

· 工业药学 ·

靶向抗肿瘤白蛋白微球的释放特性研究

II. 加热固化对微球释药的影响

浙江医学科学院药物研究所 钟建平 陈国神 潘兆幸*

提 要 本实验对不同固化温度和固化时间制备的CPT白蛋白微球的体外释放特性作了研究。CPT微球释药至50%左右, 呈现零级释放规律。升高固化温度或延长固化时间, 均可降低白蛋白微球的释药速度, 这种方法可用于控制CPT白蛋白微球的释出速率。

在肿瘤化疗中, 用白蛋白微球(Albumin Microspheres)作为抗肿瘤药物载体可使药物选择性地向肿瘤组织集中, 并以一定速度释放药物, 若用白蛋白微球对肿瘤部位动脉进行超选择栓塞(TAE), 还可阻断肿瘤的营养, 结果能有效地杀伤肿瘤细胞和提高抗肿瘤药物的治疗指数。白蛋白微球与生物组织有较好的相容性, 不会引起变态反应, 可生物降解至完全吸收, 在机体内不留下永久性的贮存异物, 这对重复多次使用白蛋白微球治疗是有利的^[1]。

白蛋白微球制备方法的不同及所载药物的理化性质不同, 都会影响微球的释药特性。不同加热固化条件制备的白蛋白微球, 因白蛋白的变性程度不同, 可改变微球的释药速率。本文将对不同固化条件制备的CPT白蛋白微球的体外释放特性及其机制进行探讨, 并建立CPT微球的释药与时间的函数关系。

实验部分

一、药品、材料与仪器

实验所用药品、材料及仪器在对CPT白蛋白微球的体外释放条件进行选择时已报

道^[2]。所用释放介质为30%乙醇液(简称1*液)和10%乙醇磷酸缓冲液(pH7.4)(简称2*液), 微孔膜为直径0.8 μ m的醋酸纤维膜。实验所用化学试剂均为分析纯。

二、方法

1. CPT白蛋白微球制备^[3]

在35%白蛋白水溶液1.0ml中加入微粉化的CPT原料药35mg, 在花生油中乳化后, 分别以120 $^{\circ}$ C、15min; 170 $^{\circ}$ C、15min; 170 $^{\circ}$ C、60min固化制备CPT白蛋白微球(45 \pm 10 μ m)用于体外释放试验。

2. CPT白蛋白微球的含药量测定^[4]

精称CPT微球和不含CPT的空白球约20mg, 加入0.1N NaOH溶液12ml, 置沸水浴中消解至澄明后, 转移至100ml容量瓶中, 加蒸馏水稀释至刻度。同法制作CPT标准对照液。测定时, 以不含药物的白蛋白微球消解液作为空白对照, 于波长254nm处测定CPT微球消解液的消光值, 与CPT标准液对照, 计算微球含药量。

3. CPT标准曲线制作

用1*液、2*液制作CPT标准曲线, 浓度从1 μ g/ml至20 μ g/ml呈线性关系, 结果见表1、表2。

* 浙江医科大学药学系87年毕业实习生

表1 1*液中不同浓度CPT的消光值测定

C(μg/ml)	1	2	4	6	8	10
A	0.067	0.134	0.249	0.381	0.515	0.630

C(μg/ml)	12	14	16	18	20
A	0.757	0.873	0.107	1.126	1.254

标准曲线回归方程:

$$A = 0.0057 + 0.0625C \quad (r = 0.9999)$$

表2 2*液中不同浓度CPT的消光值测定

C(μg/ml)	1	2	4	6	8	10
A	0.074	0.147	0.299	0.442	0.597	0.746

C(μg/ml)	12	14	16	18	20
A	0.893	1.036	1.182	1.321	1.475

标准曲线回归方程:

$$A = 0.0046 + 0.0735C \quad (r = 0.9999)$$

4. CPT白蛋白微球的溶出试验

精秤约20mg CPT微球置释放下室并注入3ml释放介质并加盖经过夜漂洗的醋酸纤维膜(膜与释放介质之间应不存有空气)和释放上室, 密闭后往上室加入35ml的同种释放介质, 同法以不含CPT的白蛋白微球作为空白释放对照试验。释放池放入37℃恒温水浴振荡器中以50rpm平行振摇, 每次取样时将释放上室的释放液全部取出并补充35ml释放介质。释放液于波长254nm处测定消光值, 从上述标准曲线回归方程计算其释药量。为防止CPT的氧化分解, 整个释放过程应避光进行。

结果与讨论

作者通过对CPT白蛋白微球制备工艺的研究表明CPT的热稳定性好^[3], 因此对CPT白蛋白微球采用加热固化的方法进行制备。这种方法与化学固化法相比操作简单, 成本低, 微球污染的机会少, 固化程度易控制, 适于工业化生产。但是固化温度超过180℃, 白蛋白微球的色泽明显加深且脆化, 为此对微球固化温度控制在170℃以下。试验用CPT微球的含药量为10%左右。

药物自白蛋白微球的释放机制是很复杂的, 通常微球的释药速率由以下三方面决定^[5]: ①微球所载药物在释放介质中的溶解度, ②药物在微球中所处的物理状态, ③药物与微球的亲和力。已有的实验报道表明白蛋白微球释药与时间的函数关系主要符合下列三种公式:

1. Higuchi's方程^[6]

$$(Q_0 - Q) = Q_0 - K\sqrt{t} \quad (1)$$

即微球释药与时间的平方根成正比。式中 Q_0 为释放开始时的微球含药量, Q 为药物释放量, K 为释放常数, t 为释放时间。

2. 一级速率方程^[7,8]

$$(Q_0 - Q) = Q_0 \cdot e^{-kt} \quad (2)$$

$$\text{或 } \ln(Q_0 - Q) = \ln Q_0 - Kt \quad (3)$$

即释药时, 微球所含药量的对数与时间成反比。

3. 零级速率方程^[6,8]

根据Fick's第一定律

$$\begin{aligned} d(Q_0 - Q)/dt \\ = -D_{eff} \cdot S(C_m - C)/h \end{aligned} \quad (4)$$

式中 D_{eff} 为药物在微球中的扩散系数, S 为微球的释药面积, C 为时间 t 时药物在释放介质中的浓度, C_m 为微球内的药物浓度, h 为微球扩散层厚度。当 $C_m \gg C$ 时, 可视 $C_m - C \sim C_m$, 此时若将 $D_{eff} \cdot S \cdot C_m/h$ 作常数 K_0 处理, (4)式可简化为下式

$$d(Q_0 - Q)/dt = -K_0 \quad (5)$$

$$\text{或 } (Q_0 - Q) = Q_0 - K_0 t \quad (6)$$

即微球释药与时间成正比。

不同加热固化时间制备的CPT白蛋白微球在1*液中的释放特性及与时间的函数关系见图1。

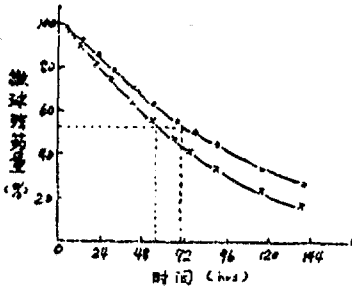


图1 CPT微球于1*液中的释放曲线(n=3)

(●) 170°C、60min 固化微球

微球残药量(%) = $103.23e^{-0.0004t}$ ($r = 0.9984$)

(×) 170°C、15min 固化微球

微球残药量(%) = $109.28e^{-0.0124t}$ ($r = 0.9982$)

从图1可知,170°C、15min固化的微球其释药速度快于170°C、60min固化微球,微球释药量小于50%左右时,其释放曲线均有比较好的线性关系,微球经144hrs的释药量分别为81.0%和72.0%,释药量与时间的函数关系可由(2)式或(3)式表示。

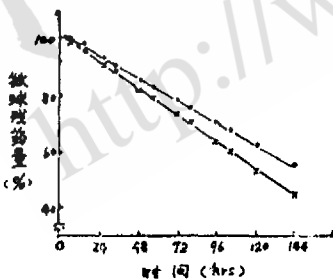


图2 CPT微球于2*液中的释放曲线(n=3)

(●) 170°C、15min 固化微球

微球残药量(%) = $99.55 - 0.3152t$ ($r = 0.9996$)

(×) 120°C、15min 固化微球

微球残药量(%) = $100.07 - 0.3636t$ ($r = 0.9997$)

不同固化温度制备的CPT白蛋白微球在2*液中的释放特性及函数关系见图2。

从图2结果可知,二种不同固化温度的微球其释药速度是120°C、15min固化微球快于170°C、15min固化微球,它们经144hrs的释药量分别为52.2%和45.0%,整个释放呈现零级过程,释药量与时间的函数关系可由(6)式描述。

根据Fick's第一定律,微球呈现零级释放过程,需满足下列条件: $C_m \gg C$ 和 $D_{eff} \cdot S \cdot C_m/h$ 为常数。由于微球释药过程处于漏槽状态,可视 $C_m \gg C$,文献报道^[6]白蛋白微球在释放时会被水化而引起微球扩散层厚度(h)增加,但另一方面药物溶出使微球孔隙率及释放表面增加、扭曲度下降,结果使 $D_{eff} \cdot S$ 增大,若这两方面的变化对微球释药的影响能基本抵消,则 $D_{eff} \cdot S \cdot C_m/h$ 可视作常数,整个释放就呈现恒速过程,即零级释放。当微球释药量超出50%左右时,白蛋白微球的结构变化对其释药的影响若不能相互抵消,释放过程将会向非零级转化(见图1)。

从图1、图2、结果来看,CPT微球的释放初始阶段的“爆破效应(burst effect)”不很明显,可能是吸附在微球表面的药物较少或是因为药物微粉化原故,这一现象还有待于进一步的实验证明。

经溶解度试验^[2]表明CPT在1*液和2*液中的溶解度相近,但在释放时,CPT微球在1*液中的释药量明显大于2*液,这可能是因1*液中的乙醇含量较高所致,据报道乙醇具有促进药物扩散和渗透的作用^[9]。

实验结果表明,提高微球固化温度或延长固化时间可延缓白蛋白微球的释药量,其原因可能是微球在释药时有一个不断水化的过程,而水化的速度,直接影响药物的释放速率^[10]。如果固化时间长,温度高,微球水化所需时间就长,因而微球的释药速率也

就缓慢。因此,在实际应用时,可根据需要采用这种固化方法来控制 CPT 白蛋白微球的释药速度。

CPT 白蛋白微球的动物模型试验正在进行中。

参 考 文 献

- [1] Fujimoto S et al: Cancer 1985; 55:522.
- [2] 钟建平等: 现代应用药学, 1988; 5(1):24.
- [3] 陈国神等: 现代应用药学1987; 4(1):27.
- [4] Koamer PA et al: J Pharm Sci 1974;

63:1646.

- [5] Pramod K et al: Int J Pharm 1986; 33:137.
- [6] Lee TK et al: Science 1981; 213:233.
- [7] Manger AD et al: Pharm Acta Helv 1986; 61:119.
- [8] Goto S et al: Chem Pharm Bull 1983; 31:256.
- [9] Mollgaard B et al: Int J Pharm 1983; 15:185.
- [10] Burger JJ et al: Int J Pharm 1985; 23:333.