

胰岛素鼻腔给药新剂型研究进展

曾倩¹, 纪晖², 潘理平¹ (1. 海军总医院药剂科, 北京 100037; 2. 海军后勤部卫生部, 北京 100841)

摘要 鼻腔给药是胰岛素皮下注射最有前景的替代途径之一, 而黏膜吸附性制剂代表了胰岛素经鼻制剂的发展方向, 主要包括凝胶、微球/微粒、脂质体、纳米粒等剂型。本文对国内外近年来各种剂型的胰岛素经鼻制剂的研究概况进行了综述。

关键词 胰岛素; 鼻腔给药; 经鼻制剂; 黏膜吸附性制剂

中图分类号: R944

文献标识码: A

文章编号: 1006-0111(2008)06-0409-04

糖尿病是仅次于心脑血管疾病和恶性肿瘤危害人类健康的第三大疾病, 而胰岛素是治疗 I 型糖尿病(胰岛素依赖型糖尿病)必须使用的药物, 也是 II 型糖尿病(非胰岛素依赖型糖尿病)患者口服药无效或过敏及病情加重条件下必需的选择。目前, 胰岛素的主要给药途径为皮下注射, 虽然能取得不错的降血糖效果, 但随之而来的血糖浓度波动, 糖尿病性并发症以及注射造成患者顺应性差等依然是无法克服的问题。因此胰岛素非注射给药途径的研究和开发具有重要的临床意义。其中, 鼻腔给药被认为是最有前景的替代途径之一, 这主要是由于鼻腔给药具有下列优点: 鼻黏膜仅由一层纤毛柱状上皮细胞构成, 药物吸收有效面积大; 上皮细胞下毛细血管丰富; 药物经鼻腔毛细血管直接进入体循环, 可避开肝脏首过效应。但是, 作为亲水性蛋白大分子, 胰岛素经鼻黏膜透过量仍然很小, 加之纤毛清除和蛋白酶的水解, 胰岛素以溶液剂鼻腔给药的吸收量可以忽略不计^[1]。

针对上述局限性, 当前胰岛素鼻腔给药的研究热点主要集中在黏膜吸附性制剂的开发上。该种制剂通常以具有良好生物相容性和黏附性的聚合物作为递药载体, 经吸水膨胀后在鼻黏膜表面形成凝胶状物, 可以降低黏膜纤毛清除速率, 延长给药系统在鼻腔中的滞留及其与鼻黏膜的接触, 并且保护药物不受鼻腔中酶的水解, 从而促进药物的吸收^[2]。在此基础上加入合适的渗透促进剂就有可能较大幅度地提高胰岛素经鼻给药的生物利用度。事实上, 某些黏附性聚合物本身就具有渗透促进剂的作用, 它们吸水膨胀之后使鼻黏膜上皮细胞脱水, 引起细胞间紧密连接松动, 从而增加药物经细胞旁途径转运。在胰岛素黏膜吸附性经鼻制剂开发中采用的剂

型主要涉及凝胶、微球/微粒、纳米粒及脂质体等, 这些剂型各有其特点, 本文就国内外近年来对它们的最新研究概况综述如下。

1 凝胶

凝胶具有高度亲水的三维网络结构, 可以控制药物的释放并稳定其中的药物; 此外, 它还具有良好的生物黏附性, 能较长时间与作用部位发生紧密接触, 增加药物的吸收^[3], 这些特点使得凝胶特别适合作为胰岛素鼻腔给药的剂型。例如, 含 0.1% 和 1% 的聚丙烯酸与胰岛素制成的生物黏附性凝胶经大鼠鼻腔给药后, 两种凝胶剂产生的降血糖作用分别在 0.5 和 1 h 出现最大值, 而给予同剂量的胰岛素混悬液则无降血糖作用^[4]。

目前胰岛素凝胶剂研究中应用较多的载体材料为壳聚糖, 它是一种具有良好生物相容性的多糖类天然聚合物。Varshosaz J 等以具有蛋白水解酶抑制能力的 EDTA 为促透剂制备了 2% 壳聚糖凝胶, 胰岛素载药量为 40 IU/mL, 该凝胶 2.5 h 体外释药达 90% 并且具有良好黏膜吸附性, 按 4 IU/kg 的剂量经糖尿病大鼠鼻腔给药后, 胰岛素绝对生物利用度达 46%^[5]。实际上, 上述实验中作为凝胶材料的壳聚糖及其衍生物不仅具有生物黏附性, 在体液环境下它还可通过本身所带正电荷中和黏膜细胞间紧密连接的阴离子部位而具有渗透促进作用^[6]。基于此, 有人利用带正电荷的壳聚糖季铵化衍生物 (HTCC) 与 PEG 制得新型温敏型凝胶, 胰岛素载药量为 100 IU/mL, 其在室温及以下为溶液状态, 在 37℃ 时几分钟内变成凝胶; 按 10 IU/kg 剂量经大鼠鼻腔给药后, 血糖浓度下降 40%~50%, 并可维持 5h, 而对鼻黏膜没有明显的毒性^[7]。

2 微球/微粒

有文献报道壳聚糖经含硫化合物修饰后具有更

作者简介: 曾倩 (1974-), 女, 主管药师。Tel: (010) 66958330, E-mail: zeqhrl@sina.com.

高的黏膜吸附性和促透性^[8],因而有研究人员以壳聚糖-4-巯基丁基脒偶联物(Chito-TBA)作为载体制备了胰岛素微粒给药系统,该微粒呈球状,粒径范围1~59 μm,平均粒径18.5 μm,胰岛素包封率为38.23%,并以未修饰壳聚糖和甘露糖微粒作为对照,体外释放实验显示 Chito-TBA 微粒中胰岛素可持续释药达6 h,在大鼠体内的绝对生物利用度为(7.24 ± 0.76)%,而未修饰壳聚糖和甘露糖微粒中胰岛素的绝对生物利用度分别仅为(2.04 ± 1.33)%和(1.04 ± 0.27)%^[9]。

与壳聚糖类似,带正电荷的氨基明胶同样具有渗透促进作用及良好的黏膜吸附性,并且由于其本身就是蛋白,因而适合用作多肽蛋白药物的载体。Wang J等利用表面吸附法制备了载有胰岛素的氨基明胶微球(AGMS),平均粒径19.3 μm,吸水后膨胀至51.5 μm;体外药物释放实验表明该微球在30 min和8 h的累积释药量分别为18.4%和56.9%,显著慢于天然明胶微球(GMS),这主要源于AGMS和胰岛素之间的静电作用;按胰岛素5 IU/kg剂量经健康大鼠鼻腔给药后,AGMS干粉剂(胰岛素载药量为0.5 IU/mg)使血糖浓度在60 min降到最低(基线值的69.3%),4 h内恢复正常;而AGMS混悬剂(胰岛素载药量为1.25 IU/mg)没有显著的降血糖效应,作者推测可能的机理为干粉剂微球可以吸收鼻黏膜中的水分,使上皮细胞暂时脱水,细胞间紧密连接开放;此外AGMS的正电荷也具有吸收促进效应^[10]。

冷光等以可溶性淀粉为原料,利用聚乙二醇法制备淀粉微球后吸附胰岛素制得粒径为30~40 μm的胰岛素淀粉微球,按2 IU/kg剂量经健康家兔鼻腔给药后血糖浓度下降35.2%,表明该胰岛素微球经鼻腔给药可明显降低血糖水平,且药物作用呈现缓释特征^[11]。

3 脂质体

脂质体有很好的生物黏附性和相容性,不容易被鼻纤毛清除,可以迅速进入血液,受体内各种酶的作用逐渐分解并释放药物,能有效迅速的发挥药效;对鼻黏膜损伤轻微甚至无损伤,无刺激性和纤毛毒性,适合长期给药^[12],因此也是胰岛素经鼻制剂的一个重要研究方向。

吴正红等利用离体肠黏膜法和Caco-2细胞模型法考察了壳聚糖及其衍生物包覆的脂质体对胰岛素细胞旁路转运的促进作用,证实脂质体能增加胰岛素的跨膜转运,而脂质体经壳聚糖及其衍生物包覆后通过打开上皮细胞紧密连接,进一步提高胰岛

素经细胞旁路的转运能力^[13]。为了提高脂质体给药系统的黏膜吸附性,促进黏膜吸收,Jain等制备了粒径为26~34 μm,表面被壳聚糖的多室脂质体(MVL),胰岛素载药量达58%~62%,体外释放维持7~9 d,而一般的脂质体仅为24 h;经糖尿病大鼠鼻腔给药后,该黏附性MVL的降血糖效应达72 h,与未包被壳聚糖的MVL和一般的脂质体相比维持时间显著延长^[14]。

4 纳米粒

Wang等利用离子胶凝法制备了壳聚糖-N-乙酰-L-半胱氨酸纳米粒作为胰岛素的载体,其粒径为140~210 nm,ζ电位为+19.5~31.7 mV,载药量为13%~42%,相比于未修饰的壳聚糖纳米粒和对照溶液,胰岛素经鼻吸收量显著增加^[15]。此外,该组研究人员利用相同方法制得粒径为150~300 nm的PEG接枝壳聚糖(PEG-g-chitosan)纳米粒,ζ电位为+16~30 mV,胰岛素载药量为20%~39%,经鼻吸收量相比PEG-g-chitosan混悬液和对照溶液显著增加^[16]。

环糊精(CD)为环状寡聚糖,分子中央为疏水性空穴,可与适当大小的药物分子形成包合物,大分子药物也可通过疏水侧链被部分包合,提高稳定性;CD还可用作大分子药物的促透剂并且抑制某些蛋白酶的活性,基于上述优点,Krauland AH等将羧甲基-β-环糊精(CM-β-CD)引入壳聚糖(CS)体系中,通过离子胶凝技术制得CS/CM-β-CD和CS/CM-β-CD/TPP(三聚磷酸)纳米粒,粒径范围231~383 nm,ζ电位+20.6~39.7 mV,胰岛素载药量最高达68.4 ± 0.5%,并且在人工肠液中(pH6.8,37℃)快速释放(15 min释放84%~97%)。这些结果显示该纳米系统有望用于胰岛素的鼻腔给药^[17]。

金纳米粒具生物相容性,无毒,易与许多生物大分子如蛋白/酶、DNA等结合,可用作药物递送的载体。Joshi等利用硼氢化钠还原四氯金酸制备了粒径为(35 ± 7) Å的金纳米粒,表面修饰天门冬氨酸(Asp)后吸附胰岛素得到Au-Asp-Ins纳米粒,吸附率为95%,按20 IU/kg胰岛素剂量经糖尿病大鼠鼻腔给药后,血糖浓度在120 min时达最大降低程度55%,与胰岛素皮下注射的药效相当(血糖浓度最大下降53%)^[18]。为了提高金纳米粒给药系统的稳定性和黏膜摄取量,在上述研究的基础上改用具有促透效应并且带正电的壳聚糖作为还原剂制备得到粒径为10~50 nm表面被壳聚糖所包被的金纳米粒,胰岛素吸附率为53%;山羊鼻黏膜体外扩散实验显示相同胰岛素剂量下,载药金纳米粒的透过量

是胰岛素对照溶液的 4~5 倍;按 10 IU/kg 胰岛素剂量经糖尿病大鼠鼻腔给药后,3h 血糖浓度下降 34.12%;2 h 的血清胰岛素水平为 2.1 mIU/mL,与胰岛素溶液皮下注射的水平(2.5 mIU/mL)相当;与硼氢化钠还原得到的纳米粒相比,壳聚糖还原纳米粒的鼻黏膜摄取量显著提高^[19]。上述结果表明以金纳米粒作为载体进行胰岛素鼻腔给药以替代皮下注射具有可行性,但金纳米粒在体内的蓄积,排泄及毒性(特别是需要长期用药的条件下)还需要进一步研究。

Simon 等合成了氨基修饰的聚乙烯醇接枝聚 L-丙交酯,与胰岛素自组装得到纳米复合物,鼻腔给药后健康大鼠血糖水平在 50~80 min 后下降 20%,糖尿病大鼠血糖水平在 75~95 min 后下降 30%,组织学检查显示 4 h 后用药部位没有毒性反应。与壳聚糖类似,该实验中的水溶性两亲聚合物兼具生物黏附剂和渗透促进剂双重功能^[20]。

5 总结

鼻腔给药途径对于多肽和蛋白类药物的吸收具有独特的优势^[21]。与皮下注射相比,鼻腔给药能更好地模拟用餐期间胰岛素的“搏动式”分泌,从而更好地控制餐后高血糖^[1]。因此,胰岛素经鼻制剂的开发对于提高糖尿病患者治疗效果和顺应性有着重要的意义,众多科研人员也为此做了大量的工作,进行了有益的探索。

阻碍胰岛素经鼻吸收的因素主要是药物分子鼻腔滞留时间短和鼻黏膜对亲水性蛋白大分子的生物屏障作用,此外还包括蛋白酶的水解。针对这些局限性,基于生物黏附性材料的黏膜吸附性制剂成为研究的热点,它不但可以显著延长载药系统在鼻腔中的滞留时间,通常还可以避免药物分子直接与鼻腔黏液接触,防止其被蛋白酶水解,从而增加药物吸收;在此基础上,通过加入合适的渗透促进剂(如 EDTA^[5],磷脂,甾醇糖苷^[22],紧密连接调节肽^[23]等),增加鼻黏膜对蛋白分子的通透性,就有可能较大程度的增加药物分子的经鼻吸收量。另一方面,用作黏膜吸附制剂的聚合物材料如壳聚糖、氨基明胶以及各种新型的高分子材料在延长给药系统鼻腔滞留时间的同时,可通过吸水膨胀或自身所带正电荷暂时性地开放上皮细胞间紧密连接而增加药物透膜量,从而起到渗透促进剂的作用,并且在安全性方面优于传统的渗透促进剂如表面活性剂、胆酸盐等,不会对鼻黏膜造成损害,而有的聚合物材料还有一定的蛋白酶抑制活性,因而非常适合用于胰岛素鼻腔给药系统的开发。

胰岛素黏膜吸附性制剂研究中采用的剂型主要涉及凝胶、微球、脂质体和纳米粒等,这些新剂型相比于传统的溶液剂有着明显的优势。凝胶剂制备方便,载药量大,可制成温敏性等敏感型给药系统,给药前为溶液,便于剂量控制,给药后形成凝胶,达到缓释效果。微球和脂质体均具有载药量大的特点,微球以干粉剂给药时具有明显的促吸收作用,而脂质体由于其特殊的磷脂结构也能增加蛋白分子的跨膜转运。纳米粒由于其粒径更小,黏膜吸附性更强,鼻腔滞留时间更长,并且同凝胶和微球一样,可通过骨架结构或载药方式的改变控制药物分子的释药速率,因而越来越多的用作多肽蛋白类药物鼻腔给药载体。

上述这些新剂型的发展结合新材料的发展大大推动了胰岛素鼻腔黏膜吸附性制剂的研究与开发,目前已有几种胰岛素经鼻制剂进入临床试验阶段,有望在未来几年内上市,从而为糖尿病患者带来更好的治疗效果。

参考文献:

- [1] Hinchcliffe M, Illum L. Intranasal insulin delivery and therapy [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 1999, 35: 199.
- [2] Khafagy ES, Morishita M, Onuki Y, et al. Current challenges in non-invasive insulin delivery systems: A comparative review [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2007, 59: 1521.
- [3] 张翠霞. 新型的药物传递系统-原位凝胶的研究进展 [J]. *中国医院药学杂志*, 2006, 26(4): 459.
- [4] 杜燕京, 田国涛. 多肽和蛋白质药物经鼻腔给药系统的研究进展 [J]. *药学服务与研究*, 2005, 5(4): 321.
- [5] Varshosaz J, Sadrai H, Heidari A. Nasal Delivery of Insulin Using Bioadhesive Chitosan Gels [J]. *Drug Delivery*, 2006, 13: 31.
- [6] Soane RJ. Evaluation of the clearance characteristics of bioadhesive systems in humans [J]. *Int J Pharm*, 1999, 178(1): 55.
- [7] Wu J, Wei W, Wang LY, et al. A thermosensitive hydrogel based on quaternized chitosan and poly(ethylene glycol) for nasal drug delivery system [J]. *Biomaterials*, 2007, 28: 2220.
- [8] Bernkop SA, Hornof M, Zoidl T. Thiolated polymers-Thiomers: Modification of chitosan with 2-iminothiolane [J]. *Int J Pharm*, 2003, 260: 229.
- [9] Krauland AH, Gugli D, Bernkop SA. Thiolated chitosan microparticles: a vehicle for nasal peptide drug delivery [J]. *Int J Pharm*, 2006, 307: 270.
- [10] 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: 31.
- [11] 冷光, 孔宪珠. 胰岛素鼻腔给药微球制剂的制备及药效学研究 [J]. *中国药房*, 2003, 14(5): 277.
- [12] 王雪梅. 脂质体在鼻腔给药中的应用 [J]. *医药导报*, 2006, 25(1): 46.

(下转第 426 页)

往往伴随血流动力学及心脏功能的改变^[7]。氧自由基生成及脂质过氧化物反应增强是心肌缺血损伤的主要机制之一, SOD 是机体清除氧自由基的重要酶类, 对机体的氧化与抗氧化平衡起着重要的作用。心肌缺血时, 细胞内钙超载致自由基生成过多, 作用于细胞膜和血液循环中的脂质, 使其发生脂质过氧化并呈链式反应扩展, 导致细胞膜结构和功能的损伤, 并大量消耗抗氧化剂, 使 SOD 活力失代偿性下降, 从而启动自由基连锁反应, 氧自由基攻击生物膜中的多不饱和脂肪酸, 引发脂质过氧化作用, 并因此形成脂质过氧化物, 如丙二醛 (MDA)。MDA 的测定常常与 SOD 的测定相互配合, SOD 活力的高低间接反映了机体清除氧自由基的能力, 而 MDA 的高低又间接反映了机体细胞受自由基攻击的严重程度, 两者结合分析反映了药物的抗氧化作用。

益心口服液以黄芪为君, 益母草为臣, 红花川芎为佐。黄芪为补气升阳的中药, 补气升华, 使气足血行瘀化。益母草活血化瘀、祛瘀生新、养益心阴, 兼有利水渗浊之效, 可治久瘀所致水停。红花善通利经脉, 且入心经养血。川芎行气通络止痛。四药合用, 气血经络共调。将该复方按照 2:2:1:1 的配方比例通过加水煎煮、滤过、浓缩、醇沉法纯化等提取纯化方法, 由上海中医药大学药学院制成口服液制剂用于本实验。

本实验结果显示益心口服液具有: ①改善急性心肌缺血: 益心口服液各剂量组均能明显改善缺血造成的心电图 J 点抬高, 此作用优于地尔硫草处理组。与模型组比较, 益心口服液大、中剂量组均能明

显改善大鼠的 LVSP、LVEDP、 $\pm dp/dtmax$, 提示益心口服液有改善缺血心肌收缩舒张功能的作用。形态学检查同时证实了益心口服液各剂量组均能改善心肌缺血损伤。②提高心肌组织抗氧化损伤能力: 益心口服液大、中剂量能够提高血清中 SOD 含量, 降低脂质过氧化物 MDA 的活性, 提示其改善抗心肌缺血损伤的作用可能与对抗自由基生成有关。

综上所述益心口服液中、大剂量能明显改善冠脉结扎引起的急性心肌缺血, 改善血流动力学、提高心脏抗损伤能力, 保护缺血心肌。为开发成新药提供了有力的实验依据。

参考文献:

- [1] 卫洪昌, 朱冬胜, 朱晓梅, 等. 益心口服液预处理对急性心肌缺血大鼠 CEC、血浆 ET、CGRP 及心肌病理形态的影响[J]. 药学实践杂志, 1999, 17(4): 202.
- [2] 程康, 孙英霞, 章忱, 等. 益心口服液对大鼠体外心脏缺血再灌注损伤心功能的影响[J]. 山东中医药大学学报, 2004, 28(2).
- [3] 王秀薇, 顾明昌, 袁灿星, 等. 益心口服液治疗冠心病心肌缺血得临床疗效研究[J]. 甘肃中医, 2002, 15(2): 79.
- [4] 周文武, 林玲. 冠脉结扎法制做大鼠心肌缺血模型[J]. 中国实验动物学报, 2004, 12(14).
- [5] 陈奇. 中药药理研究方法[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 441.
- [6] 邵耕. 现代冠心病[M]. 北京: 北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社, 1998: 53.
- [7] 王北婴, 李仪奎. 中药新药研制开发技术与方法[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2001: 42.

收稿日期: 2007-12-26

(上接第 411 页)

- [13] 吴正红. 壳聚糖及其衍生物包覆的脂质体对胰岛素细胞旁路转运的促进作用[J]. 中国药科大学学报, 2005, 36(4): 306.
- [14] Jain AK, Chalasani KB, Khar RK, et al. Muco-adhesive multivesicular liposomes as an effective carrier for transmucosal insulin delivery[J]. 2007, 15(6): 417.
- [15] Wang X, Zheng C, Wu Z, et al. Chitosan-NAC nanoparticles as a vehicle for nasal absorption enhancement of insulin[J]. J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 2008, [Epub ahead of print].
- [16] Zhang X, Zhang H, Wu Z, et al. Nasal absorption enhancement of insulin using PEG-grafted chitosan nanoparticles[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2008, 68(3): 526.
- [17] Krauland AH, Alonso MJ. Chitosan/cyclodextrin nanoparticles as macromolecular drug delivery system[J]. International Journal of Pharmaceutics, 2007, 340: 134.
- [18] Joshi HM, Bhunekar DR, Joshi K, et al. Gold Nanoparticles as Carriers for Efficient Transmucosal Insulin Delivery[J]. Langmuir, 2006, 22: 300.

- [19] Bhumkar DR, Joshi HM, Sastry M, et al. Chitosan Reduced Gold Nanoparticles as Novel Carriers for Transmucosal Delivery of Insulin[J]. Pharmaceutical Research, 2007, 24(8): 1415.
- [20] Simon M, Wittmar M, Thomas K, et al. Insulin Containing Nanocomplexes Formed by Self-Assembly from Biodegradable Amine-Modified Poly (Vinyl Alcohol)-Graft-Poly (L-Lactide): Bioavailability and Nasal Tolerability in Rats[J]. Pharmaceutical Research, 2005, 22(11): 1879.
- [21] 郑广才. 多肽、蛋白质药物鼻腔给药系统的研究进展[J]. 中国药事, 2007, 21(7): 521.
- [22] Maitani Y, Nakamura K, Kumi Kawano. Application of Sterylglucoside-Containing Particles for Drug Delivery [J]. Current Pharmaceutical Biotechnology, 2005, 6: 81.
- [23] Chen SC, Eiting K, Cui K, et al. Therapeutic Utility of a Novel Tight Junction Modulating Peptide for Enhancing Intranasal Drug Delivery[J]. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2006, 95(6): 1364.

收稿日期: 2008-05-26