

· 综述 ·

去甲斑蝥素新型制剂研究进展

黄思凡¹, 张元声², 陈建明¹, 武 鑫^{1,2} (1. 福建中医药大学药学院, 福建 福州 350122; 2. 上海维洱实验室, 上海 201712)

[摘要] **目的** 综述去甲斑蝥素新型制剂研究进展。**方法** 通过查阅近年来有关去甲斑蝥素新型制剂的中外文献, 对其研究进展进行归纳总结与分析。**结果** 经过对微球、纳米粒、脂质体和微乳等载药系统包载去甲斑蝥素的情况进行分析, 结果表明去甲斑蝥素新型制剂是极具开发潜力的新型制剂。**结论** 去甲斑蝥素是一种优良的抗肿瘤药物, 但传统的注射剂和片剂在临床应用上有很大的毒副作用。根据目前研究结果显示, 将其制备为新型制剂可以增强靶向性, 减小对肾脏和泌尿系统的毒副作用, 更好地发挥药效。因此, 将去甲斑蝥素制成新型制剂具有良好的发展前景。

[关键词] 去甲斑蝥素; 微球; 纳米粒; 脂质体; 微乳

[中图分类号] R944 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2021)01-0001-03

[DOI] 10.12206/j.issn.1006-0111.202004038

Research progress in new formulations of norcantharidin

HUANG Sifan¹, ZHANG Yuansheng², CHEN Jianming¹, WU Xin^{1,2} (1. School of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China; 2. Shanghai Weier Laboratory, Shanghai 201712, China)

[Abstract] **Objective** To review the research progress in new formulations of norcantharidin. **Methods** The foreign and domestic literature search in the new formulations of norcantharidin was conducted. The research and development of norcantharidin formulations were summarized and commented. **Results** The drug delivery systems, such as microspheres, nanoparticles, liposomes, and microemulsions, have great development potential as the new formulations for norcantharidin. **Conclusion** Norcantharidin is an excellent anti-tumor drug. The traditional injections and tablets have serious side effects in clinical application. The new formulations reduced the renal and urinary toxicity and side effects. Those formulations provided better therapeutic effects as target medication. Therefore, the new norcantharidin formulations have great development prospects.

[Key words] norcantharidin; microspheres; nanoparticles; liposomes; microemulsions

去甲斑蝥素(norcantharidin, NCTD)是斑蝥素的去甲基化衍生物, 与斑蝥素相比能降低对肾脏的毒副作用和泌尿系统的刺激性。目前, NCTD 临床应用形式以注射和口服为主, 在肿瘤疾病治疗上有一定效果, 如能抑制 DNA 复制, 促进肿瘤细胞死亡, 对多种肿瘤细胞具有细胞毒性且有一定升高白细胞的作用, 具有显著的保护肝细胞的作用^[1-3]。现代临床主要用于治疗肝癌、肺癌、乳腺癌、膀胱癌、胃癌和食管癌, 但其治疗窗窄, LD₅₀ 值低、毒性

大等缺陷使其临床应用受到了限制^[4]。近年来, NCTD 滴丸和软胶囊两种剂型也表现出稳定性好、生物利用度高等优点, 研究者正利用新型制剂的靶向性、缓控释等作用特点, 增强靶向给药性, 减少药物在肾脏分布和对泌尿系统的刺激作用, 使其在肿瘤疾病中发挥更显著的疗效。

1 微球

微球是指药物分散或被吸附在高分子聚合物基质中而形成的微小球实体。是一种新型缓控释制剂, 常应用于注射剂或固体制剂。药物包裹于微球内可起到靶向、缓释、控释、栓塞等定点、定时、定量和长效的作用。作为新型药物载体, 可增加药物稳定性, 使药物易于扩散和吸收, 降低药物毒性和局部刺激性, 提高药效^[5]。

NCTD 微球与传统 NCTD 注射剂和片剂相比能提高药物在肿瘤部位的浓度, 可有效抑制肿瘤生

[基金项目] 国家自然科学基金(81772749); 上海市青年科技启明星计划资助(18QB1400400); 上海科技小巨人工程项目(1902HX76600); 上海青浦区产学研合作发展资金项目资助(青产学研 2019-5)

[作者简介] 黄思凡, 硕士研究生, 研究方向: 中药制剂与炮制, Email: 752146166@qq.com, Tel: 18292690281

[通信作者] 武 鑫, 高级工程师, 硕士生导师, 研究方向: 纳米靶向给药系统及缓控释给药研究, Email: wuxin007@163.com, Tel: (021)31198947

长,起到良好的抗癌作用。李琦等^[6]制备的去甲斑蝥素海藻酸/聚酸酐微球(N-MS)。给予大鼠经肝动脉注射 N-MS,给药前平均肿瘤体积为 $(79.20 \pm 30.75) \text{ mm}^3$,给药 8 d 后平均肿瘤体积为 $(62.55 \pm 32.09) \text{ mm}^3$;空白组、NCTD 注射液组和 N-MS 组肿瘤生长率分别为 $(21.96 \pm 13.78) \%$ 、 $(11.20 \pm 7.22) \%$ 和 $(0.79 \pm 0.9) \%$ 。实验结果表明:N-MS 组肿瘤体积降低趋势明显小于其他组,肿瘤生长速度最慢,N-MS 组大鼠存活时间 $(35.13 \pm 4.54) \text{ d}$ 明显长于空白组 $(14.50 \pm 2.39) \text{ d}$ 和 NCTD 注射液组 $(16.25 \pm 1.98) \text{ d}$;各组肝肿瘤细胞凋亡指数(apoptotic index, AI)的比较,N-MS 组 $(42.60 \pm 3.72) \%$ 明显高于空白组 $(3.28 \pm 2.31) \%$ 和 NCTD 注射液组 $(10.45 \pm 3.57) \%$ 。N-MS 微球介入治疗肝癌较普通 NCTD 注射液有更好的抗肿瘤作用。

吴卫平等^[7]将 NCTD 微球用于肝肿瘤介入治疗,分别对空白对照组、NCTD 片剂组、和 NCTD 聚酸酐微球组分别进行肝动脉灌入药物,给药后各组大鼠肝肿瘤生长率分别为 $(13.6 \pm 6.7) \%$ 、 $(8.4 \pm 4.8) \%$ 和 $(0.9 \pm 0.3) \%$;各组肝肿瘤细胞凋亡情况分别为 $(2.5 \pm 0.8) \%$ 、 $(10.7 \pm 3.6) \%$ 和 $(26.6 \pm 8.7) \%$;各组大鼠平均生存时间为 $(10.3 \pm 2.3) \text{ d}$ 、 $(13.2 \pm 3.6) \text{ d}$ 和 $(24.2 \pm 7.5) \text{ d}$ 。研究数据显示,NCTD 聚酸酐微球组相对于 NCTD 片剂组和空白组具有良好的抑制肿瘤生长,促进肿瘤凋亡和明显提高大鼠生存时间的作用。文庆怡等^[8]研究去甲斑蝥素-N-乳糖酰壳聚糖/丝素蛋白微球作用于兔的抗肿瘤作用,实验结果也表明 NCTD 微球组抑制肿瘤生长和延长寿命作用明显强于 NCTD 注射液组。

大鼠静脉注射 NCTD 微球具有显著的降毒作用。将 Lin 等^[9]制备的 NCTD 负载的静脉注射脂质微球(NLM)与 NCTD 注射液(NI)进行对比。研究结果显示:NLM 和 NI 在大鼠体内的药动学相似。此外,其曲线下面积(AUC)与用药剂量无线性关系,且具有相当的抗肿瘤功效,NI 组对大鼠心脏及肾毒性发生率分别为 66.7% 和 73.3%,NLM 被包裹在微球中,不仅降低了 NCTD 在体液中的分布,也降低了对内脏器官的毒副作用,对心脏没有明显损伤,对肾毒性也较低,其发生率仅为 33.3%,经过恢复期,肾损害消失。这些研究表明,NLM 和 NI 的抗肿瘤效应相当,但 NLM 可减少药物的毒副作用。

2 纳米粒

纳米粒是指粒径在 1~1000 nm 的粒子。包括

药物纳米晶和载药纳米粒,是一种理想的药物载体。纳米粒进入人体循环后,能立即到达靶器官而被细胞吸收。可延长药物作用时间,减少药物用量及服用次数,起到缓释作用的同时可降低副作用^[10-11]。

2.1 壳聚糖纳米粒

自然界中大量存在的阳离子聚合物壳聚糖,为天然高分子碱性多糖,具有良好的生物活性,可有效抑制肿瘤细胞生长,具有较强抗菌作用^[12]。壳聚糖具有良好的生物降解力,现已广泛应用于新型纳米制剂,是抗癌药物的载体选择^[13]。壳聚糖材料能修饰各种抗肿瘤药物,对肿瘤及器官具有靶向作用,同时能够延长药物作用时间,有效降低毒副作用。

徐晓莉等^[14]研究了 NCTD-半乳糖修饰壳聚糖纳米粒(NCTD-GC-NPs)对人肝肿瘤细胞 SMMC-7721、HepG2 摄入以及在小鼠体内的抗肿瘤活性。实验结果表明,培养 5 h 的两种细胞对 $6 \mu\text{g/ml}$ 纳米粒的摄入情况:NCTD-GC-NP 组为 (142.30 ± 8.47) 个、NCTD 片剂组为 (87.69 ± 10.49) 个;另外对比了空白组、NCTD 片剂低中高剂量组和 NCTD-GC-NP 低中高剂量组对瘤重的影响,荷瘤小鼠给药后瘤重分别为 $(1.688 \pm 0.354) \text{ g}$ 、 $(1.313 \pm 0.292) \text{ g}$ 、 $(1.191 \pm 0.375) \text{ g}$ 、 $(0.777 \pm 0.268) \text{ g}$ 、 $(1.289 \pm 0.385) \text{ g}$ 、 $(0.940 \pm 0.297) \text{ g}$ 和 $(0.661 \pm 0.325) \text{ g}$,给药组瘤重明显低于空白组且 NCTD-GC-NP 低中高剂量组瘤重均小于 NCTD 低中高剂量组,说明 NCTD-GC-NP 具有良好的抗肿瘤作用。

Ding 等^[15]通过离子凝胶化技术制备 NCTD 壳聚糖纳米颗粒(PVP-NCTD-NP)新型制剂。在大鼠口服和静脉内给药后,药动学曲线表示 PVP-NCTD-NP 组和 NCTD 片剂组相对生物利用度分别为 325.5% 和 173.3%,提高了 1.878 倍,消除半衰期增加,且改善了药物在肝脏和胆汁中的分布。PVP-NCTD-NP 组粪便中消除药物量为 NCTD 片剂组的 32 倍。能增加 NCTD 的吸收,改善对肝脏系统的治疗效果,降低对肾、肝脏及胆的副作用。

随着多种类型的纳米载体材料广泛用于修饰抗肿瘤药物,如采用离子交联法制备的甘草次酸 N-乳糖酰壳聚糖 NCTD 纳米粒,所制备的 NCTD 纳米粒平均粒径、载药量和包封率分别为 $(414.40 \pm 10.98) \text{ nm}$ 、 $(13.99 \pm 0.16) \%$ 和 $(87.19 \pm 0.31) \%$,其 24 h 释放率接近 85%,而原料药在 4 h 基本完全释放,体外缓释作用明显^[16]。

2.2 纳米胶束

纳米胶束是由具有亲水基团和疏水基团的两亲嵌段共聚物在水中自组装形成的纳米级大小的

核-壳型胶束。纳米胶束具有载药量高、稳定性好、缓释作用明显、可提高生物利用度、降低副作用等优点,使其得到广泛应用^[17]。

传统 NCTD 注射液在体内释放速度快,抑瘤作用较差。而采用二硬脂酰磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇-马来酰亚胺修饰,在水中制成圆球状去 NCTD 纳米胶束,其包封率为 $(83.67 \pm 1.78)\%$, 粒径为 (138.6 ± 45.8) nm。体外抗肿瘤活性实验中 NCTD 纳米胶束组细胞生存率略低于阳性对照组,而载药组对细胞生存率无明显影响。体内抗肿瘤实验分为空白组、NCTD 注射液组、NCTD 纳米胶束低、高剂量组,经尾静脉给药,其中各组瘤质量分别为 (1.15 ± 0.14) g、 (0.52 ± 0.12) g、 (0.63 ± 0.14) g 和 (0.41 ± 0.21) g,抑瘤率分别为 0%、54.78%、45.22% 和 64.35%,表明 NCTD 纳米胶束高剂量组抑瘤率明显高于其他各组,肿瘤细胞存活率较其他组明显降低,且随药物作用时间的延长,存活率直线下降^[18]。

用碳酸酐酶 IX 抗体修饰 NCTD,制成的纳米胶束具有良好的抑制肿瘤效应。其包封率、载药量分别为 $(80.93 \pm 1.01)\%$ 和 $(1.26 \pm 0.03)\%$ 。将制备的纳米胶束作用于荷瘤鼠,实验结果表明:载体胶束和 NCTD 注射剂的抑瘤作用与剂量和时间均有关,但载药胶束的抑瘤性更强;碳酸酐酶 IX 抗体载药胶束能有效促进组织肿瘤凋亡,使药物直接作用于靶器官,药物直接释放于靶器官,这也同时降低了药物对其他器官的毒副作用^[19]。

3 脂质体

将药物包封于类脂质双分子层薄膜中间所制成的超微球形载体制剂称为脂质体。包载于脂质体中的药物,可降低药物的毒副作用,减少对正常细胞的损害,经修饰的脂质体可通过靶向作用将药物输送到靶器官和特定组织,改善药动学特征,延长半衰期,减少药物服用剂量等^[20]。

顾宗林等^[21]通过优化逆向薄膜蒸发法条件制备的 NCTD 脂质体具有较小的粒径 (90.50 ± 2.40) nm,但包封率相对较低仅为 $(34.7 \pm 1.3)\%$ 。其体外释放度通过平衡透析法考察,NCTD 脂质体和原料药释放度均符合 Weibull 方程,NCTD 脂质体的释放度较原料药缓慢,具有明显的缓释效应。

乳糖化-NCTD 与磷脂聚合成药物磷脂复合物(Lac-NCTD),对药物的脂溶性和渗透性均有大幅提高,以增大体内吸收率。将 Lac-NCTD 制成 pH 敏感性脂质体(pH-Lac-NCTD),在靶向给药、释放速度、抑制肿瘤生长和提高疗效方面均优于 Lac-

NCTD。pH-Lac-NCTD 形态完整,粒径为 (47.18 ± 4.16) nm,包封率为 $(70.0 \pm 1.3)\%$ 。pH-Lac-NCTD 释药时间延长,其释药特点符合突释-缓释模型,服药后立即达到有效血药浓度,之后释药缓慢,能长时间保持平稳有效血药浓度。体内抑瘤结果表明:pH-Lac-NCTD 脂质体到达肝脏和病变部位能定向释放药物,能在肿瘤部位主动释药,从而有效抑制肿瘤生长速度^[22-23]。

将 NCTD 介孔二氧化硅纳米粒和粉防己碱为药物包载于脂质体中,制备为双载药系统脂质体。制备的双载药脂质体具有核囊结构,NCTD 与粉防己碱的包封率分别为 86.62%, 79.19%, 平均粒径 (207.5 ± 3.6) nm。能达到被动靶向肝脏的作用,提高药物在肝脏分布,减少在肾脏分布,减少药物对肾的副作用。同时利用粉防己的协同作用,提高去甲斑蝥素的抗肿瘤效果^[24]。

4 微乳

微乳作为一种新型的微粒制剂载体,释药性能良好,能增加药物溶解度,提高药物稳定性,增加生物利用度且具有缓释和靶向释药特征,被广泛应用于药剂学中。微乳是油水混合系统,将药物包裹于微乳颗粒中,可延缓药物释放,能有效降低 NCTD 的毒副作用,提高抗肿瘤作用。

将 NCTD 制成微乳可提高药物在体内的靶向作用,增强药物生物利用度。张莉等^[25]将肝靶向 NCTD 微乳进行了 3 个靶向性指标和半衰期($t_{1/2}$)、MRT、AUC 评价,结果显示,NCTD 微乳在血浆中浓度较高,总靶向系数(Te)是注射剂的 0.34 倍,靶向效率 r_e 为 4.07,相对分布效率 R_{Te} 为 1.95,肝靶向性明显。NCTD 微乳改变 NCTD 在小鼠体内的药时曲线和血药浓度,其消除 $t_{1/2}$ 、MRT 和 AUC 比其注射剂分别增加了 2.48 倍、1.27 倍和 3.21 倍,表明 NCTD 微乳在血液循环系统中有长循环效应。

5 结语

NCTD 是一种极具发展前景的抗肿瘤药物,为了其更好的应用,现已采用改变剂型的方式,改善其水溶性差、对肾脏和泌尿系统的刺激性和毒性、释药速度快、体内代谢迅速、生物利用度低等问题。NCTD 微球对肝癌的治疗具有很强的药理活性,其缓释和靶向作用能明显起到减毒增效,延长药物释放时间等作用。对难溶性药物,刺激性药物的应用提供了新的选择。NCTD 新型制剂在提高

(下转第 8 页)

- bioavailable anticancer agents[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2013, 4(2): 180-185.
- [20] SHIN D S, KIM H N, SHIN K D, et al. Cryptotanshinone inhibits constitutive signal transducer and activator of transcription 3 function through blocking the dimerization in DU145 prostate cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(1): 193-202.
- [21] IWAMOTO K, UEHARA Y, INOUE Y, et al. Inhibition of STAT3 by anticancer drug bendamustine[J]. *PLoS One*, 2017, 12(1): e0170709.
- [22] CHANG Y F, LIM K H, CHIANG Y W, et al. STAT3 induces

G9a to exacerbate HER3 expression for the survival of epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitors in lung cancers[J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 959.

- [23] SHASTRI A, CHOUDHARY G, TEIXEIRA M, et al. Antisense STAT3 inhibitor decreases viability of myelodysplastic and leukemic stem cells[J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(12): 5479-5488.

[收稿日期] 2020-06-07 [修回日期] 2020-08-28

[本文编辑] 李睿旻

(上接第 3 页)

抗肿瘤和降低毒性方面表现出良好的应用前景,但目前 NCTD 新型制剂中普遍存在包封率、载药率低等问题,因此,有待研究者进一步优化制备方法和载体材料,运用制剂新技术改善包封率和载药率,相信 NCTD 新型制剂会更好的应用于药剂学领域。

【参考文献】

- [1] ZHANG Z H, YANG L, HOU J, et al. Promising positive liver targeting delivery system based on arabinogalactan-anchored polymeric micelles of norcantharidin[J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2018, 46(sup3): S630-S640.
- [2] CHANG C, ZHU Y Q, TANG X T, et al. The anti-proliferative effects of norcantharidin on human HepG2 cells in cell culture[J]. *Mol Biol Rep*, 2011, 38(1): 163-169.
- [3] LAWRENCE M, REES G D. Microemulsion-based media as novel drug delivery systems[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2000, 45(1): 89-121.
- [4] 李柏, 朱立峰, 张亚妮, 等. 去甲斑蝥素两种注射剂型小鼠急性毒性比较[J]. *中西医结合学报*, 2007, 5(1): 74-77.
- [5] WANG S B, GUO S R, CHENG L. Disodium norcantharidate loaded poly(Epsilon-caprolactone) microspheres I. Preparation and evaluation[J]. *Int J Pharm*, 2008, 350(1-2): 130-137.
- [6] 李琦, 范忠泽, 李先茜, 等. 去甲斑蝥素微球介入治疗大鼠肝癌疗效及其机制研究[J]. *中西医结合学报*, 2006, 4(4): 378-383.
- [7] 吴卫平, 王宁. 微球用于肝肿瘤介入治疗中的效果观察[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2016, 23(S2): 22-23.
- [8] 文庆怡, 张光宇, 周晓峰, 等. 去甲斑蝥素-N-乳糖酰壳聚糖/丝素蛋白微球在兔体内的抗肿瘤作用[J]. *中国新药杂志*, 2014, 23(9): 1075-1080.
- [9] LIN X, ZHANG B, ZHANG K R, et al. Preclinical evaluations of norcantharidin-loaded intravenous lipid microspheres with low toxicity[J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2012, 9(12): 1449-1462.
- [10] 李素珍, 刘为萍, 朱静, 等. 去甲斑蝥素立方液晶纳米粒制备及体外释放度研究[J]. *中华中医药杂志*, 2017, 32(12): 5566-5568.
- [11] CAPAN Y, WOO B H, GEBREKIDAN S, et al. Preparation and characterization of poly (D, L-lactide-co-glycolide) microspheres for controlled release of poly(L-lysine) complexed plas-

mid DNA[J]. *Pharm Res*, 1999, 16(4): 509-513.

- [12] 郑连英. 甲壳低聚糖的研究进展[J]. *材料科学与工程*, 1999, 17(3): 97-100.
- [13] ELGADIR M A, UDDIN M S, FERDOSH S, et al. Impact of chitosan composites and chitosan nanoparticle composites on various drug delivery systems: a review[J]. *J Food Drug Anal*, 2015, 23(4): 619-629.
- [14] 徐晓莉, 李晓森, 王钦, 等. 人肝肿瘤细胞SMMC-7721、HepG2对去甲斑蝥素-半乳糖修饰壳聚糖纳米粒的摄取及S180荷瘤小鼠在体抗肿瘤活性的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2017, 37(15): 3661-3664.
- [15] DING X Y, HONG C J, LIU Y, et al. Pharmacokinetics, tissue distribution, and metabolites of a polyvinylpyrrolidone-coated norcantharidin chitosan nanoparticle formulation in rats and mice, using LC-MS/MS[J]. *Int J Nanomedicine*, 2012, 7: 1723-1735.
- [16] 张亚会. 甘草次酸囊泡包裹的N-乳糖酰壳聚糖纳米粒的制备及质量评价[D]. 兰州: 甘肃中医药大学, 2016.
- [17] 李文渊, 童丽, 热增才旦. 纳米胶束作为药物载体的研究进展[J]. *中国执业药师*, 2009, 6(12): 36-40.
- [18] 王琳, 陆丹玉, 方晨. 去甲斑蝥素纳米胶束的制备及抑瘤作用研究[J]. *中国药房*, 2017, 28(19): 2680-2684.
- [19] 王琳, 张雅娟, 杨智钧, 等. 碳酸酐酶IX抗体修饰去甲斑蝥素纳米胶束的肺靶向性研究[J]. *中药药理与临床*, 2017, 33(1): 52-56.
- [20] HE C, HU Y P, YIN L C, et al. Effects of particle size and surface charge on cellular uptake and biodistribution of polymeric nanoparticles[J]. *Biomaterials*, 2010, 31(13): 3657-3666.
- [21] 顾宗林, 王佳明, 郭哲宁, 等. 去甲斑蝥素脂质体的制备及其体外释放特性的研究[J]. *抗感染药学*, 2012, 9(4): 277-280.
- [22] 周奕, 叶建林. 乳糖化-去甲斑蝥素磷脂复合物pH敏感型脂质体肝靶向抗肿瘤活性研究[J]. *中草药*, 2014, 45(19): 2803-2808.
- [23] 周奕, 许静玉, 管敏, 等. 乳糖化-去甲斑蝥素磷脂复合物及其pH敏感型脂质体的制备[J]. *中国新药杂志*, 2011, 20(17): 1631-1638.
- [24] 熊友香, 汤红霞, 马瑞, 等. 去甲斑蝥素/粉防己碱双载药脂质体的制备工艺及体外释放性质考察[J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(12): 2531-2536.
- [25] 张莉. 肝靶向去甲斑蝥素微乳的研究[D]. 成都: 四川大学, 2004.

[收稿日期] 2020-04-08 [修回日期] 2020-06-29

[本文编辑] 李春德