

· 论著 ·

## 聚乙二醇 400 介导的多西他赛脂肪乳剂与多西他赛注射液的稀释稳定性研究

张广军<sup>1</sup>, 林玲<sup>2</sup>, 陈丽娜<sup>1</sup>, 高保安<sup>1,2</sup>, 陈建明<sup>1,2</sup> (1. 第二军医大学药剂学教研室, 上海 200433; 2. 天士力帝益药业有限公司, 江苏 淮安 223002)

**[摘要]** 目的 建立多西他赛的含量测定方法;考察自制的聚乙二醇(PEG)400介导的多西他赛脂肪乳剂与市售的多西他赛注射液稀释液的稳定性。方法 建立高效液相色谱法测定含量;在室温条件下采用膜过滤法,以过滤液的含量、pH值以及过滤前的粒径为指标,考察PEG400介导的多西他赛脂肪乳剂与市售的多西他赛注射液的稀释液随时间变化的稳定性。结果 多西他赛在1~256 μg/ml的浓度范围内线性关系良好,回归方程:Y=21.199X+20.488, r=0.999 9;自制PEG400介导的多西他赛脂肪乳剂分散液,室温下24 h内过滤液的含量、pH值以及过滤前的粒径均未见明显变化。观察市售多西他赛注射液的生理盐水稀释液,2 h发现有药物析出,过滤液含量明显下降。结论 自制PEG400介导的多西他赛脂肪乳剂的分散稳定性远优于市售多西他赛注射液的生理盐水稀释液,大大提高了临床用药的安全性。

**[关键词]** 聚乙二醇 400;多西他赛脂肪乳剂;多西他赛注射液;稀释稳定性

**[中图分类号]** R944.1

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1006-0111(2015)02-0119-04

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2015.02.006

## Stability comparison between a novel polyethylene glycol mediated lipid nanoemulsion of docetaxel and docetaxel injection saline dilutions

ZHANG Guangjun<sup>1</sup>, LIN Ling<sup>2</sup>, CHEN Lina<sup>1</sup>, GAO Baoan<sup>1,2</sup>, CHEN Jianming<sup>1,2</sup> (1. Department of Pharmaceutics, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Tasly pharmaceutical Co., Ltd, Huai'an 223002, China)

**[Abstract]** **Objective** To establish HPLC method to detect docetaxel and compare the stability of a novel polyethylene glycol mediated lipid nanoemulsion of docetaxel with docetaxel injection saline dilutions. **Methods** HPLC method was established to detect docetaxel concentration. The stability of a novel polyethylene glycol mediated lipid nanoemulsion of docetaxel and docetaxel saline dilutions were investigated by drug concentration pH value and particle size using membranes filtration method. **Results** The linear range of docetaxel was 1-256 μg/ml, regression equation was Y=21.199X+20.488, r=0.999 9. The drug concentration pH value and particle size of polyethylene glycol mediated lipid nanoemulsion of docetaxel was stable at room temperature in 24 hours. However the docetaxel injection saline dilutions was discovered drug precipitation in about two hours after preparation and the drug concentration was significant decreased in the filtration of docetaxel injection saline dilutions. **Conclusion** The novel polyethylene glycol mediated lipid nanoemulsion of docetaxel was a new stable docetaxel formulation and significantly increased the safety in clinical.

**[Key words]** polyethylene glycol; docetaxel; lipid nanoemulsion; saline dilutions; stability

多西他赛为紫杉醇类药物,通过促进微管双聚体装配成微管,同时抑制微管解聚作用,阻滞细胞于G2和M期,从而抑制癌细胞的有丝分裂和增殖,进而引起细胞凋亡。多西他赛的药理作用比紫杉醇强,其体外的抗肿瘤活性可达紫杉醇的10倍<sup>[1]</sup>。多西他赛易溶于乙醇、丙酮等有机溶剂,难溶于水

(<1 μg/ml),口服给药难以吸收。目前临床现用制剂为1995年上市的多西他赛注射液(简称:TAX),商品名:泰素帝(Taxotere),该注射液是由浓度为40 mg/ml的多西他赛吐温-80药物溶液与13%的乙醇溶液两部分组成。临用时,将13%的乙醇溶液注入多西他赛的吐温-80药物溶液中,混匀,然后使用生理盐水或5%葡萄糖注射液稀释至终浓度为0.3~0.9 mg/ml<sup>[2]</sup>。由于吐温-80作为药物溶媒使用可造成严重的过敏反应及溶血<sup>[3,4]</sup>。文献及实验证明TAX稀释液稳定时间短,易造成输液不安全<sup>[5]</sup>。因此,本实验室研发设计了使用更加安全的

**[基金项目]** 上海市纳米专项(12nm0501000)

**[作者简介]** 张广军,硕士研究生.E-mail:13818346927@163.com

**[通讯作者]** 陈建明.研究方向:药物新剂型与新技术.E-mail:yjcm@163.com.

聚乙二醇(PEG)400 介导的多西他赛脂肪乳剂(简称:DLE)<sup>[6,7]</sup>。DLE 是由多西他赛 PEG400 溶液及纳米脂肪乳剂两部分组成,临用时将 PEG400 溶液边振摇边注入纳米脂肪乳剂中至分散均匀即可使用,该制剂具有不含任何容易导致过敏的溶媒、安全有效、稳定性好的特点。现对这两种制剂的稀释稳定性进行考察研究。

## 1 仪器与材料

**1.1 仪器** Agilent1100 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司);TH-3560 高压灭菌锅(鑫科企业有限公司);BS124S 型电子分析天平(德国 Sartorius 公司);0.45  $\mu\text{m}$  滤膜(美国 Millipore 公司);NANO-S 型马尔文粒径检测仪(英国马尔文仪器公司);PB-10 型 pH 计(德国 Sartorius 公司)。

**1.2 主要材料和试剂** 多西他赛原料药(重庆美联制药公司,纯度 $\geq 98\%$ ,批号:G-1005002);多西他赛对照品(中国药品生物制品检定所,纯度 $\geq 99.9\%$ );PEG400(中国医药集团上海化学试剂公司);多西他赛注射液(齐鲁制药有限公司,批号:809020EW);20% 中/长链脂肪乳注射液(广州百特侨光医疗用品有限公司,批号:GM1101002);甲醇,乙腈(德国默克公司,色谱纯);生理盐水(山东辰欣药业股份有限公司,批号:1208260591)。其他所用试剂均为分析纯。

## 2 方法

### 2.1 DLE 分散液和 TAX 生理盐水分散液的制备

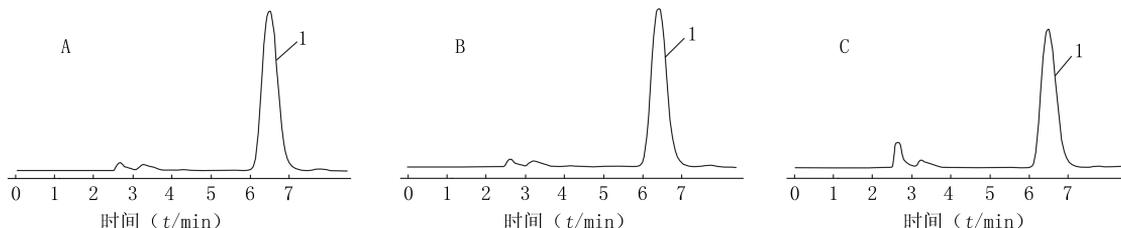


图 1 多西他赛高效液相色谱图

A. 对照品;B. DLE 分散液供试品;C. TAX 生理盐水稀释液供试品;1. 多西他赛

**2.4 标准曲线和线性范围** 精密量取适量对照品储备液,用异丙醇稀释成浓度为 1、4、16、64、256  $\mu\text{g}/\text{ml}$  的多西他赛系列标准溶液,取 20  $\mu\text{l}$  标准溶液注入液相色谱仪进行分析,以标准溶液的峰面积( $Y$ )对相应的标准溶液浓度( $X$ )进行线性回归,其回归方程为  $Y=21.199X+20.488$ ,  $r=0.9999$ ,线性范围为 1~256  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

**2.5 精密度实验** 分别精密吸取低、中、高 3 个浓

**2.1.1 DLE 分散液的制备** 精密称取 1.4 g 多西他赛,溶于 20 ml 的 PEG400 中,加入 0.5% 活性炭去除热原,充氮分装于 2 ml 透明注射剂瓶中,121  $^{\circ}\text{C}$  高压灭菌 15 min,得到多西他赛 PEG400 药物溶液。使用注射器吸取制备的多西他赛 PEG400 溶液 1 ml,然后将该溶液边振摇边注入 99 ml 20% 市售空白脂肪乳剂中至分散均匀即可,得到药物浓度约为 0.7 mg/ml 的 DLE 分散液。

**2.1.2 TAX 生理盐水稀释液的制备** 在室温下将注射用溶媒加入多西他赛溶液中,将两者在无菌环境下混匀,再均匀分散到适量生理盐水中得到药物浓度约为 0.7 mg/ml 的 TAX 生理盐水稀释液。

### 2.2 对照品和供试品溶液的制备

**2.2.1 对照品溶液** 精密称取对照品 12.5 mg,加入 25 ml 量瓶中,以异丙醇溶解并定容至刻度,得到浓度为 500  $\mu\text{g}/\text{ml}$  的对照品储备液。

**2.2.2 供试品溶液** 按“2.1”项下方法制备 DLE 分散液及多西他赛注射液生理盐水稀释液,于配制后 0、1、2、3、4、6、8、12、24 h 分别取适量过 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜,分别精密量取续滤液 1 ml 于 10 ml 量瓶中,用异丙醇破乳并定容至刻度,得到供试品溶液。

**2.3 色谱条件** 色谱柱:Ultimate  $\text{C}_{18}$  柱(250 mm $\times$  4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ );流动相:甲醇-乙腈-水(42:34:24);流速:1.0 ml/min;检测波长:232 nm;柱温:30  $^{\circ}\text{C}$ ;进样量:20  $\mu\text{l}$ 。分别取多西他赛对照品溶液, TAX 生理盐水稀释液供试品和 DLE 分散液供试品溶液适量进样,色谱图见图 1,多西他赛的保留时间约为 6.5 min,其他成分不干扰多西他赛的测定。

度(4、64、256  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )梯度的对照品溶液,按上述色谱条件于 1 d 之内连续进样 5 次, RSD 值分别为 1.45%、0.56% 和 1.21%。连续 3 d 分别进样, RSD 值分别为 1.96%、1.20% 和 0.93%。表明该方法日内和日间精密度良好。

**2.6 重复性实验** 按“2.2”项下方法制备 DLE 分散液 0 h 供试品及 TAX 生理盐水稀释液 0 h 供试品各 6 份,各取 20  $\mu\text{l}$  进样,测定供试品中多西他赛

含量,计算其 RSD 值分别为 0.89%、0.68%。表明测定方法的重复性良好。

**2.7 稳定性考察** 取按“2.2”项下方法制备的 DLE 分散液 0 h 供试品及 TAX 生理盐水稀释液 0 h 供试品,分别于 0、2、4、6、8、12、24 h 进样 20  $\mu$ l,测定峰面积,计算峰面积的 RSD 值,结果两供试品样品中多西他赛峰面积的 RSD 值分别为 0.69%、0.91%,表明两者在 24 h 内稳定。

**2.8 加样回收率比较** 分别精密量取已知浓度的 DLE 分散液供试液及 TAX 生理盐水稀释液供试液各 9 份,分为 3 组,分别精密加入低、中、高 3 个浓度的对照品溶液,测定各组药物含量,计算加样回收率和 RSD 值。结果如表 1、表 2 所示,回收率均在 95%~105% 范围内,RSD 值均 < 5%,符合药物含量测定要求。

表 1 DLE 分散液供试品加样回收率

样品含量 (m/ $\mu$ g)	加入量 (m/ $\mu$ g)	测得量 (m/ $\mu$ g)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
70.1	35	106.3	103.43	100.45	1.52
70.1	35	105.9	102.29		
70.1	35	104.4	98.00		
70.1	70	140.5	100.57		
70.1	70	139.6	99.29		
70.1	70	140.3	100.29		
70.1	105	175.0	99.90		
70.1	105	174.6	99.52		
70.1	105	175.9	100.76		

表 2 TAX 生理盐水稀释液供试品加样回收率

样品含量 (m/ $\mu$ g)	加入量 (m/ $\mu$ g)	测得量 (m/ $\mu$ g)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
70	35	105.5	101.43	100.31	1.57
70	35	106.2	103.42		
70	35	104.4	98.29		
70	70	140.8	101.14		
70	70	139.1	98.71		
70	70	140.9	101.29		
70	105	174.5	99.52		
70	105	173.7	98.76		
70	105	175.2	100.19		

### 3 结果

**3.1 稳定性比较** 室温下配制 TAX 生理盐水稀释液及 DLE 分散液,于配制后 0、1、2、3、4、6、8、12、24 h 分别取适量两种药物分散液,过 0.45  $\mu$ m 滤膜除去游离药物,分别精密吸取续滤液 1 ml,于 10 ml

量瓶中,异丙醇破乳并定容至刻度,进样 20  $\mu$ l,测定续滤液多西他赛浓度,以滤液中多西他赛浓度的变化来判断这两种制剂的稀释稳定性。以 0 h 药物浓度为 100%,其余各时间点的药物浓度与 0 h 药物浓度百分比为百分标示量。结果见表 3,DLE 分散液至少在 24 h 内稳定,而 TAX 生理盐水稀释液稳定不足 2 h,在 2 h 后稀释液可见明显的药物析出现象,过滤后滤液药物含量明显下降。DLE 分散液的稀释稳定性远超过 TAX 生理盐水稀释液。

表 3 DLE 分散液和 TAX 生理盐水稀释液稳定性比较(n=3)

时间 (t/h)	DLE 分散液含量 平均值(%)	TAX 生理盐水稀释液含量 平均值(%)
0	100.00	100.00
1	98.70	98.67
2	100.06	97.01
3	99.72	94.09
4	100.75	78.81
6	99.24	62.22
8	100.39	52.20
12	98.37	44.83
24	100.55	31.16

注:TAX 生理盐水稀释液在 2 h 后开始出现明显浑浊现象,药物含量明显下降

**3.2 DLE 分散液 pH 值的测定** 按“2.1.1”项下配制 DLE 分散液,于配制后 0、1、2、3、4、6、8、12、24 h 使用 pH 计测定分散液的 pH 值。结果见表 4,可以看出 DLE 分散液在 24 h 内 pH 值无明显变化。

**3.3 DLE 分散液 pH 值粒径的测定** 按“2.1.1”项下配制 DLE 分散液,于配制后 0、1、2、3、4、6、8、12、24 h 取该乳剂分散液适量,用蒸馏水稀释适当倍数后,按马尔文粒径检测仪操作方法测定 DLE 分散液的粒径。结果见表 4,可见 DLE 分散液 24 h 内粒径无明显变化。

表 4 DLE 分散液粒径及 pH 值变化(n=3)

时间(t/h)	粒径(l/nm)	pH 值
0	224.2 $\pm$ 3.40	6.11 $\pm$ 0.04
1	224.9 $\pm$ 2.09	6.10 $\pm$ 0.01
2	223.5 $\pm$ 3.10	6.07 $\pm$ 0.01
3	226.2 $\pm$ 1.48	6.11 $\pm$ 0.02
4	225.4 $\pm$ 1.30	6.05 $\pm$ 0.02
6	225.6 $\pm$ 3.23	6.06 $\pm$ 0.01
8	224.4 $\pm$ 1.50	6.08 $\pm$ 0.03
12	225.1 $\pm$ 2.10	6.07 $\pm$ 0.04
24	223.6 $\pm$ 1.80	6.08 $\pm$ 0.02

对老年患者而言,文拉法辛具有较高的安全性。

本研究结果显示,两组治疗后 HAMD 评分较治疗前均有显著下降( $P < 0.05$ ),且在治疗后 4~8 周,两组间 HAMD 评分比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。说明两组治疗均有效,且在治疗 4~8 周时效果相近。在治疗第 2 周末,文拉法辛组 HAMD 评分较西酞普兰组显著下降( $P < 0.05$ ),表明文拉法辛起效快于西酞普兰。

本研究还显示,两组药物 TESS 评分及不良反应相似,提示不良反应发生率及严重程度均无显著差异,经过改变服药时间和方式等简单处理,并随着治疗的继续,不良反应逐渐缓解,不影响治疗的连续性。文拉法辛组未见有直立性低血压、镇静、肥胖等不良反应,与文献[10]报道相符。

综上所述,文拉法辛对脑卒中后抑郁症患者具有良好的抗抑郁作用,起效快、安全性高;因此具有良好的临床应用前景。由于本研究入组病例较少,剂型也不一致,可能会对研究结果的客观性产生不利影响,不足之处留待以后改进。

#### 【参考文献】

[1] 芮雪,范晓华,潘卫萍.脑卒中后抑郁发生率及其相关因素

的调查分析[J].医学信息,2012,23(6):1939-1940.

- [2] Johnson JL, Minaik PA, Nystrom KV, et al. Poststroke depression incidence and risk factors: an intergrave literature review [J]. J Neurosci Nurs, 2006, 38(4 Suppl):316-327.
- [3] Jia H, Damush TM, Qin H, et al. The impact of poststroke depression on healthcare use by veterans with acute stroke [J]. Stroke, 2006, 37:2796-2801.
- [4] Begre S, Traber M, Gerber M, et al. Change in pain severity with open label venlafaxine use in patients with a depressive symptomatology: an observational study in primary care [J]. Eur Psychiatr, 2008, 23(3):178-186.
- [5] 金卫东,冯斌.文拉法辛治疗抑郁症的循证医学证据[J].四川精神卫生,2005,18(1):64.
- [6] 中华神经科学会,中华神经外科学会.各类脑血管疾病诊断要点[J].中华神经科杂志,1996,29(6):379.
- [7] 世界卫生组织. ICD-10 精神与行为障碍分类[M].北京:人民卫生出版社,1993:54.
- [8] 周国平,李丹.脑卒中后抑郁的相关因素调查[J].中国误诊学杂志,2009,9(31):7807.
- [9] 沈渔邨.精神病学[M].5版.北京:人民卫生出版社,2009:857.
- [10] 彭代辉,黄佳.文拉法辛缓释片与文拉法辛缓释胶囊治疗抑郁症的随机、双盲对照研究[J].中国新药与临床杂志,2013,32(4):322.

[收稿日期] 2013-11-14 [修回日期] 2014-03-31

[本文编辑] 李睿旻

(上接第 121 页)

#### 4 讨论

本研究采用膜过滤法从药物含量、pH 值及粒径 3 个方面研究了 DLE 的稀释稳定性,并与 TAX 稀释液的稳定性进行比较。膜过滤法具有操作简便和重复性好的特点,根据文献[5]可知,使用生理盐水作为稀释溶媒的 TAX 稀释液最为稳定,药物含量能稳定 2 h,使用 5% 葡萄糖作为稀释溶媒仅能稳定 1 h,因此本研究选用生理盐水作为溶媒,所得结果与该文献报道的基本一致。而本实验结果揭示,DLE 分散液至少在 24 h 内,其药物含量、pH 值和粒径保持不变,稀释稳定性明显优于 TAX,可大大提高临床使用的安全性。

TAX 以表面活性剂吐温-80 作为药物溶媒,有文献报道,吐温-80 易引起休克、呼吸困难、低血压、血管性水肿、风疹等严重的过敏反应及溶血,因而限制了其临床应用。DLE 因不含任何易导致过敏的表面活性剂,进一步提高了其用药安全性。DLE 具有载药量高、安全性好、稳定性好的特点。相信随着对 DLE 研究的深入,该制剂有望成为一种新型的安

全有效的多西他赛注射制剂。

#### 【参考文献】

- [1] 元英进,葛志强,冯霞.抗癌新药紫杉醇和多烯紫杉醇[M].北京:化学工业出版社,2002:5-10.
- [2] 张先林.抗肿瘤药多西紫杉醇制剂的应用研究近况[J].药学进展,2006,30(11):516-517.
- [3] 朱雷,沈琦.多西他赛注射液制备及质量控制[J].西北药学杂志,2010,25(2):121-123.
- [4] Baker SD, Zhao M, He P, et al. Simultaneous analysis of docetaxel and the formulation vehicle polysorbate 80 in human plasma by lipid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. Analyt Biochem, 2004, 324:276-284.
- [5] 张晓庆,刘明忠,张利斌.注射用多西他赛与不同溶媒配伍稳定性的研究[J].药学服务与研究,2007,7(2):150-151.
- [6] Jing X, Deng L, Gao B, et al. A novel polyethylene glycol mediated lipid nanoemulsion as drug delivery carrier for paclitaxel [J/OL]. Nanomedicine, (2013-08-20)[2013-11-26]. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nano.2013.07.018>.
- [7] Han J, Davis SS, Papandreou C, et al. Design and evaluation of an emulsion vehicle for paclitaxel I physicochemical properties and plasma stability [J]. Pharm Res, 2004, 21(9):1573-1580.

[收稿日期] 2013-11-26 [修回日期] 2014-03-16

[本文编辑] 李睿旻