

## · 药剂 ·

## 白蛋白微球制剂

钟延强 蒋雪涛 孙其荣  
(第二军医大学药学院 上海 200433)

**摘要** 介绍和讨论了白蛋白微球的制备方法,影响粒度和粒径分布的因素,药物包容量,释放规律及影响释放的因素,同时介绍了几种不同药物的白蛋白微球在药物导向治疗中的应用。

**关键词** 白蛋白微球;制备方法;包容量;释放规律

白蛋白微球制剂(Albumin microspheres)是人或动物血清白蛋白与药物一起制成的一种球状制剂。白蛋白微球最早用于放射医学中,六十年代,Rodes<sup>(1)(2)</sup>Zolle<sup>(3)</sup>等最先制成含 $\gamma$ 射线源的人血清白蛋白微球用于检查肺循环异常现象(直径 $5\sim 15\mu\text{m}$ ),其后 Scheffel<sup>(4)</sup>等改进制法,将含放射性物质的人血清白蛋白制成直径为 $0.25\sim 1.15\mu\text{m}$ 的微球,用以检查网状内皮系统。这种微球在大白鼠、狗或人体内试用后均证明无毒性,用药后88%微球集中在肝和脾脏,以后该技术被广泛用于研究抗癌药物制剂中<sup>(8~27)</sup>。通常白蛋白微球的大小在 $0.3\sim 200\mu\text{m}$ 之间,根据其大小临床上可用动脉栓塞注射给药或口服给药等。动脉栓塞<sup>(7)</sup>疗法是指将 $50\sim 250\mu\text{m}$ 大小的白蛋白微球直接由病灶部位的动脉注射,使其将病灶(癌变)部位的小动脉栓塞,切断肿瘤细胞营养,使肿瘤细胞生长缓慢或抑制其生长,同时由于微球中的药物从阻塞部位不断释放出来,使肿瘤组织中保持长时间的治疗浓度并尽可能减少药物在其它组织中的分布,因此可大大提高化疗药物疗效,降低毒副作用。口服或注射用白蛋白微球制剂控制其粒径大小,体内大部分被肝脏柯氏细胞,脾脏和骨髓所吞噬,这对于研制控释和靶向系统制剂是一个重要的贡献。白蛋白是体内生物降解性物质,注入肌体后,在肌体的作用下逐渐降解后消除,因此白蛋白微球剂是理

想的控缓释靶向制剂之一。

### 一、白蛋白微球的制备方法

(一)乳化法 将白蛋白水溶液和具有饱和溶解性的药物溶液加到含有适量乳化剂植物油中制成油包水型乳浊液,制得的乳浊液用超声处理,控制粒径大小使其充分分散,经处理后的乳浊液加入到预热至 $100\sim 180\text{C}$ 的油介质中使其变性凝固成稳定的微球。

稳定白蛋白微球有两种方法:(1)热变性法。将白蛋白微球转移至 $100\sim 180\text{C}$ 的介质中使之变性时间由2.5分钟至数小时不等,植物油预热温度视微球需要的硬度和药物性质而定。(2)化学交联法(化学变性法)。即用化学交联剂跟白蛋白发生交联反应使之变性,常用的凝固剂有甲醛、戊二醛、2,3-丁二酮和对苯酰氯等。

(二)聚合物分散法(悬浮技术法) 水性白蛋白溶液加到与1:1氯仿和甲苯混合的聚甲基丙烯酸甲酯内,用振荡混合器混合至一定时间使形成一定大小的微球后,加入戊二醛饱和甲苯溶液在室温下进行振荡交联5~6小时后,用氨基乙酸或2-氨基乙醇抑制游离醛基。离心所得微球依次用氯仿甲苯溶液、丙酮、水进行洗涤、干燥即得。该法可获得直径为 $3\sim 15\mu\text{m}$ 的微球,分散到水中时,不需加入表面活性剂。

(三)热变性气雾剂法 取20%(W/V)血清白蛋白溶液作为气雾剂在预热的不锈钢

泵上喷雾，通过预热的泵帽使白蛋白雾滴凝固变性成球，泵帽温度以使白蛋白不变性为度。

(四)界面缩聚法 pH9.8, 33%(W/V)

白蛋白溶液与 25% 氯仿的环己烷中混合乳化分散了的白蛋白乳滴用对苯二酰氯固化 30~90min, 用该法可以制备 200~315 $\mu$ m 大小的白蛋白微球。

二、影响白蛋白微球粒度及粒径分布的因素

影响白蛋白微球粒径及粒径分布的因素有药物浓度、白蛋白浓度、表面活性剂浓度、乳化超声功率、载体固化程度等。一般情况下，白蛋白微球粒径大小和分布取决于乳滴的特性，增加蛋白质浓度，就增大水溶液粘度，就很难使蛋白乳滴分散得更小。乳化时表面活性剂的加入会减小分散相和分散介质之间的表面能，使乳滴更好的分散，表面活性剂的用量与微球粒径之间的关系如图 1。增加水相表面活性剂浓度可减小白蛋白微球的粒径。

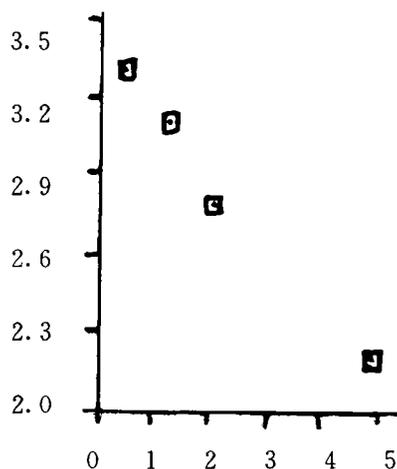


图 1 表面活性剂(吐温-20)浓度对白蛋白微球大小的影响

增加水相中药物浓度，可以改变白蛋白微球粒径大小，如药物浓度增加 2 倍，微球

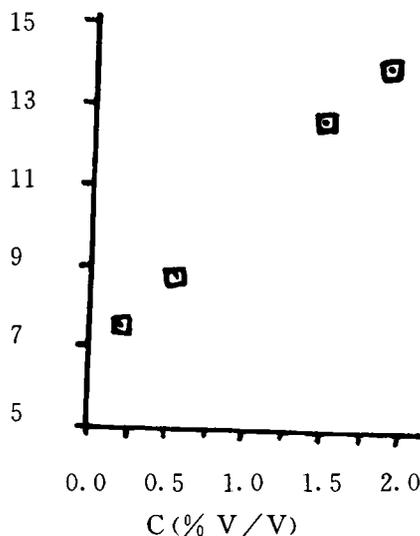


图 2 水相中色甘酸钠浓度对白蛋白微球粒径大小的影响

的粒度几乎增大 30%。图 2 是色甘酸钠水溶液浓度对白蛋白微球粒径大小的影响，随着药物浓度的提高，白蛋白微球粒径增大。

超声功率和超声时间也会影响白蛋白微球的粒径分布，尤其在稳定成球期间，增大振动频率，可以防止微球聚合和凝聚，使粒度分布均匀。Tomlinson 等人发现搅拌速度和白蛋白微球粒径之间有如下关系：微球粒径 ( $\mu$ m) = 127 - 3.81log 速度 (rpm)

白蛋白水溶液的分散能和分散时间对其粒径也有明显影响，如图 3 所示随着分散能

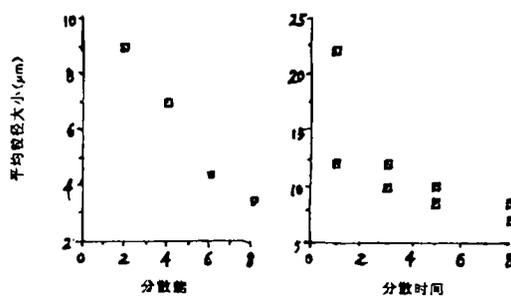


图 3 白蛋白微球分散能与分散时间对微球粒径的影响

的增加、分散时间延长，白蛋白微球粒径明显

减小。

Gallo<sup>[6]</sup>等系统研究了制备过程中白蛋白浓度、乳化时间、乳化功率、水油两相体积比以及热固定有关的变数如搅拌速度、固化温度、固化时间、乳液加到热油中的速度和微球混悬液的冷却方式等对微球粒径分布的影响,发现在以上条件固定时,不同的植物油也会影响其粒径大小。作者对不同变数实施多水平试验,结果表明,制备小而匀的微球的条件是,白蛋白浓度 500mg/ml,乳化功率 125W,乳化时间 2 分钟,水:油(V/V)0.5:30,固化温度 145℃,棉子油作油相,乳液加到热油中的速度为 40dr/min,热油转速 1500rpm,用室温冷却。

### 三、药物包容量

有效的药物释放系统必须释放出有效量的药物到达靶组织,在特定的载体条件下,药物的释放取决于微球中药物的包容量。

(一)包埋方法对白蛋白微球药物容量的影响 (1)药物溶于(或混悬于)白蛋白溶液中后乳化;(2)药物加到空白白蛋白微球的混悬液中放置。第一法是制备白蛋白微球的常用技术,该法可以吸附不同浓度的药物进入微球中,通常包封率较高,第二种方法是依靠药物的扩散,渗透和对蛋白的亲合力,通常包封率较低。

(二)药物和蛋白质浓度 1985年 Tomlison 和 Burger 用色甘酸钠作了不同浓度的白蛋白的包埋率试验:水溶性白蛋白浓度由 25%减少到 1%(W/V),药物的结合率由 16%升至 83%,令人满意,但这种超负荷的载药微球,一旦服用进入机体,可能导致药物从白蛋白微球中迅速释出,达不到控缓释作用,同时大多数药物从悬浮的微球表面 40~90%(W/V)释放出来,不能进入靶部位而失去作用。因此要确定一种最理想的药物蛋白质比率,在不影响微球稳定性的情况下,使微球系统包埋的药物量增加。

(三)药物和蛋白质的结合 白蛋白是简单的蛋白质之一,由许多不同的氨基酸组成,分子的末端及侧链上有氨基、羧基及其它可解离基团,具有两性电离的性质,具有一定的等电点,同一蛋白质在不同的 pH 溶液中,因蛋白质分子的解离情况不同可带有不同的电荷,因此蛋白质可与不同性质的药物通过各种不同的力发生特异性结合。药物与蛋白质分子间的结合程度愈大,蛋白质包埋药物的能力愈大,包埋的药物量愈多,因此理想的白蛋白微球应该是药物与白蛋白分子间达到最大程度的结合。

(四)载体稳定的方法 一般白蛋白微球稳定的方法对药物的包埋量影响较小,但可影响药物本身的稳定性,大多数化学药物对光、热、pH 都较敏感,如阿霉素在大于 135℃时即分解,因此在制备过程中,必须根据药物的化学性质,选择合适的载体稳定方法,对药物的包埋率及稳定性达到设计要求。

(五)微球的粒径 白蛋白微球的粒径对药物包埋有一定的影响,当用药物溶液与空白微球混合法制备时,增大粒径相当于减小药物与微球的接触表面积,少数药物因分别进入油相或洗涤载体时损失,故使药物的包埋率下降;相反采用乳化前药物加入法制备含药微球时,增大粒径,使损失掉的药物占总药物量比例减少,故使包埋率增加。

(六)微粒内药物的测定方法 1. 三氯醋酸加热浸提药物微球。2. 5% HCl 和甲苯加热浸提药物。3. 用含蛋白水解酶的介质提取<sup>[6]</sup>。4. 对于含有金属原子或可用原子分光光度法测定的药物可通过强酸硝化后直接测定或通过衍生化反应后用紫外分光光度法测定<sup>[88][69]</sup>。5. 质量平衡计算(即药物包埋的最初量和洗涤时载体部分失重之间的差值)。有人认为三氯醋酸可以浸提白蛋白微球中 99%的药物,该法所得结果比用 5%的 HCl 甲苯法的重复性、再生性均高,阿霉素

白蛋白微球可用此法测定。用水解蛋白酶的方法应首先保护药物不被水解,并控制酶活性诸多条件,如温度和合适的 pH。

## 参 考 文 献

- [1]Rodes B. A et al. *clin Res*, 1991;16:295
- [2]Rodes B A et al. Radioactive albumin microspheres for study of the pulmonary circulation. *Radiology*, 1989; 92:1453
- [3]I zolle et al. Preparation of metabolizable radioactive for study of circulation. *Int. J Appl Radiat. Isot*, 1970;21:155
- [4]Scheffel U. et al. Albumin microspheres for study of the reticuloendothelial system. *J Nusle Med*, 1973;13: 498
- [5]Gupta pk et al. Factorial design based optimization of the formulation of albumin microspheres containing adriamycin. *Int J Pharm*, 1984;22:63
- [6]魏树礼等. 注射用硫酸链霉素白蛋白微球的研究. *药 学 学 报*, 1990;25(4):284
- [7]Fujimoto S et al. Biodegradable mitomycin C microspheres given intra-arterially for inoperable hepatic cancer. *Cancer*, 1985;56(15):2404
- [8]Dau-Mauger A et al. Preparation and characterization of cross-linked human serum albumin microspheres containing 5-Fu. *Pharmaceutical Acta Helvetica*, 1986;61:119
- [9]Yasunori M et al. Drug-carrier property of albumin microspheres in chemotherapy. *Chem Pharm Bull*, 1981;29(5):1433
- [10]Gallo J M et al. Evaluation of drug delivery following the administration of magnetic albumin microspheres containing adriamycin to the rat. *J pharm Sci* 1989;78:190
- [11]William E L et al. Preparation of hydrophilic albumin microspheres using polymeric dispersing agent. *J Pharm Sci*, 1982;71(12):1323
- [12]Kenneth J W et al. Magnetic microspheres: synthesis of a novel parenteral drug carrier. *J Pharm Sci*, 1979;69(1):79
- [13]Gallo J M et al. Analysis of albumin microsphere preparation. *Inh J Pharm* 1984;22:63
- [14]Sugibayashi K et al. Drug-carrier property of albumin microspheres in chemo-therapy(1). *Chem Pharm Bull*, 1977;25(2):3433
- [15]Sugibayashi K et al. Drug-carrier property of albumin microspheres in chemo-therapy (II). *Chem Pharm Bull*, 1979;27(1):204
- [16]Willmott N et al. Adriamycin-loaded albumin microspheres preparation, In vivo, Distribution and release in rate. *Biopharmaceutics & Drugdisposition*, 1985; 6:105
- [17]Goosen M F A et al. Insulin microbeads: An implantable biodegradable system. *Biomaterials, Medical Devices and Artificial Organs*, 1982;10:205
- [18]Gupta P K et al. Quantiation of release of doxorubicin from colloidal dosage forms using dynamic dialysis. *J Pharm Sci*, 1987;76:141
- [19]Gupta P K et al. Albumin microspheres III: synthesis and characterization of microspheres containing adriamycin and magnetite. *Int J Pharm* 1988;43:167
- [20]Ovadia H et al. Albumin magnetise microspheres: a novel carrier for myelin basic protein. *Journal of Immunological Methods*, 1982;53:109
- [21]Ishizaka T et al. preparation of egg albumin microcapsules and microspheres. *J Pharm Sci*, 1981;70: 358
- [22]Kramer P K et al. Albumin microspheres as vehicles for achieving specificity in drug delivery. *J Pharm. Sci*, 1974;63:1646
- [23]Pasqualini R et al. The preparation of albumin microspheres. *J Biol Nucl Med*, 1969;13:80
- [24]Tomlinson E et al. Specific intravenous delivery of drugs to the lungs using ion-exchange microspheres. *J Pharm. Pharmacol*, 1982;34:88
- [25]M. El-samaligy et al. Triamoinolone diacetate nanoparticles, a sustained release drug delivery system suitable for parenteral administration. *Pharm. Acta. Helv*, 1982;57:201
- [26]Illum L et al. The targeting of drugs parenterally by use of microspheres. *J Parent Sci Technol*, 1982;36: 242
- [27]Willmott, N et al. Adriamycin loaded albumin microspheres; preparation, in vivo distribution and release in the rat. *Biopharm Drug Dispos*, 1985;6:91
- [28]程宇慧等, 颈外动脉栓塞用顺铂白蛋白微球的研究. *药 学 学 报*, 1993;28(8):604
- [29]Mestiri M. et al. Preparation and characterization of cis-platin-loaded polymethyl methacrylate microspheres. *Int J Pharm*, 1993;89:229