



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105663083 A

(43) 申请公布日 2016. 06. 15

(21) 申请号 201610109341. 1

A61K 31/337(2006. 01)

(22) 申请日 2016. 02. 26

A61K 31/704(2006. 01)

(71) 申请人 暨南大学

地址 510632 广东省广州市黄埔大道西 601 号

(72) 发明人 赵剑豪 何天奇 容建华

(74) 专利代理机构 广州市华学知识产权代理有限公司 44245

代理人 裘晖 陈燕娴

(51) Int. Cl.

A61K 9/51(2006. 01)

A61K 9/107(2006. 01)

A61K 47/48(2006. 01)

A61P 35/00(2006. 01)

A61K 31/416(2006. 01)

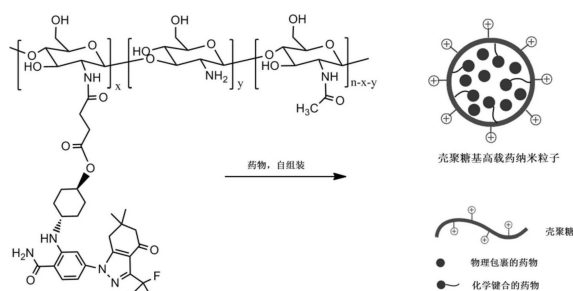
权利要求书1页 说明书5页 附图3页

(54) 发明名称

一种壳聚糖基高载药纳米粒子及其制备方法与应用

(57) 摘要

本发明属于生物医用材料及药物控制释放领域,具体涉及一种壳聚糖基高载药纳米粒子及其制备方法与应用。本发明将疏水药物键合到亲水基材上构建双亲分子,然后将双亲分子与药物混和,在双亲分子自组装形成纳米胶束过程中,根据相似相容的原理,利用键合药物与游离药物的分子间作用包裹药物,得到壳聚糖基高载药纳米粒子。本发明可将纳米粒子的载药量提高至 20%,且该纳米粒子可在癌细胞的内部酸性环境刺激条件下快速释放药物,达到有效杀死癌细胞的目的。本发明制备得到的壳聚糖基高载药纳米粒子对癌症治疗有重要意义。



1. 一种壳聚糖基高载药纳米粒子的制备方法,其特征在于包含以下步骤:

(1)将含有反应活性羟基的疏水性抗癌药物、丁二酸酐溶解于有机溶剂中,加入三乙胺进行酯化反应,反应结束后去除未反应的化合物并干燥,得到丁二酸酐改性药物;

(2)将步骤(1)中制得的丁二酸酐改性药物溶于有机溶剂中,加入EDC·HCl和NHS对丁二酸酐化药物分子上的羧基进行活化反应;然后加入含有壳聚糖的MES缓冲液,使药物分子的活化羧基与壳聚糖的氨基进行酰胺化反应,反应结束后透析、干燥,得到双亲性的壳聚糖基药物衍生物;

(3)将步骤(2)中得到的壳聚糖基药物衍生物溶于盐酸/有机溶剂混合溶剂中,然后在超声条件下缓慢滴加含有反应活性羟基的疏水性抗癌药物的有机溶剂,形成纳米胶束,滴加结束后搅拌使载药完全,然后透析除去未负载的药物,干燥,得到壳聚糖基高载药纳米粒子。

2. 根据权利要求1所述的壳聚糖基高载药纳米粒子的制备方法,其特征在于:

步骤(1)和(3)中所述的含有反应活性羟基的疏水性抗癌药物为四氢吡啶酮、紫杉醇和阿霉素中的至少一种。

3. 根据权利要求1所述的壳聚糖基高载药纳米粒子的制备方法,其特征在于:

步骤(1)中所述的疏水性抗癌药物在有机溶剂中的浓度为5~15mg/mL,丁二酸酐在有机溶剂中的浓度为2~4mg/mL;

步骤(1)中所述的酯化反应的时间为24~72h。

4. 根据权利要求1所述的壳聚糖基高载药纳米粒子的制备方法,其特征在于:

步骤(2)中所述的丁二酸酐改性药物在有机溶剂中的浓度为1~5mg/mL;

步骤(2)中所述的EDC·HCl和NHS摩尔比为(1:1)~(10:1);

步骤(2)中所述的活化反应的时间为0.5~24h。

5. 根据权利要求1所述的壳聚糖基高载药纳米粒子的制备方法,其特征在于:

步骤(2)中所述的丁二酸酐改性药物与壳聚糖的质量比为0.2~1;

步骤(2)中所述的酰胺化反应的时间为4~48h。

6. 根据权利要求1所述的壳聚糖基高载药纳米粒子的制备方法,其特征在于:

步骤(3)中所述的壳聚糖基药物衍生物在混合溶剂中的浓度为1~5mg/mL。

7. 根据权利要求1所述的壳聚糖基高载药纳米粒子的制备方法,其特征在于:

步骤(3)中所述的含有反应活性羟基的疏水性抗癌药物的浓度为1~5mg/mL。

8. 根据权利要求1所述的壳聚糖基高载药纳米粒子的制备方法,其特征在于:

步骤(3)中所述的壳聚糖基高载药纳米粒子的载药量为5%~20%;粒径大小为100~400nm。

9. 一种壳聚糖基高载药纳米粒子,其特征在于:通过权利要求1~8任一项所述的制备方法制备得到。

10. 权利要求9所述的壳聚糖基高载药纳米粒子在生物医用材料领域中的应用。

一种壳聚糖基高载药纳米粒子及其制备方法与应用

技术领域

[0001] 本发明属于生物医用材料及药物控制释放领域,具体涉及一种壳聚糖基高载药纳米粒子及其制备方法与应用。

背景技术

[0002] 据2006年国家卫生部统计,癌症已超越心血管疾病排在疾病死因的第一位。我国每年死于肿瘤的人数超过160万,治疗费用高达1500亿元,并且每年的肿瘤死亡率呈上升趋势,其中乳腺癌发病率位居女性恶性肿瘤的第一位,癌症治疗由此成为当前国际上最受关注的研究领域。药物治疗是目前主要的治疗癌症手段,但存在的最大问题是抗癌药物不能在肿瘤组织局部停留而分布在身体各个组织器官,从而导致抗癌药物在杀死癌细胞的同时严重损伤其他正常组织。最新研究发现采用纳米粒子负载抗癌药物靶向治疗恶性肿瘤可以提高给药效率,抑制癌细胞生长,显示出良好的应用前景,但以下几个关键问题仍未较好解决:1.在血液中稳定性差(易解体);2.主动靶向性差;3.响应性不足;4.载药量不高,致使到达癌细胞内的药物浓度较低,抗癌效果不够理想。因此如何设计高载药能力的纳米粒子载体,提高纳米粒子在血液循环中的稳定性并主动靶向癌细胞,借助纳米粒子在癌细胞内的各种响应性来控制药物向细胞质释放,是癌症治疗的关键。

[0003] 载药纳米粒子从静脉注射到在癌细胞内释放药物的过程非常复杂,需要经过血液循环靠近癌细胞、被癌细胞吞噬内化、从内涵体/溶酶体中逃逸向细胞质释放药物等几个阶段,期间纳米粒子会与体内环境发生复杂的相互作用,导致最终释放到癌细胞质中的药物浓度较低。

[0004] 在纳米粒子的运送过程中,由于各种原因导致最终释放到细胞质的药物浓度较低而影响治疗效果,因此提高纳米粒子的载药量十分重要。聚合物纳米粒子的载药方法包括化学法和物理法。化学法是将小分子药物键合到聚合物链中变成大分子药物,然后通过控制化学键的断裂来释放药物,而物理法则是在制备聚合物纳米粒子过程中将药物包裹其中,然后通过纳米粒子的降解或者体积收缩等来控制药物释放。目前的纳米粒子常用单一的化学法或者物理法载药,其载药量往往不高(最大载药量~10%),如果在载药纳米粒子设计时能同时结合化学法和物理法,首先将疏水药物键合到亲水基材上构建双亲分子(化学载药),然后将双亲分子与药物混和,在双亲分子自组装形成纳米胶束过程中,根据相似相容的原理,利用键合药物与游离药物的分子间作用包裹药物(物理载药),则可望有效提高纳米粒子的最大载药量。

[0005] 因此,针对乳腺癌治疗,研究开发高载药量的载药纳米粒子并使其在癌细胞内部快速释放药物,对提高抗乳腺癌治疗效果,恢复病患者的身体健康,具有重要的科学意义和良好的应用前景与经济社会效益。

发明内容

[0006] 为了克服现有技术不足和缺点,本发明的首要目的在于提供一种壳聚糖基高载药

纳米粒子的制备方法,该制备方法重复性好,操作性强。

[0007] 本发明的另一目的在于提供上述制备方法制备得到的壳聚糖基高载药纳米粒子,该纳米粒子为高载药的壳聚糖(Cs)纳米胶束,具有载药量高、癌细胞内部快速释放药物等特点。

[0008] 本发明的再一目的在于提供上述壳聚糖基高载药纳米粒子的应用。

[0009] 本发明通过以下技术方案实现:

[0010] 一种壳聚糖基高载药纳米粒子的制备方法,包含以下步骤:

[0011] (1)将含有反应活性羟基的疏水性抗癌药物、丁二酸酐溶解于有机溶剂中,加入三乙胺进行酯化反应,反应结束后去除未反应的化合物并干燥,得到丁二酸酐改性药物;由于丁二酸酐化药物分子的酯键在肿瘤细胞内的酸性环境中会水解,恢复原来的药物分子结构,因此不会影响这部分药物的活性;

[0012] (2)将步骤(1)中制得的丁二酸酐改性药物溶于有机溶剂中,加入1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC·HCl)和N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)对丁二酸酐化药物分子上的羧基进行活化反应;然后加入含有壳聚糖(Cs)的MES(2-(N-吗啡啉)乙磺酸)缓冲液,使药物分子的活化羧基与Cs的氨基进行酰胺化反应,反应结束后透析、干燥,得到双亲性的壳聚糖基药物衍生物;该衍生物中的疏水基团是化学键合的药物分子,与游离药物相互作用有利于物理包覆更多药物;

[0013] (3)将步骤(2)中得到的壳聚糖基药物衍生物溶于盐酸/有机溶剂混合溶剂中,然后在超声条件下缓慢滴加含有反应活性羟基的疏水性抗癌药物的有机溶剂,形成纳米胶束,滴加结束后搅拌使载药完全,然后透析除去未负载的药物,干燥,得到壳聚糖基高载药纳米粒子;

[0014] 步骤(1)和(3)中所述的含有反应活性羟基的疏水性抗癌药物优选为四氢吡唑酮(SNX2112)、紫杉醇和阿霉素中的至少一种;

[0015] 步骤(1)中所述的疏水性抗癌药物在有机溶剂中的浓度优选为5~15mg/mL,丁二酸酐在有机溶剂中的浓度优选为2~4mg/mL,三乙胺与有机溶剂的体积比优选为0.01~0.05;

[0016] 步骤(1)中所述的酯化反应的时间优化为24~72h;所述的酯化反应优选在搅拌条件下进行;

[0017] 步骤(1)中所述的去除未反应的化合物的具体操作优选为:反应结束后将溶液减压蒸馏除去有机溶剂和三乙胺,然后用丙酮清洗除去残留未反应的药物,再用水清洗除去残留未反应的丁二酸酐;

[0018] 步骤(2)中所述的丁二酸酐改性药物在有机溶剂中的浓度优选为1~5mg/mL;

[0019] 步骤(2)中所述的EDC·HCl和NHS摩尔比优选为(1:1)~(10:1);

[0020] 步骤(2)中所述的活化反应的时间优选为0.5~24h;

[0021] 步骤(2)中所述的丁二酸酐改性药物与壳聚糖的质量比优选为0.2~1;

[0022] 步骤(2)中所述的含有壳聚糖的MES缓冲液中壳聚糖的浓度优选为1~5mg/mL;

[0023] 所述的含有壳聚糖的MES缓冲液优选通过如下制备方法制备得到:将壳聚糖溶解于醋酸溶液中,得到壳聚糖/醋酸溶液,然后将其加入MES缓冲液中;所述的醋酸溶液的质量百分数优选为0.5~2%;其中,醋酸的作用是使壳聚糖溶解;

- [0024] 步骤(2)中所述的酰胺化反应的时间优选为4~48h;
- [0025] 步骤(3)中所述的壳聚糖基药物衍生物在混合溶剂中的浓度优选为1~5mg/mL;
- [0026] 步骤(3)中所述的混合溶剂优选为盐酸溶液和有机溶剂的体积比(2:8)~(5:5);盐酸溶液的摩尔浓度为0.1~0.3mol/L;
- [0027] 步骤(3)中所述的含有反应活性羟基的疏水性抗癌药物的浓度优选为1~5mg/mL;
- [0028] 步骤(3)中所述的搅拌的时间优选为48h;
- [0029] 步骤(3)中所述的壳聚糖基高载药纳米粒子的载药量为5%~20%;粒径大小为100~400nm;
- [0030] 步骤(1)(2)和(3)中所述的有机溶剂优选为DMSO;
- [0031] 步骤(1)、(2)和(3)中所述的干燥优选为冷冻干燥;
- [0032] 一种壳聚糖基高载药纳米粒子,通过上述制备方法制备得到;
- [0033] 所述的壳聚糖基高载药纳米粒子在生物医用材料领域中的应用;
- [0034] 本发明的原理在于:由于目前抗癌载药纳米粒子存在载药量不高和响应性不足的缺点,致使到达癌细胞内的药物浓度较低,抗癌效果不够理想。本发明的出发点是构建一种壳聚糖基高载药纳米粒子:首先将疏水药物键合到亲水基材上构建双亲分子(化学载药),然后将双亲分子与药物混和,在双亲分子自组装形成纳米胶束过程中,根据相似相容的原理,利用键合药物与游离药物的分子间作用包裹药物(物理载药),即结合化学法和物理法,通过药物自组装等方式获得高负载药物的壳聚糖基纳米胶束(图5),可将纳米粒子的最大载药量提高至20%。由于壳聚糖可溶解于酸性溶液中,因此,该纳米粒子可在癌细胞的内部酸性环境刺激条件下快速释放药物,达到有效杀死癌细胞的目的。
- [0035] 本发明与现有技术相比,具有以下优点:
- [0036] (1)本发明制备的载药纳米粒子具有载药量高、癌细胞内部快速释放药物等特性,可有效杀死癌细胞,对癌症治疗有重要意义。
- [0037] (2)本发明制备方法简单成本低,易于工业化生产。

附图说明

- [0038] 图1是实施例1所得的壳聚糖基药物衍生物的核磁共振氢谱图。
- [0039] 图2是实施例1所得的Cs-SNX2112高载药纳米胶束的粒径大小和分布图。
- [0040] 图3是实施例1所得的Cs-SNX2112高载药纳米胶束的透射电镜图。
- [0041] 图4是实施例1所得的Cs-SNX2112高载药纳米胶束的临界胶束浓度分析图。
- [0042] 图5是本发明壳聚糖基高载药纳米粒子的结构示意图。

具体实施方式

[0043] 下面结合实施例及附图对本发明作进一步详细的描述,但本发明的实施方式不限于此。

[0044] 实施例1

[0045] (1)将150mg SNX2112和40mg丁二酸酐溶于10mL DMSO中;在上述溶液中加入0.1mL 三乙胺,在常温下酯化反应72h;将反应完后的溶液减压旋蒸出去溶剂和三乙胺,然后用丙酮清洗除去残留未反应的药物,再用水清洗除出残留未反应的丁二酸酐,冷冻干燥后得到

丁二酸酐改性药物;

[0046] (2)取20mg步骤(1)中制得的丁二酸酐改性药物溶于20mL的DMSO中,向溶液中加入0.07mmol 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC·HCl)和0.07mmol N-羟基琥珀酰亚胺(NHS),活化反应0.5h;取40mg Cs溶解于6mL 2%(W/W)的醋酸溶液,然后加入到34mL pH=5.6的MES缓冲溶液中并超声去泡,将该溶液缓慢加入到上述羧基活化药物的DMSO溶液中,酰胺化反应4h;反应结束后用水和丙酮的混合溶剂(体积比为2:1)中透析2d,再用去离子水透析5d,冷冻干燥后得到壳聚糖基药物衍生物Cs-SNX2112;Cs-SNX2112的¹H NMR谱图如图1所示;

[0047] (3)将100mg Cs-SNX2112溶于40mL HCl溶液(0.2mol/mL)和DMSO的混合溶剂(V/V=3:7)中,将10mg SNX2112溶解于5mL DMSO中;然后在超声条件下,将SNX2112的DMSO溶液缓慢滴加到Cs-SNX2112的混合溶剂中,滴加结束后常温下搅拌48h使载药完全,然后将混合溶液用去离子水透析7d,冷冻干燥48h,得到壳聚糖基高载药纳米粒子(Cs-SNX2112高载药纳米胶束);该纳米胶束的粒径大小和分布图如图2所示,胶束平均粒径为190nm;透射电镜图如图3所示,结果显示纳米胶束呈圆球形;Cs-SNX2112的临界胶束浓度CMC值为15.77μg/mL,如图4所示;Cs-SNX2112高载药纳米胶束的载药量为15%。

[0048] 实施例2

[0049] (1)将50mg紫杉醇、20mg丁二酸酐溶于10mL的DMSO中;在上述溶液中加入0.5mL三乙胺,在常温下酯化反应24h;将反应完后的溶液减压旋蒸出去溶剂和三乙胺,然后用丙酮清洗除去残留未反应的药物,再用水清洗除去残留未反应的丁二酸酐,冷冻干燥后得到丁二酸酐改性药物;

[0050] (2)取20mg步骤(1)中制得的丁二酸酐改性药物溶于20mL的DMSO中,向溶液中加入0.7mmol 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC·HCl)和0.07mmol N-羟基琥珀酰亚胺(NHS),活化反应24h;取100mg Cs溶解于3mL 2%(W/W)的醋酸溶液,然后加入到17mL pH=5.6的MES缓冲溶液混合溶剂中并超声去泡,将该溶液缓慢加入上述羧基活化药物的DMSO溶液中,酰胺化反应48h;反应结束后用水和丙酮的混合溶剂(体积比为2:1)中透析2d,然后再用去离子水透析5d,冷冻干燥后得到产物壳聚糖基药物衍生物Cs-紫杉醇;

[0051] (3)将40mg Cs-紫杉醇溶于40mL HCl溶液(0.1mol/mL)和DMSO的混合溶剂(V/V=2:8)中,将5mg紫杉醇溶解于5mL DMSO中;然后在超声条件下,将紫杉醇的DMSO溶液缓慢滴加到Cs-紫杉醇的混合溶剂中,滴加结束后常温下搅拌48h使载药完全;然后将混合溶液用去离子水透析7d,冷冻干燥48h,得到壳聚糖基高载药纳米粒子(Cs-紫杉醇高载药纳米胶束);Cs-紫杉醇高载药纳米胶束的平均粒径大小为100nm,载药量为5%。

[0052] 实施例3

[0053] (1)将100mg阿霉素和30mg丁二酸酐溶于10mL DMSO中;在上述溶液中加入0.25mL三乙胺,在常温下酯化反应48h;将反应完后的溶液减压旋蒸出去溶剂和三乙胺,然后用丙酮清洗除去残留未反应的药物,再用水清洗除去残留未反应的丁二酸酐,冷冻干燥后得到丁二酸酐改性药物;

[0054] (2)取50mg步骤(1)中制得的丁二酸酐改性药物溶于20mL的DMSO中,向溶液中加入0.35mmol 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC·HCl)和0.07mmol N-羟基琥珀酰亚胺(NHS),活化反应12h;取50mg Cs溶解于3mL 2%(W/W)的醋酸溶液,然后加入到

17mL pH=5.6的MES缓冲溶液中并超声去泡,将该溶液缓慢加入到上述羧基活化药物的DMSO溶液中,酰胺化反应24h;反应结束后用水和丙酮的混合溶剂(体积比为2:1)中透析2d,然后再用去离子水透析5d,冷冻干燥后得到产物壳聚糖基药物衍生物Cs-阿霉素。

[0055] (3)将200mg Cs-阿霉素溶于40mL HCl溶液(0.3mol/mL)和DMSO的混合溶剂(V/V=5:5)中,将25mg阿霉素溶解于5mL DMSO中;然后在超声条件下,将阿霉素的DMSO溶液缓慢滴加到Cs-阿霉素的混合溶剂中,滴加结束后常温下搅拌48h使载药完全;然后将混合溶液用去离子水透析7d,冷冻干燥48h后得到壳聚糖基高载药纳米粒子(Cs-阿霉素高载药纳米胶束);Cs-阿霉素高载药纳米胶束的平均粒径大小为400nm,载药量为20%。

[0056] 上述实施例为本发明较佳的实施方式,但本发明的实施方式并不受上述实施例的限制,其他的任何未背离本发明的精神实质与原理下所作的改变、修饰、替代、组合、简化,均应为等效的置换方式,都包含在本发明的保护范围之内。

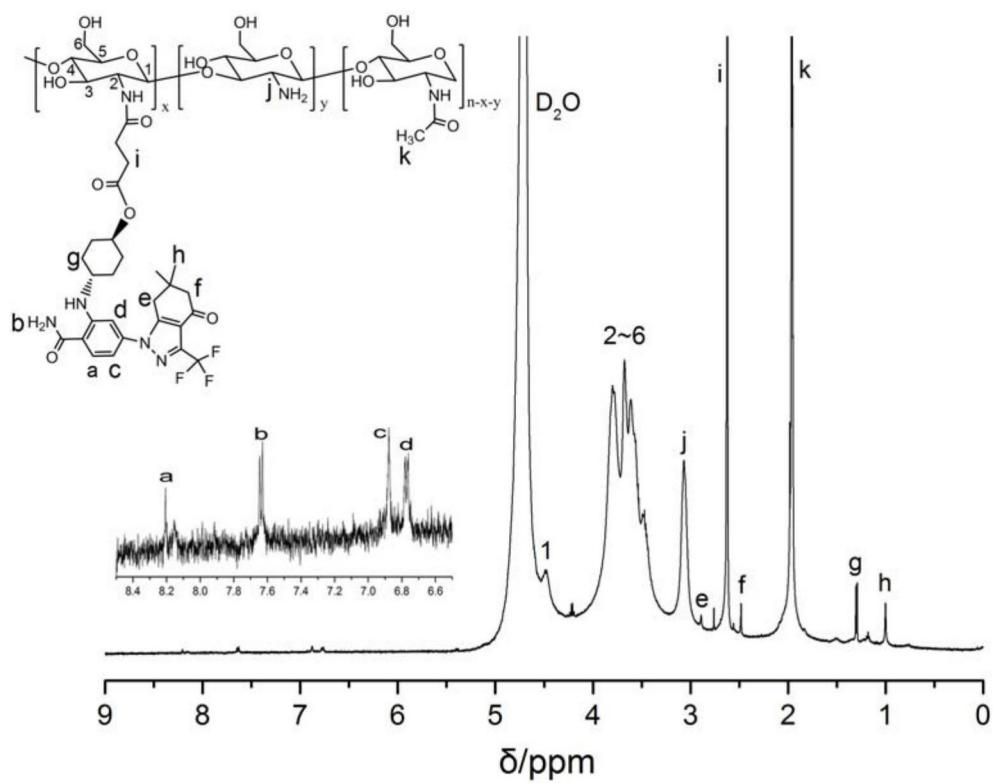


图1

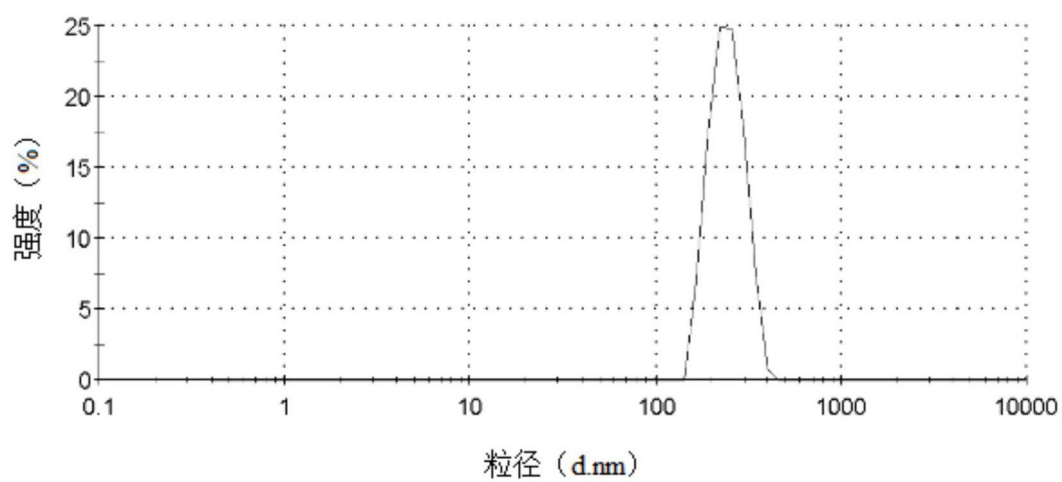


图2

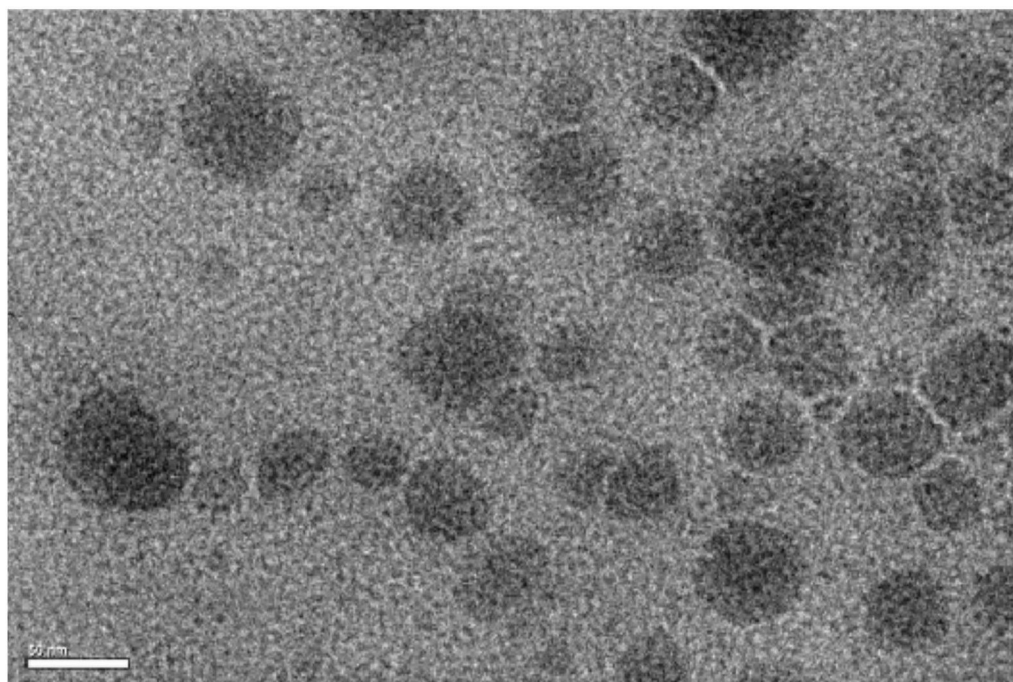


图3

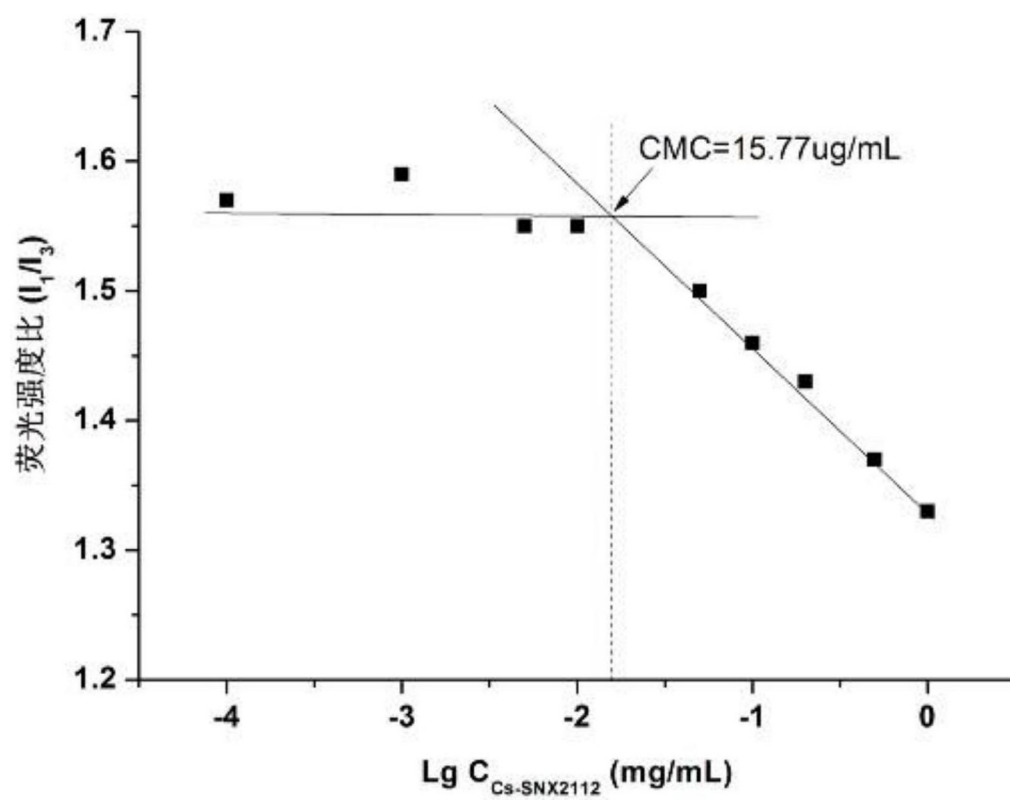


图4

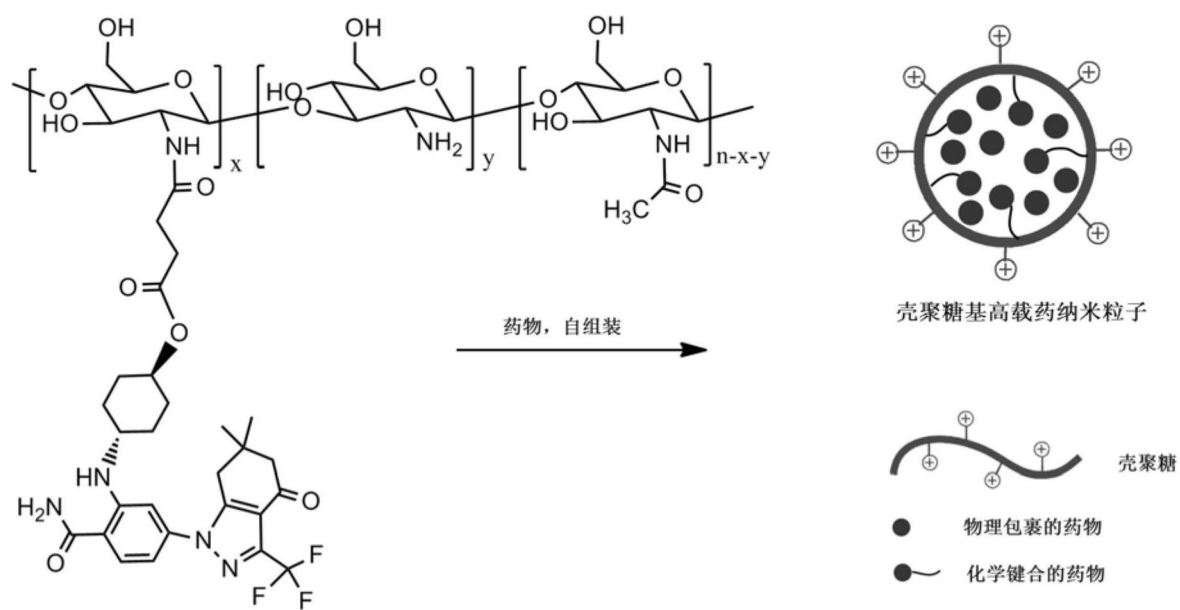


图5