

应为低雌激素所致围绝经期症状及骨质疏松症状,最为严重的为骨质丢失,骨密度降低。本次未做骨密度测定,有待今后进一步研究。停药3个月后低雌激素所致围绝经期症状及骨关节酸痛症状逐步改善,症状明显者需反向添加疗法^[6]。但最佳治疗时间及反向添加疗法最适期限有待进一步研究确定。

口服孕三烯酮治疗每月需600元左右,而注射戈舍瑞林治疗每月需2100元左右,一位患者术后加用两种不同药物一疗程费用相差900元左右。因此Ⅲ、Ⅳ期内异症患者腹腔镜术后是否联合药物治疗及如何采用药物治疗,应根据患者症状、年龄、生育要求及家庭经济状况等情况及时与患者沟通,设计个体化、阶梯化、规范化治疗方案^[7]。同时要兼顾药物不良反应,使治疗手段更趋于特异性。

【参考文献】

- [1] 丰有吉. 妇产科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 354.
- [2] 邵方怡, 王劲红, 王雅萍, 等. 子宫内膜异位症术后米非司酮与孕三烯酮辅助治疗临床观察[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2006, 22(8): 621.
- [3] 郎景和. 子宫内膜异位症研究的任务与展望(之二)[J]. 中华妇产科杂志, 2006, 41(10): 650.
- [4] 王彬, 陈凤娟. 卵巢子宫内膜样囊肿的病理学病变及雌孕激素受体测定[J]. 重庆医学, 2001, 30(5): 440.
- [5] 宋杰, 向梅, 任茁. 子宫内膜异位症的诊断和药物治疗[J]. 实用药物与临床, 2005, 8(3): 4.
- [6] Scarselli G, Rizzello F, Cannilli F, et al. Diagnosis and treatment of endometriosis: A review[J]. Minerva Ginecol, 2005, 57(1): 55.
- [7] 周应方, 崔恒, 乔杰, 等. 应重视子宫内膜异位症诊断与治疗的规范化[J]. 中国妇产科临床杂志, 2001, 2(2): 68.

(2009-07-27 收稿)

聚氰基丙烯酸正丁酯纳米粒载福莫司汀的制备工艺

田新华¹, 林锦超¹, 林晓宁¹, 庄再旺¹, 任磊², 陈铿¹ (¹厦门大学附属中山医院神经外科, 厦门 361004; ²厦门大学生物医学工程研究中心, 厦门 361005)

【摘要】 目的 优化工艺制备福莫司汀聚氰基丙烯酸正丁酯纳米粒(FCNU-PBCA-NP)。方法 以 α -氰基丙烯酸正丁酯(BCA)为载体, 采用乳化聚合法制备FCNU-PBCA-NP, 并加以聚乙二醇20000(PEG20000)进行表面修饰, 通过考察粒径和包封率两个指标, 在单因素实验初选的基础上, 正交设计法优化处方和制备工艺。结果 制备FCNU-PBCA-NP的优化条件为BCA单体积分数0.8%(V/V)、FCNU 20 mg、PEG20000浓度2.0%, 按优化条件所制备的FCNU-PBCA-NP的粒径为(124.6±5.2) nm, 多分散系数(PDI)范围为0.07~0.16, 包封率(64.12±2.36)%, 载药量(7.28±0.76)%。结论 通过优化处方和制备工艺, 采用乳化聚合法可制备出FCNU-PBCA-NP, 对拓展FCNU临床给药新剂型提供一定的参考。

【关键词】 福莫司汀; 聚氰基丙烯酸正丁酯; 纳米粒; 正交设计

【文献标志码】 A

【文章编号】 1007-4406(2010)04-0208-05

Preparation of fotemustine-loaded polybutylcyanoacrylate nanoparticles

TIAN Xinhua¹, LIN Jinchao¹, LIN Xiaoning¹, ZHUANG Zaiwang¹, REN Lei², CHEN E¹ (¹Department of Neurosurgery, Zhongshan Hospital of Xiamen University, Xiamen 361004, China; ²Research Center of Biomedical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

【ABSTRACT】 AIM To prepare fotemustine polybutylcyanoacrylate nanoparticles (FCNU-PBCA-NP) with optimized

【基金项目】 福建省自然科学基金(2006J0188); 厦门市科技局基金(3502Z20064013)

【作者简介】 田新华(1965-), 男, 教授。研究方向: 神经外科。Tel: 0592-2192352; E-mail: txhd@yahoo.com.cn

process. **METHODS** FCNU-PBCA-NP was prepared by emulsion polymerization with the α -butylcyanoacrylate(BCA) as its carrier and the surface of the nanoparticles was modified with polyethylene glycol 20000 (PEG20000). Single factor test and orthogonal design were carried out to optimize the preparing technology according to the particle size and the entrapment efficiency of FCNU-PBCA-NP. **RESULTS** The optimal conditions for the preparation of FCNU-PBCA-NP were 0.8% BCA monomer (V/V), 20 mg fotemustine and 2.0% PEG20000(m/V). On the basis of the above conditions, the mean particle size of the NP was (124.6 ± 5.2) nm and the polydispersity index(PDI) was 0.07–0.16, the average entrapment efficiency and drug loading was $(64.12 \pm 2.36)\%$ and $(7.28 \pm 0.76)\%$, respectively. **CONCLUSION** An optimized nanoparticle drug delivery system is obtained by emulsion polymerization and provides a new direction for fotemustine dosage forms in future.

【KEY WORDS】 fotemustine; polybutylcyanoacrylate; nanoparticle; orthogonal design

福莫司汀(fotemustine, FCNU)是目前临床治疗脑恶性胶质瘤常用的一类烷化剂,属亚硝胺类抗肿瘤药物,脂溶性较好,主要作用于S期细胞内的DNA,使其烷基化,引起DNA降解和合成受阻,并影响RNA和蛋白质合成,对G1、G2及M期也有一定的影响,为细胞周期非特异性药物。临床主要经静脉注射给药,全身分布迅速,半衰期短,常见不良反应有抑制造血系统、肝肾损害及胃肠道反应^[1]。为了能延长FCNU在体内作用时间和提高脑胶质瘤治疗靶向性,本研究拟选用低毒、可生物降解的 α -氰基丙烯酸正丁酯(BCA)为载体材料^[2],与化疗药FCNU相结合,通过适当的表面修饰,制备出能够载FCNU的纳米复合体,并对其进行工艺优化,为其进一步的研究提供基础。

1 材料与方法

1.1 仪器 pH计(美国奥立龙Orion), BS200S-WE型电子天平(北京塞多利斯天平有限公司), 恒温磁力搅拌器(国华电器有限公司), Avanti™ J-25型高速离心机(美国Beckman公司), SHA-C型恒温超声振荡器(常州国华电器有限公司), UV 800紫外分光光度计(美国Beckman公司), Nano-ZS型粒径分析仪(英国Malvern Instruments公司), FreeZone型冷冻干燥机(美国LABCONCO公司), 2100HC型透射电子显微镜(日本JEM公司)。

1.2 试剂 福莫司汀(法国施维雅国际公司,含量99.9%), α -氰基丙烯酸正丁酯(广州白云医用胶总公司), PEG20000(Sigma公司,分析纯), 吐温80(广东汕头市西陇化工厂,化学纯), HCl溶液(广东汕头市西陇化工厂,分析纯), 其余试剂均为分析纯。

1.3 FCNU含量测定

1.3.1 标准曲线的建立 用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl配制 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的FCNU(避光,下同)溶液,紫外分光光

度法于200~400 nm波长范围内扫描,测得其 λ_{\max} 为229 nm。精称FCNU原料药10 mg置于100 mL容量瓶中,定容得到 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的储备液。用移液管分别取不同单位储备液,并用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的盐酸配制成14、16、20、26、30、40、50、55 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的FCNU标准溶液,在紫外分光光度229 nm波长处分别测定其吸光度(A),以A与质量浓度(ρ)进行线性回归处理。实验所有辅料在该波长处的紫外吸收对测定结果无干扰。

1.3.2 回收率测定 在空白PBCA-NP的低温离心分离的上清液中,滴加不同单位的FCNU储备液配置成质量浓度为14、26、40 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液,在波长229 nm处测定吸光度A,并计算平均回收率。

1.3.3 精密度测定 分别取回收率实验14、26、40 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 低、中、高不同质量浓度的样品,进行日内和日间精密度实验测定。日内精密度实验在1d内分5次完成样品处理和分析,日间精密度实验在5d内分别进行处理和分析。

1.4 乳化聚合法制备FCNU-PBCA-NP 移液管移取 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl溶液加入装有蒸馏水锥形瓶中,调节pH至2.5,称取一定量FCNU及PEG20000搅拌溶解后,定容至20 mL,于室温、磁力搅拌下缓慢加入适量 α -BCA单体于上述溶液,滴加速度为 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,边滴加边搅拌,滴加完毕,封闭瓶口,600 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 持续搅拌4 h。用直径0.45 μm 滤膜过滤后,得乳白色均匀胶体溶液,放入4℃冰箱储存。

1.5 纳米粒粒径检测 室温条件下取少量胶体溶液,加蒸馏水稀释,置Nano-ZS型粒径分析仪中检测粒径大小及多分散系数。

1.6 纳米粒形态观察 取1~2滴FCNU-PBCA-NP胶体溶液置于铜网上,2%磷钨酸溶液负染后,室温晾干,于透射电镜下观察纳米粒形态和大小。

1.7 纳米粒包封率和载药率的测定 取适量 FCNU-PBCA-NP 胶体混悬液适量, 在 10℃, 20 000 r·min⁻¹ 条件下离心 30 min, 收集上清液, 用紫外分光光度计测定上清液中 FCNU 的含量, 并按以下公式计算包封率(ER)和载药量(DL): ER = (W_a - W_s) / W_a × 100%, DL = (W_a - W_s) / W_{纳米球} × 100%。其中 W_a: FCNU 投药量, W_s: 上清液中 FCNU 量, W_{纳米球}: 制得的纳米粒的量。

1.8 FCNU-PBCA-NP 最佳处方优化 根据相关文献和预实验确定单因素, 通过对制备条件温度、搅拌速度、搅拌时间、pH 值、FCNU 用量、BCA 单体浓度和 PEG 的量进行考察, 并以载药纳米粒的粒径和 ER 为指标, 优选出 PEG 浓度、FCNU 用量及 BCA 单体体积分数 3 个主要因素, 每个因素选择 3 个水平(表 1), 然后按 L₉(3⁴) 正交实验设计进行制备实验。

表 1 因素与水平
Table 1. Factors and levels

Level	Factor		
	BCA V/V(A)	FCNU (B)/mg	PEG 20 000 m/V(C)
1	0.6%	10	1.0%
2	0.8%	20	1.5%
3	1.0%	30	2.0%

2 结果

2.1 标准曲线的建立 测定结果表明所有辅料在 229 nm 波长处对测定无干扰, 标本溶液在 14~55 mg·L⁻¹ 内线性关系良好, 得回归方程 A = 0.014ρ + 0.017(r = 0.999 4)。

2.2 回收率与精密度测定 测定结果表明该方法测定准确、可靠, 具有可重复性, 适合本品含量测定。结果见表 2、3。

2.3 正交实验结果 结果见表 4。数据处理: 根据正交实验测定结果, 分别计算评价指标(粒径和 ER)各因素相同水平下所对应的测定值之和(K_i)和极差(R), 并通过 SPSS 13.0 软件对实验测定数据进行方差分析求 P 值, 分析结果见表 5。

表 2 FCNU 回收率测定结果

Table 2. Results of FCNU recovery rate (n = 3)

ρ(Added) / mg·L ⁻¹	ρ(Measured) / mg·L ⁻¹	Recovery rate / %	RSD / %
14.00	14.06 ± 0.08	100.45	0.57
26.00	26.29 ± 0.11	101.12	0.42
40.00	40.09 ± 0.12	100.23	0.30

表 3 FCNU 的日内、日间变异性

Table 3. Variability of within day and between day of FCNU (n = 5, $\bar{x} \pm s$)

ρ(Added) / mg·L ⁻¹	Within day		Between day	
	ρ(Measured) / mg·L ⁻¹	RSD / %	ρ(Measured) / mg·L ⁻¹	RSD / %
14.00	14.03 ± 0.06	0.43	14.05 ± 0.12	0.85
26.00	26.24 ± 0.09	0.34	26.29 ± 0.14	0.53
40.00	40.12 ± 0.07	0.17	40.23 ± 0.23	0.57

表 4 FCNU-PBCA-NP 正交实验结果

Table 4. Results of FCNU-PBCA-NP orthogonal test

NO.	Factor			Size/nm	ER / %
	A	B	C		
1	1	1	1	142.3	46.36
2	1	2	2	158.6	61.24
3	1	3	3	172.5	56.81
4	2	1	2	121.2	57.25
5	2	2	3	127.4	64.21
6	2	3	1	141.5	52.76
7	3	1	3	143.3	54.89
8	3	2	1	160.7	58.17
9	3	3	2	181.5	60.16

表 5 FCNU-PBCA-NP 正交实验结果分析

Table 5. Results analysis of FCNU-PBCA-NP orthogonal test

Parameter	Size/nm			ER / %		
	A	B	C	A	B	C
K ₁	473.4	406.8	444.5	164.41	158.50	157.29
K ₂	390.1	446.7	461.3	174.22	183.62	178.65
K ₃	485.5	495.5	443.2	173.22	169.73	175.91
R	95.4	88.7	18.1	9.81	25.12	21.36
P	0.012	0.016	0.239	0.088	0.017	0.020

通过正交实验结果分析可发现, 对于影响 FCNU-PBCA-NP 粒径的各因素中, 表明修饰剂 BCA 单体体积分数(A)对其平均粒径影响最大, 其次分别为 FCNU 用量(B)及 PEG20000 浓度(C); 且根据方差分析可知, 只有 A 和 B 对纳米粒平均粒径有显著性影响(P < 0.05)。进一步比较 K 值得: A 因素中 K₃ > K₁ > K₂, B 因素中 K₃ > K₂ > K₁, C 因素中 K₂ > K₁ > K₃。而在 FCNU-PBCA-NP ER 结果分析中, 各因素主次顺序是: B > C > A。考察方差分析结果发现 B 和 C 对载药纳米粒 ER 均有显著性影响(P <

0.05)。在对各因素 K 值的比较中得: B 因素中 $K_2 > K_3 > K_1$, C 因素中 $K_2 > K_3 > K_1$, A 因素中 $K_2 > K_3 > K_1$ 。

因此,综合上述正交实验结果分析,对于靶向入脑纳米载药系统,其关键指标是所制备的纳米粒粒径小且 ER 高,故制备 FCNU-PBCA-NP 的最佳优化条件为 A2B2C3,即 BCA 单体体积分数 (V/V) 为 0.8%,FCNU 用量 20 mg 及 PEG20000 浓度 (m/V) 为 2.0%。

按最佳工艺优化条件进行实验制备 FCNU-PBCA-NP,所得载药纳米粒大小均匀、表面光滑,平均粒径 (124.6 ± 5.2) nm,多分散系数范围为 0.07~0.16,ER (64.12 ± 2.36)%,DL (7.28 ± 0.76)%。载药纳米粒粒径分布和纳米粒形态透射电镜照片见图 1、2。

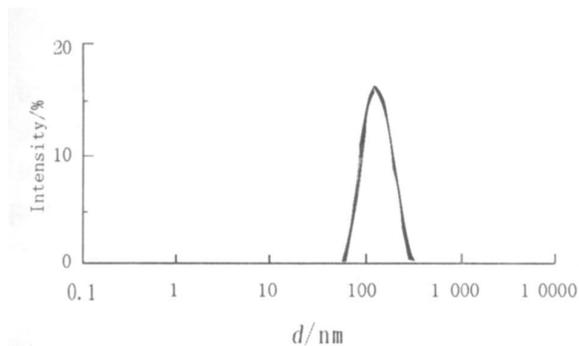


图 1 FCNU-PBCA-NP 的粒径分布

Figure 1. Particle size distribution of FCNU-PBCA-NP

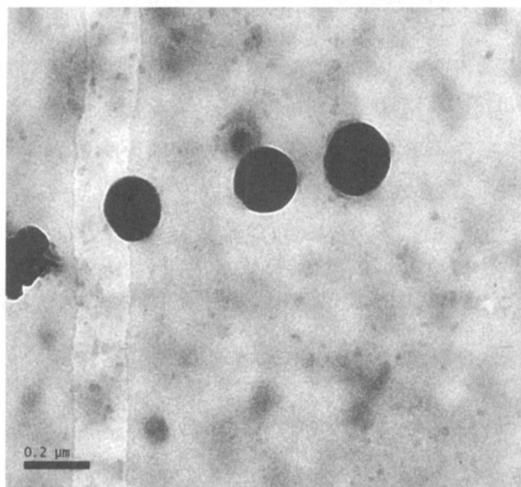


图 2 FCNU-PBCA-NP 的透射电镜照片

Figure 2. Transmission electron microscopy (TEM) of FCNU-PBCA-NP

Original magnification: $\times 8000$

3 讨论

近年来,靶向入脑的纳米载药系统受到广泛关注,其中最为吸引人的则是如何通过表面改性以达到载药纳米粒更好的脑靶向性和更强的透血脑屏障能力。PEG 作为一种常用的制药辅料,载药纳米粒经其修饰后靶向入脑能力的提高已被大量文献所证明^[3-5]。PBCA 作为脑靶向载体自 1995 年开始研究以来,其常用的表面活性剂为聚山梨酯-80^[6],而 PEG 与 PBCA 的稳定结合。也通过 Peracchia 等^[7]证实,且在 Das 等^[8]的研究中同样发现经聚山梨酯-80 和 PEG 双重修饰的载达拉根 (dalargin) PBCA 纳米粒比未经 PEG 修饰的纳米粒靶向入脑能力更强。

我们初拟采用聚山梨酯-80 和 PEG 对所制备的 FCNU-PBCA-NP 进行双重修饰,但发现聚山梨酯-80 在 229 nm 波长处对 FCNU 的测定产生干扰,影响了 ER 的准备计算。因此,本实验选择了单独使用 PEG 作为表面修饰剂,制备载药纳米粒 FCNU-PBCA-NP。

PEG 可提高药物载体靶向入脑能力,其主要机制是可避免载药纳米粒被肝、脾及网状内皮系统 (RES) 巨噬细胞的吞噬,从而延长载药纳米粒在血浆中的半衰期,使其具备了长循环和隐形的特点^[6]。本实验通过正交设计,在优化 FCNU-PBCA-NP 处方和工艺时,发现 PEG20000 浓度对 FCNU-PBCA-NP 粒径未产生显著性影响,但可较显著提高 ER,这与 Das 等^[8]的研究结果一致。且我们按优化方案制备出的 FCNU-PBCA-NP 平均粒径基本同文献^[10]报道接近^[9-10],而 ER 还高于部分文献报道的 54.12%。

此外,正交实验结果显示,BCA 单体体积分数过大或过小都对纳米粒粒径产生显著影响,这可能是由于在 BCA 的聚合反应中,由 OH^- 基团引发的聚合反应致聚合链随单体量的增加逐渐延长,纳米粒粒径也随之增大;BCA 单体量过小又易形成不规则纳米粒难以成球,因此选择合适的 BCA 单体体积分数对形成大小均一、表面光滑的载药纳米粒至关重要^[11]。而 FCNU 处方用量对纳米粒 ER 的显著性影响,因 FCNU 20 mg 时已在溶液中达到饱和浓度,因此增加 FCNU 的用量反而导致 FCNU-PBCA-NP ER 的下降。所以,制备载药纳米粒过程中,药物与载体材料的比较应适当。

本研究通过优化工艺,初步成功制备出经 PEG 修饰的 FCNU-PBCA-NP,为进一步研究 FCNU-PBCA-

NP的药理学性质奠定了基础,也为研发FCNU临床给药新剂型提供一定的参考价值。

【参考文献】

- [1] De Rossi A, Rossi L, Laudisi A, et al. Focus on fotemustine[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2006, 25(4): 461.
- [2] Kreuter J. Nanoparticulate systems for brain delivery of drugs[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2001, 47(1): 65.
- [3] Lu W, Zhang Y, Tan YZ, et al. Cationic albumin conjugated pegylated nanoparticles as novel drug carrier for brain delivery[J]. J Control Release, 2005, 107(3): 428.
- [4] Lu W, Wan J, She Z, et al. Brain delivery property and accelerated blood clearance of cationic albumin conjugated pegylated nanoparticle[J]. J Control Release, 2007, 118(1): 38.
- [5] Liu L, Guo K, Lu J, et al. Biologically active core/shell nanoparticles self assembled from cholesterol terminated PEG-TAT for drug delivery

- across the blood brain barrier[J]. Biomaterials, 2008, 29(10): 1509.
- [6] 徐辉碧. 纳米医药[M]. 北京: 清华大学出版社, 2004: 136-139.
- [7] Peracchia MT, Vauthier C, Puisieux F, et al. Development of sterically stabilized poly(isobutyl 2-cyanoacrylate) nanoparticles by chemical coupling of poly(ethylene glycol)[J]. J Biomed Mater Res, 1997, 34(3): 317.
- [8] Das D, Lin S. Double coated poly(butylcyanoacrylate) nanoparticulate delivery systems for brain targeting of dalargin via oral administration[J]. J Pharm Sci, 2005, 94(6): 1343.
- [9] 张阳德, 丁诚, 张宗久, 等. 优化工艺制备表阿霉素 α 聚氰基丙烯酸正丁酯纳米粒[J]. 中华实验外科杂志, 2006, 23(10): 1191.
- [10] 黄乐松, 王春霞, 陈志良, 等. 吉西他滨聚氰基丙烯酸正丁酯纳米粒的制备工艺[J]. 南方医科大学学报, 2007, 27(11): 1653.
- [11] 刘海燕, 陈劲春, 陈兴田. 吡啶美辛聚氰基丙烯酸正丁酯纳米粒的制备[J]. 北京化工大学学报, 2008, 35(4): 73.

(2009-07-13 收稿)

影响医务人员上报儿童药物不良反应的相关因素调查

李莉霞¹, 陆晓彤¹, 刘海涛¹, 刘艳¹, 唐跃年¹, 李永洋², 张健¹ (¹上海交通大学医学院附属新华医院药剂科, 上海 200092; ²上海建工医院微创外科, 上海 200083)

【摘要】 目的 对影响医务人员上报儿童药物不良反应(ADRs)相关因素进行分析,并探讨解决问题的方法。方法 采用调查问卷的方式,就儿童ADRs监测状况的相关问题,对上海市儿童主要就诊医院的医务人员进行调查分析。结果 共发放问卷600份,回收有效问卷563份。医务人员掌握ADRs知识较少;学历、职业、ADRs诊断史、填写ADR报告的知晓程度和ADRs知识培训教育情况5个因素与上报ADRs相关;工作职责和自愿报告是促进医务人员上报ADRs的主要因素;不知道ADRs报告程序和诊断有困难,不能确定是否是ADRs是影响医务人员上报儿童ADRs的主要因素;大多数医务人员接受的ADRs培训方式是ADRs专题讲座和发放ADRs的相关资料。结论 对大多数医务人员ADRs知识培训和宣传力度不够是影响上报儿童ADRs的主要原因。加强和深入ADRs培训教育工作是做好儿童ADRs监测工作的前提。

【关键词】 药物不良反应; 儿童; 问卷调查

【文献标志码】 A

【文章编号】 1007-4406(2010)04-0212-05

Survey and analysis of correlation factors influencing medical staffs to report adverse drug reactions in children

LI Lixia¹, LU Xiaotong¹, LIU Haitao¹, LIU Yan¹, TANG Yuenian¹, LI Yongyang², ZHANG Jian¹ (¹Department of Pharmacy, Xinhua Hospital Affiliated to School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200092, China;

【基金项目】 上海高校选拔培养优秀青年教师科研专项基金(NO. jdy-07055)

【作者简介】 李莉霞(1975-),女,主管药师。主要从事临床药学。Tel: 021-65790000-5237; E-mail: llxy88@sina.com

【通信作者】 张健,男,副主任药师。Tel: 021-65790000-5200