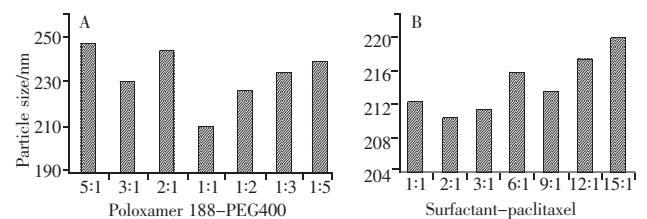


图 1 泊洛沙姆 - PEG400 (A) 和表面活性剂 - 药物质量 (B) 比例对粒径的影响

Fig 1 The influences of different ratios of Poloxamer 188 and PEG400 (A) and surfactants and paclitaxel (B) on the size

1.2.3 均质过程对纳米混悬剂粒径的影响 采用优化处方, 分别在 800、 1×10^3 、 1.3×10^3 bar 压力下高压均质制备紫杉醇纳米混悬剂, 在循环次数分别为 6、9、12、15、20、25 时取样, 以粒径与多分散系数为指标, 考察不同均质压力与均质次数对纳米粒制备结果的影响。由图 2、3 可见, 当压力达到 800 bar, 循环次数为 6 时, 粒径小于 300 nm, 随着均质压力的增加, 粒径快速减小, 达到相同粒径所需的时间较少; 随着均质次数的增加, 药物粒径减小, 多分散系数减小, 粒径更均一, 20 个循环以后, 粒径无明显变化。根据均质过程的优化试验结果, 同时从维护

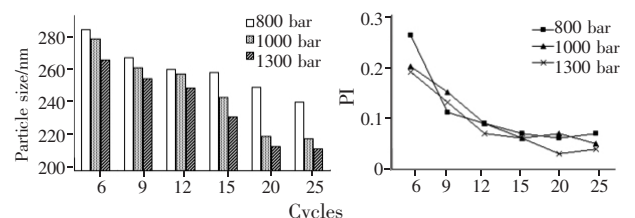


图 2 均质压力与循环次数对紫杉醇纳米粒粒径 (A) 和多分散系数 (B) 的影响

Fig 2 The influences of homogenization pressure and cycle number on the particle size (A) and the polydispersity index (B) of nanosuspension

机器节约能源的角度出发,为提高粒径的均一性,试验过程中采用逐步加压,分别在 300、500、800 bar 循环 6 次,然后加压到 1×10^3 bar 均质循环 20 次,即得纳米混悬剂。

1.2.4 重复性和稳定性研究 按优化处方和工艺重复制备 3 批紫杉醇纳米混悬剂,于室温下放置,分别于 0、1、2、3 周取不同批次的样品,测量纳米粒的

表 4 纳米混悬剂稳定性和重复性

Table 4 The stability and reproducibility of nanosuspension

Batch No.	Zeta potential/mV	PI	Particle size/nm			
			0 week	1 week	2 week	3 week
1	-20.0	0.16	210.6	225.7	238.0	268.8
2	-26.6	0.05	212.5	232.7	256.9	253.2
3	-21.4	0.07	220.1	239.6	253.6	271.4
$\bar{x} \pm s$	-22.7 ± 3.48	0.09 ± 0.059	214.4 ± 5.03	232.7 ± 6.95	249.5 ± 10.10	264.5 ± 9.84

1.2.5 冻干保护剂的考察 以粒径变化为指标考察了常用冻干保护剂的保护作用,分别取 200 mg 葡萄糖、甘露醇、海藻糖、乳糖、右旋糖苷置装有 4 mL 紫杉醇纳米混悬剂的西林瓶中, -80 °C 冰箱中迅速预冻,于真空度 200 Pa、 -30 °C 条件下,在冻干机上冷冻干燥 36 h 得紫杉醇的纳米冻干粉。用三蒸水复溶,与刚制备的纳米混悬剂相比,添加甘露醇的纳米混悬剂的粒径变化最小,粒径增大在 10% 之内,因此,采用甘露醇作为冻干保护剂。

1.2.6 纳米混悬剂的表征 取适量按最优处方工艺制备的紫杉醇纳米混悬剂,肉眼观察,样品有淡蓝色乳光出现,呈半透明状,1 d 后,只有少许沉降,轻摇能迅速分散。用激光粒度分析仪测定其粒径、多分散系数和 Zeta 电位,平均粒径为 210.6 nm、Zeta 电位为 -20.0 mV、 $D_{10} = 169.2$ nm、 $D_{50} = 212.1$ nm、 $D_{90} = 265.8$ nm、跨距为 0.46。

取适量适当稀释的紫杉醇纳米悬浮液,滴加于覆盖碳膜的铜网上,以 0.1% 磷钨酸负染,室温下干燥。用透射电镜观察紫杉醇纳米颗粒的外观为棒状规则晶型。

分别称取 2~3 mg 紫杉醇原料药、紫杉醇纳米混悬剂样品(经 $0.22 \mu\text{m}$ 微孔膜过滤,并用蒸馏水反复冲洗去除表面活性剂后所得)置铝坩埚上,以空铝坩埚为参比池,升温速度为 10 °C·min⁻¹,扫描范围为 50~300 °C,测定载气为氮气,结果见图 3。紫杉醇原药在 216 °C 左右有一吸热熔融峰,240 °C 有一放热正峰,表明紫杉醇在高温下分解,紫杉醇纳米混悬剂用 $0.22 \mu\text{m}$ 滤膜过滤后,所得粉末的 DSC 图谱与紫杉醇原药的两个特征峰峰位几乎相同,说明药物制成纳米混悬剂以后晶型未发生转化,与文献^[4]的结果相符。纳米粒在 232.4 °C 处有一放热正峰,相对原药的放热峰稍有提前,可能是紫杉醇纳米

粒粒径、多分散系数和 Zeta 电位,考察方法的重复性和体系的稳定性(表 4)。结果可见:优化后的处方及工艺具有很好的重复性;所得紫杉醇纳米混悬剂平均粒径为 214.4 ± 5.03 nm、PI 值为 0.09、平均 Zeta 电位为 -22.7 mV。样品于常温下放置 3 周,粒径有微弱增长,整个体系在较长时间内可以保持良好的稳定性。

粒颗粒尺寸小,比表面积大,当外界温度升高时,从表面向颗粒内部传热的速率较大,使得颗粒内部的升温过程滞后很小,对外界温度变化的反应比紫杉醇原药更敏感。

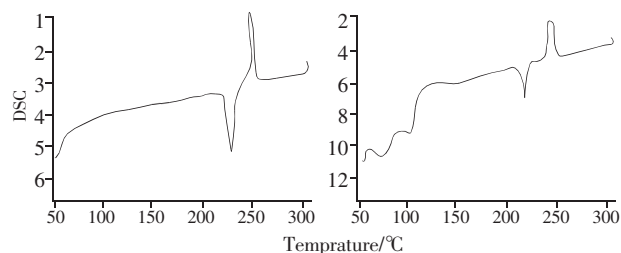


图 3 紫杉醇原药(A)与紫杉醇纳米混悬剂(B)的差示扫描量热图
Fig 3 Differential scanning capacity (DSC) thermography of Paclitaxel (A) and Paclitaxel nanosuspension (B)

2 讨论

重结晶过程在热力学上分为晶核形成和晶核生长两个过程,所制备的纳米分散体系的热力学不稳定,有自发生长为大颗粒而降低表面能的趋势,但是在合适的条件下分散体系可以达到稳定。将泊洛沙姆和 PEG400 联用作为表面活性剂,Zeta 电位绝对值大于 20,有效降低了纳米微粒的表面张力,并且在纳米粒周围形成强大的空间位阻作用,防止了纳米微粒的聚集,稳定性良好。初悬液在分散过程中不可能达到微观分散的绝对均匀,必然会在局部过浓或过稀,导致颗粒大小的不完全均匀,文中结合高压均质,通过控制压力及循环次数得到粒径均一的纳米结晶。针对聚氧乙烯蓖麻油易导致过敏反应等问题,近年研发的不含聚氧乙烯蓖麻油能提高紫杉醇溶解度的新剂型^[5-7],但均不能从根本上解决紫杉醇安全性差、载药量低的缺点。文中制成的紫杉醇纳米混悬剂的粒径较小,仅为纳米级别,相对比

表面积大,药物能迅速溶出,可有效解决药物溶解度低的问题。由于处方中表面活性剂含量很少,可显著降低注射给药时附加成分所致的不良反应,同时因粒径足够小,而不会阻塞毛细血管,使得用药安全性大大提高。另外,紫杉醇纳米混悬剂处方简单,制备流程短,有利于降低生产成本,并可广泛用于各种难溶性药物新剂型的开发。

参考文献:

- [1] Anil KS, Alka G, Deepika A. Paclitaxel and its formulations [J]. *Inter J Pharmac*, 2002, 235(1): 179-192.
- [2] Jennifer S, Michael BS. Pharmacogenetics of paclitaxel metabolism [J]. *Crit Rev in Onco/Hemato*, 2007, 61(3): 222-229.
- [3] 郑俊民. 药用辅料手册 [M]. 第4版. 北京: 化学工业出版社

社, 2005: 516-529.

- [4] Liversidge GG, Conzentino P. Drug particle size reduction for decreasing gastric irritancy and enhancing absorption of naproxen in rats [J]. *Int J Pharm*, 1995, 125: 309-313.
- [5] Arturo B, Andrea G, Eleonora B *et al.* Synthesis of 7- and 10-spermine conjugates of paclitaxel and 10-deacetyl-paclitaxel as potential prodrugs [J]. *Tetra Lett*, 2006, 47: 2667-2670.
- [6] 卞丽红, 王洪权, 张明伟, 等. PLGA包裹的紫杉醇缓释微球的理化性质及抑瘤活性研究 [J]. *高技术通讯*, 2005, 15(7): 58-60.
- [7] Zhang JA, Anyarambhatla G, Ma L *et al.* Development and characterization of a novel Cremophor EL free liposome-based paclitaxel (LEP-ETU) formulation [J]. *Euro J Pharmac and Biopharmac*, 2005, 59(1): 177-187.

收稿日期: 2010-06-18

盐酸洛美沙星分散片的制备及质量控制

刘祖雄, 陈湖海, 杨晓松, 张红

(广州军区武汉总医院药剂科, 湖北 武汉 430070)

摘要: 目的 研究盐酸洛美沙星分散片的制备及质量控制的方法。方法 盐酸洛美沙星分散片的溶出度测定采用UV法,含量测定则采用HPLC法。结果 盐酸洛美沙星分散片的线性范围为 $45 \sim 135 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,平均回收率为100.14%, $RSD = 0.22\%$ ($n = 9$);分散均匀性试验表明混悬液能通过2号筛;溶出度试验表明:30 min溶出度为 $99.7\% \pm 2.6\%$ ($n = 6$)。结论 盐酸洛美沙星分散片在水中能迅速崩解并均匀的分散,制剂的处方工艺成熟,检测方法简便、准确、可靠,适用于医院制剂的配制和应用。

关键词: 盐酸洛美沙星;分散片;制备;质量控制

中图分类号: R94

文献标志码: A

文章编号: 1006-0103(2011)02-0121-03

Preparation and quality control of Lomefloxacin hydrochloride dispersible tablets

LIU Zu-xiong, CHEN Hu-hai, YANG Xiao-song, ZHANG Hong

(Department of Pharmacy, Wuhan General Hospital of Guangzhou Command, Wuhan, Hubei 430070 P. R. China)

Abstract: **OBJECTIVE** To study preparation technology of Lomefloxacin hydrochloride dispersible tablets, and establish its quality control methods. **METHODS** UV spectrophotometry was used to determine the dissolution of Lomefloxacin hydrochloride dispersible tablets, and HPLC was used to determine the content of Lomefloxacin hydrochloride. **RESULTS** The detected concentration of Lomefloxacin hydrochloride was linear at $45 \sim 135 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. The average rate of recovery was 100.14% with RSD of 0.22% ($n = 9$). Its suspension passed through the 2# sieve. The dissolution of 3 batches of samples was $99.7\% \pm 2.6\%$ ($n = 6$) in 30 min. **CONCLUSION** The Lomefloxacin hydrochloride dispersible tablets can collapse quickly and disperse well in water. The preparation technology is reliable with the methods for determination of Lomefloxacin hydrochloride are simple, accurate, reliable, which can be used in hospital production.

Key words: Lomefloxacin hydrochloride; Dispersible tablets; Preparation; Quality control

CLC number: R94

Document code: A

Article ID: 1006-0103(2011)02-0121-03

盐酸洛美沙星(Lomefloxacin hydrochloride)是第四代氟喹诺酮类抗菌药,对 G^+ 、 G^- 菌、支原体等引起的感染有较强的抗菌作用^[1-2]。分散片系指遇水可迅速崩解形成均匀混悬液的片剂,吸收快、生物利

用度高、服用方便,可吞服、咀嚼、含吮,制备工艺同普通片剂,对生产无特殊要求^[3]。作者研制了盐酸洛美沙星分散片,可迅速崩解成均匀的混悬液。