

关节腔内药物递送系统研究进展

朱开元 徐翰南 王云 元晨锐 杨云龙 林俊卿 郑宪友

摘要 关节腔内注射是治疗骨科疾病的常用方法,但由于注射的药物在关节腔驻留周期较短以及软骨组织的渗透性受限,该方法的临床疗效存在限制。近年来出现了促进药物在软骨中渗透,增加药物在关节软骨及关节腔驻留周期的药物递送系统,主要包括微米级颗粒、水凝胶、纳米级颗粒、脂质体等类型的载体以及混合型载体,它们可以改善关节腔内注射药物的疗效。该文对关节腔内药物递送系统的研究进展作一综述。

关键词 药物递送;生物材料;关节腔内注射;软骨

DOI: 10.3969/j.issn.1673-7083.2020.05.004

关节腔内注射是治疗骨科疾病的常用方法。在关节腔内注射过程中,软骨结构以及毛细血管和淋巴管的清除与静电作用均可阻碍药物渗透进入关节腔内软骨组织。由于缺乏能有效突破这些阻碍的药物递送系统,药物疗效难以满足临床需求^[1]。为更好地发挥关节腔内注射药物的作用,关节腔药物递送相关研究越来越受到重视。目前,常用的关节腔内药物递送系统包括微米级颗粒、水凝胶、纳米级颗粒、脂质体等类型的载体以及混合型载体,它们可帮助药物渗透进入软骨并延长药物的驻留周期。

1 影响药物作用于软骨的机制

1.1 关节软骨结构

关节软骨是一种无血管、神经和淋巴的组织,其基膜由高密度的胶原纤维网、蛋白聚糖和其他细胞外大分子构成。基膜中胶原纤维网含量最高,构成关节软骨干重的50%~60%;蛋白聚糖的主要成分为黏多糖,构成关节软骨干重的30%~35%;而细胞外大分子主要由软骨细胞合成。胶原纤维网由大量Ⅱ型胶原蛋白和少量Ⅸ型、Ⅺ型胶原蛋白构成,其孔径大小为60~200 nm^[2]。胶原纤维在表浅层(约软骨厚度的10%~20%)平行于表面排列,在中层(约软骨厚度的40%~60%)排列方向无固定规律,在深层(约软骨厚度的30%~40%)垂直于软骨下骨排列。胶原蛋白网络遍布相对分子质量较大的蛋白聚糖复合物,这些复合物由透明质酸和近百个蛋

白聚糖单体通过非共价相互作用连接形成。在蛋白聚糖单体内,带有负电荷的硫酸软骨素黏多糖链和硫酸角质素黏多糖链连接在核心蛋白上,黏多糖链之间间隔2~4 nm^[3]。在胶原纤维网中,呈瓶刷状结构的蛋白聚糖单体排列十分紧密,导致相邻蛋白聚糖单体上黏多糖链的距离与连接在核心蛋白上的黏多糖链的距离基本一致^[4]。因此,基膜上各种成分排列紧密,形成较强的空间位阻,阻碍药物分子向软骨内渗透。此外,蛋白聚糖也增加了软骨厚度,导致可用于渗透药物的孔径大幅缩小,限制了药物及其载体的渗透能力。考虑到药物靶向软骨细胞多位于组织中层和深层,因此对于要渗透到组织深层的药物,软骨的生物学结构成为药物渗透的巨大屏障^[5-6]。

1.2 药物进出关节软骨的模式

药物在关节软骨内的渗透速度取决于药物从滑膜液进入软骨的净流量和药物从淋巴管、滑膜下毛细血管流出的净流量。药物治疗时,只有足够大的进入净流量才能保证关节内药物在被清除前达到足够治疗浓度^[7],而药物清除速度会受到滑膜清除和系统循环的影响^[8]。Formica等^[9]建立滑膜腔药物清除的物理模型来阐明药物治疗中关节各处药物浓度的变化。模型假定滑膜液中各处药物浓度均相同,将药物注射进关节的时间记为T₀,此时滑膜液中药物及其递送载体的浓度CSF达到峰值,记为C₂;随着药物及其递送载体的渗透和清除,CSF持续下降,而软骨内药物及其递送载体的浓度CC持续上升,表现为药物从滑膜液向软骨内的净内流,直至CSF与CC相等,此时间记为T₂。CC在T₀至T₂时段内持续上升,将达到治疗浓度C₁的时间记

作者单位:200025, 上海交通大学医学院临床医学系临床医学八年制(朱开元、徐翰南、王云、元晨锐);200230, 上海交通大学附属第六人民医院骨科(杨云龙、林俊卿、郑宪友)

通信作者:郑宪友 E-mail: zhengxianyou@126.com

为 T1, 药物在 T1 后开始真正发挥作用。在 T2 后, CSF 继续下降, 此时 CSF 小于 CC, 表现为药物从软骨向滑膜液的净外流, 于是 CC 也开始下降, 直至 CC 小于 C1, 该时间记为 T3。因此, 药物在 T3 后不发挥作用。综上, 有效治疗时间 (Teff) 为 T1 至 T3 时段^[10]。常规药物通过滑膜液注射给药, 有限的给药量限制了 CSF 的初始大小; 同时由于滑膜液中药物会经淋巴管和毛细血管快速清除, 使 CSF 迅速下降, 而由于软骨对药物渗透的阻碍, 使 CC 上升缓慢, 从而导致有效治疗时间短, 治疗效果差^[11]。由此可见, 进出软骨的物理模式阻碍了药物渗透, 使常规药物难以发挥作用。见图 1。

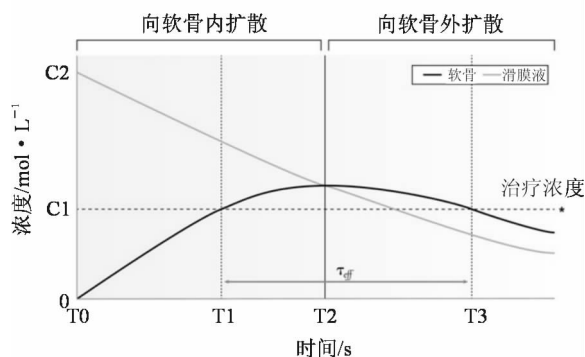


图 1 药物进入软骨的物理模式示意图

1.3 关节软骨所带电荷的影响

关节软骨内有高密度的带负电荷的黏多糖, 因此静电相互作用也可影响药物及递送载体的运输、吸收和结合。静电作用对药物渗入的影响主要表现在运输速度和渗入深度两方面。

1.3.1 静电作用对运输速度的影响

带电溶质在软骨组织内的分布由唐南平衡决定^[12]。在平衡状态下, 所有自由移动的带电溶质都会根据软骨组织平均电势与周围滑膜液平均电势之差分布到带电组织中。而软骨内部黏多糖的固定的高负电荷密度导致电势下降, 在组织界面处产生强向内的电场, 可增强带正电物质向软骨内运输, 并阻碍带负电溶质的渗透。

关节内注射带负电或电中性的药物, 则会由于受到静电排斥作用或无静电吸引作用, 明显降低药物进入软骨的速度, 从而影响药物渗入。但若在关节内注射带正电药物, 静电相互作用会导致滑膜液-软骨界面(称“Donnan 分区”)的阳离子递送载体浓度急剧增加, 形成陡峭的药物浓度梯度, 从而加速药物运输并确保阳离子递送载体在离开滑膜液前被软骨高摄取。这极大加速了带正电药物和/或药物载

体进入带负电软骨的运输, 使药物和/或药物载体进入软骨的速率快于软骨清除速率。因此, 静电作用可以增强阳离子药物的运输速度, 但对阴离子药物有阻碍作用。

1.3.2 静电作用对渗入深度的影响

静电结合力弱且可逆, 阳离子载体解键后可继续在软骨中扩散。目前关节内药物递送的研究多数为使用强结合机制(如共价键)^[13], 以增加软骨内药物递送载体的停留时间。但是, 由于其结合紧密, 这些递送载体被困于表层, 使扩散效率降低几个数量级, 影响其将药物递送至中层和深层。

综上, 关节软骨的结构和药物进出模式会影响药物在软骨中渗透的速率, 而软骨所带电荷会同时影响药物运输速度和渗透深度。这些因素相互作用, 阻碍了药物有效渗透至软骨内相关靶点, 导致常规药物治疗效果不理想。

2 关节腔药物递送系统

为实现有效的软骨内给药, 关节腔药物递送系统成为当下研究热点。药物递送载体通常被设计成合适大小, 或经化学修饰后携带阳离子, 以克服以上所述的一种或多种阻碍。主要关节腔药物递送系统包括微米级颗粒、水凝胶、纳米级颗粒、脂质体等类型载体和混合型递送载体。

2.1 微米级颗粒载体

微米级颗粒载体是一种既不渗透入软骨也不与软骨结合的药物递送系统, 其可悬浮于滑膜液中, 持续地将药物释放到关节腔内。微米级颗粒具有的合适大小使其可最大程度避免被血管或淋巴管清除, 致半衰期较长。目前开发的大部分持续释放药物的载药系统均为利用微米级颗粒的递送载体, 如装载依托考昔(环氧化酶-2 抑制剂)的聚己内酯^[14]、装载塞来昔布(环氧化酶-2 抑制剂)的聚酯酰胺^[15]、装载大黄酸(抗炎药)的聚乳酸-羟基乙酸共聚物^[16], 这些药物在关节内可停留 4~10 周。但微米级颗粒载体也有不足。虽然递送载体克服了被血管或淋巴管清除的阻碍, 但其释放的大部分药物在到达软骨前被清除, 故药物多停留于滑膜液, 较少进入软骨。这导致软骨内有效药物浓度低于注射时的药物浓度, 在软骨内达到治疗浓度的时间也较长。微米级颗粒药物递送载体具有持续性强、渗透性弱的特点, 更适用于抗炎镇痛类药物的递送。

2.2 水凝胶载体

水凝胶是保水性极强的高分子三维网状聚合

物,在水中呈胶状,与滑膜液性质相似^[17]。该类载体可与软骨表面结合,起到表面润滑和缓冲作用^[18]。这种表面结合性使水凝胶不易被血管或淋巴管清除,同时比微米级颗粒更靠近软骨。因此,使用该类载体时软骨内药物达到治疗浓度的时间小于使用微米级颗粒载体。传统的水凝胶载体为透明质酸^[19],但由于载体自身易被酶降解,其持续性仅略高于游离药物^[20],只能用于软骨表面润滑。有学者将聚 N-异丙基丙烯酰胺与透明质酸结合,组成一种热敏性水凝胶,在体温下即可形成纳米级凝胶颗粒,而不易被酶降解,从而延长药物作用时间^[21]。还有学者研制出一种酶反应性水凝胶 TG-18,其可在水中自行聚合成水凝胶状态,包裹药物。当关节炎处于活动期时,关节内以基质金属蛋白酶为代表的多种酶水平上升,导致水凝胶外层解聚,药物释放。当活动期结束,酶水平下降,载体会再次聚合^[22-23]。因此,水凝胶载体具有结合性强、渗透性弱的特点,能够根据环境变化做出反应。该类载体适用于抗炎止痛类或润滑类药物的递送。

2.3 纳米级颗粒载体

与以上两种非渗透性材料不同,纳米级颗粒是一种带正电小颗粒,能够穿过软骨表面,向深部组织渗透,从而在软骨内部持续释放药物^[24]。纳米级颗粒较小的尺寸和带正电特性克服了软骨结构和静电作用的阻碍,使其渗透速度加快以避免被血管或淋巴管清除,同时能够渗透到软骨全层。由于克服了三重阻碍,使用该类载体时软骨内药物达到治疗浓度的时间短于以上 2 类载体。亲和素是典型的纳米级颗粒载体,可用于软骨内给药^[2, 24]。有研究显示,与地塞米松结合时,亲和素可快速渗透到软骨全层并在组织内释放药物,与游离药物相比,可显著抑制白细胞介素-1 介导的糖胺多糖损失达 3 周以上^[25]。近期研究发现,聚乙二醇化的树枝状聚酰胺-胺作为胰岛素样生长因子(IGF)1 的载体具有与亲和素类似的理化性质,其可使软骨内药物浓度在 30 d 内维持于治疗水平;骨关节炎(OA)小鼠模型研究也发现,IGF1-载体可显著抑制软骨退化和容积性骨赘生物负荷达 4 周^[26]。纳米级颗粒载体具有渗透性强、结合性弱的特点,是目前最适合进行软骨内给药的递送载体。这类递送载体对于可能改善 OA 病情药物的软骨内给药带来希望,对于那些缺乏组织靶向给药方法而引起全身不良反应,最终导致临床试验失败的 OA 治疗药物,该类载体可能提供新的给药方式。

2.4 脂质体载体

脂质体是脂质双分子层构成的颗粒,可装载各种类型的药物(脂溶性药物装载于两层之间;水溶性药物装载于内层内部),并缓慢持续释放。该类载体与动物细胞的成分和结构相似,因此生物相容性极高,不易引起炎症反应^[27]。在不同实验中发现,装载 VX-745^[28]、硫酸软骨素^[29]或塞来昔布^[30]的脂质体都可以延长药物半衰期。脂质体的大小、导电性、通透性等理化性质均具可塑性,且可通过在表面结合相应配体达到靶向治疗的目的^[31]。尽管具有上述诸多优势,脂质体仍然存在稳定性弱、抗压能力弱、价格高等不足^[20]。随着研究进一步深入,多聚物或多聚物-脂质体混合囊泡展现出比传统脂质体更强的可塑性和灵活性,有望作为新型的药物递送载体^[27]。

2.5 混合型递送载体

目前,大部分有关药物递送系统的研究均为使用单一类型载体。然而,这种设计常只能满足部分给药需求,如微米级颗粒载体虽能提供最长的持续时间,却由于渗透性差而无法用于改善 OA 病情药物的递送;纳米级颗粒虽然是最适合软骨内给药的递送载体,却由于直径过小易被血管和淋巴管清除。将多种递送载体组合使用,或对药物进行化学修饰后与载体结合或能更好地适应给药需求。有学者将 2-([1,1-联苯]-4-基氨基甲酰)苯甲酸制成纳米晶体后与微米级颗粒结合,构成纳米晶体-微米颗粒结构,可显著延长递送药物的作用时间,增加药物载量并减少不良反应发生。进一步的动物体内实验发现,这种载体可促进 OA 小鼠的软骨再生^[32]。装载依托考昔的聚己内酯微米颗粒与甲壳胺(热敏性水凝胶)联用,构成微米颗粒-水凝胶结构,可将药物持续时间延长到 6 周^[33]。酶反应性水凝胶 TG-18 联合多聚颗粒或能提高关节内给药的有效时长和可控度。混合型递送载体在未来载药系统的研究中具有巨大潜力。

3 结语

在关节腔内给药过程中,软骨的组织结构,淋巴管和毛细血管对药物的快速清除,以及软骨间的静电作用阻碍了药物渗透进入软骨。针对性设计的药物-正电载体偶联和药物的阳离子肽结构域修饰递送系统可使药物在关节腔内驻留时间大幅延长。此外,利用不同类型药物递送材料的特性将多种递送载体组合使用或对药物进行化学修饰后与递送载体

结合的方法已显示出巨大潜力,它们在药物治疗 OA 领域将具有广阔前景。

参 考 文 献

- [1] Evans CH. Drug delivery to chondrocytes[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2016, 24(1): 1-3.
- [2] Ng L, Grodzinsky AJ, Patwari P, et al. Individual cartilage aggrecan macromolecules and their constituent glycosaminoglycans visualized via atomic force microscopy [J]. *J Struct Biol*, 2003, 143(3): 242-257.
- [3] Lee HY, Han L, Roughley PJ, et al. Age-related nanostructural and nanomechanical changes of individual human cartilage aggrecan monomers and their glycosaminoglycan side chains[J]. *J Struct Biol*, 2013, 181(3): 264-273.
- [4] Buschmann MD, Grodzinsky AJ. A molecular model of proteoglycan-associated electrostatic forces in cartilage mechanics[J]. *J Biomech Eng*, 1995, 117(2): 179-192.
- [5] Stefani RM, Lee AJ, Tan AR, et al. Sustained low-dose dexamethasone delivery via a PLGA microsphere-embedded agarose implant for enhanced osteochondral repair[J]. *Acta biomater*, 2020, 102: 326-340.
- [6] Bajpayee AG, de la Vega RE, Scheu M, et al. Sustained intra-cartilage delivery of low dose dexamethasone using a cationic carrier for treatment of post traumatic osteoarthritis [J]. *Eur Cell Mater*, 2017, 34: 341-364.
- [7] Bajpayee AG, Scheu M, Grodzinsky AJ, et al. Electrostatic interactions enable rapid penetration, enhanced uptake and retention of intra-articular injected avidin in rat knee joints [J]. *J Orthop Res*, 2014, 32(8): 1044-1051.
- [8] Sterner B, Harms M, Wöll S, et al. The effect of polymer size and charge of molecules on permeation through synovial membrane and accumulation in hyaline articular cartilage[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2016, 101: 126-136.
- [9] Formica FA, Barreto G, Zenobi-Wong M. Cartilage-targeting dexamethasone prodrugs increase the efficacy of dexamethasone[J]. *J Control Release*, 2019, 295: 118-129.
- [10] He T, Zhang C, Vedadhavami A, et al. Multi-arm Avidin nano-construct for intra-cartilage delivery of small molecule drugs[J]. *J Control Release*, 2020, 318: 109-123.
- [11] Vedadhavami A, Wagner EK, Mehta S, et al. Cartilage penetrating cationic peptide carriers for applications in drug delivery to avascular negatively charged tissues [J]. *Acta Biomater*, 2019, 93: 258-269.
- [12] Bajpayee AG, Grodzinsky AJ. Cartilage-targeting drug delivery: can electrostatic interactions help?[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2017, 13(3): 183-193.
- [13] Hughes C, Faurholm B, Dell'accio F, et al. Human single-chain variable fragment that specifically targets arthritic cartilage[J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62(4): 1007-1016.
- [14] Arunkumar P, Indulekha S, Vijayalakshmi S, et al. Synthesis, characterizations, in vitro and in vivo evaluation of etoricoxib-loaded poly (caprolactone) microparticles: a potential intra-articular drug delivery system for the treatment of osteoarthritis[J]. *J Biomater Sci Polym Ed*, 2016, 27(4): 303-316.
- [15] Janssen M, Timur UT, Woike N, et al. Celecoxib-loaded PEA microspheres as an auto regulatory drug-delivery system after intra-articular injection[J]. *J Control Release*, 2016, 244(Pt A): 30-40.
- [16] Gómez-Gaete C, Retamal M, Chávez C, et al. Development, characterization and in vitro evaluation of biodegradable rhein-loaded microparticles for treatment of osteoarthritis[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2017, 96: 390-397.
- [17] Buwalda SJ, Boere KW, Dijkstra PJ, et al. Hydrogels in a historical perspective: from simple networks to smart materials[J]. *J Control Release*, 2014, 190: 254-273.
- [18] Faivre J, Shrestha BR, Burdyska J, et al. Wear protection without surface modification using a synergistic mixture of molecular brushes and linear polymers[J]. *ACS Nano*, 2017, 11(2): 1762-1769.
- [19] Petrella RJ, Emans PJ, Alleyne J, et al. Safety and performance of Hydros and Hydros-TA for knee osteoarthritis: a prospective, multicenter, randomized, double-blind feasibility trial[J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2015, 16: 57.
- [20] Maudens P, Jordan O, Allémann E. Recent advances in intra-articular drug delivery systems for osteoarthritis therapy [J]. *Drug Discov Today*, 2018, 23(10): 1761-1775.
- [21] Maudens P, Meyer S, Seemayer CA, et al. Self-assembled thermoresponsive nanostructures of hyaluronic acid conjugates for osteoarthritis therapy[J]. *Nanoscale*, 2018, 10(4): 1845-1854.
- [22] Joshi N, Yan J, Levy S, et al. Towards an arthritis flare-responsive drug delivery system[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 1275.
- [23] Hampton T. Enzyme-responsive hydrogels may help treat arthritis[J]. *JAMA*, 2018, 319(21): 2161-2162.
- [24] Bajpayee AG, Wong CR, Bawendi MG, et al. Avidin as a model for charge driven transport into cartilage and drug delivery for treating early stage post-traumatic osteoarthritis [J]. *Biomaterials*, 2014, 35(1): 538-549.
- [25] Bajpayee AG, Quadir MA, Hammond PT, et al. Charge based intra-cartilage delivery of single dose dexamethasone using Avidin nano-carriers suppresses cytokine-induced catabolism long term[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2016, 24(1): 71-81.
- [26] Geiger BC, Wang S, Padera RF Jr, et al. Cartilage-penetrating nanocarriers improve delivery and efficacy of growth factor treatment of osteoarthritis [J]. *Sci Transl Med*, 2018, 10(469): eaat8800.

[38] Bodelier AG, Groeneveld W, van der Linden AN, et al. Symptomatic epidural lipomatosis in ectopic Cushing' s syndrome[J]. Eur J Endocrinol, 2004, 151(6): 765-769.

[39] Ferlic PW, Mannion AF, Jeszenszky D, et al. Patient-reported outcome of surgical treatment for lumbar spinal epidural lipomatosis[J]. Spine J, 2016, 16(11): 1333-1341.

[40] Fujita N, Ishihara S, Michikawa T, et al. Negative impact of spinal epidural lipomatosis on the surgical outcome of posterior lumbar spinous-splitting decompression surgery: a multicenter retrospective study[J]. Spine J, 2019, 19(12): 1977-1985.

(收稿:2020-05-06)

(本文编辑:李圆圆)

(上接第 274 页)

[27] Rideau E, Dimova R, Schwille P, et al. Liposomes and polymersomes: a comparative review towards cell mimicking [J]. Chem Soc Rev, 2018, 47(23): 8572-8610.

[28] Pradal J, Zuluaga MF, Maudens P, et al. Intra-articular bioactivity of a p38 MAPK inhibitor and development of an extended-release system[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2015, 93: 110-117.

[29] Craciunescu O, Moldovan L, Moisei M, et al. Liposomal formulation of chondroitin sulfate enhances its antioxidant and anti-inflammatory potential in L929 fibroblast cell line [J]. J Liposome Res, 2013, 23(2): 145-153.

[30] Dong J, Jiang D, Wang Z, et al. Intra-articular delivery of liposomal celecoxib - hyaluronate combination for the treatment of osteoarthritis in rabbit model[J]. Int J Pharm, 2013, 441(1-2): 285-290.

[31] Daraee H, Etemadi A, Kouhi M, et al. Application of liposomes in medicine and drug delivery [J]. Artif Cells Nanomed Biotechnol, 2016, 44(1): 381-391.

[32] Maudens P, Seemayer CA, Thauvin C, et al. Nanocrystal-polymer particles: extended delivery carriers for osteoarthritis treatment[J]. Small, 2018, [Epub ahead of print].

[33] Arunkumar P, Indulekha S, Vijayalakshmi S, et al. Poly (caprolactone) microparticles and chitosan thermogels based injectable formulation of etoricoxib for the potential treatment of osteoarthritis [J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2016, 61: 534-544.

(收稿:2020-03-18)

(本文编辑:李圆圆)