

文章编号: 1001-098X(2003)05-0204-04

载药纳米微粒靶向输送和控释系统的研究进展

谭忠华

摘要: 目前, 生化药物仍是人类与疾病斗争的主要工具, 发展安全高效的药物靶向输送和控释技术是提高疗效、减少药物用量及其毒副作用的关键。由纳米技术与现代药理学结合形成的载药纳米微粒是一种新型的药物输送体系, 因其在药物的靶向输送、控释或缓释以及提高药物的生物利用度等方面具有其他输送体系难以比拟的优势, 已成为现代药物制剂发展的趋势之一。

关键词: 载药纳米微粒; 靶向输送; 控制释放

中图分类号: R943 **文献标识码:** A

Advances in research of targeting delivery and controlled release of drug-loaded nanoparticles

TAN Zhong-hua

(Department of Nuclear Medicine, Shanghai Ruijin Hospital, Shanghai 200025, China)

Abstract: Biochemistry drug, at present, is still the main tool that human struggle to defeat the diseases. So, developing safe and efficacious technique of drug targeting delivery and controlled release is key to enhance curative effect, decrease drug dosage, and lessen its side effect. Drug-loaded nanoparticles, which is formed by conjugate between nanotechnology and modern pharmaceutics, is a new fashioned pharmonic delivery carrier. Because of advantages in pharmonic targeting transport and controlled or slow release and improving bioavailability, it has been one of developing trend of modern pharmaceutical dosage forms.

Key words: drug-loaded nanoparticles; targeting delivery; controlled release

实现药物选择性地作用于病变部位, 并按需精确控释或缓释以提高疗效, 延长药物作用时间, 在满足疗效的前提下减少投入剂量, 从而减轻毒性反应, 是医药界长期追求的目标。纳米技术作为一种新近发展起来的方法学, 国内外学者正积极将其应用于这一领域。尤其是近年来, 随着人们对纳米微粒 (nanoparticles, NP) 的制备工艺、理化性质、机体内的生物学行为的深入研究和新的纳米材料不断涌现, 纳米载药系统的应用有了很大发展。

1 载药纳米微粒 (drug-loaded nanoparticles, DLN) 的类型及优点

收稿日期: 2002-11-23

作者简介: 谭忠华 (1970-), 男, 上海瑞金医院核医学科 (上海, 200025) 研究生, 主要从事肿瘤核医学及核素治疗学的研究。

审校者: 华中科技大学同济医院核医学科 吴华

1.1 DLN 的分类及其组成成分

DLN 是将药物、生物活性物质等包裹于 NP 内部, 或吸附、连接于 NP 表面, 或混合、溶解于材料基质中形成的微粒, 其大小是纳米数量级的 (多在 50 nm~500nm 之间)^[1,2]。

根据构成成分和形状, DLN 可分类如下^[1-3]:

① 纳米脂质体 (nanoliposome) 和固体脂质纳米粒 (solid lipid nanoparticle, SLN), 前者是以磷脂为主要成分的双分子层结构, 粒径控制在 100nm 左右, 并用亲水性材料如聚乙二醇进行表面修饰的纳米脂质体兼具“长循环 (long-circulation)”、“隐形 (stealthy)”、“立体稳定 (stereo-stable)”的特点, 可减少巨噬细胞对 DLN 的清除、阻碍血液蛋白质成分与其表面的磷脂等的结合, 延长循环时间; 后者是多种类脂材料制成的固体颗粒, 性质稳定具有缓释作用, 主要适用于难溶性药物的包裹; ②

纳米囊和纳米球(nanocapsules, nanospheres), 种类较多, 因组成成分不同而性质各异, 亲水性和疏水性药物均可用其包裹; ③聚合物胶束(polymeric micelles), 有些物质兼有亲水性和疏水性基团, 在水中溶解后能自发形成高分子胶束, 具有亲水性外壳及疏水性内核, 适合于携带不同性质的药物。亲水性外壳还具备“隐形”的特点。

制备 NP 的材料包括: 金属和无机非金属化合物, 如金、铁、二氧化硅等; 生物降解性高分子物质, 如聚乳酸、聚交酯、聚氨基酸、壳聚糖、明胶等; 生物性高分子物质, 如蛋白质、磷脂、胆固醇等。因后二者具有生物降解性和相容性, 通过成分控制和结构设计, 降解的速率可以控制, 降解产物对机体无明显毒副作用, 现已成为研究的主流^[3]。

1.2 DLN 的组织定位机制

DLN 的靶向作用根据其机制不同分为三类^[2]: ①主动靶向, 将抗体或配体等特异性的靶向分子偶联至粒子表面而使药物定向分布到靶组织; ②被动靶向, 对载体的理化性质(大小、形状、亲水性、表面电荷和囊壁孔径等)进行控制和修饰可调控其在体内的分布和药物释放特性, 或选用对机体各种组织和病变亲和力不同的 NP 也可达到靶向的目的; ③磁控靶向, 以超顺磁性 NP 为载体, 在外磁场作用下定向分布于预定的靶组织。进入体内的 NP, 直径>200 nm 者能被巨噬细胞清除、直径<200nm 且表面覆有亲水基团者多能逃避巨噬细胞对其识别, 而<10nm 者易被肾脏排泄或聚集到骨髓^[1-3]。

1.3 纳米载药系统的特性和优点

纳米载药系统应具备以下特性^[4]: ①具有较高的载药量和包封率; ②有适宜的制备及提纯方法; ③载体材料可生物降解, 毒性低或无毒性; ④具有适当的粒径、粒形及表面电荷; ⑤具有较长的体内循环时间。纳米控释系统中的药物释放机理, 可以是透过囊壁渗透、扩散, 也可以是由于基质本身的降解而将药物释放出来。因此, 纳米载药系统有其独特优势: ①达到靶向输送的目的; ②缓释药物以延长药物作用时间, 提高药物的生物利用度; ③在保证疗效的前提下, 减少给药剂量; ④提高药物在体内外的稳定性; ⑤可改变一些药物的给药方式, 方便患者用药等。

2 DLN 的研究进展

2.1 长循环和缓释 DLN

对疾病进行长期治疗时, 传统药物剂型因生物半衰期短而难以达到目的或长期用药而非常不便。使用能逃避巨噬细胞识别的 NP 作为载体可以将药物内包形成控释或缓释系统, 延长药物的循环时间, 减少给药频率。有资料显示, 长循环和缓释 DLN 在糖尿病、高血压等慢性疾病的药物治疗方面具有一定的优越性^[5], 近期有人研制出用于皮下注射的聚乳酸/聚羟基乙酸共聚物(平均分子质量为 6 600, 二者之比为 50:50)载胰岛素粒子, 在实验性高血糖鼠体内进行的研究显示, 基本解决了缓释 DLN 药物的初始爆发性释放问题^[6]; 同样, Verger MLL 等^[7]研究表明, 抗高血压药伊拉地平(isradipine)分散在表面带有少量负电荷的聚己内酯/聚丙烯交酯及聚丙烯交酯/乙交酯材料中形成的 DLN, 能显著降低用药之初的低血压峰并延长药物作用时间。Radwan MA 等人^[8]研制出载有茶碱的聚氰基丙烯酸异丁酯 NP, 在体外表现出良好的控释能力, 给大鼠腹腔注射后可维持较高的血药浓度达 11h, 用药 20h 后血药浓度仅下降 43.5%, 如能用于慢性呼吸系统疾病的治疗, 将极大地方便患者用药。

当前, 临床输血存在血液来源不足、储运不便、可能传播疾病等问题, 寻找理想的血液替代品是医学界的努力方向, 最近这方面已有所突破。有报道称, 双层脂质体膜或聚交酯包被的聚重组血红蛋白具有能减少氧自由基、无血型抗原、储存时间超过 1 年的优点, 在严重创伤和外科手术中试用(最多者达到 10 L), 证实其体内半衰期超过 24h, 现已进入 III 期临床试验^[9]。同样, 白蛋白也可由患者自行服用而无须注射^[10]。

2.2 靶向网状内皮系统和淋巴结的 DLN

网状内皮系统作为机体清除衰老细胞和入侵异物的主要防御机制及某些病原微生物的宿主组织。对一些疾病(如艾滋病等)进行治疗时, 巨噬细胞是一个很好的药物作用靶点^[3], 如两性霉素 B 脂质体(AmBisome)已获批准上市用于治疗严重的霉菌感染。Simha J 等^[11]利用脂质体作为载体将穿心莲内酯(andrographolide)导向巨噬细胞治疗大鼠实验性利什曼病, 相比游离药物, 这种脂质体纳米药物极大地提高了对寄生在脾巨噬细胞中利什曼原虫

的疗效,同时减轻了肝肾毒性。最近有报道称^[12],用脂质体将二氯亚甲基二磷酸导向巨噬细胞治疗实验性鼠特发性血小板减少性紫癜,取得了良好效果。

2.3 基因载体 NP

NP 用作基因载体具有明显的优点^[13]:能保护核苷酸使其免遭核酸酶的降解;易于在其表面偶联特异性的靶向分子,达到基因诊疗的特异性;循环时间明显延长,可让核苷酸缓慢释放,提高转染效率和转染产物的生物利用度;避免常规病毒载体可能导致宿主正常核苷酸序列发生改变的潜在危险等。有研究者利用聚氰基丙烯酸异丁酯高效地包被 Ewing's 肉瘤的 EWS Fli-1 基因的反义寡核苷酸制成 DLN,保护寡核苷酸不被血清中的核酸酶降解,获得了抑制鼠 Ewing's 肉瘤相关肿瘤生长的效果^[14]。Dass CR 等^[15]开发了一种新型的纳米基因载体,他们将阳离子脂质体通过静电作用结合至一种离子交换微球(microplex)来制备靶向实体瘤的基因治疗载体,用氯霉素乙酰转移酶受体基因质粒对鼠实体瘤进行动物实验研究,发现其基因表达分别为单纯质粒和普通脂质体包裹的质粒的 3.4 倍和 1.8 倍,明显提高了转染效率,而肿瘤与正常肾组织的表达之比分别为 2.7:1。资料显示,在包裹浓缩 DNA 的聚乙二醇-聚赖氨酸纳米粒表面连接叶酸,可靶向细胞膜上叶酸受体丰富的肿瘤细胞进行基因治疗^[16]。所以,纳米靶向与控释系统有望成为基因诊疗方案的重要组成部分。

2.4 靶向实体瘤的 DLN

现有的许多抗肿瘤药物,在体外和动物试验抗肿瘤效果良好,但临床应用中因毒副作用十分严重等原因,使常规化疗难以取得满意的疗效。NP 一出现即引起了肿瘤研究者的密切关注,早在上世纪七八十年代就有许多抗肿瘤药物 NP 的报道,不过效果理想的不多。近几年有了重大突破,如阿霉素脂质体和柔红霉素脂质体等已获认可,正式进入临床用于治疗艾滋病相关 Kaposi 肉瘤,标志着对肿瘤的化疗已进入一个崭新的纳米靶向时代。其他正在研究的 DLN 也很多,如通过叶酸受体实现纳米药物的肿瘤靶向治疗和抗体介导载有阿霉素的聚乙二醇-脂质体用于根治鼠的肺转移癌^[17];也有使用磁性 NP 在外加磁场作用下定位于肿瘤的报道^[18]等。以上研究都显示出 DLN 一定的潜在应

用价值。

最近,又出现了几种设计新颖的 DLN。比如,PIGA(聚丙交酯/聚乙交酯共聚物),其表面电荷在溶酶体内可以发生改变(由负到正),使粒子能在 10min 内通过溶酶体膜进入胞质,避免药物遭到酶的降解^[19];内包阿霉素的 DLN,其作用的目标不是肿瘤本身,而是通过破坏新生血管使肿瘤细胞坏死^[20];一种温度敏感而结构类似弹力蛋白的多肽 NP,升高温度将丧失亲水性,研究者称其在体外试验中可以成倍增加肿瘤细胞株 SKOV-3 和 HeLa 等对药物的摄取^[21];用聚乙二醇-聚乳酸纳米囊作为光敏剂内消旋-四羟基氯苯酚的载体,在人腺癌细胞株 HT29 的体外及光动力治疗动物实验中证实能够提高疗效^[22]。这些都为肿瘤的诊治提供了新的思路和手段。

2.5 DLN 智能释放体系

以前的 DLN 多是按开环体系设计的,药物以预先确定的程序释放,通常不受环境变化的影响。近年开始研究闭环体系给药,根据生理和治疗需要来调节药物释放,形成智能释放体系,如葡萄糖响应释放体系、电磁波响应释放体系、热响应释放体系以及水凝胶 pH 响应释放体系等^[23]。目前已研制出许多材料能响应各种刺激信号。这类 DLN 对体内外刺激(如患者血糖浓度、pH 值、离子浓度的变化和体外给予的电磁辐射、超声波及红外线等)可以感知并响应,需用药时药物释出,没有必要时药物停止释放,从而达到药物控释智能化的目的^[21,23-25]。

2.6 DLN 在核医学中的应用

除传统的金胶体、硫胶体外,近年纳米载体在核医学领域出现了一些有相当应用前景的研究成果。Phillips WT 等^[26]用 ^{99m}Tc-HMPAO(^{99m}Tc-六甲基丙二胺胍)标记生物素化脂质体,在兔模型皮下注射进行药物体内分布和局部淋巴结静态显像研究,结果显示局部淋巴结摄取显著增高。Goins B 等^[27]用 ^{99m}Tc-HMPAO 标记聚乙二醇-脂质体,在体内十分稳定,可以代替 ^{99m}Tc-红细胞作为血池显像剂,避免 ^{99m}Tc 从红细胞脱落所引起的显像质量下降;另有资料称^[28],^{99m}Tc-聚乙二醇-脂质体对炎症和感染灶行放射性核素显像的敏感性和特异性已基本达到放射性标记白细胞的水平,而且其制备简便迅速,可避免标记白细胞发生污染的危险。最近还

有人用标记有适当放射性药物的 NP 进行一些疾病如深部肿瘤等的放射性核素显像,但显像剂不设计为直接靶向病灶,而是通过巨噬细胞负载,最终表现为病变周围软组织的放射性异常改变^[29]。

3 结论

3.1 存在的问题

由于 DLN 具有可预见的应用前景,这方面的研究报道很多,但从应用角度来看,大多存在生物半衰期较短、组织特异性不太理想等问题,甚至有的结果相互矛盾,难以合理地解释。其原因可能主要与以下因素有关:首先是组织间的差异,比如,同一机体、不同组织内的巨噬细胞之间在许多方面都有不同,而同一物种不同个体乃至不同物种之间则差异更大;其次是在纳米材料的制备(如粒径控制等)、结构、性能等理化性质的研究存在诸多难点,如许多研究证实^[1,2],即便使用相同的材料如聚乙二醇来修饰载体,聚乙二醇的分子质量不同则载体的理化性质和它在机体内的生物学行为也会有异;控释或缓释 DLN 的初始爆发性释放问题尚未完全解决;而所谓的“隐形” NP,重复使用仍可能引起免疫反应;此外,当前绝大多数实验数据来自培养细胞和动物模型,其结果应用到人体尚有距离;最后,对 DLN 在体内的生物学行为(如降解过程、降解产物及其转归、对机体的影响等)现在仍知之不多,有待进一步研究。这些都是在制备载体和进行实验时必须注意和考虑的问题。

3.2 发展趋势

未来的纳米技术,在医药领域的研究和应用将呈现多元化趋势。当前 DLN 研究的重点主要有:缓释或控释 DLN、靶向 DLN、皮肤与黏膜给药纳米载体、药物智能释放体系等。

纳米技术的发展为生物医学提供了新的载药系统,现已成为医药领域一个新的研究热点,正开始向真正的临床应用方向发展。尽管目前 DLN 存在着种种不足,但它的许多独特优势是传统的药物剂型所无法比拟的,可以相信,随着纳米技术的日渐成熟、性质优良的纳米材料不断出现,不久的将来上述问题会得到圆满的解决。

参考文献:

- [1] Majeti NV, Ravi Kumar. Nano and microparticles as controlled drug delivery devices [J]. *J Pharm Pharmaceut Sci*, 2000, 3: 234-258.
- [2] Moghimi SM, Hunter AC, Murray JC. Long-Circulating and target-specific nanoparticles: theory to practice[J]. *Pharmacol Rev*, 2001, 53: 283-318.
- [3] Kohori F, Yokoyama M, Sakai K, et al. Process design for efficient and controlled drug incorporation into polymeric micelle carrier systems [J]. *J Control Release*, 2002, 78: 155-163.
- [4] Gref R, Minamitake Y, Peracchia MT, et al. Biodegradable long-circulating polymeric nanospheres[J]. *Science*, 1994, 263: 1600-1603.
- [5] Marschutz MK, Caliceti P, Bernkop-Schnurch A. Design and in vivo evaluation of an oral delivery system for insulin. [J]. *Pharm Res*, 2000, 17: 1468-1474.
- [6] Takenaga M, Yamaguchi Y, Kitagawa A, et al. A novel sustained-release formulation of insulin with dramatic reduction in initial rapid release[J]. *J Control Release*, 2002, 79: 81-91.
- [7] Verger MLL, Fluckiger L, Kim YI, et al. Preparation and characterization of nanoparticles containing an antihypertensive agent[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 1998, 46: 137-143.
- [8] Radwan MA, Zaghoul IY, Aly ZH. In vivo performance of parmeral theophylline-loaded polyisobutyrylcyanoacrylate nanoparticles in rats[J]. *Eur J Pharm Sci*, 1999, 8: 95-98.
- [9] Chang TM. Red blood cell substitutes [J]. *Baillieres Best Pract Res Clin Haematol*, 2000, 13: 651-667.
- [10] Russell-Jones GJ. Use of vitamin B12 conjugates to deliver protein drugs by the oral [J]. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*, 1998, 15: 557-562.
- [11] Sinha J, Mukhopadhyay S, Das N, et al. Targeting of liposomal andrographolide to L. donovani-infected macrophages in vivo[J]. *Drug Deliv*, 2000, 7: 209-213.
- [12] Alves-Rosa F, Stanganelli C, Cabrera J, et al. Treatment with liposome-encapsulated clodronate as a new strategic approach in the management of immune thrombocytopenic purpura in a mouse model[J]. *Blood*, 2000, 96: 2834-2840.
- [13] Fattal E, Vauthier C, Aynie I, et al. Biodegradable polyalkylcyanoacrylate nanoparticles for the delivery of oligonucleotides[J]. *J Control Release*, 1998, 53: 137-143.
- [14] Lambert G, Bertrand JR, Fattal E, et al. EWS fli-1 antisense nanocapsules inhibits ewing sarcoma-related tumor in mice [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 279: 401-406.
- [15] Dass CR, Walker TL, Kalle WH, et al. A microsphere-liposome (microplex) vector for targeted gene therapy of cancer:

- [11] Ricchiuti V, Shear WS, Henry TD, et al. Monitoring plasma cardiac troponin I for the detection of myocardial injury after percutaneous transluminal coronary angioplasty[J]. *Clin Chim Acta*, 2000, 302: 161-170.
- [12] Haggart PC, Adam DJ, Ludman PF, et al. Comparison of cardiac troponin I and creatine kinase ratios in the detection of myocardial injury after aortic surgery[J]. *Br J Surg*, 2001, 88: 1196-1200.
- [13] Geiger DU, Wu AHB, Apple FS, et al. Multicenter evaluation of an automated assay for troponin I [J]. *Clin Chem*, 2002, 48: 869-876.
- [14] Heeschen C, Goldmann BU, Langenbrink L, et al. Evaluation of a rapid whole blood ELISA for quantification of troponin I in patients with acute chest pain[J]. *Clin Chem*, 1999, 45: 1789-1796.
- [15] Hafner G, Peetz D, Erbes H, et al. Comparison of diagnostic performance of cardiac troponin I on the IMMULITE system with other automated troponin I assays in minor myocardial damage[J]. *Scand J Clin Lab Invest*, 2001, 61: 227-236.
- [16] Katrukha AG, Bereznikova AV, Esakova TV, et al. Troponin I is released in bloodstream of patients with acute myocardial infarction not in free form but as complex [J]. *Clin Chem*, 1997, 43: 1379-1385.
- [17] Bunk DM, Dalluge JJ, Welch MJ. Heterogeneity in human cardiac Troponin I standards[J]. *Anal Biochem*, 2000, 284: 191-200.
- [18] Katrukha AG, Bereznikova AV, Filatov VL, et al. Degradation of cardiac troponin I: implication for reliable immunodetection[J]. *Clin Chem*, 1998, 44: 2433-2440.
- [19] Larue C, Defacque-Iacquement H, Calzolari C, et al. New monoclonal antibodies as probes for human cardiac troponin I: epitopic analysis with synthetic peptides [J]. *Mol Immunol*, 1992, 29, 271-278.
- [20] Katrukha AG, Bereznikova AV, Pettersson K, et al. New approach to standardization of human cardiac troponin I (cTnI)[J]. *Scand J Clin Lab Invest*, 1999, 59(Suppl 230): 124-127.
- [21] Wu AHB, Apple FS, Warshaw MM, et al. National Academy of Clinical Biochemistry standards of laboratory practice: recommendations for the use of cardiac makers in coronary artery diseases. Vol.5 [M]. Washington, DC: National Academy of Clinical Biochemistry, 1999. 44.

(上接第 207 页)

- II. In vivo biodistribution study in a solid tumor model [J]. *Drug Deliv*, 2000, 7: 15-19.
- [16] Bennis JM, Kim SW. Tailoring new gene delivery for specific targets[J]. *J Drug Target*, 2000, 8: 1-9.
- [17] Sudimark J, Lee RJ. Targeted drug delivery via the folate receptor[J]. *Adv Drug Del Rev*, 2000, 41: 147-162.
- [18] Alexiou C, Arnold W, Klein RJ, et al. Locoregional cancer treatment with magnetic drug targeting [J]. *Cancer Res*, 2000, 60: 6641-6648.
- [19] Panyam J, Zhou WZ, Prabha S, et al. Rapid endo-lysosomal escape of poly(DL-lactide-co-glycolide) nanoparticles: implications for drug and gene delivery[J]. *FASEB J*, 2002, 16: 1217-1226.
- [20] Zhou R, Mazurchuk R, Straubinger RM. Antivasculature effects of doxorubicin-containing liposomes in an intracranial rat brain tumor model[J]. *Cancer Res*, 2002, 62: 2561-2566.
- [21] Raucher D, Chilkoti A. Enhanced uptake of a thermally responsive polypeptide by tumor cells in response to its hyperthermia-mediated phase transition[J]. *Cancer Res*, 2001, 61: 7163-7170.
- [22] Bourdon O, Mosqueira V, Legrand P, et al. A comparative study of the cellular uptake, localization and phototoxicity of meta-tetra(hydroxyphenyl) chlorin encapsulated in surface-modified submicronic oil/water carriers in HT29 tumor cells[J]. *J Photochem Photobiol B*, 2000, 55: 164-171.
- [23] Miyata T, Uragami T, Nakamae K. Biomolecule-sensitive hydrogels[J]. *Adv Drug Del Rev*, 2002, 54: 79-98.
- [24] Kim JJ, Park K. Modulated insulin delivery from glucose-sensitive hydrogel dosage forms[J]. *J Control Release*, 2001, 77: 39-47.
- [25] Kwok CS, Mourad PD, Crum LA, et al. Self-assembled molecular structures as ultrasonically-responsive barrier membranes for pulsatile drug delivery [J]. *J Biomed Mater Res*, 2001, 57: 151-164.
- [26] Phillips WT, Klipper R, Goins B. Novel method of greatly enhanced delivery of liposomes to lymph nodes [J]. *J Pharmcol Exp Ther*, 2000, 295: 309-313.
- [27] Goins B, Phillips WT, Klipper R. Blood-pool imaging using technetium-99m- labeled liposomes[J]. *J Nucl Med*, 1996, 37: 1374-1379.
- [28] Dams ETM, Oyen WJG, Boerman OC, et al. Tc-99m-PEG-liposomes for the scintigraphic detection of infection and inflammation: Clinical evaluation[J]. *J Nucl Med*, 2000, 41: 622-630.
- [29] Kostarelos K, Emfietzoglou D. Liposomes as carriers of radionuclides: from imaging to therapy [J]. *J Liposome Res*, 1999, 9: 429-460.