

学校编码: 10384

分类号\_\_\_\_\_密级\_\_\_\_\_

学号: 24020051302558

UDC\_\_\_\_\_

廈門大學

硕士学位论文

丝裂霉素植入型膜剂的制备及其药效学和  
生物相容性的初步研究

Preparation of MMC Implantable Film and Preliminary Study  
on Pharmacodynamic Effect and Biocompatibility

王倩

指导教师姓名: 张其清 教授/博士生导师

侯振清 讲师

专业名称: 生物医学工程

论文提交日期: 2007年7月

论文答辩时间: 2007年7月

学位授予日期:

答辩委员会主席: \_\_\_\_\_

评阅人: \_\_\_\_\_

2008年07月

## 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为( )课题(组)的研究成果,获得( )课题(组)经费或实验室的资助,在( )实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

## 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

目 录

中文摘要 .....	I
英文摘要 .....	III
<b>第一章 绪论 .....</b>	<b>1</b>
1.1 植入型药物运释系统概述 .....	1
1.2 植入型药物运释系统的特点 .....	2
1.3 植入型药物运释系统的分类 .....	2
1.4 植入型药物运释系统中药物释放机制 .....	8
1.5 植入型药物运释系统在肿瘤治疗中的应用和研究 .....	11
1.6 丝裂霉素的理化性质及药理学性质 .....	14
1.7 本课题的提出和研究内容 .....	15
参考文献 .....	18
<b>第二章 丝裂霉素植入型膜剂的制备及表征 .....</b>	<b>23</b>
2.1 仪器与材料 .....	24
2.2 实验方法 .....	25
2.3 结果与讨论 .....	30
2.4 结论 .....	52
参考文献 .....	54
<b>第三章 丝裂霉素植入型膜剂的药效学及生物相容性初步研究 ...</b>	<b>59</b>
3.1 仪器与材料 .....	60
3.2 实验方法 .....	62
3.3 结果与讨论 .....	65
3.4 结论 .....	80
参考文献 .....	81
<b>全文总结与展望 .....</b>	<b>83</b>
<b>硕士期间科研成果及所获奖励 .....</b>	<b>85</b>

---

致谢 ..... 86

厦门大学博硕士论文摘要库

---

## Contents

<b>Abstract in Chinese</b> .....	<b>1</b>
<b>Abstract in English</b> .....	<b>111</b>
<b>Chapter 1 Introduction</b> .....	<b>1</b>
1.1 Overview of Implantable Drug Delivery System .....	1
1.2 Features of Implantable Drug Delivery System .....	2
1.3 Classification of Implantable Drug Delivery System .....	2
1.4 Drug Releasing Mechanism of Implantable Drug Delivery System .....	8
1.5 Research in Oncotherapy of Implantable Drug Delivery System .....	11
1.6 The Physicochemical and Pharmacological Properties of Mitomycin .....	14
1.7 Main Focus of This Thesis .....	15
References .....	18
<b>Chapter 2 Preparation and Characterization of MMC Implantable</b>	
<b>Film</b> .....	<b>23</b>
2.1 Apparatus and Materials .....	24
2.2 Experiments .....	25
2.3 Results and Discussion .....	30
2.4 Summary .....	52
References .....	54
<b>Chapter 3 Pharmacodynamic Effect and Biocompatibility Study of</b>	
<b>MMC Implantable Film</b> .....	<b>59</b>
3.1 Apparatus and Materials .....	60
3.2 Experiments .....	62
3.3 Results and Discussion .....	65
3.4 Summary .....	80
References .....	81
<b>Conclusions and Future Works</b> .....	<b>83</b>

**Publications and Rewards**..... 85

**Acknowledgements** ..... 86

厦门大学博硕士论文摘要库

## 摘要

癌症是威胁人类健康的重大疾病之一，恶性肿瘤的治疗在很大程度上仍以化疗为主。虽然传统的静脉化疗有一定的效果，但全身毒副作用较大，病人往往难以耐受。近年来，利用控缓释制剂进行间质化疗取得了很大成功，是一种行之有效的局部化疗方法。

丝裂霉素（MMC）是一种广谱的抗肿瘤抗生素类药物，临床上主要剂型为注射用丝裂霉素冻干粉。为了降低该药的给药量，减小毒副作用，使其更好的应用于临床，本文首先以聚乳酸和卵磷脂为药物载体，采用反胶束乳化溶剂挥发法制备载丝裂霉素纳米粒子；在此基础上以胶原、壳聚糖、大豆卵磷脂为膜材制备了复合膜和药膜，并对膜的性能进行了考察；通过动物实验对药膜的药效学和生物相容性进行了初步评价。具体内容摘要如下：

- 1. 载药纳米粒子的制备、工艺优化和性质表征：**采用反胶束乳化溶剂挥发法制备了载药纳米粒子；通过正交实验优化制备工艺，并对载药纳米粒子的形态、粒径、Zeta 电位、载药量、包封率和体外释药行为等性质进行研究；考察药物在磷脂复合物及纳米粒子中的状态。结果表明：制得的纳米粒子表面光滑圆整，粒径均匀，平均粒径可控制在 300~800 nm，包封率最高可达 90%以上，具有明显的体外缓释效果；研究结果证明，药物和卵磷脂是以磷脂复合物的形式结合；药物最终以无定形状态分布于纳米粒子中。
- 2. 复合膜和药膜的制备及性质研究：**以胶原、壳聚糖、大豆卵磷脂为膜材制备了复合膜和药膜，考察膜的形貌、吸水性能、膜中材料的相互作用以及药膜体的体外释药行为。结果表明：制备的复合膜和药膜具有良好的微观结构，纳米粒子能够在复合膜的内部和表面均匀分散；与纯胶原膜相比复合膜和药膜的溶胀率显著降低；复合膜保持了胶原良好的生物学特性；药膜的体外释药速率更加缓慢、平稳，无突释现象，呈现了良好的缓释效果。
- 3. 药膜的药效学和生物相容性初步研究：**运用 H<sub>22</sub> 肝癌实体瘤的动物模型，采用丝裂霉素膜剂实体瘤周围植入进行间质化疗的方法进行丝裂霉素植入型膜剂体内抑瘤效果实验；通过药膜小鼠皮下植入的方式考察药膜的组织相容性。结果显示：丝裂霉素植入型膜剂在体内具有较好的抑瘤活性，且抑制效果具有明显的量效关系，并能显著降低丝裂霉素的毒副作用；与同剂量丝裂



霉素针剂注射组相比，药膜植入组的抑瘤率更高，对肿瘤生长的抑制更为持久；观察给药后肿瘤的病理切片发现，丝裂霉素植入型药膜可通过抑制瘤细胞增值、并促其调亡，起到对肝癌细胞的杀伤作用；药膜小鼠皮下植入后，仅引起轻微的炎症反应，没有组织渗透液蓄积，没有观察到明显血管与纤维的增生，说明丝裂霉素膜剂皮下植入后具有良好的组织相容性。

**关键词：**丝裂霉素；纳米粒子；植入型；膜剂；抑瘤率；生物相容性

## Abstract

Cancer is a great threat to the health of human beings. At present, chemical therapy is a common method of its treatment comparing with operation and radial therapy. Although the traditional intravenous chemotherapy has a certain effect, it's often difficult for patients to tolerance because of severe side effects all over the body. In recent years, great success has been made for interstitial chemotherapy using controlled or sustained release drug delivery system. Interstitial chemotherapy has become an effective method of local chemotherapy.

Mitomycin C (MMC) is a broad-spectrum antitumor antibiotic drug. Form of medication is freeze-dried powder injection. To reduce the amount of administration and side effects, MMC-loaded nanoparticles were first prepared with reverse micellar emulsion-solvent evaporation method, and the composite film and drug-loaded film were further prepared. Then, we investigated the *in vivo* pharmacodynamic effects and biocompatibility of drug-loaded film through animal experiments. The contents are summarized as follows:

- 1. Preparation, optimization and properties of MMC-loaded nanoparticles:** MMC-loaded nanoparticles were prepared with novel reverse micellar emulsion-solvent evaporation method, and preparation techniques were optimized through orthogonal design. Properties of MMC-loaded nanoparticles (eg. morphological form, diameter, distribution, Zeta electric potential, drug loading, encapsulation efficiency, *in vitro* release properties) and drug distribution in phytosome and nanoparticles were investigated in this thesis. The results showed that the nanoparticles produced with the optimized recipes and preparation technique displayed smooth surface, consistent diameters, mean diameter controlled between 300~800 nm, the max encapsulation efficiency more than 90%, and obvious sustained-release effect in *in vitro* release period.
- 2. Prepration and properties of composite film and MMC-loaded film:** Collagen, chitosan, and soybean phosphatidylcholine were chosen as film materials.

Composite film and MMC-loaded film were prepared and their properties (eg. morphological form, swelling ratio, the interaction among film materials, in vitro releasing curve) were investigated. The results showed that composite film and MMC-loaded film had favourable microstructure and nanoparticles were uniformly distributed over internal and surface of film; swelling ratios of composite film and MMC-loaded film were obvious reduced compared with collagen film; the excellent biological characteristics of collagen had been retained in composite film; the in vitro release rate of MMC-loaded film was slower and more stable than MMC-loaded nanoparticles, and displayed favourable sustained-release effect with no burst release.

3. **The in vivo pharmacodynamic effect and biocompatibility study:** The inhibition effect of MMC-loaded film on H<sub>22</sub> solid tumor developed in mice was investigated through interstitial chemotherapy with film implanting around tumor, and the biocompatibility of MMC-loaded film was evaluated with pathological examination of mice skin after implantation. The results suggested that the inhibition effect of MMC-loaded film was obvious and dose-dependent and higher than that of MMC injection. Besides, MMC-loaded film could remarkably reduce side effects of MMC. Through pathological examination, it could be inferred that MMC-loaded film had lethal effect to hepatoma carcinoma cell because of its functions with inhibiting tumor cells increase and leading its apoptosis. Inflammation response in mice skin could be observed after implantation of MMC-loaded film, but no sign of infiltration liquid accumulation was found, and neither did of obvious angiogenesis and fiber hyperplasia. So it implied that MMC-loaded film possessed good biological compatibility.

**Key words:** mitomycin C (MMC); nanoparticles; implant; film; inhibition rate on tumor; biocompatibility

## 第一章 绪论

### 1.1 植入型药物运释系统概述

药物剂型是药物存在和发挥药效的方式,药物剂型的优劣直接影响着药物的治疗效果和病人的接受程度。在临床使用的药物中,有一类药物需要长期(几个月甚至数年)稳定给药,例如抗癌药物、戒毒药物、心血管药物、避孕药物以及疫苗等。对这类药物,当采用常规给药系统时存在着许多亟待解决的问题:患者需要频繁服药或者接受注射,中断用药将造成病情反复,给患者造成很大的不方便;受肠胃环境、肝脏“首过效应”等影响,药物的生物利用度低,个人差异大;不能长期保持稳定的血药浓度,降低了药物的治疗效果,积累了副作用;对于一些多肽、基因类药物由于小肠的吸收阻力,常规的口服制剂无法实现给药。尽管近年来口服控缓释制剂和经皮给药等药物运释系统的出现,可以适当延长给药时间(口服控释制剂可达24小时,经皮给药贴剂可达7天)和降低副作用,但是由于难以避免的胃肠降解和皮肤角质层的阻力,使得这类药物的生物利用度与临床需求间的差距仍然较大,且这些系统均不能实现长达数月甚至数年的稳定给药。

植入型药物运释系统(Implantable Drug Delivery Systems,以下简称IDDS)为一类经手术植入或经穿刺导入体内或皮下的控制释药制剂,是一种长期给药体系<sup>[1]</sup>。IDDS具有以下药物释放特点:1)长效作用,其释药期限长达数月至数年,减小了连续用药的麻烦;2)恒释作用,由于聚合物骨架的阻滞作用,系统中药物通常呈恒速释药,可维持稳定的血药浓度,减少药物的毒副作用。IDDS已逐渐成为控缓释制剂的一个重要组成部分。

自1937年Parkes和Deansby首次将甾体制成小丸植入动物皮下以来,IDDS的研究取得了长足的发展。1964年Folkman和Long将硅橡胶用于植入剂的制备,得到生物相容性好、持续精密释药的植入给药系统。此后几年不断有人扩展药物的载体的种类。1975年美国人口理事会国际避孕药研究委员会(ICCR)研制了第一个用于避孕的皮下植入剂,并由芬兰Leiras药厂生产,商品名为Norplant,埋植于皮下,效果可维持5年<sup>[2]</sup>。此后的研究主要集中在激素类药物植入剂的研制<sup>[3,4]</sup>。随着给药系统理论的不断发展和成熟,尤其是新型药用材料的推陈出新,

植入剂的种类及应用范围得到很大的发展。美国 MIT 化工系的 R. Langer 等人研究的植入式药物芯片<sup>[5]</sup>，一次给药能维持药物疗效达数日至数年；所研制的植入式固体硅药物芯片<sup>[6]</sup>，可载有多种固体、液体或凝胶药物，通过控制覆盖药物微贮库的薄电极的溶解，就可根据需要释放一种或多种药物。目前，IDDS 的药物应用范围也由当初的避孕治疗扩展到抗肿瘤<sup>[7-13]</sup>、胰岛素给药<sup>[14,15]</sup>、心血管疾病<sup>[16-19]</sup>、眼部疾病<sup>[20-22]</sup>、抗成瘾<sup>[23-25]</sup>、抗结核<sup>[26]</sup>、骨髓炎<sup>[27]</sup>以及多肽类药物<sup>[28-31]</sup>等<sup>[25,32-35]</sup>多个治疗领域。

## 1.2 植入型药物运释系统的特点

IDDS 具有定位给药、减少用药次数、给药剂量小、长效恒释作用及可采用立体定位技术等特点<sup>[36]</sup>，特别适用于半衰期短、代谢快，不适合通过其他途径给药的药物。IDDS 的优点具体体现在以下几个方面：

(1) 消除因间歇给药和药量不均匀而产生的峰谷现象，可在特定的作用部位以恒定的速率释药并维持治疗浓度，具有较小的剂量即可达到疗效的作用；可以避免口服给药造成的肠胃道因素影响和肝脏首关效应，获得较一致的生物利用度；植入剂的释药速率通常为限速过程，因而能得到较平稳的血药浓度。

(2) 通过植入皮下或组织内释放药物起到治疗作用，不存在表皮吸收障碍，能很快到达体循环；药物作用于靶位，可避免对体内其它组织的副作用。

(3) 避免一些药物的迅速代谢，延长其体内半衰期。

(4) 难以用其它途径给药的药物可通过植入途径给药。

(5) 植入型制剂通常作用时间较长，避免了频繁注射给药。

植入剂作为一种长效制剂也存在一些缺点，如需手术植入给药，病人不能自主给药，且植入剂的存在可能引起疼痛及不适感，以及价格等因素均影响患者的用药依从性。但由于植入剂能增加特定部位的药物浓度，使药物更接近于靶组织，且全身的血药浓度显著减少，降低了药物的毒副作用。因此，植入型药物运释系统在一些疾病的治疗方面有其它制剂不可替代的优点。

## 1.3 植入型药物运释系统的分类<sup>[37]</sup>

目前，根据药物在植入剂中存在的方式及植入剂使用方式的差异，在临床使

用中植入剂可分为固体载药植入剂、植入泵制剂和注射给药植入剂。

### 1.3.1 固体载药植入剂

固体载药植入剂是药物分散或包裹于生物不降解或生物降解的载体材料中，以柱、棒、丸、片或膜剂等形式经手术植入给药剂型，如传统用于避孕的硅橡胶植入剂。药物在载体中的分散形式有贮库型和骨架型，所用载体材料可分为生物不降解与生物降解两类。

植入剂可采用磁性可控释系统。将磁力分散于聚合物中，药物可以正常的释放梯度进行，但当有外界振荡磁场存在时，药物的释放量增加。这种给药系统的优点是可以控制外部磁场来控制药物的释放。此外还有酶触型、pH 敏感型给药系统，达到靶向或脉冲释放等目的。

根据所用载体材料的不同，又可将植入剂分为下面两类。

#### 1.3.1.1 生物不降解型植入剂

此类植入剂常用于药物在体内的长期给药，如左炔诺孕酮硅橡胶植入剂<sup>[38]</sup>，在皮下植入后药物释放可达 3~5 年，待药物释放基本完成后，再将植入剂手术取出。常用硅橡胶、聚乙烯酸乙烯酯共聚物、聚乙烯、聚氨酯等。一般认为这些材料在体内是稳定的，但在体内各种因素的作用下，也会发生一定程度的降解。因此在使用这些材料时也应考察其降解性能。

这类植入剂通常难于得到恒定的释药速率，开始释药较快，部分释药后在不降解材料内形成空区，余下的药物需经更长的途径才能扩散释放，释药速度不断减慢。

#### 1.3.1.2 生物降解型植入剂

凡在体内能被化学降解或酶解成小分子的天然或合成的材料统称为生物可降解材料 (biodegradable materials)。常用的生物可降解材料包括聚羟基乙酸、聚乳酸 (PLA)、聚羟基乙酸-乳酸共聚物 (PLGA)、聚天冬氨酸、聚乙酸内酯、谷氨酸多肽、聚己酸内酯、甲壳素、聚原酸酯等。这类材料在机体的生物环境中被化学降解或酶解为能被机体代谢的小分子物质，与机体有良好的生物相容性，其降解的中间产物或最终代谢产物必须是安全无毒的。其优点是一方面可使药物达到近似一级或零级释放，另一方面在药物释放过程中或药物释放后，该类载体

可以在体内代谢吸收排除体外，无需二次手术。这在一定程度上提高了病人的依从性。除用作固体植入剂的载体，还可制成微球或纳米球供注射用，实现缓释效果。

生物可降解植入剂给药系统在临床有着广泛的用途，可用做肿瘤化疗和止痛的治疗<sup>[39]</sup>。如柔红霉素、多柔比星，将其与生物可降解聚合物相连，在保持抗肿瘤作用的同时，毒副作用比口服药降低了3倍，还可用于关节炎的止痛治疗、糖尿病的治疗及作为颅内植入剂用于帕金森病的治疗。

美国 Durect 公司成功研制了用 PLGA 为骨架的细棒植入剂，用于亮丙瑞林、戈舍瑞林等 LHRH 类似物植入剂，其商品名为 Durin Implant。该生物降解植入剂可载药 80% 以上，并且还可有效减少注射后药物的突释效应，在体内以零级速率释放药物达 6 个月<sup>[40]</sup>。

庆大霉素—聚酸酐植入剂是将二者模压法制成  $3\text{ mm} \times 12\text{ mm}$  的棒剂（含庆大霉素 10%~20%）植入局部，药物可缓释进入病灶，疗效显著。由于骨架材料可自动吸收，药物释放完后无需二次手术。该剂型在美国已经进入 II 期临床研究<sup>[41]</sup>。

### 1.3.2 植入泵制剂

植入泵是具有微型泵的植入剂，能按设计好的速率自动缓慢输注药物，得到可控的药物释放速率。理想的植入泵应该满足以下条件：能长期缓慢输注药物且能调节释放速率；动力源可长期使用和埋植；可通过简单的皮下注射等方式向泵内补充药液；药液贮存室大小适宜；可长期与组织相容<sup>[42]</sup>。

根据药物在其中释放动力的不同分为以下几种：输注泵、蠕动泵、渗透泵等。

#### 1.3.2.1 输注泵

输注泵（infusion pumps）为一种机械装置，以氟碳化合物作为推动力给药。最先的使用是用于糖尿病的胰岛素给药，可以避免因血糖浓度的波动给糖尿病人带来的心脏和肾脏的危险。

Infusaid（Infudaic Corp. Sharon, MA）是应用此种原理的首个产品。这种装置为轻质金属钛制成的扁圆形小盒，见图 1.1，内分为两个小室，一室盛放药液（连有通向静脉的硅橡胶导管），另一室盛放提供恒定蒸汽推动力的氟碳化合物。

在体温下其压力比大气压高 40 kPa，作为推动药液的动力，提供一个恒定的释药速率，其释药速率可以通过改变药物贮库中的药物浓度来调整。与药液室相连一个两头有硅橡胶/四氟乙烯隔膜的小管，供由外界皮下注射药液之用，注射的压力使氟碳推进剂再压缩提供动力。这种给药装置的优点是不需要另外提供动力，可用于多次给药。目前，这种装置用于胰岛素依赖型糖尿病人的胰岛素给药以及血栓病严重的病人的肝素给药等。

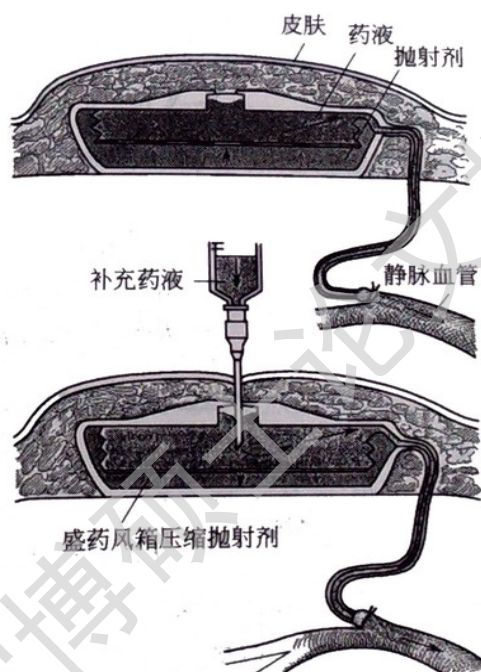


图 1.1 输入泵示意图<sup>[37]</sup>

Fig. 1.1 Schematic representation of infusion pumps<sup>[37]</sup>

### 1.3.2.2 蠕动泵

蠕动泵（peristaltic pumps）植入给药系统由可以旋转的螺线型电导制成，主要通过外部电场的力量来运行的蠕动泵植入给药系统内含一个硅橡胶膜，使用寿命可长达几年，其主要优点是可以通过改变外部电场的强度来调节药物的释放，但价格较贵。

目前，释药技术较高级的一种是无创伤、程序控制的植入给药器具（DAD, Medtronic, Minneapolis, MN），见图 1.2。这种用钛覆盖的器具含有一个 20 cm<sup>3</sup> 重填充贮库、电子控制微型组件、一块整体电池及一个压缩驱动泵，此泵释药精



Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士学位论文摘要库