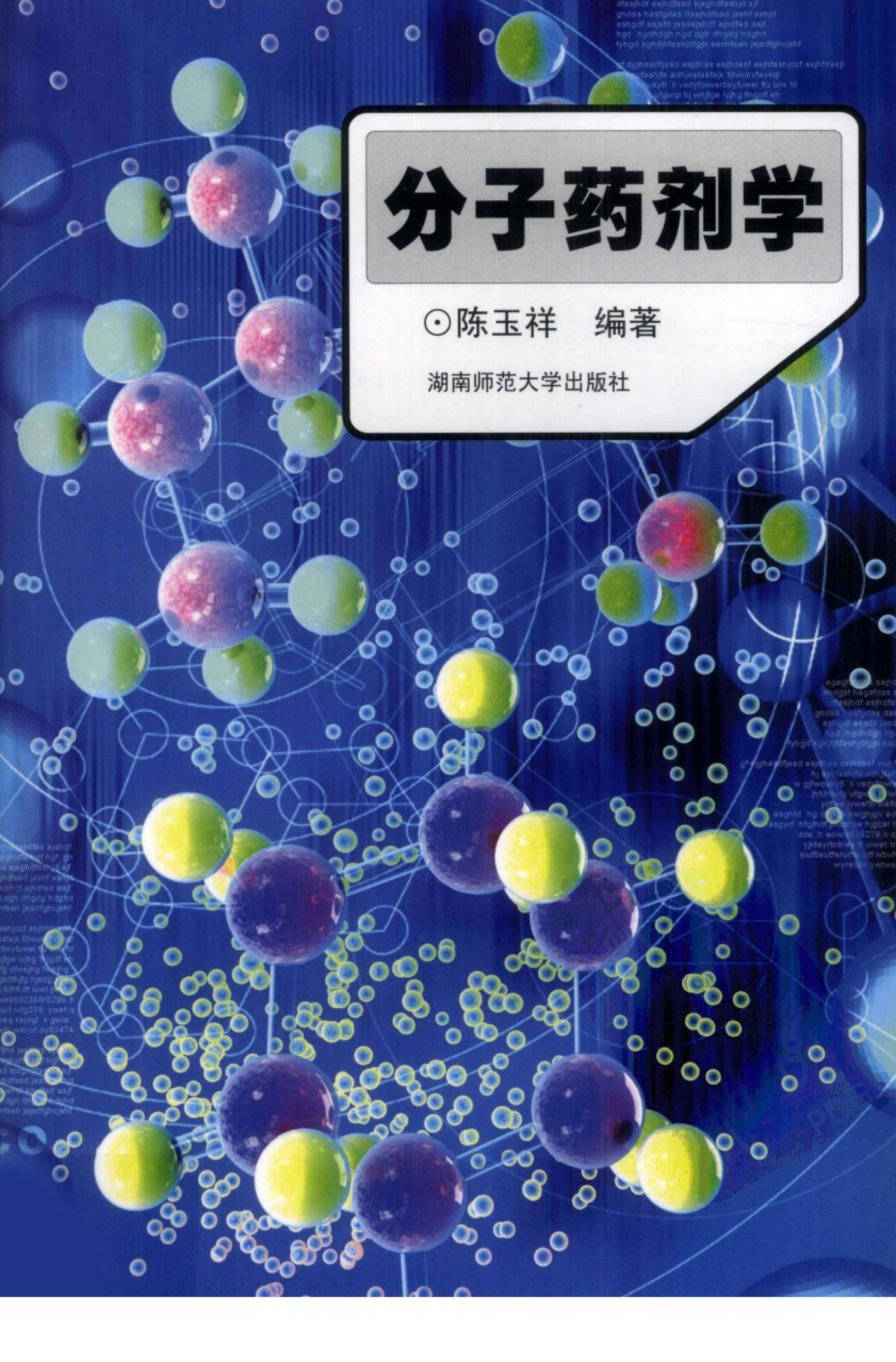


The background of the entire cover is a complex, abstract molecular structure. It features numerous spheres in various colors (green, purple, yellow, blue) connected by thin, light blue lines, creating a network that resembles a chemical or biological structure. The overall color palette is dominated by deep blues and purples, with the spheres providing vibrant highlights.

分子药剂学

◎陈玉祥 编著

湖南师范大学出版社



◎责任编辑√柳 丰
◎装帧设计√周基东

设计色彩
PDG

ISBN 978-7-5648-0114-4



9 787564 801144

序

随着科学理论与技术的迅猛发展和巨大突破,人类对生命本质及外部环境的理解越来越深刻,人们得以洞察微观世界,发现蕴藏在宏观现象中的奥秘,寻找解决重要科学问题的启示和方案,推进人类自身的进步。中南大学生命科学学院陈玉祥教授主编的《分子药剂学》反映了药剂学领域中这一新的研究趋势,药剂学从传统的制剂技术研究、经过物理药剂学、生物药剂学以及药物传输系统等的发展,进入了更加宽广和深邃的探索之旅。

分子药剂学从分子水平和细胞水平重新认识药剂学,从分子机理及细胞转运层面研究包含在药物制剂技术、物理药剂学、生物药剂学以及药物传输系统中的体内及体外现象、过程、规律或相互作用。其主要包括与药物及制剂相关的生命机体和生命现象的研究,剂型因素对药物分子作用的影响,药物传输系统的分子结构设计、修饰与体内过程的关系,根据分子结构预测药物的释放、吸收、靶向及其控制等。总而言之,分子药剂学将更多和更广泛地应用多学科取得的科学技术成就研究药物剂型和制剂、处方和工艺,构建新型的药物传输系统,发现将药物导入机体的最安全有效的方式,达到防病治病的目的。

陈玉祥教授编写的《分子药剂学》综合国内外在该领域的主要成就与进展,从8个方面的12个专题介绍了分子药剂学的基本理论和主要科学实践,阐述了与基因治疗密切相关的基因结构、分离纯化、克隆、表达、基因药物及其毒性研究等理论与技术;从高分子科学的角度介绍了高分子纳米材料的开发、应用、多肽或蛋白类药物口服纳米给药系统,包括纳米制备、纳米乳、纳米药物的导入系统、靶向性载体的构建及基因载体等;从分子生物学和细胞生物学层面概括了药物分子与生物利用度的关系及对人体重要器官如肝、肾、胃、肠、脑肿瘤的分子靶向制剂的设计和应用;从化学及生物学等方面介绍了生物分子药物设计、计算机辅助药物设计、

高分子药物等。全书内容丰富，理论与技术结合，相信从事药剂学教学和科研的专业人员、高等医药学院的研究生和本科生、从事基因治疗和药物传输的各领域研究人员以及临床医生都可从本书中得到启示和借鉴，更广泛的读者群可以从本书了解到现代药剂学发展的概貌。

分子药剂学是一个新兴的研究领域，是紧密围绕发展剂型与制剂的宗旨，将药剂学与分子生物学、细胞生物学、分子医学、化学生物学、高分子科学等学科结合的边缘领域，存在着大量有待研究的科学问题，自然也存在着大量的技术难题。本书的出版是一个良好的开端，借助于各交叉学科的迅速发展，在分子水平和各个方向上开展对剂型及制剂的系统研究和深入研究，必将不断完善分子药剂学的体系和内容，使之成为一门有现代科学特色的药剂学分支学科。

中国药科大学药剂学教授 平其能

2009年3月2日于南京

平其能
PDG

目 录

第一章 总论	(1)
一、分子药剂学的概念	(1)
二、分子药剂学研究的内容	(1)
三、学习分子药剂学的目的与任务	(5)
四、分子药剂学现状及其发展趋势	(5)
第二章 药物分子载体	(8)
第一节 纳米粒子流动	(9)
一、简介	(9)
二、纳米粒子流动的研究	(11)
三、结语	(18)
第二节 胶束给药系统	(18)
一、定义与特性	(18)
二、聚合物胶束	(20)
三、胶束的载药	(21)
四、靶向和刺激敏感性胶束	(21)
五、结语	(22)
第三节 脂质体给药系统	(23)
一、定义与特性	(23)
二、制备材料	(25)
三、脂质体的制法	(26)
四、脂质体的作用特点	(26)
五、新型脂质体	(28)
六、结语	(30)
第四节 脂蛋白药物载体	(31)
一、简介	(31)
二、结构与分类	(32)
三、结语	(35)
第五节 纳米粒给药系统	(35)
一、定义与特性	(35)
二、材料	(36)

三、制备方法	(38)
四、结语	(38)
第六节 细胞和细胞壳	(38)
一、简介	(38)
二、细菌外壳	(39)
三、血影	(41)
四、干细胞	(43)
五、多形核白细胞	(44)
六、凋亡细胞	(44)
七、肿瘤细胞	(44)
八、树状突细胞	(44)
九、结语	(44)
第七节 固体脂质纳米粒	(45)
一、简介	(45)
二、SLN 作为药物载体	(45)
三、SLN 的制备方法	(47)
四、SLN 的表面修饰	(48)
五、SLN 的理化性质分析	(49)
六、SLN 的给药途径	(49)
七、SLN 的载药及释放	(49)
八、结语	(50)
第八节 树状大分子药物载体	(51)
一、定义与特性	(51)
二、研究进展	(51)
三、树状大分子载药方式	(52)
四、树状大分子作为药物载体的应用	(53)
五、结语	(55)
第九节 螺旋体药物载体	(55)
一、简介	(55)
二、结构	(55)
三、螺旋体制备	(56)
四、螺旋体可作为抗真菌剂和两性霉素 B 的口服传送载体	(58)
五、螺旋体的其他应用	(59)
六、其他用处	(60)
七、结语	(60)
第十节 DQAsome 载药系统	(60)
一、简介	(60)
二、双丙烯酰胺喹啉铵衍生物的自组装行为	(61)

三、结语	(68)
第三章 分子靶向制剂	(72)
第一节 概述	(72)
一、靶向制剂的分类	(72)
二、靶向性的评价	(73)
三、理想的靶向制剂应具备以下特性	(73)
四、分子靶向策略的研究进展	(73)
第二节 分子靶向给药剂型	(74)
一、乳剂	(74)
二、毫微胶囊	(75)
三、脂质体	(75)
四、透明质酸	(78)
五、生物黏附制剂	(80)
六、靶向端粒酶	(81)
七、纳米制剂	(83)
八、磁性靶向制剂	(87)
九、其他靶向制剂	(89)
第三节 肿瘤分子靶向治疗策略	(91)
一、寻找新的分子靶点	(91)
二、分子靶向治疗前的寻靶工作	(92)
三、分子靶向治疗药物最鲜明的特点	(92)
四、分子靶向治疗有待解决的问题	(92)
第四章 高分子药物	(96)
第一节 有药理活性的高分子聚合物	(97)
第二节 高分子络合物药物	(98)
第三节 高分子微胶囊药物	(98)
一、微胶囊和药物微胶囊的基本概念	(98)
二、用作药物微胶囊膜的高分子材料	(99)
三、药物微胶囊的制备方法	(100)
四、药物微胶囊的应用	(100)
第四节 高分子载体药物	(101)
一、机理	(102)
二、接枝方法	(103)
三、分类	(104)
第五节 结语	(106)
第五章 蛋白质及多肽药物的制剂	(109)
第一节 蛋白质及多肽药物的传统处方	(109)
第二节 蛋白质及多肽新型给药系统	(111)

一、埋植剂型	(111)
二、新型注射给药制剂	(112)
三、非注射给药	(117)
第六章 药用高分子材料	(127)
第一节 药用高分子材料概论	(127)
一、药用高分子材料概念	(127)
二、药用高分子材料的基本要求	(127)
三、药用高分子材料的分类	(128)
第二节 药理活性高分子材料	(129)
一、天然的高分子药物	(129)
二、合成高分子药物	(133)
第三节 天然高分子材料	(134)
一、壳聚糖及其衍生物	(134)
二、海藻酸钠与海藻酸钙	(135)
三、纤维素及其衍生物	(135)
四、阿拉伯胶	(136)
五、胶原和明胶	(137)
六、白蛋白	(137)
七、丝蛋白原	(138)
第四节 合成药用高分子材料	(138)
一、聚乙烯醇及其衍生物	(138)
二、聚乙烯基吡咯烷酮及其衍生物	(140)
三、聚乳酸类聚合物	(142)
四、聚乙二醇及其衍生物	(143)
五、乙烯共聚物	(145)
六、丙烯酸类均聚物和共聚物	(147)
第五节 常规医药包装用高分子材料	(148)
一、塑料及其复合材料	(149)
二、橡胶	(153)
三、纤维素	(153)
第六节 高分子材料在中药中的应用	(154)
一、高分子材料在中药分离纯化中的应用	(154)
二、高分子材料在中药制剂中的应用	(156)
三、高分子材料在中药中的应用前景	(157)
第七节 药用高分子材料的发展趋势和展望	(158)
一、药用高分子应用现状	(158)
二、药用高分子材料发展趋势	(158)
三、药用高分子材料应用发展前景	(159)

第七章 生物分子药物的合成	(164)
第一节 蛋白质类药物合成方法	(164)
一、化学法合成蛋白质类药物	(165)
二、化学-生物法合成蛋白质类药物	(166)
三、利用 (His) ₆ 标识辅助的蛋白类药物合成	(166)
四、蛋白质内含子介导法合成蛋白质类药物	(168)
第二节 环肽类药物的合成	(169)
一、活泼酯法	(170)
二、迭氮法	(170)
三、固相法合成环肽	(170)
四、酶法合成环肽	(171)
五、合成环肽的其他方法	(171)
第三节 基因药物的制备	(172)
一、基因转移的物理方法	(172)
二、基因转移的化学方法	(174)
三、基因治疗载体	(174)
第八章 生物利用度与药物结构的关系	(179)
第一节 药物的生物利用度	(179)
第二节 生物利用度的影响因素	(180)
一、药物的溶解度	(180)
二、药物的稳定性	(184)
三、药物的膜通透性——胃肠道黏膜转运	(185)
四、药物的首过代谢	(188)
第三节 药物吸收和转运的模型	(189)
一、结构与功能决定其应用价值	(189)
二、研究药物吸收和转运的标准工具	(190)
三、拓展药物小肠代谢研究	(190)
第四节 生物利用度的研究	(191)
一、生物利用度的研究方法	(191)
二、生物利用度的评估	(191)
三、生物利用度研究的新进展	(192)
第五节 药物结构与生物利用度	(193)
一、前药的定义	(193)
二、前药的设计与应用	(194)
三、前体设计思想	(197)
第九章 计算机辅助药物设计	(200)
第一节 计算机辅助药物设计的一般方法	(200)
一、直接药物设计方法	(201)

二、间接药物设计方法	(202)
第二节 基于多维定量构效关系的各种 MD QSAR 模型化方法	(204)
一、2D QSAR 模型化方法	(204)
二、3D QSAR 模型化方法	(205)
三、4D QSAR 模型化方法	(208)
四、5D QSAR 模型化方法	(209)
第三节 基于配体-受体理论的 CADD 方法及应用	(210)
第四节 计算机辅助 RNA 药物设计	(214)
第五节 生物信息学在药物设计中的应用	(218)
第六节 CADD 技术在中药现代化中的应用	(222)
总结	(228)

第一章 总论

科学技术的飞速发展,带来的是知识不断地向深度和广度发展。药剂学的各个研究领域也越来越系统化、明朗化,逐渐形成了一系列分支学科,包括“工业药剂学”(Industrial Pharmacy),“生物药剂学”(Biopharmacy),“药物动力学”(Pharmacokinetics),“物理药剂学”(Physical Pharmaceutics),“药用高分子材料学”(Polymer Science in Pharmaceutics),“临床药剂学”(Clinical Pharmacy),“中药药剂”(Pharmacy in Chinese Medicine)等。近年来,生命科学发展十分迅速,成为了21世纪的领头学科,随着生命科学中各分支学科如分子生物学、细胞生物学、蛋白组学、基因组学、免疫学的发展和渗透,形成许多边缘学科,药剂学也不例外。药剂学从过去的经验探索阶段进入了科学研究阶段,同时药剂学研究领域不断向分子水平发展,形成了一个全新的学科——分子药剂学(Molecular Pharmaceutics)。

一、分子药剂学的概念

分子药剂学(Molecular Pharmaceutics)主要是综合应用化学和生物科学来促进新药研究和药物传递系统开发的一门学科。它从分子水平和细胞水平重新认识药剂学,发现并了解剂型的性质和制剂工艺的分子原因。分子药剂学从分子机理及细胞转运层面研究包含在药物制剂技术、物理药剂学、生物药剂学以及药物传输系统中的体内及体外现象、过程、规律或相互作用。因此,它远远超越工艺范围,除论及制备方法外,分子药剂学还与物质的结构及性能相关。它主要包括与药物及制剂相关的生命机体和生命现象的研究,剂型因素对药物分子作用的影响,药物传输系统的分子结构设计、修饰与体内过程的关系,根据分子结构预测药物的释放、吸收、靶向及其控制等。总而言之,分子药剂学将更多和更广泛地应用多学科取得的科学技术成就研究药物剂型和制剂、处方和工艺,构建新型的药物传输系统,发现将药物导入机体的最安全有效的方式,从而达到防病治病的目的。

二、分子药剂学研究的内容

分子药剂学是药剂学科的一门重要分支,是药学理论与实践联系的重要桥梁学科,也是一门涉及多学科的应用技术学科。分子药剂学既具有相当的理论深度,又具有很强的实践性和现实性,与其他药学专业课程相比,具有理论先进、实践性强、应用面广、多学科交叉的特点。

分子药剂学是紧密围绕发展剂型与制剂的宗旨,目前主要研究内容包括:近年来发展的几个新领域,如纳米制备、纳米乳、纳米药物的导入系统、靶向性载体的

构建、计算机辅助药物设计及基因治疗；某些器官系统的分子靶向制剂，如肝、肾、胃、肠、脑肿瘤分子靶向制剂；高分子材料的开发和高分子纳米材料的应用，如多肽或蛋白类药物口服纳米给药系统及新兴的细胞、细胞核给药系统；基因的基本结构及基因克隆方面的内容，如基因药物的毒性研究、活性检测、质量评价以及生物利用度与药物结构的关系，基因的提取分离纯化、基因的克隆、基因的表达与鉴定等。

《分子药剂学》这本教材作为国内首版关于分子药物技术的综合教材，从八个章节系统介绍了分子药剂学领域的相关理论知识、国内外最新进展与研究成果，归纳起来包括以下几方面：

1. 药物分子载体

由于新陈代谢和降解等作用使普通药物作用于病变部位的浓度过小，口服、注射给药时水相的药物溶解度低等因素，影响了药物在靶点部位发挥的作用。解决这类问题的方法就是开发合适的药物载体，使药物发挥作用不再仅仅依靠药物本身的性质，而是通过载体改变药物在体内的分布并将药物输送到靶器官。

该章系统归纳了在生物学或医学应用中的分子药物给药载体的特性和种类。分子药物载体种类繁多，大致可归纳为以下几类：（1）微球和微囊载药系统；（2）胶体载药系统的四种典型胶束体系：① 胶束，② 脂质体，③ 纳米乳，④ 纳米粒。本章重点介绍了纳米级载体，另外还详细介绍了固体脂质纳米粒（SLN）、细胞和影细胞载药系统、树状大分子、螺旋体（Cochleates）、DQAsome 等新型载药系统的研究及应用状况。

2. 分子靶向制剂

靶向药物释放系统（Targeting Drug Delivery System, TDDS）是指药物通过局部或全身血液循环而浓集定位于靶组织、靶器官、靶细胞而对非靶器官、组织和细胞影响很小的一类药物运载系统的总称。通过选择适宜给药途径，能以准确的给药剂量、方便的给药形式作用于患者，从而提高临床用药的有效性、安全性和顺从性，避免传统药物和制剂在临床应用中多存在的体内清除率高（药物有效性低）、毒副作用（药物安全性低）和需频繁用药以维持药效（患者顺从性低）等问题。

该章主要介绍了靶向制剂的分类、靶向性的评价、理想靶向制剂应具备的特性以及分子靶向策略的研究进展；重点讲述了分子靶向制剂的给药剂型的几种常见类型：① 乳剂，② 毫微胶囊，③ 脂质体，④ 透明质酸，⑤ 生物黏附制剂，⑥ 靶向端粒酶，⑦ 纳米制剂，⑧ 磁性靶向制剂，⑨ 其他一些靶向制剂如动脉栓塞制剂、导弹制剂、微球制剂、前体药物制剂等。此外书中还介绍了肿瘤分子靶向的治疗策略、寻靶工作，肿瘤分子靶向治疗药物最鲜明的特点以及有待解决的问题等方面的相关内容。

3. 高分子药物

在药物制剂领域中，高分子材料的应用具有悠久的历史。人类从远古时代在谋求生存和与疾病斗争的过程中，广泛地利用天然高分子材料，如淀粉、胶质等。随着合成高分子材料的大量涌现，改性的高分子材料或合成的高分子材料在药物制剂

中作为辅料可以改善和提高药物的稳定性、渗透性、成膜性、黏着性、润湿性、溶解性以及生物相容性等。近来高分子材料应用相当广泛,药用辅料、药剂包装、医疗材料、医疗仪器等各方面都大量使用高分子材料。

该章介绍了有药理活性的高分子聚合物,重点介绍了高分子微胶囊药物的相关知识,如:微胶囊和药物微胶囊的基本概念;用作药物微胶囊膜的高分子材料;药物微胶囊的制备方法及应用。书中还详细讲述了高分子载体药物分类、作用机理及接枝方法的相关知识。

4. 蛋白质及多肽药物的制剂

由于蛋白质及多肽性质独特,结构复杂,分子量高,高度纯化,热不稳定,并且容易聚集,聚集后更加不稳定,现阶段临床上主要应用注射剂,一类是溶液型注射液,另一类为冻干粉注射液。溶液型注射液通过加入一系列的稳定剂来稳定蛋白质。本章介绍了蛋白质及多肽药物制剂的传统处方中常用的保护剂,主要分为如下几类物质:①糖类和多元醇,如蔗糖、海藻糖、甘露醇、乳糖、葡萄糖、麦芽糖等;②聚合物,如白蛋白、右旋糖酐等;③表面活性剂吐温 80 等。此外盐,如磷酸盐、醋酸盐、柠檬酸盐等;无水溶剂,如乙二醇、甘油、DMSO、DMF 也是冻干保护剂。

目前蛋白质及多肽药物的剂型基本是冻干制剂,但是还是存在半衰期短、需要长期频繁注射给药等问题。因此,各国学者都希望研究出合理的给药途径和新型制剂。主要从两个方面切入:①开发长效缓释、控释的注射剂型和埋植剂;②开发非注射给药途径,如黏膜给药、口服给药、透皮给药等。该章重点介绍的蛋白质及多肽新型给药系统包括:埋植制剂、新型注射给药制剂、非注射给药等。

5. 药用高分子材料

药用高分子材料学(Polymer Science in Pharmaceutics)主要研究各种药用高分子材料的合成、结构和性能,该学科吸收高分子物理、高分子化学和聚合物工艺学的有关内容,为新剂型设计和新剂型处方提供新型高分子材料和新方法。在聚合物原理和特性以及各种人工合成的和天然的功能性聚合物的结构、性能和应用等方面,在创造新剂型、新制剂和提高制剂质量等方面,药用高分子材料都起着重要的支持和推动作用。

该章介绍了药用高分子材料的相关概念、基本要求及其分类;具有药理活性的高分子材料;几种天然高分子材料及其衍生物;几种常用和新型高分子合成材料。常规医药包装用高分子材料如:塑料及其复合材料、橡胶、纤维素;高分子材料在中药中的应用如:高分子材料在中药分离纯化中的应用、高分子材料在中药制剂中的应用、高分子材料在中药中的应用前景;同时书中还系统介绍了药用高分子应用现状、发展趋势和发展前景。

6. 生物分子药物的合成

随着生命科学的发展,向生命学习,了解生命活动的本质与机理,是未来科学技术的发展重点之一,也将为今后科学技术的发展提供崭新的思想与途径,同时也把药剂学的发展推向了一个崭新的里程碑。生物分子药物包括多肽、蛋白质、基因

等,目前主要用于治疗肿瘤、艾滋病、心脑血管病等重大疾病。生物分子药物的主要优点是,对反应物的选择性及作用具有其他药物无法比拟的高效性;大部分生物分子药物,如酶类或基因药物等均具有可反复作用的药物活性;大部分生物分子药物易于用生化方法大量生产;生物分子药物一般均具有高水溶性,因此易于制备成各型液态药剂。

该章介绍了几种蛋白质类药物合成方法,包括:化学法合成蛋白质类药物;化学-生物法合成蛋白质类药物;利用(His)₆标识辅助的蛋白类药物合成;蛋白质内含子介导合成蛋白质类药物。环肽类药物的合成则主要有活泼酯法、迭氮法、固相法合成环肽、酶法合成环肽以及合成环肽的其他方法。本章还详细介绍了基因药物的制备方法,主要有基因转移的物理方法、基因转移的化学方法、基因治疗载体三种。基因转移的物理方法主要有:电穿孔法(Electroporation)、显微注射法(Micro-injection)、颗粒轰击法(Particle Bombardment)及超声波法。基因转移的化学方法包括:磷酸钙共沉淀法、DEAE-葡聚糖转染法以及脂质体转染法等。基因治疗载体有:①基因治疗的病毒载体,②基因治疗的非病毒载体。

7. 生物利用度与药物结构的关系

生物利用度是指药物活性成分从制剂释放、吸收进入全身循环的程度和速度,一般分为绝对生物利用度和相对生物利用度。影响生物利用度的因素有很多,其中生物药剂学性质(药物的溶解性、稳定性、膜通透性和首过作用等)是影响药物口服后经胃肠道吸收的主要因素。

大多数药物都是随机分布全身,所以到达作用部位的药量就会相对减少,生物利用率低。为使作用部位达到有效剂量,并且没有严重的全身副作用,药物必须拥有特定的物理化学性质,使其能有效地渗透各种生物膜(即具有一定的生物利用度),避免被各种酶代谢失活,以及避免在体内蓄积过久而导致不必要的长时间持续作用,从而提高生物利用度。

该章主要介绍了:①生物利用度的影响因素,从药物溶解度、药物稳定性、药物通透性等方面综合考虑药物结构与生物利用度的关系;②药物的首过代谢,通过对其首过效应和代谢物的动力学进行研究阐述候选药物的吸收机制和前首过代谢效应;③药物吸收和转运的模型,从药物吸收和转运的工具、结构与功能决定应用价值、拓展药物小肠代谢研究等方面综合考虑提高生物利用度的药物吸收和转运模型;④生物利用度的研究,从生物利用度的研究方法、生物利用度的评估和生物利用度的新进展等多方面综合进行生物利用度研究;⑤药物结构与生物利用度,从提高药物生物利用度出发系统阐述前提药物的研究。

8. 计算机辅助药物设计

计算机辅助药物设计(Computer-Aided Drug Design, CADD)是一门新兴的边缘学科,它以计算机为工具,充分利用有关药物及其生物大分子靶标的知识,通过理论模拟、计算和预测,来指导和辅助新型药物分子的设计和发现,以缩短药物的开发周期。

计算机辅助药物设计的出发点是基于对药物和受体间相互作用的理解和研究。根

据生物大分子（受体）的结构是否已知，计算机辅助药物设计有两种不同的策略——直接药物设计（基于结构的药物设计）和间接药物设计（基于受体的药物设计）。直接药物设计分为分子对接和全新药物设计两种方法，间接药物设计包括定量构效关系（QSAR）和三维药效基团模型方法。

该章从计算机辅助药物设计的一般方法出发，进一步阐述了基于多维定量构效关系（MD QSAR）的各种模型化方法、基于配体-受体理论的 CADD 方法的应用及研究进展，同时还详细介绍了计算机辅助 RNA 药物设计、生物信息学在药物设计中的应用、CADD 技术在中药现代化中的应用，全面地刻画了新时代计算机辅助用药的全新进展。

三、学习分子药剂学的目的与任务

虽然我国医药行业已取得明显的进步，但同时也应看到国内制药技术水平还较低，尤其是开发具有自主知识产权的新药、研制新品种方面与世界先进水平相比还有较大差距。因此，不断提高我国制剂水平的任务还相当繁重，特别体现在高素质药品制剂技术人才培养上。然而长期以来，针对药剂生产、科研技术方面的图书有限，不能满足药学相关科技人员了解新信息，掌握新技术、新设备的需要。为此，读者需要现代药剂学科领域的专著，对药剂学进行更加宽广和深邃的探索，以达到培养创新型技术人才的目的，分子药剂学正是适应这一形势发展的需要。我们应借助于各交叉学科的迅速发展，在分子水平和各个方向上开展对剂型及制剂的系统、深入研究，不断完善分子药剂学的体系和内容，为药剂学教学内容与课程体系的改革起到推动作用，使之成为一门有现代科学特色的药剂学分支学科。

“工欲善其事，必先利其器”，分子药剂学作为一门开放和交叉的学科，吸取当代科技的精华并与之相结合，是分子药剂学自身发展的必由之路。分子药剂学的目的是培养具备药剂学基本理论知识和基本实验技能，能在药物制剂及制剂技术相关的领域从事研究、开发、工艺设计、生产技术改进和质量控制等方面工作的高级科学技术人才。因此教育工作者在设计教学内容时，应突出分子药剂学的难点、重点和亮点，形成内容丰富、系统性较强的授课教程；重视基本剂型和基础理论的讲授，又紧跟前沿，引进国内外药剂学研究的新成果、新技术、新发展，注重经典内容与现代内容有机结合，及时介绍学科热点和最新进展；准确把握课程内容的基础性与先进性，开阔学生的视野；建立以综合性、设计性和研究型为主的实验教学新体系，着力培养学生的综合实践能力、创新意识和自主学习能力，为培养创新精神和创新能力打下思想基础，使医学成员能主动从学科的交叉合作出发寻找并占领药剂学前沿的制高点。

四、分子药剂学现状及其发展趋势

1. 分子药剂学的发展现状

分子药物早在 20 世纪七八十年代就已广泛运用于药剂学领域。然而分子药剂学作为新兴学科的确立是在近几年的事情，分子药剂学最引人注目的影响，源于细胞分子、蛋白组学、基因组学、免疫学、肿瘤学以及神经学这些全新领域和技术的渗

透,使之正在以日益增长的速度扩大原有药剂学的研究范畴。

有关最新药物研发的新方法和技术方面的问题,在2008年的美国蒙大拿州第三十届 Gordon 生物医学药物载体研究会议上也有报道。该会议涉及特殊药物的释放装置、新的运载工具、生物靶向干扰制剂以及监控药物有效性和非目标毒性等方面的先进技术。这些技术如外援性 DNA、人体芯片等,很多都可以用于治疗癌症、神经衰退、神经紊乱、自身免疫下降、糖尿病和心血管疾病等。此外,这些新型运载系统和技术可以减少药物不良反应从而提高药物有效性。目前,一些试验成功的药物正广泛用于临床实验中或者已获得美国食品药品监督管理局批准出售。

随着科学技术的进步、社会的变革、社会物质财富的丰富,人们的观念发生了巨大的变化,人们对医疗保健的重视日益提高,人们渴望高质量的生活。由于全球气候变暖、环境恶化等因素的影响,疾病谱发生了改变,难治病、烈性传染病、肿瘤、心脑血管疾病、分子病等严重威胁着人们的生命财产安全。如果我们只注重普通制剂的学习就不能适应医药行业快速发展的需求,不能达到“防病治人”的目的。对新剂型、新技术的掌握势在必行,新剂型和新制剂的研究成为现代药剂学的核心内容,新药研发水平成为药剂学科水平及一个国家制药行业综合实力的整体反映。运用现代分子生物学技术开展分子药剂学的研究有助于研发新药,开辟新的给药途径,提高治疗效果,减轻毒副反应,提高我国制剂水平。学习分子药剂学对于提高我国的制剂水平、创制新药、赶超国际水平、造福人类很有必要。

2. 分子药剂学的发展趋势

利用一些高分子材料可以吸取药物分子,并且在一定的时间内缓慢释放,使可控药剂成为现实。利用基因药物,能及早发现癌细胞,能为药物在体内输送提供新的方式和路线,引发诊断学和治疗学的革命;将外源性 DNA 运载到细胞内,可以修补异常基因;将包裹有纳米粒子的智能药物注入到血液中,输送到病灶细胞,为药物传输开辟了一条崭新的途径,也极大地增强了药物治疗的效力。通过对纳米结构进行控制,还可以制备出与生物兼容的高性能材料,从而带来新一代的医疗修复术和植入物。同时随着探测纳米世界的新的分析工具的发展,使我们表征细胞的化学和力学特性以及测量单个分子的特性趋于可能。因此,研究分子技术在生命医学上的应用,可以在分子细胞的尺度上了解生命大分子的精细结构及其功能的关系,从而获取生命信息。

分子药剂学的发展意味着,在特定的条件下,我们可以考虑的新药物制剂及治疗方法将比以往任何时候都多,如细胞分子药物、纳米制剂、基因药物(其中包括使用受体、配体、原癌基因、抑癌基因的产品)、芯片制剂,这些都可以通过分子药剂这一领域达到。现代药剂学的科学和技术时代,在今天很大程度上通过分子药剂学来实现,这个全新的使命将会是未来药物研究发展的重要驱动力,我们期待在未来的制剂研究中出现更多的奇迹。

试想在未来的时代,人们将可以传输多个原子,直到物质、物体,包括传输人体,那么在生命医学领域,传输包括细胞分子在内的人体物质到人体组织、器官也只是个时间问题。这样,通过与物质传输系统相结合,人类有希望可以将远程检查

出来的需要操作的器官、组织甚至其中的需要清除或改变的病毒传输出去，进行远程操作直接去除，或再按需要传输回体内，如此，所有“坏”的物质将被处理掉，只留下适合人生存的体内环境和细菌、微生物世界。可以预知，被誉为“21 世纪的外科手术”的分子手术，将可以通过远程进行。同时，在基于纳米技术的物质改变与智能、自动、虚拟现实技术的结合下，医生只要操纵机器或键盘就能完成病毒清理甚至将其转变成别的物质。

表面上看，由于分子药剂学的发展，一切都将臻于至善，但历史告诉人们，人类在一个地方得到，必然在另一个地方失去。在自动化、微观层次操纵物质的医学时代，分子药物和纳米技术还可用来开发生物恐怖主义制剂，提出了新的恐怖袭击的可能性，分子恐怖主义制剂的形式将是前所未有的、难以想象的。从这个意义上说，新的技术给人类生命物质层次的医学带来福音的同时也将给精神生命带来新的未知的陷阱，而精神领域的诸多问题又必然影响物质生命，产生新的也许更难以解决的医学难题。如何更好地利用分子药剂——这一崭新学科中的先进技术，造福人类，这将是新的医学带给我们的巨大挑战。

新学网
PDG

第二章 药物分子载体

由于新陈代谢和降解等作用使普通药物作用于病变部位的浓度过小、注射给药时水相的药物溶解度低等因素，影响了药物在靶点部位发挥的作用。解决这类问题的方法就是开发合适的药物载体，使药物发挥的作用不再仅仅依靠药物本身的性质，而是通过载体改变药物在体内的分布并将药物输送到靶器官。

近年来，各种新型的药物递送系统不断涌现，比如合成性聚合物、微囊、细胞壳、脂蛋白、脂质体、胶束、类脂囊泡以及脂质微粒等。它们可以尽量减少药物在达到作用部位前提前降解，降低具有细胞毒性的药物对正常细胞、器官或组织的损害；同时提高药物的生物利用度，增加药物在病变区域的聚集。其中的一部分目前已投入应用，有的还处于研发阶段。为进一步提高它们对药物的投送能力，可将这些药物载体制备成缓慢生物降解、对特定外界条件刺激敏感（例如 pH 敏感或温度敏感）或具有靶向性（例如通过与特异亲和性配体相结合，从而将药物靶向到具有某种特质的病变区域分子上）。同时，理想的药物载体应能够在血液中停留足够长的时间，因为长循环能力可使药物浓度在体内长时间均衡地保持在有效的治疗水平以上，以实现药物投送系统在较长时间内的有效缓释能力。另外，长循环性大分子药物或微粒载药系统，还能缓慢地在感染和渗漏性的血管病变部位（比如肿瘤、炎症和梗死区域）逐渐聚集，其机制主要是通过增强渗透和驻留（EPR）效应来实现。同时，这种长循环特性，还能使特异性配体修饰的药物具有更好的靶向效果，因为它提高了药物载体系统通过靶向区域的总量，增加了药物与靶点相互结合的概率。

归纳起来，一种理想的药物载体系统应具有以下特性：能够携带多种化学药物；能够携带足量药物使靶部位药物浓度达到治疗浓度；在靶位点，载体释放活性药物的释放率必须能控制且预测；经体外包装过的药物在靶位点释放，仍应具有足够的生物活性；具有在靶位点定位的能力；有足够的循环半衰期，以确保到达靶部位；载体或其生物学降解产物应能被体内清除；抗原性、致热源性小，不易形成血栓；有效期长，便于储存。

分子药物载体种类繁多，按照粒径大小，在生物学或医学中的应用大致可归纳为以下几类：

1. 微球和微囊载药系统

粒径在 $1 \sim 250 \mu\text{m}$ ，其制备材料如下：

① 天然高分子材料：明胶、阿拉伯胶、海藻酸盐、壳聚糖、蛋白类、淀粉与葡聚糖；

② 半合成高分子材料：多为纤维素衍生物；

③ 合成高分子材料：生物降解的如聚酯、聚合酸酐、聚氨基酸、聚乳酸-聚乙二醇嵌段共聚物、羧甲基葡聚糖等；

④ 细胞载体：如红细胞、白细胞、肝细胞等。

2. 胶体载药系统

粒径在 10 ~ 1 000 nm，特别是 500 nm 以下的胶体体系。包括如下：

① 胶束：10 ~ 50 nm，目前制备主要使用两亲性嵌段共聚物，构成其亲水区的材料是聚乙二醇（PEG）、聚氧乙烯（PEO），构成疏水区的主要是聚氧丙烯、聚苯乙烯、聚氨基酸、聚乳酸、精胺、短链磷脂等。

② 脂质体：小于 100 nm 为小单室脂质体，100 ~ 1 000 nm 为大单室脂质体，1 ~ 5 μm 为多室脂质体。现已开发出多种新型脂质体。

③ 纳米乳：10 ~ 100 nm，亚微乳在 100 ~ 1 000 nm 之间，两者合称微乳。制备材料需要乳化剂、助乳剂、油和水。本书将重点介绍其中的脂蛋白类型。

④ 纳米粒：10 ~ 100 nm，亚微粒在 100 ~ 1000 nm 之间，制备材料除天然、半合成、合成材料（同前）之外，还有以下材料特别适用：聚酯类、聚氰基丙烯酸烷酯、聚氨基酸类、两亲性嵌段共聚物、离子型嵌段共聚物。

另外，按照基材类型，分子药物载体可以分为有机载体和无机载体。绝大多数是有机载体；无机载体有硅颗粒、磷酸钙、氧化钛和碳酸钙等纳米级载体^[1-4]。

本章将重点介绍纳米级有机载体，另外还将详细介绍固体脂质纳米粒（SLN）、树状大分子、螺旋体（Cochleates）和 DQAsome 等新型载药系统的研究及应用状况。

第一节 纳米粒子流动

一、简介

在体内研究纳米粒子流动并非易事，甚至可以说困难重重，但随着许多理论和实用技术的发展，纳米粒子流动的神秘面纱逐渐被解开。目前人们已经知道了纳米粒子流动的部分生物学特性和相应的介导途径。其主要介导途径包括：① 血液、淋巴或胞间液的流动所导致的传送流；② 纳米粒子之间或粒子与体内物质之间的作用导致的纳米粒子传送；③ 流体流动所产生的剪切力在粒子与受体接触或脱离时所产生的作用^[1]。同时粒子在复杂媒介如组织间质中的扩散和悬浮等运动也对粒子流动本身产生影响。

目前的理论尚不能完全解释纳米粒子流动复杂的生物学特性，本文就目前已知的信息结合相应的细菌、红血球和血小板等的动态行为，对与纳米粒子流动药物载体相关的多种因素作了严谨细致的分析，以现象学观点分别讨论了纳米粒子在毛细血管、淋巴管、肿瘤血管、细胞质中的流动和外渗。粒子直径是其悬浮特性和行为的一个关键因素，纳米粒子与微粒相比更小，使得其与细胞作用更有效、导入更安

全，因而可作为药物、疫苗和基因传送的有效载体。

对于微球颗粒，直径越大，越易受剪应力影响而脱吸附；纳米粒子的优点是直径小，因而受剪应力的影响相对较小。

本节讨论纳米粒子在体内流动条件下的粒子流动行为，这种行为经常被化学工程师或物理学家在体外条件下模拟体内环境来研究。球状微粒很常见，但并非所有纳米粒子都是球状，经常有非对称粒子存在。虽然对非对称微粒悬浮的流变特性已了解甚久，但非对称特性对粒子在体内传送的影响依然不明确。微粒流体设备的设计和操作、药物传送和定位、毒理学等都必须考虑纳米颗粒在狭窄毛细血管复杂网络中的流动行为，这里我们仅讨论它与药物的传送和靶向定位。图 2-1 将显示相关区域。

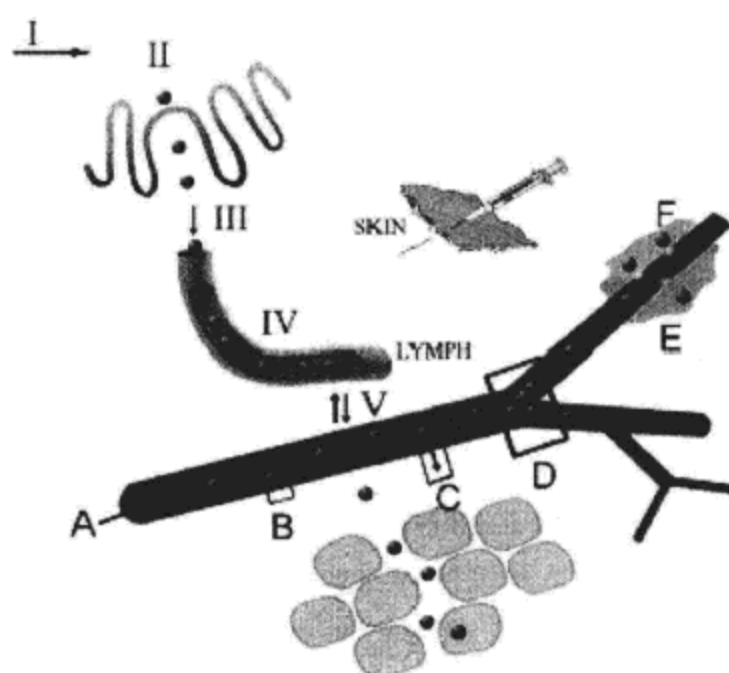


图 2-1 纳米颗粒流动运输区域图

I: 口服后在胃肠道流动; II: 到达并附着到派伊尔（氏）斑的 M 细胞或肠囊肿区; III: 到肠系膜淋巴的通道; IV: 在淋巴管中流动并被淋巴结截留（未显示）; V: 在淋巴和血液中运输。A: 血流; B: 附着到毛细血管壁; C: 外渗到组织中; D: 流动并沉积到血管的分叉处; E: 移动到肿瘤。每一路线（皮下路线也显示）包括纳米流动的复杂路线，主要包括淋巴、血液和肠液（Torchilin. Nanoparticulates As Drug Carriers, 2006）。

从物理学角度来看，须考虑以下情况：① 快速流动血液中的微粒流，包括微粒的分离和沉淀、毛细血管分叉处的粒子行为；② 不同大小和形状的微粒黏附的剪应力影响；③ 相对静态条件下的粒子流动，如肿瘤间质或淋巴管；④ 组织内的粒子流动，包括狭窄毛孔内粒子流动；⑤ 非均质性细胞内部条件下粒子的流动和扩散。一些生物依附性或配基修饰性物质的参与，使得流动更加复杂化。当有配基修饰性物质参与时，结合和流动往往相互偶联。

本文主要讨论以下几个方面的问题：纳米粒子大小特性决定的流动载体和药物定位功能；血液或淋巴流的影响；流体力学对纳米粒子与目标组织和受体作用的影响；被吸收后穿过细胞和组织靶向定位时的纳米粒子的运动等。

利用纳米粒子流给药几乎涉及到所有途径，甚至是口服，因为在肠腔的绒毛与微绒毛中，纳米粒子流动性也很好。小于一定大小的微粒能被派伊尔（氏）淋巴集结的 M 细胞和正常肠吸收细胞所吸纳携带，虽然数量并不多，但流动广泛，在淋巴管、淋巴结、血液、肝和脾中均有出现。如果因为在淋巴或血管中流动变慢导致纳米颗粒从吸收部位脱离受限制，这将抑制生物利用度，影响它的分布。快速流动提供一个很好的漏槽状态，并且可以解释体外实验使用反卷的肠囊和单层细胞会产生一个关于纳米颗粒转运的不实际的结果。流体动力学对纳米颗粒外渗、提高渗透力和停滞力（EPR）效应的影响可能尚未有很好的阐释。它们都应该考虑粒径和通过窄小通道的扩散和流动因素。末端纳米粒以树状大分子和量子点的形式被利用，这里利用度是理解纳米粒的命运、毒性或宽量程系统的积聚问题的一个极其重要的话题。

二、纳米粒子流动的研究

1. 对流和扩散

血流驱使着悬浮粒子的对流。扩散运输发生在静止或慢速流动的条件下。在流体内，对流动力学驱使着粒子流动的方向。但是在管壁，有因为粒子扩散导致沉积的可能性。在小动脉和小静脉里的血流速度（ $\text{mm} \cdot \text{s}^{-1}$ ）取决于血管的直径，如图 2-2 所示。在小静脉里，据 Jain 等研究发现最大速度约 $12 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$ ，在小动脉里是 $30 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$ 。

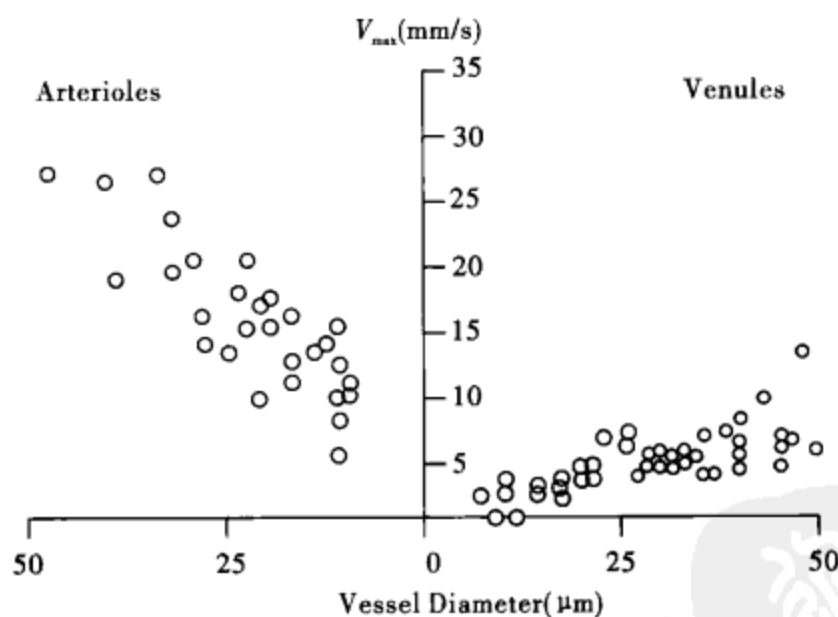


图 2-2 小动脉和小静脉的最大流速（ $\text{mm} \cdot \text{s}^{-1}$ ）（Jain R K. Control Rel, 2001）

液体的流速在管中不同直径处不是持久不变的^[2]，如图 2-3 所，当纳米颗粒和上皮细胞或毛细血管壁相互作用时这种特性必须考虑在内。

切应力的半径变化对多分散纳米颗粒系统以及纳米颗粒到哪里附着红细胞来说是一个必须考虑的因素，它将导致两个不同的尺寸分布。如果纳米颗粒附着到红细胞或其他血液成分，纳米颗粒的易位将会受附着物控制。混合颗粒的悬浮液的流变学是复杂的：随着大颗粒成分在悬浮液中的增加，黏滞性下降，以致成分的体积增大，这样黏滞性也会再增大。Ding 等构造了一个理论模型来检测纳米颗粒悬浮液流

经管道时颗粒的迁移情况。他提出了这种不均匀切应力流的三种机制：①切应力导致粒子迁移，使它们从切应力高的区域向低的区域流动；②黏度梯度导致迁移，粒子从黏度高的区域向低的区域流动；③自扩散导致布朗运动。

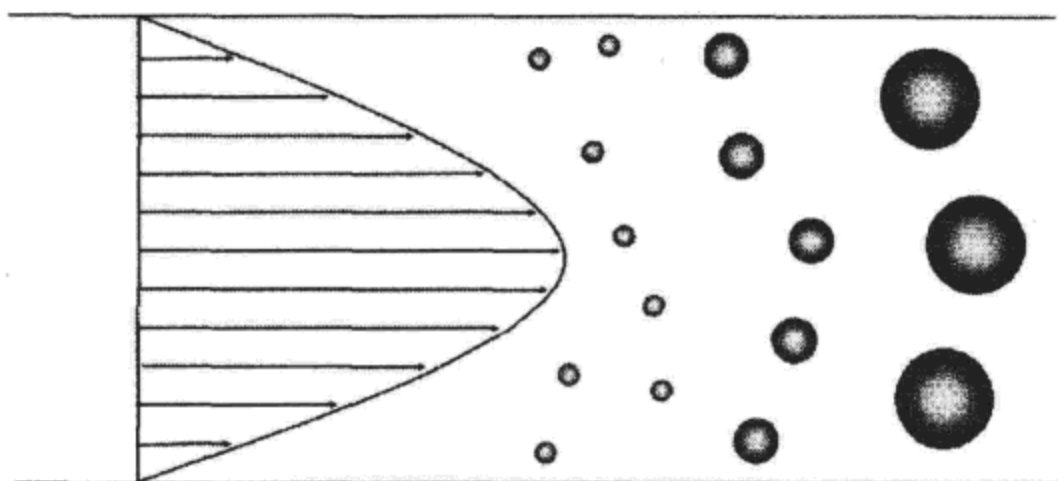


图 2-3 流体管里不同类型颗粒的速度图

不同尺寸的颗粒根据它们的直径被分离，大型颗粒不能接近毛细血管壁，它靠近中心有更快的层流 (Silebi and DosRamos, Coll Interf Sci, 1989)。这是场流分级法的基础。

我们研究了结合到微管素的紫杉醇在微管中的扩散情况。微管的流量尺度是 17 nm 级，如果要形成大分子尺径，将导致内壁和流动大分子的摩擦。这种阻碍也是纳米颗粒在最小毛细血管运动时应该考虑的一个因素。对于直径在 6 nm 左右的树状大分子，这种阻碍理论对它们的运动也适用。没有如此小半径的血管，但是主要的参数是粒子与毛细血管的直径的比例。这在细胞网络中也是很重要的。不仅毛细血管是粒子流动的场所，在外渗之后，它们也会在细胞网络中运动。这种途径与在多孔网络中的扩散相似。将移动的粒子或大分子结合到脉管的腔表面将会阻碍它的自流运动，这一理论将为特殊配基靶向修饰的系统打下很好的基础。通过使用能够改变正常脉管开放状态的生理因子如能使血管收缩的去甲肾上腺素或血管紧张素胺，使肿瘤和正常组织的血流分配最优，这样就可以显示流动的情况。

2. 分流

许多对纳米粒子流动的理论研究是以线形管为模型的，但是在体内通过复杂的脉管结构粒子流动是分流的^[3] (图 2-4)。在脉管或毛细血管里的分流不仅取决于粒径，也取决于粒子的刚柔性。在分叉结构里的胶质运输是近来研究的一个课题。这一过程取决于分流的方向，特别是密度大于介质的粒子，另外也取决于在不同大小的分叉中的流速。

如果纳米颗粒被捕获或是附着到分叉壁或其他毛细血管中的物质，很可能它们会永久性地附着，故而改变它们内在的流变学行为。当然柔性的颗粒不会这样，但是它们的柔性会使它们在遇到障碍物时速度减慢 (图 2-5)。

3. 与血液成分和内源性分子反应

纳米颗粒能和血液成分反应，已经知道白蛋白、IgG 和纤维蛋白原从血液中吸附到疏水颗粒上的机理，可是对纳米颗粒的研究相对较少。Kim 的研究数据表明纳米

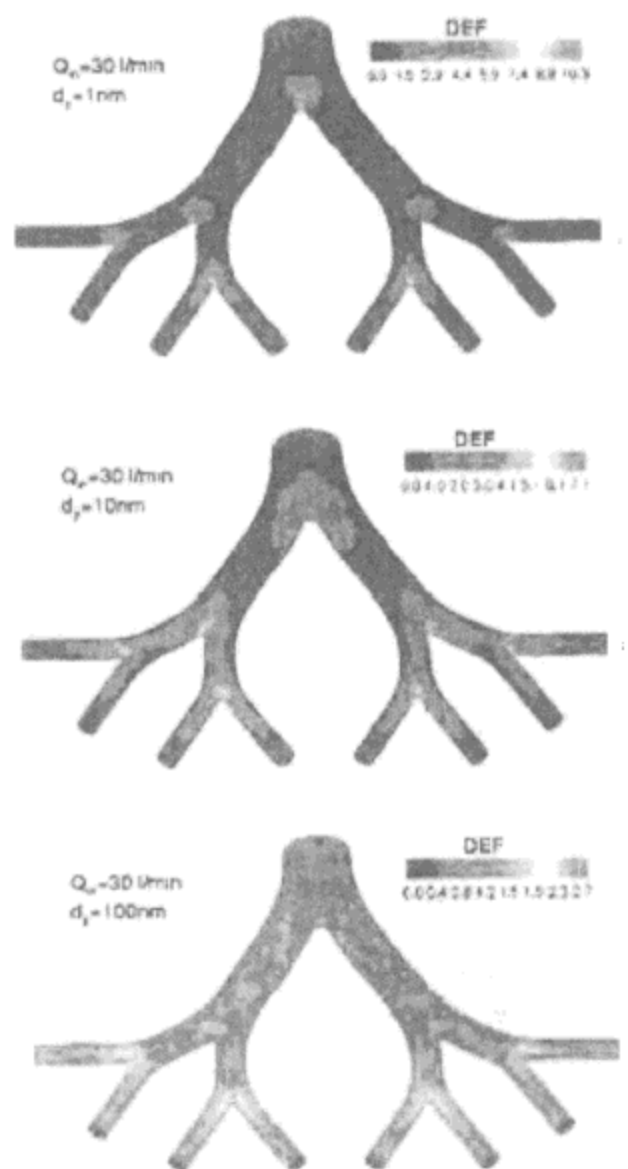


图 2-4 纳米粒在分叉气道模型里的空间分布

DEF 是沉积加强因子，图示稳定的吸入。虽然这些数据从空气流中得来，但是相同的沉积类型也会在液体中发生。在这些模型中沉积主要靠布朗扩散，减少纳米粒的大小降低雷诺数会使沉积效率增加 (Zhang Z, Kleinstreuer C, Donohue J F and Kim C S. Aerosol Sci, 2005)。

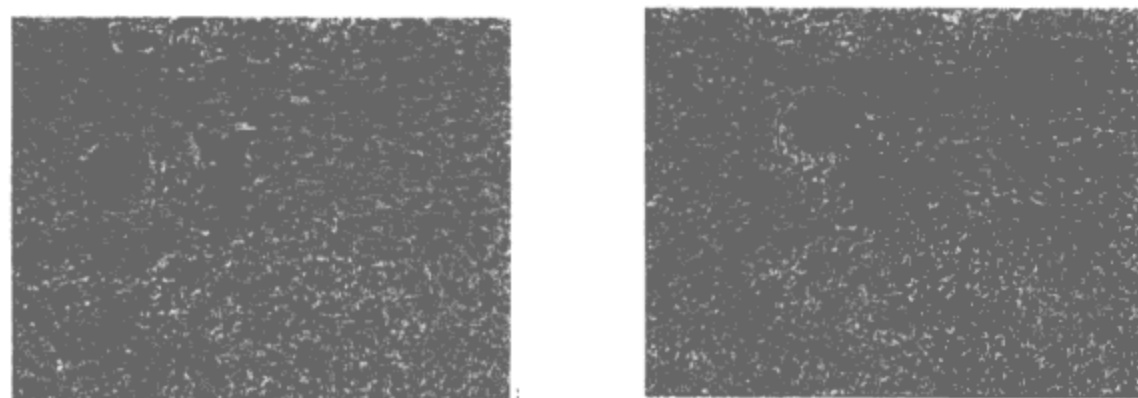


图 2-5 大囊泡在小囊泡流中移动的示意图

图示一个柔软的囊泡遇到一个障碍物，当附着到上面时在障碍物周围旋转滚动，这是由其弹性所致 (Torchilin. Nanoparticulates As Drug Carriers, 2006)。

粒和红细胞反应改变了两者的流动动力学。Chambers 和 Mitragotri 发现 450 nm 的纳米粒附着到红细胞上仍然能够维持几周的循环流动。纳米乳液在循环了 6 h 后其含量取决于粒子大小和停滞时间。停滞时间随着粒径从 220 nm 到 1 100 nm 增大会相应减少。当红细胞附着了纳米粒之后会比天然的红细胞更快地被清除掉, 这些现象基于流体学是很难解释的。Gorodetsky 和他的同事们研究了卡铂 (CPT) 纳米粒与血块形成时产生的纤维蛋白网的相互作用。

4. 纳米粒和表面配基

现在似乎还没有流变学方面的研究来比较表面被蛋白修饰的纳米粒和未经修饰的纳米粒。当然, 有可能改变表面的特性将导致聚积, 这又反过来会改变流体形态和像图 2-6 所示的配基掩蔽现象。尽管在体外, 纳米粒对它周围的介质还是敏感的, 由于粒子的絮凝现象, 细胞介质能够导致粒径的增大。可见, 经配基修饰的纳米粒的表面受体反应远比想象的一般的靶向性要复杂得多。图 2-6 显示了以上讨论的一些信息: 粒子的积聚、配基的掩蔽现象、配基的分离和切应力诱致的附着颗粒脱离。Gabor 等常将植物外源凝集素用来作为纳米粒的表面蛋白。图 2-6 解释靶向递药系统的过程。

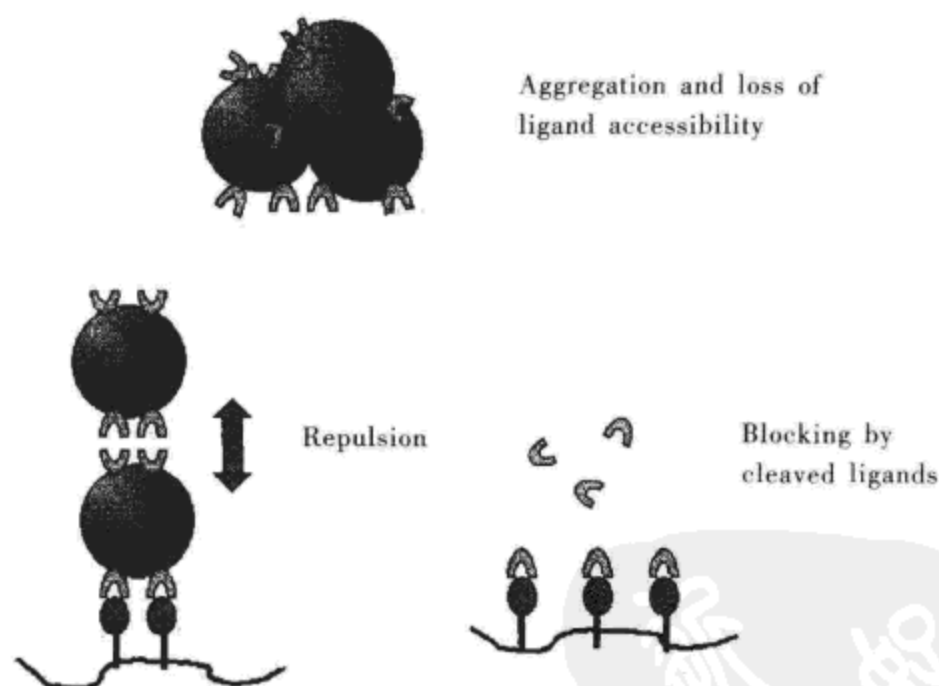


图 2-6 图示单配基修饰的纳米颗粒和适当距离以外的受体结合的理想模型的变更
(Torchilin. Nanoparticulates As Drug Carriers, 2006)

5. 表面沉积和流动条件下受体附着

发生在静止情况下的粒子沉积可能本身是一个复杂的过程, 这将取决于受体表面的粗糙度。研究粒子从流动的悬浮液中沉积考虑了如下几个因素: 扩散、对流、几何学截阻、重力下的迁移、切向反应的影响^[4]。

通常会考虑许多粒子在集体扩散时的流动情况。单个粒子的扩散系数与集体扩散的系数在无限稀释的条件下相一致, 但是在高浓度时不同。

Bhatia 等指出细胞黏附不是由一个受体介导而是由两个受体介导, 这种观念也适

用于修饰的纳米粒^[5]。他们指出,这两个受体分别是选择蛋白和细胞间黏附分子 ICAM,他们作的状态图 2-7 显示了粒细胞牢固附着而不是滚动附着的区域,在此粒细胞提供了受体密度和结合速率常数。

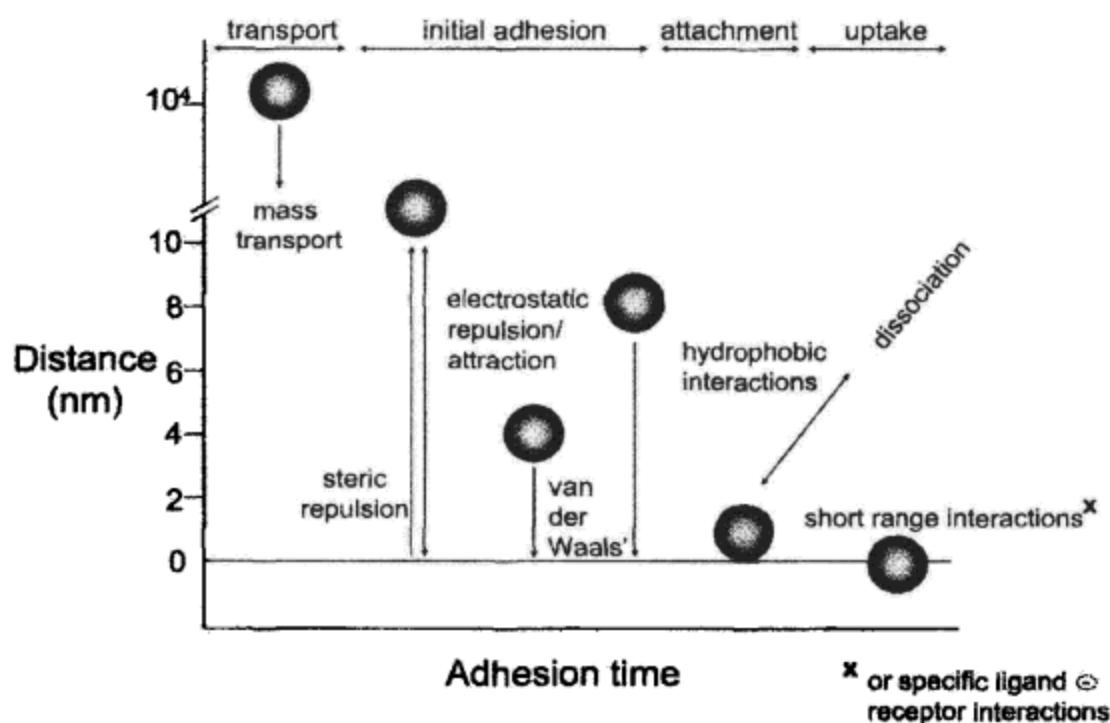


图 2-7 纳米粒在流动条件下的沉积过程

以反应力的作用范围和附着时间为纵横坐标。一开始纳米粒大量到达表面,通过静电引力和范德华力作用发生黏附。疏水反应和特异受体配基反应等近距离作用力也起作用 (Vachethasane K and Marchant R E. Humana Press, Totowa, N J, pp. 2000)。

纳米粒在流动血液中的最终走向、附着、对肿瘤的渗透都取决于一些复杂的因素如直径、表面配基密度、方向、性状、毛细血管直径、粗糙度、分流、黏性和流动坡度。

6. 形状

纳米系统可以制备成各种形状。纳米晶体通常是不规则的,其不对称碳原子纳米管有不对称碳原子,表面活性剂和脂肪囊泡可以制备成圆盘和多面体以及环形和管型的结构。小囊泡结构直径大于 500 nm,必须假定它在这个纳米尺寸范围内几乎不会受到影响。在这些系统里,与膜的特性相比形状在包裹药物的释放方面不是很重要,但是囊泡悬浮液的流动特性却取决于形状和弹性。因为大多的粒子给药载体是球形的,所以很少去关注其形状对走向的影响。但是,举例来说,周围环境中的颗粒和纤维的形状将会影响纳米粒子的走向和毒性。

正如以上讨论的,粒子流动有两种不同但相关的影响效应:粒子的形状大小对流动的影响,流动对柔性颗粒的影响^[6]。对于弹性颗粒,形状是有影响的,因为它影响了体内的流动和通过外渗可能的最终走向,弹性使得粒子在可能会被固体微粒堵塞的脉管中运输。这种系统的弹性和黏性使得很容易将它们从固体微粒中区分开。许多关于形状是否有影响的争论取决于毛细血管血供、所施加的力、所受的损伤和囊泡在毛细血管中移动时本身的特性。研究中,用纳米粒装载阿霉素,在静脉给药

8 h之后 60% 的药物仍然存在于血管里。药物损失的程度取决于扩散还是降解不得而知，但是比如说当其挤压着通过受限半径的毛细血管时，囊泡在一定的应力作用下可以失去一定量的有效负载。还原系统的直径将会明显抑制这种应力并且允许柔性系统保持它们完整的负载力。

Vasanthi 等研究了扁圆球体的各向异性扩散，他解释说因为非球形分子以旋转的方式平移，它们的移动与球形的明显不同。对于杆状物来说，理论预计它们的扩散系数在与杆的主轴平行的方向 (D_n) 上是垂直方向 (D_i) 的两倍。

很少有人对椭圆体颗粒在平板上的运动进行研究，尽管这与血小板的流动和对血管壁的黏附有关。Mody 和同事们提出了这一问题，他们观察了切应力对血小板附着的影响^[7]。血小板不像粒细胞那样是球形的，它们是扁平的椭圆形，在流动方向上显示了翻动式的运动。粒子和表面的作用力取决于血小板和表面的角度，如图 2-8 所示。

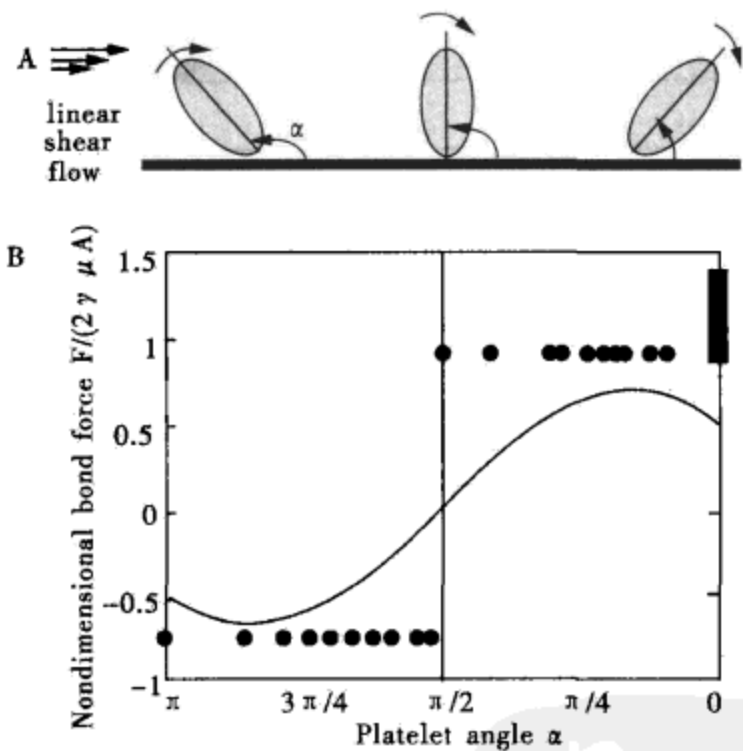


图 2-8 椭圆血小板的角度变动时无量纲结合力的大小 (Mody N A, et al. Biophys J, 2005)

柔性系统像囊泡已被广泛研究，它在毛细血管中因受到压力作用直径会变小。从变形的程度可以评价其膜的弹性。促使囊泡做线性强迫运动，它们的柔韧性能很好地调整其形状以与外力达到平衡，在某些情况下，囊泡膜表面的脂质发生二维流动，很明显这会影响嵌入表面的配基的位置。目前存在许多非球形的纳米粒，所以非对称颗粒的运输特性研究就显得很重要。

7. 关于流动和 EPR 效应的思考

在正常脉管里红细胞的流速取决于脉管的直径 (见图 2-2)，但是在肿瘤组织中不是如此 (图 2-9)，尽管在其中的流速会以数量级变慢。Jain 指出，要到达肿瘤组织中的癌细胞，用来治疗的血源性的分子、颗粒或细胞必须进入肿瘤的血管当中，并穿过管壁进入间隙，最终在间隙里迁移。尽管血流在肿瘤血管中是被限制的，但是有报道说癌细胞会压迫肿瘤血管，这将导致液体的流动。这与增强渗透和滞留效应

(EPR) 有关系, EPR 允许大分子从肿瘤脉管系统进入肿瘤当中。纳米颗粒进入肿瘤是同等重要的, 并且严格取决于其尺寸大小。在对流当中, 稳定的胶粒可以被流体动力学分流, 这与 EPR 效应有关。在高速率但低雷诺值的体系, 在孔径的入口处 (或是肿瘤血管的缺口处) 作用于胶质的流体动力将克服胶质的回缩力, 结果会导致颗粒凝絮和孔洞堵塞。流体的分流、速率、微粒浓度、孔径与粒径的比例 (The aspect ratio) 这些因素对停滞效应的影响已被研究。其中速率通过分流对停滞效应的影响与沉积对其的影响刚好相反^[8]。需要一个关键性的流速, 粒子的分流才会发生, 另外产生分流的流体动力必须克服多孔介质的推动力才会产生分流。图 2-10 显示了孔径与粒径比例为 3:7 时的效应 (颗粒为 220 nm)。

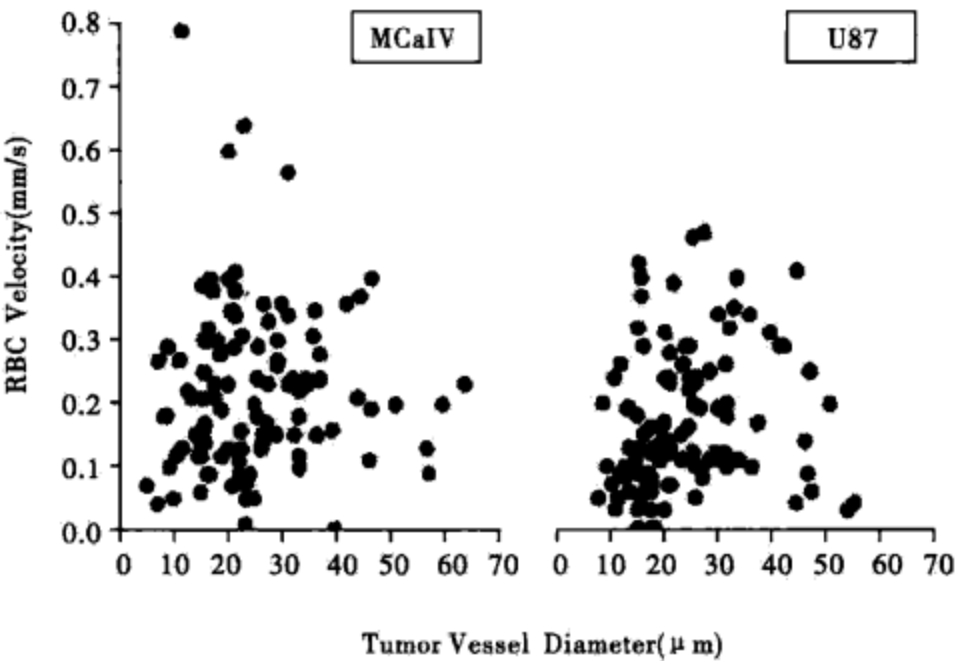


图 2-9 两类肿瘤中红细胞速度和肿瘤血管直径的不明确关系图
与图 2-2 相比, 很明显流速很慢且可变 (Jain R K. Control Rel, 2001)。

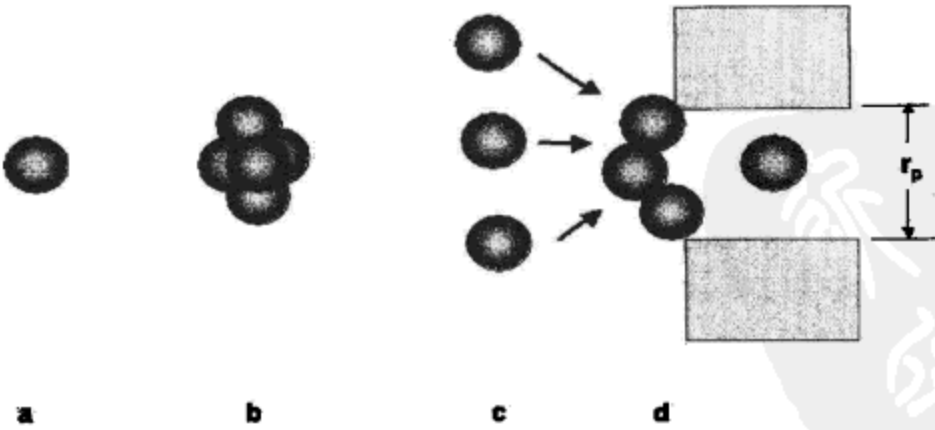


图 2-10 颗粒在进入孔隙前的行为示意图

(a) 一个单独的纳米粒; (b) 聚集; (c) 个体颗粒在孔隙汇聚显示流体分流。推测纳米粒通过肿瘤毛细血管开窗法进入肿瘤时分流将会发生, 这是增强渗透和滞留效应的一方面 (Ramachandran V V, Venkatesan R, Tryggvason G and Scott F H. Coll Interf Sci. 2000)。

8. 肿瘤内注射

直接注射到肿瘤组织的递药系统是实验室和临床递药系统的一个模型。溶液使得药物从肿瘤中扩散或是漏出，特别是通过针迹，然而悬浮液可以允许更长的停滞时间。病毒载体被应用到肿瘤内注射，为了减少病毒扩散到体循环范围，有黏性的海藻酸盐被用来制备病毒载体。但是，转基因表达并未增加，研究者推测可能是因为病毒的扩散被原位的黏性介质抑制了。Higuchi 等指出病毒颗粒的运输需要对流而不是扩散。分子在细胞间隙（细胞间隙液与细胞外基质）里如何抵抗对流运输的问题已被研究。很明显，细胞间或纤维间的间距将会是一个决定运输尺寸大小的重要因素。

三、结语

关于影响流动的因素和纳米粒的大量运输，已经做了不少现象学的研究。尽管这些不是一个综合的调查研究，但是这些足以激发更进一步的分析，能够更好地预测颗粒特性、尺寸大小、表面特征、形状和柔韧性等因素对递药和靶向给药的影响。激光共聚焦显微镜检查法和其他技术的运用将促使在各种组织中对纳米粒的运动和去向进行研究。原子显微镜将提供更多定量的途径测定颗粒与细胞或受体的相互作用。但是，如果纳米粒将要被设计成克服各种生物学障碍并在毛细血管或淋巴管、外渗物和组织中保留下来，然后进入胞内运输，这是一个较大的挑战。现在只能总结，因为许多特性包括流动是由粒径决定的，所以最重要的策略就是要确保颗粒在体内稳定性的维持。

第二节 胶束给药系统

一、定义与特性

1. 引言

为了克服一些药物水溶性不良的缺点，常用的主要办法是在处方中引入一些可被临床所接受的有机溶剂，比如聚氧乙烯蓖麻油，再联合使用或单用某些表面活性剂。在某些情况下，当水溶性不良的药物中含有可电离的基团时，可通过成盐或调节 pH 值的途径来提高药物的溶解度。还有一些更新颖的解决途径，主要包括制成脂质体、微乳或采用环糊精包合等，以提高难溶性药物的生物利用度。然而在处方中使用有机溶剂或表面活性剂，容易产生毒性或带来不良反应。使用增溶剂或表面活性剂的另一个缺点是，当药物接触到水性溶液时（比如在非肠道给药方式中接触到生理溶液），处方中溶剂的比例被稀释，容易使被溶解的药物析出沉淀，因为在低于临界胶束浓度（CMC）时，表面活性剂，尤其是普通的低分子量表面活性剂，不能在水中保持原有的增溶能力。而采用脂质体或环糊精包合，对难溶性药物的增溶效果虽然比较恒定和可靠，但却受到载药量较低的限制。另外，这些载体对不同的药

物的增溶能力往往出现很大差异。因此,为提高难溶性药物的溶解度,比较稳妥的替代方法是在处方中加入一些具有成胶束能力的两亲性化合物。

纳米胶束(NM)是近几年正在发展的一类新型纳米载体,是由双亲聚合物在选择性溶剂中发生相分离而形成的具有疏溶剂性核与溶剂化壳的一种自组装结构,它们之间的推动力有疏水作用、静电作用、氢键作用或金属络合作用等。因为其具有亲水性外壳及疏水性内核,所以在水中溶解后自发形成高分子胶束,并完成对药物的增溶和包裹^[9],并且可使药物逃避单核巨噬细胞的吞噬,即具有“隐形”性。按照形态可将其分为球状、棒状、囊泡状、管状、二维胶束和复合大胶束等。

纳米胶束可分为无交联胶束、核交联胶束、可降解胶束、核与壳间以非共价键连接的胶束以及壳交联胶束,其中壳交联胶束又有两亲性壳交联纳米胶束、可逆两亲/亲水壳交联胶束以及疏水壳交联纳米胶束。对于无交联胶束,其分子间均以非共价键缔合,因而容易受外界条件的影响,如溶剂、pH值和温度等。可降解胶束是指由开环聚合物——聚乙醇酸(PGA)、聚乳酸(PLA)和聚己内胺(PCL)等具有良好生物相容性和生物降解性的聚合物与亲水性聚合物形成的共聚物,在水溶液中胶束化后其胶束仍具有可降解性。PCL、PLA和PGA具有不同的降解速率,可通过改变相对分子质量及其分布、组成比例及与亲水聚合物的比例达到控制降解速率的目的。其降解速率还与外界条件如酶浓度紧密相关,通过核降解制得的中空胶束载药量大大增加,很适合作为药物载体。壳交联胶束是当前研究较多的一种胶束,它是由壳层带有双键的分子间进行自由基聚合反应或者在带有反应性基团(如羧基)的分子中加入交联剂交联而成,例如聚苯乙烯-P-4-乙烯吡啶在水中形成以苯乙烯为核、聚4-乙烯吡啶为壳的胶束,其壳上的侧链苯乙烯基可在光照和引发剂的引发下进行自由基共聚交联。壳交联可提高胶束的稳定性,而核仍能保持一定的流动性,亲油性核可以装载大量非水溶性药物,而交联壳可以保护药物免受外界环境破坏,并能避免高浓度药物对人体的直接刺激,减轻不适感。通过在交联壳上引入具有识别功能的指示分子,就有可能使其作为药物定向输送的载体。以上胶束的核与壳之间均以共价键连接。

2. 胶束和其增溶的优点

胶束是一种胶体分散体(粒径通常为5~100 nm),是由众多微粒(被分散相)分散在连续相中(分散介质)所组成的。胶束属于一类缔合体或两性胶体的总称,它们可由两亲性物质或表面活性剂在一定的浓度和温度下转化形成,这些构成胶束的分子由两部分性质显著不同的区域所组成,一端亲油,另一端亲水。胶束作为药物载体具有很多明显的优点。例如,运用能够形成胶束的表面活性剂对难溶性药物进行增溶后,可提高药物的生物利用度,降低药物毒性和其他不良反应,加强药物对生理屏障的透过性,同时显著改善药物在体内的分布。采用一些特殊的两亲性分子,还能延长胶束在血液中的半衰期。由于粒径小而均匀,胶束具有良好的组织透过性,尤其可在具有渗漏性血管的组织(如肿瘤或梗塞区域)聚集,即所谓的增强EPR效应,这使得胶束具有天然的被动靶向作用^[10]。

二、聚合物胶束

在一定温度下，不同表面活性剂的 CMC 值不同，形成胶束的分子缔合数也不同。通常结构相似的表面活性剂，其烃基的碳链增长，CMC 值明显降低；亲水基链增长 CMC 值仅略有增加；亲水基/疏水基比例固定时，增大单体的相对分子质量使 CMC 值稍降低。两亲性聚合物因其碳链长和相对分子质量大，故其胶束 CMC 值很低（数量级 $\leq \text{mg/L}$ ），即两亲性聚合物溶解度很小，浓度很低时也可形成胶束；又由于其组成疏水核心的碳链长，使核心紧密而稳定，稀释到浓度低于 CMC 时解缔合也很缓慢，称为具有动力学稳定性，即使经血液稀释，也能把包载的药物送达体内预定的靶位，因此聚合物胶束可以作为药物的优良载体。粒径较小的聚合物胶束，不容易被巨噬细胞吞噬，可以延长在体内的时间，具有优良的组织透过性，尤其是可在有渗漏性血管的组织（如肿瘤、炎症区或梗死区）聚集，即所谓增强透过和滞留（EPR）效应，因而具有天然的被动靶向作用。粒径大的聚合物胶束也有被动靶向作用，但主要密集于巨噬细胞丰富的肝、脾^[11]。其形成的机制如下图 2-11 所示：

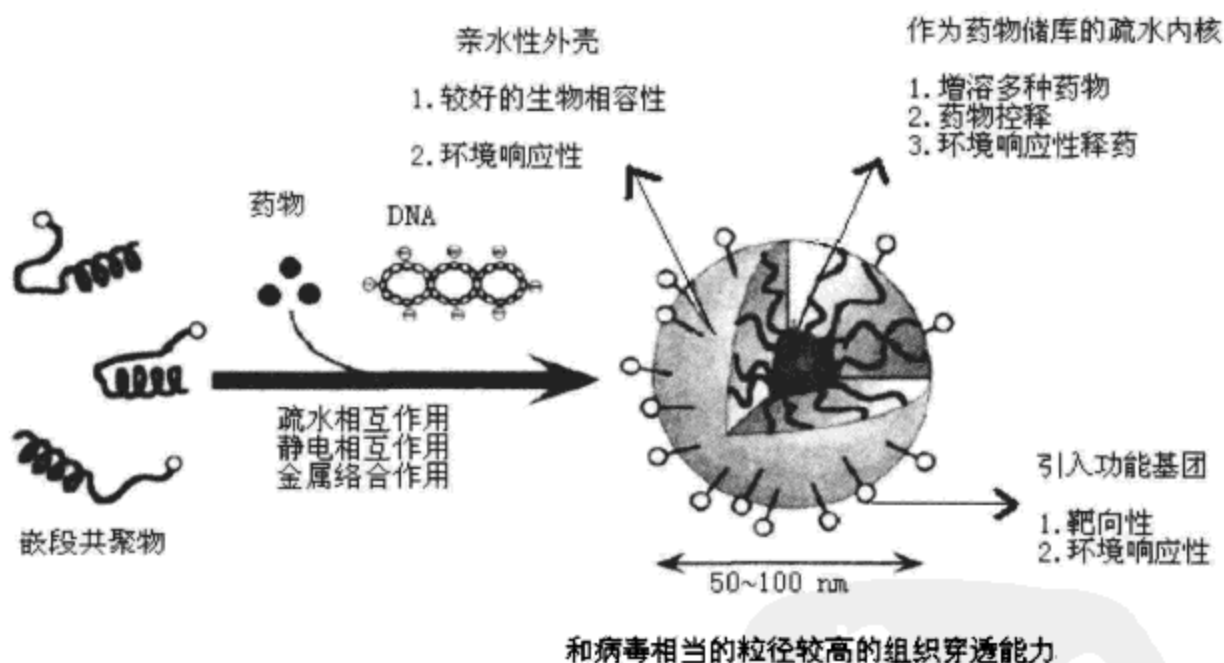


图 2-11 聚合物胶束形成的机制与结构

(李平祝, 杨卓理, 杨可伟, 等. 中国新药杂志, 2008)

采用聚合物胶束对难溶性药物进行增溶，是近年来药剂学领域关注和研究的一大热点^[12]。在所有聚合物毫微粒当中，Genexol-PM [甲氧基-聚乙二醇-聚(D, L-丙交酯)紫杉酚] 是最近第一个在美国进入临床二期的聚合物胶束^[13,14]。聚合物胶束是由亲水和亲油的聚合物单元所构成的嵌段共聚物。其作为载体的优点是在体内具有较长的循环时间、理想的体内分布，以及药物的减毒等。

1. 组成

构成两性嵌段共聚物亲水区的材料主要是聚乙二醇（PEG），这种聚合物价格适中、毒性低，是一种可对大分子药物的体内转运起到有效立体保护的微粒载体。除了 PEG，聚乙烯吡咯烷酮（PVP）也是一种常用的亲水区材料，是 PEG 的一种主要

替代品。构成亲水区材料还包括其他的一些亲水性聚合物，比如聚乙烯醇，聚乙烯醇-聚乙烯油酸酯共聚物等。同时，构成疏水区的单体材料主要有氧化丙烯、L-赖氨酸，以及天冬氨酸等。其中一部分单体能形成疏水的聚合物区域，并直接构成胶束的疏水核芯，而其他一些能够形成亲水聚合链的单体，需要首先通过静电作用与疏水物质结合，然后才能形成胶束疏水核芯^[10]。

2. 脂质核芯胶束

采用脂质作为疏水核芯，结合亲水性高分子（比如 PEG）所构成的胶束，与常规的两亲性高分子所形成的胶束相比，前者是一种性能更加稳定的微粒给药载体，其主要原因是脂质成分具有两条脂肪酸长链，它们相互作用极大提高了胶束疏水核芯的稳定性。脂质核芯胶束能够对不同类型的难溶性药物进行包封（如他莫昔芬、紫杉醇），并且显示出良好的稳定性、长循环性和在损伤性血管部位聚集的能力（主要通过 EPR 效应所产生的被动靶向作用，使微粒药物载体在渗漏性血管的肿瘤或梗塞区域聚集）。

三、胶束的载药

采用两亲性嵌段共聚物所形成的胶束载体对难溶性药物进行增溶，目前已进行了大量研究。其增溶过程经数学模拟，可表述为：首先药物替换出胶束核芯的溶剂（比如水），随后被增溶的药物逐渐在胶束的核心聚集，并将胶束内部的疏水基团向外“排挤”，使胶束体积增加。影响胶束载药量的因素主要是亲水基团和疏水基团的大小。首先，疏水区基团越大，所形成胶束的疏水核芯越大，包封的疏水性药物的量相应越多。其次，如果亲水区基团的长度增加，将使胶束的 CMC 值增大，同时胶束对药物的包封率减少。

四、靶向和刺激敏感性胶束

将胶束靶向到病变的器官或组织可进一步提高所包封药物的治疗效果，主要途径有以下几种。

1. 被动靶向

包括胶束在内的各种药用纳米载体，可以通过 EPR 效应在病变区域有较理想的聚集，其主要机制是具有长循环能力的大分子微粒药物载体，可自发透过渗漏性血管组织，进入间质区域，而这些渗漏性血管结构通常是实体瘤、梗塞部位、感染和炎症组织所特有的。长循环的载药胶束可增强 EPR 介导的靶向聚集，胶束载体的长循环作用时间与其到达靶点的能力是直接相关的，这在大量研究和实验中已得到证实。

2. 刺激敏感性胶束

另一种靶向递送途径是基于病变组织和器官的伴随性生理特征变化，比如局部温度升高（2℃~5℃），同时伴随 pH 的降低（1~2.5），使胶束成为能够在病变区域靶向释药的刺激敏感性微粒药物载体，同时借助 EPR 效应，可增强胶束药物载体对病变区域的靶向能力。

3. 配体介导性胶束

聚合物药物胶束载体的靶向能力,还可以通过在胶束表面连接靶向性配体而进一步提高,例如在亲水基团末端连接上靶向性配体。在这些配体中,常用的主要有抗体、糖基、转铁蛋白和叶酸残基等。最后两种残基在肿瘤细胞的靶向治疗中非常有用,因为很多肿瘤细胞表面对转铁蛋白受体和叶酸受体都存在过表达。最近,意大利学者 Vladimir P. Torchilin 等研制了配基靶向外周苯二氮卓受体(PBR)的 PEG-PE 胶束装载紫杉醇,具有良好的抗癌效果,可能会成为最新的抗癌靶向纳米药物^[11]。对通过共价键将抗体连接到胶束表面(制备成免疫应答性胶束),已有文献报道。比如,经过脂肪酸共轭 Fab 片段抗体修饰的聚合物胶束,颈动脉注射后,能够将神经镇定药三氟拉嗪靶向到脑神经胶质细胞的抗原上,并逐渐在大鼠脑组织聚集。

4. 胶束的细胞内递送和转运

胶束向细胞内的递送主要通过细胞内吞的方式来完成,增强胶束载体与细胞膜之间的静电吸引,可以增加胶束对细胞膜的透过能力,进而增加进入细胞内药物的总量,从而部分抵偿细胞内溶酶体对药物的过度降解作用。实现上述目标的一种途径是控制胶束的荷电。目前已经知道在各种纳米微粒载体表面如果荷正电,可以增强细胞对其的摄取。一些 PEG 型胶束,比如 PEG-磷脂酰乙醇胺(PE)聚合物胶束荷净负电,这会阻碍细胞对其的摄入。因此,可以通过将荷负电的 PEG-PE 与荷正电的物质相结合,例如阳离子脂质等大分子,可提高聚合物胶束表面的正电性,从而增加肿瘤细胞对这类胶束的摄取。

五、结语

聚合物胶束对难溶性药物具有良好的增溶能力,并能提高它们的生物利用度。这种能力在大量抗癌药物的胶束载体处方中已得到成功的证实。同时,由于胶束粒径很小,依靠其所特有的 EPR 效应,能够自发地在具有渗漏性血管的特征性区域聚集。也可以对载药胶束进行结构修饰,制备成刺激-敏感性聚合物,或者在胶束表面接上具有靶向性的配体分子,制备成免疫-应答性胶束载体。改变胶束的组成或调整亲水和疏水聚合物的长度,能够较容易地控制胶束的各种特性,比如大小、载药能力和血液中的循环时间等。另外,胶束作为诊断用药载体也具有不错的前景。但是,胶束的生理稳定性还有待于改进,例如,物理方法制备的胶束存在药物突释的问题;而化学方法制备的胶束由于经历了化学反应过程,可能会影响到药物本身的药理活性;热敏胶束存在释药准确性的问题;一些新型的共聚物必须经过严格的生物相容性考察方能应用于注射给药^[12];到目前为止,仅有数量有限的聚合物可以作为药用的载体给药系统研究,因此研究新的药用的两亲性聚合物,也是胶束研究的一个重要内容。相信随着研究工作的不断深入,两亲性聚合物胶束将会更为广泛地应用于给药载体中,成为很有潜力的给药系统。

第三节 脂质体给药系统

一、定义与特性

1. 定义及其结构

脂质体（或称类脂小球、液晶微囊）是一种类似微型胶囊的新剂型，1971 年英国莱门（Rymen）等人开始将脂质体用作药物载体^[13]。它是直径为 50 ~ 1 000 nm 的球型脂质双层，主要成分是磷脂。磷脂依靠疏水缔合作用在水中自发形成一种分子有序组合体，为多层囊泡结构，每层均为类脂双分子膜，层间和脂质体内核为水相，双分子膜间为油相，膜厚度约为 4 nm。水溶性药物可包容在脂质体的水核内，脂溶性药物可嵌入磷脂双层间，中性药物可通过调整脂质体内的 pH 值或通过添加反向离子与药物形成分子复合物，稳定在结合的脂质体内。脂质体是将药物包封于类脂质双分子，通过渗透或被巨噬细胞吞噬后，载体被酶类分解而释放药物，从而发生作用。

脂质体具有包封脂溶性药物或水溶性药物的特性，药物被脂质体包封后，具有以下主要特点：① 靶向性。脂质体经静脉注射后进入体内可被网状内皮系统的巨噬细胞作为外界异物而吞噬，浓集于巨噬细胞丰富的肝、脾和骨髓中。② 缓释性。许多药物在体内由于迅速代谢或排泄，故作用时间短。将药物包封于脂质体中，可减少肾排泄和代谢而延长药物在血液中的滞留时间，使药物在体内缓慢释放，从而延长了药物的作用时间。药物从多室脂质体释放需要向外透过多层磷脂膜，所以药物从多室脂质体释放比相同组分的单室脂质体慢。利用脂质体缓慢释放药物的机制可以有效地延长药物在体内的半衰期。③ 组织亲和性。因脂质体是类似生物膜结构的囊泡，对正常细胞和组织无损害和抑制作用，有细胞亲和性与组织相容性，并可长时间吸附于靶细胞周围，使药物能充分向靶细胞、靶组织透过，脂质体也可通过融合进入细胞内，经溶酶体消化释放药物。④ 降低药物毒性和提高药物稳定性。药物被脂质体包封后，主要被网状内皮系统的巨噬细胞所吞噬而摄取，浓集于肝、脾等器官，而使药物在心、肾中累积量比游离药物低得多，因此如将对心、肾有毒性的药物或对正常细胞有毒性的抗癌药物包封成脂质体后，可明显降低药物的毒性。一些不稳定的药物被脂质体包封后可受到脂质体双层膜的保护。

2. 分类

人们根据脂质体的结构特点及所包类脂双分子层的层数将其分为单室脂质体和多室脂质体。

① 单室脂质体（Unilamellar or Single Compartment Liposomes）含有单一双分子层的囊泡叫单室脂质体或小单室脂质体，粒径在 20 ~ 80 nm 之间。水溶性药物的溶液只被一层类脂质双分子层所包封，脂溶性药物则分散于双分子层中（图 2-12）。凡经超声波分散的脂质体悬液，绝大部分为单室脂质体。

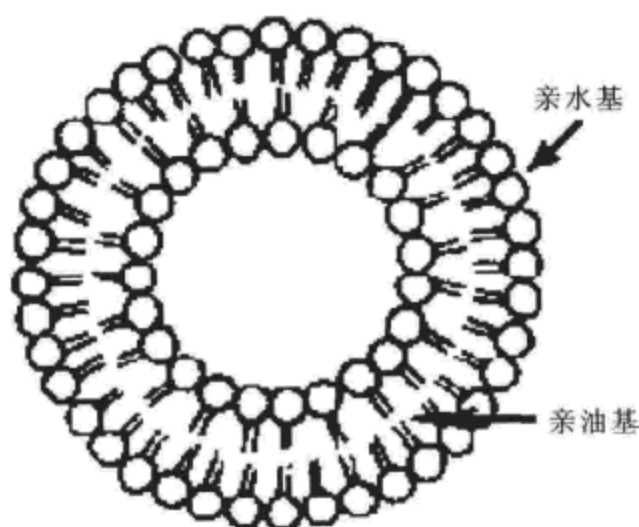


图 2-12 单室脂质体的结构

(时念秋, 张大同, 李树英, 等. 山东轻工业学院学报, 2008)

② 多室脂质体 (Multilamellar or Multiple Compartment Liposomes) 含有多层双分子层的囊泡称为多室脂质体, 粒径在 $1 \sim 5 \mu\text{m}$ 之间。其中每层均可包封药物, 水溶性药物包封于脂质的亲水基团夹层中, 而脂溶性药物则分散于囊泡的疏水基团的夹层中。有几层脂质双分子层将包含的药物 (水溶性药物) 的水膜隔开, 形成不均匀的聚合体, 脂溶性药物则分散于几层分子层中 (图 2-13)。

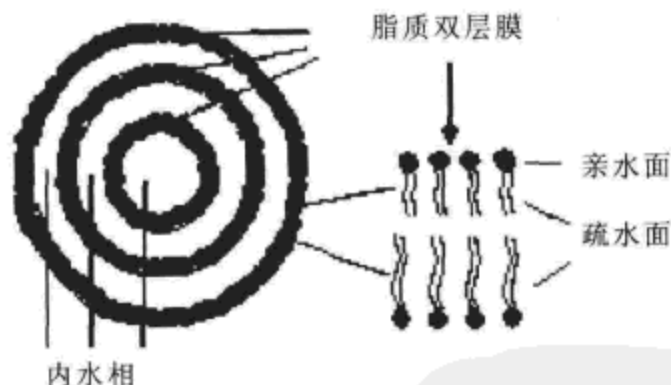


图 2-13 多室脂质体的结构 (来源同图 2-12)

③ 大多孔脂质体 (Macrovesiole) 单层状, 比单室脂质体可多包被 10 倍的药物。脂质体结构原理与由表面活性剂构成的胶团 (Micelle) 不同, 后者是由单分子层组成, 而脂质体是由双分子层所组成。胶团半溶的溶液用肉眼观察, 呈透明状。而脂质体是用类脂质 (如卵磷脂、胆固醇等) 为膜材构成双分子包合而成。磷脂的结构式中含有一个磷酸基团和一个含氮的碱基 (季铵盐), 均为亲水性基团, 还有两个较长的烃链为亲油团。分子中磷酸部分极性很强, 溶于水; 但烃链 R 与 R 为非极性部分, 不溶于水。其结构与肥皂的分子很相似, 肥皂是长链脂肪酸 (烃链非极性部分) 的钠和钾盐 (极性部分), 把类脂质的醇溶液倒入水面时, 醇很快溶解于水, 而类脂分子则排列在空气与水的界面上, 它们的极性部分在水里, 亲油的非极性部分则伸向空气中, 当极性类脂分子被水完全包围时, 其极性基团面向两侧的水相, 而非极性的烃链彼此面对面缔合成双分子可以形成球状。胆固醇亦属于两亲物质, 其结构

上亦有亲油和亲水两种基团，从胆固醇的结构来看，其亲油性较亲水性强。用磷脂与胆固醇作脂质体的膜材时，必须先将类脂质溶于有机溶剂中配成溶液，然后蒸发除去有机溶剂，在器壁上使成均匀的一类脂质薄膜，此薄膜是由磷脂与胆固醇混合分子相互间隔定向排列的双分子层所组成。

二、制备材料

脂质体的膜材主要由磷脂与胆固醇构成，这两种成分不但是形成脂质体双分子层的基础物质，而且本身也具有极为重要的生理功能，由它们所形成的“人工生物膜”易被机体消化分解，不像合成微囊（如尼龙微型胶囊）那样往往在机体中难以排除。

1. 磷脂类

磷脂类包括卵磷脂、脑磷脂、大豆磷脂以及其他合成磷脂等，它们都可以作为脂质体的双分子层基础物质。我国研究脂体，以采用大豆磷脂最为适宜，因其成本比卵磷脂低廉得多、乳化能力强、原料易得，是今后工业生产脂质体的重要原料。20 世纪 70 年代国内研制静注脂肪乳，曾研究过静脉注射用豆磷脂的精制方法。虽然精制工艺并不太复杂，但产品质量特别是热原与降压物质两项指标不稳定，使豆磷脂和脂肪乳迄今不能大量生产。国内有的采用蛋黄卵磷脂为原料，且氯仿为溶剂来提取，但产品中氯仿无法除尽也是质量上难以解决的问题，此外卵磷脂的成本要比豆磷脂高得多，不宜大量生产，磷脂为天然生理化合物，其生理功能：

① 可使巨噬细胞应激性增强，即巨噬细胞数增加，吞噬功能增强。以空白脂质体作巨噬细胞吞噬功能试验，发现有明显的促进巨噬细胞吞噬功能的作用，测定其吞噬面分率为 57%，吞噬指数为 1.99。

② 使血红蛋白明显增多。

③ 增加红细胞的抵抗力，使红细胞在低渗液中避免溶血作用。

④ 磷脂与胆固醇在血液中应维持一定比例，磷脂在血浆中起着乳化剂的作用，影响胆固醇酯化脂肪的运输沉着，静脉注射磷脂，可促进粥样硬化斑的消散，防止胆固醇引起的血管内膜损伤。

⑤ 能增强纤毛运动、肌肉收缩，加速表皮愈合，增强胰岛素功能、骨细胞功能及神经细胞功能。

2. 胆固醇

胆固醇与磷脂是共同构成膜和脂质体的基础物质。近年来，有人认为胆固醇具有一定的抗癌功能。美国、瑞士的科学家在实验室中发现，在人体血液的白细胞中有一种称为“噬异变细胞的白血球”，它能分泌出一种抗异变素来杀伤和吞噬异变癌细胞，从而使癌细胞去活力。血液中的胆固醇是维持这种噬异变细胞白血球生存必不可少的物质。如果血液中胆固醇过低，噬异变细胞白血球对癌症的辨别能力和分泌抗异变素的能力显著降低。所以认为胆固醇也具有一定的抗癌能力。还有报导指出卵磷脂能够使胆固醇阻留在血液中，使血液中胆固醇量提高，有利于抗癌作用的发挥。

三、脂质体的制法

常用的脂质体制法有下列几种：

1. 注入法

将磷脂与胆固醇等类脂质及脂溶性药物溶于有机溶剂中（一般多采用乙醚），然后将此药液经注射器缓缓注入加热（并用磁力搅拌）的磷酸盐缓冲液（或含有水溶性药物）中，加完后，不断搅拌至乙醚除尽为止，即制得大多孔脂质体，其粒径较大，不适宜静脉注射。再将脂质体混悬液通过高压乳匀机两次，则得成品。大多为单室脂质体，少数为多质体，粒径绝大多数在 $2\text{ }\mu\text{m}$ 以下。

2. 薄膜分散法

将磷脂、胆固醇等类脂质及脂溶性药物溶于氯仿（或其他有机溶剂中），然后将氯仿溶液在玻璃瓶中旋转蒸发，在瓶内壁上形成一薄膜；将水溶性药物溶于磷酸盐缓冲液中，加入烧瓶中不断搅拌，即得质体。

3. 超声波分散法

将水溶性药物溶于磷酸盐缓冲液，加入磷脂、胆固醇与脂溶性药物共溶于有机溶剂的溶液，搅拌蒸发除去有机溶剂，残液以超声波处理，然后分离出脂质体再混悬于磷酸盐缓冲液中，制成脂质体的混悬型注射剂。经超声波处理大多为单室脂质体，所以多室脂质体只要以超声波进一步处理亦能够得到相当均匀的单室脂质体。

4. 冷冻干燥法

脂质体亦可用冷冻干燥法制备，对遇热不稳定的药物尤为适宜。先按上述方法制成脂质体悬液后分装于小瓶中，冷冻干燥制成冷冻干燥制剂，全部操作应在无菌条件下进行。

四、脂质体的作用特点

脂质体广泛用作抗癌药物载体，具有以下作用特点：

1. 淋巴系统定向性

抗癌药物包封于脂质体中，能使药物选择性地杀伤癌细胞或抑制癌细胞的繁殖，增加药物对淋巴的定向性，使抗癌药物对正常细胞和组织无损害或抑制作用，改变药物在组织中的分布。因此，用脂质体为载体的抗癌药物新剂型能使药物的疗效提高、减少剂量、降低毒性、减轻变态和免疫反应。如甲氨喋呤的脂质体给小鼠性静脉注射后，被巨噬细胞吞噬速度快，不像游离药物 3 h 内即被肾排泄；6 h 后在肝、脾、肾、肠、肺等组织中的浓度比游离药物高 20 倍。Juliano 等对放线菌素 D、长春花碱、柔红霉素阿糖胞苷脂质体的体内分布也进行了研究，发现制成脂质体后组织内的分布大大改变，组织对包封的药物吸收量大大增加，如阿糖胞苷脂质体注射后 16 h，包封药物在肝中的浓度比游离药物大 68 倍，放线菌素 D 或阿糖胞苷脂质体注射 3 h 后，各种组织中包封的药物为游离的 2 ~ 20 倍。包封的阿糖胞苷在 3 ~ 16 h 内消除很少，尤其在肝中。将丝裂霉素 C 包封于脂质体中，静脉给药，此微粒载体能透入癌细胞内，然后逐渐释放药物，引起癌细胞裂解与死亡。抗癌药物采用脂质体为载体，作体内实验的报导很多，其他尚有氟尿嘧啶、博来霉素、门冬酰胺、8-氮

杂鸟嘌呤、6-巯嘌呤等。这些化疗药物包封于脂质体中，给带瘤小鼠腹腔注射后，存活率和存活时间都有不同程度的增加。小鼠活体实验发现将 iRNA 包封于脂质体中，靶向运输到胰腺肿瘤区域，发挥基因治疗作用，其机制是增强药物代谢动力学特性和降低毒性^[14]。

2. 脂质体中药物释放有选择性

包在脂质体内的药物在特定器官（如淋巴、肝、脾、肺等）释放，有的是通过内吞作用（Endocytosis）被体内网状内皮系统的吞噬细胞作为外来异物所吞噬。有的是融合作用（Fusion），即脂质体的膜材与细胞膜构成物相似而融入细胞内。凡带电荷和液体中性的脂质体主要通过细胞内吞作用进入溶酶体，然后裂解释放出药物。由于溶酶体的通透性有限，故分子药物就不能释放到细胞的其他部位，而融合作用往往不受这种限制，因此脂质体的释放药物是具有选择性的。

3. 使抗癌药物在靶区具有滞留性

由于肿瘤细胞中含有磷酸酶及酯酶的浓度比正常细胞高，因此将抗癌药物包制成脂质体，由于酶不仅使药物容易释出，而且亦可促使药物在肿瘤细胞部位特异地蓄积。因此，如将包封于脂质体的抗癌药物直接注入瘤体，能使局部有效的药物浓度维持较长的时间，有利于杀死癌细胞。

4. 在体内的生物运转时程长

静脉注射甲氨喋呤脂质体制剂，然后考察它的血药浓度及各脏器的分布浓度。结果显示与静脉注射单体甲氨喋呤比较，脂质体制剂长时间高浓度地滞留于血液中，而尿中排泄却显著迟缓。并且经超声波处理后的脂质体比用薄膜分散法制成的制剂能维持更高的血药浓度。假设以对照组（静脉注射甲氨喋呤水溶液）4 h 的血药浓度为 1，则薄膜分散法制剂的血药浓度为 10，超声波处理的脂质体制剂为 70。各脏器中的分布浓度差别更大，对照组中，各脏器的分布浓度都很低，而脂质体制剂组中，脾和肝的分布浓度非常高，这种体内分布的奇特现象可能与脂质体所带电荷状态以及它与脏器细胞膜的相互作用形式相关。

5. 延缓释药

药物包封于脂质体后在体内延缓释放，延长作用时间，如将白蛋白 I、放线菌素 D 和 5-氟尿嘧啶包封于经超声波处理的大脂质体中，注射于小白鼠睾丸中能延缓释药。

6. 控制药物在组织内分布与在血液内的清除率

小分子等药物如氟尿嘧啶可以从载体扩散到血液中，大分子的如酶类不易扩散的物质主要运散到肝和脾，放线菌素 D、秋水仙碱则留在载体内并到达靶区。有文献报导当柔红霉素分别与 NAD 和聚谷氨酸结合时，能大大增加这两种药物在脂质体中的滞留时间。通过改变脂质体的面积大小、表面电荷和组成成分，可以改变脂质体在给药部位的消除速度以及进入靶区的速度。毫微型的脂质体经静脉注射后，在血液中可维持较长时间，并可直接到达肿瘤组织内，而同样的脂质体经肌肉注射后，则集中于淋巴结中。

7. 对瘤细胞的亲合性

国内文献报导利用显微放射自显影方法, 研究 H-油酸在艾氏腹水癌细胞的代谢定位。取接种艾氏腹水癌细胞 7 天后的小白鼠, 将 H-油酸以 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的剂量由小鼠尾静脉注入, 1 h 后的显微放射自显影表明, H-油酸可分布于腹水癌细胞周围, 可以看到大量的 H-油酸的放射性铝颗粒定位在癌细胞膜上, 并具有一定亲合力。油酸在艾氏腹水癌的代谢定位, 尤其是在细胞核及分裂相细胞的纺锤体中分布, 可能与油酸的抗癌作用密切相关。

8. 其他用途

除了抗癌药物外, 其他如锑制剂亦有包成脂质体的, 疗效也明显增加。有文献报导将抗利什曼原虫病的锑剂 Glucantime 包成脂质体, 对感染利什曼原虫病的田鼠进行疗效实验, 在两组田鼠感染 3 天后, 分别给药, 10 天或 17 天后观察达到扑灭原虫率 99.8% 所用的剂量, 脂质体组为 $4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 而对照组 (不含脂质体) 则为 $416 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。因此制成脂质体的锑剂的疗效比不包者高 100 倍左右, 所以锑剂包成脂质体对治疗细胞内寄生虫感染的疾病尤为适用。酸不稳定性抗生素和青霉素 G 或 V 的钾盐口服容易被胃酸破坏, 如包制成质体, 则可保护不稳定性抗生素并改善其口服吸收效果。Robert J. Lee 研制出一种新的装载 G3139 的脂质体用于 L1210 移植皮下瘤小鼠实验。经静脉注射发现 IL-6 和 IFN- γ 的血清水平增加, 同时促进了 NK 和树状细胞的增殖, 并引发了强烈的抗肿瘤免疫反应, 相应地抑制了肿瘤的生长。可见载 G3139 脂质体是一种潜在的免疫调节剂^[15]。

五、新型脂质体

脂质体作为药物载体具有许多优点, 但也存在对有些疾病的靶向特征不理想、体内稳定性和贮存稳定性欠佳等许多缺点, 因而限制了脂质体的临床应用和工业化生产。近年来为了改善脂质体的靶向性和体内外稳定性, 人们研究了许多新型的脂质体, 脂质体的一些缺点得到了改善。新型脂质体分为两大类: 修饰脂质体和改良脂质体。

1. 修饰脂质体 (Modified Liposome)

① 温度敏感脂质体。脂质膜在由凝胶态转变到液晶结构的相变温度时, 其磷脂的脂酰链紊乱度及活动度增加, 同时膜的流动性也增大, 此时包封的药物释放速率亦增大, 而未到相变温度时释放缓慢, 根据这一原理可制备温度敏感脂质体。刘同刚等采用温度敏感材料 L- α -二软脂酰磷脂酰胆碱 (DPPC) 和盐酸阿霉素制成了温度敏感阿霉素脂质体 (Ts-LADM), 在不同温度下测定 Ts-LADM 的释放度。结果发现, 40 $^{\circ}\text{C}$ 以下小于 20%, 在 DPPC 的相变温度附近突然升高, 41 $^{\circ}\text{C}$ 和 42 $^{\circ}\text{C}$ 分别为 81.4 % 和 81.6 %, 44 $^{\circ}\text{C}$ 时降为 77.2 %, 42 $^{\circ}\text{C}$ 下延长加热时间药物释放率无明显增加。Ts-LADM 显示了良好的温度性。

② 酸度敏感脂质体。根据肿瘤细胞一般比周围正常细胞 pH 低的事实, 设计了 pH 敏感脂质体^[16]。其原理是 pH 低时可导致脂肪酸羧基的质子化而引起六方晶相的形成, 致使脂质体膜融合而药物释放加速。研究者采用具有 pH 敏感性的 N, N'-二甲基乙二胺基氨甲酰基胆固醇/二油酰磷脂酰乙醇胺 (DC-Chol/DOPE) 制备具有肝细胞特异靶向性和 pH 敏感性的脂质体, 所制脂质体具有显著的 pH 依赖性, 以 pH

6 为分界线, 在酸性环境中血红素释放的量远大于在中性或碱性条件下的释放量, 表明所制备的脂质体具有显著的 pH 敏感性。Purdue University 的 David Thompson 研究了酸度敏感脂质体, 为了达到在血液中稳定和在肿瘤组织中的不稳定性的必要标准, 一系列不同酸度敏感的乙烯醚衍生物被设计出来, 然后被用作甾类-PEG 的形成, 最后被整合到类脂双层膜中去。结果, 这种脂质体在靶细胞的酸性小囊泡中表现出不稳定性^[17]。

③ 长循环脂质体。长循环脂质体也称隐形脂质体或空间稳定脂质体, 是指用神经节苷脂 (GM1)、聚乙二醇 (PEG) 及其衍生物、磷脂酰胆醇、聚丙烯酰胺或聚乙烯吡咯烷酮等修饰脂质体表面, 这些亲水聚合物形成立体的柔性亲水表面, 使脂质体不易被血液中的调理素识别, 可降低网状内皮系统对脂质体的清除率, 在血液中循环时间延长, 减少药物在肝、脾中的分布。以 GM1 或 PEG 及其衍生物修饰的脂质体研究尤为深入。

④ 光敏感脂质体。使用光敏材料包裹药物在脂质体内, 用适当波长的光照射时, 光敏材料吸收光能, 致使脂质体膜融合, 流动性增加, 光敏材料易透过膜, 而使药物起治疗作用。史向阳等研究了侧链含有偶氮苯基的水溶性共聚物的光异构化对脂质体内包容物的光控释放的影响, 结果发现, 在波长大于 350 nm 的光源照射下, 共聚物包覆的脂质体中内容物的释放速率明显提高, 证明侧链含有偶氮苯基的水溶性共聚物包覆的脂质体具有明显的光控释放性能。

⑤ 免疫脂质体。被抗体修饰、具有免疫活性的脂质体称为免疫脂质体^[18], 将脂质体导向于靶细胞表面抗原, 使药物对靶细胞直接发挥药效。单克隆抗体特异性高, 易于批量生产, 故可用来使脂质体成为主动靶向释药系统。韩国的 Dr. Jin-Seok Kim 研制了 pH 敏感脂质体, 其表面结合抗表皮生长因子受体抗体, 这种脂质体显示出能够促使 A549 细胞的凋亡^[19]。

⑥ 多糖脂质体。将糖脂掺入到脂质体双分子层中制得。其方法是将糖脂链的一部分用棕榈酰或具有适当间隔基的胆甾醇基取代得到糖类衍生物, 再与含药脂质体混合, 在适当的条件下孵育, 即得。其特点: A. 糖基不同可改变体内分布, 如结合半乳糖残基的脂质体易被肝实质细胞所摄取, 而结合甘露糖残基的易被肝细胞摄取, 结合甘露聚糖支链淀粉的具有高度的趋肺性。B. 能大幅度提高载药脂质体的稳定性。C. 经高碘酸处理, 可形成游离醛基, 以利与抗体交联。

⑦ 磁性脂质体。在制备脂质体时加入磁性物质 (Fe_3O_4 等) 制成。磁性脂质体通过外部磁场导向使脂质体浓集于靶部位。磁性纳米粒子直径小于 30 nm 时, 具有超顺磁性, 即在较弱磁场中也可以产生较强的磁性, 而外磁场消失后, 磁性很快消失, 不会被永久磁化。因此在脂质体内加入纳米磁性粒子, 可大大增强脂质体的靶向性。同时采用交变磁场进行局部加热, 可以增强药物释放的可控性以及疗效^[20]。

⑧ 前体脂质体。它通常是具有良好流动性能的干燥颗粒或粉末, 贮存稳定, 是一种冻干品, 应用前与水可以水合 (即分散或溶解) 成等张的脂质体。根据制剂中磷脂的存在状态, 前体脂质体大致可分为三类: 混合胶束前体脂质体、液晶前体脂质体和干颗粒前体脂质体, 其中磷脂分别呈胶束态、液晶态及固态, 前两种制品为

液态,后一种为固态。前体脂质体解决了脂质体稳定性和高温灭菌等问题,为工业化生产奠定了基础。

2. 改良脂质体 (Improved Liposome)

改良脂质体使用与脂质体不相同的材料,但具有与脂质体相近或类似的结构^[21]。改良脂质体的制法与脂质体相似。

① 囊泡。囊泡 (Niosomes) 过去亦称类脂质体,是指由非离子表面活性剂 (加或不加胆固醇) 组成的、体内外性质与脂质体极其相似的一类载药系统。囊泡作为药物载体具有许多优点,它在生产和贮存中都不需要特殊条件,生产工艺简便,成本低廉,而且避免了因采用磷脂的脂质体需要纯化、易氧化降解等不足。囊泡与生物膜结构类似,细胞亲和性和透过性好,可融入细胞,体内易降解,具有缓释作用,可减少给药频率,作为药物载体可以提高治疗指数,降低药物剂量和毒副作用。加入胆固醇可以提高包封率和载药量。非离子型表面活性剂中,脂肪酸山梨坦-80 比脂肪酸山梨坦-60 包封率低。表面活性剂的亲水亲油平衡值 (HLB) 越低,囊泡粒径越小,这与疏水性增加、表面自由能降低有关。

② 柔质体。柔质体亦称弹性脂质体或变形脂质体 (Transfersomes),由卵磷脂和其他柔性成分 (如胆酸钠、去氧胆酸钠) 组成,其变形能力比普通脂质体大 5 个数量级,可穿过自身大小 1/5 的小孔,而且由于高度亲水性,可水化穿透皮肤,柔质体可转运不同极性及各种分子量的药物,包括多肽及蛋白质。

③ 醇质体。醇质体 (Ethosomes) 是另一种能促进药物经皮传递的囊泡载体。含高浓度的乙醇一直被认为不利于形成脂质双分子层,但最近的研究表明,卵磷脂在高浓度乙醇中也能形成脂质囊泡,只需将水与含卵磷脂的乙醇溶液逐步混合即可。电子显微镜证实,其为多室囊泡,囊泡大小随着乙醇浓度的增加而减小,相反,随卵磷脂浓度的增加而增加。

④ 药质体。药质体 (Pharmacosomes) 的大部或全部均由药物构成,系具有表面活性的药物 (或前体药物) 在水溶液中自组装形成的有序聚集体,结构类似泡囊或胶束等。药质体不仅载药量大、稳定性高,而且药物由于本身的两亲性因而对生物膜具有良好的亲和性和透过性。

六、结语

脂质体应用十分广泛,可用于模拟膜研究、在体内外将基因或其他物质向细胞内传递,还可用于临床检验和诊断、纳米粒子的制备、催化反应的控制等。利用脂质体的独有特性,将毒副作用大、在血液中稳定性差、降解快的药物包裹在脂质体内,制成纳米脂质体载体药物。根据人体病灶部位血管内的皮细胞间隙较大、脂质体药物可透过此间隙到达病灶部位的特点,使其在病灶堆积释放,从而达到定向给药的目的。脂质体主要辅料为磷脂,而磷脂在血液中消除极为缓慢,因此脂质体药物在血循环系统保留时间长,从而使病灶部位得到充分治疗。利用该技术,可将一大批高毒性活性药物安全有效地应用于临床治疗,其中包括抗癌药、抗生素类药、抗真菌类药、抗寄生虫类药、蛋白质或多肽类药物。同时可将单克隆抗体连接到脂质体上,借助于抗原与抗体的特异反应,将载药脂质体定向送入。也可以将基因载

入脂质体中,利用脂质体特殊的运载功能实现基因修补。纳米脂质体药物载体具有以下优点:①由磷脂双分子膜包覆水相囊泡构成,生物相容性好;②对所载药物有广泛的适应性,水溶性药物载入内水相,脂性药物溶于脂膜内,两亲性药物可插于脂膜上,而且同一个脂质体中可以同时包载亲水和疏水性药物;③磷脂本身是细胞膜成分,无毒,生物利用度高,不引起免疫反应;④保护所载药物,防止体液对药物的稀释和体内酶的分解破坏。

目前,纳米脂质体所面临的主要问题是稳定性较差、易于集聚和融合。为此,出现了用于稳定脂质体的许多方法。近年来,聚合型脂质体因其具有较高的稳定性、释放速度可调以及可供选择共聚单体的多样性等日益受到重视。Nil 等合成的高分子表面活性剂聚环氧乙烷-聚环氧丙烷-聚环氧乙烷(PEO-PPO-PEO)聚合脂质体不仅稳定性增强,而且具有对温度敏感的特性;Simoes 等合成了既具有 pH 敏感性又能在体内长循环以增加药物在体内停留时间的二油酰磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇(DOPE-PEG)等功能型脂质体;Emmanuelle 等合成了接枝聚乙二醇修饰磷脂酰乙醇胺(PEG-PE)的聚合型脂质体,其在血浆中的稳定性有很大提高,但接枝后其 pH 值敏感性减弱。脂质体制剂技术尚未成熟,但其稳定性已得到很大改善,储存期从数小时延长到数年,体内半衰期从数分钟延长到数十小时。笔者认为,今后载药脂质体的研究重点应放在靶向性问题上,还应加强研制具有非对称双层膜的热力学稳定性脂质体及其制备技术(如分层组装技术),加强非离子表面活性剂囊泡的稳定性及其载药研究,从其他角度研制新型可用的稳定脂质体,并注意脂质体在体内的稳定性与药物靶向、控释之间的关系。

综上所述,脂质体、新型脂质体经过约 40 年的发展,国内外学者对其形成原理、稳定性、制备方法、体外释药、体内分布、临床应用等,进行了大量基础研究,为工业化生产和应用奠定了基础。脂质体制剂已有多种产品上市,而新型脂质体还主要处于实验研究阶段,也是目前药剂学研究的热点,在 DDS 中将有更广阔的发展前景。

第四节 脂蛋白药物载体

一、简介

蛋白质结构(纳米尺寸)在生物系统中可以被用作药物和 DNA 的载体。脂蛋白作为天然生物材料能装载血液循环中各种类型的脂质。有许多研究证实脂蛋白可以有效运载抗癌药物、基因或其他类型的化合物。它具有以下优点:①它们是内源性的成分,不会引发免疫应答,它们有相对较长的半衰期。②它们在纳米尺寸上体积较小,允许从血管扩散到血管外。③能够作为与特异细胞受体结合的靶向药物载体。例如,低密度脂蛋白药物复合体可以靶向低密度脂蛋白受体,表达比正常细胞更高的癌细胞。④它的脂类核结构为疏水药物提供一个合适的空间^[1]。

在简单介绍脂蛋白的结构和功能后，我们将重点介绍四类脂蛋白：乳糜粒、超低密度脂蛋白、低密度脂蛋白和高密度脂蛋白。

二、结构与分类

脂蛋白，正如它的名字，是一种蛋白质 - 脂类化合物。它的尺寸是纳米级的，球形，有复杂的理化特性^[22]。图 2 - 14 显示了脂蛋白的一般结构。它的疏水核包含着水不溶物质，外面是一个极性壳。壳由磷脂类、未醚化的胆固醇和各种类型的脱辅基脂蛋白组成，它们能与各种细胞受体结合。所以，基于其理化特性，脂蛋白就是一种因含有脱辅基脂蛋白而具有靶向性的纳米乳。

根据梯度超速离心实验所测得的密度，脂蛋白可以分为五大类：乳糜粒（Chylomicron）、超低密度脂蛋白（VLDL）、中间密度脂蛋白（IDL）、低密度脂蛋白（LDL）、高密度脂蛋白（HDL）。它们有不同的大小、蛋白和脂质的比例、脱辅基脂蛋白的种类。一般说来，乳糜粒经小肠吸收运输三酰基甘油和胆固醇到脂肪组织和肝。超低密度脂蛋白、中间密度脂蛋白和低密度脂蛋白在不同的阶段从肝运输三酰基甘油和胆固醇到各种器官。高密度脂蛋白将内源性的胆固醇从器官运输到肝。一般的理化特性如表 2 - 1 中所示。

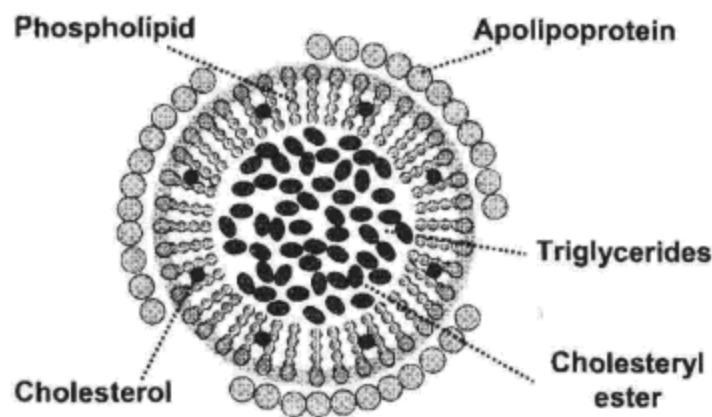


图 2 - 14 脂蛋白的一般结构 (Torchilin. Nanoparticulates As Drug Carriers, 2006)

表 2 - 1 Physicochemical properties of lipoproteins (来源同图 2 - 14)

Lipoprotein	Transprot Route	Size (nm)	Protein (%)	Total lipids (%)
Chylomicron	Intestines to liver	75 ~ 1200	1.5 ~ 2.5	97 ~ 99
VLDL	Liver to tissues	30 ~ 80	5 ~ 10	90 ~ 95
IDL	Liver to tissues	25 ~ 35	15 ~ 20	80 ~ 85
LDL	Liver to tissues	18 ~ 25	20 ~ 25	75 ~ 80
HDL	Tissues to liver	5 ~ 12	40 ~ 55	45 ~ 60

1. 乳糜粒

饮食吸收的脂类聚集在小肠内形成乳糜粒，它由淋巴系统运输。大多经口给药

直接经肝门血管进入体循环，另外还有一个途径就是通过小肠的淋巴系统来吸收疏水性药物。对于保护 B 淋巴细胞和 T 淋巴细胞的抗病毒药物分子来说，它在淋巴中的浓度高于体循环。乳糜粒体积比其他脂蛋白大，所以能运输更多的药物分子。所以，它是小肠形成的运载脂类的主要脂蛋白。

为了传递药物，各种生物活性分子用来重组乳糜粒结构。在传递基因的研究中，Hara 等发明了一种运载疏水性 DNA 的重组乳糜粒，并将它用作体内基因运输载体。他们将载体通过门静脉注射到老鼠体内，发现这种载体导致了老鼠肝中高表达这种基因。作为抗乙型肝炎病毒的靶向治疗，抗病毒药物碘去氧胞苷与重组乳糜粒结合，可以使药物分子选择性地与肝实质细胞靶向结合。因为具有靶向性，这种方法将会进一步开发以期应用到乙肝病患者身上。

2. 超低密度脂蛋白

超低密度脂蛋白粒径 30 ~ 80 nm。它们聚积在内质网当中，分泌前在肝细胞的高尔基体中发育成熟。进入血浆后，它将发生一系列生化反应进行分解代谢，包括：脱辅基脂蛋白 C - I、II、III 和脱辅基脂蛋白 E 的交换；甘油三酯脂（肪）酶的酯解作用；细胞表面受体介导的摄取。在酯解过程中，超低密度脂蛋白变小并最终转变成中间密度脂蛋白。一些中间密度脂蛋白将通过受体介导机制被肝细胞迅速摄取，而剩下的将进一步水解，最后转变成低密度脂蛋白。超低密度脂蛋白的分解代谢提示了将它作为药物靶向传递系统的可能性。脱辅基脂蛋白 E 是超低密度脂蛋白表面的蛋白质配体，并且已知某些类型的肿瘤细胞高表达脱辅基脂蛋白 E 受体。所以，超低密度脂蛋白可以作为一种抗肿瘤药物的载体。

超低密度脂蛋白是一个较好的药物载体。因为它有相对低的蛋白含量（5% ~ 10%）以及较多的甘油三酸酯（在乳剂核当中 50% ~ 65%），这样能有效地增溶疏水物质。通过模仿超低密度脂蛋白的成分和结构，Shawer 等开发了一个超低密度脂蛋白组装的磷脂纳米乳系统，这种系统运载新的抗肿瘤硼化合物靶向运输到癌细胞。这种纳米乳能很好地增溶疏水药物。当磷脂纳米乳的颗粒体积改变时，纳米乳的每个成分的分子表面积和分子体积都将改变，使得整体的结构发生相应的改变。如果一定的分子位于纳米乳的核内，当颗粒体积增加时，这种分子相对总体的含量将不会改变。如果分子位于表面，当颗粒的体积增加时，它们的含量将会减少。这是因为当颗粒体积增加时，总体表面积减少。类似于天然的脂蛋白，磷脂主要位于表面，而疏水物质甘油三油酸酯和胆甾醇基油酸盐则主要位于磷脂纳米乳的核内。最近，一个类似的纳米乳结构被用作一个新的生物显像术的载体即量子点（QD）的包裹^[23]。另外有研究显示，细胞毒类药物如 5 - 氟尿嘧啶（5 - FU）、5 - 碘 - 脱氧尿嘧啶核苷（IudR）、阿霉素（Dox）和长春酰胺能很好地与超低密度脂蛋白组合并对人类癌细胞产生有效的细胞毒性。

3. 低密度脂蛋白

低密度脂蛋白（18 ~ 25 nm）在人体内不会直接合成，它们大多是通过超低密度脂蛋白途径形成。它是运输胆固醇和胆固醇酯的主要脂蛋白，它能够通过低密度脂蛋白受体介导细胞摄粒作用被细胞摄入。研究这种机制能够帮助更好地设计通过低

密度脂蛋白受体介导的药物靶向系统（图 2-15）。

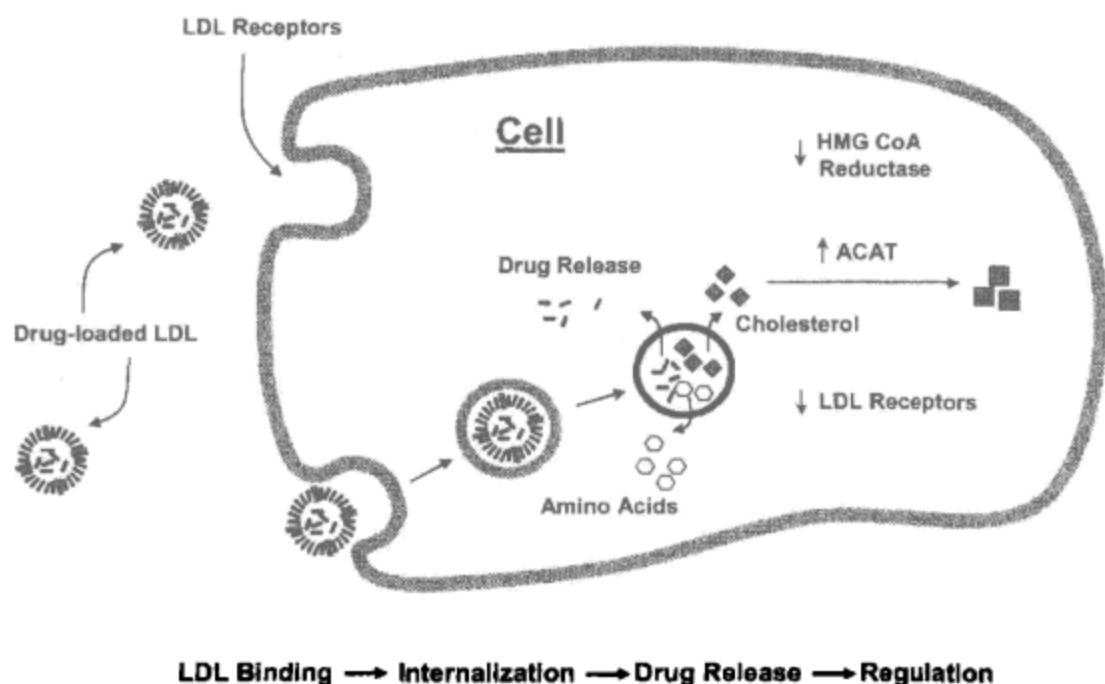


图 2-15 LDL 受体途径和靶向给药 (Torchilin. Nanoparticulates As Drug Carriers, 2006)

脱去磷酸衔接蛋白连接到细胞膜引发了由笼形蛋白包裹的内陷小窝的形成。细胞膜外面的受体移向结合位点以完成细胞内摄作用。脱辅基脂蛋白包括脱辅基脂蛋白 B-100 和脱辅基脂蛋白 E，它们被低密度脂蛋白受体识别并结合到细胞表面以形成一个复合物，陷入到内陷小窝之中。在低密度脂蛋白内摄之后，内陷小窝开始变紧缩，在非常短的时间内，它们脱掉笼形蛋白外衣。内摄的 LDL 转至胞内囊泡或内涵体。因为内涵体的酸性环境，LDL 开始和受体分离。然后内涵体和含有水解酶的溶酶体结合。LDL 的蛋白成分水解成游离的氨基酸，胆固醇酯则被脂肪酶分解。游离的胆固醇被释放并结合到细胞膜上。过量的胆固醇经酰基辅酶 A-胆固醇酰基转移酶 (ACAT) 途径被重新酯化。在所有的脂蛋白中，低密度脂蛋白作为一个靶向和特异性的药物载体被广泛深入地研究，因为许多类型的癌细胞相对于其他正常细胞都显示出低密度脂蛋白受体的高度表达。与纳米乳相比，超低密度脂蛋白、中间密度脂蛋白和低密度脂蛋白都有更长的血浆半衰期 (2~4 天)，这使得它们更为理想。低密度脂蛋白是一种运载靶向癌细胞的细胞毒性药物的合适载体。低密度脂蛋白药物复合体能够采用各种不改变脂蛋白的完整性的途径合成。

在裸小鼠实验中，LDL 被用作运载阿霉素靶向人肝癌细胞 HepG2 的载体。体外和体内实验都显示，当阿霉素与 LDL 组合后，多向性抗药和细胞毒性都能够被抑制。LDL 能被用作动脉粥样硬化损伤的定位给药载体。有研究者将软脂酸地塞米松 (DP) 与 LDL 组合，结果显示泡沫细胞的形成明显减少了。这说明 LDL 可能运载 DP 到达了动脉粥样硬化损伤的部位。另外，荧光基团标记的 LDL 用于肿瘤诊断的光学成像中。LDL 同样能用作传递基因的载体。相比于其他病毒性基因载体和一些非病毒性基因载体，LDL 显示出转染率和安全因素方面的特定优势。Kim 等开发了一种三聚物系统，包含 LDL、酯化的聚左旋赖氨酸和质粒 DNA，这种复合物直径约

100 nm。研究结构显示出传递质粒 DNA 到平滑肌细胞和成纤维细胞的高效性。

4. 高密度脂蛋白

在各种类型的脂蛋白中, 高密度脂蛋白 (HDL) 具有最小的尺寸, 直径约 5 ~ 12 nm。它的结构与其他密度的类似, 但是极性壳占了总体积的 80%。新合成的 HDL 几乎不含有胆固醇酯分子。胆固醇酯要通过卵磷脂的酶促反应使胆固醇酰基转移酶 LCAT 形成并不断添加到颗粒当中。HDL 与细胞的反应类似于 LDL。HDL 在人体里的功能不是非常明确, 它主要将组织细胞中过量的胆固醇和胆固醇酯运输到肝脏。相比其他脂蛋白, 小体积和快速被肿瘤细胞内摄的特性是它被用作靶向传递载体的主要优势。

HDL 可以用作水溶性抗癌药物的靶向运输载体。当抗癌药紫杉醇与它组合就会形成稳定的复合物。重组的 HDL 被用来研制亲脂性前体药物 IDU - OI2 的载体。结果显示 IDU - OI2 能够很好地与重组 HDL 颗粒组合。这一途径也可以用来包裹其他水溶性药物的亲脂性衍生物。用 HDL 来做药物靶向载体将更有效地治疗感染性疾病如乙型肝炎病毒, 研究显示 HDL 药物复合物能选择性地被肝实质细胞摄取。相比于其他单体药物的细胞毒性实验, HDL 药物复合物的 IC 值明显地降低了 2.5 ~ 23 倍。有趣的是, HDL 药物复合物明显地增加了对癌细胞的细胞毒性。早期研究发现 HDL 能增加 HeLa 细胞对阿霉素细胞毒性效应的敏感性。

三、结语

脂蛋白是天然的纳米结构。它们独特的理化特性, 可以用作药物和其他生物活性物质的载体。由于它们结构的多样性, 如乳糜粒、超低密度脂蛋白、低密度脂蛋白和高密度脂蛋白等, 各种递药系统可以被研制开发。通过模仿天然脂质体的结构, 新的人工脂质体能够构造。它们能够更有效地包裹药物和其他生物活性分子, 并且成为更有效的递药系统。

第五节 纳米粒给药系统

一、定义与特性

作为药物载体的纳米粒也称毫微粒, 是粒径介于 10 ~ 1 000 nm 的固态胶体颗粒, 可大大提高药物疗效, 减少副作用。纳米粒 (NP) 表面的亲水性与亲脂性将影响其与调理蛋白吸附结合力的大小, 从而影响吞噬细胞对其吞噬的速度快慢。一般来说, 纳米粒的表面亲脂性越大, 其对调理蛋白的结合力越强, 故要延长纳米粒在体内的循环时间, 须增加其表面的亲水性, 这是对纳米粒进行表面修饰时选择材料的一个必要条件。纳米粒属固态胶体粒子, 是由高分子物质组成的, 药物可以混悬或包裹于纳米粒中。最小的毛细血管可允许纳米粒通过。要达到循环系统以外的靶部位, 纳米粒须由细胞内或细胞间穿过内皮壁^[24]。

由于纳米粒子具有超细小体积,能穿过组织间隙并被细胞吸收,可通过人体最小的毛细血管,还可通过血脑屏障。纳米粒子包裹的智能药物进入人体后,可主动靶向并攻击癌细胞或修补损伤组织。以 NP 作为药物载体将会大大提高疗效,减少副作用。与传统的药物剂型相比,载药 NP 的突出优点在于对药物的缓释与定向释放的性能,通过缓释可使药物在较理想的时间范围内维持稳定的血药浓度,以简化投药;优化药效的发挥,增加药物在病灶部位的浓度,从而提高药物的生物利用度,并减轻药物对非靶向部位的毒性。Soma 等人研究了巨噬细胞对含阿霉素的纳米粒子的影响,研究表明使用含阿霉素的纳米粒子对癌细胞的毒性远远高于使用游离阿霉素时的抗癌作用;Yoo 等人的进一步研究发现,将阿霉素装载到聚乳酸-聚乙醇酸共聚物的纳米粒子中,高分子量的聚乳酸-聚乙醇酸共聚物更有利于药物的缓慢释放,从而减慢肿瘤的生长。体内和体外实验均证明,把亲脂性免疫调节剂胞壁酰二肽或胞壁酰二肽胆固醇包裹到纳米胶囊中,其抗转移癌作用比游离态药物更有效。通过对纳米粒子的修饰,可增强其对肿瘤组织的靶向特异性。

纳米粒的特性对其作为药物载体的影响:

① 粒径的大小。纳米粒可以通过细胞内途径吸收,而几个微米大小的微粒是通过 Peyer's 结的 M 细胞吸收。Desai 等研究表明在肠道中存在微粒粒径大小依赖性吸收,100 nm 的微粒的吸收比几微米的微粒要高 10~250 倍。小于 100 nm 的微粒能更有效地被肠上皮细胞吸收;粒径大于 500 nm 的微粒不能被吸收小泡吸收;只有粒径小于 500 nm 的微粒才能到达循环系统。

② 粒子表面的电荷。在体内,表面带负电荷的纳米粒相对于表面带正电荷或电中性的纳米粒更易被清除,而电中性的表面更适合于延长纳米粒在体内的循环时间。故对纳米粒子进行表面修饰时,通常选择非离子型的表面活性剂如聚乙二醇(PEG)。

③ 纳米粒表面的亲水性和疏水性。通常,纳米粒表面疏水性越强,其与调理蛋白的结合力越强,越容易被网状内皮系统捕获和吞噬,因此要延长纳米粒在体内的循环时间,需要提高其表面的亲水性。在聚乙二醇与聚酯的嵌段聚合物形成的纳米胶囊中,亲水的聚乙二醇链段围绕在疏水核周围,躲过了网状内皮系统的识别,因此起到“隐形”作用,最大限度地延长了纳米粒的体内循环时间。

④ 纳米粒表面的接枝物。纳米粒通过与一些特异性基团或配体接合起到对粒子表面进行修饰的效果,例如在纳米粒表面接上半乳糖残基可与肝实细胞上的受体结合,接上甘露糖残基则可与吞噬细胞上的甘露糖受体结合。

二、材料

制备纳米粒的高分子材料分为:

① 天然高分子载体药物。天然高分子材料稳定、无毒、成模性较好,是最常用的载体材料。其中主要包括胶原、阿拉伯树胶、海藻酸盐、蛋白类、淀粉衍生物。近年来研究较多的是壳聚糖、海藻酸盐,而源于蚕丝的丝素蛋白则显示出巨大的潜力^[25]。

胶原:胶原可以应用于医药领域的一个主要原因在于它经过自聚和交联,可形

成具有一定强度和稳定性的结构,用弱酸水提取后可制成多种形式的药物载体系统。在制备以胶原为载体的药物释放系统中需加入交联剂,例如戊二醛、碳二亚胺、肽基叠氮化物等,以便增加强度、减慢分解,从而延长药物释放时间。利用胶原与有治疗作用的酶或药物分子反应,通过共价键结合,形成固定化酶系统和控制药物释放系统同样是一种有用的途径。例如,将牛皮胶原巯基化后,与溶菌酶通过二硫键结合,此系统可保持酶活性一个月不变。

壳聚糖:壳聚糖是甲壳素的主要衍生物,是甲壳素脱除乙酰基后的产物脱乙酰甲壳素,又名可溶性甲壳素。壳聚糖具有与黏多糖相似的结构特点,后者在组织中分布广泛,是细胞膜的有机组成成分之一,故壳聚糖具有优异的生物相容性。具有良好水溶性的 β -环糊精聚合体也是一种较为理想的药物载体。

② 半合成高分子类载体药物。半合成高分子包括羧甲基纤维素、邻苯二甲酸纤维素、甲基纤维素、乙基纤维素、羟丙甲纤维素、丁酸醋酸纤维素、琥珀酸醋酸纤维素等,其特点是毒性小。

③ 合成高分子类载体药物。合成高分子如聚碳酸酯、聚氨基酸、聚乳酸、聚丙烯酸树脂、聚甲基丙烯酸甲酯、聚甲基丙烯酸羟乙酯、聚氰基丙烯酸烷酯、乙交酯-丙交酯共聚物、聚乳酸-聚乙二醇嵌段共聚物, ϵ -己内酯与丙交酯嵌段共聚物、聚合酸酐及羧甲基葡萄糖等,其特点是无毒、化学稳定性高。

聚乳酸:聚乳酸及其共聚物被用作一些半衰期短、稳定性差、易降解及毒副作用大的药物控释载体,有效地增加了给药途径,减少给药次数和给药量,提高药物利用度,减少了药物对肝、肾等的副作用。目前以聚乳酸为载体的药物研究主要是抗生素及抗癌用药、多肽药物及疫苗、激素及计生用药、解热镇痛剂、神经系统用药等。由于聚乳酸的疏水性影响了水的渗透,在体内降解时产生的乳酸使体内局部形成酸性微环境,从而容易导致多肽药物的凝聚和失活,为解决此问题将亲水基组分(如聚乙二醇、多糖等)引入到聚乳酸中,可以改善其亲水性、结晶性,调节其降解速度,同时也可以解决药物的突释问题。这类聚合物在人体内无积聚问题,其体内代谢是通过聚酯水解,最终被完全降解为二氧化碳和水,故被广泛用作药物载体材料。美国麻省理工学院的 Shiladitya Sengupta 研究利用了聚丙交酯-乙交酯(PLGA)纳米粒,这种纳米粒包被有抗癌药物组合,如阿霉素和考布他汀。这种组合是有效的,因为它们能够通过活性补偿机制协同作用于肿瘤细胞。几种其他的组合也在探索中,包括基于 Pt 的烷化剂和双氯乙基亚硝脒(BCNU)^[17]。Mansoor M. Amiji 等研究了一种混合纳米聚合物,紫杉醇包被在 pH 敏感快速释放聚合物(聚 β -氨基酸酯)中,神经酰胺包被于慢速释放聚合物(D, L-丙交酯乙交酯共聚物)中,当纳米粒通过静脉注射进 MCF7 肿瘤移植鼠中时,相比于单独给药,由于其具有更长的滞留时间和更强的肿瘤蓄积效应,更高浓度的紫杉醇在血液中被发现。另外,通过抑制系统清除,这种混合纳米粒能有效加强两种药物在肿瘤里的滞留时间^[26]。

其中,有如下特别适合:聚酯类、聚氰基丙烯酸烷酯、聚氨基酸类、两亲性嵌段共聚物、离子型嵌段共聚物。目前,普鲁兰(Pullulan)、壳聚糖、明胶等天然高分子以其良好的生物相容性、生物降解性越来越受到关注。由上述几种材料制成的

纳米粒可用于包裹亲水性药物和疏水性药物,适合于不同给药途径,如静脉注射的靶向作用、肌肉或皮下注射的缓控释作用。口服给药的纳米粒也可由非降解性材料制备,如乙基纤维素、丙烯酸树脂等。

三、制备方法

纳米粒的制备方法主要有乳化聚合法、天然高分子聚合法、液中干燥法、自动乳化/溶剂扩散法、超临界流体法、溶剂蒸发法等。分子自组装方法由于在制备过程不需要添加乳化剂、表面活性剂等有机溶剂,可减小载体的毒性;另外该方法工艺简单、成本低,具有很好的工业应用前景。该法得到的聚集体不仅坚固,而且自身具有对抗外界物质的结合能力。如果接枝共聚物是由疏水骨架和亲水支链构成,由于亲水作用与疏水作用间的平衡则会在水中自组装成具有核壳结构的纳米粒子。粒子内核由疏水骨架链组成,而外壳则是亲水支链。合成这种能形成核壳结构的接枝共聚物通常采用大单体路线,可对接枝共聚物的构型、支链长短与数量、接枝点进行有效地控制。粒径的大小与大单体分子质量及用量有关。实验表明,无论用何种类型的大单体,随着亲水支链长度的增加,聚合物纳米粒子的粒径逐渐减小。另外,通过对亲水链的某些基团进行修饰,可以得到表面具有不同功能的聚合物纳米粒。Riz 等^[27]近年来不断在自组装方面进行创新,他们设计的自组装 Pullulan 水凝胶纳米粒载体经不同功能基团的表面修饰之后形成各种功能型纳米载体,其粒径可均匀分布在 70 ~ 150 nm,加载阿霉素体外高峰释药(80%)可持续 30 h 以上,而其制作的乙酰化普鲁兰/磺胺地托辛(PA/SDM)和乙酰化普鲁兰/低聚磺胺地托(PA/OSDM)载体具有很好的 pH 值敏感特性,能在 pH 为 6.8 时高效释放,可以明显提高抗肿瘤药物的靶向性。另外,经脱氧胆酸等疏水基团修饰的壳聚糖也可以在水溶液中自组装形成纳米粒,是加载蛋白及多肽药物的有效载体^[28]。

四、结语

由于纳米粒子所具有的特殊效应(比表面积大、表面反应活性高、表面活性中心多、催化效率高、吸附能力强),使其在催化、磁介质、光吸收、生物医药及新材料等方面具有广阔的应用前景。尤其在药物研究领域,由于纳米材料和纳米产品性质上的奇特性和优异性,使其在增加药物吸收度、建立新的药物控释系统、改善药物的输送、替代病毒载体等方面具有独特的优越性。

第六节 细胞和细胞壳

一、简介

目前,微粒和纳米聚合物系统在药物载体和靶细胞领域占据重要位置。然而,生物药物载体是另一种有效方法。在生物载体的不同系统中,细胞和影细胞起着重要作用^[1]。从生物学系统的高效率和高度兼容两个角度来看,它们能为组织、器官

和细胞提供持续和特定的药物、酶和遗传物质。诸如细菌外壳、血影细胞、多形核白细胞、凋亡细胞、肿瘤细胞、树状突细胞以及最近的遗传工程上的干细胞等细胞系统，都是不同特性的细胞系统可被用于操作和装载药物和其他物质、允许进行特异性药物活体治疗的例子。细胞载体施药有多种应用，如治疗癌症、心血管疾病、震颤（性）麻痹、艾滋病、基因治疗等。表 2-2 显示了基于药物和基因传递的生物载体的分类。

表 2-2 药物和基因送递的细胞、影细胞分类 (Torchilin. Nanoparticulates As Drug Carriers, 2006)

Cell carrier	Target	Encapsulated substance
Bacterial ghost	Tissues, macrophages, cells	Drugs, vaccines, genetic material
Erythrocyte ghost	RES, macrophages	Drugs, enzymes, peptides
Engineered stem cells	Tumor cells, T cells, macrophages	Genetic material
Polymorphonuclear leucocytes	Tissues	Drugs
Apoptotic cells	Tumor cells	Drugs
Tumor cells	Tumor cells	Drugs
Dendritic cells	T cells	Drugs

二、细菌外壳

1. 简介

细菌外壳是完整的、无活性的、非变性的、无细胞质的细胞膜。细菌外壳是通过溶解细菌而保持细胞形态和抗原表面原始结构（包括其生物黏性）所得到的。它们能对药物和其他物质胶囊化，对哺乳动物组织和细胞特殊附着。这种细胞载体作为真实的药物递送系统，在目标组织特异性的共同作用下，使得体循环中药物的持久性得到增强。这样，它们成为了取代脂质体和毫微型颗粒等传统药物递送系统的潜在选择。

细菌外壳作为递送系统的主要优点在于它是无生命的。即：它们可以作为药物、抗原或者脱氧核糖核酸的递送系统，可以为不同类型的组织和细胞提供特殊递送，它们也容易被吞噬细胞、抗原递呈细胞和树状突细胞捕获。细菌外壳的不足方面在于其恢复毒性、水平基因转移的可能性、重组体显形的稳定性和对载体的预存免疫性。

通常，细菌外壳由革兰阴性菌的蛋白 E 介导溶解得到。噬菌体外壳是基于噬菌体醋酸苯汞 174 衍生的溶解基因 E 的表达产生的。革兰阴性菌的质体中，该基因的表达形成了贯穿细胞膜的溶解通道结构，使得内外膜贯通，并形成了边界直径值在 40 ~ 200 nm 内波动的 E 蛋白。E 蛋白是一种特有的位于细胞外膜的疏水蛋白。E 介导溶解已经在许多革兰细菌中得以实现。尽管在有些情况下细菌外壳有两个 E 孔，但是溶解了的 E 细胞扫描电子显微图显示一个细菌外壳只有一个 E 孔。由于细胞内的高渗透压，细胞质被排出。膜电位的下降和蛋白质、核酸等细胞质内容物排出同时发生。大肠杆菌的这种效果在诱导表达的 10 分钟后出现。所得到的空的细菌胞膜被认为是细菌外壳。细菌外壳显示了一个活细胞的形态、结构和免疫性。细菌外壳

可以由能黏住菌毛脂多糖等结构的革兰阴性菌得到，它们被用作人类组织的特异性结合。

细菌外壳载药是通过将冻干的细菌外壳悬浮在包含药物的培养基中完成的。接着，将它们置于 24 ℃ 下培养 5 ~ 30 min，然后冲洗掉过量的药物。为了防止装载的水溶性药物和物质快速地流出，细菌外壳溶解孔的边缘必须用细胞膜和囊泡膜的融合物密封。密封时，细菌外壳悬浮体需在 28 ℃ 融合缓冲液下培养 10 min。图 2 - 16 为细菌外壳的 E 介导蛋白细菌融合产物图。在活体外，药物从载药细菌壳中释放是在通过膜透析得到的悬浮液中进行^[29]。在预定时间里释放的药物浓度可以通过适当的分析技术检测得到。

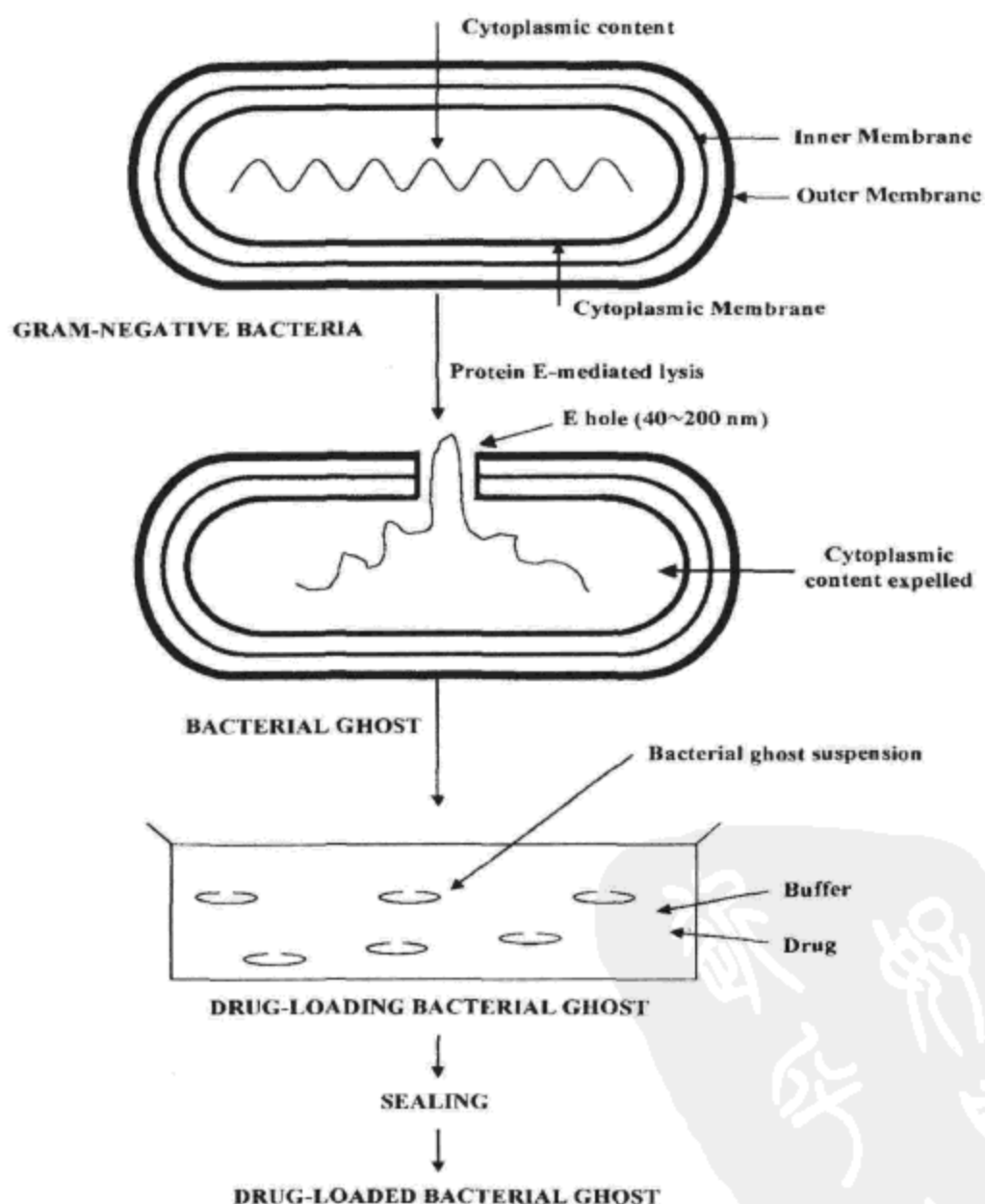


图 2 - 16 细菌壳的制备和药物转载

(Torchilin. Nanoparticulates As Drug Carriers, 2006)

研究载药细菌壳的黏附和被一些靶细胞像巨噬细胞、人结肠腺癌细胞 (Caco - 2) 或树状突细胞所捕获的情况，可以使用荧光标记物如异硫氰酸荧光素 (FITC)。随后黏附可以通过荧光显微术和流式细胞计量术来检测。巨噬细胞比 Caco - 2 细胞

纳入更多的细菌壳。用共聚焦激光扫描显微镜观察装载阿霉素的 M 溶血性不动杆菌空壳的实验显示, 药物与壳膜及内腔有联系。树状突细胞是专职的吞噬细胞, 它也具有捕获细菌空壳的能力, 这使得细菌空壳被用作免疫治疗法的载体。

2. 细菌空壳作为递药系统的应用

细菌可以装载药物、蛋白质和其他物质, 能够选择性地导向巨噬细胞、肿瘤和内皮细胞^[30]。细菌空壳在抗癌药物的运用领域非常有效, 它被用作阿霉素给药载体靶向结肠直肠癌细胞。细胞毒性实验显示相比于单独给予相同浓度的阿霉素, 转载阿霉素的细菌空壳有更好的抗 Caco-2 细胞增殖的能力。为了增加抗生蛋白链菌素对生物素化成分的亲和力, 用 E. coli 的空壳来转载抗生蛋白链菌素的实验也已经展开。转载抗生蛋白链菌素的空壳可以特异靶向胃肠和呼吸道的黏膜表面以及吞噬细胞。Neil Forbes 提出使用鼠伤寒沙门菌作为细菌靶向的策略。这种菌在肿瘤低氧环境下生长会比在正常细胞中快很多, 它本身具有毒性作用, 还可以被设计组装来递送治疗因子和对肿瘤的诊断性标记物^[17]。细菌空壳已经用来做不同动物的免疫疫苗^[31]。出血败血性巴斯德 (氏) 菌是一种导致家兔发病和死亡的病原体, 经鉴定它也是人类的病原体。出血败血性巴斯德 (氏) 菌空壳已被用来免疫家兔和老鼠。同样地, 溶血性巴斯德 (氏) 菌空壳已用作牛抗巴斯德 (氏) 菌病的疫苗。

三、血影

1. 简介

“血影”这个词是用来定义当红细胞处于渗透减退的可逆过程中时的类似细胞的结构。30 年来, 许多体内和体外实验研究了红细胞作为药物或其他物质的递药系统。血影是由人或动物如老鼠、兔子等的体内新鲜的红细胞用不同的包囊法转载不同的物质 (主要是药物、肽和酶) 所形成的。最常用就是基于渗透原理的方法如低渗透析。自体血影能作为药物的贮存池, 使药物稳定地释放到器官并选择性靶向肝、脾、骨髓的网状内皮系统 (RES)。血影载体的优点是: 高度的生物相容性、将药物装载到少量细胞中的可行性、药物向体内持续释放、选择性靶向 RES 以及装载高分子量的物质如肽的有效性。同时, 其缺点如下: 一些药物会从红细胞中快速漏出, 其他问题与其标准化的制备、贮存和污染有关。

血影可以通过各种途径制得, 如低渗稀释法、低渗预膨胀、渗透脉冲法、低渗溶血法、低渗透析法、电穿孔术、药物诱致的细胞内吞和其他化学方法。其中, 低渗透析法是最常用的。之所以最常用是因为它的简单性、大量运用药物的简便性以及最能保留所得到的血影形态学和血液学的特性。

低渗透析基于红细胞暴露在低渗溶液中会发生细胞肿胀和孔隙形成这一原理, 这样药物通过被动转运的方式进入红细胞当中。图 2-17 显示了整个方案。通常使用透射电子显微术 (TEM) 和扫描电子显微术 (SEM) 对血影进行形态学检测。从色素的溶解也可以得到一些物理参数。溶血法会影响溶血的体积、表面积和张力。图 2-18 显示了 SEM 中观察到的低渗透析当中转载阿米卡星的红细胞的形态学改变^[32]。

血液学参数可用来表示制备血影的步骤对其血液学特性的影响。其他参数如还原型谷胱甘肽 (GSH), 即红细胞平均容积 (MCV) 或红细胞分布宽度 (RDW) 可

以通过血液病学的分析器来分析。低渗透析所得的血影其平均血球体积会减小，其大小分散度会增大。相比于正常红细胞，血影显示出更高的血溶性。

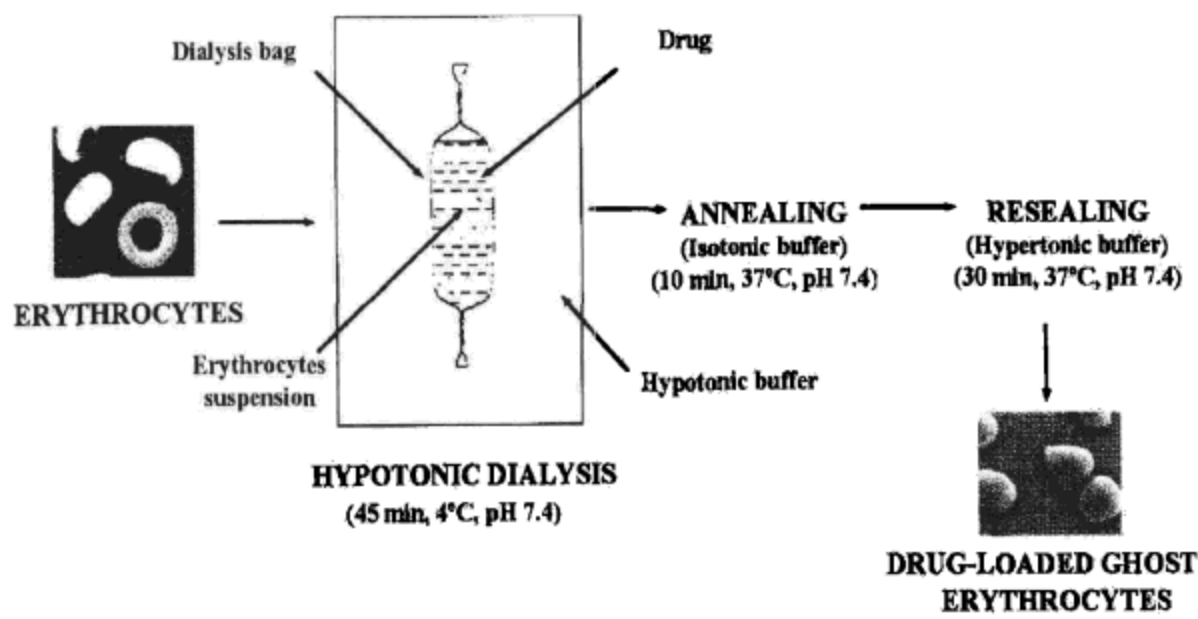


图 2 - 17 运用低渗透析法血影的生成和药物转载
(Torchilin. Nanoparticulates As Drug Carriers, 2006)

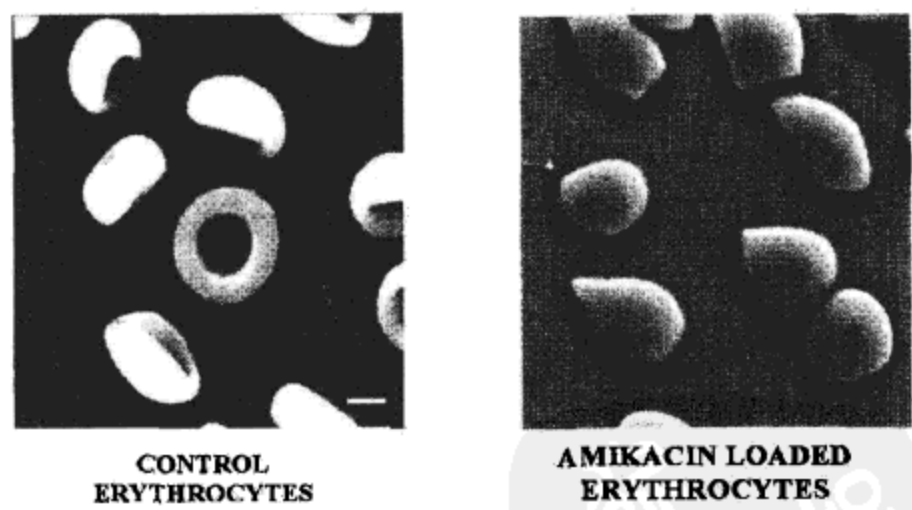


图 2 - 18 低渗透析法所得载阿米卡星红细胞的 SEM 显微照片 (Gutierrez - Millan C, Arevalo M, Zarzuelo A, Gonzalez F, Sayalero M L and Lanao J M. Drug Del, 2005)

2. 血影作为递药系统的应用

血影可以装载酶、蛋白和肽，并持续释放到体循环和 RES。体外研究药物从血影中释放通常是在 37 °C 自体血浆或是等渗液中，或者使用一个透析袋。药物的释放通常是一级步骤，这说明药物是通过被动扩散机制来穿透浆膜的。然而，零级释放动力学也已被阐释。体外研究发现不同药物、酶和蛋白的释放比较缓慢。体内研究发现，包囊药物的药代动力学会发生改变，包括与红细胞生物半衰期有关的组织的药物清除。相比于单独的药物，研究者在人和动物体内观察了增加的血浆半衰期和药物的曲线下面积。同时，血影显示了在肝和脾组织中更多的聚积。用戊二醛、维生素 C、二价铁离子、二酰胺、胰岛素、苯肼和维生素 H 的 N - 羟基琥珀酰亚胺酯

(NHS - biotin) 来修饰其血影表面, 可以加强体外被巨噬细胞的识别和体内的肝靶向性。红细胞可以广泛被用作一些诸如抗癌剂、抗感染药、抗高血压药和皮质甾类等的载体。

四、干细胞

在基因治疗领域一个重要的目标就是设计开发基因载体, 能够包裹和保护核酸, 选择性地释放载体/核酸复合物到靶组织, 这样基因材料随后将会在细胞水平被释放。事实上, 有一些方法可以达到这个目标。第一个是通过使用病毒来包被基因材料。这种方法存在一些局限性, 因为它局限于那些对病毒有易感性的细胞, 同时病毒给药本身有免疫问题存在^[33-34]。第二种方法就是使用基因修饰的活细胞, 如干细胞, 将转基因材料输送到体内。

干细胞治疗是一种新方法, 那些死亡或是丧失功能的细胞将会被健康的成熟干细胞所取代。其中一个优点就是可以从成熟组织获得样本或是从现实的病人取得细胞, 经培养之后再植入。可以使用诸如淋巴细胞或成纤维细胞的干细胞作为递药系统。在各种治疗应用当中, 特别是在癌症的治疗当中, 这种在实验室条件下研究的系统得到了检测。鉴于干细胞对肿瘤组织的亲和性, 设计的干细胞被成功用作对癌细胞的直接递药系统。从被携带有人干扰素 β 基因的腺病毒载体转染得来的骨髓中提取的人间质干细胞进行体外培养, 它们能够发挥抗肿瘤的疗效。投药到体内的干细胞能够将基因材料运输到癌细胞, 这对实验性的肿瘤如老鼠的肺癌有很好的疗效。图 2-19 显示了这一给药方案。

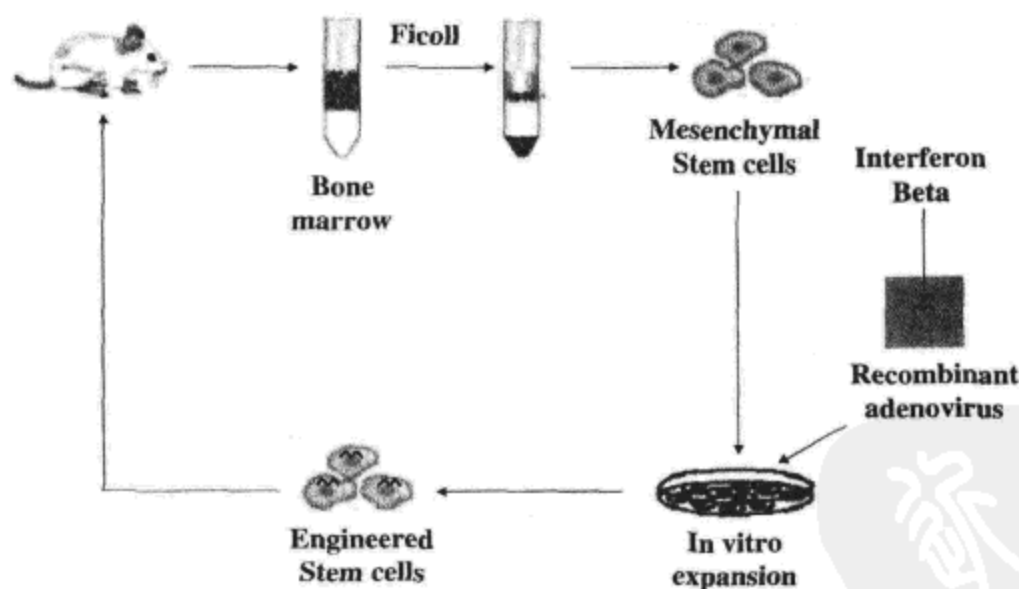


图 2-19 干细胞作为基因给药载体在实验性癌症中的应用
(Torchilin. Nanoparticulates As Drug Carriers, 2006)

研究者体内实验使用设计神经干细胞装载腺病毒来表达白介素 -12 这个溶瘤细胞基因, 它在治疗颅内恶性胶质瘤中表现出有效性。造血干细胞的使用使得抗病毒基因被转染到 T 细胞和巨噬细胞以治疗 AIDS 成为可能。干细胞作为载体也可以在缺血性心脏病的基因治疗中发挥作用。干细胞还能在抗癫痫的治疗中被应用。

五、多形核白细胞

考虑到多形核白细胞 (PMN) 的选择性靶向感染部位的特性, 它能被用作抗生素载体。只需将 PMN 在 37 °C 时放于高浓度的抗生素中孵育 1 h 就可使抗生素装载到细胞上。装载大环内酯阿奇霉素的 PMN 在体内模型中很有效, 这种模型允许抗生素以生物活性的形式运输到被沙眼衣原体感染的极化的人子宫内膜上皮细胞 (HEC-1B) 中的衣原体包体内。PMN 载体使得大量抗生素在子宫内膜上皮细胞中积累并长期滞留。

六、凋亡细胞

程序性死亡或凋亡是一个细胞自身基因控制的过程, 它是由各种不同的刺激诱导产生的, 如诱导死亡的配基结合到细胞表面受体。通过使用生物机制来给药使得凋亡开始发生时, 一种称之为凋亡诱导给药 (AIDD) 的新的递药系统可以将药物运输到肿瘤细胞。这种系统是基于凋亡产物会改变细胞的形态学的理论。

凋亡会加强膜的通透性, 这使得包囊的药物可以从凋亡细胞释放到组织中。载药的凋亡细胞可被肿瘤细胞吞噬的特性使得药物可以靶向定位肿瘤细胞。AIDD 系统的一个优势是载体细胞能被基因改造以修饰它们的特性。在体外实验中, 将 S49 老鼠的淋巴瘤细胞暴露在地塞米松中使其凋亡, 转载了药物后这种载体对 RG-2 细胞所产生的细胞毒性是对照组的 4~7 倍。

七、肿瘤细胞

使用载药肿瘤细胞系统 (DLTC) 是一种新的递药系统。肿瘤细胞作为药物载体可使药物靶向血源性的癌细胞并潜在转移到肺器官。实际上, 恶性肿瘤细胞的胞膜和靶器官的上皮细胞表达的转移地址素有亲和力。体内研究中使用了黑色素瘤细胞 B16-F10 装载阿霉素。阿霉素在老鼠肺器官中聚积的浓度远远高于单独给阿霉素的对照组。

八、树状突细胞

树状突细胞 (DC) 是抗原提呈细胞。它们通过吞噬摄取抗原, 然后消化抗原, 将消化后的片段提呈到表面。它们在免疫系统里扮演着重要的角色, 它们在体内巡视着预示感染或疾病的抗原, 对 T 细胞反应的诱导起着重要的作用, 这种诱导会导致细胞介导免疫的发生。药物与树状突细胞组合可以选择性靶向 T 细胞, 使得这些细胞在体内的反应可被操纵。有研究显示当 O-半乳糖酰基鞘氨醇结合到树状突细胞载体中时会表现出抗肿瘤活性。

九、结语

本节主要论述了细胞和影细胞作为药物、酶和基因载体的使用情况。其中, 我们详述了细菌空壳、血影和干细胞。它们的高生物相容性和选择性靶向运输提示这是一种在癌症、心血管疾病、AIDS、基因治疗等领域可以替代纳米和微米粒的递药系统。与细胞载体相比, 经修饰的病毒也能用作递药系统, 特别是在基因治疗领域。然而, 目前对它们的临床实验研究仍受到限制, 尽管我们期望在不久的将来这些细胞递药系统在治疗中能够得以应用。

第七节 固体脂质纳米粒

一、简介

固体脂质纳米粒 (Solid Lipid Nanoparticles, SLN) 的研究起始于 20 世纪 90 年代, 是新型的亚微给药系统, 是一种以室温下为固态的天然或合成的脂质或类脂, 如卵磷脂、三酰甘油等为基质, 将药物包裹于类脂核中制成粒径为 50 ~ 1000 nm 的固体脂质粒子给药体系。它解决了一般脂质体在体内外不稳定的缺点, 又避免了作为药物载体物理不稳定性, 油相对药物溶解度不高的问题, 以及聚合物粒子在制备过程中潜在的毒性物质和产生的细胞毒性。同时它集中了上述载药体系的优势, 与乳状液、脂质体相似, SLN 采用生物相容性好、耐受性好的类脂材料为载体, 可采用高压乳匀法进行工业化生产; 而且固体基质又使它具有聚合物纳米或微米粒子的优点, 不会发生化学降解而且更加容易调整化合物的释放^[35]。

二、SLN 作为药物载体

1. 研究现状

近十几年, 对 SLN 的研究几乎全部集中在药学方面的应用, 并且主要集中在非皮肤给药路径方面的研究上, 既用于静脉给药, 达到靶向或控释作用, 也用于口服给药, 以控制药物在胃肠道内的释放, 同时也被用于局部或眼部用药甚至脑部给药。近十年内, SLN 除了在药学领域的研究, 还扩展到化妆品领域, 除了因为 SLN 具有在局部运载活性化合物的优点, 另一个被认可的原因就是其投入市场的时间非常短。在近几年 SLN 作为基因载体也被广泛研究, 例如利用 SLN 进行绑定并转染 DNA。此外对 SLN 的研究还有其他新进展, 如由于 SLN 载药量较低而且内部结构较为有序, 存储过程中药物易于渗漏, 出现了纳米脂质载体 (Nanostructured Lipid Carrier, NLC) 和药脂结合物纳米粒 (Lipid Drug Conjugate Nanoparticles, LDC)。NLC 是以室温下的固态脂质和与其化学性质差异较大的液态脂质作为基质的一种固体胶体粒子给药系统。与 SLN 不同的是, 由于不同凝固点的脂质相混合使得 NLC 具有不规则的内部结构, 从而具有更高的载药量, 药物在存储过程中的渗漏率也大大降低。LDC 是针对水溶性药物的一种纳米药物载体, 使水溶性药物通过成盐或与类脂形成共价键的方式与脂质结合, 加入表面活性剂溶液制成初乳, 再经高压乳匀即可制得。LDC 载药量较高, 作为水溶性药物的纳米载体前景广阔。

2. 制备组分

SLN 的固体基质为生物相容性可降解天然和合成的类脂, 主要有脂肪酸 (硬脂酸、棕榈酸、癸酸、二十二酸等)、甘油酯 (三月桂酸甘油酯、三棕榈酸甘油酯、三硬脂酸甘油酯、三肉豆蔻酸甘油酯、单硬脂酸甘油酯等)、蜡质类 (鲸蜡醇十六酸酯等) 和类固醇类 (胆固醇等)。磷脂、胆酸盐、泰洛沙姆、非离子表面活性剂和一

些短链醇则常作为乳化剂。脂质以及乳化剂的选择对于 SLN 的性质有着重要的影响。Mehnert 等的研究发现随着脂质熔点的增高, SLN 的粒径也随之增大, 这主要是由分散体系的黏度的增高引起的。黏度的增高导致体系中的小颗粒更容易聚集为较大的颗粒, 从而生成了更大粒径的脂质粒子。Mühlen 也证明增加脂质的浓度也会增加 SLN 的粒径。乳化剂的选择也直接影响了 SLN 的性质。Heiata 等以不同比例的三月桂酸甘油酯和磷脂为载体材料, 制备了齐多夫定的亲脂性前体药物齐多夫定棕榈酸酯的 SLN。实验发现磷脂的种类对所制备的 SLN 的性质影响很大, 采用 DPPC (Dipalmitoyl Phosphatidyl Choline) 时, 可制备中性的 SLN, 而采用不同摩尔比的 DPPC 和 DMPG (Dimyristoyl Phosphatidyl Glycerol), 则制得带负电荷的 SLN。前者粒径为 (203 ± 31) nm, 后者为 (294 ± 32) nm。

3. SLN 的结构

SLN 的内核由固体状的脂质体组成, 外层包裹着一层表面活性剂分子组成的双层膜^[35] (图 2-20)。

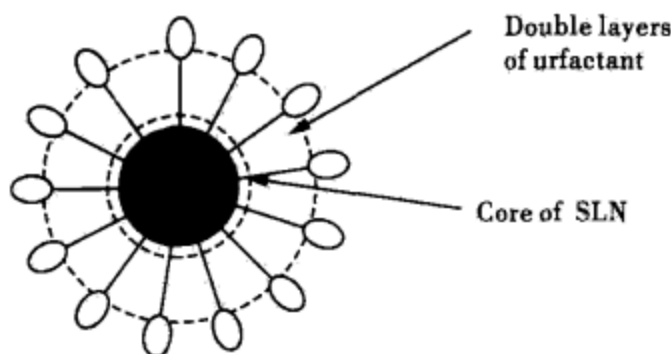


图 2-20 SLN 结构模型

(李欣玮, 孙立新, 林晓宏, 郑利强. progress in chemistry, 2007)

Gasco 等对包封了环孢菌素 A 的 SLN 的形貌进行了研究, 透射电镜显示其为圆球状, 当包载环孢菌素 A 为 6.0 % 时, 粒径为 250 nm, 多分散度为 0.25, 如图 2-21 示。Mader 等又通过冷冻蚀刻透射电镜观察出其制备的 SLN 为椭圆形的盘状, 厚度在 10 nm 以下, 平均粒径为 (250 ± 35) nm, 多分散度为 0.334。Gasco 等还制备出以甘油三酯为基质的 SLN, 通过 XRD (X-线衍射) 对其进行了分析, 发现 SLN 在广角出峰, 表明 SLN 内部存在晶体结构。



图 2-21 SLN 的透射电镜照片 (Ugazio E, Cavalli R, Gasco M R. Inter. J. Pharm., 2002)

三、SLN 的制备方法

1. 高速匀浆和超声法

高速匀浆和超声分散法是最早用于制备固体纳米分散体系的方法，因操作简单而被广泛采用，但在制备过程中存在粒度分布不均和金属粒子污染等问题。Ahlin 等通过这种方法研究了在 SLN 制备过程中乳化时间、搅拌速率和冷却条件等不同实验参数对颗粒大小以及 Zeta 电位的影响。结果显示以硬脂酸酯为载体的 SLN 优化条件为：搅拌速度 2 000 rpm，持续 8 min；冷却条件为室温下搅拌速度 5 000 rpm，持续 10 min。而属于 Dynasan 系列的甘油三棕榈酸酯的最佳分散条件为搅拌速度 25 000 rpm，持续 10 min，后于冷水中 5 000 rpm 的速率，冷却 10 min。

2. 高压乳匀法

高压乳匀法分为高温高压乳匀法和冷却高压乳匀法两种。高温高压乳匀法是将含有药物的脂质分散在高温表面活性剂溶液中，用搅拌器搅拌形成初乳，然后在脂质熔点以上进行高压乳匀，最后降温形成 SLN。冷却高压乳匀法为用固体脂质与液氮或干冰混合研磨产生脂质粉末包含 50 ~ 100 μm 的粒子，然后将粉末分散在表面活性剂溶液中，在低于脂质熔点 5 ~ 10 $^{\circ}\text{C}$ 下高压乳匀，通过高压乳匀机的剪切力使固体微粒成为 SLN。前者制得的 SLN 粒径小且分布窄，但长时间高温可能导致药物发生降解；而后者的药物暴露于热环境中时间短，适用于对温度极敏感的药物，所得颗粒粒径大且分布广。Souto 等用高温高压乳匀法制备出包入克霉唑的 SLN：首先将脂质升温至 90 $^{\circ}\text{C}$ ，再加入 5 % 的克霉唑（相对于酯含量）；然后将此高温液相加入到同样温度的乳化剂溶液中，利用 Ultra-Turrax T25 快速混匀 1 min (8 000 rpm)，再通过 500 bar 高压混匀 3 次；最后降温固化即得到 SLN，其粒径为 200 ~ 300 nm。经过包载率实验证明，该 SLN 对克霉唑的包封率在 60 % 左右。Yang 等报导采用高压匀质法将喜树碱制成固体脂质纳米粒，再用 10 % 甘露醇和 5 % 蔗糖作为赋形剂，以纯化水作为溶剂（不改变纳米制剂的电荷），将喜树碱固体脂质纳米粒制备成冻干制剂。在冻干制剂中喜树碱以无定形态存在。体外释放试验表明，此制剂有缓释作用，可缓释一周的时间。

3. 溶剂乳化法

将药物溶于有机溶液中，然后加入到含乳化剂的水相中进行乳化，然后蒸去有机溶剂得到 SLN 的稳定分散系统。应晓英等报导用溶剂乳化法制备了卡马西平硬脂酸固体脂质纳米粒：将处方量的卵磷脂、泊洛沙姆和甘油加入适量水中，水浴加热至 60 $^{\circ}\text{C}$ ，搅拌使充分分散；处方量的原药和硬脂酸溶于适量的氯仿，加热水相到相同的温度，将水相加入到油相；400 W 探头式超声处理 10 min，继续 60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴，恒温搅拌 1 h，同时减压去除有机溶剂，冷却至室温，得纳米粒体系，4 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。陈大兵等报导用 Brij78 进行表面修饰的硬脂酸纳米粒，可以减少或避免载体输送系统亚微粒在体内对吞噬细胞的趋向性及增加纳米粒与所载药物对非 RES 器官的分布。其制备方法如下：取硬脂酸和丙酮 5 mL 加入到 25 mL 具塞梨形瓶中，超声使其充分溶解，微热使溶，构成有机相。另取 Brij78 溶于 25 mL 注射用水中，构成水相。将有机相以 6 号针头注入 1000 rpm 搅拌的 (75 $\pm$ 2) $^{\circ}\text{C}$ 的水相，继续搅拌 4 h，使有机

溶剂完全蒸发,并使体系浓缩至约 10 mL;将所得的半透明体系快速混于另外的 0℃~2℃的搅拌速度为 1 000 rpm 的 30 mL 的水相中,继续搅拌 2h,即得硬脂酸纳米粒的胶体混悬液。颗粒的大小取决于有机相脂质的浓度,非常小的颗粒只能在低脂浓度下存在。此方法的缺点是使用了有机溶剂。

4. 薄膜-超声分散法

将类脂和药物等溶于适宜的有机溶剂中,减压旋转蒸发除去有机溶剂,形成一层脂质薄膜,加入含有乳化剂的水溶液,用带有探头的超声仪进行超声分散即可得小而均匀的 SLN。Hodoshima 等以合成的聚乙二醇类脂与卵磷脂或 DPPC 为乳化剂,制备 4-O-四氢吡喃-阿霉素(THP-ADM)前体药物的 SLN。先将 THP-ADM 酯化制成脂溶性较强的 14-O-hexadecanoyl-3'-N-salicylidene-THP-ADM;然后与 PEG-lipid, PC 或 DPPC,三油酸甘油酯或大豆油以 3:5:5:7 的比例溶于二氯甲烷-甲醇(4:1)混合溶剂中,减压旋转蒸发形成一层薄的脂质膜;再加入 $0.24 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的甘油溶液,超声分散即可制得粒径为 30~50 nm 的 SLN。粒子大小主要取决于油相与乳化剂的摩尔比。冰箱储存 20 个月,SLN 的粒径及粒径分布均无明显变化。

5. 微乳液法

微乳液法制备 SLN 通常先将脂质载体加热熔化,加入药物、乳化剂、辅助乳化剂和温水制成外观透明、热力学稳定的 O/W 型微乳液,然后在搅拌条件下将微乳液分散于冷水(2℃~3℃)中,即可形成 SLN 分散体系。所得纳米粒的粒径与微乳液粒径和稀释时微乳液聚集有关。冷却时,微乳液与冷水的温差对制备小粒径的 SLN 非常重要,快速结晶可部分防止粒子聚集。脂质粒子的固化过程实际也是稀释过程(常用稀释比为 1:25~1:50),故所得分散液的固体含量较低,且需使用大量的乳化剂和辅助乳化剂。Ugazio 等以此法制备了环孢素 A-SLN。

四、SLN 的表面修饰

药物载体输送系统易被体内免疫系统的吞噬细胞作为异物而识别和吞噬,这些吞噬细胞主要为单个核吞噬细胞系统和多形核白细胞。通常认为纳米粒被单个核吞噬细胞系统快速摄取与血浆中的调理蛋白对其吸附有关。因此为了延长载体在体内的循环时间,就要通过对纳米粒表面的修饰作用使其与调理蛋白的吸附作用减小。对 SLN 进行表面修饰,主要考虑表面的亲水性和亲脂性、表面电荷和空间特性等对其与调理蛋白吸附作用的影响。一般认为,表面亲脂性越强,吞噬细胞对其吞噬作用也越强,因此应该选择具有亲水性的材料,如聚乙二醇(PEG)。负电荷表面往往使纳米粒相对于正电荷或中性表面在体内更易被清除,而中性的表面最适合用于延长其在体内的循环时间。另外,纳米粒与纳米粒之间以及纳米粒与体内环境之间有着复杂的作用,空间位阻排斥力相对于静电排斥力能更有效地克服范德华力的吸引。如果纳米粒有较好的空间位阻作用,则其与体内调理蛋白的吸附作用就会减弱。因此对 SLN 表面用亲水性长链进行修饰是减少其与调理蛋白吸附作用的有效方法。

Garcia-Fuentes 等利用聚乙二醇-硬脂酸(PEG-stearate)修饰 SLN,其作用原理是亲脂性载体材料硬脂酸(R)与 PEG 键合形成二嵌段共聚物 R-PEG。当形成

SLN 时, R 插入到纳米粒的核心而 PEG 则在纳米粒的表面起修饰作用。

五、SLN 的理化性质分析

研究 SLN 时要注意脂质体通常是柔软浓缩的物质, 是一个非常复杂的体系, 不仅要考虑它们的静态结构, 而且要考虑到它们超分子构造的动力学、迟滞现象或者过冷现象, 这些将会使我们对于其结构的研究变得复杂。SLN 的物化参数直接关系到 SLN 的稳定性、包封率以及释放机制等问题, 最重要的影响因素包括: 颗粒大小和 Zeta 电势、结晶度和脂质多晶型、共存的一些胶体体系以及分布过程。

六、SLN 的给药途径

1. 注射给药

SLN 制备成胶体溶液或冻干粉末后静脉注射给药, 可达到缓释、延长药物在体外循环系统或靶部位停留时间等作用。大鼠体内的药代动力学研究表明, 阿霉素 SLN 静脉给药后较普通注射液具有更高的血药浓度。

2. 口服给药

SLN 可以液体形式口服, 或制成常用剂型, 如片剂、丸剂、胶囊、软胶囊和粉剂等。SLN 口服后, 利用纳米粒的黏附性可增加载药粒子在药效部位或药物吸收部位的停留时间和接触面积, 提高生物利用度, 减少不规则吸收。SLN 还可替代赋形剂改善药物在胃肠道中的分布, 控制药物从脂质基质中的释放, 保护多肽类药物免受胃肠道消化酶的降解, 并可能通过其他转运途径促进吸收。喜树碱 (CA) 的 SLN 口服给药后, 与 CA 溶液剂相比, 在所考察的各器官中, CA 的 AUC (Area Under the Concentration - Time) 和 MTR (Mean Residence Time) 均有显著提高。其中在脑中的 AUC 提高最多, 说明 SLN 作为缓释和靶向制剂的载体具有广阔的应用前景。

3. 局部给药

SLN 由人体耐受性好的辅料制成。由于粒径很小, 可黏附在皮肤表面形成一层膜, 对皮肤有闭合作用, 增进水合, 提高药物对皮肤的穿透率。维生素 E 是化学不稳定药物, 制成 SLN 后, 不仅可增强药物对皮肤的穿透能力, 而且可以提高药物的稳定性。研究表明, SLN 固体颗粒本身就具有对紫外线吸收作用。当 SLN 包封化学和物理防晒剂时, 配方会显示出防晒效果的协同效益。同时可避免防晒分子渗透入皮肤所产生的发炎现象, 从而显现出 SLN 在化妆品领域颇具吸引力的应用前景。

4. 肺部给药

SLN 可用喷雾干燥法或冷冻干燥法制成粉末, 用于肺部干粉吸入给药。药物从肺部释放的主要优点是可控制释放曲线。可考虑靶向肺巨噬细胞, 因为肺部的颗粒很容易被肺部巨噬细胞获取。

七、SLN 的载药及释放

脂质的化学结构、晶体结构和多晶型等都会影响到载体对药物的包封。根据固体脂质与药物间的不同特性、不同的相互作用方式, 出现了如图 2-22 所示的 3 种药物包封模式: ① 固体溶液型; ② 核-壳型, 药物富集于壳; ③ 核-壳型, 药物富集于核。

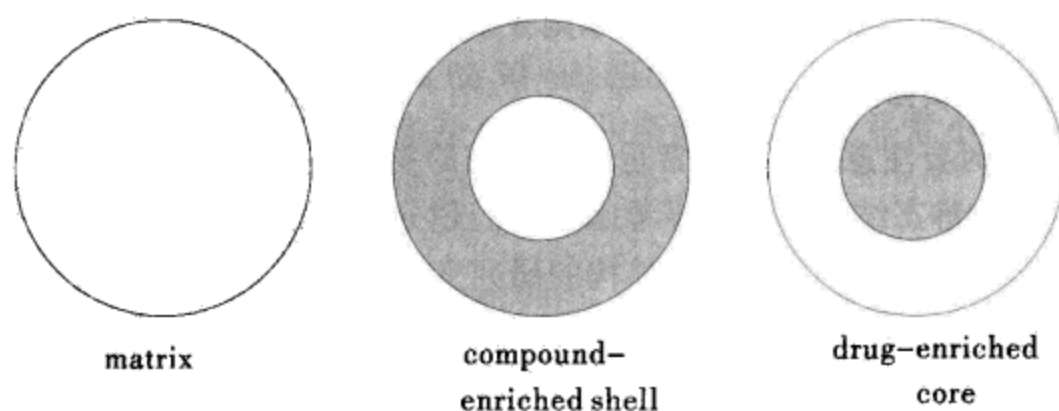


图 2-22 SLN 对活性物封装模式

固体溶液型（左）；核-壳型，药物富集于壳（中）；核-壳型，药物富集于核（右）。李欣玮，孙立新，林晓宏，郑利强. *Progress in chemistry*, 2007, 19 (1): 87-92.

若药物熔点高于脂质熔点，冷却时药物会优先凝固形成药物核，表现出缓释行为和高包封率；若药物熔点低于脂质熔点，脂质则优先重结晶形成脂质核，药物分布在其外层，表现为突释行为和低包封率。药物亲脂性越强，分布于脂质核的药物就越多，分子极性越大，包封率越低。SLN 适合于作为延迟释药的给药系统，影响释药曲线形状的主要因素是表面活性剂浓度、温度和脂骨架的性质。当采用热乳化技术生产 SLN 时，药物从油相分配到水相，水相中的药物量随药物在水中溶解度的增加而增加，即随着增加水相温度和提高表面活性剂浓度，分配到水相中的药量增加。水相中的温度和表面活性剂浓度越高，药物在水相中的饱和溶解度越大。当将 O/W 型纳米乳冷却时，随着水相温度的降低，药物在水相中的溶解度不断降低，也就是说药物将重新分配入脂相。当达到脂的重结晶温度时，固体脂核开始形成，在此温度下部分药物被包入脂相。进一步降低分散相的温度，药物在水相中的溶解度会进一步降低而重新分配到脂相中，已结晶的母核药物难以进入，此时药物浓集在 SLN 外壳或存在于 SLN 颗粒表面上。存在外壳和颗粒表面上的药物以突释的形式释放，被包在核心的药物则缓慢释放。考虑一些对剪切和温度敏感药物的包入，如 DNA、白蛋白和红细胞生成素，不适合用高温高压乳匀法和高速匀浆法，因此冷却高压乳匀法和微乳液法被应用于此类药物载体。近来，又研究出了一种有趣的载药方法，药物在制备 SLN 之后再吸附，此方法避免了药物在载入过程中变质，同时也使得 SLN 成为抗原潜在的载体。Schubert 等运用此方法制备了吸附了牛血清蛋白 (BSA) 的 SLN，实验测得牛血清蛋白载入量为 2.5% ~ 10%，组成不同，颗粒大小为 61 ~ 674 nm，Zeta 电势在 -23.4 mV ~ -0.9 mV 之间。

八、结语

固体胶体给药系统由于其优势已成为国内外研究药物载体的热点，在靶向和缓释控释给药方面是一种有吸引力的新型给药系统。SLN 作为药物载体还有一些问题有待进一步解决，如载药量不高，易发生药物突释，如何从分子水平上认识 SLN 的结构等等。随着对固体脂质纳米粒研究的日益深入，其独特的优点和广泛的应用范围将使它在剂型开发领域中举足轻重。

第八节 树状大分子药物载体

一、定义与特性

树状大分子是一类树状、有多支化中心和高度支化结构、表面具有极高官能团密度、大小可以控制的新型大分子。利用树状大分子作为药物载体是目前分子药剂学研究的热点。树状大分子有结构大小可高度控制、无免疫原性、稳定、在可使用剂量下无毒性、能适时降解且降解产物无毒性、生物转染效率高等特点。端基官能团比同类聚合物具有更高的化学反应性，可以连接各种药物、抗体、半糖、脂质体、基因等，通过毛细血管进入组织间隙，被细胞吸收。树状大分子作为药物载体可延长药物在血液中的滞留时间，控制药物在体内的释放速率，保护药物免受环境破坏，具有很好的缓释作用和靶向性^[36]。

二、研究进展

树状大分子已从单一结构功能逐渐演变成多功能超支化树状分子，作为药物载体的发展主要有下面几个阶段：

① 单分子微胶粒树状大分子：具有非极性核和极性外壳，在 1985 年首次被 G. R. Newkome 等合成，具有新戊基核及饱和烃链四分支对称结构，三十六羧基单元。亲脂性药物可插入树状大分子亲脂性结构中，因此单个分子可以包裹药物独立存在，而不依赖于树状大分子浓度。树状大分子可通过 $\pi - \pi$ 键增溶具有芳香环的化合物，增溶能力与芳香环的电子云密度有关，增溶效果与十二烷基硫酸钠相当，但不同于常规胶束增溶的是其没有临界浓度。目前广泛应用的聚酰胺 - 胺（PAM-AM）树状大分子（见图 2-23）就属于该类。

② 聚乙二醇树状大分子：用聚乙二醇（PEG）修饰树状大分子表面使其具有更高的增溶能力、更好的生物适应性，聚乙二醇连接在树状分子表面提供包围在疏水性核外的亲水性外壳。一般来说树状大分子越大，聚乙二醇链越长，对药物的增溶效果越好。Kojima 用聚乙二醇树状大分子载阿霉素和甲氨喋呤，发现随着树状大分子增大，聚乙二醇链长度增加，载药量也增加。Bhadra 等用聚乙二醇树状大分子载 5-氟尿嘧啶分子，可以减缓药物的释放，并且毒性远比没有用聚乙二醇修饰过的树状大分子低。

③ 树状大分子盒：Jansen 等利用聚乙烯丙烯亚胺树状大分子（PPI）合成树状大分子盒，通过修饰末端氨基得到大量高表面密度氨基衍生物，有固相性能的手性外壳及包裹药物的柔性内核。客体分子在合成过程中被捕获到树状大分子盒空穴中，壳外高密度的表面使客体分子即使在加热、超声的情况下都不会扩散到分子盒外。

④ 核状树状大分子：具有中空纳米球核的树状大分子，药物在树状大分子合成后期，通过对树状大分子结构修饰进行包封。经典的树状大分子核的主要作用是连

接各个分支，交联外围的表面结构以维持树状大分子结构稳定性。而核状树状大分子通过环合反应维持树状大分子稳定性，通过酯键的断裂移除核，残留结构通过醚键连接而保持结构稳定，但客体分子如何进入核内尚不明确。

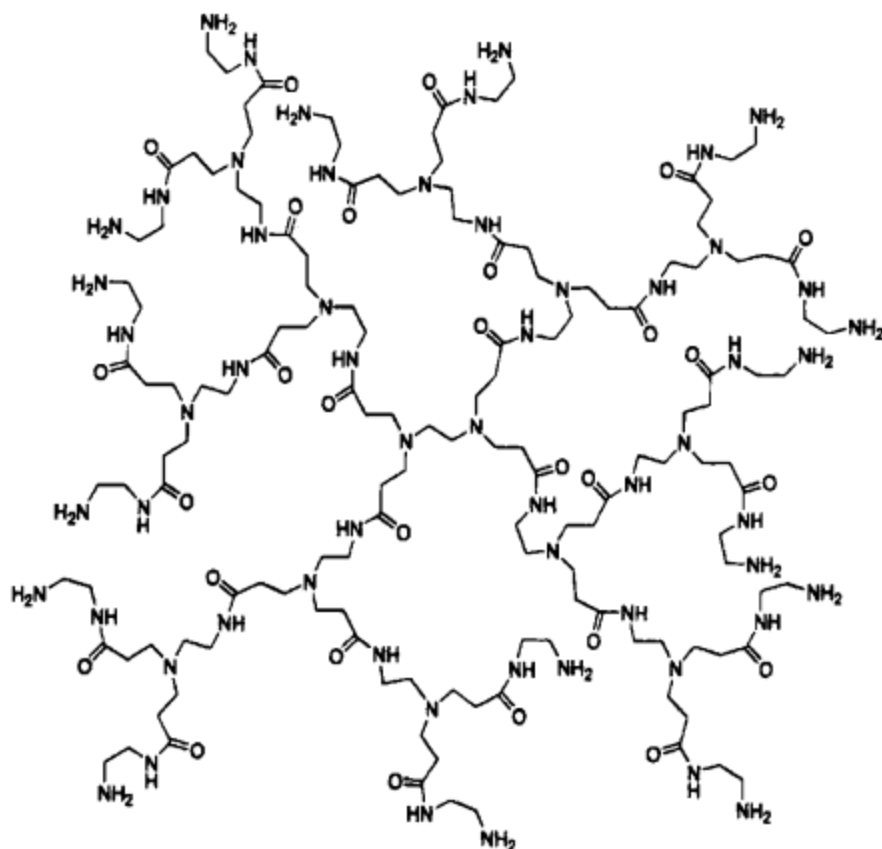


图 2-23 PAMAM 结构图 (何谷, 郭丽. 有机化学, 2008)

⑤ 树状嵌段共聚物：具有线性的亲水性分支和疏水性分支的树状大分子，比一般的表面活性剂在稀释或加热条件下更稳定。这种在水溶液中自交联形成的两亲树状大分子可与难溶药物形成复合物增溶药物。Aoi 等合成了典型的 AB 型树状嵌段共聚物，A 段在 PAMAM 树状大分子终端连糖基，B 段则连邻苯二甲酰基。这类被称为糖球的 AB 型嵌段树状大分子对于 DNA 和蛋白质有双对接面，具有识别蛋白质受体的能力^[37]。

三、树状大分子载药方式

1. 物理捕获

树状大分子通过静电引力、疏水键和氢键相互作用将药物分子物理捕获在树状大分子内或树状大分子间。该载药系统可通过简单搅拌包埋药物，避免化学合成，药物通过扩散从树状大分子内部释放出来。Pavel Kubát 等研究了吡啉在水溶液中与树状大分子的作用。将 5, 10, 15, 20 - 四 (4 - 对磺酸基苯基) 吡啉 (TPPS) 和 5, 10, 15, 20 - 四 (4 - 异辛基磷酸基苯基) 吡啉 (TPPP) 连接到 PAMAM 树状大分子上。研究发现吡啉与 PAMAM 树状大分子表面的氨基或羧基通过静电相互作用连接到 PAMAM 树状大分子上，同时具有正电荷的第 5 代 PAMAM 树状大分子能够诱导吡啉面对面排列形成更稳定的 H - 二聚体结构^[41]。Parag Kolhe 发现第 4 代 PAMAM 树状大分子在高 pH 时末端氨基与布洛芬的羧基发生静电作用，既可将布洛芬分子捕获在树状大分子内又可将其捕获在树状大分子间。

2. 化学键合

药物分子共价结合在树状分子表面或其他基团上形成复合物,通过化学键的水解或酶解释放药物,释药速度较慢,避免药物过早释放,且可利用刺激-响应使键断裂(如改变酸碱度或照射)而释放药物,实现靶向和控制释放。Patri 等通过酰化反应将叶酸连接到第5代 PAMAM 树状大分子上,用羟基等亲水基团修饰末端氨基,再利用酯键将抗肿瘤药甲氨喋呤连接到第5代 PAMAM 树状大分子上。酯键在生理条件下稳定,水溶性增加,在细胞溶酶体酸性环境中水解释放药物。Lopina 等利用酰胺和酯键将青霉素 V 与第2.5和第3代 PAMAM 树状大分子连接。酰胺键可保证键的稳定性,而酯键可控制药物经水解释放。

四、树状大分子作为药物载体的应用

1. 增溶药物

O. M. Milhem 等发现树状大分子在高 pH ($\text{pH} = 10.5$) 时对亲脂弱酸性药物布洛芬有明显增溶作用。原因是布洛芬为弱酸性药物 ($\text{pK}_a = 5.2$),在 $\text{pH} = 10.5$ 时电离为阴离子,与树状大分子末端氨基质子化形成的阳离子发生静电作用,而在低 pH 时弱酸性的布洛芬未发生电离,不能与树状大分子末端氨基发生静电作用,从而不能增溶药物。Abhay S. 等通过吡啶美辛的羧基与第4代 PAMAM 树状大分子氨基的静电作用以及第4代 PAMAM 树状大分子之间弱氢键作用增加难溶药物吡啶美辛的水溶性。在实体瘤、内涵体和溶酶体的酸性环境下,Mark Grinstaff (Boston University) 描述了一种新的树状大分子纳米粒,这一结构含有不稳定的乙缩醛基团,能在温和酸性条件下水解。这种结构包被紫杉醇,并能在 pH 为 5.0 时释放^[21]。T. Ooya 等合成了以乙二醇为核的聚甘油酯树状大分子,这类树状大分子可提高紫杉醇的溶解度近4个数量级。Yiyun Cheng 等利用 PAMAM 树状大分子表面氨基和喹诺酮类药物表面的羧基之间的静电引力以及其疏水性核,氢键和内部叔氨基形成的空腔载入疏水性药物诺氟沙星、普利沙星。紫外检测结果表明诺氟沙星、普利沙星的溶解度大大增加,且抗菌活性与纯药相似。Minglu Ma 等用 PAMAM 树状大分子载难溶药物磺胺甲唑 (SMZ)。磺胺甲唑可被捕获在内部的核中,末端的叔胺可与磺胺甲唑通过氢键作用使其溶解度增大,并且随着代数的增加,溶解度也增大。第3代 PAMAM 树状大分子载 SMZ (SMZ-G3) 比纯 SMZ 更易溶解于 DMSO 或 0.01 mol/L NaOH 溶液中^[38]。

2. 缓释药物

Liu 等合成了以 4,4-二(羟基苯)戊醇为核,PEG 修饰的树状大分子。以吡啶美辛为模型药物载药,每个树状大分子可装载大约 9 个药物,吡啶美辛的释放可延长至 30 h。Parag Kolhe 用第4代 PAMAM 树状大分子载布洛芬,其释放比布洛芬慢,具有缓释的效果。H. Yang 等发现第3代抗抑郁药万拉法辛通过可水解的酯键连接第2.5代 PAMAM 树状大分子。体内释药研究显示 50% 的药物在 18 h 内释放,全部释药需 120 h,若对其进行改进有望克服万拉法辛耐受性差需每日多次给药的缺点。Minglu Ma 等利用第3代 PAMAM 树状大分子载 SMZ,最大可载入 14 mol/mol 树状大分子。体外释放研究显示,1 h 后释放仅 4.8% SMZ-G3,而纯药释放 36.5%,10 h 后释放 42.4% SMZ-G3,纯药释放 62.4%。同时发现具有表面氨基官能团的

PAMAM 树状大分子更容易穿透分子膜, 可以帮助 SMZ 穿透细菌分子膜, 而达到靶向, 增加 SMZ 抗菌作用。Tathagata Dutta 用甘露糖修饰的第 5 代聚丙烯亚胺树状大分子 (MPPI) 以及第 5 代聚丙烯亚胺树状大分子 (PPI) 载抗 HIV 活性药物拉米夫定。体外药物释放试验表明甘露糖修饰的第 5 代聚丙烯亚胺树状大分子 (MPPI) 可延长释药达到 144 h (释放达到 $96.89\% \pm 1.8\%$), 第 5 代聚丙烯亚胺树状大分子 (PPI) 延长释药到 24 h。

Wiwattanapatapee 等设计了两种第 3 代 PAMAM-5-氨基水杨酸共轭物, 将其放在 37 °C 老鼠盲肠内容物中, 24 h 内药物释放分别达到 45.6% 和 57%。而市售品前药柳氮磺胺嘧啶释药非常快, 在 6 h 内释放出 80.2% 的药物。且 6 h 内 PAMAM-5-氨基水杨酸共轭物在 pH 为 1.2 的胃液和 pH 为 6.8 的肠液中没有检测到 5-氨基水杨酸, 只有小部分 5-氨基水杨酸 12 h 后在小肠液中被检测出。结肠靶向性和 5-氨基水杨酸的缓释作用显示, PAMAM 有望作为结肠靶向药物载体。

3. 靶向作用

Roy 等将唾液酸与多分支的 PAMAM 偶联, 利用“多元效应”合成了含多分支唾液酸的糖树状分子。病毒表面的血凝素 (HA) 与宿主细胞膜上含唾液酸残基的糖链可靶向结合, 经受体介导的内吞作用将病毒吞入细胞内, 阻断病毒和宿主细胞的结合。同时随着树状分子的分支增多, 其 IC_{50} 值显著降低, 提高糖树状分子的分支数可增强糖与蛋白质间的结合力。Patri A K 等在用 FITC 荧光素标记的 PAMAM 树状大分子表面连接抗 PSMA 抗体, 发现其对前列腺癌 LNCaP 细胞靶向, 且免疫活性无明显减少。

Tatsuya Okuda 等合成了第 6 代赖氨酸树状大分子 (KG6) 和聚乙二醇树状大分子, 并在正常的小鼠和荷瘤小鼠体内进行评价。KG6 在血液中迅速清除, 在肝和肾无蓄积。聚乙二醇树状大分子能明显增加药物在血液中的滞留时间, 降低药物在组织器官的分布。而聚乙二醇-KG6 通过对肿瘤细胞高的渗透和滞留作用, 使药物在肿瘤部位有效聚集, 可作为肿瘤靶向载体^[39]。

HIV 病毒可感染巨噬细胞使其作为病毒携带者, 巨噬细胞的外源凝集素分布在其表面, 树状大分子连接上糖类如甘露糖或半乳糖可靶向作用于巨噬细胞, 增加药物的安全性和治疗效果, 改善病人的耐受性, 减少药物的副作用。麻省理工学院的 Paula Hammond 描述了线性树状分子聚合物 (又称斑片颗粒) 的制备和特性, 指出它有助于细胞结合分子的有机提呈。例如附在树状分子聚合物表面的叶酸能使其与阳性肿瘤细胞的叶酸受体结合^[17]。Narendra K 体外配体实验显示用甘露糖修饰 PPI 对刀豆蛋白 A (ConA) 靶向结合显著, 并且亚毒性浓度比纯的药物低。

4. 其他作用

Mohammad Najlah 利用氨基以及酯键将萘普生连接到 PAMAM 树状大分子上, 在 80% 的人血浆以及 50% 老鼠肝脏组织中稳定, 比单纯萘普生的渗透性强。使用乳酸脂将萘普生连接到第 0 代 PAMAM 树状大分子上, 形成的 GO-lact-NAP 可增加萘普生在血浆中的稳定性, 降低萘普生在肝脏组织中的水解速度, 提高萘普生口服生物利用度。Narendra K 研究发现除了缓释和靶向作用外, 用 ELISA 技术检验 HIV 病毒表面 p-24 抗原, 0.019 nmol/mL 空白 PPI 和空白 MPPI 对 p-24 抗原有轻微的抑制作用, 0.156 nmol/mL 空白 MPPI 对 p-24 抗原有显著的抑制, 使 p-24 抗原可减少

5.83 ng/mL。R. Delong 等利用树状大分子表面带正电的氨基与 DNA 带负电的磷酸基连接形成具有螺旋结构的 DNA - 树状大分子的复合物, 其并不改变 DNA 的结构, DNA 分子由伸展结构压缩为体积相对较小、不易被核酸酶降解的 DNA 分子, 可防止复合物在短时间内沉淀, 进而提高转染效率并且保证复合物结构的稳定性和 DNA 活性。

五、结语

树状大分子结构高度控制的特性使其成为分子药剂学上的热门研究对象, 树状大分子作为药物载体至少具有以下多方面的明显优势:

- ① 树状大分子可增加难溶药物的溶解性, 便于制剂和提高生物利用度。
- ② 树状大分子具有特殊的表面形状、树枝状结构及表面正电荷, 可在其外层接上靶向基团, 或通过结构修饰使其具有缓释、靶向的作用。
- ③ 某些树状大分子本身具有抗菌性能, 可抑制或杀死某些病毒, 若作为抗菌药物载体可提高药物抑菌、抗菌能力。
- ④ 树状大分子这类非病毒载体没有免疫原性, 不会引起细胞的免疫反应, 利用其包裹作用可保护基因类药物免受酶的降解到达细胞内, 有望作为生物药物载体。

在过去 20 年内国内外对树状大分子的研究发展迅速, 但对于树状大分子作为药物载体的研究尚处于积极的探索与积累阶段, 许多性质、机理还属未知, 有待深入全面的研究。目前国外已有商品化的 PAMAM、PPI 树状大分子以及 PAMAM 部分水解得到的体外基因转染剂 PolyFect, 国内由于缺少一些先进的仪器和检测设备等, 受客观实验条件的限制, 对树状大分子作为药物载体的研究尚浅。但随着生物医学、材料科学等相关技术的发展, 树状大分子将会成为一种很有潜力的药物载体应用于医药领域。

第九节 螺旋体药物载体

一、简介

基于脂类的螺旋体递药系统似乎很好地解决了经口给药的问题, 因为: ① 它能够组构成多种不同的分子, 特别是疏水性分子; ② 它能够保护敏感的生物活性分子免受严酷环境条件的影响。接下来, 我们将重点论述螺旋体药物载体的主要特点以及这种给药系统的制备工艺情况^[1]。

二、结构

Demetrios Papahadjopoulos 和他的同事于 1975 年发现带负电荷的磷脂酰丝氨酸与钙相互作用能形成一种螺旋沉淀物, 他们首先对其进行了描述并将其命名为 “cochleate”, 意为 “螺旋体”, 在希腊语中则是壳的意思, 因为其卷曲形状十分像壳。同时他们通过融合由钙离子诱导的带负电水泡实验, 解释了螺旋体形成的基本机理。这些雪茄状结构物已被用作疫苗抗原的传递载体, 最近又被研究用作小分子药物的传递工具。由两性霉素 B 组成的螺旋体目前已被用作口服药物成分来治疗系统性真菌感染, 螺旋体有关的其他医药或非医药用途也正在被开发。

三、螺旋体制备

1. 选用磷脂和正离子

螺旋体是磷脂离子沉淀物，那是不是意味着所有磷脂和任何离子的沉淀物都可以产生螺旋体呢？例如任意一种带负电荷的磷脂复合体与任何阳离子或带正电荷的油脂复合体与任何阴离子能否产生螺旋体呢^[40]？

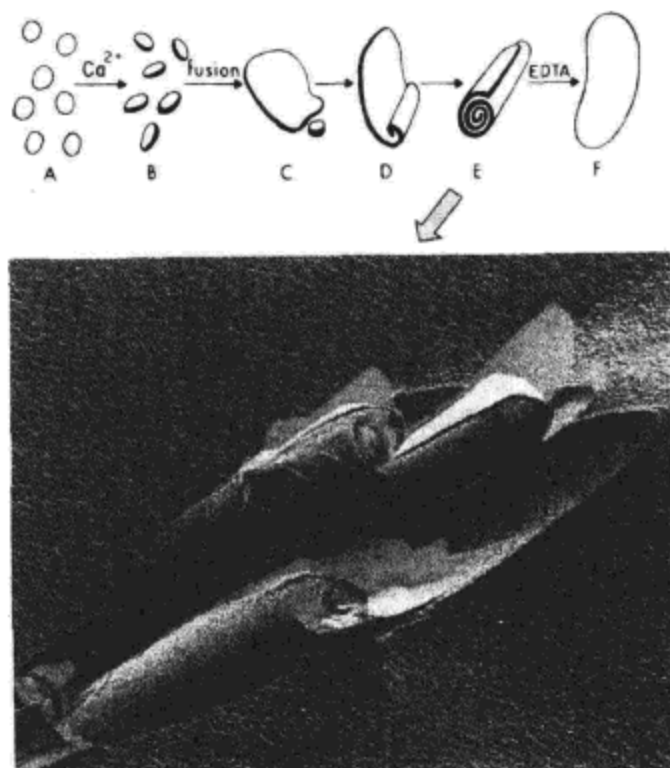


图 2-24 螺旋体圆筒结构和形成机制 (Segarra I, Movshin D A and Zarif L. 29th International Symposium on Controlled Release of Bioactive Materials, Seoul, Korea. 2002)

1975 年, Papahadjopoulos 将这个卷曲的磷脂结构命名为螺旋体。据我们所知, 到目前为止, 尚没有物理化学证据表明带正电荷磷脂与阴离子能够产生这种雪茄状结构物质。相反, 带负电荷的磷脂与阳离子如钙离子共同沉淀, 则可获得大量雪茄状结构。其他带负电荷的磷脂如磷脂酸 (PA) 或磷脂酰甘油衍生物也被研究过。负电荷磷脂与其他油脂的混合物也可导致螺旋体形成, 这种情况下, 螺旋体的形成取决于负电荷脂和其他油脂的比例, 同时也取决于负电荷脂的天然性质。例如, PA 衍生物在加入钙阳离子后形成螺旋状结构, 然而, 当二酰基卵磷脂 (PC) 或二酰基磷脂酰乙醇胺 (PE) 与阳离子混合时, 发现有约 20% (摩尔百分比) 的 PC 或 PE 可以产生与 PA (Ca^{2+}) 混合时相似的螺旋体, 更多的是出现完全不同的 PC 或 PE 形态。其他磷脂衍生物例如半乳糖神经鞘脂羟基脂肪酸脑苷等被报导能通过乙二醇悬浮热处理产生螺旋体。不过, 加入相应的聚合脂 (如聚乙二醇) 到磷脂酰丝氨酸 (PS) 囊泡中能抑制钙诱导的融合。

一般而言, 介导药物运输的赋形剂安全可靠也是口服药物传送系统的一个重要方面。大豆磷脂酰丝氨酸可能符合这一要求, 因为从 20 世纪 80 年代初人们就开始使用其作为营养补充物, 至今已有多年的使用年限, 未曾发现有大的副作用。临床试验显示磷脂酰丝氨酸能帮助逐渐老化的大脑维持正常精神作用, 如加深记忆、提高

学习能力、减轻压力和减少忧虑等。螺旋体可以用纯化的大豆磷脂酰丝氨酸制备，这也意味着原材料便宜可行。此专利对纯化大豆磷脂酰丝氨酸和非纯化大豆磷脂酰丝氨酸进行了对比研究，结果显示螺旋体的形成要求磷脂酰丝氨酸的比例不低于75%，其他25%磷脂可以是阴离子簇如磷脂酸、磷脂酰甘油、磷脂酰肌醇或者卵磷脂等。纯化大豆磷脂酰丝氨酸螺旋体可以装载不同的生物活性材料，如营养补充物、维生素、抗病毒、抗真菌剂和小分子肽等。已有证据表明能使用纯化大豆磷脂酰丝氨酸来传送多烯抗真菌剂两性霉素B。两性霉素B螺旋体可以通过高酸碱度诱捕、膜法或凝胶法等制备；后者可形成纳米螺旋体。阳离子的性质也是螺旋体形成的重要因素。沉淀过程中，二价阳离子比单价阳离子更易形成螺旋体。单价阳离子如 Na^+ 经报导能抑制螺旋体的形成，提高 Na^+ 离子浓度能干扰 Ca^{2+} 的不稳定性。二价阳离子不稳定性和螺旋体的形成需要有合适的 Ca/PS 比例。

小单层水泡（SUV）更易形成螺旋体。然而，多层泡（MLV）也可能形成螺旋体，这种情况下，首先是 Ca^{2+} 最外层PS膜不稳定直至破裂，使得更多 Ca^{2+} 进入内部的PS膜，逐渐使将内部PS膜不稳定破裂，以此类推，直至多层膜全部破裂。

2. 能被螺旋体纳米粒子所吸纳的分子

含脂螺旋体的性质使得其能包含多种不同形状的分子，尤其是需提高化学稳定性或生物释药效率的各类疏水分子 [图 2-25 (a)]、易于插入双层膜的双亲和性分子 [图 2-25 (b)]、带负电荷的基团 [图 2-25 (c)] 或者带正电荷的基团 [图 2-25 (d)]，这些都能被吸纳至螺旋状纳米粒子结构中^[41]。

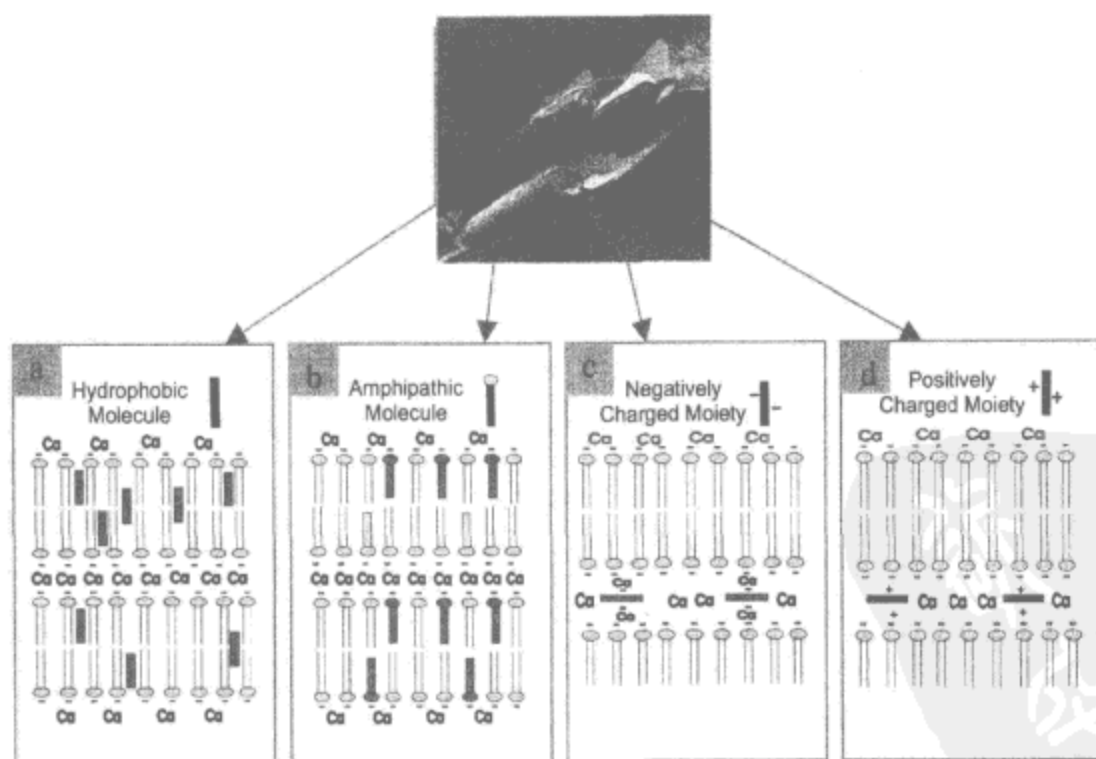


图 2-25 可被螺旋体吸纳包裹的各种分子

(Zarif L, Graybill J R, Perlman D and Mannino R J. Liposome Res, 2000)

药物的性质也能影响包裹的效率。疏水药物能大量被吸纳包裹，而双亲和性分子包裹量则较小。例如，有疏水区暴露的抗肿瘤药阿霉素是一种水溶性药物，其疏

水双层和外部含水层的包裹效率存在明显不同 [图 2-25 (b)]。钙会导致内部双层脱水而使水分含量较低, 因此, 螺旋体系统对小亲水分子不太适用。

3. 制备方式

为实现口服的目标, 人们开发了许多途径来制备纳米尺度范围的螺旋体。颗粒大小是过程依赖性的。当需要小纳米微粒时, 可以用基于水-水乳化系统“凝胶法”。简单来讲, 此方法包括: 高 pH 法或用膜法制备小型脂质体, 再将脂质体与高黏性聚合物如葡聚糖等混合。然后将葡聚糖/脂质体混合物注射到另一个不可混溶的聚合物 (即 PEG) 中。再加入钙从一相到另一相慢慢扩散, 促使纳米螺旋体的形成。最后洗涤胶凝体即可。这些纳米尺度螺旋体显现出口服药物传送方面的潜力。电子显微学和 X-射线晶体学发现这些纳米粒子拥有独特的结构, 由连续、坚固的栅栏状脂双层卷曲而成, 卷曲中间没有包含水或包含两性霉素 B 的区域。

其他制备技术如诱捕法, 能在含药物的脂质体悬浮液里的脂质体含水区 (亲水) 或双层膜之间 (疏水) 有效包裹亲水性或疏水性分子。随后加入钙离子, 则可形成螺旋体。用电子显微镜术冷冻断裂结构可发现, 诱捕法制备的螺旋体较其他方法表现出较高的聚集性。另一专门针对疏水药物的制备方法叫作“溶剂滴灌法”, 此法分开制备大豆 PS 脂质体悬浮液和疏水性或两性分子的载体基团溶液。DMSO 或 DMF 可用作疏水药物溶剂, 直接加到脂质体悬浮液中。因为溶剂具有水混溶性, 基团的溶解性下降, 并与脂-疏水性脂质体双层相互作用, 然后加入钙便可得到螺旋体。

通常, 若形成的针状螺旋体在微米尺度大小范围, 则可以用光学显微镜观察描述, 且可使用高放大显微镜直接观察。光学显微镜还可以用于间接观察纳米螺旋体的形成过程, 例如在纳米螺旋体中加入 EDTA 并发生钙螯合作用后观察脂质体的形成。用更精密的电子显微镜可观察到冷冻断裂后的紧密脂双层。最近, 其他方法如使用 Laurdan (6-十二烷酰-2-二甲氨基) 可监测到螺旋体的阶段性形成过程。在这种情况下, 往 Laurdan 标记的脂质泡中加入钙可导致 Laurdan 中最大放射峰发生转移。且由于偶极弛豫、激发和发射、广义极化 (GP_{gx} 和 GP_{Em}) 等效应, 脂质体泡会从 LC 转换到稳定的脱水螺旋体相。

四、螺旋体可作为抗真菌剂和两性霉素 B 的口服传送载体

两性霉素 B 是很适合于纳米螺旋体传送系统的药物, 这是由于两性霉素 B 是疏水药物且口服生物利用度差。数十年来, 人们一直以注射液的形式利用其来治疗系统性真菌感染, 如假丝酵母、隐球菌和曲霉病等。为达到更高治疗效率, 人们研究开发了两性霉素 B (AmB) 的多种脂质形式如脂质体、脂复合体、脂质乳剂和胶体分散剂等。虽然这些脂质复合体确实表现出较高的治疗效率, 但它们却都没有口服传送 AmB 的能力, 螺旋体技术能为 AmB 提供口服传送能力, 因而似乎比其他各种给药系统更有优势。口服两性霉素 B 螺旋体 (CAMB) 的健康老鼠, 在关键性靶向组织里出现了有效的治疗浓度。临床研究表明, 在与临床多种真菌感染鼠模型如播散性念珠菌、播散性曲菌和中枢神经系统隐球菌等鼠模型中均表现出较强的 CAMB 活性。

五、螺旋体的其他应用

1. 螺旋体传送抗生素

目前已知螺旋体能够高亲和性地被巨噬细胞吞噬, 这种特性极可能有两种机制的参与, 一方面是螺旋体的微粒特性, 另一方面则可能有 PS 受体介导螺旋体并吞入巨噬细胞中^[42]。

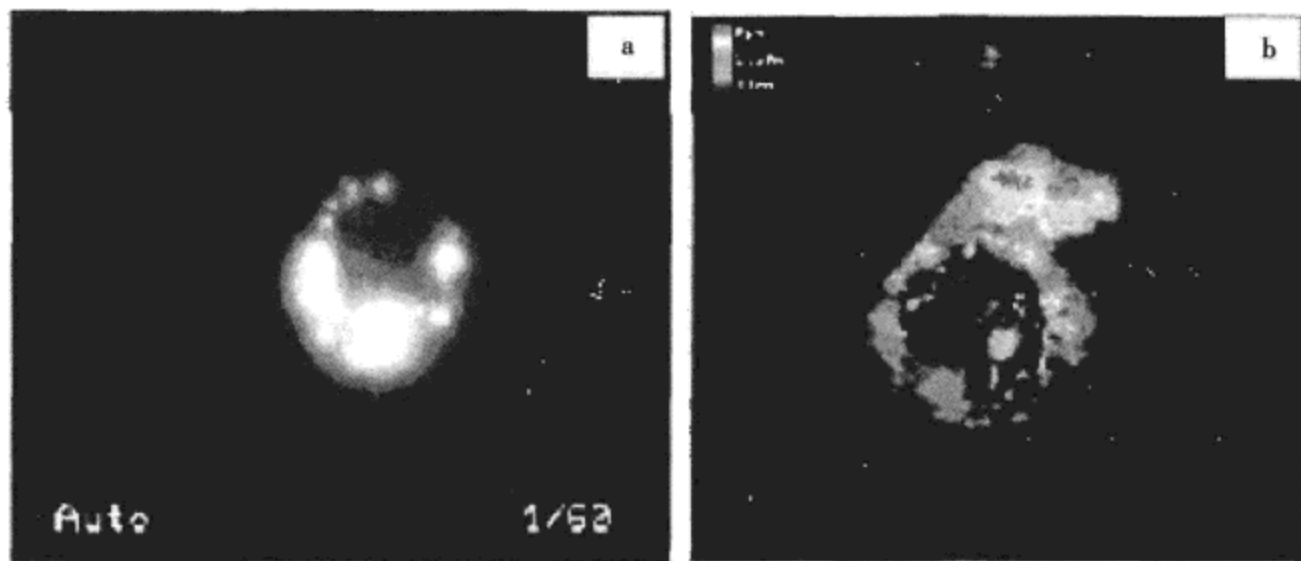


图 2-26 J774 巨噬细胞吞噬两性霉素 B 螺旋体

(a) 荧光显微镜观察图, (b) 共聚焦显微镜观察图 (Zarif L. Control Rel Rev, 2002)。

这个特殊系统有望传送抗菌物质如氨基糖苷类物质和万古霉素以及静脉给药传送氯苯吩嗪 (防痨药物) 和妥布霉素 (治疗细菌感染的氨基糖苷类抗生素) 等。因此, 螺旋体系统极有可能会是一个全新的口服给药系统。

2. 氯苯吩嗪传送

诱捕法制备氯苯吩嗪螺旋体。氯苯吩嗪是一种已知的疏水性防痨药物, 氯苯吩嗪螺旋体的作用可通过测量体细胞和骨髓衍生巨噬细胞中 IC_{50} 值来检测。氯苯吩嗪螺旋体较单纯氯苯吩嗪表现出更低的毒性, 且杀伤内结核分支杆菌的效率更高。20.9 ng/mL 浓度的螺旋体表现出对数性地减少 (CE99), 而单纯性氯苯吩嗪在此浓度具有毒性。这表示, 用螺旋体包裹氯苯吩嗪能增强药物抗菌效力, 因毒性较低故而可使用更高药物浓度, 获得更高杀菌效力。

3. 妥布霉素传送

目前纳米螺旋体作为口服妥布霉素的给药系统的运用已经公布了。妥布霉素是一种氨基葡萄糖苷抗生素, 用于治疗细菌感染, 通常通过静脉内注射 (i. v.)、肌肉注射或吸入法给药。在静脉给药后, 它的副作用是造成矿物质 (如钙、镁、钾) 缺失。在这个研究中, 作者指出在低 pH 下带有正电荷的妥布霉素将会包被在螺旋体的双分子层之间。单室脂质体的融合不再被金属阳离子如 Ca^{2+} 诱导, 而被有机分子诱导包裹。Papahadjopolos 指出螺旋体的圆柱形结构一部分是因为钙离子的内在特性。实际上, 磷脂酰丝氨酸显示出很大的钙离子选择性, 因为钙有一种失去其部分水合外壳的倾向性。在螺旋体固态晶状结构形成中, 钙起着决定性作用, 它通过膜表面部分脱水作用和磷脂酰丝氨酸相对分子的交联将双分子紧密结合到一起。最近的研究认

为螺旋体的形成没有钙的参与，所以需要进一步的关于螺旋体的形成和药物在双分子层间的定位的理化学证据。

4. 抗消炎药物递送

由于分子在螺旋体结构中深入包被，药物分子可以避免外在环境的影响。这两个有利因素：一是保护分子不被环境因素降解，二是保护周围环境，如果需要的话，远离有副作用的活性分子的作用。以消炎药治疗胃肠道紊乱为例^[43]。螺旋体在这里起着重要的作用，当消炎药阿司匹林包被到螺旋体结构中并给药到鼠模型中后，它可以减少胃刺激。

六、其他用处

螺旋体还可以用作营养素的载体、经改良的药物、造影剂的传送系统以及准备脂质体〔如单层大泡（LUV）和脂蛋白体〕时的媒介物^[44]。实际上，螺旋体就是 Papahadjopoulos 在制备单层大泡时发现的，这为亲水药物的递送打下了基础。从螺旋体媒介物中制备的脂蛋白体一般用作疫苗，近来，多糖被用作它的新佐剂。

七、结语

基于类脂的纳米载体螺旋体在生物活性分子的口服给药中扮演一定的角色。未来的研究将直接指向基础科学，因为关于螺旋体运载系统的许多方面仍然未知（如药物在类脂双层膜中的定位、多价阳离子对螺旋体结构的影响、口服给药后螺旋体的作用原理等）。另外，我们需要研发实用的分析测定法来监测螺旋体载药的定位和装载率。要在市场上推出第一个载药螺旋体是一个很大的挑战。比如说，当口服两性霉素 B 时可以使用螺旋体，因此将提供一个新的途径来治疗系统性的霉菌感染。

第十节 DQAsome 载药系统

一、简介

DQAsome（脂质体状的囊泡）于 1998 年作为第一个胶质状线粒体特异的 DNA 递药系统被提出来。这种独特的线粒体靶向药物载体是根据两性分子阳离子向电荷中心移动的内在的线粒体趋向性形成的，也就是说活细胞的线粒体中聚积很多阳离子，它们是响应线粒体的膜电位形成的。创造这一系统的首要条件是哑铃型喹啉铵衍生物的自组装行为，这些衍生物是趋线粒体的阳离子聚积的流星锤形电解质，即它们是有两个电荷中心的被疏水链远距离分开的对称分子。DQAsome 是由这些具有流星锤形的两亲化合物在水混悬液阳离子囊泡中经过声处理并加入地喹氯铵盐制备所得^[1]。

线粒体在许多代谢途径中担任着重要的角色，于是对线粒体特异递药系统的研究就此展开。线粒体对细胞的能量代谢和程序性细胞死亡的调节是非常关键的。另外，它也参与了胞内钙浓度的调节，而线粒体呼吸链是损坏活性氧族的主要原因。所以，线粒体异常会导致或者说至少与许多人类疾病的产生有关。异常线粒体在一

些疾病初发者身上被发现了，例如糖尿病、心肌症、不育症、偏头痛、失明、耳聋、肾病、肝方面的疾病以及中风。据调查，体细胞突变在线粒体基因组中的累积，与衰老、年龄增大引起的神经变性疾病、神经肌肉病以及癌症有关。因此，线粒体已逐步被公认为一个药理学研究的对象。选择性地将生物活性分子传送到线粒体处的方法的发展以及鉴别新的线粒体分子药物靶点都可能研发出治疗线粒体相关疾病的新的治疗手段。

二、双丙烯酰胺喹啉铵衍生物的自组装行为

1. 理化特性

“被蒙地卡罗计算机模板”预计的自组装行为被电镜技术（图 2-27）和光子相关光谱学（图 2-28）证实了^[45]。经发现，地喹氯铵被声处理后球形体出现聚积，直径大约在 70 ~ 700 nm 之间。冷冻断裂成像（图 2-27 中的 C 格）显示了凸凹断裂面。这些图像明显显示出了地喹氯铵类似脂质体的聚集行为。阴性染色对照样本（图 2-27 中的 A 格）则显示了这些囊泡对染料是不渗透的，因此它们被染料包围，并在周围显示出一个很清楚的未见任何物质的区域。旋转的带有阴影的囊泡（图 2-27 中的 B 格）则显示了高电子密度。

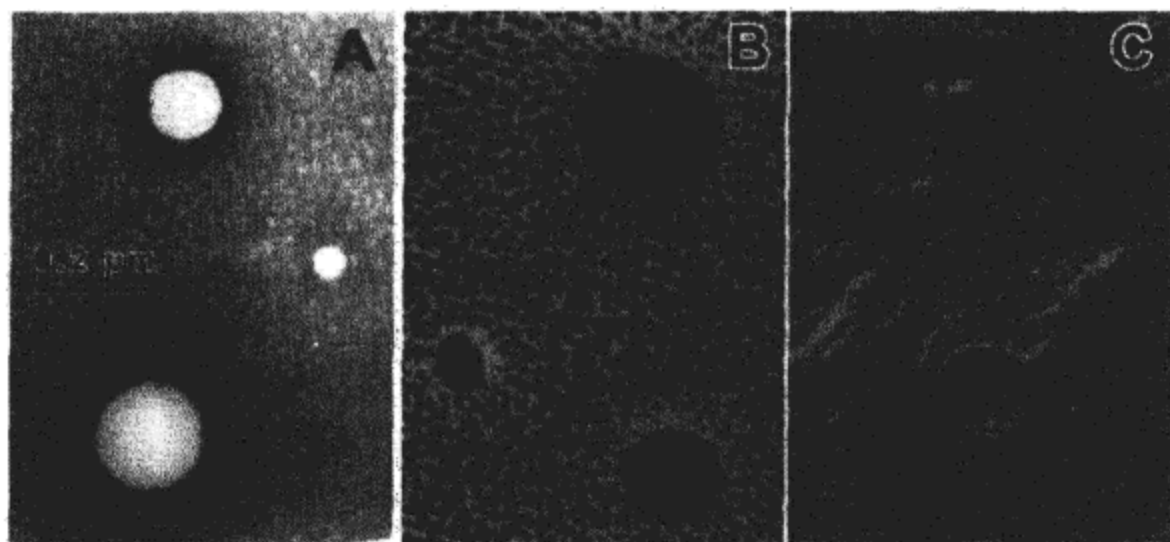


图 2-27 DQAsome 的电子显微照片

A 阴性染色；B 旋转阴影；C 冷冻断裂（Weissig V, Lasch J, Erdos G, Meyer H W, Rowe T C and Hughes J. Pharm Res, 1998）。

2. 构效关系研究

为了研究流星锤形的两性分子的结构和其效应的关系，有研究者开始调查有着不同亲水首基和不同疏水尾段的九个地喹氯铵衍生物的自组装行为。结果发现处于喹啉铵环系统上的四价氮的正位的甲基团对这些分子的自组装行为起着很重要的作用，考虑到其疏水的特性，这是非常让人吃惊的。尽管移开这些甲基团会明显影响成形囊泡的稳定性，但是取而代之以脂肪族的环系统（图 2-29）则显示了意想不到的更好的囊泡成形特性。在室温储存 5 个月之后，我们将经环己基衍生物修饰的地喹氯铵囊泡和未经修饰的地喹氯铵囊泡进行了对比，它们的尺寸几乎不会发生改变，都在 (169 ± 50) nm。相比于地喹氯铵囊泡，最初在囊泡准备稀释的过程中前

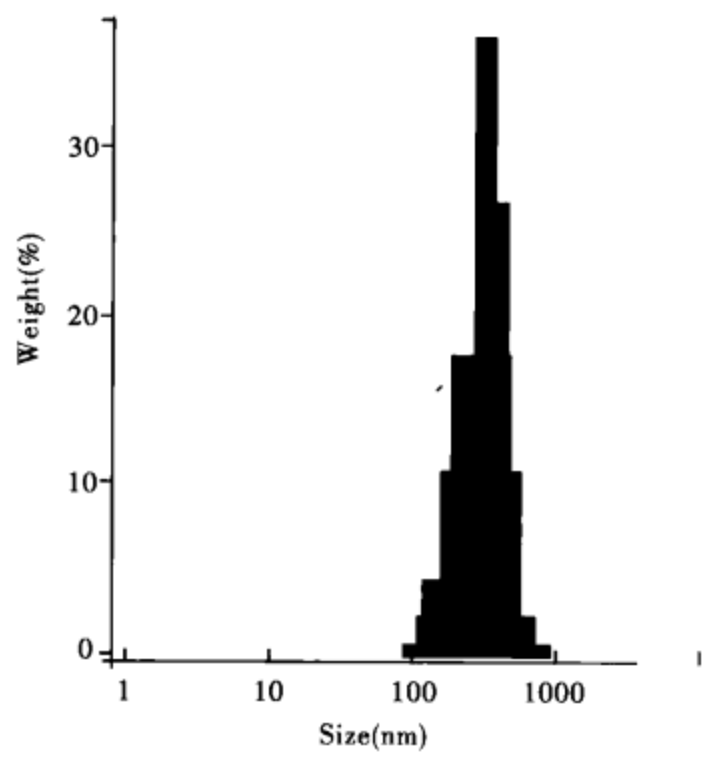


图 2 - 28 DQAsome 的尺寸范围

(Weissig, Lizano C and Torchilin V P. Lipos Res, 1998)

者也显示出稳定性。尽管经过几个小时的稀释后者慢慢地分解了，前者在接下来的稀释中并没有任何大小的变化。似乎大量附着在喹啉铵杂环上的脂肪族残基有利于屏蔽环系统的自联作用。所以，有预计说大量的基团在空间上阻止了两亲分子亲水头部围绕 CH_2 轴的自由旋转（图 2 - 30），进而改善了两亲性单体间的分子间作用^[46]。

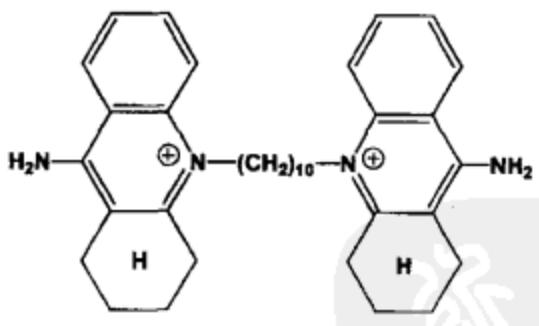


图 2 - 29 地喹氯铵的环己烷衍生物结构

(Torchilin. Nanoparticulates As Drug Carriers, 2006)

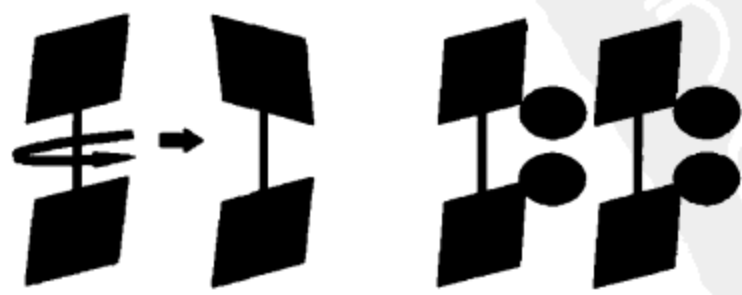


图 2 - 30 环己烷环系统的稳定效应概略图（黑环）

(Weissig V, Lizano C, Ganellin C R and Torchilin V P. STP Pharma Sci, 2001)

3. DQAsome 作为线粒体转运载体

从 1988 年开始, 与线粒体基因组缺陷有关的疾病数目明显增加了。尽管在生物和基因的水平我们更加了解了 mtDNA, 但对病人来说还没有很令人满意的治疗方法。由于传统的治疗方法有很多局限性, 所以我们开始从基因治疗方面入手。目前有两种线粒体基因治疗方法。第一种是在胞核内表达一个野生型的缺陷基因, 让它在胞质中转录翻译, 随后使其基因产物靶向运输到线粒体 (易位表达)。但是, 除了在线粒体中有不同的密码子选择, 在采用线粒体基因治疗哺乳动物细胞的时候, 可能还有四个主要的问题存在于这个核-细胞溶质途径中。首先, mtDNA 缺陷主要是 tRNA, 目前尚未有关于哺乳类细胞的细胞溶质中的 tRNA 被线粒体摄取的自然机制的报导出现。其次, 被 mtDNA 编码的 13 种蛋白都是疏水肽, 通过线粒体蛋白的输入机制, 这种肽较难输入。但是, 由于这 13 种蛋白疏水性有所不同, 有可能会出一些肽的异位表达。再次, 经推测一些有线粒体编码的蛋白质如果在胞质溶胶中合成将可能有毒性^[47]。第四, 根据氧化还原反应的共定位假设, mtDNA 的共定位和它的产物对迅速控制线粒体基质中氧化还原态的基因表达非常重要。鉴于所有问题都是关于核-细胞溶质途径, 这就使线粒体作为一种线粒体基因治疗的新手段被研究开发。

基于地喹氯铵盐的趋线粒体性和地喹氯铵囊泡如 DQAsome 的稳定性, 研究者提出固定并凝聚 pDNA 来直接转染线粒体到哺乳类细胞中的方法。这种新的策略包括通过阳离子趋线粒体囊泡 (DQAsome) 将线粒体 DNA 的引导序列肽连接到线粒体上, 结合在线粒体外膜上的阳离子载体分离, 随后通过线粒体蛋白的输入机制 DNA 被摄入。许多文献报导, DQAsome 确实完成了线粒体特异性 DNA 递药系统的所有首要任务。

- ① DQAsome 结合 pDNA 形成所谓的 DQAplexes 并保护 DNA 免受核酸酶的消化。
- ② DQAsome、DQAplexes 的细胞毒性与已在临床实验上应用的非病毒载体相比基本一样。
- ③ DQAsome 介导了 pDNA 的细胞摄入, 很可能是通过非特异性细胞内吞作用。
- ④ 推测 DQAsome 与早期 DQAplexes 的内涵体释放有关。
- ⑤ DQAplexes 在接触细胞内膜的阴离子磷脂时没有释放 pDNA。
- ⑥ DQAplexes 在与线粒体类似的膜或单独的线粒体接触时会释放出 pDNA。
- ⑦ 在相同的实验条件下, DQAsome 显示出运输 pDNA 和寡核苷酸到线粒体的特性, 而脂质体则运输 pDNA 和寡核苷酸到胞核。
- ⑧ 与活哺乳类细胞的线粒体接触时质粒 DNA 会和 DQAplexes 分离。

从上面的结果我们可以惊讶地发现与不同的膜接触, DNA 会选择性地从 DQAplexes 分离。为什么阴离子磷脂如磷脂酰丝氨酸在脂质体中取代 pDNA 而不是在 DQAplexes 中取代, 为什么 DQAplexes 在与线粒体膜接触时反而变得不稳定? 以活体哺乳类细胞实验所得的数据看来, 我们可以合理假设, 由于线粒体膜的高跨膜电位地喹氯铵分子得以进入线粒体基质, 这个反过来会导致 DQAplexes 的不稳定。但是, 已经使用与膜类似的脂质体开展了第一个实验, 这个实验显示了 DNA 从 DQAplexes

中的选择性释放过程（图 2-31）。作为模型，他们研究了阴离子脂质体从阳离子载体中取代 DNA 的能力。研究 DNA 与阳离子载体的结合时使用了荧光染料 SYBR Green I。当结合到 DNA 时，这种染料的荧光信号加强了，没有结合则导致荧光减弱。能够很清楚的看到在 1/1 的投料比的附近，在仿脂质体的细胞质膜（CPM）存在时，DQAsome 没有释放任何 DNA，甚至在 1.4 倍阴离子比时也是如此。但是，当阴离子脂质体和阳离子 DQAsome 的比分别为 1.6 和 1.7 时，仿脂质体的内外线粒体膜（IMM 和 OMM）能够从 DQAsome 载体上释放高达 75% 的 DNA。与这一数据相匹配，又有发现指出在四倍过量磷酸十六烷酯或八倍过量的磷脂酰丝氨酸存在时，DNA 会从 DQAplices 中完全释放。研究发现，CPM 型脂质体在阴离子与阳离子比为 0.82 时，会从脂质体中释放 75% 的 DNA，这被用来作为对照，当有阴离子略微增加时，DNA 也不会从 DQAsome 中释放出来，这可以得出结论，除了电荷比例，其他因

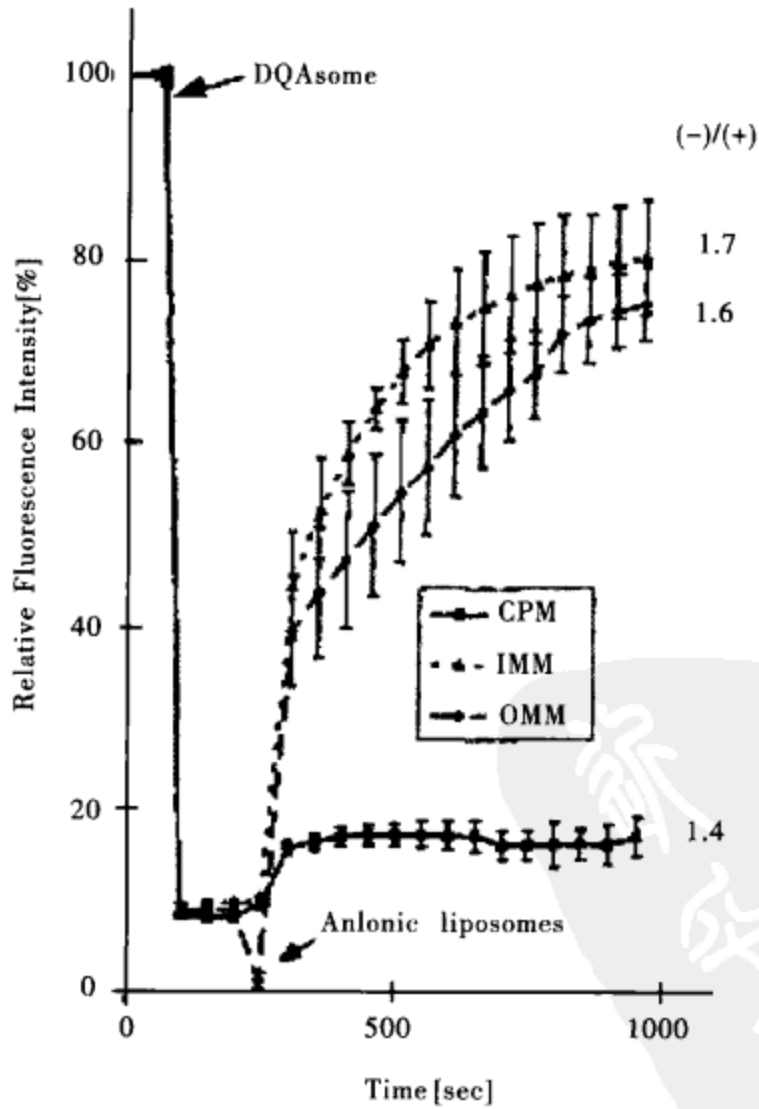


图 2-31 阴离子脂质体对 DNA 从 DQAsome 中释放的影响

DNA 用 SYBR 进行预孵育，直到信号稳定。然后加入（由箭头显示）最低限度的 DQAsome 以降低本底水平的信号。随后以阴阳离子的配比 $(-)/(+)$ （如图）加入阴离子（箭头）。通过荧光信号的加强，DNA 从载体中释放被显示。CPM，细胞质膜样脂质体；IMM，线粒体内膜样脂质体；OMM，线粒体外膜样脂质体（Weissig V, Lizano C and Torchilin V P. Drug Del, 2000）。

素在这一过程中可能起着重要的作用。这一结论后来被 Xu 和 Szoka 的研究证实, 他们观察到离子水溶性分子如 ATP、tRNA、DNA、聚谷氨酸、亚精胺和组蛋白甚至在 100 倍电荷量比 (- / +) 时都不会释放 DNA。在这一模型中, 他们假设电中性离子对在阳离子和阴离子类脂中的形成将最终导致 DNA 释放到胞浆。

脂质体 (+) / DNA (-) + 脂质体 (-) $\rightleftharpoons$ 脂质体 [脂质 (+) / 脂质 (-)] + DNA (-)

根据这个反应式, 很明显, 阴阳离子类脂间的疏水性相互作用如电中性的脂质体的形成将使自由能增加。鉴于反应式两边的静电荷相同, 混合脂质体的形成将是导致 DNA 从载体中释放的唯一动力。有趣的是, 早期发现在生理溶液中, 将地喹氯铵结合到由卵磷脂或卵磷脂酰丝氨酸构成的脂质体中是不可能的。这又表明地喹氯铵和磷脂类结合的有限性, 同时会使假设的上述反应式的平衡趋向于左边。由此可见, 阳离子脂类和天然或人工的用来取代 DNA 的阴离子成分的混合性是非常重要的。

共聚焦荧光显微镜技术被用来研究 DQAsome 作为线粒体转染的载体, 其中包括 pDNA - MLS 肽的结合过程。到目前为止, 使用物理化学方法仍然是研究的唯一途径。设计缺少线粒体特异性受体的质粒来研究线粒体的表达, 严重阻碍了所有有效的线粒体表达载体的研究进展。虽然能很好地研究一些新的旨在研究蛋白质的核 - 细胞溶质表达的非病毒转染系统 (如阳离子脂质体、聚合物等) 并能通过利用许多商业上可用的报告基因系统来改进这种技术, 但是这种途径来构建线粒体转染系统目前并不可行。Charles Coutelle 的实验室做了许多研究, 指出了设计线粒体特异报告系统的原则, 但是, 尚没有这种系统被商业开发。同时要知道这种系统在线粒体基质中的功能表达还没有研究透彻。所以, 要评价这种系统转运 DNA 到线粒体的有效性主要取决于 DNA 的物理示踪法。

图 2 - 32 显示了共聚焦荧光显微照片, 细胞与 MLS - pDNA 轭合物一起被孵化, 并被地喹氯铵的环己烷衍生物 (C - DQAsome) 所形成的囊泡转染。对左边那列图片 (图 A, C 和 E) 来说, 用到的是未受限制的环形 pDNA, 而右边那列图片 (图 B, D 和 F) 中, 质粒 DNA 在 DQApex 形成前被线性化了。红色的线粒体染色图 (A 和 B) 显示了成像细胞的功能活性, 而细胞内的绿色荧光 (图 C 和 D) 则显示了有效的荧光标记的 DNA 细胞内摄作用。将绿色和红色荧光图形重合形成复合图像 E 和 F, 它们的共区域化的地方则显示白色以便更好地观察。让人惊奇的是, 在重合覆盖的图像中, 很难探测到绿色荧光。几乎所有在图 C 和图 D 中的绿色荧光均出现在图 E 和图 F 中, 这说明了几乎所有的 DNA 被传递到了不只是线粒体还有细胞器当中。但是, 是否所有或至少一部分 pDNA 确实进入了线粒体基质中, 也就是已经跨越了线粒体膜从而可能会进入线粒体的转录机制, 这仍然需要进一步研究。

4. DQAsome 作为促凋亡药的载体

反常的凋亡机制被普遍认为是正常细胞转变成癌细胞这一转化过程中普遍的重要组成部分, 同时大量的实验数据表明线粒体在复杂的凋亡机制中起着关键的作用。所以任何旨在特异地引起癌细胞凋亡的治疗方法, 相信都具有潜在的治疗效果。

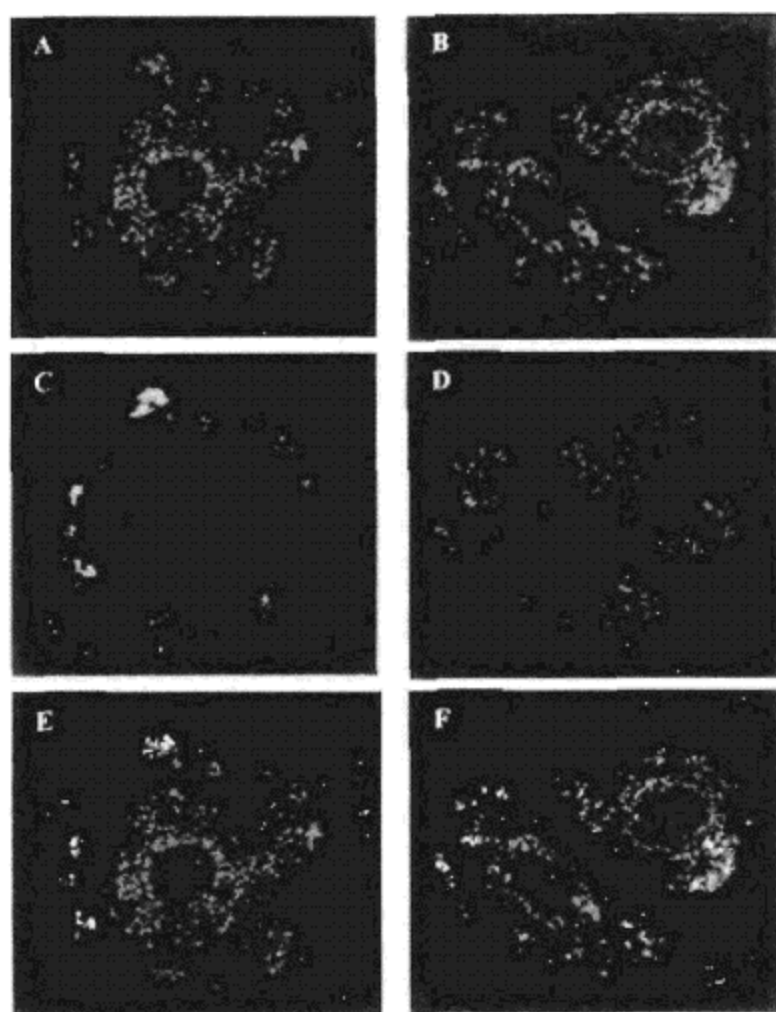


图 2-32 用 mitotracker (红) 染色后将 DNA 和 C-DQAsome 复合物暴露于 10hrs (绿) 的 BT20 细胞的共聚焦荧光图

左列：环状 MLS-pDNA 复合物，右列：线性化 MLS-pDNA 复合物。上排 (A 和 B)：红色途径，中排 (C 和 D)：绿色途径，下排 (E 和 F)：复合图像 (D'Souza G G, Boddapati S, Light-owlers R N and Weissig V. Proc Intl Symp Control Rel Bioact Mater, 2005)。

几个被临床认可的药物如 VP-16 (依托泊苷)、亚砷酸盐和长春瑞滨，还有一些临床正在增加的抗癌药物 (据 Constantin 等) 像桦木脑酸、氯尼达明、神经酰胺，CD437 将直接作用于线粒体导致细胞凋亡。为了最大限度地发挥这些抗癌药物的潜在治疗效果，提议采用这些被认为是对线粒体或者在线粒体内发生作用的线粒体靶向 DQAsome 药物传递系统。假定，以 DQAsome 为基础的无论在细胞水平或者亚细胞水平都优于其他传统方法的抗癌化学疗法必须具有以下特性：首先，因为在细胞内形成了“逆流线粒体”，从而诱导细胞凋亡的途径被扰乱了，在传统药物无效的环境下，直接作用于线粒体药物传递系统可以发挥作用。其次，通过把药物藏在传递系统的内部，把细胞毒性药物运到细胞内的靶点，克服了多药物的耐药性，直到它有选择地释放到细胞内的特定的位置，如线粒体。第三，很多癌细胞，包括人的乳腺癌细胞，相对于它们的母细胞系有升高的血浆膜电位，此外有更高的线粒体膜电位。它们在细胞水平 (正常细胞与癌细胞) 和亚细胞水平 (线粒体与核) 为 DQAsome 的双重靶向效应提供了基础。

目前大多关于抗癌药被包裹到 DQAsome 的资料已被公布^[48]。在这个研究中，紫

杉醇被挑选为模型化合物。紫杉醇作为有效的抗微管蛋白作用剂用于治疗恶性肿瘤。然而，它的治疗潜力却因最大耐药剂量与最小中毒剂量之间的跨度小而被限制。此外，其较差的水溶性要求制备的乳胶包含聚氧乙烯化蓖麻油（Cremophor EL），这种油自身就有毒性。现在临床上已显示了紫杉醇直接靶向线粒体并引发凋亡，凋亡是通过一种以依赖渗透转变孔（PTP）的方式抑制细胞色素 c 释放的机制。这个机制是从线粒体活性因子的前期凋亡作用得知的。与在完整细胞中的释放相比，用紫杉醇或者其他 PTP 诱导剂治疗后 24 h 才在无细胞系统中释放细胞色素 c，这可以由细胞内几种药物靶点的存在使得只有一部分药物可以到达线粒体来解释。因此，得益于线粒体靶向药物传递系统如 DQAsome 的研究，紫杉醇被认为是主要的候选药。研究显示，在紫杉醇与地喹氯铵的化学计量摩尔比为 1:2 时，紫杉醇可以被组合到 DQAsome。鉴于 DQAsome 已知的球状特征，电子显微（EM）分析地喹氯铵组合紫杉醇的结果出人意料。同一样本的透射电子显微图（图 2-33，左面）和低温电子显微图（图 2-34）显示了明显一致的虫状或者杆状结构，长度大约 400 nm，它的尺寸大小可以由图 2-33 右边的尺寸分布分析得以证实。这种蠕虫状复合体的分子结构有待进一步确定；然而，虫状胶束的形成似乎可以被解释为自组装的两性分子的共聚物。

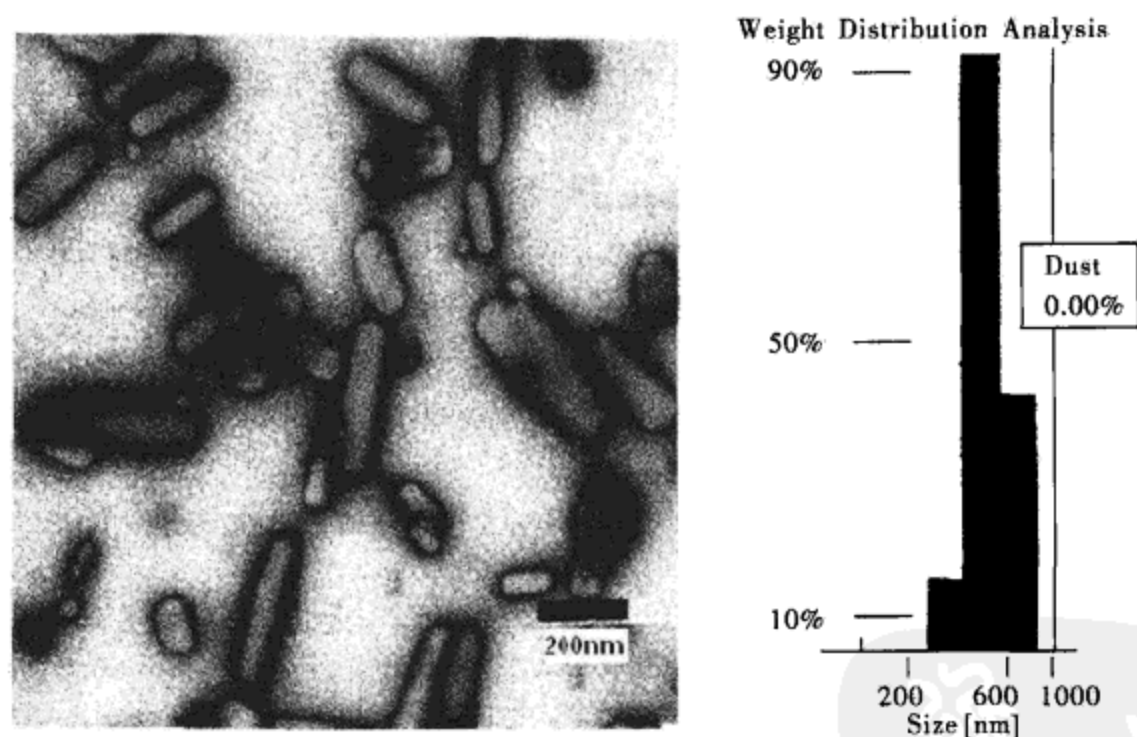


图 2-33 装载紫杉醇的 DQAsome 透射电镜图（左）及尺寸分布图（右）

（0.67 mol 紫杉醇/1 mol 地喹氯铵）的透射电子显微图（醋酸双氧铀染色）；右面：与左面同一制剂的尺寸分布分析（Cheng S M, Pabba S, Torchilin V P, Fowle W, Kimpfler A, Schubert R and Weissig V. Drug Del Sci Technol, 2005）

在最初的研究中，装载 DQAsome 的紫杉醇用来测试其在裸鼠中抑制人结肠癌细胞的生长的能力。单独给紫杉醇作对照，这种药溶于 100% DMSO 中形成 20 mmol/L 的悬浮液，保存在 4 ℃ 的环境里，在用之前直接用热溶剂稀释。在所有的对照组中，独自给药的紫杉醇以及空载 DQAsome 的各自的量是根据载紫杉醇的 DQAsome 样品中

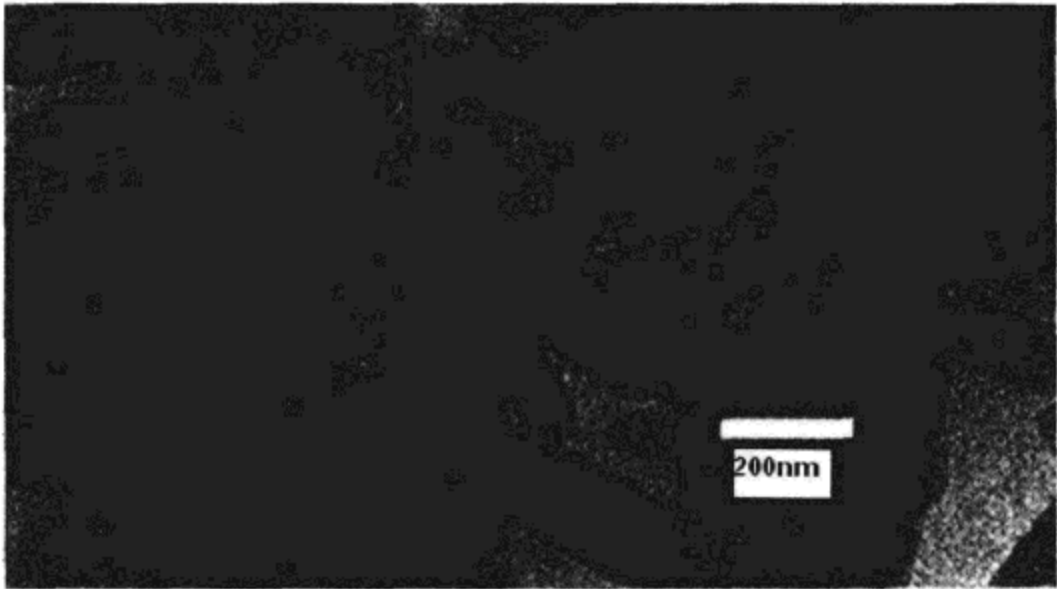


图 2-34 装载紫杉醇的 DQAsome

(0.67 mol 紫杉醇/1 mol 地喹氯铵) 的低温电子显微图 (来源同前)

紫杉醇和地喹氯铵的剂量进行调整的。由于缺乏对肿瘤细胞生长的抑制作用，1.5 个星期后剂量增加了三倍。图 2-35 显示了单独给药的紫杉醇及空载 DQAsome 对肿瘤的生长没有影响的浓度，以及装载紫杉醇的 DQAsome（紫杉醇和地喹氯铵的浓度与对照组相同）抑制 50% 的肿瘤细胞生长的浓度。相应的，在 26 天后将动物处死，治疗组的平均肿瘤重量都为所有对照组的一半。虽然这些结果似乎表明 DQAsome 确实可以增加紫杉醇的治疗效果，必须重视第一次体内研究的初步性质。在作者的实验室，使治疗方案尽可能优化的实验还在进行当中。

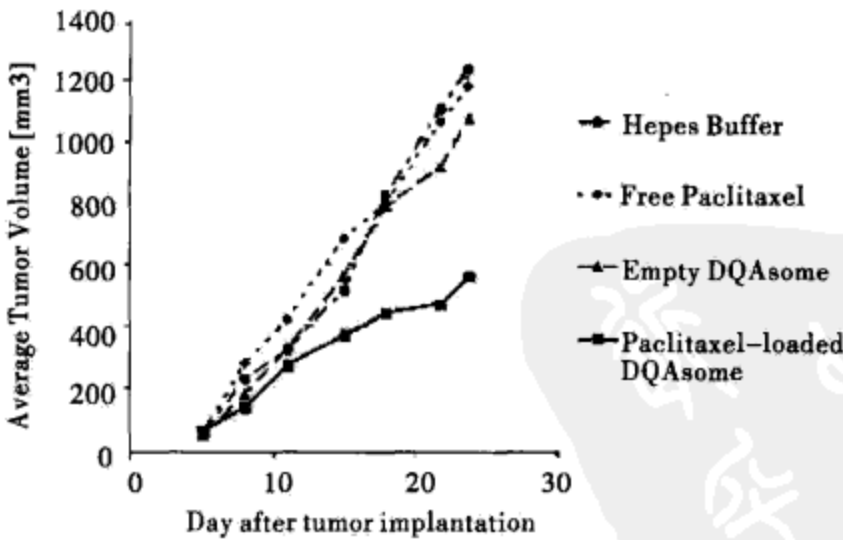


图 2-35 植入人结肠癌细胞的裸鼠肿瘤生长抑制图

以植入的天数和平均肿瘤体积为横、纵坐标。每组 8 只动物，注意：1.5 个星期后标准化的紫杉醇的剂量在所有治疗组中增加了三倍 (Cheng S M, Pabba S, Torchilin V P, Fowle W, Kimpfler A, Schubert R and Weissig V. Drug Del Sci Technol, 2005)。

三、结语

1988 年，DQAsome 和类似 DQAsome 的囊泡作为第一个线粒体靶向胶质传递系统

而被建立, 可以将质粒 DNA 或者小分子药物转运到活的哺乳动物细胞的线粒体内。对这一独特的线粒体传递系统的进一步研究将给癌症和各种线粒体疾病的治疗提供新的思路。

参考文献

- [1] Yuxiang Chen, Zhigang Xue, Duo Zheng, et al. Sodium Chloride modified silica nanoparticles as non-viral vector with high efficiency of DNA transfer into cells [J]. *Current Gene Therapy*. 2003 (3): 273 - 279.
- [2] Ting Liu, Aifa Tang, Yuxiang Chen, et al. Calcium phosphate nanoparticles as Novel non-viral vector efficiently transfection of DNA into cells [J]. *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*. 2005 (20): 141 - 9.
- [3] Shi - Jian Su and Noriyuki Kuramoto. Processable polyaniline - titanium dioxide nanocomposites: effect of titanium dioxide on the conductivity [J]. *Synthetic Metals*. 2000 (114): 147 - 153.
- [4] X-w He, T Liu, Y - x Chen, et al. Calcium carbonate nanoparticle delivering vascular endothelial growth factor - C siRNA effectively inhibits lymphangiogenesis and growth of gastric cancer in vivo [J]. *Cancer Gene Therapy*. 2008 (15): 193 - 202.
- [5] Torchilin. Nanoparticulates As Drug Carriers [M]. London: Imperial College Press, 2006.
- [6] Silebi C A, DosRamos J G. Separation of submicrometer particles by capillary hydrodynamic fractionation (CHDF) [J]. *Coll Interf Sci*, 1989, 130: 14 - 24.
- [7] Zhang Z, Kleinstreuer C, Donohue J F, et al. Comparison of micro - and nano - size particle depositions in a human upper airway model [J]. *Aerosol Sci*, 2005, 36: 211 - 233.
- [8] Adamczyk Z. Particle transfer and deposition from flowing colloid suspensions [J]. *Coll Surf*, 1989, 35: 283 - 308.
- [9] Vacheethasanee K and Marchant R E. Non - specific staphylococcus epidermidis adhesion: Contributions of biomaterial hydrophobicity and charge, in An, Y H, Friedman R J (eds). *Handbook of Bacterial Adhesion: Principles, Methods and Applications*. Humana Press, Totowa, NJ, 2000: 73 - 90.
- [10] Bruinsma R. Rheology and shape transitions of vesicles under capillary flow [J]. *Physica A*, 2005, 234: 249 - 270.
- [11] Mody N A, Lomakin O, Doggett TADTG, et al. Mechanics of transient platelet adhesion to von Willbrand factor under flow [J]. *Biophys J*, 2005, 88: 1432 - 1443.
- [12] Ramachandran V V, Venkatesan R, Tryggvason G, Scott F H. Low Reynolds Number Interactions between Colloidal Particles near the Entrance to a Cylindrical Pore [J]. *Coll Interf Sci*, 2000, 229: 311 - 322.
- [13] Monia L A, Afsaneh L A, Glen S K. Amphipathic block copolymers for drug delivery [J]. *J Pharm Sci*, 2003, 92 (7): 1343 - 1355.
- [14] 黄健, 高春生, 梅兴国. 胶束纳米载体在药物投送系统中的应用前景 [J]. *国际药学研究杂志*, 2007, 34 (6): 453 - 455.
- [15] Tiziana Musacchio, Valentino Laquintana, Andrea Latrofa, et al. PEG - PE Micelles Loaded with Paclitaxel and Surface - Modified by a PBR - Ligand: Synergistic Anticancer Effect [J]. *Mol. Pharmaceutics*, 2008.

- [16] Discher D E, Ahmed F. Polymersomes [J] . Ann Rev Biomed Engineering, 2006, 8: 323 - 412.
- [17] Gregoriadis G, Rymen B E. Liposomes as carriers of enzymes or drugs: a new approach to the treatment of storage diseases [J] . The Biochemical Journal. 1971, 124 (5): 58.
- [18] Pirollo K F, Rait A, Zhou Q, et al. Materializing the potential of small interfering RNA via a tumor - targeting nanodelivery system [J] . Cancer Res, 2007, 67: 2938 - 2943.
- [19] Xiaogang Pan, Li Chen, Shujun Liu, et al. Antitumor Activity of G3139 Lipid Nanoparticles [J] . Mol. Pharmaceutics, 2008, 11.
- [20] Ishida T, Kada Y, Kobayashi T, et al. Development of pH sensitive Lipomes that efficiently retain encapsulated doxorubicin (DXR) in blood [J] . Int J Pharm, 2006, 309 (1-2): 94 - 100.
- [21] Peter D, Senter, David A. Scheinberg. Montse Rovira - Bru, David H. Thompson and Igal Szleifer. Size and Structure of spontaneously forming liposomes in lipid/PEG - lipid mixtures [J] . Biophysical journal , 2002, 83 (5): 2419 - 2439.
- [22] Atobe K, Ishida T, Ishida E, et al. In vitro efficacy of a sterically stabilized immunoliposomes targeted to membrane type 1 matrix metalloproteinase (MT1 - MMP) [J] . Biol Pharm Bull, 2007, 30 (5): 972 - 978.
- [23] Yu - Kyoung Oh, Peter D. Senter, Soo - Chang Song. Meeting Report: International Symposium on Intelligent Drug Delivery Systems South Korea, 2008. Mol. Pharmaceutics, 2008, 5 (6): 1020 - 1022. Min - Jung kim, Hyo Jung Lee, In - Ah, Lee, et al. Preparation of pH - sensitive, Long - Circulating and EGFR - Targeted immunoliposomes. Arch Pharm Res, 2008, 31 (4): 539 - 546.
- [24] 孔维军, 郭伟英. 新型脂质体的研究进展 [J] . 中国医药工业杂志, 2007, 38 (6): 461 - 463.
- [25] 时念秋, 张大同. 脂质体与新型脂质体在药物传递系统中的应用 [J] . 山东轻工业学院学报, 2008, 22 (1): 77 - 80.
- [26] Chung N S, Wasan K M. Potential role of the low - density lipoprotein receptor family as mediators of cellular drug uptake [J] . Adv Drug Del Rev, 2004, 56: 1315 - 1334.
- [27] Liu S, Lee C M, Wang S, Lu D R. A new bioimaging carrier for quantum dot nanocrystals - phospholipid nanoemulsion mimicking natural lipoprotein core [J] . Drug Del, 2006, 13: 159 - 164.
- [28] 刘亮, 晋平, 张国亮, 等. 用于药物载体的纳米粒子的研究进展 [J] . Modern Chemical Industry, 2005, 25: 106 - 110.
- [29] 陈红, 潘涛, 赵辉. 医用高分子材料在抗肿瘤药物中的应用与作用 [J] . 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 27: 5328 - 5330.
- [30] Lilian E van V lerken, Zhenfeng Duan, Steven R Little, et al. Biodistribution and Pharmacokinetic Analysis of Paclitaxel and Ceramide Administered in Multifunctional Polymer - Blend Nanoparticles in Drug Resistant Breast Cancer Model [J] . Mol. Pharmaceutics, 2008, 5 (4): 516 - 526.
- [31] Liu S, Lee C M, Wang S, Lu D R. A new bioimaging carrier for quantum dot nanocrystals - phospholipid nanoemulsion mimicking natural lipoprotein core [J] . Drug Del. 2006, 13: 159 - 164.
- [32] Parka J H, Kwona S, Namb J O, et al. Preparation of nanoparticles composed of chitosan and its derivatives as delivery systems for macromolecules [J] . Journal of Controlled Release, 2004, 95 (3): 579 - 588.
- [33] Paukner S, Kohl G, Lubitz W. Bacterial ghosts as novel advanced drug delivery systems: Antiproliferative activity of loaded doxorubicin in human Caco - 2 cells [J] . Control Rel, 2004, 94: 63 -

74.

- [34] Tabrizi C A, Walcher P, Mayr U B, et al. Bacterial ghosts – biological particles as delivery systems for antigens, nucleic acids and drugs [J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2004, 15: 530 – 537.
- [35] Jalava K, Hensel A, Szostak M, et al. Bacterial ghosts as vaccine candidates for veterinary applications [J]. *Control Rel*, 2002, 85: 17 – 25.
- [36] Gutierrez – Millan C, Arevalo M, Zarzuelo A, et al. Encapsulation and in vitro evaluation of amikacin – loaded erythrocytes [J]. *Drug Del*, 2005, 12: 409 – 416.
- [37] El – Aneed A. An overview of current delivery systems in cancer gene therapy [J]. *Control Rel*, 2004, 94: 1 – 14.
- [38] Tomanin R, Scarpa M. Why do we need new gene therapy viral vectors Characteristics, limitations and future perspectives of viral vector transduction [J]. *Curr Gene Ther*, 2004, 4: 357 – 372.
- [39] 李欣玮, 孙立新, 林晓宏, 等. 固体脂质纳米粒作为药物载体 [J]. *Progress in Chemistry*, 2007, 19 (1): 87 – 92.
- [40] 唐杨, 马丽芳, 郭丽, 等. 树状大分子作为药物载体的研究新进展 [J]. *材料导报*, 2008, 22 (4): 100 – 103.
- [41] Pavel Kubát, Kamil Lang. Interaction of porphyrins with PAMAM dendrimers in aqueous solution [J]. *J Molecular Liquids*, 2007 (131 – 132): 200.
- [42] Minglu Ma, Yiyun Cheng, Zhenhua Xu, et al. Evaluation of polyamidoamine (PAMAM) dendrimers as drug carriers of anti – bacterial drugs using sulfamethoxazole (SMZ) as a model drug [J]. *Eur J Med Chem*, 2007, 42: 93.
- [43] Tatsuya Okuda. PEGylated lysine dendrimers for tumor – selective targeting after intravenous injection in tumor – bearing mice [J]. *J Controlled Release*, 2006, 116: 330.
- [44] Segarra I, Movshin D A, Zarif L. Extensive tissue distribution of amphotericin B after intravenous administration in cochleate vehicle to mice [R]. 29th International Symposium on Controlled Release of Bioactive Materials, Seoul, Korea, 2002.
- [45] Zarif L, Graybill J R, Perlin D, et al. Cochleates: New lipid – based drug delivery system [J]. *Liposome Res*, 2000, 10 (4): 523 – 538.
- [46] Zarif L. Elongated supramolecular assemblies in drug delivery [J]. *Control Rel Rev*, 2002, 81: 7 – 23.
- [47] Biodelivery Sciences: www.biodeliverysciences.com.
- [48] Delmarre D, Lu R, Taton N, et al. Cochleate – mediated delivery: Formulation of hydrophobic drugs into cochleate delivery vehicles: A simplified protocol & bional formulation kit [J]. *Drug Del Techno*, 2004, 4 (1): 64 – 69.
- [49] Weissig V, Lizano C, Torchilin V P. A micellar delivery system for dequalinium – A lipophilic cationic drug with anticarcinoma activity [J]. *Lipos Res*, 1998, 8: 391 – 400.
- [50] Weissig V, Lizano C, Ganellin C R, et al. DNA binding cationic bolosomes with delocalized charge center: A structure – activity relationship study [J]. *STP Pharma Sci*, 2001, 11: 91 – 96.
- [51] Manfredi G, Fu J, Ojaimi J, et al. Rescue of a deficiency in ATP synthesis by transfer of MTATP6, a mitochondrial DNA – encoded gene, to the nucleus [J]. *Nat Genet*, 2002, 30: 394 – 399.
- [52] Cheng S M, Pabba S, Torchilin V P, et al. Towards mitochondria – specific delivery of apoptosis – inducing agents: DQAsomal incorporated paclitaxel [J]. *Drug Del Sci Technol*, 2005, 14.

第三章 分子靶向制剂

第一节 概 述

靶向药物释放系统 (Targeting Drug Delivery System, TDDS) 是指药物通过局部或全身血液循环而浓集定位于靶组织、靶器官、靶细胞, 而对非靶器官、组织和细胞影响很小的一类药物运载系统的总称。通过选择适宜给药途径, 能以准确的给药剂量、方便的给药形式作用于患者, 从而提高临床用药的有效性、安全性和顺从性。避免传统药物和制剂在临床应用中多存在体内清除率高 (药物有效性低)、毒副作用 (药物安全性低) 和需频繁用药以维持药效 (患者顺从性低) 等问题。靶向制剂最初指狭义的抗癌制剂, 随着研究的逐步深入, 研究领域不断拓宽, 从给药的途径、靶向的专一性及特效性方面均有突破性的进展, 靶向制剂发展成指一切具有靶向性的制剂。

一、靶向制剂的分类

1. 按作用方式分

①被动靶向制剂 (Passive Targeting Preparation), 即自然靶向制剂。载药微粒在体内被单核巨噬细胞系统摄取, 通过正常生理过程运送至肝、脾等器官, 使药物在这些器官浓集而发挥作用。其中包括: 脂质体 (Liposome)、乳剂、微球 (Microsphere)、还有随着高分子材料发展起来的纳米囊 (Nanocapsule)、纳米球 (Nanosphere)。

②主动靶向制剂 (Active Targeting Preparation) 是在被动靶向制剂的基础上将修饰的药物载体定向地运送到靶区。其中包括: 经修饰的载体药物、配体-受体系统、连接单克隆抗体后的免疫微粒、前体药物等。

③物理化学靶向制剂 (Physical and Chemical Targeting Preparation) 应用物理化学方法使靶向制剂在特定部位发挥药效, 其中包括: 磁感应制剂、pH 敏感制剂、热敏感制剂、栓塞药物等。

2. 按药物的作用水平分

①一级靶向 (First-Order Targeting), 如亚微粒只能将药物输送至特定的靶器官;

②二级靶向 (Second - Order Targeting), 指能将药物输送至特定器官的特定部位的靶向制剂;

③三级靶向 (Third - Order Targeting), 系指能将药物输送到特定部位的病变细胞内的靶向制剂;

3. 按作用途径的不同分

按作用途径的不同可分为口腔给药系统、直肠给药系统、鼻腔给药系统、结肠给药系统、皮肤给药系统及眼给药系统等。

二、靶向性的评价

药物的靶向性可以由以下三个参数来衡量:

1. 相对摄取率 r_e

$$r_e = (AUC_i)_p / (AUC_i)_s$$

式中, AUC_i 由浓度 - 时间曲线求得的第 i 个器官或组织的药时曲线下的面积; 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; 等于或者小于 1 表示无靶向性。

2. 靶向效率 t_e

$$t_e = (AUC)_{\text{靶}} / (AUC)_{\text{非靶}}$$

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 值大于 1 表示药物制剂对靶器官有选择性; t_e 值愈大, 选择性愈强; 药物制剂的 t_e 值与药物溶液的 t_e 值相比, 说明药物制剂靶向性增强的倍数。

3. 峰浓度比 C_e

$$C_e = (C_{\max})_p / (C_{\max})_s$$

式中, $C_{\max}$ 为峰浓度, 每个组织或器官中的 C_e 值表明药物制剂改变药物分布效果, C_e 值愈大, 表明改变药物分布的效果愈明显^[1]。

三、理想的靶向制剂应具备以下特性

限制药物分布使其浓集于靶区; 易于进入薄壁组织; 在靶的毛细血管中分布均匀; 药物以预期的速率控释, 以达到有效剂量; 药物容纳量高; 释放的药物不影响其药理作用; 在通往靶的过程中药物渗漏少; 药物受到保护; 具生物相容性的表面性质; 保护宿主对药物不发生过敏性; 载体可生物降解而不引起病情变化; 易于制备等。

四、分子靶向策略的研究进展

随着各学科如人工智能、信息科学、化学技术的突破性发展及边缘学科如: 基因组学 (Genomics)、蛋白质组学 (Proteomics)、药物基因组学 (Pharmacogenomics)、结构生物学 (Structural Biology)、生物信息学 (Bioinformatics) 等的蓬勃兴起, 寻求高特异性、高选择性药物由可能变为现实。在新药开发的研究方法上, 20 世纪 90 年代以来已打破了以往经验式药物设计和手工式的单一化学合成或化学修饰的模式, 而转向为分子靶向策略。这一策略的核心是: 以某一被认为与某疾病相关的生物分子为药物作用的靶标而进行药物筛选。其显而易见的优点是所得到的药物的选

择性好、特异性强、不良反应少，且由于靶标明确，整个筛选过程可实现自动化，进而大大提高药物开发效率。

分子靶向策略普遍采用三大技术：①计算机辅助的定向药物设计（Computer Aided Drug Design）；②以组合化学合成为基础的高通量筛选（High Throughput Screening）；③单克隆抗体或基因治疗。此外尚有一些制药公司将生物靶分子的三维结构输入计算机，运用计算机程序，与现有的化合物分子进行配对，以寻找可能具有药用价值的化合物，在此基础上进行结构优化，进而得到理想药物。这种计算机介导的生物大分子和药物小分子间相互作用的模拟亦成功地用于老药机制研究和老药新用，如计算机程序 PASS（Prediction of Activity Spectra for Substances）的应用^[2]。

第二节 分子靶向给药剂型

一、乳剂

油状药物或药物的油溶液制成 O/W 型静脉注射时，可使药聚集于肺、肝、脾、肾中。若将水溶性药物制成 W/O 型乳剂，则有浓集于淋巴系统的倾向。S/O 乳（Microsphere-in-Oil Emulsion）或 S/O 乳作肌内、胃壁、食道壁等组织注射时，能进入淋巴管和淋巴结，作抗癌药物的载体可防肿瘤转移。

微乳（Microemulsion）在内向被高浓度乳化剂增溶时，外观呈透明状，至少呈半透明状，这样的乳剂属胶体分散系，粒径在 8 ~ 800 nm 间，是一种膨胀的胶团系统，亦是一种靶向给药的新剂型。由于肿瘤细胞比正常细胞更容易摄取低密度脂蛋白（Low Density Lipoprotein, LDL），所以有人将甲胺蝶双酯（Methotrexate Diester）制成 LDL 微乳使用，降低了药物的毒性，取得了较好的效果。

复合乳（Multiple Emulsion）亦称为多重乳剂，包有水滴之油粒可再乳化在水相中，形成水包油包水（W/O/W）复乳，反之，形成 O/W/O 复乳，此外，还有 S/O/W 或 O/S/O 等复乳。复乳静脉注射时，具有网状内皮系统、淋巴系统靶向性；口服可改善药物，尤其是大分子药物的吸收，掩盖不良味道；复乳还可作超剂量药物的急救之用等。

复乳作为抗癌药物的良好载体，其特点有：①油滴高度分散的乳剂，静脉注射时可被网状内皮系统的吞噬细胞作为外来异物吞噬，并靶向于肝、肾、脾、肺等脏器；②具淋巴定向性，当静脉给药后，可向淋巴系统转运，使癌细胞在扩散至全身前受到抑制，这不仅可提高疗效，亦能减少肿瘤术后的复发率；③W/O/W 型复乳中的小油滴和癌细胞具有较强的亲和力，黏附于癌细胞周围的时间越长，抑制癌细胞的作用亦越强。

脂肪乳剂（Fat Emulsion）是将食用植物油在乳化剂的作用下均匀地分散于水相而形成的 O/W 型多相系。脂肪乳剂能增加难溶药物的溶解度和稳定性，某些药物制成乳剂注射给药可减轻其刺激性和毒副作用。

脂肪乳剂为靶向疗法的载体有以下特点：①作为油相的大豆油及作为乳化剂的卵磷脂，对机体的安全性已被确认；② $0.1 \sim 0.7 \mu\text{m}$ 范围内的粒径可以自由控制；③粒子表面的电性可自由控制；④控制扩散，使药物缓释；⑤提高药物对靶组织的靶向性；⑥静脉注射后不产生超过人体标准的渗透压^[3]。

二、毫微胶囊 (Nanocapsules)

毫微胶囊 (简写 NC) 又称为毫微粒 (Nanoparticles) 或毫微 (Nanopellets)，为粒径在 $10 \sim 1000 \text{ nm}$ ($< 1 \mu\text{m}$) 间的微小囊粒或颗粒，属胶体给药系统，其水混悬液呈透明或略带乳光状，因布朗运动而不沉降，可作药物、酶或抗原的载体，所运载的物质可呈溶解、嵌入、被包裹或吸附与连接在载体上^[3]。

1. 毫微囊常用的材料

明胶、丙烯酸类 (聚丙烯酸、聚丙烯酰胺及其衍生物与丙烯酸共聚体、聚氰基丙烯酸烷烃酯)、白蛋白、人血清蛋白、牛血清蛋白、玉米朊、纤维素类及聚戊二醛均可供制备 NC 之用。

2. 毫微囊的特点

①因粒径很小，适合静脉注射，不像其他许多胶束系统那样，常会发生堵针或堵塞毛细血管的问题。

②聚丙烯酰、氰基丙烯酸、烷烃酯等高分子材料组成的 NC 在生物体液中与贮存期间均比脂质体稳定，具有缓释可生物降解的特点。

③对网状内皮系统具有一定的靶向性，尤其可累积在肝脏的枯否氏细胞内，这适于寄生性的 (利什曼虫、肝血吸虫) 或感染性的 (隐球菌病、Hystoplasmosis) 某些疾病的治疗，但在肿瘤的化疗中，NC 同样会被肝、脾及骨髓摄取，阻碍药物向肿瘤组织转运，因而研究磁性毫微囊或连接单克隆抗体等办法有助于提高药物靶向性。

④药物可吸着在载体上，故荷载药量大，同时在 NC 与单克隆抗体连接时，NC 吸附的单抗分子比脂质体多 (2000 个 IgG 分子/每个 NC，而 $1 \sim 10$ 个 IgG 分子/每个脂质体)，因而 NC 的靶向性强，靶区药浓度高，疗效好^[3]。

三、脂质体

脂质体 (Liposome) 最初是由英国学者 Bangham 和 Satandish 将磷脂分散在水中进行电镜观察时发现的。磷脂分散在水中自然形成多层囊泡，每层均为脂质的双分子层；囊泡中央与各层之间被水相隔开，双分子层厚度约为 4 nm ，后来将这种类似生物膜结构的双分子小囊称为脂质体。

脂质体根据其结构所包含的双层磷脂膜层数可分为单室脂质体和多室脂质体，含有单层双层磷脂膜的囊泡称为单室脂质体，含有多层双层磷脂膜的囊泡称为多室脂质体。一般粒径小于 100 nm 的称小单室脂质体，粒径在 $100 \sim 1000 \text{ nm}$ 之间的单室脂质体称为大单室脂质体，多室脂质体的粒径在 $1 \sim 5 \mu\text{m}$ 之间。

1. 脂质体的作用特点

脂质体是一种定向药物载体，属于靶向给药系统 (Targeting Drug Delivery Systems) 的一种新型制剂。它具有类细胞结构，进入体内主要被网状内皮结构吞噬而

激活机体的自身免疫功能，并改变被包封药物的体内分布，使药物主要在肝、脾、肺和骨髓等组织器官蓄积，从而提高药物的治疗指数、减少药物的治疗剂量和降低药物毒性。因此，脂质体在许多疾病尤其是在癌症的治疗中显示了明显的优越性。脂质体还具有生物膜的特性和功能，使它不仅作为一种新剂型应用于疾病的治疗和诊断中，而且在生物物理、生物化学、免疫学研究及免疫诊断等多个领域中都有应用。

2. 脂质体的靶向性^[4]

靶向性是脂质体作为药物载体最突出的特征。脂质体的靶向性有四种类型：

(1) 被动靶向性。这是脂质体静脉给药的基本特征，是由于脂质体进入体内即被吞噬细胞作为外界异物吞噬的天然倾向产生的靶向性。一般的脂质体主要被肝和脾中吞噬细胞 (Phagocytic Cells) 吞噬，是治疗肝寄生虫病利什曼等网状内皮系统疾病的理想药物载体。利用脂质体制剂包封药物治疗这些疾病可显著地提高药物的治疗指数，降低毒性，提高疗效。脂质体的这种天然靶向性也被广泛用于肿瘤的治疗和防止肿瘤的扩散和转移。

(2) 物理化学靶向性。这种靶向性是指在脂质体的设计中，应用某种物理因素或者化学因素的改变，例如用药局部的 pH、病变部位的温度等的改变而明显改变脂质体膜的通特性，引起脂质体选择性的释放药物。目前最成功的例子是温度敏感脂质体，这种脂质体是使用具有一定的相变温度的脂质混合物作为膜材，或使用具有 41 °C ~ 42 °C 相变温度的合成磷脂作为膜材，使所制备的脂质体相变温度在 41 °C 左右，在肿瘤局部热疗机的作用下，当温度敏感脂质体进入肿瘤区的毛细血管床时，脂质体达到液晶态相变温度，导致脂质体迅速完全地释放药物，使血管内外的药物浓度达到平衡。这种物理靶向性不需要脂质体离开毛细血管。Weinstein 等证明，使用温度敏感脂质体，可使标记的甲氨喋呤 (^3H - MTX) 在局部升温的肿瘤区的摄取量增大 10 倍以上，并抑制肿瘤的生长。有人将局部升温化疗与放疗结合起来，治愈效果更好。某些弱离子性药物如甲氨喋呤等包封在脂质体中，当其进入体内在肿瘤的低 pH 局部，可以有选择地释放药物。这种受 pH 影响释放药物的脂质体叫 pH 敏感脂质体。

(3) 主动靶向性。这种靶向性是在某种脂质体上，连接一种识别分子，即所谓的配体。通过配体分子的特异专一地与靶细胞表面的互补分子相互作用，脂质体在靶区释放药物。目前已有人将几种不同类型的配体连接到脂质体的表面，形成不同类型的配体改进的脂质体。这些不同类型的配体有：糖、植物凝血素、肽类激素、小半抗原、抗体和其他蛋白质。连接不同配体的脂质体，对不同受体细胞有专一的靶向性。因此我们可以根据给药的不同需要，来选择脂质体的配体。例如将脂质体的表面组装上从某种癌细胞制得的单克隆抗体，由单克隆抗体给脂质体导向，使脂质体只和这种癌细胞产生特异性结合，达到靶向给药的目的。有人从 CH_3/H_2 小鼠乳腺癌细胞制得的对这种癌症有特异性的 IgM 型单克隆抗体，对放线菌素 D 脂质体进行表面修饰。体内实验表明，这种脂质体能选择性地与抗原阳性癌细胞结合，并显示出较同剂量的放线菌素 D 单独应用时高得多的抗癌效果。将癌细胞移植于同系小

鼠腹腔内，次日腹腔注射该脂质体，给药剂量是游离药物有效量的 1/10 以下，结果完全治愈，表明用单克隆抗体修饰的脂质体提高了靶向性，增强了治疗效果。

(4) 转移靶向性。这种靶向性是采用封闭网状内皮系统或减少网状内皮系统的摄取。如用胶体粒子阻断网状内皮系统的吞噬作用，亦可预先注射空白脂质体，使肝、脾摄取脂质体呈饱和状态，然后再给药物脂质体以增加非网状内皮系统的摄取。

3. 新型脂质体^[4]

(1) 前体脂质体。前体脂质体通常为干燥、具有良好流动性的颗粒或粉末，贮存稳定，应用前与水水合即可分散或溶解成等张的脂质体，这种脂质体解决了稳定性和高温灭菌等问题，为工业化生产奠定基础。有人将两性霉素 B 制成山梨醇前体脂质体，经水合后用显微镜检查无游离两性霉素 B 析出。Hayat 等用胆酸盐和卵磷脂酰胆碱的混合胶团作为前体脂质体以增加鬼臼噻吩甙的水溶性。Namba 等研究了尿酸衍生物修饰的脂质体，以减少巨噬细胞的吞噬，延长了血流的循环时间。顾学裘等人制备了重建型环磷酰胺 (CTX) 多相脂质体。提高包封率，有利于长期贮存。

(2) 温度敏感脂质体。脂质体膜在由“凝胶态”转变到液晶结构的相变温度时，其磷脂的脂酰链紊乱及活动增强，膜的流动性也增大，此时包封的药物释放速度亦增大，而未到相变温度时释放缓慢，根据这一原理而制备的脂质体。例如阿霉素温度敏感脂质体在肝动脉注入荷瘤大鼠后，用高电波发热装置将肝脏加热至 42℃ 时的体内试验表明：肝动脉注射给药组肿瘤内的药物浓度都要高于正常肝组织，温度敏感脂质加热组明显大于加热组。又如 Weinstein 等证明局部加热法可引导脂质载运的甲氨喋呤选择性作用于鼠皮下行 Lewis 癌，而且还发现载药脂质体在治疗小鼠实体型 L210 肿瘤时，如对肿瘤部位加热可促使肿瘤细胞摄入更多的甲氨喋呤，其量为不加热的 14 倍，从而可产生较强的抑瘤作用。

(3) 光敏感型脂质体。用适当波长的光照射到带有光敏物质的靶组织时，由于吸收光子导致光物理和光化学变化，因而产生治疗作用，被光吸收的光能也起到活性药物治疗的作用。

光敏脂质体是将光敏物质的药物包裹在脂质体内用来进行光学治疗。当在一定的波长照射时，脂质膜与囊泡物质间或脂质体之间发生融合作用而释放药物。Morgan 等用无机离子荧光染料，Davis 等用若丹明 123 制备光敏脂质体都显示其在治疗应用方面的潜在价值。刘宏志等人制备了含 β -胡萝卜素或全反视黄醇的光敏脂质体，光照后可发生不可逆光反应，从而影响膜的流动性，增强其通透性。

(4) pH 敏感脂质体。利用肿瘤间质液的 pH 比周围正常组织显著低的特点，设计了 pH 敏感脂质体。这种脂质体在低的 pH 范围内可释放药物，通常采用对 pH 敏感的一类脂（如 DPPC、十七烷酸磷脂）为类脂膜，其原理是 pH 降低时，可导致脂肪酸基的质子形成六方晶相的非相层结构而使膜融合加速释药。例如采用二油酰磷脂酰乙醇胺 (DOPE)、胆固醇与油酸的比例 4:4:3 组成的 pH 敏感脂质体，可将荧光染料导入 NIH₃T₃ 细胞及人胚肺中的成纤维细胞，发现脂质体进入 NIH₃T₃ 细胞后，在微酸环境中破裂，使荧光物质浓集到细胞内。

(5) 声振波敏感脂质体。将含有声振波敏感分子的脂质体药物给予患者，并在

其体外用声振波子所选择的靶位区域,使药物从脂质体内释放出,以增强组织细胞对药物的摄取,使靶位的药物浓度升高从而降低全身毒性。

(6) 磁性脂质体。近年来发展了一种磁性脂质体,是在脂质体中掺入铁磁性物质制成。Kiwada 等在移植鼠脚掌的 Yoshida 肿瘤处外加电磁场,结果 ^3H -菊粉聚焦于肿瘤处的量显著增多,并随磁场强度的增加而增多。Kharkevich 将含有神经肌阻断剂的磁性脂质体经猫颈静脉注入并将一只脚置于磁场中,另一只脚不置于磁场作对照,结果表明,神经肌传送的抑制作用要比对照组强 4~6 倍。

(7) 掺入糖脂的脂质体。将天然或人工合成的脂质体的糖基掺入到脂质体上是改变其组织分布的一种新方法。其方法将糖脂链的一部分用棕榈酰基或具有适当间隔的胆固醇基取代得到糖类衍生物,再与含糖脂质体混合,在适当的条件下孵育,即得到掺入糖脂的脂质体,这种脂质体可改变其在组织的分布,如表面具有半乳糖残基的脂质体易为肝实质细胞所摄取,具有高度的趋肝性,而且这种脂质体具有稳定性好,易于与抗体交联反应及可调节肿瘤坏死因子释放等特点。Kaye 等直接从肿瘤细胞膜中提取糖蛋白载入脂质体,动物实验显示,载有甲氨喋呤的糖蛋白脂质体被实体瘤摄取的量增加。

(8) S-脂质体。S-脂质体(隐行脂质体或长效脂质体)是含有神经节苷酯(GM_1)或聚乙二醇衍生物的脂质体。 GM_1 引入唾液酸残基增强了膜的稳定性,极大地降低了血浆成分诱发的脂质体溶解的敏感度及其内容物的泄漏率,明显减少了网状内皮系统细胞对脂质体的吸收,延长了脂质体的体内循环时间;极性的聚乙二醇基则增强了脂质体膜的亲水性,减少了血浆蛋白与脂质体膜的相互作用,阻止了脂质体的凝集和融合,避免了网状内皮系统细胞对脂质体的吸收,从而也延长了脂质体的体内循环时间。因此 S-脂质体作为药物载体应用于临床特别是肝、脾以外组织或器官的靶向性给药,将获得良好的治疗效果。

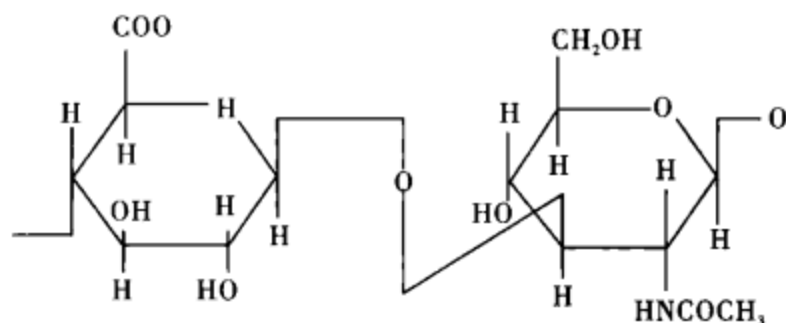
近年来,随着生物技术的不断发展,脂质体的制备工艺逐步完善,加之脂质体适合于生物体内降解、无毒性和无免疫原性,特别是脂质体作为药物载体,具有靶向性,可用于抗肿瘤药物的载体、抗寄生虫药物的载体、抗菌药物载体、激素类药物载体、酶的载体、基因治疗药物等的载体,从而减少药物剂量降低毒性,减少副作用,因此脂质体包囊药物愈来愈受到重视并广泛使用。

但就目前来看也存在一些局限性,一般的脂质体的靶向性主要集中于肝、脾、肾等网状内皮细胞丰富的器官,如欲对其他组织器官进行治疗,其靶向性并不明显。另外脂质体对有些药物,尤其是某些水溶性药物包封率较低,并且药物极易从脂质体中渗漏出来,也有少数药物很难包封在脂质体中。当然,可采用将这些药物事先制成前体药物等方法制成脂质体,以改善其包封率和稳定性。另外,将药物制成脂质剂型也在一定程度上提高了成本,以上几点可能限制脂质体作为药物载体的应用,但总体来说,脂质体是一种理想的新型制剂。

四、透明质酸

透明质酸(Hyaluronic Acid, HA),又名玻璃酸,是一种独特的线性大分子酸性黏多糖,由葡萄糖醛酸和 N-乙酰氨基葡萄糖的双糖单位反复交替连接而成,广泛

存在于结缔组织如关节、玻璃体、滑液、脐带、软骨、皮肤、鸡冠、A 族和 C 族溶血性链球菌中，以满足一些重要的功能如韧性、支持结构以及细胞的代谢调节。使用的透明质酸主要通过组织提取和微生物发酵来制备，视其来源和提取方法的不同， M_r （相对分子量）在 $80 \times 10^4 \sim 500 \times 10^4$ 范围内^[5]。



与其他天然黏多糖不同，透明质酸分子内不含硫酸基团，也不与蛋白质共价结合，能以自由链形式在体内游离存在，且其在溶液中为无规则卷曲状态，具有良好的流体动力学特性，这赋予了透明质酸重要的物理特性，即高度黏弹性、可塑性、渗透性和良好的生物相容性。透明质酸及其衍生物作药物载体，主要利用其良好的生物相容性和可降解性、高黏弹性以及与细胞表面特异受体专一性结合的能力，以达到药物增稠、药物缓释、促进药物透皮能力及靶向性的目的。

1. 透明质酸在眼用制剂中的应用

研究发现，在眼玻璃体中含有大量的透明质酸，与胶原纤维、可溶性蛋白质共同构成玻璃体。胶原形成的网状结构起固体支架作用，透明质酸的大分子网状结构可结合大量的水分，形成凝胶充填于其中，两个网状体系相互平衡，角膜基质中的透明质酸对维持角膜形态具有重要的作用^[6-8]。透明质酸作为眼用制剂的媒介广泛应用于眼用制剂中，有其特殊性能及作用。

Nelson 等^[9]用 0.1% 透明质酸和 1.4% 聚乙烯醇治疗干眼症，在开始时及 1、4、8 周后进行眼膜渗透压、泪膜破裂时间、结膜玫瑰红染色、Schimrer 试验评价。结果表明，透明质酸能很好地保护角膜内皮，是治疗干眼症安全、有效的药物。

庞素秋等^[10]将透明质酸溶液用于治疗干眼症。结果表明，0.1% 透明质酸溶液可明显延长泪膜破裂时间，减少干眼症患者的眨眼次数，缓解患者眼部的干、涩、痒、痛等症状，效果明显优于一般人工泪液，且随着用药时间增加，用药次数明显减少，有的患者停用后症状不再复发。在国内，将透明质酸作为药物媒介，开发了一系列含不同活性成分的滴眼液。其中含 0.1% 透明质酸的氯霉素滴眼液（商品名：润舒）用于眼干燥症，可预防和治疗眼干燥症造成的继发性感染^[11]。王建林^[12]以透明质酸为载体制备盐酸洛美沙星滴眼液，增加滴眼液黏稠度和润滑度，以增强疗效，减少给药次数。临床应用表明，此滴眼液的质量稳定，生物相容性好，有效率为 96.5%。

2. 作为药物的缓释载体应用

透明质酸具有缓释药物的功能是由其分子特点所决定的。透明质酸为直链的大分子，其分子中每一双糖单位含有一个羧基，可解离成负离子，等空间距离的负离子相互排斥，使分子在溶液中呈一定刚性的线团状。当达到一定浓度后，透明质酸

分子可相互交错缠绕构成网状结构,使药物分子进入网格中,延缓药物的释放速度,对一些生物大分子药物还可能有生物黏附作用^[13-17]。

3. 作为抗肿瘤药物的靶向载体应用

抗肿瘤药最大缺点是特异性差,攻击肿瘤细胞的同时,也攻击正常组织,所服用的药物中只有很少部分作用于肿瘤细胞,不良反应严重。肿瘤药物靶向治疗可大大减小抗肿瘤药的不良反应。研究发现,某些实体肿瘤和转移淋巴细胞表面存在大量透明质酸受体-CD44,透明质酸与其亲和力很强。透明质酸作为抗肿瘤药物的靶向载体,可将较小的药物分子黏附在透明质酸的网状结构中或者将药物分子接到透明质酸类药物载体上,与肿瘤细胞表面的受体靶向结合,使更多的药物分子进入肿瘤组织,增加抗肿瘤药在肿瘤和淋巴结中的吸收和滞留时间,从而提高药物的疗效,降低毒副作用。

五、生物黏附制剂

新型药物载体技术(如微球、纳米粒、脂质体等)能智能化控制药物的释放和吸收,其中微球载药能力良好,但体内吸收部位滞留时间短限制了其应用,采用新的生物材料增加药物载体与吸收黏膜的亲和力不失为一个好办法。生物黏附性微粒制剂结合了生物黏附和微粒两种载体的优点,通过各种黏膜吸收控制药物释放和靶向给药,其在大分子药物(如多肽、蛋白质等)给药系统中的研究进展令人振奋^[18]。

1. 生物黏附制剂基本含义^[19]

生物黏附制剂利用生物黏附材料为药物载体,通过生物黏附作用长时间黏附于黏膜而发挥疗效。生物黏附制剂是现代给药剂型的一个新兴分支。该剂型能够延长释药时间、提高药物的吸收作用;通过黏膜转运直接进入了全身的血液循环,避免了肝脏的首过效应,从而大大提高了药物的利用度;可大大增加局部用药浓度,对于部分口服药物难以在病灶部位产生有效浓度的局部疾病有着良好的效果。基于上述的优点,生物黏附制剂正日益受到人们的关注。

2. 常用的生物黏附剂

其来源主要有合成的和天然的,天然的如:明胶、果胶、阿拉伯胶、海藻酸钠等,合成的有:羧甲基纤维素钠(CMC-Na)、羟丙基甲基纤维素(HPMC)、羟丙基纤维素(HPC)、聚乙烯醇(PVA)等。

3. 生物黏附性微粒的特点

生物黏附微粒包括了粒径为 $1 \sim 1\,000\ \mu\text{m}$ 的微球和微囊,前者是全部为生物黏附聚合物材料形成的微粒,后者是由生物黏附聚合物材料形成的外壳。将生物黏附性能与微球制剂结合具有独特的优越性^[20]:①由于表面积与体积比增大,提高了药物吸收效率和生物利用度;②避免了药物的首过效应,如利用黏附性使药物在口腔、鼻腔、直肠及生殖道黏膜吸收,避免了药物在门肝系统的灭活;③与吸收黏膜接触亲密,通过对微球表面进行修饰可使植物凝集素、细菌凝集素、抗体等到达特殊吸收部位而起靶向作用。

4. 生物黏附制剂的开发

按照生物黏附制剂作用人体组织的不同部位可以分为：①口腔黏附制剂：由于口腔黏膜血管丰富，口腔疾病的局部治疗给药、心血管药、消炎镇痛药品、局麻药等都可通过口腔黏膜的吸收达到全身治疗的目的。口腔黏附制剂是近年来发展最快的一种口腔用制剂。目前主要有3种类型：黏附性软膏、口腔贴片、口腔贴膜。②鼻黏膜黏附制剂：由于人的鼻子密布静脉网络，是药物良好的吸收场所，鼻黏膜黏附制剂利用鼻黏膜的优势，将药物制成经鼻黏膜吸收而发挥全身治疗作用的制剂，使鼻腔给药成为继注射给药之后的另一种无痛给药方式。近年来国内外学者对此进行了大量的研究，目前已有十几种鼻黏膜黏附制剂上市和应用于临床，如鲑降钙素气（粉）雾剂、胰岛素气（粉）雾剂、高浓度去氨加压素鼻腔喷雾剂等。③胃肠道口服黏附制剂：胃肠道口服黏附制剂的特点在于粘贴片口服后可粘贴于消化道黏膜，延长特定的“吸收部位”或“吸收窗口”的滞留时间，提高吸收度。如，利用10%泡腾剂和80% CMC/20% HPMC 制备环丙沙星胃漂浮黏附片，与胃黏膜紧密黏结不易冲掉，能达到长期与胃黏膜接触的要求。目前该剂型已经成为消化道给药途径中一个引人注目的新热点。④子宫及阴道黏附制剂：子宫及阴道黏附制剂主要运用于避孕与治疗妇科疾病，特别对那些口服避孕药副作用大的妇女。目前市场上可见到的有美国的 Alza 公司的 Progestasert，我国设计的钥匙形 IUDA，还有一些避孕膜剂，胶冻（药膏）等。⑤眼部黏附剂：生物黏附性微粒作为眼部给药载体，可延长药物与角膜的接触时间和控制药物的释放，与一般眼用溶液剂相比，减少了药物的流失，提高了生物利用度。微粒黏附载体可提高药物在眼部黏膜的驻留时间，减少了给药频率。如阿昔洛韦壳聚糖微球可提高药物的生物利用度，并且可减轻因频繁给药而造成的不适。

六、靶向端粒酶

端粒酶是唯一一种以自身 RNA 序列为模板、将端粒重复序列复制添加到染色体3'末端的核蛋白酶，具有逆转录酶特性与维持端粒长度的功能，其活性与肿瘤防治及诊断、延缓衰老密切相关。许多研究结果表明：人类85%~90%的肿瘤细胞的端粒酶活性呈阳性，端粒酶的激活及端粒长度的稳定与肿瘤、衰老的发生、发展有密切关系，针对端粒酶基因的调控可以通过抑制端粒酶的活性来抑制肿瘤的生长并促进其凋亡，具有对肿瘤细胞特异性的作用，是肿瘤靶向治疗的一个新的研究方向^[21]。

1. 端粒的结构和功能

端粒是位于真核细胞染色体末端的 DNA 重复结构，由端粒 DNA 重复序列与端粒相关蛋白组成。端粒 DNA 重复序列由长5~20 kb的不含功能基因的非编码序列(TTAGGG)^[22]组成，具有一条单链富含GT的3'末端突出^[23,24]，它与端粒结合蛋白在细胞内形成套索结构^[25]。在大多数正常人体细胞中，端粒序列不能完全复制，细胞每分裂一次，端粒就要丢失50~300 bp 碱基。当端粒缩短到一定长度时，就丧失了保护染色体末端的功能，其结果是编码区基因被破坏，染色体之间发生融合或者染色体被降解，最终导致细胞进入衰老或死亡^[25]。与正常细胞相反，在永生化细胞包括肿瘤细胞中，端粒长度是稳定的，而通常端粒长度是靠端粒酶的激活来维持的。

2. 端粒酶的结构和功能

端粒酶是具有特殊逆转录酶活性的核糖核蛋白复合物,它有两个主要组分,一个端粒酶催化亚基(TERT)和一个长度约450 bp的模板RNA(TR)。端粒酶可以不依赖DNA聚合酶,与自身携带的RNA模板合成端粒重复序列添加到端粒上,从而维持端粒长度的稳定。人的端粒酶模板RNA(hTR)是被称为H/ACA盒RNA家族的小分子RNA当中的一员,不编码蛋白质,种属间差异较大。研究表明,端粒酶在细胞生长分化过程中的调控,主要是通过对hTERT的调控来实现的。在过去10年中,对hTERT在转录水平调控的研究相对比较透彻。负调控方面主要有3条途径,即Mad1通过抑制c-Myc、TGF β 通过SIP1、Menin通过与hTERT启动子结合来负调控hTERT的转录。hTERT的表达还受MYC、BCL2及PKCa或AKT/PKB磷酸化的正调控。另一方面,端粒酶活性调控也存在转录后及翻译后水平的调控方式,比如在人淋巴细胞中,端粒酶活性并不与TERT基因的转录水平相关^[26]。端粒酶翻译后调控的一个可能的机制是通过一些附属蛋白与TERT发生蛋白质相互作用来实现的,这些蛋白包括端粒酶全酶的其他亚单位、连接物分子、分子伴侣等。这种调控方式已经成为目前端粒酶活性及功能调控的研究热点之一。目前抗癌药物研究的重点是寻找肿瘤细胞中区别于正常细胞的特异性靶标。而正常人体细胞无端粒酶活性或不表达hTERT,但一些更新组织的增殖细胞,如生殖细胞、活动期淋巴细胞、造血干细胞和表皮基底细胞等除外;而90%以上的恶性肿瘤细胞高表达hTERT并具有很高的端粒酶活性^[27]。这一特性以及以上对于端粒和端粒酶功能调控的研究发现,为端粒酶成为肿瘤诊断和防治研究的重要靶点奠定了理论基础。

3. 端粒酶抑制剂

根据目前已经检测出的肿瘤组织标本的统计学分析,恶性肿瘤组织端粒酶活性的阳性率达到84%~95%,而良性肿瘤和常组织的端粒酶活性检出率仅为4%左右。端粒酶活性与恶性肿瘤之间的高度相关性使端粒酶成为近年来肿瘤治疗研究的新热点。目前研究比较广泛的端粒酶抑制剂主要有小分子干扰RNA(Small Interfering RNA, siRNA)、锤头状核酶、逆转录酶抑制剂、反义寡核苷酸(Antisense Oligodeoxyribonucleotides, ASODN)、G-四联体稳定因子等。其中,研究最多、发展最为迅速的是siRNA和ASODN^[28]。

(1) siRNA端粒酶抑制剂。RNA干扰(RNA interference, RNAi)技术是利用双链RNA(dsRNA)诱导序列特异转录后基因沉默的现象。运用RNAi的基因治疗已经有了广泛研究,尤其在病毒感染、癌症和遗传性疾病方面。

(2) ASODN端粒酶抑制剂。ASODN是根据碱基互补配对原则人工合成的一段与目的基因特异结合的DNA或RNA片段。运用脂质体介质法等途径导入靶细胞后,寡核苷酸(ODN)特异性结合到能与之配对的RNA链上,通过主动和(或)被动的机制抑制RNA的转录。被动机制仅仅是ODN竞争性地与RNA结合,而主动机制在RNA-ODN杂交后激活Rnase H降解RNA。端粒酶的两个重要组成部分hTR和hTERT mRNA是ASODN的两个最主要的治疗靶点。

由于端粒酶与细胞永生化和肿瘤的发生发展密切相关,端粒酶已作为一种新的肿瘤标志物被临床应用;以端粒酶的基因为靶基因的治疗研究,为肿瘤的基因治疗开辟

了新的途径。伴随着对端粒、端粒酶结构功能和调节机制研究的不断深入,对端粒酶抑制剂的研究也一定会越来越深入。但从目前的研究来看,对端粒酶抑制剂的研究大多尚处于体外细胞实验阶段,体内药理作用及药代动力学情况究竟如何鲜有报导。端粒酶抑制剂应用于临床时的效果及毒副作用也还需要事实的进一步验证。

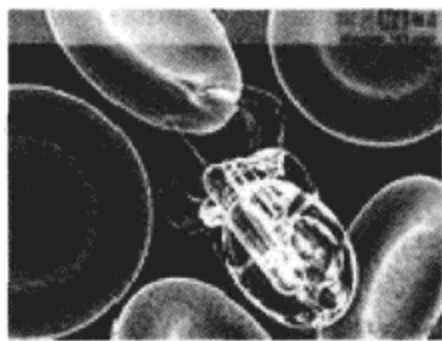


图 3-1 纳米粒

七、纳米制剂

纳米技术 (Nanotechnology) 是 21 世纪战略技术的制高点,是在纳米尺度对物质进行制备研究和工业化,利用纳米尺度物质进行交叉研究和工业化的一门综合性的技术体系。纳米技术研究的主要内容是纳米粒子、纳米结构、纳米材料和纳米器件。国际上公认 $0.1 \sim 100 \text{ nm}$ 为纳米尺度空间, $100 \sim 1\,000 \text{ nm}$ 为亚微米体系,小于 1 nm 为原子团簇。纳米空间是介于宏观和微观之间的相对独立的中间领域。

药剂学领域中纳米粒子的研究早于“纳米技术”概念的出现,20 世纪 70 年代即已经对纳米脂质体、聚合物纳米囊和纳米球等多种纳米载体进行了研究。涉及的给药途径包括注射、口服和眼部给药等。在药物传输系统领域一般将纳米粒的尺寸界定在 $1 \sim 1\,000 \text{ nm}$ ^[29],显然,该范围包括了大小在 100 nm 以上的亚微米粒子。就目前的研究而论,药物传输系统中的纳米粒及相关技术主要用于促进药物溶解、改善吸收、提高靶向性从而提高有效性等,近年来更专注于研究纳米系统对生物大分子药物传输的作用^[30],根据药剂领域界定的纳米尺寸范围以及药物在纳米载体中多以分子状态存在,药物的根本性质并无改变,故许多研究的实质与纳米技术的科学内涵有一定距离,纳米技术(不只是纳米粒)在药物传输中的意义和前景还有待进一步认识^[31]。

1. 纳米药物的类型^[32]

(1) 药物载体。利用纳米技术可将具生物降解性和生物相容性的聚合物与药物一起制成纳米药物,作为靶向药物制剂,直接导入病灶部位的器官、组织甚至细胞,达到提高药物疗效、降低毒性的作用;将纳米材料作为药物载体,可增加某些药物的胃肠吸收,提高其生物利用度;将纳米材料作为载体,可用于基因的输送和治疗。

①聚氰基丙烯酸酯毫微粒。聚氰基丙烯酸酯 (Polyalkylcyanoacrylate, PACA) 是一类生物可降解的合成高分子材料,由氰基丙烯酸酯单体聚合得到,该类单体主要有氰基丙烯酸甲酯 (MCA)、氰基丙烯酸乙酯 (ECA)、氰基丙烯酸正丁酯 (BCA)、氰基丙烯酸异丁酯 (IBCA) 等,随着烷基链的延长,生物降解速度逐渐减慢。聚氰基丙烯酸酯毫微粒可显著提高药物制剂的靶向性,毫微粒的粒径及表面化学性质直

接影响其靶向性,有研究表明:粒径小于 300 nm 的粒子主要积聚在肝脏和淋巴系统。

②白蛋白毫微粒。白蛋白是制备毫微粒载体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。近年来,白蛋白毫微粒作为新型药物传递系统,常被用作药物甚至反义寡核苷酸的良好载体。白蛋白毫微粒的制备方法较多,包括丙酮热变性法、喷雾干燥法、pH 凝聚法、乳化固化技术等。

③聚乳酸类毫微粒。聚乳酸及其共聚物是一类生物可降解且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毫微粒,可实现靶向给药。已被广泛应用的此类材料有聚乳酸(PLA)、聚乙醇酸(PGA)、聚乳酸-聚乙醇酸共聚物(PLGA)、聚乳酸-聚乙二醇共聚物(PELA)等。聚乳酸类毫微粒的制备通常采用乳化溶剂挥发法、盐析法、复乳法等,其中乳化溶剂挥发法最常用。

④脂质纳米粒。脂质纳米粒(Lipid Nanoparticle, LN)是一种以体内可降解的天然或合成脂质材料为载体基质制成的纳米粒。LN 兼具了脂质体、脂肪乳、聚合物纳米粒的优点,可替代脂质体、脂肪乳、聚合物纳米粒,是一种极有发展前景的新一代毫微粒载体。LN 除了具备毫微粒载体的优点外,还具有以下特点:a. 对亲脂性药物有足够的载药能力,通过改进工艺,也可包封亲水性药物;b. 颗粒尺寸小,可用于注射给药;c. 分散液可进行高压灭菌、过滤灭菌或 γ 射线灭菌,也可通过冷冻干燥、喷雾干燥或蒸发干燥制成固体粉末长期保存,物理稳定性好;d. 能够进行大规模生产。LN 的制备方法主要有高压匀质法、薄膜-超声分散法、乳化-分散法、溶剂乳化法、薄膜乳化-高压均质法等。

⑤纳米乳。纳米乳(Nano-emulsion, NE)微观结构变化多端、物理稳定性好,通过内核的油相和表面活性剂的烃链两部分的增溶,具有提高难溶性药物在水中的溶解性、延长包裹的药物保质期、提高生物利用度以及改变体内分布、实现靶向释药等优点。近年来,纳米乳载体已广泛用于难溶性药物的新型制剂研发。

⑥纳米胶束。纳米胶束(Nano-Micelles, NM)一种自组装纳米化胶体分散体,粒径通常为 5~100 nm,具有疏水性内核与亲水性外壳。纳米胶束作为一种新型药物载体,其显著优点在于:利用胶束增溶作用可以提高难溶性药物的溶解度及口服生物利用度,目前已成功用于难溶性药物的传递,并展示出良好的应用前景。依据构成载体材料相对分子质量的不同,纳米胶束可分为低分子胶束和聚合物胶束。低分子胶束采用小分子的表面活性基团作载体材料,其增溶量、载药量及促进药物被机体利用的程度均有限;聚合物胶束采用两亲性的大分子作载体材料,因两亲性聚合物遇水后亲油部分缠绕成内核,亲水部分则环绕在外构成外壳,这样的核壳结构不仅使聚合物可以很好地分散于水,同时,由于相对分子质量较大,可以为难溶性药物提供较大的疏水微环境,因而,与低分子胶束相比,聚合物胶束的载药量及稳定性明显提高。

⑦纳米脂质体。普通的脂质体是微米级的类脂质双分子层结构,粒子大小通常为 1~100 μm 。如果在脂质体的类脂质双分子层中加入适当的表面活性剂,则可形

成纳米脂质体 (nano-liposomes, NL)。NL 是极具开发潜力的药物载体,除了粒径小于普通脂质体外,还具有高度的自身变形性,特别是作为水难溶性药物载体具有诸多的优越性:NL 既有双分子层形成的疏水的腔,又有亲水性的外帽,难溶性药物可被包埋于疏水腔内,使其溶解度增大;磷脂类脂质材料利于难溶性药物的体内吸收,使其生物利用度得以提高。NL 的制备方法与脂质体相似,一般采用逆相蒸发超声分散法,制备时将药物、磷脂、胆固醇和非离子表面活性剂溶于有机溶剂,制备初乳,旋转减压蒸发除去有机溶剂,再加入缓冲溶液超声制成 NL。

(2) 基因载体。影响基因治疗发展的一个关键问题是缺乏理想基因载体,因而纳米粒子作为一种新兴的基因载体,被广泛研究。日本冈山大学研制的 HVJ-E 是一种磁性载基因纳米粒子, HVJ-E 磁粒子的尺寸可根据不同的物理和生物特性来调整,其和鱼精蛋白硫酸盐混合表面带上正电荷,在磁场的作用下可显著提高体外细胞培养的转染效率,从而可降低磁性纳米粒子的使用浓度。

用纳米载体系统输送核苷酸有许多优点,如能保护核苷酸,防止降解;有助于核苷酸转染细胞,还能够靶向输送核苷酸,起到定位作用。Chavany C 等研究聚氰基丙烯酸烷基酯纳米粒子包被寡核苷酸时发现,无论在缓冲液还是在细胞培养基中,纳米粒子可以帮助寡核苷酸抵抗核酸酶的作用,防止了核苷酸的降解,同时,通过细胞对纳米粒子的吞噬作用而增加了寡核苷酸进入细胞内的量。被制成基因载体的 DNA 和明胶纳米粒子凝聚体含有氯奎和钙,而明胶与细胞配体运铁蛋白共价结合。在 Truong L 等用明胶纳米粒子包被 DNA 时发现,纳米粒子可与反应中超过 98% 的 DNA 相结合, DNA 的电泳并不受影响, DNA 在纳米粒子中部分避免了被脱氧核糖核酸酶 I 的分解。

(3) 纳米中药。已有报导中药成分如牛黄粉碎至纳米级被吸收后,药效大大加强。因此,纳米技术的应用,将为我国中医药巨大宝库的开发作出贡献。中药复方也可通过纳米技术加工炮制充分保留或增强“药性”,最大强度除掉或减弱非“药性”成分。纳米技术均可运用于不同的中药复方剂型。将纳米载体应用于中药制剂的研发,不仅有助于中药剂型的改良,也有利于中药疗效的提高,现已成为中药现代化进程中的一个新亮点。

2. 纳米粒子控释体系制剂的制备方法

制备纳米粒子的载体主要用高分子材料,包括非生物降解性聚合物、可生物降解的聚合物材料和天然大分子,其中以合成的可生物降解聚合物和天然大分子为主。根据材料的性质、药物的性质和用途以及治疗要求的不同,制备纳米控释系统的方法也不同,下面简略介绍几种常用的方法^[33]。

(1) 乳化和溶剂挥发法。溶剂挥发法是制备纳米粒子最常用的方法之一,脂溶性药物常采用单乳化法,水溶性药物和基因常采用复乳化法。通常采用高速搅拌或超声乳化。乳化剂的选择和用量以及聚合物的物化性质也是重要因素。Scholes^[34]等发现,降低有机相的浓度,可以使粒子尺寸降低,粒度分布窄,且尺寸均匀。高分子质量聚合物溶液黏度较大,不利于液滴的分散,制得的粒子较大;相反,低分子质量聚合物溶液黏度低,制得的粒子相对小。粒子固化过程对粒子表面的形态和药

物释放动力学有重要作用,常压溶剂挥发制得的粒子表面光滑、释药过程相对平稳;减压溶剂挥发制得的粒子表面呈多孔状,在药物释放过程中容易出现“突释”现象。此外,药物的性质、药物与聚合物的比值、溶剂类型、水相黏度及连续相与分散相的比值也影响粒子的性能。通过改变水相的 pH、事先用药物将水溶液饱和、在水溶液中添加脂肪酸等方法可进一步提高水溶性药物的包裹率。利用这一技术,对很多传统药物以及激素类、多肽/蛋白类等一系列水溶性药物包载取得了成功。

(2) 纳米沉降技术。纳米沉降技术是将水溶性有机溶剂与非水溶性溶剂混合作为油相,将药物溶于其中,油相中的水溶性有机溶剂会自动向水相中扩散,迅速穿透油水界面,在两相界面形成湍流,降低界面张力,使液滴不断变小,在水中不能溶解的聚合物向界面迁移、沉积并固化,最终形成纳米级粒子。这种技术的优点是重复性好、药物包载量大、粒径均匀。油相中水溶性溶剂的比例对于粒子大小的影响最为显著,比例越高,制得粒子的粒径越小。Thiruma^[35]采用此技术成功合成了粒径小于 210 nm 的包裹盐酸普鲁卡因的 PLGA 粒子。Hideki^[36]等对纳米沉降技术进行了改进,采用单一水溶性溶剂作为分散相,简化了反应和分离提纯的步骤,保持了较高的粒子产出和很好的粒子表面形态,有可能用于大规模工业化生产。

(3) 盐析法。盐析法是使用盐析剂将有机溶剂从水溶液中分离出来。具体方法是将聚合物和药物溶解在丙酮中,高速搅拌下加入到含有稳定剂和盐析剂的水溶液中,形成水包油乳液,然后用大量的水稀释该乳液,使丙酮扩散到水相后,即形成了载药聚合物纳米球。该方法的主要优点是载药量高,易于实现工业化生产,整个制备过程没有引入有害的有机溶剂和聚合物单体,生物安全性高;其不足是仅适用亲脂性药物。此方法中盐析剂要根据包载药物的性质而选择,Allemann 等^[37]在抗精神病药物沙伏塞平聚乳酸纳米粒子的制备中,选用碱性的醋酸镁作盐析剂得到载药率较高的纳米粒子,而选用中性或酸性的盐析剂则效果较差。

(4) 乳液聚合法。乳液聚合法是将聚合单体加入到含有乳化剂而无引发剂的水相中,在剧烈的搅拌下形成小液滴,再加入引发剂或通过高能辐射在水相中引发单体聚合形成纳米粒子。药物可以在单体加入前溶于聚合物中或在聚合物反应结束后加入。聚合法是制备纳米粒子的重要方法,但由于其制备过程中引入催化剂及未反应的单体,因此在实际操作中必须考虑到其细胞毒性^[38]。

(5) 分子组装法。最近,利用双亲性嵌段共聚物制备纳米胶束作为脂溶性药物和基因的载体受到了极大的关注。它是将含有亲水部分和疏水部分的两性嵌段聚合物在溶液中通过自组装形成胶束粒子。在不同的溶液中纳米胶束会形成不同的核壳结构。聚合物的一部分通过化学或物理的作用将药物包裹其中形成胶束的内核,而另一部分则聚集在胶束外表面形成栅栏状结构以保持胶束的稳定。由于药物被包裹在纳米胶束的核内,因而可以保持药物的长效缓释和靶向部位的集中释放。Yokoyama 等^[39]合成了 PEG-聚天冬氨酸嵌段共聚物,并制备了包裹阿霉素的纳米胶束粒子,粒径为几十纳米。PEG 是亲水基团的“壳”,聚天冬氨酸则为“核”,阿霉素的氨基糖苷键与聚天冬氨酸侧链上的羟基通过化学键相连,将药物连接并包裹其中,具备很高的包封率。由于内核结构具有强烈的疏水性,有将近半数的阿霉素是通过

简单的物理作用而包裹其中的，而并非完全由化学键连接而成。胶束粒子在动物实验中已经取得了很好的疗效，由于恶性肿瘤细胞具有较强的吞噬能力，肿瘤组织血管的通透性较大，使药物得以在肿瘤部位长期有效释放，而对周围的正常组织则无影响。目前，这种纳米粒子已经进入一期临床试验阶段。

3. 展望

在生物制药和基因工程迅猛发展的今天，纳米控释系统作为新型的药物（基因）载体具有缓释、靶向、生物利用度高等特点，是一种非常有前途的控释系统。目前大多数研究还处于体外和动物实验阶段。纳米控释系统目前面临的挑战主要表现为制备工艺不稳定、缺乏生物安全性评价体系等方面。我们仍然需要研制新的生物相容性载体材料，发明更有创新性的制备方法来解决这些问题。可以预见，随着研究的深入，纳米控释系统必将得到广泛的开发和应用。

八、磁性靶向制剂

磁性靶向制剂又称磁性靶向药物运释系统（Magnetic Targeting Drugs Delivery System, MTDS），是将药物与适当的磁活性成分配制在药物稳定系统中，在足够强的外磁场作用下，将载体定向于靶区，使其所含药物定位释放，集中在病变部位发挥作用，从而具有高效、快速和低毒的特点。该系统是近年来国内外大力研究的一种新型的靶向给药系统，主要有磁性脂微球、磁性微囊、磁性乳剂、磁性纳米粒、磁性脂质体、磁性脂质微球、磁性片剂和胶囊剂等，另外还有磁性造影剂、放射性磁性治疗剂等^[40]。

1. 磁性靶向制剂的组成

磁性靶向制剂主要由磁性材料、骨架材料及药物三部分组成。

①磁性材料。所用的铁磁性物质除要求粒度小外，一般应具有较高的磁导率、无毒，在外加磁场的感应条件下定向集中而不发生凝集和沉淀，并能固定在肿瘤部位，其超微粒子可以定期安全地排除体外。常用的磁性物质有纯铁粉、羧基铁、正铁酸盐、铁镍合金等，尤以 Fe_3O_4 或者 Fe_2O_3 磁流体为磁性材料居多。磁流体是把直径为 10 nm 的粒状氧化铁混入液体之后制成的。作为磁性药物微球所需要的磁性氧化铁其粒度越小越好，一般直径在 10 ~ 30 nm。制成磁流体方法有物理粉碎法和化学合成法两种。影响磁性流体性能的因素有二价铁和三价的铁的比例、氢氧化钠的量、反应的温度等，其中碱定量已成为定论。

②骨架材料。作为磁性微球的骨架材料应具有良好的生物相容性、最小的抗原性，最好还有生物可降解性。其种类很多，主要包括白蛋白、明胶、球蛋白、聚赖氨酸、聚氨酸、淀粉、葡萄糖、聚甲壳糖、聚半乳糖醛酸、糖原（牲粉）、印度树胶、右旋糖酐、乙基纤维素、聚乙烯亚胺、聚丙烯醛、甲基丙烯酸-2-羟乙基、聚醋酸乙烯酯、聚丙烯酸、硅酮等。

③药物。磁性药物微球所包裹的药物范围很广，现在用来研究磁性药物微球的药物有多柔比星、丝裂霉素、放线菌素 D、博来霉素、两性霉素 B、氟尿嘧啶、肝素、胰岛素、白介素-2 以及一些诊断剂。

2. 磁性靶向制剂的特点

①降低对正常组织的损害。应用磁性微球后, 药物大部分集中在局部起作用, 相对减少了药物对人体正常组织的副作用, 特别降低了对肝、脾、肾等造血和排泄系统的损害。

②减少用药剂量。应用磁性微球后药物可随载体被吸引在靶区周围, 使靶区很快达到所需要的治疗浓度, 而在其他部位的分布量则相应减少。

③可把网状内皮系统对某些剂型的干扰作用降低到最低程度。

④在外界磁场的触发下, 磁性材料的微振可以加速药物释放, 产生药效, 提高疗效。

⑤将磁性微球定向于肿瘤部位, 可以更好地达到肿瘤栓塞的目的, 防止由于肿瘤部位的动-静脉瘘、可能出现的回流并引发的并发症。

3. 磁性靶向制剂的给药方式

根据临床不同需要选择的不同给药方式, 决定了外加磁场的类型、外形设计及磁场强度、梯度的大小等。通常采用动脉导管给药、静脉注射给药、口服给药或局部给药(如瘤体基底部注射给药)。

4. 磁体靶向制剂的影响因素

影响磁体制剂靶向性的因素主要有:

①磁性制剂本身的性质, 如微球粒径大小、磁铁粉含量、药物含量、稳定性及释药速率等;

②磁场的性质, 如磁场强度、磁场梯度、磁场时间和外加磁场的类型等;

③肿瘤部位的性质, 如血管分布、通透性、肿瘤部位离磁场的距离、肿瘤部位离给药部位的距离等。

5. 磁性制剂的应用及其存在的问题

磁性微球(Magnetic Microspheres)是近几年发展起来的一种新型多功能剂型。它的结构通常由具磁性的内核及外核包裹的高分子外壳两部分组成。由于磁核对外的响应, 磁性微球可在磁场中定向移动。高分子外壳的表面多样性决定了磁性微球可与各种生物活性物质如抗原、抗体、受体、酶、核酸等偶联, 这些生物活性物质被固定于磁性微球上后则可在反应介质中进一步识别相应的抗原、抗体、配体、底物、核酸, 从而达到分离或检测的目的。

磁性药物制剂目前主要用于肿瘤的化疗上, 在外加磁场的引导下它能定位于肿瘤部位, 不断释放药物, 杀伤癌细胞, 这样既可避免杀伤正常细胞, 又可增加病灶部位的药物浓度, 因而, 它在提高药物疗效的同时降低了毒副作用, 属于较理想的靶向制剂。

临床实验表明, 磁性制剂中的磁性超微粒子可以定期安全地被排除体外, 但磁性药物是否会改变红细胞的功能和改变血流的方式有待于进一步研究; 虽然磁性药物微球对肿瘤的靶向定位治疗尤其对离表皮比较近的乳腺癌、膀胱癌、食道癌、皮肤癌等已显示出特有的优越性, 但仅限于肤浅表部病灶或对于外加磁场容易触及的部位, 而且这些研究都处于实验阶段, 进入临床的还不多; 由于靶部位血管的复杂性, 血管的深度及透过性可能会限制磁性微球在靶向药物治疗中的应用, 在一定程

度上可以说磁性药物微球对于人体的深位病灶几乎是无能为力的。当然磁性制剂具有其他剂型所不能代替的特殊作用,属于较理想的靶向制剂,因此具有广阔的发展前景。

九、其他靶向制剂

1. 动脉栓塞药物制剂

动脉栓塞 (Artery Embolization) 是通过插入动脉的导管将栓塞剂输入到靶组织或器官的一种治疗技术。若靶组织为肿瘤,则由于栓塞使肿瘤血管闭锁,切断对肿瘤组织的血供与营养,使肿瘤细胞缺血坏死。如栓塞剂中含有抗肿瘤物,则药物在栓塞部位逐渐释放,使药物在肿瘤组织保持较高的浓度与较长的时间,故可大大提高抗肿瘤药物的疗效,降低其毒副作用,此情况称为化疗栓塞,即具有化疗和栓塞双重作用。

这些微球制剂用于肿瘤治疗,一方面载体长时间停在动脉内,阻断血液向肿瘤组织提供营养,防止癌细胞的繁殖;另一方面药物可以不断向肿瘤组织扩散,不但使肿瘤部位的药物长时间地维持在较高浓度水平,而且降低体循环中的药物浓度,故可提高药物的治疗指数。屡有报导,临床上将微球的栓塞化疗用于治疗肝、脾、肾、乳腺等部位的肿瘤,疗效显著,促进肿瘤组织坏死、缩小,甚至消失。值得一提的是肝脏是由肝动脉与静脉双重供血的器官,肝细胞 70% ~ 90% 的供血来自门静脉,而肿瘤组织 95% 的供血来自肝动脉,这对肝肿瘤的栓塞化疗极为有利,目前,采用微球对不可手术治疗的肝肿瘤进行栓塞化疗已成为首选方法。Yamamoto 等采用淀粉微球栓塞肿瘤供血动脉,同时采用射频热疗和化疗的方法,治疗 45 例晚期肝癌患者,结果显示不良反应少,患者生存时间延长。

动脉栓塞物质常用的有明胶海绵 (商品名为 Gelfoam sponged)、聚乙烯醇海绵 (商品名叫 Ivalin)、碘油、微囊、微球。此外,还有用 IBC (isobutyl - 2 - cyanocrylate) 和钢圈等。目前临床应用碘油与明胶海绵为最多。

动脉栓塞技术虽然广泛用于临床,但栓塞后复发率较高,且易建立侧支循环,主要原因之一是栓塞剂不够理想。理想的栓塞剂应该栓塞完全、作用持久、安全可靠,且有化疗作用。1978 年, Kato 提出了化疗栓塞 (Chemoembolization) 的概念,因而推动了载药微球和微囊等新制剂的发展。

2. 导弹制剂

“导弹制剂”即“单克隆抗体结合制剂”,它是指将对癌细胞有靶向作用的单抗与抗癌药结合制成偶联物,或将单抗固定在微球的表面,利用单抗与癌细胞的专一结合来实现癌症的靶向性治疗的药物制剂。

目前,关于“导弹制剂”的研究非常热门,被认为是实现靶向性治疗的有力手段。如 Truter 等将与癌细胞有特异性结合作用的单抗固定在载药白蛋白微球上 (包埋顺铂、5 - 氟尿嘧啶),与癌细胞混合后发现,采用单抗固定化载药微球时,癌细胞存活率降低到了参考样品的 1.2%,在癌细胞中的微核是不带单抗的载药微球的 3.2 倍。微核数目是表征染色体损伤度的指数,因此,上述结果表明单抗固定化载药微球对癌细胞有强的杀伤作用,从而能达到更有效的治疗效果。

除了将抗癌药与单抗结合以外,也有人尝试将放射性同位素、毒素等与单抗结合以达到杀死癌细胞的目的。例如 Takahashi 等开发了对大肠癌有靶向作用的单抗 AT, AT 属于 IgG, 对分子质量为 42 000 的糖蛋白有识别作用, 因此对结肠癌、胰腺癌显示很高的特异结合性。将该抗体用同位素标记后, 对大肠癌患者给药后发现, 该抗体明显富集于大肠癌及其转移的病变部位。

3. 微球

微球 (Microspheres) 是指药物溶解或者分散在高分子材料基质中形成的微小球状实体, 常见粒径在 $1 \sim 40 \mu\text{m}$ 之间, 属于基质型骨架微粒。微球用于药物载体的研究始于 20 世纪 70 年代中期, 发展十分迅速。药物制成微球后, 因其对特定器官和组织的靶向性及微粒中药物释放的缓释性, 已成为近年来靶向给药和缓控释给药系统的研究热点。微球的靶向性主要体现为一级被动靶向。微球可供静脉、动脉注射或栓塞用, 亦可用于口服、皮下注射或植入用, 还可作肌肉注射、关节腔注射、眼内和鼻腔用药等多方面应用。在肿瘤治疗方面, 由于微球有较高的靶向性, 使药物在肿瘤以外的组织器官中分布较少, 可减少抗肿瘤药物的副作用。此外, 粒径较大一些的空白微球还可作为癌肿部位营养动脉血管的栓塞材料, 阻断癌肿部位的营养供应, 同时还可延长注入的抗癌药物在癌肿器官的滞留时间, 维持局部较高的血药浓度, 增强抗癌效果^[40]。

微球中药物的释放机制一般认为有三种:

①扩散: 即药物由进入微球的溶剂溶解后, 经材料或其中的空隙而扩散到介质当中, 基本上是物理过程, 而微球表面药物的溶解及扩散则形成释药的突释效应;

②材料的溶解的速率取决于材料的性质、介质的组成、pH、体积和温度等, 是物理化学过程;

③材料的降解、水解或在酶的作用下酶解 (化学反应及生化反应), 成为体内的代谢产物, 使药物释放出来, 但仍需经溶解及扩散才能进入体液。

作为靶向给药的微球制剂应满足下列要求:

①能在靶部位滞留并以适宜的速度释放药物, 并选择性地作用于靶细胞;

②能在靶部位维持一定时间的有效药物浓度;

③体外稳定, 体内无毒性, 具有良好的生物相容性, 可生物降解, 且无免疫反应。

4. 前体药物

前体药物是活性药物衍生而成的体外药理惰性物质, 能在体内经化学反应或酶反应, 活性的母体药物再生而发挥其治疗作用。使前体药物在特定的靶部位再生为母体药物的基本条件是: 使前体药物转化的反应物或酶均应仅在靶部位存在或表现出活性; 前体药物能同药物受体充分接近; 酶需有足够的量以产生足够量的活性药物; 产生的活性药物应能在靶部位滞留, 而不漏入循环系统产生毒副作用。

由于人体内存在着种种屏障 (如血脑屏障) 阻碍了药物进入靶组织, 通过制备前体药物的方法可提高药物对生物膜的通透性, 使药物能浓集于靶组织内。已有研究表明, 抗病毒药物、甾体化合物、多肽 (脑啡肽、促甲状腺激素释放激素)、帕金

森病的治疗药物（氨基酸拮抗剂、自由基清除剂）键合某些前体药物可提高药物的脑内渗透性。

① 抗癌药前体药物。某些抗癌药制成磷酸酯或酰胺类前体药物可在癌细胞定位，因为癌细胞比正常细胞含较高浓度的磷酸酯酶和酰胺酶；若干肿瘤能产生大量的纤溶酶原活化剂，可活化血清纤溶酶原成为活性纤溶酶，故将抗癌药与合成肽联结，成为纤维蛋白酶的底物，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患有较大意义。只有强脂溶性药物可跨过血脑屏障，而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。故必须采取一定措施，使药物仅在脑部发挥作用，口服多巴胺的前体药物多巴就是这样。进入脑部纹状体的多巴经再生可起治疗作用，但进入外围组织的再生后却可引起许多不良反应。要降低毒副作用，可以用抑制剂（芳香氨基脱羧酶，如卡比多巴），抑制剂使外围组织中的多巴再生受到抑制，不良反应降低，而卡比多巴不能进入脑部，故不会妨碍多巴胺在脑部的再生。

③ 结肠靶向前体药物。有研究者以聚丙烯酸为骨架、酰基化的岩藻糖胺（FUCN）为支链、4,4 - divinylazobenzene（DVAB）交联的偶氮网络聚合物为结肠靶向黏附释药系统的载体，利用大肠中存在大量偶氮还原酶使载体降解而释药。这种载体不仅本身的黏附力强，降解后载体碎片也具有较强黏附性，而且用 FUCN 使聚丙烯酸中—COOH 酰基化，防止了载体因酸度降低而引起的酶活性降低，以此达到定位和黏附的双重目标。例如结肠靶向黏附释药系统（Colon Site - Specific Bioadhesive Drug Delivery System, CSSBDDS）的研究，据报导这种释药系统使药物经口服后，避免在上消化道释放，而将药剂运送到人体回盲肠后开始崩解和释放出药物，且在一定时间内黏附于结肠黏膜表面，以一定速度释放药物，从而达到提高药物局部浓度和生物效性的目的；另据报道，利用胃肠道生理学的“恒定性”可研制出胃肠定位释放的微粒给药系统。

第三节 肿瘤分子靶向治疗策略

一、寻找新的分子靶点

寻找可供治疗干预的分子靶点，其实质就是找到正常细胞与癌细胞之间的生化与分子差异。随着基因组学和蛋白组学研究的发展，将不断涌现出新的分子靶点，为肿瘤分子靶向药物的研究提供理论依据。这些靶点包括癌基因、抑癌基因、生长因子及其受体、肿瘤血管生成因子、蛋白激酶及信号传导通路、法尼基蛋白转移酶、端粒及端粒酶、DNA 拓扑异构酶、泛素化途径调控因子、DNA 引物酶、组蛋白去乙酰化酶等，其活性在肿瘤组织都有所变化，是抗癌药物筛选的目标靶点。

开发一个成功的分子靶向抗肿瘤药物应从以下几方面考虑：①与靶分子高特异结合；②与靶分子结合时呈高亲合力；③分子量小的靶向分子更容易在瘤组织内通

透；④稳定的分子化学结构，有利于延长药物在体内的半衰期；⑤与治疗对象有生物同源性，最大限度地避免宿主的异种蛋白反应等。同时，还应与新技术、新方法结合，不断地完善分子靶向抗肿瘤药。

二、分子靶向治疗前的寻靶工作

分子靶向治疗的实施首先需通过免疫组化（IHC）和荧光原位杂交（FISH）等技术正确地寻找分子靶标，根据其结果筛选合适的靶向药物。每一个分子靶向药物都是针对一个异常的肿瘤靶点分子，由于肿瘤的复杂性，并不是同一种肿瘤必然都有同样的相应异常的靶点，相反，不同肿瘤可能有相同异常靶点，必须先检测后治疗，做到“有的放矢”。

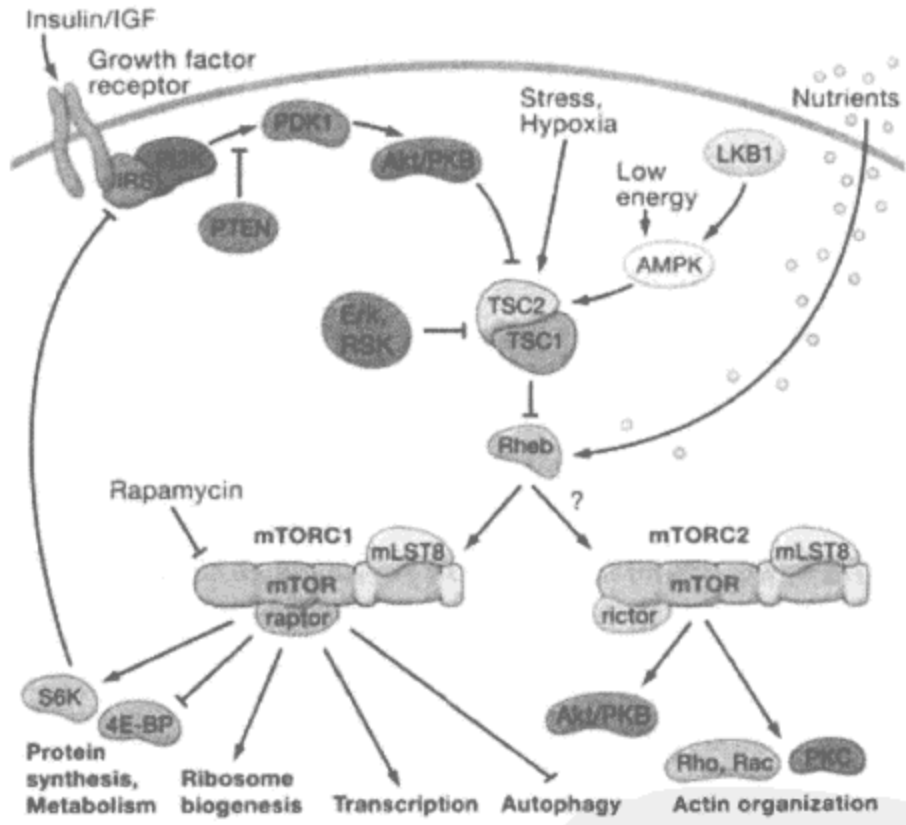


图 3-2 癌症研究的关键靶标

三、分子靶向治疗药物最鲜明的特点

①以肿瘤细胞或与之相关的细胞为靶点，抑制或杀死肿瘤细胞，而不损伤人体的正常细胞；②附加值高。分子药物因其精确的靶向治疗作用，相对于传统化疗药物有很多优势，为肿瘤的治疗提供了一种不良反应较小、前景光明的方法。

四、分子靶向治疗有待解决的问题

①载体的筛选，以获得合适的释药速度和良好的缓释功能；②提高载体的载药量，减少循环时的降解，减少对正常组织的不良反应；③改善载体的表面性质，增强其主动靶向性，以减少网状内皮细胞对它的吞噬；④探寻靶向药物在体内的药物动力学规律；⑤找出血液流变学指标及其他体内因素对微球定位、降解与缓释的影响途径；⑥合适的用药途径，以发挥最佳的靶向效果；⑦对肿瘤的发病机制及肿瘤

部位特殊的生理生化变化仍需更透彻的了解。

随着靶向制剂理论研究的不断深入与制剂工艺手段及辅料的发展,靶向制剂不仅是抗癌药的首选剂型,也是富有临床应用价值的新剂型;靶向制剂的研究是药剂学科乃至药理学的前沿领域,近年来在新型的靶向制剂的研究中取得了令人鼓舞的进展,如前体药物靶向制剂、载体靶向给药,分子靶向制剂的应用前景也越来越广阔。

同时,由于生物技术和信息革命的推动,药物的研制从概念到实际运作都发生了巨大变革,特别是药物分子靶标策略的出现,为新药的研制开辟了道路。但必须看到,这一新策略还有待完善。如何将生物技术和信息革命成果应用于新药的研制,不断开发出疗效好、不良反应小的新药,仍然是我们所面临的重大课题。

参考文献

- [1] 催福德. 药剂学 [M]. 第五版. 北京: 人民卫生出版社, 2003.
- [2] 王龙贵. 分子靶向策略的困惑及启示 [J]. 中国新药杂志, 2006, 15 (3): 161 - 166.
- [3] 屠锡德, 张均寿, 朱家璧. 药剂学 [M]. 第三版. 北京: 人民卫生出版社, 2000.
- [4] 陆彬. 药物新剂型与新技术 [M]. 第二版. 北京: 人民卫生出版社, 2005.
- [5] 张文强, 黄岳山, 支晓兴. 透明质酸在临床医学中的应用 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 12 (23): 4515 - 4518.
- [6] Greenberg D D, Stoker A, Kane S, et al. Biochemical effects of two different hyaluronic acid products in a co-culture model of osteoarthritis [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2006, 14 (8): 814 - 822.
- [7] Guechot J, Edrief S, Lasnier E, et al. Automated assay of hyaluronic acid in serum [J]. Immunanalyse Biologie Specialisee, 2008, 23 (3): 148 - 152.
- [8] Campo G M, Avenoso A, Campo S, et al. The antioxidant and antifibrogenic effects of the glycosaminoglycans hyaluronic acid and chondroitin-4-sulphate in a subchronic rat model of carbon tetrachloride-induced liver fibrogenesis [J]. Chem Biol Interact, 2004, 148 (3): 125 - 138.
- [9] Nelson J D, Farris R L. Sodium hyaluronate and polyvinyl alcohol artificial tear preparations. A comparison in patients with keratoconjunctivitis sicca [J]. Arch Ophthalmol, 1988, 106 (4): 484 - 487.
- [10] 庞素秋, 周金生, 陈秋霜. 玻璃酸钠的临床应用 [J]. 海峡药学, 2003, 15 (4): 252.
- [11] 凌佩学, 贺艳丽, 张天民, 等. 眼科药物的临床应用与研究 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2000: 20 - 44.
- [12] 王建林. 盐酸洛美沙星滴眼液的制备 [J]. 医药导报, 2003, 22 (3): 182 - 186.
- [13] Fang J Y, Chen J P, Leu Y L, et al. Temperature-sensitive hydrogels composed of chitosan and hyaluronic acid as injectable carriers for drug delivery [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2008, 68 (3): 626 - 636.
- [14] 郭学平, 刘爱华, 葛保胜, 等. 过氧化氢氧化降解法制备低分子玻璃酸 [J]. 中国生化药物杂志, 2004, 25 (1): 10 - 12.
- [15] Yadav A K, Mishra P, Mishra A K, et al. Development and characterization of hyaluronic acid-anchored PLGA nanoparticulate carriers of doxorubicin [J]. Nanomedicine, 2007, 3 (4): 246 - 257.
- [16] 郭学平, 凌佩学, 张天民. 低分子量及寡聚玻璃酸 [J]. 中国生化药物杂志, 2003, 24

- (3): 148 - 150.
- [17] Maleki A, Kjoniksen A L, Nystrom B. Characterization of the chemical degradation of hyaluronic acid during chemical gelation in the presence of different cross-linker agents [J]. Carbohydr Res, 2007, 342 (18): 2776 - 2792.
- [18] 吕娟丽, 孙慧萍, 沈丹. 生物黏附性微粒在黏膜给药中的应用进展 [J]. 综述报告, 2008, 17 (2): 78 - 80.
- [19] Lippincott Willam, Wilkins, Lewis P Rowland. Merritt's Neurology [M]. 11th ed. New York: Lippincott williams & wilkins, 2005.
- [20] 陈俊华, 姜荣兰. 中药灵芝的生药学鉴定研究药学学报 [J]. 1980, 15 (4): 239 - 241.
- [21] 郭伟伟, 王保华. 端粒酶抑制剂 [J]. Chemistry of Life, 2006, 26 (4): 351 - 353.
- [22] Moyzis R K, Buckingham J M, Cram L S, et al. A highly conserved repetitive DNA sequence, (TTAGGG)_n, present at the telomeres of human chromosomes [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1988, 85 (18): 6622 - 6626.
- [23] Wright W E, Tesmer V M, Huffman K E, et al. Normal human chromosomes have long G-rich telomeric overhangs at one end [J]. Genes Dev, 1997, 11 (21): 2801.
- [24] Griffith J D, Comeau L, Rosenfield S, et al. Mammalian telomeres and in a large duplex loop [J]. Cell, 1999, 97 (4): 505.
- [25] Feng J, Funk W D, Wang S S, et al. The RNA component of human telomerase [J]. Science, 1995, 269 (5228): 1236 - 1241.
- [26] Liu K, Schoonmaker M M, Levine B L, et al. Constitutive and regulated expression of telomerase reverse transcriptase (hTERT) in human lymphocytes [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96 (9): 5147 - 5152.
- [27] Wright W E, Piatyazek M A, Rainey W E, et al. Telomerase activity in human germline and embryonic tissues [J]. Genes Dev, 1996, 18 (2): 173 - 179.
- [28] 陈皓, 黄君健, 张惟材. Letters in Biotechnology [J]. 2007, 18 (4): 674 - 676.
- [29] Ravi Kumar M N. Nano and microparticles as controlled drug delivery device [J]. Pharm Sci, 2000, 3 (2): 234 - 258.
- [30] Kawashima Yoshiaki. Nanoparticulate systems for improved drug delivery [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2001, 47 (1): 1 - 2.
- [31] 平其能. 纳米药物和纳米载体系统 [J]. 中国新药杂志, 2002, 11 (1): 42 - 46.
- [32] 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.
- [33] 杨菁. 纳米粒子作为药物输送和药物控释体系的应用前景 [J]. 基础医学与临床, 2006, 26 (7): 684 - 686.
- [34] Scholes P D, Coombes A G, Illum L, et al. The preparation of sub-200 nm poly (lactide-co-glycolide) microspheres for site-specific drug delivery [J]. Control Rel, 1993, 25 (29): 145 - 153.
- [35] Thiruma G, Snjezana S. PLGA nanoparticles preparation by nanoprecipitation: drug loading and release studies of a water solution drug [J]. Controll Release, 1999, 57 (2): 171 - 185.
- [36] Hideki M, Masao K. Further application of a modified spontaneous emulsification solvent diffusion method to various types of PLGA and PLA polymers for preparation of nanoparticles [J]. Powder Technol, 2000, 107 (1): 137 - 143.
- [37] Allemann E, Leroux J C, Gurn Y R, et al. In vitro extended-release properties of drug-loaded poly (

- D, L-lacticacid) nanoparticles produced by a salting-out procedure [J] . Pharm Res, 1993, 10 (12): 1732 - 1737.
- [38] 杨西晓, 陈建海, 郭丹. 聚氰基丙烯酸正丁酯纳米粒的生物相容性研究 [J] . 南方医科大学学报, 2005, 25 (10): 1261 - 1263.
- [39] Yokoyama M, Miyauchi M, Yamada N, et al. Polymer mi-celles as novel drug carrier: Adriamycin-conjugated poly (ethylene glycol) -poly (aspartic acid) block copolymer [J] . Controll Rel, 1990, 11 (2): 269 - 278.
- [40] 王晓波. 药物运释系统 [M] . 北京: 中国医药科技出版社, 2007.

鄧平舫

PDG

第四章 高分子药物

高分子分为天然高分子和合成高分子。天然高分子用于药物已有很长的历史,例如,多糖、多肽、蛋白质及酶类药物都是属于天然高分子药物。我国的医药发展源远流长,不但在中草药使用上具有悠久的历史,而且在药用高分子应用方面也比西方国家早得多,东汉张仲景(公元142—219)在《伤寒论》和《金匱要略》就记载了栓剂、洗剂、软膏剂、糖浆剂及脏器制剂等十余种制剂,并首次记载用动物胶汁、炼蜜和淀粉糊等天然高分子为丸剂的赋型剂,至今仍是我国的传统剂型,而合成高分子应用于生物医药领域最早是在20世纪40年代。起初,合成高分子主要是用于药物辅料,如今,合成高分子在药物制剂中的地位,已逐渐由从属、辅助作用向主导地位转变,制成了具有不同药理活性的高分子药物。高分子药物与人体有一定的相容性,且分子量大不易被肌体分解,可延长药物在人体中作用时间,故通常能提高药物的长效性并能降低药物的毒副作用。对某些低分子药物选择合适的高分子载体,可以聚集在病变细胞的靶区或改变药物在靶区内的分布及增加渗透作用,使药效明显增强。早在20世纪70年代中期,Allock小组就成功地制备了第一个聚膦腈高分子药物——顺铂-聚膦腈衍生物^[1]。高分子材料在药物上越来越具有广泛的用途,其中已有多种材料在实验室及临床研究中都取得了很大的进展,出现了很多新产品。高分子药物由于剂型改变,控制了药物在体内释放速度,避免间歇给药造成的血药浓度的波峰波谷变化,从而使释放到体内的药物浓度比较平稳,还可以通过释放体系使药物送达体内特定部位,而对身体其他部位不起作用。普通药物可以通过不同的化学方法,制成具有不同结构和不同性质的高分子药物,以增加其溶解性,改善在体内的分布,增加免疫功能,提高选择性,具有高效、低毒、长效等优点,从而大大提高了药物的利用率。不过,高分子仍有一些问题需要深入研究,要真正使药物剂型取得大的进展就需要搞清降解材料的结构、性质及降解产物对机体的影响,我们可以通过共聚、共混、分子修饰等方法,合成含亲水和疏水链段的共聚物改善材料的特性,合成含功能侧基的聚合物增加化学反应官能团,从而提高制药过程中药物的稳定性,提高载药量,降低初始暴释量,较为精确地控制药物的释放。

第一节 有药理活性的高分子聚合物

一些自身具有药理活性的高分子，可以直接作为药物，当它在分子链断裂或被降解为小分子后就不再具有药理活性，是真正意义上的高分子药物。天然药理活性高分子有激素、肝素、抗原、酶制剂等。合成药理活性高分子如聚乙烯吡咯烷酮和聚4-乙烯吡啶-N-氧撑是较早研究的代用血浆；美国 Greene 等人在鸽子血液中注入聚乙烯酰胺高分子，使其维持在 6×10^{-7} 浓度，产生明显的改善动脉内血流动效果。据此，科学家研制治疗动脉硬化的高分子药物。又如，临床用于治疗动脉粥样硬化及肝硬化、胆石病引起的瘙痒症的降胆敏，属于强碱性阴离子交换树脂型高分子药物，为聚苯乙烯三甲苄铵，分子式为 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{N}^+\text{C}(\text{CH}_3)_3$ 。有些阳离子或阴离子聚合物也具有良好的药理活性。例如主链型聚阳离子季铵盐具有遮断副交感神经、松弛骨骼肌作用，是治疗痉挛性疾病的有效药物；含氮的阳离子聚合物多胺类、聚亚胺类、聚氨基酸类能中和癌细胞所带负电荷，从而阻止癌细胞的分裂。如聚马来酸、聚丙烯酸、聚乙烯基磺酸盐、聚联苯磷酸酯、二乙烯基醚/马来酸酐共聚物 (DIVEMA) 和聚核酸等。聚阴离子能激活巨噬细胞，增加其吞噬功能，诱导干扰素的产生，从而发挥其抗肿瘤作用。其中二乙烯基醚与马来酸酐共聚所得的吡喃共聚物具有广泛的生物活性，不仅能抑制各种病毒的繁殖，具有持久的抗肿瘤活性，它又是一种杀真菌、杀细菌剂；它可以刺激防御体系；而且还有良好的抗凝活性。DIVEMA 对 Lewis 肺癌、B16 黑色素瘤、艾氏腹水癌、Rauscher 白血病、 CH_3 乳腺癌和 L1210 白血病等许多动物肿瘤模型显示出抑制肿瘤生长的活性。但它也有很强的毒性，如贫血、肝脾增大和白细胞增多症等。如今，在对 L1210 的治疗中，可作为免疫辅助剂；它也可以有效地抑制 Lewis 肺癌和 Erhlich 腹水肿瘤的生长。Hirano^[2] 等人作了另一方面非常有趣的研究，将 DIVEMA 作为高分子载体使用。由于很多抗癌药物具有抑制免疫的作用，而 DIVEMA 却能够刺激免疫。将此两种物质结合起来使用，取得了较好的效果。Regelson^[3] 研究聚丙烯酸、聚甲基丙烯酸和聚丙烯酰胺的抗肉瘤 180 的性能，发现聚丙烯酸性能最好，而聚丙烯酰胺根本不起作用。用氨处理带有酸酐的聚合物得到链上带半酰胺-半羧酸和半酰胺-半羧酸铵盐的高分子，它们的生物活性与原始的双羧酸聚合物相似。由此可以推断：聚阴离子的生物活性是由于高分子链上的羧基基团引起的，它的药效与链上的羧基基团密度和分布有密切的关系。

顺丁烯二酸酐共聚物是抗病毒药物，具有乙烯基咪唑结构聚合物的合成酶可治疗腹泻便秘的肠道药、镇痛药和抗辐射药物等。近年来还发现，类维生素 A 还可以控制胸部肿瘤细胞的生长繁殖^[4]。

第二节 高分子络合物药物

高分子化合物中一些基团的氮、氧对一些金属离子或小分子具有络合作用，能生成具有一定物理、化学稳定性的络合物。由于生成的络合物与原化合物（或元素）之间存在一种化学平衡，既可保持原化合物的生理活性，又可降低其毒性和刺激性，还能因平衡而保持一定的浓度，达到低毒、高效和缓释的作用。

与金属离子形成的络合物具有抗菌性和抗癌性，如陈文正、沈之荃^[5]等用聚乙烯醇（PVA）和铜盐制备出聚乙烯醇-铜（II）络合纤维，经金黄色葡萄球菌的抗菌实验，表明具有强的抗菌性和杀菌力；芦丁对癌细胞无抑制作用，铜离子对癌细胞只有轻微的杀伤作用，而芦丁铜络合物的杀伤作用明显；阿霉素对多种癌症有效，由于对心脏的毒性而限制了其应用，与铁铜形成络合物后可直接口服，易于被肠道吸收和容易进入癌细胞而增加疗效，并能减轻对心血管系统的副作用。除 Cu（II）外，Co（III）、Cr（III）和 Fe（III）等均能与高分子形成络合物^[6-7]。顺铂 [cis-Pt（NH₃）₂Cl] 是临床常用而且有效的癌症化疗药物，但代谢半衰期短、副作用大，常让患者望而生畏。很多药物化学家设想将顺铂结合到高分子链上来弥补上述两大不足。美国的 Allcock 小组选用生物相容性好、水溶性的甲氨基聚膦腈高分子，将顺铂与聚膦腈主链的氮原子络合，形成顺铂-聚膦腈衍生物^[8]，药理学研究表明，具有很好的抗癌效果。

与小分子形成的络合物同样具有药性，如聚乙烯吡咯烷酮-碘（PVP-I）即聚乙烯酮碘是水溶性络合物，就是其中重要的一种络合物药物，其杀菌效力及杀菌谱与碘相当，对细菌、病毒、真菌、霉菌以及孢子都有较强的杀灭作用。它保留了碘最有价值的高效局部消毒的优点，又克服了碘溶解度低、不稳定、易产生过敏反应、对皮肤和黏膜有刺激性而使用范围窄小等缺点。现在，PVP-I 已成为世界发达国家首选的含碘杀菌消毒剂，广泛用于外科手术、预防术后感染，以及烫伤、溃疡、口腔炎和阴道炎等疾病的治疗。此外，聚乙烯吡咯烷酮与 β -胡萝卜素、甲苯磺丁脲、苯妥英、阿吗琳、灰黄霉素、利血平及多种磺胺药物等化合物络合同样具有很好的药理作用。

第三节 高分子微胶囊药物

一、微胶囊和药物微胶囊的基本概念

微胶囊是指以天然的或合成的高分子材料为外壳、其中包有被保护或被密封的物质的微小包囊物。用高分子材料作为载体的高分子微胶囊和纳米级胶囊药物制剂

不仅能控制药物以一定的速度释放,而且还可以对生物体的生理指标变化做出相应的反馈,因而可以制成靶向药物释放体系。微胶囊是直径为 $1 \sim 1\,000\ \mu\text{m}$ 的高分子成膜材料,将低分子药物作为囊心,由于应用目的和制造工艺不同,微胶囊的大小、形状可有很大变化,其包裹形式也有多种。微胶囊可以改变一个物质的外形而不影响它的内在性能。例如,一种液体物质经微胶囊化后就变成了固体粉末,其外形完全发生了变化,但在微胶囊内部还是液体,性质并不改变。但从另一意义上讲,物质的微胶囊化可改变其性质,它可以使物质分散成细小状态,经微胶囊化后,物质的颜色、比重、溶解性、反应性、压敏性、热敏性、光敏性均发生了变化。例如,一个比水重的物质可通过调节聚合物膜的比重和包入空气而使它浮于水面上。

微胶囊的最大特点是可以控制释放内部的被包裹物质,使其在某一瞬间释放出来或在一定时期内逐渐释放出来。瞬间释放是通过挤压、摩擦、熔融、溶解等作用使外壳解体;逐渐释放则是通过芯材向壳体逐渐渗透或外壳逐渐溶解、降解而使芯材释放出来。微胶囊在工农业生产、日常生活中有十分广泛的用途。例如,将无色染料包在微胶囊内,然后涂布在酸性底基的纸上。书写时,压力将微胶囊压破,无色染料遇酸而显色。这就是无碳复写纸的工作原理。

将环氧树脂的固化剂微胶囊化混于环氧树脂中,可构成单组分环氧树脂黏合剂。把香料、驱蚊剂等微胶囊混入内墙涂料中,依靠微胶囊外壳聚合物的渗透作用将香料、驱蚊剂逐渐释放出来,成为具有长效芳香、驱蚊作用的涂料。把农药、化肥微胶囊化则可得长效缓释农药、化肥。

药物的微胶囊化,就是微胶囊技术的一个重要应用领域。与普通的药物相比,药物微胶囊有不少优点。药物被高分子膜包裹后,避免了药物与人体的直接接触,药物只有通过对聚合物壁的渗透或聚合物膜在人体内被浸蚀、溶解后才能逐渐释放出来。因此能够延缓、控制药物释放速度,掩蔽药物的毒性、刺激性、苦味等不良性质,提高药物的疗效。经微胶囊化的药物,与空气隔绝,能有效防止药物贮存过程中的氧化、吸潮、变色等不良反应,增加贮存稳定性。

二、用作药物微胶囊膜的高分子材料

一般来说,含固体的微胶囊形状与固体相同,含液体或气体的微胶囊的形状为球形。可用作微胶囊膜的材料很多,有无机材料,也有有机材料,但应用最普遍的是高分子材料。从理论上讲,任何可成膜的高分子材料都可用于制备微胶囊。但在实际应用时,要考虑芯材的物理、化学性质,如溶解性、亲油亲水性等,因此,真正能用作微胶囊膜的高分子材料并不是很多。作为药物微胶囊的包裹材料,除了应满足药用高分子应具备的基本性能外,还应该对药物有良好的渗透性,或能在人体中溶解或水解,使药物能以一定方式释放出来。在医学上,微胶囊技术的早期研究大多集中在具有生物相容性的非生物降解型高分子,如硅橡胶、丙烯酸类聚合物等方面。20世纪60年代,由于利用相分离技术将极性物质包裹于高分子材料中,制成了能定时释放药物的微胶囊,推动了微胶囊技术的发展。

天然高分子包裹材料为可胶凝的胶体材料,如明胶、阿拉伯胶及淀粉等,这类包裹材料无毒、成膜性好、稳定性好。半合成高分子包裹材料有甲基纤维素、乙基

纤维素及醋酸纤维素，其特点是毒性小、黏度大、成盐后溶解度增加，但易水解，需临用时配制。合成高分子包囊材料为种类最多的包囊材料，它们的成膜性能好、化学稳定性好，且膜的性能可通过多种手段调节，如丙烯酸树脂、聚乙烯基吡咯烷酮、密胺-甲醛、聚酯、对苯二甲酰氯、苯乙烯-二乙烯基苯、脲醛树脂、聚乙烯醇、聚氨酯、环氧树脂、聚乙二醇、聚乙烯及聚丙烯酰胺等。包覆方法有原位聚合法、界面聚合法、相分离法和溶液干燥法等。国内有许多单位在研究合成高分子包囊材料，如浙江大学的朱康杰^[9,10]等研究了聚电解质、聚膦腈在药物控释中的应用，天津大学的常津^[11]等研究了聚原酸酯载药毫微囊的合成及体外释放机理等。Greish^[12]等人，制成一种对肿瘤有靶向效应的新型高分子胶囊药物：聚苯乙烯酸-阿霉素，他们研究发现，用聚苯乙烯酸作为载体结合的阿霉素释药体系不但比起单用阿霉素毒性小，而且可以解决使用剂量的安全问题，同时可以减少心脏病发病率和对骨髓的毒性。此外，聚乳酸^[13]、聚乳酸和聚乙醇酸共聚物（PL-GA）^[14]、PLC 都是制备微胶囊的理想材料^[15]，并且已经取得了一定的研究进展。

三、药物微胶囊的制备方法

药物的微胶囊化是将低分子药物通过物理方式与高分子化合物结合的一种形式。药物微胶囊化的具体实施方法很多，归纳起来有以下几类：①化学方法包括界面聚合法、原位聚合法、聚合物快速不溶解法等；②物理化学方法包括水溶液中相分离法、有机溶剂中相分离法、溶液中干燥法、溶液蒸发法、粉末床法等；③物理方法包括空气悬浮涂层法、喷雾干燥法、真空喷涂法、静电气溶胶法、多孔离心法等。在上述三大类制备微胶囊的方法中，物理方法需要较复杂的设备，投资较大，而化学方法和物理化学方法一般通过反应釜即可进行，因此应用较多。

高分子微胶囊药物释放体系可分为贮存式和基体式两种结构（图4-1）。

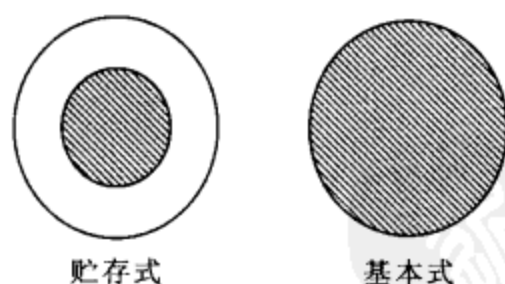


图4-1 两种类型的体系

贮存式结构的药物集中在内层，其外层为由高分子材料制成的膜，用于该控释系统的高分子材料一般为疏水性线形生物降解高分子，包埋药物后制成埋植剂、微球制剂。基体式结构的药物则是均匀地分散于微胶囊内，其药物可以呈单分散，也可以呈一定聚集态结构分散于高分子基体中，药物通过扩散作用并协同高分子的降解作用释放。可以选择疏水性生物降解性高分子或水凝胶作为基质，特别是水凝胶由于其良好的生物相容性和可控性的释放行为而成为药控研制的热点。这两种结构会对药物释放产生不同的影响。

四、药物微胶囊的应用

微胶囊技术借助于人体消化系统不同部位消化液的组成和 pH 的差异及不同囊壁

溶解环境的不同要求,不仅可以达到控制不良味道的目的,还可以使药物在所需部位控制释放。例如,由邻苯二甲酸醋酸纤维素制成的肠溶药物微胶囊因其中性口腔环境及酸性胃液中均不溶解,避免了食药之苦和对胃壁粘黏的刺激。由微胶囊包裹的高分子药物可以控制药物的释放时间、降低药物毒副作用、增加药物的稳定性和有效利用率、实现药物的靶向输送,将药物用高分子材料包裹,使药物进入到人体后在一定的时间内释放,达到对药物治疗剂量进行有效控制的目的。如秋水仙碱是一种良好的抗癌药物,用于进行癌症的化疗治疗,但是化疗不仅会杀死癌细胞,而且抗癌药物的高毒性还会造成正常细胞的损伤,Muvafak^[16]等人将秋水仙碱包裹在明胶微球体中,使其具有长期的细胞毒素效果,并且可以通过控制明胶的溶解速度对药物的释放进行控制。用聚乳酸作微胶囊膜材料包埋抗癌药物丝裂霉素C,以患肉瘤和乳腺癌的老鼠为试验对象,一次投药量为20 mg/kg体重,10天投药一次。结果癌细胞抑制率达85%,而未采用微胶囊药物供药的,75%死亡。氨茶碱是一种有效的支气管扩张药物,但是它的有效治疗剂量与中毒剂量十分接近。血液中氨茶碱浓度超过一定范围即会出现恶心、呕吐、心律不齐、心肺功能衰竭等不良反应,而频繁进药又给病人带来不便。用羟丙基甲基纤维素包埋氨茶碱制成的微胶囊,有很好的缓释性,安全性大大提高。

微胶囊技术在固定化酶制备中也有明显的优越性。过去,酶固定化的技术是将酶包裹于凝胶中,或通过酶上的活性基团(如羟基、胺基等),以共价键的形式与载体连接。但这些方法都会在一定程度上降低甚至失去酶的活性,而采用微胶囊技术后,由于酶包埋在微胶囊中,活性不会发生任何变化,使效力大大提高。

第四节 高分子载体药物

高分子载体药物是随着药物学研究、生物材料科学和临床医学的发展而新兴的给药技术。高分子载体药物是指将本身没有药理作用,也不与药物直接发生化学反应的高分子作为药物的载体,该高分子载体与某些小分子药物间存在微弱的氢键链接,改变小分子药物的理化性质和结构形成的一类药物。其中高分子化合物充当低分子药物的传递系统,而发挥药理作用的仍是低分子药物基团。虽然起治疗作用的仍然是所载的小分子药物,但高分子材料也起着十分有意义的作用。用高分子作为小分子药物的载体可实现下述目的:①增加药物的作用时间;②提高药物的选择性;③降低小分子药物的毒性;④克服药剂剂型中所遇到的困难问题;⑤载体能把药物输送到体内确定的部位(靶位),药物释放后,高分子载体不会在体内长时间积累,可因水解、离子交换酶促反应等而使药物释放出来发挥作用,而载体本身则会降解成小分子经代谢排出,从而避免了以往所用的非降解性载体因在体内滞留而引起的代谢上的问题。载体药物技术的关键是载体材料的选择,目前已有各种高分子材料和无机材料被用于载体药物的研究,对材料的选择必须有较好的组织、血液、免疫

等生物相容性和细胞亲和性。此外，载体药物的制备也很重要，因为这将影响到载体药物的给药效率。抗肿瘤药物的载体高分子属于乙烯基衍生物的均聚体，如聚乙烯醇、聚丙烯酸类等，其他类型的聚合物如聚酰亚胺类以及改性天然产物如羧甲基纤维素等也有应用。它们的共同特点是亲水性，在生理条件下释放出小分子药物，毒副作用较小，缺点是在生命体内难以降解。

一、机理

根据药物在体内的代谢动力学以及载体药物的设计思想，Ringsdorf^[17] 提出一个高分子导向药物的模型（图 4-2）。对于一个具有生物活性的高聚物，其主链至少应由 3 个不同的结构单元所组成。第一个单元用来使得整个药物可溶并且无毒，称之为增溶部分。第二个单元是连接治疗药物的区域，称之为药物部分。第三个单元对应于传输系统，它的作用是负责将药物运送到病变部位。

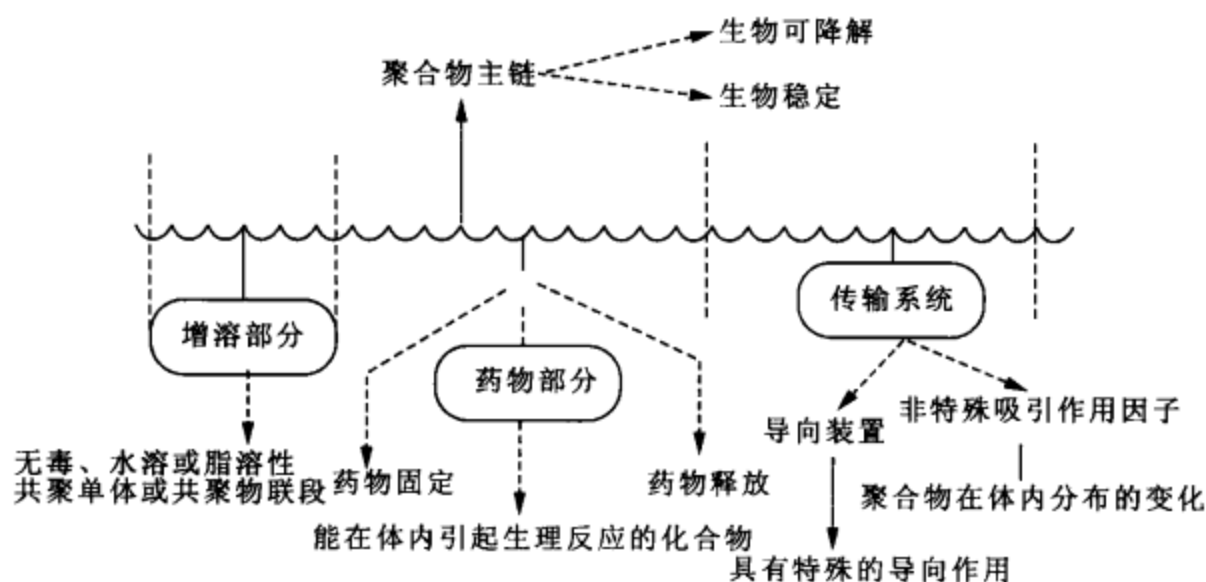


图 4-2 高分子载体药物模型

对于高分子载体药物的导向作用，Ringsdorf 提出了有关以高分子为载体药物的“Piggyback 细胞摄粒”的导向机理（图 4-2）。他认为游离的小分子药物可通过与细胞壁作用或与胞壁蛋白的活性作用而穿过细胞壁进入细胞。高分子的相对分子质量较大、分子链较长、分子结构较复杂，这些性质阻碍了它自由穿越细胞壁。当以高分子为载体的导向药物接近细胞壁时，如果能被细胞壁吸附，就可以产生一种细胞摄粒作用，通过这种作用进入细胞。在此，吸附作用对于高分子导向药物的吸收是起决定作用的，它是一个与高分子的相对分子质量以及高分子电荷有关的过程。吸附之后，细胞壁产生变形、折叠，将高分子药物包围起来，产生细胞摄粒作用。此时，细胞内产生一种具有消化功能的含酶的溶菌体，这种溶菌体对细胞壁摄取进来的粒子产生作用，使得高分子载体降解，或者将药物断裂下来。由于药物一旦连接到高分子链上，便无法再像游离药物一样自由穿过细胞壁，它在细胞间的穿越只能遵循特定的细胞摄粒作用，由此它们便可以在具有高的细胞摄粒作用的细胞中富集。改变药物的传输体系，即改变传输部分高分子的链结构和相对分子质量，就有可能提高或抑制细胞摄粒作用及溶酶过程。

如胃溶性高分子载体药物是利用聚乙烯吡啶、羟胺基醋酸纤维素及其衍生物等

在酸性溶液易溶解的高分子作为药物包衣包覆药片，将一些药物控制在胃内吸收。而缓释肠溶性高分子载体药物就是利用像甲基丙烯酸酯和甲基丙烯酸这种在酸性时不易溶在碱性时易溶的高分子作载体，从而能避免在胃液中被破坏。德国 Rohm 公司产的 EudragitL 和 EudragitS 就是使用甲基丙烯酸与丙烯酸甲酯摩尔比为 1:1 或 1:2 的共聚物为包衣载体，其结构代表式为^[18]：

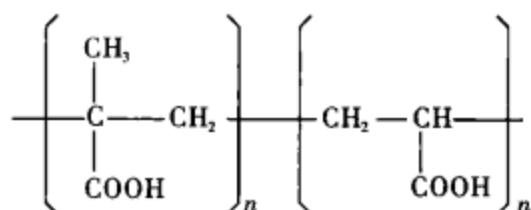


图 4-3 共聚物结构代表式

这种共聚物在胃液酸性环境中能保存 3~4 h，进入肠道后迅速溶解或崩溃，具有良好的缓释效果。

如作为药物载体的高分子相对分子质量较大，对于这样的载体药物，细胞无法将其摄取进细胞内，这种载体药物主要是将药物固定在高分子载体上（见图 4-3），与细胞表面接触，通过细胞表面各种受体传导各种信号，引起细胞内一系列的反应机制。固定在载体上的药物可以是一种，也可以是两（多）种，当两（多）种药物共同固定在载体上时，它们产生的协同作用往往可以显著增强药效。

人们根据在不同 pH 下高分子凝胶共聚物的溶胀度、渗透压变化不同，还设计出 pH 敏感给药系统，使达到靶向给药、控制释放浓度的效果；对治疗某些发热，设计出根据体温变化给药的热敏给药系统。此外，利用高分子制作的粘黏型外用药物和微胶囊等也都属于高分子载体药物。后者将孕甾酮用硅橡胶制成微胶囊植入子宫内，其避孕药效可达 3 年之久。

我们以胰岛素为例，将胰岛素（Insulin, Ins）固定在高分子载体上，当其与细胞接触时，通过细胞内胰岛素受体（Insulin Receptor, IR）介导的信号传递使胰岛素受体底物-1（Insulin Receptor Substrate-1, IRS-1）与磷酸酰肌醇 3-激酶（Phosphatidylinositol 3-Kinase, PI3-Kinase）结合，当胰岛素的生物信号通过与受体结合时，改变 INSR 的空间构象，使酪氨酸激酶区激活并自身磷酸化，而后磷酸化 IRS-1，磷酸化的 IRS-1 与磷脂酰肌醇 3-激酶（phos-phatidylinositol 3-kinase, PI3-kinase）的 p85 亚单位更紧密地结合，使其具备磷酸化活性，将 4, 5-二磷脂酰肌醇转化为 3, 4, 5-三磷脂酰肌醇，从而逐级放大胰岛素的信息，实现生物学效应。

二、接枝方法

一般先将小分子药物连接在单体上，然后聚合，也可以直接往高分子载体上接枝。无论采用何种方式，都需注意反应条件，以避免连接过程对药物产生不良影响。将低分子药物与高分子结合的方法有吸附、共聚、嵌段和接枝等。凡能使体内小分子药物从高分子载体上脱落下来的连接称暂时连接。这种连接方式，多用于中枢神经系统药物、抗生素类药物等。由于脑血管构造的特殊性，只允许可溶于类脂的低分子随血液进入，通过血脑屏障。因而连接在高分子上的中枢神经药物只有从载体

上脱落,才能通过血脑屏障而发挥作用。凡小分子药物不能从载体上脱落的连接称永久性连接。这种连接可以显著延长小分子药物的作用时间。

第一个实现高分子化的药物是青霉素(1962年),所用载体为聚乙烯胺,以后又有许多的抗生素、心血管药和酶抑制剂等实现了高分子化。接枝是比较常用的一种通过化学或物理方法,将药物接枝到高分子载体材料上的一种改性方法。接枝可分为两种类型,即通过偶联将一种聚合物接枝到另一种聚合物表面和将带功能基团的单体接到聚合物表面,然后引发单体聚合(也叫原位聚合)。接枝的方法可分为表面涂饰、火焰电晕放电或酸蚀等方法进行的氧化处理、等离子固定法、高能辐射法、光化学方法等。光化学固定就是其中一种具有广泛应用价值的改性方法。这种方法是从酶的固定发展起来的,尽管用于材料表面改性只有十余年,但由于其特有的优点,而被广泛地运用于生物材料表面改性的各个方面。

光偶联法改性生物材料表面的原理是利用带有光活性基团和热活性基团的化学连接组分,将具有特定性质的组分或生物分子共价偶联到生物材料的表面。目前报导的光偶联剂主要包括3大类:芳香叠氮类(A)、二苯酮类(B)和丙烯衍生物类(C)。三类光偶联剂中的“R”基团为另一个反应官能团,可为热活性基团或光活性基团。

通过改性将普通小分子药物接枝在高分子载体后,药物活性和应用范围大大扩大。如将阿霉素载于HPMA共聚物完全改变了阿霉素的药代动力学,载于高分子上的阿霉素的水溶性比自由阿霉素增加了近十倍,血浆中药含量的半衰期有明显的延长,毒性也大大降低。动物实验表明,P(HPMA-Gly-Phe-Leu-Gly-ADR)具有广谱抗肿瘤活性,实验肿瘤动物的存活时间为60~120天,比单纯ADR给药延长了许多。

三、分类

用作载体的高分子材料必须具备无毒、水溶、无药理活性、无免疫原性,在体内可以代谢、排泄或分解成可吸收物质等性质。可分为天然高分子材料、半合成高分子材料、合成高分子材料。

1. 天然高分子载体药物

天然高分子材料稳定、无毒、成膜性较好,是最常用的载体材料。其中主要包括胶原、阿拉伯树胶、海藻酸盐、蛋白类、淀粉衍生物,近年来研究较多的是壳聚糖、海藻酸盐,而源于蚕丝的丝素蛋白则显示出巨大的潜力。

胶原可应用于医药领域的一个主要原因在于它经过自聚和交联,可形成具有一定强度和稳定性的结构,用弱酸水提取后可制成多种形式的药物载体系统。在制备以胶原为载体的药物释放系统中需加入交联剂,例如戊二醛、碳二亚胺、酞基叠氮化物等,以便增加强度、减慢分解,从而延长药物释放时间。以胶原为基质的系统可制备成膜剂、片剂、海绵、微粒及注射剂等剂型,用于不同的给药部位和疾病治疗。通常,药物胶原载体系统的建立是通过胶原对药物的吸附作用来实现的,将胶原与有治疗作用的酶或药物分子反应,通过共价键结合,形成固定化酶系统和控制药物释放系统同样是一种有用的途径。例如,将牛皮胶原巯基化后,与溶菌酶通过

二硫键结合，此系统可保持酶活性一个月不变^[19]。氧化和巯基化后得到的胶原比用戊二醛处理的胶原有更大的抗水解性能和刚性。

壳聚糖是甲壳素的主要衍生物，是甲壳素脱除乙酰基后的产物：脱乙酰甲壳素，又名可溶性甲壳素。主要成分是 $\beta(1,4)$ 二-氨基-2-脱氧-D葡萄糖。从结构看，壳聚糖是由N-乙酰糖胺单元和糖胺单元组成的多聚体，其中糖胺的质量分数超过90%。壳聚糖具有与黏多糖相似的结构特点，后者在组织中分布广泛，是细胞膜有机组成成分之一，故壳聚糖具有优异的生物相容性。Giunchedi P^[20]等运用壳聚糖制成氨苄青霉素的载体，使其成为具有杀菌作用的药物缓释系统，可以调节抗菌素释放时间的长短，经荧光偏振免疫法(FPLA)测定氨苄青霉素浓度，第21天的氨苄青霉素释放量，仍大大高于金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度(MIC 0.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。具有良好水溶性的 β -环糊精聚合体^[21]也是一种较为理想的药物载体。

2. 半合成高分子载体药物

半合成高分子包括羧甲基纤维素、邻苯二甲酸纤维素、甲基纤维素、乙基纤维素、羟丙甲纤维素、丁酸醋酸纤维素、琥珀酸醋酸纤维素等。其特点是毒性小、黏黏大、成盐后溶解度增大，由于易水解，故不宜高温处理，需临时现用现配。

阿司匹林(乙酰水杨酸, Aspirin)是一种传统的消炎、解毒、镇痛药。近年来发现它还具有许多新的作用，如抗风湿、抗血小板聚集(延长出血时间，防血栓、动脉粥样硬化、心肌梗塞等)、防胆道蛔虫病，用于放疗引起的腹泻，孕妇高血压、偏头痛等治疗。因此 Aspirin 重新引起了人们的极大兴趣。将 Aspirin 以醋酸纤维素为载体，可以得到高分子化的 Aspirin，所得产物更为长效。血供丰富的肝癌患者用肝动脉化疗栓塞术(TAE)治疗疗效显著，一些不适合用 TAE 治疗的病人只能接受肝动脉化疗(TAI)治疗，效果不佳。孙业全^[22]等人用羧酸纤维素钠(CMC)为载体与阿霉素(ADM)结合，发现结合的 CMC-ADM 在肝内有较好的缓释 ADM 的作用，并且可以延长抗癌药物在肝脏中的存留时间，无栓塞作用，是 TAI 病人较理想的药物载体。Barbucci^[23]等也发现用羧酸纤维素钠为基质水凝胶可以建立控制药物的释放体系，形成的微孔化合物可以减慢药物的释放率，适合药物的传递。如，通过高分子化将青霉素键合到乙烯醇和乙烯胺共聚物骨架上，得到的水溶性高分子抗菌素的药效保持时间比同类小分子青霉素延长 30~40 倍。聚合型青霉素结构为图 4-4。

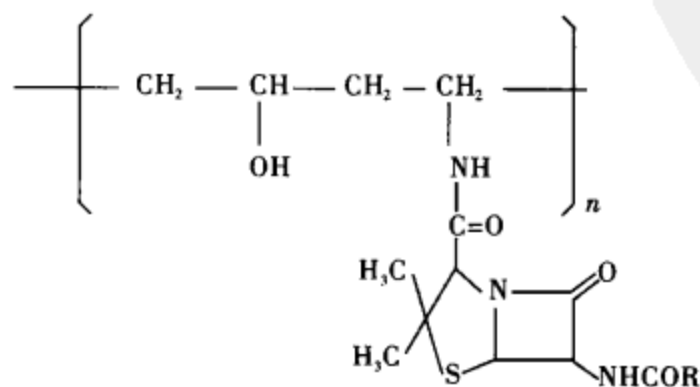


图 4-4 聚合型青霉素结构

3. 合成高分子载体药物

合成高分子如聚碳酸酯、聚氨基酸、聚乳酸、聚丙烯酸树脂、聚甲基丙烯酸甲酯、聚甲基丙烯酸羟乙酯、聚氰基丙烯酸烷酯、乙交酯-丙交酯共聚物、聚乳酸-聚乙二醇嵌段共聚物, ϵ -己内酯与丙交酯嵌段共聚物、聚合酸酐及羧甲基葡萄糖等, 其特点是无毒、化学稳定性高。

聚乳酸 (PLA) 由乳酸环状二酯 (丙交酯) 开环聚合而成。因为乳酸分子中有一个不对称碳原子, 存在两种旋光异构体, D-型和 L-型, L-型存在于自然界中。因此聚乳酸有 4 种形态, 即 PLLA, PDLA, PDLLA 和 meso-PLA。通常合成的聚乳酸是一种由 D-和 L-型异构体组成的外消旋的混合物, 具有较低的结晶度和熔点, 降解速率较快。因为聚乳酸的降解是单纯的酯键的水解, 所以结晶度高的 L-PLA、D-PLA 要比非晶态的 (D, L)-PLA 难于水解。PLA 的熔点约 170 °C。自 1970 年 Yolles 等率先将 PLA 用作药物长效释放剂载体, 1979 年 Beck 以聚乙交酯 (PLGA) 为囊材制备出孕酮 PLGA 缓释胶囊以来, 聚乳酸及其共聚物被用作一些半衰期短、稳定性差、易降解及毒副作用大的药物控释载体, 有效地增加了给药途径, 减少给药次数和给药量, 提高药物利用度, 减少了药物对肝、肾等的副作用。目前以 PLA 为载体的药物的研究主要是抗生素及抗癌用药、多肽药物及疫苗、激素及计生用药、解热镇痛剂、神经系统用药等。由于 PLA 的疏水性影响了水的渗透, 在体内降解时产生的乳酸使体内局部形成酸性微环境, 从而容易导致多肽药物的凝聚和失活, 为解决此问题将亲水基组分 (如聚乙二醇、多糖等) 引入到 PLA (或 PLGA) 中, 可以改善其亲水性、结晶性, 调节其降解速度, 同时也可解决药物的暴释问题。这类聚合物在人体内无积聚问题, 其体内代谢是通过聚酯水解, 最终被完全降解为二氧化碳和水, 故被广泛用作药物载体材料。武汉大学的范昌烈^[24]等将乳酸与磷酸酯共聚作为释药材料和药物载体, 由于人的体内含磷酸酯和聚磷酸酯, 所以该材料具有良好的生物相容性, 同时还被赋予了类似天然物质的性质。孙洁^[25]等将肝素与高分子载体 (乳酸-羟基乙酸共聚物) 相结合, 将其植入兔眼后房内, 发现其可明显提高并长期维持房水中的肝素浓度, 有效抑制后发性白内障的发生, 且该方法毒副作用小, 是一种安全、有效的给药方式。聚乙烯吡咯烷酮 (PVP) 的羧酸盐可以作为载体与马来酸结合, 将药物运送到肾脏和膀胱, 成为对肾脏系统具有瞄准作用的药物释放体系。Yoshioka Y^[26]等研究发现, PVP 与苯乙烯形成的共聚物会积累在脾脏, 而与乙烯基月桂酸酯形成的共聚物会积累在肝脏。利用这一特点, 我们就可以设计出优良的聚合物载体, 以瞄准脾脏和肝脏给药, 实现对不同部位的治疗。可以说, 合成高分子材料作为高分子药物载体已经是一种趋势, PHEG、DEMC、PEG、聚丙烯酯葡萄糖这些共聚物都是很好的药物载体。

第五节 结 语

自 1960 年以来, 药用高分子材料在药物制剂应用中取得了比较重要的进展, 如 1964 年的微囊, 1965 年的硅酮胶囊和共沉淀物, 1970 年的缓释眼用治疗系统, 1973

年的毫微囊、宫内避孕器, 1974 年的微渗透泵、透皮吸收纳米药物及其制剂、多肽或基因工程药物以及新的高分子药物的研究与开发等, 都离不开高分子材料的应用。随着生物技术和遗传工程的发展, 具有药理活性的多肽与蛋白质的种类日益增多, 用途越来越广, 逐渐成为未来药物发展领域的重要组成部分。这类大分子药物多为内源性物质, 药理作用强、副作用少, 很少引起过敏反应。但易被胃肠道的消化酶降解, 生物半衰期短, 而且由于这类药物具有较好的水溶性, 很难通透生物体内的许多脂质结构的屏障。同时其分子量大, 难于吸收, 无法用普通剂型给药。高分子材料的优良的生物相容性、生物可降解性、降解速率的可调节性以及良好的可加工性能, 都为药物制剂的创新提供了便利和可能。使用高分子材料对水溶性药物进行控制释放是解决药物口服及注射局限的有效途径。高分子药物由于其良好的生物降解性和生物相容性, 以及作为缓释药物可以实现对药物医疗剂量的有效控制, 能够降低药物的毒副作用, 减少抗药性, 提高药物的稳定性和有效利用率, 还可以实现药物的靶向输送, 减少服药次数, 减轻患者的痛苦, 并能节省人力、物力和财力等许多优点, 药用高分子已经成为未来药物发展的重要方面, 药用高分子应用将继续扩大。

药用高分子化合物及高分子药物的发展, 不仅改变了传统的用药方式, 开辟了药物制剂学的新领域, 丰富了药物的类型, 而且对制剂学与药理学提出了大量的新问题。由于对高分子化合物与普通药物之间的关系和影响, 对高分子化合物在机体内的反应、吸收、分解和排泄等一系列机制很多情况还不是十分清楚, 故还需要进行大量深入的基础研究和临床研究。相信随着高分子化学、材料科学、生命科学和药物制剂学的不断发展和交叉渗透, 基因工程技术、干细胞技术、三维细胞培养技术、纳米技术、自组装技术、微加工技术等生物、化工和材料新技术平台的不断涌现和逐渐走向成熟, 阻碍高分子载体药物研究和开发的理论难题和技术瓶颈有望在未来的发展中逐一得到解决, 越来越多高效、安全、方便、实用的高分子载体药物产品将会走向临床, 在维护人类健康、提高生活质量方面发挥重要作用。将有越来越多的高分子材料被开发应用于药学领域, 为我们带来巨大的经济和社会效益。

参考文献

- [1] 姚康德, 孙姗, 彭涛. 智能性药物释放体系 [J]. 高分子通报, 1992 (2): 116 - 122.
- [2] Hirano T, Klesse W, Ringsdorf H. Polymeric derivatives of activated cyclophosphamide as drug delivery systems in antitumor chemotherapy [J]. Makromol Chem, 1979, 180 (4): 1125 - 1131.
- [3] Regelson W, Kuhar S, Fields J, et al. Synthetic polyelectrolytes as tumor inhibitors [J]. Nature, 1960, 186 (4727): 778 - 780.
- [4] 陈文兴, 沈之荃, 刘冠峰, 等. 铜 (II) 络合纤维的配位结构与抗菌性 [J]. 高分子学报, 1998, 10 (4): 431 - 437.
- [5] Simeone A M, Tari A M. How retinoids regulate breast cancer cell proliferation and apoptosis [J]. Cellular & Molecular Life Sciences, 2004, 61 (12): 1475 - 1485.
- [6] Y Kurimura, E Tsuchida, M Kaneko. Preparation and properties of some water-soluble Cobalt (III) - poly-4-vinylpyridine complexes [J]. Polymer Sci, 1971, 1 (9): 3511.

- [7] I wei Liao, B E Eichinger. Synthesis of the acetylacetone telechelate of polydimethylsiloxane and its gelation with Cr (Ⅲ) and Fe (Ⅲ) [J]. Polymer Sci, 1990, 28 (3): 559.
- [8] Allcock HR, Robert W Allen, John P O'Brien. Phosphorus-nitrogen compounds 30 synthesis of platinum derivatives of polymeric and cyclic phosphazenes [J]. J Am Chem Soc, 1977, 99 (12): 3984.
- [9] 邱利焱, 朱康杰. 聚膦腈在药物控释系统中的应用 [J]. 功能高分子学报, 1999, 12 (1): 115 - 121.
- [10] 舒晓正, 朱康杰. 聚电解质复合物控释中的应用 [J]. 在药物功能高分子学报, 1999, 12 (4): 491.
- [11] 常津. 聚原酸酯抗癌药物毫微囊的制备及体外释药研究 [J]. 中国生物医药工程学报, 1999, 18 (2): 216 - 224.
- [12] Greish K, Sawa T, Fang J, et al. SMA - doxorubicin, a new polymeric micellar drug for effective targeting to solid tumours [J]. Journal of Controlled Release, 2004, 97 (2): 219 - 231.
- [13] Liu M X, Dong J, Yang Y J, et al. Preparation and toxicity of triptolide - loaded poly (D, L - lactic acid) nanoparticles [J]. Yao Xue Xue Bao, 2004, 39 (7): 556 - 560.
- [14] Bala I, Haribaran S, Kumar R, et al. PLGA Nanoparticles in Drug Delivery [J]. The State of the Art [J]. Critical Reviews in Therapeutic drug carrier systems, 2004, 21 (5): 387 - 423.
- [15] Sinha V R, Bansal K, Kaushik R, et al. Poly - ϵ - caprolactone microspheres and nanospheres: an overview [J]. International Journal of Pharmaceutics, 2004, 278 (1): 1 - 24.
- [16] Muvaffak A, Gurhan I, Hasirci N. Prolonged cytotoxic effect of colchicine released from biodegradable microspheres. In: Yoshioka Y [J]. Journal of Biomedical Materials Research, 2004, 71B (2): 295 - 304.
- [17] Ringsdorf H. Structure and properties of pharmacologically active polymers [J]. Polym Sci, 1975, 51: 135 - 153.
- [18] 奚念朱. 药剂学 [M]. 第3版. 北京: 人民卫生出版社, 1997: 325.
- [19] Kurimoto A, Tanabe T, Tachibana A, et al. Thiolated dermal bovine collagen as a novel support for bioactive substances - conjugation with lysozyme [J]. Biotechnol, 2001, 86 (1): 1 - 8.
- [20] Giunchedi P, Genta I, Conti B, et al. Preparation and characterization of Ampicillin loaded methylpyrrolidone chitosan and chitosan microspheres [J]. Biomaterials, 1998, 19 (1-3): 157.
- [21] Jiang S L, Hui N X, Jie H L, et al. Drug carrier systems based on water - soluble cationic β - cyclodextrin polymers [J]. International Journal of Pharmaceutics, 2004, 278 (2): 329 - 343.
- [22] 孙业全. 羧甲基纤维素钠在治疗肝癌中的应用 [J]. 潍坊医学院学报, 1997, 19 (1): 4 - 5.
- [23] Barbucci R, Lenoeb G, Vecchiulli O. A Novel carboxymethylcellulose - based microporous hydrogels suitable for drug delivery [J]. Journal of Biomaterials Science - Polymer Edition, 2004, 15 (5): 607 - 620.
- [24] 范昌烈, 李兵, 刘振华, 等. DL - 丙交酯与 2 - 氢 - 2 - 氧 - 12, 3 二氧磷杂环己烷的开环共聚研究 [J]. 高等学校化学学报, 1995 (6): 971 - 973.
- [25] 孙洁, 谢立信, 姚瞻. 肝素缓释系统抑制后发性白内障的实验研究 [J]. 中国眼科杂志, 2003, 39 (7): 406 - 410.
- [26] Yoshika Y, Tsutsumi Y, Mukai Y, et al. Effective accumulation of poly (vinylpyrrolidone - co - vinylaurate) into the spleen [J]. Journal of Biomedical Materials Research, 2004, 70A (2): 219 - 223.

第五章 蛋白质及多肽药物的制剂

随着蛋白组学计划的逐步深入,蛋白质结构与功能的关系逐渐被破解,重组DNA技术的发展,大量的蛋白质及多肽药物被批准和进入市场,在诊断、治疗或作为疫苗各方面发挥重要作用,成为当今医药市场很重要的资源^[1]。

第一节 蛋白质及多肽药物的传统处方

由于蛋白质及多肽性质独特、结构复杂、分子量高、高度纯化、热不稳定,并且容易聚集,聚集后更加不稳定,现阶段临床上主要通过注射,如静脉、皮下或肌肉注射^[2,3];一类是溶液型注射液,另一类为冻干粉注射液^[4]。溶液型注射液通过加入一系列的稳定剂来稳定蛋白质,如下:

① 大分子化合物。大分子化合物最常用的是人血清白蛋白(HAS),其机制可能是通过大分子的表面活性、蛋白质-蛋白质相互作用的空间隐蔽以及提高黏度来限制蛋白质运动或通过优先吸附于大分子以起到稳定作用。它本身是一个相当稳定的分子,可以忍耐低pH或高温,还具有很好的溶解性。同时它有助于降低产品在容器内表面的吸附作用,还可作为对产品不利的微量蛋白酶或其他试剂的一种可选靶蛋白。例如干扰素 α 、干扰素 β 、尿激酶、红细胞生成素和白介素2等都用HAS作为有效的稳定剂。

② 表面活性剂。表面活性剂是已知的蛋白变性剂,特别是离子表面活性剂,但非离子表面活性剂如吐温80、吐温20和泊洛沙姆407进行充分稀释后能够表现出对某些蛋白的稳定作用。其机理可能是蛋白质在液-气界面时具有聚集倾向,导致蛋白质变性;而加入的非离子表面活性剂能降低液体的表面张力,增加蛋白质的溶解性,减少蛋白质在界面的变形速率。例如球蛋白 γ 、 α -2b干扰素、组织溶纤酶原激活素和治疗性抗体OKT-3等制剂中均加入少量非离子表面活性剂。

③ 氨基酸。甘氨酸是最常用的稳定剂,能稳定各种干扰素制品、促红细胞生成素,等等。其机制可能是减少产物的表面吸附,抑制聚集体的形成,直接稳定某些蛋白质的构象,抵抗热变性。组氨酸、谷氨酸和赖氨酸等都具有稳定的作用。

④ 多羟基化合物。多元醇和糖都属于非特异性的蛋白质多肽稳定剂。葡萄糖、蔗糖、海藻糖、麦芽糖、甘油、聚乙二醇、甘露醇等都是常用稳定剂。

⑤ 缓冲液。蛋白质的稳定性与 pH 相关且范围很窄，应采用适当的缓冲系统来提高蛋白质的稳定性。比如治疗 TNF- α 相关病症的人抗体的制剂就采用柠檬酸盐或磷酸盐的缓冲系统组成 pH 4~8 的环境来稳定蛋白质。最常用的缓冲液浓度^[5]应该在 10 mmol/L、15 mmol/L 或 20 mmol/L 范围内。

⑥ 盐类。加入盐的种类，离子相互作用的性质、浓度及蛋白质的电荷都决定了其稳定作用。低浓度的盐通过非特异性静电作用提高蛋白质的稳定性。如用 NaCl 和 HCl 来提高免疫球蛋白制剂的稳定性。

⑦ 螯合剂。残留的金属离子产生于蛋白质生产过程中与金属器皿的接触，因此适量的使用螯合剂如 EDTA 盐是必要的。建议的螯合剂剂量是 0.01%~0.05%。

⑧ 抗氧化剂。为了防止蛋白质的降解，可以适当加入抗氧化剂如维生素 C、谷胱甘肽、硫代甘油、 α -生育酚。建议的抗氧化剂范围是 0.05%~0.1%^[5]。

⑨ 金属离子。某些金属离子如 Ca^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Mg^{2+} 和 Mn^{2+} 与蛋白质结合使结构更加紧密、结实、稳定。

虽然可以采取多种稳定剂来稳定溶液型的蛋白质制剂，但是某些蛋白质多肽药物仍然不能采用溶剂制剂时，可以考虑将蛋白质冷冻干燥或喷雾干燥成固体粉针剂，可大大提高蛋白质的稳定性。

药品冷冻干燥是指把药品溶液在低温下冻结，然后在真空条件下升华干燥除去冰晶，待升华结束后再进行解吸干燥除去部分结合水的干燥方法。该过程主要分为：药品准备、预冻、一次干燥（升华干燥）和二次干燥（解吸干燥）、密封保存等五个步骤。药品按上述方法冻干后，可在室温下避光长期贮存，需要使用时，加蒸馏水或生理盐水制成悬浮液，即可恢复到冻干前的状态。与其他干燥方法相比，药品冷冻干燥法具有非常突出的优点和特点：①药液在冻结前分装，剂量准确；②在低温下干燥，能使被干燥药品中的热敏物质保留下来；③在低压下干燥，被干燥药品不易氧化变质，同时能因缺氧而灭菌或抑制某些细菌的活力；④冻结时被干燥药品可形成“骨架”，干燥后能保持原形，形成多孔结构而且颜色基本不变；⑤复水性好，冻干药品可迅速吸水还原成冻干前的状态；⑥脱水彻底，适合长途运输和长期保存。

但是蛋白质药品在冷冻干燥过程中容易失去活性，所以我们需要加入一些冻干保护剂来改善产品的外观和稳定性。它需要具备四个特性：玻璃化转变温度高、吸水性差、结晶率低和不含还原基。

常用的保护剂有如下几类物质：

①糖类和多元醇，如蔗糖、海藻糖、甘露醇、乳糖、葡萄糖、麦芽糖等。蔗糖和海藻糖应用较为普遍，但海藻糖的保护作用远高于蔗糖，可能是因为海藻糖玻璃化温度更高，较易形成玻璃态^[6]而且海藻糖分子较小，易以分子形式填充到蛋白质分子的空隙中，从而有效限制蛋白质分子内部结构发生变化。糖还可以和金属离子联合用，对保护药品稳定性起到协同作用。

②聚合物，如白蛋白、右旋糖酐等。血清白蛋白是应用最普遍的聚合物之一，它同时具有冷冻和干燥保护双重作用，但因其为血液制品，可能具有潜在的污染，因而应用受到限制。右旋糖酐等聚合物可提高蛋白质玻璃化温度、抑制赋形剂如蔗糖结

晶,从而起到保护作用^[7]。

③表面活性剂,如吐温 80 等。冷冻时冰-水界面的形成可引起蛋白质表面诱导变性,表面活性剂可使蛋白质溶液表面张力下降,减少冰-水界面蛋白质吸收和聚集的驱动力。PEG 和吐温是药品冻干过程中应用最多的表面活性剂。

④氨基酸,如 L-丝氨酸、谷氨酸钠、丙氨酸、甘氨酸、肌氨酸等。可通过减少缓冲盐结晶化的速度和程度来保护冻干药品,降低其活性丢失。

此外盐和胺如磷酸盐、醋酸盐、柠檬酸盐等;无水溶剂如乙烯乙二醇、甘油、DMSO、DMF 也是冻干保护剂。

第二节 蛋白质及多肽新型给药系统

目前蛋白质及多肽药物的剂型基本是冻干制剂,但是半衰期短,需要长期频繁注射给药,从患者的心理和经济负担角度来看,都存在问题^[2]。因此,各国学者都希望研究出合理的给药途径和新型制剂。主要从两个方面切入:①开发长效缓释、控释的注射剂型和埋植剂;②非注射给药途径,如黏膜给药、口服给药、透皮给药等。

一、埋植剂型

可以分为细棒型埋植剂、微型渗透泵埋植剂和可注射的埋植剂等类型。细棒型埋植剂为一空心微型细棒,一头封闭,另一头开口。棒材为聚四氟乙烯等非生物降解聚合物制成。腔内灌入药物与硅胶(Silastic,聚二甲基硅氧烷)混合物,埋植物埋入人体皮下,药物通过硅胶基质开口处缓慢释放,药物释完后再经手术取出。微型渗透泵埋植剂是美国 Alza 公司 20 世纪 70 年代开发的外形像胶囊的埋植剂。该制剂埋植于皮下或其他部位,体液可渗透过外壳、溶解夹层电解层,使体积膨胀的夹层压向塑性内腔,促使药物溶液从开口定速释放。前两种埋植剂对需要长期用药的慢性患者治疗有其积极的意义,但埋植剂必须经手术途径植入且制剂骨架材料为非生物降解聚合物,释药完成后还需经手术取出,制剂在患者局部组织有刺激与不适感。可注射的埋植剂为生物降解聚合物作为注射型缓释制剂骨架,是近 20 年来国内外学者大力研究的方向。该制剂可直接注射于皮下或肌内,基质在体内可以逐渐降解,彻底改变了以往埋植剂必须经过手术途径植入或取出的局面。这类聚合物包括两大类:①天然聚合物,如明胶、葡聚糖、白蛋白、甲壳素等。②化学合成聚合物,为聚乳酸(PLA)、聚丙交酯(PLA)、聚羟丁酸酯等。近年 Emits 公司成功研制商品名为 Eoladex 的可注射植入剂,将多肽药物交联瑞林(Goserelin)与 PLGA 在熔融状态混匀后经一多孔装置挤出,挤出物直径为 1 mm,经切割成一定长度条状物,每个剂量 36 mg,灭菌后直接密封于一次性注射器内待用。该制剂可直接注射于皮下或肌内,基质在体内可逐渐降解,彻底改变了以往埋植剂必须经手术途径植入、取出等缺点。

但可降解埋植剂也有自身缺陷,酸性降解产物在埋植剂内部逐渐蓄积,多肽蛋白质的稳定性可能会受影响,故近来研究重点转向新型注射制剂。

二、新型注射给药制剂

1. PEG 修饰

聚乙二醇 (PEG) 是一种 pH 中性、无毒、不带电荷、亲水的聚合物, 1977 年 Abuchowski 等^[8]首先应用 PEG 修饰药物蛋白, 即将 PEG 通过化学方法偶联到蛋白质多肽药物上, 修饰后的蛋白质疗效优于未修饰的原型药物。此后的二三十年, 聚乙二醇修饰技术得到了迅速的发展, 成功地开发出聚乙二醇修饰的蛋白质多肽药物。PEG 修饰后的蛋白质药物的一些性质发生变化, 如增加了此类药物的溶解度和稳定性, 耐酶水解的能力增强; 减弱或消除免疫原性; 增加药物在体内的半衰期; 增加药物的治疗指数, 扩大临床使用; 生物利用度提高; 毒副作用减小; 热稳定性和机械稳定性增加; 活性降低; 另外, 等电点、电泳行为、动力学性质等也会发生改变^[9,10]。为了让 PEG 更好、更温和地和蛋白质结合, 常把作为化学反应功能团的 PEG 末端羟基进行活化, 进行偶联的基团主要是氨基、巯基和羧基^[11], 见图 5-1。被结合的蛋白质其大小和净的总分子量决定于所联结的 PEG 分子的平均大小以及蛋白质上可利用的联结部位总的数量。大的蛋白质一般有较多的联结部位, 因此通常被多聚乙二醇化。但是, 在多个部位的联结增加了在蛋白质活性部位形成空间干扰的可能性, 导致蛋白质活性可能抑制或降低。联结支链的 PEG 组分可以增加组分的大小及结合蛋白净的总分子量, 而不会增加联结部位的数量。除此之外, 与线型 PEG 结合物相比, 支链 PEG 结合物可以升高 pH、增加热稳定性和蛋白质对蛋白酶消化的抵抗能力。小的蛋白质一般有较少的联结部位, 可以用单一的大 PEG 组分 (可能是支链的) 进行有效的聚乙二醇化。



图 5-1 PEG 修饰

美国首先批准了 PEGIFN α 2a 上市, 其后又批准 PEG - G - CSF, PEG - Somatropin antagonist 等。PEG - G - CSF 商品名为 Peg - Filgrastim, 中文名为“非格司亭”,

上市当年销售额超过 10 亿美元。此外, 现在国外已经上市的 PEG 修饰蛋白质还有腺苷脱氨酶、天冬酰胺酶、PEG-水凝胶、生长激素等。

此外, 在鼠、狗和人体实验表明, PEG 修饰的脂质体比普通的脂质体能更好地发挥长效作用^[12-14], 它是一种用 PEG 结合在脂质体外部的立体稳定脂质体。但是用来传递某些蛋白质多肽药物时, 不是将其包裹在脂质体内而是以非共价键的形式结合在 PEG 修饰的脂质体的表面。因为有些蛋白质药物如重组活化人凝血因子 VIIa 和凝血因子 III 直接用 PEG 来修饰会因影响到与组织因子和凝血因子 X 的相互作用而降低活性^[15], 而高亲和力特异性的非共价结合在被 PEG 修饰的脂质体上的凝血因子 VII 和凝血因子 III 有更长的半衰期和更好的疗效^[16,17]。美国 FDA2002 年批准了粒细胞集落刺激因子 (G-CSF) 的 PEG 修饰脂质体剂型, 其半衰期由原来的 35 h 增加到 40~80 h^[18]。

2. 脂质体

1971 年 Rymen 最早用它作为药物载体, 此后几十年, 脂质体主要被作为化学小分子药物的载体进行研究, 由于其无毒、可降解、生物相容性很好并且组分及分子量易于调节, 所以用它作为蛋白质、多肽类药物的释药载体近十几年来得到了迅速发展。人们利用不同的材料和组分, 采用不同的方法制备了各种脂质体如长循环脂质体、免疫脂质体、pH 敏感及温度敏感脂质体等, 针对其药物缓释方面的应用进行了大量的研究。还有一种载药脂质体结合了脂质体和微凝胶的特点, 以微凝胶为核, 在表面涂上一层脂质双分子层的壳, 叫做 lipobead^[19], 如图 5-2。Lipobead

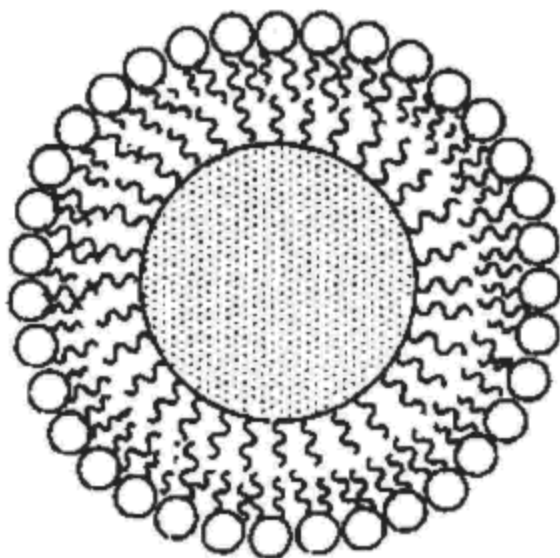


图 5-2 Lipobead

提高了机械稳定性, 可控制尺寸且载药量也得到了提高。

蛋白质、多肽类药物大部分为水溶性, 所以多采用两相分散法装载药物。即将类脂物溶于有机溶剂中, 然后加入含有包裹药物的水溶液, 使油相和水相充分接触, 然后将溶剂蒸发成为脂质体药物。脂质体包裹蛋白质多肽类药物后, 不仅可以保护药物, 避免蛋白水解酶造成的活性破坏, 还能促进透皮吸收, 提高生物利用度。脂质体作为治疗内皮网状系统 (REs) 疾病的药物载体是脂质体最成功的应用之一。由于脂质体易被内皮网状系统的巨噬细胞所识别, 所以富含巨噬细胞的肝、脾是脂质体的重要靶器官。有报导^[20-23], 将白细胞介素、天门冬酰胺酶、干扰素等包埋于脂质体中, 静脉注射获缓释效果。用脂质体包埋 TNF- α 也明显提高了其细胞毒活性^[24]。将某些抗体与脂质体结合后再包埋各种多肽及蛋白质药物形成免疫脂质体, 可以改变药物在体内的分布特性, 更易进入细胞发挥作用、提高受体敏感性, 提高细胞毒活性。

用脂质体作蛋白质药物缓释载体也存在一些不足: 一是稳定性较差, 体外长期

贮藏过程中容易出现整体破裂和药物渗漏，或是体内从给药部位到目标靶过程中出现整体破裂和药物渗漏；二是包埋率差别大，有些物质包埋率极低，这就不利于药物发挥作用；三是制备工艺复杂，不易于大规模生产，需要使用有机溶剂使蛋白质变性。

3. 微球

目前研究得最多的是微球递释系统。比脂质体相对更稳定、包封率高、体内代谢更慢，又适合大规模生产，已经广泛用于蛋白质及多肽的研究^[25-31]。

微球 (Microspheres) 是药物与高分子材料制成的基质骨架的球形或类球形实体。制备微球的载体材料很多，大致可分为生物降解型和非生物降解型。应用较为广泛的还是可生物降解聚合物，是指一些能在水、酶作用下降解的高分子聚合物，包括天然和人工合成两类。前者有明胶、葡聚糖、壳聚糖、海藻酸钠、透明质酸钠等；后者有聚乳酸、聚丙交酯-乙交酯 (PLGA)、乳酸-羟基醋酸、聚丙烯酸 (PEC)、聚乳酸-聚氧乙烯醇嵌段共聚物 (PELA) 等。其中应用最广泛的是 PLGA，它不仅具有生物相容性、无免疫应答和降解产物毒性小的优点，而且可通过调节两个单体比例及聚合条件改变聚合物在体内降解速度的特点^[32]，但其亲脂性强，对水溶性多肽、蛋白质及疫苗的亲和力不高。PELA 是一种新型的可生物降解聚合物，由聚乳酸和聚乙二醇反应制得，提高了聚乳酸对亲水性物质的亲和力，从而改善了这类物质的包封率、降低了药物的突释效应，获得稳定而持续的释放效果。1986 年法国 Ipsen 生物技术公司推出了肌注曲普瑞林-聚丙交酯-乙交酯微球，此后又陆续生产了醋酸亮丙瑞林、布会瑞林和 meterelin 肌注微球，临床上用于治疗一些激素依赖性疾病，如前列腺癌、子宫肌瘤、乳腺癌、子宫内膜异位等。人体每月注射 1 次亮丙瑞林 (75 mg) 微球治疗前列腺癌时相当于每天注射 1 mg 溶液剂。

此外，将 PEG 修饰和微球技术联合将得到更好的控释效果。如 Kenneth, Kathleen^[33]等制备一种新型控释胰岛素，见图 5-3，胰岛素 B 链的氨基端被低分子量的 PEG (5 000 Da) 修饰，再与 PLGA 在二氯甲烷中溶解制成 O/W 乳剂，其生物活性

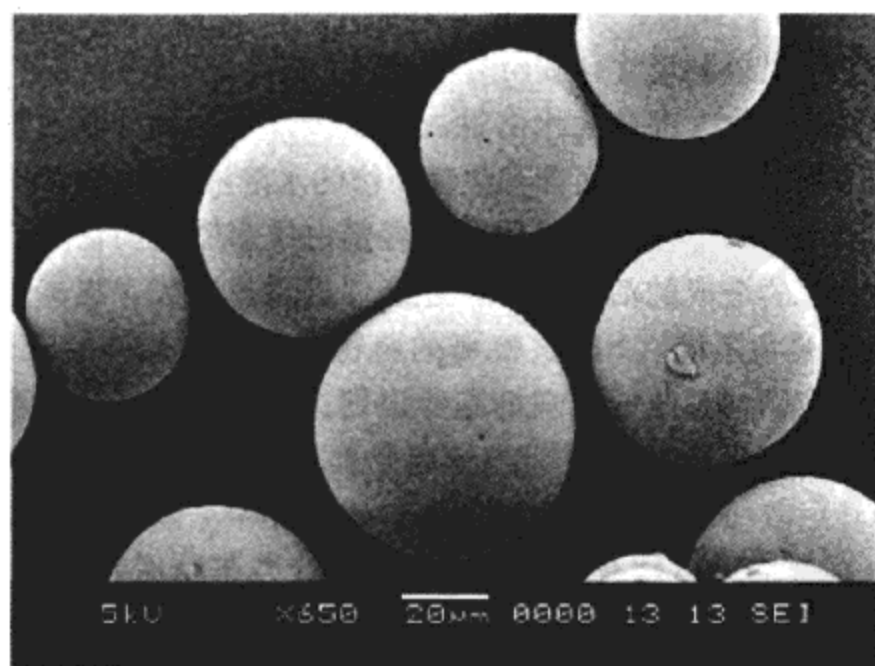


图 5-3 胰岛素的 PLGA 微球电子显微照片

没有改变,改善了突释的情况。在 37℃ 的缓冲液中,胰岛素微球初释速率比较慢,一天释放程度不到 1%,随后 3~4 天按零级速率释放。在动物实验中,单剂量给予皮下注射,第一天释放少于 1% 药量,但是 9 天里体内血糖浓度稳定到低于 200 mg/dL。每隔 7 天给一次药,2 个剂量后达到稳态血药浓度。

制备蛋白质多肽微球的方法很多,根据不同的载体材料可选择不同的制备方法。目前常用的方法包括液中干燥法、喷雾干燥法、相分离法和乳化交联法,近年来又发展了新的微球制备技术,如低温喷雾提取法和超临界流体技术。

(1) 液中干燥法。又称溶剂挥发法,分为 O/W 和 W/O/W 复乳法。后者为常用方法。主要工艺过程是:将蛋白质药物与保护剂溶于水作为水相,将 PLGA、PLA 等高分子材料溶于二氯甲烷作为油相。在低于 40℃ 的温度下,将水相加入油相中,匀化或超声振荡成初乳 (W/O),冷却至 10℃ 以下,初乳再转入含 PVA 的水溶液中,搅拌成复乳 (W/O/W),升高系统温度,除去有机溶媒,固液分离后,干燥待用。这一过程的许多步骤可能会使蛋白质的结构发生改变。特别是在制备初乳时,由于蛋白质具有表面活性易于吸附在油水界面上,可引起蛋白质的伸展、变性和不可逆的聚集。加之超声、搅拌等剧烈的条件,很容易导致蛋白质失活。目前解决这一问题主要的方法是加入各种类型的添加剂保护剂。保护剂包括蛋白质、糖、多元醇、表面活性剂、无机盐等。由于不同蛋白质物理化学性质差异较大,加入何种添加剂,才能在制备工艺过程中对蛋白质起到较好的保护作用,需要进行处方筛选。利用 W/O/W 复乳法包封的蛋白质有亮丙瑞林缓释微球^[33]、HSA 的 PELA 微球^[34]、降钙素丙烯酸树脂微球^[35]。

(2) 低温喷雾提取法。将多肽及其稳定剂的均匀粉末或冻干品和生物可降解聚合物的有机溶液 (二氯甲烷) 均匀混合,混悬液经一喷头以雾状喷至冰冻的乙醇溶液中,后者界面封以液氮。在 -70℃ 温度下,乙醇将微球中二氯甲烷不断抽提,经过滤去除乙醇,得流动性佳的微球,干燥待用。现在已经成功开发人生长激素 (rh-GH) 微球,在美国上市,商品名为 Nutropin Depot^[36]。

(3) 喷雾干燥法。将生物可降解聚合物溶于有机溶剂 (如二氯甲烷),蛋白质药物与保护剂的均匀粉末通过高速匀机分散到上述溶液中,形成混悬液,将此混悬液经喷头雾化后喷入冰冻的乙醇溶液,在 -70℃ 状态下,聚合物载体中的有机溶液在乙醇中不断扩散完全,分离微球,低温干燥除去乙醇得到固化微球。如 L-乳酸脱氢酶 (LDH)^[37]。

(4) 相分离法。在可降解聚合物溶液中,将蛋白质药物溶解分散成混悬液或乳状液,通过调节 pH、调节温度或是加脱水剂、非溶剂等方法使聚合物的溶解度降低从溶液中析出,最后固化成微球。

(5) 乳化交联法。带有氨基的高分子材料如明胶、壳聚糖和蛋白质类与其他化合物相应的活性基团如交联剂戊二醛、甲醛中的醛基缩合交联制的微球。药物则溶解或者分散在材料溶液中。

(6) 临界流体技术。20 世纪 80 年代以来,超临界流体技术由于其具有对溶质较大溶解度,又具有气体易于扩散和运动的特性得到广泛应用。近年来,超临界流体技术用于制备微球上引起了研究者的重视。在制备微粒中根据聚合物及药物的溶解

特性分为超临界溶液快速膨胀 (RESS) 和气体反溶剂 (GAS) 技术。RESS 技术是将固体物质在一定的温度和压力下溶解在超临界流体中形成溶液, 然后将此高压溶液从一个细小的喷嘴 (一般内径为几十微米, 长约几个毫米) 喷射到常压的空间中, 由于超临界流体在减压的过程中变成了气体, 溶解在其中的溶质就沉淀析出, 产生直径从几百纳米到几个微米左右的颗粒。GAS 技术是将溶质先溶解在某种有机溶剂中, 然后将此溶液与超临界流体混合。由于有机溶剂可溶于超临界流体而溶质不溶, 于是溶质析出形成微粒。

微球系统控释蛋白质及多肽药物需要解决的难点有: 一是改善微球制备方法, 提高收率; 二是解决微球制备过程中蛋白质的稳定性, 制备时通常需要高温或是使用破坏性有机溶剂, 如二氯甲烷等, 都将影响蛋白质的稳定性; 三是提高药物载量; 四是降低起始突释率, 获得稳定连续释放。

4. 水凝胶

水凝胶是由天然或合成聚合物经物理化学交联形成, 可以在水中溶胀保持大量水分而又不溶解。由于聚合体的亲水性, 水凝胶能吸取大量的水分, 为蛋白质提供一个水环境, 保护其不被破坏变性。交联的多聚体网络既可以包裹蛋白质使其缓慢释放, 又可以保护其不被周围释放位点的环境破坏如胃部的酸性环境^[38]。水凝胶的制备方法分为物理制备和化学制备。物理凝胶的制备方法包括混合聚阴离子和聚阳离子聚合物水溶液、使用冷冻—解冻几次循环形成凝胶、降低聚合物溶液温度等。化学制备方法包括单体和交联剂聚合, 通过化学方法将疏水性聚合物转换为凝胶、多功能反应的化合物。水凝胶包埋药物的方法有三种^[39]: ①先将蛋白质与单体、交联剂和引发剂一同混合, 再聚合; ②先将蛋白质与聚合物混合, 再交联; ③将凝胶制备好后, 浸入蛋白质溶液中, 待其吸附饱和后, 真空干燥。前两种方法都可能产生使蛋白质失活的副反应, 第三种方法较前两种适用广泛。

凝胶的自身性质会随外界环境的温度、pH、光、电、磁、化学物质等刺激而变化, 借助此特点, 可以将蛋白质及多肽药物和水凝胶组成智能药物控释系统^[40], 如图 5-4。很小的条件变化, 就能造成凝胶体积较大的变化, 通常含有疏水组成, 可能带有或不带电荷。根据凝胶所受刺激的信号不同, 可以分为酸敏感性凝胶、温敏性凝胶、光敏性凝胶、电场敏感性、化学物质敏感性和双重响应性 (如温度、酸敏感性, 光、热敏感性) 等。

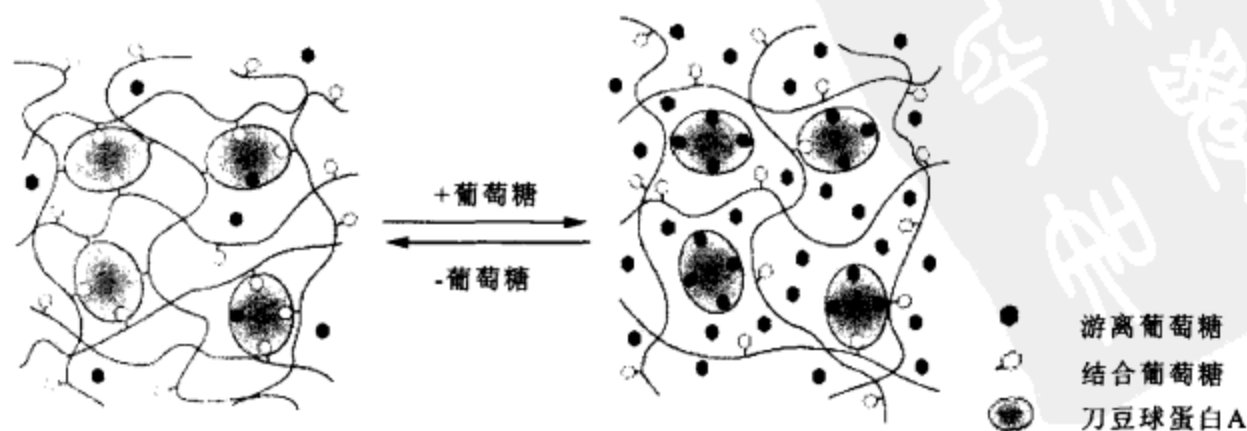


图 5-4 葡萄糖敏感水凝胶控释药物

三、非注射给药

为了克服注射给药的局限性,提高病人的顺应性,非注射给药途径得到了更多的重视,如黏膜给药(鼻腔、口腔、直肠、眼部等)、肺部给药、透皮给药、口服给药等。黏膜给药中鼻腔给药的应用前景最大,研究得最多,以下将着重介绍。而口服给药是最受欢迎的给药方式,但是难度比较大。

1. 鼻腔给药及其他黏膜给药

从动力学来看,鼻腔是一个复杂的器官,因为三个不同的过程(药物沉积、药物清除及药物吸收)均在鼻腔内完成,因此,通过鼻腔给药,其解剖结构及相关的生理特点是需要充分考虑的^[41]。

鼻腔由鼻中隔分为两个不同的腔室,鼻中隔主要包括软骨和皮肤,因此药物渗透率很小。药物有效吸收部位在鼻腔外侧壁血管丰富部位,即鼻黏膜丰富的鼻甲部。人鼻腔黏膜表面积为 150 cm^2 ,黏膜表层上皮细胞皆有许多微绒毛,与小肠绒毛相似,可增加药物吸收的有效面积,而且鼻黏膜上皮下层有丰富的毛细血管及淋巴毛细管,能使药物迅速吸收进入循环。鼻腔具有吸收通道,水溶性、弱亲脂性药物可通过水相即水通道(为单向从管腔流入血液)而不是通过黏膜的脂相扩散。鼻黏膜具有较小孔径的水通道,含量丰富,水通道分布的数目是直肠的2倍,空肠的3倍,因此容易吸收水溶性物质。鼻黏膜纤毛为呼吸道防御系统的一部分,其纤毛和上方的“黏液毯”(鼻黏膜表面覆的一层黏液)可连续不断清除进入鼻腔的微小异物,药物也不例外。鼻甲咽部纤毛清除系统速度快,鼻腔前部非纤毛区清除较慢。用等剂量鼻腔喷雾药物,生物活性高于滴鼻,原因是喷雾药物分布在整个鼻腔,多数停留在非纤毛区,这都是鼻腔给药应该考虑的问题。

鼻腔给药的传统剂型有滴鼻液、气雾剂等。给药时,药物易被黏膜纤毛清除,或是被肽酶降解,对需起全身作用的药物的吸收存在缺陷,往往需要频繁给药。通过改变剂型以延长药物在鼻黏膜停留时间和增加药物吸收是提高药物鼻黏膜吸收的途径之一。可以采取三种途径:①利用吸收增强剂增加对鼻膜的渗透性,如表面活性剂、胆汁酸、环糊精、磷脂和脂肪酸;②使用黏膜交联剂降低黏膜纤毛对药物的清除,从而增加药物的吸收时间,如液体生物黏附制剂(壳聚糖)、微球、固体粉末制剂、液体凝胶制剂等;③加入酶抑制剂。

当鼻用制剂不能达到理想的吸收,则需借助吸收促进剂,吸收促进剂的选择必须考虑对鼻生理功能的影响,当药物膜通透性差、相对分子质量大、亲脂性差及易被氨肽酶降解时必须加入吸收促进剂。一般来说,吸收促进剂的作用机制主要是:抑制酶的活性;减小黏液黏度;降低黏液纤毛清除作用;打开上皮细胞间的紧密连接;增加药物的溶解度或稳定性。吸收促进剂一般分为物理促进剂和化学促进剂,化学促进剂通过不可逆的方法破坏鼻黏膜,物理促进剂则通过形成凝胶影响鼻腔清除率:

常用的吸收促进剂有以下几类:

①胆盐类:胆酸钠、甘氨酸胆酸钠、脱氧胆酸钠、牛磺脱氧胆酸钠等。该类物质的作用机制可能与其对鼻腔黏膜中存在的亮氨酸的抑制作用有关。甘氨酸胆酸钠为吸

收促进剂时,多肽药物在家兔鼻腔中的生物利用度有显著增加^[41]。

② 磷脂类及衍生物:溶血卵磷脂、溶血磷脂酰胆碱、二癸酰磷脂酰胆碱等。作为体内磷脂的代谢产物,0.2% 溶血磷脂酰胆碱(LPC)、5% ~8% 二癸酰磷脂酰胆碱(DDPC)、溶血磷脂酰甘油(LPG)以其高效低毒而成为促吸收剂的研究热点之一。现与环糊精合用和其结构改造减低毒性正被深入研究。

③ 梭链孢酸衍生物:包括二氢褐霉酸钠(STDHF)、二氢甾酸霉素钠等种类。用STDHF作渗透促进剂,它与胰岛素比例为5:1时,促进吸收作用最强,药物吸收重现性好。STDHF纤毛毒性随浓度增大而增加,浓度>0.3%时纤毛抑制作用即时显现。

④ 环糊精: α 、 β 、 γ -环糊精、环糊精衍生物。环糊精及其衍生物对多肽、蛋白质类激素、胰岛素、促肾上腺皮质激素类似物等进行包合,可直接或间接促进其鼻腔吸收,提高生物利用度。此类促进剂的作用机制一般被认为是:环糊精的增溶作用可使生物膜中的磷脂溶解并被提取,从而增加细胞间的空隙。其中二甲基- β -环糊精作用最强。包合后可以减低一些药物、化学促进剂及防腐剂的黏膜毒性,Zhang^[42]等对环糊精改善脱氧胆酸钠(SDC)的鼻纤毛毒性作了深入研究,认为SDC:CD为1:2形成包合物基本无黏膜毒性,不影响其促吸收作用。

⑤ 表面活性剂:聚氧乙烯月桂醇醚、皂角苷等;螯合剂:乙二胺四乙酸盐、水杨酸盐等;脂肪酸类:油酸、辛酸、月桂酸等; σ -酞基肉碱:辛酞基肉碱、月桂酞基肉碱、棕榈酞基肉碱等;甘草亭酸衍生物:甘草亭酸钠、碳烯氧代二钠盐等。一般认为多种吸收促进剂联合应用比单独应用的效果更好^[43]。总之,这些促进剂能成功地促进药物的生物利用率,但是也有些例外,更多情况下吸收促进剂的程度是与细胞膜的损伤程度紧密联系的。因此,选择生物黏附剂来延缓制剂中纤毛清除以延长药物在鼻孔的停留时间和加大接触另一个可以选择的策略。这种黏附体系包括液体生物黏性体系、自凝胶生物黏性体系、生物黏性粉末体系和生物黏性微球体系等。用于鼻部给药的生物黏附性聚合物包括:壳聚糖、瓜尔胶、藻酸钠、羧甲基纤维素钠(SCMC)、羟丙基纤维素(HPC)、羟丙基甲基纤维素(HPMC)、透明质酸钠、葡萄糖、淀粉等。

例如壳聚糖能够促进极性、低分子量药物如蛋白质和肽的鼻吸收^[44]。在简单的壳聚糖溶液中,胰岛素通过绵延的鼻腔进行给药,在90 min内血浆中葡萄糖的水平对照组下降到43%,而无壳聚糖的胰岛素溶液下降到83%。相应的血浆中胰岛素 C_{max} 的AUC增加7倍。其他的肽也存在相似的结果,如降血钙素、去氨加压素、戈舍瑞林和亮丙瑞林。Illum等已经证实壳聚糖粉末或微球体系比溶液更能有效地促进药物的鼻吸收。对于多肽药物,戈舍瑞林、亮丙瑞林和甲状腺激素,在绵羊模型中,与胃肠外的注射对比,通过鼻给药的生物利用率可以达到20%~40%。

还可以考虑使用酶抑制剂的方法达到促进药物吸收的目的。在肽链内断酶和肽链外断酶如二肽酶、二肽梭肽酶、组织蛋白酶中,降解作用最强的是氨基肽酶。鼻腔冲洗法研究结果表明,这些酶很疏松地结合在鼻黏膜上,用林格氏液可清洗下来^[45]。以大鼠为动物模型,氨基肽酶抑制剂如杆菌肽,能增强促黄体素释放激素肽

类,亮氨酸脑啡肽和人生长激素的鼻黏膜吸收,尤其是氨基硼酸衍生物和次磷酸类似物为更强的氨基肽酶抑制剂,在很小浓度即可显著提高亮氨酸脑啡肽的鼻黏膜吸收,且作用是可逆的。美国现已有胰岛素鼻用制剂上市,商品名为 Nazlin 和 Norolin Nasal。

此外还有口腔黏膜给药、直肠黏膜给药和眼黏膜给药等黏膜给药方式^[46]。蛋白质多肽药物的口腔给药研究较少,因药物不太容易通过且易于移除。蛋白质多肽的直肠吸收研究很多,例如胰岛素、降钙素、五肽促胃酸激素、促胃液素等。眼黏膜给药吸收的途径有两条,一条经鼻泪管系统中的结膜黏膜与鼻黏膜进入血液,另一条经角膜渗透进入全身的血液循环。通过制备微粒、眼胶、离子交换树脂等延长蛋白质肽类药物的作用时间。目前已有促甲状腺素释放激素、脑啡肽、 α -黑色细胞刺激激素、前促尿钠排泄激素、降钙素等多种蛋白质多肽药物研究用于眼内给药。

2. 肺部给药

与其他的给药途径相比,肺部给药具有吸收表面积大、肺泡表皮薄、吸收部位血流丰富、蛋白质和多肽易通过肺泡表面被快速吸收、能避免肝脏的首过效应、肺部的生物代谢酶活性较低等特点,尤其适用于蛋白质和多肽药物的给药。胰岛素、生长激素、疫苗和新的生物技术产品等大分子药物均可制成肺部给药制剂,起局部或全身治疗作用。

肺部主要通过简单扩散或饱和的载体介导转运机制来吸收药物。影响药物吸收速度和程度的因素有很多,如呼吸道的结构和功能、黏液纤毛转运和肺泡清除、药物粒子沉积区域、粒子的分子量和粒径、肺部存在的生物代谢酶。粒径在 $1 \sim 3 \mu\text{m}$ 的粒子可避免在上呼吸道沉积,而到达肺泡,因此许多吸入药物常常控制粒径在这个范围。

相对于注射给药,肺部给药的生物利用度仍然比较低,为了改善生物利用度,也要采取和鼻部给药类似的方法,如加入吸收促进剂、酶抑制剂或是采用新剂型如脂质体、微粒、干粉吸入剂等。

为了改善吸入粒子的表面形态和溶解度,在处方中可加入吸收促进剂如 Technosphere^[47]。Technosphere 是一种含有重组人胰岛素和哌嗪二酮衍生物作为吸收促进剂的干粉制剂,可在酸性条件下自组织形成有序的晶格阵列,经冷冻干燥后生成粒径 $2 \sim 4 \mu\text{m}$ 的粒子。用粉雾吸入器给药后,这些粒子在肺泡表面的中性 pH 环境中溶解,快速释放出胰岛素。该制剂在健康受试者和糖尿病患者体内的达峰时间介于静脉和皮下给药之间。与皮下注射相比,该制剂在给药后 3 h 的生物利用度为 25.8%。

胰岛素是目前肺部给药研究最多的药物,包括吸入粉雾剂、混悬剂、脂质体、毫微球等。1925 年德国首次将胰岛素气雾剂运用于糖尿病患者。后来,研究者们采用吸收促进剂(如亚油酸、胆酸钠)和蛋白酶抑制剂(如杆菌肽、抑肽酶等)来促进胰岛素的肺部吸收。

Exubera 吸入胰岛素发展进程最快,已获得美国和欧盟批准用于成人 1、2 型 DM 的治疗,成为首个获准上市的非注射胰岛素制剂^[48,49],其跨细胞作用见图 5-5。Exubera 系一种常规胰岛素的冻干粉末,通过肺部吸入装置传递。这一制剂由内克塔治疗(Nektar Therapeutics)公司、辉瑞公司、赛诺非-安万特(Sanofi. Aventis)公司

三家联合开发生产。对全球约 2500 名成人 DM 患者进行的多项临床研究显示, Exubera 的降血糖作用起效快, 持续时间与注射 RI 相当。可联合一长效胰岛素治疗 1 型 DM 患者, 而对 2 型 DM 患者, 可以单独治疗或联合口服降糖药或长效胰岛素治疗。Exubera 释药装置由两部分组成, 每一部分长约 10 cm, 保存时能收缩为 16 cm 长; 使用时利用压缩空气将胰岛素干粉分散于上部腔体, 患者深呼吸吸入烟雾状粉末。患者通过吸入更便捷地摄入胰岛素, 避免了注射的痛苦和心理负担。

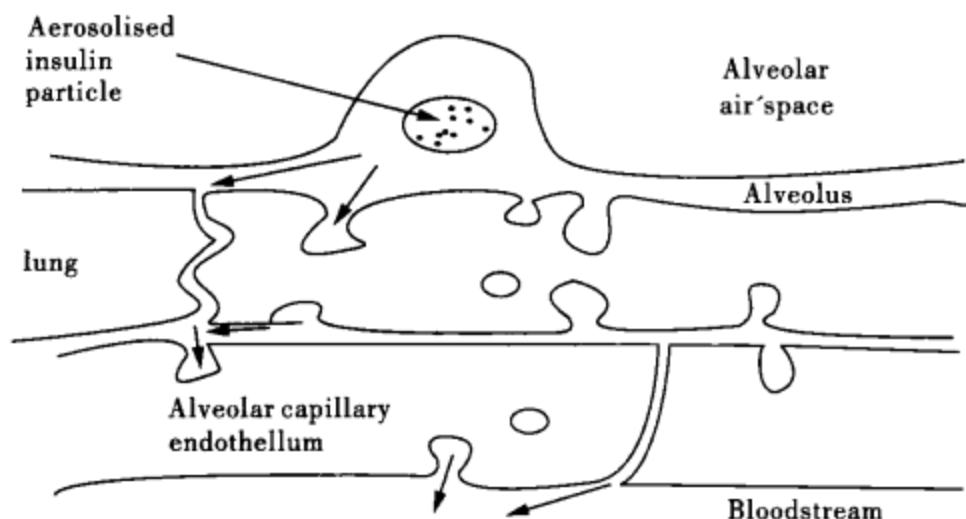


图 5-5 吸入胰岛素的跨细胞作用^[50]

其他蛋白质和多肽药物如脱氧核糖核酸酶、重组人生长激素、人绒毛膜促性腺激素、促甲状腺激素、促卵泡激素、组织纤维蛋白溶酶原激活剂等作为肺部给药研究是模型药物。

3. 口服给药

口服给药是最理想的给药途径, 可以避免注射时带来的疼痛和不舒适, 使用也方便, 另外, 根据许多体内数据显示, 某些多肽(如胰岛素)的口服给药途径更符合生理规律^[51,52]。但是口服给药的难度比较大, 存在的问题比较多, 其障碍主要是以下几个方面: ①胃肠道中酶的降解作用, 酶的降解作用是导致肽类和蛋白质类药物口服生物利用度低的重要因素之一, 绝大多数肽类和蛋白质类药物在胃肠道中被降解为氨基酸或由 2~6 个氨基酸组成的小分子肽。②胃酸的破坏作用, 胃酸的 pH 为 1~3, 许多蛋白质和肽类药物在这种环境中的生物活性几乎完全丧失。③胃肠道黏膜的低通透性, 肽类和蛋白质类药物分子量大, 脂溶性差, 难以透过生物膜。④通过吸收屏障后肝的首过作用。

尽管口服给药存在障碍, 但是大量的实验证据表明肽类药物能被肠黏膜吸收, 虽然透过量很少^[53]。少量的多肽药物可以通过口服给药, 达到治疗作用。

可以从处方手段和化学修饰两方面入手来提高口服给药的活性。处方的手段和上述的方法有类似的地方, 比如加入酶抑制剂、吸收促进剂, 利用生物黏附原理或是利用新型制剂脂质体、纳米粒、胶束等包裹保护等。

化学修饰蛋白质是指使蛋白质与 PEG 或其他化学物质共轭。蛋白质本身对消化酶不稳定, 但经化学修饰后可抑制酶的作用。可能因为化学修饰使蛋白质的蛋白酶

酶切位点被空间结构所阻挡,同时可降低异源蛋白的免疫原性,增加蛋白质的表观分子量,延缓其在血液中的半衰期。但是,另一方面,共轭后蛋白质的生物活性一般会因为活性位点可能被修饰或活性结构被扰动而下降。还有一类蛋白共轭物是可依赖于受体介导内吞的物质与蛋白质的共轭物。如细菌吸附素与侵染素、细菌与植物酶素、病毒血凝集素、凝集素依赖的受体介导口服吸收系统,还有维生素、叶酸、核黄素、维生素 B₁₂ 等和金属离子如转铁蛋白的受体等介导的内吞作用,其中维生素 B₁₂ 受体介导内吞可能是口服蛋白质和多肽类药物研究最为深入的。

到目前为止,采用化学修饰的蛋白药物传递中最成功的两个例子是降钙素和胰岛素。已经有几个 I 期、II 期临床试验对修饰胰岛素进行了测试,用于验证它是否安全和是否拥有降低葡萄糖的效应。有几个 I 期临床试验对禁食和胰岛素丧失后的 I 型糖尿病成年患者在给予经化学修饰的口服胰岛素产品后,测定血浆葡萄糖和胰岛素水平。结果表明该产品在预防这些患者血浆葡萄糖浓度预期升高方面有效果^[54,55]。

4. 透皮给药

透皮给药系统是指在皮肤表面无创伤给药,药物以恒定的速度通过皮肤进入体循环,产生全身或者局部治疗作用。患者选择透皮制剂是因为它使用方便,不需要按时服用,也没有任何痛苦,并且可随时中断用药;因为它们的功效,这些制剂同样受到医生们的欢迎:它可以避免口服药产生的并发症、低吸收率、胃肠道酶对药物的降解作用以及注射方式带来的血药浓度的峰谷现象,尤其解决了蛋白质和多肽药物在体内易被降解和半衰期短的问题。

蛋白质多肽的透皮给药至今仍然是一大挑战。透皮给药最大障碍是皮肤角质层的阻碍。脂质体作为生物药物透皮给药的载体已经有大量报导,如胰岛素、胶原蛋白、肝素、过氧化物歧化酶、干扰素等。除此之外目前还研究开发了多种主动透皮给药技术如离子导入技术、超声导入技术、微针透皮给药技术、喷射透皮给药技术和射频微通道透皮给药技术等。

①离子导入技术。离子导入技术是利用直流电或低频脉冲电流作用和电荷同性相斥异性相吸的特性,使药物离子或带电胶体微粒通过电导、电渗和溶剂牵引等机理通过毛孔、汗腺等,常用电流为 0.2 mA/cm^2 ^[56]。电流在递药电极表面转变成药物离子流,从而促使带电荷的多肽和蛋白质药物透皮,而后离子流在回流电极转变成电子流完成整个回路。其 Nernst - Planck 方程^[57] 结合一些解剖和生理数据可以定量表述导入过程中药物转运的速率。

离子导入的效率受药物本身、电渗、电场及由电场引起的皮肤性质变化等因素的影响。对于多肽和蛋白质药物来说其中最重要的因素是 pH,因为它影响药物的离子化程度、药物所带电荷、电渗流和电极^[58]。

蛋白质及多肽的导入效果在等电点以下时最佳,在等电点以上时次之,在等电点时的导入效果最差,所以多肽和蛋白质药物等电点一般应小于 4 或大于 7 更适宜做成离子导入透皮系统,只有这样才可以使它们在皮肤的生理等电点范围内保持带有一定的电荷。而对于那些等电点 4~7 之间的多肽药物来说,其进入皮肤深层真皮

的通透量会大大降低,但此类多肽经过适当的修饰改造后可获得高质荷比的类似物,从而达到良好的导入效果^[59]。

②超声导入技术。典型的超声药物导入系统由电源、控制系统、高频发生器等部分构成^[60]。在诊断和治疗中应用的超声频率1~10 MHz,强度0~4 W/cm²的条件下低分子量的药物如甾体和非甾体抗炎药物可以有效地进行透皮吸收,但对于多肽和蛋白质药物来说必须使用低频超声导入。如采用波强度125~225 mW/cm²的20 kHz超声发生器可以使胰岛素、干扰素和红细胞生成素等大分子药物的皮肤渗透增加到1000倍^[61]。

Encapsulation Systems公司的U-StipTM胰岛素释药系统,可发射各种强度和频率的超声波,促进透皮贴片内的药物释放。此系统采用可附于贴片的小而轻的电池驱动超声发生器,用于扩大皮肤的汗囊和毛囊孔,使大分子药物可以透皮释药。U-Stip可以个体化用药编程按给药方案释出处方剂量药物。该公司正在进行采用该释药系统释放胰岛素治疗I型和II型糖尿病的II期临床研究。

关于超声波促进透皮吸收的机制也不是十分清楚,有些人认为超声波作用于皮肤会以机械破坏的方式导致皮肤组织结构功能上的改变,形成有利于水溶性大分子转运的含水通道。超声导入法具有经皮肤吸收系统普遍具有的优点,和离子导入法相比,其药物渗透皮肤的深度更深。所以尽管超声波对人体有害,但采用合适的强度、频率和时间,即可安全有效地促进药物的经皮吸收。

③微针透皮给药技术。微针透皮是在一个很小的面积上(传统的透皮贴片的尺寸),同时覆盖数百根微针刺穿皮肤角质层(表皮上面的十几微米厚),允许药物通过这个重要的屏障实现对药物的导入^[62]。美国乔治亚技术大学的科研人员正在开发的可靶向皮肤特顶层的微小注射给药方法,结合了皮下注射器与透皮贴片新型双重给药方法。由数十至数百枚比人类头发还细的中空显微针组成1~2 cm²的透皮贴片,微针长度为100~1 000 μm,足以刺穿皮肤角质层,使微量级药物进入体内,但不刺激皮下较深组织内的神经,故不产生痛感。

美国Georgia Tech的MRP rausnitz研究组^[63,64]开发了一系列的微针,包括中空针和实心针,使用的材质包括单晶硅、玻璃、金属和高分子聚合物。实心微针阵列^[65]是采用激光切割不锈钢薄片形成针的形状,然后弯曲每根针与不锈钢薄片平面成90°制作而成。实心微针能够提高胰岛素的透皮渗透性并且使血中葡萄糖水平稳定下降达到80%。

微针技术的研究发展迅速,已从中空金属微针发展到热控制气泡泵结合的皮下硅微针,包括中空硅和聚硅微针。以色列Nanopass Technologies公司采用微电子机械系统(MEMS)技术开发用于无痛透皮给药和诊断的中空微针器具,由数组微针安装在薄片上的该类产品有NanoVat(薄片与药物储存相结合透皮给药疫苗)和Nano-Set(薄片与胰岛素微型泵相结合,用于无痛释放胰岛素)。美国Biovalve公司基于乔治亚州大学Prausnitz教授的研究成果,制备了直径为3~5 μm,长为150 μm的微针,可以调节大小,以适合终端皮下注射器或透皮给药器具的应用^[64]。

④喷射透皮给药技术。喷射透皮给药技术采用液体或粉末喷射手持器具,利用

氦气喷射将药物粉末或药液瞬时加速至 750 m/s, 以透过皮肤细胞进入体内。美国 320 万糖尿病患者, 大部分用注射器, 到 2006 年只有 6% 的胰岛素依赖型糖尿病患者使用喷射透皮给药。但是近十年来, 喷射透皮给药技术得到了很好的发展, 新型的无针头注射给药系统开发出来了^[66]。Parsippany 公司开发的 Mini-Ject 是一款轻巧便携的装置, 方便患者自行给药, 能够传递多种药物, 从小分子药物到大分子蛋白到疫苗等。Bioject 公司在美国上市了释放胰岛素的 Vitajet3 无针头系统, 但其更重要的一个产品是 Biojector 2000, 采用二氧化碳喷射驱动液体技术在皮下或肌肉水平释放药物, 针头为一次性使用。Pen Jet 公司开发的 Pen Jet 也是一款小巧实惠的单剂量喷射注射器, 能够在无针头的情况下进行皮下、真皮和肌肉注射, 剂量范围为 0.1 ~ 0.5 mL。

⑤射频微通道透皮给药技术。射频微通道透皮给药技术是将密集阵列的微电极放在皮肤上, 通过高频交流传输使每一微电极切除最接近微电极的皮肤细胞, 此过程仅几毫秒。该技术安全可靠, 毫秒间即可形成微通道, 并可控制通道的直径和深度, 不损伤皮下组织, 具有高效和可重复性。可以释放各种类型的药物, 不受分子大小、剂量等的影响。因其仅穿越皮肤表层, 因此不造成疼痛。并在皮肤上形成的微通道可以维持开放相对较长的时间 (可达 24 h), 因此有利于长时间维持有效血药浓度, 改善患者依从性。以色列 TransPharma Medical 公司正在研究以射频交流电切开约 100 μm 宽穿越皮肤角质层的水通道透皮释放甲状旁腺激素多肽片段。

此外还有电致孔导入技术, 这是一种新兴的促进透皮吸收技术, 虽然仍处在研究和开发的初级阶段, 但这种技术可以明显提高多肽和蛋白质药物的透皮^[66], 而且具有见效快、可以很好地控制药物释放及对皮肤刺激性小的优点^[67,68]。

参考文献

- [1] Brown L R. Commercial challenges of protein drug delivery [J]. Expert Opin Drug Deliv, 2005 (2): 29 - 42.
- [2] Ho R J Y, Gilbaldi M. Biotechnology and Biopharmaceuticals: Transforming Proteins and Genes into Drugs [J]. Wiley - IEEE, Hoboken, 2003: 339 - 374.
- [3] Lin C C, Metters A T. Hydrogels in controlled release formulations: network design and mathematical modeling [J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2006 (58): 1379 - 1408.
- [4] 催福德. 药剂学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 450 - 451.
- [5] Powell E M, Nguyen T, Baloian L J. Compendium of excipients for parenteral for formulations [J]. PDA J Parenter Sci Technol. 1998: 238 - 311.
- [6] Kaushik J K, Bhat R. Why is Trehalose an Exception Protein Stabilizer [J]. J Bio Chem, 2003 (29): 26456 - 26458.
- [7] O'Fagain C. Lyophilization of protein [J]. Methods Mol Biol, 2004 (244): 309 - 321.
- [8] Abuchowski A, Van Es T, Palczuk N C, et al. Alteration of immunological properties of bovine serum albumin by covalent attachment of polyethylene glycol [J]. J Biol Chem, 1977 (252): 35 - 78.
- [9] Francis G E, Fisher D, Delgado C, et al. Pegylation of cytokine and other therapeutic proteins and peptides [J]. Int J Hematol, 1998, 68 (1): 1 - 18.
- [10] Harris J M, Chess R B. Effect of pegylation on pharmaceuticals [J]. Nat Rev Drug Discov, 2003

- (3): 214 - 221.
- [11] Veronese F M. Peptide and protein PEGylation: a review of problems and solutions [J]. Biomaterials, 2001 (22): 405 - 417.
 - [12] Klibanov A L, Maruyama K, Torchilin V P, et al. Amphipathic polyethyleneglycols effectively prolong the circulation time of liposomes [J]. FEBS Lett, 1990 (1): 235 - 237.
 - [13] Gabizon A A, Barenholz Y, Bialer M. Prolongation of the circulation time of doxorubicin encapsulated in liposomes containing a polyethylene glycol - derivatized phospholipid: pharmacokinetic studies in rodents and dogs [J]. Pharmacological Research, 1993 (5): 703 - 708.
 - [14] Gabizon A R, Catane B, Uziely B, et al. Prolonged circulation time and enhanced accumulation in malignant exudates of doxorubicin encapsulated in polyethylene - glycol coated liposomes [J]. Cancer Res, 1994 (4): 987 - 992.
 - [15] Bayer R J, Ostergaard H, Kalo M S, et al. Development of long - acting FVIIa derivatives by glycopegylation TM [J]. J Thromb Haemost, 2007 (5): 16.
 - [16] Sorensen B B, Karpf D, Groth A V, et al. Effect of glycopegylation on the pharmacokinetic properties of FVIIa [J]. J Thromb Haemost, 2007 (5): 12.
 - [17] Baru M, Carmel - Goren L, Barenholz Y, et al. FactorVIII efficient and specific non - covalent binding to PEGylated liposomes enables prolongation of its circulation time and haemostatic efficacy [J]. Thromb Haemost, 2005 (93): 1061 - 1068.
 - [18] Rivka Y, Lea C G, Inbal D, et al. Binding of proteins to PEGylated liposomes and improvement of G - CSF efficacy in mobilization of hematopoietic stem cells [J]. J. Control. Release, 2009 (135): 44 - 50.
 - [19] Jin T, Pennefather P, Lee P I. Lipobeads: A hydrogel anchored lipid vesicle system [J]. FEBS Letters, 1996 (39): 70 - 74.
 - [20] Kim S. Liposomes as Carriers of Cancer - Chemotherapy Current Status and Future - Prospects [J]. Drugs, 1993 (6): 618 - 638.
 - [21] Bergers J J, Denoter W, Dullens H F J, et al. Interleukin - 2 - Containing Liposomes - Interaction of Interleukin - 2 with Liposomal Bilayers and Preliminary Studies on Application in Cancer Vaccines [J]. Pharmaceut Res, 1993 (10): 1715 - 1721.
 - [22] Crommelin D J A, Daemen T, Scherpho G L, et al. Liposomes: Vehicles for the targeted and controlled delivery of peptides and proteins [J]. J Control Release, 1997 (46): 165 - 175.
 - [23] Meyenburg S, Lilie H, Panzner S. Fibrin encapsulated liposomes as protein delivery system: Studies on the in vitro release behavior [J]. J Control Release, 2000 (69): 159 - 168.
 - [24] 平其能. 蛋白质药物新剂型的研究和进展 [J]. 食品与药品, 2005 (7): 1 - 5.
 - [25] 高申. 现代药物新型新技术 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2002.
 - [26] Cho K Y, Choi S H, Kim C H, et al. Protein release microparticles based on the blend of poly (D L - lactic - co - glycolic acid) and oligo - ethylene glycol grafted poly (L - lactide) [J]. J. Control. Release, 2001 (76): 275 - 284.
 - [27] Crotts G T, Park G. Stability and release of bovine serum albumine encapsulated within poly (D L - lactide - co - glycolide) microparticles [J]. J. Control. Release, 1997 (44): 123 - 134.
 - [28] Tse G, Lankschtein D B, Shefer A, et al. Thermodynamic prediction of active ingredient loading in polymeric microparticles [J]. J. Control. Release, 1999 (60): 77 - 100.
 - [29] Singh M, Shirley B, Bajwa K, et al. Controlled release of recombinant insulin - like growth factor

- from a novel formulation of polylactide - co - glycolide microparticles [J]. J. Control. Release, 2001 (70): 21 - 28.
- [30] Rafati H, Coombes A G A, Adler J J, et al. Protein - loaded poly (DL - lactide - co - glycolide) microparticles for oral administration: Formulation structural and release characteristics [J]. J. Control. Release, 1997 (43): 89 - 102.
- [31] Panyam J, Dali M A, Sahoo S K, et al. Polymer degradation and in vitro release of a model protein from poly (DL - lactide - co - glycolide) nano - and microparticles [J]. J. Control. Release, 2003 (92): 173 - 187.
- [32] 王襄平, 梅兴国. 乳酸/羟基乙酸共聚物的分子量及其单体组成比例对利培酮微球性质的影响 [J]. 中国药房, 2007 (1): 38 - 41.
- [33] Kenneth D, Hinds K M, Campbella K M, et al. PEGylated insulin in PLGA microparticles in vivo and in vitro analysis [J]. J of Control. Release, 2005 (104): 447 - 460.
- [34] 冯岚, 郭建新, 平其能, 等. 亮丙瑞林缓释微球的研究 [J]. 中国新药与临床杂志, 2004 (10): 680 - 68.
- [35] Zhou S B, Deng X M, Li X H. Investigation on a novel corecoated microspheres protein delivery system [J]. J. Control. Release, 2001 (75): 27 - 36.
- [36] Lampercht A, Yamamoto H, Takeuchi H, et al. pH - sensitive microsphere delivery increases oral bioavailability of calcitonin [J]. J of Control Release, 2004 (98): 1 - 9.
- [37] Jeffrey C, Johnson O, Putney S, et al. Recombinant human growth hormone poly (lactic - co - glycolic acid) microsphere formulation development [J]. Adv Drug Deliv Rev, 1997 (28): 71 - 84.
- [38] Coppi G, Lannuccelli V, Bernabel M T, et al. Alginate microparticles for enzyme peroral administration [J]. Int J of Pharm, 2002 (242): 263 - 266.
- [39] Lowman A M, Morishita M, Kajita M, et al. Oral delivery of insulin using pH - responsive complexation gels [J]. J Pharm Sci, 1999 (88): 933 - 937.
- [40] Bromberg L E, Ron E S. Temperature - responsive gels and thermogelling polymer matrices for protein and peptide delivery [J]. Adv Drug Deliver Rev, 1998 (31): 197 - 221.
- [41] Qiu Y, Park K. Environment - sensitive hydrogels for drug delivery [J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2001 (53): 321 - 339.
- [42] Bagger M, Nielsen H. Beehgaard nasal bioavailability of peptide T in rabbits: absorption enhancement by sodium glycocholate and glycofurol [J]. J Pharm Sc, 2001 (1): 69 - 74.
- [43] Zhang Y, Jiang X G, Yao J. Lowering of sodium deoxycholate - induced nasal ciliotoxicity with cyclodextrins [J]. Acta Pharmacol Sin, 2001 (11): 1045 - 1050.
- [44] 陈颖, 刘娟, 汪国华. 鼻腔给药系统药用辅料研究进展 [J]. 医药导报, 2005 (4): 312 - 314.
- [45] Illum L, Farraj N, Critchley H, et al. Chitosan as a novel nasal delivery system for peptide drug [J]. Pharmaceutical Research, 1994 (11): 1186 - 1189.
- [46] Lee V H L, Yamamoto A. Penetration and enzymatic barrier to peptide and peptide and protein absorption [J]. Adv Drug Deliv Rev, 1990 (4): 171.
- [47] 平其能. 现代药剂学 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1998: 195 - 198.
- [48] Owens D R. New horizons - alternative routes for insulin therapy [J]. Nat Rev Drug Discov, 2002 (7): 529 - 540.

- [49] Lenzer J. Inhaled insulin is approved in Europe and United States [J]. *BMJ*, 2006 (7537): 321.
- [50] Strack T R. Inhaled human insulin [J]. *Drugs Today*, 2006 (4): 207.
- [51] Barnett A H. Exubera inhaled insulin: a review [J]. *Int J Clin Pract*, 2004 (58): 394 – 401.
- [52] Hoffman A, Ziv E. Pharmacokinetic considerations of new insulin formulations and routes of administration [J]. *Clinical Pharmacokinetics*, 1997 (33): 285 – 301.
- [53] Gwinup G, Elias A N, Domurat E S. Insulin and C – peptide levels following oral administration of insulin in intestinal – enzyme protected capsules [J]. *Gen Pharm*, 1991 (22): 243 – 246.
- [54] Lee Y H, Sinko P J. Oral delivery of salmon calcitonin [J]. *Adv drug deliv Rev*, 2000 (3): 225 – 238.
- [55] Clement S, Still J G, Kosutic G, et al. Effect of timing of a standardized meal on the absorption of a single oral dose of hexyl – insulin monoconjugate (HIM2) in patients with type I diabetes [J]. *Diabetes Tech Ther*, 2002 (4): 459 – 466.
- [56] Clement S, Dandona P, still J G, et al. Division of Endocrinology and Metabolism [J]. *Metabolism*, 2004 (53): 54 – 58.
- [57] Cullander C, Guy R H. What are the pathways of iontophoretic current flow through mammalian skin [J]. *Adv Drug Del Rev*, 1992 (9): 119 – 135.
- [58] Dath B D, White H S, Scott E R. Visualization and analysis of electroosmotic flow in hairless mouse skin [J]. *Pharm Res*, 2000 (17): 417 – 475.
- [59] Pallai O, Nair V, Poduri R, et al. Transdermal iontophoresis Part II: Peptide and protein delivery [J]. *Clin Pharmacol*, 1999 (21): 229 – 240.
- [60] Lankjaer L, Brange J, Grodsky G M, et al. Iontophoresis of monomeric insulin analogues in vitro: Effects of insulin charge and skin pretreatment [J]. *J of Control Release*, 1998 (51): 47 – 56.
- [61] Ogden J E. Sonophoretic drug delivery system [P]. US 5656016.
- [62] 黄胜炎. 主动透皮释药技术开发 [J]. *世界临床药物*, 2007 (28): 180 – 185.
- [63] Henry S, Mcallister D, Allen M, et al. Microfabricated microneedles: a novel approach to transdermal drug delivery [J]. *J Pharm Sci*, 1998 (8): 922 – 925.
- [64] Prausnitz M R. Microneedles for transdermal drug delivery [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2004 (5): 581 – 587.
- [65] McAlister D V, Wang P M, Davis S P, et al. Microfabricated needles for transdermal delivery of macromolecules and nanoparticles: Fabrication methods and Transport studies [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003 (100): 13755 – 13760.
- [66] Five New Needle – Free Drug Delivery Devices. [2007 – 09 – 17]. <http://www.onemedplace.com/blog/archives/362>.
- [67] Martanto W, Davis S P, et al. Transdermal Delivery of Insulin Using Microneedles in Vivo [J]. *Pharm. Res*, 2004 (21): 947 – 952.
- [68] Chang S, Hofmann G A, Zhang L. The effect of electroporation on iontophoretic transdermal delivery of calcium regulating hormones [J]. *J of Control Release*, 1998 (50): 225 – 235.
- [69] Prausnitz M R. A practical assessment of transdermal drug delivery by skin electroporation [J]. *Adv Drug Del Rev*, 1999 (35): 61 – 76.
- [70] Vanbever R, Preat V. In vivo efficacy and safety of skin electroporation [J]. *Adv Drug Del Rev*, 1999 (35): 77 – 88.

第六章 药用高分子材料

在药物制剂领域中,高分子材料的应用具有悠久的历史,人类从远古时代在谋求生存和与疾病斗争的过程中,广泛地利用天然高分子材料,如淀粉、胶质等。高分子材料应用相当广泛,药用辅料、药剂包装、医疗材料、医疗仪器等各方面都大量使用高分子材料。近几年来,随着许多新性能高分子材料的涌现及医药制剂工业的迅猛发展,高分子材料越来越广泛地应用于新药的研究与开发中,发挥了十分重要的作用。改性的天然高分子材料或合成的高分子材料,在药物制剂中作为辅料可改善药物的稳定性,较好的成型性,为新型药剂提供所需智能(例如对 pH、温度和酶的敏感性)或可以改善、提高对药物的渗透性、成膜性、黏着性、润湿性、溶解性及生物相容性、生物可降解性等。在现代的药物传递系统中,高分子材料成了药物在传递、渗透过程中的不可分割的组成部分。高分子材料在医药中的价值不可小觑。

第一节 药用高分子材料概论

一、药用高分子材料概念^[1]

药用高分子材料学(Polymer Science in Pharmaceutics)是研究各种药用高分子材料的合成、结构和性能,该学科吸收高分子物理、高分子化学和聚合物工艺学的有关内容,为新剂型设计和新剂型处方提供新型高分子材料和新方法。在聚合物原理和特性以及各种人工合成的和天然的功能性聚合物的结构、性能和应用等方面,对创造新剂型、新制剂和提高制剂质量起着重要的支持和推动作用。

药用高分子材料指的是药品生产和制造加工过程中使用的高分子材料,药用高分子材料包括作为药物制剂成分之一的药用辅料与高分子药物,以及与药物接触的包装储运高分子材料。药用高分子辅料指的是能将药理活性物质制备成药物制剂的各种高聚物。辅料有可能改变药物从制剂中释放的速度或稳定性,从而影响药物的生物利用度。药物制剂必须安全、有效、稳定,因此,药用高分子材料无论是作为药物制剂的成分之一还是作为包装储运材料,同样要求是安全、有效、稳定的。

二、药用高分子材料的基本要求^[1,2]

材料是现代药剂的基础,没有新型的材料就没有理想的新型制剂,药用高分子

材料在现代药剂中扮演了重要的角色。其主要作用如下：

- ①增强和扩大主药的作用和疗效，降低毒副作用；
- ②改变药物的给药途径并提高生物利用度；
- ③调控主药的体内外释药速率和释药规律；
- ④可逆地改变人体局部生理某些机能，以利于药物吸收；
- ⑤改变主药的理化性质，使之更适合于药物发挥；
- ⑥增强主药的稳定性，掩盖主药不良味道及减小刺激性，提高病人的适应性；
- ⑦在药物制剂制备过程中有利于成品的加工；
- ⑧有助于从外观鉴别药物制剂；
- ⑨增强药物制剂在储藏或应用时的安全性和有效性。

高分子材料会进入人体循环系统或埋入人体组织中，故药用高分子材料要求无毒，无溶血作用，有一定的生物相容性，还要求有一定的理化性质。通常必须具备如下条件：

- ①高分子材料纯度要高，其中不包含催化剂、添加剂以及单体等杂质，其本身及其分解产物应当无毒，不会引起炎症和组织变异反应，无致癌性；
- ②在进入血液循环系统时不会引起血栓；
- ③具有一定的水溶性，能够在体内水解出具有药理活性的基团；
- ④能够有效到达病灶处，并积累一定浓度；
- ⑤材料能够经受消毒处理；
- ⑥作为载体材料必须具备适宜的载药能力和载药后适宜的释药能力；
- ⑦口服药剂的高分子残基能通过排泄系统排出体外，要求材料具有生物可降解性；通过导入方式进入循环系统的药物，则要求聚合物主链易于降解，使之有可能排出体外或被人体吸收，对于体内包埋药物的载体还应有一定的持久性。

用途不同对材料的要求不同。例如微囊技术就是天然的或合成的高分子材料作为囊膜壁壳将固态药物或液态药物包裹而成药库型微囊，提高药物的安全性、低毒性，提高生物利用度，甚至缓控释的特点。这要求作为囊材的高分子材料具有如下特点：①性质稳定；②有适宜的释放速度，或者还有定位释药的性能；③无毒、无刺激；④能与药物配伍不影响药物的药理作用及含量测定；⑤有一定的强度和可塑性，能完全包封囊芯物；⑥具有符合要求的黏度、穿透性、亲水性、溶解性、降解性、吸湿性以及生物相容性等特性。

三、药用高分子材料的分类^[2-5]

按照来源可分为：天然的高分子材料、合成的高分子材料和半合成的高分子材料。天然的如淀粉、纤维素、海藻酸、蛋白质和胶质等；合成的高分子材料有聚丙烯酸酯、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙烯醇、聚乙烯、聚乳酸、聚苯乙烯、聚碳酸酯、聚氯乙烯、聚丙烯等，此外还有无机高分子材料，如羟基磷酸钙及硅酸钙等；半合成的高分子材料如羧甲基淀粉、羧甲基纤维素、邻苯二甲酸醋酸纤维素、羟丙基纤维素、丁酸醋酸纤维素、琥珀酸醋酸纤维素等。

根据药用高分子材料的结构特点及用途，主要可以分为有药理活性的高分子药

物、药物载体用高分子材料、高分子薄膜包衣及控释膜材料、常规医药包装用高分子材料等。其中前三种材料均参与构成药剂，即形成高分子药物制剂，由此在充分地发挥药效的同时，尽可能避免或减低副作用。有药理活性的高分子药物有激素、肝素、葡萄糖、酶制剂以及聚乙烯吡咯烷酮等合成药理活性高分子。药物载体高分子材料有羟丙甲纤维素、聚乙二醇、聚维酮等，利用合成高分子材料与自然界已存在的多肽、蛋白质结合形成共轭或共聚物，进而形成高分子载体药物。目前，在药物制剂中主要以纤维素、动物蛋白、水溶性高分子等用作高分子薄膜包衣及控释膜材料，如用作胶囊材料、脂质体载体材料、缓释控释材料、前体药物材料、固体分散体材料等。通常药剂的剂型不同或要求不同，所采用的材料及其性能也不同。用于药剂包装的瓶、罐、桶、管、袋等常使用塑料，大多为聚乙烯、聚丙烯、聚苯乙烯、聚氯乙烯、聚酰胺、聚碳酸酯等，可制成各种形状及大小的容器，用于包装片剂、散剂、胶囊剂、软膏剂等。

按照种属分：无机高分子材料、有机高分子材料、合金高分子材料、微生物合成材料、生物技术合成高分子材料。

按照材料的功能可分为：生物可降解材料、药用水凝胶材料、黏膜黏附性材料、两亲材料、离子聚合物及其复合物、惰性材料等。

第二节 药理活性高分子材料

具有药理活性的高分子材料，它们本身具有药理作用，断链后即失去药性，是真正意义上的高分子药物^[6]。它们本身具有与人体生理组织作用的物理、化学性质，从而能克服肌体的功能障碍，治愈人体组织的病变，促进人体的康复和预防人体的疾病等。实际上，高分子药物的应用已有悠久的历史，如激素、酶制剂、肝素、葡萄糖、驴皮胶等都是著名的天然药理活性高分子。合成药理活性高分子如聚乙烯吡咯烷酮和聚4-乙烯吡啶-N-氧撑是较早研究的代用血浆。有些阳离子或阴离子聚合物也具有良好的药理活性。例如主链型聚阳离子季铵盐具有遮断副交感神经、松弛骨骼肌作用，是治疗痉挛性疾病的有效药物；阴离子聚合物二乙烯基醚与顺丁烯二酐的吡喃共聚物是一种干扰素诱发剂，具有广泛的生物活性，不仅能抑制各种病毒的繁殖，具有持久的抗肿瘤活性，而且还有良好的抗凝血性。人工合成的药理活性高分子的研究、开发和应用的史不长，对许多高分子药物的药理作用也尚不十分清楚。但是，由于生物体本身就是由高分子化合物构成的，因此人们相信，作为药物的高分子化合物，应该有可能比低分子药物更易为生物体所接受^[1]。

一、天然的高分子药物

1. 多糖及其衍生物

(1) 多糖。多糖是指由多个单糖基以糖苷键相连而形成的多聚物。有些多糖的长链是线形，另一些多糖含有支链。各种多糖的差别在于所含单糖单位的性质、链的

长度和分支的程度。多糖又称聚糖，可以分为两类。只含有一种单糖单位的多糖，如淀粉叫做同多糖；含有两种或更多种单糖单位的多糖叫做杂多糖，如透明质酸。多糖一般没有精确的分子量，其中的单糖单位可因细胞的代谢需要增加或减少。多糖没有还原性，无甜味，大多不溶于水，有的与水形成胶体溶液。多糖在自然界分布很广，其功能是多种多样的。有些多糖是单糖的贮存形式；许多多糖是单细胞微生物、高等植物细胞壁和动物细胞外部表面的结构单元；另一些多糖是脊椎动物结缔组织和节肢动物外骨骼的组分。结构多糖有保护、支撑的作用。

多糖的用途在生命科学研究领域里一直是研究的热点。现代医学细胞生物学及分子生物学的发展，人们认识到免疫系统的紊乱不仅会产生多种疾病，如肿瘤、高血压、糖尿病甚至精神病的发生均有密切关系。20 世纪 80 年代以来，科学家们对植物多糖，特别是对中药中的多糖研究产生了浓厚的兴趣，至今已相继报导了 100 多种具有免疫调节、抗肿瘤、抗病毒、抗感染和降血糖等多种生理活性的中药多糖，有的已在临床用于肿瘤、肝炎、心血管等疾病的辅助治疗和康复，其中最重要的药理作用当推免疫促进作用。马维坤^[7]等对半枝莲多糖进行免疫活性的初步研究发现在实验浓度范围内，半枝莲多糖对免疫抑制小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能未见明显增强效果；大剂量（300 mg/kg）半枝莲多糖能显著提高血清溶血素抗体水平，说明大剂量的半枝莲多糖具有一定的免疫增强作用。已有的大量药理和临床应用表明，这些功能确切的多糖，其原生药大多属于补益类中药，近来的药理研究和临床应用均表明其具有显著的免疫增强作用。而其有效成分为多糖或糖复合物，包括糖肽蛋白多糖等。不同的糖肽其免疫活性的表现形式也不相同，有的表现为细胞免疫功能强，有的表现为体液免疫功能强，而有的还具有显著的抗脂质过氧化作用，抑制 LDL（低密度脂蛋白）的氧化。这些糖肽类化合物的结构分析表明，它们的共同特点是多糖含量高，有的可高达 90，多糖结构有其共性，即均以 Ara 为末端，但也各具个性，有的主链是 1, 6 连结，有的是 1, 4 连结，有的还结合色素。药理研究结果还表明这些糖肽类化合物中不但整体分子具有免疫活性，而且分子中的多糖链也具有免疫活性，有的比整体分子的作用还要强。多糖还具有抗肿瘤的作用。人们对当前癌症化疗药物不满意，虽然化学家们合成了无数个对癌细胞有相当强杀伤作用的化合物，但在杀死癌细胞的同时也同样损伤正常细胞，临床上表现出很多副作用，特别是化疗药物对患者免疫系统造成损害，因此多糖类免疫调节剂在肿瘤的治疗上很有吸引力，尤其是它可与一些抗癌药如 5-FU、环磷酰胺等合用，可恢复由化疗所导致的免疫功能低下，增强抗肿瘤的作用。灵芝多糖^[8]是葡萄糖和半乳糖为主的杂多糖，糖苷链连接方式以 β -1, 4-苷键为主，少许 α -1, 6-苷键，相对分子质量在 1×10^4 左右，具有增强免疫和抗肿瘤作用。如香菇多糖和云芝多糖也有具有强烈的抗肿瘤活性。近十多年来，化学家们已从扶正固本等补益类中药中得到了多种多糖类化合物，不但能促进机体的免疫功能，而且证实了有些多糖确实有抗衰老和延寿的作用。中药免疫调节剂已经成为研究热点。

甲壳素^[5]是一些无脊椎动物外骨骼的主要组分，是一种氨基多糖。甲壳素因氢键类型不同具有 α -、 β -、 γ -甲壳素三种结晶。甲壳素分子链上有一定的游离

氨基而成弱碱性,能结合人体胃液中的酸成为聚电解质而具有减肥作用。脱乙基甲壳素因甲壳素上的氨基可与 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ni^{2+} 等过渡金属离子形成配合物。因此,脱乙基甲壳素壳作为人体内各种微量元素的调节剂,可作为重金属离子的解毒剂。

多糖具有独特的药理活性,加上它的低毒性和生物降解性及高稳定性,在药用辅料里也备受青睐。特别是药物新制剂和新剂型的发展以及新的给药系统的出现,多糖的研究更加广泛。Scleroglucan 是一种天然多糖,为真菌产物,具有独特的药理特性,研究发现将 scleroglucan 作为药用辅料,具有很好的缓控释作用,可用于缓释片和眼用制剂^[9]。多糖还可以用于靶向给药。结肠靶向给药,有可能提供生物活性剂,用于治疗各种结肠疾病,并提供蛋白质和多肽到结肠癌供全身吸收。结肠靶向给药需要特有的载体与药物结合形成前药,然后在结肠部位载体降解释药。多糖的低毒性和生物降解性及高稳定性使之成为理想的药物辅料。多种多糖已经被用于结肠靶向给药的释药研究,这些多糖包括果胶、瓜尔豆胶、直链淀粉、菊糖、葡聚糖、壳聚糖和硫酸软骨素^[10]。

(2) 多糖衍生物。

①肝素。肝素^[1,5]是天然抗凝剂,是一种含有硫酸基的酸性黏多糖。其分子具有6糖或8糖重复单位组成的线状链状结构。肝素的主要双糖单位是三硫酸双糖。三硫酸双糖和二硫酸双糖以2:1的比例在分子中交替联结。肝素及其钠盐为白色或者灰白色粉末,无臭无味,有吸湿性,易溶于水,不溶于乙醇、丙酮等有机溶剂,其游离酸在乙醚中有一定的溶解性。肝素结构中的N-硫酸基与抗凝作用密切相关,如遭破坏抗凝作用降低。分子中游离羟基被酯化,抗凝活性也下降。此外肝素的抗凝作用和葡萄糖醛酸的含量有关,含量越高活性越高。硫酸化程度较高的肝素具有较高的抗脂和抗凝活性。高度乙酰化的肝素,抗凝活性降低甚至完全消失,但降脂活性不变。小分子量的肝素具有较低的抗凝活性和较高的抗血栓形成活性。小分子肝素已经用于临床治疗恶性肿瘤并发DIC^[11]。

②多糖的无机酸酯。壳聚糖硫酸酯、硫酸软壳素和纤维素硫酸酯等^[11]的多糖硫酸酯都有良好的生物活性和抗病毒的功效。这些多糖的无机酸酯之所以具有生理活性是因为硫酸根等聚阴离子具有羟负电荷,能与病毒分子结合而阻断病毒对细胞的吸附,从而抑制细胞的反转录;能与受体细胞表面的正电荷分子结合,干扰病毒对受体细胞的吸附,消除病毒引起的细胞病变。纤维素硫酸酯具有抗HIV的作用,与肝素的结构相似的淀粉硫酸酯和右旋糖酐硫酸酯具有降低血液中胆固醇和防止动脉僵化、抗凝血、抗脂血清、抗炎症等功能,可做血浆的代用品和溃疡的治疗剂。

2. 蛋白质与多肽类高分子药物^[11]

(1) 酶类药物。酶是一种存在于生物体内的天然催化剂,生物体内所有的反应都离不开酶的催化作用。酶是生命的动力,生命不可无酶。几乎所有的酶都是蛋白质。有些酶还含有其他成分,叫做辅酶。

①超氧化歧化酶(SOD)。SOD属于金属酶,按照金属离子的不同可分为Cu-SOD、Zn-SOD、Mn-SOD和Fe-SOD三种。性质各不相同,后两种差别较小。SOD对热、pH稳定。SOD的催化活性与金属离子有关,除Zn外,Mn、Fe、Cu对酶

的活性是必需的。SOD 是一种催化超氧化阴离子歧化反应的金属酶，他可对抗脑或者心脏由于缺血造成的再灌注损伤。但是该酶具有半衰期短、异体蛋白免疫原性和患者不易吸收利用等特点，使其利用受到限制。通过 PEG 的共价修饰可以解决这一问题。经过适当的修饰后，SOD 的抗炎活性增强，抗原性降低，耐温、耐酸和耐碱性性质均明显提高。

②细胞色素 c。细胞色素 c 是含铁卟啉的结合蛋白，在生物氧化过程中起传递电子的作用。存在于自然界中的一切生物中，其含量与组织的活动强度成正比。以哺乳动物的心脏、鸟类的胸肌和昆虫的翼肌含量最多，肝、肾次之，皮肤和肺中最少。可分为 a、b、c 等几类，每一类又包括若干种。细胞色素 c 因以赖氨酸为主的碱性氨基酸居多而具有碱性。细胞色素 c 对干燥、热和酸都较稳定，它在细胞中以氧化型和还原型两种状态存在。临床上主要用于组织缺氧的急救和辅助用药，治疗脑缺氧、心缺氧等其他因缺氧引起的一切症状。

酶是有机体代谢的催化剂。生命机体不可或缺。其他的酶如尿激酶作用于精氨酸-缬氨酸键使纤溶酶原转为纤溶酶。胃蛋白酶临床上主要用于因食蛋白性食物过多引起的消化不良及病后恢复期消化机能减退等。此外还有溶菌酶、L-天冬氨酰胺酶、激肽释放酶、弹性蛋白酶。

(2) 蛋白质类药物。

①胰岛素。胰岛素是脊椎动物胰脏 β 细胞分泌的一种多肽类激素，具有降血糖作用。胰岛素由 51 个氨基酸组成，有 A、B 两条链，两链之间由 2 个二硫键相连，在 A 链本身还有一个二硫键。不同种属动物的胰岛素结构大致相同，主要差别在于 A 链二硫桥之间的第 8、第 9、第 10 上的三个氨基酸及 B 链 C 端的一个氨基酸上，它们随种属而异。但是它们的生理功能是相同的。猪胰岛素和人胰岛素最相似，我国临床上都采用以猪胰脏为来源的胰岛素。

②干扰素。干扰素是指由干扰素诱生剂诱导有关生物细胞所产生的一类高活性、多功能的诱生蛋白。根据抗原性不同可以分为 α 、 β 、 γ 三型，每一型又分若干亚型。三种干扰素的理化性质和生物学性质不尽相同。干扰素具有沉降率低、不能透析、可被胃蛋白、胰蛋白酶和木瓜蛋白酶破坏等特点。 α_2 -干扰素已为美国 FDA 批准用于治疗乙型肝炎和丙型肝炎以及白血病和艾滋病患者的卡波济肉瘤。适当的化学修饰将影响干扰素的生物活性。

诱发生物体的干扰素，要比单纯使用外来药物更能抵抗疾病的产生和发展。天然的多糖类化合物对激发干扰素有良好作用。合成的阴离子聚合物就是一类能诱发生产生干扰素、激发产生广谱免疫活性的重要物质，具有免疫、抗病毒、抗肿瘤的作用。在阴离子聚合物中，最引人注目的是由二乙烯基醚与顺丁烯二酸酐共聚所得的吡喃共聚物。吡喃共聚物是一种干扰素诱生剂，相对分子质量 17 000 ~ 450 000，具有广泛的生物活性。它能直接抑制多种病毒的繁殖，有持续的抗肿瘤活性，可用于治疗白血病、肉瘤、泡状口腔炎症、脑炎等。它还有良好的抗血凝性，有促进肝中铍排除的功能。它的抗肿瘤活性与它能活化巨噬细胞有关。吡喃共聚物的毒性比其他许多阴离子聚合物低得多，但用于临床试验仍然偏高，因此，作为抗癌药物，仍

有许多研究工作要做。顺丁烯二酸酐与其他单体合成的各种共聚物的药理活性差别很大,如顺丁烯二酸酐与苯乙烯的共聚物完全无吡喃共聚物的功能。分子量的影响也很大,如上述吡喃共聚物当相对分子质量低于5万时,药理活性消失。吡喃共聚物诱发干扰素的活性不如天然的多糖类化合物,但长效性和持续性则好得多。

二、合成高分子药物

合成高分子药物的出现,不仅改变了传统药物的性能,而且大大丰富了药品的种类和类型,为攻克那些严重威胁人类健康的疾病,提供了新的可能。

1. 聚乙烯吡咯烷酮(PVP)及其改造的药物

PVP具有优良的生理特性和生物相容性,且PVP分子结构类似简单的蛋白质模型,对人体不具有抗原性,也不抑制抗体的生成,对人体没有致癌作用。水溶性的PVP对水和离子都有稳定作用,不透过毛细血管,使血液维持适当的渗透压和黏度,可作血浆的代用品,且是较早的血浆代用品。主要作用为提高血浆胶体渗透压、增加血容量。用于外伤性急出血、损伤及其他原因引起的血容量减少。

PVP具有较好的可结合性,可与碘、普鲁卡因、丁卡因、氯霉素等形成可溶性复合物,有效延长药物作用时间,效果取决于复合的比例。PVP的用量越大,复合物在水中的溶解度越高。碘是最常用的外用杀菌剂,但是由于它的刺激性和毒性,不太受欢迎。但是和PVP形成配合物后,就有局部刺激性小、安全性高、放出碘比较缓慢的特点。另外,PVP挂接 I_{131} 可用于低白球血症的诊断。

2. 聚乙烯醇与氨基酸接枝共聚物^[12]

临床上住院病人一般都存在着蛋白质、热卡缺乏性营养不足,需要及时对病人补充营养,其中蛋白质的补充是通过直接输入氨基酸来实现的。虽然20种氨基酸是人体必备的,但根据不同病因及体质的人群,所需种类和数量各不相同,而严格的临床对照研究表明,高氨基酸的摄入显著增加了机体的代谢负荷,因此氨基酸浓度不宜过高。将氨基酸与高分子材料聚合不但可以根据临床需要有针对性补充缺乏的氨基酸,同时也不至于一次性药物浓度过高,引起氨基酸中毒。如徐衡等合成了聚乙烯醇与甘氨酸、丙氨酸的共聚物。

3. 含药端基聚乙二醇(PEG)^[13]

PEG是一种用途极为广泛的聚醚高分子化合物,有着优良的物理、化学性质和优异的生物相容性,因此,它在医学上的应用受到了广泛的重视,适宜作高分子药物的载体。由于烟酸、布洛芬、酮洛芬、萘普生这类具有羧基的药物,酸性较强,口服给药时,常对胃肠道产生刺激,另外它们在用于治疗风湿、痛风等慢性病时,需长期给药,而上述药物的半衰期较短,为维持一定的血药浓度,须频繁给药,这样就会导致明显的峰谷效应。沈良骏等把这类具有羧基的药物以酯键连接到PEG大单体上,通过酯键的生成而减轻其刺激作用,同时又通过酯键的水解达到药物的缓释,由于合成的大单体另一端仍有可供进一步反应的双键,可以和其他单体共聚得到结构明确的高分子药物。

4. 聚二甲基硅氧烷

低分子量的聚二甲基硅氧烷具有低的表面张力,物理、化学性质稳定,具有很

好的消泡作用，故广泛用作工业消泡剂。由于它无毒、在人体内不会引起生理反应，故亦被用作医用消泡剂，用于急性肺水肿和肠胃胀气的治疗，国内外都有应用。国外有研究将聚二甲硅氧烷用于制成芯片载体脉冲控释生物分子药物和各种化学用品^[14]。

5. 聚乙烯 N-氧吡啶

聚乙烯 N-氧吡啶能溶于水中。注射其水溶液或吸入其喷雾剂，对于治疗因大量吸入含游离二氧化硅粉尘所引起的急性和慢性矽肺病有较好效果，并有较好的预防效果。研究表明，只有当聚乙烯 N-氧吡啶的分子量大于 3 万时才有较好的药理活性，其低聚物以及其低分子模型化合物异丙基 N-氧吡啶却完全没有药理活性。这可能是由于高分子量的聚乙烯 N-氧吡啶更容易吸附在进入人体的粉尘上，避免了二氧化硅与细胞成分的直接接触，从而起到治疗和预防矽肺病的作用。

6. 聚氨基酸

不少聚氨基酸具有良好的抗菌活性，但其相应的低分子氨基酸却并无药理活性。例如 2.5 $\mu\text{g/mL}$ 的聚 L-赖氨酸可以抑制 E. Coli 菌（大肠杆菌），但 L-赖氨酸却无此药理活性，赖氨酸的二聚体的浓度要高至聚 L-赖氨酸的 180 倍才显示出相同的效果。对 S. Aureus（金黄色葡萄球菌）的抑制能力基本上也遵循此规律。

目前，药理活性高分子药物的研究工作主要从下面三个方面展开：

- ① 对已经用于临床的高分子药物，努力搞清其药理作用。
- ② 根据已有低分子药物的功能，设计既保留功能，又克服副作用的高分子药物。
- ③ 开发新功能的药理活性高分子药物。

第三节 天然高分子材料

来自动植物的天然高分子材料（如淀粉、多糖、蛋白质等）在很早就作为不可缺少的黏合剂、赋形剂、乳化剂等广泛地应用于传统的药物制剂中。随着现代制剂工业的发展，药物新剂型、新制剂的不断出现，原始的高分子的性质已经不适应制剂的许多范围。因此有必要根据其结构和性质进行物理、化学或生物的改性加工处理。经改性的天然高分子材料具有更好的渗透性、成膜性、黏着性，在药物制剂中作为辅料不仅可改善药物的稳定性及成型性，还可为新型药剂提供特定智能（如对温度和酶敏感），或改善、提高药物的生物相容性和生物降解性，而日益显示出它在医药领域中应用的潜力，例如纤维素的改性产物微晶纤维素、羧甲基纤维素、羟丙甲纤维素、邻苯二甲酸醋酸纤维素等。本节主要介绍几种天然高分子材料及其衍生物。

一、壳聚糖及其衍生物

壳聚糖是由甲壳素脱乙酰化后制得的一种天然聚阳离子多糖，可溶于酸或酸性水溶液，无毒，无抗原性，在体内能被溶菌酶等酶解，具有优良的生物降解性和成膜性，在体内可溶胀成水凝胶。壳聚糖具有黏性，根据黏性，可分为高黏度、中黏

度和低黏度三种。影响壳聚糖黏度的因素有很多,如脱乙酰化、分子量、溶液浓度等。1%的壳聚糖的黏度在 0.1 ~ 1.0 Pa·s 不等。壳聚糖游离氨基的邻位为羟基,有螯合二价金属离子的作用,并呈现各种颜色,与铜离子的螯合作用最强,其次为锌、钴、铁和锰等。壳聚糖分子中含有一OH、—NH₂ 极性基团,具有较好的吸湿性和保湿性。吸湿性仅次于甘油,比聚乙二醇、山梨醇高。将壳聚糖置于密闭的容器中,在常温、干燥条件下,至少 3 年内可保持质量稳定,但吸湿或水溶液不稳定,会分解,且随温度升高而加快^[3-5]。壳聚糖的用途很多^[15-19],可做黏合剂、薄膜包衣、缓释材料、透皮给药基质、壳聚糖微球制剂,甚至可以作为纳米载体材料等。因为它具有良好的生物相容性,可做体内埋入剂。壳聚糖还有止痛、止血、促进伤口愈合、抗菌、抗酸、抗溃疡、降血脂和降胆固醇等多种作用。

壳聚糖微球可靶向作用于肿瘤组织,加强药物的通透性和滞留性,提高药物的稳定性及生物利用度,降低全身血药浓度,减少不良反应的发生。Chandy 等制备了壳聚糖包衣的 PLA /PLGA 微球,用于 5-F 尿嘧啶的脑胶质瘤的靶向治疗,研究发现所得微球表面孔空率低,药物初次突释后呈典型的二相释药,可靶向结合脑胶质瘤,且稳定释放 30 d 以上。

二、海藻酸钠与海藻酸钙

海藻酸钠系多糖化合物,常用稀碱从褐藻中提取得到。为白色或淡黄色粉末,几乎无臭,无味,有吸湿性,溶于水,不溶于乙醇、乙醚及其他有机溶剂和酸。海藻酸钠水溶液成黏稠状,具有高黏性,在 pH 4 以下凝胶化,pH 10 以上则不稳定。具有成膜能力,可与聚赖氨酸合用作复合材料,常与壳聚糖合用作囊膜材料。

海藻酸钠广泛用于药物制剂中,利用其溶解特性、凝胶和聚电解质性质可作为缓释制剂的载体、包埋剂或生物黏附剂,利用其水溶胀性可做片剂崩解剂,利用其成膜性可制微囊,利用其与二价离子的结合性,可做增黏剂。近年来有报导将超纯的海藻酸钠作为包埋材料的植入剂。也有报导将海藻酸钠用作载药凝胶,但是目前研究的还不是很多^[20]。

海藻酸钙^[5]是由亲水性胶态多糖海藻酸钠和氢氧化钙或者碳酸钙反应制得。其凝胶小球溶胀受 pH 的影响,可防止酸敏感性药物在胃中降解。因其不溶于水,常在海藻酸钠中加入氯化钙做囊膜材料。

三、纤维素及其衍生物^[1,4,21]

纤维素是由吡喃环 D2 葡萄糖构成的直链多糖。葡萄糖分子以糖苷键相连,葡萄糖分子上的羟基可以酯化、醚化形成衍生物。R 取代基不同,纤维素衍生物的性质则不同。

羟丙甲纤维素(HPMC)是用适宜等级的甲基纤维素用氢氧化钠处理后在高温高压下与氧化丙烯反应,是甲基和羟丙基通过酯键连于纤维素的无水葡萄糖环上。本品为白色,无臭、无味,纤维状或颗粒状流动性粉末,在水中溶解形成澄明或乳白色具有黏性的胶状溶液。不溶于乙醇、氯仿和乙醚,可溶于甲醇和氯甲烷的混合溶剂中。有部分型号的产品可溶于 70% 的乙醇、丙酮、氯甲烷和异丙醇的混合溶剂以

及其他有机溶剂。HPMC 有一定的吸湿性,在室温下及相对湿度为 80% 时平衡吸湿量约为 13%。HPMC 在干燥环境非常稳定,水溶液耐热,1% 水溶液 pH 4~8,溶液在 pH 3.0~11.0 之间稳定。HPMC 溶液可与水溶性的高分子化合物混用,这些化合物包括聚乙二醇、聚醋酸乙烯、聚硅酮、聚甲基乙烯基硅氧烷和羟乙基纤维素以及甲基纤维素等,也与阿拉伯胶等天然高分子化合物有良好的混用性。

HPMC 被广泛用于食品、医药、涂料、建筑材料等工业部门及农业种子等行业。在医药工业方面,HPMC 为无毒、安全的药用辅料,用于各种剂型中作为成膜剂、增稠剂、缓释剂、乳化剂等。近年来,HPMC 用作基质、黏合剂、骨架材料、致孔剂、成膜材料和包衣材料等,在缓释黏膜粘贴剂、控释小丸、缓释微囊、多种骨架缓释片^[22]、控释片、多层缓释片、多种包衣缓释制剂、眼用制剂和缓释栓剂等剂型的开发利用中得到了广泛的应用。

1. 羟丙甲纤维素酞酸酯 (HPMCP)

HPMCP 是 HPMC 的酞酸半酯。相对分子量在 $2 \times 10^4 \sim 20 \times 10^4$,为白色或者米黄色的片状物或颗粒,无臭,微有酸味或异味,有潮解性,不溶于水和酸性溶液,不溶于己烷,但易溶于丙酮/甲醇、丙酮/乙醇或甲醇/氯甲烷混合液,在 pH 5.0~5.8 以上的缓冲溶液中能溶解。HPMCP 的物理化学性质稳定。室温条件下 HPMCP 吸收水分 2%~5%,在室温和相对湿度为 80% 时,平衡吸水量为 11%。

HPMCP 是性能优良的新型薄膜包衣材料。因其无味、无毒,不溶于胃液,但能在小肠上端快速膨化溶解,是良好的肠溶衣材料。HPMCP 也可以用于缓释颗粒的制备,国外已经有其水分散体出售,已被美国和日本药典收入。

2. 醋酸羟丙甲纤维素琥珀酸酯 (HPMCAS)

HPMCAS 是 HPMC 的醋酸和琥珀酸混合酯,为白色至黄白色细粉末。无味有醋酸异臭,溶于氢氧化钠、碳酸钠溶液,易溶于丙酮或二氯甲烷、乙醇混合液,不溶于水、乙醇和乙醚。在 pH 5.5~7.1 的缓冲溶液中,溶解时间在 10 min 以内,最多不超过 30 min。在 200℃ 以下对热稳定,其稳定性较 HPMC 优良,在 45℃ 可放置 3 个月,取代基含量无变化。具有吸湿性,该特性已经用于喷雾干燥中^[23],40℃ 及相对湿度为 75% 放置 3 个月,有较多醚基分解,乙酰基和琥珀基含量略有下降,故宜防潮贮藏。目前 HPMCAS 被发达国家批准应用于片剂肠溶包衣材料、缓释性包衣材料和薄膜包衣材料。

此外,常用的药用纤维素辅料还有醋酸纤维素 (CA)、醋酸纤维素酞酯 (CAP)、醋酸纤维素丁酸酯 (CAB)、羧甲基纤维素钠 (CMCNa)、甲基纤维素 (MC)、乙基纤维素 (EC)、羟乙基纤维素 (HEC)、羟丙基纤维素 (HPC) 等。可做各种包衣材料和缓释材料等。

四、阿拉伯胶

阿拉伯胶^[24]是一种含有钙、镁、钾等多种阳离子的弱酸性大分子多糖,分子量大约为 50 万~100 万,具有以阿拉伯半乳聚糖为主的、多支链的复杂分子结构。其多支链在水中的溶解度居高分子化合物之首,不溶于乙醇,能溶解于甘油和丙二醇,不溶于其他有机溶剂。其中央是以 β_{1-3} 键相连的半乳聚糖,L-鼠李糖主要分布在结

构的外表。鼠李糖的碳六位上是 CH_3 而不是 OCH_3 ，因此具有良好的亲油性；此外阿拉伯胶结构上带有部分蛋白质具有良好的亲水性；这样阿拉伯胶具有非常好的亲水亲油性，是非常好的水包油型乳化稳定剂。在复凝聚法制备微囊时可以用作水包油型乳化剂。因为阿拉伯胶结构上带有酸性基团，溶液的 pH 自然也呈弱酸性，在一定的酸性环境中带负电荷，因此常和明胶一起作为微囊囊材。

李可意等以阿拉伯胶和明胶为囊材，将美洛昔康微囊化，在囊材与囊心物的质量比 2:1、固化时间 2 h、成囊 pH 4.0、成囊温度 50 ℃ 条件下制得的微囊包封率为 77.2%，载药量为 25.6%，由电子显微镜扫描照片可见，微囊外观圆整、分散性好、强度适中，粒径大小均匀，表面较圆滑。取美洛昔康及其微囊适量，照释放度测定法，采用《中国药典》（2005 版二部）溶出度测定法第二法装置测得美洛昔康微囊较原料具有明显的缓释作用。

五、胶原和明胶

胶原^[26]是源于动物组织的一种结构蛋白，是组成胶原蛋白的一种纤维蛋白，存在于动物的结缔组织和硬骨组织中，约占哺乳动物总蛋白的 1/3，含有 18 种氨基酸。因含有苯丙氨酸和络氨酸残基，自身具有荧光，最大吸收在 230 nm 左右。胶原能吸水膨胀但不溶于水，与水共热时，能断裂部分肽键生成分子量较小的明胶。胶原蛋白的许多理化性质主要和分子链中疏水性的氨基酸之间和肽键之间由于氢键引起的聚集行为有关，具有生物相容性和生物活性，正常细胞可在其表面依附和生长浸润。目前制备胶原的材料主要来自动物组织，医药用胶原主要采自禽爪、牛跟腱、猪跟腱和马跟腱。采用基因重组技术生产人胶原的方法已经形成。

胶原作为一种体内降解的生物材料用于代替给药系统中不能降解的生物高分子材料。常用来做创伤修复、贴壁细胞培养的微载体复合材料，还可以用于药物控制释放系统。据报导，胶原还可以制成高强度纤维，做手术缝线；用胶原制备成贴剂、凝胶剂、喷雾剂、散剂等用于创伤治疗和伤口止血。

明胶是胶原部分水解而得到的一类蛋白质，明胶与胶原具有同源性^[26]。具有其他合成材料无法比拟的生物相容性、可生物降解性以及生物活性，如：低抗原性、促进细胞增殖和分化、促进血小板凝结等。根据制备时水解方法的不同，可分为酸法明胶（A 型）和碱法明胶（B 型）。A 型明胶的等电点为 7~9，10 g/L 溶液室温时的 pH 为 3.8~6.0；B 型明胶稳定不易长菌，等电点为 4.7~5.0，10 g/L 溶液室温时 pH 为 5.0~7.4。明胶分子与其他蛋白质一样，在不同 pH 溶液中，可形成正离子、负离子或两性离子。加入与明胶分子所带电荷相反的聚合物能使明胶从溶液中析出。利用这种共聚凝作用，可以制备微胶囊或微球^[27,28]。两者的成囊性无明显差别，通常可以根据药物对酸碱的要求选用 A 型或者 B 型。常和阿拉伯胶合用，浓度在 2%~10% 之间。此外，明胶还可以做软、硬胶囊的囊材，栓剂的基质，片剂的黏合剂和吸收性明胶海绵。由于其良好的生物相容性，是理想的透皮制剂的基材。

六、白蛋白

白蛋白^[1]又称清蛋白，血浆中含量最多。为棕黄色无定型的小块、鳞片或粉末。

其水溶液是近无色至棕色的微黏稠液体，颜色的深浅和浓度有关，易溶于稀盐酸和水，对酸较稳定，受热可聚合变化，但仍较其他血浆蛋白耐热，蛋白质浓度大时热稳定性小。是一种简单的蛋白质，分子中带有较多的极性基团，对很多药物离子具有高度的亲和力，能和这些药物可逆结合发挥运输作用。可作为蛋白质类或酶类产品的稳定剂或作为新剂型微球的材料、抗癌药栓剂生物载体，也可作为注射剂、共溶剂或冻干制剂的载体。

七、丝蛋白原

丝素蛋白^[29]来源于蚕丝，由 18 种氨基酸组成。作为新型药物辅料，近几年的文献报导较多。其特殊的氨基酸组成和二级结构使从无规卷曲结构到结晶态可以通过简单的物理或化学处理，从而保障了药物负载后的药效。它没有免疫反应，具有良好的血液、组织相容性和抗凝血性。在负载与释放药物时，具有一定程度的 pH 响应性和酶分解性。丝素蛋白表面存在着大量的活性基团如羟基、羧基和氨基，易与其他高分子材料交联成半互穿聚合物网络结构，具有智能水凝胶的性能，还可进行多种化学改性适应对不同药物的控缓释性。以上这些特点为其作为可控（或缓释）骨架材料提供了条件。目前的研究主要集中在缓释膜材方面。

第四节 合成药用高分子材料

现在，改性天然高分子材料和合成高分子材料，尤其是合成高分子材料，已逐渐由从属、辅助作用向主导地位转变，形成具有特征的高分子药物，尤其是作为药物传递载体。20 世纪 60 年代以来，多种新型高分子材料的不断出现，使缓释、控释、靶向的药物制剂在理论和实践应用方面有了飞速的发展。本节主要介绍几种常用和新型高分子合成材料。

一、聚乙烯醇及其衍生物

1. 聚乙烯醇 (PVA)^[30]

结构式： $\text{—}[\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})]\text{—}_n$

聚乙烯醇是一种不由单体聚合而通过聚醋酸乙烯酯水解得到的水溶性聚合物的简称。白色片状、絮状或粉末状固体，无味。聚乙烯醇的物理性质受化学结构、醇解度、聚合度的影响。在聚乙烯醇分子中存在着两种化学结构，即 1, 3 - 和 1, 2 - 乙二醇结构，但主要的结构是 1, 3 - 乙二醇结构，即“头·尾”结构。聚乙烯的聚合度分为超高聚合度（分子量 25 万 ~ 30 万）、高聚合度（分子量 17 万 ~ 22 万）、中聚合度（分子量 12 万 ~ 15 万）和低聚合度（2.5 万 ~ 3.5 万）。醇解度一般有 78%、88%、98% 三种。部分醇解的醇解度通常为 87% ~ 89%，完全醇解的醇解度为 98% ~ 100%。常取平均聚合度的千、百位数放在前面，将醇解度的百分数放在后

面,如 17-88 即表聚合度为 1 700,溶解度为 88%。一般来说,聚合度增大,水溶液黏度增大,成膜后的强度和耐溶剂性提高,但水中溶解性、成膜后伸长率下降。聚乙烯醇的相对密度 (25 ℃/4 ℃) 1.27 ~ 1.31 (固体)、1.02 (10% 溶液),熔点为 230 ℃,玻璃化温度为 75 ℃ ~ 85 ℃,在空气中加热至 100 ℃ 以上慢慢变色、脆化。加热至 160 ℃ ~ 170 ℃ 脱水醚化,失去溶解性,加热到 200 ℃ 开始分解。超过 250 ℃ 变成含有共轭双键的聚合物。折射率 1.49 ~ 1.52,热导率 0.2 W/(m · K),比热容 1 ~ 5 J/(kg · K),电阻率 $(3.1 \sim 3.8) \times 10^7 \Omega \cdot \text{cm}$ 。溶于水,为了完全溶解一般需加热到 65 ℃ ~ 75 ℃。不溶于汽油、煤油、植物油、苯、甲苯、二氯乙烷、四氯化碳、丙酮、醋酸乙酯、甲醇、乙二醇等。微溶于二甲基亚砷。120 ℃ ~ 150 ℃ 可溶于甘油,但冷至室温时成为胶冻。溶解聚乙烯醇应先将物料在搅拌下加入室温水,分散均匀后再升温加速溶解,这样可以防止结块,影响溶解速度。聚乙烯醇水溶液 (5%) 对硼砂、硼酸很敏感,易引起凝胶化,当硼砂达到溶液质量的 1% 时,就会产生不可逆的凝胶化。铬酸盐、重铬酸盐、高锰酸盐也能使聚乙烯醇凝胶。PVA 17-88 水溶液在室温下随时间黏度逐渐增大,但浓度为 8% 时的黏度是绝对稳定的。聚乙烯醇成膜性好,对除水蒸气和氨以外的许多气体有高度的不适气性。耐光性好,不受光照影响。通明火时可燃烧,有特殊气味。水溶液在贮存时,有时会出现霉变。无毒,对人体皮肤无刺激性。

聚乙烯醇为乳化剂稳定固体甘油三酯药物 α -修饰纳米载体^[31]。PLGA 微球的制备中,聚乙烯醇可以作为连续相^[32]。也可用于制造水溶性胶黏剂或者用作淀粉胶黏剂的改性剂。还可用于制备感光胶和耐苯类溶剂的密封胶。也用作脱模剂、分散剂等。还可以和其他高分子材料形成聚合物,例如壳聚糖^[33]。但是聚乙烯醇产品须贮存于阴凉、干燥的库房内,防潮,防火。

聚乙烯有多种产品。聚乙烯醇 17-92 简称 PVA 17-92,白色颗粒或粉末状。易溶于水,溶解温度 75 ℃ ~ 80 ℃。其他性能基本与 PVA 17-88 相同,用作乳液聚合的乳化稳定剂和制造水溶性胶黏剂。聚乙烯醇 17-99 又称浆纱树脂 (Sizing Resin),简称 PVA 17-99。白色或微黄色粉末或絮状物固体。玻璃化温度 85 ℃,皂化值 (3 ~ 12) mg KOH/g。溶于 90 ℃ ~ 95 ℃ 的热水,几乎不溶于冷水。浓度大于 10% 的水溶液,在室温下就会凝胶成冻,高温下会变稀恢复流动性。为使黏度稳定,可于溶液中加入适量的硫氰酸钠、硫氰酸钙、苯酚、丁醇等黏度稳定剂。PVA 17-99 溶液对硼砂引起的凝胶比 PVA 17-88 更敏感,溶液质量为 0.1% 的硼砂就会使 5% PVA 17-99 水溶液凝胶化,而引起同样浓度 PVA 17-88 水溶液凝胶化的硼砂量则需 1%。对于相同浓度、相同醇解度的聚乙烯醇水溶液,硼砂比硼酸更易发生凝胶。PVA 17-99 比 PVA 17-88 对苯类、氯代烃、酯、酮、醚、烃等溶剂的耐受能力更强。加热至 100 ℃ 以上逐渐变色,150 ℃ 以上时很快变色,200 ℃ 以上时将分解。聚乙烯醇加热时变色的性质可以通过加入 0.5% ~ 3% 的硼酸而得到抑制。耐光性好,不受光照的影响。具有长链多元醇的酯化、醚化、缩醛化等化学反应性。通明火会燃烧,有特殊气味。无毒,对人体皮肤无刺激性。聚乙烯醇 17-99 主要用于制造高

黏度聚乙烯醇缩丁醛, 广泛用作浆纱料的分散剂等。其他类型的 17-99 用作聚醋酸乙烯乳液聚合的乳化稳定剂, 但效果不如 17-88, 一般是将 17-99 与 17-88 混合使用。17-99 用于制造聚乙烯醇缩甲醛水溶液 (主要是 107 建筑胶)。17-99 还用于制备耐苯类溶剂的密封胶。

2. 聚乙烯醇酞酸酯 (PVAP)^[1]

PVAP 是 PVA 的衍生物, 由 PVA 与醋酸和酞酸酐反应生成。国外已有商品出售, 为美国 NF 的收载品种。NF 规定酞酰基总含量为 55% ~ 62%。易溶于甲醇、二氯甲烷、乙醇等溶剂, 其水分散体国外商品名为 Sureteric, 可用于水性喷雾包衣。PVA 改性的亲水性聚合物凝胶被开发出来, 用于药物的控制释放如在 PVA、羧甲基纤维素、丙烯酰胺和双丙烯酰胺的混合水溶液中, 用于过硫酸铵引发聚合, 制得聚丙烯酰胺交联接枝的 PVA 和羧甲基纤维素混合凝胶, 对包埋在凝胶网络内的药物有较好的控制释放作用。

淀粉/PVA 混合凝胶通过淀粉和 PVA 的水溶液体系经辐射交联制得用于药物控制释放的研究。德国的 Stockhausen 股份有限公司开发了聚丙烯酸钠/PVA 交联接枝的水凝胶。

二、聚乙烯基吡咯烷酮及其衍生物

1. 聚乙烯基吡咯烷酮

聚乙烯吡咯烷酮是由乙烯基吡咯烷酮聚合而得。简称 PVP, 分子量 5 000 ~ 700 000。PVP 是无臭、无味的白色粉末或透明溶液, 具有优良的溶解性、低毒性、成膜性、络合性、表面活性和化学稳定性。可溶于水、含氯溶剂、乙醇、胺、硝基烷烃和低分子脂肪酸。与多数无机盐和多种树脂相溶, 不溶于丙酮、乙醚等。

PVP 的固体和溶液都很稳定, 具有成膜性和吸湿性, 其薄膜无色透明, 硬而光亮。加入某些天然或合成高分子聚合物, 有机化合物可有效地调节 PVP 的吸湿性和柔软性。PVP 有很强的黏结能力, 极易被吸附在胶体粒子表面起到保护胶体的作用, PVP 有优良的生理惰性和生物相容性, 对皮肤、眼睛无刺激或过敏, 实际无毒, LD₅₀ > 13 000 mg/kg。

PVP 可用作增稠剂、分散剂、稳定剂等。PVP 可改进黏结剂对金属、玻璃、塑料等材料的黏结性能, 另 PVP 在分离膜、光固树脂、光固涂料、光导纤维、激光视盘等新兴高科技领域的应用也日益广泛。贮存于阴凉、干燥的库房内, 隔热、防潮、避光。聚维酮在医药上有广泛的应用, 为国际倡导的三大药用新辅料之一。应用最广的是片剂、颗粒剂的黏结剂。PVP 还可用作胶囊的助流剂、眼药的去毒剂及润滑剂、注射剂的助溶剂、液体制剂的分散剂、酶及热敏药物的稳定剂。聚维酮还可与碘合成 PVP-I 消毒杀菌剂。在隐形眼镜中, PVP 作为接触眼镜的成分, 可增加其亲水性。PVP 在医药上还可用作低温保存剂。聚维酮 K30 正式收入《中国药典》(2000 版), PVP 收入《美国药典》(26 版)。近年来有研究将 PVP 作为分散剂用于固体分散体的研制^[34]。

表 6-1 医药级质量标准 (CP2005/USP26)

品名	K15	K17	K25	K30	K90
K 值	13 ~ 18	15 ~ 19	23 ~ 27	29 ~ 32	88 ~ 96
NVP 残单 % max	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
水份 % max	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
固含量 % max	95	95	95	95	95
pH (5% 水溶液)	3 ~ 7	3 ~ 7	3 ~ 7	3 ~ 7	5 ~ 9
灰份 % max	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
氮含量 %	11.5 ~ 12.8	11.5 ~ 12.8	11.5 ~ 12.8	11.5 ~ 12.8	11.5 ~ 12.8
2-吡咯烷酮 % max	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
醛 (以乙醛计) ppm max	500	500	500	500	500
重金属 (以铅计) ppm max	10	10	10	10	10
胍 ppm max	1	1	1	1	1
过氧化物 ppm max	400	400	400	400	400

2. 交联聚维酮 (PPVP)

名称: Cross Linking Polyvinylpyrrolidone。白色或近白色, 具有吸湿性, 易流动的粉末, 无臭或微臭, 不溶于水、碱、酸及常用有机溶剂, 具有很强的膨胀性能和与多类物质的络合能力。

PVPP 的应用: 由于 PVPP 的高分子量和交联结构, 不溶于水但遇水能迅速将水引入, 促使其网络结构膨胀产生崩解作用, 所以 PVPP 是医药上广泛应用的片剂崩解剂。又因为分子具有酰胺键及吸附多酚分子上的氢氧基从而形成氢键, 因此, 可用作啤酒、果酒、饮料酒的稳定剂, 延长其货架寿命达 300 天, 并改善其透明度、色泽和味道。该产品有一次性和再生性两种规格, 一次性 PVPP 适合中小企业使用; 再生性 PVPP 需购置专用过滤设备, 但 PVPP 可回收利用, 适合大型啤酒厂使用。

3. 共聚维酮

化学名称: 乙烯基吡咯烷酮 / 醋酸乙烯共聚物 (CAP 树脂) (VP/VA Copolymer)。PVP/VA 是一种水溶性高分子树脂, 为白色粉末或透明溶液, 无臭无味, 不吸潮, 可溶于水、乙醇及无水醇类, 具有良好的黏结性、吸湿性、成膜性和表面活性。药用级共聚维酮主要作为水溶性黏合剂和干性黏合剂应用于制粒或直接压片技术, 作为成膜材料用于薄膜包衣中, 作为孔道形成物应用于遮味剂中。应用于糖衣防止裂片, 底层包衣用于防潮。在化妆品工业中 PVP-VA 系列起着硬挺剂作用, 醋酸乙烯酯比例较高的规格, 吸湿性较低, 极适合于摩丝、喷发剂和定发液, 若与 PVP-K30 一起混合使用时, 可增强定发效果。还可以用于再湿型黏结剂, 纸张用胶黏剂, 涂料的黏合剂, 各种油墨的增稠剂及保护性胶体。水溶性 PVP/VA64 系列产品是植保剂常用的乳化剂及保护性胶体。

4. 乙烯基吡咯烷酮系列产品 PVP-I (聚维酮碘)

PVP-I 是 PVP 与碘的络合物, 棕红色或黄棕色无定性粉末。对细菌、病毒、真菌、霉菌、孢子都有较强的杀灭作用, 稳定、无刺激、完全水溶。主要用于医院手术、注射等皮肤消毒和器材消毒, 以及口腔、妇科、外科、皮肤科等预防感染; 家庭食具、器具等杀菌消毒; 食品工业、养殖业用于杀菌消毒及动物疾病防治等, 是国际国内首选的含碘医用杀菌剂及卫生防疫消毒剂。已收入《中国药典》(2000 版)、《美国药典》(26 版)。

5. 其他

(1) N-乙烯基吡咯烷酮 (NVP)。化学名称: N-乙烯基吡咯烷酮 (N-Vinylpyrrolidone)。常温下是一种无色或浅黄色略有独特气味的透明液体, 易溶于水或其他多种有机溶剂, 化学性质活泼, 易水解和聚合。主要用于进一步聚合成 PVP 系列产品。

(2) 2-吡咯烷酮。化学名称: 2-吡咯烷酮 (2-Pyrrolidone)。为无色液体, 为无色的高沸点极性溶剂, 凝固点为 24.6°C , 闪点为 129°C , 沸点为 24.5°C 。与水、低级酮、低级醇、醚、氯仿及苯互溶。主要用于有机合成中间体, 用于合成树脂、农药、多元醇、油墨和碘的溶剂, 也是生产聚乙烯吡咯烷酮、锦纶-4 和脑复康的原料。

三、聚乳酸类聚合物

1. 聚乳酸 (PLA)

由于乳酸具有旋光性, 因此对应的聚乳酸有三种: PDLA、PLLA、PDLLA (消旋)。常用易得的是 PDLLA 和 PLLA, 分别由乳酸或丙交酯的消旋体、左旋体制得。聚乳酸 (PLA) 是一种真正的生物塑料, 其无毒、无刺激性, 具有良好的生物相容性, 可生物分解吸收, 强度高, 不污染环境, 可塑性好, 易于加工成型。由于聚乳酸优良的生物相容性, 其降解产物能参与人体代谢。PLLA 可制成纳米粒子用于肿瘤的放射治疗^[35]。PLA 已被美国食品医药局 (FDA) 批准, 可用作医用手术缝合线、注射用胶囊、微球及埋植剂等。

同时聚乳酸存在的缺点是: ① 聚乳酸中有大量的酯键, 亲水性差, 降低了它与其他物质的生物相容性; ② 聚合所得产物的相对分子量分布过宽, 聚乳酸本身为线型聚合物, 这都使聚乳酸材料的强度往往不能满足要求, 脆性高, 热变形温度低 (0.146MPa 负荷下为 54°C), 抗冲击性差; ③ 降解周期难以控制; ④ 价格太贵, 乳酸价格以及聚合工艺决定 PLA 的成本较高。这都促使人们对聚乳酸的改性展开深入的研究。例如, 2, 2'-二 (2-恶唑) 与 PLA 形成共聚物 PEA, 研究发现 PEA 比 PDLLA 释药具有更好的可控性^[36]。聚己基取代 PLA 得到的 PHLA 作为新的疏水性给药系统比 PLA 具有更好的释药速度, 有望取代 PLA^[37]。

2. 聚乳酸-乙醇酸^[21-26]

聚乳酸-乙醇酸 [poly (lactic - glycolic acid), PLGA] 共聚物: 聚乳酸-乙醇酸共聚物^[38]不仅无毒、无刺激性, 而且具有良好的生物相容性、可吸收性以及可降解性, 是一类有着广泛应用前景的可生物降解材料。PLGA 的降解时间一般为 1

~3 个月,甚至为 1 年,体内降解形式以骨架溶蚀(水解)以及扩散为主,制备中通过调节聚合物的分子量、分子量分布、晶形以及单体的配比组成等,达到药物缓释或控释的目的。近年来,随着生物技术的不断开发和进步,PLGA 越来越多地被用作缓、控释系统的骨架材料,用于半衰期短或口服生物利用度低而又需要长期使用的药物,其优点可在几周或几个月甚至一两年内以一定速率释放药物,维持有效血药浓度,提高生物利用度;同时减少药物的给药次数,进而,降低药物的毒副作用。因此,PLGA 的使用不仅增加了病人的顺应性,提高了治疗效果,而且减少了用药总量。特别对于需要长期持续给药、半衰期短的蛋白质和肽类药物^[39],PLGA 是相当理想的载药系统。PLGA 制成共聚纳米粒子,成为载药系统的热点,如抗癌药物、降压药、免疫调节剂和激素大分子,如核酸抗体^[40,41]。PLGA 微球具有良好的缓控释作用,近年的研究也比较多,也是一种潜在的载药系统,如结核分支杆菌抗原 85B^[42]、破伤风类毒素^[43]、乙肝疫苗^[44]和卡马西平^[45]等。

四、聚乙二醇及其衍生物^[27-36]

1. 聚乙二醇

分子式: $\text{HO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{H}$ ($n=4\sim450$)

聚乙二醇是经环氧乙烷聚合而成的,由重复的氧乙烯基组成。它不仅具有良好的水溶性,也能溶于二氯甲烷、N'N'-二甲基甲酰胺、苯、乙腈、乙醇、丙酮、氯仿等溶剂。品种很多,例如聚乙二醇 300 (PEG300)、聚乙二醇 600 (PEG600)、聚乙二醇 20 000 (PEG20M),PEG 后面数字表示平均分子量。常用的除上述外,还有 1 000, 1 500, 2 000, 4 000, 6 000 等。它们是能形成氢键的强极性气相色谱固定液,还可以键合 C8 等作固定相用于色谱分析^[46],分子量愈低极性愈强。最高使用温度 100 ℃~200 ℃。分子量愈低,最高使用温度愈低。适用于分离醇、醛、酮、脂肪酸、酯及许多含氧和含氮官能团等极性化合物,对芳烃和非芳烃的分离有选择性。特别适用于水溶液分析,并能直接测定水。在新型生物材料的合成和改性中,聚乙二醇作为材料的一部分,将赋予材料新的特性和功能,如亲水性、柔性、抗凝血性、抗巨噬细胞吞噬性等。普通的聚乙二醇两端各有一个羟基,若一端以甲基封闭则得到甲氧基聚乙二醇(mPEG),线性 mPEG 的分子式为 $\text{CH}_3-(\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2)_n-\text{OH}$ 。在聚乙二醇的应用中,端基起着决定性的作用,不同端基的聚乙二醇具有不同的用途。在实际应用中聚乙二醇高分子链端不仅仅局限于带端羟基,其他反应性更强的功能化基团,如对甲苯磺酸酯基、氨基、羧基、醛基等亦可被引入到聚乙二醇链的两端。这些功能化基团的引入扩大了聚乙二醇的应用范围,使它在蛋白质、多肽、小分子药物的修饰等多方面均具广阔的应用前景。在多肽和蛋白质的聚乙二醇化修饰研究中应用最多的是 mPEG 的衍生物。

聚乙二醇是中性、无毒且具有独特理化性质和良好生物相容性的高分子聚合物,也是经 FDA 批准的极少数能作为体内注射药用的合成聚合物之一。聚乙二醇即 PEG 具有高度的亲水性,在水溶液中有较大的水动力学体积,并且没有免疫原性。当偶联到药物分子或药物表面时,可以将其优良性质赋予修饰后的药物分子,改变它们在水溶液中的生物分配行为和溶解性,在其修饰的药物周围产生空间屏障,减少药

物的酶解,避免在肾脏的代谢中很快消除,并使药物能被免疫系统的细胞识别。聚乙二醇类修饰剂的药物动力学性质因它们的相对分子量和注射给药方式而异,分子量越大,半衰期越长。经过细胞色素 P_{450} 系统的氧化作用,PEG 分解成小分子的 PEG,经胆汁排泄。

聚乙二醇修饰及相关技术

(1) 药物的聚乙二醇修饰即 PEG 化,是将活化的聚乙二醇通过化学方法偶联到蛋白质、多肽、小分子有机药物和脂质体上。其中研究得最多的是蛋白质的 PEG 修饰,始于 20 世纪 70 年代。药物经 PEG 修饰后,往往会具有以下优点:①更长的半衰期;②较低的最大血药浓度;③血药浓度波动较小;④较少的酶降解作用;⑤较少的免疫原性及抗原性;⑥较小的毒性;⑦更好的溶解性;⑧用药频率减少;⑨提高病人的依从性,提高生活质量,降低治疗费用;⑩脂质体对肿瘤有更强的被动靶向作用。修饰途径对蛋白和多肽主要有氨基修饰(包括 N 端氨基的酰化修饰、赖氨酸侧链氨基的酰化修饰、N 端氨基的烷基化修饰)、羧基修饰、巯基修饰,还有其他如控制 pH 实现 SC-mPEG 选择性修饰蛋白质中的组氨酸侧链的咪唑基团和用谷氨酰胺转氨酶将 mPEG-NH₂ 转移到蛋白质的谷氨酰胺侧链上,实现对谷氨酰胺的选择性修饰,其中主要是对 N 末端或赖氨酸侧链氨基进行酰化修饰,因为蛋白或许多多肽结构中存在多个氨基,所以控制和确定修饰位点及修饰程度一直是蛋白和多肽的聚乙二醇修饰中的难点,肽类化合物的合成中可以通过采用适当的保护策略来实现对氨基的定点修饰,而有机小分子药物的 PEG 修饰途径主要是将 PEG 与这些小分子药物上的一OH、—NH₂、—COOH 相偶联,如待修饰的小分子药物不具备这些功能基团,可通过化学方法引入。

(2) PEG 修饰的相关技术主要是以下三个方面:①PEG 的相对分子量的选择。现在普遍采用的是分子量大于 20 000 的高分子量的 PEG 作为修饰剂。分子量的选择要综合考虑生物活性和药代动力学两方面的因素。已有的研究证明,修饰的蛋白药物在体内的作用时间与偶联的 PEG 数量和相对分子量成正比,在体外的生物活性与偶联的 PEG 数量和相对分子量成反比,应用分子量过大的 PEG 修饰蛋白药物会导致药物丧失绝大部分的生物活性。以往采用低分子量(小于 20 000)的 PEG 修饰蛋白药物结果显示修饰后的蛋白药物较原型药物在生物活性和药代动力学性质上没有本质的改变,修饰时具体的 PEG 分子量的选择要根据实验确定,一般选择分子量在 40 000~60 000 范围内的 PEG 作为修饰剂。②修饰位点的选择。蛋白质 PEG 修饰时要根据蛋白质构效关系的分析,选择不与受体结合的蛋白质表面残基作为修饰位点,这样修饰后的蛋白质能够保留较高的生物活性。有机小分子药物的修饰位点与生物活性无关。理想的 PEG 修饰技术是根据要修饰的位点选择适当的 PEG 得到均一性的产品。③其他化学因素。PEG 修饰反应需要高度的特异性和温和的反应条件,为得到高产率的、均一的目的修饰产物,实验过程中要控制反应体系的 pH、药物浓度、反应物间的计量关系、反应时间、反应温度。

研究及应用进展:蛋白药物的 PEG 修饰已卓有成效,国际知名的制药公司已经或正在积极推进蛋白药物的 PEG 修饰,1991 年第一种用 PEG 修饰的蛋白药物 PEG-

ADA 被 FDA 批准上市, 近几年上市的有 PEG - 干扰素^[47]、PEG - GSF、PEG - 生长抑素。目前处于临床前研究的 PEG 修饰的蛋白药物有几十种, 如 PEG - 天花粉蛋白^[48]、Tf - PEG - TNF - α ^[49]; 处于临床实验的有: 超氧化物歧化酶 (即将上市, Enzon 公司)、白介素 - 2 (II 期, Chiron 公司)、水蛭素 (II 期, BASF AG 公司)、抗 - TNF α 抗体片段 (III 期, Pharmacia 公司)、牛血红蛋白 (I 期, Enzon 公司)、抗 - PDGF 抗体片段 (II 期, Celltech 公司)。肽类化合物 PEG 修饰: 蛙降钙素、表皮生长因子的 PEG 修饰产物的半衰期和生物活性显著高于原型药物。尤其是肽类化合物在聚乙二醇定点修饰方面较蛋白质更易于实现。在肽类化合物的 PEG 修饰研究中应用最普遍的是 mPEG^[50], 先在 mPEG 的末端引入羧基、氨基或其他活性基团, 或者制备经 mPEG 修饰的氨基酸衍生物, 再利用固相或液相法将其偶联到肽序列中去, 实现对多肽的 N 端、C 端及某些氨基酸侧链的聚乙二醇化修饰。PEG 修饰后的阿霉素脂质体^[51]较原型药物相比: 降低了心脏毒性, 增强了病人的耐受性, 在体内发挥控释和靶向药物的作用, PEG 还可以修饰小分子药物。适当的 PEG 修饰后的紫杉醇^[52]较修饰前有更好的治疗效果、溶解性、选择性和半衰期。

随着 PEG 化学的高速发展以及许多 PEG 衍生化试剂的商品化、PEG 修饰药物的优越性和 PEG 修饰蛋白药物的陆续上市, 可以预测药物的 PEG 修饰研究将得到越来越广泛和深入的重视, 特别在提高蛋白、多肽药物的稳定性、延长半衰期, 降低抗肿瘤药、抗真菌药、抗生素、免疫抑制剂的毒副作用和提高这些药物的靶向性, PEG 修饰更具有持续的魅力和非常广阔的前景。

2. 聚乙二醇衍生物

基于聚乙二醇的良好生物相容性和亲水性, 人们已经设计开发了多种聚乙二醇的衍生物, 其中 PEG 与可生物降解聚合物等接枝或嵌段的共聚物展现出优良的药物控制释放性能。

泊洛沙姆: 泊洛沙姆 (Poloxamer) 又名普朗尼克 (Pluronic), 是两端为聚氧乙烯 (PEO)、中间为聚氧丙烯 (PPO) 的共聚物。它是常用的非离子型表面活性剂, 也是常用的乳化剂。

其他还有聚氧乙烯脱水山梨醇酯、聚氧乙烯脂肪酸酯、聚氧乙烯脂肪醇醚。

五、乙烯共聚物

1. 乙烯 - 醋酸乙烯共聚物 (EVA)

乙烯 - 醋酸乙烯共聚物 (EVA) 是最主要的乙烯共聚物之一。按共聚物中醋酸乙烯的含量来分, 其主要品种可分为两大类, 即产品中醋酸乙烯 (VA) 含量大约为 5% ~ 40% (质量分数), 称之为 EVA; 高于 40% 的称之为醋酸乙烯 - 乙烯共聚物 (VAE)。EVA 按共聚物中醋酸乙烯 (VA) 的含量可分为三大类, 即 EVA 树脂、EVA 弹性体及 EVA 乳液。通常所称的 EVA 产品主要是指 EVA 树脂。它可在普通高压聚乙烯装置上生产, VA 含量可达到 5% ~ 10%。

EVA 树脂用途广泛, 一般情况下, 醋酸乙烯含量在 5% 以下的 EVA, 其主要产品是薄膜、电线电缆、LDPE 改性剂、胶黏剂等; 醋酸乙烯含量在 5% ~ 10% 的 EVA 产品为弹性薄膜等; 醋酸乙烯含量在 20% ~ 28% 的 EVA, 主要用于热熔黏合剂和涂

层制品；醋酸乙烯含量在 5% ~ 45%，主要产品为薄膜（包括农用薄膜）和片材，注塑、模塑制品，发泡制品，热熔黏合剂等。

2. 乙烯-乙烯醇共聚物

化学结构上是乙烯与乙烯醇共聚物，实际上是乙烯-醋酸乙烯无规共聚物经水解而成的含羟基的半结晶性热塑性树脂。乙烯含量控制在 25% ~ 45%，具有极好的不透气和保芳香阻隔性，透明性和光泽好，耐油脂和化学药品，耐紫外线及其他射线，机械性能、强度和拉伸模量好。乙烯含量 32% 的产品，密度 1.19 g/cm^3 ，熔体指数 1.3 g/10 min ，熔点 181°C ，拉伸强度 19 MPa ，伸长率 8%，透氧率 $40 \sim 60 \text{ cm}^3 \cdot \mu\text{m}/(\text{m}^2 \cdot 24 \text{ h} \cdot 10^5 \text{ Pa})$ (23°C , 0% RH)，透水蒸气速率 $1300 \sim 3400 \text{ g} \cdot \mu\text{m}/(\text{m}^2 \cdot 24 \text{ h})$ (38°C , 90% RH)。阻隔性比尼龙大 100 倍，比聚乙烯、聚丙烯高 10 000 倍，但在高湿度时阻隔性下降。

由于同乙烯结合而具有热稳定性，含有 EVOH 阻隔层的多层容器是完全可以重复利用的。正是这些特点，在食品包装方面使含有 EVOH 阻隔层的塑料容器能代替许多玻璃和金属容器。在今天可利用的聚合物中，聚乙烯醇 (PVOH) 的气体渗透率最低，但是，PVOH 是水溶性的，而且难以加工。EVOH 共聚物是这样制取的：首先是乙烯和醋酸乙烯共聚，然后是水解该共聚物得到乙烯-乙烯醇。因此，仍然保留了高度的阻隔作用，而且在防潮和加工性能方面有明显改善。从性质上来说 EVOH 共聚物是高度结晶体，它的性质主要取决于其共聚单体的相对浓度。一般地说，当乙烯含量增加时，气体阻隔性能下降，防潮性能改进，且树脂更易于加工。EVOH 树脂的最显著特点是对气体的阻隔作用。它被用在包装结构中，通过防止氧气的渗入来提高香味和质量的保留程度。在使用充气包装技术中，EVOH 树脂有效地保留了用来保护产品的二氧化碳或氮气。由于在 EVOH 树脂的分子结构存在着羟基，EVOH 树脂具有亲水性和吸湿性。当吸附湿气后，气体的阻隔性能会受到影响。但是，阻隔层中的湿含量可以精心地控制，使用多层技术将如聚烯烃等强隔湿树脂把 EVOH 树脂层包裹起来，可以做到这一点。耐油 EVOH 树脂 also 具有很强的耐油性和耐有机溶剂性能。在 68°F 下浸入各种溶剂和油中 1 年后，重量增加的百分数为：对环己烷、二甲苯、石油醚、苯和丙酮等溶剂为 0%，对乙二醇为 2.3%，对甲醇为 12.2%，对色拉油为 0.1%。EVOH 树脂具有高的机械强度、弹性、表面硬度、耐磨性和耐气候性，并且有强的抗静电性。EVOH 薄膜具有高光泽和低雾度，因而高度透明。EVOH 树脂是所有商用强阻隔树脂中，热稳定性最高的树脂，这一性质使加工中产生的废料可以再生和再利用，再生料中含有多达 20% 以上 EVOH。在多层结构中使用 EVOH 提供隔层有三种基本方法，它们是：共挤出结构。EVOH 树脂同聚烯烃或聚酰胺结合形成构架。EVOH 薄膜层压到其他基质上，或用其他材料作涂层。用 EVOH 树脂作各种基质或单层容器的涂层，不需要特殊改变，就可容易地在传统制造设备上加工。利用商用设备，EVOH 树脂适用于下列加工中：单层或多层薄膜挤出；片材和型材共挤出；共挤出吹塑；共挤出涂层；层压（或叠层）和注塑。含有 EVOH 树脂构架或 EVOH 薄膜的二次加工如热成型、真空成型和印刷等都很容易进行。同其他聚合物一样，EVOH 树脂可通过过热来改性。

包括多层涂层或共挤出涂层的涂层技术也可以用来生产多层结构物,最后得到的结构非常类似于共挤出结构。可用 EVOH 树脂喷涂、浸入或滚筒涂层等方法。生产盛装碳酸化饮料的容器或达到阻隔溶剂、香料或气味的目的。EVOH 树脂对大多数聚合物的附着力很差,为克服这一困难,需使用特殊设计的黏结树脂或“连接树脂”。但尼龙除外,无需使用黏结树脂,EVOH 树脂就可以很好地黏附到尼龙上。

随着刚性、高阻隔塑料包装的增长,对 EVOH 树脂提出了新的性能要求。为满足这些需求,EVOH 供货商提供了某些牌号的产品,像 J102 (美国 EVAL 公司 - EVALCA) 和 Goshei 公司的 ST 系列产品。这些产品提高了可加工性,具有更宽的成型范围。其他产品,像美国 EVAL 公司的 F100 和 E151 也被开发出来,它们具有更好的黏度且和用于刚性容器中典型的聚烯烃有更好的匹配性。在塑料回收领域,EVOH 树脂更具有优越性。用过的高密度聚乙烯牛奶瓶和多层瓶 (含有 EVOH 树脂) 共混后,被用来生产非食品用的容器。

可应用于包括食品、溶剂、化学品及与医药有关的产品包装。机动车的燃料箱、燃料管和空调设备的制造商正在评价是否用 EVOH 结构来减少烃或氟利昂的排放。

六、丙烯酸类均聚物和共聚物

1. 聚丙烯酸和聚丙烯酸钠

单体为丙烯酸^[53-56],工业上主要用丙烯或丙烯醛的催化氧化法生产,是一种水溶性聚合物,也溶于某些极性溶剂,如甲醇、乙醇、二噁烷和乙二醇等。电离常数 4.75,其熔点为 12℃,沸点为 142℃,具有和乙酸相似的刺激气味。通常多以水溶液状态进行聚合。它在水中的聚合速率受 pH 的影响很大,在酸性介质中较在碱性介质中为快。聚丙烯酸 PAA 的水溶液为聚电解质,它的黏度因 pH 不同而有异常变化,即在 pH > 7 时黏度异常增加。这是由于聚丙烯酸的羧基电离形成负离子,产生静电排斥,使高分子链在溶液中呈较为舒张的构象所致。聚丙烯酸由于黏度大,可用作增稠剂。聚丙烯酸可用 ZnO 等交联,生成所谓离子交联高分子,是新型补牙材料。由于分子中含有大量羧基,故可与碱、醇、胺发生反应,还可进行脱水、降解和络合反应。可作增稠剂、分散剂、絮凝剂、胶黏剂和成膜剂等,广泛用于涂料、造纸、纺织、采油、采矿、食品、医药、化妆品及水处理等工业中。由丙烯酸单体在水溶液中用过氧化物作引发剂聚合而得。

聚丙烯酸钠^[57,58] (Sodium Polyacrylate) 分子式: $[\text{C}_3\text{H}_3\text{O}_2\text{Na}]_n$,分子量小于 10 000。丙烯酸或丙烯酸酯与氢氧化钠反应得丙烯酸钠单体,除去副生的醇类,经浓缩、调节 pH,以过硫酸铵为催化剂聚合而得。白色粉末,无臭无味,吸湿性极强,具有亲水和疏水基团的高分子化合物。缓慢溶于水形成极黏稠的透明液体,其 0.5% 溶液的黏度约 $\text{Pa} \cdot \text{s}$,黏性并不因吸水膨润 (如 CMC, 海藻酸钠) 产生,而是由于分子内许多阴离子基团的离子现象使分子链增长,表现黏度增大而形成高黏性溶液。其黏度约为 CMC 的 15~20 倍。加热处理、中性盐类、有机酸类对其黏性影响很小,碱性时则黏性增大。不溶于乙醇、丙酮等有机溶剂。强热至 300 度不分解。久存黏度变化极小,不易腐败。因系电解质,易受酸及金属离子的影响,黏度降低。遇二价以上金属离子 (如铝、铅、铁、钙、镁、锌) 形成其不溶性盐,引起分子交联而

凝胶化沉淀。pH 4.0 以下时聚丙烯酸产生沉淀。聚丙烯酸钠在医药行业中可作为药浆增稠剂和稳定剂，水剂及软膏类药物的基质添加用量为 0.1% ~ 0.2%。还可以用于食品制造业、化妆品制造业、牙膏制造业、烟草制造业、饲料、造纸、纺织、制糖、环保、建材以及农业生产部门。

2. 卡波沫^[59]

卡波沫 (Carbomer) 又称卡波普。为酸性、吸湿性白色粉末。为药用辅料，用作软膏和霜剂的增稠剂，缓释片处方中的黏结剂及其他药物剂型之赋形剂。

3. 丙烯酸树脂 (Crylic Resin)^[60]

白色条状物或粉末，在乙醇中易结块。本品在温乙醇中溶解，在水中能迅速分散成乳液。丙烯酸和甲基丙烯酸及其酯类或其他衍生物经聚合而成的均聚物和共聚物的总称。具有无色透明、耐光、耐老化的特点。产品性能决定于所用的单体和聚合方法。随聚合方法的不同，产品有固体（分片、板、棒、管、颗粒等形态）、弹性体、油状黏稠液体、溶液和乳液等类型。纯聚产品主要有浇铸聚甲基丙烯酸甲酯（有机玻璃）及其模塑料。溶液树脂和乳液树脂以共聚物为多。用途十分广泛。本品主要用作片剂、丸剂、颗粒剂肠溶型的包衣材料和肠溶性胶囊壳的成膜剂、微囊成膜剂等，也可用于缓释制剂中的包衣材料和骨架材料。

4. 其他丙烯酸聚合物 (Acrylic Polymers)

丙烯酸及其衍生物的聚合物丙烯酸的羧基可以衍生酯基（包括双酯、多酯）、酰胺、酰氯、酸酐等；腈也可广义地看作羧基的衍生物。因此，它的衍生物可聚合的甚多，是较重要的一大类烯类单体。

聚甲基丙烯酸。单体聚甲基丙烯酸是一种液体，其熔点为 15 ℃，沸点为 162 ℃ ~ 163 ℃；室温下，在水中能溶解约 18%。聚甲基丙烯酸的性质基本上与聚丙烯酸相似。

丙烯酸衍生物的聚合物。丙烯酸衍生物中的丙烯酸甲酯、丙烯酰胺、丙烯腈等都是很重要的单体。聚丙烯酸甲酯广泛用于制造胶黏剂；聚丙烯酰胺作为亲水性聚合物，广泛用于土壤改良、选矿、絮凝剂、凝固剂及生物医用材料方面；聚丙烯腈是很重要的纤维品种之一，用作羊毛代用品。

聚甲基丙烯酸甲酯。单体甲基丙烯酸甲酯是丙烯酸甲酯的甲基取代物。聚甲基丙烯酸甲酯的透光性优异，通常称为“有机玻璃”（见聚甲基丙烯酸酯）。

其他丙烯酸聚合物。氰代丙烯酸酯遇水、醇等就能聚合，是使用简便、黏合强度高、作用快的瞬间胶黏剂。氯代丙烯酸甲酯与其他单体共聚，可提高后者的软化点。羧甲基丙烯酸与丙烯腈共聚，可改进聚丙烯腈纤维的吸水性和染色性能。

第五节 常规医药包装用高分子材料

药品包装与一般物品的包装不同，药品的包装受到药物固有性质的制约，即必须确实保护药品的效能、保障安全卫生、保持服用者的信赖，这就必须充分防止由

于吸潮、漏气和光照带来的分解变质。药品的包装材料对药品的稳定尤为重要，药品包装材料逐渐被人们关注。我国的医药包装经过了三个阶段。20 世纪 50 至 60 年代为起步阶段；20 世纪 70 年代到 80 年代初为调整、徘徊阶段；20 世纪 80 年代至今，经过多年的磨合，药品包装业才得以健康发展，特别是近年来高分子材料的迅速发展，使药品包装材料不断更新发展。

药品是一种特殊商品，其药效与质量直接关系到人身的健康与安全，使用的包装材料与结构形式必须确保药效的同时，还起着保证药品使用可靠性、方便性的作用，因此作为药品生产企业在选用包装材料时，要了解包装材料、容器的一些性质、特点，以便结合药品的某些特殊要求，合理、准确选择药用包装材料。为确认药包材可被用于包裹药品，有必要对这些材料进行质量监控，药包材应具备有下列特性：① 保护药品在贮藏、使用过程中不受环境的影响，保持药品原有属性；② 药品包装材料与所包装的药品不能有化学、生物意义上的反应；③ 药品包装材料自身在贮藏、使用过程中性质应有较好的稳定性；④ 药品包装材料在包裹药品时不能污染药品生产环境；⑤ 药品包装材料不得带有在使用过程中不能消除的对所包装药物有影响的性质。

常用的高分子包装材料主要有塑料、橡胶和纤维。

一、塑料及其复合材料

塑料是一种合成的高分子化合物。塑料作为包装材料具有强度高、阻隔性好、质轻携带方便、透明性好等许多优良特性，从而成为现代医用包装中的主要材料。在医药品的包装方面，近年来，除传统的聚酯、聚乙烯、聚丙烯等包装材料用于医药包装外，各种新材料如铝塑、纸塑等复合材料也广泛应用于药品包装。应着重指出的是药片的泡罩包装是近 10 年才发展起来的一种新包装，它解决了要几片取用几片及取用后不影响其他未用药片保存的问题，有效地提高了药品包装质量和药品档次，显示出塑料广泛的发展前景。

1. 聚乙烯 (Polyethylene)

简称 PE，它是应用最广泛的塑料。聚乙烯的主要原料是乙烯。可利用戊烷的热裂制造乙烯：戊烷经加压热裂，可得乙烷与丙烯，乙烷再经脱氢反应可得乙烯。聚乙烯可分为三种，高密度 (HDPE，密度 $> 0.94 \text{ g/cm}^3$)、低密度 (LDPE，密度 $0.92 \text{ g/cm}^3 \sim 0.93 \text{ g/cm}^3$) 和线性低密度 (LLDPE，密度 $0.92 \text{ g/cm}^3 \sim 0.93 \text{ g/cm}^3$)。PE 具有无毒、卫生、价廉的特点，具有半透明状和不同程度的柔韧性；具有中等强度和良好的化学性能；能防潮、防寒，但不阻气；具有很好的耐寒性。聚乙烯是常用的包装材料，除用来制瓶外，还用来制瓶盖。低密度聚乙烯主要用于单膜或作包装箱内衬等。用高密度聚乙烯制成的各种周转箱，比木箱容易清洗、消毒，使用寿命长，高密度聚乙烯还可以用于塑料打包带。

2. 聚丙烯 (Polypropylene)

聚丙烯的制法与聚乙烯相似，以三氯化钛与三乙铝、三丁铝或氯化二乙基铝为催化剂，分散在溶剂中，于 10 个大气压下起反应，反应生成的聚丙烯为浆状，溶于乙醇中，经过处理后再经干燥而成。聚丙烯较聚乙烯硬，软化点亦高，低温时有脆

性。分子量在 80 000 ~ 150 000 之间, 比重 0.90 ~ 0.91。聚丙烯薄膜比重最小, 使用率较高, 它的最大优点是外观性能很好, 而且具有较好的防潮性能和耐磨性。聚丙烯多只作为包装容器和薄膜。随着环保观念的深入人心, 聚丙烯片材逐渐成为目前国际药品包装领域流行的新材料。经过改性后的聚丙烯片材具有优良的气密性、透明度、绝缘性、较高的耐冲击强度和良好的加工性能, 且无毒无害, 该产品将替代聚氯乙烯硬片广泛应用于医药、食品等领域。聚丙烯具有良好的透明度, 挺度和外观效果, 优良的气体、水分阻隔性能, 可保证内容物有较长的保质期, 该药包片材的加工性能优良、工艺成熟, 而且生产效率高, 具有优良的回收再利用功能, 有利于环境保护。它还可以有效地避免气体、光照和其他介质对药品成分的破坏, 适应任何气候地区, 特别适用于高档、新型的易分解和发生化学变化的药品, 能有效地保护药品的品质。适用于丸剂、片剂、栓剂、胶囊和锭剂等药品的包装, 且易于开启。

3. 聚氯乙烯 (PVC)

中文名称为聚氯乙烯, 分子量在 60 000 ~ 150 000 之间。其材料特性比重高、具耐燃性, 具高透明性、绝缘性佳且印刷性佳。不同配方有不同特性, 应用广泛、价廉。但是 PVC 的阴湿性不如 PE 膜, 且随着增塑剂的增加而越差, 在潮湿条件下易受细菌侵蚀。膜的刚性不稳定, 高温时会变软而易结块, 低温时变硬而易冲击脆化, 加工温度超过 190 °C 时易裂解, 而放出 HCl 气体, 对环保冲击大。由于 PVC 材料在生产、储存和废品处理过程中会释放有毒成分, 存在致癌、致畸、降低生育率等影响人体健康和造成环境污染的缺陷, 使得它的使用和发展受到限制。

4. 聚碳酸酯 (PC)

聚碳酸酯, 是主链上含有碳酸酯基团的聚合物的总称。其材料特性是透明性佳、常温时耐冲击性高、耐高温、高刚性、无毒、气体透过性低, 对稀酸稀碱及一般有机溶剂比较稳定, 但是耐摩擦性差、耐药品性差。主要用于特殊容器, 如注射器、小瓶等。

5. 聚偏二氯乙烯包装材料 (PVDC)

偏二氯乙烯的均聚物聚偏二氯乙烯尽管有非常杰出的气体阻隔性能, 但由于难以加工, 所以无法对它进行工业化生产, 因此, 通常所称的 PVDC 是指以偏二氯乙烯 (VDC) 为主体的共聚高分子材料。在药品包装中应用时的 PVDC, 其 VDC 含量在 90% 左右, 常采用的单体有丙烯酸、丙烯酸酯等。这些共聚单体起到了内增塑的作用, 改善了 PVDC 的加工性能, 同时对它的阻隔性能并没有造成严重的削减。药品包装材料杰出的功能在于阻隔性能的选择, PVDC 高分子密度大、结构规整、结晶度高, 因而它具有极好的气体密封性, 优异的阻潮湿、汽能力, 良好的耐油、耐药品和耐溶剂性能。由于进行了共聚改性, PVDC 不仅可以共挤复合, 而且还可以吹膜, 以便与其他材料进行复合, 构成阻隔性能优良的复合型软包装材料。PVDC 是一种淡黄色、粉末状的高阻隔性材料。除有塑料的一般性能外, 还具有自熄性、耐油性、保味性以及优异的防潮、防霉等性能, 同时还具有优良的印刷和热封性能。PVDC 是当今世界上塑料包装中综合阻隔性能比较好的一种包装材料。它既不同于聚

乙烯醇随着吸湿增加而使阻气性急剧下降，又不同于尼龙膜由于吸水性使阻湿性能变差，而是一种阻湿、阻气都比较好的高阻隔性能材料。它不但有优异的高阻隔性能，还具有优异的印刷性能、复合性能和透明特性。在实际应用中，PVDC 涂敷膜对印刷油墨及设备没有特殊要求，因此不需要变更各工序的工艺，即可大幅度提高生产效率，降低成本。使用 PVDC 的复合包装比普通的 PE 膜、纸、铝箔等包装用料量要减少很多，从而达到了减量化包装及减少废物源的目的。在美国，PVDC 制品属于无毒安全的塑料材料，已广泛用于食品包装；在德国，该包装材料拥有绿色标志；而日本、韩国市场上流通的小包装食品、药品、化工产品、电子产品中，有 60% 左右采用 PVDC 包装。随着这种新型包装材料的风行，近几年，西方国家 PVDC 树脂的产量逐年上升，美国的年增长率约为 2%，日本则将近 10%。

6. 聚对苯二甲酸乙二醇酯 (PET)

此种高聚物包装材料简称为聚酯，它是化学结构中主链含有酯键的高分子化合物的总称，由二元醇或多元醇与二元酸或多元酸缩合而成，也可以从同一分子内含有羟基和羧基的物质制得。目前应用的 PET 为线形聚酯，它是热塑性塑料中硬度最高的品种，它的热稳定性和耐磨性能好，它的熔点在 $255\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 260\text{ }^{\circ}\text{C}$ 之间，而且耐蠕变性能、刚性等都胜过多种工程塑料，其吸水性很低，线胀系数又小，尺寸稳定性很高。透气率虽然比聚偏氯乙烯大些，但作为药品包装材料仍是属阻气性良好的材料之一。25 μm 厚的 PET 膜，其透氧量为 $2.9\text{ cm}^3/\text{h MPa}$ 大气压，它吸湿性低：25 $^{\circ}\text{C}$ 水中浸一周，吸水率小于 0.6%，并能保持较好的尺寸稳定性。英国 J. R. Whinfield 在美国 Du Pont CO. 的 W. H. CarOtherS 的研究基础上首先得到了熔点高、结晶性好的高分子量聚酯 PET，1941 年申请专利，1946 年发表其专利。先在英国 ICI 公司试验性生产，商品名称为 Terylene（纤维）。PET 的产量却是 Du Pont 一步领先，于 1948 年取名 Daeron（纤维）；1953 年 ICICO 首先进行 PET 的薄膜试生产，取名 Melinex，1954 年 Du Pont 也生产了薄膜，取名 Mylar。接着德、法两国都以自己的商品名出售，日本是在 1959 年引进 ICI 专利首先生产 PET，1963 年生产薄膜达 2 050 t。我国早期生产和研制 PET 的厂家有上海涤纶厂、北京化工五厂、南京有机化工厂等。PET 材料作为药品泡罩基材，无论是从机械强度、透明性、耐菌性、耐寒性，均优于聚氯乙烯硬片，而吸水率、毒性又小于 PVC。因此采用 PET 材料作泡罩包装基材的热封片材，比聚氯乙烯材料更安全，阻隔性更好，更利于药品在湿、潮、汽环境下的保存。

7. 新型环状烯烃共聚物包装材料 (COC)

环状烯烃共聚物改变了以往聚烯烃结晶而不够透明的现象，具有结晶性与非结晶性聚合物共同的优点，如高透明性、高耐热性、光学特性与电气特性佳、吸水性与透水性低、生物相容性佳、溶出物少等，在药品、食品行业有广阔的空间。含有环状烯烃单体的高分子早在数年前即为人们所认识，但当时由于合成时不易控制聚合物的均匀性与分子量，往往生成的不纯物比例过高，产量无法提高，很少有真正商业化应用产品上市。如今柔软的线性烯烃与坚硬的环状烯烃单体共聚合且可自由调整其比例，因此同时拥有非结晶性与结晶性聚合物的共同优点。不过它虽然有好

的热成型性能，但自身易碎裂，因此常与聚丙烯（PP）复合以利于保持形状，也可与三氟氯乙烯均聚物复合。COC 可在现在多数的高性能热成型设备上成型，因为 COC 的易成型的性能，决定了成为热封合泡罩包装与冷成型铝塑复合的理想替代产品。它的应用提供了高阻湿、热成型性能良好的材料，可以像聚氯乙烯硬片一样成型，但是不含氯及其他卤元素并且对环境无污染，同时尺寸稳定性好，是水晶状透明物，作为泡罩包装染色后透明度仍较高。

8. 三氟氯乙烯均聚物复合包装材料（ACLAR）

ACLAR 复合材料使用新型均聚物材料，而且共挤共聚物的成型性能与被用来复合的承接面的性能相近，模具表面有无涂层都可使用。然而，如果模具角度较小或者局部比较复杂，那么表面有网纹或涂层的模具则有助于材料在整个模腔内分布均匀。ACLAR 阻隔材料能满足较大范围的包装要求。ACLAR 阻隔材料不会融化也不会黏附模具，但是摩擦系数较高，这样会使模具的设计复杂化。如果成型模具的形状复杂，建议在模具中装上顶针。另外预热板表面也应当有网纹，且有较光滑的涂层，以减少热封单元对材料的拖曳。适用于 PVDC 模具和预热板，也适用于 ACLAR 材料的应用。

9. 聚萘二甲酸乙二醇酯（PEN）

PEN 的树脂结构与 PET 十分近似，但 PEN 在所有方面的性能都优于 PET，它具有如下特性：①PEN 的热变形温度比 PET 高 30℃，达到 100℃，可以用于热灌装。②PEN 的玻璃化温度比 PET 约高 40℃，同时其拉伸强度、弯曲模量、弯曲强度也较高，故 PEN 的尺寸稳定性好、热收缩率低、长期耐热性好。③PEN 耐酸、耐碱、耐水解性和耐一般化学药品的性能优于 PET。④PEN 是各种塑料中气体阻隔性较好的一种，对氧气、二氧化碳、水的阻隔性分别比 PET 高 4 倍、5 倍、3.5 倍。⑤PEN 与 PET 相比，对有机溶剂的吸附性较小，本身游离、析出性也低。⑥PEN 结晶度低于 PET，易制得厚壁透明瓶。⑦具有良好的抗紫外线性能。⑧PEN 有很好的卫生性能。PEN 具有优良的特性，是一种理想的包装材料。但 PEN 的价格昂贵，因而限制了作为包装材料的广泛使用，由于 PEN 与 PET 均属热塑性聚酯，化学结构具有相似性，因此，将一定配比的 PEN 与 PET 通过熔融共混制成聚合物合金，可以兼顾 PET 的经济性和 PEN 的耐热性、阻气性等优良特性，是目前 PEN 应用研究的开发重点，也是使 PEN 走向市场（尤其是包装领域）的主要途径之一。当 10%~20% 的 PEN 与 PET 共混后，对氧气、二氧化碳的阻透性可分别提高 30%~50% 和 23%~37%，并可将对紫外线的遮蔽波长提高到 380 nm。PEN/PET 共混或共聚物已用于食用油、酒类、碳酸饮料及啤酒的包装。目前瓶类包装容器已成为 PEN 的主要市场。由于 PEN 具有优良的特性，用 PEN 吹制的 PEN 瓶，性能优于 PET 瓶。PEN 瓶透明、热灌装温度可达约 100℃，对紫外线、氧气、二氧化碳阻隔性好，并且耐化学药品，用于饮料、啤酒、化妆品、婴儿食品的包装，具有很大的实用性和市场。特别是在啤酒包装方面，更弥补了 PET 和玻璃的缺陷，成为近年来的热点话题。Teijin 公司是世界上生产双向拉伸 PEN 薄膜的先驱，早在 1989 年就成功研制了高功能的 PEN 薄膜，在 1993 年建造了一条 4000 吨/年的薄膜生产线。此外 Toray 公司、Du Pont 公司等世界薄膜

生产巨头也相继进入 PEN 薄膜生产市场。PEN 可以使用与 PET 同样的设备制造, 工艺过程与 PET 膜生产一样, 通过熔融—挤出一双向拉伸制得 PEN 膜 (BOPEN)。BOPEN 具有优良的耐热性、气体阻隔性、耐水解性、尺寸稳定性等特点, 且易制得厚度为 $0.8\ \mu\text{m}$ 的极薄薄膜, 利用薄膜的这些特性, 可制得不同用途的包装材料, 其中在食品包装、医药包装、保香包装及精密仪器耐冲力包装方面占据较大的应用市场。

二、橡胶

橡胶具有高弹性、低透气和透水性、耐灭菌、良好的相容性等特性, 因此橡胶制品在医药上的应用十分广泛, 其中丁基橡胶、卤化丁基橡胶、丁腈橡胶、乙丙橡胶、天然橡胶和顺丁基橡胶都可用来制造医药包装系统的基本元素——药用瓶塞。为防止药品在贮存、运输和使用过程中受到污染和渗漏, 橡胶瓶塞一般常用作医药产品包装的密封件, 如输液瓶塞、冻干剂瓶塞、血液试管胶塞、预装注射针筒活塞、胰岛素注射液活塞和各种气雾瓶所用密封件等。

1. 天然橡胶

天然橡胶的利用起源于 15 世纪, 主要来源于巴西橡胶。天然橡胶的主要成分是橡胶烃, 它是由异戊二烯连接组成的高分子化合物。相对分子量为 $3 \times 10^4 \sim 3 \times 10^7$ 。强度大、弹性好, 加工性、黏合性、混合性等良好。但是天然橡胶的耐候性、耐臭氧性、耐油性、耐溶剂性、耐燃烧性等比较差。

2. 丁基橡胶

丁基橡胶是异丁烯和少量异戊二烯的共聚物。丁基橡胶耐候性、耐臭氧性、耐溶剂性、耐燃烧性都很突出。丁基橡胶的电绝缘性和耐电晕性比一般合成橡胶好。但是它的硫化速度很慢, 需要高温或长时间硫化, 自黏性和互黏性差, 与其他橡胶相容性差, 难以并用。

三、纤维素

1908 年, 瑞士化学家雅克·布兰登伯格 (Jacques Brandenburg) 发明纤维素薄膜, 这个发明被称为是 20 世纪最光辉的包装发明, 开创了现代透明软包装的先河, 也为纤维素的广泛应用铺下基石。天然状态的纤维素聚合物链结构紧密, 呈晶状结构, 不易在中性溶液中溶解。经过化学改性后可制成甲基纤维素 (MC)、羟丙基甲基纤维素 (HPMC)、羟丙基纤维素 (HPC) 和羧甲基纤维素 (CMC)。

由 MC、HPMC、HPC 和 CMC 的水溶液或水醇溶液制得的纤维素醚膜具有合适的强度、抗油脂性、柔韧性、透明度, 无臭无味、可溶于水, 具有很好的成膜特性, 在果蔬等食品的保鲜方面有着显著效果, 安全无毒、无色无味、易降解等优良性能, 特别适合“绿色”包装。利用纤维素制备生物降解材料, 为塑料工业开辟了新的原料来源。因此, 关于纤维素膜性质及应用的研究日益受到重视。日本 4 个工业试验室已开发纤维素为主的塑料作薄膜、包装材料等应用, 他们把乳胶状的纤维素与壳聚糖混合加热, 干燥后得到半透明的薄片。另外, 纤维素与蛋白质共混制成的膜材料, 纤维素与其衍生物制成的膜材料都具有良好的干燥强度, 湿润强度也令人满意且制品成本低, 可用于食品、化妆品、洗涤剂 and 日用品以及医药的包装。

第六节 高分子材料在中药中的应用

高分子材料作为一种高分子量的有机材料具有特殊的性能,其具有较好生物相容性和可降解能力的高分子材料正被日益应用到中药制剂中,并且取得很好效果,不仅提高中药制剂的质量,推动着稳定、可控的现代中药进程,其应用发展前途非常广阔。

一、高分子材料在中药分离纯化中的应用^[61-67]

1. 超滤膜分离

膜分离是一种高效、节能、无污染的新型分离技术。由于在膜分离过程中物质不发生相变,可在常温操作,因此特别适用于热敏性物质,如生物或药物成分的分离和提纯。其中的超滤是一种以压力为驱动力,根据相对分子质量的不同来进行分离的膜技术。超滤膜的孔径通常在 3 ~ 300 nm,选用不同孔径的超滤膜,可以将相对分子质量在几百到几十万道尔顿之间的物质进行分离。超滤膜的发展应用要得益于高分子材料的发展,常用的膜材料为高分子材料,主要有聚丙烯腈(PAN)、聚醚酮、聚砜(PS)、聚酰胺、聚偏氟乙烯,聚砜酰胺(PSA)以及纤维素材料中的醋酸纤维素(CA)和三醋酸纤维素(CTA)等。由于中药成分中胶质、糖类纤维等黏性物质的含量很高,膜的污染现象较为严重,因此最好采用抗活性较好的膜材料如聚丙烯腈、磺化聚砜膜等,而且在应用超滤膜前应对药液进行预处理。

(1) 聚丙烯腈(PAN)。PAN 是一种乙烯类聚合物,它的侧链上含有一个强极性基团—CN,但它的亲水性不是很强,耐溶剂性良好。可溶于二甲基甲酰胺等一些碱性溶剂,而不溶于醇、醚、酯、酮等常用溶剂。

李淑莉等使用截留值为 1 万的 PAN 膜研究 7 种中药煮提液,经 HPLC 检测,丹参饮、四妙勇安汤、黄连解毒汤、理中汤 4 种体系的有效成分的回收率都在 60% 以上,而四妙勇安汤中绿原酸的回收率达 73%,高于传统的醇沉法的回收率。

(2) 聚砜类。主要包括 PSF、酚酞型聚醚砜(PES-C)和 PSA 三种。由于结构中的硫原子处于最高的价态,加上邻近苯环的存在,使这类聚合物有良好的化学稳定性,能耐酸、碱的腐蚀,溶于氯代烃、芳烃及二甲基甲酰胺等一些极性溶剂,并在酮类、酯类中发生溶胀。其中 PSF 经硫化可以得到带负电荷的荷电膜—硫化聚砜,和 PSF 相比,在一定的使用条件下它的抗污染性能更强。

袁小红等用截留分子质量为 1 万的 PSA 平板膜超滤制备益气回阳注射液,与原有工艺活性炭吸附法相比,样品中的非药用性大分子被截留,而乌头类生物总碱的平均含量由 $1.348 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 提高到 $11.258 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

(3) 醋酸纤维素类。包括 CA 和 CTA,两者的区别在于酯化程度不同,前者含醋酸 51.8%,后者含醋酸 61.85%。该类物质的亲水性好、成孔性好、材料来源广泛、成本低。CA 溶于氯仿及丙酮,并在二氯甲烷中溶胀,CTA 耐溶剂性类似于 CA 且比

CA 略优, 因其耐酸碱和有机溶剂的能力差, 应用范围受到一定的限制。

张学著等用截留分子质量约为 6.7 万的 CA 中空纤维膜超滤通宣理肺口服液, 使澄清度、外观形状有很大改善, 经试验发现有效成分指标无明显变化, 超滤后的大剂量组的止咳作用优于超滤前, 经氨水引咳小白鼠的平均咳嗽次数由 7.7 降到 1.8。

表明超滤膜技术在中药方面有较好的应用前景, 而且可以更好地保留单味或复方中药中的有效成分。但是超滤膜技术在中药上的应用还刚刚起步, 远不能满足国内中药发展需要。而且由于对中药中有效成分认识不足, 加上膜价格较高、易被中药中胶质等杂质污染, 因此在中药现代化生产中应用还不广。故有必要对前一阶段已经取得的成果予以总结, 开发新材料, 争取降低膜成本; 同时加强对中药成分的研究, 或应用成分相对比较确定、清楚的中药, 而且还应该大力进行中药生产技术现代化的宣传, 使先进的分离技术尽快在中药制药行业中推广应用。

2. 絮凝剂

中药的提取液中的杂质主要是蛋白质、鞣酸、果胶等大分子物质, 它们在中药药液中大多以胶体形式存在, 可以用壳聚糖絮凝除去。壳聚糖由于具有良好的生物相容性、可降解性、成膜性及一定的抗菌消炎等性能, 近年来越来越受到人们的青睐。壳聚糖作为絮凝剂已广泛应用于食品工业, 如净化食品厂的废水、回收蛋白质等, 目前此技术也应用到中药的分离提纯领域。

陈章荣等利用壳聚糖的乙酸溶液作凝絮剂对黄芩水煎液中鞣质等杂质进行分离时发现, 0.1% 的壳聚糖在 pH 8、温度 40 ℃ 条件下对黄芩煎煮液有较好的絮凝效果, 黄芩苷收率较高, 且对蛋白质、鞣质、淀粉等无效成分的分离效果都明显高于醇沉法。张彤等利用壳聚糖对某种中药液进行提纯精制, 发现对药液中微量离子的影响过程中, 与醇沉法相比, 壳聚糖澄清工艺可以显著提高锌、锰、钙离子的转移率, 而且同样对重金属离子铅可以较好地除去。由此看来, 壳聚糖凝絮技术可以推广应用到中药分离领域。作为一种高分子聚合物对药液进行凝絮, 首先要考虑的是其在药液中的溶解性, 因此选择壳聚糖合适的凝絮条件对效果起着举足轻重的作用, 而且不同药液中环境的不同也要求选择合适最佳的絮凝条件。

3. 吸附剂

大孔吸附树脂是一种不含交换基团, 具有网状大孔结构的高分子吸附剂, 由苯乙烯、二乙烯苯或甲基丙烯酸酯等聚合而成, 其吸附性能与活性炭相似。它所具有的吸附性, 与范德华力或氢键有关, 具有各种不同的表面性质, 譬如疏水性的聚苯乙烯能将低极性的有机化合物吸附, 主要依靠分子中的亲酯键、偶极离子及氢键的作用。由于是分子吸附, 因而解吸容易, 因此, 欲分离的天然产物可依其分子体积的大小及吸附力的强弱, 在一定规格的大孔吸附树脂上, 以适当的溶剂洗脱而达到分离的目的。大孔吸附树脂应用到中草药有效成分提取分离的常用型号有: D-101, D-201, ADS-7, CAD-40, CAB-8, SP-825 等, 其特点是吸附容量大、再生简单、效果可靠, 尤其适用于分离纯化苷类、黄酮类、皂苷类、生物碱类等成分及大规模生产。

施荣富等采用 ADS-7 树脂吸附法对白芍中芍药苷的分离纯化进行研究, 以

HPLC 法对芍药苷进行分析测定。结果既有一定比表面积, 又带有适量极性官能团的 ADS-7 树脂对芍药苷具有较高的吸附选择性, 表现出了良好的吸附、洗脱性能, 吸附容量大, 洗脱速率快, 经树脂一步处理的芍药苷质量分数可达 65% 以上。ADS-7 树脂分离纯化芍药苷的工艺简易、实用、可行, 所需溶剂主要是水以及少量的乙醇, 无需使用和接触其他有机溶剂, 生产安全, 环境良好, 易于实现工业化生产。

涂琪顺等利用 AB-8 型树脂分离纯化半枝莲总黄酮, 确定 AB-8 型大孔吸附树脂分离纯化半枝莲总黄酮的最佳工艺为: 上样液浓度为 $3.12 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 上样液 pH 为 2.0, 依次用 3 倍柱体积去离子水, 12 倍柱体积 70% 乙醇以 $3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 速度洗脱。总黄酮转移率为 80% 左右, 其纯度为 60% 左右。

由此, 作为一种分离提纯技术手段, 大孔树脂吸附分离技术由于其具有的优点, 将逐渐被推广应用于中药现代化生产中。但是在推广的过程中, 应该注意解决建立常用型大孔树脂优化生产工艺, 制定药用质量标准; 特别注意解决简易、无污染、低成本的再生技术。

二、高分子材料在中药制剂中的应用^[3,68-70]

1. 中药巴布剂

中药巴布剂又叫中药巴布膏剂, 系指药材提取物、药物与适宜的亲水性基质混合后, 涂于背衬材料形成的外用制剂。巴布剂由含水量较高的高分子材料作为基质, 具有良好的皮肤适应性, 已经引起人们的广泛关注。常用的高分子材料有聚丙烯酸钠、明胶、聚乙烯吡咯烷酮 (PVP)、羧甲基纤维素钠、聚乙烯醇 (PVA)、海藻酸钠以及甲基纤维素。

丙烯酸酯压敏胶被广泛应用于化学合成药物的经皮给药系统, 它的皮肤黏附性好, 皮肤刺激性小, 产品性能稳定。霍宁波等通过对几种中药浸膏压敏胶贴片的研究发现通过优化基质组方和制备工艺在保证贴片各项黏附性能的基础上增加丙烯酸酯压敏胶中中药浸膏载药量是可行的。含有 30% (W/W) 冠心膏浸膏, 5% (W/W) 添加剂的压敏胶贴片, 在 70 °C 条件下干燥 8 min, 各项黏附性指标符合贴片要求, 残留溶剂中没有检测出甲苯; 皮肤黏附实验中无压敏胶皮肤残留; 皮肤刺激性实验中, 均无过敏反应现象。

巴布剂主要是采用水溶性凝胶基质, 由于它含有较多的水分, 贴附时皮肤感觉良好, 加之皮肤的水合作用, 使药物的透皮性好, 同时巴布剂的黏附性普遍比较差, 容易发生脱落和卷边, 黏附性能遇水快速下降, 有的放置时间较长膏体硬化等, 限制了它的使用和治疗疗效。这些都与基质配方和制备工艺有着密切的关系, 合理利用各种高分子材料结合新技术是解决这一问题的关键。

2. 中药涂膜剂

中药涂膜剂是指用有机溶剂成膜材料及中药提取物制成的外用涂剂, 是近几年新发展起来的一种符合中医外治的新剂型。中医外治大部分是膏 (硬、软)、散、酊等剂型。虽这些剂型具有较好的疗效, 尚存在药物粘贴力不强、药物固定难、含铅量高、有碍观瞻等不足。新发展的中药涂膜剂, 除了具有以上剂型的优点外, 还具有不易脱落、不需包扎、药物穿透力强、使用方便等特点。涂膜剂的成膜材料有聚

乙烯吡咯烷酮 (PVP)、聚甲基纤维素的海藻酸盐、聚乙烯醇 (PVA) 等高分子材料。目前国内比较理想也较常用的为聚乙烯醇 (PVA)，具有良好的成膜性，其黏着力比淀粉强 3~4 倍，因此也做助悬剂、乳化剂、黏着剂等用处。成膜为无色透明，有良好的机械强度，PVA 膜有适当的吸湿性和透湿性，而对氧、氯的透过性极低，对细菌、日光稳定。制膜时考虑水溶性、吸湿性、分散性等，可采用部分醇解物规格的 PVA，具有对皮肤亲和性强，能形成薄膜对皮肤无害无刺激，保护胶体作用强等特点。

例：复方土荆皮涂膜剂

【处方】水杨酸 30.3 g，苯甲酸 60.0 g，PVA-124 40.0 g，乙醇 100 mL，蒸馏水 400.0 mL，土荆皮酊加至 1 000 mL

【制备】取 PVA 加水使充分膨胀后，于水浴上加水溶解，取水杨酸和苯甲酸溶于适量的乙醇中，在不断搅拌下将乙醇溶液加至水溶液中，搅匀，加土荆皮酊至全量，即得。

【功能与主治】杀虫止痒，用于皮肤疥。涂于皮肤患处，1~2 次/日。

三、高分子材料在中药中的应用前景

对于依赖高分子材料的分离技术，许多研究表明可以利用在中药提取液中去除鞣质、多糖等大分子杂质，且效果相比以前如醇沉工艺分离效果要好，耗能少，污染少，更有利于有效成分的保留。不过，目前这些新技术由于刚开始应用到中药领域，还有很多问题需要解决，例如膜价格过高、药液对膜的污染、絮凝剂还不稳定、各种分离技术基本材料的规格还比较单一。这些技术用于中药生产，还缺少相应的设备与工艺，因此推广到工业上还有一段路程需要走。在进行基础研究的同时还应该加强应用研究，以使这些新技术尽快应用到中药制剂的实际生产中，提高中药的质量。

目前高分子材料在中药制剂生产中广泛的应用仍然集中在将其作为辅料、赋形剂和附加剂上。这些材料有聚乙二醇、聚乙烯吡咯烷酮、各种纤维素、聚乙烯二醛二乙胺脂、羟基淀粉丙酸酯等。这些聚合物大都为助溶剂、黏合剂、成膜材料、包衣增塑剂、崩解剂等。因此，为了保证药物制剂的质量，我们不仅要研究药物原料，改革工艺，创造新剂型，同时还要认真研究药物辅料。认识辅料的结构、特性和用途，开发新辅料，以提高产品的质量和促进新剂型的诞生，推动中药现代化的进程。由于中药（尤其复方）活性成分及作用机理的复杂性与不确定性，以新型高分子材料为载体的新型给药系统在中药领域的应用还比较困难，不过目前可以针对成分机理研究相对成熟或剂型需要改进的中药或天然药物应用这些技术，从而提高药效与生物利用度，并推出几种药效可靠的新剂型中药。在应用一些具有生物相容性可降解高分子材料制备中药毫微囊微球等缓释、控释制剂时，有些还缺乏真正可靠的药物释放测定及药效评价体系，因此做到真正的可控性释放药物还有一段路程，这更需要材料学和中药学科研工作者共同努力。

总之，中药现代化是一项巨大的系统工程，需要多学科之间的交叉合作，而高分子材料在中药上有很广阔的应用前景。如何把高分子材料科学和中药充分结合起

来,这不仅需要材料科学的努力,更需要中药药理学方面的努力。新型材料、新型技术在中药中的推广应用更依赖于中药化学、中药分析学、中药药理学等中药学的基础研究。

第七节 药用高分子材料的发展趋势和展望

一、药用高分子应用现状

在现代药剂中,从药品包装到复杂的药物传递系统的制备,药用高分子材料的地位举足轻重。药物新制剂与新剂型的发展离不开高分子材料的发展。从20世纪60年代起高分子材料在药物制剂应用中取得了比较重要的进展,如1964年的微囊,1965年的共沉淀物,1970年的缓释眼用治疗系统,1973年的毫微囊,1974年以来的微渗透泵以及20世纪80年代以来的膜控和骨架控释制剂、靶向制剂的发明和创造,以及近年来的纳米药物、基因工程药物、药物智能系统的开发利用都离不开高分子材料的开发利用。高分子材料在现代制药行业中有着广阔的发展前景。

药用高分子材料的研发在发达国家已经有几十年历史了。为适应新制剂、新剂型的发展要求,国外药用材料正向多品种、多规格、多型号发展。如聚乙二醇多达20多种,丙烯酸树脂有4种等。针对形形色色的药用材料,国际标准化组织制定了统一的标准方法(ISO),已经协调了一些高分子材料的标准依据。如以《美国药典》为依据制定的辅料标准有:微晶纤维素、玉米淀粉、羧甲纤维素钠等;以欧洲为依据的有:乙基纤维素和强乙基纤维素;以日本为依据的有:聚维酮、羟丙甲纤维素。我国虽然有一定的开发能力,但和国外相比较差距还是很大,且没有形成统一的标准。

近十几年来,我国药用高分子有了较大的发展,陆续上市了羟丙基甲基纤维素、低取代羟丙基纤维素、丙烯酸树脂(I、II、III、IV号)、可压性淀粉和蔗糖脂肪酸酯等新品种。然而,与国外相比还存在着一定的差距,主要表现在品种仍较少、同一辅料规格单一、质量也有待提高。我们应借鉴国外先进经验,提高现有辅料的质量,利用丰富的资源开发质优价廉的药用高分子,以适应新制剂开发和整个医药工业发展的需要。

二、药用高分子材料发展趋势

近年来,药用高分子材料朝着智能、可控、可生物降解方向发展。

智能材料^[71]为对环境条件可感知并响应,且具有功能发现能力的材料,以智能高分子材料作为药物释放的载体,并集传感、处理及执行功能于一体,对外界刺激可感知,并根据自反馈做出响应,控制药物脉冲释放,即需药时释放,不需要时停止释放,从而达到药物控制智能化的目的。

近年来,一些新型高分子材料的研究和应用使缓控释制剂步入了定时、定向、定

位、速效、高效、长效的精密化给药阶段,出现了口服渗透泵控释制剂、脉冲式释药系统、环境敏感型定位释药系统、结肠定位给药系统等新型缓控释制剂。辅料的成分、组成与结构对药物的释放性能有很大的影响,因此在缓控释制剂中合理应用新型高分子材料,就具有重要的意义。

生物可降解材料主要是指分子链中含有不稳定的化学键,在体内能被化学降解或酶解成小分子,且降解的中间产物或最终代谢产物与机体具有良好的生物相容性的高分子材料。天然和改性天然生物可降解材料在现代药剂学中的应用,开发出具有特殊疗效的药物新剂型,在减轻病人的痛苦、提高生命质量中发挥着越来越重的作用。

药理活性高分子是其中重要的研究方向之一,而高分子抗肿瘤药物的研究及其应用又是人们共同关心的问题。高分子材料在药物上越来越具有广泛的用途,其中已有多种材料在实验室及临床研究中都取得了很大的进展,且已有商品出现。高分子载体药物可以通过剂型改变、控制药物释放速度,避免间歇给药使血药浓度呈波形变化,从而使释放到体内的药物浓度比较稳定,还可以通过释放体系使药物送达体内特定部位,而对身体其他部位不起作用。载体药物技术的关键是载体材料的选择,目前已有各种高分子材料和无机材料被用于载体药物的研究,但对材料的选择必须满足组织、血液、免疫等生物相容性的要求,此外,载体药物的制备将影响到载体药物的给药效率。良好的高分子材料载体应该有足够的体内循环时间以使药物达到靶向目标,而且能够完全排出体外而减少在体内的长时间积累。用具有生物相容性和生物可降解性的高分子材料作为载体的抗肿瘤药物可在病灶部位选择性地释放药物,能极大地提高药物的生物利用率,有效地降低药物的毒副作用和用药剂量,是目前药物释放领域研究的热点。

从整个世界包装业的发展看,尽管塑料包装材料一直经受环境问题的严重挑战,但塑料包装在包装工业中仍成为需求增长最快的材料之一。为适应新时代的要求,塑料包装材料除要求能满足市场包装质量和效益等日益提高的要求外,还进一步要求其节省能源、节省资源,用后易回收利用或易被环境降解为技术开发的出发点。为此塑料包装材料正向高机能、多功能性、环保适应性、新材料、新工艺、新设备及拓宽应用领域等方向发展。高性能、多功能性塑料包装材料正成为许多国家开发的热点,并已有部分产品投入了工业生产。这类材料包括高阻渗性、多功能保鲜性、选择透过性、耐热性、无菌(抗菌)性以及防锈、除臭、能再封、易开封等特性,其中以高阻渗性、多功能保鲜、无菌包装材料等发展更为迅速。另外,近年来正在研究开发的纳米复合包装材料正受到关注。

三、药用高分子材料应用发展前景

药用高分子及医药包装用高分子材料的应用将继续扩大,尤其在高分子药物、药物载体、缓释控释等领域的研究将受到更多的关注。高分子材料在生物制药工业药用膜控释制剂和中药现代化中的应用研究将是今后的发展重点。

目前,我国的医药消费市场持续扩大,应用于生命科学的高分子材料产品面对的是巨大的需求和可观的利润,这给国内相关企业带来了很大发展机会;同时,新型高分子材料的研发和应用对我国传统医药产业的技术改造、技术创新,以及高新

技术医药新产品的开发有着强有力的推动作用, 高新技术医药新品将是我国医药行业开拓国内市场、进军国际市场的重要棋子。与发达国家相比, 我们的医用高分子材料的应用与研发水平还处于较低档次, 而材料自身所具备的极高研究价值和极大的应用潜力, 使我们不得不正视这一点: 随着 WTO 的加入, 我国科研工作者必须加快此专业领域研究工作的进程。相关的专业传播媒体也应加强对医用高分子材料应用研究科技成果的宣传报导, 以便引起更多科研人员的重视, 促进我国的药用高分子材料的研发和利用, 改变我国药用高分子材料及其制剂落后的状态。

参考文献

- [1] 姚日生. 药用高分子材料 [M]. 第二版. 北京: 化学工业出版社, 2008.
- [2] 许晓秋, 李景庆, 张爽男, 等. 高分子材料在生物医学领域的应用 [M]. 塑料加工应用, 2002, 24: 24-28.
- [3] 催福德. 药剂学 [M]. 第五版. 北京: 人民卫生出版社, 2006.
- [4] 陆彬. 药物新剂型与新技术 [M]. 第二版. 北京: 人民卫生出版社, 2005.
- [5] 陈建海. 药用高分子材料与现代药剂 [M]. 北京: 科学出版社, 2003.
- [6] 温变英. 生物医用高分子材料及其应用 [J]. 化工新型材料, 2001, 29 (9): 41-44.
- [7] 马维坤, 仰榴青, 吴向阳, 等. 半枝莲多糖提取工艺及其免疫活性初步研究 [J]. 江苏大学学报: 医学版, 2007, 17 (4): 315-318.
- [8] 李萍. 生药学 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2005.
- [9] Coviello T, Palleschi A, Grassi M, et al. Scleroglucan: a versatile polysaccharide for modified drug delivery *Molecules* [J]. 2005, 10 (1): 6-33.
- [10] Chourasia MK, Jain SK. Polysaccharides for colon targeted drug delivery [J]. *Drug Deliv*, 2004, 11 (2): 129-48.
- [11] 梁素美, 王静, 宋健. 低分子肝素治疗恶性肿瘤合并弥漫性血管内凝血的疗效观察 [J]. 肿瘤防治研究, 2008, 35 (4): 287.
- [12] 徐衡, 陈友存, 周宏等. 聚乙烯醇与氨基酸接枝共聚物的合成及光谱研究 [J]. 光谱学与光谱分析, 2002, 22 (5): 767-769.
- [13] 沈良骏, 李庆海. 含药物端基 PEG 大单体的合成 [J]. 安徽师范大学学报: 自然科学版, 2002, 25 (2): 154-156.
- [14] Intra J, Glasgow JM, Mai HQ, et al. Pulsatile release of biomolecules from polydimethylsiloxane (PDMS) chips with hydrolytically degradable seals [J]. *J Control Release*. 2008, 127 (3): 280-287.
- [15] 陈伟, 陈惠英, 张彦, 等. 壳聚糖在医药领域的应用 [J]. 医学信息, 2007, 20 (3): 507-508.
- [16] 邢桂荣, 王敬湘. 壳聚糖在医药领域的研究进展 [J]. 中国药业, 2003, 12 (8): 74-75.
- [17] 魏海霞, 赵凯, 纪鑫, 等. 壳聚糖微球的制备及其在药物载体中的应用进展 [J]. 中国新药杂志, 2008, 17 (13).
- [18] Amidi M, Romeijn SG, Verhoef JC, et al. N-trimethyl chitosan (TMC) nanoparticles loaded with influenza subunit antigen for intranasal vaccination: biological properties and immunogenicity in a mouse model [J]. *Vaccine*, 2007, 25 (1): 144-53.
- [19] Filipovic-Grcic J, Perissutti B, Moneghini M, et al. Spray-dried carbamazepine-loaded chitosan

- and HPMC microspheres: preparation and characterization [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2003, 55 (7): 921 - 931.
- [20] Coviello T, Matricardi P, Alhaique F. Drug delivery strategies using polysaccharidic gels [J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2006, 3 (3): 395 - 404.
- [21] 陈慧云, 王建华, 徐世荣, 等. 高分子材料纤维素醚类衍生物在缓释制剂辅料中的应用 [J]. *材料报导*, 2005, 19 (7): 48 - 51.
- [22] Williams RO, Sykora MA, Mahaguna V. Method to recover a lipophilic drug from hydroxypropyl methylcellulose matrix tablets [J]. *AAPS PharmSciTech*, 2001, 2 (2): 8.
- [23] Friesen DT, Shanker R, Crew M, et al. Hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate - based spray - dried dispersions: an overview [J]. *Mol Pharm*, 2008, 5 (6): 1003 - 1019.
- [24] 王卫平. 阿拉伯胶的种类及性质与功能的研究 [J]. *中国食品添加剂*, 2002 (2).
- [25] 李可意, 冯淑华, 程艳玲, 等. 美洛昔康缓释微囊的工艺研究与质量评价 [J]. *北京联合大学学报: 自然科学版*, 2007, 69 (3): 68 - 51.
- [26] 关林波, 林海. 明胶及其在生物材料中的应用 [J]. *材料导报*, 2006, 20 (11): 380 - 383.
- [27] 李素民, 田彩锁, 樊德厚, 等. 酮基布洛芬微囊的制备和体外释药研究 [J]. *华西药学杂志*, 2000, 15 (1): 41 - 42.
- [28] Wang J, Tabata Y, Morimoto K. Aminated gelatin microspheres as a nasal delivery system for peptide drugs: evaluation of in vitro release and in vivo insulin absorption in rats [J]. *J Control Release*, 2006, 113 (1): 31 - 37.
- [29] 赵李清, 庄海春, 黄纲. 缓释镇痛药物的种类及载体材料 [J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2008, 12 (14): 2717 - 2720.
- [30] 杜嘉英, 尚会建, 许保云, 等. 聚乙烯醇在医疗中的应用进展 [J]. *河北工业科技*, 2005, 22 (1): 52 - 54.
- [31] Rosenblatt KM, Bunjes H. Poly (vinyl alcohol) as Emulsifier Stabilizes Solid Triglyceride Drug Carrier Nanoparticles in the alpha - Modification *Mol Pharm*, 2009, 6 (1): 105 - 120.
- [32] Mao S, Xu J, Cai C, et al. Effect of WOW process parameters on morphology and burst release of FITC - dextran loaded PLGA microspheres [J]. *Int J Pharm*, 2007, 334 (1 - 2): 137 - 48.
- [33] Jawalkar SS, Raju KV, Halligudi SB, et al. Molecular modeling simulations to predict compatibility of poly (vinyl alcohol) and chitosan blends: a comparison with experiments [J]. *J Phys Chem B*, 2007, 111 (10): 2431 - 9.
- [34] Thybo P, Kristensen J, Hovgaard L. Characterization and physical stability of tolfenamic acid - PVP K30 solid dispersions [J]. *Pharm Dev Technol*, 2007, 12 (1): 43 - 53.
- [35] Hamoudeh M, Fessi H, Mehier H, et al. Dirhenium decacarbonyl - loaded PLLA nanoparticles: influence of neutron irradiation and preliminary in vivo administration by the TMT technique [J]. *Int J Pharm*, 2008, 348 (1 - 2): 125 - 36.
- [36] Tarvainen T, Malin M, Barragan I, et al. Effects of incorporated drugs on degradation of novel 2, 2' - bis (2 - oxazoline) linked poly (lactic acid) films [J]. *Int J Pharm*, 2006, 310 (1 - 2): 162 - 7.
- [37] Trimaille T, Gurny R, Mller M. Poly (hexyl - substituted lactides): novel injectable hydrophobic drug delivery systems [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2007, 80 (1): 55 - 65.
- [38] 刘苗苗, 张政朴. 药用缓释材料聚乳酸 - 乙醇酸共聚物的研制 [J]. *天津药学*, 2007, 19 (1): 13 - 15.

- [39] Kang J, Schwendeman SP. Pore closing and opening in biodegradable polymers and their effect on the controlled release of proteins [J]. *Mol Pharm*, 2007 (1): 104 - 118.
- [40] Bala I, Hariharan S, Kumar MN. PLGA nanoparticles in drug delivery: the state of the art [J]. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*, 2004, 21 (5): 387 - 422.
- [41] van Vlerken LE, Duan Z, Little SR, et al. Biodistribution and pharmacokinetic analysis of Paclitaxel and ceramide administered in multifunctional polymer - blend nanoparticles in drug resistant breast cancer model [J]. *Mol Pharm*, 2008, 5 (4): 516 - 26.
- [42] Lu D, Garcia - Contreras L, Xu D, et al. Poly (lactide - co - glycolide) microspheres in respirable sizes enhance an in vitro T cell response to recombinant Mycobacterium tuberculosis antigen 85B [J]. *Pharm Res*, 2007, 24 (10): 1834 - 1843.
- [43] Jiang W, Schwendeman SP. Stabilization of tetanus toxoid encapsulated in PLGA microspheres [J]. *Mol Pharm*, 2008, 5 (5): 808 - 817.
- [44] Feng L, Qi XR, Zhou XJ, et al. Pharmaceutical and immunological evaluation of a single - dose hepatitis B vaccine using PLGA microspheres [J]. *J Control Release*, 2006, 112 (1): 35 - 42.
- [45] Feng L, Qi XR, Zhou XJ, et al. In vitro performance of carbamazepine loaded to various molecular weights of poly (D, L - lactide - co - glycolide) [J]. *Drug Deliv*, 2006, 13 (1): 9 - 18.
- [46] 张海霞, 张晓昀, 王亚伟. 聚乙二醇交联 C8 固定相分析苦瓜中巢菜碱 [J]. *分析化学*, 2004, 32 (3): 408.
- [47] 甄沛林, 谢仕斌, 麦强才. 聚乙二醇干扰素联合利巴韦林治疗慢性丙型肝炎临床疗效观察 [J]. *实用医学杂志*, 2005, 21 (13): 1463 - 1464.
- [48] 赵云利, 戎隆富, 戴敏, 等. 聚乙二醇化天花粉蛋白抗生育活性及其过敏反应试验 [J]. *生殖与避孕*, 2005, 25 (10): 588 - 589.
- [49] Jiang YY, Liu C, Hong MH, et al. Tumor cell targeting of transferrin - PEG - TNF - alpha conjugate via a receptor - mediated delivery system: design, synthesis, and biological evaluation [J]. *Bioconjug Chem*, 2007, 18 (1): 41 - 49.
- [50] Rijcken CJ, Hofman JW, van Zeeland F, et al. Photosensitizer - loaded biodegradable polymeric micelles: preparation, characterisation and in vitro PDT efficacy [J]. *J Control Release*, 2007, 124 (3): 144 - 53.
- [51] Murakami T, Fan J, Yudasaka M, et al. Solubilization of single - wall carbon nanohorns using a PEG - doxorubicin conjugate [J]. *Mol Pharm*, 2006, 3 (4): 407 - 14.
- [52] Musacchio T, Laquintana V, Latrofa A, et al. PEG - PE Micelles Loaded with Paclitaxel and Surface - Modified by a PBR - Ligand: Synergistic Anticancer Effect [J]. *Mol Pharm*, 2009, 6 (2): 468 - 479.
- [53] 赵铁, 张伟, 何仲贵, 等. 盐酸青藤碱缓释微丸的研制 [J]. *中国医院药学杂志*, 2008, 28 (5): 360 - 362.
- [54] 祁小乐, 朱家璧, 陈盛君. 双氯芬酸钠肠溶微丸型片剂的研制 [J]. *药学学报*, 2008, 43 (1): 97 - 101.
- [55] Onuki Y, Nishikawa M, Morishita M, et al. Development of photocrosslinked polyacrylic acid hydrogel as an adhesive for dermatological patches: involvement of formulation factors in physical properties and pharmacological effects [J]. *Int J Pharm*, 2008, 349 (1 - 2): 47 - 52.
- [56] 李秀瑜, 侯都兴. 瓜胶/聚丙烯酸互穿聚合物网络水凝胶对模型药物的负载与控制释放 [J]. *功能高分子学报*, 2008, 21 (3): 275 - 279.

- [57] 董良安, 卢忠萍. 聚丙烯酸钠应用状况 [J]. 民用科技, 2008, 6.
- [58] 黄玮, 刘新星, 童真, 等. 聚丙烯酸钠水凝胶基材退热贴的制备及其性能 [J]. 功能高分子学报, 2007, 19 (2): 216 - 219.
- [59] 贾春风, 宋艳. 卡波姆的基础及药剂学上的应用 [J]. 中国现代医药杂志, 2006, 8 (11): 152.
- [60] 刘琳, 张亚楠. 水性肠溶型丙烯酸树脂药物包衣材料的研究 [J]. 合成材料老化与应用, 2008, 37 (3): 23 - 28.
- [61] 刘海岛. 高分子材料在现代中药中的应用 [J]. 世界科学技术——中药现代化, 药学前沿, 2002, 4 (5): 27 - 32.
- [62] 王姣, 姜忠义, 吴洪, 等. 中药有效成分和有效部位分离用膜 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30 (3): 165 - 170.
- [63] 夏建军, 施荣富, 杨益忠, 等. 高选择性吸附树脂在中药有效成分分离纯化中的应用 [C]. 2006 年绿色化学科学与工程和过程系统工程国际论坛, 2006.
- [64] 施荣富, 王春红, 杨益忠, 等. ADS - 7 树脂分离纯化芍药苷的工艺研究 [J]. 中草药, 2005, 36: 95 - 97.
- [65] 涂琪顺, 蔡光明, 黄媛, 等. 大孔树脂分离纯化半枝莲总黄酮的研究 [J]. 中南药学, 2008, 6 (2): 171 - 194.
- [66] 杜彬, 闫立英, 林小虎. 吸附树脂法分离纯化酿酒用葡萄中白藜芦醇的研究 [J]. 酿酒科技, 2007, 156: 41 - 44.
- [67] 赵彦杰. 半枝莲红色素提取工艺的研究 [J]. 中国农学通报, 2006, 22 (4): 109 - 111.
- [68] 曹韧楠, 朱春燕. 高分子材料在中药透皮制剂中的应 [C]. 第二届中药现代化新剂型新技术国际学术会议, 2006: 97 - 100.
- [69] 刘海岛, 尹秋响, 高文远. 高分子材料在中药分离纯化及制剂中的应用进展 [J]. 中国中药杂志, 2003, 28 (2): 101 - 105.
- [70] 霍宁波, 汪晴. 几种中药浸膏压敏胶贴片的研究 [J]. 中医外治杂志, 2006, 15 (2): 3 - 6.
- [71] 张志斌, 唐昌伟, 陈慧清, 等. 药用高分子材料智能控释系统的研究 [J]. 生物医学工程学杂志, 2006, 23 (1): 205 - 208.



第七章 生物分子药物的合成

随着生命科学的发展,向生命学习、了解生命活动的本质与机理,成为未来科学技术的发展重点之一,也将为今后科学技术的发展提供崭新的思想与途径,同时也把药剂学的发展推向了一个崭新的里程碑。生物分子药物包括多肽、蛋白质、基因等,目前主要用于治疗肿瘤、艾滋病、心脑血管病等重大疾病。生物分子药物的主要优点是,对反应物的选择性及作用具有其他药物无法比拟的高效性;大部分生物分子药物,如酶类或基因药物等均具有可反复作用的药物活性;大部分生物分子药物易于用生化方法大量生产;生物分子药物一般均具有高水溶性,因此易于制备成各型液态药剂。

第一节 蛋白质类药物合成方法

用化学或化学-生物结合法制备非天然来源的多肽或蛋白质类药物,可追溯到20世纪六七十年代。中国科学家历经8年时间,在国际上首次用化学方法合成了牛胰岛素,是化学制备蛋白质的经典例证。数十年来,已用化学法合成了一系列多肽和较低相对分子质量的蛋白质作为药物或研究之用。由于近年基因克隆技术和蛋白质表达系统的迅速发展,蛋白质的体外合成也有了惊人的突破。随着化学合成多肽的自动化,原则上可以合成任意长度的多肽或蛋白质。然而在化学合成过程中,随着肽链的延伸,产率逐步降低,又由于合成肽不具备三维构象,需进行重天然化后才能形成多肽或蛋白质的构象和生物学活性,而复性过程中又会遇到诸如二硫桥重建与正确定位等问题,因此,化学合成多肽或蛋白质仍受一定限制。利用分子生物学方法和一些特殊的蛋白质表达系统,大大推进了体外蛋白质的制备与研究。其优点可归纳为:①用蛋白质表达系统获得的重组蛋白已具有一定的空间构象和生物活性,无需进行重天然化;②利用表达系统中附加的纯化标识(tagger),表达的蛋白质可一步纯化出所需目的蛋白,删除了化学合成产物的复杂纯化过程;③利用人为设定的蛋白质或多肽末端氨基酸残基,使化学基团进行可逆转化,简单而有效地形成肽键;④如同化学合成一样,可引入修饰氨基酸或D-氨基酸,满足研究与应用需要;⑤根据多肽链的一级结构 and 研究要求,可任意组合和连接肽段等。总之,化学合成与蛋白质表达系统相结合的方法是目前制备蛋白质类药物的潮流之一。

一、化学法合成蛋白质类药物

目前,用化学法合成多肽主要依赖于固相肽自动合成仪,它是将氨基端被保护的第1个氨基酸的羧基结合到一个不溶性载体上,使之固定,然后脱掉该氨基酸的氨基端保护基,再将第二个氨基端被保护的氨基酸的羧基与固定的第一个氨基酸的游离氨基缩合形成不溶性二肽,如此反复进行,最后经化学降解和脱保护基后,从载体上脱落目的多肽。由于产率随每个氨基酸的缩合而递减,合成多肽的长度受到一定限制,一般在30~50个氨基酸残基水平。科学家们虽然在保护基和缩合方法上有许多新的改进,但用固相肽自动合成仪合成一个大分子蛋白质仍是任重道远。20世纪90年代中期有报导,在水溶液中经硫酯键介导的化学连接法推动了蛋白质人工合成方法学的发展,它是一种将2个经固相肽合成的脱保护的肽片断直接连接而成更长的多肽或低相对分子质量(M_r)蛋白质的方法。其基本原理是:首先合成两个肽片断并对其进行脱保护处理,其中第1个肽片断的羧基端为 α -硫酯,第2个肽片断的氨基端必须为CySH;接着,这两个肽片断在中性水溶液中即可进行转酯反应,第2个肽片断的CySH的游离巯基对第1个肽片断的 α -硫酯进行亲核攻击,通过转硫酯化反应生成硫酯键连接的中间产物;最后,含硫酯键的中间产物自发重排并通过不可逆的S $\rightarrow$ N酰基转移,两个肽片断间形成肽键。

目前,硫酯键介导的化学连接法已被成功地应用于较小蛋白质和蛋白质结构域的合成,其主要缺点是在连接位点需要特定的亲核性氨基酸残基。随着方法学的改进与发展,现在已经能够进行连续几个肽片断的连接,促红细胞生成素(EPO)变异体的合成就是一个成功的例子。EPO变异体是由166个氨基酸残基组成,经4个肽片断连续3次连接反应而合成。现将一些用化学法合成的多肽与蛋白质列于表7-1^[5,6]。

表7-1 化学合成的多肽和蛋白质

化学蛋白	氨基酸数	结构特点	性 质	合成方法
促红细胞生成素(EPO)	166	两个亲水多聚物结构取代了EPO中的O-多糖和N-多糖部分	在细胞试验和动物试验中表现出强有力的造血活性和更长的半衰期	硫酯键介导的化学连接法
蛋白连环素	40/亚基	两个多肽环相互贯穿	与非环状二聚体蛋白分子相比,对热变性和化学变性的抵抗力更强	硫酯键介导的化学连接法
牛胰腺胰酶抑制剂(BPTI)	58	与天然BPTI相同	与天然BPTI相同	硫酯键介导的化学连接法
精活肽(SAP)	10	酰胺骨架上含有2-硝基苯基团	对受体的亲和力大大低于天然精活肽,紫外线照射清除2-硝基苯基团后对受体的亲和力恢复	固相肽自动合成
人为设计的蛋白复合物	30/亚基	既有左手螺旋又有右手螺旋相应的肽有D-和L-氨基酸组成	在溶液中形成稳定的螺旋异质四聚体	固相肽自动合成

续表

化学蛋白	氨基酸数	结构特点	性 质	合成方法
b/HLH 转录因子	180	多肽链为线性，但有两个 N 端而无 C 端	具有 DNA 结合活性	化学连接法
HIV - 1 蛋白酶	202	共价二聚体，Gly49 - Ile50 间的—N (H) — 被—O—取代	保留原酶全部固有的催化活性	硫酯键介导的化学连接法
细胞色素 b5	82	与天然分子相同	三维结构类似于天然蛋白	硫酯键介导的化学连接法

二、化学 - 生物法合成蛋白质类药物

化学 - 生物法合成蛋白质主要是利用分子克隆与生物工程技术将化学合成的小片段经特定的介导途径连接于大片段上，例如蛋白质内含子介导法，该法既解决生物法合成的蛋白质局限于编码氨基酸，又能避免化学合成法受到片段大小限制。近年来，已成功地合成了一些多肽与蛋白质，见表 7 - 2。

表 7 - 2 化学 - 生物合成法合成的多肽和蛋白质^[7]

化学蛋白	氨基酸数	合成目的
降钙素 (CT)	32	C 端胺化
硫胺素合成酶 (ThiS)	66	半合成
活化剂蛋白 - 1 (AP - 1)	70	Fe - EDTA 探针
糖化依赖性细胞黏附分子 1 (GlyCAM - 1)	77	碳水化合物
血管内皮生长因子 (VEGF)	110	C 端修饰
核糖核酸酶 A	124	半合成及硒代半胱氨酸连接
硫氧还蛋白	135	多聚化产物
Abelson 蛋白酪氨酸激酶	160	片段同位素标记，荧光探针
β - 内酰胺酶	278	骨架环化
麦芽糖结合素 (MBP)	395	C 端修饰
细胞	400	片段标记
T ₄ DNA 连接酶	487	半合成
信号转导与转录活化因子 1 (STAT1)	713	荧光探针
T ₇ RNA 聚合酶 (T ₇ RNAP)	887	C 端修饰

三、利用 (His)₆ 标识辅助的蛋白类药物合成

如前所述，用化学法合成较大的蛋白质，随着肽片段增大，缩合次数增多，产率越来越低，因此，合成的肽段长度受到一定限制。最近有报导用 (His)₆ 标识辅助

蛋白质合成的方法 (见图 7-1) [(His)₆tag - assisted protein synthesis]^[6,8]。该方法既利用硫酯键介导又根据固相肽合成原理将两个或多个大片断缩合成多肽或蛋白质, 并利用 (His)₆tag 与 Ni²⁺ - NTA - 树脂的亲合性快速纯化合成蛋白质。

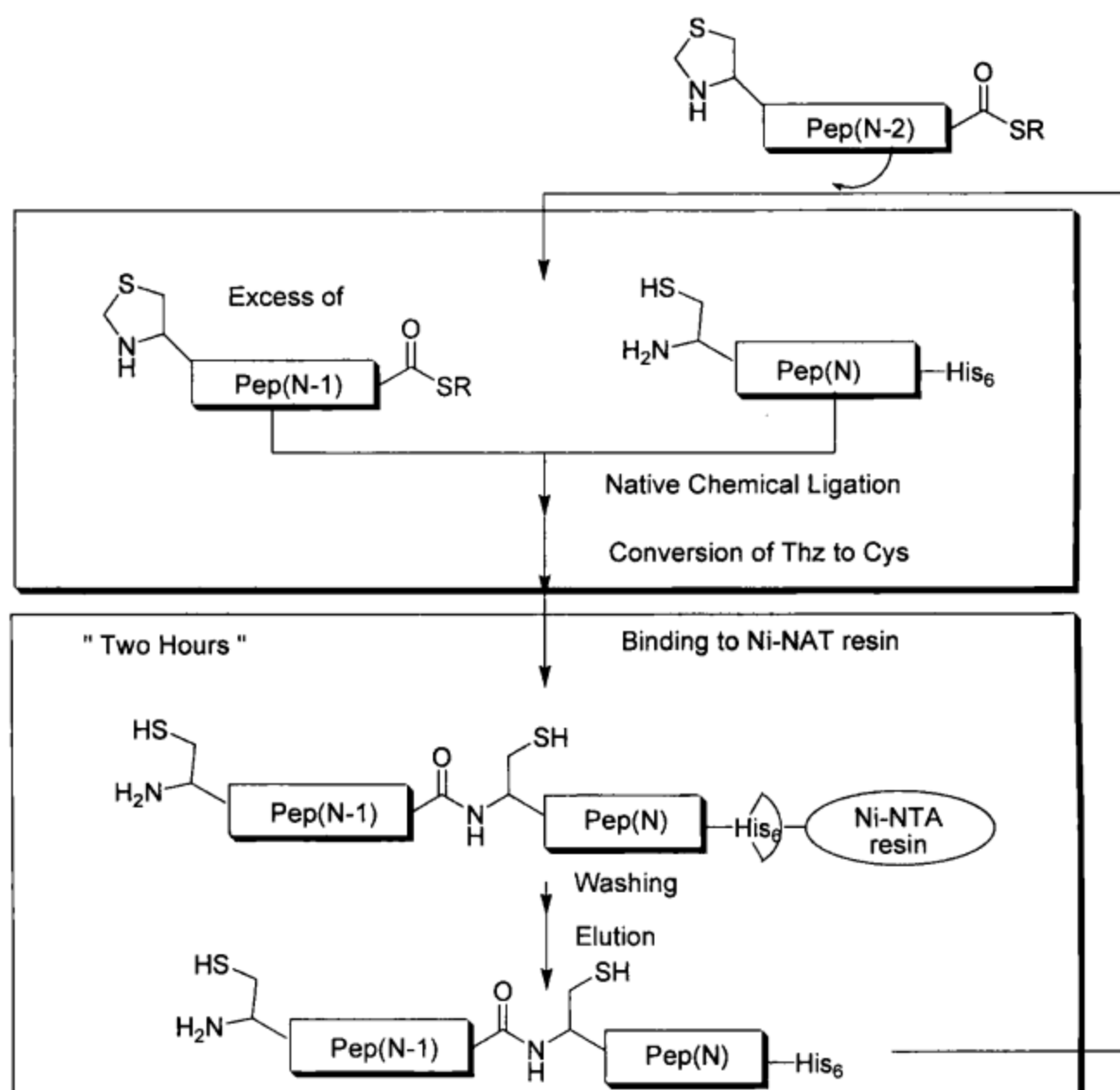


图 7-1 (His)₆ 标识辅助的蛋白质

首先用化学法或基因克隆法合成 N 端为 CySH 和 C 端含 (His)₆ 的肽 (N), 然后与 N 端为硫唑和 C 端为硫酯的肽 N1 化学缩合成肽 (N1 + N)。由于 (His)₆tag 能与 Ni²⁺ - NTA 树脂亲和, 于是形成了不溶性的肽片段 (N1 - N - (His)₆ - NTA resin)。亲和柱经彻底洗涤后, 可用咪唑将合成的肽或蛋白质从树脂上洗脱而获得目的产物。也可将第 2 个肽片段 (N2) 与不溶的合成产物 (N1 + N) 再缩合形成更大的多肽或蛋白质, 由此类推, 可合成一定大小 M_r 的蛋白质。

Bang 和 Kent 利用该法合成了 Crambin 和 Tetratrico peptide repeat (TPR)。Crambin 具有 46 个氨基酸残基, 经 3 个肽片段合成; TPR 具有 136 个氨基酸, 经 4 个肽片段合成。这 2 个蛋白质的成功合成表明, (His)₆ 标识辅助的蛋白质合成法使多肽或蛋白质产物直接从连接反应混合物中分离纯化, 易于进行缓冲液交换以达到

改变反应条件的目的。蛋白质合成过程中每一步连接反应的中间产物还可进行蛋白质的 MS 分析以便控制后续反应。然而，利用亲和纯化柱，不可逆吸附是不可避免的，因而导致产率不够理想。

四、蛋白质内含子介导法合成蛋白质类药物

蛋白质自剪接 (Protein Self - Wplicing) 是细胞内蛋白质生物合成中后转译水平上的一种加工过程，其主要元件是蛋白质内含子 (Intein)。自 20 世纪 90 年代蛋白质自剪接机理被阐明后，为利用蛋白质内含子介导蛋白质的连接 (Intein - Mediated Protein Ligation, IPL) 奠定了基础。虽然 IPL 的基本原理也是利用硫酯键介导的化学缩合，即在一个肽的 N 端设计一个 Cys¹，而在另一个肽的 C 端造成一个硫酯，但其利用分子生物学方法，在表达载体上除了含蛋白内含子读框外还设计了一个甲壳素结合结构域 (CBD) 读框作为亲和标识，这样硫酯键介导连接的蛋白质可通过甲壳素亲和柱和蛋白质剪切反应一步纯化获得连接的蛋白质，使过程大大简化。IPL 不但可以连接化学合成的肽段，也可连接 2 个表达的大肽片断或蛋白质 (见图 7 - 2)，大大拓宽了蛋白类药物制备的方法学。

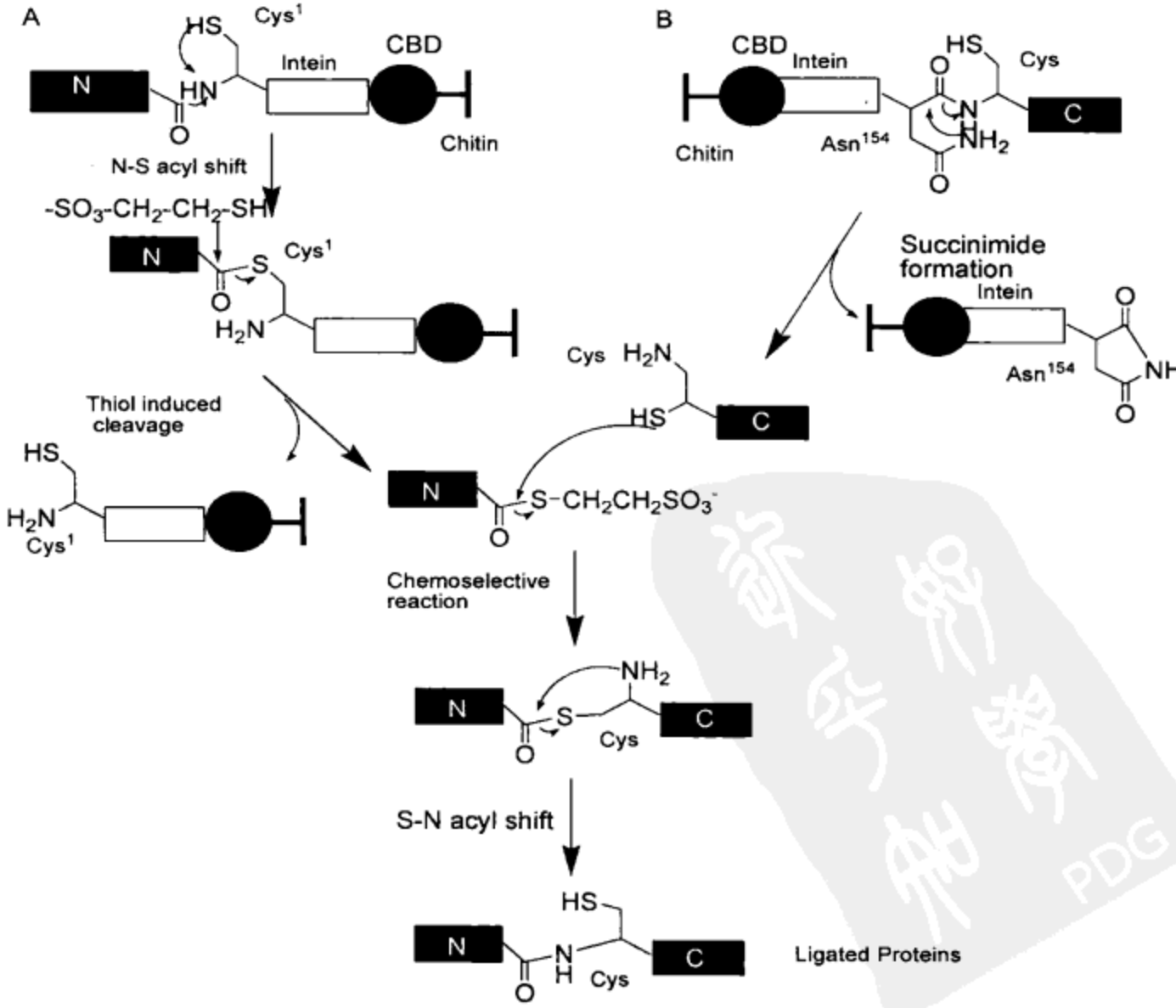


图 7 - 2 内蛋白子介导的蛋白质连接

Arnold 等首次成功地探索了 IPL 法半合成含有 124 个氨基酸残基的 RNase A。他们将编码 RNase A 的 N 端部分 (1 ~ 94 个氨基酸残基) 的 DNA 序列通过基因工程的方法插入到质粒 pTXB I (该载体含 Mxe GyrA intein 及 CBD) 中, 然后将该重组质粒转化 *E. coli* ER2566, 重组后表达的融合蛋白在巯基试剂如二硫苏糖醇等作用下经蛋白质内含子的剪接形成 C 端带有硫酯标识的 RNase A 的 N 端肽 (1 ~ 94 个氨基酸残基); 而 RNase A 的 C 端肽 (95 ~ 124 位氨基酸残基) 是由化学合成的, 其 N 端为 CySH。这样, 通过硫酯介导即可形成全长的半合成的 RNase A。半合成的 RNase A 经纯化后在分子结构、热稳定性和催化活性上均与天然 RNase A 相当。

山西大学化学生物学与分子工程教育部重点实验室用 IPL 法合成了免疫络合物 AchR α 211 - Gelonin。通过基因克隆技术构建了含 CBD - intein - CySH - Gelonin 融合基因的重组质粒 pBSL - gel (A) 和含 AchR α 211 - intein - CBD 融合基因的重组质粒 pTXB1 - AchR α 211 (B) (类似图 7-2)。两种重组质粒分别在 *E. coli* BL21 中表达形成融合蛋白。表达蛋白 A 在 MESNA 作用下经蛋白质内含子自剪接在 C 端形成硫酯, 而以 CySH 为 N 端的 B 蛋白经蛋白质内含子自剪接后, 与 A 缩合, 形成免疫络合物 AChR α 211 - Gelonin。对该免疫络合物的分析表明, 它既有抗 AChR α 211 的免疫活性, 又有抗 Gelonin 的免疫活性。

蛋白质内含子介导的蛋白质连接法在蛋白质的合成中具有重要意义: ①它可以直接缩合大片段肽, 而且产率高, 从而使合成蛋白的大小远远超过了化学合成法; ②通过该方法可以对蛋白质进行模拟转录后修饰, 如糖基化、磷酸化等; ③通过该法可在蛋白质中引入非天然序列, 如非天然氨基酸残基、非天然辅助因子等; ④对大分子蛋白进行分段连接与标记如荧光、同位素、生物素等, 制备高分子质量标记蛋白质, 可为 NMR 分析蛋白质构象提供样品。总之, IPL 法已引起有关科学家的广泛关注。

第二节 环肽类药物的合成

多肽药物在治疗上的重要性, 越来越引起广大药学工作者的重视。根据肽键的结构又分为直链肽和环肽。其中直链肽的研究最为广泛和深入, 尤其在直链肽的合成技术方面无论是液相法还是固相法都已成熟。虽然许多直链肽体外具有很好的生物活性和稳定性, 但是进入体内后活性很快消失。为了得到生物活性好、半衰期长、受体选择性高的多肽。这种大环分子具有明确的固定构象, 能够与受体很好地契合, 加上分子内不存在游离的氨端和羧端使得对氨肽酶和羧肽酶的敏感性大大降低, 一般来说, 环肽的代谢稳定性和生物利用度远远高于直链肽。鉴于环肽的诸多优点, 近年来对多肽研究的热点已转移到环肽的合成和生物评价上。

根据环肽的环合方式又分为首尾相连环肽、侧链和侧链相连环肽、侧链和端基相连环肽、含二硫桥的环肽以及含有其他桥连结构的环肽。从合成方法上讲, 首尾

相连的环肽的合成难度最大。因为环肽的前体——直链肽的肽键具有很强的 p 键特征，分子更偏爱形成反式构象，呈舒展状态，造成属于反应中心的端基的羧基和氨基在空间上距离较远，不利于发生分子内缩合反应，有利于分子间缩合。

一、活泼酯法

活泼酯法中活化羧基和环合反应是分两步进行的。活泼酯相对很稳定，一般不需要纯化可直接用于环合反应。几乎所有可用于偶联反应的活泼酯都可用于合成环肽，主要有对硝基酚酯、 N -羟基琥珀酰亚胺酯、五氟苯酯和 2, 4, 5-三氯苯酚酯。线性多肽的 C 端羧基与对硝基酚、 N -羟基琥珀酰亚胺、五氟苯酚或 2, 4, 5-三氯苯酚，在 DCC 或其他缩合剂存在下，于低温反应，很容易得到相应的活泼酯。这种 N 端通常带有 BOC 或 Z 保护的活泼酯在酸性条件下脱去保护基，形成活泼酯的氢卤酸盐，在弱碱性稀溶液中，如在吡啶、DMF 或二氧六环一类介电常数较大的溶剂中，保持 pH 8~9，加热（60℃~100℃）或室温搅拌数小时至数日，最终可得到环肽。

二、迭氮法

在多肽合成中迭氮法是另一种比较经典的方法，这种方法的优点在于很少引起消旋反应，最早用于直链肽的合成，现在常常被用于环肽的合成。具体方法是，把直链肽的甲酯、乙酯、苄酯、取代苄酯或其他更活泼酯通过肼解的方式生成酰肼，溶于醋酸或盐酸-醋酸混合溶液，在 -5℃ 左右的温度下加入 1 mol/L 的亚硝酸钠溶液，产生的亚硝酸则与酰肼反应生成迭氮物。N 端游离的直链肽迭氮物于 4℃ 搅拌一天再升温至室温，可得环肽。

Bodansky 最早应用迭氮法合成了 $\text{cyclo}(\text{D-Ala-D-Ala-Val-D-Leu-Ile})$ ，虽然上述环肽不具有其母体化合物 *malformin* 的生物活性，但合成它为应用迭氮法合成环肽开辟了前景。

应用迭氮法合成环肽的另一个成功的例子是内皮素拮抗剂的合成。Endothelin (ET) 是一种高效的血管收缩剂，由 21 个氨基酸残基组成，其受体拮抗剂之一 $\text{cyclo}(\text{D-Trp-D-Asp}(\text{OtBu})\text{Fmoc-Ser-D-val-Leu})$ 的合成过程如下：

DPPA 系二苯基磷酰基迭氮化物，是一种稳定的液体，沸点 157℃，用二苯基磷酰氯和 NaN_3 在丙酮中室温反应很方便地得到，可以直接用作多肽偶联的缩合剂，近年来多用于环肽的合成。

$\text{Arg-Gly-Asp}(\text{RGD})$ 是多种细胞外蛋白与整合素相互作用时被整合素识别的关键序列，对含有该序列环肽的合成报导很多。Kessler 等用固相合成仪 SP650 合成了 13 个含 RGD 序列的线性六肽和七个含 RGD 序列的线性五肽，N 端和 C 端均游离的直链肽在稀溶液中以 DPPA 为缩合剂，保持 pH 8.5~9，反应 4 天，得到相应的环六肽和环五肽。收率在 15%~50% 之间。生物活性实验表明所有的环六肽对细胞黏附的抑制作用均明显低于线性肽 GRGDS。

三、固相法合成环肽

固相法能够有效地避免环合过程中二聚、多聚等副反应的发生。早在 20 世纪 60 年代，Fridkin 等就应用高分子载体来合成环肽。线性多肽的 C 端羧基与树脂形成酯

键而将线性肽挂在树脂上，脱去 N 端保护基后，以三乙胺中和，室温反应 12 h 后得到 60% ~ 80% 收率的环肽，具体过程如下：

近年来发展起来的通过氨基酸侧链与树脂连接合成环肽的策略在环肽合成中应用广泛。对具有天冬氨酸或谷氨酸残基的线性多肽，可选择这两个酸性氨基酸残基的侧链羧基为 C 端，与 PAC（烷氧基苄醇）或 PAL（烷氧基苄胺）或其他类型树脂缩合，将线性多肽挂在树脂上。主链羧基用烯丙基保护。逐步接肽完成之后脱去 N 端和 C 端保护基，加入缩合剂得到连在树脂上的环合产物。最后用三氟醋酸、茴香硫醚、*l*-巯基乙醇和苯甲醚混合试剂从树脂上切下环肽，同时脱去其他侧链保护基。采用这种策略完成了 Cyclo（Ala - Ala - Arg - D - Phe - Pro - Glu - asp - Asn - Tyr - glu）的合成，收率为 71%。这种方法的局限性在于线性多肽前体中必需包含天冬氨酸或天冬酰胺、谷氨酸或谷氨酰胺。

四、酶法合成环肽

在缓冲液中利用蛋白酶合成环肽也是正在发展的方法之一。Jackson 等报导了以线性多肽酯的衍生物为底物，通过酶催化成环的方法合成了几个包含 12 ~ 25 个氨基酸残基头尾相接的环肽。环化用的酶 Subtiligase 是枯草杆菌蛋白酶突变的产物，催化反应体系为 pH8 的缓冲溶液。用 HPLC 检测，收率在 30% ~ 80% 之间。环化效率与肽的序列和长度有关。利用 Subtiligase 合成环肽所需的线性肽的最小长度是 12 个氨基酸残基，低于此数将得到水解产物或线性肽二聚产物。可能是因为低于 12 个残基的肽底物形成的头尾相接的空间构象不能与酶的活性中心匹配。

五、合成环肽的其他方法

下面介绍几种比较特殊的环肽合成方法：

Meuterman 等人巧妙地将光敏感辅助剂融合在环肽合成过程中，这种与常规合成方法不同的策略，不仅丰富了环肽合成方法学的内容，也为其他合成工作者提供了想象空间。直链五肽 H - Ala - Phe - Leu - Pro - Ala - OH、H - Ala - Phe - Leu - Pro - D - Ala - OH、H - Phe - Leu - Pro - Ala - OH 在常规条件下，溶于 DMF，使成为物质的量之比为 10:3:10:4 溶液，加入 3 倍量 Bop 为缩合剂，5 倍量 DIEA 作为碱和催化剂，未得到单体环合化合物，只得到了环二聚体和环三聚体。采用光敏辅助剂的方法，将 5 - 硝基 - 2 - 羟基苄基和 6 - 硝基 - 2 - 羟基苄基以及巯基乙基等光敏结构引入线性肽 N 端，这些结构中的羟基或巯基与 C 端羧基成酯后，使得 N 端与 C 端在空间位置上更为接近，经酰基转移使环缩小而得到 N 端连有光敏辅助剂的环肽，最后经光解反应脱去光敏辅助剂，得到首尾相连的环五肽，收率为 20%，以 Cyclo（Ala - Phe - Leu - Pro - Ala）的合成例，具体过程如下：

在传统的环肽合成方法中，不仅线性肽前体的氨基酸侧链一般都需要保护，而且要求反应物在溶液中呈高度稀释状态，非保护的氨基酸的环合无论是在概念，还是在机理上都不同于传统环合方法，主要特征是：酰胺键在没有活化剂存在下，通过分子内酰基转移而形成；两个反应端基在缓冲液中的可逆反应造成环 - 链的结构

互变, 调节和控制环的形成。这种非保护环肽的合成方法避免了烦琐的保护和脱保护步骤以及反应液高度稀释的要求, 终产物可直接用于生物活性实验。

Jame P. Tam 等建立了分子内转移硫内酯化和 Ag^+ 离子辅助环合来制备非保护环肽的方法。对于 N 端为半胱氨酸, C 端为硫酯的线性多肽。在 pH 7 的磷酸缓冲液中, 巯基与硫酯基生成共价的硫内酯, 这种硫内酯自发地经过 S 原子到 N 原子酰基迁移而形成环肽, 对于不含半胱氨酸的线性多肽的环合, 采用亲硫的 Ag^+ 离子辅助配位柔性的线性多肽的 N 端氨基与 C 端硫酯形成一个环状的中间体, 通过熵活化促进分子内环合。与硫内酯环合方法原理相似, Ag^+ 离子通过一种非经硫内酯环合的发生。

由于环肽的前体 - 直链肽所包含的氨基酸的数目和种类的千差万别, 造成了环肽合成方法的多样化。对某种直链肽表现出高效、快速缩合作用的试剂和方法对另外一种肽链就可能变得低效或无效。因此, 根据目标环肽的序列寻找对应的环肽合成方法必须通过认真的探索和艰辛的努力。

第三节 基因药物的制备

科学家发现, 人类患病的根本原因与人体内的 10 万 ~ 14 万个基因有关。他们认为, 除了外伤以外的所有疾病, 都是基因出了毛病造成的, 或是老化, 或是损伤, 或是结构异常。所以, 根治疾病的最好方法是基因治疗。随着人类基因组计划的实施, 科学家有望解开所有基因之谜。随着人类对疾病发病机理的认识, 基因药物将越来越受到人们的重视, 具有巨大的社会效益和经济效益。

如何把药物工厂建到人体里边去? 各国科学家们为此绞尽了脑汁。如果这个问题解决了, 基因药物的研究将会向前迈进一大步。国外科学家用病毒作为载体, 把病毒里有害的成分去除, 保留其能感染细胞的成分, 然后把基因放到这种缺陷性病毒体内, 构建成缺陷性重组基因病毒载体。这种方法被科学家不断运用、改进, 已经有了很大进步。由于病毒对人体有害, 虽然其感染效率高, 但毒副作用很大。也有科学家采用非病毒作为载体, 比如脂质体、基因枪、肽核酸等。这些载体虽然毒副作用小, 但是感染效率低。最近科学家们发现应用电渗透和电脉冲的方法, 可以高效安全地将基因导入体内。目前, 基因转移的方法可分为物理、化学、病毒载体及非病毒载体介导法。

一、基因转移的物理方法

基因转移的物理方法主要有: 电穿孔法 (Electroporation)、显微注射法 (Micro-injection)、颗粒轰击法 (Particle Bombardment) 及超声波法。其比较见表 7-3。

表 7-3 基因转移各种物体方法的比较

方法	回体/体内基因治疗	靶位	效果
显微注射法	仅用于回体基因治疗	无	低
电穿孔法	用于回体，正开发体内基因治疗	体内特异性限于局部	中等
颗粒轰击法	回体及体内基因治疗	体内特异性限于局部	中等
超声波法	回体及体内基因治疗	体内特异性限于局部	高

1. 电穿孔法

电穿孔法是通过电场作用于细胞使细胞膜上形成几微秒到几毫秒暂时性的小开口，以便把大分子如 DNA 导入细胞，一旦 DNA 扩散进入细胞就立即终止作用，这时开口又可自动重新封闭。其优点有：对靶细胞相对没有毒性；可用于任何类型的细胞，除非有较强的静电阻力阻止 DNA 进入细胞；能进行对其他基因转移方法有抗性的非复制细胞的转染；与化学及病毒介导的转染相比，电穿孔法具有可重复性，干净、快速并有严格的局部性；仪器可在市场上购买且较易操作；通过调整电穿孔系统的电力，较大的 DNA 片段（15 万碱基或更大）也可经产生的小孔进入细胞。其缺点主要是其基因转移的效果较逆转录病毒载体介导法差，存在以连环的形式进行转基因整合的可能性，同时缺乏电穿孔在长期体内转基因表达方面的资料。

2. 显微注射法

显微注射法是在显微镜下用带针的注射器穿透细胞膜并把遗传物质注入细胞质，这是一种古老的费力的体外基因转移方法。由于可能破坏细胞膜，故注入单个细胞的遗传物质数量有限，与把遗传物质直接注入组织相比，该方法有下述优点：由于注射是在细胞膜内进行，故减少了向核膜扩散的需要；减少了对清道夫式的核酸酶的暴露；通过分离对特异细胞进行修饰；在显微注射期间可对安全性和有效性进行监测，尚可用于胚系基因转移。

3. 颗粒轰击法

也称为“基因枪”技术或生物子弹微射法（Biological or Ballistic Micro Drojectile Method）。AccelW（Accessing Cell，Auragen 公司，Madison，威斯康辛州）基因枪可直接轰击包被金属颗粒的 DNA，把携带治疗性 DNA 的颗粒直接射向靶组织或单个靶细胞。该方法的优点是：方法简单且较便宜；有广泛的基因传递谱，可向各种组织传递基因；是传递基因至皮肤、神经及在原发性肿瘤型基因转移的最理想方法；通过该方法转移的基因没有绝对的大小和数量限制；传递方法属机械性并不依赖于生物过程；传递速度快，整个基因传递只需数秒钟；如不需持久表达，可重复注射基因至非增殖靶组织；当肿瘤细胞的短暂基因表达足以诱导肿瘤细胞的坏死时可用于癌症的治疗。基因枪法的缺点有：进入内脏器官如大脑等受限；由于不了解基因运输的机制，基因转入细胞核的效果差；注入的 DNA 稳定整合的水平较低；不能靶向特定的细胞类型；受轰击组织的损伤也可能使转基因水平降低。

4. 超声波法

超声波能量引起的微孔形成（Cavitation）使细胞膜产生微泡（Microbubble）并形成裂口，从而增加膜的通透性并使质粒被动扩散进入细胞变得容易。超声波是把

外源 DNA 及其他大分子导入细胞的较有前景的一种方法，有下述优点：超声波能量可传至通常在体外用于生长细胞的容器的壁；由于超声波可聚焦于受限的部位或体腔，故可用于体内转染。近年有将目的基因加入聚乳酸-聚乙醇酸（PLGA）、二氯甲烷溶液中采用高速搅拌乳化法或超声雾化法制成包载目的基因的纳米粒子，注入体内后 DNA 通过渗透和扩散的方式释放。

二、基因转移的化学方法

基因转移的化学方法包括磷酸钙共沉淀法、DEAE-葡聚糖转染法以及脂质体转染法等。

1. 磷酸钙共沉淀法

当 CaCl_2 、DNA 和磷酸盐缓冲液缓慢混合时，即有磷酸钙微细沉淀形成，这些细小颗粒可以吸附在细胞表面，通过细胞膜的内吞作用将 DNA 吸收进入细胞质而后进入细胞核，其详细机制尚不明确，DNA 多以多拷贝首尾相连的串珠状排列进入细胞，在细胞中以多拷贝形式存在。该方法操作简单，又不需要特殊仪器，瞬间转移效率最高可达到 20%，但长期表达效率较低，目前已被广泛运用于离体细胞的基因转移，是最普遍使用的方法之一。

2. DEAE-葡聚糖转染法

二乙胺乙基葡聚糖（diethyl-aminoethyl-dextran, DEAE-dextran）是一种高分子量的多聚阴离子试剂，能促进哺乳动物细胞捕获外源 DNA，因此被用于基因转染技术。其促进细胞捕获 DNA 的机制还不清楚，可能是因为葡聚糖与 DNA 形成复合物而抑制了核酸酶对 DNA 的作用，也可能是葡聚糖与细胞结合而引发了细胞的内吞作用。该方法可以广泛用于转染病毒、病毒序列及其他 DNA，适合于细胞瞬间表达检测及小量 DNA 的转染。

3. 脂质体转染法

将脂质体、胆固醇或其他脂类的乙醚溶液加入到 DNA 溶液中，经特殊处理得到单层或双层的带 DNA 的脂质体小泡，通过与细胞膜融合，被细胞内吞而实施基因转移。这类方法基因转移效率很高，据报导最高时，100% 离体细胞可以瞬间表达外源基因。脂质体的种类很多，目前已经有多种脂质体试剂商品化，使用方法非常简单，特别适用于活体基因转移。脂质体是唯一被美国批准进行临床试验的基因转移的物理化学方法。一般可以通过静脉注射将脂质体运送到肝脏中实施基因转移，大部分肝脏都可以被转染，还可将脂质体注射皮肤或肌肉。该方法已经成为基因转移治疗研究中的后起之秀。

三、基因治疗载体

载体是治疗性遗传物质的携带者或运输工具。从药理学观点分析，载体与药物释放系统相似。天然存在的载体可通过三种不同的机制在不同细胞之间转移：结合和运动、转导及转染。结合需要质粒在供体细胞扩增以便基因能转入受体细胞。就运动而言，辅助质粒必须具有必要的酶。转导依赖于整合入细胞基因组并经细胞分裂繁殖的病毒 DNA 分子。转染是一种被动过程，其中 DNA 通过物理或化学的方式

转运至细胞。

基因治疗必须克服下述几个障碍才能使 DNA 或 RNA 达到期望的效果：第一，向靶细胞的传递受到各种屏障如血清失活的阻碍；第二，附着并进入细胞时受到受体减少或失活的阻碍；第三，释放入胞质时可能受溶酶体降低的阻碍；第四，进入细胞核由于缺乏有丝分裂（逆转录病毒载体所需要）而受阻；第五，虽然整合确实发生了，但最后一步的表达并不充分。

体细胞基因治疗因在一个时期后基因将从细胞中消除可以认为与药物疗法相似。载体就可以认为是药品类似物，唯一的创新是基因作为药物释放的方法，载体从传统上以及从生物药学上都不同于药物，其不同之处有：传统的药物是由化学/物理方法产生，而与生物技术相伴而生的载体涉及生物科学技术；生物药品是用于衍生于生物系统的药物的术语，通过生物技术产生，而生物技术通常涉及重组 DNA 技术。经遗传改变的细胞像传统的药物一样被导入细胞，该细胞作为基因治疗载体可在人体内产生相应蛋白；载体的制备涉及生物技术，而用药方法类似传统药业的药物释放系统。

理想的基因治疗载体应具备下述性质：易于进入靶细胞；在特异细胞或组织达到有规律、充分及持续的外源基因表达；外源基因应含或整合于基因组活化区内或能自主复制的构件；整个过程应安全有效并具有选择性；易于大量生产。目前还没有适用于各种类型的基因疗法的通用载体，故载体应根据特殊需要选择。有关基因治疗载体应考虑的因素如下：靶细胞或靶组织；疾病类型；期望是否持续或短暂表达；所要求的基因表达水平；体内或回体基因治疗；安全性、风险效益比。

1. 基因治疗的病毒载体

病毒转导包括修饰病毒感染细胞以及含外源基因的病毒基因组的导入。在所有的基因转移方法中，病毒载体是正在进行的临床实验中的最常用者。表 7-4 所示常用病毒载体特征。

表 7-4 常用载体

特征	逆转录病毒载体	腺病毒载体	单纯疱疹病毒载体	腺相关病毒载体	牛痘病毒载体
插入能力	8 kb	7 kb~8 kb	30 kb	4.5 kb	>30 kb
整合	是	偶尔	否	是	否
组织特异性	是	是	是	否	否
性质	仅感染分裂细胞	感染非分裂细胞	亲神经感染 CNS 细胞	整合入非分裂细胞	宽宿主范围用于免疫
服用途径	回体或直接注射	回体或直接注射，雾化吸入	回体或直接注射	可能只有回体	皮肤直接划痕
滴度 (cfu/mL)	$10^6 \sim 10^9$	$10^8 \sim 10^{10}$	$10^6 \sim 10^8$	$10^6 \sim 10^8$	$10^7 \sim 10^9$
转基因表达期间	良好	短暂	短暂	可能好	短暂
转基因表达水平	中等	高	中等	中等	高
安全性问题	插入突变形成	炎症反应、插入突变形成	插入突变形成	蛋白 rep 的毒性，插入突变形成	对免疫抑制患者危险

2. 逆转录病毒 (Retrovirus, RV)

载体逆转录病毒是 RNA 病毒。广泛应用的 RV 载体大多由莫洛尼鼠白血病病毒 (Moloney Murine Leukemia Virus, MoMLV) 构建而成, 由两部分组成: 一是用于携带目的基因和标记基因的重组逆转录病毒载体, 另一是以反式提供逆转录病毒蛋白质的包装细胞系。病毒载体的构建是将野生型的 gag、t301、env 结构基因去除, 代之以外源的目的基因, 保留包装信号及长末端重复序列 (LTR)。LTR 位于基因组两端, 含有启动子和增强子等调节信号、逆转录所需的顺序以及原病毒整合有关的其他序列。RV 载体是复制缺陷型, 只能产生病毒 RNA, 不能编码病毒结构蛋白, 也不能依靠自身基因形成完整病毒。包装细胞系是特殊构建的细胞, 它含有在顺式上有缺陷的逆转录病毒, 缺乏包装信号, 其 RNA 不能被装配成病毒颗粒, 但具有编码病毒蛋白的结构基因, 可反式补偿进入包装细胞的载体所失去的功能, 将重组逆转录病毒载体导入包装细胞后, 将产生有感染力的重组病毒颗粒。以此病毒颗粒转染宿主细胞, 使目的基因、标记基因稳定整合于靶细胞的染色体基因组, 这样目的基因被带入宿主细胞并得以表达, 从而起到治疗作用。RV 载体目前应用最多, 具有感染效率高、基因组整合入宿主细胞染色体中、目的基因可在宿主内稳定且持续表达等优点。其缺点是只能感染分裂期细胞, 在包装细胞中产生的重组病毒滴度低, 所携带的目的基因片段短, 可能造成插入突变, 干扰和影响细胞中某些正常基因的复制和转录, 产生不良后果, 安全性尚无保障。

3. 腺病毒 (Adenovirus, Ad)

载体腺病毒为无包膜的 DNA 双链病毒。目前所用的腺病毒载体主要以 2 型和 5 型腺病毒为基础构建而来, 其早期转录单位 E1 和 E3 区可代之以外源目的基因, 感染宿主细胞。其感染效率高、病毒滴度高、潜在的致癌危险性小 (其目的基因不整合至宿主细胞染色体), 但目的基因表达短暂, 体内应用一般只持续 2~4 周, 可诱导机体产生免疫反应而限制重复使用和转染效率, 在体内存在复制的可能性。

4. 腺相关病毒 (Adeno-associated virus, AAV)

载体腺相关病毒是一种缺陷型单链 DNA 病毒, 必须与腺病毒或单纯疱疹病毒或痘苗病毒共同感染时才能进行有效的复制和溶细胞性感染。由腺相关病毒 2 型构建的载体既能感染分裂细胞及非分裂细胞, 无致病性, 安全性高, 可将目的基因定点整合于人类第 19 号染色体长臂, 减少了诱发插入突变的危险, 基因表达稳定。其缺点为感染效率低, 目的基因产量小, 病毒滴度低。

其他病毒载体还有单纯疱疹病毒载体、牛痘病毒载体、EB 病毒衍生的载体、基于 HIV 的载体、猴病毒 40、Sindbis 病毒载体、狂犬病毒与假狂犬病病毒等。其他一些特殊应用的载体也正在开发与研究中, 以便能有效地在体内使人类基因靶向特异组织。各种杂交载体也正在构建之中。病毒载体还与脂质体相结合以达到有效的基因治疗的目的。

5. 基因治疗的非病毒载体

基因治疗的非病毒载体主要为脂质体 (Liposome)。脂质体是由磷脂和相似的两性脂形成的稳定的微囊。脂质体的脂双层在结构上与活细胞膜相似, 并可像细胞膜

一样携带亲脂物质如药物。脂质体的药学性质取决于脂双层的成分及其通透性与流动性。阳离子型脂质体的出现为脂质体在体内基因治疗方面的应用翻开了新的一页。阳离子型脂质体具有下述优点：制备与使用方法简单；可携带大片段 DNA，DNA 片段可以达到染色体大小；可容纳疏水性及水性物质；能与达 100% 的 DNA 形成复合物；如病毒载体一样，消除了危险重组子形成的可能性；通用于各种类型的裸露 DNA 或 RNA；能转染多种类型的细胞；与大多数 DNA 转移的非病毒方法相比，转染效率极高；没有免疫原性；已成为商业化产品。

另外还有受体介导的内吞作用，如 His - EGFc 融合蛋白表达载体，人工合成病毒载体，人工染色体等方法用于基因转移。而人工染色体可能是最终发展的方向。

目前，生物分子药物的应用面临诸多问题，导致其不能有效甚至完全不能发挥其应有的疗效和作用。这些问题包括：对靶向的疾病组织和正常组织缺乏选择性，这样会导致严重的毒副作用；非人源类生物大分子药物均存在免疫原性，并易被大量循环系统酶所降解；绝大部分生物大分子药物无法进入细胞发挥疗效。生物大分子药物结构复杂，容易发生结构变化，造成活性降低、免疫原性增强。并且，生物大分子药物存在多晶型、多构象、多尺度和聚集态复杂性等问题，限制其生物活性优化及其使用效率。此外，缺乏生物大分子药物的高通量分析技术，难以进行高效的筛选研究。而生物大分子药物在组织器官、细胞和分子水平与机体作用的机理不明，难以评价和预估在生物体内的活性及效果等，也成为制约其发展的瓶颈。

生物分子药物已被全球公认为 21 世纪药物研究开发中最具尖端性及前沿性的研究领域，中国在发展创新药物传送系统的主要内容时，应考虑朝生物分子药物高效化研究的方向进行。目前，全球释药系统市场上在针对生物分子药物高效化的传送系统方面的进展都基本处在起步阶段，将生物分子药物的功能及应用高效化的基础研究列入国家重点研究计划之一，将有助于凝聚国内外医药领域的科研专家与精英，实施重点跨越和突破，全面推动跨部门、跨学科、跨专业的交叉综合科学与技术的发展。

参考文献

- [1] Michael J Evans, Alan Saghatelian. Target discovery in small - molecule cell - based screens by in situ proteome reactivity profiling [J]. Nature Biotechnology, 2005 (23): 1303 - 1307.
- [2] Kochendoerfer G G, Kent S B H. Chemical protein synthesis [J]. Curr Opin Chem Biol, 1999 (3): 665 - 671.
- [3] Hofmann R M, Muir T W. Recent advance in the application of expressed protein ligation to protein engineering [J]. Curr Opin Biotech, 2002, 13: 297 - 303.
- [4] Kochendoerfer G G, Chen S Y, Mao F, et al. Design and chemical synthesis of a homogeneous polymer - modified erythropoiesis protein [J]. Science, 2003, 299: 884 - 887.
- [5] Kent S. Novel forms of chemical protein diversity - innature and in the laboratory [J]. Curr Opin Biotech, 2004, 15: 607 - 614.
- [6] Bang D, Kent S B H. His6 tag - assisted chemical protein synthesis [J]. PNAS, 2005, 102 (14): 5014 - 5019.

- [7] Ayers B, Blaschke U K, Camarero J A, et al. Introduction of unnatural amino acids into proteins using expressed protein ligation [J]. Biopolymers, 1999, 5 (1): 34 - 35.
- [8] Arnold U, Hinderaker M P, Raines R T. Semisynthesis of ribonuclease A using intein - mediated protein ligation [J]. Sci World, 2002, 2: 1823 - 1827.
- [9] Tanka Shimada S. Molecular recognition by novel macrotetracyclic cyclophanes having peptide segments [J]. Chem Lett, 1998, 11: 1109.
- [10] 闫乾顺, 张娟, 李江, 等. 三肽的设计合成 [J]. 宁夏工程技术, 2002, 1 (2): 136 - 138.
- [11] Xu M Q, Evans T C. Intein - mediated ligation and cyclization of expressed protein [J]. Methods, 2001, 24: 257 - 277.
- [12] Shirni F, Tajik H, Aliakbar A, et al. Oxidation of benzyl alcohols and acyloins with (NO₃)₂3CeBrO₃ [J]. Synth Commun, 2001, 31 (5): 767 - 770.
- [13] Jevprasesphant R, Penny J, Jalal R, et al. The influence of surface modification on the cytotoxicity of PAMA Mdendrimers [J]. Int J Pharm, 2003, 252: 263 - 266.
- [14] 郭晨云. 靶位定向攻击治疗肌无力症的新思路 [D]. 山西大学, 2005: 82 - 96.
- [15] Magni A, Signorelli B. Synthesis and preliminary pharmacological evaluation of pidotimod, its enantiomer, diastereomers and carboxamido derivatives Araneim [J]. Forsch, 1994, 44 (12): 1402 - 1404.
- [16] 黄枢, 谱枷刚. 有机合成试剂制备手册 [M]. 成都四川大学出版社, 1988.
- [17] Song E, Lee SK, Dykxhoorn DM, et al. Sustained small interfering RNA mediated human siRNAs as small molecule drugs DM Dykxhoorn et al immunodeficiency virus type inhibition in primary macrophages [J]. Vitrol, 2003, 77 (13): 1742 - 1811.
- [18] Morrissey DV, Blanchard K, Shaw L, et al. Activity of stabilized short interfering RNA in a mouse model of hepatitis B virus replication [J]. Hepatology, 2005, 41 (6): 1349 - 1356.
- [19] SIMEONE A M, TARI A M. How retinoids regulate breast cancer cell proliferation and apoptosis [J]. Celular&Molecular Life Sciences, 2004, 61 (12): 1475 - 1485.
- [20] BALAI, HARIBARAN S, KUMAR R, et al. PLGA Nanoparticles in Drug Delivery: The State of the Art [J]. Critical Reviews in Therapeutic drug carrier systems, 2004, 21 (5): 387 - 423.
- [21] Artursson P, Palm K, Luthman K. Caco - 2 monolayers in experimental and theoretical predictions of drug transport [J]. Adv. drug. Delev, Rev, 2001, 46 (1): 27.
- [22] Jackson AL, Bartz SR, Schelter J, et al. Expression profiling reveals of target gene regulation by RNAi [J]. Nat Biotechnol, 2003, 21 (6): 635 - 637.
- [23] Xie Y, Yang Q, Joseph W, et al. Heat output as a bio - marker of the dimethyl sulfoxide - induced decrease in rat hepatoma cell metabolism in viro [J]. Thermochin Acta, 2003: 400 - 427.
- [24] Deng H, Li H, Xu H, et al. Influence of ligand configuration and hydrophobicity on DNA binding of polypyridyl ruthenium (II) complexes [J]. Chinese J Chemistry, 2002, (12): 2159 - 2166.
- [25] He nmei Ni, Yongzhong Du. Mechanical of Soap - Free Emulsion Polymerization of Styrene and 4 - Vinylpyridine Characteristics of Reaction in the Monomer Phase, Aqueous Phase, and their Interface [J]. Macromolecules, 2001, 34: 6577 - 6585.

第八章 生物利用度与药物结构的关系

第一节 药物的生物利用度

生物利用度：是指药物活性成分从制剂释放吸收进入全身循环的程度和速度。一般分为绝对生物利用度和相对生物利用度。

绝对生物利用度是以静脉制剂（通常认为静脉制剂生物利用度为 100%）为参比制剂获得的药物活性成分吸收进入体循环的相对量。

相对生物利用度则是以其他非静脉途径给药的制剂（如片剂和口服溶液）为参比制剂获得的药物活性成分吸收进入体循环的相对量。

影响生物利用度的因素包括很多，生物药剂学性质包括药物的溶解性、稳定性、膜通透性和首过作用等是影响药物口服后经胃肠道吸收的主要因素（图 8-1），其中溶解性主要影响药物从制剂中的释放速度，药物胃肠道稳定性则决定药物在胃肠道吸收过程中的降解程度，它们对药物吸收的影响可以通过合理制剂技术进行改善；膜通透性决定药物透过消化道上皮细胞的转运速度、药物在消化道的吸收特异部位（吸收窗）以及药物吸收的浓度依赖性；首过作用包括消化道和肝的系统前代谢，对吸收程度影响很大。这后两者药物生物药剂学性质很难使用制剂手段进行改善和调整，但正是这后面两点对口服制剂的吸收及生物利用度有显著影响。胃肠道及肝脏中存在的丰富的转运蛋白及药物代谢酶系对药物的膜通透性及首过效应的影响非常显著，因此在临床用药、前体药物设计及口服制剂开发中应重点考虑这些因素对药

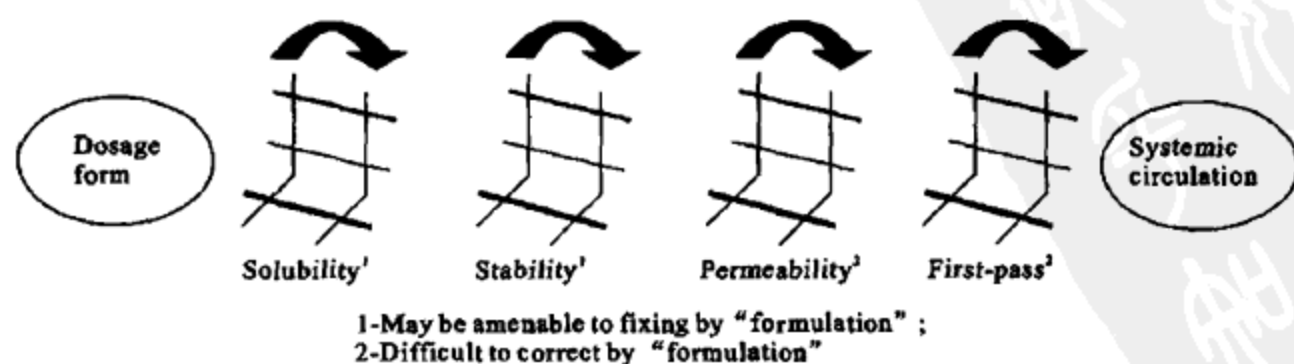


图 8-1 Impact of key biopharmaceutic properties on oral drug

物吸收的影响，重视评价药物的生物药剂学性质。口服制剂中药物经胃肠道的吸收由3个连续过程组成，首先药物从释药系统中释放进入消化液，其次溶解在消化液中的药物跨过胃肠道黏膜上皮细胞进入门静脉，最后药物由门静脉进入肝脏，只有未被肝提取的药物才能进入体循环发挥疗效（图8-2）^[1]。

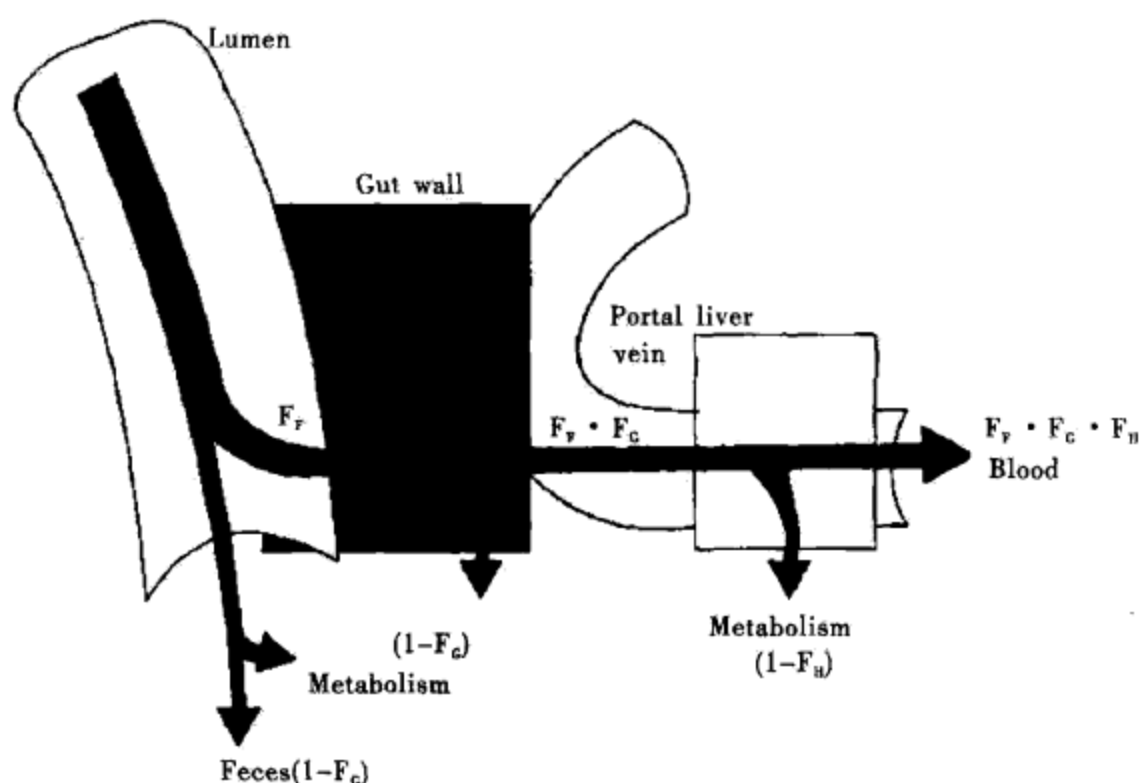


图8-2 The processes of oral drug absorption

第二节 生物利用度的影响因素

一、药物的溶解度

1. 药物溶出理论

溶出速率是指在一定条件下，单位时间药物溶解的量。口服固体药物制剂后，药物在胃肠道内经历崩解、分散、溶出过程才能通过上皮细胞膜吸收，如果药物为水溶性，其崩解后可立即进入分散、溶出过程，能够迅速被吸收，则崩解是水溶性药物吸收的限速过程。对难溶性药物而言，药物从固体制剂中溶出的速度很慢，尽管崩解分散过程很快，其吸收过程往往受到药物溶出速度的限制，溶出是难溶性药物吸收的限速过程。在这种情况下，药物在胃肠道内的溶出速率直接影响药物的起效时间、药效强度和作用持续时间^[1]。

(1) 药物溶出速度的表示方法。溶出过程包括两个连续的阶段，首先是溶质分子从固体表面溶解，形成饱和层，然后在扩散作用下经过扩散层，再在对流作用下进入溶液主体内。固体药物的溶出速度主要受扩散控制，可用 Noyes - Whitney 方程表示：

$$\frac{dC}{dt} = KS (C_s - C) \quad (8-1)$$

式中, dC/dt —溶出速度; S —固体的表面积; C_s —溶质在溶出介质中的溶解度; C — t 时间溶液中溶质的浓度; K —溶出速度常数。

$$K = \frac{D}{Vh} \quad (8-2)$$

式中, D —溶质在溶出介质中的扩散系数; V —溶出介质的体积; h —扩散层的厚度。当 $C_s \gg C$ (即 C 低于 $0.1C_s$) 时, 则 (8-1) 式可简化为:

$$\frac{dC}{dt} = KSC_s \quad (8-3)$$

该式的溶出条件称为漏槽 (Sink Condition) 条件, 可理解为药物溶出后立即被移出, 或溶出介质的量很大, 溶液主体中药物浓度很低。体内的吸收也被认为是在漏槽条件下进行。

若能使 (8-3) 式中的 S (固体的表面积) 在溶出过程中保持不变, 则有:

$$\frac{dC}{dt} = K \quad (8-4)$$

式中, K —特性溶出速度常数, $\text{mg}/(\text{min} \cdot \text{cm}^2)$, 是指单位时间单位面积药物溶解进溶液主体的量。一般情况下, 当固体药物的特性溶出速度常数小于 $1\text{mg}/(\text{min} \cdot \text{cm}^2)$ 时, 就应考虑溶出对药物吸收的影响。

(2) 影响药物溶出速度的因素和增加溶出速度的方法

影响溶出速度的因素可根据 Noyes - Whitney 方程分析。

① 固体的表面积。同一重量的固体药物, 其粒径越小, 表面积越大; 对同样大小的固体药物, 孔隙率越高, 表面积越大; 对于颗粒状或粉末状的药物, 如在溶出介质中结块, 可加入润湿剂以改善固体粒子的分散度, 增加溶出界面, 这些都有利于提高溶出速度。

② 温度。温度升高, 药物溶解度 C_s 增大、扩散增强、黏度降低, 溶出速度加快。

③ 溶出介质的体积。溶出介质的体积小, 溶液中药物浓度高, 溶出速度慢; 反之则溶出速度快。

④ 扩散系数。药物在溶出介质中的扩散系数越大, 溶出速度越快。在温度一定的条件下, 扩散系数大小受溶出介质的黏度和药物分子大小的影响。

⑤ 扩散层的厚度。扩散层的厚度愈大, 溶出速度愈慢。扩散层的厚度与搅拌程度有关, 搅拌速度快, 扩散层薄, 溶出速度快。

2. 药物溶解度

溶解度 (Solubility) 系指在一定温度 (气体在一定压力) 下, 在一定量溶剂中达饱和时溶解的最大药量, 是反映药物溶解性的重要指标。溶解度常用一定温度下 100g 溶剂中 (或 100g 溶液或 100mL 溶液) 溶解溶质的最大克数来表示。

药物的溶解性直接影响药物从制剂中的溶出速率, 对于难溶性或溶出速度很慢的药物来说, 其从制剂中的溶解释放就成为药物吸收的限速过程, 即药物的溶解性

成为影响药物吸收的主要因素，从而直接影响药物的起效时间、药效强度及持续时间；而对于溶解性较好释放较快的药物则有可能造成血药浓度过高或持续时间较短等现象。但是口服释药系统通过制剂技术能够很准确地控制药物溶解性所造成的影响，并获得理想的药物释放行为。作者开发的盐酸青藤碱 24 h 控释微丸，通过混合快速和慢速释药微丸的策略来达到 24 h 内药物平稳释放。与市售 12 h 缓释片比较，控释微丸明显延长了药物达峰时间，降低了峰浓度，从而增加患者顺应性并减少了药物峰谷浓度波动和不良反应。由 12 h 缓释片的主要吸收部位为空肠和回肠，而青藤碱在结肠部位的通透性更好，因此在体外释放量相同时，24 h 控释微丸的体内吸收比 12 h 缓释片高 13%^[2]。此外作者开发的苦参素渗透泵控释片、盐酸青藤碱渗透泵控释片^[3]、沙丁胺醇包合物缓释片^[4-5]、盐酸地尔硫卓缓释片^[6]和褪黑素缓释片^[7]等缓控释制剂，都成功地运用制剂技术合理控制药物从制剂中的释放，延长药物作用时间并提高了药物的口服生物利用度。家兔药动学实验证明作者开发的葛根黄酮自微乳化软胶囊较市售片具有更高的生物利用度，其相对生物利用度为 $(227 \pm 34)\%$ ，这主要是由于自微乳化给药系统可改善药物的溶出度，形成的微乳具有较大的界面积，表面张力低，增加了药物的膜通透性，促进了药物的吸收^[8]。

(1) 影响药物溶解度的因素及增加药物溶解度的方法。

①药物溶解度与分子结构。药物在溶剂中的溶解度是药物分子与溶剂分子间相互作用的结果。若药物分子间的作用力大于药物分子与溶剂分子间作用力则药物溶解度小；反之，则溶解度大，即“相似相溶”。

氢键对药物溶解度影响较大。在极性溶剂中，如果药物分子与溶剂分子之间可以形成氢键，则溶解度增大。如果药物分子形成分子内氢键，则在极性溶剂中的溶解度减小，而在非极性溶剂中的溶解度增大。

有机弱酸弱碱药物制成可溶性盐可增加其溶解度。将含碱性基团的药物如生物碱，加酸制成盐类，可增加在水中溶解度；将酸性药物加碱制成盐增加水中溶解度，如乙酸水杨酸制成钙盐在水中溶解度增大，且比钠盐稳定。

难溶性药物分子中引入亲水基团可增加在水中的溶解度。如维生素 K₃ 不溶于水，分子中引入 $-\text{SO}_3\text{HNa}$ 则成为维生素 K₃ 亚硫酸氢钠，可制成注射剂。

②溶剂化作用与水合作用。药物离子的水合作用与离子性质有关，阳离子和水之间的作用力很强，以至于阳离子周围保持有一层水。离子大小以及离子表面积是水分子极化的决定因素。离子的水合数目随离子半径增大而降低，这是由于半径增加，离子场减弱，水分子容易从中心离子脱离。一般单价阳离子结合 4 个水分子。药物的溶剂化会影响药物在溶剂中的溶解度。

③多晶型的影响。多晶型现象在有机药物中广泛存在，同一化学结构的药物，由于结晶条件（如溶剂、温度、冷却速度等）不同，形成结晶时分子排列与晶格结构不同，因而形成不同的晶型，产生多晶型（Polymorphism）。晶型不同，导致晶格能不同，药物的熔点、溶解速度、溶解度等也不同。例如维生素 B₂ 有三种晶型，在水中溶解度分别为：Ⅰ型，60 mg/L；Ⅱ型，80 mg/L；Ⅲ型，120 mg/L。

无定型（Amorphous Forms）为无结晶结构的药物，无晶格束缚，自由能大，所

以溶解度和溶解速度较结晶型大。例如新生霉素在酸性水溶液中形成无定型，其溶解度比结晶型大 10 倍，溶出速度也快，吸收也快。

假多晶型药物结晶过程中，溶剂分子进入晶格使结晶型改变，形成药物的溶剂化物。如溶剂为水，即为水合物。溶剂化物与非溶剂化物的熔点、溶解度和溶解速度等物理性质不同，这是由结晶结构的改变影响晶格能所致。在多数情况下，溶解度和溶解速度按水合物 < 无水物 < 有机化物的顺序排列。例如琥珀酸磺胺嘧啶水合物的溶解度为 10 mg/100 mL，无水物溶解度为 39 mg/100 mL，戊醇溶剂化物溶解度为 80 mg/100 mL。

④粒子大小的影响。对于可溶性药物，粒子大小对溶解度影响不大，而对于难溶性药物，粒子半径大于 2 000 nm 时粒径对溶解度无影响，但粒子大小在 0.1 ~ 100 nm 时溶解度随粒径减小而增加。Ostwald - Freundlich 方程是描述难溶性药物的溶解度与粒子大小的定量关系，是在一定温度下用热力学的方法导出。

⑤温度的影响。温度对溶解度影响取决于溶解过程是吸热 ($\Delta H_s > 0$)，还是放热 ($\Delta H_s < 0$)。当 $\Delta H_s > 0$ 时，溶解度随温度升高而升高；如果 $\Delta H_s < 0$ 时，溶解度随温度升高而降低。药物溶解过程中，溶解度与温度关系式为：

$$\ln \frac{S_2}{S_1} = \frac{\Delta H_s}{R} \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right) \quad (8-5)$$

式中， S_1 、 S_2 —分别在温度 T_1 和 T_2 下的溶解度； ΔH_s —溶解焓，J/mol； R —摩尔气体常数。若已知溶解焓 ΔH_s 与某一温度下的溶解度 S_1 ，则可由 (8-5) 式求得 T_2 下的溶解度 S_2 。

⑥pH 与同离子效应。

a. pH 的影响。多数药物为有机弱酸、弱碱及其盐类，这些药物在水中溶解度受 pH 影响很大。对于弱酸性药物，若已知 pK_a 和特性溶解度 S_0 ，由式 (8-6) 即可计算在任何 pH 下的表观溶解度，亦可以求得弱酸沉淀析出的 pH，以 pH_m 表示。

$$pH_m = pK_a + \lg \frac{S - S_0}{S_0} \quad (8-6)$$

对于弱碱性药物，若已知 pK_a 和 S_0 ，由 (8-7) 式即可计算弱碱在任何 pH 下的溶解度。此时也表明溶液的 pH 高于计算值时弱碱即游离析出，即为弱碱溶解时的最高 pH，以 pH_m 表示。

$$pH_m = pK_a + \lg \frac{S_0}{S - S_0} \quad (8-7)$$

b. 同离子效应。若药物的解离型或盐型是限制溶解的组分，则其在溶液中的相关离子的浓度是影响该药物溶解度大小的决定因素。一般向难溶性盐类饱和溶液中，加入含有相同离子化合物时，其溶解度降低，这是由于同离子效应的影响。如许多盐酸盐类药物在 0.9% 氯化钠溶液中的溶解度比在水中低。

⑦混合溶剂的影响。混合溶剂是指能与水任意比例混合、与水分子能以成氢键结合、能增加难溶性药物溶解度的那些溶剂。如乙醇、甘油、丙二醇、聚乙二醇等可与水组成混合溶剂。如洋地黄毒苷可溶于水和乙醇的混合溶剂中。药物在混合溶剂

中的溶解度，与混合溶剂的种类、混合溶剂中各溶剂的比例有关。药物在混合溶剂中的溶解度通常是各单一溶剂溶解度的相加平均值，但也有高于相加平均值的。在混合溶剂中各溶剂在某一比例时，药物的溶解度比在各单纯溶剂中溶解度出现极大值，这种现象称为潜溶（Cosolvency），这种溶剂称为潜溶剂（Cosolvent）。如苯巴比妥在 90% 乙醇中有最大溶解度。

潜溶剂提高药物溶解度的原因，一般认为是两种溶剂间发生氢键缔合，有利于药物溶解。另外，潜溶剂改变了原来溶剂的介电常数。如乙醇和水或丙二醇和水组成的潜溶剂均降低了溶剂的介电常数，增加了对非解离药物的溶解度。一个好的潜溶剂的介电常数一般是 25 ~ 80。

选用溶剂时，无论采用何种给药途径，必须考虑其毒性。如果是注射给药还要考虑生理活性、刺激性、溶血、降压、过敏等。常与水组成潜溶剂的有：乙醇、丙二醇、甘油、聚乙二醇等。如醋酸去氢皮质酮注射液等，以水 - 丙二醇为溶剂。

⑧添加物的影响。

a. 加入助溶剂。助溶（Hydrotropy）系指难溶性药物与加入的第三种物质在溶剂中形成可溶性络合物、复盐或缔合物等，以增加药物在溶剂（主要是水）中的溶解度，这第三种物质称为助溶剂。助溶剂可溶于水，多为低分子化合物（不是表面活性剂），可与药物形成络合物。如碘在水中溶解度为 1:2950，如加入适量的碘化钾，可明显增加碘在水中溶解度，能配成含碘 5% 的水溶液。碘化钾为助溶剂，增加碘溶解度的机理是 KI 与碘形成分子间的络合物 KI_3 。

b. 加入增溶剂。增溶（Solubilization）是指某些难溶性药物在表面活性剂的作用下，在溶剂中溶解度增大并形成澄清溶液的过程。具有增溶能力的表面活性剂称增溶剂，被增溶的物质称为增溶质。对于以水为溶剂的药物，增溶剂的最适 HLB 值为 15 ~ 18。常用的增溶剂为聚山梨酯类和聚氧乙烯脂肪酸酯类等。每 1 g 增溶剂能增溶药物的克数称增溶量。许多药物，如挥发油、脂溶性维生素、甾体激素类、生物碱、抗生素类等均可用此法增溶。

二、药物的稳定性

胃内 pH 低，一些药物如：青霉素、甲氧西林、红霉素，在酸性胃液中化学性质不稳定，逐渐被水解为无活性物质，降低了生物利用度，若降低胃液酸度或缩短胃内停留时间，均可改善这些药物的生物利用度。

药物在胃肠道中的稳定性直接影响消化道内的母体药物量。消化液中的药物有可能因其在胃肠道的不稳定性而发生化学降解或者酶降解以及在肠道下段被细菌菌丛代谢，从而使得母体药量减少，降低生物利用度。对于这类药物，在设计制剂时，应选择适宜处方和制剂工艺例如采用抗酸辅料（大环内酯类、质子泵抑制剂类）、加入酶抑制剂（多肽、蛋白质类）或微囊化技术等，或者制成前体药物以增强药物的稳定性。例如罗红霉素在酸性条件下不稳定易转化为无抗菌活性的物质，作者对罗红霉素在人工胃液（Simulated Gastric Fluid, SGF）和肠液（Simulated Intestinal Fluid, SIF）中的降解和降解产物进行了研究，发现在 1 h 内 96 % 的罗红霉素在 SGF 中降解生成无活性的产物而在 SIF 中无降解，因此罗红霉素在胃中的快速释放将导致

活性药量的减少,降低药物的抗菌活性;针对这一现象开发的罗红霉素肠衣微丸,避免了药物在胃中的释放,使其在肠道中合理释放,从而获得了较高的峰浓度和较大的AUC,提高了药物的生物利用度,其与罗红霉素分散片相比药物峰浓度提高至1.3倍,相对生物利用度为143%^[2]。

三、药物的膜通透性——胃肠道黏膜转运

药物吸收的第二个过程为跨胃肠道黏膜的转运。消化道上皮细胞是药物吸收的屏障,药物的跨膜转运能力即药物的膜通透性是这一过程的主要影响因素。

1. 药物转运

(1) 解离度。多数药物为弱酸或弱碱,在体液中部分解离,离子型和非离子型(分子型)同时存在。药物常以分子型通过生物膜,在膜内的水介质中解离成离子型,再起作用。因此药物需有适宜的解离度。离子型不易通过细胞膜,其原因是:①水是极化分子,与离子间产生静电引力,进行水合,离子的水合作用使体积增大,并更易溶于水,难以通过脂质的细胞膜;②细胞膜是由带电荷的大分子层所组成(如蛋白质的组成部分氨基酸可解离为羧基负离子和氨基正离子),能排斥或吸附离子,将阻碍离子的运行。

弱酸或弱碱类药物在体液中解离后,离子与未解离分子的比率由解离指数 pK_a 和介质的pH决定。

酸类: $pK_a = pH + \lg [RCOOH] / [RCOO^-]$

碱类: $pK_a = pH + \lg [RN^+H_3] / [RNH_2]$

弱酸性药物在酸性的胃液中几乎不解离,呈分子型,易在胃中吸收。弱碱性药物则相反。

(2) 脂溶性。胃肠上皮细胞为类脂膜,是药物吸收的通道,也是一层屏障。对弱电解质药物而言,即使药物100%以未解离型存在,但如果脂溶性不强,也不可能获得有效的吸收,只有脂溶性较大的未解离型药物才容易通过生物膜吸收。评价药物脂溶性大小的参数是油/水分配系数(K_{ow})。

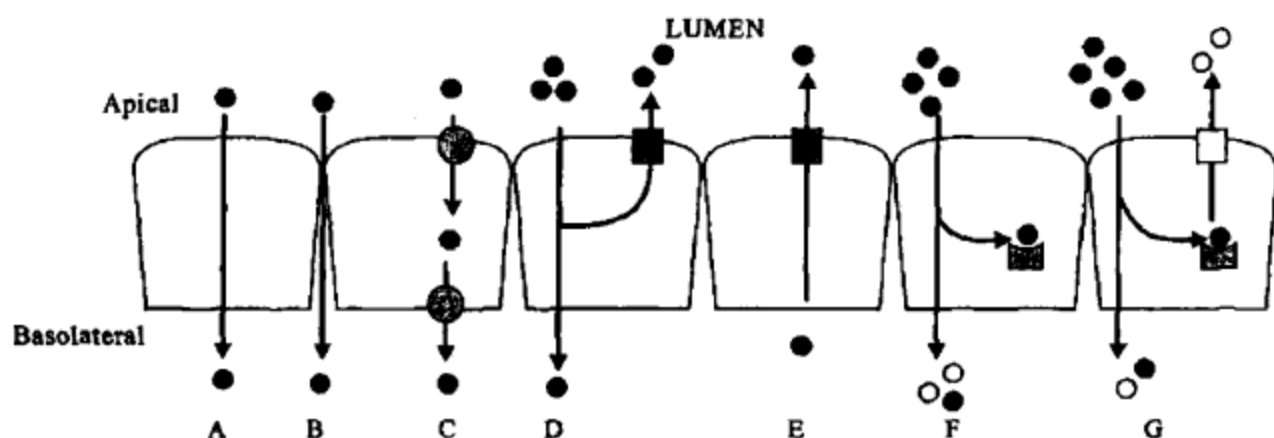
通常药物的油水分配系数大,说明该药物的脂溶性较好,吸收率也大,但与药物的吸收率不成简单的比列关系。脂溶性太强的药物因难以从类脂质膜中游离入水溶性体液中,使药物吸收率下降。药物的分子量大小也与吸收相关,分子量较小的药物更容易穿透生物膜。

主动转运药物的吸收与药物脂溶性不相关。通过细胞旁路转运吸收的药物,脂溶性大小也与其吸收直接相关性。

药物跨胃肠道黏膜上皮细胞转运中存在几种机制:被动扩散(细胞旁路通道和经细胞转运通道)、主动转运、易化扩散、外排分泌以及细胞内代谢(图8-3)^[9]。

被动扩散是很多药物的转运方式,其转运速度取决于药物本身的理化性质,如分子体积、氢键势能和亲脂性及解离度等。只有分子体积适当、氢键势能小和亲脂性好的分子型药物,才具有较好的透过生物膜能力,从而有较好的吸收^[10]。药物经细胞跨膜被动扩散的通透性可以通过测定药物的亲脂性来进行预测,例如磷脂膜色谱、正辛醇/水以及脂质体/水系统等^[11]。但值得注意的是药物的被动扩散吸收程度

与药物的亲脂性不成简单的线性关系，即在脂溶性太强的药物进入生物膜后难以转移至水性体液中而造成吸收下降的可能。对于被动扩散的药物可以通过人工调节消化道中的 pH 增加分子型药物的比例、通过改变药物结构增大药物亲脂性或引进亲水性基团提高药物水溶性来促进药物在消化道中的吸收。如将难溶于水的羟基保泰松制成水溶性大的羟基保泰松磷酸酯盐可以大大提高口服吸收。主动转运、易化扩散和外排分泌等跨膜转运过程均是在胃肠道黏膜中转运蛋白参与下进行的，在胃肠道黏膜中存在多种影响药物吸收的转运蛋白^[12]，利用这些转运蛋白的相关信息，可以有效指导前体药物的合成及临床用药。利用寡肽转运蛋白的多专属性特征^[13]，可以通过肽化修饰增加吸收差的药物在消化道内的吸收^[14]。



A—Transcellular route by simple diffusion ; B—Paracellular route ; C—Carrier-mediated transcellular route ; D—Efflux transporters-mediated compounds secretion ; E—Efflux transporters facilitate the intestinal clearance of compounds presented in blood ; F—Intracellular metabolism of compounds ; G—Conspiracy of efflux transporters and intracellular metabolizing enzymes

图 8-3 The intestinal epithelium forms a selective barrier against the entry of compounds into blood

2. 转运蛋白

通常大多数药物经被动扩散由肠道吸收，其中药物分子脂溶性是被动扩散速度的一个决定因素。但是，许多水溶性的化合物需要通过载体介导的转运机制跨过细胞膜，其中包括寡肽、核苷酸、氨基酸、糖、单羧酸、胆汁酸、脂肪酸、有机阳离子及阴离子、磷酸盐和水溶性维生素等。

近年来，膜分子生物学的快速进展使我们认识了多种药物转运蛋白，包括葡萄糖转运蛋白、核苷转运蛋白、氨基酸转运蛋白、寡肽转运蛋白、维生素转运蛋白、有机离子转运蛋白、ABC (ATP-binding cassette) 族转运蛋白等^[15-16]。目前不仅解析了这些药物转运蛋白的基因序列，而且还进行了 cDNA 克隆表达，对其结构-活性关系、转运机制、底物结构专属性、调控机制、基因多态性和体内分布特征等多方面进行了深入的研究，并取得了显著进展。利用这些积累的知识，药物学家已经在转运蛋白分子水平上成功实现了许多药物的传递并应用于临床实践。

转运蛋白能有效地参与药物的肠吸收、分布和排泄等过程，以其为靶点可大大提高药物传递的效率，减少不良反应的发生，深入地解析药物体内动态和更有效地调控药物体内行为，从而设计出安全、有效的药物及其传递系统，提高药物的生物

利用度。

(1) 肠道转运蛋白。肠道转运蛋白对药物的跨膜转运起着重要作用。虽然不同类型的转运蛋白其表达水平具有显著性差异,但已知在肠道内表达的一些转运蛋白,包括寡肽转运蛋白、核苷酸转运蛋白、氨基酸转运蛋白、有机阳离子和阴离子转运蛋白、葡萄糖转运蛋白、维生素转运蛋白、胆酸转运蛋白、脂肪酸转运蛋白、磷酸盐转运蛋白、单羧酸转运蛋白、ATP-结合盒转运蛋白以及其他转运蛋白,这些肠道转运蛋白表现出不同的底物专属性。

近年来,基因克隆和分子生物学技术的发展使专属性底物的发现和区分成为可能。目前已有几例成功利用转运蛋白系统来提高难溶性药物的生物利用度。

肠道细胞中存在许多转运蛋白,它们在药物通过肠壁细胞膜时将其阻断并主动转运回肠道中。这种反向转运机制称为药物外排。ATP结合盒转运载体蛋白作为影响药物体内过程的重要因素已被广泛研究,P-糖蛋白(P-gp)是其中最主要的一种转运子。P-gp的结构、特点及组织分布决定了其在药物的吸收、分布、代谢、排泄方面的重要作用。了解P-gp的这些作用有助于增加临床用药的合理性。

P-gp的结构、生化特性及可能的转运机制。

① P-gp的结构。P-gp是由1280个氨基酸组成的跨膜蛋白,分子量为170 kD,由两个相似的部分构成。其中每一个部分包含六个转运膜区和一个ATP结合利用区。两部分被一个线性的易变区域隔开,如果线性区域缺失,虽然细胞表面的蛋白表达与原蛋白相似,但丧失了转运及药物刺激ATP酶活性的功能。如用一个有足够柔韧性二级结构的多肽链替换这个缺失的结构,分子的功能就会恢复。这些数据表明P-gp两个半球的相互作用是分子功能的关键^[17]。

② 生物化学特性。研究表明1 mol P-gp可水解1 mol的ATP。已证实人和仓鼠提纯的P-gp的两个ATP部位均能水解ATP,但机制并不完全一致^[18]。人类P-gp的突变将影响底物的特异性。

③ P-gp的转运机制。P-gp在某些组织(肝、肾、小肠、大肠的上皮、脑毛细血管内皮细胞、卵巢和睾丸)表现屏障功能。不同的研究模型已被用于解释P-gp的转运机制。Roepe描述的改变分配模型中,P-gp的过度表达可导致膜电位的改变和细胞内pH的改变,最终改变药物的分配和细胞内药物浓度。flip-pase模型中,P-gp扮演类似于膜脂质移位酶的角色,它将底物从脂质双层分子的内面转移至外面。Vaccum cleaner model模型中,P-gp直接与底物在脂质双层分子中相互作用,并通过ATP及ATP酶把它们转运到细胞外。P-gp似乎既从脂质双层分子的外层也从脂质双层分子的内层泵出底物。P-gp在底物到达细胞浆之前即将细胞膜脂质层的底物转运到细胞外,进而消除其作用。但至今没有一个模型被进一步验证和核实,P-gp在药物转运方面的确切机制仍有争议^[19-20]。

(2) 肝脏转运蛋白。肝脏是机体最大的器官之一,同时又是机体物质代谢的中心。在肝细胞的血管侧膜和胆管侧膜上分别存在着很多药物转运蛋白,这些药物转运蛋白将药物从血管侧膜摄取入肝细胞以及通过胆管侧膜向胆汁分泌以排至肝外。由于转运蛋白的吸收和外排机制,所以它最终能够调节细胞在化学致癌物质、环境

毒素和药物中的暴露情况，即转运蛋白对这些物质在细胞内毒性的大小起着重要作用，直接影响到药物的临床疗效。

肝脏转运蛋白对药物肝靶向的作用：制药学研究的主要目的是开发有效而且无不良反应的药品。药物靶向设计则是一个既能提高药物药理活性又能减少其不良反应的有效方法。目前研究表明，很多类型的转运蛋白选择性表达于肝、肾及其他组织器官上，这为药物靶向传递开拓了新的研究领域。

鉴于肝窦状隙膜上丰富表达着 Oatp/ OATP，可有效利用其作为靶点来提高药物在肝中的分布。文献中提到最多的就是普伐他汀，其作用器官为肝，在肝内抑制 HMG2CoA 及胆固醇合成。由于普伐他汀水溶性极好，很难透过生物膜，但能被 OATP1B1 转运至肝中，而在其他组织分布很少，这样就显著降低了不良反应。这种肝肠循环每一步都受转运蛋白的介导。OATP1B1 将静脉血中的普伐他汀转运至肝中发挥其药理活性，然后通过 MRP2 将其排至胆汁中。一部分释放至十二指肠中的药物又被主动转运重吸收。因此，有效的 OATP 和 MRP2 介导的肝肠循环保证了普伐他汀在肝中的高浓度。

药物靶向的方法可以从靶组织与其他组织中转运蛋白表达量的不同来考虑，也可以将药物分子设计成能与靶组织上的转运蛋白专属性结合来转运。除了肝脏外，脑、肾脏等都可以是靶器官。对底物专属性和每一种人体内转运蛋白的表达水平的研究越多，对利用转运蛋白进行靶向药物设计和利用靶器官上转运蛋白的表达水平来控制药物消除的帮助就越大。

随着细胞分子生物学的发展，人们越来越从细胞分子水平上认识到药物在体内的吸收及代谢过程，肝脏转运蛋白与药物在体内的各组织分布、临床疗效均有着密切的联系。利用细胞模型或基因缺陷动物模型来研究转运蛋白对药物的转运，将为建立高通量的药物筛选开拓广泛的前景^[21]。

四、药物的首过代谢^[22]

药物和外源性代谢，这通常会限制口服途径的药物传递。药物稳定性和溶解性问题可通过处方设计解决，但对药物传递中的代谢问题，却难以有显著改变。高的吸收前和首过代谢使药物的生物利用度低，并可能在患者间产生巨大的个体间和个体内差异，也会产生药物间相对作用。同时低生物利用度药物可能需要频繁给药，一天两次或一天三次，且需相对高的剂量。前者导致患者依从性差、疗效差，同时也影响了市场销售；而后者可能会由于大剂量药物及其代谢导致无法预测的毒性。另外，代谢酶系统存在种间差异，使人体吸收、分布代谢和排泄性质的预测，比那些直接排泄的药物的预测更难。

上述描述说明，了解候选药物的吸收前和首过代谢非常重要，而且只要可能就有必要在临床研究中优化这些性质。在当代药物发现和候选药物优化方面，药物代谢已经呈现重要作用。最近的综述已详细分析代谢如何影响当代药物开发过程以及药物开发将面临的挑战。

口服药物除吸收前的降解之外，还必须依次通过胃肠壁、门脉及肝脏进行体循环前的代谢（Presystemicmetabolism）后进入体循环，位于肠壁及肝内的一些酶可使药

物降解,从而减少具有活性的药物进行体内循环,整个消化道只有口腔的颊黏膜及直肠下部黏膜的静脉回流可以绕过肝脏,直接汇入血液循环,所以有些药物经该处吸收的生物利用度高,如:吗啡具有明显的首过效应,其口服生物利用度仅 18%,故通常以胃肠外途径给药,该药的首过效应来自肠壁和肝脏,研究表明在肠壁和肝脏的摄取率分别为 55% 和 60%,代谢物为结合型吗啡,故当原形药物生物利用度很低时,必须对其首过效应和代谢物的动力学进行研究。

第三节 药物吸收和转运的模型

Caco-2 细胞模型是一种药物离体口服特性筛选模型,已广泛用于药物在小肠吸收的评价和各种转运机制研究中。特别是在药剂学研究注重在分子水平和细胞水平上发展的今天,Caco-2 细胞模型可应用于多类药物研究,帮助了解药物的吸收机制,预测药物在体内吸收和药物相互作用,研究药物的小肠代谢情况,从而促进新药研发,对于药物的生物利用度的研究有着重要的作用。

现代药物研发成功与否,与药物的代谢特性密切相关。目前,人工合成和筛选有限数量的化合物已被大规模的化合物合成和高通量筛选所取代。无论是开发新药还是开发新的给药途径,化合物在体内的吸收特性都非常重要。以往传统的体内药代吸收筛选模型,由于所需药物量大、难以批量化、耗时长以及费用高等弊端,已经无法满足现代新药的研发要求,因而开发新的快速、准确以及需药量少的药物吸收筛选模型已成为新药研发的必然趋势。目前,被广泛采用的三种筛选方法是:大鼠原位单次灌注法、大鼠外翻肠囊法以及体外人结肠腺癌(Caco-2)细胞系法。其中,Caco-2 细胞模型已经成为一种预测药物人体小肠吸收以及研究药物转运机制的标准体外筛选工具。

一、结构与功能决定其应用价值

Caco-2 细胞模型是最近十几年来国外广泛采用的一种研究药物小肠吸收的体外模型,具有相对简单、重复性较好、应用范围较广的特点。其来源于人的直肠癌,结构和功能类似于人小肠上皮细胞,并含有与小肠刷状缘上皮相关的酶系。在细胞培养条件下,生长在多孔的可渗透聚碳酸酯膜上的细胞可融合并分化为肠上皮细胞,形成连续的单层,这与正常的成熟小肠上皮细胞在体外培育过程中出现反分化的情况不同。细胞亚显微结构研究表明,Caco-2 细胞与人小肠上皮细胞在形态学上相似,具有相同的细胞极性和紧密连接。胞饮功能的检测也表明,Caco-2 细胞与人小肠上皮细胞类似,这些性质可以恒定维持约 20 天。由于 Caco-2 细胞性质类似小肠上皮细胞,因此可以在这段时间进行药物的跨膜转运实验。

另外,存在于正常小肠上皮中的各种转运系统、代谢酶等在 Caco-2 细胞中大都也有相同的表达,如细胞色素 P_{450} 同工酶、谷氨酰胺转氨酶、碱性磷酸酶、蔗糖酶、葡萄糖醛酸酶及糖、氨基酸、二肽、维生素 B_{12} 等多种主动转运系统在 Caco-2

细胞中都有与小肠上皮细胞类似的表达。由于其含有各种胃肠道代谢酶,因此更接近药物在人体内吸收的实际环境。

二、研究药物吸收和转运的标准工具

利用人小肠上皮 Caco-2 细胞单层来进行药物小肠吸收的细胞水平实验,现在已经成为一种预测药物在人体小肠吸收以及研究药物转运机制的标准筛选工具。评价新药的吸收在研究新的抗生素药物时,如新药为水溶性很差的化合物,则药物性质决定其不能制作成注射剂。为了改善其口服吸收生物利用度,国外研究人员使用了一些吸收增强剂,用 Caco-2 细胞来评价其吸收程度取得较好的结果。

还有研究者使用 Caco-2 细胞模型评价了系列难溶性药物磷酸酯前药与其母药的吸收度,这些药物包括可的松、苯妥英等。结果发现,苯妥英等药物磷酸酯化后吸收大为增加,而可的松磷酸酯化后吸收程度有显著改变,这些结果在其他模型上也类似。在研究药物赋形剂对药物吸收的影响时,同时使用了 Caco-2 细胞模型和大鼠离体肠道进行评价,两模型的结果一致。这些都表明 Caco-2 细胞模型在新药吸收评价方面的重要价值。

预测吸收过程中的药物相互作用 Caco-2 细胞中存在有与小肠上皮相同的各种转运系统、代谢酶,因此可以用来作为研究与吸收相关的药物相互作用的体外模型。

三、拓展药物小肠代谢研究

人体小肠中存在着丰富的细胞色素 P_{450} 同工酶,其中 $P_{450}3A_4$ 占到该组织中所有细胞色素 P_{450} 同工酶的约 50%, 而其在 Caco-2 细胞单层中的表达已见报导。

人体小肠甚至空肠微粒体相比, Caco-2 细胞中的细胞色素 P_{450} 同工酶为低水平表达,这是限制其作为口服给药化合物的小肠一相代谢研究模型的一个因素。为了克服这一局限,国外研究人员等利用 $1\alpha, 25$ -二羟基维生素 D3 处理过的 Caco-2 细胞单层作为研究小肠代谢动力学首过作用的体外模型。当将该系统应用于研究细胞色素 $P_{450}3A_4$ 底物咪唑安定的代谢动力学时,显示出与体内研究相似的结果。

尽管细胞色素 P_{450} 同工酶在 Caco-2 细胞中的表达水平较低,但其他许多药物代谢酶的表达水平不经诱导就可以用于药物小肠代谢的研究。比如,像羧酸酯酶、葡萄糖醛酸转移酶、谷胱甘肽-S-转移酶、磺基转移酶和儿茶酚-O-甲基转移酶等在 Caco-2 细胞中仍保持其功能特点。在这些酶中,二相磺基转移酶和葡萄糖醛酸转移酶对于口服给药化合物的生物利用度尤其重要,因为具有药理活性的化合物与它们发生结合反应后通常会导致活性降低或消失。例如,人们已经发现在 Caco-2 细胞中,类黄酮物质 5, 7-二羟黄酮产生硫酸盐和葡萄糖苷酸的变化, 5, 7-二羟黄酮硫酸盐的产生速度是其葡萄糖苷酸化的两倍。类似研究也表明, Caco-2 细胞模型中酶的表达可以使其应用于药物的小肠代谢研究。

尽管 Caco-2 细胞模型尚存在不足,如细胞培养时间过长(21 天);该模型本身为纯细胞系,缺乏在小肠上皮细胞中的黏液层;缺少细胞培养标准以及试验操作标准,使结果有时缺乏可比性;由于 Caco-2 细胞来源于人结肠,因而该细胞的转运特性、酶的表达以及跨膜电阻相对更能反映结肠细胞而非小肠细胞等。但不可否

认的是,建立与应用 Caco-2 细胞模型可以被认为是药物吸收研究方面取得的重要成就,而且随着改进细胞模型的建立和培养装置、检测设备等新技术的应用,其在新药研发中必将发挥出重要作用。

第四节 生物利用度的研究

一、生物利用度的研究方法^[23]

1. 血药浓度法

血药浓度法是生物利用度的最常用方法。受试者分别给予试验制剂和参比制剂后,测定药物浓度,估算生物利用度。

以各个受试者受试制剂(T)和参比制剂(R)的 $AUC_{0-\infty}$ 按下式分别计算其相对生物利用度(F)值:

当受试制剂和参比制剂剂量相同时: $F = AUCT/AUCR \times 100\%$

受试制剂和参比制剂剂量不同时,若受试药物具备线性药代动力学特征,可按下列式以剂量予以校正: $F = [AUCT \times DR / AUCR \times DT] \times 100\%$ ($AUCT$ 、 $AUCR$ 分别为 T 和 R 的 AUC ; DR 、 DT 分别为 T 和 R 的剂量)。

2. 尿药浓度法

当体内药物或其代谢的全部或大部分($>70\%$)经尿排泄,且排泄量与药物吸收量的比值恒定,则药物吸收的程度可以用尿中排泄量进行计算,从而进行药物制剂生物等效性评价,此方法称尿药法。利用尿中药物或代谢物的浓度测定进行药动学研究或生物等效性评价,具有取样无伤害、样品量大、药物浓度较高及无蛋白影响等优点,但对多数药物而言,尿药法进行生物等效性评价是较血药法更间接的方法,加之对结果的影响因素多,在新药的生物等效性评价中应用很少,当血药浓度法因检测原因或其他原因而应用受限时才被选用。

3. 药理效应法

如果药物的吸收程度与速度采用血药浓度法与尿药浓度法均不便评价,而药物的效应与药物体内存留量有定量关系,且能较容易地进行定量测定时,可以通过药理效应测定结果进行药动学研究和药物制剂生物等效性评价,此方法成为药理效应法。药理效应法的一般步骤是:测定剂量-效应曲线;测定时间-效应曲线;通过上述两条曲线转换出剂量-时间曲线;通过剂量-时间曲线进行药物制剂生物等效性评价。

二、生物利用度的评估

由血浆浓度-时间数据来评定生物利用度通常涉及三个参数:最大(峰)血浆药物浓度,达到最大血浆药物浓度的时间(达峰时间)和血浆浓度-时间曲线下面积。血浆药物浓度随着吸收分量的增加而提高;在药物消除率与吸收率相等时就达

到血浓度高峰。单靠最大血浆浓度来确定生物利用度会使人产生误解,因为药物一进入血流,立即就产生药物的消除。使用最广泛的吸收速率指标是达峰时间;吸收越慢,达峰时间越滞后。然而,达峰时间通常也不是一个好的统计指标,因为接近高峰时血药浓度相对平坦,是一个离散的值,其值大小依赖于采血样的频率和测定的重现性。

AUC 是评定生物利用度的最可靠的指标。它直接与进入体循环的原形药量成正比。为了精确测量 AUC,必须多次采取血样一直观察到药物在体内实际上完全消除为止。不同的药物制品,如其血浆浓度曲线基本上重叠就可认为它们在吸收分量和速率方面是生物等效的。如果不同的药物制品具有相同的 AUC 值,而血浆浓度-时间曲线的形状不同,那就可认为它们具有相同的吸收分量和不同的吸收速率。

单次和多次给药。可使用单次也可用多次给药法对生物利用度进行评定。单次给药可比多次给药获得更多的关于吸收速率的信息。而多次给药获得的血浆浓度常高于单次给药,易于作药物分析,能确切地反映出通常的临床状况。以固定剂量固定间隔时间作多次给药,经过 4~5 个消除半衰期血药浓度接近稳态(即在固定的间隔时间内吸收的药量相当于消除的药量)水平。通过测定一个给药间隔时间内的 AUC 即能测得吸收分量。但测定 AUC 的时间跨度达到 24 h 可能更适宜,因为生理功能存在着昼夜节律的差异,也因为给药间隔以及吸收速率不可能在整整一天内都是一样的。

对于那些主要以原形经尿排出的药物,其生物利用度可以通过测量单次用药后尿药总量来评定。收集尿液时间若能长达 7~10 个消除半衰期使所吸收的药物全部出现在尿中则较理想。生物利用度也可在多次给药达到稳态的条件下通过测量 24 h 尿中出现的原型药来评定。

三、生物利用度研究的新进展^[23]

① 大分子药物。以基因工程、细胞工程、酶工程和发酵工程为主体的现代生物技术开辟了人体内源性蛋白质、多肽类药物的生产的新天地。越来越多的蛋白质、多肽类药物不断出现。这些蛋白质、多肽类药物的生物利用度研究从试验原理、试验方法、检测方法和结果的解释等各方面,均是我们正面临的新课题。

② 手性药物。在目前常用的约 1 850 种化学药物中,有 523 种为单一对映体的半合成或天然化合物,在余下的 1 327 种合成药物中,有 528 种为手性药物,约占 40%,其中以单一对映体使用的仅 61 种,而有 467 种是以外消旋体使用。由于生物体内存在“手性环境”,使立体异构体对药物体内过程产生异构体间的差异。为了临床用药的安全、有效和经济,进行药物体内过程立体选择性的评价就成为药物体内过程评价的重要内容。由于手性药物的异构体间,理化性质极其相似,使人们对其分别进行生物利用度评价成为非常困难的课题之一。

③ 中药。中药制剂组分复杂、各组分在制剂中的作用不是十分清楚;中药制剂的药理效应是多方面的;中药制剂质量控制中,缺乏明确的定量方法与指标;中药制剂具有中医理论组方用药的背景,不宜单纯用一般化学药物的方法研究。因此,如何建立一套适合于中药制剂本身特点的生物利用度评价方法成为制剂生物利用度评价的新课题之一。

④ 内源性物质。当药物为内源性物质时，其生物利用度试验具有特殊的困难。如钙剂，由于钙在人体具有重要的生理生化功能，补钙剂的开发研究得到了医药界的充分重视。对补钙剂的生物等效性评价，是补钙剂开发研究中必需的研究项目，也是补钙剂质量评价的重要指标。但钙元素作为集体的组成成分之一，其吸收、代谢、排泄都受到集体的严格控制，血浆浓度保持在一个相对狭窄的范围（7 ~ 12 mg/L）。对补钙剂的生物等效性评价，存在着方法学上的问题和技术条件上的困难。国内外应用的钙剂生物有效型评价方法主要有骨测量法、生物化学标记法、平衡实验法、同位素示踪技术、肠灌注实验和尿钙法等。

⑤ 新型给药系统。对新型药物传输系统，由于具有特殊的体内过程，按常规的生物利用度试验方法进行试验时，在方法和评价指标等方面均存在特殊性。如靶向给药制剂，其体内过程的特点是靶部位的药物分布量越多、循环系统或非靶部位药物分布量越少则越符合设计要求，当以普通制剂为参比制剂进行生物等效性评价、以血液中药浓度测定结果获得的 $AUC_{0 \rightarrow t}$ 、 $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ 、 C_{max} 、 T_{max} 为指标时，不仅会获得不等效的结论，还会得到生物利用度低的结论，前一结论可以理解，而后一结论则不是真实的结果。

第五节 药物结构与生物利用度^[22]

大多数药物必须克服许多障碍才能到达作用部位，发挥药理作用。这些障碍包括小肠屏障以及可能使它们失活的代谢反应等。大多数药物都是随机分布全身，所以到达作用部位的药量就会相对减少。为使作用部位达到有效剂量，并且没有严重的全身副作用，药物必须拥有特定的物理化学性质，使其能有效地渗透各种生物膜（即具有一定的生物利用度），避免被各种酶代谢失活，以及避免在体内蓄积过久而导致不必要的长时间持续作用。但具有药理活性的化合物并不一定拥有这些需要的特定的物理化学性质。

随着组合化学和计算化学等新技术的发展，越来越多的化合物被发现具有很强的体外活性，但在体内却无效。这些化合物可能具有与其靶受体或酶作用所需的最优构型和构象，但它们不一定拥有到达作用部位所需的最优分子形式和物理化学性质。经常遇见的问题包括：① 药物的溶解度有限，化学稳定性差，从而妨碍了药物制剂的制备；② 透过生物膜的吸收不完全，或广泛的首过代谢导致生物利用度过低或易变性；③ 缺乏位点特异性。因此，这些化合物经常需要进一步结构修饰，但结构修饰并不一定能解决所有问题。另一种用于解决这些药物传递问题的有效方法是设计前药，即在活性分子上连接前体基团。本节将主要几种讨论各种设计前药的方法。

一、前药的定义

前药（Prodrug）是指本身无活性或活性非常低，需在体内转化为有活性药物的化合物。活化前药的机制有很多种，包括体内酶介导的代谢活化以及不常见的像水

解这样简单的化学活化方式。

自然界中就存在前药, 前列腺素就是一例。它在胰脏中合成, 活化后释放出活性部分(即胰岛素)和一个非活性多肽。可待因是另外一个例子, 它是止痛药吗啡的前药。

大多数合成的前药, 是把活性药物通过一个代谢不稳定的连接键与另一分子连接, 后者称为前体基团。前体基团不具活性, 但可能赋予药物一些预期的性质, 如增加脂溶性、水溶性或位点特异性。前药的优点还包括: 增加生物利用度, 减轻注射部位疼痛, 消除不愉快口感, 降低毒性, 减少代谢失活, 增加化学稳定性以及延长或缩短作用时间。

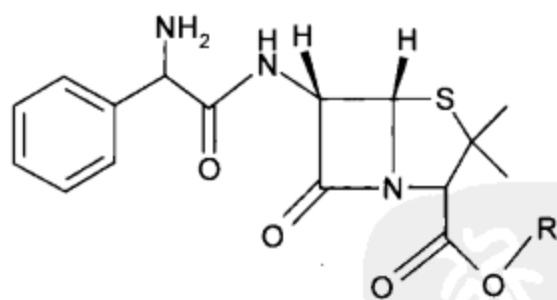
二、前药的设计与应用

1. 增加亲脂性以提高生物利用度

这是前药最成功的应用。由于生物膜的脂质双层性, 药物的亲脂性与水溶性(也称作亲水性)会影响其被动转运速率。药物跨越生物膜的被动扩散速率随其脂溶性增加而呈指数增加, 然后在到达较高脂溶性时停止增加。这是因为脂溶性增加一般也造成水溶性降低, 最终由于水溶性差而使膜通透性降低。前药设计的目的是在亲脂性与水溶性之间达到一种平衡, 以增强跨越各种生物膜的被动转运。

因为大多数药物呈弱酸性和弱碱性, 所以在生理条件下常常以盐形式存在。因此药物的解离常数也影响到膜渗透性, 进而影响生物利用度。一般认为, 某一酸性或碱性药物的中性态、非离子态及大多数亲脂形式比其离子态吸收更有效。

许多药物引入疏水基团增加脂溶性来提高胃肠内吸收。巴氨西林(2)、匹氨西林(3)是氨苄西林(1)亲脂性较强的脂类前药。相对于原形药物来说, 脂类前药的口服生物利用度都有提高。三者的生物利用度分别为 39%、31% 和 2%。



(1) 氨苄西林 $R = -H$

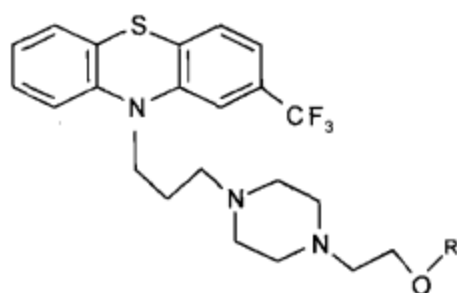
(2) 巴氨西林 $R = -CH(CH_3)OCOOC_2H_5$

(3) 匹氨西林 $R = -CH(CH_3)OCOC(CH_3)_3$

2. 缓释前药系统

抗精神病药是精神分裂症和类似精神紊乱的主流治疗方法。长效贮库式注射抗精神病药, 是广泛用作长期维持治疗的一种方法。许多带有游离羟基的抗精神病药的持续作用时间, 可通过制备具有较高 LogP (通常 >7) 的长链脂肪酸酯而延长。氟奋乃静庚酸酯(5)和氟奋乃静癸酸酯(6)是首先应用于临床的此类脂, 且作用时间更长, 比原药副作用少。患者每 1~2 周单剂量肌肉注射庚酸酯, 或每 2~3 周注射癸酸酯产生有效的治疗效果, 说明它们可减少患者用药依从性和吸收不良带来的问题。抗精神病药和癸酸酯可生成能溶解在轻植物油中的强亲脂性前药。肌肉注

射后在局部产生一个油性储库，前药分子可慢慢扩散至全身循环，然后迅速被酯酶水解成活性形式。这种储库形式每月给药一到两次，就可以实现对精神分裂症的长期治疗。此储库处方的抗精神药还包括氟奋乃静（4）。



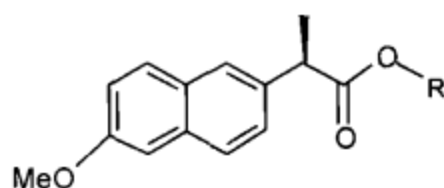
(4) 氟奋乃静 $R = -H$

(5) 氟奋乃静庚酸酯 $R = -CO(CH_2)CH_3$

(6) 氟奋乃静癸酸酯 $R = -CO(CH_2)_8CH_3$

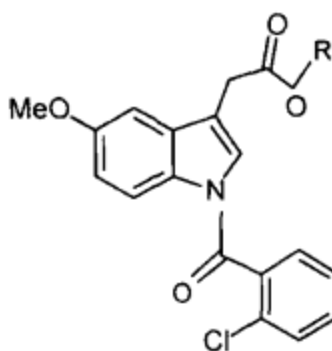
3. 增强胃肠道耐受性

非甾体抗炎药与胃肠道黏膜直接接触后，能引发胃肠道作用。因此将此类药分子中的羧基暂时保护起来是一种很有希望的方法。萘普生（7）和吲哚美辛（9）的吗啉烷基酯前药（8和10，盐酸盐形式）在体内外进行了评价，以判断它们作为前药进行口服给药的潜力。前药在人工肠液和 pH 7.4 磷酸盐缓冲液中易溶，比原药溶解度至少增加 2 000 倍。前药比原药亲脂性更强，在体内能定量水解成各自的原药。大鼠单剂量给药后，前药比原药的口服生物利用度提高 30% ~ 36%。大鼠单剂量及长期给药后，两前药对胃黏膜的刺激比原药显著降低。



(7) 萘普生 ($R = -H$)

(8) $R = -(CH_2)_n-N$ (morpholine ring)

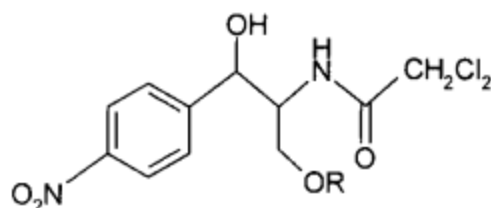


(9) 吲哚美辛 ($R = -H$)

(10) $R = -(CH_2)_n-N$ (morpholine ring)

4. 改善口感

极苦的口服药物如果采用溶液剂或浆剂剂型给药, 可能使患者依从性降低。前药方法已用于改善氯霉素 (11)、克林霉素、红霉素及甲硝唑的口感, 像氯霉素棕榈酸酯 (12) 这一前药, $\log P$ 约为 10, 在口腔内溶解极少, 因此不与味觉受体相互作用。



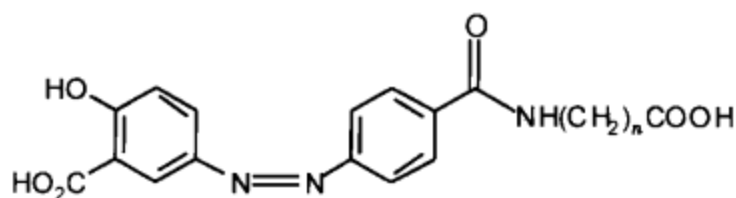
(11) 氯霉素 $R = -H$

(12) 氯霉素棕榈酸酯 $R = -CO(CH_2)_{14}CH_3$

(13) 氯霉素琥珀酸酯钠 $R = -COCH_2CH_2COO - Na^+$

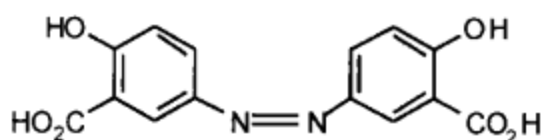
5. 减少胃肠吸收

这主要针对用于结肠特异性药物传递的许多药物。结肠靶向对局部治疗结肠性疾病很有价值。结肠内缓释对治疗夜间气喘、咽痛及关节炎有效。现在已经能设计完整通过胃肠道上部而不被吸收, 但在结肠可发生生物转化、释放出活性药物分子的前药。前药可由结肠微生物和结肠特殊菌活化。巴柳氮 (14)、伊普柳氮 (15)、奥沙拉嗪 (16) 及柳氮磺吡啶 (17) 都是含偶氮的前药, 也是用于结肠特异性传递治疗肠炎疾病的消炎药。他们都可经偶氮还原释放出活性的美沙拉嗪 (5-ASA, 18)。他们用于结肠特异性传递的药物包括氨基酸、葡萄糖醛酸苷、糖苷、葡萄糖及环糊精的结合物。

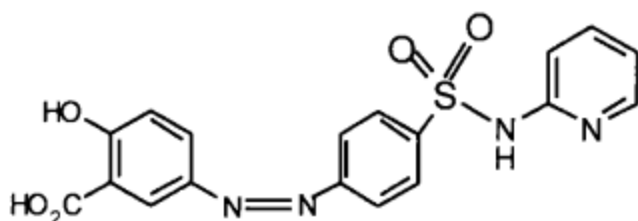


(14) 巴柳氮 ($n=2$)

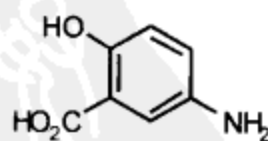
(15) 伊普柳氮 ($n=1$)



奥沙拉嗪



(17) 柳氮磺吡啶

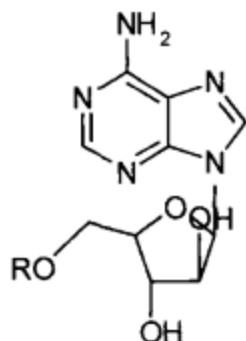


(18) 美沙拉嗪(5-ASA)

6. 增加水溶性

如前所述,水溶性差(即脂溶性较强)的药物吸收有困难。前药方法通过引入离子化官能团(如磷酸酯、氨基酸酯和二羧酸单酯)可克服溶解度问题,也可使这些前药成盐。前药可用于增加水溶性,以提高药物经胃肠外给药后到达全身循环的药量,例子包括氯霉素琥珀酸酯钠(13)、氢化可的琥珀酸酯钠、甲基脱氢皮质醇琥珀酸酯钠、倍他米松磷酸酯钠、氯林磷酸酯以及泼尼磷酸酯。

除了使用离子化基团,破坏晶格也可使水溶性显著增加,如抗病毒药物阿糖腺苷(19)所示。阿糖腺苷的5'-甲酸酯衍生物(20)比阿糖腺苷本身的水溶性增加了67倍。这主要是因为成酯后破坏了晶格中分子间的强烈相互作用,熔点下降了85℃也说明了这一点。



(19) 阿糖腺苷 $R = -H$

(20) 5'-甲酸酯衍生物 $R = -CHO$

三、前体设计思想

活性部分(原药)与前体基团之间的共价键,对前药的药动学性质起决定作用。对连接键及前体基团性质的了解,会有助于解释生物转化过程中的特性,及其在特定组织或细胞中的定位。从安全性方面考虑,前体基团的体内处置尤为重要,应该与活性部分一样需要详细研究。某些时候,释放出的前体部分的体内处置已非常清楚,如甲酯和乙酯;在这些前药开发期间,不需要再做额外研究。但在其他例子中,需进行额外的药动学研究。

合理的前药设计应首先明确待解决的问题,即原化合物、原药存在的传递问题以及要克服这些传递问题需满足的理化性质。只有这样,才可能选择合适的前体基团,并构建具有适宜理化性质的前药,在所期望的生理环境中有效转化成活性前药。

前药设计中最重要要求自然是,在体内预期到达的组织或细胞腔室中,前药能充分地转化成活性药物。这种前药到原药的转化发生在吸收前、吸收过程中、吸收后,或在药物作用的特定位点。因为前药通常无活性,是对治疗无用的药物,所以这种转化需要达到基本完全,这一点很重要。但转化速率需根据前药设计的特殊目的而变化。为克服溶解度不好而设计的静脉注射前药制剂,应在注射后迅速转化成活性原药。如果前药设计的目的是为了控制生物转化速率而达到缓释药物的作用,则转化速率不应太快。

前药设计可利用各种化学反应和酶催化反应来达到在预期位点以预期速率生成活性药物。但这种完美设计常受到与前体基团连接的活性药物中是否有可利用的适

宜官能团的限制。

前药在体内水解后生成活性药物的情况最常见,但有时也会用到还原与氧化反应。除了用各种酶系统来激活前药外,缓冲的和相对恒定的生理 pH 也可用于触发释放。

在胃肠壁、肝和血液中,存在一些对口服前药活化很重要的酶。另外,前药在到达肠细胞之前,肠内微生物系统中存在的酶对前药代谢也很重要。相对于非靶组织,特异性或高浓度存在于靶组织中的酶可用来实现前药的位点特异性传递。

药物口服生物利用度较差可能是由于其对生物膜的渗透性较差、在为肠液中溶解度较差或是在胃肠道或肝脏中经历了广泛的首过代谢。制备脂溶性高的前体药物是促进药物在小肠上皮跨细胞膜扩散、提高母体化合物生物利用度的传统方法。

参考文献

- [1] 高坤,孙进,何仲贵.口服药物吸收中的生物药剂学性质[J].沈阳药科大学学报,2007,24(3):186-192.
- [2] Sun Jin, Zhang Tianzhong, Qiu Feng, et al. Impact of pharmaceutical dosage forms on the pharmacokinetics of roxithromycin in healthy human volunteers [J]. J Antimicrob Chemother, 2005, 55(5): 796 - 799.
- [3] 魏树辉,何仲贵,王立云,等.盐酸青藤碱口服渗透泵控释片的制备及其释药影响因素考察[J].沈阳药科大学学报,2003,20(3):165-169.
- [4] 冯波,何仲贵,赵临襄,等.沙丁胺醇包合物缓释片的制备及其体外释放研究[J].沈阳药科大学学报,2002,19(1):18-22.
- [5] 冯波,何仲贵,赵临襄,等.沙丁胺醇包合物缓释片在家犬体内药动学研究[J].中国医药工业杂志,2002,33(10):491-493.
- [6] 何仲贵,唐星,刘峰,等.盐酸地尔硫卓缓释片的制备及体外释放度[J].沈阳药科大学学报,2000,17(5):313-315.
- [7] He Zhonggui, Zhang Tianhong, Tang Xing, et al. Preparation and pharmacokinetic characterization of sustained release melatonin tablet [J]. Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences, 2003, 12(2): 82 - 86.
- [8] CUI Shengmiao, ZHAO Chunshun, TANG Xing, et al. Study on the bioavailability of puerarin from pueraria lobata isoflavone self - microemulsifying drug delivery systems and tablets in rabbits by liquid chromatography - mass spectrometry [J]. Biomedical Chromatography, 2005, 19(5): 375 - 378.
- [9] CAHN LM, LOWES S, HIRST BH. The ABCs of drug transport in intestine and liver: efflux proteins limiting drug absorption and bioavailability [J]. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2004, 21(1): 25 - 51.
- [10] AVDEEF A, BOX KJ, COMER J E, et al. pH - metriclogP 10 determination of liposomal membrane water partition coefficients of ionizable drugs [J]. Pharm Res, 1998, 15(2): 209 - 215.
- [11] 孙进,王思玲,程刚,等.磷脂膜色谱及其在生物药剂学中的应用[J].药学学报,2003,38(6):475-480.
- [12] 高坤,孙进,何仲贵.肠道转运蛋白在药物吸收中的重要作用[J].药学学报,2006,41(2):97-102.

- [13] TAMAI, NAKANISHI T, HAYASHI K, et al. The predominant contribution of oligopeptide transporter Pep T1 to intestinal absorption of betalactam antibiotics in the rat small intestine [J]. J Pharm Pharmacol, 1997, 49 (8): 796 - 801.
- [14] MIZUMA T, OHTA K, HAYASHI M, et al. Intestinal active absorption of sugar conjugated compounds by glucose transport system: implication of improvement of poorly absorbable drugs [J]. Biochem Pharmacol, 1992, 43 (9): 2037 - 2039.
- [15] SUN J, SUN YB, HE Z G. Significant role of transporters in drug hepatobiliary transport [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2005, 40 (8): 460 - 465.
- [16] GAO K, SUN J, HE Z G. Transporters: significant role in drug Intestinal transport [J]. J Acta Pharm Sin (药学学报), 2006, 41 (2): 97 - 102.
- [17] Hrycyna CA, Ramachandra M, Gottesman MM, et al. Mechanism of Action of Human P - glycoprotein ATPase Activity [J]. J Bio Chem, 1988, 273: 16631 - 16634.
- [18] Urbatsch IL, SamKaran B, Weber J, et al. P - glycoprotein Is Stably Inhibited by Vanadate - induced Trapping of Nucleotide at a Single Catalytic Site [J]. J Bio chem, 1995, 270: 19383 - 19390.
- [19] Ambudlear SV, Carderelli CO, Pashinsky I, et al. Relation Between the Turnover Number for Vinblastine Transport and for Vinblastine - stimulated ATP Hydrolysis by Human P - glycoprotein [J]. J Bio Chem, 1997, 272: 21160 - 21165.
- [20] Agnes Lo, PharmD. P - glycoprotein and Drug Therapy in Organ transplantation [J]. J Clin Pharmacol, 1999, 39: 995 - 1005.
- [21] 李磊, 王新峰, 刘克辛. 肝脏转运蛋白在药物肝胆转运中的作用 [J]. 沈阳药科大学学报, 2007, 24 (10): 653 - 658.
- [22] H. van de. 药物生物利用度 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2007.
- [23] 梁文权. 生物药剂学与药物动力学 [M]. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 2005.

医药学
PDG

第九章 计算机辅助药物设计

计算机辅助药物设计 (Computer - Aided Drug Design, CADD) 是一门新兴的边缘学科, 它以计算机为工具, 充分利用有关药物及其生物大分子靶标的知识, 通过理论模拟、计算和预测, 来指导和辅助新型药物分子的设计和发现, 以缩短药物的开发周期。随着受体知识的日益发展, 应用配体与受体间相互作用原理近年兴起了计算机辅助药物设计方法, 即以计算机为工具, 采用各种理论计算方法和分子图形模拟技术, 结合生物信息学等其他学科, 根据积累的大量结构和功能有关资料, 设计出具有一定药效的新分子。由于分子图形学的发展以及三维图形工作站的出现, 计算机辅助分子设计的技术使用日益便利^[1]。

第一节 计算机辅助药物设计的一般方法

计算机辅助药物设计的理论基础是 1894 年 Fischer 提出的生物大分子 (如酶) 与配体 (如底物) 作用的锁钥原理 (Lock and Keyprinciple)。据这一原理, 配体 (药物分子) 能与体内受体 (与疾病相关的生物大分子) 特异地结合, 从而抑制病变。在配体与受体对接过程中, 通过两者的形状互补和性质互补, 各自改变其构象, 以适应对方的要求而达到对接的契合状态, 这就是所谓的“诱导契合”。

新药物设计是基于受体结构信息的药物分子设计方法, 它以受体的三维结构为研究基础, 用相应的方法分析靶标分子的活性部位并构建与活性部位相匹配的药物分子。不管采用何种药物分子构建模式, 其方法基本上都要经过 3 个步骤: ①分析靶标分子活性部位, 确定活性位点各种势场和关键功能残基的分布。②采用不同的策略把基本构建单元放置在活性位点中, 并生成完整的分子。③计算生成的新分子与受体分子的结合能, 预测分子的生物活性。^[2]

图 9-1、9-2 显示了传统新药研发模式与 CADD 模式的区别。^[3]

计算机辅助药物设计的出发点是基于对药物和受体间相互作用的理解和研究。根据生物大分子 (受体) 的结构是否已知, 计算机辅助药物设计有着两种不同的策略——直接药物设计 (基于结构的药物设计) 和间接药物设计 (基于受体的药物设计)。直接药物设计分为分子对接和全新药物设计两种方法, 间接药物设计包括定量构效关系 (QSAR) 和三维药效基团模型方法。

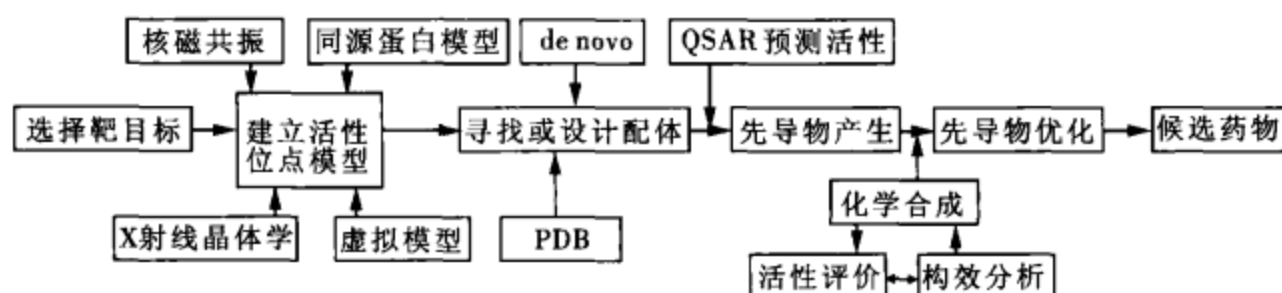


图 9-1 CADD 技术过程



图 9-2 传统的新药开发模式

一、直接药物设计方法

如果受体或受体和配体相结合所形成的复合物的三维结构已经知道，就可根据受点的三维要求设计新药的结构。如果受体蛋白仅知其组成的氨基酸顺序而不知其空间排列，则可根据同源蛋白模拟其结构，当然要看受体蛋白和同源蛋白的结构相似程度，这种方法有一定的误差性。已经测出结构的受体目前仅有少数，大多采用射线衍射方法测定，测出的是晶体状态的三维结构。许多受体蛋白难以结晶，而不能通过衍射方法测定结构。在体液即在水溶液环境中，受体不一定以晶状结构与配体作用。多维核磁共振技术虽足以测定溶液中构象，技术上仅限制在相对分子量 4 万以下的蛋白质。

有机化学家已经合成或从天然原料中分离到超过 1 600 万种有机化合物，其中，不到 1% 的化合物被用于药物筛选，利用这种方法发现了约 7 000 种药物。很可能仍然有大量的潜在的活性化合物被埋藏在这个有机化合物的“矿藏”中，未被人们发现。因此，充分利用这些已知化合物的结构信息，是寻找活性化合物的一种重要手段。

分子对接方法通过将化合物三维结构数据库中的分子逐一与靶标分子进行“对接”，通过不断优化小分子化合物的位置、方向以及构象，寻找小分子与靶标生物大分子作用的最佳构象，计算其与生物大分子的相互作用能。利用分子对接对化合物数据库中所有的分子排序，即可从中找出可能与靶标分子结合的分子。分子对接方法的优势在于化合物数据库中的分子均是已知化合物，可以向试剂公司订购，或者按照其合成方法合成，因而可以较快地进行后续的药理测试。

并行化的分子对接方法又被称为高通量虚拟筛选，可以在几天内完成对包含数十万，甚至数百万个化合物的数据库的筛选。分子对接已成为一种与高通量筛选互为补充的寻找先导化合物的方法。虽然分子对接方法取得了极大的成功，但仍有许多需要改进之处，因此，新的分子对接方法不断出现。一般认为，分子对接需要改进的地方包括打分函数、生物大分子柔性和溶剂化效应三个方面。

在早期的分子对接中,小分子和大分子的柔性都没有考虑,只考虑了小分子的3个平动自由度和3个转动自由度。现在大部分分子对接程序都考虑小分子的柔性,而把生物大分子当做一个刚体。单一的生物大分子结构会限制药物设计的小分子类型,基于某种小分子化合物与生物大分子晶体结构,也许只能设计出与之类似的结构。将柔性包括进来的主要问题是:结果不是变得更好,而是更糟糕。现有的结果表明,只考虑生物大分子的侧链的柔性对结果没有改善。利用生物大分子不同的静态结构来考虑其柔性可能会成为一个主要方法,特别是那些引起生物大分子不同结合构象的小分子。

全新药物设计方法根据靶标生物大分子的活性位点(“结合口袋”)的几何形状和化学特征,设计出与其相匹配的具有新颖结构的药物分子。全新药物设计的方法目前主要有两种。一种方法称为碎片连接法,该方法首先根据靶标分子活性部位的特征,在其“结合口袋”空腔中的相应位点上放置若干与靶标分子相匹配的基团或原子,然后用合适的连接片段将其连接成一个完整的分子。另一种方法称为碎片生长法,该方法首先从靶标分子的结合空腔的一端开始,逐渐“延伸”药物分子的结构。在“延伸”过程中,每一步都要对其延伸片段(基团或原子)的种类及其方位进行计算比较,选择最优的结果,再向下一步延伸,直至完成。

全新药物设计方法倾向于得到一个与生物大分子结合最佳的小分子,而化学家们一般对单个分子不感兴趣,因为预测精度低(包括假阳性和假阴性),吸收、分布、代谢、清除和毒性等性质不佳,化学合成困难,可能造成设计的小分子化合物难以成药。基团生长法的缺点是最后的结果严重依赖最初的种子原子放置位置,而最后得到的分子可能难以合成。全新药物设计的一个优点是分子动力学、蒙特卡罗模拟结合更紧密,因此,在处理大分子柔性方面比分子对接方法更简便。

二、间接药物设计方法

由于大部分受体的结构尚未阐明,只好在一系列配体结构的基础上,通过活性同构物方法进行构象研究,首先搜索各个化合物的较低能量构象,然后按照一定的规则进行构象重叠,以求得在这一系列化合物中可以重叠的构象。

药物设计中要牵涉到大量的数据的存储、获取和处理,包括化合物结构数据、生物活性数据、理化性质数据、合成数据等。把这些化学信息系统在计算机中表达和管理,可方便地实现各种指定目的输入、搜寻、检索、管理和输出,另外,只有借助计算机才能实现将其药物分子和生物大分子构筑成三维结构模型,借此设计出新的药物,这些大量的化学数据、结构信息的计算机处理和计算,是计算机辅助药物设计的显著特征。

利用小分子三维结构作为参数的三维定量构效关系方法在预测小分子与生物大分子的相互作用时非常有用,各种在化合物三维结构基础上进行三维定量构效关系研究的方法,在药物研究中已经越来越广泛地应用。小分子的构象对三维定量构效关系影响非常大。而在早期,由于缺乏生物大分子的结构信息,无法确定小分子与生物大分子的结合构象,只能采取构象搜寻、模板叠合的方法,存在较大的局限性。建立多个构象叠合模型,选择其中预测能力最好的模型进行三维构效关系研究是一

种可取的方法。定量构效关系是最主要的先导化合物优化方法，而 CoMFA 等三维定量构效关系由于其预测能力强，模型形象、直观，已成为最常用的药物设计方法之一^[4]。

药效基团模型方法是另一种重要的间接药物设计方法，可用于先导化合物的发现。三维药效基团通常是指那些可以与受体结合位点形成氢键相互作用、静电相互作用、范德华相互作用和疏水相互作用的原子或官能团以及它们之间特定的空间排列方式。对一组具有生物活性的化合物进行化学结构分析和比较，找出其共同的特征结构，即可建立药效基团的模型。另外，还可以通过全新药物设计得到针对某个特定靶标生物大分子的三维药效基团模型。得到药效基团模型后，即可以此为提问结构的模板，搜寻现有的小分子数据库，“筛选”出符合药效基团要求的其他分子，进行药理测试。三维药效基团搜寻速度比较快，因此，在分子对接前，可以用三维药效基团搜寻方法对化合物数据库进行预处理。这样在减少分子对接计算量的同时，提高了发现对靶标生物大分子有活性的小分子的概率。

定量结构-性质关系。从预测方面，在平常检测中仅涉及物理化学性质，所以未包括生物性质，一些基本的物理化学性质如沸点、熔点、蒸气压、酸碱性 (P_{ki})、脂溶性（通常由 $\log P_{ow}$ 测定）、水溶性、临界胶原浓度和环糊精表面能可能对药物设计有作用。其中脂溶性和水溶性特别重要，而因为在结晶状态的复杂相互作用使熔点的重要性存在疑问。在一个更宽的检测范围内 QSPR 覆盖了生物性质如生物膜通透性，包括 Caco-2、血脑屏障、肠道、角膜或皮肤通透性及更复杂的性质如肠道药物吸收和生物利用度。实际上在更宽检测范围时，任何活性、亲和力或毒性均表现为一种性质。

定量-构效关系。MD QSAR 可以为药物化学理解化合物的结构和功能之间的关系提供有益的帮助，能够克服“黑箱 (Black-Box) 效应”式的盲目摸索造成的浪费，对药物化学及药物设计的发展起了巨大的推动作用，已经成为研究药物分子的理化性质与生物活性以寻求分子解释的所有学科领域中一个强有力的工具。

定量构效关系方法在药物和农药研究中起着重要的作用。所有的定量构效关系方法都假定被研究的分子结合在同一个靶标生物大分子的相同部位，但不同方法采用不同的结构性质以及不同的确定构效关系。

传统的定量构效关系 (Hansch-Fujita 方法) 利用分子和基团的物理化学性质作为结构参数，虽然很有用，但常常因为缺乏实验数据而无法应用（那些性质通常难以通过计算获得）。而建立在分子拓扑连接性质基础上的二维定量构效关系方法则一方面容易获取参数，另一方面也不存在三维定量构效关系方法中的构象问题，是目前 $\log P$ 、吸收、分布等性质研究中最常见的方法，故在后面特别列出专门介绍。

定量结构-代谢关系。在药物设计早期，综合代谢、药代动力学和普通物理化学因素很重要。最近大量应用计算机系统预测生命代谢。对于代谢研究，许多课题涉及细胞色素 P_{450} (CYP) 及其不同异构体，例如传统的 CYP3A4 的 LFER 研究，CYP-D6 的 CoMFA 研究，CYP-D6 的结合蛋白和药效团模型等研究。药效团的 3D 构型分子特征或片段，对于研究生物活性和药理学特异性是必需的，因而在不同领

域中进行了大量计算努力。处理这些 3D 结构和可互换的相应定量参数或有关分子重叠甚至大结构库是计算机的任务。已使用药效团模型或理论计算识别转运体如 P-糖蛋白的底物, 因为有证据表明活性转运体对于化学物质在生物体内的代谢起着重要作用, 故代谢中的定量结构-转运关系可能与 QSMR 同样重要。^[5]

第二节 基于多维定量构效关系的 各种 MD QSAR 模型化方法

多维定量构效关系 (Multidimensional Quantitative Structure - Activity Relationship, MD QSAR) 在 CADD 中得到了广泛的应用。MD QSAR 技术对于澄清肆虐于人类中的顽疾的机理是很重要的工具。利用 MD QSAR 模型可预测化合物的 ADMET (Adsorption, Distribution, Metabolism, Elimination, and Toxicity) 以及指导新药设计与合成。MD QSAR 可以为药物化学理解化合物的结构和功能之间的关系提供有益的帮助, 能够克服“黑箱 (Black - Box) 效应”式的盲目摸索造成的浪费, 以最少的成本直接获得高性能的化学实体研制成新药并推向市场, 对药物化学及药物设计的发展起了巨大的推动作用, 已经成为研究药物分子的理化性质与生物活性以寻求分子解释的所有学科领域中一个强有力的工具。

通过对一系列结构相似、作用机理相同的化合物的结构特征与其生物活性之间关系的定量研究, 利用统计方法在化合物的结构性性质与其生物活性之间建立定量的联系, 得到 MD QSAR 模型。应该说, MD QSAR 模型的最早雏形可以追溯到 19 世纪对有机化合物的结构和活性的研究。其中最早报导分子结构和生物特性关系的当属来自 Strasbourg 大学的 Cros, 1863 年发现在哺乳动物体内醇类的毒性与水溶性呈反比关系。随之在 SAR 研究方面做出较大贡献的还有 Crum - Brown、Fraser、Richardson、Richet、Meyer、Overton、Hammett 和 Tafe 等。而真正把 SAR 推向 QSAR 时代的是 20 世纪 60 年代初的 Hansch 和 Fujita、Free 和 Wilson。

在随后的几十年里, MD QSAR 的研究得到了长足的进步和发展, 已经产生了大量的 MD QSAR 模型化方法, 这些方法已经较为成功地应用于 CADD 中, 其中主要有以下几种方法:

一、2D QSAR 模型化方法

主要有 Hansch - Fujita 与 Free - Wilson 方法, 分子连接性指数方法和电拓扑状态指数方法 (Electrotopological Stateindex 简称 E - 状态指数)。

Hansch - Fujita 模型是基于取代基对分子生物性质的影响是由其电性、立体性和疏水性三者中某些或全部因素变化引起, 并且这三种效应是彼此独立可加的。假设提出的公式: $\lg 1/C = a \lg P + b E_s + \rho \sigma + d$, 其中 a 、 b 、 ρ 、 d 是方程的系数, 由多元线性回归确定, 其中的变量都有其物理意义, 可以用来解释和推测作用机理, 进而指导新药设计。

Hansch - Fujita 方程的核心是化合物的生物活性是电子、大小形状 (立体) 和疏水三类物理化学参数的函数, 因此可以说, 如何实现结构信息值化是 Hansch - Fujita 方法实现的瓶颈问题。Free - Wilson 模型是以母体骨架相同的系列化合物, 取代基在不同位置上的影响是相互独立的为假设: $\lg 1/C = A_0 + \sum^i \sum^j P_{ij} A_{ij}$ 式中 A_0 是基准化合物的理论活性负对数值, P_{ij} 表示第 i 个亚结构在第 j 取代位上有 ($P_{ij} = 1$) 或无 ($P_{ij} = 0$), A_{ij} 表示第 i 取代基在第 j 位上对活性的贡献。两者的区别是, 后者认为生物活性强弱是取代基本身影响, 不需要物化参数, 虽然不提供有关作用机理的信息, 但可以预测化合物的活性, 而前者则以物化参数解释这种贡献。Hansch - Fujita 与 Free - Wilson 方法在新药设计方面得到了广泛应用, 但是并没有考虑药物分子的三维结构特征和分子的各部分结构特点, 不能用来设计新的先导化合物, 只能用于先导化合物的优化、提高化合物的活性、提高生物利用度等。

分子连接性指数由 Randic 提出并由 Kier 及其合作者扩展。在拓扑描述子中, 各阶分子的零级、一级、二级、三级等分子连接性指数 ($0\chi, 1\chi, 2\chi, 3\chi, \dots$) 一起用于表征分子结构时, 可认为这个系列构成一个矢量描述子。分子连接性指数系指应用分子骨架中邻接关系定量表达结构, 即用计算获得的分子连接性指数 X 把化合物的结构与生物活性相关: $\lg 1/C = b_0 + \sum^i (b_{2i-1} {}^iX + b_{2i} {}^iX^V)$ ($i = 1, 2, \dots$)。式中 iX 是指 i 级连接性指数, ${}^iX^V$ 表示含有杂原子时各相应的连接性指数, 其不是实验值, 而是通过代数运算得到的非经验参数。分子连接性指数基于图论和不变量概念编码了某些重要结构信息, 而这些信息系基于原子之间连接性的二维结构特征编码。该方法适用于含环、多重键和杂原子的分子体系, 是 2D QSAR 研究中应用最普遍的拓扑描述子之一, 已得到成功应用并仍在改进和发展中。

E - 状态指数法由 Kier 与 Hall 提出, 是以分子图中每个原子的图不变量计算的, 其中心思想在于每个原子的内在状态, 原子状态的指数值可以作为回归模型的参数。E - 状态指数包含了比一个纯粹的数值更多的信息。其能够表明原子电子特性和分子中的每个骨架原子拓扑环境, 同时又可以表示环境对原子的影响效果, 可以识别不同原子之间内在的电拓扑状态指数以及它们之间的拓扑距离。每一个原子类型的 E - 状态指数代表了对特定原子的电子属性, 分子中有多少个原子类型就有多少个 E - 状态指数, 这些指数共同描述整个分子, 从而构成一组分子描述子用于编码分子的二维拓扑结构信息。E - 状态指数的应用已经表明, 其具有强大的能力能够识别一个分子中的原子或者是碎片, 而这些分子对于生物活性是很重要的。后来, Kier 等又进一步提出了氢原子水平的 E - 状态指数。

二、3D QSAR 模型化方法

2D QSAR 方法只能反应原子间连接顺序、方式以及可能的几何异构体, 不能区分有关手性对映体和各种构象异构体。而基于 3D 的 QSAR 模型在物化意义上更为明确, 能直接反映药物分子作用过程中底物和受体之间的非键合相互作用特征: 一方面, 不同骨架的分子可能有相同的生物活性; 另一方面, 2D 相同但 3D 不同的化合物可能有不同的生物活性。其主要方法有比较分子场分析方法、比较分子相似性指数分析与假想活性位点阵方法、加权整体不变量分子方法和谱学方法。3D QSAR 是

当今 QSAR 研究的主流。除了上述的 3D QSAR 方法外, 还有 GRIDPGOLPE 方法、DAPPER 方法、LIV 方法、MEP 方法、CoMSA 等方法。

比较分子场分析方法: 至今已经产生了众多的 3D QSAR 模型化方法, 其中最具有代表性的应该归于 Cramer 等在 1988 年提出的比较分子场 (Comparative Molecular Field Analysis, CoMFA) 方法。CoMFA 是在分子水平采用分子场研究分子性质, 其最初是为小分子集而设计的, 在不了解受体三维结构的情况下, 研究这些药物分子周围三种作用力场分布, 把它们与生物活性定量地联系起来, 既可以推测受体的某些性质, 又可依此建立一个模型来设计新化合物, 并定量地预测其药效强度。CoMFA 的基本步骤可概括为:

① 确定各化合物的药效构象, 依据合理重叠规则, 把它们重叠在一个包容全部化合物分子的空间网格上;

② 使用一个探针比如带一个单位正电荷的甲基计算相互作用能, 这一步将产生一个基于 Lennard-Jone 6-12 势的立体相互作用能和一个基于 Coulombic 势的静电相互作用能, 这些作用能即构成 CoMFA 描述子矢量;

③ 用偏最小二乘法 (Partial Least Square, PLS) 确定可区分被研究化合物活性的最少网格点 (以立体阻碍、静电势、疏水性相互作用表示), 进而建立各分子生物活性与相互作用能的 3D QSAR 模型;

④ 作 CoMFA 系数图, 从系数图上可以清楚地看出哪些地方场强对生物活性影响最大, 据此可以设计具有更强生物活性的新化合物。这只是一个总体简化的计算过程, 大量的研究工作包括在上述各个步骤中, 对其展开的激烈争论仍在继续。从 CoMFA 的计算步骤及其应用情况可以看出: 分析过程中要严格选择各种参数, 慎重选取电荷以及有关的计算方法; 严格定义排列标准和所选择的条件以及场的缩放比例和权重, 对每一个分析都应该作交互检验并且应该考虑交互检验中的典型问题如离群项的讨论; 最后要提供或至少要讨论最终模型的等高线, 给出有关生物数据的出处以及生物数据的标准误差, 提供观测值和预测值以及依赖于训练集的生物活性值的预测效果。应该说, CoMFA 方法中关键问题是合适的校准策略分子对接问题的选择。

相对于 2D QSAR, CoMFA 具有两大优势即可应用于非同系物体系和可以 3D 图形显示, 因此自其公布以来, 得到广泛的应用。但 CoMFA 方法受很多因素比如活性构象确定、分子叠合规则、分子场势函数定义以及分子场变量选取等影响, 结果不是很稳定; 同时还有一定的应用限度, 比如 CoMFA 中没有真正体现疏水性相互作用, 而疏水性相互作用是配体-受体间一种很重要的相互作用力, 尽管这种作用力的含义至今尚不完全清楚。其次, CoMFA 对于体内生物活性数据的分析经常得不到有意义的结果, 并且 CoMFA 中应用 PLS 统计技术得出的潜参数 (组分) 难以用传统的化学思维来解释。另外, 由于选取的参数不尽一样, 因此结果之间难于比较。正因为如此, 其正在不断被完善和发展, 如 Gaillard 等把“疏水场”概念引入到 CoMFA 计算中; Kellogg 等发展了计算氢键相互作用的 HINT (Hydrophobic Interaction) 程序并把它成功地引入 CoMFA 中。起初, CoMFA 的方法应用于靶标蛋白结构未知的

3D QSAR 建模中,最近也被应用于靶标结构已知的研究中。Kellogga 等应用 Poisson - Boltzmann 方程计算出的 ZAP 静电势能场来代替传统的 CoMFA 中的 Coulombic 场,用 PLS 留一法交互检验,得出的模型可取得较好的预测效果。Schleifer 等采用 CoMFA、CoMSIA 和 GRIDPGOLPE 方法,通过留一法和留九法交互检验后建立的模型用于抗 DHP (blocking1, 4 - dihydropyridines) 的 QSAR 的研究,并且与经典的 QSAR 方法对比,效果令人满意。遗传算法和人工神经网络也在 CoMFA 中得到了应用, Kimura 等与 Hasegawa 等基于遗传算法进行参数选择,得出的 CoMFA 模型,使变量参数从 1275 减少到 43,大大减少了工作量并使模型变得易解释。Tetko 与其合作者将人工神经网络应用于 CoMFA 中进行建模,具有两个优点:减少建模所需要的输入参数的数量;用非线性模型取代 PLS 法。几十年的验证表明,CoMFA 方法在 CADD 和药物的 QSAR 研究中得到了成功的应用,但是其不能代替 2D QSAR,尤其是不能代替 Hansch - Fujita 方法。一些研究者将两者结合应用于 QSAR 研究,结果表明两者可以起到优势互补的作用。

比较分子相似性指数分析与假想活性位点阵方法:值得一提的是与 CoMFA 类似的一种 3D 模型化方法:CoMSIA (Comparative Molecular Similarity Indices Analysis)。1994 年 Klebe 等定义了包含配体成键的主要作用场的 5 种分子特征:立体场、静电场、疏水场、氢键场(包括氢键受体和氢键给体)。其中,立体场同原子半径的三次方相关,静电场来自于原子净电荷,疏水场来自 Viswanadhan 等的研究工作,氢键场则是通过自经验得到的基本准则来获得的。CoMSIA 中采用与距离相关高斯函数形式代替经典 Coulomb 和 Lennard - Jones 6 - 12 势函数形式,致使在分子表面附近格点上的能量自动收敛为确定值,从而不要人为定义 cut off 值。CoMSIA 方法能有效地避免在 CoMFA 方法中由静电场和立体场函数形式所引起的缺陷。其计算在不同格点大小以及分子空间取向得到的结果比 CoMFA 稳健得多。在一般情况下,CoMSIA 会得到更满意的 3D QSAR 模型。

另一个与 CoMFA 相关的 3D QSAR 模型化方法——假想活性位点阵 (Hypothetical Active Sitelattice, HASL)。使用一个描述训练集中各个分子性质的格子,从某种意义上说,这个格子的操作是在与 CoMFA 相对的方向进行的。在构建 CoMFA 格子时,产生一个包含所有分子的格子,但那些非常接近或在该分子 van der Waals 半径的格点将被丢弃。HASL 方法中选为网格的是那些处于 van der Waals 半径以内的那些点。根据最近原子的性质,给这些网格点赋予性质值 (HASL 型值),然后这些网格对每一个化合物进行操作而形成描述子。该方法已有成功的应用。此外,一组抗疟疾 artemisinin 模拟物的 QSAR 研究结果表明,HASL 方法具有与 CoMFA 完全可比的质量,同时 HASL 与 CoMFA 可以取长补短。

加权整体不变量分子方法:意大利 Todeschini 研究组提出一种有前途的 3D QSAR 模型化方法——WHIM (Weighted Holisticinvariant Molecular),其是根据被映射到由原子匹配物的加权协方差矩阵得出的 3 个主成分的原子统计指数而得到的。其简洁过程如下:首先,一个加权方案应用到分子坐标;第二,坐标中心化后计算加权协方差矩阵,该协方差矩阵作为主成分分析的基础;最后,从原子的得分矩阵提

取统计参数,进而推导 WHIM 描述子。因为坐标被中心化,所以产生的描述子对平移是一个不变量,主成分分析步骤给出了唯一对旋转为不变量的解答,所以,一个数据集的 WHIM 描述子是不受数据集中化合物的相对定位影响的。WHIM 的应用表明,它们可以用于描述大量的物理化学性质如沸点、溶解度、摩尔折光率和极化度等,还可以成功地建立生物响应模型,范围从毒性到肾上腺素拮抗剂。也有研究表明,WHIM 已扩展到考察分子表面和基于格子的相互作用场的处理。无须置疑,WHIM 描述子含有有用的化学信息,可以对任何化合物进行计算,给出一个合理并实用的 3D 结构,而且与其他 3D QSAR 方法相比其不需要迭合策略,因而具有非常明显的优点。

谱学方法:核磁共振化学位移、红外与拉曼光谱的伸缩频率等实验谱学性质已广泛地用于化合物的表征与鉴定。近几年发展起来的 EVA (Normal Coordinate Eigenvalues) 方法应用基于分子坐标的量子力学计算推导的物理量,具有某种谱学数据的相似性。其步骤如下:首先,生成每一个化合物的三维结构坐标,应用半经验计算程序如 MOPAC 计算正常坐标频率;接着,将正常坐标特征值投影到一定宽度的频率标尺上,并且使用宽度为 σ 的高斯平滑函数于每一个振动频率上;最后,在每一个固定的频率间隔 (L) 采集强度值,以提供描述每一个分子一组强度值,这组值即 EVA 描述子。这种方法可以克服直接使用频率数据时每一个分子描述子的频率位置不同的困境。不同的参数 (L 和 σ) 将导致不同的矢量描述子,因此 EVA 存在一定的缺点,用这些谱学性质作为分子结构描述子缺少预测能力,但是仍不乏成功的例子。EVA 方法已成功地用于正辛醇-水分配系数和生物物质数据集的计算,产生了一些可与优秀的 3D QSAR 方法相媲美的模型,而且该法不需要对特定结构进行校准。Tuppurainen 描述了一个基于电特征值 (EEVA) 的有趣 EVA 方法,它是 EVA 的一种修饰,结果表明它对大量生物数据集可产生相当好的模型。

三、4D QSAR 模型化方法

由于 3D 方法需要首先对分子结构进行三维结构搜索并依据能量最低原理进行优化,以获得优势构象或寻求生物活性构象以及实施迭合策略,因此要构建有效的 3D QSAR 模型仍是相当困难和非常耗时的。1997 年, Hopfinger 等提出 4D QSAR 概念,以化合物分子各个构象、取向等的集合 (Ensemble Profile) 为第四维,4D QSAR 思想结合了药效团、构象和排布自由度,集成采样来表达化合物生物活性。

要进行 4D 分析,首先得到受体 (分子靶标,通常是酶) 的几何学。但受体的几何学不是被分析数据的一部分,4D QSAR 中的描述子是立体的格子单元 (Grid Cell Occupancy Descriptors, GCODs),因为不同的相互作用药效团的原理 (Interaction Pharmacophoric Elements, IPEs) 而产生,为建立模型而选择描述子时,非 GCOD 描述子可以包含在 GCOD 描述子里。4D QSAR 中蕴涵的思想是一组配体的活性是有区别的,这组配体与考虑到 IPEs 分子形状的 Boltzmann Average Spatial 分布中的区别是相关的。通过遗传算法和 PLS 回归方程建立一个 3D QSAR 模型,推测训练集中的每一个化合物的分子的活性最优构象。4D QSAR 克服了 3D QSAR 中存在的很多问题如:训练集中化合物的活性构象或者是分子形状的识别,分子排列问题,训练集中

的每个分子必须被分割等。继 Hopfinger 提出 4D QSAR 后, Vedani 等曾提出一种新的 4D QSAR 思路, 其通过建立准原子受体表面 (Quasi-Qtomistic Receptor, Quasar) 模型得出 4D QSAR 模型, 应用于甾体-球蛋白结合活性研究, 得出的计算结果与 CoMFA 相比有一定的优越性。

四、5D QSAR 模型化方法

X 衍射分析已经证实, 受体与配体结合时存在着一个诱导契合过程。基于此, 2002 年, Vedani 和 Dober 对先前提出的 Quasar 方法进行全面更新和升级, 开创了 5D QSAR 研究的先河。如果说 4D QSAR 很好地解决了经典 3D QSAR 遗留下来的分子排列和构象选择等问题, 那么 5D QSAR 模型的建立则较完全地考虑了受体生物大分子的结构, 使药物设计更趋于合理化。此方法的第四维也是指构象的集合, 第五维则是指各种诱导契合的集合。诱导契合主要包括有 6 种类型的调适: 立体场 (Steric)、静电 (Electrostatic)、氢键场 (H-bond)、分子亲脂势能 (Lipophilicity Potential)、能量最低 (Energy Minimization)、线型 (Linear Scheme)。在分别生成构象集合与诱导契合集合后, 换算成相应的变元, 再进行计算分析得到 5D QSAR 模型。

应用 5D QSAR 可以提高配体排列的程度, 选择一个合适的诱导契合模型。这种模拟过程表明这种方法可以识别一个简单的活性组配体和一个简单的诱导契合模型, 但是却不适合分析即便是很大但对整个化合物贡献很小的实体。更重要的是, 在 5D QSAR 中应用的遗传算法不一定仅仅局限在给定的 6 个调适类型中, 而是可以建立任何的线形和各向异性模型。与 4D QSAR 相比, 5D QSAR 模型的优点不仅适合于小分子的活性研究, 甚至当该化合物比配体分子大得多的情况下都可以用给定的模型研究新化合物的 QSAR。另外, 诱导契合中的各种假设的相互交互作用可以通过整个模拟过程实现。

真正意义上的 QSAR 产生到 5D QSAR 的出现只有 40 余年, 虽然目前的 MD QSAR 技术受计算速度和理论水平的制约, 一些问题, 比如对药物配体-受体的结合模拟还不够精确, 对药代动力学和生物毒理学还缺乏准确的预测方法, 如何自动挑选结构变量, 如何确定药效构象和药效团等问题未得到圆满解决, 但无可否认, MD QSAR 方法已经成为一种重要的 CADD 方法, MD QSAR 的方法已经呈现出“百家争鸣”的局面。实践证明, MD QSAR 与有机化学家在鉴定一个化合物结构时所用的 UV、IR、MS 和 NMR 一样, 是一种颇有意义、不可缺少的工具, 药物设计工作者应该把 MD QSAR 当做一架望远镜。正如许多研究所表明, 应用 MD QSAR 可以得到较好的预测效果。但我们也应该知道所建立模型的局限性, 应该用进一步的理论和试验来验证它的有效性和可行性。未来的 MD QSAR 将朝着综合性、理论性、智能化、程序化和实用型方向发展。有充分理由和事实表明, 随着药物化学家和化学家、生物化学家、计算机科学家等的通力合作, MD QSAR 方法将越来越完善, 成为新药研究创制的强有力的手段。^[6]

第三节 基于配体 - 受体理论的 CADD 方法及应用

CADD 能模拟受体和配体的相互作用,有助于人们加深对药物作用机制的了解,减少研究的盲目性,提高新药开发的准确性,加快新药开发的步伐。其设计过程大体分为三步:

- ①分析受体的构象,确定受体的活性区域,在活性区域搜索可能的结合位点;
- ②寻找与受体结合位点相匹配的配体分子,得到候选化合物;
- ③对候选化合物进行评价,有人形象地称之为“对分子打分”。

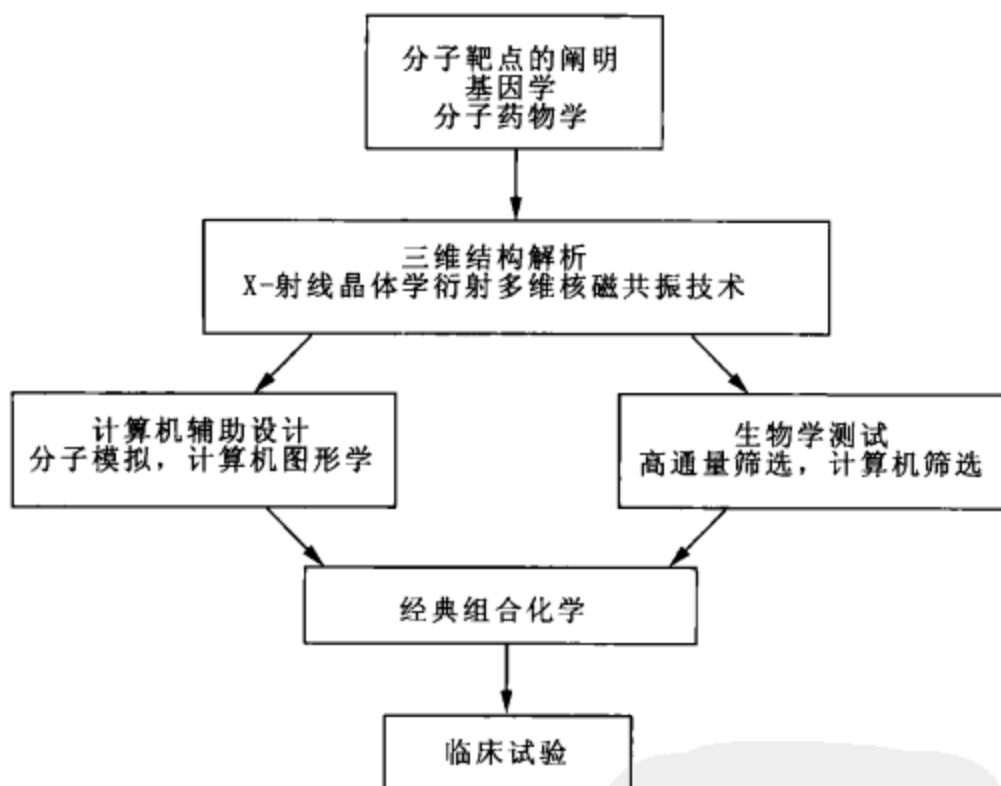


图 9-3 以受体结构为基础的药物分子设计流程^[7]

对于已知 X-光晶体结构或 MD-NMR 结构的受体,用有关分子结构中原子的精确位置以及原子相互关系的信息,进行分子结构的模拟与能量优化,确定受体的结合位点空间形状和特征分布(电性、疏水性、氢键和范德华力等)。这种解析过程称为构象分析,构象分析之后,从受体的三维结构出发,利用计算机找出结合位点(如氢键结合位点和疏水作用方式位点),按照结合部位对配体的互补性要求来设计先导化合物。

一般而言,药物是小分子,而作为受体的蛋白质等生物分子是大分子。配体小分子-生物大分子相互作用,要求立体互补性和化学互补性。配体与受体的结合部位包括识别位点、活性位点、变构区域以及一些必要的非功能区。在确定受体的结合部位之前必须知道受体的三维药效结构(构象分析)。确定结合部位的一种常用方法是 GRID。在这个方法中,将一个探针基团,如甲基或羧基,放在结合部位附近的

空间格点中,按经验的势能公式,计算探针与受体分子之间的作用能。根据每个格点的能量,找出热点就可以确定结合部位。另外,还可以利用一些实验中总结的经验规则来确定结合部位。如通过分析小分子的晶体结构可以得到氢键参数,利用这些参数就可以确定受体的氢键结合位点。HSITE (LUDI 的一个模块)就是用这种方法来确定结合部位,同时 HSITE 还利用其他一些规则确定疏水作用点和电荷作用点。一般有两类方法用于探索配体与受体的作用方式,以寻求合适的配体分子。

搜索法 (Searching) 是依据受体结合位点空间结构,在一个已知的小分子三维结构数据库中进行搜索,根据受体与配体的互补性要求 (立体和电荷),找到具有特定三维结构的配体分子。例如:受体活性部位含有凹穴,则配体应有相应大小的突起;受体活性部位含有正电区,则配体一定含有负电区。

在此方法中,数据库的重要性是显而易见的,因为要进行配体结构搜索,必须要有配体三维结构数据库。按结构信息来源不同,可将数据库分为实验结构数据库和计算数据库。晶体 X-射线衍射法能提供完整小分子或大分子的三维结构信息 (现在也逐渐采用多维核磁共振波谱技术来测量)。小分子大型晶体数据库有剑桥结构数据库 (Cambridge Structural Database, CSD),库中约含 13 万个有机化合物的结构信息。能把二维结构转换成三维构象的程序 CONCORD 打破了三维结构信息仅能来自于实验的限制。继 CONCORD 之后又出现了许多转化程序,其中 CORINA 程序的转化率和准确率最高,也可以用于大环分子和有机金属分子。

搜索过程实际上是一个复杂的多步骤的过程,一般包括初筛、查询和柔性搜索三个步骤。初筛主要是除去那些与受体结合部位所要求的特定三维结构根本不匹配的分子,减少进入下一步程序的分子数。查询主要是确定配体在空间与电荷之间的连接方式是否匹配。查询方法有:回溯法 (Back-Tracking),划分-松弛法 (Partitioning-Relaxation) 和筛分法 (Screening)。柔性搜寻是指所要筛选的分子除满足三维结构匹配的基础上,还要满足三维空间柔性匹配。数据库中对每个分子不仅存储了一个低能构象还有其他一些构象。

构建法 (Building) 分为连接法和生长法。生长法是让分子碎片 (即药物基团或原子) 在受体结合点的空间区域内生长,通过逐个递增原子或基团,建筑配体分子,推导新的先导化合物。连接法是在受体结合空间的各个子区域内先找到与之匹配适合的基团或原子,再用合适的化学键将它们连接起来,形成全新的先导化合物。生长法是以原子为最小单位进行全新分子构造。具体做法是让多种原子随机在结合点的空间内以不同的键连接,得出不同的空间构型,比较各方面因素,取合理的设计结果。此法存在一定的缺点,首先是组合爆炸问题:原子的随机组合键的自由连接加上不同空间位置的组合,得到的分子数目会相当巨大;其次,各原子随机组合的结果未必具有化学合理性。

无论是搜寻法还是构建法找到的适合的配体分子会很多,必须先要在它们之间进行比较,找出最佳的一个或几个配体分子进行实验。大多采用近似方法来处理。通常是计算受体-配体范德华作用力的非键作用项,以结合能量作为判据。原则上最好是能计算配体-受体结合的自由能变化,并由此计算结合常数,但对相对分子质

量很大的分子或对大量的分子而言, 计算自由能变化目前还很困难, 对这方面的研究还须更深入才能有所突破。以上这些方法并不是独立的, 而是相辅相成的, 并且离不开计算机的帮助。

该领域内常用的应用软件多为 Kuntz 等人设计的 DOCK 程序, 包括以下几个步骤:

- ① 结合部位的模拟。这一部分包括受体的构象分析、结合部位的确定。
- ② 将已知配体或模拟配体引入结合部位。这一部分工作完成了如上所述的搜索过程或构建过程。
- ③ 比较所有可能的结合方式, 找出其中作用能量最低的一对作为配体和受体作用的模型。

目前已知结构的受体数目还不多, 许多受体蛋白因难以结晶而不能通过衍射方法测定结构。多维核磁共振技术还仅限相对分子质量 4 万以下的蛋白质的结构测定。因此, 只好在从一系列与同一受体作用具有相似生物效应的配体结构基础上进行研究, 首先搜索各个配体的药效构象, 然后按一定的规则进行构象重叠, 以求得在这一系列配体中重叠构象的共同部分, 以此反推受体结合部位的大致情况。

由 G. R. Marshall 等人发展起 AAA 法通过对作用在相同受体上的一系列化合物结构进行分析, 推导出共同的药效几何点。

① 通过构象分析构建出各配体分子的三维结构, 精简配体结构, 把能代表整个配体系列共同结构特征和它们之间重要不同点的原子或原子团简化, 设定一组共同的关键药效原子或基团, 构成药效基团模型。

② 用若干个分子内两点间距离来描述配体的药效基团, 对作用在同一受体上的一系列配体计算出各药效原子间的距离。

③ 利用分子结构与性质信息表 (Molecular Spreadsheet) 做出分子能量优化图。

④ 比较各配体的分子能量优化图, 寻找一种对各配体都适合的结合模型, 即候选分子的药效基团距离。

⑤ 根据以上确定的药效基团和它们之间的距离, 通过化学键的连接得到全新配体。如果得到的配体不止一个, 可以利用结合能参数搜寻结合能最低的结合模式, 计算出结合能, 即可预测新配体的生物活性。

活性类似物方法推测药效构象时, 常采用限制性系统搜寻法 (Constrained Systematic Search), 即对一组化合物中活性最高的进行非限制性系统搜寻, 把它的构象空间作为下一个活性较高的化合物构象搜寻限制条件, 如此进行, 化合物的药效构象空间变得越来越窄, 最后停留在某一很小的区域内^[8]。

基于结构的药物分子设计方法 (Structure - Based Drug Design, SBDD) 通常分为活性位点分析法 (Active Site Analysis)、数据库搜寻 (Database Searching) 和全新药物设计 (De novo Design)。以活性位点分析方法为例:

活性位点分析方法可以用来探测哪些原子或基团能与生物大分子的活性位点较好地相互作用。用于分析的探针可以是一些简单的分子或碎片, 这也说明活性位点分析法通常不能直接产生完整的配体分子, 但它得到的有关受体结合的信息对后面的

全新药物设计、分子对接等都有很好的指导意义。属于活性位点分析方法的软件有 GRID、GREEN、HSITE、MCSS、HINT 和 BUCKETS。下面以 GRID 和 MCSS 为例讨论活性位点分析法在新药研究中的应用。

由 Goodford 研究小组开发的 GRID 软件,其基本原理是将受体蛋白的活性部位划分为有规则的网格点,将探针分子(水分子或甲基等)放置在这些网格点上,采用分子力场方法计算探针分子与受体活性部位各原子的相互作用能,这样便获得探针分子与受体活性部位相互作用的分布情况,从中可发现最佳作用位点。GRID 最初运算的例子是用水分子作为探针分子,搜寻到了二氢叶酸还原酶(DHFR)活性部位中水的结合位点以及抑制剂的氢键作用位点。

MCSS 方法是 Miranker 和 Karplus 在 CHAR-MM 力场基础上发展而来,它的基本要点是在运用 CHARMM 力场进行分子动力学模拟时,取消溶剂分子间的非键相互作用。这样,在分子动力学模拟时,溶剂在能量合适的区域叠合在一起,从而提高了搜寻溶剂分子与受体分子结合区域的效率。小分子碎片(如水和苯分子)可当做溶剂分子,运用上述动力学方法搜寻出分子碎片与受体的结合区域,然后对每个碎片选择 100~1000 个拷贝,在低能碎片结合域进行能量优化。在最后的能量搜寻过程中,可以用随机取样或网格点的方法来实现。搜寻时每个碎片的各个拷贝可以作刚性转动,最后直接比较每个碎片各个拷贝与受体的结合能,以此选择碎片的最佳作用位点。最近,Bitetti-Putzer 等对 MCSS 和 GRID 进行了比较性研究,结果发现,GRID 一般只能产生出与受体结合的位点,而 MCSS 还能够给出配体与受体结合时的空间取向:用 GRID 处理极性位点时,当位点化学环境发生微小变化时即可极大地改变 GRID 的氢键能,MCSS 则不存在这样的情况;GRID 一般只能产生疏水口袋入口处的结合位点,而 MCSS 则均可如实产生内外结合位点。因此,当进行基于结合位点未知受体的全新药物设计时,一般先用 GRID 产生初步的结合位点,随后用 MCSS 进行细化处理,得到更加详细的结合位点图。

目前,MCSS 方法存在的主要问题是配体与受体的柔性和溶剂化效应问题。因此,今后 MCSS 的发展方向应该着眼于解决这两个问题。Stultz 等对 MCSS 在柔性蛋白的位点分析运用方面进行了探索性研究,他们发现在对柔性蛋白的局部区域分析时考虑配体与受体的柔性构象将会得到更低的能量值,同时运用这一结果建立用于配体设计的蛋白模型的研究也在进行之中。Majeux 等开发出 SEED 程序,以考虑 MCSS 运用中的溶剂化效应。

近年来,随着计算机辅助药物设计方法,特别是基于结构的药物设计方法在组合化学中的运用,虚拟组合库(Virtual Combinatorial Library)技术也应运而生。首先,根据对受体活性部位的分析,通过分子对接的方法搜索数据库,如 ACD-3D,得到与各活性部位结合较好的分子或碎片;然后,运用组合化学的思想将这些分子或碎片随机组合,得到一系列与受体结合的化合物;再通过优化后,这些化合物就构成了虚拟样品库。这样通过虚拟样品库的高通量筛选,可以快速有效地产生一些新的化合物。目前,在虚拟组合库的设计过程中,主要采取两种策略,一种是基于已知的先导结构,通过对接方法系统选择取代基团,并对各种化合物进行快速评价,仅选取较

优的化合物进行合成和活性评价。这种策略不需要合成大量数目的化合物,即可快速优化先导结构,其代表性的方法为 Combi BUILD,该法已成功地应用于 Cathepsin D 的纳摩尔级高活性抑制剂。另外一种策略是采用活性位点分析方法,如 MCSS,分析受体活性位点内的各种结合位点,得到各种探针分子的最优取向,再结合适宜的连接策略,得到结构新颖的潜在活性抑制剂的虚拟组合库。该法已成功运用于小核糖核酸病毒抑制剂虚拟组合库的设计^[9]。

第四节 计算机辅助 RNA 药物设计

现代新药研究与开发离不开筛选模型,而筛选模型的关键是寻找、确定和制备药物筛选靶——分子药靶。选择确定新颖的有效药靶是新药开发的首要任务。传统的小分子药靶多是蛋白质,近年来的研究表明同 DNA 的双螺旋结构相比, RNA 结构具有令人惊奇的复杂性和多样性,同蛋白质一样形成复杂的三级结构, RNA 的三级结构作为分子相互作用的识别位点和结合位点对 RNA 生物功能的实现具有重要决定作用。 RNA 分子同蛋白质一样将成为新型小分子药物的作用靶点,为制药业提供了新的机遇。

RNA 药靶的优越性:基因组计划的顺利进行为 RNA 作为药靶提供了机遇。基因组测序揭示了编码蛋白质的 mRNA 信息,而所有的蛋白质都是 mRNA 翻译获得的,通过干扰 mRNA 的翻译,可以更有效地抑制蛋白质发挥作用。因此,结合 RNA 的小分子药物还可以产生结合蛋白质的小分子药物所达不到的作用。除了抑制蛋白质的产生,还可以提高蛋白质的量。因此,有可能替代某些基因治疗和治疗用蛋白质的直接给药。结合 mRNA 的小分子药物具有更好的特异性。不同组织表达不同的 mRNA,同一种 mRNA 在不同组织中的起始、剪接、腺苷酰化也不同,结合 RNA 特定区域的小分子药物可能只在特定的组织中起作用,而不影响其他组织 RNA 的功能。在技术上,许多用于药物筛选的靶蛋白分子的分离纯化十分困难,况且多数蛋白质需要在特定的细胞和特定的条件下完成翻译、修饰才具有生物学活性。因此,获得用于高通量筛选的靶蛋白十分昂贵和困难。然而 RNA 的物理性质不依赖于其所编码的蛋白质,可以通过化学或酶学方法大量合成,又不需要体内修饰,作为药靶 RNA 具有明显的优点。 RNA 由独立的折叠亚结构域构成,分离的亚结构域仍保持其形状和功能,可以利用其与药物结合进行筛选,较用蛋白质靶筛选药物廉价和快 100 ~ 1 000 倍。 RNA 靶点可以从基因组序列获得,选择有效的算法可精确预测靶 RNA 的形状,并构建靶分子模型,以此建立的药物筛选方法对各种 RNA 均适用。因此,以 RNA 作为药物筛选作用靶点,为创新型药物的研制提供了机遇和广阔的前景。

以 RNA 为靶点的小分子药物的研制需要建立一系列的研究技术和方法,包括:采用独特的基因筛选方法获得原核生物和真核生物的 RNA 标签结构 (Signature Structures)——可能作为药靶的靶 RNA 分子;分析检验靶 RNA 分子的三维结构;计

计算机模拟设计结合靶 RNA 分子的小分子化合物的结构；以计算机模拟出的小分子结构为模板，采用组合化学方法合成大量小分子化合物；建立新的高通量筛选方法检测化合物分子结合靶 RNA 分子的亲和力和特异性；发现结合与疾病有关的 RNA 靶的有生物活性的小分子药物。其难点在于小分子药物筛选分子药靶的 RNA 靶结构的确定，以及特异性结合靶 RNA 结构、具有生物学活性并无毒副作用的小分子化合物的设计合成和筛选。目前，以 RNA 为作用靶的药物研究主要包括两大类：一是传染性疾病——新型抗菌和抗病毒药物研制；另一类是非传染性疾病——包括抗癌和抗炎症药物研制。

传染性疾病最适靶 RNA 的获得：

细菌和病毒 RNA 是小分子药物结合的极好靶点。病毒基因组效率很高，而且大多有关基因组和 RNA 作用的知识来源于病毒。而且像流感病毒只有 RNA，其 RNA 的独特结构对分子识别有重要作用。许多病毒都有不同的类别，可以进行结构预测。细菌也有良好的结合 RNA 小分子药物作用的靶 RNA。已知细菌 16S rRNA 的 A 位点就是小分子化合物的良好结合位点。几种天然抗菌药就是通过作用细菌 RNA 或 RNA 与蛋白质复合物而起作用的，包括氨基糖家族、大环内酯家族和硫链丝菌素等。为获得抗致病菌药物，首先要寻找到在人和动物细胞中不存在，只存在于致病菌的细胞中，并在致病菌细胞生命周期中具有重要作用，又在各种致病细菌中高度保守的细菌标签结构（Signature Structure）作为超广谱抗致病菌药物作用的分子靶。RNA 的三级结构作为分子相互作用的识别位点和结合位点对 RNA 的生物功能的实现具有重要决定作用。因此，致病菌的 RNA 标签结构可能成为最具优势的超广谱抗致病菌药物作用的分子靶。如果这种 RNA 标签结构真的存在，那么针对这种结构的新化合物将具有超广谱的抗致病菌作用。

真核 mRNA 中最适靶 RNA 的获得：

细胞在生长过程中通过对 mRNA 的调控作用精确地控制蛋白质的表达。RNA 成熟、转运、定位和翻译过程涉及许多的 RNA 识别位点，这些位点为小分子药物的结合提供了良好的机会。获得这些 RNA 结构区是研制结合靶 RNA 小分子药物的关键。分析表达序列标签（ESTs）发现 mRNA 转录子比预期更具有不均一性，许多基因具有多达 10~20 个不同的转录子形式，其中一些与疾病有关。尽管转录于同一 DNA，翻译相同的蛋白质，不同的转录子形式有不同的序列和独特的 RNA 三级结构形状。可能作为 RNA 药靶的不同 RNA 独特形状产生的方式也不同。包括：转录起始位点或 3'末端序列在正常 mRNA 中没有，这些序列自身或与邻近 RNA 形成特殊结构；RNA 不同剪接方式产生特殊的连接，接点两端的 RNA 重排形成新的三维结构。区分不同转录子形式和组织特异表达转录子也是非常重要的。研究发现转录子和蛋白质在不同疾病状态的表达水平不同。在胃肠癌和正常细胞中，有约 500 个转录子的表达处于显著不同的水平。可见，组织特异性转录子提供了十分有用的结合小分子的 RNA 药靶。

通过基因组学、生物信息学和结构生物学等方法获得靶 RNA 分子后，靶向结合 RNA 的小分子化合物的设计合成是一个重要的挑战。结合靶 RNA 的小分子药物先导化合物可以采用计算机模拟设计，再以计算机模拟出的小分子结构为模板，采用组合

化学方法合成大量小分子化合物,运用高通量筛选方法检测化合物分子结合靶 RNA 分子的亲和力和特异性。设计合成的小分子应具有如下性质:

- ①足够的亲和力,使其在细胞内结合靶 RNA 后,产生生物学效应;
- ②具有与靶 RNA 高级结构形状相匹配的能力,以及特异性结合靶 RNA 的能力;
- ③良好的细胞穿透力;
- ④良好的药动力学性质;
- ⑤低或无毒副作用。

要解决这一难题,首先必须建立小分子识别 RNA 形状的化学方法。蛋白质与 RNA 的相互作用、RNA-RNA 相互作用、天然产物抗生素与 RNA 的结合以及人工合成 RNA 与小分子的作用研究基础为此提供了可借鉴的经验。结合 RNA 的蛋白质研究提供了一些 RNA 碱基、氢键、骨架等的结合规律;天然抗生素氨基糖类抗生素与 RNA 的相互作用研究同样提供了一些经验。巴龙霉素、新霉素、利维霉素与核糖体 16S A 位点的结合研究,有助于阐明特定基团静电作用、氢键作用对小分子结合 RNA 亲和力的影响规律。同蛋白质相比, RNA 上的结合位点是亲水的和相对开放的。基于分子形状的小分子识别能力因 RNA 结构的可变性而增加,小分子结合特定靶 RNA 形成相对刚性结构取决于构象、电荷分布、芳香性和氢键。恰当位置的正电荷是很重要的,同样,长距的静电作用使分子以正确的方向结合到口袋中。在核苷酸碱基暴露的结构中,芳香基的堆积力对相互作用有很大贡献。RNA 大沟提供许多与配基结合的氢键。RNA 结构和序列的多样性表明 RNA 是具有高亲和性和特异性的靶点。根据 RNA 与配基相互作用的理化性质,通过计算机模拟设计结合靶 RNA 的小分子先导化合物,采用组合化学的方法就可以获得大量的待选化合物。此时的关键问题是如何进行高通量筛选^[10]。

RNA 干扰 (RNAi) 是双链 RNA (Double Stranded RNA, dsRNA) 分子在 mRNA 水平上诱发的序列特异性的转录后基因表达沉默。在 RNAi 的起始阶段,长链 dsRNA 被特异性的内切酶 Dicer 识别并水解切割为 21~23 nt 的小干扰 RNA 片段 (Small Interfering RNA, siRNA)。Dicer 促进 siRNA 结合到核酶复合物形成 RNA 诱导沉默复合物 (RNA Induced Silencing complex, RISC)。RISC 包含了双链 siRNA 解旋所必需的蛋白,将双链 siRNA 解旋后,解开的链识别与之互补的靶 mRNA, RISC 同时具有核酸酶活性,在距离 siRNA 3'端第 10 和 11 位核苷酸之间切割靶向 mRNA,使其降解,从而引起转录后基因沉默。

RNAi 特异高效地抑制基因表达,获得去基因功能表型,这种技术仅需要少量的核酸序列信号,而且不被蛋白结构影响。另外, siRNA 的合成和控制较基因敲除或其他方法简单易行、资金消耗少、周期短,使得我们能够在短时间内大规模筛选靶点,重要的是可以通过质粒或病毒载体表达的小发卡 RNA (Small Hair in RNA, shRNA) 达到干扰目的基因,从而实现了在细胞水平和动物水平筛选药靶和评定药靶。RNAi 用于高通量筛选药靶首先要针对靶基因设计高效的 siRNA 序列,然后体外合成 siRNA 或通过体内表达载体获得 siRNA,构建 RNAi 文库,进行高通量药物靶点的筛选。

设计有效的 siRNA。随着对 RNAi 发生机制研究的不断深入,特别是认识到长度为 21 nt 的 siRNA 是直接启动 RNAi 的结构单元,并且不会产生非特异抑制现象,siRNA 被广泛应用于 RNA 干扰。设计高度有效的 siRNA 是应用 RNAi 技术最关键的步骤之一,通过查阅相关文献,我们对 siRNA 设计原则总结了下述几条:

- ① 在靶基因 cDNA 的起始密码子(ATG)和终止密码子之间进行扫描,寻找“AA”二连序列,并记下其 3' 端的 19 个碱基序列,作为潜在的 siRNA 靶位点;
- ② 避免选择起始密码下游 50 ~ 100 nt、终止密码上游 100 nt 以及 5' 和 3' 的非编码区(Untranslation Region, UTR)进行 siRNAs 的设计;
- ③ 避免长度超过 4 个的连续碱基,例如 AAAA、GGGG,同时突出端碱基也不应该为 C;
- ④ 序列中 G + C 的含量在 40% ~ 55% 之间;
- ⑤ 将潜在的序列和相应的基因组数据库进行比较,排除那些和其他编码序列/EST 同源的序列;
- ⑥ 通常一个基因需要设计多个靶序列的 siRNA,以找到最有效的 siRNA 序列;
- ⑦ 设计阴性对照,作为阴性对照的 siRNA 应与选中的 siRNA 上具有相同的碱基组成和长度,但是与目的序列的 mRNA 和该生物的其他基因 mRNA 没有同源性。

由于哺乳动物中缺乏 siRNA 自我增殖机制, RNAi 持续时间较短,成本较高,这在一定程度上限制了 RNAi 技术在哺乳动物中的应用。为了克服这一困难,许多研究小组尝试了通过体外构建表达双链 RNA 载体在细胞中合成 siRNA 的 RNAi 技术,并取得了巨大成功,大大缩减了实验的成本,增加了 RNAi 技术的可操作性。这些载体大都是用 PolIII 启动子启动编码 shRNA 的序列。选用 PolIII 启动子的原因在于这个启动子总是在离启动子一个固定距离的位置开始转录合成 RNA,遇到 4 ~ 5 个连续的 U 即终止,非常精确。Sui 等构建了一个 U6 启动子控制的 siRNA 表达质粒,在 U6 启动子连接 21 nt 的 siRNA 编码序列、6 nt 的间隔序列、反向的 21 nt siRNA 序列以及 5 个 T 的转录终止序列,通过这个质粒可以转录出一个发夹结构的双链 RNA 结构。当带有 PolIII 启动子和 sh RNA 编码序列的质粒转染哺乳动物细胞时,这种能表达 siRNA 的质粒能够下调包括外源基因和内源特定基因的表达。采用这种方法的优点在于 siRNA 载体能够更长时间地抑制目的基因表达。另外,由于质粒可以复制扩增,相对化学合成来说,能够显著降低制备 siRNA 的成本。

RNAi 文库与其药物研究应用 RNAi 文库(RNAi Library)是人工构建的能通过诱导 RNAi 抑制众多不同基因表达的混合文库。由于该技术可以同时以对数以万计的基因进行功能研究和筛选实现高通量大规模药靶探寻,在短短几年内迅速发展,已取得了令人瞩目的进展。RNAi 文库的类型有许多种,按照文库元素功能的可知程度分为特定 RNAi 文库和随机 RNAi 文库。近年来,应用 RNAi 文库高通量筛选研究发现了许多以前未注意到的或很难得到的一些我们感兴趣的系统中基因的关键作用^[11]。

RNAi 在被广泛应用于功能基因组研究确定了大量潜在的药物作用靶点的同时,也被证实了其作为新一代基因治疗药物的可能性。目前,重组蛋白药物的开发已经开始显现疲态,抗体药物的开发也颇费周折, RNAi 药物具有更强大、更持久的抑制

基因表达的能力、无免疫原性、高特异性、高效率、高治疗安全性等特点。

与传统的小分子药物和抗体相比较, RNAi 治疗有如下优势:

① 由于可以通过对靶基因序列合理的设计药物, 从而使开发靶标药物的过程大大缩短。

② RNAi 治疗能够锁定任何基因, 包括非药物和非蛋白基因。

③ RNAi 药物具有高度特异性。

④ 仔细选择位点可避免发生靶向失活效应。

⑤ 任何有相同化学组分的 RNAi 药物的药代动力学相似。

在临床前药物开发中, 获得了许多重要的候选药靶和化合物。然而, 药物临床成功率并没有得到改善, 上市时间也没有缩短。大部分制药公司平均 1 年仅 114 个新药。平均要花费 8 亿美元, 耗时 10 ~ 15 年, 临床实验失败率很高, 达到 90%。这就需要更好的策略来确定优良的药靶和候选药物。siRNA 技术能够满足这种需要, 并已开始应用于药物作用的特异性和机制的研究, 这有助于更早地鉴定较好的候选药物, 加快药物的研制速度^[12]。

基因组研究成果和高通量筛选技术为发现更好的药靶和候选药物提供了基础。RNAi 是一个高通量破坏基因功能的方法。通过特异性的 dsRNA 敲除靶基因, 而并不产生突变。因此, RNAi 在药物发现过程中可以对靶基因进行高通量的功能分析, 有助于鉴定药物作用的生化模型, 和基因编码产物与特异化合物的相互作用, 或对特异化合物的反应。在临床前药物开发中, 通过有效的 siRNA 技术, 公司能够更好更快地发现药靶, 进一步确定哪一个候选药物能够继续开发下去^[13]。

RNAi 是近几年发展起来的一个崭新的研究领域, 已经被广泛应用于生物学、医学、药学等领域, 尤其是与高通量筛选、体外生物监测和体内疾病模式相结合在新药研发领域已经显示出了巨大的作用和潜力, 能够解决临床前药物开发的一些瓶颈问题, 如药靶鉴定、优化药靶、多药耐药性, 为我们提供了大量的能够应用于临床的药物靶点和治疗靶点, 从而节省时间和资金, 加速药物的临床研究。尽管 RNAi 技术目前仍有一些问题尚未解决, 如给药途径及安全性问题等, 但随着对 RNAi 机制的不断深入了解, 相信 RNAi 技术在不久的将来会得到普遍的应用以及会取得更多更大的成就^[14]。

第五节 生物信息学在药物设计中的应用

1990 年人类基因组计划正式启动以来, 其迅猛发展造成了生物学数据的迅速膨胀, 大量多样化生物学数据蕴含着大量生物学规律, 这些规律是解决许多生命之谜的关键所在。因此人们对生物学数据搜集、管理、处理、分析、释读能力的要求迅速提升, 计算机技术也越来越多地应用于处理人类基因组研究产生的海量数据及相关生物信息。一门由生物学、计算机科学及应用数学等学科交叉形成的新兴学科——

生物信息学 (Bioinformatics) 应运而生。生物信息学利用计算机科学技术, 结合生物学、数学、物理学、化学、信息学和系统科学等理论和方法, 通过高容量的数据库、繁多的搜索系统、快速的网络通讯和分析工具对生物信息资源进行收集、存储、分析、利用、共享、服务、研究与开发^[15]。

该学科的初期阶段包括核酸序列和蛋白质序列的分析和数据管理、寻找调控区、对序列结构做出预测等。随着人类基因组和模式生物基因组测序计划的实施, 又包括了基因组信息的获取、处理、分析和解释, 以及对蛋白质进行功能和定位分类及相关软件的开发和应用等。现在的生物信息学已包括生物大分子结构的动态模拟和细胞内生理过程的模拟, 甚至虚拟人体等。将生物信息学应用于药物研究中的现实意义就在于找到病理过程中关键的分子靶标, 从而指导设计能够阻断或激活生物大分子生物学功能的治疗性化学药物, 目前其在药物开发的应用越来越广泛, 所起的作用也越来越重要。

生物信息学的研究对象主要是核酸和蛋白质的序列、结构和功能信息。但在新药研发中, 药物在生物体内发挥生物效应是通过小分子与生物大分子之间的相互作用实现的。生物信息学在药物研发中的意义在于找到病理过程中关键性的分子靶标、阐明其结构和功能关系, 从而指导设计能激活或阻断生物大分子发挥其生物功能的治疗性药物, 使药物研发之路从过去的偶然和盲目中找到正确的研发方向。目前生物信息学已经大量用于基因的发现与预测, 然而, 运用于发现蛋白质功能也许更重要。随着所有人类基因的识别, 将有可能最终发现所有蛋白质的基本外形特征, 这目标的实现将极大地推动蛋白质的结构预测和分子设计^[16]。

传统的药物开发模式为: 根据资料筛选合理的药理模型→药物化学合成或从天然产物中人工寻找→先导物的优化→候选药物临床评价→投入市场。传统药物寻找的方法是鉴定靶标、有效化确定、前导物的寻找、在临床期间进行最优化选择, 往往要花费十几年的时间, 耗资数亿美元才能研制出一种上市药物, 这使得药物发现的过程较长、成本较高。实践证明这种方法是行之有效的, 但是存在时间长、花费大、药物作用机理不明确等显著缺点。生物信息学为我们提供了第二种设计药物的方式, 那就是选定致病的分子靶标, 利用生物信息技术手段快速确定能作用于靶标的小分子化合物, 进一步设计出新颖有效的药物^[17]。

随着生命科学的发展, 特别是功能基因组学、蛋白质组学等学科的发展, 为药物研制提供了更多的潜在的靶标, 通常都是一些蛋白质分子。生物信息学利用功能基因组学、蛋白质组学等学科所提供的丰富的数据资源以及开发出来的一些算法软件, 可快速实现对靶标的识别, 如一些多重序列比对软件: CLUSTALW、DOTER、LALIGN、FASTA、BLAST 等可将靶标的核酸或蛋白质序列与数据库中的同源序列进行比对, 通过同源性比较, 可快速实现对靶标的分类; 也可根据待测靶标的序列, 利用一些蛋白质分析软件, 预测出蛋白质的物理性质, 包括等电点、分子量、疏水性、电荷分布等, 可进一步识别该靶标蛋白, 相关的工具有: ComputeI/MW 是 Ex-PaSy 工具包中的程序, 计算蛋白质的等电点和分子量, 对于碱性蛋白质, 计算出来的等电点可能不准确; TGREASE 是 FASTA 工具包中的程序, 分析蛋白质序列的疏水

性, 这个程序沿序列计算每个残基位点的移动平均疏水性, 并给出疏水性 - 序列曲线, 用这个程序可以发现膜蛋白的跨膜区和高疏水性区的明显相关性。与此同时, 在先导化合物的发现和优化方面同样也起着重要的作用, 伴随着计算功能强大的超级计算机在生物信息学中的应用, 给药物先导结构的发现带来了新的机遇, 特别是分子对接技术的发展, 使得药物设计的速度和成功率有了突飞猛进的提高。现代新药研发的周期同传统的药物研发相比, 缩短了 0.9 年, 直接经济投资减少了 1.3 亿美元, 传统的药物开发模式正发生着巨大的变化, 药物寻找的过程缩短、成本降低, 现代药物开发模式流程为: 靶位的识别→靶位的证实→先导化合物的发现→先导化合物的优化→临床评价→投入市场。

新的药物分子靶点的发现和确立: 目前, 新的药物分子靶点的发现和确立已离不开生物信息学的工作。从某种意义上说, 生物信息学在靶点确定中的应用已成为发现药物的新模式。目前药物开发的关键是如何在大量的潜在靶点中筛选出最有可能获得成功并应用于临床的靶点。这使得生物信息学研究的焦点从对靶点的推测转移到了对靶点的识别与确定上。生物信息学可以帮助人们在药物开发过程中更早、更快地找到更佳的药物作用靶点, 减少研发时间和所需临床试验的数量。发现候选药物作用靶点的方法主要有表达序列标签数据库搜寻、综合分子特征方法和结构生物学方法等。发现候选药物作用靶点后, 还必须对靶点蛋白质进行功能验证, 并确定其是否在疾病发生过程中起关键作用。基本思路是研究功能的获得与丧失分析。

先导化合物的寻找与优化: 药物研发中, 第一步是找到先导化合物的结构, 该化合物能与靶标蛋白结合并能进一步发展成药。因此, 生物大分子和配体的相互作用和识别信息在药物设计中极为关键。受实验条件和资金等因素的限制, 随着大量生物大分子的三维结构被测定, 用生物信息学方法寻找先导化合物越来越受到人们重视。运用基因组学和蛋白质组学等学科的技术找到需要的靶标以后, 接下来就要去寻找能有效地激活或阻断靶标的生物学功能的化合物分子, 也即先导化合物。先导化合物的寻找有分子对接法、三维结构搜索法和全新药物设计法。目前人们寻找先导化合物的首选方法就是运用分子对接法和用药效团作为提问结构的三维结构搜索法, 从数据库中搜索所需的先导化合物。当直接从数据库中搜索不到所需的化合物分子时, 可运用全新药物设计方法进行先导化合物分子的设计^[18]。

目前常用的几种方法是三维结构搜寻 (Three - Dimensional Structure Searching)、分子对接 (Molecular Docking) 和全新药物设计 (De novo Drug Design)。

1. 三维结构搜索法

把药效团 (使分子具有某种生物活性的结构特征及其空间排列方式) 作为提问结构, 从三维结构数据库中搜索含有某种药效团分子的三维结构搜索法, 也是药物研制的一种重要方法。三维结构搜索法是一个连续的多步骤过程, 一般包括初筛、几何查找和柔性构象搜索这三个步骤。初筛是指筛去那些根本不可能与提问结构匹配分子, 减少进入下一步查找的候选分子数; 几何查找是指通过初筛的分子需要接受严格的二维子结构查找, 以确定原子之间的匹配方式是否与提问结构匹配; 柔性构象搜索是指与提问结构匹配的分子除了要满足二维子结构匹配外, 还要满足三

维匹配。三维结构搜索法可以用来发现新型的先导化合物,因而受到广泛的应用,这方面的例子已有报导。通常的三维结构搜索法所应用的软件只定义了单个原子或官能团作为药效团,随着人们对分子之间作用认识的加深,分子之间不仅存在着单个原子之间或官能团之间的作用,还存在着疏水作用、范德华力、电荷之间的静电作用等。鉴于此,王亭、马家驹研制的 3DFS 系统(三维结构柔性搜索系统)支持由化学功能基团定义的药效团,并详细定义了氢键供体、氢键受体、疏水区和电荷中心等重要化学功能基团的结构类型,具有三维结构搜索功能,由于该系统定义的药效团比单纯定义原子或官能团(如氮原子、苯环)为药效团更能体现分子之间作用的本质,因而更能提高搜索的命中率。

用三维结构搜寻法寻找先导化合物的步骤可以归结为:①选择一个搜索软件和三维结构数据库作为搜索工具。②以具有某种药效活性的结构或基团作为提问结构。③按照所选搜索程序和数据库的操作要求进行搜索,找出符合提问结构要求的物质作为命中结构。④从众多的命中结构中找到有库存或可以购买,并含有必需疏水区范围的样品进行生物活性测定。⑤从生物活性测定结果中,优选出活性最高的物质作为先导化合物。根据搜寻方式不同,可分为三维几何搜寻、三维相似性搜寻和柔性构象搜寻,近年来还开发了大分子三维结构搜寻。三维结构搜寻中常用的软件有 Catalyst、Unity 及 Apex-3D。

2. 分子对接法

有了生物大分子的三维结构(生物大分子的结构信息可从 PDB 数据库和 MMDB 数据库中获得),就可以分析其活性位点的结构特征,可运用分子对接方法从数据库中搜索出与生物大分子形状和相互作用最佳匹配的小分子化合物。分子对接的本质是两个或多个分子之间识别的过程,其过程涉及分子之间的空间匹配和能量匹配。根据对接方法简化程度的不同,可分为刚性对接、半柔性对接和柔性对接。Dock 程序是目前应用最广泛的程序之一,由 Kuntz 课题组开发,应用半柔性对接方法,固定小分子的键长和键角,将小分子拆成若干个刚性片段,根据受体表面的几何性质,将小分子的刚性片段重新组合,进行构象搜索。Dock 在能量计算方面考虑了静电相互作用、范德华力作用等非键相互作用,在进行构象搜索的过程中搜索体系势能面,最终软件以能量评分和原子接触罚分之和作为分子对接的评价依据,常在先导化合物的最优化选择中广泛应用。

近年来,基于分子对接法的虚拟筛选更是加速了先导化合物的进程,虚拟筛选是依赖于计算机运算速度的提高,针对疾病的特定靶标生物大分子的三维结构或 QSAR 模型,从现有的小分子化合物数据库中搜索与靶标生物大分子或符合 QSAR 模型的化合物,进行生物学活性测试、毒理学测试等。最开始的分子对接方法是刚性的分子对接法,这种方法在对接中小分子和蛋白质都保持刚性,没有考虑小分子在大的构象空间中的几种低能状态。因此后来又发展为柔性的对接方法,其中又分为:①构象的系综方法。②片段的方法。③遗传算法和进化规则。④基于分子模拟的方法。⑤考虑蛋白质柔性的方法。

3. 全新药物设计

上两种方法得到的先导化合物通常是已知化合物,需要其他的方法来弥补其不足,因此全新药物设计(即直接药物设计)得到了飞速发展。全新药物设计又称为三维结构生成或从头设计,它根据受体活性部位的几何形状和化学性质,让计算机自动设计出与其相匹配的具有新颖结构的药物分子。该分子能与受体活性部位很好地契合,但往往需要进行合成。按其所用的基本构建块不同,全新药物设计主要可以分为三种类型:模版定位法、原子生长法和分子碎片法。基于受体结构的分子碎片法由 Moon 和 Howe 在 1989 年提出,又称化学数据库算法或片段连接算法,以化学上合理的由单一官能团构成的碎片为设计的基本单位,由此得到的新分子在结构上容易被接受,所以这一方法成为当前全新药物设计的主流。根据各碎片的连接增长的方式不同,可分为碎片连接法和碎片生长法。分为基于结构的直接药物设计和间接药物设计。

生物信息技术目前主要有三个信息服务平台:NCBI、EMBL 和 DDBJ,各自都提供搜索和分析服务。现代药物的研制已离不开生物信息技术的参与,从事药物研制的科技人员必须能熟练运用生物信息学的软件,但由于生物信息技术本身存在的不足,一些算法本身存在着缺陷,这使得在药物研制中的运用受到了很大的限制,相信随着生物统计学、计算机技术以及其他相关学科的发展,生物信息技术必将越来越完善,在药物研制中的作用也必将越来越大^[19]。

现代药物研发已离不开生物信息技术的参与,随着生物信息学技术的进一步完善和发展,将会大大减少药物研发的成本,提高研发的质量和效率。国内外生物信息学在药物研发中的应用基本上都处于起步阶段,所拥有的条件也大体相同。因此,利用生物信息学技术进行药物研发是我国医药产业在药物研发领域赶超国际先进水平的极好机会。

第六节 CADD 技术在中药现代化中的应用

近年来,许多学者对生物信息学研究进展予以了充分的关注,对 CADD 技术在中医药研究中各领域的应用进行了热烈的讨论,提出中医药学应当运用生物信息学及其相关技术来研究中医药中的重大问题以推动中医药研究水平的提高。运用基因组、蛋白质组、生物信息学等现代科技信息来分析中药的复合作用,阐明中药特别是复方中药的作用机制和规律,对中医药现代化研究具有重要意义。

我们必须认识到当代信息引入中医科研前沿的必然性和重要性,前瞻性提出中医科研中信息融合的运用方法及需要解决的一系列问题。中医在理论、临床、中药三方面的分子生物研究已经起步,并有一定成果,通过建立“分子中医学”,在中医理论上拓展基因组学、生物信息学的空间,在中医临床疗效基础上说明分子机制,深化中药的基因研究,进而发展为中药分子药理学。

立足于利用多学科的思路与工具促进中药研究的基础上,可以通过理清基因、

蛋白质结构预测,生物芯片技术,活性成分的药靶以及预测活性成分结构、代谢过程的模拟、能量中草药药理等方面的关系,分析中药资源与药理研究的可能趋势,指出药靶与活性成分结构预测、代谢模拟和药理的能量观点是中药研究值得探索的新内容。

借鉴循证医学的原理和方法,通过收集、整理、规范中医药治疗的现有临床研究资料,建立中医药临床疗效数据库,设计严格规范的前瞻性临床试验(RCT),有效、安全地综合评价中医药临床疗效,建立被国际认可的体现中医药治疗的优势、特色的疗效评价体系。充分利用生物信息学技术,通过中药指纹图谱的信息获取、处理和挖掘的研究,开展指纹图谱信息与药效活性信息相关性研究,实现中药化学指纹图谱向中药药效组分指纹图谱的转化,形成中药组效学研究体系。

近年来,中医药现代化研究取得了很大的成就,强调整体思维模式的中医学正逐渐受到世界医学界的重新认识和再评价。但目前中医药的基础研究仍缺乏某些突破性的进展,中医药的临床实践也远不能满足时代的发展需求。支撑中医药学发展的关键技术相对落后,现代医学局限性、单个基因分析等方法难以胜任整体观念为特色的中医药研究,随着现代生物科学和信息技术的高速发展和相互渗透,中西医学之间尤其是在基本理论方面产生了越来越多的交融点,而迅速发展起来的高通量、大规模平行性研究方法如生物芯片、大规模筛查系统和先进的生物信息学等,也为研究中医药基本理论提供了新的思路和方法。从而促进中医药基础理论的继承与发展,以及通过大学科的广并兼容,促进中医药理论思想向其他现代学科的交叉渗透,切实反映中医药研究特点的现代科学技术的应用及有效整合^[20]。

将生命科学中最前沿、最热点的研究与中医药联系起来,以信息、系统的观点切入中医药学研究,将有助于深入了解以整体观、辨证论治为核心的中医诊疗规律。数千年的历史沉淀使传统中医药的信息量浩如烟海,目前临床可以应用的中草药数量繁多,各地民间对中药和天然药物的传统使用经验,以及现代科学研究的成果(活性成分、药理作用、毒性以及临床观察结果等)方面的内容都是需要提炼、整理的宝贵数据。将中医诊断、辨证和治疗的各种数据集中起来,借鉴当代生物信息技术,充分利用国内外现有的文献信息资源,建立各专业及相关的数据库,可逐步达到中医药文献和信息的数字化。通过对数据进行整理、完善和提高,以及与国际相关数据库(如生物学、有机化学、医学等)的信息网的连接,可高效地获得大量有用的信息,从多层次信息中发掘中医药的科学内涵,将对中医药学的现代化研究具有重要的促进作用。

21世纪是信息时代,把最新生物科技、信息技术、计算机技术引入中医药研究领域,将使这一领域产生翻天覆地的变化,以生物信息为桥梁,以CADD技术为手段的综合研究很可能是中医药现代化研究的突破口。其主要体现在:

(1) 药活性成分的虚拟筛选。目前CADD介入中药研究最多的领域是针对某一个药物作用靶标,在中药和天然产物化合物数据库中搜索,找到该靶标的特异作用的化合物,通常称之为虚拟筛选。虚拟筛选分为两个方面,一是基于受体结构的筛选方法,又称为分子对接;二是基于配体结构的筛选方法,又称药效团搜索。虚拟筛选是

CADD 应用最为成功的一项技术,这项工作的基础是必须具备化合物数据库。以往的筛选工作也大多基于化学合成商品化合物数据库的搜索,近年来国内研究人员开始尝试中药中的活性化合物的搜寻。

(2) 中药成分药理活性的反向找靶。中药提取分离过程中得到的新结构的化合物,其药理活性的确证是一件复杂的事情。中科院上海药物研究所开发的反向找靶技术,是 CADD 经典技术——分子对接的逆向思考,该项技术以一个固定小分子化合物为对象,调用已经建设好的药物靶标蛋白库,将该分子一一与药物靶标蛋白对接,直到找到该分子的对应靶标,最后通过生物实验验证该分子的活性。上海药物所运用反向找靶技术成功地找到了中药紫金标中一个活性化合物的对应靶标,确定其为幽门螺旋杆菌的抑制剂。反向找靶技术对于未知药理活性的中药化学成分的药理确证无疑是一项创举,不仅快速,而且节约了人力、物力。中药成分药理活性反向找靶技术是 CADD 用于中药研究的一个新的方向,具有广阔的应用前景。

(3) 中药有四气五味、性味归经、升降浮沉等性质描述,而中药复方的组方也有自己的原则:君臣佐使、气味和合等,这些宏观的原则之下,是否存在其分子微观的意义,是值得深入探讨的问题。关于中药性味的分子微观意义,已有学者做出过阐释,如苦味中药多含有生物碱等。这样的解释还远远不够,药物性味的微观解释可以尝试从以下几个方面进行探索:①某类化合物的聚集;②化合物成分相同药效团的存在;③中药成分化合物分子参数如:疏水性、分子量、分子相似性、脂水分配系数等相近化合物的聚类。这些方面的工作都可以借助计算机 CADD 技术得以完成,中药性味的阐明将有助于中药复方组方原则“气味和合”的微观解释。在中医理论指导下运用现代技术开展中药复方基本原则的微观阐释,并借助这些成果对复方进行创新很有可能是未来中药发展的方向^[21]。

自然界中生物多样性决定了天然药物分子产物结构的多样性,是先导化合物甚至是药物的重要来源,因此天然药物一直是新药研发的重点关注对象。但是由于中药成分和作用靶点均十分复杂,如果将各成分分离提纯出来测其分子结构,并进行相应的药理实验,其工作量巨大、耗时长、成本高,且只能小规模筛选。如果我们将中药或复方看成天然组合化学库,在目前已知的中药或复方有关化学成分信息的基础上,利用计算机筛选技术探讨其可能的作用机理,为实验提供重要的信息,使得实验具有比较强的导向性,提高药物设计的命中率同时减少大量人力、物力的投入。一般研究过程如下:

① 根据已有古籍、资深临床专家的临床实践,选择临床上证明疗效显著的中药或复方作为研究目标。

② 从数据库和文献中检索出目前该中药或复方中所有已知化合物化学结构,确定具体筛选的目标。

③ 除单基因疾病外,查阅文献找出需研究疾病的多个靶酶,然后从 PDB 数据库中下载目标蛋白质的三维结构,如果其三维结构尚未解析,可采取同源模建的方法建立起三维结构。

④ 如果已知和某种疾病有关的靶点的三维结构,可以采用分子对接的方法进行

有效成分和靶酶之间相互作用的研究,通过能量匹配和几何匹配筛选出若干得分较高的候选化合物。

⑤ 如果得到了与某种病症有关的药效结构或活性药效团某些模型,则采用药效团搜索的方法来进行药物设计,即通过对系列化合物三维构效关系的研究提出药效团模型,以与生物活性密切相关的化学功能基团在三维构象空间中的特异性排布为限定条件进行小分子三维数据库搜索,以产生新型结构特征的先导化合物。

⑥ 根据计算机虚拟药物筛选结果确定需要进一步研究的化学成分,进行生物活性测试,如果满意则继续新药开发临床前的研究程序,如果不满意则重新选择。

陈凯先院士研究团队以核受体 PPAR γ 为靶标,开展了寻找抗糖尿病先导化合物的研究工作。他们对商业性的小分子化合物库中大约 240 万小分子化合物进行模拟筛选,精选出 150 个化合物进行随后的实验研究,结果显示虚拟筛选的结果经实验筛选验证后的成功率显著高于目前国际上文献报导的先进水平。国外学者 Judith 等以环氧化酶-2 为靶酶,寻找其天然抑制剂。他们对著名古希腊药理学家在公元前 77 年编写的《药物论》中记录的一千多种药物进行分析,从中选取具有抗炎功效的药物所含的 2 744 种化合物进行计算机模拟筛选,结果显示这种针对来源于天然药物的筛选方法比传统对商用化合物数据库 DWI 和 NCI 筛选的平均效率分别提高 77% 和 133%^[22]。

CADD 技术对中药理论的阐明具有重大意义。以前对于复方的研究路线通常是中药复方→作用部位→有效成分,往往忽略成分之间的相互作用。大量临床实践表明在中药理论指导下组成的复方疗效要远远优于将几种现代药理实验证明具有某种功效的中药简单组合。中药尤其是复方制剂中任何一种活性成分均不能全面反映其体现的整体疗效,这也是不少研究者发现经过复杂纯化的过程得到的成分越纯,但其药理作用越差的重要原因。如何科学阐明中药或复方中各化学成分间的协同作用应该成为研究者优先考虑解决的问题。

下面以 CADD 技术为依托,以中医制方理论“君臣佐使”为参照,对黄连解毒汤药效分子进行功能分群为例子。“君”药是处方中针对疾病与症候起主要治疗作用的药物,“臣”药是处方中辅助君药起治疗作用的药物,“佐”药是处方中佐助君药、臣药,或与君药、臣药能相辅相成起治疗作用的药物,“使”药是处方中引导诸药达到患病脏腑、相关经络、病位或具有调和诸药作用的药物。“君臣佐使论”在宏观上对中药复方的制方指导已有几千年的实践论证,宏观的理论原则必定有其微观机制。

(1) 选取经方黄连解毒汤,组方药味包括黄连、黄芩、黄柏、栀子 4 味。选方依据是该方中的药味均已深入研究,化学成分清楚。

(2) 复方化学成分分子数据库的建立。结合中国科学院上海有机化学研究所的化学专业数据库和 Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases 这两个数据库,检索黄连解毒汤组方的 4 味中药黄连、黄芩、黄柏、栀子的化学成分,通过文献调研对数据进行补缺,并附加每个化学成分的现有生物活性资料,建立黄连解毒汤的化学成分数据库。

(3) 药效物质功能分子群的筛分:

①“君药”分子群。根据中医理论,君药是起主要治疗作用的药物,其用量也较“臣、佐、使”药为多。所以研究君药分子筛分标准是整个复方中药性最好的数种分子,其含量也应较其他成分为高,确有药理活性。运用软件 PowerMV2V0.61 的相似性筛分功能,以分子结构二维相似度为指针,对化学成分分子进行相似性聚类,得到数个分子结构相似的功能结构域。然后综合运用 PowerMV、Osiris 和 Molinspiration 等软件的 ADME(药动学)预测功能计算各结构域内的化学成分分子类药性指数,指标共计 10 项:分子量、氢键受体、氢键供体、可旋转键数、脂水分配系数、水溶性指数、分子极性表面积、分子体积、基于经验的药物类似性指数、化学焓变指数(分子稳定性指数)。依据各指数反映的分子类药性优劣,再给予各指数优劣评分,指数最优者为 1,指数最劣者为 0。将每个分子的 10 项指数优劣性评分加和,得出总分,以总分进行排序,挑选出各个结构域内得分最高的几个分子,结合该化合物在药材中的含量(含量高者优先入选)和生物活性资料(淘汰没有药理活性报导的分子),得出“君药”分子群。

②“臣药”分子群。在中医理论中“臣”药是处方中辅助君药起治疗作用的药物,所以“臣药”分子筛分标准是与君药分子功能相似的分子,依据现代量子化学理论分子结构的相似性预示了分子功能的相似,因此,研究中药复方分子微观的“君臣佐使论”中假定,臣药分子即为与君药结构相近的化合物分子。各结构域内与“君药”分子结构相似,距离小于 0.3 的即划分为“臣药”。利用软件 PowerMV 分子结构相似性筛选功能,以各“君药”分子为参照,在数据库中搜索,找出与各“君药”结构相似的分子集合。笔者采用了 Atom Pair 参数和 Tanimoto 系数法,结构相似性距离以小于 0.3 为准。经筛分最后得到“臣药”分子群。

③“佐药”分子群。依据中医理论,“佐”药是处方中佐助“君药”、“臣药”,或与“君药”、“臣药”能相辅相成起治疗作用的药物,而实践发现,“佐药”的佐助功能并不显见,“臣药”似可取而代之,“佐药”最重要的特征恰好是它与“君臣药”的相辅相成,换句话说即是缓和“君臣药”的毒副作用。所以,本研究的“佐药”筛分标准是能解除或减弱“君臣药”分子毒副作用的化学成分分子。药物的毒理机制目前并未完全解析,在本研究的中药复方分子微观的“君臣佐使论”中,将佐药的解毒机制分为两类。一种是与“君臣药”的毒性基团直接作用而解毒。利用软件 Orisis、PowerMV 的毒性分子片断检测功能对“君药”和“臣药”分子群进行毒性预测,将“准毒性”分子分列,并列出其毒性基团,在复方化学成分分子库中搜索能与这些毒性基团产生作用的分子,这些分子即界定为“佐药”分子群。另一种是基于受体的解毒机制。“佐药”的另一种解毒机制很可能通过受体实现。君臣药分子或毒性相关受体通过信号传导最终对机体产生毒性作用,或抑制正常生理功能作用受体,阻断正常生理机能使机体稳态失衡最后产生药物不良反应。所以,佐药的作用机制,或抑制毒性相关受体,或与“君臣药”分子竞争正常生理功能受体,最终达到缓和或解除“君臣药”分子毒副作用的目的。通过 COMPACUT、DEREK 等基于机制的毒性预测专家系统可找到“君臣药”毒副作用的相关靶点,已有确定

结构者直接利用其三维结构,或对该靶点同源建模,以复方化学成分分子为筛选对象进行分子对接,找到该靶点的抑制剂,即为佐药分子。

④“使药”分子群。“使”药说法有两种:一是“调和诸药”,以甘草应用最多。调和诸药一说牵涉甚广,与现代药学意义的对应研究尚不足。二是“引经作用”,本实验“使药”划分标准以第二说为主。引导诸药达到患病脏腑、相关经络、病位,或靶向类似作用。参考当前研究成果,“使药”的靶向类似作用又可分为两种。a. 与其他分子结合产生靶向作用:如使药中常见的三萜类可通过其羧基或羟基与其他化学成分结合,以增加后者的脂溶性,而黄酮苷类则通过其酚羟基与生物碱类结合,实现对后者的保护,皆有引经功效。b. 改变其他药物分子作用的内环境:如冰片中的龙脑可以改变细胞膜通透性,促进血-脑脊液屏障开放,引药入脑;而使药中多有的皂苷因其表面活性不仅可以增加其他药效物质的溶出,而且可聚集于细胞膜表面改变膜通透性,帮助药效分子进入细胞。本复方黄连解毒汤中不乏黄酮类化合物,资料表明黄连中的小檗碱与黄芩中的黄芩苷结合可产生沉淀,以此观之,黄连解毒汤的抑杀肠道病菌的作用很可能是因为黄芩苷与小檗碱结合沉淀后,使小檗碱在肠道中滞留不致很快被吸收而形成。以此为参照,筛分使药分子群。

(4) 结果:

以“君臣佐使”职能划分为标准,可以将中药复方黄连解毒汤的化学成分分子中的药效物质进行有序组合,分门别类,形成一个相互影响、相互协作的有机系统,而各系统部分之间也并非泾渭分明,“臣药”分子同时可能是“佐药”分子(如丁香酚),“佐药”分子也可以同时担任“使药”的职责(如甘露醇)。

表 9-1 黄连解毒汤的药效物质功能分群结果

项 目	分子数	举 例
“君药”分子	12	阿魏酸,小檗碱,黄芩素,栀子醛
“臣药”分子	152	黄连碱,异丁香油酚,异汉黄芩素,蝴蝶素
“佐药”分子	48	甘露醇,葡萄糖醛酸,绿原酸
“使药”分子	53	黄芩苷,齐墩果酸,胡萝卜苷,藏红花素

中药复方药效分子功能分群的意义:①从现代科学的视角解释“君臣佐使”这一传统中医制方原则的微观意义,丰富和发展中医的传统理论;②为中药复方转向复杂性科学研究探路,并奠定一定的理论基础;③有利于中药复方治病机制的全面阐释;④有利于中药复方创新性研究,为创制组分明确、机制清楚的分子新复方提供理论依据。

中药复方分子微观“君臣佐使论”的提出是基于现代中医药学理论向复杂性科学研究转型的一个有益尝试。如今中医学是复杂性科学的观点已得到广大认同,而中药复方是中医治病的主要方式,中药复方的气味和合、君臣佐使、辨证施药、随症加减的性质无不显示出复杂性。而复杂性科学的研究并非一味排斥还原论,恰恰强调复杂性研究方法与还原论方法的有机结合,整体与部分相得益彰,宏观与微观

顾此及彼。中药复方分子微观的“君臣佐使论”正得此妙。“君臣佐使”是中医制方的基本原则之一，讲究诸味药物的分工协作，强调诸药的整体施为，是一种朴素的复杂性思考。追本溯源，各个药物宏观的“君臣佐使”协作必然有其微观机制，这种微观机制也必然是中药的化学成分分子的相互作用使然：分子与分子之间势必存在分群聚类、拮抗协同的种种趋向。就功能的层面来讲，复方分子依类分群、分工协作，形成一个有机系统，对病症靶点形成全面、持续、深入、系统的作用，或者就机体的稳态失衡产生全面系统的调节，达到治病调理的目的，依理成章^[23]。

CADD 技术在药物设计与开发过程中起着枢纽和指导作用，特别是伴随着组合化学技术和生命科学研究的深入、人类基因组计划的完成，CADD 在新药研究特别是先导化合物的发现和优化中发挥着越来越重要的作用。

总结

现在制药工业仍然受两个瓶颈的制约：一是相关药靶的寻找；二是高质量（没有严重的副作用、良好的药代动力学性质、易合成、低成本）化合物的合成。随着生物信息学、化学生物学、分子生物学和计算机技术等学科的迅速发展与惊人成就，计算机辅助药物设计在新药开发中起到越来越重要的作用，CADD 的理论和方法不断走向成熟。CADD 技术正处于高速发展阶段，已经在新药设计中占据重要的地位，为新药开发提供了一种新的思维模式，并且可行性很强，其发展前景非常广阔。

但每种方法都有其局限性。目前 CADD 技术面临的主要问题有：

① CADD 技术仅仅是一个创新药物研究的辅助性工具，只能为随后的实验提供一些有用的思路和线索，另外该技术本身还需要进一步完善。

② 目前并没有一个大型完善的拥有大量中药化学成分数据库可供利用。当前国内有 3 个包含中草药化学成分数据库：中药有效成分三维结构数据库，中国天然产物数据库，中药化学数据库。由于当前对绝大多数中药的化学成分知之甚少，3 个数据库搜集的化学成分的数量上看都没有超过 20 000 种，与商用数据库中包含的几十万到几百万种化合物相比还需要一段相当长的时间逐渐充实更新。

③ CADD 技术缺乏一种完善、有效的评价方法来评估配体，现在的打分方法都存在各种缺陷和局限性，分高的分子未必是作用好的配体。同时打分函数都具有试用专属性，因此会出现假阴性、假阳性现象。

④ CADD 技术在筛选的过程中只考虑到受体和配体的相互作用，未考虑到药物复杂的作用机制。在创新药物研究中还要考虑到分子的类药性、毒性、化学稳定性、合成难易性以及体内转运和代谢分布等药代动力学方面的性质^[22]。

参考文献

- [1] 陈玮, 黄象男. 计算机辅助药物设计研究 [J]. 三门峡职业技术学院学报, 2003, 2 (1): 74 - 76.
- [2] 乔静. 计算机辅助全新药物分子设计的研究 [J]. 内江科技, 2008 (7): 96 - 97.
- [3] 魏权双, 张彦文. 计算机辅助药物分子设计的研究方法及相关软件的发展应用. 1999, 11 (1): 7 - 8.

- [4] 罗小民, 蒋华良, 沈建华, 等. 药物分子设计研究进展 [J]. 中国科学院院刊, 2003 (4): 255 - 259.
- [5] 徐娟, 王林. 计算机辅助药物设计中的 QSPR, QSAR 和 QSMR 研究 [J]. 国外医学药学分册, 2003, 30 (3): 135 - 138.
- [6] 梁桂兆, 梅虎, 周原, 等. 计算机辅助药物设计中的多维定量构效关系模型化方法 [J]. 化学进展, 2006, 18 (1): 120 - 127.
- [7] 黄牛. 计算机模拟药物筛选在新药设计与开发中的应用 [J]. 基础医学与临床, 2001, 21 (4): 298 - 301.
- [8] 李利华, 赵蔡斌, 闵锁田, 等. 基于配体 - 受体理论的计算机辅助药物分子设计方法及应用 [J]. 西北药学杂志, 2007, 22 (5): 282 - 285.
- [9] 宋云龙, 陆倍倍, 张万年. 基于结构的计算机辅助药物设计方法学与应用研究 [J]. 药学进展, 2002, 26 (6): 359 - 364.
- [10] 郑晓飞, 孙志贤. 小分子药靶——RNA 药靶研究进展 [J]. 生物化学与生物物理进展, 2001, 28 (4): 486 - 489.
- [11] 王丽娜, 袁崇刚. RNAi 在药物研究中的应用 [J]. 生命科学, 2007, 19 (5): 557 - 561.
- [12] Thompson JD. Applications of antisense and siRNAs during preclinical drug development [J]. Drug Discov Today, 2002, 7 (17): 912 - 917.
- [13] 李新平. RNA 干扰技术在药物研究中的应用 [J]. 中国药理学通报, 2005, 21 (4): 400 - 403.
- [14] 严小虎, 常山, 田家亮. RNA 干扰治疗新进展 [J]. 西南军医, 2008, 10 (4): 911 - 912.
- [15] 冯毅, 敬林海, 王斌. 生物信息学在药物研发中的应用与展望 [J]. 西部医学, 2007, 19 (5): 971 - 973.
- [16] 秦惠基, 胡家荣. 生物信息学的兴起及新药研究 [J]. China Pharmacist, 1999, 2 (6): 324 - 327.
- [17] 李亮助, 孙强明. 生物信息学在药物设计中的应用 [J]. 生命的化学, 2003, 23 (5): 364 - 366.
- [18] 汪凡军, 张楚瑜. 生物信息学在医学上的应用 [J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27 (2): 161 - 163.
- [19] 黄国韦, 余海兵, 刘小兴, 等. 生物信息学在药物开发中的应用 [J]. 天津药学, 2006, 18 (2): 60 - 63.
- [20] 吴元胜, 朱华宇. 生物信息学与中医药现代化研究 [J]. 现代中西医结合杂志, 2004, 13 (11): 1399 - 1401.
- [21] 龙伟, 刘培勋. CADD 技术在中药及复方研究中的应用探讨 [J]. World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, 2007, 9 (6): 22 - 24.
- [22] 朱伟, 陈可冀, 徐筱杰. 计算机药物虚拟筛选技术在中医药领域中的应用前景 [J]. 中国中西医结合杂志, 2007, 27 (3): 263 - 266.
- [23] 龙伟, 刘培勋, 高静. 计算机虚拟筛选技术对黄连解毒汤药效物质功能分群的研究 [J]. 医药导报, 2008, 27 (1): 23 - 25.