

蛋白质、多肽类药物制剂的研究现状

李国栋¹, 王捷频²(1. 第二军医大学药学院药剂学教研室, 上海 200433; 2. 第四军医大学药物研究所, 西安 710003)

摘要:目的: 综述蛋白质、多肽类药物制剂的研究现状。方法: 依据国内外文献进行综述, 包括蛋白质、多肽类药物性能特点、已开发剂型及其制备方法、临床应用效果和发展前景内容。结果: 蛋白质、多肽类药物制剂的研究是目前蛋白质、多肽类药物发展的迫切要求, 但目前研究工作较少, 理论基础研究则更少。结论: 蛋白质、多肽类药物将成为 21 世纪的重要药品, 我们应该加强蛋白质、多肽类药物制剂的研究, 使其更适合于临床应用的要求。

关键词: 蛋白质; 多肽; 制剂

中图分类号: R944

文献标识码: A

文章编号: 1006-0111(2001)06-0344-03

随着生物技术的高速发展, 近年来有大批基因工程药品进入市场, 将成为 21 世纪的重要药品。基因工程药物大多属蛋白质及多肽类, 这类药物相对于一般的西药来说有其自身的特点, 为生物药剂学、制剂学带来一系列问题。这类药物的特殊性主要表现在: 稳定性较差, 诸多因素如温度、pH 值、辅料的应用等均会影响其稳定性; 在制剂过程中还需注意热原、微生物的污染; 由于相对分子量较大, 在血液中半衰期较短, 在体内易被酶解等特点, 因此需频繁给药。如用于抗病毒、抗肿瘤的 IFN- γ 的冻干粉针剂, 需连续使用 9mo 以上。长期用药存在许多不便, 注射给药也增加病人的痛苦。因此研究者从多方面进行了该类药物给药系统的设计, 主要目标是控、缓释制剂。

1 注射给药途径的制剂

目前使用的蛋白质、多肽类注射剂多采用冻干技术以提高药物的稳定性, 但不能解决频繁用药的问题, 要解决这个问题需引入控、缓释制剂的应用。

控释黄体激素释放激素(LHRH)微球注射剂是研究最深入、最成功的新制剂, 首次上市的控释多肽微球注射剂为 1986 年由法国 Ipsen 生物技术公司生产的 LHRH 类似物曲普瑞林(tryptorelin)微球注射剂。每注射一针, 可缓释药物达 1mo^[1]。美国 Genetech 公司研制的 IFN- γ 微囊制剂可缓释达 1mo^[2]。

关于这类药物制剂, 目前研究的方法主要有^[3]: 将多肽类药物微囊化, 使药物从微囊中缓慢释放出来; 将多肽包裹于脂质体中, 使多肽从脂质体中缓慢释放出来; 在注射液中加入高分子聚合物(如透明质酸)提高粘度, 延缓药物扩散速度等。其中研

究最多的是微粒递释系统。另外, 还有一些高新技术也正在应用于这方面的研究, 现分别介绍如下。

1.1 多肽微球、微囊注射剂

系指采用生物可降解聚合物, 特别是丙交酯-乙交酯共聚物(PLGA)为骨架材料, 包裹多肽, 蛋白质类药物制成的可注射微球剂。近年来研究较多的为复乳-液中干燥法(w/o/w-liquid drying process)。其工艺^[4]为: 将药物和一种天然高分子聚合物溶于水中成溶液或混悬液, 作为内水相; 油相为 PLA 或 PLGA 的二氯甲烷或醋酸乙酯溶液。在温度 40℃, 高速搅拌下将油相缓慢滴入上述水相中制成 W/O 初乳, 冰浴冷却至 10℃, 倒入 PVA 水溶液中, 经高速搅拌得到 W/O/W 复乳, 搅拌蒸去有机溶剂固化微球, 离心洗涤, 真空干燥后以⁶⁰Co 辐照灭菌。此法是目前制备多肽微球最常用的方法, 它具有工艺稳定, 设备简单等特点, 且据报道药物包裹率可达 100%^[7]。

在微球的制备中生物可降解聚合物是必不可少的骨架材料, 目前对它们的代谢、毒性的研究和这类材料的开发应用有待于进一步深入发展以更好地服务于医药工业。

1.2 长效脂质体

脂质体是由脂质双分子层形成的封闭小囊泡, 是一种定向药物载体, 具有缓释特性, 经淋巴吸收, 蓄积于肝、脑、肺、骨髓、淋巴结等组织(与免疫功能相关的组织)。它可改变所包裹药物在机体内的空间和时相分布, 显著减轻其毒副作用, 增加治疗效果。动物实验证明, 脂质体可提高 1L-2 对肿瘤的治疗; 使 V_{ss} 减少 13 倍, t_{1/2 β} 从(41 \pm 6.7)min 延长到(102 \pm 4.8)min。人体试验也证实 t_{1/2 β} 延长, 因此

可减少剂量,降低 $C_{m\max}$,从而减少毒性^[8]。

脂质体有许多优点,无毒,可生物降解;无或极低免疫原性,因此不会导致宿主产生变态反应与自身免疫反应;可静脉注射;原料易得等。由于其对药物的包裹作用,可防止许多活性物质的降解与变质,且延长了药物的释放,起到缓释作用,减少给药次数,方便临床使用。

长循环脂质体(LCL)是一类表面含有高分子物质的脂质体,是将亲水性大分子如聚乙二醇(PEG)及其衍生物等通过脂质锚镶嵌到脂质体膜上,在脂质体表面形成亲水层,从而降低了网状内皮系统的识别与吸收,延长了药物作用时间^[9]。

这里介绍一种用逆向蒸发法制备普通脂质体与长循环脂质体^[10]。普通脂质体:分别精密称取大豆磷脂、胆固醇(4:1)混合;长循环脂质体:分别精密称取大豆磷脂、胆固醇(4:1)及自制 PEG 衍生物混合。各溶于 $CHCl_3$ 溶液,加入 300mmol/L 枸橼酸-枸橼酸钠缓冲液(pH=4),经超声分散成 W/O 型乳剂,再经旋转蒸发除去乳剂中的有机溶媒形成均匀脂质体,过微孔滤膜($\phi=200\text{nm}$)得均匀粒径的脂质体。

2 口服给药制剂

口服给药是常用的一种用药途径,口服控、缓释制剂减少了用药次数,延长了有效血药浓度,使不良反应减少,是较理想的制剂,已有十多种类型。蛋白质、多肽类药物的控、缓释制剂较为多用的仍是制成微球、微囊。如用喷雾干燥法制备的壳聚糖微球用于多肽类鼻腔给药或口服给药,可提高药物的吸收^[5]。

口服结肠释药系统(OCDDS)^[6]也是近年来研究较多的给药方法。结肠的蛋白酶活性低于胃和小肠,pH 近中性,可减少蛋白质、多肽类药物的降解。结肠内容物缓慢的转运速度使药物在该处保留时间延长,有利于药物的吸收。OCDDS 采用特殊技术,将药物输送到结肠释放,发挥疗效。

3 其他给药途径制剂

3.1 埋植剂(implant)

埋于皮下的一空心微型细棒,仅一端封闭,腔内灌入药物与硅胶的混合物,药物通过硅胶基质开口处缓慢释放。美国《医师案头手册》(PDR)上记载了左旋-18 乙基炔诺酮的埋植剂—Norplant,药物可在体内按零级模式释药达 5 年^[7]。

3.2 鼻腔给药

鼻腔粘膜血管丰富,且有较大的表面积,作为药物吸收部位还能避免首过效应,具有起效快,生物利

用度高等特点。例如:促甲状腺释放激素放激素(TRH)静注剂量为 500 μg ,作用时间 90min;鼻腔给药剂量为 5mg,作用可持续 4h 以上^[11]。喷雾剂为其缓释剂型,但因生物利用度较低,有待进一步研究。

3.3 肺部给药

肺也是血流丰富的器官,表面积大,无首过效应。有动物实验表明,一些多肽药物经肺给药的生物利用度很高,可达 20%~50%^[3]。但并非所有的多肽类药物都适合这种给药方式,需逐一研究。粉雾剂是其缓释的主要剂型,目前还没有制剂上市。

4 特殊技术的应用

4.1 智能型给药系统(IDDS)

一种按信息自动调节药物释放量的给药系统。胰岛素智能型给药系统,它是按患者体内血糖浓度的高低自动调节胰岛素释放量,使该血糖水平始终保持在正常范围的给药系统,有以下两种类型^[12]。

4.1.1 将胰岛素与糖分子结合(最好为麦糖基胰岛素)再与刀豆蛋白(ConA)结合后包封于一个多孔的半透膜内,该膜可允许葡萄糖分子和胰岛素分子通过,ConA 不能,当血糖高出正常值,血中葡萄糖进入半透膜内,将胰岛素从结合部位换下来,游离胰岛素透过半透膜进入血液降低血糖水平。

4.1.2 将胰岛素用一复合膜包封,该复合膜的外侧含葡萄糖氧化酶,内侧为对 pH(葡萄糖醛酸)或 H_2O_2 敏感的高分子如 N,N-二甲氨基乙酯等。当血糖水平升高时葡萄糖氧化酶使之氧化成 H_2O_2 或生成葡萄糖醛酸使 pH 下降,改变了敏感高分子材料的亲水性,使之通透性变大,胰岛素的释放量增加。

4.2 毫微粒(nanoparticle)

毫微粒和毫微囊的总称。为固态胶体微粒,直径在 10nm~1000nm 之间,也称纳米粒。一般静注给药,近年来有口服和眼部给药的报道。制备纳米控释系统的载体材料都是高分子化合物,以合成的可生物降解的聚合物如聚氰基丙烯酸烷烃酯(PACA),聚丙交酯乙交酯(PLGA)等和天然的大分子体系如蛋白质、明胶等为主。在此介绍一种医药上最有应用前途的生物可降解聚合物聚氰基丙烯酸烷烃酯毫微球的制备方法—乳化聚合^[1]。

将不溶性单体于水中乳化,在水中 OH 离子自发诱导下,发生非离子型聚合,其速度取决于介质的 pH 值。为减慢反应速度,一般反应在 pH 小于 3.5 的酸性介质中进行。这种方法制备的毫微粒直径约 200nm 左右,升高介质 pH 值及 (下转第 349 页)

5 讨论

片剂含量测定和其累积释放度测定采用紫外分光光度法,经标准曲线($r = 0.9999$),回收率,精密度试验结果证明,本方法测定方法简单,实用,结果可靠。

本处方以 HPMC 为主,辅以 Carbopol 制成缓释片,经体外(pH5 磷酸盐缓冲液)试验结果,释药 2h 的释药规律性符合 Higuchi 方程,且由于 pH5 时,Carbopol 很少成盐,其溶解度与凝胶的形成比 HPMC 要小些,故本外方中主要以 HPMC K₄M 为主要阻滞剂。

正交设计结果,其极值大小顺序为 HPMC > Carbopol > MCC。进一步证明处方组成符合设计要求。

本处方中采用较多量的 HPMC 和 Carbopol,当

采用淀粉浆湿法制颗粒时,由于局部吸水形成凝胶颗粒,干燥后制得的片剂片面形成花斑,我们采用 70% 乙醇雾化湿法制粒,使干粉湿润均匀,局部未形成凝胶,制得的颗粒均匀,压制的片剂片面光洁。

参考文献:

- [1] 潘西海,赵 丽.口服生物制剂研究进展[J].中国药学杂志,1997,32(9):518.
- [2] 缪玉山,王 平,戈淑庭,等.氧氟沙星凝胶的制备与临床疗效[J].铁道医学,1999,27(6):379.
- [3] 刘继勇,马 萍,田景振.生物粘附制剂技术[J].山东中医杂志,2000,19(2):112.
- [4] 胡玉兰.氟康唑的药理性质和应用[J].中国医院药学杂志,1997,17(6):272.
- [5] 李 洁,王雪琴,孙丕显.紫外分光光度法测定氟康唑片的含量[J].河南医药信息,1998,6(6):32.

收稿日期:2001-07-03

(上接第 345 页)

稳定剂浓度也可使粒径小于 30nm。初生态的微粒很软且易聚集成团,所以在介质中加入稳定剂是十分重要的。常用稳定剂有:吐温(tween)类、葡聚糖(dextran)类和泊洛沙姆(poloxamer)类,其对粒径有较大影响。

4.3 纳米技术

纳米控释系统有许多优越性:可缓释药物延长作用时间,减少用药次数,从而减轻不良反应;提高药物稳定性;起到靶向作用等,能够克服多肽类药物的缺点,并可使该类药物口服有效。如报道的用羧基丙烯酸酯包裹胰岛素(PACA 胰岛素)的纳米颗粒用于糖尿病动物模型,口服 1 次可维持 1~3wk 的降血糖效果^[13]。

Gautier 等制备的聚氰基丙烯酸异己酯包裹生长激素释放因子(GRF)的纳米粒可缓慢释放 GRF,使其稳定血浆水平能够维持近 24h,而游离的 GRF 注射后 100min 便几乎检测不到^[14]。

5 小结

以上叙述了目前国内外涉及到的蛋白质,多肽类药物控、缓释制剂的研究现状,有些方案并不成熟,仍存在如原料、技术等方面的问题,需与实验方法相结合;有些方案正处于研究阶段,有待于在实践中不断改进与完善。

参考文献:

- [1] 陈庆华.高新技术在药物新制剂开发与研究中的应用[J].中国药学杂志,1997,32(11):681.

- [2] Cleland JL, Yang J. In vitro release of bioactive rhIFN- from PLGA microspheres. *Proc [J]. Int Symp Control Rel Bioact Mater*, 1995, 22: 518.
- [3] 方宏清.多肽类药物制剂研究现状[J].药学进展,1998,22(1):16.
- [4] 瞿 文,陈庆华,赵瑞钦,等.丙氨瑞林生物可降解缓释微球注射剂的研究[J].中国医药工业杂志,2000,31(1):14.
- [5] [英]/He P. 喷雾干燥法制备的壳聚糖微球[J].国外医学,药学分册.2000,27(3):187.
- [6] 陶 涛.口服结肠释药系统[J].中国医药工业杂志,1999,30(8):378.
- [7] 陈庆华,瞿 文.多肽、蛋白质类药物缓释剂型的研究进展[J].中国药学杂志,2000,35(3):147.
- [8] Anderson PM, Sorenson MA. Effects of rout and formulation on clinical pharmacokinetics of interleukin- 2[J]. *Clin Pharmacokinet*, 1994, 27(1):19.
- [9] Woodle MC, Lasic DD. Silencally siablized liposomes[J]. *Biochim Biophys Acta*. 1992, 1113: 171.
- [10] 徐乃玉.自制长循环合成材料的溶血性及用其包衣后脂质体的稳定性研究[J].苏州医学院学报.1999,19(11):1161.
- [11] 曾衍霖.蛋白质及多肽类药物的药剂学进展[J].中国新药杂志,1997,6(1):13.
- [12] 侯惠民,王 浩.现代药物制剂中的高新技术[J].中国药学杂志,1997,32(11):677.
- [13] Damge C, Hillaire- Buys D, Puech R, et al, Effects of orally administered insulin nanocapsules in normal and diabetic dogs[J]. *Diab Nutr Metab*, 1995, 8: 3.
- [14] Gautier JC, G rangier JL, Barbier A, et al. Biodegradable nanoparticles for subcutaneous adm in istiation of growth hom one releasing factor(hGRF)[J]. *J Control Rel*, 1992, 20: 671.

收稿日期:2001-06-04