

- [11] 魏红,李永国. 纳米技术在生物医学工程领域的应用——研究现状和发展趋势[J]. 国外医学生物医学工程分册, 1999, 22(6): 340.
- [12] 宋存先,杨菁,孙洪范,等. 心血管内局部定位药物缓释体系的实验研究[J]. 中国心血管杂志, 1998, 3(2): 70.
- [13] Scholfield JP, Caskey CT. Non-viral approaches to gene therapy [J]. Br Med Bul, 1995, 51(1): 56.

收稿日期: 2002-09-15

干扰素缓释给药系统的研究进展

吴诚, 钟延强, 刘善奎(第二军医大学药学院, 上海 200433)

摘要 目的: 介绍干扰素缓释给药系统研究进展。方法: 综述了近年来国内外干扰素缓释给药系统的研究状况。结果: 阐明了不同干扰素缓释剂型的处方工艺, 释药特点、存在的问题。结论: 开发研究该类剂型仍需解决许多问题, 目前长效缓释注射剂是干扰素缓释给药系统中较理想的应用剂型。

关键词 干扰素; 缓释; 给药系统

中图分类号: R945

文献标识码: B

文章编号: 1006-0111(2003)02-0087-03

干扰素(interferons, IFN)是正常机体细胞产生的一种具有抗病毒、抗肿瘤和调节机体免疫功能的蛋白质。天然干扰素根据其来源可分为 α 、 β 、 γ 三种亚型, 干扰素 α 亚型较多, 基因工程重组的 α 干扰素有 $\alpha-2a$ 、 $\alpha-2b$ 、 $\alpha-2c$ 等亚型。干扰素在临床上对于许多恶性肿瘤和病毒性疾病疗效确切^[1,2]。此类恶性疾病往往疗程长, 用药量大, 需要长期频繁注射干扰素, 给病人用药带来了极大的不便。而目前上市的干扰素制剂品种单一, 除粉针剂外, 主要是一些外用剂型如滴眼剂和栓剂等或口服剂型如舌下含片, 生物利用度均较低。为此, 国内外学者对其缓释给药系统进行了一系列研究。本文就目前干扰素缓释给药系统的研究进展作一简要综述。

1 埋植剂

1.1 非降解埋植剂

硅橡胶的生物相容性好, 作为埋植剂的材料由来已久, 特别在避孕药控释领域取得了巨大的成功, 如左炔诺孕酮(Norplant)。但其主要是用作疏水小分子药物的载体, 目前一般认为不适合分散蛋白质类药物, 除非载药量很大(30%~50%, w/w), 才能达到较适宜的释药速率。但载药量大对于蛋白质类药物特别是细胞因子类药物安全性差, 也不具备经济价值。Kajihara等^[3]研制的用硅橡胶制备的干扰

素很好地解决了这一问题, 主要工艺是采用人血清白蛋白(HSA)作保护剂, 与天然干扰素 α 一起混匀后用冷冻干燥或喷雾干燥的方法制备。由于HSA在体内安全性好, 用HAS/IFN粒子制备埋植剂可将载药量进一步提高。研究发现, 载药量提高、HAS/IFN粒径增大可显著提高释药速率和总释药量。此外, 在处方中加入一定量的甘氨酸, 也可通过提高渗透压的方式进一步增大释药速率。

利用硅橡胶作为分散系统的一个显著优点是可以避免使用有机溶剂、加热等易使蛋白质失活的工艺操作, 从而有效地保持了制剂中蛋白活性。实验发现, 干扰素在制成棒状埋植剂后活性仍保持原活性的94%以上, 小鼠皮下植入该棒状埋植剂(含IFN4.7(10^7 IU))后缓释效果可达60d。同时抑制裸鼠背部肿瘤的药效学试验也表明缓释效果明显, 皮下植入含IFN5.5(10^6 IU)的该制剂与连续皮下给药21d每天注射1(10^5 IU)的IFN溶液抑制肿瘤增殖效果相当。此外, Marumo等^[4]也用该制剂做了抑制裸鼠背部肿瘤的药效学试验, 结果同样表明缓释效果非常明显。

乙烯-醋酸乙烯共聚物(EVAc)曾被用于化疗药物脑内缓释给药系统而用于人体。Warzenna等^[5]用其制成了含天然鼠干扰素 α/β 5%或10%的脑内埋植剂, 10% IFN的EVAc埋植剂小鼠体内试验表明, IFN体内释放可维持4d以上, 且第4天血中IFN浓度明显上升。该研究显示IFN在局部组织

如脑内可形成一个药物贮库,从而有效地避免了药物在血循环中被各种酶代谢和降解,达到了局部缓释的目的。

1.2 可降解埋植剂

脂肪酸聚甘油酯 (polyglyderol esters of fatty acids) 作为埋植剂基质的一个显著优点是可以通过调节甘油的聚合程度,脂肪酸链的长短及甘油与脂肪酸的酯化程度来改变基质的亲水亲油平衡值 (HLB) 及其它一些理化性质,从而改变药物的体内外释放情况,调节控缓释效果。Yamagata^[6] 等研究了 11 种脂肪酸聚甘油酯,通过加热熔融与干扰素 α -2a 混合,最后挤压成形得直径 1.2mm,长 10mm 的棒状埋植剂。体内外试验表明甘油的聚合程度加大、脂肪酸链的长度增加及酯化程度的加大可显著延长药物的释放时间,并显著减小突释效应。小鼠皮下埋植含干扰素 2×10^8 IU/kg 的埋植剂,其缓释效果可达 1 周,血药浓度在 100IU/mL 左右,因而作者认为此分散系统可用于干扰素缓释 1 周给药。

Fujioka^[7] 等分别采用了天然可降解的高分子聚合物白蛋白、明胶、胶原蛋白等,采用压制法、挤压法等方法制成了圆柱形的天然干扰素 α 小丸 (minipellet)。3 种处方的体外释放试验表明胶原蛋白小丸较其它两种小丸缓释作用明显,制备时胶原蛋白的浓度越高,小丸缓释作用越明显。采用挤压法制备时胶原蛋白浓度为 30% 的干扰素小丸用于小鼠体内试验,缓释作用明显,5d 后血清干扰素仍维持较高浓度。

2 微球注射剂

干扰素埋植剂制备工艺条件大多比较温和,避免使用有机溶剂、加热、剧烈搅拌等操作,有效地保持了干扰素制剂的活性,但非降解埋植剂需要手术埋植和摘除,增加了病人的痛苦,目前研制的几种干扰素埋植剂,其缓释效果也远未达到避孕药物埋植给药,可维持控速释药几年的效果。可降解埋植剂仍需手术埋植,且由于体积较大,释药随着埋植剂的降解也难以控制。采用生物可降解聚合物如聚乳酸、聚丙交酯、聚乳酸-羟乙酸 (PLGA)、聚丙交酯乙交酯 (PLCG)、聚乙二醇聚乳酸 (PELA)、聚己内酯、聚羟丁酸等,特别是 PLGA 为骨架材料,包裹多肽、蛋白质药物制成的可注射微球剂,是近年来各国学者大力研究的新领域。PLGA 除具有良好的生物相容性、无免疫反应、安全性较高外,可通过改变两单体比例及聚合条件调节聚合物在体内的降解速度,近 10 多年来,作为微球、微囊的骨架或包衣材料

的应用报道越来越多。合成聚合物理化性质稳定,控制工艺条件可得到所需规格,批间质量差异小,这些都是天然聚合物无法比拟的优点^[8]。

文献报道的干扰素注射微球的制备方法主要有复乳-液中干燥法^[9,10,12]和低温喷雾提取法^[16]。其中复乳-液中干燥法是制备微球的常用方法,它具有工艺稳定、设备简单等优点。主要步骤是将生物可降解聚合物如 PLGA 溶解在二氯甲烷中,将干扰素溶液加入上述有机相中,匀化或超声振荡成初乳 (w/o),初乳再转入含聚乙烯醇 (PVA) 的水溶液中,搅拌成复乳 (w/o/w),低温除去有机溶媒分离微球。低温喷雾提取法条件更为温和,主要步骤是将干扰素粉末和生物可降解聚合物的二氯甲烷溶液均匀混合,混悬液经一喷头以雾状喷至冰冻的乙醇溶液中,后者界面封以液氮。在低温条件下,乙醇将微球中二氯甲烷不断抽提,经过滤减压干燥去除乙醇得干燥微球。

Cleland 等^[9] 用复乳法制备了干扰素 γ 的 PLGA 微球,制备时将新制的复乳分散在大量的蒸馏水 (12L) 中 $2 \sim 5^\circ\text{C}$ 低温搅拌,萃取二氯甲烷促使微球固化。作者将温度控制较低,较常规复乳法制备微球条件温和。用复乳法制备微球制初乳时条件较为剧烈,干扰素易变性失活。作者选用了不同的保护剂加入干扰素溶液,制备初乳后监测干扰素的活性,发现海藻糖稳定干扰素效果最为明显。

Yang 等^[10] 按照同样的方法制备的干扰素 γ 微球包封率为 100%,载药量为 3.2% (w/w)。对微球的体外释放研究表明,干扰素的体外释放在不同的介质与释放装置中差异明显,开始从微球中释放的干扰素活性较高,而 1 周后释放的干扰素活性散失明显。分析原因是由于蛋白质对温度、pH、离子强度等条件都较为敏感,容易发生聚合、吸附,且 PLGA 在降解过程中不断释放出酸性代谢产物等原因造成的。

美国专利^[11] 报道了采用锌离子来稳定干扰素,并采用低温喷雾提取法制备干扰素 α -2b 微球的方法,其中制备锌离子稳定化的微粉是关键。作者将微粉的粒径控制在了 $2 \sim 6 \mu\text{m}$,并通过调节处方中锌离子与干扰素的摩尔比来控制体内突释效应和干扰素的血清水平,得到的最佳处方为锌离子与干扰素的摩尔比为 1:1。体内药代动力学试验表明,在小鼠免疫系统受到抑制时,皮下注射干扰素微球 29d 后仍可在血清中检测到干扰素 (检测限为 6IU/ml)。

Zhou 等^[12]将干扰素 $\alpha - 2a$ 溶于海藻酸钠中,并用 CaCl_2 交联得凝胶,以此为内水相,用复乳法将载有干扰素的凝胶芯核分散在 PELA 中,制得了干扰素的 PELA 微球。他们又用不加海藻酸钠的经典复乳法制备了干扰素 $\alpha - 2a$ 的 PLA 和 PELA 微球,并将 3 种微球进行了比较,体外试验表明用凝胶芯核制备的 PELA 微球较后两种微球载药量、包封率及体外释放后的生物活性都显著提高,且突释效应明显降低。

3 其它

3.1 脂质体

Van Slootem 等^[13]用薄膜分散法制备了干扰素的多室脂质体。他们选用了蛋磷脂酰胆碱(EPC)、蛋磷脂酰甘油(EPC)、二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC)、二棕榈酰磷脂酰甘油(DPPG)等不同的脂质材料,通过调节处方中脂质材料的种类和比例制备了不同的脂质体。由于干扰素 γ 等电点在 10 左右,在溶液中带正电,制备荷负电脂质体时干扰素包封率显著提高,可达 80% 以上,而中性脂质体则往往很低(10% 以内)。但荷负电脂质体外部吸附的干扰素较多,可达 70%,因而小鼠体内试验干扰素突释效应非常显著。作者改进了制备工艺,通过解吸附去除了外部吸附的干扰素,制得的脂质体经小鼠体内试验表明,干扰素突释效应明显降低,体内缓释可达 1 周。

3.2 眼用缓释制剂 Chiellini 等^[14]用马来酸酯与单甲氧基乙烯基寡聚乙二醇乙烯酯共聚物与 HSA 混合物为基质制成了干扰素 α 的眼用缓释制剂。该制剂具有水凝胶性质,缓释程度可由乙二醇的聚合程度和不同的马来酸酯来调节。作者研究了 4 种处方,用于将马来酸酯化的醇选用了甲醇和正丁醇,乙二醇的聚合度为 1 和 3。试验表明基质的亲水性愈强,药物释放愈慢。其中用马来酸甲酯、乙二醇聚合度为 3 制成的基质释放最慢,HSA 通过和聚合物的相互作用不但可以抑制干扰素释放,同时还可改变水凝胶的性质。

4 小结与展望

由于干扰素临床上应用日益广泛,在治疗病毒性疾病及恶性肿瘤方面的独特疗效,为了减少给药次数,提高药物的利用率和患者用药的依从性,长效缓释注射剂是较为理想的剂型,国内外学者近年来在该领域作了有效尝试,但由于干扰素为活性蛋白,稳定性差,制备工艺条件会影响制剂中干扰素活性,

所以要想制备理想的干扰素长效缓释注射剂仍需进行大量的实验研究。如何设计较为温和的工艺条件,如何保持 PLG、PLGA 类高分子材料在降解过程中 pH 的恒定以及如何降低缓释微球突释作用等都是干扰素长效缓释注射剂研究的关键所在,相信随着基础研究的不断深入,不久将会有产品被批准用于临床。

参考文献:

- [1] 任国喜,袁茵,郭启玲,等. 国内外干扰素临床应用研究进展[J]. 医药导报,1995,14(4):155.
- [2] 刘诗通. 国外生物药品研究开发近况[J]. 国外医药抗生素分册,1995,16(2):137.
- [3] Kajihara M, Sugie T, Mizuno M, et al. development of new drug delivery system for protein drugs using silicone (I) [J]. J Control Res, 2000, 66:49.
- [4] Marumo K, Huang Y, Murai M. Antitumor Effect of an interferon - loaded silicone formulation in human renal cell carcinoma in nude mice[J]. Keio J Med, 1999, 48(4):179.
- [5] Wiranowska M, Ransohoff J, Weingart JD, et al. Interferon - containing controlled - release polymers for localized cerebral immunotherapy[J]. J Interferon Cytokine Res, 1998, 18:377.
- [6] Yamagata Y, Iga K, Ogawa Y. Novel sustained - release dosage forms of proteins using polyglycerol esters of fatty acids [J]. J Control Res, 2000, 63:319.
- [7] Fujioka K, Takada Y, Sato S, et al. Novel delivery system for proteins using collagen as a carrier material; the minipellet[J]. J Control Res, 1995, 33:307.
- [8] 陈庆华,瞿文. 多肽、蛋白质类药物缓释剂型的研究进展[J]. 中国药学杂志,2000,35(3):147.
- [9] Cleland JL, Jone AJS. Stable formulations of recombinant human growth hormone and interferon - γ for microencapsulation in biodegradable microspheres[J]. Pharm Res, 1996, 13(10):1464.
- [10] Yang J, Cleland JL. Factors affecting the *in vitro* release of recombinant human interferon - γ (rhIFN - γ) from PLGA microspheres[J]. Pharm Sci, 1997,86(8):908.
- [11] Tracy. Controlled release of metal cation - stabilized interferon [P]. US:6379701, 2002 - 04 - 30.
- [12] Zhou S, Deng X, He S, et al. Study on biodegradable microspheres containing recombinant interferon - $\alpha - 2a$ [J]. J Pharm Pharmacol,2002, 54:1287.
- [13] Van Slooten ML, Boerman O, Romoren K, et al. Liposomes as sustained release system for human interferon - γ : biopharmaceutical aspects[J]. Biochim Biophys Acta, 2001, 1530(2 - 3): 134.
- [14] Chiellini E, Solaro R, Leonardi G, et al. New polymeric hydrogel formulations for the controlled release of $\alpha -$ interferon[J]. J Control Res, 1992, 22:273.

收稿日期:2002 - 12 - 12