

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200610125179.9

A61K 9/14 (2006.01)  
A61K 31/12 (2006.01)  
A61K 47/34 (2006.01)  
A61P 35/00 (2006.01)

[43] 公开日 2007 年 5 月 9 日

[11] 公开号 CN 1957926A

[22] 申请日 2006.11.28

[21] 申请号 200610125179.9

[71] 申请人 华中科技大学

地址 430074 湖北省武汉市洪山区珞喻路  
1037 号东 11 楼

[72] 发明人 刘 杰 王一帆 张胜民

[74] 专利代理机构 湖北武汉永嘉专利代理有限公司  
代理人 张安国

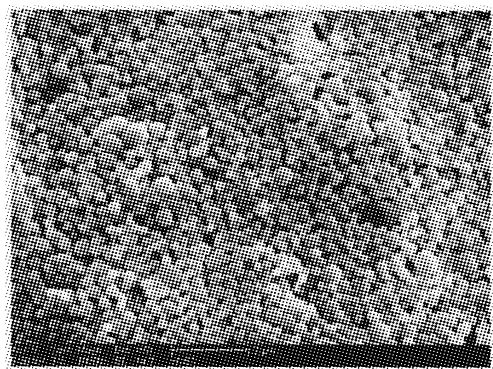
权利要求书 1 页 说明书 6 页 附图 1 页

[54] 发明名称

姜黄素纳米药物缓释微粒及其制备方法

[57] 摘要

一种姜黄素纳米药物缓释微粒及其制备方法。其微粒为纳米尺度的可降解聚合物载姜黄素微粒，粒径为 150 - 500 纳米，载药率 2.68% ~ 4.5%，包封率为 18% ~ 50%，可降解聚合物是聚乳酸或聚乳酸-羟基乙酸共聚物。本发明将乳液-溶剂扩散技术引入制备疏水性药物姜黄素的缓释纳米微粒，制备的微粒是球形规整的纳米粒子，可较好的分散于水中形成均匀稳定的悬乳液，极大地改善了药物不溶于水的性质。体外释放实验表明，制备的聚合物载姜黄素纳米微粒在磷酸盐缓冲溶液中持续释放 2 周以上，可大幅度延长姜黄素在体内的保留和作用时间，从而大大提高姜黄素的生物利用度。本制备方法，可以极大提高聚合物浓度的适用范围，所得粒子产率高，可实现自动化和规模化生产。



1、一种姜黄素纳米药物缓释微粒，其特征在于所述的姜黄素纳米药物缓释微粒为纳米尺度的可降解聚合物载姜黄素微粒，粒径在 150—500 纳米之间，载姜黄素量为质量 2.68%~4.5%，包封率为 18%~50%，所述的可降解聚合物是聚乳酸，或聚乳酸—羟基乙酸共聚物。

2、权利要求 1 所述的姜黄素纳米药物缓释微粒的制备方法，其特征是乳液—溶剂扩散法，其制备步骤如下：

步骤 1、根据所要制备的聚合物载姜黄素纳米微粒的理论载药率，用丙酮或丙烯酸碳酸酯作溶剂，配制聚乳酸浓度为 2.5—25 毫克/毫升有机溶液，或者聚乳酸—羟基乙酸共聚物浓度为 2.5—25 毫克/毫升有机溶液；

步骤 2、用体积浓度 95% 的乙醇配制浓度为 0.5—5 毫克/毫升姜黄素有机溶液，并使其充分溶解；

步骤 3、将步骤 1 配制好的聚乳酸丙酮溶液，或者聚乳酸丙烯酸碳酸酯溶液，或者聚乳酸—羟基乙酸共聚物丙酮溶液，或者聚乳酸—羟基乙酸共聚物丙烯酸碳酸酯溶液，与步骤 2 配制的姜黄素乙醇溶液混合均匀，得二元有机溶液，所述的二元有机溶液中溶剂体积比为乙醇：丙酮=3：2—7，乙醇：丙烯酸碳酸酯=3：2；

步骤 4、通过恒流泵将步骤 3 配好的二元有机溶液缓慢滴入含分散剂明胶或泊洛沙姆 188 浓度为 0.5%—1% 的水相中，得乳液；

步骤 5、将步骤 4 的乳液加入到含分散剂明胶或泊洛沙姆 188 浓度为 0.167%—0.5% 的水相中，得乳液，该过程在搅拌状态下进行；

步骤 6、当使用丙酮作为溶剂时，将步骤 5 的乳液维持搅拌 4—6 小时，使有机溶剂挥发完全，当使用丙烯酸碳酸酯作为溶剂时，将步骤 5 搅拌 2 小时后的乳液取出装入透析袋中用去离子水透析过夜，得到含可降解聚合物载姜黄素纳米微粒的乳液；

步骤 7、将步骤 6 进行完后的乳液取出，通过低温高速离心收集可降解聚合物载姜黄素纳米微粒产物；

步骤 8、将步骤 7 收集的产物冷冻干燥，即获得聚乳酸或聚乳酸—羟基乙酸共聚物载姜黄素纳米微粒。

## 姜黄素纳米药物缓释微粒及其制备方法

### 技术领域

本发明属于生物医学材料领域，具体涉及姜黄素纳米药物缓释微粒及其制备方法。

### 背景技术

姜黄素 (Curcumin) [1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione] 是一种从姜科植物姜黄中提取出来的  $\beta$ -二酮多酚类化合物。几个世纪以来，姜黄素一直被用作食物香料使用，同时它也是印度草药医学 (Ayurvedic medicine) 的重要药材之一。姜黄素除可作色素、香料、染料、化妆品外，还具有广泛的药理作用，例如姜黄素能降血脂，抗血小板及清除氧自由基，具有提高网状系统吞噬力和调节机体免疫力等作用，其中抗肿瘤作用是姜黄素的主要活性之一，已被美国国立肿瘤研究所列为第三代癌化学预防药。通过白鼠体内研究表明，姜黄素可以预防皮肤癌、贲门窦癌，结肠癌和肝癌的发生，同时它还显示出抑制多种肿瘤细胞的增殖，比如 B cell 和 T cell 引起的非白血病性白血病，结肠癌和表皮样癌等。姜黄素对肿瘤的抑制作用既可始于肿瘤初始形成阶段，又可发生在肿瘤进展期。

因为姜黄素具有良好的预防肿瘤发生及抑制肿瘤生长的作用，又因其毒副作用小，获取容易，价格低廉，服用方便，所以在临床应用上具有广阔的应用前景，然而，许多药物动力学的研究表明，姜黄素口服的生物利用度很低，口服后以原形随粪便排出体外约 89%，少量随尿液排出体外。导致低生物利用度的原因主要受姜黄素不溶于水及易分解的性质影响。姜黄素只溶于乙醇和二甲亚砜 (DMSO)，在 pH 值为中性或酸性的水中完全不能溶解，当 pH 为碱性时，虽然可以溶解但却又会很快的降解。因此，尽管姜黄素的功效很广，但其临床应用却严重地被它较低的生物利用度所限制，极大的阻碍了其发展前景 (Kumar A, Dhawan S, Hardegen NJ, et al. Biochem Pharmacol. 1998, 55, 775; 王晓庆, 梁中琴, 顾振纶. 姜黄素抗肿瘤作用机制研究进展. 中草药. 2004, 35:347-350; 刘安昌, 姜红祥, 赵丽霞. 姜黄素药理活性及体内代谢. 国外医药. 植物药分册, 2004, 19:1-5)。

乳液-溶剂扩散法是一种用于规模化制备可降解聚合物纳米微粒的方法。除此之外，其他制备方法还有乳液-挥发法、盐析法和纳米沉淀法等，但常规乳液-挥发法、盐析法和纳米沉淀法都具有一定的缺陷，比如乳液-挥发法中所使用的含氯溶剂以及盐析法中所使用的盐类等物质都会对包裹生物活性药物产生影响，纳米沉淀法虽然没有使用含氯溶剂及其它有毒成分，但产率和包封率却很低。乳液-溶剂扩散法是使用水混溶性的溶剂，例如丙酮和乙醇。在这种方法中，溶有聚合物的水混性溶剂首先与水相混合形成稳定的 O/W 型乳液，再通过增加水相使得溶剂向外水相扩散，乳液滴表面张力降低，尺寸减小，进而固化形成聚合物纳米微粒 (Hideki Murakami, Masao Kobayashi, Hirofumi Takeuchi, et al. Further application of a modified spontaneous emulsification solvent diffusion method to various types of PLGA and PLA polymers for preparation of nanoparticles. Powder Technology, 2000, 107: 137-143; Leroux, J.C., Allemann, E., Doelker, E., et al. New approach for the preparation of nanoparticles by an emulsification-diffusion method. Eur. J. Pharm. Biopharm.,

1995, 41: 14-18)。

将姜黄素通过包裹制成纳米药物缓释体系(微粒)能改善药物的疏水性质,形成的聚合物屏障还可以保护药物免受外界环境影响而轻易降解,延长药物在体内的停留和作用时间,提高生物利用度;同时纳米粒子所具有的主动、被动靶向效应还可以增强药物对于特定病灶区的靶向作用,充分发挥其疗效。除此之外,载姜黄素纳米药物缓释体系的应用还可推广到其它领域,如炎症治疗,化妆品、食品等。因此,研究载姜黄素纳米缓释体系的制备方法具有重大的意义。然而,当前国内外对这个方面的研究几乎没有开展,仅见有国外专利将姜黄素制成缓释气溶胶用于抗炎症治疗,关于使用可降解聚合物对姜黄素进行包裹用于肿瘤治疗领域的研究没有发现。

### 发明内容

本发明的目的是提出一种基于乳液-溶剂扩散理论的姜黄素纳米药物体系的制备方法,针对姜黄素不溶于水和易分解的缺陷,通过将姜黄素包裹于可降解聚合物(聚乳酸、聚乳酸-羟基乙酸共聚物)中制成纳米微粒,从而改善姜黄素的疏水性质,延长姜黄素在体内的停留和作用时间,提高姜黄素的生物利用度,增强药物的靶向作用,进而为姜黄素的各种研究和临床应用奠定基础。

本发明的一种姜黄素纳米药物缓释微粒为纳米尺度的可降解聚合物载姜黄素微粒,粒径在150-500纳米之间,载姜黄素药率2.68%~4.5%,包封率为18%~50%,所述的可降解聚合物是聚乳酸或聚乳酸-羟基乙酸共聚物。

本发明的姜黄素纳米药物缓释微粒的制备方法,其特征是乳液-溶剂扩散法,其制备步骤如下:

步骤1、根据所要制备的聚合物载姜黄素纳米微粒的理论载药率,用丙酮或丙烯酸酯作溶剂,配制聚乳酸浓度为2.5-25毫克/毫升有机溶液,或者聚乳酸-羟基乙酸共聚物浓度为2.5-25毫克/毫升有机溶液;

步骤2、用体积浓度95%的乙醇配制浓度为0.5-5毫克/毫升姜黄素有机溶液,并使其充分溶解;

步骤3、将步骤1配制好的聚乳酸丙酮溶液,或者聚乳酸丙烯酸酯溶液,或者聚乳酸-羟基乙酸共聚物丙酮溶液,或者聚乳酸-羟基乙酸共聚物丙烯酸酯溶液,与步骤2配制的姜黄素乙醇溶液混合均匀,得二元有机溶液,所述的二元有机溶液中溶剂体积比为乙醇:丙酮=3:2-7,乙醇:丙烯酸酯=3:2;

步骤4、通过恒流泵将步骤3配好的二元有机溶液缓慢滴入含分散剂明胶或泊洛沙姆188(Poloxamer 188)浓度为0.5%-1%的水相中,得乳液;

步骤5、将步骤4的乳液加入到含分散剂明胶或泊洛沙姆188浓度为0.167%-0.5%的水相中,得乳液,该过程在搅拌状态下进行;

步骤6、当使用丙酮作为溶剂时,将步骤5的乳液维持搅拌4-6小时,使有机溶剂挥发完全,当使用丙烯酸酯作为溶剂时,将步骤5搅拌2小时后的乳液取出装入透析袋中用去离子水透析过夜,得到含可降解聚合物载姜黄素纳米微粒的乳液;

步骤 7、将步骤 6 进行完后的乳液取出，通过低温高速离心收集可降解聚合物载姜黄素纳米微粒产物；

步骤 8、将步骤 7 收集的产物冷冻干燥，即获得聚乳酸或聚乳酸-羟基乙酸共聚物载姜黄素纳米微粒。

本发明制备的可降解聚合物载姜黄素纳米微粒是球形规整的纳米粒子，在乳液中分散良好，本发明将乳液-溶剂扩散技术引入制备疏水性药物姜黄素的缓释纳米微粒，得到粒径在纳米尺度且非常均匀的姜黄素纳米药物缓释体系。经包裹后，肉眼比较可发现载姜黄素纳米微粒可以较好的分散于水中形成颜色均匀稳定的悬乳液，这表明药物不溶于水的性质得到了极大的改善。体外释放实验表明，本发明所制备的可降解聚合物载姜黄素纳米微粒可在磷酸盐缓冲溶液中持续释放 2 周以上，可大幅度延长姜黄素在体内的保留时间和作用时间，从而大大提高姜黄素的生物利用度。细胞毒性实验表明，本发明所制备的可降解聚合物载姜黄素纳米微粒对肿瘤细胞存活性的抑制率较常规姜黄素药物高，且作用时间更长。同时，采用本发明的可降解聚合物载姜黄素纳米微粒的制备方法，可以极大提高聚合物浓度的适用范围，所得粒子产率高，可实现自动化和规模化生产。

#### 附图说明

图 1. 实施例 3 制备的聚乳酸载姜黄素纳米微粒的透射电镜照片

图 2. 实施例 4 制备的聚乳酸-羟基乙酸共聚物载姜黄素纳米微粒的扫描电镜照片

#### 具体实施方式

以下通过具体实例对本发明作进一步阐释。下述实施例中明胶水溶液的 % 表示溶液 100 毫升中含有明胶的克数，泊洛沙姆 188 (Poloxamer 188) 水溶液的 % 表示溶液 100 毫升中含有 Poloxamer 188 的克数。

泊洛沙姆 188 又名普郎尼克 F68 (Pluronic F68)，它是环氧乙烷和环氧丙烷的欠段共聚物。

#### 实施例 1

将含姜黄素 0.5 毫克/毫升的乙醇溶液和含聚乳酸 2.5 毫克/毫升的丙酮溶液，按体积比为 3:2 将两种溶液混合均匀，然后通过恒流泵把此混合溶液缓慢的滴加入 30 毫升 0.5% 的明胶水溶液中，滴加结束后，将形成的乳液再次通过恒流泵缓慢滴加入 50 毫升 0.167% 的明胶水溶液中，滴加时保持高速搅拌，滴加结束后维持搅拌 4 小时，然后取出进行低温高速离心 (12,000 转/分钟)，收集浓缩的含固体纳米微粒悬乳液，最后将浓缩的含固体纳米微粒悬乳液进行冷冻干燥，即得到聚乳酸载姜黄素纳米微粒。

激光粒度分析表明，所得纳米微粒以 167 纳米为有效直径呈正态分布，多分散性为 0.105。透射电镜下观察该纳米微粒具有规整的球形外观，在乳液中分散良好。测量结果：载姜黄素量为质量 3.28%，封装率为 20.3%。

#### 实施例 2

将含姜黄素 0.5 毫克/毫升的乙醇溶液和含聚乳酸 2.5 毫克/毫升的丙稀碳酸酯溶液，按体积比为 3:2 将两种溶液混合均匀，然后通过恒流泵把此混合溶液缓慢的滴加入 30 毫升

1%的明胶水溶液中,滴加结束后,将形成的乳液再次通过恒流泵缓慢滴加入 50 毫升 0.3%的明胶水溶液中,滴加时保持高速搅拌,滴加结束后维持搅拌 2 小时,然后取出样品放入透析袋里在去离子水中透析过夜,透析结束后取出袋中样品进行低温高速离心(12,000 转/分钟),收集浓缩的含固体纳米微粒悬乳液,最后将浓缩的悬乳液进行冷冻干燥,即得到聚乳酸载姜黄素纳米微粒。

激光粒度分析表明,所得纳米微粒以 200 纳米为有效直径呈正态分布,多分散性为 0.118。透射电镜下观察该纳米微粒具有规整的球形外观,在乳液中分散良好。测量结果:载姜黄素量为质量 3.15%,包封率为 18.9%。

### 实施例 3

将含姜黄素 1 毫克/毫升的乙醇溶液和含聚乳酸 5 毫克/毫升的丙酮溶液,按体积比为 3:4.5 将两种溶液混合均匀,然后通过恒流泵把此混合溶液缓慢的滴加入 30 毫升 0.5%的明胶水溶液中,滴加结束后,将形成的乳液再次通过恒流泵缓慢滴加入 50 毫升 0.167%的明胶水溶液中,滴加时保持高速搅拌,滴加结束后维持搅拌 6 小时,然后取出样品进行低温高速离心(12,000 转/分钟),收集浓缩的含固体纳米微粒悬乳液,最后将浓缩的悬乳液进行冷冻干燥,即得到聚乳酸载姜黄素纳米微粒。

激光粒度分析表明,所得纳米微粒以 212 纳米为有效直径呈正态分布,多分散性为 0.185。透射电镜下观察该纳米微粒具有规整的球形外观,在乳液中分散良好。测量结果:载姜黄素量为质量 3.35%,包封率为 23.6%。

### 实施例 4

将含姜黄素 2.5 毫克/毫升的乙醇溶液和含聚乳酸 15 毫克/毫升的丙酮溶液,按体积比为 3:4.5 将两种溶液混合均匀,然后通过恒流泵把此混合溶液缓慢的滴加入 30 毫升 1%的明胶水溶液中,滴加结束后,将形成的乳液再次通过恒流泵缓慢滴加入 100 毫升 0.33%的明胶水溶液中,滴加时保持高速搅拌,滴加结束后维持搅拌 5 小时,然后取出样品进行低温高速离心(12,000 转/分钟)。收集浓缩的含固体纳米微粒悬乳液,最后将浓缩的悬乳液进行冷冻干燥,即得到聚乳酸载姜黄素纳米微粒。

激光粒度分析表明,所得纳米微粒以 350 纳米为有效直径呈正态分布,多分散性为 0.128。透射电镜下观察该纳米微粒具有规整的球形外观。测量结果:载姜黄素量为质量 3.55%,包封率为 25.8%。

### 实施例 5

将含姜黄素 5 毫克/毫升的乙醇溶液和含聚乳酸 25 毫克/毫升的丙酮溶液,按体积比为 3:7 将两种溶液混合均匀,然后通过恒流泵把此混合溶液缓慢的滴加入 30 毫升 1%的明胶水溶液中,滴加结束后,将形成的乳液再次通过恒流泵缓慢滴加入 100 毫升 0.33%的明胶水溶液中,滴加时保持高速搅拌,滴加结束后维持搅拌 6 小时,然后取出样品进行低温高速离心(12,000 转/分钟),收集浓缩的含固体纳米微粒悬乳液,最后将浓缩的悬乳液进行冷冻干燥,即得到聚乳酸载姜黄素纳米微粒。

激光粒度分析表明,所得纳米微粒以 445 纳米为有效直径呈正态分布,多分散性为

0.366。透射电镜下观察该纳米微粒具有规整的球形外观。测量结果：载姜黄素量为质量2.68%，包封率为17.8%。

#### 实施例6

将含姜黄素 2.5 毫克/毫升的乙醇溶液和含聚乳酸 15 毫克/毫升的丙酮溶液，按体积比为 3: 4.5 将两种溶液混合均匀，然后通过恒流泵把此混合溶液缓慢的滴加入 30 毫升 1% 的泊洛沙姆 188 水溶液中，滴加结束后，将形成的乳液再次通过恒流泵缓慢滴加入 100 毫升 0.5% 的泊洛沙姆 188 水溶液中，滴加时保持高速搅拌，滴加结束后维持搅拌 4 小时，然后取出样品进行低温高速离心（12,000 转/分钟），收集浓缩的含固体纳米微粒悬乳液，最后将浓缩的悬乳液进行冷冻干燥，即得到聚乳酸载姜黄素纳米微粒。

激光粒度分析表明，所得纳米微粒以 350 纳米为有效直径呈正态分布，多分散性为 0.128。透射电镜下观察该纳米微粒具有规整的球形外观。测量结果：载姜黄素量为质量 3.55%，包封率为 25.8%。

#### 实施例7

将含姜黄素 0.5 毫克/毫升的乙醇溶液和含聚乳酸-羟基乙酸共聚物 2.5 毫克/毫升的丙酮溶液，按体积比为 3: 2 将两种溶液混合均匀，然后通过恒流泵把此混合溶液缓慢的滴加入 30 毫升 0.5% 的明胶水溶液中，滴加结束后，将形成的乳液再次通过恒流泵缓慢滴加入 50 毫升 0.167% 的明胶水溶液中，滴加时保持高速搅拌，滴加结束后维持搅拌 5 小时，然后取出样品进行低温高速离心（12,000 转/分钟），收集浓缩的含固体纳米微粒悬乳液，最后将浓缩的悬乳液进行冷冻干燥，即得到聚乳酸载姜黄素纳米微粒。

激光粒度分析表明，所得纳米微粒以 205 纳米为有效直径呈正态分布，多分散性为 0.115。透射电镜下观察该纳米微粒具有规整的球形外观，在乳液中分散良好。测量结果：载姜黄素量为质量 3.98%，包封率为 40.6%。

#### 实施例8

将含姜黄素 0.5 毫克/毫升的乙醇溶液和含聚乳酸-羟基乙酸共聚物 2.5 毫克/毫升的丙酮溶液，按体积比为 3: 2 将两种溶液混合均匀，然后通过恒流泵把此混合溶液缓慢的滴加入 30 毫升 0.5% 的泊洛沙姆 188 水溶液中，滴加结束后，将形成的乳液再次通过恒流泵缓慢滴加入 100 毫升 0.167% 的泊洛沙姆 188 水溶液中，滴加时保持高速搅拌，滴加结束后维持搅拌 6 小时，然后取出样品进行低温高速离心（12,000 转/分钟），收集浓缩的含固体纳米微粒悬乳液，最后将浓缩的悬乳液进行冷冻干燥，即得到聚乳酸载姜黄素纳米微粒。

激光粒度分析表明，所得纳米微粒以 350 纳米为有效直径呈正态分布，多分散性为 0.196。透射电镜下观察该纳米微粒具有规整的球形外观。测量结果：载姜黄素量为质量 3.67%，包封率为 32.8%。

#### 实施例9

将含姜黄素 2.5 毫克/毫升的乙醇溶液和含聚乳酸-羟基乙酸共聚物 15 毫克/毫升的丙酮溶液，按体积比为 3: 4.5 将两种溶液混合均匀，然后通过恒流泵把此混合溶液缓慢的滴加入 30 毫升 1% 的明胶水溶液中，滴加结束后，将形成的乳液再次通过恒流泵缓慢滴加入

50 毫升 0.33% 的明胶水溶液中，滴加时保持高速搅拌，滴加结束后维持搅拌 5 小时，然后取出样品进行低温高速离心（12,000 转/分钟），收集浓缩的含固体纳米微粒悬乳液，最后将浓缩的悬乳液进行冷冻干燥，即得到聚乳酸载姜黄素纳米微粒。

激光粒度分析表明，所得纳米微粒以 240 纳米为有效直径呈正态分布，多分散性为 0.095。透射电镜下观察该纳米微粒具有规整的球形外观，在乳液中分散良好。测量结果：载姜黄素量为质量 4.5%，包封率为 49.8%。

#### 实施例 10

将含姜黄素 5 毫克/毫升的乙醇溶液和含聚乳酸-羟基乙酸共聚物 25 毫克/毫升的丙酮溶液，按体积比为 3: 7 将两种溶液混合均匀，然后通过恒流泵把此混合溶液缓慢的滴加入 30 毫升 1% 的明胶水溶液中，滴加结束后，将形成的乳液再次通过恒流泵缓慢滴加入 50 毫升 0.33% 的明胶水溶液中，滴加时保持高速搅拌，滴加结束后维持搅拌 6 小时，然后取出样品进行低温高速离心（12,000 转/分钟），收集浓缩的含固体纳米微粒悬乳液，最后将浓缩的悬乳液进行冷冻干燥，即得到聚乳酸载姜黄素纳米微粒。

激光粒度分析表明，所得纳米微粒以 240 纳米为有效直径呈正态分布，多分散性为 0.165。透射电镜下观察该纳米微粒具有规整的球形外观，在乳液中分散良好。测量结果：载姜黄素量为质量 3.74%，包封率为 37.9%。



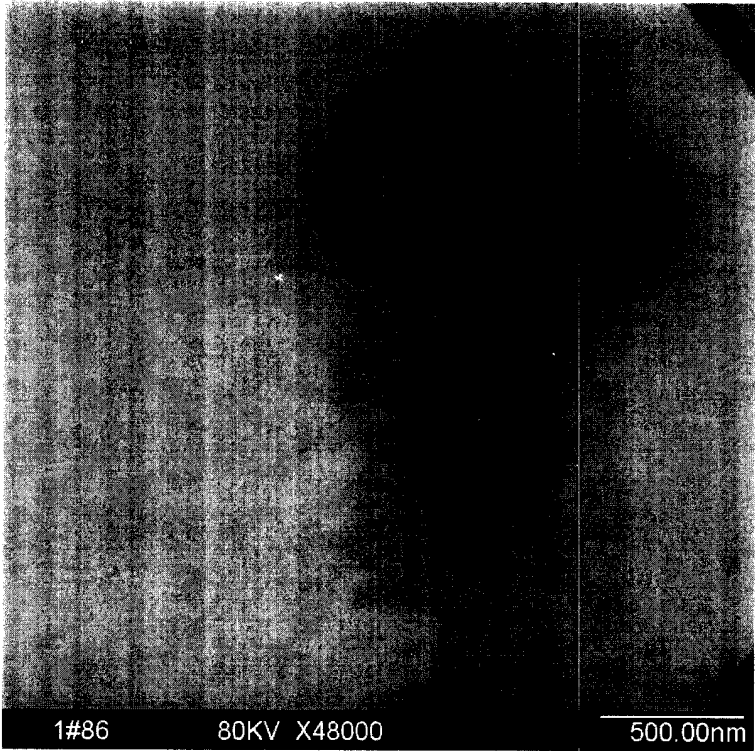


图 1

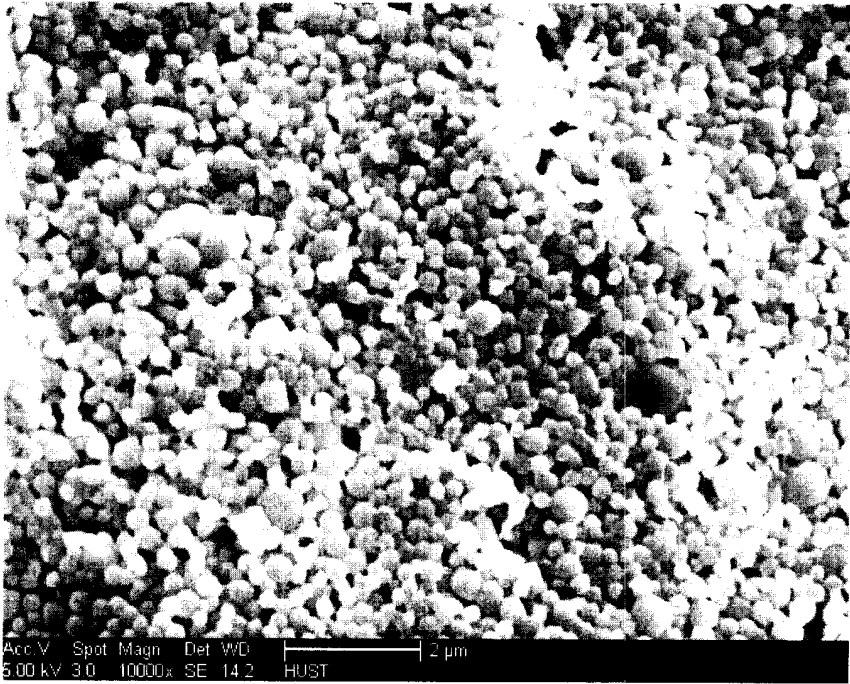


图 2