

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.18.011

穿心莲内酯包合物微针的物理性状及肺靶向性研究*

邹清华¹, 李珊珊², 米翔², 张梅², 丁志英², 闫荟羽^{3△}

(1. 吉林省公主岭市疾病预防控制中心, 吉林 长春 136100; 2. 吉林大学药学院, 吉林 长春 130021; 3. 吉林大学第一医院, 吉林 长春 130021)

摘要:目的 制备穿心莲内酯包合物微针, 评价其经皮给药的药代动力学(简称药动学)特点及其肺靶向性。方法 采用微模塑法制备微针, 以针体形态特征、机械强度和皮肤穿刺性能为指标, 考察微针的物理性状; 将72只大鼠分为对照组(灌胃穿心莲内酯滴丸溶液)和微针组(微针经皮给药), 测定血及肺组织中的药物浓度, 计算药动学参数并比较, 计算肺相对靶向效率。结果 微针呈圆锥形, 针体均匀且表面平整, 机械强度及皮肤穿刺性能良好。与对照组比较, 微针组的半衰期缩短55.10%, 达峰时间缩短20.00%, 峰浓度增加633.85%, 且药-时曲线下面积明显增大, 药物平均驻留时间明显延长, 肺相对靶向效率为20.46。结论 穿心莲内酯包合物微针具有足够的机械强度和皮肤穿刺性能, 在皮肤中无蓄积, 起效快, 且肺靶向性良好, 相对生物利用度明显高于口服穿心莲内酯滴丸。

关键词: 穿心莲内酯; 包合物; 可溶性微针; 药物代动力学

中图分类号: R969.1; R943

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2022)18-0049-04

Physical Properties and Lung Targeting of Andrographolide Inclusion Compound Microneedles

ZOU Qinghua¹, LI Shanshan², MI Xiang², ZHANG Mei², DING Zhiying², YAN Huiyu³

(1. Gongzhuling Center for Disease Control and Prevention, Changchun, Jilin, China 136100; 2. School of Pharmacy, Jilin University, Changchun, Jilin, China 130021; 3. The First Hospital of Jilin University, Changchun, Jilin, China 130021)

Abstract: Objective To prepare Andrographolide Inclusion Compound Microneedles, and to evaluate its pharmacokinetics and lung targeting by percutaneous administration of microneedles. **Methods** The microneedles were prepared by the micromolding method, and the physical properties of microneedles were investigated with the morphological characteristics, mechanical strength and skin puncture ability of the needles as indicators. A total of 72 rats were divided into the control group (intragastric administration of Andrographolide Dropping Pill Solution) and the microneedle group (percutaneous administration of microneedles). The drug concentration in blood and lung tissue were measured, and the pharmacokinetic parameters were calculated and compared, and the relative targeting efficiency to lung was calculated. **Results** The microneedles were conical, uniform and smooth, with good mechanical strength and skin puncture ability. Compared with those in the control group, the half-life shortened by 55.10%, the peak time shortened by 20.00%, and the peak concentration increased by 633.85% in the microneedle group. The area under the curve increased significantly, the average residence time of the drug was prolonged significantly, and the relative efficiency of lung targeting was 20.46. **Conclusion** Andrographolide Inclusion Compound Microneedles have sufficient mechanical strength and skin puncture ability without accumulation in the skin, they have the advantages of rapid onset and good lung targeting, and their relative bioavailability is significantly higher than that of Oral Andrographolide Drop Pills.

Key words: andrographolide; inclusion compound; soluble microneedles; pharmacokinetics

穿心莲为爵床科植物, 性寒, 味苦, 有清热解毒功效, 归心、肺、大肠和膀胱经, 在我国药用历史悠久, 主治风热感冒、肺热咳嗽、百日咳、咽喉肿痛、泄泻痢疾和湿热黄疸等疾病^[1-2]。穿心莲内酯为穿心莲的主要药效成分, 为二萜内酯类化合物, 对肺癌疗效较好^[3-4]。病理学研究显示^[5], 中高剂量的穿心莲内酯可明显减轻模型大鼠肺组织病理损伤及炎性细胞浸润。但穿心莲内酯味极苦, 几乎不溶于水, 口服生物利用度极差(仅为0.98%)^[6], 应用受限。近年来, 有学者研究穿心莲内酯纳米递药新技术, 以提高生物利用度^[7]。经皮给药使用方便, 可随时中断给药, 还可避免口服给药的首过效应和注射给药的风险, 受到患者的青睐。经皮水凝胶^[8]和纳米递药系统经皮给药^[9-13]被发现可用于癌症等疾病

的全身治疗^[14]。但因皮肤角质层是经皮给药的主要吸收屏障^[15-16], 跨过屏障的药量仍有限。微针是指微米级长度和微米级间距的阵列, 具有一定的硬度, 可以刺破皮肤角质层, 携带药物进入真皮层, 随血液和淋巴循环, 达到治疗全身疾病的目的^[17-20]。本研究中设计研制了穿心莲内酯包合物微针, 并与穿心莲内酯滴丸进行对比, 研究药物代动力学(简称药动学)特点及肺靶向性, 为穿心莲内酯的经皮给药提供参考。现报道如下。

1 仪器、试药与动物

1.1 仪器

A25 PDMS型微针模具(台州微芯医药科技有限公司); CX21型光学显微镜(日本Olympus公司); TDL-5A型

*基金项目: 吉林省教育厅“十三五”科学技术项目[JJKH20201120KJ]。

第一作者: 邹清华, 女, 大学本科, 主管药师, 研究方向为药物检验, (电子信箱)gzljzqh163.com。

△通信作者: 闫荟羽, 女, 硕士, 副主任药师, 研究方向为临床药学, (电子信箱)yanhuiyu4223901@sina.com。

冷冻离心机(中国新宝仪器有限公司);LC-20A型高效液相色谱仪(日本Shimadzu公司)。

1.2 试药

穿心莲内酯滴丸(天士力制药集团股份有限公司,批号Z20040078,规格为每袋含穿心莲内酯0.15 g)穿心莲内酯(四川广汉市维康植化有限公司,批号为080220,含量99.3%);羟丙基- β 环糊精(山东新大生物科技有限公司,批号为150301,含量98.5%);聚乙烯醇(国药集团化学试剂有限公司,批号为2016091901,含量 $\geq 99.0\%$);实验所用试剂均为分析纯,水为去离子水。

1.3 动物

SPF级健康SD大鼠72只,雌性,体质量(200 ± 20)g,由吉林大学实验动物有限公司提供,实验动物使用许可证号SYXK(吉)2016-0001。所有动物实验遵循吉林大学动物实验伦理委员会有关实验动物管理和使用的规定,均符合3R原则。

2 方法与结果

2.1 微针制备

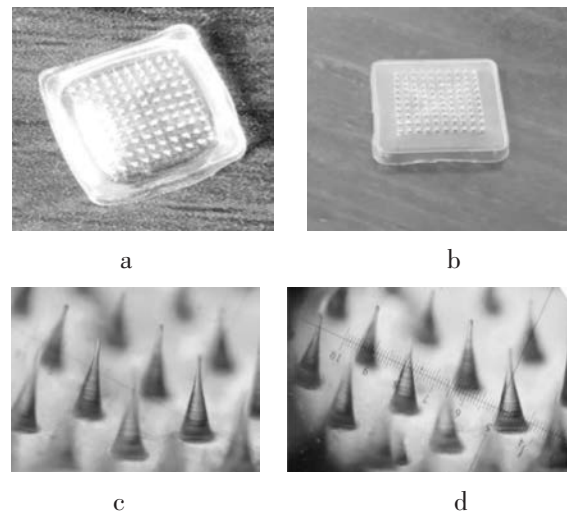
采用微模塑法制备。取羟丙基- β 环糊精适量,置50℃水中,恒温搅拌至完全溶解;将穿心莲内酯乙醇溶液置上述羟丙基- β 环糊精溶液中,50℃恒温搅拌1 h,常温继续搅拌5 h,静置,冷藏12 h,抽滤,用少量乙醇洗涤滤膜,得穿心莲内酯羟丙基- β 环糊精包合物,备用。以质量比为3:1的聚乙烯醇与透明质酸钠制备微针载体材料溶液,加入穿心莲内酯包合物水溶液,混匀,浇铸于PDMS模具上,成型后加入背衬溶液,抽真空10 min,干燥,脱模,即得穿心莲内酯包合物微针。

2.2 微针物理性状考察

形态:采用手机拍照和光学显微镜观察,结果见图1。可见,微针均呈“圆锥”状,针体均匀且表面光滑平整。

机械强度:将微针针尖朝下,置平整光滑的实验台上,在微针背衬层上加盖平滑的盖板,使受力均匀。将400 g砝码置盖板上约90 s,取下砝码和盖板,再将微针置显微镜下,观察针尖的变形程度。结果针长675 μm 及625 μm 的微针,压变后长度分别为550 μm 和500 μm ,弯折率分别为18.52%和20.00%,详见图2。可见,微针具有一定的机械强度。

穿刺性能:取大鼠离体背部皮肤,脱毛,并去除皮肤表面细绒毛。将处理好的离体皮肤平铺于实验台面,角质层向上,将微针垂直于皮肤角质层侧进行穿刺,并使微针在皮肤上停留约3 min,取出微针,拍照,显微图见图3。结果显示,大鼠皮肤角质层及背面可见清晰的针孔阵列,针孔排列与微针贴片的针尖一致,表明其穿刺角质层的性能良好。

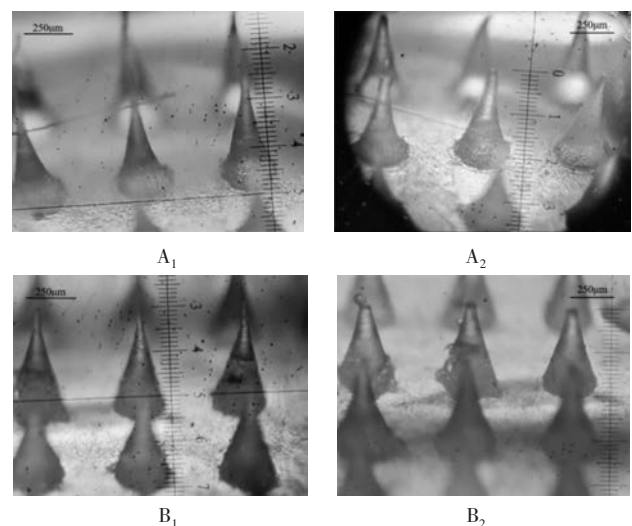


a, b. 手机相机图 c, d. 显微镜图

图1 微针形态

a, b. Mobile camera figures c, d. Micrographs

Fig. 1 The microneedles' shape



A₁, B₁. 压变前 A₂, B₂. 压变后

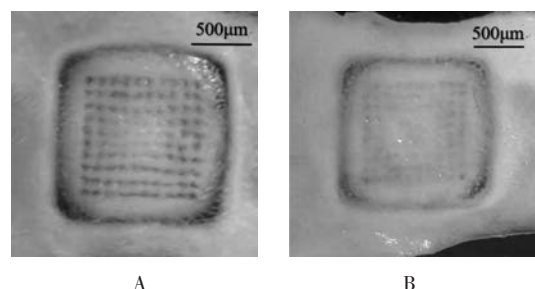
A. 675 μm 针 B. 625 μm 针

图2 微针机械强度

A₁, B₁. Before piezoelectricity A₂, B₂. After piezoelectricity

A. 675 μm needle B. 625 μm needle

Fig. 2 Mechanical strength of microneedles



A. 角质层 B. 角质层背面

图3 微针穿刺性能

A. Cuticle B. Back of cuticle

Fig. 3 Puncture ability of the microneedles

2.3 药动学研究

分组、给药及取样:取72只SD大鼠,禁食12 h,过夜,自由饮水。实验前,剃除大鼠背部大部分毛,并除去短毛,随机分为对照组和微针组,各36只。对照组大鼠灌胃给予穿心莲内酯滴丸溶液,微针组大鼠腹部皮肤表面贴微针,穿心莲内酯含量均为0.0009 mg/kg,分别于给药后0.5,1,1.5,2,2.5,3,4,6,8,10,12,24 h眼球取血,置EP管中,于-4℃,15 000 r/min冷冻离心15 min,取上清液,置EP管中,置-40℃冰箱中冻存。取血后立即处死大鼠,取肺、心、脾及脑组织,用适量生理盐水洗去血迹,置-40℃冰箱中冻存,备用。

血药浓度-时间曲线:取大鼠血浆1 mL,加入甲醇1 mL,涡旋混匀1 min,15 000 r/min冷冻离心15 min,取上清液,挥干,再加1 mL甲醇复溶残渣,经0.22 μm滤膜滤过,取续滤液,用高效液相色谱(HPLC)法测定。色谱条件,色谱柱为WondaSil C₁₈ Superb柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-水(60:40, V/V),流速为1 mL/min,检测波长为225 nm,柱温为30℃,进样量为20 μL。根据标准曲线计算药物浓度,并绘制血药浓度-时间曲线。微针组经皮给药后不同时间的血药浓度均明显大于对照组,且24 h时仍能检测出药物。结果见图4。可见,微针组大鼠体循环中穿心莲内酯药量多于对照组。

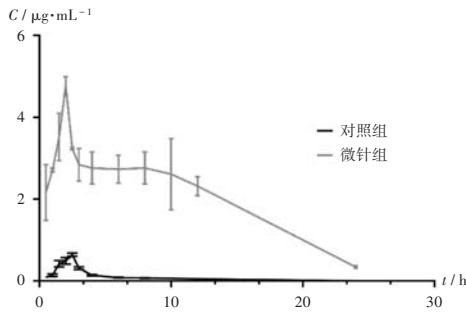
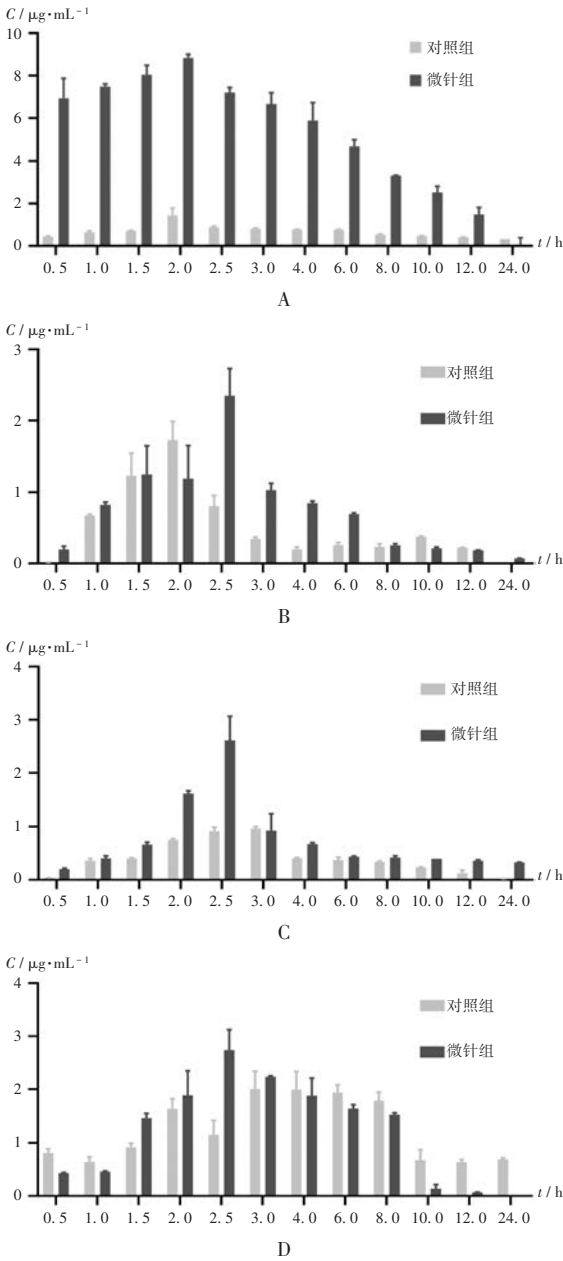


图4 血药浓度-时间曲线

Fig. 4 Drug's plasma concentration-time curve

各组织中的药物浓度-时间关系:取备用的各组织适量,精密称定,剪碎,置EP管中,加入1 mL甲醇,涡旋1 min,15 000 r/min离心15 min,取上清液挥干,加1 mL甲醇复溶,经0.22 μm滤膜滤过,取续滤液,用HPLC法测定。根据标准曲线计算各组织中不同时间的药物浓度,详见图5。可见,微针组给药后不同时间肺、心、脾组织中的药物浓度总体明显高于对照组,尤其是肺中药物浓度增加非常明显,推测可能是由于穿心莲归肺经,故穿心莲内酯进入体内后,具有明显的肺靶向性。

药动学参数:采用DAS 3.0软件,根据不同时间的血浆和组织中药物浓度计算药动学参数,结果见表1。可见,微针经皮给药后,血药浓度达峰时间(t_{max})及起效



A. 肺 B. 心 C. 脾 D. 脑

图5 不同脏器中药物浓度-时间关系

A. Lung B. Heart C. Spleen D. Brain

Fig. 5 Drug's concentration-time relationship in different organs

表1 两组药动学参数比较

Tab. 1 Comparison of pharmacokinetic parameters between the two groups

参数	对照组	微针组
半衰期($t_{1/2}$, h)	10.20	4.58
达峰时间(t_{max} , h)	2.50	2.00
峰浓度(C_{max} , μg/mL)	0.65	4.77
0~t药时曲线下面积(AUC_{0-t} , μg·h/L)	1.75	48.90
0~∞药时曲线下面积($AUC_{0-∞}$, μg·h/L)	2.50	51.15
0~t平均驻留时间(MRT_{0-t} , h)	3.99	8.36
0~∞平均驻留时间($MRT_{0-∞}$, h)	10.80	9.31

时间缩短;峰浓度($C_{\max}$)和药-时曲线下面积(AUC)明显增大,表明体循环中药量增多。

靶向性:通常用相对靶向效率(RTE)评价药物制剂的靶向性,计算公式为, $RTE = AUC_{\text{微针组}} / AUC_{\text{对照组}}$ 。RTE代表不同制剂对同一组织或器官的选择性,RTE > 1时,表示药物制剂对该器官或组织具有靶向性,且越大,靶向效果越好;RTE ≤ 1时,表示无靶向性。结果显示,肺、心、脾、脑的RTE分别为20.46,1.49,2.10,0.60。可见,穿心莲内酯包合物微针经皮给药具有非常明显的肺靶向性,心、脾虽也有一定靶向效率,但靶向性不强。

3 讨论

肺癌已成为最常见恶性肿瘤,近年来全球的发病率和死亡率激增,在我国恶性肿瘤死亡原因中排首位。本研究中通过药动学参数,计算肺靶向效率,间接反映了穿心莲内酯包合物微针经皮给药的肺靶向性,推测可能与穿心莲药材归肺经相关。通常采用药剂学的磁性靶向、光热靶向或生理靶向等方法,可达到化学药物肺靶向的目的。

微针经皮给药能克服皮肤角质层的屏障而达到全身治疗的目的,同时避免口服给药的首过效应和注射给药的风险。本试验中采用微模塑法,成功制备了穿心莲内酯包合物微针,方法简单,适宜工业化生产。

穿心莲内酯包合物微针给药,增加了药物的溶解性。微针给药后的药动学结果显示,穿心莲内酯包合物微针很好地克服了经皮给药的角质层屏障,既可避免口服的不良味道,又能明显增加进入体循环的药量;同时,穿心莲归肺经,研究显示其具有较好的肺靶向性。

微针技术的临床前试验,成功凸显了微针改变全球经皮给药市场的潜力,商用微针产品备受期待,它可能随着从实验室规模扩大到工业规模,对临床医学产生显著影响^[17]。

注:所有作者均声明不存在利益冲突。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:280.
- [2] 王林丽,俞稼. 穿心莲及其制剂的药理作用和临床研究进展[J]. 中国药业,2003,12(10):72-73.
- [3] 亓翠玲,王丽京,周鑫磊. 穿心莲内酯抗肿瘤作用机制的研究进展[J]. 中国中药杂志,2007,32(20):2095-2097.
- [4] LI JP, YANG XH, YANG PH, et al. Andrographolide alleviates bleomycin-induced NLRP3 inflammasome activation and epithelial-mesenchymal transition in lung epithelial cells by suppressing AKT/mTOR signaling pathway[J]. Annals of Translational Medicine, 2021,9(9):1-12.
- [5] 盘爱花,邱小玲,陈永敏,等. 穿心莲内酯对脑梗死合并细

菌性肺炎大鼠模型肺组织炎症和神经功能的影响[J]. 中华医院感染学杂志,2021,31(7):961-966.

- [6] YANG T, SHENG HH, FENG NP, et al. Preparation of andrographolide-loaded solid lipid nanoparticles and their *in vitro* and *in vivo* evaluations: characteristics, release, absorption, transports, pharmacokinetics, and antihyperlipidemic activity[J]. J Pharm Sci, 2013,102(12):4414-4425.
- [7] XU JN, MA YQ, XIE YB, et al. Design and Evaluation of Novel Solid Self-Nanodispersion Delivery System for Andrographolide[J]. AAPS PharmSciTech, 2017,18(5):1572-1584.
- [8] 夏爱晓,孙渊,孟贤. 新型药物凝胶剂研究进展[J]. 药学实践杂志,2015,33(3):205-208.
- [9] 李丽,方亮. 纳米药物载体在经皮给药系统中应用的研究进展[J]. 沈阳药科大学学报,2010,27(12):998-1002.
- [10] ZENG Z, FENG HB, HAO ME, et al. One-pot approach to form *in situ* colchicine-containing nano-hydroxyapatite within microemulsion composite system for sustained transdermal delivery[J]. Composites Communications, 2021,25:100698.
- [11] BABAIE S, DEL BAKHSHAYESH AR, HA JW, et al. Invasome: A Novel Nanocarrier for Transdermal Drug Delivery[J]. Nanomaterials, 2020,10(2):341.
- [12] YU YQ, YANG X, WU XF, et al. Enhancing Permeation of Drug Molecules Across the Skin via Delivery in Nanocarriers: Novel Strategies for Effective Transdermal Applications[J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2021,9:646554.
- [13] ALKRAJ JA, ASSAF SM, HUSSEIN-AL-ALI SH, et al. Microemulsions as nanocarriers for oral and transdermal administration of enoxaparin[J]. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 2022,70:103248.
- [14] JIANG TY, XU G, CHEN GJ, et al. Progress in transdermal drug delivery systems for cancer therapy[J]. Nano Research, 2020,13(7):1810-1824.
- [15] 董王明,江昌照,叶金翠,等. 经皮给药制剂促透方法研究进展[J]. 中国新药杂志,2020,29(18):2089-2097.
- [16] BURGER C, SHAHZAD Y, BRUMMER A, et al. Traversing the Skin Barrier with Nano-Emulsions[J]. Current Drug Delivery, 2017,14(4):458-472.
- [17] 边佳明,曾明,许景峰. 微针在经皮给药领域的研究进展[J]. 中国药理学杂志,2006(16):1209-1211.
- [18] HALDER J, GUPTA S, KUMARI R, et al. Microneedle Array: Applications, Recent Advances, and Clinical Pertinence in Transdermal Drug Delivery[J]. Journal of Pharmaceutical Innovation, 2021,16(3):558-565.
- [19] YANG D, CHEN ML, SUN Y, et al. Microneedle-mediated transdermal drug delivery for treating diverse skin diseases[J]. Acta Biomaterialia, 2021,121:119-133.
- [20] MDANDA S, UBANAKO P, KONDIAH PPD, et al. Recent Advances in Microneedle Platforms for Transdermal Drug Delivery Technologies[J]. Polymers, 2021,13(15):2405.

(收稿日期:2022-05-30)