

# (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  
2023年8月31日 (31.08.2023)

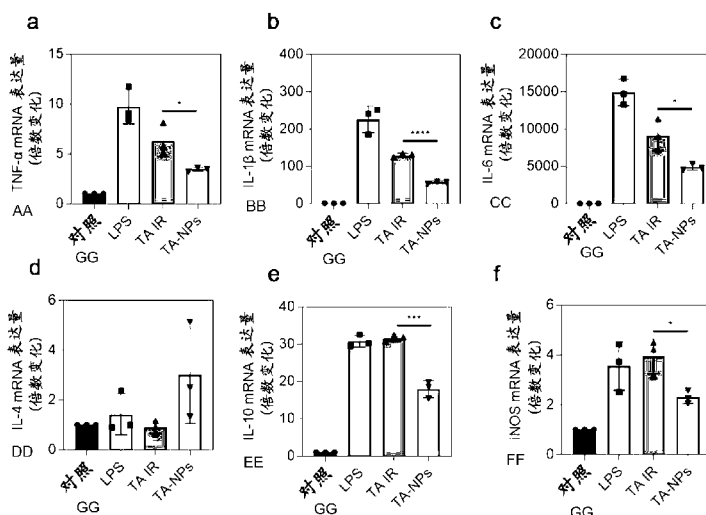


(10) 国际公布号  
**WO 2023/160631 A1**

- (51) 国际专利分类号:  
A61K 9/51 (2006.01) A61K 47/44 (2017.01)  
A61K 31/573 (2006.01) A61P 19/02 (2006.01)  
A61K 47/24 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2023/077964
- (22) 国际申请日: 2023年2月23日 (23.02.2023)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:  
202210184618.2 2022年2月25日 (25.02.2022) CN
- (71) 申请人: 中南大学湘雅医院(XIANGYA HOSPITAL, CENTRAL SOUTH UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国湖南省长沙市湘雅路87号, Hunan 410008 (CN)。
- (72) 发明人: 雷光华(LEI, Guanghua); 中国湖南省长沙市湘雅路87号, Hunan 410008 (CN)。 邓彩凤(DENG, Caifeng); 中国湖南省长沙市湘雅路87号, Hunan 410008 (CN)。 曾超(ZENG, Chao); 中国湖南省长沙市湘雅路87号, Hunan 410008 (CN)。
- (74) 代理人: 北京市金杜律师事务所(KING & WOOD MALLESONS); 中国北京市朝阳区东三环中路1号环球金融中心办公楼东楼20层, Beijing 100020 (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,

(54) Title: NANO PREPARATION FOR JOINT ANALGESIA, AND PREPARATION METHOD THEREFOR AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 用于关节镇痛的纳米制剂及其制备方法和应用



AA TNF-α MRNA EXPRESSION AMOUNT (MULTIPLE CHANGE)  
BB IL-1β MRNA EXPRESSION AMOUNT (MULTIPLE CHANGE)  
CC IL-6 MRNA EXPRESSION AMOUNT (MULTIPLE CHANGE)  
DD IL-4 MRNA EXPRESSION AMOUNT (MULTIPLE CHANGE)  
EE IL-10 MRNA EXPRESSION AMOUNT (MULTIPLE CHANGE)  
FF iNOS MRNA EXPRESSION AMOUNT (MULTIPLE CHANGE)  
GG CONTROL

图 1

(57) Abstract: Disclosed is a nano preparation for joint analgesia. The nano preparation comprises glucocorticoid and a nano carrier, the nano carrier is mainly composed of phospholipid and an auxiliary agent, and the auxiliary agent comprises polyoxyethylene castor oil. The nano preparation of the present invention can be used for joint analgesia, has a large drug loading capacity, can be retained in a joint cavity for at least 4 weeks, has a significantly better analgesic effect on OA than that of a commercially available GC injection solution, and can be maintained for at least four weeks. Further disclosed is a preparation method and the use of the nano preparation.



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。

(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)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

The process is simple, the particle size is smaller than 200 nm, terminal sterilization can be achieved by means of a method, such as probe ultrasound, high-pressure homogenization, or microporous filter membrane sterilization, and the preparation cost is relatively lower.

(57) 摘要: 本发明公开了一种用于关节镇痛的纳米制剂,所述纳米制剂包含糖皮质激素和纳米载体,所述纳米载体主要由磷脂和助剂组成,所述助剂包括聚氧乙烯蓖麻油。本发明的纳米制剂,可用于关节镇痛,载药量大,能在关节腔内滞留至少4周,其对OA的镇痛效果显著优于市售GC注射液,且可维持至少4周。还公开了该纳米制剂的制备方法和应用,工艺简单,且粒径小于200nm,可通过探头超声、高压均质或微孔滤膜除菌等方式实现终端灭菌,制备成本相对更低。

# 用于关节镇痛的纳米制剂及其制备方法和应用

## 技术领域

本发明属于生物医药领域，特别是一种用于关节镇痛的纳米制剂及其制备方法和应用。

## 背景技术

骨关节炎(OA)是一种多因素引起的以关节疼痛为主要症状的衰老性疾病，致残率高，给国家和社会造成了沉重负担。镇痛是OA患者就诊的最主要诉求。糖皮质激素(glucocorticoid, GC)是一类药理作用多样的甾体类小分子药物，可通过抑制炎症反应而发挥镇痛作用，已被广泛用于OA镇痛；但GC溶解性差，存在镇痛效果维持时间较短、效果不够显著以及存在安全性隐患等亟待解决的重要问题。如临床使用的曲安奈德速释混悬注射剂，在骨关节炎患者的膝关节平均滞留时间为3.8天，关节腔注射频率较高。因此，提高GC溶解度，降低GC给药频率，延长其骨关节炎镇痛效果，具有重要意义。

通常将药物包裹在脂质体或高分子材料的纳米载体中可提高药物的溶解性，然而脂质体对GC的载药量少，且容易短时间内有药物析出；将GC包裹在高分子材料制备的纳米载体中，也可以提高GC的溶解性，但可供人体注射用的高分子材料较少，且关节腔注射后难以实现长时间释药。随着生物高分子聚合物材料在医药学领域的广泛应用，基于高分子聚合物的缓释微球逐渐成为新药物制剂的研究热点之一。目前，上市的高分子聚合物缓释微球主要是聚乳酸-羟基乙酸(PLGA)缓释微球。将GC(如曲安奈德、地塞米松、地塞米松棕榈酸酯等)包载在PLGA微球，将其进行关节腔注射后，GC对OA的镇痛效果可持续4-12周，且药物在关节腔中的滞留时间和镇痛时间与微球的粒径相关，但当微球的粒径大于25 $\mu\text{m}$ 时，有促进关节炎发展的风险。另外，PLGA缓释微球的制备工艺复杂，末端灭菌困难，且降解过程中产生的乳酸和羟基乙酸可能造成关节腔内pH降低，从而促进炎症反应的发展。

## 发明内容

本发明所要解决的技术问题是，克服以上背景技术中提到的不足和缺陷，提供一种由糖皮质激素、磷脂和聚氧乙烯蓖麻油制成的用于关节镇痛的纳米制剂，同样可以实现药物长时间缓释（4周以上），但其制备工艺简单易控，且灭菌容易，不仅解决了GC的溶解性差的问题，而且所用辅料不会造成局部pH降低等风险。

为解决上述技术问题，本发明提出的技术方案为：

一种用于关节镇痛的纳米制剂，所述纳米制剂包含糖皮质激素和纳米载体，所述纳米载体主要由磷脂和助剂组成，所述助剂包括聚氧乙烯蓖麻油。

本发明研究发现，只使用磷脂、或只使用聚氧乙烯蓖麻油包裹糖皮质激素时，不能形成稳定的纳米粒。当糖皮质激素装载到由磷脂、聚氧乙烯蓖麻油组成的纳米粒后，其抑制巨噬细胞炎性因子表达的能力更强（如图1，关节内炎症程度与关节疼痛密切相关）；而且我们意外地发现由磷脂与聚氧乙烯蓖麻油组成的纳米制剂在关节炎的炎性关节中可实现长时间的缓释作用（如图2），因此进一步地，这些装载糖皮质激素的纳米粒可实现长效镇痛（如图3）。

上述的纳米制剂，优选的，所述糖皮质激素包括丙酸氯倍他索、醋酸双氟拉松、丙酸地塞米松、二氟泼尼酯、糠酸莫米松、戊酸双氟可龙、倍他米松丁酸丙酸酯、醋酸氟轻松、丙酸丁酸氢可的松、丙酸倍氯米松、丙酸地泼罗酮、戊酸倍他米松、戊酸地塞米松、泼尼松龙醋酸戊酸酯、氟轻松、丁酸氢化可的松、丁酸氯倍他松、丙酸阿氯米松、曲安奈德、氟米松新戊酸酯、泼尼松龙、氢化可的松、地塞米松、地塞米松棕榈酸酯、曲安奈德棕榈酸酯中的一种或多种。更优选地塞米松、地塞米松棕榈酸酯、曲安奈德、泼尼松龙的一种或多种。

优选的，所述磷脂包括天然大豆磷脂、天然蛋黄磷脂、合成磷脂中的一种或多种，更优选磷脂E80、S100、PC98-T、HSPC。

优选的，所述聚氧乙烯蓖麻油包括聚氧乙烯35蓖麻油（EL-35）、聚氧乙烯40蓖麻油（EL-40）、聚氧乙烯40氢化蓖麻油（HEL-40）、聚氧乙烯60氢化蓖麻油（HEL-60）中的一种或几种。更优选固体聚氧乙烯蓖

麻油（HEL-40 和 HEL-60 中的至少一种）与液体聚氧乙烯蓖麻油（EL-35 和 EL-40 中的至少一种）进行联合使用，可以进一步提高载药量。

优选的，所述助剂还包括 15-羟基硬脂酸聚乙二醇酯（商品名为 Kolliphor HS15），加入 15-羟基硬脂酸聚乙二醇酯后载药量更高。

因此，根据一个优选的实施方案，所述助剂包含聚氧乙烯 40 氢化蓖麻油（HEL-40）、聚氧乙烯 35 蓖麻油（EL-35）和 15-羟基硬脂酸聚乙二醇酯。更优选地，所述助剂由聚氧乙烯 40 氢化蓖麻油（HEL-40）、聚氧乙烯 35 蓖麻油（EL-35）和 15-羟基硬脂酸聚乙二醇酯组成。

根据另一个优选的实施方案，所述助剂包含聚氧乙烯 60 氢化蓖麻油（HEL-60）、聚氧乙烯 35 蓖麻油（EL-35）和 15-羟基硬脂酸聚乙二醇酯。更优选地，所述助剂由聚氧乙烯 60 氢化蓖麻油（HEL-60）、聚氧乙烯 35 蓖麻油（EL-35）和 15-羟基硬脂酸聚乙二醇酯组成。

根据另一个优选的实施方案，所述助剂包含聚氧乙烯 40 氢化蓖麻油（HEL-40）、聚氧乙烯 40 蓖麻油（EL-40）和 15-羟基硬脂酸聚乙二醇酯。更优选地，所述助剂由聚氧乙烯 40 氢化蓖麻油（HEL-40）、聚氧乙烯 40 蓖麻油（EL-40）和 15-羟基硬脂酸聚乙二醇酯组成。

根据另一个优选的实施方案，所述助剂包含聚氧乙烯 60 氢化蓖麻油（HEL-60）、聚氧乙烯 40 蓖麻油（EL-40）和 15-羟基硬脂酸聚乙二醇酯。更优选地，所述助剂由聚氧乙烯 60 氢化蓖麻油（HEL-60）、聚氧乙烯 40 蓖麻油（EL-40）和 15-羟基硬脂酸聚乙二醇酯组成。

当所述助剂为由上述三种助剂联合使用时，所述三种助剂可以以任何质量比存在。

另外，当聚氧乙烯 60 氢化蓖麻油（HEL-60）和聚氧乙烯 35 蓖麻油（EL-35）联合使用或者聚氧乙烯 60 氢化蓖麻油（HEL-60）和 15-羟基硬脂酸聚乙二醇酯联合使用时，可以制备更高载药量的纳米粒。

因此，根据一个最优选的实施方案，所述助剂包含聚氧乙烯 60 氢化蓖麻油（HEL-60）和聚氧乙烯 35 蓖麻油（EL-35）。更优选地，所述助剂由聚氧乙烯 60 氢化蓖麻油（HEL-60）和聚氧乙烯 35 蓖麻油（EL-35）组成。

根据另一个最优选的实施方案，所述助剂包含聚氧乙烯 60 氢化蓖麻油（HEL-60）和 15-羟基硬脂酸聚乙二醇酯。更优选地，所述助剂由聚氧乙

烯 60 氢化蓖麻油 (HEL-60) 和 15-羟基硬脂酸聚乙二醇酯组成。

当所述助剂为由上述两种助剂联合使用时, 所述两种助剂可以以任何质量比存在。

优选的, 所述磷脂与助剂的质量比为 (1:20) - (20:1), 优选 (1:10) - (10:1), 更优选 (1:5) - (5:1), 更优选 (1:2) - (2:1)。最优选地, 所述磷脂与助剂的质量比为 3:5。

优选的, 所述糖皮质激素的载药量为 0.5-20%。

优选的, 所述纳米制剂的粒径小于 200nm。

优选的, 所述纳米制剂的剂型为注射液或冻干粉针。

基于一个总的发明构思, 本发明还相应提供一种所述用于关节镇痛的纳米制剂的制备方法, 包括如下步骤: 将糖皮质激素、磷脂、助剂溶于有机溶剂中, 通过减压蒸发法除去有机试剂, 加水脱膜, 然后通过探头超声、高压均质或挤压过微孔膜, 即得。

基于一个总的发明构思, 本发明还相应提供一种所述的纳米制剂在制备用于骨关节炎关节镇痛的药物中的应用。

与现有技术相比, 本发明的有益效果为:

1、本发明的纳米制剂, 可用于关节镇痛, 载药量大, 能在关节腔内滞留至少 4 周, 其对 OA 的镇痛效果显著优于市售 GC 注射液, 且可维持至少 4 周。

2、本发明的制备方法制备工艺简单, 且粒径小于 200nm, 可通过探头超声、高压均质或微孔滤膜除菌等方式实现终端灭菌, 制备成本相对更低。

## 附图说明

为了更清楚地说明本发明实施例或现有技术中的技术方案, 下面将对实施例或现有技术描述中所需要使用的附图作简单地介绍, 显而易见地, 下面描述中的附图是本发明的一些实施例, 对于本领域普通技术人员来讲, 在不付出创造性劳动的前提下, 还可以根据这些附图获得其他的附图。

图 1 是实施例 2 制备得到的纳米制剂的体外生物活性考察实验结果(药物处理 24h 后); 其中, a) 细胞编码 TNF- $\alpha$  基因的 mRNA 的相对表达量; b) 细胞编码 IL-1 $\beta$  基因的 mRNA 的相对表达量; c) 细胞编码 IL-6 基因的

mRNA 的相对表达量; d) 细胞编码 IL-4 基因的 mRNA 的相对表达量; e) 细胞编码 IL-10 基因的 mRNA 的相对表达量; f) 细胞编码 iNOS 基因的 mRNA 的相对表达量。\* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.001$ , \*\*\*\* $P < 0.0001$ 。

图 2 是实施例 1 和实施例 2 制备得到的纳米制剂的体内分布实验结果; 其中, a) NPs (HEL-40) 和 NPs (HEL-60) 在 OA 模型大鼠体内分布的小动物活体荧光成像图; b) NPs (HEL-40) 及 NPs (HEL-60) 在 OA 模型大鼠炎性关节分布的半定量柱状图( $n = 3$ )。

图 3 是实施例 2 制备得到的纳米制剂的药效学实验结果; 其中, a) OA 模型大鼠右后肢机械缩足阈值变化图 ( $n = 7$ ), \*\*\*\* $P < 0.0001$ , 同市售注射液 (TA IR) 相比; b) OA 模型大鼠双足负重差值变化图 ( $n = 7$ ), \*\* $P < 0.01$ , 同市售注射液 (TA IR) 相比。

## 具体实施方式

为了便于理解本发明, 下文将结合说明书附图和较佳的实施例对本发明做更全面、细致地描述, 但本发明的保护范围并不限于以下具体实施例。

除非另有定义, 下文中所使用的所有专业术语与本领域技术人员通常理解含义相同。本文中所使用的专业术语只是为了描述具体实施例的目的, 并不是旨在限制本发明的保护范围。

除非另有特别说明, 本发明中用到的各种原材料、试剂、仪器和设备等均可通过市场购买得到或者可通过现有方法制备得到。

本发明所使用的仪器和试剂:

RV10 型旋转蒸发仪 (德国 IKA 集团), JY92-II 型超声波细胞粉碎仪 (宁波新芝科学仪器研究所), EmulsiFlex-C5 高压乳匀机 (加拿大 AVESTIN 公司), MS105DU 型电子天平 (美国 METTLER TOLEDO 公司), Zetasizer Nano zsu3100 型激光粒度分析仪 (英国 Malvern 公司), ModulyoD 冷冻干燥机 (美国 Thermo 公司), Lumina 3 小动物活体成像仪 (美国 Perkin Elmer 公司)。

曲安奈德 (阿拉丁试剂 (上海) 有限公司); 地塞米松 (阿拉丁试剂 (上海) 有限公司); 地塞米松棕榈酸酯 (阿拉丁试剂 (上海) 有限公司); 泼尼松龙 (阿拉丁试剂 (上海) 有限公司); 蛋黄卵磷脂 E80 (德国 Lipoid

公司);大豆卵磷脂 S100(德国 Lipoid 公司);聚氧乙烯 35 蓖麻油(EL-35)(德国 BASF 公司);聚氧乙烯 40 蓖麻油(EL-40)(德国 BASF 公司);聚氧乙烯 40 氢化蓖麻油(HEL-40)(德国 BASF 公司);聚氧乙烯 60 氢化蓖麻油(HEL-60)(德国 BASF 公司);15-羟基硬脂酸聚乙二醇酯(HS15)(德国 BASF 公司);DiD(美国 Biotium 公司),曲安奈德注射液(昆明积大制药股份有限公司)。

### 实施例 1:

一种用于关节镇痛的载曲安奈德(TA)纳米粒,其配方包含曲安奈德(TA)、磷脂 E80、HEL-40,剂型为注射液。其制备方法如下:

将 4mg 曲安奈德、125mg 磷脂 E80、70mg HEL-40 溶于氯仿中,减压浓缩除去有机试剂,加入生理盐水水化,经冰水浴探头超声即得。粒径为 133nm。

### 实施例 2:

一种用于关节镇痛的载曲安奈德(TA)纳米粒,其配方包含曲安奈德(TA)、磷脂 E80、HEL-60,剂型为注射液。其制备方法如下:

将 4mg 曲安奈德、100mg 磷脂 E80、100mg HEL-60 溶于氯仿中,减压浓缩除去有机试剂,加入生理盐水水化,经冰水浴探头超声即得。粒径为 120nm。

### 实施例 3:

一种用于关节镇痛的载地塞米松棕榈酸酯纳米粒,其配方包含地塞米松棕榈酸酯、磷脂 S100、HEL-40,剂型为注射液。其制备方法如下:

将 4mg 地塞米松棕榈酸酯、125mg 磷脂 S100、70mg HEL-40 溶于氯仿中,减压浓缩除去有机试剂,加入生理盐水水化,经冰水浴探头超声即得。粒径为 144nm。

### 实施例 4:

一种用于关节镇痛的载地塞米松棕榈酸酯纳米粒,其配方包含地塞米

松棕榈酸酯、磷脂 S100、HEL-60，剂型为注射液。其制备方法如下：

将 4mg 地塞米松棕榈酸酯、100mg 磷脂 S100、100mg HEL-60 溶于氯仿中，减压浓缩除去有机试剂，加入生理盐水水化，经冰水浴探头超声即得。粒径为 128nm。

#### **实施例 5:**

一种用于关节镇痛的载地塞米松纳米粒，其配方包含地塞米松、磷脂 S100、HEL-60，剂型为注射液。其制备方法如下：

将 2mg 地塞米松、50mg 磷脂 S100、10mg HEL-60 溶于氯仿中，减压浓缩除去有机试剂，加入生理盐水水化，经高压均质即得。粒径为 118nm。

#### **实施例 6:**

一种用于关节镇痛的载泼尼松龙纳米粒，其配方包含泼尼松龙、磷脂 PC98-T、HEL-60，剂型为注射液。其制备方法如下：

将 1mg 泼尼松龙、40mg 磷脂 PC98-T、4mg HEL-60 溶于氯仿与乙醇的混合液中，减压浓缩除去有机试剂，加入生理盐水水化，经高压均质即得。粒径为 129nm。

#### **实施例 7:**

一种用于关节镇痛的载地塞米松纳米粒，其配方包含地塞米松、磷脂 HSPC、HEL-60，剂型为注射液。其制备方法如下：

将 4mg 地塞米松、30mg 磷脂 HSPC、150mg HEL-60 溶于氯仿中，减压浓缩除去有机试剂，加入生理盐水水化，经高压均质即得。粒径为 105nm。

#### **实施例 8:**

一种用于关节镇痛的载地塞米松棕榈酸酯纳米粒，其配方包含地塞米松棕榈酸酯、磷脂 E80、HEL-60，剂型为注射液。其制备方法如下：

将 2mg 地塞米松棕榈酸酯、15mg 磷脂 E80、150mg HEL-60 溶于氯仿中，减压浓缩除去有机试剂，加入生理盐水水化，经高压均质即得。粒径为 92nm。

**实施例 9:**

一种用于关节镇痛的载曲安奈德 (TA) 纳米粒, 其配方包含曲安奈德 (TA)、磷脂 E80、HS15、HEL-60, 剂型为注射液。其制备方法如下:

将 20mg 曲安奈德、100mg 磷脂 E80、40mg HS15、60mg HEL-60 溶于氯仿中, 减压浓缩除去有机试剂, 加入生理盐水水化, 经高压均质即得。粒径为 124nm。

**实施例 10:**

一种用于关节镇痛的载地塞米松纳米粒, 其配方包含地塞米松、磷脂 E80、HS15、EL-35, 剂型为注射液。其制备方法如下:

将 20mg 地塞米松、100mg 磷脂 E80、40mg HS15、60mg EL-35 溶于氯仿中, 减压浓缩除去有机试剂, 加入生理盐水水化, 经高压均质即得。粒径为 118nm。

**实施例 11:**

一种用于关节镇痛的载曲安奈德 (TA) 纳米粒, 其配方包含曲安奈德 (TA)、磷脂 E80、EL-35、HEL-40, 剂型为注射液。其制备方法如下:

将 20mg 曲安奈德、100mg 磷脂 E80、50mg EL35、50mg HEL-40 溶于氯仿中, 减压浓缩除去有机试剂, 加入生理盐水水化, 经高压均质即得。粒径为 136nm。

**实施例 12:**

一种用于关节镇痛的载地塞米松纳米粒, 其配方包含地塞米松、磷脂 E80、EL-35、HEL-60, 剂型为注射液。其制备方法如下:

将 20mg 地塞米松、100mg 磷脂 E80、50mgEL-35、50mg HEL-60 溶于氯仿中, 减压浓缩除去有机试剂, 加入生理盐水水化, 经高压均质即得。粒径为 132nm。

**实施例 13:**

一种用于关节镇痛的载曲安奈德（TA）纳米粒，其配方包含曲安奈德（TA）、磷脂 E80、HEL-40，剂型为冻干粉针。其制备方法如下：

将 4mg 曲安奈德、125mg 磷脂 E80、70mg HEL-40 溶于氯仿中，减压浓缩除去有机试剂，加入纯水水化，经冰水浴探头超声，然后加入质量体积比为 10%的甘露醇，冷冻干燥即得。

#### **实施例 14:**

一种用于关节镇痛的地塞米松纳米粒，其配方包含地塞米松、磷脂 E80、HEL-60，剂型为冻干粉针。其制备方法如下：

将 4mg 地塞米松、100mg 磷脂 E80、100mg HEL-60 溶于氯仿中，减压浓缩除去有机试剂，加入纯水水化，经冰水浴探头超声，然后加入质量体积比为 10%的甘露醇，冷冻干燥即得。

#### **对比例 1:**

一种用于关节镇痛的载曲安奈德（TA）纳米粒，其配方包含曲安奈德（TA）、磷脂 E80、HEL-40，剂型为注射液。其制备方法如下：

将 4mg 曲安奈德、125mg 磷脂 E80、4mg HEL-40 溶于氯仿中，减压浓缩除去有机试剂，加入生理盐水水化，经冰水浴探头超声即得。所得制剂不透明且有沉淀物。

#### **对比例 2:**

一种用于关节镇痛的载曲安奈德（TA）纳米粒，其配方包含曲安奈德（TA）、磷脂 E80、HEL-40，剂型为注射液。其制备方法如下：

将 4mg 曲安奈德、4mg 磷脂 E80、125mg HEL-40 溶于氯仿中，减压浓缩除去有机试剂，加入生理盐水水化，经冰水浴探头超声即得。粒径为 203nm。所得制剂在 30min 内便有沉淀析出。

**为进一步证明本发明的纳米制剂的效果，开展了以下实验：**

#### **1) 组成成分对纳米制剂载药量的影响**

本发明通过实施例相同的纳米粒制备方法（薄膜水化法），单独使用

磷脂或者聚氧乙烯蓖麻油制备了载糖皮质激素纳米粒；同时，通过固定磷脂与聚氧乙烯蓖麻油的比例，考察不同聚氧乙烯蓖麻油组成成分以及添加 HS15 与否对纳米粒制备载糖皮质激素纳米粒性质的影响。如表 1 所示，单独使用磷脂 E80 或 HEL-60 制备的载曲安奈德纳米粒非常不稳定或无法较好包载药物；需要磷脂 E80 和 HEL-60 在一定比例下联合使用才能制备出符合发明人要求的纳米粒。另外，当 HEL-60 与 EL-35 联合使用或者 HEL-60 与 HS15 联合使用时，可以制备更高载药量的纳米粒。

表 1: 不同组成成分对纳米粒制备载糖皮质激素纳米粒性质的影响

实验组序号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
E80 (mg)	80	0	30	30	30	30	30	30	30	30
HEL-60 (mg)	0	80	50	0	50	25	25	30	30	20
EL-35 (mg)	0	0	0	0	0	25	0	10	20	30
HS15 (mg)	0	0	0	50	0	0	25	10	0	0
曲安奈德 (mg)	3	3	3	3	8	8	8	8	8	8
是否有沉淀	是	否 (5min 内变浑浊)	否	是	是	否	否	否	否	否

## 2) 体外生物学活性考察

将小鼠源巨噬细胞 RAW264.7 接种在 12 孔细胞培养板中，待其贴壁后，以 LPS 刺激 24h，将培养基更换为含药培养基，分别为 TA 溶液（记为 TA IR）和载 TA 的 NPs（TA 的浓度为 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，不加药的培养基处理作为对照，载 TA 的 NPs 按照实施例 2 制得，记为 TA-NPs），孵育 24h 后，使用实时荧光定量 PCR 法测定其中 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-10、IL-4 以及 iNOS 的浓度。未经 LPS 处理的细胞和经 LPS 处理但未经 TA 处理的细胞分别记为“Control”组和“LPS”组。

由图 1 可知，相对于其他处理方法，TA-NPs 处理可以显著降低巨噬细胞炎症因子基因的表达。

### 3) OA 大鼠模型

对 SD 大鼠膝关节的关节腔注射碘乙酸钠构建 OA 大鼠模型，待大鼠膝关节出现肿胀，痛阈显著降低，即得 OA 大鼠模型。

### 4) 体内分布实验

将糖皮质激素用荧光标记物 DiD 代替，按照实施 1 和实施例 2 制备纳米制剂，分别记为 NPs (HEL-40) 和 NPs (HEL-60)。将 DiD 溶液 (记为 DiD)、NPs (HEL-40) 和 NPs (HEL-60) 分别注射至 OA 大鼠膝关节腔内，分别于第 0d、1d、2d、3d、7d、14d、21d 及 28d 通过小动物活体成像仪考察大鼠炎性关节处的荧光强度。

由图 2 可知，相对于 DiD，NPs (HEL-60) 和 NPs (HEL-40) 可以在 OA 模型大鼠关节腔内的滞留至少可达 28 天。这些结果表明，NPs 在炎性关节腔内具有良好的缓释性。

### 5) 药效学研究

通过关节腔注射方式，对 OA 模型大鼠分别使用生理盐水 (记为 Saline)、市售曲安奈德溶液注射液 (记为 TA IR)、由实施例 2 制得载 TA 的 NPs (记为 TA-NPs) 以及由实施例 2 制得未载药的 NPs (记为 Vehicle) 进行治疗；另外，在正常大鼠膝关节腔内注射等体积的生理盐水作为对照 (记为 Control)。TA 的给药剂量为每个膝关节 60 $\mu$ g，于造模后第 7 天给药，共给药 1 次。从给药第一天起，每周测量一次各组大鼠的机械缩足阈值及双足负重差值。于第 35 天，进行大鼠行为学检测。

由图 3 可知，相对于其他方式来说，NPs 治疗可以更有效的缓解 OA 大鼠的关节炎症。这些结果充分说明实现了关节炎滑膜双细胞靶向递送药物对 OA 治疗的有效性。也就是说，本发明制备得到的纳米制剂在制备用于骨关节炎关节镇痛的药物方面具有很好的应用前景。

## 权 利 要 求 书

1. 一种用于关节镇痛的纳米制剂，其特征在于，所述纳米制剂包含糖皮质激素和纳米载体，所述纳米载体主要由磷脂和助剂组成，所述助剂包括聚氧乙烯蓖麻油。

2. 根据权利要求1所述的纳米制剂，其特征在于，所述糖皮质激素包括丙酸氯倍他索、醋酸双氟拉松、丙酸地塞米松、二氟泼尼酯、糠酸莫米松、戊酸双氟可龙、倍他米松丁酸丙酸酯、醋酸氟轻松、丙酸丁酸氢可的松、丙酸倍氯米松、丙酸地泼罗酮、戊酸倍他米松、戊酸地塞米松、泼尼松龙醋酸戊酸酯、氟轻松、丁酸氢化可的松、丁酸氯倍他松、丙酸阿氯米松、曲安奈德、氟米松新戊酸酯、泼尼松龙、氢化可的松、地塞米松、地塞米松棕榈酸酯、曲安奈德棕榈酸酯中的一种或多种。

3. 根据权利要求1所述的纳米制剂，其特征在于，所述磷脂包括天然大豆磷脂、天然蛋黄磷脂、合成磷脂中的一种或多种。

4. 根据权利要求1所述的纳米制剂，其特征在于，所述聚氧乙烯蓖麻油包括聚氧乙烯35蓖麻油、聚氧乙烯40蓖麻油、聚氧乙烯40氢化蓖麻油、聚氧乙烯60氢化蓖麻油中的一种或几种。

5. 根据权利要求1所述的纳米制剂，其特征在于，所述助剂还包括15-羟基硬脂酸聚乙二醇酯。

6. 根据权利要求1所述的纳米制剂，其特征在于，所述助剂包含聚氧乙烯60氢化蓖麻油（HEL-60）、聚氧乙烯35蓖麻油（EL-35）和15-羟基硬脂酸聚乙二醇酯。

7. 根据权利要求1所述的纳米制剂，其特征在于，所述助剂包含聚氧乙烯60氢化蓖麻油（HEL-60）和聚氧乙烯35蓖麻油（EL-35）。

8. 根据权利要求1所述的纳米制剂，其特征在于，所述助剂包含聚氧乙烯60氢化蓖麻油（HEL-60）和15-羟基硬脂酸聚乙二醇酯。

9. 根据权利要求1所述的纳米制剂，其特征在于，所述磷脂与助剂的质量比为（1:20）-（20:1）。

10. 根据权利要求9所述的纳米制剂，其特征在于，所述磷脂与助剂的质量比为（1:10）-（10:1）。

11. 根据权利要求 1-10 中任一项所述的纳米制剂，其特征在于，所述糖皮质激素的载药量为 0.5-20%，所述纳米制剂的粒径小于 200nm，所述纳米制剂的剂型为注射液或冻干粉针。

12. 一种如权利要求 1-11 中任一项所述用于关节镇痛的纳米制剂的制备方法，其特征在于，包括如下步骤：将糖皮质激素、磷脂、聚氧乙烯蓖麻油溶于有机溶剂中，通过减压蒸发法除去有机试剂，加水脱膜，然后通过探头超声、高压均质或挤压过微孔膜，即得。

13. 一种如权利要求 1-11 中任一项所述的纳米制剂或由权利要求 12 所述制备方法制备得到的纳米制剂在制备用于骨关节炎关节镇痛的药物中的应用。

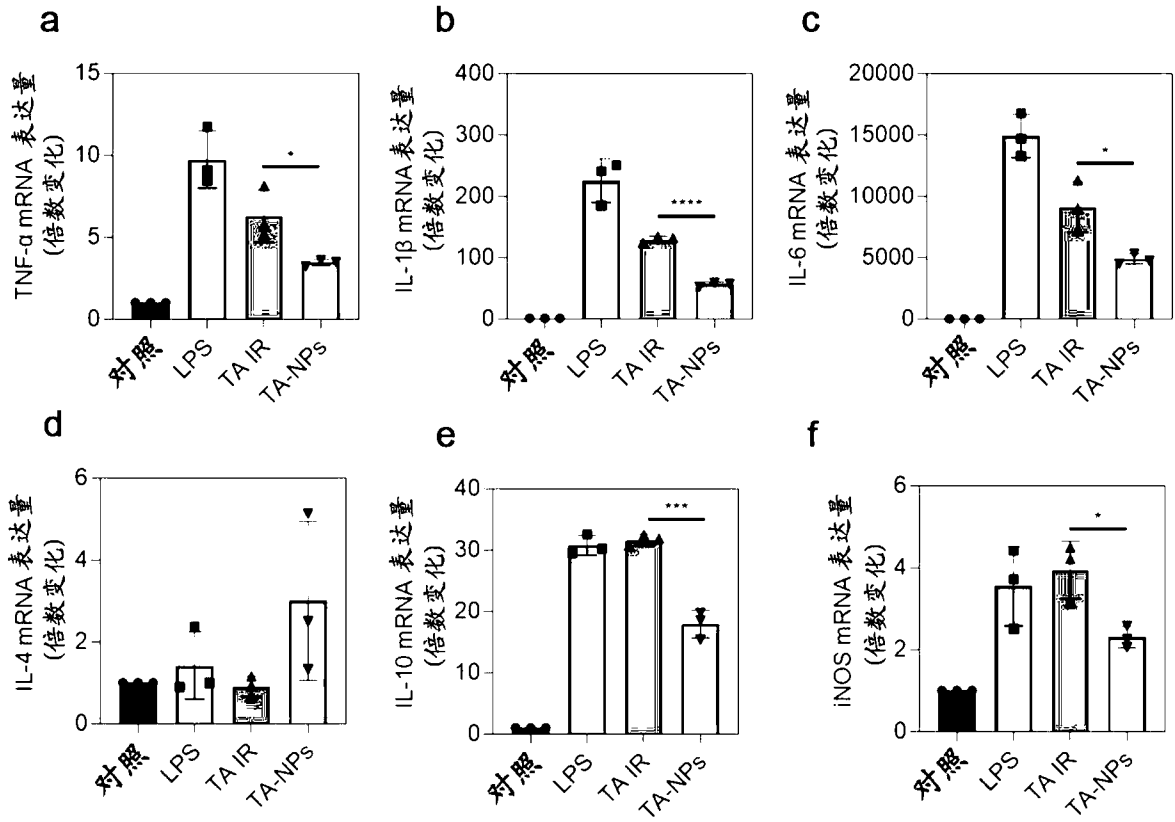


图 1

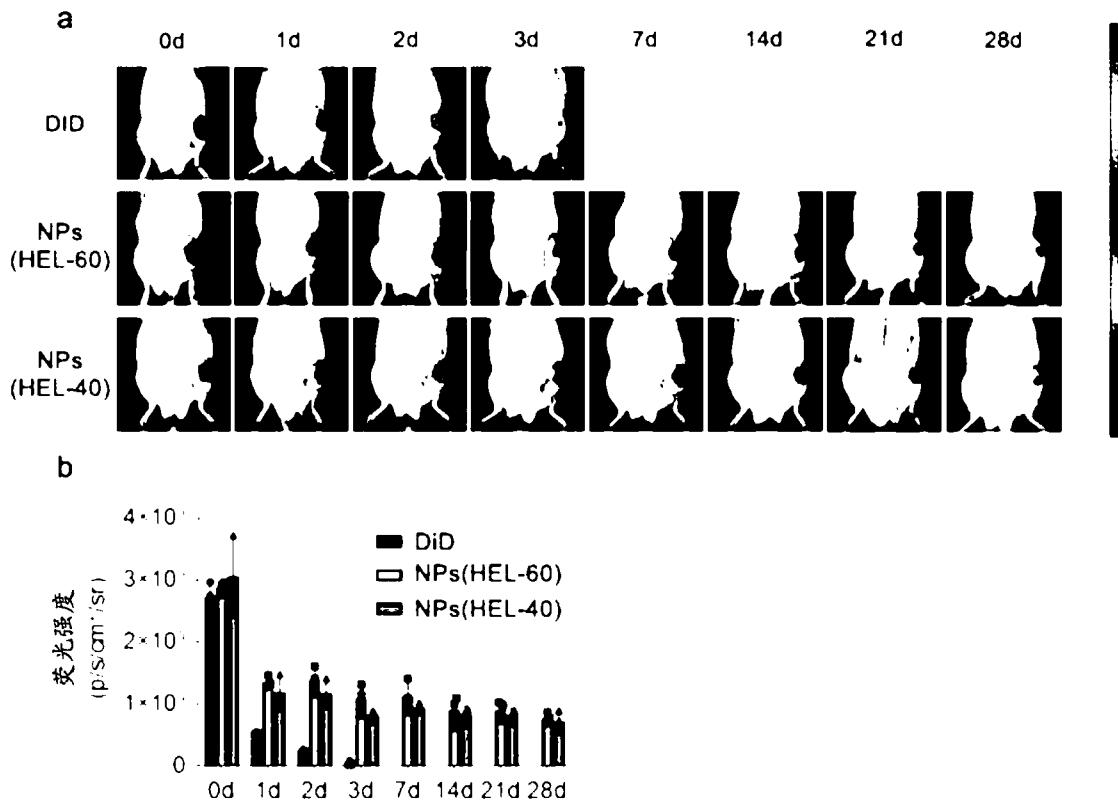


图 2

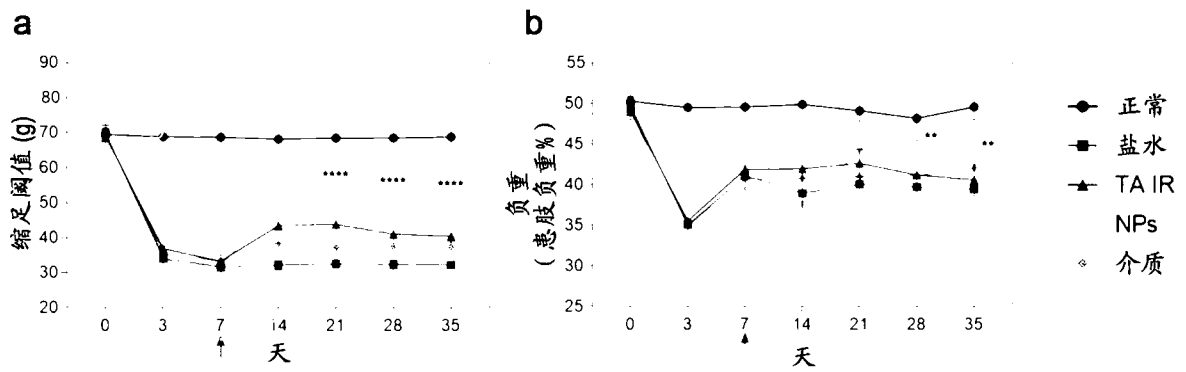


图 3

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/077964

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
A61K9/51(2006.01)i; A61K31/573(2006.01)i; A61K47/24(2006.01)i; A61K47/44(2017.01)i; A61P19/02(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
A61K,A61P		
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)		
CNABS; WPABSC; DWPI; WPABS; VEN; CNTXT; EPTXT; USTXT; WOTXT; CNKI; 中国药物专利数据库, China Medicine Patent Database; 百度学术搜索, BAIDU SCHOLAR; ISI-WEB OF SCIENCE; Pubmed; 糖皮质激素, 氯倍他索, 双氟拉松, 地塞米松, 二氟泼尼酯, 莫米松, 双氟可龙, 倍他米松, 氟轻松, 丁酸氢化可的松, 倍氯米松, 地泼罗酮, 泼尼松龙, 氢化可的松, 氯倍他松, 阿氯米松, 曲安奈德, 氟米松, 聚氧乙烯蓖麻油, 聚乙二醇蓖麻油, 克列莫佛, 磷脂, 卵磷脂, 纳米, 脂质体, 胶束, 囊泡, 骨关节炎, Corticosteroid, clobetasol, diflurasone, dexamethasone, difluprednisone, Mometasone, diflucolone, betamethasone, Fluorazone, beclomethasone, dipredisolone, Prednisolone, clobetasone, Aclomethasone, Triamcinolone, Flumethasone, hydrocortisone, polyoxyethylated castor oil, polyoxyethylenated castor oil, Cremophor, Phospholipid, lecithoid, lecithin, nano, liposome, micelle, visicle, osteoarthritis		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CN 111904932 A (BEIJING DELI FURUI MEDICAL SCIENCE & TECHNOLOGY CO., LTD.) 10 November 2020 (2020-11-10) claims 1-11, and description, paragraphs 25-32 and 69-80	1-13
Y	CN 1823735 A (CHINA PHARMACEUTICAL UNIVERSITY) 30 August 2006 (2006-08-30) description, page 3, paragraph 3-page 5, paragraph 2	1-13
A	CN 102670518 A (QILU PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 19 September 2012 (2012-09-19) claims 1-16	1-13
A	KR 20150062205 A (KOREA RESEARCH INSTITUTE OF CHEMICAL TECHNOLOGY) 08 June 2015 (2015-06-08) claims 1-10	1-13
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> 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		Date of mailing of the international search report
31 May 2023		10 June 2023
Name and mailing address of the ISA/CN		Authorized officer
China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088		Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

**PCT/CN2023/077964**

<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	WO 2022160970 A1 (BEIJING DELI FURUI MEDICAL SCIENCE & TECHNOLOGY CO., LTD.) 04 August 2022 (2022-08-04) claims 1-13	1-13
.....		

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
**Information on patent family members**

International application No.

**PCT/CN2023/077964**

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	111904932	A	10 November 2020	None			
CN	1823735	A	30 August 2006	CN	100551445	C	21 October 2009
CN	102670518	A	19 September 2012	CN	102670518	B	20 August 2014
KR	20150062205	A	08 June 2015	KR	101565908	B1	05 November 2015
WO	2022160970	A1	04 August 2022	None			

<p><b>A. 主题的分类</b></p> <p>A61K9/51(2006.01)i; A61K31/573(2006.01)i; A61K47/24(2006.01)i; A61K47/44(2017.01)i; A61P19/02(2006.01)i</p> <p>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</p>																				
<p><b>B. 检索领域</b></p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>A61K, A61P</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>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))</p> <p>CNABS; WPABSC; DWPI; WPABS; VEN; CNTXT; EPTXT; USTXT; WOTXT; CNKI; 中国药物专利数据库; 百度学术搜索; ISI-WEB OF SCIENCE; Pubmed; 糖皮质激素, 氯倍他索, 双氟拉松, 地塞米松, 二氟泼尼酯, 莫米松, 双氟可龙, 倍他米松, 氟轻松, 丁酸氢化可的松, 倍氯米松, 地泼罗酮, 泼尼松龙, 氢化可的松, 氯倍他松, 阿氯米松, 曲安奈德, 氟米松, 聚氧乙烯蓖麻油, 聚乙二醇蓖麻油, 克列莫佛, 磷脂, 卵磷脂, 纳米, 脂质体, 胶束, 囊泡, 骨关节炎, Corticosteroid, clobetasol, diflurasone, dexamethasone, difluprednisone, Mometasone, diflucolone, betamethasone, Fluorazone, beclomethasone, dipredisolone, Prednisolone, clobetasone, Aclomethasone, Triamcinolone, Flumethasone, hydrocortisone, polyoxyethylated castor oil, polyoxyethylenated castor oil, Cremophor, Phospholipid, lecithoid, lecithin, nano, liposome, micelle, visicle, osteoarthritis</p>																				
<p><b>C. 相关文件</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Y</td> <td>CN 111904932 A (北京德立福瑞医药科技有限公司) 2020年11月10日 (2020 - 11 - 10) 权利要求1-11, 说明书第25-32、69-80段</td> <td>1-13</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 1823735 A (中国药科大学) 2006年8月30日 (2006 - 08 - 30) 说明书第3页第3段-第5页第2段</td> <td>1-13</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 102670518 A (齐鲁制药有限公司) 2012年9月19日 (2012 - 09 - 19) 权利要求1-16</td> <td>1-13</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>KR 20150062205 A (KOREA RES INST CHEM TECH) 2015年6月8日 (2015 - 06 - 08) 权利要求1-10</td> <td>1-13</td> </tr> <tr> <td>PX</td> <td>WO 2022160970 A1 (北京德立福瑞医药科技有限公司) 2022年8月4日 (2022 - 08 - 04) 权利要求1-13</td> <td>1-13</td> </tr> </tbody> </table> <p><input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p> <p>* 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          “&amp;” 同族专利的文件</p>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	Y	CN 111904932 A (北京德立福瑞医药科技有限公司) 2020年11月10日 (2020 - 11 - 10) 权利要求1-11, 说明书第25-32、69-80段	1-13	Y	CN 1823735 A (中国药科大学) 2006年8月30日 (2006 - 08 - 30) 说明书第3页第3段-第5页第2段	1-13	A	CN 102670518 A (齐鲁制药有限公司) 2012年9月19日 (2012 - 09 - 19) 权利要求1-16	1-13	A	KR 20150062205 A (KOREA RES INST CHEM TECH) 2015年6月8日 (2015 - 06 - 08) 权利要求1-10	1-13	PX	WO 2022160970 A1 (北京德立福瑞医药科技有限公司) 2022年8月4日 (2022 - 08 - 04) 权利要求1-13	1-13
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																		
Y	CN 111904932 A (北京德立福瑞医药科技有限公司) 2020年11月10日 (2020 - 11 - 10) 权利要求1-11, 说明书第25-32、69-80段	1-13																		
Y	CN 1823735 A (中国药科大学) 2006年8月30日 (2006 - 08 - 30) 说明书第3页第3段-第5页第2段	1-13																		
A	CN 102670518 A (齐鲁制药有限公司) 2012年9月19日 (2012 - 09 - 19) 权利要求1-16	1-13																		
A	KR 20150062205 A (KOREA RES INST CHEM TECH) 2015年6月8日 (2015 - 06 - 08) 权利要求1-10	1-13																		
PX	WO 2022160970 A1 (北京德立福瑞医药科技有限公司) 2022年8月4日 (2022 - 08 - 04) 权利要求1-13	1-13																		
国际检索实际完成的日期	国际检索报告邮寄日期																			
2023年5月31日	2023年6月10日																			
ISA/CN的名称和邮寄地址	授权官员																			
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	陈蕾																			
	电话号码 (+86) 010-62411158																			

国际检索报告  
关于同族专利的信息

国际申请号  
PCT/CN2023/077964

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)
CN	111904932	A	2020年11月10日	无			
CN	1823735	A	2006年8月30日	CN	100551445	C	2009年10月21日
CN	102670518	A	2012年9月19日	CN	102670518	B	2014年8月20日
KR	20150062205	A	2015年6月8日	KR	101565908	B1	2015年11月5日
WO	2022160970	A1	2022年8月4日	无			