

文章编号:(2008)04-0206-08

## 长效微球注射剂及其在糖尿病治疗领域中的应用

艾 国, 程远国

(军事医学科学院 微生物流行病学研究所, 北京 100071)

**摘要:**随着新型释药系统的研究和发展,长效微球注射剂已引起广泛关注。DNA重组人胰岛素等用于治疗糖尿病的生物技术药物经长效微球注射剂给药后可以减少糖尿病人所需的多次注射,使药物治疗更易接受。作者综述了近年来长效微球注射剂的研究进展,提示此种新型释药系统在治疗糖尿病的药物中,将成为一个很有希望的给药途径。

**关键词:**药剂学;新型释药系统;综述;长效微球注射剂;糖尿病

**中图分类号:** R94

**文献标志码:** A

糖尿病是由体内糖、蛋白质和脂肪代谢紊乱而造成的一种慢性进行性终身疾病,主要分为两大类:1型糖尿病(胰岛素依赖型糖尿病)和2型糖尿病(非胰岛素依赖型糖尿病)<sup>[1]</sup>。目前对糖尿病的治疗主要依赖于药物治疗,继牛和猪胰岛素、口服磺酰脲类、双胍类药物及 $\alpha$ -糖苷酶抑制剂后,又出现非磺酰脲类促分泌剂、胰岛素增敏剂、DNA重组人胰岛素、胰高血糖素样肽等多种药物。由于至今还没有找到能够完全治愈糖尿病的方法,因此糖尿病患者需要终身服药,特别是治疗糖尿病不可缺少的DNA重组人胰岛素等生物技术药物口服无效,必须频繁的注射给药,给患者带来了莫大的痛苦。因此在研究开发治疗糖尿病新药的同时,新型释药系统的研究应用也成为国内外研究的热点,为糖尿病的治疗开辟了崭新的方向。

新型释药系统在治疗糖尿病用药方面,特别是在DNA重组人胰岛素等生物技术药物方面的研究应用非常活跃,主要包括肺部给药、鼻腔给药、口腔黏膜给药、透皮给药以及新型口服制剂、注射剂等多个方面<sup>[2]</sup>。作者在查阅国内外文献的基础上,重点就长效微球注射剂在治疗糖尿病用药中的研究应用综述如下。

### 1 微球概述

微球(microspheres)是指药物溶解或者分散在聚合物材料基质中形成的微小球状实体,常见粒径一般在1~500 $\mu\text{m}$ 之间,属于基质型骨架微粒。它用于药物载体的研究始于20世纪70年代中期,药物制成微球后,因其对特定器官和组织的靶向性及微粒中药物释放的缓释性,已经成为近年来新型释药系统研究的热点之一<sup>[3]</sup>。无论在蛋白质、多肽等生物技术药物的递送方面如奥曲肽(Sandostatin LAR<sup>®</sup> depot, 善龙<sup>®</sup>),还是在传统的化学药物的递送方面,如利培酮(Risperidal Consta<sup>®</sup>, 恒德<sup>®</sup>),微球注射剂都以其长效缓释的优越特性受到了日益广泛的重视和应用,见表1。

收稿日期:08-01-07

**作者简介:**艾国(1976-),男(汉族),陕西米脂人,博士研究生, Tel. 010-66948441, E-mail guoair@sohu.com;  
程远国(1961-),男(汉族),辽宁沈阳人,研究员,博士,主要从事生物技术药物药代动力学研究, Tel. 010-66948493, E-mail chengyg@nic.bmi.ac.cn。

表1 上市的微球注射剂产品

产品名称	药物成分	聚合物	缓释时间/月	适应症	生产商
Lupron Depot <sup>®</sup>	亮丙瑞林	PLGA/PLA	1,3,4		TAP
Zoladex Depot <sup>®</sup>	戈舍瑞林	PLGA	1,3	促性腺激素释放	I.C.I.
Decapeptyl <sup>®</sup> SR		PLGA/PLA	1,3	激素激动剂,用于	Ipsen-Beaufour
Decapeptil <sup>®</sup>	曲谱瑞林	PLGA	1	激素依赖性肿瘤	Ferring
Trelstar <sup>™</sup> Depot		PLGA	1,3	的治疗	Pfizer
Suprecur <sup>®</sup> MP	布舍瑞林	PLGA	1		Aventis
Sandostatin LAR <sup>®</sup> depot	奥曲肽	PLGA	1	肢端肥大症和胃 肠胰内分泌肿瘤	Novartis
Somatuline <sup>®</sup> LA	兰瑞肽	PLGA	1	肢端肥大症	Ipsen-Beaufour
Arestin <sup>®</sup>	二甲胺四环素	PLGA	0.5	牙龈疾病	OraPharma
Risperdal Consta <sup>®</sup>	利培酮	PLGA	0.5	精神分裂症	Janssen Pharmaceutica

PLGA—乳酸-羟基乙酸共聚物；PLA—聚乳酸

### 1.1 微球的制备材料

一般将制备微球的材料分为不可生物降解型与可生物降解型两类。前者因其毒性较大、在体内难以排除且缓释效果不理想而基本上已被淘汰,因此可生物降解型已成为制备微球的主要载体材料。可生物降解型又可以分为天然高分子材料和合成高分子材料两种。

天然高分子材料主要包括血红蛋白、壳聚糖、淀粉、海藻酸盐、明胶等,它们具有已知的结构、物理及化学特性,但是提取、制备较难,成本昂贵,而且由于来源上的差异,质量往往难以控制,因此不适于规模化生产,使其应用受到了一定的限制。所以,研究重点逐渐转移到化学合成的生物降解聚合物上。

常见的化学合成生物降解聚合物主要有脂肪族聚酯、聚氰基丙烯酸酯、聚原酸酯、聚 $\epsilon$ -己内酯、聚脲烷、聚氨基酸等,其中应用最广泛的是 $\alpha$ -聚酯类的乳酸-羟基乙酸共聚物(poly(lactide-co-glycolide), PLGA),并已获得美国FDA批准用作手术缝合线、心血管支架、控释药物涂层,以及注射用微囊、微球、埋植剂等的骨架材料<sup>[4-5]</sup>。目前PLGA的制备多采用开环聚合。常见的开环聚合是将乙醇酸和乳酸分别脱水环化,合成乙交酯(GA)、丙交酯(LA)两种单体,再由GA和LA开环聚合得到PLGA无规共聚物。在开环聚合反应中,辛酸亚锡是目前公认效果较好、活性高、应用较多的催化剂,其催化机理为通过插入与引发剂共同引发聚合反应。PLGA的主要质量指标包括FT-IR或NMR的鉴定、固有黏性(inherent viscosity)、共聚物的单体比例(LA/GA)

残留的  $\text{Sn}^{+2}$ 、微生物杂质以及热原等。现在已有商品化的 PLGA 产品,如美国的 Birmingham Polymers 公司的 Lactel<sup>®</sup> 聚合物和德国 Boehringer Ingelheim 公司 Resomer<sup>®</sup> 聚合物,这些聚合物产品在完全符合美国 FDA 洁净度 100 000 (在洁净的房间内,温度和湿度控制在一定范围)的 cGMP 标准条件下生产,除了机械属性,聚合物的其他属性可根据客户要求定制,包括降解率、亲水性以及可溶性等。

## 1.2 微球的制备方法

微球的制备工艺主要有溶剂挥发法、相分离法、喷雾干燥法、沉淀析出法和凝聚法等。作为蛋白质、多肽等生物技术药物的载体时,复乳法是目前最为常用的制备方法。随着研究的深入,又出现了无水制备微球法,低温喷雾提取法等新型制备技术。

### 1.2.1 复乳法

复乳法制备微球的主要工艺过程为:将药物的水溶液加入到聚合物的有机溶剂(常用二氯甲烷)中,超声或高速搅拌后制成初乳(水/油, W/O),将初乳转移到另一含乳化剂(如聚乙烯醇, PVA)的水相中制成复乳(水/油/水, W/O/W),不断搅拌挥发有机溶剂,使高分子材料固化,收集、洗涤、冷冻干燥后得到微球,制备过程见图 1。此法工艺简单,初乳乳滴的粒径较易控制,因此药物在微球中较易分散均匀,且包封率及得率较高,药物释放也较理想。为了避免蛋白质、多肽类药物的变性失活,通过加入其他蛋白质、糖、多元醇、表面活性剂、无机盐等各种类型的添加剂,可以在制备和释放过程中对蛋白质、多肽类药物起到较好的保护作用<sup>[5]</sup>。

### 1.2.2 无水制备微球法

使用复乳法制备微球一个最大的缺点就是引入了油水界面,特别是在初乳的形成过程中,疏水界面通常会引起蛋白质的界面吸附,导致其伸展和聚集。为了改进复乳法的缺点,有些学者使用了无水制备微球的方法,主要包括固体/油/油(S/O/O)和固体/油/水(S/O/W)制备微球法。

固体/油/油(S/O/O)法主要是将蛋白质微粉直接分散在溶有高分子材料的有机溶剂中(一般用乙腈)形成混悬液(固体/油, S/O),在另一含有乳化剂的油溶液(一般用棉子油)中乳化(固体/油/水, S/O/O),最后固化形成微球<sup>[6]</sup>,制备过程见图 1。研究表明在此工艺过程中较好的维持了蛋白质的结构,在体外释放过程中也减少了因含水而形成的药物聚集。

在固体/油/水(S/O/W)制备微球法中,蛋白质药物或者是与聚乙二醇(PEG)等稳定剂混合后经冷冻干燥形成的粒度极细的粉末(直径 < 5  $\mu\text{m}$ ),混悬在溶有聚合物的有机溶剂中形成混悬液(固体/油, S/O),这一混悬液在含有乳化剂的水溶液中乳化(固体/油/水, S/O/W),挥发有机溶剂,最后收集、洗涤、冷冻干燥后得到微球,制备过程见图 1。由于在乳化过程中蛋白质可能从内油相溶解到了外水相,用 S/O/W 法的一个主要问题是通常水溶性药物包封率较低。此工艺存在的另一个问题是固相中添加剂的损失。添加剂一般是分子质量小、水溶性好的物质,它们可进入外水相而造成损失,或在固化过程中从蛋白存在的固相中脱离而滞留在高分子材料中,从而可能降低了添加剂稳定蛋白质的作用<sup>[7-8]</sup>。

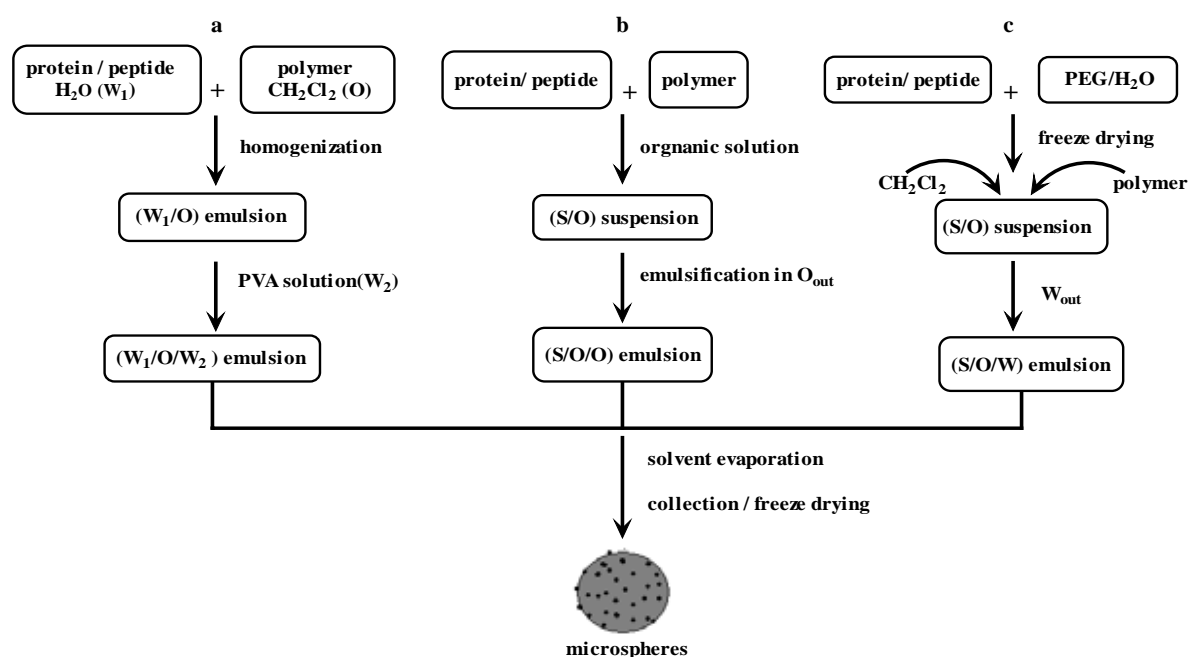


Fig. 1 A schematic representation of the procedures for preparing PLGA microspheres by W/O/W method (a), S/O/O method (b) and S/O/W method (c), respectively

### 1.2.3 其它新型制备技术

在低温喷雾提取法中蛋白质粉末悬浮在溶有 PLGA 的有机溶剂中,通过喷雾的方法形成小液滴,在液氮中冷冻,用一低温有机共溶剂(例如乙醇)抽提溶解聚合物的溶剂而得到微球。这种方法已被用于制备重组人生长激素(rhGH)微球<sup>[9]</sup>、重组人胰岛素样生长激素(rhIGF-1)微球<sup>[10]</sup>等。尽管这一方法在微球制备工艺过程中成功地保持了蛋白质的生物学活性,但在体内外释放过程中仍然可能造成较大的活性损失。

## 2 长效微球注射剂类药物在糖尿病治疗中的应用

随着生物技术的蓬勃发展,出现了越来越多的生物技术药物,它们在治疗癌症、艾滋病、肝炎、自身免疫性疾病等疾病方面发挥着愈来愈大的作用。糖尿病作为至今无法根治的人类顽疾之一,在不断研究新的化学类药物的同时,生物技术药物也日益介入到糖尿病的治疗当中,世界上第一个生物技术药物就是治疗糖尿病的 DNA 重组人胰岛素。此类药物不同于传统化学药物的最大特点是:结构复杂,理化性质不稳定,口服给药易受胃肠道 pH、菌群及酶系统破坏,稳定性差;分子质量大,生物膜穿透性差,吸收困难,生物利用度低;药理活性高;生物半衰期短,体内清除率高。如普通胰岛素  $t_{1/2}$  为 9~10 min,皮下注射给药,每天需 3、4 次。由于生物技术药物给药存在诸多困难和不便,因此,研究和开发新型释药系统是解决生物技术药物生物利用度、稳定性等诸多问题的重要途径。其中长效微球注射剂的研究应用日益受到研究者的关注,并且已经在一些药物中取得了成功。最显著的产品是在前列腺癌的治疗领域,只需注射一次生物降解聚合物产品,可根据药物的成分和

配方持续释药 1~4 月。其他进展中的工作显示,在接种疫苗的改进和多种蛋白质、肽类药物的释放方面,可生物降解聚合物产品也都取得了令人鼓舞的结果。这些成果和进展为长效微球注射剂在胰岛素等治疗糖尿病药物中的研究应用提供了希望。

## 2.1 胰岛素(insulin, INS)

胰岛素是脊椎动物胰脏  $\beta$  细胞分泌的一种多肽激素,其用于糖尿病治疗已有 70 余年历史,至今还是治疗 1 型糖尿病的首选药物。目前 INS 临床常用剂型仍为皮下注射,这给病人长期用药带来痛苦与不便,且伴发多种不良反应。为此,国内外许多药学工作者致力于长效微球注射剂作为胰岛素给药途径的研究。

Paolo 等以聚磷腈为骨架材料<sup>[12]</sup>,分别采用固体/油/油法、复乳法、固体/油/水法制备了胰岛素微球,得到的微球外观圆整,粒径均匀。体外释放具有两相特征:突释相及随后的缓慢释放相。以糖尿病小鼠为动物模型,皮下注射胰岛素微球,小鼠的血糖水平明显降低,其中复乳法制备的微球降血糖作用可持续 1 000 h。Ibrahim 等采用复乳法<sup>[13]</sup>,分别以 PLA 和 PLGA 为包裹材料制备了胰岛素微球,两种材料得到的微球包封率分别为 75.18%和 79.63%,平均粒径分别为 43、53  $\mu\text{m}$ ,体外释放具有明显的突释效应。释放 18 d 后,萃取出微球中的残余药物,采用 HPLC 和 HPLC-MS 分析,发现脱酰胺作用是导致胰岛素不稳定的主要因素。Ma Li-min 等用一种新型的嵌段聚酯高分子化合物  $\epsilon$ -己内酯 *D,L*-丙交酯嵌段共聚物(PCLA)为载体材料,使用超声双乳化溶剂蒸发法制备了胰岛素嵌段聚酯共聚物微粒(INS-PCLA-MP),微粒大小均匀,表面光滑圆整,平均粒径 1.9  $\mu\text{m}$ ,包封率为 76.46%<sup>[14]</sup>。通过放射免疫法(RIA)测定 INS-PCLA-MP 表面吸附的 INS,从而可以得到吸附的 INS 占总包封 INS 的质量百分含量,结果表明 INS 的大部分(质量百分含量约 81.75%)被包埋在 MP 内部,INS-PCLA-MP 主要以包裹的形式载药。累计释药曲线表明 INS-PCLA-MP 具有明显的“突释效应”(2 h 左右),随后进入缓慢释放期,24 h 的累计释放量为 58.67%。药效学研究表明,12  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  的 INS-PCLA-MP 经糖尿病大鼠皮下给药后具有明显的降血糖作用,降血糖持续时间达 8 h 以上,相对生物利用度为 132.95%。

## 2.2 胰高血糖素样肽-1(GLP-1)

GLP-1 是一种肠肽激素,主要由末端空肠、回肠和结肠的 L 细胞分泌,由 30 个氨基酸组成。研究表明 GLP-1 能明显降低 2 型糖尿病患者的空腹和餐后血糖,而且它的肠促胰岛素分泌作用是血糖依赖性的,只有在高血糖情况下才促进胰岛素分泌,不会出现低血糖现象。同时,GLP-1 能够血糖依赖性的减少胰高血糖素分泌。由于 GLP-1 的上述生理功能,使其在糖尿病的治疗中显示了较好的应用前景<sup>[15]</sup>。然而,GLP-1 在体内很快被二肽基肽酶(DPP-)降解,使得 GLP-1 在体内的半衰期较短,静脉注射不足 5 min,所以需要多次重复给药才能达到治疗效果。

Yin Dong-feng 等采用复乳法制备了 GLP-1 的 PLGA 微球<sup>[16]</sup>,当在外水相中的 NaCl 质量浓度为 150  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  时,微球的包封率达到 85%以上,平均粒径为 30  $\mu\text{m}$ 。当使用低黏度 PLGA 并且在油相中加入质量分数为 10%的 PEG 6000 时,显著的提高了一个月内药物的累积释放率,可达 83%。从制

备好的微球中提取出来的 GLP-1 与对照品比较,其促胰岛素分泌等作用没有显著性差异,说明制备工艺不影响 GLP-1 的生物学活性,但在体外释放 15 d 后,将微球中剩余的 GLP-1 提取出来,与对照品比较在 10、20、30 min 大鼠血清中胰岛素浓度下降明显,说明在微球释放后期 GLP-1 的活性有显著降低。

### 2.3 倍它

倍它 (Byetta, 通用名 exenatide) 是全新类型的糖尿病治疗药物,由美国礼来公司和 Amylin 公司共同开发。研究者最初从 Gila 畸形蜥蜴及墨西哥珠状蜥蜴唾液分泌物中分离出一种叫做 exendin-4 的化学物质,是由 39 个氨基酸组成的多肽。研究表明 exendin-4 为 GLP-1 激动剂,具有促胰腺分泌胰岛素作用、抑制胰高血糖素释放、降低甘油三酯水平和延迟胃酸分泌活性等药理作用。现已通过化学法或基因工程法合成获得,将其命名为 exenatide,药名“倍它”,为皮下注射针剂,每日用药 2 次,于 2005 年获得了美国 FDA 批准,获准用于服用传统的二甲双胍和磺脲类药物后,血糖控制不理想的 2 型糖尿病患者<sup>[17]</sup>。

与此同时,利用 Alkermes 公司的 Medisorb 缓释注射剂型专利技术,三个公司正在合作开发 exenatide 的长效微球注射产品 Exenatide LAR。Exenatide LAR 以 PLGA 为包裹材料,制成含 exenatide 质量分数约 3% 的微球,目前已处于二期临床研究阶段,它能在 7d 内持续降低葡萄糖水平,并且不会造成低血糖,它的研制成功无疑将是 2 型糖尿病治疗研究的重大进展。

### 2.4 胰岛素样生长因子-1(IGF-1)

IGF-1 与胰岛素具有相似的结构,已经通过基因重组技术生产供临床使用。短期静脉输注或皮下注射,通过与特异性受体结合而发挥胰岛素样作用,对胰岛素治疗无效的、严重抵抗者可应用 IGF-1 作为降糖药物,目前主要用于治疗极度胰岛素低下或作为糖尿病治疗的辅助药物。

Meinel 等采用复乳法制备了 IGF-1 的 PLGA 微球,通过在内水相中分别加入牛血清白蛋白、明胶或聚乙二醇很好的保护了 IGF-1,使其没有发生降解,体外释放可以达到 13 d,而且没有丧失生物学活性<sup>[18]</sup>。Xanthe 等先用锌离子与 IGF-1 形成复合物,再用低温喷雾提取法制备了 IGF-1 的 PLGA 微球,载药量在 15%~20%,体外释放可持续 2 周,突释 < 20%,糖尿病大鼠的体内药物释放速率与体外相似,而且在整个制备和释放过程中,IGF-1 的生物学活性保持完好<sup>[10]</sup>。

## 3 结语

虽然长效微球注射的研究中还存在着一些问题,主要包括制备过程中蛋白质、多肽等生物技术药物的稳定性差、包封率低、载药量小、易聚集而使生物活性降低,及可能引起的免疫反应、体内外释放时具有明显的突释效应等,但是它与传统的注射给药相比具有显著的优越性,相信随着科技的发展和医药界的努力,长效微球注射剂在糖尿病治疗领域一定会大有作为,有希望为糖尿病的治疗提供崭新的释药系统,开发出安全、有效、方便的长效微球注射剂,改善糖尿病患者的生活状况。

**参考文献：**

- [1] YASUNORI K, YASUHIKO I, MASASHI K, et al. Report of the committee on the classification and diagnostic criteria of diabetes mellitus[J]. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 2002, 55(1): 65-85.
- [2] OMATHANU P, RAMESH P. Insulin therapies-past, present and future[J]. *Therapeutic Focus*, 2001, 6(20): 1056-1061.
- [3] JEFFREY L C, ANN D, RANDALL M. Emerging protein delivery methods[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2001, 12(2): 212-219.
- [4] FREIBERG S, Zhu Xiao-xin.. Polymer microspheres for controlled drug release[J]. *Int J Pharm*, 2004, 282(5): 1-18.
- [5] SINHA, V R, AMAN T. Biodegradable microspheres for protein delivery[J]. *J Controlled Release*, 2003, 90(3): 261-280.
- [6] CANASQUILO K G, STANLEY A M, APONTE CARRO J C, et al. Non-aqueous encapsulation of excipient-stabilized spray freeze-dried BSA into poly(lactide-co-glycolide) microspheres results in release of native protein[J]. *J Controlled Release*, 2001, 76(3): 199-215.
- [7] CASTELLANOS L, CANASQUILO K G. Encapsulation of bovine serum albumin in poly (lactic-co-glycolic) microspheres by the solid-in oil-in-water technique[J]. *J Pharm Pharmacol*, 2001, 53(2): 167-179.
- [8] MORITA T, SAKAMUM Y, HORIKIRI Y, et al. Protein encapsulation into biodegradable microspheres by a novel S/O/W emulsion method using poly(ethylene glycol) as a protein micronization adjuvant[J]. *J Control Release*, 2000, 69(3): 435-448.
- [9] CLELAND J L, JOLMSON O L, PUTNEY S, et al. Recombinant human growth hormone poly(lactic-co-glycolic acid) microsphere formulation development[J]. *Adv Drug Del Rev*, 1997, 28(1): 71-84.
- [10] LAM X M, DUENAS E T, DAUGHERTY A L, et al. Sustained release of recombinant human insulin-like growth factor-I for treatment of diabetes[J]. *J Controlled Release*, 2000, 67(2/3): 281-296.
- [11] HARJIT T, PAL J, HANS P M, et al. Formulation aspects of biodegradable polymeric microspheres for antigen delivery[J]. *Adv Drug Del Rev*, 2005, 57(3): 357-376.
- [12] PAOLO C, FRANCESCO M V, SILVANO L. Polyphosphazene microspheres for insulin delivery[J]. *Int J Pharm*, 2000, 211(1/2): 57-65.
- [13] MOHAMED A I, AHMED I, MOHAMED I F, et al. Stability of insulin during the erosion of poly(lactic acid) and poly(lactic-co-glycolic acid) microspheres[J]. *J Controlled Release*, 2005, 106(3): 241-252.
- [14] MA Li-min, ZHANG Qiang, LI Yu-zheng, et al. Study on preparation and pharmacodynamics of insulin loaded polyester microparticles[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2000, 35(11): 850-853.
- [15] TRACY A P, NIGEL H G. The glucagon-like peptides: a double-edged therapeutic sword[J]. *TRENDS in Pharmacological Sciences*, 2003, 24(7): 377-383.
- [16] YIN Dong-feng, WU Cheng, LU Ying, et al. Studies on the preparation and release *in vitro* of the glucagon-like

- peptides-1 loaded long-acting injectable microspheres [J]. *Pharm Care & Res*, 2005, 5(3): 243-247.
- [17] LORETTA L N, ANDREW A Y, DAVID G P. Pharmacology of exenatide (synthetic exendin-4): a potential therapeutic for improved glycemic control of type 2 diabetes[J]. *Regulatory Peptides*, 2004, 117(2): 77-88.
- [18] LORENZ M, OSCAR E I, JURGEN Z, ET AL. Stabilizing insulin-like growth factor-I poly(*D,L*-lactide-co- glycolide) microspheres[J]. *J Controlled Release*, 2001, 70(1/2): 193-202.

## The Progress of protein/peptide microspheres for diabetes mellitus

AI Guo , CHENG Yuan-guo

( *Institute of Microbiology and Epidemiology, The Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071* )

**Abstract:** In recent years, biodegradable microspheres have been widely used for long-term controlled delivery of various peptides and proteins in order to improve the efficacy of drugs and eliminate the need for frequent administration. In this paper, the progress of protein/peptide microspheres for diabetes mellitus are reviewed.

**Key words:** pharmaceutics; novel drug delivery system ; review; microspheres; diabetes mellitus

( 责任编辑：赵桂芝 )