

紫杉醇原位凝胶的制备及其抗肿瘤骨转移的作用研究

周峰, 李金梦, 冯珺, 蔡鑫君* (浙江省中西医结合医院药学部, 杭州 310003)

摘要: 目的 制备紫杉醇原位凝胶, 考察其理化性质及对体内肿瘤骨转移的作用。方法 冷溶法制备紫杉醇原位凝胶, 考察其稳定性及体外释放特性; 建立裸鼠乳腺癌骨转移 MRMT-1 细胞模型, 通过瘤内局部给药, 研究其体内抗肿瘤骨转移的作用。结果 制得的紫杉醇原位凝胶的胶凝温度为 32.3 °C, 其体外释药曲线为 $Q=2.5579t+28.067$, $r=0.9995$, 符合零级动力学方程。动物试验结果表明, 紫杉醇原位凝胶给药后能有效降低裸鼠肿瘤体积, 其抑制作用与给药剂量呈正相关。X 射线检查显示, 空白凝胶组裸鼠骨质受损严重, 紫杉醇原位凝胶给药后, 裸鼠骨受损情况显著改善; 与空白凝胶组相比, 紫杉醇原位凝胶高浓度组骨密度显著上升($P<0.05$)。结论 制备的紫杉醇原位凝胶体外释放良好, 能够显著抑制乳腺癌骨转移, 改善肿瘤引起的骨质受损。

关键词: 紫杉醇; 原位凝胶; 肿瘤骨转移

中图分类号: R943

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2022)09-1168-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.09.006

引用本文: 周峰, 李金梦, 冯珺, 等. 紫杉醇原位凝胶的制备及其抗肿瘤骨转移的作用研究[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(9): 1168-1173.

Study on Preparation of Paclitaxel *in Situ* Gel and Its Effect on Anti-bone Metastasis of Tumor

ZHOU Feng, LI Jinmeng, FENG Jun, CAI Xinjun* (Department of Pharmacy, Zhejiang Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Hangzhou 310003, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare paclitaxel *in situ* gel and to investigate its physical and chemical properties and effect on bone metastasis of tumor *in vivo*. **METHODS** Paclitaxel *in situ* gel was prepared by cold solution method, and its stability and release characteristics *in vitro* were investigated. The MRMT-1 cell model of breast cancer bone metastasis in nude mice was established to study the effect of anti-bone metastasis of tumor of paclitaxel *in situ* gel *in vivo* by local administration in tumor. **RESULTS** The gelation temperature of paclitaxel *in situ* gel was 32.3 °C, and the drug release curve *in vitro* was $Q=2.5579t+28.067$, $r=0.9995$, which fit the zero-order kinetics equation. Animal experiment results showed that paclitaxel *in situ* gel could effectively reduce tumor volume in nude mice, the inhibitory effect was positively correlated with the dosage. X-ray examination showed that bone damage of nude mice was severe in the blank gel group, and bone damage of nude mice was significantly improved after of paclitaxel *in situ* gel administration. Compared with the blank gel group, bone density was also significantly increased in nude mice in the high concentration of paclitaxel *in situ* gel group($P<0.05$). **CONCLUSION** The paclitaxel *in situ* gel prepared in this study has good release characteristics *in vitro*, and can significantly inhibit tumor bone metastasis and improve the bone damage caused by tumor.

KEYWORDS: paclitaxel; *in situ* gel; bone metastasis of tumor

骨转移癌是晚期肿瘤常见的并发症, 其发生率是原发性骨肿瘤的 35~40 倍^[1]。骨转移癌所导致的骨痛、骨损伤及骨相关事件(skeletal-related event, SRE)严重影响患者的生存质量^[2]。

紫杉醇作用于肿瘤细胞的微管蛋白, 是用于乳腺癌、卵巢癌的一线治疗药物, 被认为是植物药物发展史上的里程碑^[3-5]。该药不良反应较强, 且不溶于水, 现临床应用的紫杉醇制剂是在临床用药前将其溶解于体积比为 1:1 的非离子型表面活性剂聚氧乙烯基蓖麻油(Cremophor EL)和乙醇

混合溶液后, 于静注前再稀释使用。由于其临床使用过程中伴有严重的过敏反应、血液毒性和神经毒性, 应用受到了一定限制^[6-7]。因而, 制备能够减轻紫杉醇不良反应, 增加其治疗指数, 增大水溶性, 方便临床用药的新制剂一直是研究的热点^[8]。

原位凝胶又称即型凝胶, 将其以溶液状态(溶胶)给药后, 能够立即在用药部位发生相转变, 成为半固体的凝胶状态。将抗肿瘤药物负载于这种原位凝胶中, 成为一种用于肿瘤局部用药的新型缓释系统, 其能在体内注射部位直接成胶, 在病

基金项目: 杭州市卫生科技计划(一般)项目(2017A35)

作者简介: 周峰, 男, 主管药师 E-mail: zftlaotou@163.com

*通信作者: 蔡鑫君, 男, 硕士, 副主任药师

E-mail: zjtemcxj@163.com

灶部位靶向释放实现靶向治疗, 并抗肿瘤药物进行治疗剂量的控制, 因而提高化疗药物疗效, 减轻不良反应, 同时极大地提高药物的生物利用度^[9-11]。研究发现, 冷溶法制备的原位凝胶植入肿瘤部位后呈高黏滞性, 能长时间地和用药部位紧密接触, 在肿瘤周围缓慢释放, 不断析出治疗药物, 长时间维持局部高浓度、提高药物的生物利用度^[12]。其组织相容性较好, 使用方便, 在减少给药频率的同时减轻了静脉注射抗肿瘤药所引起的毒性反应等不良反应^[13-14]。

本实验将紫杉醇作为治疗药物, 用冷溶法制备紫杉醇原位凝胶, 通过瘤内局部给药, 研究紫杉醇原位凝胶的理化性质, 并建立裸鼠乳腺癌骨转移 MRMT-1 细胞模型, 研究其体内抗肿瘤骨转移的作用, 以期为该新剂型的临床应用提供基础。

1 仪器与材料

1.1 仪器

1260II型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); BT25S 型分析天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]; KQ-50E 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); W201B 型恒温水浴锅、R202B 型旋转蒸发仪(上海申胜生物技术有限公司); 85-2 型恒温磁力搅拌器(上海志威电器有限公司); FE28-Standard 型 pH 计[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]; PXL7000 型 X 线骨密度仪(PERLOVE 公司)。

1.2 材料

BALB/c 裸鼠 36 只, ♂, 6 周龄, 由上海斯莱克公司提供, 动物生产许可证号: SCXK(沪)2012-0021。饲养条件: 恒温, 温度(22±2)℃, 湿度 50%~60%, 14 h 光照和 10 h 黑暗的环境明暗交替, 换风次数每小时 15~20 次。由浙江中医药大学动物实验研究中心饲养。实验饲养室许可证号: SYXK(浙)2013-0184。

紫杉醇对照品(阿拉丁, 货号: P106869; 纯度: 99.9%); 紫杉醇注射液(扬子江药业集团有限公司, 批号: 20051411; 规格: 50 mL : 30 mg); MRMT-1 细胞(ATCC); 泊洛沙姆 188 和泊洛沙姆 407(上海昌为医药辅料技术有限公司, 批号分别为 WPDI608B 和 WPMI556B); 磷脂(Lipoid, 批号: S100); 胆固醇(Corden Pharma, 批号: X0515); 乙腈(美国 Honeywell 公司, 批号: 08TA1H); 磷

酸(天津市永大化学试剂有限公司, 批号: 20140309); 氯仿(西陇科学股份有限公司, 批号: 170705-2); 碘伏(海氏海诺集团, 批号: 190606)。

2 方法

2.1 紫杉醇原位凝胶的制备

紫杉醇脂质体的制备: 采用薄膜分散法, 称取约 33 mg 的紫杉醇原料药, 胆固醇 17 mg, 卵磷脂 103 mg 置于 500 mL 圆底烧瓶中, 加入氯仿约 20 mL 使溶解, 混合均匀, 在 40℃ 下水浴旋转(90 r·min⁻¹)蒸发 20 min, 除去氯仿, 脂质在瓶壁上形成均匀薄膜, 去掉水浴继续抽真空 30 min, 以保证氯仿全部除尽。将 0.2 mol·L⁻¹ 磷酸氢二钠和磷酸二氢钠(pH 7.0)的磷酸缓冲盐离子对溶液 20 mL 倒入已成膜的圆底烧瓶中, 保持水浴温度 40℃, 旋转蒸发仪以 90 r·min⁻¹ 旋转蒸发 20 min, 后将该溶液用磁力搅拌 30 min(1 000 r·min⁻¹), 即得紫杉醇脂质体。

将已制备好的紫杉醇脂质体倒入一个预先加入 2.8 g 泊洛沙姆 407, 0.16 g 泊洛沙姆 188 的烧杯中。待混合物自然溶胀后置 4℃ 冰箱储存过夜, 以除去气泡, 直到形成透明的溶液, 即得紫杉醇原位凝胶。

2.2 紫杉醇原位凝胶中紫杉醇含量的测定

采用 HPLC 测定制备的紫杉醇原位凝胶中紫杉醇的含量。色谱条件: Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 柱(150 mm×4.6 mm, 4 μm); 流动相: 水-乙腈(50 : 50); 流速 1 mL·min⁻¹; 柱温 35℃; 检测波长 227 nm; 进样量 10 μL。称取紫杉醇对照品约 10 mg, 制备成浓度约为 1 mg·mL⁻¹ 的对照品贮备液。用流动相分别稀释成浓度为 10.5, 21.0, 52.5, 105.0, 157.5, 210.0 μg·mL⁻¹ 的系列对照品溶液, 采用 HPLC 分别测定各对照品溶液的峰面积, 建立紫杉醇对照品的标准曲线。用乙腈对制备的紫杉醇原位凝胶进行超声破乳, 测定制备的紫杉醇原位凝胶的峰面积, 后用该标准曲线校正, 测得紫杉醇原位凝胶中紫杉醇的含量。

2.3 精密度、重复性和稳定性试验

精密移取 210.0, 105.0, 21.0 μg·mL⁻¹ (高、中、低) 3 个不同浓度对照品溶液, 采用 HPLC 测定各对照品溶液的峰面积, 连续测定 5 d, 计算日内和日间精密度。精密配制紫杉醇样品溶液浓度约为 100 μg·mL⁻¹ 共 6 份, 检测每份样品的峰面积, 分

析该测定方法的重复性。精密吸取紫杉醇对照品溶液浓度约为 $100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，分别于 0, 1, 2, 4, 6, 8, 24 h 各进样 $10\text{ }\mu\text{L}$ ，记录峰面积。考察紫杉醇对照品溶液的稳定性。

2.4 胶凝温度的测定

应用倒置法测定胶凝温度。取适量的紫杉醇原位凝胶溶液置于西林瓶中，在冰水浴中慢慢加热，水浴温度以 $1\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升温，每升温 $1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 即取出西林瓶，倒置观察是否形成凝胶，直到西林瓶中的所有溶液全部变成凝胶，记录此时温度，每个样品重复 3 次。

2.5 紫杉醇脂质体包封率的测定

包封率是指脂质体中实际包裹的药物量与用于制备脂质体的初始加入药物量之比。将制得脂质体溶液于室温下，超速离心($12\text{ }000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$) 30 min ，收集上清液。精密量取 1 mL 脂质体原溶液和上清液，加入适量乙腈超声破乳，利用 HPLC 分别测定各溶液紫杉醇峰面积，代入回归方程，分别计算紫杉醇总量 $C_{\text{总}}$ 和游离的紫杉醇浓度 $C_{\text{游}}$ ，通过下式进行计算：包封率 $= (C_{\text{总}} - C_{\text{游}}) / C_{\text{总}} \times 100\%$ 。

2.6 紫杉醇原位凝胶体外释药情况的考察

精密吸取 5 mL 供试品液加入经过处理的透析袋内，将袋口扎紧放入装有 100 mL PBS($\text{pH}=6.6$) 溶液的广口瓶中，将广口瓶放入 $(37\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 的恒温水浴振荡器中，定时吸取 0.5 mL 透析液，并补加入等量的 PBS 溶液。采用 HPLC 测定紫杉醇浓度，并计算相对累积释放率。

2.7 裸鼠乳腺癌骨转移模型的建立

MRMT-1 细胞正常培养和传代，将处于对数生长期的 MRMT-1 细胞制成 $1\times 10^6\cdot\text{mL}^{-1}$ 的细胞悬液。取 36 只 BALB/c 裸鼠，适应性培养 1 周。随机选取其中的 30 只建立裸鼠乳腺癌骨转移模型：用 10% 的水合氯醛($0.004\text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$)对裸鼠腹腔注射麻醉。裸鼠左后肢膝关节用碘伏消毒备皮，用剪刀剪开皮肤 0.5 cm 左右，暴露出白色的髌韧带，然后将裸鼠膝关节弯曲，并以 1 mL 注射器针头经髌韧带刺入胫骨干骺端，进入 $0.5\sim 1\text{ cm}$ 左右，退出针头；然后用 $25\text{ }\mu\text{L}$ 的微量注射器注入 MRMT-1 细胞(每微升 250 个)，缓慢退出针头，并用棉签按压进针口 10 s 。未见液体流出后，逐层缝合，碘伏消毒皮肤后将裸鼠侧放入笼中。待裸鼠醒后，用青霉素(每只裸鼠 $10\text{ }000\text{ U}$)于裸鼠大腿外侧肌肉

注入，连续 3 d。

2.8 裸鼠分组及处理

待瘤体体积长至 100 mm^3 左右，按体质量和瘤体积将裸鼠随机分为 6 组：假手术组，空白凝胶组，紫杉醇原位凝胶低、中、高浓度组($10, 15, 20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)，紫杉醇组($20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)。

各紫杉醇原位凝胶组裸鼠均给药 1 次，于裸鼠骨关节瘤旁植入；紫杉醇组(阳性对照)裸鼠尾静脉注射 $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的紫杉醇注射液，每 48 h 给药一次，共给药 4 次。其中，紫杉醇原位凝胶高浓度组和紫杉醇组总给药量均为 $20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。假手术组给予等剂量的生理盐水，空白凝胶组给予等剂量的空白凝胶。

2.9 紫杉醇原位凝胶对裸鼠肿瘤抑制情况检测

各组裸鼠给药 21 d 后，麻醉处死，剪下左后肢，置于 4% 多聚甲醛中固定，去除周围组织，分离出包含完整肿瘤组织的胫骨，测定肿瘤长短径，计算肿瘤体积。肿瘤体积 $= (\text{肿瘤长径} \times \text{肿瘤短径}^2) / 2$ 。计算肿瘤抑制率。X 线骨密度仪扫描胫骨，小动物软件计算各组裸鼠胫骨矿物质含量(bone mineral content, BMC)和骨密度(bone mineral density, BMD)。

2.10 统计学处理

采用 SPSS 16.0 统计软件进行数据分析，计量资料多组间用 One-way-ANOVA 单因素方差分析，组间比较采用 LSD 或 SNK 分析。方差不齐者采用 Kruskal-Wallis H 检验。符合正态分布的数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示， $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 制备的紫杉醇原位凝胶的含量、精密度、重复性和稳定性

HPLC 测定紫杉醇含量中制备的标准曲线的线性回归方程为 $A = 22.835C - 1.2814$ ($r = 0.9999$)。紫杉醇原位凝胶中紫杉醇的含量为 $0.508\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

精密度项下，紫杉醇高浓度 5 d 的日内精密度 RSD 分别为 0.95%, 0.90%, 1.29%, 0.83%, 1.98%，日间精密度 RSD 为 1.47%。紫杉醇中浓度 5 d 的日内精密度 RSD 分别为 2.55%, 2.53%, 0.73%, 0.68%, 0.98%，日间精密度 RSD 为 1.59%。紫杉醇低浓度 5 d 的日内精密度 RSD 分别为 1.74%, 1.90%, 3.39%, 3.20%, 2.37%，日间精密度 RSD 为 2.60%。紫杉醇高、中、低浓度日内和日间精密度均符合方法学要求。

重复性项下测得紫杉醇浓度分别为 100.65, 98.49, 99.18, 98.94, 101.88, 100.82 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 平均值为 99.99 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, RSD 为 1.32%。结果表明重复性试验符合方法学要求。

稳定性试验结果表明紫杉醇对照品溶液 24 h 峰面积 RSD 为 0.21%, 结果表明紫杉醇的含量在 24 h 内性质稳定。

3.2 紫杉醇原位凝胶的温度、包封率及体外释药情况

测定凝胶温度 3 次, 分别为 32, 32, 33 $^{\circ}\text{C}$, 平均值为 32.3 $^{\circ}\text{C}$, 故胶凝温度为 32.3 $^{\circ}\text{C}$ 。测得的紫杉醇脂质体包封率为 99.23%。紫杉醇原位凝胶的释放曲线, 见图 1。

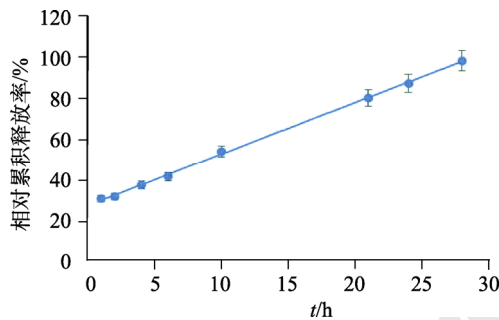


图 1 紫杉醇原位凝胶释放曲线示意图($\bar{x} \pm s, n=3$)
Fig. 1 Release curve of paclitaxel *in situ* gel system($\bar{x} \pm s, n=3$)

图 1 显示紫杉醇原位凝胶具有缓释效果。分别用零级动力学方程、一级动力学方程、Weibull 方程对紫杉醇样品体外释药数据进行处理, 得到紫杉醇原位凝胶不同释药模型拟合方程, 见表 1。结果表明, 原位凝胶的释放曲线符合零级动力学方程, 且原位凝胶具有显著的缓释特性。

表 1 紫杉醇原位凝胶的不同释药模型拟合方程
Tab. 1 Fitting equations of different drug release models in paclitaxel *in situ* gel

模型	拟合方程	r
零级动力学方程	$Q=2.5579t+28.067$	0.9995
一级动力学方程	$\ln(100-Q)=-0.0772t-0.1778$	0.9862
Weibull 方程	$\ln\ln[100/(100-Q)]=0.565\ln t-1.0883$	0.8926

3.3 紫杉醇原位凝胶对裸鼠肿瘤抑瘤率的影响

紫杉醇原位凝胶对裸鼠肿瘤的抑制情况见图 2。与空白凝胶组相比, 紫杉醇原位凝胶中、高浓度组及紫杉醇组裸鼠肿瘤体积显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。各组抑瘤率由高到低为紫杉醇组>紫杉醇原位凝胶高浓度组>紫杉醇原位凝胶中浓度

组>紫杉醇原位凝胶低浓度组, 紫杉醇原位凝胶抑制肿瘤体积与给药剂量呈正相关。结果见表 2。

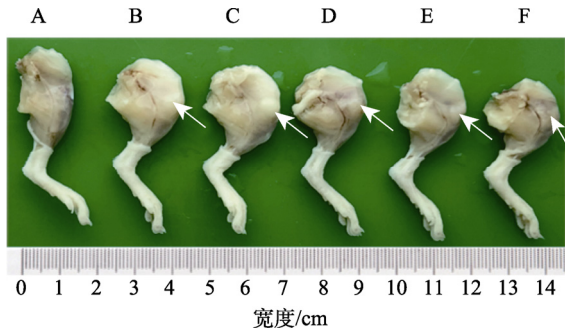


图 2 紫杉醇原位凝胶对裸鼠肿瘤体积的影响
A-假手术组; B-空白凝胶组; C-紫杉醇原位凝胶低剂量组; D-紫杉醇原位凝胶中剂量组; E-紫杉醇原位凝胶高剂量组; F-紫杉醇组。箭头指示肿瘤位置。

Fig. 2 Effect of paclitaxel *in situ* gel on tumor volume of nude mice

A-Sham operation group; B-blank gel group; C-paclitaxel *in situ* gel low concentration group; D-paclitaxel *in situ* gel medium concentration group; E-paclitaxel *in situ* gel high concentration group; F-paclitaxel group. Arrow: tumor position.

表 2 紫杉醇原位凝胶对裸鼠肿瘤体积的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)
Tab. 2 Effect of paclitaxel *in situ* gel on tumor volume of nude mice($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	给药量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	肿瘤体积/ mm^3	肿瘤抑 制率/%
假手术组	—	—	—
空白凝胶组	—	334.27 ± 46.88	—
紫杉醇原位凝胶低剂量组	10	307.90 ± 32.05	7.89
紫杉醇原位凝胶中剂量组	15	$262.14 \pm 38.10^{(1)}$	21.58
紫杉醇原位凝胶高剂量组	20	$185.10 \pm 22.97^{(2)}$	44.63
紫杉醇组	20	$141.09 \pm 14.31^{(2)}$	57.79

注: 与空白凝胶组比较, $^{(1)}P<0.05$, $^{(2)}P<0.01$ 。
Note: Compared with blank gel group, $^{(1)}P<0.05$, $^{(2)}P<0.01$.

3.4 紫杉醇原位凝胶对裸鼠骨转移受损骨质的影响

X 线检查结果显示, 与假手术组比较, 空白凝胶组裸鼠骨质受损较严重; 与空白凝胶组比较, 紫杉醇原位凝胶不同剂量组和紫杉醇组裸鼠骨质均有一定程度的好转。经 BMC 和 BMD 的测定发现, 与假手术组比较, 空白凝胶组裸鼠胫骨 BMC 含量无明显变化, BMD 显著下降($P<0.01$), 表明造模后裸鼠胫骨骨质受损较严重, 裸鼠发生了肿瘤骨转移; 与空白凝胶组比较, 紫杉醇原位凝胶不同剂量组和紫杉醇组 BMC 含量无明显变化, 紫杉醇原位凝胶高浓度组及紫杉醇组 BMD 显著上升($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 表明紫杉醇能够改善骨转移裸鼠受损的骨质, 紫杉醇制成原位凝胶后不改变其抗肿瘤作用。结果见图 3 和表 3。

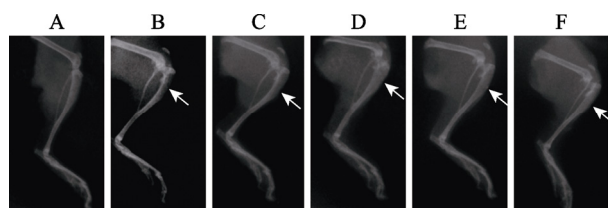


图3 紫杉醇原位凝胶对裸鼠骨转移受损骨质的影响
A-假手术组；B-空白凝胶组；C-紫杉醇原位凝胶低剂量组；D-紫杉醇原位凝胶中剂量组；E-紫杉醇原位凝胶高剂量组；F-紫杉醇组。箭头指示受损骨质位置。

Fig. 3 Effect of paclitaxel *in situ* gel on bone destruction of nude mice with breast cancer bone metastasis

A-Sham operation group; B-blank gel group; C-paclitaxel *in situ* gel low concentration group; D-paclitaxel *in situ* gel medium concentration group; E-paclitaxel *in situ* gel high concentration group; F-paclitaxel group. Arrow: bone damaged position.

表3 X射线检测BMC和BMD($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Tab. 3 BMC and BMD measured by X-ray($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	给药量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	BMC/g	BMD/ $\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$
假手术组	—	3.20 ± 0.28	0.12 ± 0.02
空白凝胶组	—	3.00 ± 0.14	$0.08 \pm 0.01^{1)}$
紫杉醇原位凝胶低剂量组	10	3.06 ± 0.1	0.09 ± 0.01
紫杉醇原位凝胶中剂量组	15	3.04 ± 0.14	0.09 ± 0.01
紫杉醇原位凝胶高剂量组	20	3.07 ± 0.17	$0.10 \pm 0.02^{2)}$
紫杉醇组	20	3.09 ± 0.21	$0.10 \pm 0.01^{3)}$

注：与假手术组比较， $^{1)}P<0.01$ ；与空白凝胶组比较， $^{2)}P<0.05$ ， $^{3)}P<0.01$ 。

Note: Compared with sham operation group, $^{1)}P<0.01$; compared with blank gel group, $^{2)}P<0.05$, $^{3)}P<0.01$.

4 讨论

本实验采用冷溶法制备紫杉醇原位凝胶，建立裸鼠乳腺癌骨转移MRMT-1细胞模型，研究其在裸鼠体内抗肿瘤骨转移的作用。结果表明，紫杉醇原位凝胶明显抑制乳腺癌骨转移，改善肿瘤引起的骨质受损。

目前常用的肿瘤骨转移动物模型主要有原位移植法、血流播散法及局部注射法^[15]。肿瘤原位移植法虽较为成熟，但在骨转移的模型中，转移率通常较低，不适宜大规模建模^[16]。而血流播散法更是操作难度大，动物极容易在注射过程中死亡，且动物很可能在肿瘤骨转移形成率不确定的情况下因其他部位的肿瘤而死亡^[17]。相比之下，局部注射法在实验的设计及控制上更容易把握，能相对固定肿瘤的形成部位，且对动物造成的创伤较小^[18]。本实验采用胫骨平台注射法，利用肿瘤细胞侵袭周围邻近组织的特性，成功构建了裸鼠乳腺癌骨转移的动物模型，并将此模型用于研

究紫杉醇对裸鼠乳腺癌骨转移的治疗作用。

结果表明，紫杉醇原位凝胶中、高剂量组和紫杉醇组均能有效降低裸鼠肿瘤体积($P<0.05$ 或 $P<0.01$)；与空白凝胶组骨质受损较严重相比，紫杉醇原位凝胶不同剂量组和紫杉醇组均有一定程度的好转，且紫杉醇原位凝胶高浓度组和紫杉醇组的骨密度显著上升($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。因此本研究中制备的紫杉醇原位凝胶不改变紫杉醇的抗肿瘤作用，且在使用过程中能减轻化疗药物的不良反应，为以后该新型凝胶制剂的临床应用提供基础。

肿瘤骨转移的主要原因为肿瘤细胞释放多种因子引起溶骨，其破坏了成骨细胞和破骨细胞间的平衡，使破骨细胞的活性和数量明显增加，从而损伤正常的骨质结构，引起肿瘤的浸润生长^[19]。本研究结果显示，紫杉醇抑制肿瘤骨转移引起的BMD下降，从而减轻了溶骨性病变导致的骨质破坏，有利于抑制肿瘤骨转移。

目前脂质体原位凝胶体系的研究还不成熟，尚处于探索阶段，许多问题仍待解决，本研究仅对该凝胶在抗肿瘤方面的作用进行了初步探索，后续仍需进一步优化该凝胶的制备工序，探索该制剂的药动力学和药效学特性，并进一步研究该制剂对肿瘤的抑制作用。

REFERENCES

- [1] KOOB S, KEHRER M, STRAUSS A, et al. Bone metastases-pathophysiology, diagnostic testing and therapy (Part 1)[J]. Z Orthop Unfall, 2017, 155(6): 716-726.
- [2] PAROOEI F, ZAMANPOUR S, SALARZAEI M. Bone metastasis of breast cancer-a review[J]. Indo Am J Pharm Sci, 2017, 4(9): 3297-3299.
- [3] QI R F, SHI R L, LYU J, et al. Curcumin combined with paclitaxel can reduce breast cancer MDA-MB-231 cell migration synergistically and reduce MMP9 expression *in vitro* and *in vivo*[J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med(中药药理与临床), 2016, 32(1): 83-85.
- [4] CUI X J, LU X L, FENG W W. Preparation of paclitaxel-loaded mPEG-PLGA-PLL nanoparticles and their effects on drug-resistant ovarian cancer cells[J]. Chin J New Drugs Clin Rem(中国新药与临床杂志), 2020, 39(9): 552-557. Doi: 10.14109/j.cnki.xyylc.2020.09.10.
- [5] MA J J, YANG Z, GUO H, et al. Research progress in improving water solubility and targeting of paclitaxel by prodrugs[J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2021, 30(16): 1489-1497.
- [6] 赵丽杰, 吴红杰. 抗肿瘤药紫杉醇的不良反应及临床合理

- 用药分析[J]. 中国医药指南, 2018, 16(9): 140-141.
- [7] 李春燕, 王玉珍. 抗肿瘤药紫杉醇的不良反应及临床合理用药评价[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2019, 26(S1): 151, 153.
- [8] 郑婉榕, 赖佛宝. 紫杉醇新剂型研究进展[J]. 现代医药卫生, 2020, 36(2): 216-219.
- [9] KARAVASIL C, FATOUROS D G. Smart materials: *in situ* gel-forming systems for nasal delivery[J]. Drug Discov Today, 2016, 21(1): 157-166.
- [10] DEWAN M, SARKAR G, BHOWMIK M, et al. Effect of gellan gum on the thermogelation property and drug release profile of Poloxamer 407 based ophthalmic formulation[J]. Int J Biol Macromol, 2017(102): 258-265.
- [11] YANG B Y, CHEN B, XU P, et al. Development of *in-situ* gel technology and its related products[J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2020, 29(17): 1964-1971.
- [12] SHI J Y, ZHU H Y, PIAO H S, et al. Research of thermosensitive *in situ* gel in anticancer field and its application[J]. J Jilin Med Univ(吉林医药学院学报), 2019, 40(5): 359-361.
- [13] LIU Y, WANG X, LIU Y, et al. Thermosensitive *in situ* gel based on solid dispersion for rectal delivery of ibuprofen[J]. AAPS PharmSciTech, 2018, 19(1): 338-347.
- [14] XIE M H, GE M, PENG J B, et al. *In-vivo* anti-tumor activity of a novel poloxamer-based thermosensitive *in situ* gel for sustained delivery of norcantharidin[J]. Pharm Dev Technol, 2019, 24(5): 623-629.
- [15] SIMMONS J K, HILDRETH B E III, SUPSAVHAD W, et al. Animal models of bone metastasis[J]. Vet Pathol, 2015, 52(5): 827-841.
- [16] GUO Q, YUAN M H, GUO Y F. A review on method of animal model of breast cancer with bone metastasis[J]. Clin J Chin Med(中医临床研究), 2019, 11(7): 144-146.
- [17] QI S Y, SHI M, GAO J P. Research progress of animal model of prostate cancer bone metastasis[J]. Chin J Clin: Electron Ed(中华临床医师杂志: 电子版), 2017, 11(4): 658-661.
- [18] PARK S H, EBER M R, SHIOZAWA Y. Models of prostate cancer bone metastasis[J]. Methods Mol Biol, 2019(1914): 295-308.
- [19] WU K, LIU M Q, ZHAO Q S. Clinical effect of Zoledronic acid combined with concurrent chemoradiotherapy in the treatment of bone metastasis of advanced breast cancer[J]. China Med Her(中国医药导报), 2019, 16(5): 96-99.

收稿日期: 2021-04-30

(本文责编: 曹粤锋)