

(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103330680 A

(43) 申请公布日 2013. 10. 02

(21) 申请号 201310211362. 0

(22) 申请日 2013. 05. 31

(71) 申请人 袁伟恩

地址 201401 上海市奉贤区西渡文怡花园  
94 号 401 室

申请人 郑家伟  
吴飞

(72) 发明人 袁伟恩 郑家伟 吴飞

(74) 专利代理机构 上海卓阳知识产权代理事务  
所 (普通合伙) 31262

代理人 曹翠娟

(51) Int. Cl.

A61K 9/06 (2006. 01)

A61K 9/00 (2006. 01)

A61K 31/138 (2006. 01)

A61P 35/00 (2006. 01)

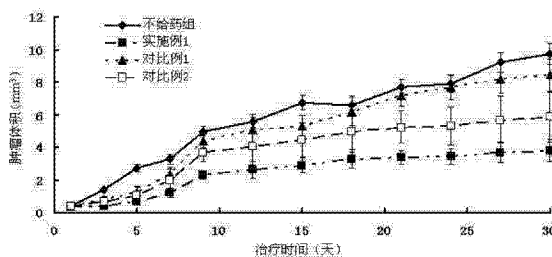
权利要求书2页 说明书9页 附图5页

(54) 发明名称

纳米药物透皮制剂及其制备方法

(57) 摘要

本发明公开了制药领域的纳米药物透皮制剂及其制备方法, 制剂的制备过程包括: 先将药物制备成纳米药物, 然后再将纳米药物制备成水凝胶透皮制剂、软膏透皮制剂或微针透皮制剂。本发明选择了合适的凝胶基质、软膏基质、微针材料、促透剂等材料以及透皮制剂的制备方法, 制备的纳米药物透皮制剂使用方便, 具有很好的生物相容性和较高的生物利用度, 提高病人的适应性; 该纳米药物透皮制剂能降低病变细胞的耐药性, 治疗效果好, 本发明的制备方法可以应用到各种药物透皮制剂的制备中。



1. 一种纳米药物透皮制剂,其特征在于,所述的纳米药物透皮制剂的制备方法包括以下步骤:

(1)将药物制备成纳米药物,所述药物在纳米药物中的重量百分比为 0.1% ~ 90%,所述的纳米药物的粒径为 10 ~ 5000 纳米;

(2) 将步骤(1) 制备的纳米药物按照 1:1 ~ 1:10 的重量比分散在重量百分比浓度为 0.5% ~ 80% 的水凝胶溶液中,同时加入促透剂、防腐剂和保湿剂,充分混匀后放到 0 ~ 4℃ 保存,然后放到 -40 ~ -20℃ 预冻 4 ~ 12 小时,其中 0 ~ 4℃ 保存和 -40 ~ -20℃ 预冻步骤按顺序可重复 1 ~ 4 次,最后再置于 0 ~ 4℃ 保存得到纳米药物水凝胶透皮制剂;或

将步骤(1)制备的纳米药物按照 1:1 ~ 1:10 的重量比分散在软膏基质中,混合均匀后即得到纳米药物软膏透皮制剂,所述的软膏基质选自水溶性基质、油脂性基质或乳剂型基质中的一种;或

将步骤(1)制备的纳米药物按照 1:1 ~ 1:10 的重量比黏附在微针表面或装载在微针内部或与微针材料充分混匀后浇制在微针模具里得到纳米药物微针透皮制剂。

2. 根据权利要求 1 所述的纳米药物透皮制剂,其特征在于,步骤(1)中所述的纳米药物的制备包括以下步骤:将药物溶解在水中,然后加入多孔纳米颗粒,搅拌使得药物充分吸附在多孔纳米颗粒里,离心去除上清液,再充分洗涤,然后冻干形成纳米药物。

3. 根据权利要求 2 所述的纳米药物透皮制剂,其特征在于,所述的纳米颗粒为有机纳米颗粒或无机纳米颗粒,可选自聚苯乙烯纳米颗粒、交联葡聚糖纳米颗粒、二氧化硅纳米颗粒、二氧化钛纳米颗粒、羟基磷灰石纳米颗粒、四氧化三铁纳米颗粒、三氧化二铁颗粒、金纳米颗粒、三氧化二铝纳米颗粒、碳酸钙纳米颗粒、磷酸钙纳米颗粒、碳酸镁纳米颗粒、氢氧化镁纳米颗粒或银纳米颗粒中的一种或几种。

4. 根据权利要求 1 所述的纳米药物透皮制剂,其特征在于,步骤(1)中所述的纳米药物的制备包括以下步骤:将药物溶解在水中形成药物水溶液,然后将药物水溶液转移到聚乙二醇水溶液中,充分混匀后于冰箱中预冻,之后冻干,再用二氯甲烷溶解聚乙二醇并离心除去聚乙二醇得到纳米药物;或

将药物包裹在脂质体、聚合物纳米颗粒中形成纳米药物;或

将药物溶解在水中形成药物水溶液,通过加入不良的溶剂使药物以纳米颗粒的形式析出而得到纳米药物;或

将药物用超细粉碎仪器进行粉碎直接制备成纳米药物。

5. 根据权利要求 1 所述的纳米药物透皮制剂,其特征在于,步骤(1)中所述的纳米药物的制备包括以下步骤:将药物溶解在水中,然后与含有聚乳酸-羟基乙酸-聚乙二醇的二氯甲烷溶液搅拌混匀,再转移至聚乙烯醇水溶液中并进行匀浆,形成纳米药物胶束。

6. 根据权利要求 1 所述的纳米药物透皮制剂,其特征在于,步骤(2)中所述的水凝胶溶液中的凝胶基质选自聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、乙基纤维素、聚乙二醇、羧基乙烯共聚物、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、交联聚丙烯酸钠、聚乳酸-聚乙二醇-聚乳酸聚合物、聚乙二醇-聚乳酸-聚乙二醇聚合物、聚乳酸-羟基乙酸-聚乙二醇-聚乳酸-羟基乙酸聚合物、聚乙二醇-聚乳酸-羟基乙酸-聚乙二醇聚合物、海藻酸钠、淀粉、甘油、明胶中的一种或几种。

7. 根据权利要求 1 所述的纳米药物透皮制剂,其特征在于,步骤(2)中所述的促透剂选

自薄荷醇、十四烷基硫酸钠、香叶醇、茴香脑或癸基甲基亚砷中的一种,所述的防腐剂选自苯甲酸钠、三氯叔丁醇、苯扎溴铵、山梨酸、羟苯乙酯或尼泊金丁酯中的一种,所述的保湿剂为甘油、丙二醇或二者的混合物。

8. 根据权利要求1所述的纳米药物透皮制剂,其特征在于,步骤(2)中所述的软膏基质选自硬脂酸甘油酯、硬脂酸、蜂蜡、羊毛脂、凡士林、石蜡、硅酮、薄荷油、桉叶油、植物油、明胶或羧甲基纤维素钠中的一种或几种。

9. 根据权利要求1所述的纳米药物透皮制剂,其特征在于,步骤(2)中所述的微针是指金属微针、无机微针或聚合物微针,所述的无机微针是指无机硅微针。

10. 根据权利要求1所述的纳米药物透皮制剂,其特征在于,所述的药物包括小分子药物和大分子药物,所述的小分子药物选自普萘洛尔、阿霉素、环磷酰胺、更生霉素、博莱霉素、柔红霉素、表阿霉素、丝裂霉素、甲氨蝶呤、氟尿嘧啶、卡铂、卡莫司汀、司莫司汀、顺铂、依托泊苷、喜树碱及其衍生物、苯芥胆甾醇、紫杉醇及其衍生物、多西紫杉醇及其衍生物、长春碱、长春新碱、它莫西芬、哌泊舒凡、环磷酰胺、氟他胺及其衍生物、泼尼松、雷帕霉素、环孢素、左氧氟沙星、氧氟沙星或盐酸依匹斯汀中的一种,所述的大分子药物选自促红细胞生成素、重组人粒细胞集落刺激因子、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子、疫苗、干扰素、生长激素、胰岛素、表皮生长因子、成纤维细胞生长因子、转化生长因子、胰岛素生长因子、血管内皮细胞生长因子、血小板生长因子、内皮生长因子、神经生长因子、骨衍生性生长因子、骨形成蛋白、组织多肽抗原、抗体、凝血因子 VIII、凝血因子 IX、遗传因子、反义核苷酸、小分子 RNA 或基因中的一种。

## 纳米药物透皮制剂及其制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及制药技术领域,具体地说,是纳米药物透皮制剂及其制备方法。

### 背景技术

[0002] 制药行业从药物发现,到临床的应用,最后一个环节是药物制剂。其中有一部分药物需要长期给药才能治愈,还有一部分需要靶向等局部给药。要达到这些目的,原料药必须要制备成相应的剂型。对于体外局部病灶,需要局部体表给药,如小孩血管瘤疾病,只需要局部给药。

[0003] 血管瘤是小孩常见的一种疾病,新生儿发病率为 2%~3%,0~1 岁发病率为 10%左右,早产或偏轻的新生儿发病率约为 20%~30%。目前有手术治疗、激光治疗等,但是这些方法均有不同程度的毒副作用。2008 年《新英格兰医学》杂志报道了口服普萘洛尔(心得安)能起到很好的疗效,但是口服普萘洛尔存在潜在的心脏毒副作用。外用的擦剂、软膏剂或凝胶剂可根据需要局部给药,提高药物局部浓度,延长药物的释放或扩散过程,毒性低、起效快且使用方便。中国专利申请 CN201210420731.2,申请公布日 2013 年 1 月 16 日,公开了一种治疗婴幼儿浅表血管瘤的盐酸普萘洛尔凝胶,由于是单个盐酸普萘洛尔分子起治疗作用,对于肿瘤来说,很容易产生耐药性,导致不再起作用,甚至治疗失败。

[0004] 为了克服这个久攻不克的问题,需要一种新的药物制剂,不仅能解决普萘洛尔存在的潜在心脏毒副作用的问题,还能直接杀死肿瘤细胞而不至于产生耐药性。除了普萘洛尔,对于其他可透皮治疗的药物,也有必要制备成这样的透皮制剂。

### 发明内容

[0005] 本发明的目的是针对现有技术中的不足,提供一种纳米药物透皮制剂及其制备方法。通过将药物做成纳米药物,然后将纳米药物制备成水凝胶制剂、软膏制剂和微针制剂,颗粒状的纳米药物易被细胞摄取,且不会产生耐药性。该透皮制剂的制备方法可以应用到各种药物透皮制剂的制备中。

[0006] 为实现上述目的,本发明采取的技术方案是:

一种纳米药物透皮制剂,所述的纳米药物透皮制剂的制备方法包括以下步骤:

(1)将药物制备成纳米药物,所述药物在纳米药物中的重量百分比为 0.1%~90%,优选为 10%~50%,所述的纳米药物的粒径为 10~5000 纳米,优选为 10~500 纳米;

(2)将步骤(1)制备的纳米药物按照 1:1~1:10 的重量比分散在重量百分比浓度为 0.5%~80%的水凝胶溶液中,水凝胶溶液的浓度优选为 5%~30%(w/w),同时加入促透剂、防腐剂和保湿剂,充分混匀后放到 0~4℃保存,然后放到-40~-20℃预冻 4~12 小时,其中 0~4℃保存和-40~-20℃预冻步骤按顺序可重复 1~4 次,最后再置于 0~4℃保存得到纳米药物水凝胶透皮制剂,混匀方式可选择乳化、涡旋或超声,混匀时间优选为 1~5 分钟;或

将步骤(1)制备的纳米药物按照 1:1~1:10 的重量比分散在软膏基质中,混合均匀后

即得到纳米药物软膏透皮制剂,分散方式可选择乳化、涡旋或超声,分散时间优选为 1~5 分钟,所述的软膏基质选自水溶性基质、油脂性基质或乳剂型基质中的一种;或

将步骤(1)制备的纳米药物按照 1:1~1:10 的重量比黏附在微针表面或装载在微针内部或与微针材料充分混匀后浇制在微针模具里得到纳米药物微针透皮制剂。

[0007] 步骤(1)中所述的纳米药物的制备包括以下步骤:将药物溶解在水中,然后加入多孔纳米颗粒,搅拌使得药物充分吸附在多孔纳米颗粒里,离心去除上清液,再充分洗涤,然后冻干形成纳米药物。

[0008] 所述的纳米颗粒为有机纳米颗粒或无机纳米颗粒,可选自聚苯乙烯纳米颗粒、交联葡聚糖纳米颗粒、二氧化硅纳米颗粒、二氧化钛纳米颗粒、羟基磷灰石纳米颗粒、四氧化三铁纳米颗粒、三氧化二铁颗粒、金纳米颗粒、三氧化二铝纳米颗粒、碳酸钙纳米颗粒、磷酸钙纳米颗粒、碳酸镁纳米颗粒、氢氧化镁纳米颗粒或银纳米颗粒中的一种或几种。

[0009] 步骤(1)中所述的纳米药物的制备包括以下步骤:将药物溶解在水中形成药物水溶液,然后将药物水溶液转移到聚乙二醇水溶液中,充分混匀后于冰箱中预冻,之后冻干,再用二氯甲烷溶解聚乙二醇并离心除去聚乙二醇得到纳米药物;或

将药物包裹在脂质体、聚合物纳米颗粒中形成纳米药物;或

将药物溶解在水中形成药物水溶液,通过加入不良的溶剂使药物以纳米颗粒的形式析出而得到纳米药物;或

将药物用超细粉碎仪器进行粉碎直接制备成纳米药物。

[0010] 步骤(1)中所述的纳米药物的制备包括以下步骤:将药物溶解在水中,然后与含有聚乳酸-羟基乙酸-聚乙二醇的二氯甲烷溶液搅拌混匀,再转移至聚乙烯醇水溶液中并进行匀浆,形成纳米药物胶束。

[0011] 步骤(2)中所述的水凝胶溶液中的凝胶基质选自聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、乙基纤维素、聚乙二醇、羧基乙烯共聚物、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、交联聚丙烯酸钠、聚乳酸-聚乙二醇-聚乳酸聚合物、聚乙二醇-聚乳酸-聚乙二醇聚合物、聚乳酸-羟基乙酸-聚乙二醇-聚乳酸-羟基乙酸聚合物、聚乙二醇-聚乳酸-羟基乙酸-聚乙二醇聚合物、海藻酸钠、淀粉、甘油、明胶中的一种或几种。

[0012] 步骤(2)中所述的促透剂选自薄荷醇、十四烷基硫酸钠、香叶醇、茴香脑或癸基甲基亚砷中的一种,所述的防腐剂选自苯甲酸钠、三氯叔丁醇、苯扎溴铵、山梨酸、羟苯乙酯或尼泊金丁酯中的一种,所述的保湿剂为甘油、丙二醇或二者的混合物。

[0013] 步骤(2)中所述的软膏基质选自硬脂酸甘油酯、硬脂酸、蜂蜡、羊毛脂、凡士林、石蜡、硅酮、薄荷油、桉叶油、植物油、明胶或羧甲基纤维素钠中的一种或几种。

[0014] 步骤(2)中所述的微针是指金属微针、无机微针或聚合物微针,所述的无机微针是指无机硅微针。

[0015] 所述的药物包括小分子药物和大分子药物,所述的小分子药物选自普萘洛尔、阿霉素、环磷酰胺、更生霉素、博莱霉素、柔红霉素、表阿霉素、丝裂霉素、甲氨蝶呤、氟尿嘧啶、卡铂、卡莫司汀、司莫司汀、顺铂、依托泊苷、喜树碱及其衍生物、苯芥胆甾醇、紫杉醇及其衍生物、多西紫杉醇及其衍生物、长春碱、长春新碱、它莫西芬、哌泊舒凡、环磷酰胺、氟他胺及其衍生物、泼尼松、雷帕霉素、环孢素、左氧氟沙星、氧氟沙星或盐酸依匹斯汀中的一种,所述的大分子药物选自促红细胞生成素、重组人粒细胞集落刺激因子、粒细胞-巨噬细胞集

落刺激因子、疫苗、干扰素、生长激素、胰岛素、表皮生长因子、成纤维细胞生长因子、转化生长因子、胰岛素生长因子、血管内皮细胞生长因子、血小板生长因子、内皮生长因子、神经生长因子、骨衍生性生长因子、骨形成蛋白、组织多肽抗原、抗体、凝血因子 VIII、凝血因子 IX、遗传因子、反义核苷酸、小分子 RNA 或基因中的一种。

[0016] 本发明优点在于：

第一、本发明选择了合适的凝胶基质、软膏基质、微针材料、促透剂等材料以及透皮制剂的制备方法，制备的纳米药物透皮制剂的包封率高，可以达到 90% 以上，克服了口服或注射等全身性给药带来的毒副作用，尤其是在治疗小孩血管瘤疾病中，可以克服普萘洛尔全身给药带来的毒副作用；

第二、采用本发明方法可制备纳米药物水凝胶透皮制剂、纳米药物软膏透皮制剂、纳米药物微针透皮制剂，这些剂型可以根据不同病情需要进行控制，且制备过程不污染环境，透皮制剂使用方便，具有很好的生物相容性和较高的生物利用度，提高病人的适应性；

第三、采用本发明方法制备纳米药物透皮制剂，可以使药物在整个制备过程和治疗过程中保持高活性而不失活，大大降低了药物突释，释放的药物可以局部高效被病变细胞摄取，从而减少药物本身的毒副作用，可以应用到各种药物透皮制剂的制备中；

第四、本发明纳米药物透皮制剂的制备方法，可以运用到各种局部治疗的药物制剂的制备及疫苗的佐剂制备中，尤其是婴幼儿血管瘤的局部治疗，可以提高肿瘤细胞摄取药物的效率，因为肿瘤细胞容易摄取颗粒状的纳米药物，一旦摄取了纳米药物，会使得肿瘤细胞的 GP 蛋白难于外排药物，直接杀死肿瘤细胞，而不至于产生耐药性。

## 附图说明

[0017] 附图 1 是普萘洛尔纳米药物的扫描电镜图。

[0018] 附图 2 是实施例 1、对比例 1 和对比例 2 所得制剂对肿瘤细胞耐药率的影响。

[0019] 附图 3 是实施例 1、对比例 1 和对比例 2 所得制剂对裸鼠肿瘤体积大小的影响。

[0020] 附图 4 是实施例 1、对比例 1 和对比例 2 所得制剂对睑血管瘤的治疗情况，A 图为用药前，B 图是对比例 1 组治疗情况，C 图是对比例 2 组治疗情况，D 图为实施例 1 组治疗情况。

[0021] 附图 5 是实施例 2 所得制剂对肿瘤细胞耐药率的影响。

[0022] 附图 6 是实施例 2 所得制剂对裸鼠肿瘤体积大小的影响。

[0023] 附图 7 是实施例 6 所得制剂对肿瘤细胞耐药率的影响。

[0024] 附图 8 是实施例 6 所得制剂对裸鼠肿瘤体积大小的影响。

[0025] 附图 9 是实施例 8 所得制剂对肿瘤细胞耐药率的影响。

[0026] 附图 10 是实施例 8 所得制剂对裸鼠肿瘤体积大小的影响。

## 具体实施方式

[0027] 下面结合附图对本发明提供的具体实施方式作详细说明。

[0028] 实施例 1 普萘洛尔纳米药物水凝胶透皮制剂的制备(一)

将小分子药物普萘洛尔制备成纳米药物水凝胶透皮制剂，制备过程如下：

(1)精确称取 0.2g 普萘洛尔溶解在 10mL 水中，然后加入 1g 多孔二氧化硅纳米颗粒，搅

拌过夜使得普萘洛尔充分吸附在二氧化硅颗粒里,离心去除上清液,再充分洗涤,然后冻干形成普萘洛尔纳米药物,纳米药物的粒径为 20 ~ 500 纳米;

(2)制备聚乙烯醇(分子量 4 万)重量百分比为 12%、聚乙二醇(分子量 400)重量百分比为 1% 的水凝胶溶液;

(3)将步骤(1)制备的普萘洛尔纳米药物按照 1:1 的重量比分散在步骤(2)制备的水凝胶溶液中,同时加入终重量百分比浓度为 0.5% 的苯甲酸钠、1% 的薄荷醇和 5% 的甘油,超声混匀 2 分钟;充分混匀后放到 0 ~ 4℃ 保存,然后放到 -40 ~ -20℃ 预冻 6 小时,其中 0 ~ 4℃ 保存和 -40 ~ -20℃ 预冻步骤按顺序重复 2 次,最后再置于 0 ~ 4℃ 保存得到普萘洛尔纳米药物水凝胶透皮制剂。

#### [0029] 对比例 1 普萘洛尔水凝胶透皮制剂的制备

将小分子药物普萘洛尔直接制备成水凝胶透皮制剂,制备过程如下:

(1)制备聚乙烯醇(分子量 4 万)重量百分比为 12%、聚乙二醇(分子量 400)重量百分比为 1% 的水凝胶溶液;

(2)精确称取一定量的普萘洛尔分散在步骤(1)制备的水凝胶溶液中,确保普萘洛尔在水凝胶透皮制剂中的终浓度与实施例 1 中普萘洛尔的终浓度一样,同时加入终重量百分比浓度为 0.5% 的苯甲酸钠、1% 的薄荷醇和 5% 的甘油,超声混匀 2 分钟;充分混匀后放到 0 ~ 4℃ 保存,然后放到 -40 ~ -20℃ 预冻 6 小时,其中 0 ~ 4℃ 保存和 -40 ~ -20℃ 预冻步骤按顺序重复 2 次,最后再置于 0 ~ 4℃ 保存得到普萘洛尔水凝胶透皮制剂。

#### [0030] 对比例 2 普萘洛尔纳米药物普通水剂的制备

将小分子药物普萘洛尔制备成纳米药物普通水剂,制备过程如下:

(1)精确称取 0.2g 普萘洛尔溶解在 10mL 水中,然后加入 1g 多孔二氧化硅纳米颗粒,搅拌过夜使得普萘洛尔充分吸附在二氧化硅颗粒里,离心去除上清液,再充分洗涤,然后冻干形成普萘洛尔纳米药物,纳米药物的粒径为 20 ~ 500 纳米;

(2)将步骤(1)制备的普萘洛尔纳米药物按照 1:1 的重量比分散在水中;充分混匀后放到 0 ~ 4℃ 保存,然后放到 -40 ~ -20℃ 预冻 6 小时,其中 0 ~ 4℃ 保存和 -40 ~ -20℃ 预冻步骤按顺序重复 2 次,最后再置于 0 ~ 4℃ 保存得到普萘洛尔纳米药物普通水剂。

[0031] 对实施例 1 制备得到的普萘洛尔纳米药物水凝胶透皮制剂、对比例 1 制备得到的普萘洛尔水凝胶透皮制剂和对比例 2 制备得到的普萘洛尔纳米药物普通水剂进行形貌表征、耐药性和抗癌测试。图 1 所示为普萘洛尔纳米药物的扫描电镜图,微粒形态好,纳米药物的粒径为 20 ~ 500 纳米。实施例 1 和对比例 1 制备的药剂均匀性好,涂抹比较容易,对比例 2 制备的药剂稳定性较差,药物沉淀严重。

[0032] 肿瘤细胞耐药率的测定:将实施例 1、对比例 1 和对比例 2 制得的药物制剂与细胞培养一段时间,总的细胞个数控制在  $5 \times 10^5 \sim 20 \times 10^5$  范围内,确保各组普萘洛尔的用量一致,然后用流式细胞术检测耐药肿瘤细胞数,耐药率 = (耐药肿瘤细胞数 / 总肿瘤细胞数) × 100%。具体步骤如下:肿瘤细胞 MCF27/A 培养于含 10% (w/w) 小牛血清、1% (w/w) 青霉素、2% (w/w) 链霉素、1% (w/w) 普萘洛尔、5mg/L 阿霉素的 RPMI21640 培养液中,在 37℃、5% CO<sub>2</sub> 的条件下培养。当 MCF27/A 细胞生长到 70% ~ 80% 满底后用胰酶消化,收获在 1mL 的 EP 管中,每个 EP 管中约含  $7 \times 10^5$  个细胞。用 PBS 清洗 3 次后,离心去上清液,细胞用 FACS™ 透化溶液于避光、室温下孵育,使细胞膜更具渗透性。然后细胞液于 400g 下离心 3min,弃去

上清悬浮物。细胞用 PBS 清洗 1 次后加入 100  $\mu$  L JBS21 工作液于 37 $^{\circ}$ C 下孵育一定时间,再用 PBSBN 清洗 2 次,弃去未结合的 JBS21,避免非特异性吸附,然后添加 100  $\mu$  L GAMIF 工作液于 37 $^{\circ}$ C 孵育后,用 PBSBN 清洗 3 次,以排除 GAMIF 所造成的非特异性吸附。处理后的细胞用 1mL PBS 悬浮,4 $^{\circ}$ C 放置待检。K562/A 细胞直接收获于 1mL 的 EP 管中,后续处理同 MCF27/A 细胞。MCF27/A 的对照组细胞也同上法处理,只是不添加 JBS21 抗体而用相同体积的 PBSBN 代替。相同处理条件下的细胞均检测 2 次。结果如图 2 所示,从图中可看出,相比对比例 1 和对比例 2,实施例 1 制备的普萘洛尔纳米药物水凝胶透皮制剂的耐药率最低。

[0033] 对裸鼠的肿瘤进行用药,用棉签蘸实施例 1、对比例 1 和对比例 2 的药物制剂局部涂擦,每天 3 次,间隔 6 ~ 8 小时,观察肿瘤的体积变化。结果如图 3 所示,实施例 1 组的肿瘤体积最小。同时用于临床治疗睑血管瘤,给药方法:用棉签蘸药物制剂局部涂擦,每天 3 次,间隔 6 ~ 8 小时,结果如图 4,结果发现实施例 1 组的制剂治愈的最快,对比例的对照组仍然没有治愈好。说明实施例 1 制备的普萘洛尔纳米药物水凝胶透皮制剂的抗肿瘤效果明显优于对比例 1 和对比例 2 的制剂。

[0034] 结果表明,采用本发明方法先将药物制备成纳米药物,再进一步做成水凝胶透皮制剂可以局部给药治疗,能克服肿瘤细胞的耐药性,降低普萘洛尔全身毒副作用,抗肿瘤效果好且使用方便。

[0035] 实施例 2 普萘洛尔纳米药物水凝胶透皮制剂的制备(二)

将小分子药物普萘洛尔制备成纳米药物水凝胶透皮制剂,制备过程如下:

(1) 精确称取 10g 普萘洛尔溶解在 100mL 水中,然后加入 20g 多孔羟基磷灰石纳米颗粒,搅拌过夜使得普萘洛尔充分吸附在羟基磷灰石颗粒里,离心去除上清液,再充分洗涤,然后冻干形成普萘洛尔纳米药物,纳米药物的粒径为 20 ~ 700 纳米;

(2) 制备聚乙烯醇(分子量 4 万)重量百分比为 4%、聚乙烯醇(分子量 13.6 万)重量百分比为 4%、聚乙二醇(分子量 400)重量百分比为 2% 的水凝胶溶液;

(3) 将步骤(1)制备的普萘洛尔纳米药物按照 1:5 的重量比分散在步骤(2)制备的水凝胶溶液中,同时加入终重量百分比浓度为 0.5% 的苯甲酸钠、1% 的十四烷基硫酸钠、1.5% 的甘油和 3.5% 的丙二醇,涡旋混匀 5 分钟;充分混匀后放到 0 ~ 4 $^{\circ}$ C 保存,然后放到 -40 ~ -20 $^{\circ}$ C 预冻 4 小时,其中 0 ~ 4 $^{\circ}$ C 保存和 -40 ~ -20 $^{\circ}$ C 预冻步骤按顺序重复 3 次,最后再置于 0 ~ 4 $^{\circ}$ C 保存得到普萘洛尔纳米药物水凝胶透皮制剂。

[0036] 对实施例 2 制备得到的普萘洛尔纳米药物水凝胶透皮制剂进行耐药性和抗癌测试。肿瘤细胞耐药率和抗肿瘤效果的测定方式同实施例 1,图 5 所示为实施例 2 制备的普萘洛尔纳米药物水凝胶透皮制剂的耐药率,从图中可看出,耐药率较低。图 6 所示为对裸鼠肿瘤体积大小的影响,结果表明抗肿瘤效果较好。采用本发明方法先将药物制备成纳米药物,再进一步做成水凝胶透皮制剂可以局部给药治疗,能克服肿瘤细胞的耐药性,降低普萘洛尔全身毒副作用,抗肿瘤效果好且使用方便。

[0037] 实施例 3 普萘洛尔纳米药物水凝胶透皮制剂的制备(三)

将小分子药物普萘洛尔制备成纳米药物水凝胶透皮制剂,制备过程如下:

(1) 精确称取 10g 普萘洛尔溶解在 100mL 水中,然后加入 40g 多孔银纳米颗粒,搅拌过夜使得普萘洛尔充分吸附在银纳米颗粒里,离心去除上清液,再充分洗涤,然后冻干形成普萘洛尔纳米药物,纳米药物的粒径为 10 ~ 1000 纳米;



(2) 制备羧甲基纤维素钠重量百分比为 8%、聚乙烯醇(分子量 10 万)重量百分比为 5%、聚乙二醇(分子量 400)重量百分比为 1.5% 的水凝胶溶液；

(3) 将步骤(1) 制备的普萘洛尔纳米药物按照 1:10 的重量比分散在步骤(2) 制备的水凝胶溶液中,同时加入终重量百分比浓度为 0.5% 的苯甲酸钠、1% 的茴香脑、2% 的甘油和 1.5% 的丙二醇,涡旋混匀 4 分钟;充分混匀后放到 0~4℃ 保存,然后放到-40~-20℃ 预冻 10 小时,其中 0~4℃ 保存和-40~-20℃ 预冻步骤按顺序重复 4 次,最后再置于 0~4℃ 保存得到普萘洛尔纳米药物水凝胶透皮制剂。

#### [0038] 实施例 4 普萘洛尔纳米药物水凝胶透皮制剂的制备(四)

将小分子药物普萘洛尔制备成纳米药物水凝胶透皮制剂,制备过程如下:

(1) 精确称取 2g 普萘洛尔溶解在 10mL 水中形成药物水溶液,然后将药物水溶液转移到 10mL 浓度为 5% (w/w) 的聚乙二醇(分子量 8000) 水溶液中,充分混匀,然后在-80℃ 冰箱预冻 12 小时,之后冻干,再用二氯甲烷溶解聚乙二醇并离心除去聚乙二醇得到纳米药物,纳米药物的粒径为 50~5000 纳米;

(2) 制备聚乙烯醇(分子量 4 万)重量百分比为 12%、聚乙二醇(分子量 400)重量百分比为 1% 的水凝胶溶液;

(3) 将步骤(1) 制备的普萘洛尔纳米药物按照 1:8 的重量比分散在步骤(2) 制备的水凝胶溶液中,同时加入终重量百分比浓度为 0.5% 的苯甲酸钠、1% 的薄荷醇和 5% 的甘油,超声混匀 2 分钟;充分混匀后放到 0~4℃ 保存,然后放到-40~-20℃ 预冻 6 小时,其中 0~4℃ 保存和-40~-20℃ 预冻步骤按顺序重复 1 次,最后再置于 0~4℃ 保存得到普萘洛尔纳米药物水凝胶透皮制剂。

#### [0039] 实施例 5 普萘洛尔纳米药物水凝胶透皮制剂的制备(五)

将小分子药物普萘洛尔制备成纳米药物水凝胶透皮制剂,制备过程如下:

(1) 精确称取 10g 普萘洛尔溶解在 60mL 水中,然后与含聚乳酸-羟基乙酸-聚乙二醇浓度为 10% (w/w) 的二氯甲烷溶液搅拌混匀,再转移至聚乙烯醇浓度为 5% (w/w) 的水溶液中并进行匀浆,形成纳米药物胶束;

(2) 制备聚乙烯醇(分子量 4 万)重量百分比为 4%、聚乙烯醇(分子量 13.6 万)重量百分比为 4%、聚乙二醇(分子量 400)重量百分比为 2% 的水凝胶溶液;

(3) 将步骤(1) 制备的普萘洛尔纳米药物胶束按照 1:4 的重量比分散在步骤(2) 制备的水凝胶溶液中,同时加入终重量百分比浓度为 0.5% 的苯甲酸钠、1% 的十四烷基硫酸钠和 5% 的丙二醇,涡旋混匀 5 分钟;充分混匀后放到 0~4℃ 保存,然后放到-40~-20℃ 预冻 4 小时,其中 0~4℃ 保存和-40~-20℃ 预冻步骤按顺序重复 3 次,最后再置于 0~4℃ 保存得到普萘洛尔纳米药物水凝胶透皮制剂。

[0040] 对实施例 3、实施例 4 和实施例 5 制备得到的普萘洛尔纳米药物水凝胶透皮制剂进行耐药性和抗癌测试。肿瘤细胞耐药率和抗肿瘤效果的测定方式同实施例 1,结果表明,制备的普萘洛尔纳米药物水凝胶透皮制剂的耐药率较低,抗肿瘤效果较好。采用本发明方法先将药物制备成纳米药物,再进一步做成水凝胶透皮制剂可以局部给药治疗,能克服肿瘤细胞的耐药性,降低普萘洛尔全身毒副作用,抗肿瘤效果好且使用方便。

#### [0041] 实施例 6 普萘洛尔纳米药物软膏透皮制剂的制备(一)

将小分子药物普萘洛尔制备成纳米药物软膏透皮制剂,制备过程如下:

(1)精确称取 10g 普萘洛尔溶解在 50mL 水中,然后加入 20g 多孔交联葡聚糖纳米颗粒,搅拌过夜使得普萘洛尔充分吸附在交联葡聚糖颗粒里,离心去除上清液,再充分洗涤,然后冻干形成普萘洛尔纳米药物,纳米药物的粒径为 500 ~ 2000 纳米;

(2)取硬脂酸甘油酯、硬脂酸、凡士林、石蜡加热熔化为油相,另将甘油及水加热至 90℃,再加入十二烷基硫酸钠及羟苯乙酯溶解得到水相,水相缓缓倒入油相中,边加入边搅拌,冷凝得到软膏基质;

(3)将步骤(1)制备的普萘洛尔纳米药物按照 1:9 的重量比分散在步骤(2)制备的软膏基质中,充分混匀后得到普萘洛尔纳米药物软膏透皮制剂。

[0042] 对实施例 6 制备得到的普萘洛尔纳米药物软膏透皮制剂进行耐药性和抗癌测试。肿瘤细胞耐药率和抗肿瘤效果的测定方式同实施例 1,图 7 所示为实施例 6 制备的普萘洛尔纳米药物软膏透皮制剂的耐药率,从图中可看出,耐药率较低。图 8 所示为对裸鼠肿瘤体积大小的影响,结果表明抗肿瘤效果较好。采用本发明方法先将药物制备成纳米药物,再进一步做成软膏透皮制剂可以局部给药治疗,能克服肿瘤细胞的耐药性,降低普萘洛尔全身毒副作用,抗肿瘤效果好且使用方便。

[0043] 实施例 7 普萘洛尔纳米药物软膏透皮制剂的制备(二)

将小分子药物普萘洛尔制备成纳米药物软膏透皮制剂,制备过程如下:

(1)精确称取 8g 普萘洛尔用超细粉粉碎仪器磨碎,得到粒径为 500 ~ 2000 纳米的普萘洛尔纳米药物;

(2)将樟脑、薄荷脑混合研磨使之共熔,然后与薄荷油、桉叶油混合均匀,另将凡士林、石蜡、蜂蜡加热至 110℃除去水分,混合后冷至 70℃,加入芳香油等搅拌,最后冷却得到软膏基质;

(3)将步骤(1)制备的普萘洛尔纳米药物按照 1:9 的重量比分散在步骤(2)制备的软膏基质中,充分混匀后得到普萘洛尔纳米药物软膏透皮制剂。

[0044] 对实施例 7 制备得到的普萘洛尔纳米药物软膏透皮制剂进行耐药性和抗癌测试,肿瘤细胞耐药率和抗肿瘤效果的测定方式同实施例 1,结果表明采用本发明方法先将药物制备成纳米药物,再进一步做成软膏透皮制剂可以局部给药治疗,能克服肿瘤细胞的耐药性,降低普萘洛尔全身毒副作用,抗肿瘤效果好且使用方便。

[0045] 实施例 8 普萘洛尔纳米药物微针透皮制剂的制备(一)

将小分子药物普萘洛尔制备成纳米药物微针透皮制剂,制备过程如下:

(1)精确称取 5g 普萘洛尔溶解在 20mL 水中,然后与含聚乳酸-羟基乙酸-聚乙二醇浓度为 5% (w/w) 的二氯甲烷溶液搅拌混匀,再转移至聚乙烯醇浓度为 5% (w/w) 的水溶液中并进行匀浆,形成纳米药物胶束;

(2)将步骤(1)制备的普萘洛尔纳米药物胶束按照 1:4 的重量比分散在聚乙烯醇微针溶液中,混合均匀后浇制在微针模具里,然后放到 -80℃ 预冻 10 小时,再转移至 4℃ 冰箱中解冻,反复 3 次,最后干燥得到普萘洛尔纳米药物微针透皮制剂。

[0046] 对实施例 7 制备得到的普萘洛尔纳米药物微针透皮制剂进行耐药性和抗癌测试。肿瘤细胞耐药率和抗肿瘤效果的测定方式同实施例 1,图 9 所示为实施例 8 制备的普萘洛尔纳米药物微针透皮制剂的耐药率,从图中可看出,耐药率较低。图 10 所示为对裸鼠肿瘤体积大小的影响,结果表明抗肿瘤效果较好。采用本发明方法先将药物制备成纳米药物,再进

一步做成微针透皮制剂可以局部给药治疗,能克服肿瘤细胞的耐药性,降低普萘洛尔全身毒副作用,抗肿瘤效果好且使用方便。

#### [0047] 实施例 9 普萘洛尔纳米药物微针透皮制剂的制备(二)

将小分子药物普萘洛尔制备成纳米药物微针透皮制剂,制备过程如下:

(1) 精确称取 20mg 普萘洛尔制备成多糖普萘洛尔纳米颗粒,多糖纳米颗粒的制备详见中国专利:申请号 200610029127.1,专利名称为“低温水相-水相乳液制备蛋白质-多糖玻璃体缓释微球的方法”;

(2) 将步骤(1)制备的普萘洛尔纳米药物按照 1:4 的重量比分散在含有 10% (w/w) 空心微针、2.5% (w/w) 甘油和 0.5% (w/w) 苯甲酸钠的水溶液中,混合均匀后浸泡 10 个小时,然后冻干得到普萘洛尔纳米药物微针透皮制剂。

[0048] 对实施例 9 制备得到的普萘洛尔纳米药物微针透皮制剂进行耐药性和抗癌测试,肿瘤细胞耐药率和抗肿瘤效果的测定方式同实施例 1,结果表明采用本发明方法先将药物制备成纳米药物,再进一步做成微针透皮制剂可以局部给药治疗,能克服肿瘤细胞的耐药性,降低普萘洛尔全身毒副作用,抗肿瘤效果好且使用方便。

#### [0049] 实施例 10 生长素纳米药物水凝胶透皮制剂的制备

将大分子药物生长素制备成纳米药物水凝胶透皮制剂,制备过程如下:

(1) 精确称取 10g 生长素溶解在 100mL 水中,然后加入 40g 多孔羟基磷灰石纳米颗粒,搅拌过夜使得生长素充分吸附在羟基磷灰石纳米颗粒里,离心去除上清液,再充分洗涤,然后冻干形成生长素纳米药物,纳米药物的粒径为 500 ~ 1000 纳米;

(2) 制备羧甲基纤维素钠重量百分比为 8%、聚乙烯醇(分子量 10 万)重量百分比为 5%、聚乙二醇(分子量 400)重量百分比为 1.5% 的水凝胶溶液;

(3) 将步骤(1)制备的生长素纳米药物按照 1:10 的重量比分散在步骤(2)制备的水凝胶溶液中,同时加入终重量百分比浓度为 0.5% 的苯甲酸钠、1% 的茴香脑、2% 的甘油和 1.5% 的丙二醇,涡旋混匀 4 分钟;充分混匀后放到 0 ~ 4℃ 保存,然后放到 -40 ~ -20℃ 预冻 10 小时,其中 0 ~ 4℃ 保存和 -40 ~ -20℃ 预冻步骤按顺序重复 4 次,最后再置于 0 ~ 4℃ 保存得到生长素纳米药物水凝胶透皮制剂。

#### [0050] 实施例 11 生长素纳米药物软膏透皮制剂的制备

将大分子药物生长素制备成纳米药物软膏透皮制剂,制备过程如下:

(1) 精确称取 10g 生长素溶解在 50mL 水中,然后加入 20g 多孔交联葡聚糖纳米颗粒,搅拌过夜使得生长素充分吸附在交联葡聚糖颗粒里,离心去除上清液,再充分洗涤,然后冻干形成生长素纳米药物,纳米药物的粒径为 500 ~ 2000 纳米;

(2) 取硬脂酸甘油酯、硬脂酸、凡士林、石蜡加热熔化为油相,另将甘油及水加热至 90℃,再加入十二烷基硫酸钠及羟苯乙酯溶解得到水相,水相缓缓倒入油相中,边加入边搅拌,冷凝得到软膏基质;

(3) 将步骤(1)制备的生长素纳米药物按照 1:9 的重量比分散在步骤(2)制备的软膏基质中,充分混匀后得到生长素纳米药物软膏透皮制剂。

#### [0051] 实施例 12 生长素纳米药物微针透皮制剂的制备

将大分子药物生长素制备成纳米药物微针透皮制剂,制备过程如下:

(1) 精确称取 5g 生长素溶解在 20mL 水中,然后与含聚乳酸-羟基乙酸-聚乙二醇浓度

为 5% (w/w) 的二氯甲烷溶液搅拌混匀,再转移至聚乙烯醇浓度为 5% (w/w) 的水溶液中并进行匀浆,形成生长素纳米药物胶束;

(2) 将步骤(1) 制备的生长素纳米药物胶束按照 1:4 的重量比分散在聚乙烯醇微针溶液中,混合均匀后浇制在微针模具里,然后放到-80℃预冻 10 小时,再转移至 4℃冰箱中解冻,反复 3 次,最后干燥得到生长素纳米药物微针透皮制剂。

[0052] 以上所述仅是本发明的优选实施方式,应当指出,对于本技术领域的普通技术人员,在不脱离本发明方法的前提下,还可以做出若干改进和补充,这些改进和补充也应视为本发明的保护范围。

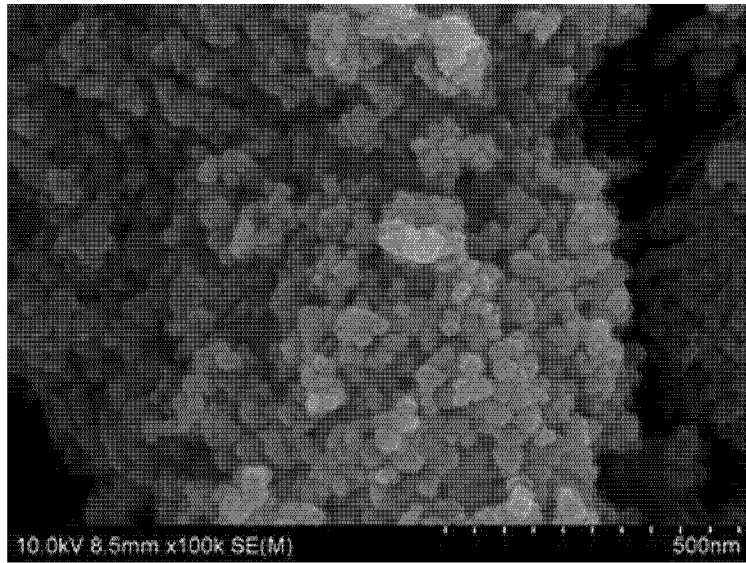


图 1

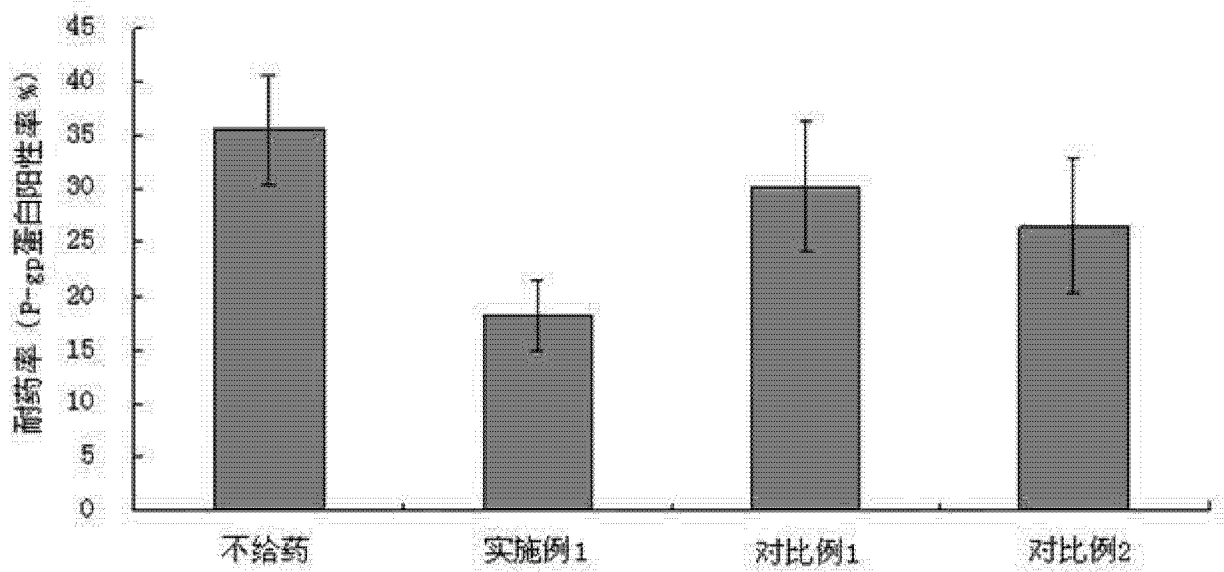


图 2

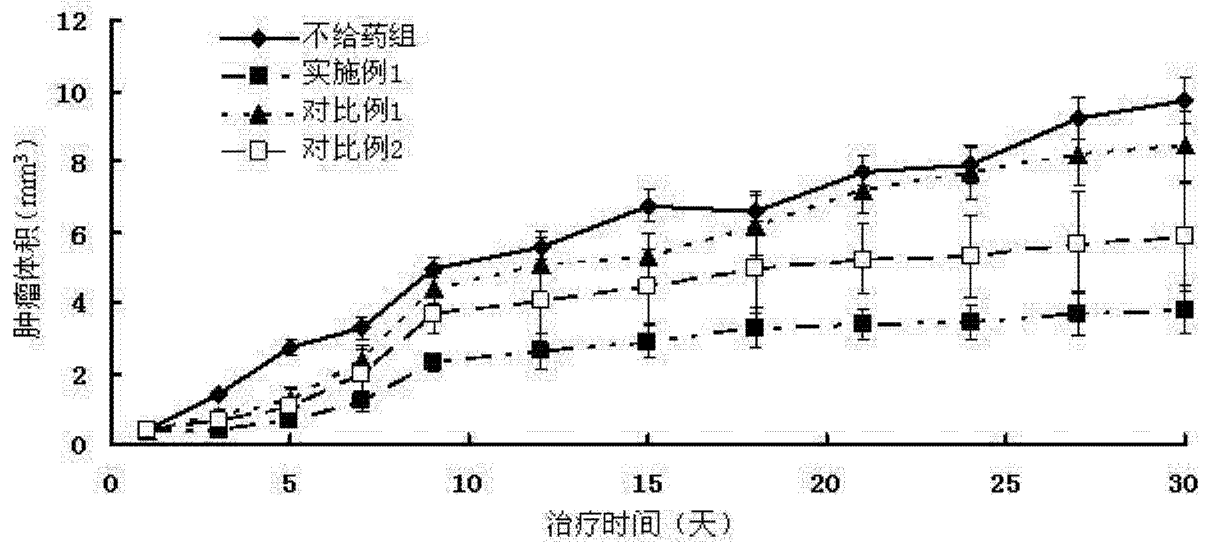


图 3

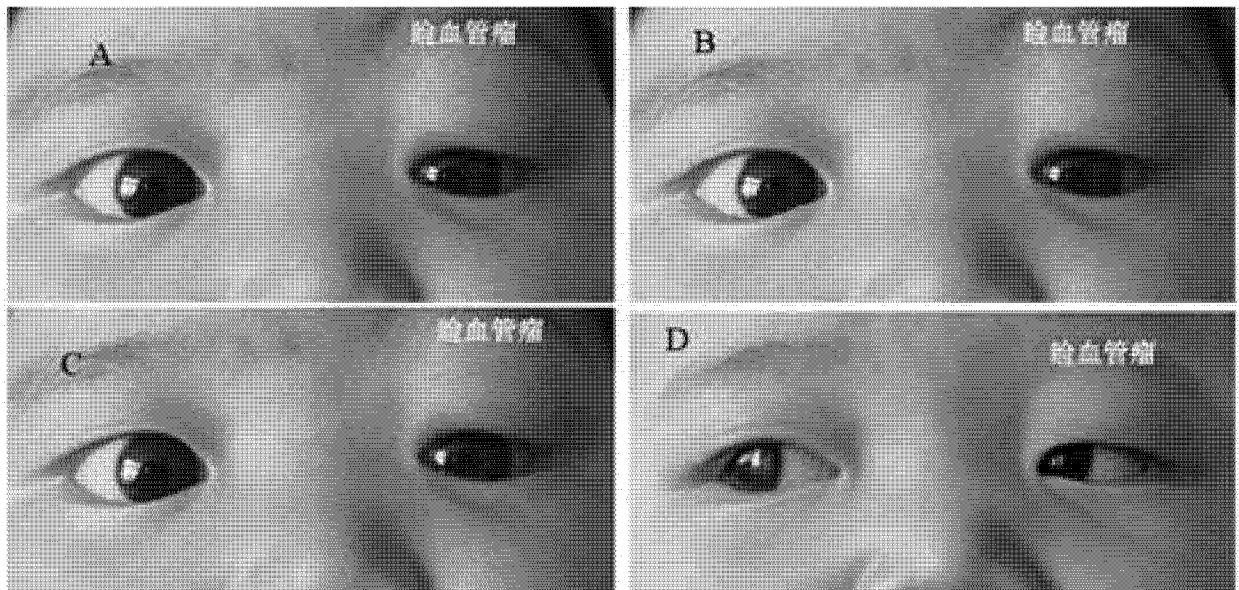


图 4

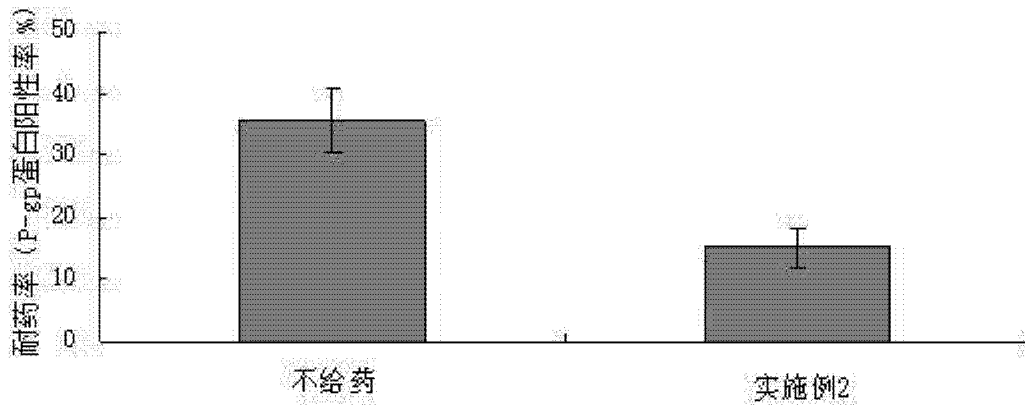


图 5

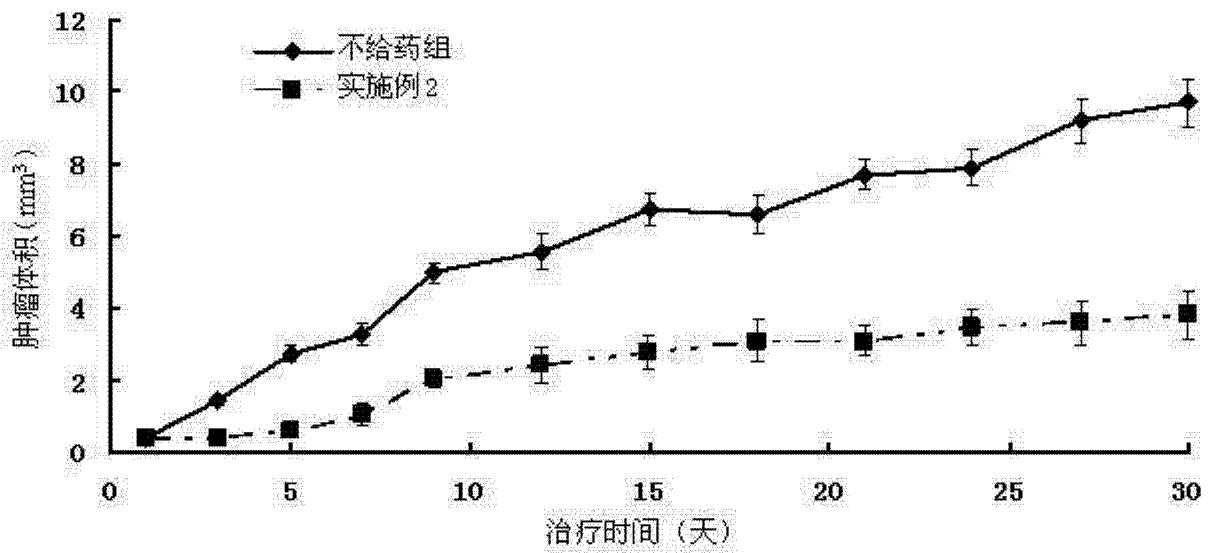


图 6

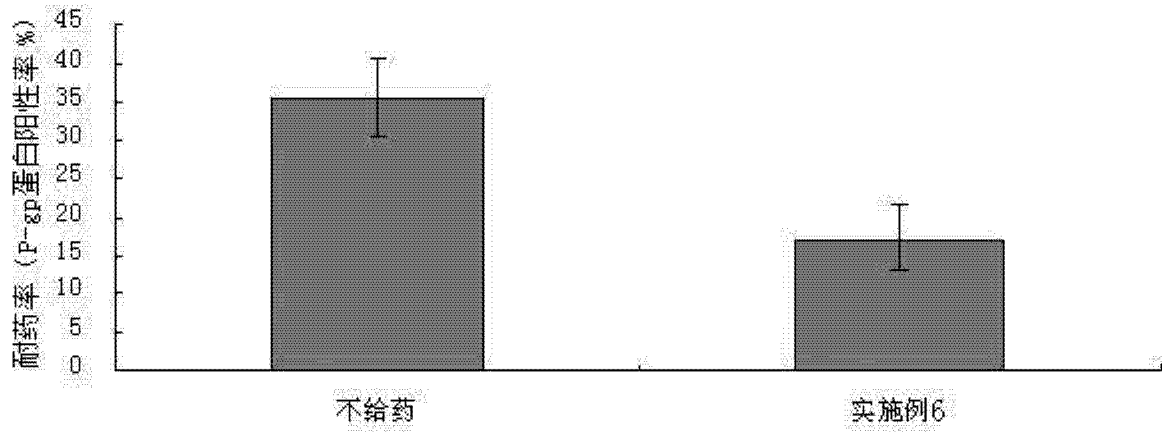


图 7

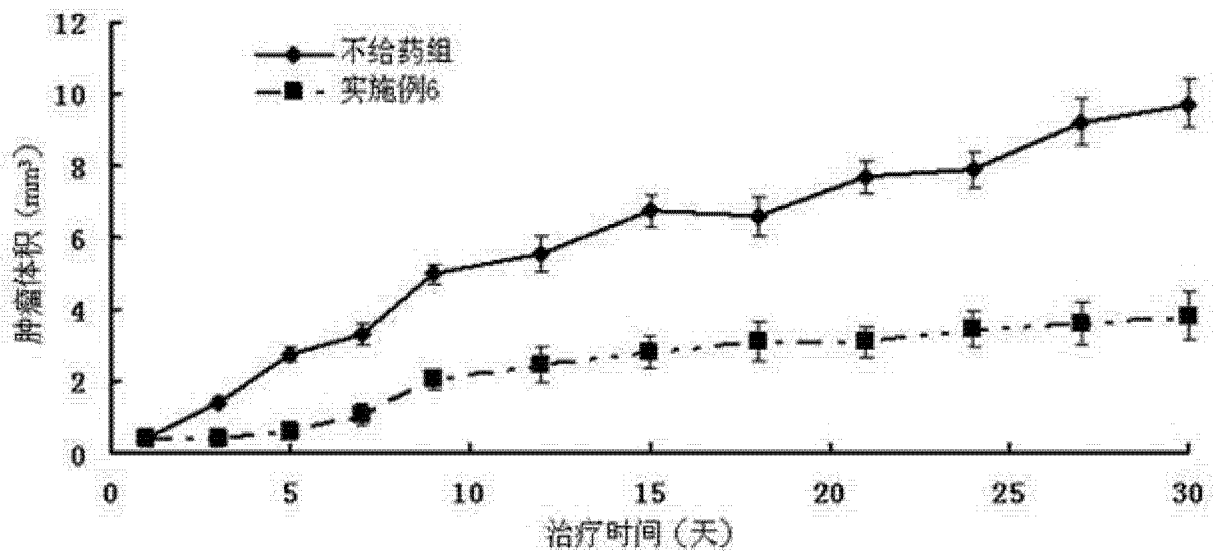


图 8



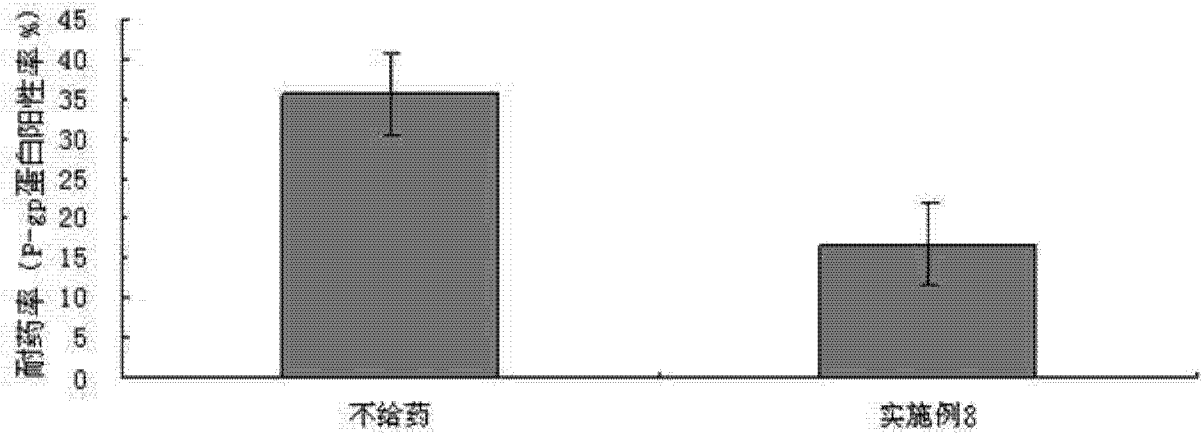


图 9

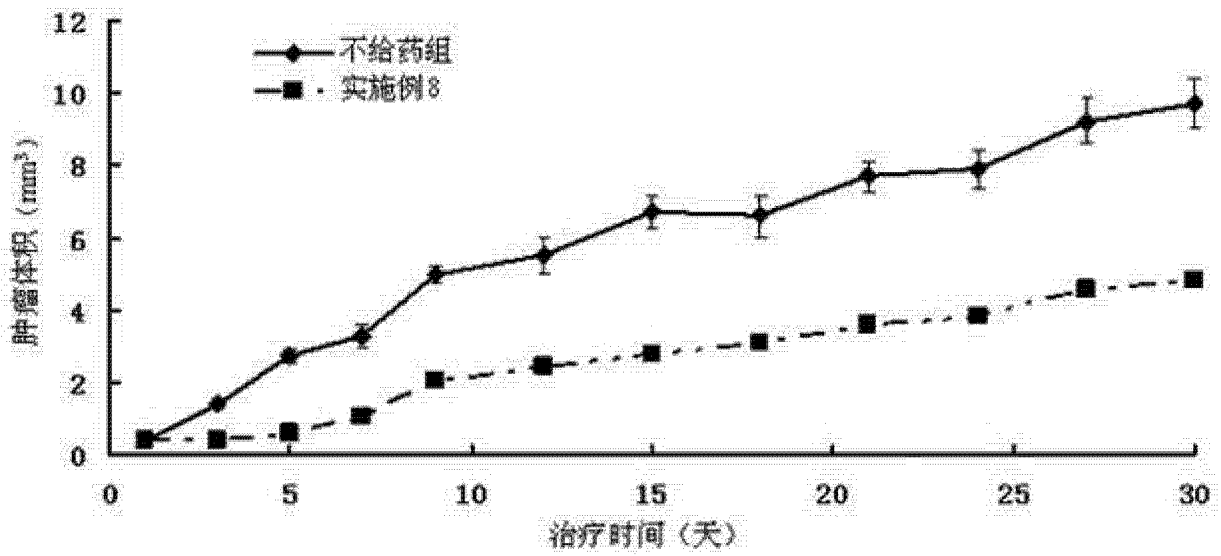


图 10