



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102652736 A

(43) 申请公布日 2012. 09. 05

(21) 申请号 201210110299. 7

A61P 15/12(2006. 01)

(22) 申请日 2012. 04. 16

A61P 35/00(2006. 01)

(71) 申请人 河南科技大学第一附属医院

地址 471003 河南省洛阳市涧西区景华路
24 号

(72) 发明人 冯笑山 张广平 韩丹

(74) 专利代理机构 洛阳公信知识产权事务所
(普通合伙) 41120

代理人 李宗虎

(51) Int. Cl.

A61K 9/16(2006. 01)

A61K 31/352(2006. 01)

A61K 47/32(2006. 01)

A61K 47/34(2006. 01)

A61P 9/00(2006. 01)

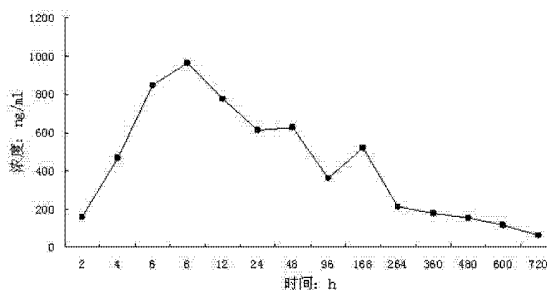
权利要求书 1 页 说明书 5 页 附图 1 页

(54) 发明名称

一种大豆异黄酮缓释微球的制备方法

(57) 摘要

一种大豆异黄酮缓释微球的制备方法, 涉及药物缓释制剂的制备方法。首先准备一定浓度的聚乙烯醇双蒸水溶液, 然后将重量比为 1:15 ~ 1:5 的大豆异黄酮和 PLGA 在二氯甲烷中常温超声乳化一段时间, 然后将超声后的混合液滴加到聚乙烯醇双蒸水溶液中, 搅拌至二氯甲烷完全挥发, 再将所得的混合液离心分离即制得大豆异黄酮缓释微球。本发明以 PLGA 为基质材料制备的大豆异黄酮缓释微球, 具有优良的缓释性能, 延长了微球在体外的释放时间; 其中制备的染料木素缓释微球的缓释期可达 30 天, 而且微球表面光滑, 颗粒圆整无粘连, 粒径可以控制, 载药量在 7% 以上, 包封率在 60% 以上。



1. 一种大豆异黄酮缓释微球的制备方法,其特征在于:包括如下步骤:

(1)、取 0.3 ~ 2.5g 的聚乙烯醇溶于 30 ~ 50ml 的双蒸水中,制成聚乙烯醇双蒸水溶液;

(2)、将 0.03 ~ 0.1g 的大豆异黄酮和 0.3 ~ 1.0g 的 PLGA 加入到 10ml 的二氯甲烷中,混合后在常温下超声乳化 5 ~ 15 分钟;

所述的大豆异黄酮与 PLGA 的重量比为 1:15 ~ 1:5;

(3)、在转速为 800r/min 的搅拌速度下,将步骤(2)超声乳化后得到的混合溶液滴加到聚乙烯醇双蒸水溶液中,搅拌 5 ~ 15min 后,将搅拌速度调为 300r/min,继续搅拌 3 ~ 5h 至二氯甲烷完全挥发;

(4)、将步骤(3)所得的混合物在温度为 4℃、转速为 3000r/min 的离心机中离心 5min,离心后混合物上层为液体,下层为固体微球,收集下层固体微球并用水洗除去其表面残留杂质,再经冷冻干燥、辐射灭菌后,即得平均粒径为 20 ~ 145um 的大豆异黄酮缓释微球。

2. 如权利要求 1 所述的一种大豆异黄酮缓释微球的制备方法,其特征在于:所述 PLGA 的分子量为 4000 ~ 40000, PVA 的分子量为 7000 ~ 14000。

一种大豆异黄酮缓释微球的制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及药物缓释制剂的制备方法,具体是一种大豆异黄酮缓释微球的制备方法。

背景技术

[0002] 大豆异黄酮是一种植物化学素,属植物黄酮类,主要来源于豆科植物的荚豆类,是多酚类混合物,其包含多种成分,主要有黄豆苷元、染料木素、黄豆黄素、染料木苷、大豆苷等物质。大豆异黄酮是一种天然植物保健品,又具有很多的药用功能,近年来,国内外均出现了大豆异黄酮热,纷纷研究大豆异黄酮保健品和药物片剂、口服液等各种功能性产品。其中的主要成分如染料木素 (genistein, GEN),又称金雀异黄素,临床研究表明,其对乳腺癌、前列腺癌、心血管疾病和绝经后综合症等具有很好的防治作用。染料木素是一种强效、特异蛋白酪氨酸激酶抑制剂,其在高剂量时可抑制乳腺肿瘤细胞的增殖、分化,可减少乳腺癌的发生率。同时,染料木素结构与雌二醇类似,能低亲和地结合雌激素受体和性激素蛋白,从而使染料木素发挥雌激素样作用和抗雌激素作用。除此以外,GEN 具有多种生物活性和药理作用,如影响骨代谢、抗炎、抗氧化、降血脂、维持正常脉管反应性等作用。现已广泛应用于医药、保健食品(营养制品和功能性食品)等领域。

[0003] 而目前,在医药产品的开发上,对大豆异黄酮的研究多限于口服普通剂型。如 Gardner 研究了富含 GEN 的大豆异黄酮片剂在人体的药动学;杜先华等(染料木素自微乳的大鼠在体肠吸收机制研究,中国中药杂志,第 33 卷第 12 期)将染料木素与聚山梨酯 80-PEG400-油酸乙酯乳化制成自微乳化制剂,提高了染料木素的口服生物利用,促进了药物的淋巴吸收;又如中国专利“微囊大豆异黄酮及制备工艺”(公开号 CN 186108A)以 β -CD 环糊精为壁材,可达到消除原料异臭味和增强药物的稳定性。但是,将染料木素等大豆异黄酮物质制成长效缓释制剂未见有相应报道,与普通制剂相比,将大豆异黄酮物质制成的缓释制剂可以缓慢释放药物,给药频率可以有所减少,且能显著增加药物的疗效。

发明内容

[0004] 本发明目的就是提供一种以乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)为载体材料的大豆异黄酮缓释微球的制备方法,其适用于制备染料木素(GEN)、黄豆苷元、黄豆黄素、染料木苷及大豆苷等大豆异黄酮物质的缓释微球。

[0005] 本发明的技术方案为:一种大豆异黄酮缓释微球的制备方法,包括如下步骤:

(1)、取 0.3 ~ 2.5g 的聚乙烯醇(PVA)溶于 30 ~ 50ml 的双蒸水中,制成聚乙烯醇双蒸水溶液;

(2)、将 0.03 ~ 0.1g 的大豆异黄酮和 0.3 ~ 1.0g 的 PLGA 加入到 10ml 的二氯甲烷中,混合后在常温下超声乳化 5 ~ 15 分钟;

(3)、在转速为 800r/min 的搅拌速度下,将步骤(2)超声乳化后得到的混合溶液滴加到聚乙烯醇双蒸水溶液中,搅拌 5 ~ 15min 后,将搅拌速度调为 300r/min,继续搅拌 3 ~ 5h 至

二氯甲烷完全挥发；

(4)、将步骤(3)所得的混合物在温度为 4℃、转速为 3000r/min 的离心机中离心 5min，离心后混合物上层为液体，下层为固体微球，收集下层固体微球并用水洗除去其表面残留杂质，再经冷冻干燥、辐射灭菌后，即得平均粒径为 20 ~ 145um 的大豆异黄酮缓释微球。

[0006] 上述步骤(2)中所述的大豆异黄酮的主要成分为染料木素、黄豆苷元、黄豆黄素、染料木苷、大豆苷。大豆异黄酮与 PLGA 的重量比为 1:15 ~ 1:5。

[0007] 所述的 PLGA 的分子量为 4000 ~ 40000，PVA 的分子量为 7000 ~ 14000。

[0008] 有益效果：本发明以 PLGA 为基质材料制备大豆异黄酮缓释微球，通过控制 PLGA 与大豆异黄酮的用量比以及超声乳化和混合搅拌的时间，延长了微球在体外的释放时间，具有优良的缓释性能；其中制备的染料木素缓释微球的缓释期可达 30 天，而且微球表面光滑，颗粒圆整无粘连，粒径可以控制，载药量在 7% 以上，包封率在 60% 以上。

附图说明

[0009] 图 1 为试验一中试验组按照实施例 2 的方法中所制得的染料木素缓释微球血药浓度 - 时间曲线图。

[0010] 图 2 为试验一中对照组普通染料木素血药浓度 - 时间曲线图。

具体实施方式

[0011] 一种大豆异黄酮缓释微球的制备方法，包括如下步骤：

(1)、取 0.3 ~ 2.5g 的聚乙烯醇(PVA)溶于 30 ~ 50ml 的双蒸水中，制成聚乙烯醇双蒸水溶液；

(2)、将 0.03 ~ 0.1g 的大豆异黄酮物质和 0.3 ~ 1.0g 的 PLGA 加入到 10ml 的二氯甲烷中，混合后在常温下超声乳化 5 ~ 15 分钟；

(3)、在转速为 800r/min 的搅拌速度下，将步骤(2)超声乳化后得到的混合溶液滴加到聚乙烯醇双蒸水溶液中，搅拌 5 ~ 15min 后，将搅拌速度调为 300r/min，继续搅拌 3 ~ 5h 至二氯甲烷完全挥发；

(4)、将步骤(3)所得的混合物在温度为 4℃、转速为 3000r/min 的离心机中离心 5min，离心后混合物上层为液体，下层为固体微球，收集下层固体微球并用水洗除去其表面残留杂质，再经冷冻干燥、辐射灭菌后，即得平均粒径为 20 ~ 145um 的大豆异黄酮缓释微球。

[0012] 上述步骤(2)中所述的大豆异黄酮的主要成分为染料木素、黄豆苷元、黄豆黄素、染料木苷、大豆苷。大豆异黄酮与 PLGA 的重量比为 1:15 ~ 1:5。

[0013] 所述的 PLGA 的分子量为 4000 ~ 40000，PVA 的分子量为 7000 ~ 14000。

[0014] 实施例 1

称取 0.6g 分子量在 7000 ~ 14000 之间的 PVA，并将其溶于 30ml 双蒸水中，制成聚乙烯醇双蒸水溶液；称取 0.05g 的大豆异黄酮物质和 0.5g 分子量在 4000 ~ 40000 之间的 PLGA，将二者加入到 10ml 的二氯甲烷中，并在常温下超声 10min，使大豆异黄酮物质和 PLGA 充分溶解在二氯甲烷中；然后在 800r/min 的搅拌速度下，将超声后的大豆异黄酮物质、PLGA 和二氯甲烷的混合溶液滴加到聚乙烯醇双蒸水溶液中，搅拌 10min 后，将搅拌速度调为 300r/min，继续搅拌 5h 至二氯甲烷完全挥发；然后将上述不含二氯甲烷的混合物在温度为 4℃、

转速为 3000r/min 的离心机中离心分离 5min,离心分离后混合物上层为液体,下层为固体微球,收集下层固体微球并水洗 3 次除去其表面残留杂质,再经冷冻干燥、辐射灭菌后,即得平均粒径为 90um 的大豆异黄酮缓释微球。

[0015] 实施例 2

称取 0.8g 分子量在 7000 ~ 14000 之间的 PVA,并将其溶于 40ml 双蒸水中,制成聚乙烯醇双蒸水溶液;称取 0.05g 的大豆异黄酮物质和 0.5g 分子量在 4000 ~ 40000 之间的 PLGA,将二者加入到 10ml 的二氯甲烷中,并在常温下超声 10min,使大豆异黄酮物质和 PLGA 充分溶解在二氯甲烷中;然后在 800r/min 的搅拌速度下,将超声后的大豆异黄酮物质、PLGA 和二氯甲烷的混合溶液滴加到聚乙烯醇双蒸水溶液中,搅拌 10min 后,将搅拌速度调为 300r/min,继续搅拌 5h 至二氯甲烷完全挥发;然后将上述不含二氯甲烷的混合物在温度为 4℃、转速为 3000r/min 的离心机中离心分离 5min,离心分离后混合物上层为液体,下层为固体微球,收集下层固体微球并水洗 3 次除去其表面残留杂质,再经冷冻干燥、辐射灭菌后,即得大豆异黄酮缓释微球。微球的平均粒径为 90um,载药量为 9%,包封率为 65%。

[0016] 实施例 3

称取 0.6g 分子量在 7000 ~ 14000 之间的 PVA,并将其溶于 30ml 双蒸水中,制成聚乙烯醇双蒸水溶液;称取 0.1g 的大豆异黄酮和 0.5g 分子量在 4000 ~ 40000 之间的 PLGA,将二者加入到 10ml 的二氯甲烷中,并在常温下超声 15min,使大豆异黄酮和 PLGA 充分溶解在二氯甲烷中;然后在 800r/min 的搅拌速度下,将超声后的大豆异黄酮、PLGA 和二氯甲烷的混合溶液滴加到聚乙烯醇双蒸水溶液中,搅拌 15min 后,将搅拌速度调为 300r/min,继续搅拌 5h 至二氯甲烷完全挥发;然后将上述不含二氯甲烷的混合物在温度为 4℃、转速为 3000r/min 的离心机中离心分离 5min,离心分离后混合物上层为液体,下层为固体微球,收集下层固体微球并水洗 3 次除去其表面残留杂质,再经冷冻干燥、辐射灭菌后,即得平均粒径为 20um 的大豆异黄酮缓释微球。

[0017] 实施例 4

称取 0.3g 分子量在 7000 ~ 14000 之间的 PVA,并将其溶于 30ml 双蒸水中,制成聚乙烯醇双蒸水溶液;称取 0.03g 的大豆异黄酮和 0.5g 分子量在 4000 ~ 40000 之间的 PLGA,将二者加入到 10ml 的二氯甲烷中,并在常温下超声 5min,使大豆异黄酮和 PLGA 充分溶解在二氯甲烷中;然后在 800r/min 的搅拌速度下,将超声后的大豆异黄酮、PLGA 和二氯甲烷的混合溶液滴加到聚乙烯醇双蒸水溶液中,搅拌 5min 后,将搅拌速度调为 300r/min,继续搅拌 3h 至二氯甲烷完全挥发;然后将上述不含二氯甲烷的混合物在温度为 4℃、转速为 3000r/min 的离心机中离心分离 5min,离心分离后混合物上层为液体,下层为固体微球,收集下层固体微球并水洗 3 次除去其表面残留杂质,再经冷冻干燥、辐射灭菌后,即得平均粒径为 125um 的大豆异黄酮缓释微球。

[0018] 实施例 5

称取 2.0g 分子量在 7000 ~ 14000 之间的 PVA,并将其溶于 50ml 双蒸水中,制成聚乙烯醇双蒸水溶液;称取 0.1g 的大豆异黄酮和 1.0g 分子量在 4000 ~ 40000 之间的 PLGA,将二者加入到 10ml 的二氯甲烷中,并在常温下超声 5min,使大豆异黄酮和 PLGA 充分溶解在二氯甲烷中;然后在 800r/min 的搅拌速度下,将超声后的大豆异黄酮、PLGA 和二氯甲烷的混合溶液滴加到聚乙烯醇双蒸水溶液中,搅拌 5min 后,将搅拌速度调为 300r/min,继续搅拌 3h

至二氯甲烷完全挥发;然后将上述不含二氯甲烷的混合物在温度为 4℃、转速为 3000r/min 的离心机中离心分离 5min,离心分离后混合物上层为液体,下层为固体微球,收集下层固体微球并水洗 3 次除去其表面残留杂质,再经冷冻干燥、辐射灭菌后,即得平均粒径为 145um 的大豆异黄酮缓释微球。

[0019] 实施例 6

称取 2.5g 分子量在 7000 ~ 14000 之间的 PVA,并将其溶于 50ml 双蒸水中,制成聚乙烯醇双蒸水溶液;称取 0.03g 的大豆异黄酮和 0.3g 分子量在 4000 ~ 40000 之间的 PLGA,将二者加入到 10ml 的二氯甲烷中,并在常温下超声 10min,使大豆异黄酮和 PLGA 充分溶解在二氯甲烷中;然后在 800r/min 的搅拌速度下,将超声后的大豆异黄酮、PLGA 和二氯甲烷的混合溶液滴加到聚乙烯醇双蒸水溶液中,搅拌 10min 后,将搅拌速度调为 300r/min,继续搅拌 3h 至二氯甲烷完全挥发;然后将上述不含二氯甲烷的混合物在温度为 4℃、转速为 3000r/min 的离心机中离心分离 5min,离心分离后混合物上层为液体,下层为固体微球,收集下层固体微球并水洗 3 次除去其表面残留杂质,再经冷冻干燥、辐射灭菌后,即得平均粒径为 145um 的大豆异黄酮缓释微球。

[0020] 为说明本发明制备的大豆异黄酮缓释微球的长效缓释性能,分别以纯品染料木素(GEN)、黄豆苷元、黄豆黄素、染料木苷或大豆苷作为大豆异黄酮的组成物质进行试验。

[0021] 试验一

以纯品染料木素(GEN)作为大豆异黄酮的组成物质,按照实施例 2 的制备方法制成载药量为 9% 的 GEN 缓释微球,进行如下对照试验:

试验组

挑选健康小鼠备用;将按照本实施例制得的载药量为 9% 的 GEN 缓释微球溶解于橄榄油中,微球浓度为 350mg/ml,每只小鼠给药量为 0.00416ml/g,腹部皮下注射;注射药物后分别在 2h, 4h, 6h, 8h, 12h, 24h, 48h, 96h, 168h, 264h, 360h, 480h, 600h, 720h 麻醉后腹主动脉取血;采用高效液相色谱法测定小鼠血液中 GEN 的浓度,GEN 缓释微球血药浓度-时间曲线见图 1。

[0022] 对照组

挑选健康小鼠备用;将普通的 GEN 溶解于橄榄油中,浓度为 50mg/ml,每只小鼠给药量为 0.00416ml/g,腹部皮下注射;注射药物后分别在 0.5h, 1h, 2h, 4h, 6h, 8h, 10h, 12h, 16h, 20h, 24h 麻醉后腹主动脉取血;采用高效液相色谱法测定小鼠血液中 GEN 的浓度,GEN 血药浓度-时间曲线见图 2。

[0023] 结论

对照组 GEN 在 24h 时测得的平均血药浓度为 77.29ng/ml,而本发明实施例所制得的 GEN 缓释微球在 24h 时测得的平均血药浓度大于 600ng/ml。720h 时测得的平均血药浓度为 63.85ng/ml,且无突释现象,这表示本发明制备的 GEN 缓释微球具有良好的缓释性能。

[0024] 试验证明实施例 2 的实施方式为本发明的最优方式,能够使缓释微球的药物作用时间和包封率均达到最大。

[0025] 试验二

以纯品黄豆苷元作为大豆异黄酮的组成物质,按照实施例 3 的制备方法制成黄豆苷元缓释微球,并按照上述试验方法进行对照试验:

试验结果表明:对照组黄豆苷元在 24h 时 HPLC 测得的平均血药浓度为 51.20ng/ml,而本发明所制得的黄豆苷元缓释微球在 24h 时 HPLC 测得的平均血药浓度大于 500ng/ml。720h 时 HPLC 测得的平均血药浓度为 45.37ng/ml,且无突释现象,这表示本发明制备的黄豆苷元缓释微球具有良好的缓释性能。

[0026] 试验三

以纯品黄豆黄素作为大豆异黄酮的组成物质,按照实施例 4 的制备方法制成黄豆黄素缓释微球,并按照上述试验方法进行对照试验:

试验结果表明:对照组黄豆黄素在 24h 时 HPLC 测得的平均血药浓度为 48.31ng/ml,而本发明所制得的黄豆黄素缓释微球在 24h 时 HPLC 测得的平均血药浓度大于 400ng/ml。720h 时 HPLC 测得的平均血药浓度为 36.40ng/ml,且无突释现象,这表示本发明制备的黄豆黄素缓释微球具有良好的缓释性能。

[0027] 试验四

以纯品染料木苷作为大豆异黄酮的组成物质,按照实施例 5 的制备方法制成染料木苷缓释微球,并按照上述试验方法进行对照试验:

试验结果表明:对照组染料木苷在 24h 时 HPLC 测得的平均血药浓度为 70.25ng/ml,而本发明所制得的染料木苷缓释微球在 24h 时 HPLC 测得的平均血药浓度大于 450ng/ml。720h 时 HPLC 测得的平均血药浓度为 54.23ng/ml,且无突释现象,这表示本发明制备的染料木苷缓释微球具有良好的缓释性能。

[0028] 试验五

以纯品大豆苷作为大豆异黄酮的组成物质,按照实施例 6 的制备方法制成大豆苷缓释微球,并按照上述试验方法进行对照试验:

试验结果表明:对照组大豆苷在 24h 时 HPLC 测得的平均血药浓度为 73.50ng/ml,而本发明所制得的大豆苷缓释微球在 24h 时 HPLC 测得的平均血药浓度大于 450ng/ml。720h 时 HPLC 测得的平均血药浓度为 65.30ng/ml,且无突释现象,这表示本发明制备的大豆苷缓释微球具有良好的缓释性能。

[0029] 上述试验表明,本发明大豆异黄酮缓释微球的制备方法制成的缓释微球对大豆异黄酮的各种成分均具有明显的缓释作用,能有效提高大豆异黄酮类药物的作用时间,减少用药频率。

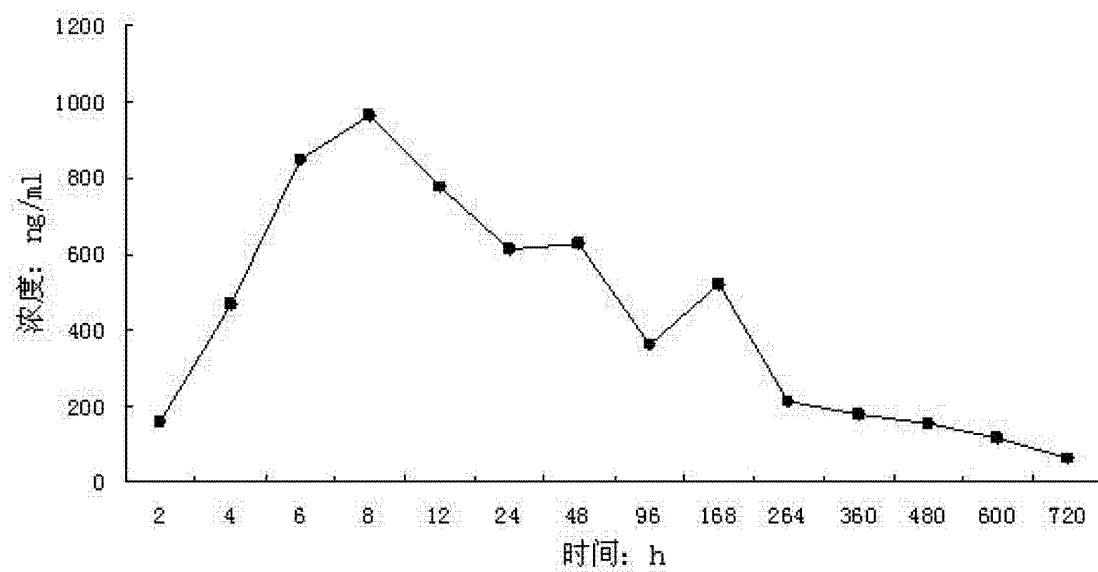


图 1

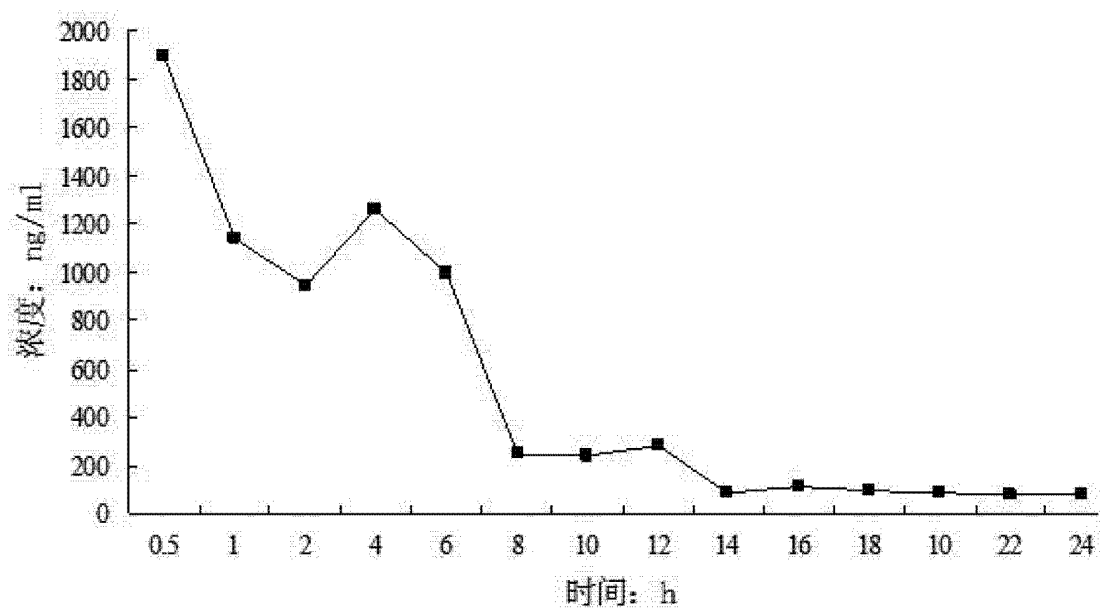


图 2