叶酸-羧甲基壳聚糖-超小超顺磁氧化铁纳米粒在大、小鼠体内的 药代动力学、组织分布及磁共振响应特征

高文慧^{1,2},刘世霆¹,范彩霞³,漆林艳¹,陈志良^{1*}

(1. 南方医科大学南方医院药学部, 广东 广州 510515; 2. 广州医学院附属肿瘤医院药剂科, 广东 广州 510095;3. 粤北人民医院药学部, 广东 韶关 512026)

摘要: 叶酸-羧甲基壳聚糖-超小超顺磁氧化铁纳米粒 (folic acid-O-carboxymethyl chitosans ultrasmall superparamagnetic iron oxide nanoparticles, FA-OCMCS-USPIO-NPs) 是一种新型分子靶向的核磁共振造影剂。本文考 察了其在正常大鼠和小鼠体内的药代动力学及磁共振响应特征, 探讨该造影剂在动物体内的分布规律, 为其肿 瘤靶向造影提供依据。尾静脉给予高、低浓度的纳米粒后, 采用邻二氮菲法测定大鼠血浆及小鼠组织内的铁含 量并绘制药时曲线, 求得两组药代动力学参数 *t*_{1/2}均大于 7 h。组织分布结果显示只有少部分的纳米粒被肝、脾 吞噬, 而心、肺、肾内几乎没有分布, 并且纳米粒的吞噬不随剂量的增加而增加。核磁共振结果显示, 给药后 4 h 纳米粒开始由肾脏排泄, 24 h 时肝、肾的信噪比 (SNR) 恢复到正常水平, 肺部没有纳米粒的分布。可见, 部分纳 米粒逃避了肝、脾的吞噬, 具有低毒性和较长的半衰期, 为肿瘤靶向造影奠定了基础。

关键词:磁性纳米粒;药代动力学;体内分布;核磁共振成像

中图分类号: R969.1; R981.9 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870 (2011) 07-0845-07

Pharmacokinetics, tissue distribution and magnetic resonance's response characterstics of folic acid-O-carboxymethyl chitosan ultrasmall superparamagnetic iron oxide nanoparticles in mice and rats

GAO Wen-hui^{1, 2}, LIU Shi-ting¹, FAN Cai-xia³, QI Lin-yan¹, CHEN Zhi-liang^{1*}

(1. Department of Pharmacy, Nanfang Hospital, Nanfang Medical University, Guangzhou 510515, China;
2. Department of Pharmacy, the Affiliated Cancer Hospital Guangzhou Medical College, Guangzhou 510095, China;
3. Department of Pharmacy, Yue Bei People's Hospital, Shaoguan 512026, China)

Abstract: Folic acid-*O*-carboxymethyl chitosan ultrasmall superparamagnetic iron oxide nanoparticles (FA-OCMCS-USPIO-NPs) are a novel molecular targeting MR contrast agent. This paper reperts the pharmacokinetics and magnetic resonance response characteristics of FA-OCMCS-USPIO-NPs in normal rats and mice, and discussed its distributing regularity in animals, providing basis for tumor targeting imaging. *O*-phenanthroline method was used to determine iron content in rats' plasma and mice's organs following high and low doses of nanoparticles injected through tail vein, and the blood concentration-time curve was drawn, the calculated $t_{1/2}$ of two groups were greater than 7 h. The results of tissue distribution showed that only a small part of nanoparticles were swallowed by the liver and spleen, while none in the heart, lung and kidney. At the same times, the phagocytosis of nanoparticles did not change with the dose. The results of MRI showed that renal excretion occurred 4 hours after injection, and signal to noise ratio (SNR) of liver and kidney returned to normal levels 24 hours after injection. There were no nanoparticles in the lungs. So a part of nanoparticles

收稿日期: 2011-01-05.

^{*}通讯作者 Tel: 86-20-62787236, Fax: 86-20-87701797, E-mail: mydream0509@yahoo.com.cn

escaped from phagocytosis of liver and spleen, and it owned lower toxicity and longer half-life. All of these indicated its use for tumor-targeting imaging.

Key words: magnetite nanoparticle; pharmacokinetics; in vivo distribution; magnetic resonance imaging

超小超顺磁氧化铁纳米粒 (ultrasmall superparamagnetic iron oxide nanoparticles, USPIO-NPs) 是一种新型磁共振造影剂,可用于淋巴结转移、脑 肿瘤、脑损伤、动脉粥样硬化和骨关节炎等造影, 其代表制剂 Ferumoxtran-10 (Combidex[®], Advanced Magnetics, Boston, MA, USA) 正处于临床试验阶段, 在淋巴结转移造影方面具有突出的表现[1]。传统的超 顺磁氧化铁纳米粒粒径大于 100 nm, 利用其被巨噬 细胞吞噬的性质进行肝、脾部位的造影, 如已经在临 床上应用多年的菲立磁 (Feridex[®]) 就是葡聚糖包被 的该种磁共振造影剂^[2]。相比之下, USPIO-NPs 粒径 小于 50 nm, 部分可以逃避肝、脾的吞噬, 分布于全 身其他脏器,并且在体内具有较长的半衰期(大于6h, 而菲立磁约2h左右)^[2],可以进行除肝、脾外其他部 位的造影。如果其包被材料上具有可反应的基团,在 包被材料上嫁接以肿瘤表面受体的配体,就可以达 到分子肿瘤靶向造影的目的^[2]。此外, 超顺磁氧化铁 纳米粒还可作为药物载体,为磁靶向给药开辟新的 领域[3]。

本课题组已经合成的叶酸-羧甲基壳聚糖-超小 超顺磁氧化铁纳米粒 (folic acid-O-carboxymethyl chitosans ultrasmall superparamagnetic iron oxide nanoparticles, FA-OCMCS-USPIO-NPs) 是一种分子 肿瘤靶向的 USPIO-NPs, 对表面含叶酸受体的肿瘤 细胞具有靶向作用, 已经证实它在荷鼻咽癌肿瘤裸 鼠的造影方面效果显著, 体外对鼻咽癌 KB 细胞和宫 颈癌 HeLa 细胞靶向性明显, 是一种潜在的分子肿瘤 靶向造影剂^[4]。在研究了 FA-OCMCS-USPIO-NPs 在 动物体内的药代动力学特征、以自制的葡聚糖-超顺 磁氧化铁纳米粒 (dextran-superparamagnetic iron oxide nanoparticles, dextran-SPIO-NPs) 为阳性对照 (粒径 大于 100 nm, 不能逃避肝、脾的吞噬)基础上,本文 考察了其组织分布及磁共振响应特征。

材料与方法

仪器 平板加热器 (上海昌安电子科技有限公司), UV500 紫外/可见分光光度计 (Thermo Spectronic 公 司), 1.5T 超导 MR 扫描仪 (GE 公司), Malvern-3000HS 激光散射粒度分析和电位测定仪 (Malvern 公司)。 **药品与试剂** 叶酸-羧甲基壳聚糖-超小超顺磁 氧化铁纳米粒由南方医院药学部科研组自制^[4, 5],为 黑色溶液,平均粒径 41.4 nm。阳性对照药葡聚糖-超 顺磁氧化铁纳米粒由南方医院药学部科研组自制^[6], 为黑色溶液,平均粒径 125 nm。铁标准品 FeSO4·NH₃CH₂CH₂NH₃SO4·4H₂O (批号: 414913,纯 度:98%) 购自 Sigma 公司;盐酸羟胺、邻二氮菲、三 水合醋酸钠、盐酸、硝酸和高氯酸均为分析纯,购自 广州化学试剂有限公司。

实验动物 SPF 级雄性 KM 小鼠, 体重 (20±2)g; SPF 级雄性 SD 大鼠, 体重 (300±10)g, 购自南方医 科大学实验动物中心, 合格证号: scxk 粤 2006-0015。

样品处理 FA-OCMCS-USPIO-NPs 的活性成分 是铁,本文采用酸消化样品,邻二氮菲法测定血浆及 组织内的铁含量^[7]。取血浆 0.2 mL 或各组织 50 mg, 加入混酸 (硝酸-高氯酸体积比 3 : 1) 1 mL,消化 24 h 后用平板加热器蒸干,待冷却后加入 3% 的盐酸溶液 1 mL,转入 10 mL 量瓶,分别依次加入 10% 的盐酸 羟胺溶液 1 mL、0.15% 邻二氮菲溶液 2 mL、1 mol·L⁻¹ NaAc 溶液 5 mL,用水标定,摇匀待测。

方法学考察 配制 100 μ g·mL⁻¹ 的铁标准溶液, 取系列标准溶液加入蒸馏水 0.2 mL、血浆 0.2 mL 或 各组织 50 mg 中,同上混酸处理、加热蒸干、冷却溶 解后显色标定,样品于 510 nm 处测定,绘制标准曲 线并考察精密度和回收率。取任意含铁标准品的空白 血浆或组织样本,以未加入铁标准溶液的相应空白 基质为参比液,在波长为 450~550 nm 内扫描并确定 溶液的最大吸收波长 λ_{max} 。测定铁标准溶液显色后 0.25、0.5、1、1.5、2 和 3 h 时的样品吸收度,考察显 色的稳定性。配制 0.01、0.02、0.05、0.1 和 0.2 μ g·mL⁻¹ 的标准溶液,分别在 510 nm 处测定,考察最低检测 下限。

药代动力学实验 取 SD 大鼠 15 只,随机平均分 成空白组、低浓度组和高浓度组,禁食 12 h 后 (自由 饮水),各组分别尾静脉注射 1 mL 的生理盐水及 5.90 mg·kg⁻¹和 13.27 mg·kg⁻¹的 FA-OCMCS-USPIO-NPs, 并于 0.25、0.5、1、2、4、6、8 和 12 h 眼底静脉丛 采血 0.5 mL 至肝素钠化的 EP 管中, 5 000 r·min⁻¹离心 10 min,取血浆 0.2 mL 测定铁含量。

另取 KM 小鼠 51 只,随机分成空白对照组 (3

只)、dextran-SPIO-NPs 组 (高、低浓度组各 12 只)和 FA-OCMCS-USPIO-NPs 组 (高、低浓度组各 12 只)。 禁食 12 h后 (自由饮水),空白对照组尾静脉 1 次给 予生理盐水 0.2 mL,给药组分别从尾静脉 1 次给予同 体积的 9.53 mg·kg⁻¹ 或 19.06 mg·kg⁻¹ 的 dextran-SPIO-NPs 或 FA-OCMCS-USPIO-NPs,并于给药后的 2、4、8 和 16 h 处死动物 (每个时间点 3 只),取心、 肝、脾、肺和肾并用生理盐水洗净,滤纸吸干水分后 准确称取各组织 50 mg,测定各时间点的组织铁含量。

另取 SD 大鼠 6 只, 随机平均分成 dextran-SPIO-NPs 阳性对照组和 FA-OCMCS-USPIO-NPs 实验组。 禁食12h后 (自由饮水),10%的水合氯醛腹腔注射麻 醉, 麻醉剂量为3 mL·kg⁻¹。实验前先平扫所有动物, 之后所有动物尾静脉 1 次给予 28 µg·kg⁻¹的 dextran-SPIO-NPs 或 FA- OCMCS-USPIO-NPs, 分别在 1、2、 4、6、8 和 24 h 进行扫描。由于磁性纳米粒可以使 T₂信号值负性增强 (即比给药前信号降低), 故采用 头部线圈行 T₂ 冠状面扫描, 扫描序列参数如下: 采 用自旋回波-T₂加权像 (SE-T2WI) 扫描序列, 重复 时间 (TR) 和回波时间 (TE) 分别是4000 和106 ms, 视野 (field of view, FOV): 12 cm×12 cm, 层厚 2 mm。 使用 Image Viewer 软件测定肝、肺和肾的 T₂信号值 (SI), 测定方法为:选取脏器同一部位大小一致的感 兴趣区 (region of interest, ROI), 每个 ROI 的面积 不小于 5 mm², 尽量选取信号均匀处, 测量 5 次信号 强度, 取其平均值即为脏器的 SI。在背景区域选取 较大的 ROI, 同法测定背景噪声的标准差 (standard deviation of the noise, SD),从而求出各组织各时间点 的信噪比 SNR, 计算公式为: SNR=SI/SD。SNR 是 影像学上常用的比较处理前后脏器或组织信号变化 的参数, 故可用于比较各脏器给药前和给药后各时 间点的信号变化情况^[7-9]。

给药剂量的选择 血药浓度-时间曲线的绘制及 各组织铁含量测定所采用的剂量由以下公式求得^[10]:

 $d_{\rm B} = d_{\rm A} \times R_{\rm B} / R_{\rm A} \times (W_{\rm A} / W_{\rm B})^{1/3}$

式中, d_A 和 d_B 为给药剂量 (mg·kg⁻¹); R_B 和 R_A 是 动物体型系数, 大鼠的 R 为 90, 小鼠的为 59; W_A 和 W_B 是动物的体重值 (kg)。

目前已上市的菲立磁的给药剂量是 1.12 mg Fe·kg⁻¹ (以铁为活性成分测定),相当于大鼠的给药 剂量为 5.90 mg·kg⁻¹,小鼠给药剂量为 9.53 mg·kg⁻¹, 将这两个剂量设为低浓度组,观察药物在正常给药 时的体内行为。大鼠高浓度组药物浓度选择国际上常 用的剂量为 13.27 mg·kg⁻¹,相当于人的给药剂量为 2.52 mg Fe·kg^{-1 [7, 11-13]}; 小鼠高浓度剂量组选择低浓 度剂量的两倍,为 19.06 mg·kg⁻¹。设置高浓度组考察 大量摄取后纳米粒在体内的行为。

磁共振检测在体药物分布时采用的药物浓度为 给予 SPIO-NPs 后,可检出各组织 SNR 变化的常用浓 度^[14]。

数据处理 绘制血药浓度 (*C*)-时间 (*t*) 曲线, 用 DAS2.1.1 软件计算药代动力学参数。文中统计学 数据应用 SPSS18.0 进行分析。

结果

1 方法学考察

MR 扫描结果如图 1 所示,在 450~550 nm 内样 品溶液的最大吸收波长: $\lambda_{max} = 510$ nm。标准品酸处 理液及含标准品的血浆和各组织的标准曲线、浓度 范围及相关系数如表 1 所示,高、中、低浓度 (3.2、 1.4 和 0.1 μg·mL⁻¹)的日内和日间精密度均<5% (*n*= 5),3 个浓度的回收率均在 80%~120%内 (*n*=5),方 法重现性好。显色稳定性实验中,6个时间点的 RSD 均<5% (*n*=5),说明溶液在 3 h内显色稳定;结果表 明铁浓度低于 0.05 μg·mL⁻¹时,将检测不出溶液中的 铁,故最低检测限为 0.05 μg·mL⁻¹。

2 血药浓度随时间的变化

两组大鼠分别尾静脉给予高、低浓度的 FA-



Figure 1 Spectrum of standard substance in biological sample

Table 1 Standard curves, linear ranges and correlation coefficient (r) of iron standard in samples (n = 5)

Sample	Standard curve	Linear range $/\mu g \cdot m L^{-1}$	r
Standard solution	$C = 4.965 \ 3 \ A - 0.024 \ 1$	0.1-3.2	0.999 9
Plasma	$C = 4.961\ 7\ A + 0.002\ 0$	0.1-3.2	0.999 9
Heart	$C = 4.831 \ 2 \ A + 0.071 \ 8$	0.1-3.2	0.996 3
Liver	$C = 6.393 \ 2 \ A - 0.094 \ 0$	0.1-3.2	0.990 7
Spleen	$C = 5.962 \ 0 \ A + 0.025 \ 2$	0.1-3.2	0.992 1
Lung	$C = 4.942 \ 0 \ A + 0.004 \ 4$	0.1-3.2	0.998 5
Kidney	$C = 5.422 \ 2 \ A + 0.005 \ 9$	0.1-3.2	0.997 7

OCMCS-USPIO-NPs 后的平均血药浓度随时间变化 及空白组平均血浆铁浓度随时间的波动如图 2 所示. 经 DAS2.1.1 软件处理,分别求出统计矩参数,结果 如表 2 所示。基础血浆铁浓度 (空白组血浆铁浓度) 随时间变化而波动,1h时基础铁浓度出现突释峰, 之后缓慢下降, 4 h 后在 5 mg·L⁻¹左右波动, 24 h 时 恢复初始水平。5只空白鼠基础血浆铁浓度各时间点 之间具有显著性差异 (P<0.05), 说明空白基底随时 间变化存在波动。高、低浓度组血药浓度-时间曲线 是除去空白基底波动后的数据图。由图可知, 无论是 高浓度还是低浓度组, FA-OCMCS-USPIO-NPs 的 t1/2 均大于7h,而临床上使用的菲立磁半衰期在2h左 右^[2],说明大粒径的菲立磁进入体内后迅速被肝、脾吞 噬代谢,体内半衰期较短,而小粒径的 FA-OCMCS-USPIO-NPs 部分逃避了肝、脾的吞噬, 在血液中维 持了较长的时间, 为肿瘤靶向造影提供了依据。此 外, 药时曲线下面积 (AUC) 并不随剂量的增加而呈 正比增加, 当剂量由 5.90 增加到 13.27 mg·kg⁻¹ 时, AUC 只是从 152 增加到了 224 mg·h·L⁻¹, 并且清除 率随浓度的升高有上升的趋势 (从 0.34 上升至 0.51 L·h⁻¹·kg⁻¹), 这可能是由于药物浓度升高后, 磁性粒 子间的相互作用增强,导致粒径有所增加,或者进入 体内的部分纳米粒在富含蛋白质的血液中发生了聚 集^[2],这两种可能都会增加粒子被肝、脾吞噬的机会, 导致 AUC 比预期值偏低,清除率随粒子聚集而升 高。从表观容积数据可以看出,纳米粒大部分分布于 血浆中,这可能是由于包被了水溶性材料羧甲基壳 聚糖后, 增加了 SPIO-NPs 的水溶性, 导致表观分布 容积偏小[15-17]。



Figure 2 Mean concentration-time curve of iron in rats plasma following high (13.27 mg·kg⁻¹) and low (5.90 mg·kg⁻¹) doses of FA-OCMCS-USPIO-NPs and physiological saline injected through tail vein (n = 5, $\bar{x} \pm s$)

Table 2 Main pharmacokinetic parameters of iron in rats plasma following high (13.27 mg·kg⁻¹) and low (5.90 mg·kg⁻¹) doses of FA-OCMCS-USPIO-NPs injected through tail vein $(n = 5, \bar{x} \pm s)$

Parameter	High concentration	Low concentration
AUC /mg·h·L ⁻¹	224 ± 18	152 ± 21
MRT /h	7.52 ± 0.06	7.29 ± 0.15
$t_{1/2z}$ /h	7.3 ± 1.7	7.2 ± 1.3
$V_z / L \cdot kg^{-1}$	0.054 ± 0.013	0.032 ± 0.004
$CL_z / L \!\cdot\! h^{-1} \!\cdot\! kg^{-1}$	0.51 ± 0.19	0.34 ± 0.11

3 组织分布

Dextran-SPIO-NPs 组和 FA-OCMCS-USPIO-NPs 组的组织分布如图 3 所示。结果以给药组脏器内的 药物含量均值/空白组脏器内铁含量均值的百分数表 示:数值在0%左右时,脏器内没有磁性纳米粒滞留, 给药组与空白组铁含量相近;数值大于 0%时,纳米 粒在该脏器内蓄积,大于 100%时有大量蓄积。图 4 是 dextran-SPIO-NPs 和 FA-OCMCS-USPIO-NPs 的粒 径分布图。由粒径分布图可知, 粒径小于 50 nm 的 FA-OCMCS-USPIO-NPs 理论上具有部分逃避肝、脾 吞噬的特性, 而粒径大于 100 nm 的 dextran-SPIO-NPs 很可能被肝、脾吞噬。组织分布结果表明, 两造影剂 主要分布于肝、脾部位, dextran-SPIO-NPs 低浓度组 在 2~8 h 肝、脾吞噬了大量的纳米粒 (肝脏大于 150%, 脾脏大于 100%), 16 h 肝脏内仍有少量纳米粒 (约 37%), 但脾脏铁含量降至正常水平 (约 5%); 其高 浓度组在 2~16 h 肝、脾内始终存在大量的纳米粒 (两脏器均大于160%),吞噬量随给药剂量增加而显著 增加 (P<0.05)。给药后肝、脾部位吞噬的 FA-OCMCS-USPIO-NPs 远少于 dextran-SPIO-NPs (P<0.05)。低 浓度组中, 肝脏在 2~8 h 仅有少量吞噬 (< 60%), 16 h 降至正常水平; 脾脏在 4 h 有少量吞噬 (50%), 8 h 降至正常水平; 高浓度组中, 各时间点肝、脾吞 噬量在 37%~130%和 8%~60%, 显著低于相同剂 量的 dextran-SPIO-NPs 组 (P<0.05), 说明部分的 FA-OCMCS-USPIO-NP 逃避了肝、脾的吞噬。两组间其 他组织给药后铁含量变化不明显 (P>0.05)。

4 磁共振响应特征

各时间点 dextran-SPIO-NPs 组和 FA-OCMCS-USPIO-NPs 组大鼠的肝、肺和肾磁共振信噪比 SNR 如图 5。由于给药前不同的个体 T₂信号值的 SNR 相差 较大,尤其像肾脏、脂肪信号值较高的部位,故该实 验均比较了同一组个体内给药前和给药后各时间点 SNR 均值的变化。结果显示,两药物在不含巨噬细胞



Figure 3 Retention of iron in mice's organs *versus* time after one intravenous injection of low (9.53 mg·kg⁻¹) and high (19.06 mg·kg⁻¹) concentrations of dextran-SPIO-NPs (A, B) and FA-OCMCS-USPIO-NPs (C, D) separately. A, C: Low concentrations; B, D: High concentrations. The results were expressed in percentage of the mean iron content found in organs of non-injected rats (n = 3, $\bar{x} \pm s$)



Figure 4 The particle size distributions of FA-OCMCS-SPIO-NPs (A) and dextran-SPIO-NPs (B)

的肾脏内代谢情况相似,从4h开始排泄,8h时信 号降至最低,24hSNR又恢复至给药前水平。除8h 时两给药组肾脏内各自的SNR比给药前具有显著性 差异外(P<0.05),其他各时间点均无差异(P>0.05)。 由于肝脏含有大量巨噬细胞,吞噬了大量的dextran-SPIO-NPs,其SNR随时间的推移而降低,各时间点 SNR与给药前相比,具有显著性差异(P<0.05)。而 肝脏只吞噬了少部分小粒径的FA-OCMCS-USPIO-NPs,各时间点SNR与给药前相比除8h有显著性差 异外(P<0.05),其他时间点变化不明显(P>0.05)。 肺部含有少量巨噬细胞,考察结果表明,与给药前相比,两组纳米粒在肺部几乎没有吞噬。图6是给药前和给药后8h和24h两给药组的磁共振扫描图,从图中可以看出,给予 dextran-SPIO-NPs 后,肝脏信号下降,而 FA-OCMCS-USPIO-NPs 组变化不明显。

讨论

FA-OCMCS-USPIO-NPs 是一种在超顺磁氧化铁 表面包被羧甲基壳聚糖,并在包被材料上嫁接叶酸 核壳结构的新型超小超顺磁氧化铁纳米粒,由于许 多肿瘤表面都有叶酸受体,所以该造影剂可以在体 内靶向这些肿瘤组织的细胞,从而达到分子靶向造 影的目的^[4]。由于早期肿瘤体积小,难发现,使用该 造影剂有可能从正常组织中发现小肿瘤,从而使患 者及早发现,及早治疗,避免肿瘤恶化和扩散。由于 动物体内本身含有铁,自体对铁的调节以及个体差 异、饮水对铁的补充都会影响药代动力学特征。从实 验结果可知,大鼠基础血浆浓度1h有突释峰,这可 能是由于失血过多引起的体内铁调节,机体调动了 储备的铁,造成了暂时的铁浓度激增。为了消除自体 铁浓度的波动,本文采用空白鼠 (注射了生理盐水的



Figure 5 Mean SNR of liver, lung and kidney versus time in rats before and after one intravenous injection of 28 μ g·kg⁻¹ of dextran-SPIO-NPs (A) and FA-OCMCS-USPIO-NPs (B) separately (n = 3, $\overline{x} \pm s$)



Figure 6 MRI scan figure of rats before and after one intravenous injection of 28 μ g·kg⁻¹ of two contrasts separately. A, B and C are figures of dextran-SPIO-NPs group before and after injection at 8 and 24 h; D, E and F are FA-OCMCS-USPIO-NPs group's at the same times; 1, 2 and 3 in figure A are lung, liver and kidney, respectively

大鼠) 在每个时间点与实验鼠同步采血,用同一时间 点的实验鼠血铁浓度减去空白鼠血铁浓度的方法, 将因本底波动带来的血浆铁浓度波动排除。消除本底 的干扰后,药时曲线仍具有一定的趋势,这时可认为 该部分的铁浓度变化是由FA-OCMCS-USPIO-NPs引 起。从图2可以看出,低浓度药时曲线变化与铁本底 的波动接近,由于此时的给药剂量 (5.90 mg Fe·kg⁻¹) 已经是人用剂量 (1.12 mg Fe·kg⁻¹) 的 5.27 倍,故该 药物在人用剂量下在血浆铁波动的范围内是非常安 全的。药物进入体内后,迅速降至一个稳定的药物浓度并缓慢消除,12h时血药浓度仍然维持在较高的浓度范围内 (6.34~8.72 mg·L⁻¹),达到了长循环的目的。 在此血药浓度下,大鼠并未出现任何毒性反应,说明 包被材料使 USPIO-NPs 毒性明显降低,即使血中有 较高浓度的铁制剂,也不会产生毒性反应。

超顺磁氧化铁在体内易被巨噬细胞吞噬,故其容易在肝、脾等巨噬细胞丰富的脏器蓄积。当粒径小于 50 nm 时,纳米粒可以部分逃避肝、脾的吞噬,这为肿瘤靶向造影奠定了基础。从组织分布数据可以看出,与阳性对照 dextran-SPIO-NPs 相比 (粒径大于100 nm,容易被肝脾吞噬),绝大部分的 FA-OCMCS-USPIO-NPs 逃避了肝、脾的吞噬,且在心、肺、肾里没有蓄积。磁共振造影选择肝、肺、肾进一步考察其体内药代动力学行为。给药后肝脏 SNR 在 dextran-SPIO-NPs 组降低明显,而 FA-OCMCS-USPIO-NPs 组不明显,这与组织分布考察结果相同;药物由肾脏 排泄,经24 h完全代谢;肺部信号在给药前后及两给药组间没有显著性差异 (P>0.05)。

以上结果表明, FA-OCMCS-USPIO-NPs 具有长 循环、部分逃避肝、脾吞噬等特点, 这些都为肿瘤靶 向造影提供了可靠的依据。此外, 它又可以作为肿瘤 靶向给药的载体^[18], 在外磁场下定位浓集, 并在受 体介导下更多的进入肿瘤细胞, 提高靶部位药物浓 度。由于超顺磁氧化铁纳米粒原材料易得, 羧甲基壳 聚糖在生物界广泛分布, 叶酸又是人体必需的维生 素, 无论是在经济上还是安全性方面, FA-OCMCS-USPIO-NPs 都具有突出的优势, 具有潜在的研究和 临床应用价值。

References

- Harada T, Tanigawa N, Matsuki M, et al. Evaluation of lymph node metastases of breast cancer using ultrasmall superparamagnetic iron oxide-enhanced magnetic resonance imaging [J]. Eur J Radiol, 2007, 63: 401–407.
- [2] Corot C, Robert P, Idee JM, et al. Recent advances in iron oxide nanocrystal technology for medical imaging [J]. Adv Drug Deliv Dev, 2006, 58: 1471–1504.
- [3] Liu XQ, Zheng CL, Zhu JB. Preparation of polyelectrolyte microcapsules containing ferrosoferric oxide nanoparticles [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2011, 46: 115-120.
- [4] Fan CX, Gao WH, Chen ZL, et al. Tumor selectivity of stealth multi-functionalized superparamagnetic iron oxide nanoparticles [J]. Int J Pharm, 2011, 404: 180–190.
- [5] Fan CX, Gao WH, Chen ZL. The synthesis and characterizations of carboxymethyl-chitosan ultra-small superparamagnetic iron oxide nanoparticle [J]. Chin J Mod Appl Pharm (中国现 代应用药学), 2010, 27: 825-831.
- [6] Molday RS, MacKenzie D. Immunospecific ferromagnetic iron-dextran reagents for the labeling and magnetic separation of cells [J]. J Immunol Methods, 1982, 52: 353–367.
- [7] Ma HL, Xu YF, Qi XR, et al. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles stabilized by alginate: pharmacokinetics, tissue distribution, and applications in detecting liver cancers [J]. Int J Pharm, 2008, 354: 217–266.
- [8] Tanimoto A, Kuribayashi S. Hepatocyte-targeted MR contrast agents: contrast enhanced detection of liver cancer in diffusely damaged liver [J]. Magn Reson Med Sci, 2005, 4: 53-60.
- [9] Akihiro T, Makio M, Sachio K. Evaluation of superparamagnetic iron oxide for MR imaging of liver injury: proton relaxation mechanisms and optimal MR imaging parameters [J]. Magn Reson Med Sci, 2006, 5: 89–98.

- [10] Sun JF. Animal Experiments Methodology (动物实验方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing Press, 2001: 357.
- [11] Plassat V, Martina MS, Barratt G, et al. Sterically stabilized superparamagnetic liposomes for MR imaging and cancer therapy: pharmacokinetics and biodistribution [J]. Int J Pharm, 2007, 344: 118–127.
- [12] Kai C, Jin X, Hengyi X, et al. Triblock copolymer coated iron oxide nanoparticle conjugate for tumor integrin targeting[J]. Biomaterials, 2009, 30: 6912–6919.
- [13] Peter AJ, Torjus S, Anita G, et al. Iron oxide core oil-in-water emulsions as a multifunctional nanoparticle platform for tumor targeting and imaging [J]. Biomaterials, 2009, 30: 6947– 6954.
- [14] Hamm B, Taupitz M, Hussmann P, et al. MR lymphography with iron oxide particles: dose-response studies and pulse sequence optimization in rabbits [J]. AJR Am J Roentgenol 1992, 158: 183–190.
- [15] Wang CX, Li CL, Zhao X, et al. Pharmacodynamics, pharmacokinetics and tissue distribution of liposomal mitoxantrone hydrochloride [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2010, 45: 1565-1569.
- [16] Wu Y, Zhang FC, Wu C, et al. Pharmacokinetics of epirubicin hydrochloride long-circulating thermosensitive liposomes in rat plasma [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2010, 45: 365– 370.
- [17] Feng L, Hu CJ, Yu LY. Pharmacokinetics of ginsenosides Rg1 and its metabolites in rats [J]. Acta Pharm Sin (药学学 报), 2010, 45: 636-640.
- [18] Xu R, Shi SJ, Zhou SC, et al. Pharmacokinetics and distribution of 5-Fu magnetic album in deuto-microsphere in normal and tumor-bearing mice [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2007, 42: 66-70.