

# 大鼠外用脂质体鬼臼毒素后血液中鬼臼毒素浓度观察

张三泉<sup>1</sup> 曾抗<sup>1</sup> 袁江彬彬<sup>1</sup> 袁李建华<sup>1</sup> 袁玉胜<sup>1</sup> 袁朱晓亮<sup>1</sup> 袁李国锋<sup>2</sup> 第一军医大学南方医院<sup>1</sup> 皮肤性病科袁药学部袁广东 广州 510515

**摘要** 目的 评价大鼠外用脂质体鬼臼毒素混悬液后经时血药浓度变化规律遥方法 观察组大鼠涂抹脂质体鬼臼毒素混悬液渊载药量 0.5% 冤对照组大鼠涂抹 0.5% 鬼臼毒素酊剂遥涂药后 1 尧 2 尧 4 尧 8 尧 10 尧 12 尧 24 h 心脏采血袁用荧光光度法测定不同时间血中鬼臼毒素浓度遥结果 对照组浓度曲线下面积是观察组的 2.3 倍遥观察组用药 8 h 后鬼臼毒素血药浓度达峰值[(166.395 依 4.634)ng/ml]袁而对照组用药后 2 h 即达峰值[(378.603 依 26.105)ng/ml]遥观察组鬼臼毒素的峰值浓度较低袁与对照组相比有显著性差异渊<0.001 冤遥结论 脂质体鬼臼毒素混悬液外用后袁全身吸收明显低于外用鬼臼毒素酊剂袁表明脂质体鬼臼毒素外用后能降低全身毒副作用遥

**关键词** 脂质体 鬼臼毒素 荧光光度法 药物动力学

中图分类号 豫332;R994.1 文献标识码 豫 文章编号 院000-2588 渊002 冤 9-0782-02

## Changes in serum concentration of podophyllotoxin after its topical application with liposome on rat skin

ZHANG San-quan<sup>1</sup>, ZENG Kang<sup>1</sup>, JIANG Bin-bin<sup>1</sup>, LI Jian-hua<sup>1</sup>, XIE Yu-sheng<sup>1</sup>, ZHU Xiao-liang<sup>1</sup>, LI Guo-feng<sup>2</sup>

Departments of Dermatology<sup>1</sup> and Pharmaceutics<sup>2</sup>, Nanfang Hospital, First Military Medical University, Guangzhou 510515, China

**Abstract:** Objective To investigate the changes of serum concentration of podophyllotoxin after topical application of liposome podophyllotoxin suspension on rats skin. Methods SD rats were used in this study, which were divided into test group (n=48) to receive application of liposome podophyllotoxin (0.5%) suspension and control group (n=48) treated with 0.5% podophyllotoxin alcohol solution. Blood samples were obtained from the heart at 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 and 24 h respectively after drug application, and the serum concentration of podophyllotoxin was determined by spectrofluorometry. Results The area under the curve of plasma drug concentration of the control group was 2.3-fold greater than that of the test group. Eight hours after drug application, the serum concentration of podophyllotoxin reached the peak in the test group, while in the control group, only two hours was needed to reach the peak. The peak serum level of podophyllotoxin in the test group were significantly lower than that of the control group (166.395 依 4.634 ng/ml vs 378.603 依 26.105 ng/ml, P < 0.001). Conclusion The systemic absorption of podophyllotoxin in rats after its topical application in liposomes suspension is significantly lower than that after application of 0.5% podophyllotoxin alcohol solution, therefore the systemic toxicity may be reduced.

**Key words:** liposome; podophyllotoxin; spectrofluorometry; pharmacokinetics

脂质体作为靶向性药物载体是当前具有重大理论和应用价值的研究领域遥本研究用二棕榈酰磷脂酰胆碱渊PPC 冤作为膜材制成脂质体包裹鬼臼毒素袁利用其可使包裹药物对表皮的靶向性浓集特性袁使鬼臼毒素向表皮细胞浓集并缓慢释放袁达到用药局部有较高的药物浓度而系统吸收较少遥本实验旨在测定脂质体鬼臼毒素外用后鬼臼毒素的血药浓度袁推测脂质体鬼臼毒素外用的全身吸收规律遥

## 1 资料与方法

### 1.1 实验动物

收稿日期 院002-04-22

基金项目 院国家自然科学基金渊997068 冤

作者简介 袁张三泉 渊1970- 冤男 袁河南正阳人 袁2002 年毕业于第一军医大学袁主治医师 袁在读博士研究生 袁电话 院20-61641984

SD 大鼠购自第一军医大学实验动物中心袁雌雄不拘袁体重 渊00 依 0 冤 g 遥

### 1.2 主要试剂及仪器

脂质体鬼臼毒素混悬液的制备方法及其质量鉴定等参考文献 咱 遥本研究用凝胶过滤法测得脂质体的包封率为 (74.3 依 1.1) % 遥 0.5% 鬼臼毒素酊剂 渊国产 袁脱欣 冤 渊无水乙醇和三氯乙酸均为汕头市光华化学厂产品 冤 分析纯 袁 RF-5000 荧光分光光度计 渊日本岛津 冤 渊 TGL-1G 台式低温超速离心机 渊日本日立公司 冤 遥

### 1.3 方法

1.3.1 分组 实验大鼠随机分为 2 组 袁每组 48 只 遥观察组涂抹 0.5% 脂质体鬼臼毒素混悬液 袁对照组涂抹 0.5% 鬼臼毒素酊剂 遥

1.3.2 涂药方法 大鼠用异戊巴比妥钠 渊5mg/kg 冤 b.w. 渊麻醉后 冤 渊俯卧位固定大鼠于操作台上 袁选取右侧背

部约 1.5cm×1.5cm 作为涂药区。用电动剃须刀剃净鼠毛。用 2ml 注射器吸取药物。每次涂药量均为 6 滴。控制涂药量相同。用玻璃棒轻轻涂抹药物约 20s。使药物分布均匀。分别在取血前 1、2、4、6、8、10、12 及 24h 涂药。每个时间点涂 6 只大鼠。

1.3.3 取材 最后一次涂药结束同时大鼠心脏采血 3~4ml。并取空白血清。

1.3.4 测定方法

1.3.4.1 绘制标准曲线 精密称取鬼臼毒素 10mg。用无水乙醇稀释。配制成浓度为 100mg/L 的标准储备液 100ml。备用。取空白血清。低温离心 10000r/min。15 min。取血清 2 ml。加入三氯乙酸 100 mg/ml。振荡 2min。离心 1000r/min。5 min。得去蛋白的血清液。取储备液加用无水乙醇稀释成 50、100、200、500 ng/ml。用荧光分光光度法测定荧光值。绘制标准曲线。空白血清相同稀释倍数后。同样测定荧光值。表明空白血清对鬼臼毒素的荧光测定没有影响。

1.3.4.2 样品测定 样品血如上法分离得去蛋白血清。分别取去蛋白血清 1ml。用无水乙醇稀释成适当的倍数。用荧光分光光度法测定荧光值。根据随行标准曲线得出各样品的鬼臼毒素浓度。

1.4 统计方法

采用 SPSS8.0 统计软件进行统计分析。差异的显著性分析采用两组完全随机化设计资料均数的 t 检验。鬼臼毒素血药浓度(C<sub>p</sub>)的曲线下面积 (area under the plasma concentration curve, AUC) 根据扫描结果。

运用公式  $AUC = \sum_{i=1}^n (C_i + C_{i+1}) (t_{i+1} - t_i) / 2$  计算。

2 结果

2.1 标准曲线

标准浓度的鬼臼毒素溶液的荧光值 X/EM 290/633nm。狭缝均为 2nm。与浓度的关系经相关分析处理。r=0.999。说明鬼臼毒素浓度 10~500ng/ml 和荧光强度呈线性关系。测定方法的回收率为 5.6%~7.7%。

2.2 样品检测结果

0.5% 脂质体鬼臼毒素混悬液与对照组。0.5% 鬼臼毒素酊剂外用后鬼臼毒素的血药浓度见图 1。结果显示。对照组鬼臼毒素的血药浓度上升较快。在涂药 2 h 后血药浓度达到峰值 [(166.395 ± 4.634) ng/ml]。观察组鬼臼毒素的血药浓度上升缓慢。在涂药 8 h 后血药浓度才达到峰值 [(378.603 ± 6.105) ng/ml]。观察组涂药后鬼臼毒素的血药峰值浓度明显低于对照组。两者相比有显著性差异 (P<0.001)。鬼臼毒素的 AUC 结果显示。鬼臼毒素酊剂 AUC 609.347

ng/ml。是脂质体制剂 AUC 20.157ng/ml 的 2.3 倍。说明脂质体鬼臼毒素混悬液外用的全身吸收较鬼臼毒素酊剂少。由于本实验采用各时间点涂 6 只大鼠。只能算出平均 AUC。

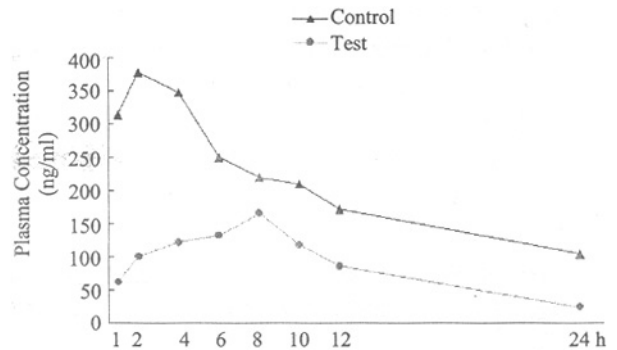


图 1 两种剂型涂药后不同时间鬼臼毒素的血药浓度变化曲线  
Fig.1 Curve of changes in plasma concentration of podophyllotoxin after drug application by the two methods  
Control: Podophyllotoxin alcohol solution; Test: Liposome podophyllotoxin

3 讨论

0.5% 的鬼臼毒素酊剂作为治疗尖锐湿疣的首选药物在临床上广泛应用。但鬼臼毒素酊剂只能消除可见皮损。对潜伏感染效果不佳。因此难以预防尖锐湿疣的复发。而且大面积使用时易产生吸收毒性。限制了它的使用。我们在前期研究中发现鬼臼毒素本身具有可测的紫外荧光性。为本研究建立的荧光分光光度测定法测定药物浓度提供了依据。结果显示血药浓度在 50~500 ng/L 的范围内。血药浓度和荧光值相关性很好。同时空白血清对鬼臼毒素的测定无影响。说明该方法准确可靠。可作为临床上监测鬼臼毒素血药浓度的方法。

El-Ridy 等<sup>[1]</sup>局部应用脂质体盐酸利多卡因延长了利多卡因麻醉起效时间。也明显增加麻醉持续时间。有研究证实脂质体局部药物传送系统传送药物至局部组织。局部组织的浓度较高且持续时间长。而血中没有检测到该药物。本研究结果显示鬼臼毒素酊剂的 AUC 是脂质体制剂的 2.3 倍。并且脂质体制剂的血药峰值浓度显著低于鬼臼毒素酊剂的血药峰值浓度 (P<0.001)。提示脂质体鬼臼毒素制剂能使鬼臼毒素在皮肤内缓慢释放。与以往的研究结论相符。既然鬼臼毒素酊剂在临床上广泛用于治疗尖锐湿疣。而且我们研制的脂质体鬼臼毒素外用后的血药浓度远远低于鬼臼毒素酊剂。那么用脂质体鬼臼毒素治疗尖锐湿疣也应该是安全的。初步临床研究显示脂质体鬼臼毒素毒副作用明显减少。Wang 等<sup>[2]</sup>的研究认为脂质体作为靶向性药物载体。促进了药物选择性聚