

## 脂质体对胰岛素经呼吸道吸收的影响

胡富强 袁 弘 劳国琴(杭州 310031 浙江大学药学院)

**摘要** 目的:研究胰岛素经呼吸道吸收的可能性,评价脂质体对胰岛素经呼吸道吸收的影响。方法:选用糖尿病模型大鼠,以胰岛素皮下注射为对照(1IU/kg),采用气管插管给药技术,测定模型大鼠的血糖浓度,评价药效。结果:胰岛素溶液(1IU/kg)经呼吸道给药的相对生物利用度为 79.30%,而胰岛素脂质体混悬液(1IU/kg)经呼吸道给药的相对生物利用度为 95.83%。结论:胰岛素经呼吸道给药相对生物利用度高;而胰岛素脂质体经呼吸道给药,其生物利用度与皮下注射相当。

**关键词** 胰岛素;胰岛素脂质体;呼吸道吸收;相对生物利用度

### Effects of liposomes on pulmonary insulin absorption

Hu Fuqing (Hu FQ), Yuan Hong (Yuan H), Lao Guoqing (Lao GQ) (College of Pharmaceutical, Zhejiang University, Hangzhou 310031)

**ABSTRACTS OBJECTIVE:** To study the probability of insulin pulmonary absorption and estimate the effects of liposomes on pulmonary insulin absorption. **METHODS:** Utilizing in situ diabetes animal model established with alloxan injection, insulin solution and insulin liposomes were delivered intratracheally to rats by direct instillation method at an insulin dose level of 1IU/kg. **RESULTS:** Insulin solution given by pulmonary route can significantly reduce blood glucose levels with maximal reduction of 29.39%, and the relative bioavailability was 79.30%. Insulin liposomes can also more significantly reduce blood glucose levels with maximal reduction of 46.49%, and the relative bioavailability was 95.83% as control with subcutaneously treated with the same dose of insulin solution. **CONCLUSION:** There are high relative bioavailability about insulin and insulin liposomes pulmonary absorptions and there is no significant difference of relative bioavailability between insulin liposomes pulmonary absorption and insulin solution subcutaneously treated.

**KEY WORDS** insulin, insulin liposomes, pulmonary absorption, area above the curve, relative bioavailability

吸入给药是将小剂量药物直接释入靶部位的有效给药方法。由于肺泡囊数目多,泡壁薄,且紧靠致密的毛细血管网。因此,经呼吸道给药有可能成为继生物大分子注射途径给药后又一个具有重要研究和应用价值的给药新途径<sup>[1,2]</sup>。通常,由吸入给药起效快,但作用维持时间短,而且由于多数的生物大分子生物活性高,有可能会出现全身性的不良反应。近年来,脂质体作为呼吸道释药系统引人注目。将药物包嵌或吸附于脂质体,可延长药物在肺部的滞留时间,控制药物经肺泡吸收进入人体循环的量,从而达到高效、低毒的治疗目的<sup>[3]</sup>。

胰岛素是目前治疗 I 型糖尿病的首选药物<sup>[4]</sup>。其主要给药途径为皮下注射。尽管近年来,人们采用诸

如口服、各种粘膜及经皮给药,但现有研究普遍存在生物利用度低的问题<sup>[5]</sup>。胰岛素经呼吸道给药,有可能是现有替代皮下注射给药的各种给药途径研究中,提高生物利用度的有效途径。将胰岛素制成脂质体,能延缓胰岛素经肺吸收进入人体循环的速率,增加肺脏对胰岛素的摄取,从而延长其降糖作用。

#### 1 仪器与试剂

四氧嘧啶(SIGMA 公司,进口分装);中性胰岛素注射液(徐州生物化学制药厂);卵磷脂(静注规格,进口分装);胆固醇(进口分装);SD 大鼠(浙江大学实验动物中心提供);葡萄糖测定试剂盒(卫生部上海生物制品研究所);751 型分光光度计(上海分析仪器厂);超声波处理器(上海船舶电子设备研究所);RE-521 旋转蒸发

仪(上海亚荣生化仪器厂)。

2 实验方法

2.1 大鼠糖尿病模型制备:用四氧嘧啶制备动物化学性糖尿病模型,供降血糖实验使用。取重量为 200 ~ 350g SD 雄性大鼠,蹊皮下注射 3% 四氧嘧啶(150 ~ 200mg/kg),连续 2d,观察 1 ~ 2 周,存活率 75% ~ 85%。

2.2 胰岛素脂质体的制备:将卵磷脂与胆固醇以摩尔比 7:2 溶于适量乙醚,将胰岛素溶于 pH7.4 等渗磷酸缓冲液(药物最终浓度为 2.5IU/ml),超声乳化 4 次,间隔 1min,每次超声乳化时间为 1min,将超声乳化液移至旋转蒸发器,室温旋转蒸发至凝胶状,加入 pH7.4 等渗磷酸缓冲液适量,继续旋转蒸发除去乙醚,得胰岛素脂质体混悬液。

2.3 模型大鼠皮下注射给药:模型大鼠用 2% 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉(40 ~ 50mg/kg),必要时补充适量麻醉剂,使大鼠保持浅麻状态。分别以 pH7.4 的胰岛素 PBS 溶液(2.5IU/ml)和 pH7.4 胰岛素脂质体 PBS 溶液(2.5IU/ml)皮下注射给药,给药剂量为 1IU/kg。于给药后 0.5,1,2,3,4 和 6h 从尾静脉取血 0.3ml,以血糖试剂盒测定血糖浓度。

2.4 模型大鼠气管插管给药<sup>[6]</sup>:模型大鼠用 0.2% 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉。分别以 pH7.4 的胰岛素 PBS 溶液和胰岛素脂质体 PBS 溶液(2.5IU/ml)经大鼠气管插管给药,给药剂量为 1IU/kg。于 0.5,1,2,3,4 和 6h 从尾静脉取血 0.3ml,以血糖试剂盒测定血糖浓度。

3 结果与讨论

3.1 胰岛素溶液呼吸道给药对药效学的影响:以给药前的血糖值为 100% 作为对照,将胰岛素溶液皮下注射及气管插管给药后的血糖下降百分数对时间作图(见图 1)。并计算相应的时间曲线上面积(AAC)。比较皮下注射(1IU/kg)和气管插管给药后(1IU/kg)的药效学(见表 1)。由表 1 可知,胰岛素溶液呼吸道给药的相对生物利用度为 79.30%。与除注射外的其它给药途径相比,具有较高的相对生物利用度,说明胰岛素呼吸道给药对于胰岛素新给药途径的研究具有重要的意义。

3.2 胰岛素脂质体混悬液呼吸道给药对药效学的影响:胰岛素脂质体混悬液经气管插入给药(1IU/kg)后的血糖变化见图 1,其相应的 AAC 值见表 1。与胰岛素溶液相比,经 *t* 检验发现两者之间的药效有显著性差异( $P < 0.5$ ),说明等剂量药物经肺给药后,胰岛素脂质体混悬液的药效明显强于胰岛素溶液。而胰岛素脂质体混悬液经肺给药的药效与等剂量(1IU/kg)胰岛素溶液皮下注射给药相当,经 *t* 检验证实无显著性差异( $P > 0.5$ )。

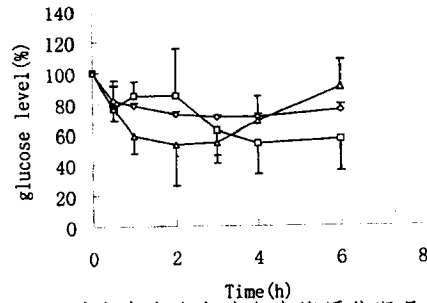


图 1 胰岛素溶液和胰岛素脂质体混悬液气管插入给药对血糖下降作用的影响( $n = 3 \sim 4$ )

△ - 胰岛素溶液皮下注射;◇ - 胰岛素溶液经肺给药;□ - 胰岛素脂质体混悬液经肺给药

表 1 各种胰岛素形式不同给药途径对药效的影响

| 给药途径 | 给药形式      | AAC    | 相对生物利用度 |
|------|-----------|--------|---------|
| 皮下注射 | 胰岛素溶液     | 189.77 | 100.00  |
| 气管插入 | 胰岛素溶液     | 150.49 | 79.30   |
|      | 胰岛素脂质体混悬液 | 181.85 | 95.83   |

由图 1 可以看出,胰岛素脂质体混悬液达到最大药效的时间要比胰岛素溶液滞后,而其作用时间明显延长,表明脂质体有较明显的长效作用。比较皮下注射和肺部给药可以看出,两者均能迅速起效,但皮下注射血糖恢复相对较快,而肺部给药血糖恢复缓慢,作用时间长,说明脂质体的长效作用比较明显。

3.3 脂质体主要由磷脂组成,而磷脂是肺泡表面活性物质的重要组成部分,因此脂质体具有良好的生物相容性而适合于肺内给药。由于脂质体能很快被肺泡吞噬细胞吞噬并贮存于肺泡中,因而使得药效的延长成为可能<sup>[7]</sup>。

3.4 目前,采用喷雾干燥或冷冻干燥制备前体脂质体,并进一步通过粉末吸入给药技术逐渐趋于成熟。由于喷雾干燥和冷冻干燥技术对药物及磷脂的化学稳定性影响较小,粉末吸入给药方便<sup>[8,9]</sup>。因此,使得胰岛素呼吸道给药系统的研究与开发成为可能。

参考文献

- 1 Byron P. Determinants of drug and polypeptide bioavailability from aerosols delivered on the lung. *Adv Drug Deli Rev*, 1990, 5:107.
- 2 Dolovich M. Lung dose, distribution, and clinical response to therapeutic aerosols. *Aerosol Sci Tech*, 1993, 18:230.
- 3 Beaulac C. Eradication of mucoid pseudomonas aeruginosa with fluid liposome - encapsulated tobramycin in an animal model of chronic pulmonary infection. *Antimicrob Agents Chemother*, 1996, 40(3):665.

- 4 Muhlhauser I, Berger M. Diabetes education and insulin therapy: when will they ever learn. *J Inter Med*, 1993, 233 : 321.
- 5 Hoover JL, Rush KF, Wilkinson JS, *et al*. Peptides are better absorbed from the lung than the gut in the rat. *Pharm Res*, 1992, 9:1103.
- 6 Shao YLZ, Mitra AK. Effect of a conjugated bile salt on the pulmonary absorption of insulin in rats. *Eur J Pharm Biopharm*, 1993, 39:216.
- 7 Taylor KMG, Taylor G, Kellaway IW, *et al*. The influence of liposomal encapsulation on sodium cromoglycate pharmacokinetics in man. *Pharm Res*, 1989, 6:633.
- 8 Goldbach P, Brochart M, Stamm A. Spray - drying of liposomes for a pulmonary administration I. Chemical stability of phospholipids. *Drug Del Ind Pharm*, 1993, 19(19):2611.
- 9 Fransen GJ, Salemink PJM, Crommelin DJA. Critical parameters in freezing of liposomes. *Int J Pharm*, 1986, 33:27.