

白桦脂酸纳米囊泡在小鼠体内组织分布研究

李鑫, 宋彦娜, 苗利, 刘松鹤(哈尔滨商业大学药学院, 哈尔滨 150010)

摘要:目的 研究白桦脂酸纳米囊泡在小鼠体内的分布情况。方法 从形态、粒径、Zeta 电位等方面建立了白桦脂酸纳米囊泡物理表征方法。采用小鼠尾静脉注射给药,用 HPLC 法测定原料药及纳米囊泡在各组织及血浆中不同时间点白桦脂酸的浓度,并计算靶向参数。结果 白桦脂酸纳米囊泡形态呈圆球形且均匀分散,粒径为 140.51 nm,多分散系数(PDI)为 22.58%,Zeta 电位为 -28.8 mV,包封率为 90.52%,载药量为 8.30%,24 h 累积释放度 85.33%。与注射原料药组相比,注射白桦脂酸纳米囊泡组小鼠各组织及血浆中药物浓度更高,总药-时曲线下面积(AUC)增加了 1.81 倍,肝组织的靶向评价指标,峰浓度比(Ce)为 3.51、相对摄取率(re)为 2.87、靶向效率(te)为 1.07。结论 制备的白桦脂酸纳米囊泡粒径小、稳定性好、包封率和载药量较高,符合设计要求。白桦脂酸制成纳米囊泡后可显著提高药物的生物利用度,对肝具备明显的靶向性。

关键词:白桦脂酸;纳米囊泡;组织分布

doi:10.11669/cpj.2024.21.008 中图分类号:R944 文献标志码:A 文章编号:1001-2494(2024)21-2053-07

Tissue Distribution of Betulinic Acid Nanovesicles in Mice

LI Xin, SONG Yanna, MIAO Li, LIU Songhe(School of Pharmacy, Harbin University of Commerce, Harbin 150010, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the betulinic acid nanovesicle delivery system, and determine the distribution of the preparation in mice. **METHODS** A physical characterization method of nanovesicles was established, focusing on the aspects of morphology, particle size, Zeta potential, etc. In the study of tissue distribution of betulinic acid nanovesicles *in vivo*, mice were injected through the tail vein, and the concentrations of betulinic acid in various tissues and plasma at different time points were determined by HPLC, and the targeting parameters were calculated. **RESULTS** Betulinic acid nanovesicles shape is spherical and uniformly dispersed. The particle size is 140.51 nm, polymer dispersity index (PDI) is 22.58%, Zeta potential is -28.8 mV, encapsulation efficiency is 90.52%, drug loading is 8.30%. Compared with the injection group, the concentration of betulinic acid nanovesicles in the tissues and plasma of mice in the injection group was higher, the total area under the curve(AUC) increase 1.81 times, and the target evaluation index concentration ratio(Ce) of liver tissue is 3.51, relative tissue exposure(re) is 2.87, targeting efficiency(te) is 1.07. **CONCLUSION** The results show that the betulinic acid nanovesicles have small particle size, good stability, high encapsulation efficiency and drug loading, and meet the design requirements. The betulinic acid nanovesicle delivery system shows that the preparation of nanovesicles from betulinic acid can significantly improve the bioavailability of drugs and have obvious targeting to liver.

KEY WORDS: betulinic acid; nanovesicles; tissue distribution

在全球范围内,肝癌是最常见的致命恶性肿瘤,发病率逐年上升,死亡率极高且预后效果差^[1-2]。目前常见的治疗手段以手术治疗、放疗及化疗为主,但由于肝脏再生能力差、术后并发症多,因此大部分患者无法接受手术治疗,而放疗和化疗药物选择性低、对机体损伤大、在治疗的同时往往会引起极大的不良反应^[3-5]。因此对于肝癌患者来说,急需寻求一种安全、有效的治疗药物。白桦脂酸是一种天然的羽扇豆烷型三萜类化合物^[6],对多种肿瘤细胞均有明显的抑制作用,且安全剂量高,不良反应低,被认为是最具潜力的抗肿

瘤化合物之一^[7-11]。但因其水溶性差、生物利用度低,靶向效果不明显等缺点,阻碍其被开发为有效的抗癌药物。近年来,纳米技术作为一种新型的递送系统,为现代制剂的研发提供新的思路,在抗肿瘤研究中起到重大作用^[12-13]。纳米技术可通过优化药物的尺寸和表面性质,或利用组织特异性提高有效药物的靶向治疗效果,减少对其他组织脏器的损伤。同时纳米技术可结合其他的治疗方法,改善组织吸收药物的能力,并增强其药代动力学特征,延长药物作用时间,减少给药剂量,降低不良反应,提高患者用药的安全性^[14-16]。

作者简介:李鑫,男,硕士,副教授,硕士生导师 研究方向:中药现代剂型研究 Tel:(0451)84866910

1 仪器与试剂

1.1 仪器

高效液相色谱仪(美国 Dionex 公司);Welchrom C₁₈ 色谱柱(上海月旭科技有限公司);JP-040ST 结盟牌超声波清洗机(深圳市结盟清洗设备有限公司);Sorvall ST8R 高速冷冻离心机(美国 ThermoFisher Scientific 公司);LE204E/02 电子天平[梅特勒-托利多(上海)有限公司];XK-96-A 快速混匀器(姜堰市新康医疗器械有限公司);一次性使用负压采血管(山东省威武县永康医用制品有限公司);DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器(巩义市予华仪器有限责任公司);Litesizer TM500 纳米粒度电位仪(奥地利 Anton Paar 公司);JEM-2100F 透射电镜(日本电子株式会社);PHs-3c 型 pH 计(上海伟业仪器公司)。

1.2 试剂

白桦脂酸对照品(四川省维克奇生物科技有限公司,批号:wkq21082505,纯度 $\geq 98\%$);白桦脂酸(陕西新湃生物科技有限公司,纯度 $> 98\%$);甘草次酸(四川省维克奇生物科技有限公司,批号:wkq22042403);体积分数 10% 中性福尔马林固定液(飞净生物科技有限公司);甲醇、冰醋酸、乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

1.3 实验动物

实验动物:SPF 级的 KM 小鼠,雌雄各半,体重 18~22 g,哈尔滨医科大学实验动物学部[许可证号:SYXK(黑)2019-001]。动物实验通过哈尔滨商业大学伦理委员会批准,编号为:HSDYXY-2022028。

2 方法

2.1 样品制备

白桦脂酸纳米囊泡的制备:精密称取白桦脂酸 20 mg,加入 0.089 8 g Tween 80、0.0777 g Span 80 及 0.032 5 g 胆固醇,溶于 10 mL 无水乙醇中,作为有机相;另取纯净水 30 mL,置于磁力加热搅拌器中,于 65 °C 下,用 1 mL 针筒将有机相缓慢注入纯净水中,保持 860 r·min⁻¹ 的速率,搅拌 30 min,剩余溶液冷却至室温后加水定容至 30 mL,即得。

白桦脂酸原料药注射液的制备:取白桦脂酸原料药加含 5 mg·mL⁻¹ Tween-80 的生理盐水超声溶解,将其制成含药量为 4 mg·mL⁻¹ 的白桦脂酸混悬液。取 4 °C 白桦脂酸纳米囊泡混悬液,用生理盐水稀释至含药量为 4 mg·mL⁻¹ 的白桦脂酸纳米囊泡混悬液。

2.2 白桦脂酸纳米囊泡的物理特性表征

2.2.1 形态观察 取适量纳米囊泡样品,加蒸馏水稀释后滴加至铜网上,晾干,滴加 2% 磷钨酸染色,室温下干燥后,置于透射电镜下进行扫描分析。

2.2.2 粒径、多分散系数(PDI)及 Zeta 电位的测定 取适量白桦脂酸纳米囊泡,分别将其用蒸馏水稀释 100 倍后,在 25 °C 环境下,置于激光粒度仪中进行粒径、PDI 和 Zeta 电位的检测。

2.2.3 白桦脂酸体外释放方法 色谱条件:色谱柱 Welchrom C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm),流动相为乙腈-0.1% 甲酸的水溶液(70:30),检测波长为 207 nm,柱温为 30 °C,流速:1.0 mL·min⁻¹,进样量为 20 μL。

白桦脂酸体外释放方法:取白桦脂酸纳米囊泡适量(以白桦脂酸 4.0 mg 计)、白桦脂酸原料药 4.0 mg,分别加入到处理过的透析袋中,将其置于含 200 mL 5 mg·mL⁻¹ SDS 水溶液的烧杯中,在 37 °C 水浴恒温振荡器中以 100 r·min⁻¹ 的速率振摇。分别在 0.5、1、2、3、4、6、8、12、24 h 各取 1 mL 释放介质(每次取样同时补加 37 °C 的 5 mg·mL⁻¹ SDS 水溶液 1 mL)。每组平行操作 6 次,经 0.45 μm 滤膜过滤,按本项下色谱条件进样,计算累积释放百分率,绘制释放曲线。

2.2.4 包封率和载药量的测定 取白桦脂酸纳米囊泡溶液,离心 20 min,精密量取 1 mL 上层溶液,置于 10 mL 量瓶中,加适量甲醇,超声 20 min,加甲醇定容,得白桦脂酸提取液,根据“2.2.3”项下的色谱条件测定,记录峰面积,代入标曲求算白桦脂酸的浓度,进而求出被包裹的药量。

2.3 组织分布研究

取小鼠 80 只,随机分为 2 组,每组 40 只。给药前各组小鼠均禁食 12 h,称重后按 30 mg·kg⁻¹ 单剂量尾静脉注射对照制剂白桦脂酸原料药注射液和实验制剂白桦脂酸纳米囊泡注射液。分别于给药后 10、15、30 min、1、2、4、8 和 12 h 依次取 5 只小鼠,将小鼠用玻璃点样毛细管眼眶采血 1.0 mL,置于一次性负压采血管中,4 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,分离血浆样品,于 -20 °C 冰柜中保存待测。取血后迅速将小鼠断头处死,解剖各小鼠取各组织(心、肝、脾、肺、肾)。将各小鼠各组织用生理盐水冲净,滤纸吸干精密称重,分别以 1:3 (g·mL⁻¹) 比例加生理盐水并研成组织匀浆,于 -20 °C 冰柜中保存。采用 HPLC 测定并记录样品峰面积和内标物峰面积比值,代入标准曲线计

算白桦脂酸浓度。以峰浓度比(C_e)、相对摄取率(re)和靶向效率(te)为指标,评价白桦脂酸纳米囊泡体内分布特征。

2.4 体内分析方法的建立

2.4.1 色谱条件 色谱柱 Welchrom C_{18} (4.6 mm × 250 mm, 5 μ m), 流动相为乙腈-0.1% 甲酸的水溶液 (80:20), 检测波长为 207 nm, 柱温为 30 $^{\circ}$ C, 流速: 1.0 mL · min⁻¹, 进样量为 20 μ L。

2.4.2 待测样品的制备 取组织匀浆或血浆 0.3 mL, 加 20 μ L 内标物溶液, 涡旋 1 min 混匀, 静置 5 min 后加入 1 mL 乙酸乙酯, 涡旋 10 min, 12 000 r · min⁻¹ 离心 10 min, 取上清液, 氮气吹干, 加 100 μ L 乙腈复溶, 涡旋混合 3 min, 12 000 r · min⁻¹ 离心 5 min, 取上清液按“2.4.1”项下色谱条件进样。

2.4.3 专属性 分别取小鼠各空白组织匀浆液或血浆, 按“2.4.2”项下方法处理 (不加内标物), 记录色谱图 (图 4A1 ~ 图 4F1)。另取小鼠各空白组织匀浆液或血浆, 加白桦脂酸对照品溶液, 按“2.4.2”项下方法处理, 记录色谱图 (图 4A2 ~ 图 4F2)。最后取给药后各组织样品匀浆液或血液, 按“2.4.2”项下方法处理, 记录色谱图 (图 4A3 ~ 图 4F3)。考察各空白组织是否干扰白桦脂酸的测定。

2.4.4 标准曲线的绘制 精密称取白桦脂酸对照品 23.00 mg, 加甲醇溶解并稀释至 25 mL, 得质量浓度为 920.00 μ g · mL⁻¹ 的对照品储备液。分别精密量取白桦脂酸对照品储备液适量, 依次加甲醇稀释成系列浓度的标准工作液。精密称取甘草次酸对照品 2.30 mg, 加甲醇溶解并稀释至 10 mL, 得质量浓度为 230.00 μ g · mL⁻¹ 的内标物溶液。分别取各空白组织匀浆液或空白血浆 0.3 mL, 精密加入 20 μ L 上述不同浓度的系列标准工作液, 加入 20 μ L 内标溶液, 按“2.4.2”项下方法进行处理, 以白桦脂酸峰面积与内标物峰面积的比值为纵坐标, 白桦脂酸浓度为横坐标进行线性回归。

2.4.5 精密度试验 取不同浓度的白桦脂酸标准工作液, 按“2.4.2”项下方法制备, 平行制备低、中、高 3 个浓度的质量控制样品各 3 份, 按“2.4.2”项下方法处理, 在 1 d 内测 3 次, 计算日内相对标准偏差; 连续测 3 d, 计算日间相对标准偏差。

2.4.6 稳定性试验 取不同浓度的白桦脂酸标准工作液, 按“2.4.2”项下方法制备, 平行制备样品各 9 份, 首先各取 3 份 3 种不同浓度的质量控制样品于 25 $^{\circ}$ C 条件下放置 24 h 后, 进样分析, 即为短期稳定性。再各取 3 份 3 种不同浓度样品于 -80 $^{\circ}$ C 冷

冻 15 d 后解冻, 进样分析, 即为长期稳定性。最后各取 3 份 3 种不同浓度样品经过 3 次反复冻融后, 进样分析, 即为冻融稳定性, 并计算 RSD 值。

2.4.7 回收率试验 方法回收率: 取不同浓度的白桦脂酸标准工作液, 按“2.4.2”项下方法制备, 平行制备样品各 3 份, 按“2.4.2”项下方法进行处理, 进样分析, 进而计算回收率及 RSD 值。

提取回收率: 取不同浓度的白桦脂酸标准工作液, 按“2.4.2”项下方法制备, 平行制备样品各 3 份, 按“2.4.2”项下方法进行处理, 进样分析进而计算提取回收率及 RSD 值。

3 结果

3.1 白桦脂酸纳米囊泡的物理特性表征结果

3.1.1 形态观察结果 采用透射电镜对白桦脂酸纳米囊泡样品进行拍摄, 发现白桦脂酸纳米囊泡呈圆球状, 且大小均一, 无粘连问题。透射电镜照片见图 1。

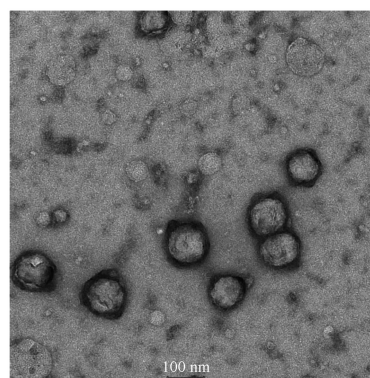


图 1 白桦脂酸纳米囊泡的透射电镜图

Fig. 1 Transmission electron microscopy of betulinic acid nanovesicles

3.1.2 粒径、PDI 及 Zeta 电位的测定结果 白桦脂酸纳米囊泡的平均粒径为 (140.51 ± 1.09) nm, PDI 为 (22.58 ± 0.53)% (图 2)。

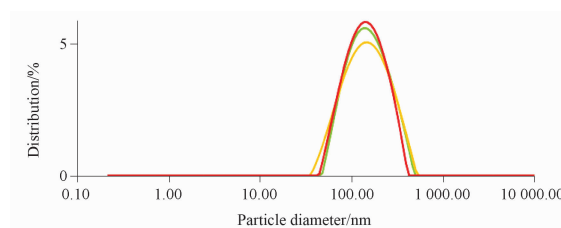


图 2 白桦脂酸纳米囊泡的粒径分布图

Fig. 2 Particle size distribution of betulinic acid nanovesicles

白桦脂酸纳米囊泡的平均电位值为 (-28.8 ± 0.35) mV, 绝对值远大于 15.00 mV, 表明该制剂具备良好稳定性, 不容易产生聚集现象(图3)。

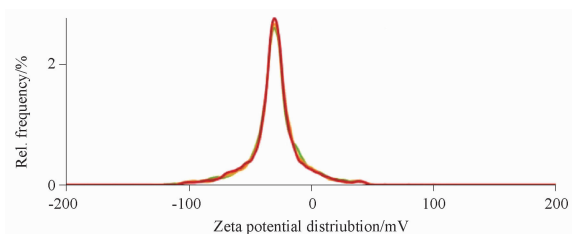


图3 白桦脂酸纳米囊泡的 Zeta 电位图

Fig. 3 Zeta potential diagram of betulinic acid nanovesicles

3.1.3 累积释放度测定结果 根据《中国药典》2020 年版四部的溶出度与释放度测定法, 采用透析法对白桦脂酸原料药和白桦脂酸纳米囊泡的体外释放进行考察, 白桦脂酸原料药和白桦脂酸纳米囊泡累积释放百分率结果见表 1。

表 1 白桦脂酸原料药和白桦脂酸纳米囊泡的累积释药百分率。 $n=6, \bar{x} \pm s$

Tab. 1 Cumulative drug release percentage of betulinic acid crude drug substance and betulinic acid nanovesicles. $n=6, \bar{x} \pm s$

t/h	Cumulative release percentage/%	
	Crude drug substance	Nanovesicles
0	0	0
0.5	32.67 ± 0.70	7.87 ± 0.20
1	46.49 ± 0.74	17.01 ± 0.94
2	57.68 ± 0.93	31.62 ± 0.67
3	60.11 ± 0.51	43.91 ± 0.68
4	60.41 ± 0.93	53.18 ± 0.90
6	59.14 ± 0.97	74.88 ± 1.76
8	58.89 ± 0.92	80.96 ± 0.71
12	58.56 ± 0.69	83.88 ± 1.00
24	57.06 ± 0.57	85.33 ± 0.81

3.1.4 包封率和载药量的测定结果 白桦脂酸纳米囊泡的包封率为 $(90.52 \pm 0.53)\%$, 其值大于 80%, 符合《中国药典》2020 年版中对纳米制剂包封率的要求。经计算白桦脂酸纳米囊泡的载药量为 $(8.30 \pm 0.04)\%$ 。

3.2 专属性

由图 4 结果可看出, 内标甘草次酸与药物白桦脂酸的峰形对称、分离度良好, 两药物保留时间分别在 8 min 左右及 15 min 左右, 且组织内内源性物质产生的杂质峰与两峰分离均较好, 说明该方法的专

属性良好。

3.3 标准曲线的绘制

白桦脂酸在小鼠各组织和血浆中标准曲线方程和相关系数结果见表 2, 实验结果表明, 白桦脂酸在 $0.92 \sim 184 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好。

3.4 精密度

小鼠组织(心、肝、脾、肺、肾及血)中 3 种不同浓度的样品的日内精密度 $\text{RSD} < 5.88\%$, 日间精密度相对标准偏差(RSD) $< 6.91\%$, 说明 3 种不同浓度的样品在各组织及血浆中的精密度均良好, 符合生物样品含量测定相关要求。

3.5 回收率与稳定性

小鼠组织(心、肝、脾、肺、肾及血)中的样品方法回收率为 $92.81\% \sim 108.97\%$, 其 $\text{RSD} < 5.56\%$; 样品提取回收率为 $86.77\% \sim 95.29\%$, 其 $\text{RSD} < 6.58\%$, 说明该方法回收率和提取回收率均良好。不同条件下不同浓度的样品 RSD 均小于 9.98% , 说明 3 种不同浓度样品在各组织及血浆中的稳定性均良好, 符合生物样品含量测定相关要求。

3.6 组织分布研究

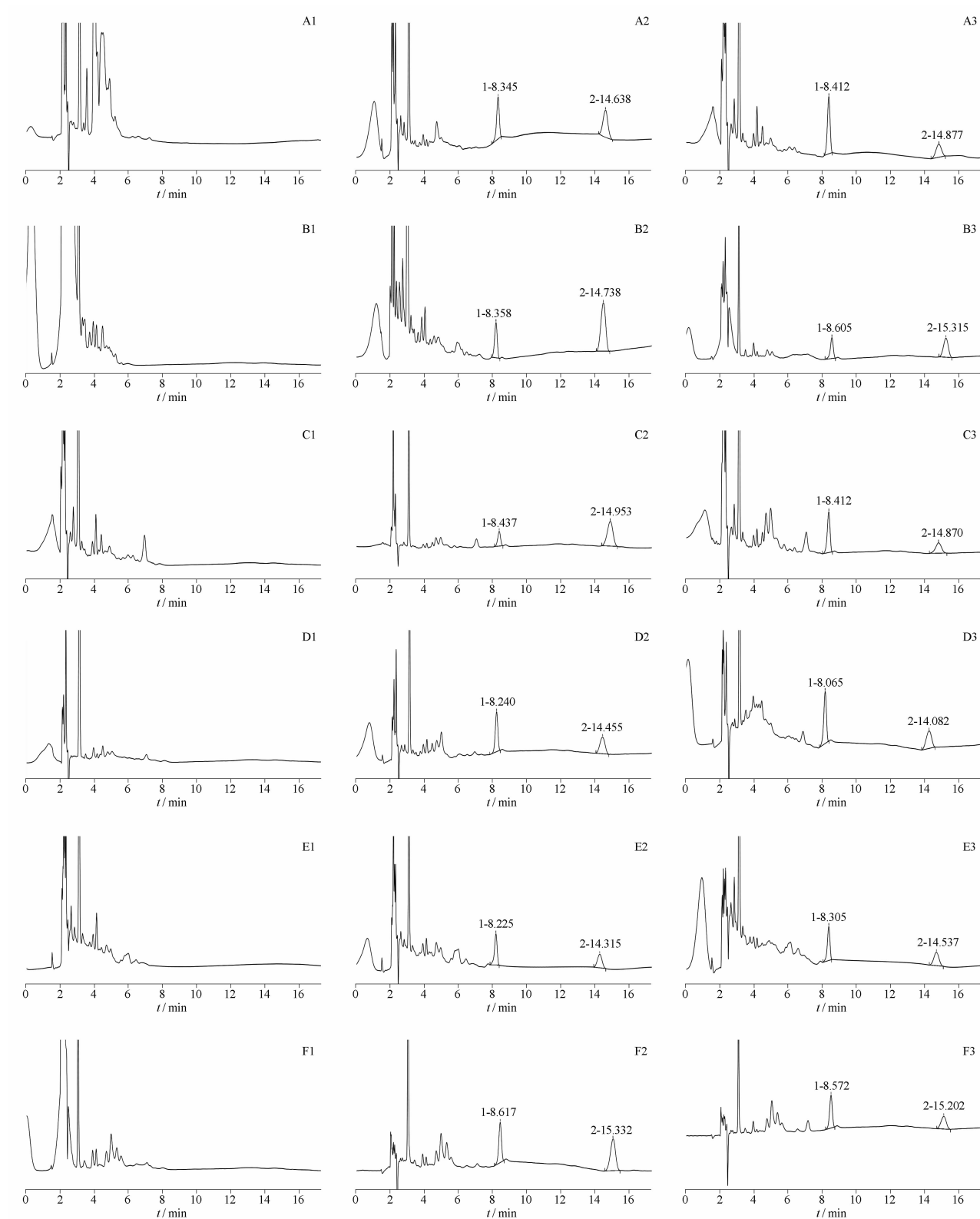
实验结果见图 5~6, 在注射白桦脂酸原料药和白桦脂酸纳米囊泡后, 药物在 2 组小鼠的体内分布存在差异, 与原料药组相比, 制剂组肝脏中的药物浓度明显提高, 说明将白桦脂酸制成纳米囊泡后可增加药物在肝脏中的分布。

使用 Excel 2020 版软件计算, 得白桦脂酸原料药和白桦脂酸纳米囊泡各组织脏器和血浆的药动学参数, 两组小鼠各组织和血浆的 AUC 、 ρ_{max} 见表 3。

由表 3 可知, 白桦脂酸纳米囊泡组与白桦脂酸原料药组相比, 各组织及血浆的 AUC 总和由 $685.31 \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$ 提高到 $1238.59 \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$, 增加了 1.81 倍, 其中, 在白桦脂酸原料药组中, 肝的 AUC 为 $222.60 \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$, 而在白桦脂酸纳米囊泡组中, 肝的 AUC 为 $638.83 \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$, 是白桦脂酸原料药组的 2.97 倍。

根据所得参数计算白桦脂酸纳米囊泡的 C_e 、 r_e 和 t_e , 结果见表 4。

由表 4 可知, 除肺组织外, 各组 C_e 值都大于 1, 表明药物在各脏器和血液中的浓度均上升, 小鼠各脏器和血浆的 r_e 值均大于 1, 表明白桦脂酸纳米囊泡在小鼠各脏器组织和血浆中都有一定的靶向效果, 肝的 t_e 值为 1.07, 大于 1, 说明白桦脂酸纳米囊泡对肝具有明显的靶向选择性。综合 C_e 和 r_e 结果, 确定肝作为主要靶向器官, 其余组织为非靶向器官。



A1 ~ F1 - 分别为心、肝、脾、肺、肾和血的空白样品色谱图; A2 ~ F2 - 分别为心、肝、脾、肺、肾和血的空白组织 + 内标 + 白桦脂酸色谱图; A3 ~ F3 - 分别为心、肝、脾、肺、肾和血浆给药后组织样品 + 内标色谱图; 峰 1 - 甘草次酸; 峰 2 - 白桦脂酸。

A1 ~ F1 - were the chromatograms of blank samples of heart, liver, spleen, lung, kidney and blood, respectively; A2 ~ F2 - were blank tissue + internal standard + betulinic acid chromatograms of heart, liver, spleen, lung, kidney and blood, respectively; A3 ~ F3 - tissue samples + internal standard chromatogram of heart, liver, spleen, lung, kidney and plasma after administration, respectively; Peak 1 - glycyrrhetic acid; Peak 2 - betulinic acid.

图 4 白桦脂酸和内标甘草次酸在组织中的高效液相色谱图

Fig. 4 HPLC of betulinic acid and internal standard glycyrrhetic acid in the tissues

表2 不同组织中白桦脂酸的线性方程

Tab. 2 Linear equation of betulinic acid in different tissues

Tissues	Standard curve	r^2	Linear range/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$
Heart	$y = 0.0422x + 0.0062$	0.9997	0.92 - 184
Liver	$y = 0.0437x - 0.0063$	0.9995	0.92 - 184
Spleen	$y = 0.0393x - 0.0108$	0.9989	0.92 - 184
Lung	$y = 0.0373x - 0.0188$	0.9983	0.92 - 184
Kidney	$y = 0.0392x - 0.0103$	0.9993	0.92 - 184
Plasma	$y = 0.0411x - 0.0132$	0.9997	0.92 - 184

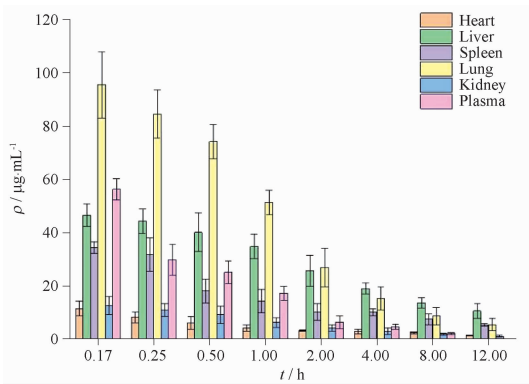


图5 注射白桦脂酸原料药后各组织及血浆中白桦脂酸的质量浓度。n = 5, $\bar{x} \pm s$

Fig. 5 Concentration of betulinic acid in tissues and plasma after injection of betulinic acid active pharmaceutical ingredient. n = 5, $\bar{x} \pm s$

表3 白桦脂酸原料药和白桦脂酸纳米囊泡小鼠体内各组织脏器和血浆的药动学参数

Tab. 3 *In vivo* pharmacokinetic parameters in mice of crude drug substance and nanovesicles groups

Parameters	Group	Heart	Liver	Spleen	Lung	Kidney	Plasma
$AUC/\mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$	Crude drug substance	34.28	222.60	111.72	217.11	36.99	62.61
	Nanovesicles	42.68	638.83	190.21	221.69	51.64	93.54
$\rho_{\text{max}}/\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	Crude drug substance	11.62	46.65	34.55	95.50	12.73	56.31
	Nanovesicles	12.58	163.85	39.11	91.81	13.71	62.03

表4 白桦脂酸纳米囊泡靶向性的评价指标

Tab. 4 Evaluation index of targeting ability of betulinic acid nanovesicles

Parameter	Mouse tissue and plasma					
	Heart	Liver	Spleen	Lung	Kidney	Plasma
Ce	1.08	3.51	1.13	0.96	1.08	1.10
re	1.25	2.87	1.70	1.02	1.40	1.49
te	-	1.07	-	-	-	-

指标可以看出白桦脂酸纳米囊泡的肝靶向性显著,在肝中的浓度普遍高于其他组织,表现白桦脂酸纳米囊泡趋向肝蓄积的特性,实现被动靶向。白桦脂酸纳米囊泡粒径小,可增加与肠道黏膜的接触面积,纳米囊泡剂型进入体循环的白桦脂酸相对增加,更有利于其药效的充分发挥;同时囊泡

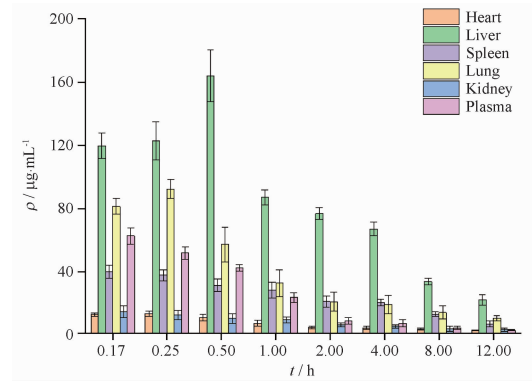


图6 注射白桦脂酸纳米囊泡后各组织及血浆中白桦脂酸的质量浓度。n = 5, $\bar{x} \pm s$

Fig. 6 Concentration of betulinic acid in tissues and plasma after injection of betulinic acid nanovesicles. n = 5, $\bar{x} \pm s$

4 讨论

纳米囊泡载药系统改变了药物在体内的分布情况,导致纳米囊泡在体内的分布与白桦脂酸原料药相比有较大的差异。注射相同剂量的白桦脂酸,白桦脂酸纳米囊泡组中各组织的总AUC是白桦脂酸原料药组的1.81倍。说明纳米囊泡在体内的暴露程度越高,吸收和利用效果更好。其次,通过白桦脂酸纳米囊泡组中肝的AUC、 ρ_{max} 、Ce、re、te等靶向

内的药物是一个缓慢暴露的过程,药物作用时间加长,提高了药物在各组织的分布、延长了药物在体内的作用时间,说明该制剂明显提高了白桦脂酸在体内的生物利用度。粒径大小是否对其他组织有靶向性以及该制剂的抗肝癌活性,需进一步考察。

REFERENCES

- [1] ANWANWAN D, SINGH S K, SINGH S, *et al.* Challenges in liver cancer and possible treatment approaches [J]. *BBA-Rev Cancer*, 2020, 1873(1): 188314. DOI: 10.1016/j.bbcan.2019.188314.
- [2] SIEGEL R L, MILLER K D, FUCHS H E, *et al.* Cancer statistics, 2022[J]. *CA Cancer J Clin*, 2022, 72(1): 7-33.
- [3] SONG J, ZHAO W, LU C, *et al.* Retraction Note to: LATS2 overexpression attenuates the therapeutic resistance of liver cancer HepG2 cells to sorafenibmediated death via inhibiting the AMPK-Mfn2 signaling pathway [J]. *Cancer Cell Int*, 2019, 19(1): 359. DOI: 10.1186/s12935-019-1084-7.
- [4] ZHENG J J. Research progress in the treatment of liver cancer [J]. *Contin Med Educ(继续医学教育)*, 2021, 35(7): 85-87.
- [5] ZHANG X Q, FAN Y Y, LIANG L L, *et al.* Research progress on the pharmacological effects of curcumin nanoparticles on digestive system tumors [J]. *Drug Eval Res(药物评价研究)*, 2022, 45(7): 1440-1445.
- [6] AN T, ZHA W, ZI J. Biotechnological production of betulinic acid and derivatives and their applications [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2020, 104(8): 3339-3348.
- [7] WANG D W, LIU H P, WANG Q D, *et al.* Protective effect of betulinic acid on isoflurane induced nerve cell injury in developing rats [J]. *Chin J Pharmacol Toxicol(中国药理学与毒理学杂志)*, 2021, 35(6): 438-443.
- [8] WANG W, WANG Y, LIU M, *et al.* Betulinic acid induces apoptosis and suppresses metastasis in hepatocellular carcinoma cell lines *in vitro* and *in vivo*[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(1): 586-595.
- [9] ZHAO Y L. Effects of betulinic acid on cerebral ischemia reperfusion injury by inhibiting autophagy through SIRT1/FoxO1 signaling pathway [D]. Changchun: Jilin University, 2021.
- [10] SUN X, REN J, ZHAN Y, *et al.* Research progress on preparation methods and pharmacological effects of betulinic acid and its derivatives [J]. *J Chin Pharm (中国药房)*, 2019, 30(4): 570-576.
- [11] ZHOU Y M, LIN L M, XIA B H. Progress in preparation and pharmacological activity of betulinic acid [J]. *Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发)*, 2016, 28(6): 978-985.
- [12] ZHOU J P. Application and prospect of nanotechnology in drug delivery [J]. *J China Pharm Univ (中国药科大学学报)*, 2020, 51(4): 379-382.
- [13] ZHOU S Y, SHAO Y Y, LI Y, *et al.* Research progress of nano-preparations of active components of traditional Chinese medicine against tumor [J]. *J Tianjin Univ Tradit Chin Med (天津中医药大学学报)*, 2020, 39(4): 374-380.
- [14] ZHAO Y, XU K X, HU H, *et al.* Research progress of nano-drug delivery system in the treatment of bladder dysfunction and bladder tumor [J]. *Chin J Pharm Ind (中国医药工业杂志)*, 2022, 53(12): 1706-1714.
- [15] XU Y H, ZHANG J, DAI Y H, *et al.* Application of nano targeting technology in novel drug delivery system of traditional Chinese medicine [J]. *Chin J Pharm (中国药理学杂志)*, 2021, 19(6): 186-192.
- [16] XIE J, SUN L Y, ZHOU T H, *et al.* Response surface optimization of water extract from *Ganoderma lucidum* and its nanoemulsion preparation technology [J]. *J Fujian Agric For Univ (福建农林大学学报)*, 2023, 52(1): 117-126.

(收稿日期:2023-10-13)