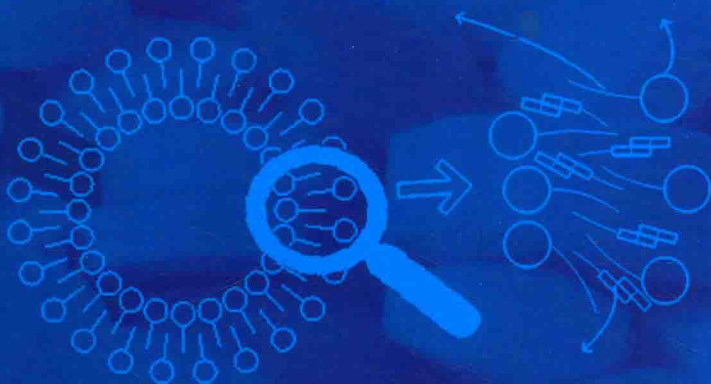
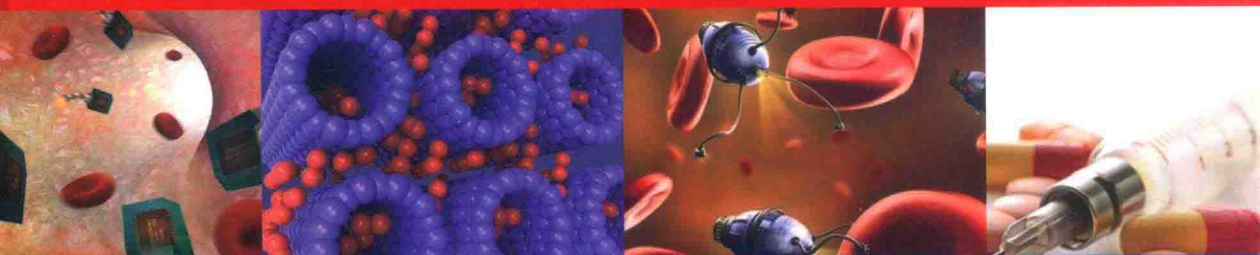


孙少平 梁 娜◎著

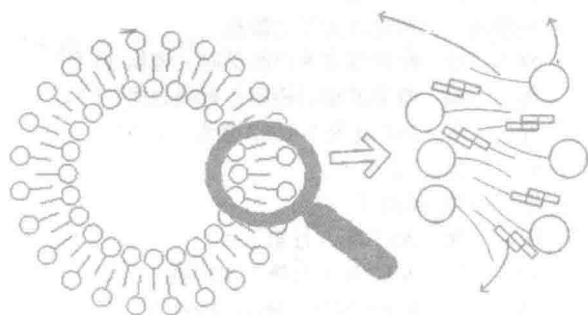
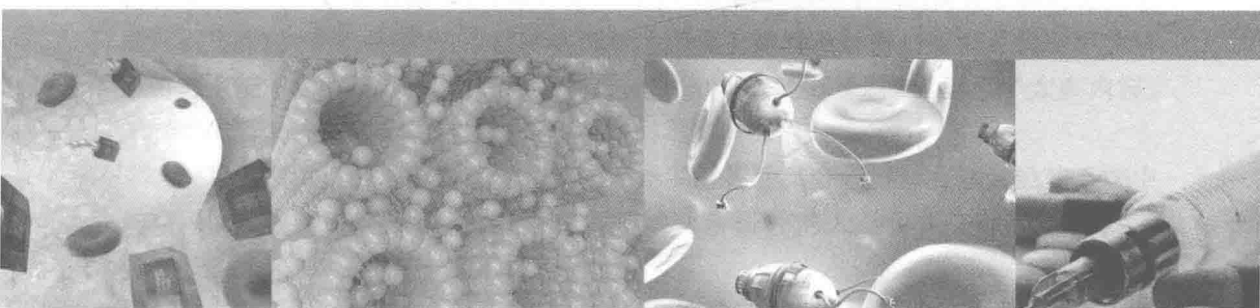
高分子材料 在纳米给药系统中的应用



 黑龙江大学出版社
HEILONGJIANG UNIVERSITY PRESS

孙少平 梁 娜◎著

高分子材料 在纳米给药系统中的应用



图书在版编目 (CIP) 数据

高分子材料在纳米给药系统中的应用 / 孙少平, 梁娜著. — 哈尔滨: 黑龙江大学出版社, 2017.8
ISBN 978-7-5686-0160-3

I. ①高… II. ①孙… ②梁… III. ①高分子材料—
纳米技术—应用—投药法 IV. ①R452

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2017) 第 202798 号

高分子材料在纳米给药系统中的应用
GAOFENZI CAILIAO ZAI NAMI GEIYAO XITONG ZHONG DE YINGYONG
孙少平 梁 娜 著

责任编辑 李 丽 李 卉
出版发行 黑龙江大学出版社
地 址 哈尔滨市南岗区学府三道街 36 号
印 刷 哈尔滨市石桥印务有限公司
开 本 787 毫米 × 1092 毫米 1/16
印 张 12.5
字 数 259 千
版 次 2017 年 8 月第 1 版
印 次 2017 年 8 月第 1 次印刷
书 号 ISBN 978-7-5686-0160-3
定 价 39.00 元



本书如有印装错误请与本社联系更换。

版权所有 侵权必究

序

兴起于 20 世纪后期的纳米技术,已成为当前科学技术的前沿领域之一,纳米技术的迅速发展为医药行业提供了良好的机遇,国内外在纳米医药研究方面都投入了大量的人力、物力、财力,并取得了重要的进展。统计显示,进入临床研究的纳米医药类产品超过 1000 种,其中已上市的纳米药物 50 多种,有些上市的纳米制剂已获得很好的经济效益。

本书主要介绍纳米技术在药物缓控释、靶向递送、蛋白多肽类口服给药等药物递送中的应用,以及各种各样的纳米递送系统,包括纳米粒、脂质体、固体脂质纳米粒、聚合物胶束等药物纳米制剂,同时对常见的用于构建纳米给药系统的高分子材料进行全面详细的介绍,在此基础上,以具体实例阐述高分子材料在肿瘤治疗以及蛋白多肽口服给药系统中的应用。由于“纳米药物传递系统”和“高分子材料”涵盖了太多内容,二者交叉后又涉及很多问题,限于篇幅,本书不能全部纳入。

编写本书的目的是帮助读者系统深入地了解各种高分子材料在纳米给药系统中的应用及其最新研究发展动态,为在本领域从事研究的人员提供一套重要的参考资料。

全书共 7 章,涵盖了高分子材料在纳米药物递送系统中应用的各个方面。其中前 5 章对纳米技术与纳米药物递送系统、纳米粒的表征与鉴定、常见的纳米给药系统、高分子材料的基本理论、生物药用高分子材料等进行了全面系统的阐述,第 6~7 章从实际应用的角度出发,介绍了通过对高分子材料进行一系列结构修饰来实现功能化的方法,并列举了药用高分子材料在蛋白多肽类药物的口服以及抗肿瘤药物的纳米给药系统中的应用。其中第 2、3、4、5、6 章由孙少平(黑龙江大学)执笔,第 1、7 章由梁娜(哈尔滨师范大学)执笔。

本书的出版以高质量、科学性、准确性、系统性、实用性为目标,希望本书的出版能普及知识,推进科研,指导生产。感谢参与本书的各位编辑。书中难免有不当和错误之处,欢迎读者批评指正。

前 言

基于纳米材料的特殊性质,纳米技术已经在科学的各个领域得到应用,并产生了基于纳米技术的新学科和方向。近年来,纳米材料与生物技术 in 生物医学领域的良好应用前景已经吸引了人们的广泛关注。纳米材料与生物技术的结合一方面推动了纳米材料的发展,同时也为生物技术的发展提供了新的机遇。纳米给药体系在抗肿瘤药物靶向给药以及多肽蛋白药物口服给药等诸多领域都显示出良好的应用前景。

纳米技术让我们享受到各种益处,同时它也成为巨大的产业。纳米新材料和纳米药物已得到大量应用,有超过 60 个国家启动了国家纳米计划。

近年来,各种纳米给药系统层出不穷,如纳米粒、脂质体、固体脂质纳米粒、聚合物胶束、纳米结晶等。纳米给药系统为难溶性药物的传递提供了一种新的载体,能够有效增加药物的溶解度,改善其分散性,加快溶出速度,最终提高药物的生物利用度。纳米给药系统的出现能够使蛋白多肽类药物的口服具有一定的可行性,还能够延长此类药物的在体时间,提高其稳定性,减小毒副作用。另外,纳米给药系统还更多地应用在抗肿瘤药物的给药系统中,起到增效减毒的目的。除此之外,纳米制剂还在缓控释、靶向给药、黏膜和局部给药以及基因工程等领域显示出明显的优势,为一些重大疾病的治疗提供新的思路与方法,是今后发展的重要方向。

在纳米给药系统的研究中,高分子材料作为载体材料以及制剂制备过程中必不可少的稳定剂、表面活性剂等组分而广为使用。然而,我国在纳米给药系统方面的研究才短短几十年的时间,与国际先进水平仍存在一定的差距,纳米制剂与高分子方面的知识尚薄弱,因此,需要深入学习和探索相关的理论与实践知识。

本书涵盖了高分子材料在纳米给药系统中应用的相关知识。本书的出版旨在普及知识,推进科研,为高分子材料以及纳米给药系统的研究提供一定的帮助。

目 录

第 1 章 纳米技术与纳米药物递送系统	1
1.1 纳米技术	1
1.2 纳米技术在药物递送中的应用	1
1.3 纳米给药系统的特点及应用	2
1.4 纳米给药系统的制备	11
1.5 纳米粒子的表面修饰	13
1.6 纳米给药系统的应用	14
第 2 章 纳米粒的表征与鉴定	17
2.1 粒径	17
2.2 Zeta 电位	20
2.3 外观形态	20
2.4 药物包封率	20
2.5 药物的释放	21
2.6 药代动力学评价	22
2.7 药效学评价	24
第 3 章 常见的纳米给药系统	25
3.1 纳米粒	25
3.2 固体脂质纳米粒	27
3.3 纳米胶束	30
3.4 微乳	31
3.5 脂质体	33
3.6 纳米混悬剂	39
3.7 纳米粒的修饰	41
第 4 章 高分子材料的基本理论	43
4.1 高分子化合物的定义	43
4.2 高分子化合物的分类	44
4.3 高分子材料的毒性	45
4.4 高分子材料的生物化学活性	46
4.5 高分子材料的降解	46
4.6 高分子材料的生物可降解性	47
4.7 高分子材料的生物相容性	50

4.8 药用高分子材料	53
第5章 生物药用高分子材料	56
5.1 天然可降解高分子材料	57
5.2 合成可降解高分子材料	72
5.3 高分子材料性质对药效的影响	88
第6章 药用高分子材料在蛋白多肽类口服给药系统中的应用	89
6.1 胰岛素及其研究现状	90
6.2 口服胰岛素制剂的研究现状	91
6.3 胰岛素-油酸钠复合物的制备与研究	96
6.4 胰岛素-油酸钠复合物 PLGA 纳米粒的制备与研究	105
6.5 胰岛素-油酸钠复合物 PLGA 纳米粒在大鼠体内的研究	121
6.6 胰岛素-油酸钠复合物 PLGA 纳米粒复合微囊的研究	132
第7章 药用高分子材料在抗肿瘤药物纳米给药系统中的应用	139
7.1 抗肿瘤药物——紫杉醇	139
7.2 聚合物胶束给药系统	141
7.3 两亲性壳聚糖接枝物的制备与表征	143
7.4 载紫杉醇的壳聚糖接枝物胶束的制备与研究	147
7.5 载紫杉醇的壳聚糖接枝物胶束的细胞学评价	155
7.6 载紫杉醇的壳聚糖接枝物胶束的药动学及组织分布研究	163
7.7 载紫杉醇的壳聚糖接枝物胶束的初步药效学评价	170
参考文献	176

第 1 章 纳米技术与纳米药物递送系统

1.1 纳米技术

纳米技术(nanotechnology)是自 20 世纪 80 年代起,逐步发展起来的一门具有前沿性、交叉性的新兴学科。纳米科学是一门包括物理、化学、生物学、材料学和电子学等多学科在内的高度交叉的综合性学科,其将基础科学和应用科学有机地集于一体,不仅包含以观测、分析和研究为主的基础科学,同时还包含以纳米材料或纳米物体的生产与加工为主线的技术科学。

基于纳米材料的特殊性质,纳米技术已经在各个领域得到了广泛的应用,涉及光学、磁学、生物学、化学、医学、药学等领域。纳米科技的迅猛发展已经引发了整个技术领域的革命性变化,并将对人类社会产生深远的影响,同时有可能从根本上解决能源、环境保护以及人类健康等重大问题。21 世纪将成为纳米技术的时代。

20 世纪 70 年代,科学家开始从不同角度提出有关纳米科技的构想。80 年代初,人类发明了纳米技术研究的重要仪器——扫描隧道显微镜、原子力显微镜以及原子操纵和加工技术,对纳米科技的建立与兴起起到了积极的促进作用。与此同时,纳米尺度上的多学科交叉展现了巨大的生命力,迅速形成具有广泛学科内容和潜在应用前景的新的研究领域。

1.2 纳米技术在药物递送中的应用

药物递送也常被称为药物传递。药物递送的意义已突破传统药剂学中普通制剂的扩散、吸收、分布等作用和相关描述,更加关注药物的体内过程和药物分子实体以及给药系统与体内组织、器官、细胞和成分的相互作用,并以获得最佳效果为目的。

纳米技术从诞生起就受到药学工作者的关注,并广泛应用于药物的传递。1965 年英国科学家 Bangham 发现脂质体,随后,脂质体立即被用作纳米药物递送载体。1976 年, Birrenbach 等人首先提出了纳米粒和纳米囊的概念。1977 年, Couvreur 等人发现纳米粒能够进入细胞并具有溶酶体趋向性。1978 年,开始有关于纳米粒用作药物载体的文章发表。1979 年, Couvreur 等人用纳米粒进行抗肿瘤药物载体的研究。到 20 世纪 80 年代,国际上纳米技术在给药方面的应用已达到一定的高度。

国内药剂学界也很早开始应用纳米给药系统并对其进行研究。当时将纳米粒翻译为“毫微粒”,“毫微”就是纳米的意思。到 1999 年,开始使用纳米粒的称谓,并将粒径处于纳米级别的给药系统统称为纳米给药系统。

纳米(nanometer, nm)是一个长度单位。 $1\text{ nm} = 10^{-3}\mu\text{m} = 10^{-6}\text{mm} = 10^{-9}\text{m}$ 。纳米级别在物理学领域常被规定为 $1\sim 100\text{ nm}$,而在医学和药学领域,则被规定为 $1\sim 200\text{ nm}$ 或 $1\sim 1000\text{ nm}$ 。由于纳米给药系统较一般粒子具有更小的体积,因此其拥有一系列优良的特点,如增加药物吸收、控制药物释放、改变药物体内分布特征,以及改变药物膜转运机制等。纳米给药系统已成为药物传递系统研究中的一个重要的方向。

1.3 纳米给药系统的特点及应用

纳米技术的发展使纳米级聚合物粒子作为药物传递和控释的载体成为可能,纳米药物传递系统越来越受到人们的关注。纳米药物传递系统是纳米技术和现代药剂学结合所产生的新兴技术,是运用纳米技术,通过物理、化学等方法改变制剂结构,以纳米级的生物高分子材料为基质,将药物以溶解、吸附、包裹或键合等方式与基质结合,进行药物的传输与递送,是目前克服药物无选择性、毒副作用大的有效手段,也是当前药剂学研究最多、发展最快的领域。

纳米给药系统包括纳米微球(nanosphere)和纳米微囊(nano-capsule),其实二者并无特别明显的界限,它们可以统称为纳米微粒(nanoparticle)。由于纳米给药系统是在纳米空间尺度内操纵原子和分子,因而表现出特殊的物理学、化学及生物学性质,如小尺寸效应、高比表面积效应等,能够改变药物在体内的动力学特性。一方面能明显延长抗癌药物在体内的作用时间,另一方面可改变药物在体内的分布,即通过被动靶向而浓集于网状内皮系统(RES)丰富的肝、脾等组织,或经过修饰主动靶向于病变位点,从而减少药物在非靶部位的聚集,降低毒副作用,提高疗效。因此与传统载药方式相比,纳米载药系统具有提高药物的靶向性、生物利用度,控制药物释放以及降低药物毒副作用等优点,如:

- ①提高疏水性药物的溶解度和溶解速度,促进其吸收,提高生物利用度。
- ②缓释药物,延长药物作用时间,提高生物利用度。
- ③达到靶向输送的目的并控制药物的释放,有利于药物对一些特殊部位的治疗。
- ④消除生物屏障对药物作用的阻隔。
- ⑤在保证药物作用的前提下,改变药物的体内分布特征,增强药物疗效,减少给药剂量,从而减轻或避免不良反应。
- ⑥提高药物的稳定性,有利于储存和运输。
- ⑦保护核苷酸和蛋白质等生物大分子药物,防止DNA和蛋白质药物失活,并可帮助核苷酸转染细胞,极大地提高转染率。
- ⑧改变药物的膜转运机制,可用以建立一些新的给药途径。

综上所述,纳米载体兼具靶向、缓释、高效、低毒等特点,在遇到药物相对分子质量大、稳定性差、吸收难、需要靶向或控释等问题时,纳米给药系统就成了重要的解决方法之一。

1.3.1 缓、控释性

缓释制剂是指用药后能在较长时间内持续缓慢地非恒速释放药物,以达到长效作用的制剂。其中药物释放主要是一级速度过程,其与相应的普通制剂相比,给药频率有所降低,且能显著增加患者的顺应性。

控释制剂是指药物能在预定的时间内自动以恒速或接近恒速的预定速度释放,使血药浓度长时间恒定维持在有效浓度范围内的制剂。其血药浓度比缓释制剂更加平稳。广义地讲,控释制剂包括控制释药的速度、部位和时间;而狭义的控释制剂则一般是指在预定时间内以零级或接近零级的速度释放药物的制剂。

缓释、控释制剂近年来有很大的发展,主要是由于它具有以下特点:

1. 对半衰期短的或需要频繁给药的药物,可以减少服药次数,这样可以大大提高病人服药的顺应性,使用方便。尤其适用于需要长期服药的慢性疾病患者,如心血管疾病、心绞痛、高血压、哮喘等。

2. 血药浓度“峰谷”波动小,相对平稳,可避免超过治疗浓度范围的毒副作用,同时又能保持在有效浓度范围(治疗窗)之内以维持疗效。在保证药物有效性的同时确保其安全性。

3. 可减小用药的总剂量,因此可用最小剂量达到最大药效。

因此,很多研究者选用某些可生物降解的高分子材料为载体,制备其纳米给药体系,以达到对药物的控制、缓慢释放。此类高分子材料以合成的生物可降解的聚合物以及天然的高分子为主体,如在体内通过主链酯键的水解而降解的聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)、聚丙烯酰胺(PAM)、聚氰基丙烯酸烷基酯(PACA)等,其降解产物对人体基本无毒性;天然高分子材料包括白蛋白、明胶、多糖等。这些载体与亲水或疏水性药物,以及生物大分子药物均具有良好的相容性,能够负载多种药物,药物通过包裹、吸附、内嵌等方式进入载体内部或表面,实现药物的有效控制释放或缓慢释放。

1.3.2 靶向性

靶向的概念可追溯到1906年由Paul Ehrlich所提出的魔术子弹(magic bullet)一词,其强调了药物传递应指向特定位点。大多数药物,不管以何种剂型给药,都将分布到全身各个组织、器官,仅有少量药物到达靶组织、靶器官、靶细胞。这种情况下,要提高靶部位的药物浓度,势必要提高给药剂量,而药物的毒副作用也将随之增大。靶向给药系统是指借助于载体、配体或抗体将药物通过局部给药、胃肠道或全身血液循环而选择性地浓集定位于靶部位的给药系统,是药物剂型发展的高级阶段。靶向药物传递的最终目标是加强在特定生理部位(如细胞、组织或器官)的药物剂量控制,从而提高病变部位的有效药物浓度,减少用药剂量,降低非靶部位的有害副作用。尤其是对于具有较高细胞毒性的抗肿瘤药物,其在杀伤肿瘤细胞的同时,对正常细胞也产生影响,而制备其靶向制剂,则可以使药物定向聚集到达目标部位,在提高疗效的同时,降低药物的毒副作用,从而提高患者的顺应性,并降低医疗费用,其长期利益是不可估



量的。

靶向制剂不仅要求药物选择性地到达特定的部位,而且要求药物以一定的浓度在该部位滞留一定的时间,从而发挥药效,而载体应无毒副作用。即理想的靶向制剂应同时具备定位聚集、控制释药以及载体无毒可生物降解三个要素。

根据药物所到达的部位,可将靶向分为三级:第一级,即器官靶向,是指将药物传递至特定的器官或组织,如肝靶向、脑靶向、肺靶向等;第二级,即细胞靶向,指将药物递送至某一器官或组织中的特定细胞,如内皮细胞、Kuffer 细胞等;第三级,即亚细胞靶向,是指将药物送达到特定组织或细胞内的特定部位,如细胞质或细胞核等,亚细胞靶向最常见于基因靶向,将基因传递至特定的细胞内是成功治疗的前提。这三级靶向治疗的方法均可通过纳米控释得以完成。

依据靶向原理,可以将靶向制剂分为被动靶向、主动靶向、物理化学靶向三类。但是,这些药物传递系统大多数以被动靶向作用为基础。此外,提高药物负载量和靶向定位的准确性是靶向的难点。

1. 被动靶向

被动靶向是利用载体系统的理化作用(如疏水作用)和物理特征(如药物靶向系统的尺寸和质量),使药物被生理过程自然吞噬而实现靶向。依据机体不同器官(组织、细胞)对不同大小微粒的截留阻滞的生理学特性,采用各种载体材料制成一定粒度大小的载药体系,则能够实现药物的被动靶向。乳剂、脂质体、微球和纳米粒等都可以作为被动靶向制剂的载体。

被动靶向的微粒经静脉注射后,在体内的分布首先取决于微粒的粒径大小。通常粒径为 $2.5 \sim 10 \mu\text{m}$ 时,大部分聚集于巨噬细胞,其中小于 $7 \mu\text{m}$ 的一般被肝、脾中的巨噬细胞所摄取; $200 \sim 400 \text{ nm}$ 的纳米粒则集中于肝脏后迅速被肝清除;小于 10 nm 的纳米粒则聚集于骨髓。人体最小毛细血管的内径约为 $5 \mu\text{m}$,纳米载药体系由于粒度处于纳米范围内,因此,不易堵塞血管,不会造成血栓,具有被动靶向于肝、脾、骨髓的特性,亦可由细胞内或细胞间穿过内皮壁到达靶部位。

2. 主动靶向

为了获得更理想的靶向控制,通常引入能被病灶靶细胞特异识别的独特配体,以赋予药物传递系统更高的智能。主动靶向是对药物载体进行结构修饰,使其具备“魔弹”的特性,能够特异性地识别靶细胞,从而将药物定向运送到靶部位而发挥药效。根据识别方式的不同,主动靶向主要有受体介导和抗体介导,以及形成前体药物或药物大分子复合物等几种靶向机制。对载药微粒进行表面修饰后,使其不易为巨噬细胞所识别,或使其因连接有特定的配体(或抗体),而与靶细胞高度表达的受体(或抗原)发生特异性结合,从而改变微粒在体内的自然分布,而到达特定的靶部位;或者将药物修饰成前体药物,使其成为能够在活性部位被激活的药理惰性物,在特定的靶部位,经化学反应或酶反应被激活而发挥作用。

(1) 受体介导

受体是一类存在于细胞膜或细胞内能够识别生物活性分子并与之结合,进而激活细胞内一系列生物化学反应,使细胞对外界刺激产生相应的效应的一种特殊的蛋白质。与受体结合的生物活性物质则统称为配体(ligand)。

随着对肿瘤分子水平研究的不断深入,人们发现肿瘤细胞和正常细胞表面表达的受体在种类及数量上有很大的不同,将肿瘤细胞表面过度表达的受体作为肿瘤治疗的靶点,以相应的配体或配体结合物作为载体递送药物,依靠配体-受体结合的特殊识别机制,通过受体介导来实现对肿瘤的靶向传递,具有高度的特异性和亲和力,能够使更多的药物选择性地到达肿瘤细胞。在增强疗效的同时,既可以大大降低药物对全身正常组织的毒副作用,又可以减少肿瘤细胞的耐受性,是一种切实可行的方法。目前国内外对受体介导的靶向研究报道较多,这些受体包括维生素受体(叶酸)、蛋白受体(运铁蛋白、去唾液酸糖蛋白、脂蛋白)、糖类受体(半乳糖、CD44)、激素受体以及整合素、生长因子等。

① 叶酸受体

叶酸(folic acid, FA)是一种水溶性 B 族维生素,由蝶酸和谷氨酸两部分组成,结构式如图 1-1 所示。叶酸是叶酸受体的天然配体,对叶酸受体具有很强的亲和力。叶酸受体(folate receptor, FR)是一种糖基化磷脂酰肌醇(glycosyl phosphatidylinositol, GPI)连接的跨膜单链糖蛋白,相对分子质量为 3.8~4.0 kD,是肿瘤表面特异性识别分子。FR 在正常组织中不表达或低表达,而在恶性肿瘤细胞膜表面则高度表达,其活性和数量显著高于正常细胞,是正常细胞系的 20~200 倍,是肿瘤相关性抗原。叶酸受体有 α 、 β 、 γ 3 种亚型。其中 FR- α 和 FR- β 是 GPI 锚着在细胞膜上的偶联蛋白,而 FR- γ 是一种分泌型蛋白。其中 FR- α 在上皮细胞系恶性肿瘤中过度表达,如卵巢癌、结直肠癌、子宫内膜癌、睾丸癌、脑瘤、肺腺癌等,尤其是在卵巢癌细胞上的表达超过了 90%。FR- β 在成熟的中性粒细胞及被激活的单核或巨噬细胞上高表达,如乳腺癌、脑瘤、睾丸癌、头颈部肿瘤、粒系胞白血病肉瘤和急性髓细胞白血病等。而 FR- γ 可作为血清标记物,用于淋巴瘤的诊断。

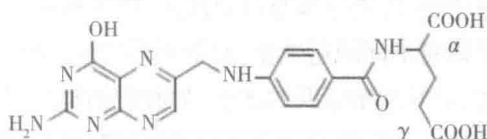


图 1-1 叶酸的结构式

叶酸纳米制剂是利用叶酸配体修饰药物载体,再通过肿瘤细胞表面 FR 介导的内吞作用来实现抗癌药物的主动靶向输送,从而提高抗肿瘤药物的生物利用率,减少对正常组织的损伤。其主要过程为 FA 与纳米制剂形成 FA-修饰体,其与分布在肿瘤细胞膜表面高表达的 FR 识别并特异性结合,形成 FA 复合物。FA 复合物通过细胞膜的内吞作用进入细胞,形成内涵体。在质子泵的作用下,内涵体内的 pH 值下降至 5,

这时 FR 的构型发生改变,药物从 FA 复合物上解离,释放到细胞核内发挥作用。FR 将重新回到细胞膜表面,循环转运 FA - 修饰体,而叶酸配体则通过还原叶酸载体(reduced folate carrier, RFC)排出细胞外。FA 复合物不能直接通过 RFC 作用逸出细胞膜,从而保证了药物有效作用于肿瘤细胞的细胞核,进而减少对正常细胞的毒性作用和不良反应。研究发现,在不同的癌细胞中,上述这一过程的时间不同,通常为 4~12 h,而在 FR 表达较多的细胞中,该过程的时间会相应缩短。

② CD44 受体

CD44 是一种跨膜糖蛋白,其可以通过细胞间和细胞外基质间的信号传导来调控细胞的活动,维持了组织的完整性,乳腺癌、卵巢癌、肺腺癌等多种恶性肿瘤细胞表面以及肿瘤干细胞表面都会过度表达 CD44 受体。

透明质酸(hyaluronic acid, HA)是一种天然的带负电的大分子链状黏多糖,由葡萄糖醛酸和 N-乙酰葡萄糖的双糖单元反复交替连接而成,其结构式如图 1-2 所示。HA 在人体滑膜液和细胞外基质中广泛存在,并发挥着重要的生理作用。很多研究表明,HA 及其衍生物可以与 CD44 受体发生特异性结合,并介导细胞吞噬,利用以上特点可以将透明质酸修饰到纳米粒子上,从而实现将抗肿瘤药物靶向递送至肿瘤组织和细胞,有效提高药物的治疗效果。

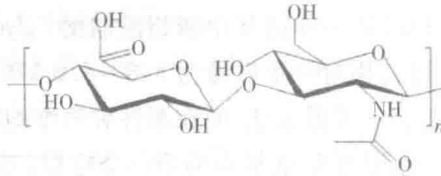


图 1-2 透明质酸的结构式

③ 运铁蛋白受体

铁是人体细胞进行代谢不可缺少的重要元素,在运送氧、传递电子、DNA 合成等过程中起着非常重要的作用。细胞内铁的转运主要通过运铁蛋白和运铁蛋白受体来进行调控。运铁蛋白受体是由两个大小约为 90 kD 的亚单位,通过两条二硫键交联而成的一种 II 型跨膜糖蛋白。每个亚单位包括一个胞外 C 端区域、一个单跨膜区域和一个 N 端区域。C 端区域也称外功能区,又分为蛋白酶样区、顶区和螺旋区,其中包含运铁蛋白的结合位点。运铁蛋白受体对不同的运铁蛋白均有较强的亲和力。由于运铁蛋白受体对大部分细胞都呈低表达,而对增殖活跃的细胞,如肿瘤细胞呈高度表达,运铁蛋白受体在临床和药物转运上得到越来越广泛的研究,成为肿瘤靶向转运的重要靶标。

④ 去唾液酸糖蛋白受体

去唾液酸糖蛋白受体(asialoglycoprotein receptor, ASGPR)是肝细胞特异性表达的一种异源低聚物的内吞型受体,其主要存在于肝窦状隙和基底外侧细胞表面,能专一性识别、结合并介导内吞末端具有半乳糖或乙酰氨基半乳糖残基的去唾液酸糖蛋白类物质。由于各种糖蛋白在用酶水解或用酸解除去末端唾液酸后,暴露出的次末端是半乳糖残基,因此,ASGPR 的糖结合特异性实际上在于半乳糖基,故又称半乳糖特异性受体。

近年来,利用 ASGPR 的高亲和性配体 N-乙酰半乳糖胺作为靶向分子,将其连接于纳米载体表面,则可以在简单的化学修饰后,提高药物对肝癌细胞的选择性,从而进一步提高药物治疗效果。

⑤ 甘露糖受体

甘露糖受体(mannose receptor, MR)作为一种模式识别受体,主要表达于巨噬细胞及树突细胞等免疫细胞表面。目前,已有研究者证明,MR 在胰腺癌细胞、结肠癌细胞等多种肿瘤细胞中都有表达。

MR 为 I 型跨膜蛋白受体,是一大小为 175 kD 的跨膜糖蛋白。MR 是 20 世纪 70 年代作为 MR 家族成员之一第一个被发现的,被称为糖识别受体,可通过胞外区识别和结合特定的糖类分子,在不同的多糖分子中,与甘露糖、岩藻糖结合能力最强,其次为葡萄糖、N-乙酰葡萄糖胺,半乳糖则不能与之结合。利用多糖与甘露糖受体结合及巨噬细胞表达甘露糖受体这一特性,MR 作为糖识别受体被广泛应用。MR 在肝癌组织内部有较高的表达,而在癌旁组织表达较低,正常肝组织中表达最低,因此,可以作为肝细胞癌治疗和诊断的新靶点。

(2) 抗体介导

肿瘤细胞的表面通常会特异性地表达或过量表达某种抗原,表面修饰相应的抗体,制备有免疫性的微粒,则可以为靶组织或细胞所识别,将治疗药物定向运送至靶部位,从而增加治疗的特异性,最大限度地减少不良反应。

抗体主要由 B 淋巴细胞及其记忆细胞通过抗原引起免疫应答所产生的免疫球蛋白组成,具有 4 条多肽链的对称结构。其中 2 条重链(H 链)较长,相对分子质量较大;2 条轻链(L 链)较短,相对分子质量较小。链间由二硫键和非共价键联结,形成一个单体分子。

抗体之所以对相关抗原有特异性,是因为其具有与抗原决定簇相对应的结合部位,即抗原结合簇。抗体可分为单克隆抗体和多克隆抗体。普通抗原一般有多个抗原决定簇,由其通过免疫应答相应地产生多种单克隆抗体,这些单克隆抗体混杂在一起就是多克隆抗体,机体内所产生的抗体就是多克隆抗体。然而,由于多克隆抗体是混合物,其中各成分对抗原决定簇的特异性不同,因此,在靶向治疗上一般不采用多克隆抗体,而是选用单克隆抗体。单克隆抗体只对引起免疫应答的抗原决定簇有特异性,是发展的必然趋势。

(3) 前体药物和药物大分子复合物

前体药物(prodrug)是活性药物经化学修饰而成的药理惰性物质,其本身没有生物活性或活性很低,经过体内化学反应或酶反应,变为有活性的物质,而发挥其治疗作用。制备前体药物的目的在于增加药物的生物利用度,加强靶向性,降低药物的毒性和副作用。

使前体药物在特定的靶部位转变为活性形式的基本条件是:①使前体药物转化的反应物或酶均应仅在靶部位才存在或表现出活性;②前体药物能同药物的受体充分接



近;③酶须有足够的量以产生足够量的活性药物;④产生的活性药物应能在靶部位滞留,尽量不进入循环系统产生毒副作用。

常用的前体药物的类型有:

①抗癌药前体药物:由于癌细胞比正常细胞含更高浓度的磷酸酯酶和酰胺酶,将某些抗癌药制成磷酸酯或酰胺类前体药物,则可实现癌细胞定位;若干肿瘤能产生大量的纤维蛋白溶酶原活化剂,可活化血清纤维蛋白溶酶,故将抗癌药与合成肽连接,形成纤维蛋白溶酶的底物,可在肿瘤部位使抗癌药再生。

②脑部靶向前体药物:脑部靶向释药对治疗脑部疾病有很大意义。只有强脂溶性药物可跨过血脑屏障,但强脂溶性前体药物对其他组织的分配系数也很高,从而引起明显的毒副作用。因此,采取一定措施,使药物仅在脑部发挥作用,具有重要的意义。如前体药物 L-多巴,进入脑部纹状体后可经转化起到治疗作用,但进入外周组织的前体药物则会引起许多不良反应。可应用芳香氨基脱羧酶抑制剂卡比多巴,卡比多巴不能进入脑部,只能使外周组织中的 L-多巴转化受到抑制,从而减少不良反应。

③结肠靶向前体药物:主要是利用结肠特殊菌落产生的酶的作用,在结肠释放出活性药物,从而达到结肠靶向作用。

药物大分子复合物:药物在体内的传递,为首的屏障是血管系统的内皮和基底膜。小分子药物很容易通过扩散作用进入细胞,而大分子药物则只能通过内吞作用进入细胞。大多数大分子药物不能从胃肠道和其他正常途径吸收。由于肿瘤中的血管不同于正常组织,其表现为血管生长迅速,外膜细胞缺乏,基底膜变形,淋巴管道回流系统缺损,大量血管渗透性调节剂生成,导致肿瘤血管对大分子物质的渗透性增加以及滞留蓄积于肿瘤的大分子物质增加,即 EPR 效应。研究表明,肿瘤选择性摄取聚合物的相对分子质量可达 778 kD。因此,药物的大分子复合物有可能借助 EPR 效应将药物聚集到肿瘤细胞中,一旦药物大分子复合物内吞进入细胞,在核内低 pH 值的环境下或蛋白酶的作用下,聚合物就有可能降解,药物释放,发挥作用。此类大分子复合物所采用的聚合物有右旋糖苷、PEG、N-(2-羟丙基)甲基丙烯酸酰胺(HPMA)等。如果大分子复合物结合配体或抗体,则容易被肿瘤细胞上高度表达的受体或抗原识别、结合而被肿瘤细胞所摄取,提高靶向效果。

3. 物理化学靶向

物理化学靶向是应用某些物理化学方法使药物靶向至特定部位而发挥药效。如应用磁性材料将药物制成磁导向制剂,在足够强的体外磁场引导下,通过血管到达并定位于特定靶区;或使用对温度敏感的载体制成热敏感制剂,在热疗的局部作用下,使热敏感制剂在靶区释药;也可利用对 pH 值敏感的载体制备 pH 敏感制剂,使药物在特定的 pH 靶区内释药。用栓塞制剂阻断靶区的血供和营养,起到栓塞和靶向化疗的双重作用,也可属于物理化学靶向。

(1) 磁靶向

磁性物质通常是超细磁流体,如 $\text{FeO} \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$ 或 Fe_2O_3 。磁性纳米粒可用一步法或

两步法制备。一步法是在制成纳米粒之前,先加入磁性物质,聚合物将磁性物质包裹成球;两步法是先制备纳米粒,再将纳米粒磁化。磁性纳米粒需要有外加磁场,它通常由两个可调节距离的极板组成,每个极板含多个小磁铁。在磁场的作用下,药物能够高度聚集于磁场区,起到增效减毒的作用。磁性纳米粒的形态、粒径分布、吸附性能、体外磁响应、载药稳定性等对其释药行为及其生物利用度都有一定的影响。

(2) 热敏靶向

通常肿瘤部位具有较高的温度,利用该生理病理特点可实现主动靶向。另外,利用磷脂不同的相变温度可制成热敏脂质体。如将不同比例类脂质的二棕榈酸磷脂和二硬脂酸磷脂混合,可制得不同相变温度的脂质体,在相变温度下,脂质体的类脂质双分子层从胶态过渡到液晶态,脂质体膜的通透性增加,此时包封的药物释放速率增大,而偏离相变温度时则释放减慢。升温时,脂质体能够选择性地聚集于肿瘤细胞,使肿瘤细胞中具有更多的药物,加强抗肿瘤作用。

(3) pH 敏感靶向

pH 敏感靶向是利用肿瘤间质液的 pH 值比周围正常组织显著降低的特点所设计的,在低 pH 值范围内,载体材料中的 pH 敏感化学键断裂,释放出药物。

(4) 栓塞靶向制剂

动脉栓塞是通过插入动脉的导管将栓塞物输送到靶组织或靶器官的医疗技术。栓塞的目的是阻断对靶区的供血和营养,使靶区的肿瘤细胞缺血坏死,栓塞制剂内含有的抗肿瘤药物产生治疗作用,因此此类制剂同时具有栓塞和靶向性化疗双重作用。

4. 靶向性评价

药物制剂的靶向性可由相对摄取率、靶向效率、峰浓度比 3 个参数来衡量:

(1) 相对摄取率 r_e

$$r_e = (AUC_i)_p / (AUC_i)_s \quad (1-1)$$

式中, AUC_i 为由浓度-时间曲线求得的第 i 个器官或组织给药时曲线下面积,下标 p 和 s 分别表示药物制剂及药物溶液。 r_e 大于 1 表示药物制剂在该器官或组织有靶向性, r_e 愈大, 靶向效果愈好; 等于或小于 1 表示无靶向性。

(2) 靶向效率 t_e

$$t_e = (AUC)_{\text{靶}} / (AUC)_{\text{非靶}} \quad (1-2)$$

式中, t_e 表示药物制剂或药物溶液对靶器官的选择性。 t_e 大于 1 表示药物制剂对靶器官比非靶器官有选择性; t_e 愈大, 选择性愈强。

(3) 峰浓度比 C_e

$$C_e = (C_{\max})_p / (C_{\max})_s \quad (1-3)$$

式中, C_{\max} 为峰浓度, 每个组织或器官中的 C_e 表明药物制剂改变药物分布的效果, C_e 愈大, 表明改变药物分布的效果愈明显。

药物传递系统需要通过一系列的细胞和亚细胞屏障后才能到达药物的作用靶点。物理靶向传递系统是通过调节药物载体的理化参数将药物运送到靶点的。药物传递



系统的一些理化性质对其在体行为非常关键,这些性质包括相对分子质量、粒径大小、表面疏水性、表面电荷、生物膜去稳定活性以及靶点的触发敏感性等。每一类型的传递系统还需要考虑到其独特的理化参数,如聚合物胶束的临界胶束浓度。

体内条件下的最佳传递系统相应的相对分子质量和分子大小受循环和排泄等生理过程影响。最小的相对分子质量限度约为 30 kD,因为肾脏的微管细胞易分泌相对分子质量不大于 30 kD 的亲水性分子。实际上,对许多小分子药物而言,在转化为亲水性更强的代谢产物后,这是其主要消除途径。因此,药物传递系统的相对分子质量应为 30 kD 以上,以避免快速肾清除。

组成血管系统的内皮细胞则决定了注射药物载体系统粒径的上限。大部分血管系统中,位于连续的内皮下基底膜的内皮细胞紧密接合在一起。粒径大于 10 nm 的微粒不能通过这一屏障进入血管外组织。正常生理条件下,只有肝、脾、骨髓中有较多的窦状毛细血管,其中可观察到直径为 100 ~ 200 nm 的“孔”(穿孔),允许直径 200 nm 以下的药物传递系统扩散进入这些器官的间质。

对于这一粒径限度还有一个很重要的例外,即实体瘤。实体瘤的内皮细胞发育不完善,其中可观察到大于 200 nm 的穿孔。而且,实体瘤没有成熟的淋巴系统,导致对渗出血管外的颗粒的引流作用较弱。病理条件下出现的这种现象称为渗透增强和滞留效应,是被动药物靶向系统的一个基本原理。目前,很多聚合物和微粒药物传递系统利用了滞留效应,并在临床中成功用于治疗小实体瘤。炎症部位毛细血管的通透性也有所增强,同样可以发现直径大于 200 nm 的穿孔。

微粒药物传递系统的粒径也影响其单核巨噬系统(MPS)。作为免疫系统的一部分,MPS 由直接接触血液循环的固定巨噬细胞和移动巨噬细胞组成。固定巨噬细胞位于肝(库普弗细胞)、脾、骨髓、淋巴结,移动巨噬细胞包括血液单细胞和组织巨噬细胞。粒径在 0.1 ~ 7 μm 范围内的颗粒易被 MPS 特别是肝中的固定库普弗细胞清除。因此,在这一粒径范围内的任何药物传递系统均需加以修饰以避免被过早清除,除非巨噬细胞本身为靶细胞。

1.3.3 提高生物利用度和稳定性

纳米给药体系由于粒径较小,药物高度分散,表面积较大,因此,能够提高难溶性药物的溶出速率和生物利用度。另外,对于多肽、蛋白类药物而言,其口服很容易被胃肠道中的酶降解,且生物半衰期较短,需重复给药,即使皮下或肌肉注射给药,生物利用度仍较低,而制备纳米制剂,则能够在增强其稳定性、保证生物活性的同时,显著提高其相对生物利用度;对于口服疫苗而言,纳米制剂能够防止疫苗为肠道菌群所降解,实现全身免疫。

1.3.4 长循环

由于纳米级微粒具有网状内皮系统被动靶向的特性,因此具有两方面的结果:一方面有利于提高相应 RES 组织(如肝、脾、肺以及骨髓等)的治疗效果,但同时也会增