

超声波介导的药物转运系统

张启祥(浙江省建德市第一人民医院, 浙江 建德 311600)

摘要: 目的 了解超声波介导的药物靶向转运的研究情况。方法 通过查阅和分析近年来国外超声波介导的药物转运文献。结果 在超声波的作用下, 药物能在体内特定部位释放药物, 提高药物的局部浓度, 以及治疗基因在细胞内的表达, 亦增加药物的经皮渗透量。结论 超声波具有良好的促进药物经皮吸收和靶向转运作用, 具有一定的研究和应用前景。

关键词: 超声波; 靶向药物转运; 经皮渗透

中图分类号: R9-39

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2009)10-0814-05

Ultrasonic-mediated Drug Delivery System

ZHANG Qixiang(*Jiande County First People's Hospital, Jiande 311600, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To introduce the update of ultrasonic-mediated drug delivery system. **METHODS** The relevant publications released overseas in recent years were referred and analyzed. **RESULTS** Ultrasonic can improve the transdermal drug

作者简介: 张启祥, 男, 主管药师

Tel: (0571)64796645

E-mail: zqx8292@163.com

delivery, induce targeted drug release *in vivo* and enhance local gene expression. **CONCLUSION** Ultrasonic has been demonstrated and it is a useful approach to facilitate both the transdermal drug delivery and the drug targeting.

KEY WORDS: Ultrasonic-mediated; targeted drug delivery; transdermal drug delivery

超声波属于声音的类别之一,是物体机械振动状态(或能量)的传播形式。当声波的振动频率超过20 kHz,超出了人耳听觉的上限(20 kHz),人们将这种听不见的声波叫做超声波。超声波在临床的应用已有近百年历史。1922年,德国出现了首例超声波治疗的发明专利;1939年就有了有关超声波治疗取得临床效果的文献报道。在超声波的作用下,弹性介质在一定距离内沿直线传播具有良好的束射性和方向性,因此超声波能够很好地作用于生物分子或细胞,而且超声波很少被水、肌肉或其他组织吸收,可以将能量无损伤、无痛地传送到局部部位。因此近些年来,陆续出现了超声波介导药物体内转运的研究报道,特别靶向给药、基因输送和促进药物经皮吸收领域的研究。现就超声波介导的药物转运系统作一综述。

1 超声波对药物转运的靶向作用

1.1 对药物载体的影响

1.1.1 脂质体 脂质体由于其类脂膜,可以隔离亲水性药物,这样就会阻碍药物的释放。在理论上讲,脂质体内没有气泡,对声波并不敏感,可以在超声波空化效应的作用下,切开类脂膜,若有气泡的环境里,超声波的空化效应会更加明显。采用卵磷脂、磷脂酰甘油、磷脂酰乙醇胺、胆固醇等材料采用脱水/再水化技术制备的脂质体具有声学反射性,称为回声脂质体(echogenic liposomes),并可以用来作为一种新型的超声造影剂;也可以作为一种非常有效的对超声波敏感的药物载体,释放出包封的药物一些药物如DNA或RNA附着在脂质体表面上,随着超声波的空化效应脂质体表面破裂,使得药物释放,这种方法已被用于心血管疾病、中风和肿瘤治疗的研究^[1-2]。

超声波具有致热作用,制备阿霉素低温度敏感性脂质体和非敏感性脂质体,静脉注射至实验小鼠体内,采用高强度脉冲聚焦超声波[热剂量 $42^{\circ}\text{C}\cdot(2\text{ min})^{-1}$]照射肿瘤部位,结果超声波组药物在靶部位释放50%,而对照组并没有发现药物的释放^[3]。

1.1.2 纳米粒 通过将聚环氧乙烷或聚环氧丙烷与药物交联,制得纳米粒,有的加入阳离子稳定剂

如聚γ丙啶或聚赖氨酸,这种纳米乳、纳米粒技术在药物的靶向和缓释中起很重要的作用,如果将这种载药微粒(阿霉素)注射至肿瘤部位,通过超声波的作用,产生空化效应,药物易于在照射部位释放,使得抗肿瘤药物被吸收至靶细胞^[4]。

1.1.3 胶束 胶束(micelles)是由亲油基(向内),亲水基(向外)组成。由高分子材料制备的胶束比低分子材料胶束要稳定得多。目前使用的多为环氧乙烷-环氧丙烷-环氧乙烷的共聚材料。体外研究表明,载阿霉素Pluronic® P105 胶束在超声波(20, 40, 70 kHz)的辐射下,阿霉素的释放明显增加,当然与超声波的强度有很大的关系,同时实验发现停止超声波辐射,药物又重新被包裹,这对抗肿瘤药物减少周围环境其他组织细胞的影响有很大的帮助。促进药物从胶束的释放的可能机制是超声波的空化效应,与超声波的频率有关,超声波频率低,其阈值亦低^[5]。

1.1.4 超声微泡剂 大都为内含气体的微气泡,其外壳的成分可为人体白蛋白、脂类物质、棕榈酸和聚合物。通过改变微泡的外壳组成,将药物整合于微泡中,在超声波的作用下会不断地压缩和膨胀,当声能达到一定强度时,微泡就会破裂,这样药物就释放到被超声波照射的局部组织中。Nishida等^[6]采用超声微泡剂混合质粒DNA注射至SD大鼠尾椎椎间盘组织,并用治疗超声波照射靶部位,可使DNA表达增加11倍,而且基因表达可持续长达24周。

1.2 超声波对细胞膜和毛细管的影响

超声波影响药物转运的中另一个因素是空化效应产生的压力作用于细胞和组织。这种压力来源于3种机制:微液流,即在气泡周围产生重复的循环涡流,这种涡流可以促进药物以较高的速度转动,大的不完全刚性细胞与一个小的空化泡毗连可能导致不对称气泡破裂。小的液体喷射(震动波和声波射流)可以达致直接以声速进入以细胞以至细胞膜破裂。同样在毛细管或血管附近的微泡破裂也可导致液体射向血管壁,或细胞膜,这样的破裂导致大量的内容物外渗。在有微泡造影剂的情况下,超声波靶向微泡破裂增加了血管、细胞膜渗透性,称为超声波致孔(sonoporation),促进药物膜内转运,

促使细胞接受外源基因,降低超声声强阈值。将HL-60细胞暴露在频率为48 kHz,功率为 $0.3\text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$ 超声波环境中2 min,并进行培养。扫描电镜观察细胞表面,发现有较小的改变,微绒毛消失,这表明低强度、低频超声波改变了细胞膜结构,从而增加了HL-60细胞对胞嘧啶阿糖胞苷的摄取^[7]。

1.3 对血脑屏障的影响

受血脑屏障的影响,很多药物很难转运至颅内。如何提高血脑屏障(BBB)的渗透性,是解决药物颅内转运的重要目标之一。使用中度致热的超声波($0.4\text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$)可以增加亲水性药物在BBB细胞内的吸收。但并不增加P-糖蛋白或者葡萄糖转运剂的活性,而且这种作用可恢复、无损伤性。曲妥珠单抗(赫赛汀)是抗人表皮生长因子单克隆抗体类抗肿瘤药物,但对于颅内转移病人来说,由于BBB的障碍限制了其使用。采用MRI制导的聚焦超声波干扰BBB治疗系统,可使赫赛汀无损伤地进行中枢神经系统的靶向^[8]。

1.4 通过角膜转运药物

角膜是治疗眼病药物的转运的主要通道之一,Vesna等^[9]研究瞬时高强度低频超声波(20 kHz)增加治疗青光眼药物陈替洛尔、卡替洛尔、噻吗洛尔、倍他洛尔的经角膜吸收,结果药物经鼠角膜吸收量分别增加2.6倍、2.8倍、1.9倍、4.4倍。角质基质细胞结构发生了改变,而且上皮细胞排列出现无序状态。

2 促进基因的转运表达

Bekeredjian等^[10]采用商用和传统超声波微泡剂混合基因材料转运荧光素酶转基因标记物至小鼠左心室。超声波(1.3 MHz)通过心电波触发辐射微泡。在触发照射情况下基因表达比持续超声波照射强。而且这种基因表达只限于心脏,而在肝脏,胰脏表达轻微,在颅内、肌肉、肺部位不表达,因此确定了靶向转运的目标,而微泡的破坏导致心脏宿主基因的改变很小。

Guo等^[11]制备了含气蛋白质微泡并和低密度脂蛋白受体(LDLR)及绿色荧光素酶蛋白编码的质粒DNA混合。将这种混合剂用于人工培养的HepG-2细胞,并用各种条件的超声波照射,结果发现超声波+造影剂+质粒DNA组转染率明显高于质粒+超声组及单纯质粒组,认为超声波+造影剂能够靶向作用于肝细胞,促进LDLR在肝细胞内的表达。

Christiansen等^[12]通过动脉或静脉注射荧光素报告基因联合阳离子型脂质微泡,并在小鼠后腿骨

髓肌使用了超声波照射,发现动脉导入的转染效果比静脉导入提高200倍,与肌肉注射质粒相仿,质粒在没有微泡的情况下并没有产生转染。结果提示质粒-微泡在远端的声波照射(远离照射部位),可以产生足够的血管外沉积以及DNA的结合导致基因的表达。

在小鼠子宫内使用的荧光标记编码的质粒进行了胎盘组织的基因转染实验。质粒-微泡混合剂通过微量吸液管送至特殊部位,并使用超声波照射,结果在裸DNA, DNA加微泡,或DNA加超声波组的基因表达比较低,而且差别不大,但使用1 MHz超声波加至质粒和微泡上产生了近1 000倍的基因表达,但显微照片显示胎儿皮肤在超声波加微泡的条件下有损伤^[13]。

3 超声波对药物经皮吸收的影响

皮肤角质层的天然屏障功能是影响药物经皮吸收的重要因素。超声波(20~16 MHz)辐射皮肤能够明显促进药物的经皮吸收,这种物理方法,又称之为超声波导入或超声波渗透(sonoporesis),其研究已有30年历史。目前认为其促渗透机制主要是超声波的空化效应,这种效应可以促进药物进入细胞膜,同时改变皮肤类脂双层结构,从而促进药物透过角质层,低频超声波比高频超声波更能促进药物的经皮吸收,低频超声波导入为促进大分子药物的经皮吸收提供了一个行之有效的方法^[14]。

3.1 超声波导入的影响因素

3.1.1 超声波导入参数的影响 超声波导入的主要参数影响为超声频率、超声强度和超声时间。

Mitragotri等^[15]的实验表明低频超声波导入的空化效应较大,改变皮肤角质层类脂结构程度高,易于促进亲水性药物的吸收。0.5 MHz的超声波比1 MHz的超声波更能促进盐酸利多卡因对神经阻滞的传导麻醉^[16]。但由于很多实验均以临床常用的超声频率进行研究,没有更广的频率选择对照实验,以及药物本身因素的影响,因此可比性较差,难以判断选用哪一范围的频率更有效。

低频超声波(20 kHz)促进甘露醇经猪皮吸收的阈强度为 $222\text{ J}\cdot\text{cm}^{-2}$,低于这个强度,超声波并不能表现为明显的促渗透作用^[17]。胰岛素的超声波经皮导入吸收与超声强度有密切关系,强度越高,血糖浓度愈低。如一组实验结果表明小鼠体内血糖浓度在超声强度大时下降大,反之亦小^[18]。但强度增加,药物的吸收并不都呈线性增加,可能出现抛物线趋

势,如环孢素A在低频超声波导入下,比较药物的吸收量,呈现为 $(0.4\text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}, 30\text{ min}) < (1.2\text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}, 30\text{ min}) < (0.8\text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}, 30\text{ min})$,出现这种现象的原因,目前尚未进一步的实验证实^[19]。

Tezel A等^[20]采用磺胺罗丹明B作为模型药物研究了低频超声波在频率不变的情况下,导入时间对药物经吸收吸收的影响,结果随着时间的延长药物传输通路的数量也增加。

当然,如何选择超声波的参数,以达到最佳的促透效果,还需更细的研究。

3.1.2 物理化学性质和药物剂型 药物分子量和极性大小直接影响其经皮吸收率。非甾体抗炎药的被动扩散系数,优洛芬>吲哚美辛>吡罗昔康,而1 MHz的超声波导入对吡罗昔康的促渗作用最大,对优洛芬作用最小^[21]。实验和理论模型均显示在1 MHz的频率下超声波导入对被动扩散系数越小的药物影响较大,脂溶性较大的药物,低频超声波导入的促渗作用较小;同样在150 kHz的超声波导入中,对安替比林的促渗作用比硝酸异山梨酯大^[22]。低频超声波导入下药物的经皮吸收速率呈现出亲水性药物比亲脂性药物增加的趋势。

药物的剂型特别是药物制剂中的一些附加剂往往影响药物的经皮超声波导入,频率为1 MHz的超声波导入对吡罗昔康水溶液的促渗作用比其乳膏大^[21]。Tachikana等^[23]认为由于在凝胶或乳膏中超声波导入很难形成对流运输,因此频率为47 kHz的超声波导入能促进水溶液剂利多卡因的经皮吸收但不能促进其乳膏或凝胶中药物的吸收。

3.1.3 物理化学促渗方法的影响 在环孢素A低频超声波经皮导入实验中,Azone或十二烷基硫酸钠(SLS)可使药物的经皮吸收增加两倍,采用超声波导入 $(0.8\text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}, 30\text{ min})$,药物的经皮吸收增加了7倍,而如两者同时使用,药物吸收增加提高至25倍,表现出了良好的协同作用^[19]。

作为一个阳离子型生物多聚化合物,传统的经皮给药很难使肝素透过角质层进入体内。Long^[24]采用低频超声波预处理皮肤、表面活性剂(SLS,氯化十二烷基吡啶预处理、离子导入,以及三者联合运用研究对肝素经皮吸收的影响。发现单独使用SLS不能增加药物的经皮吸收,经超声波导入预处理,药物吸收增加了13倍。离子导入 $(0.45\text{ mA}\cdot\text{cm}^{-2})$ 可使药物经皮吸收增加10~15倍,若超声波导入与离子导入联合使用则可使药物经皮吸收提高25倍,

而3种方法同时使用,可使肝素的吸收增加至56倍。这说明,超声波导入、化学促渗剂、离子导入在一定条件下具有协同促进药物经皮吸收的能力。

3.2 超声波导入的安全性研究 超声波对药物转运的影响的可能机制之一有致热作用,超声波引起辐射部位的温度上升也是一个不争的事实。离体人皮肤分别接受低频超声波辐射 $(20\text{ kHz}, 125\text{ mW}\cdot\text{cm}^{-2}, 100\text{ ms}\cdot\text{s}^{-1})$ 1 h和5 h导入,测定导入前后表皮电阻的变化情况。结果显示接受1 h辐射后电阻在刚停止辐射时为未接受辐射时的60%,2 h后升高为72%。表皮的渗透性在辐射后2 h约为正常的6倍,12 h后降低到正常的2倍。由此认为低频超声波不会导致皮肤屏障功能的长时间改变^[25]。实验表明,在一般情况下,超声波频率为20 kHz,强度不超过 $2.5\text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$,对人体皮肤不会产生太大的影响,但强度超过 $4\text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$,人表皮会发生分离,上皮水肿,皮下组织坏死,在更高的强度下,其引起的副作用就更加明显^[26]。

因此,超声波导入在合理的参数下,对皮肤的结构和生理特性的短暂改变是可恢复的,但对皮肤的影响很大程度上与超声波的强度,导入时间和超声频率相关。

4 结论与展望

药物载体,特别是新型的载药超声微泡造影剂在超声波的辐射下,药物即可释放到靶向区,达到靶向给药的治疗目的,不仅可以提高药物的治疗效果,而且减少毒性药物对其他组织或器官的损害。超声波介导药物转运是提高药物传输靶向性的一种很有效的方法。

长期以来,聚焦超声的靶向升温被认为可以提高肿瘤组织对化疗药物的敏感性或是引起某种免疫应答,而且超声介导下,可使细胞膜形态发生可逆性变化,可以提高基因的输送效率,因此在超声辐照下,向肿瘤组织直接注射基因,有可能使上面所提两种优势同时发挥作用,为物理治癌探索一条新路。

超声波导入从开始仅限于局部药物吸收的研究,发展到向药物系统转运的研究,近十年来,低频超声波被用于增加大分子药物的经皮吸收,包括蛋白质药物如胰岛素用于治疗糖尿病,低聚核苷酸用于基因的转运,而且超声导入选用药物范围广,不限于电离物质和水溶物质;透药程度更深;药物不会被电解破坏;且不存在极化问题,无电刺激现象。

因此采用超声促进药物经皮转运，利用超声波的能量促进药物从特殊载体释放达到靶向治疗具有很好的前景和应用价值。

REFERENCES

- [1] ALKAN H, DEMOS SM, LANZA GM, et al. Development of inherently echogenic liposomes as an ultrasonic contrast agent [J]. *J Pharm Sci*, 1996, 85(5): 486-490.
- [2] HUANG S. Liposomes in ultrasonic drug and gene delivery [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2008, 60(10): 1167-1176.
- [3] DROMI S, FRENKEL V, LUK A, et al. Pulsed-high intensity focused ultrasound and low temperature-sensitive liposomes for enhanced targeted drug delivery and antitumor effect [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(9): 2722-2727.
- [4] RAPOPORT N, GAO ZG, ANNE K. Multifunctional nanoparticles for combining ultrasonic tumor imaging and targeted chemotherapy [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2007, 99(14): 1095-1106.
- [5] HUSSEINI GA, PITT WG. Ultrasonic-activated micellar drug delivery for cancer treatment [J]. *J Pharm Sci*, 2009, 98(3): 795-811.
- [6] NISHIDA K, DOITA M, TAKADA T, et al. Sustained transgene expression in intervertebral disc cells *in vivo* mediated by microbubble-enhanced ultrasound gene therapy [J]. *Spine*, 2006, 31(13):1415-1419.
- [7] TACHIBANA K, UCHIDA T, TAMURA K. Enhanced cytotoxic effect of Ara-C by low intensity ultrasound to HL-60 cells [J]. *Cancer Lett*, 2000, 149(1-2): 189-194.
- [8] CHO CW, LIU Y, COBB WN, et al. Ultrasound-induced mild hyperthermia as a novel approach to increase drug uptake in brain microvessel endothelial cells [J]. *Pharm Res*, 2002, 19(8): 1123-1129.
- [9] VESNA Z, SHAHRAM V, ROY W M, et al. Ocular drug delivery using 20-kHz ultrasound [J]. *Ultrasound Med Biol*, 2002, 28(6): 823-829.
- [10] CHEN SY, SHOHET RV, BEKEREDJIAN R, et al. Optimization of ultrasound parameters for cardiac gene delivery of adenoviral or plasmid deoxyribonucleic acid by ultrasound-targeted microbubble destruction [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2003, 42(2): 301-308.
- [11] GUO DP, LI XY, SUN P, et al. Ultrasound-targeted microbubble destruction improves the low density lipoprotein receptor gene expression in HepG2 cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006, 343(2): 470-474.
- [12] CHRISTIANSEN JP, FRENCH BA, KLIBANOV AL, et al. Targeted tissue transfection with ultrasound destruction of plasmid-bearing cationic microbubbles [J]. *Ultrasound Med Biol*, 2003, 29(12):1759-1767.
- [13] ENDOH M, KOIBUCHI N, SATO M, et al. Fetal gene transfer by intrauterine injection with microbubble-enhanced ultrasound [J]. *Mol Ther*, 2002, 5(5): 501-508.
- [14] SIVAKUMAR M, TACHIBANA K, PANDIT AB, et al. Transdermal drug delivery using ultrasound-theory, understanding and critical analysis [J]. *Cell Mol Biol*, 2005, 51(Suppl): OL767-784.
- [15] MITRAGOTRI S, BLANKCHEIN D, LANGER R. Transdermal drug delivery using low-frequency sonophoresis [J]. *Pharm Res*, 1996, 13 (3): 411-420.
- [16] TAE YK, DAE I J, YOUNG I L. Anesthetic effects of lidocaine hydrochloride gel using low frequency ultrasound of 0.5 MHz [J]. *J Pharm Pharmaceut Sci*, 2007, 10(1): 1-8.
- [17] MITRAGOTRI S, FARRELL J, TANG H. Determination of threshold energy dose for ultrasound-induced transdermal drug transport [J]. *J Control Release*, 2000, 63(1-2): 41-52.
- [18] KOST J. Ultrasound-assisted insulin delivery and noninvasive glucose sensing [J]. *Diabetes Technol Ther*, 2002, 4(4): 489-497.
- [19] LIU, HZ LI SM, PAN WS. Investigation into the potential of low-frequency ultrasound facilitated topical delivery of Cyclosporin A [J]. *Int J Pharm*, 2006, 326(1-2): 32-38.
- [20] TEZEL A, SENS A, TUCHSCHERER J. Frequency dependence of sonophoresis [J]. *Pharm Res*, 2001, 18(12): 1694-1700.
- [21] MIYAZAKI S, MIZUOKA H, KOHATA Y, et al. External control of drug release and penetration. VI. Enhancing effect of ultrasound on the transdermal absorption of indomethacin from an ointment in rats [J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 1992, 40(10): 2826-2830.
- [22] UEDA H, OGIHARA M, SUGIBAYASHI K, et al. Difference in the enhancing effects of ultrasound on the skin permeation of polar drugs [J]. *Chem Pharm Bull*, 1996, 44 (10): 1973-1976.
- [23] TACHIBANA K, TACHIBANA S. Use of ultrasound to enhance the anesthetic effect of topically applied aqueous lidocaine [J]. *Anesthastology*, 1993, 78(6): 1091-1096.
- [24] LE L, KOST J, MITRAGOTRI S. Combined effect of low frequency ultrasound and iontophoresis: applications for transdermal heparin delivery [J]. *Pharm Res*, 2000, 17(9): 1151-1154.
- [25] MITRAGOTRI S, BLANKSCHTEIN D, LANGER R. Transdermal drug delivery using low-frequency sonophoresis [J]. *Pharm Res*, 1996, 13(3): 411-420.
- [26] BOUCAUD A, MONTHARU J, MACHET L, et al. Clinical, histologic, and electron microscopy study of skin exposed to low-frequency ultrasound [J]. *Anat Rec*, 2001, 264(1): 114-119.