



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103784400 A

(43) 申请公布日 2014. 05. 14

(21) 申请号 201210427544. 7

(22) 申请日 2012. 10. 31

(71) 申请人 中国科学院生物物理研究所
地址 100101 北京市朝阳区大屯路 15 号

(72) 发明人 魏秀莉 于继兵 梁伟

(74) 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任
公司 11021

代理人 王旭

(51) Int. Cl.

A61K 9/10 (2006. 01)

A61K 9/19 (2006. 01)

A61K 38/28 (2006. 01)

A61K 47/34 (2006. 01)

A61P 3/10 (2006. 01)

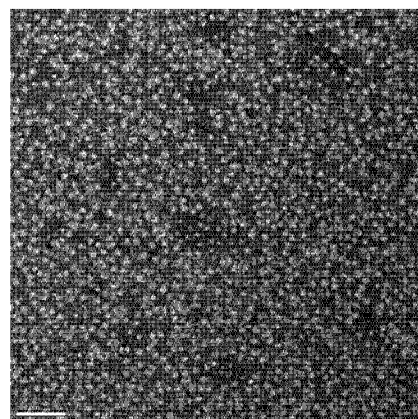
权利要求书1页 说明书5页 附图3页

(54) 发明名称

一种新型的聚乙二醇化磷脂包载胰岛素的口服胶束制剂

(57) 摘要

本发明提供了一种可供口服的胰岛素纳米胶束制剂,其含有治疗有效量的胰岛素、聚乙二醇化磷脂、以及药学上可接受的辅剂。该胰岛素胶束制剂采用一步自组装方法制备,可形成粒径非常均一的粒子,对胰岛素的包封率可达 99.0% 以上。在该胶束制剂中,聚乙二醇长链可以分布于包载药物的疏水核的表面形成亲水性保护膜,有利于克服消化道系统中存在粘液层屏障、酶屏障及上皮屏障,保护胰岛素顺利进入血液循环系统发挥降血糖活性。



1. 一种可供口服的胰岛素胶束制剂,包含胰岛素、聚乙二醇化磷脂,以及药学上可接受的辅剂,其中,所述胰岛素和聚乙二醇化磷脂的摩尔比是 1 : 2 至 1 : 20,所述的聚乙二醇化磷脂为聚乙二醇分子通过共价键与磷脂分子上的含氮碱基结合而成,优选其中胰岛素和聚乙二醇化磷脂的摩尔比是 1 : 4 至 1 : 10。
2. 根据权利要求 1 所述的胶束制剂,其中所述聚乙二醇化磷脂中磷脂部分的脂肪酸包含 10-24 个碳原子,脂肪酸链是饱和的或部分饱和的,优选月桂酸、肉豆蔻酸、棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸、二十酸、山俞酸、或木焦油酸。
3. 根据权利要求 1 所述的胶束制剂,其中所述聚乙二醇化磷脂中的磷脂为磷脂酰乙醇胺、磷脂酰胆碱、磷脂酰肌醇、磷脂酰丝氨酸、二磷脂酰甘油、缩酸磷脂、溶血胆碱磷脂、或溶血乙醇胺磷脂。
4. 根据权利要求 3 所述的胶束制剂,所述聚乙二醇化磷脂中的磷脂为二硬脂酰磷脂酰乙醇胺、二棕榈酰磷脂乙醇胺、二油酰磷脂酰乙醇胺。
5. 根据权利要求 1 所述的胶束制剂,所述聚乙二醇化磷脂结构中的聚乙二醇分子量范围为 500-20000 道尔顿,优选为 1000-10000 道尔顿,更优选为 1000-5000 道尔顿,最优选为 2000 道尔顿。
6. 根据权利要求 5 所述的胶束制剂,所述聚乙二醇化磷脂是聚乙二醇 2000- 二硬脂酰磷脂酰乙醇胺。
7. 根据权利要求 1-6 任一项所述的胶束制剂,所述胶束制剂是溶液形式或冻干形式,优选为肠溶制剂,更优选为肠溶胶囊制剂。
8. 根据权利要求 1-7 任一项所述的胶束制剂在制备口服降血糖药物中的应用。
9. 一种制备权利要求 1-8 任一项所述胶束制剂的方法,包括:将胰岛素包裹于聚乙二醇化磷脂形成的胶束中,制成可供口服的胰岛素胶束制剂。
10. 根据权利要求 9 所述的方法,包括以下步骤:
 - (1) 将胰岛素在水或稀盐酸水溶液 (pH 3.0) 中混悬或溶解;
 - (2) 将聚乙二醇化磷脂在水中溶解;
 - (3) 将 (1) 与 (2) 混合,在 25℃ -60℃ 下水化 30-60min,得到胰岛素胶束。

一种新型的聚乙二醇化磷脂包载胰岛素的口服胶束制剂

技术领域

[0001] 本发明属于医药领域,涉及一种可供口服的胰岛素胶束制剂及其制备方法。

背景技术

[0002] 胰岛素 (Insulin, INS) 由于其独特的降血糖疗效,迄今为止是胰岛素依赖性糖尿病患者的首选药。目前,几乎所有的胰岛素制剂都通过注射给药。这不仅给患者带来很大的经济负担,影响了患者及其家属的生活质量,同时频繁长期注射用药还会产生诸多不良反应如:胰岛素浮肿、低血糖反应、肥大性脂肪营养不良及皮下脂肪萎缩等。

[0003] 口服给药是最普通的一种给药方式,是众多给药途径中最容易被患者接受的一种,特别是对于那些需要长期或者频繁用药的患者而言,药物口服这一给药方式在顺应性方面大大优于其他给药途径。胰岛素的口服给药途径可模拟生理性胰岛素分泌,重建生理状态下门静脉胰岛素浓度和外周循环胰岛素浓度近似 1 : 5 的比例,因此,口服输送系统是胰岛素最理想的非注射给药途径,避免了注射疼痛及不便,患者的依从性强。胰岛素口服输送系统要解决的关键问题是提高其生物利用度,使其达到有效的血药浓度。

[0004] 聚合物胶束载药系统以其性质稳定、生物相容性以及增溶性等优点受到越来越多的关注,是近年来药学领域的一个研究热点。目前,聚合物胶束制剂的研究大多集中于注射给药。胶束制剂粒径小、性质稳定、制备方法简单,并对其包载的药物具有保护作用等优点,人们开始研究其作为口服给药的载体。将聚合物胶束开发为口服给药系统有助于减少药物对胃肠道的刺激性,增加吸收部位的药物浓度,提高药物在胃肠道中的稳定性,进而提高药物生物利用度。

[0005] 聚合物胶束是两亲性聚合物在水溶液中自发形成的热力学稳定体系。这个过程是由疏水片段从水溶液中撤出并聚合引起的自由能降低推动的。与低分子表面活性剂相比,两亲性聚合物的 CMC 低,这使聚合物胶束在一定程度上更能抵御溶液的稀释,同时,组成胶束核疏水片段结合紧密,在生理环境中被体液稀释后,不容易解离,稳定性更好。胶束作为药物载体具有独特的优势:位于胶束核位置的疏水性片段作为脂溶性药物的储库,可以通过化学的、物理的或者静电力的作用与药物相结合,进而起到改善脂溶性药物在体液中的溶解性、避免其在生物环境中的失活,改变其在体内的吸收行为。

[0006] 两亲性聚合物至少是由亲水和亲脂两部分组成的高分子聚合物,目前这类聚合物的亲水性片段大都选用聚乙二醇 (polyethylene glycol, PEG)。PEG 水溶性良好,具有高度水合特性,为胶束提供足够的空间位阻。此外,它的生物相容性良好,并已通过 FDA 认证,因此广泛作为药用辅料使用。

发明内容

[0007] 本发明的发明构思:基于聚乙二醇化磷脂制备的胶束给药系统不仅具有一般纳米微粒给要系统的优点:粒径小,基本在 10nm ~ 1000nm 之间,是一种动力学稳定的体系,一方面避免了其他微粒给药系统例如脂质体,易于聚集成团的缺点;另一方面更可改善药物

分布,提高药物疗效。采用聚乙二醇化磷脂作为载体材料,PEG 链可以在粒子的表面形成亲水性保护层,能够进一步发挥胶束给药系统的优势。目前,有关聚乙二醇化磷脂制备的胶束作为胰岛素的口服递送系统的研究国内外均尚未见报道。一方面,聚乙二醇化磷脂制备的胶束可以提高胰岛素药物的溶解度,另一方面,胶束的水溶性片段可以保护药物免受胃酸和消化道中酶的破坏,进而提高胰岛素的口服生物利用度,是一种理想的口服给药载体。

[0008] 本发明的目的在于提供一种可供口服的胰岛素胶束制剂。口服给药后,能够保护胰岛素迅速穿过肠道粘液层,减少消化道蛋白水解酶的降解,克服上皮屏障,进入血液循环,起到降血糖的作用。

[0009] 因此,本发明提供一种可供口服的胰岛素胶束制剂,其含有治疗有效量的胰岛素、聚乙二醇化磷脂、以及药学上可接受的辅剂,所述可供口服的胰岛素胶束制剂优选为肠溶制剂,更优选为肠溶胶囊制剂。

[0010] 本发明的另一个目的是提供可供口服的胰岛素胶束制剂的制备方法。

[0011] 本发明的主要内容是利用聚乙二醇化磷脂作为主要辅料,采用适当的制剂手段制备口服的胰岛素胶束制剂。

[0012] 本发明的胰岛素胶束制剂中的聚乙二醇化磷脂,有利于胰岛素分子迅速穿过肠道粘液层,减少胰岛素分子与消化道中蛋白水解酶的接触,保护胰岛素分子顺利进入血液循环,起到降血糖作用。

[0013] 发明详述

[0014] 本发明提供了一种可供口服的胰岛素胶束制剂,其含有治疗有效量的胰岛素、聚乙二醇化磷脂、以及药学上可接受的辅剂。

[0015] 本发明涉及的胰岛素胶束根据需要可以是溶液形式,也可以是冻干形式。

[0016] 按照本发明,所述胰岛素和聚乙二醇化磷脂的摩尔比是 1 : 2 至 1 : 20,优选 1 : 4 至 1 : 10。

[0017] 本发明的聚乙二醇化磷脂为聚乙二醇分子通过共价键与磷脂分子上的含氮碱基结合而成。

[0018] 用于本发明的聚乙二醇化磷脂,其结构中磷脂部分的脂肪酸包含的碳原子数为 10 ~ 24 个,优选的是 12、14、16、18、20、22、24 个碳原子,脂肪酸链可以是饱和的,也可以是部分饱和的,特别需要指出的脂肪酸为月桂酸(12 碳)、肉豆蔻酸(14 碳)、棕榈酸(16 碳)、硬脂酸或油酸或亚油酸(18 碳)、甘酸(20 碳)、山俞酸(22 碳)、木焦油酸(24 碳)。

[0019] 聚乙二醇化磷脂,其磷脂部分可以是磷酸酯乙醇胺(PE)、磷脂酰胆碱(PC)、磷脂酰肌醇(PI)、磷脂酰丝氨酸(PS)二磷脂酰甘油、缩酸磷脂、溶血磷脂胆碱(LPC)、溶血乙醇胺磷脂(LPE)等。

[0020] 聚乙二醇化磷脂,其聚乙二醇分子量范围为 500 ~ 20000 道尔顿,优选聚乙二醇分子量范围为 1000 ~ 10000 道尔顿,更优选的范围 1000 ~ 5000 道尔顿,最优选的聚乙二醇分子量为 2000 道尔顿。

[0021] 本发明的聚乙二醇化磷脂优选是聚乙二醇 2000-二硬脂酰磷脂酰乙醇胺(PEG2000-DSPE)。

[0022] 在本发明的胰岛素胶束制剂中,胶束的粒径范围为 5-100nm,优选 10-50nm,最优选 10-20nm。

[0023] 本发明所述的胰岛素胶束制剂,是采用聚乙二醇化磷脂作为载体,通过一定的制剂手段,将治疗量的胰岛素包裹于所形成的胶束中,制剂中未添加任何的促吸收剂、酶抑制剂等。

[0024] 本发明还提供了胰岛素胶束制剂的制备方法,包括将胰岛素包裹于聚乙二醇化磷脂形成的胶束中,制备成可供口服的胰岛素胶束制剂。

[0025] 根据本发明的胰岛素胶束制剂的制备方法具体包括以下步骤:

[0026] (1) 将胰岛素在纯水或稀盐酸溶液 (pH3.0) 中混悬或溶解;

[0027] (2) 将聚乙二醇化磷脂在纯水中溶解;

[0028] (3) 将 (1) 与 (2) 混合,在 25-60℃ 下水化 30-60min,最优条件为 50℃ 水化 30min 完成胰岛素与胶束的动态装配过程。

[0029] 根据本发明,胰岛素的单位剂量为 50-300IU,优选单位剂量 100-200IU,最优单位剂量为 150IU,剂量将根据每个特殊个体的需要而调整。

[0030] 为了更好的理解本发明的内容,我们对一些专业术语解释如下。

[0031] “胶束”是指双亲性分子在水溶液中的浓度超过临界胶团浓度时 (CMC),能够自发地聚合形成胶束。胶束的结构与脂质体不同,不具有脂双层的结构特征。一般来讲,胶束的结构为疏水部分向内,形成疏水核,亲水部分向外形成亲水表面。胶束粒径小,平均粒径在 10 ~ 20nm 左右。因此,其不但是热力学稳定体系,而且是动力学稳定体系。另外,胶束颗粒不易聚集分层,包载容量高,即在低浓度时可包载较高的药量。

[0032] “磷脂”,磷脂的分子结构和脂肪相似,不同的是在甘油分子上只连有两个脂肪酸,第三个羟基与磷酸结合成脂。磷脂的这一结构使它成为一种双亲性分子,它的磷酸或磷酸酯一端是极性的,易与水相吸,构成磷脂分子的亲水性头部,而它的脂肪酸一端是非极性的,不与水相吸,构成磷脂分子的疏水性尾部。本发明所涉及的磷脂主要为聚乙二醇衍生化磷脂。在本发明中,聚乙二醇衍生化磷脂也可以与其他磷脂配合使用。

[0033] “治疗有效量”是指胰岛素产生治疗效果的用量。

[0034] 本发明的优点是:在聚乙二醇化磷脂制备胶束的过程中未引入任何的有机溶剂,避免胰岛素的变性失活。冷冻干燥步骤对胰岛素的生物活性无影响。胰岛素胶束制剂的口服给药剂量适当,正常大鼠口服给药剂量为 50IU/kg 时,最高血糖降低百分率达 20% 以上,具有广泛的临床应用前景,可以避免糖尿病患者长期注射给药产生的系列副作用。并且胰岛素胶束的制备方法简单,无需大型的仪器设备,适合于工业生产。

[0035] 因此,本发明的胰岛素胶束制剂可用于口服给药。

[0036] 结合实施方案对本发明的其他目的和优点做进一步详细的描述,使其更为清楚。

[0037] 附图简述

[0038] 图 1 为胰岛素胶束的透射电镜照片;

[0039] 图 2 为胰岛素胶束在 pH 2.5 的稀盐酸溶液中的释放图;

[0040] 图 3 为胰岛素胶束在 pH 7.4 的磷酸盐缓冲液中的释放图;

[0041] 图 4 为胰岛素分子在胶束制剂中存在的形式;

[0042] 图 5 为正常大鼠十二指肠给药后的血糖水平变化图。

具体实施方式

[0043] 以下实施例主要是用于进一步说明本发明,而不是限制本发明的范围。

[0044] 实施例 1 INS-PEG2000-DSPE 胶束制剂的制备

[0045] 制剂处方见表 1。

[0046] 表 1 INS-PEG2000-DSPE 胶束的包封效率

[0047]

脂类 / 药物 (mol/mol)	药物 (mg/ml)	包封率 (%)
2 : 1	1	70.5
6 : 1	1	99.2
10 : 1	1	99.3

[0048] 制备工艺:按上述处方中的药 / 脂比,称取胰岛素 (INS) (购自徐州万邦金桥制药有限公司) 溶于或混悬于纯水或稀盐酸溶液中 (1mg/ml), 称取 PEG2000-DSPE (购自 Lipoid) 溶于纯水中 (20mg/ml), 两者混合, 静置 60min, 然后于 37℃ 下水化 60min, 即得可供口服的胰岛素胶束制剂。所得样品外观呈无色澄明的溶液, 平均粒径 15nm, 粒径分布 10nm-20nm。上述胶束溶液可经冷冻干燥后得冻干粉, 其中药 / 脂 (胰岛素 / 磷脂) 摩尔比为 1 : 6 时制备的胶束的透射电镜照片见图 1。

[0049] 实施例 2 INS-PEG5000-DSPE 胶束制剂的制备

[0050] 制剂处方见表 2。

[0051] 表 2 INS-PEG5000-DSPE 胶束的包封效率

[0052]

脂类 / 药物 (mol/mol)	药物 (mg/ml)	包封率 (%)
1 : 1	1	65.1
4 : 1	1	99.4
8 : 1	1	99.2

[0053] 制备工艺:按上述处方中的药脂比,称取 INS 溶于或混悬于纯水或稀盐酸溶液中 (1mg/ml), 称取 PEG5000-DSPE (购自 Lipoid) 溶于纯水中 (20mg/ml), 两者混合, 静置 40min, 然后于 45℃ 下水化 50min, 即得可供口服的胰岛素胶束制剂。所得样品外观呈无色澄明的溶液, 平均粒径 15nm, 粒径分布 10nm-20nm。上述胶束溶液可经冷冻干燥后得冻干粉。

[0054] 实施例 3 INS-PEG10000-DSPE 胶束制剂的制备

[0055] 制剂处方见表 3。

[0056] 表 3 INS-PEG10000-DSPE 胶束的包封效率

[0057]

脂类 / 药物 (mol/mol)	药物 (mg/ml)	包封率 (%)
3 : 1	1	78.1
8 : 1	1	99.4
12 : 1	1	99.2

[0058] 制备工艺:按上述处方中的药脂比,称取 INS 溶于或混悬于纯水或稀盐酸溶液中 (1mg/ml),称取 PEG10000-DSPE (购自 Lipoid) 溶于纯水中 (20mg/ml),两者混合,静置 40min,然后于 55℃下水化 30min,即得可供口服的胰岛素胶束制剂。所得样品外观呈无色澄明的溶液,平均粒径 15nm,粒径分布 10nm-20nm。上述胶束溶液可经冷冻干燥后得冻干粉。

[0059] 实施例 4 INS-PEG2000-DSPE 胶束的体外释放试验

[0060] 采用溶出法测定 INS 从根据以上实施例的方法制备的 PEG2000-DSPE 胶束 (药/脂比 1 : 4) 中释放的速率, HPLC 检测。将制备好的 INS-PEG2000-DSPE 胶束 1ml (1mg/ml) 置于透析袋 (北京经科宏达生物技术有限公司,截留分子量 14,000) 中,将系好的透析袋置于药物溶出仪 (型号 ZRS-8G,天津大学无线电厂) 的转篮中,溶出介质分别为 150ml 的稀盐酸溶液 (pH 2.5) 与 PBS 缓冲液 (pH 7.6),每个样品平行做三个,于 37℃,50rpm,分别于 1、2、3、4h 取样,每次取 0.2ml 溶出介质,补新鲜 37℃的溶出介质 0.2ml。对照标准曲线,求得释放百分率。胰岛素从胶束中的溶出曲线分别见图 2 与图 3。

[0061] 实施例 5 胰岛素分子的存在形式

[0062] 将根据以上实施例的方法制备好的 INS-PEG5000-DSPE 胶束溶液与胰岛素的 PBS 溶液各 1ml (1mg/ml) 分别置分析型高速离心机中,转速 60000rpm,共离心 6h,分析结果显示 (图 4):在胰岛素溶液中胰岛素分子主要以二聚体以及六聚体形式存在,而在胰岛素胶束溶液中胰岛素分子主要以单聚体形式存在。

[0063] 实施例 6 胰岛素胶束制剂的药理学实验

[0064] 取健康雄性 SD 大鼠 (购自北京维通利华实验动物技术有限公司) 15 只,体重 180-200g,随机分成 3 组,第一组给予胰岛素 PBS 溶液 ($200\text{IU} \cdot \text{kg}^{-1}$),第二、三组分别给予 INS-PEG2000-DSPE 胶束,剂量分别为 $50\text{IU} \cdot \text{kg}^{-1}$ 与 $200\text{IU} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。实验前禁食 16h,可自由饮水。腹腔注射戊巴比妥钠麻醉大鼠,随后将大鼠腹部朝上固定在平板上,沿大鼠腹中线打开腹腔,十二指肠给药,具体操作如下:在距幽门约 5cm 处注射给药。为了避免溶液外溢,应尽量采用小号针头,且顺着肠道方向向下注射给药。随后将大鼠腹部进行手术缝合,分别于 0、1、2、3、4、5、6、7、8、10h 后在大鼠尾静脉取血,用血糖仪 (三诺安稳) 测定血糖值 (图 5)。由图可知,胰岛素溶液组的血糖变化与给药前基本一致,高、低剂量的胰岛素胶束制剂组的血糖水平明显低于胰岛素溶液组,且血糖水平在 3-8h 内维持下降趋势,高、低剂量组血糖降最低水平分别约为初始值的 35% 与 23% 左右,随后血糖开始上升。结果表明,正常大鼠十二指肠给予胰岛素胶束制剂后,有明显的降血糖作用。

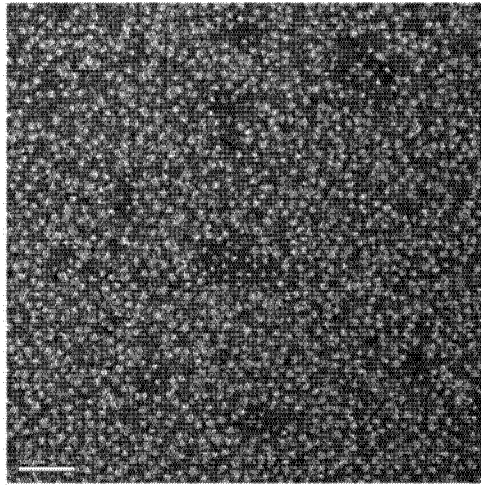


图 1

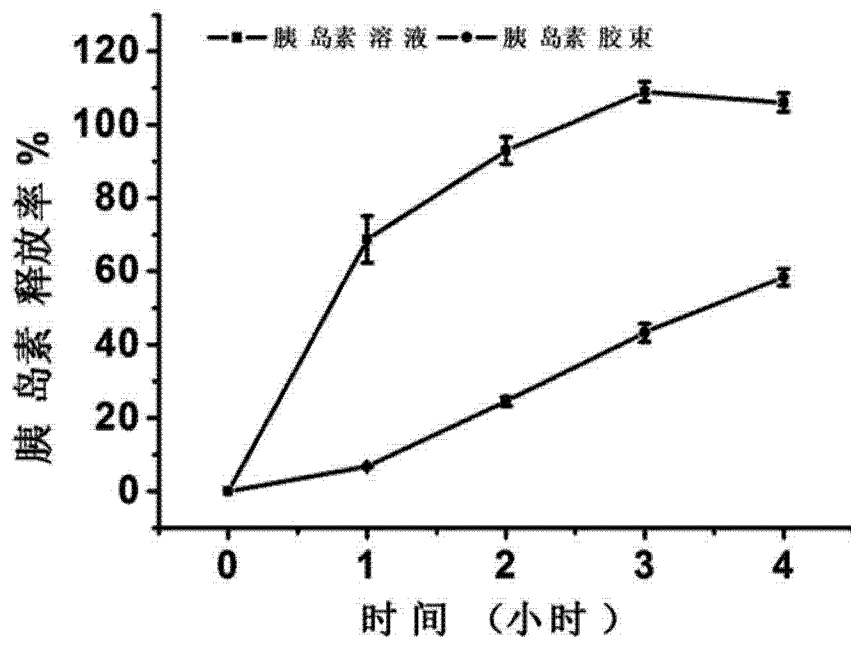


图 2

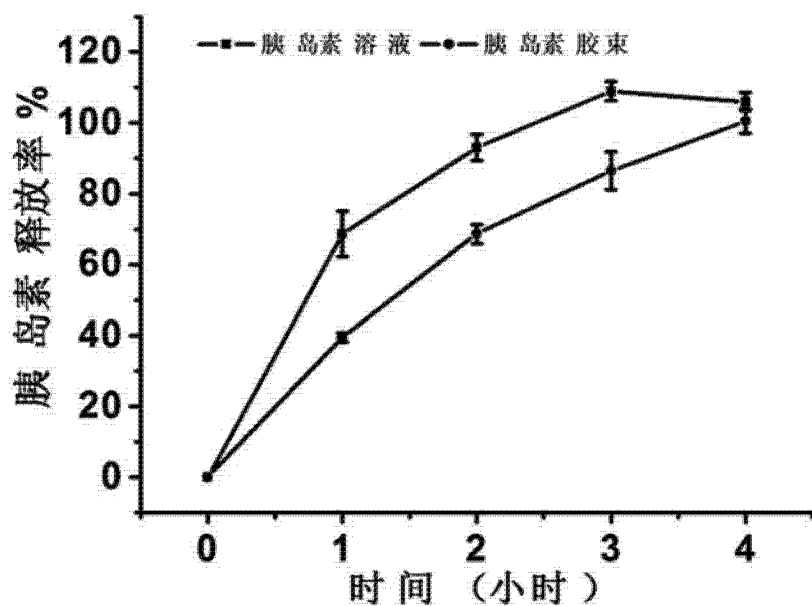


图 3

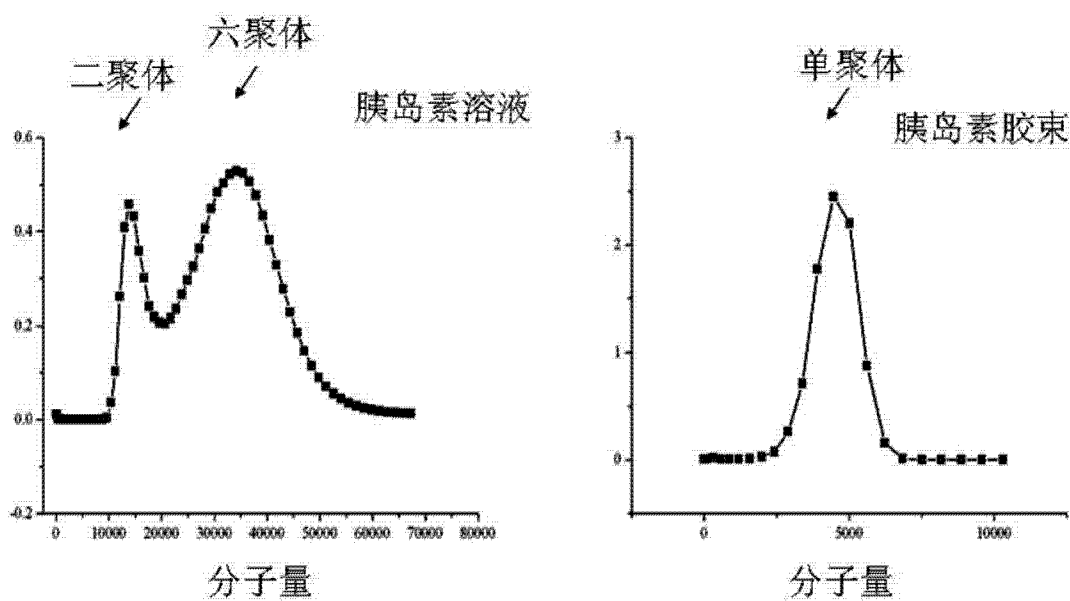


图 4

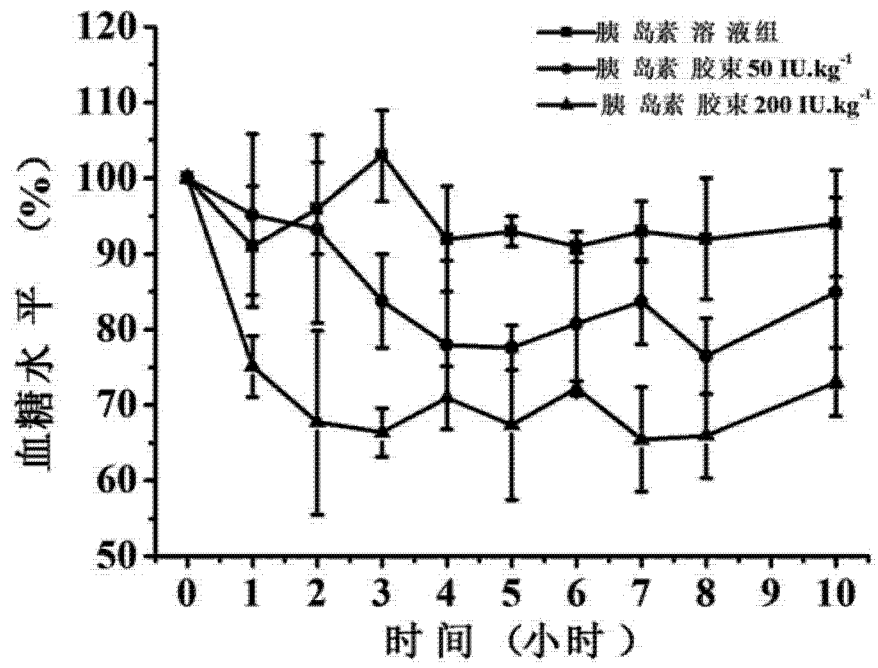


图 5