

DOI:10.16781/j.0258-879x.2020.09.1027

· 综述 ·

高口服生物利用度胰岛素纳米制剂的研究进展

王思琦¹, 张咏馨², 赵元骞³, 梁旭¹, 吴正红³, 季鹏^{4*}

1. 中国药科大学中药学院, 南京 211198
2. 中国药科大学生命科学与技术学院, 南京 211198
3. 中国药科大学药学院, 南京 211198
4. 泰州学院医药与化学化工学院, 泰州 225300

[摘要] 糖尿病是一种以血糖水平的动态平衡发生改变为特征的慢性代谢性疾病。胰岛素皮下注射是治疗糖尿病的重要方法, 但存在疼痛不适和局部感染等不良反应, 导致患者依从性低。口服给药途径方便、安全, 但现有的口服胰岛素制剂存在胃肠道不稳定、生物利用度差等问题, 仍需优化。纳米制剂技术的快速发展为提高口服胰岛素制剂的生物利用度、实现胰岛素的有效口服递送提供了坚实的基础, 本文对近年来高口服生物利用度胰岛素纳米制剂的研究进展作一综述。

[关键词] 糖尿病; 胰岛素; 纳米粒子; 药物输送系统

[中图分类号] R 587.1; R 943.4 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2020)09-1027-04

Insulin nanoparticles with high oral bioavailability: research progress

WANG Si-qi¹, ZHANG Yong-xin², ZHAO Yuan-qian³, LIANG Xu¹, WU Zheng-hong³, JI Peng^{4*}

1. School of Traditional Chinese Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, Jiangsu, China
2. School of Life Science and Technology, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, Jiangsu, China
3. School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, Jiangsu, China
4. College of Pharmacy and Chemistry and Chemical Engineering, Taizhou University, Taizhou 225300, Jiangsu, China

[Abstract] Diabetes is a chronic metabolic disease characterized by changes in the dynamic balance of blood glucose levels. Subcutaneous injection of insulin is a first-line treatment for diabetes. However, patient compliance is poor due to pain, discomfort, and local infection. Oral administration is convenient and safe, but the existing oral insulin preparations still need to be optimized due to gastrointestinal instability and poor bioavailability. The rapid development of nano-preparation technology provides a solid foundation for improving the bioavailability of oral insulin preparations and achieving the effective oral delivery of insulin. This paper reviews the research progress in insulin nanoparticles with high oral bioavailability in recent years.

[Key words] diabetes mellitus; insulin; nanoparticles; drug delivery system

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2020, 41(9): 1027-1030]

糖尿病是一种以血糖水平的动态平衡发生改变为特征的慢性代谢性疾病。胰岛素作为治疗糖尿病的一种重要药物, 具有其他口服降糖药物不能替代的地位。胰岛素是一种多肽激素, 皮下注射是胰岛素的主要给药途径, 但皮下注射易产生疼痛不适和局部感染等不良反应, 患者依从性低。非侵入性的口服给药途径被认为是目前最自然、最安全的

给药途径, 但胰岛素本身存在大分子、低渗透性、亲水性、酶降解性及理化不稳定性等固有缺点, 以传统溶液形式口服给药后易被胃肠道中的消化酶降解, 并且其肠道黏膜通透性差, 导致生物利用度低、生物半衰期短, 在一定程度上阻碍了口服药物递送系统的应用^[1-2]。

纳米技术促进了口服胰岛素制剂的发展。纳

[收稿日期] 2020-04-30 **[接受日期]** 2020-07-08

[基金项目] 江苏省研究生培养创新工程项目(KYCX18_0760)。Supported by Jiangsu Provincial Graduate Research Innovation and Practice Project (KYCX18_0760).

[作者简介] 王思琦. E-mail: wangsiqi0020@163.com

*通信作者(Corresponding author). Tel: 0523-80761696, E-mail: jipeng0213@163.com

米粒子可以保护胰岛素不被胃肠道中的消化酶降解,并且具有缓控功能,延长药物的作用时间,提高药物的生物利用度^[3-4]。目前已经开发出不同类型的胰岛素纳米粒口服给药系统,如天然高分子纳米粒、合成聚合物纳米粒、无机纳米粒及其他类型纳米粒等^[5]。本文对高口服生物利用度胰岛素纳米制剂的研究进展作一综述。

1 以天然高分子纳米粒为载体的口服胰岛素制剂

1.1 壳聚糖纳米粒 壳聚糖由氨基葡萄糖和乙酰氨基葡萄糖组成,可以通过瞬时和可逆地开放上皮细胞紧密连接来增强细胞旁药物的吸收,具有高稳定性与相容性。另一方面,壳聚糖经过衍生化反应可增强其在胃肠道中的黏附力,从而延长药效时间。Mumuni等^[6]通过自胶凝法即利用黏蛋白与壳聚糖之间的离子相互作用制备了载有胰岛素的纳米粒,该方法制备的壳聚糖纳米粒具有高包封率、高稳定性及良好的生物相容性;与游离的口服胰岛素相比,壳聚糖纳米粒能更明显地降低血糖水平,且有效延长了药物释放时间。其机制是纳米粒具有黏着特性并能有效避开胃肠道消化酶的作用,从而使胰岛素在吸收部位长时间释放。

Ji等^[7]以壳聚糖和负载胰岛素的玉米醇溶蛋白羧甲基化短链直链淀粉(insulin-loaded zein-carboxymethylated short-chain amylose, IN-Z-CSA)为原料制备了壳聚糖涂层自组装纳米复合材料。IN-Z-CSA通过内吞作用与细胞旁途径促进胰岛素吸收,克服了胃肠道吸收差的缺点,并提高了胰岛素的口服生物利用度。动物体内实验表明,含0.2%壳聚糖的IN-Z-CSA给药后3h时血糖水平降低为初始水平的38.8%,而不含壳聚糖的IN-Z-CSA为49.4%。结果表明0.2%壳聚糖的IN-Z-CSA纳米复合材料可以提高胰岛素的口服生物利用度,降糖效果明显,是一种很有前途的胰岛素给药系统。

1.2 海藻酸钠纳米粒 海藻酸钠是一种具有亲水性、黏附性、生物降解性和生物相容性的pH敏感的聚合物。海藻酸钠纳米粒载体能够使胰岛素抵抗胃肠道消化酶的降解,可以作为一种有效的口服胰岛素递送系统。Long等^[8]采用N,N'-二环己基碳二亚胺活化法在室温下合成了维生素B₁₂修饰的两亲性海藻酸钠衍生物(vitamin B₁₂-modified

amphiphilic sodium alginate derivative, CSAD-VB₁₂)并负载胰岛素,其生物相容性好,毒性低。与胰岛素和CSAD胰岛素纳米粒相比,CSAD-VB₁₂胰岛素纳米粒在Caco-2细胞模型中表现出更高的渗透能力。药效学研究表明,1型糖尿病小鼠口服CSAD-VB₁₂胰岛素纳米粒可产生更高的肠道滞留效果,降糖效果更好。

Chen等^[9]以壳聚糖/海藻酸钠纳米粒作为Cp1-11肽/胰岛素复合物的载体,开发了一种新型胰岛素口服给药系统Cp1-11肽/胰岛素复合物纳米粒(Cp1-11 peptide/insulin-loaded nanoparticle, CILN)。动物实验表明,糖尿病大鼠经口服给药后,CILN表现出良好的降血糖作用,可使血糖水平维持在初始水平的60%左右近8h。与游离胰岛素纳米粒相比,口服CILN可显著提高糖尿病大鼠胰岛素的生物利用度。分析其原因可能包括:(1)胰岛素和Cp-11肽之间的超分子相互作用抑制了胰岛素的聚集,提高了单体形式的胰岛素利用率;(2)CILN具有pH敏感性,能保护胰岛素在低pH环境下不被降解,也能保护胰岛素不受胃肠道消化酶的影响。

1.3 基于脂质的纳米粒 研究发现,脂质纳米粒在肠道中可被Peyer淋巴结上的M细胞吞噬,通过肠黏膜上的细胞通道或淋巴系统吸收,从而降低血糖水平^[10]。Muntoni等^[11]利用无溶剂脂肪酸凝聚法和疏水离子对技术将胰岛素负载在纳米粒中,制备了载有胰岛素和甘精胰岛素的脂质纳米粒,克服了胰岛素口服给药面临胃肠道消化酶降解和肠道吸收差的问题。实验结果显示,与游离药物相比,载有甘精胰岛素的脂质纳米粒表现出最佳的离体摄取、更高的渗透性及对糖尿病大鼠巨大的降血糖潜力。

2 以合成聚合物纳米粒为载体的口服胰岛素制剂

2.1 聚乳酸-羟基乙酸共聚物[poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA]纳米粒 PLGA是美国FDA批准的具有生物可降解性、生物相容性和跨黏膜等优点的生物材料。PLGA纳米粒可通过细胞旁转运促进胃肠道对胰岛素的吸收,同时保护胰岛素免受胃肠道消化酶的降解。陈婷婷等^[12]以10%甲氧基-聚乙二醇-聚乳酸-羟基乙酸共聚物[methoxy-poly(ethylene glycol)-*b*-poly(lactic-co-glycolic acid), mPEG-*b*-PLGA]为基质材料,通过双乳剂法制备载有胰岛素的海藻酸钠mPEG-*b*-PLGA纳米粒,通过

Box-Behnken 响应面法优化处方工艺,使其具有良好的缓释性能、较好的包封率和载药量,可作为胰岛素缓释的理想载体。

2.2 聚乳酸[poly(lactic acid), PLA]纳米粒 PLA是一种可生物降解且具有生物相容性的聚合物,已被用作口服胰岛素递送的纳米载体。PLA可通过氢键、疏水作用及聚合物与黏蛋白交联等作用实现黏附,在上皮细胞附近释放胰岛素并通过细胞旁途径转运^[13-14]。林霞等^[15]为了提高胰岛素的口服生物利用度,以聚乙二醇-聚乳酸共聚物[poly(ethylene glycol)-poly(lactic acid), PEG-PLA]为高分子载体材料、磷脂s75为脂质材料、Eudragit L100为肠溶材料,制备口服胰岛素肠溶聚合物脂质杂化纳米粒,以皮下注射胰岛素溶液为阳性对照组,对口服胰岛素肠溶聚合物脂质杂化纳米粒的大鼠进行降血糖效果评价。结果显示胰岛素对照组血糖水平迅速下降,1.5 h降至最低水平,4 h后恢复至正常血糖水平,降血糖作用持续了约4 h;而口服胰岛素肠溶聚合物脂质杂化纳米粒的大鼠在2 h血糖水平开始降低,2.5 h血糖水平为初始水平的91%,于3.5 h降至最低,为初始水平的76%,具有明显的降血糖作用,且降血糖作用持续了约8 h。研究表明肠溶聚合物脂质杂化纳米粒可提高胰岛素在胃肠道中的稳定性,并有效控制胰岛素在胃中的释放速度。

2.3 聚丙烯酸[poly(acrylic acid), PAA]纳米粒 口服胰岛素受到黏液和上皮等生物屏障的限制,这些屏障会阻碍药物进入血液。PAA作为一种黏液粘结剂的聚合物,可通过延长药物在肠道黏液层的停留时间增加与上皮细胞的接触,从而增大药物在吸收部位的浓度。Zhou等^[16]通过静电相互作用将聚丙烯酸-半胱氨酸-6-巯基烟酸[poly(acrylic acid)-cysteine-6-mercaptopnicotinic acid, PC6]包裹在壳聚糖纳米粒上,并负载胰岛素制备了PC6壳聚糖纳米粒。药效学研究结果显示,PC6壳聚糖纳米粒具有增强降血糖的作用,原因可能为:(1)PC6的存在可促进纳米粒穿透黏液层,通过跨细胞转运途径增强胰岛素在上皮细胞的吸收;(2)PC6壳聚糖纳米粒提高了打开紧密连接的能力,可有效穿过肠黏液层和上皮细胞层阻碍,促进药物吸收和利用。

3 以无机纳米粒为载体的口服胰岛素制剂

近年来,无机纳米粒也被探索用于口服递送胰

岛素。其中,二氧化硅纳米粒因其生物相容性好、可生物降解、孔体积和比表面积大等优势而被用于口服递送胰岛素。Hristov等^[17]以胰岛素和2种已确定的赋形剂和稳定剂(氧化锌和精氨酸)为核心,通过二氧化硅交联,制备了具有较高包封率的载胰岛素二氧化硅纳米粒。药效学研究结果表明,以1 U/kg的剂量给药后,载胰岛素二氧化硅纳米粒的降血糖效果与皮下注射胰岛素溶液相当。载胰岛素二氧化硅纳米粒良好的降糖机制是基于释放的L-精氨酸在空肠中促进胰岛素的渗透,而不是依赖于细胞摄取。

4 其他纳米载体的口服胰岛素制剂

金属有机骨架(metal-organic framework, MOF)是一类有前途的材料,其中孔结构能高效负载蛋白类药物,并显著提高药物的热稳定性和化学稳定性。Wang等^[18]设计并合成了核酸-MOF纳米粒偶联物,以胰岛素作为模型蛋白药物,其细胞摄取增加了10倍,有较好的降糖潜力。Li等^[19]设计了一种氨基酸功能化钆烯纳米粒(gadofullerene nanoparticle, GFNP),以db/db糖尿病小鼠为动物模型,GFNP能在小鼠胰腺和肝脏中富集,具有显著降低血糖的作用,停止给药后甚至能长期维持正常血糖水平。其原因是由于GFNP可降低氧化应激和炎症反应来逆转胰岛功能障碍,从根本上恢复胰岛的胰岛素分泌功能正常化。Mudassir等^[20]通过聚电解质络合法将胰岛素载入pH敏感的聚电解质甲基丙烯酸甲酯/衣康酸中构建了胰岛素纳米凝胶聚电解质复合物(insulin and nanogels polyelectrolyte complex, Ins/NGs-PEC),极大地改善了口服胰岛素的吸收。Ibie等^[21]开发的胰岛素聚电解质复合物可以保护胰岛素不被胰蛋白酶和 α -胰凝乳蛋白酶降解,提高了药物口服稳定性。

5 小结

胰岛素在糖尿病的治疗中有着无可取代的地位。1型糖尿病患者通常在发病时就需要胰岛素治疗,且需终身应用胰岛素。2型糖尿病患者首选口服药物治疗,但当药物口服效果不佳、胰岛功能明显减退、妊娠或合并各种糖尿病急慢性并发症时就需要应用胰岛素治疗。然而,由于皮下长期注射胰岛素不良反应多,胰岛素的储存、携带、注射不方

便及患者的依从性差等问题,其他更友好的非侵入性胰岛素给药制剂(如口服)的开发迫在眉睫。在过去几十年里,纳米技术促进了胰岛素口服给药系统的发展,改善了对糖尿病患者护理的方法,提高了胰岛素的口服生物利用度及疗效。将胰岛素装载到纳米粒中可以提高其稳定性,保护其免受胃肠道中的化学和(或)酶降解。纳米粒还可以增加胰岛素与胃肠道上皮的接触,增加其滞留时间、减少给药频率、降低毒性、提高药物吸收和生物利用度。总而言之,纳米载体用于口服递送胰岛素表现出更高的药物输送效率,推动了先进的糖尿病多功能治疗平台的发展,在调节血糖水平、预防糖尿病相关并发症等方面具有广阔的应用前景。

[参 考 文 献]

- [1] BAGHBAN TARAGHDARI Z, IMANI R, MOHABATPOUR F. A review on bioengineering approaches to insulin delivery: a pharmaceutical and engineering perspective[J/OL]. *Macromol Biosci*, 2019, 19: e1800458. doi: 10.1002/mabi.201800458.
- [2] RUSSELL-JONES D, POUWER F, KHUNTI K. Identification of barriers to insulin therapy and approaches to overcoming them[J]. *Diabetes Obes Metab*, 2018, 20: 488-496.
- [3] MANSOOR S, KONDIAH P P D, CHOONARA Y E, PILLAY V. Polymer-based nanoparticle strategies for insulin delivery[J/OL]. *Polymers (Basel)*, 2019, 11: 1380. doi: 10.3390/polym11091380
- [4] SOUTO E B, SOUTO S B, CAMPOS J R, SEVERINO P, PASHIROVA T N, ZAKHAROVA L Y, et al. Nanoparticle delivery systems in the treatment of diabetes complications[J/OL]. *Molecules*, 2019, 24: 4209. doi: 10.3390/molecules24234209.
- [5] 陆美娇, 范华英. 蛋白多肽类药物口服纳米给药: 现状、问题与前景[J]. *中国组织工程研究*, 2015, 19: 4091-4095.
- [6] MUMUNI M A, KENECHUKWU F C, OFOKANSI K C, ATTAMA A A, DÍAZ D D. Insulin-loaded mucoadhesive nanoparticles based on mucin-chitosan complexes for oral delivery and diabetes treatment[J/OL]. *Carbohydr Polym*, 2020, 229: 115506. doi: 10.1016/j.carbpol.2019.115506.
- [7] JI N, HONG Y, GU Z, CHENG L, LI Z, LI C. Chitosan coating of zein-carboxymethylated short-chain amylose nanocomposites improves oral bioavailability of insulin *in vitro* and *in vivo*[J]. *J Control Release*, 2019, 313: 1-13.
- [8] LONG L, LAI M, MAO X, LUO J, YUAN X, ZHANG L M, et al. Investigation of vitamin B₁₂-modified amphiphilic sodium alginate derivatives for enhancing the oral delivery efficacy of peptide drugs[J]. *Int J Nanomedicine*, 2019, 14: 7743-7758.
- [9] CHEN X, REN Y, FENG Y, XU X, TAN H, LI J. Cp1-11 peptide/insulin complex loaded pH-responsive nanoparticles with enhanced oral bioactivity[J]. *Int J Pharm*, 2019, 562: 23-30.
- [10] XU Y, ZHENG Y, WU L, ZHU X, ZHANG Z, HUANG Y. Novel solid lipid nanoparticle with endosomal escape function for oral delivery of insulin[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2018, 10: 9315-9324.
- [11] MUNTONI E, MARINI E, AHMADI N, MILLA P, GHÈ C, BARGONI A, et al. Lipid nanoparticles as vehicles for oral delivery of insulin and insulin analogs: preliminary *ex vivo* and *in vivo* studies[J]. *Acta Diabetol*, 2019, 56: 1283-1292.
- [12] 陈婷婷, 李顺英, 秦婷婷, 曾庆冰. Box-Behnken 响应面法优化海藻酸钠mPEG-b-PLGA 纳米粒处方工艺[J]. *中国药学杂志*, 2019, 54: 1590-1598.
- [13] ENSIGN L M, CONE R, HANES J. Oral drug delivery with polymeric nanoparticles: the gastrointestinal mucus barriers[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2012, 64: 557-570.
- [14] PRIDGEN E M, ALEXIS F, FAROKHZAD O C. Polymeric nanoparticle technologies for oral drug delivery[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2014, 12: 1605-1610.
- [15] 林霞, 李娜, 李金蔚, 杨子毅, 金坚. 口服胰岛素肠溶聚合物脂质杂化纳米粒的制备与评价[J]. *中国药科大学学报*, 2019, 50: 308-316.
- [16] ZHOU S, DENG H, ZHANG Y, WU P, HE B, DAI W, et al. Thiolated nanoparticles overcome the mucus barrier and epithelial barrier for oral delivery of insulin[J]. *Mol Pharm*, 2020, 17: 239-250.
- [17] HRISTOV D, MCCARTNEY F, BEIRNE J, MAHON E, REID S, BHATTACHARJEE S, et al. Silica-coated nanoparticles with a core of zinc, L-arginine, and a peptide designed for oral delivery[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2020, 12: 1257-1269.
- [18] WANG S, CHEN Y, WANG S, LI P, MIRKIN C A, FARHA O K. DNA-functionalized metal-organic framework nanoparticles for intracellular delivery of proteins[J]. *J Am Chem Soc*, 2019, 141: 2215-2219.
- [19] LI X, ZHEN M, ZHOU C, DENG R, YU T, WU Y, et al. Gadofullerene nanoparticles reverse dysfunctions of pancreas and improve hepatic insulin resistance for type 2 diabetes mellitus treatment[J]. *ACS Nano*, 2019, 13: 8597-8608.
- [20] MUDASSIR J, DARWIS Y, MUHAMAD S, KHAN A A. Self-assembled insulin and nanogels polyelectrolyte complex (Ins/NGs-PEC) for oral insulin delivery: characterization, lyophilization and *in-vivo* evaluation[J]. *Int J Nanomedicine*, 2019, 14: 4895-4909.
- [21] IBIE C O, KNOTT R M, THOMPSON C J. Complexation of novel thiomers and insulin to protect against *in vitro* enzymatic degradation—towards oral insulin delivery[J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2019, 45: 67-75.