

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2023.01.10

# 肽或蛋白质类纳米颗粒口服应用的最新研究进展

袁礼稳,刘振利\*,陈珍,杨雨婷,张雪花,李露萍,谢书宇\*

(华中农业大学国家兽药残留基准实验室(HZAU),国家兽药安全评价实验室(HZAU),农业部畜禽产品质量安全风险评估实验室,武汉 430070)

[收稿日期] 2022-07-18 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280(2023)01-0069-10 [中图分类号] S859.796

**[摘要]** 口服蛋白质或肽类药物因其良好的顺应性、方便性和经济性在临床上被广泛应用。然而口服给药面临强胃酸降解,粘液清除和上皮阻碍等限制,导致其生物利用度极低。在过去的二十年中,纳米医学的快速发展给临床科学带来了新的机遇。纳米颗粒(NPs)因其独特的耐受性、药理学特异性和生物降解性而被广泛的关注和研究。蛋白质或肽类 NPs 的开发进入了人们的视野。蛋白质或肽类 NPs 具有明显的优势可有效的克服消化道屏障实现高效精准的靶向递送和治疗。本综述首先介绍了肽或蛋白质类大分子药物口服给药面临的挑战,系统分析了肽或蛋白质类 NPs 的开发及应用现状,同时展望了 NPs 的前景。

**[关键词]** 肽或蛋白质;纳米颗粒;口服递送

## Recent Research Progress in Oral Application of Peptide or Protein Nanoparticles

YUAN Li-wen, LIU Zhen-li\*, CHEN Zhen, YANG Yu-ting, ZHANG Xue-hua, LI Lu-ping, XIE Shu-yu\*

(Hua Zhong Agricultural University National Reference Laboratory of Veterinary Drug Residues(HZAU), MOA Key Laboratory for the Detection of Veterinary Drug Residues(HZAU), MOA Laboratory for Risk Assessment of Quality and Safety of Livestock and Poultry Produce, Wuhan 430070, China)

Corresponding author: LIU Zhen-li, E-mail: liuzhli009@mail.hzau.edu.cn; XIE Shu-yu, E-mail: snxsy1@126.com

**Abstract:** Oral protein or peptide drugs are widely used in clinical practice because of their good compliance, convenience and economy. However, oral administration suffers from limitations such as strong gastric acid degradation, mucus clearance, and epithelial obstruction, resulting in extremely low bioavailability. Rapid advances in nanomedicine over the past two decades have brought new opportunities to clinical science. Nanoparticles (NPs) have received extensive attention and research due to their unique tolerance, pharmacological specificity, and biodegradability. The development of protein or peptide NPs has entered people's field of vision. Protein or peptide NPs have obvious advantages and can effectively overcome the barriers of the

**基金项目:** 国家自然科学基金血色素转运系统介导叶啉修饰的山嵛酸固体脂质纳米靶向胞内金黄色葡萄球菌的效率和机制研究(32273064)

**作者简介:** 袁礼稳,硕士研究生,从事纳米载药系统研究。

**通讯作者:** 刘振利。E-mail: liuzhli009@mail.hzau.edu.cn; 谢书宇, E-mail: snxsy1@126.com

digestive tract to achieve efficient and precise targeted delivery and therapy. This review first introduces the challenges faced by the oral administration of peptide or protein macromolecular drugs, systematically analyzes the development and application status of peptide or protein NPs, and looks forward to the prospect of NPs.

**Key words:** peptide or protein; nanoparticles; oral delivery

蛋白质和肽 (PPs) 已被确定为生命的基本单位,并发展成为治疗一系列疾病的药物。首先,PPs 具有一定的治疗优势,比如它们的特异性以及它们的耐受性等;在过去十年中,增强的特异性和耐受性特征扩大了它们的应用。在 2000 年代初期,研究人员首次进行了用牛和猪的胰岛素治疗糖尿病的试验。20 年后,研究者们仍花费了大量时间来研究并开发这些生物分子的潜在治疗剂作用价值。另外,蛋白质和肽也已成为小分子药物——核酸的替代品之一,并且会更容易获得监管机构的批准<sup>[1-2]</sup>。纯药物级肽源于合成的化学肽(比如乳清蛋白、胰岛素等),这些肽因其具有内在的活性和功能,所以在许多疾病的治疗中发挥重要作用,比如癌症、糖尿病、自身免疫病和心血管疾病<sup>[3-4]</sup>;除此之外,一些肽还可用作抗微生物剂、抗高血压剂和抗氧化剂,这些肽被修饰用来靶向许多分子靶标,例如抗菌肽激素受体、蛋白质-蛋白质相互作用和酪氨酸激酶受体等<sup>[5-6]</sup>。因此,功能化后的肽类药物可以被显著的提高其生物利用度。合适的给药途径不仅能保证药物的疗效,还能保证患者的依从性。然而,PPs 的给药途径通常是胃肠外注射,长期连续注射可能对患者依从性构成巨大挑战,包括疼痛、对注射的厌恶、对针头大小的担忧和局部刺激反应明显等。因此,许多研究团体试图开发递送 PPs 的替代途径,例如口服、鼻腔、眼部和经皮给药<sup>[7-8]</sup>,其中口服递送是最有吸引力的替代途径,因为它具有更高的安全性和依从性<sup>[9-11]</sup>。以口服胰岛素为例,口服给药途径能够模拟内源性胰岛素的生理命运,这可以实现比皮下注射(SC)更好的葡萄糖稳态<sup>[12]</sup>。口服给药途径将通过改善患者的生理条件来提高治疗某些慢性病的治疗效果。根据联合市场研究最近的报告,全球口服 PPs 市场预计将从 2016 年的 6.43 亿美元增长到 2028 年的

82.3 亿美元<sup>[13]</sup>,因此,提高口服 PPs 的生物利用度将是众多研究者重点研究的难题。

小肠具有较大的表面积,所以口服药物到达小肠后更容易被吸收。由此缓释制剂迎来了新的篇章,研究发现将药物封装在缓释制剂中,会促进药物在肠道的缓慢释放从而延长药物的作用时间,进而减少药物的使用次数<sup>[14]</sup>。在口服给药的情况下,由于胃酸和胃蛋白酶的存在,使 PPs 在口服递送过程中更加复杂。为了保持 PPs 的完整性和活性,所以 PPs 在口服递送过程中的挑战包括前期的制剂制备和靶点的靶向递送<sup>[15]</sup>。酸性条件下不仅影响 PPs 的稳定性,而且影响它们的溶解度,如在胃的酸性环境中肽或蛋白质药物的二硫键被还原后水解,其活性受到显著影响。另外,胃中的蛋白酶和水解酶会导致蛋白药物水解进而使其在肠道中更容易降解<sup>[16]</sup>。此外,肽或蛋白质药物的聚集行为会减缓胃肠的吸收<sup>[17]</sup>。即使通过某些技术(肠溶包衣)可以克服其生化障碍,但当到达吸收界面时,蛋白或肽类分子也会面临其他难以逾越的障碍,例如厚厚的粘液层和上皮细胞层,这些障碍限制了它们的渗透、转运和吸收入血。因此,迫切需要设计一种方法来规避 PPs 的口服递送面临的挑战,同时又不影响其治疗效果。用于克服口服肽递送的技术可分为传统技术和新型制剂技术。常规技术包括使用渗透促进剂、酶抑制剂、CYP3A 和 P-糖蛋白(P-gp)抑制剂以及粘膜粘附系统;而口服 PPs 递送的新型制剂技术包括使用纳米载体、靶点特异性药物递送纳米载体和响应性纳米载体。纳米载体系统已被证明能够克服胃肠道障碍,并保护和运输各种生物药物到达肠道,实现生物大分子或小分子的口服生物利用度。例如口服给药后的胰岛素、胰高血糖素样肽-1 (GLP-1) 和维生素 B<sub>12</sub><sup>[18-22]</sup>。此外,纳米载体系统通过减少胃肠道中肽

和蛋白质的酶促降解和聚集、增强肠道吸收、控释和靶向递送以及延长肽和蛋白质在特定位点的保留时间,也从另一角度证明纳米载体系统可用于高效 PPs 的口服递送<sup>[23]</sup>。纳米载体系统具有靶点特异性递送和刺激响应性释放的功能,通过将药物靶向结肠或通过响应释放(pH 或酶)来实现高效而精准的 PPs 的递送<sup>[24-25]</sup>。这种系统也被称为智能递送系统,是一种有前景的口服药物递送方法。这篇综述强调了与口服给药途径相关的挑战,并总结了用于解决这些挑战以获得高效口服给药的蛋白质和肽类大分子纳米颗粒(PP-NPs)。

### 1 肽或蛋白质类大分子药物口服吸收的障碍

胃肠道旨在将碳水化合物、蛋白质和其他营养物质消化成氨基酸和单糖的亚基。同时,胃肠道也是防止病原体进入机体的天然屏障。因此,完整的 PPs 的口服生物利用度 < 1%, 有时甚至 < 0.1%<sup>[26-27]</sup>。事实上,口服给药的药物在吸收之前必须克服许多生物学障碍(图 1)。

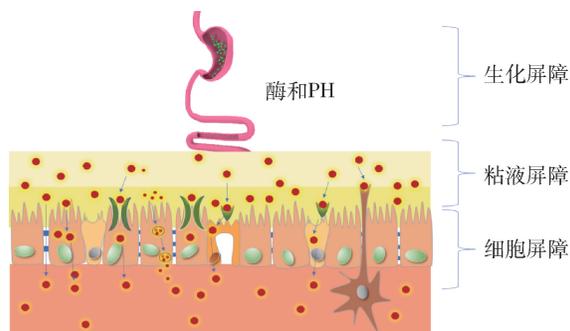


图 1 口服肽或蛋白质 NPs 的生物学屏障

Fig 1 Biological barrier of oral peptide or protein NPs

1.1 生化屏障 蛋白质或肽类纳米颗粒(PP-NPs)存在两大类生化屏障:胃肠道 pH 梯度变化提供的屏障和酶促屏障。胃的消化液由胃腺分泌,由盐酸、蛋白质消化酶、胃蛋白酶和粘液组成。小肠分为三个不同的区域:十二指肠、空肠和回肠,每个区域都具有影响营养吸收的独特特征<sup>[28]</sup>。当部分消化的食物和其他颗粒通过胃肠道时,它们会受到从胃(pH 1.0~2.0)到十二指肠(pH 4~5.5)、空肠(pH 5.5~7.0)和回肠(pH 7.0~7.5),然后转移到结肠和直肠(pH 7.0~7.5)的腔内 pH 值变化的影响<sup>[29-30]</sup>。这

种 pH 梯度变化加上不同的胃排空率和胃肠蠕动,严重影响口服 PP-NPs 在胃肠道的吸收利用<sup>[31]</sup>。

盐酸使胃成为体内酸性最强的环境(pH 1~2)。在这种高度酸性的条件下,胃蛋白酶的活性最佳。胃蛋白酶作为一种广泛的内肽酶,可水解苯丙氨酸、色氨酸和酪氨酸等芳香族残基的肽键<sup>[32]</sup>。脂肪、油和甘油三酯的水解也在胃中发生,并由脂肪酶催化。此外,尽管小肠中充满了各种消化酶,如胰腺分泌的消化酶,常见酶包括胰蛋白酶、糜蛋白酶、羧肽酶和弹性蛋白酶,还有小肠的肠细胞产生的几种氨肽酶、羧肽酶、内肽酶和  $\gamma$ -谷氨酰转肽酶,因此,PP-NPs 要克服这些酶到达下一个部位将面临严峻挑战<sup>[33]</sup>。但事实上绝大部分肽或蛋白类药物在 pH 梯度变化和各种酶的共同作用下土崩瓦解,致使其生物利用度低。

1.2 粘液屏障 粘液是由杯状细胞分泌的覆盖整个胃肠道的粘性凝胶层,可以捕获外来物质并保护上皮细胞免受外源性病原体的攻击。整个胃肠道中的粘液由两层组成,包括疏松易流动的松散层和牢固粘附的粘液层。粘液对 PP-NPs 进入粘膜下组织施加多重屏障。首先,高粘度降低了 PP-NPs 在粘液中的扩散性,这直接影响了 PP-NPs 在粘液中的穿透能力<sup>[34]</sup>。粘液在肠道中是持续分泌和更新替换的,在肠道中周转时间约为 50~270 min,导致粘液层中捕获的颗粒被快速去除,从而降低了纳米颗粒的粘附和停留时间,使得 PP-NPs 在到达肠上皮细胞之前渗透穿过粘液层变得非常具有挑战性<sup>[35]</sup>。其次,粘蛋白也能一定程度影响 PP-NPs 的摄取效率,由于粘蛋白中丝氨酸的糖基化以及苏氨酸和脯氨酸结构域的存在,使粘液中的粘蛋白带高度负电荷,因此,粘蛋白和 PP-NPs 之间可能通过静电力产生更大的相互作用<sup>[36]</sup>。此外,由于粘蛋白刷状支架结构,可以作为一种大小颗粒的过滤器,进而降低蛋白质等较大化合物的迁移率<sup>[37-38]</sup>。另外,由于粘蛋白纤维通过范德华力和静电力、氢键和疏水相互作用与蛋白质或颗粒非共价相互作用,因此可能会发生蛋白质的结构修饰或颗粒的截留,从而阻碍他们的吸收<sup>[39-41]</sup>。

1.3 细胞屏障 位于粘液下方的肠上皮细胞也是口服 PP - NPs 递送的另一个主要限制因素。肠上皮细胞包括各种类型的细胞且具有各自其特定的功能,例如用于吸收的肠细胞、用于分泌粘液的杯状细胞和用于运输外来颗粒的 M 细胞<sup>[42]</sup>。肠上皮细胞是主要的吸收细胞,大约占 90% 的肠上皮<sup>[43]</sup>。这些极化的上皮细胞形成一个连续的单层,将肠腔与下面的固有层分开。

药物的肠道吸收主要依赖于跨细胞途径,而细胞旁途径是一些亲水性小分子的主要跨细胞途径<sup>[44]</sup>。根据 Lipinski “Rule of 5”,PPs 被预测为极低的跨细胞渗透性,因为 PPs 的 Log P 很可能远低于 5,并且 PPs 有大量的氢键供体或受体,分子量远大于 500 Da。因此,PPs 很难通过跨细胞途径被吸收到门静脉中<sup>[45]</sup>。PP - NPs 通过肠上皮细胞,会受到相邻肠细胞之间的紧密连接蛋白复合物、粘附连接和桥粒的物理限制<sup>[46]</sup>。这些带有净负电荷的蛋白复合物的平均孔隙半径估计为 8 - 13 Å<sup>[47-48]</sup>。因此,它们阻止了大多数离子和大分子在相邻细胞之间的转运(称为细胞旁转运)。此外,PP - NPs(通常带电)可以被肠细胞或 M 细胞主动内化,并通过胞吞作用穿梭到相反的膜上<sup>[49]</sup>。通过这些方式进入细胞屏障的毒素、外源性化合物和其他外来化合物通过主动运输机制被排回管腔。因为 P - 糖蛋白、乳腺癌耐药蛋白和多药耐药蛋白是表达在肠细胞顶膜上的三种外排泵,它们已被证实可以降低在肠道的药物吸收,从而降低了药物的生物利用度<sup>[50-51]</sup>。

## 2 PP - NPs 口服给药的最新进展

国内外研究人员已经研究了各种聚合物来制造 NPs,因此,口服 PP - NPs 递送领域在过去几年中获得极大发展,包括纳米凝胶,微乳液,脂质体,纳米颗粒等(表 1 详细说明了用于口服的肽或蛋白质类纳米颗粒的研究进展)。然而,研究最广泛和最容易被接受的聚合物本质上是可生物降解的。聚合物的选择取决于多种因素,例如给药方式、靶向目的、装载药物的理化性质、所需的释放曲线、所需的颗粒降解速率和生物相容性等<sup>[84-85]</sup>。此外,使用渗透促进剂促进 PP - NPs 的吸收是一个重要

的研究领域<sup>[86]</sup>。自 20 世纪 90 年代至今,聚乳酸 - 羟基乙酸共聚物(PLGA)、聚甲基丙烯酸、聚(氰基丙烯酸烷基酯)、壳聚糖及其衍生物和藻酸盐等聚合物被用于制备纳米颗粒<sup>[87]</sup>。天然聚合物(明胶、白蛋白和藻酸盐)也被广泛用于 NPs 的制备,但具有一些固有的缺点,例如对降解的敏感性、重现性差和潜在的抗原性<sup>[88]</sup>。pH 敏感的聚合物纳米载体也广泛用于口服 PPs 的递送。与基于脂质的纳米颗粒相比,聚合物纳米颗粒在胃肠道的降解相对于环境中表现出更好的稳定性和保存性<sup>[89]</sup>。

在脂质纳米载体的制备过程中,脂质的选择是制备纳米载体的关键因素。通常用于制备脂质纳米载体的脂质包括脂肪酸、脂肪醇、磷脂和甘油单酯、甘油二酯和甘油三酯。脂质赋形剂通过增加肠膜的通透性、减少蛋白水解和增加肠淋巴转运来增强 PPs 的吸收<sup>[90]</sup>。由于胃肠道液体的不稳定性和渗透性差,脂质体作为口服 PPs 递送系统尚未取得成功<sup>[91]</sup>。因此研究人员已经证明了对脂质 NPs 进行表面修饰以有效加载 PPs 药物,在所测试的纳米载体中,只有用 DSPE - PEG<sub>2000</sub> 修饰的脂质 NPs 能够增加小鼠胰高血糖素样肽 - 1 (GLP - 1) 的水平(增加八倍)。治疗 1 个月后,该制剂还有效地使糖尿病小鼠的葡萄糖水平正常化<sup>[92]</sup>。

微乳液是两种互不相溶的溶剂在表面活性剂的作用下形成乳液,在微泡中经成核、聚结、团聚、热处理后得纳米颗粒。它们在热力学上是稳定的,并且尺寸小于 100 nm。相比之下,纳米乳剂在热力学上不稳定,需要高能量才能产生小于 200 nm 的动力学稳定系统。微/纳米乳液对 PPs 口服递送很有前景,因为它们使用简单的水/油(W/O)乳液或多个 W/O/W 乳液促进亲水肽的溶解<sup>[93]</sup>。Bilosomes 是一种新型脂质纳米载体,它含有结合在囊泡脂质双层中的胆汁盐。古菌体包含从酸热硫化叶菌中提取的脂质部分,保护胃肠道中的肽,并保留肽更长时间(12 h)。固体脂质纳米颗粒(SLN)亲脂性胶体载体由生理脂质和表面活性剂组成。SLN 的优点包括使用无毒溶剂、避免化学交联和具有较高的药物负载效率<sup>[94]</sup>。当 SLN 分散在 GI 流体中时发

生自乳化制剂被称为自乳化药物递送系统 (SEDDS)。纳米颗粒尺寸小于 200 nm 的系统称为 SNEDDS 或纳米乳液。这是极具发展前景的纳米递送系统,因为它们可以包装成胶囊,为患者提供靶部位的精确给药<sup>[95]</sup>。SNEDDS 用于配制亲脂性和水溶性差的药物,目前的应用包括控制药物的释放、提高药物稳定性和增加载药量(25 mg ~ 2 g)<sup>[96]</sup>。

NPs 也可以使用各种无机、有机以及有机和无

机材料的混合物合成。陶瓷和磷酸钙被广泛用于制备用于各种治疗适应症的纳米颗粒。一项研究表明,较小尺寸(≤200 nm)和更多负电荷(例如二氧化硅)的 NPs 表现出更好的肠道通透性<sup>[97]</sup>。然而,无机 NPs 用于口服给药是受限制的,它们在体内缓慢和/或部分降解,因此,可能会积聚在身体组织中。因此,要了解与使用无机 NP 相关的毒理学问题,需要进一步升入研究和探索<sup>[98]</sup>。

表 1 用于口服的肽或蛋白质类纳米颗粒

Tab 1 Peptide or protein nanoparticles for oral administration

纳米类型	药物	组成	优势	参考文献
纳米颗粒	洛匹那韦 (LPV) / 芬维 A 胺 (FEN)	玉米蛋白(核), 乳清蛋白(壳)	增强了跨细胞的渗透性、较好的生物粘附性; 提高了药物口服生物利用度	[52]
纳米凝胶	硒代蛋氨酸	壳聚糖与三聚磷酸盐	没有细胞毒性; 良好的稳定性; 在模拟的胃肠道和肠液条件下, 6 小时内获得了 60% 的累积释放	[53]
纳米颗粒	姜黄素 (CUR)	牛血清白蛋白 (BSA)、N - 乙酰 - L - 半胱氨酸 (NAC)	具有缓释特性、显著增强的稳定性和较好的粘膜粘附性	[54]
纳米复合物	胰岛素	聚谷氨酸 - 聚乙二醇 (PGA - PEG)、细胞穿透肽 (CPP)	保护胰岛素免受降解; 该系统显示出通过肠粘液扩散并以非常有效的方式将胰岛素转运到 Caco - 2 单层的能力, 达到有史以来最高的体外胰岛素摄入量 (47.59 ± 5.79%)。	[55]
纳米颗粒	胰岛素	两性壳聚糖衍生物 (ACS) 和细胞穿透肽 (CPP)	口服生物利用度有所提高、优异的跨膜功能	[56]
纳米颗粒	胰岛素	硫醇化 Eudragit L100 (Eul - cys) 和还原型谷胱甘肽 (GSH)	高度溶胀和体外胰岛素的快速释放、紧密连接的瞬时打开	[57]
纳米粒子	肽拉鲁肽 (LRT)	聚丙交酯酸 (PLA)、细胞穿透肽 (环状 R9 - CPP)	毒性低、口服生物利用度显著增加	[58]
纳米颗粒	卵清蛋白 (OVA)	细胞穿透肽 (R12)、聚乙二醇	聚乙二醇使 NPs 能够有效地穿透粘液层并到达上皮细胞, 在那里抗原可以运输到粘膜下层淋巴系统中的抗原呈递细胞。	[59]
纳米凝胶	Cp1 - 11 肽/胰岛素复合物	壳聚糖、海藻酸盐	保护胰岛素、提高胰岛素的有效性	[60]
纳米颗粒	鲑鱼降钙素 (sCT)	葛根素 (PR)、壳聚糖 (CS)	口服绝对生物利用度显著提高	[61]
纳米颗粒	β - 乳球蛋白 (BLG)	聚(乳酸 - 乙醇酸共聚物) (PLGA)	PLGA 纳米颗粒促进 BLG 肽抑制对全乳清蛋白的过敏反应的能力	[62]
纳米颗粒	胰岛素	壳聚糖和水溶性蜗牛粘蛋白	良好的生物相容性、与游离口服胰岛素溶液的作用相比, 口服给药后糖尿病大鼠具有明显的降血糖作用。	[63]
微乳液	胰岛素	Span80 - Tween80 (S80T80) (HLB = 6) 或 PEG - 7 氢化蓖麻油 (PEG - 7) (HLB = 5) 作为表面活性剂和肉豆蔻酸异丙酯作为油相、牛磺胆酸钠或胰蛋白酶抑制剂 (SPI)	良好的热力学稳定性、与给予载体或未受保护的胰岛素溶液的小鼠相比, 灌胃微乳液的小鼠的峰值血糖水平降低了约 67%; 牛磺胆酸钠或胰蛋白酶抑制剂 (SPI) 也倾向于进一步改善胰岛素活性	[64]

续表

纳米类型	药物	组成	优势	参考文献
微乳液	胰岛素	双十二烷基二甲基溴化铵 (DMAB) 为表面活性剂, 丙二醇 (PG) 为辅助表面活性剂, 甘油三乙酸酯 (TA) 为油相	与健康大鼠口服普通胰岛素溶液相比, 微乳液的生物利用度提高了 10 倍	[65]
脂质体	胰岛素	脱氧胆酸、壳聚糖	保护胰岛素不被溶酶体破坏、显著的降血糖作用	[66]
固体脂质纳米粒	胰岛素	棕榈硬脂酸甘油酯、1,2-二油酰-3-三甲基铵-丙烷	保护封装的胰岛素免受胃蛋白酶和胰蛋白酶的酶促活性的影响	[67]
自乳化给药系统	牛血清白蛋白 (BSA)	角鲨烷和单磷酸脂质 A (MPLA)	较高的粘液渗透性、较高的粘膜免疫反应	[68]
自乳化给药系统 (SEDSS)	艾塞那肽	多库酯钠 (DOC)、35% Cremophor EL、25% Labrafil 1944、30% Capmul-PG 8 和 10% 丙二醇	与溶液中的艾塞那肽相比, 艾塞那肽/DOC SEDSS 的粘液扩散提高了 2.7 倍; 口服艾塞那肽/DOC SEDSS 的相对生物利用度 (相对于皮下) 为 $14.62\% \pm 3.07\%$ , 并导致口血糖水平的 AUC 值显著降低 20.6%。	[69]
纳米胶囊	谷赖胰岛素	鱼精蛋白和聚唾液酸 (PSA)	保护胰岛素免受恶劣的肠道环境的影响、与对照胰岛素溶液相比, 它导致葡萄糖降低时间延长 (60%)	[70]
纳米胶囊	胰岛素	油酸、脱氧胆酸钠 (SDC) 和 Span 80; 聚精氨酸 (PARG)	良好的胶体稳定性; 显著更高的胰岛素转运	[71]
逐层组装纳米胶囊	牛血清白蛋白 (BSA)	羧甲基淀粉 (CMS)、季铵淀粉 (QAS)	更好的结肠特异性递送和释放性能、	[72]
纳米颗粒	胰岛素	硫醇化壳聚糖、L-半胱氨酸、细胞穿透肽	相对生物利用度增加、增加胰岛素的肠通透性	[73]
金纳米粒子	胰岛素	苹果多糖 (L-MAP)、金纳米粒子 (AuNPs)	更好的降血糖作用	[74]
纳米颗粒	胰岛素	层状磷酸锆 (ZrP)	低毒性、较好的稳定性	[75]
银纳米粒子	13 个氨基酸的肽 (简称 P-13)	银纳米粒子 (AgNPs)	增强的抗菌活性、较低的细胞毒性和在水溶液中的良好稳定性	[76]
纳米颗粒	牛胰岛素	介孔磷酸盐 (ZrBPMP-3)、甘胆酸钠	几乎无细胞毒性、结肠靶向、时间和 pH 响应释放、良好的生物相容性	[77]
纳米颗粒	牛胰岛素	介孔磷酸盐 (ZrBPMP-3)、甘胆酸钠	几乎无细胞毒性、结肠靶向、时	
纳米颗粒	胰岛素	海藻酸盐、酸葡聚糖、壳聚糖 (CS) 和白蛋白 (ALB)	更高的细胞渗透作用、pH 敏感和粘膜粘附特性	[78]
纳米胶束	胰岛素	聚 (甲基丙烯酸甲酯-co-甲基丙烯酸)-b-聚 (2-氨基甲基丙烯酸乙酯) [P(MMA-co-MAA)-b-PAEMA]	更好的稳定性、pH 响应性、更好的粘膜粘附性和胰岛素的渗透性加强	[79]
水凝胶	鲑鱼降钙素	衣康酸与 N-乙基吡咯烷酮	更大和更快的 pH 响应溶胀、在中性条件下可以输送多达 83 倍的降钙素, 释放百分比提高多达 9.6 倍	[80]
纳米球	胰岛素	邻苯二甲酸羟丙基甲基纤维素	保护了 60% 以上的药物不被胰蛋白酶降解、显著降低糖尿病大鼠的血糖水平, 相对生物利用度为 8.6%	[81]
微凝胶	胰岛素	丙烯酸酯接枝羧甲基淀粉 (CMS-g-AA) 和 2-异丁基-丙烯酸	与通过口服途径的自由形式胰岛素溶液相比, 载有胰岛素的微凝胶的相对药理学可用性提高了 23-38 倍	[82]
自组装两亲树枝状聚合物/胶束	胰岛素	含苯并硼烷的多臂聚 (乙二醇) 两亲聚合物	有效调节正常血糖状态下的血糖水平, 同时降低低血糖风险; 生理 pH 值下显示出葡萄糖响应性胰岛素释放	[83]

### 3 展 望

纳米技术已成为医学领域的重要参与者,最近批准的 NP 数量越来越多<sup>[99-101]</sup>。令人兴奋的是,大量 NPs 正在进行临床试验研究,这反映了通过基于纳米的方法治疗人类疾病的重要性。在各种 NPs 中,蛋白质 NPs 是高度优选的,主要是因为它们具有高特异性、耐受性和生物降解性。蛋白质 NPs 能够装载各种药物,以便在不同的器官中进行特异性递送。这种递送可以通过口腔、鼻腔、肺部、静脉内和眼部途径介导,其中口服递送可提供最高程度的患者依从性和舒适度。用于口服给药的蛋白质 NP 的开发为人类疾病治疗开辟了新途径。然而,大多数口服纳米给药系统的研究仍处于实验室阶段,面临许多挑战:如何增加载药量以达到临床治疗剂量;开发成便于临床使用的剂型;安全评估和稳定性研究。因此,为了找到克服挑战的实用和有效的方法,将进行更深入的研究是必要的。

### 参考文献:

[1] A. Muheem, *et al.* A review on the strategies for oral delivery of proteins and peptides and their clinical perspectives Saudi Pharm. J., 2016, 24: 413 - 428.

[2] L. Wright, *et al.* Oral delivery of protein - based therapeutics; gastroprotective strategies, physiological barriers and *in vitro* permeability prediction Int. J. Pharm., 2020, 585: 119488.

[3] J. Richard Challenges in oral peptide delivery; lessons learnt from the clinic and future prospects Ther. Deliv., 2017, 8: 663 - 684.

[4] S. J. Cao, *et al.* Nanoparticles; oral delivery for protein and peptide drugs AAPS PharmSciTech, 2019, 20: 190.

[5] S. L. Perry, D. J. McClements Recent advances in encapsulation, protection, and oral delivery of bioactive proteins and peptides using colloidal systems Molecules, 2020, 25: 1 - 26.

[6] J. L. Lau, M. K. Dunn Therapeutic peptides: historical perspectives, current development trends, and future directions Bioorg. Med. Chem., 2018, 26: 2700 - 2707.

[7] A. C. Anselmo, Y. Gokarn, S. Mitragotri Non - invasive delivery strategies for biologics Nat Rev Drug Discov, 2019, 18: 19 - 40.

[8] S. W. Chung, T. A. Hil - lal, Y. Byun Strategies for non - invasive delivery of biologics J Drug Target, 2012, 20: 481 - 501.

[9] S. R. Hwang, Y. Byun Advances in oral macromolecular drug delivery Expet Opin Drug Deliv, 2014, 11: 955 - 1967.

[10] D. J. Brayden, M. J. Alonso Oral delivery of peptides: opportunities and issues for translation Adv Drug Deliv Rev, 2016, 106: 193 - 195.

[11] E. Moroz, S. Matoori, J. C. Leroux Oral delivery of macromolecular drugs: where we are after almost 100 years of attempts Adv Drug Deliv Rev, 2016, 101: 108 - 121.

[12] R. Ismail, I. Csoka Novel strategies in the oral delivery of antidiabetic peptide drugs—insulin, GLP 1 and its analogs Eur J Pharm Biopharm, 2017, 115: 257 - 267.

[13] S. Shaikh, P. Jaiswal Oral proteins and peptides market overview (2018).

[14] C. Stillhart, *et al.* Impact of gastrointestinal physiology on drug absorption in special populations - an UNGAP review Eur. J. Pharm. Sci., 2020, 147: 105280.

[15] S. L. Perry, D. J. McClements Recent advances in encapsulation, protection, and oral delivery of bioactive proteins and peptides using colloidal systems Molecules, 2020, 25: 1 - 26.

[16] L. Wright, *et al.* Oral delivery of protein - based therapeutics; gastroprotective strategies, physiological barriers and *in vitro* permeability prediction Int. J. Pharm., 2020, 585: 119488.

[17] J. Richard Challenges in oral peptide delivery; lessons learnt from the clinic and future prospects Ther. Deliv., 2017, 8: 663 - 684.

[18] M. Morishita, N. A. Peppas Is the oral route possible for peptide and protein drug delivery? Drug Discov Today, 2006, 11: 905 - 910.

[19] F. Araújo, N. Shrestha, M. A. Shahbazi, P. Fonte, E. M. Mäkilä, J. J. Salonen, *et al.* The impact of nanoparticles on the mucosal translocation and transport of GLP - 1 across the intestinal epithelium Biomaterials, 2014, 35: 9199 - 9207.

[20] N. Shrestha, M. A. Shahbazi, F. Araujo, H. Zhang, E. M. Makila, J. Kauppila, *et al.* Chitosan - modified porous silicon microparticles for enhanced permeability of insulin across intestinal cell monolayers Biomaterials, 2014, 35: 7172 - 7179.

[21] M. C. Chen, F. L. Mi, Z. X. Liao, C. W. Hsiao, K. Sonaje, M. F. Chung, *et al.* Recent advances in chitosan - based nanoparticles for oral delivery of macromolecules Adv Drug Deliv Rev, 2013, 65: 865 - 879.

[22] F. Sarti, J. Iqbal, C. Muller, G. Shahnaz, D. Rahmat, A. Bernkop - Schnurch Poly (acrylic acid) - cysteine for oral vitamin B12 delivery Anal Biochem, 2012, 420: 13 - 19.

[23] C. Stillhart, *et al.* Impact of gastrointestinal physiology on drug absorption in special populations - an UNGAP review Eur. J. Pharm. Sci., 147(2020), p. 105280

[24] V. Ravi, *et al.* Novel colon targeted drug delivery system using

- natural polymers Indian J. Pharm. Sci. ,2008,70;111 – 113.
- [25] C. M. Wells, *et al.* Stimuli – responsive drug release from smart polymers J. Funct. Biomater. ,2019,10;1 – 20.
- [26] Zhou, X. H. &Po, A. L. W. Peptide and protein drugs:II. Non – parenteral routes of delivery. Int. J. Pharm,1991,75;117 – 130.
- [27] Fjellestad – Paulsen, A. , Hoglund, P. , Lundin, S. &Paulsen, O. Pharmacokinetics of 1 – deamino – 8 – D – arginine vasopressin after various routes of administration in healthy volunteers. Clin. Endocrinol. Reports the oral bioavailability(0.1%) of one of the first oral formulations of the synthetic hormone desmopressin, 1993,38;177 – 182.
- [28] Masaoka, Y. , Tanaka, Y. , Kataoka, M. , Sakuma, S. &Yamashita, S. Site of drug absorption after oral administration;assessment of membrane permeability and luminal concentration of drugs in each segment of gastrointestinal tract. Eur. J. Pharm. Sci, 2006, 29; 240 – 250.
- [29] Kararli, T. T. Comparison of the gastrointestinal anatomy, physiology, and biochemistry of humans and commonly used laboratory animals. Biopharm. Drug Dispos,1995,16;351 – 380.
- [30] Daugherty, A. L. &Mrsny, R. J. Transcellular uptake mechanisms of the intestinal epithelial barrier Part one. Pharm. Sci. Technol. Today 1999,2;144 – 151.
- [31] Golub, A. L. , Frost, R. W. , Betlach, C. J. &Gonzalez, M. A. Physiologic considerations in drug absorption from the gastrointestinal tract. J. Allergy Clin. Immunol, 1986, 78; 689 – 694.
- [32] Allen, A. , Flemstrom, G. , Garner, A. &Kivilaakso, E. Gastroduodenal mucosal protection. Physiol. Rev, 1993, 73; 823 – 857.
- [33] Whitcomb, D. C. &Lowe, M. E. Human pancreatic digestive enzymes. Dig. Dis. Sci,2007,52;1 – 17.
- [34] S. Maher, R. J. Mrsny, D. J. Brayden Intestinal permeation enhancers for oral peptide delivery Adv Drug Deliv Rev,2016, 106;277 – 319.
- [35] B. Homayun, X. Lin, H. J. Choi Challenges and recent progress in oral drug delivery systems for biopharmaceuticals Pharmaceutics, 2019,11;129.
- [36] L. M. Ensign, R. Cone, J. Hanes Oral drug delivery with polymeric nanoparticles; the gastrointestinal mucus barriers Adv Drug Deliv Rev,2012,(2012);557 – 570.
- [37] M. Boegh, H. M. Nielsen Mucus as a barrier to drug delivery – understanding and mimicking the barrier properties Basic Clin Pharmacol Toxicol,2015,116;179 – 186.
- [38] X. Zhang, H. Cheng, W. Dong, M. Zhang, Q. Liu, X. Wang, *et al.* Design and intestinal mucus penetration mechanism of core – shell nanocomplex J Control Release,2018,272;29 – 38.
- [39] H. Cheng, C. Leblond Origin, differentiation and renewal of the four main epithelial cell types in the mouse small intestine: unitarian theory of the origin of the four epithelial cell types Am J Anat,1974,141;537 – 561.
- [40] C. T. Capaldo, D. N. Powell, D. Kalman Layered defense; how mucus and tight junctions seal the intestinal barrier J Mol Med, 2017,95;927 – 934.
- [41] M. Vancamelbeke, S. Vermeire The intestinal barrier; a fundamental role in health and disease Expet Rev Gastroenterol Hepatol,2017,11;821 – 834.
- [42] J. Qi, J. Zhuang, Y. Lv, Y. Lu, W. Wu Exploiting or overcoming the dome trap for enhanced oral immunization and drug delivery J Control Release,2018,275;92 – 106.
- [43] H. Cheng, C. Leblond. Origin, differentiation and renewal of the four main epithelial cell types in the mouse small intestine: unitarian theory of the origin of the four epithelial cell types. Am J Anat,1974,141;537 – 561.
- [44] C. Liu, Y. Kou, X. Zhang, H. Cheng, X. Chen, S. Mao. Strategies and industrial perspectives to improve oral absorption of biological macromolecules. Expet Opin Drug Deliv,2018,15;223 – 233.
- [45] C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, P. J. Feeney. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development. Adv Drug Deliv Rev,2001,46;3 – 26.
- [46] Denker, B. M. &Nigam, S. K. Molecular structure and assembly of the tight junction. Am. J. Physiol,1998,274;F1 – F9.
- [47] Fine, K. D. , Santa Ana, C. A. , Porter, J. L. &Fordtran, J. S. Effect of changing intestinal flow rate on a measurement of intestinal permeability. Gastroenterology,1995,108;983 – 989.
- [48] Linnankoski, J. *et al.* Paracellular porosity and pore size of the human intestinal epithelium in tissue and cell culture models. J. Pharm. Sci. 2010,99;2166 – 2175.
- [49] Turner, J. R. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. Nat. Rev. Immunol. 2009,9;799 – 809.
- [50] Amin, M. L. P – glycoprotein inhibition for optimal drug delivery. Drug Target Insights,2013,7;27 – 34.
- [51] Sjöstedt, N. , Holvikari, K. , Tammela, P. &Kidron, H. Inhibition of breast cancer resistance protein and multidrug resistance associated protein 2 by natural compounds and their derivatives. Mol. Pharm. 2017,14;135 – 146.
- [52] M. S. Islam, *et al.* Bioadhesive food protein nanoparticles as pediatric oral drug delivery system. ACS Appl. Mater. Interfaces,

- 2019,11(20):18062–18073.
- [53] G. Vozza, *et al.* Application of Box – Behnken experimental design for the formulation and optimisation of selenomethionine – loaded chitosan nanoparticles coated with zein for oral delivery. *Int. J. Pharm.*, 2018, 551(1–2):257–269.
- [54] S. Zhang, *et al.* BSA nanoparticles modified with N – Acetylcysteine for improving the stability and mucoadhesion of curcumin in the gastrointestinal tract. *J. Agric. Food Chem.*, 2019, 67(33):9371–9381.
- [55] Z. Niu, *et al.* PEG – PGA enveloped octaarginine – peptide nanocomplexes: an oral peptide delivery strategy. *J. Control. Release*, 2018, 276:125–139.
- [56] F. Guo, *et al.* Enhanced oral absorption of insulin using colon – specific nanoparticles co – modified with amphiphilic chitosan derivatives and cell – penetrating peptides. *Biomater. Sci.*, 2019, 7(4):1493–1506.
- [57] Y. Zhang, *et al.* Thiolated eudragit – based nanoparticles for oral insulin delivery: preparation, characterization, and evaluation using intestinal epithelial cells *in vitro*. *Macromol. Biosci.*, 2014, 14:842–852.
- [58] P. Uhl, *et al.* Coating of PLA – nanoparticles with cyclic, arginine – rich cell penetrating peptides enables oral delivery of liraglutide. *Nanomedicine*, 2020, 24:102132.
- [59] Y. Zhang, *et al.* Rationally designed self – assembling nanoparticles to overcome mucus and epithelium transport barriers for oral vaccines against *Helicobacter pylori*. *Adv. Funct. Mater.*, 2018, 28(33):1802675.
- [60] X. Chen, *et al.* Cp1 – 11 peptide/insulin complex loaded pH – responsive nanoparticles with enhanced oral bioactivity. *Int. J. Pharm.*, 2019, 562:23–30.
- [61] L. Liu, *et al.* Enhancement of oral bioavailability of salmon calcitonin through chitosan – modified, dual drug – loaded nanoparticles. *Int. J. Pharm.*, 2019, 557:170–177.
- [62] A. I. Kostadinova, *et al.* PLGA nanoparticles loaded with beta – lactoglobulin – derived peptides modulate mucosal immunity and may facilitate cow’s milk allergy prevention. *Eur. J. Pharmacol.*, 2018, 818:211–220.
- [63] M. A. Mumuni, *et al.* Insulin – loaded mucoadhesive nanoparticles based on mucin – chitosan complexes for oral delivery and diabetes treatment. *Carbohydr. Polym.*, 2020, 229:115506.
- [64] Y. Li, *et al.* Formation and stability of W/O microemulsion formed by food grade ingredients and its oral delivery of insulin in mice. *J. Funct. Foods*, 2017, 30:134–141.
- [65] G. Sharma, *et al.* Microemulsions for oral delivery of insulin; design, development and evaluation in streptozotocin induced diabetic rats. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2010, 76:159–169.
- [66] S. Wu, *et al.* A delivery system for oral administration of proteins/peptides through bile acid transport channels. *J. Pharm. Sci.*, 2019, 108:2143–2152.
- [67] J. Hecq, *et al.* Development and evaluation of insulin – loaded cationic solid lipid nanoparticles for oral delivery. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, 2016, 36:192–200.
- [68] N. Lupo, *et al.* Self – emulsifying drug delivery systems: In vivo evaluation of their potential for oral vaccination. *Acta Biomater.*, 2019, 94:425–434.
- [69] C. Menzel, *et al.* In vivo evaluation of an oral self – emulsifying drug delivery system (SEDDS) for exenatide. *J. Control Release*, 2018, 277:165–172.
- [70] L. Thwala, *et al.* Protamine nanocapsules as carriers for oral peptide delivery. *J. Controlled Release*, 2018, 291:157–168.
- [71] Z. Niu, *et al.* Rational design of polyarginine nanocapsules intended to help peptides overcoming intestinal barriers. *J. Control Release*, 2017, 263:4–17.
- [72] Y. Zhang, *et al.* Starch – based nanocapsules fabricated through layer – by – layer assembly for oral delivery of protein to lower gastrointestinal tract. *Carbohydr. Polym.*, 2017, 171:242–251.
- [73] N. Shrestha, *et al.* Thiolation and cell – penetrating peptide surface functionalization of porous silicon nanoparticles for oral delivery of insulin. *Adv. Funct. Mater.*, 2016, 26(20):3405–3416.
- [74] Y. Kumari, *et al.* Modified apple polysaccharide capped gold nanoparticles for oral delivery of insulin. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2020, 149:976–988.
- [75] A. Díaz, *et al.* Nanoencapsulation of insulin into zirconium phosphate for oral delivery applications. *Biomacromolecules*, 2010, 11:2465–2470.
- [76] J. Gao, *et al.* One step synthesis of antimicrobial peptide protected silver nanoparticles; the core – shell mutual enhancement of antibacterial activity. *Colloids Surf. B Biointerfaces*, 2020, 186:110704.
- [77] Y. Ren, *et al.* Dual – controlled oral colon – targeted delivery of bovine insulin based on mesoporous phosphonate. *Mater. Res. Bull.*, 2013, 48:4850–4855.
- [78] M. Lopes, *et al.* Dual chitosan/albumin – coated alginate/dextran sulfate nanoparticles for enhanced oral delivery of insulin. *J. Control Release*, 2016, 232:29–41.
- [79] W. Y. Hu, *et al.* Smart pH – responsive polymeric micelles for programmed oral delivery of insulin. *Colloids Surf. B: Biointerfaces*, 2019, 183:110443.

- [80] M. C. Koetting, N. A. Peppas. pH - Responsive poly ( itaconic acid - co - N - vinylpyrrolidone ) hydrogels with reduced ionic strength loading solutions offer improved oral delivery potential for high isoelectric point - exhibiting therapeutic proteins. *Int. J. Pharm.*, 2014, 471(1 - 2); 83 - 91.
- [81] Y. Fang, *et al.* Gastrointestinal responsive polymeric nanoparticles for oral delivery of insulin: optimized preparation, characterization, and in vivo evaluation. *J. Pharm. Sci.*, 2019, 108; 2994 - 3002.
- [82] L. Liu, *et al.* pH - and amylase - responsive carboxymethyl starch/poly ( 2 - isobutyl - acrylic acid ) hybrid microgels as effective enteric carriers for oral insulin delivery. *Biomacromolecules*, 2018, 19; 2123 - 2136.
- [83] Z. Zeng, *et al.* Stimuli - responsive self - assembled dendrimers for oral protein delivery. *J. Controlled Release*, 2019, 315; 206 - 213.
- [84] A. Alexander, *et al.* Polymers and permeation enhancers; specialized components of mucoadhesives. *Stamford J. Pharm. Sci.*, 2011, 4; 91 - 95.
- [85] J. Khan, *et al.* Exploring the role of polymeric conjugates toward anti - cancer drug delivery: Current trends and future projections. *Int. J. Pharm.*, 2018, 548; 500 - 514.
- [86] A. Alexander, *et al.* A comparative study of chitosan and poloxamer based thermosensitive hydrogel for the delivery of PEGylated melphalan conjugates. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 2015, 41; 1954 - 1961.
- [87] Ajazuddin, *et al.* Synthesis, characterization and *in vitro* studies of pegylated melphalan conjugates. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 2013, 39; 1053 - 1062.
- [88] T. K. Giri, *et al.* Biodegradable IPN hydrogel beads of pectin and grafted alginate for controlled delivery of diclofenac sodium. *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 2013, 24; 1179 - 1190.
- [89] Y. H. Y. Ibrahim, *et al.* Review of recently used techniques and materials to improve the efficiency of orally administered proteins/peptides. *Daru*, 2020, 28; 403 - 416.
- [90] Z. Niu, *et al.* Lipid - based nanocarriers for oral peptide delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2016, 106; 337 - 354.
- [91] M. Agrawal, *et al.* Recent advancements in liposomes targeting strategies to cross blood - brain barrier (BBB) for the treatment of Alzheimer's disease. *J. Control Release*, 2017, 260; 61 - 77.
- [92] Y. Xu, *et al.* Targeted nanoparticles towards increased L cell stimulation as a strategy to improve oral peptide delivery in incretin - based diabetes treatment. *Biomaterials*, 2020, 255; 120209.
- [93] G. Vladislavljević. Preparation of microemulsions and nanoemulsions by membrane emulsification. *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects*, 2019, 579; 123709.
- [94] M. Agrawal, *et al.* Recent strategies and advances in the fabrication of nano lipid carriers and their application towards brain targeting. *J. Controlled Release*, 2020, 321; 372 - 415.
- [95] Y. H. E. Y. Ibrahim, *et al.* Review of recently used techniques and materials to improve the efficiency of orally administered proteins/peptides. *DARU J. Pharm. Sci.*, 2020, 28; 403 - 416.
- [96] A. Gedawy, *et al.* Oral insulin delivery: existing barriers and current counter - strategies. *J. Pharm. Pharmacol.*, 2018, 70; 197 - 213.
- [97] N. G. Lamson, *et al.* Anionic nanoparticles enable the oral delivery of proteins by enhancing intestinal permeability. *Nat. Biomed. Eng.*, 2020, 4; 84 - 96.
- [98] M. Agrawal, *et al.* Recent advancements in the field of nanotechnology for the delivery of anti - Alzheimer drug in the brain region. *Expert Opin. Drug Deliv.*, 2018, 15; 589 - 617.
- [99] A. C. Anselmo, S. Mitragotri. A review of clinical translation of inorganic nanoparticles. *AAPS J.*, 2015, 17(5); 1041 - 1054.
- [100] A. C. Anselmo, S. Mitragotri. Nanoparticles in the clinic. *Bioeng. Transl. Med.*, 2016, 1(1); 10 - 29.
- [101] C. A. Schütz, *et al.* Therapeutic nanoparticles in clinics and under clinical evaluation. *Nanomedicine*, 2013, 8(3); 449 - 467.

(编辑:侯向辉)