

琥珀酸甲泼尼龙兔眼球周注射的药代动力学研究

车松天, 李 旭

作者单位: (130041) 中国吉林省长春市, 吉林大学第二医院眼底病科

作者简介: 车松天, 毕业于吉林大学白求恩医学院, 硕士, 主治医师, 研究方向: 眼底病。

通讯作者: 李旭, 毕业于吉林大学白求恩医学院, 博士, 主任医师, 研究方向: 眼底病。lixu2002@aliyun.com

收稿日期: 2017-08-23 修回日期: 2018-01-08

Pharmacokinetics of methylprednisolone sodium succinate after periocular injection into rabbits

Song-Tian Che, Xu Li

Department of Fundus Diseases, the Second Hospital of Jilin University, Changchun 130041, Jilin Province, China

Correspondence to: Xu Li. Department of Fundus Diseases, the Second Hospital of Jilin University, Changchun 130041, Jilin Province, China. lixu2002@aliyun.com

Received: 2017-08-23 Accepted: 2018-01-08

Abstract

• **AIM:** To determine the pharmacokinetics and distribution of methylprednisolone sodium succinate (MPS) and its metabolic product methylprednisolone (MP) in eye tissues and blood plasma after MPS periocular injection in rabbits.

• **METHODS:** After periocular injection of MPS 10mg, the concentrations for MP and its prodrug compound were quantified at different time points using mass spectrum-liquid chromatography in plasma and ocular tissues - sclera, choroid and retina, vitreous, iris, aqueous humor, lens and optic nerve.

• **RESULTS:** After periocular injection, the time of maximum concentration (T_{max}) for MPS in ocular tissues was 0.25 to 1h, in blood plasma was 0.25h. T_{max} for its metabolite MP in ocular tissues was 0.5 to 6h, in blood plasma was 0.5h. The maximum MPS and MP concentration (C_{max}) and the area under the curve (AUC_{0-t}) in ocular tissues from high to low in turn was sclera, optic nerve, the choroid and the retina, iris and lens. The drug concentration of lens was not only the lowest among all tissues, but also much lower than others by far the content, and its mean residence time was the longest.

• **CONCLUSION:** Periocular administration of MPS is an effective way to intraocular drug transmission. It achieves a satisfactory drug distribution in sclera, optic nerve,

choroid and retina. It is not easily absorbed by lens.

• **KEYWORDS:** periocular injection; methylprednisolone sodium succinate; pharmacokinetics

Citation: Che ST, Li X. Pharmacokinetics of methylprednisolone sodium succinate after periocular injection into rabbits. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2018;18(2):235-238

摘要

目的: 检测琥珀酸甲泼尼龙 (methylprednisolone sodium succinate, MPS) 兔眼球周注射后, MPS 和其在眼内的代谢产物甲泼尼龙 (methylprednisolone, MP) 的分布及药代动力学情况。

方法: 兔眼球周注射琥珀酸甲泼尼龙钠 10mg, 采用质谱-液相色谱方法检测 MPS 和 MP 在巩膜、脉络膜和视网膜、玻璃体、虹膜、房水、晶状体、视神经和血浆中的浓度。

结果: 球周注射琥珀酸甲泼尼龙钠后, MPS 浓度在眼内组织中的达峰时间为注药后 0.25 ~ 1h, 在血浆中的达峰时间为注药后 0.25h; MP 浓度在眼内组织中的达峰时间为 0.5 ~ 6h, 在血浆中的达峰时间为注药后 0.5h。MPS 和 MP 在眼内各组织的达峰浓度由高到低依次为巩膜、视神经、脉络膜和视网膜、虹膜、晶状体, 二者在晶状体内的浓度均为所有眼部组织中最低, 且远远低于眼内其它组织的含量, 但平均驻留时间最长。

结论: 球周注射 MPS 是一种有效的向眼组织传递药物的方式, 且该药在眼内的分布有利于向巩膜、视神经和脉络膜视网膜给药, 而不易被晶状体吸收。

关键词: 球周注射; 琥珀酸甲泼尼龙; 药代动力学

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2018.2.07

引用: 车松天, 李旭. 琥珀酸甲泼尼龙兔眼球周注射的药代动力学研究. *国际眼科杂志* 2018;18(2):235-238

0 引言

琥珀酸甲泼尼龙 (methylprednisolone sodium succinate, MPS, $C_{26}H_{33}NaO_8$, 分子量 496.53) 的药理作用强度是氢化可的松的 5 倍, 优于一般的强的松龙, 该药具有起效快、疗效确切、副反应轻等特点。与强的松龙等药物比较, MPS 的药代动力学性质非常简单, 表现为一级动力学, 无明显的剂量和时间依赖性, 其药代动力学性质可以预测, 消除半衰期 (half life time, $t_{1/2}$) 约 30min^[1]。自面市起, MPS 已成为眼科常用激素, 常用方法包括口服、静脉注射及球周注射, 目前关于 MPS 球周注射的药代动力学研究未见报道。本研究通过兔眼球周注射琥珀酸甲泼尼龙钠, 研究 MPS 及其在眼内的代谢产物甲泼尼龙 (methylprednisolone, MP) 的药代动力学特点, 为该药在临床眼科中的应用提供参考。

表1 琥珀酸甲泼尼龙的浓度

($\bar{x} \pm s$, ng/mL)

组别	血浆	玻璃体	房水	虹膜	巩膜	晶状体	脉络膜和视网膜	视神经
对照组	0	0	0	0	0	0	0	0
注药组								
0.25h	4478.0±437.4	1987.0±254.9	563.0±54.4	776.0±68.7	48050.0±3223.8	190.0±30.1	1052.0±104.6	1078.0±120.7
0.5h	910.0±68.7	3271.0±332.4	145.0±13.3	348.0±34.1	38752.0±4181.7	252.0±28.9	537.0±47.3	1627.0±212.9
1h	335.0±16.8	289.0±21.3	822.0±114.7	179.0±16.2	24345.0±2650.8	34.1±5.2	201.0±23.7	877.0±124.2
1.5h	210.0±11.5	582.0±46.7	546.0±73.9	43.6±3.1	22595.0±1485.90	13.4±2.2	445.0±40.5	179.0±27.4
2h	191.0±14.3	656.0±61.2	271.0±31.2	156.0±15.0	16525.0±1584.6	7.7±1.7	584.0±53.7	343.0±41.2
3h	26.6±4.5	139.0±15.6	280.0±23.8	13.9±1.9	2455.0±301.9	2.5±0.7	66.0±8.5	22.2±2.7
4h	4.2±0.6	64.3±18.3	438.0±27.4	17.8±1.4	1024.0±145.6	6.0±0.8	26.4±3.4	48.9±6.1
6h	2.4±0.7	104.0±14.1	208.0±17.0	10.3±1.1	464.0±30.7	15.9±1.4	9.0±1.3	4.0±0.5
12h	0.8±0.1	3.2±1.4	10.7±11.5	4.4±0.7	37.1±2.8	2.3±0.5	1.8±0.5	2.0±0.2
24h	0.4±0.1	3.4±1.6	0.3±0.1	5.3±0.5	53.4±4.3	7.7±0.4	23.6±3.6	3.0±0.8
48h	0.2±0.1	14.6±5.3	0.0±0.0	4.6±0.7	165.0±23.7	2.0±0.3	7.0±1.6	5.4±0.7

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物和分组 健康无眼疾新西兰白兔48只,雌雄各半,体质量2.0~2.5kg,购自天津医学实验室动物中心。根据处理条件不同,分为对照组(4只4眼)和注药组(44只44眼),注药组均左眼给予球周注射琥珀酸甲泼尼龙钠10mg,注药组根据注药后采样时间点的不同分为11组即0.25、0.5、1、1.5、2、3、4、6、12、24、48h组,每组4只4眼,雌雄各半。所有的动物均按照《实验动物管理条例》进行饲养和使用。

1.1.2 主要试剂 注射用琥珀酸甲泼尼龙钠(批号:R10650;规格:40mg;生产厂家:Pfizer Manufacturing Belgium NV);琥珀酸甲泼尼龙钠对照品(纯度>99%;批号:100827-200501;中国药品生物制品检定所提供);甲泼尼龙对照品(纯度>99%;批号:100828-200501;中国药品生物制品检定所提供);甲醇、乙腈为色谱纯;其它试剂均为分析纯。

1.1.3 主要仪器 Q-TRAP型液相色谱-串联质谱仪和配套电喷雾离子化源及Analyst 1.3数据处理软件(美国Applied Biosystem公司);Agilent 1100高效液相色谱系统,包括二元输液泵、自动进样器、切换阀(美国Agilent公司)。

1.2 方法

1.2.1 样品采集 本研究所使用样品静脉血、房水、玻璃体、虹膜、晶状体、巩膜、视神经(自视盘起5mm)、脉络膜和视网膜均由吉林大学药物代谢研究中心采集。耳缘静脉采血1500μL,离心取血浆,-20℃保存。取房水≥300μL,-20℃保存。耳缘静脉栓死,取下眼球,冰上采集各组织,包括玻璃体(3500r/min,离心5min,取上清)、虹膜、晶状体、巩膜、视神经、脉络膜和视网膜(低温甲醇-水溶解,低温匀浆,超声,10000r/min低温离心10min,取上清),-20℃保存。

1.2.2 样品检测 参考文献[2-4],建立液相色谱-串联质谱(liquid chromatography tandem mass spectrometry, LC/MS/MS),并对所采集的样品中MPS及其代谢产物MP的浓度和药代动力学参数进行测定。

1.2.2.1 样品的预处理 取样品适量,依次加入内标溶液100μL,甲醇-水(50:50, v/v)200μL,充分振摇混匀后,加入乙醚/二氯甲烷混合液(2:1, v/v)3mL,涡流混合1min,

振荡10min(240次/min),离心5min(3500r/min),取上层有机相于另一试管中,40℃氮气流下吹干,残留物加入100μL流动相溶解,涡流混合,取40μL进行LC/MS/MS分析。

1.2.2.2 检测条件 (1)色谱条件:色谱柱:Venusil Mp-C₁₈柱(4.6mm×50mm I.D.,5μm粒径);流动相:乙腈(含1mmol/L乙酸铵(50:50, v/v), pH 5.0;流速:1.0mL/min(分流体积比1:1);柱温:40℃;进样量:40μL。(2)质谱条件:离子源:离子喷雾离子化源;离子喷射电压:-4500V;温度:550℃;源内气体1(GS1, N₂)压力:75psi;气体2(GS2, N₂)压力:75psi;气帘气体(N₂)压力:10psi;负离子方式检测;扫描方式为多重反应监测(MRM)。(3)甲泼尼龙、琥珀酸甲泼尼龙的解簇电压(DP)分别为:-115、-88V;碰撞能量(CE)分别为:-14、-25eV;用于定量分析的离子反应分别为:m/z 373 → m/z 343.4, m/z 473 → m/z 343.2。

2 结果

2.1 琥珀酸甲泼尼龙的浓度 球周注射琥珀酸甲泼尼龙钠后,各样品中可以广泛检测到MPS,且在0.25~1h MPS浓度达到高峰,然后迅速下降。在眼内各组织中达峰浓度由高到低依次为巩膜、视神经、脉络膜和视网膜、虹膜、晶状体;在体液中,达峰浓度最高是血浆,其次为玻璃体,二者远远高于房水中MPS的达峰浓度,见表1。

2.2 甲泼尼龙的浓度 球周注射琥珀酸甲泼尼龙钠后,MPS的代谢产物MP在房水和晶状体中的浓度达到高峰的时间分别是注药后4h和注药后6h,在其它样品中浓度达到高峰的时间为注药后0.5h。在体液中的达峰浓度由高到低依次为血浆、房水、玻璃体,且MP在玻璃体中的浓度远远低于MPS,见表2。

2.3 琥珀酸甲泼尼龙和甲泼尼龙的药代动力学参数 球周注射琥珀酸甲泼尼龙钠后,血浆中MP和MPS的t_{1/2}分别为注药后3.29h和13.2h,平均驻留时间(mean residence time, MRT)分别为注药后2.78h和0.826h。在眼组织,MP和MPS在晶状体中的MRT最长;在房水中的消除速率常数(elimination rate constant, k)最大,MP每小时实时消除38.9%,MPS每小时实时消除36.5%。MPS血药浓度曲线下面积(area under the curve, AUC)最大为巩膜,其次依次为玻璃体、房水、血浆、视神经、脉络膜和视网膜、虹膜和晶状体,见表3。

表 2 甲泼尼龙的浓度

($\bar{x} \pm s$, ng/mL)

组别	血浆	玻璃体	房水	虹膜	巩膜	晶状体	脉络膜和视网膜	视神经
对照组	0	0	0	0	0	0	0	0
注药组								
0.25h	983.0±143.0	123.0±44.0	187.0±60.0	106.0±36.9	2760.0±728.0	15.4±3.3	163.0±32.0	109.0±76.0
0.5h	1290.0±269.0	329.0±67.0	119.0±41.4	254.0±54.0	3960.0±820.0	21.6±4.3	504.0±54.0	542.0±67.0
1h	1070.0±189.0	73.3±29.3	365.0±35.8	170.0±54.0	3381.0±874.0	7.8±1.2	343.0±78.0	261.0±19.0
1.5h	1040.0±178.0	134.0±47.2	643.0±93.0	40.6±6.0	2612.0±784.0	13.3±2.7	235.0±65.0	165.0±12.0
2h	782.0±92.4	201.0±63.0	380.0±77.0	59.1±8.1	2578.0±715.0	8.9±1.7	229.0±43.0	59.9±8.5
3h	320.0±69.0	78.4±21.2	358.0±75.0	12.8±1.9	412.0±97.0	5.8±0.8	35.6±5.2	29.1±1.6
4h	263.0±58.0	92.4±34.2	683.0±91.0	33.8±4.4	658.0±79.0	11.2±3.3	37.4±7.6	35.6±3.0
6h	123.0±49.6	42.3±14.3	399.0±65.0	15.7±3.3	227.0±29.0	22.0±5.6	17.3±1.9	7.1±1.6
12h	14.6±6.8	5.5±1.1	17.1±5.4	1.9±0.2	1.7±0.3	8.5±1.1	1.0±0.2	0
24h	3.5±2.4	0.7±0.4	0	1.5±0.4	8.1±0.2	9.0±1.3	8.3±0.5	1.3±0.1
48h	0	1.2±0.3	0	1.3±0.1	22.7±5.4	1.7±0.6	2.0±0.4	1.0±0.2

表 3 琥珀酸甲泼尼龙和甲泼尼龙药代动力学参数

参数	血浆		玻璃体		房水		虹膜		巩膜		晶状体		脉络膜和视网膜		视神经	
	MP	MPS	MP	MPS	MP	MPS	MP	MPS	MP	MPS	MP	MPS	MP	MPS	MP	MPS
T _{max} (h)	0.500	0.250	0.500	0.500	4.00	1.00	0.500	0.250	0.500	0.250	6.00	0.500	0.500	0.250	0.500	0.500
AUC _{0-t} (ng·h/mL)	3730	1936	871	3568	3910	2949	457	825	9846	71530	399	430	1034	1892	708	1913
t _{1/2} (h)	3.29	13.20	9.49	38.50	1.78	1.90	16.00	56.80	58.20	233.00	12.70	21.30	27.40	60.10	15.50	49.50
k	0.211	0.0525	0.0730	0.0180	0.389	0.365	0.0433	0.0122	0.0119	0.00297	0.0546	0.0325	0.0253	0.0115	0.0447	0.014
MRT(h)	2.78	0.826	4.48	4.44	4.25	3.71	5.42	7.61	3.64	2.95	16.1	12.2	6.18	8.71	3.52	3.42
C _{max} (ng/mL)	1290	4478	329	3271	643	822	254	776	3960	48050	22	252	504	1052	542	1627

注: T_{max}: 达到峰浓度的时间; AUC: 血药浓度曲线下面积; t_{1/2}: 消除半衰期; k: 消除速率常数; MRT: 平均驻留时间; C_{max}: 达峰浓度。

3 讨论

球周注射琥珀酸甲泼尼龙钠后, 药物可以迅速扩散至眼内各组织及血浆中, 分布广泛。本研究发现, 眼组织中 MPS 的浓度在注药后 0.25 ~ 1h 呈现高峰, 然后迅速下降, 表明球周注射后 MPS 可以迅速被眼内组织吸收, 这是药物起效迅速的前提。MPS 在眼内迅速分解为其活性形式 MP, 除房水和晶状体外, 在其它眼组织和血浆中 MP 达峰时间均为注药后 0.5h, 表明 MPS 能够快速分解为 MP。房水和晶状体中 MP 达峰时间长, 可能与邻近组织向房水和晶状体中渗透有关, 此外房水中 MP 除来源于房水和晶状体中 MPS 的直接分解外, 还有邻近组织的代谢。

本研究结果显示, 琥珀酸甲泼尼龙钠球周注射后血浆中 MPS 和 MP 的 MRT 分别为 0.826h 和 2.78h, 说明 MPS 及其产物 MP 对全身组织的作用时间短暂, 消除迅速, 因此 MPS 局部应用能有效地避免激素的全身副作用, 此种给药方式适用于合并全身系统疾病不能全身应用激素的患者。在眼组织中, 晶状体中 MPS 和 MP 的 MRT 时间最长, 这与晶状体本身代谢缓慢有关, 也说明晶状体中缺乏转化 MP 或 MPS 的酶类, 而 MPS 不易被晶状体吸收可能会减低激素性白内障的发生率。琥珀酸甲泼尼龙钠球周注射后, MPS 在眼内组织中达峰浓度由高到低依次为巩膜、视神经、脉络膜和视网膜、虹膜、晶状体; 在体液中, 达峰浓度最高是血浆, 其次为玻璃体, 二者远远高于房水, 而 AUC 由高到低依次为玻璃体、房水、血浆, 表明 MPS 眼内浓度的蓄积高于血浆中的浓度。因此, 球周注射琥珀酸甲泼尼龙钠在局部吸收大于血中, 且药物到达眼后节的量多于眼前节, 提示本药适用于眼后节疾病; 而 MP 在体液中的达峰浓度由高到低为血浆、房水、玻璃体, 并且 MPS 在玻璃体中的达峰浓度远远高于 MP, 提示玻璃体中可能缺

乏分解 MPS 的酶类, 分析可能是由于玻璃体内 99% 是水, 1% 是胶原等成分, 所含酶类极少, 或 MPS 对眼内其它组织具有更强的亲和力, 其在虹膜、房水、脉络膜和视网膜的转化率高于玻璃体。关于玻璃体和血清的药代动力学研究显示^[5], 人体静脉注射琥珀酸甲泼尼龙钠 500mg, 玻璃体内药物浓度是血清内药物浓度的 1/10。球周注射给药大大降低了药物的剂量, 减小全身应用的副作用, 同时药物的生物利用度显著提高。作为常用的球周注射用于治疗眼后节疾病的药物, 曲安奈德兔眼球旁注射在玻璃体内的 T_{max} 为 1d, MRT 为 16d^[6]; 同曲安奈德相比, MPS 的 T_{max} (0.5h) 和 MRT (4.44h) 大大缩短, 说明 MPS 起效迅速, 驻留时间短。

由于取材的限制, 对药物在眼组织的药代动力学研究中, 常常选择测定玻璃体内药物浓度作为评价依据, 本研究提示不能仅根据玻璃体内药物浓度判断药物进入眼内的量或是否能够被眼组织吸收利用。应用激素的目的主要是为了减少视网膜和脉络膜的水肿、渗出等炎症反应, 药物的作用部位主要集中在脉络膜和视网膜, 故视网膜和脉络膜中药物浓度才是真正应关注的内容。本研究显示, 球周注射琥珀酸甲泼尼龙钠后, MPS 的 AUC 最大为巩膜, 其次为玻璃体、房水、血浆、视神经、脉络膜和视网膜、虹膜、晶状体, 表明球周注射是一种有效地向眼后节 (玻璃体、脉络膜和视网膜) 传递药物的方式。球周注射琥珀酸甲泼尼龙钠后 MPS 的 T_{max} 为 0.25 ~ 1h, 表明药物浓度迅速达峰, 而 MRT 为 0.826 ~ 12.2h, 其中脉络膜和视网膜的 MRT 时间为 8.71h。药物在巩膜中的 MRT 较短, 由于球周注射药物最先到达巩膜, 巩膜中的药物浓度和 AUC 均最高, 巩膜中的药物可能入血, 将药物由血循环带到身体其它部位或眼组织局部, 或被代谢掉, 也可能透过巩膜进

入眼内组织。研究表明,巩膜有较大的表面积和高度亲水性,能通透水溶性大分子药物(相对分子质量70000~150000),同时巩膜内细胞少,缺乏蛋白水解酶,促使一些大分子生物活性物质(如寡聚核苷酸、单克隆抗体等)透过巩膜抵达脉络膜和视网膜^[7-9]。因此,可以认为巩膜是药物进入眼内的主要屏障,且由于其较大的表面积成为药物局部释放的“存储库”。

眼组织中存在多种可能的给药途径。选择给药途径主要根据药物所需达到的靶部位。传统的眼局部和结膜下给药主要用于眼前段的靶部位,玻璃体内和巩膜给药用于眼后段的靶部位。本研究为一些新的药物剂型的巩膜给药(如激素的巩膜给药系统的研究)提供了理论依据。

参考文献

- 1 戈升荣,袁静,王平垒. 甲泼尼龙的药代动力学研究进展. 中国药房 2001;12(4):240-241
- 2 Zhang SQ. Quantification of triamcinolone acetonide in ocular tissues after intravitreal injection to rabbit using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2011; 879(7-8):548-552
- 3 Jiang S, Chappa AK, Proksch JW. A rapid and sensitive LC/MS/MS

assay for the quantitation of brimonidine in ocular fluids and tissues. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2009;877(3):107-114

- 4 Zammataro A, Civiale C, Saletti R, et al. Development and validation of a liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry method for the quantification of latanoprost free acid in rabbit aqueous humor and ciliary body. *J Mass Spectrom* 2011;46(11):1168-1174
- 5 Behar - Cohen FF, Gauthier S, Aouni EL, et al. Methylprednisone concentrations in the vitreous and the serum after pulse therapy. *Retina* 2001;21(1):48-53
- 6 Park HJ, Lee JE, Kim SI, et al. Intravitreal pharmacokinetics after posterior subtenon triamcinolone acetonide injection in vitrectomized rabbit eyes. *Retina* 2014;34(4):801-806
- 7 Ambati J, Gragoudas ES, Miller JW, et al. Transscleral delivery of bioactive protein to the choroid and retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41(1):1186-1191
- 8 Rudnick DE, Noonan JS, Geroski DH, et al. The effect of intraocular pressure on human and rabbit scleral permeability. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40(12):3054-3058
- 9 Ranta VP, Urtti A. Transscleral drug delivery to the posterior eye: Prospects of pharmacokinetic modeling. *Adv Drug Deliv Rev* 2006;58(11):1164-1181