

硬膜外腔注射硬脂酸纳米吗啡的药代动力学和镇痛研究

曹铭辉, 纪风涛, 梁建军, 苗利萍, 吴 强

(中山大学附属第二医院麻醉科, 广州 广东 510120)

摘要:【目的】观察并探讨硬脂酸纳米吗啡(SLN-M)单次注入大鼠硬膜外腔后的镇痛效应及用药后的药代动力学特点。【方法】SD 雄性大鼠 40 只, 随机分为 4 组, 每组 10 只。A 组(对照组): 经硬膜外腔给予 SLN; B 组: 给予 0.5 mg 普通吗啡; C₁ 组与 C₂ 组: 分别给予含 0.5 及 2 mg 吗啡的 SLN-M, 上述药品均用生理盐水溶解至 50 μ L。用药后测定热痛阈值评价镇痛效果(以最大镇痛效应 MPE 表示), 并在不同时点测量脑脊液(CSF)和血浆内的吗啡浓度以进行药代动力学研究, 同时观察药物副作用。【结果】C₁ 及 C₂ 组单次使用 SLN-M 后最大镇痛强度(MPE)与 B 组相比差异无统计学意义($97.5 \pm 28.4, 99.9 \pm 20.5$ VS 98.2 ± 30.5 ; $P > 0.05$), 但达到最大镇痛强度的时间比 B 组显著延长[(1.24 ± 0.29)h, (0.93 ± 0.26)h VS (0.54 ± 0.21)h; $P < 0.05$], 镇痛持续时间也显著延长[(68.6 ± 9.7)h, (83.3 ± 11.6)h VS (9.3 ± 2.3)h; $P < 0.05$]。C₁ 与 C₂ 组动物 CSF 吗啡浓度达峰时间明显长于 B 组[(6.0 ± 1.2)h, (3.0 ± 0.4)h VS (5.0 ± 0.9)min; $P < 0.05$], 其峰值浓度也显著低于 B 组[(2768 ± 1005)ng/mL, (3274 ± 1095)ng/mL VS (8612 ± 3129)ng/mL; $P < 0.05$], B 组动物 CSF 内药物滞留时间明显缩短[(3.84 ± 0.55)h VS (88 ± 10)h, (101 ± 15)h; $P < 0.05$]。B 组动物呼吸抑制和僵直症及角膜反射消失的发生率要高于 C₁ 与 C₂ 组($P < 0.05$)。【结论】药物动力学证据表明: 硬膜外腔单次给予 SLN-M 后通过持续缓慢释放吗啡发挥长效镇痛作用, 而且副作用比普通吗啡明显降低。

关键词: 硬脂酸纳米; 吗啡; 硬膜外腔; 镇痛

中图分类号: R944

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2008)04-0427-04

Pharmacokinetics and Efficacy of Epidurally Delivered Solid Lipid Nanoparticles Morphine in Rats

CAO Ming-hui, JI Feng-tao, LIANG Jian-jun, MIAO Li-ping, WU Qiang

(Department of Anesthesiology, The Second Affiliated Hospital, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510120, China)

Abstract: 【Objective】To observe the analgesic effect and lumbar cerebrospinal fluid and serum kinetics of single dose solid lipid nanoparticles morphine (SLN-M) after epidural administration in rats. 【Methods】Forty male adult SD rats weighing 220-280 g were randomised into four groups with 10 animals in each group: group A as control group received epidural SLN 50 μ L, group B received epidural morphine 0.5 mg in 50 μ L, group C₁ or C₂ received epidural SLN-M 0.5 or 2 mg in 50 μ L, respectively. The percentage of maximal possible effect (MPE) was calculated to evaluate the analgesic effects of the drug. Morphine concentrations were determined in lumbar cerebrospinal fluid and serum after epidural administration of the drug at various time points. Behavioral and physiologic parameters were evaluated to assess side effects. 【Results】Single epidural doses of SLN-M in C₁ or C₂ resulted in equivalent analgesic efficiency ($97.5 \pm 28.4, 99.9 \pm 20.5$ vs 98.2 ± 30.5 ; $P > 0.05$) and longer onset time to peak analgesia [(1.24 ± 0.29)h, (0.93 ± 0.26)h vs (0.54 ± 0.21)h; $P < 0.05$] but significantly prolonged analgesia [(68.6 ± 9.7)h, (83.3 ± 11.6)h vs (9.3 ± 2.3)h; $P < 0.05$] compared with B. In C₁ or C₂, time to peak cerebrospinal fluid morphine concentration was significantly longer [(6.0 ± 1.2)h, (3.0 ± 0.4)h vs (5.0 ± 0.9) min; $P < 0.05$] and peak lumbar cerebrospinal fluid level was significantly lower [(2768 ± 1005) ng/mL, (3274 ± 1095)ng/mL vs (8612 ± 3129)ng/mL; $P < 0.05$] than in B. Residence time in lumbar cerebrospinal

收稿日期: 2007-07-17

基金项目: 广东省卫生厅基金(A2004192)

作者简介: 曹铭辉(1969-), 男, 江西上饶人, 硕士, 副主任医师, E-mail: caofox5188@126.com

fluid was significantly shorter in B than in C₁ or C₂ [(3.84 ± 0.55)h vs (88 ± 10)h, (101 ± 15)h; $P < 0.05$]. Rate of respiratory depression, catalepsy and loss of the corneal-reflex in B were significantly higher than in C₁ or C₂ ($P < 0.05$). 【Conclusions】 Kinetics studies showed that a single epidural dose of SLN-M results in a restrained and persistent release of morphine from the epidural space. This extended release corresponded with an extended duration of analgesia without an attendant increase in the incidence of side effects.

Key words: solid lipid nanoparticles; morphine; epidural; analgesia

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2008, 29(4):427-430, 434]

硬膜外单次给予吗啡后可产生有效镇痛作用,但持续时间较短^[1]。若要延长镇痛时间,则需要留置硬膜外导管连续给药或加大单次剂量的药物^[2],但副作用也相应增加。近年来载药纳米微粒,由于具有药物控释和缓释的特性受到广泛关注^[3,4],而硬脂酸纳米粒(solid lipid nanoparticles, SLN)为粒径在 10 ~ 500 nm 固状胶态粒子的新型载药纳米系统,不但具有药物控释和缓释的优点,而且生理相容性,毒性低,活性部分如药物等通过溶解、包裹于粒子内部,或通过吸附、附着于粒子表面^[5]。SLN 可通过控制药物释放影响药物的吸收方式,避免药物的降解,起到缓释长效的作用^[6,7]。本研究通过合成硬脂酸纳米吗啡(solid lipid nanoparticles morphine, SLN-M),观察其单次注入硬膜外腔后的不良反应及抗伤害效果,并对其药物动力学进行分析,评价硬膜外镇痛效果。

1 材料与方法

1.1 实验材料和仪器

硬脂酸、Pluronic F68 和 75% C DSPE-PEG (Sigma 公司);乙腈(美国 Fisher 公司)为色谱纯,其余试剂为分析纯;甲醇(北京化学试剂厂);Submicron Particle Sizer, nodel 370(Santa Barbara, California, USA);盐酸吗啡(沈阳第一制药公司);聚乙烯导管(长度:12 cm;内径:0.28 mm;外径:0.61 mm;容量:7.4 μ L)。

1.2 硬脂酸纳米吗啡的制备

处方设计及制备工艺根据文献^[8],具体方法如下:取 10 mg/mL 吗啡、100 mg 硬脂酸和丙酮 5 mL 加入具塞梨形瓶中,超声使其充分溶解,加入处方量的卵磷脂,微热使溶,构成有机相。另取 Pluronic F68 和 75% C DSPE-PEG 水溶液溶于 20 mL 水中,成水相。将有机相注入 1 000 r/min($r =$

15 cm) 搅拌的(75 ± 2)℃的水相中,继续搅拌 4 h,使有机溶媒完全蒸发并使体系浓缩至约 1 mL。将所得的半透明体系快速混于另一 0 ~ 2℃的 1 000 r/min($r=15$ cm)搅拌的 10 mL 的水相,继续搅拌 2 h,即得 SLN-M 混悬液。

1.3 模型的建立

雄性质量为 220 ~ 280 g 的 SD 大鼠 40 只(中山大学实验动物中心提供),氟烷全麻下将大鼠放在平台上,保留自主呼吸。穿刺区常规剪毛消毒,在枕骨嵴中点进针,穿刺针到达硬膜外腔后,向尾侧置入聚乙烯导管至腰 1 椎体水平,另一端以丝线缝合固定于头皮,然后经腰 2 ~ 3 间隙穿刺进入蛛网膜下腔并置入聚乙烯导管,另一端以丝线缝合固定于皮下以备抽取脑脊液用。X 线判断导管的位置是否在硬膜外腔及蛛网膜下腔。术后观察 3 d,有肢体感觉和运动障碍及导管脱出者被排除。

1.4 动物分组

术后第 4 天大鼠随机分为 4 组,每组 10 只。A 组为对照组,硬膜外腔单纯给予 SLN,其余为用药组;B 组给予 0.5 mg 普通吗啡,C1 与 C2 组分别给予含有 0.5 及 2 mg 吗啡的 SLN-M。每组药液均容量于 50 μ L 生理盐水。

1.5 热痛阈测定

将大鼠置入观察笼内,待其安静后,将光辐射焦点对准后足跖底中部,打开光源,以动物抬腿或逃跑的潜伏期作为热痛阈,连续 3 次,取平均值,为防热损伤,光照最长时间限定为 20 s。每只大鼠给药前先测定热痛阈潜伏期做为基础热痛阈值,硬膜外腔单次给药分别在下列时点 10、30 min,1、4、12、24、72、120 h 的抗伤害效果。测量结果用最大镇痛效应(maximum possible effect, MPE)表达。

1.6 样本采集

各用药组大鼠单次给予上述相应药物后,于

下列各时点:5、15 min 和 1、3、6、12、24、72 h 抽取 0.5 mL 血清(Serum)及 50 μ L 脑脊液(CSF),并置于 -20 $^{\circ}$ C 环境中保存备用。采用放射免疫法测定吗啡浓度(药盒由北京海军放免中心提供),以 3P87 软件对吗啡药代动力学参数进行分析。

1.7 药物毒性检验

观察用药组大鼠给药后呼吸的变化及角膜反射的改变、僵直症的发生率,评估吗啡的毒性反应。

1.8 统计学处理

应用 SPSS11.0 软件。计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用单因素完全随机设计资料的方差分析。检验水准取 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

A 组对热痛刺激无镇痛效果,也未发现与吗啡类似副作用及感觉或运动神经受损的证据。

B 与 C₁、C₂ 组 MPE 的变化见表 1。随时间延长,B 组最大镇痛效应迅速减退,10 h 后显著低于 C₁ 与 C₂ 组($P<0.05$)。B 组达到 MPE 最高值的时间要快于 C₁ 与 C₂ 组[(0.54 $\pm$ 0.21)h *vs* (1.24 $\pm$ 0.29)h, (0.93 $\pm$ 0.26)h; $F=18.190$, $P=0.000$],

但抗伤害刺激持续时间显著缩短 [(9.3 $\pm$ 2.3)h *vs* (68.6 $\pm$ 9.7)h, (83.3 $\pm$ 11.6)h; $F=60.426$, $P=0.000$]。

B 组动物 CSF 中吗啡浓度达峰时间快于 C₁ 与 C₂ 组($P<0.05$),其峰值浓度也显著高于 C₁ 与 C₂ 组($P<0.05$),药物代谢时间明显缩短($P<0.05$,表 2,3)。

B 组不良反应发生率要高于 C₁ 与 C₂ 组($P<0.05$,表 4)。

3 讨论

硬膜外吗啡镇痛效果确切、安全性好,是临床治疗手术后疼痛的常用方法。由于单次给予吗啡后镇痛作用持续时间较短,目前多通过留置硬膜外导管连续给药或加大单次吗啡使用量达到长效镇痛作用。长时间留置的硬膜外导管增加潜在的感染机会,而且会诱发硬膜外腔纤维化出现粘连,影响镇痛效果^[9-11];而加大单次剂量吗啡的用量也会导致副作用相应增加,如呼吸抑制及阿片类药物急性中毒等。

载药纳米微粒在许多领域应用广泛^[3,4,12,13]。由于其具有缓释与控释药物的优点^[3,4,12],可使药

表 1 各用药组大鼠不同时点 MPE 的比较

Table 1 Comparison of MPE at different point in test group

($n=10, \bar{x}\pm s$)

Group	10 min	30 min	1 h	4 h	12 h	24 h	72 h	120 h
B	48.5 $\pm$ 10.5	98.2 $\pm$ 30.5	97.3 $\pm$ 20.4	76.8 $\pm$ 23.4	55.3 $\pm$ 16.8	9.4 $\pm$ 3.5	0.4 $\pm$ 0.1	0.1 $\pm$ 0.01
C ₁	33.2 $\pm$ 8.3	59.4 $\pm$ 16.5	92.3 $\pm$ 17.5	97.5 $\pm$ 28.4	93.2 $\pm$ 19.8	80.9 $\pm$ 20.6	59.9 $\pm$ 14.3	30.6 $\pm$ 10.5
C ₂	39.7 $\pm$ 11.5	68.7 $\pm$ 18.4	99.9 $\pm$ 20.5	99.1 $\pm$ 22.7	96.7 $\pm$ 20.7	89.1 $\pm$ 15.9	71.3 $\pm$ 9.2	45.3 $\pm$ 9.6
<i>F/P</i>	0.76/0.52	3.19/0.02	1.37/0.25	3.01/0.01	15.18/0.01	64.46/0.00	7.54/0.00	34.1/0.00

MPE: maximum possible effect

表 2 各用药组大鼠不同时点 CSF 与 Serum 吗啡浓度的比较

Table 2 Comparison of morphine concentration in CSF and serum at different point in test group

($n=10, \bar{x}\pm s, \text{ng/mL}$)

Group	5 min	15 min	1 h	3 h	6 h	12 h	24 h	72 h
CSF B	8612 $\pm$ 3129	4982 $\pm$ 2345	2065 $\pm$ 841	775 $\pm$ 164	79 $\pm$ 8	11 $\pm$ 4	0.4 $\pm$ 0.2	0
C ₁	688 $\pm$ 214	962 $\pm$ 352	1357 $\pm$ 453	2159 $\pm$ 852	2768 $\pm$ 1005	1243 $\pm$ 326	159 $\pm$ 34	71 $\pm$ 12
C ₂	783 $\pm$ 256	1325 $\pm$ 454	2354 $\pm$ 795	3274 $\pm$ 1095	3102 $\pm$ 1121	1453 $\pm$ 254	278 $\pm$ 68	101 $\pm$ 35
<i>F/P</i>	4.15/0.00	12.02/0.00	22.98/0.01	5.26/0.00	34.57/0.00	18.45/0.00	1.44/0.00	4.26/0.00
Serum B	2240 $\pm$ 102	1460 $\pm$ 225	671 $\pm$ 106	199 $\pm$ 17	11 $\pm$ 4	5.7 $\pm$ 2.2	0.5 $\pm$ 0.2	0
C ₁	77 $\pm$ 14	91 $\pm$ 13	105 $\pm$ 22	145 $\pm$ 18	166 $\pm$ 11	54 $\pm$ 11	16 $\pm$ 5	13 $\pm$ 4
C ₂	96 $\pm$ 16	107 $\pm$ 21	144 $\pm$ 33	172 $\pm$ 31	117 $\pm$ 27	66 $\pm$ 12	22 $\pm$ 8	17 $\pm$ 3
<i>F/P</i>	12.85/0.00	24.78/0.00	16.87/0.01	10.49/0.11	11.02/0.01	22.10/0.00	4.50/0.01	5.91/0.00

CSF: cerebrospinal fluid

表 3 各用药组大鼠给药后的药代学参数

Table 3 Comparison of cerebrospinal fluid and serum kinetics in test group ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Index	B	C ₁	C ₂	F / P
$T_{\text{MAX}}(\text{h})$, CSF	5.0 ± 0.9	6.0 ± 1.2	3.0 ± 0.4	$5.78 / 0.00$
$C_{\text{MAX}}(\text{ng/mL})$, CSF	8612 ± 3129	2768 ± 1005	3274 ± 1095	$17.54 / 0.00$
$C_{\text{MAX}}(\text{ng/mL})$, Serum	2240 ± 102	166 ± 11	172 ± 31	$15.36 / 0.00$
$T_{1/2} \alpha(\text{h})$, CSF	0.9 ± 0.3	6.0 ± 1.0	3.0 ± 1.4	$34.12 / 0.00$
$T_{1/2} \beta(\text{h})$, CSF	3.8 ± 0.6	88 ± 10	101 ± 15	$69.64 / 0.00$
$T_{1/2} \alpha(\text{h})$, Serum	0.72 ± 0.24	0.58 ± 0.17	0.67 ± 0.23	$1.37 / 0.26$
$T_{1/2} \beta(\text{h})$, Serum	7.7 ± 0.1	58.0 ± 13.0	66.0 ± 11.0	$7.99 / 0.00$
AUC(n/d/mL), CSF	571 ± 124	1299 ± 325	2154 ± 556	$5.77 / 0.00$
AUC(n/d/mL), Serum	58 ± 11	52 ± 23	68 ± 20	$1.36 / 0.05$
MRT(h), CSF	0.8 ± 0.1	10.5 ± 1.6	17.2 ± 4.5	$6.54 / 0.00$
MRT(h), Serum	1.0 ± 0.2	8.6 ± 0.9	16.7 ± 3.3	$7.87 / 0.00$

CSF: cerebrospinal fluid; T_{MAX} : time to peak concentration; C_{MAX} : peak concentration; $T_{1/2} \alpha$: initial half-life; $T_{1/2} \beta$: terminal half-life; AUC: area under the curve; MRT: mean residence time

表 4 各用药组大鼠不良反应的比较

Table 4 Comparison of side effects in test group ($n=10$)

Index (%)	B group	C ₁ group	C ₂ group	χ^2 / P
Loss of the corneal-reflex	60	0	0	$6.478 / 0.011$
Rate of catalepsy	80	0	0	$12.345 / 0.003$
Rate of respiratory depression	70	0	0	$5.287 / 0.021$

效持续时间明显延长。硬脂酸是机体脂肪的主要成分和主要能量来源,生物相容性好,是理想的载体材料。本实验中 SLN-M 单次注入大鼠硬膜外腔后,达到最大镇痛效应的时间较普通吗啡要长,但有效镇痛时间延长且副作用显著降低,说明 SLN-M 在硬外腔发挥镇痛作用的过程与传统吗啡是不同的,这主要与有效镇痛成份吗啡在硬外腔缓慢释放有关。药动学的证据表明:给予 SLN-M 的大鼠其 CSF 和血内吗啡浓度达到最高值的时间要比使用普通吗啡长,而最大吗啡浓度则明显降低,所以起效时间延长,但吗啡镇痛时相关并发症如呼吸抑制、僵直症等却显著减少,即使增加 SLN-M 剂量变不会导致副作用明显增加,这也证明了 SLN-M 具有缓释作用的特点,与既往研究结果相一致^[13,14]。从本实验的结果可以看到:给予 SLN-M 后,吗啡在 CSF 与血液中的终末半衰期($T_{1/2} \beta$ = terminal half-life)比普通吗啡显著延长,大鼠对热痛刺激的耐受时间可延长 7 倍以上,证明 SLN-M 可以像外置微量泵一样在硬膜外腔通过缓慢释放吗啡达到长时程稳定的镇痛效果,不

但降低大剂量吗啡使用时的风险,也避免长期留置导管的并发症。

本实验中对照组动物并未出现神经系统损害的表现,说明硬膜外腔单次使用 SLN 是安全的,对于长期重复使用时对硬膜外组织和神经系统的影响尚需要进一步的组织学和形态学证据进行证实。此外,由于以往的研究提示硬膜外腔长期使用吗啡可导致耐药性显著增加^[15],从而降低吗啡的镇痛效果,因此,对于 SLN-M 反复多次使用时的效果尚需进一步的研究。总之,硬膜外腔单次给予 SLN-M 可达到与普通吗啡相同的镇痛效果,有效镇痛时间延长的同时副作用显著降低,值得推广应用。

参考文献:

- [1] Morgan M. The rational use of intrathecal and extradural opioids [J]. Br J Anaesth, 1989, 63 (2): 165-188.
- [2] Naulty JS. Continuous infusions of local anesthetics and narcotics for epidural analgesia in the management of labor [J]. Int Anesthesiol Clin, 1990, 28 (1): 17-24.

(下转 434 页 to page 434)