

苦参碱纳米粒在家兔体内药物动力学研究

熊梦兰 刘琪 贾鹏 李勇霸 汪锦燕 李艳辉*

(长沙医学院 湖南长沙 410219)

摘要:目的:探讨苦参碱纳米粒在家兔体内药物动力学研究。方法:随机选取家兔 6 只(质量 2.0 ± 0.5)kg, 随机分为两组, 分别于 MAT 溶液和 MAT-PBCA-NP 冻干针剂, 给药剂量以 MAT 计为 5mg/kg, 检测家兔体内的血药浓度及药动学。结果:高、中、低三种浓度 MAT 平均方法回收率为 $(100.27 \pm 2.40)\%$ 。精密性试验结果日内 RSD $\leq 3.7\%$, 日间 RSD $\leq 4.0\%$ 。家兔静脉给予 MAT 溶液剂和 MAT-PBCA-NP 冻干针剂后体内的药物动力学过程符合二室模型, 且 MRT 和 $t_{1/2\beta}$ 药动学参数差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论:MAT-PBCA-NP 冻干针剂可显著延长 MAT 在体内的存留时间, 具有明显的缓释特征。

关键词:苦参碱; 纳米粒; 家兔; 药物动力学

纳米药物传递系统是目前医学研究的热点, 天然或合成的大分子将药物、蛋白和核酸等分子包载后, 通过胞吞被病灶细胞摄取, 可实现靶向性药物治疗^[1-2]。苦参碱 (matrine, MAT) 是从中药苦参、苦豆子及山豆根中提取的一种生物碱, 具有抗病毒、抗肝纤维化、抗肝癌及免疫调节作用, 为高效、低毒的肝炎治疗药物, 临床主要用于乙型病毒性肝炎的治疗^[3]。本文采用高效液相色谱法检测家兔血浆中 MAT 含量, 探讨苦参碱纳米粒在家兔体内药物动力学规律。

1 材料与方法

1.1 动物及主要仪器

随机选取家兔 6 只(质量 2.0 ± 0.5)kg, 饲养于长沙医学院实验动物中心, 饲养在通风良好, 室温 $23 \pm 2^\circ\text{C}$, 相对湿度 45% ~ 65%, 12h/12h 明暗交换的环境中, 自由摄食和饮水。实验前适应性喂养基础饲料 7d, 待实验。主要仪器及试剂: 高效液相色谱仪; WH-3 微型旋涡混合仪; MAT; MAT-PBCA-NP 冻干针剂(自制); 氰基丙烯酸正丁酯; 乙腈为色谱纯; 氯仿、乙醚等为分析纯。药物动力学参数^[4]: A、B: 第一, 二, 时相截距; α 、 β : 第一, 二, 时相斜率; $t_{1/2\alpha}$ 、 $t_{1/2\beta}$: 第一, 二, 时相半衰期; K10: 从中央室消除的一级消除常数; K12: 从中央室至浅外室的转运速率常数 V: 表观分布容积; CL: Clearance, 机体清除率; MRT: Mean residence time, 表示药物在体内的平均滞留时间。

1.2 HPLC 测定家兔血浆中 MAT

1.2.1 色谱条件

Dikma EasyGuard C₁₈(4mmx8mm, 5 μm) 的预处理柱, Diamonsil™ C₁₈(4.6mmx250mm, 5 μm) 的分析柱, pH 5.8 磷酸盐缓冲液: 乙腈=99:1, 流速: 1.0 mL/min 的分析柱, 25℃的预处理柱温和 280nm 的检测波长, 20 μL 的进样量^[5]。

1.2.2 血浆样品处理

精密称量称取新鲜血浆试样各 0.5mL 分装于离心管中, 加入 2mo/L 的三氯乙酸溶剂约 0.5mL, 旋涡搅拌均匀 30s, 10000r/min 后离心约 5min, 抽取上清液分 20 μL 分别进样, 按色谱柱要求进行分别法检测, 记下色光谱柱和柱峰范围, 代人标准曲线计算结果。

1.2.3 标准曲线

在家兔空白血浆样中加入不同血浆浓度下的 MAT 对照溶液, 配制不同血清浓度下的混合样品。采用“1.2.2”的方法, 通过连续测量 MAT 浓度曲线来定量估计峰值浓度的标准曲线。

1.2.4 回收率与精密性试验

配制高(5.0 $\mu\text{g/mL}$)、中(1.0 $\mu\text{g/mL}$)、低(0.1 $\mu\text{g/mL}$)三种浓度

的 MAT 血浆样品, 按“1.2.2”方法进行测定, 计算方法回收率、提取回收率与日内及日间精密性(RSD)。

1.2.5 稳定性实验

取多份空白血浆, 加入 MAT 的溶液, 混匀, 配制试样, 冷藏, 于不同时间取出按“1.2.2”测定, 计算 MAT 浓度, 来评价稳定性。

1.2.6 家兔体内药物动力学试验

将每 6 只家兔随机地分为两组, 分别于两组耳缘静脉中注射 MAT 溶液剂和 MAT-PBCA-NP 冻干粉针剂, 给药剂量的以 MAT 计为约 5mg/kg。分别静脉给药后经 0.2、0.4、0.8、1.6、2、4、6、8、12、24h, 在由其另一侧耳缘静脉取血量约 2mL 全血, 全血中加入肝素碘化, 10000r/min 后离心 5min, 分出血浆, 按“1.2.2”方法进行测定血浆样品中 MAT 的浓度。

1.3 统计分析

使用 3P97 药动学处理软件, 对家兔静脉注射这两种不同浓度药物溶液后家兔的稳态血药浓度分布变化曲线进行作分析。

2 结果

2.1 家兔血浆中 MAT 结果

标准曲线方程为 $S=38181 \times C+1737.2$, $r=0.9998$ 。线性范围 0.1~5.0 $\mu\text{g/mL}$ 。家兔空白血浆 (A)、空白血浆加 MAT 对照品 (B) 及家兔血浆样品 (C) 的色谱图。见图 1。高、中、低三种浓度 MAT 平均方法回收率为 $(100.27 \pm 2.40)\%$, 提取回收率 $(94.86 \pm 2.74)\%$ 。精密性试验分析结果为日内 RSD 值 $\leq 6.3\%$, 日间值 RSD 值 $\leq 8.4\%$ 。血浆样品稳定性实验考察数据表明, MAT 在血浆样品中的 5℃ 条件下于 24h 范围内相对稳定。

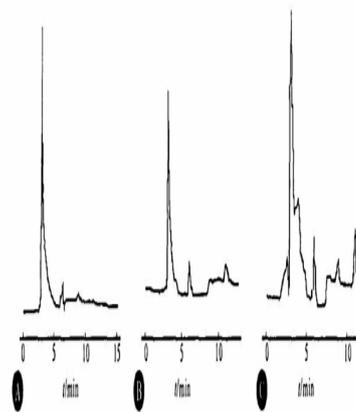


图 1 MAT 家兔血浆中 HPLC 色谱图

2.2 家兔药物动力学试验结果

结果表明，两种制剂在家兔体内的药物动力学过程符合二

表1 注射制剂后两种家兔药物浓度变化

组别	0.2h	0.4h	1.6h	2h	4h	6h	8h	12h	24h
MAT 溶液剂	4.21 ± 1.40	3.24 ± 1.25	1.28 ± 0.73	0.96 ± 0.51	0.36 ± 0.29	0.27 ± 0.11	0.11 ± 0.05	0.06 ± 0.01	-
MAT-PBCA-NP 冻干针剂	2.36 ± 1.13	1.84 ± 0.32	0.98 ± 0.45	0.89 ± 0.65	0.60 ± 0.43	0.47 ± 0.36	0.35 ± 0.22	0.22 ± 0.14	0.17 ± 0.11

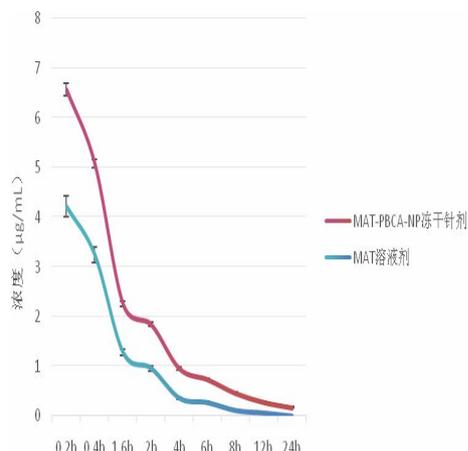


图2 注射制剂后两种家兔药时曲线

2.3 两组制剂主要药动学参数

动力学方程分别为：MAT-PBCA-NP 冻干针剂 $=4.71e^{-0.061t}+2.73e^{-0.0051t}$ ；MAT: $5.02e^{-0.044t}+4.05e^{-0.0061t}$ 。主要药动学参数 MRT 和 $t_{1/2\beta}$ 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 2。

表2 两组制剂主要药动学参数

药动学参数	MAT-PBCA-NP	MAT
A (μ.g/mL)	4.71 ± 1.22	5.02 ± 1.85
α (1/min)	0.061 ± 0.026	0.044 ± 0.081
B (μ.g/mL)	2.73 ± 0.29	4.05 ± 2.54
β (1/min)	0.005 ± 0.001	0.006 ± 0.001
$t_{1/2\alpha}$ (min)	12.65 ± 3.75	24.72 ± 15.21
$t_{1/2\beta}$ (min)	160.13 ± 30.22	71.56 ± 15.26
K10 (1/h)	0.026 ± 0.001	0.011 ± 0.023
K12 (1/h)	0.024 ± 0.011	0.029 ± 0.028
V (L)	1.41 ± 0.23	1.20 ± 0.19
CL (L/min)	0.015 ± 0.001	0.019 ± 0.002
MRT (min)	121.02 ± 5.42	74.52 ± 5.34

3 讨论

聚氰基丙烯酸正丁酯纳米粒(polybutylcyanoacrylatenano particlesPBCA-NP)是近年来研究较多的一种新的靶向给药系统，具有良好的器官和细胞靶向性、缓释及包封率高等特点^[6-7]。该药物纳米粒复合体注入体内后，它能富集于靶区并定向缓慢释放

室模型。见表 1，图 2。

药物，使治疗指数大幅度提高，总投药量减少，同时因药物全身分布造成的不良反应也明显降低^[8]。

本文家兔药物动力学试验结果显示，MAT-PBCA-NP 在血液中对药物起到一定的缓释作用。我们建立的高效液相色谱法测定兔体内血浆中 MAT 的方法，精密度、回收率均符合要求。

参考文献:

[1]戴亮亮,刘军杰,周骏等.响应性纳米药物递送系统构建及肿瘤治疗研究[J].医用生物力学,2019,34(S1):27-28.

[2]Hassanen EI, Korany RMS, Bakeer AM. Cisplatin-conjugated gold nanoparticles-based drug delivery system for targeting hepatic tumors. J Biochem Mol Toxicol. 2021 May;35(5):e22722.

[3]郭健,曾华婷,陈彦.氧化苦参碱药理作用及其新型给药系统的研究进展 [J]. 世界科学技术 - 中医药现代化,2022,24(12):4633-4643.

[4]唐军.使用双时相绘图分析法进行 PET 神经受体探针的动力学特征视觉评估[J].中华核医学与分子影像杂志, 2017, 37(12):826-826.

[5]范玲,于栋伟.高效液相色谱法在血药浓度监测中的应用进展[J].山东医药,2015,55(32):100-102.

[6]葛亮,卢曼,陈跃坚等.氧化苦参碱聚氰基丙烯酸正丁酯纳米粒的体外释药及肝脏分布研究 [J]. 中国药科大学学报,2010,41(06):520-523.

[7]Santos M C G ,Tiago M ,Maria-Engler S S , et al.Three-Dimensional Systems in Polybutylcyanoacrylate Nanoparticles Safety Evaluation[J].International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials,2015,64(13):695-707.

[8]朱蓝玉,雍娴婷,迟庆等.载药磁性纳米微粒靶向治疗恶性肿瘤的研究与临床应用[J].中国医药科学,2011,1(19):25-27.

第一作者：熊梦兰（2002-）女，汉族，湖南长沙，本科在读，临床医学专业

通讯作者：李艳辉（1980-）女，汉族，湖南衡阳，硕士，副教授，研究方向：药物新剂型与新技术

项目基金：湖南省大学生创新创业训练计划项目：湘教通 [2022]-174 号 - 4598