(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119300864 A
(43)申请公布日 2025.01.10

(21)申请号 202380043670.9

(22)申请日 2023.03.31

(30)优先权数据
2022-060469 2022.03.31 JP

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2024.11.28

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/JP2023/013657 2023.03.31

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2023/191082 JA 2023.10.05

(71)申请人 美德阿利克斯株式会社
地址 日本香川县

(72)发明人 中江崇 三轮泰司 滨本英利 辰巳升 山县丰

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
专利代理师 梅黎 蔡晓菡

(51)Int.Cl.
A61K 47/12(2006.01)
A61K 9/08(2006.01)
A61K 47/18(2006.01)

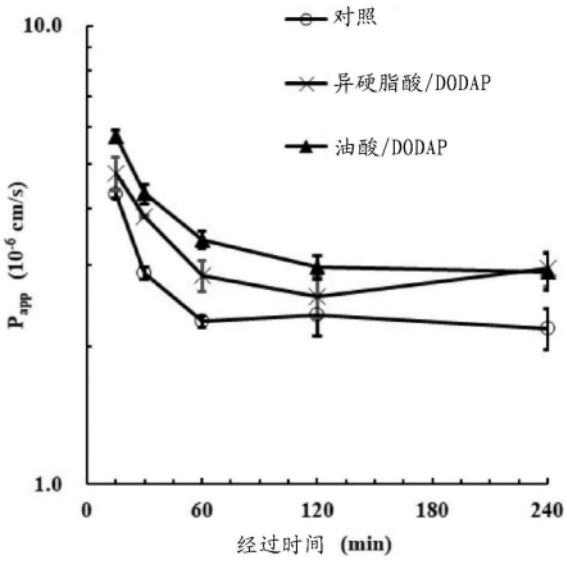
权利要求书1页 说明书14页 附图6页

(54)发明名称

改善了低溶解性和/或低膜渗透性药物的吸收性的制剂

(57)摘要

本发明提供了药物组合物以及经粘膜吸收促进剂或消化道吸收促进剂,所述药物组合物包含低溶解性和/或低膜渗透性药物和离子液体,其特征在于,该离子液体包含阴离子成分和阳离子成分,阴离子成分为油酸或异硬脂酸,阳离子成分选自阳离子性脂质;经粘膜吸收促进剂或消化道吸收促进剂包含离子液体,其特征在于,该离子液体包含阴离子成分和阳离子成分,阴离子成分为油酸或异硬脂酸,阳离子成分选自阳离子性脂质。



CN 119300864 A

1.一种药物组合物,其包含低溶解性和/或低膜渗透性药物和离子液体,其特征在于,该离子液体包含阴离子成分和阳离子成分,阴离子成分为油酸或异硬脂酸,阳离子成分选自阳离子性脂质。

2.根据权利要求1所述的组合物,其特征在于,所述阳离子性脂质为DODAP、DODMA或DOTMA。

3.根据权利要求1或2所述的药物组合物,其特征在于,阴离子成分为油酸,阳离子成分为DODAP或DODMA。

4.根据权利要求1～3中任一项所述的药物组合物,其中,低溶解性和/或低膜渗透性药物为PROTAC。

5.一种口服制剂,其包含根据权利要求1～4中任一项所述的药物组合物。

6.一种经粘膜吸收促进剂,其包含离子液体,但不包含药物,其特征在于,该离子液体包含阴离子成分和阳离子成分,阴离子成分为油酸或异硬脂酸,阳离子成分选自阳离子性脂质。

7.一种制剂,其包含低溶解性和/或低膜渗透性药物以及根据权利要求6所述的经粘膜吸收促进剂。

8.一种消化道吸收促进剂,其包含离子液体,但不包含药物,其特征在于,该离子液体包含阴离子成分和阳离子成分,阴离子成分为油酸或异硬脂酸,阳离子成分选自阳离子性脂质。

9.根据权利要求8所述的消化道吸收促进剂,其特征在于,所述阳离子性脂质为DODAP、DODMA或DOTMA。

10.根据权利要求8或9所述的消化道吸收促进剂,其特征在于,阴离子成分为油酸,阳离子成分为DODAP或DODMA。

11.一种口服制剂,其包含低溶解性和/或低膜渗透性药物以及根据权利要求8～10中任一项所述的消化道吸收促进剂。

12.根据权利要求11所述的口服制剂,其中,低溶解性和/或低膜渗透性药物为PROTAC。

改善了低溶解性和/或低膜渗透性药物的吸收性的制剂

技术领域

[0001] 本发明涉及改善了低溶解性和/或低膜渗透性药物的吸收性的制剂、以及改善低溶解性和/或低膜渗透性药物的经粘膜吸收性和消化道吸收性的经粘膜吸收促进剂和消化道吸收促进剂。详细而言,本发明涉及含有低溶解性和/或低膜渗透性药物和离子液体的、显著改善了低溶解性和/或低膜渗透性药物的吸收性的制剂、以及含有离子液体的显著改善低溶解性和/或低膜渗透性药物的经粘膜吸收性和消化道吸收性的经粘膜吸收促进剂和消化道吸收促进剂。

背景技术

[0002] 将药品作为口服制剂开发时,若不能得到充分的口服吸收性,则会导致药效评价项目的未完成等,以致于导致药品开发的延迟或中止。近年来,为了评价这样的风险,作为根据药品原料药特性推定限制口服吸收性的主要原因的方法,利用了BCS(生物药剂学分类系统,Biopharmaceutics Classification System)。在BCS中,基于药品的溶解性和膜渗透性,将化合物分类为4个等级,进行了明确各自的消化道吸收特性并用于制剂开发这样的尝试。

[0003] 具体而言,在BCS中,将在pH1.0～7.5的250mL缓冲液中的溶解性与来自消化道上皮细胞的Caco-2、MDCK细胞等的细胞膜的渗透性、或者使用了人工膜等的渗透性的膜吸收性组合,将显示高溶解性(High Solubility;HS)且高膜渗透性(High Permeability;HP)的化合物组分类为Class1(HS,HP),将显示低溶解性(Low Solubility;LS)且高膜渗透性(HP)的化合物组分类为Class2(LS,HP),将显示高溶解性(HS)且低膜渗透性(Low Permeability;LP)的化合物组分类为Class3(HS,LP),将显示低溶解性(LS)且低膜吸收性(LP)的化合物组分类为Class4(LS,LP)(非专利文献1)。特别地,显示经粘膜、消化道等的吸收性低的低溶解性和/或低膜吸收性的化合物难以作为口服制剂应用,因此这些化合物可使用的剂型受到限制。

[0004] 另一方面,在临床现场,期望有侵袭性低、对患者而言便利性高的口服制剂。然而,目前还不知道开发这些化合物的吸收性被改善了的口服制剂的有用方法。

[0005] 近年来,作为改善显示低溶解性和/或低膜渗透性的化合物的吸收性的尝试,研究了针对这样的化合物的吸收促进剂。吸收促进剂是通过直接作用于粘膜而使其结构发生变化等来促进药物吸收的化合物。迄今为止,对于包括表面活性剂、胆汁酸盐、细菌毒素、螯合剂或中链脂肪酸等的多种化合物,在体外(in vitro)和体内(in vivo)试验中,正在研究在生物膜渗透性低的分子的吸收改善方面的有效性。作为在口服制剂中实用化的吸收促进剂,存在癸酸钠(C10)和8-(2-羟基苯甲酰胺基)辛酸钠(SNAC)等,但它们主要用于GLP-1等的蛋白质制剂,其效果不能说是充分的。

[0006] 现有技术文献

[0007] 专利文献

[0008] 专利文献1:日本特开第2020-73533号公报

[0009] 专利文献2:美国专利第10278923号

[0010] 非专利文献

[0011] 非专利文献1:A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification:the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability,Pharm Res.1995Mar;12(3):413-20。

发明内容

[0012] 发明要解决的课题

[0013] 迄今为止,本发明人等开发了使用由有机阴离子和有机阳离子形成的、在常温下呈液体的盐即离子液体(IL),使低分子药物、中分子核酸、低分子肽等化合物高效地经皮吸收的多种经皮吸收制剂,得到了能够设计对于特性不同的药物最佳的离子液体这样的见解。但是,认为对于经皮吸收与消化道吸收、肠道吸收(经粘膜吸收),药物的吸收机制有很大不同,即使直接使用经皮吸收制剂中的离子液体,也不能期待吸收性的改善。

[0014] 因此,本发明的目的在于:设计促进通常极其难以利用口服施与使用的具有低溶解性和/或低膜渗透性的药物的经粘膜吸收性和消化道吸收性的离子液体,提供含有这样的药物和离子液体、且药物的吸收性显著改善了的口服制剂以及经粘膜和消化道的吸收性低的显示低溶解性和/或低膜渗透性的药物的经粘膜吸收促进剂和消化道吸收促进剂。

[0015] 用于解决课题的方案

[0016] 本发明人等研究了用于发挥对于低溶解性和/或低膜渗透性药物的肠道吸收促进效果和消化道吸收促进效果的新的离子液体。在离子液体的研究中,使用了PROTAC(例如BI-3663、VZ185)作为低溶解性和/或低膜渗透性药物的模型化合物。

[0017] 本发明人等制备了能够溶解低溶解性和/或低膜渗透性药物的各种离子液体,对于包含这些离子液体和药物的制剂,使用膜渗透性评价法评价了渗透性,所述膜渗透性评价法为人工膜渗透性评价法(PAMPA法)、以及使用了作为源于人结肠癌的细胞株、且再现了小肠的肠道功能的细胞模型的Caco2细胞的膜渗透性评价法等。作为其结果,发现通过使用特定的离子液体,低溶解性和/或低膜渗透性药物的经粘膜和消化道的吸收性得到了改善,从而完成了本发明。

[0018] 即,本发明提供了以下方式。

[0019] [项目1]一种药物组合物,其包含低溶解性和/或低膜渗透性药物和离子液体,其特征在于,该离子液体包含阴离子成分和阳离子成分,阴离子成分为油酸或异硬脂酸,阳离子成分选自阳离子性脂质。

[0020] [项目2]根据项目1所述的药物组合物,其特征在于,所述阳离子性脂质为DODAP、DODMA或DOTMA。

[0021] [项目3]根据项目1或项目2所述的药物组合物,其特征在于,阴离子成分为油酸,阳离子成分为DODAP或DODMA。

[0022] [项目4]根据项目1～项目3中任一项所述的药物组合物,其中,低溶解性和/或低膜渗透性药物为PROTAC。

[0023] [项目5]一种口服制剂,其包含项目1～项目4中任一项所述的药物组合物。

[0024] [项目6]一种经粘膜吸收促进剂(其中不包含药物),其包含离子液体,其特征在

于,该离子液体包含阴离子成分和阳离子成分,阴离子成分为油酸或异硬脂酸,阳离子成分选自阳离子性脂质。

[0025] [项目7]根据项目6所述的经粘膜吸收促进剂,其特征在于,所述阳离子性脂质为DODAP、DODMA或DOTMA。

[0026] [项目8]根据项目6或项目7所述的经粘膜吸收促进剂,其特征在于,阴离子成分为油酸,阳离子成分为DODAP或DODMA。

[0027] [项目9]一种制剂,其包含低溶解性和/或低膜渗透性药物以及根据项目6～项目8中任一项所述的经粘膜吸收促进剂。

[0028] [项目10]根据项目9所述的制剂,其中,低溶解性和/或低膜渗透性药物为PROTAC。

[0029] [项目11]一种消化道吸收促进剂(其中不包含药物),其包含离子液体,其特征在于,该离子液体包含阴离子成分和阳离子成分,阴离子成分为油酸或异硬脂酸,阳离子成分选自阳离子性脂质。

[0030] [项目12]根据项目11所述的消化道吸收促进剂,其特征在于,所述阳离子性脂质为DODAP、DODMA或DOTMA。

[0031] [项目13]根据项目11或项目12所述的消化道吸收促进剂,其特征在于,阴离子成分为油酸,阳离子成分为DODAP或DODMA。

[0032] [项目14]一种口服制剂,其包含低溶解性和/或低膜渗透性药物以及根据项目11～项目13中任一项所述的消化道吸收促进剂。

[0033] [项目15]根据项目14所述的口服制剂,其中,低溶解性和/或低膜渗透性药物为PROTAC。

[0034] 发明的效果

[0035] 根据本发明,即使是难以作为口服制剂应用的低溶解性和/或低膜渗透性药物,也能够通过显著改善其吸收性而作为口服制剂制备。另外,根据本发明的包含离子液体的经粘膜吸收促进剂或消化道吸收促进剂,能够促进低溶解性和/或低膜渗透性药物的经粘膜或消化道吸收。

[0036] 附图的简单说明

[0037] 图1表示基于PAMPA法的各种离子液体对于VZ185的吸收促进效果。对照(Control)使用了PBS。

[0038] 图2表示基于PAMPA法的各种离子液体对于BI-3663的吸收促进效果。对照(Control)使用了PBS。

[0039] 图3表示基于PAMPA法的各种离子液体对于联苯苄唑的吸收促进效果。对照(Control)使用了PBS。

[0040] 图4表示基于Caco-2细胞膜渗透性试验的各种离子液体对于VZ185的吸收促进效果(渗透系数)。对照(Control)使用了Transport Buffer(A)。

[0041] 图5表示基于Caco-2细胞膜渗透性试验的各种离子液体对于BI-3663的吸收促进效果(渗透系数)。对照(Control)使用了Transport Buffer(A)。

[0042] 图6表示基于Caco-2细胞膜渗透性试验的离子液体(油酸-DODMA)对于联苯苄唑的吸收促进效果(渗透系数)。对照(Control)使用了Transport Buffer(A)。

[0043] 图7表示基于Caco-2细胞膜渗透性试验的离子液体(异硬脂酸-DODMA)对于利托那

韦的吸收促进效果(渗透系数)。对照(Control)使用了Transport Buffer(A)。

[0044] 图8表示基于Caco-2细胞膜渗透性试验的各种离子液体对于呋塞米(furosemide)的吸收促进效果(渗透系数)。将吸收促进效果用渗透系数表示。对照(Control)使用了Transport Buffer(A)。

具体实施方式

[0045] 本发明涉及含有低溶解性和/或低膜渗透性药物和离子液体、且低溶解性和/或低膜渗透性药物的吸收性显著改善了的制剂,以及含有离子液体、且显著改善低溶解性和/或低膜渗透性药物的经粘膜吸收性和消化道吸收性的经粘膜吸收促进剂和消化道吸收促进剂。

[0046] 在本发明中,“低溶解性药物”是指显示在pH1.0～7.5为止的缓冲液250mL中溶解度为在1个单位制剂中所含的最大药物含量以下的溶解度的药物,例如包括相当于BCS中定义的低溶解性(Low Solubility(LS))的药物。例如,还包括显示对于1mL水为100μg以下的溶解度的非水溶性药物、因溶解性低而难以作为注射液使用的药物、在缓冲液或肠道液中或者在小肠内的溶解性低或完全不溶解的药物。应予说明,“低溶解性药物”作为其低溶解性的结果,经粘膜和从消化道的吸收性变低,因此有时具有作为“低膜渗透性药物”的性质。因此,在本发明中,“低溶解性药物”只要是经粘膜和消化道的吸收性低的药物,也可以为高膜渗透性。

[0047] 在本发明中,“低膜渗透性药物”是指生物膜渗透性低的药物,但可以举出例如由于存在于消化道粘膜上的粘液层的渗透性差而难以从消化道吸收的药物、难以通过与存在于粘液层的物质的相互作用而被吸收的药物、或者由于在消化道粘膜中渗透性差而难以从消化道吸收的药物、由于消化道粘液层与粘膜发生相互作用而难以口服吸收的药物、或者通过与胆汁酸形成不溶性复合体而显示难吸收性的药物。一般而言,是指通过口服施与难以递送的药物。应予说明,在本发明中,“低膜渗透性药物”只要是消化道吸收性低的药物,也可以为高溶解性。

[0048] 此外,还包括例如生物利用度(bioavailability)低的化合物,具体而言,生物利用率(extent of bioavailability)为50％以下的化合物。生物利用率可以通过以下的式子计算。

[0049] 生物利用率(％)＝100×(通过口服施与到达血液中的量)/(通过静脉施与到达血液中的量)

[0050] 这里所谓的“到达血液中的量”作为由血药浓度和横轴(时间轴)包围的部分的面积(药物的血药浓度-时间曲线下面积:AUC)而求出。

[0051] 另外,还包括通过培养细胞(Caco-2、MDCK、HT-29、LLC-PK1等)单层膜法、Immobilized Artificial Membrane chromatography(固定化人工膜色谱)法、使用分配系数的方法、核糖体膜法、PAMPA(平行人工膜渗透测定,Parallel Artificial Membrane Permeation Assay)法而判断为渗透性低的化合物。

[0052] 在本发明中,“低溶解性和/或低膜渗透性药物”是指具有上述“低溶解性药物”和“低膜渗透性药物”两者的性质的药物,例如可以举出被分类为BCS的Class4的化合物(例如PROTAC)。应予说明,由于也存在在小肠内的溶解性低,结果难以经粘膜和从消化道吸收的

“低溶解性药物”,而且也存在即使为高溶解性,消化道吸收性也低的“低膜渗透性药物”,因此“低溶解性和/或低膜渗透性药物”中也包括“低溶解性药物”或“低膜渗透性药物”。作为其例子,可举出BI-3663、VZ185、ACBI1、联苯苄唑、氢氯噻嗪、呋塞米、乙酰唑胺、磺胺甲噁唑、氯噻嗪、依那普利拉、甲苯咪唑、联苯苄唑、甲氨蝶呤、两性霉素B、利托那韦等,但不限于这些物质。

[0053] 在本发明中,低溶解性和/或低膜渗透性药物的口服吸收性的高低不应特别限定。经粘膜或在消化道的吸收性低、从而不能在口服施与中得到充分的药理效果的药物通过提高口服吸收性,能够得到期待的药理效果。另外,尽管经粘膜或在消化道的吸收性低、但在口服施与中能够得到充分的药理效果的药物通过进一步提高口服吸收性,能够减少药物的施与量,能够降低副作用。

[0054] 在本发明中,“离子液体”是指由阴离子成分和阳离子成分形成的常温粘稠液状的盐、且是熔点为100℃以下的物质、或“水合离子液体”。“水合离子液体”是指由离子液体和少量水分子形成的离子液体。离子液体能够通过将阴离子成分和阳离子成分以等摩尔量或过量在室温或加热下混合来制备。阴离子成分和阳离子成分的过量优选为10倍摩尔量以内。

[0055] 在本发明中,“阴离子成分”是指有机阴离子,例如可以举出乳酸、柠檬酸、酒石酸、琥珀酸、苹果酸、苯甲酸、乙酰丙酸、天冬氨酸、谷氨酸、辛酸、癸酸、月桂酸、肉豆蔻酸、硬脂酸、山嵛酸、异硬脂酸、油酸、花生四烯酸、二十二碳六烯酸、二十碳五烯酸、亚油酸、亚麻酸、己二酸、癸二酸等有机酸。在本发明中,阴离子成分优选为油酸和异硬脂酸等的长链脂肪酸。

[0056] 在本发明中,“阳离子成分”是指有机阳离子,例如可以举出阳离子性脂质、二乙醇胺、三乙醇胺、精氨酸、赖氨酸、甲葡胺、氨基丁三醇等有机胺、有机季铵阳离子、碱性氨基酸、氨基糖。在本发明中,阳离子成分优选为阳离子性脂质。

[0057] 阳离子性脂质大致由疏水性部分和亲水性部分构成,疏水性部分为脂肪酸残基或甾醇残基等疏水性基团,亲水性部分为氨基或铵基等阳离子性基团。特别地,在疏水性部分包含2个疏水性基团、在亲水性部分包含1个氨基或铵基等阳离子性基团的结构(2链型阳离子性脂质)广为人知。

[0058] 在本发明中,作为阳离子性脂质,可举出DODAP(1,2-二油酰基-3-二甲基氨基丙烷)、DODMA(1,2-二油酰基-3-二甲基氨基丙烷)、DOTMA(1,2-二-O-十八碳烯基-3-三甲基铵丙烷)、DLinDAP(1,2-二亚油酰基-3-二甲基氨基丙烷)或其盐等。

[0059] 本发明的离子液体包含上述阴离子成分和阳离子成分的组合,但也可以作为2种以上的混合离子液体(也包括仅阴离子成分或阳离子成分不同时的离子液体)使用。另外,对于离子液体,也可以包含水。

[0060] 在本发明中,“经粘膜吸收促进剂”是指使低溶解性和/或低膜渗透性药物等从消化道以外的口腔粘膜、直肠、阴道、鼻粘膜、肺等的粘膜的吸收性低的药物的经粘膜吸收性提高的药剂。

[0061] 在本发明中,“消化道吸收促进剂”是指使低溶解性和/或低膜渗透性药物等消化道吸收性低且口服施与不是有效的药物的消化道吸收性提高的药剂。

[0062] 本发明中的制剂可以与药学上可接受的载体组合含有。作为载体,例如可以举出

赋形剂、被膜剂、粘合剂、增量剂、崩解剂、表面活性剂、润滑剂、稀释剂、分散剂、缓冲剂、渗透压调节剂、pH调节剂、乳化剂、防腐剂、稳定剂、抗氧化剂、着色剂、紫外线吸收剂、保湿剂、增稠剂、活性增强剂、抗炎剂、杀菌剂、矫味剂、矫臭剂等。

[0063] 这些载体可以分别单独使用,另外,也可以以适当的量将2种以上组合使用。

[0064] 另外,能够制成具有水溶性包围剂的胶囊状。该水溶性包围剂是成为胶囊的皮膜的物质,通过用该水溶性包围剂密封内容液,起到防止内容液氧化等的品质保持能力,能够作为胶囊成形。

[0065] 作为胶囊成形时,也可以使用羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮等水溶性高分子成形。

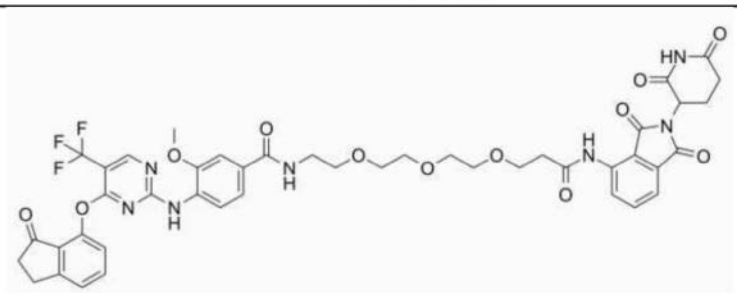
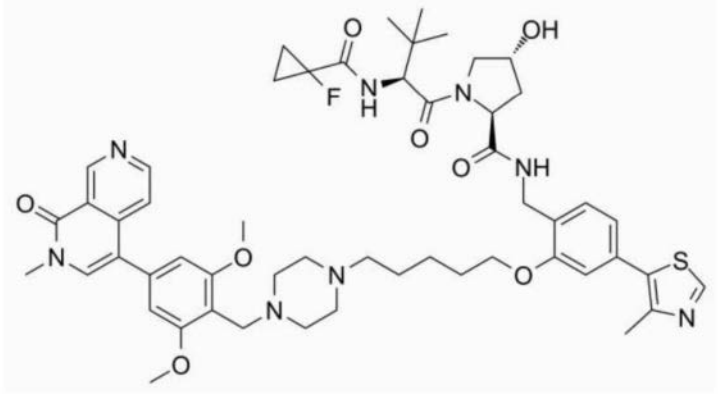
[0066] 实施例

[0067] 以下示出实施例,这些例子是为了更好地理解本发明的例子,并不限定本发明的范围。

[0068] 在以下的实施例中使用的作为低溶解性和/或低膜渗透性药物的BI-3663和VZ185的物性和结构如下表所示,但作为本发明的对象的药物不限于这些化合物。

[0069] [表1]

[0070]

	分子量	溶解性	LogP（计算值）	靶标蛋白质
BI-3663	918	< 1 μ g/ml	3.6	PTK2
VZ185	995	85 μ g/ml	5.0	BRD7/BRD9
	化学结构			
BI-3663				
VZ185				

[0071] 另外,在以下的实施例中使用的药物、联苯苄唑、利托那韦、呋塞米由东京化成工业株式会社购买。

[0072] 实施例1:基于Caco-2细胞膜渗透性试验的药物的膜渗透性的评价(1)

[0073] 为了研究促进低溶解性和/或低膜渗透性药物的肠道吸收效果的离子液体,制备

各种离子液体,在包含这些离子液体和低溶解性和/或低膜渗透性药物的组合物中,评价药物的膜渗透性。具体而言,作为低溶解性和/或低膜渗透性的模型药物,使用作为PROTAC的VZ185,对于包含各种离子液体的组合物,按照以下步骤,通过Caco-2膜渗透性试验评价药物的膜渗透性。作为对照,代替离子液体而使用了EDTA、用作吸收促进剂的SNAC、辛酸钠、油酸钠、被报道为促进胰岛素的粘膜吸收的CAGE和乳酸。

[0074] (1)Transport Buffer的制备

[0075] 将氢氧化钠(0.4g)溶解于水(100mL)中,制备0.1N NaOH溶液。将MES(2-吗啉乙磺酸,1.493g)和D-葡萄糖(2.453g)溶解于HBSS(+)(不含酚红)(600mL)中,使用0.1N NaOH溶液调节至pH6.5后,进而加入HBSS(+)(不含酚红),制成700mL。用0.22μm膜过滤器进行过滤灭菌,将其作为Transport Buffer(A)。

[0076] 接着,将HEPES(1.192g)、D-葡萄糖(1.752g)和BSA(1.25g)溶解于HBSS(+)(不含酚红)(400mL)中,使用0.1N NaOH溶液调节至pH7.4后,进而加入HBSS(+)(不含酚红),制成500mL。用0.22μm膜过滤器进行过滤灭菌,将其作为Transport Buffer(B)。

[0077] (2)试验溶液的制备

[0078] 将VZ185(1.5mg)与1%TWEEN80(1.5mL)混合,制备1mg/mL的VZ185溶液。将作为阴离子成分的各有机酸(0.05mmol)和作为阳离子成分的各阳离子性脂质(0.05mmol)与Transport Buffer(A)(4.98mL)混合,制备含有10mM各自的成分的离子液体组合物。另外,作为对照,将EDTA、SNAC、辛酸钠、油酸钠、CAGE(胆碱香叶酸)和乳酸各自以0.05mmol的量与Transport Buffer(A)(4.98mL)混合,制备10mM的对照组合物。

[0079] 将1mg/mL的VZ185溶液(25μL)和离子液体组合物或对照组合物(475μL)混合,制备50μg/mL的药物-离子液体组合物或药物-对照组合物。

[0080] 接着,将Caco-2细胞在24孔Transwell上培养3周后,在各孔的顶侧(Apical侧)添加50μg/mL的药物-离子液体组合物(100μL)、在基底侧(Basolateral侧)添加Transport Buffer(B)(600μL)后,在37℃、5%CO_2孵育器中进行孵育。在15、30、60、120和240分钟后,从各孔的基底侧采集200μL的样品,将其作为试验溶液。将Transport Buffer(B)(200μL)添加到采集样品后的各孔中,然后再次在37℃、5%CO_2孵育器中进行孵育。

[0081] 另外,使用药物-对照组合物代替药物-离子液体组合物,按照同样的方法制备对照溶液。

[0082] (3)细胞膜的完整性评价

[0083] 使用跨上皮电阻(TEER)和荧光黄(Lucifer Yellow)确认Caco-2细胞膜的完整性。

[0084] (3-1)在以下的Caco-2膜渗透性评价的操作结束前后,测定跨上皮电阻(TEER)。具体而言,在各孔的顶侧添加Transport Buffer(A)(100μL)、在基底侧添加Transport Buffer(B)(600μL)后,使用Millicell ERS-2(Merck Millipore Corporation、Darmstadt、Germany)测定各孔的TEER值。

[0085] (3-2)在以下的Caco-2膜渗透性评价的操作结束后,测定荧光黄的渗透性。具体而言,将荧光黄CH二钾盐(5.2mg)溶解于Transport Buffer(A)(100mL)中,制备100μM的荧光黄溶液,接着,在各孔的顶侧添加100μM的荧光黄溶液(100μL)、在基底侧添加Transport Buffer(B)(600μL)后,在37℃、5%CO_2孵育器中孵育,60分钟后,从各孔的基底侧采集200μL的样品,将其作为荧光强度测定用样品,将荧光强度测定用样品(100μL)和乙腈(400μL)混

合,在4℃、3000×g下离心分离5分钟后,在下表的条件下使用HPLC-FL测定上清中的荧光黄浓度。

[0086] [表2]

[0087]

HPLC系统	LC-2010C HT(岛津制作所)
荧光检测器	RF-10A XL(岛津制作所)
注射量	10μL
流速	1mL/min
激发波长(Ex)	428nm
荧光波长(Em)	538nm
分析时间	1.5分钟
洗脱液	H_2O/乙腈=1:1

[0088] (4)膜渗透性评价

[0089] 将盐酸多奈哌齐(10mg)溶解于甲醇(100mL)中,制备100μg/mL的盐酸多奈哌齐溶液。将100μg/mL的盐酸多奈哌齐溶液准确量取1mL,加入甲醇并准确定容为100mL,将其作为IS标准原液。准确量取IS标准原液2mL,加入乙腈并准确定容为200mL,将其作为IS-乙腈溶液(10ng/mL多奈哌齐/乙腈溶液)。

[0090] 将试验溶液或对照溶液(100μL)和IS-乙腈溶液(400μL)混合,在4℃、3000×g下离心分离10分钟后,在下表的条件下使用LC-MS/MS测定上清中的药物浓度。

[0091] [表3]

[0092]

HPLC 系统	LC-2040C(岛津制作所)
质谱仪	LCMS8050(岛津制作所)
柱子	ACQUITY UPLC CSH C18 (2.1 × 50 mm I.D., 1.7 μm)
柱温	40℃
注射量	5μL
流速	0.5 mL/min
分析时间	12 分钟
洗脱液	A 液: 0.1%甲酸水溶液 B 液: 0.1%甲酸/乙腈

[0093] [表4]

[0094] 时间程序

[0095]

时间(分钟)	A液(%)	B液(%)
0	97	3
1	97	3
3.5	70	30
3.6	10	90
6.5	10	90
6.6	97	3

[0096] [表5]

[0097] 多重反应监测(MRM)的设定条件

[0098]

前体离子	产物离子
996.15	309.15
919.00	442.95

[0099] 结果示于表6。TEER值以>1000Ω为基准值、荧光黄值以<1%为基准值,来作为膜的完整性评价的指标。关于膜渗透性,由测定的药物浓度、按照下述计算式计算膜渗透系数(P_{app})($x10^{6}cm/s$)。

[0100] (计算式)

[0101] 膜渗透系数(P_{app})=(dQ/dt)×{1/(A×C_0)}

[0102] dQ/dt:基底侧的累积渗透量

[0103] A:Transwell的膜面积(0.33cm^2)

[0104] C_0:顶侧的初始浓度

[0105] [表6]

[0106]

对照	TEER	荧光黄(%)	P_{app}(x10^{-6}cm/s)	
			0.5h 时间点	4h 时间点
EDTA	225	2.2%	0.8	1.2
SNAC	210	4.3%	0.7	0.7
辛酸钠	620	2.9%	1.0	4.4
油酸钠	100	0.1%	0.0	0.0
CAGE	375	2.0%	1.5	0.3
乳酸	550	0.5%	2.5	0.7
离子液体	TEER	荧光黄(%)	P_{app}(x10^{-6}cm/s)	
			0.5h 时间点	4h 时间点
癸酸-DODAP（5mM）[1]	1900	0.1%	6.6	1.3
异硬脂酸-DODAP（5mM）[1]	2500	0.1%	11.2	2.2
油酸-DODAP（5mM）[1]	5465	0.0%	8.8	1.1
油酸-精氨酸	3560	0.1%	2.7	0.3
油酸-精氨酸甲酯	670	0.4%	9.8	1.4
油酸-组氨酸甲酯	4550	0.0%	2.3	0.9
油酸-甘氨酸乙酯	1660	0.1%	3.8	0.5
油酸-甲基甘氨酸乙酯	3400	0.1%	2.8	0.5
油酸-丝氨酸甲酯	6660	0.0%	2.8	0.4
油酸-甲葡胺（1：2）[2]	3515	0.1%	3.6	0.6
油酸-氨基丁三醇	4750	0.1%	2.4	0.4
乳酸-胆碱	2150	0.3%	2.4	0.9
乳酸-三乙醇胺	1360	0.2%	4.6	1.1
乳酸-N,N-二甲氨基乙酸乙酯	400	0.9%	4.7	1.7
乳酸-脯氨酸甲酯	400	0.6%	2.1	2.0
基准值	>1000Ω	<1%		

[0107] 1:各成分以作为半量的5mM的量含有的离子液体组合物。

[0108] 2:包含10mM油酸和20mM甲葡胺的离子液体组合物。

[0109] 根据本试验结果,暗示了尽管离子液体组与对照组相比TEER值高、荧光黄(Luciffer Yellow)渗透率低,但P_{app}有高的倾向,特别是对于癸酸-DODAP、油酸-DODAP、异硬脂酸-DODAP的离子液体,药物的渗透系数明显高,长链脂肪酸与阳离子性脂质组合的离子液体的渗透促进效果显著。

[0110] 实施例2:基于Caco-2细胞膜渗透性试验的药物的膜渗透性的评价(2)

[0111] 根据实施例1的结果,暗示了长链脂肪酸与阳离子脂质组合的离子液体的渗透促进效果显著,因此针对将作为阴离子成分的DHA(C22)、EPA(C20)、花生四烯酸(C20)、异硬脂

酸(C18)、亚油酸(C18)、亚麻酸(C18)、作为阳离子成分的DODAP、DODMA和DOTMA组合的各种离子液体,对于Caco-2膜渗透性和细胞膜的完整性进行了评价。具体而言,按照与实施例1的方法相同的方法,评价了药物的膜渗透性。作为对照,使用实施例1中制备的Transport Buffer(A)代替离子液体。

[0112] 结果如下表7所示。关于膜的完整性,对于TEER值而言,>1000Ω为期望的值,对于荧光黄值而言,<1%为期望的值,因此将这些值作为基准值,将超过基准值的情况设为良好。关于膜渗透性,由测定的药物浓度按照实施例1的计算式计算出膜渗透系数(P_{app})($x10^{6}$cm/s)。

[0113] [表7]

[0114]

	TEER	荧光黄 (%)	P_{app}($x10^{-6}$cm/s)	
			0.5h 时间点	4h 时间点
对照(Transport Buffer(A))	5075	0.02%	0.3	0.4
DHA-DODAP	6340	0.02%	0.4	0.1
EPA-DODAP	6030	0.01%	0.8	0.2
花生四烯酸-DODAP	5760	0.01%	1.5	0.3
异硬脂酸*-DODMA	5850	0.01%	34.4	5.4
异硬脂酸**-DODAP	5750	0.01%	5.0	1.6
异硬脂酸**-DODMA	5360	0.01%	6.8	1.3
亚油酸-DODAP	5920	0.10%	0.2	0.1
亚麻酸-DODAP	6240	0.01%	0.6	0.2
乳酸-DODMA	6160	0.02%	0.9	0.2
乳酸-DOTMA	850	0.02%	1.1	0.5
基准值	>1000Ω	<1%		

[0115] *:异硬脂酸(支链)、**:异硬脂酸(直链)

[0116] 根据本试验结果,表明与对照相比,任何离子液体的渗透系数都高,促进了膜渗透,特别是异硬脂酸与阳离子性脂质的组合显著。

[0117] 实施例3:基于人工膜渗透性评价(PAMPA)法的药物的膜渗透性的评价(1)

[0118] 对于各种离子液体制剂,通过PAMPA法评价了低溶解性和/或低膜渗透性药物的膜渗透性。在本实验中,使用VZ185和BI-3663作为低溶解性和/或低膜渗透性药物,使用异硬脂酸-DODMA、异硬脂酸-DODAP和油酸-DODMA作为离子液体。作为对照,使用了PBS。

[0119] 具体而言,使用Parallel Artificial Membrane Permeability Assay-Skin Kit(BioAssay Systems公司制造),按照以下的步骤评价药物的膜渗透性。

[0120] (1)磷酸缓冲液(PBS)的制备

[0121] 将1个磷酸盐缓冲盐水片剂(Phosphate Buffered Saline Tablet)(Sigma)溶解于200mL水中,制备PBS。

[0122] (2)试验溶液的制备

[0123] 将VZ185(1.5mg)与1%TWEEN80(1.5mL)混合,制备1mg/mL的VZ185溶液。将作为阴离子成分的各有机酸(0.025mmol)和作为阳离子成分的阳离子性脂质(0.025mmol)与(1)中制备的PBS(4.98mL)混合,制备各成分以5mM的量含有的离子液体组合物。将1mg/mL的VZ185溶液(25μL)和离子液体组合物(475μL)混合,制备使其为50μg/mL的药物-离子液体组合物。

另外,作为对照,在PBS(475μL)中混合1mg/mL的VZ185溶液(25μL),制备50μg/mL的药物-对照溶液。

[0124] 接着,向各供体孔中添加4%卵磷脂/十二烷溶液(5μL)并静置。向各受体孔中添加PBS(300μL),而且向各供体孔中添加50μg/mL的药物-离子液体组合物(200μL)后,在37℃的恒温槽中孵育。在30分钟、240分钟和1440分钟后,从各受体孔取样300μL,将其作为试验溶液。在采样后的各受体孔(アクセプタ-ウエル)中添加PBS(300μL)后,再次在37℃的恒温槽中孵育。应予说明,对于BI-3663,也按照同样的方法制备试验溶液。

[0125] 另外,使用药物-对照溶液代替药物-离子液体组合物,按照同样的方法制备对照溶液。

[0126] (3)试验方法

[0127] 将盐酸多奈哌齐(10mg)溶解于甲醇(100mL)中,制备100μg/mL的IS溶液。将100μg/mL的IS溶液准确量取1mL,加入甲醇并准确定容至100mL,将其作为IS标准原液。准确量取IS标准原液2mL,加入乙腈并准确定容至200mL,将其作为IS-乙腈溶液(10ng/mL多奈哌齐/乙腈溶液)。

[0128] 将试验溶液或对照溶液(100μL)和IS-乙腈溶液(400μL)混合,在4℃、3000×g下离心分离10分钟后,在下表的条件下使用LC-MS/MS测定上清中的药物浓度。

[0129] [表8]

[0130]

HPLC 系统	LC-2040C(岛津制作所)
质谱仪	LCMS8050(岛津制作所)
柱子	ACQUITY UPLC CSH C18 (2.1 × 50 mm I.D., 1.7 μm)
柱温	40℃
注射量	5μL
流速	0.5 mL/min
分析时间	12 分钟
洗脱液	A 液: 0.1%甲酸水溶液 B 液: 0.1%甲酸/乙腈

[0131] [表9]

[0132] 时间程序

[0133]

时间(分钟)	A液(%)	B液(%)
0	97	3
1	97	3
3.5	70	30
3.6	10	90
6.5	10	90
6.6	97	3

[0134] [表10]

[0135] 多重反应监测(MRM)的设定条件

[0136]

药物	前体离子	产物离子
VZ185	996.15	309.15
BI-3663	919.00	442.95

[0137] 结果如图1和图2所示。根据本试验结果,表明通过使用离子液体,显著改善了VZ185和BI-3663的吸收性。

[0138] 实施例4:基于人工膜渗透性评价(PAMPA)法的药物的膜渗透性的评价(2)

[0139] 对于各种离子液体制剂,通过PAMPA法评价了低溶解性和/或低膜渗透性药物的膜渗透性。在本实验中,作为低溶解性和/或低膜渗透性药物,使用了联苯苄唑,作为离子液体,使用了异硬脂酸-DODMA、异硬脂酸-DODAP和油酸-DODMA。作为对照,使用了PBS。

[0140] 具体而言,按照与实施例3同样的方法,使用Parallel Artificial Membrane Permeability Assay-Skin Kit(BioAssay Systems公司制),评价联苯苄唑的膜渗透性。

[0141] 结果如图3所示。根据本试验结果,表明通过使用离子液体,显著改善了联苯苄唑的吸收性。

[0142] 实施例5:基于Caco-2细胞膜渗透性试验的药物的膜渗透性的评价(3)

[0143] 对于各种离子液体制剂,通过Caco-2细胞膜渗透性试验,评价了低溶解性和/或低膜渗透性药物的膜渗透性。在本实验中,使用了VZ185作为低溶解性和/或低膜渗透性药物,使用了油酸-DODMA和油酸-DODAP作为离子液体。作为对照,使用了Transport Buffer(A)。

[0144] 具体而言,根据实施例1的方法,评价了VZ185的膜渗透性。

[0145] 结果如图4所示。根据本试验结果,表明油酸-DODMA和油酸-DODAP起到了显著的消化道吸收促进效果,并且通过使用这些离子液体,VZ185的吸收性得到显著改善。

[0146] 实施例6:基于Caco-2细胞膜渗透性试验的药物的膜渗透性的评价(4)

[0147] 对于各种离子液体制剂,通过Caco-2细胞膜渗透性试验,评价了低溶解性和/或低膜渗透性药物的膜渗透性。在本实验中,使用了BI-3663作为低溶解性和/或低膜渗透性药物,使用了异硬脂酸-DODMA、油酸-DODMA和油酸-DODAP作为离子液体。作为对照,使用了Transport Buffer(A)。

[0148] 具体而言,根据实施例1的方法,评价了BI-3663的膜渗透性。

[0149] 结果如图5所示。根据本试验结果,表明异硬脂酸-DODMA、油酸-DODMA和油酸-DODAP起到了显著的消化道吸收促进效果,并且通过使用这些离子液体,BI-3663的吸收性得到显著改善。

[0150] 实施例7:基于Caco-2细胞膜渗透性试验的药物的膜渗透性的评价(5)

[0151] 对于各种离子液体制剂,通过Caco-2细胞膜渗透性试验,评价了低溶解性和/或低膜渗透性药物的膜渗透性。在本实验中,使用了联苯苄唑作为低溶解性和/或低膜渗透性药物,使用了油酸-DODMA作为离子液体。作为对照,使用了Transport Buffer(A)。

[0152] 具体而言,根据实施例1的方法,评价了联苯苄唑的膜渗透性。

[0153] 结果如图6所示。根据本试验结果,表明油酸-DODMA起到了显著的消化道吸收促进效果,并且通过使用该离子液体,联苯苄唑的吸收性得到显著改善。

[0154] 实施例8:基于Caco-2细胞膜渗透性试验的药物的膜渗透性的评价(6)

[0155] 对于各种离子液体制剂,通过Caco-2细胞膜渗透性试验,评价了低溶解性和/或低膜渗透性药物的膜渗透性。在本实验中,使用了利托那韦(几乎不溶于水的低溶解性药物)

作为低溶解性和/或低膜渗透性药物,使用了异硬脂酸-DODMA作为离子液体。作为对照,使用了Transport Buffer(A)。

[0156] 具体而言,根据实施例1的方法,评价了利托那韦的膜渗透性。

[0157] 结果如图7所示。根据本试验结果,表明异硬脂酸-DODMA起到了显著的消化道吸收促进效果,并且通过使用该离子液体,利托那韦的吸收性得到显著改善。

[0158] 实施例9:基于Caco-2细胞膜渗透性试验的药物的膜渗透性的评价(7)

[0159] 对于各种离子液体制剂,通过Caco-2细胞膜渗透性试验,评价了低溶解性和/或低膜渗透性药物的膜渗透性。在本实验中,使用了呋塞米(几乎不溶于水的低溶解性药物)作为低溶解性和/或低膜渗透性药物,使用了异硬脂酸-DODAP和油酸-DODAP作为离子液体。作为对照,使用了Transport Buffer(A)。

[0160] 具体而言,根据实施例1的方法,评价了呋塞米的膜渗透性。

[0161] 结果如图8所示。根据本试验结果,表明异硬脂酸-DODAP和油酸-DODAP起到了显著的消化道吸收促进效果,并且通过使用这些离子液体,呋塞米的吸收性得到显著改善。

[0162] 根据上述试验结果,表明通过使用离子液体,低溶解性和/或低膜渗透性药物的吸收性得到显著改善。

[0163] 产业上的可利用性

[0164] 根据本发明,即使是难以作为口服制剂应用的低溶解性和/或低膜渗透性药物,也能够通过显著改善其吸收性而作为口服制剂制备。另外,根据本发明的包含离子液体的经粘膜吸收促进剂或消化道吸收促进剂,能够促进低溶解性和/或低膜渗透性药物的经粘膜或消化道吸收。

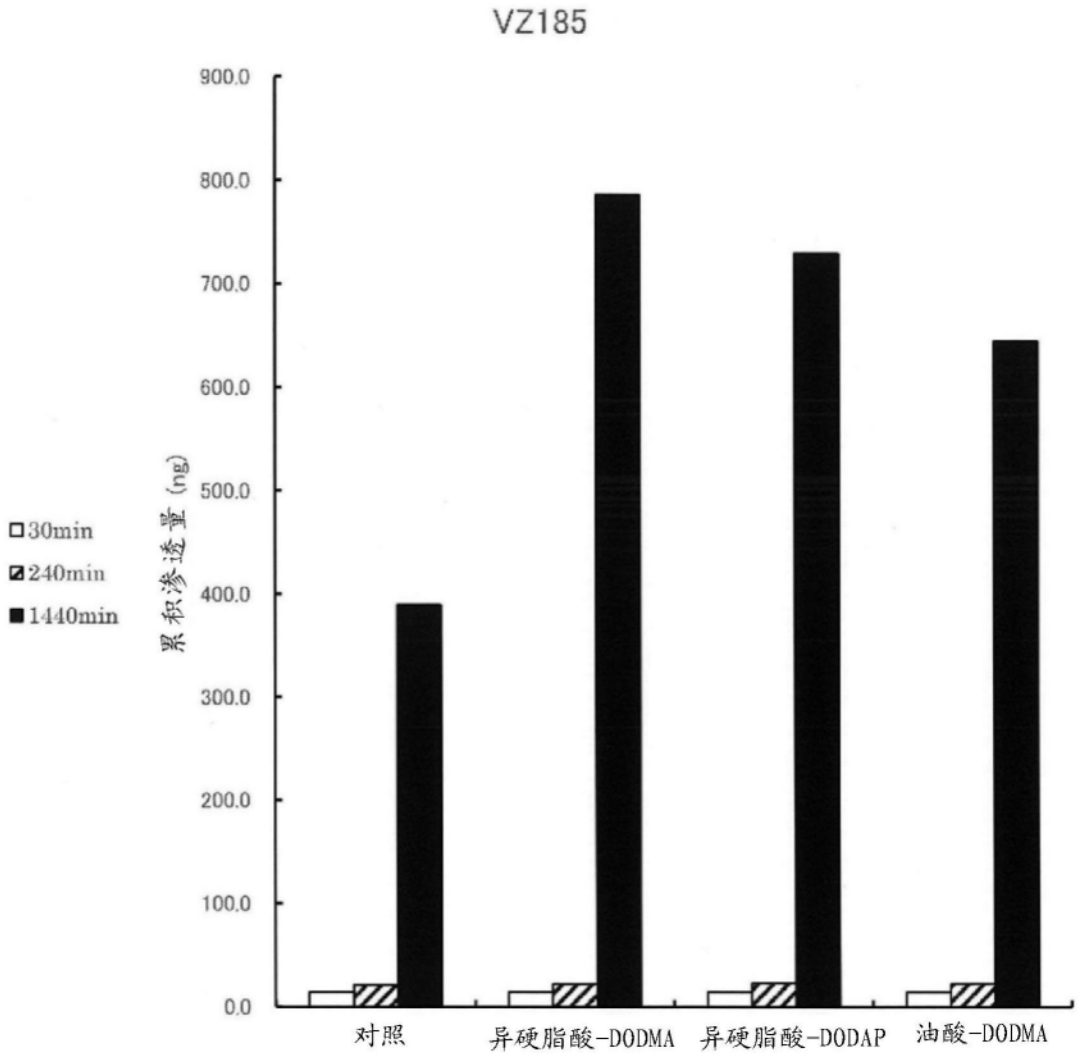

VZ185
900.0
800.0
700.0
600.0
500.0
400.0
300.0
200.0
100.0
0.0
累积渗透量 (ng)
30min
240min
1440min
对照
异硬脂酸-DODMA
异硬脂酸-DODAP
油酸-DODMA

图1

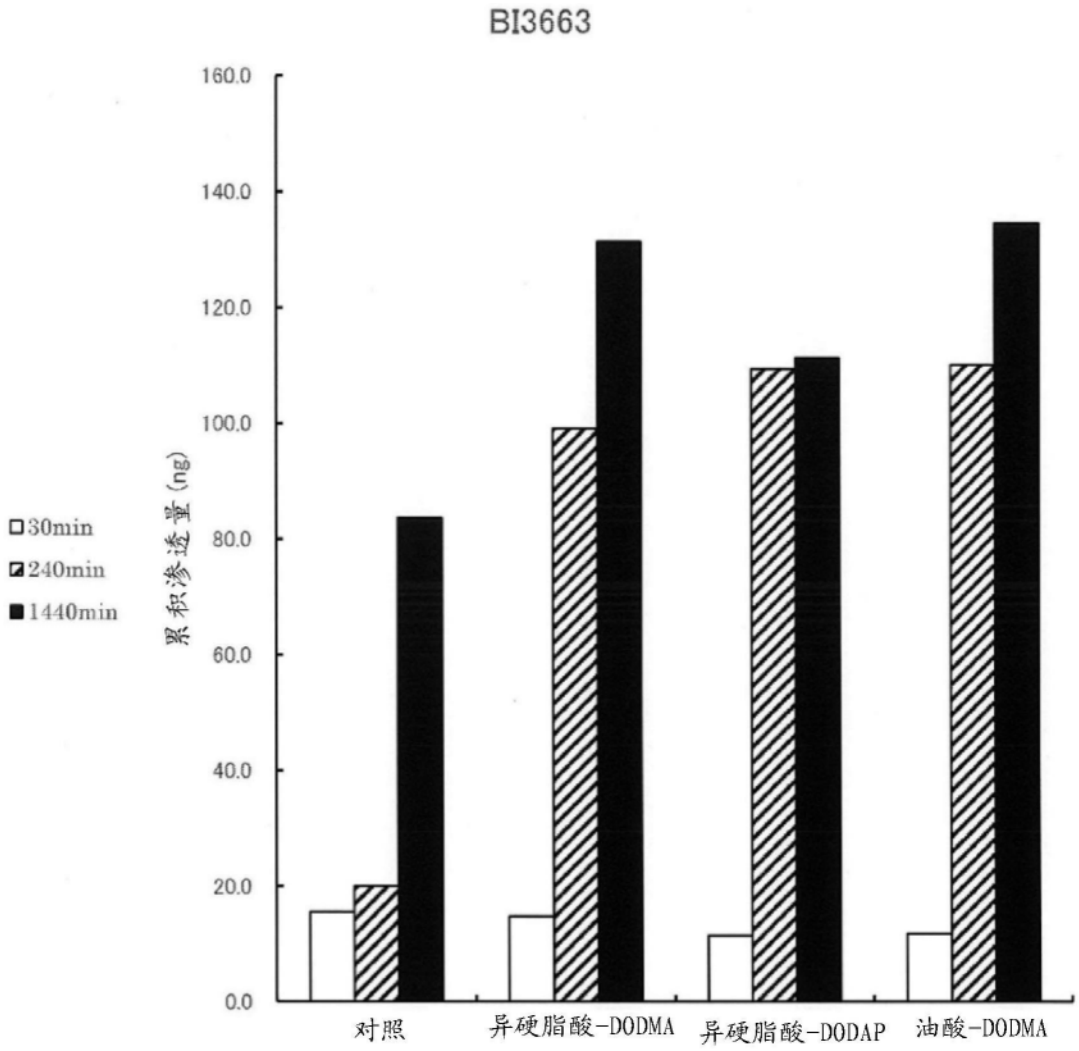

BI3663
160.0
140.0
120.0
100.0
80.0
60.0
40.0
20.0
0.0
累积渗透量(ng)
30min
240min
1440min
对照
异硬脂酸-DODMA
异硬脂酸-DODAP
油酸-DODMA

图2

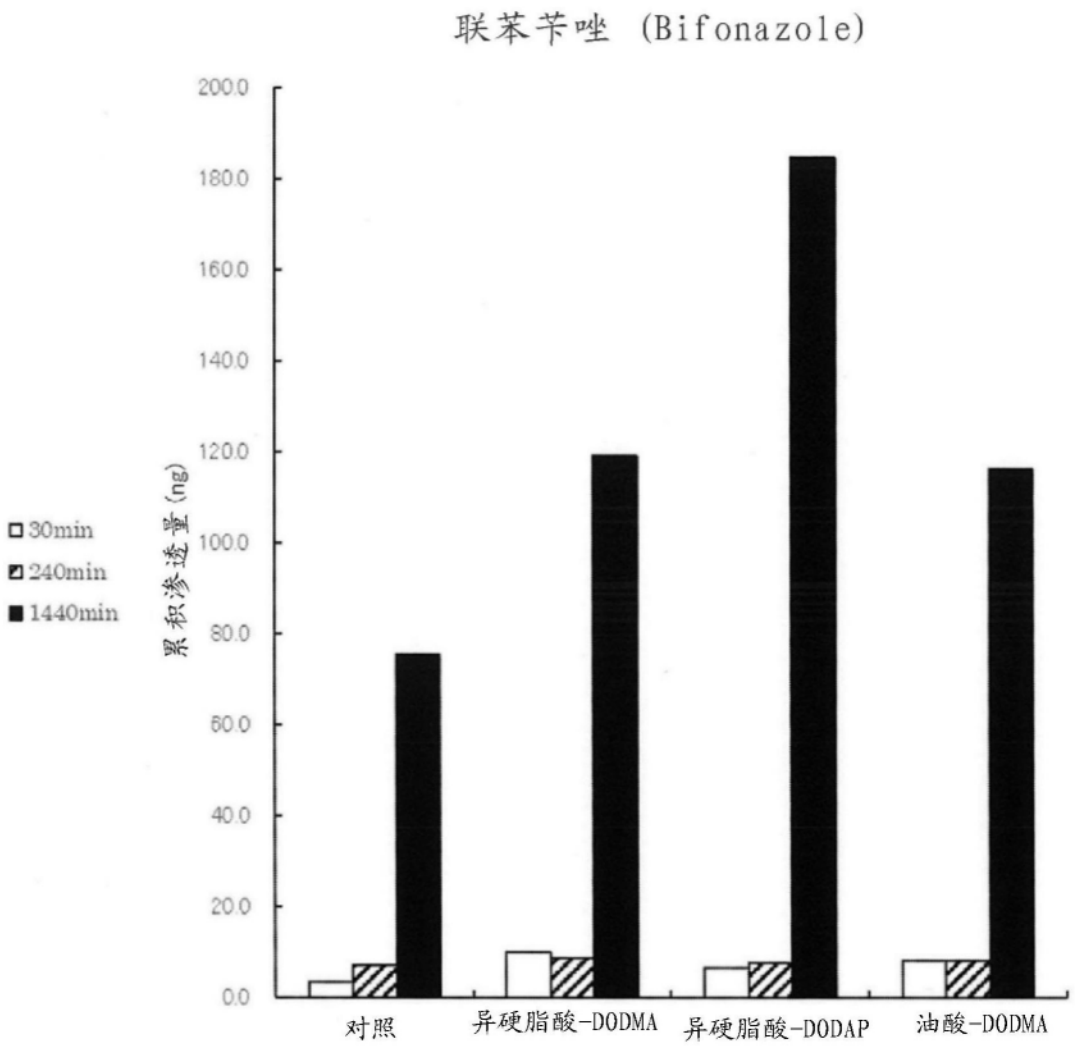

联苯苄唑 (Bifonazole)
累积渗透量(ng)
200.0
180.0
160.0
140.0
120.0
100.0
80.0
60.0
40.0
20.0
0.0
30min
240min
1440min
对照
异硬脂酸-DODMA
异硬脂酸-DODAP
油酸-DODMA

图3

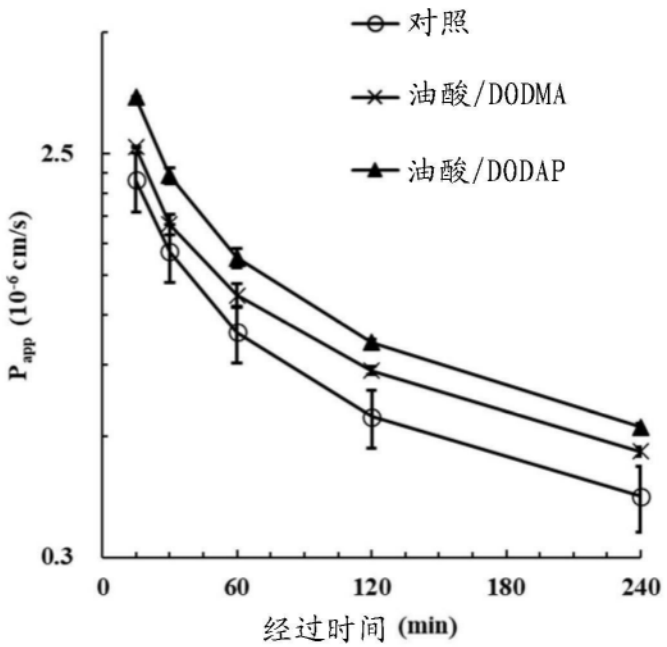

对照
油酸/DODMA
油酸/DODAP
2.5
0.3
P_{app} (10^{-6} cm/s)
0
60
120
180
240
经过时间 (min)

图4

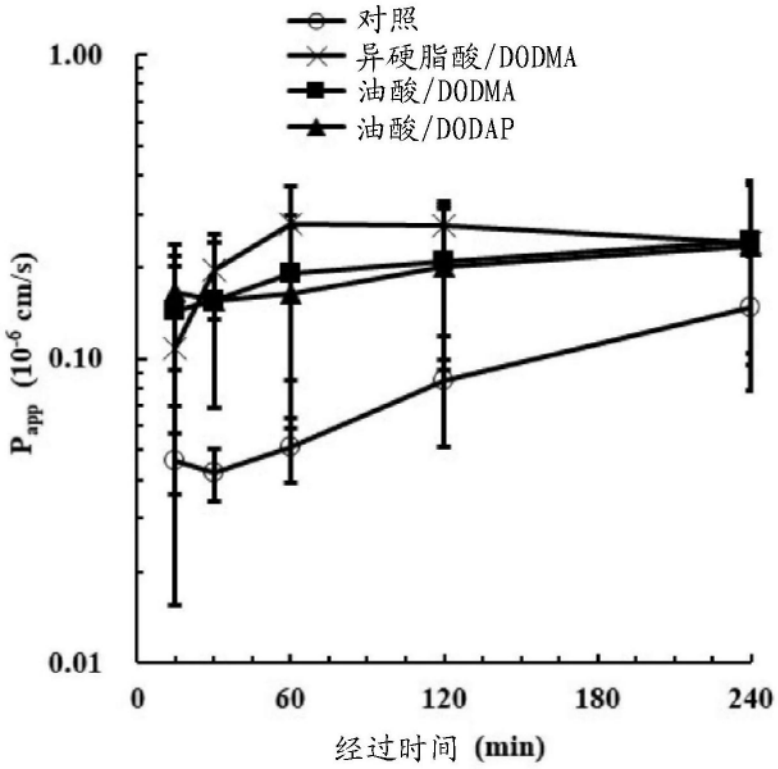

对照
异硬脂酸/DODMA
油酸/DODMA
油酸/DODAP
1.00
0.10
0.01
P_{app} (10^{-6} cm/s)
0
60
120
180
240
经过时间 (min)

图5

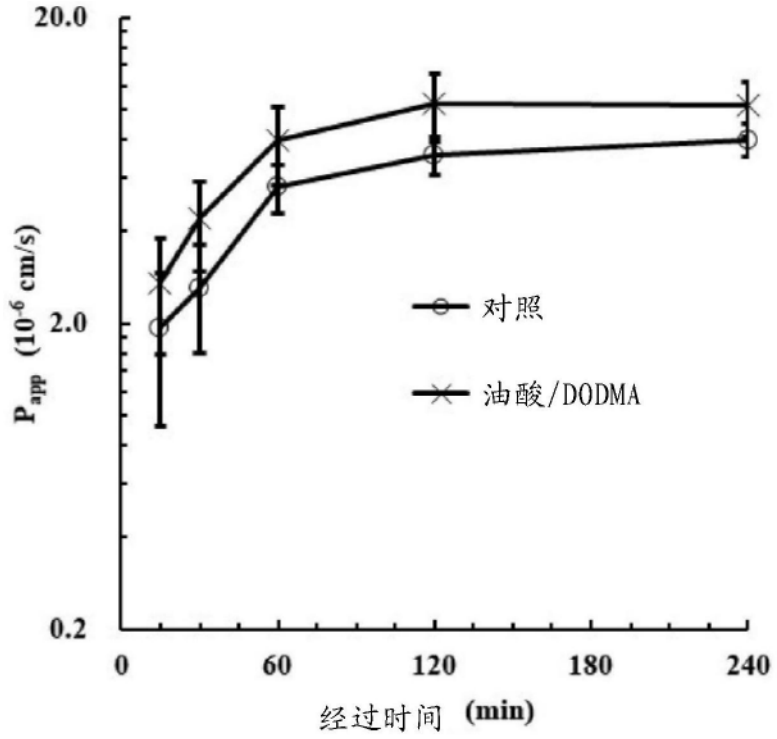

20.0
2.0
0.2
P_{app} (10^{-6} cm/s)
对照
油酸/DODMA
0
60
120
180
240
经过时间 (min)

图6

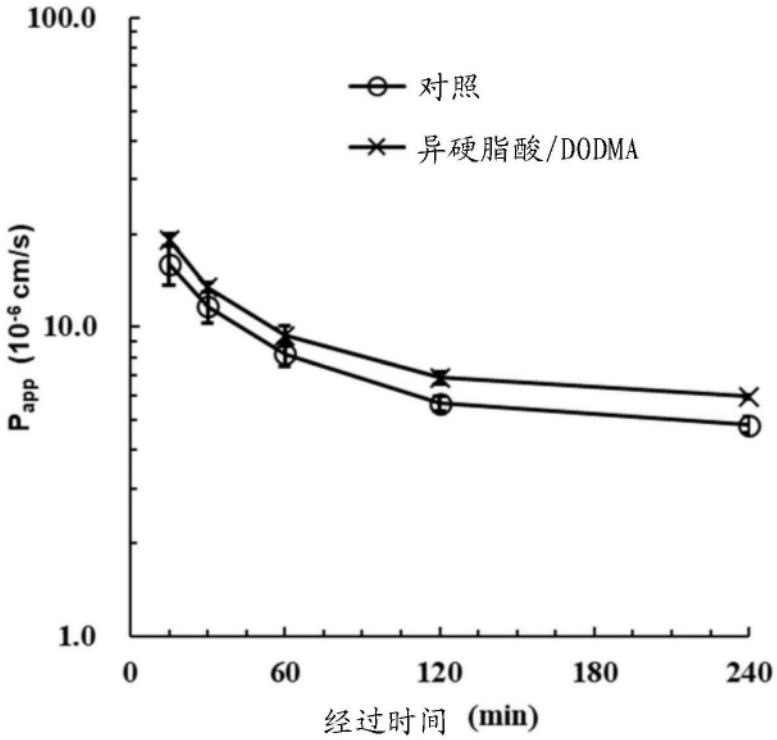

100.0
10.0
1.0
P_{app} (10^{-6} cm/s)
对照
异硬脂酸/DODMA
0
60
120
180
240
经过时间 (min)

图7

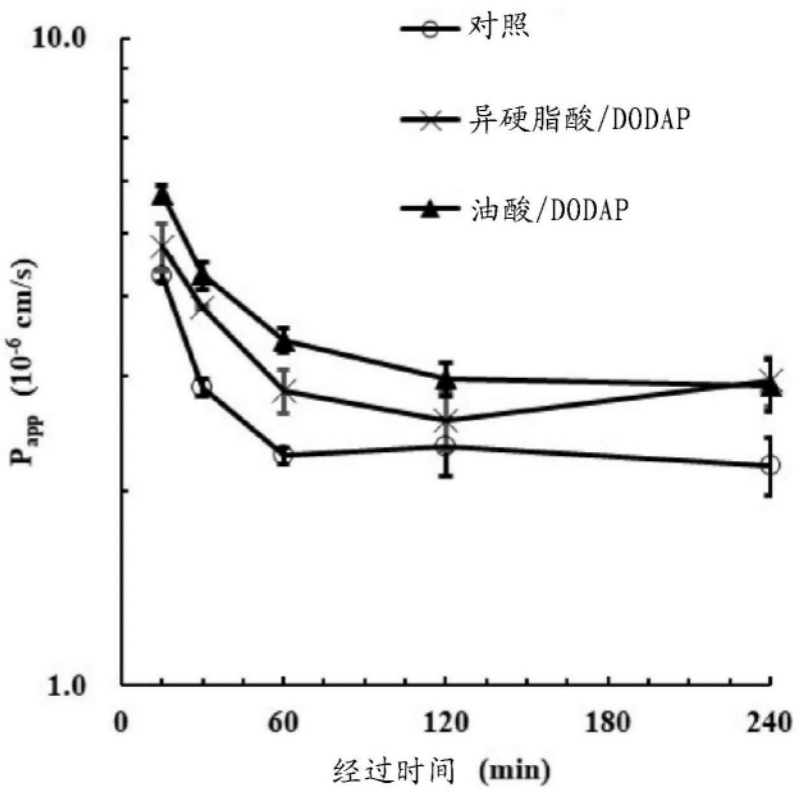

对照
异硬脂酸/DODAP
油酸/DODAP
10.0
1.0
P_{app} (10^{-6} cm/s)
0
60
120
180
240
经过时间 (min)

图8