



## (12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102245176 B

(45) 授权公告日 2015. 05. 27

(21) 申请号 200980149999. 3

A61P 1/10(2006. 01)

(22) 申请日 2009. 10. 30

A61P 1/14(2006. 01)

(30) 优先权数据

A61P 29/00(2006. 01)

61/110, 093 2008. 10. 31 US

A61P 31/04(2006. 01)

61/174, 144 2009. 04. 30 US

A61P 31/12(2006. 01)

A61P 31/22(2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

A61P 9/14(2006. 01)

2011. 06. 14

(86) PCT国际申请的申请数据

(56) 对比文件

PCT/IS2009/000012 2009. 10. 30

CN 1709337 A, 2005. 12. 21, 说明书摘要.

US 2003/0171433 A1, 2003. 09. 11, 权利要求

(87) PCT国际申请的公布数据

1, 5.

W02010/049954 EN 2010. 05. 06

CN 1686230 A, 2005. 10. 26, 说明书摘要.

WO 2007/046122 A2, 2007. 04. 26, 权利要求

(73) 专利权人 脂质医药有限公司

1-37.

地址 冰岛雷克雅未克

审查员 张溪

(72) 发明人 T·罗夫特森 E·斯特凡森

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

代理人 吴宗颐

(51) Int. Cl.

A61K 31/20(2006. 01)

A61K 31/201(2006. 01)

A61K 31/202(2006. 01)

A61K 9/02(2006. 01)

权利要求书1页 说明书11页

(54) 发明名称

用作药物的脂肪酸

(57) 摘要

本发明涉及刺激直肠粘膜诱导排便过程的脂肪酸,发挥缓泻药的作用。此外,本发明涉及在药物制剂例如栓剂、软膏、片剂和胶囊中的游离脂肪酸、脂肪酸混合物和海洋生物脂类的脂肪酸提取物在治疗和预防多种疾病例如便秘、痔疮、细菌感染(例如幽门螺杆菌)、病毒感染(例如单纯疱疹病毒感染)和炎症,以及抗肛门裂和肛门瘙痒中的应用。

1. 游离脂肪酸形式的脂肪酸混合物在制备用于治疗硬粪便和 / 或便秘的药物中的用途,所述脂肪酸具有 C4-C36 范围的碳链长度,所述脂肪酸混合物包含至少 20wt% 的不饱和脂肪酸和至少 5wt% 的多不饱和脂肪酸,所述药物为栓剂形式,施用于直肠。

2. 权利要求 1 的用途,其中所述药物包含 50-2000mg 量的脂肪酸。

3. 权利要求 1 的用途,其中所述药物包含 100-775mg 量的脂肪酸。

4. 权利要求 1 的用途,其中所述脂肪酸混合物是由海洋动物来源得到的。

5. 权利要求 1 的用途,其中所述脂肪酸混合物是由海洋生物物质得到的,所述海洋生物物质选自:由动物来源得到的海洋动物油,选自包括鳕鱼肝油的鱼肝油、鲑鱼油;鱼肉或鱼粉,选自包括来自青鱼、毛鳞鱼、鲭鱼、鲱鱼、沙丁鱼、鲚鱼、竹荚鱼、蓝鳕鱼和鲈鱼的肉或粉;浮游生物、乌贼和贝类。

6. 权利要求 1 的用途,其中所述脂肪酸混合物是由植物油得到的,所述植物油选自红花油、玉米油、杏仁油、芝麻油、大豆油、亚麻籽油、菜籽油、葡萄籽油、向日葵油、麦芽油、大麻油及其任意混合物。

7. 权利要求 1 的用途,其中所述药物栓剂包含 5wt% -75wt% 的脂肪酸。

8. 权利要求 1 的用途,其中所述药物栓剂包含 5wt% -50wt% 的脂肪酸。

9. 权利要求 1 的用途,其中所述脂肪酸配制到还包含 5-25wt% 的三酰甘油的栓剂中。

10. 脂肪酸混合物用于制备药物的用途,所述药物施用于直肠,用于诱导排便过程,其中所述药物是栓剂的形式,所述脂肪酸混合物是游离脂肪酸的形式,包含至少 20wt% 的不饱和脂肪酸和至少 5wt% 的多不饱和脂肪酸,所述脂肪酸具有 C4-C36 范围的碳链长度。

11. 脂肪酸混合物用于制备药物的用途,所述药物用于刺激和 / 或诱导肠运动和用于治疗病毒感染,其中所述药物是栓剂的形式,包含范围为 5-75wt% 的游离脂肪酸形式的脂肪酸混合物作为活性成分,所述脂肪酸具有 C4-C36 的碳链长度,且其中至少 20wt% 的脂肪酸混合物是不饱和脂肪酸,至少 5wt% 的脂肪酸混合物是多不饱和脂肪酸。

12. 权利要求 11 的用途,其中所述药物包含由鳕鱼肝油通过将鱼油甘油酯水解而得到的游离脂肪酸混合物。

13. 权利要求 11 的用途,其中所述药物还包含 5-25wt% 的三酰甘油。

14. 权利要求 11 的用途,其中所述病毒感染是单纯疱疹病毒感染。

## 用作药物的脂肪酸

[0001] 背景技术和现有技术

[0002] 缓泻药用于治疗便秘,即不能定期排便,粪便蓄积于结肠和 / 或少量硬、干粪便的通道中。便秘患者会发现肠运动是困难而疼痛的。缓泻药也用于在肛门镜检查、直肠镜检查、结肠镜检查、结肠的 x- 射线成像或类似的诊断方法前清洁下肠道。有几种类型的缓泻药,总结于表 1 中。缓泻药会产生副作用,但通常并不严重。兴奋剂和刺激药比其他类型的缓泻药更可能会导致副作用例如腹部不适、衰弱和腹部绞痛。缓泻药可以用于口服,例如为片剂、胶囊和液体剂型,或者直肠施用,例如为栓剂和灌肠剂。口服的缓泻药会降低药物和营养药的生物利用度。

[0003] 蓖麻油是一种公知的缓泻药,达到缓泻效果的成人常用治疗剂量是口服 15-60ml。蓖麻油中约 90% 的脂肪酸含量是由单不饱和脂肪酸顺蓖麻酸 (12- 羟基 -9- 顺式 - 十八碳烯酸) 形成的甘油三酸酯,顺蓖麻酸是蓖麻油的活性组分,通过在小肠中刺激液体和电解质的分泌而发挥缓泻药的作用。在施用后的 2-6 小时内一次或两次释放出大量的半流体粪便。顺蓖麻酸可以有效防止很多种类的病毒、细菌、酵母和霉的生长,而且它的确具有一定的抗炎作用 (Vieira 等人, 2000 ;Burdock 等人, 2006)。短链脂肪酸例如乳酸、乙酸、丁酸和丙酸可以通过提高渗透压来刺激结肠运动 (即高渗剂,表 1)。

[0004] 芦比前列酮 (二氟戊基 -2- 羟基 -6- 氧代八氢环戊 - 庚酸) 是一种由前列腺素 E1 的代谢产物得到的二环脂肪酸。在口服后,芦比前列酮激活胃肠道中的特异性氯通道 (ClC-2 通道),刺激肠液分泌,增加胃肠运输并改善便秘的症状 (B. E. Lacy 2008)。因此,芦比前列酮具有受体特异性效果。

[0005] 表 1 缓泻药的类型

[0006]

| 类型          | 作用位点  | 开始作用时间    | 作用机制                         | 实例               |
|-------------|-------|-----------|------------------------------|------------------|
| 成块剂         | 小肠和大肠 | 12-72 小时  | 增加粪便的体积(保留更多的水), 软化粪便并刺激肠运动。 | 欧车前、甲基纤维素、食物纤维   |
| 粪便软化剂和表面活性剂 | 小肠和大肠 | 12-72 小时  | 保持水和脂类在粪便中, 使粪便易于向前移动。       | 多库酯钠(一种表面活性剂)    |
| 盐水          | 小肠和大肠 | 0.5-6 小时  | 将水保留在肠腔内, 增加腔内压力以使粪便软化。      | 氢氧化镁、硫酸镁、磷酸钠     |
| 润滑剂和软化剂     | 结肠    | 6-8 小时    | 使粪便更光滑, 使其更易通过肠前滑。延缓水吸收。     | 矿物油              |
| 高渗剂         | 结肠    | 0.5-3 小时  | 通过将水保留在肠腔内的渗透效应发挥作用          | 山梨醇、乳糖、聚乙二醇、甘油栓剂 |
| 兴奋剂和刺激药     | 结肠    | 6-10 小时   | 刺激蠕动作用, 即, 收缩平滑肌, 推动内容物通过消化道 | 比沙可啶片、番泻叶        |
|             | 结肠    | 6-8 小时    |                              | 酚酞               |
|             | 小肠    | 2-6 小时    |                              | 蓖麻油              |
|             | 结肠    | 0.25-1 小时 |                              | 比沙可啶栓剂           |
| 食物          |       |           |                              | 无花果、橄榄油、梅干       |

[0007] 文献表明, 饱和和不饱和脂肪酸具有抗菌和抗病毒活性, 脂肪酸在对粘膜和皮肤感染的自然防护中发挥作用, 参见例如 Kabara (1978)。体外研究表明, 游离脂肪酸杀死有包膜病毒例如单纯疱疹病毒 -1 和单纯疱疹病毒 -2、革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌例如幽门螺杆菌、以及真菌 (参见 Khulushi 等人, (1995), Thormar 等人, (2007), Carballeira (2008))。

[0008] 必需脂肪酸的饮食和营养益处是公知的, 饮食补充剂例如鱼油已经使用了很长时间, 它提供多不饱和脂肪酸 (PUFA), 也称作高不饱和脂肪酸 (HUFA), 其三酰甘油 (TAG) 形式也称作甘油三酯。所谓必需  $\omega$ -3 脂肪酸是特别有益的。

[0009] EP420056 讨论了脂肪基质的栓剂, 特别是基于非月桂可可脂取代物的栓剂, 可以导致由脂肪基质诱导的刺激。该文献建议加入栓剂脂肪酸、脂肪酸盐或脂肪酸酯, 以减少由脂肪基质诱导的刺激。

[0010] 非常需要开发出新的具有较少副作用和不适感的缓泻药。

## 发明内容

[0011] 本发明是基于下列令人惊奇的发现：脂肪酸具有明确且显著的缓泻效果，可以有利地用于在患有便秘和 / 或硬粪便的患者中诱导排便，或者清洁直肠和下肠道。本文提供的实例证实了在这方面脂肪酸的明确而令人信服的效果。基于这些发现提供了药物剂型和医疗方法。

[0012] 胃肠道壁（直肠粘膜）包含多型性伤害感受器，所述感受器是由很多的力学性、化学性或渗透性刺激物激活的，通过初级传入神经元将信息传导至肠神经系统（内在神经支配）并通过交感神经和副交感神经途径传导至 CNS（外在神经支配）。本发明人已经发现，游离脂肪酸和脂肪酸混合物作为化学性肠刺激物，作用于直肠粘膜中的多型性伤害感受器，诱导排便过程。

[0013] 基于脂肪酸的抗炎、抗病毒和抗菌作用，也提供用于其它医学病症的药物剂型。本文提供了治疗包括痔疮、肛门裂和肛门瘙痒的疾病和病症的剂型。公开了脂肪酸的新的和有用的组合物，包括包含脂肪酸和环糊精的组合物，据显示该组合物是稳定而有效的。

[0014] 痔疮、肛门裂和肛门瘙痒都是常见的良性肛门疾病，一般是依靠基于皮质甾类的药物来进行它们的治疗。除了将这些产品作为缓泻药使用以外，本发明采用由天然来源例如鱼油得到的非甾体产品来替代这些包含甾类的药物。

## 具体实施方式

[0015] 在第一个方面，为达到诱导排便（肠运动），即诱导和 / 或刺激该过程的目的，本发明提供一种施用于直肠和 / 或大肠的药物剂型。该剂型包含一种或多种脂肪酸作为活性成分。所述一种或多种脂肪酸适当地是选自游离脂肪酸、具有药学可接受的抗衡离子的脂肪酸的盐、脂肪酸乙酯和脂肪酸单甘油酯的形式。游离脂肪酸是本发明的优选实施方案。

[0016] 所述一种或多种脂肪酸优选具有范围为 4-36 个碳原子的链长，例如范围为 4-24 的链长，更优选范围为 8-24 个碳的链长。更优选所述一种或多种脂肪酸包含脂肪酸的混合物，所述混合物可以由适当的天然脂类物质例如动物或植物、其馏分或其混合物来源的油获得。

[0017] 用于本发明的脂肪酸包括饱和脂肪酸，例如己酸（6:0）、庚酸（7:0）、辛酸（8:0）、壬酸（9:0）、癸酸（10:0）、十一碳烯酸（11:0）、月桂酸（12:0）、十三烷酸（13:0）、肉豆蔻酸（14:0）、棕榈酸（16:0）和硬脂酸（18:0）。有用的不饱和脂肪酸包括棕榈油酸（16:1n-7）、油酸（18:1n-9）、反油酸（18:1）、亚油酸（18:2n-6）、亚麻酸（18:3）、花生四烯酸（20:4n-6）、鳕油酸（20:1n-11）、二十碳-11-烯酸（20:1n-9；顺式-11-二十碳烯酸）、芥酸（22:1n-9）和鲸蜡烯酸（22:1n-11）。

[0018] 作为本发明的脂肪酸的原料有用的植物油包括红花油、玉米油、杏仁油、芝麻油、大豆油、亚麻籽油、菜籽油、葡萄籽油、向日葵油、麦芽油、大麻油及其任意混合物。

[0019] 在优选的实施方案中，所述脂肪酸来源于药学可接受的且根据药典标准（药物级油）规定的油类物质。这些油包括海洋动物的  $\omega$  油例如  $\omega$ -3 鱼油（Lysi, Iceland）。

[0020] 在一个优选的实施方案中，所述一种或多种脂肪酸包含脂肪酸的混合物，所述混合物包含至少约 20wt% 的不饱和脂肪酸和至少约 5wt% 的多不饱和脂肪酸。术语多不饱和脂肪酸是指在其酰基侧链中具有一个以上双键的脂肪酸，在本文中可以与术语高度不

饱和脂肪酸或 HUFA 互换使用。很多天然油都提供了这样的脂肪酸组合物,例如上述的植物油、鱼油和其他海洋动物油,它们都提供了高比例的 PUFA。用于本发明的多不饱和脂肪酸是  $\omega$ -3 脂肪酸  $\alpha$ -亚麻酸 (18:3)、十八碳四烯酸 (18:3)、十八碳-4,8,12,15-四烯酸 (18:4n-3),二十碳三烯酸 (20:3)、二十碳四烯酸 (20:4)、二十碳五烯酸 (20:5 ;EPA)、二十二碳五烯酸 (22:5)、二十二碳五烯酸 (22:5) 和二十二碳六烯酸 (22:6 ;DHA)、二十四碳五烯酸 (24:5) 和二十四碳六烯酸 (24:6)。其他有用的多不饱和脂肪酸是  $\omega$ -6 脂肪酸,包括亚油酸 (18:2n-6)、 $\gamma$ -亚麻酸 (18:3n-6)、二十碳二烯酸 (20:2)。括号中的标记表示酰基链中碳原子的总数和双键的数量,因此 18:3 是具有 18 个碳原子和 3 个双键的脂肪酸。 $\omega$  数表示第一个双键到酰基链的亲脂末端的距离,当用于上述其他不饱和脂肪酸时也用 n 表示。在一个有用的实施方案中,所述药物剂型包含由海洋生物得到的脂肪酸混合物。用作脂肪酸物质来源的海洋生物包括由动物来源得到的选自包括鳕鱼肝油的鱼肝油、鲑鱼油的海洋动物油;鱼肉或鱼粉,包括来自青鱼、毛鳞鱼、鲭鱼、鲱鱼、沙丁鱼、鲱鱼、竹荚鱼、蓝鳕鱼和鲑鱼的肉或粉;浮游生物、乌贼和贝类。油类例如上述的那些很容易通过水解转化为游离脂肪酸。

[0021] 如上所述,将用于缓泻作用的本发明的药物剂型适当地配制成用于施用于直肠和/或下肠道。因此,适合在所述位点施用的任何类型的剂型都在本发明的范围内。当前关注的剂型包括栓剂、软膏、霜剂、洗剂、糊剂、凝胶剂和灌肠递送制剂。栓剂是本领域公知的,它们一般配制成在室温和最高至少约 30℃ 下为固态,但是具有低于正常人体温度 37℃ 的熔化温度。因此,通常用符合上述熔点标准的脂肪基质例如可可脂来配制栓剂。可可脂是在室温下可以在固态下处理但在体温下完全熔化的饱和和不饱和脂肪酸的甘油三酯的混合物。最新的物质包括所谓可可脂替代品 (CBS),它包括下列分类:相互酯化的完全氢化的棕榈仁油、完全氢化的棕榈仁硬脂酸、富含反式脂肪酸和半合成甘油酯的氢化植物油的中间馏分。

[0022] 适合本发明的有用的市售脂肪基质包括 Suppocire™ (Gattefosse) 亲脂性基质,它是一种半合成的基于植物的油性基质,可分为多个等级,包括 Suppocire™ AS, AS2X, NA, Novata™ (Henkel Int.);包括 Novata A、Novata B 和 Novata BC;Witepsol™ (Dynamit Nobel Ab),例如 Witepsol™ H5、H12、H15、H32、H35、W25、W31、W32、W32、W35 和 W45;Massa Estarinum™ (SASOL),包括 B、BC、E 和 299 级的 Massa Estarinum™。

[0023] 本发明的栓剂可以适当地包括任何上述物质作为基质。亲水性蜡类也可以用于本发明,例如聚乙二醇(例如 PEG 1500、PEG 3000、PEG4000 及其混合物)。Suppocire AP 是一种包含饱和聚乙二醇化甘油酯的两性基质。

[0024] 可以适当地加入其它基质组分,例如蜂蜡、巴西棕榈蜡等。在一些实施方案中所述栓剂剂型还可包含其它的赋形剂,例如但不限于粘合剂和粘着剂、润滑剂、崩解剂、着色剂和填充剂。

[0025] 本发明的栓剂剂型一般包含范围为 50-2000mg 的脂肪酸活性成分,优选范围为 50-1000mg,例如范围为 100-750mg,包括约 100mg,约 200mg,约 300mg,约 400mg 或约 500mg。儿科使用的较小的栓剂也在本发明的范围内,其一般较小,包含范围为 50-750mg 的脂肪酸活性剂,例如范围为 50-500mg,例如约 50mg,约 75mg,约 100mg,约 200mg,约 300mg 或约 400mg。根据栓剂的所需剂量和所需的合计的大小,所包含的脂肪酸活性成分的量可以

在该剂型总重量的约 5wt% - 约 75wt% 的范围内,例如范围为约 5-50wt%,包括范围为约 10-50wt%,例如范围为约 10-40wt%。

[0026] 根据本发明,成人用的模塑或捏合栓剂的通常大小在约 2-3ml 的范围内,例如约 2.0ml,约 2.2ml 或约 2.5ml。根据赋形剂组合物,这一般对应于范围为约 1.5- 约 3g 的重量,因此本发明的栓剂适当地在所述的重量范围内,例如为约 1.8g,约 2.0g,约 2.2g 或约 2.5g。

[0027] 儿科栓剂的适当大小一般是上述大小的约一半左右,例如范围为 0.5-1.5ml,例如约 0.5ml,约 0.8ml,约 1.0ml,约 1.2 或约 1.5ml。

[0028] 已经发现,本发明的栓剂剂型中包括赋形剂油性组分例如三酰甘油(在本文中术语三酰甘油是指天然、合成或混合型油,其主要包含甘油三酯,例如任何上述的油,但是也可包括一些比例的二酰甘油和单酰甘油)是有用的,从而降低药物作用和肠运动期间的不适感。因此,本发明的剂型优选包含范围为约 5-50wt% 的三酰甘油,包括范围为约 5-35wt% 的三酰甘油,例如更优选范围为约 5-25wt%,例如约 5wt%,约 10wt%,约 15wt% 或约 20wt%。在这些实施方案中,基质的组成使得该剂型的所有组合物具有期望的熔点。优选地,所述三酰甘油是一种药物级油,例如上述来自鱼油的  $\omega$  油或其他适当的明确定义的药学可接受的油。

[0029] 本发明的剂型中包括抗氧化剂是有用的,例如但不限于丁羟茴醚(BHA)、丁羟甲苯(BHT)、抗坏血酸或其盐、硫脂盐、柠檬酸、没食子酸丙酯、 $\alpha$ -生育酚和抗坏血酸棕榈酸酯。根据所选择的抗氧化剂化合物,适当的量是例如范围为约 0.05-0.5wt%,例如范围为 0.1-0.3wt%。在一些实施方案中还可以包括防腐剂,例如由苯甲酸或其衍生物组成的组中的任意那些,包括对羟基苯甲酸  $C_{1-6}$ -烷基酯,例如对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯、对羟基苯甲酸丁酯及其混合物。在一个特别关注的实施方案中,防腐剂是重量比为约 3 : 1- 约 5 : 1、优选重量比为约 4 : 1 的对羟基苯甲酸甲酯和对羟基苯甲酸丙酯的混合物。

[0030] 基于制剂进行计算,存在于制剂中的一种或多种防腐剂的浓度是约 0.05-0.2% 重量,该浓度达不到损害脂或脂类活性的任何较大范围。

[0031] 本发明的栓剂剂型优选是在独立的包装中提供的,以进一步抑制空气氧化,例如铝-铝泡罩包装、Duma 容器等。

[0032] 灌肠制剂一般是用适当的药物级灌肠用直肠探测器施用的液体或半液体制剂。优选的探测器是通过破坏打开密封的剂型容器而递送适当剂量的制剂的那些,例如如专利 US4,657,900 中所述的那些。

[0033] 在另一个方面,本发明提供一种刺激和 / 或诱导排便过程的方法,包括将一种或多种脂肪酸施用于直肠和 / 或下肠道。该方法是基于脂肪酸对直肠粘膜中的多型性伤害感受器的刺激作用。所述脂肪酸优选选自上述的脂肪酸和脂肪酸混合物的任一种,其可以配制成适当的剂型,例如上述的任意剂型。

[0034] 从上述讨论可以理解,在该方法中游离脂肪酸是脂肪酸的优选形式,尽管也涵盖其他形式,例如脂肪酸乙酯、脂肪酸的盐和脂肪酸单甘油酯。

[0035] 该方法一般包括施用范围为约 100-2000mg 的脂肪酸,例如范围为 100-1000mg,或任意的上述范围和量。在本发明的优选实施方案中,该方法包括将所述活性成分施用于直

肠和 / 或下肠道。因此,该方法优选包括施用如上所述的剂型,包括栓剂、灌肠剂或经肛引入的其他制剂类型。

[0036] 本发明的另一个方面提供用作刺激和诱导排便过程的药物的脂肪酸。本文提供的实例表明了脂肪酸作为用于所述医学适应症和临床作用的活性成分的明显临床效果。如实施例 6 所示,该效果是由脂肪酸而非用作赋形剂的三酰甘油产生的。本发明的脂肪酸优选是游离脂肪酸的形式或上述定义的其他任何形式,优选所述脂肪酸是作为脂肪酸混合物提供的。适当和实用的混合物可以由天然来源获得,由动物或植物油或其混合物获得,如上述的那些。

[0037] 在下文实施例 1 中描述了如何通过海鱼鱼油的酸性水解制备游离脂肪酸的优选提取物。因此,用作缓泻药的由天然油例如植物油或鱼油的水解而获得的脂肪酸混合物包括在本发明中。本发明的脂肪酸优选配制成本发明的剂型,如本文进一步描述优选地,例如特别是作为栓剂。

[0038] 用于本发明的脂肪酸可以适当地通过天然油例如上述那些的水解提供。甘油三酯的水解可以是酸或碱催化的。如所附的实施例所示,天然油例如鱼油的酸水解得到有用的脂肪酸,所得脂肪酸混合物的组成基本上与油原料的脂肪酸的组成类似,根据天然来源而不同,通过在水解前混合不同的来源,或者混合天然油或者混合各脂肪酸或脂肪酸混合物,可以得到任何所需的组成。不同的鱼类和鱼油的脂肪酸组成是文献普遍记载且技术人员已知的。

[0039] 可以通过游离脂肪酸的酯化,例如用适当的脂肪酶酯化,来获得用于本发明的脂肪酸乙酯,所述脂肪酶是例如但不限于来自米赫根毛霉 (MML)、假单胞菌属脂肪酶 (PSL) 和假单胞菌荧光素脂肪酶 (PFL) 的脂肪酶。参见例如 Halldorsson 等人 (2004), W095/24459, W000/49117 和 US 7, 491, 522。

[0040] 甘油单酯可以通过在适当的反应条件下用甘油和脂肪酶进行选择性的酯化来获得,其综述参见 Osman 等人 (2006)。

[0041] 本发明的另一个方面提供含有脂肪酸和环糊精的药物制剂和剂型。环糊精类是环状的低聚糖,用于与亲水性分子形成主宾络合物。本发明已经发现,脂肪酸干粉可以与环糊精类组合而很容易地提供。用于本发明的环糊精化合物包括  $\alpha$ -环糊精、 $\beta$ -环糊精和  $\gamma$ -环糊精和它们的衍生物,例如 2-羟丙基- $\alpha$ -环糊精、2-羟丙基- $\gamma$ -环糊精和磺丁基醚  $\gamma$ -环糊精。有用的脂肪酸干粉可以包含比例为约 1 : 1 的脂肪酸和环糊精、或范围为 1 : 2-2 : 1 的脂肪酸和环糊精,例如比例为约 2 : 1 (67 : 33) 的脂肪酸 : 环糊精,或比例为约 3 : 2,或约 1 : 1,或约 2 : 3,或 2 : 1。我们发现,本发明的环糊精-脂肪酸组合物比脂肪酸稳定得多。

[0042] 在一些实施方案中,本发明的剂型是口服剂型,例如片剂、药囊或胶囊。如本文所述,这些剂型可以通过常规方法,用转化为干燥形式的脂肪酸-环糊精络合物来配制。

[0043] 片剂是一个优选的实施方案,它们可以通过例如直接压片、干法制粒 (预压法或碾压法) 或湿法制粒来容易地配制,直接压片是本发明优选的。干法制粒包括混合,预压各成分,干燥过筛,润滑并压制。湿法制粒法用于将粉末混合物转化为具有适于压片的流动性和粘合性的颗粒。该方法包括在适当的混合器中混合干燥成分,然后在剪切力下向该混合粉末中加入制粒溶液,得到颗粒。通过适当的筛子将该湿块过筛,并通过盘干燥或流化床干

燥来干燥。可替代地,可以将该湿块干燥并通过粉碎机。完整的方法包括:称重,混合干粉末,湿法制粒,干燥,粉碎,混合润滑并压制。直接压片是一种相对较快的方法,其中直接压制粉末化的物质,而不改变该药物的物理和化学性质。在压制成片前,混合该脂肪酸化合物、直接压片用赋形剂和任何其他辅料例如助流剂和润滑剂,例如在双壳拌合器或类似的低剪切力装置中。

[0044] 可以存在的赋形剂包括稀释剂、粘合剂、崩解剂、润滑剂、助流剂和着色剂中的一种或多种。可以加入助流剂来改善混合的粉末在进料斗中和进入压片模具的流动性。通常加入润滑剂来防止压片物质粘附到穿孔器上、最小化压片过程中的摩擦,并使所压制的片剂易于从模具中取出。润滑剂一般以通常小于1%重量的量包含于最终的片剂混合物中。可用于本发明的润滑剂包括但不限于硬脂酸镁、硬脂酸、氢化油和硬脂酰富马酸钠。本发明的片剂还可以包含一种或多种稀释剂,加入以增加混合物的容量,以达到压片的实际大小和/或影响压片用混合物的性质。可使用的典型的稀释剂包括例如磷酸二钙、硫酸钙、乳糖、葡萄糖结合剂、糊精、纤维素(优选微晶纤维素)、甘露醇、氯化钠、干淀粉、预胶化淀粉和其他糖类。粘合剂用于向粉末化物质传递粘合性质。有用的粘合剂包括淀粉,明胶,糖类例如蔗糖、葡萄糖、果糖、甘露醇、山梨醇、右旋糖和乳糖,天然和合成胶,羧甲基纤维素,甲基纤维素,聚乙烯吡咯烷酮,乙基纤维素和蜡类。可以掺入崩解剂以确保片剂具有可接受的崩解速率。典型的崩解剂包括淀粉衍生物、交聚维酮、交联羧甲基纤维素和羧甲基纤维素的盐。一些粘合剂例如淀粉和纤维素也是优良的崩解剂。

[0045] 本发明的另一种有用的剂型是胶囊。对于给定的剂量大小,适当大小的适当胶囊是技术人员公知的,包括但不限于硬胶囊、软胶囊,更优选羟丙甲基纤维素胶囊。在本发明的剂型中,活性成分的量可以相对较大,例如范围为约50-2000mg的脂肪酸,包括范围为约100-2000mg,例如范围为约100-1000mg,例如约200-1000mg,包括约200mg,约250mg,约300mg,约500mg,约750mg或约1000mg。因此,优选本发明的片剂或胶囊中赋形剂的总量为不向该剂型中加入太多量。因此优选所包含的赋形剂小于约25wt%,例如小于约20wt%,更优选小于约15wt%。

[0046] 其他有用的实施方案包括局部施用的剂型,例如但不限于软膏、霜剂、洗剂、凝胶剂、乳剂、脂质体或糊剂。这些剂型是用常规成分和赋形剂适当配制的。例如用于离子电渗疗法的凝胶剂,混悬液和乳剂,包括油/水(w/o)、w/o、o/w/o、w/o/w乳剂或微乳剂。这些剂型适当地是通过在疏水性或亲水性基质中混合脂肪酸-环糊精络合物的干粉末和适当成分来提供的。所述基质可以包含烃类例如硬、软或液体石蜡,甘油,蜡类(例如,蜂蜡、巴西棕榈蜡),金属皂,胶浆剂,天然来源的油,例如玉米油、杏仁油、蓖麻油或橄榄油,矿物油,动物油(全羟基角鲨烯);或含有醇例如乙醇、异丙醇和丙二醇的脂肪酸例如硬脂酸或油酸。该制剂可以包括任何适当的表面活性剂,例如阴离子、阳离子或非离子表面活性剂,例如山梨坦或其聚氧乙烯衍生物。也可以包括助悬剂,例如天然胶、纤维素衍生物或无机物质例如硅酸盐(siliceous silicas)。该制剂还可以包含吸收促进剂、稳定剂,例如本领域已知的蛋白质稳定剂。

[0047] 局部用剂型优选包括抗氧化剂,例如上述用于口服剂型的任意物质。

[0048] 实施例

[0049] 实施例1:脂肪酸提取物的制备

[0050] 从鱼油中制备脂肪酸混合物：在水性介质中水解后，从鱼油（例如鱼肝油，如鳕鱼肝油）中提取脂肪酸混合物。将氢氧化钠（130g）溶于 1.0L 乙醇和 1.5L 纯净水的混合物中。然后加入 1000g 鳕鱼肝油，将该混合物在 85℃ 在回流下加热 8 小时。然后在冷却至 5℃ 后，加入 800ml 的 6M 盐酸，从水性溶液中分离出油相。然后在 50℃ 下用 800ml 纯净水洗涤该油 4 次，最后在真空和室温下干燥。通过气相色谱法确定该提取物的脂肪酸组成和用于制备该提取物的鳕鱼肝油。该提取物的相对脂肪酸组成大致与未水解油（表 4）相同。

[0051] 表 2：在鳕鱼肝油及其脂肪酸提取物中发现的甘油三酯的脂肪酸组成

[0052]

| 脂肪酸                  |            | 组成 (%) |        |
|----------------------|------------|--------|--------|
| 名称                   | 数量         | 鳕鱼肝油   | 脂肪酸提取物 |
| 肉豆蔻酸                 | 14: 0      | 3.4    | 3.8    |
| 棕榈酸                  | 16: 0      | 10.2   | 11.4   |
| 棕榈油酸                 | 16: 1 n-7  | 6.6    | 7.0    |
| 硬脂酸                  | 18: 0      | 2.3    | 2.5    |
| 顺式-异油酸               | 18: 1 n-7  | 4.4    | 4.4    |
| 油酸                   | 18: 1 n-9* | 17.6   | 18.8   |
| 亚油酸                  | 18: 2 n-6  | 1.2    | 1.3    |
| 十八碳-4, 8, 12, 15-四烯酸 | 18: 4 n-3  | 2.1    | 2.1    |
| 顺式-11-二十碳烯酸          | 20: 1 n-7  | 0.4    | 0.5    |
| 二十碳-11-烯酸            | 20: 1 n-9  | 9.6    | 9.4    |
| 鳕油酸                  | 20: 1 n-11 | 1.9    | 2.1    |
| 二十二碳五烯酸 (EPA)        | 20: 5 n-3  | 8.3    | 7.5    |
| 芥酸                   | 22: 1 n-9  | 0.6    | 0.6    |
| 鲸蜡烯酸                 | 22: 1 n-11 | 9.0    | 9.7    |
| 鳕鱼酸                  | 22: 5 n-3  | 1.4    | 1.4    |
| 二十二碳六烯酸 (DHA)        | 22: 6 n-3  | 11.1   | 9.7    |

[0053] \* 包括不是在 GC 系统中与 18:1n-9 分离的亚麻酸 (18:3n-3)。鳕鱼肝油通常包含小于 1% 的亚麻酸。

[0054] 实施例 2：含脂肪酸提取物的栓剂

[0055] 通过熔化法制备栓剂。熔化白蜂蜡 (Apifil Gattefossé, France ;50g)、二山萘酸甘油酯 (Compritol 888, Gattefossé ;19g) 和硬脂 (Suppocire NA 0, Gattefossé ;530g)，并在约 75℃ 下混合，将其冷却至 50℃。然后加入生育酚抗氧化剂混合物 (Coviox T70, Cognis, Germany ;1g)、鳕鱼肝油 (100g) 和该脂肪酸提取物 (300g)，在充分混合并冷却至

45℃后,将该混合物倒入栓剂模 (2.2ml) 中,并在室温下冷却。通过相同方法制备包含 10% 和 20% 脂肪酸提取物的栓剂,以及包含鳕鱼肝油 (100g) 或脂肪酸提取物 (300g) 的栓剂,其中用额外量的 Suppocire NA0 代替其他成分。

[0056] 表 3

[0057]

| 成分                         | 批次中的量  | 相对量  |
|----------------------------|--------|------|
| 白蜂蜡 (Apifil)               | 50 g   | 5%   |
| 二山嵛酸甘油酯<br>(Compritol 888) | 19 g   | 1.9% |
| 硬脂 (Suppocire NA 0)        | 530 g  | 53%  |
| 生育酚 (Coviox T70)           | 1 g    | 0.1% |
| 鳕鱼肝油                       | 100 g  | 10%  |
| 脂肪酸提取物                     | 300 g  | 30%  |
| 合计                         | 1000 g |      |

[0058] 实施例 3:含脂肪酸提取物的软膏

[0059] 通过熔化法制备软膏。在 65–75℃ 下在水浴上一起熔化蜂蜡 (Apifil, Gattefossé; 49g), 二硬脂酸甘油酯 (Precirol AT0, Gattefossé; 20g) 和凡士林 (白凡士林 Ph. Eur; 330g)。在冷却至 50℃ 后,向该基质中加入鳕鱼肝油 (300g)、脂肪酸提取物 (300g) 和生育酚抗氧化剂混合物 (Coviox T70, Cognis; 1g)。然后在冷却至室温后,将该软膏填充到 30ml 铝管中。

[0060] 实施例 4:栓剂的双盲研究

[0061] 对 30 名健康志愿者进行双盲研究。在第 1 天,参与者接受肛门检查并随机分为接受活性成分 (包含 30% 富  $\omega$  脂肪酸混合物的栓剂和软膏,见表 2,实施例 2 和 3) 的研究组,和接受安慰剂 (不含鱼肝油和脂肪酸混合物的相同栓剂和软膏) 的对照组,总的研究时间是 2 周。研究组包括 3 名男性和 12 名女性,平均年龄 46 岁。对照组包括 6 名男性和 9 名女性,平均年龄 43 岁。参与者直肠施用栓剂,并在肛门周围区域使用软膏,1 天 2 次,在第一周后接受临床检查,进行肛门检查,记录红斑、炎症、血液或疮的任何迹象。在第 2 周后,参与者进行最后的检查。参与者也回答了关于在第 1 和 2 周后在对照检查期间栓剂对他们的肠运动的作用的调查表。

[0062] 在第 1 周后和在最后对照中进行的肛门检查表明各组都没有任何的皮肤毒性反应。各组间瘙痒或轻度疼痛的症状没有统计学显著差异。在研究组中,93% 的人感觉到排便冲动并排出粪便,大部分是在施用栓剂 10 分钟内发生的。在对照组中,仅有 37% 的人在施用栓剂后感觉到排便冲动。这种差异是统计学显著的 ( $P = 0.000$ )。该栓剂明显刺激肠运动,导致排便,而不会导致腹泻、粘膜分泌或任何排便后的长期效应。

[0063] 实施例 5:比较 -- 含有脂肪酸的栓剂 Vs. TAG 油

[0064] 5 名健康志愿者参与该研究。在第 1 天,它们经直肠施用一个包含 10% 富  $\omega$  鱼肝

油和 30% 富  $\omega$  脂肪酸混合物 (见表 2 和实施例 2) 的栓剂, 在第 7 天它们施用仅包含鱼肝油 (40%) 而不包含游离脂肪酸的相同栓剂。包含鱼肝油和脂肪酸混合物的栓剂刺激肠运动, 导致所有参与者排便, 而仅包含鱼肝油的栓剂则没有产生这样的作用。

#### [0065] 实施例 6: 脂肪酸和环糊精的片剂

[0066] 制备包含游离脂肪酸的干粉, 包括在玻璃烧杯中称取 10g 的  $\gamma$ -环糊精、3g 羧甲基纤维素钠 (分子量 90,000Da) 和 0.02g 苯扎氯铵, 并加入纯净水至 90ml。然后向该溶液中加入 9g 鳕鱼肝油和 1g 游离脂肪酸混合物 (实施例 1)。在充分混合后, 冻干所形成的乳剂, 以形成干燥络合物粉末。然后将 98.5g 该络合物粉末与 0.5g 二氧化硅和 1g 硬脂酸镁混合, 通过直接压片制备片剂 (直径 15mm, 重 0.75g)。

#### [0067] 实施例 7: 脂肪酸和环糊精的干粉

[0068] 将  $\gamma$ -环糊精 (15g) 溶于 85ml 水, 向该溶液 (pH7.4) 中加入 15g 脂肪酸混合物 (实施例 1)。在充分混合后, 冻干所形成的乳剂以形成干燥络合物粉末。

#### [0069] 实施例 8: 脂肪酸提取物和脂肪酸-环糊精络合物的杀病毒活性

[0070] 将 96 孔细胞培养板 (Nunc, Denmark) 中单层的 CV-1 细胞 (非洲绿猴肾细胞株) 用于确定病毒感染性滴度。细胞培养基是包含 10% 胎牛血清 (FBS) 的 Eagle 氏最低基础培养基 (MEM), 维持培养基 (MM) 是包含 2% FBS 的 MEM。通过涡旋 1 分钟将来自鳕鱼肝油的脂肪酸提取物、脂肪酸提取物 (实施例 1) 或脂肪酸提取物/ $\gamma$ -环糊精络合物 (实施例 7) 溶于 MM 至希望的浓度 (0.5% 和 1.0%)。将 MM 中的提取物稀释液与单纯疱疹病毒 1 型 (HSV-1) 的母液以 4:1 的比例混合, 并在室温下培养 10 分钟。然后通过具有 CV-1 单层的孔中培养 MM 的 10 倍稀释液, 每孔 100  $\mu$ L, 每种稀释液 4 个孔, 然后立即滴定该混合物的病毒感染性。将该细胞培养板在 37°C 和 5% CO<sub>2</sub> 的空气下培养 5 天。然后读取病毒感染性滴度, 并表示为每 100  $\mu$ L 的 log<sub>10</sub>CCID<sub>50</sub> (50% 细胞培养物感染剂量)。将其中 HSV-1 在 MM 中 4:1 稀释的对照混合物的滴度减去含脂肪酸提取物的混合物的滴度。将差值, 即滴度的减小, 用作抗病毒活性的测定值 (见表 5)。

[0071] 表 4 抗病毒活性

[0072]

| 化合物                      | 病毒滴度 Log <sub>10</sub> | 杀病毒活性   |
|--------------------------|------------------------|---------|
| $\gamma$ -环糊精络合物中的脂肪酸提取物 | $\leq 1.5$             | $> 5.0$ |
| 鳕鱼肝油 (未稀释)               | 0                      | 0       |
| 脂肪酸提取物 (未稀释)             | $\leq 1.5$             | $> 5.0$ |
| HSV-1 对照物                | 6.57 $\pm$ 0.10        | X       |

#### [0073] 参考文献

[0074] JJ.Kabara, Fatty acids and derivatives as antimicrobial agents. In: The pharmacological effect of lipids. Edited by JJ.Kabara. The American Oil Chemists Society, St. Louis, MO, 1978, pp. 1-13.

[0075] S. Khulushi, H. A. Ahmed, P. Patel, M. A. Mendall, T. C. Northfield, The effect of unsaturated fatty acids on Helicobacter pylori in vitro, J. Med. Microbiol., 42,

276-282, 1995.

[0076] N. M. Carballeira, New advances in fatty acids as antimalarial, antimycobacterial and antifungal agents, *Prog. Lipid Res.*, 47, 50-61, 2008).

[0077] H. Thormar, H. Hilmarsson, The role of microbicidal lipids in host defense against pathogens and their potential as therapeutic agents, *Chem. Phys. Lip.*, 150, 1-11, 2007.

[0078] C. Vieira, S. Evangelista, R. Crillo, A. Lippi, C. A. Maggi and S. Manzini, Effect of ricinoleic acid in acute and subchronic experimental models of inflammation, *Med. Inflammation*, 9, 223-228, 2000.

[0079] G. A. Burdock, I. G. Carabin and J. C. Griffiths, Toxicology and pharmacology of sodium ricinoleate, *Food Chem. Tox.*, 44, 1689-1698, 2006.

[0080] B. E. Lacy and L. C. Levy, Lubiprostone : a novel treatment for chronic constipation, *Clin. Interv. Aging*, 3, 357-364, 2008.

[0081] Osman, F. , Ashour A. E. , Gad, A. M. , Monoglycerides : I. Synthesis by Direct Esterification of Fatty Acids and Glycerol, *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, 70, 331-333, 2006.

[0082] A. Halldorsson, B. Kristinsson and G. G. Haraldsson. Lipase selectivity toward fatty Acids Commonly Found in Fish Oil. *Eur. J. Lipid Sci. Tech.* 106, 79-87, 2004.