

- 48.
- [7] Zeng D, Chen B, Luo X B, *et al.* Study on adsorption and purification of cichoric acid in extracts of *Echinacea purpurea* with macroporous adsorption resin [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2004, 16 (2): 160-162.
- [8] Per M, Søren J, Peter C, *et al.* HPLC Method validated for the simultaneous analysis of cichoric acid and alkamides in *Echinacea purpurea* plants and products [J]. *J Agric Food Chem*, 2003, 51: 6922-6933.
- [9] Luo X B, Chen B, Yao S Z. Simultaneous analyses of caffeic acid derivatives and alkamides in roots and extracts of *Echinacea purpurea* by high performance liquid chromatography-photodiode array and electrospray mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2003, 986 (1-2): 73-81.
- [10] Nadja B C, Maqueita S E, Lawresia T S. High performance liquid chromatography/ electrospray ionization mass spectrometry for simultaneous analysis of alkamides and caffeic acid derivatives from *Echinacea purpurea* extracts [J]. *J Chromatogr A*, 2006, 1103: 219-228.
- [11] USP (美国药典) [S]. 29-NF24. 2006.

葛根素衍生物 4ac 聚乳酸纳米粒体外释药规律的考察

郭东艳^{1,2}, 陈士林², 杨大坚²

(1. 陕西中医学院 药学系, 陕西 咸阳 712046; 2. 香港理工大学, 香港 九龙)

摘要:目的 考察葛根素衍生物 4ac 聚乳酸纳米粒的体外释药规律。方法 采用动态膜透析法考察其体外释药规律,并用 6 种数学模型对其释药规律进行拟合。结果 以 Weibull 数学模型拟合较好,体外释放包括两个过程,起初为快释阶段,然后转为慢释阶段。结论 Weibull 数学模型能较好地描述葛根素衍生物 4ac 聚乳酸纳米粒中 4ac 的释药规律。

关键词:葛根素衍生物 4ac; 纳米粒; 体外释放

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2007)04-0533-03

In vitro releasing rule of Pur-derivatives-4ac PLA nanoparticles

GUO Dong-yan^{1,2}, CHEN Shi-lin², YANG Da-jian²

(1. Department of Pharmacy, Shaanxi College of Traditional Chinese Medicine, Xianyang 712046, China;

2. The Hong Kong Polytechnic University, Hung Hom, China)

Key words: Pur-derivatives-4ac; nanoparticles; *in vitro* release

为了提高葛根素衍生物 4ac (葛根素经乙酰化反应生成的衍生物,简称 4ac) 的生物利用度,降低其不良反应,本实验室制备了 4ac 聚乳酸纳米粒 (4ac-PLA-NP)。为了预测 4ac-PLA-NP 在体内的释药情况,阐明其载药机制,以验证 4ac-PLA-NP 的处方设计和制备工艺是否合理、可行,进而控制药品质量,以利于临床用药的安全,本实验对其体外释放规律进行了考察。测定纳米粒中药物在体外释放的方法较多^[1~4],但动态膜透析法能更好模拟药物在体内的释放情况,故本实验采用动态膜透析法考察 4ac-PLA-NP 的体外释药规律。

1 仪器与试剂

Lamber 35 型紫外分光光度仪 (Perkinelmer USA), SW22 型恒温水浴摇床 (德国),透析袋 (Sigma 公司)。甲醇、乙腈为 HPLC 级,水为重蒸馏水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 葛根素衍生物 4ac 聚乳酸纳米粒 (4ac-PLA-NP) 的制备:称取聚乳酸 100 mg, 4ac 30 mg, 卵磷脂 0.2 mL (预先用二氯甲烷配成 25% 的溶液), 加入 1 mL 二氯甲烷中溶解,作为有机相;另取普流罗尼克 68 (F-68) 300 mg 溶于蒸馏水中,作为连续相;将有机相加入连续相中,搅拌除去有机溶剂,即得。

2.2 测定方法的建立

2.2.1 最大吸收波长的考察:精密称取 4ac 适量,加 DMSO 溶解,制成 0.116 mg/mL 的溶液,作为备用液。吸取该备用液 1.2 mL, 4 份,置 10 mL 量瓶中,每份加入蒸馏水、人工胃液、等渗磷酸盐缓冲液、生理盐水稀释至刻度,在 190~400 nm 波长进行扫描。结果在不同的分散介质中,样品均在 250 nm 波长处有最大吸收。

2.2.2 标准曲线的绘制:精密称取 4ac 适量,加

DMSO 溶解,制成 0.116 mg/mL 的溶液,作为备用液。分别吸取该备用液 0.4、0.8、1.2、1.6、2.0 mL 各 4 份,置 10 mL 量瓶中,每份加入蒸馏水、人工胃液、等渗磷酸盐缓冲液、生理盐水稀释至刻度,测定吸光度。以 4ac 的质量浓度为横坐标,吸光度值为纵坐标,绘制标准曲线。

4ac 在蒸馏水中的回归方程 $Y=79.222 X-0.003$ ($R^2=0.999\ 9$),线性范围:0.002 3~0.011 6 mg/mL。

4ac 在人工胃液中的回归方程 $Y=59.14 X-0.037\ 3$ ($R^2=0.999\ 8$),线性范围:0.002 3~0.011 6 mg/mL。

4ac 在磷酸盐缓冲液中的回归方程 $Y=78.842 X-0.013\ 1$ ($R^2=0.999\ 9$),线性范围:0.002 3~0.011 6 mg/mL。

4ac 在生理盐水中的回归方程 $Y=76.99 X-0.025\ 8$ ($R^2=0.999\ 9$),线性范围:0.002 3~0.011 6 mg/mL。

2.3 透析膜对 4ac 透过速率的影响:将 4ac 用少量 DMSO 溶解后,用蒸馏水、人工胃液、等渗磷酸盐缓冲液、生理盐水稀释成约 0.1 mg/mL。分别装入透析袋中扎牢,每袋 10 mL。分别置于盛有 200 mL 蒸馏水、人工胃液、等渗磷酸盐缓冲液、生理盐水溶液的具塞锥形瓶中,塞紧瓶塞,置 37 ℃ 恒温水浴,100 r/min 恒温振荡,于不同时间取样 5 mL,同时补加等体积同样溶液,测药物浓度(C_t),计算累积释放量(Q),并由透析前的药物质量浓度(C_0)计算 4ac 透过率(P , $P=Q/C_0V\times 100\%$)。结果见表 1。可以看出,在蒸馏水中,透析膜对 4ac 的透过速率最高,因此选用蒸馏水作为释放介质。

表 1 不同时间 4ac 的透过率

Table 1 Permeation ratio of 4ac at different time

释放介质	透过率/%						
	0 h	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	12 h
蒸馏水	0	32.00	56.80	62.20	67.70	71.30	72.95
人工胃液	0	16.40	36.40	47.30	58.45	59.85	63.25
等渗磷酸盐缓冲液	0	32.00	50.80	54.05	57.35	62.70	66.15
生理盐水溶液	0	26.00	46.65	49.80	57.00	58.35	63.70

2.4 不同相对分子质量的 PLA 制备的 4ac-PLA-NP 体外释药情况:用不同相对分子质量的 PLA 制备 4ac-PLA-NP,用生理盐水分散后,吸取 5 mL 转入经处理的透析袋中,再精密加入 5 mL 生理盐水使其混匀,扎紧透析袋两端悬置于盛有 200 mL 蒸馏水的具塞锥形瓶中塞紧,保持漏槽状态,置 37 ℃ 恒

温水浴,100 r/min 恒温振荡,定时取样。每次取样 5 mL,同时补加同体积的蒸馏水。所取样品以蒸馏水为参比,测定各时间点的药物质量浓度,并计算累积释药率 Q 。结果见表 2。可以看出,随着 PLA 相对分子质量的增加,葛根素衍生物 4ac 纳米粒中 4ac 的累积释药率逐渐下降,这可能与 PLA 相对分子质量增加,水溶性较差有关。

表 2 4ac-PLA-NP 中 4ac 的体外释药 ($n=3$)

Table 2 *In vitro* release of 4ac from 4ac-PLA-NP ($n=3$)

时间/ h	累积释药率/%				
	PLA 5 000	PLA 10 000	PLA 20 000	PLA 30 000	PLA 40 000
2	8.63	7.79	8.29	7.02	7.72
4	15.90	11.52	14.52	11.88	12.12
6	17.86	13.93	22.41	12.95	15.93
8	19.86	16.39	25.22	15.60	19.82
10	22.54	17.49	28.83	16.75	21.00
12	24.78	18.60	31.02	18.70	22.40
24	30.05	28.23	33.99	25.37	28.90
48	38.58	35.26	40.04	34.54	34.48
96	45.12	43.38	42.62	41.64	36.76
144	48.69	45.33	44.47	44.29	40.53

2.5 数学模型拟合:以零级、一级动力学,Higuchi 方程,Niebergull 平方根定律,Hixcon-crowell 立方根定律,Weibull 方程对 4ac-PLA-NP 中各时间点 4ac 的累积释药率进行数学处理,求回归方程。结果见表 3。

从拟合曲线 R^2 值大小可以看出,PLA 不同相对分子质量制备的 4ac-PLA-NP 中 4ac 的体外释药规律均以 Weibull 分布拟合较好,表明其体外释药规律基本相同。

3 讨论

3.1 从药物体外释放的规律可以看出,不同相对分子质量的 PLA 制备的纳米粒,其体外释药率不同,但其释药规律基本相同,均以 Weibull 分布拟合较好。且体外释药百分率随着 PLA 相对分子质量的增加,释药速率逐渐减慢。

3.2 药物在体外的释药规律一般存在快释与慢释两个阶段,4ac-PLA-NP 体外释药规律也说明了这一点,起初阶段为快释阶段,在这一阶段中,主要是游离的药物释放出来;其次为慢释阶段,即包裹在微球内部的药物随着微球表面的溶解、溶蚀,内部药物逐渐释放出来。但在 144 h 后仍有 60% 左右的药物未释放出来,表明纳米粒的骨架结构具有足够的强度,可避免载药纳米粒在血液循环过程中被破坏而出现突释的现象,以保证药物能被顺利传递至靶区。

表 3 PLA 不同相对分子质量制备的 4ac-PLA-NP 中 4ac 的体外释药回归方程

Table 3 Regression equation of 4ac in 4ac-PLA-NP prepared by different relative molecular weights of PLA *in vitro* release

PLA	数学模型	0~12 h	24~144 h
PLA 5 000	零级	$Q=0.0147t+0.0789$ ($R^2=0.9304$)	$Q=0.0015t+0.2982$ ($R^2=0.8951$)
	一级	$\ln(1-Q)=-0.0178t-0.0792$ ($R^2=0.9443$)	$\ln(1-Q)=-0.0025t-0.3449$ ($R^2=0.9209$)
	Higuchi	$Q=0.0737t^{1/2}-0.0056$ ($R^2=0.9699$)	$Q=0.0258t^{1/2}+0.1929$ ($R^2=0.9574$)
	Niebergull	$(1-Q)^{1/2}=-0.0081t+0.9602$ ($R^2=0.9376$)	$(1-Q)^{1/2}=-0.0009t+0.8395$ ($R^2=0.9084$)
	Hixcon-crowell	$(1-Q)^{1/3}=-0.0056t+0.9735$ ($R^2=0.9393$)	$(1-Q)^{1/3}=-0.0007t+0.8904$ ($R^2=0.9127$)
	Weibull	$\ln\ln(1/(1-Q))=0.6065\ln t-2.738$ ($R^2=0.9629$)	$\ln\ln(1/(1-Q))=0.3483\ln t-2.1035$ ($R^2=0.985$)
PLA 10 000	零级	$Q=0.0106t+0.0685$ ($R^2=0.95$)	$Q=0.0014t+0.2808$ ($R^2=0.8613$)
	一级	$\ln(1-Q)=-0.0123t-0.0689$ ($R^2=0.957$)	$\ln(1-Q)=-0.0022t-0.3233$ ($R^2=0.8809$)
	Higuchi	$Q=0.0534t^{1/2}+0.0066$ ($R^2=0.9885$)	$Q=0.0243t^{1/2}+0.1808$ ($R^2=0.9336$)
	Niebergull	$(1-Q)^{1/2}=-0.0057t+0.9656$ ($R^2=0.9536$)	$(1-Q)^{1/2}=-0.0009t+0.8493$ ($R^2=0.8713$)
	Hixcon-crowell	$(1-Q)^{1/3}=-0.0039t+0.977$ ($R^2=0.9549$)	$(1-Q)^{1/3}=-0.0006t+0.8971$ ($R^2=0.8747$)
	Weibull	$\ln\ln(1/(1-Q))=0.5259\ln t-2.8512$ ($R^2=0.9934$)	$\ln\ln(1/(1-Q))=0.3446\ln t-2.1694$ ($R^2=0.9715$)
PLA 20 000	零级	$Q=0.0228t+0.0577$ ($R^2=0.9501$)	$Q=0.0008t+0.3468$ ($R^2=0.8121$)
	一级	$\ln(1-Q)=-0.0287t-0.0488$ ($R^2=0.9641$)	$\ln(1-Q)=-0.0013t-0.4242$ ($R^2=0.8306$)
	Higuchi	$Q=0.1141t^{1/2}-0.0741$ ($R^2=0.9847$)	$Q=0.0136t^{1/2}+0.2905$ ($R^2=0.8926$)
	Niebergull	$(1-Q)^{1/2}=-0.0128t+0.9731$ ($R^2=0.9574$)	$(1-Q)^{1/2}=-0.0005t+0.88085$ ($R^2=0.8214$)
	Hixcon-crowell	$(1-Q)^{1/3}=-0.0089t+0.9826$ ($R^2=0.9597$)	$(1-Q)^{1/3}=-0.0004t+0.8679$ ($R^2=0.8239$)
	Weibull	$\ln\ln(1/(1-Q))=0.8328\ln t-2.9865$ ($R^2=0.9852$)	$\ln\ln(1-Q)=0.1851\ln t-1.432$ ($R^2=0.9458$)
PLA 30 000	零级	$Q=0.0108t+0.0625$ ($R^2=0.9475$)	$Q=0.0014t+0.2571$ ($R^2=0.8593$)
	一级	$\ln(1-Q)=-0.0125t-0.0624$ ($R^2=0.9554$)	$\ln(1-Q)=-0.0025t-0.2906$ ($R^2=0.8854$)
	Higuchi	$Q=0.0541t^{1/2}+0.0001$ ($R^2=0.709$)	$Q=0.0257t^{1/2}+0.1513$ ($R^2=0.9326$)
	Niebergull	$(1-Q)^{1/2}=-0.0058t+0.9688$ ($R^2=0.9515$)	$(1-Q)^{1/2}=-0.0009t+0.8633$ ($R^2=0.8726$)
	Hixcon-crowell	$(1-Q)^{1/3}=-0.004t+0.9791$ ($R^2=0.9527$)	$(1-Q)^{1/3}=-0.0006t+0.907$ ($R^2=0.8768$)
	Weibull	$\ln\ln(1/(1-Q))=0.5576\ln t-2.9496$ ($R^2=0.9758$)	$\ln\ln(1/(1-Q))=0.3817\ln t-2.3889$ ($R^2=0.9667$)
PLA 40 000	零级	$Q=0.0148t+0.061$ ($R^2=0.9485$)	$Q=0.009t+0.2841$ ($R^2=0.9204$)
	一级	$\ln(1-Q)=-0.0176t-0.0589$ ($R^2=0.9563$)	$\ln(1-Q)=-0.0014t-0.3306$ ($R^2=0.8809$)
	Higuchi	$Q=0.0744t^{1/2}+0.025$ ($R^2=0.9841$)	$Q=0.0156t^{1/2}+0.2218$ ($R^2=0.9558$)
	Niebergull	$(1-Q)^{1/2}=-0.0081t+0.97$ ($R^2=0.9525$)	$(1-Q)^{1/2}=-0.0006t+0.8468$ ($R^2=0.9265$)
	Hixcon-crowell	$(1-Q)^{1/3}=-0.0055t+0.9801$ ($R^2=0.9533$)	$(1-Q)^{1/3}=-0.0004t+0.8954$ ($R^2=0.9259$)
	Weibull	$\ln\ln(1/(1-Q))=0.6625\ln t-2.9604$ ($R^2=0.9901$)	$\ln\ln(1-Q)=0.2249\ln t-21.7758$ ($R^2=0.9671$)

References:

- [1] Peng Y X, Liao G T. The *in vitro* release kinetics of Daunorubicin in polybutyl cyanoacrylate nanoparticles [J]. *J West China Univ Med Sci* (华西医科大学学报), 1999, 30 (2): 168.
- [2] Avgoustakis K, Beletsi A, Panagi Z, et al. PLGA-nanoparticles of cisplatin: *in vitro* nanoparticle degradation, *in vitro* drug release and *in vivo* drug residence in blood properties [J]. *J Control Release*, 2002, 79 (1-3): 123.
- [3] Chorny M, Fishbein I. Study of the drug release mechanism from tyrphostin AG-1295-loaded nanospheres by *in situ* and external sink methods [J]. *J Control Release*, 2002, 83: 401.
- [4] Lamprecht A, Bouligand Y. New lipid nanocapsules exhibit sustained release properties for amiodarone [J]. *J Control Release*, 2002, 84: 59-68.

均匀设计-响应曲面法优化莪术的超临界 CO₂ 萃取工艺

刘红梅, 李可意

(北京联合大学生物化学工程学院, 北京 100023)

摘要: 目的 以莪术醇为响应指标, 优化莪术有效成分的超临界 CO₂ 萃取工艺。方法 通过均匀试验设计, 采用气相色谱法测定莪术醇的量, 采用响应曲面分析方法优化提取工艺。结果 莪术的超临界 CO₂ 最佳萃取工艺为萃取温度 40℃、萃取压力 20 MPa、动态萃取时间 120 min、改性剂用量 24 mL、改性剂体积分数 70%、静态萃取时间 20 min; 模型预测值的绝对误差小于 2%。结论 利用均匀设计和响应曲面法可以对莪术超临界 CO₂ 萃取工艺进行优化。

收稿日期: 2006-10-24

作者简介: 刘红梅(1970—), 女, 安徽霍邱人, 硕士, 副教授, 1995年毕业于中国科学院大连化学物理研究所, 从事传质和天然产物分离纯化技术的研究。 Tel: (010) 67373054 E-mail: hgthongmei@buu.com.cn