

柔性纳米脂质体构建肺部靶向给药系统的研究

厉星¹, 吕海峰², 应苗法¹, 赵应征³, 徐艳艳⁴, 赵蕊^{1*} (1.浙江大学医学院附属邵逸夫医院下沙院区药学部, 杭州 310018; 2.杭州医学院药学院, 杭州 310053; 3.温州医科大学药学院, 浙江 温州 325035; 4.丽水市中心医院药学部, 浙江 丽水 323000)

摘要: 目的 研究以胶体为核心的柔性纳米脂质体(flexible nano-liposomes, FNLs)包载蛋白类药物在肺部靶向递药的有效性和安全性。方法 应用注入法结合 W/W 乳化法制备 FNLs, 并通过制剂学方法检测 FNLs 的理化性质。通过肺部滴注 insulin-FNLs, 检测相应血糖值; 将异硫氰酸荧光素经肺部滴注给药, 评估 FNLs 经肺转运进入体循环后药物在肺泡的沉积情况; 通过对肺组织进行苏木素-伊红染色, 初步评价 FNLs 经肺部给药的安全性。结果 FNLs 形态圆整, 表面光滑, 粒径为(153±0.94)nm, Zeta 电位为-(20.9±0.21)mV; FNLs 能增强降血糖效果, 提高相对生物利用度, 最低血糖值百分比可以达到(18.25±4.19)%。FNLs 能延长药物在肺内的滞留时间, 在肺部具有较好的耐受性。结论 FNLs 作为肺部靶向递药载体, 经肺部给药可以克服蛋白类药物肺内吸收屏障, 增加生物利用度, 为新型肺内给药系统的研发奠定基础。

关键词: 柔性纳米脂质体; 胰岛素; 肺部给药系统

中图分类号: R965.2 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2017)01-0072-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2017.01.017

Study on the Application of Flexible Nano-Liposomes in the Construction of Pulmonary Targeted Drug Delivery System

LI Xing¹, LYU Haifeng², YING Miaofa¹, ZHAO Yingzheng³, XU Yanyan⁴, ZHAO Rui¹ (1.Department of Pharmacy, Sir Run Run Shaw Hospital of Xiasha Campus, Hangzhou 310018, China; 2.School of Pharmacy, Hangzhou Medical College, Hangzhou 310053, China; 3.School of Pharmacy, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China; 4.Department of Pharmacy, Lishui Central Hospital, Lishui 323000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study on the effectiveness and safety of the colloid-core flexible nano-liposomes (FNLs) mediated protein drugs by pulmonary drug delivery. **METHODS** FNLs were prepared by the injection method combined with emulsion technology, physicochemical properties of FNLs were detected by the method of preparation. Intratracheal instillation of insulin-FNLs was performed to evaluated hypoglycemic effect. FITC administered in accordance with the intratracheal instillation into the lungs, to estimate the FITC-FNLs deposition ratio. Histological changes in the lung were also observed to evaluate the safety of FNLs by hematoxylin and eosin. **RESULTS** FNLs showed satisfied elliptic morphology, with average particle size (153±0.94)nm, Zeta potential -(20.9±0.21)mV. FNLs promoted insulin pulmonary absorption effectively and showed good relative pharmacological bioavailability, to achieve a significant hypoglycemic effect, the minimum reductions of the blood glucose concentration reached (18.25±4.19)%; FNLs could be increased drug deposition in the lungs to promote drug into the systemic circulation, and better tolerance in the lungs. **CONCLUSION** FNLs as pulmonary drug delivery system, can be overcome intrapulmonary absorption barrier by the pulmonary administration of protein drugs, increased bioavailability, lay the foundation for development of pulmonary drug delivery system.

KEY WORDS: flexible nano-liposomes; insulin; pulmonary administration

肺部给药系统(pulmonary drug delivery system, PDDS)是指通过吸入性给药方式将药物递送到肺部, 产生局部或全身治疗作用的给药系统。从 20 世纪 50 年代开始, 哮喘类药物肺部给药制剂的出现, 标志着肺部给药传递系统在临床上得到真正的应用。肺部具有独特的生理特征, 即表面积大(70~140 m²), 肺泡壁薄(约 0.2 μm), 肺部血管多, 血流丰富, 肺部酶活性较低, 且能避免肝

脏的首过效应, 特别适合多肽类药物的传输, 可实现蛋白质和多肽类药物的全身性给药^[1-2]。曾上市的吸入胰岛素 Exubera 和后续的 Affrezza 因剂量不可控, 吸入器太笨拙及影响肺部安全性等因素未能在市场上很好的推广, 但肺部给予生物药物的疗效却得到了进一步的证实, 这一事实为新型制剂技术应用用于肺部给药提供了有利的前景。

近年来, 研究结果表明脂质体作为肺部给药

基金项目: 浙江省医药卫生科技项目(2017187846); 浙江省药学会医院药学专项科研资助项目(2013ZYY20)

作者简介: 厉星, 女, 硕士, 药师 Tel: (0571)87887511 E-mail: 18857176129@163.com *通信作者: 赵蕊, 女, 博士, 副主任药师 Tel: (0571)87887511 E-mail: 13588708049@163.com

载体,包括抗肿瘤药、肽类、酶类、基因、抗哮喘药和抗过敏药等,不良反应发生率低,耐受性好^[3]。柔性纳米脂质体(flexible nano-liposomes, FNLs)膜材的主要成分为磷脂,与肺泡表面的表面活性物质相同,因此脂质体与肺泡生物相容性好,给药后不易引发不良反应和免疫反应^[4]。脂质体与肺组织具有高度亲和性,应用于肺部给药具有许多优点^[5-6],包括:①与单纯给药相比,能提高药物的溶解度;②能持续释放被包封的药物,具有长效缓释作用,降低药物的消除速率,从而降低给药频率;③药物包封于脂质体中能减少药物对肺部的不良反应,降低药物对肺黏膜纤毛的损伤;④促使药物,尤其是大分子生物药物,通过肺部进入体循环,提高生物药物的生物利用度等。聚合物纳米粒由于制剂制备过程受到剧烈的条件(如温度和有机溶剂)极易破坏生物药物的分子结构,降低其生物活性,并不适合作为蛋白类药物肺部给药系统的载体,且大部分亲脂性给药载体对亲水性药物的包封率低,难以作为递送生物药物的肺部给药载体^[7-8]。

本实验结合肺部给药的生理解剖特点,运用自主创新的 W/W 乳化制备技术构建 FNLs 肺部给药系统,以胰岛素为模型药物通过大鼠体内水平研究评价 FNLs 肺部给药系统的有效性,并应用异硫氰酸荧光素考察 FNLs 在肺部的分布情况,同时结合病理组织切片学研究其肺内给药的安全性,为进一步研发安全有效的肺内给药体系提供一定的实验基础。

1 材料

1.1 动物

SPF 级 Sprague-Dawley 大鼠,♀,体质量为(250±20)g,购自中国上海斯莱克实验动物公司,合格证号:SCXK(沪)2003-0003。将实验大鼠养于温度为(22±2)℃、相对湿度为(50±10)%的动物房鼠笼里,鼠笼内有饲料及水,可供老鼠自由觅食。

1.2 药品及试剂

链脲佐菌素(美国 Sigma 公司);胰岛素(江苏万邦生化医药股份有限公司);异硫氰酸荧光素(美国 Sigma 公司);氢化大豆磷脂(上海艾伟特科技有限公司);胆固醇(上海艾伟特科技有限公司);1,2-丙二醇(美国 Sigma 公司);明胶(美国 Sigma 公司);泊洛沙姆 188(美国 Sigma 公司);D,L-甘油醛(美国 Sigma 公司)。

1.3 仪器

单道微量可调移液枪(德国 Eppendorf);BS110S 型电子分析天平(北京赛多利斯天平有限公司);Eclipse Ti 型倒置荧光显微镜(日本 Nikon 公司);TG16-WS 台式离心机(上海精密仪器仪表有限公司);H-9500 透射电子显微镜(上海利蛟实业有限公司);S3500 激光粒度分析仪(美国 Microtrac 公司);Zeta 电位分析仪(北京东方安诺生化科技有限公司);CL-2 恒温加热磁力搅拌器(别经世纪华科实验仪器有限公司);微孔滤膜(海宁市圣华医药化工设备);TD-4252 博士医生血糖仪(中国台湾 HMD BioMedical Inc);多功能暗箱式紫外透射仪(上海宝山顾村电光仪器厂)。

2 方法

2.1 制剂制备及评价方法

应用注入法结合 W/W 乳化技术制备 FNLs^[5]:将 3.5 mL 泊洛沙姆 188 溶液缓慢注入置于恒温水浴加热磁力搅拌器上(40℃,1 000 r·min⁻¹)4 mL 含药的明胶溶液中,持续搅拌 3 min 后,滴入 0.5 mL 10%的 D,L-甘油醛溶液;继续搅拌 15 min 后注入含氢化大豆磷脂、胆固醇的丙二醇溶液 2 mL,搅拌 20 min,即得到包载药物的 FNLs 混悬液,冷冻干燥。FNLs 混悬液的制备过程同上,即用不含药的明胶溶液。通过以上方法制备包载胰岛素的 FNLs。

2.2 载药 FNLs 的评价

2.2.1 FNLs 的表面形态特征 将制备得到的 FNLs 混悬液分别用蒸馏水稀释 10 倍,取一滴于专用铜网上,静置后用 3%磷钨酸负染,用滤纸吸去多余的染色液后,在透射电镜下观察粒子形态。

2.2.2 FNLs 的粒径分布、Zeta 电位及弹性值的测定 用激光粒度分析仪和 Zeta 电位分析仪分别测定 FNLs 的粒径大小和 Zeta 电位。另取适量 FNLs 样品通过微孔滤膜(孔径 50 nm,外压 2.5 bar),用激光粒度分析仪测定过滤前后脂质体样品的粒径,按以下公式计算其弹性: $D=J \times (r_v/r_p)^2$,其中 D 为脂质体的弹性指数, r_v 为过滤后的粒径, r_p 为过滤前的粒径, J 为 5 min 滤过的溶液体积。

2.2.3 包封率的测定 包封率是评价脂质体质量的一个重要指标,方法简述如下:①精密量取载药的 FNLs 混悬液 1.0 mL 于 EP 管中,加入 1 mL 甲醇破坏脂质体结构,使药物游离出来,离心(10 000 r·min⁻¹)10 min,取上层清液,即为药物投

入总量; ②精密量取载药的 FNLs 混悬液 1.0 mL 于 EP 管中, 离心($10\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$)10 min, 取上层清液, 即为游离的药物量。用胰岛素试剂盒检测药物含量, 用下述公式计算包封率: 包封率(%)=(药物投入总量-游离的药物量/药物投入总量) $\times$ 100%。

2.3 胰岛素 FNLs(insulin-FNLs)经肺部给药降低糖尿病大鼠血糖的研究

建立糖尿病模型 SD 大鼠, 在实验前禁食不禁水 12 h, 不同剂型、剂量及不同给药途径的实验分组见表 1。气管滴注的操作步骤: 用水合氯醛 $350\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 进行腹腔注射麻醉, 将大鼠仰卧位固定于水平手术板上, 用细线挂住大鼠门牙并固定, 大鼠可自主呼吸。用电推剪剃去颈部毛发后, 用手术刀划开皮肤及内膜层, 用玻璃分针分离气管, 于纵轴方向暴露其气管约 1 cm, 用 24G 套管针穿刺第五至第六气管环, 取出穿刺针, 向气管内滑行至有轻微阻塞感。将固定着大鼠的木板垂直 90° 放置。然后用移液枪吸取相应给药液体 ($600\text{ }\mu\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}$), 快速推注给药, 后再推入等体积的空气。取出套管针, 缝合伤口, 并在垂直方向轻轻旋转木板, 促进药液均匀弥散于肺部区域。整个给药过程约 2~3 min, 之后将大鼠从木板上撤下。采用血糖仪测定法测定不同时间点的血糖值, 每组大鼠 7 只。血糖测试仪的定标及血糖含量的检测均按照博士医生血糖测试仪说明书方法进行。从大鼠的尾部静脉取血, 使用博士医生血糖测试仪测定给药前(0 h)血糖值及给药后不同时间间隔(0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 7, 10 和 12 h)的血糖值, 然后参照文献方法^[5], 计算肺部给药的生物利用度与皮下注射给药进行比较。

表 1 大鼠药效学研究实验分组($n=7$)

Tab. 1 Grouping of hypoglycemic effect experiment in rats($n=7$)

给药制剂	剂量/ $\text{U}\cdot\text{kg}^{-1}$	给药途径
insulin-FNLs	2	气管滴注给药 ^[5]
FNLs	0	气管滴注给药 ^[5]
PBS(pH 7.4)	0	气管滴注给药 ^[5]
胰岛素溶液(气管滴注)	2	气管滴注给药 ^[5]
胰岛素溶液(皮下注射)	1	皮下注射给药

2.4 肺部给药的处置过程研究

异硫氰酸荧光素(FITC)是医学诊断药物, 能和各种抗体蛋白结合, 结合后的抗体不丧失与一定

抗原结合的特异性, 并在碱性溶液中具有强烈的绿色荧光。FITC 分子量为 389.4, 最大吸收光波长为 490~495 nm, 最大发射光波长为 520~530 nm, 呈现明亮的黄绿色荧光。为了评估 FNLs 经肺转运进入体循环后药物在肺泡的沉积情况, 将 FITC-FNLs 按照气管内滴注给药方式注入肺部, 每组 5 只。分别于给药后不同时间间隔(0.5, 1.5, 3, 6, 12 h)颈总动脉取血并将肺部切除, 并在多功能暗箱式紫外透射仪中观察药物的分布情况。血样处理步骤: 颈总动脉取血 3 mL, $3\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min, 分离得血清, 取 0.5 mL 备用。将上述 0.5 mL 血清加入 5 mL 生理盐水中, 采用 ELIASA 法测定血清中的荧光强度。将分离的肺叶和气管在 5 mL 生理盐水里制成匀浆, 转速为 $3\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 离心 15 min, 分离所得的上清液中的荧光强度采用 ELIASA 法(激发波长 500 nm, 发射波长 520 nm)测定, 根据肺叶的荧光强度, 计算荧光标记的 FNLs 肺内沉积比率^[5]。

2.5 组织病理学研究

将给药组实验大鼠进行腹腔动脉放血, 打开胸腔, 通过气管用 10%中性福尔马林液对肺进行灌流, 分离全肺, 用 10%中性福尔马林液将其固定 72 h。采集每只老鼠的左肺前、后两部分的标本, 将其常规脱水、透明、浸蜡、包埋, 石蜡切片, 苏木素-伊红(HE)染色^[6]。

2.6 统计学方法

采用 SPSS 11.0 统计软件包进行分析。数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 组间比较采用配对 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 insulin-FNLs 制剂学检测结果

应用注入法结合 W/W 乳化技术制备得到的 insulin-FNLs 制剂为外观均一、流动性好的乳白色混悬液, 无分层现象。通过透射电镜观察载体形态, 可见以胶体为核心的 FNLs 以单室为主, 分布较均匀, 呈圆形或不规整的椭圆形, 无聚集现象, 结果见图 1。insulin-FNLs 混悬液稀释到适宜浓度, 检测结果表明平均粒径为(153 ± 0.94)nm, Zeta 电位为 $-(20.9\pm0.21)\text{mV}$, 弹性值 >40 , 包封率 $>60\%$ 。实验结果表明 FNLs 形态圆整, 粒径小, 分散性较好、弹性高, 可以用于肺部黏膜靶向给药系统的研究。

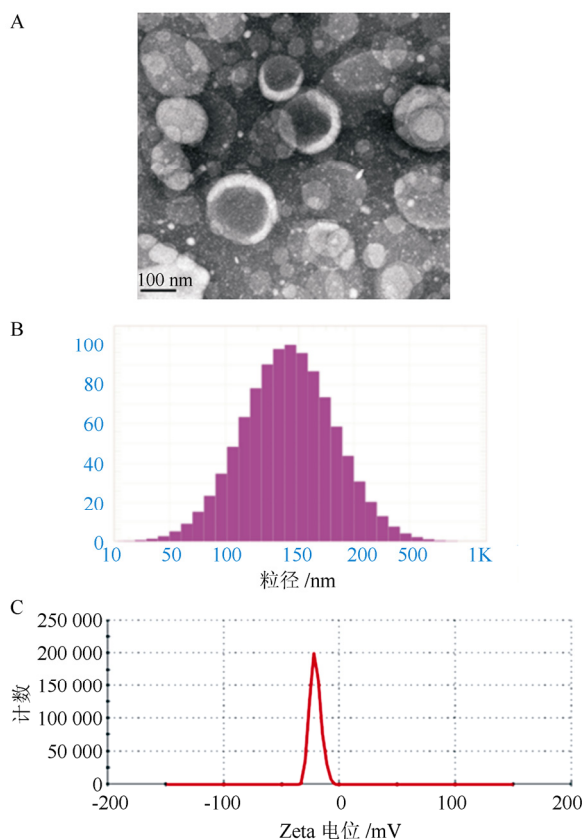


图1 FNLs 的理化性状

A-透射电镜图; B-粒径分布图; C-Zeta 电位图。

Fig. 1 The character of GNL

A-image of transmission electron microscope; B-image of particle size distribution; C-image of Zeta potential.

3.2 insulin-FNLs 经肺部给药降低糖尿病大鼠血糖的研究

3.2.1 血糖值的处理 通过监测糖尿病大鼠的血糖值来检测胰岛素制剂通过肺部给药的降血糖效果,将起始血糖下降百分比作为胰岛素吸收的依据。计算公式:血糖下降率=即时血糖值/初始血糖值,其中初始血糖值为试验开始前即 0 h 时间点测定的血糖值,即时血糖值为各测试点的血糖值。通过绘制初期血糖值的下降百分数随时间变化得到响应曲线,结果见图 2。以初始血糖值为基准为 100%,将其他时间点的血糖值换算为初始浓度的百分比数。运用药动学软件 DNS 计算血糖下降经时变化曲线下面积(area under the curve, AUC),以 AUC 为指标来评价各组胰岛素制剂给药后在大鼠体内的药理相对生物利用度(relative pharmacological bioavailability, PBA),结果见表 2。

3.2.2 胰岛素给药体系的降血糖药效学研究 通过预实验发现,当胰岛素剂量为 $2 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,单纯胰岛素溶液通过肺部给药,以 PBS 组为对照组,

无明显差异,即不能产生明显的降血糖效果。在胰岛素溶液(气管滴注)组、PBS 组和 FNLs 组中的实验大鼠,给药半小时后的血糖值反而高于初始血糖值,引起此现象的原因可能是外源性物质在肺部给药后,引起气管及肺组织的应激反应^[9]。其中胰岛素溶液(气管滴注)组没有产生降血糖效果的原因,可能是胰岛素在肺部被酶水解、纤毛清除,致使进入体循环的胰岛素含量较低,无法产生降血糖效果。在给药 1 h 以后,升高的血糖值开始下降。在给药 10 h 后,通过气管滴注给药的降血糖效果与皮下注射给药降血糖的效果相似。由于大鼠在实验前被禁食 12 h,故其初始血糖值较低。实验进行 12 h 以后,各组糖尿病大鼠都开始出现低血糖现象。皮下注射胰岛素实验组大鼠给药后能迅速降低血糖,给药 2.5 h 后,最低血糖值百分比可以达到 $(18.25 \pm 4.19)\%$,最低血糖下降百分比明显高于肺部给药方式($P < 0.05$),此实验结果与以往的报告相符合^[5],但如果采用肺部吸入方法,会有部分药物吸附在气管,会在呼气的同时排出肺外,给药剂量需重新调整。

实验结果表明,insulin-FNLs 组经气管滴注给药 0.5 h 后产生,产生了快速而广泛的长期降血糖作用。给药时间-血糖值曲线见图 2,实验大鼠在气管滴注给药后的前 4 h 血糖值明显下降,在给药后 4 h 达到最低血糖值百分比,insulin-FNLs 组为 $(32.54 \pm 5.35)\%$ 。insulin-FNLs 组的相对生物利用度达到了 76.44%(相对于皮下注射给药),明显高于溶液组。根据研究报告^[8],一般将初始血糖值的 70%作为最优降血糖的临界线。

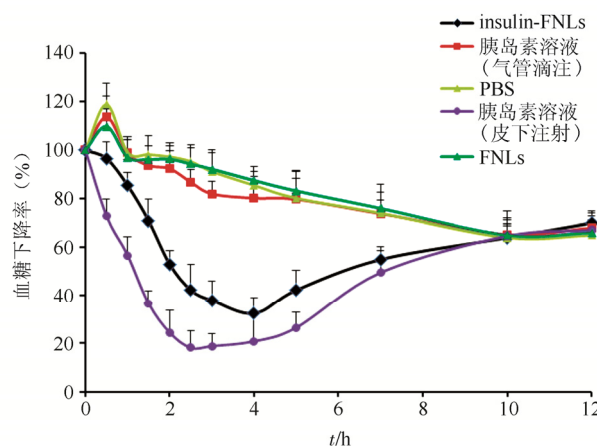


图2 糖尿病大鼠血糖经时变化曲线

Fig. 2 Percentage reduction in blood glucose level in diabetic rats after administration

表 2 胰岛素制剂肺部给药后各药效学参数

Tab. 2 Pharmacodynamic parameters following intrapulmonary administration of insulin preparations

给药途径	制剂	剂量/ U·kg ⁻¹	最低血糖 下降率/%	最低血糖 下降时间/h	相对生物 利用度/%
气管滴注	insulin-FNLs	2	32.54±5.35	4	76.44 ²⁾
	FNLs	0	65.93±3.95	10	37.93
	PBS(pH 7.4)	2	64.12±4.30	10	38.42
	胰岛素溶液	2	65.02±3.92	10	38.01
皮下注射	胰岛素溶液	1	18.25±4.19	2.5	当做 100 ¹⁾²⁾

注: 与 insulin-FNLs 比较, ¹⁾P<0.05; 与胰岛素溶液(气管滴注)比较, ²⁾P<0.05。

Note: Compared with insulin-FNLs, ¹⁾P<0.05; compared with insulin (intratracheal instillation), ²⁾P<0.05.

3.3 药物经肺内给药后在肺内的处置过程

FITC 为亲水性的荧光物质, 被广泛地用于评价动物体内生物膜的通透性能, 体外培养细胞的内吞作用及白细胞的胞饮作用等等^[10]。本实验利用 FITC 紫外波长下能发荧光的显像特性表征药液经肺内给药后在肺内的分布及其吸收过程, 肺内滴注给药后 3 h 药液在肺内的分布见图 3。在试验中发现 FITC 在大鼠各肺叶的分布无特定规律, 可能是因为每次给药时给药速度的不同, 套管针在气管内深度不同造成的给药位置偏差以及动物本身的个体差异等诸多因素导致的。但是, 每次给药后 FITC 在肺中与血清中的沉积比率关系见图 4, 可见 FITC 在肺中与血清中的沉积值逐渐变小, 表明药物从肺内被吸收入血液循环, 肺内的 FITC 随时间被清除。同时, 从图 4 可以看出各时间点下 FITC-FNLs 在肺中与血清中的沉积值大于单纯溶液组, 表明 FITC-FNLs 经肺部滴注给药能延长药物在肺内的滞留时间, 减少药物的清除速率, 延长药物在体内的半衰期。

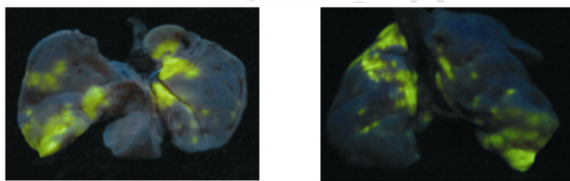


图 3 大鼠气管内滴注含 FITC-FNLs 溶液后肺内荧光显像
Fig. 3 Photograph of the change of fluorescence in rat lung

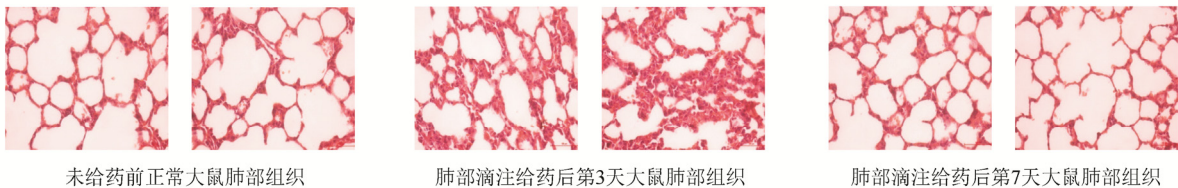


图 5 肺组织 HE 染色结果(400×)
Fig. 5 HE staining results of lung tissue(400×)

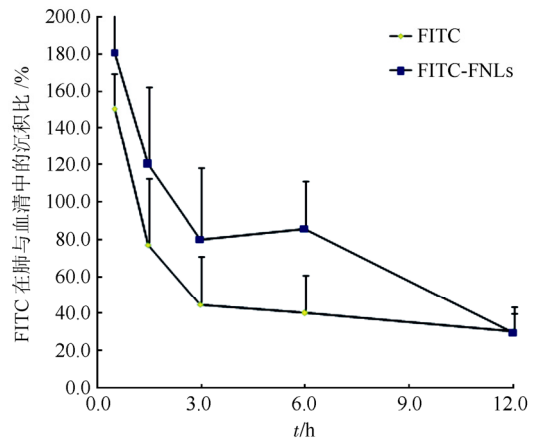


图 4 FITC 肺内给药后在肺中与血清中的沉积比率关系
Fig. 4 The ratio of FITC deposited in lung and in serum

3.4 肺部组织变化

为研究 FNLs 载药后的局部毒性, 在给药实验后第 3 天、第 7 天观察肺部病变情况, 从而评估肺组织生理及炎症变化。因考虑到器官安全, 故使用可生物降解的制剂辅料进行肺部递药研究, 从而避免严重不良反应的发生^[11]。通常而言, 当异物进入气道时会引起肺部的炎症反应^[12]。本实验中, 对肺部给药后左肺下部组织进行了组织学检查见图 5。观察发现正常肺组织细胞壁比较薄, 且大部分的肺泡内几乎不含有细胞; 给药后第 3 天, 与正常的肺组织对比, 观察发现组织存在肺泡细胞增生、巨噬细胞渗透进入肺泡等现象, 出现了短暂且微弱的炎症反应, 推测应该是由存在嗜酸性粒细胞且肺泡巨噬细胞渗透至肺泡引起的。在给药后产生的这种快速的炎症反应可能是由异物引起的常见应激反应。当可降解的纳米脂质微粒被完全降解后(给药后第 7 天), 组织恢复到正常形态。与正常肺泡相比, 没有显著差异, 接触载体药物的组织未检测到不良反应(钙化、细胞坏死、致癌以及感染)的发生。从组织学观察, FNLs 在肺部具有良好的耐受性。虽然在肺部器官未产生病理性损伤, 但需要进一步研究对所有的器官进行安全性评估。

4 讨论

FNLs 是在固态脂质体和液态脂质体的基础上发展起来的, 同时具备了脂质体和聚合物纳米粒的特点, 稳定性较高。脂质材料与肺泡表面活性剂相似, 具有较好的生物相容性, 被认为是可降解的、安全的纳米脂质载体。本实验将 FNLs 应用于构建肺部给药系统, 从图 2 中可以看出, insulin-FNLs 组在给药 4 h 后, 血糖值恢复得比皮下注射给药组缓慢, 可以得出以胶体为核心的 FNLs 具有缓释的效果。本实验采用 W/W 乳化法制备以明胶为核心的 FNLs, 能对胰岛素起保护作用, 减少在肺部的清除, 能促进胰岛素在肺黏膜的吸收。药物制剂在肺部给药系统中的处置过程, 从理化性质方面来说是与药物粒子的大小及所带的电荷相关, 并且肺部不同组织部位对粒子的理化性质需求是不同的。FNLs Zeta 电位为 $-(20.9 \pm 0.21)\text{mV}$, 易通过肺泡 I 型上皮细胞和紧密结缔处; 平均粒径为 $(153 \pm 0.94)\text{nm}$, 在呼吸系统支气管末端及肺泡壁沉降率最高, 可以有效避免肺组织粘液层中纤毛的清除及巨噬细胞的吞噬, 使药物进入体循环的量增加, 提高生物利用度^[7]。

通过 FITC 成像实验结果表明, 药物可通过两肺吸收进入体循环, 以胶体为核心的 FNLs 组相比于单纯 FITC 组可以延长 FITC 在肺部的沉积时间, 并且提高血药浓度。这一研究结果表明, FNLs 可以保护药物, 降低药物在体内的代谢速率。然而, 通过上述实验, 目前仍不能确定 FNLs 集中在肺部或者透过肺泡上皮屏障进入体循环的量。载药纳米脂质体现已有多种制剂处于临床试验阶段, 安全性较好, FNLs 经肺部给药后出现短暂且微弱的炎症反应, 这可能与制备过程没有达到无菌要求, 或者是制剂辅料对于肺部的相容性不好造成的, 在安全性方面还需进一步考察。

本实验基于以明胶为核心构建新型的柔性纳米脂质给药载体, 通过降血糖药效学、药物肺内的吸收分布过程及组织安全性方面考察新型载体

在肺部给药系统的应用, 这一研究结果对于构建新型的肺黏膜给药体系用于肺部疾病的治疗和生物药物非注射给药剂型的开发具有一定的参考意义, 为进一步研制肺部给药制剂提供了依据。

REFERENCES

- [1] PATTON J S, BYRON P R. Inhaling medicines: delivering drugs to the body through the lungs [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2007, 6(1): 67-74.
- [2] CRYAN S A. Carrier based strategies for targeting protein and peptide drugs to the lungs [J]. *AAPS J*, 2005, 7(1): E20-E41.
- [3] XU Y Y, YANG J Y, HU J R, et al. Study on preparation of flexible nano liposome and drug delivery efficiency of brain [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 2014, 31(9): 1082-1086.
- [4] BAILEY M M, BERKLAND C J. Nanoparticle formulations in pulmonary drug delivery [J]. *Med Res Rev*, 2009, 29(1): 196-212.
- [5] ZHAO Y Z, XU Y Y, LI X, et al. An *in vivo* experiment to improve pulmonary absorption of insulin using microbubbles [J]. *Diabetes Technol Ther*, 2011, 13(10): 1013-1021.
- [6] ELLIOTT R B, EDGAR B W, PILCHER C C, et al. Parenteral absorption of insulin from the lung in diabetic children [J]. *Aust Paediatr J*, 1987, 23(5): 293-297.
- [7] HAQUE S, WHITTAKER M R, MCINTOSH M P, et al. Disposition and safety of inhaled biodegradable nanomedicines: Opportunities and challenges [J]. *Nanomedicine*, 2016, 12(6): 1703-1724..
- [8] D'ANGELO I, CONTE C, MIRO A, et al. Pulmonary drug delivery: a role for polymeric nanoparticles? [J]. *Curr Top Med Chem*, 2015, 15(4): 386-400.
- [9] CELEK A, CELEBI N, TIRNAKSIZ F, et al. A lecithin-based microemulsion of Rhinsulin with aprotinin for oral administration: investigation of hypoglycemic effects in nondiabetic and STZ-induced diabetic rats [J]. *Int J Pharm*, 2005, 298(1): 176-185.
- [10] LOMBRY C, BOSQUILLON C, PRE'AT V, et al. Vanbever R (2002) Confocal imaging of rat lungs following intratracheal delivery of dry powders or solutions of fluorescent probes [J]. *J Control Release*, 2002, 83(3): 331-341.
- [11] PACKHAEUSER C B, LAHNSTEIN K, SITTERBERG J, et al. Stabilization of aerosolizable nano-carriers by freeze-drying [J]. *Pharm Res*, 2009, 26(1): 129-138.
- [12] HARUSH-FRENKEL O, BIVAS-BENITA M, NASSAR T, et al. A safety and tolerability study of differently-charged nanoparticles for local pulmonary drug delivery [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2010, 246(1/2): 83-90.

收稿日期: 2016-04-27