

# 多西紫杉醇-双氢青蒿素偶联前药自组装纳米粒的稳定性、体外释放特征及组织分布<sup>△</sup>

李玉洁\*, 李 宁, 王蓉蓉, 张淑秋, 任国莲<sup>#</sup>(山西医科大学药学院, 山西 晋中 030619)

中图分类号 R917;R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2021)19-2371-07  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2021.19.11



**摘要** 目的:研究多西紫杉醇(DTX)-双氢青蒿素(DHA)偶联前药自组装纳米粒(DTX-S-S-DHA NPs)的稳定性、体外释放特征及组织分布。方法:采用高效液相色谱法进行DTX-S-S-DHA的体外分析;以粒径、多分散系数(PDI)和包封率(EE)为评价指标,考察DTX-S-S-DHA NPs在不同介质[水、生理盐水、磷酸盐缓冲液(PBS, pH 7.4)和RPMI 1640培养基]中的物理稳定性和长期稳定性;以含或不含10 mmol/L二硫苏糖醇(DTT)的30%乙醇溶液为释放介质,采用小杯法考察DTX-S-S-DHA NPs中DTX-S-S-DHA的体外释放特征;采用小动物活体成像仪考察经DiR染料标记的DTX-S-S-DHA NPs(DTX-S-S-DHA/DiR NPs)在乳腺癌荷瘤模型小鼠组织中的分布以及肿瘤靶向性。结果:在稳定性实验中,DTX-S-S-DHA NPs在水、生理盐水、PBS、RPMI 1640培养基中振荡24 h内,其粒径、PDI、EE均无明显变化;在4℃条件下保存时,随着保存时间的增加,其在生理盐水中的粒径逐渐增大,在PBS中的粒径逐渐减小,且在两者中的EE逐渐降低至75%以下,而在水和RPMI 1640培养基中的粒径、PDI、EE均无明显变化。在体外释放实验中,DTX-S-S-DHA NPs中的DTX-S-S-DHA在含10 mmol/L DTT的释放介质中基本不释放;而在不含DTT的释放介质中,其24 h累积释放率可达83%,符合一级动力学模型释放特征。在组织分布实验中,DTX-S-S-DHA/DiR NPs在小鼠肿瘤组织中的分布明显多于其他组织(心、肝、脾、肺、肾)。结论:DTX-S-S-DHA NPs在不同介质中均具有良好的物理稳定性,且在水和RPMI 1640培养基中具有良好的长期稳定性;其在还原环境中能迅速释放出母药,具有很好的肿瘤靶向性。

**关键词** 多西紫杉醇;双氢青蒿素;偶联前药;自组装纳米粒;稳定性;体外释放;组织分布

## Stability, *in vitro* Release and Tissue Distribution of Docetaxel-dihydroartemisinin Conjugated Prodrug Self-assembled Nanoparticles

LI Yujie, LI Ning, WANG Rongrong, ZHANG Shuqiu, REN Guolian (School of Pharmacy, Shanxi Medical University, Shanxi Jinzhong 030619, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the stability, *in vivo* release characteristics and tissue distribution of docetaxel (DTX)-dihydroartemisinin (DHA) conjugated prodrug self-assembled nanoparticles (DTX-S-S-DHA NPs). METHODS: HPLC method was adopted to analyze DTX-S-S-DHA *in vitro*. The physical and long-term stability of DTX-S-S-DHA NPs in mediums [water, saline, phosphate buffer (PBS, pH 7.4) and RPMI 1640 medium] were investigated by using particle size, polydispersity index (PDI) and encapsulation efficiency (EE) as evaluation indexes. The *in vitro* release characteristics of DTX-S-S-DHA released from DTX-S-S-DHA NPs was also investigated with small glass method, using 30% ethanol solution with or without 10 mmol/L dithiothreitol (DTT) as medium. The small live animal imager was adopted to investigate the tissue distribution and tumor targeting capability of DiR-labeled DTX-S-S-DHA NPs (DTX-S-S-DHA/DiR NPs) in breast cancer bearing mice. RESULTS: In stability test, there was no statistical difference in particle size, PDI and EE of DTX-S-S-DHA NPs incubated in water, normal saline, PBS and RPMI 1640 medium for 24 h. When stored at 4℃, with the increase of storage time, the particle size of DTX-S-S-DHA NPs in normal saline gradually increased, while those in PBS gradually decreased; EE of both gradually decreased to less than 75%, but there was no significant change in particle size, PDI and EE of DTX-S-S-DHA NPs in water and RPMI 1640 medium. In the *in vitro* release experiments, DTX-S-S-DHA in DTX-S-S-DHA NPs was not released in the release medium containing 10 mmol/L DTT; at 24 h, the cumulative release rate of DTX-S-S-DHA released from DTX-S-S-DHA NPs in release medium without DTT was about 83%, which was in line with first-order kinetic model. In tissue distribution test, the distribution of DTX-S-S-DHA/DiR NPs in tumor sites of mice was significantly more than in other tissues (heart, liver, spleen, lung and kidney). CONCLUSIONS: DTX-S-S-DHA NPs show good physical stability in different mediums, especially have good long-term stability in water and RPMI

<sup>△</sup> 基金项目:山西省平台基地和人才专项(No.201805D211002);山西医科大学博士启动基金资助项目(No.03201619)

\* 硕士研究生。研究方向:新剂型与药动学。电话:0351-3985243。E-mail:13603122995@163.com

<sup>#</sup> 通信作者:副教授,硕士生导师,博士。研究方向:小分子抗肿瘤药物新型纳米递药系统。电话:0351-3985190。E-mail:glren2007@126.com

1640 medium; they can quickly release the parent drug in the reduction environment and has good tumor targeting.

**KEYWORDS** Docetaxel; Dihydroartemisinin; Conjugated prodrug; Self-assembled nanoparticles; Stability; *in vitro* release; Tissue distribution

乳腺癌是近几年来我国女性发病率和病死率较高的恶性肿瘤,严重威胁到女性健康<sup>[1]</sup>。化学治疗是传统癌症治疗的主要方法之一,但是多药耐药性(multidrug resistance, MDR)限制了单一药物对癌症的治疗效果,因此两种或两种以上药物的联合治疗得到了人们的广泛关注<sup>[2]</sup>。多西紫杉醇(docetaxel, DTX)是治疗乳腺癌的一线化疗药物之一,是一种半合成紫杉烷类抗癌药,其作用机制是促进微管聚合、抑制解聚,进而阻碍肿瘤细胞的有丝分裂,达到治疗癌症的目的<sup>[3-6]</sup>。DTX水溶性低,因此市售制剂(如泰索帝, TAXOTERE<sup>®</sup>)中常使用聚山梨酯80等辅料来增加其溶解度,从而提高疗效。然而,赋形剂的使用带来了较大的毒副作用,如急性超敏反应、溶血反应,继而限制了DTX的临床应用<sup>[7]</sup>。双氢青蒿素(dihydroartemisinin, DHA)是从菊科植物黄花蒿 *Artemisia annua* Linn. 中提取的青蒿素衍生物,毒性较小,且对肿瘤细胞具有良好的抑制作用,是一种具有抗癌潜力的中药活性成分<sup>[8-11]</sup>。相关研究发现, DHA 与其他化疗药结合使用时,可增强其抗癌功效<sup>[12]</sup>。基于此,本课题组在前期实验中以DTX和DHA为模型药物、以二硫键为连接臂,合成了DTX和DHA的偶联前药(DTX-S-S-DHA),采用纳米沉淀法制备了该偶联前药的自组装纳米粒(DTX-S-S-DHA NPs),并考察了两药联合的体内外抗肿瘤活性,结果发现两者联合应用可提高肿瘤治疗效果,且具有一定的协同作用<sup>[13]</sup>。

由于本课题组在前期实验中并未对DTX-S-S-DHA和DTX-S-S-DHA NPs的稳定性、体外释放等方面进行考察,存在一定不足。因此,本研究在前期研究的基础上,采用高效液相色谱(HPLC)法建立DTX-S-S-DHA NPs中DTX-S-S-DHA的体外分析方法;以粒径、多分散系数(PDI)和包封率(EE)为评价指标,考察该纳米粒在水、生理盐水、磷酸盐缓冲液(PBS, pH 7.4)和RPMI 1640培养基中的初步稳定性;考察该纳米粒的体外释放特征和在乳腺癌荷瘤模型小鼠体内的组织分布,以期在DTX-S-S-DHA的制剂开发和临床应用提供参考。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

本研究所用的主要仪器有:DF-101型集热式磁力搅拌器(常州国华电器有限公司)、DF-101S型集热式恒温加热磁力搅拌器(巩义市予华仪器有限责任公司)、ME104E型分析天平[瑞士梅特勒托利多仪器(中国)有限公司]、LC-2030型HPLC仪(日本Shimadzu公司)、Zetasizer Nano-ZS90型粒度电位分析仪(英国Malvern公司)、HA-BA型气浴恒温振荡器(金坛市荣华仪器制造有限公司)、SB-5200DTDN型超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司)、HC-2064型高速离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司)、In-Vivo Xtreme型小动物活体成像仪(德国Bruker公司)。

### 1.2 主要药品与试剂

本研究所用DTX-S-S-DHA对照品(纯度为95.71%)和DTX-S-S-DHA样品均由本实验室自制。维生素E聚乙二醇单硬脂酸甘油酯(TPGS,批号A1620651)购自西安阿拉丁生物科技有限公司;二硫苏糖醇(DTT,批号420P041)购自北京索莱宝科技有限公司;RPMI 1640培养基(批号GP20060600426)购自西安阿拉丁生物试剂有限公司;异氟烷购自深圳瑞沃德生命科技有限公司;DiR染料[DiIC18(7)](批号60017)购自美国Biotium公司;甲醇、乙腈均为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为纯净水。

### 1.3 动物

本研究所用动物为健康Balb/c小鼠,6只,体质量(20±2)g,由山西医科大学实验动物中心提供,动物生产许可证号为SCXK(晋)2015-0001。

### 1.4 细胞

本研究所用乳腺癌4T1细胞由山西医科大学药学院药剂教研室提供。

## 2 方法与结果

### 2.1 DTX-S-S-DHA体外分析方法的建立

2.1.1 色谱条件 色谱柱为Agilent-C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈-水(90:10, V/V);检测波长为230 nm;柱温为35℃;流速为0.8 mL/min;进样量为20 μL。

2.1.2 供试品溶液的制备 取DTX-S-S-DHA样品10.0 mg,精密称定,置于10 mL量瓶中,以乙腈溶解并稀释至刻度,混匀,以0.22 μm的微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

2.1.3 对照品溶液的制备 取DTX-S-S-DHA对照品10.0 mg,精密称定,置于10 mL量瓶中,同“2.1.2”项下方法操作,即得对照品溶液。

2.1.4 专属性 取空白溶剂(乙腈)和“2.1.2”项下供试品溶液适量,按“2.1.2”项下色谱条件进样分析,记录色谱图。结果,溶剂不干扰DTX-S-S-DHA的测定,DTX-S-S-DHA的理论板数不低于3 000,表明该方法专属性良好,详见图1。

2.1.5 标准曲线的绘制 精密吸取“2.1.3”项下对照品溶液适量,以乙腈稀释,分别制成质量浓度为10.0、20.0、50.0、100.0、250.0、500.0 μg/mL的系列标准曲线溶液,再按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积。以峰面积为纵坐标(A)、DTX-S-S-DHA质量浓度为横坐标(c, μg/mL)进行线性回归,得回归方程 $A=13\ 949.3c-8\ 054.8$  ( $R^2=0.999\ 8$ )。结果表明,DTX-S-S-DHA在检测质量浓度10.0~500.0 μg/mL范围内线性关系良好。

2.1.6 定量限与检测限试验 精密吸取“2.1.3”项下对照品溶液适量,以乙腈逐级稀释,再按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积。分别以信噪比10:1、3:1

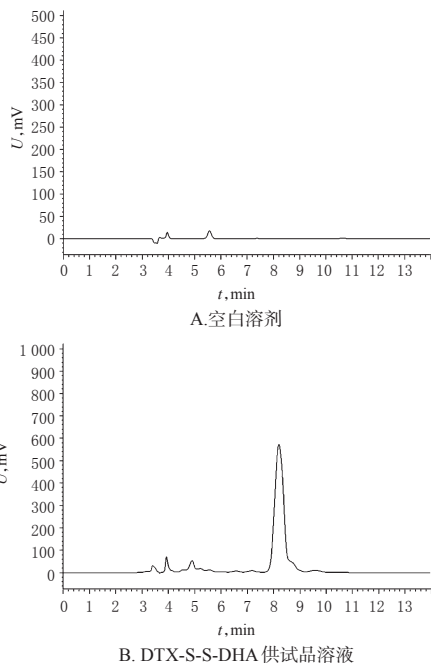


图1 空白溶剂和供试品溶液的HPLC图

Fig 1 HPLC chromatogram of blank solvent and test sample

测定定量限、检测限。结果显示,DTX-S-S-DHA的定量限为1.0 μg/mL、检测限为0.5 μg/mL。

2.1.7 精密度试验 精密吸取“2.1.3”项下对照品溶液适量,以乙腈稀释,分别制成DTX-S-S-DHA低、中、高质量浓度溶液(20.0、100.0、450.0 μg/mL),按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积。同日内分别测定3次,考察日内精密度;每天测定1次,连续测定3 d,考察日间精密度。结果,上述3种溶液的日内及日间精密度的RSD均小于2.0% (n=3),表明该方法精密度良好。

2.1.8 重复性试验 精密吸取“2.1.2”项下供试品溶液适量,共6份,以乙腈稀释至100.0 μg/mL后,再按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积,并根据标准曲线法计算DTX-S-S-DHA的含量。结果显示,DTX-S-S-DHA的平均含量为99.7 μg/mL, RSD ≤ 0.29% (n=6),表明该方法重复性良好。

2.1.9 稳定性试验 精密吸取“2.1.2”项下供试品溶液适量,以乙腈稀释至100.0 μg/mL后,分别于室温下放置0、2、4、6、8、10、12、24 h时按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积。结果显示,DTX-S-S-DHA峰面积的RSD为0.49% (n=8),表明供试品溶液在室温下放置24 h内稳定性良好。

2.1.10 加样回收率试验 精密吸取“2.1.2”项下供试品溶液适量,共6份,以乙腈稀释至150.0 μg/mL后,分别加入相同浓度的DTX-S-S-DHA对照品溶液,再按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,记录峰面积,并计算加样回收率。结果显示,DTX-S-S-DHA的平均加样回收率为101.26%, RSD为0.42% (n=6),详见表1。

表1 DTX-S-S-DHA的加样回收率试验结果(n=6)

Tab 1 Results of recovery tests of DTX-S-S-DHA (n=6)

加入量, μg	样品中已知含量, μg	测得量, μg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
150.8	150.0	302.5	101.13	101.25	0.42
150.6	150.0	303.1	101.66		
150.0	150.0	300.8	100.53		
150.0	150.0	301.7	101.13		
150.4	150.0	302.9	101.66		
150.1	150.0	302.2	101.40		

## 2.2 DTX-S-S-DHA NPs的初步稳定性考察

取DTX-S-S-DHA NPs适量,分别以水、生理盐水、PBS、RPMI 1640培养基稀释10倍后,置于37 °C、100 r/min的恒温振荡器中振荡,分别于振荡0、2、4、6、8、10、12、24 h时测定其粒径、PDI和EE,以考察DTX-S-S-DHA NPs的物理稳定性,结果见图2。另取DTX-S-S-DHA NPs适量,同上述方法稀释后,置于4 °C条件下保存,分别于0、7、14、21、28 d时测定其粒径、PDI和EE,以考察DTX-S-S-DHA NPs的长期稳定性,结果见图3。

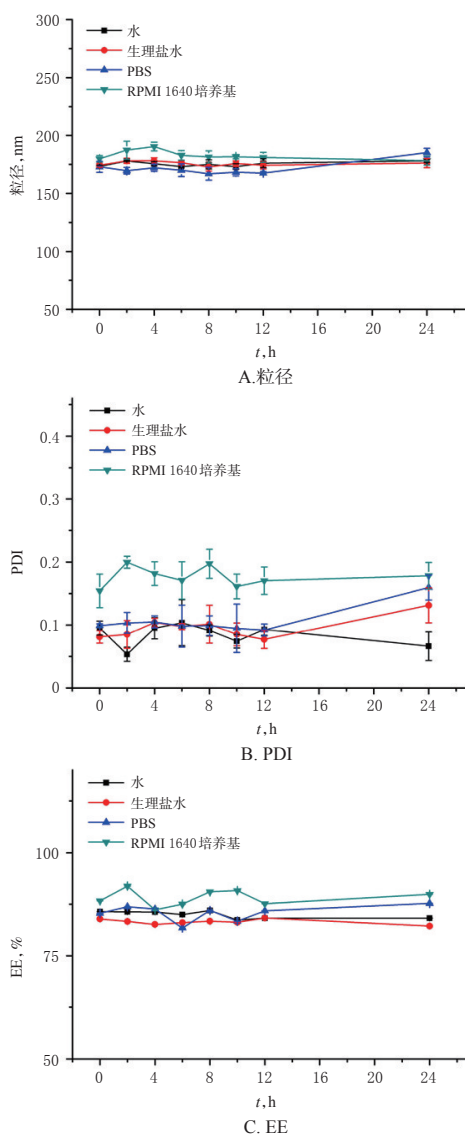


图2 DTX-S-S-DHA NPs的物理稳定性考察结果

Fig 2 Physical stability of DTX-S-S-DHA NPs



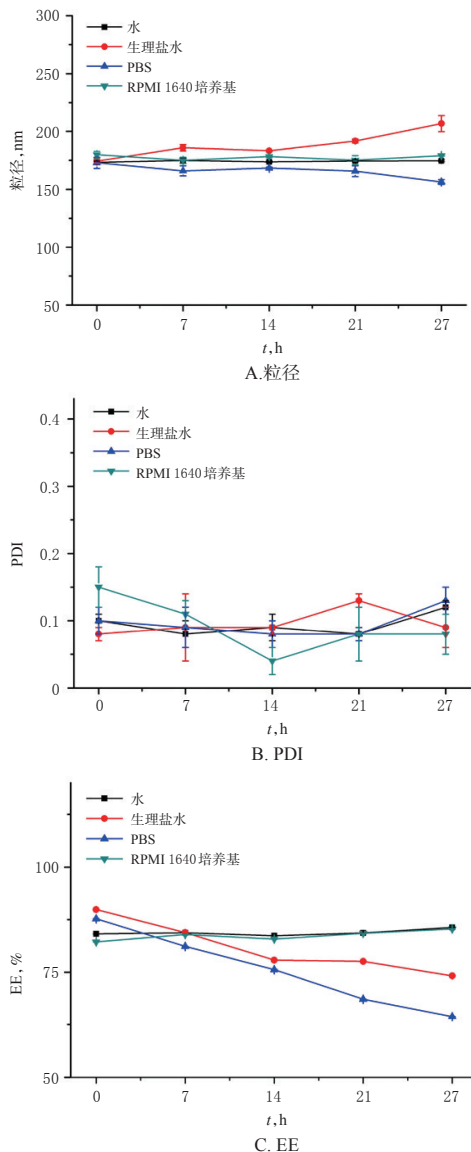


图3 DTX-S-S-DHA NPs的长期稳定性考察结果  
Fig 3 Long-term stability of DTX-S-S-DHA NPs

由图2可知,DTX-S-S-DHA NPs在水、生理盐水、PBS、RPMI 1640培养基中振荡24 h内,其粒径、PDI、EE均无明显变化,表明其具有良好的物理稳定性。由图3可知,DTX-S-S-DHA NPs在4℃条件下保存时,随着保存时间的增加,其在生理盐水中的粒径逐渐增大至206 nm,在PBS中的粒径逐渐减小至156 nm,且在两者中的EE逐渐降低至75%以下;而其在水和RPMI 1640培养基中的粒径、PDI、EE均无明显变化,表明其在这两种介质中可保持稳定,具有良好的长期稳定性。

### 2.3 DTX-S-S-DHA NPs的体外释放特征考察

采用小杯法<sup>[14]</sup>测定DTX-S-S-DHA的体外释放特征。精密吸取DTX-S-S-DHA NPs(2 mg/mL)2 mL,分别置于20 mL含或不含10 mmol/L DTT(用以模拟肿瘤细胞的还原环境)的30%乙醇溶液(即释放介质)中,然后于(37±2)℃恒温水浴振荡器中振荡0、1、2、4、6、8、10、

12、24 h时,取样0.1 mL,同时补充相同体积的释放介质。将所取样品溶液按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,测定DTX-S-S-DHA的含量,计算累积释放率<sup>[14]</sup>,并绘制其累积释放曲线(图4),然后采用Origin 9.1软件拟合其释放模型,详见表2。

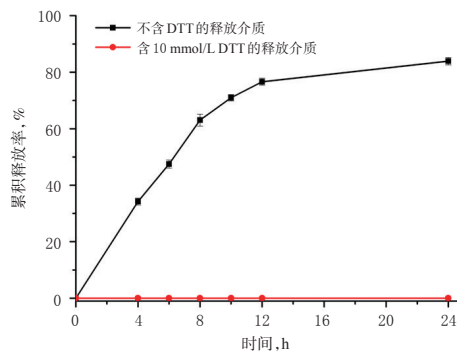


图4 DTX-S-S-DHA NPs中DTX-S-S-DHA的累积释放曲线  
Fig 4 Accumulative release curve of DTX-S-S-DHA in DTX-S-S-DHA NPs

表2 DTX-S-S-DHA NPs中DTX-S-S-DHA的体外释放动力学模型  
Tab 2 The *in vitro* release kinetics models of DTX-S-S-DHA from DTX-S-S-DHA NPs

表2 DTX-S-S-DHA NPs中DTX-S-S-DHA的体外释放动力学模型

Tab 2 The *in vitro* release kinetics models of DTX-S-S-DHA from DTX-S-S-DHA NPs

释放模型	方程	R
零级动力学模型	$Q=49.34t+0.2872$	0.683 0
一级动力学模型	$\ln(1-Q)=-93.80-0.1290t$	0.969 6

注:Q为每个时间点DTX-S-S-DHA的释放量

Note: Q is the release of DTX-S-S-DHA at each time point

由图4可知,DTX-S-S-DHA NPs中DTX-S-S-DHA在含10 mmol/L DTT的释放介质中基本不释放;而在不含DTT的释放介质中,DTX-S-S-DHA可一定程度地缓慢释放,其24 h累积释放率可达83%。由表2可知,DTX-S-S-DHA的释放符合一级动力学模型,进一步说明DTX-S-S-DHA在还原条件下(10 mmol/L DTT),其二硫键能迅速断裂释放出母药。其累积释放结果与本课题组前期实验中DTX和DHA在不同条件下各个时间点的累积释放结果相似<sup>[13]</sup>。

### 2.4 DTX-S-S-DHA NPs的组织分布研究

2.4.1 小鼠乳腺癌荷瘤模型的建立 采用胰蛋白酶将生长状态良好的乳腺癌4T1细胞消化后,均匀分散于无菌PBS中,使其密度为 $5 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ 。取上述细胞悬液100 μL,皮下注射于小鼠右侧第4对乳房垫附近,以复制小鼠乳腺癌荷瘤模型。隔天观察并记录小鼠肿瘤生长状态,待肿瘤体积生长至100~150 mm<sup>3</sup>时进行后续实验。

2.4.2 DiR标记的DTX-S-S-DHA NPs(DTX-S-S-DHA/DiR NPs)的制备 取DiR和DTX-S-S-DHA适量溶于乙醇中,在一定搅拌速度下缓慢滴加至水中,然后减压蒸

馏除去乙醇,即得DTX-S-S-DHA/DiR NPs(DiR终浓度为0.5 mg/mL),于4℃避光保存,备用。

2.4.3 DTX-S-S-DHA/DiR NPs在模型小鼠体内的组织分布 将“2.4.1”项下造模成功的小鼠随机分为DiR组(4 mg/kg,剂量根据本课题组前期预实验设置)和DTX-S-S-DHA/DiR NPs组(10 mg/kg,以DTX计,剂量根据本课题组前期预实验设置),每组3只。各组小鼠分

别尾静脉注射相应药物。于给药后3、6、9、12、24 h时,以异氟烷麻醉小鼠,然后置于小动物活体成像仪中观察其体内荧光强度变化(颜色越红,则表明DiR荧光强度越大,即DiR或DTX-S-S-DHA/DiR NPs在某部位的分布越多)。末次观察后,处死小鼠,取出其心脏、肝、脾、肺、肾和肿瘤组织,置于小动物活体成像仪中观察各组织中的荧光强度变化,结果见图5、图6。

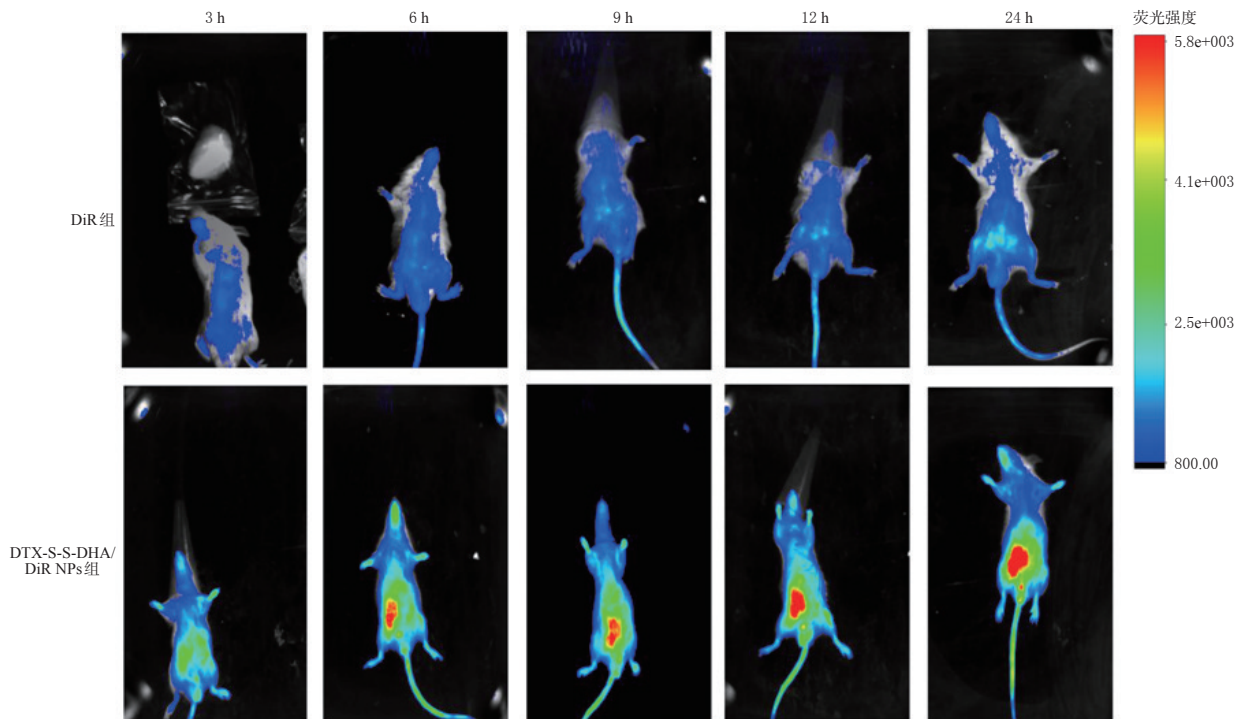


图5 不同时间点各组荷瘤模型小鼠体内的荧光成像图

Fig 5 Fluorescence imaging of tumor bearing model mice at different time points

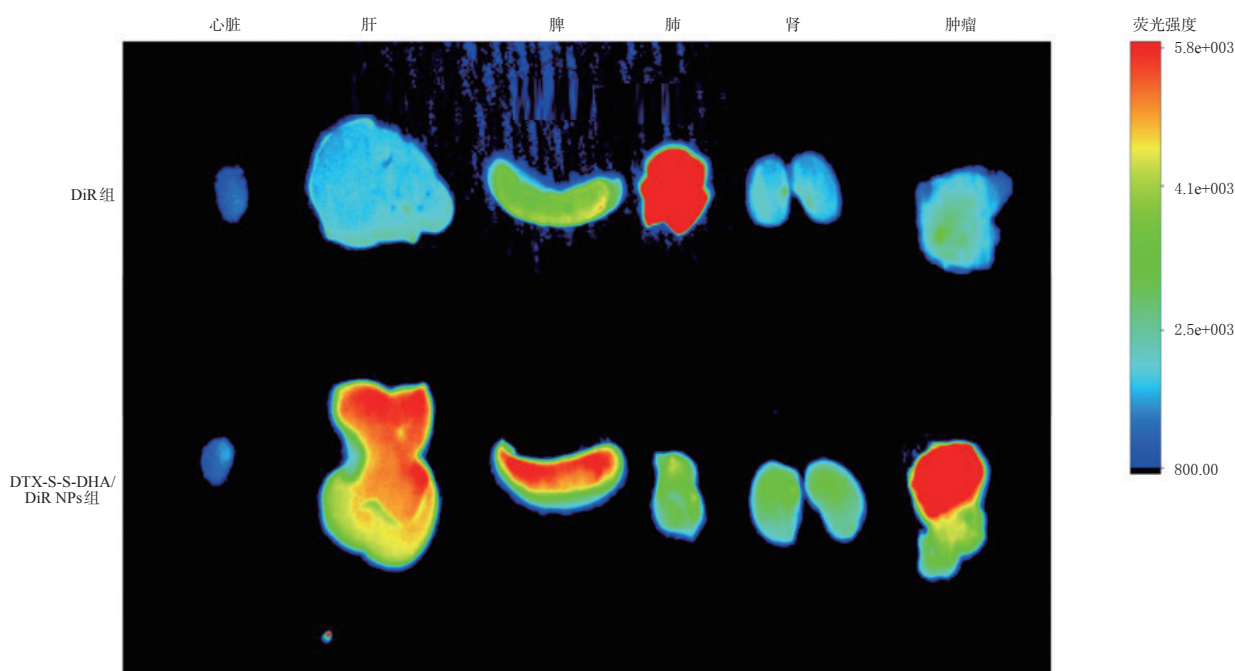


图6 各组荷瘤模型小鼠不同组织的荧光成像图

Fig 6 Fluorescence imaging of different tissues of tumor bearing model mice

由图5可知,观察至24 h时,DiR组小鼠肿瘤部位未见明显红色荧光分布;DTX-S-S-DHA/DiR NPs组小鼠肿瘤部位的红色荧光强度随时间延长不断增强,且在24 h时仍没有出现降低趋势。由图6可知,给药24 h后,DiR组小鼠肿瘤组织未见明显红色荧光分布,DTX-S-S-DHA/DiR NPs组小鼠的肝、脾等组织中虽然有红色荧光分布,但其肿瘤组织中的红色荧光强度明显高于其他组织,表明DTX-S-S-DHA/DiR NPs具有很好的肿瘤靶向性。

### 3 讨论

本课题组前期将DTX和DHA合成制备得DTX-S-S-DHA,并以纳米沉淀法制备了DTX-S-S-DHA NPs,且该纳米粒克服了辅料用量大、载药量低等缺点<sup>[15-17]</sup>;另外,从体内、体外药动学和药效学等方面对DTX-S-S-DHA NPs进行了抗肿瘤活性评价,验证了DTX和DHA具有协同抗癌的作用<sup>[13]</sup>。但关于该制剂的稳定性、体外释放及组织分布未能详尽研究,故本研究基于前期实验结果进行深入探讨。

粒径、PDI和EE是评价纳米粒稳定性的重要指标。因此,本研究以此为评价指标,考察了DTX-S-S-DHA NPs在不同介质中(水、生理盐水、PBS、RPMI 1640培养基)的稳定性。结果显示,DTX-S-S-DHA NPs在不同介质中均具有良好的物理稳定性,但仅在水和RPMI 1640培养基中具有良好的长期稳定性。

体外释放实验是药物制剂内在质量的重要评价工具。通常情况下,为使药物在体内吸收迅速,会要求药物在释放介质中的浓度远低于饱和浓度,因此,为了满足这个要求,常加入大量的溶出介质和添加表面活性剂或有机溶剂,以尽量模拟体内漏槽条件<sup>[8]</sup>。基于此,本研究在考察DTX-S-S-DHANPs的体外释放特征时,以30%乙醇作为释放介质;另由于肿瘤细胞中含有大量的谷胱甘肽(GSH),故笔者在上述释放介质中加入10 mmol/L DTT来模拟肿瘤微环境中的还原环境<sup>[9]</sup>。结果显示,DTX-S-S-DHA NPs中的DTX-S-S-DHA在含10 mmol/L DTT的释放介质中基本不释放,进一步表明,DTX-S-S-DHA NPs在还原环境下,其DTX-S-S-DHA中的二硫键能迅速断裂释放出母药。

研究药物在动物体内的组织分布可更好地探究纳米粒的肿瘤靶向性,故本研究采用DiR染料标记DTX-S-S-DHA NPs,以研究其在乳腺癌荷瘤模型小鼠体内的分布情况。结果显示,DTX-S-S-DHA/DiR NPs在肿瘤组织中的红色荧光强度(即DiR标记的药物分布量)明显高于其他组织,表明DTX-S-S-DHA/DiR NPs具有很好的肿瘤靶向性。

综上所述,DTX-S-S-DHA NPs在不同介质中均具

有良好的物理稳定性,且在水和RPMI 1640培养基中具有良好的长期稳定性;其在还原环境中能迅速释放出母药,具有很好的肿瘤靶向性。

### 参考文献

- [1] 李莉,李娇.年轻女性乳腺癌的研究进展[J].继续医学教育,2020,34(7):77-79.
- [2] YANG M, DING H, ZHU Y, et al. Co-delivery of paclitaxel and doxorubicin using mixed micelles based on the redox sensitive prodrugs[J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2019, 175:126-135.
- [3] MUNJAL N S, SHUKLA R, SINGH T R. Physicochemical characterization of paclitaxel prodrugs with cytochrome 3A4 to correlate solubility and bioavailability implementing molecular docking and simulation studies[J]. J Biomol Struct Dyn, 2021, 3:1-13.
- [4] PAN B, LI P, CHEN J, et al. Study on the effect and mechanism of paclitaxel-succinic acid drug-loaded nanofibers in treating lung cancer[J]. J Nanosci Nanotechnol, 2021, 21(2):909-913.
- [5] THAMBIRAJ S, VIJAYALAKSHMI R, SHANKARAN D R. An effective strategy for development of docetaxel encapsulated gold nanoformulations for treatment of prostate cancer[J]. Sci Rep, 2021, 11(1):2808.
- [6] CHEN X Y, YANG H W, CHI S M, et al. Solubility and biological activity enhancement of docetaxel via formation of inclusion complexes with three alkylendiamine-modified  $\beta$ -cyclodextrins[J]. RSC Adv, 2021, 11(11):6292-6303.
- [7] TIJE A J T, VERWEIJ J, LOOS W J, et al. Pharmacological effects of formulation vehicles: implications for cancer chemotherapy[J]. Clin Pharmacokinet, 2003, 42(7):665-685.
- [8] DAI X, ZHANG X, CHEN W, et al. Dihydroartemisinin: a potential natural anticancer drug[J]. Int J Biol Sci, 2021, 17(2):603-622.
- [9] ELHASSANNY A E M, SOLIMAN E, MARIE M, et al. Heme-dependent ER stress apoptosis: a mechanism for the selective toxicity of the dihydroartemisinin, NSC735847, in colorectal cancer cells[J]. Front Oncol, 2020, 10:965.
- [10] GOUR R, AHMAD F, PRAJAPATI S K, et al. Synthesis of novel S-linked dihydroartemisinin derivatives and evaluation of their anticancer activity[J]. Eur J Med Chem, 2019, 178:552-570.
- [11] 陈佩,任国莲,郭文菊,等.还原响应的双氢青蒿素前药自组装纳米粒的制备与药动学评价[J].中国药学杂志, 2018, 53(17):1477-1484.
- [12] PHUNG C D, LE T G, NGUYEN V H, et al. PEGylated-paclitaxel and dihydroartemisinin nanoparticles for simul-



# 右归丸中5种重金属元素的含量分析<sup>Δ</sup>

李存金<sup>1\*</sup>, 谢婷<sup>2</sup>, 周云峰<sup>3</sup>, 邓杰华<sup>3</sup>, 吴喆<sup>3</sup>, 黄招光<sup>3</sup>(1.江西省药品检查员中心第四检查所,江西宜春 336000;2.宜春市人民医院科教科,江西宜春 336000;3.宜春市食品药品检验所药品科,江西宜春 336000)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2021)19-2377-06  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2021.19.12



**摘要** 目的:考察市售右归丸中铜(Cu)、砷(As)、镉(Cd)、汞(Hg)、铅(Pb)等5种重金属元素的含量,并评价其安全风险。方法:以钇(<sup>89</sup>Y)、铟(<sup>115</sup>In)、铋(<sup>209</sup>Bi)为内标,采用电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法测定各元素的含量。设置ICP-MS的条件为雾化气流量0.95 L/min,辅助气流量1.2 L/min,等离子体气(氩气)流量18 L/min,泵速30 r/min;设置电感耦合等离子体射频功率为1 200 W,模拟阶段电压为-1 750 V,脉冲阶段电压为1 300 V,偏转装置电压为-12 V,检测器为模拟和脉冲双模式。对各元素含量测定方法进行方法学考察,并对45批市售右归丸样品进行测定。运用危害指数(HI)对各元素非致癌性风险进行分析,并拟定各元素的最大残留阈值(MRL)。结果:Cu、As、Cd、Hg、Pb检测质量浓度线性范围分别为10~200、1~50、0.4~30、0.2~6、2~100 μg/L, *r*均大于0.999 0;定量限分别为0.67、0.23、0.20、0.07、0.27 μg/L,检测限分别为0.20、0.07、0.06、0.02、0.08 μg/L;精密性、稳定性、重复性试验的RSD均小于3.5% (*n*=6或*n*=5);平均加样回收率为92.96%~100.89%,RSD为2.23%~3.62% (*n*=3)。45批右归丸样品中Cu、As、Cd、Hg、Pb的平均含量分别为2.72、0.28、0.07、0.05、0.62 mg/kg,各元素的叠加HI小于1。右归丸中5种重金属元素的含量均低于拟定的MRL(Cu、As、Cd、Hg、Pb的MRL分别为20、2、1、0.2、5 mg/kg或者111.11、4.44、2.22、1.48、8.89 mg/kg)。结论:所建方法可用于测定右归丸中5种重金属的含量;市售右归丸的常见重金属污染率低,安全风险小。

**关键词** 右归丸;重金属;电感耦合等离子体质谱法;限度;最大残留阈值;危害指数

## Content Analysis of 5 Kinds of Heavy Metal in Yougui Pills

LI Cunjin<sup>1</sup>, XIE Ting<sup>2</sup>, ZHOU Yunfeng<sup>3</sup>, DENG Jiehua<sup>3</sup>, WU Zhe<sup>3</sup>, HUANG Zhaoguang<sup>3</sup> (1. The Fourth Inspection Institute of Jiangxi Drug Inspector Center, Jiangxi Yichun 336000, China; 2. Science and Education Department, Yichun Municipal People's Hospital, Jiangxi Yichun 336000, China; 3. Drug Department, Yichun Institute for Food and Drug Inspection, Jiangxi Yichun 336000, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To investigate the contents of 5 kinds of heavy metal as copper (Cu), arsenic (As), cadmium (Cd), mercury (Hg) and lead (Pb) in Yougui pills, and to evaluate its safety risk. METHODS: Using yttrium (<sup>89</sup>Y), indium (<sup>115</sup>In) and bismuth (<sup>209</sup>Bi) as internal standard, the contents of each element were determined by ICP-MS. ICP-MS condition

- taneously delivering paclitaxel and dihydroartemisinin to colorectal cancer[J]. *Pharm Res*, 2020, 37(7): 129.
- [13] LI N, GUO W, LI Y, et al. Construction and anti-tumor activities of disulfide-linked docetaxel-dihydroartemisinin nanoconjugates[J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2020, 191: 111018.
- [14] 肖卫红,徐宏峰,张耕,等.高乌甲素脂质体凝胶的制备及体外释药特性研究[J].*中国药房*, 2018, 29(15): 2049-2053.
- [15] 王蓉蓉,任国莲,王锐利,等.十八胺修饰的双氢青蒿素前药自组装纳米粒的制备及其抗疟活性评价[J].*中国医药工业杂志*, 2019, 50(10): 1201-1207.
- [16] 唐佳琪,任国莲,段帅,等.正十二醇修饰的多西紫杉醇前药纳米结构脂质载体的设计及抗肿瘤活性评价[J].*中国药理学杂志*, 2020, 55(2): 116-127.
- [17] REN G, CHEN P, TANG J, et al. In vivo and in vitro evaluation of dihydroartemisinin prodrug nanocomplexes as a nano-drug delivery system: characterization, pharmacokinetics and pharmacodynamics[J]. *RSC Adv*, 2020, 10(29): 17270-17279.
- [18] UEKUSA T, OKI J, OMORI M, et al. Effect of buffer capacity on dissolution and supersaturation profiles of pioglitazone hydrochloride[J]. *J Drug Deliv Sci Technol*, 2019, 55: 101492.
- [19] 高至亮.聚合物胶体粒子的可控组装及在药物传输中的应用[D].济南:山东大学, 2020.

Δ基金项目:江西省药品监督管理局科研项目(No.2019JS24)

\*副主任药师。研究方向:药品检查。E-mail: licunjin@qq.com

(收稿日期:2021-03-24 修回日期:2021-09-03)

(编辑:唐晓莲)