

中国医药工业杂志

Chinese Journal of Pharmaceuticals

- 全国中文核心期刊
- 中国生物医学核心期刊
- 中国期刊方阵入选期刊

- 中国科技核心期刊
- 中国科学引文数据库来源期刊
- 华东地区优秀期刊

本期导读：

膜控释药片剂的包衣技术研究进展

袁春平，区淑蕴，侯惠民

渗透泵片剂的新型热塑包衣技术Ⅱ.包衣膜的评价

袁春平，侯惠民，区淑蕴，陈锦霞，吴志权，梁浩明



微信号 : cjph-cjph



主 办
上海医药工业研究院
中国药学会
中国化学制药工业协会

2

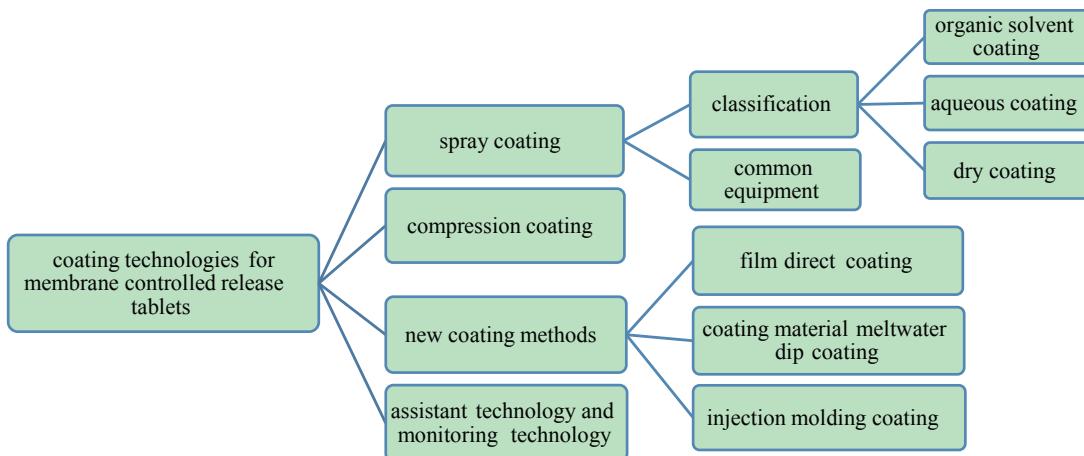
2019年2月

第50卷

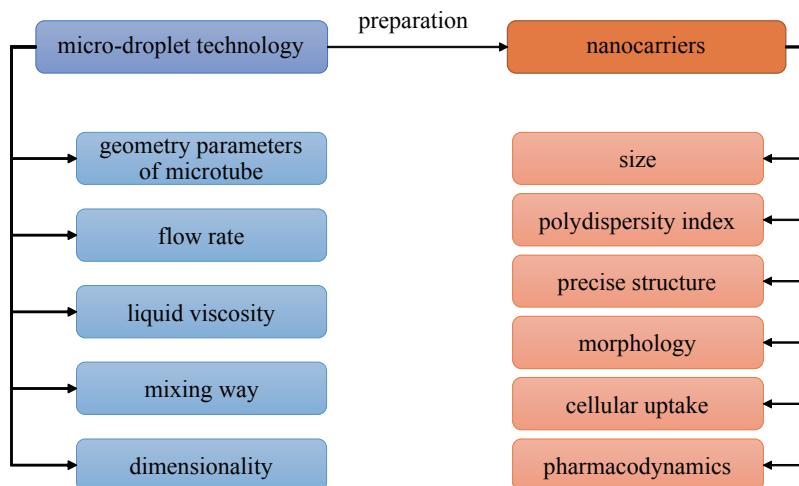
Vol.50 No.2

· 专论与综述 (Perspectives & Review) ·

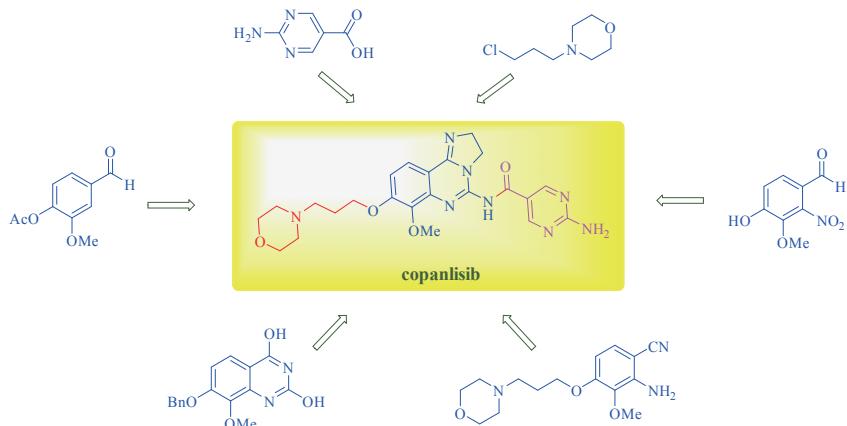
- 139 膜控释药片剂的包衣技术研究进展.....袁春平, 区淑蕴, 侯惠民*
Research Progress of Coating Technologies for Membrane Controlled Release Tablets.....
.....YUAN C P, OUS Y, HOU H M*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.02.001



- 148 微液滴制备技术在功能化纳米载体构建中的应用.....沈小钟, 葛铭晨, 付泯宇, 王亚晶*
Application of Micro-droplet Technology in Preparation of Functionalized Nanocarriers.....
.....SHEN X Z, GE M C, FU M Y, WANG Y J*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.02.002



Application of Micro-droplet Technology in the Preparation of Functionalized Nanocarriers

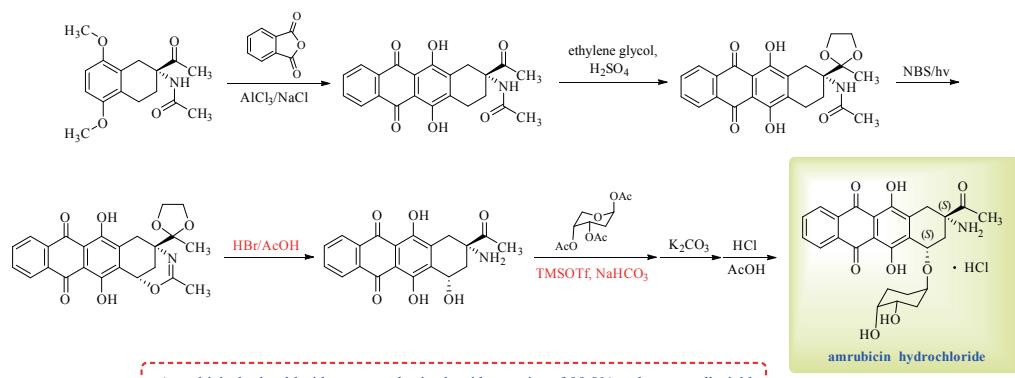


· 研究论文(Paper) ·

Comparison of H Membrane Prepared by HHL Method and Spray Coating Membrane

Contents	H membrane	Spray coating membrane
Properties and permeation rule of the membrane (custom-designed osmotic water permeation volume measuring device)	The permeation rule was consistent. The osmotic water permeation volume was inversely proportional to the membrane thickness, and proportional to the content of porogen.	
Chemical structure (infrared spectrum analysis)	The chemical structure was identical. There were no chemical reactions during the mechanical and physical blending preparation process.	
Microstructure (SEM)	Smooth and flat	Uneven and rough
Surface	Gully-shape	Sponge-like honeycomb
Cross section		

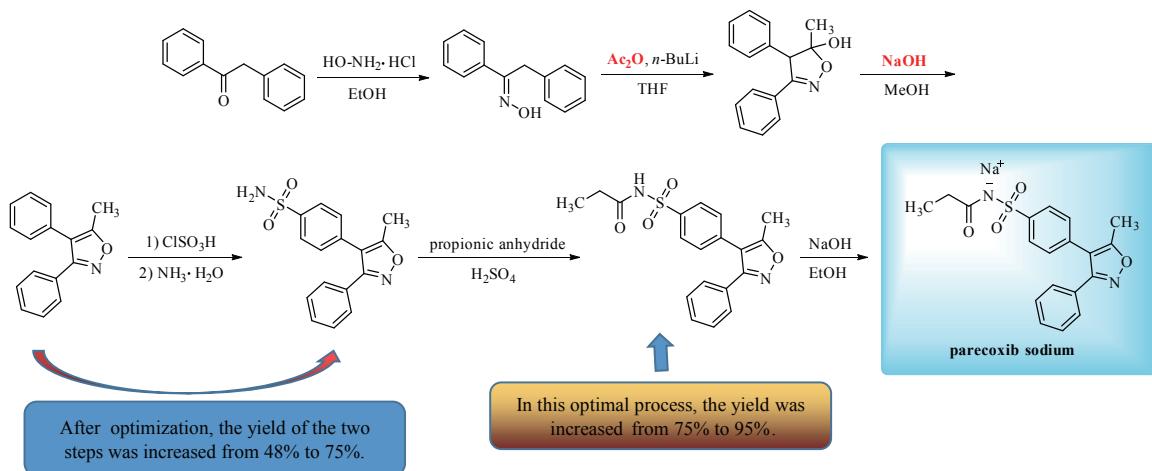
Notes: "HHL Method" refers to Hot melt extrusion of membrane - Heat skin coating - Laser melt cutting (abbreviated as HHL)



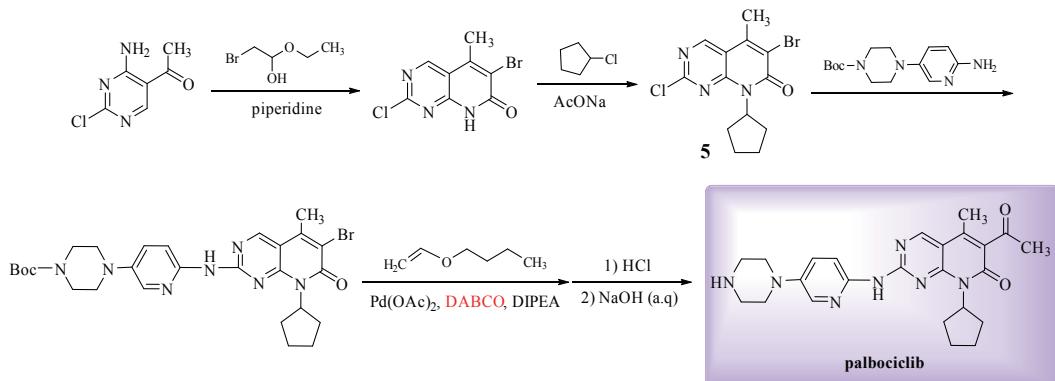
Amrubicin hydrochloride was synthesized with a purity of 99.8% and an overall yield of 39.5%. The optimized process was suitable for industrial production.

amrubicin hydrochloride

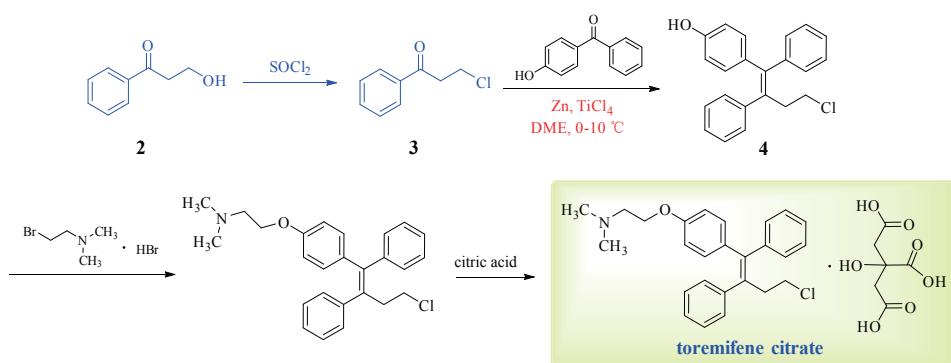
182 帕瑞昔布钠的合成工艺改进.....刘彦龙, 胡中元, 邢磊, 郭亚辉, 刘飞*
 Improved Synthesis of Parecoxib Sodium.....LIU Y L, HU Z Y, XING L, GUO Y H, LIU F*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.02.006



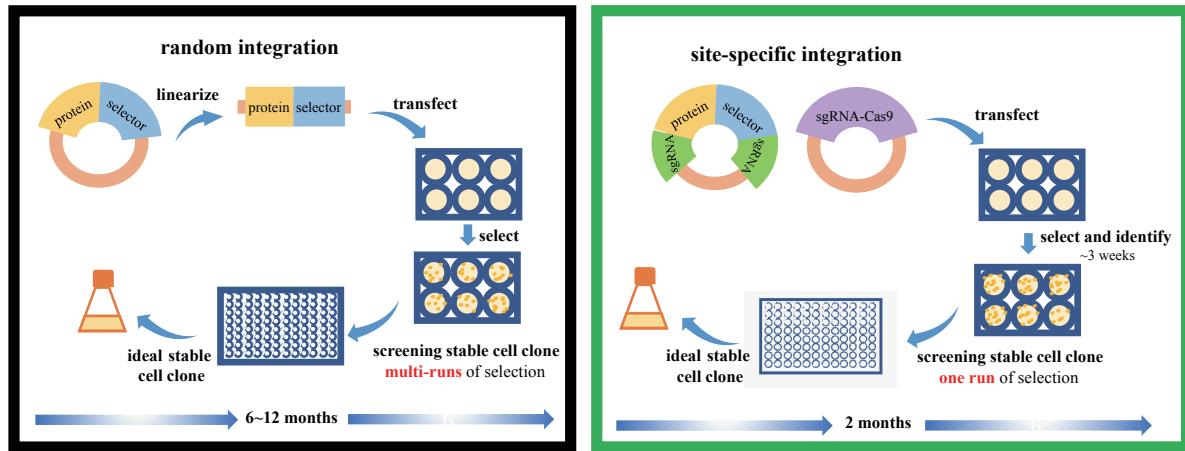
186 帕博昔布合成工艺改进.....陈经伟, 彭秀玲, 徐甜甜, 程青芳*
 Improved Synthesis of Palbociclib.....CHEN J W, PENG X L, XU T T, CHENG Q F*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.02.007



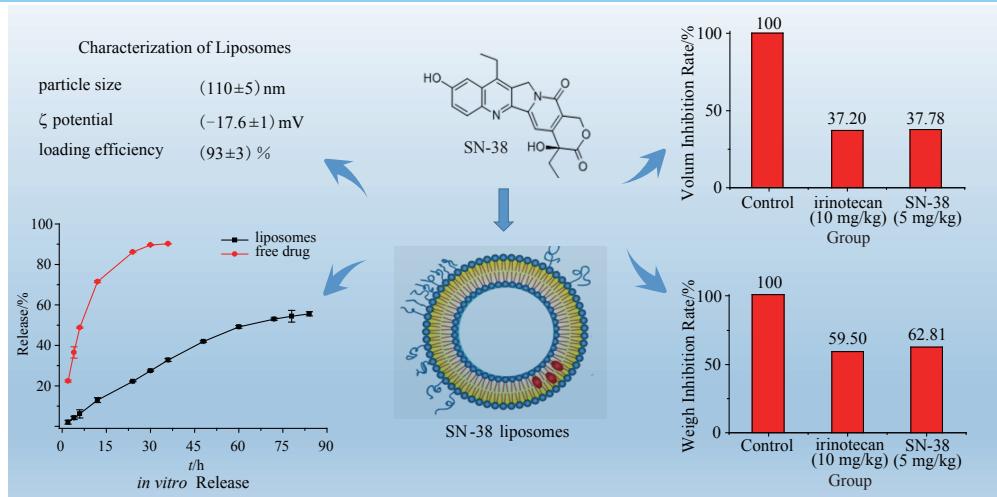
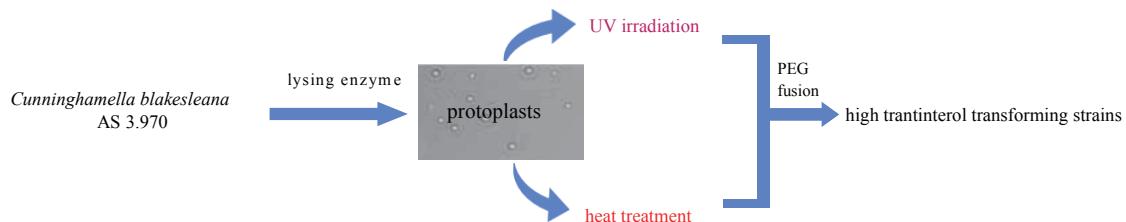
190 枸橼酸托瑞米芬的合成工艺改进.....邱铄, 张娟
 Improved Synthesis of Toremifene Citrate.....QIU S, ZHANG J
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.02.008



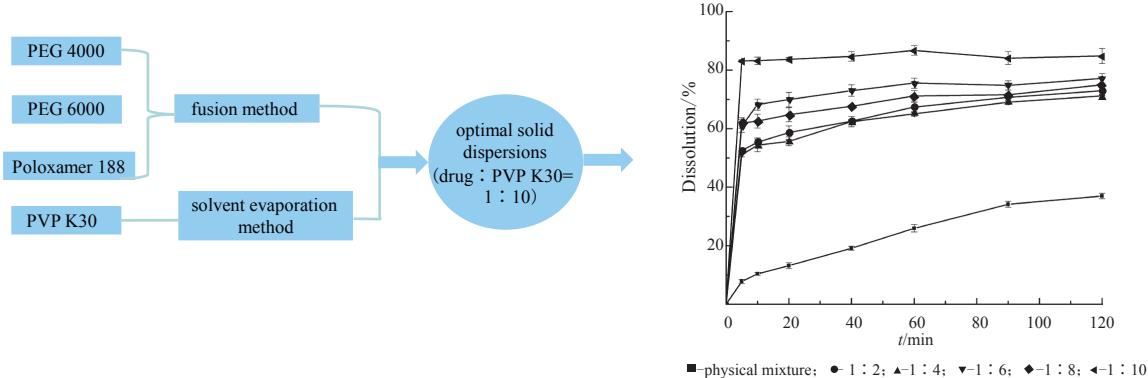
The chlorination of sulfur oxychloride was placed in the first step, which could avoid the degradation and isomerization of the product.
 The reaction conditions of **4** were optimized. Under the optimal conditions, the (*Z*)-isomer ratio of **4** was high (*Z*:*E*=8:1).



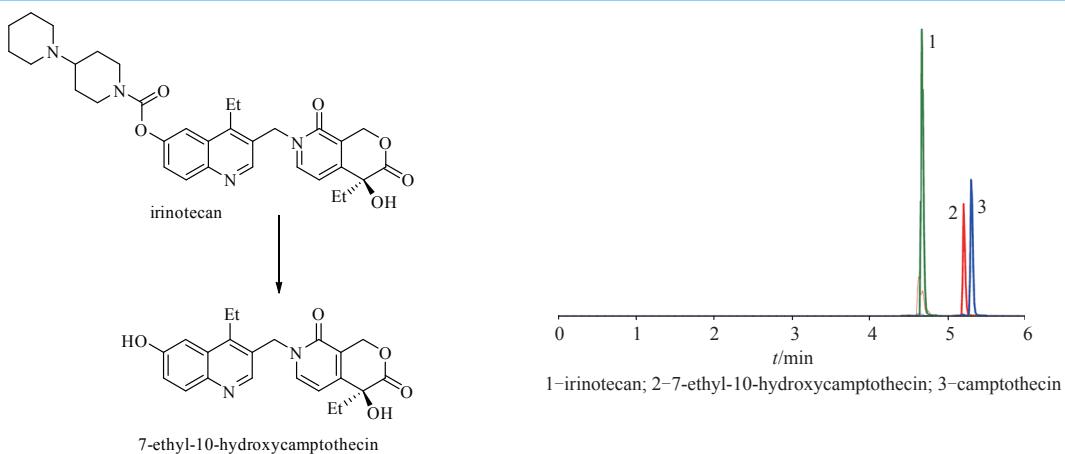
The site-specific integration method with Crispr/Cas9 technology can construct more stable and higher expression cell lines with less time than the random integration method.



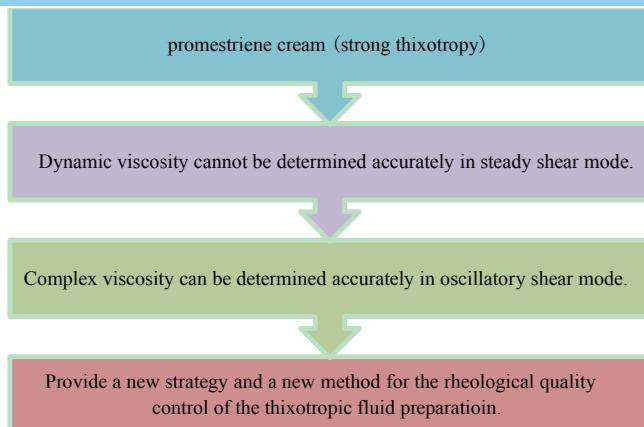
210 二甲基姜黄素固体分散体的制备及表征.....徐德锋, 刘亚林, 王文杰, 周欢*
 Preparation and Characterization of Dimethylcurcumin Solid Dispersions.....XUD F, LIU Y L, WANG W J, ZHOU H*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.02.012



216 人血浆中伊立替康及其活性代谢产物的HPLC-MS/MS 法测定.....汪源, 吴丽婷, 范颖超, 林凤, 庄文芳*
 Determination of Irinotecan and Its Active Metabolite in Human Plasma by HPLC-MS/MSWANG Y, WUL T, FAN Y C, LIN F, ZHUANG W F*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.02.013



220 普罗雌烯乳膏流变学性质质量控制方法的建立.....吴晓鸾, 马建芳, 任飞亮, 凌霞, 王林波*
 Establishment of Quality Control Method for Rheological Properties of Promestriene Cream.....WUX L, MA J F, REN F L, LING X, WANG L B*
 DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.02.014



- 226 注射用粉末剂型仿制药一致性评价关键技术要点解析..... 盖荣银, 赵同新, 姚劲挺, 黄涛宏, 谢沐风*
Analysis of Key Evaluation Points for Consistency Evaluation of Generic Drug Dosage Forms for Injection..... GAI R Y, ZHAO T X, YAO J T, HUANG T H, XIE M F*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.02.015
- 229 FDA-EU 药品检查互认协议的推出对我国制药企业的影响..... 范琳琳, 梁毅*
Implementation of FDA-EU Mutual Recognition Agreement for the Impact of Pharmaceutical Enterprises in China..... FAN L L, LIANG Y*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.02.016
- 233 欧盟药品上市许可持有人制度下药品共用生产设施风险管理研究及对我国的借鉴..... 汤涵, 魏靖哲, 蒋蓉*
Research on Europe Risk Management of Drug Shared Facility under Marketing Authorization Holder Institution and Its Enlightenment..... ANG H, WEI J Z, JIANG R*
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.02.017
- 237 药械产品存放现场温湿度动态实时监控系统的设计..... 田建军, 王亮, 申月波, 焦雄飞, 韩凤田
Design of Field Storage Temperature and Humidity Dynamic Real-time Monitor and Control System for Medical Products..... TIAN J J, WANG L, SHEN Y B, JIAO X F, HAN F T
DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.02.018

· 其他 ·

广告索引 (215)

《中国医药工业杂志》征订 (240)

中国医药工业杂志

ZHONGGUO YIYAO GONGYE ZAZHI

(月刊, 1970年11月创刊)

2019年第50卷 第2期 2月10日出版

版权所有



Monthly (Founded in 1970)

Vol.50 No.2 February 10, 2019

©All Rights Reserved

主 管	上海医药工业研究院	Director	Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry
主 办	上海医药工业研究院 中国药学会 中国化学制药工业协会	Sponsor	Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry Chinese Pharmaceutical Association China Pharmaceutical Industry Association
协 办	浙江海正集团有限公司 上海数图健康医药科技有限公司 山东罗欣药业集团股份有限公司 楚天科技股份有限公司 鲁南制药集团股份有限公司 广东东阳光药业有限公司	Assist Sponsor	Zhejiang Hisun Group Co., Ltd. China Pharmadl (Shanghai) Co., Ltd. Shandong Luoxin Pharmaceutical Group Stock Co., Ltd. Truking Technology Limited Lunan Pharmaceutical Group Co., Ltd. Sunshine Lake Pharma Co., Ltd., HEC Pharma Group
总 编 辑	周伟澄	Managing Editor	ZHOU Weicheng
副 总 编 辑	黄志红, 刘玲玲	Associate Managing Editor	HUANG Zhihong, LIU Lingling
责 任 编 辑	王 盈	Executive Editor	WANG Ying
编 辑 出 版	《中国医药工业杂志》编辑部	Editor by	Editorial Board of <i>Chinese Journal of Pharmaceuticals</i>
编 辑 部 地 址	上海市北京西路1320号(200040)	Address for Foreign Subscriber	1320 Beijing Road(W), Shanghai 200040, China
电 话	021-62793151	Tel	0 086-21-62793151
传 真	021-62473200	Fax	0 086-21-62473200
电 子 邮 件	cjph@pharmadl.com	E-mail	cjph@pharmadl.com
网 址	www.cjph.com.cn www.pharmadl.com	Web Site	http://www.cjph.com.cn http://www.pharmadl.com
广告发行联系			
电 话	021-62474272	Tel	021-62474272
传 真	021-62473200	Fax	021-62473200
电 子 邮 件	taoxh@pharmadl.com ouyy@pharmadl.com	E-mail	taoxh@pharmadl.com ouyy@pharmadl.com
印 刷	上海欧阳印刷厂有限公司	Printed by	Shanghai Ouyang Printing Co., Ltd.
发 行 范 围	公开发行		
国 内 发 行	上海市报刊发行局	Domestic Distributed by	Local Post Office
国 外 发 行	中国国际图书贸易集团有限公司 (北京399信箱, 100044)	Abroad Distributed by	China International Book Trading Corporation (P.O.Box 399, Beijing 100044, China)
国 内 订 阅	全国各地邮政局		

* 通信联系人: 如为第一作者则不加“*”号。征稿简则刊登于当年第1期 *To whom correspondence should be addressed

[期刊基本参数] CN 31-1243/R *1970*m*A4*102*zh*P*20.00* *18*2019-02

2019年版权归《中国医药工业杂志》编辑部所有, 除非特别声明, 本刊刊出的所有文章不代表本刊编委会的观点。

ISSN 1001-8255

CN 31-1243/R

国内邮发代号 4-205

国外邮发代号 M6070

CODEN: ZYGZEA

国内定价: 每册 20.00 元



微信号: cjph-cjph



微博: weibo.com/cjph

《中国医药工业杂志》第十五届编辑委员会

EDITORIAL BOARD OF 《CHINESE JOURNAL OF PHARMACEUTICALS》

(以姓名拼音为序)

名誉主编(HONORARY EDITOR-IN-CHIEF)

桑国卫*(SANG Guowei)

主任编委(EDITOR-IN-CHIEF)

陈芬儿*(CHEN Fener)

顾问(CONSULTANT)

白 骥(BAI Hua)

蒋建东(JIANG Jiandong)

王广基*(WANG Guangji)

副主任编委(ASSOCIATE EDITOR-IN-CHIEF) (^常务副主任编委)

陈 兵(CHEN Bing)

李明华(LI Minghua)

王 浩(^WANG Hao)

张贵民(ZHANG Guimin)

周 斌(ZHOU Bin)

陈凯先*(CHEN Kaixian)

孔德云(KONG Deyun)

吴晓明(WU Xiaoming)

陈代杰(^CHEN Daijie)

林剑秋(LIN Jianqiu)

王军志(WANG Junzhi)

张 霖(ZHANG Ji)

周伟澄(^ZHOU Weicheng)

丁 健*(DING Jian)

李绍顺(LI Shaoshun)

杨胜利*(YANG Shengli)

陈桂良(CHEN Guiliang)

潘广成(PAN Guangcheng)

魏宝康(WEI Baokang)

张万斌(ZHANG Wanbin)

朱建伟(ZHU Jianwei)

侯惠民*(HOU Huimin)

沈竞康(SHEN Jingkang)

朱宝泉(ZHU Baoquan)

胡文浩(HU Wenhao)

唐 岳(TANG Yue)

杨 超(YANG Chao)

张绪穆(ZHANG Xumu)

编委(MEMBER OF THE EDITORIAL BOARD)

蔡正艳(CAI Zhengyan)

丁锦希(DING Jinxi)

冯 军(FENG Jun)

古双喜(GU Shuangxi)

何严萍(HE Yanping)

黄志红(HUANG Zhihong)

李三鸣(LI Sanming)

刘 忠(LIU Zhong)

陆伟根(LU Weigen)

吕 扬(LÜ Yang)

朴虎日(PIAO Huri)

苏为科(SU Weike)

汤 磊(TANG Lei)

屠永锐(TU Yongrui)

王全瑞(WANG Quanrui)

吴 彤(WU Tong)

杨立荣(YANG Lirong)

殷 明(YIN Ming)

张庆伟(ZHANG Qingwei)

张志荣(ZHANG Zhirong)

郑起平(ZHENG Qiping)

周建平(ZHOU Jianping)

陈少欣(CHEN Shaixin)

董 琳(DONG Lin)

傅 磊(FU Lei)

郭 文(GUO Wen)

胡海峰(HU Haifeng)

金 拓(JIN Duo)

刘东飞(LIU Dongfei)

柳 红(LIU Hong)

陆伟跃(LU Weiyue)

马 璞(MA Jing)

邵 蓉(SHAO Rong)

孙会敏(SUN Huimin)

陶 涛(TAO Tao)

王建新(WANG Jianxin)

王 彦(WANG Yan)

吴 伟(WU Wei)

杨 明(YANG Ming)

尤启冬(YOU Qidong)

张庆文(ZHANG Qingwen)

赵临襄(ZHAO Linxiang)

钟大放(ZHONG Dafang)

周一萌(ZHOU Yimeng)

程卯生(CHENG Maosheng)

范代娣(FAN Daidi)

甘 勇(GAN Yong)

何 军(HE Jun)

胡又佳(HU Youjia)

李范珠(LI Fanzhu)

刘玲玲(LIU Lingling)

龙亚秋(LONG Yaqiu)

罗国强(LUO Guoqiang)

潘红娟(PAN Hongjuan)

沈 琦(SHEN Qi)

孙小强(SUN Xiaoqiang)

涂家生(TU Jiasheng)

王 健(WANG Jian)

王玉成(WANG Yucheng)

吴 勇(WU Yong)

杨苏蓓(YANG Subei)

张福利(ZHANG Fuli)

张卫东(ZHANG Weidong)

赵文杰(ZHAO Wenjie)

钟为慧(ZHONG Weihui)

朱建英(ZHU Jianying)

邓卫平(DENG Weiping)

方 浩(FANG Hao)

干荣富(GAN Rongfu)

何 菱(HE Ling)

黄则度(HUANG Zedu)

李建其(LI Jianqi)

刘新泳(LIU Xinyong)

卢 懿(LU Yi)

罗一斌(LUO Yibin)

潘卫三(PAN Weisan)

宋秋玲(SONG Qiuling)

孙 逊(SUN Xun)

涂 涛(TU Tao)

王 曼(WANG Min)

吴传斌(WU Chuanbin)

吴勇琪(WU Yongqi)

杨玉社(YANG Yushe)

张启明(ZHANG Qiming)

张英俊(ZHANG Yingjun)

郑高伟(ZHENG Gaowei)

周虎臣(ZHOU Huchen)

朱雪焱(ZHU Xueyan)

*院士

《中国医药工业杂志》编辑部成员(EDITORIAL STAFF)

总编辑(Managing Editor): 周伟澄(ZHOU Weicheng)

副总编辑(Associate Managing Editor): 黄志红(HUANG Zhihong), 刘玲玲(LIU Lingling)

责任编辑(Editor): 刘玲玲(LIU Lingling)(兼), 王 盈(WANG Ying), 郭琳琳(GUO Linlin), 马建芳(MA Jianfang)

美术编辑(Art Editor): 沈建成(SHEN Jiancheng), 陆燕玲(LU Yanling), 钱苗苗(QIAN Miaomiao)

编辑助理(Editorial Assistant): 韦旭华(WEI Xuhua)

广告、发行负责(Advertisement Manager): 刘敬岩(LIU Jingyan), 金 雷(JIN Lei), 欧阳怡(OUYANG Yi)

SN-38 脂质体制备、质量评价及初步药效学研究

孙丽¹, 孙考祥^{1*}, 陈伶俐²

(1. 烟台大学药学院, 山东烟台 264000; 2. 中国科学院上海药物研究所药物制剂研究中心, 上海 201203)

摘要:采用薄膜水化-高压均质法制备具有长循环性质的注射用7-乙基-10羟基喜树碱(SN-38)脂质体。透射电镜观察到所得脂质体呈球形或椭球形, 动态光散射法测得其平均粒径为(110±5)nm、多分散系数为0.25±0.05、 ζ 电位为(-17.6±1)mV。葡聚糖凝胶柱色谱法测得本品的包封率达(93±3)%。体外释放显示SN-38脂质体在1%十二烷基硫酸钠的磷酸盐缓冲液(pH 7.4)中84 h累积释放率到达55.6%, 具有一定的缓释效果。药效学试验结果显示, SN-38脂质体(5 mg/kg)对人胰腺癌AsPC-1裸鼠皮下移植瘤的抑制效果与伊立替康注射液(10 mg/kg)相当。

关键词:7-乙基-10羟基喜树碱(SN-38); 伊立替康; 脂质体; 薄膜水化-高压均质法; 体外释放; 药效学

中图分类号: R944.9 文献标志码: A 文章编号: 1001-8255(2019)02-0204-06

DOI: 10.16522/j.cnki.cjph.2019.02.011

Preparation, Quality Evaluation and Preliminary Pharmacodynamics of SN-38 Liposomes

SUN Li¹, SUN Kaoxiang^{1*}, CHEN Lingli²

(1. School of Pharmaceutical Sciences, Yantai University, Yantai 264000;

2. Center for Pharmaceutics Research, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203)

ABSTRACT: Main challenges of the clinical use of 7-ethyl-10-hydroxycamptothecin (SN-38) are its facile transition between the active lactone form and the inactive carboxylate form under physiological conditions and its low solubility. The purpose of this study was to develop SN-38 long-circulating liposomes for injection with thin film hydration-high pressure homogenization method to solve these problems and to evaluate its antitumor activity. The spherical and elliptic morphology of the prepared liposomes were observed by transmission electron microscopy (TEM). According to the results of dynamic light scattering, the average diameter, polydispersion index (PDI) and ζ potential of the products were (110±5) nm, 0.25±0.05 and (-17.6±1) mV, respectively. The encapsulation efficiency up to 90% was determined by glucan gel column chromatography. *In vitro* release test was carried out with phosphate buffer (pH 7.4) containing 1% sodium dodecyl sulfate (SDS) as release medium. The results showed that the cumulative release amount of SN-38 at 84 h from the liposomes was 55.6%, indicating a long circulation property compared to SN-38 solution. Furthermore, the pharmacodynamic property of the SN-38 liposomes was evaluated with nude mice bearing AsPC-1 human pancreatic carcinoma as models, and the inhibition effect of SN-38 liposomes on tumors was investigated by taking irinotecan injection (CPT-11) as the positive control. The results showed that SN-38 liposomes (5 mg/kg) had a similar inhibition effect compared with irinotecan injection (10 mg/kg).

Key Words: 7-ethyl-10-hydroxycamptothecin (SN-38); irinotecan; liposome; thin film hydration-high pressure homogenization method; *in vitro* release; pharmacodynamics

收稿日期: 2018-08-03

作者简介: 孙丽(1994—), 女, 硕士, 从事药剂学及药物新剂型的研发。

Tel: 15684150756

E-mail: 417190302@qq.com

通信联系人: 孙考祥(1964—), 男, 教授, 从事药物新剂型与新技术、生物药剂学与药代动力学的研究。

Tel: 0535-3808266

E-mail: sunkx@ytu.edu.cn

喜树碱是从喜树皮和果实中提取的抗肿瘤植物药, 对胃肠道肿瘤和头颈癌等有良好的疗效, 但会引发中性粒细胞减少和迟发型腹泻等不良反应^[1-2]。7-乙基-10羟基喜树碱(**1**)属于喜树碱类药物, 是已上市药物伊立替康(**2**)的活性代谢产物^[3], 其抗肿瘤活性是**2**的100~1 000倍^[4-5], 具有作用强、活性高的特点。**1**的作用机

制是通过稳定拓扑异构酶(Topo) I与DNA形成的复合物而促进细胞凋亡,继而干扰DNA的复制^[6-7]。

1虽然具有较强的抗肿瘤活性,但极难溶于水和大部分生物相容性溶剂,与酸不能成盐。此外,**1**的内酯环是其抗肿瘤活性的关键部位,但该结构不稳定,对热、光、碱等敏感,在pH 7或以上时大部分的内酯结构开环变成羧酸盐,抗肿瘤活性显著降低,不良反应增加,极大限制了**1**的应用。

脂质体是由磷脂与胆固醇组成的具有双层结构的封闭囊泡,生物相容性优良,作为载体有较大的优势,并具有被动靶向、长效、缓释等优点^[8]。本研究采用薄膜水化-高压均质法制备**1**长循环脂质体,拟为开发高效、低毒、长循环的**1**新制剂提供帮助。

1 仪器与试药

Alliance 2695型高效液相色谱仪(美国Waters公司); Nano-ZS90型粒度测定仪(英国Malvern公司); M-110型微射流高压均质机(美国Microfluidics公司); ZLXS 5003Y型纯水仪(美国Millipore公司);Tecnai G2 F20型透射电镜(美国FEI公司)。

1原料药(上海朴颐化学科技有限公司,含量98.0%,批号S589950);**2**注射液(自制,10 mg:1 ml);盐酸伊立替康三水合物(上海创诺制药有限公司,含量101.0%,批号DA056-2-180601);5%葡萄糖溶液(华裕制药有限公司,批号15071302);氢化大豆磷脂(HSPC,批号525600-2150562-01)、二硬脂酰磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇2000(DSPE-PEG₂₀₀₀,批号560400-2150367-01)(上海东尚生物科技有限公司);胆固醇(上海艾韦特医药科技有限公司,批号B6125);葡聚糖凝胶Sephadex G-50(美国GE公司);乙腈、甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

BALB/c裸鼠[雌性,(20±2)g,中国科学院上海药物研究所,许可证编号:SYXK(沪)2013-0049]。

人胰腺癌AsPC-1细胞株(中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库)。

2 方法与结果

2.1 处方及工艺

采用薄膜水化-高压均质法制备**1**脂质体悬液。称取**1**原料药20 mg、HSPC 600 mg、胆固醇

200 mg和DSPE-PEG₂₀₀₀ 120 mg,置圆底烧瓶中,加入氯仿:甲醇(8:1)40 ml,超声溶解,于60 °C减压旋蒸除去有机溶剂成膜。加入2 mmol/L乙酸钠缓冲液(pH 5.0)40 ml,水化形成脂质体初乳,再经微射流高压均质机以137.9 MPa的压力均质5次,即得澄清透明的**1**脂质体悬液。再经0.22 μm微孔滤膜过滤除菌,4 °C密封保存。

2.2 脂质体的形态及粒度分布

2.2.1 脂质体的形态

取“2.1”项下制备的**1**脂质体悬液,以水适当稀释后用2%磷钨酸负染,滴至专用铜网上,自然挥干,静置使粒子在铜网上沉积,用透射电镜观察其形态。结果在透射电镜下观察到**1**脂质体的外观呈球形或椭球形(图1)。

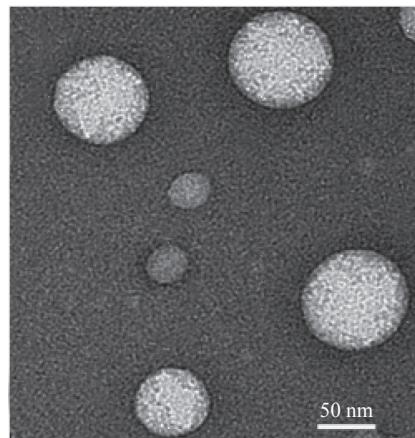


图1 **1**脂质体的透射电镜照片($\times 3\,000$)
Fig.1 TEM Image of **1** Liposomes ($\times 3\,000$)

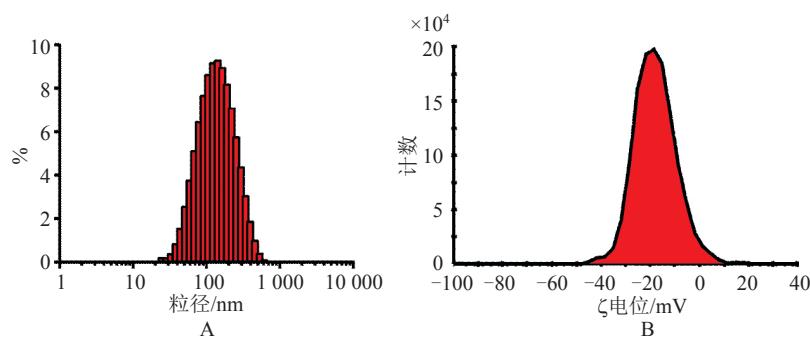
2.2.2 **1**脂质体的粒度分布及 ζ 电位测定

取“2.1”项下制备的脂质体悬液,以超纯水稀释后,测定粒径及 ζ 电位。结果(图2)显示,脂质体的平均粒径为(110±5)nm($n=3$),PDI为0.25±0.05($n=3$),表明制备的脂质体粒度分布比较均一; ζ 电位为(-17.6±1)mV($n=3$)。

2.3 **1**脂质体包封率的测定

2.3.1 色谱条件

色谱柱Waters XBridge C₁₈柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);流动相乙腈:水(30:70);检测波长

图 2 1 脂质体的粒度分布 (A) 及 ζ 电位分布 (B)Fig.2 Particle Size Distribution (A) and ζ Potential Distribution (B) of 1 Liposomes

265 nm; 柱温 30 ℃; 流速 1.0 ml/min; 进样量 20 μ l。

2.3.2 方法学考察

以甲醇配制 1 的系列浓度溶液, 分别进样测定。以峰面积 (A) 为纵坐标、1 浓度 (c) 为横坐标进行线性回归, 得到的标准曲线方程为 $A=65\ 922.17c-1435.12$ ($r=0.999\ 9$), 结果表明 1 浓度在 0.25 ~ 10 μ g/ml 范围内线性良好。

取同一供试品溶液, 按上述色谱条件重复进样测定 5 次, 记录峰面积, 计算得 RSD 为 0.60% ($n=5$), 表明精密度良好。取同一供试品溶液, 按“2.3.1”项下色谱条件在 0、2、4、6、8 和 12 h 进样测定, 计算得 RSD 为 1.01% ($n=6$), 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。高、中、低浓度样品的平均加样回收率分别为 $(102.45\pm0.33)\%$ 、 $(100.00\pm0.28)\%$ 、 $(99.78\pm1.93)\%$ ($n=3$)。

2.3.3 洗脱曲线的绘制

取充分溶胀 (冷水中浸泡 12 h 以上) 的葡聚糖凝胶 Sephadex G-50, 装填于色谱柱内, 制备凝胶柱 (45 cm×1 cm), 共制备 2 根。取 1 溶液 (取 1 原料药 5 mg, 加入 10 mmol/L 氢氧化钠溶液 10 ml 溶解即得) 及“2.1”项下制备的 1 脂质体悬液 0.5 ml 上柱, 分别以 10 mmol/L 氢氧化钠溶液及 25 mmol/L 乙酸钠缓冲液 (pH 5.0) 洗脱。按每管 2 ml 收集洗脱液; 碱洗脱液加入盐酸酸化后进样测定, 带有乳光的酸洗脱液用甲醇溶解后进样测定。结果显示 1 脂质体在第 7 ~ 14 管流出, 游离药物在第 20 ~ 44 管流出, 表明游离药物与脂质体可实现良好的分离 (图 3)。

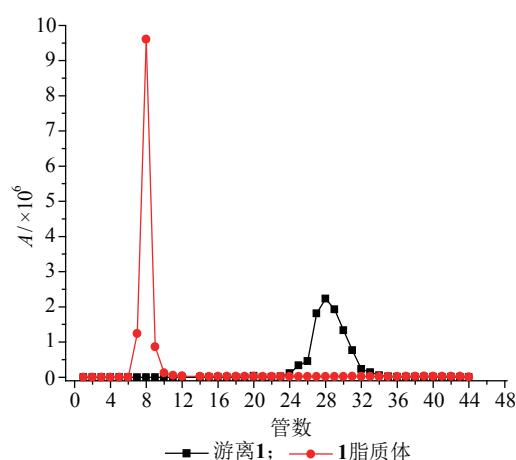


图 3 洗脱曲线

Fig.3 Elution Curves of 1 Liposomes

2.3.4 柱回收率与柱加样回收率

配制 3 种不同浓度的 1 溶液, 分别取 0.5 ml 上柱, 将收集的药物组分酸化后, 按“2.3.1”项下条件进行色谱分析, 计算柱回收率。结果平均值为 $(96.23\pm2.33)\%$ ($n=3$)。另将 3 种不同浓度的 1 溶液与空白脂质体混合, 得标准混合液, 分别取 0.5 ml 上柱, 将收集的药物组分酸化后进样测定, 计算得柱加样回收率, 结果平均值为 $(101.53\pm2.63)\%$ ($n=3$)。

2.3.5 包封率测定

精密量取“2.1”项下 1 脂质体悬液 0.5 ml 上柱, 先以 25 mmol/L 乙酸钠缓冲液 (pH 5.0) 洗脱至脂质体组分全部流出, 再换用 10 mmol/L 氢氧化钠溶液洗脱未包封的游离药物。按洗脱曲线收集脂质体组分, 移至 50 ml 量瓶中, 用甲醇定容, 摆匀后精密

量取 5 ml 置 10 ml 量瓶，再用甲醇定容，用于测定脂质体中包载的药量 W 。另取脂质体悬液 0.5 ml 置 50 ml 量瓶中，同法操作，测得脂质体悬液中的总药量 W_0 。按“2.3.1”项下色谱条件分别进样测定，计算得 1 脂质体的包封率为 (93±3)% ($n=3$)。

2.4 脂质体体外释放测定

精密量取“2.1”项下 1 脂质体悬液和 1 溶液 1 ml，分别置经预处理的透析袋（截留分子量 10 000）中，将袋口扎紧，置释放介质 [1% 十二烷基硫酸钠 (SDS) 的 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液 (PBS, pH 7.4)] 20 ml 中，于 (37±5)℃ 恒温振荡，转速为 100 r/min。分别于 2、4、6、12、24、30、36、48、60、72、78 和 84 h 取出全部释放介质（及时更换同温等量释放介质）。取不同时间点的释放外液 1.5 ml，加入 10 mol/L 盐酸 20 μl 酸化后按“2.3.1”项下条件测定，计算累积释放率 (Q)。结果表明，1 溶液在 36 h 时的释药量可达 90.2%，而 1 脂质体在 84 h 时的累积释放率为 55.6%，表明 1 脂质体具有一定的长循环和缓释效果（图 4）。

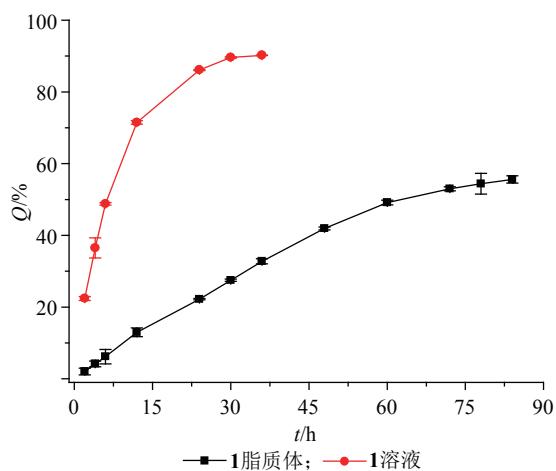


图 4 1 脂质体的体外释放曲线 ($n=3$)
Fig.4 Release Curves of 1 Liposomes ($n=3$)

2.5 药效学试验

2.5.1 动物模型的建立

将人胰腺癌 AsPC-1 细胞株以每只 5×10^6 个的密度接种至裸鼠右侧腋窝皮下。用游标卡尺测量肿瘤直径，待肿瘤生长至体积约为 300 mm^3 ，取出肿

瘤组织剪切成约 1.5 mm^3 的瘤块，在无菌条件下接种于健康裸鼠右侧腋窝皮下，待肿瘤生长至平均体积为 $140 \sim 150 \text{ mm}^3$ ，分组给药。

2.5.2 试验用药

2 注射液：取盐酸伊立替康三水合物 2.17 g（相当于含 2.2 g）、山梨醇 4.5 g、乳酸 90 mg，加入适量灭菌注射用水，超声溶解，用 1 mol/L 氢氧化钠溶液调至 pH 3.5，加灭菌注射用水至 200 ml，经 0.22 μm 滤膜无菌过滤，按每瓶 10 ml 分装。临用前以 5% 葡萄糖溶液稀释到给药浓度。

1 脂质体注射液：取“2.1”项下制备的脂质体悬液，临用前以 5% 葡萄糖溶液稀释至给药浓度。

2.5.3 试验分组与给药

将 18 只荷瘤裸鼠随机分为 3 组，分别为试验组（1 脂质体，5 mg/kg）、阳性对照组（2 注射液，10 mg/kg）、对照组（5% 葡萄糖溶液）。以上 3 组试验动物均每周尾静脉注射给药 3 次（间隔 1 d），连续给药 3 周，给药体积均为 0.2 ml。

2.5.4 药效评价指标

试验中观察裸鼠的一般生理情况及移植瘤体积增长情况。每周 2 次称量裸鼠体质量并记录，同时测量移植瘤长径 (a) 和短径 (b)，按公式计算肿瘤体积 V ($V=0.5\times a\times b^2$)。最后一次给药 24 h 后处死动物，剥离肿瘤并称重。以相对肿瘤体积 (relative tumor volume, RTV)、体积抑瘤率 (volum inhibition rate, VIR)、瘤重抑制率 (weigh inhibition rate, WIR) 为指标进行药效学评价。计算公式如下。

$$\text{RTV} = V_t / V_0$$

$$\text{VIR} = \text{RTV}_{\text{对照}} / \text{RTV}_{\text{给药}} \times 100\%$$

$$\text{WIR} = (W_{\text{对照}} - W_{\text{给药}}) / W_{\text{给药}} \times 100\%$$

式中， V_0 为分组给药时测量所得的肿瘤体积， V_t 为每次测量时的肿瘤体积； W 为瘤重。

2.5.5 结果与讨论

给药时的裸鼠已处于成熟期，此阶段的健康裸鼠体质量会维持在 20 g 左右。若给予荷瘤裸鼠的药物毒性大，会使裸鼠的体质量下降；若裸鼠的体质量无明显下降，则提示给予的药物无明显毒性。本试验中，给药组裸鼠的体质量无明显变化，表明 1

脂质体对裸鼠生长无明显的毒性（图5）。

1 脂质体组对人胰腺癌 AsPC-1 裸鼠皮下移植瘤的生长抑制作用与**2**注射液相当（图6），提示**1**脂质体 (5 mg/kg) 与**2**注射液 (10 mg/kg) 效用相当。

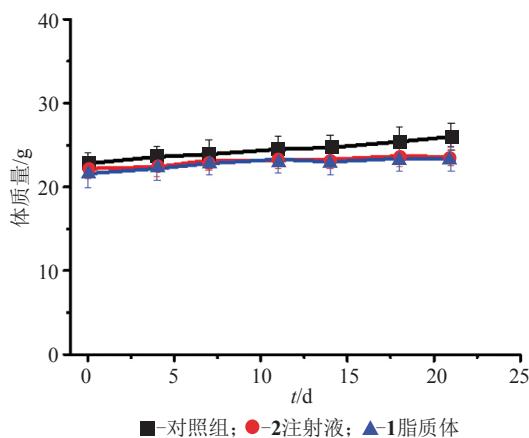


图5 荷瘤裸鼠的体质量 (n=6)

Fig.5 Body Weight of Tumor-Bearing Nude Mice (n=6)

3 讨论

1是伊立替康的活性代谢产物，水溶性和脂溶性均较差，本试验采用薄膜水化 - 高压均质法制备脂质体，操作简便快速，制得的脂质体粒径均一、包封率高，具备开发前景。DSPE-PEG₂₀₀₀ 的加入可以降低网状内皮细胞对于脂质体的摄取，延长药物体内循环的时间；并可使脂质体荷负电，增加脂质体的物理稳定性。由于目前无**1**的上市制剂，所以药效学试验中采用**2**注射液为阳性对照。理论上，**1**应分布在脂质体的双分子层中，可减少其内酯环的开环，有利于提高药效。因此在设计给药剂量时，**1**脂质体为5 mg/kg，而**2**注射液为10 mg/kg。本试验表明，试验组和阳性对照组对荷瘤裸鼠的肿瘤抑制效果相似，提示**1**脂质体的药效较高，具有一定的临床优势。

1脂质的体外释放采用动态透析法测定。由于**1**在PBS中溶解度较小，为达漏槽条件，在PBS

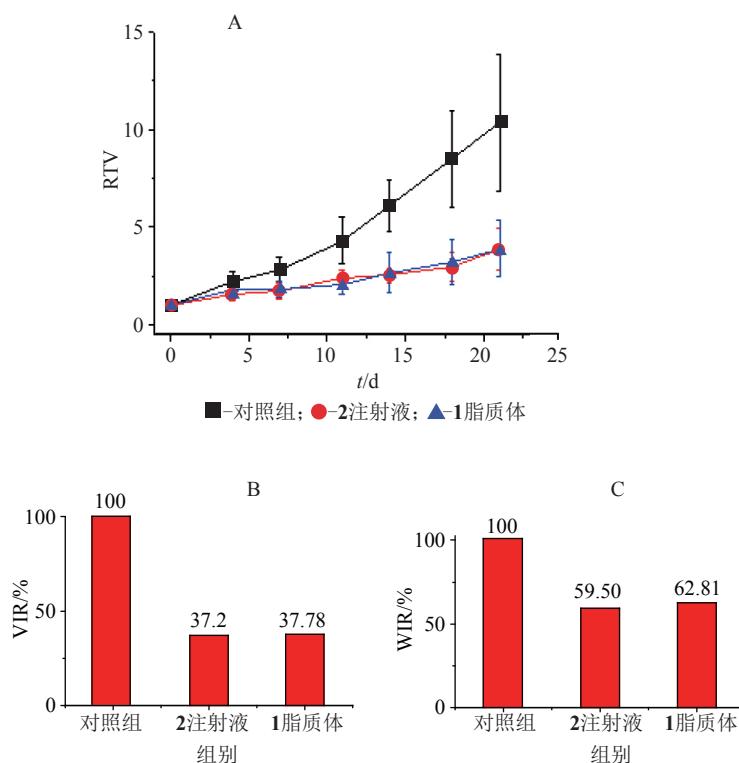


图6 各试验组的相对肿瘤体积 (A)、体积抑瘤率 (B) 和瘤重抑制率 (C) (n=6)

Fig.6 Relative Tumor Volume (A), Volum Inhibition Rate (B) and Weigh Inhibition Rate (C) of Each Group (n=6)

中加入 1% SDS。1 脂质体在 84 h 累积释放率为 55.6%，可能是因为 HSPC 的相变温度为 53 °C，在 37 °C 的释放条件下该脂质体较稳定，为药物在体内的长循环释放提供了可能。

采用制剂手段将 1 制备成脂质体弥补了其自身的生物药剂学缺陷，避免了体内开环失活。相较于自制的 2 注射液既提高了生物安全性又增强了疗效，因此 1 脂质体剂型具有开发前景。

参考文献：

- [1] BAI R, DENG X, WU Q, et al. Liposome-loaded thermo-sensitive hydrogel for stabilization of SN-38 via intratumoral injection: optimization, characterization, and antitumor activity [J]. *Pharm Dev Technol*, 2018, **23**(1): 106-115.
- [2] ENGLAND R M, HARE J I, BARNE S, et al. Tumour regression and improved gastrointestinal tolerability from controlled release of SN-38 from novel polyoxazoline-modified dendrimers [J]. *J Controlled Release*, 2017, **247**: 73-85.
- [3] BALA V, RAO S, PRESTIDGE C A. Facilitating gastrointestinal solubilisation and enhanced oral absorption of SN38 using a molecularly complexed silica-lipid hybrid delivery system [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2016, **105**: 32-39.
- [4] MOSALLAEI N, MAHMOUDI A, GHANDEHARI H, et al. Solid lipid nanoparticles containing 7-ethyl-10-hydroxycamptothecin (SN38): Preparation, characterization, *in vitro*, and *in vivo* evaluations [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2016, **104**: 42-50.
- [5] POMMIER Y. DNA topoisomerase I inhibitors: chemistry, biology, and interfacial inhibition [J]. *Chem Rev*, 2009, **109**(7): 2894-2902.
- [6] 代鲁平, 宋春霞, 邵先祥, 等. 抗癌药物喜树碱类衍生物的研究进展 [J]. 中国药学杂志, 2010, **45**(23): 1813-1815.
- [7] JENSEN N F, AGAMA K, ROY A, et al. Characterization of DNA topoisomerase I in three SN-38 resistant human colon cancer cell lines reveals a new pair of resistance-associated mutations [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2016, **35**: 56.
- [8] 徐勇军, 马波, 乔建斌, 等. 脂质体结构的影响因素 [J]. 昆明医科大学学报, 2012, (S1): 209-213.

(上接第 199 页)

- [12] SUN T, LI C D, HAN L, et al. Functional knockout of FUT8 in Chinese hamster ovary cells using CRISPR/Cas9 to produce a defucosylated antibody [J]. *Eng Life Sci*, 2015, **15**(6): 660-666.
- [13] ZONG H F, HAN L, DING K, et al. Producing defucosylated antibodies with enhanced *in vitro* antibody-dependent cellular cytotoxicity via FUT8 knockout CHO-S cells [J]. *Eng Life Sci*, 2017, **17**(7): 801-808.
- [14] KAWABE Y, KOMATSU S, KOMATSU S, et al. Targeted knock-in of an scFv-Fc antibody gene into the hprt locus of Chinese hamster ovary cells using CRISPR/Cas9 and CRIS-PITCh systems [J]. *J Biosci Bioeng*, 2018, **12**(5): 599-605.
- [15] DOENCH J G, FUSI N, SULLENDER M, et al. Optimized sgRNA design to maximize activity and minimize off-target effects of CRISPR-Cas9 [J]. *Nat Biotechnol*, 2016, **34**(2): 184-191.
- [16] KLEINSTIVER B P, PATTANAYAK V, PREW M S, et al. High-fidelity CRISPR-Cas9 nucleases with no detectable genome-wide off-target effects [J]. *Nature*, 2016, **529**(7587): 490-495.