

2% 双醋瑞因滴眼液结膜囊多次与单次给药的角膜药代动力学差异

杨柯¹, 陈世伟², 窦新岩¹, 张晔瑞³, 金鑫¹, 张红敏¹

基金项目: 河南省科技创新人才计划项目(No. 144100510015); 河南省自然科学基金项目(No. 162300410163)

作者单位:¹(450003) 中国河南省郑州市, 河南省眼科研究所 河南省立眼科医院 河南省眼科学与视觉科学重点实验室 河南省人民医院 郑州大学人民医院眼科;²(450003) 中国河南省郑州市, 河南省口岸食品检验检测所;³(453003) 中国河南省新乡市, 新乡医学院

作者简介: 杨柯, 在读硕士研究生, 研究方向: 角膜及眼表疾病。通讯作者: 张红敏, 博士, 研究员, 硕士研究生导师, 研究方向: 眼表感染与免疫。zhm0906@163.com

收稿日期: 2017-10-19 修回日期: 2018-03-12

Corneal pharmacokinetics of the 2% diacerein eye drops between multiple administration and single administration

Ke Yang¹, Shi-Wei Chen², Xin-Yan Dou¹, Zhi-Rui Zhang³, Xin Jin¹, Hong-Min Zhang¹

Foundation items: Science and Technology Innovation Talent Project of Henan Province (No. 144100510015); Natural Science Foundation of Henan Province (No. 162300410163)

¹Henan Eye Institute; Henan Eye Hospital; Henan Key Laboratory of Ophthalmology and Visual Science; Department of Ophthalmology, Henan Provincial People's Hospital; People's Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450003, Henan Province, China; ²Henan Food Inspection and Testing Institute, Zhengzhou 450003, Henan Province, China; ³Xinxiang Medical College, Xinxiang 453003, Henan Province, China

Correspondence to: Hong - Min Zhang. Henan Eye Institute; Henan Eye Hospital; Henan Key Laboratory of Ophthalmology and Visual Science; Department of Ophthalmology, Henan Provincial People's Hospital; People's Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450003, Henan Province, China. zhm0906@163.com
Received: 2017-10-19 Accepted: 2018-03-12

Abstract

• AIM: To compare the pharmacokinetic differences of the 2% diacerein eye drops between conjunctival sac multiple administration and single administration in the cornea, and to provide the experimental basis for clinicians to use the conjunctival sac multiple administration.

• METHODS: Male Kunming mice were randomly divided into the multiple administration group and the single administration group. The multiple administration group were given diacerein eye drop every 2min (3 times

in total). The concentrations of the metabolites of diacerein in the cornea were measured by high performance liquid chromatography after given eye drop 5, 15, 30, 60, 120, and 180min. The pharmacokinetic parameters were calculated by pharmacokinetic software (DAS2.1.1).

• RESULTS: The metabolites of diacerein, rhein, was detected in the cornea at each time point. The concentration of the metabolite of diacerein in the cornea was 318.678 ± 40.88 , 210.02 ± 25.66 , 188.83 ± 31.74 , 112.24 ± 11.70 , 90.28 ± 22.01 and $57.67 \pm 13.71 \mu\text{g/g}$ after given eye drop 5, 15, 30, 60, 120, and 180min in the multiple administration group. The concentration in the single administration group was 145.17 ± 19.29 , 97.95 ± 10.49 , 71.18 ± 18.70 , 39.11 ± 2.44 , 18.10 ± 2.34 and $9.08 \pm 2.04 \mu\text{g/g}$ respectively. The concentration of rhein in the cornea was the highest at 5min after the administration in the two groups. The concentration of the multiple administration group was higher than that in the single administration group at 5, 15, 30, 60, 120, and 180min ($P < 0.01$). The half-life of the drug was 0.89 ± 0.31 h in the single administration group.

• CONCLUSION: Compared with the single administration, the conjunctival sac multiple administration has the advantages of high drug concentration and long duration. Therefore the conjunctival sac multiple administration is a more effective method to treat acute infectious corneal diseases.

• KEYWORDS: conjunctival sac delivery; diacerein; multiple administration; single; pharmacokinetic

Citation: Yang K, Chen SW, Dou XY, et al. Corneal pharmacokinetics of the 2% diacerein eye drops between multiple administration and single administration. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2018;18(4):630-633

摘要

目的: 对比2%双醋瑞因滴眼液结膜囊多次给药与单次给药在角膜中的药代动力学差异, 为临床医师治疗感染性角膜病时多次给药提供实验依据。

方法: 以2%双醋瑞因为实验滴眼液, 选取健康无眼疾的雄性昆明小白鼠, 随机分为多次给药组和单次给药组, 双眼结膜囊分别给予双醋瑞因滴眼液。多次给药组间隔2min给药一次, 共给药3次; 单次给药组仅给药1次。用高效液相法测定角膜中双醋瑞因的代谢产物(大黄酸)的浓度, 多次给药组和单次给药组的时间点均为5、15、30、60、120、180min。将小鼠角膜组织中的药物浓度经药

物动力学程序(DAS2.1.1)进行拟合,并计算相关药动学参数。

结果:结膜囊多次给药组和单次给药组各个时间点角膜中均可检测到其活性代谢产物大黄酸;多次给药组5、15、30、60、120、180min的浓度分别为 318.678 ± 40.88 、 210.02 ± 25.66 、 188.83 ± 31.74 、 112.24 ± 11.70 、 90.28 ± 22.01 和 $57.67 \pm 13.71 \mu\text{g/g}$,单次给药组各时间点浓度分别为 145.17 ± 19.29 、 97.95 ± 10.49 、 71.18 ± 18.70 、 39.11 ± 2.44 、 18.10 ± 2.34 和 $9.08 \pm 2.04 \mu\text{g/g}$ 。两组小鼠角膜中大黄酸的含量均于给药后5min最高,多次给药组浓度高于单次给药组浓度,差异具有统计学意义($P < 0.01$)。随时间延长大黄酸的浓度逐渐下降,3h后多次给药组浓度仍高于单次给药组,差异具有统计学意义($P < 0.01$)。单次给药组半衰期为 $0.89 \pm 0.31\text{h}$ 。

结论:结膜囊多次给药与单次给药相比具有药物有效浓度高、维持时间长的优点,双醋瑞因作为一种新的抗菌药物,可以在感染性角膜炎的早期对病程的发展起到抑制作用。多次给药后可以对急性发展期起到较好的治疗效果,而且在夜晚也可维持较高浓度,在保证患者的睡眠质量同时又起到了对疾病的治疗作用。

关键词:结膜囊给药;双醋瑞因;多次;单次;药物代谢动力学

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2018.4.08

引用:杨柯,陈世伟,窦新岩,等. 2%双醋瑞因滴眼液结膜囊多次与单次给药的角膜药代动力学差异. 国际眼科杂志 2018;18(4):630-633

0 引言

结膜囊给药以滴入药量少,起效速度快,无全身副作用,患者易于接受等优点成为眼科最常用的给药方式之一^[1]。但结膜囊给药后,药物随泪液经眼表流失^[2],或经局部毛细血管吸收,或经泪道流入鼻腔后吸收^[3],最终使药物在眼部的生物利用度往往小于5%^[4-5]。为增加滴眼剂在眼部的吸收利用,以及使其快速达到有效浓度,临床上尤其是在感染性角膜溃疡时常常使用多次滴眼的方法。然而,目前却没有结膜囊多次给药和单次给药的角膜药代动力学差异的报道,缺乏多次给药增加角膜药物浓度的科学依据。本文以2%双醋瑞因滴眼液为模型药物,进行了结膜囊多次和单次给药的角膜药代动力学研究,以期对结膜囊多次给药提供实验室数据,为临床医师用药提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 昆明白小鼠,SPF(specific pathogen free)级,雄性,体质量36~38g,购自河南省实验动物中心。裂隙灯检查挑选出36只健康无眼疾的小鼠(共72只小鼠眼球)用于本实验。小鼠由专人饲养,饲养温度为 $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$,湿度为59%~61%,4~6只/笼,每天给予充足的食物和饮水,12h明暗交替环境饲养。实验动物的饲养和使用均遵照美国视觉与眼科研究协会制定的科研动物使用规范,本实验方案经河南省眼科研究所实验动物伦理委员会审查批准。

1.1.2 实验主要试剂与药物 2%双醋瑞因滴眼液(河南省眼科研究所制备,科研专用),大黄酸标准品(批号

201512,中国药品生物制品检定所),甲醇为色谱纯(批号OH45014,美国TEDIA天地试剂公司),冰醋酸(批号20130619,北京化工厂)。

1.1.3 实验主要仪器 高效液相色谱系统(美国Waters公司),YZ20T4手术显微镜(苏州六六视觉科技股份有限公司),高速冷冻离心机(德国Eppendorf公司),氮吹仪HGC-24(天津市恒奥科技发展有限公司),涡旋混合器(上海青浦沪西仪器厂)。

1.2 方法

1.2.1 结膜囊单次与多次滴眼给药方法以及角膜取材

将36只健康无眼疾小鼠称重后按体质量大小排序编号,查询随机数字表将其随机分为结膜囊多次给药组和单次给药组。单次给药:右手提起鼠尾,放在鼠笼盖或其他粗糙面上,向后方轻拉,用左手拇指和食指捏住小白鼠颈背部皮肤,并使小鼠眼球暴露,微量加样器分别给小鼠双眼结膜囊内各滴入 $5\mu\text{L}$ 2%双醋瑞因滴眼液,轻轻闭合小鼠双睑1min。多次给药:双眼单次结膜囊给药后,间隔2min再次给药,共给药3次。给药后5、15、30、60、120、180min脱颈椎处死小鼠,取角膜,剔除非角膜组织。

1.2.2 色谱条件 高效液相色谱仪为Waters 2695色谱系统;色谱柱为Waters X-Bridge C18, $3.5\mu\text{m}$, $3.0\text{mm} \times 150\text{mm}$;流动相为0.1%冰醋酸-甲醇(40:60);流速为 0.8mL/min ;柱温为 50°C ;检测波长为258nm;进样量为 $10\mu\text{L}$ 。

1.2.3 标准曲线制备 制备大黄酸标准品,浓度分别为:0.0075、0.015、0.03、0.06、0.12、0.24 $\mu\text{g/mL}$ 。分别精密吸取系列浓度的大黄酸标准品工作液各1mL,分别加入正常小鼠角膜一个,剪碎,4 $^\circ\text{C}$ 浸泡24h,50 $^\circ\text{C}$ 加热下 N_2 吹干,加0.1mL甲醇复溶,涡旋仪震荡约5min,3000r/min离心8min,上清液 $10\mu\text{L}$ 进样,HPLC测定,记录色谱图与峰面积,以峰面积与对应浓度进行线性回归,制作标准曲线。回归方程: $Y=62012X+79.792$ 。

1.2.4 角膜处理和大黄酸含量测定 滤纸轻轻吸干角膜表面水分,精密称重,置于玻璃试管内,剪碎,加1mL甲醇浸泡24h, N_2 吹干,加0.1mL甲醇复溶,涡旋仪震荡约5min,3000r/min离心8min,取上清液 $10\mu\text{L}$ 进样,HPLC测定,根据标准曲线计算出角膜内的药物含量。

统计学分析:药动学参数分析采用DAS 2.1.1版药动学软件。实验数据用SPSS 21.0及Microsoft Excel 2010软件分析,实验结果采用均数 \pm 标准差表示。标准曲线采用简单线性回归分析;各时间点的组间差异比较,采用独立样本 t 检验,两组的不同时间差异比较,采用单因素方差分析,若方差齐则采用LSD- t 检验,若方差不齐则采用Tamhane's T2检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 大黄酸标准曲线 大黄酸标准品的浓度范围为0.075~2.4 $\mu\text{g/mL}$,有良好的线性关系($r=0.9991$, $P < 0.01$)。

2.2 2%双醋瑞因滴眼液多次与单次给药的角膜内药物浓度 2%双醋瑞因滴眼液后各时间点角膜内均检测不到双醋瑞因^[6],检测到的是其代谢产物大黄酸。多次与单次滴眼后小鼠角膜内大黄酸的保留时间约为3.18h,药物检测的典型的HPLC色谱图见图1。多次与单次滴眼后小鼠的角膜内药物浓度见表1,图2。两组给药方式各

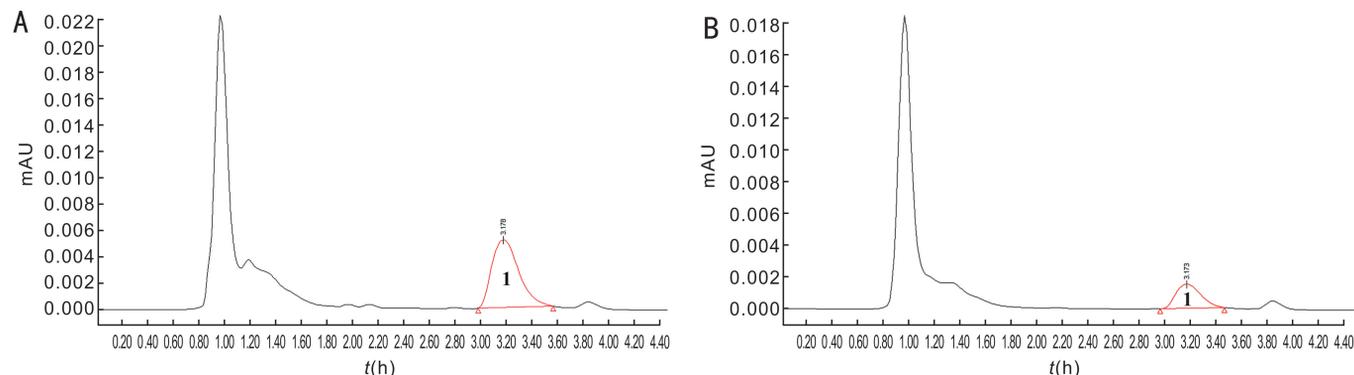


图1 2%双醋瑞因滴眼液后多次给药与单次给药的HPLC色谱图 A:多次给药后15min;B:单次给药15min。1:为双醋瑞因代谢产物大黄酸的色谱峰。

表1 多次与单次滴眼下2%双醋瑞因滴眼液代谢物大黄酸的角膜内药物浓度 ($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/g}$)

组别	眼数	5min	15min	30min	60min	120min	180min
多次给药组	6	318.67±40.88	210.02±25.66	188.83±31.74	112.24±11.70	90.28±22.01	57.67±13.71
单次给药组	6	145.17±19.29	97.95±10.49	71.18±18.70	39.11±2.44	18.10±2.34	9.08±2.04
<i>t</i>		-8.583	-9.039	-7.141	-13.679	-7.290	-7.837
<i>P</i>		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.001	<0.01

表2 多次与单次滴眼下2%双醋瑞因滴眼液代谢物大黄酸的药动学参数 $\bar{x} \pm s$

组别	眼数	AUC ₍₀₋₁₎ ($\mu\text{g/g} \cdot \text{h}$)	AUC _(0-\infty) ($\mu\text{g/g} \cdot \text{h}$)	<i>t</i> _{1/2} (h)	<i>T</i> _{max} (h)	<i>C</i> _{max} ($\mu\text{g/g}$)
多次给药组	6	400.16±32.83	466.93±46.84	-	0.08±0.00	318.68±44.78
单次给药组	6	116.32±9.38	129.26±9.38	0.89±0.31	0.08±0.00	145.17±21.13

注:AUC:曲线下面积,*t*_{1/2}:半衰期,*T*_{max}:达峰时间,*C*_{max}:达峰浓度。

时间点对比采用独立样本 *t* 检验,滴药后 5、15、30、60、120、180min 两组比较差异均有统计学意义 (*P*<0.01)。多次给药组滴药后 15、30、60、120、180min 与 5min 相比,差异有统计学意义 (*P*<0.01);单次给药组滴药后 15、30、60、120、180min 与 5min 相比,差异有统计学意义 (*P*<0.01)。两组角膜中大黄酸的含量均于给药后 5min 最高,多次给药组浓度高于单次给药组浓度,差异有统计学意义 (*P*<0.01)。随时间延长大黄酸的浓度逐渐下降,3h 后多次给药组浓度仍高于单次给药组,差异有统计学意义 (*P*<0.01)。

2.3 2%双醋瑞因滴眼液多次与单次给药的小鼠角膜药动学参数 2%双醋瑞因滴眼液在单次与多次给药的小鼠角膜药动学参数见表2。单次给药组半衰期为 0.89±0.31h。多次给药组小鼠角膜中最高药物浓度为 318.68±44.78 $\mu\text{g/g}$,而单次给药组最高浓度为 145.17±21.13 $\mu\text{g/g}$ 。两种给药方式药物达峰时间相同,均为 5min。

3 讨论

滴眼剂因其具有使用方便、价格低廉、易被患者接受等优点,占临床眼科制剂的主要部分^[7]。但也存在眼部滞留时间短、生物利用度低等问题^[8]。对于一些急性眼病,临床上常以多次滴眼的方式进行治疗,期望维持角膜组织药物的高浓度。史伟云^[9]指出一些浅层感染性疾病往往在频繁多次滴眼后,通过提高局部药物浓度使病情得到快速控制,从而取得更好的治疗效果。但是查阅文献,未找到相关的实验室证据。

我们的实验结果显示,双醋瑞因单次结膜囊给药后,5min 的达峰浓度为 145.17±19.29 $\mu\text{g/g}$,但在给药后 3h,角膜内药物浓度迅速下降至 9.08±2.04 $\mu\text{g/g}$,相当于减少

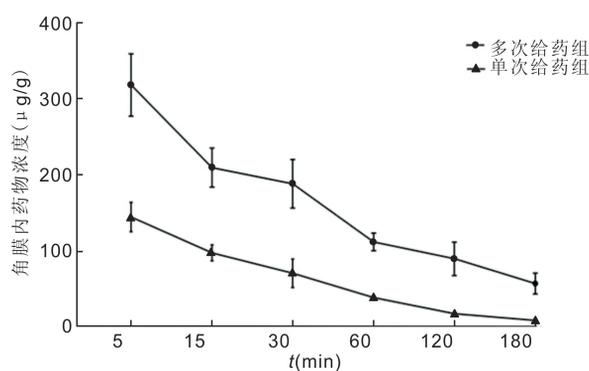


图2 2%双醋瑞因滴眼液代谢物大黄酸多次与单次给药的角膜内药物浓度。

了 16 倍左右。而多次给药后 5min 的峰浓度则为 318.67±40.88 $\mu\text{g/g}$,是单次给药的 2.2 倍,给药后 3h,角膜内药物浓度为 57.67±13.71 $\mu\text{g/g}$,是单次给药的 6.4 倍。由此我们可以看到,单次结膜囊给药后药物快速被清除,而多次给药则可以大大增加药物在角膜内的浓度,使药物的有效浓度能维持较长时间,与文献报道的多次滴眼后能很快控制角膜浅层感染的结果相一致^[8]。

双醋瑞因是公认的 IL-1 抑制剂,是治疗骨关节炎的上市药物。文献报道该药能够抑制 IL-1 的生成^[10-11],抑制中性粒细胞的迁移及基质金属蛋白酶 8 或 9 的产生^[12],我们的研究显示双醋瑞因滴眼液在抗真菌药物治疗真菌性角膜炎的前提下,可以减轻角膜溃疡面积和深度,减少角膜穿孔率,而且具有一定的抗菌作用特别是对革兰氏阳性球菌。双醋瑞因是大黄酸的前体,难溶于水,分子量为 368.29,属小分子类物质,较易通过角膜上皮细

胞屏障^[13-14],而且在之前的实验中也证明双醋瑞因滴眼液无毒性,不会对眼部造成刺激。虽然,双醋瑞因滴眼液的结膜囊多次和单次给药的角膜药代动力学特征不能代表所有眼科滴眼剂,但应该可以代表一部分化学性质相似的药物。同时,可以提示我们进行相关药物不同用药方式的药代动力学研究,为临床用药提供实验依据。

临床中,一些急性疾病往往要求药物能够快速进入到角膜中并维持较高的浓度,因此,我们可以采用早上醒后以及晚上睡前多次给药的方法。早上醒后多次给药,可以使药物快速达到较高的药物浓度;晚上睡前多次给药可以使药物保持较长的有效浓度。既保证了患者的睡眠休息质量,又起到了对眼病的治疗作用。

参考文献

- 1 曾爱能,黄丽娜,王凡寅.神经生长因子眼科给药途径及药代动力学的研究进展.国际眼科杂志 2014;14(4):637-640
- 2 Novack G. Ophthalmic drug delivery: development and regulatory considerations. *Clin Pharmacol Ther* 2009;85(5):539-543
- 3 易燕群,戚辉,魏小勇.眼部给药新剂型的研究进展.中国中医眼科杂志 2011;21(4):237-239
- 4 游巍,钱峰,吴诚.眼部的给药屏障和给药途径.国际药学研究杂志 2008;35(4):284-287
- 5 张海涛,张俊杰,陈祖基.左氧氟沙星透明质酸钠滴眼液眼部药代动力学与生物利用度研究.中华实验眼科杂志 2005;23(6):

621-624

- 6 窦新岩,陈世伟,杨柯,等.双醋瑞因在小鼠角膜中的药代动力学行为.中成药 2017;11:2289-2292
- 7 易有望,钟君,包带发.眼部给药系统的研究与应用进展.中国民族民间医药 2010;19(24):6
- 8 李玉梅,熊秀英.眼科用药主要剂型浅析.中国医院药学杂志 2008;28(18):1602-1603
- 9 史伟云.关注角膜病患者全身的合理药物治疗.中华眼科杂志 2009;45(2):100-103
- 10 Gao Y, Chen X, Fang L, *et al.* Rhein exerts pro- and anti-inflammatory actions by targeting IKK β inhibition in LPS-activated macrophages. *Free Radic Biol Med* 2014;72(7):104-112
- 11 Gadotti VM, Martins DF, Pinto HF, *et al.* Diacerein decreases visceral pain through inhibition of glutamatergic neurotransmission and cytokine signaling in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 2012;102(4):549-554
- 12 余佳,吴晓晴,孙海峰,等.大黄酸及其衍生物的生物活性研究进展.药学与临床研究 2008;16(2):125-128
- 13 Martelpelletier J, Pelletier JP. Effects of diacerein at the molecular level in the osteoarthritis disease process. *Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease* 2010;2(2):95-104
- 14 Padmapreetha J, Arulkumaran KSG. Improvement of dissolution rate of diacerein using liquisolid technique. *J Chem Pharm Res* 2016;8(7):209-219