



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104610497 B

(45)授权公告日 2017.05.10

(21)申请号 201310539766.2

C08K 3/08(2006.01)

(22)申请日 2013.11.04

A61K 47/32(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

A61K 38/21(2006.01)

申请公布号 CN 104610497 A

A61P 15/02(2006.01)

(43)申请公布日 2015.05.13

审查员 朱爱玉

(73)专利权人 复旦大学

地址 200433 上海市杨浦区邯郸路220号

(72)发明人 刘瑜 李春燕 许书源 陆伟跃

(74)专利代理机构 上海元一成知识产权代理事

务所(普通合伙) 31268

代理人 吴桂琴

(51)Int.Cl.

C08F 230/06(2006.01)

C08F 222/38(2006.01)

C08F 222/14(2006.01)

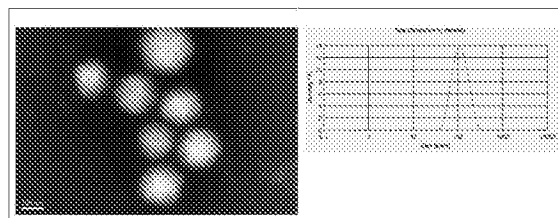
权利要求书1页 说明书4页 附图2页

(54)发明名称

一种核壳结构生物粘附性聚合物纳米粒子及其制备方法和应用

(57)摘要

本发明属于药物制剂领域,涉及一种用于阴道给药的核壳结构生物粘附性纳米粒子及其制备和应用。所述的聚合物纳米粒子以银纳米粒为核,通过丙烯酰胺类交联剂与单烯类苯硼酸功能单体共聚于银纳米粒表面成壳制得。本发明的聚合物纳米粒子对粘蛋白具有良好的亲和力,黏膜给药后体内滞留时间长,在阴道给药领域具有较好的实用价值和应用前景。



1. 一种核壳结构聚合物纳米粒子,其特征在於:以银纳米粒为核,银核表面包裹聚4-乙烯基苯硼酸外壳,形成带有硼酸功能基团的核壳结构聚合物纳米粒子,所述纳米粒子粒径为在100nm,粒度的多分散系数不大于0.15;所述的银纳米粒核心为20~30nm,4-乙烯基苯硼酸在聚合物壳中占28~91%摩尔百分比;

通过下述方法制备:先以硼氢化钠还原法制备银纳米粒作为银核,进一步以4-乙烯基苯硼酸为功能单体,以N,N'-亚甲基双丙烯酰胺和/或二甲基丙烯酸乙二醇酯为交联剂,在银核表面聚合成壳,制得一种具有核壳结构的聚合物纳米粒子,其包括步骤:

1) 形成银核:向硝酸银和柠檬酸钠的混合水溶液中加入硼氢化钠,室温下反应制得银核;

2) 聚合包裹:在所得银核中加入十二烷基硫酸钠作为稳定剂,向银核溶液体系中加入4-乙烯基苯硼酸功能单体及N,N'-亚甲基双丙烯酰胺和/或二甲基丙烯酸乙二醇酯等交联剂,引发剂引发聚合反应,60~80℃下反应3-8小时;

3) 分离纯化:所得到的核壳结构的聚合物纳米粒子用纯水透析72小时以上,离心分离沉淀,真空干燥或冷冻干燥至恒重。

2. 按照权利要求1所述核壳结构聚合物纳米粒子,其特征在於:所述的制备方法中,形成银核时期,硝酸银浓度为0.01~1mM,柠檬酸钠浓度为0.01~1mM,加入5~15mM硼氢化钠溶液的体积为硝酸银-柠檬酸钠混合溶液体积的1/100~1/50;

聚合成壳期间,用于稳定银纳米粒的十二烷基硫酸钠浓度为0.1~1%,4-乙烯基苯硼酸功能单体与交联剂的摩尔比为2.5~10:1,单体和交联剂总摩尔浓度为50~100mM,引发剂为:2,2'-偶氮二异丁基脒二盐酸盐,加入量占功能单体和交联剂的总摩尔数的1~3%。

3. 按照权利要求1所述的核壳结构聚合物纳米粒子,其特征在於:所述的核壳结构聚合物纳米粒子通过物理吸附的方法包载蛋白多肽类药物。

4. 按权利要求3所述的核壳结构聚合物纳米粒子,其特征在於:所述的蛋白多肽类药物为干扰素。

5. 权利要求1所述的核壳结构聚合物纳米粒子在制备用于阴道给药制剂中的用途。

一种核壳结构生物粘附性聚合物纳米粒子及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明属药物制剂领域,具体涉及一种核壳结构生物粘附性聚合物纳米粒子及其制备方法和在阴道给药中的应用。

背景技术

[0002] 现有技术公开了在阴道等部位的黏膜给药时,生物粘附性给药系统能实现制剂与黏膜接触的持续性和紧密性,从给药系统中不断释放的药物或可在局部维持较高浓度,长时间起效,或可持续不断吸收入体循环,发挥全身作用。研究显示,对于阴道给药来说,粒径在100~500nm之间的生物粘附性纳米粒子无异物感,易于分布,粘液穿透能力较强,是最为理想的给药形式之一。

[0003] 研究显示,粘蛋白是生物粘附性给药系统的最重要的粘附对象。粘蛋白是一类广泛存在于人体粘膜表面的糖蛋白,其中分泌型粘蛋白构成了粘液的主要成分,而膜结合型粘蛋白则分布于粘膜上皮细胞表面。现有技术公开的生物粘附性材料中,卡波普类、壳聚糖类等合成或天然高分子材料依靠自身长链与粘蛋白长链的交缠达到粘附目的,巯基化修饰、凝集素修饰等策略则是依靠巯基与粘蛋白可能的交联或凝集素对粘蛋白的天然亲和力加强给药系统与粘蛋白的相互作用。

[0004] 现有技术还公开了硼酸能够与1,2-二羟基化合物或1,3-二羟基化合物在水溶液中可逆性地共价结合,形成五元或六元环状酯,因此硼酸基团可以与糖环结构中的顺式邻二羟基发生相互作用。这构成了硼酸功能化材料在针对糖的智能化材料设计中的独特优势。利用单糖(如葡萄糖)和糖链上的邻二羟基和材料表面硼酸基团间的可逆作用可实现对糖蛋白的分析、分离和富集(如JP3252555A、CN103304732、CN100506982、CN102962471)、基因的包载和递送(如CN101597349)、葡萄糖响应型药物递送(CN102068700、CN102391504、CN102294212、CN102070756)和针对糖蛋白的分子印迹(CN102516458)等。

[0005] 迄今为止,针对粘液层及黏膜上的粘蛋白的硼酸基团功能化材料/递药系统的相关报道有,具粘蛋白亲和力的接触镜(CN101312754);一种载环孢素A眼用纳米粒(Shengyan Liu, Lyndon Jones, Frank X Gu, *Macromol Biosci.* 2012 Dec; 12(12):1622-6);但其中所述的硼酸功能化生物粘附性纳米粒子上存在如下:粒径偏小(<50nm),在有效穿透粘液方面存在困难,难以到达黏膜,且制备中涉及硼酸功能化高分子的合成,工艺繁琐等缺陷。

发明内容

[0006] 本发明的目的是针对现有技术的不足,提供一种制备简便、粒径适合的核壳结构聚合物纳米粒子。尤其是一种核壳结构生物粘附性聚合物纳米粒子及其制备方法和应用。

[0007] 为实现上述目的,本发明采用的技术方案为:

[0008] 提供一种以银纳米粒为核,于银核表面包裹聚4-乙烯基苯硼酸,形成带有硼酸功能基团的核壳结构聚合物纳米粒子,其特征在于:粒径在100nm左右,粒度的多分散系数不

大于0.15,所谓“多分散系数”是激光动态散射粒度仪提供的粒子多分散性参数,多分散系数越小,说明粒子粒径分布越均匀。

[0009] 本发明中,先以硼氢化钠还原法制备银纳米粒作为银核,进一步以4-乙烯基苯硼酸为功能单体,以N,N'-亚甲基双丙烯酰胺和/或二甲基丙烯酸乙二醇酯为交联剂,在银核表面聚合成壳,制得一种具有核壳结构的聚合物纳米粒子。

[0010] 本发明提供了制备核壳结构聚合物纳米粒子的方法,其具体步骤如下:

[0011] 1) 形成银核:向硝酸银和柠檬酸钠的混合水溶液中加入硼氢化钠,室温下反应制得银核;

[0012] 2) 聚合包裹:在所得银核中加入十二烷基硫酸钠作为稳定剂,向银核溶液体系中加入4-乙烯基苯硼酸功能单体及N,N'-亚甲基双丙烯酰胺和/或二甲基丙烯酸乙二醇酯等交联剂,引发剂引发聚合反应,60-80℃下反应3-8小时;

[0013] 3) 分离纯化:所得到的核壳结构的聚合物纳米粒子用纯水透析72小时以上,离心分离沉淀,真空干燥或冷冻干燥至恒重。

[0014] 所述步骤1)中,硝酸银浓度为0.01~1mM,柠檬酸钠浓度为0.01~1mM,加入硼氢化钠溶液(5~15mM)的体积为硝酸银-柠檬酸钠混合溶液体积的1/100~1/50;

[0015] 所述步骤2)中,用于稳定银纳米粒的十二烷基硫酸钠浓度为0.1~1%,4-乙烯基苯硼酸功能单体与交联剂的摩尔比为2.5~10:1,单体和交联剂总摩尔浓度为50~100mM,引发剂为:2,2'-偶氮二异丁基脒二盐酸盐,加入量占(功能单体+交联剂)总摩尔数的1~3%。

[0016] 本发明所制得核壳结构聚合物纳米粒子可通过物理吸附的方法包载蛋白多肽类药物(例如干扰素等),用于阴道给药。例如包载了干扰素的纳米粒阴道给药可用于阴道病毒感染性疾病的治疗,如尖锐湿疣、宫颈糜烂等。

[0017] 本发明具有以下优点:

[0018] 1) 本发明核壳结构聚合物纳米粒大小在100nm左右,分布较窄,具有良好的亲水性,且原料均为商品化试剂,经济简便。

[0019] 2) 在银核表面形成的聚4-乙烯基苯硼酸外壳表面具有大量的苯硼酸基团,对粘蛋白具有亲和力,生物粘附性显著,阴道给药后能够长时间滞留在局部,起到长效、缓释的效果,适合阴道给药。

[0020] 3) 纳米银本身具有的抗炎、杀菌效果,用作阴道给药纳米粒子的核心,有望与所载药物一起,起到协同抗感染的效果。

[0021] 4) 本发明核壳结构聚合物纳米粒可以物理吸附干扰素等蛋白多肽药物,为蛋白多肽药物黏膜给药提供了一种新的载体形式。

附图说明

[0022] 图1为核壳结构聚合物纳米粒的形态与粒径分布图,其中,

[0023] 左图:TEM照片,右图:DLS粒径图。

[0024] 图2为核壳结构聚合物纳米粒在不同pH下对粘蛋白的吸附量(n=3,mean±SD)。

[0025] 图3为核壳结构聚合物纳米粒在小鼠阴道给药后的局部滞留随时间的变化(n=5,mean±SD)。

[0026] 图4为核壳结构聚合物纳米粒在不同pH下对IFN的吸附能力(n=3,mean±SD)。

具体实施方式

[0027] 下面采用具体实施例对本发明的技术方案做进一步说明。

[0028] 实施例1

[0029] 1、制备核壳结构聚合物纳米粒子

[0030] 1) 形成银核:在搅拌条件下向200mL硝酸银(0.1mM)和柠檬酸钠(0.1mM)的混合水溶液中逐滴加入硼氢化钠水溶液(10mM) 2.5mL,室温下反应制得银核;

[0031] 2) 聚合包裹:在所得银核中加入十二烷基硫酸钠作为稳定剂,浓度为0.5%(w/w)。向100mL银核溶液中加入4-乙烯基苯硼酸(1.00g)、N,N'-亚甲基双丙烯酰胺交联剂(2mg)和二甲基丙烯酸乙二醇酯(40μL),通入N₂除去可能溶解在溶液中的O₂,加入1mL 0.1M 2,2'-偶氮二异丁基脒二盐酸盐引发聚合反应,70℃下反应5小时;

[0032] 3) 分离纯化:2)中所得反应液用纯水透析72小时除去未反应的单体和低聚物,8000rpm离心10min,分离沉淀,真空干燥至恒重,即得核壳结构聚合物纳米粒子。

[0033] 2、表征核壳结构聚合物纳米粒子

[0034] 1) 形态表征

[0035] 纳米粒子进行透射电镜(JEOL2100F场发射投射电子显微镜)观察,如图1(以磷钨酸负染色后)所示,粒径在100nm左右,大小比较均匀。

[0036] 2) 粘蛋白吸附性能

[0037] 将纳米粒子分散液(每ml含10mg纳米粒,简称NP)或纯水(简称w)与粘蛋白溶液(含有10mM柠檬酸/柠檬酸钠或Tris-HCl缓冲盐,pH分别为4,5,6或者7,粘蛋白浓度0.5mg/mL)以体积比1:10混合,室温放置过夜,离心后以BCA试剂盒测定上清液中粘蛋白浓度,按以下公式计算载药量。其中公式中的C指的都是粘蛋白的浓度。

$$[0038] \quad \text{Absorption}(mg/mg) = \frac{(C_{w,after} - C_{NP,after}) \times 2}{C_{NP,after}}$$

[0039] 结果显示,本发明的纳米粒子对粘蛋白具有较强的吸附性(如图2所示),且这种吸附性能对pH表现出了一定的依赖性,较低的pH有利于吸附。

[0040] 3) 在体阴道内滞留

[0041] 在制备的第2步中,向反应体系中加入1mg/mL荧光探针(IR783),得到荧光标记的纳米粒,将荧光标记的纳米粒按照10mg/mL的浓度分散在生理盐水中,用钝头针管在ICR雌性小鼠上进行阴道给药,每只小鼠给予10μL纳米粒分散液,同时设溶液对照组,即同样阴道给予10μL IR783生理盐水溶液(浓度10μg/mL,其荧光强度与纳米粒分散液接近),以ISIS在体荧光成像系统检测给药局部(下腹部及会阴)荧光信号的变化,测定给药局部的荧光强度,以每只动物给药后马上成像所得的荧光强度作为100%,对结果进行归一化,作为“局部滞留量%”表示给药1,2,3天后的相对荧光强度;本实施例中纳米粒组和溶液对照组各5只动物,实验结果显示,与溶液对照组相比,纳米粒组的局部滞留显著改善(如图3所示)。

[0042] 实施例2核壳结构聚合物纳米粒子的载药

[0043] 本实施例以重组人α-干扰素为模型药物,将其溶解在pH分别是4、5、6的10mM柠檬酸/柠檬酸钠和pH分别是7、8、9的Tris-HCl缓冲溶液中,使其浓度为0.8mg/mL。将上述6种干扰素溶液与纳米粒分散液(每ml含10mg纳米粒)以体积比1:1混合,室温放置过夜,离心后以

BCA试剂盒测定上清液中干扰素浓度,按以下公式计算载药量。

$$[0044] \quad \text{Drug loading (mg / mg)} = \frac{(C_{Drug,origin} / 2 - C_{Drug,after}) \times V_{total}}{C_{NP} \times V_{NP}}$$

[0045] 结果显示,在pH4~9范围内,较低的pH对纳米粒子吸附干扰素有利(如图4所示),在pH4~6的范围内,纳米粒能够有效地吸附干扰素。

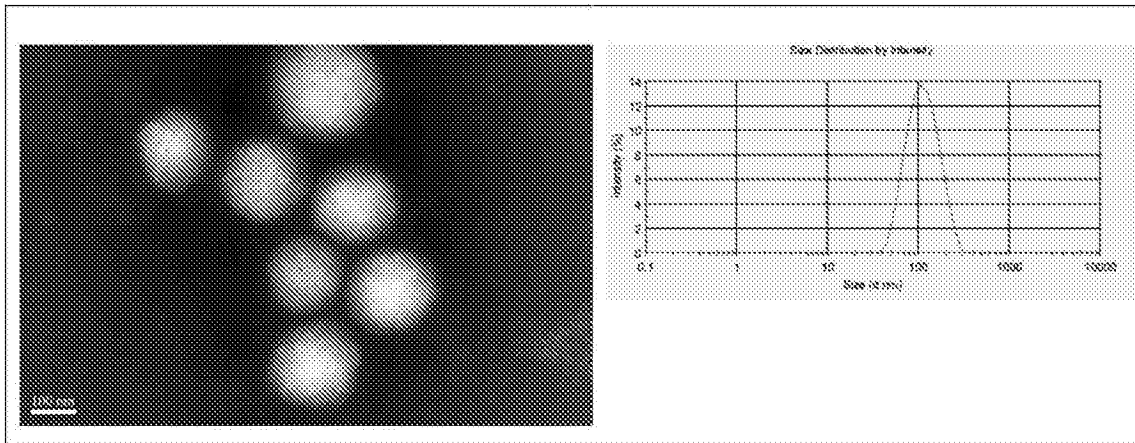


图1

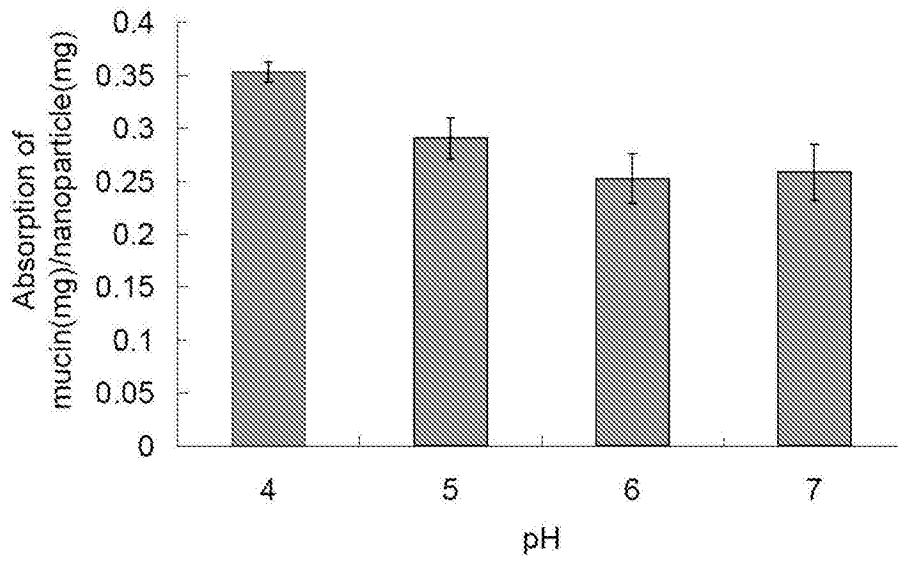


图2

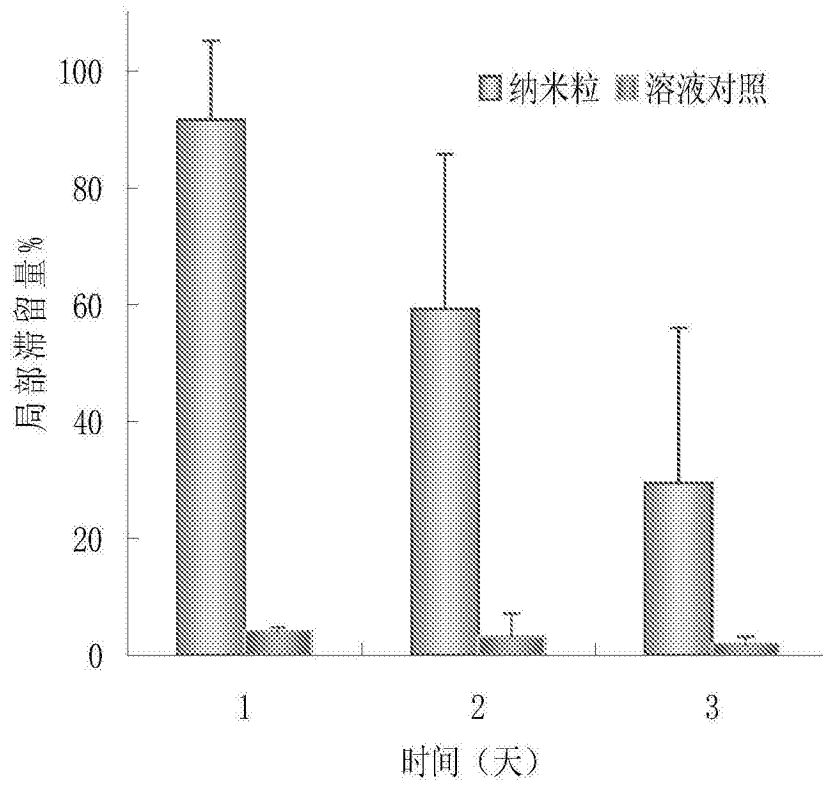


图3

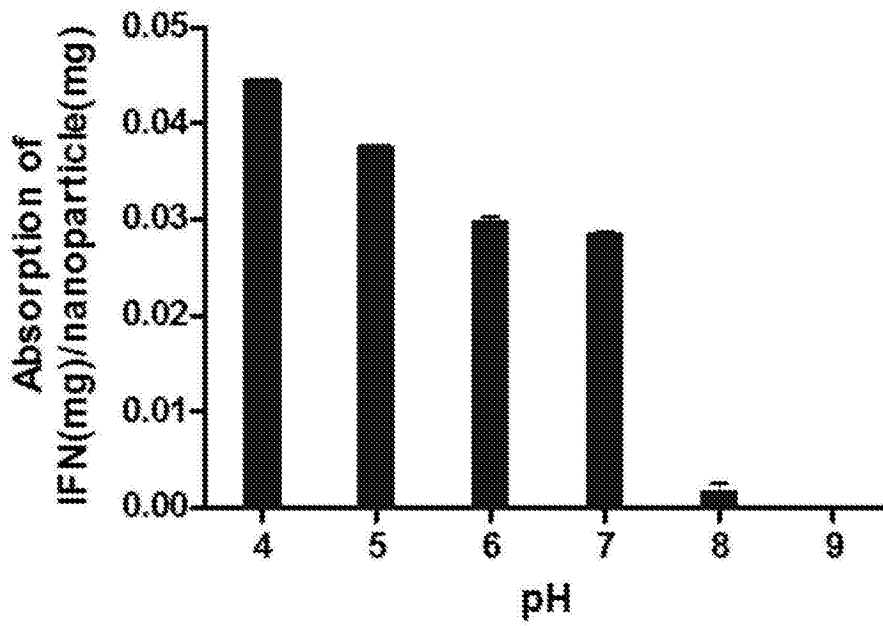


图4