

基于白及多糖的苦参碱微球的制备

李伟泽^{1,2*}, 赵 宁^{1,2}, 陈 卓^{1,2}, 韩文霞¹, 付丽娜^{1,2},
何树苗¹, 傅文博¹, 贺升升¹, 李 健¹

(西安医学院 1. 药学院, 2. 药物研究所, 陕西 西安 710021)

摘要: 微球 (microspheres, MS) 是一种优良的经动脉化疗栓塞载体。本文以中药材白及 (*Bletilla striata*) 的天然活性成分白及多糖 (*Bletilla striata* polysaccharide, BSP) 为骨架材料, 采用乳化-交联法制备了包载苦参碱 (matrine, ME) 的白及多糖微球 (matrine loaded *Bletilla striata* polysaccharide microspheres, ME-BSPMS), 并对 ME-BSPMS 的外观形态、粒度、载药量、吸水膨胀率、悬浮性、药物包埋情况与体外释药行为等药剂学性质进行表征。研究结果显示, ME-BSPMS 在扫描电镜 (SEM) 下呈表面光滑的规整球形结构, 平均粒径为 $(85 \pm 7) \mu\text{m}$; 其在生理盐水中悬浮性良好, 且 20 min 内膨胀率达 $(53 \pm 4.2)\%$; ME-BSPMS 对 ME 的载药量为 $(30.12 \pm 3.25)\%$, 差示扫描量热仪 (DSC) 检测显示 ME 与 BSP 相容性良好, ME 能充分被包埋于微球的骨架中; 12 h 时, ME-BSPMS 在生理盐水中的体外累积释药量为 $(25.38 \pm 1.57)\%$, 显示了良好的药物缓释行为。综上, 以 BSP 为骨架材料的微球制剂可为肿瘤的经动脉化疗栓塞疗法提供一种优良的新型血管栓塞载体。

关键词: 白及多糖; 苦参碱; 经动脉化疗栓塞; 微球; 制剂性能

中图分类号: R943

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2018) 02-0284-07

Preparation of matrine loaded microspheres based on *Bletilla striata* polysaccharide

LI Wei-ze^{1,2*}, ZHAO Ning^{1,2}, CHEN Zhuo^{1,2}, HAN Wen-xia¹, FU Li-na^{1,2}, HE Shu-miao¹,
FU Wen-bo¹, HE Sheng-sheng¹, LI Jian¹

(1. School of Pharmacy, 2. Institute of Medicine, Xi'an Medical University, Xi'an 710021, China)

Abstract: Microspheres (MS) are an excellent transarterial chemoembolization carrier for cancer treatment. Then the *Bletilla striata* polysaccharide (BSP) that was isolated from the rattan of *Bletilla striata* was used as skeleton material, and the matrine (ME) loaded *Bletilla striata* polysaccharide microspheres (ME-BSPMS) were prepared by emulsify-chemical crosslinking method. ME-BSPMS was characterized for appearance shape, particle size, drug loading, swelling ratio, suspension property, drug entrapment condition and *in vitro* release characteristics. The results showed that the ME-BSPMS appeared as round spherical and smooth shape by SEM, with an average size of $(85 \pm 7) \mu\text{m}$. ME-BSPMS with a good suspension in physiological saline and the swelling ratio could reach upwards of $(53 \pm 4.2)\%$ in 20 minutes, also with a large amount of drug loading of $(30.12 \pm 3.25)\%$. The results of DSC scanning indicate that good compatibility exists between the ME and BSP, and the ME could be embedded fully in the matrix of the ME-BSPMS. The accumulation drug release from ME-BSPMS was $(25.38 \pm 1.57)\%$ at 12 h, this suggests that the ME-BSPMS has a good sustained release effect.

收稿日期: 2017-09-12; 修回日期: 2017-10-09.

基金项目: 陕西省自然科学基金面上项目 (2017JM8109, 2017JM8023); 西安医学院省级重点学科-药学资助 (1007); 西安医学院药学省级重点学科建设项目 (2016YXXX01, 2016YXXX07).

*通讯作者 Tel: 86-29-86177546, E-mail: weizeli@126.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2017-0903

These results indicate that the ME-BSPMS may be a promising transarterial chemoembolization carrier for cancer treatment.

Key words: *Bletilla striata* polysaccharide; matrine; transarterial chemoembolization; microsphere; preparation property

肿瘤是当今社会人类健康的最大威胁之一。最新文献^[1]研究表明, 肿瘤在我国已超过传染性疾病和心脑血管疾病, 成为死亡率最高的人类疾病。肿瘤的生长和转移均依赖于血管的形成, 新生血管为肿瘤组织提供营养物质, 其内皮细胞可表达多种生长因子而刺激肿瘤细胞的增殖。因此, 通过阻断肿瘤组织的血液供应而治疗肿瘤的方法被称为“肿瘤饥饿疗法”(starving tumor therapy)^[2], 该方法在 2003 年被《Science》杂志评为年度十大科学成就之一。临床上常通过栓塞剂闭塞肿瘤部位的供血动脉, 以阻断瘤区的营养与供血而实现“饥饿”肿瘤组织; 如果栓塞剂包载药物, 则可起到靶向化疗与栓塞的双重协同作用^[3, 4], 从而使瘤体组织坏死缩小, 也避免了传统给药方法存在的药物瘤体靶向作用差、药效持续时间短与毒副作用大等弊端^[5, 6]。

目前, 临床上使用的新型栓塞剂为载药微球制剂, 微球在单次影像引导下经导管动脉灌注实现其肿瘤部位的动脉递送。制备微球的常用材料为明胶、淀粉、纤维素、聚乙烯醇、海藻酸钠、聚乳酸-羟基乙酸共聚物、聚乳酸与壳聚糖类^[3, 7-9], 尽管这些材料均具有良好的生物相容性或可降解性, 但无止血与抑制新生血管生成等作用。因此, 栓塞后肿瘤部位的侧支循环再建立成为影响栓塞效果的重大因素^[10, 11]。基于此, 本文提出采用具有止血与抑制侧支循环再建立活性的功能性材料制备微球, 那么微球的栓塞效果将会进一步增强。白及多糖 (*Bletilla striata* polysaccharide, BSP) 是从中药白及 [*Bletilla striata* (Thunb.) Reichb.f.] 中提取得到的一种水溶性高分子多糖, 相对分子质量约为 1.35×10^5 , 主要由 β -葡萄糖和 α -甘露糖组成, 糖苷键型为 β 型; BSP 呈白色粉末状, 在热水中易溶解, 冷水中较难溶, 且其水溶液的黏稠度较高^[12]; BSP 还具有好的止血、抗肿瘤、抗炎、抑制血管生成与侧支循环再建立等药理作用^[13, 14]。近年来, 由于 BSP 良好的生物相容性与可生物降解性而作为一种新型医用高分子材料, 得到广泛研究与应用。苦参碱 (matrine, ME) 是中药苦参 (*Sophora flavescens* Air.) 的主要活性成分, 可通过作用于相关靶点而发挥抑制癌细胞增殖、诱导细胞分化和凋亡等抗肿瘤作用^[15, 16], 因此, 本文以 ME 为模型

药物, 以 BSP 为骨架材料制备栓塞微球并评价其相关药剂学性能, 以期对肿瘤的栓塞治疗提供一种新型高效的血管栓塞剂。

材料与方法

试剂与药品 ME 对照品 (中国食品药品检定研究院, 批号: 110805-200508), 苦参碱 (纯度 $\geq 98\%$, 西安小草植物科技有限责任公司); Tween-80、Span-85、环氧氯丙烷 (成都市科龙化工试剂厂); 乙二胺 (天津市北联精细化学品开发有限公司); 石油醚 (天津市河东区红岩试剂厂); 液体石蜡、异丙醇、丙酮 (天津市富宇精细化工有限公司); 白及多糖 (自制); 其他试剂均为分析纯, 水为双蒸水。14-KD 透析袋 (上海新睿生物科技有限公司)。

主要仪器 CKX31-A11RC 倒置显微镜 (日本奥林巴斯公司); Hitachi-3500 扫描电镜 (日本日立公司); Agilent-1260 高效液相色谱仪 (DAD 检测器, 美国安捷伦公司); DSC1 差式扫描量热仪 (Stare 系统, 瑞士梅特勒-托利多公司)。

苦参碱的测定 采用高效液相色谱法 (HPLC) 测定 ME 浓度。色谱柱为 C18 柱, 流动相为甲醇-水 (70:30), 检测波长 230 nm, 流速 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 进样量 20 μL 。取 ME 对照品, 精密称定后用双蒸水配制成质量浓度为 20.35、85.25、101.52、203.00 和 406.00 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 对照品溶液, 取各浓度溶液 20 μL , 注入 HPLC 中测定峰面积 (A), 以 ME 的 A 为纵坐标、浓度 (C) 为横坐标, 进行线性回归, 得到标准曲线为 $A = 11.977 C + 68.013$ ($r = 0.9997$), 线性范围 20.35~406.00 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

微球的制备

空白白及多糖微球 (BSPMS) 称取处方量的 BSP 溶于纯化水中, 制成水相; 液体石蜡、Tween-80 与 Span-85 混合均匀, 作为油相; 将水相和油相于 50°C 水浴预热, 然后将水相缓慢加入到油相, 并持续搅拌 45 min 后, 加入交联剂乙二胺-环氧氯丙烷 (3:1), 于 50°C 密闭条件下搅拌 60 min; 待体系降至室温, 石油醚稀释、静置, 弃去油相, 再用异丙醇、丙酮交替洗涤 3 次, 将所得微球用氮气流吹干, 即得。

苦参碱白及多糖微球 (ME-BSPMS) 称取处方

量的 BSP 与 ME 溶于纯化水中, 制成水相; 其余操作同上。

评价方法 微球的外观形态对于微球的流动性、悬浮性、成球率和栓塞性等均具有重要的影响^[4,8,17,18]。因此, 对微球的外观形态包括表面光滑致密、无黏连、球状圆整和粒径分布均匀等 4 项进行打分, 每项各占 2.5 分, 满分 10 分, 逐项评分后再计算综合得分 (CS), 并以 CS 为微球成型条件优化评价指标。

微球制剂处方的筛选 考察不同质量浓度 BSP (0.09、0.12、0.15、0.18、0.21 g·mL⁻¹)、水相/油相比 (1:2、1:3、1:4、1:5、1:6)、Span-85/Tween-80 比 (0.5:2.5、1.0:2.0、1.5:1.5、2.0:1.0、2.5:0.5) 和交联剂用量 (2%、4%、6%、8%、10%) 对微球外观形态的影响。

微球制备条件的优化 考察不同搅拌速度 (500、800、1000、1200、1500 r·min⁻¹)、交联固化温度 (5℃、20℃、35℃、50℃、65℃) 与交联反应时间 (30、45、60、75、90 min) 对微球外观形态的影响。

微球的药剂学性质表征

外观形态评价 取微球样品适量, 用导电胶固定后溅金, 喷金, 然后在高压条件成像, 用扫描电镜 (SEM) 观察其外观形态与表面结构特征。

粒度测定 用倒置显微镜测定 50 个微球样品的粒径, 以粒径的平均值表示微球的平均粒径。

载药量测定 取微球样品 50 mg, 精密称定后置于研钵中研成细粉, 用少量甲醇溶解后, 将其转移到 50 mL 量瓶中, 补加甲醇稀释至刻度, 超声 10 min 后过 0.45 μm 微孔滤膜, 取滤液 20 μL, 注入 HPLC 中测定 ME 含量。载药量 (DL) 按照如下公式计算: $DL = (W_d / W) \times 100\%$, 其中 W_d 为被微球包封的药量, W 为微球的质量。

吸水膨胀率与悬浮性测定 取微球样品 50 mg, 精密称定后置于 37℃ 生理盐水中振荡 30 s 后静置, 记录微球悬浮时间 (以肉眼观察完全分层为止); 并分别于 5、10、20、35 和 60 min 取出, 用滤纸拭去溶胀微球表面的水, 迅速用电子天平称其质量, 按照如下公式计算吸水膨胀率 (WSR): $WSR = (W_2 - W_1) / W_1 \times 100\%$, 其中 W_2 为吸水后微球的质量, W_1 为干燥状态微球的质量。

药物包埋情况表征 取 ME-BSPMS、BSPMS、ME 和 ME+BSPMS 混合物适量, 使用差示扫描量热仪 (DSC) 对各样品进行检测分析。检测分析条件: 扫描温度为 0~200℃, 升温速率为 20℃·min⁻¹, 测定气氛为高纯度氮气。

微球体外释药行为评价 取微球样品 250 mg, 精密称定后混悬于 25 mL 生理盐水中, 然后置于 14-kD 透析袋中, 并悬于盛有 50 mL 生理盐水的具塞三角瓶; 密闭, 于 37℃ 水浴恒温振荡, 分别于 0.5、2.0、5.0、8.0 和 12 h 取接收液 1.0 mL, 同时补加新鲜生理盐水 1.0 mL; 将样品过 0.45 μm 微孔滤膜, 取滤液 20 μL, 注入 HPLC 中测定 ME 含量; 计算各时间点的药物累积释放百分率 (F_t), 以 F_t 为纵坐标、时间 (t) 为横坐标制作释药曲线。

统计学分析 实验结果数据采用方差分析与 t -检验进行统计学分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

1 微球制剂处方的筛选

1.1 白及多糖浓度对微球外观形态的影响 BSP 是微球的骨架材料与球体成型的关键。BSP 是一种水溶性高分子多糖, 其溶于水后可形成稠厚的凝胶, 凝胶的内聚力和黏稠度与 BSP 的浓度成正相关, 也是影响液态微球在表面张力作用下收缩成圆整球体的重要因素。不同浓度 BSP 对于微球外观形态 CS 的影响如图 1A 所示, 由图可知, 随着 BSP 浓度的增加, 微球 CS 逐渐增大而后降低, 且当 BSP 质量浓度为 0.15 g·mL⁻¹ 时, 微球 CS 值达到最大, 其原因为 BSP 质量浓度低于 0.15 g·mL⁻¹ 时, 由于骨架材料不足而难于支撑微球的球体结构, 在干燥过程中易发生球体皱缩与干瘪塌陷; 而当 BSP 质量浓度高于 0.15 g·mL⁻¹ 时, 由于其分子链之间发生紧密无序“缠结”而使体系黏稠度与内聚力进一步增大^[19], 因而不宜在搅拌与表面活性剂作用下分散成微滴并收缩球形, 进而导致微球的圆整度不足、黏连与粒径分布较宽。尽管 BSP 质量浓度为 0.15 g·mL⁻¹ 时微球 CS 值高于 0.18 g·mL⁻¹, 二者之间无显著性差异 ($P > 0.05$), 但是 CS 的微小改善对于微球体系整体质量的提高至关重要。因此, 0.15 g·mL⁻¹ BSP 有利于微球的成型。

1.2 水相/油相比对微球外观形态的影响 本文采用乳化-交联法制备微球, 其中乳化过程是决定微球形态与成型的关键。由于乳剂分散系统是一个热力学和动力学均不稳定的体系, 影响乳化效果的一个重要因素就是水相/油相比。由图 1B 可知, 当水相/油相比为 1/5 时, 微球 CS 值高于水相/油相比为 1/2、1/3、1/4 时 ($P < 0.05$), 而当水相/油相比为 1/5 与 1/6 时, 二者之间无显著性差异 ($P > 0.05$)。结果表明, 当油相比例低于 1/5 时, 内水相乳滴在系统中所占比例较高、单位体积内液态微球数目较多, 加之乳化过程的

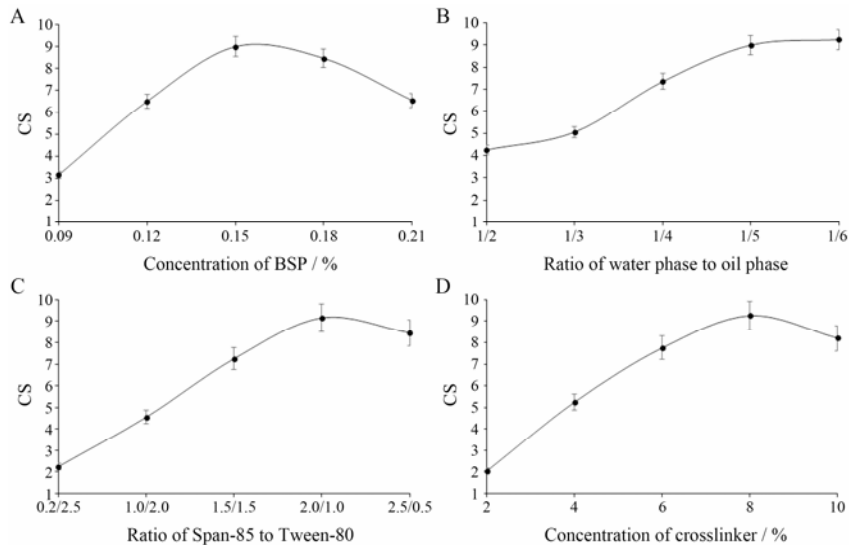


Figure 1 Effects of concentration of *Bletilla striata* polysaccharide (BSP) (A), ratio of water phase to oil phase (B), ratio of Span-85 to Tween-80 (C) and concentration of crosslinker (D) on the comprehensive score (CS) of the appearance shape of microspheres. $n=3$, $\bar{x} \pm s$

搅拌作用、乳滴本身的热力学不稳定性, 增大了液态微球乳滴间的摩擦、碰撞与聚集几率, 影响了微球的成型与外观形态; 而当油相比例高于 1/5 时, 油相在乳化体系中的比例较高, 使单位系统体积中液态微球数目减少, 因而能很好地降低/避免液态微球乳滴间的摩擦、碰撞、聚集与合并几率而提高微球的外观形态, 并有利于制剂成型。因此, 确定 1/5 为制备 ME-BSPMS 的最佳水相/油相比。

1.3 不同乳化剂比例对微球外观形态的影响 乳化过程是将 BSP 水溶液 (水相) 以微小液滴的形式分散于液体石蜡 (油相) 中, 水相由水溶液变成比表面积较大的微小液滴 (乳滴) 而分散于油相中形成 W/O 型乳剂, 由于比表面积较大, 使内水相乳滴具有较高的表面自由能而不稳定。因此, 需要表面活性剂以降低内水相乳滴的表面自由能而减少其聚合并, 增加稳定性。由图 1C 可知, 随着 Span-85 比例的增大微球 CS 值先增大后降低, 当 Span-85/Tween-80 比为 2.0 : 1.0 时, 微球 CS 值达到最大, 其原因为 Span-85 属于 W/O 型乳化剂, 随着 Span-85 比例增大能够形成利于水相乳化于油相中的 HLB 值, 且 Span-85 与 Tween-80 能够形成牢固的复合乳化剂膜而增加内水相乳滴的稳定性, 利于形成粒径均匀的液态微球乳滴并抑制其聚合并; 当 Span-85 用量进一步增大后, 其与 Tween-80 形成的复合乳化剂体系的乳化能力也进一步增强, 在乳化过程易于形成更多粒径较小的乳滴, 因而造成微球的粒径分布差异增大, 微球 CS 值降低。因此, 制备 ME-BSPMS 时选择 Span-85 与

Tween-80 比为 2.0 : 1.0 的复合乳化剂体系。

1.4 交联剂用量对微球外观形态的影响 通过乳化作用, BSP 水溶液以微小液滴的形式分散于液体石蜡中, 但此时内水相形成的液态微球是可逆的, 即在分离油相后会相互黏连、合并成团块而不形成微球, 因此, 需要通过交联固化作用以增加其稳定性。BSP 由葡萄糖和甘露糖组成, 以乙二胺-环氧氯丙烷作为交联剂, 糖分子上的羟基在乙二胺提供的碱性环境下, 使环氧氯丙烷的环氧环开环并与之形成醚键, 而后该环氧氯丙烷上的氯原子与新生的羟基关环形成新的环氧基, 这个环氧基再与另一分子的糖基开环成醚, 从而将糖分子交联并使 BSP 液态微滴固化成球、稳定性提高^[20, 21]。由图 1D 可知, 随着交联剂用量增加, 微球的 CS 逐渐增大而后降低, 且当交联剂用量为 8% 时, 微球 CS 值达到最大。这是因为当交联剂用量低于 8% 时, 微球由于交联程度不足、强度较低而易发生黏连、变形; 而当交联剂用量高于 8% 时, 则会导致微球表层局部交联过度而刚性较强, 易于发生微球表面的局部破裂 (图 2), 交联剂用量大也使交联反应速度加快, 可造成多个微球黏连特别是有微小微球存在时黏连更为严重。因此, 制备 ME-BSPMS 选择交联剂用量为 8%。

2 微球成型条件的优化

2.1 搅拌速度对微球外观形态的影响 BSP 凝胶液具有较高的黏稠度和内聚力, 在乳化过程中不易分散, 此外, BSP 凝胶液由整体变成微小液滴的乳化过程中, 体系由于表面积的急剧增大而需要提供较大

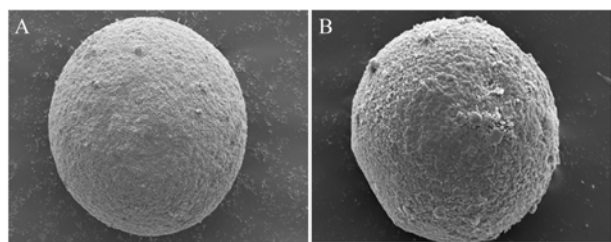


Figure 2 SEM images for matrine loaded *Blatilla striata* polysaccharide microspheres (ME-BSPMS) of different concentration of crosslinker. A: 8%; B: 10%

的能量, 搅拌速度与搅拌所提供的能量成正相关。因此, 搅拌过程的速度对于微球的成型具有重要作用。由图 3A 可知, 随着搅拌速度的增加, 微球的 CS 逐渐增大而后降低, 当搅拌速度为 $1000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 时, 微球 CS 值达到最大。当搅拌速度低于 $1000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 时, 由于搅拌速度过慢而提供的能量不足, 不利于 BSP 凝胶液的分散与乳化, 致使 BSP 多为团块状, 微球不易成型, 且圆整度不足、粒径较大; 而当搅拌速度高于 $1000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 时, BSP 凝胶液分散、乳化充分, 但增大了已分散的液态微球发生碰撞的几率, 同时, 也增大了微球和分散介质间的摩擦力而易发生变形, 造成微球黏连与圆整度降低而影响了其外观形态。因此, 选择 $1000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 为制备 ME-BSPMS 时搅拌速度。

2.2 温度对微球外观形态的影响 BSP 的分子质量较大而溶于水后形成凝胶液的黏稠度较高。特别是在低温下, 分子热运动减弱, BSP 的溶剂化作用束缚了大量水分子使自由流动的溶剂减少, 同时 BSP 分子链间的“缠结”作用加强而易发生胶凝, 进而形成“冻胶”状团块而不易分散。此外, 交联反应过程的速度也与体系的温度有关。因此, 温度对于微球的成型过程有着重要影响。由图 3B 可知, 随着体系温度的增加, 微球的 CS 逐渐增大而后降低, 当体系温度为 50°C 时, 微球 CS 值达到最大。当体系温度低于 20°C 时, 由于 BSP 凝胶液易于发生胶凝作用而黏稠度与内聚力急剧增大, 导致液态微球很难在表面张力作用下收缩成规则的球体, 且交联反应过程较为缓

慢而导致微球间易发生黏连; 当体系温度为 $35\sim 50^\circ\text{C}$ 时, 有效抑制了 BSP 凝胶液发生胶凝, 体系黏稠度降低而使分散、乳化过程易于进行, 且交联反应速度合适, 得到的微球具有良好的外观形态; 而当体系温度较高 (65°C), 使交联反应速度过快, 导致微球发生黏连, 也易使液态微球在充分交联固化前发生变形而圆整度不足。尽管 35°C 、 50°C 与 65°C 三者之间无显著性差异 ($P > 0.05$), 为了制备良好的微球, 选择 CS 值最大的体系温度即 50°C 为交联反应过程的温度。

2.3 交联反应时间对微球外观形态的影响 交联剂与 BSP 发生交联反应是一个逐渐进行的过程, 需要一定的时间, 因此, 交联反应时间对于微球成型也具有重要的影响。由图 3C 可知, 随着交联反应时间的延长, 微球的 CS 值逐渐增大并趋于稳定。当反应时间为 60 min 时, 微球 CS 值达到最大; 交联反应时间低于 60 min 时, 微球 CS 值较低, 这是由于 BSP 微球的交联程度不足而不利于微球固化成型, 也易发生变形与黏连。而当反应时间为 60 、 75 和 90 min 时, 所制备微球的 CS 值之间无显著性差异 ($P > 0.05$), 结果表明, 在本文实验条件下, 60 min 可以保障 BSP 微球发生充分的交联固化反应而具有良好的外观形态, 而继续延长交联反应的时间, 可能由于已发生交联反应的微球表层的交联固化膜的保护作用而不会对微球的外观形态造成进一步的影响。

3 微球的性能表征

3.1 微球的外观形态、粒度 苦参碱白及多糖微球 (ME-BSPMS) 在扫描电镜下呈表面光滑的规整球体结构 (图 4), 其平均粒径为 $(85 \pm 7) \mu\text{m}$ ($n=5$); 有研究表明, 大小均一且规整的微球不易堵塞动脉栓塞用微导管^[22]。

3.2 微球的载药量 微球制剂的载药量决定了药物的治疗作用, ME-BSPMS 对 ME 的载药量为 $(30.12 \pm 3.25)\%$ ($n=3$), 这可能是由于 BSP 分子质量较大、分子链较长而使微球内部的网状空隙较大, 而 ME 为小分子药物 (相对分子质量为 248.37)。因此, BSPMS

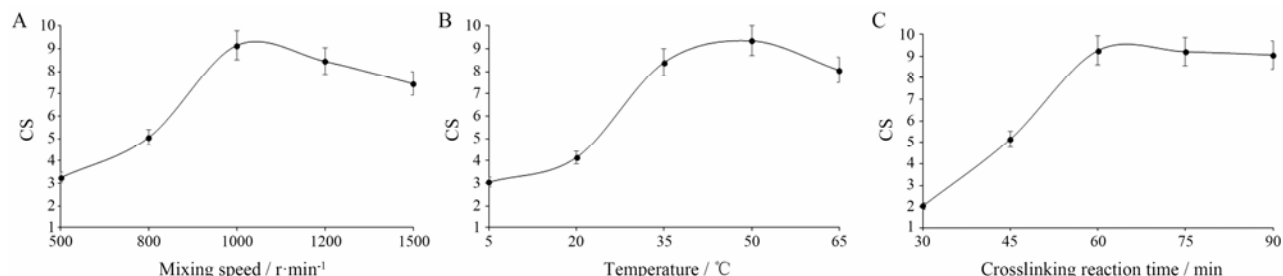


Figure 3 Effects of mixing speed (A), temperature (B) and crosslinking reaction time (C) on CS of the appearance shape of microspheres. $n=3$, $\bar{x} \pm s$

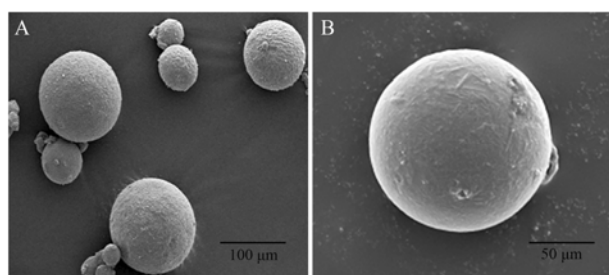


Figure 4 The SEM images for ME-BSPMS. A: ($\times 1000$); B: ($\times 10000$)

可以容纳较多的药物分子。DSC 检测显示 (图 5), 制成微球后 ME 的固有特征峰在 ME-BSPMS 中消失, 而 ME+BSPMS 则显示了 ME 的特征峰, 结果显示 ME 能够充分被包埋于 BSPMS 的空间骨架空隙中, 且二者相容性良好。

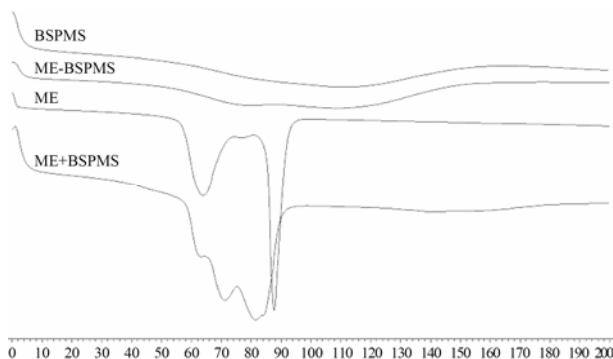


Figure 5 DSC image of BSPMS, ME, ME-BSPMS and ME+BSPMS

3.3 微球的吸水膨胀率与悬浮性 ME-BSPMS 在生理盐水中易于分散且无聚集与黏连, 悬浮时间为 2~3 min, 表明其分散悬浮性良好, 可保证微球在生理盐水中以良好的悬浮状态被注射器抽取; ME-BSPMS 在生理盐水中发生吸水后膨胀 (图 6), WSR 随着时间延长而迅速增大, 20 min 时 WSR 可达 $(53 \pm 4.2)\%$ ($n = 3$), 且溶胀前后球状外观形态无显著变化。这些性质可以使 ME-BSPMS 能够通过常规动脉穿刺而进行肿瘤动脉栓塞^[3, 23], 栓塞后再通过膨胀作用与 BSP 材料本身的止血、抑制侧支循环再建立作用而进一步提高其栓塞效果。

3.4 微球的体外释药行为 由图 7 可知, ME 从 ME-BSPMS 中随着时间延长而缓慢释放。12 h 时, ME 在生理盐水中的累积释药量为 $(25.38 \pm 1.57)\%$ ($n = 3$), 表明将药物包载于 BSPMS 后具有缓慢的释药行为, 这有利于肿瘤栓塞后而发挥长效缓释作用。BSPMS 通过与交联剂发生交联反应以及 BSP 高分子链本身相互“缠绕聚结”而形成丰富的空间网状结构, 小分

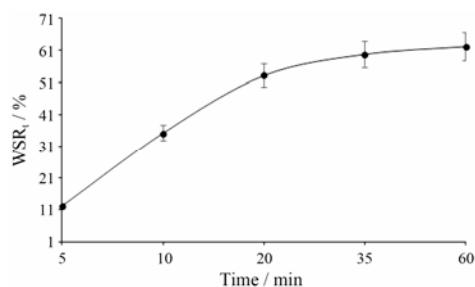


Figure 6 Water swelling ratio (WSR) of ME-BSPMS in physiological saline solution. $n = 3$, $\bar{x} \pm s$

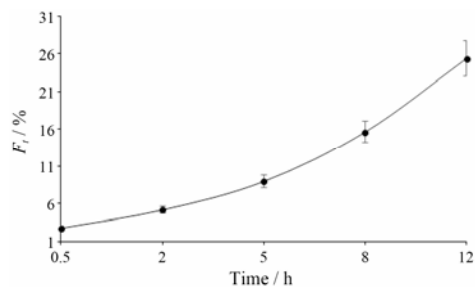


Figure 7 The permeation profiles of ME from ME-BSPMS *in vitro*. $n = 3$, $\bar{x} \pm s$. F_t : Accumulation drug release

子药物 ME 填充分布于其中, 因此, 其释放过程需要通过微球内部曲折分布的“空间网状孔道”, 使药物具有良好的缓释行为而利于肿瘤的局部靶向治疗。

讨论

经动脉化疗栓塞术是中晚期肿瘤的有效治疗方法。载药微球通过动脉递送可以起到靶向化疗与栓塞肿瘤血管的双重协同作用, 因此成为临床常用的栓塞剂。但是, 目前采用常规材料制备的微球在栓塞后难以有效抑制肿瘤新生血管生成与侧支循环再建立, 这严重影响了栓塞疗法的效果^[10, 11]。因此, 寻找制备栓塞微球的新型高分子材料具有重要的临床价值和意义。

本文以 BSP 为骨架材料用乳化-交联法制备了微球, 并以微球的外观形态为评价指标, 阐明了处方因素 (如 BSP 浓度、水/油相比、Span/Tween 比与交联剂用量) 与制备条件 (如搅拌速度、交联固化温度与时间) 对微球成型的影响规律及机制, 从而优化了 ME-BSPMS 的制备方法。ME-BSPMS 外观呈表面光滑的规整球体结构, 平均粒径为 $(85 \pm 7) \mu\text{m}$; 其在生理盐水中分散性、悬浮性与膨胀性均良好, 为通过常规动脉穿刺而实施肿瘤动脉栓塞奠定了基础。DSC 检测分析显示了 ME 与 BSP 的相容性良好, 小分子 ME 能够充分被包埋于 BSPMS 内部的空间网状骨架空隙中, 载药量可达 $(30.12 \pm 3.25)\%$; 由于药物释放

过程需要通过微球内部不规则曲折“孔道”的扩散,因此具有良好的缓释行为,这利于药物在肿瘤局部发挥长效靶向化疗作用。综上所述,本文为肿瘤经动脉化疗栓塞术,提供了一种可生物降解与有效抑制侧支循环再建立的新型肿瘤血管栓塞载体,具有一定的科学意义和广阔的应用前景。

References

- [1] Chen WQ, Zeng RS, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66: 115–132.
- [2] Wen CW, Ning DG, Liu RJ, et al. A novel target for starving tumor therapy: endocrine-gland-derived vascular endothelial growth factor [J]. *Prog Biochem Biophys (生物化学与生物物理进展)*, 2012, 39: 622–630.
- [3] Jin XF, Chen QC, Zong ZW, et al. Development of drug-eluting beads for transarterial chemoembolization [J]. *Chin J New Drug (中国新药杂志)*, 2013, 22: 2268–2273.
- [4] Li ZY, Qin XY, Guo LY, et al. Poly(acrylic acid) microspheres loaded with superparamagnetic iron oxide nanoparticles for transcatheter arterial embolization and MRI detectability: *in vitro* and *in vivo* evaluation [J]. *Int J Pharm*, 2017, 527: 31–41.
- [5] Liu D, Wang PC, Qi XR, et al. Pharmacokinetics of doxorubicin alginate microspheres and evaluation of its hepatic arterial embolization *in vivo* [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2006, 41: 778–783.
- [6] Hang LL, Wan SS. Research progress on antitumor sustained release microspheres [J]. *Pract Pharm Clin Remed (实用药物与临床)*, 2015, 18: 226–228.
- [7] Zheng CH, Liang WQ, Yu HY. Preparation of alginate-chitosan-poly (lactic-co-glycolic acid) composite microsphere and its regulation of protein release [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2005, 40: 182–186.
- [8] Del Gaudio C, Crognale V, Serino G, et al. Natural polymeric microspheres for modulated drug delivery [J]. *Mat Sci Eng C*, 2017, 75: 408–417.
- [9] Guo XH, Chen CP, Liu X, et al. High oral bioavailability of 2-methoxyestradiol in PEG-PLGA micelles-microspheres for cancer therapy [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2017, 117: 116–122.
- [10] Wang B, Xu H, Gao ZQ, et al. Increased expression of vascular endothelial growth factor in hepatocellular carcinoma after transcatheter arterial chemoembolization [J]. *Acta Radiol*, 2008, 49: 523–529.
- [11] Sun W, Zhou CW, Li CR. Application of sodium alginate microsphere embolic agent in tumor therapy [J]. *Oncol Prog (癌症进展)*, 2009, 7: 52–55.
- [12] Kong LS, Yu L, Feng T, et al. Physicochemical characterization of the polysaccharide from *Bletilla striata*: effect of drying method [J]. *Carbohydr Polym*, 2015, 125: 1–8.
- [13] Wang C, Luo WF, Li PW, et al. Preparation and evaluation of chitosan/alginate porous microspheres/*Bletilla striata* polysaccharide composite hemostatic sponges [J]. *Carbohydr Polym*, 2017, 174: 432–442.
- [14] Qu Y, Zhang C, Liao ZC, et al. Exploration on pharmaceutical applications of *Bletilla striata* polysaccharide in medical biomaterials [J]. *Pharm Clinic Chin Mater Medic (中药与临床)*, 2017, 8: 54–58.
- [15] Wang KX, Gao L, Zhou YZ, et al. Network pharmacology-based study of anti-hepatoma effects and mechanisms of matrine [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2017, 52: 888–896.
- [16] Yang YQ, Xia WT, Hu YL, et al. Application of motherwort injection promoting uterine instauration [J]. *J Chengdu Univ of TCM (成都中医药大学学报)*, 2017, 40: 123–125.
- [17] Li WY, Chen HT, Feng GS, et al. Preparation of cisplatin *Bletilla striata* microspheres and their physicochemical properties [J]. *Chin Hosp Pharm J (中国医院药学杂志)*, 2005, 25: 493–496.
- [18] Shen J, Jin B, Qi YC, et al. Carboxylated chitosan/silver-hydroxyapatite hybrid microspheres with improved antibacterial activity and cytocompatibility [J]. *Mat Sci Eng C*, 2017, 78: 589–597.
- [19] Mukherjee B, Mahapatra S, Gupta R, et al. A comparison between povidone-ethylcellulose and povidone-eudragit transdermal dexamethasone matrix patches based on *in vitro* skin permeation [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2005, 59: 475–483.
- [20] Dong YS, Liang F, Yu XY, et al. Preparation of novel magnetic dextran affinity adsorbents and their application to purify urokinase [J]. *Chin J Chromatogr (色谱)*, 2001, 19: 21–24.
- [21] Stanley FE, Warner AM, Stalcup AM. The development of an FIA-CD strategy for screening sulfated polysaccharides using antimalarial drugs and related species as probes [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2011, 399: 707–716.
- [22] Stampfl S, Bellemann N, Stampfl U, et al. Arterial distribution characteristics of embozene particles and comparison with other spherical embolic agents in the porcine acute embolization model [J]. *J Vasc Interv Radiol*, 2009, 20: 1597–1607.
- [23] Zhang Y, Deng J, Zhou Y, et al. Efficacy of embolism microspheres in hepatic arterial chemoembolization for hypovascular liver cancer [J]. *Chin J Clin Oncol Rehabil (中国肿瘤临床与康复)*, 2017, 24: 533–536.