

环孢素 mPEG-PLGA 嵌段共聚物胶束的制备及大鼠药动学研究

姚东刚¹, 孙考祥^{1*}, 慕宏杰¹, 周凤梅², 陈慧慧¹, 刘林军¹, 梁娜¹

(1. 烟台大学 药学院, 山东 烟台 264005; 2. 山东绿叶制药有限公司, 山东 烟台 264003)

摘要: 为了开发不含 Cremophor EL 的环孢素注射制剂, 本文制备了环孢素 (cyclosporine A, CyA) 共聚物胶束并考察其体外释放行为和大鼠体内的药代动力学特征。采用开环聚合合法合成聚乙二醇单甲醚-聚乳酸羟基乙酸嵌段共聚物。采用溶剂挥发法制备环孢素共聚物胶束 (CyA-PM), 并通过动态光散射技术、透射电镜、高效液相色谱法对其粒径、形态、包封率和载药量进行考察。体外释放和大鼠给药后的样品经处理后以高效液相色谱法测定。结果显示, 所制备 CyA-PM 呈核-壳球形结构, 粒径在 136.1~141.9 nm 内, 包封率可达 62.3%。CyA-PM 在体外具有明显的缓释效果, 12 h 内累计释放率为 9.7%, 经拟合释放行为符合 Higuchi 方程; 与相同剂量的山地明溶液比较, CyA-PM 在大鼠体内的半衰期延长, 相对生物利用度提高, 二者体内经时过程均符合二房室模型。CyA-PM 增溶效果明显, 同时克服了山地明中增溶剂-聚氧乙烯蓖麻油的毒副作用, 有望开发成为环孢素的新一代制剂。

关键词: 环孢素; 聚乙二醇单甲醚-聚乳酸羟基乙酸共聚物; 共聚物胶束; 药动学

中图分类号: R943

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2009) 12-1410-06

Preparation of cyclosporine A loaded mPEG-PLGA copolymer micelles and study its pharmacokinetics in rats

YAO Dong-gang¹, SUN Kao-xiang^{1*}, MU Hong-jie¹, ZHOU Feng-mei², CHEN Hui-hui¹,
LIU Lin-jun¹, LIANG Na¹

(1. School of Pharmacy, Yantai University, Yantai 264005, China; 2. Luye Pharmaceutical Co., Ltd., Yantai 264003, China)

Abstract: To prepare cyclosporine A (CyA) loaded block copolymer micelles and observe its release behaviors *in vitro* and pharmacokinetics in rats, methoxypoly (ethylene glycol)-poly (D, L-lactide-co-glycolide) (mPEG-PLGA) was synthesized by ring-opening copolymerization of lactide and glycolide in the presence of methoxypoly (ethylene glycol) (mPEG) as initiator. The structure of the mPEG-PLGA copolymer was confirmed with ¹H NMR and FT-IR. The cyclosporine A loaded micelles (CyA-PM) were prepared by solvent evaporation method and their morphology was observed by the transmission electron microscope (TEM). The mean size and size distribution were determined by dynamic light scattering (DLS). The release behaviors *in vitro* and pharmacokinetics in rats were investigated by HPLC method using cyclosporine A injection commercial agent, sandimmune, as the reference. The obtained CyA-PM showed spherical shape with the core-shell structure, the mean particle sizes are in the range of 136.1-141.9 nm. The drug loading amount and entrapment efficiency were increased and the particle size became smaller with decreasing the ratio of acetone to water. With the increasing of the amount of cyclosporine A fed the drug loading increased, entrapment efficiency decreased and the particle size had no change. CyA-PM showed significant sustained release behavior *in vitro* compared with sandimmune and only 9.7% of encapsulated cyclosporine A was released after 12 hours, the release characteristics was well fitted with Higuchi equation ($r = 0.999$). The Pharmacokinetics study at

收稿日期: 2009-07-14.

*通讯作者 Tel: 86-535-6706021, Fax: 86-535-6706036, E-mail: sunkx@ytu.edu.cn

equal administration dosage ($5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) in rats showed the half-life ($t_{1/2}$) of CyA-PM extended and the area under concentration-time curve (AUC) increased compared to sandimmune. The results also showed that cyclosporine A concentration-time data were all in accord with two compartment model. Cyclosporine A loaded mPEG-PLGA micelles showed obviously solubility enhancement, sustained release and overcome the side effect and toxicity of sandimmune resulted from solubilizing agent-polyoxyethylene castor oil (Cremophor EL) and might be developed as a novel dosage form of cyclosporine A.

Key words: cyclosporine A; methoxy poly (ethylene glycol)-b-poly (*D, L*-lactide-co-glycolide); copolymeric micelles; pharmacokinetics

环孢素 (cyclosporine A, CyA) 是从雪白白僵菌中得到的一种环状肽物质, 能特异性的抑制辅助性 T 细胞的产生和释放, 对 B 细胞和自然杀伤细胞活化的早期阶段以及巨噬细胞的免疫辅助作用均有抑制, 临床上用于肾脏、肝脏和心脏等移植手术中抗宿主排斥反应的治疗。由于其具有强脂溶性, 水中溶解度很低 (小于 $7.3 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, $30 \text{ }^\circ\text{C}$)^[1], 目前临床常用的环孢素注射剂山地明 (sandimmune) 处方中采用 65% 以上的聚氧乙烯蓖麻油 (Cremophor EL) 作为增溶剂, 而此辅料易导致超敏反应和肝脏、肾脏毒性等^[2], 并且有报道称 Cremophor EL 可溶解 PVC 输液管中的二乙烯基邻苯二甲酸盐引起严重的毒性反应和不适^[3]。因此, 开发不含 Cremophor EL 的环孢素注射剂具有重要意义。

嵌段共聚物胶束由疏水-亲水嵌段共聚物分子在水溶液中自组装形成, 具有独特内核-外壳结构, 是 20 世纪 80 年代兴起的一种纳米药物递送系统。对难溶性药物具有增溶效果, 抗血液稀释能力突出, 并且所用材料为生物相容性材料, 是一种缓释、高效且安全的药物载体。近年来此类药物载体已取得突破性的进展, 目前韩国 Samyang 公司研制的注射用紫杉醇共聚物胶束和 Alakhov 研究小组开发的逆转肿瘤多药耐药 (MDR) 作用的新型阿霉素 Pluronic 制剂 (商品名 SP1049C), 均处于临床研究阶段^[4], 显示了嵌段共聚物胶束是一种极有前景的药物传递系统。

目前, 以聚乙二醇单甲醚 (mPEG) 作为亲水链段, 聚乳酸 (PLA)、聚己内酯 (PCL)、聚苯乙烯 (PS)、聚异丙基丙烯酰胺和聚氨基酸等为疏水链段的两嵌段共聚物胶束作为药物载体已得到广泛研究, 本文以自制的聚乙二醇单甲醚-聚乳酸羟基乙酸共聚物 (mPEG-PLGA) 为材料制备环孢素共聚物胶束 (CyA-PM), 考察其形态、粒径和载药能力, 并以山地明为对照, 对其体外释放行为和体内药动学等进行评价。

材料与方法

试剂 *D, L*-丙交酯、乙交酯 (济南岱罡生物科技有限公司), 聚乙二醇单甲醚 (M_n 2000, 美国陶氏化学公司), 辛酸亚锡 (国药集团化学试剂有限公司), 环孢素 (华东医药股份有限公司), 牛血清白蛋白 (BSA, Toca 公司), 其他试剂均为分析纯。

仪器 ARX-400 型核磁共振仪 (瑞士 Bruker 公司); spectrum one 型红外光谱仪 (美国 PE 公司), Nicomp 380 型粒度测定仪 (美国 PSS 公司); JEM-1400 型透射电子显微镜 (日本株式会社), Agilent 1100 型高效液相色谱仪 (安捷伦公司)。

动物 健康雄性 SD 大鼠, 体重 (250 ± 15) g, 由山东绿叶制药有限公司提供, 使用许可证号: SYXK 鲁 20030020。

mPEG-PLGA 的合成及表征 采用开环聚合法合成 mPEG-PLGA。将丙交酯 3.6 g、乙交酯 2.9 g 和 mPEG 2.0 g 置于圆底烧瓶中, 加入 0.05% (w/w) 底物的催化剂辛酸亚锡, 于真空密闭体系, $180 \text{ }^\circ\text{C}$ 油浴温度下反应 4 h 得到粗品。将粗品自然冷却至室温, 以二氯甲烷溶解后, 冰乙醚中沉淀, 减压抽滤, 将所得沉淀于 $40 \text{ }^\circ\text{C}$ 下常压干燥 24 h, 继续真空干燥至恒重。

以四甲基硅烷为内标, 氘代氯仿为溶剂, $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 下测定产品的 ^1H NMR 图谱, 并根据积分值计算相对分子质量和组成。将产品溶解于二氯甲烷, 滴在 KBr 压片上, 烘干后测定 IR 图谱。将产品溶解后, 以四氢呋喃为洗脱剂流经 Styragel[®]HT3 (7.8 mm \times 300 mm, 10 μm , 相对分子质量: 500~30 000) 色谱柱, 于柱温 $35 \text{ }^\circ\text{C}$ 下测定分子质量。

CyA-PM 制备^[1] 采用溶剂蒸发法制备 CyA-PM。称取环孢素 5 mg、mPEG-PLGA 共聚物 50 mg, 溶于 1 mL 丙酮中, 搅拌下将此溶液逐滴滴入到双蒸水中, 室温下平衡 4 h 后, $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 下减压蒸发除去丙酮, 得到白色混悬液, 经 $8\ 000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心, 上清液过 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜后, 即得 CyA-PM, 置于 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱储存。

包封率与载药量测定 采用 HPLC 法测定环孢素的含量。色谱柱: Diamonsil C₁₈ 柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相: 乙腈-水-磷酸 (760 : 240 : 0.5, v/v), 检测波长: 210 nm, 流速: 1.0 mL·min⁻¹, 柱温: 65 °C。以峰面积 (*A*) 对浓度 (*C*, mg·mL⁻¹) 进行线性回归, 得 $A=5.37 \times 10^4 C + 2.89 \times 10^2$, $r = 0.9999$, 方法回收率为 99.57%, 日内、日间 RSD 均小于 1.79% ($n = 7$), 符合含量测定要求。将 CyA-PM 用适量乙腈破膜, HPLC 测定胶束内环孢素的含量, CyA-PM 的总质量冻干后测得, 计算包封率和载药量。

$$\text{包封率} = (\text{胶束内环孢素的含量} / \text{投药量}) \times 100\%$$

$$\text{载药量} = (\text{胶束内环孢素的含量} / \text{胶束的总质量}) \times 100\%$$

由于环孢素在水中溶解度很小, 过滤后 CyA-PM 溶液中游离的环孢素与包载入胶束内的环孢素 (1.0 mg·mL⁻¹) 的量相比可以忽略不计, 因此计算包封率、载药量时未考虑游离环孢素的量。

形态和粒径测定 CyA-PM 溶液经适当稀释后, 用 0.2% 磷钨酸负染色, 于 JEM-1400 型透射电镜下观察。另取 CyA-PM 溶液适量稀释至光强 200~300 之间, 用 Nicomp380 型粒度分析仪测定粒径。

体外释放研究 采用透析法研究 CyA-PM 的体外释放行为。精密量取 CyA-PM 溶液 2 mL 于透析袋 (截留分子量为 8 000~12 000) 内, 密封后置于盛有 25 mL BSA 溶液 (4%, w/v) 的释放管中, 将此释放管孵育于 (37 ± 0.5) °C、80 r·min⁻¹ 的水浴恒温振荡器中, 于特定时间取样 0.5 mL 并补充同体积的释放介质。所取试样经预处理后 (方法同大鼠药物动力学项下, 样品处理与测定方法项) 于 HPLC 测定, 计算累积释放百分率。

$$E_t = \frac{V_c \sum_{i=1}^{n-1} C_i + V_0 C_n}{m_{\text{drug}}}$$

其中, E_t 为环孢素的累积释放量 (%), V_c 表示取样的体积 (mL), V_0 为释放介质 BSA 溶液的总体积 (mL), C_i 表示第 i 次取样时环孢素的浓度 (mg·mL⁻¹), m_{drug} 表示 CyA-PM 中环孢素的总质量 (mg), n 为取样次数。

大鼠药物动力学 样品处理与测定方法: 取全血试样 500 μL 于具塞玻璃离心管中, 加入 50 mmol·L⁻¹ NaOH 1.0 mL, 涡旋混合 1 min, 再加入重蒸乙醚 5.0 mL, 涡旋混合 5 min, 转速 3 600 r·min⁻¹ 离心 5 min, 取乙醚层 4 mL, 在 37 °C 水浴中氮气吹干, 向残渣中加入乙醚 1.0 mL, 涡旋混合 2 min, 挥干。然后加入流动相-50 mmol·L⁻¹ HCl (85 : 15) 100 μL, 涡旋混合 2 min, 再加入正己烷 500 μL, 涡旋混

合 1 min, 转速 3 600 r·min⁻¹ 离心 5 min, 吸取下层 20 μL, 进行 HPLC 测定。色谱柱: Kromasil 100-5 C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)。预柱: Dikma C₁₈ 柱 (10 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流速: 1.5 mL·min⁻¹, 其他色谱条件同包封率测定。

给药方案及数据处理: 取雄性 SD 大鼠 12 只, 体重为 (250 ± 15) g, 实验前禁食 (不禁水) 12 h 以上。将大鼠随机分成 2 组, 每组 6 只, 分别于尾静脉注射 CyA-PM 制剂和山地明, 环孢素质量浓度均为 1.0 mg·mL⁻¹, 给药剂量均为 5 mg·kg⁻¹, 给药 4 h 后允许大鼠自由进食, 于给药后特定时间间隔眼眶取血约 0.5 mL, 置于肝素化的具塞离心管中, 按上述条件操作、测定, 绘制环孢素的血药浓度-时间曲线, 采用 DAS 2.0 软件统计矩法计算药动学参数。统计学分析采用 excel 进行 t 检验。

结果与讨论

1 mPEG-PLGA 的结构分析

合成的 mPEG-PLGA 的平均收率约为 86%。合成产物分别采用 ¹H NMR、IR、GPC 进行表征。图 1 中 A、B 分别为 mPEG 和精制后的 mPEG-PLGA 的 ¹H NMR 图, 两者共有峰 mPEG 单元亚甲基 (-O-CH₂^{*}-CH₂^{*}-)_z、末端氧甲基峰分别位于 δ 3.6、δ 3.38。与 mPEG 比较, mPEG-PLGA 的 ¹H NMR 图多了几组峰, 分别是 δ 5.2 处的丙交酯单元次甲基 (-O-CH^{*}(CH₃)-CO-)_x 峰, δ 4.8 处的乙交酯单元亚甲基 (-O-CH₂^{*}-CO-)_y 峰和 δ 1.58 处的丙交酯单元甲基质子 (-O-CH(CH₃^{*})-CO-) 峰, 初步确认了 mPEG-PLGA 的生成。峰的复杂性是由于丙交酯、乙交酯单元和 mPEG 上的氢处于共聚物骨架上的不同位置而造成化学位移有细微差异的缘故。根据 mPEG-PLGA 的氢积分值, 可计算组成 mPEG-PLGA 的丙交酯与乙交酯单元的质量比、mPEG 的相对分子量、mPEG-PLGA 的数均分子量, 结合文献^[5]推导出公式:

$$\frac{M_{LA}}{M_{GA}} = \frac{A_a \times 2 \times 72}{A_b \times 58}$$

$$M_{\text{mPEG}} = \frac{A_a}{A_c} \times \frac{3}{4} \times 44 + 32$$

$$\bar{M}_n = M_{\text{mPEG}} + \frac{(M_{\text{mPEG}} - 32)}{44} \times \frac{A_a}{A_c} \times 4 \times 72 +$$

$$\frac{(M_{\text{mPEG}} - 32)}{44} \times \frac{A_b}{A_c} \times 2 \times 58$$

其中, M_{LA} , M_{GA} 分别为 mPEG-PLGA 中丙交酯和乙交

酯单元的质量, M_{mPEG} 表示 mPEG 的相对分子量, \bar{M}_n 为 mPEG-PLGA 数均分子量, A_a 、 A_b 和 A_c 分别为 δ 1.58、 δ 4.8 和 δ 3.6 处峰的积分值面积。经计算 $M_{\text{LA}}/M_{\text{GA}}=1.1$ 、 $M_{\text{mPEG}}=1\ 963.1$ 、 $\bar{M}_n=9\ 800.8$, 所得产物与投料理论值存在细微差异, 可能是由于部分投料未完全转化的缘故。制备的 mPEG-PLGA 满足本实验需要。

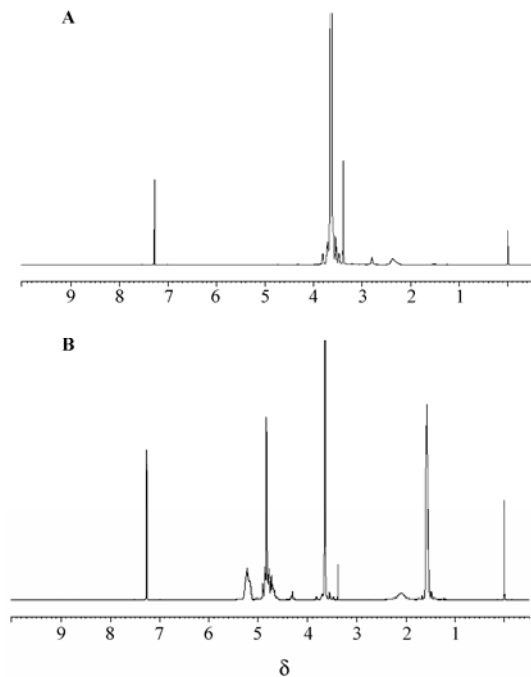


Figure 1 The ^1H NMR spectrum of mPEG (A) and mPEG-PLGA copolymer (B)

mPEG 和 mPEG-PLGA 的红外光谱图见图 2, 图中可以看出 $1\ 761\ \text{cm}^{-1}$ 的强峰为羰基的 C=O 伸缩振动峰, $1\ 173\ \text{cm}^{-1}$ 峰是酯基 C-O 伸缩振动峰, 证明聚合物中存在 -COO- 基团; C-H 伸缩振动峰 ($2\ 997\ \text{cm}^{-1}$), -CH₃ 弯曲振动峰 ($1\ 453\ \text{cm}^{-1}$), 再加上 $1\ 398\ \text{cm}^{-1}$ 的 -CH₃ 特征峰, 可确定存在丙交酯结构单元; $2\ 886\ \text{cm}^{-1}$ 为 -CH₂- 的伸缩振动峰, $1\ 095\ \text{cm}^{-1}$ 处的强峰为 mPEG 醚键 C-O-C 的伸缩振动峰。与 mPEG 的 IR 谱图相比, mPEG-PLGA $3\ 000\sim 2\ 876\ \text{cm}^{-1}$ 处的 C-H 伸缩振动峰相对增强, 这是由于引入了丙交酯单元的 -CH₃ 和乙交酯单元的 -CH₂- 所致。

图 3 为合成的 mPEG-PLGA 的 GPC 色谱图和处理得到的分子量分布图。图中显示, 所测样品峰的保留值为 9.17 min, GPC 所测相对分子质量为 9 150.2, 与 ^1H NMR 所测值有细微差异, 这是由于两者的测定原理不同导致的。赵辉鹏等^[5]认为两亲嵌段共聚物分

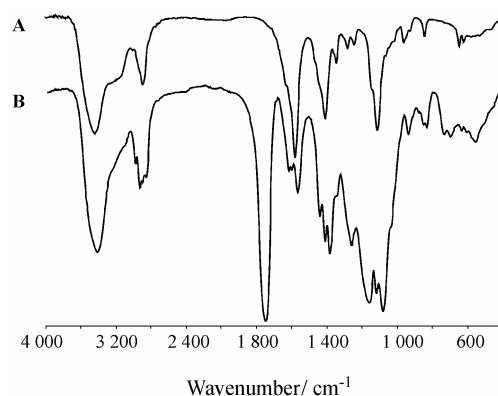


Figure 2 IR spectrum of mPEG (A) and mPEG-PLGA copolymer (B)

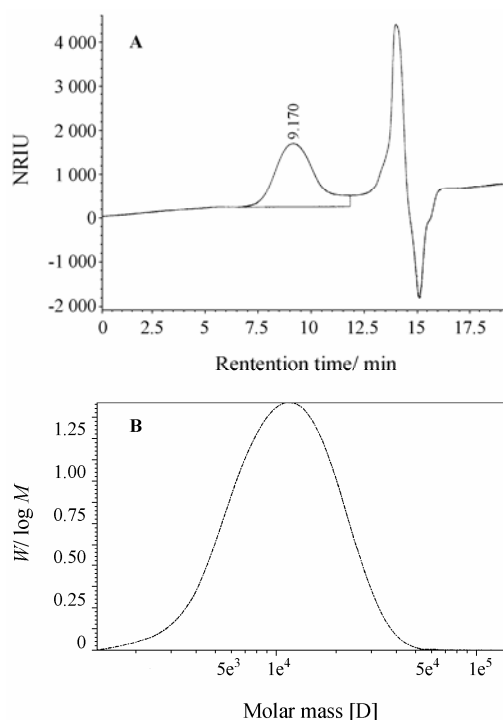


Figure 3 The GPC chromatogram (A) and molecular weight distribution (B) of mPEG-PLGA copolymer

子中亲水链段和亲油链段的极性差异大, 导致嵌段共聚物在任何溶剂中的构象都不同, 因此用 GPC 法很难准确测定两亲嵌段共聚物的分子量, 而 ^1H NMR 法只与质子的化学环境有关, 测定结果准确。

2 CyA-PM 的影响因素

本实验以有机相/水相比率 1:2 和 1:5 为例, 初步考察有机相/水相比率对包封率、载药量和粒径的影响。考察结果见表 1, 当丙酮/水相为 1:5 时, 可得小粒径, 高包封率的载药胶束, 这与文献^[6]报道的趋势相一致。可能是由于在低水相含量时, 胶束的形成以热力学控制占主导, 随水相比率增大, 动力学控

制被认为在胶束的自组装过程更占有优势^[7],而这种行为影响所制备胶束的粒径大小和载药能力。

余巧等^[3]认为投药量与嵌段聚合物胶束的包封率等紧密相关。本实验选取 2 和 5 mg·mL⁻¹ 两个浓度考察了投药量对载药胶束的包封率、载药量和粒径的影响。结果如表 2 所示,载药量随环孢素的投药量增加而增大,但包封率降低,这可能是由于投药量的增加使得药物进入胶束内部的含量增加但几率降低的缘故,胶束的粒径受投药量的影响不显著。

3 胶束形态

CyA-PM 电镜照片见图 4。图中可见, CyA-PM 呈球形,分布较为均匀。图中云雾状的白色区域部分均为磷钨酸未能染色的区域,放大后 CyA-PM 可见核壳结构。

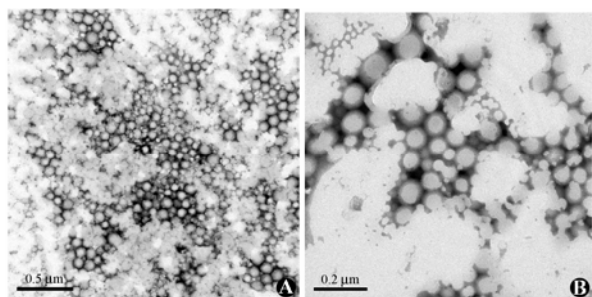


Figure 4 TEM images of cyclosporine A loaded micelles. A: The bar represents 0.5μm; B: The bar represents 0.2μm

4 体外释放

环孢素乙醇溶液, CyA-PM 和山地的体外释放曲线见图 5。由图 5 可知 40%乙醇溶液中的环孢素可以自由的跨过透析袋,在 2 和 12 h 内分别有 71%和 93%的环孢素从 40%的乙醇溶液转移到牛血清白蛋白 (BSA) 溶液中,因此环孢素从载体 (Cremophor EL 胶束和 CyA-PM 胶束) 中释放被认为是限速过程。

环孢素在山地明溶液中释放速度缓慢,2 和 12 h 内仅有 29%和 75%被释放; CyA-PM 具有显著的保留药物的能力,释放速度最慢,12 h 内仅有 9.7%的环孢素被释放。

由于环孢素难溶于水,因此漏漕条件的选择对于体外释放实验至关重要,已有多篇报道采用有机溶剂、表面活性剂等以增加环孢素的溶解度。然而 Huh 等^[8]学者认为表面活性剂或有机溶剂本身对药物的释放动力学和递药载体的稳定性存在潜在的影响,不适宜作为环孢素的释放介质。近年来,BSA 作为新型的环孢素的释放介质被越来越多的研究者所采用^[1]。本实验选取 BSA 溶液 (4%, w/v) 为释放介质,以山地明溶液为参比制剂研究 CyA-PM 的体外释放,由于药物的释放速率与浓度之间有一定的关系,本实验中所采用的环孢素制剂的浓度均为 1.0 mg·mL⁻¹。

经释放方程拟合, CyA-PM 的释放符合 Higuchi 方程,说明药物释放不是简单的扩散,可能是通过骨架溶蚀机制释放药物。

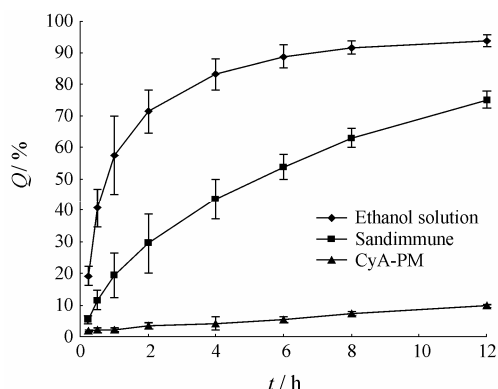


Figure 5 *In vitro* released profiles of BSA from ethanol solution, sandimmune solution and cyclosporine A loaded micelles (CyA-PM). $n = 6, \bar{x} \pm s$

Table 1 Impacts on particle size, loading level and entrapment efficiency of cyclosporine A loaded micelles with changing the ratio of acetone to water ($n = 6, \bar{x} \pm s$)

Acetone/water	Initial concentration/mg·mL ⁻¹	Particle size/nm	Loading level/%	Entrapment efficiency/%
1 : 2	5	141.9 ± 24.2	3.4 ± 0.6	37.2 ± 6.9
1 : 5	5	137.2 ± 30.2	4.4 ± 0.7*	48.3 ± 7.6*

* $P < 0.05$ vs the ratio of acetone to water: 1 : 2

Table 2 Impacts on particle size, loading level and entrapment efficiency of cyclosporine A loaded micelles with changing the fed amount ($n=6, \bar{x} \pm s$)

Acetone/water	Initial concentration/mg·mL ⁻¹	Particle size/nm	Loading level/%	Entrapment efficiency/%
1 : 5	2	136.1±33.1	2.4 ± 0.6	62.3 ± 15.7
1 : 5	5	137.2±30.2	4.4 ± 0.7*	48.3 ± 7.6*

* $P < 0.05$ vs the initial concentration: 2 mg·mL⁻¹

5 大鼠药动学

大鼠全血内环孢素的标准曲线为 $A=1.47 \times 10^2 C+0.67$, 在 $0.2 \sim 10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 呈良好的线性关系 ($r=0.998$), 低、中、高 3 种浓度 (0.2 、 1.0 和 $5.0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 环孢素的方法回收率分别为 $(92.7 \pm 1.2)\%$ 、 $(103.1 \pm 0.4)\%$ 和 $(91.6 \pm 4.7)\%$, 提取回收率分别为 $(81.5 \pm 7.5)\%$ 、 $(86.9 \pm 1.9)\%$ 和 $(88.3 \pm 3.8)\%$, 日内精密度分别为 1.3% 、 3.3% 和 5.2% , 日间精密度分别为 3.2% 、 6.8% 和 8.3% , 提示全血中环孢素检测方法满足生物样品分析要求。

大鼠给予 CyA-PM 制剂和参比制剂 (山地明) 后的血药浓度-时间曲线见图 6。图中显示, 给予 CyA-PM 溶液组较同剂量山地明生理盐水组血药浓度-时间曲线变化更加平缓。大鼠给予山地明, 环孢素在体内消除速度较快, 给药后 4 h 血药浓度即低于 $1.00 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; 注射 CyA-PM 制剂的大鼠前 2 h 药物浓度下降较快, 随后消除比较平缓, 给药 8 h 后血药浓度仍达 $1.00 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 以上。与山地明相比, CyA-PM 在大鼠体内具有一定的缓释作用。

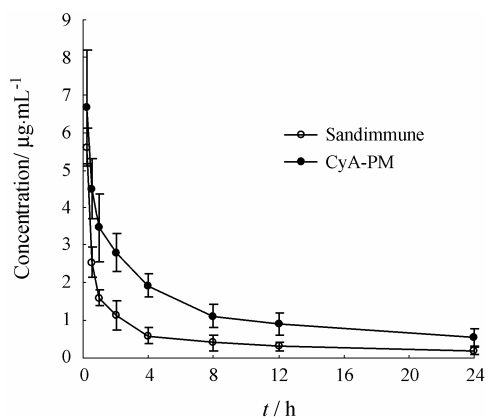


Figure 6 Mean plasma concentration-time curve of cyclosporine A after intravenous injection of sandimmune solution and CyA-PM. $n=6$, $\bar{x} \pm s$

经统计矩法计算的药动学参数结果见表3。表中显示, 大鼠静脉注射CyA-PM制剂的半衰期较山地明延长, 体内平均滞留时间MRT增加, AUC明显高于山地明, 提示CyA-PM制剂能够延缓药物在大鼠体内的消除, 并提高生物利用度。

由于CyA-PM所用材料mPEG-PLGA具有生物相容性的特点, 体内无毒副作用, 避免了临床上常用的

注射剂——山地明中Cremophor EL的使用, CyA-PM有望开发成为新一代的环孢素注射制剂。

Table 3 Main pharmacokinetic parameters of cyclosporine A after intravenous injection of sandimmune solution and CyA-PM. $n=6$, $\bar{x} \pm s$

Pharmacokinetic parameter	Sandimmune	CyA-PM
$AUC_{0-24}/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{h}$	12.79 ± 3.22	$31.59 \pm 9.46^*$
$AUC_{0-\infty}/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{h}$	16.68 ± 4.86	$44.92 \pm 11.31^*$
$t_{1/2}/\text{h}$	13.58 ± 3.34	16.50 ± 4.12
MRT/h	15.19 ± 4.52	19.48 ± 6.83
k/h^{-1}	0.051 ± 0.015	0.042 ± 0.011

* $P < 0.05$ vs sandimmune solution

References

- [1] Aliabadi HM, Mahmud A, Sharifabadi AD, et al. Micelles of methoxy poly (ethylene oxide)-b-poly (ϵ -caprolactone) as vehicles for the solubilization and controlled delivery of cyclosporine A [J]. *J Control Release*, 2005, 104: 301-311.
- [2] Xie JW, Wang CH. Self-assembled biodegradable nanoparticles developed by direct dialysis for the delivery of paclitaxel [J]. *Pharm Res*, 2005, 22: 2079-2090.
- [3] Yu Q, Pan SR, Du Z. Preparation and properties of self-assemble paclitaxel-loaded core-shell type nano-micelles [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2008, 43: 408-414.
- [4] Zhou JP, Hou MR. Advances on modern pharmaceuticals [J]. *J China Pharm Univ (中国药科大学学报)*, 2007, 38: 97-104.
- [5] Zhao HP, Zhang Y, Zha LS, et al. Determination of the relative molecular mass and composition of biodegradable amphiphilic diblock copolymer by NMR [J]. *J Instrum Anal (分析测试学报)*, 2005, 25: 6-10.
- [6] Aliabadi HM, Elhasi S, Mahmud A. Encapsulation of hydrophobic drugs in polymeric micelles through co-solvent evaporation: the effect of solvent composition on micellar properties and drug loading [J]. *Int J Pharm*, 2007, 329: 158-165.
- [7] Zhang L, Eisenberg A. Thermodynamic vs kinetic aspects in the formation and morphological transitions of crew-cut aggregates produced by self-assembly of polystyrene-b-poly (acrylic acid) block copolymers in dilute solution [J]. *Macromolecules*, 1999, 32: 2239-2249.
- [8] Huh KM, Lee SC, Cho YW, et al. Hydrotropic polymer micelle system for delivery of paclitaxel [J]. *J Control Release*, 2005, 101: 59-68.