

糖尿病治疗中多肽类药物新型缓控释给药制剂的研究进展

宣吉明¹,程玉松²,高 静¹,钟延强¹(第二军医大学药学院药剂教研室,上海 200433;2. 南京军区联勤部卫生部上海药品器材供应站,上海 200052)

[摘要] 多肽类降血糖药物具有模拟正常人的生理性胰岛素分泌的功能,并且其降糖作用与患者血糖水平有关,很少发生低血糖事件。现就治疗糖尿病的多肽类药物新型缓控释制剂作一综述。

[关键词] 糖尿病治疗;多肽;缓控释给药

[中图分类号] R943 [文献标志码] A [文章编号] 1006-0111(2012)01-0014-06

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2012.01.004

Developments of sustained and controlled release delivery systems of peptides in treatment of diabetes

XUAN Ji-ming¹, CHENG Yu-song², GAO Jing¹, ZHONG Yan-qiang¹ (1. Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Drugs and Instruments Supplying station in Nanjing, Department of health of Jiont logistics of Nanjing Military Region, Shanghai 200052, China)

[Abstract] Peptide analog of hypoglycemic drugs had a normal physiological function of insulin secretion. The hypoglycemic effect of peptide depended on blood glucose levels of patients, which induced very few incidents of hypoglycemia. Peptides of sustained and controlled release delivery systems in diabetes treatment were summed up in this paper.

[Key words] diabetes treatment; peptide; sustained and controlled release delivery systems

糖尿病(diabetes mellitus, DM)是一种严重威胁人类健康与生命的多病因的代谢性疾病。其特点是慢性高血糖,伴随因胰岛素分泌及(或)作用缺陷所引起的糖、脂肪和蛋白质代谢紊乱。长期以来,人们主要通过注射胰岛素及口服四大类降糖药来控制血糖:这些药物包括磺脲类和格列奈(促进胰岛细胞分泌胰岛素)、双胍类(增加外周组织摄取和利用葡萄糖)、糖苷酶抑制剂(抑制小肠葡萄糖吸收)和胰岛素增敏剂(提高靶细胞对自身胰岛素的敏感性)等。在糖尿病患者中,II型糖尿病约占95%,其治疗主要通过促进胰岛β-细胞分泌胰岛素来调节血糖。但该类药物(包括磺脲类和双胍类)临床用药副作用很大,而且促进胰岛分泌胰岛素的作用并不依赖血糖浓度的高低,长期使用会因胰岛素分泌过度,导致胰岛β-细胞进行性衰竭。除此之外,还容易导致低血糖,引发高胰岛素血症,有使体重增加的倾向,并伴有恶心、呕吐、消化不良、肝功能损害、皮疹等。目前每年约有10%的糖尿病患者因治疗失效而病情加剧。

随着生物技术的发展,多肽和蛋白类药物不断涌现,且逐渐主导了糖尿病新疗法的发展。目前已有多种蛋白多肽类药物,如胰高血糖素样肽-1(GLP-1)、艾塞那肽和利拉鲁肽等注射制剂上市应用。尽管这些蛋白多肽类药物的疗效已经得到临床证实,但是由于体内酶解等原因使该类药物的半衰期短,需要频繁注射给药,给患者带来了极大的心理和经济负担。利用各种新型药物传递系统(DDSs),将多肽蛋白类药物包裹于生物可降解和生物相容性好的载体材料中,不仅能防止药物在体内快速降解,实现缓释或控释效果,还能将药物浓集于靶组织,避免不必要的副作用^[1]。

本文将对近年来糖尿病治疗药物中多肽类药物传递系统,主要包括微球、纳米粒和脂质体等新型给药制剂进行综述。

1 胰岛素及类似物

自20世纪早期由Banting和Best发现胰岛素以来,糖尿病的治疗经历了重大的变化。随着重组DNA技术和分子生物学的发展,人重组胰岛素和胰岛素类似物逐渐取代了动物胰岛素成为糖尿病的治疗药物。胰岛素类似物如甘精胰岛素,赖脯胰岛素,门冬胰岛素和谷赖胰岛素已经成为糖尿病治疗中的

[作者简介] 宣吉明(1984-),女,硕士研究生。E-mail: xuanjiming@yahoo. cn.

[通讯作者] 钟延强. Tel: (021) 81871258, E-mail: yqzhong@smmu. edu. cn

主流。但由于这些胰岛素类似物半衰期短,如甘精胰岛素和门冬胰岛素在血液中仅有5~10 min,需频繁给药,因此其长效制剂成为近年来的研究热点。

1.1 胰岛素微球制剂 胰岛素的微球制剂是最先研发的,用于治疗糖尿病的蛋白多肽类药物长效制剂。微球制剂是一种极具潜力的剂型,在药学领域有着广泛的应用。微球作为给药系统的研究已有30年的历史,制备微球的载体材料很多,主要分为天然高分子微球(如淀粉微球、白蛋白微球、明胶微球、壳聚糖等)和合成聚合物微球(如聚乳酸微球)。从国内外文献报道可看出,近几年合成聚合物微球研究成为热点。但不论是哪种材料和制备方法,都必须保证包裹的药物仍具有活性,而且包封率、载药量和释放特性都要符合药典规定。水介质复乳法制备微球,常由于油水界面的存在而使药物发生聚集失活。Park^[2]等人利用药物和带电聚合物形成聚电解质络合物能防止 PLGA (聚乳酸羟基乙酸共聚物)微球内多肽药物变性的原理,将硫酸软骨素 A (CsA)作为高分子添加剂,在 pH3.0 条件下与胰岛素形成离子络合物。然后用复乳法制备了载胰岛素/硫酸软骨素 A 络合物 (CsA/Ins) 的 PLGA 微球 (PLGA/CsA MS)。经 RP-HPLC 证实,该微球中的胰岛素其保留时间与自然的胰岛素保留时间一致,而未处理过的胰岛素其保留时间有所变化。而且,PLGA/CsA MS 中的胰岛素载药量高于 PLGA MS,突释较低,突释后能持续释药 30 d。圆二色性光谱证明 PLGA/CsA MS 中胰岛素稳定性远远大于 PLGA MS。因此对于低等电点的多肽类药物用 CsA 复合物系统比单纯包裹药物更有利于长期给药。

有文献报道^[3,4]环糊精 (CD)复合物的形成能提高客体分子的理化和生物学特性,CD 与蛋白质复合物能大幅度降低蛋白质在溶液中聚集状态。由于 CD 复合物能增加药物的稳定性,增强药物吸收^[5,6],因而与聚合物载体联用已成为改善口服给药的一大方案^[7]。如 Sajeesh 等^[8]先将胰岛素和甲基-β-环糊精 (MCD)复合得到复合物 (IC);然后用离子胶凝法制备聚甲基丙烯酸-壳聚糖-聚乙二醇 (PCP)微粒;再用扩散填充法将复合物包裹到 PCP 微粒中。结果表明,PCP-IC 对血糖的控制比 PCP-ins 理想,作者推测原因是 MCD 复合物能增强药物在上皮细胞的吸收,其机理是 MCD 能萃取细胞膜中的脂质成分,增加细胞的流动性和药物渗透性。所以胰岛素经环糊精复合后包裹到聚合物材料中的方法很适于蛋白多肽类药物的口服给药。

为改善胰岛素微球制剂的释放特性,Han 等^[9]用改良的等电点沉淀法将胰岛素纳米化后分散于 PLGA

的 N,N-二甲基甲酰胺溶液,转移到玉米油中形成 S/O/O 微球。结果证明胰岛素纳米化后包裹于 PLGA 中其突释 (5%~7%) 远远小于普通胰岛素微球 (44%)。经 SEM 观察,作者推测原因是纳米化的胰岛素被完全包裹于微球内部,表面光滑;而普通胰岛素微球表面有孔,大颗粒胰岛素未能完全包裹到 PLGA 中,后期收集清洗微球带走了滞留的胰岛素,冻干后就形成了孔洞。胰岛素二级结构 (FTIR 法) 和体内活性实验表明纳米化的胰岛素活性保留完好。经过一系列的研究表明用 S/O/O 法包裹纳米化的胰岛素可以制得包封率高的大分子 PLGA 微球海藻酸盐是由 β-D-甘露糖醛酸和 α-L-古罗糖醛酸以 1,4-交联后的多糖,与壳聚糖相反,海藻酸盐带有羧基,是阴离子聚合物。海藻酸钠溶于水成黏稠状胶体,其重要性质之一是能和大多数多价阳离子 (除镁外) 反应形成交联物。Builders 等^[10]采用低温聚合物凝聚和扩散填充法制备了载胰岛素的粘蛋白海藻酸钠微粒。作者认为低温有助于减小多肽和有机溶剂的不相容性,因此可以防止粘蛋白因为接触到丙酮而变性。将制备的不同比例的海藻酸钠-粘蛋白胰岛素微粒填充到硬壳胶囊中,其中所含的胰岛素量相等。以去离子水、胰岛素溶液和皮下胰岛素注射为对照,口服给予糖尿病家兔胶囊,结果发现,去离子水没有降血糖作用;口服胰岛素溶液 2 h 后血糖水平能降低 30%,然后在 1 h 内回到初始血糖浓度;在粘蛋白胰岛素微粒、海藻酸钠胰岛素微粒和海藻酸钠-粘蛋白胰岛素微粒中,以海藻酸钠-粘蛋白 (3:1) 胰岛素微粒降血糖效果最好,口服 5 h 后能使血糖降低 70%。作者推测这可能是由于海藻酸钠和粘蛋白的协同作用保护了胰岛素或者是增强了胰岛素微粒的黏膜附着性从而增加在胃肠道中吸收所致。

也有人将几种材料混合使用,以达到较好的缓控释作用。如 Zhang 等^[11]用 SPG 膜乳化技术制备了粒径分布窄、形态圆整的海藻酸钠-壳聚糖微粒,以胰岛素作为模型,研究了药物包埋的方法,得到包封率高、免疫活性得保留的胰岛素海藻酸钠-壳聚糖微粒。在模拟胃肠道的体外释放实验中发现,该系统能保护胰岛素免受胃蛋白酶的消化,并实现持续释药。糖尿病大鼠体内实验结果表明,该胰岛素制剂口服给药能稳定控制血糖长达 8 h。

目前壳聚糖的修饰产物如 N-(2-羟基)丙基-3-甲基季铵盐壳聚糖 (HTCC) 等对口服胰岛素给药系统的研究有很大价值。Sonia 等^[12]使用三聚磷酸钠通过离子胶凝作用制备载胰岛素的 HTCC 微粒,并用 MTT 法研究壳聚糖衍生物微粒的细胞毒性,结果表明高浓度的 HTCC 对 Caco-2 细胞 (人肠上皮细

胞)无毒性。载胰岛素的 HTCC 微粒在 pH7.4 介质中 6 h 累积释放率达 100%。并且 ELISA 和圆二色性研究证明包裹的和释放的胰岛素生物活性完好,构象不变。作者推测壳聚糖季铵盐带大量正电荷,能穿过粘液层向内扩散,因此与黏膜组织有特殊的生物黏附性。另外 HTCC 微粒在肠道的 pH 值下仍带阳离子电荷,能使上皮细胞的紧密连接松弛,因而能增强肠内渗透。

1.2 胰岛素纳米粒制剂 可生物降解聚酯纳米粒口服给药可以促进胰岛素等蛋白质类药物胃肠道吸收^[13],该类制剂已引起了广泛的重视。然而,大量的研究表明,聚酯纳米粒具有较大的突释效应及疏水性,且纳米粒较低的生物粘附性限制了药物生物利用度的进一步提高^[14]。由于生物粘附性制剂可延长药物在吸收部位的停留时间,增加药物在吸收部位上皮组织黏液层中的浓度,且生物粘附与药物控释的结合将更有利于提高药物的生物利用度。据报道^[15],在聚羟己基甲基丙烯酸酯微球表面用生物粘附性材料包衣可得到具有多结构单元的生物粘附性制剂。Pimienta 等^[16]报道,泊洛沙姆或泊洛沙胺包衣的生物粘附性羟丙基甲基丙烯酸酯纳米粒和异己基氰基丙烯酸酯纳米粒,大鼠灌胃后,可以改善药物在回肠上皮黏液层中的分布,从而促进其吸收。为提高胰岛素口服给药生物利用度,潘研等^[17]以双乳化法制备了壳聚糖包衣胰岛素乳酸/羟基乙酸共聚物(PLGA)纳米粒,研究其对胰岛素胃肠道吸收的促进作用。结果表明包衣纳米粒粒度分布均匀,隐约可见层状结构,壳聚糖可改变粒子表面 Zeta 电位,提高包封率,降低突释;糖尿病大鼠灌服 10 μg/kg 包衣纳米粒,14~16 h 降血糖水平显著高于未包衣纳米粒($P < 0.05$),药理相对生物利用度从 10.3% 提高到 15.4%。可见以壳聚糖为包衣材料,制成生物粘附性包衣纳米粒可促进胰岛素胃肠道吸收。

1.3 胰岛素脂质体制剂 有效的胰岛素给药途径因为吸收部位快速的消除而受到限制,因此生物利用度低。目前,临床上使用的胰岛素在使用上给病人带来较大麻烦,而且不能有效模拟人体胰岛素释放及其活性。多肽类药物经黏膜给药可避免肝首过效应,与口服给药相比,不存在胃蛋白酶降解的问题^[18]而与注射给药相比,可减轻病人痛苦。Jain 等^[19]研究了包埋胰岛素的多室脂质体(MVLs),以壳聚糖和卡波姆为包衣材料。该蛋白质药物缓释给药系统(CS/P-MVLs)用于鼻腔和眼部给药。作者制备的载胰岛素的 MVLs 粒径在 26~34 μm,包封率为 58%~62%。然后将这些脂质体鼻腔给药于链脲霉素诱导的糖尿病大鼠,以未包衣的 MVLs 商

业脂质体和胰岛素溶液为对照,结果表明 CS-MVLs 在 48h 内能有效降低 35% 血糖,而未包衣的 MVLs 给药 12 h 就已经减少了 22%。作者又比较了壳聚糖和卡波姆两种包衣材料对胰岛素释放的影响,给药 8 h 后血糖水平分别降低 65% 和 55%。在两种给药途径的比较中,作者发现鼻腔给药更有利于血糖的控制,因为 MVLs 长期滞留于黏膜上,避免蛋白酶对胰岛素的降解。由于口腔中血管丰富,黏膜渗透性好,口腔给药方便,易被病人接受等特点,因此口腔给药也被认为是蛋白多肽类药物经黏膜吸收的给药部位。杨天智等^[20]用反相蒸发法制备了胰岛素柔性纳米脂质体,与普通胰岛素脂质体相比,其药理相对生物利用度和相对生物利用度均较高,经家兔口腔给药 10 h 后,血糖仍能得到较好控制,说明胰岛素柔性纳米脂质体具有持久的降血糖作用。胰岛素柔性纳米脂质体可成为经口腔黏膜转运蛋白多肽类药物的有效载体。

2 GLP-1 及其类似物

胰高血糖素样肽-1 (GLP-1) 在体内的半衰期仅 2 min 左右,主要是因为它在人体循环中被二肽基肽酶 IV 快速降解去除 N 端二肽所致,故外源 GLP-1 难以获得临床使用。因此科研人员根据该特点,对 GLP-1 进行修饰或改进,以延长 GLP-1 的半衰期。研究者主要从研究二肽基肽酶抑制剂、非多肽类 GLP-1 受体激动剂和通过序列改造并结合化学修饰研究多肽类的 GLP-1 受体长效激动剂着手。目前进入临床治疗的衍生物有艾塞那肽和利拉鲁肽。艾塞那肽是人工合成的 exendin-4,与 GLP-1 有 53% 的同源性,是 GLP-1 受体的有效激动剂。利拉鲁肽是酰化的 GLP-1 衍生物,半衰期延长,只需每天注射一次,用于降低 2 型糖尿病(T2DM)患者的 HbA_{1c} 水平、降低体重和改善 β 细胞功能。

2.1 GLP-1 及其类似物微球制剂 与胰岛素微球的制备过程相似,GLP-1 微球制剂亦常采用水介质复乳法制备,也常由于油水界面的存在而使药物发生聚集失活。将药物和某一物质形成络合物或复合物后包裹于材料中,或者对制备方法进行改良都有助于保持蛋白活性。Yin 等^[21]先用 PLGA 作载体材料,以 W/O/W 复乳法制备了 GLP-1 微球,结果发现该法制备的微球突释大(约 20%),同时 GLP-1 生物活性降低。研究人员又用改进的复乳法 S/O/O 法制备了缓释一个月的 GLP-1-锌复合物微球。GLP-1-锌复合物是利用金属阳离子的稳定技术提高 GLP-1 的稳定性。制备的微球 28 d 累积释放率从原来的 23% 增加到 63%。正常鼠和糖尿病大鼠体

内实验结果表明,金属阳离子的稳定技术(在油相中加入水不溶的酸性添加剂 $ZnCO_3$)结合 S/O/O 法制备的微球能有效保留药物活性,降低血糖,实现较好的血糖控制,为 II 型糖尿病的长效给药提供了有效的途径。

虽然消除了制备过程中影响 GLP-1 活性的因素,但是无法避免释放药物被二肽基肽酶(DPPIV)降解的可能。因此对 GLP-1 进行修饰或改进,以延长 GLP-1 的半衰期成为研究热点。早在 2000 年就已经有研究人员^[22]研究了抗 DPPIV 的 GLP-1 类似物, D-ala2-GLP-1。研究发现虽然 D-ala2-GLP-1 对 DPPIV 有抵抗性,但给药 4 h 内易被肾脏清除,因此作者以 PLGA 为载体,用相分离法制备载 D-ala2-GLP-1 的微球。结果表明,无论在正常的 CD1 还是糖尿病鼠(db/db)中, D-ala2-GLP-1 微球口服给药 4 h 后分别降低血糖(41 ± 12)%和(27 ± 5)%, 给药 8 h 后分别降低(19 ± 11)%和(28 ± 4)%。糖尿病大鼠其基础血糖也得到有效控制。

Gao 等^[23]为了提高 GLP-1 的稳定性,增强对 DPPIV 的抵抗性,在 GLP-1N 端 His 上额外接一个 Lys, 得到新的 GLP-1 类似物, KGLP-1。体外结果证实 KGLP-1 与 GLP-1 受体结合具有与 GLP-1 相似的激动效应。更重要的是 KGLP-1 对 DPPIV 有明显的抵抗功能。腹腔注射后有抗高血糖、促进胰岛素释放的作用。作者进一步用溶剂萃取 S/O/O 法制备了载 KGLP-1 的 PLGA 微球,皮下单剂量给药后能持续释药 10 d,血浆中药物稳定性好,具有生物活性。

目前临床使用的 GLP-1 类似物有 1 日注射 2 次的艾塞那肽和一日注射 1 次的利拉鲁肽。它们的半衰期分别为 3.5~4 h 和 11~13 h^[24]。Hyun 等^[25]采用不同乙酰化程度的支链淀粉(PA),以 W/O/W 法制备了载艾塞那肽的 PA 微球。结果表明,乙酰化程度越高,微球包封率也提高。微球能持续释药 21 d,而且释放的艾塞那肽活性保持不变。作者又以 PLGA 微球为对照,比较了 2 种材料微球的释药特性,发现 PLGA 微球的突释大,持续释放药物快,而且体内给药存在炎症等不良反应。尽管 PAM 还未得到 FDA 批准,但凭借进一步研究有望成为蛋白多肽长效给药载体。

2.2 GLP-1 及其类似物纳米粒制剂 注射是艾塞那肽(exendin-4)目前临床应用的惟一给药途径,但由于半衰期短,需长期频繁注射,造成患者身体、心理和经济上的极大负担。口服艾塞那肽的最大优势在于避免注射,增加病人的治疗依从性。由于口服方便、安全,艾塞那肽口服剂型的研发是目前糖尿病药物的研究热点,其研究主要集中在分子修饰、使用

酶抑制剂和吸收促进剂、微粒等方面。其中,用生物降解高分子材料制备包封率、载药率和制剂稳定性较高的口服制剂,将是蛋白多肽非注射剂型研究的革命性突破,并会产生巨大的商业价值。Nguyen 等^[26]研究了 exendin-4 的口服制剂,即将 pH 敏感纳米粒包裹于肠溶衣胶囊。经同位素动态 CT 扫描,发现以放射性¹²³I 标记的 exedine-4 经过食管、胃和小肠吸收进入体循环。随着时间的推移,¹²³I-exedine-4 的代谢物排泄到膀胱。在体内溶出度实验中,发现肠溶衣胶囊在胃内保持完整性,而在小肠内肠溶衣完全溶解,随后包裹的药物释放出来。口服给予载 exedine-4 纳米粒的肠溶衣胶囊,5 h 后达到最大血药浓度。与皮下给药相比,其生物利用度为(14 ± 1.8)%。吸收的 exedine-4 能刺激胰岛素释放,降低血糖。

2.3 GLP-1 及其类似物脂质体制剂 Hanato 等^[27]制备了 GLP-1 的阳离子、中性和阴离子脂质体,发现阳离子脂质体的包封率(80%)高于中性(40%)和阴离子(28%)脂质体。鼠腹腔葡萄糖耐受试验表明,阳离子脂质体的降血糖效果显著高于 GLP-1 溶液,其促进胰岛素释放的量是 GLP-1 溶液的 1.7 倍。在药物代谢动力学研究中,静脉注射阳离子脂质体,发现其血清中的 GLP-1 浓度是静脉注射 GLP-1 溶液后的 3.6 倍。可见 GLP-1 阳离子脂质体能改善药物代谢动力学和促胰岛素活性,是糖尿病治疗中有潜力的剂型。

3 其他肽类药物

3.1 胰岛素样生长因子 IGF-1 胰岛素样生长因子-1(IGF-1)属于胰岛素样生长因子家族(IGFs,包括胰岛素、IGF-1 和 IGF-2)成员,因与胰岛素具有结构同源性(50% 序列相同),且在许多组织中具有类似于胰岛素的作用而得名。IGF-1 的生物学作用广泛,能模拟生长激素(GH)的某些生物学效应,如促进细胞增殖和分化,促进生长,抑制细胞凋亡;同时也具有类似胰岛素的代谢活性,如促合成代谢,降低血糖;还能调节免疫功能,参与神经再生,骨的生长、修复及重建,以及肿瘤的发生与发展过程。早在 2000 年, Singh 等^[28]采用复乳溶剂挥发法制备了载 IGF-1 的 PLG 微粒。经反相 HPLC、SDS 凝胶电泳和生物活性测定,证明包裹的多肽结构完整。所得微粒体内外释放时间分别为 28 d 和 14~18 d。该研究旨在考察不同载药量对微粒表征、体内外释放及其相关性和药代动力学的影响。虽然作者未说该制剂的用途,根据研究结果也可开发为治疗糖尿病的长效制剂。

另外,由于 IGF-1 生物学作用广泛,有文献报道

用于组织再生^[29]和骨骼再生^[30]的长效制剂。

4 结语

在针对糖尿病的治疗药物中,蛋白多肽类药物由于药效高、副作用低、不易蓄积中毒等优点而具有日趋重要的研究价值。随着可克服蛋白多肽类药物半衰期短、易失活等问题的制剂新技术的不断发展,该类药物将会在临床上得到更多的推广和应用。然而,到目前为止,制备蛋白多肽类药物缓控释制剂仍是药剂学工作者的一大挑战,其主要难点就在于如何确保该类药物的稳定性和如何更好的控制其体内释放。本文就近年来用于糖尿病治疗的蛋白多肽类药物缓控释新型制剂进行了综述,提示了在制备微粒时应根据药物的不同特征及不同的给药需求选择合适的剂型和药物稳定方法。随着研究人员对蛋白多肽药物的制剂新技术和新型给药系统研究的不断深入,将会有更多更好的肽类药物新制剂用以治疗和攻克糖尿病。

【参考文献】

- [1] Mei LT, Choong PFM, Dass CR. Recent developments in liposomes, microparticles and nanoparticles for protein and peptide drug delivery[J]. *Peptides*, 2010, 31(1):184.
- [2] Park W, Na K. Polyelectrolyte complex of chondroitin sulfate and peptide with lower pI value in poly(lactide-co-glycolide) microsphere for stability and controlled release[J]. *Colloids Surf. B Biointerfaces*, 2009, 72(2):193.
- [3] Duchêne D, Wouessidjewe D, Ponchel G. Cyclodextrins and carrier systems[J]. *J Control Release*, 1999, 62(1-2):263.
- [4] Challa R, Abuja A, Ali J, et al. Cyclodextrins in drug delivery: an updated review [J]. *AAPS PharmSciTech*, 2005, 6(2):E329.
- [5] Ungaro F, Villa Bianca R, Giovino C, et al. Insulin-loaded PLGA/cyclodextrin large porous particles with improved aerosolization properties: in vivo deposition and hypoglycaemic activity after delivery to rat lungs[J]. *J Control Release*, 2009, 135(1):25.
- [6] Agüeros M, Areses P, Campanero MA, et al. Bioadhesive properties and biodistribution of cyclodextrin-poly(anhydride) nanoparticles[J]. *Eur J Pharm. Sci*, 2009, 37(3-4):231.
- [7] Agüeros M, Zabaleta V, Espuelas S, et al. Increased oral bioavailability of paclitaxel by its encapsulation through complex formation with cyclodextrins in poly(anhydride) nanoparticles[J]. *J Control Release*, 2010, 145(1):2.
- [8] Sajeesh S, Sharma CP. Cyclodextrin-insulin complex encapsulated polymethacrylic acid based nanoparticles for oral insulin delivery[J]. *Int J Pharm*, 2006, 325(1-2):147.
- [9] Han YD, Tian HY, He P, et al. Insulin nanoparticle preparation and encapsulation into poly(lactic-co-glycolic acid) microspheres by using an anhydrous system[J]. *Int J Pharm*, 2009, 378(1-2):159.
- [10] Builders PF, Kunle OO, Okpaku LC, et al. Preparation and evaluation of mucinated sodium alginate microparticles for oral delivery of insulin [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2008, 70(3):777.
- [11] Zhang YL, Wei W, Lv PP, et al. Preparation and evaluation of alginate-chitosan microspheres for oral delivery of insulin [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2011, 77(1):11.
- [12] Sonia TA, Sharma CP. In vitro evaluation of N-(2-hydroxy) propyl-3-trimethyl ammonium chitosan for oral insulin delivery [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2011, 84(1):103.
- [13] Pan Y, Xu H, Zhao HY, et al. Study on preparation and oral efficacy of insulin-loaded poly(lactic-co-glycolic acid) nanoparticles [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2002, 37(7):374.
- [14] Marco W, Wim EH, Wim J. Protein instability in poly(lactic-co-glycolic acid) nanoparticles [J]. *Pharm Res*, 2000, 17(10):1159.
- [15] Lehr CM, Bouwstra JA, Kok W, et al. Effects of the mucoadhesive polymer polycarbophil on the intestinal absorption of a peptide drug in the rat [J]. *J Pharm Pharmacol*, 1992, 44(2):402.
- [16] Pimienta C, Chouinard F, Labib A, et al. Effects of various poloxamer coatings on in vitro adhesion of isohexylcyanoacrylate nanospheres to rat ileal segments under liquid flow [J]. *Int J Pharm*, 1992, 80(1):1.
- [17] Pan Y, Zhao HY, Xu H, et al. Effect of experimental parameters on the encapsulation of insulin-loaded poly(lactide-co-glycolide) nanoparticles prepared by a double emulsion method [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2002, 11(1):38.
- [18] Lee VH. Peptidase activities in absorptive mucosae [J]. *Biochem Soc*, 1989, 17(3):937.
- [19] Jain AK, Chalasani KB, Khar RK, et al. Muco-adhesive multivesicular liposomes as an effective carrier for transmucosal insulin delivery [J]. *J Drug Target*, 2007, 15(6):417.
- [20] 杨天智, 王向涛, 阎雪莹, 等. 胰岛素素性纳米脂质体的口腔给药研究 [J]. *药学报*, 2002, 37(11):885.
- [21] YIN DF, LU Y, ZHANG H, et al. Preparation of Glucagon-Like Peptide-1 Loaded PLGA Microspheres: Characterizations, Release Studies and Bioactivities in Vitro/in Vivo [J]. *Chem Pharm Bull*, 2008, 56(2):156.
- [22] Joseph J W, Kalitsky J, St-Pierre S, et al. Oral delivery of glucagon-like peptide-1 in modified polymer preparation normalizes basal glycaemia in diabetic bd/bd mice [J]. *Diabetologia*, 2000, 43(10):1319.
- [23] Gao ZH, Tang Y, Chen JQ, et al. A novel DPP-IV-resistant analog of glucagon-like peptide-1 (GLP-1): KGLP-1 alone or in combination with long-acting PLGA microspheres [J]. *Peptides*, 2009, 30(10):1874.
- [24] Sten Madsbad, Professor. Exenatide and liraglutide: different approaches to develop GLP-1 receptor agonists (incretin mimetics)-preclinical and clinical results. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2009, 23(4):463.
- [25] Yang HJ, Park IS, Na K. Biocompatible microspheres based on acetylated polysaccharide prepared from water-in-oil-in-water (W1/O/W2) double-emulsion method for delivery of type II diabetic drug (exenatide) [J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochem Eng Aspects*, 2009, 340(1-3):115.

表 1 制备 4-(3,4-二甲氧苄基)-2-三氟乙酰氨基正丁酸的影响因素水平表

水平	因素	
	溶剂	催化剂与反应物的投料比(mol/mol)
1	乙醇	0.30
2	冰醋酸	0.60
3	三氟乙酸	0.90

表 2 制备 4-(3,4-二甲氧苄基)-2-三氟乙酰氨基正丁酸的正交试验结果

序号	溶剂	催化剂与反应物的投料比	收率(%)
实验 1	1	1	41.17
实验 2	1	2	72.03
实验 3	1	3	67.21
实验 4	2	1	57.62
实验 5	2	2	88.40
实验 6	2	3	75.34
实验 7	3	1	55.01
实验 8	3	2	83.12
实验 9	3	3	70.14
均值 1 (%)	60.14	51.27	
均值 2 (%)	73.79	81.18	
均值 3 (%)	69.42	70.90	
极差 (%)	13.65	29.91	

表 3 4-(3,4-二甲氧苄基)-2-三氟乙酰氨基正丁酸制备的正交试验方差分析

因素	溶剂	催化剂与反应物的投料比	误差
自由度	2	2	18
SS	388.717	461.874	1 154.364
MS	194.359	230.937	64.131
F	3.030	3.601	

4 讨论

平行试验结果证实,三乙基硅烷作为催化剂,其与反应物比例为 4 : 1,温度为 55 ℃ 时,收率 61.7%; 10% Pd/C 作为催化活,冰醋酸作溶剂,常温常压下反应,收率 88.4%。而且因 10% Pd/C 催化

还原成本低、杂质少、易处理,优于三乙基硅烷,使其更加符合工业生产的要求。

10% Pd/C 作为催化剂的正交试验结果分析得,溶剂(因素 A)对反应的影响要小于 10% Pd/C 与反应物的投料比例的影响(因素 B)。增大 10% Pd/C 的比例,相应得到的化合物(4)收率较高,分析原因很有可能因为大量 10% Pd/C 更充分催化反应进行,但是过多的加大它的量则会导致副产物的比例增大,收率降低,后处理较为复杂。

最终根据试验结果,提出了最佳的反应条件,即以 10% Pd/C 作为催化剂,冰醋酸为溶剂,常温常压时,羰基还原反应比原工艺不但收率得到提高,而且成本低、杂质少、分离纯化操作简便,更易于四氢萘类化合物合成工艺的的放大研究。

【参考文献】

- [1] 周有骏,姚 斌,朱 驹. 具有抗真菌活性的 N-取代-2-氨基-1,2,3,4-四氢萘化合物及其盐类:中国,1817851A[P]. 20062102241.
 - [2] Paull KD, Zee-Cheng RK, Cheng CC. Some substituted naphthazarins as potential anticancer agents[J]. J Med Chem, 1976, 19(2):337.
 - [3] Hamdy NA, Gamal-Eldeen AM, Abdel-Aziz HA, et al. Modulation of carcinogen metabolizing enzymes by new fused heterocycles pendant to 5,6,7,8-tetrahydronaphthalene derivatives[J]. Eur J Med Chem, 2010, 45(2):463.
 - [4] Varella MH, de Mello FG, Linden R. Evidence for an antiapoptotic role of dopamine in developing retinal tissue[J]. J Neurochem, 1999, 73(2):485.
 - [5] Tang H, Zhou YJ, Li YW, et al. Design, synthesis and antifungal activities in vitro of novel tetralin compounds [J]. Chinese Chemical Letters, 2008, 19(3): 264.
 - [6] Norlander JE, Payne MJ, Njoroge FG, et al. A short enantioselective synthesis of 2-amino-6,7-dihydroxy-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene (ADTN) [J]. J Org Chem, 1985, 50, 3619.
- [收稿日期] 2011-01-20
[修回日期] 2011-09-29

(上接第 18 页)

- [26] Nguyen HN, Wey SP, Juang JH, et al. The glucose-lowering potential of exendin-4 orally delivered via a pH-sensitive nanoparticle vehicle and effects on subsequent insulin secretion in vivo [J]. Biomaterials, 2011, 32(10):2673.
- [27] Hanato J, Kuriyama K, et al. Liposomal formulations of glucagon-like peptide-1: Improved bioavailability and anti-diabetic effect [J]. Int J Pharm, 2009, 382(1-2):111.
- [28] Singh M, Shirley B, Bajwa K, et al. Controlled release of recombinant insulin-like growth factor from a novel formulation of poly-

- lactide-co-glycolide microparticles[J]. J Control Release, 2001, 70(1-2):21.
 - [29] Chen FM, Zhao YM, Wu H, et al. Enhancement of periodontal tissue regeneration by locally controlled delivery of insulin-like growth factor-I from dextran-co-gelatin microspheres[J]. J Control Release, 2006, 114(2):209.
 - [30] Champa Jayasuriya A, Kibbe S. Rapid biomineralization of chitosan microparticles to apply in bone regeneration[J]. J Mater Sci: Mater Med, 2010, 21(2):393.
- [收稿日期]2011-05-22
[修回日期]2011-12-15