

卡铂肺靶向明胶微球的实验研究

张 军 翟光喜¹ 刘世宽² (济南 250002 山东省警官医院药剂科; ¹ 济南 250012 山东大学药学院; ² 济南 250400 山东齐鲁制药厂)

摘要 目的: 研制卡铂肺靶向微球。方法: 用乳化法制备卡铂微球, 正交试验设计考察影响制备工艺的因素, 体外释药试验研究其缓释性, 以微球在家兔的体内分布初步考察其靶向性。结果: 所制备微球 88.6% 的粒径在 5~25 μm , 药物包封率为 79.2%, 8 小时体外药物累积释放百分率达 95% 并具有良好的靶向性。结论: 用乳化法制备的卡铂肺靶向微球有良好的应用研究前景。

关键词 卡铂; 微球; 明胶

Studies on gelatin microspheres loaded carboplatin for lung targeting

Zhang Jun(Zhang J), Zhai Guangxi(Zhai GX), Liu Shikuan(Liu Sk)(Shandong Police Hospital, Jinan 250002)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To investigate gelatin microspheres loaded carboplatin (C-GMS) for lung targeting. **METHOD:** C-GMS were prepared with the emulsifying method and some factors affecting the technology were analysed with the orthogonal test design. The sustained release of C-GMS was studied through the delivery test *in vitro*. Lung targeting was tested preliminarily by the distribution of C-GMS in different tissues in rabbits. **RESULTS:** The particle diameters of 88.6% C-GMS were between 5 and 25 μm , drug encapsulated ratio was 79.2%, *in vitro* the drug cumulative release ratio during 8h was 95% and the C-GMS had a good lung targeting. **CONCLUSION:** The C-GMS for lung targeting prepared through the emulsifying method would have a good exploitation.

KEY WORDS Carboplatin, Microsphere, Gelatin

卡铂(Carboplatin, C)是一种铂类抗肿瘤药,临床上主要用于治疗肺癌、卵巢癌、食道癌、头颈部癌等。为了提高肺癌的治疗效果,降低毒副作用,并能够缓释靶向给药,使药物静注后能在肺毛细血管截留维持较长的作用时间,本文对 C 的肺靶向明胶微球(C-GMS)进行了研究。

1 实验材料

1.1 药品与试剂: C(山东齐鲁制药厂,含量 99.9%);酸性明胶(上海明胶厂,等电点 pH 7~9);蓖麻油(湖南省宁乡化工厂);Span80(上海化学试剂采购供应站);氯化亚锡(上海

化学试剂采购供应站);其它试剂均为国产分析纯或化学纯。

1.2 仪器 751G 分光光度计(上海分析仪器厂);Olympus 光学显微镜(日本);JEM-1200EX 透射电子显微镜(日本);GSR-2 电子恒速搅拌机(上海医器专机厂);SHB-B95 型循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司)。

1.3 动物 家兔,体重 1.5~2kg,山东大学西校区实验动物中心提供。

2 方法与结果

2.1 C-GMS 的制备

2.1.1 C-GMS 的制备工艺^[1]

根据预试验和文献资料, 决定以蓖麻油为油相, 以 span80 为乳化剂, 基本制备工艺为: 将温度控制在 50℃ 左右, 将含 C 的明胶溶液在搅拌下缓慢加入到含有 span80 的适量蓖麻油中, 乳化一定时间形成 w/o 乳剂; 温度降至 20℃ 时加冰块保温 5~8℃, 滴加 NaOH 溶液调体系 pH 8.5 左右, 加入 37% 的甲醛溶液搅拌 30min, 3500r/min 离心 15min, 取出沉淀物以异丙醇洗涤, 干燥得到粉末状明胶微球。

空白微球系明胶溶液中不含有 C。

2.1.2 对 C-GMS 制备工艺影响因素的考察

根据文献及预试验, 对明胶微球制备过程中影响较大的因素: 明胶浓度、药物与明胶的比例、乳化时间、油相与水相的比例, 进行正交试验设计, 以筛选最佳工艺, 结果见表 1、表 2。

表 1 实验因素与水平

因素 水平	A (明胶浓度)	B (药物与明 胶比例)	C (乳化时间, min)	D (油相与水 相比例)
1	10%	0.5: 10	15	10: 1
2	20%	1.0: 10	30	15: 1
3	30%	1.5: 10	60	20: 1

表 2 正交试验设计结果分析

试验序号	A	B	C	D	Y
1	1	1	1	1	41.2
2	1	2	2	2	47.4
3	1	3	3	3	47.2
4	2	1	2	3	48.9
5	2	2	3	1	47.7
6	2	3	1	2	55.9
7	3	1	3	2	45.4
8	3	2	1	3	41.1
9	3	3	2	1	48.7
X ₁	45.3	45.2	46.1	45.9	
X ₂	50.8	45.4	48.3	49.6	
X ₃	45.1	50.6	46.8	45.7	
R	5.7	5.4	2.2	3.9	

Y 为含药微球形态、粒度、包封率、药物含量、载药量等综合评分结果。结果表明, 对制备工艺的影响 A > B > D > C, 因此选择 A₂B₃C₂D₂ 为最佳制备工艺。

2.2 C-GMS 的形态、粒径及其分布

用光学显微镜与扫描电镜观察 C-GMS, 显示微球呈球形, 粒径分布较窄、分散性好。以算术平均径(d_{av})为 C-GMS 的平均粒径, 计算公式: $d_{av} = \frac{n_1d_1 + n_2d_2 + \dots + n_nd_n}{n_1 + n_2 + \dots + n_n}$

式中 $n_1, n_2, \dots, n_n$ 为粒子数, $d_1, d_2, \dots, d_n$ 为粒径。在光镜下用测微尺测定 500 个 C-GMS, 以每隔 5μm 球径为一单元的微球个数除以总个数得微球的频率(%) 为纵坐标, 以球径

(μm) 为横坐标绘制微球的球径直方图表示粒度分布(见图 1)。测得微球的平均粒径为 15.3μm, 粒径在 5~25μm 范围内者占总数的 88.6%。

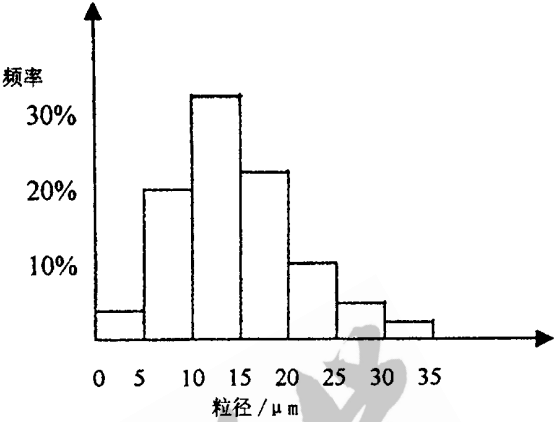


图 1 C-GMS 粒径直方图

2.3 C-GMS 的包封率、载药量与药物含量测定^[2]

2.3.1 标准曲线的制备 精密量取 100μg·mL⁻¹ 的 C 标准溶液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0mL, 分别加水稀释至 2mL, 摇匀, 加入含有氯化亚锡(1.0mol·L⁻¹) 的 1.2mol·L⁻¹ 盐酸溶液 2mL, 摇匀, 在 25℃ 条件下反应 50min, 于 392nm^[3] 处测定吸收度 A, 以 A 对药物浓度 C 进行线性回归, 得标准曲线方程为: A = 0.0221C - 0.0182, r = 0.9998。

2.3.2 微球中 C 的测定 取含药微球 0.1g, 加入 0.001mol·L⁻¹ NaOH 溶液 100mL, 37℃ 恒温水浴中振荡 24h 后, 以 0.22μm 微孔滤膜过滤, 精密吸取续滤液 3mL 置 10mL 容量瓶中, 盐酸调 pH 至 6, 加水稀释至 10mL, 取 1mL 按上述方法处理, 于 392nm 处测定吸收度, 代入标准曲线, 计算 C 的含量(同法处理空白微球其滤液作为空白对照)。

2.3.3 回收率测定 精密称取 0.1g 微球所含主药的 80%、100%、120%, 再加入相应辅料, 加 0.001mol·L⁻¹ NaOH 溶液, 同上处理, 测得平均回收率为 99.8%。

2.3.4 C-GMS 的包封率、载药量与药物含量的计算 根据测得的一定质量微球中 C 的含量按照以下公式计算, 结果见表 3。

包封率 = $\frac{\text{微球中药物量}}{\text{投入药物量}} \times 100\%$

载药量 = $\frac{\text{微球中药物量(mg)}}{\text{微球中明胶量(mg)}}$

药物含量 = $\frac{\text{微球中药物量(mg)}}{\text{微球的量(100mg)}}$

表 3 样品包封率、载药量及含量

批号	包封率 (%)	载药量 (mg/mg)	含量 (mg/100mg)
980810	78.8	0.097	8.87
980815	79.5	0.095	8.69
980820	79.3	0.097	8.84
平均值	79.2	0.096	8.80

2.4 C-GMS 体外释药试验

参照文献^[4], 采用动态透析法, 精密称取 C-GMS 0.1 g, 装入透析袋(分子量截留值为 20000)中, 置 50 ml 锥形瓶中, 加入 50 ml 蒸馏水做为释放介质, 在 37℃ 恒温水浴中振荡, 定时取样 5 ml, 同时补充等量的同温度的释放介质。样品用水稀释后, 按上述方法处理, 测定药物含量, 计算累积释药百分率(F_t), 以(F_t)对相应取样时间(t)做图, 结果见图 2。

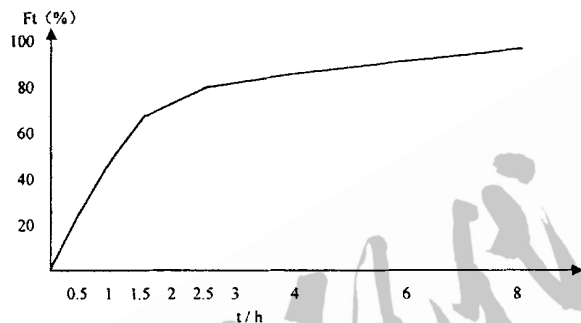


图 2 C-GMS 体外释放曲线

2.5 C-GMS 在家兔体内分布的初步观察

精密称定 C-GMS 适量, 混悬于含 0.1% 羧甲基纤维素钠的生理盐水中, 定量注入家兔耳缘静脉, 给药 15 min 后将兔处死, 按重量比例取心、肺、肝、脾、肾等, 分别置组织捣碎器中, 加纯化水 100 ml, 捣碎 15 min, 定量取样置光学显微镜下观察匀浆中微球的个数。结果表明 15 min 后匀浆中微球的个数, 肺 > 肝 > 心 > 脾与肾, 说明制备的明胶微球给药 15 min 后明显浓集于肺部, 即对肺部有明显的靶向性。

3 讨论

肺靶向微球是指静脉注射后能浓集于肺部的微球, 通常粒径为 7~25 μm , 如 Yasuhiko^[5]制得的平均球径为 14.9 μm , Kanke^[6]制得的 7~12 μm 的用^[4]Ce 标记的微球, 都可被肺部

毛细血管截留, 从而浓集于肺, 起到被动靶向的作用。本文利用乳化法制备了 C 明胶微球, 光学显微镜测得其平均球径为 15.3 μm , 其中 5~25 μm 者占总数的 88.6%, 包封率达 79% 以上, 预试验表明有良好的稳定性。经家兔体内分布的初步观察试验, 证明微球分布于肺部高于其它组织, 达到了浓集于肺部的目的。

在微球制备过程中, 蓖麻油质量稳定, 易于乳化, 并且制成的微球大小适宜, 故用做油相, span 80 作为乳化剂, 乳化效果较好。固化剂选择甲醛, 在 pH 8~9 时固化完全, 制备的微球分散性好, 较少粘连; 搅拌速度对微球的粒径有一定的影响, 由于条件限制, 采用电动搅拌的方式, 将其控制在一个相对适宜的速度, 但未深入研究其对微球质量的影响。

参考文献

- 1 陆 彬. 药物新剂型与新技术. 北京: 人民卫生出版社, 1998, 206.
- 2 路 伟, 王亮明, 李朝今. 肝素明胶微球的制备工艺研究. 中国生化药物杂志, 1998, 19(8): 136.
- 3 主 皓, 蒋雪涛, 杨悦武, 等. 白蛋白微球中卡铂的络合分光光度测定方法的研究. 药物分析杂志, 1995, 15(1): 41~43.
- 4 曾凡彬, 陆 彬, 杨 红, 等. 盐酸川穹嗪肺靶向微球的研究. 药学学报, 1996, 31(2): 132.
- 5 Yasuhiko T, Hashida M, Muranishi S, et al. Specific delivery of mitomycin to the liver, spleen and lung: macro and microspherical carriers of gelatin. Int J Pharm, 1981, 81: 131.
- 6 Kanke M, Simmons GH, Weiss DL, et al. Clearance of ^[4]Ce-labeled microspheres from blood and distribution in specific organs following intravenous and intra arterial administration in beagle dog. J Pharm Sci, 1980, 69(7): 755.