

糖皮质激素前体药在大鼠胃肠道中定位转释的药代动力学

周四元, 梅其炳*, 周瑾, 刘莉, 李晨, 赵德化

(第四军医大学药理学教研室, 陕西 西安 710032)

摘要: 目的 探讨以葡聚糖(平均分子量 26 万)为载体的地塞米松前体药在大鼠胃肠道内的转释特性。方法 前体药按 $5 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ 地塞米松(Dex)给大鼠 ig, 采用 HPLC 监测前体药在大鼠胃肠道不同部位释放出 Dex 的动力学过程及血药浓度。结果 前体药 ig 后, Dex 集中分布在盲肠和结肠内容物及粘膜中, C_{peak} 为 $32 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$; Dex ig 后, 主要分布在胃、小肠近端及远端内容物和粘膜中, C_{peak} 为 $2120 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。结论 该前体药可将 Dex 特异地转运到结肠和盲肠, 是一种治疗炎症性肠病的潜在药物。

关键词: 前体药; 地塞米松; 葡聚糖; 药代动力学

中图分类号: R969.1; R977.1

文献标识码: A

文章编号: 0513 - 4870(2001)05 - 0325 - 04

理想的结肠定位控释系统应能精密调控药物的释放, 改善药物在体内的动态变化, 在减少用药剂量的同时提高结肠部位的浓度, 从而最大限度地提高药物的疗效, 减少毒副作用。以平均分子量 2 万的葡聚糖为载体的地塞米松前体药具有一定的结肠定位释放潜力^[1]。为研究葡聚糖分子量对前体药递药性能的影响, 我们以平均分子量 26 万的葡聚糖为载体合成了另外一个地塞米松前体药, 体外实验发现新合成的前体药符合结肠控释特征。但是释药系统进入体内以后, 由于受各种生理因素的影响, 体外的释药特征往往不能完全反映体内的释药过程。本研究从体内药代动力学角度对新合成的结肠定位释放前体药进行评价。

材料与方 法

材料和仪器 地塞米松(dexamethasone, Dex), 天津药业公司生产, 批号 98-8-2; 强的松(prednisone)、强的松龙琥珀酸半酯(prednisolone-hemisuccinate), 购自 Sigma 公司; 地塞米松前体药(以分子量 26 万的葡聚糖为载体自行合成, 每 100 mg 前体药含 8.1 mg Dex)。动物: Sprague-Dawley (SD) 系大鼠, ♀♂兼用, 体重(255 ± 20) g, 由第四军医大学实验动物研究中心提供, 动物合格证: 陕医动字第 08-014 号。168 型高效液相色谱仪(美国

Beckman 公司生产)。PKBP-NI 药代动力学和生物药剂学程序包(南京军区总院研制)。

大鼠体内 Dex 的检测 采用反相高效液相色谱法测定大鼠胃肠道内容物、粘膜及血浆中 Dex 含量^[2]。色谱柱为 C_{18} 柱(250 mm × 4.6 mm, Beckman 公司生产), 流动相组成为 35% 乙腈及 65% 柠檬酸三钠溶液(pH 4.1, $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$), 流速 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。检测波长为 242 nm。

标本处理 将 SD 大鼠随机分为 18 组(前体药组及 Dex 组各 9 个时间点), 按 $5 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 Dex 剂量分别 ig 给予地塞米松前体药及 Dex, 于给药后 1, 2.5, 3.5, 4.5, 6, 9, 10.5, 12 和 15 h 用乙醚麻醉大鼠, 腹主动脉采集抗凝血标本(肝素抗凝); 并立即取胃、小肠近端、小肠远端、盲肠、结肠粘膜及内容物。①粘膜均用 NaH_2PO_4 - Na_2HPO_4 缓冲液(4℃, $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 6.8)制成 $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 匀浆液。取匀浆液 0.7 mL, 加入 0.7 mL 饱和 NaCl 溶液及 0.2 mL 强的松龙琥珀酸半酯溶液($6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 内标), 用 2 mL 甲基叔丁醚与正戊烷的混合液(6:4)提取两次, 每次取有机层溶液 1.5 mL, 共 3 mL 于尖底试管中, 通风橱中挥干。残留物用甲醇 50 μL 溶解, 20 μL 用于高效液相色谱分析。②内容物的处理方法同①。③抗凝全血经 $2500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 取血浆 1 mL, 加入强的松溶液($1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 内标) 0.2 mL, 其余步骤同①。

结 果

1 检测 Dex 的标准曲线回归方程

收稿日期: 2000-08-14.

作者简介: 周四元, 男, 讲师.

* 通讯作者 Tel: (029) 3374555, Fax: (029) 3374552,

E-mail: pharml.2@fmmu.edu.cn

本文所用的 Dex 提取方法, 提取回收率为 87.4% ± 4.6% (n = 4), 提取液中杂质少, 溶剂挥发快。测定内容物中 Dex 标准曲线的回归方程为 $Y = 0.0031 X - 0.0191$, $r = 0.9967$, 线性范围 0.08 - 9.60 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 回收率为 99.6% ± 4.2%, 日内 RSD = 1.8%, 日间 RSD = 2.6% (n = 5, Dex 的加入量为 1.2 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)。测定血浆中 Dex 的标准曲线的回归方程为 $Y = 0.00065 X - 0.00943$, $r = 0.9989$, 线性范围 4.0 - 500.0 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 回收率为 98.3% ± 3.2%, 日内 RSD = 2.1%, 日间 RSD = 3.4% (n = 5, Dex 的加入量为 80.0 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)。测定粘液中 Dex 的标准曲线的回归方程为 $Y = 0.0043 X - 0.0214$, $r = 0.9952$, 线性范围 0.04 - 2.60 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 回收率为 100.3% ± 4.6%, 日内 RSD = 2.4%, 日间 RSD = 3.8% (n = 5, Dex 的加入量为 1.0 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)。

2 地塞米松 ig 后在大鼠胃肠道不同部位的分布

地塞米松 ig 后, 主要分布在胃、小肠近端及小肠远端内容物及粘液中。在盲肠、结肠内容物及粘液中分布很少。其分布的趋势是自胃肠道上部到下部逐渐减少(表 1, 表 2)。

3 前体药 ig 后 Dex 在大鼠胃肠道不同部位的分布情况

前体药 ig 后 15 h 内, 在胃、小肠近端及小肠远端内容物及粘液中均未检测到 Dex 的释放。前体药 ig 后 4.5 h, 在盲肠和结肠内容物中有一定量的 Dex 释放(表 3, 表 4), ig 后 6 - 10.5 h, 在结肠处的释放量达最大。

Tab 1 Concentration of dexamethasone (Dex) in contents of different parts of rat gastrointestinal tract after oral administration of free Dex. Dose of free Dex was 5 $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$. n = 6, $\bar{x} \pm s$

Time / h	Dex / $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ contents				
	Stomach	PSI	DSI	Cecum	Colon
1	8.7 ± 1.3	3.42 ± 0.13	1.6 ± 0.4	0.32 ± 0.16	-
2.5	5.9 ± 0.8	1.44 ± 0.25	2.3 ± 0.4	1.34 ± 0.20	1.13 ± 0.21
3.5	4.2 ± 0.6	1.4 ± 0.4	1.8 ± 0.4	1.7 ± 0.4	1.6 ± 0.4
4.5	2.6 ± 0.3	1.16 ± 0.22	1.3 ± 0.4	1.11 ± 0.20	1.13 ± 0.16
6	2.3 ± 0.6	0.96 ± 0.20	0.84 ± 0.19	0.96 ± 0.08	0.98 ± 0.20
9	1.5 ± 0.6	0.73 ± 0.09	0.68 ± 0.21	0.47 ± 0.04	0.84 ± 0.20
10.5	0.9 ± 0.5	0.56 ± 0.18	0.40 ± 0.14	0.35 ± 0.17	0.56 ± 0.23
12	0.73 ± 0.08	0.41 ± 0.08	0.25 ± 0.07	0.20 ± 0.06	0.46 ± 0.10
15	0.32 ± 0.05	-	-	-	-

PSI: proximal small intestine; DSI: distal small intestine.

- : non-detectable

Tab 2 Concentration of Dex in mucosa of different parts of rat gastrointestinal tract after oral administration of free Dex. Dose of free Dex was 5 $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$. n = 6, $\bar{x} \pm s$

Time / h	Dex / $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ mucosa				
	Stomach	PSI	DSI	Cecum	Colon
1	2.82 ± 0.20	1.0 ± 0.5	0.27 ± 0.10	-	-
2.5	1.27 ± 0.11	0.49 ± 0.22	0.33 ± 0.05	0.29 ± 0.04	0.15 ± 0.03
3.5	0.97 ± 0.23	0.38 ± 0.15	0.42 ± 0.18	0.53 ± 0.19	0.36 ± 0.11
4.5	0.70 ± 0.25	0.32 ± 0.12	0.20 ± 0.06	0.50 ± 0.20	0.45 ± 0.18
6	0.48 ± 0.21	0.12 ± 0.12	0.09 ± 0.03	0.30 ± 0.10	0.20 ± 0.10
9	0.25 ± 0.06	0.08 ± 0.02	0.04 ± 0.01	0.06 ± 0.02	0.10 ± 0.04
10.5	0.13 ± 0.05	0.03 ± 0.02	0.03 ± 0.02	0.04 ± 0.01	0.08 ± 0.04
12	0.08 ± 0.03	-	0.02 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.05 ± 0.02
15	-	-	-	-	-

PSI: proximal small intestine; DSI: distal small intestine. - : non-detectable

Tab 3 Concentration of Dex released in contents of different parts of rat gastrointestinal tract after oral administration of prodrug. Dose of prodrug was 5 $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$. n = 6, $\bar{x} \pm s$

Time / h	Dex / $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ contents				
	Stomach	PSI	DSI	Cecum	Colon
1	-	-	-	-	-
2.5	-	-	-	-	-
3.5	-	-	-	-	-
4.5	-	-	-	0.48 ± 0.14	0.35 ± 0.15
6	-	-	-	1.4 ± 0.6	1.2 ± 0.4
9	-	-	-	0.77 ± 0.21	1.5 ± 0.6
10.5	-	-	-	0.62 ± 0.27	0.9 ± 0.4
12	-	-	-	0.45 ± 0.26	0.48 ± 0.21
15	-	-	-	-	0.21 ± 0.10

PSI: proximal small intestine; DSI: distal small intestine. - : non-detectable

Tab 4 Concentration of Dex in mucosa of different parts of the gastrointestinal tract after oral administration of prodrug to rats. Dose of prodrug was 5 $\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$. n = 6, $\bar{x} \pm s$

Time / h	Dex / $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ mucosa				
	Stomach	PSI	DSI	Cecum	Colon
1	-	-	-	-	-
2.5	-	-	-	-	-
3.5	-	-	-	-	-
4.5	-	-	-	0.07 ± 0.04	-
6	-	-	-	0.21 ± 0.07	0.10 ± 0.04
9	-	-	-	0.37 ± 0.16	0.25 ± 0.05
10.5	-	-	-	0.21 ± 0.10	0.13 ± 0.05
12	-	-	-	0.12 ± 0.06	0.08 ± 0.03
15	-	-	-	-	-

PSI: proximal small intestine; DSI: distal small intestine. - : non-detectable

4 前体药 ig 后血药浓度的变化及药代动力学参数

将前体药及 Dex 给大鼠 ig 后,血药浓度变化如表 5 所示。经 PKBP-NI 药代动力学和生物药剂学程序包分析,大鼠口服前体药及 Dex 的体内过程符合一室模型。前体药的药代动力学参数:Lag time 为 4.1 h, Ka 为 0.36, Ke 为 0.32, T_{peak} 为 8.1 h, C_{peak} 为 $32 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, AUC 为 $240 \mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$ 。Dex 的药代动力学参数:Lag time 为 0.3 h, Ka 为 0.81, Ke 为 0.32, T_{peak} 为 2.2 h, C_{peak} 为 $2120 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, AUC 为 $11875 \mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$ 。与 Dex 比较,前体药 ig 后,药物吸收进入血液循环的速度较慢,滞后时间较长。

Tab 5 Concentration of Dex in rat plasma after oral administration of free Dex and prodrug. Dose of free Dex and prodrug was $5 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$. $n=6$, $\bar{x}\pm s$

Time / h	Dex / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	
	Prodrug	Free Dex
1	-	1641 \pm 151
2.5	-	1881 \pm 119
3.5	-	1778 \pm 242
4.5	9 \pm 6	1502 \pm 178
6	20 \pm 8	991 \pm 112
9	31 \pm 11	433 \pm 102
10.5	26 \pm 10	286 \pm 79
12	19 \pm 9	150 \pm 31
15	9 \pm 7	50 \pm 19

- : non detectable

讨 论

地塞米松前体药是 Dex 与多糖通过酯键相连接而成的大分子药物,其物理、化学性质已完全不同于 Dex。因此,大鼠 ig 给予地塞米松前体药及 Dex 后,两类药物在大鼠胃肠道转运吸收的动力学过程差异显著。首先,活性药物在胃肠道内容物及粘膜中的分布可直观反映药物在胃肠道中的转运。地塞米松 ig 后, Dex 主要分布于胃、小肠近端内容物及粘膜中(表 1, 表 2); 而前体药 ig 后, Dex 则主要分布在大鼠盲肠、结肠内容物及粘膜中,并且 Dex 的释放量随时间变化缓慢(表 3, 表 4)。这说明地塞米松前体药不仅具有结肠定位释放作用,而且还具有一定的缓释效果,这将有利于对炎症性肠病的治疗。其次,血液中外源性糖皮质激素水平的高低与肾上腺皮质抑制、免疫抑制等一系列副作用的产生有直接关系^[3], 而曲线下面积(AUC)可反映进入体循环

糖皮质激素的相对量^[4]。比较前体药及 Dex 的曲线下面积,可以看出前体药 ig 后,吸收入血的 Dex 量是同等剂量地塞米松 ig 后的 2%。因此用前体药治疗炎症性肠病时,可以降低或避免糖皮质激素的副作用。

以平均分子量 2 万的葡聚糖为载体的地塞米松前体药给大鼠 ig 后,在小肠远端释放出 Dex 的最大量约是结肠中释放出 Dex 最大量的 1/4^[1]。而以平均分子量 26 万的葡聚糖为载体的地塞米松前体药给大鼠 ig 后,只是在结肠和盲肠处释放 Dex。说明葡聚糖的分子量对前体药的结肠定位释放特异性有明显影响,大分子量多糖的骨架结构更能有效保护其与地塞米松之间相连接的酯键,使其免受上消化道羧酸酯酶的裂解。

据报道,以葡萄糖、半乳糖、纤维素二糖及葡糖苷酸等小分子为载体的糖皮质激素前体药也有一定的结肠定位释放特性,其中以地塞米松-葡糖苷酸的结肠定位释放特异性为最佳^[5-8]。Fedarak 等^[8]的研究结果表明,地塞米松-葡糖苷酸给大鼠 ig 后,在胃肠道上部有一定量的 Dex 释放,吸收入血的 Dex 量可达到同等剂量地塞米松 ig 后的 39%。而本研究表明,以葡聚糖(平均分子量 26 万)为载体的地塞米松前体药给大鼠 ig 后,吸收入血的 Dex 量只有同等剂量地塞米松 ig 后的 2%,提示与小分子递药载体相比,高分子多糖是一种更具潜力的结肠定位释放递药载体,有进一步研究和开发的价值。

REFERENCES:

- [1] Zhou SY, Mei QB, Zhou J, et al. Pharmacokinetic studies on color-specific dexamethasone prodrug [J]. *Chin J Pharmacol Toxicol* (in Chinese), 2000, 14(6): 445 - 448.
- [2] Haeberlin B, Rubas W, Nolen HW, et al. *In vitro* evaluation of dexamethasone- β -D-glucuronide for color-specific drug delivery [J]. *Pharm Res*, 1993, 10(11): 1553 - 1562.
- [3] English JJ, Chakraborty J, Marks V, et al. Prednisolone levels in the plasma and urine: a study of two preparations in man [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 1975, 2(2): 327 - 332.
- [4] Jiang MX. *Pharmacology* [M]. 4th Edition. Beijing: People's Medical Publishing House, 1997. 25.
- [5] Friend DR, Chang GW. Drug glycosides: potential prodrug for color-specific drug delivery [J]. *J Med Chem*, 1985, 28(1): 51 - 57.
- [6] Friend DR, Chang GW. Color-specific drug delivery system based on drug glucosides and the glucosidases of colonic bacteria [J]. *J Med Chem*, 1984, 27(3): 261 -

266.

[7] Tozer TN, Rigod J, Mcleod AD, *et al.* Colon-specific drug delivery of dexamethasone from a glucoside prodrug in the guinea pig [J]. *Pharm Res*, 1991, 8(4): 445 - 454.

[8] Fedorak RN, Haeberlin B, Empey LR, *et al.* Colonic delivery of dexamethasone from a prodrug accelerates healing of colitis in rats without adrenal suppression [J]. *Gastroenterology*, 1995, 108(6): 1688 - 1699.

PHARMACOKINETICS OF SITE SPECIFIC DELIVERY OF DEXAMETHASONE DEXTRAN PRODRUG IN RAT GASTROINTESTINAL TRACT

ZHOU Si-yuan, MEI Qi-bing, ZHOU Jin, LIU Li, LI Chen, ZHAO De-hua

(*Department of Pharmacology, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China*)

ABSTRACT: **AIM** To explore whether dexamethasone-dextran (260 000) has the characteristics of site-specific delivery in rat gastrointestinal tract. **METHODS** Dexamethasone prodrug and dexamethasone were administered to rat ig at the dose of $5 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$. The distribution of dexamethasone in the contents and mucosa of different parts of the rat GI tract at different time intervals and its concentration in plasma were determined by HPLC. **RESULTS** Dexamethasone was mainly released in the cecum and colon contents and mucosa after oral administration of dexamethasone prodrug. The absorption was reduced significantly. The peak time of the drug in plasma was 8.1 h, and the peak concentration was $32 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. However, free dexamethasone was found mainly in the contents and mucosa of the stomach, proximal and distal small intestine. The peak time of the drug in plasma was 2.2 h, and the peak concentration was $2120 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. **CONCLUSION** Dexamethasone can be specifically delivered to the large intestine by using dexamethasone-dextran (260 000). It appears that the prodrug has a potential in the treatment of inflammatory bowel disease.

KEY WORDS: prodrug; dexamethasone; dextran; pharmacokinetics