

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



# [12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200710055413.X

[51] Int. Cl.

A61K 9/14 (2006.01)

A61K 9/50 (2006.01)

A61K 47/34 (2006.01)

A61K 31/513 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

[43] 公开日 2007 年 10 月 17 日

[11] 公开号 CN 101053553A

[22] 申请日 2007.3.16

[21] 申请号 200710055413.X

[71] 申请人 吉林大学

地址 130023 吉林省长春市朝阳区前进大街  
2699 号

共同申请人 哈尔滨医科大学附属肿瘤医院

[72] 发明人 汤 钧 林 航 王锡山 汤庆超  
王 策 李 唯 王丽萍

[74] 专利代理机构 长春吉大专利代理有限责任公司  
代理人 张景林 刘喜生

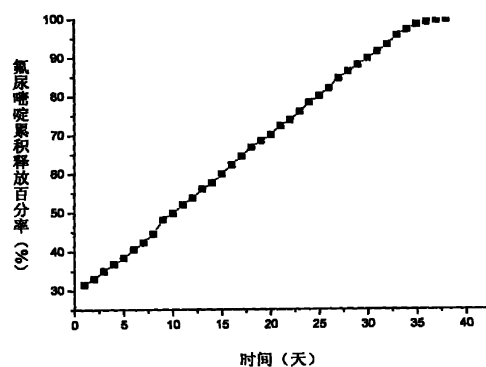
权利要求书 2 页 说明书 6 页 附图 6 页

## [54] 发明名称

一种生物可降解氟尿嘧啶聚酯载药纳米球及其制备方法

## [57] 摘要

本发明涉及一种生物可降解氟尿嘧啶(Fu)聚酯载药纳米球及其制备方法。包覆材料为聚乳酸、聚乳酸-羟基乙酸、聚乳酸-聚乙二醇嵌段共聚物或聚乳酸-羟基乙酸-聚乙二醇嵌段共聚物。首先,将共聚物充分溶解于二氯甲烷中,在超声震荡下,将氟尿嘧啶 NaOH 溶液注入到二氯甲烷溶液中,均匀分散,形成 W/O 的初乳液,将该初乳液在高速搅拌下注入含 5wt% 的聚乙烯醇(PVA)的氟尿嘧啶饱和水溶液中,经乳化形成 W/O/W 乳液,搅拌至二氯甲烷全部挥发,使微球固化;经冻干后于冰箱中保存。载药纳米球中药物含量占微球质量的 10~25%,而且微球表面光滑,不粘连,微球尺寸为 100~1000nm,直径分布均匀,并具有显著的缓释作用。



- 1、一种生物可降解氟尿嘧啶聚酯载药纳米球，其特征在于：是以聚乳酸、聚乳酸-羟基乙酸、聚乳酸-聚乙二醇嵌段共聚物或聚乳酸-羟基乙酸-聚乙二醇嵌段共聚物作为包覆材料，所载氟尿嘧啶以微区形式分布于整个纳米球之中，所制得的载药纳米球中，氟尿嘧啶含量占微球质量的 10%~25%，载药纳米球的平均粒径为 100~1000nm。
- 2、如权利要求 1 所述的生物可降解氟尿嘧啶聚酯载药纳米球，其特征在于：所用的聚乳酸的分子量为 30000~100000g/mol，所制得的氟尿嘧啶聚酯载药纳米球中，氟尿嘧啶含量占微球质量的 10%~22%，平均粒径为 300~1000nm。
- 3、如权利要求 1 所述的生物可降解氟尿嘧啶聚酯载药纳米球，其特征在于：所用的聚乳酸-羟基乙酸共聚物的分子量为 30000~100000 g/mol，共聚物中聚乳酸占聚乳酸和羟基乙酸链段总摩尔数之和的 10~90%，所制得的载药纳米球中，药物含量占微球质量的 10~22%，微球粒径为 100~1000nm。
- 4、如权利要求 3 所述的生物可降解氟尿嘧啶聚酯载药纳米球，其特征在于：聚乳酸-羟基乙酸共聚物中聚乳酸与羟基乙酸链段的摩尔比为 10：90、20：80、30：70、40：60、50：50、60：40、70：30、80：20 或 90：10。
- 5、如权利要求 4 所述的生物可降解氟尿嘧啶聚酯载药纳米球，其特征在于：聚乳酸-羟基乙酸共聚物中聚乳酸与羟基乙酸链段的摩尔比为 50：50。
- 6、如权利要求 1 所述的生物可降解氟尿嘧啶聚酯载药纳米球，其特征在于：所用的聚乳酸-聚乙二醇嵌段共聚物中，聚乳酸的分子量为 30000~100000 g/mol，聚乙二醇的分子量为 2000g/mol，所制得的载药纳米球中，药物含量占微球质量的 10%~20%，微球粒径为 200~1000nm。
- 7、如权利要求 1 所述的生物可降解氟尿嘧啶聚酯载药纳米球，其特征在于：所用的聚乳酸-羟基乙酸-聚乙二醇嵌段共聚物中，聚乳酸-羟基乙酸的分子量为 30000~100000 g/mol，其中乳酸占乳酸与羟基乙酸链段总摩尔数的 10~90%，聚乙二醇的分子量为 2000 g/mol，所制得的载药纳米球中，药物

含量占微球质量的 10~22%，微球粒径为 100~1000nm。

- 8、如权利要求 7 所述的生物可降解氟尿嘧啶聚酯载药纳米球，其特征在于：聚乳酸-羟基乙酸-聚乙二醇嵌段共聚物中聚乳酸与羟基乙酸链段的摩尔比为 10: 90、20: 80、30: 70、40: 60、50: 50、60: 40、70: 30、80: 20 或 90: 10。
- 9、如权利要求 8 所述的生物可降解氟尿嘧啶聚酯载药纳米球，其特征在于：聚乳酸-羟基乙酸-聚乙二醇嵌段共聚物中聚乳酸与羟基乙酸链段的摩尔比为 50: 50。
- 10、权利要求 1 所述的生物可降解氟尿嘧啶聚酯载药纳米球的制备方法，其步骤如下：
  - a. 以二氟甲烷为溶剂，将聚乳酸、聚乳酸-羟基乙酸共聚物、聚乳酸-聚乙二醇嵌段共聚物或聚乳酸-羟基乙酸-聚乙二醇嵌段共聚物充分溶解于二氯甲烷中；
  - b. 将氟尿嘧啶固体粉末溶解于浓度为 5wt% 的 NaOH 溶液中，形成浓度为 80~120mg/ml 的氟尿嘧啶 NaOH 溶液；
  - c. 在超声震荡下，将步骤 b 所得到的氟尿嘧啶 NaOH 溶液注入到步骤 a 所得到的聚合物溶液中，均匀分散，形成 W/O 的初乳液，氟尿嘧啶 NaOH 溶液与聚合物溶液的体积比为 1: 20 ~ 4: 20；
  - d. 将氟尿嘧啶固体粉末溶解在 5wt% 的聚乙烯醇溶液中，制成饱和溶液；
  - e. 将步骤 c 所得的 W/O 初乳液在高速搅拌下注入到步骤 d 所得的饱和溶液中，该饱和溶液与 W/O 初乳液的体积比为 20: 10 ~ 50: 10，经乳化形成 W/O/W 乳液，搅拌至二氯甲烷全部挥发，使微球固化；将获得的微球悬浮液离心，收集，并用蒸馏水洗涤数次后，经冻干后，在冰箱内保存，即可得到生物可降解聚酯氟尿嘧啶纳米微球。

## 一种生物可降解氟尿嘧啶聚酯载药纳米球及其制备方法

### 技术领域

本发明涉及一种氟尿嘧啶载药纳米球及其制备方法，特别是一种可生物降解性聚酯包裹氟尿嘧啶载药纳米球及其制备方法。

### 背景技术

氟尿嘧啶为嘧啶类抗代谢药，主要通过酶的竞争作用抑制胸腺嘧啶核苷酸的形成和 DNA 的生物合成，从而抑制肿瘤生长。其抗癌谱较广，对结肠癌、直肠癌、胃癌和乳腺癌等有效，是治疗实体肿瘤的首选药物。氟尿嘧啶的疗效虽好，但毒性也大，可引起严重的消化道反应和骨髓抑制等副作用，而且静脉注射后很快从血浆中消失，血浆  $t_{1/2}$  约 10~20 分钟。为了减少氟尿嘧啶的毒副作用并提高药物利用率，可以使之与可生物降解的高分子材料混合，制成具有缓释作用的载药纳米球，并通过控制粒径的大小使之具有靶向性，从而提高组织中药物的局部浓度，有效的杀灭病菌。同时减少给药剂量和次数，降低全身药物浓度，降低毒副作用。

目前国内已有一些关于生物降解高分子聚酯材料包裹氟尿嘧啶载药纳米球的研究工作的报道，熊素彬，陆彬发表了“氟尿嘧啶微球的制备工艺”中国医药工业杂志，2003，34（7）：330—332。该研究以聚乳酸（PLA）为载体，分别采用 O/O 型和 O/W 型乳化挥发法及喷雾干燥法制备氟尿嘧啶聚乳酸微球，其中，O/O 型乳化挥发法制得的微球实际载药量小于 2.0%，另两种方法制备的微球载药量分别为 10.25%和 26.18%。其不足之处在于，用 O/O 和 O/W 型乳化挥发法制备得到的微球载药量低，而喷雾干燥法对制备条件要求较高。

中国专利 200510024947.7 中，提供了一种以聚乳酸或聚乳酸与聚乙二醇共聚物作为包覆材料，以纳米二氧化硅或介孔型二氧化硅为载体，吸附氟尿嘧啶而形成的载药纳米球及其制备方法，该方法采用 W/O/W 乳化—溶剂挥发法来制备氟尿嘧啶载药纳米球，制得的微球平均粒径为 6.5~92.5 微米。

### 发明内容

本发明的目的之一是提供一种具有良好的生物相容性和生物降解性的氟尿嘧啶载药纳米球，其是以聚乳酸（PLA）、聚乳酸-羟基乙酸（PLGA）、聚乳酸-聚乙二醇嵌段共聚物或聚乳酸-羟基乙酸-聚乙二醇嵌段共聚物（PLA-PEG，PLGA-PEG）作为包覆材料，所载氟尿嘧啶以微区形式分布于整个纳米

球之中, 所制得的载药纳米球中, 氟尿嘧啶含量占微球质量的 10%~25%, 载药纳米球的平均粒径为 100~1000nm。其中平均粒径由粒度分析仪直接给出, 其意义是指测量时间内机器统计的微球粒径和与微球总数的平均值。

本发明的目的之二在于提供一种制备上述氟尿嘧啶载药纳米球的方法, 其是通过改变作为包覆材料的聚酯的分子量、聚酯的浓度, 利用 W/O/W 乳化-溶剂挥发法来制备表面光滑, 直径大小均匀, 而且粒径可控的氟尿嘧啶载药纳米微球。

本专利所述的生物可降解氟尿嘧啶聚酯载药纳米球, 是以聚酯即聚乳酸、聚乳酸-羟基乙酸、聚乳酸-聚乙二醇嵌段共聚物或聚乳酸-羟基乙酸-聚乙二醇嵌段共聚物为包覆材料。

作为本发明的优选的实施方式, 上述生物可降解氟尿嘧啶聚酯载药纳米球所用的聚乳酸的分子量为 30000~100000g/mol, 所制得的载药纳米球中, 氟尿嘧啶药物含量占微球质量的 10%~20%, 微球粒径为 300~1000nm;

所用的聚乳酸-羟基乙酸共聚物的分子量为 30000~100000 g/mol, 共聚物中乳酸占乳酸和羟基乙酸链段总摩尔数和的 10~90%, 所制得的载药纳米球中, 氟尿嘧啶药物含量占微球质量的 10~22%, 微球粒径为 100~1000nm; 更优选的实施方式中, 共聚物中聚乳酸与羟基乙酸链段的摩尔比为 10: 90、20: 80、30: 70、40: 60、50: 50、60: 40、70: 30、80: 20 或 90: 10; 最优选的实施方式中, 共聚物中聚乳酸与羟基乙酸链段的摩尔比为 50: 50;

所用的聚乳酸-聚乙二醇嵌段共聚物中, 聚乳酸的分子量为 30000~100000 g/mol, 聚乙二醇的分子量为 2000g/mol, 所制得的载药纳米球中, 药物含量占微球质量的 10%~20%, 微球粒径为 200~1000nm;

所用的聚乳酸-羟基乙酸-聚乙二醇嵌段共聚物中, 聚乳酸-羟基乙酸的分子量为 30000~100000 g/mol, 其中乳酸占乳酸与羟基乙酸链段总摩尔数的 10~90%, 聚乙二醇的分子量为 2000 g/mol, 所制得的载药纳米球中, 药物含量占微球质量的 10~22%, 微球粒径为 100~1000nm; 更优选的聚乳酸与羟基乙酸链段的摩尔比为 10: 90、20: 80、30: 70、40: 60、50: 50、60: 40、70: 30、80: 20 或 90: 10; 最优选的聚乳酸与羟基乙酸链段的摩尔比为 50: 50。

用于制备上面所述的生物可降解氟尿嘧啶聚酯载药纳米球的方法, 具体步骤如下:

- a) 以二氟甲烷为溶剂, 将聚乳酸 (分子量 30000~100000 g/mol)、聚乳酸-羟基乙酸 (分子量 30000~100000 g/mol, 其中乳酸占乳酸与羟基乙酸链段总摩尔数的 10~90%)、聚乳酸-聚乙二醇嵌段共聚物 (聚乳酸的

- 分子量为 30000~100000 g/mol, 聚乙二醇的分子量为 2000g/mol) 或聚乳酸-羟基乙酸-聚乙二醇嵌段共聚物 (聚乳酸-羟基乙酸的分子量为 30000~100000 g/mol, 其中乳酸占乳酸与羟基乙酸链段总摩尔数的 10~90%, 聚乙二醇的分子量为 2000 g/mol,) 充分溶解于二氯甲烷中;
- b) 将氟尿嘧啶固体粉末溶解于浓度为 5wt% 的 NaOH 溶液中, 形成浓度为 80~120mg/ml 的氟尿嘧啶 NaOH 溶液;
- c) 在超声震荡下, 将步骤 b 所得到的氟尿嘧啶 NaOH 溶液注入到步骤 a 所得到的聚合物溶液中, 均匀分散, 形成 W/O 的初乳液, 氟尿嘧啶 NaOH 溶液与聚合物溶液的体积比为 1: 20~4: 20;
- d) 将氟尿嘧啶固体粉末溶解在 5wt% 的聚乙烯醇 (PVA, 分子量 13000~23000, 醇解度 87~89%) 溶液中, 制成饱和溶液;
- e) 将步骤 c 所得的 W/O 初乳液在高速搅拌下注入到步骤 d 所得的饱和溶液中, 该饱和溶液与 W/O 初乳液的体积比为 20: 10~50: 10, 经乳化形成 W/O/W 乳液, 搅拌至二氯甲烷全部挥发, 使微球固化; 将获得的微球悬浮液离心, 收集, 并用蒸馏水洗涤数次后, 经冻干后, 在冰箱内保存, 即可得到生物可降解聚酯氟尿嘧啶纳米微球。

同现有技术相比, 本发明具有如下进步:

1. 本发明所载药物氟尿嘧啶是一种水溶性小分子药物, 因此采用具有亲水性链段的 PLA 或 PLGA 为包覆材料, 有利于提高载药纳米球的载药量。
2. 可通过调节所用聚合物的分子量来控制载药纳米球的药物释放时间以及载药纳米球的粒径大小。
3. 本发明制得的氟尿嘧啶载药纳米球平均粒径均小于 1000nm, 根据《中华人民共和国药典》, 可直接用于静脉注射。
4. 本发明方法采用水包油包水 (W/O/W) 乳化-溶剂挥发法, 操作简单。

本发明制备的氟尿嘧啶载药纳米球, 氟尿嘧啶载药量达到 10~22%, 与文献报道相比, 在保证一定的载药量的前提下, 明显的降低了微球的粒径。而且微球表面光滑, 不粘连, 微球尺寸为 100~1000nm, 直径分布均匀, 并具有显著的缓释作用。

#### 附图说明

图 1: 氟尿嘧啶载药标准曲线;

- 图 2: 氟尿嘧啶缓释标准曲线;
- 图 3: PLA (40000) 的体外缓释曲线;
- 图 4: PLA (100000) 的体外缓释曲线;
- 图 5: PLGA(20000-20000) 的体外缓释曲线;
- 图 6: PLGA(50000-50000) 的体外缓释曲线;
- 图 7: PLA-PEG(40000-2000) 的体外缓释曲线;
- 图 8: PLA-PEG(100000-2000) 的体外缓释曲线;
- 图 9: PLGA-PEG(20000-20000-2000)的体外缓释曲线;
- 图 10: PLGA-PEG(50000-50000-2000)的体外缓释曲线;
- 图 11: 氟尿嘧啶 NaOH 溶液量为 0.25ml 的体外缓释曲线;
- 图 12: 5wt%PVA 的氟尿嘧啶饱和水溶液的量 20ml 的体外缓释曲线;

### 具体实施方式

本专利中所用聚乳酸, 聚乳酸-羟基乙酸购自山东医疗器械研究所;

所用聚乳酸, 聚乳酸-羟基乙酸与聚乙二醇的嵌段共聚物购自济南岱罡生物科技有限公司;

所用氟尿嘧啶固体粉末购自常州市剑湖东风化工有限公司;

所用聚乙烯醇购自 Aldrich。

载药微球的粒径用 Malvern3000 型激光粒度分析仪 (德国) 测得。

载药量和药物随时间累计释放量, 分别根据用氟尿嘧啶固体粉末配制的标准溶液绘制的标准曲线算得 (附图 1, 2)。

用于计算载药量的标准溶液的配制方式为: 准确称取 10mg 氟尿嘧啶固体粉末, 以 1wt% 的 NaOH 溶液为溶剂。用容量瓶将氟尿嘧啶溶液准确定容至 100ml, 为标准溶液 1, 然后, 将标准溶液 1 分别准确稀释至 10 倍、25 倍、250 倍、500 倍、1000 倍, 按顺序分别记为标准溶液 2-6。用 UV2501PC 型分光光度计 (日本) 测标准溶液 1-6 的吸光度, 绘制标准曲线 (附图 1)。

计算载药量时, 将制得的载氟尿嘧啶微球 10mg 溶于 10ml 1%NaOH 中, 37℃下恒温以 80 次每分钟的速度水平振荡。24 小时后, 取上层溶液离心后测吸光度。对照载药量标准曲线计算出载药量。

用于计算释药曲线的标准溶液的配制方式为: 准确称取 5mg 氟尿嘧啶固体粉末, 以 PH=7.4 的磷酸缓冲液为溶剂。用容量瓶将氟尿嘧啶溶液准确定容至 100ml, 为标准溶液 1, 然后, 将标准溶液 1 分别准确稀释至 5 倍、10 倍、50 倍、100 倍、500 倍, 按顺序分别记为标准溶液 2-6。用 UV2501PC 型分光光度

仪（日本）测标准溶液 1—6 的吸光度，绘制标准曲线（附图 2）。

绘制缓释曲线时，将制得的载氟尿嘧啶微球 50mg 置于一个透析袋中，加 10ml pH=7.4 的磷酸盐缓冲液，两端扎紧，放入 90ml pH=7.4 的磷酸盐缓冲液中，每次取样 4ml 并及时补加 4ml 磷酸盐缓冲液。对取出的样品测吸光度。对照缓释标准曲线计算出释药浓度，进而计算累积释药百分率。累积释药百分率 = (样品释药浓度 × 溶液总体积) / 载药量 × 100%。至样品中氟尿嘧啶的浓度不在随着时间增加而增大时，认为释放完全。整个过程所持续的时间既为释放时间。

实施例 1：将 PLA (40000g/mol) 0.1g 溶解到 5ml 的二氯甲烷中，得到聚合物溶液。将 0.5ml、100mg/ml 的氟尿嘧啶 NaOH 溶液注入到聚合物溶液中，在超声作用下均匀分散，得到 W/O 的初乳液；高速搅拌下，将初乳液注入 10ml 含有 5wt%、PVA 的氟尿嘧啶饱和水溶液中，乳化 30min，形成 W/O/W 复乳液，再搅拌 3 小时挥发二氯甲烷，固化微球。将获得的悬浮液离心，收集其中的微球并用蒸馏水洗涤数次后，冷冻干燥，得到氟尿嘧啶纳米球。根据图 1 及图 2，根据测量及计算得到，所制得的载药纳米球中，药物含量占微球质量的 14.1%，微球平均粒径为 381.7nm。释放时间为 38 天（附图 3）。

实施例 2：本实例与实例 1 基本相同，所不同的是采用的 PLA 的分子量为 (100000g/mol)，所制得的载药纳米球中，药物含量占微球质量的 20.5%，平均粒径为 916.1nm。释放时间为 76 天（附图 4）。

实施例 3：本实例与实例 1 基本相同，所不同的是采用的聚合物为 PLGA，分子量为 (20000—20000 g/mol)，所制得的载药纳米球中，药物含量占微球质量的 12.7%，平均粒径为 212.3nm。释放时间为 19 天（附图 5）。

实施例 4：本实例与实例 3 基本相同，所不同的是采用的 PLGA 的分子量为 (50000—50000g/mol)，所制得的载药纳米球中，药物含量占微球质量的 20.1%，平均粒径为 884.2nm。释放时间为 70 天（附图 6）。

实施例 5：本实例与实例 1 基本相同，所不同的是采用的聚合物为 PLA—PEG，分子量为 (40000—2000g/mol)。所制得的载药纳米球中，药物含量占微球质量的 13.7%，微球平均粒径为 310.2nm。释放时间为 24 天（附图 7）。



实施例 6: 本实例与实例 1 基本相同, 所不同的是采用的 PLA-PEG 的分子量为 (100000-2000g/mol)。所制得的载药纳米球中, 药物含量占微球质量的 20.5%, 平均粒径为 974.1nm。释放时间为 67 天 (附图 8)。

实施例 7: 本实例与实例 1 基本相同, 所不同的是采用的聚合物为 PLGA-PEG, 分子量为 (20000-20000-2000g/mol)。所制得的载药纳米球中, 药物含量占微球质量的 15.3%, 平均粒径为 241.9nm。释放时间为 17 天 (附图 9)。

实施例 8: 本实例与实例 3 基本相同, 所不同的是采用的 PLGA-PEG 的分子量为 (50000-50000-2000 g/mol)。所制得的载药纳米球中, 药物含量占微球质量的 21.1%, 平均粒径为 883.9nm。释放时间为 58 天 (附图 10)。

实施例 9: 本实例与实例 3 基本相同, 所不同的是采用的氟尿嘧啶 NaOH 溶液量为 0.25ml。所制得的载药纳米球中, 药物含量占微球质量的 12.7%, 平均粒径为 151.3nm。释放时间为 8 天 (附图 11)。

实施例 10: 本实例与实例 5 基本相同, 所不同的是采用的 5wt%PVA 的氟尿嘧啶饱和水溶液的量 20ml。所制得的载药纳米球中, 药物含量占微球质量的 10.2%, 平均粒径为 103.8nm。释放时间为 5 天 (附图 12)。

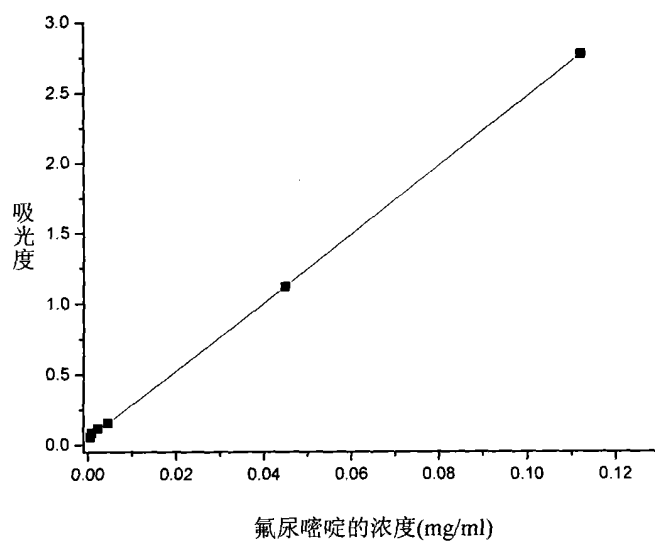


图 1

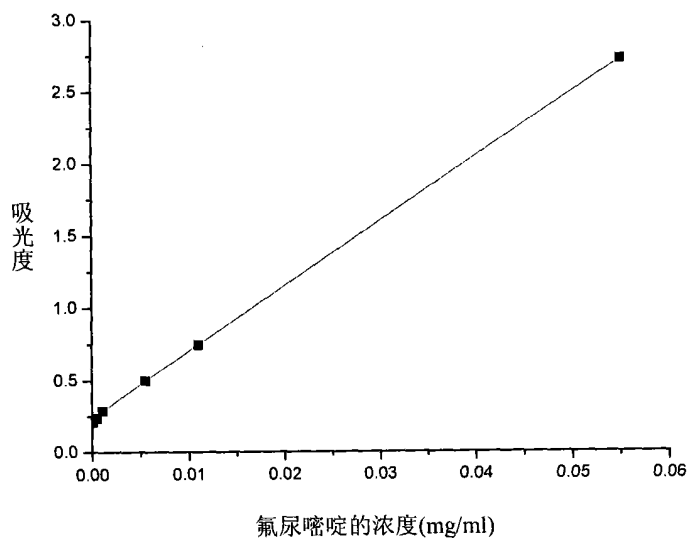


图 2

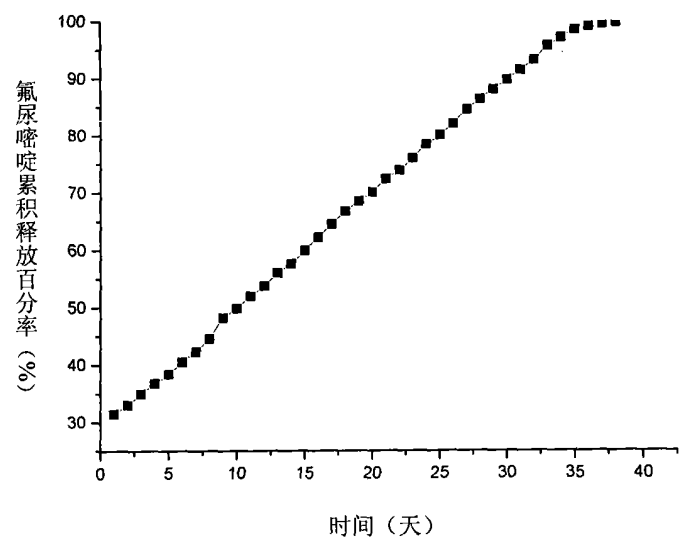


图 3

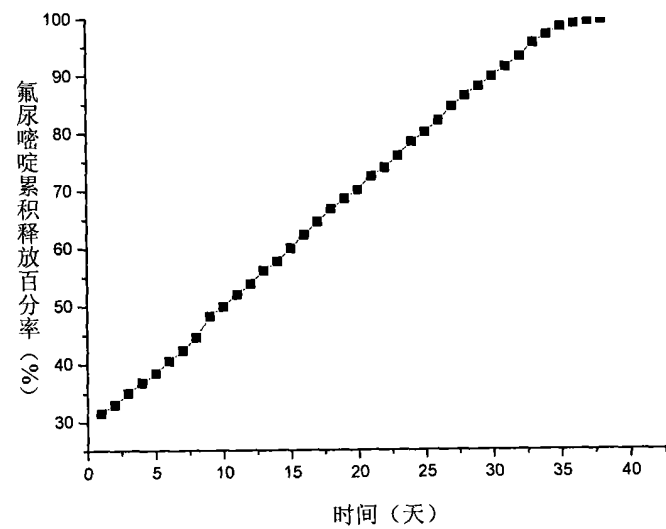


图 4

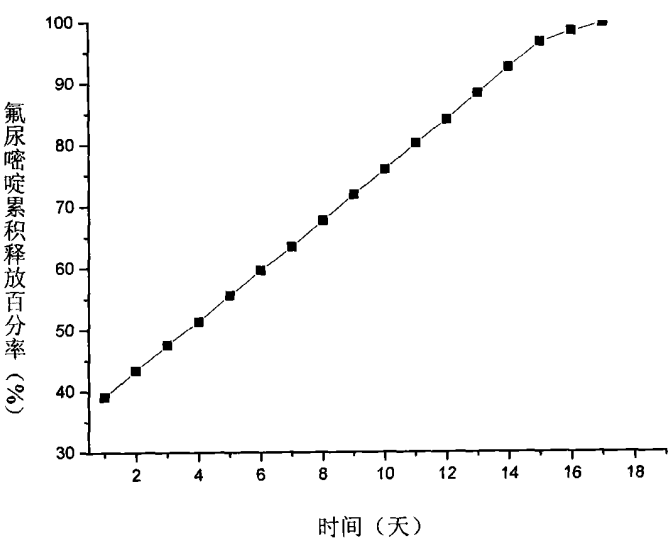


图 5

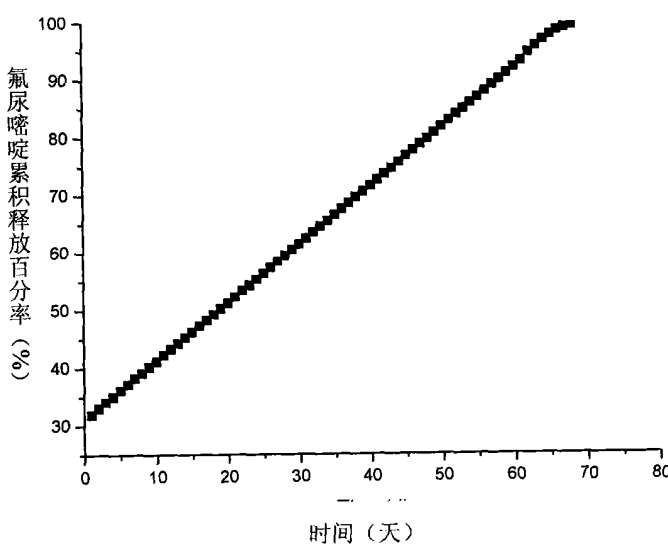


图 6

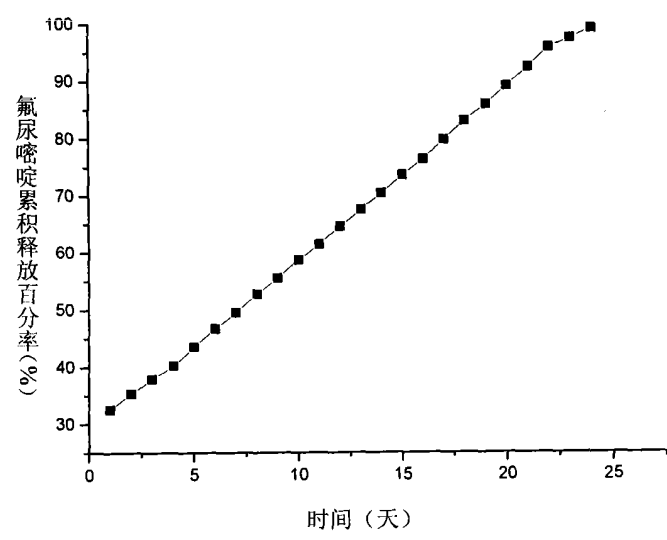


图 7

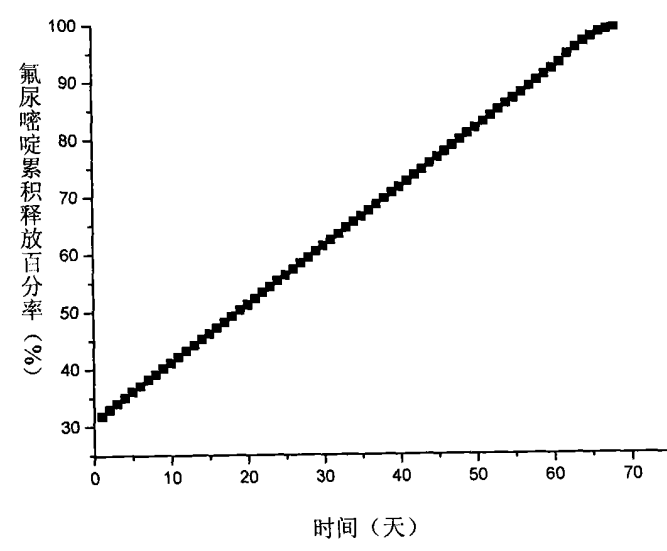


图 8

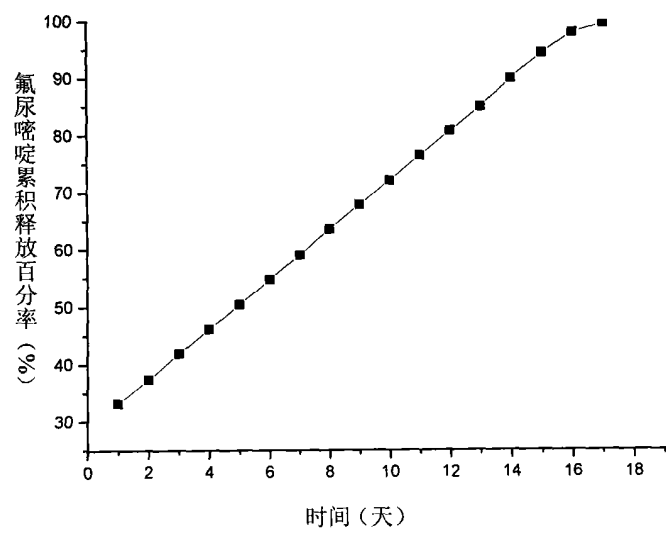


图 9

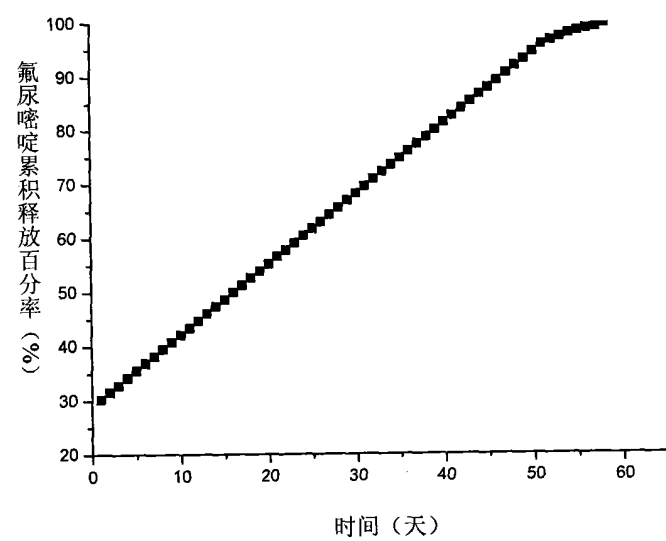


图 10

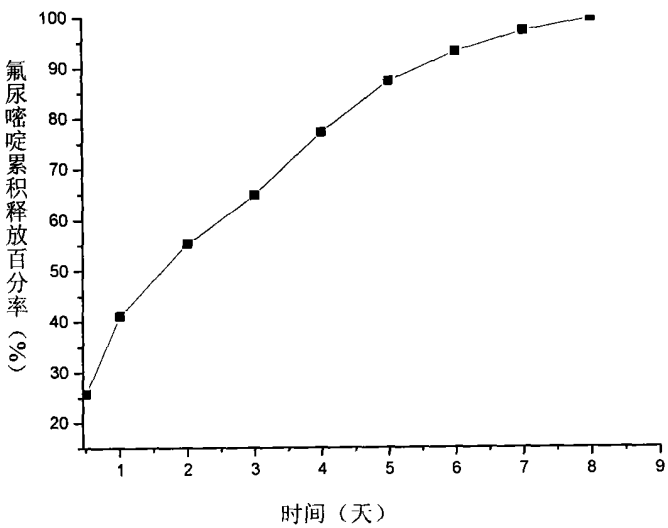


图 11

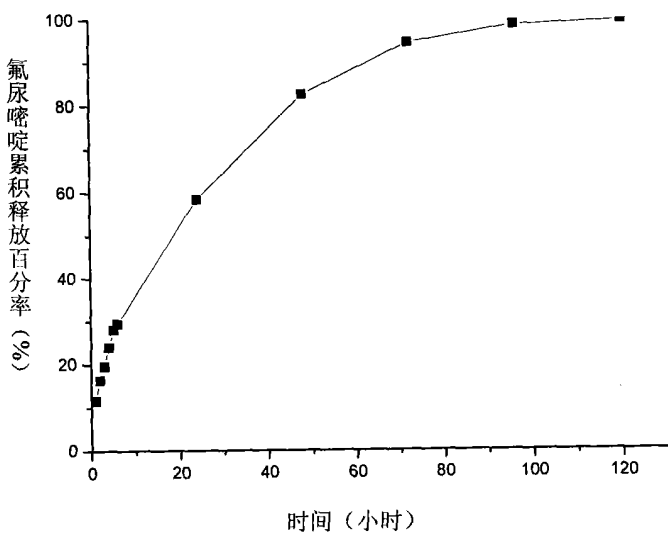


图 12