

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200780032742.0

[51] Int. Cl.

A61K 31/5575 (2006.01)

A61K 9/10 (2006.01)

A61K 47/12 (2006.01)

A61K 47/24 (2006.01)

A61P 1/00 (2006.01)

A61P 5/00 (2006.01)

[43] 公开日 2009年8月19日

[11] 公开号 CN 101511367A

[51] Int. Cl. (续)

A61P 7/04 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

A61P 13/12 (2006.01)

A61P 25/04 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

A61P 37/08 (2006.01)

[22] 申请日 2007.9.3

[21] 申请号 200780032742.0

[30] 优先权

[32] 2006.9.5 [33] JP [31] 240572/2006

[86] 国际申请 PCT/JP2007/067133 2007.9.3

[87] 国际公布 WO2008/029763 日 2008.3.13

[85] 进入国家阶段日期 2009.3.4

[71] 申请人 丘比株式会社

地址 日本东京都

共同申请人 东和药品株式会社

[72] 发明人 神谷里美 内田知德 吉田英人

井上泰孝 山田昇 梶原健一

[74] 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司

代理人 蒋 亭 苗 堃

权利要求书2页 说明书26页

[54] 发明名称

前列腺素脂肪乳剂及其制造方法、及其稳定化方法及乳化剂

[57] 摘要

本发明提供一种以前列腺素为有效成分的脂肪乳剂，其含有含磷脂酰胆碱(PC)及磷脂酰甘油(PG)的磷脂，该磷脂中的PC和PG之比(PC:PG)为85:15~99.7:0.3。

- 1、一种脂肪乳剂，其特征在于，含有前列腺素作为有效成分，并且含有含磷脂酰胆碱 PC 及磷脂酰甘油 PG 的磷脂，该磷脂中的 PC 和 PG 之比即 PC: PG 为 85:15~99.7:0.3。
- 2、根据权利要求 1 所述的脂肪乳剂，其中，PC: PG 为 95: 5~99.7:0.3。
- 3、根据权利要求 2 所述的脂肪乳剂，其中，PC: PG 为 97: 3~99.5:0.5。
- 4、根据权利要求 1~3 中任一项所述的脂肪乳剂，实质上不含磷脂酰乙醇胺 PE。
- 5、根据权利要求 1~4 中任一项所述的脂肪乳剂，在 PG 的脂肪酸残基中，含有直链状的碳原子数为 12-18 个的饱和或不饱和脂肪酸残基。
- 6、根据权利要求 1~5 中任一项所述的脂肪乳剂，其中，PG 来源于卵黄。
- 7、根据权利要求 1~6 中任一项所述的脂肪乳剂，实质上不含游离高级脂肪酸或其盐。
- 8、根据权利要求 1~6 中任一项所述的脂肪乳剂，实质上不含游离油酸。
- 9、根据权利要求 1~6 中任一项所述的脂肪乳剂，相对于所述磷脂 1 质量份，含有 0.015 质量份以下的游离高级脂肪酸或其盐。
- 10、根据权利要求 9 所述的脂肪乳剂，相对于所述磷脂 1 质量份，含有 0.15 质量份以下的游离高级脂肪酸或其盐。
- 11、根据权利要求 9 或 10 所述的脂肪乳剂，其中，所述游离高级脂肪酸是游离油酸。
- 12、根据权利要求 1~11 中任一项所述的脂肪乳剂，其中，所述磷脂中的 PC 含量及 PG 含量的合计为 95%以上。
- 13、根据权利要求 1~12 中任一项所述的脂肪乳剂，用于静脉内注射。
- 14、根据权利要求 1~13 中任一项所述的脂肪乳剂，前列腺素是前列腺素 E1 或其衍生物。
- 15、根据权利要求 1~14 中任一项所述的脂肪乳剂，前列腺素是前列腺素 E1。
- 16、根据权利要求 15 所述的脂肪乳剂，平均粒径为 300nm 以下，且在 40℃保存 7 天后的前列腺素 E1 的残留率为 70%以上。
- 17、根据权利要求 15 所述的脂肪乳剂，平均粒径为 300nm 以下，且在 40℃保存 7 天后的前列腺素 E1 的残留率为 80%以上。
- 18、根据权利要求 15 所述的脂肪乳剂，平均粒径为 300nm 以下，

且在 40℃保存 7 天后的前列腺素 E1 的残留率为 85%以上。

19、根据权利要求 15 所述的脂肪乳剂，平均粒径为 300nm 以下，且在 20℃保存 2 个月后的前列腺素 E1 的残留率为 80%以上。

20、根据权利要求 15 所述的脂肪乳剂，平均粒径为 300nm 以下，且在 5℃保存 1 年后的前列腺素 E1 的残留率为 80%以上。

21、权利要求 1~21 中任一项所述的脂肪乳剂的制备方法，包括制备脂肪乳剂的工序，所述脂肪乳剂含有前列腺素作为有效成分，并且含有含磷脂酰胆碱 PC 及磷脂酰甘油 PG 的磷脂，该磷脂中的 PC 和 PG 之比即 PC: PG 为 85:15~99.7:0.3。

22、根据权利要求 22 所述的脂肪乳剂的制备方法，在所述制备工序中，将所述脂肪乳剂的 pH 调整到 4~7。

23、根据权利要求 22 所述的脂肪乳剂的制备方法，在所述制备工序中，将所述脂肪乳剂的 pH 调整到 4.5~6.5。

24、一种前列腺素的稳定化方法，包括：在含有前列腺素作为有效成分的脂肪乳剂中，使用 PC: PG 为 85: 15~99.7:0.3 且实质上不含 PE 的磷脂。

25、一种脂肪粒子的稳定化方法，包括：在含有前列腺素作为有效成分的脂肪乳剂中，使用 PC: PG 为 85: 15~99.7:0.3 且实质上不含 PE 的磷脂。

26、一种乳化剂，其特征在于，由 PC: PG 为 85: 15~99.7:0.3 且实质上不含 PE 的磷脂形成，在含有前列腺素作为有效成分的脂肪乳剂中使用。

前列腺素脂肪乳剂及其制造方法、以及其稳定化方法及乳化剂

技术领域

本发明涉及有效成分的稳定性及乳化稳定性优异的前列腺素脂肪乳剂及其制造方法、以及其稳定化方法和在该稳定化方法中使用的乳化剂。

背景技术

前列腺素是由具有 3~5 个双键的必需脂肪酸合成的生理活性物质，与炎症、疼痛、肿胀的调整，血压功能、心功能、胃肠功能的调整，消化酶的分泌调整、肾功能调节、血液凝固、血小板凝集、变态反应、神经传导、各种激素的产生等有关。

作为前列腺素 E1 (PGE1) 制剂的一个形态，开发出了静脉注射用脂肪乳剂 (例如，参照特公平 1-57094 号公报、特公平 1-57096 号公报、特开 2001-10958 号公报)，也有市售品。

然而，目前市售的 PGE1 脂肪乳剂必须在低温 (例如 5°C 以下) 下避光保存，而且即使在低温下保存，品质保证期限也短 (例如 5°C×1 年)。其理由可以列举作为有效成分的 PGE1 的化学不稳定性。例如，PGE1 脂肪乳剂在保存时必须要注意不使其冻结，因此在 5°C 保存时，必需严格的温度管理。这样，目前市售的 PGE1 脂肪乳剂需要在严格的温度管理下保存，不易在保存中进行品质管理。为此，对提高 PGE1 的稳定性进行了各种研究 (例如，参照特公平 8-18989 号公报、特开平 4-338333 号公报)，其效果很难说是充分的。而且，也进行了用于提高脂肪乳剂稳定性的研究 (例如，参照特表 2005-500366 号公报、WO2004/52354 号公报)，但对前列腺素脂肪乳剂却一概没有记载。

鉴于这种状况，寻求开发出有效成分 (前列腺素) 的稳定性和乳化稳定性优异的前列腺素脂肪乳剂。

发明内容

本发明提供一种有效成分的稳定性及乳化稳定性优异的、含有前列腺素作为有效成分的脂肪乳剂及其制造方法、以及其稳定化方法和在该稳定化方法中使用的乳化剂。

本发明的一个方式的含有前列腺素作为有效成分的脂肪乳剂，含有含磷脂酰胆碱（PC）及磷脂酰甘油（PG）的磷脂，该磷脂中的 PC 和 PG 之比（PC: PG）为 85:15~99.7:0.3。

在上述脂肪乳剂中，PC: PG 可以是 95: 5~99.7:0.3。此时，PC: PG 可以是 97: 3~99.5:0.5。

在上述脂肪乳剂中，可以实质上不含磷脂酰乙醇胺（PE）。

在上述脂肪乳剂中，可以在 PG 的脂肪酸残基中含有直链状的碳原子数为 12-18 个的饱和或不饱和脂肪酸残基。

在上述脂肪乳剂中，PG 可以来源于卵黄。

在上述脂肪乳剂中，可以实质上不含游离高级脂肪酸或其盐。

在上述脂肪乳剂中，可以实质上不含游离油酸。

在上述脂肪乳剂中，相对于所述磷脂 1 质量份，可以进一步含有 0.015 质量份以下的游离高级脂肪酸或其盐。此外，在上述脂肪乳剂中，相对于所述磷脂 1 质量份，可以含有 0.15 质量份以下的游离高级脂肪酸或其盐。此时，所述游离高级脂肪酸可以是游离油酸。

在上述脂肪乳剂中，所述磷脂中的 PC 含量及 PG 含量的合计可以是 95%以上。

对于上述脂肪乳剂，可以用于静脉内注射。

在上述脂肪乳剂中，前列腺素可以是前列腺素 E1 或其衍生物。

在上述脂肪乳剂中，前列腺素可以是前列腺素 E1。

此时，可以是平均粒径为 300nm 以下，且在 40℃保存 7 天后的前

列腺素 E1 的残留率为 70%以上。

此外，此时，可以是平均粒径为 300nm 以下，且在 40℃保存 7 天后的前列腺素 E1 的残留率为 80%以上。

另外，此时，可以是平均粒径为 300nm 以下，且在 40℃保存 7 天后的前列腺素 E1 的残留率为 85%以上。

此外，此时，可以是平均粒径为 300nm 以下，且在 20℃保存 2 个月后的前列腺素 E1 的残留率为 80%以上。

另外，此时，可以是平均粒径为 300nm 以下，且在 5℃保存 1 年后前列腺素 E1 的残留率为 80%以上。

本发明的一个方式的脂肪乳剂的制造方法，包括制备脂肪乳剂的工序，所述脂肪乳剂含有前列腺素作为有效成分，并且含有含磷脂酰胆碱（PC）及磷脂酰甘油（PG）的磷脂，该磷脂中的 PC 和 PG 之比（PC:PG）为 85:15~99.7:0.3。

在上述脂肪乳剂的制造方法中，在所述制备工序中，可以将所述脂肪乳剂的 pH 调整到 4~7。

在上述脂肪乳剂的制造方法中，在所述制备工序中，可以将所述脂肪乳剂的 pH 调整到 4.5~6.5。

本发明的一个方式的前列腺素的稳定化方法，包括：在含有前列腺素作为有效成分的脂肪乳剂中，使用 PC:PG 为 85:15~99.7:0.3 且实质上不含 PE 的磷脂的乳化剂。

本发明的一个方式的脂肪粒子的稳定化方法，包括：在含有前列腺素作为有效成分的脂肪乳剂中，使用 PC:PG 为 85:15~99.7:0.3 且实质上不含 PE 的乳化剂。

本发明的一个方式的乳化剂，由 PC:PG 为 85:15~99.7:0.3 且实质上不含 PE 的磷脂形成，在含有前列腺素为有效成分的脂肪乳剂中使用。

根据上述脂肪乳剂，由于含有含磷脂酰胆碱（PC）及磷脂酰甘油（PG）的磷脂，且该磷脂中的 PC 和 PG 之比（PC:PG）为 85:15~99.7:0.3，

因此有效成分（前列腺素）的稳定性和乳化稳定性两者优异。为此，与市售的前列腺素脂肪乳剂相比，可实现保存期限的延长及/或保存温度范围的扩大。例如，由后述的实施例结果可知，可能将 PGE1 脂肪乳剂的品质保证期限（5℃×1 年）延长到 2 年左右，将保存温度范围扩大到 10℃左右。由此，更容易进行保存中的品质管理。此外，根据上述脂肪乳剂，与现有技术同样，由于脂肪粒子的粒径小且均匀，从而可以将药物高效地集聚在病变部位，因此即使是少量也能发挥优异的有效性。

具体实施方式

以下，对本发明的一个实施方式的含有前列腺素作为有效成分的脂肪乳剂（以下也称为“前列腺素脂肪乳剂”或简称为“脂肪乳剂”）及其制造方法、以及其稳定化方法和在该稳定化方法中使用的乳化剂进行说明。另外，在本实施方式中，“%”意味着“质量%”，“份”意味着“质量份”。

1.脂肪乳剂

本实施方式的前列腺素脂肪乳剂是含有前列腺素（有效成分）、磷脂（乳化剂）、油性基材及水的乳化物（水包油型乳剂）。即，本实施方式的前列腺素脂肪乳剂是脂肪粒子分散在水中而得的乳化物，在该脂肪粒子中，在含有磷脂的膜内侧主要包含前列腺素及油性基材。

本实施方式的前列腺素脂肪乳剂中的各成分的含量为，前列腺素为 0.2~100 μ g/mL，油性基材相对于脂肪乳剂的总量为 5~50%，并且，磷脂相对于油性基材为 1~50%。

此外，本实施方式的前列腺素脂肪乳剂，根据需要还可以进一步含有高级脂肪酸、等渗剂、抗氧化剂、pH 调节剂。

进而，本实施方式的脂肪乳剂的 pH 优选为 4~7，更优选 pH 为 4.5~6.5。在本实施方式的脂肪乳剂中，pH 小于 4 时，乳化稳定性有时会降低，另一方面，pH 超过 7 时，有效成分的稳定性的稳定性有时会降低。

以下，对于构成本实施方式的脂肪乳剂各成分进行说明。

1.1.前列腺素

前列腺素是具有前列腺烷酸 (prostanoic acid) 作为基本骨架的化合物的总称, 根据其环结构分类为 A、B、C、D、E、F、G、H、I 等。如上所述, 前列腺素是生理活性物质, 例如在平滑肌刺激、炎症、变态反应、细胞的分泌·凝集·游走、细胞增殖、神经传导等中作为细胞信号传导物质而发挥作用。更具体来讲, 前列腺素根据其种类不同而具有子宫肌和离体小肠等的平滑肌收缩作用、降压作用、升压作用、抗脂肪分解作用、胃液分泌的阻止作用、对中枢神经系统的作用、血小板粘附性的减少作用、血小板凝聚抑制作用、血栓形成阻止作用、表皮增生作用、角质化刺激作用等生理学作用。

作为本实施方式的脂肪乳剂中所含的前列腺素, 可以列举 PGA1、PGB1、PGD2、PGE1、PGE2、PGF1 α 、PGF2 α 、PGI2 以及它们的衍生物, 优选 PGE1 及其衍生物。这里, 作为衍生物, 优选烷基酯 (例如参照日本专利第 2602964 号)。

其中, PGE1 例如具有血管扩张、血压下降、增大肾血流量、钠利尿、促进肾素分泌、促进促红细胞生成素分泌、阻碍血小板凝集、支气管扩张、子宫收缩、肠道运动亢进、胃肠纵行肌收缩、胃肠环状肌松弛、抑制胃酸分泌、胃粘膜保护作用、免疫抑制作用、自末梢交感神经末端的去甲肾上腺素游离抑制等的作用。因此, 本实施方式的含有 PGE1 的脂肪乳剂例如可以用于: 慢性动脉闭塞症中的四肢溃疡以及安静时疼痛的改善、进行性全身性硬化症和全身性红斑狼疮中的皮肤溃疡的改善、糖尿病中的皮肤溃疡的改善、伴随振动病中的末梢血液循环障碍的自觉症状的改善及末梢循环·神经·运动功能障碍的恢复、动脉导管依赖型先天性心脏病中的动脉导管未闭以及经肠系膜上动脉门脉造影的造影能力的改善。

1.2. 磷脂

本实施方式的脂肪乳剂中使用的磷脂含有磷脂酰胆碱 (PC) 及磷脂酰甘油 (PG)。而且, 磷脂可以是例如钠盐、钾盐、铵盐等药理学上可接受的盐。

作为 PC, 可以列举蛋黄卵磷脂、大豆卵磷脂、或用公知的方法合成、半合成而得到的卵磷脂等。其中, 优选蛋黄卵磷脂, 磷脂含量高的精制蛋黄卵磷脂, 进而实质上不含 PE 的高度精制蛋黄卵磷脂是理想的。

另外，精制蛋黄卵磷脂以药品添加剂标准为准，高度精制蛋黄卵磷脂以药品添加剂词典（日本药品添加剂协会编）为准。在精制蛋黄卵磷脂中，通常含有 12~18%左右的 PE。

本实施方式的脂肪乳剂，优选实质上不含 PE。实质上不含 PE 的脂肪乳剂，可以通过使用高度精制蛋黄卵磷脂或采用合成、半合成而得到的卵磷脂作为磷脂来制造。

磷脂实质上不含 PE，这可以通过例如以下的方法进行确认。即，将以磷脂为 10% (w/v) 的方式溶解于氯仿-甲醇混合溶液中而得到的溶液，在硅胶薄层板的下端部上样 10 μ L。将该薄层板使用展开剂（氯仿：甲醇：水=65:25:4）展开，使其干燥。然后，喷雾茚三酮试剂，在 120 $^{\circ}$ C 加热约 10 分钟时，在用同样上样的 PE 标准液检测到有斑点的部位未见显色的情况，判定为磷脂实质上不含 PE。

PG 可以通过化学合成而制造，也可以从植物或细菌中提取，或者也可以根据公知的方法（生化学实验讲座 3 脂质的化学、294-295 页，东京化学同人，1974 年），以源于大豆或蛋黄的卵磷脂为原料，在甘油存在的条件下使磷脂酶 D 作用于该卵磷脂，由此来制备。

PG 的脂肪酸残基一般存在直链状或支链状的碳原子数为 12~22 个的饱和或不饱和脂肪酸残基，但在本实施方式的脂肪乳剂中，PG 的脂肪酸残基中，优选含有直链状的碳原子数为 12~18 个的饱和或不饱和脂肪酸残基，更优选含有直链状的碳原子数为 16~18 个的饱和或不饱和脂肪酸残基。

通过使用含有具有上述范围碳原子数的脂肪酸残基的 PG，尤其是在使用源于蛋黄卵磷脂的 PC 时，PC 的脂肪酸链长与 PG 的脂肪酸链长是同等程度，推测可得到更稳定的脂肪乳剂。

化学合成的 PG 例如可以是二棕榈酰磷脂酰甘油、二油酰磷脂酰甘油、二月桂酰磷脂酰甘油、二肉豆蔻酰磷脂酰甘油、二硬脂酰磷脂酰甘油及棕榈酰油酰磷脂酰甘油中的至少一种。此外，天然来源的 PG 中，可以使用具有来源物质特有的脂肪酸残基的 PG。其中，优选二棕榈酰磷脂酰甘油、源于大豆卵磷脂的 PG 或源于蛋黄卵磷脂的 PG，从有效

成分稳定性的提高及活体适应性方面考虑，更优选源于蛋黄卵磷脂的 PG。

在本实施方式的脂肪乳剂中，磷脂中的 PC 和 PG 之比 (PC: PG) 为 85:15~99.7:0.3。通过使 PC: PG 在上述范围，可以使有效成分的稳定性及乳化稳定性两者提高。PG 超过上述范围时，对保存中的 PGE1 稳定性产生恶劣影响，因此不优选。此外，PC: PG 优选为 90: 10~99.7:0.3，更优选 95: 5~99.7:0.3，进一步优选 97: 3~99.5:0.5。

此外，从使有效成分的化学稳定性提高的观点出发，磷脂中的 PC 含量及 PG 含量的合计优选为 95%以上，更优选 98%以上。

作为磷脂，还可以含有不足 5%的除上述 PC 和 PG 以外的磷脂(例如，鞘磷脂、磷脂酰肌醇、磷脂酰聚甘油、磷脂酰乙二醇、及磷脂酰聚乙二醇以及它们的 lyso 体、lyso PC、lyso PG 中的至少一种)。此外，在天然来源的磷脂中除了含有磷脂以外，还可以含有不足 5%的三甘油、胆固醇等成分。

1.3.油性基材

作为本实施方式的脂肪乳剂中使用的油性基材，可以列举例如大豆油、芝麻油、菜籽油、红花油、橄榄油、蓖麻油、玉米油、棉籽油、米糠油、葵花籽油、葡萄籽油、小麦胚芽油等植物油、中链脂肪酸甘油三酯(MCT)。植物油优选精制植物油。

1.4.高级脂肪酸

本实施方式的脂肪乳剂中，游离高级脂肪酸具有作为乳化辅助剂的功能。即，在本实施方式的脂肪乳剂中，通过含有游离高级脂肪酸，可以提高乳化稳定性。在本发明中，“游离高级脂肪酸”是指羧酸，“游离高级脂肪酸的盐”是指游离高级脂肪酸的在药学上可接受的盐(例如，钠盐、钾盐等碱金属盐、钙盐等碱土类金属盐)的形态的高级脂肪酸。“游离高级脂肪酸或其盐”中不包括构成作为油性基材的植物油、构成磷脂的脂肪酸酯的形态。此外，脂肪乳剂所含的游离高级脂肪酸不包括在作为油性基材的植物油、磷脂中所含的游离高级脂肪酸。

高级脂肪酸是直链状或支链状的碳原子数为 6~22 个（优选 12~20 个）的饱和或不饱和脂肪酸。作为高级脂肪酸，可列举例如油酸、硬脂酸、亚油酸、棕榈酸、亚麻酸、肉豆蔻酸，优选油酸。

本实施方式的脂肪乳剂，由于有效成分的稳定性及乳化稳定性优异，因此可以是实质上不含游离的高级脂肪酸或其盐（例如游离油酸）。在含有高级脂肪酸或其盐时，相对于磷脂 1 份，优选含有 0.15 份以下，更优选含有 0.015 份以下。高级脂肪酸的含量相对于磷脂 1 份超过 0.15 份时，有效成分的稳定性有时会降低。高级脂肪酸的含量相对于磷脂 1 份为 0.015 份以下时，不仅能维持有效成分的稳定性，还可以得到优异的乳化稳定性。另外，“实质上不含游离高级脂肪酸”是指彻底没有为了配合而添加的情况，但不包括例如通过作为油性基材的植物油或磷脂的分解而产生的游离高级脂肪酸、以及不是有意混入而含有的游离高级脂肪酸。

脂肪乳剂实质上不含游离油酸，这可以通过例如以下的方法来确定。

相对于 1mL 脂肪乳剂，加入乙醇 1mL、二乙醚 0.5mL 以及石油醚 0.5mL，进行搅拌。采集将其离心分离而得的上层，利用氮馏去溶剂。使所得的油相成分为 10%（w/v）地溶解于氯仿-甲醇混合溶液，将所得到的溶液 2 μ L 在硅胶薄层板的下端部上样。将该薄层板使用展开剂（氯仿：甲醇：水=65:25:4）展开，使其干燥。然后，喷雾 50%（w/w）硫酸，在约 120 $^{\circ}$ C 加热 30 分钟后，在用同样上样的油酸标准液检测到有斑点的部位未见显色时，判定为脂肪乳剂实质上不含游离油酸。

本实施方式的脂肪乳剂，由于实质上不含 PE 和/或游离的高级脂肪酸（例如游离油酸），因此可以减少该脂肪乳剂中所含的成分数量，并且可以进一步提高有效成分的稳定性。

1.5.其他成分

在本实施方式的脂肪乳剂中，根据需要还可以含有等渗剂（例如，甘油、葡萄糖、氯化钠）、抗氧化剂（例如，抗坏血酸及其盐、苯甲酸、柠檬酸及其盐、二丁基羟基苯甲醚、二丁基羟基甲苯、 α -生育酚、D-

山梨醇)、pH 调节剂(氢氧化钠、盐酸、各种磷酸盐)。

1.6. 制造方法

本发明的一个实施方式的前列腺素脂肪乳剂的制造方法,包括通过配合磷脂来制备脂肪乳剂的工序,所述脂肪乳剂含有含磷脂酰胆碱(PC)及磷脂酰甘油(PG)的磷脂,该磷脂的 PC:PG 为 85:15~99.7:0.3,优选为 90:10~99.7:0.3,更优选 95:5~99.7:0.3,进一步优选 97:3~99.5:0.5。更具体地说,上述制备脂肪乳剂的工序包括使前列腺素(有效成分)、上述磷脂(乳化剂)、油性基材及水乳化的工序。

作为 PC 和 PG 的配合方法,可以预先将 PC 和 PG 与油性基材或水混合并均质化,向其中加入水或油性基材制成乳剂,优选在油性基材中进行均质化。

例如,在规定的油性基材(例如大豆油)中,将磷脂(PC 和 PG)、前列腺素(例如 PGE1)以及其他的添加剂(例如甘油)等用常用的均质器混合及均质化,然后向其中加入必需量的水后,用上述均质器再次进行均质化,而变成水包油型乳剂,由此就可以制造本实施方式的脂肪乳剂。

PC 和 PG 可以分别配合,也可以同时配合。此外,也可以使用通过酶反应将 PC 部分转变成 PG 而得的物质;还可以使用在 PC 或 PG 的精制工序中,添加含有 PG 或 PC 的粗精制物、它们的精制品等,由使得 PC:PG 为 85:15~99.7:0.3 比例混合而成的物质精制得到的磷脂。在使用源于蛋黄的 PC 和 PG 时,也可以使用通过酶反应将蛋黄中的 PC 转变成 PG,在使得 PC:PG 为 85:15~99.7:0.3 比例将蛋黄液混合后进行磷脂精制而得到的物质。

根据制造方面的情况,在本实施方式的脂肪乳剂中还可以添加稳定化剂、等渗剂、pH 调节剂等添加剂。此外,还可以进一步对所得的脂肪乳剂实施过滤处理、加热处理(高温加热处理等)。

此外,本实施方式的前列腺素脂肪乳剂的制造方法中,可以包括将 pH 调节到优选 4~7(更优选 4.5~6.5)的工序。本实施方式的脂肪乳剂中,pH 小于 4 时,乳化稳定性有时会降低,另一方面,pH 超过 7 时,

有效成分的稳定性有时会降低。

进而，本发明的一个实施方式的脂肪乳剂的制造方法，可以进一步包括如下工序：将上述脂肪乳剂的 pH 调整到 4~7 之后，将该脂肪乳剂放入气密或密封容器中，在规定温度下进行规定时间的高温加热处理。通过上述高温加热处理，可以抑制有效成分（前列腺素）的分解，并且可以进行上述脂肪乳剂的灭菌。这里，上述高温加热处理优选高压蒸汽加热灭菌处理或喷雾式加热灭菌处理。

上述高压蒸汽加热灭菌处理或喷雾式加热灭菌处理的温度及时间分别优选为 110~140℃及 0.5~30 分钟。例如，以相当于在 127℃、1 分钟进行上述高压蒸汽加热灭菌处理。相当于 127℃、1 分钟是指，换算成 F_0 值时约为 9~10，以微生物的死亡为目的的加热条件的一例。

用上述制造方法得到的脂肪乳剂，不仅乳化稳定性优异，而且有效成分（前列腺素）的稳定性也优异。例如，上述高温加热处理后的脂肪乳剂与上述高温加热处理前的脂肪乳剂相比，前列腺素的残留率为 70% 以上，优选为 80% 以上，更优选为 85% 以上。

1.7. 稳定化方法及乳化剂

本发明的一个实施方式的前列腺素脂肪乳剂的稳定化方法，包括：在含有前列腺素作为有效成分的脂肪乳剂中，使用 PC: PG 为 85:15~99.7:0.3 且实质上不含 PE 的磷脂。进而，本发明的一个实施方式的乳化剂，在前列腺素脂肪乳剂中使用，由 PC: PG 为 85:15~99.7:0.3 且实质上不含 PE 的磷脂形成。作为这种乳化剂，可以列举例如以上述 PC: PG 的比例含有 PG 的、上述高度精制蛋黄卵磷脂。

1.8. 用途及特性

根据本实施方式的脂肪乳剂，由于含有含磷脂酰胆碱（PC）及磷脂酰甘油（PG）的磷脂，且该磷脂中的 PC 和 PG 之比（PC: PG）为 85:15~99.7:0.3，因此即使是实质上不含例如油酸等游离脂肪酸，也可以维持乳化稳定性，并且提高有效成分（前列腺素）的稳定性。进而，根据本实施方式的脂肪乳剂，由于实质上不含 PE，因此可以进一步提高有效成分（前列腺素）的稳定性。

本实施方式的脂肪乳剂，可以作为静脉内注射用而使用。此时，可以对利用本实施方式而得到的脂肪乳剂的 pH 进行调节后，填充到安瓿、小瓶、预灌封注射器等气密或密封容器中，实施高温加热处理等。

此外，本实施方式的脂肪乳剂的平均粒径优选为 300nm 以下，更优选 150~250nm 的范围内。平均粒径比此大时，脂肪乳剂的乳化体系有时会变得不稳定。此外，尤其是向静脉内给药时，比 150nm 小时，集聚于炎症部位（尤其是末梢血管内壁）、巨噬细胞的速度延迟，给药后生理活性的发挥有可能会不充分。

此外，本实施方式的脂肪乳剂，平均粒径为 300nm 以下，前列腺素为 PGE1，且在 40℃保存 7 天后 PGE1 的残留率优选为 70%以上，更优选为 80%以上，进一步优选为 85%以上。进而，优选在 20℃保存 2 个月后的前列腺素 E1 的残留率为 70%以上，更优选为 80%以上，进一步优选为 85%以上。进而，优选在 5℃保存 1 年后的前列腺素 E1 的残留率为 80%以上，更优选为 85%以上，进一步优选为 90%以上。在本发明中，脂肪乳剂的 40℃×7 天的保存是用于评价脂肪乳剂的长期保存稳定性的试验（例如参照特开平 4-338333 号公报）。此外，20℃×2 个月的保存也同样用于评价本实施方式的脂肪乳剂的长期保存稳定性的试验（例如参照 ICH 指导原则 Q1A）。

根据本实施方式的脂肪乳剂，由于含有含 PC 和 PG 的磷脂，且该磷脂中的 PC 和 PG 之比（PC: PG）为 85:15~99.7:0.3，因此作为有效成分的 PGE1 的保存稳定性优异，且不会限制所配合的其他添加剂、或使脂肪乳剂中的脂肪粒子的平均粒径增大、或者使脂肪乳剂中的脂肪粒子的粒度分布产生偏差。此外，根据本实施方式的脂肪乳剂，与现有技术同样，由于脂肪粒子的粒径小且均匀，从而药物会高效地集聚在病变部位，即使是少量也能发挥优异的有效性。

这里，保存后的脂肪乳剂中的 PGE1 的残留率（%）如下算出：利用 HPLC（高效液相色谱）法，测定刚高温加热处理后的脂肪乳剂中的 PGE1 含量及保存后的该脂肪乳剂中的 PGE1 含量，根据所得的刚高温加热处理后的脂肪乳剂中的 PGE1 含量及保存后的该脂肪乳剂中的 PGE1 含量，由下式（1）算出。此外，利用 HPLC 法的脂肪乳剂中的 PGE1 含量的详细测定方法如后述的实施例中所述。

$$\text{PGE1的残留率 (\%)} = \frac{\text{保存后的脂肪乳剂中的PGE1的含量 (g)}}{\text{刚高温加热处理后的脂肪乳剂中的PGE1的含量 (g)}} \times 100$$

..... (1)

1.9. 给药形态

本实施方式的脂肪乳剂优选通过非口服的给药途径对人或人以外的哺乳类给药，更优选经静脉内注射（包括静脉点滴注射）给药。例如，可以将含有 0.2~100 $\mu\text{g/mL}$ 的前列腺素的本实施方式的脂肪乳剂直接或者与输液混合后，经静脉内注射给药。

2. 实施例

以下，利用实施例进一步详细说明本发明，但本发明不限于实施例。

2.1. 评价方法

在本实施例中，脂肪乳剂中的 PGE1 的含量及脂肪乳剂中的脂肪粒子的平均粒径通过以下的方法测定。

2.1.1. PGE1 的含量

脂肪乳剂中的 PGE1 的含量是如下测定的，即，将脂肪乳剂用 SEP-PAK C₁₈ 小柱（Waters 公司制造）进行前处理，通过采用柱后法的 HPLC 法进行测定。操作条件如下。

检测器：紫外吸光光度计（测定波长：278nm）

柱：十八烷基甲硅烷基化硅胶（内径 4 mm，长 15cm）

柱温：约 60°C

流动相：pH: 6.3 的 1/150 mol/L 磷酸盐缓冲液-乙腈混合液（3: 1）

流动相的流量：1 mL/min

（柱后反应条件）

反应液: 1mol/L 氢氧化钾溶液

流量: 0.5 mL/min

反应盘管: 内径约 0.5mm, 长约 10m 的 Teflon (商标名) 管

反应温度: 约 60 °C

2.1.2. 脂肪粒子的平均粒径

脂肪乳剂中的脂肪粒子的平均粒径是利用 N4PLUS 超细颗粒粒度测定装置 (Beckman Coulter 公司制造) 进行测定的。

2.1.3. 脂肪乳剂中的 PE 的检测

在 1mL 脂肪乳剂中加入乙醇 1mL、二乙醚 0.5mL 以及石油醚 0.5mL, 进行搅拌。采集将其离心分离而得到的上层, 利用氮馏去溶剂。使所得的油相成分为 20% (w/v) 地溶解于氯仿-甲醇混合溶液, 将所得到的溶液 20 μ L 在硅胶薄层板的下端部上样。将该薄层板使用展开剂 (氯仿: 甲醇: 水=65:25:4) 展开, 使其干燥。然后, 喷雾茚三酮试剂, 在约 120 °C 加热 10 分钟时, 在用同样上样的 PE 标准液检测到有斑点的部位未见显色的情况, 判定为脂肪乳剂实质上不含 PE。

2.2. 实施例 1

将作为油性基材的大豆油 50g、作为磷脂的蛋黄卵磷脂 PC-98N (Q.P. Corporation 制造, 磷脂酰胆碱的纯度为 98.8%, 利用上述的磷脂中的 PE 检测方法未检测出 PE 的物质) 8.82g 及二棕榈酰磷脂酰甘油 (日本油脂株式会社制造) 0.18g 用均质混合器分散, 进行均质化。向其中加入 3.5mg 的前列腺素 E1 后, 添加溶解有日本药典浓甘油 11.05g 的注射用水并混合, 使总量为 500g, 得到粗乳化液。接着, 用 Manton-Gaulin 型均化器 (APV 公司制), 在 600kgf/cm² 的加压下, 将上述粗乳化液通液 15 次, 得到实施例 1 的脂肪乳剂 (平均粒径 193nm、213nm)。测定该脂肪乳剂中的脂肪粒子的平均粒径, 且算出脂肪乳剂中的 PGE1 的含量。

将所得的脂肪乳剂中的 PGE1 的含量 (刚制备好的脂肪乳剂中的 PGE1 的含量) 示于表 1 和表 2 中, 将脂肪乳剂中的脂肪粒子的平均粒

径（刚制备好的脂肪乳剂中的脂肪粒子的平均粒径）分别示于表 3 和表 4。

接着，将所得的脂肪乳剂用孔径 $0.45\mu\text{m}$ 的膜过滤器过滤，用氢氧化钠水溶液将 pH 调整到 5.0、5.5（2 个样品）、6.0，分装到 2mL 安瓿中后，作为高温加热处理在 110°C 进行 5 分钟喷雾式加热灭菌处理。接着，将该安瓿开封，算出该脂肪乳剂中的 PGE1 的残留率（刚加热后的脂肪乳剂中的 PGE1 的残留率），且测定脂肪乳剂中的脂肪粒子的平均粒径（刚加热后的脂肪乳剂中的脂肪粒子的平均粒径）。将其结果分别示于表 1~表 4。

另外，刚高温加热处理后的脂肪乳剂中的 PGE1 的残留率如下算出：根据上述的脂肪乳剂中的 PGE1 含量的测定方法，测定刚高温加热处理后的脂肪乳剂中的 PGE1 含量，计算刚高温加热处理后的脂肪乳剂中的 PGE1 含量相对于刚制备好的脂肪乳剂中的 PGE1 含量之比（%）。

进而，将高温加热处理后的安瓿在 40°C 保存 7 天后，将该安瓿开封，测定 $40^{\circ}\text{C}\times 7$ 天保存后的脂肪乳剂中的 PGE1 含量，根据式（1），计算出 $40^{\circ}\text{C}\times 7$ 天保存后的脂肪乳剂中的 PGE1 的残留率。并且，测定 $40^{\circ}\text{C}\times 7$ 天保存后的脂肪乳剂中的脂肪粒子的平均粒径。将其结果分别示于表 1~表 4。并且，在实施例 1 的脂肪乳剂中，未检测到 PE。

另外，示出了在实施例 1、2、4-6 及比较例 2、3、6 中，将 pH 调整到 5.0 时的结果，在实施例 1、2、4、7、9、10、12 及比较例 1-4、6、7 中，将 pH 调整到 5.5 时的结果，以及在实施例 1、3、7、8、11 及比较例 3、5 中，将 pH 调整到 6.0 时的结果（参照表 1~表 4）。

此外，在实施例 1-12 及比较例 1-7 中，PC 的使用量是 PC 的纯度（ $0.988=98.8\%$ ）乘以磷脂（蛋黄卵磷脂）的使用量而计算出的值。

进而，在表 1 及表 2 中，“油酸（质量份）”表示相对于磷脂 1 质量份的油酸的含量（质量份）。

2.3. 实施例 2

在实施例 1 的脂肪乳剂中，除了使蛋黄卵磷脂 PC-98N 的配合量为

8.55g、使二棕榈酰磷脂酰甘油的配合量为 0.45g 以外，其余通过与实施例 1 同样的方法，得到实施例 2 的脂肪乳剂（平均粒径 222nm）。pH 用稀盐酸调整到 5.0 及 5.5。

在实施例 2 及后述的实施例 3-12 以及比较例 1-7 的脂肪乳剂中，用与实施例 1 的脂肪乳剂同样的方法，进行高温加热处理以及 40℃×7 天的保存，分别测定各种情况下的脂肪乳剂中的 PGE1 的残留率以及脂肪粒子的平均粒径。其结果示于表 1~表 4。在实施例 2 的脂肪乳剂中未检测到 PE。

2.4. 实施例 3

在实施例 1 的脂肪乳剂中，除了使蛋黄卵磷脂 PC-98N 的配合量为 7.65g，使用在甘油的存在下对将蛋黄卵磷脂精制而得到的 PC 进行磷脂酶 D 处理从而制备的 PG（以下称为源于蛋黄的 PG）1.35g 来代替二棕榈酰磷脂酰甘油，进而将分装安瓿后的高温加热处理条件设为 127℃、1 分钟之外，其余通过与实施例 1 同样的方法，得到实施例 3 的脂肪乳剂（平均粒径 229nm）。该源于蛋黄的 PG 的脂肪酸残基的组成中，碳原子数为 16 的占 35%，碳原子数为 18 的占 57%。pH 用氢氧化钠水溶液调整到 6.0。在实施例 3 的脂肪乳剂中未检测到 PE。此外，实施例 3 中得到的脂肪乳剂，例如与后述实施例 8、11 中得到的脂肪乳剂相比，由于刚加热后的有效成分（PGE1）的残留率低，所以认为 PG 的添加量增加时，有对加热后的有效成分的稳定性产生恶劣影响的趋势。

2.5. 实施例 4

在实施例 1 的脂肪乳剂中，除了在大豆油中加入油酸 0.6g 以外，其余通过与实施例 1 同样的方法，得到实施例 4 的脂肪乳剂（平均粒径 226nm）。pH 用稀盐酸调整到 5.0，用氢氧化钠水溶液调整到 5.5。在实施例 4 的脂肪乳剂中，未检测到 PE。

2.6. 实施例 5

在实施例 1 的脂肪乳剂中，除了在大豆油中加入油酸 1.2g 以外，其余通过与实施例 1 同样的方法，得到实施例 5 的脂肪乳剂（平均粒径 210nm）。所得的脂肪乳剂的 pH 为 5.0。在实施例 5 的脂肪乳剂中，未

检测到 PE。

2.7. 实施例 6

在实施例 2 的脂肪乳剂中，除了在大豆油中加入油酸 1.2g 以外，其余通过与实施例 2 同样的方法，得到实施例 6 的脂肪乳剂（平均粒径 230nm）。pH 用稀盐酸调整到 5.0。在实施例 6 的脂肪乳剂中，未检测到 PE。

2.8. 实施例 7

在实施例 3 的脂肪乳剂中，除了蛋黄卵磷脂 PC-98N 的配合量为 8.82g，使源于蛋黄的 PG 的配合量为 0.18g，进而将分装安瓿后的高温加热处理条件设为 110℃、5 分钟以外，其余通过与实施例 3 同样的方法，得到实施例 7 的脂肪乳剂（平均粒径 218nm）。pH 用稀盐酸调整到 5.5。用氢氧化钠水溶液调整到 6.0。在实施例 7 的脂肪乳剂中，未检测到 PE。

2.9. 实施例 8

在实施例 3 的脂肪乳剂中，除了使蛋黄卵磷脂 PC-98N 的配合量为 8.91g，使源于蛋黄的 PG 的配合量为 0.09g 以外，其余通过与实施例 3 同样的方法，得到实施例 8 的脂肪乳剂（平均粒径 197nm）。pH 用氢氧化钠水溶液调整到 6.0。在实施例 8 的脂肪乳剂中，未检测到 PE。

2.10. 实施例 9

在实施例 8 的脂肪乳剂中，除了在大豆油中加入油酸 0.12g 以外，其余通过与实施例 8 同样的方法，得到实施例 9 的脂肪乳剂（平均粒径 217nm）。pH 用氢氧化钠水溶液调整到 5.5。在实施例 9 的脂肪乳剂中，未检测到 PE。

2.11. 实施例 10

在实施例 8 的脂肪乳剂中，除了使蛋黄卵磷脂 PC-98N 的配合量为 8.955g、使源于蛋黄的 PG 的配合量为 0.045g 以外，其余通过与实施例 8 同样的方法，得到实施例 10 的脂肪乳剂（平均粒径 198nm）。pH 用

稀盐酸调整到 5.5。在实施例 10 的脂肪乳剂中，未检测到 PE。

2.12. 实施例 11

在实施例 8 的脂肪乳剂中，除了使蛋黄卵磷脂 PC-98N 的配合量为 8.973g、使源于蛋黄的 PG 的配合量为 0.027g 以外，其余通过与实施例 8 同样的方法，得到实施例 11 的脂肪乳剂（平均粒径 195nm）。pH 用氢氧化钠水溶液调整到 6.0。在实施例 11 的脂肪乳剂中，未检测到 PE。实施例 11 中得到的脂肪乳剂，由于加热后的平均粒径增大约 50nm 左右，因此认为加热稳定性稍差，但是未见油相的分离，有效成分（PGE1）的稳定性也优异。

2.13. 实施例 12

在实施例 2 的脂肪乳剂中，除了使用在甘油的存在下对大豆磷脂进行磷脂酶 D 处理而制备的 PG（以下称为源于大豆的 PG）来代替二棕榈酰磷脂酰甘油，进而将分装安瓿后的高温加热处理条件设为 127℃、1 分钟之外，其余通过与实施例 2 同样的方法，得到实施例 12 的脂肪乳剂（平均粒径 227nm）。该源于大豆的 PG 的脂肪酸残基的组成中，碳原子数为 16 的占 14%，碳原子数为 18 的占 78%。pH 用稀盐酸调整到 5.5。在实施例 12 的脂肪乳剂中未检测到 PE。

2.14. 比较例 1

在实施例 5 的脂肪乳剂中，除了使蛋黄卵磷脂 PC-98N 的配合量为 9.0g，使二棕榈酰磷脂酰甘油的配合量为 0g 以外，其余通过与实施例 5 同样的方法，得到比较例 1 的脂肪乳剂（平均粒径 214nm）。pH 利用氢氧化钠水溶液调整到 5.5。在比较例 1 的脂肪乳剂中，没检测到 PE。

2.15. 比较例 2

在实施例 1 的脂肪乳剂中，除了使蛋黄卵磷脂 PC-98N 的配合量为 9.0g，使二棕榈酰磷脂酰甘油的配合量为 0g 以外，其余通过与实施例 1 同样的方法，得到比较例 2 的脂肪乳剂（平均粒径 189nm）。pH 利用稀盐酸调整到 5.0，利用氢氧化钠水溶液调整到 5.5。在比较例 2 的脂肪乳剂中，未检测到 PE。

2.16.比较例 3

在比较例 1 的脂肪乳剂中,除了将分装安瓿后的高温加热处理条件设为 127°C、1 分钟之外,其余通过与比较例 1 同样的方法,得到比较例 3 的脂肪乳剂(平均粒径 216nm)。pH 利用稀盐酸调整到 5.0,利用氢氧化钠水溶液调整到 5.5 及 6.0。在比较例 3 的脂肪乳剂中,未检测到 PE。

2.17.比较例 4

在实施例 12 的脂肪乳剂中,除了使用在 L-丝氨酸的存在下对将蛋黄卵磷脂精制而得到的 PC 进行磷脂酶 D 处理而制备的蛋黄磷脂酰丝氨酸(以下称为源于蛋黄的 PS)来代替源于大豆的 PG 以外,其余通过与实施例 12 同样的方法,得到比较例 4 的脂肪乳剂(平均粒径 221nm)。pH 利用氢氧化钠水溶液调整到 5.5。在比较例 4 的脂肪乳剂中未检测到 PE。

2.18.比较例 5

在实施例 8 的脂肪乳剂中,除了使蛋黄卵磷脂 PC-98N 的配合量为 8.991g、使蛋黄 PG 的配合量为 0.009g 以外,其余通过与实施例 8 同样的方法,得到比较例 5 的脂肪乳剂(平均粒径 192nm)。pH 用氢氧化钠水溶液调整到 6.0。在比较例 5 的脂肪乳剂中,未检测到 PE。另外,比较例 5 的脂肪乳剂由于在加热后观察到分离,因此没有进行 PGE1 的定量及保存试验。

2.19.比较例 6

在比较例 1 的脂肪乳剂中,除了使蛋黄卵磷脂 PC-98N 的配合量为 7g、加入蛋黄卵磷脂 PL-100M(Q.P. Corporation 制造,PE 含量: 15.8%) 2g 之外,其余通过与比较例 1 同样的方法,得到比较例 6 的脂肪乳剂(平均粒径 195nm)。pH 利用稀盐酸调整到 5.0,利用氢氧化钠水溶液调整到 5.5。磷脂中的 PE 含量为 3.5%,比较例 6 的脂肪乳剂中未检测到 PE。

2.20.比较例 7

在实施例 12 的脂肪乳剂中,除了使用二棕榈酰磷脂酸来代替源于大

豆的 PG 之外，其余通过与实施例 12 同样的方法，得到比较例 7 的脂肪乳剂（平均粒径 238nm）。pH 利用氢氧化钠水溶液调整到 5.5。比较例 7 的脂肪乳剂中，未检测到 PE。

表 1

	油酸 (质量份)	PC:PG	pH	刚制备好	刚加热后		40℃×7天保存后	
				PGE1 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) (a)	PGE1 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) (b)	PGE1 残留率 (%) (b/a)	PGE1 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) (c)	PGE1 残留率 (%) (c/b)
实施例1	0	98:2	5.0	7.29	6.78	92.9	5.69	83.9
			5.5		6.71	92.0	5.76	85.9
			5.5	5.69	5.37	94.3	4.68	87.2
			6.0		5.31	93.2	4.68	88.3
实施例2	0	95:5	5.0	6.12	5.88	96.1	4.77	81.2
			5.5		5.88	96.1	4.99	85.1
实施例3	0	85:15	6.0	6.60	4.08	61.9	2.91	71.3
实施例4	0.067	98:2	5.0	6.35	5.75	90.6	4.76	82.7
			5.5		5.75	90.6	4.72	82.0
实施例5	0.133	98:2	5.0	7.57	6.76	89.3	5.09	75.3
实施例6	0.133	95:5	5.0	6.94	6.30	90.8	4.47	71.0
实施例7	0	98:2	5.5	6.64	6.13	92.3	5.55	90.5
			6.0		6.02	90.6	5.58	92.7
实施例8	0	99:1	6.0	7.02	5.90	84.0	5.32	90.2
实施例9	0.0133	99:1	5.5	6.97	6.01	86.2	5.23	87.0
实施例10	0	99.5:0.5	5.5	7.20	6.28	87.2	5.67	90.3
实施例11	0	99.7:0.3	6.0	7.66	6.52	85.1	5.86	89.9
实施例12	0	95:5	5.5	7.18	5.69	79.2	4.60	80.9

表 2

	油酸 (质量份)	PC:PG	pH	刚制备好	刚加热后		40℃×7天保存后	
				PGE1 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) (a)	PGE1 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) (b)	PGE1 残留率 (%) (b/a)	PGE1 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) (c)	PGE1 残留率 (%) (c/b)
比较例1	0.133	100:0	5.5	7.20	6.32	87.8	4.21	66.7
比较例2	0	100:0	5.0	6.34	5.89	92.9	5.58	94.8
			5.5		5.84	92.1	5.59	95.8
比较例3	0.133	100:0	5.0	7.12	5.95	83.5	4.36	73.4
			5.5		5.76	80.9	4.07	70.6
			6.0		5.52	77.5	3.63	65.9
比较例4	0	(PC:PS =95:5)	5.5	6.11	4.74	77.6	2.56	54.0
比较例5	0	99.9:0.1	6.0	—	—	—	—	—
比较例6	0.133	(PC:PE = 96.5:3.5)	5.0	7.10	5.66	79.7	2.52	44.5
			5.5		5.61	79.0	2.44	43.5
比较例7	0	(PC:PA =95:5)	5.5	6.93	4.93	71.3	3.00	60.7

表 3

	pH	刚制备好		刚加热后		40℃ × 7天保存后	
		平均粒径 (nm)	标准偏差 (nm)	平均粒径 (nm)	标准偏差 (nm)	平均粒径 (nm)	标准偏差 (nm)
实施例1	5.0	193	86	211	82	200	66
	5.5			214	88	213	88
	5.5	213	32	211	63	212	72
	6.0			212	78	213	82
实施例2	5.0	222	68	218	80	225	78
	5.5			219	55	220	85
实施例3	6.0	229	56	226	70	230	74
实施例4	5.0	226	86	225	88	229	50
	5.5			227	74	225	80
实施例5	5.0	210	85	211	71	217	66
实施例6	5.0	230	74	223	60	232	68
实施例7	5.5	218	86	219	68	215	80
	6.0			221	73	213	78
实施例8	6.0	197	81	198	60	196	82
实施例9	5.5	217	77	221	71	211	74
实施例10	5.5	198	58	191	56	181	64
实施例11	6.0	195	67	239	53	234	72
实施例12	5.5	227	93	233	85	226	74

表 4

	pH	刚制备好		刚加热后		40℃×7天保存后				
		平均粒径 (nm)	标准偏差 (nm)	平均粒径 (nm)	标准偏差 (nm)	平均粒径 (nm)	标准偏差 (nm)			
比较例1	5.5	214	33	219	47	219	63			
比较例2	5.0	189	69	731	315	423	195			
	5.5			(加热后分离, 无法测定)						
比较例3	5.0	216	78	419	189	427	179			
	5.5			311				76	340	99
	6.0			227				75	226	67
比较例4	5.5	221	29	225	77	219	80			
比较例5	6.0	192	78	753	354	—	—			
				(加热后分离)						
比较例6	5.0	195	70	191	76	197	72			
	5.5			187				68	186	71
比较例7	5.5	238	53	239	65	238	66			

另外, 在表 1、2 中, “PC:PG”表示在各脂肪乳剂中配合的磷脂中的 PC 与 PG 之比。

由表 1~表 4 所示的结果可知, 根据实施例 1-12 中得到的脂肪乳剂, 由于含有含 PC 和 PG 的磷脂, 且该磷脂中的 PC 和 PG 之比(PC:PG) 为 85:15~99.7:0.3, 因此在 40℃×7 天保存后的 PGE1 的残留率为 70%以上, 进而在 80%以上, 在良好条件下可以达到 85%以上, 脂肪粒子的平均粒径为 300nm 以下, 且即使在刚制备好、刚加热后、以及 40℃×7 天保存后的任何一个情况下脂肪粒子的平均粒径偏差都小。因此, 根据实施例 1-12 中得到的脂肪乳剂, 有效成分 (PGE1) 的稳定性及乳化稳定性优异。

相对于此, 比较例 1 中得到的脂肪乳剂, 与刚制备好的脂肪乳剂相比, 40℃×7 天保存后的脂肪乳剂的 PGE1 的残留率大幅降低。而在比较例 2 中得到的脂肪乳剂与刚制备好的脂肪粒子相比, 刚加热后及 40℃×7 天保存后的脂肪粒子的平均粒径偏差变大。进而, 在比较例 2 中得到的脂肪乳剂, 与刚制备好的脂肪粒子的平均粒径相比, 刚加热后及 40℃×7 天保存后的脂肪粒子的平均粒径显著变大, 也看到制剂的分

离。而且，比较例 3 中得到的脂肪乳剂，pH 为 5.0 及 5.5 时，在刚加热后脂肪粒子变大，pH 为 6.0 时，40℃×7 天保存后的 PGE1 的残留率降低。作为这些情况的理由，可以理解是由于在比较例 1-3、5 中得到的脂肪乳剂，磷脂中的 PC 和 PG 之比 (PC: PG) 不在 85:15~99.7:0.3 的范围，因而有效成分 (PGE1) 的稳定性和/或乳化稳定性低的缘故。

此外，使用 PS 代替 PG 的比较例 4，虽然保证了刚加热后及 40℃×7 天保存后的乳化稳定性，但是 40℃×7 天保存后 PGE1 的残留率显著降低。使用 PA 代替 PG 的比较例 7 也是一样，虽然保证了刚加热后及 40℃×7 天保存后的乳化稳定性，但是 40℃×7 天保存后 PGE1 的残留率显著降低。由这些事实可知使用 PS 或 PA 代替 PG 时，虽然乳化稳定性高，但是 PGE1 的消减增大。

在比较例 6 中，虽然由于磷脂中含有 PE 而使乳化稳定性升高，但是观察到与比较例 1、3 相比 PGE1 的消减增大。

2.21. 在 20℃保存 2 个月后的结果

将实施例 1、实施例 7 及比较例 1 中得到的脂肪乳剂 (pH5.5) 在 20℃ 的条件下保存 2 个月。保存后的 PGE1 的残留率及平均粒径示于表 5 及表 6。另外，对于在 20℃保存 2 个月后的 PGE1 的残留率，利用上述的式 (1) 算出。

根据表 5 及表 6 的结果可知，即使在 20℃保存 2 个月后，实施例 1 中得到的脂肪乳剂也比比较例 1 中得到的脂肪乳剂的有效成分 (PGE1) 稳定性高。

表 5

	油酸 (%)	PC:PG	pH	刚制备好	刚加热后		20℃×2个月保存后	
				PGE1 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) (a)	PGE1 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) (b)	PGE1 残留率 (%) (b/a)	PGE1 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) (c)	PGE1 残留率 (%) (c/b)
实施例1	0	98:2	5.5	5.69	5.37	94.3	4.97	92.5
实施例7	0	98:2	5.5	6.64	6.13	92.3	5.59	91.1
比较例1	0.133	100:0	5.5	7.20	6.32	87.8	4.36	69.1

表 6

	pH	刚制备好		刚加热后		20℃×2个月保存后	
		平均粒径 (nm)	标准偏差 (nm)	平均粒径 (nm)	标准偏差 (nm)	平均粒径 (nm)	标准偏差 (nm)
实施例1	5.5	213	32	211	63	211	79
实施例7	5.5	218	86	219	68	224	36
比较例1	5.5	214	33	219	47	228	67

2.22. 在 5℃ 保存 6 个月后的结果

将实施例 1、实施例 7 及比较例 1 中得到的脂肪乳剂 (pH5.5) 在 5℃ 的条件下保存 6 个月。保存后的 PGE1 的残留率及平均粒径示于表 7 及表 8。另外, 对于在 5℃ 保存 6 个月后的 PGE1 的残留率, 利用上述的式 (1) 算出。

由表 7 和表 8 的结果可知, 即使在 5℃ 保存 6 个月后, 实施例 1 和 7 中得到的脂肪乳剂也比比较例 1 中得到的脂肪乳剂的有效成分 (PGE1) 稳定性高。

表 7

	油酸 (%)	PC:PG	pH	刚制备好	刚加热后		5℃×6个月保存后	
				PGE1 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) (a)	PGE1 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) (b)	PGE1 残留率 (%) (b/a)	PGE1 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) (c)	PGE1 残留率 (%) (c/b)
实施例1	0	98:2	5.5	5.69	5.37	94.3	5.36	99.8
实施例7	0	98:2	5.5	6.64	6.13	92.3	5.99	97.6
比较例1	0.133	100:0	5.5	7.20	6.32	87.8	5.32	84.2

表 8

	pH	刚制备好		刚加热后		5℃×6个月保存后	
		平均粒径 (nm)	标准偏差 (nm)	平均粒径 (nm)	标准偏差 (nm)	平均粒径 (nm)	标准偏差 (nm)
实施例1	5.5	213	32	211	63	227	87
实施例7	5.5	218	86	219	68	236	64
比较例1	5.5	214	33	219	47	231	52

2.23. 在 5℃ 保存 1 年后的结果

将实施例 1、实施例 7 及比较例 1 中得到的脂肪乳剂 (pH5.5) 在 5℃ 的条件下保存 1 年。保存后的 PGE1 的残留率及平均粒径示于表 9 及表 10。另外, 对于在 5℃ 保存一年后的 PGE1 的残留率, 利用上述的式 (1) 算出。

由表 9 及表 10 的结果可知, 即使在 5℃ 保存一年后, 实施例 1 和 7 中得到的脂肪乳剂也比比较例 1 中得到的脂肪乳剂的有效成分 (PGE1) 稳定性高。

表 9

	油酸 (%)	PC:PG	pH	刚制备好	刚加热后		5℃×1年保存后	
				PGE1 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) (a)	PGE1 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) (b)	PGE1 残留率 (%) (b/a)	PGE1 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) (c)	PGE1 残留率 (%) (c/b)
实施例1	0	98:2	5.5	5.69	5.37	94.3	5.13	95.6
实施例7	0	98:2	5.5	6.64	6.13	92.3	5.60	91.4
比较例1	0.133	100:0	5.5	7.20	6.32	87.8	4.71	74.5

表 10

	pH	刚制备好		刚加热后		5℃×1年保存后	
		平均粒径 (nm)	标准偏差 (nm)	平均粒径 (nm)	标准偏差 (nm)	平均粒径 (nm)	标准偏差 (nm)
实施例1	5.5	213	32	211	63	205	78
实施例7	5.5	218	86	219	68	218	74
比较例1	5.5	214	33	219	47	211	65