

- Ewing's sarcoma-opportunities for targeted therapy [J]. *Hematol Oncol*, 2006, 24(1): 14-21.
- [4] Olivier S, Robe P, Bours V. Can NF- κ B 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 璘, 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- κ B 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- κ B by a posttranslational mechanism [J]. *Cell*, 1986, 47(6): 921-928.
- [12] Egan L J, Toruner M. NF- κ B signaling: pros and cons of altering NF- κ B 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¹, 刘召林¹, 孙占国², 许 洁¹, 于燕燕¹, 冯年平^{1*}

(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 C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μ m); 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 $^{\circ}$ C。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 ($t_{1/2\beta}$) 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-hui¹, LIU Zhao-lin¹, SUN Zhan-guo², XU Jie¹, YU Yan-yan¹, FENG Nian-ping¹

(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 C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μ m). 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 $^{\circ}$ C. 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

dose iv administration, the elimination half-life ($t_{1/2\beta}$) and bioavailability of Bru were increased by 6.6 times and 8.7 times, respectively. **Conclusion** Compared with Bru solution, the pharmacokinetic behavior of Bru changes obviously, following the iv administration of Bru-PLA-NPs in rabbits.

Key words: brucine (Bru); polylactide nanoparticles (PLA-NPs); pharmacokinetics

马钱子碱 (brucine, Bru) 是马钱科植物马钱 *Strychnos nux-vomica* L. 的主要有效成分之一,可用于胃癌、肠癌、肺癌、肝癌、白血病等疾病的治疗^[1-3]。虽然马钱子碱在抗肿瘤方面表现出不错的效果,但是其毒性大、治疗窗窄,半衰期短,因而应用受到了限制^[4,5]。聚乳酸纳米粒具有生物相容性好的特点,并可对包载的药物起到缓释、靶向作用。制备马钱子碱聚乳酸载药纳米粒 (Bru-PLA-NPs) 有望改善马钱子碱疗效同时降低其毒性。本实验建立了一种测定家兔血浆中马钱子碱浓度的 HPLC 方法,并将其用于评价 Bru-PLA-NPs 在家兔体内的药动学行为。

1 仪器与试剂

Agilent 1200 高效液相色谱仪 (Agilent 公司, 美国), 5804R 冷冻离心机 (Eppendorf 公司, 德国), Anke RDL-60B (上海安亭科学仪器厂), XW-80A 旋涡混合器 (上海医大仪器厂), DKB-501A 恒温水浴锅 (上海精宏实验设备有限公司), 超声清洗仪 (上海科导超仪器有限公司)。

马钱子碱原料药 (质量分数 97.0%, Fluka 公司, 批号 434758/1 13802), 马钱子碱对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 110706-200505), Bru-PLA-NPs (自制), 土的宁对照品 (质量分数 $\geq 98\%$, 中国药品生物制品检定所, 批号 110705-200306), 庚烷磺酸钠 (Tedia 公司, 批号 511006), 磷酸二氢钾 (国药集团化学试剂有限公司), 乙腈 (色谱纯, Merck 公司), 氨水、醋酸乙酯等 (均为分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱为 Kromasil C₁₈ (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 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: 1 mL/min; 检测波长: 265 nm; 柱温: 25 $^{\circ}$ C; 进样量: 20 μ L。

2.2 标准样品和质控 (QC) 样品的制备

2.2.1 储备溶液的配制: 精密称取马钱子碱对照品 5.0 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加入甲醇并稀释至刻度, 摇匀, 得到质量浓度为 0.5 mg/mL 的马钱子碱储备液; 精密称取土的宁 5.0 mg, 置 10 mL 量瓶中,

加入甲醇稀释至刻度, 摇匀, 得到质量浓度为 0.5 mg/mL 的内标储备液。

2.2.2 工作溶液的配制: 取马钱子碱储备液适量, 加甲醇稀释, 得到质量浓度为 1、2、5、10、20、50 μ g/mL 的马钱子碱工作溶液; 取内标储备液适量, 加甲醇稀释, 得到质量浓度为 20 μ g/mL 的内标工作溶液。

2.2.3 标准样品的制备: 向每份 1 mL 的家兔空白血浆中加入 50 μ L 甲醇或 50 μ L 马钱子碱工作溶液, 得到质量浓度为 0、0.05、0.1、0.25、0.5、1.0、2.5 μ g/mL 的马钱子碱标准样品。

2.2.4 QC 样品的制备: 向每份 1 mL 的家兔空白血浆中加入 50 μ L 马钱子碱工作溶液, 得到质量浓度为 0.1、0.5、2.5 μ g/mL 的 QC 样品。

2.3 样品处理方法: 向 1 mL 空白血浆、血浆样品 (先加入 50 μ L 甲醇)、标准样品或 QC 样品中加入内标工作溶液 (20 μ g/mL) 50 μ L、2 mL 乙腈、50 μ L 氨水, 涡旋 1 min, 加入 2 mL 醋酸乙酯, 涡旋 3 min, 超声 1 min, 在 3 000 r/min 下离心 10 min, 吸取上清液, 60 $^{\circ}$ C 水浴挥干有机溶剂, 残渣用 100 μ L 流动相复溶, 超声 3 min, 在 10 000 r/min 下离心 10 min, 上清液供检测用。

2.4 专属性考察: 将药动学研究血浆样品、空白血浆按样品处理方法处理, 进样, 考察方法的专属性。结果见图 1。

2.5 线性关系考察: 取标准样品, 每个质量浓度平行 3 份, 按样品制备方法处理, 进样分析。以马钱子碱峰面积与内标峰面积的比值对质量浓度进行线性回归, 计算得线性方程为 $Y = 1.1139 X + 0.0511$, 马钱子碱质量浓度在 0.05 ~ 2.5 μ g/mL 峰面积比值与质量浓度之间线性关系良好 ($r = 0.9998$)。

2.6 精密度和准确度: 取临用前配制的高、中、低质量浓度 QC 样品, 每个质量浓度平行 5 份, 按样品制备方法处理, 在 1 d 内进样分析, 考察方法的日内精密度和准确度。在连续 3 d 内, 将日内精密度和准确度实验重复 3 次, 考察方法的日间精密度和准确度。方法的精密度和准确度考察结果见表 1。结果表明, 方法的精密度和准确度良好。

2.7 回收率: 对比 QC 样品 (0.1、0.5、2.5 μ g/mL, 每个质量浓度平行 5 份) 与相应质量浓度的马

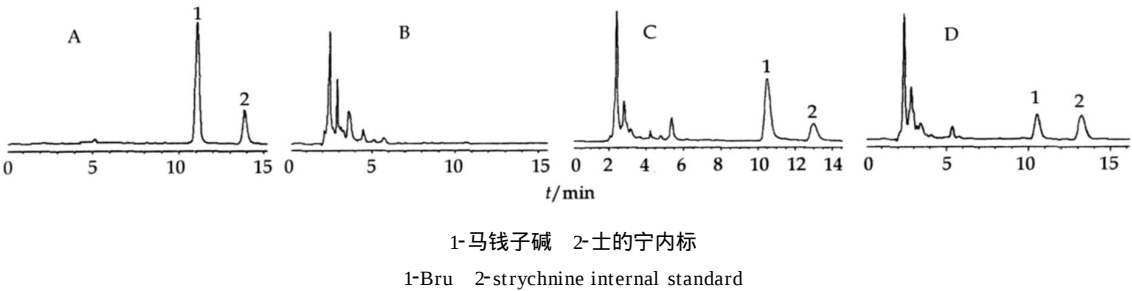


图 1 马钱子碱对照品和土的宁内标 (A)、兔空白血浆 (B)、兔空白血浆 + 马钱子碱对照品 + 土的宁内标 (C) 和兔血浆样品 (D) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of Bru reference substances + strychnine internal standard (A), blank rabbit plasma (B), blank rabbit plasma spiked with Bru reference substances + strychnine internal standard (C), and rabbit plasma sample (D)

表 1 方法的精密度和准确度的结果

Table 1 Validation of intra- and inter-day accuracy and precision

加入量/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	检出量/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)		精密度/ %		准确度/ %	
	日内	日间	日内 RSD	日间 RSD	日内	日间
0.1	0.11	0.12	6.8	14.6	115.0	115.0
0.5	0.53	0.52	4.8	4.2	103.6	103.6
2.5	2.59	2.67	2.9	6.5	106.6	106.6

钱子碱甲醇溶液 (1.0、5.0、25 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 的马钱子碱色谱峰面积, 计算回收率。结果质量浓度为 0.1、0.5、2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 QC 样品的回收率分别为 (88.51 $\pm$ 8.97) %、(84.24 $\pm$ 4.43) %、(85.53 $\pm$ 3.68) %。

2.8 稳定性考察: 将 3 个质量浓度的 QC 样品分别在室温下放置 12 h, 在 -20 $^{\circ}\text{C}$ 下放置 7 d, 冻融循环 3 次考察样品的稳定性。结果表明样品稳定, 在上述条件下放置结束后, 3 个质量浓度 QC 样品质量浓度均在原质量浓度的 90 % 以上。

2.9 药动学研究

2.9.1 给药和取样: 新西兰大白兔, 体质量 2.0 ~ 2.5 kg, 随机分成两组, 每组 4 只, 于实验前 12 h 禁食不禁水。第 1 组, 经耳缘 iv 马钱子碱溶液 (4 mg/kg)^[2], 第 2 组耳缘 iv Bru-PLA-NPs (4 mg/kg)。第 1 组, 在给药后 0.03、0.08、0.17、0.33、0.67、1、1.5、2 h 自耳缘静脉取血 2 mL, 置肝素抗凝管中, 在 3 000 r/min 下离心 10 min, 取 1 mL 血浆, 按照样品处理方法项下方法处理, 进样分析。第 2 组, 取样时间点为给药后 0.03、0.17、0.67、1、2、3、4、5、8、12、18 h 自耳缘静脉取血 2 mL, 置肝素抗凝管中, 在 3 000 r/min 下离心 10 min, 取 1 mL 血浆, 按照样品处理方法项下方法处理, 进样分析。

2.9.2 数据处理: 对所得的药动学数据应用药动学软件 3P87 进行房室模型拟和并计算药动学参数。

2.9.3 药动学结果: 马钱子碱溶液和 Bru-PLA-

NPs iv 给药后平均血药浓度对时间作图, 见图 2。药动学参数见表 2。

经 3p87 软件计算, 单剂量 iv Bru-PLA-NPs 后

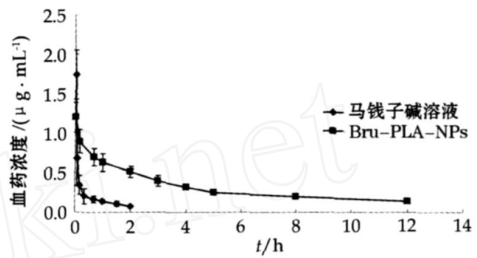


图 2 兔 iv 马钱子碱溶液和 Bru-PLA-NPs 后平均血药浓度-时间曲线 ($\bar{x} \pm s$, $n=4$)

Fig. 2 Mean plasma concentration-time curves of Bru after iv administration of Bru solution and Bru-PLA-NPs ($\bar{x} \pm s$, $n=4$)

表 2 马钱子碱溶液和 Bru-PLA-NPs 兔 iv 给药后药动学参数 ($\bar{x} \pm s$, $n=4$)

Table 2 Pharmacokinetic parameters of Bru after iv administration of Bru solution and Bru-PLA-NPs ($\bar{x} \pm s$, $n=4$)

参 数	单 位	马钱子碱溶液	Bru-PLA-NPs
A	$\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	3.14 $\pm$ 1.61	0.43 $\pm$ 0.06
α	h^{-1}	26.11 $\pm$ 0.65	0.59 $\pm$ 0.17
B	$\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	0.31 $\pm$ 0.16	0.44 $\pm$ 0.11
β	h^{-1}	0.79 $\pm$ 0.27	0.10 $\pm$ 0.03
VC	$\text{L} \cdot \text{kg}^{-1}$	1.16 $\pm$ 0.45	2.97 $\pm$ 0.38
$t_{1/2\alpha}$	h	0.03 $\pm$ 0.02	1.17 $\pm$ 0.25
$t_{1/2\beta}$	h	0.88 $\pm$ 0.02	6.69 $\pm$ 1.07
AUC	$\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}$	0.52 $\pm$ 0.07	5.03 $\pm$ 0.26
CL	$\text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$	7.73 $\pm$ 2.08	0.80 $\pm$ 0.05
k_{21}	h^{-1}	3.09 $\pm$ 0.35	7.53 $\pm$ 2.03
k_{10}	h^{-1}	6.67 $\pm$ 0.69	0.27 $\pm$ 0.04
k_{12}	h^{-1}	17.13 $\pm$ 0.35	3.75 $\pm$ 0.72
P	$\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$		0.48 $\pm$ 0.14
γ	h^{-1}		11.47 $\pm$ 4.48
$t_{1/2\gamma}$	h		0.06 $\pm$ 0.02
k_{13}	h^{-1}		0.26 $\pm$ 0.11
k_{31}	h^{-1}		0.35 $\pm$ 0.07

马钱子碱的药动学数据符合三室模型,单剂量 iv 马钱子碱溶液后符合二室模型。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($t_{1/2\beta}$)提高 6.6 倍;生物利用度提高 8.7 倍。由上述结果可知,与马钱子碱溶液相比,iv 给药 Bru-PLA-NPs 后,马钱子碱在家兔体内的药动学行为发生了显著变化。

3 讨论

本实验比较了沉淀蛋白后萃取和直接用有机试剂萃取两种血浆样品处理方法,前者由于含有较少的杂质,而且回收率更高,故选择沉淀蛋白后萃取法;考察了甲醇、乙腈、氯仿、乙醚、醋酸乙酯、乙腈和氯仿、乙腈和醋酸乙酯、乙腈和乙醚等多种方案,发现用乙腈沉淀蛋白效果最好,氯仿和醋酸乙酯在回收率方面相差不大,但是用醋酸乙酯操作性更好,故选择用乙腈沉淀蛋白,用醋酸乙酯萃取。

与马钱子碱溶液相比,将马钱子碱制成纳米粒可

延长药物在动物体内的循环和作用时间,提高生物利用度。这可解释为:纳米粒进入血液后,定向分布到网状内皮系统丰富的组织,血中循环量减少,进入组织的纳米粒缓慢释放出马钱子碱,一部分重新进入血液,最后达到动态平衡,使血中循环量增加,循环时间延长,生物利用度提高,且血药浓度平稳^[6]。

参考文献:

- [1] 徐睿,吕晓宇,蔡宝昌,等. 马钱子碱对人肝癌细胞 Hep G2 细胞膜电位和通透性的影响 [J]. 中草药, 2008, 39 (11): 1692-1696.
- [2] Jensen A A, Gharagozloo P, Birdsall N J, et al. Pharmacological characterisation of strychnine and brucine analogues at glycine and alpha7 nicotinic acetylcholine receptors [J]. Eur J Pharmacol, 2006, 539(1-2): 27-33.
- [3] 邓旭坤,蔡宝昌,吕晓宇,等. 马钱子碱及其脂质体对移植性荷瘤小鼠抗肿瘤作用的对比研究 [J]. 中草药, 2006, 37 (3): 389-393.
- [4] 王琳,蔡宝昌,杨欢,等. 马钱子碱溶液和马钱子碱脂质体在家兔体内的药代动力学比较研究 [J]. 南京中医药大学学报, 2006, 22(3): 165-167.
- [5] 李昊天,朱燕娜. 马钱子碱的药代动力学 [J]. 河南医科大学学报, 1998, 33(1): 40-42.
- [6] 张典瑞,任天池,姜红祥,等. 冬凌草甲素固态类脂纳米粒在小鼠体内的组织分布及兔体内的药代动力学 [J]. 药学报, 2005, 40(6): 573-576.

藏药佐太对西红花苷-1 大鼠体内药动学的影响

李向阳^{1,2},冯伟力¹,朱俊博¹,尼玛才让³,格日力^{2*}

(1. 青海大学医学院 药理学系,青海 西宁 810001; 2. 青海大学高原医学研究中心,青海 西宁 810001;

3. 青海省藏医院,青海 西宁 810002)

摘要:目的 探讨藏药佐太对西红花苷-1 在大鼠体内药动学特征的影响。方法 对照组(连续 ig 生理盐水 7 d)和实验组(连续 ig 佐太混悬液 7 d 或 21 d)大鼠按 5 mg/kg 剂量 im 西红花苷-1 后,采用反相高效液相色谱法测定给药后大鼠血浆中西红花苷-1 的质量浓度,DAS 2.0 软件计算各组大鼠西红花苷-1 的药动学参数。结果 实验组大鼠分别按 10 mg/(kg·d)连续 ig 佐太 7 d 和 21 d 后,西红花苷-1 的药动学特征发生明显变化,AUC、 C_{max} 和 MRT 显著大于对照组,而 CL 和 Vd 显著小于对照组,并且随着佐太用药时间的延长,西红花苷-1 的 AUC 增大。结论 给予佐太西红花苷-1 在大鼠体内的吸收显著增多、消除显著减慢。

关键词:藏药;佐太;西红花苷-1;药动学

中图分类号:R285.61

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)09-1425-04

Effect of Tibetan medicine Zuotai on in vivo pharmacokinetics of crocin-1 in rats

LI Xiang-yang^{1,2}, FENG Wei-li¹, ZHU Jun-bo¹, NIMA Cai-rang³, GE Ri-li²

(1. Department of Pharmacy, Medical College of Qinghai University, Xining 810001, China; 2. Research Center of High Altitude Medicine, Qinghai University, Xining 810001, China; 3. Qinghai Tibetan Hospital, Xining 810002, China)

Abstract: **Objective** To study the effect of Tibetan medicine Zuotai on *in vivo* pharmacokinetics of crocin-1 in rats. **Methods** After im injection of crocin-1 (5 mg/kg) in control (continuously ig normal saline for 7 d) and experimental (continuously ig Zuotai suspension for 7 d or 21 d) rats, The plasma concentration of crocin-1 was determined by RP-HPLC, and plasma concentration-time data were analyzed by DAS 2.0 software to get the related pharmacokinetic parameters of crocin-1. **Results** After continuously

* 收稿日期:2009-01-20

基金项目:国家中医药管理局中医药科学技术研究专项(国中管 04-05ZM04)

作者简介:李向阳(1974—),男,甘肃省会宁县人,博士,副教授,研究方向为药物代谢动力学研究。

Tel: (0971) 3868473 E-mail: qhmclxy@163.com