

# 苦参素缓释纳米球的研制

陈 纭,金 涌,王凤娟,苏 峰,陈飞虎,李 俊

(安徽医科大学药学院药物分析教研室,安徽 合肥 230032)

**摘要:**目的 制备缓释苦参素纳米球。方法 采用沉淀法制备苦参素-PLGA纳米球,并用透射电镜观察其外观形态,利用HPLC测定药物含量。结果 制得缓释 KU-PLGA-NS,其平均包封率为 79.5%,平均载药量为 1.75%,平均粒径为 190.5 nm。结论 制备 KU-PLGA-NS基本达到设计要求,该制剂有望成为一种新的药物靶向载体系统。  
**关键词:**苦参素;乳酸 羟基乙酸共聚物;纳米球

## Preparation of the delayed drug release nanoparticles of kurarinone

CHEN Yun, J N Yong, WANG Feng-juan, Su Feng, CHNG Fei-hu, L I Jun

(Department of Pharmaceutical Analysis, Anhui Medical University, Hefei Anhui 230032)

**Abstract:** **Aim** To prepare the delayed drug release nanoparticles of kurarinone **Method** Kurarinone-PLGA-nanosphere was made by precipitation method, observed by TEM, and drug contents were measured by HPLC **Results** The KU-PLGA-NS has been prepared The average rate for the encapsulation is 79.5%. The average amount of the drug is 1.75%. The average size is 190.5 nm. **Conclusion** KU-PLGA nanoparticles essentially meet the design requirements The preparation is expected to become a new drug targeting vector system.  
**Key words:** kurarinone; PLGA; nanoparticles

苦参素(kurarinone, KU)是从豆科槐属植物山豆根(Sophora tonkinensis Gagnep)分离提取的氧化苦参碱和极少量槐果碱的混合物,具有抗炎,抗病毒,免疫机制和抗肿瘤等作用,近年来发现它对病毒性肝炎亦有明显治疗作用<sup>[1-3]</sup>。纳米给药系统在实现靶向和缓释给药,以及提高难溶性药物的生物利用度,降低药物毒副作用等方面具有良好的应用前景。苦参素纳米球的制备方法据目前国内文献报道<sup>[4,5]</sup>主要有乳化溶剂挥发法、薄膜分散法等。本实验首次采用沉淀法制备,以

PLGA为载体,Pluronic F68为乳化剂,成功的制备了粒径大小适中的 KU-PLGA-NS,沉淀法的最大优点就是避免了含氯溶剂的使用,减少了对人体的伤害和对环境的污染。高分子材料乳酸 羟基乙酸共聚物(PLGA),因其优良的生物相容性和生物降解性,被广泛用作纳米球(nanosphere, NS)的载体材料,以其为载体的 NS克服了纳米乳剂,纳米脂质体药物易泄露等缺点,成为国内外的研究热点之一,为一类新型的靶向给药载体<sup>[6]</sup>。

### 1 试剂与仪器

**1.1 仪器** 79-1型磁力搅拌器(金坛市杰瑞尔电器有限公司),AG285型电子天平(瑞典 METTLER TOLEDO 公司),岛津高效液相色谱仪(包括 LC-20AB泵,SPD-M20A紫外检测器

基金项目:安徽医科大学校级教学研究项目;安徽省自学科学基金项目(编号:070413117)  
通讯作者:金 涌,男,博士,教授,研究方向:药剂学, E-mail: jiyayd@mail.china.com

表 6 多剂量口服双单侧检验结果 (α=0.05)

参数	S	T	T	T(16)	结论
ln C <sub>max</sub>	0.119	3.82	7.42	1.746	生物等效
ln AUC <sub>SS</sub>	0.0796	7.96	8.86	1.746	生物等效

### 4 讨论

人体内对乙酰氨基酚血药浓度测定的相关文献报道较多,本文所采用的方法经实验表明,具有较高的专属性,能准确测定血浆中对乙酰氨基酚的浓度,灵敏度高,精密度与重现性良好。单剂量(650 mg)和多剂量口服(650 mg, 5 d) T与 R,其血药浓度经时变化趋于一致;所得药动学参数,经方差分析和双单侧检验,显示均无显著性差异;AUC<sub>0-24</sub>、AUC<sub>0-∞</sub>、AUC<sub>SS</sub>、C<sub>max</sub>、T<sub>max</sub>的 90%置信区间均在规定的 80.01%~124.99%之间。可认为:对乙酰氨基酚缓释片与泰诺控释片生物等效。

### 参考文献:

[1] 吴希美,周汉良.对乙酰氨基酚的肝脏毒性及临床意义[J].药物流行病学杂志,1996,5(3):159-62

[2] 郭红英,王曼丽,赵志则,等.对乙酰氨基酚栓剂人体相对生物利用度和生物等效性[J].中国新药杂志,2004,15(3):831-3.

[3] 高卫真,姜建石,焦建杰,等.复方对乙酰氨基酚维生素泡腾片人体生物等效性研究[J].天津医科大学学报,2005,11(2):180-3.

[4] 崔 岚,祝德秋,黄赛杰,等.对乙酰氨基酚口腔崩解片人体药动学和生物等效性评价[J].中国新药杂志,2006,15(3):226-9.

[5] 许真之,陈桂良.对乙酰氨基酚溶液的 HPLC测定[J].中国医药工业杂志,1996,27(7):313.

[6] 王 玉,张 喆,陈西敬,等.高效液相色谱法测定对乙酰氨基酚的血药浓度及其生物利用度[J].中国临床药学杂志,2002,11(2):97-9.

[7] 单宝珠,王永铭.小儿用扑热息痛滴剂的相对生物利用度[J].上海药科大学学报,1996,23(6):461-3.

[8] 路 华.高效液相色谱法测定人血浆中对乙酰氨基酚浓度[J].安徽医药,2005,9(7):503-4.

[9] Sahajwalla CG, Ayres JW. Multiple-dose acetaminophen pharmacokinetics[J]. J Pharm Sci, 1991, 80: 855-60.

(收稿日期:2008-05-21)

及岛津 Lcsolution 色谱工作站),  $C_{18}$  色谱柱 (大连依利特, 150 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m), 超速冷冻离心机, 纳米粒径分析仪 (英国 Malvern 仪器公司), JEOL 型高分辨透射电镜 (日本电子株式会社), 0.45  $\mu$ m 微孔滤膜。

**1.2 试剂** 苦参素 (陕西龙孚生物化工有限责任公司提供), PLGA (LA/GA = 75/25, MW = 8600, 济南岱罡生物科技有限公司), Pluronic F-68 (西安罗森伯科技有限公司提供), 1.5% (w/v) 磷酸, 甲醇 (色谱纯), 丙酮等其他试剂均为分析纯。标准溶液的配制: 水相: 0.5% Pluronic F-68, 称取 Pluronic F-68 0.5g 溶于 100 ml 的纯化水中, 备用。有机相: 精密称取苦参素 19.7 mg, PLGA (75/25) 83.5 mg 溶于 5 ml 丙酮中, 备用。流动相的配制: 取 70 ml 甲醇加入 30 ml 水混匀, 再加入 0.772 g  $KH_2PO_4$  混匀, 再加入 30  $\mu$ l 三乙胺, 备用。

## 2 实验方法

**2.1 KU-PLGA-NS 胶体溶液的制备** 取 3 ml 已配好的有机相, 将其用注射器针头缓慢注入到以一定速度 (以不起泡为宜) 搅拌的 100 ml Pluronic F-68 水相中, 常温下磁力搅拌除尽丙酮, 搅拌时间以 3 h 为宜。经 0.45  $\mu$ m 微孔滤膜过滤即得 KU-PLGA-NS 胶体溶液。低温避光保存。

**2.2 形态及粒径观察** 取 KU-PLGA-NS 胶体溶液适量, 少量纯化水稀释后用 1.5% (w/v) 磷酸负染色, 滴于镀膜的电镜铜网上, 晾干后, 置于透射电镜下观察纳米球的外观形态并拍摄照片。

**2.3 色谱条件**<sup>[7]</sup>  $C_{18}$  色谱柱 (大连依利特); 流动相: 甲醇-水-三乙胺 (70:30:0.003); 检测波长: 229 nm; 流速: 1.0 ml  $\cdot$  min<sup>-1</sup>; 进样量: 20  $\mu$ l

**2.4 包封率, 载药量及利用率的测定** 精密吸取 KU-PLGA-NS 胶体溶液 500  $\mu$ l 超速冷冻离心 (4500 r  $\cdot$  min<sup>-1</sup>) 2 h, 精密吸取上清液 10  $\mu$ l, HPLC 法测定苦参碱含量。计算未包封苦参素的量 ( $M_1$ ), 再精密吸取 KU-PLGA-NS 胶体溶液 500  $\mu$ l, 用一定体积的混合有机溶剂溶解苦参素和 PLGA, 测得苦参素的总量, 计算胶体溶液中苦参素的含量 ( $M_2$ ), MPLGA 为 PLGA 的投药量, 按下式计算包封率, 载药量和药物利用率。包封率 =  $(M_2 - M_1) / M_2 \times 100\%$ , 载药量 =  $(M_2 - M_1) / MPLGA \times 100\%$ , 药物利用率 =  $M_2 / 投药量 \times 100\%$ 。

## 3 实验结果

经透射电镜观察分析, 纳米球呈类球形, 分布较均匀, 电镜下计数 500 个纳米球, 得平均粒径为 (190.5 nm), KU-PLGA-NS 的透射电镜照片如图 1。利用 HPLC 测定药物含量, 在本实验的色谱流动相条件下 10 mg  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 浓度苦参素标准品溶液注射一定量的色谱图如图 2。利用 HPLC 测定药物含量, 用苦参素标准品配制不同浓度溶液, 以浓度 ( $C$ ) 为横坐标, 峰面积 ( $A$ ) 为纵坐标进行线性回归, 得回归方程:  $Y = 5.07 \times 10^5 X + 5.31 \times 10^3$ , 曲线如图 3。利用 HPLC 测得苦参素色谱峰面积, 并通过标准回归方程计算得出  $M_1, M_2$ ; 通过 2.4 项中公式计算包封率, 载药量及药物利用率的公式计算得肝靶向缓释 KU-PLGA-NS 的平均包封率 79.5%, 平均载药量为 1.75%, 平均药物利用率为 19.6%。

## 4 讨论

本实验采用沉淀法制备 KU-PLGA-NS, 此法主要利用机械搅拌法制备载药纳米粒, 工艺简便且避免了一些如含氯等有机溶剂的使用, 同时制得的 KU-PLGA-NS 的外观圆整, 粒径

可控制在 50 ~ 200 nm 范围内, 且分散均匀, 其包封率和载药量也较高。制备 KU-PLGA 纳米球基本达到设计要求, 该制剂有望成为一种新的药物靶向载体系统。本实验所采用的药用有机高分子材料乳酸-羟基乙酸共聚物 [poly (lactic-co-glycolic acid), PLGA], 是由乳酸和乙醇酸以不同比例镶嵌共聚而成的高分子纳米材料, 其兼有两种聚酯材料的优势, 如质量稳定, 生物惰性, 生物可降解性且降解速度可调节等优点, 由于其优良的生物相容性和生物降解性, 被广泛用作纳米球 (nanosphere, NS) 的载体材料, 可延长药物作用时间, 从而达到靶向目的, 提高药物疗效。本实验采用流动相加入三乙胺等方法调节 pH 值使峰形对称, 在本实验采用的色谱条件下, 保留时间约为 16.3 min, 峰形良好, 分离度及理论塔板数均达到要求, 纳米粒用有机溶剂溶解后测定, 杂质峰不干扰检测。

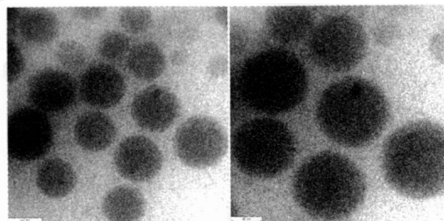


图 1 KU-PLGA-NS 的透射电镜照片

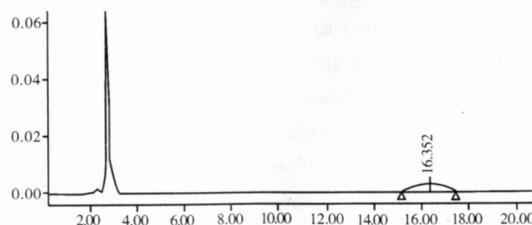


图 2 苦参素标准品溶液 HPLC 色谱图

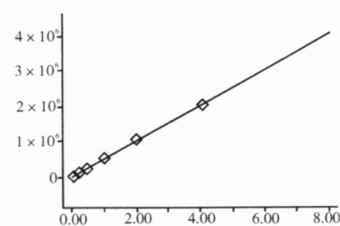


图 3 苦参素标准品回归方程曲线

## 参考文献:

- [1] 徐彬, 杨惠娣, 侯爱君. 苦参碱治疗慢性病毒性肝炎的作用 [J]. 国外医药合成药生化药·制剂分册, 2002, 23(6): 356
- [2] Li CY. The research of liver targeted dosage system [J]. Emerg Tradchin Med (Chinese), 2001, 10(6): 354-5.
- [3] 徐阿定, 陈秋美. 安络化纤丸联合苦参素保肝抗纤维化疗效观察 [J]. 安徽医药, 2007, 11(4): 318
- [4] 张耕, 易以木. 苦参素磷脂纳米粒的研制 [J]. 中国医院药学杂志, 2004, 24(9): 573
- [5] 陈江飞, 张典瑞, 张学顺, 等. 苦参碱固体脂质纳米粒的试制及物相分析 [J]. 中国医药工业杂志, 2005, 36(4): 214-7.
- [6] Zur Muhlen A, Schwarz C, Mehnert W. Solid lipid nanoparticulate (SLN) for controlled drug delivery-drug release and release mechanism [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2006, 47(3): 147-56.
- [7] 杨雪, 王琳慧, 白小红. 液相微萃取后萃取高效液相色谱法测定苦参碱和氧化苦参碱的含量 [J]. 南昌大学学报 (理科版), 2006, 16(10): 548-9.

(收稿日期: 2008-06-24)