



反毒为药：精准控制河鲀毒素用作局部麻醉药的新进展*

李惠冬¹⁾ 储智勇²⁾ 钱晓明²⁾ 龙程^{1,3)**}

(¹⁾ 华南师范大学生命科学学院, 广州 510631; (²⁾ 中洋生物科技(上海)股份有限公司, 上海 200002;

(³⁾ 华南师范大学-番禺区中心医院基础与转化医学联合实验室, 广州 511400)

摘要 钠离子通道阻断剂河鲀毒素(TTX)是致命的毒素之一, 却是极具价值的神经生物学和生理学等生命科学研究领域的工具药. 近年来, 越来越多的研究指出, TTX具有强大的局部麻醉潜能, 有望成为替代氨基酯类和氨基酰胺类局部麻醉药、避免阿片类药物滥用的新型麻醉药物. 本文综述TTX局部麻醉应用的辅助药物、TTX缓释及控释给药系统等相关研究, 旨在为局部麻醉新药研发提供参考并探讨新的思路.

关键词 河鲀毒素, 局部麻醉, 电压门控钠离子通道, 给药系统, 化学修饰

中图分类号 Q4, Q5

DOI: 10.16476/j.pibb.2020.0454

局部麻醉的范畴较广, 不仅包括术中局部麻醉, 还包括各种术后镇痛、癌痛治疗、慢性疼痛管理等. 术中局部麻醉主要通过局部麻醉药实现, 而临床上术后镇痛及癌痛治疗等需较长的麻醉时间, 除使用局部麻醉药外常常依靠甚至滥用阿片类药物. 目前临床常用的局部麻醉药麻醉时间较短, 一般不超过10 h^[1], 而且有局部神经和肌肉毒性副作用, 甚至导致心律失常和癫痫发作^[2]. 阿片类药物可导致患者恶心、尿潴留、便秘及瘙痒等, 严重时导致患者耐药、成瘾甚至死亡^[1]. 因此, 研发麻醉作用时间长且安全性高的局部麻醉新药具有十分重要的临床意义. 河鲀毒素(tetrodotoxin, TTX)被广泛应用于神经生物学和生理学等生命科学研究领域. 学者们过去数十年的研究发现, TTX的局部麻醉效果远大于常用局部麻醉药. 局部神经和肌肉毒性作用极小^[3], 且无心脏抑制、中枢神经系统毒性及遗传毒性等副作用^[4]. 可惜由于TTX的全身毒性大, 治疗指数小^[5], 而且来源不足, 限制了TTX作为局部麻醉药的应用, 作者及许多同行长期尝试增加TTX来源. 近年越来越多研究致力于提高TTX用药的安全性, 如使用脂质体封装方法、与多聚物共价结合达到缓释目的及与肾上腺素能药

物联合使用以提高安全性等. 这些研究表明, 开发安全有效的TTX给药系统及药物配方可以极大地发挥出TTX优于常用局部麻醉药的麻醉潜能, 反毒为药, 为局部麻醉及疼痛管理领域增添重要一员. 本文综述TTX局部麻醉应用中可联合应用的辅助药物、TTX缓释及控释给药系统等相关研究, 旨在为局部麻醉新药研发提供参考并探讨新的思路.

1 河鲀毒素简介

TTX最初是从河鲀卵巢和肝脏中分离出来的一种神经毒素. 1909年, 日本学者田原良纯率先得到TTX的粗制品, 到20世纪50年代初, 横尾晃、津田等学者从河鲀中提取纯化出TTX结晶^[6]. 河鲀毒素为氨基全氢喹啉型化合物, 分子式为C₁₁H₁₇O₈N₃, 分子质量为319.27, 由1个带正电的胍盐基团、1个嘧啶环、3个氮原子和6个羟基组

* 国家自然科学基金(31871170)和广东省重点领域研发计划(201813030332001)资助项目.

** 通讯联系人.

Tel: 020-85211372, E-mail: longcheng@m.scnu.edu.cn

收稿日期: 2020-12-31, 接受日期: 2021-03-03

成, 具有很强的亲水性^[6], 其结构特征如图1. 1979年, 河北省水产研究所和中国人民解放军药物化学研究所共同合作, 成功完成了TTX的提取工作, 该项研究成果于1982年被鉴定通过, 打破了日本长期以来对TTX提取技术的垄断. 尽管实验室已实现TTX的提取与纯化, 但天然提纯得率低、无法产业化和量产仍然是制约因素, 无法满足市场需要. 中洋生物科技(上海)股份有限公司最近在TTX规模化生产的工艺上取得了突破性进展, 正在进行中试和放大的尝试. TTX是最致命的毒素之一, 经腹腔注射和皮下注射, 对小鼠的半致死量 (median lethal dose, LD_{50}) 分别为 $10.7 \mu\text{g/kg}$ 和 $12.5 \mu\text{g/kg}$ ^[4], 经灌胃对小鼠的 LD_{50} 为 $232 \mu\text{g/kg}$ ^[7]. 根据电压门控钠通道 (voltage-gated sodium

channel, VGSC) 对TTX的敏感性不同, VGSC可分为TTX敏感钠离子通道 ($\text{Na}_v1.1\sim\text{Na}_v1.4$ 、 $\text{Na}_v1.6$ 、 $\text{Na}_v1.7$) 和TTX不敏感钠离子通道 ($\text{Na}_v1.5$ 、 $\text{Na}_v1.8$ 、 $\text{Na}_v1.9$)^[6]. TTX属于位点1钠通道阻断剂, 其作用位点位于 α 亚基的细胞膜外部, 纳摩尔浓度TTX可阻断TTX敏感钠离子通道, 而微摩尔浓度TTX可阻断TTX不敏感钠离子通道^[6]. TTX的胍基在生理pH值下发生质子化, 产生正电活性区域与VGSC的负电性羧基相互作用, 从而形成“选择性滤孔” (selectivity pore)^[6]. 此外, TTX分子的其余部分可堵塞VGSC入口, 阻止钠离子进入细胞内, 从而阻断钠电流, 影响细胞的兴奋性^[4].

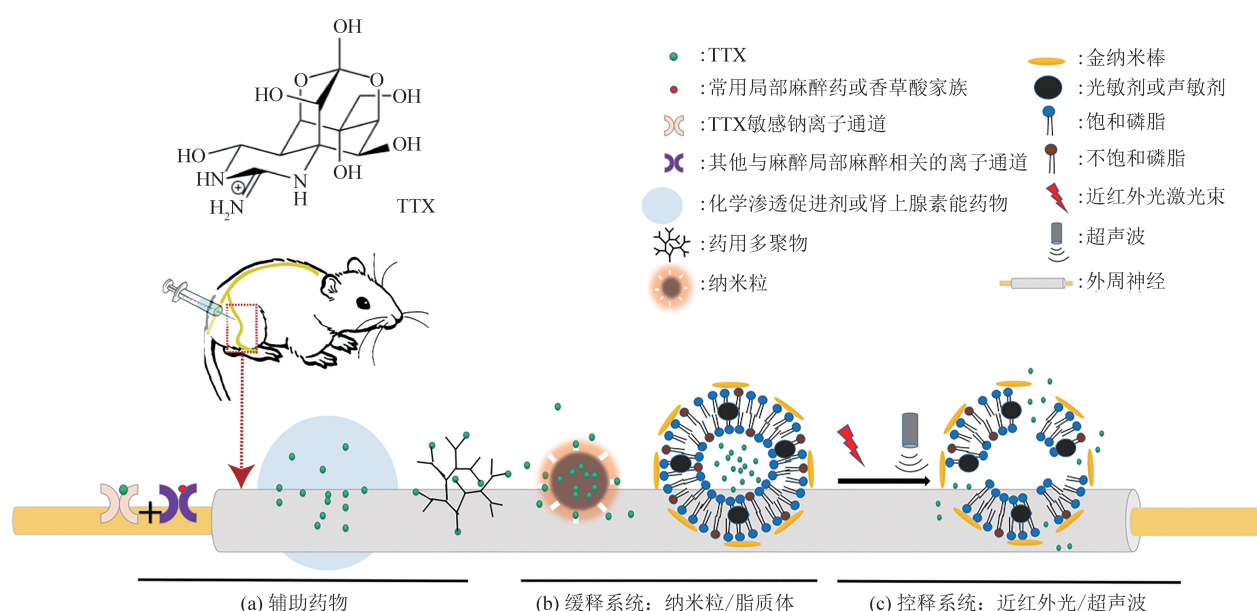


Fig. 1 The adjuvant drugs, sustained – and controlled–delivery systems in local anesthesia application of tetrodotoxin

图1 TTX局部麻醉应用中的辅助药物、缓释系统及控释系统模式图

目前TTX在医学上的应用主要包括麻醉^[6]、癌痛治疗、戒毒及神经病理性疼痛治疗等^[4], 这主要是由于TTX阻断疼痛传导通路的高度选择性和有效性. 脊髓背根神经节 (dorsal root ganglion, DRG) 神经元是躯干、四肢痛觉的初级传入神经元. DRG小直径C纤维神经元和中直径A δ 纤维神经元在伤害性感觉传入中发挥着重要的作用. 研究表明^[5], C纤维神经元及A δ 纤维神经元表达 $\text{Na}_v1.7\sim\text{Na}_v1.9$ 、 $\text{Na}_v1.3$ 和 $\text{Na}_v1.1$, 其中 $\text{Na}_v1.7$ 在痛觉产生过程中发挥主要作用. TTX正是 $\text{Na}_v1.7$ 、

$\text{Na}_v1.3$ 和 $\text{Na}_v1.1$ 的高效阻断剂. TTX用作局部麻醉药的极大优势在于其亲水性强, 无法透过血-脑屏障 (blood brain barrier, BBB) 和血-脊髓屏障 (blood spinal cord barrier, BSCB)^[5]. 并且TTX因缺乏与心肌细胞 $\text{Na}_v1.5$ 的高亲和力, 无心脏毒性. 此外, TTX的局部神经和肌肉毒性作用极小^[3]. TTX的全身毒性主要体现为呼吸肌麻痹和血压降低^[8]. 用TTX治疗癌痛的临床试验显示, 大多数情况下其副作用是抑制患者的某些运动和感觉功能, 严重时导致共济失调、吞咽困难、血压升高和眼球

震颤等^[5]. 1972年, Kishi首次实现了TTX外消旋体的全合成, 为丰富TTX的来源增加了一条至关重要的途径, 成为TTX研究历史上的里程碑^[6]. Isobe和Du Bois两个团队都在2003年报道了TTX的不对称全合成^[6], 但两个团队所使用的合成策略完全不同. 由于天然TTX化学结构的复杂性和特殊性, 目前为止, 人工合成TTX依然很困难, 且合成的步骤繁多, 条件苛刻, 难以工业化, 无法大量合成TTX以满足实际应用需求. 国内尚无TTX人工合成相关报道, 研究者可开展系列工作以攻克人工合成TTX这个极富挑战性但却有着广阔市场前景、意义非凡的难题.

2 TTX在局部麻醉应用中可联合应用的辅助药物

外周神经虽然没有血-脑屏障、血-脊髓屏障的保护, 但其周围有结缔组织膜、神经鞘及神经元与周围细胞形成的紧密连接, 起保护作用^[9]. TTX的亲水性很强, 透过外周神经保护性组织的能力较弱, 因此单独使用TTX时需要较高浓度才能产生麻醉效果^[9], 而TTX全身毒性又限制了其用药剂量^[1]. 联合使用其他辅助药物以促进TTX透过外周神经保护性组织, 可有效减少TTX用药量, 延长局部麻醉作用时间, 显著改善TTX的治疗指数^[9].

2.1 常用局部麻醉药

与TTX不同, 常用局部麻醉药具有两亲性,

可透过细胞膜进入细胞. 常用局部麻醉药一般结构是由1个芳香族基团通过酰胺键(氨基酰胺)或酯键(氨基酯)与叔胺相连, 可分为酰胺类如利多卡因、布比卡因和酯类如普鲁卡因等^[10]. 大多数常用局部麻醉药在生理pH条件下为不带电状态. 当进入细胞后, 局部麻醉药的叔胺基团发生质子化, 使得VGSC内口带上正电荷, 从而有效阻止钠离子进入细胞^[11]. 但局部麻醉药靶点特异性不强, 既可作用于TTX敏感钠离子通道, 又可作用于TTX不敏感钠离子通道^[12]. 除作用于VGSC外, 局部麻醉药还可作用于钾离子通道、钙离子通道及烟碱型乙酰胆碱受体等, 导致线粒体功能障碍, 影响氧化磷酸化过程^[13-16](图2). 局部麻醉药脂溶性较强, 可透过血-脑屏障和血-脊髓屏障. 大量临床研究和实验室研究表明, 局部麻醉药具有神经毒性作用^[11, 13]. 这是由于局部麻醉药可抑制大脑的抑制通路, 打破大脑的兴奋-抑制平衡, 导致抽搐、癫痫等发生^[10, 15-16]. 值得注意的是, TTX和局部麻醉药同样作为钠离子通道的阻断剂, TTX却无上述神经毒性作用, 这说明局部麻醉药的神经毒性作用机制与TTX敏感钠离子通道被阻断无关^[11]. 随着血浆的局部麻醉药浓度进一步增加, 局部麻醉药的心脏毒性则凸显出来. 这是由于局部麻醉药可与心肌细胞膜上的 $\text{Na}_v1.5$ 结合, 从而阻止心肌细胞动作电位0期钠离子内流的过程, 影响心肌细胞兴奋性^[10, 13](图2).

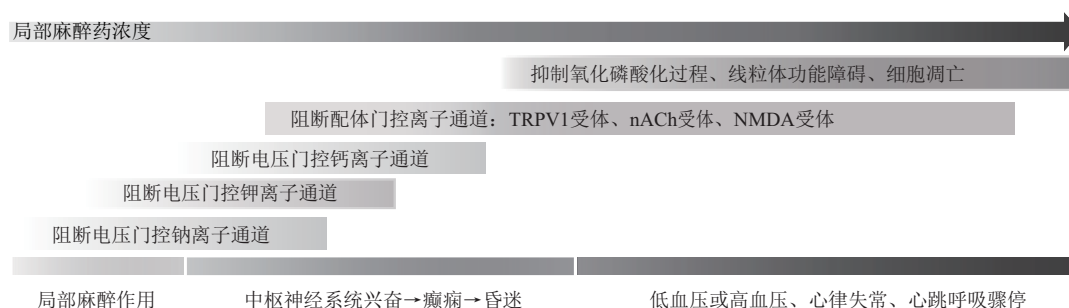


Fig. 2 Mechanisms and symptoms of acute local anesthetic toxicity

图2 急性局部麻醉药中毒的机制和症状

TRPV1: 瞬时感受器电位香草酸受体1; nACh: 烟碱型乙酰胆碱; NMDA: N-甲基-D-天冬氨酸.

作用机制的差异恰恰是TTX和局部麻醉药联合使用的分子基础. 多项研究表明, TTX联合常用局部麻醉药产生的麻醉效果优于两者单独使用所产

生的效果^[8, 17]. 除两者的作用靶点互补之外, 局部麻醉药可能是通过可逆地增加神经屏障对TTX的通透性来提高TTX活性^[18]. Wang等^[18]联合TTX

和丙美卡因 (proparacaine) 用于大鼠角膜麻醉, 可实现长达 3 h 的眼角膜麻醉, 但该配方延迟了大鼠角膜上皮的愈合过程. 局部麻醉药虽然能显著延长 TTX 的局部麻醉时间, 提高 TTX 的安全性, 但它们自身存在的局部神经和肌肉毒性、中枢神经系统毒性和心脏毒性等副作用^[2]不容忽视. 有研究指出, 理想的情况是未来完全避免氨基酯类和氨基酰胺类局部麻醉药在临床上的使用^[17], 彻底消除其弊端. TTX、石房蛤毒素 (saxitoxin) 和新石房蛤毒素 (neosaxitoxin) 等神经毒素将是减少局部麻醉药使用的一个很好的选择.

2.2 肾上腺素能药物

肾上腺素、苯肾上腺素和可乐定等 α 肾上腺素受体激动剂联合 TTX 使用是比较经典的局部麻醉配方^[8, 19]. 目前普遍认为, 肾上腺素可使注射 TTX 部位周围的血管收缩, 延缓血管吸收 TTX, 降低 TTX 的全身毒性作用, 同时保持局部较高的 TTX 浓度, 利于 TTX 渗入外周神经保护性组织. 近年来越来越多的研究使用右美托咪定作为常规局麻药和位点 1 钠离子通道阻断剂的辅助药物来延长局部麻醉时间^[20]. 临床试验表明, 右美托咪定可有效延长布比卡因和利多卡因的局部麻醉时间, 且未产生明显的不良反应^[3]. 另有研究显示, 右美托咪定延长 TTX 角膜表面麻醉时间的效果明显优于常用眼部表面麻醉剂丙美卡因, 且不影响角膜上皮愈合的过程^[21]. 多项研究报道, TTX 联合右美托咪定给药可显著延长 TTX 局部麻醉作用时长、降低 TTX 的全身毒性^[20, 22-23]. 右美托咪定作为高选择性 α_2 肾上腺素受体激动剂, 可收缩注射部位的血管, 减缓血管吸收 TTX, 降低全身毒性作用^[20]. 当然, 不排除右美托咪定促进 TTX 局部麻醉效果与激活 α_2 肾上腺素受体后所产生的生理效应有关. 此外, 右美托咪定还可以阻断超极化激活的阳离子通道^[20], 这可能是其促进 TTX 局部麻醉效果的机制之一. 综上, 肾上腺素能药物作为 TTX 局部麻醉应用的经典辅助药物, 其辅助效果明显优于常规局麻药且不伴有明显的副作用, 值得重视和推广. 当然, 需要警惕临床上使用肾上腺素能药物作为局部麻醉辅助药物时可能会引起患者出现高血压、心动过速等不良反应的问题.

2.3 化学渗透促进剂

化学渗透促进剂 (chemical permeation enhancer, CPE) 是指能可逆改变生物屏障效应以促进药物透过生物屏障的分子^[24], 包括表面活性

剂、醇类、亚砷类化合物、硫化物、脂肪酸、酯类、萜烯和环糊精等^[25]. 其中, 表面活性剂是一类两亲性有机化合物, 同时含有亲水性和亲油性基团, 包括阴离子型如十二烷基硫酸钠 (sodium lauryl sulfate, SLS) 和辛基硫酸钠 (sodium octyl sulfate, SOS), 阳离子型如十二烷基三甲基溴化铵 (dodecyltrimethylammonium bromide, DDAB) 和辛基三甲基溴化铵 (octyltrimethylammonium bromide, OTAB), 非离子型如吐温 20 (Tween 20, 即 polysorbate 20) 和吐温 80 (Tween 80, 即 polysorbate 80)^[25]. Simons 等^[25] 研究了上述 6 种常见表面活性剂与 TTX 联合使用时对局部麻醉作用的促进效果, TTX 的麻醉有效性和麻醉时长均表现出明显的 CPE 浓度依赖特性. 体内试验显示: 除 DDAB 外的 5 种 CPE 延长 TTX 局部麻醉时间的半数有效浓度 (median effective concentration, EC_{50}) 几乎没有引起明显的肌肉或神经损伤; DDAB 联合使用 TTX 虽然不会引起神经损伤, 却导致注射部位重度的组织炎性浸润和肌肉萎缩变性. Santamaria 等^[19] 研究亦表明 SOS 和 OTAB 能有效延长低浓度 TTX 的坐骨神经阻滞时间, 提高 TTX 的麻醉成功率, 但二者未减弱 TTX 的全身毒性作用, 与 TTX 联合使用的肌毒性作用呈现浓度依赖的特性. 肾上腺素促进 TTX 局部麻醉效果不仅比 CPE 强, 而且肾上腺素降低 TTX 全身毒性的副作用明显优于 CPE, 这可能与肾上腺素减缓血液对 TTX 的吸收而 CPE 仅仅提高神经表面对 TTX 的渗透性有关^[19]. 此外, 聚乙二醇 200 (polyethylene glycol 200, PEG200) 单独用于促进 TTX 局部麻醉效果时可产生轻微神经损伤, 但加入聚丙二醇 4000 (polypropylene glycol 4000, PPG4000) 后, 神经毒性作用消失^[1]. 这是由于联合使用数种不同的 CPE 可在达到一种 CPE 促进药物渗透效果的同时减少配方中每一种 CPE 的用量, 从而提高 CPE 药物配方的安全性^[24].

CPE 促进 TTX 渗透神经表面屏障的机制尚不明确^[19], 但 CPE 可以提高皮肤角质层的通透性, 增加药物渗透通量, 其用于促进药物或护肤品等渗透皮肤已有数十年历史, 其中涉及的细胞机制则较为明确^[24]: a. 醇类、亚砷类化合物、表面活性剂及氮酮等因为具有亲脂性而可与角质层脂质双分子层相溶, 分配到其中, 增加了脂膜的流动性, 提高了药物渗透角质层的扩散系数. 亲脂性的高低决定了这些 CPE 促进药物渗透的能力. b. 脂肪酸和萜烯

可以插入到角质层的脂质双分子层间形成可以使药物通过的特殊路径. c. 某些CPE可以通过和角质层的脂质形成氢键, 当这种氢键的力量大于脂质双分子层内部固有的氢键力量时, 将使得与CPE互相作用的脂质被“抽离”, 从而形成一个孔道, 提高药物渗透脂质双分子层的扩散系数. d. 某些CPE可以改变角质层细胞内角蛋白的结构从而促进药物渗透皮肤角质层. 这也是CPE具有细胞毒性的机制之一. CPE对TTX局部麻醉效果的促进作用可能与用药部位有关, 如OTAB不能延长TTX的眼角膜麻醉作用时间, 这可能是由于角膜感觉神经表面仅被数个细胞层覆盖, TTX无需OTAB的辅助即可有效渗透角膜感觉神经表面^[18]. 实际上, CPE不仅限于上面提及的药物, 如局部麻醉药丙美卡因和丁卡因也有CPE的作用^[18], 高浓度 β 肾上腺素受体拮抗剂如酚妥拉明、育亨宾及普萘洛尔也可能是另一种类型的CPE, 可以促进TTX的局部麻醉效果. 这可能是由于肾上腺素受体拮抗剂是一种多环化合物, 当浓度较高时, 它们促进TTX渗入外周神经保护性组织的作用远大于对肾上腺素受体阻滞作用^[25]. 综上, CPE可以促进TTX的局部麻醉效果, 但其潜在机制尚未完全阐明, 被批准用于临床的还很少^[24]. CPE的安全性将是进一步研究时应首先考虑的问题.

2.4 药用多聚物

药用多聚物(如聚乙二醇、聚谷氨酸)分别由乙二醇、谷氨酸等基本单位相互连接而成, 具有较大的分子质量, 含有能与药物分子形成化学键的功能基团, 在新型医药研发领域起重要作用. 药用多聚物可通过共价修饰TTX以控制TTX的释放. Zhao等^[1]将TTX与生物相容、可生物降解的聚合物——聚(三醇二羧酸)-共(聚乙二醇)(poly(triol dicarboxylic acid)-co-poly(ethyleneglycol), TDP)的主链共价结合形成可水解的酯键, 酯键缓慢水解使得TTX可持续释放. TDP分子质量为4 000~7 000 u, 由二羧酸、聚乙二醇、聚己内酯和丙三醇单体逐步聚合而成. 通过改变各聚合单体的组分比例来改变聚合物主链的亲水性, 从而控制TTX释放量在恰当的治疗窗内^[1]. TDP-TTX注射到大鼠坐骨神经处可产生长达3 d的感觉神经阻滞效果, 显著提高TTX的安全性, 并且可在4周内逐渐被降解^[1]. 多聚物-药物偶合物(polymer-drug conjugate, PDC)可降低药物副作用、稳定血药浓

度, 使原药物具备全新的理化性质和结构并提高原药效果及生物利用度, 早已获批上市并应用到临床以治疗不同的疾病, 体现了这项技术的巨大潜力^[26]. 因此, 药用多聚物修饰TTX为TTX控毒研究提供了一个既有理论价值又能实际应用的新思路. 遗憾的是目前学界暂无多聚物修饰的TTX临床试验报道, 亟需开展这类临床试验, 把TTX用作局部麻醉药推向实质性应用.

2.5 香草酸家族

有研究揭示辣椒素(capsaicin)可特异性阻滞感觉神经而对运动神经无影响^[27]. 这一发现在临床应用中有重大意义, 如分娩镇痛、某些牙科手术、术后短期止痛及慢性疼痛管理等需要特异性阻滞患者的感觉神经而不影响其运动功能. 辣椒素及其同源物树脂脂毒素(resiniferatoxin)均属于香草酸分子家族的成员, 是脱敏、神经毒性等研究的常用工具药. 瞬时感受器电位香草酸受体1(transient receptor potential vanilloid 1, TRPV1)是相对非特异性的阳离子通道, 主要表达于无髓鞘的C类神经纤维, 可被热伤害、质子和辣椒素等激活^[28]. Kohane等^[12]联合使用低浓度辣椒素(33~990 $\mu\text{mol/L}$)和TTX的局部麻醉配方, 虽然对大鼠坐骨神经没有特异性阻滞优势, 但辣椒素显著延长了TTX对大鼠运动功能和热痛觉的阻滞时间, 且这种促进效果可被经典TRPV1拮抗剂辣椒平(capsazepine)终止. 该团队认为, 辣椒素和TTX分别阻断初级传入C纤维上的TRPV1和TTX敏感钠通道, 两者起协同作用, 从而抑制大鼠运动神经元的兴奋性. 此外, 辣椒素可能影响 $A\gamma$ 轴突的活动, 进而影响 γ 环路的活动, 从而调节大鼠运动功能^[12]. 另外, 99 $\mu\text{mol/L}$ 辣椒素能有效增强TTX的神经阻滞效果, 而1.6 $\mu\text{mol/L}$ 树脂脂毒素与TTX联合使用可达到相同的阻滞效果, 即树脂脂毒素效果比辣椒素至少强62倍^[12]. 值得注意的是, 高浓度辣椒素对初级传入C纤维具有特异性神经毒性作用^[29]. 考虑到辣椒素和TTX各自所具有的毒性作用, 用脂质体分别包裹这两种药物, 制备成辣椒素脂质体和TTX脂质体麻醉配方, 注射到大鼠坐骨神经周围后未发现明显的神经肌肉毒性和全身毒性作用, 且此麻醉配方所产生的神经阻滞时间达十几小时, 却无特异性阻滞感觉神经的作用^[29]. 辣椒素及其受体TRPV1是近年来的疼痛、局部麻醉领域的研究热点, 但辣椒素具有的神经毒性作用限制

了它的临床应用^[12]，目前仅限于实验室基础研究。

3 TTX局部麻醉给药系统

3.1 微粒给药系统

微粒给药系统 (microparticle drug delivery systems, MDDS) 是给药系统研发领域的新热点。MDDS有明显的药物缓释作用，并可降低药物副作用，提高药物的生物利用度^[30]。粒径小于1 μm 的脂质体和纳米粒是其中两种MDDS。近年来研究发现MDDS可以降低TTX的全身毒性作用，显著提高TTX安全性。此外，利用MDDS还可显著延长TTX局部麻醉作用的时间，满足术后镇痛、慢性疼痛等长时间麻醉需求。

3.1.1 脂质体

脂质体 (也称为脂质囊泡) 是由一个或多个磷脂双层膜同心壳组成的胶状粒子，可包载亲水性、两亲性和疏水性药物^[31]。由于具有良好的生物相容性及载药潜力，易于注射，且临床已证明其安全性^[2]，脂质体被用作包括TTX在内的药物传递载体，可减轻剧毒药物的全身毒性作用^[23]。当穿过细胞脂质双分子层时，脂质体可发生形变，从而“挤”进细胞，具有良好的膜通透性^[24]。多种TTX给药系统采用脂质体封装TTX为设计基础，在脂质体膜上再嵌入光敏剂^[32]、金纳米棒^[22]或包封声敏剂^[23]以响应近红外光和超声等外部触发能源，实现远程重复控制TTX释放的目的。此外，Zhan等^[21]研究表明，用琥珀酰伴刀豆球蛋白A (succinyl-Concanavalin A, sConA) 修饰TTX脂质体后特异性地与小鼠角膜上皮细胞糖蛋白结合，使得TTX在角膜的停留时间更长，在不影响角膜上皮愈合过程的前提下产生长达5 h的强效角膜麻醉，且麻醉作用在单次滴眼14 h后才逐渐消失，既满足手术麻醉需要，又有术后镇痛作用。

3.1.2 纳米粒

纳米粒作为药物载体具有许多优点，包括延长药物作用时间、增强药物溶解度、促进药物靶向递送、降低药物副作用^[33]及促进药物透过生物屏障等^[24]。Liu等^[34]研究表明，与纯TTX溶液相比，封装6 μg TTX的28 nm空心二氧化硅纳米粒可使大鼠坐骨神经阻滞有效性提高，时长达6 h，几乎无神经肌肉毒性和全身毒性，也不引发组织炎症反应^[34]。空心二氧化硅纳米粒的空心结构及在水溶液中其表面带负电的特性有利于装载TTX^[34]。负载TTX的纳米粒可进入神经轴突内，而纳米粒渗

透神经的能力取决于它们的大小。与联合使用各种TTX局部麻醉应用辅助药物相比，纳米粒载体降低TTX全身毒性的效果最为显著^[5]。值得考虑的是，纳米粒的粒径小，载药量较少，且纳米粒离开预期作用部位的可能性较大，即便给药系统的微小移动都会削弱药物的效果^[35]。针对纳米粒载药量少的问题，可以考虑TTX与其余辅助药物联合使用以延长局部麻醉时间。不同的MDDS各有优缺点，若结合两种给药系统或许可以取长补短^[35]。最后，在把TTX缓释给药系统应用到临床之前，仍然需要在实验室进行大量的毒物基因组学分析与研究^[17]。

3.2 TTX远程触发给药系统

尽管微粒给药系统的缓释作用可以提供长时间的局部麻醉，却由不得患者自主调控。临床中，每个患者可能有不断变化的镇痛需求，如活动时需较大镇痛强度，而休息时则只需较小镇痛强度。患者感受不同程度的疼痛时需选择不同的镇痛强度、持续时间和频率等。因此，开发患者能灵活控制的、满足实时镇痛需求的麻醉给药系统尤为重要^[2]。远程触发给药系统旨在实现患者自主控制的按需麻醉，它通过超声、光、电和磁场等安全的外部触发能源来控制药物的释放^[5]。多项设计使用近红外光和超声为外部触发能源开发TTX远程触发给药系统。

3.2.1 近红外光控制TTX释放

近红外光比紫外光和可见光穿透组织的能力更强，其穿透组织的能力与组织的光学特性有关，譬如近红外光可分别穿透乳腺组织和肌肉组织达10 cm和4 cm，这种穿透能力足以到达人类的许多神经表面^[32]。近红外光的波长、辐照强度和照射时间容易根据实际需求灵活改变。因此，Rwei等^[32]利用光化学效应原理，采用近红外光激光器作为外部触发能源，设计了TTX远程触发给药系统。这种给药系统的关键要素是嵌入到脂质体的一种光敏剂1, 4, 8, 11, 15, 18, 22, 25-八丁氧基酞菁钯 (PdPc (OBu) 8)。PdPc (OBu) 8激发三重态产率较高且具有良好的组织相容性，在其最大吸收波长730 nm的近红外光照射下单线态氧 ($^1\text{O}_2$) 产率高。该团队用主要组分为蛋黄卵磷脂的脂质体封装TTX，脂质体因为不饱和磷脂的存在而含有单烯丙氢和双丙烯氢。当近红外光照射到给药部位时，PdPc (OBu) 8产生活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 即 $^1\text{O}_2$ ，进而氧化不饱和磷

脂的单烯丙氢和双丙烯氢后使得脂质体的不饱和磷脂被过氧化, 脂质双分子层内部的亲水性增强而疏水作用减弱, 稳定性下降, 最终导致 TTX 的释放^[32]. 将此给药系统注射到大鼠坐骨神经, 可反复触发药物释放, 长达 2 d 的时间内不仅没有神经肌肉毒性作用, 而且注射部位周围的炎症反应也很轻微. 使用该给药系统产生初始神经阻滞作用 10 h 后, 再照射近红外光波段的激光 (730 nm, 330 mW/cm², 持续 15 min), 可引起额外数次神经阻滞^[32]. 近红外光的辐照强度、照射时长与神经阻滞持续的时间呈线性关系, 因此患者可以通过调整近红外光的辐照强度和照射时间, 控制麻醉的强度和持续时间. 单线态氧具有一定的细胞毒性, 但该研究认为, 单线态氧在水溶液中的寿命约为 3 μs, 运动路程约 268 nm, 因此几乎对注射部位的组织不会有影响. 与此同时, Zhan 等^[22] 运用光热效应原理, 用脂质体封装 TTX 和右美托咪定, 并在脂质体膜上嵌入了金纳米棒. 经 808 nm 近红外光照射后, 金纳米棒因表面等离子体共振现象而升温, 当温度升高到脂质体的相变温度时, 金纳米棒邻近的脂质双分子层发生相变, 脂质体从有序的凝胶相转变为无序的液晶相, 进而促进 TTX 和右美托咪定的释放, 即使反复使用该系统触发麻醉 5 d 也未表现明显的局部毒性作用. 尽管如此, 上述两种系统中反复触发麻醉的次数仍然有限, 尤其是若麻醉部位处于更深的组织时, 为增强触发效果需要加大辐照强度或延长照射时间, 而这样做的结果容易造成热损伤, 因此有必要对上述给药系统进行改良及优化, 使其更敏感^[20]. Zhan 等^[36] 在先前的研究基础上, 用改良的低温敏感脂质体 (low temperature sensitive liposome, LTSL) 提高脂质体-金纳米棒给药系统对 808 nm 近红外光的敏感性. LTSL 主要成分为相变温度很低的 1-棕榈酰-2-羟基-sn-甘油-3-磷酸胆碱 (MSPC), 因此, 在较弱的近红外光照射下, MSPC 即可发生相变, 形成纳米孔, TTX 得以被释放出来. 使用 LTSL 可以将近红外光照射时间缩短到 1~2 min、辐照强度降低到 272 mW/cm² 以内, 避免了近红外光对照射部位组织的毒害作用. Rwei 等^[20] 又在其原先的给药系统中加入右美托咪定脂质体, 使触发给药系统所需辐照强度减少 94%, 注射给药系统反复触发麻醉的次数增加到 9 次之多. 此外, 同时运用光热效应和光化学效应原理, 在封装 TTX 脂质体双层的同时嵌入金纳米棒和光敏剂, 可以使给药系统的光敏感性

更强, 从而降低触发给药系统所需的辐照强度、减少照射时间^[37].

3.2.2 超声波控制 TTX 释放

超声波是频率高于 20 kHz 的一种声波, 这种频率的声波超出了人类听觉的范围^[24]. 超声波已广泛用于多种临床实践, 如超声检查、泌尿系超声波碎石和超声引导下留置外周神经阻滞导管的操作等. 超声波穿透组织的能力较强, 且穿透组织过程中能量衰减较少^[2]. 用于临床成像和治疗的高频超声 (0.05~0.5 W/cm², 2~10 MHz) 没有神经毒性和肌肉毒性, 安全性较高^[38]. 超声波在药物递送领域上的应用主要跟以下几种生物物理学效应有关:

- a. 机械效应: 超声在介质中前进时因反射所产生的效应, 这种效应可引起提高细胞膜的通透性, 使脂质双分子层流动性增强^[23].
- b. 热效应: 组织由于吸收超声波的能量而产生热量, 引起组织温度轻度升高^[39]. 热效应可以增加膜脂的通透性, 加大作用部位的血流量, 促进药物渗透神经表面^[23].
- c. 空化效应^[39]: 空化效应指液体中的微小气泡在超声作用下发生震荡、膨胀及内爆等一系列过程. 微气泡在较低声压作用下围绕其平衡半径进行重复振荡而不破裂称为非惯性空化; 微气泡在高声压下剧烈震荡、膨胀及崩塌称为惯性空化. 惯性空化会产生自由基、极高的压力和温度、高速微束流及高速微射流, 可明显增强细胞膜的通透性, 推动物质跨越生物屏障, 也可使得内皮细胞间隙增宽, 甚至引起细胞分裂功能改变、细胞超微结构改变及细胞溶解等.
- d. 声孔效应^[40]: 超声波的惯性空化效应所产生的自由基、冲击波、微射流及局部巨大的剪切应力共同作用使得细胞膜上产生可逆或不可逆的小孔, 可以增加细胞膜的通透性. 使用超声作为触发药物释放的外部能源为非侵入性疗法, 具有广阔的应用前景.

Rwei 等^[23] 开发了超声波触发的脂质体麻醉剂配方, 用脂质体包载声敏剂原卟啉 IX (protoporphyrin IX, PPIX) 和 TTX. PPIX 为血红素生物合成的中间体, 在超声 (3 W/cm², 1 MHz) 作用下 PPIX 产生的 ROS 可过氧化脂质体膜的不饱和磷脂, 扰乱脂质体双分子层结构, 从而释放麻醉剂 TTX. 超声致使 PPIX 产生 ROS 的机制有两点^[23]: a. 超声波空化效应可进而产生“声致发光”现象 (sonoluminescence), 继发产生的光可激发 PPIX 产生 ROS; b. 超声波惯性空化效应下微气泡破裂崩溃并伴随着 ROS 的产生. 将上述 TTX 脂质

体和右美托咪定脂质体共同注射到大鼠坐骨神经处,产生时长为 (34.5 ± 5.0) h的初始麻醉效果,且后续经超声触发可反复产生4次麻醉效果^[23].通过调节超声触发强度、持续时间及间隔时间可以控制麻醉效果^[23].该研究还发现包载PPIX的脂质体(Lipo-PPIX)弹性模量(elastic modulus)高于空载脂质体,这可能是由于PPIX增强脂质双分子层内部的疏水作用,降低了脂质体的流动性,从而稳定脂质体.超声波具有机械效应,可使脂质体结构变得更不稳定.PPIX的存在会使得超声波机械效应更难引发TTX释放,起到了缓释的作用.因此,该团队认为此研究所涉及的机制更可能是超声波的空化效应.当然,此给药系统仍存在不足之处,如超声刺激的药物释放次数较少、对应的麻醉持续时间也较短等^[23].

今后优化远程触发给药系统的研究应更关注如何增加给药系统经外部能源触发而释放药物的次数,延长每次触发所产生神经阻滞的持续时间,满足需较长时间镇痛患者的需求.另外,现有的TTX远程触发给药系统往往同时导致运动阻滞和感觉阻滞,这可能限制患者的运动功能,今后的研究应注意调整麻醉药配方以实现特异性阻滞^[2].

3.3 超声增强TTX局部麻醉效果

高频超声(>1 MHz)可帮助药物渗透生物屏障,安全性较高^[24].Cullion等^[41]研究高频低声强的超声($0.001\ 6\ \text{W}/\text{cm}^2$, 1 MHz)联合微泡技术是否可增强TTX的局部麻醉效果,结果表明,单独使用高频低声强的超声并不能增强TTX的神经阻滞效果,但当超声联合微泡技术时,可延长TTX的麻醉作用时间约3倍,并提高TTX的麻醉有效性.微泡技术的应用增加了空化核数量,降低了空化阈值^[42].在超声作用下,微泡破裂产生的空化效应、微束流及声孔效应等增加了脂膜的通透性,促进TTX渗透外周神经轴突周围的生物屏障^[9],从而达到麻醉效果.Cullion团队注意到,与单独使用TTX相比,超声联合微泡与TTX的全身毒性增加有关,并认为可能是超声联合微泡促进了TTX的全身分布^[41].Cullion等^[9]进一步探索不同声强的1 MHz超声对TTX的坐骨神经阻滞效果的影响.研究结果表明,单独使用 $0.5\ \text{W}/\text{cm}^2$ 的1 MHz超声即可延长TTX的坐骨神经阻滞时间,与 $0.5\ \text{W}/\text{cm}^2$ 超声联合微泡所产生的延长局麻效果无统计学差异.另外,与使用 $0.5\ \text{W}/\text{cm}^2$ 超声相比, $3\ \text{W}/\text{cm}^2$ 超声不仅无法再加大TTX的局麻效果,反而增强了

TTX的全身毒性作用^[9].值得注意的是, $0.5\ \text{W}/\text{cm}^2$ 的1 MHz超声也与全身毒性作用增加有关^[9],这可能是超声波的热效应增加了作用部位的局部血流量,从而加快了TTX的全身吸收所导致.总之,单独使用超声或超声联合微泡技术虽可增强TTX的局部麻醉效果,也不引起明显的局部组织损伤,但与之相关的全身毒性增加问题值得进一步研究,探索解决的途径.

4 总结与展望

TTX是自然界最奇特的分子之一,其作用靶点特异性极高,是 $\text{Na}_v1.1\sim\text{Na}_v1.3$ 、 $\text{Na}_v1.6$ 和 $\text{Na}_v1.7$ 的高效阻断剂.阻断这些电压门控钠离子通道亚型正是开发局部麻醉药的关键靶点.此外,TTX没有氨基酯类和氨基酰胺类等局部麻醉药存在的副作用,具有强大的局部麻醉作用.尽管如此,TTX在临床上的使用和推广依然受到限制,究其原因不是它的作用靶点特异性问题,而是它的全身毒性作用^[5].为克服此不足,研究者近年不断寻求TTX局部麻醉应用中可联合应用的辅助药物、设法对TTX进行化学修饰、设计TTX缓释及控释给药系统以控制TTX全身毒性(图1),已取得许多可观的实验结果,期盼不久有TTX药物获批上市.

加拿大威克斯医药公司、哈佛大学医学院的Kohane教授团队等早在21世纪初即开展大量TTX用作局部麻醉药的临床前试验工作,TocudinTM正是威克斯医药公司开发的用作局部麻醉药的一种TTX制剂^[43].可惜TTX用作局部麻醉用途的临床试验工作一直未得到推进.可喜的是,治疗癌痛及化疗所导致的神经病理性疼痛等的商品名为HalneuroneTM的TTX临床级制剂在美国和加拿大完成了II期和III期临床试验^[44],治疗阿片类戒断综合征的商品名为TetrodinTM的TTX临床制剂已经在中国完成了II期临床试验^[43].最近威克斯医药公司在健康受试者中开展的一项临床I期试验结果表明,皮下注射TTX镇痛针剂的安全性、耐受性良好,无致心律失常倾向.少数受试者仅出现轻微的感觉异常、恶心和头痛等不良反应^[45].TTX用作镇痛药时临床试验的给药途径为皮下注射,虽然与TTX用作局部麻醉药的给药途径有很大不同,却不乏启发和借鉴之处.可见,开展TTX用于局部麻醉的临床试验任重道远又迫在眉睫.由于TTX的高毒性让许多新药开发者和临床工作者望而却步,国

内外医药研发公司也担心 TTX 原料来源供不应求, 不愿承担 TTX 新药开发的风险. 的确, TTX 的天然提纯产量极低、价格昂贵, 为此中洋生物科技 (上海) 股份有限公司正努力突破规模化提纯的瓶颈; 虽然已有研究团队成功实现了 TTX 的化学合成^[6], 但 TTX 的供给仍难以满足现实需求, 这在极大程度上成为限制 TTX 能否进一步被开发用作临床药物的关键^[4].

针对目前 TTX 新药开发所处的窘境, 笔者提出以下几个观点: a. TTX 的全身毒性作用与单方应用密切相关; 另外, 由于 TTX 的全身毒性作用与动物体重有关, 有文献预期, 目前取得的 TTX 局部麻醉研究成果一旦应用到人类, 所产生的麻醉时间可能更长, 治疗指数有望得到提高^[1, 19]; 值得注意的是, 局部应用 TTX 的有效剂量却跟动物体重无关, TTX 仅仅需要跨越外周神经保护性组织即可发挥效力^[5]. 因此需要更多的研究去进一步寻找安全的 TTX 局部麻醉配方, 研发 TTX 缓释、控释及化学修饰等相关技术, 从而达到延长局部麻醉作用时间及最大程度降低 TTX 全身毒性的目的. 当然 TTX 的解毒研究也应该得到同步推进. b. 目前 TTX 的来源主要是天然提取途径, 尽管本团队已成功优化小规模提取和纯化 TTX, 但工艺仍有待完善和优化, 亟需做中试、放大的努力和尝试. 此外, TTX 的化学合成和生物合成也是学界需要共同努力攻克的问题. 因此研究者需开展大规模的研究以丰富 TTX 的来源, 降低 TTX 的生产成本, 从而消除新药开发领域对 TTX 来源的顾虑, 加快 TTX 商品化进程. c. 医药开发史上, 不乏一些“反毒为药”的经典例子. 比如肉毒杆菌所分泌的肉毒素, 最先以最剧毒物著称, 但由于肉毒素可抑制胆碱能神经末梢释放乙酰胆碱, 导致肌肉松弛型麻痹, 医学界用其治疗斜视、眼睑痉挛及颈肌张力障碍等, 而美容界则用其消除皱纹. 又如原始土著人用箭毒狩猎或者作战. 箭毒是一组有毒生物碱, 是临床肌松药如箭筒毒碱、泮库溴铵的药物基础, 可竞争性地结合乙酰胆碱受体, 松弛肌肉. 这些例子说明, 经过学界的共同努力后, 相信再强的剧毒也可以被“驯服”成为造福人类的良药. 将 TTX 应用到临床可降低局部麻醉风险、改善术后患者的康复体验和提高慢性疼痛患者生活质量等. 更重要是, TTX 有望解决阿片类滥用这个严重的全球性公共卫生问题.

参 考 文 献

- [1] Zhao C, Liu A, Santamaria C M, *et al.* Polymer-tetrodotoxin conjugates to induce prolonged duration local anesthesia with minimal toxicity. *Nat Commun*, 2019, **10**(1): 2566
- [2] Cullion K, Kohane D S. Externally triggered patient-controlled local anesthesia. *Pain Manag*, 2018, **8**(5): 313-315
- [3] King C H, Beutler S S, Kaye A D, *et al.* Pharmacologic properties of novel local anesthetic agents in anesthesia practice. *Anesthesiology Clinics*, 2017, **35**(2): 315-325
- [4] Lago J, Rodriguez L P, Blanco L, *et al.* Tetrodotoxin, an extremely potent marine neurotoxin: distribution, toxicity, origin and therapeutical uses. *Mar Drugs*, 2015, **13**(10): 6384-6406
- [5] Melnikova D, Khotimchenko Y, Magarlamov T. Addressing the issue of tetrodotoxin targeting. *Marine Drugs*, 2018, **16**(10): 352
- [6] Makarova M, Rycek L, Hajicek J, *et al.* Tetrodotoxin: history, biology, and synthesis. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2019, **58**(51): 18338-18387
- [7] Abal P, Louzao M C, Antelo A, *et al.* Acute oral toxicity of tetrodotoxin in mice: determination of lethal dose 50 (LD50) and no observed adverse effect level (NOAEL). *Toxins (Basel)*, 2017, **9**(3): 75
- [8] Berde C B, Athiraman U, Yahalom B, *et al.* Tetrodotoxin-bupivacaine-epinephrine combinations for prolonged local anesthesia. *Mar Drugs*, 2011, **9**(12): 2717-2728
- [9] Cullion K, Petishnok L C, Sun T, *et al.* Local anesthesia enhanced with increasing high-frequency ultrasound intensity. *Drug Deliv Transl Res*, 2020, **10**(5): 1507-1516
- [10] Barletta M, Reed R. Local Anesthetics: pharmacology and special preparations. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 2019, **49**(6): 1109-1125
- [11] Verlinde M, Hollmann M W, Stevens M F, *et al.* Local anesthetic-induced neurotoxicity. *Int J Mol Sci*, 2016, **17**(3): 339
- [12] Kohane D S, Kuang Y, Lu N T, *et al.* Vanilloid receptor agonists potentiate the *in vivo* local anesthetic activity of percutaneously injected site 1 sodium channel blockers. *Anesthesiology*, 1999, **90**(2): 524-534
- [13] Sekimoto K, Tobe M, Saito S. Local anesthetic toxicity: acute and chronic management. *Acute Med Surg*, 2017, **4**(2): 152-160
- [14] Lirk P, Hollmann M W, Strichartz G. The science of local anesthesia: basic research, clinical application, and future directions. *Anesth Analg*, 2018, **126**(4): 1381-1392
- [15] Lirk P, Picardi S, Hollmann M W. Local anaesthetics: 10 essentials. *Eur J Anaesthesiol*, 2014, **31**(11): 575-585
- [16] Dickerson D M, Apfelbaum J L. Local anesthetic systemic toxicity. *Aesthet Surg J*, 2014, **34**(7): 1111-1119
- [17] Shichor I, Shomron N, Lawlor M W, *et al.* Toxicogenomic analysis of a sustained release local anesthetic delivery system. *Biomaterials*, 2012, **33**(13): 3586-3593
- [18] Wang L, Shankarappa S A, Tong R, *et al.* Topical drug formulations for prolonged corneal anesthesia. *Cornea*, 2013,

- 32(7): 1040-1045
- [19] Santamaria C M, Zhan C, McAlvin J B, *et al.* Tetrodotoxin, epinephrine, and chemical permeation enhancer combinations in peripheral nerve blockade. *Anesthesia & Analgesia*, 2017, **124**(6): 1804-1812
- [20] Rwei A Y, Zhan C, Wang B, *et al.* Multiply repeatable and adjustable on-demand phototriggered local anesthesia. *Journal of Controlled Release*, 2017, **251**: 68-74
- [21] Zhan C, Santamaria C M, Wang W, *et al.* Long-acting liposomal corneal anesthetics. *Biomaterials*, 2018, **181**: 372-377
- [22] Zhan C, Wang W, McAlvin J B, *et al.* Phototriggered local anesthesia. *Nano Lett*, 2016, **16**(1): 177-181
- [23] Rwei A Y, Paris J L, Wang B, *et al.* Ultrasound-triggered local anaesthesia. *Nat Biomed Eng*, 2017, **1**: 644-653
- [24] Yang R, Wei T, Goldberg H, *et al.* Getting drugs across biological barriers. *Advanced Materials*, 2017, **29**(37): 1606596
- [25] Simons E J, Bellas E, Lawlor M W, *et al.* Effect of chemical permeation enhancers on nerve blockade. *Molecular Pharmaceutics*, 2008, **6**(1): 265-273
- [26] Ekladious I, Colson Y L, Grinstaff M W. Polymer-drug conjugate therapeutics: advances, insights and prospects. *Nat Rev Drug Discov*, 2019, **18**(4): 273-294
- [27] Talbot S, Abdulnour R E, Burkett P R, *et al.* Silencing nociceptor neurons reduces allergic airway inflammation. *Neuron*, 2015, **87**(2): 341-354
- [28] Hu Y, Yu X, Yu S. QX-314 inhibits acid-induced activation of esophageal nociceptive C fiber neurons. *Neurogastroenterol Motil*, 2019, **31**(4): e13543
- [29] Shomorony A, Santamaria C M, Zhao C, *et al.* Prolonged duration local anesthesia by combined delivery of capsaicin- and tetrodotoxin-loaded liposomes. *Anesth Analg*, 2019, **129**(3): 709-717
- [30] Jastrzembski B G, Shah A S. Microparticle drug delivery in ophthalmology. *Int Ophthalmol Clin*, 2017, **57**(4): 129-136
- [31] McClements D J. Advances in nanoparticle and microparticle delivery systems for increasing the dispersibility, stability, and bioactivity of phytochemicals. *Biotechnology Advances*, 2020, **38**: 107287
- [32] Rwei A Y, Lee J J, Zhan C, *et al.* Repeatable and adjustable on-demand sciatic nerve block with phototriggerable liposomes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, **112**(51): 15719-15724
- [33] Rwei A Y, Wang W, Kohane D S. Photoresponsive nanoparticles for drug delivery. *Nano Today*, 2015, **10**(4): 451-467
- [34] Liu Q, Santamaria C M, Wei T, *et al.* Hollow silica nanoparticles penetrate the peripheral nerve and enhance the nerve blockade from tetrodotoxin. *Nano Lett*, 2018, **18**(1): 32-37
- [35] Kohane D S. Microparticles and nanoparticles for drug delivery. *Biotechnol Bioeng*, 2007, **96**(2): 203-209
- [36] Zhan C, Wang W, Santamaria C, *et al.* Ultrasensitive phototriggered local anesthesia. *Nano Letters*, 2017, **17**(2): 660-665
- [37] Rwei A Y, Wang B Y, Ji T, *et al.* Enhanced triggering of local anesthetic particles by photosensitization and photothermal effect using a common wavelength. *Nano Lett*, 2017, **17**(11): 7138-7145
- [38] Cullion K, Rwei A Y, Kohane D S. Ultrasound-triggered liposomes for on-demand local anesthesia. *Ther Deliv*, 2018, **9**(1): 5-8
- [39] Izadifar Z, Babyn P, Chapman D. Mechanical and biological effects of ultrasound: a review of present knowledge. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 2017, **43**(6): 1085-1104
- [40] Frenkel V. Ultrasound mediated delivery of drugs and genes to solid tumors. *Adv Drug Deliv Rev*, 2008, **60**(10): 1193-1208
- [41] Cullion K, Santamaria C M, Zhan C, *et al.* High-frequency, low-intensity ultrasound and microbubbles enhance nerve blockade. *J Control Release*, 2018, **276**: 150-156
- [42] Petit B, Bohren Y, Gaud E, *et al.* Sonothrombolysis: the contribution of stable and inertial cavitation to clot lysis. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 2015, **41**(5): 1402-1410
- [43] Butler M S. Natural products to drugs: natural product derived compounds in clinical trials. *Nat Prod Rep*, 2005, **22**(2): 162-195
- [44] Hagen N A, Cantin L, Constant J, *et al.* Tetrodotoxin for moderate to severe cancer-related pain: a multicentre, randomized, double-Blind, placebo-controlled, parallel-design trial. *Pain Res Manag*, 2017, **2017**: 7212713
- [45] Kavoosi M, O'Reilly T E, Kavoosi M, *et al.* Safety, tolerability, pharmacokinetics, and concentration-QTc analysis of tetrodotoxin: a randomized, dose escalation study in healthy adults. *Toxins (Basel)*, 2020, **12**(8): 511

From Poison to Potion: New Progress in Precise Control of Tetrodotoxin as a Local Anesthetic*

LI Hui-Dong¹⁾, CHU Zhi-Yong²⁾, QIAN Xiao-Ming²⁾, LONG Cheng^{1,3)**}

¹⁾*School of Life Sciences, South China Normal University, Guangzhou 510631, China;*

²⁾*Zhongyang Biotechnology (Shanghai) Co. Ltd, Shanghai 200002, China;*

³⁾*South China Normal University-Panyu Central Hospital Joint Laboratory of Translational Medical Research, Panyu Central Hospital, Guangzhou 511400, China)*

Abstract Tetrodotoxin (TTX), a highly specific voltage-gated sodium channel blocker, is a deadly toxin but a valuable tool for life science research such as neurobiology and physiology. It provides a long nerve blockade without cardiovascular toxicity and is unable to penetrate the blood-brain barrier, making it an attractive candidate for local anesthetics. At present, conventional amino amide and amino ester local anesthetics are the mainstay in clinical practices such as local anesthesia, postoperative analgesia and cancer pain treatment. However, conventional local anesthetics have a relatively short action time and may cause systemic side effects in cardiovascular and nervous systems. To overcome these limitations, it is necessary to develop local anesthetics with long-lasting effect and high safety. The efficacy of TTX has been confirmed by clinical trials for patients with neuropathic pain, cancer pain and drug withdrawal syndrome. However, TTX is still limited in clinical application due to its systemic toxicity and scarcity of sources. The overdose of TTX can lead to mild suppression of motor and sensory functions, blood pressure changes and even respiratory muscle paralysis. Fortunately, researches are increasingly dedicated to improving the safety and efficacy of TTX. TTX has the potential to be a new type of anesthetic to replace amino esters and amino amides, without the abusability of opioids. TTX might be converted into a “potion” when used in tandem with vasoconstrictors, local anesthetics, polymer-drug conjugate and chemical permeation enhancers or when encapsulated with microparticles, liposomes, nanoparticles and other microparticle drug delivery systems (MDDS). Better results can be obtained by combining MDDS-TTX and external trigger energy (such as near-infrared light and ultrasound). These combinations produce repeatable and adjustable on-demand anesthesia, enabling patients to control the timing, intensity and duration of nerve block in a safe and non-invasive manner. This review summarizes the research progress of TTX adjuvant drugs, TTX sustained- and controlled-delivery systems, TTX modification techniques, and aims to provide reference for the development of new local anesthetic drugs and exploration of new ideas.

Key words tetrodotoxin, local anesthesia, voltage-gated sodium channel, drug delivery system, chemical modification

DOI: 10.16476/j.pibb.2020.0454

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (31871170) and The Guangdong Natural Science Foundation for Major Cultivation Project (201813030332001) .

** Corresponding author.

Tel: 86-20-85211372, E-mail: longcheng@m.scn.edu.cn

Received: December 31, 2020 Accepted: March 3, 2021