

中药载药纳米粒的研究进展

张婧 罗云 梁新丽 刘红宁 赵国巍 廖正根

(江西中医药大学现代中药制剂教育部重点实验室,南昌,330004)

摘要 目的:综述近年来中药载药纳米粒的有关研究进展。方法:着重从载体材料、表面修饰两个方面进行介绍。结果:中药载药纳米粒已有长足发展,但仍存在一些问题。结论:现代中药纳米粒制剂对提高整个中药制药行业的科技水平有重要意义。

关键词 纳米粒;载体材料;表面修饰

Development of Nano-particles of Traditional Chinese Medicine

Zhang Jing, Luo Yun, Liang Xinli, Liu Hongning, Zhao Guowei, Liao Zhenggen

(Key Laboratory of Modern Preparation of TCM, Ministry of Education, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, 18 Yunwan Road, Wanli District, Nanchang 330004, China)

Abstract Objective: This is an overview of the development of nano-particles of Traditional Chinese Medicine. **Methods:** The two aspects of carrier materials and modification materials were introduced. **Results:** There has been a significant development in nano-particles of Traditional Chinese Medicine, though some obstacle are yet to be overcome. **Conclusion:** Nano-particles of Traditional Chinese Medicine has important significant for accelerating the development of TCM pharmaceutical industry.

Key Words Nano-particles; Carrier materials; Modification materials

中图分类号:R944 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2015.03.004

纳米粒(Nanoparticles, NP)是由天然或合成高分子材料制成的粒径小于1 μm的固态胶体粒子,药物可以溶解、包裹于其中或吸附在载体基质上,分为骨架实体型的纳米球和膜壳药库型的纳米囊。纳米粒注射剂不易阻塞血管,可靶向肝、脾、骨髓,纳米粒也可由细胞通道或细胞旁路途径透过内皮细胞壁到达靶部位,具有靶向提高疗效和降低不良反应的双重作用^[1],其优点在于^[2]:1)提高药物的稳定性;2)防止药物在体内的失活或减少对胃肠的刺激性;3)使液态药物固态化,便于应用和储存,把疏水性药物变成亲水性;4)缓释或控释药物,尤其对于那些不良反应强、在体内半衰期短和首过作用强的药物。

近年来随着人们对纳米粒的制备、理化性质考察、生物学评价机制的深入研究和新载体材料的不断涌现,纳米粒给药系统的应用有了很大发展。我们在本文按中药纳米粒给药系统的载体材料、表面修饰两大分类进行综述,介绍中药纳米粒给药系统的进展情况。

1 纳米粒的载体材料

1.1 聚氰基丙烯酸正丁酯 聚氰基丙烯酸酯(Polyalkylcyanoacrylate, PACA)是生物降解型人工合成的高分子材料。ACA包括氰基丙烯酸甲酯(Methylcyanoacrylate, MCA)、氰基丙烯酸乙酯(Ethylecyanoacrylate, ECA)、氰基丙烯酸正丁酯(n-butylecyanoacrylate, BCA)、氰基丙烯酸异丁酯(Isobutylecyanoacrylate, IBCA)、氰基丙烯酸异己酯(Isohexylecyanoacrylate, IHCA)等衍生物。随着烷基链的延长,生物降解速度逐渐减慢。

聚氰基丙烯酸正丁酯(Polybutylecyanoacrylate, PBCA)烷基链较长,具有适宜的降解周期,且毒性较低,体内耐受性最好。BCA能够在光、热和阴离子的引发下进行阴离子聚合,主要采用乳化聚合法和界面聚合法制备。乳化聚合法是将表面活性剂(或/和药物等)溶于水中,调pH至酸性,室温搅拌下滴加BCA,BCA在催化下聚合成球,最后调节pH至中性终止反应。该法的优点是制备工艺简单,利于规模生产,但不适宜酸不稳定药物的包封,与乳化聚合法

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:81202927);江西省教育厅青年基金项目(编号:GJJ12535、GJJ12536);江西省卫生厅中医药科研计划(普通)课题(编号:2012A160、2012A157);江西省青年科学基金(编号:20122BAB215018、20132BAB215022);江西省科技支撑计划(编号:20123BBG70181)

作者简介:张婧(1983—),女,安徽定远,副教授,研究方向:中药药物新剂型与新技术

通信作者:廖正根,教授,中药新剂型与新技术, Tel: (0791)87119011, Fax: (0791)87118658, E-mail: lyzlyg@163.com

相比,界面聚合法适合包封脂溶性药物,且载药量较高。

采用乳化聚合法制备包载姜黄素的聚氰基丙烯酸正丁酯纳米粒,粒径约为 (185 ± 13.12) nm,表面电位为 (50.1 ± 2.08) mv,平均载药量为 1.078%,平均包封率为 (94.75 ± 1.54) %。姜黄素纳米粒的体外释药符合双相动力学释药规律,制得的胶体溶液半年未发现相分离和絮凝发生,其载药纳米球粒径和分布无明显变化^[3-4]。

土贝母生药及其提取物注射剂临床用于治疗各种结核肿瘤及因病毒引起的多种传染性疣效果好,其抗癌有效成分 TBMS 基础研究表明其抑瘤谱较广。以安全、无不良反应、可生物降解的 α -氰基丙烯酸正丁酯为载体材料,将其制成肝靶向纳米粒,纳米粒主要分布在肝脏组织中,对肺和肝脏的毒性明显较注射剂低,血管刺激性较 TBMS 注射剂大大降低,既达到了肝靶向的目的,同时有助于降低 TBMS 临床应用的细胞毒性和刺激性^[5]。

1.2 聚乳酸类 聚乳酸及其共聚物是一类生物可降解、生物相容性较好的合成高分子材料,以其作为载体材料制备载药纳米粒,可实现靶向给药^[6],已被广泛应用的此类材料有聚乳酸、聚乙醇酸、聚乳酸-聚乙醇酸共聚物、聚乳酸-聚乙二醇共聚物等。通常采用乳化-溶剂挥发法、沉淀法、自乳化法等进行制备^[7],其中,沉淀法因避免了含氯溶剂的使用,减少了对人体的伤害和对环境的污染而被广泛应用。沉淀法药物的包载高度依赖药物的亲脂性,故多用于包载脂溶性药物。但不同的脂溶性药物包封效果存在较大差异^[8-9]。

葫芦素(Cu)和姜黄素(Cur)做为脂溶性的抗癌中药,通过沉淀法制备载药的聚乳酸纳米粒,理化性质测定结果显示 Cu-PLA-NP 和 Cur-PLA-NP 的粒径均在 100 ~ 200 nm,但包载结果差异很大:Cu-PLA-NP 的包封率、载药量和药物收率分别为 38.53%, 2.21% 和 27.02%,Cur-PLA-NP 的包封率、载药量和药物收率分别为 94.36%, 14.35% 和 91.23%,提示有机相加入水相时的药物沉淀率及水浴挥发过程中药物和载体的沉淀速率与药物的包载效果有重要关系^[10]。大黄酸具有抗肿瘤、抗炎、抗菌、抗病毒、抗氧化及调节肾功能等作用,但由于大黄酸水溶性差,生物半衰期短,生物利用度低,限制了其在临床上的广泛应用。尚小广等以聚乳酸为载体材料,采用改良的自乳化溶剂扩散法制备大黄酸聚乳酸纳米粒,药动学数据显示,大鼠口服大黄酸混悬液和纳米粒

后 AUC_{0-1} 分别为 (8.077 ± 2.98) 和 (34.583 ± 3.93) $mg \cdot h \cdot L^{-1}$,说明 NP 可以促进大黄酸的吸收,提高其生物利用度。分布方面, $t_{1/2}$ 显著延长,说明 NP 可以减缓大黄酸的消除速率,这可能是由于 NP 的持续释放使得表观的消除速率变小,总之聚乳酸纳米粒可显著改善大黄酸的药动学行为,有效提高其口服生物利用度^[11]。

黄酮类成分是雪莲抗炎止痛的主要成分,能够促进肾上腺皮质激素的合成,不但能显著提高小鼠免疫功能,对抗风湿性关节炎,还具有抗癌、解痉、降压和平喘作用。以复乳法制备雪莲纳米粒,雪莲原料药溶解于乙二醇中作为内水相,聚乳酸聚乙醇酸共聚物(PLGA)溶解在二氯甲烷-丙酮混和溶剂中作为油相,加入乳化剂形成 W/O 型初乳后以蒸馏水作为外水相在乳化剂作用下形成复乳。结果得到的纳米粒平均粒径在 134 nm,Zeta 电位为 -8.06,包封率为 42.83%,载药量为 2.17%,12 h 体外释放 39.57%,得到了性质稳定和具有缓释功能的雪莲纳米粒^[12]。

1.3 壳聚糖 壳聚糖是天然高分子的碱性多糖,不溶于水和有机溶剂,可溶于 pH < 6.5 的稀酸。壳聚糖具有低毒、良好的生物可降解性、生物相容性,使其广泛应用于生物医药和制剂^[13]。壳聚糖具有优良的生物黏附性,以壳聚糖制成的纳米载体可以延长药物在吸收部位的保留时间,达到控释或缓释的目的^[14]。常用壳聚糖纳米粒制备方法为复凝聚法、共价交联法、离子凝胶化法等,其中离子凝胶化法是目前在壳聚糖纳米粒的常用制备方法,利用三聚磷酸钠对壳聚糖进行离子诱导,通过带负电的磷酸根离子与壳聚糖分子链上带正电的质子化氨基发生分子内和分子间交联凝胶化,可迅速生成纳米粒。甘草酸二铵(Diammonium Glycyrrhizinate, DG)是中药甘草的有效成分之一,具有较强的抗炎、保护肝细胞膜及改善肝功能的作用。临床上甘草酸二铵主要以注射剂和胶囊形式应用于伴有丙氨酸氨基转移酶升高的急、慢性病毒性肝炎、化疗引起的肝功能异常及酒精性脂肪肝等的治疗。朱云峰等以生物黏附性和生物可降解特征的壳聚糖为载体材料,采用喷雾干燥法制备了甘草酸二铵-壳聚糖纳米粒。喷雾干燥机的进口温度、抽气机功率和 DG 与 CS 比例对 DG-CS NP 的粒径影响较大。当进口温度 200 °C、抽气机功率 60%,DG 与 CS 比例 2:5 时,DG-CS NP 粒径为 300 ~ 600 nm,载药量为 (51.25 ± 1.75) %。DG-CS NP 的药物释放受环境 pH 的影响,对溃疡性结肠

炎具有显著的治疗与改善效果^[15]。

1.4 白蛋白 白蛋白是常用的天然高分子材料,其优点是化学性质稳定,毒性及刺激性低,无抗原性,有良好的生物相容性和可降解性,可实现靶向和缓释作用等。白蛋白纳米粒的制备方法较多,包括丙酮-热变性法、喷雾干燥法、pH-凝聚法、乳化-固化技术等^[4]。陈娟等人以牛血清白蛋白为载体材料采用去溶剂化-化学交联法制备马钱子碱白蛋白纳米粒,有望降低马钱子碱的不良反应,提高马钱子碱治疗关节炎的疗效。结果显示,制得的纳米粒平均粒径为 (209.8 ± 3.6) nm, zeta 电位 -34.49 ± 1.32 mV, 纳米粒收率 $90\% \pm 3.2\%$, 包封率为 $60\% \pm 2.3\%$, 载药量为 $2\% \pm 1.2\%$, 体外模拟释药结果表明载药纳米粒药物释放速率在 24 h 内持续稳定,药物释放达 53% 后累积释放率基本不变,提示部分药物吸附在纳米粒表面,另外的药物可能与白蛋白以新化学键的形式结合,只有当白蛋白降解后药物才能溶出,所以马钱子碱白蛋白纳米粒的累积释放率达不到 100%^[16]。

2 纳米粒的表面修饰材料

普通纳米粒进入机体后,容易被网状内皮系统的单核巨噬细胞(MPS)吞噬而清除迅速,不易到达靶组织,且与靶细胞结合亲和力弱,靶组织中蓄积量少。为了避免药物被巨噬细胞迅速清除和提高靶组织中药物含量,从而提高其稳定性、靶向性,可对纳米粒表面进行修饰^[17]。纳米粒表面修饰有两种主要途径:一是用修饰材料包裹于纳米粒表面;二是修饰材料与载体聚合物经化学键合后再制备纳米粒。

2.1 聚乙二醇 聚乙二醇是应用最广泛的纳米微粒表面修饰材料,利用其亲水性质能在纳米胶束表面形成一层水化膜,阻碍调理蛋白与胶束表面的吸附,从而降低网状内皮系统的摄取。PEG 还可以减少粒子表面对蛋白质及酶的吸附,从而减少降解。PEG 的相对分子质量或包衣厚度及密度对修饰效果有明显影响。此外,PEG 还可以促进纳米粒经派尔氏结转运^[18]。实现修饰的方法包括共价结合、混合制备纳米粒或者表面吸附。

羟基喜树碱是从我国特有的珙桐科乔木——喜树中分离提取的一种微量生物碱,是拓扑异构酶 I (TOPO-I) 抑制剂^[19],具有抗癌谱广、无交叉耐药性的特点,为临床一线用药。然而其水不溶脂难溶性、内酯环结构不稳定等因素,使得其临床应用受到了限制^[20]。西娜等合成了聚乙二醇-聚己内酯嵌段共聚物 (Polyethyleneglycol Polycaprolactone, PEG-

PCL) 用¹H-NMR 对其结构进行了表征,并以此为载体材料,采用溶剂扩散法制备了羟基喜树两亲性嵌段共聚物纳米粒,结果显示制备的纳米粒平均粒径为 164.5 nm, 载药量为 5.49%, 包封率为 83.2%, zeta 电位为 -26.1 mV, 冻干粉剂的稳定性较好,大大增加了 HCPT 的水溶性。PCL 为半结晶状的高分子材料,选用它作为两亲性共聚物载体的亲脂性部分,既可以作为亲脂性药物的储库,其所含的结晶状结构又有利于纳米粒形态的稳定^[21]。

2.2 RGD 肽 RGD 肽 (RGD Peptide, GRGDNP) 是一类含有精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸 (Arg-Gly-Asp) 的短肽^[22], 广泛存在于生物体内,是细胞外多种配体蛋白与整合素结合的位点^[23]。含 RGD 序列的蛋白通过 RGD 肽与其受体整合素结合,参与细胞间、细胞与细胞间质黏附,并能把细胞外环境和细胞骨架联系起来,参与多条信号传导通路的活化。外源性 RGD 肽与肿瘤细胞表面整合素结合后,可作为体内 RGD 肽类物质的竞争性抑制剂,参与一系列生物学活动生理和病理过程中发挥重要作用。

蟾毒灵是蟾酥中提取的一种毒性配基之一,具有诱导肿瘤分化和凋亡作用,但蟾毒灵难溶于水,静脉给药困难,且不良反应较大口服代谢快,半衰期短,限制了其在肿瘤治疗中的应用。殷佩浩通过制备蟾毒灵的 mPEG-PLGA-PLL-cRGD 纳米粒,通过表面修饰 RGD,在达到肿瘤组织靶向的同时,实现了肿瘤细胞的靶向。首先 PEG 修饰作用如上文所述,延长了体内滞留时间,从而增加肿瘤组织的药物聚集,并利用肿瘤组织的 EPR 效应,实现纳米粒的被动靶向向肿瘤组织的功能。更为重要的是,利用肿瘤细胞表面的特异性受体配体结合原理,选择对大肠癌细胞具有较好靶向功能的 RGD 肽靶向基团来修饰纳米粒,利用 RGD 肽与其整合素受体介导的细胞黏附达到靶向肿瘤细胞的目的。裸鼠肠癌模型的药效学研究表明,与生理盐水组相比,蟾毒灵纳米粒组瘤体明显缩小,蟾毒灵以纳米的剂型给药疗效明显提高,且载药纳米粒经过 RGD 修饰后瘤体重量明显减轻、肿瘤生长抑制率明显提高 ($P < 0.01$)^[24]。

3 结语

纳米粒由于其独特的优势而备受人们重视,尤其是在转运基因、运载多肽和蛋白质药物、抗肿瘤药、抗病毒药方面有着广阔的应用前景,将纳米粒应用于中药制剂的研发,既有利于中药剂型优化,又利于提高药物疗效,是纳米微粒给药系统研究的热点,但是由于中药体系的复杂性以及纳米粒制剂由于载

体材料、制备方法等方面产生的问题,中药载药纳米粒的研究与应用尚处于起步阶段,存在不少亟待解决的问题:1)目前报道研究的中药纳米粒制剂多为单一中药有效成分,或有效成分与化药的复方制剂,真正以中药复方协同作用的药物制剂很少,多数制剂停留在实验室研制阶段。2)纳米粒制剂的释放存在突释现象,药物突释通常是由于药物未封装在载体内部,而是吸附在粒子表面,微粒载药量越大,突释越强且释药越快,对于中药纳米粒来说,药物释药快慢与作用靶点、疗效发挥有着更为密切的关系,因此需要对中药纳米粒的释放行为进行考察。随着纳米药物载体理论、技术的不断完善,在中医用药理论指导下,研究开发安全、可控、稳定、有效的现代中药纳米粒制剂对改变目前中药制剂低水平重复研究现象,提高整个中药制药行业的科技水平有重要意义。

参考文献

[1] 孙丹丹,闫雪生,李百开. 纳米粒与靶向制剂在抗肝癌药物中的应用[J]. 齐鲁药事,2011,30(6):355-357.

[2] 张阳德. 纳米生物技术[M]. 北京:科学出版社,2005:98-99.

[3] 段菁华. 姜黄素聚氰基丙烯酸正丁酯纳米粒抗癌活性及逆转多药耐药研究[D]. 长沙:中南大学,2011.

[4] 易承学,余江南,徐希明. 纳米药物载体在中药制剂研发中的应用[J]. 中国中药杂志,2008,33(16):1936-1940.

[5] 孙毅毅,李彤晖,汤臣康,等. 土贝母抗癌有效成分肝靶向给药系统的研究[J]. 中国中药杂志,2005,30(11):817-821.

[6] Danhier F, Ansorena E, Silva JM, et al. PLGA-based nanoparticles: An overview of biomedical applications[J]. J Control Rel,2012,161:505-522.

[7] 张志清,康英,王育红. 聚乳酸纳米粒给药系统研究进展[J]. 中国医院药学杂志,2002,22(9):555-557.

[8] Rodrigues JM, Croft SL, Fessi H, et al. Primaquine-loaded poly(lactide) nanoparticles: physicochemical study and a cute tolerance in mice[J]. Int J Pharm,1995,126:253-262.

[9] Verger ML, Fluckiger L, Kim Y, et al. Preparation and characterization of nanoparticles containing an antihypertensive agent[J]. Eur J Pharm Biopharm,1998,46(2):137-143.

[10] 张继芬,侯世祥,刘惠莲. 沉淀法制备 2 种脂溶性抗癌中药聚乳酸纳米粒的载药过程比较[J]. 中国中药杂志,2007,32(4):303-306.

[11] 尚小广,李颖,徐陆忠,等. 大黄酸聚乳酸纳米粒的制备及大鼠体内药动学研究[J]. 中国药理学杂志,2012,47(7):524-528.

[12] 赵心怡,沈琦,李明丽,等. 复乳法制备雪莲纳米粒的研究[J]. 时珍国医国药,2010,21(7):1726-1727.

[13] Sinha VR, Single AK, Wadhawan S, et al. Chitosan microspheres as a potential carrier for drugs[J]. Int J Pharm,2004,274(1-2):1-33.

[14] Amedduzafar, Ali J, Bhatnagar A, et al. Chitosan nanoparticles amplify the ocular hypotensive effect of catechol in rabbits[J]. Int J Biol Macromol,2014,65:479-491.

[15] 朱云峰,曹青日,杨世林,等. 甘草酸二铵-壳聚糖纳米粒制备与药效学评价[J]. 中国中药杂志,2010,35(16):2138-2141.

[16] 陈娟,陈志鹏,肖璐,等. 马钱子碱白蛋白纳米粒的制备与初步评价[J]. 南京中医药大学学报,2011,27(6):555-557.

[17] 金英华. 纳米粒的靶向修饰研究进展[J]. 医药导报,2007,12(12):1473-1476.

[18] 陈莹,平其能. 口服载药纳米粒的研究进展[J]. 药学进展,2004,28(10):451-455.

[19] Garcia CP, Videla Richardson GA, Romorini L, et al. Topoisomerase I inhibitor, Camptothecin, induces apoptogenic signaling in human embryonic stem cells[J]. Stem Cell Res,2014,12(2):400-414.

[20] 张力,李苏,廖海,等. 羟基喜树碱 I 期药代动力学及人体耐受性临床研究[J]. 癌症,2001,20(12):1391-1395.

[21] 西娜,侯连兵. 羟基喜树碱两性嵌段共聚物纳米粒的制备及性质[J]. 中药材,2009,32(4):604-607.

[22] Yu CH, Law JB, Suryana M, et al. Early integrin binding to Arg-Gly-Asp peptide activates actin polymerization and contractile movement that stimulates outward translocation[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2011,108(51):20585-20590.

[23] Marchini M, Mingozi M, Colombo R, et al. Cyclic RGD peptidomimetics containing bifunctional diketopiperazine scaffolds as new potent integrin ligands[J]. Chemistry,2012,18(20):6195-6207.

[24] 殷佩浩. RGD 修饰的蟾毒灵多级靶向纳米粒的制备及其治疗大肠癌的机制研究[D]. 上海:第二军医大学,2012.

(2015-02-02 收稿 责任编辑:洪志强)

(上接第 317 页)

[19] X. Y. Zhao, F. L. Du, Q. J. Zhu, et al. Effect of superfine pulverization on properties of Astragalus membranaceus powder[J]. Powder Technology,2010,203:620-625.

[20] 赵国巍,王春柳,曹运朝,等. 大黄细粉和超微粉的理化性质比较[J]. 中国医院药学杂志,2012,32(16):1452-1455.

[21] 邱新建,贺凤成,张则平,等. 五味子超微粉的含量及溶出度测定[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(2):67-70.

[22] 鞠爱华,周凯,张静,等. 蒙药大梔子普通粉与超微粉高效液相色谱指纹图谱的比较[J]. 中药材,2013,36(7):1072-1075.

[23] Yang Lianwei, Sun Peng, Gai Guosheng, et al. Physicochemical characterization of Baizhi particles by ultrafine pulverization[J]. Int. J.

Miner, Metall. Mater,2011,18:247-251.

[24] 周昕,谢瑞芳,周端,等. 小复方(生晒参、三七、麝香)普通粉与微粉的溶出度比较[J]. 中成药,2010,32(1):141-143.

[25] 张春风,李凯,杨中林. 川续断超微粉与普通粉中川续断皂苷 VI 溶出特性比较研究[J]. 中成药,2010,32(1):100-102.

[26] 王春柳,赵国巍,廖正根,等. 超微粉碎对七厘散稳定性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(9):1-5.

[27] 赵国巍,王春柳,廖正根,等. 超微粉碎对七厘散中羟基红花黄色素 A 的稳定性影响研究[J]. 中成药,2013,35(7):1427-1432.

(2015-02-02 收稿 责任编辑:洪志强)