

与纳米脂质体制备方法相关的中国发明专利^Δ

高惠静^{1*}, 安惠霞², 陈蓓¹, 马运芳¹, 袁圆¹, 赵军^{1#}(1.新疆医科大学第一附属医院药学部, 乌鲁木齐 830011; 2.新疆维吾尔自治区职业病医院药剂科, 乌鲁木齐 830091)

中图分类号 R944 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)07-0976-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.07.34

摘要 目的:为从事纳米脂质体研究及申请有关纳米脂质体发明专利的人员提供帮助。方法:以“纳米脂质体”“药物”“专利”“制备”为关键词,对2000—2014年中国专利网的数据库进行检索,然后对检索获得的已授权的纳米脂质体药物相关专利中的制备方法进行总结和分析。结果:共检索到相关发明专利80项,其中授权专利34项。在已授权的34项专利中,有8项采用薄膜分散、逆相蒸发、二次乳化、超声波分散等传统工艺制备,13项采用传统工艺中2~3种组合方法制备,13项采用微射流高压均质和超临界CO₂新技术制备。结论:在已授权的34项专利中,仅紫杉醇纳米脂质体和多柔比星纳米脂质体已成功转化用于临床,取得了一定的经济效益和社会效益;其他大多数纳米脂质体专利,无论是采用传统方法制备、多种方法联合制备,还是新技术制备,都只是停留在专利水平。专利转化率低与制备技术存在缺陷有关,比如成本高、产率低、有机溶剂残留、制备工艺重现性差、产品稳定性差等问题,有待于进一步深入研究,实现规模化和工业化。

关键词 纳米脂质体;专利;制备方法

纳米脂质体(Nanoliposomes)是指粒径小于100 nm的脂质体结构,多为单室脂质体^[1]。由于其粒径处于纳米级范围,因此在稳定性、吸收和体内分布方面具有纳米粒子的特殊效应^[2]。

纳米脂质体特有的优势使越来越多的学者专注于将不同类型的药物制成纳米脂质体,有关阿苯达唑脂质体制备方法的专利也不断增加。笔者以“纳米脂质体”“药物”“专利”“制备”为关键词,对2000—2014年中国专利网的数据库进行检索,然后对检索获得的已授权的纳米脂质体药物相关专利的制备方法进行总结和分析。结果,共检索到相关发明专利80项,其中授权专利34项。在已授权的34项专利中,有8项采用薄膜分散法、逆相蒸发法、二次乳化法、超声波分散法等传统工艺制备,13项采用传统工艺中2~3种组合方法制备,13项采用微射流高压均质和超临界CO₂新技术制备。本文着重从专利方面综述纳米脂质体制备方法的研究现状,以期为从事有关纳米脂质体研究及申请有关纳米脂质体专利的人员提供帮助。

1 传统制备方法

授权的纳米脂质体专利中采用的传统制备方法主要包括薄膜分散法、逆相蒸发法、二次乳化法、超声波分散法等。

1.1 薄膜分散法

薄膜分散法是将磷脂、胆固醇(或胆酸钠)等类脂质及脂溶性药物溶于有机溶剂中,旋转减压蒸发除去溶剂,使磷脂等在瓶壁形成均匀的薄膜,用缓冲液洗膜,得到脂质体粗混悬液;用均质机(或其他)高速搅匀,得到纳米脂质体溶液^[3]。专利(200510030639.5)提供的蟾酥纳米脂质体注射液的粒径为10~100 nm,药物包封率高(>80%),渗漏率及氧化指数低,稳定性好;可减少现有蟾酥制剂对静脉的刺激性,且具有较高的血药浓度及一定的长效作用。专利(200710175737.7)提供

了一种用于治疗腺癌、抗炎、抗痛风、抗中枢神经退行性疾病、镇痛及治疗病毒性心肌炎的槐定碱纳米脂质体,不仅减少了原有制剂的毒副作用,而且提高了药物的疗效和稳定性。专利(200710086421.0)提供了一种用于各种缺氧的急救或辅助治疗的细胞色素C纳米脂质体,降低了其致敏性。

1.2 逆相蒸发法

逆相蒸发法是将磷脂等膜材溶于有机溶剂,加入待包封药物的水溶液进行短时超声,直到形成稳定的W/O型乳剂,减压蒸发除去有机溶剂,即得纳米粒子^[4]。专利(200810060188.3)提供的肝素钙/钠盐纳米口服制剂稳定性好、包封率高达98%,4 h体外释放率高达25%;肠道吸收率好,在体内代谢时间长,半衰期随口服剂量的增加而延长,呈现零级动力学,而且组织浓度大于血药浓度,有缓释功能。专利(200910222122.4)和专利(200910030261.7)采用此法制备出甘氨酸螯合锌前体脂质体和甘氨酸螯合铁纳米脂质体,克服了甘氨酸螯合锌/铁在胃液强酸性环境中易于解离、生物利用率低等问题,提高了其稳定性和生物利用度,达到了更好的补锌/铁效果。

1.3 二次乳化法

将少量含水溶性药物的磷酸盐缓冲液(PBS)与含脂质的有机溶剂(或含脂溶性药物)进行第二次乳化,形成W/O的第一乳剂。然后将第一乳剂与较大体积的PBS进行乳化,得到W/O/W的第二乳剂,分散相为第一乳剂的微粒,连续相为第二水相,减压除去有机溶剂即得脂质体混悬液^[5]。专利(200710098391.5)提供的银杏内酯B纳米脂质体,靶向于堵塞血管及其内皮细胞,疗效高于银杏内酯B普通制剂,且抗氧化剂可以避免银杏内酯B在体外和体内氧化及过氧化引起的不良反应。

1.4 超声波分散法

超声波是指频率范围在10~106 kHz的机械波。近几年来,超声波被广泛地应用于制备各种粉体材料^[6]。其在液体中产生的空化效应能够产生超过1 000个大气压的瞬时高压,产生微射流冲击介质。超声波在液体中最突出的应用是分散效应及微粉化,将药物加工成微米级或纳米级超细微粉^[7]。专利(200510064332.7)提供的垂体前叶肾上腺皮质提取物纳米脂质体组合药物不仅能长期保持其活性,而且对治疗关节炎、病

Δ 基金项目:新疆维吾尔自治区卫生厅青年科技人才专项科研项目(No.2013Y14);新疆医科大学第一附属医院药学专项科研基金项目(No.2012YX03)

* 主管药师,硕士。研究方向:药理学。电话:0991-4363438。E-mail:gaohuijing1380@163.com

通信作者:主任药师,硕士生导师,硕士。研究方向:药物新剂型与新制剂。电话:0991-4363438。E-mail:zhaojun700326@163.com

毒性感冒等疾病作用显著,对预防注射疼痛等也十分有效,解决了目前糖皮质激素易导致人体免疫抑制及非甾体抗炎药的副作用。

目前,上述制备方法基本上还停留在实验室阶段,很难实现规模化、工业化生产,制备耗时、成本高、产量低,无法满足药品、保健品及化妆品等对脂质体的大量需求。

2 多种方法联合

多种方法联合越来越广泛地应用于制备纳米脂质体,现简单介绍联合应用的几种方法。

2.1 逆相蒸发法-超声法

专利(200410096075.0)提供了一种对水溶性药物具有较高包封率($>70\%$)的脂质体的制备方法,该法以逆相蒸发法为基础,将得到的脂质体采用探头式超声均化后得到纳米脂质体。专利(200910028062.2)提供了一种含有茶多酚纳米脂质体的抗氧化明胶膜的制备方法,增强了生物活性物茶多酚作为抗氧化剂在明胶膜中的利用率,达到了茶多酚在膜中的缓释效果,延长了明胶膜的抗氧化时间。

2.2 薄膜分散-超声法

专利(200510026515.X)制备的用于治疗痛风、关节炎、跌打损伤等多种痛性疾病的马钱子碱纳米脂质体与常规马钱子制剂相比,毒性降低,镇痛效果显著提高,且起效快、吸收率高、渗透性好,有效解决了马钱子在临床应用中存在的毒性大和疗效低的缺陷。专利(200610097159.5)提供的红景天苷纳米脂质体的平均粒径小于 100 nm ,包封率可达 $25\% \sim 35\%$,克服了市售红景天苷保健品在体内浓度忽高忽低、没有缓释功效、服用次数频繁、生物利用度低等问题。

2.3 薄膜分散-挤压法

专利(200710086422.5)和专利(200710079768.2)提供了前列地尔与阿德福韦酯或穿琥宁/炎琥宁的纳米脂质体组合物,降低了抗病毒药对肝肾的毒副作用,且具有靶向性,有效提高了靶位点的药物浓度,提高了疗效,降低了药物的用量,从而降低了不良反应的发生,延长了药物的作用时间,可用作抗病毒药物。

2.4 薄膜分散/乙醇注入/逆相蒸发-PH梯度法

专利(201110029749.5)提供的扇贝抗氧化肽纳米脂质体为球形单室脂质体,形态均一、包封率高、使用性能稳定,粒子直径平均分布在 200 nm 以下,符合化妆品的透皮吸收要求,可直接作为化妆品材料应用。专利(201010528341.8)将常规方法和pH梯度结合起来,制备的多柔比星纳米脂质体包封率可达 96% ,粒径分散均匀,比常规方法耗时少、节省成本,便于大规模生产,增加了稳定性,延长了半衰期,使得药物在体内的作用时间延长,减少了患者的给药剂量,增加了患者的依从性。

2.5 超声/高速分散-冷冻干燥法

专利(200810034190.3)提供了一种镇痛抗炎的中药组合物纳米脂质体透皮气雾剂分散稳定、使用方便、毒性低、起效快、吸收率高、渗透性好、持续时间长,可用于痛风、关节炎、类风湿性关节炎、跌打损伤等多种不同起源引起的痛症的治疗。

2.6 薄膜分散-超声-膜过滤法

专利(200510111346.X)和专利(200510111347.4)提供的包覆辛夷挥发油的纳米脂质体滴鼻剂的优点表现在:(1)比常规滴鼻剂有更大的比表面积,相对延长了其与鼻腔黏膜的接触时间和黏膜吸收速度,且使用方便,同时可以避免由于使用的过程中造成的药物损失,提高有效利用率;(2)所制备的纳米脂质体具有一定的柔性和变形性,比相同粒径的普通脂质

体更容易通过黏膜吸收,因而具有更好的通透性;(3)比常规脂质体混悬液具有更好的物理化学稳定性和药物不易泄漏。专利(201110093530.1)提供了一种双重靶向肿瘤的紫杉醇纳米脂质体。

2.7 薄膜分散/逆相蒸发-高压均质/超声/挤压过滤法

专利(200910266278.2)提供了一种抗中期因子反义寡核苷酸纳米制剂,相对于中期因子反义寡核苷酸本身而言,该纳米脂质体制剂具有放大的抗肿瘤作用,对肝癌HepG₂细胞有更加明显的抑制作用。药效学结果显示其对原发性肝癌有明显的抑制作用,且兼具毒副作用小、不易产生耐药性、可实现靶向运输、在体内能够降解、生物兼容性好等优点,是一种具有良好应用前景的抗癌药物。多种方法联合后实现了纳米脂质体的规模化生产,但还未摆脱传统的制备方法,在制备过程中常常使用大量的有机溶剂,有些有机溶剂毒性较大,对人体有潜在的危害。此外,这些传统的制备方法还存在脂质体膜易破裂、稳定性差等问题,成为纳米脂质体商业化的主要障碍。

3 新工艺制备方法

3.1 微射流法/高压均质法

微射流法是一种新的纳米脂质体制备技术,其利用空穴、撞机、剪切3种效应使物料细化、乳化、均质和改性^[9]。专利(200610011811.7)制备出的蛇油纳米脂质体外观呈纳米分散体系特有的透明色泽,粒度检测结果为纳米级,可稳定保存1年以上。专利(200780032707.9)提供了一种用于预防或治疗皮肤疾病的纳米组合物,该组合物解决了在高温($70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 或更高)加热易分散活性成分、稳定性低和均匀性差等常见问题。专利(200710304524.X)提供的神经酰胺纳米脂质体制剂具有粒径小、外观透明、质量稳定、水溶性和生物相容性好,可在常温条件下与所需护肤品制剂任意互配,易于渗透至皮肤深层等优点,可广泛应用于化妆品制备技术领域。专利(200910025193.5)将乙醇注入法和高压均质结合制备出维生素E纳米脂质体,其外观呈透明或半透明,粒径小于 100 nm ,包封率大于 90% ,实现了维生素E的保护和缓释,改善了其水溶性,提高了其生物利用度;同时该发明适用于连续化生产,可广泛应用于功能性水性食品的制备。专利(201010247491.1)和专利(201010247503.0)将动态高压微射流技术分别与薄膜分散和冻融法结合制备中链脂肪酸纳米脂质体,所得到的纳米脂质体包封率分别为 $>70\%$ 和 $40\% \sim 50\%$,平均粒径均 $<100\text{ nm}$,分散系数 <0.2 ,Zeta电位为 $-30 \sim -50\text{ mV}$;其分布均匀,泄漏率低,生物利用度高,长期贮藏稳定性良好。专利(201010200447.5)采用高压均质-冷冻干燥法制备辛夷挥发油纳米脂质体冻干粉,提高了药物的稳定性,便于脂质体大量制备和长期保存。

3.2 超临界CO₂流体技术

超临界流体是指温度压力均处于其临界点以上的流体,其状态介于气体和液体之间,具有与气体相近的黏度和液体相近的密度。因此超临界流体具有传统溶剂所无法比拟的溶解能力、流动性能和传递性能,可以利用它对特定物质成分进行分离、测定、提纯和精制,并可创造出新工艺性新材料^[9]。专利(201010297180.6)利用脂质膜材在超临界CO₂中形成的微乳液作为脂质体组装的模板,并结合超临界快速膨胀技术收集脂质体,为纳米脂质体的制备提供了一条新途径。多个专利(02125900.3、02117086.X、02117218.8、02117219.6、02117217.X)均采用薄膜分散/超临界CO₂流体技术-高压均质/超声技术制备倍半萜酮/烯类、温郁金/姜黄提取物及榄香烯纳米脂质体,

酞嗪类化合物的合成及活性研究进展^Δ

王超杰*,周聪聪,曹钦坡,崔飞,宋攀攀,王雪琪,随敏,郑梦琳,陈新丽,张秋荣,刘宏民[#](郑州大学药学院/新药创制与药物安全性评价河南省协同创新中心,郑州 450001)

中图分类号 R962 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)07-0978-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.07.35

摘要 目的:为进一步研究和开发具有新颖结构和生物活性的酞嗪类化合物提供理论依据。方法:以“酞嗪”“合成”“生物活性”“Phthalazine”“Synthesis”“Biological activity”为关键词,利用直接法、顺查法、追溯法等文献检索方法,组合查询2008年10月—2015年5月在美国《化学文摘》(网络版)、中国知网、万方、维普等数据库中酞嗪类化合物合成方法、生物活性研究相关的文献,对其合成的主要方法及生物活性进行综述。结果:共检索到相关文献50篇,其中有效文献26篇。酞嗪类化合物的合成常运用3种方法,即运用拼合原理将酞嗪结构与具有生物活性的三氮唑、四氮唑等结构进行拼合,从而合成酞嗪类化合物;修饰瓦他拉尼等酞嗪类先导化合物的结构合成酞嗪类化合物;运用绿色化学多组分“一锅煮”合成酞嗪类化合物。酞嗪类化合物具有抗癌、抗菌、抗炎等广泛的生物活性。结论:酞嗪类化合物是一类具有广泛生物活性的分子,对其结构进行优化,有望筛选出高效、低毒的候选药物。
关键词 酞嗪类化合物;拼合原理;绿色化学;生物活性

在种类繁多的氮杂环中,含有胍结构的氮杂环因其广泛的生物活性受到了研究者的高度关注。酞嗪是一种杂环化合物,化学式为C₈H₆N₂,由1个苯环与1个哒嗪环稠合而成。研究发现,酞嗪具有多种生理活性,如抗癌、抗菌、抗炎等^[1-3]。合成具有新颖结构和较好生物活性的酞嗪化合物成为近年来的研

究热点。笔者以“酞嗪”“合成”“生物活性”“Phthalazine”“Synthesis”“Biological activity”为关键词,利用直接法、顺查法、追溯法等文献检索方法,组合查询2008年10月—2015年5月年美国《化学文摘》(网络版)、中国知网、万方、维普等数据库,结果共得到相关文献50篇,其中有效文献26篇。现就其合成方

所得到的纳米脂质体粒径均达到纳米要求,适合用作注射剂。

新的制备技术具有条件温和、工艺简单的优点,可实现规模化生产,且整个过程无溶剂残留、无污染,是制备纳米脂质体的理想选择。

4 结语

纳米脂质体由于粒径处于纳米范围,具有突出的纳米效应。其磷脂双分子层结构使其具有靶向性、长效性、生物相容性、无毒、生物利用度高、不引起免疫反应、保护所载药物等优点^[10-11],被誉为“生物导弹”,可作为药物和营养因子的靶向载体以及基因技术工具,被广泛地应用于医药、保健食品、化妆品和基因工程领域。纳米脂质体的优势越来越受到研究者的关注,有关其制备方法的文献及专利也不断涌现。本文主要综述的是纳米脂质体药物专利,而药物专利无论是产品专利还是制备方法专利,实现转化才能对社会形成贡献。在已授权的34项专利中,仅紫杉醇纳米脂质体和多柔比星纳米脂质体已成功转化用于临床,取得了一定的经济效益和社会效益;其他大多数纳米脂质体专利,无论是采用传统方法制备、多种方法联合制备,还是新技术制备,都只是停留在专利水平。专利转化率低与制备技术存在缺陷有关,比如成本高、产率低、有机溶剂残留、制备工艺重现性差、产品稳定性差等问题,无法实现规模化和工业化。还有些专利只是为了保护某个核心技术。鉴于纳米脂质体药物的优势,有关其制备方法的研究会不断深入地开展下去,实现专利转化才是科研的

最终目标。相信随着纳米药物制备技术的发展,将可以制备出更为理想的具有智能效果的纳米药物,有效地解决人类重大疾病的诊断、治疗和预防等方面的难题。

参考文献

- [1] 杨水兵,刘伟,刘成梅,等. Vc纳米脂质体的制备研究[J]. 食品与机械,2011,27(6):222.
- [2] 金丽霞. 纳米药物载体的研究及临床应用[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2010,14(8):1 429.
- [3] 朱斌,许时婴,夏书芹. 薄膜水化法制备辅酶Q₁₀脂质体[J]. 食品与机械,2006,22(6):39.
- [4] 李春,冯祎飞,赵鹰,等. 纳米粒的制备方法在药物制剂中的应用概况[J]. 天津药学,2009,21(6):59.
- [5] 王东,张德权,张柏林. 纳米脂质体的制备技术研究现状[J]. 中国食物与营养,2009(5):34.
- [6] 郭建辉,张传福,湛菁,等. 超声波在粉体材料制备中的应用[J]. 有色金属,2001,53(3):81.
- [7] 李战军,杨明. 超声波溶剂扩散法制备单分散咪唑草胺纳米粉体[EB/OL]. (2007-03-01)[2014-05-20]. <http://www.paperedu.cn>.
- [8] 张钟月,孙萍. 高压匀质技术在纳米制剂中的研究进展[J]. 中国药房,2009,20(28):2 228.
- [9] 王嵩,张彩敬,朱长健. 超临界CO₂流体在高分子领域的应用研究[J]. 安徽大学学报:自然科学版,2008,32(2):83.
- [10] 蒋正立,朱萍. 纳米脂质体研究新进展[J]. 海峡药学,2008,20(11):5.
- [11] 张俭俭,孙晓东. 新型脂质体的应用研究进展[J]. 中国药房,2007,18(31):2 465.

^Δ 基金项目:郑州大学全国大学生创新创业训练计划资助项目(No.2015xjxm234)

* 硕士研究生。研究方向:药物化学。E-mail: 1506002516@qq.com

[#] 通信作者:教授,博士。研究方向:新药研究与开发。E-mail: liuhm@zzu.edu.cn

(收稿日期:2015-09-07 修回日期:2015-10-15)
(编辑:余庆华)