



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101804032 A

(43) 申请公布日 2010.08.18

(21) 申请号 201010147185.0

(22) 申请日 2010.04.09

(71) 申请人 华南理工大学

地址 510640 广东省广州市天河区五山路  
381 号

(72) 发明人 魏坤 李像

(74) 专利代理机构 广州粤高专利商标代理有限公司 44102

代理人 何淑珍

(51) Int. Cl.

A61K 9/16 (2006.01)

A61K 47/34 (2006.01)

A61K 31/513 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 4 页 附图 3 页

(54) 发明名称

包裹 5- 氟尿嘧啶的可生物降解性聚乳酸 / 纳米羟基磷灰石复合微球制备方法

(57) 摘要

本发明提供了包裹 5- 氟尿嘧啶的可生物降解性聚乳酸 / 纳米羟基磷灰石复合微球制备方法, 采用可生物降解高分子聚乳酸和生物无机材料纳米羟基磷灰石共同作为载体, 采用单乳化溶剂挥发法 (S/O/W) 制备包裹 5- 氟尿嘧啶的可生物降解性聚乳酸 / 纳米羟基磷灰石复合微球。采用不同的 nHA/5-Fu 质量比和不同的搅拌速度制备复合微球。所制得的微球球形规整, 表面有多孔, 微球大小分散均匀, 而且可以控制; 载药量达 3.0% 以上, 包封率达 70% 以上; 释药时间长, 达到 27 天以上, 具有显著的长效和缓释作用, 克服了 5-Fu 制剂缓释时间短或包封率低的缺陷, 有望用于治疗癌症。

1. 包裹 5-氟尿嘧啶的可生物降解性聚乳酸/纳米羟基磷灰石复合微球制备方法,其特征在于:将纳米羟基磷灰石和 5-氟尿嘧啶的混合物加入到碱性溶液中,先超声混合,再磁力搅拌 12 ~ 48h,冻干,得到白色冻干粉;将该白色冻干粉加入到含 1 ~ 20% g/mL 聚乳酸的挥发性有机溶剂中,1000 ~ 10000rpm 高速搅拌 1 ~ 10min,超声混合分散后,形成 S/O 乳液;再将 S/O 乳液倒入含 0.1 ~ 4% g/ml 甲基纤维素的去离子水溶液中,得到 S/O/W 乳液,以 200 ~ 1000rpm 磁力搅拌 1 ~ 6h,使有机溶剂直至挥发完全;离心,洗涤,然后冻干,即得所述微球。

2. 根据权利要求 1 所述的制备方法,其特征在于复合微球中载体聚乳酸的分子量为 1 ~ 10 万。

3. 根据权利要求 1 所述的制备方法,其特征在于复合微球中纳米羟基磷灰石是采用模板法制备的,粒径为 20 ~ 50nm。

4. 根据权利要求 1 所述的制备方法,其特征在于所述纳米羟基磷灰石和 5-氟尿嘧啶质量比为 1 : 1 ~ 50 : 1。

5. 根据权利要求 1 所述的制备方法,其特征在于所述碱性溶液为 NaOH 或 KOH 溶液,碱性溶液浓度为 0.1 ~ 3mol/L。

6. 根据权利要求 1 所述的制备方法,其特征在于所述超声的频率均为 40 ~ 100kHz。

7. 根据权利要求 1 所述的制备方法,其特征在于所述有机溶剂与甲基纤维素的去离子水溶液体积比为 1 : 10 ~ 1000。

8. 根据权利要求 1 ~ 8 任一项所述的制备方法,其特征在于所述的挥发性有机溶剂为二氯甲烷、丙酮、氯仿、或乙酸乙酯。

9. 根据权利要求 1 ~ 8 任一项所述的制备方法,其特征在于所述微球颗粒于干燥状态下保存。

## 包裹 5- 氟尿嘧啶的可生物降解性聚乳酸 / 纳米羟基磷灰石 复合微球制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种可生物降解性聚乳酸 / 纳米羟基磷灰石复合微球包裹 5- 氟尿嘧啶的制备方法。

### 背景技术

[0002] 5- 氟尿嘧啶 (5-Fu) 能抑制胸腺嘧啶核苷酸合成酶, 阻断脱氧嘧啶核苷酸转换成胸腺嘧啶核苷核, 干扰 DNA 合成, 起抗癌作用; 而且又能以伪代谢物掺入 RNA 中从而抑制肿瘤细胞的增殖。它是近三十多年来临床最常用的抗癌药, 对结肠癌、直肠癌、胃癌、乳腺癌、卵巢癌、绒毛膜上皮癌、恶性葡萄胎、头颈部鳞癌、皮肤癌、肝癌、膀胱癌等均有较好的疗效, 即使到目前为止, 它仍然是一种不可替代的最有效抗肿瘤药物之一。一般以静脉注射或滴注给药, 但对肿瘤细胞的选择性差、毒副作用大、代谢快、半衰期短, 限制了使用剂量和周期。高分子载药微球是近年来发展起来的新剂型, 可控释药物并延长药物的生物半衰期, 减轻毒副作用, 易于实现靶向或定位给药。国内外关于载 5-Fu 高分子微球报道很多, 主要集中在壳聚糖、牛血清白蛋白、明胶、PLA、PLGA, 但大部分都存在药物缓释时间短或包封率低等问题, 如梁桂媛等采用乳化交联制备了 5-Fu 壳聚糖微球, 粒度主要分布在  $3.5 \sim 6.5 \mu\text{m}$ , 药物大约半个小时完全释放 (梁桂媛, 方华丰, 刘志伟, 广东药学院学报, 2000, 16:7-10); Zhu. L. Z 等采用反乳液法制备了 5-Fu 的壳聚糖磁性纳米粒子, 药物只能持续释放 60 ~ 80h (Zhu. L. Z, Ma. J. W, et al, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2009, 68:1-6), 因此需要继续研究更为理想的载体。

[0003] 无机材料羟基磷灰石 (HA) 由于具有良好的生物相容性和生物活性而被广泛用作药物控释载体研究, 然而这种载体只是通过吸附或机械混合的方式载药, 释放时总是在初始阶段造成大量的突释, 随后的释放速度很慢甚至没有, 不能满足长效局部给药的目的。而聚合物微球具有方便的控制药物释放的优势, 另外还能在一定程度上增强无机材料的机械性能。因此, 无机材料 / 聚合物材料的复合微球能综合两种材料的长处, 为长效控释给药提供的途径。

[0004] 聚乳酸 (PLA) 由于具有良好的生物相容性和生物降解性而被广泛用作药物载体, 但其有一个缺点是因降解产物呈酸性, PH 值降低而易致发炎。生物陶瓷羟基磷灰石在水溶液中释放碱性离子, 可以用来中和 PLA 降解产物的酸性, 另外还可以提高材料的生物活性, 因此可以用在 PLA 载体材料中引入 HA 解决酸性问题。目前关于 PLA 和 HA 共同作为载体报道较少, 但 PLA/nHA 作为 5-Fu 载体并制成复合微球在国内外尚未见报道。

### 发明内容

[0005] 本发明的目的在于克服现有技术存在的上述不足, 提供包裹 5- 氟尿嘧啶的可生物降解性聚乳酸 / 纳米羟基磷灰石复合微球制备方法。本发明通过如下技术方案实现:

[0006] 包裹 5- 氟尿嘧啶的可生物降解性聚乳酸 / 纳米羟基磷灰石复合微球制备方法, 具

体步骤如下:将纳米羟基磷灰石(即 nHA)和 5- 氟尿嘧啶(即 5-Fu)的混合物加入到碱性溶液中,先超声混合,再磁力搅拌 12 ~ 48h,冻干,得到白色冻干粉(即 nHA-5-Fu);将该白色冻干粉加入到含 1 ~ 20% g/mL 聚乳酸的挥发性有机溶剂中,1000 ~ 10000rpm 高速搅拌 1 ~ 10min,超声混合分散后,形成 S/O 乳液;再将 S/O 乳液倒入含 0.1 ~ 4% g/ml 甲基纤维素的去离子水溶液中,得到 S/O/W 乳液,以 200 ~ 1000rpm 磁力搅拌 1 ~ 6h,使有机溶剂直至挥发完全;离心,洗涤,然后冻干,即得所述微球。

[0007] 作为上述制备方法进一步改进的技术方案,复合微球中载体聚乳酸的分子量为 1 ~ 10 万。

[0008] 作为上述制备方法进一步改进的技术方案,复合微球中纳米羟基磷灰石是采用模板法制备的,粒径为 20 ~ 50nm。

[0009] 作为上述制备方法进一步改进的技术方案,所述纳米羟基磷灰石和 5- 氟尿嘧啶质量比为 1 : 1 ~ 50 : 1。

[0010] 作为上述制备方法进一步改进的技术方案,所述碱性溶液为 NaOH 或 KOH 溶液,碱性溶液浓度为 0.1 ~ 3mol/L。

[0011] 作为上述制备方法进一步改进的技术方案,所述超声的频率均为 40 ~ 100kHz。

[0012] 作为上述制备方法进一步改进的技术方案,所述有机溶剂与甲基纤维素的去离子水溶液体积比为 1 : 10 ~ 1000。

[0013] 作为上述制备方法进一步改进的技术方案,所述的挥发性有机溶剂为二氯甲烷、丙酮、氯仿、或乙酸乙酯。

[0014] 作为上述制备方法进一步改进的技术方案,所述微球颗粒于干燥状态下保存。

[0015] 本发明相对于现有技术,具有如下优点和效果:

[0016] 本发明采用可生物降解高分子聚乳酸(PLA)和生物无机材料纳米羟基磷灰石(nHA)共同作为载体,采用单乳化溶剂挥发法(S/O/W)制备包裹 5- 氟尿嘧啶的可生物降解性聚乳酸/纳米羟基磷灰石复合微球(PLA/nHA-5-Fu 复合微球)。采用不同的 nHA/5-Fu 质量比和不同的搅拌速度制备复合微球。对微球性能的评价,表明微球球形规整,表面有多孔,微球大小分散均匀,而且可以控制;载药量较高(3.0%以上),包封率高(70%以上);释药时间长,达到 27 天以上,具有显著的长效和缓释作用。

[0017] 由于纳米羟基磷灰石自身具有纳米材料的高比表面,易吸附 5-Fu 包裹在其表面。这两点是 nHA 吸附 5-Fu 的主要机制。PLA/nHA-5-Fu 复合微球比 PLA-5-Fu 微球载药量高,其包封率达到 86.78%,可见加入 nHA 极大的提高了微球对 5-Fu 的包封率。这主要是因为 nHA 对 5-Fu 存在强吸附作用,在微球制备过程中,药物不易扩散至水相中,减少了药物损失。

[0018] PLA/nHA-5-Fu 微球和 PLA-5-Fu 微球都存在突释,这主要是由于部分药物分散微球内表面和外表面,极易释放出来。复合微球的药物突释效应较大是因为微球表面有吸附药物的 nHA。突释过后,PLA/nHA-5-Fu 微球的药物释放速率小于 PLA-5-Fu 微球,这主要是 HA 纳米粒子对 5-Fu 较强的吸附作用,使得复合微球药物缓释效果更好。

[0019] 本发明提供一种载药量和包封率高的、并可长期缓释的可生物降解性聚乳酸/纳米羟基磷灰石复合微球包裹 5- 氟尿嘧啶的制备方法,利用纳米羟基磷灰石对 5-Fu 的高吸附性能和氢键作用,克服了 5-Fu 制剂缓释时间短或包封率低的缺陷,可用于治疗癌症。

## 附图说明

[0020] 图 1 是实例 1 中纳米羟基磷灰石载药前后的透射电子显微镜图和扫描电子显微镜图。a, b, c 分别为 nHA 的 TEM 照片、nHA-5-Fu 的 TEM 和 SEM 照片。

[0021] 图 2 是实例 1 中 5-Fu 和纳米羟基磷灰石载药前后的傅里叶红外光谱图, 图中 a, b, c 分别为 nHA, nHA 载药, 5-Fu 的 FTIR 光谱图。

[0022] 图 3 是实例 1 中制备的复合微球扫描电子显微镜图。

[0023] 图 4 是实例 1 中复合微球的体外释放曲线。

## 具体实施方式

[0024] 以下的实施例是对本发明的进一步说明, 但本发明的实施不限于此。

[0025] 实例 1

[0026] PLA/nHA-5Fu 复合微球的制备: ① nHA-5-Fu 的制备: 将 0.3g nHA 和 60mg 5-Fu 加入到一定 0.3mol/l 的氢氧化钠水溶液中, 先 80kHz 超声混合, 再磁力搅拌 24h, 冻干, 得到白色冻干粉 nHA-5-Fu。②微球的制备: nHA-5-Fu 冻干粉末加入到溶有 1g PLA 的 10ml 二氯甲烷溶液中, 10000rpm 高速搅拌 1min, 充分混合分散后, 形成 S/O 乳液, 再将上述混悬液迅速倒入 200ml 的 0.4% (w/v, g/ml) 乳化剂甲基纤维素的去离子水溶液中, 得到 S/O/W 乳液, 以 400rpm 磁力搅拌 4h, 使二氯甲烷直至挥发完全; 静置 4h 后以 10000rpm 的速度离心, 分离出沉淀, 以去离子水洗涤三次, 然后冻干, 所得微球颗粒干燥状态下保存。微球载药量为 3.8% (质量), 包封率为 86.78% (质量), 平均粒径为 219  $\mu\text{m}$ , 在 27 天药物释放 84.87% (质量), 药物释放初期存在一定突释效应。

[0027] 由图 1 可知, 从 nHA 的 TEM 照片观察, nHA 的形状是无规则形, 粒径在 20-50nm, 在 PEG 作用下分散均匀。载药后 nHA 粒径明显变大, 这是因为 5-Fu 通过吸附, 包裹在 nHA 表面。SEM 显示 nHA 吸附药物后趋向于球形。

[0028] 图 2 中 a 为 nHA 的红外光谱, 472 $\text{cm}^{-1}$ 、565 $\text{cm}^{-1}$ 、602 $\text{cm}^{-1}$ 、962 $\text{cm}^{-1}$ 、1035 $\text{cm}^{-1}$  对应的是  $\text{PO}_4^{3-}$  的振动峰, 在 3572 $\text{cm}^{-1}$  和 630 $\text{cm}^{-1}$ , 是 O-H 的伸缩振动和弯曲振动峰<sup>[14]</sup>。图 2 中曲线 c 的光谱中, 5-Fu 的特征吸收峰为 3072 $\text{cm}^{-1}$  (N-H 的伸缩振动峰)<sup>[15]</sup>, 1660 $\text{cm}^{-1}$  (C=O 和 C=C 伸缩振动的重合吸收峰), 1245 $\text{cm}^{-1}$  (C-N 伸缩振动峰), 879 $\text{cm}^{-1}$  (CF=CH 中的 C-H 的面外弯曲振动)。图 2 中 b nHA 载药的光谱中, 在 1641 $\text{cm}^{-1}$  出现了 5-Fu 中的 C=O 伸缩振动峰, 在 1253 $\text{cm}^{-1}$  出现了 5-Fu 中的 C-N 伸缩振动峰, 875 $\text{cm}^{-1}$  出现了 5-Fu 中的 CF=CH 中的 C-H 的面外弯曲振动峰, 这些峰都存在一定的位移; 另外, 3572 $\text{cm}^{-1}$  和 630 $\text{cm}^{-1}$  是 O-H 的伸缩振动和弯曲振动峰, 这与 nHA 的红外光谱重合, 但 5-Fu 在 3072 $\text{cm}^{-1}$  处 N-H 的伸缩振动峰消失。这些峰的位移或消失是由于 5-Fu 与 nHA 之间形成氢键造成的。

[0029] 由图 3 看出 PLA/nHA 复合微球粒径大约为 100 ~ 300  $\mu\text{m}$ , 有的孔稍大或表面存在少量的缺损, 表面较粗糙, 这是因为微球表面吸附 nHA 造成的。

[0030] PLA-5-Fu 微球和 PLA/nHA-5-Fu 微球在第 1d 后释放药物分别为 9.13% 和 15.67%, 存在较大的突释。突释过后, PLA/nHA-5-Fu 微球的药物释放速率小于 PLA-5-Fu 微球, 第 27d 时 PLA-5-Fu 微球药物释放 99.87%, PLA/nHA-5-Fu 微球为 84.87%, 这说明两种微球都能达到长期缓释效果, 但复合微球药物释放速度慢于单纯 PLA 微球。

[0031] PLA/nHA-5-Fu 微球在第 1d 后释放药物为 15.67%，存在较大的突释。突释过后，PLA/nHA-5-Fu 微球的药物释放速率减缓，第 27d 时，PLA/nHA-5-Fu 微球药物累积释放为 84.87%，这说明复合微球都能达到长期缓释效果。

[0032] 实例 2

[0033] PLA/nHA-5Fu 复合微球的制备：① nHA-5-Fu 的制备：将 0.3gnHA 和 30mg5-Fu 加入到 3mol/l 的氢氧化钾水溶液中，先 100kHz 超声混合，再磁力搅拌 24h，冻干，得到白色冻干粉 nHA-5-Fu。②微球的制备：nHA-5-Fu 冻干粉末加入到溶有 1gPLA 的 10ml 二氯甲烷溶液中，5000rpm 高速搅拌 1min，充分混合分散后，形成 S/O 乳液，再将上述混悬液迅速倒入 500ml 的 0.1% (w/v, g/ml) 乳化剂甲基纤维素的去离子水溶液中，得到 S/O/W 乳液，以 600rpm 磁力搅拌 4h，使二氯甲烷直至挥发完全；静置 4h 后以 10000rpm 的速度离心，分离出沉淀，以去离子水洗涤三次，然后冻干，所得微球颗粒干燥状态下保存。微球载药量为 5.3%，包封率为 74.2%，平均粒径为 178  $\mu$ m，在 27 天药物释放 81.87%，药物释放初期存在一定突释效应。

[0034] 实例 3

[0035] PLA/nHA-5Fu 复合微球的制备：① nHA-5-Fu 的制备：将 0.1gnHA 和 60mg5-Fu 加入到 0.1mol/l 的氢氧化钠水溶液中，先 40kHz 超声混合，再磁力搅拌 24h，冻干，得到白色冻干粉 nHA-5-Fu。②微球的制备：nHA-5-Fu 冻干粉末加入到溶有 1gPLA 的 10ml 二氯甲烷溶液中，1000rpm 高速搅拌 1min，充分混合分散后，形成 S/O 乳液，再将上述混悬液迅速倒入 100ml 的 3.0% (w/v, g/ml) 乳化剂甲基纤维素的去离子水溶液中，得到 S/O/W 乳液，以 1000rpm 磁力搅拌 4h，使二氯甲烷直至挥发完全；静置 4h 后以 10000rpm 的速度离心，分离出沉淀，以去离子水洗涤三次，然后冻干，所得微球颗粒干燥状态下保存。微球载药量为 3.0%，包封率为 89.67%，平均粒径为 140  $\mu$ m，在 27 天药物释放 78.87%，药物释放初期存在一定突释效应。

[0036] 实例 4

[0037] PLA/nHA-5Fu 复合微球的制备：① nHA-5-Fu 的制备：将 0.15gnHA 和 60mg5-Fu 加入到 1.0mol/l 的氢氧化钠水溶液中，先 60KHz 超声混合，再磁力搅拌 24h，冻干，得到白色冻干粉 nHA-5-Fu。②微球的制备：nHA-5-Fu 冻干粉末加入到溶有 1gPLA 的 10ml 二氯甲烷溶液中，8000rpm 高速搅拌 1min，充分混合分散后，形成 S/O 乳液，再将上述混悬液迅速倒入 1000ml 的 1.0% (w/v, g/ml) 乳化剂甲基纤维素的去离子水溶液中，得到 S/O/W 乳液，以 600rpm 磁力搅拌 4h，使二氯甲烷直至挥发完全；静置 4h 后以 10000rpm 的速度离心，分离出沉淀，以去离子水洗涤三次，然后冻干，所得微球颗粒干燥状态下保存。微球载药量为 4.6%，包封率为 92.77%，平均粒径为 195  $\mu$ m，在 27 天药物释放 89.87%，药物释放初期存在一定突释效应。

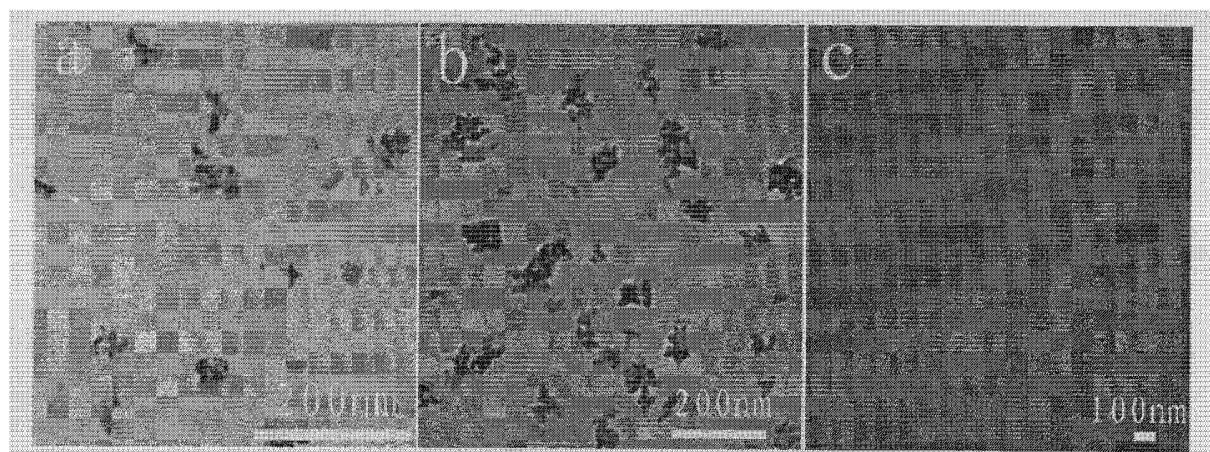


图 1

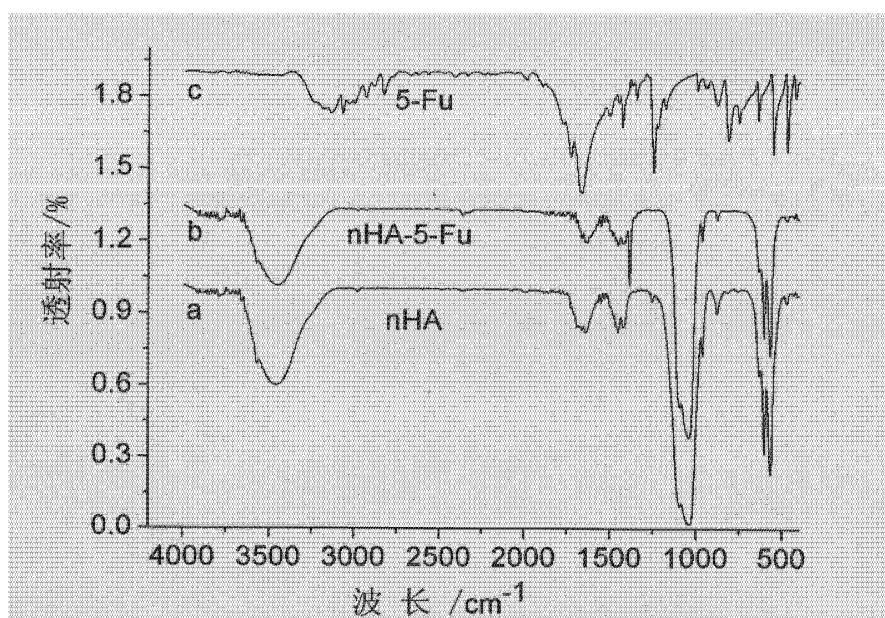


图 2

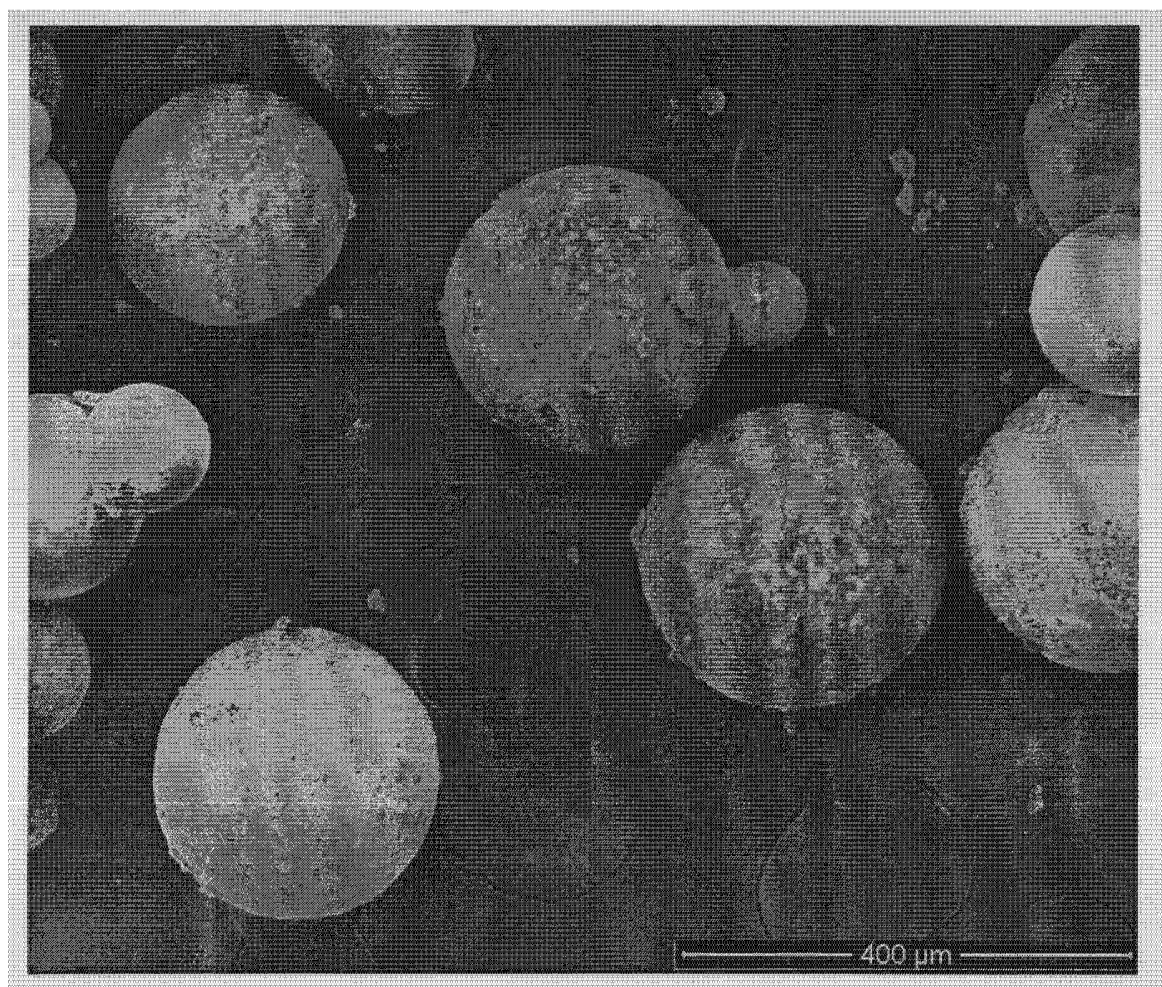


图 3



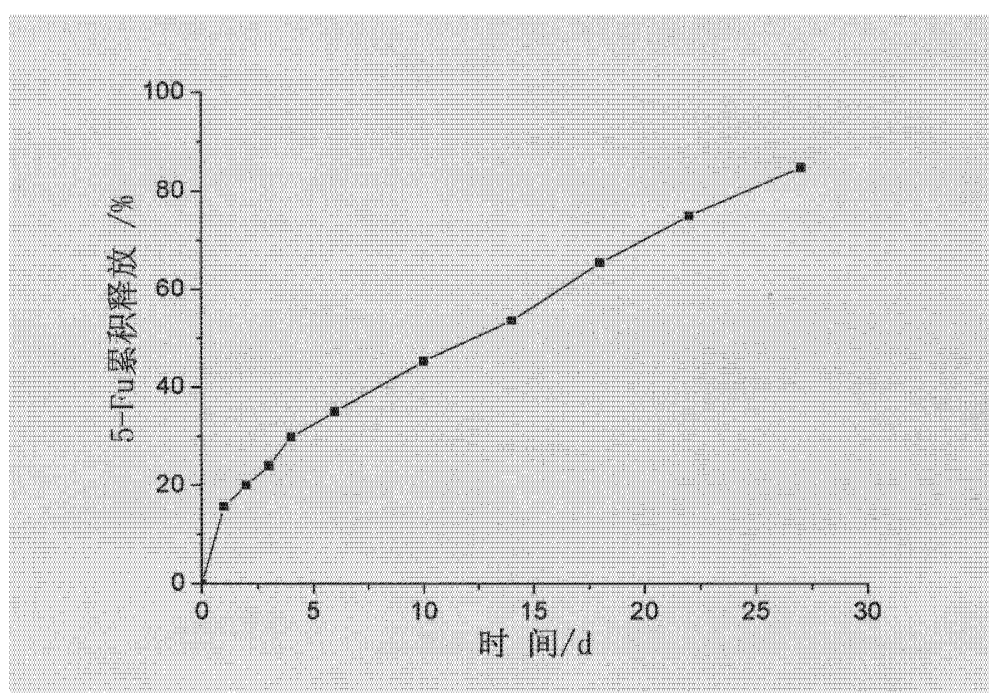


图 4