

# 纳米炭混悬注射液对安丝菌素 P3 的吸附与解吸附及初步药效学研究

辛倩<sup>1</sup>, 唐小海<sup>1,2\*</sup>, 冉茂盛<sup>1</sup>, 张雪梅<sup>1</sup>, 廖春美<sup>1</sup>

(1. 重庆莱美药业股份有限公司, 重庆 401336; 2. 四川师范大学生命科学学院, 四川成都 610000)

**摘要**: 主要研究吸附安丝菌素 P3 (AP3) 的纳米炭 (CNP) 混悬注射液 (AP3-CNP) 的粒径、吸附率、体外释放等相关指标, 以及淋巴示踪性和体外抗肿瘤活性。采用超滤离心法分离 AP3-CNP 中游离的 AP3、透析法测定体外释放度、HPLC 法检测药物浓度并计算吸附率, CCK8 法检测 AP3-CNP 对人源肿瘤细胞株 HepG-2、Bel-7402、HeLa、SiHa、A549 和 SKOV3 的抑制作用。结果表明吸附 AP3 前后, 纳米炭的粒径、淋巴示踪性未发生明显改变; 随 AP3 浓度的增加, 吸附率呈下降趋势。体外释放结果显示, AP3-CNP 相较于 AP3 有较明显的缓释作用。AP3-CNP 对所选的人源肿瘤细胞的抑制作用均较好, IC<sub>50</sub> 在 1 ng/ml 左右; 除 SiHa 细胞外, AP3-CNP 与 AP3 对其余 5 种人源肿瘤细胞的抑制率无显著差异 ( $P>0.05$ ), 表明 AP3-CNP 中的 AP3 能解离下来并抑制肿瘤细胞生长。

**关键词**: 纳米炭混悬注射液; 安丝菌素 P3; 吸附; 解吸附; 淋巴示踪; 抗肿瘤活性

**中图分类号**: R944.1<sup>†</sup>      **文献标志码**: A      **文章编号**: 1001-8255(2018)04-0491-07

**DOI**: 10.16522/j.cnki.cjph.2018.04.017

肿瘤外科手术治疗一般对原发病灶行广泛性切除和对其周围淋巴结转移病灶进行淋巴清扫, 存在很难彻底清除人体内肿瘤细胞的局限性<sup>[1]</sup>。纳米炭 (CNP) 混悬注射液作为一种有效的淋巴结染色剂, 稳定性好、安全性高, 并且靶向性优于其他染色剂, 被广泛应用于辅助手术治疗, 便于更完全地清除肿瘤细胞, 降低因淋巴转移导致的肿瘤复发。CNP 具有粒径小、比表面积大、吸附能力强、生物惰性等特点, 是较有研究价值的淋巴靶向药物载体, 被应用于吸附小分子化疗药物, 用于胃癌和乳腺癌等肿瘤的靶向化疗<sup>[2-5]</sup>。孙岚等报道纳米活性炭 (ACNP) 腹腔注射到小鼠体内后能够缓慢排出, 且不伴随腹腔炎症和黏连, 表明其没有明显的不良反应, 进入人体后安全性较高<sup>[6]</sup>。肿瘤靶向治疗是使用特异性的载体与药物或能杀伤肿瘤细胞的物质结合起来, 达到提高药物疗效、减轻不良反应的治疗方法<sup>[7]</sup>。安丝菌素 (又名安莎霉素), 属于安莎类抗菌素,

是一类微生物来源的美登木素生物碱, 主要通过微生物发酵而得, 具有抗肿瘤、抗结核杆菌、抗细菌等多种药理活性, 是多种活性成分的混合物, 其组分有 P-0、P-1、P-2、P-3、P-3'、P-4 和 P-4', 其中安丝菌素 P-3 (AP3, **1**) 为主要发酵产物<sup>[8]</sup>。早期应用时不良反应较多, 肠胃负效应和神经毒性明显, 因而退出临床治疗。随着抗体药物偶联物 (antibody drug conjugates, ADCs) 的出现以及 CNP 吸附抗肿瘤药物研究的深入, 重新推动了安丝菌素研究的发展。目前, 国内对安丝菌素的创新性研究很少, 而国外研究比较热门。

## 1 仪器与试剂

TU-1901 型紫外分光光度计 (北京普析通用责任有限公司); Amicon Ultra-4 离心超滤管 (截留分子量 50 000)、即用型透析袋 (截留分子量 50 000) 和 0.22 μm 针头式过滤器 (美国 Millipore 公司); Zetasizer Nano ZS90 型激光粒度分析仪 (英国 Malvern Instruments 公司); Multiskan FC 酶标仪 (美国 Thermo 公司); 1260 型高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司, 配置四元泵、ALS 型自动进样器和 VL 型二极管阵列检测器); SW-CJ-2FD 型超净工作台 (苏州安泰空气技术有限公司); LIBRA 200 FE 型透射电镜 (德国 Carl Zeiss 公司)。

CNP 混悬注射液 (重庆莱美药业股份有限公司, 规格 1 ml : 50 mg, 批号 CN1310040); **1** (四川大学生物治疗国

收稿日期: 2017-08-21

基金项目: 国家科技重大专项“重大新药创制”(2012ZX091021041 和 2012ZX09102101-015)

作者简介: 辛倩 (1987—), 女, 硕士, 从事靶向抗肿瘤药物研究。

E-mail: 86846347@qq.com

通信联系人: 唐小海 (1963—), 男, 教授, 从事靶向抗肿瘤药物研究。

Tel: 028-85503335

E-mail: pharmmateceo@aliyun.com

家重点实验室, 纯度 99.5%) ; DMEM 高糖培养基、青霉素链霉素溶液、磷酸盐缓冲液 (PBS)、新生小牛血清 (赛默飞世尔生物化学制品北京有限公司) ; Cell Counting Kit-8 细胞增殖毒性检测试剂 (CCK-8, 日本同仁化学研究所) ; 其余试剂为分析纯或化学纯。

人肝癌细胞 HepG-2、宫颈癌细胞 SiHa、肝癌细胞 Bel-7402、人肺腺癌细胞 A549、宫颈癌细胞 HeLa 和卵巢癌细胞 SKOV3, 以上细胞均由四川大学生物治疗国家重点实验室惠赠。

昆明种小鼠 [SPF 级, 雌雄各半, 20 ~ 25 g, 都达硕生物科技有限公司, 动物合格证编号 SCXK(川)2013-24]。

## 2 方法与结果

### 2.1 方法学研究

#### 2.1.1 色谱条件

色谱柱 Alltima-C<sub>18</sub> 柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm) ; 流动相 70% 甲醇 ; 检测波长 252 nm ; 流速 1 ml/min ; 柱温 35 °C ; 进样量 20 μl。

#### 2.1.2 线性试验和方法学验证

精密称取 15 mg, 用甲醇溶解并配制成浓度为 500 μg/ml 的母液, 再用流动相稀释成 100 μg/ml 的 1 贮备液。精密量取贮备液适量, 用流动相稀释成 0.5、1、2、5、10、20、50 和 100 μg/ml 的梯度溶液, 照 “2.1.1” 项下色谱条件测定。以 1 浓度 (c) 为横坐标, 峰面积 (A) 为纵坐标进行线性回归, 得回归方程为  $A=42.522c-18.404$  ( $R^2=0.9999$ ), 线性范围为 0.5 ~ 100 μg/ml ; 1 的检测限为 0.10 μg/ml, 定量限为 0.35 μg/ml。

取 1、10 和 80 μg/ml 的 1 溶液, 分别进行精密度试验。结果 3 种浓度样品的日内、日间 RSD 均小于 2%。平均回收率为 99.72% (n=3), RSD 为 0.45%。

### 2.2 载 1 纳米炭混悬注射液 (1-CNP) 的制备

用 0.22 μm 针头式过滤器除菌的 1 溶液与 CNP 混悬注射液等体积混合, 超声 5 min 混匀, 然后在 37 °C、120 r/min 条件下振摇 1 h 得到 1-CNP。

### 2.3 CNP 对 1 的吸附作用

#### 2.3.1 1-CNP 的稳定性和吸附率考察

配制浓度为 20、50、100、200、300、400 和

500 μg/ml 的 1 溶液, 与 CNP 混悬注射液 (50 mg/ml) 等体积混合。照 “2.2” 项下方法制备得到 1-CNP, 于 0 和 24 h 取样品溶液 10 μl, 用纯水稀释至 10 ml, 测定粒径和分散系数 (PDI), 平行测定 3 次, 考察 1-CNP 的粒径和稳定性。结果 (图 1) 显示, 1-CNP 平均粒径约 180 nm, 不同吸附比例的 1-CNP 在 0 和 24 h 时的粒径基本一致, 提示 1-CNP 在 24 h 内稳定性较好。

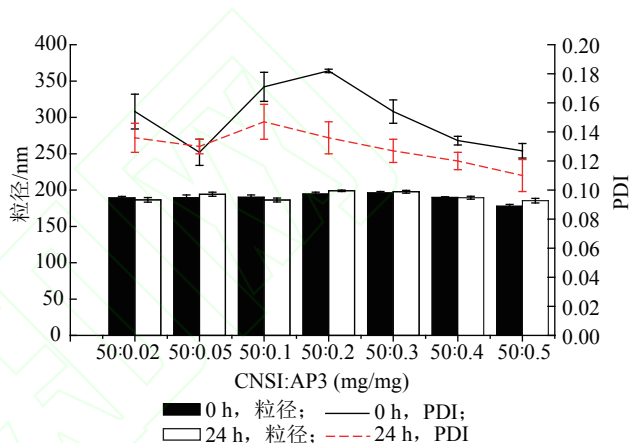
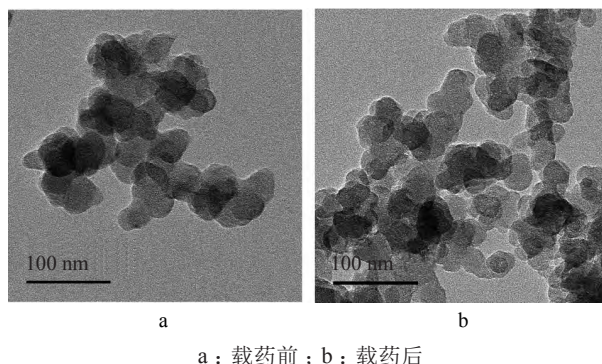


图 1 1-CNP 粒径稳定性考察结果 (n=3)  
Fig.1 Particle Size Stability of 1-CNP (n=3)

采用透射电镜在加速电压 200 kV 条件下观察 1 和 1-CNP 的颗粒大小和形态, 结果见图 2。可见, 吸附 1 前后 CNP 单颗粒大小为 20 ~ 60 nm, 形态也基本一致, 提示吸附 1 后的 CNP 颗粒没有发生明显变化。



a: 载药前; b: 载药后  
图 2 CNP 载药前后的透射电镜照片 (×600 000)  
Fig.2 TEM Images of CNP before and after Drug Loading (×600 000)

用超滤管离心 (2 808×g) 20 min, 取滤液适当稀释后照“2.1.1”项下方法检测, 由式①计算吸附率, 重复 3 次。结果表明随药物浓度增大, 吸附率逐渐降低, 吸附率曲线见图 3。

$$\text{吸附率} = (c_0 - c) / c_0 \times 100\% \quad \text{①}$$

式中,  $c$  表示制剂中游离药物浓度,  $c_0$  表示初始药物浓度。

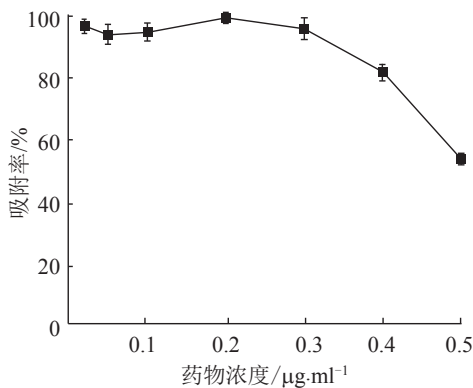


图 3 1-CNP 吸附率曲线 (n=3)  
Fig.3 Adsorption Curve of 1-CNP (n=3)

### 2.3.2 1-CNP 吸附等温曲线

吸附等温线是温度一定时单位吸附剂吸附药物量 ( $Q_e$ ) 与平衡游离药物浓度的关系, 它能较好地反映出吸附剂和吸附质的相互作用, 是表示吸附性能最常用的方法。通过对 CNP 吸附药物的等温吸附曲线的考察, 可以衡量 CNP 对药物的吸附水平。

将 CNP 混悬注射液依次稀释成 50、45、40、35、30、25、20、15、10 和 5 mg/ml, 分别加入等体积的 0.1 mg/ml 的 1 溶液, 照“2.2”项下方法制备得 1-CNP。用超滤管离心 (2 808×g) 20 min 分离出游离 1, 取滤液适当稀释后照“2.1.1”项下条件检测, 由式②计算  $Q_e$ , 结果见表 1。

$$Q_e = (c_0 - c) / m \times 100\% \quad \text{②}$$

式中,  $m$  表示吸附剂 CNP 的质量。

分别使用 Langmuir、Freundlich、Temkin 吸附模型拟合等温吸附曲线, 结果显示本试验数据用 Freundlich 方程 ( $Q_e = K_f \times c^{1/n}$ , 其中  $Q_e$  为单位 CNP 吸附抗肿瘤药物量,  $c$  为制剂吸附平衡时的游离药物浓度,  $K_f$  和  $1/n$  是常数, 当  $1/n$  为 0.1 ~ 0.5 说明

表 1 1-CNP 等温吸附结果 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

CNP : 1	$c/\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	吸附率/%	$Q_e/\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$
5 : 0.1	26.44	48.66±0.69	10.02±0.14
10 : 0.1	15.80	69.32±1.41	7.14±0.15
15 : 0.1	10.90	78.84±0.46	5.41±0.03
20 : 0.1	6.86	86.69±1.37	4.46±0.07
25 : 0.1	5.61	89.10±0.79	3.67±0.03
30 : 0.1	3.04	94.09±0.97	3.23±0.03
35 : 0.1	3.08	94.02±0.84	2.77±0.02
40 : 0.1	2.23	95.67±1.63	2.46±0.04
45 : 0.1	1.39	97.29±1.21	2.23±0.03
50 : 0.1	1.78	95.54±1.24	1.99±0.03

吸附性良好<sup>[9]</sup>) 拟合的效果较好, 所得拟合方程为  $Q_e = 1.618 1c^{0.4819}$ , 表明 CNP 对 1 有较好的吸附作用。吸附等温曲线见图 4。

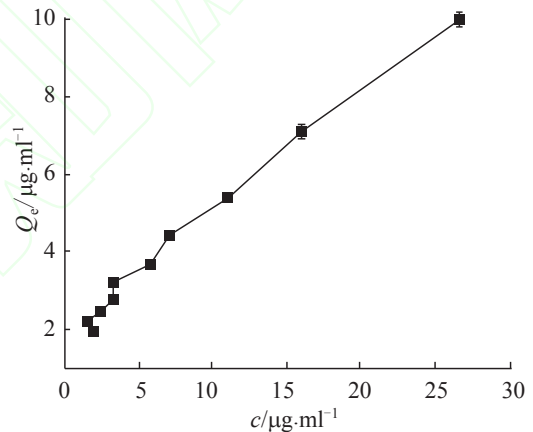


图 4 1-CNP 等温吸附曲线 (n=3)  
Fig.4 Adsorption Isotherm of 1-CNP (n=3)

### 2.4 1-CNP 淋巴示踪性的考察

取 1-CNP (分别含 1 10、25、50、100、150、200 和 250  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 含 CNP 25 mg/ml), 另以 CNP 混悬注射液作空白对照。取昆明种小鼠 80 只, 雌雄各半, 随机分为 8 组, 每剂量组 10 只。从小鼠右后足垫部注射各组混悬液, 注射剂量为 0.001 ml/g, 注射后第 10 min 引颈处死, 立即解剖出第一级、第二级和第三级淋巴结, 即腿弯部淋巴结、髂淋巴结和腹主动脉旁淋巴结 (右肾), 在立体显微镜下检查各级流域淋巴结的染黑情况, 然后根据如下标准进行打分: 0 代表颜色无改变, 0.5 代表淋巴结窦部染灰或部分染黑, 1.0 代表整个淋巴结或边缘窦染

黑。合并各组小鼠的淋巴示踪性评分结果，见表2。结果显示，1-CNP的淋巴示踪效果与CNP混悬注射液基本一致，提示吸附了1的CNP仍具有靶向淋巴结作用。

表2 1-CNP的淋巴示踪性评分

Tab.2 Evaluating the Lymphatic Tracing of 1-CNP

组别	1-CNP中1浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	胸窝淋巴结	髂淋巴结	肾旁淋巴结
1	0	10	10	10
2	10	10	9	8
3	25	10	9	7
4	50	10	9	8
5	100	10	8	7
6	150	10	9	8
7	200	10	8	7
8	250	10	8	8

## 2.5 1-CNP体外释放的测定

### 2.5.1 体外释放试验

照“2.2”项下方法制备1-CNP制剂2ml，其中1终浓度为50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ，CNP终浓度为25mg/ml；另使用50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的1溶液2ml作对照。将两种制剂全部加入透析袋中（可用少量透析外液洗入），分别置于装有pH7.4PBS（透析外液）50ml的蓝口瓶中。在37 $^{\circ}\text{C}$ 、120r/min条件下振摇，分别于0.5、1、2、4、6、10、24、46、52、70、96、118、126和148h时取透析外液25ml（及时补加同温等量透析外液）。取10ml，于40 $^{\circ}\text{C}$ 减压旋蒸干，加流动相0.5ml复溶，照“2.1.1”项下色谱条件进行检测并计算累积释放率(Q)，重复3次，结果见图5。体外释放试验结果显示，与1相比，1-CNP有明显的缓释作用。

### 2.5.2 释药行为的拟合

分别用零级、一级、Higuchi模型拟合，结果表明上述3个模型均不能很好地解释整个释放行为，故采取分段拟合。结果显示，1-CNP的体外释药行为在0~6h符合一级释药模型( $r=0.9980$ )，6~148h则符合Higuchi模型( $r=0.9908$ )。

## 2.6 1-CNP的肿瘤细胞抑制试验

收集对数期的Bel-7402、HepG-2、A549、HeLa、SiHa和SKOV3细胞制成单细胞悬液并计

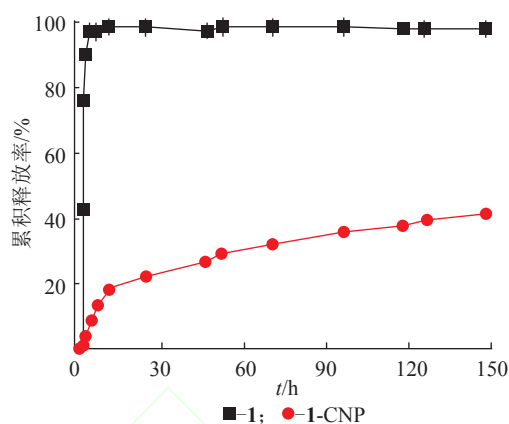


图5 PBS中的体外释放曲线(n=3)

Fig.5 In vitro Release Curves in PBS (n=3)

数，调整细胞悬液浓度约为每1ml含 $5 \times 10^4$ 个。取96孔板，每孔加入细胞悬液100 $\mu\text{l}$ ，在37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% $\text{CO}_2$ 条件下培养24h。弃去培养液，加入各浓度药物培养液200 $\mu\text{l}$ （照“2.2”项下方法配制1浓度为50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的1溶液和1-CNP，后者CNP终浓度为25mg/ml；再用含10%小牛血清和1%青链霉素的DMEM高糖培养液稀释使用。Bel-7402、HepG-2和SiHa组配制的1浓度为0.03125、0.0625、0.125、0.25、0.5、1、2和4ng/ml；A549、HeLa和SKOV3组配制的1浓度为0.0625、0.125、0.25、0.5、1、2、4、8和16ng/ml），每个浓度设置3个复孔，设置不加药物的阴性对照以及不加细胞和不加药物的空白对照组。在37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% $\text{CO}_2$ 条件下继续培养48h；弃去培养液，每孔加入含有10% CCK8的培养液100 $\mu\text{l}$ ，培养一段时间后用酶标仪在450nm处检测各孔的OD值，由式③计算细胞抑制率。重复试验3次。1和1-CNP对各种肿瘤细胞的抑制率曲线如图6所示。

$$\text{抑制率} = 1 - \frac{(\text{OD}_{\text{试验}} - \text{OD}_{\text{空白}})}{(\text{OD}_{\text{阴性}} - \text{OD}_{\text{空白}})} \times 100\% \quad (3)$$

1对多数人源性肿瘤细胞的 $\text{IC}_{50}$ 在0.2~4ng/ml，与文献报道的基本一致<sup>[10]</sup>。1-CNP对各种肿瘤细胞的 $\text{IC}_{50}$ 在1ng/ml左右。细胞抑制率结果经t检验分析表明，除SiHa细胞以外，其余细胞抑制试验中1与1-CNP组的P值均大于0.05，即没有统计

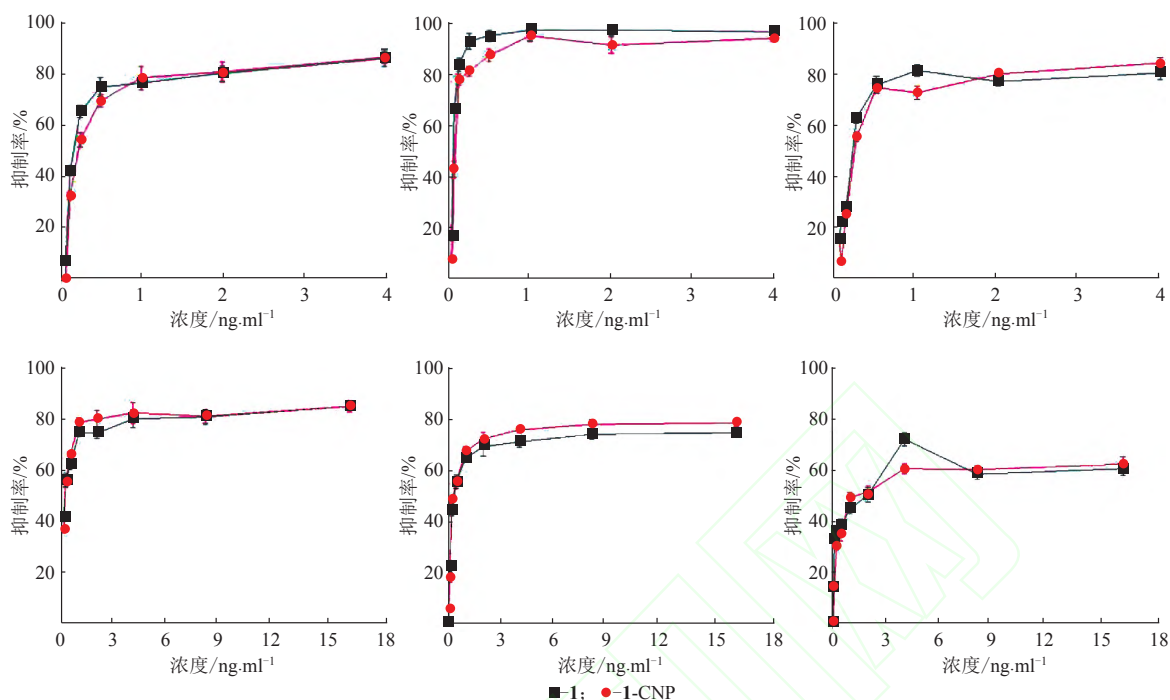


图 6 1 和 1-CNP 对 HepG-2 (a)、SiHa (b)、Bel-7402 (c)、A549 (d)、HeLa (e) 和 SKOV3 (f) 细胞的抑制曲线 (n=3)  
 Fig.6 Inhibition Curves of 1 and 1-CNP against HepG-2 (a), SiHa (b), Bel-7402 (c), A549 (d), HeLa (e) and SKOV3 (f) Cells (n=3)

学差异, 表明 1 能从 CNP 中解吸附下来, 并有抑制肿瘤细胞生长的作用。

### 3 讨论

**3.1** 本试验将等温吸附曲线用于载体与药物吸附作用规律的研究, 结果显示 CNP 对 1 有较好的吸附作用。淋巴示踪性结果显示 CNP 吸附药物后仍具有良好的示踪性能, 有进一步研究成靶向抗肿瘤药物的可行性。

**3.2** 本试验中吸附率曲线是研究 CNP 在临床用量浓度 (50 mg/ml) 下对不同浓度 1 的吸附情况, 期望为以后临床用药提供参考依据。结果显示, 药物浓度在 0.3 mg/ml 及以下, 吸附率可以达到 90% 及以上, 结合淋巴示踪性试验结果, 优选 CNP 吸附 0.1 mg/ml 的 1, 所得 1-CNP 制剂中 CNP 最终浓度为 25 mg/ml, 1 最终浓度为 50 μg/ml, 选择该 1-CNP 继续进行体外释放和细胞毒性试验的研究。

**3.3** 本试验建立了分离和测定 1-CNP 中游离 1 的方法, 该法有效快速、准确度高、精密度好; CNP 对

1 的吸附用 Freundlich 模型拟合的结果表明, CNP 对 1 有较好的吸附作用; 该制剂粒径小, 分布均匀, 淋巴示踪性良好; 1-CNP 对所选入源性肿瘤细胞的抑制作用均较好, 其 IC<sub>50</sub> 在 1 ng/ml 左右, 与相同用量 1 的抑制作用基本一致, 表明 1-CNP 制剂中的 1 能解吸附下来并起到抑制肿瘤细胞生长的作用。

**3.4** 本试验的不足之处在于并未深入研究制剂的药理作用, 需要根据后续拟用适应证再进行相关研究。这些研究旨在为抗肿瘤药物的研究提供一种方向和思路。

### 参考文献:

[1] Egusquiaguirre SP, Igartua M, Hernández RM, *et al.* Nanoparticle delivery systems for cancer therapy: advances in clinical and preclinical research [J]. *Clin Transl Oncol*, 2012, 14(2): 83-93.  
 [2] 尹源, 汪晓东, 吕东昊, 等. 淋巴示踪剂在结直肠癌外科的研究进展 [J]. *中国普外基础与临床杂志*, 2010, 17(3): 306-

308.  
 [3] 李 伟, 曾晓华. 纳米炭吸附化疗药物在乳腺癌中的应用研究进展[J]. 四川医学, 2012, 33(5): 899-901.  
 [4] 张 波, 陈佳平, 胡建昆. 纳米炭混悬注射液检测胃癌前哨淋巴结的临床研究[J]. 华西医学, 2006, 21(3): 514-515.  
 [5] 张 浩, 孙 岚, 鄂 晓, 等. 纳米活性炭吸附丝裂霉素C腹腔化疗的生物发光成像研究[J]. 军事医学, 2011, 35(4): 299-302.  
 [6] 孙 岚, 张英鹤, 杨留中. 纳米活性炭在小鼠体内的分布、存留及淋巴靶向性[J]. 军事医学科学院院刊, 2005, 29(4): 349-351.

[7] López-Tarruella S, Martín M. Recent advances in systemic therapy: advances in adjuvant systemic chemotherapy of early breast cancer [J]. *Breast Cancer Res*, 2009, 11(2): 204-212.  
 [8] 伊 丹, 王 岩, 陈少欣. 安丝菌素P-3的发酵工艺[J]. 中国医药工业杂志, 2012, 43(4): 260-262.  
 [9] Treybal RE. Mass-transfer Operations [M]. New York: McGraw-Hill Book Company, 1981.  
 [10] Pouny I, Etiévant C, Marcourt L, et al. Protoflavonoids from ferns impair centrosomal integrity of tumor cells [J]. *Planta Med*, 2011, 77(5): 461-466.

**P49-19 高压均质对  $\beta$ -乳球蛋白结构、界面性质和乳化能力的影响** Ali A 等 [Int J Pharm, 2018, 537(1-2): 111]

结合光谱、色谱和电泳法考察了高压均质 (HPH) 对  $\beta$ -乳球蛋白结构的影响, 也评估了相应的结构变化对 o/w 型乳液界面性质和乳化能力的影响。温和的 HPH 条件 (100 MPa, 4 次循环) 对蛋白结构和界面性质无显著影响; 但剧烈的 HPH 条件 (300 MPa, 5 次循环) 会导致蛋白结构改变, 主要是从  $\beta$  折叠转变为无规卷曲, 脂蛋白核心广泛丢失, 以及分子间二硫键桥连所致的蛋白聚集。经 HPH 改性的  $\beta$ -乳球蛋白显示出较高的表面疏水性, 导致界面处的吸附速率增加, 以及弹性界面膜的更早生成 ( $\beta$ -乳球蛋白浓度为 1%)。然而, 在  $\beta$ -乳球蛋白浓度为 1% 时未观察到界面性质发生改变。在这种蛋白浓度下, 以 HPH 改性的  $\beta$ -乳球蛋白溶液作为水相, 所得纳米乳的液滴大小不会改变; 但乳化率稍有增加。HPH 和热变性的影响在性质上相似, 但在程度上还是有所差异的。

[王 盈 编译]

**P49-20 以胡萝卜提取物为载体制备安倍生坦固体分散体** Deshmane S 等 [Drug Dev Ind Pharm, 2018, 44(6): 1001]

安倍生坦是美国 FDA 批准的第二个口服内皮素 A 受体拮抗药, 用于治疗肺动脉高压。但安倍生坦水溶性差, 限制了口服应用。本研究以天然胡萝卜 (*Daucus carota*) 提取物为载体, 制备安倍生坦固体分散体, 以提高药物的溶解度和生物利用度。考察了该载体的溶解度、溶胀指数、黏度、休止角、水合能力和急性毒性 ( $LD_{50}$ ), 结果显示其具有适宜的水溶性、较低的溶

胀指数和低黏度, 急性毒性试验中也未见中毒的临床症状。差示扫描量热 (DSC)、傅里叶变换红外光谱 (FTIR) 和 X 射线衍射 (XRD) 分析结果显示, 药物与载体间相容性良好; 所得的固体分散体颗粒呈球形, 表面光滑。体外试验中, 该固体分散体中药物的溶出度比物理混合物高。体内试验也证实, 该固体分散体口服后可提高安倍生坦的吸收和生物利用度。总之, 天然胡萝卜可作为一种制备固体分散体或其他剂型载体的良好替代材料来源。

[王 盈 编译]

**P49-21 环糊精包合的卡芬太尼鼻喷雾剂的制备和评价** Yang P 等 [Drug Dev Ind Pharm, 2018, 44(6): 953]

卡芬太尼 (CFTN) 是芬太尼的衍生物, 镇痛效果显著, 但水溶性差。本试验采用超声法制备了载 CFTN 的二甲基- $\beta$ -环糊精 (DM- $\beta$ -CD) 包合物及其鼻喷雾剂, 以增加 CFTN 的溶解度。粉末 X 射线衍射和扫描电镜分析结果显示, CFTN 被成功包合入 DM- $\beta$ -CD 中。该包合物在盐酸和磷酸盐缓冲液中的溶出度显著高于游离 CFTN。采用离体蟾蜍上腭细胞考察游离 CFTN 及其鼻喷雾剂的鼻纤毛毒性, 结果二者没有显著差异。采用大鼠为模型进行体内试验, 分别静脉注射、肌肉注射、口服和滴鼻给予 CFTN-DM- $\beta$ -CD 包合物 (250  $\mu$ g/kg)。结果与肌肉注射和口服给药相比, CFTN-DM- $\beta$ -CD 包合物经鼻给药的吸收更快、 $c_{max}$  和生物利用度更高。综上所述, CFTN-DM- $\beta$ -CD 包合物鼻喷雾剂是一种相对安全、起效快速和有效的剂型。

[王 盈 编译]

## Adsorption and Desorption of Ansamitocin P3 on Carbon Nanoparticles Suspension Injection and the Preliminary Pharmacodynamics Evaluation

XIN Qian<sup>1</sup>, TANG Xiaohai<sup>1,2\*</sup>, RAN Maosheng<sup>1</sup>, ZHANG Xuemei<sup>1</sup>, LIAO Chunmei<sup>1</sup>

(1. China Chongqing Lummy Pharmaceutical Co., Ltd., Chongqing 401336;

2. College of Life Science, Sichuan Normal University, Chengdu 610000)

**ABSTRACT:** The change of particle size, adsorption rate and *in vitro* release of the carbon nanoparticles (CNP) suspension injection after adsorption of ansamitocin P3 (AP3) were investigated. Moreover, the tests of lymphatic tracing and antitumor activity of the final product AP3-CNP were carried out. An ultrafiltration centrifugal analysis was applied to separate free AP3 from AP3-CNP. The dialysis assay was used for the quantification of drug release. An HPLC method was adopted to detect the drug concentration. The inhibition effects of AP3-CNP on human tumor cell lines HepG-2, Bel-7402, HeLa, SiHa, A549 and SKOV3 were measured by CCK8 assay. The results showed that there were no significant changes in particle size and lymphatic tracing of the CNP before and after adsorption. The adsorption rate was decreased with the increasing of the concentration of AP3. Compared with the AP3, AP3-CNP showed a significant sustained-release characteristics. The IC<sub>50</sub> values of AP3-CNP against above six tumor cell lines were about 1 ng/ml, showing a good inhibition effect. There were no significant differences between AP3 and AP3-CNP in inhibition rates except SiHa cells. These results indicated that AP3 could desorb from the AP3-CNP and inhibit the growth of the tumor cell lines.

**Key Words:** carbon nanoparticles suspension injection; ansamitocin P3; adsorption; desorption; lymphatic tracing; antitumor activity

