文章编号:1000-5404(2006)22-2253-03

论著

吲哚美辛载药纳米胶束治疗大鼠实验性关节炎

李晓静[1],李晓辉[1],张建祥[2] ([1]第三军医大学基础医学部新药研究室,重庆 400038;[2]浙江大学高分子科学研究所,杭州 310031)

提 要:目的 探索负载吲哚美辛的载药共聚物纳米胶束治疗类风湿性关节炎的作用。**方法** 以大鼠叉菜胶型关节炎为模型,经关节腔内给药,评价载药纳米胶束的治疗效果。**结果** 载药纳米胶束能够显著抑制足爪肿胀,且用胶束治疗的大鼠没有胃溃疡的产生。**结论** 2种体内实验结果表明,吲哚美辛载药纳米胶束通过关节内注射能够达到持续治疗效能。局部注射给药还可避免口服给药所引起的严重的胃部刺激。

关键词: 吲哚美辛载药纳米胶束;佐剂型关节炎;角叉菜胶性关节炎;胃部刺激
中图法分类号: R593.22;R944.9;R971.1 **文献标识码:** A

Effect of indomethacin-loaded micelles on rheumatoid arthritis in rats

LI Xiao-jing[1], LI Xiao-hui[1], ZHANG Jian-xiang[2] ([1]Department of New Drug Research Center, College of Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038; [2]College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310031, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of indomethacin (IND)-loaded micelles on rheumatoid arthritis and its mechanism. **Methods** Freund's-induced adjuvant arthritis and carrageenan-induced acute arthritis in SD rats were employed to evaluate the therapeutic effect of IND-loaded polymeric micelles after intraarticuar drug administration. Fifty-six SD rats were randomly divided to receive IND-loaded micelles at a dose of 4.5, 1.5, 0.5 mg/kg respectively, IND injection, oral administration of IND, blank PNIPAm/EAB-PPP-1 micelles at the 8th day once a day for a week after subcutaneous injection of 0.1 ml Freund's into *voix pedis* of the right hind foot. The normal control rats took normal saline instead of Freund's. There were 8 rats in each group. **Results** IND-loaded micelles could inhibit the swollen joint. No rats of intraarticular drug administration developed ulceration. **Conclusion** The sustained therapeutic efficacy could be achieved through intraarticular injection of IND-loaded micelles. Local delivery of IND can avoid severe gastrointestinal stimulation that frequently results from oral administration of IND.

Key words: indomethacin-loaded micelles; adjuvant arthritis; carrageenan-induced acute arthritis; gastrointestinal stimulation

类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种常见病、多发病,主要侵犯全身各处关节,致残率极高。吲哚美辛(indomethacin, IND)是一种非甾体类抗炎药物,临床应用多为口服制剂,水溶性差,其治疗效果显著,临床应用广泛,但胃肠不良反应发生率高(治疗剂量时为35%~50%),严重可致出血、溃疡,甚至穿孔,患者耐受性差,使其应用受到了很大限制[1]。近年来开发的药物传递系统,比如脂质体、聚合物胶束等被用来增溶、稳定和传递高度疏水的药物。基于两亲共聚物的聚合物胶束具有高的结构稳定性、靶向性、水溶液中降解缓慢等特点,使得它作为理想载体包封并传递疏水药物[2]。为此,本实验以IND的疏水等分子特性为基础,以端氨基聚(N-异丙基丙烯酰胺)(PNIIPAm)为亲水侧链,以对氨基苯甲酸乙酯(EAB)为疏水基团,合成两亲性聚膦腈共聚物(PNIPAm/EAB-PPPs),再以一定量的共聚物和吲哚美辛共溶于有机溶剂中,通过透析法制得载药纳米胶束冻干粉[3,4]。在此基础上,采用大鼠角叉菜胶足爪肿胀及佐剂型关节炎模型,比较吲哚美辛纳米胶束制剂与口服制剂对大鼠关节炎的治疗效果,并观察药物对大鼠胃部的刺激情况,为吲哚美辛载药纳米胶束的应用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

清洁级健康雄性SD大鼠104只,体质量150~210 g,由第三军医大学实验动物中心提供。

作者简介:李晓静(1979-),女,河北省保定市人,硕士研究生,主要从事抗炎免疫药理学方面的研究。电话:(023)68753397
通讯作者:李晓辉,电话:(023)68753397-81,E-mail: xhl@mail.tmmu.com.cn
收稿日期:2006-09-13;修回日期:2006-10-27

1.2 药物与试剂

吲哚美辛载药纳米胶束(浙江大学材化学院联合制备);吲哚美辛(湖州康全药业有限公司);Freund 完全佐剂(上海生物制品研究所);角叉菜胶(carrageenin)(辽宁省药物研究所生产)。

1.3 实验方法

1.3.1 大鼠佐剂型关节炎实验[5](adjuvant arthritis, AA) SD 大鼠 56 只,体质量(180 ± 30)g,随机分为 7 组,每组 8 只。载药纳米胶束高(4.5 mg/kg)、中(1.5 mg/kg)、低剂量(0.5 mg/kg)给药组,IND 注射液组(溶解于 5% NaOH,1.5 mg/kg),IND 口服剂(5 mg/kg,配制为 IND 混悬液)对照组,PNIPAm/EAB-PPP-1 胶束空白对照组,正常对照组。给药组和空白对照组在大鼠右后足跖内分别皮下注射 Freunds 0.1 ml 致炎,正常对照组每只大鼠右后足跖内注射生理盐水 0.1 ml,致炎后正常饲养。到第 8 天给药组和空白对照组膝关节注射给药,IND 口服剂组灌胃给药,每天上午 10:00 1 次,连续 7 d。观察给药前后的体质量、右后足肿胀、对胃部刺激及注射部位的情况。

1.3.2 药物对胃的刺激性 于大鼠佐剂型关节炎试验第 14 天将大鼠灌胃和局部注射后,禁食 24 h,自由饮水。脱颈椎处死大鼠,结扎幽门,自食道注入 0.5% 的中性甲醛液 10 ml/只,结扎贲门,摘下全胃,浸泡在 10% 的甲醛液中,10 min 后沿胃大弯剖开,在 10 倍放大镜下记数出血淤点和溃疡损伤个数[6]。损伤结果按如下等级划分:0 级:无损伤;1 级:有少量出血淤点;2 级:弥漫性出血淤点或 1 个小溃疡点(<2 mm);3 级:2 个或更多小溃疡点(<2 mm);4 级:1 个或更多的大溃疡点(>2 mm)。

1.3.3 大鼠角叉菜胶型关节炎 SD 雄性大鼠 48 只,体质量(150 ± 30)g,分为 6 组,每组 8 只,随机分为载药纳米胶束高(4.5 mg/kg)、中(1.5 mg/kg)、低剂量(0.5 mg/kg)给药组,IND 注射液组(溶解于 5% NaOH,1.5 mg/kg),IND 口服剂(5 mg/kg)对照组,PNIPAm/EAB-PPP-1 胶束空白对照组。角叉菜胶临用前 24 h,以 0.9% 生理盐水配成 1% 的溶液。给药组和空白对照组膝关节注射给药,阳性对照组灌胃 1 h 后,大鼠右后足跖内分别皮下注射 1% 角叉菜胶生理盐水溶液 0.1 ml 致炎,分别在致炎后 0.5、2、4、6 h 用足爪容积测量仪,测定大鼠右后足跖的排水量(ml),以致炎前后的排水量之差代表足跖肿胀程度。

2 结果

2.1 对大鼠佐剂型关节炎的影响

各组大鼠肿胀高峰维持 3 ~ 4 d 之后,肿胀程度会有所降低,随即在第 8 ~ 10 天会再度肿胀。载药纳米胶束各剂量组均可显著抑制再度肿胀的程度。而 IND 注射液组在给药 3 d 左右,注射部位发生肿胀,可能导致局部吸收不良,治疗效果不理想。IND 口服剂组的体质量与对照组比较有显著降低,说明 IND 对胃部的刺激影响了胃肠功能,进食减少使体质量减轻。结果见表 1。

表 1 载药胶束对大鼠佐剂型关节炎的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg/kg)	体质量增加(g)	致炎前足容积(ml)	致炎后足跖肿胀度 (ml)					
				1 d	5 d	8 d	10 d	12 d	15 d
空白对照组	1.5	46.94 ± 8.25	1.18 ± 0.06	0.86 ± 0.08	0.76 ± 0.05	0.85 ± 0.08	0.81 ± 0.06	0.69 ± 0.06	0.78 ± 0.06
正常对照组	–	58.61 ± 6.70	1.13 ± 0.10	0.01 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.07 ± 0.01	0.07 ± 0.01	0.11 ± 0.01
IND 注射液	1.5	53.99 ± 7.70	1.16 ± 0.06	0.85 ± 0.08	0.81 ± 0.06	0.84 ± 0.07	0.65 ± 0.05^b	0.72 ± 0.04	0.69 ± 0.02^a
IND 口服剂	5.0	8.01 ± 7.93^b	1.14 ± 0.10	0.91 ± 0.07	0.75 ± 0.05	0.72 ± 0.13	0.51 ± 0.08^b	0.60 ± 0.09^a	0.39 ± 0.06^b
IND 载药	4.5	53.63 ± 9.03	1.14 ± 0.08	0.90 ± 0.06	0.79 ± 0.07	0.81 ± 0.05	0.37 ± 0.13^b	0.42 ± 0.12^b	0.29 ± 0.10^b
胶束	1.5	62.08 ± 9.48	1.12 ± 0.09	0.83 ± 0.04	0.73 ± 0.12	0.81 ± 0.04	0.45 ± 0.03^b	0.38 ± 0.07^b	0.34 ± 0.04^b
	0.5	49.30 ± 8.46	1.16 ± 0.06	0.81 ± 0.04	0.74 ± 0.04	0.74 ± 0.03	0.47 ± 0.05^b	0.57 ± 0.10^a	0.44 ± 0.04^b

a: $P<0.05$, b: $P<0.01$,与空白对照组比较

2.2 药物对胃部刺激

结果表明,IND 口服剂组对胃部有明显的刺激作用,形成了散在的淤点和溃疡,载药纳米胶束各组中只有中剂量组 1 只大鼠胃部出现 1 个淤点。载药纳米胶束各组与 IND 口服剂组有显著性差异($P<0.01$)。见表 2。

表 2 药物对胃的刺激性

组别	剂量 (mg/kg)	出血淤点 (个)	溃疡数 (个)	平均损伤程度(级)
IND 载药纳米胶束	4.5	0	0	0
	1.5	0.12 ± 0.35	0	0.12 ± 0.35
	0.5	0	0	0
IND 口服剂	5.0	15.87 ± 2.47^a	2.75 ± 1.03^a	2.62 ± 0.86^a

a: $P<0.01$,与 IND 载药纳米胶束比较

2.3 对大鼠角叉菜胶关节炎的影响

载药纳米胶束各组(0.5、1.5、4.5 mg/kg)分别在致炎后 4、2、2 h 发挥疗效,IND 注射液组和 IND 口服剂组在致炎后 4 h 发挥疗效。统计分析表明,载药纳米胶束高剂量组与 IND 注射液组和 IND 口服剂组比较,各时段均有显著性差异($P<0.05$, $P<0.01$);胶束中剂量组与之比较在 4 h 时有显著性差异($P<0.01$);而低剂量组没有显著性差异。结果见表 3。

表 3 载药胶束对角叉菜胶性大鼠足跖肿胀的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg/kg)	致炎前足容积(ml)	致炎后足爪肿胀度(ml)			
			0.5 h	2 h	4 h	6 h
空白对照组	1.5	0.94 ± 0.13	0.41 ± 0.05	0.55 ± 0.09	0.60 ± 0.10	0.62 ± 0.10
IND 注射液	1.5	0.95 ± 0.05	0.39 ± 0.04	0.50 ± 0.09	0.51 ± 0.08^a	0.51 ± 0.08^a
IND 口服剂	5.0	0.91 ± 0.07	0.39 ± 0.05	0.46 ± 0.04	0.50 ± 0.09^a	0.52 ± 0.09^a
IND 载药纳米胶束	4.5	0.93 ± 0.07	0.36 ± 0.06	0.43 ± 0.07^b	0.37 ± 0.07^b	0.33 ± 0.05^b
	1.5	0.96 ± 0.05	0.38 ± 0.09	0.45 ± 0.11^a	0.41 ± 0.09^b	0.36 ± 0.07^b
	0.5	0.93 ± 0.18	0.41 ± 0.05	0.46 ± 0.11	0.45 ± 0.07^b	0.50 ± 0.05^b

a: $P<0.05$, b: $P<0.01$,与空白对照组比较

3 讨论

传统药物的许多药理性能可以通过使用药物传递

系统(DDS)来改善。实验中所用两亲性聚膦腈聚合物胶束作为DDS具备了多种优点:①不采用化学改性,易于物理负载药物;②药物负载量大;③可控的药物释放。实验结果提示,载药纳米胶束各剂量组均未出现明显的胃溃疡症状。与空白对照组相比,载药纳米胶束高、中剂量组未出现足爪再度肿胀。这说明,通过增加吲哚美辛的水溶性,载药纳米胶束水溶液可用于局部注射给药,靶向性的作用特性避免了对胃肠道的刺激,缓释作用还有效抑制了足爪再度肿胀。角叉菜胶诱导的急性炎症模型的实验结果还表明,高剂量的负载吲哚美辛的共聚物胶束的起效速度及药效持续时间均优于对照组。说明在实现了局部注射的同时,高剂量组缓释效果明显,这也与已有的体外释药和体内药动学结果相一致。

综上,负载吲哚美辛的共聚物胶束作为可注射给药系统具有易溶性、靶向性、缓释性等特点,其应用前景良好,值得更加深入的研究。

参考文献:

[1] 陈新谦,金有豫. 新编药物学[M]. 第14版. 北京:人民卫生出版社, 1997: 160.
[2] TORCHILIN V P. Structure and design of polymeric surfactant-based drug delivery systems[J]. J Control Release, 2001, 73 (2-3): 137-172.
[3] ZHANG J X, QIU L Y, JIN Y, *et al*. Physicochemical characterization of polymeric micelles constructed from novel amphiphilic polyphosphazene with poly (N-isopropylacrylamide) and ethyl 4-aminobenzoate as side groups[J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2005, 43(3-4): 123-130.
[4] ZHANG J X, QIU L Y, JIN Y, *et al*. Multimorphological self-assemblies of amphiphilic graft polyphosphazenes with oligopoly(N-isopropylacrylamide) and Ethyl 4-aminobenzoate as side groups[J]. Macromolecules, 2006, 39(1): 451-455.
[5] 徐淑云,卞如谦,陈 修. 药理实验方法学[M]. 第2版. 北京:人民卫生出版社,1994: 723.
[6] 孙瑞元. 定量药理学[M]. 北京:人民卫生出版社,1987: 169.

(编辑 张大春)

文章编号:1000-5404(2006)22-2255-01

个案与短篇

正常家兔血液流变学参数

王宪荣,李明荣,张 弦,吴国材,何庆嘉 (第三军医大学西南医院神经外科,全军神经系统疾病微创诊治专科中心,重庆 400038)

血液流变学是一门新兴的学科[1],发展迅速,临床上对一些疾病的预防、诊断、疗效评价及预后判断有很高的应用价值和重要的理论意义。正常家兔血液流变学参数值虽有报道但结果和结论尚不一致[2-5],为此,我们对此进行探讨。

1 材料与方法

1.1 动物

健康大耳白兔25只,由第三军医大学实验动物中心提供,雄性13只,雌性12只,体质量2.0~2.3 kg,供标准饲料和水自由饮食,在实验室内适应性饲养1周后进行实验。

1.2 检测

家兔在3%戊巴比妥钠盐水液腹腔注射(40 mg/kg)麻醉下,用真空肝素钠采血管抽取大隐静脉血约3.0 ml,用FAS-CO3010B型全自动血液流变仪及配套试剂(重庆大学维多生物工程研究所产品)检测血液流变学参数。

1.3 统计学处理

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验。

2 结果

2.1 不同性别家兔血液流变学参数值的比较

从表1可知,血液流变学所有参数值雄性与雌性非常接近,差异无统计学意义($P>0.05$),于是将各指标对应的数据合并进行统计。

表1 不同性别家兔血液流变学参数值($\bar{x} \pm s$)

项目	雄性($n=13$)	雌性($n=12$)
全血高切(200 s⁻¹,mPa·s)	3.82±0.29	3.85±0.38
全血中切(30 s⁻¹,mPa·s)	4.74±0.35	4.78±0.46
全血低切(3 s⁻¹,mPa·s)	9.70±0.63	9.77±0.80
高切还原粘度	6.93±0.66	7.07±0.57
中切还原粘度	9.21±0.85	9.37±0.70
低切还原粘度	21.43±1.80	21.82±1.44
红细胞聚集指数	6.77±0.82	6.85±0.74
红细胞变形指数	0.97±0.08	0.81±0.05
红细胞刚性指数	4.08±0.77	4.20±0.58
红细胞压积(L/L)	0.41±0.03	0.40±0.03
红细胞计数	4.40±0.27	4.35±0.34
红细胞电泳时间(s)	14.31±1.07	14.45±1.40
血浆粘度(mPa·s)	1.44±0.11	1.43±0.10
卡松粘度	1.92±0.13	1.93±0.16
卡松屈服应力	9.85±0.63	9.96±0.79
红细胞压积(g/L)	3.54±0.85	3.17±0.56

(下转2258页)

作者简介:王宪荣(1933-),男,河南省南阳市人,主任医师,教授,主要从事脑血管病外科治疗方面的研究。电话:(023)68754490

收稿日期:2005-12-14;修回日期:2006-06-29