

载药纳米微粒表面性能与表面改性

卢 剑 常 津 赵 硕 原续波*

(天津大学材料科学与工程学院 纳米生物技术研究所 天津 300072)

摘 要 介绍了表面性能与表面修饰对载药纳米微粒药物释放与药代动力学特性的影响, 并对吐温类表面活性剂改性的聚丁氰基丙烯酸酯(PBCA)纳米微粒促进药物穿过血脑屏障(BBB)的机理及应用进行了概述。

关键字 载药纳米微粒 表面改性 药物控释 药代动力学 血脑屏障

The Surface Modification of the drug-loaded nonparticles

Lu Jian, Chang Jin, Zhao Shuo, Yuan Xubo*

(Institute of Material Science and Engineering, Institute Nanobiological Technique, Tianjin University, Tianjin 300072)

Abstract This review presents the most recent studies on surface modification of the drug-loaded nano-system. The paper covers the methods of surface modification applied to drug-loaded nanoparticles. The effect of surface modification of drug-loaded nanoparticles on drug release character and drug circulating kinetics are also described. In addition, we presents the mechanism and usage of poly(butyl cyanoacrylate) (PBCA)NP overcoated with polysorbate to facilitate drug penetrating through the blood-brain barrier (BBB).

Key words Drug-loaded nanoparticle, Surface modification, Drug controlled release, Drug circulating kinetics, Blood-brain barrier

载药纳米粒子(nanoparticle, NP)包括纳米微球与纳米微囊, 是近一二十年发展起来的新型载药系统。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; 而主动或被动靶向的作用, 则增加了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。

在载药系统领域, 科研人员对载药 NP 材料的选择、制备方法及工艺以及包载药物的释放性能等方面进行了大量的研究工作。随着实验的深入, 研究者逐步认识到按已有方法制备的载药 NP 无法充分发挥 NP 在药物控释领域的独特优势, 而采用一定的方法对载药 NP 进行表面改性, 可进一步拓展 NP 在药物控释应用中的巨大潜力, NP 的表面改性逐渐成为载药系统研究的一个新的热点^[1~3]。

NP 表面改性广泛的应用前景是基于表面性质对载药 NP 性能多方面的决定作用: 表面形貌、药物在 NP 表面的分布状态影响着药物的释放性能尤其是突释性能; 表面的亲疏水性及电荷分

卢 剑 男, 24岁, 硕士生, 现从事药物控释研究。*联系人, E-mail: xuboyuan@eyou.com
2002-04-18 收稿, 2002-09-25 修回

布, 决定了血浆成分在 NP 表面吸附能力的强弱, 进而影响免疫系统对 NP 的识别及吞噬能力, 最终决定 NP 能否维持较长的血液循环时间; 同时, 通过表面修饰改变 NP 表面物理形貌、物化性质、化学组成与结构等多方面的性能, 可使配体等在 NP 表面的分布以及配体与 NP 的相互作用发生改变, 从而使 NP 获得不同的主动靶向能力。因此, 采用一定的表面修饰方法对改善 NP 的药代动力学特性、释药性能, 以及提高药物穿过血脑屏障(BBB)的能力均具有显著作用。

1 表面改性在 NP 包载药物控释中的应用

1.1 表面性能对 NP 药物释放性能的影响

载药 NP 的药物释放一般包括药物突释及稳定释放两个阶段。药物突释是载药微球一直难以解决的问题, 由于突释剂量无法控制, 短时间内血药浓度急剧上升甚至超过中毒极限浓度, 使得 NP 作为载药系统的应用受到了很大的限制。NP 中药物的释放性能尤其是药物突释与纳米粒子的表面性能有关, Chung 等^[4]的研究指出, NP 的表面形貌与药物在 NP 表面的分布是决定药物释放性能的重要因素: (1)表面形貌的影响, 在其它影响因素不变的前提下, 微球表面的粗糙度越高, 表面积越大, 越有利于药物的加速释放; 微球表面的微孔越多, 孔径越大, 体液向 NP 内的渗透与药物向 NP 外的扩散均较容易, 药物突释显著, 释放速度加快。同时表面形貌对药物释放的影响也与药物在微粒中的分布(贮存式结构或基体式结构)有关; (2)药物在 NP 表面的分布: 影响了 NP 释药的分布性能, 包括药物附着于微粒外表面与包载部分的比例, 药物在表面的附着方式以及药物在微粒表面的存在形式(结晶或无定形态)。其中, 微球外表面的附着药物与游离药物释放性能相似, 是引起突释的重要因素, 这部分药物占 NP 包载药物的比例越高, 突释效应越显著。

1.2 优化 NP 释药性能的表面改性方法

由上述表面性质对 NP 释药性能多方面的影响可见, 通过一定方法对 NP 的表面性质做相应的改进, 可成为优化 NP 药物释放性能的重要方法。

Leo 等^[5]的研究表明, 以不同溶剂洗涤载药 NP, 可改变 NP 的表面形貌并引起 NP 释药性能的变化。对溶剂挥发法制得的微米级载布洛芬 PLA 微球分别用去离子水与可以溶解布洛芬的碳酸钠溶液进行洗涤, 发现 NaCO_3 洗涤的载药微球比去离子水洗涤的微球药物突释效应小; 而稳定阶段释放的变化与微粒尺寸相关, 在几个微米的范围内, 微球较小时, NaCO_3 洗涤使得释放速度明显加快, 微球相对较大, 影响并不明显。以上结果可以用布洛芬在微球中分布状态加以解释。DSC 分析表明, 布洛芬在微球中有无定形和结晶两种形态, 微球内部的药物绝大多数以结晶态分布, 而只有靠近微球表面的少量药物和吸附于微球外表面的药物以无定形态存在, 药物溶出过程中无定形药物容易快速释放形成突释。由于此部分药物可溶解于 NaCO_3 溶液, 因此, 通过 NaCO_3 洗涤除去无定形药物, 可达到抑制突释的目的; 同时微球内靠近表面微球的药物在洗脱过程中引起表面孔隙的形成及表面粗糙度增加, 加速了稳定释放阶段前期的释放速度。尺度的影响可归结为: 微球越小, 表面积越大, 附着于内表面的药物比例越大, 洗脱引起表面形貌改变越显著, 增速效应越显著。

Chung 等^[4]通过改变微球制备过程中的溶剂挥发方法获得了不同表面性能的 NP。他们以利多卡因为模型药物, 在相同的温度下, 对比了常压挥发 (760mmHg) 与减压挥发

(460mmHg, 160mmHg)对 PLA 载药微球表面形貌的影响,发现对于半晶形的 PLLA 微球,常压挥发得到的微球表面光滑,而减压挥发得到了表面粗糙或多孔的微球;而对于无规的 PDLA 微球,两种方法均得到较为光滑的微球。采用减压挥发的另一个效果是引起无规与半晶微球载药量减少,粒径减小。最终结果,常压与减压的对药物的释放影响并不显著。

2 表面改性与 NP 药代动力学特性:

2.1 表面亲水性对 NP 药代动力学特性的影响

载药系统的核心任务是通过药物的长效缓释与靶向释放降低药物的毒副作用并提高药物的生物利用度。载药 NP 控释功能的发挥,首先取决于 NP 的药物代谢是否合理,最基本的要求是载体系统必须具有足够长的血液循环时间^[6],这一点是 NP 包载药物的血药浓度在较长的时间内保持在有效药物浓度以上(即长效缓释)的前提^[7]。较长的血液循环时间对 NP 靶向的促进作用体现在主动与被动靶向两个方面:首先,血液循环时间的延长有利于药物逐渐在血脉系统中受感染或已渗漏的病理部分(如肿瘤、发炎部位)聚集,从而实现药物向这些部分的被动靶向^[8];其次,对于主动靶向系统(即采用特异识别的配体实现药物靶向),维持一定的血液循环时间有利于经由靶部位的药物量以及药物与靶部位相互作用的累计效应增加,从而提高主动靶向的效果^[9]。

NP 的血液循环时间与 NP 表面的亲疏水性密切相关。Kumares 等^[10]通过载药 NP 的代谢机理阐明了表面亲疏水性对 NP 血液循环时间的影响,当载药纳米微粒进入血液循环系统后,血液成分主要是蛋白质(调理素)迅速在 NP 的疏水性表面吸附,促进免疫系统的噬菌细胞对 NP 的识别与吞噬,使得 NP 进入血液循环系统后,很快被肝脾等器官排除,很难维持较长的血液循环时间。因此,提高微球表面的亲水性,可以抑制微粒对蛋白质的吸附,从而减少噬菌细胞对 NP 的吞噬,并延长 NP 的血液循环时间。

2.2 延长 NP 血液循环时间的表面改性方法

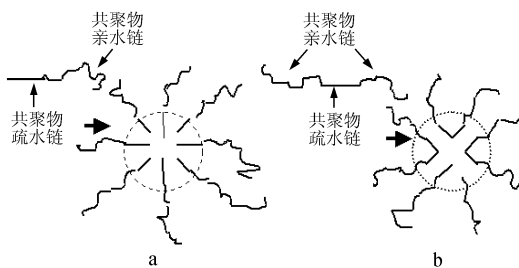


图 1 两亲性共聚物形成胶束状 NP 的机理

Fig.1 The mechanisms of NP formation from amphiphilic co-polymers micelle

a: 双嵌段共聚物 b: 三嵌段共聚物

通过一定的改性方法提高 NP 的亲水性已成为载药系统研究的一个重要方向。目前,亲水性改性方法主要有两类:采用共聚方法在 NP 基体高分子中引入亲水链段;以表面活性剂的亲水性高分子链包覆 NP。两类改性方法均得到表面为亲水性基团而内部为疏水性基体的 NP。

2.2.1 共聚改性(PEG 与 PEO 改性) 对 NP 实施亲水性改性的一种方法是将亲水性的 PEG(或 PEO)与 PLA、PLGA、PCL 等共聚,形成两端为 PEG(或 PEO)链段的三嵌段共聚物^[11,12](或以含甲氧基的 PEG 与 PLA 制备双嵌段共聚物 MPEG-PLA),然后再以共聚物制备 NP。在水相环境中,此类 NP 的疏水性链段趋向于相互吸附形成内核,而亲水性的 PEG 链段由于与水分子具有氢键

等相互作用,由内核伸向外水相,构成亲水层外壳,从而形成核环结构的胶束状 NP。

大量的研究表明^[13~15],NP 表面的 PEG 亲水层对血浆蛋白质在 NP 表面吸附的抑制能力主要由三个因素决定:一是 PEG 链段的长度,随着 PEG 链段的生长,蛋白质在 NP 表面的吸附能力降低,当 PEG 链段达到一定长度(分子量达到临界值)后,继续增加 PEG 链段的分子量对 NP 与蛋白质吸附的抑制不再有显著的作用。这可能是由于分子量过大后,PEG 链在微球表面折叠,对蛋白质空间阻碍作用无法进一步提高;二是 NP 表面 PEG 链密度的影响,PEG 链密度的提高同样引起上述抑制作用的增强,PEG 密度的值直接决定其亲水性端基-OH 的多少,因此,对于蛋白质在 NP 表面吸附,密度的高低引起的变化比 PEG 链段长度引起的变化更为显著。同样,当密度达到一定的临界值之后,就可以起到最优的抑制作用;三是疏水性链段(即疏水性核)的影响,虽然当 NP 表面的 PEG 链足够长并且链段间的距离足够近时,即可以有效地抑制蛋白质在 NP 表面的吸附,但并不能将吸附彻底消除。以不同的疏水性聚合物为基材的 NP 在血液循环系统中吸附蛋白质的量各不相同,种类也略有差别。这些材料与 PEG 嵌段共聚物制备的 NP,对蛋白质的吸附也有种类与量的差异。

此外,John 等^[16]通过将空间排斥作用、范德华引力及疏水基相互作用自由能进行关联研究,提出了 PEG 对蛋白质排斥作用的理论模型,从机理上解释了高 PEG 链段分子量与高 PEG 链密度对排斥作用的必要性,并且指出密度对范德华引力与空间排斥的影响更为显著。Greg 等^[17]发现 MPEG-PLA NP 悬浮液的 ξ 电势随表面 MPOE 含量的增加由负值向零接近,表明 MPOE 链覆盖了 PLA 的端 COO⁻,当 MPOE 的量达到混合物总量的 2%~3%,MPOE 链以梳状结构包覆在 NP 表面,使得 NP 具有非离子的亲水表面,阻碍了血浆蛋白质的吸附。

2.2.2 乳化剂改性(poloxamer 与 poloxamine 改性) NP 亲水性改性的另一种方法是通过聚醚类非离子表面活性剂 poloxamer (pluronic)或 poloxamine (tetronic)在 NP 表面的吸附,引入活性剂的亲水性高分子链段^[18]。在 NP 的表面, poloxamer 与 poloxamine 中疏水性的 PPO 链段紧密吸附到同样疏水的 NP(PLA、PLGA、PCL 等)表面,与此同时乳化剂中亲水性的 PEO 部分则从 NP 表面伸出,处于可移动状态,形成 NP 表面的亲水层。poloxamer 与 poloxamine 抑制血浆蛋白质对 NP 吸附(即延长 NP 血液循环时间)的效果与很多因素相关,比如与聚醚的组成密切相关,一般要求活性剂中 PPO 聚合度>40,PEO 聚合度>70,才能在延长 NP 血液循环时间的应用中取得较显著的效果。又如,Moghi 等^[19]指出投药间隔时间对于维持较长的血液循环时间同样相当重要。Davis 等^[20]的研究则表明, poloxamer 改性 NP 的血液循环时间与微粒尺寸也有相关性。同时 poloxamine 比 poloxamer 在避免 NP 被肝捕捉的应用中更为有效。

与采用共聚方法对 NP 表面进行亲水性修饰相比,乳化剂改性的优点在于其广泛的适用性^[21],这体现在改性方法与材料两个方面:(1)改性方法的灵活性,既可直接以聚醚类活性剂为稳定剂制备 NP;也可先制备载药 NP,再将 NP 溶于 poloxamer 或 poloxamine 溶液;这两种方法均可使大量活性剂吸附在 NP 表面^[22];此外,先将适量 poloxamine-908 静脉注射,一定时间后再将聚苯乙烯 NP 静脉投药, poloxamine-908 或 poloxamine-908-蛋白质联合体同样可以在体内吸附到 NP 表面,抑制血浆成分对 NP 的吸附,实现 NP 的长效循环;(2)对不同高分子 NP 的广泛适用性。Jackson 等^[21]的实验以 DL-聚乳酸、聚己内酯(PCL)、聚甲基丙烯酸酯(PMMA)及聚乳酸与

乙烯醇共聚物(50:50)为材料制得 NP, 采用 F127 为表面活性剂对各微球进行表面改性后, 活性剂均能够抑制免疫球蛋白对载药 NP 的调理作用, 延长药物的血液循环时间并减轻噬菌作用产生的炎症反应。

3 微球表面改性与药物的血脑屏障的穿透能力

BBB 是由脑毛细血管内皮及连接、内皮基膜和星形细胞终足形成的胶质膜, 将血液循环系统与脑脊液分开。BBB 只允许分子量小于 200~600D 的亲脂性营养物质和药物以自由扩散方式通过, 对分子量大于 180D 的离子化或亲水性药物、重组蛋白、单抗等具有屏障作用。BBB 的这种屏蔽效应极大的限制了大量抗癌药物在脑肿瘤治疗中的应用, 因此, 如何提高药物穿过 BBB 的能力成为了载药系统研究中一个新的热点。

表面改性 NP 为药物获得良好的 BBB 穿透能力提供了新的可能。研究表明^[23], 吐温类表面活性剂(尤其是吐温 80)改性的聚丁氰基丙烯酸脂(PBCA)载药 NP, 对包载药物通过 BBB 能力, 有显著的改善作用。吐温 80 等改性的 PBCA-NP 通过 BBB 过程中的作用机制, 还没有完全确定, 一般通过脑毛细血管内皮细胞的内吞作用来加以解释^[24,25]。在组成 BBB 的内皮细胞中存在着活性受体系统, 包括亲脂性物质在内的一些化合物可以通过此类受体系统经由 BBB 进出脑部; 此类系统中的铁传递蛋白通过细胞摄入系统与低密度脂蛋白(LDL)受体可用于载药 NP 的 BBB 传递^[26]; 在吐温改性的载药 NP 注入血液循环系统后, 吐温 80 类似锚的作用, 使血浆中的阿扑脂蛋白 E(apoE)紧密吸附于 NP 表面, 吸附了 apoE 的 NP 成为了模拟的 LDL 微粒, 可被 LDL 受体系统识别并与其相互作用, 使得 NP 被内皮细胞内吞。被细胞内吞的 NP 可促进药物由内皮细胞向脑内扩散, (图 b), 也可能由 NP 本身携带药物穿过内皮细胞进入脑部(图 c), 达到药物穿过血脑屏障的效果。^[27]

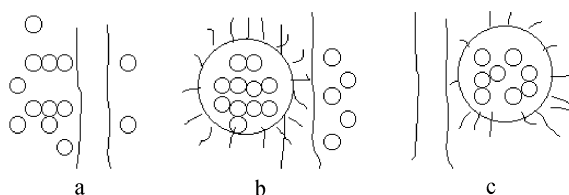


图 2 吐温-80 改性的 PBCA-NP 促进药物穿过 BBB 的机理

Fig.2 The mechanism of the delivery of drug across BBB by polysorbate-80 coated PBCA-NP

a: 游离药物(被动扩散); b: 内皮细胞对 NP 内吞后促进药物穿过 BBB(受体介导);

c: NP 内吞后携带药物穿过 BBB(受体介导)

镇痛药 dalargin(亮氨酸脑啡肽的类似物)是上述载药系统应用的一个成功例子。Alyautdin 等^[28]比较了游离药物、药物与吐温的混合物、载药 NP 以及吐温改性的载药 NP 静脉给药后的体内镇痛作用, 表明采用上述改性 NP 包载后, dalargin 的镇痛作用显著提高, 这说明更多的药物通过 BBB 进入了中枢神经系统。

阿霉素也通过此类 NP 包载获得了良好的 BBB 穿透能力, Gulyaev 等^[29]将游离药物与载药 NP 静脉给药, 在一定时间后, 考察药物的全身分布, 结果表明以吐温 80 改性的 PBCA-NP 包载明显有利于阿霉素通过 BBB, 提高药物在脑部的浓度; 此外, NP 包载的还可以将阿霉素在心脏的浓度降低到察觉极限以下, 大大减弱了其心脏毒性。

4 展望

综上所述,可生物降解 NP 作为新型的载药系统,具有突出的优点,在药物缓释与定向释放领域具有广泛的应有前景。表面改性作为载药 NP 研究的一个重要方向,可以在药物释放、药代动力学特性等方面进一步提高载药 NP 的性能,拓展了 NP 的应用领域。近十几年来,有关载药微球表面改性的研究,无论理论还是具体方法都取得了相当的进展,但大多数研究仍处于体外与动物实验阶段,要想成为临床的剂型,还需要大量的人体实验予以证明。可以预见,随着纳米技术、药剂学、药理学等学科研究的深入,新材料、新药物的不断开发,表面改性技术必将伴随着 NP 载药系统深入研究与广泛应用,受到关注,并获得新的发展。

参考文献

- [1] S Kumaresk, K Soppimath, M Tejjaraj et al. *Journal of Controlled Release*, 2001, 70:1~20.
- [2] A C Ilen, D Maysinger, A Eisenberg et al. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 1999, 16:3~27.
- [3] K Kataoka, A Harada, Y Nagasaki et al. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2001, 47:113~131.
- [4] T W Chung, Y Y Huang, Y Liu et al. *International Journal of Pharmaceutics*, 2001, 212:161~169.
- [5] E Leo, F Forni, M Bernabei et al. *International Journal of Pharmaceutics*, 2000, 196:1~9.
- [6] P Vladimir, Torchilin. *Journal of Controlled Release*, 2001, 73:137~172.
- [7] R M Winslow, K D Vandegriff, M Intaglietta et al. Birkhauser, Boston, MA, 1996.
- [8] T N Palmer, V J Caride, M A Caldecourt et al. *Biochim. Biophys. Acta*, 1984, 797:363~368.
- [9] V P Torchilin. *J. Liposome Res.*, 1996, 6:99~116.
- [10] K S Soppimath, T M Aminabhavi, A R Kurkarli et al. *Journal of Controlled Release*, 2001, 70:1~20.
- [11] M T Peracchia, E Fattal, D Desmaele et al. *Journal of Controlled Release*, 1999, 60:121~128.
- [12] M Tobio, A Sanchez, A Vila et al. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2000, 18:315~323.
- [13] R Gref, M Luck, P Quellec et al. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2000, 18:301~313.
- [14] K Bergstro, E Sterberg, K Holmberg et al. *J. Biomater. Sci. Polymer Edn.*, 1994, 6:123~132.
- [15] R Gref, A Domb, P Quellec et al. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 1995, 16:215~233.
- [16] S I Joen, J H Lee, J D Andrade et al. *J. Colloid. Interf. Sci.*, 1991, 142:149~158.
- [17] R Gref, G Miralles, E Dellacherie et al. *Polymer Int.*, 1999, 48:251~256.
- [18] S M Moghimi, A Hunter. *Trend in Biotechnology*, 2000, 18:412~420.
- [19] S M Moghimi, T A Gray. *Clin Sci.*, 1997, 93:371~379.
- [20] L Illum, S S Davis, R H Muller et al. *Int. J. Pharm.*, 1993, 89:25~31.
- [21] J K Jackson, M K Christopher, E Mak et al. *Biomaterials*, 2000, 21:1483~1491.
- [22] H M Redhead, S S Davis, L Illum et al. *Journal of Controlled Release*, 2001, 70:353~363.
- [23] P Couvreur, L Grislain. CRC Press, Boca Raton, FL, 1986:27~93.
- [24] J A Kreuter, R N Lautdin, D A Kharkevich et al. *Brain Res.*, 1995, 674:171~174.
- [25] G Borchard, K L Audus, F Shi et al. *Int. J. Pharm.* 1994, 110:29~35.
- [26] S Meresse, C Delbart, J G Fruchart et al. *J. Neurochem.*, 1989, 53:340~345.
- [27] L Fenart, A Casanova, B Dehouck et al. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1999, 291:1017~1022.
- [28] R Alyautdin, D Gothier, V Petrov et al. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 1995, 41:44~48.
- [29] L Illum, S S Davis. *J. Pharm. Sci.*, 1983, 72:1086~1089.