

醋酸地塞米松固体类脂纳米粒在小鼠体内的靶向性研究

简炎林¹, 邹国芳¹, 黄园^{2*} (1.深圳市第二人民医院, 广东 深圳 518035; 2.四川大学华西药学院, 成都 610041)

摘要: 目的 探讨醋酸地塞米松固体脂质纳米粒在小鼠体内的靶向性。方法 用 HPLC 测定生物样品中醋酸地塞米松的含量, 比较醋酸地塞米松纳米粒和原药给药后在不同时间各脏器的药物含量、各脏器中药物的量占给药量的百分数及药动学参数, 以评价醋酸地塞米松固体脂质纳米粒的靶向性。结果 在肺部, 醋酸地塞米松纳米粒给药组的地塞米松含量、地塞米松量占给药量的百分数远高于原药给药组, 两者的 AUC 值相差约 16 倍。结论 醋酸地塞米松固体脂质纳米粒在小鼠体内具有肺靶向性。

关键词: 醋酸地塞米松; 药动学; 组织分布; 肺靶向

中图分类号: R943.42

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2009)06-0446-04

The Targeted Properties of Dexamethasone Acetate Solid Lipid Nanoparticles in Mice

JIAN Yanlin¹, ZOU Guofang¹, HUANG Yuan^{2*} (1.Shenzhen Second People Hospital, Shenzhen 518035, China; 2. West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the targeted properties of dexamethasone acetate solid lipid nanoparticles in mice. **METHODS** A high performance liquid chromatographic (HPLC) assay for the determination of dexamethasone acetate in various tissues of mouse was employed in this study. Targeting properties were evaluated by comparing dexamethasone acetate content, percentage of dexamethasone acetate in various organs at different time, and pharmacokinetics parameters after administration of dexamethasone acetate solid lipid nanoparticles with those after administration of active compound. **RESULTS** Dexamethasone acetate content, percentage of dexamethasone acetate in lung were higher for the dexamethasone acetate - SLN group than that for the dexamethasone acetate - propylene glycol solution group. The difference of AUC between the two groups is 16 times. **CONCLUSION** Dexamethasone acetate solid lipid nanoparticles have targeting properties for lung in mice.

KEY WORDS: dexamethasone acetate; pharmacokinetics; tissue distribution; lung-targeting

醋酸地塞米松(dexamethasone acetate, DXM)作为抗炎药物常用于肺部炎症和抗纤维化等治疗^[1], 但是糖皮质激素一系列的全身性不良反应影响了它的使用^[2]。固体脂质纳米粒(solid lipid nanoparticles, SLN)作为一种新的药物载体, 能使药物靶向于特定的组织, 提高药物治疗指数, 减少或降低药物的不良反应。笔者采用薄膜蒸发高压乳匀技术制备了醋酸地塞米松固体脂质纳米粒(DXM-SLN)冻干粉针^[3-4], 希望 DXM 可靶向于肺

部, 以较低的给药剂量发挥抗炎作用, 减少其全身性不良反应。为了评价新制剂的靶向性, 笔者对 DXM-SLN 在小鼠体内的药动学及组织分布进行了研究, 现报道如下。

1 材料

LC-10A 高效液相色谱仪(日本 Shimadzu 公司); TG16W 微量高速离心机(长沙平凡仪器仪表有限公司); KQ-250 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); DZP-6050 型真空干燥箱(上海精宏实验设备

作者简介: 简炎林, 男, 硕士, 副主任医师 Tel: (0755)83225166
Tel: (028)85501617 E-mail: huangyuan0@yahoo.com.cn

E-mail: gdszjyl@tom.com *通信作者: 黄园, 女, 教授

有限公司); GL-88B 旋涡混合器(江苏海门麒麟医用仪器厂); 甲醇(上海陆都化学试剂厂); DXM-SLN(自制, 批号: 03111102, DXM 含量为 $46.28 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$); 醋酸地塞米松对照品(中国药物生物制品检定所, 批号: DAC030903, 纯度: 98%); 甲睾酮对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 0172-9702, 纯度: 98%); 乙酸乙酯(成都市方舟化学试剂厂); 注射用 1,2-丙二醇(天津市瑞金特化学品有限公司); 磷酸氢二钠(成都科龙化工试剂厂); 昆明种小鼠, ♀ ♂ 各半, 体重(20 ± 2) g, 实验前未用任何药物(四川大学实验动物中心提供, 动物合格证号: 046)。

2 方法与结果

2.1 生物样品中醋酸地塞米松的测定方法

2.1.1 色谱条件 色谱柱: Diamonsil C_{18} 反相色谱柱($150 \text{ mm}\times 4.6 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$); 柱温: 30°C ; 检测波长为 240 nm ; 流动相为甲醇-水($70:30$); 流速: $1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 进样量 $20 \mu\text{L}$; 内标: 甲睾酮。

2.1.2 生物样品的处理和测定 取 5 只小鼠, 眼眶取血后处死, 摘取心、肝、脾、肺、肾脏器, 合并称重, 加 2 倍量蒸馏水匀浆备用; 血液重量按小鼠体重的 8% 计算, 离心后取血浆备用。取 0.5 mL 各脏器匀浆和血浆, 分别加入 pH 2 磷酸氢二钠缓冲液和内标, 乙酸乙酯萃取, 离心后取 2 mL 上清液, 减压挥干后甲醇溶解, 取上清液作为进样液。按上述色谱条件, 醋酸地塞米松、甲睾酮的分离测定不受生物样品中物质的干扰, 保留时间分别为 6.3 min 、 9.4 min 。

2.1.3 标准曲线制备 精密量取空白血浆或组织匀浆 0.5 mL , 分别加入 $100 \mu\text{L}$ 不同浓度的 DXM 标准溶液, 配制成含不同浓度 DXM 的生物样品, 按“2.1.2”项下方法处理和测定, 记录色谱图和 DXM 与内标峰面积 A_s 和 A_i , 以 DXM 浓度 $C(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$ 对 $Y=A_s/A_i$ 进行线性回归, 得各组织样品中 DXM 的标准曲线, 回归方程见表 1。

表 1 在血浆和组织中 DXM 含量测定的标准曲线方程($n=5$)

样品	线性范围/ $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	线性方程	r
心	0.000 45~0.030 5	$Y=0.062 9 C+0.067 5$	0.999 3
肝	0.002 10~0.061 0	$Y=0.103 1 C+0.118 3$	0.999 0
脾	0.000 45~0.015 25	$Y=0.124 8 C+0.102 1$	0.995 2
肺	0.001 05~0.610	$Y=0.065 8 C+0.028 9$	0.997 7
肾	0.000 45~0.030 5	$Y=0.091 4 C-0.006 8$	0.999 4
血	0.000 45~0.061 0	$Y=0.110 6 C-0.149 9$	0.997 6

由表可知, 血浆或组织中 DXM 浓度在一定的范围内, 浓度与峰面积比具有良好的线性关系($r>0.995$)。

2.1.4 方法回收率和精密度试验 精密量取空白血浆或组织匀浆 0.5 mL , 分别加入 $100 \mu\text{L}$ 不同浓度的 DXM 标准溶液, 配制成高、中、低 3 种浓度 DXM 的生物样品, 混匀, 依法测定回收率及日内和日间精密度。结果, 心、肝、脾、肺、肾、血浆中醋酸地塞米松的平均加样回收率分别为 $104.66\% \pm 3.62\%$ 、 $97.76\% \pm 1.55\%$ 、 $99.84\% \pm 3.47\%$ 、 $106.46\% \pm 1.39\%$ 、 $102.49\% \pm 6.42\%$ 、 $103.39\% \pm 1.49\%$ ($n=5$), 日内 RSD 值分别为 6.67% 、 3.75% 、 5.69% 、 9.45% 、 6.02% 、 9.21% ($n=5$), 日间 RSD 值分别为 5.82% 、 9.21% 、 9.11% 、 6.60% 、 8.88% 、 9.92% ($n=3$)。

2.2 DXM-SLN 在小鼠体内的药动力学及组织分布试验

取昆明种小鼠 70 只, ♀ ♂ 各半, 体重 $18\sim 22 \text{ g}$, 随机分为 14 组, 每组 5 只。其中 7 组为尾静脉注射 DXM-SLN 水溶液, 作为实验组, 另外 7 组注射 DXM 原药的丙二醇溶液, 作为对照组, 两组给药剂量均为 $0.010 8 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。实验组和对照组均于给药后 0.08、0.25、0.5、1、2、4、12 h 分别按“2.1.2”项下方法处理和测定, 计算血浆和各脏器中醋酸地塞米松的含量, 结果见表 2。

2.3 药物体内分布的比较

以不同时间各脏器中地塞米松的量占给药量的百分数(total administration dose, TAD)来评价实验组和对照组小鼠体内药物的分布, 结果见表 3。

从表 3 可见, 对照组肺中 DXM 的 TAD 由 0.08 h 的 1.42% 至 0.5 h 降至 0.58% , 4 h 则只有 0.15% , 而实验组肺中 DXM 的 TAD 由 0.08 h 的 33.63% 至 0.5 h 升至 59.85% , 4 h 仍有 1.59% 。值得注意的是, 实验组血中 DXM 的 TAD 普遍较对照组低。说明 DXM 制成 SLN 制剂后在肺中的分布明显升高, 而在血中的分布降低了, 见图 1。

2.4 药动力学参数的比较

应用 DAS 药动力学程序对小鼠体内药时数据进行处理, 以静脉给药模型进行拟合, 确定 DXM-SLN 在小鼠以二室模型拟合较好, 得到实验组和对照组各器官药动力学参数, 结果见表 4。

由表 4 可见, DXM 制成 SLN 制剂后, 肺部的 AUC 值明显变大, 清除率变小。说明 DXM-SLN 具有肺靶向性, 而且在肺部滞留时间变长。

表 2 DXM 在血浆和组织中的浓度(μg·g⁻¹, n=5)

Tab 2 Concentration of DXM in plasma and tissues (μg·g⁻¹, n=5)

时间/h	心		肝		脾		肺		肾		血	
	对照组	实验组	对照组	实验组	对照组	实验组	对照组	实验组	对照组	实验组	对照组	实验组
0.08	13.92	16.56	84.66	48.36	12.66	5.34	20.46	455.70	29.88	9.30	18.54	10.08
0.25	13.32	12.78	60.24	36.06	10.86	1.74	16.50	280.44	18.12	21.78	39.66	7.98
0.5	18.78	4.26	17.28	26.10	9.48	3.72	8.10	853.56	9.66	11.52	42.66	7.32
1	19.92	2.94	47.34	26.76	6.00	5.52	20.04	176.88	25.14	1.86	19.80	18.18
2	5.52	30.06	10.62	14.58	6.54	2.28	9.60	118.50	11.70	4.20	25.74	7.38
4	23.40	6.42	4.68	2.16	1.92	0.96	2.82	28.20	14.88	1.32	7.74	1.74
12	1.26	17.76	22.20	16.62	nd	nd	nd	nd	nd	9.96	nd	nd

表 3 DXM 在血浆和组织中的 TAD(%)

Tab 3 TAD(%) of DXM in plasma and tissues

时间/h	心		肝		脾		肺		肾		血	
	对照组	实验组	对照组	实验组	对照组	实验组	对照组	实验组	对照组	实验组	对照组	实验组
0.08	0.63	0.78	44.13	24.69	0.69	0.26	1.42	33.63	3.11	0.92	13.42	7.48
0.25	0.65	0.58	32.14	16.92	0.66	0.09	1.20	19.40	2.14	2.29	29.55	5.87
0.5	0.87	0.16	8.17	12.13	0.60	0.24	0.58	59.85	0.91	1.21	31.18	5.41
1	0.86	0.09	20.8	9.64	0.32	0.22	1.22	8.81	2.37	0.16	14.45	10.06
2	0.23	1.28	4.62	7.01	0.35	0.12	0.55	7.22	1.08	0.39	18.12	5.36
4	0.86	0.25	2.32	1.10	0.08	0.05	0.15	1.59	1.40	0.11	5.72	1.29
12	0.04	0.69	11.07	8.51	nd	nd	nd	nd	nd	0.83	nd	Nd

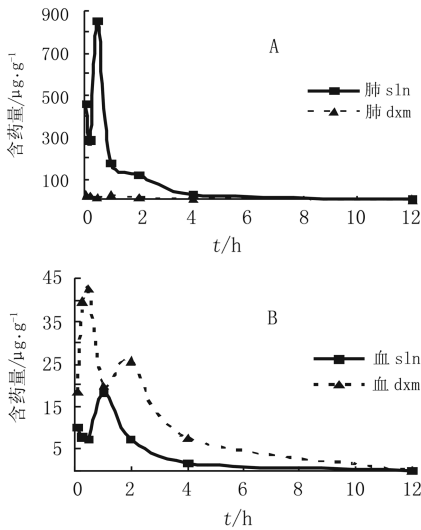


图 1 各时间点每克肺脏(A)、血(B)中含地塞米松的含量图
Fig 1 Concentration of DXM-SLN and DXM-sol in the lung(A),the blood(B) after iv adminstration

2.5 DXM-SLN 靶向性评价

以统计矩 AUC 计算靶向效率(r_e)、总靶向系数(T_e^C)和相对分布效率(R_{Te}^C), 结果见表 5。各指标的数学表达式:

$$r_e^C = (AUC_{0 \rightarrow \infty})_{TDDS} / (AUC_{0 \rightarrow \infty})_{CDDS}$$
$$T_e^C = (AUC_{0 \rightarrow \infty})_{TM} / \sum_{i=1}^n (AUC_{0 \rightarrow \infty})_i$$
$$R_{Te}^C = [(T_e^C)_{TDDS} - (T_e^C)_{CDDS}] / (T_e^C)_{CDDS} \times 100\%$$

由表 5 可见, 肺的 R_{Te} 最高, 肝次之, 其余脏器都为负值; 各脏器的靶向效率比较依次为: 肺 >

肝 > 心 > 肾 > 脾 > 血; 各脏器的总靶向系数比较依次为: 肺 > 肝 > 心 > 肾 > 血 > 脾。

表 4 DXM-SLN(E)和 DXM-sol(C)小鼠各脏器的主要药动学参数

Tab 4 Pharmacokinetic parameters of DXM-SLN(E) and DXM-sol(C) in plasma and tissues

	AUC/mg·L ⁻¹ ·h		$t_{1/2\beta}$ /h		CL/L·h ⁻¹ ·kg ⁻¹	
	C	E	C	E	C	E
心	162.55	299.54	8.46	69.32	0.08	0.05
肝	199.18	549.62	69.32	69.32	0.04	0.03
脾	31.87	14.95	2.11	2.57	0.33	0.66
肺	53.64	899.25	2.03	1.19	0.19	0.01
肾	123.43	64.70	3.83	69.32	0.10	0.17
血	119.57	39.51	2.71	3.12	0.08	0.22

表 5 DXM-SLN(E)及 DXM(C)在小鼠各脏器中的靶向性评价参数

Tab 5 Targeting evaluation of DXM-SLN(E) and DXM-sol(C)

	r_e^C	T_e^C (DXM-SLN)	T_e^C (DXM)	R_{Te}^C
心	1.84	16.04	23.55	-0.32
肝	2.76	29.43	28.86	0.02
脾	0.47	0.80	4.62	-0.83
肺	16.76	48.15	7.77	5.20
肾	0.52	3.46	17.88	-0.81
血	0.33	2.12	17.32	-0.88

3 讨论与结论

实验结果表明, 和 DXM 丙二醇溶液相比, 小鼠尾静脉给予 DXM-SLN 后, DXM 在肝、脾中的分布减少, 而在肺中的分布明显增加。(下转第 464 页)

(上接第 448 页) 提示 SLN 可以作为载体将药物传递到肺部, 实现肺靶向, DXM-SLN 在治疗肺部疾病方面具有一定的应用前景。

目前关于 SLN 靶向性的研究还存在分歧, 这可能是跟不同研究中使用的制备方法以及模型药物和 SLN 的制备原料不同有关^[5-7]。本试验中 DXM-SLN 冻干粉针的肺靶向机制可能为 SLN 在体内循环中释放速度较醋酸地塞米松丙二醇溶液缓慢, 表面活性剂在 SLN 表面形成的吸附层可有效降低吞噬细胞对 SLN 的吸收, 延长其在血液中的循环时间^[8]。其确切的机制尚待进一步研究。

REFERENCES

- [1] LI W H, SONG Z F. New advance of applicacion for glucocorticoid in the acute lung injury/acute respiratory distress syndrome[J]. Chin J Emerg Med(中华急诊医学杂志), 2005, 14(5): 435-437.
- [2] LI G W. Noticing the adverse drug reactions of glucocorticoid[J]. Chin J Int Med(中华内科杂志), 2003, 42(10): 678-679.
- [3] JIAN Y L, HUANG Y, GONG T. Optimitation of the technological process to prepare dexamethasone solid lipid nanoparticles[J]. West China J Pharm Sci(华西药学杂志), 2006, 21(4): 368-370.
- [4] LI F, JIAN Y L, YU X Q, et al. Formulation, technology and quality evaluation of dexamethasone solid lipidnanoparticles lyophilized injection[J]. J China Pharm(中国药房), 2008, 19(16): 1234-1235.
- [5] XUE K C, ZHANG S Q, GU Y, et al. Characteristics of fiver targeting lamivudyl palmitate solid lipid nanoparticle[J]. Pharm J Chin PLA(解放军药学学报), 2004, 20(1): 1-4.
- [6] YANG S C, LU L F, CAI Y, et al. Body distribution in mice of intravenously injected camptothecin solid lipid nanoparticles and targeting effect on brain [J]. J Control Release, 1999, 59(3): 299-307.
- [7] ZARA G H. Non-stealth and stealth solid lipid nanoparticles(SLN) carrying Doxorubicin : Pharmacokinetics and tissue distribution after I.V. administration to rats [J]. Pharmacol Res, 2000, 42(46): 337-343.
- [8] ZARA G H. Pharmacokinetics of doxorubicin incorporated in solid lipid nanospheres(SLN) [J]. Pharmacol Res, 1999, 40(3): 281-286.

收稿日期: 2009-03-17