

## · 药理与临床 ·

## 川陈皮素对乳腺癌细胞的化疗增敏作用

曹 鹏<sup>1</sup>, 王东明<sup>1,2</sup>, 顾振华<sup>1\*</sup>

(1. 江苏省中医药研究院 细胞与分子生物学实验室, 江苏 南京 210028; 2. 丽水职业技术学院, 浙江 丽水 323000)

**摘要:**目的 探讨川陈皮素对乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的体外化疗增敏作用。方法 以 MDA-MB-231 细胞为研究对象, MTT 法测定细胞增殖抑制率, DNA Ladder、核小体双抗体 ELISA 和流式细胞仪测定 MDA-MB-231 细胞凋亡情况, 凝胶阻滞实验 (EMSA) 和 ELISA 检测川陈皮素对核转录因子 (NF- $\kappa$ B) 的转录激活的影响。结果 20  $\mu$ mol/L 川陈皮素分别与 1 nmol/L 紫杉醇或 50 ng/mL 阿霉素联合使用肿瘤细胞增殖抑制率为 75.1% 和 82.6%, 单独使用 1 nmol/L 紫杉醇或 50 ng/mL 阿霉素肿瘤细胞增殖抑制率为 40% 和 45%; 核小体双抗体夹心酶免疫法和 DNA 凝胶电泳实验表明川陈皮素与紫杉醇或阿霉素联合用药可明显促进 MDA-MB-231 细胞的凋亡, EMSA 和 ELISA 实验表明川陈皮素与紫杉醇或阿霉素联合用药可明显抑制 NF- $\kappa$ B 的转录活性。结论 川陈皮素可以促进临床化疗药物对乳腺癌细胞增殖的抑制作用和诱导凋亡作用, 其机制可能是通过抑制 NF- $\kappa$ B 转录作用。

**关键词:**川陈皮素; 乳腺癌细胞 MDA-MB-231; 核转录因子 (NF- $\kappa$ B); 紫杉醇; 阿霉素

**中图分类号:**R285.5 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2670(2009)09-1418-05

### Sensitizing effect of nobiletin on increased apoptosis in human cancer cells induced by chemotherapeutic agents

CAO Peng<sup>1</sup>, WANG Dong-ming<sup>1,2</sup>, GU Zhen-hua<sup>1</sup>

(1. Laboratory of Cellular and Molecular Biology, Jiangsu Province Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China; 2. Lishui Vocational and Technical College, Lishui 323000, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate whether nobiletin could enhance chemotherapeutic drug-induced cell proliferation inhibition and apoptosis in breast carcinoma cells MDA-MB-231 *in vitro*. **Methods** MDA-MB-231 cells were exposed to nobiletin and different chemotherapeutic drugs at different concentration. The cell proliferation inhibitory rate was observed by MTT, apoptosis was detected by DNA Ladder, flow cytometry (FCM), and ELISA, and an NF- $\kappa$ B electrophoretic mobility shift was conducted by EMSA and ELISA. **Results** The combination of nobiletin (20  $\mu$ mol) with Taxol (1 nmol) or Doxorubicin (50 ng/mL) resulted in a significant inhibitory rate of cell growth and more apoptosis in MDA-MB-231 cells of 75.1% and 82.6% compared with either of them alone (40% and 45%), respectively. DNA Ladder and FCM assay showed that nobiletin could promote the cell apoptosis induced by chemotherapeutic drug. EMSA and ELISA assay showed that nobiletin could inhibit NF- $\kappa$ B activity in nuclear and cytoplasm of MDA-MB-231 cells. **Conclusion** The current results suggest that nobiletin could enhance the inhibition of chemotherapeutic drug on cell proliferation and cell apoptosis of breast carcinoma cells MDA-MB-231, the mechanism may be related to down-regulate the NF- $\kappa$ B activity *in vitro*.

**Key words:** nobiletin; MDA-MB-231; NF- $\kappa$ B; Taxol; Doxorubicin

常用中药陈皮具有理气健脾、燥湿化痰功效;青皮可疏肝破气、消积化滞。中医认为癌瘤由气滞血瘀水停所致,青皮、陈皮之燥湿化痰、破气消积之功常用于治疗肿瘤。陈皮主要抗肿瘤活性成分川陈皮素 (nobiletin),其化学结构式为 5, 6, 7, 8, 3, 4-

六甲氧基黄酮,体内外实验证明其对人乳腺癌细胞、JAR 绒癌细胞、人肾癌细胞、人直肠癌细胞、人肺癌细胞均具明显的抑制作用<sup>[1-5]</sup>。本实验通过川陈皮素与化疗药物联合作用于乳腺癌细胞株 MDA-MB-231,在细胞和分子水平探讨川陈皮素的化疗增敏作

\* 收稿日期:2008-12-20

基金项目:国家自然科学基金资助项目 (30701098)

作者简介:曹 鹏(1979→),男,江苏人,博士,助理研究员,主要从事抗肿瘤中药筛选与机制研究。

Tel: (025) 85608666 E-mail: pcao79@yahoo.com

用,以揭示川陈皮素新的抗肿瘤活性。

## 1 材料

1.1 药品:川陈皮素购于南京泽朗集团医药公司,质量分数达到 99%;紫杉醇(Taxol),海南轻骑海药股份有限公司海口市制药厂生产(批号 3587);阿霉素,浙江海正药业有限公司生产(批号 13550);二甲基亚砜(DMSO)购于 Sigma 公司。

1.2 细胞株:乳腺癌细胞株 MDA-MB-231 购于美国 ATCC。

1.3 其他试剂和仪器:凝胶阻滞(EMSA)试剂盒购买于美国 Pierce 公司;MTT 购买于美国 Sigma 公司;流式凋亡检测试剂盒(美国 ACTGene 公司)。倒置相差显微镜为日本 Olympus 公司产品。CO<sub>2</sub> 培养箱为美国 Thermo 公司产品。流式细胞仪,2000 FCA,为美国 BD 公司生产。

## 2 方法

2.1 细胞增长抑制实验(MTT法):人乳腺癌细胞株 MDA-MB-231 接种于含 10% 新生牛血清、抗生素(100 U/mL 青霉素和 100 μg/mL 链霉素)的 DMEM 培养基中。培养环境为 5% CO<sub>2</sub>、37 ℃、饱和湿度。细胞 3~5 d 传代,以 0.25% 胰蛋白酶消化 1~3 传代。取对数生长期的 MDA-MB-231 细胞以 2 × 10<sup>5</sup>/mL 细胞密度接种于 96 孔培养板,每孔 200 μL。24 h 贴壁后,加入不同浓度的药物培养 3 d,各设 4 个平行孔,具体分组为:将细胞分为 5 个大组,第 1 组为溶剂 DMSO 对照组;第 2 组为 20 μmol/L 川陈皮素单独处理组;第 3 组为化疗药物紫杉醇单独干预组,作用浓度分别为 1、2 nmol/L;第 4 组为 20 μmol/L 川陈皮素联合 1 nmol/L 紫杉醇处理组;第 5 组为化疗药物阿霉素单独干预组,作用浓度分别为 50、100 ng/mL;第 6 组为 20 μmol/L 川陈皮素联合 50 ng/mL 阿霉素处理组。收获细胞前 4 h 每孔加入 20 μL MTT 溶液(5 mg/mL,用 pH 7.4 的 0.1 mol/L PBS 配制),37 ℃ 继续培养 4 h,吸弃孔内上清液。每孔加 200 μL DMSO,振荡摇匀使结晶物充分溶解。选择 490 nm 波长,在酶标仪上测定各孔吸光度(A)值,取平均值,根据公式:抑制率 = (1 - 实验组平均 A 值/对照组平均 A 值) × 100%,计算增殖抑制率。

2.2 DNA Ladder 检测凋亡:按照试剂盒说明书进行。收集 1 × 10<sup>6</sup> ~ 2 × 10<sup>6</sup> 个细胞,离心后获得细胞沉淀,加 400 μL 细胞裂解液,提取基因组 DNA,测定 DNA 浓度;2% 琼脂糖凝胶在 80 V 的电压下电泳 2 h,溴化乙锭染色。

2.3 核小体双抗体夹心酶免疫法:采用美国 Boehringer Mannheim 公司试剂盒。收集细胞,离心后,用 200 μL 细胞裂解缓冲液重新悬浮,室温下裂解 30 min;离心,收集细胞的上清液;取样品离心后(1 000 r/min, 10 min),吸取 20 μL 上清液,加入链霉亲和素包被的培养板孔中;另加入 80 μL 免疫反应试剂,含过氧化物酶(POD)标记的小鼠抗 DNA 单克隆抗体、抗组蛋白-生物素及温育缓冲液(按 1:1:18 混合),室温下孵育 2 h,置摇床上,250 r/min;取上清,用 300 μL 温育缓冲液洗涤 3 次,小心移去洗涤液;加入 100 μL 底物缓冲液,室温下孵育使颜色变化至适合;尽快进行比色分析(10 min ~ 20 min 内),用底物缓冲液作空白对照,以波长 405 nm,参考波长 492 nm 进行检测,实验重复 3 次。

2.4 流式细胞仪检测凋亡:按照试剂盒说明,胰酶消化收集 1 × 10<sup>6</sup> 个细胞,PBS 清洗后弃去上清。再用 100 μL 结合缓冲液重悬,每管加入 2 μL Annexin V-FITC, 2 μL PI 双染。避光孵育 15 min 后流式细胞仪检测。实验重复 3 次。

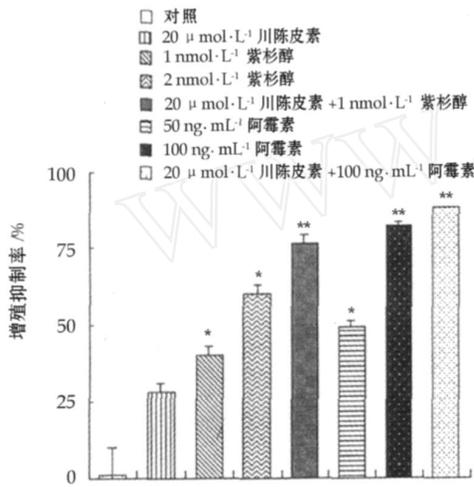
2.5 凝胶阻滞实验(EMSA):收集处理过的细胞,利用美国 Activemotif 公司的核蛋白提取试剂盒抽提核蛋白,Bradford 法测定蛋白质浓度;生物素化的 DNA 探针由上海赛百盛基因技术有限公司合成。EMSA 检测参照美国 Pierce 公司试剂盒说明书进行,简要步骤如下:取 1 μg 核蛋白与 2 μL 10 × 结合缓冲液、1 μL 50% 甘油、1 μL 100 nmol/L 氯化镁、1 μL Poly(dFdC)、1 μL 1% NP-40 裂解液、1 μL 生物素标记的探针(5'-CGCTTGA TGA GT-CAGCCGGAA-3', 3'-GCGAACTACTCA GTCG-GCCTT-5'),加去离子水共 20 μL,室温孵育 20 min,60 g/L 聚丙烯酰胺凝胶 120 V 电泳 2 h;380 mA 半干转膜 30 min。将尼龙膜置于紫外交联仪中 120 mJ/cm<sup>2</sup> 交联 1 min。封闭 15 min。HRP 连接封闭液孵育 15 min。磷酸盐缓冲液洗膜 5 min × 4。平衡液孵育 5 min。与化学发光液作用 5 min 后,将结果曝光于胶片上。

2.6 胞核核转录因子-B(NF-κB)活性检测(ELISA法):应用 Cayman NF-κB P65 活性检测试剂盒测定 NF-κB 活性。该方法将胞核内能与 p65 结合的 DNA 片段包被于 96 孔板上,取 2.5 所述 3 组核蛋白等量分别加入孔内,每组做 3 个复孔,4 过夜,次日洗板,并分别加入 NF-κB 一抗(1:1 000),二抗(1:1 000)及显色液,最后于波长 450 nm 酶标仪检测 A 值。

2.7 统计学处理:MTT 结果用方差分析 S-N-K 法作统计分析,后用中效原理行相互作用判断。

3 结果

3.1 联合用药对 MDA-MB-231 细胞增殖的抑制作用:采用 MTT 法测定了川陈皮素联合化疗药物阿霉素、紫杉醇对乳腺癌细胞 MDA-MB-231 增殖的抑制情况,结果见图 1。20 μmol/L 的川陈皮素、1 nmol/L 的紫杉醇和 50 ng/mL 的阿霉素均能抑制肿瘤细胞增殖,而较低质量浓度的阿霉素(50 ng/mL)或紫杉醇(1 nmol/L)分别与川陈皮素(20 μmol/L)联合使用,抑制肿瘤细胞增殖效果均明显强于单独使用化疗药物。



与对照组比较: \* P<0.05 \*\* P<0.01  
\* P<0.05 \*\* P<0.01 vs control group

图 1 川陈皮素与阿霉素或紫杉醇联合用药对乳腺癌细胞 MDA-MB-231 增殖的影响 (x̄ ± s, n = 4)

Fig. 1 Effect of combination of nobiletin and Doxorubicin or Taxol on MDA-MB-231 cell growth (x̄ ± s, n = 4)

3.2 联合用药对 MDA-MB-231 细胞的诱导凋亡作用:为进一步观察川陈皮素是否促进化疗药物诱导肿瘤细胞的凋亡,分别利用 DNA Ladder 法和核小体双抗体 ELISA 法对川陈皮素化疗增敏作用进行定性和定量分析,结果见图 2 和 3。与对照组相比,川陈皮素、紫杉醇和阿霉素均能在一定程度上诱导 MDA-MB-231 细胞凋亡出现特异性的 DNA ladder 现象,而川陈皮素分别与两种化疗药物联合作用,诱导细胞凋亡现象更加明显,细胞凋亡引起的核小体的量[吸光度(A)值]也有明显的增加。为进一步明确川陈皮素促进化疗药物诱导 MDA-MB-231 细胞凋亡作用的时间依赖性,川陈皮素采用流式细胞术分析了不同时间检测点细胞凋亡率,结果

见表 1,乳腺癌细胞 MDA-MB-231 凋亡在 24、36、48、72 h,联合用药组与对照组比较,差异有非常显著性意义 (P<0.01),说明川陈皮素协同紫杉醇或者阿霉素增强对乳腺癌细胞 MDA-MB-231 诱导凋亡作用具有时间依赖性。

3.3 川陈皮素抑制 NF- B 转录及活性:化疗药物在抑制肿瘤细胞增殖的同时,会诱导细胞内核转录因子 NF- B 的活化,见图 4 和 5。随着药物浓度的不断升高,紫杉醇和阿霉素均能明显诱导 NF- B 与 DNA 的结合活性,而 20 μmol/L 川陈皮素的加入,可以显著降低 NF- B 的转录活性。

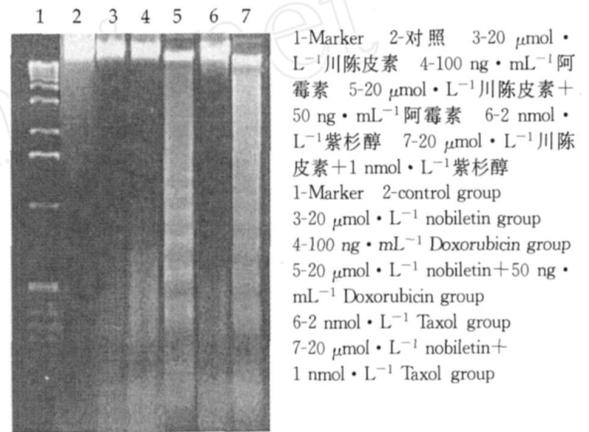
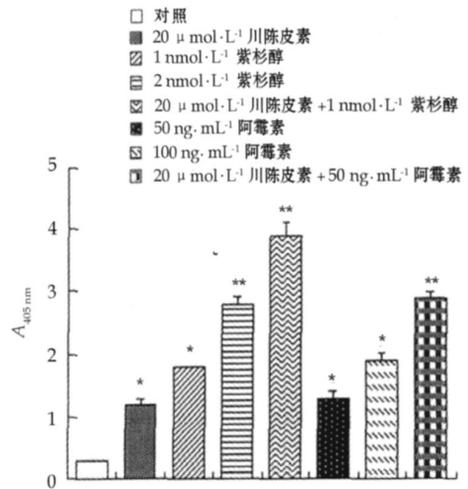


图 2 DNA Ladder 测定乳腺癌细胞 MDA-MB-231 凋亡情况

Fig. 2 Induction of apoptosis in MDA-MB-231 cells tested by DNA Ladder analysis



与对照组比较: \* P<0.05 \*\* P<0.01  
\* P<0.05 \*\* P<0.01 vs control group

图 3 核小体双抗体 ELISA 法测定乳腺癌细胞 MDA-MB-231 凋亡情况 (x̄ ± s, n = 3)

Fig. 3 Induction of apoptosis in MDA-MB-231 cells tested by ELISA (x̄ ± s, n = 3)

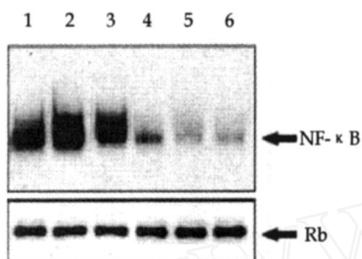
表 1 联合用药对 MDA-MB-231 细胞凋亡的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 1 Effect of combination of tested drugs on MDA-MB-231 apoptosis ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	凋亡率/ %			
	24 h	36 h	48 h	72 h
对照组 (10 % DMSO)	1.12 ± 0.16	1.96 ± 0.32	2.35 ± 0.12	2.11 ± 0.24
川陈皮素 (20 μmol · L <sup>-1</sup> )	2.42 ± 0.13	2.46 ± 0.24	3.62 ± 0.26	4.11 ± 0.43
紫杉醇 (1 nmol · L <sup>-1</sup> )	6.89 ± 0.45	10.23 ± 0.36	12.69 ± 0.58	15.78 ± 0.45
川陈皮素 (20 μmol · L <sup>-1</sup> ) + 紫杉醇 (1 nmol · L <sup>-1</sup> )	18.32 ± 0.79 **	20.45 ± 0.88 **	24.86 ± 0.86 **	29.68 ± 0.96 **
阿霉素 (50 ng · mL <sup>-1</sup> )	7.25 ± 0.49	8.63 ± 0.78	10.22 ± 0.25	14.58 ± 0.58
川陈皮素 (20 μmol · L <sup>-1</sup> ) + 阿霉素 (50 ng · mL <sup>-1</sup> )	17.36 ± 0.51 **	19.88 ± 0.88 **	23.65 ± 0.78 **	28.45 ± 0.47 **

与对照组比较:  $P < 0.01$ ; 与单独化疗药组比较: \*\*  $P < 0.01$

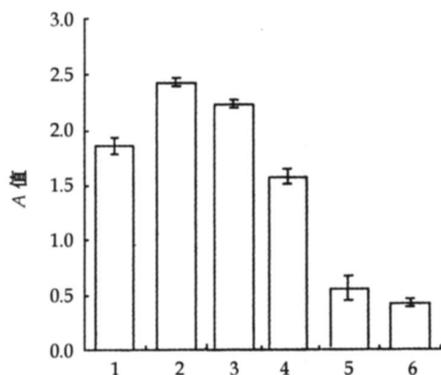
$P < 0.01$  vs control group; \*\*  $P < 0.01$  vs single chemotherapeutic group



1-对照 2-100 ng · mL<sup>-1</sup>阿霉素 3-2 nmol · L<sup>-1</sup>紫杉醇  
4-20 μmol · L<sup>-1</sup>川陈皮素 5-20 μmol · L<sup>-1</sup>川陈皮素 + 100 ng · mL<sup>-1</sup>阿霉素  
6-20 μmol · L<sup>-1</sup>川陈皮素 + 2 nmol · L<sup>-1</sup>紫杉醇  
1-control 2-100 ng · mL<sup>-1</sup> Doxorubicin 3-2 nmol · L<sup>-1</sup> Taxol 4-20 μmol · L<sup>-1</sup> nobilletin  
5-20 μmol · L<sup>-1</sup> nobilletin + 100 ng · mL<sup>-1</sup> Doxorubicin 6-20 μmol · L<sup>-1</sup> nobilletin + 2 nmol · L<sup>-1</sup> Taxol

图 4 EMSA 分析乳腺癌细胞 MDA-MB-231 NF-κB 转录水平

Fig. 4 NF-κB transcriptional level in MDA-MB-231 cells tested by EMSA



1-对照 2-100 ng · mL<sup>-1</sup>阿霉素 3-2 nmol · L<sup>-1</sup>紫杉醇 4-20 μmol · L<sup>-1</sup>川陈皮素  
5-100 ng · mL<sup>-1</sup>阿霉素 + 20 μmol · L<sup>-1</sup>川陈皮素 6-2 nmol · L<sup>-1</sup>紫杉醇 + 20 μmol · L<sup>-1</sup>川陈皮素  
1-control 2-100 ng · mL<sup>-1</sup> Doxorubicin 3-2 nmol · L<sup>-1</sup> Taxol 4-20 μmol · L<sup>-1</sup> nobilletin  
5-100 ng · mL<sup>-1</sup> Doxorubicin + 20 μmol · L<sup>-1</sup> nobilletin 6-2 nmol · L<sup>-1</sup> Taxol + 20 μmol · L<sup>-1</sup> nobilletin

图 5 ELISA 法检测 MDA-MB-231 细胞胞核内 NF-κB 活性 (药物处理 72 h,  $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Fig. 5 NF-κB Activity of MDA-MB-231 cells assay based on ELISA (drug treated for 72 h,  $\bar{x} \pm s, n=3$ )

#### 4 讨论

肿瘤细胞对抗癌药物阿霉素、紫杉醇等产生耐药性,是临床肿瘤化疗失败的主要原因<sup>[6,7]</sup>。传统的肿瘤治疗观念认为化疗药物直接作用于核酸、微管蛋白等来抑制肿瘤细胞的增殖。随着凋亡程序所需要的分子事件已被逐步了解,发现这些化疗药物均可通过激活凋亡通路杀死肿瘤细胞<sup>[8,9]</sup>。因而,近年来倾向于将肿瘤细胞逃避凋亡作为化疗耐受的新机制。NF-κB 是一组重要的转录因子,2005 年,Nakanishi 等<sup>[10]</sup>报导了 NF-κB 的激活与肿瘤的发生、耐药存在着重要的关系。化疗药物在诱导肿瘤细胞凋亡的同时能强烈诱导其转录活性,一旦被化疗药物激活,NF-κB 可诱导一系列耐药相关蛋白的表达,形成肿瘤细胞凋亡的化疗抵抗<sup>[11,12]</sup>。因此寻找能够阻断 NF-κB 信号通路的抑制剂,对于逆转肿瘤细胞耐药、增强化疗敏感性具有十分重要的意义。

川陈皮素是从橘皮中提取的一种黄酮化合物,有研究报道川陈皮素通过诱导细胞分化、抗细胞增殖、影响细胞周期及诱导凋亡等作用抑制肿瘤生成,但其促进化疗药物抑制肿瘤的确切效果和系统的报道不多。本实验首次发现川陈皮素不仅能够抑制肿瘤细胞增殖,而且能够促进化疗药物诱导乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的凋亡,初步的机制研究证实川陈皮素能够显著抑制 NF-κB 的转录活性。本研究将为提高肿瘤临床化疗疗效、减少化疗药物的用量、减轻化疗的不良反应提供实验依据。

#### 参考文献:

- [1] Narabayashi M, Mitsumori M, Araki N, et al. A case of metachronous bilateral breast cancer with bilateral radiation pneumonitis after breast-conserving therapy [J]. *Breast Cancer*, 2006, 13(3): 313-316.
- [2] Beaujouin M, Baghdiguan S, Glondru-Lassis M, et al. Over-expression of both catalytically active and -inactive cathepsin D by cancer cells enhances apoptosis-dependent chemosensitivity [J]. *Oncogene*, 2006, 25(13): 1967-1973.
- [3] Kontny U. Regulation of apoptosis and proliferation in

- Ewing s sarcoma-opportunities for targeted therapy [J]. *Hematol Oncol*, 2006, 24(1): 14-21.
- [4] Olivier S, Robe P, Bours V. Can NF-kappaB be a target for novel and efficient anti-cancer agents [J]. *Biochem Pharmacol*, 2006, 72(9): 1054-1068.
- [5] 王光凤, 王小晨, 肖 磷, 等. 柑橘黄酮川陈皮素的抗肿瘤作用研究 [J]. *中草药*, 2007, 38(11): 1694-1697.
- [6] Wang X, Li F, Zhang H, *et al.* Preparative isolation and purification of polymethoxylated flavones from Tangerine peel using high-speed counter-current chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2005, 1090(1-2): 188-192.
- [7] Ohnishi H, Asamoto M, Tujimura K, *et al.* Inhibition of cell proliferation by nobiletin, a dietary phytochemical, associated with apoptosis and characteristic gene expression, but lack of effect on early rat hepatocarcinogenesis *in vivo* [J]. *Cancer Sci*, 2004, 95(12): 936-942.
- [8] Nagase H, Yamakuni T, Matsuzaki K, *et al.* Mechanism of neurotrophic action of nobiletin in PC12D cells [J]. *Biochemistry*, 2005, 44(42): 13683-13691.
- [9] Brantley-Finley C, Lyle C S, Du L, *et al.* The JNK, ERK and p53 pathways play distinct roles in apoptosis mediated by the antitumor agents vinblastine, doxorubicin, and etoposide [J]. *Biochem Pharmacol*, 2003, 66(3): 459-469.
- [10] Nakanishi C, Toi M. Nuclear factor-kappaB inhibitors as sensitizers to anticancer drugs [J]. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5(4): 297-309.
- [11] Sen R, Baltimore D. Inducibility of kappa immunoglobulin enhancer-binding protein Nf-kappa B by a posttranslational mechanism [J]. *Cell*, 1986, 47(6): 921-928.
- [12] Egan L J, Toruner M. NF-kappaB signaling: pros and cons of altering NF-kappaB as a therapeutic approach [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2006, 1072: 114-122.

## 马钱子碱聚乳酸纳米粒在家兔体内的药动学研究

赵继会<sup>1</sup>, 刘召林<sup>1</sup>, 孙占国<sup>2</sup>, 许 洁<sup>1</sup>, 于燕燕<sup>1</sup>, 冯年平<sup>1\*</sup>

(1. 上海中医药大学中药学院, 上海 201203; 2. 北京嘉事联博医药科技有限公司, 北京 100083)

**摘要:**目的 研究马钱子碱聚乳酸纳米粒 (Bru-PLA-NPs) iv 注射给药后在家兔体内的药动学行为。方法 建立 HPLC 法测定家兔血浆中马钱子碱浓度。色谱柱为 Kromasil C<sub>18</sub> (250 mm ×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水 (23 : 77), 水中含庚烷磺酸钠 1.01 g/L, 磷酸二氢钾 1.36 g/L, 加磷酸调节 pH 至 2.8; 体积流量为 1 mL/min; 检测波长为 265 nm; 柱温为 25 ℃。采用 3p87 软件计算马钱子碱药动学参数。结果 单剂量 iv Bru-PLA-NPs (4 mg/kg) 后马钱子碱在兔体内的药动力学数据符合三室模型, 单剂量静注马钱子碱溶液 (4 mg/kg) 后符合二室模型; 与马钱子碱溶液相比, Bru-PLA-NPs 给药后, 马钱子碱的消除半衰期 (*t*<sub>1/2</sub>) 提高 6.6 倍; 生物利用度提高 8.7 倍。结论 与马钱子碱溶液相比, Bru-PLA-NPs iv 给药后马钱子碱在家兔体内的药动学行为发生了显著变化。

**关键词:** 马钱子碱; 聚乳酸纳米粒; 药动学

中图分类号: R285.61 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2009)09-1422-04

### In vivo pharmacokinetics of brucine-loaded polylactide nanoparticles in rabbits

ZHAO Ji-hui<sup>1</sup>, LIU Zhao-lin<sup>1</sup>, SUN Zhan-guo<sup>2</sup>, XU Jie<sup>1</sup>, YU Yan-yan<sup>1</sup>, FENG Nian-ping<sup>1</sup>

(1. College of Chinese Materia Medica, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China;

2. JIASHILIANBO Pharmaceutical Sci. & Tech. Co., Ltd., Beijing 100083, China)

**Abstract : Objective** To evaluate the pharmacokinetic behavior of brucine-loaded polylactic acid nanoparticles (Bru-PLA-NPs) in rabbits. **Methods** An HPLC method was developed for determination of Bru in rabbit plasma. The separation of Bru was achieved with a Kromasil C<sub>18</sub> column (250 mm ×4.6 mm, 5 μm). The mobile phase consists of acetonitrile and water (23 : 77). To each liter of water, 1.01 gram of sodium heptanesulfonate and 1.36 gram of potassium dihydrogen phosphate were added, and then the pH value of the water was adjusted to 2.8 with phosphoric acid. The flow rate was set at 1 mL/min; The detection wavelength was set at 265 nm; The column temperature was kept at 25 ℃. Compartmental pharmacokinetics was used for calculating the parameters using 3p87 software, a practical pharmacokinetic program by Chinese Association of Mathematic Pharmacology (Beijing, China). **Results** The pharmacokinetic data of Bru obtained from the single dose iv administration of Bru-PLA-NPs and Bru solution fit three-compartment and two-compartment open models, respectively. Compared with Bru solution after a single

\* 收稿日期: 2009-01-22

基金项目: 上海市博士点基金资助项目 (2006B02); 上海市教委项目 (07ZZ53); 上海市教委重点学科项目 (J50302)

作者简介: 赵继会 (1977 →), 男, 讲师, 博士, 专业方向为中药新型给药系统研究。

\* 通讯作者 冯年平 Tel: (021) 51322197 E-mail: npfeng@hotmail.com