



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 108042810 B

(45) 授权公告日 2021.06.22

(21) 申请号 201711453083.X

C07F 5/04 (2006.01)

(22) 申请日 2017.12.28

(56) 对比文件

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 108042810 A

王东昌等.“氢气在恶性肿瘤治疗中的应用”.《天津医药》.2017,第45卷(第4期),第436-440页.

(43) 申请公布日 2018.05.18

Tian Yang et al..“Intratumoral high-payload delivery and acid-responsive release of H₂ for efficient cancer therapy using the ammonia borane-loaded mesoporous silica nanomedicine”.《Applied Materials Today》.2018,第11卷第136-143页.

(73) 专利权人 深圳大学

地址 518000 广东省深圳市南山区南海大道3688号

(72) 发明人 何前军 杨天 赵鹏赫 金召奎

(74) 专利代理机构 深圳市千纳专利代理有限公司 44218

代理人 袁燕清

Yu Zhao.“Preparation of Mesoporous Silica and Its Applications in Hydrogen Storage Materials”.《ProQuest 学位论文全文检索平台http://www.pqdtcn.com/thesisDetails/

827A954469C1BEEB407AFECFD041226F》.2013,摘要,引言,第98-101、115-116、122页.

(51) Int.Cl.

A61K 47/52 (2017.01)

A61K 33/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

C01B 3/06 (2006.01)

C07F 5/02 (2006.01)

C07F 5/05 (2006.01)

审查员 王斯婷

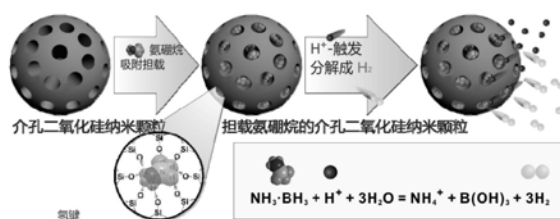
权利要求书1页 说明书4页 附图8页

(54) 发明名称

一种酸响应释氢纳米药物及其制备方法

(57) 摘要

一种酸响应释氢纳米药物及其制备方法,本发明涉及新材料领域和生物医用材料领域,本发明的目的之一在于提供一种新型抗肿瘤药物,所述的抗肿瘤药物包括有介孔二氧化硅载体和担载在其内的具有酸响应特性的H₂前体药物。介孔二氧化硅纳米载体比表面积大于500m²/g且表面具有硅羟基增强了其氢键作用,因此具有超高的氢气担载量(可达130.6mg/g),解决现有氢气治疗易扩散,担载量低,难以控制的技术问题。本发明提供具有酸响应特性的H₂纳米治疗剂有如下优点:1) 药物担载量高,担载氢气量高;2) 缓释时间长;3) 能够实现靶向运输氢气到肿瘤部位;4) 可控性好,不需要外源性刺激,更适合体内应用。5) 只对肿瘤细胞有害,几乎不影响正常细胞。



1. 一种酸响应释氢纳米药物在制备肿瘤微酸环境响应的 H_2 纳米治疗剂中的应用, 其特征在于, 所述的酸响应释氢纳米药物包括有介孔二氧化硅载体和担载在所述的介孔二氧化硅载体内的具有酸响应特性的 H_2 前体药物, pH值为5.8或6.8的酸性环境下能释放氢气, 所述的酸响应释氢纳米药物为抗肿瘤药物, 所述的药物具有肿瘤微酸环境响应特性, 所述的 H_2 前体药物为氨硼烷类前药。

2. 如权利要求1所述的酸响应释氢纳米药物在制备肿瘤微酸环境响应的 H_2 纳米治疗剂中的应用, 其特征在于, 所述的氨硼烷类前药为氨硼烷、金属氨硼烷、三甲胺硼烷、二甲胺硼烷、三氮杂硼烷、环硼氮六烷、硼酸三异丙酯中的一种以上。

3. 如权利要求1所述的酸响应释氢纳米药物在制备肿瘤微酸环境响应的 H_2 纳米治疗剂中的应用, 其特征在于, 所述的介孔二氧化硅载体的介孔孔径为2~3nm, 比表面积大于500 m^2/g 。

4. 如权利要求1所述的一种酸响应释氢纳米药物在制备肿瘤微酸环境响应的 H_2 纳米治疗剂中的应用, 其特征在于, 所述的肿瘤包括有如下肿瘤细胞: 宫颈癌细胞、黑色素瘤细胞和神经瘤母细胞。

5. 如权利要求1所述的一种酸响应释氢纳米药物在制备肿瘤微酸环境响应的 H_2 纳米治疗剂中的应用, 其特征在于, 所述的酸响应释氢纳米药物的制备方法包括如下的步骤: (1) 准备8mg/mL-13mg/mL的介孔二氧化硅纳米材料的水溶液, 加入过量的具有酸响应特性的 H_2 前体药物, 静置待充分结合; (2) 离心分离纳米药物, 去除上清液; (3) 冷冻干燥离心产物, 得到酸响应释氢纳米药物。

6. 如权利要求5所述的一种酸响应释氢纳米药物在制备肿瘤微酸环境响应的 H_2 纳米治疗剂中的应用, 其特征在于, 所述的介孔二氧化硅纳米材料采用如下方法制备: (1) 在强烈搅拌下, 将25wt%的十六烷基三甲基氯化铵和20wt%的三乙醇胺依次溶解在92-96℃的水中, 其中十六烷基三甲基氯化铵、三乙醇胺和水的体积比为20:3:177;

(2) 逐滴加入TEOS并搅拌至反应完全, 离心后收集产物, 其中加入的TEOS和20wt%的三乙醇胺的体积比为1:1;

(3) 产物依次用乙醇, 由体积比为1:100的37%盐酸和乙醇, 乙醇洗涤;

(4) 去除十六烷基三甲基氯化铵;

(5) 得到所述的介孔二氧化硅纳米材料。

一种酸响应释氢纳米药物及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及新材料领域和生物医用材料领域,具体涉及一种基于介孔二氧化硅吸附担载氨硼烷类前药构建一类新型酸响应释氢纳米药物。

背景技术

[0002] 化学药物治疗是临床上治疗癌症,尤其是晚期癌症的主要方法,是一种有效的全身性治疗手段,但是传统的化疗药物和给药方式,存在着化疗药物无特异性识别,易损伤正常细胞和组织甚至引发全身性中毒;肿瘤细胞摄入药物效率低,反复给药易致肿瘤细胞产生耐药性等缺点。

[0003] 气体治疗作为一种新兴的肿瘤治疗技术,主要利用具有治疗性的气体(氢气 H_2 、一氧化氮 NO 、一氧化碳 CO 、硫化氢 H_2S 、氧气 O_2 等)取代传统的化疗药物,避免了化疗药物的毒副作用。氢气无色无味无毒,氢分子是一种有效的抗氧化物质,可选择性中和氧化性较强的活性氧,如羟自由基和亚硝酸阴离子,但对氧化性较弱的活性氧无明显作用,因而不影响活性氧的生物信号作用。

[0004] 研究表明,摄入富氢水对心、脑、肾、小肠等脏器缺血再灌注损伤具有显著保护作用,对衰老、糖尿病、帕金森症等慢性氧化应激性疾病也有明显治疗效果。氢气不仅能促进结肠癌细胞凋亡,联合化疗药物5-氟尿嘧啶使用时更具有协同作用,也可以缓解肾脏毒性,而不影响其抗肿瘤效果。氢气可以缓解肝癌患者放疗不良反应,显著提高肿瘤患者生活质量,而不影响放疗效果。

[0005] 目前氢气的给药方式主要是吸氢气,喝氢气水,注射氢的生理盐水,脂质体直接包裹氢气等,难以到达深度病灶区,气体药物的靶向运载和可控性释放是当今气体治疗所面临的主要挑战。因此,通过利用肿瘤内源性微环境触发氢气的释放,不仅备受肿瘤治疗领域的关注,而且对于实现 H_2 气体在体内安全可控的释放和推进气体治疗临床治疗具有重要的科研价值。

发明内容

[0006] 针对现有技术存在的问题,基于当前严峻的癌症形势以及未来纳米生物学发展的趋势,利用氢气作为一种无毒无害的新型医疗气体的美好前景,本发明提出通过采用生物相容性好且可降解的介孔二氧化硅纳米粒子为载体,超高量担载一类储氢量极高的 H_2 前药,旨在构建一种对肿瘤微酸环境响应性释放的新型智能 H_2 纳米药物,以克服目前癌症治疗领域出现的药物担载量低、诊治毒副作用大、外源性刺激对身体不利等缺点,实现针对恶性肿瘤的集内源性触控 H_2 释放与原位治疗恶性肿瘤的新型纳米药物气体治疗。在此,本发明首先提供一种新型具有肿瘤微酸环境响应特性的 H_2 纳米治疗剂,包括具有介孔孔道的二氧化硅实心纳米球,位于所述二氧化硅介孔孔道中具有酸响应特性的 H_2 前体药物-氨硼烷、金属氨硼烷、三甲胺硼烷、二甲胺硼烷、三氮杂硼烷、环硼氮六烷、硼酸三异丙酯。

[0007] 本发明的目的之一在于提供一种新型抗肿瘤药物,所述的抗肿瘤药物包括有介孔

二氧化硅载体 (MSN) 和担载在所述的介孔二氧化硅载体内的具有酸响应特性的 H_2 前体药物。介孔二氧化硅纳米材料 (MSN) 作为载体利用氢键配合-吸附法担载氢气前药,介孔二氧化硅纳米载体比表面积大于 $500\text{m}^2/\text{g}$ 且表面具有硅羟基增强了其氢键作用,因此具有超高的氢气担载量(可达 $130.6\text{mg}/\text{g}$),解决现有氢气治疗易扩散,担载量低,难以控制的技术问题。

[0008] 优选的,所述的介孔二氧化硅载体和 H_2 前体药物质量比为1:33。

[0009] 优选的,所述的 H_2 前体药物为氨硼烷类前药。

[0010] 优选的,所述的氨硼烷类前药为氨硼烷、金属氨硼烷、三甲胺硼烷、二甲胺硼烷、三氮杂硼烷、环硼氮六烷、硼酸三异丙酯中的一种以上。

[0011] 优选的,所述的酸响应特性实质指PH值小于或等于5的酸性环境。

[0012] 优选的,所述的介孔二氧化硅载体的介孔孔径为 $2\sim 3\text{nm}$,比表面积大于 $500\text{m}^2/\text{g}$ 。

[0013] 优选的,所述的肿瘤包括有如下肿瘤细胞:宫颈癌细胞、黑色素瘤细胞和神经瘤母细胞。

[0014] 一种新型抗肿瘤药物的制备方法,所述的制备方法包括如下的步骤:(1) 准备 $8\text{mg}/\text{mL}-13\text{mg}/\text{mL}$ 的介孔二氧化硅纳米的水溶液,加入过量的具有酸响应特性的 H_2 前体药物,静置待充分结合;(2) 离心分离纳米药物,去除上清液;(3) 冷冻干燥离心产物,得到新型抗肿瘤药物。

[0015] 优选的,所述的介孔二氧化硅纳米采用如下方法制备:(1) 在强烈搅拌下,将25wt%的十六烷基三甲基氯化铵和20wt%的三乙醇胺依次溶解在 $92-96^\circ\text{C}$ 的水中,其中十六烷基三甲基氯化铵、三乙醇胺和水的体积比为20:3:177;

[0016] (2) 逐滴加入TEOS并搅拌至反应完全,离心后收集产物,其中加入的TEOS和20wt%的三乙醇胺的体积比为1:1;

[0017] (3) 产物依次用乙醇,由体积比为1:100的37%盐酸和乙醇,乙醇洗涤产物洗涤;

[0018] (4) 去除十六烷基三甲基氯化铵;

[0019] (5) 得到所述的介孔二氧化硅纳米。

[0020] 优选的,所述的 H_2 前体药物为氨硼烷类前药。

[0021] 优选的,所述的氨硼烷类前药为氨硼烷、金属氨硼烷、三甲胺硼烷、二甲胺硼烷、三氮杂硼烷、环硼氮六烷、硼酸三异丙酯中的一种以上。

[0022] 本发明提供具有酸响应特性的 H_2 纳米治疗剂有如下优点:

[0023] 1) 本发明所得的AB@MSN纳米药物,利用介孔二氧化硅载体具有良好的生物相容性和高的比表面积使能够实现超高装载前体药物(药物担载量可高达到 $653\text{mg}/\text{g}$,担载氢气量高达 $130.6\text{mg}/\text{g}$),从而有助于药物在肿瘤部位的高效蓄积;

[0024] 2) 本发明所得的AB@MSN纳米药物只在酸性环境中响应性释放 H_2 ,在中性和碱性环境下不释放,且在体外缓释时间可高达2天,因此可用于 H_2 气体治疗;

[0025] 3) 本发明所得的AB@MSN纳米药物用于氢气治疗相比吸氢气、喝氢气、注射氢气生理盐水治疗,能够实现靶向运输氢气到肿瘤部位;

[0026] 4) 本发明所得的AB@MSN纳米药物能够在肿瘤区响应性释放高浓度 H_2 ,直接杀死肿瘤细胞,实现 H_2 内源性的可控特异性控释以达到定点高效的气体治疗作用,不需要外源性刺激,更适合体内应用。

[0027] 5) 本发明所得的AB@MSN纳米药物在肿瘤微酸环境下释放的氢气只对肿瘤细胞有害,几乎不影响正常细胞,在动物水平也能够对肿瘤起到很好的抑制作用。

附图说明

[0028] 图1示出了本发明的酸响应释氢纳米药物的合成示意图;

[0029] 图2示出了本发明的酸响应释氢纳米药物的TEM、SEM、DLS照片;

[0030] 图3示出了本发明的酸响应释氢纳米药物的红外图谱以及担载量。

[0031] 图4示出了本发明的酸响应释氢纳米药物对不同pH的PBS的响应性释放 H_2 行为;

[0032] 图5示出了本发明的酸响应释氢纳米药物在肿瘤细胞的响应性释放 H_2 的示踪;

[0033] 图6示出了本发明中酸响应释氢纳米药物在肿瘤细胞中响应性释放的氢气能够消除肿瘤部位过度表达的有害ROS;

[0034] 图7示出了本发明中酸响应释氢纳米药物分别对在正常细胞和肿瘤细胞水平上的毒性测试结果图;

[0035] 图8示出了本发明中酸响应释氢纳米药物对在动物水平上的治疗效果的评价对比图;

[0036] 图9示出了本发明中酸响应释氢纳米药物培育后小鼠的主要的器官(心、肝、脾、肺、肾)进行生理组织切片图。

具体实施方式

[0037] 实施例1

[0038] 载体MSN的制备的具体步骤为:首先,在强烈搅拌下,将十六烷基三甲基氯化铵(CTAC) (25wt% 10mL) 和三乙醇胺(TEAH, 20%, 1.5mL) 依次溶解在 95℃的88.5mL水中;1小时后,逐滴加入7.5mL正硅酸乙酯(TEOS) 并将混合物再搅拌1小时。离心后收集产物,依次分别用100mL乙醇、(1mL 37% 盐酸+ 100mL乙醇) 和100mL乙醇洗涤产物一次(共三次);然后用盐酸的乙醇溶液 ((1mL 37% 盐酸+100mL乙醇)) 萃取MSN中的表面活性剂CTAC,共萃取三次;最后,将得到的介孔二氧化硅纳米材料MSN分散到水中。

[0039] 实施例2

[0040] 新型酸响应释氢纳米药物AB@MSN的制备,具体步骤为:将AB:MSN按照质量比为33:1混合后静置10分钟,以14000rpm、1.5h离心,倒掉上清液得到纳米药物,分散在水溶液中。

[0041] 图2展示了实施例1制得的二氧化硅纳米颗粒的TEM和SEM照片及对应的粒子粒径图。其中,图示(A)表示为实施例1制备的MSN的SEM照片,图示(B)表示为实施例1制备的MSN的TEM照片,图示(C)表示为MSN的粒径约为50nm,而MSN的水合直径略大为65nm,结果表明,制得的二氧化硅纳米颗粒尺寸均一,比表面积大。

[0042] 图3展示了实施例2制得的纳米气体治疗剂AB@MSN的红外以及担载量。其中图示(A)表示为前药氨硼烷、载体介孔二氧化硅纳米粒子以及担载后的纳米药物的红外图片,图(B)表示为MSN担载AB的标曲。结果表明,二氧化硅纳米粒子超高担载氨硼烷达到653mg/g。

[0043] 图4展示了实施例2制得的纳米气体治疗剂AB@MSN和游离的氨硼烷分别在体外酸性环境下的氢气释放。图(A)表示为游离的氨硼烷分别在pH为5.0、5.8、6.8、7.4的PBS中释放的速率,分别为522 μ mol/h、87.3 μ mol/h、19.8 μ mol/h。图(B)和(C)表示纳米气体治疗剂

AB@MSN分别在pH为5.0、5.8、6.8、7.4 的PBS中释放的氢气量和释放速率。结果表明,酸性越强,氨硼烷释放氢气的速率越快,同时纳米气体治疗剂AB@MSN相比游离的氨硼烷,可以在体外缓慢释放氢气长达两天,可以有很好的缓释效果。

[0044] 图5展示了实施例2制得的纳米气体治疗剂AB@MSN在细胞体内利用MB+Pt 的探针检测其氢气的释放。图(A)表示浓度分别为100 μ g/mL、50 μ g/mL、25 μ g/mL的纳米气体治疗剂AB@MSN随着时间释放氢气的量。图(B)表示的是显微镜下观察到浓度为100 μ g/mL的纳米药物在细胞体内随时间增加,产生的氢气使MB+pT探针褪色。

[0045] 图6表示的是不同浓度的纳米药物在肿瘤细胞内消耗的ROS。结果表明,纳米气体治疗剂AB@MSN在肿瘤细胞的微酸环境下可以产生氢气,且纳米药物的浓度越高,产生的氢气越多,消耗的ROS越多。

[0046] 图7展示了实施例2制得的纳米气体治疗剂AB@MSN、游离前药氨硼烷、氨硼烷分解的产物硼酸氨、载体介孔二氧化硅纳米粒子(对照组) 分别在不同的肿瘤细胞和正常细胞内的毒性结果。图(A) (B) (C)表示的是四种物质分别在HELA细胞(宫颈癌细胞)、B16-F10(小鼠黑色素瘤细胞)、U87(小鼠神经瘤母细胞)内的毒性结果。图(D)表示的是四种物质在正常细胞内的毒性结果。结果表明,纳米气体治疗剂AB@MSN可以选择性的杀死肿瘤细胞,而游离的前药氨硼烷对肿瘤细胞和正常细胞均有杀伤作用,且都是随着浓度增加,细胞的存活率越低。而载体介孔二氧化硅纳米粒子和前药的分解产物硼酸铵对正常细胞和肿瘤细胞均没有杀伤作用。

[0047] 图8展示了实施例2制得的纳米气体治疗剂AB@MSN、游离前药氨硼烷、氨硼烷分解的产物硼酸氨、载体介孔二氧化硅纳米粒子(对照组)、PBS(对照组) 在动物水平上的治疗效果的评价图。其中,图式(A)表示为小鼠经过不同模式治疗20天内肿瘤体积的变化曲线,图式(B)表示为小鼠经过不同模式治疗20 天后解剖的肿瘤体重的对比,图式(C)表示为小鼠经过不同模式治疗20天内小鼠体重的变化曲线,式(D)表示为小鼠经过不同模式治疗20天内小鼠存活率的对比。从图7中可以看出,注射实施例2制备的AB@MSN的小鼠的体重无明显变化,且小鼠存活率为百分之百,这表明本发明的纳米诊疗制剂对小鼠没明显的毒副作用。此外,注射实施例2制备的AB@MSN的肿瘤体积无明显增加,而注入硼酸氨、PBS和MSN后小鼠的肿瘤体积显著增加,这表明本发明的纳米诊疗制剂对肿瘤具有明显的抑制效果。

[0048] 图9展示了小鼠经过不同模式治疗20天后的主要的器官(心、肝、脾、肺、肾)的生理组织切片图。将PBS、实施例1制备的MSN及实施例2制备的AB@MSN 灭菌处理,再将同等浓度的PBS、MSN、AB@MSN、AB、B(OH) 2ONH4分别通过原位注射入小鼠的HELA肿瘤内部,经过20天培养后,观测小鼠的主要器官(心、肝、脾、肺、肾)的组织切片。从切片测试结果中可以看出,注射实施例1制得的纳米诊疗制剂并没有对小鼠的主要器官(心、肝、脾、肺、肾)造成明显损伤,这表明本发明的纳米诊疗制剂对正常组织没有造成明显的毒副作用。

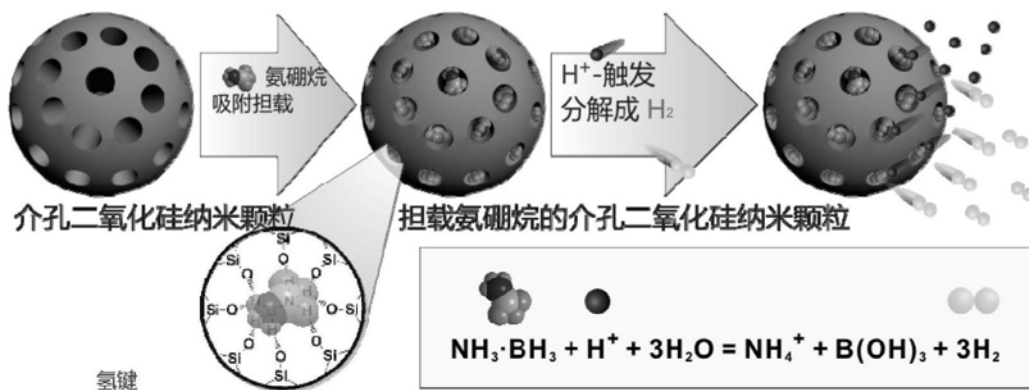


图1

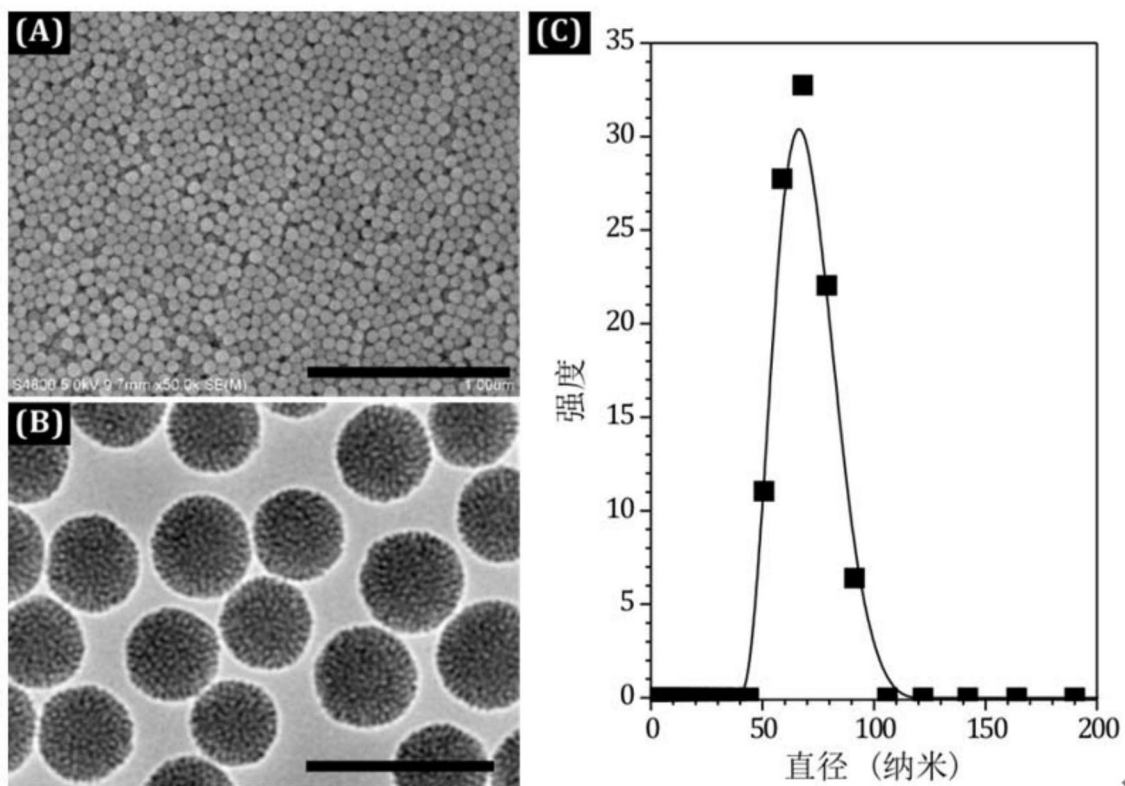


图2

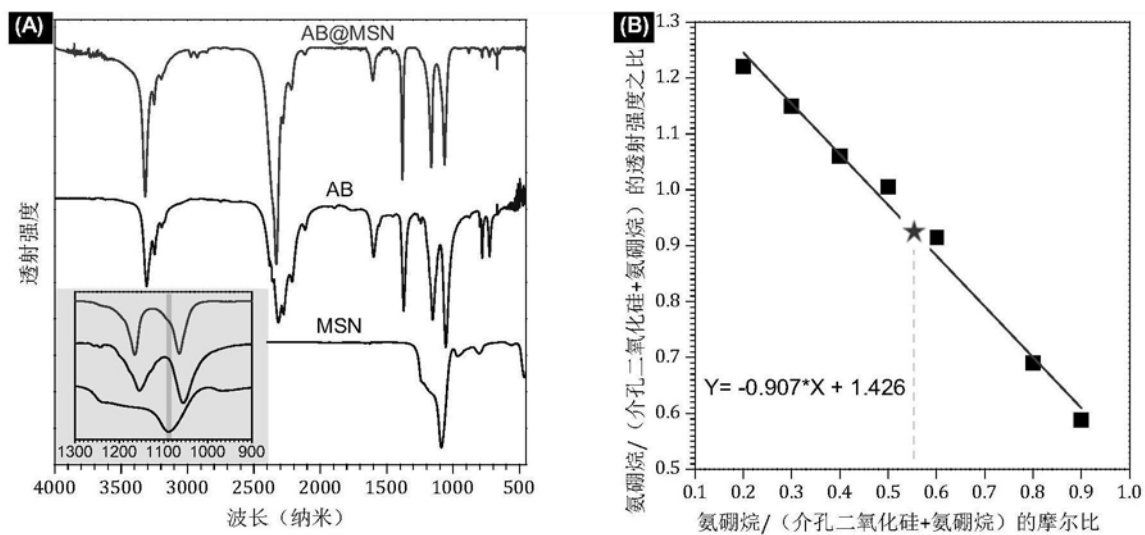


图3

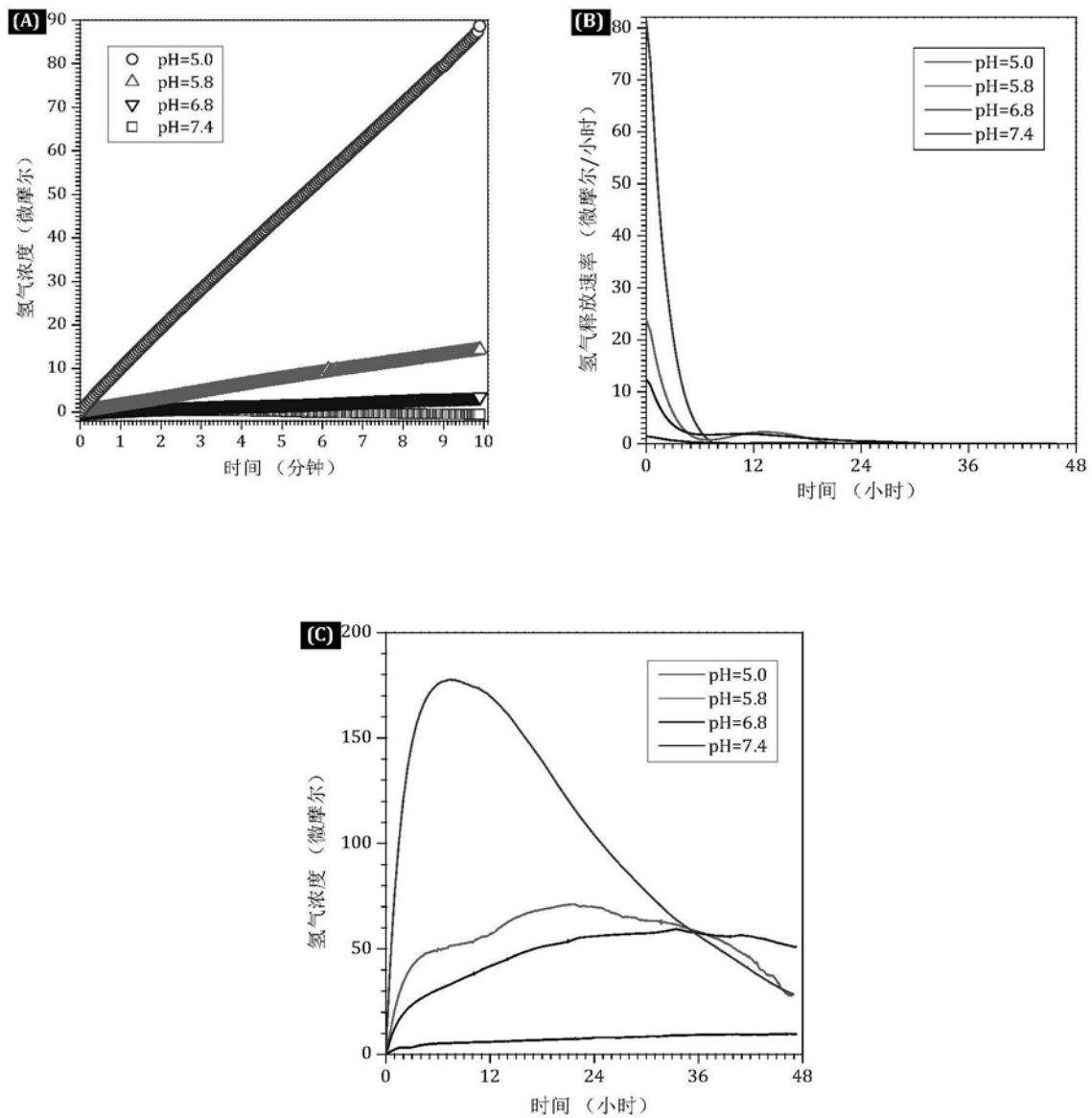


图4

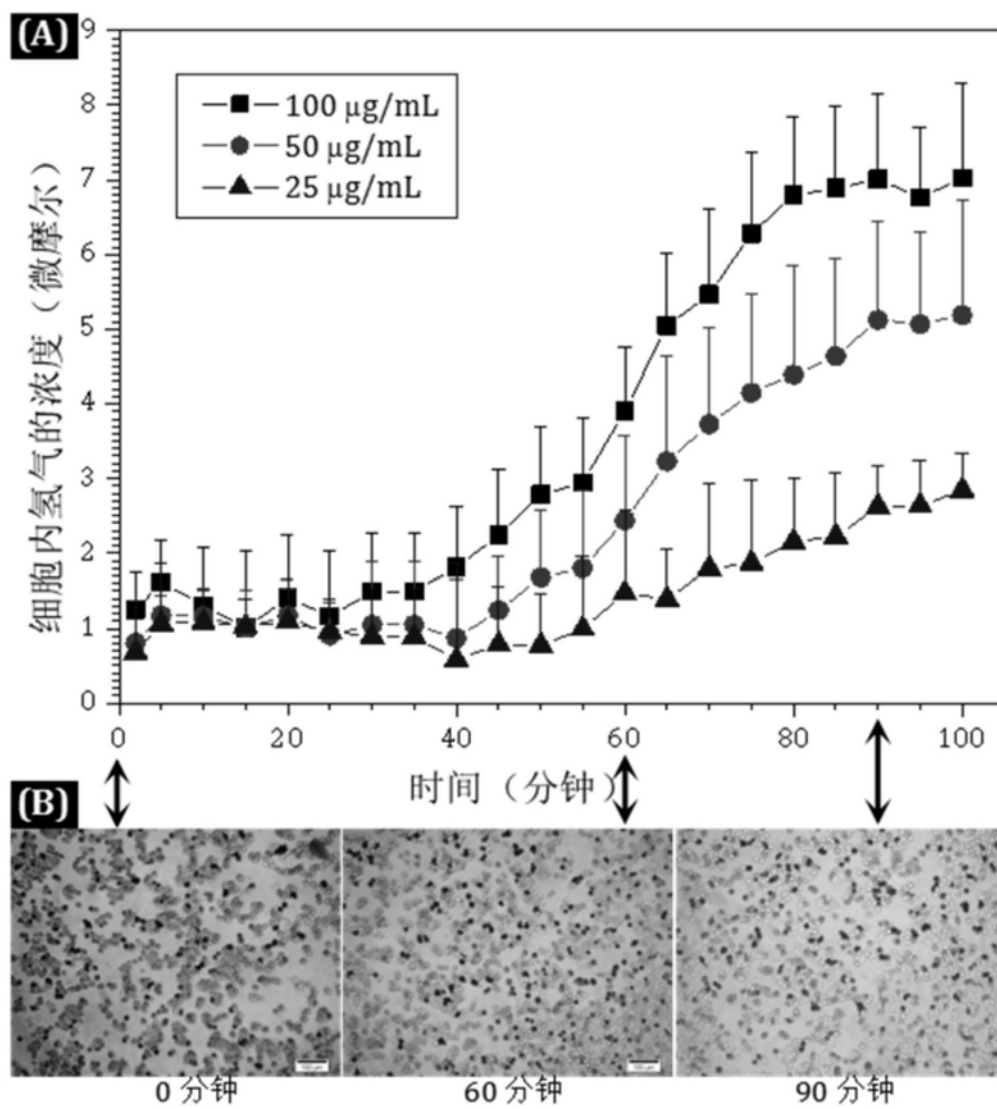


图5

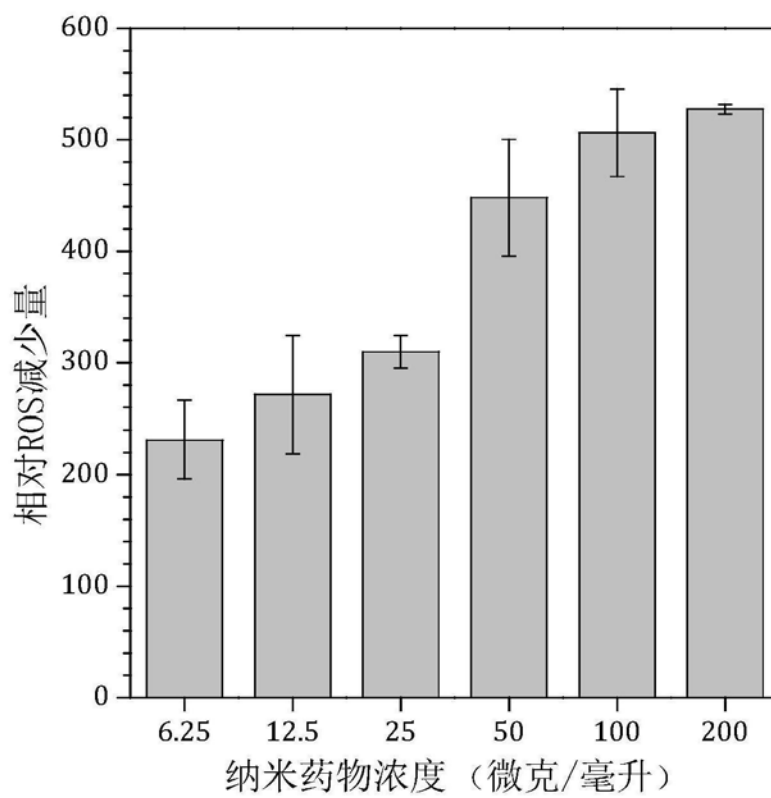


图6

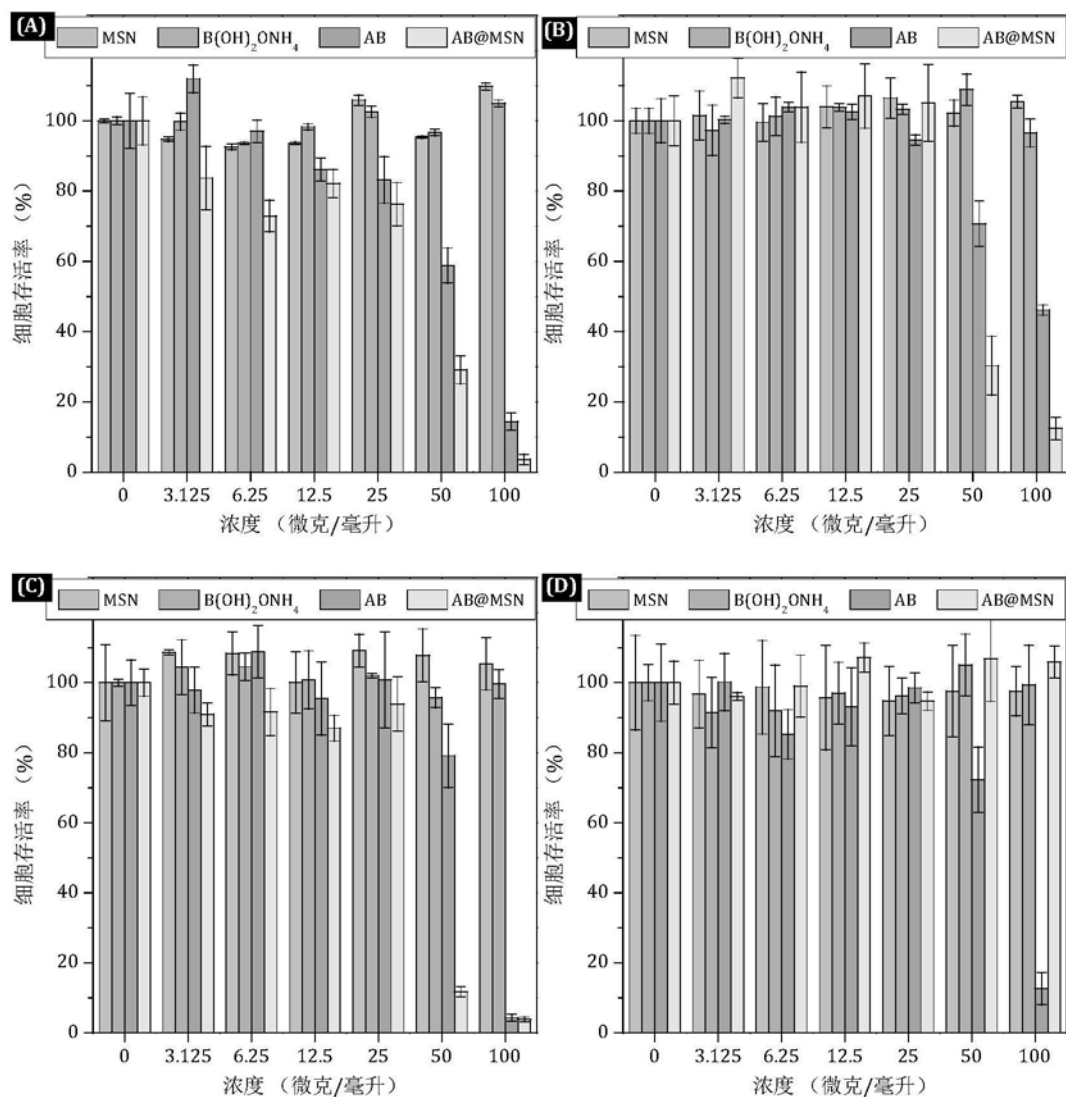


图7

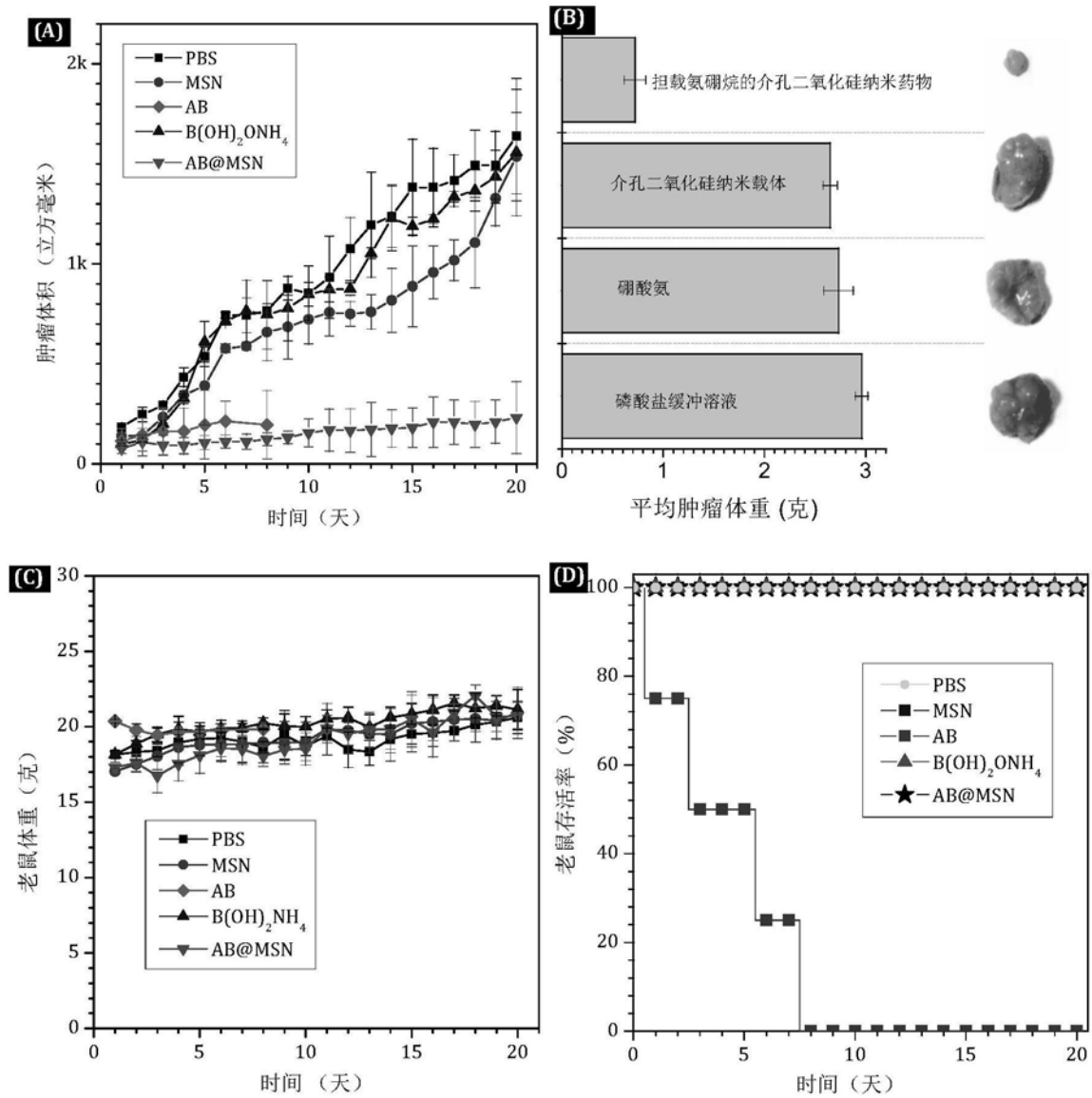


图8

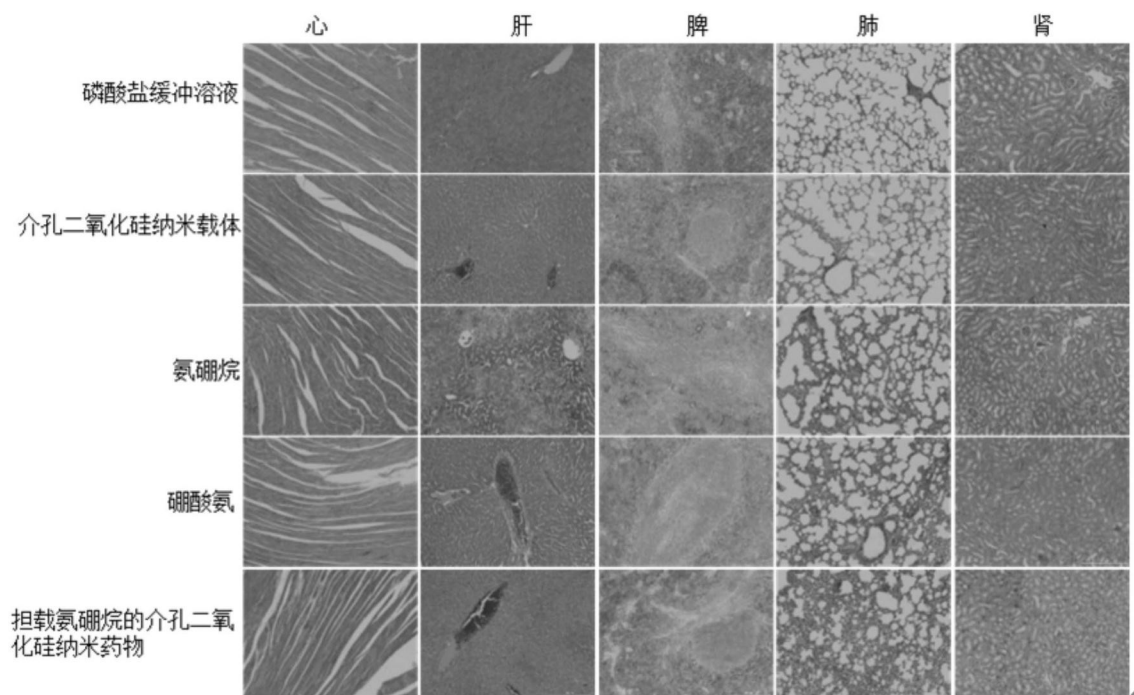


图9