

甘草次酸修饰海藻酸钠纳米给药系统的肝靶向性评估*

张闯年¹ 王 平¹ 赖全勇¹ 张 倩¹ 张 玥¹ 吴玉昆¹ 刘 通²
王 蔚¹ 袁 直^{1**}

(¹南开大学高分子化学研究所 功能高分子材料教育部重点实验室 天津 300071)

(²苏州大学材料与化学化工学部 苏州 215123)

摘 要 通过 EDC/NHS 偶联反应将疏水性肝靶向小分子甘草次酸(GA)连接到天然多糖海藻酸钠(ALG)上,制备了具有双亲性肝靶向药物载体材料(GA-ALG).采用乳化法对广谱抗癌药物阿霉素(DOX)进行包载,得到肝靶向载药纳米粒子(DOX/GA-ALG NPs).利用单光子发射型计算机断层成像技术(SPECT)和药物体内分布实验对 DOX/GA-ALG NPs 的肝靶向性进行了评估. SPECT 成像显示,^{99m}Tc 标记空白纳米粒子(^{99m}Tc-GA-ALG NPs)主要集中在 Wistar 大鼠的肝脏部位,富集率达 40.2%. 药物体内组织分布结果显示,尾静脉注射 3 h 后,DOX/GA-ALG NPs 组小鼠肝脏中阿霉素浓度达到 67.7 μg/g,是 DOX·HCl 组的 4.7 倍. 相对摄取率(r_e)、靶向效率(t_e)和加权平均靶向效率(t_e^*)数据同样表明 DOX/GA-ALG NPs 具有显著肝靶向能力. 研究表明甘草次酸修饰海藻酸钠纳米给药系统具有良好的肝靶向性.

关键词 甘草次酸, 海藻酸盐, 纳米给药系统, 靶向效率

全球每年新发现的恶性肿瘤病例中,肝癌占 26 万例(占恶性肿瘤的 4%),其中 42.5% 发生在中国^[1]. 目前临床对肝癌的治疗主要采用手术和化疗的方法,但是肝癌患者往往发现时已处于晚期,已失去手术最佳机会,目前,化疗仍是治疗肝癌的最普遍采用方法,但在化疗过程中,化疗药物在全身分布,缺乏选择性,在杀伤癌细胞的同时也对全身脏器造成伤害,不仅影响疗效也给病人带来巨大痛苦^[2]. 因此,改变化疗的给药途径、变换药物剂型等各种各样的尝试从未间断,其中肝靶向性纳米给药系统的研究已引起越来越多的重视^[3, 4].

早在 1906 年, Ehrlich 就提出靶向给药治疗的概念^[5]. 靶向给药能够选择性将药物输送至靶标位置,增加疗效的同时减少药物对正常组织的毒副作用^[6],而靶向药物载体材料的研究则是靶向给药的关键^[7]. 两亲性聚合物在水中可形成具有疏水内核和亲水外壳的纳米结构,通过调控其粒径及表面性质,可利用被动靶向或主动靶向作用将药物传送到靶位点. 因此,两亲性聚合物已被广泛应用于靶向性药物载体材料的研究^[8, 9].

20 世纪 90 年代初, Negishi 等证实了大鼠肝

细胞膜组分中含有大量甘草酸和甘草次酸(glycyrrhetic acid, GA)特异结合位点, GA 与该位点的结合呈可饱和性、高度特异性^[10]. 随后,杨麦山等研究证实了肝细胞表面确存在大量 GA 受体^[11], Mao 等以 GA 为靶向基团制备了脂质体^[12],并在细胞水平评价了其靶向性;本课题组前期也制备了 GA 修饰的壳聚糖空白纳米粒,并在动物体内初步证实其具有一定的肝靶向能力^[13];Huang 等制备了以 GA 为靶向基团的嵌段共聚物胶束^[14],包载了抗癌药物阿霉素,并初步考察了药物在动物体内的分布情况,其结果显示 GA 修饰纳米粒子可将药物选择性的输送到肝脏部位.

海藻酸钠(ALG)是一种线型阴离子天然多糖,具有良好的生物相容性和生物可降解性,已获得美国食品和药物管理局(FDA)批准,可应用于生物医药领域,更由于廉价易得,使其可以大规模应用于临床^[15]. 本研究将具有肝靶向性、疏水性的甘草次酸与海藻酸钠偶联,通过自组装使其在水中形成稳定的纳米粒子,并包载疏水性抗肿瘤药物阿霉素(DOX). 对所制备的肝靶向性纳米粒子的理化性质进行了表征,并系统的考察了不同

* 庆祝卓仁禧院士 80 华诞专稿; 2011-03-31 收稿, 2011-04-28 修稿; 国家自然科学基金(基金号 50873048, 51073080)和天津科技支撑计划(项目号 10ZCKFSY07500)资助项目; ** 通讯联系人, E-mail: zhiy@nankai.edu.cn
doi:10.3724/SP.J.1105.2011.11086

时间点药物在动物体内的各脏器的分布,以定性和定量的评估该纳米给药系统的在动物体内的肝靶向能力。

1 实验部分

1.1 原料与仪器

海藻酸钠(黏度 160 mPa·s, 20℃, 1% 水溶液, 青岛晶岩生物科技发展有限公司);甘草次酸(HPLC 纯度 >98%, 西安富捷药业有限公司);盐酸阿霉素(DOX·HCl, HPLC 纯度 >98%, 北京华奉联博科技有限公司);1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC·HCl), *N,N*-二环己基碳二亚胺(DCC)及 *N*-羟基琥珀酰亚胺(NHS)均购于吉尔生化上海有限公司;高锗酸钠注射液(天津医科大学总医院提供);HPLC 流动相为色谱纯试剂,其他试剂均为分析纯,使用时未经进一步提纯,实验室用水为二次蒸馏水。

元素分析仪(Heraeus Vario-EL, Germany);激光粒度仪(Malvern Nano ZS 90, UK);X 射线光电子能谱仪(PHI 1600ESCA, USA);单光子发射计算机断层成像仪(Discovery-VH, USA);荧光分光光度计(Hitachi F-7000, Japan);电磁搅拌器(IKA RCT basic, German);高效液相色谱仪(L6-P6, 北京普析通用仪器公司);组织匀浆器(DY89-II, 宁波新芝生物科技发展有限公司)。

Wistar 大鼠, 体重 200 ~ 250 g/只; Kunming 小鼠, 体重 20 ~ 30 g/只(均由天津实验动物中心提供)。饲养条件: (23 ± 2)℃, 通风、自由饮水、取食。所有操作均严格按照《卫生部医学实验动物管理实施细则》进行。

1.2 纳米粒子的制备

根据文献[16]方法制备甘草次酸修饰海藻酸钠(GA-ALG), 通过 IR、¹H-NMR、元素分析对 GA-ALG 结构进行表征。

将 [^{99m}Tc] 标记甘草次酸修饰海藻酸钠纳米粒(^{99m}Tc-GA-ALG NPs)的制备^[17]是将 100 mg GA-ALG 溶于 50 mL 双蒸水中, 搅拌过夜, 即得 GA-ALG NPs 纳米粒子, 冻干备用。取 1.5 mL GA-ALG NPs 悬液(2 mg/mL), 加入 900 μmCi 高锗酸钠和 50 μL SnCl₂(3 mg/mL), 混合 10 min, 得到^{99m}Tc 标记纳米粒子(^{99m}Tc-GA-ALG NPs)供定性评估肝靶向性。

甘草次酸修饰海藻酸钠载阿霉素纳米粒(DOX/GA-ALG NPs)的制备是采用乳化法制备

载药纳米粒子, 将 100 mg GA-ALG 溶于 50 mL 双蒸水中, 充分搅拌, 使 GA-ALG 完全溶解; 取 15 mg DOX 加入 10 mL 氯仿中, 加入少量三乙胺(TEA) [*n*(TEA):*n*(DOX) = 1.5:1] 使 DOX 完全溶解; 将 DOX 溶液缓慢滴加到 GA-ALG 溶液中, 搅拌 1 天。将载药粒子悬液冻干, 得到甘草次酸修饰海藻酸钠载阿霉素纳米粒(DOX/GA-ALG NPs)供定量评估肝靶向性。

1.3 空白纳米粒子在大鼠体内肝靶向评价

将 0.7 mL ^{99m}Tc-GA-ALG NPs(0.39 mCi) 经尾静脉注射到大鼠体内, 给药 3 h 后, 利用 SPECT 对大鼠进行全身放射性测试^[13], 断颈处死大鼠, 剖取心、肝、脾、肺、肾各个组织, 称重, 分别对各组织进行放射性测试, 考察^{99m}Tc-GA-ALG NPs 在大鼠体内分布。

1.4 载药纳米粒子在小鼠体内肝靶向性的定量评估

DOX/GA-ALG NPs 和 DOX·HCl 于尾静脉注射到 Kunming 小鼠体内, 给药量为 7 mg DOX/kg 小鼠体重, 给药后分别在 0.25, 0.5, 1, 3, 6, 12, 24, 48, 72 和 96 h 处死小鼠, 剖取每只小鼠的心、肝、脾、肺、肾组织, 用生理盐水漂洗, 滤纸除去残留血液和生理盐水, 精密称取各组织重量。取 0.1 g 组织加入到匀浆器中, 加入 1 mL 细胞裂解液, 冰浴中匀浆 10 min, 再向匀浆器中加入 1 mL 6% 盐酸乙醇溶液, 继续匀浆 10 min, 将组织匀浆液转入到 5 mL 离心管中, 于快速混匀机上旋振 1 min, 离心(3000 r/min, 5 min), 吸取上清液, 根据文献^[18], 采用荧光分光光度法检测 Kunming 小鼠各组织中 DOX 浓度, 计算每克组织样本中 DOX 量(μg·g⁻¹), 实验参数为 λ_{ex/em} = 480/590 nm, 扫描范围 500 ~ 700 nm, 扫描速度 12000 nm/min, 狭缝 E_x、E_m 均为 5 nm。

根据无房室法计算总药时曲线面积 AUC_{0-∞}, 利用如下公式计算体内分布特征的指标: 相对摄取率(*r_e*)、靶向效率(*t_e*)、加权平均靶向效率(*t_e^{*}*) 定量评价 DOX/GA-ALG NPs 的肝靶向性^[19]。

$$r_e = \frac{(AUC_0^\infty)_{i, \text{DOX/GA-ALG NPs}}}{(AUC_0^\infty)_{i, \text{DOX·HCl}}} \quad (1)$$

$$t_e = \frac{(AUC_0^\infty)_{\text{target tissue}}}{(AUC_0^\infty)_{\text{non-target tissue}}} \quad (2)$$

$$t_e^* = \frac{(AUC_0^\infty)_{\text{target tissue}} \times (\text{weight})_{\text{target tissue}}}{(AUC_0^\infty)_{\text{non-target tissue}} \times (\text{weight})_{\text{non-target tissue}}} \quad (3)$$

式中 i 表示心、肝、脾、肺或肾组织; target tissue 指肝组织; non-target tissue 指心、肝、脾或肺组织。

2 结果与讨论

甘草次酸为疏水性小分子, 具有很强的肝靶向性, 本文在非均相体系中合成疏水甘草次酸修饰海藻酸钠, 制备了肝靶向药物载体材料, 元素分

析测定 GA-ALG 中 GA 的取代度为 5.6% (mol/mol). 利用两亲性多糖间的疏水相互作用而形成自组装粒子应用于药物载体方面的研究已有很多报道, 本文采用透析法制备了载阿霉素纳米粒子, 图 1 为制备 GA-ALG 反应路线图和 DOX/GA-ALG NPs 制备示意图。

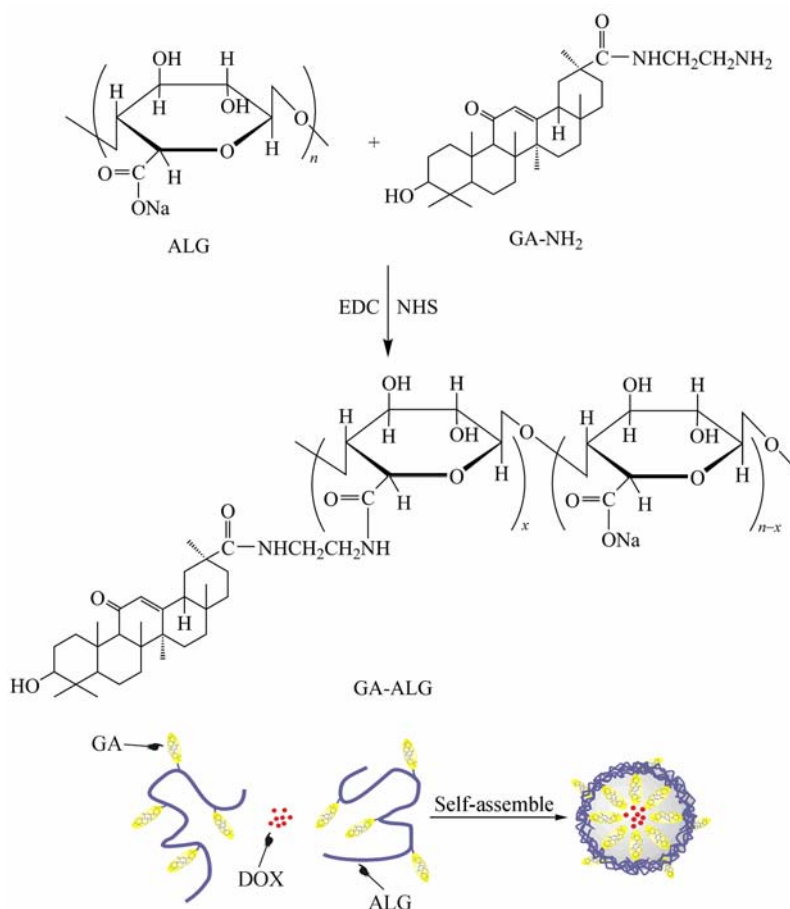


Fig. 1 The synthesis route of GA-ALG and the schematic drawing of preparation of DOX/GA-ALG NPs

ALG 为亲水性多糖, 修饰上了疏水性的 GA 分子后 GA-ALG 具有两亲性, 可在水中自聚集形成纳米粒子, 应用于纳米药物传递系统. 如图 2 所示, 空白纳米粒子 (GA-ALG NPs) 和载药纳米粒子 (DOX/GA-ALG NPs) 水合粒径分别为 $(219.2 \pm 14.2) \text{ nm}$ 和 $(274.2 \pm 18.9) \text{ nm}$. 包载 DOX 后, DOX 进入疏水空腔, 导致纳米粒子粒径有所增加, 也与文献报道一致^[20].

本文中 GA 不但作为疏水基团, 同时还具有肝靶向性的作用, 因此纳米粒子表面是否还存在 GA 基团对于纳米粒子的肝靶向能力有着至关重要的意义. 我们先将乙二胺修饰到 GA 羧基之上, 然后再与海藻酸钠偶合 (如图 1 所示), 因此只要

考察纳米粒子表面检测到氮元素即可证实 GA 的存在. 通过 X 射线光电子能谱 (XPS) 分析, 纳米粒子表面氮元素含量为 1.1%, 这表明尽管 GA 作为疏水内核大部分存在于 GA-ALG NPs 内部, 但仍有部分 GA 基团分散在 GA-ALG NPs 表面, 这对纳米粒子识别肝细胞表面的 GA 受体, 达到主动靶向药物传递的目的是十分重要的. 但 GA 分子是否仍然保持着它的生物活性 (靶向作用) 还需实验证明, 本文通过体内动物实验对甘草次酸修饰海藻酸钠空白纳米粒子在动物体内的分布进行了评估.

SPECT 是一种具有较高特异性的功能性显像方法, 可对核素标记载体材料在动物体内的靶

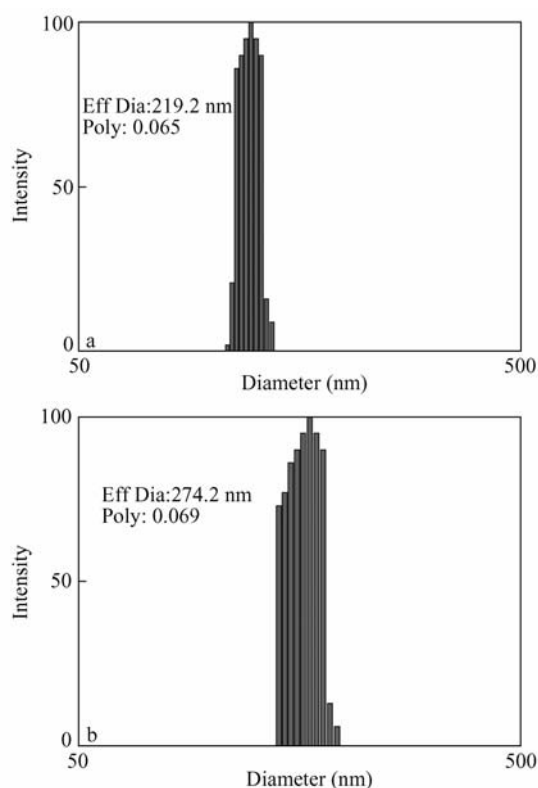


Fig. 2 The size and distribution of GA-ALG NPs (a) and DOX/GA-ALG NPs (b)

向性进行评价. 根据文献方法^[16], 本文采用二氯亚锡还原法对 GA-ALG NPs 进行了放射性标记. 将标记后的^{99m}Tc-GA-ALG NPs 经尾静脉注射到大鼠体内, 3 h 后将大鼠解剖, 取出各脏器并对其进行 SPECT 检测, 以考察 GA-ALG NPs 在大鼠体内分布情况(图 3); 如图 3(b) 所示, 纳米粒子经尾静脉注射到大鼠体内 3 h 后, 肝脏部位放射性强度明显高于其他脏器(每克肝脏含 3.4% 纳米粒子, 占总量的 40.2%), 这与本组前期工作结果相近^[12]; 而到达其他脏器的放射性强度很小, 心脏几乎没有检出放射性. SPECT 结果说明 GA 修饰的海藻酸钠纳米粒子主要富集于肝脏, 具有很好的肝靶向能力; 且其在心脏中的含量很低, 这对于降低药物在心脏的累积, 从而减少药物可能的心脏毒性是十分有利的.

通过以上实验结果可知, GA-ALG NPs 主要分布在大鼠肝脏部位, 有望成为新型高效的肝靶向性纳米药物载体材料, 但药物在体内传输是一个十分复杂的过程, 这个过程我们还无法完全掌握. 经 GA-ALG NPs 包载的药物是否也会主要累积在肝脏部位, 还需我们进一步的评估, 因此我们分别考察了不同剂型(DOX·HCl 水溶液及 DOX/

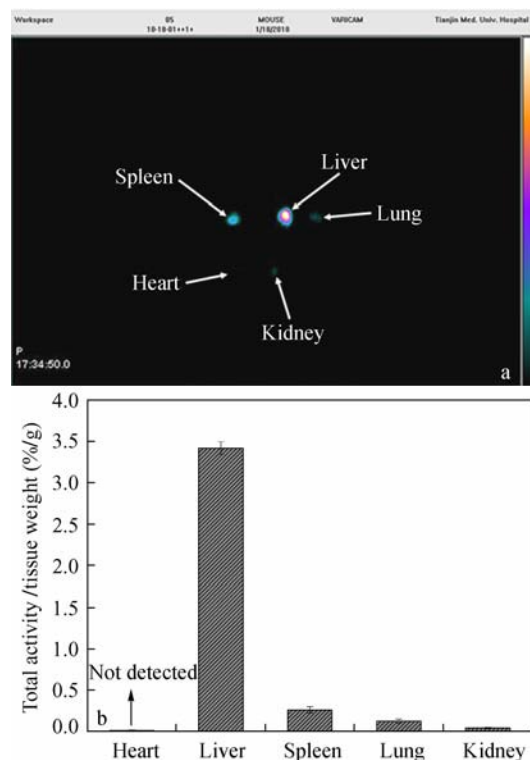


Fig. 3 Biodistribution of ^{99m}Tc-GA-ALG NPs in Wistar rats at 3 h after injection ($n = 3$)

GA-ALG NPs) 中的阿霉素在动物体内的分布.

将 DOX·HCl 和 DOX/GA-ALG NPs 分别经尾静脉注射到 Kunming 小鼠体内后, 在不同时间点处死实验动物, 采用荧光分光光度法对组织中的 DOX 浓度进行检测. 图 4 显示的是注射不同剂型 3 h 后, 各脏器中阿霉素的浓度. 如图所示, 与对照组(DOX·HCl)相比, 靶向组(DOX/GA-ALG NPs)所包载的药物在肝脏的浓度有显著的提高; 其在肝脏的药物浓度是对照组的 4.7 倍. 另外由于被动靶向作用, 纳米粒子所包载的药物在肺脏及脾脏的浓度也有一定上升. 更重要的是, 相比对照组靶向组在心脏中阿霉素的浓度降低了约 50%, 这表明靶向给药纳米粒子可以显著降低阿霉素的心脏毒性, 从而加大药物使用的剂量范围. 另一值得注意的是, 在药物注射 3 h 后, 靶向组在动物体内的药物总量明显高于对照组, 表明靶向纳米粒子延长了药物在体内代谢的半衰期. 这主要是由于纳米粒子表面的亲水层可以延长其在体内的循环时间; 同时纳米粒子本身的缓释作用也可以保护药物不会在血液循环中被快速代谢排除体外, 这对于提高药效、降低给药次数、减少药物毒副作用都是十分有利的.

为了对 DOX/GA-ALG NPs 的肝靶向能力进

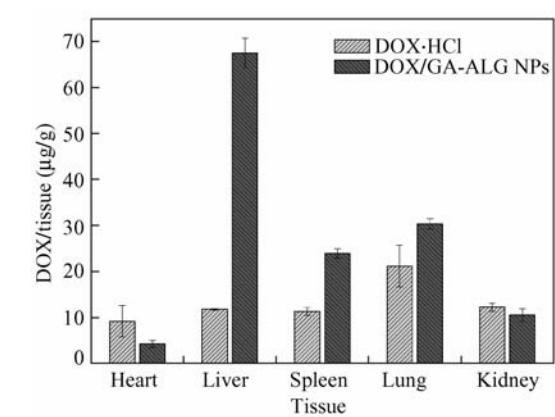


Fig. 4 Drug distribution of DOX/GA-ALG NPs and DOX · HCl solution in normal Kunming mice at 3 h after injection ($n = 3$)

行系统的定量评估,我们利用公式分别计算了总药时曲线面积 $AUC_{0-\infty}$,相对摄取率(r_e),靶向效率(t_e)和加权平均靶向效率(t_e^*),表1中列出了不同剂型在小鼠体内分布的 $AUC_{0-\infty}$, r_e , t_e , t_e^* 值.药时曲线下面积(AUC)代表药物的生物利用度(药物在人体中被吸收利用的程度),AUC大则生物利用度高,反之则低.从表中可以看出,肝脏对靶向组(DOX/GA-ALG NPs)中所携带的药物吸收率很高,达到了其他脏器总和的1.72倍;而对照组(DOX·HCl)中药物在各脏器中分布无显著

差别.这表明肝靶向纳米粒子不仅自身具有突出的肝靶向能力,而且还可以将其携带的药物富集的输送到靶标器官——肝脏.另外,从表中可见靶向组中的各脏器 $AUC_{0-\infty}$ 总量显著高于对照组(相差4.7倍),这说明靶向给药系统可以有效延长药物在体内的停留时间,从而提高药物使用效率、降低给药次数、减少药物毒副作用,这与我们之前的推论完全一致.

相对摄取率 r_e 考察的是同种脏器对不同剂型中的药物摄取能力差别. r_e 大于1表示相对对照组,该脏器对靶向组的摄取能力更强;小于1表示表示该脏器更倾向于摄取 DOX·HCl.如表1所示,肝脏的 r_e 值达到15.3,说明 DOX/GA-ALG NPs 经靶向作用将 DOX 主要传输到肝脏,肝脏对 DOX 的摄取能力明显强于对照组.同时,我们注意到脾脏及肺脏对 DOX/GA-ALG NPs 的摄入能力也有一定增强,这主要是被动靶向作用造成的^[21].而心脏的 r_e 值降低到了0.64,说明 DOX/GA-ALG NPs 可降低心脏对 DOX 的摄取,对减轻 DOX 的心脏毒性具有重要意义.在 SPECT 实验中,心脏几乎检测不到靶向纳米粒子,但在药物组织分布中还是有少量 DOX 检出.这一方面是由于不同仪器的检测限不同,另一方面也可能是在纳米粒子在体内循环过程中,有部分药物释放造成的.

Table 1 Total area under DOX concentration time curves ($AUC_{0-\infty}$), r_e , t_e and t_e^* in various tissues of Kunming mice, following the intravenous administration of 7 mg/kg drug

Tissue	$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{h/g}$)		r_e	t_e		t_e^*	
	DOX·HCl	DOX/GA-ALG NPs		DOX·HCl	DOX/GA-ALG NPs	DOX·HCl	DOX/GA-ALG NPs
Heart	233.3	148.2	0.6	1.1	26.6	10.6	277.5
Liver	257.2	3934.1	15.3	1.0	1.0	1.0	1.0
Spleen	210.5	1263.3	6.0	1.2	3.1	12.3	31.9
Lung	306.6	623.2	2.0	0.8	6.3	5.5	46.8
Kidney	313.2	245.4	0.8	0.8	16.1	3.4	71.2

靶向效率公式中 t_e 表示 DOX/GA-ALG NPs 或 DOX·HCl 对肝脏的选择性.脏器的 $t_e > 1$ 表明 DOX/GA-ALG NPs 或 DOX·HCl 在该脏器中浓度较少,而对肝脏有靶向性; t_e 值越大,制剂对肝脏的选择性越好.在 DOX·HCl 组,各脏器 t_e 值相差不大(均在1左右),表明 DOX·HCl 对各脏器没有选择性;而在 DOX/GA-ALG NPs 组,心、脾、肺和肾的 t_e 值均大于1,说明 DOX/GA-ALG NPs 主要将 DOX 传递到肝脏,特别是心脏的 t_e 值达到26.6,充分说明 DOX/GA-ALG NPs 对肝脏和心脏有明显的区分,表明靶向纳米粒子可以显著降低

阿霉素在心脏的浓度从而降低其心脏毒性.脾和肺的 t_e 值分别为3.1和6.3,与肝的 t_e 值相差不大,说明 DOX/GA-ALG NPs 对肝脾肺的区分不是很大,这有一部分被动靶向的原因,但同时是各脏器重量的差别造成的.因此,在靶向效率公式中引入组织重量得到加权平均靶向效率,可以考虑到各脏器质量差别对于实验的影响,我们可以将 t_e^* 值理解为表征阿霉素在各脏器中总量差别的参数.从 t_e^* 值可以看出相对 DOX·HCl 组, DOX/GA-ALG NPs 组中药物在肝脏的含量最大,说明 DOX/GA-ALG NPs 对肝脏确实有很好的靶向效

果.

3 结论

制备了具有肝靶向性的甘草次酸修饰海藻酸钠纳米给药系统(DOX/GA-ALG NPs),重点对 DOX/GA-ALG NPs 的肝靶向性进行了系统的评估. SPECT 结果显示,经尾静脉注射, ^{99m}Tc 标记的 GA-ALG NPs 空白纳米粒子主要在肝脏聚集,富集率为 40.2%;药物体内分布结果表明,与对照

组(DOX·HCl)相比,靶向给药系统可显著提高 DOX 在肝脏中浓度,其含量最高可达 67.7 $\mu\text{g/g}$,为对照组的 4.7 倍;相对摄取率、靶向效率和加权平均靶向效率等数据也表明 DOX/GA-ALG NPs 可将 DOX 更多地传输到肝脏. 因此,得出结论:甘草次酸修饰海藻酸钠纳米给药系统具有良好的肝靶向性,有潜在的应用价值,我们将在后续研究中对其药效学进行评价.

REFERENCES

- 1 Dong Zhiwei(董志伟), Qiao Youlin(乔友林), Li Liandi(李连弟), Chen Yude(陈育德), Wang Runtian(王润田), Lei Tonghai(雷通海), Rao Keqin(饶克勤), Wang Rukuan(王汝宽), Zhao Ping(赵平), You Weicheng(游伟程), Lu Fengzhu(鲁凤珠), Dai Xudong(戴旭东), Wang Guoqing(王国清), Luo Xianmao(罗贤懋), Zhou Haicheng(周海城). *Bulletin of Chinese Cancer(中国肿瘤)*, 2002, 11(5): 250 ~ 260
- 2 Huynh H. *Biochem Pharmacol*, 2010, 80(5): 550 ~ 560
- 3 Lammers T, Hennink W E, Storm G. *Brit J Cancer*, 2008, 99(3): 392 ~ 397
- 4 Wang X, Yang L L, Chen Z, Shin D M. *CA Cancer J Clin*, 2008, 58(2): 97 ~ 110
- 5 Ehrlich P. *Collected Studies on Immunity*. New York: Pergamon Press, 1960. 442 ~ 447
- 6 Song Chunmei(宋春梅), Zhang Liang(张亮), Liang Shengbin(梁晟斌), Qian Min(钱旻), Du Bing(杜冰), Yu Yihua(余亦华), Li Jianqi(李建奇). *Acta Polymerica Sinica(高分子学报)*, 2010, (7): 892 ~ 896
- 7 Nie S M, Xing Y, Kim G J, Simons J W. *Annu Rev Biomed Eng*, 2007, (9): 257 ~ 288
- 8 Liu Z H, Jiao Y P, Wang Y F, Zhou C R, Zhang Z Y. *Adv Drug Deliv Rev*, 2008, 60(15): 1650 ~ 1662
- 9 Zhang J, Chen X G, Liu C S, Park H J. *J Mater Sci: Mater Med*, 2009, 20(4): 991 ~ 999
- 10 Negishi M, Irie A, Nagata N, Ichikawa A. *Biochim Biophys Acta*, 1991, 1066(1): 77 ~ 82
- 11 Yang Shanmai(杨山麦), Zhou Fangcheng(周方成), Gu Yundi(顾云娣), Liu Shuiteng(刘水腾), Jiang Xiaoling(蒋小玲), Cheng Lingzhong(成令忠). *Chinese Journal of Hepatology(中华肝脏病杂志)*, 1999, (7): 27 ~ 29
- 12 Mao S J, Bi Y Q, Jin H, Wei D P, He R, Hou S X. *Pharmazie*, 2007, 62(8): 614 ~ 619
- 13 Tian Q, Zhang C N, Wang X H, Wang W, Huang W, Cha R T, Wang C H, Yuan Z, Liu M, Wan H Y, Tang H. *Biomaterials*, 2010, 31(17): 4748 ~ 4756
- 14 Huang W, Wang W, Wang P, Tian Q, Zhang C N, Wang C H, Yuan Z, Liu M, Wan H Y, Tang H. *Acta Biomater*, 2010, 6(10): 3927 ~ 3935
- 15 Lu Lu(鲁路), Liu Xinxing(刘新星), Tong Zhen(童真). *Acta Polymerica Sinica(高分子学报)*, 2010, (12): 1351 ~ 1358
- 16 Zhang C N, Wang W, Wang C H, Tian Q, Huang W, Yuan Z, Chen X S. *Sci China Ser B-Chem*, 2009, 52(9): 1382 ~ 1387
- 17 Samad A, Sultana Y, Khar R K, Aqil M, Kalam M A, Chuttani K, Mishra A K. *J Drug Target*, 2008, 16(6): 509 ~ 515
- 18 Dromi S, Frenke V, Luk A, Traugbher B, Angstadt M, Bur M, Poff J, Xie J W, Libutti S K, Li K C P, Wood B J. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(9): 2722 ~ 2727
- 19 Wang J X, Sun X, Zhang Z R. *Eur J Pharm Biopharm*, 2002, 54(3): 285 ~ 290
- 20 Yu C Y, Jia L H, Yin B C, Zhang X Z, Cheng S X, Zhuo R X. *J Phys Chem C*, 2008, 112(43): 16774 ~ 16778
- 21 Zhu Xiaoliang(朱晓亮). *Guangdong Medical Journal(广东医学)*, 2003, (11): 1259 ~ 1260

QUALITATIVE AND QUANTITATIVE EVALUATION OF GLYCYRRHETINIC ACID MODIFIED ALGINATE LIVER TARGETING DRUG DELIVERY SYSTEMS

ZHANG Chuangnian¹, WANG Ping¹, LAI Quanyong¹, ZHANG Qian¹, ZHANG Yue¹,
WU Yukun¹, LIU Tong², WANG Wei¹, YUAN Zhi¹

(¹ Key Laboratory of Functional Polymer Materials, Ministry of Education, Institute of Polymer Chemistry, Nankai University, Tianjin 300071)

(² College of Chemistry, Chemical Engineering and Material Science, Soochow University, Suzhou 215123)

Abstract Glycyrrhetic acid modified alginate (GA-ALG) was prepared by covalent attachment of hydrophobic liver targeting ligand glycyrrhetic acid (GA) onto the nature polysaccharide alginate (ALG). The resulting amphiphilic GA-ALG could form self-assembled nanoparticles (GA-ALG NPs) in an aqueous medium as liver targeting drug delivery carrier. Broad spectrum antitumor drug-doxorubicin (DOX) loaded GA-ALG NPs (DOX/GA-ALG NPs) were obtained by emulsification method for liver targeting drug delivery. Single photon emission computed tomography (SPECT) and some mathematical relationships were used to qualitatively and quantitatively evaluate the targeting efficiency of GA-ALG drug delivery systems *in vivo*. The SPECT image confirmed that ^{99m}Tc labeled GA-ALG nanoparticles mainly accumulated in the liver of Wistar rats after intravenous injection, and the accumulation of ^{99m}Tc labeled GA-ALG nanoparticles in the liver was about 40.2% at 3 h after injection. The biodistribution data showed that the concentration of DOX in the liver reached $(67.8 \pm 4.9) \mu\text{g/g}$ after intravenous administration of DOX/GA-ALG NPs, which was 4.7-fold higher than that of DOX · HCl solution at 3 h post-injection. And the data of relative tissue exposure (r_e), targeting efficiency (t_e) and weighted-average targeting efficiency (t_e^*) showed that liver targeting efficiency was enhanced by GA-ALG drug delivery systems. These results revealed the potential of GA-ALG nanoparticles as liver targeting drug delivery carriers.

Keywords Glycyrrhetic acid, Alginate, Drug delivery systems, Targeting efficiency