

利用辐射技术制备慢释放抗癌药及其 对小鼠实体肿瘤的治疗效果

李希明 申维明 刘成杰 胡 旭

(中国科学技术大学, 合肥)

摘要 本文介绍利用低温过冷态辐射聚合制备慢释放抗癌药的方法。报告这种慢释放氟尿嘧啶药对小鼠实体肿瘤的治疗效果。对于可移植性 615 小鼠前胃鳞状上皮癌和可移植性昆明小鼠 S 180 肉瘤的抑制率分别为 40% 和 96%, 不仅有显著的治疗效果而且用药后毒副作用也有明显降低。

关键词 辐射聚合, 慢释放抗癌药, 化学疗法

引 言

癌症已成为威胁人类生命的主要疾病之一。手术摘除、化学疗法、放射疗法和免疫疗法是迄今治疗恶性肿瘤的主要方法。肿瘤术后辅以化疗已为患者接受并取得了一定成效, 但是化疗时使用的抗癌药, 如氟尿嘧啶、丝裂霉素等, 在杀伤肿瘤细胞的同时, 产生不同程度的毒副作用。这不仅降低了疗效, 而且增加患者的痛苦。近年, 新的给药方法的研究有了很大进展, 方法之一是使用慢释放药剂。慢释放药剂的种类和制造方法颇多。Kaetsu 等人利用低温铸形辐射聚合的方法, 将药物固定在高分子载体上, 制备出有慢释放功能的药剂^[1-4]。前文曾详细地研究了用这种方法制备的慢释放抗癌药的释放规律, 探讨了高分子载体的亲水性、交联程度、孔结构等对固定抗癌药释放速率的影响^[4]。本文着重介绍这种慢释放抗癌药的制备方法及对小鼠实体肿瘤的治疗效果。

实 验

1. 慢释放抗癌药的制备方法

聚合单体用甲基丙烯酸 β 羟乙酯(HEMA), 日本半井化学药品株式会社出品。交联剂用双甲基丙烯酸乙二醇酯(2G), 苏州人民化工厂出品。均经减压蒸馏除去阻聚剂后使用。

氟尿嘧啶(5-Fu), 医药公司出售品, 上海第十二制药厂生产。

将聚合单体 HEMA, 适量的交联剂 2G 及 8% 的抗癌药(5-Fu)混合均匀。通氮气除氧后将混合体系在低温下骤冷成形, 然后在 -50°C 左右辐照聚合, 制备出 PHEMA-5-Fu 复合物, 即慢释放抗癌药。

2. 药物释放速率的测定方法

采用体外释放法测定慢释抗癌药的释放速率。将制得的慢释抗癌药(片剂)浸在一定体积的测定液中, 于 37°C 下静止释放。测定液为含 0.9% NaCl 的磷酸缓冲液($\text{pH} = 7$)。一定时间后取释放液, 用紫外分光光度计, 在 5-Fu 的特征吸收波长 265 nm 测定其释放量。每次测定后更换测定液重新释放和测定。

3. 动物实验

用中国医学科学院基础研究所诱发的可移植性 615 小鼠前胃鳞状上皮癌和中国科学院上海药理学研究所的可移植性昆明小鼠肉瘤(S 180)作为实验肿瘤。

两种实验小鼠均采用匀浆法接种。取种后 2—3 周, 将生长良好、瘤体表面无溃破的小鼠用断颈法处死。在无菌条件下取其瘤组织 1 g, 剪成小碎块放入组织研磨器内, 加入 2 ml 生理盐水研磨成细胞悬液。将悬液注入实验小鼠右腋皮下。接种小鼠的体重在 20 g 左右, 每只小鼠接种 0.2 ml 悬液。接种 7—10 d 后于腋下出现可触及肿块时, 将小鼠分成三组进行治疗, 观察比较。第一组小鼠无菌条件下在靠近肿瘤皮下埋入一片慢释 5-Fu 药片; 第二组小鼠同日开始腹腔注射 5-Fu 针剂, 每日一次, 连续注射 10 d; 第三组小鼠不给药, 作为对照组。

在注射组完成注射后次日, 分别将三组小鼠断颈处死, 称重, 立即取血, 计其每立方毫米的白血球总数, 并取肿瘤称其重。比较各组小鼠肿瘤的差异, 并按“抗肿瘤药体内体外筛选规程草案”的规定, 以下式计算肿瘤的抑制率: $\text{肿瘤抑制率} = \frac{\text{对照组平均瘤重} - \text{给药组平均瘤重}}{\text{对照组平均瘤重}} \times 100\%$

对 615 小鼠只进行了慢释放 5-Fu 的埋植实验, 未与注射法对比。

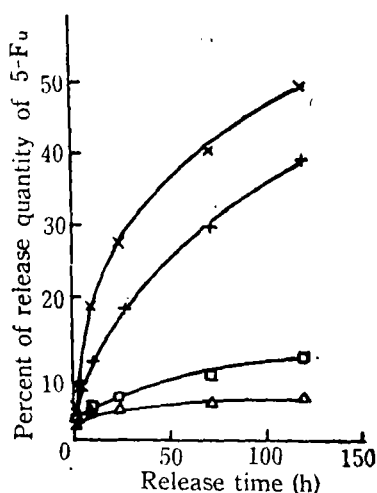


Fig 1. Effect of crosslinking reagent on release profile of 5-Fu
2G(%): (x) 10.3 (+) 17.0
(□) 20.2 (△) 29.8

结果和讨论

1. 慢释放 5-Fu 药剂的释放速率及其调节

将慢释放 5-Fu 药剂浸在测定液中, 5-Fu 从高分子载体中释放出的质量分数 w 与释放时间 t 的关系如图 1。在聚合体系中加入交联剂, 聚合物形成交联网状结构。从图 1 可见, 当 2 G 含量增加时, 体系的交联密度变大, 5-Fu 的释放速率变小。当 2 G 含量在 10%—20% 范围内改变时, 可有效地调节 5-Fu 的释放速率。当 2 G 的含量高于 30% 时, 由于体系已达到一定的交联密度, 2 G 含量的增加不再明显影响 5-Fu 的释放速率。本实验选择 17% 2 G 和 8% 5-Fu 的体系辐射聚合制备慢释 5-Fu 药剂。详细研究了 17% 2 G 的慢释放 5-Fu 药剂的释放规律, 发现 5-Fu 释放的质量分数 w 与释放时间

$t^{1/2}$ 成正比, 且 $w = 0.5 t^{1/2}$ (见图 2)。笔者曾探讨过慢释放 5-Fu 药剂的释放机制, 认为对亲水性聚合物载体, 5-Fu 释放速率受 5-Fu 向高分子网络外的扩散过程所控制, 且释放质量分数 w 与释放时间有 $w \propto t^{1/2}$ 之关系^[5]。图 2 的结果表明 2 G 添加量为 17% 的慢释药剂, 其 5-Fu 的释放速率仍然遵从 $w \propto t^{1/2}$ 规律, 是受扩散过程控制的。

2. 慢释放 5-Fu 药剂对可移植性 615 小鼠前胃鳞状上皮癌的治疗效果

接种可移植性前胃鳞状上皮癌细胞悬液的 615 小鼠, 在接种后 10 d 于腋下出现可触及肿块 (平均直径约 1 cm)。选择肿块大小相似的小鼠分为两组, 第一组 30 只为实验组, 分别在肿块附近皮下植入慢释 5-Fu 药剂一片, 含药量为 4 mg; 第二组小鼠 8 只, 不给药作为对照。埋药后第 10 d 将小鼠处死, 观察分析结果见表 1。

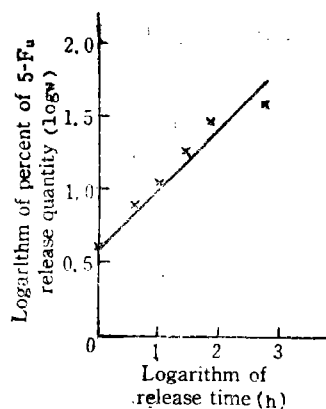


Fig 2. The slow release profile of 5-Fu from polymer matrix 2 G 17%, irradiation dose $1.6 \times 10^4 \text{ Gy}$

埋药和不给药组小鼠的肿瘤区别明显(见图3)。埋药组其肿瘤抑制率为40%。肿瘤经切片镜下观察(见图4)可见肿瘤周围包膜整齐,细胞小且分裂现象较少,肿瘤生长已被抑制。从表1可见,埋植慢释放5-Fu药剂后小鼠白血细胞计数与对照组相比无明显变化,且接近正常小鼠的白血细胞计数($8260/\text{mm}^3$)。证明药物局部投放没有产生明显的毒副作用。

3. 慢释放5-Fu药剂对可移植性昆明小鼠肉瘤S180的治疗效果

共接种小鼠75只,分为三组。接种后10 d,第一组分别在肿瘤附近皮下植入慢释5-Fu药剂一片(内含5-Fu 250 mg);第二组同日开始腹腔注射5-Fu,每日一次,剂量为20 mg/kg/d

Tab 1. The therapeutic effect of slow release 5-Fu drug on transplantable squamous cell carcinoma in mice 615

Dose mg/tablet	Number of mice	Average weight of tumor (mg)	Inhibition ratio of growth (%)	Average leucocyte count (mm^{-3})
4*	30	2.2	40	7709
0	8	3.5		7750

* buried near the tumor

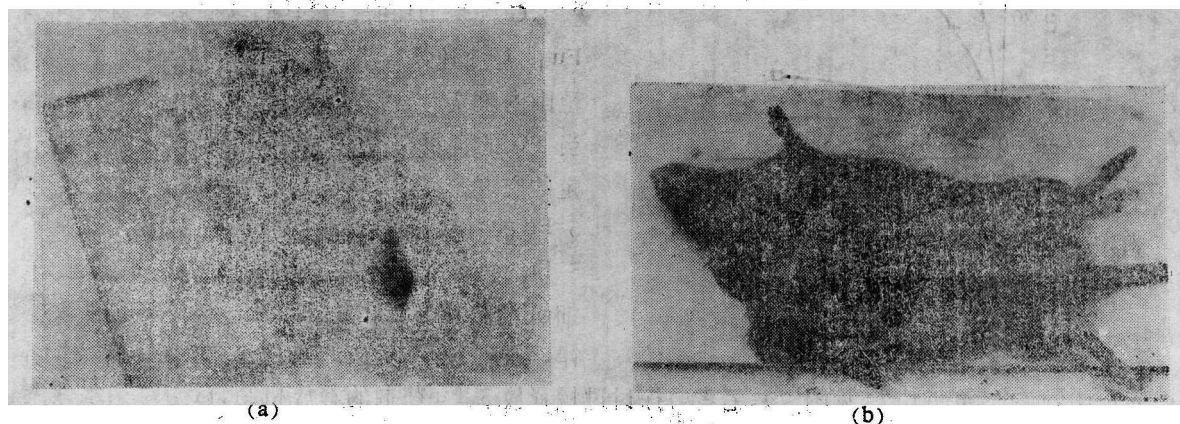


Fig 3. The photograph of transplantable squamous cell carcinoma in mice 615
(a) Treated group (on the 11th day after burying slow release 5-Fu drug near the tumor)
(b) Control group

连续10 d;第三组不给药作为对照组。在腹腔注射完成后次日将全部小鼠处死,实验结果见表2。各组小鼠差别明显,埋植慢释放5-Fu药剂的小鼠肿瘤有的完全消失,有的只剩下芝麻粒状或米粒状大小的小结节(见图5),经切片显微镜下观察多是坏死组织,如图6(a)所示。肿瘤抑制率平均可达96%。腹腔注射组虽然肿瘤也得到抑制,但切片显微镜下观察时发现瘤细胞多呈不同程度的抑制状态,生长不活跃,分裂相较少,坏死不严重(见图6(b))。同时,小鼠体重略有

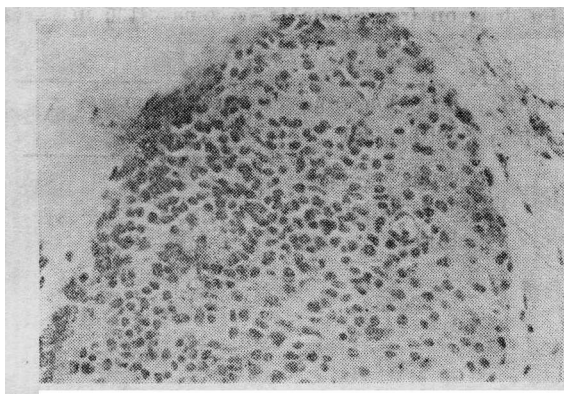
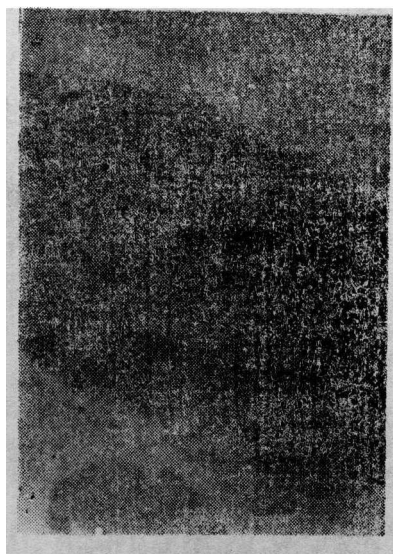


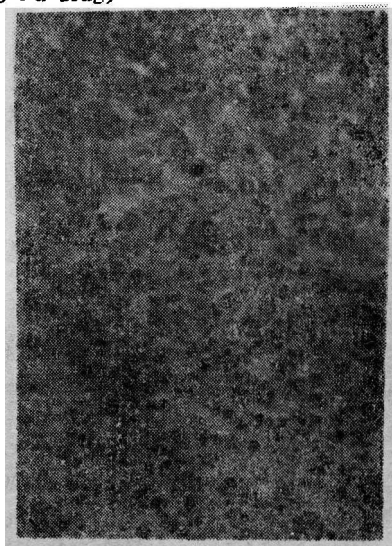
Fig 4. Microscopic examination of transplanted squamous cell carcinoma in mice 615. (on the 11th day after treatment with slow release 5-Fu drug)



Fig 5. Photograph of transplanted sarcoma S180 taken from Kunming mice. (from right to left, control group, intraperitoneal injection group with 5-Fu, treated group with slow release 5-Fu drug)



(a)



(b)

Fig 6. Microscopic examination of transplanted sarcoma S180 in Kunming mice

(a) Treated with slow release 5-Fu drug after 10 days

(b) Injected intraperitoneally once daily for 10 days

下降, 行为表现不活泼, 皮毛失去光泽, 与此对照, 埋植慢释 5-Fu 药剂的小鼠平均体重却增加了 2 g。腹腔注射组小鼠 10 d 累积注射剂量约为 5 mg(5-Fu), 白血细胞计数却显著下降, 平均降至 2400/mm³。埋植组的小鼠, 埋植剂量为 250 mg, 因体内释放速率受埋植部位体液的多少、药物在体内扩散速率等诸多条件影响, 实测相当困难。若按体外释放速率(见图 2)估算, 10 d 累积释放量最大可达 7.7%, 即 19 mg 左右(实际可能比此值低)。此时小鼠的白血细胞计数与对照组相比变化不大, 证明局部投药不仅可以提高肿瘤区域药物浓度, 而且可使毒副作用明显降低。

为研究这种慢释 5-Fu 药剂的生物相容性, 观察了药片埋植部位组织的变化情况, 发现在药片周围出现包膜。包膜为纤维组织, 有少数纤维细胞和组织细胞, 未见明显炎症细胞聚集, 说明只有轻度异物反应(见图 7)。

Tab 2. The therapeutic effect of slow release 5-Fu drug on transplantable sarcoma S180 in Kunming mice

		Treated group with slow release 5-Fu	Injection group with 5-Fu	Control group
Dose		250 mg/tablet	20mg/kg·day	—
Method of treatment		buried near the tumor	Intraperitoneal Injection × 10	—
Number of mice		53	10	12
Average body weight of mice (g)	On the	20.0	25.5	20.0
	1st day			
	On the	22.0	24.1	25.0
11th day				
Average weight of tumor (g)		0.11	0.20	2.34
Inhibition ratio of growth (%)		95.9	91.0	—
Average leucocyte count(mm^{-3})		4700	2400	4500

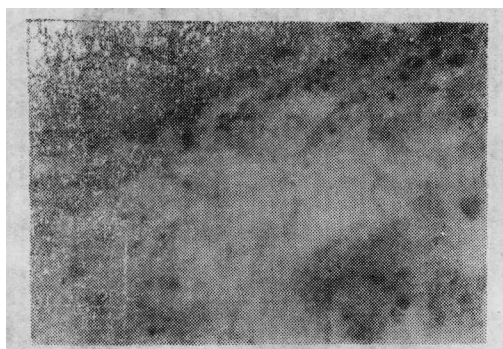


Fig 7. The biocompatibility of slow release 5-Fu drug buried near the tumor

综上所述, PHEMA-5-Fu 复合物是一种生物相容性较好的慢释药物, 它可被埋植在肿瘤附近, 缓慢释放 5-Fu, 对肿瘤起到抑制和治疗作用。与传统的注射法相比, 采用慢释药物可提高 5-Fu 在患部的浓度, 治疗效果显著, 毒副作用小, 具有一定优越性。

参 考 文 献

- [1] I. Kaetsu, J. Polymer Sci., A1, 10(8), 2203(1972).
- [2] I. Kaetsu and M. Yoshida, J. Biomed. Mater. Res., 14, 185(1980).
- [3] M. Yoshida, M. Asano, I. Kaetsu, K. Nakai, H. Yuasa and K. Shida, J. Biomed. Matter. Res., 19, 615(1985).
- [4] M. Yoshida, M. Asano and I. Kaetsu, Biomaterials, 4, 33(1983).
- [5] 李希明, 袁致俭, 陈文明, 谷保民、蒋心田, 辐射研究与辐射工艺学报, 7(3), 36(1989).

(稿件收到日期: 1989 年 12 月 8 日)

(下转第78页)

STRUCTURE AND PROPERTY OF γ -RADIATION CROSSLINKED LDPE/CSM BLENDS

He Zhongda and Li Shuzhong

(Changchun Institute of Applied Chemistry, Academia Sinica, Changchun)

ABSTRACT This paper reports the structure and physical properties of γ -radiation crosslinked low density polyethylene (LDPE) and chlorosulfonated polyethylene (CSM) blends. The effect of γ -radiation on IR spectra and crystallinity of the blends was investigated. It was observed that the presence of the antioxidants depressed the oxidation of LDPE/CSM during irradiation by IR spectroscopic analysis. The mechanical, dielectric properties and thermal analysis spectra of γ -radiation LDPE/CSM blends were discussed.

KEYWORDS Radiation crosslinking, LDPE, CSM, Blend, IR spectrum, Physical property

(上接第94页)

PREPARATION OF SLOW RELEASE ANTICANCER DRUG BY MEANS OF RADIATION TECHNIQUE AND IT'S THERAPEUTIC EFFECT ON SOLID TUMOR OF MICE

Li Ximing, Shen Weiming, Liu Chengjie and Hu Xu

(University of Science and Technology of China, Hefei)

ABSTRACT In order to minimize the toxic effect of chemotherapy of malignant tumors, the authors use a method of radiation induced cast polymerization of hydrophilic monomer at low temperature for immobilization the anticancer drug, 5-Fluorouracil, into the polymer matrix. The anticancer drug-polymer composite called slow release anticancer drug was used for treatment the transplantable squamous cell carcinoma in mice 615 and the transplantable sarcoma (S180) in Kunming mice. There were marked difference between the treated group and the control group. That is the higher inhibition ratio and lower toxic effect were reported.

KEYWORDS Anticancer drug, Slow release, Radiation polymerization, Chemotherapy