



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101953775 A

(43) 申请公布日 2011.01.26

(21) 申请号 201010284721.1

A61P 35/00(2006.01)

(22) 申请日 2010.09.17

(71) 申请人 郑州大学

地址 450001 河南省郑州市高新技术开发区  
科学大道 100 号

(72) 发明人 张振中 郭新红 张正全 胡海英  
梅芊 邢亚兵

(74) 专利代理机构 郑州天阳专利事务所(普通合伙)  
41113

代理人 聂孟民

(51) Int. Cl.

A61K 9/00(2006.01)

A61K 31/565(2006.01)

A61K 47/34(2006.01)

权利要求书 2 页 说明书 4 页

(54) 发明名称

用做可注射皮下植入剂的纳米粒水凝胶

(57) 摘要

本发明涉及用做可注射皮下植入剂的纳米粒水凝胶,可有效解决局部注射到皮下肿瘤旁边,变成凝胶,在体内缓慢释放纳米粒,实现治疗肿瘤之目的的问题,方法是,由水凝胶溶液和 2- 甲氧基雌二醇脂质体纳米粒粉末或者固体脂质纳米粒粉末制成,将 2- 甲氧基雌二醇脂质体纳米粒粉末或者固体脂质纳米粒粉末加入水凝胶溶液中,混合均匀成为用做可注射皮下植入剂的纳米粒水凝胶,2- 甲氧基雌二醇脂质体纳米粒粉末加入量为每 1ml 水凝胶溶液中加入 100mg ;本发明可注射水凝胶植入剂用于治疗乳腺癌等皮下肿瘤,保持局部靶部位有效的药物浓度,可缓释长效,可避免长期用药的耐药性,同时可提高疗效降低剂量,减少全身的毒副作用,还可以阻止乳腺癌等肿瘤的淋巴转移。

1. 一种用做可注射皮下植入剂的纳米粒水凝胶,其特征在于,由水凝胶溶液和 2- 甲氧基雌二醇脂质体纳米粒粉末或者固体脂质纳米粒粉末制成,所说的水凝胶溶液是由质量百分比计的:温度敏感型 PLGA-PEG-PLGA 嵌段共聚物 10-40%、水 60-90%,在 0-25℃低温下混合在一起,静置使温度敏感型 PLGA-PEG-PLGA 嵌段共聚物充分溶胀至溶液状态,成水凝胶溶液,备用;所说的 2- 甲氧基雌二醇脂质体纳米粒粉末或者固体脂质纳米粒粉末是由油相物和水相物及冻干保护剂制成,油相物、水相物混合成为 2ME 脂质体混悬液或者固体脂质纳米粒混悬液,再加入冻干保护剂混匀,经冷冻干燥,得纳米粒粉末,冻干保护剂加入量为 2ME 脂质体混悬液或者固体脂质纳米粒混悬液重量的 6-10%;将 2- 甲氧基雌二醇脂质体纳米粒粉末或者固体脂质纳米粒粉末加入水凝胶溶液中,混合均匀成为用做可注射皮下植入剂的纳米粒水凝胶,2- 甲氧基雌二醇脂质体纳米粒粉末或者固体脂质纳米粒粉末加入量为每 1ml 水凝胶溶液中加入 100mg;

所说的温度敏感型 PLGA-PEG-PLGA 嵌段共聚物分子量为 4000-5000, PLGA 为乳酸-乙醇酸共聚物,乳酸(LA):乙醇酸(GA)的摩尔比为 1-20:1;

所说的冻干保护剂为甘露醇、海藻糖的一种,或二者的混合;

所说的油相物为,将大豆卵磷脂 240mg、胆固醇 24mg、2- 甲氧基雌二醇 10mg,加入 4ml 乙醚溶解而成的油相物,或单硬脂酸甘油酯 480mg 和 2- 甲氧基雌二醇 16mg 混合后,放置在 80℃的水浴中使其完全熔融,熔融后以 1000rpm 速度搅拌 10min 成的油相物;水相物为泊洛沙姆 1885mg,加入 5ml PH7.4PBS 缓冲液溶解而成;或是将吐温 80 180mg、泊洛沙姆 18860mg 和超纯水 8ml,混合后,放置在同一水浴中,混匀成溶液水相物;

上述配比的油相物和水相物直接混合在一起,再加入油相物和水相物重量和 4-6% 的冻干保护剂,构成 2- 甲氧基雌二醇脂质体纳米粒粉末或者固体脂质纳米粒粉末。

2. 根据权利要求 1 所述的用做可注射皮下植入剂的纳米粒水凝胶,其特征在于,将 23% 聚乙二醇-聚乳酸乙醇酸共聚物和 77% 的水混合,放置在冰箱中充分溶胀,成溶液状的水凝胶溶液;制备稳定的 2- 甲氧基雌二醇脂质体,乙醚注入法:称取大豆卵磷脂 240mg,胆固醇 24mg,2ME 10mg 置入西林瓶中,加入 4ml 乙醚溶解成油相;称取泊洛沙姆 1885mg,加入 5ml PH 7.4PBS 缓冲液溶解成水相;在 40℃,1000r/min 磁力搅拌下将油相缓慢匀速滴入水相中,持续半小时挥发乙醚后再继续搅拌 30min 得乳白色混悬液,将上述粗混悬液水浴超声 30min 后,探头超声,功率 400W,超 3s,停 3s,10 次,水浴超声和探头超声共 3 个循环,即得 2ME 脂质体溶液,2ME 脂质体溶液中加入其重量的冻干保护剂甘露醇 4%、海藻糖 6%, -80℃预冻 12h 后,冷冻干燥 24h,冻干保护剂复溶后粒径为 150nm, Zeta 电位为 -21mV 的粉末,称取粉末 200mg, 20℃低温下均匀混悬在 2ml 水凝胶的溶液中即可。

3. 根据权利要求 1 所述的用做可注射皮下植入剂的纳米粒水凝胶,其特征在于,将 23% 聚乙二醇-聚乳酸乙醇酸共聚物和 77% 的水混合,放置在冰箱中充分溶胀,成溶液状的水凝胶溶液;制备 2- 甲氧基雌二醇固体脂质纳米粒,称取 0.48g 单硬脂酸甘油酯和 0.016g 2- 甲氧基雌二醇混合后放置在 80℃的水浴中使其完全熔融,熔融后以 1000rpm 速度搅拌 10min,作为油相;称取 0.18g 吐温 80, 0.06g 泊洛沙姆 188 和 8ml 的超纯水混合后放置在同一水浴中使成溶液,此为水相;在 80℃,1000rpm 的条件下先将此水相在以 10ml/min 速度滴加到同温度保温的油相中,再继续搅拌 10min;在 80℃,用分散机以 10000rpm 分散 3min,之后以 400w 的功率探头超声 8min,即得 2- 甲氧基雌二醇的固体脂质纳米粒混悬

液,再在 2- 甲氧基雌二醇的固体脂质纳米粒混悬液中加入其重量 6% 的海藻糖, -80℃ 预冻 12h 后, 冷冻干燥 24h, 冻干粉复溶后粒径约 280nm, Zeta 电位约为 -18mV 的粉末, 称取粉末 200mg, 20℃ 低温下均匀混悬在 2ml 水凝胶的溶液中即可。

## 用做可注射皮下植入剂的纳米粒水凝胶

### 一、技术领域

[0001] 本发明涉及医药,特别是一种用做可注射皮下植入剂的纳米粒水凝胶。

### 二、背景技术

[0002] 用于皮下肿瘤治疗的植入剂目前通常情况下呈固态,需要小手术将其植入皮下发挥疗效或者是可局部注射的微球混悬液。前一种植入剂病人的顺应性差,后一种病人顺应性高,但其制备工艺较复杂,制备过程可能要用到有毒的有机溶剂而造成有机溶剂残留,而且其只是将原形药物释放到靶部位发挥作用。但是由于乳腺癌等皮下肿瘤通常都需要长期用药,容易产生耐药性;有些抗癌药物毒性较大,在产生局部较高浓度的同时也会造成较高血药浓度,从而药物分布全身而造成毒性;有些抗癌药物的细胞作用靶点在细胞内,对于这些抗癌药物,制备成上述两种植入剂,药效或毒性难以保证。

### 三、发明内容

[0003] 针对上述情况,为克服现有技术缺陷,本发明之目的就是提供一种用做可注射皮下植入剂的纳米粒水凝胶,可有效解决局部注射到皮下肿瘤旁边,变成凝胶,在体内缓慢释放纳米粒,实现治疗肿瘤之目的的问题。

[0004] 本发明解决的技术方案是,由水凝胶溶液和 2-甲氧基雌二醇(简称 2ME,以下同)脂质体纳米粒粉末或者固体脂质纳米粒粉末制成,所说的水凝胶溶液是由质量百分比计的:温度敏感型 PLGA-PEG-PLGA 嵌段共聚物 10-40%、水 60-90%,在 0-25℃低温下混合在一起,静置使温度敏感型 PLGA-PEG-PLGA 嵌段共聚物充分溶胀至溶液状态,成水凝胶溶液,备用;所说的 2-甲氧基雌二醇脂质体纳米粒粉末或者固体脂质纳米粒粉末是由油相物和水相物及冻干保护剂制成,油相物、水相物混合成为 2ME 脂质体混悬液或者固体脂质纳米粒混悬液,再加入冻干保护剂混匀,经冷冻干燥,得纳米粒粉末,冻干保护剂加入量为 2ME 脂质体混悬液或者固体脂质纳米粒混悬液重量的 6-10%;将 2-甲氧基雌二醇脂质体纳米粒粉末或者固体脂质纳米粒粉末加入水凝胶溶液中,混合均匀成为用做可注射皮下植入剂的纳米粒水凝胶,2-甲氧基雌二醇脂质体纳米粒粉末加入量为每 1ml 水凝胶溶液中加入 100mg;

[0005] 所说的温度敏感型 PLGA-PEG-PLGA 嵌段共聚物为市售产品,如济南岱罡生物科技有限公司生产的产品,分子量为 4000-5000,PLGA 为乳酸-乙醇酸共聚物,乳酸(LA):乙醇酸(GA)的摩尔比为 1-20:1;

[0006] 所说的冻干保护剂为甘露醇、海藻糖的一种,或二者的混合;

[0007] 所说的油相物为,将大豆卵磷脂 240mg、胆固醇 24mg、2-甲氧基雌二醇 10mg,加入 4ml 乙醚溶解而成的油相物,或单硬脂酸甘油酯 480mg 和 2-甲氧基雌二醇 16mg 混合后,放置在 80℃的水浴中使其完全熔融,熔融后以 1000rpm 速度搅拌 10min 成的油相物;

[0008] 所说的水相物为泊洛沙姆 1885mg,加入 5ml PH7.4PBS 缓冲液溶解而成;或是将吐温 80180mg、泊洛沙姆 18860mg 和超纯水 8ml,混合后,放置在同一水浴中,混匀成溶液水相

物;所说的 PBS 缓冲液为含质量浓度为 0.05%吐温-20 的 PH7.4 的磷酸盐缓冲液,是由磷酸二氢钾、磷酸氢二钠、氯化钠、氯化钾、吐温-20,加水混合在一起制成(公知技术);

[0009] 上述配比的油相物和水相物直接混合在一起,再加入油相物和水相物重量和 4-6%的冻干保护剂,构成 2-甲氧基雌二醇脂质体纳米粒粉末或者固体脂质纳米粒粉末。

[0010] 本发明可注射水凝胶植入剂用于治疗乳腺癌等皮下肿瘤,其可避免常规固态植入剂需要小手术的痛苦,病人给药顺应性大大提高,而且直接在靶部位释放药物,可保持较高的局部靶部位较高的有效的药物浓度,保证了抗癌药物的疗效。由于是局部给药,避免全身的分布,给药剂量特别低。同时可缓释长效,水凝胶在体内缓慢的降解,缓慢的释放纳米粒,根据水凝胶量的多少可持续释药至少 1 个月,避免口服制剂或静注等其他途径的频繁给药,特适合长期用药的疾病治疗。更重要的是从水凝胶中释放出来的纳米粒,可直接将药物转运到细胞内,可避免长期用药的耐药性,同时可提高疗效降低剂量,减少全身的毒副作用,还可以阻止乳腺癌等肿瘤的淋巴转移。

#### 四、具体实施方式

[0011] 以下结合实施例对本发明的具体实施方式作详细说明。

[0012] 实施例 1:

[0013] 本发明在具体实施中,可由以下的实施例给出:

[0014] 将 23%聚乙二醇-聚乳酸乙醇酸共聚物(其中聚乳酸乙醇酸共聚物材料的乳酸/乙醇酸的摩尔比是 3:1)和 77%的水混合,放置在冰箱中充分溶胀,成溶液状的水凝胶溶液;

[0015] 制备稳定的 2-甲氧基雌二醇(2ME)脂质体,乙醚注入法:称取大豆卵磷脂 240mg,胆固醇 24mg,2ME 10mg 置入西林瓶中,加入 4ml 乙醚溶解成油相;称取泊洛沙姆 1885mg,加入 5ml PH 7.4 PBS 缓冲液溶解成水相;在 40℃,1000r/min 磁力搅拌下将油相(吸入 1ml 注射器)缓慢匀速滴入水相中,持续半小时挥发乙醚后再继续搅拌 30min 得乳白色混悬液,将上述粗混悬液水浴超声 30min 后,探头超声,功率 400W,超 3s,停 3s,10 次,水浴超声和探头超声共 3 个循环,即得 2ME 脂质体溶液(含 2ME 2mg/ml),2ME 脂质体溶液中加入其重量的冻干保护剂甘露醇 4%、海藻糖 6%(或每 1ml 2ME 脂质体溶液中加入甘露醇 4mg,海藻糖 6mg),-80℃预冻 12h 后冷冻干燥 24h,冻干保护剂复溶后粒径约 150nm, Zeta 电位约为 -21mV 的粉末,与冻干前无显著差异,称取粉末 200mg,20℃低温下均匀混悬在 2ml 水凝胶的溶液中即可。

[0016] 实施例 2:

[0017] 将 23%聚乙二醇-聚乳酸乙醇酸共聚物(其中聚乳酸乙醇酸共聚物材料的乳酸/乙醇酸的摩尔比是 3:1)和 77%的水混合,放置在冰箱中充分溶胀,成溶液状的水凝胶溶液;

[0018] 制备 2-甲氧基雌二醇固体脂质纳米粒,称取 0.48g 单硬脂酸甘油酯和 0.016g 2-甲氧基雌二醇混合后放置在 80℃的水浴中使其完全熔融,熔融后以 1000rpm 速度搅拌 10min,作为油相;称取 0.18g 吐温 80,0.06g 泊洛沙姆 188 和 8ml 的超纯水混合后放置在同一水浴中使成溶液,此为水相;在 80℃,1000rpm 的条件下先将此水相在以 10ml/min 速度滴加到同温度保温的油相中,再继续搅拌 10min;在 80℃,用分散机以 10000rpm 分

散 3min, 之后以 400w 的功率探头超声 8min, 即得 2- 甲氧基雌二醇的固体脂质纳米粒混悬液, 再在 2- 甲氧基雌二醇的固体脂质纳米粒混悬液中加入其重量 6% 的海藻糖,  $-80^{\circ}\text{C}$  预冻 12h 后, 冷冻干燥 24h, 冻干粉复溶后粒径约 280nm, Zeta 电位约为  $-18\text{mV}$  的粉末, 称取粉末 200mg,  $20^{\circ}\text{C}$  低温下均匀混悬在 2ml 水凝胶的溶液中即可。

[0019] 本发明可有效用于乳腺癌等皮下肿瘤, 病人痛苦小, 可保持较高的局部靶部位有效的药物浓度, 治疗效果好, 并经动物试验取得了另人非常满意的效果, 有关试验资料如下:

[0020] 1. 动物: SPF 级 KM 小鼠, 雌性,  $42 \pm 2$  日龄, 体重  $19 \pm 2\text{g}$ , 由郑州大学实验动物中心提供。合格证编号: SCXK(豫)2009-0001。每组动物数: 阴性对照组 20 只, 给药组 10 只。

[0021] 2. 移植瘤: 小鼠肉瘤 S-180, 由 KM 小鼠腹水传代保存。

[0022] 3. 体内抗肿瘤活性: 取生长良好的 7-11 天的 S-180 瘤种, 将瘤组织制成  $1-2 \times 10^{-7}/\text{ml}$  细胞悬液, KM 小鼠右侧腋部皮下接种 0.2ml/只。接种 10d 后随机分笼, 按照分组不同给药。阴性对照组每天 1 次连续静脉注射生理盐水, 连续注射 21 天; 阳性对照组 5-氟脲嘧啶 (5-FU) 0、3、6、9、12、15、18 天静脉给药 (i.v) 共 7 次。原料药水凝胶植入剂, 于 0 天皮下注射空白载体或药液于肿瘤旁边。脂质体空白载体组和脂质体水凝胶植入剂给药组, 分别于 0 天皮下注射空白载体或药液于肿瘤旁边。固体脂质纳米粒空白载体组和固体脂质纳米粒水凝胶植入剂给药组, 分别于 0 天皮下注射空白载体或药液于肿瘤旁边。第 21 天处死动物, 称体重、瘤重, 计算各组平均瘤重, 求出肿瘤抑制率并进行 t 检验, 优选出最佳治疗组, 结果下表。

[0023]

$$\text{肿瘤抑制率}(\%) = \frac{\text{空白对照组平均瘤重} - \text{抑瘤组平均瘤重}}{\text{空白对照组平均瘤重}} \times 100\%$$

[0024] 2- 甲氧基雌二醇可注射植入剂的体内抗肿瘤效应

[0025]

组别	剂量	给药途径和频率	动物数		体重(g)		瘤重(g)	抑瘤率	P 值
			开始	最后	开始	最后			
阴性对照组	—	—	20	20	22.1	33.8	$7.12 \pm 0.49$		
5-FU	50mg/kg	每3天腹腔注射1次	10	10	22.2	29.0	$2.77 \pm 0.18$	61.1%	<0.01
原料药水凝胶植入剂	75mg/kg	皮下注射1次	10	10	22.3	28.9	$2.01 \pm 0.56$	76.2%	<0.01
	150mg/kg	皮下注射1次	10	10	22.2	27.4	$0.10 \pm 0.05$	98.6%	
脂质体空白载体	0.2ml	皮下注射1次	10	10	22.4	32.6	$7.01 \pm 0.43$	1.54%	
脂质体水凝胶植入剂	75mg/kg	皮下注射1次	10	10	22.1	27.3	$0.32 \pm 0.07$	95.5%	<0.01
固体脂质纳米粒空白载体	0.2ml	皮下注射1次	10	10	22.4	33.1	$6.93 \pm 0.53$	2.67%	
固体脂质纳米粒水凝胶	75mg/kg	皮下注射1次	10	10	22.3	26.8	$0.45 \pm 0.12$	93.67%	<0.01

[0026] 上述试验在不同时间内,重复试验多次,均得出相同或相近的结果,表 1 中的阴性对照组为静注生理盐水。

[0027] 通过皮下载瘤小鼠药效学研究,以静注生理盐水为阴性对照,以原料药腹部注射 5- 氟脲嘧啶为阳性对照,由表 1 得出,两个原料药水凝胶植入剂在两个剂量下的试验组均具有明显的抗皮下肿瘤效果,而且,在同剂量下,脂质体和固体脂质纳米粒水凝胶植入剂的疗效均明显优于原料药水凝胶植入剂的疗效。而且脂质体和固体脂质纳米粒水凝胶植入剂的低剂量组的疗效与原料药水凝胶植入剂的高剂量组的疗效相当。可见,脂质体和固体脂质纳米水凝胶植入剂与原料药水凝胶植入剂相比,疗效高但剂量低。