

聚乙二醇修饰姜黄素固体脂质纳米粒吸入微粉的制备、表征及组织分布研究^Δ

李楠*,王梓,郝迪,孔令钰,李旭[#](天津市医药科学研究所,天津 300020)

中图分类号 R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2025)19-2387-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2025.19.05



摘要 **目的** 制备吸入用聚乙二醇(PEG)修饰的花形乳糖(FL)装载姜黄素(Cur)固体脂质纳米粒(SLN)吸入微粉(简称“PEG-Cur-FL”)。**方法** 采用溶剂乳化扩散-低温固化法制备PEG-Cur-FL,并对其包封率和载药量、粉体学性质、空气动力学粒径、体外沉积性质和体外释放特性进行表征。将小鼠分为Cur-SLN-FL(未经PEG修饰)组和PEG-Cur-FL组,每组55只。两组小鼠均单次经气管吸入相应药物微粉5 mg/kg(以Cur计),分别于给药后0.25、0.5、1、2、4、6、8、12、24、48、72 h时摘眼球取血并分离其气管、肺、肝和肾组织,测定小鼠血浆和各组织样品中Cur的质量浓度,分析药物的组织分布和滞留情况。**结果** PEG-Cur-FL的包封率和载药量分别为 $(86.2 \pm 1.8)\%$ 和 $(4.2 \pm 0.2)\%$,松密度和振实密度分别为 $(0.24 \pm 0.01) \text{ g/cm}^3$ 和 $(0.30 \pm 0.01) \text{ g/cm}^3$,空气动力学粒径为 $(2.74 \pm 0.64) \mu\text{m}$,体外有效部位沉积率(二级药物沉积率)为 $(45.07 \pm 2.79)\%$ 。与Cur原料药比较,Cur-SLN-FL和PEG-Cur-FL在漏槽和非漏槽条件下均具有缓释作用,且PEG-Cur-FL在人工肺液中的释放更平缓,释药特征符合Weibull模型。体内分布结果显示,PEG-Cur-FL组小鼠给药后1 h的肺组织药物浓度显著低于同期Cur-SLN-FL组,而4~48 h各时间点的肺组织药物浓度均显著高于同期Cur-SLN-FL组($P < 0.05$);PEG-Cur-FL组0.25~12 h各时间点的血浆药物浓度均显著低于同期Cur-SLN-FL组,肝、肾组织药物浓度亦低于同期Cur-SLN-FL组($P < 0.05$)。**结论** 成功制备PEG-Cur-FL;该吸入微粉具有良好的可吸入性能和释放性能;经气管内给药后可提高Cur在肺组织的药物有效浓度,同时降低其血浆药物浓度和非靶器官的药物分布浓度。
关键词 姜黄素;聚乙二醇;固体脂质纳米粒;吸入微粉;吸入给药;体外释放;组织分布

Preparation, characterization and tissue distribution of polyethylene glycol-modified Curcumin solid lipid nanoparticle inhalable micropowder

LI Nan, WANG Zi, HAO Di, KONG Lingyu, LI Xu (Tianjin Institute of Medical and Pharmaceutical Sciences, Tianjin 300020, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To prepare polyethylene glycol (PEG)-modified flower lactose (FL) loaded Curcumin (Cur) solid lipid nanoparticle (SLN) inhalable micropowder (referred to as “PEG-Cur-FL”). **METHODS** PEG-Cur-FL was prepared by the solvent emulsification diffusion low-temperature solidification method, and its encapsulation efficiency, drug loading capacity, powder properties, aerodynamic particle size, *in vitro* deposition properties, and *in vitro* release characteristics were characterized. The mice were divided into Cur-SLN-FL (unmodified with PEG) group and PEG-Cur-FL group, with 55 mice in each group. Both groups of mice were given a single inhalation of 5 mg/kg (calculated as Cur) of the corresponding drug micropowder through an air tube. At 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 48 and 72 hours after administration, eyeballs were removed to collect blood and tracheal, lung, liver and kidney tissues were separated. The mass concentration of Cur in mouse plasma and various tissue samples was measured, and the tissue distribution and retention of the drug were analyzed. **RESULTS** The encapsulation efficiency and drug loading capacity of PEG-Cur-FL were $(86.2 \pm 1.8)\%$ and $(4.2 \pm 0.2)\%$, respectively; the bulk density and tap density were $(0.24 \pm 0.01) \text{ g/cm}^3$ and $(0.30 \pm 0.01) \text{ g/cm}^3$, respectively; the aerodynamic particle size was $(2.74 \pm 0.64) \mu\text{m}$; the *in vitro* effective site deposition rate (secondary drug deposition rate) was $(45.07 \pm 2.79)\%$. Compared with Cur raw materials, Cur-SLN-FL and PEG-Cur-FL had sustained release effects under both leakage and non-leakage conditions, and PEG-Cur-FL had a smoother sustained release in artificial lung fluid, with release characteristics consistent with the Weibull model. The results of *in vivo* distribution showed that the drug concentration in the lung tissue of PEG-Cur-FL group was significantly lower than that of Cur-SLN-FL group during the same period after 1 hour of administration, while the drug concentration in the lung tissue at 4 to 48 hours was significantly higher than that of Cur-SLN-FL group during the same period ($P < 0.05$); the plasma drug concentrations of the PEG-Cur-FL group at all time points from 0.25 to 12 hours were significantly lower than those of the Cur-SLN-FL group during the same period ($P < 0.05$), and the drug concentrations in liver and kidney tissues were also lower than those of the Cur-SLN-FL group during the same

^Δ 基金项目 国家自然科学基金项目(No.81903565);天津市科技计划项目(No.21JCYBJC01630, No.23JCYBJC00410);天津市卫生健康委员会中西医结合科研项目(No.2023102)

* 第一作者 副研究员,硕士。研究方向:肺部递药系统。E-mail: llittsnows@126.com

通信作者 副研究员,硕士。研究方向:药理学。E-mail: 187391856@qq.com

period ($P < 0.05$). **CONCLUSIONS** PEG-Cur-FL is prepared successfully; the inhalable micropowder has good inhalability and release performance; after administration through the trachea, the effective concentration of Cur in lung tissue can be increased, while reducing its plasma drug concentration and drug distribution concentration in non-target organs.

KEYWORDS curcumin; polyethylene glycol; solid lipid nanoparticles; inhalable micropowder; inhalation administration; *in vitro* release; tissue distribution

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是一种异质性肺部疾病,以气道和(或)肺泡异常所致持续呼吸道症状和气流受限为主要特征^[1]。该病通常是由于患者长期接触大量有害颗粒或气体所致^[2]。姜黄素(curcumin, Cur)已被证实COPD治疗中具有显著作用^[3],该作用可能涉及抑制气道炎症、增强抗氧化应激能力、调节蛋白酶-抗蛋白酶平衡、抗纤维化及气道重塑等多重机制^[4-5]。然而,由于Cur难溶于水且生物利用度极低,使得其在COPD等疾病临床治疗领域的应用受限。

小分子药物以吸入方式给药,能直接将药物送至治疗部位,相较于口服给药途径,其疗效更显著且起效更迅速^[6]。本课题组前期制备了花形乳糖(flower lactose, FL)装载Cur固体脂质纳米粒(solid lipid nanoparticles, SLN)的吸入微粉(简称“Cur-SLN-FL”),以改善Cur溶解性差、生物利用度低和靶向性不足的缺陷,并初步验证了肺部吸入Cur-SLN-FL对COPD模型小鼠肺部炎症的改善作用^[3,7]。然而,本课题组发现,该载药SLN不够稳定,药物在肺内的滞留时间和有效药物浓度有限(另文待发)。聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)能延长多种递药系统在体内的循环时间,其在纳米粒子的表面形成一层亲水性的立体屏障,具有空间稳定和类似“隐身”的特性,从而防止纳米粒子被吞噬系统识别和清除^[8]。本研究制备了PEG修饰的Cur-SLN-FL(简称“PEG-Cur-FL”),并对其进行表征和组织分布研究,旨在为Cur等难溶性药物吸入制剂的开发应用提供实验依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括HELOS-OASIS型激光粒度仪(德国SYMPATEC公司),LC-30A型高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)仪、LCMS-8040型三重四极杆质谱仪联用系统(日本Shimadzu公司),Aerolizer[®]吸入装置(澳大利亚Novartis公司),BJ-PW-FM型小动物干粉肺部给药装置(深圳市伯建生物科技有限公司),ZNCL-T型智能磁力搅拌器(上海科兴仪器有限公司),FDU-2110型冷冻干燥机(日本EYELA公司),Sigma-3k30型高速冷冻离心机(美国Sigma-Aldrich公司),KZ-Ⅲ-F型高速低温组织研磨仪(武汉赛维尔生物科技有限公司)等。

1.2 主要药品与试剂

Cur原料药(批号TZSW200317-1,纯度99.0%)购自西安通泽生物科技有限公司;Cur对照品、大黄素对照品(内标)(批号分别为110823-201004、110756-200110,纯度均大于98%)均购自中国食品药品检定研究院;PEG₂₀₀₀、海藻糖均购自艾伟拓(上海)医药科技有限公司;FL(批号20210312)为本实验室自制;泊洛沙姆188(批号Cat10050924)购自瑞士Roche公司;吐温80(批号20220316)购自天津市科密欧化学试剂有限公司;单硬脂酸甘油酯(批号Cat172388)购自法国Gattefosse公司;硬脂酸聚氧乙烯酯(货号1278411)购自山东优索化工科技有限公司;甲醇、乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯或实验室常用规格,水为纯净水。

1.3 实验动物

110只SPF级6~8周龄雄性昆明小鼠,体重20~22 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,动物生产许可证号为SCXK(京)2019-0008。所有小鼠均饲养于有屏障环境的实验动物研究室中。本实验经天津市医药科学研究所动物实验伦理委员会批准(伦理号:21JCYBJC01630)。

2 方法与结果

2.1 PEG-Cur-FL的制备

采用溶剂乳化扩散-低温固化法制备PEG-Cur-FL。首先,称取泊洛沙姆188和吐温80(质量比1:2),在75℃、540 r/min磁力搅拌下分散于16 mL水中,作为水相。称取单硬脂酸甘油酯、硬脂酸聚氧乙烯酯、PEG₂₀₀₀(质量比10:20:3),在相同温度和转速下分散于4 mL无水乙醇中,作为脂质基质;称取40 mg Cur原料药,置于2 mL无水乙醇中,完全溶解后,与脂质基质混匀,作为有机相。然后,在78℃、1 000 r/min恒温磁力搅拌下将有机相缓慢注入水相,形成乳液,继续搅拌4 h,以除去乙醇;趁热将乳液置于0~4℃冷水浴中低温固化2 h,即得淡黄色PEG修饰的Cur-SLN混悬液,于4℃静置。最后,采用本课题组前期研究方法^[7]将上述混悬液微粉化后与FL混匀,过筛,即得PEG-Cur-FL。

2.2 PEG-Cur-FL的表征

2.2.1 包封率与载药量测定

采用超滤离心法^[9]测定PEG-Cur-FL的包封率和载药量。将10 mg PEG-Cur-FL置于10 mL棕色容量瓶中,加甲醇破乳、溶解并稀释至刻度,摇匀,超声提取15 min后,以3 000 r/min离心5 min,取上清液经0.45 μm微孔滤膜过滤后,以HPLC法^[10]测定Cur的峰面积并计算样

品中Cur的总量。另精密量取相同质量的PEG-Cur-FL,以10 mL水复溶后置于超滤离心管上部,于4℃下以16 000 r/min离心10 min,取上清以甲醇稀释,经0.45 μm微孔滤膜过滤后,以同一HPLC法^[10]测定Cur的峰面积并计算样品中游离Cur的含量。按下式计算包封率和载药量:包封率(%)=($m_{\text{总}}-m_{\text{游离}}$)/ $m_{\text{总}}\times 100\%$,载药量(%)=($m_{\text{总}}-m_{\text{游离}}$)/ $m_{\text{微粉}}\times 100\%$ 。式中, $m_{\text{总}}$ 为Cur的原始投药量, $m_{\text{游离}}$ 为游离Cur的质量, $m_{\text{微粉}}$ 为PEG-Cur-FL的质量。实验重复3次。结果显示,PEG-Cur-FL的包封率和载药量分别为(86.2±1.8)%和(4.2±0.2)%。

2.2.2 PEG-Cur-FL的粉体学性质评价

根据文献方法^[11]测定PEG-Cur-FL的粉体学性质。精密称定1.0 g的PEG-Cur-FL(m_1),缓慢加入干燥量筒(25 mL)中,精密称定含药量筒的总质量(m_2),并读取量筒内PEG-Cur-FL粉末的体积(V_1),计算粉末的松密度[松密度(g/cm^3)=(m_2-m_1)/ V_1]。接着,将量筒中粉末振实约500次,直到内部粉体压缩至体积最终恒定,记录此时PEG-Cur-FL粉末的体积(V_2),计算粉末的振实密度[振实密度(g/cm^3)=(m_2-m_1)/ V_2]。实验重复3次。结果显示,PEG-Cur-FL的松密度和振实密度分别为(0.24±0.01) g/cm^3 和(0.30±0.01) g/cm^3 。

2.2.3 PEG-Cur-FL的空气动力学粒径检测

颗粒大小是决定吸入药物粒子肺部沉积量和治疗效果的关键。本研究分别称取1.0 g的FL和PEG-Cur-FL,过200目筛,采用激光粒度仪以干法测定FL和PEG-Cur-FL的粒径,并按文献方法^[12]计算其空气动力学粒径。结果显示,FL和PEG-Cur-FL累计分布百分数达到50%时所对应的粒径均小于5 μm,空气动力学粒径分别为(2.48±0.44)μm和(2.74±0.64)μm。

2.2.4 PEG-Cur-FL的体外沉积性质评价

根据2020年版《中国药典》(四部)“吸入制剂微细粒子空气动力学特性测定法”^[13],采用自制液体碰撞器测定并计算PEG-Cur-FL的模拟咽喉部、一级和二级药物沉积率。结果显示,PEG-Cur-FL的模拟咽喉部、一级和二级药物沉积率分别为(16.64±3.81)%、(31.84±2.84)%和(45.07±2.79)%。

2.2.5 PEG-Cur-FL的体外释放特性评价

(1)累积释放情况:由于药物粒子沉积至肺上皮表层的内衬液仅有20~50 mL,而漏槽条件下药物的释放无法模拟颗粒经吸入后与肺衬里液接触后的释放性能。因此,本研究以Cur原料药为对照,按照2020年版《中国药典》(四部)“溶出度测定法”第二法(浆法)^[13],分别在漏槽和非漏槽条件下评价Cur-SLN-FL和PEG-Cur-FL中Cur的体外释放情况。溶出体系温度保持在37℃,转速为100 r/min,溶出介质为新鲜配制的模拟肺液。精密称量相当于Cur 5.0 mg的Cur原料药、Cur-SLN-FL和PEG-Cur-FL,分别置于盛有1 000 mL和200 mL模拟肺液的溶出杯内,平行3份。分别于0.25、0.5、0.75、1、2、4、

6、8、12、18、24、36、48 h时从溶出介质中取液1 mL(同时补足等温等体积的释放介质)。然后,将取出的液体以12 000 r/min离心15 min,取上清液,采用HPLC法^[13]测定Cur的含量,计算各时间点对应的Cur累积释放量、累积释放率并绘制累积释放曲线。累积释放量(M_t)= $c_t\times 50+\sum c_{t-1}$,累积释放率(%)= $M_t/M_0\times 100\%$ 。式中, M_0 为Cur的含量, t 是取样时间, c 是在该取样时间下的药物浓度。

漏槽条件下的释放结果(图1A)显示,Cur原料药释放快速,且有明显的“突释现象”,Cur原料药的6 h累积释放率为(97.13±1.82)%;此时,Cur-SLN-FL和PEG-Cur-FL的累积释放率分别为(67.53±1.80)%和(46.17±2.27)%,提示在模拟肺液介质中,与无PEG修饰的Cur-SLN-FL相比,PEG-Cur-FL具有一定的缓释特征;但三者48 h的累积释放率均接近100%。非漏槽条件下的释放结果(图1B)显示,Cur原料药的释放速度和累积释放量明显降低,Cur原料药的24 h累积释放率为(54.20±1.18)%;而在接触介质体积明显减少的条件下,无论是否经PEG修饰,负载Cur的2种吸入SLN微粉均呈现出与漏槽条件下相似的释放特性,最终Cur-SLN-FL和PEG-Cur-FL的48 h累积释放率分别为(94.93±1.17)%和(93.63±1.31)%。

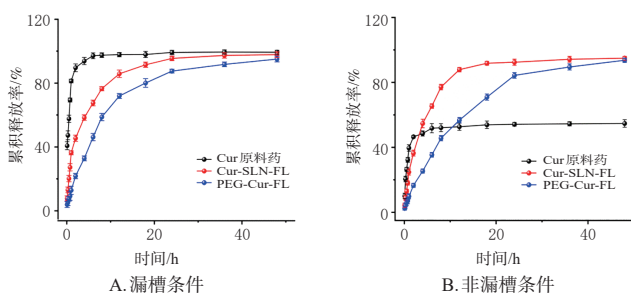


图1 Cur原料药、Cur-SLN-FL和PEG-Cur-FL的累积释放曲线

(2)在肺液介质中的释药模型拟合情况:用Origin软件对Cur原料药、Cur-SLN-FL和PEG-Cur-FL的体外释放结果进行零级动力学、一级动力学、Higuchi、Weibull和Ritger-Peppas模型拟合。结果显示,在漏槽条件下,Cur原料药、Cur-SLN-FL和PEG-Cur-FL的释放过程均符合Weibull模型,拟合度最高(R^2 分别为0.981 2、0.996 5、0.998 1);与Cur-SLN-FL相比,PEG-Cur-FL的拟合度略高,表明PEG修饰所形成的亲水性外壳可减少载体聚集,使释药过程更为均匀。非漏槽条件下,Cur原料药的释放过程更符合一级动力学模型($R^2=0.967 8$),为浓度依赖性的简单扩散;而Cur-SLN-FL和PEG-Cur-FL的释放仍符合Weibull模型(R^2 分别为0.998 4和0.998 3),可能与载体材料包裹药物,减少了浓度梯度对药物释放的影响有关。同时,由拟合结果可知,Cur-SLN-FL和PEG-Cur-FL在漏槽和非漏槽条件下均维持较高的拟合度,表明2种制剂的释药行为均稳定,适合复杂生理环

境,而PEG的修饰进一步提升了拟合度,可见PEG表面的亲水壳增强了载药粒子的抗干扰能力(限于篇幅,漏槽和非漏槽条件下3种制剂在肺液介质中的释药模拟结果可通过本文首页二维码链接中“增强出版”板块查看附表1)。

2.3 PEG-Cur-FL 在小鼠体内的组织分布

2.3.1 Cur的色谱、质谱条件

(1)色谱条件:色谱柱为InertSustain C₁₈(3.0 mm×100 mm,3.0 μm);流动相为甲醇-0.1%甲酸溶液(体积比75:25);柱温为35℃;流速为0.4 mL/min;进样量为10 μL。(2)质谱条件:采用电喷雾离子源,以多反应监测模型进行正离子扫描;加热模块温度为400℃;脱溶剂管温度为250℃;雾化气流速为3.0 L/min;干燥气流速为15 L/min;离子源电压为4.0 kV;用于定量分析的离子对分别为 m/z 367.20→148.95 (Cur)、 m/z 269.10→225.00 (大黄素,内标)。

2.3.2 溶液的制备

(1)Cur对照品贮备液及标准溶液:取Cur对照品约10 mg,精密称定,置于10 mL棕色容量瓶中,以甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得质量浓度为1.019 2 mg/mL的Cur对照品贮备液,于4℃下避光保存。临用前,用甲醇稀释制成相应质量浓度的标准溶液。(2)内标溶液:取大黄素对照品约10 mg,精密称定,置于100 mL棕色容量瓶中,以甲醇溶解并稀释至刻度,即得内标贮备液;精密量取上述内标贮备液1 mL,置于100 mL棕色容量瓶中,以甲醇溶解并稀释至刻度,即得质量浓度为1.08 μg/mL的内标溶液,于4℃避光保存,备用。

2.3.3 生物样品的处理方法

(1)血浆样品:取小鼠血浆样品,以4 000 r/min离心10 min;取上清液180 μL,加入内标溶液20 μL、蛋白沉淀剂1 mL,涡旋5 min后,以12 000 r/min离心10 min;取上清液900 μL转移至另一离心管中,以氮气流吹干;残渣加流动相200 μL复溶,涡旋3 min后,以12 000 r/min离心10 min,取上清液进样测定,记录峰面积。(2)组织样品:取小鼠气管、肺、肝、肾组织适量,剪碎后,加入2倍量生理盐水匀浆,再以4 000 r/min离心10 min,精密吸取各组织上清液180 μL,余下步骤同“血浆样品的处理”。

2.3.4 方法学考察

(1)专属性考察:分别取小鼠空白血浆/空白组织(气管、肺、肝、肾)样品(处理时不加内标)、空白血浆/空白组织样品+Cur对照品(10.192 μg/mL)、给药0.5 h的血浆/给药0.5 h的组织样品,按“2.3.3”项下方法处理,再按“2.3.1”项下条件进样测定,记录色谱图(限于篇幅,色谱图可通过本文首页二维码链接中“增强出版”板块查看附图1~3)。结果表明,血浆和各组织中的内源性物质不干扰测定。

(2)线性关系与定量下限考察:取“2.3.2(1)”Cur对照品贮备液,用甲醇逐级稀释成质量浓度分别为509.6、

203.84、101.92、50.96、10.192、5.096、1.019 2、0.509 6、0.010 192 μg/mL的系列标准溶液,分别精密吸取空白血浆和气管、肺、肝、肾组织的空白匀浆液180 μL,加入上述系列标准溶液20 μL,按“2.3.3”项下方法处理,再按“2.3.1”项下条件进样分析。以药物质量浓度(X)为横坐标、Cur与内标的峰面积比值(Y)为纵坐标进行线性回归,定量下限质量浓度均为10.192 ng/mL。结果见表1。

表1 血浆和不同组织的线性关系考察结果

| 样品 | 回归方程 | 线性范围/(μg/mL) | 相关系数 |
|------|------------------------|------------------|---------|
| 血浆 | $Y=0.632\ 9X+0.067\ 3$ | 0.010 192~20.384 | 0.997 2 |
| 气管组织 | $Y=1.287\ 3X+0.097\ 3$ | 0.010 920~5.096 | 0.998 6 |
| 肺组织 | $Y=1.135\ 4X+0.081\ 3$ | 0.010 192~50.96 | 0.998 8 |
| 肝组织 | $Y=4.680\ 7X+0.007\ 1$ | 0.010 192~5.096 | 0.999 3 |
| 肾组织 | $Y=3.892\ 1X+0.020\ 7$ | 0.010 192~5.096 | 0.998 5 |

(3)精密度和准确度试验:分别按“2.3.4(2)”项下方法配制Cur定量下限和低、中、高质量浓度的血浆和气管、肺、肝、肾组织样品,平行配制6份,按“2.3.3”项下方法处理后,于同日内进样6次,分别以相对标准偏差(RSD)、实测质量浓度与理论质量浓度的比值考察精密度和准确度。连续进样3 d。结果显示,血浆和气管、肺、肝、肾组织样品的准确度为83.89%~106.22%,日内、日间精密度的RSD均小于10%,符合2020年版《中国药典》(四部)对生物样品定量分析的要求^[13]。

(4)稳定性试验:分别按“2.3.4(2)”项下方法配制Cur低、中、高质量浓度的血浆和气管、肺、肝、肾组织样品,按“2.3.3”项下方法处理后,分别于室温下放置24 h、-20℃放置24 h、反复冻融(-20℃至室温)3次后,按“2.3.1”项下条件进样分析。每个浓度平行3份。结果显示,各样品在上述条件下放置后的准确度为82.70%~101.39%(RSD≤9.88%),稳定性良好,符合2020年版《中国药典》(四部)对生物样品定量分析的要求^[13]。

(5)提取回收率试验:精密量取低、中、高质量浓度(0.101 92、10.192、50.96 μg/mL)的Cur标准溶液,加入空白血浆和组织各180 μL,按“2.3.3”项下方法处理后,再按“2.3.1”项下条件进样分析,记录峰面积(A_1);另取空白血浆和组织各180 μL(不加Cur),按“2.3.3”项下方法处理,在上清液中加入相同质量浓度(具体浓度同上)的Cur标准溶液,再以氮气流吹干,余下步骤同“2.3.3”项,按“2.3.1”项下条件进样分析,记录峰面积(A_2)。以 A_1 和 A_2 的比值计算提取回收率。每个浓度平行3份。结果显示,低、中、高质量浓度Cur在血浆中的提取回收率分别为(83.25±3.65)%、(93.61±1.31)%、(88.73±7.20)%,在气管组织中分别为(83.77±5.52)%、(91.91±7.26)%、(87.91±8.22)%,在肺组织中分别为(83.67±7.69)%、(89.52±2.70)%、(80.77±6.25)%,在肝组织中分别为(82.69±2.77)%、(86.50±3.12)%、(84.62±3.06)%,在肾组织中分别为(81.67±6.32)%、(87.93±2.56)%、(78.31±3.50)%,内标在血浆和气管、肺、肝、肾组织的提取回收率分别为(90.77±3.66)%、(93.11±

4.39)%、(88.20±4.46)%、(86.20±1.31)%、(89.34±7.01)%。

(6)基质效应:取6份来源不同的空白血浆,分别加入高、低质量浓度(50.96、0.101 92 μg/mL)的Cur对照品溶液20 μL,按“2.3.3”项下方法处理后,再按“2.3.1”项下条件进样分析,测定Cur峰面积(A);分别取高、低质量浓度(50.96、0.101 92 μg/mL)的Cur对照品溶液20 μL,按“2.3.3”项下方法处理后,进样分析,测定Cur峰面积(B);计算基质效应:基质效应(%)=A/B×100%。结果显示,基质效应≥91.22%,符合2020年版《中国药典》(四部)对生物样品定量分析的要求^[13]。

2.3.5 PEG-Cur-FL肺吸入后在小鼠体内的组织分布

将小鼠分为Cur-SLN-FL组和PEG-Cur-FL组,每组55只。禁食、不禁水12 h后,两组小鼠分别以小动物干粉肺部给药装置经气管单次给予Cur-SLN-FL和PEG-Cur-FL 5 mg/kg(以Cur计,剂量参考文献[3]和肺部刺激性结果换算设置)。分别于给药后0.25、0.5、1、2、4、6、8、12、24、48、72 h时摘小鼠眼球取血(每个时间点每组5只)于肝素管内,然后处死并解剖分离其气管、肺、肝、肾组织。上述样品按“2.3.3”项下方法处理,再按“2.3.1”项下条件进样分析,并根据随行标准曲线计算不同时间点血浆和各组织样品中Cur的质量浓度。采用SPSS 25.0软件对数据进行统计分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用两独立样本t检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

结果(表2)显示,在5 mg/kg的剂量下,PEG-Cur-FL组小鼠给药后1 h的肺组织药物浓度显著低于同期Cur-SLN-FL组,而4~48 h各时间点的肺组织药物浓度均显著高于同期Cur-SLN-FL组($P<0.05$);PEG-Cur-FL组的最大肺组织药物浓度约为Cur-SLN-FL组的5.98倍,显示出明显的缓释特性。而血浆药物浓度则呈现相反的结果,PEG-Cur-FL组小鼠0.25~12 h各时间点的血浆药物浓度均显著低于同期Cur-SLN-FL组(24 h开始血浆药物浓度显著高于同期Cur-SLN-FL组)($P<0.05$),其最大血药峰浓度约为Cur-SLN-FL组的0.22倍,全身暴

露水平明显降低;同时,肝、肾组织药物浓度亦普遍低于同期Cur-SLN-FL组,部分差异有统计学意义($P<0.05$)。随着血浆中Cur浓度的降低,PEG-Cur-FL组小鼠肝、肾等非靶器官的药物暴露量也同步降低,表明PEG修饰可有效抑制药物向非靶器官扩散,凸显其“肺部富集-全身减毒”的特性。

3 讨论

肺部吸入给药是一种非侵入性的给药途径,具有将治疗药物精准递送至肺部、生物利用度高和避免肝脏首过效应等优势,已被全球哮喘防治倡议与全球慢性阻塞性肺疾病倡议推荐为呼吸系统疾病的首选治疗方案^[14]。干粉吸入剂作为唯一的固体吸入制剂,具有较强的药物稳定性、高效的肺部递送效率和良好的患者依从性等优势,在COPD等呼吸系统疾病的临床治疗领域占据重要地位^[15]。人体呼吸道特有的支气管树结构对吸入制剂的粒径提出了严格要求。研究显示,COPD的主要病理特征为小气道病变和肺气肿,病变主要累及肺泡区域及直径<2 mm的细支气管。较小的空气动力学粒径是实现药物肺内高效沉积的关键因素,因此,为提高吸入颗粒的递送效率,理想情况下,应将其空气动力学粒径控制在1~3 μm^[16],该范围的颗粒兼具扩散沉积与惯性沉积的双重优势,理论上可深入细支气管及肺泡区域^[17]。本研究通过对PEG-Cur-FL的空气动力学粒径、体外沉积性质和粉体学性质进行评估发现,所制PEG-Cur-FL属超细微粒,具有较高的体外有效部位沉积率,适用于COPD的小气道给药,为肺部给药的药代动力学研究提供了实验依据。

用于呼吸系统疾病治疗的吸入制剂需在肺部维持适宜的药物浓度及滞留时间,这两者将直接影响药物局部疗效的持续时间;然而,药物在肺部的滞留情况主要由其在肺部的渗透性(吸收)、代谢过程及组织亲和性等决定^[18]。本研究采用PEG对Cur-SLN-FL进行表面修饰,结果显示,PEG修饰可延长载药SLN的肺内循环时间,增强其物理稳定性,从而延长药物在肺部的滞留时

表2 各组小鼠给药不同时间点血浆/各组织中Cur的质量浓度比较($\bar{x} \pm s, n=5, \mu\text{g/mL}$)

| 时间点 | Cur-SLN-FL组 | | | | | PEG-Cur-FL | | | | |
|--------|--------------|-------------|--------------|-------------|-------------|--------------------------|-------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | 血浆 | 气管组织 | 肺组织 | 肝组织 | 肾组织 | 血浆 | 气管组织 | 肺组织 | 肝组织 | 肾组织 |
| 0.25 h | 0.846±0.301 | 7.062±1.106 | 0.774±0.291 | 0.079±0.027 | 0.264±0.144 | 0.019±0.007 ^a | 9.151±0.498 | 0.820±0.257 | 0.055±0.032 | 0.018±0.011 ^a |
| 0.5 h | 6.151±1.016 | 0.840±0.416 | 3.015±1.055 | 0.720±0.475 | 0.963±0.302 | 0.139±0.059 ^a | 1.229±0.337 | 1.867±0.209 | 0.341±0.061 | 0.020±0.009 ^a |
| 1 h | 10.736±1.688 | 0.218±0.035 | 7.306±0.840 | 1.458±0.826 | 1.486±0.517 | 0.411±0.102 ^a | 0.631±0.182 | 3.793±1.523 ^a | 0.879±0.693 | 0.020±0.101 ^a |
| 2 h | 15.470±1.627 | 0.102±0.057 | 9.833±1.396 | 3.125±0.855 | 1.879±0.624 | 0.906±0.158 ^a | 0.289±0.147 | 6.653±2.074 | 1.465±0.547 ^a | 0.323±0.119 ^a |
| 4 h | 17.944±1.184 | 0.037±0.029 | 10.504±1.258 | 2.372±0.775 | 2.381±1.021 | 1.769±0.581 ^a | 0.105±0.050 | 22.380±1.731 ^a | 1.742±0.158 | 0.437±0.136 ^a |
| 6 h | 15.714±1.173 | — | 8.833±1.145 | 1.548±0.583 | 1.512±0.519 | 2.899±0.388 ^a | 0.033±0.011 | 36.760±1.834 ^a | 1.984±0.808 | 0.511±0.368 ^a |
| 8 h | 13.635±1.194 | — | 7.640±0.657 | 0.273±0.121 | 0.755±0.353 | 3.403±0.562 ^a | — | 50.247±1.109 ^a | 1.684±0.161 ^a | 0.360±0.067 |
| 12 h | 9.731±1.749 | — | 5.197±0.929 | 0.666±0.124 | 0.205±0.109 | 3.920±0.330 ^a | — | 62.840±2.625 ^a | 0.781±0.587 | 0.072±0.037 |
| 24 h | 0.627±0.272 | — | 1.267±0.516 | 0.080±0.013 | 0.133±0.022 | 3.220±0.491 ^a | — | 58.927±1.785 ^a | 0.312±0.171 | 0.084±0.017 |
| 48 h | 0.026±0.012 | — | 0.056±0.018 | 0.026±0.010 | 0.079±0.039 | 1.620±0.492 ^a | — | 23.225±1.406 ^a | 0.169±0.071 ^a | 0.053±0.035 |
| 72 h | — | — | — | 0.016±0.009 | 0.017±0.004 | 0.097±0.037 | — | 3.203±0.379 | 0.071±0.019 ^a | 0.027±0.021 |

a: 与同期Cur-SLN-FL组同组织样本比较, $P<0.05$;—:实际未检出。

间。此外,PEG可通过改善SLN表面亲水性及调控界面特性来增强SLN的肺部渗透性,这一特性与其肺部药物递送效率密切相关^[19]。

本研究中对小鼠经气管内给药后药物在肺内的分布和滞留情况进行研究证实,PEG-Cur-FL组小鼠的肺组织药物浓度和滞留时间均高于未修饰PEG的Cur-SLN-FL组,而其血浆药物浓度则低于Cur-SLN-FL组。这一差异与肺内复杂的清除机制和载药系统的物理稳定性密切相关^[20]。在肺内复杂的黏液环境中,未修饰PEG的SLN易发生凝集,导致颗粒粒径增大后被快速清除进入体循环,使药物在肺内的质量浓度迅速下降,进而造成Cur-SLN-FL组血浆药物浓度升高。而PEG修饰通过空间位阻效应降低了颗粒表面蛋白吸附,减少巨噬细胞对SLN的识别和摄取;同时,PEG的亲水性改善了颗粒在黏液中的分散性,使药物能在肺组织内长时间稳定释放^[21]。而血浆药物浓度则因载药粒子在肺组织的滞留增强而随之降低。本研究外周组织分布结果进一步证实,PEG-Cur-FL可有效降低药物向非靶器官扩散。

综上所述,本研究成功制备了PEG-Cur-FL;该吸入微粉具有良好的可吸入性能和释放性能;经气管内给药后可提高Cur在肺组织的药物有效浓度,同时降低其血浆药物浓度和非靶器官的药物分布浓度。

参考文献

- [1] 陈典,隆寰宇,李姝润,等. 2024年GOLD慢性阻塞性肺疾病诊断、治疗、管理及预防全球策略更新要点解读[J]. 中国全科医学,2024,27(13):1533-1567.
- [2] GUO X L, YANG S Q, ZHU H J, et al. Involvement of M2 macrophages polarization in PM_{2.5}-induced COPD by upregulating MMP12 via IL4/STAT6 pathway[J]. Ecotoxicol Environ Saf,2024,283:116793.
- [3] 李楠,李旭,王梓,等. 花形乳糖装载姜黄素固体脂质纳米粒吸入微粉对COPD模型小鼠肺部炎症的影响及机制[J]. 中国药房,2023,34(14):1691-1696.
- [4] 张瑞,陈亚飞,李小丽,等. 姜黄素对慢性阻塞性肺疾病大鼠的改善作用及机制[J]. 中国新药与临床杂志,2022,41(8):495-501.
- [5] 汪新婵,董伟,徐希强,等. 姜黄素对慢性炎症性疾病抗炎作用研究进展[J]. 中国新药杂志,2023,32(10):1028-1036.
- [6] ABUDUREXITI M, XUE J, LI X Z, et al. Curcumin/TGF- β_1 siRNA loaded solid lipid nanoparticles alleviate cerebral injury after intracerebral hemorrhage by transnasal brain targeting[J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2024, 237:113857.
- [7] 李楠,李旭,程鹏,等. 纳米多孔花形乳糖装载姜黄素固体脂质纳米粒吸入微粉的制备及其体外抑凋亡作用研究[J]. 中国药房,2023,34(2):150-155.
- [8] CHERAGA N, SUN N C, HUANG X X, et al. Optimized rapamycin-loaded PEGylated PLGA nanoparticles: preparation, characterization and pharmacokinetics study[J]. J

Drug Deliv Sci Technol,2021,61:102144.

- [9] 冯世权,于佳岐,董德娟,等. 超滤离心-HPLC法测定鲁索替尼固体脂质纳米粒的封装率[J]. 药学前沿,2024,28(4):585-592.
- [10] LI N, LI X, CHENG P, et al. Preparation of curcumin solid lipid nanoparticles loaded with flower-shaped lactose for lung inhalation and preliminary evaluation of cytotoxicity *in vitro*[J]. Evid Based Complement Alternat Med,2021,2021:4828169.
- [11] 李楠,李旭,程鹏,等. 纳米多孔花形乳糖装载姜黄素干粉吸入剂的制备及体外释药性能研究[J]. 中国药房,2021,32(7):794-801.
- [12] BUDNIMATH S H, BHUVANESHWARI G, GANIGER V M, et al. Physical, reconstitution and phenolic properties of instant drink mix prepared with *Moringa oleifera* leaf, raw banana and whey protein concentrate[J]. Meas Food,2023,11:100108.
- [13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:四部[M]. 2020年版. 北京:中国医药科技出版社,2020:202-206,192-199,466-472.
- [14] YUE X, LIANG J H, ZHOU Y, et al. Elucidating mixing process effects on pulmonary delivery efficiency of dry powder inhalers: a dual-dimensional macroscopic and microscopic perspective[J]. Int J Pharm,2025,677:125652.
- [15] COSTA M P, ABDU J O C, et al. Exploring the potential of PLGA nanoparticles for enhancing pulmonary drug delivery[J]. Mol Pharmaceutics,2025,22(7):3542-3562.
- [16] ZHANG X, RAJARAMAN P K, LI F, et al. Assessment of ventilation heterogeneity and particle deposition in asthmatics using combined SPECT/CT imaging and computational modeling approaches[J]. Eur J Pharm Sci, 2025, 209:107093.
- [17] SHUKLA S K, SARODE A, KANABAR D D, et al. Bio-inspired particle engineering for non-invasive inhaled drug delivery to the lungs[J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl,2021,128:112324.
- [18] CONG Y J, CHEN W Y, WEI J X, et al. The pulmonary pharmacokinetics and anti-inflammatory effects after intratracheal and intravenous administration of Chuankezhi injection[J]. Biomed Pharmacother,2022,156:113892.
- [19] DHEGE C T, KUMAR P, CHOONARA Y E. Pulmonary drug delivery devices and nanosystems as potential treatment strategies for acute respiratory distress syndrome (ARDS)[J]. Int J Pharm,2024,657:124182.
- [20] ZHANG C Q, D'ANGELO D, BUTTINI F, et al. Long-acting inhaled medicines: present and future[J]. Adv Drug Deliv Rev,2024,204:115146.
- [21] PAUL P K, NAKPHENG T, PALIWAL H, et al. Inhalable solid lipid nanoparticles of levofloxacin for potential tuberculosis treatment[J]. Int J Pharm,2024,660:124309.

(收稿日期:2025-07-01 修回日期:2025-09-07)

(编辑:舒安琴)