

中图分类号: R977.1; R969.1 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2026)13-0034-08
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2026.13.007



抗炎抗氧化结肠靶向氧化铈纳米粒水凝胶的药代动力学与药效动力学研究*

杨洋, 游翠玉, 邓祥, 张文娟, 王喜丹, 邓文婷, 张波[△]

(西安交通大学第一附属医院, 陕西 西安 710061)

摘要:目的 探讨负载地塞米松(Dex)的抗炎抗氧化结肠靶向氧化铈纳米粒(CNPs)水凝胶(DS-CNPs@Dex-Gel)的药代动力学与药效动力学。方法 通过体内孵化实验考察盲肠细菌对DS-CNPs@Dex-Gel崩解的影响;测定DS-CNPs@Dex-Gel在大鼠消化道[胃、小肠、结肠(含盲肠)]中的药物残余量,评价其结肠靶向性;对比DS-CNPs@Dex-Gel和Dex在大鼠体内的血药浓度,测定达峰时间(t_{max})、峰浓度(C_{max})、血药浓度-时间曲线下面积(AUC)等药代动力学参数;采用2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS)诱导法建立溃疡性结肠炎(UC)小鼠模型,将60只雄性KM小鼠随机分为Control组(等体积生理盐水)、TNBS组(等体积生理盐水)、TNBS+Dex组(1.0 mg/kg Dex)、TNBS+CNPs组(1.0 mg/kg CNPs)、TNBS+DS-CNPs@Dex-Gel组(1.0 mg/kg Dex+1.0 mg/kg CNPs),各12只,造模成功12 h后连续灌胃相应药物6 d,每日1次,评价疾病活动指数(DAI)评分、结肠指数、髓过氧化物酶(MPO)活性及脏器(胸腺、脾脏、心脏、肝脏、肺、肾脏)指数,考察DS-CNPs@Dex-Gel对UC的治疗作用。结果 体内孵化实验结果显示,DS-CNPs@Dex-Gel在盲肠中可迅速崩解为Dex和CNPs,释放率分别为(79.32±0.05)%和(80.36±0.01)%;经克林霉素抑制后,Dex和CNPs的释放率分别为(4.63±0.02)%和(7.04±0.03)%,崩解几乎停滞。大鼠消化道残余药量测定结果显示,给药1~3 h后,胃、小肠、结肠(含盲肠)中Dex的含量分布相对较少;给药5 h后,结肠(含盲肠)中Dex含量骤增;给药7 h后,结肠(含盲肠)中Dex含量达峰值,且超过胃与小肠中的总药量。药代动力学考察结果显示,DS-CNPs@Dex-Gel给药后, t_{max} , C_{max} ,AUC分别为(2.50±0.19)h、(4.55±0.26)μg/mL、(12.44±0.07)μg·h/mL,较Dex的(1.67±0.32)h、(7.01±0.13)μg/mL、(20.08±0.10)μg·h/mL均有显著差异($P<0.01$)。与TNBS组比较,TNBS+Dex组、TNBS+CNPs组小鼠给药5 d后的体质量均升高,TNBS+DS-CNPs@Dex-Gel组小鼠的体质量几乎无变化;TNBS+CNPs组、TNBS+DS-CNPs@Dex-Gel组小鼠的结肠指数均显著降低($P<0.01$);TNBS+Dex组、TNBS+CNPs组、TNBS+DS-CNPs@Dex-Gel组小鼠的DAI评分、MPO活性均显著降低($P<0.01$)。与TNBS+Dex组比较,TNBS+DS-CNPs@Dex-Gel组小鼠的胸腺指数、脾脏指数均显著升高($P<0.01$)。结论 DS-CNPs@Dex-Gel具有良好的结肠靶向性、生物可降解性和UC治疗效果,可缓解糖皮质激素药物对胸腺、脾脏的损伤。

关键词: 溃疡性结肠炎;地塞米松;抗炎;抗氧化;氧化铈纳米粒;水凝胶;口服结肠靶向给药系统;血药浓度;药代动力学;药效动力学

Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Studies of the Anti-Inflammatory and Anti-Oxidant Colon-Targeted Cerium Oxide Nanoparticles Hydrogel

Yang Yang, You Cuiyu, Deng Xiang, Zhang Wenjuan, Wang Xidan, Deng Wenting, Zhang Bo[△]

(The First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi 710061, China)

Abstract: Objective To investigate the pharmacokinetics and pharmacodynamics of dexamethasone (Dex)-loaded anti-inflammatory and anti-oxidant colon-targeted cerium oxide nanoparticles (CNPs) hydrogel (DS-CNPs@Dex-Gel). **Methods** *In vitro* incubation experiments were conducted to investigate the effects of cecal bacteria on the disintegration behavior of DS-CNPs@Dex-Gel. The drug residue of DS-CNPs@Dex-Gel in the digestive tract [stomach, small intestine, colon (including cecum)] of rats was detected to evaluate its colon-targeting ability. The blood drug concentrations of DS-CNPs@Dex-Gel and Dex in rats were compared, and pharmacokinetic parameters such as time to peak (t_{max}), peak concentration (C_{max}), and area under the blood drug concentration-time curve (AUC) were measured. The ulcerative colitis (UC) mouse model was established by the 2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS) induction method. Sixty male KM mice were randomly divided into the Control group (an equal volume of normal saline), TNBS group (an equal volume of normal saline), TNBS+Dex group (1.0 mg/kg of Dex), TNBS+CNPs group (1.0 mg/kg of CNPs), and TNBS group+DS-CNPs@Dex-Gel group (1.0 mg/kg of Dex+1.0 mg/kg of CNPs), with 12 mice in each group. At 12 h after successful modeling, the corresponding drugs were administered

*基金项目:陕西省重点研发计划一般项目[2024SF-YBXM-129]。

第一作者:杨洋,女,硕士,药师,研究方向为药剂学,(电话)029-85323244(电子信箱)yy15575410922@163.com。

[△]通信作者:张波,男,硕士,主治医师,研究方向为外周动脉粥样硬化疾病的诊治,(电话)029-85324038(电子信箱)271088875@qq.com。

orally for 6 d (once a day). The disease activity index (DAI) score, colon index, myeloperoxidase (MPO) activity, and organ (thymus, spleen, heart, liver, lung, and kidney) indexes were evaluated to assess the therapeutic effect of DS - CNPs@Dex - Gel against UC. **Results** *In vitro* incubation results showed that DS - CNPs@Dex - Gel underwent rapid disintegration in the cecum to release loaded Dex and CNPs, with release rates of $(79.32 \pm 0.05)\%$ and $(80.36 \pm 0.01)\%$, respectively. After inhibition by clindamycin, the release rates of Dex and CNPs were reduced to $(4.63 \pm 0.02)\%$ and $(7.04 \pm 0.03)\%$ respectively, which nearly completely suppressed the disintegration of the hydrogel. The determination of residual drug levels in the digestive tract of rats showed that the distribution of Dex content in the stomach, small intestine, and colon (including the cecum) was relatively small within 1 - 3 h post - administration, the Dex content in the colon (including the cecum) increased sharply within 5 h post - administration, the Dex content in the colon (including the cecum) reached its peak and exceeded the total amount of drug in the stomach and small intestine within 7 h post - administration. The pharmacokinetic analysis results showed that, after administration, the t_{max} , C_{max} , and AUC of DS - CNPs@Dex - Gel were (2.50 ± 0.19) h, (4.55 ± 0.26) $\mu\text{g} / \text{mL}$, and (12.44 ± 0.07) $\mu\text{g} \cdot \text{h} / \text{mL}$ respectively, which were significantly different from (1.67 ± 0.32) h, (7.01 ± 0.13) $\mu\text{g} / \text{mL}$, and (20.08 ± 0.10) $\mu\text{g} \cdot \text{h} / \text{mL}$ of Dex ($P < 0.01$). Compared with those in the TNBS group, the body mass of mice in the TNBS + Dex group and TNBS + CNPs group increased after 5 d of administration, while the body mass of mice in the TNBS + DS - CNPs@Dex - Gel group showed almost no change; the colon index of mice in the TNBS + CNPs group and TNBS + DS - CNPs@Dex - Gel group significantly reduced ($P < 0.01$); the DAI score and MPO activity of mice in the TNBS + Dex group, TNBS + CNPs group, and TNBS + DS - CNPs@Dex - Gel group significantly reduced ($P < 0.01$). Compared with those in the TNBS + Dex group, the thymus index and spleen index of the mice in the TNBS + DS - CNPs@Dex - Gel group significantly increased ($P < 0.01$). **Conclusion** DS - CNPs@Dex - Gel exhibits good colon - targeting performance, biodegradability, and therapeutic efficacy for UC, which can effectively alleviate thymus and spleen damage caused by administration of glucocorticoids.

Key words: ulcerative colitis; dexamethasone; anti - inflammatory; anti - oxidant; cerium oxide nanoparticles; hydrogel; oral colon - targeted drug delivery system; blood drug concentration; pharmacokinetics; pharmacodynamics

溃疡性结肠炎(UC)是多因素导致的慢性复发性肠病,主要侵及结直肠黏膜层^[1],目前全球发病率持续上升^[2]。多数UC患者可通过美沙拉嗪或糖皮质激素常规治疗缓解症状,抗炎皮质类固醇药物地塞米松(Dex)可用于治疗中度至重度UC^[3]。Dex抗UC的作用机制与调节M1到M2型巨噬细胞极化有关,Dex可抑制核因子- κ B(NF- κ B)信号通路诱导的基因转录,从而减轻炎症反应^[4]。但长期使用Dex可能引起严重副作用和并发症,如高血压、高血糖、肾上腺皮质坏死、腹泻、免疫抑制等^[5]。近年来,结肠靶向口服给药系统(OCDDS)已成为治疗UC的重要方法^[6]。Dex负载纳米制剂使药物能有效到达病灶,发挥抗炎作用,可最大限度地减少副作用,并提高局部药物浓度,且不会破坏正常的细胞或组织^[7]。氧化铈纳米粒(CNPs)具有清除活性氧(ROS)的功能,抗氧化活性强^[8]。CNPs表面的三价铈离子(Ce^{3+})和四价铈离子(Ce^{4+})共存,可与多种类似酶共同用于消除氧气(O_2)、过氧化氢(H_2O_2)、羟基自由基(OH)及其他ROS,通过消除炎症因子实现对肠道上皮屏障的靶向修复^[9]。且CNPs可在全身给药24 h后从体内排泄,最大限度地减少长期毒性问题,具有更好的安全性^[10]。硫酸皮肤素(DS)是线性阴离子多糖,以蛋白聚糖的形式广泛存在于细胞表面及细胞基质和结缔组织中^[11]。DS可改变肠道微生物群,抑制促炎因子的表达,参与其他黏膜的炎症反应过程,已成为促进UC黏膜愈合的潜在

治疗靶点^[12]。本课题组前期以多糖为水凝胶材料,以甘油为迟释剂,以硝酸铈为前驱物,采用碱沉淀法制备了负载Dex的抗炎抗氧化结肠靶向CNPs水凝胶(DS - CNPs@Dex - Gel),并考察了其抗氧化能力和结肠靶向性,结果制备的DS - CNPs@Dex - Gel安全性高、结构稳定,并具有良好的结肠靶向性^[13]。本研究中进一步对其药代动力学、结肠靶向性及UC治疗作用进行考察。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂与动物

仪器:AUY220型电子天平(精度为0.1 mg),LC - 2010A型高效液相色谱(HPLC)仪,均购自日本Shimadzu公司;NexION™350D型电感耦合等离子体质谱(ICP - MS)仪(美国Perkin Elmer公司);XM - 950T型超声波破碎机(小美超声仪器<昆山>有限公司,功率为950 W,频率为25 kHz);UV - 1200型紫外 - 可见分光光度计(上海美谱达仪器有限公司);TC - 1A型磁力搅拌器(上海净信实业发展有限公司);D1008E型涡旋混合器(大龙兴创实验仪器股份公司);RCY - 1400T型溶出度仪(博科控股集团有限公司);THZ - 系列恒温培养摇床(上海一恒科技仪器有限公司);GEBIUS16K - R型高速冷冻离心机(长沙市鑫奥仪器仪表有限公司);KQ - 700DE型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率为700 W,频率为40 kHz);DY89 - II型玻璃匀浆机(宁

波新芝生物科技股份有限公司); HZP - T502型pH计(莆田市华志赛西杰科技有限公司); 101 - 2AB型电热鼓风干燥箱(天津市泰斯特仪器有限公司); DW - 86L626型超低温冰箱(-80℃, 青岛海尔生物医疗股份有限公司)。

试剂: Dex 磷酸钠对照品(中国食品药品检定研究院, 批号为100129 - 201907, 纯度为99.8%); 邻甲联苯胺(上海阿拉丁生化科技股份有限公司, 批号为E2512236); 甲醇(色谱纯, 批号为20170828), 乙腈(色谱纯, 批号为20160328), 浓盐酸(纯度为38%, 分析纯, 批号为20231221), 羧甲基纤维素钠(CMC - Na, 分析纯, 批号为20230507), 十六烷基三甲基溴化铵(CTAB, 分析纯, 批号为20110407), 均购自天津市科密欧化学试剂有限公司; 95%乙醇(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司, 批号为20240319); 生理盐水(陕西双鹤药业有限公司, 批号为2402135BD); 磷酸盐缓冲液(PBS)粉末(武汉赛维尔生物科技有限公司, 批号为GA24030142807); H₂O₂(天津市大茂化学试剂厂, 批号为20210802); 肝素钠(北京索莱宝科技有限公司, 批号为241011019); 克林霉素(广州白云山天心制药股份有限公司, 批号为231109); 髓过氧化物酶(MPO)试剂盒(南京建成生物工程研究所, 批号为20240816); 2,4,6 - 三硝基苯磺酸(TNBS, 上海源叶生物科技有限公司, 批号为20240315); 冰醋酸(天津市富宇精细化工有限公司, 批号为20191010); 无水乙醇(天津新技术产业园区科茂化学试剂有限公司, 批号为20240407); CNPs和DS - CNPs@Dex - Gel均由实验室自制。

动物: 无特定病原体(SPF)级SD雄性大鼠(体质量220 ~ 240 g)及昆明(KM)雄性小鼠(体质量20 ~ 24 g)各60只, 以排除病原微生物干扰, 保证实验结果均一旦可重复, 同时消除雌激素周期干扰。购自西安交通大学实验动物中心, 实验动物生产许可证号为SCXK(陕)2023 - 002。自由进食标准饲料, 饮用无菌水, 适应性喂养于温度22 ~ 26℃、相对湿度40% ~ 60%、12 h / 12 h明暗交替循环的环境中1周。定期清洁、消毒, 每日观察其状态。本研究中动物实验通过西安交通大学医学部生物医学伦理委员会批准(编号: XJTUAE2023 - 312)。

1.2 方法

1.2.1 HPLC 法色谱条件

色谱柱: Hypersil BDS C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: pH 3.0三乙胺 - 甲醇 - 乙腈溶液(55:40:5, V/V/V); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 242 nm; 柱温: 40℃; 进样量: 5 μL。

1.2.2 ICP - MS 法试验条件

射频发生器功率: 1090 W; 雾化器流量: 0.885 L/min;

样品提升率: 0.8 L/min; 辅助气流量: 1.375 L/min; 采样时间: 100 ms; 等离子体气流量: 16.0 L/min; 积分时间: 10 s; 碰撞 / 反应池模式: Standard。后续实验浓度单位为 μg/mL, 根据CNPs的相对分子质量换算为 μmol/L。

1.2.3 体内孵化实验

取600 mL蒸馏水, 置烧杯中, 将烧杯置磁力搅拌器上, 缓慢加入1袋PBS粉末, 搅拌至完全溶解, 加蒸馏水定容至1000 mL, 即得pH 7.4 PBS溶液。

取SD大鼠12只, 实验前禁食、不禁饮12 h, 随机分为克林霉素组和对照组, 各6只。克林霉素组灌胃30 mg/kg克林霉素, 每日2次, 连续3 d; 对照组灌胃等体积生理盐水。给药3 d后, 麻醉大鼠, 沿腹白线开腹, 取出盲肠段, 注入0.5 mL含DS - CNPs@Dex - Gel(1.0 mg/kg Dex + 1.0 mg/kg CNPs)的pH 7.4 PBS溶液, 扎紧盲肠两端, 关腹, 缝合。术后8 h, 处死大鼠, 开腹, 取盲肠, 剪碎盲肠组织, 加10 mL pH 7.4 PBS溶液, 超声处理(功率为250 W, 频率为20 kHz)5 min, 收集匀浆液, 离心(温度为4℃, 转速为10000 r/min)5 min, 取上清液0.1 mL, 置1 mL容量瓶中, 用甲醇定容, 涡旋3 min, 混匀, 离心(温度为4℃, 转速为10000 r/min)5 min, 取上清液, 0.22 μm微孔滤膜过滤, 采用HPLC法测定Dex浓度, 采用ICP - MS法测定CNPs浓度, 计算盲肠中剩余Dex和CNPs的含量($m_{\text{剩余}}$)。另取0.5 mL DS - CNPs@Dex - Gel, 置10 mL容量瓶中, 加pH 7.4 PBS溶液定容, 超声处理(功率为250 W, 频率为20 kHz)5 min, 涡旋3 min, 混匀, 离心(温度为4℃, 转速为10000 r/min)5 min, 取上清液, 0.22 μm微孔滤膜过滤, 同法进样检测, 计算DS - CNPs@Dex - Gel中Dex和CNPs总质量($m_{\text{总}}$)。进一步计算DS - CNPs@Dex - Gel中Dex和CNPs在盲肠的释放率, 释放率(%) = $1 - (m_{\text{剩余}} / m_{\text{总}}) \times 100\%$ 。

1.2.4 药物残余量测定

取SD大鼠24只, 实验前禁食、不禁饮12 h, 灌胃含DS - CNPs@Dex - Gel(1.0 mg/kg Dex + 1.0 mg/kg CNPs)的pH 7.4 PBS溶液, 分别于1, 3, 5, 7 h后处死大鼠, 每次6只, 立即收集胃、小肠、结肠(含盲肠)的内容物, 精密称定质量, 加蒸馏水超声提取(功率为250 W, 频率为20 kHz)内容物中的药物, 采用HPLC法测定Dex含量, 计算Dex在消化道不同部位的残余药量, 以判断其分布趋势, 进一步评价其结肠靶向性。

1.2.5 大鼠体内药代动力学参数测定

取SD大鼠12只, 实验前禁食、不禁饮12 h, 随机分为Dex组和DS - CNPs@Dex - Gel组, 各6只, 分别灌胃1.0 mg/kg Dex和DS - CNPs@Dex - Gel(1.0 mg/kg Dex + 1.0 mg/kg CNPs)。Dex用生理盐水溶解, DS - CNPs@Dex - Gel用0.5% CMC - Na混悬。麻醉大鼠并固

定,分别于给药后 10, 40, 70, 100, 120, 150, 180, 210, 240, 300, 360, 420, 480 min 从颈静脉处采血 0.3 mL, 置抗凝管中,离心(转速为 5 000 r/min)10 min,取血浆 100 μ L, 4 $^{\circ}$ C 保存,备用。采用 HPLC 法进样分析,记录色谱峰峰面积,绘制平均血药浓度 - 时间曲线,并计算达峰时间(t_{max})、峰浓度(C_{max})、血药浓度 - 时间曲线下面积(AUC)。

1.2.6 UC 治疗作用

1) 溶液制备

2.5% TNBS 溶液:取 TNBS 适量,加水溶解,制成体积分数为 5% 的水溶液,与无水乙醇等体积混合,充分摇匀,即得。现用现配,4 $^{\circ}$ C 避光保存。

10 g/L 邻甲联苯胺溶液:取邻甲联苯胺 1.0 g,精密称定,用 100 mL 冰醋酸 - 无水乙醇(1:1, V/V)溶解,摇匀,即得,4 $^{\circ}$ C 避光保存。

pH 7.4 PBS 溶液:取蒸馏水 600 mL,置烧杯中,将烧杯置磁力搅拌器上,缓慢加入 1 袋 PBS 粉末,搅拌至完全溶解,加蒸馏水定容至 1 000 mL,即得。

2) 造模方法确定

化学诱导模型成本低、操作简便,故广泛应用于临床试验前研究。常用诱导剂有葡聚糖硫酸钠(DSS)、TNBS 和噤唑酮。TNBS 作为小分子半抗原,通过 Th1 介导免疫反应,形成横向进展的炎症,导致透壁结肠炎^[14]。TNBS 诱导的结肠炎模型能直接诱导结肠黏膜损伤,造模周期短,1 周左右即成模,是目前应用最广泛的一种肠道炎症模型^[15]。故本研究中通过 TNBS 诱导小鼠 UC 模型,考察 DS - CNPs@Dex - Gel 在急性 UC 模型小鼠中的治疗作用^[16-17]。

3) 造模、分组与给药

将 60 只雄性 KM 小鼠随机分为 Control 组、TNBS 组、TNBS + Dex 组、TNBS + CNPs 组、TNBS + DS - CNPs@Dex - Gel 组,各 12 只。除 Control 组小鼠外,其余 4 组小鼠造模前禁食、不禁饮 12 h,背部去毛,将 2.5% TNBS 溶液均匀涂抹于去毛处,7 d 后称定体质量并标记,麻醉后使用钝头灌胃针在小鼠肛门处缓慢推入 2.5% TNBS 溶液 0.1 mL,直肠插入深度为 3.5~4.0 cm。Control 组小鼠不造模,肛门推入等体积生理盐水。注入完成后,保持小鼠倒立姿势 30 s,再将其放回笼中正常饲养,其间持续观察小鼠的状态,若出现精神萎靡、皮毛干枯发黄,且伴黏液便、血便等症状,表明 UC 小鼠造模成功。造模成功 12 h 后, TNBS + Dex 组灌胃 1.0 mg/kg Dex, TNBS + CNPs 组灌胃 1.0 mg/kg CNPs, TNBS + DS - CNPs@Dex - Gel 组灌胃 1.0 mg/kg Dex + 1.0 mg/kg CNPs, Control 组和 TNBS 组灌胃等体积生理盐水,每日 1 次,连续 6 d。Dex, CNPs 均用生理盐水溶解, DS - CNPs@Dex - Gel 用 0.5% CMC - Na 混悬后进行灌胃。

4) 考察指标

体质量:健康小鼠经 TNBS 诱导变成急性 UC 小鼠后,其体质量、毛色、精神状态、排便情况等均会出现明显改变。观察并记录以上指标的变化,绘制体质量变化曲线,评价其 UC 程度变化。

结肠指数:各组小鼠经颈椎脱臼法处死后,解剖,收集结肠组织,记录结肠长度,快速分离肠道内容物,用预冷生理盐水冲洗,滤纸吸干水分,称定结肠质量^[18],并计算结肠指数。结肠指数(g/cm) = 结肠质量/结肠长度。

疾病活动指数(DAI)评分:由于肠道炎性反应,急性 UC 小鼠会出现体质量减轻、直肠出血、稀便、血便等现象,故本研究中通过监测小鼠体质量下降百分率、粪便性状、粪便隐血情况追踪疾病进展,根据这些指标的累计评分计算 DAI 评分,DAI 评分 = (体质量下降百分率 + 粪便性状 + 粪便隐血情况) / 3。采用邻甲联苯胺法检测小鼠粪便隐血情况,取新鲜粪便,均匀涂抹于白瓷板上,依次滴加 2~3 滴质量浓度为 10 g/L 的邻甲联苯胺冰醋酸溶液和 2~3 滴 3% H₂O₂ 溶液,观察粪便颜色的变化及变化时间^[19]。DAI 评分标准见表 1,粪便隐血判定标准见表 2。

表 1 疾病活动指数评分标准

Tab. 1 Scoring criteria of the disease activity index

体质量下降百分率	粪便性状	粪便隐血情况	评分(分)
0	正常	正常	0
1%~5%	大便松散	隐血+	1
6%~10%	大便出血	隐血++	2
11%~15%	大便出血	隐血+++	3
>15%	大便出血	显性出血	4

表 2 粪便隐血判定标准

Tab. 2 Criterion for determination of fecal occult blood

结果	表现
正常	2 min 后无变化
隐血+	10 s 后呈浅蓝色,渐变为蓝色
隐血++	初显呈浅蓝色,逐渐呈蓝褐色
隐血+++	立即出现蓝褐色

MPO 活性:急性 UC 小鼠颈椎脱臼处死后,取结肠组织,分离肠道内容物,用预冷生理盐水冲洗,称定质量,加 pH 7.4 PBS 溶液制成 10% 结肠组织匀浆,超声处理(功率为 250 W,频率为 20 kHz)5 min,离心(温度为 4 $^{\circ}$ C,转速为 10 000 r/min)10 min,弃上清液,分装, - 20 $^{\circ}$ C 冰箱储存,备用。按 MPO 试剂盒说明书,在 37 $^{\circ}$ C、460 nm 波长处检测小鼠结肠组织的 MPO 活性,1 U 酶为该条件下每分钟吸光度增加 1 U 对应的酶量,连续测定 3 min 的吸光度,计算每分钟平均吸光度变化($\Delta A_{460\text{ nm}}/\text{min}$),进

一步计算 100 μL 结肠组织匀浆中 MPO 的活性^[20]。MPO (U/g) = $\Delta A_{460\text{nm}/\text{min}} \times V_{\text{总}} / m$ 。式中, $V_{\text{总}}$ 为结肠组织匀浆总容积(mL), m 为结肠组织质量(g)。

脏器指数:急性 UC 小鼠颈椎脱臼处死,摘取心、肝、脾、肾、肺、胸腺,吸净残血,称定质量,计算脏器指数,评估疾病严重程度^[21]。脏器指数(%) = 脏器质量(mg) $\times 10^{-3}$ / 体质量(g) $\times 100\%$ 。

1.3 统计学处理

采用 GraphPad Prism 8.02 软件分析。计量资料以 $\bar{X} \pm s$ 表示,两组间比较行 t 检验,多组间比较行单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 体内孵化实验

DS - CNPs@Dex - Gel 在大鼠盲肠的体内孵化实验结果显示, Dex 在盲肠的释放率为 $(79.32 \pm 0.05)\%$, 经克林霉素抑制盲肠细菌后的 Dex 释放率仅为 $(4.63 \pm 0.02)\%$; CNPs 在盲肠的释放率为 $(80.36 \pm 0.01)\%$, 而经克林霉素抑制肠道细菌后的 CNPs 释放率为 $(7.04 \pm 0.03)\%$ 。可见, DS - CNPs@Dex - Gel 在盲肠中能崩解释放出 Dex 和 CNPs, 而经克林霉素抑制盲肠细菌后, 释放量减少, 崩解几乎停滞, 表明盲肠细菌对水凝胶的崩解有促进作用, 进一步证实了 DS - CNPs@Dex - Gel 具有良好的结肠靶向性和生物可降解性。详见图 1。

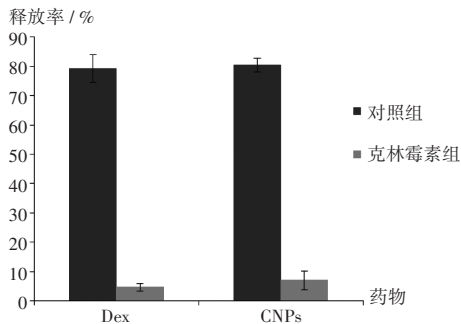


图 1 DS - CNPs@Dex - Gel 在大鼠盲肠的体内孵化释放率 ($n = 6$)

Fig. 1 Release rates of DS - CNPs@Dex - Gel in vivo incubation in the cecum of rats ($n = 6$)

2.2 药物残余量测定

大鼠灌胃 DS - CNPs@Dex - Gel 1 ~ 3 h 后, DS - CNPs@Dex - Gel 中 Dex 在胃、小肠、结肠(含盲肠)的含量分布相对较少;给药 5 h 后,结肠(含盲肠)中 Dex 含量大幅上升;给药 7 h 后,结肠(含盲肠)中 Dex 含量达峰值,且超过了胃和小肠中的总药量。这是因为 DS - CNPs@Dex - Gel 运转至小肠中下部时开始崩解,导致药物突释,表明 DS - CNPs@Dex - Gel 具有生物可降解性和结肠靶向性。详见图 2。

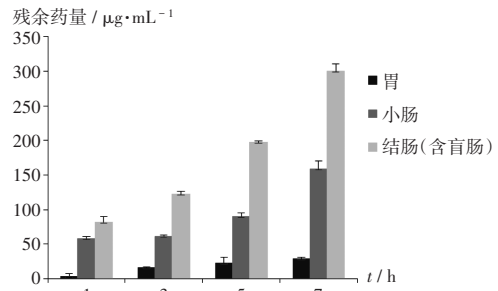


图 2 大鼠灌胃 DS - CNPs@Dex - Gel 1 ~ 7 h 后胃肠道内容物中 Dex 含量分布 ($n = 6$)

Fig. 2 Distribution of DS - CNPs@Dex - Gel content in gastrointestinal contents of rats within 1 - 7 post - oral administration ($n = 6$)

2.3 体内药代动力学参数测定

Dex 和 DS - CNPs@Dex - Gel 在大鼠体内的药代动力学参数显示, DS - CNPs@Dex - Gel 的 AUC 为同等剂量 Dex 的 61.95%, 且其 t_{max} , C_{max} , AUC 较 Dex 组均有显著差异 ($P < 0.01$)。详见表 3。Dex 和 DS - CNPs@Dex - Gel 在大鼠体内的平均血药浓度 - 时间曲线显示, Dex 灌胃后吸收迅速, DS - CNPs@Dex - Gel 灌胃后在体内的吸收和消除均较缓慢。详见图 3。可见, DS - CNPs@Dex - Gel 呈缓释、降低 C_{max} 和减少全身暴露的特征。

表 3 大鼠灌胃 Dex 与 DS - CNPs@Dex - Gel 后的药代动力学参数比较 ($\bar{X} \pm s, n = 6$)

Tab. 3 Comparison of pharmacokinetic parameters of Dex and DS - CNPs@Dex - Gel in rats after oral administration ($\bar{X} \pm s, n = 6$)

组别	达峰时间 (h)	峰浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	血药浓度时间曲线下面积 ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$)
Dex 组	1.67 ± 0.32	7.01 ± 0.13	20.08 ± 0.10
DS - CNPs@Dex - Gel 组	2.50 ± 0.19	4.55 ± 0.26	12.44 ± 0.07
t 值	5.47	20.74	153.40
P 值	< 0.01	< 0.01	< 0.01

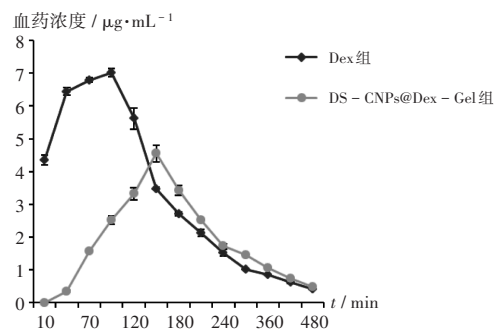


图 3 大鼠灌胃 Dex 与 DS - CNPs@Dex - Gel 后的平均血药浓度 - 时间曲线 ($n = 6$)

Fig. 3 Average blood drug concentration time curves of rats after oral administration of Dex and DS - CNPs@Dex - Gel ($n = 6$)

2.4 UC 治疗作用

对体质量的影响:急性 UC 小鼠体质量变化曲线显示, Control 组小鼠精神状态良好,体质量稳步增长;

TNBS 组小鼠体质量持续下降,无回升;TNBS + Dex 组、TNBS + CNPs 组、TNBS + DS - CNPs@Dex - Gel 组小鼠体质量均持续下降,且下降幅度均较 TNBS 组轻微,其中 TNBS + DS - CNPs@Dex - Gel 组小鼠体质量几乎无变化。可见,使用不同药物处理 UC 小鼠,对其体质量减轻均有一定缓解作用,Dex, CNPs, DS - CNPs@Dex - Gel 均对 TNBS 诱导的 UC 有效,且 DS - CNPs@Dex - Gel 的疗效优于 Dex 和 CNPs。详见图 4。

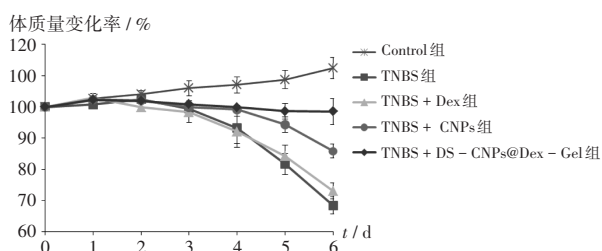


图 4 各组小鼠体质量变化曲线 (n = 12)

Fig. 4 Body mass change curves of mice in each group (n = 12)

对结肠指数的影响:Control 组小鼠结肠形态完整,光滑细长;TNBS 组小鼠结肠长度缩短,有充血、肿胀、溃疡现象;TNBS + Dex 组、TNBS + CNPs 组和 TNBS + DS - CNPs@Dex - Gel 组小鼠的结肠指数均较 TNBS 组降低,充血和红肿现象减轻,结肠形态有所改善,其中 TNBS + DS - CNPs@Dex - Gel 组的改善效果最优。与 Control 组比较,TNBS 组、TNBS + Dex 组、TNBS + CNPs 组的结肠指数均显著升高 ($P < 0.01$);与 TNBS 组比较,TNBS + CNPs 组、TNBS + DS - CNPs@Dex - Gel 组小鼠的结肠指数均显著降低 ($P < 0.01$)。表明经 Dex, CNPs, DS - CNPs@Dex - Gel 治疗后,小鼠 UC 症状均得到不同程度的缓解和修复,结肠缩短趋势减弱,红肿现象好转。而 TNBS + DS - CNPs@Dex - Gel 组的结肠指数在数值上更接近 Control 组,表明其在缓解 UC 症状方面表现更优的治疗趋势。详见表 4。

表 4 各组小鼠结肠指数比较 ($\bar{X} \pm s, n = 12$)

Tab. 4 Comparison of colon indexes of mice in each group ($\bar{X} \pm s, n = 12$)

组别	结肠长度(cm)	结肠质量(g)	结肠指数(g/cm)
Control 组	8.75 ± 0.24	0.95 ± 0.15	0.11 ± 0.02
TNBS 组	3.93 ± 0.44	1.24 ± 0.24	0.32 ± 0.07*
TNBS + Dex 组	4.66 ± 0.60	1.30 ± 0.27	0.28 ± 0.06*
TNBS + CNPs 组	5.35 ± 0.48	1.17 ± 0.26	0.22 ± 0.05#
TNBS + DS - CNPs@Dex - Gel 组	8.20 ± 0.43	1.31 ± 0.32	0.16 ± 0.05#

注:与 Control 组比较,* $P < 0.01$;与 TNBS 组比较,# $P < 0.01$ 。表 5 同。

Note: Compared with those in the Control group,* $P < 0.01$; compared with those in the TNBS group,# $P < 0.01$ (for Tab. 4 - 5).

对 DAI 评分与 MPO 活性的影响:与 Control 组比较,TNBS 组、TNBS + Dex 组、TNBS + CNPs 组小鼠的 DAI 评分

和 MPO 活性均显著升高 ($P < 0.01$);与 TNBS 组比较,TNBS + Dex 组、TNBS + CNPs 组、TNBS + DS - CNPs@Dex - Gel 组小鼠的 DAI 评分和 MPO 活性均显著降低 ($P < 0.01$),表明 Dex, CNPs, DS - CNPs@Dex - Gel 对 TNBS 诱导的 UC 模型小鼠均有较好的治疗作用。TNBS + DS - CNPs@Dex - Gel 组的 DAI 评分与 MPO 活性在所有治疗组中均最低,表明该制剂在减轻炎性反应方面表现出更优的治疗趋势。详见表 5。

表 5 各组小鼠 DAI 评分与 MPO 活性比较 ($\bar{X} \pm s, n = 12$)

Tab. 5 Comparison of DAI scores and MPO activity of mice in each group ($\bar{X} \pm s, n = 12$)

组别	DAI 评分(分)	MPO 活性(U/g)
Control 组	0	0.12 ± 0.05
TNBS 组	3.90 ± 0.32*	1.83 ± 0.05*
TNBS + Dex 组	2.70 ± 0.48#	1.23 ± 0.04#
TNBS + CNPs 组	1.90 ± 0.57#	0.41 ± 0.04#
TNBS + DS - CNPs@Dex - Gel 组	1.00 ± 0.67#	0.19 ± 0.03#

对脏器指数的影响:Dex 和 DS - CNPs@Dex - Gel 治疗对胸腺指数、脾脏指数的影响均较大,对心脏指数、肝脏指数、肺指数、肾脏指数均无显著影响。与 Control 组比较,TNBS + Dex 组小鼠的胸腺指数、脾脏指数均显著降低 ($P < 0.01$);与 TNBS + Dex 组比较,TNBS + DS - CNPs@Dex - Gel 组小鼠的胸腺指数、脾脏指数均显著升高 ($P < 0.01$)。可见,Dex 治疗对小鼠胸腺、脾脏均有一定损伤,而 DS - CNPs@Dex - Gel 治疗能有效减轻对胸腺、脾脏的损伤,并维持其免疫功能,且 Dex 和 DS - CNPs@Dex - Gel 均不影响心脏、肝脏、肺及肾脏,表明 TNBS 诱导的 UC 不会影响这些器官,安全性较高。详见图 5。

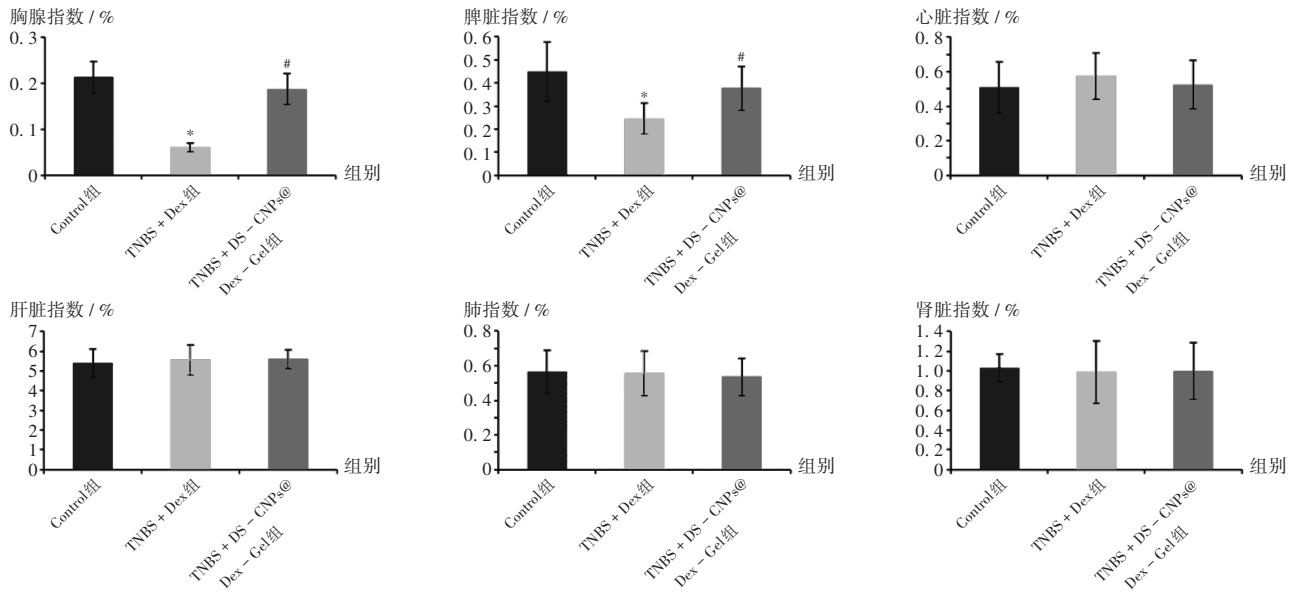
3 讨论

3.1 结肠靶向性与生物可降解性

由图 2 可见,DS - CNPs@Dex - Gel 在盲肠中可崩解释放出 Dex 和 CNPs。但用克林霉素抑制盲肠细菌,其释放量会显著减少,崩解也几乎停止。表明盲肠细菌对该水凝胶的崩解具有促进作用,也进一步印证了 DS - CNPs@Dex - Gel 具有良好的结肠靶向性和生物可降解性。此外,灌胃 DS - CNPs@Dex - Gel 后,不同时间点 Dex 在消化道各部位的分布情况也能体现其生物可降解性和结肠靶向性。给药 7 h 后,DS - CNPs@Dex - Gel 运转至小肠中下部,开始崩解,结肠内药物突释,此时 Dex 含量达到峰值,且超过胃与小肠内药物量总和。

3.2 药代动力学参数考察

由表 3 可见,灌胃给药后,DS - CNPs@Dex - Gel 组的 t_{max} 较 Dex 组显著延长 ($P < 0.01$),表明 DS - CNPs@Dex - Gel 在体内消除较缓慢,药物吸收入血时间延后;DS - CNPs@Dex - Gel 组的 C_{max} 较 Dex 组显著



注:与 Control 组比较,* $P < 0.01$;与 TNBS + Dex 组比较,# $P < 0.01$ 。

图5 各组小鼠脏器指数比较($n = 12$)

Note: Compared with those in the Control group,* $P < 0.01$; compared with those in the TNBS + Dex group,# $P < 0.01$.

Fig. 5 Comparison of organ indexes of mice in each group ($n = 12$)

降低($P < 0.01$),与 DS - CNPs@Dex - Gel 药物释放缓慢、血药浓度维持较低水平有关;DS - CNPs@Dex - Gel 组的 AUC 较 Dex 组显著降低($P < 0.01$),表明 DS - CNPs@Dex - Gel 可使吸收入血的药物浓度降低,减少药物全身性吸收,可能会减少不良反应。该研究结果为 DS - CNPs@Dex - Gel 在生物体内的有效性与安全性评价提供了实验依据,为今后测定 DS - CNPs@Dex - Gel 的生物功效及临床药理学研究奠定了基础。

3.3 药效动力学考察

不同品系小鼠对 TNBS 的敏感性不同,KM 小鼠对 TNBS 的敏感性较高,故本研究中选择 KM 小鼠进行药效动力学考察。以 2.5% TNBS 溶液灌胃的造模方式成功诱导了 UC 模型,小鼠的体质量减轻,结肠长度缩短,DAI 评分与 MPO 活性均升高。本研究结果显示,经 DS - CNPs@Dex - Gel 治疗后,小鼠体质量逐步回升,用药约 6 d 即接近 Control 组水平;DAI 评分和 MPO 活性较 TNBS 组均显著降低($P < 0.01$);胸腺指数、脾脏指数较 Dex 组均显著升高($P < 0.01$),表明 DS - CNPs@Dex - Gel 对急性 UC 有治疗作用。可见,DS - CNPs@Dex - Gel 能减少药物在机体内的全身性吸收,减轻对胸腺、脾脏的损伤,从而可能降低不良反应发生风险。此外,该制剂以口服方式治疗 UC,可避免 Dex 注射给患者带来的痛苦,更易被患者接受。

参考文献

[1] Du L L, Ha C. Epidemiology and Pathogenesis of Ulcerative Colitis[J]. Gastroenterol Clin North Am, 2020, 49(4): 643 - 654.
[2] Le Berre C, Honap S, Peyrin - Biroulet L. Ulcerative colitis[J]. Lancet, 2023, 402(10401): 571 - 584.

[3] Kucharzik T, Koletzko S, Kannengiesser K, et al. Ulcerative colitis - diagnostic and therapeutic algorithms[J]. Dtsch Arztebl Int, 2020, 117(33 / 34): 564 - 574.
[4] Zhang Y, Ma R R, You C Y, et al. Hyaluronic acid modified oral drug delivery system with mucoadhesiveness and macrophage - targeting for colitis treatment[J]. Carbohydr Polym, 2023, 313: 120884.
[5] Dong K, Zhang Y, Ji H R, et al. Dexamethasone - loaded lipid calcium phosphate nanoparticles treat experimental colitis by regulating macrophage polarization in inflammatory sites[J]. Int J Nanomedicine, 2024, 19: 993 - 1016.
[6] Madamsetty V S, Mohammadinejad R, Uzielienė I, et al. Dexamethasone: insights into pharmacological aspects, therapeutic mechanisms, and delivery systems[J]. ACS Biomater Sci Eng, 2022, 8(5): 1763 - 1790.
[7] Saparbayeva A, Lee J, Hlaing S P, et al. Ionically bridged dexamethasone sodium phosphate - zinc - PLGA nanocomplex in alginate microgel for the local treatment of ulcerative colitis[J]. Arch Pharm Res, 2023, 46(7): 646 - 658.
[8] Li X, Han Z H, Wang T Y, et al. Cerium oxide nanoparticles with antioxidative neurorestoration for ischemic stroke[J]. Biomaterials, 2022, 291: 121904.
[9] Gao Y Y, Zou J, Chen B, et al. Hyaluronic acid / serotonin - decorated cerium dioxide nanomedicine for targeted treatment of ulcerative colitis[J]. Biomater Sci, 2023, 11(2): 618 - 629.
[10] Kim J, Hong G, Mazaleuskaya L, et al. Ultrasmall antioxidant cerium oxide nanoparticles for regulation of acute inflammation[J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2021, 13(51): 60852 - 60864.
[11] Zhang B, Chi L L. Chondroitin sulfate / dermatan sulfate - protein interactions and their biological functions in human dis-