

文章编号 : (2008)04-0141-09

顺铂固体脂质纳米粒的制备及其在大鼠体内的分布

田 洁, 逢秀娟, 吴冬冬, 余克富, 马英杰, 周 俊

(沈阳药科大学 药学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要:目的 制备顺铂固体脂质纳米粒(CDDP-SLN), 并考察其在大鼠体内的分布情况。方法 采用乳化分散-超声法制备顺铂 SLN, 以包封率和外观为评价指标, 进行正交实验筛选最优处方, 并考察其形态、粒径和 zeta 电位。建立起 HPLC 柱前衍生化法作为顺铂在体内的分析方法, 进行大鼠体内组织分布研究。结果 通过正交筛选, 得到的最优处方在透射电子显微镜(TEM)下呈均一球状, 平均粒径为 (125 ± 17) nm, zeta 电位为 (-46.4 ± 10.3) mV, 包封率为 63.4%。在大鼠体内组织分布实验表明, CDDP-SLN 在肝脏内浓度最高, 其次是血和肾, 在肺中浓度最低。

结论 用本工艺和处方制备的顺铂固体脂质纳米粒质量良好, 在大鼠体内具有肝靶向性。

关键词: 药剂学; 固体脂质纳米粒; 乳化分散-超声法; 顺铂; 体内分布; 靶向性

中图分类号: R94

文献标志码: A

顺铂(cisplatin)作为第一代铂类抗癌药物, 是许多肿瘤的首选药物。顺铂抗癌谱较广, 可用于头颈部癌、膀胱癌、小细胞肺癌、食道癌、卵巢癌、子宫颈癌等实体癌的治疗^[1]。临床上顺铂多以注射剂使用, 但是其严重的肾毒性、消化道毒性、神经毒性等毒性和不良反应严重的限制了其用药剂量。由于顺铂在水中微溶, 但溶解速度很慢, 且在水中很不稳定, 容易转化为反式结构, 并发生水解。因此寻找一个合适的载体传递系统十分必要。固体脂质纳米粒(solid lipid nanoparticle, SLN) 是近年正在发展的一种新型微粒类给药系统, 以固态的天然或合成的类脂, 如卵磷脂、三酰甘油等为载体, 将药物包裹于类脂核中制成粒径约为 50~1 000 nm 的固体胶粒给药体系。它可以控制药物的释放, 避免药物降解或渗漏, 具有良好的靶向性^[2]。将顺铂制成 SLN, 可大大降低其毒性, 减少对周围组织的不良反应, 增加给药剂量, 提高患者的顺应性。作者采用乳化分散-超声法制备了顺铂固体脂质纳米粒, 并对其制剂学性质和大鼠体内分布特征进行了研究。

1 仪器与材料

AR2130 电子天平(沈阳杰龙仪器有限公司), DZKW 型电子恒温水浴锅(北京永光明医疗仪器厂), DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器(巩义市予华仪器公司), 高效液相色谱仪(LC-10UV 检测器, LC-05P 液相泵, 大连江申分离科学技术公司), WFZ800-D₂ 型紫外-可见分光光度计(北京第二光学仪器厂), LS-230 Beckman Coulter 粒度测定仪(美国贝克曼公司), DELSA 440 Zeta 电位测定仪(美国贝克曼公司), KQ2200B 超声波清洗仪(浙江昆山超声仪器有限公司), JY92-2D 超声波细胞粉碎机(宁波新芝器研究所), 80-1 离心沉淀机(江苏姜堰市新康医疗器械有限公司), XK96-A 快速混匀器(江苏姜堰市新康医疗器械有限公司)。

收稿日期: 2008-01-19

作者简介: 田洁(1982-), 女(汉族), 陕西西安人, 硕士研究生, E-mail sugar_tianjie@163.com; 逢秀娟(1963-), 女(汉族), 山东胶南人, 副教授, 主要从事药物新剂型与新技术研究, Tel. 024-23986350, E-mail pxjuan@126.com。

顺铂原料药(苏州市立德化学有限公司),单硬脂酸甘油酯(GMS,长沙市有机试剂厂),大豆磷脂(SP,上海太伟医药有限公司),Pluronic F68(德国BASF公司),Tween-80(天津市博迪化工有限公司),阳离子交换树脂(上海树脂厂),氯化镍(开原市化学试剂一厂),二乙基二硫代氨基甲酸钠(DDTC,天津市科密欧化学试剂开发中心),水(二次重蒸水,自制),甲醇、乙腈、乙酸乙酯、*N,N*-二甲基甲酰胺(色谱纯,市售),其余试剂(分析纯,市售)。

Wistar大鼠,体质量(200±20)g,由中国医科大学实验动物中心提供,动物合格证号:辽实动字033号。

2 方法与结果

2.1 顺铂固体脂质纳米粒的制备及表征

2.1.1 顺铂的含量测定

参照 USP25 及相关文献^[3],采用 HPLC 法测定体外顺铂的含量。色谱条件如下:色谱柱为 Lichrospher-NH₂ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为乙酸乙酯-甲醇-*N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)-水(体积比 25:16:5:5),柱温为室温(25℃),流速为 1 mL·min⁻¹,测定波长 310 nm,进样量 20 μL。

精密称取顺铂对照品 10 mg 于 10 mL 棕色量瓶中,用 DMF 定容至刻度,作为 1 g·L⁻¹ 的标准储备液。分别精密吸取上述储备液 0.2、0.5、1、2、2.5、5 mL 于 10 mL 量瓶中,以 DMF 定容,精密吸取 20 μL 注入液相色谱仪,记录峰面积,由峰面积(*A*)对质量浓度(ρ)进行线性回归,线性方程为 $A=4.329 \times 10^5 \rho + 1.544 \times 10^3$ ($r=0.9998$),顺铂质量浓度在 0.02~0.5 g·L⁻¹ 内与峰面积呈现良好的线性关系。在此色谱条件下,日间与日内精密度的 RSD 均小于 2%,平均回收率为 98.9%。

2.1.2 顺铂固体脂质纳米粒的制备工艺

采用乳化分散-超声法制备顺铂 SLN。大豆磷脂预先分散在蒸馏水中,制成 50 g·L⁻¹ 的磷脂水分散液。将 GMS 溶于少量无水乙醇中,加热到 60℃ 使其溶解,加入适量顺铂水溶液、大豆磷脂、Tween-80,搅拌使混合均匀,构成脂相。将 F68 溶于少量蒸馏水中,加热到 60℃,使之完全分散,构成水相。在 1 000 r·min⁻¹ 搅拌下,将脂相逐滴加入水相中,保持温度 60℃,继续搅拌 30 min,得到透明状微乳。搅拌下将微乳快速倒入 2~5℃ 冷水中(初乳与冷水体积比为 1:2~1:4),继续搅拌 20 min。经探头超声分散 5 min(功率 300 W,超声 3 s,间隔 3 s),0.45 μm 微孔滤膜过滤,即得顺铂 SLN 混悬液。最终混悬液中顺铂质量浓度为 1 g·L⁻¹。

2.1.3 正交实验筛选最优处方

以对注射用顺铂固体脂质纳米粒混悬液的稳定性影响较大的 4 个因素作为正交实验的考察因素,分别是 GMS、SP、F68、Tween-80 的用量,每个因素设 3 个水平,各因素和水平见表 1。

Table 1 Factors and levels of the orthogonal experiment design

Level	Factor			
	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>C</i>	<i>D</i>
	<i>m</i> (GMS) /g	<i>m</i> (SP) /g	<i>m</i> (F68) /g	<i>m</i> (Tween-80) /g
1	0.05	0.05	0.05	0.05
2	0.1	0.1	0.1	0.1
3	0.2	0.2	0.2	0.15

以包封率(encapsulation efficiency, EE%) 和外观作为正交实验的评价指标, 筛选最优处方。对外观进行评分, 5分为满分。澄清透明、有淡蓝色乳光者为5分; 较透明, 有乳光者为4分; 较透明, 乳光不明显者为3分; 较混浊, 无乳光者为2分; 混浊不透明者为1分。正交实验结果见表2。

Table 2 Results of orthogonal design

No.	A	B	C	D	EE%	Appearance
1	1	1	1	1	49.2	5
2	1	2	2	2	50.3	5
3	1	3	3	3	44.8	5
4	2	1	2	3	47.8	2
5	2	2	1	1	52.8	3
6	2	3	3	2	63.4	5
7	3	1	3	2	43.2	2
8	3	2	1	3	44.3	4
9	3	3	2	1	58.1	5
\bar{I}_j	144.3	140.2	146.3	160.1		
\bar{II}_j	164.0	147.4	156.2	156.9		
\bar{III}_j	145.6	166.3	151.4	136.9		
\bar{I}_j	48.1	46.7	48.8	53.4		
\bar{II}_j	54.7	49.1	52.1	52.3		
\bar{III}_j	48.5	55.4	50.5	45.6		
R_j	6.6	8.7	3.3	7.8		

分析结果: R_j 值越大, 该因素影响越明显, 由 R_j 值可知, 各因素影响的主次顺序是 $B > D > A > C$, 但各因素影响的差别不太大, 由此得出最佳处方为 $A_2B_3C_2D_1$, 即单硬脂酸甘油酯 0.1 g、大豆磷脂 0.2 g、F-68 0.1 g、Tween-80 50 mg。该最优处方测得的包封率为 63.4%。

2.1.4 包封率的测定

参考文献[4], 采用阳离子交换树脂法测定顺铂 SLN 的包封率。

2.1.4.1 阳离子交换树脂的预处理

将未经处理的阳离子交换树脂用两倍量的饱和食盐水浸泡 18~20 h, 放尽上层液体后用清水漂洗净, 使排出水不带黄色; 再用同样量的质量分数为 2%~4% 的 NaOH 溶液浸泡 2~4 h, 放尽碱液后水洗至近中性; 最后以同样量体积分数为 5% 的盐酸溶液浸泡 4~8 h, 放尽酸液, 水洗至中性, 装于 5 mL 注射器中待用。

2.1.4.2 阳离子交换树脂对顺铂 DMF 溶液的吸附

配制 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 顺铂 DMF 溶液。分别精密量取 0.5、1、2 mL (低、中、高 3 个质量浓度) 该溶液各 2 份, 一份于 10 mL 量瓶中, 加 2 mL 蒸馏水, DMF 定容至刻度, 过滤, 作为对照液; 另一份置于柱顶端, 缓缓过柱, 以 2 mL 水洗脱, 收集于 10 mL 量瓶中, DMF 定容并过滤, 作为样品溶液。2 份均进样测定。由式 $R(\%) = 1 - A_{\text{after}}/A_{\text{before}} \times 100\%$ 算出树脂对顺铂溶液的柱分离度(R) 结果见表 3。式中的 A_{before} 、 A_{after} 分别为过柱前和过柱后顺铂 DMF 溶液测得的峰面积。

Table 3 The adsorption of free CDDP by cation exchange resin ($n=3$)

$\rho / (\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	A_{after}	A_{before}	Resolution/%
0.05	1 028.7	19 972	95.0
0.1	1 610.4	38 576	95.8
0.2	2 820.3	75 430	96.3

由表 3 可见, 3 个质量浓度的顺铂的分离度均大于 95%, 表明阳离子交换树脂可以吸附溶液中游离的顺铂。

2.1.4.3 阳离子交换树脂对 SLN 和顺铂物理混合物中顺铂的吸附

取空白 SLN 加入含 10 mg 顺铂的 10 mL 量瓶中, 摇匀, 定容至刻度。分别取 0.5、1、2 mL 该混合溶液各 2 份, 其余步骤按“2.1.4.2”条操作, 由式(1)计算树脂对顺铂和 SLN 混合物的柱分离度(R), 结果见表 4。

Table 4 The adsorption of CDDP with blank SLN by cation exchange resin ($n=3$)

$\rho / (\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	A_{after}	A_{before}	Resolution /%
0.05	862.0	18 585	95.4
0.1	1 620.5	37 683	95.7
0.2	2 172.3	71 559	97.0

由表 4 可知, 3 个质量浓度的 SLN 和顺铂的分离度均大于 95%, 表明阳离子交换树脂可以吸附物理混合溶液中的顺铂。

2.1.4.4 阳离子交换树脂对空白 SLN 的吸附

采用比色法考察阳离子交换树脂对空白 SLN 的吸附情况。取空白 SLN 1、2、3 mL 各 2 份, 一份过柱, 以 2 mL 水洗脱, 再用水定容至 10 mL; 另一份直接以水定容至 10 mL, 摇匀。以水为空白调零, 2 份均在 450 nm 的波长下测定吸光度(A), 由式 $R(\%) = A_1/A_2 \times 100\%$ 计算回收率(R), 结果见表 5。

Table 5 The recovery of blank SLNs from cation exchange resin ($n=3$)

V/mL	A_{before}	A_{after}	Recovery /%
1.0	0.259	0.251	103.2
2.0	0.523	0.512	102.1
3.0	0.788	0.779	101.2

由表 5 可知, 3 个体积的 SLN 的回收率均在 95% ~ 105% 内, 表明阳离子交换树脂对空白 SLN 无吸附作用。

2.1.4.5 顺铂 SLN 包封率的测定

精密量取 1 mL 顺铂 SLN 2 份, 一份于 10 mL 量瓶中, 加 2 mL 蒸馏水, 以 DMF 定容至刻度, 摇匀并过滤; 另一份加于已预处理好的阳离子交换树脂柱顶端, 用 2 mL 水洗脱, 收集洗脱液于 10 mL 量瓶中, 以 DMF 定容至刻度, 摇匀并过滤, 2 份分别进样测定。按式 $EE(\%) = \rho_1/\rho_2 \times 100\%$ 计算包封率 $EE\%$ 。其中 ρ_1 、 ρ_2 分别为过柱前和过柱后顺铂 SLN 的质量浓度。

2.1.5 顺铂 SLN 的外观形态

采用透射电镜观察 SLN 的表面形态。取最优处方的顺铂 SLN 混悬液适量，滴至覆有支持膜的铜筛网上，用体积分数为 2 % 的磷钨酸负染色，用滤纸吸走多余的液体，自然干燥后，用透射电镜观察并拍照（图 1）。由图 1 可见，顺铂 SLN 呈均一球形，粒子分布均匀。

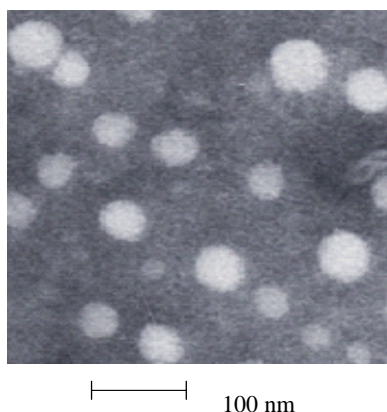


Fig. 1 Morphology of CDDP-SLN under TEM ($\times 40\ 000$)

2.1.6 顺铂 SLN 的粒径及 zeta 电位测定

取最优处方的顺铂 SLN 混悬液，用蒸馏水经适当稀释，采用 LS-230 激光粒度仪测定粒径及分布。另取顺铂 SLN 混悬液用水适当稀释，加入到用校正液校正后的 Delsa 440SX 电位测定仪样品池中，测定 zeta 电位。结果见图 2。

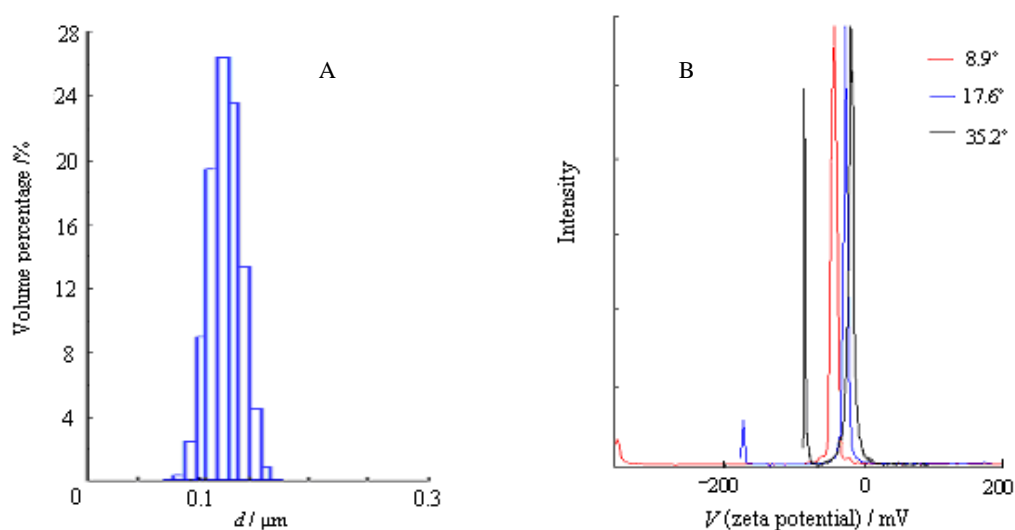


Fig. 2 Particle size distribution(A) and zeta potential distribution(B) of CDDP-SLN

由图 2 可见，顺铂 SLN 平均粒径为 (125 ± 17) nm，粒度分布窄；其表面带负电，zeta 电位为 (-46.4 ± 10.3) mV。

2.2. 顺铂 SLN 在大鼠体内的分布实验

2.2.1 顺铂的体内分析

顺铂用 DDTC 衍生化后生成 $Pt(DDTC)_2$ ，氯化镍同样反应生成 $Ni(DDTC)_2$ 。用氯仿提取衍生化产物，在 254 nm 处有最大吸收，这是该法的检测依据^[5-7]。色谱条件如下：色谱柱为 Century SIL C₁₈ 柱 (200 mm \times 4.6 mm, 5 μ m)，流动相为甲醇-乙腈-水(体积比 50 : 25 : 25)，柱温为室温 (25 $^{\circ}$ C)，流速

为 $1.5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ，测定波长 254 nm ，进样量 $10 \mu\text{L}$ 。

2.2.2 样品处理

DDTC 用 $0.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaOH 配成质量浓度为 $50 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的溶液，现用现配；氯化镍用生理盐水配成 $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的溶液做内标。取 $100 \mu\text{L}$ 血浆(组织匀浆)样品置于 2 mL 离心管中，加入 $400 \mu\text{L}$ 乙酸乙酯沉淀蛋白，混匀后于 37°C 下氮气吹干，残渣以 $100 \mu\text{L}$ 生理盐水溶解。随后加 $20 \mu\text{L}$ 内标溶液， $100 \mu\text{L}$ DDTC 溶液， 37°C 水浴中反应 30 min ，冷却。加入 $400 \mu\text{L}$ 氯仿，快速振摇，最大转速涡旋混合 2 min 以充分提取， $10\,000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min ，吸取下层氯仿液转至另一离心管中， 37°C 下氮气吹干，残渣用 $100 \mu\text{L}$ 氯仿溶解，取 $10 \mu\text{L}$ 进样。

2.2.3 标准曲线的绘制

取空白血浆(组织匀浆) $100 \mu\text{L}$ ，加 $400 \mu\text{L}$ 乙酸乙酯混匀，在 37°C 下氮气吹干，残渣以 $100 \mu\text{L}$ 生理盐水溶解。加入顺铂生理盐水溶液配成质量浓度分别为 2 、 5 、 10 、 20 、 50 、 100 、 $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的样品，加入 $20 \mu\text{L}$ 内标溶液和 $100 \mu\text{L}$ DDTC 溶液，其余按“2.2.2”条方法操作，记录色谱图、样品峰面积(A_s)和内标物峰面积(A_i)，以二者比值 A_s/A_i (R)对血浆(组织匀浆)药物质量浓度(ρ)作线性回归，得到血浆及组织匀浆的标准曲线方程。线性范围为 $2 \sim 200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，结果见表 6。

Table 6 Standard curves of cisplatin in different rat tissues ($n=3$)

Tissue	Standard curve	r
Liver	$R=1.950 \times 10^{-2}\rho - 2.460 \times 10^{-2}$	0.999 0
Lung	$R=1.980 \times 10^{-2}\rho + 4.790 \times 10^{-2}$	0.997 7
Kidney	$R=2.380 \times 10^{-2}\rho + 7.80 \times 10^{-2}$	0.997 9
Plasma	$R=2.720 \times 10^{-2}\rho + 1.063 \times 10^{-1}$	0.997 7

由表可见，顺铂和内标峰面积之比(R)与血浆(组织匀浆)中药物浓度(ρ)在 $2 \sim 200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 内线性关系良好。

2.2.4 精密度与提取回收率

配制高、中、低 3 种不同质量浓度血浆(组织匀浆)样品，各样品平行操作 6 份，按“2.2.2”条方法操作。结果表明，日内相对标准偏差与日间相对标准偏差均小于 10% ，方法重现性较好。

精密量取空白血浆(组织匀浆) $100 \mu\text{L}$ ，加 $400 \mu\text{L}$ 乙酸乙酯混匀，在 37°C 下氮气吹干，残渣以 $100 \mu\text{L}$ 生理盐水溶解。加入顺铂生理盐水溶液，各样品平行操作 5 份，按“2.2.2”条方法操作后，取 $20 \mu\text{L}$ 进样分析，记录色谱图及顺铂峰面积；另取一批管，用相同体积的生理盐水代替空白血浆(组织匀浆)，其余平行操作，计算提取回收率，结果见表 7。

Table 7 Recovery of cisplatin in plasma, liver, kidney and lung ($n=5$)

Tissue	$\rho_{\text{CDDP}}/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	Recovery($\bar{x} \pm s$)/%	RSD/%
Plasma	5	81.24 ± 2.08	2.56
	20	82.88 ± 1.60	1.93

(to be continued)

Continued table 7

	100	72.42±2.25	3.11
Liver	10	78.93±2.18	2.76
	40	81.25±1.94	2.39
	200	83.59±3.24	3.88
Kidney	10	68.08±2.79	4.10
	40	77.67±1.83	2.35
	200	76.11±2.24	2.94
Lung	10	76.02±2.49	3.27
	40	85.69±2.25	2.62
	200	74.35±2.34	3.15

以上结果表明,该方法的精密性和提取回收率均符合生物样品分析要求,可用于大鼠血浆(组织匀浆)样品中顺铂的含量测定。

2.2.5 体内分布实验

雄性 Wistar 大鼠 24 只,随机分为 2 组,尾静脉注射给药,分别为顺铂 SLN 组和顺铂生理盐水对照组,剂量为 $8 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,分别于给药后 10、20、40、60 min 眼眶取血于涂有肝素的塑料离心管中。处死后迅速取出肾、肝、肺,用生理盐水洗净各组织表面的残血,滤纸吸干后精密称量各组织,加 2 倍量的生理盐水,制成匀浆液,取 $100 \mu\text{L}$,按“2.2.2”条方法进行操作,求得血液及各器官在不同时间的药物含量,结果见表 8、9。

Table 8 Contents of cisplatin in different tissues after intravenous administration of cisplatin SLNs in rats ($n=6$)

Tissue	Content($\bar{x} \pm s$) / ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)			
	10 min	20 min	40 min	60 min
Plasma	39.805±2.84	23.979±2.31	19.887±1.55	10.267±1.87
Liver	66.782±4.31	74.315±3.29	62.193±3.06	35.350±2.28
Kidney	11.899±1.06	16.924±1.98	14.269±1.21	8.908±0.95
Lung	2.235±0.36	5.882±0.84	7.309±0.95	1.360±0.20

Table 9 Concentration of cisplatin saline solution in rat after iv. ($n=6$)

Tissue	Concent($\bar{x} \pm s$) / ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)			
	10 min	20 min	40 min	60 min
Plasma	28.421±2.12	42.267±3.56	27.333±3.01	17.179±2.29
Liver	11.168±1.14	12.416±1.20	6.020±0.67	2.191±0.19
Kidney	12.756±1.31	19.521±1.56	9.529±0.42	10.070±0.73
Lung	4.056±0.28	1.721±0.11	0.478±0.03	0.353±0.03

由以上数据可知,在 10 min 到 1 h 内,顺铂 SLN 在大鼠体内主要聚集在肝部,其次为血和肾,在肺中浓度最低。与同剂量的顺铂溶液剂相比,顺铂 SLN 具有较强的肝靶向性;另外,由于顺铂在

血液和组织中容易发生水解造成含量迅速降低,因此顺铂溶液剂在体内总浓度远远低于顺铂 SLN 的总浓度,这也进一步证明顺铂 SLN 能够明显改变药物在体内的释药行为,基本达到了靶向给药,并且大大降低了对其他器官,尤其是肾脏的毒性,达到了本实验的预期目的。

3 讨论

a. 在制备方法选择上,作者综合考虑了药物性质和实验室条件的影响,将微乳法和熔融超声法二者相结合,采用乳化分散-超声法,先制得初乳,再低温固化,然后经探头超声制得最终的 SLN。该法的优点在于不需大规模仪器设备,先分散后超声,所得粒径小,粒度分布窄,且不易聚集。在用正交实验进行处方筛选时发现,乳化剂尤其是磷脂用量与状态,对 SLN 的质量有很大的影响,作者用质量分数为 5%的磷脂水分散液,目的是增加其水分散性和乳化效果。Tween 80 对于制剂的稳定性也有很重要的影响,但在静脉注射剂中其用量限制为质量分数 0.5%。对于药物顺铂的加入方式,采用其水溶液加入,此法是为了防止顺铂黏附或吸附在容器壁上,造成分布不均匀,影响包封率。

b. 顺铂在水中不稳定,容易水解转化为反式结构^[8],在 pH 值较低时被解离成 $[\text{PtCl}(\text{H}_2\text{O})(\text{NH}_3)_2]^+$ 、 $[\text{Pt}(\text{H}_2\text{O})_2(\text{NH}_3)_2]^{2+}$ 、 $[\text{Pt}(\text{H}_2\text{O})\text{OH}(\text{NH}_3)_2]^+$ 等带有正电荷的水解产物^[9]。这些带正电荷物质与阳离子交换树脂上的 Na^+ 发生交换作用,游离药物被吸附,而包在脂质载体中的药物则不能被吸附,这是采用阳离子交换树脂法测定包封率的理论依据。作者曾采用 Sephadex G-50 微柱离心法,在 $4\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 条件下分离 SLN 和游离药物,结果总有游离药物与 SLN 不能完全分离,影响分析结果。比较而言,阳离子交换树脂法方法准确,操作简单,样品用量少,树脂可再生后重复利用,成本低,不失为一个理想的选择。

c. 顺铂在体内很容易降解,容易和血浆蛋白形成较为牢固的结合物,影响体内分析测定。作者采用柱前衍生化高效液相色谱法测定其体内行为:顺铂与内标物均与衍生化试剂 DDTC 的 NaOH 溶液反应,分别生成 $\text{Pt}(\text{DDTC})_2$ 和 $\text{Ni}(\text{DDTC})_2$,以氯仿提取这两个产物,在 254 nm 处有最大吸收。处理时加入过量乙酸乙酯,可利用其盐析作用促进蛋白质解离,从而使药物释放完全。衍生化反应后,用氯仿提取时振摇要充分且迅速,这样才能够提取完全,保证分析结果的准确性。

4 结论

顺铂固体脂质纳米粒的最优处方为:顺铂 20 mg、单硬脂酸甘油酯 0.1 g、大豆磷脂 0.2 g、F-68 0.1 g、Tween 80 50 mg,最终 SLN 混悬液药物含量为 $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$;该处方平均粒径为 $(125\pm 17)\text{ nm}$,粒度分布窄,zeta 电位为 $(-46.4\pm 10.3)\text{ mV}$,包封率为 63.4%;大鼠静脉给药后,与同剂量顺铂溶液剂比较,顺铂 SLN 具有明显的肝靶向性,达到了高效低毒的目的。

参考文献:

- [1] GIACCONE C. Clinical perspectives on platinum resistance[J]. *Drugs*, 2000, 59(4): 9-17.
- [2] 王建新, 张志荣. 固体脂质纳米粒的研究进展[J]. *中国药学杂志*, 2001, 36(2): 73-76.
- [3] 刘洋, 刘祝东, 何键, 等. 高效液相色谱法测定顺铂注射液中顺铂的含量[J]. *分析试验室*, 2004, 23(2): 74-75.

- [4] 赵妍, 于彬, 邓意辉, 等. 主动载药法制备硫酸长春新碱脂质体及其包封率的测定[J]. 中国药学杂志, 2005, 40 (20): 1559–1562.
- [5] AUGHEY V, COCIGLIO M, GALTIER M, et al. High-performance liquid chromatographic determination of cis-dichlorodiammineplatinum () in plasma ultrafiltrate[J]. J Pharm Biomed Anal, 1995, 13 (9): 1173–1178.
- [6] FLORES A L, JURADO R, LOPEZ P G. A high-performance liquid chromatographic assay for determination of cisplatin in plasma, cancer cell, and tumor samples[J]. J Pharmacol Toxicol Methods, 2005, 52 (3): 366–372.
- [7] 周琼. 高效液相色谱法测定乳剂中顺铂含量[J]. 中国医院药学杂志, 1999, 19 (2): 78–80.
- [8] 唐星, 何仲贵, 于叶玲, 等. 顺铂水溶液稳定性研究[J]. 沈阳药科大学学报, 2000, 17 (6): 405–407.
- [9] YOTSUYANAGI T, USAMI M, NODA Y. Computational consideration of cisplatin hydrolysis and acid dissociation in aqueous media: effect of total drug concentration[J]. Int J Pharm, 2002, 246 (1/2): 95–104.

Preparation and tissue distribution of cisplatin loaded solid lipid nanoparticles in rats

TIAN Jie, PANG Xiu-juan, WU Dong-dong, Yu Ke-fu, MA Ying-jie, ZHOU Jun

(School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract: Objective To prepare cisplatin loaded solid lipid nanoparticles (CDDP-SLNs) and investigate its tissue distribution in rats. **Methods** CDDP-SLNs was prepared by an emulsification dispersion-ultrasonication method. The optimal formulation was obtained by orthogonal experiment design based on the encapsulation efficiency (EE%) and appearance. Morphology, particle size and zeta potential of the SLNs were investigated. A precolumn derivatization HPLC method was established to measure cisplatin content in different tissues. Tissue distribution study was carried out in rats. **Results** The optimized SLNs were spherical and uniform under transmission electron microscopy (TEM). The mean particle size, zeta potential and EE% were (125 ± 17) nm, (-46.4 ± 10.3) mV and 63.4%, respectively. Tissue distribution study indicated that after intravenous administration of CDDP-SLN, CDDP concentration was the highest in the liver, followed by plasma and kidney, and it was the lowest in lung. **Conclusion** CDDP-SLN prepared by this technology exhibited high quality and liver targeting effect in rats.

Key words: pharmaceutics; solid lipid nanoparticles; emulsification dispersion-ultrasonication; cisplatin; tissue distribution; targeting effect

(责任编辑: 赵桂芝)