多西他赛环糊精包合物及多西他赛长循环纳米乳的制备与体内外评价

袁利佳[1]，王冠茹[2,3]，刘俊峰[3]，何 军[3]*

（1. 国家药品监督管理局药品审评中心，北京 100022；2. 中国科学院上海药物研究所药物制剂研究中心，上海 201203；
3. 中国医药工业研究总院医药先进制造国家工程研究中心，上海 201203）

摘要：多西他赛（**1**）是肿瘤治疗领域的里程碑药物，但市售 **1** 注射液易产生过敏和溶血现象，使用前需使用糖皮质激素类及抗组胺药。针对其应用特点，本研究制备了 2 种 **1** 制剂，即 **1** 的磺丁基 -β- 环糊精（SBE-β-CD）包合物和 **1** 长循环纳米乳剂。照 **1** 与 SBE-β-CD 的物质的量比例为 1 ∶ 70 制成了包合物，通过 X 射线衍射法和差示扫描量热法验证了包合物的形成。通过伪三元相图优化了复合乳化剂的组成，所得纳米乳的平均粒径为 53.3 nm，多分散性指数为 0.115。体外释放结果显示，在含 0.5% Tween-80 的磷酸盐缓冲液中，包合物的 48 h 累积释放率为（83.48±3.11）%，长循环纳米乳的 96 h 累积释放率为（77.60±4.15）%。细胞毒性试验显示，**1** 溶液、**1** 包合物及 **1** 长循环纳米乳对小鼠乳腺癌细胞（4T1 细胞）的 IC_{50} 值分别为 1.50、0.45 和 0.30 μg/ml。大鼠药动学研究结果显示，相比于市售制剂，包合物和长循环纳米乳的 Cl 显著减小，AUC 明显增大，均体现出一定的体内缓释效应。

关键词：多西他赛；包合物；纳米乳；磺丁基-β-环糊精；长循环；缓释；体外评价；药动学

中图分类号：R944.9 **文献标志码**：A **文章编号**：1001-8255(2022)12-1735-08

DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2022.12.009

Preparation and *in vitro* and *in vivo* Evaluation of Docetaxel-loading Cyclodextrin Inclusion Complexes and Docetaxel-loading Long-circulating Nanoemulsions

YUAN Lijia[1], WANG Guanru[2,3], LIU Junfeng[3], HE Jun[3]*

*(1. Center for Drug Evaluation, National Medical Products Administration, Beijing 100022; 2. State Key Lab. of Drug Research & Center of Pharmaceutics, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203;
3. National Advanced Medical Engineering Research Center, China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203)*

ABSTRACT: Docetaxel (**1**) is a milestone drug in the field of tumor therapy. However, the marketed **1** injection uses Tween-80 and ethyl alcohol as solubilizers, which is prone to induce allergy and hemolysis, and patients have to take glucocorticoids and antihistaminics prior to administration. According to the feature of **1**, two **1**-loading formulations were prepared, namely sulfobutylether-β-cyclodextrin (SBE-β-CD) inclusion complexes and long-circulating nanoemulsions. Taking SBE-β-CD as the main body of the complexes, the molar ratio of **1** to SBE-β-CD was set at 1∶70 to prepare SBE-β-CD inclusion complexes of **1**, and the formation of these inclusion complexes was verified by X-ray diffraction and differential scanning calorimetry (DSC). The composite emulsifier of **1**-loading long-circulating nanoemulsions was screened out by pseudo-ternary phase diagram, and average particle size of the obtained nanoemulsions was 53.3 nm with polydispersity index (PDI) of 0.115. The results of *in vitro* release test showed that (83.48±3.11)% of **1** released from the SBE-β-CD inclusion complexes within 48 hours in phosphate buffer containing 0.5% Tween-80, while (77.60±4.15)% of **1** released from the long-circulating nanoemulsions within 96 hours.The results of the cytotoxicity test showed that the IC_{50} values of **1** solution, the inclusion complexes and the long-circulating nanoemulsions against 4T1 murine breast cancer cells were 1.50, 0.45 and 0.30 μg/ml, respectively. The pharmacokinetics in rats showed that compared with the commercial injection, the clearance (Cl) values of the inclusion complexes and the long-circulating nanoemulsions were significantly decreased, while the AUC values were significantly increased, showing a good *in vivo* sustained-release effect.

Key Words: docetaxel; inclusion complex; nanoemulsion; sulfobutylether-β-cyclodextrin; long-circulating; sustained-release; *in vitro* evaluation; pharmacokinetics

多西他赛（docetaxel，**1**）为紫杉烷类化合物[1—2]，广泛用于治疗卵巢癌、乳腺癌、膀胱癌、非小细胞肺癌，以及其他实体瘤如头颈部癌、黑色素瘤、胃癌、胰腺癌等。**1** 属于微管解聚剂，通过促微管蛋白在细胞内聚集，防止分解，从而抑制有丝分裂进程，促使细胞凋亡。**1** 目前已成为首选的一线和二线抗肿瘤药[3]。然而，**1** 原料药水溶性差，因此目前的 **1** 上市注射液使用 Tween-80 和乙醇，易产生过敏和溶血现象，使用前需使用糖皮质激素类及抗组胺药；并且，**1** 在含水溶液中易发生降解，不易保存[4—5]，静脉注射时对正常组织的不良反应较大、靶向性差。针对以上问题，有必要开发 **1** 新剂型，达到减毒增效、增加患者依从性的目的，近年来也已取得较大进展，如开发 **1** 的各种载体制剂如脂质体、胶束、聚合物纳米粒或无机纳米粒等，可有效提高其溶解性和治疗指数，在疾病治疗方面具有重要意义[6—8]。包合物通过非共价键的作用将疏水性底物（客体分子）包合在环糊精的疏水性空腔里，由于药物与环糊精上的羟基相互作用以及药物结晶减少，增加了药物的溶解度和溶出速率，有效提高了生物利用度，因此包合物技术一直是制剂领域中的研究热点之一。但研究表明，天然环糊精有较大的肾毒性和溶血性，故现多用其衍生物。在种类繁多的环糊精衍生物中，磺丁基 -β- 环糊精（SBE-β-CD）具有低毒、低免疫原性的特点，可促进药物的吸收，提高药物的生物利用度；可改善药物的溶解度，提高药物的稳定性；能掩盖药物的不良气味，增加顺应性等。此外，SBE-β-CD 完全消除了肾毒性，适用于各种给药途径，已在药物制剂领域得到广泛应用，并被欧洲和美国药典收载[9—14]。

静脉注射用纳米乳因不含或只含有少量有机溶剂，对血管的刺激性较小。将难溶性药物溶解或增溶于适宜的油相中，再制成纳米乳，可有效降低由药物引起静脉炎的可能性，增强患者用药的依从性，同时避免药物与水相直接接触，可增加易水解或对水敏感药物的稳定性。然而，脂溶性药物制备成普通纳米乳时，其结构和稳定性可能欠佳。而且，由于纳米级尺寸和表面性质，易被网状内皮系统（RES）从血浆循环中清除[15]。长循环纳米乳可通过聚乙二醇（PEG）修饰使表面的亲水位点增加，吸附大量水分子而形成固有水化层，增加空间位阻，大幅提高制剂的物理、化学及生物稳定性，降低药物渗漏率，减少乳滴之间的聚集和融合，增加再分散性。同时，适当粒径的纳米乳可通过高渗透长滞留（EPR）效应，提高药物在肿瘤部位的摄取率，减少与血浆蛋白的相互作用，降低 RES 的摄取，延长体循环时间，从而起到增加疗效、降低用药剂量的作用[16—19]。

此外，在纳米载体表面修饰 PEG 是目前应用较广泛的延长纳米载体体循环时间的方法。PEG 链的长度决定纳米粒的流体力学直径，PEG 层的厚度和密度与聚合物的构象相关[20—21]。PEG 修饰的纳米载体能否逃避机体清除，在很大程度上取决于 PEG 的颗粒大小、链长和密度等参数。二硬脂酰磷脂酰乙醇胺（DSPE）-PEG 是一种广泛用于药物递送的磷脂聚合物，具有生物相容性、可生物降解性和两亲性。已有研究报道[22]，与不含 DSPE-PEG 的市售 **1** 制剂相比，含有 DSPE-PEG2000 的纳米载体在生理条件下表现出明显的抗肿瘤活性，并大幅降低了体外毒性。

本研究针对 **1** 的临床应用特点及肿瘤治疗理念，分别制备了 **1** SBE-β-CD 包合物和 **1** 长循环纳米乳剂，并以市售 **1** 注射液为对照，进行了理化性质表征及体外、体内评价。

1　仪器与试药

LC-20AD 型高效液相色谱仪、UV-1800 型紫外分光光度计（日本岛津公司）；BT125D 型电子天平（精度十万分之一，德国赛多利斯科学仪器有限公司）；Zetasizer Nano ZS-90 型激光粒度仪（英国马尔文仪器有限公司）；Q2000 型差示扫描量热（DSC）分析仪（美国 TA 公司）；VHX-1000 型数码显微镜（日本 Keyence 公司）；D8 Advance 型

收稿日期：2022-09-09

作者简介：袁利佳（1981—），男，博士研究生，专业方向：药品审评管理。

通信作者：何　军（1976—），男，研究员，从事新型注射给药系统的研究。

E-mail：chinaynhe@163.com

多晶 X 射线衍射仪（美国 Bruker 公司）；45-4 Nano DeBEE 型微射流超高压均质机（美国 BEE 公司）；FA25 型高速剪切机（上海弗鲁克流体机械制造公司）；Advantage EL-85 型冷冻干燥仪（美国 VirTis 公司）；LyoResis 共晶点测试仪（北京海博飞工业设备有限公司）；BX41 光学显微镜（北京海博飞科技有限公司）；FACSC 流式细胞仪（美国 BD 公司）；TCS SP5 型共聚焦显微镜（德国徕卡显微系统有限公司）。

1 原料药（含量 >99 %，批号 Y014-140501）、SBE-β-CD（批号 20150416）、聚乙二醇（PEG）400（国药集团化学试剂有限公司）；**1** 对照品（含量 98.0%，批号 100666-20102）、紫杉醇（内标）对照品（批号 100382-203001，含量 97.8 %）（中国食品药品检定研究院）；市售 **1** 注射液［商品名泰索帝®，赛诺菲（杭州）制药有限公司，批号 3F112C，规格 20 mg ∶ 0.5 ml］；辛酸癸酸甘油三酯（商品名 WL1349，批号 151738）、肉豆蔻酸异丙酯（IPM，批号 133342）、辛癸酸甘油酯（商品名 Labrafac CC，批号 138552）、油酸乙酯（EO，批号 135887）、单亚油酸甘油酯（商品名 M35-1，批号 154021）、月桂酸聚乙二醇甘油酯（商品名 Glucire44/14，批号 148644）、低黏度中链三甘油酯（商品名 Miglyol 812，批号 120224）（法国嘉法狮公司）；大豆油（LCT，批号 A1150030）、橄榄油（批号 M150128）（广州汉方现代中药研究开发有限公司）；中链甘油三酸酯（MCT，批号 594000-2140039）、卵磷脂（商品名 Lipoid E80，批号 510300-1144080）（上海东尚生物科技有限公司）；聚乙二醇 15 羟基硬脂酸酯（德国 BASF 公司，商品名 Solutol HS15，批号 09425616KO）；DSPE- 甲氧基聚乙二醇（MPEG）2000（上海艾韦特医药科技有限公司，批号 B30617）；甲醇、乙腈为色谱纯，其他试剂均为分析纯，水为纯化水（自制）。

小鼠乳腺癌细胞株（4T1 细胞，中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库）。

SD 大鼠，雌雄兼用，180 ～ 220 g，上海斯莱克实验动物有限责任公司提供（动物合格证编号 2015000541935）。

2 方法与结果

2.1 1 的含量测定方法

2.1.1 色谱条件

色谱柱 Waters Tnature C_{18} 柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相 乙腈∶水（50 ∶ 50），等度洗脱；检测波长 229 nm；流速 1.0 ml/min；柱温 30 ℃；进样量 10 μl。

2.1.2 线性试验及方法学考察

精密称取 **1** 对照品 10 mg 于 10 ml 量瓶中，用乙腈溶解并定容，得到 1 mg/ml 的贮备液。再用乙腈逐步稀释成质量浓度为 50、100、200、300、400 μg/ml 的标准溶液，分别进样分析。将峰面积 A 和对应的质量浓度 c 进行线性回归，得线性方程为 A=12 265c – 19 434（R^2=0.999 7）。结果表明，**1** 的乙腈溶液在浓度 50 ～ 400 μg/ml 范围内的线性良好。在本色谱条件下，低、中、高质量浓度（50、200 和 400 μg/ml）**1** 溶液的日内 RSD 均为 0.1 %（n=5），日间 RSD 分别为 1.34 %、0.89 %、1.12 %（n=5），表明该方法精密度良好。

2.2 1 包合物的制备

照物质的量比例为 1 ∶ 70 称取 **1** 原料药与 SBE-β-CD；将 **1** 原料药先完全溶于乙醇中，再与 SBE-β-CD 混合，用乙酸调至 pH 6.0，在 500 r/min、25 ℃条件下搅拌 1 h，得 **1** 包合物。

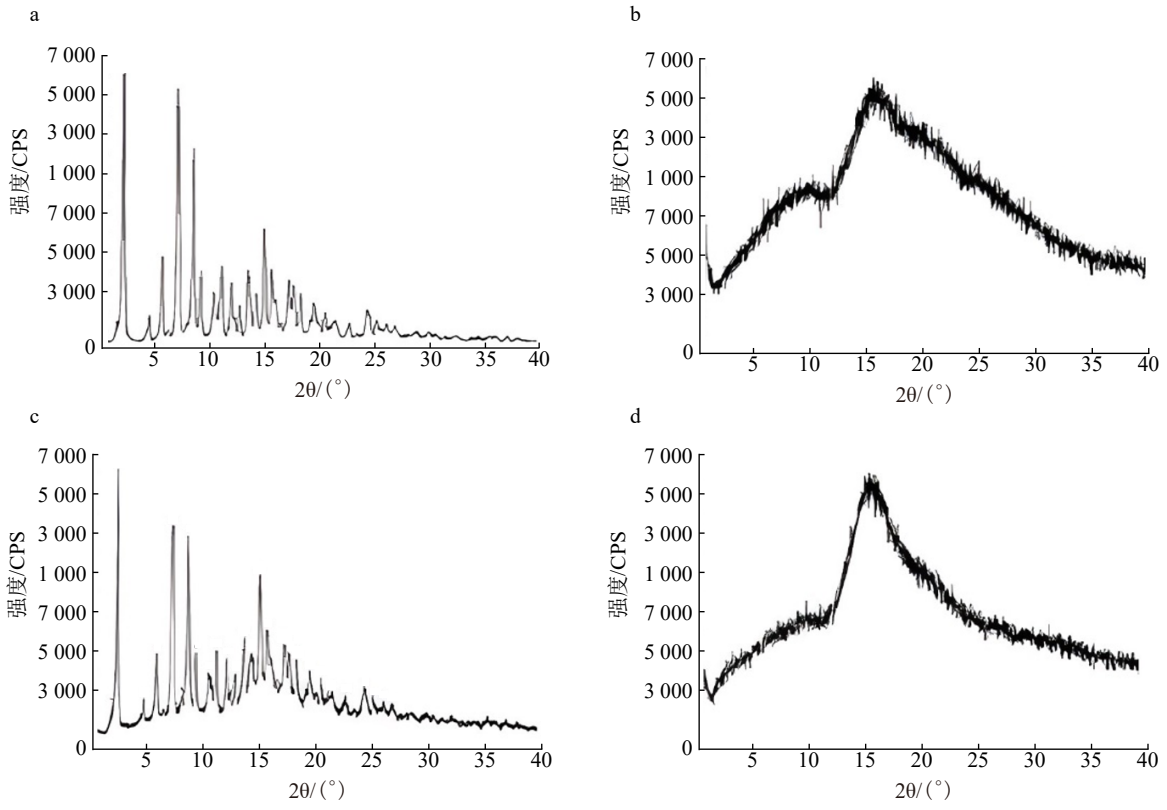
2.3 1 包合物的验证

2.3.1 X 射线衍射（XRD）分析

仪器工作参数：Cu K_α 靶，管电压 40 kV，电流 40 mA，扫描速度 5（°）/min。在此条件下测定 **1** 原料药、SBE-β-CD、**1** 与 SBE-β-CD 物理混合物（物质的量比 1 ∶ 1，下同）及 **1** 包合物，结果如图 1 所示。可见，**1** 的 XRD 图谱中呈现若干特征峰，SBE-β-CD 的图谱中无强烈尖峰，二者的物理混合物图谱中仍可见 **1** 的特征峰，而 **1** 包合物的 XRD 图谱完全不同于 **1** 原料药及物理混合物，**1** 晶体的衍射特征峰完全消失，证明了包合物的形成。

2.3.2 差示扫描量热（DSC）分析

以空铝坩埚为参比池，另一铝坩埚放入精密称定的样品，以氮气为测定气体，扫描范围为 30 ～ 380 ℃，升温速度为 10 ℃ /min，分别测定 **1** 原料药、SBE-β-CD、**1** 原料药与 SBE-β-CD 物理混合物及 **1** 包合物。各样品的 DSC 曲线如图 2 所示，**1** 在 175 ℃出现特征峰，SBE-β-CD 在 125 ℃出现特征峰，



a—原料药；b—SBE-β-CD；c—物理混合物；d—包合物。

图 1　X 射线衍射图谱

Fig.1　Patterns of X-Ray Diffraction

二者的物理混合物的 DSC 曲线中 **1** 特征峰仍可见，但在 **1** 包合物的 DSC 曲线中，该特征峰消失。同样验证了包合物的形成。

2.4　1 长循环纳米乳的制备

通过测定 **1** 在不同辅料中的溶解情况，以及比较各辅料的黏度等特性，经预试验筛选出的合适辅料为：卵磷脂、Solutol HS 15、PEG400。将三者按不同质量比（1 ∶ 1 ∶ 2、4 ∶ 6 ∶ 5 和 1 ∶ 1 ∶ 1）混合，组成复合乳化剂（MSA），再与油相（MCT）照 MSA 与 MCT 质量比为 9 ∶ 1、8 ∶ 2、7 ∶ 3……1 ∶ 9 配制混合溶液，分别滴加水，检测溶液电导率的变化，当电导率出现最大值时，记录滴加的总水量。绘制的伪三元相图如图 3 所示。相图中显示的微乳形成区域越大，表明该相图对应的 MSA 越符合处方筛选要求。

由图 3 可见，MSA 中的卵磷脂、Solutol HS 15、PEG400 质量比为 1 ∶ 1 ∶ 2 时微乳形成区域较大。因此确定优化处方工艺如下。将 **1**（100 mg）完全溶解在 PEG400（4 g）中；再将卵磷脂、Solutol HS 15 和 MCT 各 2 g，在 30 ℃水浴、200 r/min 磁

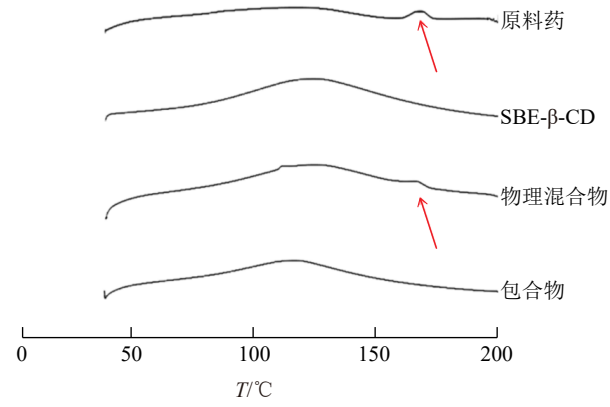
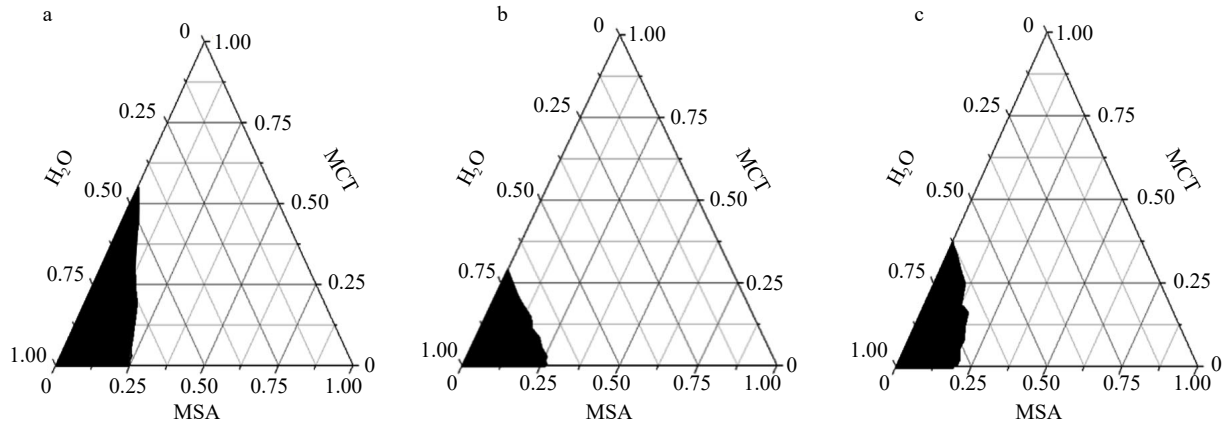


图 2　DSC 图谱

Fig.2　Patterns of DSC



a—卵磷脂、Solutol HS 15、PEG400 质量比为 1 ∶ 1 ∶ 2；b—卵磷脂、Solutol HS 15、PEG400 质量比为 4 ∶ 6 ∶ 5；c—卵磷脂、Solutol HS 15、PEG400 质量比为 1 ∶ 1 ∶ 1。

图 3 伪三元相图

Fig.3 Pseudo-ternary Phase Diagrams

力搅拌条件下与 DSPE-PEG2000（50 mg）混合均匀，缓慢加入上述所得的 **1**-PEG400 溶液，搅匀得油相。称取甘露醇（900 mg），加入超纯水，超声完全溶解作为水相。将水相在 500 r/min 条件下逐滴加入油相中，高速剪切 5 min，然后在 5.3×10^4 kPa 微射流条件下高压均质 5 次，得 **1** 长循环纳米乳。

试验表明，制得的 **1** 长循环纳米乳平均粒径为 53.3 nm，多分散性指数（PDI）为 0.115。采用超滤法测定 **1** 长循环纳米乳的包封率，具体方法如下。精密吸取 **1** 长循环纳米乳 1 ml 于超滤离心管（截留分子量 3 000）中，离心（6 793×*g*）10 min，将上层液体完全吸出并记录体积，向其中加入乙腈稀释 10 倍，超声 20 min，作为包封药物测定的供试品溶液。另取 **1** 长循环纳米乳 100 μl，加入乙腈 900 μl，超声 20 min，作为总药量测定的供试品溶液。照“**2.1.1**”项下色谱条件进行 HPLC 测定，经剂量校正后计算得 **1** 长循环纳米乳的包封率为 90.5%（*n*=3）。

2.5 体外释放度测定

分别精密吸取 **1** 溶液（以甲醇为溶剂配成 **1** 质量浓度约为 0.1 mg/ml 的溶液）、**1** 包合物及 **1** 长循环纳米乳 1 ml 于透析袋内（截留分子量 25 000），置释放介质（含 0.5% Tween-80 的磷酸盐缓冲液，pH 7.4）40 ml 中，恒温振摇（37 ℃，100 r/min），分别在 0.5、1、2、3、6、12、24、48、72 及 96 h 时取袋外释放介质 200 μl（同时补充同温等量释放介质），照“**2.1.1**”项下色谱条件测定，计算样品各时间点下的累积释放率（*Q*），释放曲线见图 4。

结果显示，**1** 溶液释放迅速，2 h 时累积释放率已高达（78.4±0.96）%；**1** 包合物释放较缓慢，24 h 时累积释放率为（80.03±3.78）%，48 h 时累积释放率为（83.48±3.11）%；而 **1** 长循环纳米乳释放更缓慢，在 24 h 时累积释放率为（64.93±4.18）%，96 h 时为（77.60±4.15）%。以上结果说明制备得到的包合物及长循环纳米乳制剂均有减缓药物释放的作用，而长循环纳米乳缓释效果更优。

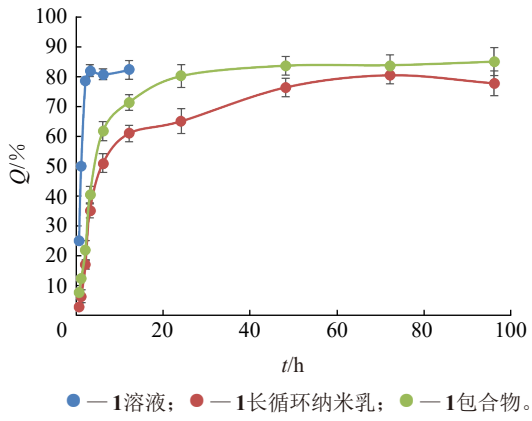


图 4 体外释放曲线（*n*=3）

Fig.4 *In vitro* Release Profiles (*n*=3)

2.6 体外细胞毒性考察

采用 CCK8 法考察 **1** 溶液（配制方法同“**2.5**”项）、**1** 包合物及 **1** 长循环纳米乳对 4T1 细胞的细胞毒作用。选取处于对数生长期的 4T1 细胞，用胰酶消化、含 10%胎牛血清的 RPMI 1640 培养基吹打贴壁细胞成细胞悬液，计数。将细胞接种到 96 孔板中，每孔含 3 000 个细胞，放在 37 ℃、5% CO_2 的培养箱中培养 24 h，使细胞贴壁生长。取 **1** 溶液、**1** 包合物及 **1** 长循环纳米乳悬液，用 RPMI 1640 培养基稀释至质量浓度分别为 0.01、0.05、0.1、0.5、1、10 和 20 μg/ml。用其替换上述 96 孔板中的培养基，每孔加入药物溶液 100 μl，在 37 ℃、5% CO_2 的培养箱中继续培养 48 h。然后，每孔中加入 10% CCK8 溶液 100 μl，继续在 37 ℃、5% CO_2 的培养箱中孵育 3 h。用酶标仪检测 450 nm 处的吸光度（OD）值，计算细胞存活率和抑制中浓度（IC_{50}），结果如图 5 所示。

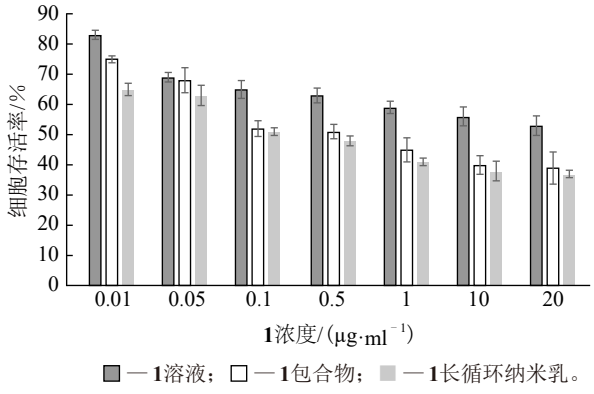


图 5　不同制剂与 4T1 细胞共孵育 48 h 后的细胞存活率（*n*=3）

Fig.5　Cell Survival Rates of 4T1 Cells after Incubation with Different Formulations for 48 h（*n*=3）

结果表明，随着 **1** 浓度增加，4T1 细胞存活率减小，呈现出明显的剂量依赖性。经计算，**1** 溶液、**1** 包合物及 **1** 长循环纳米乳对 4T1 细胞的 IC_{50} 分别为 1.50、0.45 和 0.30 μg/ml，可见将 **1** 制备成包合物及长循环纳米乳显著增加了药物对 4T1 细胞的毒性，提高了药物的疗效。分析原因，可能是 P- 糖蛋白存在于 4T1 细胞膜上，疏水性药物 **1** 被细胞摄取后，由于 P- 糖蛋白外排作用，使细胞内的药物被泵出胞外，降低了胞内 **1** 浓度。将 **1** 制成包合物和长循环纳米乳，可减少药物外排，从而提高疗效。

2.7 体内药动学考察

2.7.1 色谱条件

色谱柱 Welch Ultimate C_{18} 柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相　0.02 mol/L 乙酸铵溶液：甲醇：乙腈（47.5 ∶ 30.5 ∶ 22），等度洗脱；检测波长 230 nm；流速　0.3 ml/min；柱温 30 ℃；进样量 20 μl。

2.7.2 线性试验及方法学考察

选用紫杉醇为 **1** 体内测定的内标物质，精密称取适量紫杉醇对照品于棕色量瓶中，用甲醇溶解并配制成质量浓度为 4.0 μg/ml 的内标溶液，4 ℃冷藏备用。精密量取适量 **1** 对照品，用甲醇稀释溶解并配制成 **1** 质量浓度为 1、10、25、50、100、250 μg/ml 的标准溶液，分别精密吸取 10 μl，加入 SD 大鼠空白血浆 90 μl，加入内标溶液 300 μl，涡旋混合 30 s，离心（10 000×*g*）10 min，取上清液按“**2.7.1**”项下方法进行分析。将 **1** 与内标峰面积之比 *A* 和对应的 **1** 质量浓度 *c* 进行线性回归，得线性方程为 A=0.810 6c+0.032 2，R^2=0.998 2。结果表明，**1** 的乙腈溶液在质量浓度 0.025 ～ 6.250 μg/ml 范围内的线性良好。在本色谱条件下，低、中、高质量浓度（0.025、2.000、6.250 μg/ml）的 **1** 溶液的日内 RSD 分别为 8.77%、3.14%、1.48%（*n*=3），日间 RSD 分别为 8.37%、13.10%、11.87%（*n*=3），该方法精密度符合生物样品分析测定的基本要求。

2.7.3 生物样品稳定性考察

取低、中、高质量浓度（0.025、2.000、6.250 μg/ml）的生物样品，分别于室温条件放置 12 h、－20 ℃下放置 24 h 后解冻，照“**2.7.2**”项下方法处理血浆样品，按“**2.7.1**”项下方法进样测定。结果表明，各样品在室温条件下 12 h 内稳定，3 种浓度样品的 RSD 分别为 5.29%、11.29%、5.23%；样品冷冻 - 解冻稳定性良好，3 种浓度样品的 RSD 分别为 11.96%、12.00%、7.62%。

2.7.4 体内药动学考察

取 20 只 SD 大鼠，随机分为 4 组，每组 5 只，

尾静脉注射给药，**1** 给药剂量 10 mg/kg。第一组设定为市售 **1** 注射液组，第二组为 **1** 包合物组，第三组为 **1** 长循环纳米乳组。每只 SD 大鼠分别于给药后 5、15、30 min 和 1、2、4、6、8、12、24 h 于眼底静脉丛毛细血管取血 0.4 ～ 0.7 ml。照“**2.7.2**”项下处理样品后进样测定。各采样点的血药浓度结果如表 1 所示。采用 DAS 2.0 软件拟合计算 SD 大鼠给药后的药动学参数，结果如表 2 所示。

表 1 SD 大鼠注射不同 1 制剂后的血药浓度结果（$\bar{x}\pm s$，n=5）

Tab.1 Results of Plasma Concentration of **1** in SD Rats after Intravenous Administration of Different Dosage Forms ($\bar{x}\pm s$, n=5)

t/h	血药浓度/(μg·ml^{-1})		
	市售 **1** 注射液	**1** 包合物	**1** 长循环纳米乳
0.083	3.78±0.10	3.79±0.26	5.58±0.39
0.25	2.87±0.63	3.71±0.43	5.05±0.42
0.5	1.32±0.16	3.75±0.54	4.97±0.68
1	0.55±0.09	3.10±0.57	3.88±0.53
2	0.22±0.03	2.71±0.65	2.58±0.63
4	0.17±0.04	2.03±0.78	1.00±0.40
6	0.12±0.02	1.72±1.10	0.86±0.61
8	0.07±0.04	1.21±0.98	0.60±0.53
12	—	0.04±0.05	0.17±0.23
24	—	—	0.04±0.05

表 2 SD 大鼠注射不同 1 制剂后的主要药动学参数（$\bar{x}\pm s$，n=5）

Tab.2 Main Pharmacokinetic Parameters of **1** in SD Rats after Intravenous Administration of Different Dosage Forms ($\bar{x}\pm s$, n=5)

参数	市售 **1** 注射液	**1** 包合物	**1** 长循环纳米乳
c_{max}/(μg·ml^{-1})	3.783±1.68	3.79±0.56[1)]	5.58±2.11[2)]
$t_{1/2}$/h	0.242±0.96	4.215±1.32[2)]	1.179±2.10[1)]
$AUC_{0\to t}$/(μg·ml^{-1})	3.16±3.28	20.41±2.88[2)]	17.746±3.77[2)]
Cl/(ml·h^{-1}·g^{-1})	2.668±5.32	0.389±0.37[2)]	0.556±4.65[2)]

注：与市售 **1** 注射液相比，[1)] 表示 P<0.05；[2)] P<0.01。

结果显示，**1** 长循环纳米乳及 **1** 包合物制剂的各个时间点的血药浓度值均高于市售 **1** 注射剂；而且，市售 **1** 注射剂只检测到 8 h 内的血药浓度，**1** 包合物可检测到 12 h 内的血药浓度，**1** 长循环纳米乳则 24 h 内均可检测出结果。相比于市售 **1** 注射剂，其他 2 种制剂的 Cl 显著减小，AUC 明显增大，提示 **1** 包合物和 **1** 长循环纳米乳均体现出一定的缓释效应。

3 讨论

目前已开发的很多 **1** 新剂型，包括脂质体、胶束、聚合物纳米粒或无机纳米粒等，均可有效提高 **1** 的溶解性和治疗指数，在疾病治疗方面具有重要意义。然而，这些制剂的稳定性和递送效率等问题依然有待改善。筛选出适宜的 **1** 新剂型，在达到有效治疗目的的同时，改善 **1** 溶解性、用药毒性和稳定性等，是目前亟待解决的问题。本研究针对 **1** 的临床应用特点及肿瘤的治疗理念，以市售 **1** 注射液为对照，对 2 种 **1** 制剂（**1** 的 SBE-β-CD 包合物和长循环纳米乳）的理化性质进行表征，并进行体内外评价。结果显示，与市售注射液相比，这 2 种制剂在体内外均表现出一定的缓释效果，且对肿瘤细胞的细胞毒性更强。

然而，也有报道显示，PEG 修饰的纳米载体会引起针对 PEG 聚合物的免疫反应、改变纳米颗粒的生物分布特征、减少纳米载体的循环半衰期、降低包埋药物的治疗效果[23]。同时，DSPE-PEG 被证明是一种 P- 糖蛋白的变构抑制剂，可能会影响药物在 P- 糖蛋白过度表达的肿瘤细胞中的吸收[24]。另外，包合物产品的批间一致性、可放大性等问题也有待进一步研究。

参考文献：

[1] ZHAO L, WEI Y M, ZHONG X D, *et al*. PK and tissue distribution of docetaxel in rabbits after i．v．administration of liposomal and injectable formulations [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2009, **49**(4): 989-996.

[2] 赵 颖, 王 芮. 抗肿瘤药物多西他赛研究进展 [J]. 中国药业, 2014, **23**(10): 87-89.

[3] KRASNOPOLSKY Y M, DUDNICHENKO A S. Experimental study of liposomal docetaxel analysis of docetaxel incorporation and stability [J]. *Exp Oncol*, 2017, **39**(2): 121-123.

[4] PEREIRA S, EGBU R, JANNATI G, *et al*. Docetaxel-loaded liposomes: the effect of lipid composition and purification on drug encapsulation and *in vitro* toxicity [J]. *Int J Pharm*, 2016, **514**(1): 150-159.

[5] ZUO T, GUAN Y, CHANG M, *et al*. RGD(Arg-Gly-

Asp) internalized docetaxel-loaded pH sensitive liposomes: preparation, characterization and antitumor efficacy *in vivo* and *in vitro* [J]. *Colloids Surf B Biointerface*, 2016, **147**: 90-99.

[6] MA J, ZHUANG H, ZHUANG Z, *et al*. Development of docetaxel liposome surface modified with CD133 aptamers for lung cancer targeting [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2018, **46**(8): 1864-1871.

[7] CHEN F, ZHANG J, WANG L, *et al*. Tumor pH(e)-triggered charge-reversal and redox-responsive nanoparticles for docetaxel delivery in hepatocellular carcinoma treatment [J]. *Nanoscale*, 2015, **7**(38): 15763-15779.

[8] ALIBOLANDI M, ABNOUS K, HADIZADEH F, *et al*. Dextran-poly lactide-*co*-glycolide polymersomes decorated with folate-antennae for targeted delivery of docetaxel to breast adenocarcinima *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Control Release*, 2016, **241**: 45-56.

[9] WANG W X, FENG S S, ZHENG C H. A comparison between conventional liposome and drug-cyclodextrin complex in liposome system [J]. *Int J Pharm*, 2016, **513**(1/2): 387-392.

[10] GHARIB R, GREIGE-GERGES H, FOURMENTIN S, *et al*. Liposomes incorporating cyclodextrin-drug inclusion complexes: current state of knowledge [J]. *Carbohydr Polym*, 2015, **129**: 175-186.

[11] 孙伟张, 曾仁杰, 景　莉, 等. 喷雾干燥法制备盐酸异丙嗪-β环糊精包合物的实验研究[J]. 西南国防医药, 2001, **11**(6): 385-387.

[12] 郭　涛, 孙方迪, 潘卫三, 等. 紫杉醇包合物的制备与鉴定[J]. 中国药学杂志, 2010, **45**(4): 283-286.

[13] WU J, SHEN Q, FANG L. Sulfobutylether-β-cyclodextrin/chitosan nanoparticles enhance the oral permeability and bioavailability of docetaxel [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2013, **39**(7): 1010-1019.

[14] 王　瑶, 张　磊, 王冠茹, 等. 多西他赛包合物脂质体的制备与体外评价[J]. 中国医药工业杂志, 2019, **50**(6): 646-652.

[15] NIE S. Understanding and overcoming major barriers in cancer nanomedicine [J]. *Nanomedicine* (Lond), 2010, **5**(4): 523-528.

[16] STOLNIK S, HEALD C R, NEAL J, *et al*. Polylactide-poly(ethylene glycol) micellar-like particles as potential drug carriers: production, colloidal properties and biological performance [J]. *J Drug Target*, 2001, **9**(5): 361-378.

[17] MOSQUEIRA V C, LEGRAND P, MORGAT J L, *et al*. Biodistribution of long-circulating PEG-grafted nanocapsules in mice: effects of PEG chain length and density [J]. *Pharm Res*, 2001, **18**(10): 1411-1419.

[18] GREF R, MINAMITAKE Y, PERACCHIA M T, *et al*. Biodegradable long-circulating polymeric nanospheres [J]. *Science*, 1994, **263**(5153): 1600-1603.

[19] VAKILI-GHARTAVOL R, REZAYAT S M, FARIDI-MAJIDI R, *et al*. Optimization of docetaxel loading conditions in liposomes: proposing potential products for metastatic breast carcinoma chemotherapy [J]. *Sci Rep*, 2020, **10**(1): 55-69.

[20] JOKERST J V, LOBOVKINA T, ZARE R N, *et al*. Nanoparticle PEGylation for imaging and therapy [J]. *Nanomedicine* (Lond), 2011, **6**(4): 715-728.

[21] YANG Q, JONES S W, PARKER C L, *et al*. Evading immune cell uptake and clearance requires PEG grafting at densities substantially exceeding the minimum for brush conformation [J]. *Mol Pharm*, 2014, **11**(4): 1250-1258.

[22] LEVACHEVA I, SAMSONOVA O, TAZINA E, *et al*. Optimized thermosensitive liposomes for selective doxorubicin delivery: formulation development, quality analysis and bioactivity proof [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2014, **121**: 248-256.

[23] KOPECKA J, SALZANO G, CAMPIA I, *et al*. Insights in the chemical components of liposomes responsible for P-glycoprotein inhibition [J]. *Nanomedicine*, 2014, **10**: 77-87.

[24] WANG C, CHENG X, SUI Y, *et al*. A noticeable phenomenon: thiol terminal PEG enhances the immunogenicity of PEGylated emulsions injected intravenously or subcutaneously into rats [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2013, **85**(3 Pt A): 744-751.