

甲氨蝶呤给药系统的研究进展

季可非^{1,2*}, 刘宏^{1#}, 郭敏^{1,2} (1.广州军区武汉总医院药剂科, 武汉 430070; 2.湖北中医药大学药学院2013级, 武汉 430065)

中图分类号 R944.9 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)25-3586-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.25.39

摘要 目的:为甲氨蝶呤(MTX)给药系统的研发及临床应用提供参考。方法:以“甲氨蝶呤”“微球”“温敏水凝胶”“缓释制剂”“长效制剂”“给药系统”“Methotrexate”“Microspheres”“Temperature-sensitive hydrogel”“Sustained-release preparations”“Long-acting formulations”“Drug delivery systems”为关键词,组合检索2004年1月—2015年11月在PubMed、中国知网、万方等数据库中关于MTX给药系统的研究文献,对MTX近年来各类新型给药系统的特点进行综述和分析。结果:共检索到相关文献106篇,其中有效文献26篇。用于MTX关节腔缓释系统的给药系统主要有缓释微球和温敏性水凝胶等;用于肿瘤治疗的MTX给药系统有脂质体、纳米粒、微球及复合温敏凝胶体系;目前较新的MTX给药系统以及以无机材料为载体制备的有MTX柔性纳米脂质体、MTX/蒙脱土纳米插层化合物、MTX硫酸钙人工骨缓释剂。结论:采用新型载体和制剂技术制备的MTX给药系统,既可以控制药物释放,降低其口服产生的胃肠道、消化道及肝肾毒性等强烈的全身副作用,又可起到所需的靶向作用,具有良好的应用前景。

关键词 甲氨蝶呤;给药系统;缓释制剂;长效制剂;微球;温敏水凝胶

甲氨蝶呤(MTX)为二氢叶酸还原酶抑制剂,用于治疗各种实体瘤、急性白血病及恶性淋巴瘤等。自20世纪50年代起因发现MTX有缓解关节肿痛、减少关节损伤的作用,其一方面可抑制中性粒细胞发挥抗炎作用,另一方面可抑制免疫系统的活性以进行免疫调节,两者产生协同作用最终使得关节滑膜组织胺含量减少,在类风湿性关节炎(RA)等自身免疫性疾病中的治疗中具有显著疗效。现有的常规制剂为注射剂和片剂,存在着胃肠道反应、骨髓抑制及肝肾毒性等较强的毒副作用^[1]。为了克服上述不足,研究人员从靶向、长效、缓释等方面作了大量探索。因此,笔者以“甲氨蝶呤”“微球”“温敏水凝胶”“缓释制剂”“长效制剂”“给药系统”“Methotrexate”“Microspheres”“Temperature-sensitive hydrogel”“Sustained-release preparations”“Long-acting formulations”“Drug delivery systems”为关键词,组合检索2004年1月—2015年11月在PubMed、中国知网、万方等数据库中关于MTX给药系统及新技术的研究文献。结果,共检索到相关文献106篇,其中有效文献26篇。现就MTX给药系统的新型载体和制剂技术进行综述,以期对MTX的研发及临床应用提供参考。

1 用于RA治疗的MTX给药系统

MTX作为一种快速有效的抗炎药,是RA治疗的首选药物之一^[2]。MTX用于治疗RA时多为口服给药,然而RA作为一种慢性免疫性疾病,需长期给药,很多患者因为MTX严重的副作用不得不停用该药。为解决此难题,自20世纪70年代研发了用于关节腔注射的MTX,起效迅速,可发挥较好的局部作用;但其从关节腔清除速度快,因易渗漏而引起全身吸收,故限制了其更广泛的应用;且长期、频繁地注射给药也降低了患者的依从性,甚至造成关节感染。因此,近年来用于关节腔注射的MTX缓释给药系统逐渐受到人们的重视。理想的缓释载体应具有良好的生物相容性和可降解性能。目前用于MTX关节腔缓释的给药系统主要有缓释微球和温敏性水凝胶等。

* 硕士研究生。研究方向:药物新制剂、新剂型及新技术。E-mail:393852596@qq.com

通信作者:主任药师,博士。研究方向:药物新制剂、新剂型及新技术。电话:027-68878601。E-mail:honguil@163.com

1.1 缓释微球

随着可生物降解聚合物微粒分散体系研究的日益深入,以高分子材料作为载体制备关节腔注射用微球、纳米粒等已成为关节腔缓释制剂的研究热点。早前国外就有学者以左旋聚乳酸(PLLA)为载体,用溶剂挥发法制备了可用于关节腔注射的MTX缓释微球^[3]。经家兔关节腔注射后,发现该MTX微球与MTX原料药相比药物清除速率明显减慢,增加了药物在关节内的保留时间,延缓了其从关节直接释放入血的速度,且与组织相容性较好。而莫丽都尔等^[4]将载体换为聚乳酸-聚羟基乙酸共聚物(PLGA)后,进一步延长了MTX的缓释时间,使药物有效浓度维持10 d以上。不足之处在于PLGA在体内完全降解后会产生酸性产物,甚至在注射初期引发急性炎症反应^[5],其注入关节腔后的生物相容性也有待进一步研究。

1.2 温敏性水凝胶

温敏性水凝胶是一种随环境温度变化而发生相转变的智能凝胶,在室温或低于体温时以聚合物溶液状态存在,而在体温时转变为凝胶态,从而在给药部位形成药物储库,改善了微球制剂存在的突释问题。马桂蕾等^[6]采用聚己内酯-聚乙二醇-聚己内酯(PCL-PEG-PCL)作为载体材料制备MTX温敏凝胶。体外释放试验表明,当凝胶中共聚物PCL-PEG-PCL的浓度为25%时,可持续释放药物15 d左右,缓释效果优于MTX-PLGA微球。该凝胶不产生酸性降解产物,生物相容性较好,且这类两亲性的高聚物载体具有良好的温敏性和原位注射性,作为关节腔注射缓释系统的载体具有良好的应用前景。

除了静脉注射、关节腔注射等腔道外给药途径外,近年来研究人员尝试采用皮下注射的方式减少MTX的口服副作用^[7]。2010年欧洲抗风湿病联盟(EULAR)确定皮下注射MTX可作为治疗RA的一种新型给药方式,其疗效优于口服^[8],并可明显改善患者的胃肠道反应,耐受性较好。赵欢喆等^[9]以壳聚糖-甘油磷酸钠为载体材料,制备了MTX皮下注射用温敏凝胶,可持续释药116 h。但由于该制剂具有温度敏感性,需在冷冻条件下保存。在此条件下,其冻干剂在30 d内可保持稳定。

2 用于肿瘤治疗的MTX给药系统

除用于治疗RA外,MTX作为二氢叶酸还原酶抑制剂,是临床上治疗实体瘤、淋巴瘤、绒毛膜上皮癌等恶性肿瘤的常用

药物,也是治疗急性白血病的的首选药物之一。但由于MTX对癌细胞缺乏选择性,因此也表现出较强的毒副作用。选择适当的给药系统以靶向传递药物、降低其全身毒性以及延长药物在体内释放时间成为了MTX给药系统在恶性肿瘤的治疗中亟待解决的问题。

2.1 脂质体

传统的脂质体是将药物包封于类脂质双分子层中,靶向作用不明显。现阶段人们常利用特殊的脂质材料赋予脂质体新的功能,以改善其靶向作用。在治疗急性白血病和中枢神经系统肿瘤时,需要使MTX透过血脑屏障(BBB)以发挥药效。目前输送MTX至脑通常是通过给予高的全身剂量或鞘内给药来实现。声学活性微泡是一种在超声波作用下适用于非侵入性和脑靶向传递的载体,其不足之处在于载药量小。为了克服这一限制,Wang X等^[10]制备了与微泡偶联的MTX脂质体,其载药量相比于不偶联的MTX脂质体可提高至(8.91±0.86)%。对大鼠经尾iv给药后测定其脑内MTX浓度的实验,结果表明药物可有效传递至大脑。

2.2 纳米粒、微球

将具有主动靶向作用的配体或抗体与药物结合是制备靶向制剂的另一种思路。壳聚糖由于生物相容性好,是一种常用的载体材料,但对具有疏水性MTX而言,其不足之处在于运载能力相对较差。经过适当的修饰,这一不足也可有效克服。谭海娜等^[11]使用具有内部疏水、外部亲水结构的环糊精修饰的壳聚糖,制备了乙二醇壳聚糖接枝羧甲基 β -环糊精的新型载体用于运载MTX,结果表明该载体能较好地结合疏水性的MTX,并形成稳定的包合物。另有学者利用叶酸偶联O-羧甲基壳聚糖作为载体,既可作为MTX的潜在解毒剂以降低MTX的副作用,还可用于治疗与叶酸受体过度表达有关的肿瘤疾病^[12]。

而针对难溶性药物MTX的溶出速度和生物利用度不够理想的问题,有研究将MTX微粉化后,采用高压静电抗溶剂法制备聚乳酸微球^[13]。此法制得的微球不存在突释现象,且药物可从载体中缓慢释放。

值得注意的是,在制备靶向给药系统的微粒分散体系,尤其是注射用靶向制剂时,需严格控制粒径分布、载药量、包封率等因素,这时需要借助一些新技术。如Chen AZ等^[14]将MTX的纳米颗粒包封入PLLA-PEG-PLLA中并采用微胶囊化技术得到复合MTX-PLLA-PEG-PLLA微球,获得了具有良好载药量和包封率的纳米级载药微粒。这种微胶囊化技术可以有效地控制微粒粒径以满足注射需要,在制备高分子聚合物载药微粒以构建药物传递系统方面具有很大潜力。

通过加入可协助药物透过BBB的脂溶性材料也是使MTX透过BBB以发挥药效的一种常用方法。有学者在MTX纳米粒中加入聚氰基丙烯酸正丁酯^[15],制得的载药纳米粒可明显提高MTX的入脑浓度,增加其在大鼠脑内的滞留时间,对脑肿瘤的治疗有重要意义。此外,Trapani A等^[16]在MTX-壳聚糖纳米粒表面涂覆聚山梨酯80,并评价了其跨膜运输性能及细胞毒性作用,结果表明即使是低浓度的聚山梨酯80也可增强MTX在MDCK II-MDR1细胞层间的传递性,且对C6胶质瘤细胞显示了良好的抑制作用。

还有一种具有增强传递作用的传递系统(CED)可用于替代直接注射,该系统利用液体对流作用驱动药物穿透范围更大的组织区域。有研究通过将人血清蛋白(HSA)以沉淀法共价结合于MTX-磁赤铁矿纳米颗粒表面,并用于CED中治疗脑

胶质瘤^[17]。由于HSA可增加肿瘤细胞对该纳米粒的摄入,体内实验结果表明,负载有HSA的MTX纳米粒未见对正常细胞的毒性反应,药物在体内清除缓慢,在脑内可保持有效浓度至3周以上。

2.3 复合温敏凝胶体系

近年来,温敏相变复合体系也被用于MTX的原位注射。有研究将负载MTX的壳聚糖微球分散于壳聚糖-甘油磷酸钠温敏水凝胶中,制得温敏相变复合材料^[18]。该凝胶在病变部位局部注射后,1 min内即可发生相变。微球在凝胶中作为药物贮库,而温敏凝胶可阻滞微球的突释现象,形成了双重缓释系统,由此大大提高缓释效果。

3 用于经皮给药的MTX给药系统

除了治疗RA、恶性肿瘤等疾病外,小剂量的MTX也表现出了直接的抗炎作用,可局部外用以治疗湿疹^[19]、牛皮癣^[20]、银屑病^[21]以及关节肿痛等。现有的外用剂型有乳剂和膜剂等,但其透皮吸收性能均不够理想,难以发挥药效。

由于MTX亲脂性差,不易透过皮肤角质层,为了维持局部长时间的有效药物浓度,通常会有一些亲脂性的辅料加入到给药系统中以延长作用时间。尹耀庭等^[22]在类脂材料中加入膜软化剂制成柔性纳米脂质体,并以卡波姆940为基质将其制成脂质体凝胶。经透皮试验结果表明,该凝胶与同浓度的普通凝胶相比,药物皮肤滞留量显著增加,而累积经皮渗透量减少,从而延长药物释放时间,同时不增加血药浓度。柔性纳米脂质体是一种新型的经皮给药载体,由于其具有良好的自身变形性和可穿透性,可使一些大分子药物透过皮肤进入全身循环,其透皮吸收效果明显优于普通的外用制剂,适于外用以治疗湿疹等皮肤病。这种小剂量的局部给药方式可有效避免MTX的全身毒性。经临床病例观察发现,MTX柔性纳米脂质体对于缓解关节疼痛和关节肿胀,其效果优于口服MTX片剂,同时也开辟了一种治疗RA的新用药途径^[23]。

Srisuk P等^[20]用磷脂酰胆碱和油酸制备了经皮给药治疗牛皮癣的MTX脂质体。研究表明,油酸的加入不仅可以增强脂质体的可变形性,还增加了经皮渗透性,且通过调整磷脂酰胆碱和油酸的比例,可提高MTX的透皮吸收量而增强疗效。

4 其他MTX给药系统

近年来,随着缓控释制剂、靶向制剂等给药系统的广泛应用,新型药物载体材料的探索和研究也逐渐兴起,其中无机材料在新型药物传递系统中的优势也引起了研究人员的关注。

4.1 MTX/蒙脱土(MMT)纳米插层化合物

MMT是一种表面带有负电的硅酸盐片层,依靠层间的静电作用而堆积构成的无机载体材料,具有比表面积大、吸附能力强等特点^[24]。全先高等^[25]利用MTX分子结构中的羧基和胺基将MTX嵌入到MMT层间制成纳米插层化合物,可达到缓释效果。其释放行为包括扩散和离子交换两种形式。MMT性质稳定、无毒,是一种性能优良的药物载体,但由于其层间含有大量离子,表现出亲水疏油性,故制得的MTX/MMT纳米插层化合物的载药量较低。因此,对MMT的有机改性以改善其对疏水性药物的亲和力,成为了MTX缓释剂型又一新的研究方向。

4.2 MTX硫酸钙人工骨缓释系统

MTX在用于治疗各种中晚期实体瘤时,为了降低严重的全身性副作用和局部复发率,可采取植入缓释植入剂的局部治疗方案。例如在骨肿瘤的临床治疗研究中,采用一类生物相容性较好的成骨材料作为载体,将MTX植入骨肉瘤切除后

的病灶处,可产生持续抑制肿瘤组织的作用,防止其局部复发。有研究以硫酸钙人工骨为载体,制得的复合MTX硫酸钙人工骨缓释剂体外可持续释放18 d以上,并可保持有效的抑瘤率^[26]。

5 结语

现阶段,MTX临床中常用的剂型仍为片剂和注射剂等,其体内消除快、副作用明显。采用新型载体和制剂技术制备的MTX新型给药系统,既可以控制药物释放,降低其口服产生的胃肠道、消化道及肝肾毒性等强烈的全身副作用,又可起到所需的靶向作用,具有良好的应用前景。然而,各种新型载体的生物相容性、体内可降解性能以及临床给药安全性方面的研究尚需进一步加强。总的来说,MTX新型给药系统的重点应继续放在降低毒副作用、缓控释释药等方面,以更加充分地发挥MTX的作用。

参考文献

[1] 王景红,刘菁华,汪文琪,等.类风湿关节炎常用药物及其不良反应[J].中国药房,2014,25(48):4 601.

[2] Song X, Liang F, Liu N, *et al.* Construction and characterization of a novel DNA vaccine that is potent antigen-specific tolerizing therapy for experimental arthritis by increasing CD⁴⁺、CD²⁵⁺ Treg cells and inducing Th1 to Th2 shift in both cells and cytokines[J]. *Vaccine*, 2009, 27(5): 690.

[3] Liang LS, Jackson J, Min W, *et al.* Methotrexate loaded poly(L-lactic acid) microspheres for intra-articular delivery of methotrexate to the joint[J]. *J Pharm Sci*, 2004, 93(4):943.

[4] 莫丽都尔,陈汉,李学敏,等.关节腔注射用甲氨蝶呤缓释微球的制备及体内外释药研究[J].中国新药杂志,2007,16(15):1 187.

[5] 曹劝省,张凯伦,付平,等.可降解生物材料聚乙丙交酯的生物相容性研究[J].陕西医学杂志,2008,37(2):153.

[6] 马桂蕾,苗博龙,宋存先.关节腔注射用甲氨蝶呤温敏性缓释凝胶的制备及性能考察[J].生物医学工程与临床,2010,14(3):193.

[7] Bakker MF, Jacobs JW, Welsing PM, *et al.* Are switches from oral to subcutaneous methotrexate or addition of ciclosporin to methotrexate useful steps in a tight control treatment strategy for rheumatoid arthritis? A post hoc analysis of the CAMERA study[J]. *Ann Rheum Dis*, 2010, 69(10):1 849.

[8] 温媛媛,刘升云,张磊.比较皮下注射大剂量甲氨蝶呤针与口服小剂量甲氨蝶呤片治疗类风湿关节炎疗效及安全性观察[J].医学与哲学,2012,33(3B):26.

[9] 赵欢喆,王婷,廖旒彦,等.甲氨蝶呤皮下注射用原位凝胶的研制[J].中国医药工业杂志,2014,45(4):339.

[10] Wang X, Liu P, Yang W, *et al.* Microbubbles coupled to methotrexate-loaded liposomes for ultrasound-mediated delivery of methotrexate across the blood-brain barrier[J]. *Int J Nanomedicine*, 2014, doi:10.2147/IJN.S69845.

[11] 谭海娜,姚鑫.乙二醇壳聚糖接枝羧甲基β-环糊精用于运载疏水性抗癌药物甲氨蝶呤[J].中国科学院研究生院学报,2013,30(2):200.

[12] 吴丹君.甲氨蝶呤/叶酸偶联O-羧甲基壳聚糖纳米粒的制

备及性能研究[D].重庆:重庆大学,2012:41.

[13] 陈爱政,杨月梅,王士斌,等.高压静电抗溶剂法制备甲氨蝶呤-聚乳酸复合微球的研究[J].功能材料,2013,44(10):1 409.

[14] Chen AZ, Wang GY, Wang SB, *et al.* Formation of methotrexate-PLLA-PEG-PLLA composite microspheres by microencapsulation through a process of suspension-enhanced dispersion by supercritical CO₂[J]. *Int J Nanomedicine*, 2012, 7(14):3 013.

[15] 高科攀,蒋新国.聚山梨酯80修饰的聚氧基丙烯酸正丁酯纳米粒提高甲氨蝶呤大鼠脑内浓度[C]//2004年中国药学会学术年会论文集.昆明:中国药学会,2004.

[16] Trapani A, Denora N, Iacobellis G, *et al.* Methotrexate-loaded chitosan and glycolchitosan-based nanoparticles: a promising strategy for the administration of the anticancer drug to brain tumors[J]. *AAPS Pharm Sci Tech*, 2011, 12(4):1 302.

[17] Corem-Salkmon E, Ram Z, Daniels D, *et al.* Convection-enhanced delivery of methotrexate-loaded maghemite nanoparticles[J]. *Int J Nanomedicine*, 2011, doi:10.2147/IJN.S23025.

[18] 王玉杰,党奇峰,万辉琴,等.注射型壳聚糖温敏相变复合材料的制备及性能研究[J].功能材料,2014,45(S1):117.

[19] Schram ME, Rockevisch E, Leeftang MM, *et al.* A randomized trial of methotrexate versus azathioprine for severe atopic eczema[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2011, 128(2):353.

[20] Srisuk P, Thongnoppua P, Raktanonchai U, *et al.* Physico-chemical characteristics of methotrexate-entrapped oleic acid-containing deformable liposomes for in vitro trans-epidermal delivery targeting psoriasis treatment[J]. *Int J Pharm*, 2012, 427(2):426.

[21] Gottlieb AB, Langley RG, Strober BE, *et al.* A randomized, double-blind, placebo-controlled study to evaluate the addition of methotrexate to etanercept in patients with moderate to severe plaque psoriasis[J]. *Br J Dermatol*, 2012, 167(3):649.

[22] 尹耀庭,何花,盛小茜,等.甲氨蝶呤柔性纳米脂质体凝胶的构建及体外经皮渗透性研究[J].中草药,2012,10(8):590.

[23] 范荣,梁清华,王娟,等.外用甲氨蝶呤柔性纳米脂质体治疗类风湿关节炎[J].中国组织工程研究与临床康复,2010,14(47):8 893.

[24] Wanyika H. Controlled release of agrochemicals intercalated into montmorillonite interlayer space[J]. *Sci World J*, 2014, doi:10.1155/2014/656287.

[25] 全先高,王慧云,丁林,等.甲氨蝶呤/蒙脱土纳米插层化合物的制备及缓释作用研究[J].济宁医学院学报,2014,37(4):251.

[26] 管西亮.复合氨甲蝶呤硫酸钙人工骨缓释剂治疗骨肉瘤的实验研究[D].上海:上海交通大学,2008:3-4.

(收稿日期:2015-11-16 修回日期:2015-12-07)

(编辑:余庆华)