(d,6H,2OCH$_3$),3.60～3.57(d,1H,1CH),2.09～2.01(m,1H,1CH),1.05～1.02(d,6H,2CH$_3$)。

表1 6种相转移催化剂在反应中的效果

Table 1 The results of the six kinds of PTC

催化剂	重结晶时间/h	颜色	熔点/℃	产率/%
苄基三乙基氯化铵	12	淡黄	50～51	82.0
四丁基碘化铵	48	棕黄	45～47	66.0
四丁基氯化铵	12	淡黄	50～51	61.0
四丁基溴化铵	48	浅棕	49～51	45.3
四乙基溴化铵	18	褐黄	41～44	12.8
四甲基氯化铵	24	深黄	40～44	6.4

2 讨论

改进后的方法操作简便,收率稳定,设备要求不高,绿色环保,适合工业化生产。表1表明,其5种PTC平行实验的收率较TEBA低,重结晶时间较长,产品纯度较TEBA差。因此,选用TEBA为相转移催化剂。

参考文献:

[1] 田澍.异博定合成工艺的研究[J].化工时刻,2001,7:31
[2] 金维高.医药中间体生产实用技术手册[M].北京:化学工业出版社,2002.488
[3] WP Weber,GW Gokel.相转移催化剂[M].合肥:安徽省化工研究所,1978.211
[4] EV 戴姆洛夫,SS 戴姆洛夫.相转移催化作用[M].北京:化学工业出版社,1988.162

收稿日期:2004-07

灯盏花素脂质体的制备工艺

罗 霄[1],宋民宪[2],蒲旭峰[3],付超美[1],周 敏[1]
(1.成都中医药大学药学院,四川 成都 611730;2.四川省食品药品监督管理局,四川 成都 610031;3.成都市药品检验所,四川 成都 610062)

摘要:**目的** 研究灯盏花素脂质体的制备工艺。**方法** 采用薄膜蒸发-探头超声法和冷冻干燥法制备灯盏花素脂质体,在单因素考察基础上采用正交试验设计。以包封率为评价指标,筛选脂质体制备的最佳工艺条件。冻干品水合后,在电镜下观察灯盏花素脂质体的形态,利用马尔文测定仪测定脂质体的粒径,用RP-HPLC法测定其包封率。**结果** 灯盏花素脂质体的最佳工艺处方为药脂比1∶5,SPC∶CH为2∶1,二氯甲烷用量为10 ml。冻干保护剂蔗糖用量为10%。制备3批脂质体,包封率平均为87.5%,平均粒径为378.3 nm。**结论** 所制脂质体包封率较高,粒径分布较均匀。

关键词:灯盏花素;脂质体;冷冻干燥;包封率;高效液相色谱
中图分类号:R94 **文献标识码**:A **文章编号**:1006-0103(2006)01-0054-03

Preparation process of breviscapine liposome

LUO Xiao[1],SONG Min-xian[2],PU Xu-feng[3],FU Chao-mei[1],ZHOU Min[1]
(1. *Pharmacy College, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu* 611731, *China*; 2. *Food and Drug Administration of Sichuan Province, Chengdu* 610031, *China*; 3. *Chengdu Institute for Pharmaceutical Products, Chengdu* 610062, *China*)

Abstract: OBJECTIVE To study the preparation method of breviscapine liposome. **METHODS** Liposomes were prepared by thin film evaporation and probe ultrasonic technique, then treated further by lyophilization. Orthogonal design was adopted to screen the preparation of breviscapine liposomes after the study of different single variables. The optimal technological conditions were acquired by the evaluation of the encapsulation efficiencies. Electronic microscopy was used to observe the shape of reconstituted liposomes. The particle sizes were determined by Zetamaster and the encapsulation efficiencies were determined by RP-HPLC. **RESULTS** The optimal preparation conditions of breviscapine liposome were as follows: the proportion of breviscapine and lipids in weight was 1∶5; soybean phosphatidylcholine∶cholesterol = 2∶1, with 10 ml of dichloromethane as solvent and 10% sucrose as stabilizer of lyophilization. The average encapsulation efficiency of the optimized liposome was 87.5% and the mean particle size was 378.3 nm. **CONCLUSION** The entrapment efficiency and particle size of the optimized breviscapine liposome are satisfactory.

Key words: Breviscapine; Liposome; Lyophilization; Encapsulation efficiency; RP-HPLC
CLC number: R94 **Document code:** A **Article ID:** 1006-0103(2006)01-0054-03

灯盏花素(breviscapine)为菊科植物短葶飞蓬 *Erigeron breviscapus*(Vant.)Hand.-Mazz.中提取的黄酮类成分,又名野黄芩苷元。灯盏花素含灯盏花甲素和灯盏花乙素两种成分[1],而主要成分为灯盏花

作者简介:罗霄(1981-),男,正攻读制剂专业的硕士学位。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

乙素(seutellarin,Seu),是一黄酮苷类化合物,化学名称为 5,6,4′三羟基黄酮 - 7 - O - β - D 吡喃葡萄糖苷,分子式为 $C_{21}H_{18}O_{12}$,分子量 462.35[2,3]。大量研究证明,灯盏花素可降低脑血管阻力,增加脑血流量,降低脑梗死患者的血浆黏度、红细胞压积、血小板聚集率和纤维蛋白原等。临床多用于治疗脑梗死、脑血栓、脑出血等。灯盏花素溶解度低,一般在中性或碱性条件下制备成注射剂使用,在此条件下稳定性差,贮藏易变质。将其制成脂质体可有效地解决难溶性问题,并提高药物的稳定性、靶向性和疗效[4,5]。现以包封率为评价指标,探讨灯盏花素脂质体的制备工艺。

1　实验部分

1.1　仪器与试药

岛津 LC - 10Avp 高效液相色谱仪(日本岛津);BD255LT 型低温冷冻柜(山东海尔有限公司);SNL216V 型冷冻干燥机(美国 Savant);Nano Sz900 激光纳米粒度测定仪(英国 Malvern 公司);CQ - 250 型超声波清洗器(上海中船七院七二所)。灯盏花素(云南玉溪万方天然药物有限公司,批号:041002);注射用大豆磷脂(SPC,上海太伟药业有限公司,批号:040429);胆固醇(CH,上海化学试剂站分装);野黄芩苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号:110842 - 200403);其余试剂均为分析纯。

1.2　方法

1.2.1　制备工艺的筛选　采用薄膜蒸发 - 探头超声法制备灯盏花素脂质体。考虑到众多因素对脂质体成囊及质量的影响[6],尤其对包封率影响较大的 3 个主要因素,每个因素取 3 个水平,按 $L_9(3^4)$ 安排正交试验(表 1)。

表 1　正交因素 - 水平设计表

Table 1　The factor - level table of orthogonal design

Levels	Factors			
	A(drug-lip)	B(dicholoromethane)	C(SPC∶CH)	D(blank)
1	1∶3	5	1∶1	-
2	1∶5	10	2∶1	-
3	1∶7	20	5∶1	-

称取处方量的各成分(磷脂、胆固醇、灯盏花素),加入二氯甲烷,于 35 ℃恒温水浴中旋转蒸发,除去有机溶剂,使磷脂等成膜材料在烧瓶壁形成均匀的类脂膜。然后往烧瓶中分别加入规定体积量的 0.9 %NaCl 溶液水合介质,水浴超声洗膜,于 30 ℃探头超声 2 min,制得脂质体,定量移取 2 ml 于 10 ml 西林瓶中,加入 10 %的蔗糖,置 - 40 ℃超低温冷柜中预冻 3 h 后,在冷冻干燥机中冻干。

1.2.2　色谱条件　色谱柱为 Diamonsil™钻石 C_{18} 柱(200 mm × 4.6 mm,5 μm);流动相为甲醇 - 0.1 %磷酸溶液(40∶60);检测波长 335 nm;柱温 30 ℃;流速 1.0 ml·min^{-1};灵敏度 0.008 AUFS;进样量 20 μl。

1.2.3　供试品溶液的制备　每瓶灯盏花素脂质体冻干粉加 2 ml 重蒸水水合,取 1 ml,1 × 10^4 r·min^{-1} 离心 15 min,除去脂质体;加甲醇定容至 10 ml,超声 10 min 溶解,离心后取上清液作为游离灯盏花素供试品溶液。取 1 ml 脂质体,加甲醇定容至 10 ml,超声 10 min 溶解,离心后取上清液作为总灯盏花素供试品液。

1.2.4　标准曲线的制备　精密称取野黄芩苷对照品 10 mg,加甲醇制成 0.1 mg·ml^{-1}的对照品溶液,精密量取此溶液 2、4、6、8、10 μl,注入色谱仪,记录色谱图,测定峰面积。以进样量(μg)对峰面积值作线性回归,得回归方程为:$A = 3 \times 10^6 C - 7.19 \times 10^4$ ($r = 0.9999$)。结果表明,在 0.2052～1.026 μg 范围内,野黄芩苷峰面积和进样量呈良好的线性关系。

1.2.5　包封率的计算　包封率 = (m - n)/m × 100 %,其中 m 为脂质体总灯盏花素的含量,n 为游离灯盏花素的含量。

1.2.6　脂质体的粒径分布　取脂质体冻干粉适量,加入重蒸水水合重建,并稀释至适当浓度,用激光粒度仪测定灯盏花素脂质体的粒径大小和粒径分布。

1.2.7　脂质体的显微形态观察　取重建灯盏花素脂质体溶液适量,用 1 %磷钨酸染色,投射电镜下观察其粒子结构。

1.3　结果

1.3.1　正交试验结果　以灯盏花素脂质体的包封率为评价指标,对正交试验数据(表2)进行分析处

表 2　正交试验结果

Table 2　The results of $L_9(3^4)$ orthogonal design

No.	Factors				Encapsulation efficiency %
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	84.50
2	1	2	2	2	91.90
3	1	3	3	3	93.69
4	2	1	2	3	94.76
5	2	2	3	1	92.42
6	2	3	1	2	88.86
7	3	1	3	2	88.14
8	3	2	1	3	81.35
9	3	3	2	1	88.53
Ij	270.09	267.40	254.71	265.45	
IIj	276.04	265.67	275.19	268.90	
IIIj	258.02	271.08	274.25	269.80	
R	6.01	1.80	6.83	1.45	
SSj	56.20	5.09	89.13	3.52	
MS	28.10	2.54	44.56	1.76	
F	15.99	1.45	25.36		

$F_{0.05}(2,2) = 19$; $F_{0.01}(2,2) = 99$

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

理,由表 2 中 F 值可知,最佳处方工艺为 $A_2B_3C_2$,考虑到 B 为最次要因素,根据制备的实际情况,调整最佳工艺路线为 $A_2B_2C_2$,即药脂比为 1 ∶5,SPC ∶CH 质量比为 2 ∶1,二氯甲烷用量为 10 ml。

1.3.2 粒径分布 测定最佳处方脂质体的平均粒径为 378.3 nm,多分散系数为 0.199。

1.3.3 显微形态 图 1 为灯盏花素脂质体重建后 10 h 的投射电镜照片。

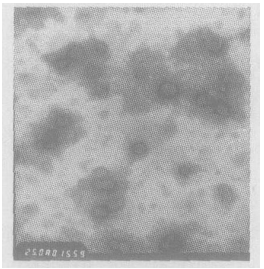

图 1 脂质体的显微照片(×25000)

Fig 1 Transmission electron photomicrograph of breviscapine liposome (×25000)

1.3.4 药物含量和包封率 测得最佳处方脂质体 3 个批号重建后的药物浓度平均为 3.318 ±0.013 mg·ml^{-1},平均包封率为 87.5 % ±1.2 %。

2 讨论

灯盏花素属黄酮苷类物质,为中极性化合物,溶解性较差。普通片剂口服生物利用度极低;普通注射剂和粉针剂注射给药半衰期短,体内消除迅速。因此,对灯盏花素制剂进行剂型改进,具有重要的意义。

脂质体为磷脂双分子层药物载体,对亲脂性药物有良好的包封率,但对亲水性药物包封率不高。文中将灯盏花素制成脂质体给药,利用脂质体的缓释作用,延长其在体内的作用时间,并有效地提高了其生物利用度。在单因素考察的基础上,采用正交设计试验,以包封率为评价指标,对灯盏花素脂质体的处方和制备工艺进行优化,采用薄膜 - 探头超声法制备脂质体,粒径和包封率均令人满意。

由于液体形式贮存脂质体溶液,易发生聚集沉降等现象,故试验时采用了冷冻干燥工艺[7],制得脂质体冻干粉,利于保存和运输。

参考文献:

[1] 代勇,刘三康,付春梅,等. 灯盏花素注射液的含量测定及有关物质的检查[J]. 华西药学杂志,2005,20(2) :147
[2] 张卫东. 灯盏花黄酮苷化学成分的研究[J]. 中草药,2000,31(8) :565
[3] 杨强,杨俊毅,李思成,等. 灯盏花素缓释片在 Beagle 犬体内相对生动利用度的研究[J]. 华西药学杂志,2004,19(3) :175
[4] 熊非,朱家璧,汪豪,等. 灯盏花素前体纳米脂质体的质量评价[J]. 中国药科大学学报,2004,35(6) :513
[5] 熊非,朱家璧,王维,等. 灯盏花素纳米脂质体包封率测定方法研究[J]. 药学学报,2004,39(9) :755
[6] 郭海燕,莫林. 脂质体物理稳定性和包封率的影响因素[J]. 中国新药杂志,2004,13(6) :498
[7] 吕文莉,郭健新,平其能. 灯盏花素脂质体的制备及其理化性质的测定[J]. 中国天然药物,2004,2(5) :289

收稿日期:2005 - 09

二乙酰二脱水卫矛醇对白血病 L1210 细胞增殖的抑制作用

许建功[1],何瑞芳[2],赵 营[3],杜保顺[3],杨宇平[3],杨锦南[3]*
(1. 新乡医学院第三附属医院,河南 新乡 453003;2. 新乡医学院生理室,河南 新乡 453003;3. 新乡医学院药学院,河南 新乡 453003)

摘要: **目的** 探讨二乙酰二脱水卫矛醇(diacetyldianhydrogalactitol,Dadag)对小鼠白血病细胞株 L1210 细胞的增殖抑制作用及其机制。**方法** 采用 MTT 比色法、平板集落形成实验和 Hoechst 33258 荧光染色法,分析 Dadag 对 L1210 细胞的生长抑制和凋亡影响。**结果** Dadag 对 L1210 细胞有浓度依赖性的细胞毒性作用,抑制肿瘤细胞集落形成,并可诱导 L1210 细胞发生凋亡。**结论** Dadag 对白血病 L1210 细胞的增殖抑制作用与其诱导肿瘤细胞发生凋亡密切相关。

关键词:二乙酰二脱水卫矛醇;白血病;增殖;细胞凋亡;L1210 细胞
中图分类号:R733.73 **文献标识码**:A **文章编号**:1006 - 0103(2006)01 - 0056 - 03

Inhibitory effect of diacetyldianhydrogalactitol on cells proliferation of leukemic L1210

XU Jian - gong[1], HE Rui - fang[2], ZHAO Ying[3], DU Bao - shun[3], YANG Yu - ping[3], YANG Jin - nan[3]*
(1. The Third Affiliated Hospital, Xinxiang Medical College, Xinxiang 453003, China; 2. Department of Physiology, Xinxiang Medical College, Xinxiang 453003, China; 3. School of Pharmaceutical Sciences, Xinxiang Medical College, Xinxiang 453003, China)

作者简介:许建功(1972 -),男,正攻读肿瘤学专业的硕士学位。
*通讯作者(Correspondent author),E - mail: jinnan1@126.com

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net