技术与方法 文章编号:0253-3626(2010)07-1032-05

超顺磁性异烟肼聚乙二醇 - 聚乳酸共聚物微球制备工艺及体外药物释放研究

周 恒[1],黄 华[1],罗 聪[2],康 权[2]

(1. 重庆医科大学药学院药剂教研室,重庆 400016;2. 重庆医科大学附属儿童医院骨科实验室,重庆 400014)

【摘 要】目的:制备超顺磁性异烟肼聚乙二醇 - 聚乳酸共聚物(Poly(ethylene glycol)-co-poly(d,l-lactide),PELA)微球(SPI-PELA-MS),优化其制备工艺,考察其在振荡磁场影响下的体外释放。方法:用化学共沉淀法合成超顺磁性 Fe_3O_4 纳米粒,用复乳溶剂蒸发法制备 SPI-PELA-MS。考察均质机转速、内水相与油相体积比、PELA 浓度等不同因素对微球的影响,通过正交实验优化制备工艺,并对其粒径分布、形态、和体外释放性质进行了研究。结果:SPI-PELA-MS 最优工艺处方为:均质机转速 13 000 r/min、内水相与油相比 1:20、内水相中药物水溶液体积与磁流体体积比 1:2、PELA 浓度 40 mg/ml、超声功率 600 W、PVA 浓度 1.5%。在体外释放中,通过外加振荡磁场的影响,能显著提高 SPI-PELA-MS 中药物的释放。结论:采用复乳溶剂蒸发法可成功制备 SPI-PELA-MS,体外释放表明药物具有缓释功能,振荡磁场可以增加体系中药物的释放。

【关键词】异烟肼;PELA;超顺磁性微球;振荡磁场;

【中国图书分类法分类号】R943 【文献标识码】A 【收稿日期】2009-12-02

Study on the preparation and in vitro release characteristics of super paramagnetic isoniazid sulfate-loaded PELA microsphere

ZHOU Heng, et al

(*Department of Pharmaceutics, College of Pharmacy, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To prepare super paramagnetic SPI-loaded PELA microsphere, study its release characteristics in vitro with the effect of oscillating magnetic fields. *Methods*: The nanospheres of super paramagnetic were prepared by chemical coprecipitation and then the super paramagnetic SPI-loaded PELA microspheres were prepared by double-emulsion/solvent evaporation method. Some factors affecting preparation technic, such as concentration of PVA, PELA concentration, speed of viscolizer and so on were studied. In addition, the drug release of super paramagnetic SPI-loaded PELA microsphere with the effect of oscillating magnetic fields was studied. ***Results***: Factors for the optimal preparation technic included: speed of viscolizer of 13 000 r/min, inter water phase/oil phase of 1/20, volume ratio of water and magnetic fluid in inter water phase of 1/2, PELA concentration of 40 mg/ml, ultrasonic efficiency of 600 W, concentration of PVA of 1.5%. Oscillating magnetic field could improve the speed of drug release. *Conclusion*: Super paramagnetic SPI-loaded PELA microsphere were successfully prepared according to double-emulsion/solvent evaporation method. SPI-PELA-MS had the characteristics of sustained- release. The oscillating magnetic fields could promote drug release of SPI-PELA-MS.

【Key words】Isoniazid; PELA; Super paramagnetic microspheres; Oscillating magnetic fields

骨关节结核是最常见的继发性肺外结核,约占结核病人的 5% ~ 10%,是常见的骨科疾病之一[1]。其中的耐多药结核(Multidrug-resistant tuberculosis, MDR-TB)的治疗是临床中的一大难题。在临床应用中抗结核药物的治疗贯穿于整个治疗过程,但目前的抗结核药物毒副作用较大,如异烟肼对周围神经系统、中枢神经系统、肝脏都有一定的损害作用[2]。磁性载药微球是近年发展起来的一种新型载药系统,具有磁靶向的特点,可以明显减少药物用量,降低药物的不良反应。本研究将超顺磁 Fe_3O_4 纳米粒与异烟肼复合,用聚乙二醇 - 聚乳酸共聚物(Poly(ethylene glycol)-co-poly(d,l-lactide),PELA)包裹形成微球,通过外加振荡磁场,使药物在指定部位聚集,并且增加药物在指定部位的释放,达到药物定点,定时释放的目的,对减少用药剂量、延长给药间期、提高药物疗效、减轻药物的毒副作用具有重要的意义。

作者介绍:周 恒(1985-),男,硕士,研究方向:药物新剂型给药系统研究。

通讯作者:黄 华,女,教授,E-mail:huangh60@tom.com。

基金项目:国家自然科学基金(编号:30973062);中国博士后科学基金(编号:20080430754);重庆市卫生局重点课题(编号:渝卫科教[2007]1 号)。

1 材料

1.1 仪器

超声细胞粉碎仪（SCIENTZ-ⅡD，宁波新芝生物科技有限公司）；数显高速均质机（IKA T25，德国）；电子天平（DENVER INSTRUMENT，北京塞多利斯仪器系列有限公司）；光学显微镜（XSZ-3G，重庆光电仪器有限公司）；离心机（KUBOTA 5930，日本久保田）；激光粒度分析仪（Mastersizer2000，英国马尔文）；紫外－可见光分光光度计（UV1700，日本岛津）；振动样品磁强计（ADE EV11，美国 ADE）；振荡磁场发生器（重庆大学）；智能溶出仪（ZRS-6，天津大学）。

1.2 试剂

PELA（PLA/PEG=90:10，MW=15 000，批号 2009221，中科院成都化学研究所）；异烟肼（纯度 99.9%，批号 020911，美国 sigma 公司）；聚乙烯醇（Poly vinylalcohol，PVA，批号 2008061，日本可乐丽公司）；司盘 80（Span80，批号 20071124，上海申宇医药化工有限公司）；其它试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 超顺磁性 Fe_3O_4 纳米粒的制备

实验中以油酸钠为分散剂，用化学共沉淀法制备超顺磁性 Fe_3O_4 纳米粒[3]。通过透射电子显微镜观察（图 1），磁性 Fe_3O_4 纳米粒呈圆球形，表面光滑且形状规则，统计视野中 500 个 Fe_3O_4 纳米粒的平均粒径，粒径为 15~20 nm 左右。此时颗粒间的热振动能足以克服磁吸引力，呈现超顺磁性。超顺磁性 Fe_3O_4 纳米粒具有强的磁响应性且和抗磁性物体一样，在无外加磁场时磁性可以很快消失。

制备的超顺磁性 Fe_3O_4 纳米粒混悬液，称为磁流体，密闭常温下保存。

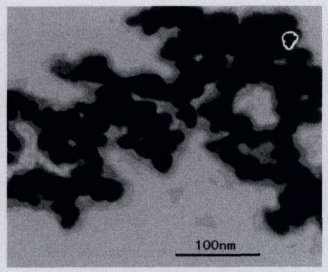


图 1 Fe_3O_4 纳米粒透射电镜图

2.2 超顺磁性异烟肼 PELA 微球（Super paramagnetic Isoniazid PELA-microspheres，SPI-PELA-MS）的制备

用复乳溶剂蒸发法制备超顺磁性异烟肼 PELA 微球[4,5]。将适量 PELA 和 Span80 溶于二氯甲烷中成油相；将适量 10%的异烟肼水溶液与超顺磁性 Fe_3O 纳米粒混悬液旋涡混合成内水相。将适当浓度的 PVA 水溶液作为外水相。将内水相加入油相超声乳化得 W/O 初乳；再将初乳注入外水相中，均质机搅拌（13 000 r/min）20 ~ 30 s，得复乳。搅拌挥发 3 h 除去有机溶剂，离心（3 000 r/min）15 min，弃去上清液，蒸馏水洗涤，重复 3 次。即得超顺磁性异烟肼 PELA 微球湿粉。冻干得干粉，-4℃保存备用。

相同方法制备异烟肼 PELA 微球（内水相中不加超顺磁性 Fe_3O_4 纳米粒）。冻干后，-4℃保存备用。

2.3 SPI-PELA-MS 包封率、载药量的测定

2.3.1 标准曲线的制备 使用紫外分光光度法，在 190 ~ 358 nm 波长范围扫描得异烟肼吸收曲线，选择最大吸收波长 263 nm 为测定波长。以蒸馏水为溶剂，配制 20 μg/ml 的异烟肼储备液，再利用储备液分别配制 2 μg/ml、4 μg/ml、8 μg/ml、10 μg/ml、20 μg/ml 的 5 种溶液，于 263 nm 下测定吸光度 A 值。以浓度 C 对吸光度 A 进行线性回归，得标准曲线方程 A=0.0231C-0.0002（r=0.9995）。同理，制得以 PBS（pH 7.4）为溶剂时的标准曲线方程 A=0.0297C-0.0027（r=0.9999）。

2.3.2 SPI-PELA-MS 包封率、载药量的测定 将制备好的 SPI-PELA-MS 离心（8 000 r/min）10 min，取上清液再离心（8 000 r/min）10 min，重复 3 次后，测定上清液的吸光度 A，代入回归方程 A=0.023 1C-0.000 2（r=0.999 5）得到异烟肼浓度 C。再通过以下公式测定包封率和载药量。

包封率 =（投入药量 - 上清液中药量）/ 投入药量 × 100%

载药量 =（投入药量 - 上清液中药量）/ 微球重量 × 100%

2.4 回收率和精密度

取异烟肼标准品，用蒸馏水配置高中低浓度 3 组异烟肼溶液，每组 3 份。各组进行回收率实验，测定其吸光度，代入标准曲线，计算得该方法平均回收率为 100.55%，RSD 值为 0.76%（n=9）。每组溶液各取 1 份，每份 1 d 内连续测定 5 次，测得平均日内精密度 RSD 值为 0.86%（n=15），每份连续 5 d 每天测定 1 次，测得平均日间精密度 RSD 值为 1.26%（n=15）。

2.5 单因素考察设计

选取均质机转速、超声功率、内水相与油相体积比、PELA 浓度、PVA 浓度、内水相中药物水溶液与磁流体的体积比，6 种可能影响 SPI-PELA-MS 制备的因素进行考察。用 2.2 所示方法制备 SPI-PELA-MS。单因素考察中，每个水平进行 3 次实验。当考察某个单因素时，其他各因素均采用各因素的第 3 项数据。以 SPI-PELA-MS 的平均粒径（在 400 倍光镜下对 500 个微球统计其平均粒径）、包封率、磁响应（对载玻片上微球外加磁场，磁场大小为 2 000 GS，距离为 5 cm，在 400 倍光学显微镜下观察响应速度和运动速度）、载药量作为考察指标。

2.6 SPI-PELA-MS 正交实验设计

根据 2.7 单因素考察结果与分析，选取均质机转速、内水相与油相体积比、内水相中药物水溶液体积与磁流体体积比、PELA 浓度，为正交实验的优选因素。以平均粒径、包封率、载药量、磁响应强度（使用 ADE EV11 振动样品磁强计进行测定）为指标作出因素水平表，见表 1。采用正交表 $L_9(4^3)$ 进行正交实验。

2.7 单因素考察结果与分析

实验结果见表 2～表 7。

实验结果表明，随着均质机的转速逐渐增大，微球的粒径越来越小，包封率也越小，磁响应和载药量却越大。

实验结果表明，超声功率的不同，主要影响了微球粒径大小，对包封率、载药量和磁响应的影响不大。随着超声功率的增大，得到的微球粒径越小。但功率达到 600 W 后，微球粒径基本保持不变。故直接选定超声功率为 600 W。

实验结果表明，在保持油相 3 ml，药物水溶液浓度 10% 的前提下，内水相与油相体积比越小，药物的包封率、载药量越高，粒径越小。并且，内水相与油相体积比对磁响应也有较大影响。

实验结果表明，随 PELA 浓度的增加，微球粒径越来越大，包封率也越大，但是磁响应和载药量差别却不明显。

实验结果表明，随着 PVA 浓度的增大，微球粒径越来越小，而其包封率和载药量越来越大。并且在实验中观察到，当 PVA 浓度为 0.5%，微球很难成球，药物和磁粉均难包裹入微球，包封率和磁响应都很差。但当 PVA 浓度大于 1.5%后，随着浓度持续增大，微球制备过程中泡沫越来越多，当浓度达到 3.5%时，所形成的泡沫在后期已经难以清洗。所以综合考虑后，直接选定 PVA 浓度为 1.5%。

实验结果表明，随着内水相中药物水溶液（药物浓度保持 10%）与磁流体的体积比越来越小，微球的磁响应越来越大，载药量越来越小，但是其包封率和粒径差别不明显。

2.8 正交实验结果与分析

正交实验结果见表 8～表 9。结果表明各因素对微球粒径影响的大小依次为 A>D>B>C，对药物包封率影响大小依次为 D>A>B>C，对药物载药量影响大小依次为 B>C>A>D，对磁响应强度影响大小依次为 B>C>D>A。

2.9 最优制备工艺筛选

通过对 SPI-PELA-MS 的平均粒径、包封率、载药量、磁响应强度 4 个指标的加权求和值来衡量其质量。其中综合指

表 1 SPI-PELA-MS 正交实验因素水平表

因素水平	A. 均质机转速	B. 内水相与油相体积比	C. 内水相中药物水溶液体积和磁流体体积比	D. PELA 浓度
1	8 000	1:5	1:1	20 mg/ml
2	13 000	1:10	1:2	40 mg/ml
3	18 000	1:20	1:4	80 mg/ml

表 2 均质机转速考察结果

转速	平均粒径（n=3, μm）	包封率（n=3, %）	磁响应	载药量（n=3, %）
3 000（r/min）	22.3	69.82	移动缓慢，定向排列不明显	4.64
8 000（r/min）	9.8	62.70	移动较快，定向排列明显	5.17
13 000（r/min）	2.8	60.21	移动较快，定向排列明显	5.21
18 000（r/min）	1.5	56.85	移动较快，定向排列明显	5.86

表 3 超声功率考察结果

功率	平均粒径（n=3, μm）	包封率（n=3, %）	磁响应	载药量（n=3, %）
200 W	4.6	62.20	移动较快，定向排列明显	5.29
300 W	4.1	62.56	移动较快，定向排列明显	5.31
600 W	2.7	61.58	移动较快，定向排列明显	5.28
900 W	2.8	61.01	移动较快，定向排列明显	5.17

表 4 内水相与油相体积比考察结果

内水相与油相体积比	平均粒径（n=3, μm）	包封率（n=3, %）	磁响应	载药量（n=3, %）
1:2	7.3	52.24	移动缓慢，定向排列不明显	4.12
1:5	3.1	60.41	移动较快，定向排列明显	5.01
1:10	2.6	63.02	移动较快，定向排列明显	5.24
1:20	2.4	65.17	移动较快，定向排列明显	5.95

表 5 PELA 浓度的考察结果

PELA 浓度	平均粒径（n=3, μm）	包封率（n=3, %）	磁响应	载药量（n=3, %）
10 mg/ml	0.9	52.36	移动较快，定向排列明显	5.03
20 mg/ml	1.2	54.96	移动较快，定向排列明显	5.01
40 mg/ml	2.9	61.32	移动较快，定向排列明显	5.17
80 mg/ml	9.6	70.66	移动较快，定向排列明显	5.18

表 6 PVA 浓度的考察结果

PELA 浓度	平均粒径（n=3, μm）	包封率(n=3, %)	磁响应	载药量（n=3, %）
0.5%	4.5	41.65	移动缓慢，定向排列不明显	3.31
1.5%	2.9	59.86	移动较快，定向排列明显	4.97
2.5%	2.5	62.67	移动较快，定向排列明显	5.16
3.5%	2.6	68.19	移动较快，定向排列明显	6.01

表 7 内水相中药物水溶液与磁流体的体积比的考察结果

内水相水溶液与磁流体体积比	平均粒径（n=3, μm）	包封率(n=3, %)	磁响应	载药量（n=3, %）
2:1	2.6	62.35	移动缓慢，定向排列不明显	5.83
1:1	2.6	61.31	移动较缓慢，有一定定向性	5.67
1:2	2.8	62.54	移动较快，定向排列明显	5.21
1:4	2.4	63.21	移动较快，定向排列明显	4.64

表 8 正交实验结果

实验号	A	B	C	D	平均粒径/μm(n=3)	包封率/%(n=3)	载药量/%(n=3)	磁响应强度 emu/g(n=3)
1	1	1	1	1	11.3	60.83	6.21	2.20
2	1	2	2	2	9.8	65.74	5.20	1.87
3	1	3	3	3	10.9	74.66	4.64	1.34
4	2	1	2	3	5.6	70.52	5.83	2.54
5	2	2	3	1	2.6	58.64	4.59	1.91
6	2	3	1	2	2.9	67.45	4.91	1.09
7	3	1	3	2	1.6	58.36	5.30	2.65
8	3	2	1	3	2.1	63.64	5.31	1.66
9	3	3	2	1	0.9	57.64	4.84	1.27

R_1：平均粒径（粒径 μm）为指标分析得到的极差值；R_2：包封率（%）为指标分析得到的极差值；R_3：载药量（%）为指标分析得到的极差值；R_4：磁响应强度（emu/g）为指标分析得到的极差值

表 9 正交实验结果分析

实验号	A	B	C	D
$K_{1\text{-}1}$	10.667	6.167	5.433	4.933
$K_{1\text{-}2}$	3.700	4.833	5.433	4.767
$K_{1\text{-}3}$	1.533	1.900	5.033	6.200
R_1	9.134	1.334	0.400	1.433
$K_{2\text{-}1}$	67.077	63.237	63.973	59.037
$K_{2\text{-}2}$	65.537	62.673	64.633	63.850
$K_{2\text{-}3}$	59.800	66.583	63.887	69.607
R_2	7.179	3.910	0.746	10.570
$K_{3\text{-}1}$	5.350	5.780	5.477	5.213
$K_{3\text{-}2}$	5.110	5.033	5.290	5.137
$K_{3\text{-}3}$	5.150	4.797	4.843	5.260
R_3	0.240	0.983	0.634	0.123
$K_{4\text{-}1}$	1.803	2.463	1.650	1.793
$K_{4\text{-}2}$	1.847	1.813	1.893	1.870
$K_{4\text{-}3}$	1.860	1.233	1.967	1.847
R_4	0.057	1.230	0.317	0.077

标分数（Total）= 包封率＋载药量＋磁响应强度－平均粒径。加权求和值越大，SPI-PELA-MS 质量越好。结果见表 10。

由以上结果筛选出最优工艺为 $A_2B_3C_2D_2$。结合单因素考察的结果，得出制备 SPI-PELA-MS 的最优工艺为：均质机转速 13 000 r/min、内水相与油相体积比 1:20、内水相中药物水溶液体积与磁流体体积比 1:2、PELA 浓度 40 mg/ml、超声功率 600 W、PVA 浓度 1.5%。根据最优工艺制备SPI-PELA-MS 5 批。经检测和计算得：平均包封率为 62.35%（n=5），RSD 值为 1.34%（n=5）；平均载药量为 5.01%（n=5），RSD 值为 0.84%（n=5）；平均磁响应强度为 2.17 emu/g（n=5），RSD 值为 0.67%（n=5）；平均粒径为 2.7 μm（n=2 500），RSD 值为 0.92%（n=2 500）。说明最优制备工艺稳定，重现性良好。

2.10 SPI-PELA-MS 形态分析

取最优工艺制备的 SPI-PELA-MS，在扫描电镜下（图 2）可见微球外观圆整，分散性良好。

2.11 SPI-PELA-MS 粒径分析

取最优工艺制备的 SPI-PELA-MS 5 批，采用 Mastersizer2000 激光粒径分析仪进行粒径分析，结果见图 3。

通过粒径分析可知，所得到的 SPI-PELA-MS 的体积平均粒径为 3.24 μm，粒度分布基本呈正态分布。超过 98%体积比的平均粒径为 2.67 μm，粒径分布范围窄。

2.12 体外释放度

按《中国药典》释放度测定第三法（小杯法），用 ZRS-6 型智能溶出试验仪进行体外释放度实验。取 50 mg 微球放置透析袋中，将其放入装有 150 ml PBS（pH 7.4）的小杯中。恒温

（37℃ ± 0.5℃）转速（75 r/min）。分两组观测药物释放情况：A 组，超顺磁性异烟肼 PELA 微球；B 组，异烟肼 PELA 微球。两组都加振荡磁场干扰。振荡磁场干扰时间点为：每次取样前 1 h，每次振荡磁场作用时间为 15 min（使用振荡磁场发生器，电压 36 V，电流 10 A，磁场强度 1.2 T）。

第 1 次取样时间为样品放入溶出试验仪 24 h 后，以后每隔 24 h 取样 1 次，每次取样 5.0 ml，每次取样后补充等量 PBS。过滤样品后测定吸光度 A 值，代入回归方程 A=0.029 7C−0.002 7（r=0.999 9），得到药物浓度 C，再计算累积释放量，共取样 16 次，根据累积释放量绘制出体外释放曲线，结果见图 4。

从以上结果可知，由高分子包裹材料 PELA 制备的微球具有明显缓释作用。通过振荡磁场的干扰，具有超顺磁性的 A 组药物释放明显高于 B 组。采用 SPSS 软件包进行统计学分析和处理，A 组与 B 组进行比较，差异有统计学意义（t 检验，P<0.001）。证明外加振荡磁场，能够显著增加超顺磁性 PELA 微球的药物释放。

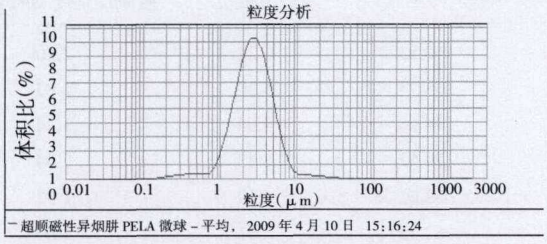


图 3　SPI-PELA-MS 粒径分布图

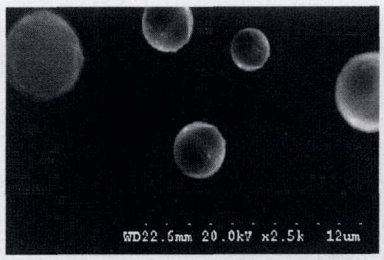


图 2　SPI-PELA-MS 扫描电镜图

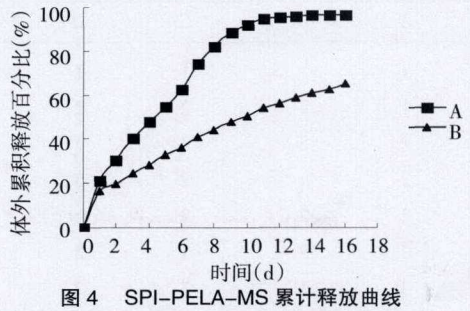


图 4　SPI-PELA-MS 累计释放曲线

表 10　工艺筛选结果

实验号	A	B	C	D	Total(综合指标分数)
1	1	1	1	1	57.94
2	1	2	2	2	66.01
3	1	3	3	3	66.74
4	2	1	2	3	71.29
5	2	2	3	1	62.54
6	2	3	1	2	72.55
7	3	1	3	2	67.71
8	3	2	1	3	66.51
9	3	3	2	1	62.85
K1	63.563	65.647	65.667	61.110	
K2	68.793	65.020	66.717	68.757	
K3	65.690	67.380	65.663	68.180	
R	5.230	2.360	1.054	7.647	

3　讨　论

本研究首先制备了超顺磁性 Fe_3O_4 纳米粒，再以异烟肼作为药物，以 PELA 作为包裹材料，通过复乳溶剂蒸发法成功制备了超顺磁性异烟肼 PELA 微球。实验中发现，PELA 浓度和均质机转速对微球粒径大小和包封率有较大的影响；内水相与油相之比对微球的磁反应影响较大。

本研究中，超顺磁性异烟肼 PELA 微球具有缓释效果，且在振荡磁场干扰下，可增加药物从体系中的释放。可能的原因是：在振荡磁场下，磁性纳米粒在微球中振动，使微球产生了缝隙，建立了药物渗透通道。撤出振荡磁场时，可能因高分子材料的弹性回位及纳米粒的占位，这些缝隙便缩小或关闭从而回复微球原有的释放[1]。

本次实验优化了超顺磁性异烟肼 PELA 微球制备工艺，初步探索了其体外药物释放过程。为了更好的掌握磁性载药微球的缓控释特点，达到临床所期望的定点，定时的释放，还应该更深入的研究其在体内外的降解规律和药动学，并进一步对磁性载药微球在体内与体外释药的相关性进行考察。

技术与方法 文章编号:0253-3626(2010)07-1037-03

固相萃取 RP-HPLC 测定小鼠肝脏组织中的德氮吡格

刘 嫱,陈志琼,靳红卫,李 伟,夏 铸,程训官,张昕宇,郑小红,余 瑜
(重庆医科大学药学院药物化学教研室 重庆市生物化学与分子药理学重点实验室 重庆市药物工程研究中心,重庆 400016)

【摘 要】目的:建立小鼠肝脏组织中德氮吡格(Tetrazanbigen)的反相高效液相色谱(RP-HPLC)测定方法。方法:精密称取小鼠肝脏组织,匀浆后固相萃取(Solid phase extraction,SPE)。液相色谱采用 Lichrospher C18 色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm),以甲醇-0.1%三乙胺水溶液(pH 6.5)(体积比 90:10)为流动相,流速 1.0 ml/min,检测波长 260 nm,进样量 20 μl。结果:实验表明,肝脏组织匀浆液中德氮吡格在 2 ~ 20 μg/ml 范围内与峰面积呈良好的线性关系(r=0.999 3),平均回收率为 106.47%。最低定量限为 1.0 μg/ml。结论:本文建立的固相萃取 RP-HPLC 方法简便、准确、选择性和重现性好,适合于德氮吡格的肝脏组织浓度检测。

【关键词】德氮吡格;固相萃取;反相高效液相色谱法;肝脏
【中国图书分类法分类号】R917 【文献标识码】A 【收稿日期】2010-01-05

Determination of tetrazanbigen in liver by reversed-phase high performance liquid chromatography

LIU Qiang, et al
(*Department of Pharmacochemistry, College of Pharmacy, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To establish a solid phase extraction (SPE) and reversed-phase high-performance liquid chromatographic (RP-HPLC) method for the determination of tetrazanbigen in liver. *Methods*: Tetrazanbigen in liver samples was determined after a C18 solid phase extraction on a Lichrospher C18 column at 260 nm with an isocratic mobile phase of 90% methanol in 100 ml methanol-deionized water (pH 6.5), containing 0.1% triethyl amine. The flow rate was set at 1.0 ml/min. *Results*: The linearity was good over the concentration range of 2 ~ 20 μg/ml (r=0.9 993). The average recovery and RSD were 106.47% and 3.0% respectively. The lower limit of quantification was 1.0 μg/ml. *Conclusion*: The method is simple, accurate and can be used to determine the TNBG concentration in liver and study its metabolism.

【Key words】Tetrazanbigen; Solid phase extraction; RP-HPLC; Liver

作者简介:刘 嫱(1978-),女,讲师,博士,研究方向:药代动力学。现在海南医学院药学系药理教研室。
通讯作者:余 瑜,男,教授,E-mail:yuyu3519@163.com。
基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:30772595、30371632、30171070)。

参 考 文 献

[1] 罗 聪,安 洪,蒋电明,等.振荡磁场下超顺磁性链霉素 PELA 微球体外药物释放特征探索[J].中国抗生素杂志,2008,33(2):101-105.
[2] 竺心影,王敏伟,刘国卿,等.药理学[M].北京:人民卫生出版社,1995.352-353.
[3] Denkbas E B, Kilicay E, Birlikseven C, et al. Magnetic chitosan microspheres: preparation and Characterization[J]. Reactive & Functional Polymers, 2002, 50(3): 225-232.
[4] Liu Y, Deng X M. Influences of preparation conditions on particle size and DNA loading efficiency for poly(DL-lactic acid-polyethylene glycol) microspheres entrapping free DNA[J]. Journal of Controlled Release, 2002, 83: 147-155.
[5] Deng X M, Zhou S B, Li X H, et al. In vitro Degradation and release profile for poly-dl-lactide-poly (ethylene glycol) microspheres containing human serum albumin[J]. controlled Release, 2001, 71 (2): 165-173.

(责任编辑:冉明会)