

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2024 年 4 月 18 日 (18.04.2024)



(10) 国际公布号
WO 2024/077705 A1

- (51) 国际专利分类号:
A61M 37/00 (2006.01) *A61K 9/00* (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2022/131856
- (22) 国际申请日: 2022 年 11 月 15 日 (15.11.2022)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
202211231468.2 2022 年 10 月 9 日 (09.10.2022) CN
- (71) 申请人: 浙江大学 (ZHEJIANG UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国浙江省杭州市西湖区余杭塘路 866 号, Zhejiang 310058 (CN)。
- (72) 发明人: 郑超 (ZHENG, Chao); 中国浙江省杭州市西湖区余杭塘路 866 号, Zhejiang 310058 (CN)。于翔 (YU, Xiang); 中国浙江省杭州市西湖区余杭塘路 866 号, Zhejiang 310058 (CN)。谷卫 (GU, Wei); 中国浙江省杭州市西湖区余杭塘路 866 号, Zhejiang 310058 (CN)。常皓 (CHANG, Hao); 中国浙江省杭州市西湖区余杭塘路 866 号, Zhejiang 310058 (CN)。张亦凯 (ZHANG, Yikai); 中国浙江省杭州

市西湖区余杭塘路 866 号, Zhejiang 310058 (CN)。徐健晨 (XU, Jianchen); 中国浙江省杭州市西湖区余杭塘路 866 号, Zhejiang 310058 (CN)。

- (74) 代理人: 上海新隆知识产权代理有限公司 (普通合伙) (SHANGHAI XINLONG INTELLECTUAL PROPERTY AGENCY (GENERAL PARTNERSHIP)); 中国上海市中国 (上海) 自由贸易试验区金皖路 389 号 206-8 室金利琴, Shanghai 201206 (CN)。
- (81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(54) Title: GLUCAGON-LOADED MICRONEEDLE PATCH

(54) 发明名称: 载胰高血糖素微针贴片

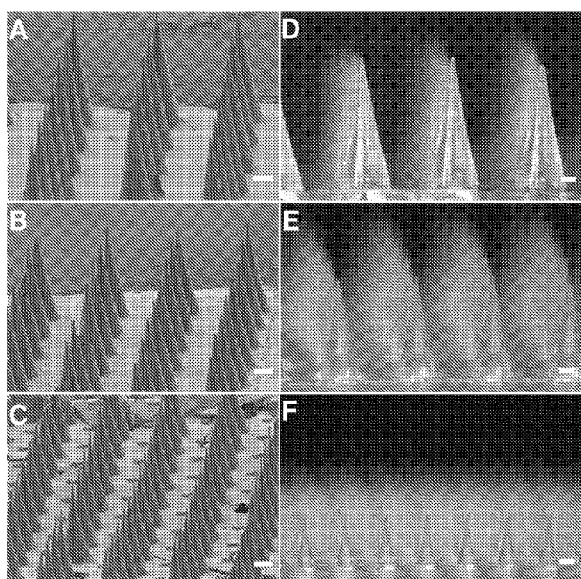


图 2

(57) Abstract: A glucagon-loaded microneedle patch, comprising an array composed of a plurality of microneedles and a substrate, each microneedle comprising a needle tip, a needle body, and a substrate surface. The microneedle patch is made of a polymer and a solubilizer and contains glucagon loaded thereon. When the ratio of the length of the microneedles to the distance between the tips of adjacent microneedles is 1.2-1.7, the longer the length of the microneedles, the faster the glucagon transdermal rate. The needle bodies and the substrate of the glucagon-loaded microneedle patch are all loaded with glucagon, achieving transdermal drug delivery, and the glucagon-loaded microneedle patch has the characteristics of first burst release and then sustained release, is quick to take effect, has a long action time, and can be used for rescue therapy of critical hypoglycemia.

(57) 摘要: 一种载胰高血糖素微针贴片, 包括多个微针组成的阵列和基底, 各个微针包括针尖、针体和基底面, 微针贴片由聚合物和促溶剂制成, 并含有载胰高血糖素。当微针的长度与相邻微针的针尖间距的比值为 1.2-1.7, 则微针长度越长, 使得胰高血糖素透皮速率越快。载胰高血糖素微针贴片的针体和基底均载有胰高血糖素, 实施经皮给药, 具有先爆释后缓释的特征, 起效快, 作用时间长, 可用于低血糖病危症的抢救治疗。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

根据细则4.17的声明:

- 关于发明人身份(细则4.17(i))
- 关于申请人有权申请并被授予专利(细则4.17(ii))
- 关于申请人有权要求在先申请的优先权(细则4.17(iii))
- 发明人资格(细则4.17(iv))

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

载胰高血糖素微针贴片

技术领域

本发明涉及医药发明领域，具体涉及一种在蛋白药物可溶性微针，作为输送载体，实现蛋白药物的体内快速输送。

背景技术

随着生活模式的改变以及人口老龄化的增长，糖尿病患者的数量正在逐年增加。目前，治疗糖尿病的关键措施是严格控制血糖水平。然而，严格的强化降糖治疗会增加低血糖事件的发生率。低血糖情况严重且没有得到及时救治时会对身体造成不可逆的伤害，若救治不及时，持续性的严重低血糖会引起意识丧失，造成永久性的神经损伤，甚至死亡。据报道 I 型糖尿病患者中每年要花费近 2000 美元用于控制低血糖，但仍有 4% 的患者死于低血糖。针对于低血糖的抢救，国内主要是通过口服含单糖类食物或者静注 50% 的葡萄糖液。但该方法往往会超过临床推荐的碳水化合物数量，导致血糖控制不佳。国外主要通过静注或者皮下注射胰高血糖素救治低血糖患者。

胰高血糖素于 1922 年首次发现具有升血糖作用，并在 1955 年引入糖尿病护理治疗。胰高血糖素在水中容易重构、聚合，起初的胰高血糖素注射液保存时间仅仅为 24 h。为了解决该问题，美国 Eli Lilly、Novo Nordisk 和 Fresenius Kabi 等公司相继开发出胰高血糖素冻干粉注射剂。虽然保质期的障碍被克服，但该制剂存在“给药过程复杂问题”。首先要监测血糖水平，根据血糖值，设计成年人和儿童的给药剂量。之后，胰岛素冻干粉要与专用的稀释剂混溶后，装入特定的注射器中进行给药。该过程步骤较多，不利于低血糖抢救。另外，胰高血糖素半衰期（仅为 5min）远小于胰岛素的半衰期（为 2h），治疗低血糖症时，往往会发生血糖回升后又再次降低的现象，通常需要二次治疗。在胰岛素冻干粉注射剂的使用调研研究中，64% 的受访者声称胰高血糖素冻干粉针注射剂，使用复杂，当人经历严重的低血糖症经常无法自行管理。目前上市的另外一种剂型就是胰岛素冻干粉鼻喷剂，该制剂存在两个弊端：（1）容易受温度影响，环境温度较低时，胰高血糖素不易被鼻黏膜吸收，影响药效发挥；（2）患者往往会因为低血糖失去知觉，很难主动吸入药物。

随着制剂学的发展，胰高血糖素在低血糖抢救方面的应用逐步拓展，但目前仍需要结合现代制剂技术优化低血糖的治疗，提高胰高血糖素的适用性。

微针是以多个微小针体集合的阵列，针体直径一般小于 300 μm ，针体长度一般范围为

200 μm 至 2000 μm 。与传统的经皮给药制剂相比，微针的优势在于可以快速递送胃肠道不易吸收的生物大分子药物，如：蛋白质、多肽、抗体、疫苗、RNA 和 DNA 等。微针按照制备工艺和材料性质可以分为四类，即：实体微针、涂层微针、可溶性微针和空心微针。其中，可溶性微针是目前研究最广，也是微针给药系统热点。可溶性微针以水溶性或者可生物降解性聚合物为基质的微针，能够很好的维持多肽、蛋白、干细胞以及载药囊泡的活性，并且可通过皮肤角质层微创实现药物的便捷、高效递送。可溶性微针用于胰岛素和胰高血糖素递送的研究已有报道。但上述制剂的药物透皮速率达不到临床急救的时间要求，无法实现低血糖症的抢救治疗。因此，其只能作为低血糖的预防制剂使用。基于微针给药的突出优势和目前研究状态，微针用于控糖药物递送的发展空间很大，但至今没有关于用于救治低血糖的微针给药系统的报道。

发明内容

针对现有技术的不足，本发明提供了一种载胰高血糖素微针贴片，系可溶性微针，用于低血糖救治。

本发明的载胰高血糖素微针贴片，由聚合物和促溶剂制成，包括多个微针组成的阵列和基底，各个微针包括针尖、针体和基底面。适合的聚合物如：但不限于聚乙烯醇、聚乳酸、丝素蛋白、羧甲基纤维素钠、壳聚糖、海藻酸盐、透明质酸盐和聚乙烯吡咯烷酮等，这些聚合物单独或组合应用于本发明。其中，更倾向于使用聚乙烯吡咯烷酮，以避免胰高血糖素与聚合物发生因凝聚而沉淀。促溶剂如：但不限于海藻糖、麦芽糖、蔗糖、甘露糖、木糖醇、乳糖、半乳糖和葡萄糖等，这些化合物单独或组合应用于本发明。其中，更倾向于使用海藻糖，以加快微针的溶解时间，并显著增加微针的机械强度。

微针的形态如：但不限于圆锥形、钉子形和棱形。其中，更倾向于使用圆锥形，以利于微针扎入皮肤。各个微针包括针尖、针体和基底面，基底面即为针体与贴片的基材相接触的面。

一种载胰高血糖素微针贴片的实施方式，微针的针尖至基底面的长度范围为 1500 μm ~3000 μm ，较佳的为 1800 μm ~2500 μm 。

另一种载胰高血糖素微针贴片的实施方式，微针为圆锥形，基底面直径为 500 μm ~1000 μm ，较佳的为 500 μm ~850 μm 。

载胰高血糖素微针贴片可以顺利地插入皮肤，递送胰高血糖素，实现血糖的快速回升。贴片的基底中的药物扩散到皮下，延长药物的控糖时间，避免因胰高血糖素半衰期过短，而引起的血糖回升后又再次降低的现象。

载胰高血糖素微针贴片由多个载胰高血糖素微针按一定规律排列组成。一般来说，每个微针之间的距离相等。将胰高血糖素制备成不同长度的微针，当微针的长度与相邻微针的针尖间距的比值为 1.2~1.7，则微针长度越长，胰高血糖素透皮速率越快。以此实施经皮给药，可以快速逆转病患的低血糖情形，获得低血糖症的抢救效果。

另一种载胰高血糖素微针贴片的实施方式，在长度 1mm 范围内，设置 1~3 个微针，优先选择 1~2 个微针。

另一种载胰高血糖素微针贴片的实施方式，在面积为 1cm² 的范围内，设置 10~100 个微针，优先选择 50~100 个微针。

目前制造微针贴片的常见工艺即可制得本发明的载胰高血糖素微针贴片。为便于本领域技术人员了解制取的方法，本发明示例性的，而非限制地列明如下制取工艺：

先制取乙醇的碱溶液，如：将乙醇和 PBS 水溶液（pH 为 9.0）混合得到；

再将前述促溶剂与聚合物加入乙醇碱溶液中溶解，得到制取微针贴片的材料溶液；

接着，将胰高血糖素加入上述材料溶液中，混合均匀，得到制取胰高血糖素微针贴片的工作溶液；

之后，将工作溶液加入预制的微针贴片模具中，置于减压条件下，使工作溶液完全进入微针模具孔中，室温下干燥即得载胰高血糖素微针贴片。

工作溶液中所含的胰高血糖素的质量浓度为 5wt%~30wt%，尤其是 15wt%~20wt%（超过 20wt%，会形成粘稠的胶体，不利于抽真空制备微针，低于 15wt%会使得微针发生空心化倾向），比如：5wt%、6wt%、7wt%、8wt%、9wt%、10wt%、11wt%、12wt%、13wt%、14wt%、15wt%、16wt%、17wt%、18wt%、19wt%和 20wt%。

工作溶液中所含的聚合物的质量浓度为 10wt%~40wt%，尤其是 10wt%~30wt%（超过 30wt%的聚合物会与胰高血糖素聚沉反应，低于 10wt%微针的强度下降），比如：10wt%、11wt%、12wt%、13wt%、14wt%、15wt%、16wt%、17wt%、18wt%、19wt%和 20wt%。

工作溶液中所含的促溶剂的质量浓度为 5wt%~20wt%。当采用海藻糖时，浓度大于 10wt%会使微针易于吸收空气中的水分，影响微针的强度，以及增加了插入皮肤的难度，为此优先选择 5wt%~10wt%，比如：5wt%、6wt%、7wt%、8wt%、9wt%和 10wt%。

本发明技术方案实现的有益效果如下：

1、可以快速、安全的递送胰高血糖素，使得病患的血糖得以快速回升，并满足对于低血糖症的抢救时间的临床要求。

2、可以延长胰岛血糖素的控糖时间，避免因胰高血糖素半衰期过短，病患血糖回收后再次降低而进行二次给药。

附图说明

图 1 显示了胰高血糖素可溶性微针贴片的制备路线。

图 2 为各种规格载胰高血糖素微针的外观形貌图；其中 A 为大尺寸胰高血糖素微针扫描电镜图，B 为中尺寸胰高血糖素微针扫描电镜图，C 为小尺寸胰高血糖素微针的扫描电镜图，D 为大尺寸胰高血糖素微针体式镜图，E 为中尺寸胰高血糖素体式镜图，F 为小尺寸胰高血糖素微针体式镜图，图中标尺为 200 μ m；

图 3 为载胰高血糖素微针的位移与承载力曲线图；

图 4 为各个规格载胰高血糖素微针的皮肤病理穿刺图；其中，A 为大尺寸胰高血糖素微针皮肤病理穿刺图，B 为中尺寸胰高血糖素微针皮肤病理穿刺图，C 为小尺寸胰高血糖素微针皮肤病理穿刺图，图中标尺为 100 μ m；

图 5 为各种载胰高血糖素微针的胰高血糖素体外释放曲线；

图 6 为各种载胰高血糖素微针的体外透皮释放曲线；

图 7 为胰高血糖素可溶性微针贴片的安全性评价结果图；其中，A 为大尺寸胰高血糖素微针从皮肤中剥离 0 小时的微针印迹照片、B 为大尺寸胰高血糖素微针从皮肤中剥离 3 小时的微针印迹照片，C 为为大尺寸胰高血糖素微针从皮肤中剥离 24 小时后的微针印迹照片；D 为插入微针部位的皮肤，在微针剥离后第 24 小时的皮肤病理图；

图 8 为载胰高血糖素可溶性微针对正常大鼠低血糖模型的血糖恢复曲线；图中箭头代表微针给药时间。

具体实施方式

以下详细描述本发明的具体实施方式，但是根据本发明的载胰高血糖素可溶性微针实施例的制备过程、所用物质、所用物质的用量不限于文字表述，凡含有本发明提供的药物组合物，均属于本发明的保护范围。

图 1 显示了胰高血糖素可溶性微针贴片的制备路线，具体为以聚乙烯吡咯烷酮为聚合物，以海藻糖为促溶剂制取载胰高血糖素微针贴片过程，包括在材料溶液中加入胰高血糖素形成工作溶液滴入微针模具中，再经真空干燥后，将微针贴片从模具中剥离，获得载胰高血糖素可溶性微针。

实施例 1 胰高血糖素可溶性聚乙烯吡咯烷酮微针贴片

量取 70ml 的乙醇和 30ml 的 PBS 水溶液（pH 为 9.0）进行混合，得到乙醇水溶液；分别称取 10g 的海藻糖和 15g 的聚乙烯吡咯烷酮 K90 混合均匀，加入 100g 上述乙醇水溶液，得

到材料溶液。

称取 100mg 胰高血糖素，加入 2g 上述材料溶液，得到工作溶液。

将 0.3g 含药基质材料溶液滴入有 225 个圆锥形孔（1mm 范围内，有 2 个针，1cm² 的范围内，有 100 个针）并且孔深 800μm、孔最大直径 300μm，针尖距离为 500μm 的微针模具中，置于减压条件下，溶液完全进入微针模具孔中，室温下干燥得到胰高血糖素可溶性聚乙烯吡咯烷酮微针贴片，在下文中称为：小尺寸载药微针，或小尺寸胰高血糖素微针，小微针或小针。

实施例 2 胰高血糖素可溶性聚乙烯吡咯烷酮微针贴片

量取 70ml 的乙醇和 30ml 的 PBS 水溶液（pH 为 9.0）进行混合，得到乙醇水溶液；分别称取 10g 的海藻糖和 15g 的聚乙烯吡咯烷酮 K90 混合均匀，加入 100g 上述乙醇水溶液，得到材料溶液。

称取 100mg 胰高血糖素，加入 2g 上述材料溶液，得到工作溶液。

将 0.3g 含药基质材料溶液滴入有 100 个圆锥形孔（1mm 范围内，有 1 个针，1cm² 的范围内，有 44 个针）并且孔深 1400μm、孔最大直径 500μm，针尖距离为 1000μm 的微针模具中，置于减压条件下，溶液完全进入微针模具孔中，室温下干燥得到胰高血糖素可溶性聚乙烯吡咯烷酮微针贴片。在下文中称为：中尺寸载药微针，或中尺寸胰高血糖素微针，中微针或中针。

实施例 3 胰高血糖素可溶性聚乙烯吡咯烷酮微针贴片

量取 70ml 的乙醇和 30ml 的 PBS 水溶液（pH 为 9.0）进行混合，得到乙醇水溶液；分别称取 10g 的海藻糖和 15g 的聚乙烯吡咯烷酮 K90 混合均匀，加入 100g 上述乙醇水溶液，得到材料溶液。

称取 100mg 胰高血糖素，加入 2g 上述材料溶液，得到工作溶液。

将 0.3g 含药基质材料溶液滴入有 144 个圆锥形孔（1mm 范围内，有 1 个针，1cm² 的范围内，有 36 个针）并且孔深 2000μm，孔最大直径 800μm，针尖距离为 1500μm 的微针模具中，置于减压条件下，溶液完全进入微针模具孔中，室温下干燥得到胰高血糖素可溶性聚乙烯吡咯烷酮微针贴片。在下文中称为：大尺寸载药微针，或大尺寸胰高血糖素微针，大微针或大针。

实验例 4 微针贴片的外观形貌

样品：将实施例 1、实施例 2 和实施例 3 制取的小、中、大尺寸的胰高血糖素微针。

实验方法：

1、扫描电镜

用导电胶带分别将小、中、大尺寸的胰高血糖素微针固定，在 5kV 电压下，用扫描电子显微镜 (SEM, JSM-6330F, 日本) 分别观测上述三种微针的形貌，得到图 2A、图 2B 以及图 2C。

2、体视镜

通过体视镜 (S6D, Leica, Germany) 对大、中、小尺寸的胰高血糖素微针进行观察，得到图 2D、图 2E 和图 2F，并测量针尖与针高的尺寸。

图 2 展示了三种微针的形貌特点。三种微针都有尖锐的针尖，但微针长度、底座半径以及针尖距离都有显著性差异 (图 2A、图 2B 和图 2C)。体视镜下，三种微针的针体未见空心或者起泡等特征，大尺寸载药微针的长度约为 2003 μm ，底座半径约为 810 μm ，针尖距离约为 1500 μm ，微针的长度与相邻微针的针尖间距的比值为 1.33 (图 2D)，微针的长度与相邻微针的针尖间距的比值为 1.44；中尺寸载药微针的长度约为 1410 μm ，底座半径约为 535 μm ，针尖距离约为 984 μm (图 2E)，微针的长度与相邻微针的针尖间距的比值为 1.43；小尺寸载药微针的长度约为 807 μm ，底座半径约为 307 μm ，针尖距离约为 501 μm (图 2F)，微针的长度与相邻微针的针尖间距的比值为 1.61。

实验例 5 微针贴片的机械性能

样品：按照实施例 1、实施例 2 和实施例 3 分别制备小、中、大尺寸的胰高血糖素微针。

实验方法：

分别用双面胶贴于小、中、大尺寸的胰高血糖素微针贴片的背衬层面，将其固定于压力-拉力探测器的金属台上，微针针尖面向仪器的探针，探头向微针下压，记录位移和力的曲线。

大尺寸的胰高血糖素微针在 0.78N 下发生 0.4mm 的形变位移 (图 3)；中尺寸的微针达到 0.4mm 的形变位移需要 0.2N，而小尺寸的微针在 0.16N 的施压下就会产生相同的形变位移。此结果证明，随着尺寸的增加，微针的机械强度也会增大。

实验例 6 微针贴片的皮肤插入性能

样品：按照实施例 1、实施例 2 和实施例 3 分别制备小、中、大尺寸的胰高血糖素微针。

实验方法：

以 Sprague Dawley 大鼠为动物模型，使用剃须刀剃除 Sprague Dawley 大鼠的毛发，用乙

醇清洗暴露的皮肤表面。分别将小、中、大尺寸的胰高血糖素可溶性微针垂直插入大鼠的背部皮肤，保持 5 分钟后分别剥离。脱颈处死大鼠，剥离皮肤，将微针插入部位切包埋，并冷冻在液氮中。切片至 5 μ m 厚度，置于硅烷涂层玻片上。在倒置显微镜下观察皮肤切片 (IX-71, 奥林巴斯, 东京, 日本)。

微针的皮肤插入深度是影响药物递送和治疗效果的关键。图 4 显示 3 种微针均能有效插破皮肤角质层。大尺寸的载药微针透皮深度约为 557 μ m (图 4A) 小微针透皮深度约为 201 μ m (图 4B)，中尺寸的微针透皮深度约为 407 μ m (图 4C)，尺寸的胰高血糖素可溶性。此结果说明当微针长度与针尖距离相同时，微针长度越长，皮肤插入性能越好。因此，大尺寸载药微针非常利于药物的传递。

实验例 7 微针贴片体外释放实验

样品：按照实施例 1、实施例 2 和实施例 3 分别制备小、中、大尺寸的胰高血糖素微针。

实验方法：

分别将 0.03g 的小、中、大尺寸的胰高血糖素可溶性微针置于盛有 10ml 生理盐水的 Franz 接收池上，使微针完全浸没在 32 $^{\circ}$ C 生理盐水中，以 300rpm 进行磁力搅拌。在预定的时间点，取出样品溶液 (1ml)，过 0.22 μ m 的滤器，补充等量等温新鲜生理盐水，采用液质联用色谱法测定滤液中胰高血糖素的量。

色谱条件：选用 Agilent C18 色谱柱 (100mm $\times$ 2.1mm, 1.7 μ m)，柱温设为 40 $^{\circ}$ C，流动相为 0.1% 的甲酸水溶液和乙腈 (80:20)，流速设定为 0.3ml/min，m/z 871.3-217.4，进样量设定为 5 μ l。

药物从制剂中释放的速率是经皮给药系统的药物透皮透速率的关键，图 5 显示在溶解 5min 后，三种规格的微针所释放的胰高血糖素均超过了 50%，说明所制备的胰高血糖素微针具有快速溶解释放药物的特性，有利于胰高血糖素快速经皮渗透。

此外，30 分内三种微针所释放的胰高血糖素均达到了 80% 且无显著性差异，说明微针的规格不会影响药物从制剂中释放的速率。

实验例 8 微针贴片体外透皮实验

样品：按照实施例 1、实施例 2 和实施例 3 分别制备小、中、大尺寸的胰高血糖素微针。

实验方法：

将 Sprague Dawley 大鼠处死，取出背部皮肤，分别将小、中、大尺寸的胰高血糖素可溶性微针 (三种微针的质量均为 0.033g) 插入背部皮肤，将皮肤固定在 Franz 供体池和接收池

之间，角质层面向供体池，小心夹紧两个扩散池。扩散池的有效扩散面积为 1.2cm^2 。在接收池中加入 10ml 的 32°C 生理盐水，300rpm 搅拌。取出样品溶液（1ml），过 $0.22\mu\text{m}$ 的滤器，补充等量等温新鲜生理盐水，采用液质联用色谱法测定滤液中胰高血糖素的量，计算累积药物透过量。

图 6 显示在三种微针载药量相同的情况下，大尺寸微针在 15min 内可以进行爆释给药，药物渗透累积量 ($117\mu\text{g}$) 要远远大于中尺寸微针的药物渗透累积量 ($28\mu\text{g}$) 和小尺寸微针的药物渗透累积量 ($12\mu\text{g}$)。另外，大尺寸微针在 15min 后仍有药物缓慢透过皮肤，截止到 3 小时，药物渗透累积量 ($225\mu\text{g}$)，而中尺寸和小尺寸的微针在 3 小时药物渗透累积量仅仅为 $46\mu\text{g}$ 和 $23\mu\text{g}$ 。可见，大尺寸微针可以通过优秀的皮肤插入性能将针尖部位的药物快速递送到皮下。之后，从基底层扩散出的胰高血糖素，凭借微针造成的较大的皮肤孔道扩散到皮肤以下，实现药物的缓释渗透。而中尺寸和小尺寸的微针因为微针皮肤插入性能以及造成的皮肤孔道较小等原因，达不到想要的预期结果。

实验例 9 微针贴片的安全性评价

样品：按照实施例 1、实施例 2 和实施例 3 分别制备小、中、大尺寸的胰高血糖素微针。

实验方法：

以 Sprague Dawley 大鼠为动物模型，使用剃须刀剃除 Sprague Dawley 大鼠的毛发。将大尺寸的胰高血糖素可溶性微针垂直插入大鼠的背部皮肤，保持 3 小时后分别剥离，分别在 0h，3h 和 24h 观察微针印迹，并在 24 h 时间脱颈处死大鼠，通过 H&E 技术观察皮肤是否有炎症现象发生。

剥离大尺寸的胰高血糖素可溶性微针后发现大鼠皮肤只会留下微针阵列的印迹，而不会有红肿和血液的渗出（图 7A）；3h 后，微针阵列的痕迹会明显减少（图 7B）；24h 后，大鼠皮肤上的痕迹完全消失（图 7C）。皮肤 H&E 图显示扎入微针的皮肤部位 24h 后无炎症细胞浸润（图 7D）。胰高血糖素微针贴片具有很好的安全性。

实验例 7. 胰高血糖素可溶性聚乙烯吡咯烷酮微针贴片的药效学研究

样品：按照实施例 1、实施例 2 和实施例 3 分别制备小、中、大尺寸的胰高血糖素可溶性微针。

实验方法：

选用 SD 大鼠 ($200 \pm 10\text{g}$) 为模型动物，共 30 只，分为模型组、大尺寸空白微针组、小尺寸的胰高血糖素可溶性微针组、中尺寸的胰高血糖素可溶性微针组以及大尺寸的胰高血糖

素可溶性微针组（每组各 6 只）。使用剃须刀剃除大鼠的背部毛发，各组大鼠测定初始血糖后均给与 2IU 胰岛素，模型组不加治疗，在预定的时间点内测定大鼠的血糖变化，给药阈值设置为 2.8 mmol。当血糖值低于阈值时，微针组大鼠均背部微针贴给药，在一定时间点测量血糖变化。

如图 8 显示模型组在给与胰岛素 60 分钟后血糖值降到 2.5 ± 1.1 mmol，在不经治疗地情况下，血糖一直持续在低血糖水平。同样地，大尺寸空白微针组在给予胰岛素 60 分钟后血糖值降到 2.6 ± 0.7 mmol。微针给药后，血糖值与模型组一致，无显著性差异。可见，微针中的基质材料（聚合物和促溶剂）不会影响大鼠的血糖水平。大尺寸微针给药 5 分钟后，血糖回升到 3.5 ± 0.8 mmol。此后，血糖持续回升，180 分钟时血糖值为 5.45 ± 1.1 mmol。而中尺寸微针组血糖回升缓慢，在微针给药后的 15min，血糖值仅达到 3.2 ± 0.7 mmol。在整个过程中，小尺寸微针组血糖变化与模型组一致。该结果说明大尺寸微针可以实现低血糖的抢救治疗。

以上详细描述了本发明的较佳具体实施例。应当理解，本领域的普通技术人员无需创造性劳动就可以根据本发明的构思作出诸多修改和变化。因此，凡本技术领域技术人员依本发明的构思在现有技术的基础上通过逻辑分析、推理或者有限的实验可以得到的技术方案，皆应在由权利要求书所确定的保护范围内。

权利要求书

1. 一种载胰高血糖素微针贴片，包括多个微针组成的阵列和基底，各个微针包括针尖、针体和基底面，其特征在于所述的微针贴片由聚合物和促溶剂制成，并含有载胰高血糖素；

当微针的长度与相邻微针的针尖间距的比值为 1.2~1.7，则微针长度越长，使得胰高血糖素透皮速率越快；

所述的聚合物选自于聚乙烯醇、聚乳酸、丝素蛋白、羧甲基纤维素钠、壳聚糖、海藻酸盐、透明质酸盐和聚乙烯吡咯烷酮之一种或几种；

所述的促溶剂选自于海藻糖、麦芽糖、蔗糖、甘露糖、木糖醇、乳糖、半乳糖和葡萄糖之一种或几种。

2. 根据权利要求 1 所述的胰高血糖素微针贴片，其特征在于长度 1mm 范围内，设置 1~3 个微针。

3. 根据权利要求 1 所述的胰高血糖素微针贴片，其特征在于在面积为 1cm² 的范围内，设置 10~100 个微针。

4. 根据权利要求 1 所述的胰高血糖素微针贴片，其特征在于自所述的针尖至所述的基底面的长度为 1500μm~3000μm。

5. 根据权利要求 1 所述的胰高血糖素微针贴片，其特征在于微针的形态为圆锥形。

6. 根据权利要求 5 所述的胰高血糖素微针贴片，其特征在于所述的基底面直径为 500μm~1000μm。

7. 根据权利要求 1 所述的胰高血糖素微针贴片，其特征在于按如下方法制取：

先制取乙醇的碱溶液；

再将所述促溶剂与所述的聚合物加入乙醇碱溶液中溶解，得到制取微针贴片的材料溶液；

接着，将胰高血糖素加入所述材料溶液中，混合均匀，得到制取胰高血糖素微针贴片的工作溶液；

之后，将所述工作溶液加入预制的微针贴片模具中，置于减压条件下，使所述工作溶液完全进入微针模具孔中，室温下干燥即得载胰高血糖素微针贴片。

8. 根据权利要求 7 所述的胰高血糖素微针贴片，其特征在于所述的工作溶液中所含的胰高血糖素的质量浓度为 5wt%~30wt%。

9. 根据权利要求 7 所述的胰高血糖素微针贴片，其特征在于所述的工作溶液中所含的所述聚合物的质量浓度为 10wt%~30wt%。

10. 根据权利要求 7 所述的胰高血糖素微针贴片，其特征在于所述的工作溶液中所含的促溶剂的质量浓度为 5wt%~20wt%。

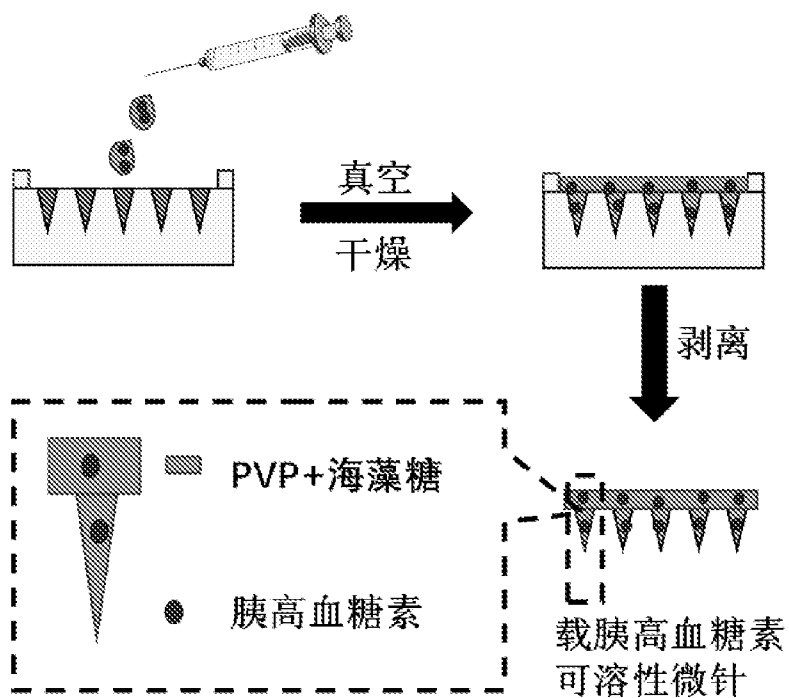


图 1

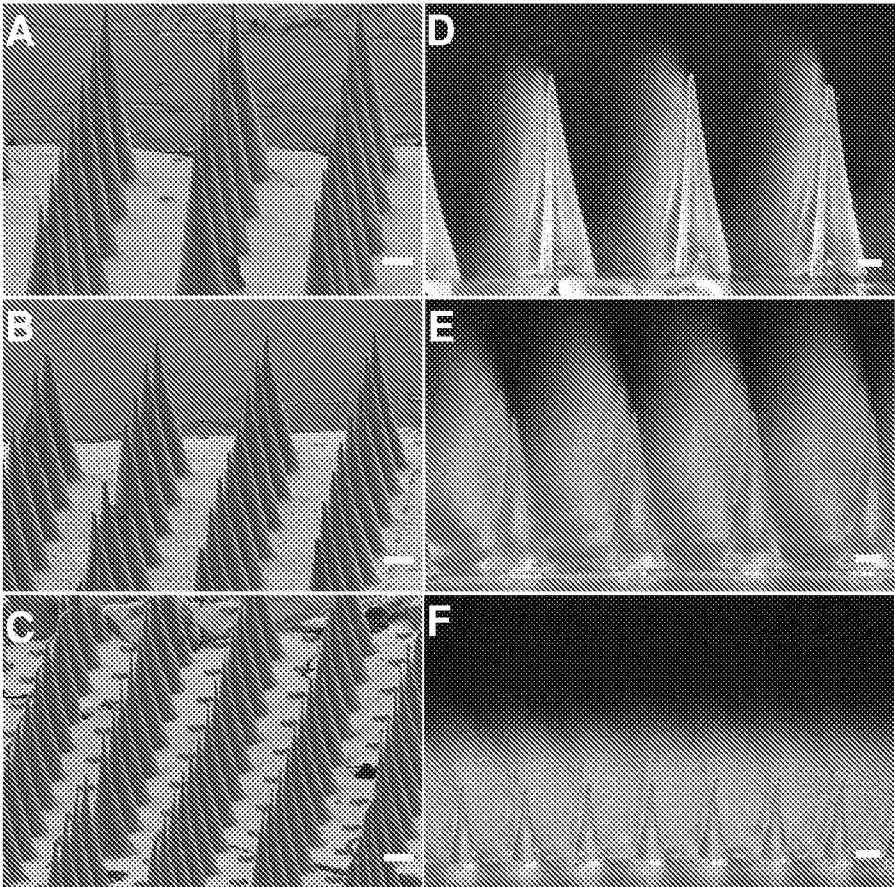


图 2

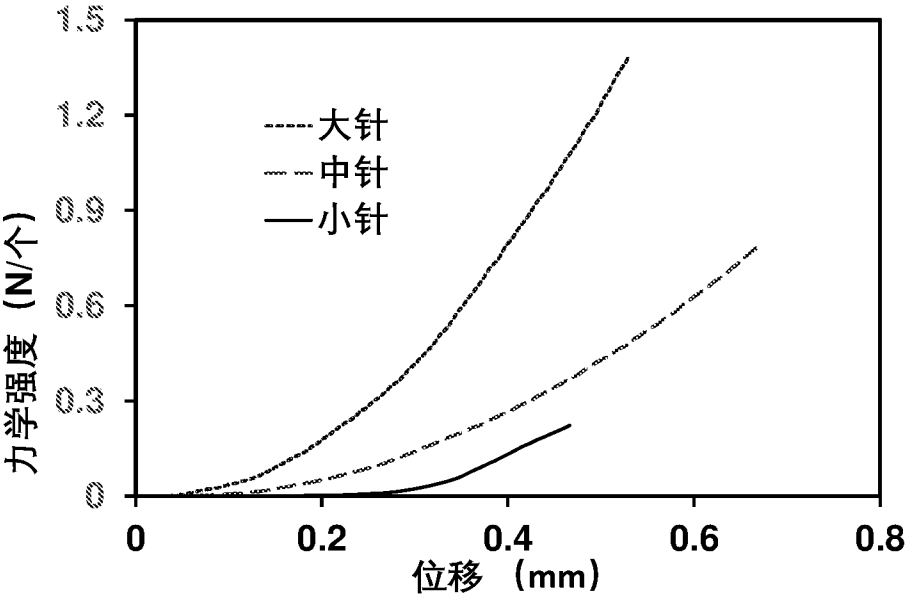


图 3

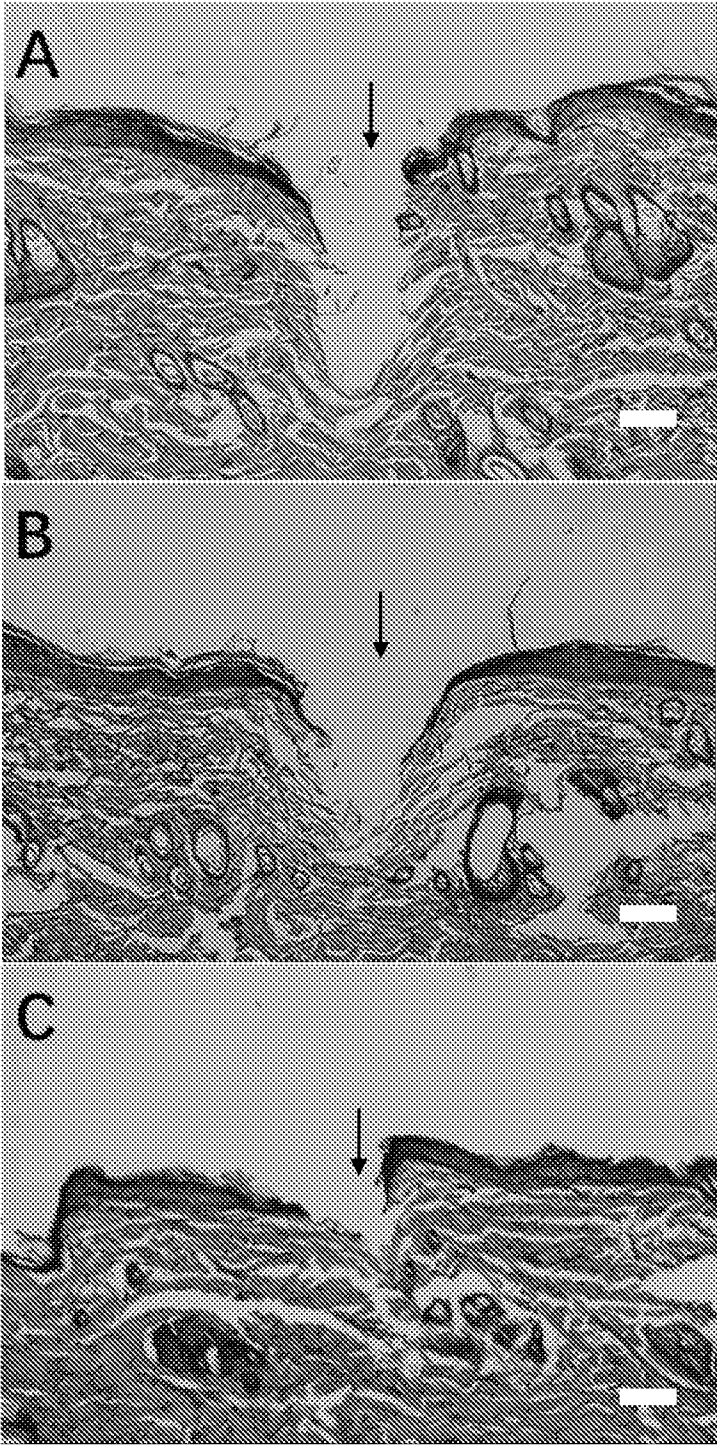


图 4

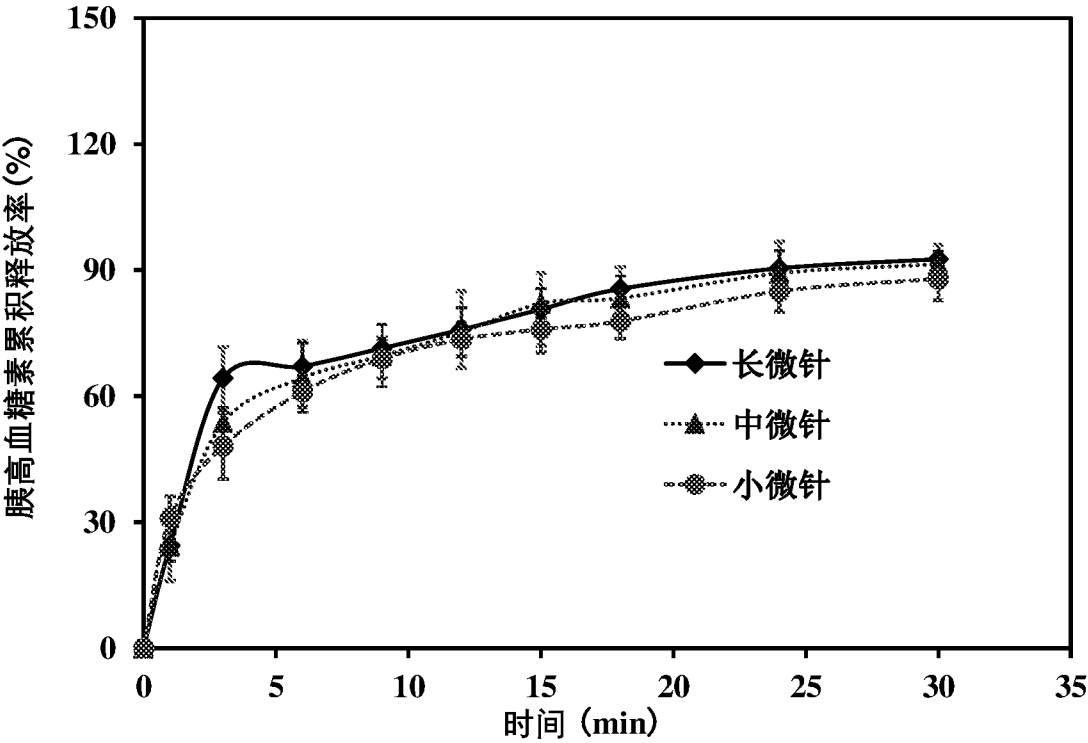


图 5

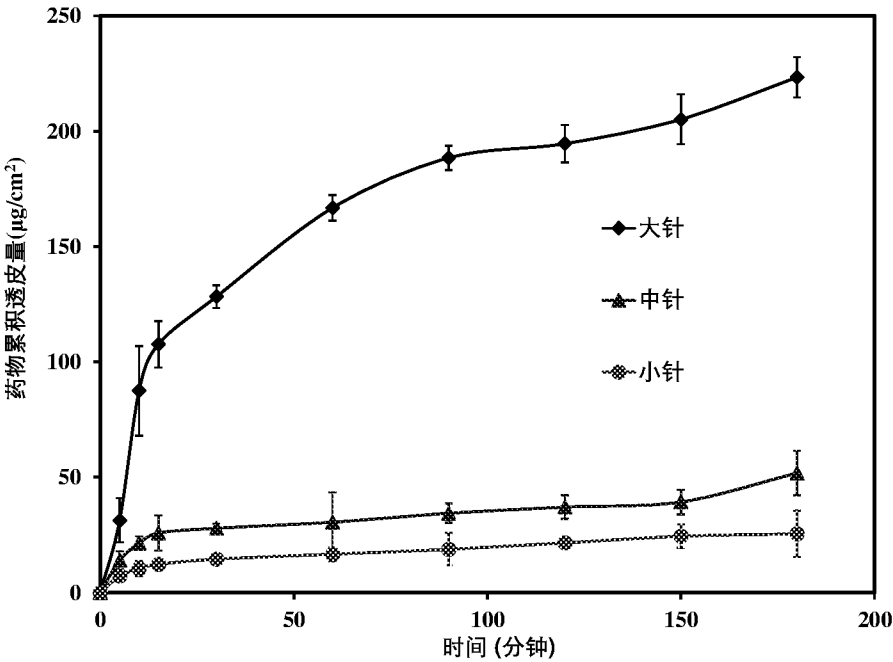


图 6

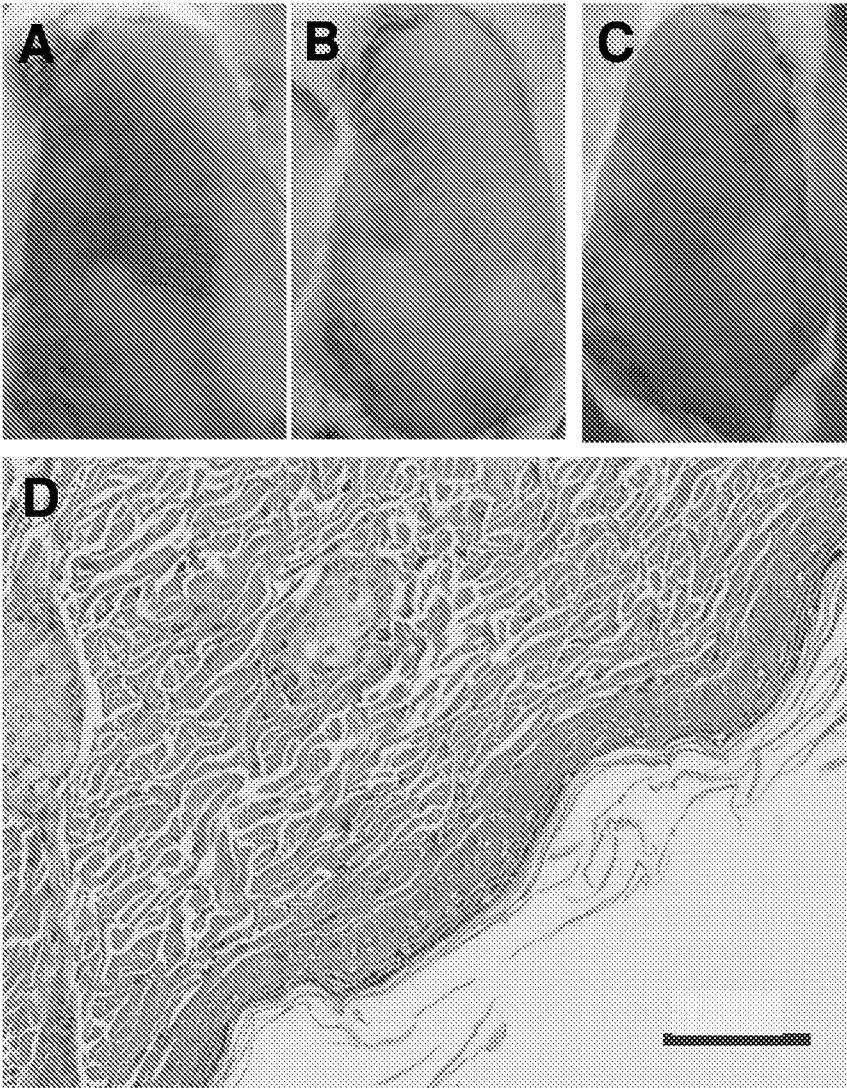


图 7

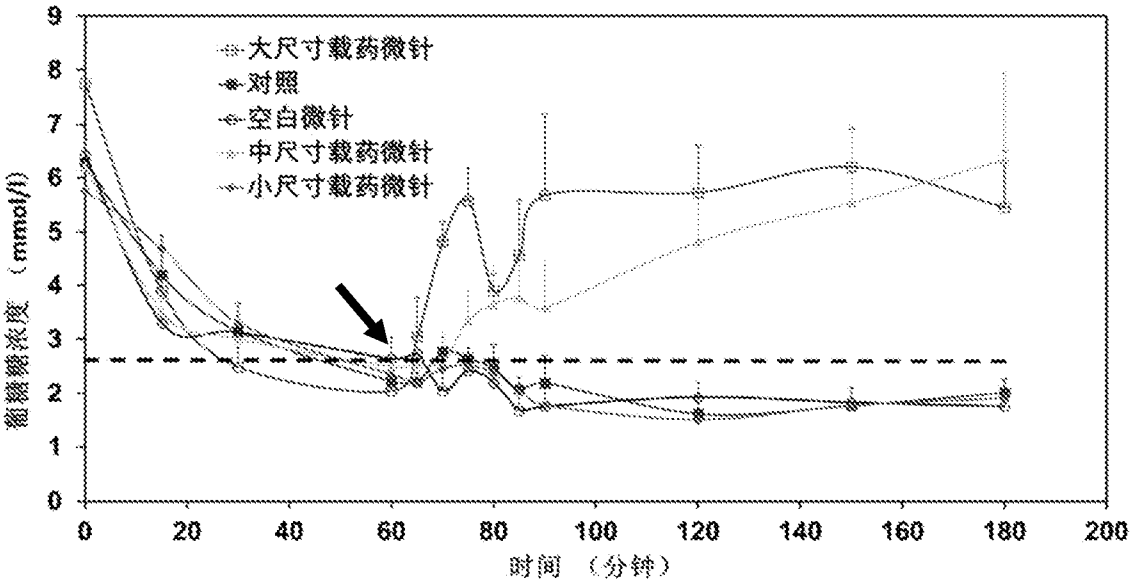


图 8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/131856

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61M37/00(2006.01)i; A61K9/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC: A61M, A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNTXT, WPABSC, ENTXTC, CJFD: 微针, 胰高血糖素, 聚合物, 糖, 透皮速率, 促溶, 溶解, 间距, 长度, 高度, microneedle, dissolving, soluble, polymer, saccharide, glucagon, length, height, interval

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2014371713 A1 (COSMED PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 18 December 2014 (2014-12-18) description, paragraphs [0019]-[0059], and figures 1-2	1-3, 5, 7-10
Y	US 2014371713 A1 (COSMED PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 18 December 2014 (2014-12-18) description, paragraphs [0019]-[0059], and figures 1-2	4,6
Y	CN 114376569 A (ZHEJIANG UNIVERSITY) 22 April 2022 (2022-04-22) description, paragraphs [0070]-[0082]	4,6
A	CN 112641931 A (SHANGHAI JIAO TONG UNIVERSITY) 13 April 2021 (2021-04-13) entire document	1-10
A	CN 114306917 A (GUANGZHOU NEWORLD PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 12 April 2022 (2022-04-12) entire document	1-10
A	US 2021128738 A1 (NORTH CAROLINA STATE UNIVERSITY) 06 May 2021 (2021-05-06) entire document	1-10



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“D” document cited by the applicant in the international application

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 June 2023

Date of mailing of the international search report

20 June 2023

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration (ISA/
CN)
China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District,
Beijing 100088

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/131856

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2022010698 A1 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA) 13 January 2022 (2022-01-13) entire document	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2022/131856

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
US	2014371713	A1	18 December 2014	CA	2864388	A1	22 August 2013
				CA	2864388	C	14 July 2020
				KR	20200062377	A	03 June 2020
				KR	102281138	B1	26 July 2021
				AU	2013219321	A1	18 September 2014
				AU	2013219321	B2	20 July 2017
				KR	20140125364	A	28 October 2014
				WO	2013122160	A1	22 August 2013
				JP	2013189432	A	26 September 2013
				JP	5472770	B2	16 April 2014
				EP	2815784	A1	24 December 2014
CN	114376569	A	22 April 2022	None			
CN	112641931	A	13 April 2021	None			
CN	114306917	A	12 April 2022	WO	2022152131	A1	21 July 2022
US	2021128738	A1	06 May 2021	WO	2018165294	A1	13 September 2018
WO	2022010698	A1	13 January 2022	EP	4178606	A1	17 May 2023
				CN	115811985	A	17 March 2023

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2022/131856

A. 主题的分类

A61M37/00(2006.01)i; A61K9/00(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC: A61M, A61K

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

CNTXT, WPABSC, ENTXTC, CJFD: 微针, 胰高血糖素, 聚合物, 糖, 透皮速率, 促溶, 溶解, 间距, 长度, 高度, microneedle, dissolving, soluble, polymer, saccharide, glucagon, length, height, interval

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	US 2014371713 A1 (COSMED PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 2014年12月18日 (2014 - 12 - 18) 说明书第[0019]-[0059]段、图1-2	1-3, 5, 7-10
Y	US 2014371713 A1 (COSMED PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 2014年12月18日 (2014 - 12 - 18) 说明书第[0019]-[0059]段、图1-2	4, 6
Y	CN 114376569 A (浙江大学) 2022年4月22日 (2022 - 04 - 22) 说明书第[0070]-[0082]段	4, 6
A	CN 112641931 A (上海交通大学) 2021年4月13日 (2021 - 04 - 13) 全文	1-10
A	CN 114306917 A (广州新济药业科技有限公司) 2022年4月12日 (2022 - 04 - 12) 全文	1-10
A	US 2021128738 A1 (NORTH CAROLINA STATE UNIVERSITY) 2021年5月6日 (2021 - 05 - 06) 全文	1-10

☒ 其余文件在C栏的续页中列出。☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“D” 申请人在国际申请中引证的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2023年6月13日

国际检索报告邮寄日期

2023年6月20日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中国国家知识产权局

中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088

授权官员

汤利容

电话号码 (+86) 010-53962469

C. 相关文件		
类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
A	WO 2022010698 A1 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA) 2022年1月13日 (2022 - 01 - 13) 全文	1-10

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2022/131856

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
US	2014371713	A1	2014年12月18日	CA	2864388	A1	2013年8月22日
				CA	2864388	C	2020年7月14日
				KR	20200062377	A	2020年6月3日
				KR	102281138	B1	2021年7月26日
				AU	2013219321	A1	2014年9月18日
				AU	2013219321	B2	2017年7月20日
				KR	20140125364	A	2014年10月28日
				WO	2013122160	A1	2013年8月22日
				JP	2013189432	A	2013年9月26日
				JP	5472770	B2	2014年4月16日
				EP	2815784	A1	2014年12月24日
CN	114376569	A	2022年4月22日	无			
CN	112641931	A	2021年4月13日	无			
CN	114306917	A	2022年4月12日	WO	2022152131	A1	2022年7月21日
US	2021128738	A1	2021年5月6日	WO	2018165294	A1	2018年9月13日
WO	2022010698	A1	2022年1月13日	EP	4178606	A1	2023年5月17日
				CN	115811985	A	2023年3月17日