

# 激光共焦显微镜观察汉防己甲素可吸收缓释膜在兔眼结膜下吸收的研究

穆凯<sup>1</sup>, 应方微<sup>2</sup>, 黎明<sup>2</sup>

基金项目: 中国 2008 年广东省中医药局建设中医药强省科研课题资助项目 (No. 2008282)

作者单位: <sup>1</sup>(518000) 中国广东省深圳市英利华医药科技发展有限公司; <sup>2</sup>(518040) 中国广东省深圳市眼科医院

作者简介: 穆凯, 男, 毕业于沈阳药科大学药剂学, 本科, 主管药师, 研究方向: 药物制剂及药学基础研究。

通讯作者: 穆凯. yingfangwei@yahoo.com.cn

收稿日期: 2010-06-08 修回日期: 2010-08-23

## Absorption of tetrandrine film in the rabbit conjunctiva by laser confocal microscopy

Kai Mu<sup>1</sup>, Fang-Wei Ying<sup>2</sup>, Ming Li<sup>2</sup>

**Foundation item:** Traditional Chinese Medicine Powerful Province Construction Program of Guangdong Traditional Chinese Medicine Bureau, China (No. 2008282)

<sup>1</sup>Yinglihua Medical Technology Development Co., Ltd., Shenzhen 518000, Guangdong Province, China; <sup>2</sup>Shenzhen Eye Hospital, Shenzhen 518040, Guangdong Province, China

**Correspondence to:** Kai Mu. Yinglihua Medical Technology Development Co., Ltd., Shenzhen 518000, Guangdong Province, China. yingfangwei@yahoo.com.cn

Received: 2010-06-08 Accepted: 2010-08-23

### Abstract

• **AIM:** To observe the absorption of tetrandrine sustained-release absorption film *in vivo* in rabbit conjunctiva under the laser confocal microscopy.

• **METHODS:** Tetrandrine film prepared with an appropriate proportion of chitosan and gelatin was implanted under the conjunctiva of rabbits, blank film as control. 1 week later the two groups of film was observed with the confocal microscope at five different levels. The average percentage of absorption area of the film was calculated. The difference of absorption was analyzed by the SPSS 18.0.

• **RESULTS:** Lots of uniform small particles in the dry film was observed under the laser confocal microscope. At the same time, there were some vacuoles and the absorption regions in the film under the rabbit conjunctiva. The average absorption percentage was 10.5% ± 0.28% in the tetrandrine film group, and 15.0% ± 4.6% in the control. Tetrandrine film absorption in the rabbits conjunctiva was lower, with  $t=1.301$  and  $P=0.000$ .

• **CONCLUSION:** The laser confocal microscope can be used to observe the degradation of film directly, and to get the result of the tetrandrine releasing the biological absorption of the film. So it is a good tool of the

pharmaceutical research.

• **KEYWORDS:** laser confocal microscopy; film; absorption

Mu K, Ying FW, Li M. Absorption of tetrandrine film in the rabbit conjunctiva by laser confocal microscopy. *Int J Ophthalmol (Guoji Yanke Zazhi)* 2010;10(10):1869-1870

### 摘要

**目的:** 利用激光共焦显微镜观察汉防己甲素可吸收缓释膜在活体兔眼结膜下的吸收情况。

**方法:** 按照适当比例制备汉防己甲素壳聚糖明胶缓释可吸收膜剂及空白对照缓释膜剂, 植入兔眼结膜下 1wk 后, 在激光共焦显微镜下观察缓释膜 5 个不同层面的吸收情况, 计算吸收面积的平均百分比, 并利用 SPSS 18.0 软件分析两组汉防己甲素缓释膜吸收的差别。

**结果:** 缓释膜干膜在激光共焦显微镜下可见到大量较均匀的细小颗粒, 兔眼结膜下植入后 1wk 的汉防己甲素缓释膜为分布有大量吸收空泡及形态不甚规则的吸收缺损区域的半透明膜。汉防己甲素缓释膜 (A) 组的吸收面积平均百分比为 10.5% ± 0.28%, 无药物空白缓释膜 (B) 组的吸收面积平均百分比为 15.0% ± 4.6%。经过独立样本  $t$  检验,  $t=1.301$ ,  $P=0.000$ , 汉防己甲素缓释膜在兔眼结膜下的吸收面积百分比比较低。

**结论:** 通过激光共焦显微镜可以直观地了解缓释膜内部在吸收过程中的降解情况, 且发现汉防己甲素药物对壳聚糖明胶缓释膜的生物性吸收有阻碍作用, 激光共焦显微镜是一种很好的药学研究工具。

**关键词:** 激光共焦显微镜; 缓释膜; 吸收

DOI: 10.3969/j.issn.1672-5123.2010.10.009

穆凯, 应方微, 黎明. 激光共焦显微镜观察汉防己甲素可吸收缓释膜在兔眼结膜下吸收的研究. 国际眼科杂志 2010;10(10):1869-1870

### 0 引言

生物可吸收缓释膜的吸收情况常用称量干重的方法来评价, 此方法不能直观反映缓释膜内吸收降解的情况。利用激光共焦显微镜可在活体直接观察兔眼结膜下植入的汉防己甲素可吸收缓释膜的内部吸收降解情况, 报告如下。

### 1 材料和方法

**1.1 材料** 新西兰兔 3 只 (体质量 2 ~ 2.1kg, 广州实验动物中心), 激光共焦显微镜 (德国海德堡), 汉防己甲素注射液 (林州大众药业), 壳聚糖 (上海生工), 明胶 (上海生工), 恒温水浴箱 (常州)。

### 1.2 方法

**1.2.1 制膜** 取明胶 2g 加入 20mL 纯化水, 放入 80℃ 水浴

5min 并搅拌使溶解,静置后冷却待用。壳聚糖 0.4g 加入 20mL 纯化水及 1mL 100mL/L 稀盐酸,加热搅拌 30min 后加入 0.5mL 甘油继续搅拌 10min。各取 10mL 明胶溶液及壳聚糖溶液混合后,取 1mL 混合液加入 1mL 汉防己甲素注射液(A),取 1mL 混合液加入 1mL 注射用水(B)。在 96 孔板的孔内加入少量吐温-80,然后每孔分别加入各 40 $\mu$ L A 或 B 溶液,60 $^{\circ}$ 烘箱 3h 成膜,取出膜后,紫外灯消毒 30min。无菌存放于室温待用。

**1.2.2 兔眼结膜下植入缓释膜** 将 3 只新西兰兔的 6 眼随机分为 A、B 两组,每组 3 眼,分别在兔眼角膜上方与颞侧之间沿角膜缘切开结膜,植入缓释膜,最后用 5-0 可吸收尼龙缝线缝合结膜。

**1.2.3 激光共焦显微镜观察兔眼结膜下缓释膜吸收情况** 术后 1wk 分别将两组兔以戊巴比妥钠肌注麻醉后,利用激光共焦显微镜观察结膜下缓释膜形态改变,按照不同深度取截取 5 个图像,根据:(缓释膜吸收后面积/视野中的药膜面积)  $\times$  100%,计算吸收面积的平均百分比。

统计学分析:利用 SPSS 18.0 软件分析两组缓释膜吸收面积百分比的差异性。

## 2 结果

**2.1 激光共焦显微镜观察兔眼结膜下缓释膜吸收** 汉防己甲素壳聚糖明胶缓释膜干膜在激光共焦显微镜下显示膜内为较均匀的细小颗粒,兔眼结膜下植入后 1wk 的汉防己甲素壳聚糖明胶缓释膜,在共焦显微镜下可见半透明的膜,分布有大量圆形或类圆形的吸收后空泡,以及形态不甚规则的吸收缺损区域。

**2.2 汉防己甲素缓释膜** A 组的吸收面积平均百分比为 10.5%  $\pm$  0.28%,无药物空白缓释膜 B 组的吸收面积平均百分比为 15.0%  $\pm$  4.6%。经过独立样本 *t* 检验, $t = 1.301, P = 0.000$ ,显示汉防己甲素缓释膜在兔眼结膜下的

吸收面积百分比较空白膜低,汉防己甲素药物对壳聚糖明胶缓释膜的生物性吸收有阻碍作用。

## 3 讨论

明胶和壳聚糖为价廉易得的天然生物可降解材料,壳聚糖具有良好的成膜性,明胶柔软易降解,经过适当的配比,可制得优良的生物可吸收性膜剂<sup>[1]</sup>。通常采用缓释膜植入前后干重的变化评价缓释膜的吸收程度,但是此方法只能通过重量粗略估计缓释膜整体的重量减少,并不能直观了解缓释膜在活体内吸收的情况。激光共焦显微镜是一种新兴的、非创伤性的活体角膜显微检查仪器,通过共焦显微镜观察能够直接了解活体内缓释膜的吸收情况,它对活体组织从四维(三维空间和时间)水平进行扫描成像,并提供高清晰度和高放大倍率的角膜各层面图像,使人们可以从细胞水平上对活体的病理生理进行直观观察,且有无损伤、检查速度快,图像直观等优点<sup>[2]</sup>。我们利用激光共焦显微镜直接在活体观察兔眼结膜下植入的生物可吸收缓释膜的吸收情况,利用激光共焦显微镜扫描缓释膜 5 个不同深度的层面,截取图像后利用缓释膜吸收后面积占药膜面积的平均百分比描述含有汉防己甲素的缓释膜及无药物的空白缓释膜的生物吸收情况,直观的了解缓释膜内部在吸收过程中的降解情况,且发现汉防己甲素药物对壳聚糖明胶缓释膜的生物性吸收有阻碍作用。因此,利用激光共焦显微镜观察体内缓释膜的吸收情况具有直观、经济的优点,而且激光共焦显微镜是活体观察,可以观察药膜长期的变化,是一种很好的药学研究工具。

## 参考文献

- 1 吴萍,何晓晓,王柯敏. 基于壳聚糖载体的蛋白质药物纳米颗粒制备研究. 湖南大学学报:自然科学版 2007;34(9):71-73
- 2 陈耀文,林珏龙,赖效莹,等. 激光扫描共聚焦显微镜系统及其在细胞生物学中的应用. 激光生物学报 1998;7(2):145-146