

DOI:10.3724/SP.J.1008.2014.00344

小鼠口服两性霉素 B 脂质卷和胶束溶液后的组织分布

吴 诚¹, 曹 静¹, 张晓菲², 马 萍¹, 李鹏飞³, 刘丽宏^{3*}

1. 第二炮兵总医院药学部, 北京 100088

2. 北京汇文中学, 北京 100061

3. 首都医科大学附属北京朝阳医院药事部, 北京 100020

[关键词] 两性霉素 B; 脂质卷; 胶束溶液剂; 组织分布

[中图分类号] R 978.17; R 969.1

[文献标志码] B

[文章编号] 0258-879X(2014)03-0344-02

Drug tissue distribution after oral delivery of amphotericin B cochleate and amphotericin B micellar solution in mice

WU Cheng¹, CAO Jing¹, ZHANG Xiao-fei², MA Ping¹, LI Peng-fei³, LIU Li-hong^{3*}

1. Department of Pharmacy, Second Artillery General Hospital of PLA, Beijing 100088, China

2. Beijing Huiwen Middle School, Beijing 100061, China

3. Department of Pharmacy, Beijing Chaoyang Hospital, Capital Medical University, Beijing 100020, China

[Key words] amphotericin B; cochleate; micelle solution; tissue distribution

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2014, 35(3): 344-345]

两性霉素 B (AmB) 属多烯类广谱抗真菌抗生素, 是第一个用于深部真菌感染的药物。但 AmB 在水中溶解度低, 口服无效, 目前临床应用较多的为冻干粉针剂, 含去氧胆酸钠作为增溶剂, 加水溶解可形成胶束, 注射给药。但因严重的不良反应尤其是肾毒性, 极大地限制了它的临床应用。上市的 AmB 脂质给药剂型 (脂质体、胶态分散体、脂质复合物)^[1] 能显著减少 AmB 的毒性, 但均需注射给药, 且价格昂贵。

脂质卷 (cochleate) 是新型脂质给药系统, 它是一种由阳离子导致的带阴性电荷脂质体的沉淀, 呈螺旋形多层结构, 是完全脂溶性的, 没有含水的内部空间, 与传统脂质给药剂型脂质体相比具有对药物保护作用好、促进药物的细胞转运能力强等较多优势, 更适合口服给药。目前两性霉素 B 脂质卷 (CAMB) 在国外已经进入临床研究, 动物实验表明 CAMB 口服给药是安全有效的^[2-3]。本课题组在前期试验中已建立了 CAMB 的制备工艺, 并考察了自制 CAMB 制剂小鼠口服后药物的组织分布行为^[4], 本实验进一步比较 CAMB 和市售 AmB 粉针剂溶解后形成的胶束溶液在动物口服给药后药物的组织分布行为的区别。

1 材料和方法

1.1 仪器 3200QTRAP 型液相色谱-串联质谱仪, 配有电喷雾离子化源 (ESI) 以及 Analyst 1.4.2 数据处理软件 (美国 Applied Biosystem 公司); Agilent 1100 高效液相色谱系统, 包括四元输液泵、自动进样器、切换阀 (美国 Agilent 公司); SIL-20A 高效液相色谱仪 (日本岛津公司); Eppendorf 离心机 (Eppendorf 5415D, 德国); KQ-500V 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); 激光粒径测定仪 (美国 Brookhaven Instruments 公司); YKH 型液体快速混合器 (江西医疗器械厂)、匀浆机 (瑞士 POLYTRON, PT1600E)。

1.2 试药 注射用 AmB (市售, 批号: 081121, 规格: 25 mg/瓶); AmB 原料药 (市售, 批号: HAN0506301); 曲马多标准品 (中国食品药品检定研究院, 批号: 1242-200001); 甲醇为色谱纯, 其他试剂均为色谱纯或分析纯。

1.3 CAMB 的制备 取磷脂酰丝氨酸 (PS), 加蒸馏水, 置于茄形瓶中水浴超声 (功率 500 W) 0.5 h, 制备得到 PS 脂质体。将 AmB 溶于二甲亚砜 (DMSO) 溶液中, 在低速搅拌下 (400 r/min) 缓慢滴加到 PS 脂质体溶液中, 再缓慢滴加 100 mmol/L CaCl₂ 溶液, 低速搅拌 10 min, 离心, 去上

[收稿日期] 2013-06-30

[接受日期] 2013-10-11

[作者简介] 吴 诚, 博士. E-mail: wucheng19799@126.com

* 通信作者 (Corresponding author). Tel: 010-85231788, E-mail: hongllh@126.com

清,蒸馏水洗涤3次,冷冻干燥即得CAMB冻干粉。CAMB质量评价方法参见文献[4]。

1.4 体内组织分布实验给药方案 雄性BALB/c小鼠,体质量(20±2)g,购自北京大学动物部。动物分成CAMB组和AmB胶束溶液组。给药前禁食,灌胃给药后分别于2、4、8、12、24h处死小鼠^[5],摘眼球取血置于肝素化EP管中,5900×g离心5min取血浆,并解剖取心、肝、脾、肺、肾等组织,-20℃保存。每个取血点6只小鼠。两组小鼠的给药剂量均为10mg/kg,灌胃前用5%葡萄糖溶液将CAMB和注射用AmB均稀释至0.5mg/mL。血浆与组织样品中AmB浓度采用液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)测定,定量离子对(m/z):924.5→743.5(DP电压:30V;CE电压:26eV),具体方法参见文献[4]。

2 结果

2.1 CAMB的质量评价 优化的处方和工艺制备的脂质卷药物的包封率为96.7%,载药量为4.24%。制备得到的3批脂质卷的平均粒径分别1.2、1.6和1.7μm,粒径分布范围较窄,工艺简便、重现性好。

2.2 AmB在小鼠体内组织和血浆中的含量测定 由图1可见,CAMB组小鼠口服给药后各时间点组织中药物浓度均是12h时最高,而胶束溶液组均是8h时最高。两组药物均在肝、脾、肺中分布较多,而在心、肾、血浆中分布较少。其中胶束溶液组药物在心脏中分布最少,肾和血浆中各时间点药物浓度相近。两组在同一组织不同时间点药物浓度变化的比较,CAMB组在各组织中达峰时间点的药物浓度均高于胶束溶液组(血浆除外)。且CAMB组在心和肾中各时间点药物浓度高于胶束溶液组(肾组织中2h点除外),而胶束溶液组在血浆中各时间点药物浓度高于CAMB组。

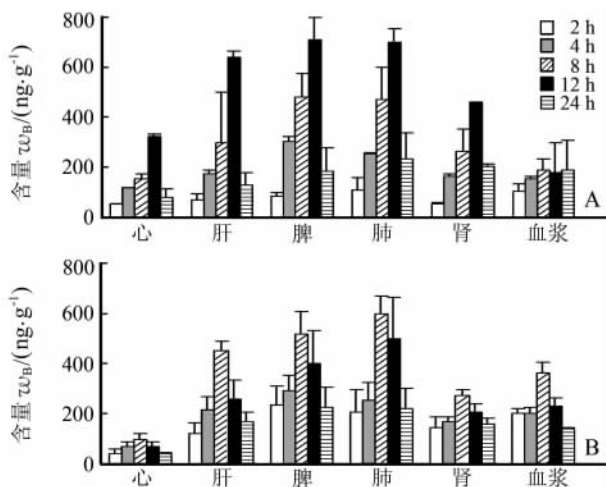


图1 CAMB(A)和AmB胶束溶液剂(B)口服后不同时间点小鼠组织与血浆中的药物浓度

CAMB: 两性霉素 B 脂质卷; AmB: 两性霉素 B. $n=6$, $\bar{x}\pm s$

3 讨论

AmB在生物药剂学分类系统中属第Ⅳ类药,即难溶解难透膜药物,口服很难吸收,文献也报道AmB原料药口服动物体内几乎不吸收^[6]。本实验主要考察前期制备的CAMB和AmB胶束溶液剂在小鼠体内的组织分布行为。关于AmB胶束溶液剂口服后的组织分布行为至今未见文献报道,本实验证实了AmB胶束溶液剂口服给药后有明显的吸收。从本实验结果来看,CAMB和AmB胶束溶液剂小鼠口服后组织分布行为相似,多分布于网状内皮组织(如肝、脾和肺组织)中,也和已上市的AmB脂类制剂注射后行为一致,减少了药物在肾组织中的分布^[7],因此这2种口服制剂的肾毒性可能均较小。本实验发现脂质卷口服后在血浆和组织中达峰时间较溶液剂晚,说明脂质卷吸收较胶束溶液慢,可能与药物包被在脂质卷中有一定的缓释作用有关。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] 吴燕,吴诚,梅兴国. 两性霉素 B 脂质载体研究进展[J]. 中国医院药学杂志,2008,28:55-57.
- [2] Zarif L, Graybill J R, Perlin D, Mannino R J. Cochleates: new lipid-based drug delivery system[J]. J Liposome Res,2000,10:523-538.
- [3] Delmas G, Park S, Chen Z W, Tan F, Kashiwazaki R, Zarif L, et al. Efficacy of orally delivered cochleates containing amphotericin B in a murine model of aspergillosis[J]. Antimicrob Agents Chemother,2002,46:2704-2707.
- [4] 吴诚,王玲,李鹏飞,刘晓枫,杨润涛,张晓菲,等. 两性霉素 B 脂质卷小鼠口服后的药物组织分布研究[J]. 北京师范大学学报:自然科学版,2010,46:513-516.
- [5] Segarra I, Movshin D A, Zarif L. Pharmacokinetics and tissue distribution after intravenous administration of a single dose of amphotericin B cochleates, a new lipid-based delivery system[J]. J Pharm Sci,2002,91:1827-1837.
- [6] Risovic V, Boyd M, Choo E, Wasan K M. Effects of lipid-based oral formulations on plasma and tissue amphotericin B concentrations and renal toxicity in male rats[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2003, 47: 3339-3342.
- [7] 吴诚,王玲,刘丽宏. 提高难透膜水溶性药物口服生物利用度的方法研究进展[J]. 国际药学研究杂志,2012,39:298-302.

[本文编辑] 尹 茶