



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 117338722 A

(43) 申请公布日 2024.01.05

(21) 申请号 202310170504.7

(22) 申请日 2023.02.27

(71) 申请人 北京大学深圳医院(北京大学深圳  
临床医学院)

地址 518000 广东省深圳市福田区莲花路  
1120号

(72) 发明人 陈琪 郑洁 胡国信 黄嘉宝

(74) 专利代理机构 深圳领道知识产权代理事务  
所(普通合伙) 44857

专利代理师 刘丽敏

(51) Int. Cl.

A61K 9/127 (2006.01)

A61K 33/44 (2006.01)

A61K 47/24 (2006.01)

A61P 1/16 (2006.01)

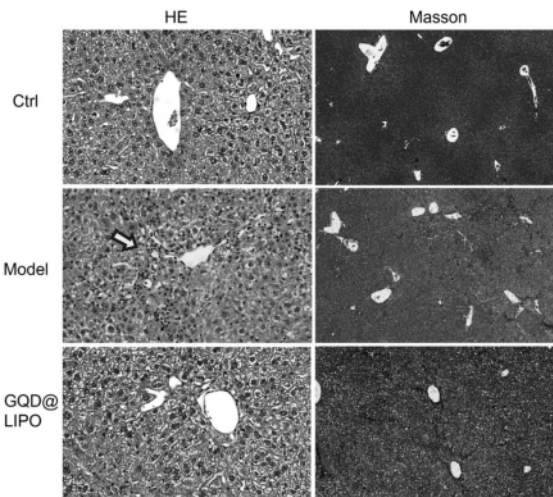
权利要求书1页 说明书4页 附图3页

(54) 发明名称

用于治疗肝纤维化的石墨烯量子点脂质体  
及其制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种用于治疗肝纤维化的石  
墨烯量子点脂质体及其制备方法,该石墨烯量子  
点脂质体,包括石墨烯量子点溶液、二硬脂酰磷  
脂酰胆碱及聚乙二醇磷脂,石墨烯量子点溶液作  
为抗肝纤维化药效成分,二硬脂酰磷脂酰胆碱作  
为载体材料;聚乙二醇磷脂作为膜修饰剂,并与  
所述二硬脂酰磷脂酰胆碱形成脂质膜,所述石  
墨烯量子点负载于所述脂质膜内形成石墨烯量子  
点脂质体。本发明的石墨烯量子点脂质体,根据  
纳米粒子体内富集于肝的特性,将石墨烯量子点  
包裹于脂质纳米粒子内,解决肝靶向性差的问  
题,并保证了生物安全性,达到增强治疗肝纤维  
化效应的目的。



1. 一种用于治疗肝纤维化的石墨烯量子点脂质体,其特征在于,包括:  
石墨烯量子点溶液,作为抗肝纤维化药效成分;  
二硬脂酰磷脂酰胆碱,作为载体材料;  
聚乙二醇磷脂,作为膜修饰剂,并与所述二硬脂酰磷脂酰胆碱形成脂质膜,所述石墨烯量子点负载于所述脂质膜内形成石墨烯量子点脂质体。
2. 根据权利要求1所述的用于治疗肝纤维化的石墨烯量子点脂质体,其特征在于,所述石墨烯量子点溶液、二硬脂酰磷脂酰胆碱、聚乙二醇磷脂的体积比为1:80~120:20~50。
3. 根据权利要求1所述的用于治疗肝纤维化的石墨烯量子点脂质体,其特征在于,所述石墨烯量子点溶液包括PBS缓冲液和添加至所述PBS缓冲液中的石墨烯量子点,每1ml所述PBS缓冲液中添加的所述石墨烯量子点为0.8~1.5mg。
4. 根据权利要求1所述的用于治疗肝纤维化的石墨烯量子点脂质体,其特征在于,所述二硬脂酰磷脂酰胆碱的浓度为15~25mg/ml,所述聚乙二醇磷脂的浓度为20~30mg/ml。
5. 根据权利要求1所述的用于治疗肝纤维化的石墨烯量子点脂质体,其特征在于,所述脂质膜为双层脂质膜。
6. 一种石墨烯量子点脂质体的制备方法,其特征在于,包括:  
配置石墨烯量子点溶液,每1ml PBS缓冲液中添加的石墨烯量子点0.8~1.5mg;  
配置浓度5~25mg/ml的二硬脂酰磷脂酰胆碱溶液,以及浓度20~30mg/ml的聚乙二醇磷脂溶液备用;  
按照二硬脂酰磷脂酰胆碱、聚乙二醇磷脂体积比80~120:20~50,在试管加入二硬脂酰磷脂酰胆碱溶液和聚乙二醇磷脂溶液;  
将试管中的有机溶剂吹干,并在吹干后对试管进行抽真空;  
抽真空结束后,在试管中加入石墨烯量子点溶液,石墨烯量子点溶液与二硬脂酰磷脂酰胆碱的体积比为1:80~120,用封口膜将试管的管口封闭,再超声设备进行超声水化,直至试管内的材料完全悬于PBS缓冲液。
7. 根据权利要求6所述的石墨烯量子点脂质体的制备方法,其特征在于,还包括:在超声水化之后,使用超滤管滤除未包裹在脂质纳米粒子内的石墨烯量子点。
8. 根据权利要求6所述的石墨烯量子点脂质体的制备方法,其特征在于,配置二硬脂酰磷脂酰胆碱溶液以及聚乙二醇磷脂溶液包括:  
称量一定量的二硬脂酰磷脂酰胆碱和聚乙二醇磷脂粉末;  
将二硬脂酰磷脂酰胆碱和聚乙二醇磷脂粉末分别通过氯仿溶解。
9. 根据权利要求6所述的石墨烯量子点脂质体的制备方法,其特征在于,所述将试管中的有机溶剂吹干,并在吹干后对试管进行抽真空包括:  
先将试管转移至通风厨,用氮气气流吹试管中的有机溶剂直至吹干,再将吹干的试管转移至真空瓶中,利用真空设备对真空瓶抽真空1.5至3小时。

## 用于治疗肝纤维化的石墨烯量子点脂质体及其制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于药物制剂技术领域,具体涉及一种用于治疗肝纤维化的石墨烯量子点脂质体及其制备方法。

### 背景技术

[0002] 病毒性肝炎、酒精肝、脂肪肝等慢性肝病可引发肝纤维化,如未接受正确的抗纤维化治疗,每年约3-6%患者可发展为肝硬化。这些患者病情多反复,预后极差。近年研究发现石墨烯量子点可缓解肝损伤。但是,石墨烯量子点粒径较小,易通过肾排出,肝靶向性差,限制其治疗肝纤维化的效应。

### 发明内容

[0003] 本发明旨在至少在一定程度上解决相关技术中的技术问题之一。为此,本发明的目的在于提出一种用于治疗肝纤维化的石墨烯量子点脂质体及其制备方法。

[0004] 为实现上述目的,根据本发明的第一个方面,本发明提供的用于治疗肝纤维化的石墨烯量子点脂质体,包括:

[0005] 石墨烯量子点溶液,作为抗肝纤维化药效成分;

[0006] 二硬脂酰磷脂酰胆碱,作为载体材料;

[0007] 聚乙二醇磷脂,作为膜修饰剂,并与所述二硬脂酰磷脂酰胆碱形成脂质膜,所述石墨烯量子点负载于所述脂质膜内形成石墨烯量子点脂质体。

[0008] 根据本发明的一个实施例,所述石墨烯量子点溶液、二硬脂酰磷脂酰胆碱、聚乙二醇磷脂的体积比为1:80~120:20~50。

[0009] 根据本发明的一个实施例,所述石墨烯量子点溶液包括PBS缓冲液和添加至所述PBS缓冲液中的石墨烯量子点,每1m<sup>1</sup>所述PBS缓冲液中添加的所述石墨烯量子点为0.8~1.5mg。

[0010] 根据本发明的一个实施例,所述二硬脂酰磷脂酰胆碱的浓度为15~25mg/ml,所述聚乙二醇磷脂的浓度为20~30mg/ml。

[0011] 根据本发明的一个实施例,所述脂质膜为双层脂质膜。

[0012] 根据本发明的第二个方面,本发明提供的石墨烯量子点脂质体的制备方法,包括:

[0013] 配置石墨烯量子溶液,每1m<sup>1</sup> PBS缓冲液中添加的石墨烯量子点0.8~1.5mg;

[0014] 配置浓度5~25mg/ml的二硬脂酰磷脂酰胆碱溶液,以及浓度20~30mg/ml的聚乙二醇磷脂溶液备用;

[0015] 按照二硬脂酰磷脂酰胆碱、聚乙二醇磷脂体积比80~120:20~50,在试管加入二硬脂酰磷脂酰胆碱溶液和聚乙二醇磷脂溶液;

[0016] 将试管中的有机溶剂吹干,并在吹干后对试管进行抽真空;

[0017] 抽真空结束后,在试管中加入石墨烯量子溶液,石墨烯量子点溶液与二硬脂酰磷脂酰胆碱的体积比为1:80~120,用封口膜将试管的管口封闭,再超声设备进行超声水化,

直至试管内的材料完全悬于PBS缓冲液。

[0018] 根据本发明的一个实施例,还包括:在超声水化之后,使用超滤管滤除未包裹在脂质纳米粒子内的石墨烯量子点。

[0019] 根据本发明的一个实施例,配置二硬脂酰磷脂酰胆碱溶液以及聚乙二醇磷脂溶液包括:

[0020] 称量一定量的二硬脂酰磷脂酰胆碱和聚乙二醇磷脂粉末;

[0021] 将二硬脂酰磷脂酰胆碱和聚乙二醇磷脂粉末分别通过氯仿溶解。

[0022] 根据本发明的一个实施例,所述将试管中的有机溶剂吹干,并在吹干后对试管进行抽真空包括:

[0023] 先将试管转移至通风厨,用氮气气流吹试管中的有机溶剂直至吹干,再将吹干的试管转移至真空瓶中,利用真空设备对真空瓶抽真空1.5至3小时。

[0024] 通过上述技术方案,本发明的石墨烯量子点脂质体,根据纳米粒子体内富集于肝的特性,将石墨烯量子点包裹于脂质纳米粒子内,解决肝靶向性差的问题,并保证了生物安全性,达到增强治疗肝纤维化效应的目的。

[0025] 本发明的其他特征和优点将在随后的具体实施方式部分予以详细说明。

## 附图说明

[0026] 图1是本发明中石墨烯量子点脂质体的示意图;

[0027] 图2是本发明中石墨烯量子点脂质体在透射电镜(TEM)和动态光散射仪下的结构表征图;

[0028] 图3是本发明采用石墨烯量子点脂质体进行实验治疗肝纤维化的对比效果图;

[0029] 图4本发明中采血清检测相关指标的结果图。

## 具体实施方式

[0030] 以下对本发明的具体实施方式进行详细说明。应当理解的是,此处所描述的具体实施方式仅用于说明和解释本发明,并不用于限制本发明。

[0031] 为更好发挥石墨烯量子点抗肝纤维化作用,本发明提供了一种脂质纳米粒子给药系统。根据纳米粒子体内富集于肝的特性,将石墨烯量子点包裹于脂质纳米粒子内,解决肝靶向性差的问题,并保证生物安全性,达到增强治疗肝纤维化效应的目的。

[0032] 本发明提供的用于治疗肝纤维化的石墨烯量子点脂质体,包括石墨烯量子点溶液、二硬脂酰磷脂酰胆碱及聚乙二醇磷脂。

[0033] 具体地,石墨烯量子点溶液,作为抗肝纤维化药效成分。石墨烯量子点(GQD)是以碳为基础的纳米粒子,具有优异的化学、物理和生物特性,在纳米医学也得到了应用。GQD独特的电子结构赋予了这些纳米材料强大和可调的光致发光(PL)功能,用于荧光生物成像和生物传感,高负载能力的芳香族化合物的小分子药物传递,吸收入射辐射的能力,用于光热和光动力疗法的杀灭癌症治疗。

[0034] 二硬脂酰磷脂酰胆碱(DSPC)作为载体材料。二硬脂酰磷脂酰胆碱是领域应用较为广泛的一种合成磷脂。DSPC的尾部基团是饱和烷烃链,熔点为 $-54^{\circ}\text{C}$ ,呈圆柱状形态,在脂质纳米粒中形成层状结构,使脂质纳米粒的结构更为稳定。

[0035] 聚乙二醇磷脂(DSPE-PEG2000),作为膜修饰剂,并与所述二硬脂酰磷脂酰胆碱形成脂质膜,所述石墨烯量子点负载于所述脂质膜内形成石墨烯量子点脂质体。优选地,所述脂质膜为双层脂质膜。

[0036] DSPE-PEG2000是一种PEG化磷脂,PEG化磷脂对脂质纳米粒的特性有着多重影响,PEG化磷脂的用量影响着脂质纳米粒的粒径和电位,减少粒子聚集而提高脂质纳米粒的稳定性,延长粒子的循环时间,表面的官能团可以用配体修饰,提高靶向递送能力。DSG-PEG2000是中性磷脂,饱和烷基链的长度长,从脂质纳米粒中更快地分离,利于细胞对纳米粒的摄取和内涵体逃逸,递送效率高。

[0037] 优选地,石墨烯量子点溶液、二硬脂酰磷脂酰胆碱、聚乙二醇磷脂的体积比为1:80~120:20~50。二硬脂酰磷脂酰胆碱的浓度为15~25mg/ml,所述聚乙二醇磷脂的浓度为20~30mg/ml。二硬脂酰磷脂酰胆碱及聚乙二醇磷脂的用量影响脂质纳米粒的特性,采用上述体积比及浓度,可以确保该石墨烯量子点脂质体具有良好的靶向递送能力及效率。

[0038] 在本发明的一个实施例中,石墨烯量子点溶液包括PBS缓冲液和添加至所述PBS缓冲液中的石墨烯量子点,每1ml所述PBS缓冲液中添加的所述石墨烯量子点为0.8~1.5mg。

[0039] 本实施例中,将石墨烯量子点加入至PBS缓冲液中配置石墨烯量子点溶液,PBS缓冲液具有盐平衡、可调整的适宜pH缓冲作用,并且不会破坏生物蛋白的结构及生物特性,在平衡PH值的同时,能够保证石墨烯量子点、二硬脂酰磷脂酰胆碱、聚乙二醇磷脂完整的特性,通过超声薄膜分散的方法制备优质的脂质体纳米粒子。

[0040] 本发明还提供了一种石墨烯量子点脂质体的制备方法,包括以下步骤:

[0041] 1)配置石墨烯量子溶液,每1ml PBS缓冲液中添加的石墨烯量子点0.8~1.5mg。

[0042] 2)配置浓度5~25mg/ml的二硬脂酰磷脂酰胆碱溶液,以及浓度20~30mg/ml的聚乙二醇磷脂溶液备用。具体地,先称量一定量的二硬脂酰磷脂酰胆碱和聚乙二醇磷脂粉末;再将二硬脂酰磷脂酰胆碱和聚乙二醇磷脂粉末分别通过氯仿溶解。

[0043] 3)按照二硬脂酰磷脂酰胆碱、聚乙二醇磷脂体积比80~120:20~50,在试管加入二硬脂酰磷脂酰胆碱溶液和聚乙二醇磷脂溶液。

[0044] 4)将试管中的有机溶剂吹干,并在吹干后对试管进行抽真空。具体地,先将试管转移至通风厨,用氮气气流吹试管中的有机溶剂直至吹干,再将吹干的试管转移至真空瓶中,利用真空设备对真空瓶抽真空1.5至3小时。

[0045] 5)抽真空结束后,在试管中加入石墨烯量子溶液,石墨烯量子点溶液与二硬脂酰磷脂酰胆碱的体积比为1:80~120,用封口膜将试管的管口封闭,再超声设备进行超声水化,直至试管内的材料完全悬于PBS缓冲液。

[0046] 6)在超声水化之后,使用超滤管滤除未包裹在脂质纳米粒子内的石墨烯量子点。

[0047] 通过上述技术方案,本发明的石墨烯量子点脂质体,根据纳米粒子体内富集于肝的特性,将石墨烯量子点包裹于脂质纳米粒子内,解决肝靶向性差的问题,并保证了生物安全性,达到增强治疗肝纤维化效应的目的。

[0048] 实施例

[0049] 1、石墨烯量子点溶液(GQD溶液)和石墨烯量子点脂质体溶液(GQD@L I PO)的制备:

[0050] 1)石墨烯量子点溶液(GQD溶液)

[0051] 每1ml PBS缓冲液中添加的石墨烯量子点1.0mg,配置石墨烯量子溶液。

[0052] 2) 石墨烯量子点脂质体溶液(GQD@L I PO)

[0053] 精密称量一定量二硬脂酰磷脂酰胆碱(DSPC)和聚乙二醇磷脂(DSPE-PEG2000)粉末, DSPC和DSPE-PEG2000粉末分别在1.5m l EP管中用氯仿溶解,用超声清洗仪超声溶解3mi n。

[0054] 分别配置DSPC浓度为20.63mg/m l, DSPE-PEG2000浓度为26.33mg/ml备用。取灭菌好的玻璃试管若干根放置于试管架,每支试管分别加入104.3m l已配好的DSPC氯仿溶液和32.2m l已配好的DSPE-PEG2000氯仿溶液。

[0055] 将上述试管迅速转移至通风厨,用氮气调整至小气流吹试管中的有机溶剂,直至吹干,约1h。再将吹干的试管转移至真空瓶中,连接真空泵抽真空2h左右。抽真空结束后将试管取出后进行水化步骤,加入1ml石墨烯量子点(GQD)溶液(1mg GQD/m l PBS)进行水化。用封口膜将管口封闭,切勿摇晃试管,再将加入PBS的试管放置在事先加热好的60°超声清洗仪进行超声水化,直至材料完全悬于PBS缓冲液,且试管的管底没有明显残留,约5mi n。使用超滤管滤除未包裹在脂质纳米粒子内的石墨烯量子点(GQD)。

[0056] 2、石墨烯量子点脂质体表征

[0057] 如图2所示,透射电镜观察显示为球形结构(A所示),动态光散射仪检测GQD@L I PO粒径约为150nm(B所示)。

[0058] 3、肝纤维化小鼠模型治疗实验

[0059] 在肝纤维化小鼠模型治疗实验中,对照组(肝正常)、模型组(肝纤维化)、GQD@L I PO组。其中,GQD@L I PO组采用石墨烯量子点脂质体溶液(GQD@L I PO溶液)给药治疗,具体的,以2mg GQD@L I PO/kg体重每周尾静脉给药2次,共2周。

[0060] 2周治疗结束后,取肝组织切片马松染色。肝组织切片HE染色显示肝纤维化模型组有大量炎症因子入侵(图3中箭头位置),GQD@L I PO组炎症因子不明显。Masson染色分析表明GQD@L I PO组纤维化组织明显减少,表明GQD@L I PO具有治疗肝纤维化效应,如图3所示。

[0061] 采血清检测相关指标显示GQD@L I PO可一定程度恢复肝功能,同时减少肝纤维化伴随的炎症反应,如图4所示。

[0062] 本发明表明使用脂质纳米粒子载药系统递送石墨烯量子点,以每周2次、共治疗2周的治疗方案,将减轻肝纤维化程度。

[0063] 以上详细描述了本发明的优选实施方式,但是,本发明并不限于上述实施方式中的具体细节,在本发明的技术构思范围内,可以对本发明的技术方案进行多种简单变型,这些简单变型均属于本发明的保护范围。

[0064] 另外需要说明的是,在上述具体实施方式中所描述的各个具体技术特征,在不矛盾的情况下,可以通过任何合适的方式进行组合,为了避免不必要的重复,本发明对各种可能的组合方式不再另行说明。

[0065] 此外,本发明的各种不同的实施方式之间也可以进行任意组合,只要其不违背本发明的思想,其同样应当视为本发明所公开的内容。

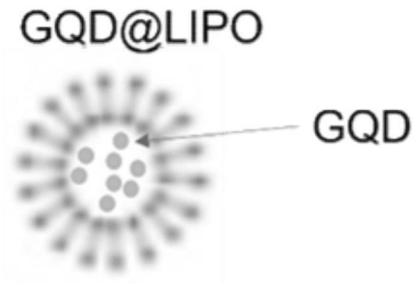


图1

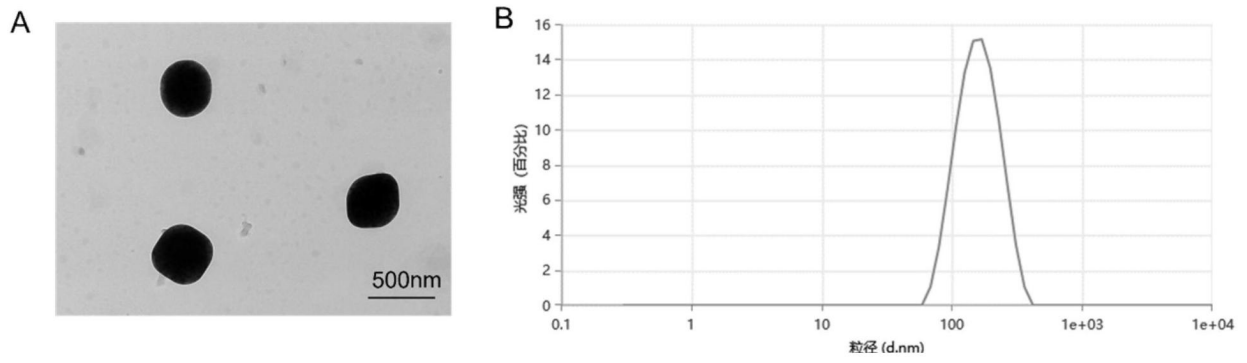


图2

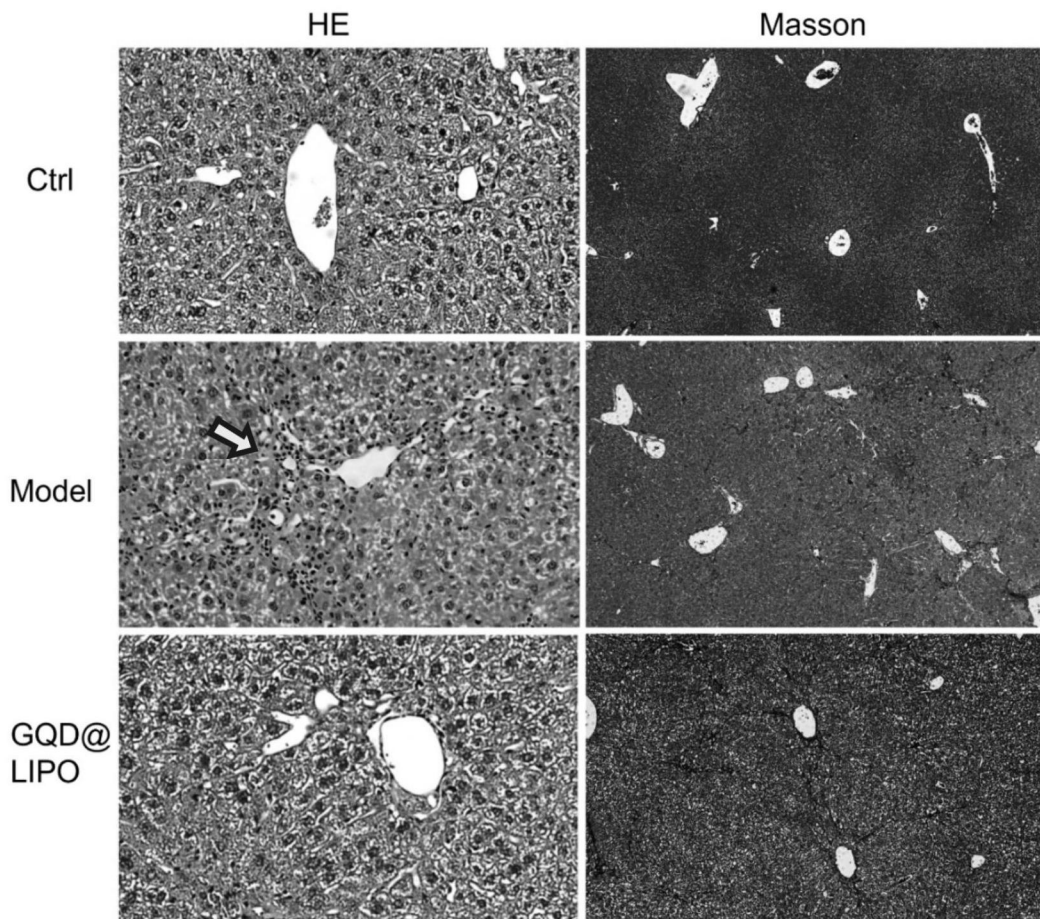


图3



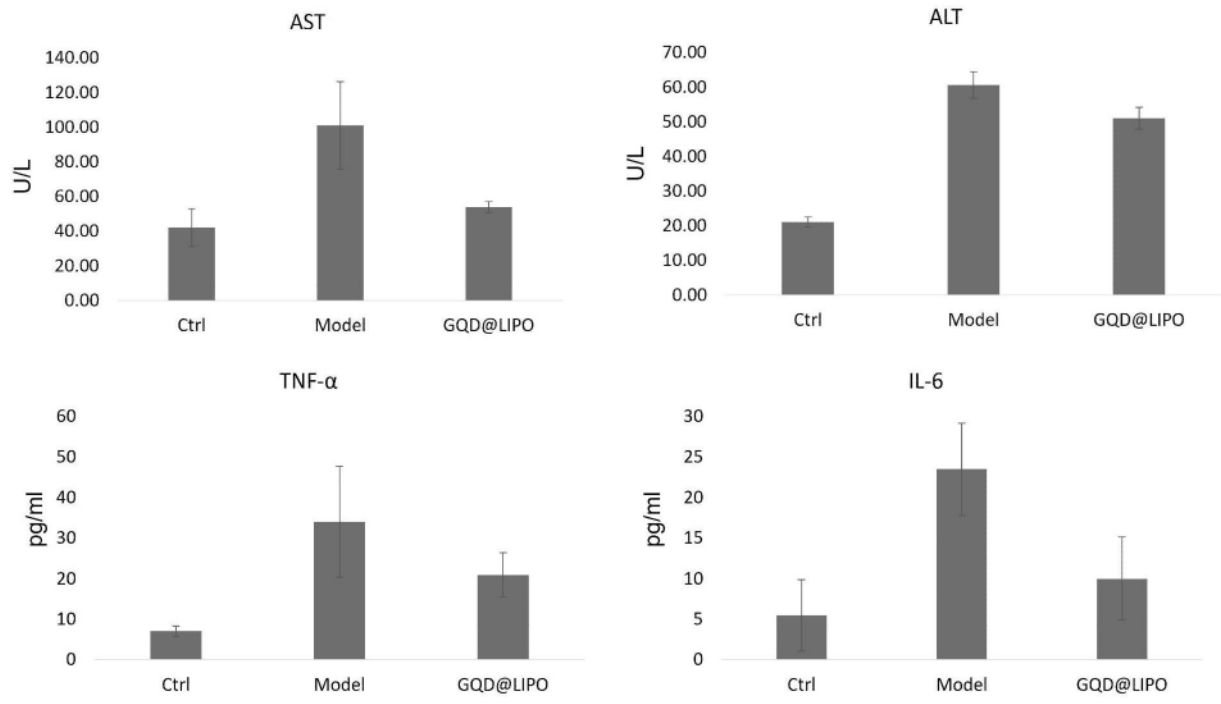


图4