

文章编号: (2009)03-0191-07

骨靶向性药物及载体的研究进展

顾吉晋, 邓英杰

(沈阳药科大学 药学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要: **目的** 为骨靶向药物设计和载体选择提供依据。**方法** 通过文献检索, 从药物合成和药物制剂两个角度介绍了骨靶向药物和载体。**结果** 通过化学合成的方法寻找骨靶向性化合物的研究比较广泛, 应用最多的是四环素类及双磷酸类。脂质体、纳米粒、胶束等药物载体通过表面修饰, 可以解决目前一些治疗骨病的药物对骨骼系统无特异性亲和力且不良反应大的问题。**结论** 骨靶向药物和载体具备低毒、稳定、趋骨性强等特点, 能够直接到达病变部位发挥药效, 具有很好的开发前景和临床应用价值。

关键词: 药剂学; 骨靶向性; 综述; 羟磷灰石; 药物传递; 载体修饰

中图分类号: R 94 **文献标志码:** A

骨病的发病率日益升高, 受到人们的高度重视。骨骼疾病主要有骨质疏松症、畸形性骨炎 (Paget's 病)、骨转移瘤、原发性和继发性骨肿瘤、骨关节炎等。骨组织主要成分是羟基磷灰石 ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, hydroxyapatite)。人体中大部分的钙存在于骨骼中, 含量约占钙总量的99%^[1]。因此, 骨组织具有生物学上的特殊性, 如血流量低、密度大、渗透性差, 这给临床用药带来很大的难度。按照传统的给药方式, 药物很难按理想状态到达病变部位。疗效低、不良反应大是治疗骨病药物普遍存在的缺点。要解决这一问题, 可从药物合成和药物制剂两方面着手, 即研制骨靶向性药物和药物载体, 使药物能够直接到达病变部位发挥药效。

“骨靶向”是由Pierce等^[2]于1986年首次提出的。即化合物分子具有沉积于骨并掺入羟基磷灰石中的趋势, 同骨钙具有结合能力。因此, 凡与羟基磷灰石有特异性亲和力的分子, 即可作为骨靶向药物的导向物或载体, 从而使药物能选择性地作用于骨组织。现就一些代表性的骨靶向药物和药物载体做如下综述。

1 骨靶向性药物

1.1 四环素类药物

四环素类药物(tetracyclines)是一类抗生素, 其基本结构相同, 均具有四菲烷结构母核。四环素类抗生素在临床上主要用于治疗感染性疾病。近年来, 四环素类抗生素及其结构修饰物的应用也涉及到抗肿瘤、自身免疫性疾病和牙周病等。在临床应用中发现, 四环素能沉积于骨组织并掺入到新生骨或牙齿中, 这一骨靶向的特性受到研究者的关注。Perrin^[3]认为四环素亲骨性的机制是四环素具有较强的形成金属配合物的能力, 它能替换羟基磷灰石中的2个 PO_4^{3-} , 与羟基磷灰石中的 Ca^{2+} 络合。

收稿日期: 2008-10-21

作者简介: 顾吉晋(1982-), 男(汉族), 山东烟台人, 硕士研究生, E-mail gujijin@163.com; 邓英杰(1945-), 女(汉族), 黑龙江牡丹江人, 研究员, 主要从事靶向给药、脂质体等新型给药系统的研究, Tel. 024-23986311, E-mail dengyingjie45@yahoo.com.cn

四环素可通过化学合成与一些药物连接, 通过其强大的亲骨性来提高药物对骨的靶向作用。Pierce^[1]最早报道了将碳酸酐酶抑制剂乙酰唑胺通过己二酰氯与四环素的12 α 位羟基相连, 合成了第1个具有趋骨性的药物。体外实验结果表明, 新化合物对羟基磷灰石具有很强的亲合力, 水解后释放出游离的乙酰唑胺药物分子发挥药效。与Pierce的工作相似, Orme等^[4]通过化学合成将 β -雌二醇与四环素相连, 得到具有很强骨靶向特点的新化合物。但在这项研究中, 没有相关的体内研究证明到达体内后新化合物是否能释放出游离的 β -雌二醇。

郑虎等^[5]报道了用于治疗骨质疏松症的骨靶向药物XW630系列。XW630也是以四环素为趋骨性“靶头”, 通过取代的哌嗪乙氧基、取代的氨基乙醇或取代的氨基聚乙二醇为桥将四环素与雌酮或雌二醇相连。对新化合物进行标记并进行体内分布试验, 结果发现其在骨组织中的含量高于肠、胃、大脑、肌肉和子宫等。但新化合物与雌激素受体的结合程度比雌酮或雌二醇要低。

1.2 双磷酸类化合物

双磷酸类化合物(diphosphonate)是天然焦磷酸的类似物, 对骨组织和钙化组织有特异性的亲和力, 能有效抑制骨质吸收, 临床上主要用于治疗骨质疏松症和Paget's病。其分子结构中的P—C—P键是产生骨靶向活性的必要条件^[6]。2个磷酸基能与骨表面羟基磷灰石有效结合并掺入骨基质中, 骨摄取率可达50%~60%。由于骨靶向性明显, 双磷酸类化合物不但能单独作为化学治疗的辅助剂用于临床防治骨病, 也可以与一些药物分子或载体相连, 用于骨病的靶向治疗^[7]。

研究者将双磷酸类化合物与一些非特异性的药物如雌激素类、前列腺素E₂类、顺铂、酪氨酸蛋白激酶(Src)抑制剂、双氯芬酸和一些放射性药物偶联, 以达到靶向治疗的目的。Philip等^[8]将双磷酸类化合物与甾体雌激素类化合物通过酯键结合, 使雌激素类药物在体内可直接作用于骨的病变部位, 减少其他组织的毒性及不良反应。Galanski等^[9]以铂类抗癌药物和双磷酸类化合物为原料合成了一系列具有骨靶向性的铂双磷酸复合物如AMDP和DBP。放射显影实验结果显示, 由于双磷酸类化合物对骨具有亲和力, 铂类抗癌药可靶向性沉积于骨组织, 有效减少了肿瘤体积并抑制了骨肉瘤的转移。

Erez等^[10]用化疗药物和双磷酸类化合物合成了两类在生理条件下可水解的前体药物, 双磷酸类化合物部分在前体药物中起到骨靶向的作用。一类是利用药物中的羟基群与双磷酸类化合物成酯(以喜树碱为例)。在临床研究中, 喜树碱由于水溶性差, 毒性及不良反应大而限制了其应用。喜树碱是非常理想的与双磷酸类化合物结合的候选药物。喜树碱与双磷酸类化合物所成的酯, 在体内通过水解作用释放出活性药物而发挥药效。另一类是利用药物分子中的氨基官能团与双磷酸类化合物通过碳酸酯键相连(以色氨酸为例)。化疗药物多柔比星、美法仑等也是通过酰胺化作用, 引入1个连接物, 与双磷酸类化合物制成可水解的前体药物。这两类前体药物与羟基磷灰石有很强的结合能力, 且在生理条件下能顺利的水解生成活性药物。

2、6、9位三取代嘌呤类是治疗骨病的酪氨酸激酶抑制剂。该抑制剂的发现, 为治疗骨相关疾病提供了更大的可能性。Wang等^[11]将骨靶向的“靶头”双磷酸类化合物掺入酪氨酸激酶抑制剂中, 体内实验表明, 药物浓集于骨, 对骨组织有特异的选择性。

1.3 小分子杂环类

绝经后骨质疏松是由内源性的雌激素缺失而使骨吸收增加。甾体雌激素类药物能防止骨质疏松的发生, 但能引起子宫癌而限制了应用。体内试验结果显示, 大鼠子宫切除后, 雌激素类药物能直接作用骨骼系统, 抑制骨缺失, 促使骨再生, 且没有全身性的不良反应。因此, 许多研究者致力于将雌二醇开发成具有骨靶向的前体药物。Willson等^[12]利用具有骨靶向的五元杂环4-羧基-3-羟基-1,2-吡唑, 设计出了一系列对羟基磷灰石具有亲和力的雌激素类化合物。这一研究的特别之处在于, 用1个代谢后无活性的连接体将杂环分子与雌激素类药物交联。终产物体外细胞试验证明, 其既有弱的雌激素样活性又与羟基磷灰石有一定的亲和力。

1.4 其他类

Kasugal等^[13]在研究中发现了几种非胶原蛋白能与羟基磷灰石结合, 进而根据这些非胶原蛋白与羟基磷灰石可能结合位点处重复的氨基酸序列合成了小肽(Asp)₆, 并用荧光素异硫氰酸酯作标记, 考察了(Asp)₆在体外与羟基磷灰石的亲和性及其在小鼠体内的组织分布。其中荧光素无骨亲和性, 但(Asp)₆和荧光素的偶联物与羟基磷灰石的结合能力与四环素和钙黄绿素相当。小鼠体内试验发现, 骨骼和牙齿中有明显的荧光, 其他组织中则未发现。由实验结果可知, (Asp)₆也是一个有效的骨靶向药物载体分子。

Thompson等^[14]报道了聚丙烯酸(酯)对骨也有较高的亲合力。Thompson以聚丙烯酸(酯)为载体合成了一系列骨靶向骨吸收促进剂、骨吸收抑制剂, 用于治疗 and 预防骨质疏松症、畸形性骨炎等骨病。例如通过雌二醇与聚丙烯酸的钠盐相连得到了骨靶向的雌激素。

2 靶向性载体

骨病的诊断与治疗均需要靶向性。要想成功地达到骨靶向的目的, 对骨组织有亲和力的寻靶物即“靶头”的选择很重要。如四环素、双膦酸类化合物、钙黄绿素等化合物对骨的主要成分羟基磷灰石都有很强的亲和力。同时对相关载体的粒度和表面活性的要求也很严格^[15]。粒径在50~150 nm、表面亲水的微粒系统如脂质体、纳米粒、胶束在骨靶向方面具有潜在的开发前景。

2.1 羟基磷灰石

由于羟基磷灰石是骨的组成成分, 有很好的生物相容性和骨导向作用, 所以被广泛应用为骨的代用材料。由于羟基磷灰石能吸附化学药物小分子和蛋白质等生物大分子, 羟基磷灰石作为药物和载体的包衣或者将羟基磷灰石本身作为药物载体已经得到广泛的研究。研究较多的是将羟基磷灰石作为抗生素类药物和生长因子的载体。在骨肿瘤靶向治疗中, 将羟基磷灰石中的钙、磷元素替换为放射性钙、磷, 磷灰石表面上能够进入骨肿瘤细胞的特异蛋白, 通过放射线引导, 可以定向杀灭肿瘤细胞。但羟基磷灰石作为药物载体有很多可预见的缺点, 如羟基磷灰石表面易吸附杂质、低载药率和突释问题, 所以需要进一步的研究^[16]。

2.2 脂质体

Hengst等^[17]用胆固醇-三氧乙烯-双膦酸(CHOL-TOE-BP)——一种双膦酸的衍生物来修饰脂质体,

CHOL-TOE-BP的胆固醇基嵌入脂质体的双分子层中,双磷酸部分伸向脂质体外水相充当“靶头”,使脂质体具有骨靶向性。脂质体作为药物的储库,携带药物到达靶部位,可增大局部的药物浓度且使药物缓释,从而降低了全身的不良反应。修饰后的脂质体粒径在100~135 nm之间,分散性指数 <0.1 。CHOL-TOE-BP作为负电荷配体掺入脂质体而使脂质体带负电,且随着CHOL-TOE-BP加入量的增加,脂质体的zeta电位也负向增加。体外试验中,研究者对CHOL-TOE-BP修饰的脂质体进行了荧光标记,定量检测脂质体对羟基磷灰石的吸附能力。结果表明,CHOL-TOE-BP修饰脂质体对羟基磷灰石具有较强的吸附能力。从Hengst等的实验结果中可知,zeta电位、表面张力和自然作用位点是骨靶向载体的重要参数。从而可以从离体构象、静电作用、螯合作用等方面解释修饰脂质体亲骨性的原因。同时zeta电位也能影响脂质体的体内行为。

Xu等^[18]以脂溶性药物吲哚美辛为模型药物成功制备了羟基磷灰石包衣脂质体。脂质体的膜材是二羟甲基丙酸(DMPA)和二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱(DMPC),zeta电位在 $-38.8\sim-67.0$ 之间。与空白脂质体比较,羟基磷灰石包衣脂质体的释放率低。在试验条件下,未包衣脂质体约5 h内有70%的药物释放,而羟基磷灰石包衣脂质体药物的释放时间约为20 h。值得注意的是,未包衣脂质体在pH 7.4的释放介质中比在pH 4.0的释放介质中的释放速度快,而羟基磷灰石包衣脂质体却恰恰相反。原因是吲哚美辛在碱性条件下的溶解度大,而羟基磷灰石在酸性条件下更容易溶解。所以,可通过改变试验条件来控制羟基磷灰石包衣脂质体的释放行为。羟基磷灰石包衣脂质体中的羟基磷灰石既可起到缓释的作用又能达到骨靶向的目的。

另外,Fernando等^[19]构建了碱性磷酸酶脂质体以模拟基质小泡,作为生物矿化的工具。Oelzner等^[20]制备了氯屈膦酸盐脂质体用于治疗抗原性关节炎,大鼠体内试验表明,氯屈膦酸盐脂质体能靶向初级和中级骨松质的破骨细胞。

脂质体作为靶向给药的传递系统已经得到广泛的研究。脂质体的深入研究为靶向性治疗骨病提供了很好的平台。脂质体的研究重点除了靶向性外,还有药物的包封率、药物的释放及载药脂质体的稳定性。以上研究突出了一个共同的特点,虽然解决了药物骨靶向性问题,而在脂质体的稳定性上缺少必要的研究。所以,脂质体作为一个理想的骨靶向药物载体进入临床应用,还有待更深入的研究。

2.3 纳米粒

要使纳米粒对病变部位有特异性的靶向作用,首先需要连接于纳米粒表面的“靶头”对病变部位有特异性的亲和力,另一个必要条件是纳米粒在血液中能够长循环,可避免网状内皮系统的吞噬。

Sung等^[21]通过透析法制备了表面修饰的聚丙交酯乙交酯(lactic acid-glycollic acid, PLGA)嵌段共聚物纳米粒,表面修饰物分别是阿屈膦酸盐和聚乙二醇(PEG)。在不加任何表面活性剂的前提下,估测其骨靶向的能力。阿屈膦酸盐与骨有较强的亲和性,它通过碳二亚胺与PLGA共聚物结合。不同分子质量的mPEG(PEG聚合体,分子量为550、750、2 000)通过化学合成与PLGA相连,作为纳米粒的亲水性表面,可以避开巨噬系统的吞噬。实验结果表明,纳米粒的骨吸附能力与阿屈膦酸盐的含量正相关。而随着mPEG的链长增加,阿屈膦酸盐的骨吸附能力下降。

亲水表面和小粒径是纳米粒骨靶向的重要保证。纳米粒表面修饰的目的是避免纳米粒被网状内皮系统识别, 将纳米粒导向病变部位。而微粒粒径则是影响微粒在血液中循环时间的重要因素。

2.4 胶束

骨造影术可以为设计骨病的治疗方案提供重要的参考依据。骨显影的高特异性和高分辨率在诊断中非常重要。作为骨显影剂, 必须对骨具有高度的特异性、在血液中稳定、可避免肝脾等网状内皮系统的摄取、低毒和可代谢。Parka等^[22]利用聚氧乙烯(PEO)和聚己酸内酯(PCL)合成了PEO-PCL聚合物, 进而制备了具有骨靶向性的多聚物胶束, 作为骨病诊断造影剂的载体。共聚物的临界胶束质量浓度为 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 粒径为60 nm。该胶束骨显影同位素¹²⁵I的标记率为90%, 体内有较高的骨摄取率, 但肝和脾的摄取率很低。

3 结语

自1986年“骨靶向”概念提出以来, 骨靶向的研究取得了较大的进展。寻找低毒、稳定、趋骨性强的化合物或载体是研究骨靶向的关键。目前通过化学合成的方法寻找靶向性化合物的研究比较广泛, 应用最多的是四环素类及双磷酸类化合物。合成靶向性药物的关键在于新化合物的口服生物利用度和在体内的解离、释放, 这也是骨靶向药物是否成功用于临床的关键。相对而言, 靶向性载体的研究较少, 还处于起步阶段。这就需要研究者投入更多的精力将新技术应用于骨靶向的研究工作中, 使骨靶向的临床应用成为可能。

参考文献:

- [1] 郑虎, 黄文才, 楼荣良, 等. 与骨靶向药物有关的骨亲和性化合物的研究进展[J]. 药学学报, 2003, 38(1): 75-78.
- [2] PIERCE W M, LEONARD W C. Bone-targeted inhibitors of carbonic anhydrase: EP, 201057 [P]. 1986-11-12.
- [3] PERRIN R A. Binding of tetracycline to bone [J]. Nature, 1965, 208(11): 787-788.
- [4] ORME M W, LABROO V M. Synthesis of β -estradiol-3-benzoate-17-(succinyl-12a-tetracycline): A potential bone seeking estrogen [J]. Bioorganic Medicinal chemistry Letters, 1994, 4(11): 1375-1380.
- [5] 郑虎, 翁玲玲. 可用作带有雌激素结构的骨靶向药物的化合物: CP, 94111687. 5 [P]. 1993-11-09.
- [6] 商红, 张石革, 孙定人. 双磷酸盐类药物的研究进展与临床合理应用[J]. 中国药房, 2003, 14(4): 245-247.
- [7] 黄海英. 双磷酸盐类药物研究及应用进展[J]. 中国药房, 2002, 13(4): 247-248
- [8] PHILIP C B, JONATHAN P G, IAN M, et al. Synthesis of bone -targeted oestrogenic compounds for the inhibition of bone resorption [J]. Tetrahedron, 2001, 57(9): 1837-1847.
- [9] GALANSKI M, KEPPLER B K, KLENNER T. Antitumor platinum compounds linked to amino phosphonic acids: Drug targeting with osteotropic platinum compounds against bone malignancies [J]. Journal of Inorganic Biochemistry, 1995, 59(2/3): 212.
- [10] EREZ R, EBNER S, ATTALI B, et al. Chemotherapeutic bone-targeted bisphosphonate prodrugs with hydrolytic mode of activation [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2008, 18(2): 816-820.

- [11] WANG Yi-han, METCALF C A, SHAKESPEARE W C, et al. Bone-targeted 2,6,9-trisubstituted purines: Novel inhibitors of src tyrosine kinase for the treatment of bone diseases [J]. *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters*, 2003, 13(18): 3067–3070.
- [12] WILLSON T M, HENKE B R, MOMTAHEN T M, et al. Bone targeted drugs 2. Synthesis of estrogens with hydroxyapatite affinity [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 1996, 6(9): 1047–1050.
- [13] KASUGAI S, FUJISAWA R, WAKI Y, et al. Selective drug delivery system to bone: Small peptide (Asp)₆ conjugation [J]. *J Bone Miner Res*, 2000, 15 (5) : 936–943.
- [14] THOMPSON W J, THOMPSON D D, ANDERSON P S, et al. Polymalonic acids as bone affinity agents: EP, 341961 [P]. 1989–11–15.
- [15] WANG Dong, MILLER S C, KOPECKOVA P, et al. Bone-targeting macromolecular therapeutics [J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2005, 57(7): 1049–1076
- [16] 毛萱, 吴佩珠, 汤顺清, 等. 用于骨靶向治疗的纳米羟基磷灰石溶胶的稳定性研究[J]. *中国临床康复*, 2004, 8(23):4708–4709.
- [17] HENGST V, OUSSOREN C, KISSEL T, et al. Bone targeting potential of bisphosphonate-targeted liposomes Preparation, characterization and hydroxyapatite binding *in vitro* [J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2007, 331(2): 224–227.
- [18] XU Qing-guo, TANAKA Y, JAN T C. Encapsulation and release of a hydrophobic drug from hydroxyapatite coated liposomes[J]. *Biomaterials*, 2007, 28(16):2687–2694.
- [19] FERNANDO L, CAMOLEZI, KATIA R P, et al. Construction of an alkaline phosphatase-liposome system: A tool for biomineralization study [J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2002, 34(9): 1091–1101.
- [20] OELZNER P, BRAUER R, HENZGEN S, et al. Periarticular bone alterations in chronic antigen-induced arthritis: Free and liposome-encapsulated clodronate prevent loss of bone mass in the secondary spongiosa [J]. *Clinical Immunology*, 1999, 90 (1): 79–88.
- [21] SUNG W C, KIM J H. Design of surface-modified poly (*D, L*-lactide-co-glycolide) nanoparticles for targeted drug delivery to bone [J]. *Journal of Controlled Release*, 2007, 122(1): 24–30.
- [22] PARKA Y J, LEE J Y, CHANG Y S, et al. Radioisotope carrying polyethylene oxide-polycaprolactone copolymer micelles for targetable bone imaging [J]. *Biomaterials*, 2002, 23(3) : 873–879.

Progress on bone-targeting drugs and related carriers

GU Ji-jin, DENG Ying-jie

(School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract: Objective To review bone-targeting drugs and carriers and provide a basis for bone-targeting drug design and carrier selection. **Method** Based on the related references, bone-targeting drugs and

carriers were summarized from two aspects, by synthesis and by using pharmaceutical preparations. **Result** Bone-targeting drugs can be developed by synthesis. Among them, tetracyclines and diphosphonic acids are extensively studied. By surface modification of drug carriers such as liposomes, nanoparticles and micelles, the side effects and low specific affinity of drugs to the bone could be resolved. **Conclusion** Bone-targeting drugs and carriers with low toxicity, high stability and strong bone affinity are valuable to be exploited and applied.

Key words: pharmaceutics; bone-targeting; review; hydroxyapatite; drug delivery; modified carriers

(责任编辑 高明)