

金纳米粒的体内过程研究进展[△]

徐世一*, 屈怀东, 阎雪莹[△](黑龙江中医药大学药学院, 哈尔滨 150040)

中图分类号 R979.1⁺9 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)19-2708-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.19.36

摘要 目的:为促进金纳米粒的进一步研究提供参考。方法:以“金纳米粒”“体内”“代谢”“Gold nanoparticles”“*in vivo*”“Metabolize”等为关键词,组合检索1997—2015年在PubMed、OSA、ACS、SpringerLink、中国知网、万方、维普等数据库中的有关文献,对金纳米粒在体内吸收、分布、代谢、排泄等内容进行综述。结果与结论:共查询到相关英文文献300余篇、中文文献800余篇,其中有效文献29篇。金纳米粒的体内过程与其形状、粒径、表面电荷和表面修饰物有着紧密的关系,其在体内吸收与分布的量与粒径呈反比,影响其在体内代谢和排泄的两个重要因素是粒径和表面电荷。因此,可以根据不同情况,改变金纳米粒子的粒径、表面电荷、表面修饰物等,以达到提高靶向性、降低毒副作用的目的。

关键词 金纳米粒;体内研究;吸收;分布;代谢;排泄

金纳米粒(Gold nanoparticles, GNPs)由于其低毒、粒径可控、较好的生物相容性、具备表面等离子体共振光学现象等特点在科学界受到广泛的关注^[1]。其本身具有一定的光学热效应和生物活性,表面易被修饰^[2],修饰后可以通过共价或非共价结合、静电吸附、包封等方式与各种药物结合^[3-5]。与常用的一些无机纳米材料,例如磁性纳米粒子、介孔二氧化硅、纳米碳材料等比较,GNPs更适合应用于药物传递系统^[6]。GNPs作为小分子药物和基因药物传输载体的应用研究已逐渐从细胞水平发展至动物水平^[7]。然而,金元素并非人体必需元素,虽然其也能通过新陈代谢排出体外,但是长期摄入过量会对身体造成危害。Ionita P等^[8]发现,GNPs会引发自由基的氧化反应,其产生的有害化合物具有较强的氧化性,可损害机体的组织和细胞,进而引起慢性疾病和衰老。因此,了解生物系统如何对药物作出响应并且明确其在体内的组织分布、消除过程,对实施个体化用药,防止耐药和交叉耐药的发生,以及合理、安全用药,取得最好的疗效,最大限度地降低毒副作用有指导作用^[9]。笔者以“金纳米粒”“体内”“代谢”“Gold nanoparticles”“*in vivo*”“Metabolize”等为关键词,组合检索1997—2015年PubMed、OSA、ACS、SpringerLink、中国知网、万方、维普等数据库中的有关文献。结果,共查询到相关英文文献300余篇、中文文献800余篇,其中有效文献29篇。现对GNPs在体内吸收、分布、代谢、排泄等内容进行综述,以期为其进一步研究提供参考。

1 GNPs的吸收研究

GNPs的给药方式主要分为腹腔给药、静脉注射及皮肤给药。影响皮肤给药吸收的最主要因素为GNPs的粒径,而静脉注射给药后GNPs如何被细胞摄取也是需要关注的主要问题。研究GNPs在体内的吸收过程对提高药物的生物利用度及开发靶向药物具有重要的意义^[10]。

1.1 皮肤给药

Sonavane G等^[11]研究了GNPs对小鼠的皮肤及小肠黏膜的渗入受粒子的粒径影响,将粒径为15、102、198 nm的GNPs进行透皮吸收比较发现,15 nm的GNPs其渗透率远远高于其余两种GNPs,而102 nm和198 nm的GNPs分别存在3 h和6 h

的滞后时间,证明粒径较小的GNPs更容易被皮肤黏膜吸收。同时研究人员发现,纳米粒子的透皮吸收是通过卵泡渗透进入汗腺导管及毛囊等皮肤的附属器官,然后通过分流路线渗透进入皮肤。因此,根据不同部位给药调整GNPs的粒径可以增加药物吸收及利用率。

1.2 静脉给药

Chithrani BD等^[12]研究了不同粒径和形状的胶体GNPs在哺乳动物细胞内的摄取,其吸收动力学和饱和度高度依赖于GNPs的粒径。比较细胞对粒径为14、30、50、74、100 nm的胶体GNPs的吸收率,50 nm粒径的GNPs有最大细胞吸收率,其进入细胞的途径是通过受体介导的内吞作用^[13]。通过透射电子显微镜发现,粒径为14~100 nm以内的GNPs被细胞质中的囊泡捕获但并没有进入细胞核。Desai MP等^[14]发现,粒径为14、50、74 nm的GNPs的摄取半衰期分别为2.10、1.90、2.24 h,速度分别为622、1294、417个/h;每个细胞可以吸收的GNPs的个数分别为3 000、6 160、2 988。可见,细胞对50 nm的GNPs吸收效果最好。

细胞对微粒的摄取也受到微粒形状的影响^[15]。Chithrani BD等^[12]将球形与棒状(纵横比为1:3、1:5)的GNPs的吸收进行比较时发现,细胞对纵横比为1:3的棒状GNPs的摄取量更高,而球形GNPs比棒状的更容易进入细胞。由此可见,GNPs的形状对其吸收也具有重要的影响。

GNPs的化学修饰物的种类也是影响细胞对其摄取的一个重要因素。Nativo P等^[16]对粒径为16 nm的表面改性的GNPs在HeLa细胞中的摄取情况进行电镜观察发现,可以通过脂质体传递系统或者采用细胞穿透肽(CPPs)进行修饰来增加细胞摄取,这证明表面修饰也是影响GNPs吸收及细胞摄取的重要因素。

1.3 腹腔给药

Lasagna-Reeves C等^[17]通过腹腔注射不同剂量[40、200、400 μg/(kg·d)]的12.5 nm粒径的GNPs发现,所有器官中都可以检测到GNPs,证明这种给药途径能实现有效的吸收。但GNPs腹腔给药后影响其吸收的主要因素尚不明确。

2 GNPs的分布研究

GNPs的组织分布研究以静脉注射给药方式为主,其在体内的分布与多种因素有关,包括纳米粒的表面电荷、粒径及表面修饰物等。研究药物的分布对于新药的临床研究、确定药物作用的靶器官、寻找新的靶向机制、安全性研究、寻找新的作用途径等具有重要的意义。

2.1 GNPs粒径对其组织分布的影响研究

[△] 基金项目:黑龙江省教育厅科学技术研究项目(No.12521z022)

* 硕士研究生。研究方向:靶向、缓控释制剂的研究及药物的体内代谢。E-mail:994010246@qq.com

通信作者:教授,硕士生导师。研究方向:靶向、缓控释制剂的研究及药物的体内代谢。电话:0451-87266827。E-mail:15159267@qq.com

De Jong WH等^[18]在大鼠体内药动学研究发现,球形GNPs在体内的组织分布受其粒径的影响最为明显。将粒径分别为10、50、100、250 nm的GNPs尾静脉注入大鼠体内,24 h后处死大鼠,通过电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法测定血及各组织GNPs的量。结果以上几种粒径的GNPs均主要集中于肝脏和脾脏,且肝脏中分布最多,在脑、肺、心、肾、小肠和胃含量较低,并且表现出了粒径最小(10 nm)和最大(250 nm)的GNPs之间组织分布的显著区别:10 nm的GNPs表现出最广泛的器官分布,50、100、250 nm的GNPs几乎完全分布到肝、脾和血,注射24 h后有一定数量的GNPs存在于血液中,并随着时间增加进一步积累。

Hirn S等^[19]将¹⁹⁸Au放射性标记的带负电荷的5种不同粒径(1.4、5、18、80、200 nm)的GNPs分别静脉注入大鼠体内,24 h后,用 γ 光谱定量测定GNPs的分布。结果大多数GNPs积累在肝脏中并且存在着粒径依赖性,积累量从1.4 nm的50%增加到200 nm的GNPs>99%;相反,在其他器官,18~200 nm的GNPs分布量较小,且没有粒径依赖性,而1.4~5 nm的GNPs随着粒径的增加,积累量急剧增加,即与体积比表面积(VSSA)呈线性正相关,但机制目前尚不明确。然而,VSSA也是GNPs在血液中分布量的重要决定因素,其分布随着VSSA的增加而增加。值得注意的是,粒径依赖的模式也适用于其他器官,如脑、子宫、心脏和肾脏。Balogh L等^[20]通过研究5、11、22 nm表面带正电荷的金树枝状复合纳米粒(Au-CNDs)在B16小鼠黑色素瘤模型系统中的分布和排泄进行定量分析,为了确定粒径对Au-CNDs分布的影响,将5 nm、11 nm及22 nm的Au-CNDs相比较。结果5 nm和11 nm的Au-CNDs在血液中的含量远高于22 nm的Au-CNDs,这可能是由于较小粒径的纳米粒子可以避免被白细胞摄取从而躲避快速的血液清除;脾脏的积累量部分取决于粒径,11 nm的表面负电荷Au-CNDs和22 nm的表面正电荷Au-CNDs与其表面电荷相同的5 nm Au-CNDs相比在脾脏具有较高的积累水平;Au-CNDs在肺部和肝脏的积累量也取决于粒径,22 nm的Au-CNDs比5 nm和11 nm的Au-CNDs表现出更高的积累量;在注射5 min和1 h后,11 nm的负电荷Au-CNDs在心脏的积累量显著高于5 nm的负电荷Au-CNDs。

Sonavane G等^[21]研究了15、50、100、200 nm的GNPs,发现粒径为15 nm和50 nm的GNPs可以通过血脑屏障,并且在脑部存在着明显的浓度依赖的GNPs的积累;粒径最小的15 nm的GNPs分布器官最为广泛,然而粒径最大的200 nm的GNPs在除肝脏以外的各个器官及组织中的存在量非常少。这也证实了GNPs的分布的确受到粒径的制约。

2.2 GNPs表面电荷及修饰物对其组织分布的影响研究

Hirn S等^[19]证实,影响GNPs体内分布的另一个重要因素就是表面电荷。研究人员发现带正电荷的GNPs主要积累在肾脏,而带负电荷和中性电荷的GNPs却在肝脏表现出了较高的积累量;同时也发现,多种粒径及各种表面改性的GNPs在肝脏的积累量都是最多的,而不同粒径的三苯基膦磷酸(TPPMS)修饰的GNPs在脾脏的积累量均恒定在2%左右,并没有表现出明显的粒径依赖性;然而2.8 nm羧基化的GNPs比其他粒径的TPPMS修饰的GNPs在脾脏具有更高的积累量,达到了8.6%;同时2.8 nm带正电荷的氨基化GNPs在脾脏的积累量也要比其他粒径的TPPMS修饰的GNPs更高,达到了11.4%;在肺部羧基化GNPs的积累量比TPPMS修饰的GNPs更高。

3 GNPs的代谢研究

药物的代谢被认为是影响药物作用的重要因素之一^[22],针对GNPs的代谢研究却十分稀少,因此还有很大的研究空间。

Balogh L等^[20]研究发现,GNPs在小鼠肿瘤模型中的代谢与其粒径、形状、所带电荷以及给予途径均有关。Chithrani BD等^[23]研究发现,GNPs的粒径以及形状是影响其在体内代谢速率的重要因素。在脾脏和肝脏,GNPs的富集可能由网状内皮系统调节,这是免疫系统的一部分,涉及外源性分子和粒子在这些组织中的吸收和代谢^[17]。这均证实粒径、形状、所带电荷是其体内分布的重要影响因素。

4 GNPs的排泄研究

事实上GNPs的排泄方式及排泄量受到其粒径的影响。Hainfeld JF等^[24]研究发现,通常用于作为X-射线造影剂的1.9 nm的GNPs,其表面经过高度水溶性的有机壳改性,几乎完全能够通过尿液排出体外;而20 nm的低密度脂蛋白GNPs在静脉注射给药后通过胆管排泄,其第4~12天每日胆管的排泄量约为5%^[25]。Choi HS等^[26]研究了蛋白质修饰的GNPs的排泄过程发现,由于粒径为1.4 nm和2.8 nm的GNPs比3.5 nm的GNPs的蛋白分子更小,而其表面负电荷使其可以与一个或几个蛋白质分子结合,从而导致其直径>5.5 nm,使肾脏的清除量减少(肾小球滤过的孔隙约为5.5 nm^[27]);18 nm的GNPs少量静脉注射后经肝胆系统以粪便的形式排泄,而肾脏的排泄量极低^[17]。Longmire M等^[27]发现,粒径大于6~8 nm的粒子可以躲避肾的排泄功能从而增加循环半衰期。Balogh L等^[20]通过研究也发现,正电荷的Au-CNDs在注射进入体内后第1天在尿液中的排泄量最大,直至第4天其在肾脏仍然有积累;而且Au-CNDs在肾脏中的排泄量大小顺序为正电荷>中性>负电荷;Au-CNDs粪排泄量大小顺序为正电荷>中性>负电荷。由此证明其主要排泄方式为肾脏。

在肝脏中,GNPs不会立即被Kupffer细胞摄取而是通过有孔的血管内皮细胞转运到Dissé空间被肝细胞摄取后再流入胆小管^[28],并由此通过胆道进入小肠,经粪便排泄。同时,粒径为18 nm的GNPs,不仅在Kupffer细胞,而且在内皮细胞、肝细胞和肝胆通路都有很高的积累量。TPPMS修饰的GNPs当粒径在2.8~200 nm范围内时其在肝胆的排泄与粒径呈负线性相关,即粒径越小的GNPs越容易穿透肝脏的各种生理组织进入肠;羧基化的2.8 nm粒径的GNPs正好与这个粒径依赖趋势吻合;只有粒径最小的1.4 nm的GNPs不遵循线性的粒径依赖,但是其清除率却高达(4.6±0.4)%,根据这一复杂的通路,GNPs清除的过程的规律尚未确定^[19]。由此可见,与其他纳米粒子一样,GNPs排泄方式与其微粒的粒径息息相关。但是Cho WS等^[29]在研究中发现,PEG修饰的GNPs在注射7 d以后依然积累在肝脏和脾脏,并没有排泄完全。因此,对GNPs的排泄还需要更加深入的研究。

5 结语

GNPs作为免疫学检测的标记物、生物探针、基因和药物的优良载体可用于肿瘤和多种疾病的治疗,其通过静脉注射、皮肤给药及腹腔注射给药后的吸收、分布、代谢及排泄的研究对提高其生物利用度、进行靶向性设计和降低毒副作用具有重要的作用。

根据目前国内外研究结果可以总结出,GNPs通过皮肤给药和腹腔注射后吸收受到其微粒形状、粒径及表面修饰物的影响,粒径较小的GNPs吸收速度更快,而静脉注射给药后细胞更容易摄取棒状、粒径较小的GNPs。而表面修饰物、粒径

和表面电荷则是影响GNPs在体内组织和器官中分布的重要因素,GNPs在体内的吸收和分布的量与粒径基本成反比。由于对GNPs的代谢和排泄过程的研究文献十分少,至今能够确定的是影响其代谢和排泄的两个重要因素是GNPs的粒径和表面电荷。因此,可以根据不同情况,改变GNPs的粒径、表面电荷、表面修饰物等,以达到提高靶向性、降低毒副作用的目的。但是由于体内环境十分复杂,体外模型并不能综合、全面地代替体内各种因素,那么对GNPs在体内过程的进一步深入研究就显得尤为重要,这对GNPs的体内机制研究、新药的研发以及指导临床合理用药都具有十分重要的意义。

参考文献

- [1] 李欣,徐风华.金纳米粒在药物及生物大分子递送系统中的应用[J].国际药学研究杂志,2008,35(5):388.
- [2] Rana S, Bajaj A, Mout R, *et al.* Monolayer coated gold nanoparticles for delivery applications[J]. *Adv Drug Deliv Rev*,2012,64(2):200.
- [3] 吕晓丽,康丽娟,程志强,等.纳米金颗粒的制备、性质及其在生物检测中的应用[J].世界元素医学,2006,13(3):31.
- [4] Zhao Y, Gu X, Ma H, *et al.* Association of glutathione level and cytotoxicity of gold nanoparticles in lung cancer cells[J]. *J Phys Chem C*,2011,115(26):12 797.
- [5] Wang J, Yue Y, Chen G, *et al.* Protease-promoted drug delivery using peptide-functionalized gold nanoparticles [J]. *Soft Matter*,2011,7(16):7 217.
- [6] 何曼,刘颖,冯年平.金纳米粒及其在药物传递系统中的应用研究进展[J].药学进展,2013,37(12):623.
- [7] 梁娟娟,耿冬冬,丁娅,等.金纳米粒在药物传递系统中的应用[J].药学进展,2014,38(4):285.
- [8] Ionita P, Conte M, Gilbert BC, *et al.* Gold nanoparticle-initiated free radical oxidations and halogen abstractions [J]. *Org Biomol Chem*,2007,5(21):3 504.
- [9] 高硕,杨错,王红.头孢呋辛钠药动学的研究进展[J].中国药房,2012,23(1):85.
- [10] 陈西敬,王广基.药物转运蛋白在药物吸收、分布和排泄中的作用及对新药研发的意义[J].中国药科大学学报,2003,34(6):483.
- [11] Sonavane G, Tomoda K, Sano A, *et al.* In vitro permeation of gold nanoparticles through rat skin and rat intestine: effect of particle size[J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*,2008,65(1):1.
- [12] Chithrani BD, Ghazani AA, Chan WCW. Determining the size and shape dependence of gold nanoparticle uptake into mammalian cells[J]. *Nano Lett*,2006,6(4):662.
- [13] Osaki F, Kanamori T, Sando S, *et al.* A quantum dot conjugated sugar ball and its cellular uptake. On the size effects of endocytosis in the subviral region[J]. *J Am Chem Soc*,2004,126(21):6 520.
- [14] Desai MP, Labhasetwar V, Walter E, *et al.* The mechanism of uptake of biodegradable microparticles in Caco-2 cells is size dependent[J]. *Pharm Res*,1997,14(11):1 568.
- [15] Gratton SEA, Ropp PA, Pohlhaus PD, *et al.* The effect of particle design on cellular internalization pathways[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,2008,105(33):11 613.
- [16] Nativo P, Prior IA, Brust M. Uptake and intracellular fate of surface-modified gold nanoparticles[J]. *ACS Nano*,2008,2(8):1 639.
- [17] Lasagna-Reeves C, Gonzalez-Romero D, Barria MA, *et al.* Bioaccumulation and toxicity of gold nanoparticles after repeated administration in mice[J]. *Biochem Biophys Res Commun*,2010,393(4):649.
- [18] De Jong WH, Hagens WI, Krystek P, *et al.* Particle size-dependent organ distribution of gold nanoparticles after intravenous administration[J]. *Biomaterials*,2008,29(12):1 912.
- [19] Hirn S, Semmler-Behnke M, Schleh C, *et al.* Particle size-dependent and surface charge-dependent biodistribution of gold nanoparticles after intravenous administration [J]. *Eur J Pharm Biopharm*,2011,77(3):407.
- [20] Balogh L, Nigavekar SS, Nair BM, *et al.* Significant effect of size on the in vivo biodistribution of gold composite nanodevices in mouse tumor models[J]. *Nanomedicine*,2007,3(4):281.
- [21] Sonavane G, Tomoda K, Makino K. Biodistribution of colloidal gold nanoparticles after intravenous administration: effect of particle size[J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*,2008,66(2):274.
- [22] 周艳钢,李焕德.体内药物代谢研究的意义与应用[J].中南药学,2009,7(1):46.
- [23] Chithrani BD, Chan WCW. Elucidating the mechanism of cellular uptake and removal of protein-coated gold nanoparticles of different sizes and shapes[J]. *Nano Lett*,2007,7(6):1 542.
- [24] Hainfeld JF, Slatkin DN, Focella TM, *et al.* Gold nanoparticles: a new X-ray contrast agent[J]. *Br J Radiol*,2006,doi:10.1259/bjr/13169882.
- [25] Renaud G, Hamilton RL, Havel RJ. Hepatic metabolism of colloidal gold-low-density lipoprotein complexes in the rat: evidence for bulk excretion of lysosomal contents into bile[J]. *Hepatology*,1989,9(3):380.
- [26] Choi HS, Liu W, Liu F, *et al.* Design considerations for tumor-targeted nanoparticles[J]. *Nat Nanotechnol*,2010,5(1):42.
- [27] Longmire M, Choyke PL, Kobayashi H. Clearance properties of nano-sized particles and molecules as imaging agents: considerations and caveats[J]. *Nanomedicine: Lond*,2008,3(5):703.
- [28] Johnston HJ, Hutchison G, Christensen FM, *et al.* A review of the in vivo and in vitro toxicity of silver and gold particulates: particle attributes and biological mechanisms responsible for the observed toxicity[J]. *Crit Rev Toxicol*,2010,40(4):328.
- [29] Cho WS, Cho M, Jeong J, *et al.* Acute toxicity and pharmacokinetics of 13 nm-sized PEG-coated gold nanoparticles[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*,2009,236(1):16.

(收稿日期:2016-02-13 修回日期:2016-04-18)

(编辑:余庆华)