

## 胰岛素气雾剂经正常及糖尿病大鼠肺部给药后的降血糖作用

沈赞聪 张 强<sup>1</sup> 崔纯莹 魏树礼(北京 100083 北京医科大学药剂研究室; 通讯联系人)

**摘要** 目的:研究胰岛素气雾剂经肺部给药后的降血糖作用。方法:建立了大鼠的肺部给药模型,通过经口吸入及气管内给药两种途径将溶液型胰岛素气雾剂导入大鼠肺内,采用葡萄糖氧化酶法测定给药后正常大鼠及糖尿病大鼠的血糖水平,并计算其药理生物利用度。结果:在同一种剂量下,经口吸入和气管内给药两种途径在正常及糖尿病大鼠体内均呈现显著的降血糖作用。其药理生物利用度在正常大鼠体内分别为 6.0%和 11.4%,在糖尿病大鼠体内分别为 5.6%和 8.7%。结论:胰岛素气雾剂能有效地降低正常及糖尿病大鼠血糖,为进一步开发临床治疗糖尿病的新剂型打下基础。

**关键词** 胰岛素气雾剂;降血糖作用;药理生物利用度;大鼠

### Effects of insulin aerosol on blood glucose by pulmonary delivery in normal and diabetic rats

Shen Zancong( Shen ZC) ,Zhang Qiang( Zhang Q) ,Cui Chunying( Cui CY) ,*et al*( Department of Pharmaceutics , Beijing Medical University , Beijing 100083)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE:**To study the hypoglycemic effects of insulin aerosol (INS-AOL) by pulmonary delivery. **METHOD:**The animal model for pulmonary delivery was established in rats. INS-AOL was delivered by oral inhalation or intratracheal administration in normal and diabetic rats. Blood glucose levels were examined employing the glucose oxidase method. The pharmacological bioavailabilities were calculated by trapezoidal method. **RESULTS:**When delivered to normal or diabetic rats, INS-AOL significantly reduced blood glucose level by inhalation as well as intratracheal administration. In normal rats, the pharmacological bioavailability reached 6.0% by inhalation and 11.4% by intratracheal delivery. And in diabetic rats, the pharmacological bioavailability reached 5.6% and 8.7%, respectively. **CONCLUSION:**Results indicated that INS-AOL is effective in reducing blood glucose in normal or diabetic rats. This study would be helpful for the development of a new insulin preparation for the treatment of diabetics.

**KEY WORDS** insulin aerosol, hypoglycemic effect, pharmacological bioavailability, rat

胰岛素 (Insulin, INS) 是治疗糖尿病不可缺少的多肽药物,迄今为止在临床上有效的给药途径仅为皮下或肌肉注射,长期给药使病人蒙受很大的痛苦和不便。目前在蛋白多肽药物的各种非注射给药途径中,肺部给药途径因能有效地提高这些大分子药物的生物利用度而引起了广泛的关注<sup>[1]</sup>。近年来国外正在不断研究 INS 的各种肺部给药制剂,如气雾剂<sup>[2]</sup>,粉末吸入剂<sup>[3]</sup>和雾化吸入剂<sup>[4]</sup>等,以期能替代目前应用单一的注射给药制剂,而国内在此领域的研究仍少见报道。本文在前期工作基础上,制备并考察了溶液型 INS 气雾剂经正常大鼠及糖尿病大鼠经口吸入及经气管内给药后体内血糖水平的变化,为进一步开发成临床应用的气雾剂打下基础。

### 1 材料与方

#### 1.1 材料

INS 原料 (26.3U/mg, 徐州生化制药有限公司), 戊巴比妥钠购自中国医药公司北京采购供应站; 乙腈为色谱纯, 葡萄糖氧化酶, 辣根过氧化物酶均购自 Sigma 公司。

溶液型 INS 气雾剂, 每瓶含 INS 9.15 mg, 适量的乙醇 (共溶剂) 和卵磷脂 (增溶剂) 及抛射剂 P<sub>12</sub> 和 P<sub>11</sub> (80:20) 共 15 ml,

空白制剂除不含 INS 外, 其他成分与 INS 气雾剂相同。铝制容器及阀门系统均为进口材料, 气雾剂为北京集爱制药集团加工制成, 每喷容量 62 μl。所得 INS 气雾剂经显微镜测量法测得平均粒径为 4.1 ± 2.1 μm。气雾剂每揆剂量采用反相高效液相色谱法测定, 其每揆剂量为 1.45 ± 0.08 U。

#### 1.2 糖尿病模型的建立

健康 Wistar 大鼠 (雌性, 250 ± 30g, 北京医科大学实验动物中心) 经空腹 16 ~ 18h 后, 经尾静脉注射四氧嘧啶 40 mg/kg, 一周后糖尿病形成。筛选血糖水平高于 250 mg/dl 的大鼠进行以下实验。

#### 1.3 大鼠肺部给药模型的建立及给药

正常或糖尿病大鼠以 2% 戊巴比妥钠 (40 mg/kg) 麻醉后固定于手术台上。经口吸入给药时, 用胶条封住鼻孔, 将动物与水平成 60 ~ 70° 放置, 使动物只能经口吸气而且呼吸变缓加深。气雾剂喷嘴处接一塑料管 (3 cm), 将动物舌头拉出, 并将塑料管伸至咽喉位置, 待动物吸气时揆压阀门, 完成给药。气管内给药时<sup>[2,5]</sup>, 手术区暴露气管, 于甲状软骨下第五至第六气管环之间, 用手术剪剪出一小切口, 给药时先使动物与水平垂直, 将气雾剂喷嘴接一塑料管 (3 cm), 往气管

内伸入 2 cm 左右,待动物吸气时掀压阀门,完成给药。给药后维持 30 s,再与水平成 30° 放置,动物能自主呼吸。另一组正常及糖尿病大鼠分别皮下注射 1.06 U/kg INS 溶液作为对照来计算各自药理生物利用度。

#### 1.4 血糖水平的测定

给药后在不同时间自大鼠尾尖取血 0.4 ~ 0.5 ml,待血样凝固后以 3000 rpm 分离血清,吸取血清 20  $\mu$ l,按葡萄糖氧化酶法<sup>[6]</sup>测定血糖值。酶试剂的配制及标准曲线的建立按文献方法<sup>[6]</sup>进行。建立的标准曲线方程为:  $A = 0.003 C + 0.0023$  ( $r = 0.9999$ ),其中  $C$  为血糖水平 (mg/dL),  $A$  为 505 nm 处吸收度测定值。经测定葡萄糖在血清中的高,中,低三种浓度的平均回收率分别为  $101.8\% \pm 2.4\%$ ,  $101.2\% \pm 0.9\%$ ,  $95.8\% \pm 2.2\%$  ( $n = 5$ )。

#### 1.5 INS 药理相对生物利用度计算

采用梯形法计算血糖下降曲线上的面积 (AAC) 来评价 INS 气雾剂在大鼠体内的药理相对生物利用度。AAC 的计算方法<sup>[7]</sup>为:  $AAC = \sum (T_{i+1} - T_i) [(100 - C_i) + (100 - C_{i+1})] / 2$ , 其中  $T_i, C_i$  分别为第  $i$  个取血点所对应的时间值和血糖百分数值。AAC 为所有相邻两点与 100% 水平线构成的梯形面积的总和。其计算方法与药物浓度曲线下面积 (AUC) 的计算方法类似,胰岛素的药理相对生物利用度 (PA%) 的计算<sup>[8]</sup>见公式(1)。

$$PA\% = (AAC_{0-240\text{min ih or it}}) * (Dose_{sc}) / [(AAC_{0-240\text{min sc}}) * (Dose_{ih or it})] \quad (1)$$

其中  $AAC_{0-240\text{min}}$  表示 0 至 240 min 内经梯形法计算得到 AAC 值。ih, it, sc 分别表示经口吸入, 气管内给药和皮下注射等途径。

#### 1.6 统计学处理

两组间比较采用  $t$  检验,  $P < 0.05$  被认为有显著性差异。

### 2 结果

#### 2.1 INS 气雾剂经口给药及气管内给药后对正常大鼠的降血糖作用

INS 气雾剂 (7.2 U/kg) 经口吸入和气管内给药后正常大鼠血糖变化见图 1。从血糖变化来看, INS 气雾剂经两种途径给药后均能引起大鼠体内血糖的显著下降 ( $P < 0.05$ ), 血糖到达最低点的时间在 90 min 左右。INS 气雾剂经口吸入的降血糖效果差于气管内给药 (PA% 分别为 6.0% 和 11.4%) (表 1), 经口吸入途径的效率约为气管内给药途径的 50%。

#### 2.2 INS 气雾剂经口给药及气管内给药后对糖尿病大鼠的降血糖作用

INS 气雾剂 (7.2 U/kg) 经口吸入和气管内给药后糖尿病大鼠血糖变化见图 2。INS 气雾剂经两种途径给药后均能引起糖尿病大鼠体内血糖的显著下降 ( $P < 0.05$ ), 90 min 左右血糖到达最低点。INS 气雾剂经口吸入的降血糖作用低于气管内给药途径 (PA% 分别为 5.6% 和 8.7%) (表 1), 经口吸入途径的效率约为气管内给药途径的 50%。

### 3 讨论

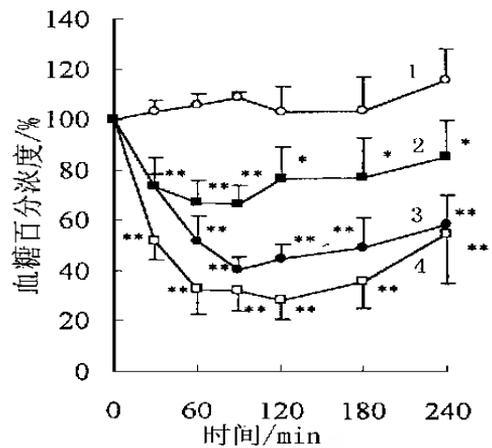


图 1 INS 气雾剂经口及气管给药后对正常大鼠体内血糖的影响

1 - 空白气雾剂经口吸入; 2 - 7.25 U/kg INS 气雾剂经口吸入; 3 - 7.25 U/kg INS 气雾剂经气管内给药; 4 - 1.06 U/kg INS 溶液皮下注射。血糖变化值以  $\bar{x} \pm s$  表示 ( $n = 5 - 6$ ), 图 2 同

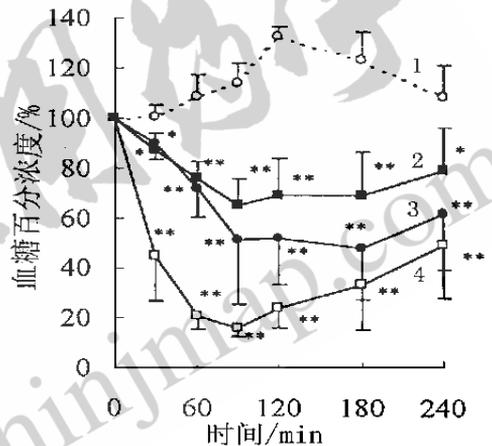


图 2 INS 气雾剂经口及气管给药后对糖尿病大鼠体内血糖的影响

表 1 INS 气雾剂经正常及糖尿病大鼠肺部给药后的药理生物利用度

给药途径	血糖曲线上面积 / min, %		药理生物利用度 / %
	均值	s	
正常大鼠			
1.06 U/kg s.c.	13862.7	2036.4	100.0
7.2 U/kg i.h.	5673.3	2319.1	6.0
7.2 U/kg i.t.	10768.1	1938.9	11.4
糖尿病大鼠			
1.06 U/kg s.c.	15516.3	1519.2	100.0
7.2 U/kg i.h.	5987.4	2179.8	5.6
7.2 U/kg i.t.	9007.5	3744.8	8.5

注: s.c. - 皮下注射; i.h. - 经口吸入; i.t. - 气管内给药

INS 为水溶性的药物, 难溶于抛射剂中, 因而过去文献中出现的 INS 气雾剂均为混悬型气雾剂<sup>[2,9,10]</sup>, 即 INS 以微粉形式混悬于抛射剂中而制得。但此法受到由于微粉化技术的限制, 制备起来较为困难, 而且容易存在物理稳定性的问题。

本文将 INS 溶解于表面活性剂中再进一步溶解到抛射剂中得到均一的溶液型气雾剂,该方法适于多数蛋白多肽药物的气雾剂制备。

动物气管内给药方法国外报道较多<sup>[2,5]</sup>,但动物一般难以自主配合,经口主动吸入模型未见报道。本文建立了动物经口吸入给药模型,较客观地模拟了人体气雾剂吸入给药过程,获得了较好的降糖效果。与气管内给药相比,药物粒子在经口吸入到达肺部的过程中,部分粒子容易被吸附或沉积于咽喉部,因而降低了吸入效率。从药理相对生物利用度角度来看,其损失达 50%左右。

INS 气雾剂对正常大鼠及糖尿病大鼠的降血糖作用比较相似。尽管正常大鼠体内具有良好的血糖自我调节系统,但由于肺部气血屏障较薄,药物吸收迅速,血糖自我调节作用并不显著。

INS 肺部给药是近年来蛋白多肽药物非注射途径给药研究的热点,生物利用度一般在 10%以上,远高于口服给药途径的生物利用度(低于 1%)。本文制备的 INS 气雾剂降血糖作用十分显著,药理生物利用度较高,对进一步开发成临床应用的制剂,具有良好的前景。

#### 参考文献

1 Robert F. Drug delivery takes a deep breath. *Science*, 1997, 277: 1199.

- 2 Okumura K, Iwakawa S, Yoshida T, *et al.* Intratracheal delivery of insulin absorption from solution and aerosol by rat lung. *Int J Pharm*, 1992, 88: 63.
- 3 Robert AG, Sherwyn LS, Michael H, *et al.* Pharmacological reproducibility of inhaled human insulin premeal dosing in patients with type 2 diabetes mellitus (NIDDM). *Diabetes*, 1998, 47( Suppl): A99.
- 4 Jenkle JH, Karlberg BE. Intrapulmonary administration of insulin to healthy volunteers. *J Int Med*, 1996, 240: 93.
- 5 Liu FY, Shao Z, Dane OK, *et al.* Pulmonary delivery of free and liposomal insulin. *Pharm Res*, 1993, 10: 228.
- 6 徐叔云,卞如濂,陈修主编. *药理实验方法学*. 第 2 版. 北京:人民卫生出版社, 1991: 1272.
- 7 Li YP, Mitra AK. A simple method of correlating pharmacodynamic equivalence with absolute bioavailability following noninvasive delivery of insulin. *Pharm Res*, 1994, 11: 1505.
- 8 Ritschel WA, Ritschel GB. Rectal administration of insulin. In B. Glas and C. J. de Blaey (eds.), *Rectal Therapy*, J. R. Prous Publishers, Spain, 1984: 67.
- 9 Lee SW, Sciarra JJ. Development of an aerosol dosage form containing insulin. *J Pharm Sci*, 1976, 65: 567.
- 10 Yoshida H, Okumura K, Hori R, *et al.* Absorption of insulin delivered to rabbit trachea using aerosol dosage form. *J Pharm Sci*, 1979, 68: 670.

收稿日期: 1999 - 07 - 16