

# 后 Tenon 囊下注射曲安奈德后玻璃体腔内药物质量浓度的测定

关红英 李双农

## Detect of vitreous drug concentration following injection of triamcinolone acetonide via posterior sub-Tenon

Guan Hongying, Li Shuangnong. Department of Ophthalmology, First Clinical Medical College, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

**Abstract Objective** Triamcinolone acetonide (TA) is effective for the management of macular edema by intravitreal injection, but the injection procedure increases the risk of intraocular infection. The aim of this study was to establish the injection approach of TA via posterior sub-Tenon's sac and investigate the drug concentration in vitreous after a posterior sub-Tenon's TA injection. **Methods** The right eyes of 32 rabbits received a posterior sub-Tenon's injection of 20 mg TA (0.1 mL) suspension as the experimental eyes, and the fellow eyes received 0.1 mL normal saline solution as the control eyes. The rabbits were divided into eight subgroups according to the time after drug injection. The intraocular pressure (IOP) and slit-lamp examination were recorded before and after drug injection to evaluate the safety of posterior sub-Tenon's TA injection. The rabbits were killed at 1 day, 3, 7 days, 2, 3, 4, 6, 8 weeks following injection of TA respectively and the vitreous specimens were collected immediately. TA concentration in vitreous were detected by high performance liquid chromatography (HPLC) and the pharmacokinetics analysis of drug was performed. 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  prednisolone-methanol solution was as reference solution. **Results** The regression equation of TA /prednisolone peak area (Y) and TA/prednisolone concentration (X) was  $Y = 0.4329X + 0.5397$ , presenting a good linear correlation between them ( $R^2 = 0.9951, P < 0.05$ ). A higher TA level was seen from 7 through 14 days following the TA injection with the maximal concentration  $1.91 \pm 0.13 \mu\text{g}/\text{mL}$  at 14 days and after that showed a declining trend till 56 days. The half life period of TA in vitreous was calculated to be 8.5 days. No any ocular complication was found throughout the studying duration. No significant alteration was found in IOP between before and after injection of TA or TA group and normal saline solution group ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** The injection of TA via posterior sub-Tenon's capsule is a safe procedure. The best therapy period to fundus disease is 1 to 2 week after posterior sub-Tenon's sac injection of TA.

**Key words** triamcinolone acetonide; vitreous; pharmacokinetics analysis; high performance liquid chromatography; Tenon's capsule

**摘要 目的** 探讨后 Tenon 囊下注射曲安奈德 (TA) 后玻璃体腔内的药物质量浓度及代谢情况。 **方法** 32 只健康成年有色家兔, 右眼为实验眼, 给予后 Tenon 囊下注射 TA 20 mg (0.1 mL); 左眼为对照眼, 给予后 Tenon 囊下注射生理盐水 0.1 mL, 依据注射后不同时间点分为第 1、3、7 天, 2、3、4、6、8 周 8 个亚组, 于注药前及注药后各时间点行裂隙灯检查、眼压测量并处死 1 组家兔, 取玻璃体样本, 用高效液相色谱法测定药物质量浓度并行药物代谢动力学分析。 **结果** 所有家兔未见手术及药物所致的并发症。玻璃体腔内药物质量浓度于第 2 周达到最高, 为  $(1.91 \pm 0.13) \mu\text{g}/\text{mL}$ , 以后逐渐下降。 **结论** 后 Tenon 囊下注射 TA, 在玻璃体腔内可达到并维持一定的药物质量浓度。

**关键词** 曲安奈德; 玻璃体; 药代动力学; 高效液相色谱法; Tenon 囊

**分类号** R 776.4 R 988.1 **文献标识码** A **文章编号** 1003-0808(2009)06-0507-04

曲安奈德 (triamcinolone acetonide, TA) 是一种人工合成的含氟长效肾上腺糖皮质激素, 具有抗炎、免疫

抑制、抗休克的作用<sup>[1]</sup>。采用玻璃体腔注射 TA 治疗各种原因引起的黄斑水肿, 临床证实有效<sup>[2-3]</sup>。但眼内操作增加了眼内炎发生的危险, 限制了其临床应用。近年来, 许多学者尝试后 Tenon 囊下注射 TA 治疗黄斑水肿, 部分患者的视力有一定程度的提高<sup>[4-6]</sup>。与

玻璃体腔注射相比,后 Tenon 囊下注射药物通过巩膜渗透到眼内,虽然在玻璃体腔内不能达到较高质量浓度,但具有风险小、可重复注射等优点<sup>[7-8]</sup>,更易被患者接受。目前,关于玻璃体腔注射 TA 后其在眼内代谢的研究及报道较多,但后 Tenon 囊下注射 TA 后其在眼内代谢的研究较少。本研究行后 Tenon 囊下注射 TA,采用高效液相色谱法 (high performance liquid chromatography, HPLC) 测量玻璃体腔内的药物质量浓度,进行初步的药物代谢动力学分析,报道如下。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

**1.1.1 动物来源** 健康成年有色家兔 (山西医科大学实验动物中心提供) 32 只,雌雄不限,体重 2~3 kg,平均 2.5 kg。术前裂隙灯检查双眼均未见异常。

**1.1.2 主要试剂** TA 注射液 (40 mg: 1 mL,昆明积大制药厂);速眠新-II 注射液 (军事医学科学院军事兽医研究所);TA 及泼尼松龙标准品 (中国药品生物制品检定所);甲醇 (中国医学科学院天津协和公司)。

### 1.2 方 法

**1.2.1 实验分组** 右眼为实验眼,给予后 Tenon 囊下注射 TA 20 mg (约 0.1 mL);左眼为对照眼,给予后 Tenon 囊下注射生理盐水 0.1 mL。依据注射后第 1、3、7 天,2、3、4、6、8 周,用随机数字表法分为 8 个亚组,每个亚组 4 只家兔,分别于注药前及注药后各时间点行裂隙灯检查、眼压测量并处死 1 组家兔。

**1.2.2 药品处理** 用 1 mL 注射器取 TA 注射液 1 mL,置于 1.5 mL EP 管中,4 ℃、10 000 r/min 离心 5 min,弃上清液后,加入生理盐水 0.05 mL 混匀,用 1 mL 注射器抽取此混悬液后,再加生理盐水至 0.2 mL,备用。

**1.2.3 给药方法** 所有家兔用速眠新-II 注射液 0.1 mL/kg 肌内注射麻醉,常规消毒铺巾,显微镜下颞上方 11:30 方位角巩膜缘后约 2 mm 处剪开球结膜和 Tenon 囊,切口长约 1 mm,暴露出巩膜,把弯曲成弧形的钝性针头 (5 mL 注射器针头自制) 沿巩膜面进入赤道后部注药,完成后结膜囊内涂红霉素眼膏。

**1.2.4 样品采集** 于注药后上述不同时间点分别以空气栓塞法处死 1 个亚组实验兔,取出眼球,立即投入干冰中约 50 s 后取出。无菌条件下,显微镜下沿中线矢状面快速切开眼球,于角巩膜缘后约 1.5 mm 处切除眼前节,完整地取出冻结的玻璃体样本,置于 -80 ℃ 冰箱内保存,待测。

**1.2.5 TA 质量浓度的检测** (1) 样品处理: 向各亚

组兔玻璃体中加入 0.1 mL 内标液 (1 μg/mL 泼尼松龙一甲醇溶液),用甲醇定容在 2.0 mL,振荡混合 2 min,4 ℃、14 000 r/min 离心 10 min,收集上清液,滤过,温水中氮气吹干,残余物用 0.2 mL 甲醇溶解,取 20 μL 进样。(2) 色谱条件: 色谱柱为 C18 不锈钢柱 (5 μm, 250 mm × 4.6 mm)。流动相为甲醇-水 (体积比为 70:30); 流速为 0.85 mL/min; 紫外线检测波长为 254 nm。(3) 标准曲线绘制: 向 0.5 mL 空白玻璃体中加入不同质量浓度 TA 标准液各 0.05 mL,获得质量浓度依次为 0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 μg/mL 的玻璃体 TA 标准溶液。按前述样品处理步骤处理后行 HPLC 分析,以 TA 峰面积与内标峰面积比值 (Y) 对质量浓度比值 (X) 进行线性回归分析,得回归方程  $Y = 0.4329X + 0.5397$  ( $R^2 = 0.9951, P < 0.05$ ) (图 1),表明线性关系良好。按方程计算样品所含药物质量浓度。本法最低检测线为 0.05 μg/mL。

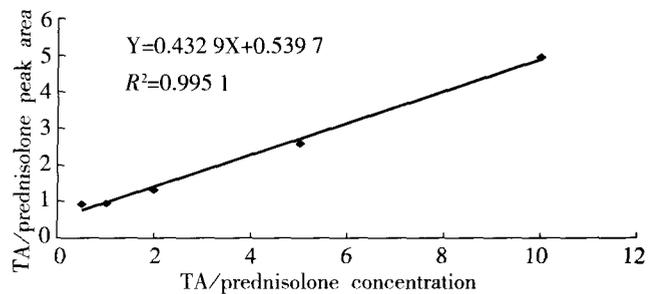


图 1 TA 标准曲线  
Fig. 1 Standard curve of TA

### 1.3 药物安全性的临床评价

**1.3.1 眼部检查** 注药完毕后,定期用裂隙灯及检眼镜检查眼前节及眼底情况,记录角膜、结膜、前房、晶状体、玻璃体及视网膜等的变化情况。

**1.3.2 眼压检查** 分别于注药前及注药后第 1、3、7 天,2、3、4、6、8 周表面麻醉下用 Schiötz 眼压计测量眼压。读数按 Milton Best 兔眼压测量校正表换算<sup>[9]</sup>,记录每只兔眼连测 3 次的平均值作为评价的指标。

### 1.4 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计学软件对实验数据进行统计学分析。所有测量指标以  $\bar{x} \pm s$  表示,TA 注射后不同时间点玻璃体药物质量浓度的比较采用单因素方差分析,各时间点间的两两比较采用 SNK-q 检验。TA 注射前后及 TA 组与生理盐水对照组间的眼压比较采用两因素方差分析。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 玻璃体腔内 TA 的质量浓度

注射后第 1 天,测得玻璃体腔内 TA 的质量浓度为  $(0.35 \pm 0.07) \mu\text{g/mL}$ ,以后呈递增趋势,第 2 周时玻璃体腔内 TA 的质量浓度达到最大值,为  $(1.91 \pm 0.13) \mu\text{g/mL}$ ,以后逐渐下降,第 8 周时未检测到 TA 的质量浓度 ( $<0.01 \mu\text{g/mL}$ )。计算得 TA 的消除半衰期为 8.5 d(图 2,表 1)。

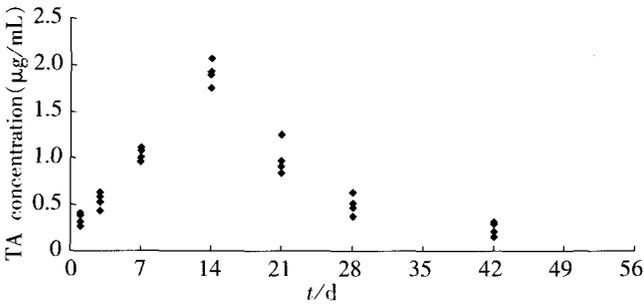


图 2 兔眼不同时间玻璃体中 TA 的质量浓度  
Fig.2 Vitreous TA concentration at different time

2.2 兔眼观察结果

2.2.1 裂隙灯检查

术后第 1 天,双眼均可见轻度球结膜下出血、水肿,3~5 d 后消失。整个观察期双眼均未出现眼内炎、视网膜脱离、感染、眼肌损伤、眼球壁穿通伤等并发症。

2.2.2 眼压观察

注药后,2 组各时间点眼压比较差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),实验组注药前后比较差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ) (表 2)。

表 1 兔眼不同时间玻璃体中 TA 的质量浓度 ( $\bar{x} \pm s, \mu\text{g/mL}$ )  
Table 1 TA concentration in vitreous after injection ( $\bar{x} \pm s, \mu\text{g/mL}$ )

Time(d)	TA concentration
1	0.35 ± 0.07
3	0.54 ± 0.06
7	1.04 ± 0.07 <sup>efi</sup>
14	1.91 ± 0.13 <sup>efi</sup>
21	0.99 ± 0.17 <sup>efi</sup>
28	0.49 ± 0.11
42	0.24 ± 0.07
56	—
F	14.93
P	<0.01

<sup>e</sup>  $P < 0.01$  vs respective 1 day group,  
<sup>f</sup>  $P < 0.01$  vs respective 3 day group,  
<sup>i</sup>  $P < 0.01$  vs respective 28 day group,  
<sup>l</sup>  $P < 0.01$  vs respective 42 day group  
(One-way ANOVA,SNK-q test)

表 2 注药前后家兔的眼压 ( $\bar{x} \pm s, \text{mmHg}$ )

Table 2 IOP in rabbits before and after injection ( $\bar{x} \pm s, \text{mmHg}$ )

Group	Pre-inj IOP	Post-inj IOP							
		1 d	3 d	7 d	14 d	21 d	28 d	42 d	56 d
TA	17.10 ± 2.41	19.87 ± 0.87	15.75 ± 3.70	10.80 ± 3.01	16.65 ± 1.73	17.25 ± 3.38	17.83 ± 1.43	16.74 ± 1.81	16.95 ± 2.49
NS	18.28 ± 1.45	17.75 ± 1.65	15.53 ± 2.68	14.15 ± 1.20	19.72 ± 0.89	20.32 ± 0.43	19.25 ± 1.05	17.34 ± 2.53	18.23 ± 0.39

$F_{\text{time}} = 0.693, P > 0.05; F_{\text{group}} = 1.037, P > 0.05$  (Two-way ANOVA) NS: normal saline solution

3 讨论

3.1 TA 的检测方法

TA 是氟羟氢化泼尼松与丙酮的缩合物,为人工合成的含氟长效糖皮质激素类抗炎药,其质量浓度的测定国内文献报道多采用紫外分光光度法与 HPLC 2 种方法。其中,紫外分光光度法是通过测定被测物质在特定波长处或一定波长范围内的光吸收度,对该物质进行定性和定量分析,但其专属性不强,操作复杂,且与同类型药品不易区别。本研究选择专属性强、灵敏度更高的 HPLC,既能准确测定 TA 的质量浓度,又能将其他相关物质有效地分离检出,使测定结果更趋于准确和完善。本研究参照文献 [10] 的方法,选取 254 nm 为 TA 和泼尼松龙的检测波长。采用甲醇-水作为流动相,经对不同配比的甲醇进行实验,最终选择  $V_{(\text{甲醇})} : V_{(\text{水})} = 70 : 30$ ,该条件下 TA 的色谱峰峰形较好,分析速度快,且样品中杂质与 TA 达到基线分离。

3.2 TA 的药代动力学

TA 玻璃体腔直接注射给药后,药物能够在玻璃体腔内达到较高质量浓度,但在眼内代谢情况的研究报道不一。Beer 等 [11] 研究表明单次玻璃体腔注射 4 mg TA 可维持近 3 个月的可测量的药物持续时间,玻璃体内注射 25 mg TA 治疗糖尿病性黄斑水肿有效时间为 7~8 个月 [12]。Chin 等 [10] 向兔眼玻璃体腔内注射 0.3 mg TA,第 1 天玻璃体腔内药物质量浓度为  $(232.76 \pm 30.27) \mu\text{g/mL}$ ,以后逐渐下降,第 30 天药物质量浓度为  $(0.92 \pm 1.25) \mu\text{g/mL}$ ,测得 TA 半衰期为 2.89 d。Scholes 等 [13] 将 0.4 mg 的 TA 注入兔玻璃体腔,1 h 后测得玻璃体腔内药物质量浓度为  $(235 \pm 85) \mu\text{g/mL}$ ,以后随时间延长呈下降趋势,第 13 天药物质量浓度为  $(66 \pm 19) \mu\text{g/mL}$ ,测得 TA 半衰期为 1.6 d。

Robinson 等 [14] 研究表明球周注射 TA,如果药物释放的速度大于结膜下血管和淋巴管的清除速度,药物也可透过巩膜到达玻璃体腔。因此近年来,临床上为避免玻璃体腔注射 TA 所导致的并发症,人们对于某些视力尚好或病情较轻的病例开始尝试选择球周注射 TA。

后 Tenon 囊下注射是球周注射的一种。关于后 Tenon 囊下注射 TA 后玻璃体腔内药物质量浓度的研究国内外也有少量报道,但关于其眼内

代谢的报道更少。Robinson 等<sup>[14]</sup>报道对兔眼行后 Tenon 囊下注射 TA 10 mg, 3 h 后采用高效液相色谱法未能检测到玻璃体腔中 TA 的质量浓度, 而行后 Tenon 囊下注射 TA 20 mg, 3 h 后玻璃体腔中 TA 的质量浓度为  $(16.56 \pm 16.44) \mu\text{g/mL}$ 。Eric 等<sup>[15]</sup>对 20 例患者行后 Tenon 囊下注射 TA 40 mg, 于 1 ~ 29 d 采用 HPLC 检测玻璃体腔药物质量浓度, 注药后第 16 天玻璃体腔内药物质量浓度最大为  $4.95 \mu\text{g/mL}$ 。陈乔等<sup>[16]</sup>报道对兔眼行球周注射 80 mg TA, 第 1 周玻璃体中药物质量浓度为  $(35.91 \pm 14.97) \mu\text{g/mL}$ , 后逐渐下降, 第 7 周玻璃体腔的药物质量浓度为  $(11.54 \pm 5.37) \mu\text{g/mL}$ , 并推算出玻璃体腔的药物质量浓度可持续近 11 周。

### 3.3 TA 的有效性

本研究对兔眼行后 Tenon 囊下注射 TA 20 mg 后药物透过巩膜缓慢渗透入玻璃体腔。给药后第 1 天玻璃体腔内 TA 质量浓度为  $(0.35 \pm 0.07) \mu\text{g/mL}$ , 第 2 周时药物质量浓度达到最大为  $(1.91 \pm 0.13) \mu\text{g/mL}$ , 以后逐渐下降, 第 8 周时未检测到药物质量浓度 ( $< 0.01 \mu\text{g/mL}$ ), 测得 TA 的消除半衰期为 8.5 d。Matsuda 等<sup>[17]</sup>体外实验证实  $0.01 \mu\text{g/mL}$ 、 $1.00 \mu\text{g/mL}$  的 TA 均能有效抑制人视网膜色素上皮细胞中血管内皮生长因子的表达, 且呈剂量依赖性。本研究结果表明, 后 Tenon 囊下注射 TA 后, 药物能在玻璃体腔达到有效治疗质量浓度, 并维持一定的时间。

### 3.4 TA 的安全性

本实验结果显示, 所有家兔均未出现眼内炎、视网膜脱离、感染、眼肌损伤、眼球壁穿通伤等并发症。注药后 8 周内 2 组各时间点眼压比较差异均无统计学意义, 实验组注药前后各时间点眼压比较差异均无统计学意义, 表明后 Tenon 囊下注射 20 mg TA 是安全的。之前有研究表明 TA 的许多并发症与药物赋性剂有关<sup>[18]</sup>, TA 赋形剂中的主要成分是苯甲醇, 有学者近期实验研究表明苯甲醇对视网膜的组织结构有毒性作用<sup>[19]</sup>, 且影响房角的组织形态, 导致房水循环障碍, 引起眼压升高。故本研究将 TA 悬浮液离心尽可能去除赋形剂后再注射。

### 3.5 小结

本研究结果显示, 后 Tenon 囊下注射 TA 虽然不能在玻璃体腔内达到较高质量浓度, 但却能维持有效的治疗质量浓度和持续时间, 对指导临床工作有一定的参考价值。球周注射 TA 与后 Tenon 囊下注射 TA 后其玻璃体腔内药物质量浓度是否存在差异尚有待进一步研究。

### 参考文献

- 1 金有豫. 药理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 285 - 292
- 2 Martitis A, Duker JS, Greenberg PB, et al. Intravitreal triamcinolone acetonide for refractory diabetic macular edema [J]. *Ophthalmology*, 2002, 109: 920 - 927
- 3 姜燕荣, 王凯, 黎晓新. 曲安奈德玻璃体腔注射治疗视网膜静脉阻塞继发黄斑水肿的疗效观察[J]. *眼科研究*, 2006, 24(6): 84 - 87
- 4 樊华, 李双农. 后 Tenon 囊下注射曲安奈德治疗黄斑水肿临床观察[J]. *中国实用眼科杂志*, 2008, 26(10): 1077 - 1079
- 5 Toda J, Fukushima H, Kato S. Injection of triamcinolone acetonide into the posterior sub-Tenon capsule for treatment of diabetic macular edema [J]. *Retina*, 2007, 27(6): 764 - 769
- 6 Lin JM, Chiu YT, Hung PT, et al. Early treatment of severe cystoid macular edema in central retinal vein occlusion with posterior sub-tenon triamcinolone acetonide [J]. *Retina*, 2007, 27(2): 180 - 189
- 7 Dafflon ML, Tran VT, Guex CY, et al. Posterior sub-Tenon steroid injections for the treatment of posterior ocular inflammation: indications, efficacy and side effects [J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 1999, 237: 289 - 295
- 8 郑波, 楚美芳, 王勇, 等. 曲安奈德球内注射与经 Tenon 囊球后注射治疗视网膜静脉阻塞黄斑水肿的对比性研究[J]. *国际眼科杂志*, 2008, 8(8): 1691 - 1693
- 9 Milton B, Rafael P, Miles A. Tonometric calibration for the rabbit eye [J]. *Arch Ophthalmol*, 1970, 84: 200 - 205
- 10 Chin HS, Park TS, Moon YS, et al. Difference in clearance of intravitreal triamcinolone acetonide between vitrectomized and nonvitrectomized eyes [J]. *Retina*, 2005, 25(5): 556 - 560
- 11 Beer PM, Bakri SJ, Singh RJ, et al. Intraocular concentration and pharmacokinetics of triamcinolone acetonide after a single intravitreal injection [J]. *Ophthalmology*, 2003, 110: 681 - 686
- 12 Jonas JB, Degenring RF, Kamppeter BA, et al. Duration of the effect of intravitreal triamcinolone acetonide as treatment for diffuse diabetic macular edema [J]. *Am J Ophthalmol*, 2004, 13(1): 158 - 160
- 13 Scholes GN, O'Brien WJ, Abrams GW, et al. Clearance of triamcinolone from vitreous [J]. *Arch Ophthalmol*, 1985, 103: 1567 - 1569
- 14 Robinson MR, Lee SS, Kim H, et al. A rabbit model for assessing the ocular barriers to the transscleral delivery of triamcinolone acetonide [J]. *Exp Eye Res*, 2006, 82: 479 - 487
- 15 Eric R, Thomas ER, Wang J, et al. Intravitreal triamcinolone acetonide concentration after sub-Tenon injection [J]. *Am J Ophthalmol*, 2006, 142(5): 860 - 861
- 16 陈乔, 杨红, 陈建斌. 球周注射大剂量曲安奈德后眼内药物质量浓度与安全性实验 [J]. *医药导报*, 2007, 26(7): 713 - 716
- 17 Matsuda S, Gomi F, Oshima Y, et al. Vascular endothelial growth factor reduced and connective tissue growth factor induced by triamcinolone in ARPE19 cells under oxidative stress [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2005, 46(3): 1062 - 1068
- 18 Kai W, Yanrong J, Xiaoxin L. Vehicle of triamcinolone acetonide is associated with retinal toxicity and transient increase of lens density [J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2006, 244: 1152 - 1159
- 19 Morrison VL, Koh HJ, Cheng L. Intravitreal toxicity of the kenalog vehicle (benzyl alcohol) in rabbits [J]. *Retina*, 2006, 26: 339 - 344

(收稿: 2009-01-17 修回: 2009-03-22)

(本文编辑: 尹卫靖)