

动态平衡的水平,但是当肝脏受到一些有害物质的侵害时,自由基的代谢就会失去原有的平衡,在一定程度上会对机体造成损害^[2-4]。药效学研究表明,Pue注射液在0.15~2.5 g·L⁻¹均可清除羟自由基(\cdot OH),2.5 g·L⁻¹时清除率达100%,并呈一定的量效关系^[5]。近年来有关自由基和脂质过氧化物对肝脏的影响作用备受研究人员的关注,探求肝病的治疗病因并寻求有效的治疗手段已经成为研究的热点。

CCl₄为经典的肝毒物,在肝内经混合功能氧化酶作用形成三氯甲基自由基,导致脂质过氧化反应损伤肝细胞^[6]。本实验用CCl₄诱导大鼠急性肝损伤作为模型,并研究Pue-SLN对大鼠急性肝损伤的治疗作用。

CCl₄具有很强的肝毒性,能破坏肝细胞膜的完整性,并损伤其结构和功能,最后导致胞质液内的酶类溢出,因此血清中ALT、AST、ALP是反应肝细胞损伤的指标,是肝脏受损的重要标志,本实验结果表明,给大鼠注射Pue-SLN 27, 13.5, 6.75 mg·kg⁻¹后,大鼠血清中ALT、AST、ALP较模型组活性均明显降低,说明Pue-SLN各剂量组均能增强肝细胞的抗损伤能力。

SOD是氧自由基的清除剂,可抑制脂质过氧化反应。MDA是脂质氧化的最终产物,可严重破坏细胞膜的结构,其含量反映了组织氧化的损伤程度。GSH-PX是机体内广泛存在的一种重要的催化过氧化氢分解的酶,可以起到保护细胞膜结构和功能完整的作用。本实验结果表明,Pue-SLN高、中、低剂量可升高肝损伤模型SOD、

GSH-PX活性,同时降低MDA的含量,说明Pue-SLN具有增强肝细胞膜稳定性的作用,并可保护肝细胞膜结构和功能的完整性。

肝组织病理切片显示,模型组炎细胞浸润严重,看不到完整的细胞结构,呈现广泛的肝细胞坏死、变性,而各给药剂量组均能减轻病灶,改善肝细胞的坏死程度,减轻炎症细胞的浸润程度,进一步表明Pue-SLN对CCl₄所致的大鼠急性肝损伤具有一定的治疗作用。

综上所述,Pue-SLN具有较好的对抗肝损伤的作用,作用机制可能与其抗脂质过氧化作用有关,相关内容有待进一步研究。

REFERENCES

- [1] 张小文. 葛根素的药理作用[J]. 科技信息, 2010(26): 360.
- [2] LIU Q, XIAO J. Protective effect of angelicasinensis polysaccharides in hepatic injuries by tetra-chloride intoxication [J]. Chin Med Res Clin(中国医学研究与临床), 2006, 4(3): 4-5.
- [3] WANG Z J, LUO D H. Antioxidant activities of different fractions of polysaccharide purified from *Gynostemma pentaphy* Uum Makino [J]. Carbohydr Polym, 2007, 68(1): 54-58.
- [4] MOTTARAN E, STEWART S F, ROLLA R, et al. Lipid peroxidation contributes to immune reactions associated with alcoholic liver disease [J]. Free Radic Biol Med, 2002, 32(1): 38-45.
- [5] 邝枣园, 吴伟, 黄衍寿. 葛根素、丹参、川芎嗪注射液对羟自由基水平的影响[J]. 中药新药与临床药理, 1998, 9(2): 92-93.
- [6] WANG W, PAN X W, SHAO Y D, et al. Protective effect of 18 α -glycyrrhizic acid solid lipid nanoparticles on acute liver injury in rats [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2014, 31(7): 798-802.

收稿日期: 2016-02-12

UFLC-MS/MS 测定人胎盘灌流液中齐多夫定浓度

王晶晶, 黄桦, 王晶, 周琼, 姚勤, 张峻* (昆明医科大学第一附属医院临床药学科, 昆明 650032)

摘要: 目的 建立UFLC-MS/MS法测定人胎盘灌流液中齐多夫定浓度。方法 以米氮平为内标,采用蛋白沉淀的前处理方法,使用Synergi 4u Hydro-RP 80A分析柱(50 mm×2.00 mm, 4 μ m),流动相A为含0.1%甲酸的水溶液,流动相B为甲醇,采用梯度洗脱,流速0.6 mL·min⁻¹。质谱采用电喷雾离子源(ESI)以多反应监测(MRM)扫描模式,在正离子电离模式下进行测定,齐多夫定和米氮平的定量分析离子分别为m/z 268.1/127.1和266.2/195.0。结果 齐多夫定在25~5 000 ng·mL⁻¹内线性关系良好,平均方法回收率90.5%~96.7%,日内及日间精密度RSD均<15%,稳定性考察结果良好。

基金项目: 国家自然科学基金(81360108)

作者简介: 王晶晶,女,硕士,药师 Tel: (0871)65324888-2550 E-mail: wangjingjing024@163.com *通信作者: 张峻,女,硕士,主任药师 Tel: (0871)65324888-2550 E-mail: zhangjunyang@126.com

结论 该方法可用于人胎盘灌流液中齐多夫定浓度的检测。

关键词: 齐多夫定; 超快速液相-串联质谱法; 胎盘灌流液

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2016)09-1106-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.09.003

Determination of Zidovudine in Placental Perfusate Fluid by UFLC-MS/MS

WANG Jingjing, HUANG Hua, WANG Jing, ZHOU Qiong, YAO Qin, ZHANG Jun* (Department of Clinical Pharmacy, First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an UFLC-MS/MS method for determining the concentration of zidovudine in placental perfusate fluid. **METHODS** Mirtazapine was used as the internal standard, and samples were precipitated with acetonitrile. Analysis of zidovudine and mirtazapine was carried out on a Synergi 4u Hydro-RP 80A column(50 mm×2.00 mm, 4 μm). Gradient elution occurred using 0.1% formic acid-methanol at a flow rate of 0.6 mL·min⁻¹. Detection was performed with multiple reaction monitoring using positive electrospray ionization: *m/z* 268.1/127.1 for zidovudine and 266.2/195.0 for mirtazapine. **RESULTS** Linearities were obtained from 25–5 000 ng·mL⁻¹. The recoveries were 90.5%–96.7%. The intra-day RSD and inter-day RSD were all <15%. And the analytes were proved to be stable. **CONCLUSION** This method can be used for the determination of zidovudine in placental perfusate fluid.

KEY WORDS: zidovudine; UFLC-MS/MS; placental perfusate fluid

齐多夫定是一种胸腺嘧啶核苷的合成类似物,为有效的逆转录酶抑制剂,主要用于 HIV 感染者的联合用药。WHO 关于抗逆转录病毒类药物治疗 HIV 感染妊娠期妇女和预防母婴传播的建议书、艾滋病诊疗指南(2011 版)、国家免费艾滋病抗病毒药物治疗手册都推荐阻断 HIV 母婴传播的一线药物以拉米夫定和齐多夫定为主。但是齐多夫定是 FDA 分级为 C 级的药物,目前关于妊娠期妇女使用齐多夫定的安全性数据有限,只有当对胎儿潜在的益处大于风险时才推荐使用,临床目前缺乏相关的实验数据及资料支持妊娠期使用齐多夫定。针对该现状,本研究利用中国人的胎盘建立人类胎盘体外循环灌注模型,模拟体内环境,将含药灌流液加入母体扩散池,另一侧加空白灌流液,平衡一段时间后,不同时间点收集母体池和胎儿池的灌流液,分别测定齐多夫定浓度,从而评价齐多夫定的胎盘透过性,为妊娠期用药提供更加直接、可靠的安全性评价依据^[1]。

本研究对人胎盘灌流液介质齐多夫定的液质联用分析方法进行探索。测定血浆中齐多夫定的方法包括放射免疫法^[2]、HPLC-UV 法^[3],操作过程较为复杂,检测灵敏度低,不能满足本实验痕量分析的要求。近年有 LC-MS 法测定血浆齐多夫定浓度的文献报道^[4-5],但大部分分析时间>5 min,本实验采用 UFLC-MS/MS 测定胎盘灌流液中齐多夫定的浓度,方法快速、灵敏、准确,为齐多夫

定的胎盘透过性研究提供方法学基础,为妊娠期用药安全性的探索提供实验基础。

1 仪器与材料

1.1 仪器

API 3200™三重四级杆串联质谱仪[美国 AB 公司,配有电喷雾离子源(ESI)、Analyst Software 1.5.2 定量处理软件];UFLC-20AD 超快速液相色谱系统(日本岛津公司);微量移液器(美国 Gilson);XH-B 型旋涡混合器(姜堰市康健医疗器械有限公司);5804R 型低温高速离心机(德国 eppendorf);AL104-IC 型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司);纯水仪(美国 Millipore 公司)。

1.2 试剂与药品

齐多夫定对照品(中国药品生物制品检定所,批号:100672-200401,含量:99.89%);米氮平(日本 TCI 公司,批号:K4R7M-PS,含量:≥98%);Krebs-Ringer Bicarbonate 缓冲液(迈晨科技有限公司,批号:D2712140);牛血清白蛋白(美国 Biosharp 公司,批号:MR30354);碳酸氢钠注射液(济南利民制药有限责任公司,批号:13120802,规格:0.5 g);肝素钠注射液(江苏万邦生化医药股份有限公司,批号:1312108,规格:12 500 单位);注射用青霉素钠(华北制药股份有限公司,批号:D0910201,规格:80 万单位);乙腈(Merck 公司,色谱纯);甲醇(Merck 公司,色谱纯);甲酸(Adamas 公司,批号:P09768,色谱纯);超纯水(自制);

其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与质谱条件

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 Synergi 4u Hydro-RP 80A 分析柱(50 mm×2.00 mm, 4 μm)。分析时间为 3.1 min, 流动相为 0.1%甲酸溶液(A)-甲醇(B), 梯度洗脱: 0~0.6 min, 95%A, 0.6~1.3 min, 95%→5%A, 1.3~2.1 min, 50%A, 2.1~2.11 min, 5%→95%A, 2.11~3.1 min, 95%A; 流速: 0.6 mL·min⁻¹; 柱温: 40 °C; 进样量: 5 μL。

2.1.2 质谱条件 采用电喷雾离子源正离子模式(ESI⁺)、多重反应离子监测方式(MRM)进行扫描, 电喷雾(ESI)源电压: 5 500 V; 离子化温度: 400 °C; 入口电压: 2.50 V; 气帘气: 96.53 kPa; 雾化气: 344.75 kPa; 辅助加热气: 344.75 kPa。扫描时间 150 ms。齐多夫定和米氮平监测离子对分别为 *m/z* 268.1/127.1 和 266.2/195.0, 碰撞能分别为 19.00 eV 和 35.00 eV, 去簇电压分别为 79.00 V 和 46.00 V。齐多夫定和内标米氮平的质谱扫描图见图 1。

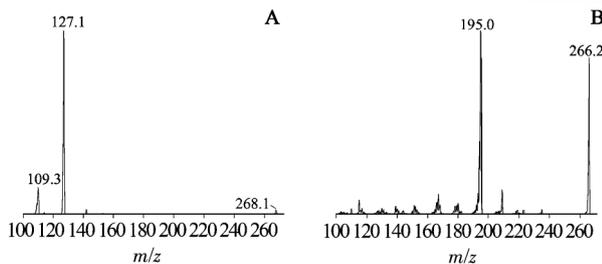


图 1 质谱扫描图

A-齐多夫定; B-米氮平(内标)。

Fig. 1 The mass scan spectrum of standards

A-zidovudine; B-mirtazapine(IS).

2.2 溶液的配制

2.2.1 胎盘灌流液的配制 取 Krebs-Ringer Bicarbonate 缓冲液(含右旋葡萄糖 1.8 g·L⁻¹、氯化镁 0.046 8 g·L⁻¹、氯化钾 0.34 g·L⁻¹、氯化钠 7.0 g·L⁻¹、磷酸氢二钠 0.1 g·L⁻¹、磷酸二氢钠 0.18 g·L⁻¹)500 mL, 加入碳酸氢钠注射液 12 mL(含碳酸氢钠 0.6 g)、肝素钠注射液 2 mL、注射用青霉素钠 1 支, 称取牛血清白蛋白 11.25 g 加入溶液中, 用玻璃棒搅拌至充分溶解, 得胎盘灌流液。

2.2.2 溶液的配制 精密称取齐多夫定对照品 30 mg, 用甲醇:乙腈(1:1)溶解并定容至 50 mL, 得 600 ng·mL⁻¹ 储备液(-30 °C 储存)。使用时量取适量, 用甲醇:乙腈(1:1)稀释得所需浓度的系列标准曲线工作液(250, 500, 1 000, 2 500, 5 000,

10 000, 50 000 ng·mL⁻¹)。

精密称取米氮平 3 mg, 用乙腈溶解并定容至 50 mL, 得 60 μg·mL⁻¹ 储备液(-30 °C 储存)。临用前用乙腈稀释为 600 ng·mL⁻¹ 的内标工作液。

于 200 μL 空白灌流液加入 20 μL 系列浓度的齐多夫定标准工作溶液, 制得胎盘灌流液中齐多夫定浓度为 4 000, 2 000, 75 ng·mL⁻¹ 的高、中、低 3 个浓度的质控样品数份。

2.3 样品处理

准确吸取胎盘灌流液实验样品 200 μL, 置于 1.5 mL 聚丙烯试管中, 加入 800 μL 乙腈(含 600 ng·mL⁻¹ 内标米氮平), 涡旋 3 min, 12 000 r·min⁻¹ 离心 5 min 后取上清液进样。

2.4 方法学考察

2.4.1 专属性考察 空白胎盘灌流液、胎盘透过性实验中所取的胎盘灌流液样品按“2.3”项下方法处理后, 与齐多夫定对照品溶液和内标溶液按“2.1”项下条件分析测定, 检测齐多夫定和内标米氮平在胎盘灌流液中的色谱行为, 与对照品溶液直接进样的色谱进行比较, 典型提取离子色谱图见图 2。齐多夫定和内标的保留时间分别为 1.82, 1.81 min, 胎盘灌流液中其他成分对齐多夫定和内标的测定无干扰。

2.4.2 标准曲线及定量限考察 于空白灌流液 200 μL 中加入系列浓度的齐多夫定标准曲线工作溶液 20 μL, 使得胎盘灌流液中齐多夫定的浓度分别为 25, 50, 100, 250, 500, 1 000, 2 500, 5 000 ng·mL⁻¹。混匀后按照“2.3”项下方法处理并按“2.1”项下条件测定, 记录色谱峰面积, 建立标准曲线。以灌流液样品中齐多夫定的浓度为横坐标(*X*), 相应的峰面积与内标峰面积的比值为纵坐标(*Y*)进行线性回归运算, 求得齐多夫定标准曲线为 $Y=4.55 \times 10^{-5}X + 0.000 598$ ($r=0.997 9$), 结果表明齐多夫定在 25~5 000 ng·mL⁻¹ 内线性关系良好, 最低定量限为 25 ng·mL⁻¹。

取 200 μL 空白胎盘灌流液, 再加入 20 μL 标准曲线工作溶液中最低浓度工作液, 使得胎盘灌流液中齐多夫定的浓度为 25 ng·mL⁻¹, 平行 5 份, 按“2.3”项下方法处理并按“2.1”项下条件测定, 计算该点的精密度、准确度及偏差。结果表明, 该点的精密度 RSD<20%, 准确度在 80%~120%, 偏差在 ±20% 以内, 该方法灵敏度好, 在检测低浓度样品时准确、可靠。

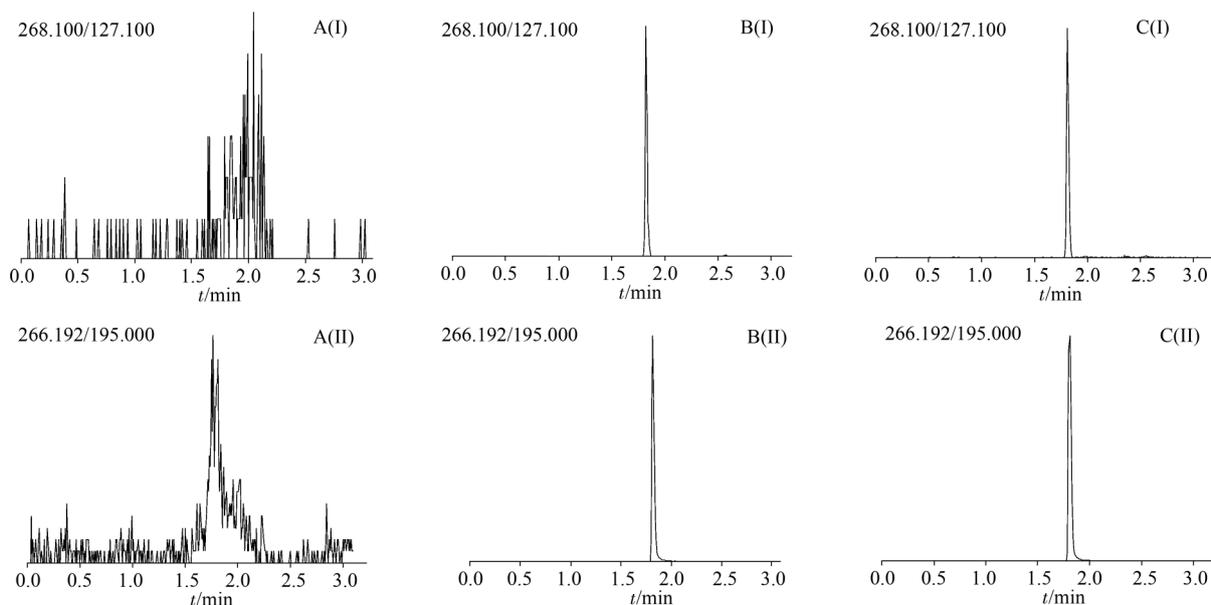


图2 典型提取离子色谱图

A-空白胎盘灌流液; B-标准品溶液; C-胎盘灌流液样品; I-齐多夫定; II-米氮平(内标)。

Fig. 2 Typical extracted ion chromatograms

A-blank placental perfusate fluid; B-standard solution; C-placental perfusate sample; I-zidovudine; II-mirtazapine(IS).

2.4.3 精密度和准确度考察 取高、中、低质控样品各5份,按“2.3”项下处理方法平行处理后,按“2.1”项下条件分析测定,考察日内精密性,连续测定3d考察其日间精密性,结果见表1。结果表明,本方法的日内、日间精密性RSD<15%,准确度在85%~115%之间,能够满足生物样品测定的要求。

表1 胎盘灌流液中齐多夫定的精密性、准确度(n=5, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Precisions and accuracies of zidovudine in placental perfusion medium(n=5, $\bar{x} \pm s$)

浓度/ ng·mL ⁻¹	日内精密性		日间精密性		准确度/%
	测定量/ng·mL ⁻¹	RSD/%	测定量/ng·mL ⁻¹	RSD/%	
75	64.6±5.8	9.0	64.1±4.3	6.7	86
2 000	2 216.0±67.3	3.0	2 040.0±181.0	8.9	106
4 000	4 630.0±102.5	2.2	4 045.0±572.0	14.1	108

2.4.4 相对回收率和基质效应考察 取高、中、低质控样品各3份按“2.3”项下方法处理并按“2.1”项下条件分析测定,得到齐多夫定峰面积 A_1 ;取空白胎盘灌流液,按“2.3”项下方法处理,取蛋白沉淀后上清液,加入适量齐多夫定工作溶液,配制与质控样品理论进样浓度相同的溶液,按“2.1”项下条件分析测定,每个浓度水平5份,得到齐多夫定峰面积 A_2 ;取超纯水代替胎盘灌流液,按“2.3”项下方法处理后,加入适量齐多夫

定工作溶液,配制成与质控样品理论进样浓度相同的溶液,按“2.1”项下条件分析测定,每个浓度水平5份,得到齐多夫定峰面积 A_3 ;以 A_1/A_2 的值计算回收率, A_2/A_3 的值计算基质效应。结果高、中、低浓度(4 000, 2 000, 75 ng·mL⁻¹)齐多夫定在胎盘灌流液中的相对回收率分别为90.5%, 91.6%, 96.7%,基质效应分别为85.9%, 89.0%, 91.5%,表明齐多夫定回收率较高,基质效应在85%~115%内,可认为没有来自基质的干扰。

2.4.5 稳定性考察 ①储备液长期冻存稳定性:将配制好的齐多夫定和内标米氮平储备液保存于-30℃下,于0, 1, 3, 7, 14, 30 d分别取样,按“2.1”项下条件测定,计算精密性和准确度,结果见表2。结果表明,齐多夫定和内标米氮平储备液在-30℃下至少可稳定保存30 d。

表2 齐多夫定和内标米氮平储备液在-30℃冻存30 d的稳定性(n=5, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Stock solution stability of zidovudine and mirtazapine (IS) under -30℃ for 30 d(n=5, $\bar{x} \pm s$)

分析物	理论浓度/ ng·mL ⁻¹	实测浓度/ ng·mL ⁻¹	精密性/%	准确度/%
齐多夫定	75	74.8±6.4	8.6	99.8
	2 000	1 760±59.8	3.4	87.8
	4 000	4 240±106.0	2.5	106.0
米氮平(IS)	600	582.6±22.4	3.8	97.1

②样品长期冻存和冻融稳定性：取高、中、低质控样品各数份，分别考察样品于-30℃冷冻保存9, 30 d的长期稳定性和冻融1, 2, 3次的稳定性，按规定时间分别取样，按“2.3”项下方法处理并按“2.1”项下条件分析测定，计算精密度和准确度，结果见表3。结果表明，样品在-30℃下至少可稳定保存30 d，至少可耐受3次反复冻融。

表3 胎盘灌流液中齐多夫定的稳定性($n=5, \bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Stability of zidovudine in placental perfusion medium($n=5, \bar{x} \pm s$)

处 理	浓度/ ng·mL ⁻¹	测定值/ ng·mL ⁻¹	精密度/%	准确度/%
-30℃放置9 d	75	68.2±2.2	3.2	90.9
	2 000	2 151.0±89.6	4.2	107.6
	4 000	4 521.7±144.2	3.2	113.0
-30℃放置30 d	75	67.2±1.8	2.7	89.6
	2 000	2 180.0±75.5	3.5	109.0
	4 000	4 521.7±144.2	3.2	113.0
冻融1次	75	72.0±4.6	6.4	96.0
	2 000	2 233.3±120.6	5.4	111.6
	4 000	4 526.7±176.2	3.9	113.1
冻融2次	75	71.9±4.9	6.8	95.9
	2 000	2 253.3±23.1	1.0	112.6
	4 000	4 503.3±140.1	3.1	112.5
冻融3次	75	74.3±7.4	9.9	99.1
	2 000	2 266.7±75.7	3.3	112.0
	4 000	4 310.0±151.0	3.5	107.0

2.5 齐多夫定胎盘透过性研究

应用本法测定了5例人类胎盘体外循环灌注模型试验的胎盘灌流液中齐多夫定的浓度。安替比林是已确定的可完全透过胎盘的药物，在实验中加入安替比林作为药物透过胎盘的阳性对照药物，与齐多夫定一同进行胎盘透过性试验。体外循环开始时于母体池加入一定量的齐多夫定和安替比林溶液，循环开始后，于不同时间点取灌流液测定不同时间点下灌流液中齐多夫定和安替比林浓度，5例成功建立的人体胎盘灌注模型浓度测定结果见图3。结果表明，齐多夫定的胎盘透过性水平与安替比林相当。

3 讨论

文献报道多采用ESI源，以乙腈-水系统作为流动相测定生物样品中的齐多夫定。本实验初期对比了齐多夫定正、负离子ESI源下的响应，发现其正离子响应比负离子响应约高10倍，而以甲醇-0.1%甲酸溶液系统为流动相时，不仅能够提高质谱响应，也降低了背景噪音。本实验比较了不

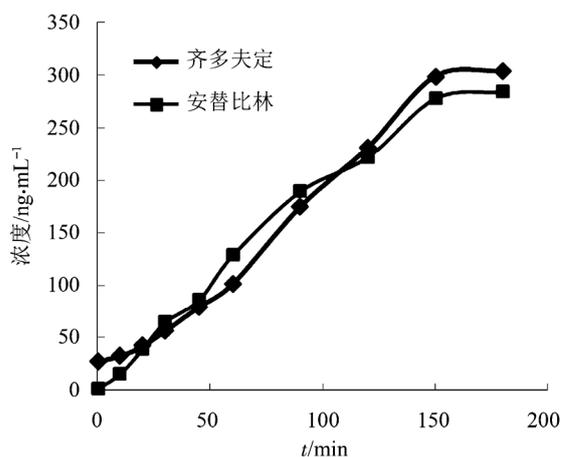


图3 人体胎盘灌注模型中齐多夫定与安替比林浓度的测定
Fig. 3 Determination of zidovudine and antipyrine in placental perfusate

同洗脱方式对待测物的色谱保留和灵敏度的影响后，最终选择了梯度洗脱，并根据目标药物的理化性质及结构，通过摸索确定了合适的梯度洗脱程序，使得峰形良好，灵敏度高。另外，对于流动相流速，实验中发现低流速洗脱待测物出峰速度过慢，高流速虽能加快出峰速度，但离子化效果较差，离子源内有短暂的水珠凝结，影响待测物的离子化与定量，故最终选择0.6 mL·min⁻¹作为最佳流速。通过上述各条件的优化，确定了最佳的色谱条件，3.1 min内实现快速分离。文献中测定齐多夫定血浆样品的预处理多采用固相萃取法，大批量样品处理时，成本较高。在优化提取条件时，为了获得较为干净的提取物和较高的提取回收率，本实验选用蛋白沉淀法对胎盘灌流液样品进行前处理，不仅可以使胎盘灌流液中的蛋白等多种杂质除去，避免其对色谱柱的损伤，同时还确保了待测物的稳定性，该方法操作简便、快速，并且可避免使用超滤膜和固相萃取柱带来的高成本以及液-液萃取的提取率偏低。而目前一些LC-MS法测定血浆中齐多夫定浓度的报道中，大部分分析时间均>5 min，无形中增加了分析时间，而本研究分析方法仅3.1 min。

综上所述，本研究所介绍的方法灵敏、特异、准确，适用于药物胎盘透过性实验中齐多夫定浓度的测定。

REFERENCES

- [1] COLLINS J M, UNADKAT J D. Clinical pharmacokinetics of zidovudine: an overview of current data [J]. Clin Pharmacokinet, 1989, 17(1): 1-9.

- [2] VERWEIJ-VAN WISSEN C P, AARNOUTSE R E, BURGER D M. Simultaneous determination of the HIV nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitors lamivudine, didanosine, stavudine, zidovudine and zalcitabine in human plasma by reversed phase high performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2005, 816(1/2): 121-129.
- [3] TOMI M, NISHIMURA T, NAKASHIMA E. Mother-to-fetus transfer of antiviral drugs and the involvement of transporters at the placental barrier [J]. *J Pharm Sci*, 2011, 100(9): 3708-3718.
- [4] SUN Y H, LI X H, ZHOU L X, et al. Determination of zidovudine in human serum by HPLC-MS/MS [J]. *Anhui Med Pharm J(安徽医药)*, 2011, 15(5): 566-568.
- [5] ZHANG J J, YAO Y M, SUN J J, et al. Determination the concentration of nevirapine, lamivudine, stavudine, zidovudine, efavirenz in human plasma for simultaneous quantification by HPLC-MS/MS [J]. *Chin J Clin Pharmacol(中国临床药理学杂志)*, 2010, 26(2): 133-136.

收稿日期: 2015-09-25

神经胶质瘤纳米级染色剂的制备研究

张东伟¹, 莫立根^{1*}, 聂国朝², 王琳¹, 宋威¹, 李小阳¹, 沈雪莲³ (1.广西医科大学附属肿瘤医院神经外科, 南宁 530021; 2.广西玉林师范学院生物纳米医药研究室, 广西 玉林 537000; 3.中国科学院深圳先进技术研究院影像中心, 广东 深圳 518055)

摘要: 目的 通过质量考察和处方筛选, 制备蓝色纳米级染色剂, 使之更容易透过血脑屏障, 被肿瘤细胞吸收。方法 以磷脂、双氨基 PEG、京尼平与胎牛血清为原料, 以超声均化法制备成蓝色纳米级染色剂冻干粉, 以形态、粒径为考察目标筛选制备处方。结果 制备神经胶质瘤的蓝色纳米级染色剂最佳处方为大豆卵磷脂 60 mg, 胎牛血清 900 μ L, 双氨基 PEG 10 mg·mL⁻¹, 京尼平 1.5 mg·mL⁻¹; 平均粒径为 71.57 nm, 平均电位为 49.6 mV, 电镜下形态良好。结论 制备的蓝色纳米级染色剂冻干粉粒径、形态符合质量要求, 纳米蛋白能有效裸眼示踪脑胶质瘤。工艺方法简单、实用。

关键词: 神经胶质瘤; 纳米粒子; 染色剂; 京尼平

中图分类号: R966 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2016)09-1111-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.09.004

Preparation of Nanoscale Coloring Agent of Neurospagioma

ZHANG Dongwei¹, MO Ligen^{1*}, NIE Guochao², WANG Lin¹, SONG Wei¹, LI Xiaoyang¹, SHEN Xuelian³ (1.Department of Neurosurgery, Affiliated Cancer Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China; 2.Center of Nano Biology and Medicine, Yulin Normal University, Yulin 537000, China; 3.Shenzhen Institutes of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences, Shenzhen 518055, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare neurospagioma blue nanoscale coloring agent through inspect the preparation quality and screen the prescription, to make it much easier to through hemato encephalic barrier and absorbed by tumor cells. **METHODS** Phospholipid, NH₂-PEG-NH₂, genipin and fetal bovine serum were used as raw materials, prepared into blue nano coloring agent lipoprotein lyophilized powder by means of ultrasonic homogenization, and the preparation was screened through morphology and particle size. **RESULTS** The optimum process prescription was 60 mg soya bean lecithin, 900 μ L fetal bovine serum, 10 mg·mL⁻¹ NH₂-PEG-NH₂ and 1.5 mg·mL⁻¹ genipin; the average particle size was 71.57 nm, the average potential was 49.6 mV, and it was in good shape under the electric mirror. **CONCLUSION** The particle size and morphology of the prepared blue nanoscale coloring agent lyophilized powder meet the quality requirement and the nano protein can effectively naked eye tracking glioma. This process method is simple and practica.

KEY WORDS: glioma; nanoparticles; dye; genipin

脑胶质瘤是颅内最常见的原发性脑肿瘤。胶质瘤尤其是高级别脑胶质瘤具有恶性程度高、复发率高、病死率高和治愈率低的特点。手术目前

仍是治疗脑胶质瘤的主要手段, 但由于神经系统解剖的特殊性及其浸润性生长的特点, 肿瘤与正常脑组织之间的边界难以确定, 手术难以完全切除^[1-2]。

基金项目: 国家自然科学基金(81260227); 广西科学研究与技术开发计划项目(桂科攻 12980003-2-11, 桂科攻 14124004-2-16)

作者简介: 张东伟, 男, 硕士生 Tel: 18269100015 E-mail: 449200578@qq.com *通信作者: 莫立根, 男, 硕士, 主任医师, 硕士 Tel: 13807816094 E-mail: ligenmo@163.com