

图2 附子分别与五味子(A)、黄芪(B)、独活(C)、黄连(D)共煎液的电喷雾质谱图

Fig. 2 ESI-MS Spectra of RALP+FSC (A), RALP+RA (B), RALP+RAP (C), and RALP+RC (D)

含有挥发油,共煎时挥发油对于通过化学变化的减毒作用不显著。另外,配伍中附子为臣药时,通常乌头类生物碱的总量显著下降。

参考文献:

[1] 许庆轩,王勇,宋凤瑞,等.八味地黄汤各药味对附子生物碱影响的电喷雾质谱研究[J].中草药,2005,36(4):519-522.
 [2] 越皓,皮子凤,宋凤瑞,等.附子不同药对配伍中生物碱成分的电喷雾质谱分析[J].药学学报,2007,42(2):201-205.
 [3] 许庆轩,刘志强,王勇,等.八味地黄汤与人参汤共煎液中毒性物质的电喷雾质谱研究[J].中草药,2005,36(1):36-39.
 [4] 杨栋,孙庆.浅谈伤寒论中附子的生用与熟用[J].中成药,2000,22(8):595-596.
 [5] 杨明,沈映君.附子生用与炮用的药理作用比较[J].中国中药杂志,2000,25(12):717-720.
 [6] Wang Y, Liu Z Q, Song F R, et al. Electrospray ionization tandem mass spectrometric study of the aconitines in the roots of aconite [J]. *Rapid Commun Mass Spectr*, 2002, 16: 2075-2082.
 [7] 王勇,宋凤瑞,刘志强,等.四逆汤中脂类生物碱来源于酯交换反应的研究[J].中草药,2006,37(1):51-54.
 [8] Brian T, Thomas Y K C, Juliana C N C, et al. Herb-induced aconitine poisoning [J]. *Lancet*, 1993, 341: 370-371.
 [9] 展海霞,彭成.附子与干姜配伍对心衰大鼠血流动力学的影响[J].中药药理与临床,2006,22(1):42-44.
 [10] Wang Y, Shi L, Song F R, et al. Exploring the ester-exchange reactions of diesterditerpenoid alkaloids in the aconite decoction process by electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectr*, 2003, 17: 279-284.

去甲基斑蝥素-壳聚糖纳米粒的表征和体外释放研究

张玮,刘扬,张学农*,陈浩**

(苏州大学药学院,江苏苏州 215123)

摘要:目的 研制粒径小于200 nm的去甲基斑蝥素-壳聚糖纳米粒,并对其质量进行评价,对其结构、体外释放性能进行研究。方法 以低相对分子质量的壳聚糖为载体,通过离子诱导法,制备去甲基斑蝥素-壳聚糖纳米粒,并

收稿日期:2007-12-11

基金项目:国家科技支撑计划资助项目(2006BAI09B00);江苏省科技厅社会发展资助项目(BS200522);江苏省高新技术产业发展资助项目(JHB05-46);江苏省卫生厅招标课题(H200630)

作者简介:张玮(1980-),男,广西桂林市人,硕士研究生,从事靶向给药系统研究。E-mail: 22437654@qq.com

* 通讯作者 张学农 Tel: (0512)66998348 E-mail: zhangxuenong@163.com

** 陈浩 07届药理学本科毕业实习生

考察纳米粒的形态、粒径、药物包封率、载药量、回收率、表面氨基以及体外释放特征。同时,采用红外光谱(IR)、X-射线衍射技术(XRD)和差示扫描量热法(DSC)对其结构进行了表征。结果 制备的去甲基斑蝥素-壳聚糖纳米粒粒径小(131 ± 11)nm、大小分布均匀(多分散指数 PDI 0.183),外观呈球形,药物包封率 45.12%,载药量 7.3%,回收率 99.62%,且 70 min 后体外释药完全。IR、XRD 与 DSC 分析表明,壳聚糖已发生交联并形成了新的物相。结论 低相对分子质量的壳聚糖有望成为制备载药纳米粒的优良材料。

关键词:去甲基斑蝥素;壳聚糖;纳米粒;包封率;体外释放

中图分类号:R286.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)10-1477-06

Characterization and *in vitro* release of chitosan nanoparticles loading norcantharidin

ZHANG Wei, LIU Yang, ZHANG Xue-nong, CHEN Hao

(College of Pharmacy, Suzhou University, Suzhou 215123, China)

Abstract: Objective To prepare the chitosan nanoparticles (particle-diameter < 200 nm) loading norcantharidin, evaluate the quality and spatial representable structure, and release *in vitro*. **Methods** Chitosan nanoparticles loading norcantharidin were prepared by ionic cross-linkage process, selecting low molecular chitosan as carrier, the nanoparticles morphology, particle diameter distribution, entrapped efficiency, loading capacity, recovery rate, content of free amino group on the surface, and release *in vitro* were investigated. Meanwhile, spatial structure was investigated by applying IR, XRD, and DSC. **Results** The nanoparticles were small [particle diameter (131 ± 11) nm], uniform distribution (PDI 0.183), spherical, entrapped efficiency 45.12%, loading-drug capacity 7.3%, recovery rate 99.62%, and release was completed after 70 min. Formation of original matter was indicated by applying IR, XRD, and DSC. **Conclusion** Preparation of nanoparticles, selected chitosan with lower molecular as carrier, is perspective widely.

Key words: norcantharidin; chitosan; nanoparticle; entrapped efficiency; release *in vitro*

去甲基斑蝥素为斑蝥属昆虫南方大斑蝥 *Mylabris phalerata* Pallas 和黄黑小斑蝥 *M. cichorii* Linnaeus 的虫体所含斑蝥素的合成衍生物,是由我国首先研究开发的治疗肝癌及肝炎的新药,具有升高白细胞、保护肝细胞、调节免疫等作用,主要用于原发性肝癌的治疗^[1]。壳聚糖是由甲壳素脱乙酰基制得,是自然界中唯一大量存在的阳离子聚合物,具有良好的生物相容性和可降解性,来源丰富,价格低廉^[2]。由于壳聚糖特有的黏膜黏附性,它已成为新型的纳米药物载体,常用来包载多肽及蛋白类药物,以促进胃肠道及黏膜吸收,延长了药物在吸收位置的保留时间,达到控释的目的。但是,由于目前常用的壳聚糖相对分子质量较大,在水溶液特别是生理 pH 值条件下溶解性差^[3],同时,壳聚糖纳米粒粒径也较大(> 200 nm),这都使得其在纳米载体的应用上受到一定限制。低相对分子质量的壳聚糖具有良好的亲水性和独特的生理活性。一般认为,随着壳聚糖相对分子质量的降低,纳米粒粒径变小^[2],因此,近几年来,低相对分子质量的壳聚糖纳米粒子已发展成为极有前景的药物载体。纳米粒进入体内后被网状内皮系统吞噬,只有粒径小于 200 nm 时,才能靶向于肝并维持较长时间,充分发挥药物疗效。但是,国内外诸多文献所报道的壳聚糖纳米粒粒径大都在

200 nm 以上。同时,由于壳聚糖纳米粒的粒径与壳聚糖的分子参数密切相关。为此,本研究以相对分子质量为 10 000 的壳聚糖为原料,采用离子诱导法制备 200 nm 以下的去甲基斑蝥素-壳聚糖纳米粒,以提高药物肝脏器官的靶向性。壳聚糖纳米粒表面的游离氨基使其具有许多特殊的功能,可进行多功能基化学反应和立体结构修饰,如将具有主动寻靶作用的单抗或配体通过化学修饰与之相结合,获得具有定位传输功能的主动靶向制剂^[4]。目前,在体外消解壳聚糖主要采用苦杏仁 β -葡萄糖苷酶,但由于该酶价格昂贵,国内学者采用醋酸溶液提取存在于壳聚糖纳米粒中药物的方法,药物提取回收率 70%,但效果不甚理想^[5]。为此,本实验采用甲酸消解壳聚糖纳米粒的方法,测得的药物回收率可达 99.62%,从而得到了药物包封率的真实值。同时,实验采用了红外光谱、X-射线衍射技术和差示扫描量热分析技术对纳米粒的结构进行了表征,并研究了其体外释放行为,为今后进一步的研究提供依据。

1 仪器和试剂

LC-10A 高效液相色谱仪(日本岛津),HPP 5001 激光粒度分析仪(英国 Malvern 公司),H-600 透射电子显微镜(日本日立),Pyris-1 DSC 热分析仪(美国 PE 公司),Pro Star LC240 红外分光

光度计(美国瓦里安公司),X'PERT PRO MPD X-射线多晶衍射仪(荷兰 PANalytical 公司),ME2155 型分析天平(德国 Starorius 公司),85—2A 型恒温磁力搅拌器(金坛市富华仪器有限公司),Vivaflow50 超滤仪(30000Da 聚砜醚滤膜,德国 Starorius 公司),透析袋(相对分子质量 8 000~14 000,上海国药化学试剂有限公司),SHZ—82 型恒温震荡箱(金坛市富华仪器有限公司)。

去甲基斑蝥素(质量分数:98.5%,批号:20060508,苏州市苏瑞医药化工有限公司),壳聚糖(相对分子质量 1×10^5 ,脱乙酰度:91.2%,黏度:2.95 mPa·S,南通兴成生物制品厂),三聚磷酸钠(TPP)、泊洛沙姆 F₆₈、88%甲酸(化学纯,国药集团化学试剂有限公司)。

2 方法与结果

2.1 去甲基斑蝥素的 HPLC 法测定^[6]

2.1.1 色谱条件:色谱柱为 ODS 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),大连依利特公司;流动相:乙腈-pH 3.1 磷酸水溶液(10:90);体积流量:0.8 mL/min;柱温:25 ℃;检测波长:210 nm;进样量:20 μL。

2.1.2 标准曲线的制备:精密称取去甲基斑蝥素对照品 100 mg,置于 100 mL 量瓶中,加蒸馏水溶解,超声 5 min,加蒸馏水至刻度摇匀。精密取 0.25、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 mL 分别置于 10 mL 量瓶中,加蒸馏水至刻度,摇匀,得质量浓度分别为 0.025、0.05、0.1、0.2、0.4、0.8、1.0 mg/mL 的溶液。取 20 μL 进样,测定峰面积。以峰面积对质量浓度进行线性回归,得回归方程 $Y = 925\,374 X - 1\,778.8$, $r = 0.999\,9$,线性范围 0.025~1.0 mg/mL。

2.1.3 样品的测定:取供试品溶液,在上述色谱条件下进样 20 μL,记录峰面积,平行操作 3 次,将峰面积的平均值代入上述回归方程,得到供试品溶液中去甲基斑蝥素的质量浓度。

2.2 纳米粒的制备及其质量评价

2.2.1 去甲基斑蝥素-壳聚糖纳米粒的制备:将壳聚糖溶解于 50 mL 体积分数为 0.2%醋酸水溶液中,制成 2 mg/mL 壳聚糖溶液,再将 0.02 g 去甲基斑蝥素加入该溶液中放置溶解,在 500 r/min 的磁力搅拌下于水浴中预热 20 min,将 20 mL 1.2 mg/mL 三聚磷酸钠水溶液以约 1 滴/2 s 的速度逐滴滴入其中。在 40 ℃水浴下继续搅拌 10 min,即得纳米粒胶体。加入 125 mg 泊洛沙姆 188 溶解助悬,最后,以 0.45 μm 微孔滤膜滤过。若不加去甲基斑蝥素,按照同样的方法可制得空白纳米粒;若不加泊洛沙姆

188 助悬,同样的方法可制得不含助悬剂的纳米粒。

壳聚糖是阳离子聚电解质,可与三聚磷酸钠提供的聚阴离子相互作用,使壳聚糖发生分子内和分子间交联,从而生成壳聚糖纳米粒,见图 1。可见,二者只有在特定的质量浓度范围内(质量比一定时)才能形成纳米粒^[7],且该反应在室温下即可进行^[8]。试验发现,温度的高低对纳米粒形成与否也有着重要的影响,并且随着温度的升高,纳米粒粒径显著增大。

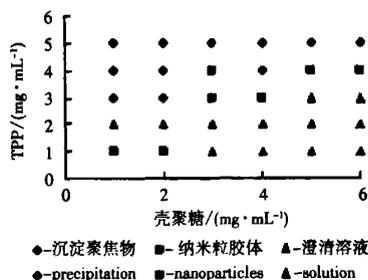


图 1 壳聚糖纳米粒形成区域图

Fig. 1 Scope of chitosan nanoparticles formation

2.2.2 纳米粒粒径和多分散指数(PDI)的测定:取适量纳米粒胶体溶液,加水稀释至适当质量浓度,测定纳米粒粒径和多分散指数(PDI),得到粒径强度分布图,见图 2。可见,该处方平均粒径为 127.2 nm,多分散指数(PDI)为 0.183,粒径分布较为集中。平行测定 3 批样品,平均粒径为 (131 ± 11) nm ($n = 3$)。

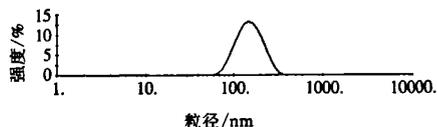


图 2 粒径分析结果

Fig. 2 Analysis of particle size

2.2.3 回收率的测定:取 9 mL 纳米粒胶体溶液,加入 88%甲酸 6 mL,超声波细胞粉碎机中,在 400 W,30 次,每次 3 s 的条件下进行超声消解。然后测定溶液中去甲基斑蝥素的质量浓度,经稀释倍数换算后计算去甲基斑蝥素的回收率。结果纳米粒胶体中去甲基斑蝥素的回收率为 99.62%。以回收率测定纳米粒包封率和载药量的真实值。

回收率 = 测定的去甲基斑蝥素的质量 / 加入的去甲基斑蝥素的质量 × 100%

2.2.4 包封率的测定:取纳米粒胶体溶液,4 ℃,30 000 r/min 超速冷冻离心 45 min,取上清液 20 μL 注入液相色谱仪,测定游离去甲基斑蝥素的质量浓度,计算包封率。结果纳米粒胶体中去甲基斑蝥素的包封率为 45.12%。

包封率 = (加入的去甲基斑蝥素总质量浓度 × 回收率 -

游离去甲基斑蝥素的质量浓度)/(加入的去甲基斑蝥素总质量浓度×回收率)×100%

2.2.5 载药量的测定:按照优化处方中载体的加入量以及加药量,结合包封率和回收率的测定结果,计算载药量,结果纳米粒胶体中去甲基斑蝥素的载药量为 7.3%。

载药量=加入的去甲基斑蝥素的质量×回收率×包封率/加入的纳米粒胶体的质量×100%

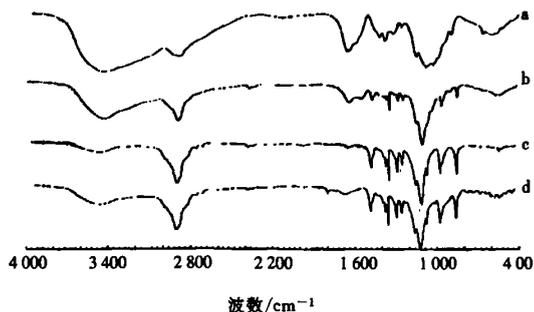
2.2.6 壳聚糖纳米粒表面游离氨基的测定:采用改良碱量法^[9]。取 5 mL 制得的空白纳米粒胶体溶液,加入一滴 1% 甲基橙-1% 苯胺蓝(1:2)指示剂,以 0.1 mol/L 标准 NaOH 溶液对其进行滴定,滴定至溶液由紫红色变为蓝绿色,并经振摇 10 s 不褪色为止,记录所消耗的 NaOH 溶液体积(ΔV_1)。另取 0.2% 醋酸水溶液 50 mL,加 20 mL 纯净水稀释,取 5 mL 同法滴定作为空白对照,记录消耗的 NaOH 溶液体积(ΔV_2)。设 5 mL 胶体液中含纳米粒载体的量为 M ,计算单位质量纳米粒载体的表面氨基。平行滴定 5 次,计算得单位质量空白壳聚糖纳米粒的表面游离氨基为 10.2 mmol/g($n=5$)。

表面游离氨基=0.1×10⁻³×(ΔV_2 - ΔV_1)/ M

2.3 纳米粒结构的表征:取纳米粒胶体溶液适量,置若干培养皿中,维持液面高度为 1 cm,置-70℃ 冷冻 12 h 后,取出,再放入-50℃ 真空冷冻干燥机中冷冻干燥,取冻干粉进行红外光谱、X-射线衍射技术和差示扫描量热法测定。同时,取制备得的纳米粒胶体溶液进行透射电镜观察。另外去甲基斑蝥素在水溶液或胃肠液中以去甲基斑蝥酸的水解形式存在^[10,11],因此用去甲基斑蝥素制得的去甲基斑蝥酸进行药物粉末测定。

2.3.1 红外光谱(FT-IR)分析:取壳聚糖、空白纳米粒冻干粉、泊洛沙姆 188 和壳聚糖\三聚磷酸钠\泊洛沙姆 188 物理混合物,加入适量 KBr 压片,所得 FT-IR 红外谱图见图 3。

可见壳聚糖红外谱图中有 3 个特征峰,分别是:3 437 cm⁻¹(νOH)、1 081 cm⁻¹(νC-O-C)、1 654 cm⁻¹(δNH₂)。壳聚糖纳米粒的光谱与此不同,其中 3 437 cm⁻¹处 O-H 的伸缩振动吸收峰红移至 3 420 cm⁻¹处,向低波数位移了 17 cm⁻¹,这表明形成了一定强度的分子内和分子间氢键;1 654 cm⁻¹处的尖峰消失,1 636 cm⁻¹处出现尖峰,1 610 cm⁻¹处-NH₂的面内弯曲振动峰向低波数位移至 1 534 cm⁻¹处,据文献报道^[12],经磷酸盐处理的壳聚糖膜的红外光谱也有类似的变化,说明磷酸盐连接到了氨基位点



a-壳聚糖 b-壳聚糖纳米粒 c-泊洛沙姆 188
d-壳聚糖/三聚磷酸钠/泊洛沙姆 188 混合物
a-chitosan b-chitosan nanoparticle c-poloxamer 188
d-physical mixture of chitosan/TPP/poloxamer 188

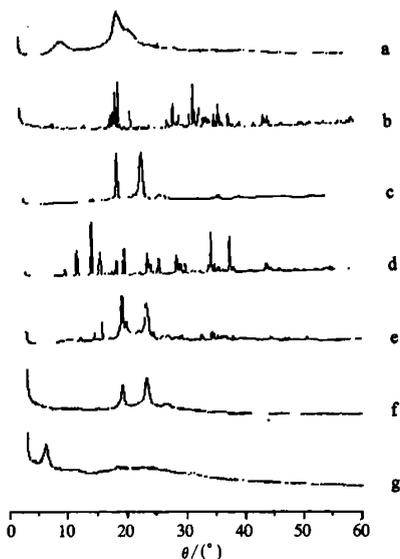
图 3 红外谱图

Fig. 3 IR Spectra

上。因此,认为三聚磷酸钠与壳聚糖通过氨基发生了交联。1 254 cm⁻¹处羟基弯曲振动峰消失,这都说明三聚磷酸钠交联生成的壳聚糖纳米粒结构有了一定变化,形成了较强的分子内和分子间氢键。同时,对比泊洛沙姆 188、混合物和纳米粒谱图,可见在纳米粒谱图中,2 889 cm⁻¹处以及近红外区的泊洛沙姆 188 的吸收峰依然保留,提示泊洛沙姆 188 与纳米粒仅是物理混合,并未发生相互作用。

2.3.2 X-射线衍射(XRD)分析:采用 X-射线多晶衍射仪,在功率 3 kW(管压 15~60 kV;管流 5~60 mA)铜靶,广角测角仪 θ-θ 扫描方式,扫描角度 4°~60°的条件下,对壳聚糖、三聚磷酸钠、泊洛沙姆 188、去甲基斑蝥酸、载药纳米粒、不含助悬剂(泊洛沙姆 188)的纳米粒和壳聚糖/三聚磷酸钠/泊洛沙姆 188/去甲基斑蝥酸混合物粉末进行测定,X-射线衍射图谱见图 4。可见,纳米粒图谱中壳聚糖与三聚磷酸钠的特征吸收峰均消失,壳聚糖的结晶度显著降低,表明壳聚糖与三聚磷酸钠之间发生了较强的相互作用,形成了无定形粉末,而泊洛沙姆 188 也仅是与纳米粒物理混合,与红外观察结果一致。对比去甲基斑蝥酸与不含助悬剂的纳米粒图谱可见,载药纳米粒药物峰消失,提示药物已被包裹其中。

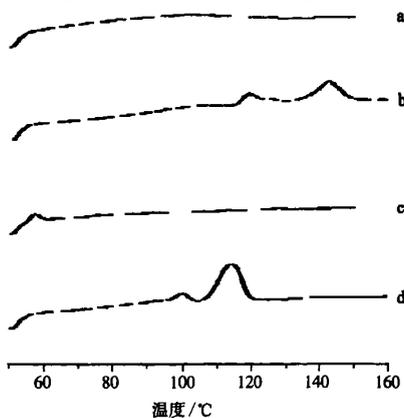
2.3.3 差示扫描量热(DSC)分析:采用 Pyris-1 DSC 热分析仪,测试条件:采用热流型测量方法,以空白铝坩埚为参比物,扫描速度为 20℃/min,扫描范围为 50~160℃。通过对壳聚糖、三聚磷酸钠、泊洛沙姆 188 和纳米粒冻干粉(含泊洛沙姆 188)进行测定,得到热流型 DSC 曲线,见图 5。可见纳米粒的 DSC 曲线与壳聚糖、TPP、泊洛沙姆 188 的曲线有显著的不同,提示生成了新的物相,纳米粒形成,



a-壳聚糖 b-三聚磷酸钠 c-泊洛沙姆 188 d-去甲基斑蝥素
e-壳聚糖/三聚磷酸钠/泊洛沙姆 188/去甲基斑蝥素混合物
f-载药纳米粒 g-不含助悬剂的纳米粒
a-chitosan b-TPP c-poloxamer 188 d-norcantharidin acid
e-physical mixture of chitosan /TPP/poloxamer188/
norcantharidin acid f-loading-drug nanoparticles
g-nanoparticles without suspending agent

图 4 X-射线衍射图谱

Fig. 4 X-ray Diffraction diagrams



a-壳聚糖 b-三聚磷酸钠 c-泊洛沙姆 188 d-壳聚糖纳米粒
a-chitosan b-TPP c-poloxamer 188 d-chitosan nanoparticle

图 5 DSC 图谱

Fig. 5 DSC Spectra

与 X-射线衍射分析结果一致。

2.3.4 纳米粒外观形态的考察:取少量纳米粒胶体液滴至铺有碳膜的铜网上,静置 1 min,用滤纸吸干混悬液,再滴加 2%的磷酸钨负染 6 min,于透射电子显微镜下观察纳米粒的形态,并选取几个有代表性的视野进行拍照,进行形态测定,见图 6。可以看

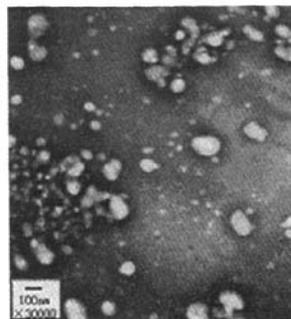


图 6 去甲基斑蝥素-壳聚糖纳米粒的 TEM 图

Fig. 6 TEM Image of chitosan nanoparticles loading norcantharidin

出,纳米粒的平均粒径与采用激光粒径分析仪测定出的粒径接近(大部分在 100 nm 左右),大都呈球形且形状规整、边缘清晰。

2.4 纳米粒体外释药的考察:取纳米粒胶体溶液 6 mL 置相对分子质量为 8 000~14 000 的透析袋中,扎紧,投入装有 30 mL 蒸馏水的圆底烧瓶中。将其放入恒温振荡箱中于 37 °C 恒温震荡,分别于 5、10、15、20、30、50、60、70、120、160、180 min 取透析液 0.5 mL,同时补加回介质 0.5 mL。将各个时间点的样品 20 μL 进行 HPLC 法测定。同时,采用去甲基斑蝥素-壳聚糖纳米粒的制备项下方法,以蒸馏水代替三聚磷酸钠,最后加入泊洛沙姆 188 制备去甲基斑蝥素凝胶剂作为参比制剂,同样以蒸馏水作为释放介质,与纳米粒制剂的释放平行操作测定,绘制累积释放率曲线,结果见图 7。可见,70 min 时,二者的体外释放均达到平衡。根据 Weibull 概率函数^[13]进行拟合,分别以壳聚糖纳米粒与凝胶剂的累积释放率对时间 t 回归,释放曲线符合该模型,并计算各参数,见表 1。

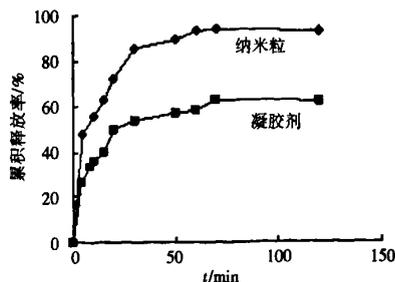


图 7 去甲基斑蝥素-壳聚糖纳米粒与去甲基斑蝥素凝胶剂的体外释放曲线

Fig. 7 Accumulate released curves *in vitro* of loading-norcantharidin nanoparticles and gelata of norcantharidin

表 1 溶出方程和参数 ($\bar{x} \pm s, n=5$)Table 1 Soluble equation and parameters ($\bar{x} \pm s, n=5$)

制剂	Weibull 方程	r	t_d/min	t_{50}/min	显著性
去甲基斑蝥素-壳聚糖纳米粒	$\ln\ln[1/(1-F(t))]=0.532 \ln z-1.3334$	0.973 79	12.25±0.3	6.15±0.2	$P<0.01$
去甲基斑蝥素凝胶剂	$\ln\ln[1/(1-F(t))]=0.370 \ln z-1.6412$	0.975 28	84.33±0.7	31.35±0.6	

经分析,两种制剂之间的溶出参数 t_d 、 t_{50} 之间有显著性差异 ($P<0.01$)。其中,去甲基斑蝥素-壳聚糖纳米粒的 t_d 、 t_{50} 明显小于凝胶剂,说明相比之下纳米粒更有利于去甲基斑蝥素的释放。这可能是因为去甲基斑蝥素的水解产物去甲斑蝥酸在蒸馏水中大部分以带负电荷的酸根形式存在,而纳米粒中的带正电荷的壳聚糖氨基相当一部分为三聚磷酸钠所占据,这样就减弱了对药物的静电吸附,仅靠物理包裹作用阻滞药物释放,与此同时,凝胶剂中壳聚糖由于存在较多的游离氨基,因此释放较慢,而且释放也不完全。结果提示,纳米粒更有利于药物释放。

3 讨论

壳聚糖具有生物相容性好、可降解和黏膜黏附性等特点。采用离子诱导法制备壳聚糖纳米粒时,由于整个制备过程在水中,无机溶剂参与,制备出的粒子无生物毒副作用,因此,吸引着国内外广大研究者的目光。但是,一直以来,由于壳聚糖纳米粒粒径一般较大 ($>200 \text{ nm}$),这就限制了其在靶向给药系统中的应用。本实验根据壳聚糖相对分子质量与壳聚糖纳米粒粒径的相关性,选用低相对分子质量的壳聚糖,采用离子诱导法,制备出了粒径小于 200 nm 的包载去甲基斑蝥素的壳聚糖纳米粒,为提高该药的肝脏靶向性创造了有利条件。研究中,由于去甲基斑蝥素在水中水解,其水解产物(亦是有效物质)去甲斑蝥酸具有良好的水溶性 ($9.3 \text{ g}/100 \text{ mL}$, 20°C),因此,造成纳米粒对该药的包封率不高。但是,去甲基斑蝥素给药量低,这使其壳聚糖纳米制剂仍有相当的发展潜力。离子诱导法制备的壳聚糖纳米粒中存在较强的静电交联作用,本实验采用甲酸成功的消解了壳聚糖纳米粒,测出了药物的回收率,从而得到了包封率、载药量的真实值。

依照参考文献测定壳聚糖自由氨基(即脱乙酰度)的方法^[14],经过一定调整,测定出了纳米粒表面的游离氨基。由于药物去甲基斑蝥素在水中的存在形式去甲斑蝥酸显酸性,其必然要消耗一定的 NaOH 滴定液,因此,为了保证测定的准确性,采用空白纳米粒胶体液进行滴定,同时,以相同质量浓度

的醋酸溶液进行校正。

另外,纳米粒表面的游离氨基提供了化学修饰的位点,经修饰的纳米粒具有特殊的主动的寻靶作用。采用胶体滴定法^[5],以苯甲胺蓝为指示剂,聚乙烯硫酸钾滴定,测定了去甲基斑蝥素-壳聚糖纳米粒的表面游离氨基,但所用试剂价格昂贵。本实验采用改良的碱量法,以价格低廉的甲基橙、苯胺蓝为混合指示剂,同样测定了纳米粒表面的游离氨基,为进一步的主动靶向制剂研究提供了有价值的参考。经红外光谱、X-射线衍射技术和差示扫描量热和透射电镜分析,纳米粒已经形成。体外释放考察显示,与凝胶剂相比,纳米粒制剂释药更充分,提示其体内可能有较高的生物利用率。

参考文献:

- [1] 吴建梅,任天池,虞梅. 去甲基斑蝥素的药学研究与临床应用进展[J]. 中国药理学杂志,2002,37(8):56-58.
- [2] 何文,匡长春,张洪,等. 壳聚糖的分子参数对载药壳聚糖纳米粒体外性质的影响研究[J]. 中国药理学杂志,2005,40(6):438-453.
- [3] 黄媛,胡富强,袁弘,等. 低分子量壳聚糖的制备及质量控制[J]. 中国中药杂志,2005,30(14):1076-1079.
- [4] 林爱华,刘奕明,平其能. 壳聚糖纳米粒表面游离氨基与纳米粒特性研究[J]. 药学学报,2007,42(3):323-328.
- [5] 姚倩,侯世祥,何伟玲,等. 白藜芦醇壳聚糖纳米粒体外释放行为研究[J]. 中国药理学杂志,2006,41(6):442-446.
- [6] 吴建梅,任天池. 去甲基斑蝥素脂质体的制备方法及其理化性质研究[J]. 中国药理学杂志,2005,40(19):1485-1489.
- [7] Calvo P, Remuñan-López C, Vila-Jato J L, et al. Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers [J]. *Applied Pol Sci*, 1997.
- [8] Pan Y, Li Y J, Zhao H Y, et al. Bioadhesive polysaccharide in protein delivery system; Chitosan nanoparticles improve the intestinal absorption of insulin *in vivo* [J]. *Int J Pharm*, 2002, 249:139-147.
- [9] 聂莉,吴晓芳,伊萍,等. 壳聚糖中脱乙酰度测定方法的探讨[J]. 中国卫生检验杂志,2005,15(3):328-329.
- [10] 王广生,李荣昌,宴培延. 去甲基斑蝥素在胃肠液中的存在状态[J]. 药学通报,1984,19(8):24-26.
- [11] Liu X H, Heng W S, Li P Q, et al. Novel polymeric microspheres containing norcantharidin for chemoembolization [J]. *J Controlled Release*, 2006,116:35-41.
- [12] Knaul J Z, Hudson S M, Creber K A M. Improve mechanical properties of chitosan fibers [J]. *J Appl Polym Sci*, 1999, 72:1721-1731.
- [13] 梁文权. 生物药剂学与药物动力学[M]. 北京:人民卫生出版社,2000.
- [14] 蒋挺大. 壳聚糖[M]. 北京:化学工业出版社,2001.

去甲基斑蝥素-壳聚糖纳米粒的表征和体外释放研究

作者: [张玮](#), [刘扬](#), [张学农](#), [陈浩](#), [ZHANG Wei](#), [LIU Yang](#), [ZHANG Xue-nong](#), [CHEN Hao](#)
作者单位: [苏州大学药学院, 江苏, 苏州, 215123](#)
刊名: [中草药](#) [ISTIC](#) [PKU](#)
英文刊名: [CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年, 卷(期): 2008, 39(10)
被引用次数: 3次

参考文献(14条)

1. [吴建梅](#); [任天池](#); [虞梅](#) [去甲基斑蝥素的药学研究与临床应用进展](#) [期刊论文] - [中国药学杂志](#) 2002(08)
2. [何文](#); [匡长春](#); [张洪](#) [壳聚糖的分子参数对载药壳聚糖纳米粒体外性质的影响研究](#) [期刊论文] - [中国药学杂志](#) 2005(06)
3. [黄媛](#); [胡富强](#); [袁弘](#) [低分子量壳聚糖的制备及质量控制](#) [期刊论文] - [中国中药杂志](#) 2005(14)
4. [林爱华](#); [刘奕明](#); [平其能](#) [壳聚糖纳米粒表面游离氨基与纳米粒特性研究](#) [期刊论文] - [药学学报](#) 2007(03)
5. [姚倩](#); [侯世祥](#); [何伟玲](#) [白藜芦醇壳聚糖纳米粒体外释放行为研究](#) [期刊论文] - [中国药学杂志](#) 2006(06)
6. [吴建梅](#); [任天池](#) [去甲基斑蝥素脂质体的制备方法及其理化性质研究](#) [期刊论文] - [中国药学杂志](#) 2005(19)
7. [Cairo P](#); [Remuan-Lopez C](#); [Vila-Jato J L](#) [Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers](#) 1997
8. [Pan Y](#); [Li Y J](#); [Zhao H Y](#) [Bioadhesive polysaccharide in protein delivery system: Chitosan nanoparticles improve the intestinal absorption of insulin in vivo](#) [外文期刊] 2002(1-2)
9. [聂莉](#); [吴晓芳](#); [伊萍](#) [壳聚糖中脱乙酰度测定方法的探讨](#) [期刊论文] - [中国卫生检验杂志](#) 2005(03)
10. [王广生](#); [李荣昌](#); [窦培延](#) [去甲基斑蝥素在胃肠液中的存在状态](#) 1984(08)
11. [Liu X H](#); [Heng W S](#); [Li P Q](#) [Novel polymeric micro-spheres containing norcantharidin for chemoembolization](#) [外文期刊] 2006(1)
12. [Knaul J Z](#); [Hudson S M](#); [Creber K A M](#) [Improve mechanical properties of chitosan fibers](#) 1999
13. [梁文权](#) [生物药剂学与药物动力学](#) 2000
14. [蒋挺大](#) [壳聚糖](#) 2001

本文读者也读过(2条)

1. [周少华](#), [洪艳](#), [房国坚](#), [蒋玉燕](#), [毕忆群](#), [杨连华](#), [陈勇](#), [Zhou SH](#), [Hong Y](#), [Fang GJ](#), [Jiang YY](#), [Bi YQ](#), [Yang LH](#), [Chen Y](#) [壳聚糖纳米粒制备及表征与其抗肿瘤的生物学效应](#) [期刊论文] - [中国组织工程研究与临床康复](#) 2007, 11(48)
2. [李晓飞](#), [陈祥盛](#), [侯晓晖](#), [LI Xiaofei](#), [CHEN Xiangsheng](#), [HOU Xiaohui](#) [斑蝥素对6种害虫的毒杀作用](#) [期刊论文] - [贵州农业科学](#) 2008, 36(3)

引证文献(3条)

1. [胡展红](#), [周奕](#), [张学农](#) [乳糖化-去甲斑蝥素纳米粒的肝靶向抗癌活性研究](#) [期刊论文] - [中草药](#) 2010(12)
2. [陈晓艳](#), [刘扬](#), [张玮](#), [张学农](#) [去甲基斑蝥素纳米粒大鼠在体肠吸收动力学研究](#) [期刊论文] - [抗感染药学](#) 2009(3)
3. [赵静](#), [曾建国](#), [邹剑锋](#), [刘德明](#), [肖俐](#), [徐丽](#), [黄岑昔](#) [血根碱离子对壳聚糖纳米粒的制备及表征](#) [期刊论文] - [中草药](#) 2012(4)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200810013.aspx