

长春新碱新型给药系统的研究进展

王奇巍, 杨国红*, 林梦感, 朱文君, 杨义芳

(上海医药工业研究院 中药研究室, 上海 200040)

摘要: 长春新碱是治疗急性淋巴细胞白血病、何杰金及非何杰金淋巴瘤等肿瘤疾病的重要抗癌药物, 但具有较大的神经系统毒性和局部刺激性, 为降低其不良反应和提高药物生物利用度, 目前研究了许多新型给药系统。综述了近 10 年来有关长春新碱新型给药系统的研究进展。

关键词: 长春新碱; 新型给药系统; 抗肿瘤

中图分类号: R283.6

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2010)01-0154-03

Advances in studies on new type drug delivery system of vincristine

WANG Qiwei, YANG Guohong, LIN Menggan, ZHU Wenjun, YANG Yifang

(Department of Chinese Materia Medica, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 200040, China)

Key words: vincristine; new type drug delivery system; antitumor

长春新碱(vincristine, VCR)是从长春花叶中提取出来的具有强抗肿瘤活性的二聚吲哚类生物碱, 自 1962 年问世以来, 一直是重要的一线抗癌药物^[1]。VCR 通过作用于肿瘤细胞微管蛋白而干扰肿瘤细胞代谢, 临床上可用于治疗急性淋巴细胞白血病、何杰金及非何杰金淋巴瘤, 也用于乳腺癌、支气管肺癌、软组织肉瘤、脑瘤及神经母细胞瘤等。但 VCR 的神经毒性以及其不良反应如骨髓抑制、白细胞减少、贫血等限制了其在临床上的使用^[2]。近年来人们进行了一系列针对降低 VCR 不良反应、增强药物生物利用度的新型给药系统(drug delivery system, DDS)的研究。本文针对 VCR 新型给药系统的研究查找了近 10 年来的相关文献, 并对此进行综述。

1 脂质体

赵妍等^[3-5]采用主动载药方法制备了 VCR 脂质体。实验采用 pH 梯度法, 以氢化大豆卵磷脂(HSPC2Chol, 2B1)为脂质体膜成分, 60℃为孵化温度制备了 VCR 脂质体。以阳离子交换树脂分离脂质体和游离药物, 采用 RP2 HPLC 测定脂质体的包封率, 结果均在 85% 以上, 明显优于被动载药法制得的脂质体的包封率。实验还考察了药脂比、包衣材料、pH 调节剂对包封率的影响, 最终确定最优条件为药脂比 1B10, 包衣材料中加入长循环辅料聚乙二醇单甲醚 2000 胆固醇琥珀酸酯(PEG 2000CHS), 以 Na₂HPO₄ 为 pH 调节剂。另外, 小鼠腹腔肿瘤抑制药效学实验表明, VCR 溶液组的抑瘤率为 41.5%、VCR 脂质体组的抑瘤率为 56.0%、VCR 长循环脂质体组的抑瘤率为 64.1%。

张立等^[6]采用薄膜蒸发超声分散法制备 VCR 脂质体, 并用 PDP2PEG 2000DSPE 对脂质体膜进行修饰。应用激

光电位粒度仪, 以去离子水为分散介质测定样品的体积平均粒径, 结果 VCR 脂质体的体积平均粒径大约 150 nm。以高效液相色谱法测得包封率为 40%。

陈彤等^[7,8]采用 pH 梯度法合并逆相蒸发制备同时包结 VCR 和盐酸米托蒽醌的复方脂质体, 用 Sephadex G250 葡聚糖凝胶柱分离, HPLC 测定包封率, 所制备复方脂质体 VCR 的包封率为 95.77%。体外释放结果显示复方脂质体中 VCR 的 $t_{1/2}$ 为 6.82 h, 对照溶液中 VCR 的 $t_{1/2}$ 为 1.70 h。小鼠体内药动学结果表明, 复方脂质体在血浆中 VCR 的 AUC 是对照溶液的 1.70 倍, $t_{1/2}(K_e)$ 为对照溶液的 1.14 倍。

于滨^[9]对长循环 VCR 脂质体进行了研究, 采用 VCR 与油酸(OA)的复合物, 以聚乙二醇2-硬脂酰基磷脂酰乙醇胺(PEG2DSPE)为保护剂制备长循环脂质体, 其包封率可达 97.8%。静脉注射后, 长循环脂质体显著提高了 VCR 的抗癌效能, 同时显著降低了其急性毒性。

Tokudome 等^[10]采用棕榈酰葡萄糖醛酸苷(PGlcUA)修饰 VCR 脂质体, 从而达到靶向长循环的效果, 降低了 VCR 的急性毒性, 有效抑制荷瘤小鼠的肿瘤生长, 延长荷瘤小鼠的存活时间, PGlcUA 修饰 VCR 脂质体对荷瘤小鼠的完全治愈率达 33%。

Johnston 等^[11]的研究表明, 提高脂质体的药脂比(D/L)可以降低药物的释放率。以 HSPC2Chol 为脂质体膜成分制得的 VCR 脂质体进行体内释放度试验, D/L 为 0.025 时, $t_{1/2}$ = 6.1 h, D/L 为 0.6 时, $t_{1/2}$ = 117 h。但是 D/L 的变化不能影响脂质体在体内的循环时间, 实验以 MX21 人类乳房肿

¹ 收稿日期: 200906218

基金项目: 国家/重大新药创制科技重大专项资助(2009ZX09302007)

作者简介: 王奇巍(1984), 男, 硕士研究生, 研究方向为天然药物活性成分与制剂研究。

Tel: 13671848136 E-mail: aaronwang84@gmail.com.

* 通讯作者 杨国红 Tel: (021)62479808217 E-mail: yangguohong2001@yahoo.com.cn

瘤模型考察了药物释放率与抗肿瘤活性之间的关系。当 D/L 从 0.025 增加到 0.1 时($t_{1/2} = 6.1 \sim 15.6$ h), VCR 脂质体抗肿瘤活性逐渐增强, 但 D/L = 0.6 时($t_{1/2} = 117$ h), 抗肿瘤活性反而下降。实验证明可以通过改变 D/L 来达到治疗上最佳的药物释放率。Johnston 等^[12] 又采用二氢鞘氨醇(DHSM)替代了常用于制备脂质体的卵磷脂(ESM)构成新的 DHSM2Chol 复合物。在体内外药物释放实验中, DHSM2Chol VCR 纳米脂质体的 $t_{1/2}$ 是 ESM2Chol VCR 纳米脂质体的 3 倍; 而且 DHSM2Chol 纳米脂质体在体内的半数清除时间($T_{c1/2}$) 为 6 h, 而 ESM2Chol 纳米脂质体的 $T_{c1/2}$ 为 3.8 h。

Webb 等^[13] 以聚乙二醇2神经酰胺(PEG2CER)修饰脂质体, 其在体内循环时间明显长于 EPG2DSPE 修饰的脂质体, 而且泄漏率低。实验还证明了神经酰胺酰基链越长, 脂质体在体内循环时间越长, 血浆中 VCR 浓度越高。

Liang 等^[14] 采用硫酸铵梯度法制备了抗耐药性的隐性 VCR 脂质体, 其包封率在 90% 以上。实验还考察了隐性 VCR 脂质体在小鼠体内的药动学相应参数, $t_{1/2} = (15.26 \pm 5.04)$ h, AUC_{0-24h} 与 C_{max} 均高于 VCR 溶液对照组, 总体清除率为 (0.17 ± 0.03) L/h, 低于 VCR 溶液对照组 (4.92 ± 1.02) L/h; 与 VCR 溶液相比, 注射隐性 VCR 脂质体可以使小鼠体内平均血药浓度明显增加。

Zhigaltsev 等^[15] 研究了长春碱、VCR、长春瑞滨 3 种脂质体的差异, 在体内外实验中, 长春碱、长春瑞滨的释放速度要比 VCR 的速度快, 这与药物的亲油性有关, 药物疏水性越强, 释放越快。而且, 当运用离子载体机制装载药物, 提高 D/L 可以明显提高药物的保留率, 但药物保留率不依赖于最初的 D/L。

2 传递体

卢懿等^[16-18] 采用薄膜超声法以大豆卵磷脂、去氧胆酸钠、维生素 E 制备传递体, 并且优化处方工艺: 大豆卵磷脂2去氧胆酸钠为 70B20, 载体2VCR 为 45B10, pH 7.3, 水合 30 min, 最终所得传递体其包封率为 90%, 24 h 累积透皮吸收率为 63.8%。另外, 实验还比较了含不同表面活性剂的载长春新碱传递体(VCR2T)和载长春新碱壳聚糖纳米粒(VCR2CSNPs)的体外透皮效果。结果含表面活性剂 Brij78 的 VCR2T 为最佳的 VCR 透皮给药系统; 另外, 采用 HPLC 法测定 VCR 在大鼠体内的药动学及组织分布, 以 VCR 注射液为对照, VCR2T 使 VCR 在血液中滞留时间延长了 12 倍, 大鼠淋巴中靶向指数增加了 2.75 倍, 并且具有更好的抑瘤效果。

3 载药红细胞

吴江等^[19,20] 采用改良低渗预膨胀法制备 VCR 载体红细胞, 使预膨胀红细胞与 VCR 的 0.6% NaCl 水溶液作用后, 单位数量(1×10^9 mL)红细胞载药量达 49.59 Lg。红细胞总载药率为 $(61.42 \pm 3.69)\%$, 载体红细胞回收率为 $(90.61 \pm 4.95)\%$, 载体红细胞药物释放缓慢, 4 h 连续释放率 $(11.35 \pm 1.65)\%$, 可稳定贮存 5 d。另外还有实验表明 VCR 载体红细胞可明显抑制 K562 细胞增殖并促其凋亡, 且

该作用随剂量增高而加强。与载体红细胞混合培养 24 h 后, S+ G₂/M 期 K562 细胞明显增多, G₀/G₁ 期细胞减少。

施莹等^[21] 分别给荷瘤小鼠注射 VCR 和 VCR 载药红细胞, 结果发现 VCR $t_{1/2} = 1.53$ h, 而 VCR 载药红细胞 $t_{1/2} = 4.1$ h, 且在肝脏及肿瘤中的浓度和稳定性均高于游离药物, 增强了药物向肝脏及肿瘤的靶向聚集。

王莉莉等^[22] 在红细胞载药基础上研究了在 VCR 中加入磁流体对系统血液免疫功能的影响。结果 VCR(0.2 g/mL)和纳米级 Fe₃O₄ 磁流体对血细胞的免疫功能都没有不良影响, 甚至磁流体还可以提高血液免疫反应中白细胞的免疫功能, 为红细胞包载磁流体和抗癌药物治疗肿瘤提供实验依据。

4 微球

陈红丽等^[23,24] 采用 W/O/O 溶剂挥发法制备 VCR 聚乳酸2羟基乙酸(PLGA)微球, 并且证明在微球制备过程中添加碳酸锌可明显增加微球中药物的稳定性, 36 d 的体外释放测定结果显示, 添加碳酸锌的微球累积释药量均达到 70% 以上, 而未添加碳酸锌的微球释药量仅为 $(54.2 \pm 1.1)\%$ 。实验又采用二次冻干法制备载 VCR 微球的胶原2壳聚糖药膜, 该药膜可明显减少药物突释, 延缓药物释放; 体外释放实验表明, 微球突释率为 $(27.2 \pm 1.2)\%$, 而胶原药膜的突释率为 $(20.4 \pm 1.9)\%$, 胶原与壳聚糖比例为 9B1、4B1、3B2 的药膜突释率分别为 $(20.2 \pm 2.1)\%$ 、 $(18.0 \pm 1.1)\%$ 、 $(16.3 \pm 1.8)\%$ 。陈汉等^[25] 对载 VCR 微球的胶原2壳聚糖药膜的稳定性进行研究, 该药膜在 40 °C 条件下放置 3 个月, 药物质量分数下降到 $(97.9 \pm 0.1)\%$, 而高湿度或光照环境下放置 10 d 药物质量分数下降到 $(91.4 \pm 0.3)\%$ 和 $(91.2 \pm 0.4)\%$ 。

孙勇等^[26,27] 采用减压干燥法制得 VCR 微球, 与 7% 的胶原溶胀液混合制得 VCR 控释药膜, 并且考察药膜在荷瘤小鼠体内外对 K562 细胞的抑制作用, 结果表明 VCR 控释药膜在体内外均显著抑制肿瘤细胞的生长, 增加 SOD 活性, 并可诱导肿瘤细胞凋亡的发生, 且毒性较静脉给药明显降低。

5 微乳

Wang 等^[28] 采用 PEG2类脂、Chol 为表面活性剂, 油酸维生素 E 溶液和 VCR 为油相制备 VCR 微乳(M2VCR)。该微乳在 7 °C 避光保存 1 年后, 其平均直径、载药率从 (138.1 ± 1.2) nm、 $(94.6 \pm 4.7)\%$ 变为 (127.1 ± 2.4) nm、 $(91.3 \pm 4.8)\%$ 。在荷瘤小鼠 C57BL/6 体内的药动学参数表明, M2VCR 的血清 AUC 要明显高于 VCR 单体溶液(I2VCR); 在心脏、脾脏、肝脏中, M2VCR 的 $AUC_{0-0.0212h}$ 要明显小于 I2VCR 的, 而在肾脏中 M2VCR 的 $AUC_{0.08-12h}$ 要高于 I2VCR 的; 而肿瘤部位 M2VCR 的 $AUC_{0.08-12h}$ 要高于 I2VCR 的, 证明 M2VCR 是很好的肿瘤靶向给药系统。

6 胶束

林宏英等^[29] 利用聚乙二醇衍生化磷脂酰乙醇胺(PEG2PE)聚合物胶束作为载体制备了包载 VCR 的 PEG2PE 胶束(VCR 胶束), 所得 VCR 胶束呈不规则的球状结构, 粒度分布窄而均一, 平均粒径在 (11.1 ± 0.1) nm, 当 VCR 与 PEG2

PE 的物质的量比在 1B2~1B10 内, 包载量均大于 95%; 体外释放度和耐稀释试验结果表明, VCR 胶束在 HBS 和血清 (pH 7.0) 两种释放介质中稳定, 释放符合一级动力学释药模型。体外细胞毒试验表明, VCR 胶束能显著提高 VCR 对 MCF27 细胞生长的抑制作用。

7 结语

新型给药系统无疑是解决 VCR 不良反应大, 生物利用度低的最好方法, 目前 VCR 脂质体已经进入了临床研究, 与常规 VCR 注射剂相比, VCR 脂质体毒性较低、体内分布时间更长并且组织浓度也有所提高, 但是仍然需要密切关注其临床耐受性及药物累积毒性。而如何更好地利用这些新型给药系统使 VCR 达到更加精确的靶向治疗, 进一步降低其不良反应, 延长其作用时间, 将是 VCR 新型给药系统继续研究的方向。

参考文献:

- [1] 周际昌. 抗癌药物的临床应用 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2001.
- [2] Gidding C E M, Kellie S J, Kamps W A, et al. Vincristine revisited [J]. Crit Rev Oncol Hematol, 1999, 29: 267-287.
- [3] 赵研, 于彬, 邓意辉, 等. 主动载药法制备硫酸长春新碱脂质体及其包封率的测定 [J]. 中国药学杂志, 2005, 40 (20): 1559-1561.
- [4] 赵研, 邓意辉, 肖利颖, 等. 影响主动载药法制备硫酸长春新碱脂质体包封率的因素 [J]. 中国药学杂志, 2005, 40 (22): 1717-1720.
- [5] 赵妍, 邓意辉, 孟胜男, 等. 硫酸长春新碱脂质体的释放度和药效学研究 [J]. 广东药学院学报, 2007, 23 (1): 25-27.
- [6] 张立, 何凤田, 高会广, 等. PDP2PEG 2000DSPE 修饰的长春新碱脂质体的制备及其包封率测定 [J]. 实用预防医学, 2006, 13 (3): 480-482.
- [7] 陈彤, 侯世祥, 王永炎, 等. pH 梯度法制备抗癌复方硫酸长春新碱脂质体 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32 (8): 670-681.
- [8] 陈丹, 侯世祥, 王永炎, 等. 抗癌复方硫酸长春新碱脂质体的体外释药特性及小鼠体内的组织分布 [J]. 药学报, 2006, 41 (12): 1170-1175.
- [9] 于滨. 长循环长春新碱脂质体抗癌作用的研究 [J]. 沈阳医学院学报, 2006, 8 (2): 96-97.
- [10] Tokudome Y, Oku N, Doi K, et al. Antitumor activity of vincristine encapsulated in glucuronide-modified long-circulating liposomes in mice bearing Meth A sarcoma [J]. Biochim Biophys Acta, 1996, 1279 (1): 70-74.
- [11] Johnston M J, Semple S C, Klimuk S K, et al. Therapeutically optimized rates of drug release can be achieved by varying the drug to lipid ratio in liposomal vincristine formulations [J]. Biochim Biophys Acta, 2006, 1758 (1): 52-64.

- [12] Johnston M J, Semple S C, Klimuk S K, et al. Characterization of the drug retention and pharmacokinetic properties of liposomal nanoparticles containing dihydrophosphorylcholine [J]. Biochim Biophys Acta, 2007, 1768 (5): 1122-1127.
- [13] Webb M S, Saxon D, Wong F M, et al. Comparison of different hydrophobic anchors conjugated to poly (ethylene glycol): effects on the pharmacokinetics of liposomal vincristine [J]. Biochim Biophys Acta, 1998, 1372 (2): 272-282.
- [14] Liang G W, Lu W L, Wu J W, et al. Preparation of antitumor stealthy liposomes by incorporating vincristine with quinacrine and the pharmacokinetics in Sprague-Dawley rats [J]. J Chin Pharm Sci, 2007, (16): 1052-1111.
- [15] Zhigaltsev I V, Maurer N, Akhong Q F, et al. Liposome-encapsulated vincristine, vinblastine and vinorelbine: a comparative study of drug loading and retention [J]. J Controlled Release, 2005, 104 (1): 103-111.
- [16] 卢懿, 侯世祥, 陈彤, 等. 硫酸长春新碱传递体的制备及其离子透皮研究 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30 (12): 900-903.
- [17] 卢懿, 侯世祥, 张良珂, 等. 透皮淋巴靶向长春新碱传递体 [J]. 药学报, 2007, 42 (10): 1092-1101.
- [18] 卢懿, 侯世祥, 李晔, 等. 长春新碱传递体对荷 Burkitts 淋巴瘤裸鼠的抑瘤活性评价 [J]. 中国药理学杂志, 2008, 43 (12): 910-913.
- [19] 吴江, 钱宝华, 王卓, 等. 长春新碱载药红细胞制备及其生物学特性研究 [J]. 第二军医大学学报, 2005, 26 (5): 551-554.
- [20] 吴江, 钱宝华, 刘书逊, 等. 长春新碱载药红细胞的体外抗肿瘤作用 [J]. 解放军医学杂志, 2005, 30 (7): 593-595.
- [21] 施莹, 钱宝华, 郭峰, 等. 长春新碱载药红细胞体内代谢分布的初步研究 [J]. 临床血液学杂志, 2008, 21 (8): 412-414.
- [22] 王莉莉, 钱宝华, 郭峰, 等. 磁流体与长春新碱对系统血液免疫功能影响的实验研究 [J]. 深圳中西医结合杂志, 2007, 17 (3): 1292-1321.
- [23] 陈红丽, 陈汉, 李学敏, 等. 硫酸长春新碱 PLGA 微球的制备及其性质 [J]. 中国医学科学院学报, 2007, 29 (3): 342-346.
- [24] 陈红丽, 陈汉, 莫丽都尔, 等. 胶原壳聚糖载硫酸长春新碱微球缓释药膜的研究 [J]. 国际生物医学工程杂志, 2006, 29 (4): 192-196.
- [25] 陈汉, 陈红丽, 莫丽都尔, 等. 硫酸长春新碱缓释药膜的制备及稳定性初步研究 [J]. 生物医学工程与临床, 2007, 11 (5): 342-343.
- [26] 孙勇, 周海英, 刘玲蓉, 等. 抗肿瘤药物长春新碱控制释放剂型的研究 [J]. 生物医学工程学报, 1999, 16: 672-681.
- [27] 孙勇, 周海英, 张其清. 硫酸长春新碱控释膜药理学实验研究 [J]. 中国药房, 2000, 11 (2): 592-601.
- [28] Junping W, Takayama K, Nagai T, et al. Pharmacokinetics and antitumor effects of vincristine carried by microemulsions composed of PEG lipid, oleic acid, vitamin E and cholesterol [J]. Int J Pharm, 2003, 251: 132-141.
- [29] 林宏英, 陆晓燕, 唐宁, 等. 长春新碱 PEG200 胶束的制备及其对乳腺癌细胞生长的抑制 [J]. 生物化学与生物物理进展, 2006, 33 (8): 762-774.

白木香结香机制研究进展及其防御反应诱导结香假说

张争¹, 杨云^{2,3}, 魏建和^{1*}, 孟慧^{2,3}, 隋春¹, 陈怀琼¹

(1 中国医学科学院北京协和医学院 药用植物研究所, 北京 100193; 2 中国医学科学院北京协和医学院 药用植物研究所海南分所, 海南 万宁 571533; 3 海南省南药资源保护与开发重点实验室, 海南 万宁 571533)

摘要: 白木香是我国生产名贵芳香类药材沉香的唯一植物来源, 健康的树体不能产生沉香类物质, 必须受到真菌侵染或物理、化学伤害后才能够产生。目前有真菌侵染、物理伤害、化学伤害及激发子诱导白木香结香的研究报

¹ 收稿日期: 20090621

基金项目: 国家科技支撑计划项目 (2007BAI27B01); 新世纪优秀人才支持计划项目 (2008); 濒危药材繁育国家工程实验室项目

作者简介: 张争 (1979), 男, 助研, 博士, 主要从事药用植物次生代谢分子机制研究。E-mail: zhangzheng321@126.com

* 通讯作者 魏建和 Tel: (010)62818841 E-mail: wjianh@263.net