



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 109069442 B

(45)授权公告日 2020.09.04

(21)申请号 201780018629.0

徐宏江 宋伟 董平 孙中英

(22)申请日 2017.04.14

张颖 陈德洋

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 109069442 A

(51)Int.Cl.

A61K 9/72(2006.01)

A61K 9/12(2006.01)

A61K 31/704(2006.01)

A61P 1/16(2006.01)

A61P 31/12(2006.01)

(43)申请公布日 2018.12.21

(66)本国优先权数据

201610237175.3 2016.04.15 CN

(56)对比文件

WO 2012/026928 A1,2012.03.01

TZU-CHIEN KAO,et al.Glycyrrhizic Acid and 18 β -Glycyrrhetic Acid Inhibit Inflammation via PI3K/Akt/GSK3 β Signaling and Glucocorticoid Receptor Activation.《J. Agric. Food Chem.》.2010,第58卷8623-8629.

审查员 夏宇祥

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2018.09.19

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/CN2017/080583 2017.04.14

(87)PCT国际申请的公布数据

W02017/177966 ZH 2017.10.19

(73)专利权人 正大天晴药业集团股份有限公司

地址 222062 江苏省连云港市海州区郁州南路369号

(72)发明人 顾红梅 王善春 张喜全 黄磊

权利要求书2页 说明书18页

(54)发明名称

异甘草酸或其盐的吸入制剂及其应用

(57)摘要

本发明属于医药领域,涉及异甘草酸或其盐的吸入制剂,具体而言涉及异甘草酸镁的吸入制剂及其在制备治疗呼吸系统疾病药物中的应用。

1. 一种异甘草酸镁的吸入制剂在制备治疗慢性阻塞性肺疾病药物的应用。
2. 一种异甘草酸镁的吸入制剂在制备祛痰药物的应用。
3. 权利要求1或2所述的应用,其特征在于所述吸入制剂为吸入粉雾制剂,其包括:微粉化的异甘草酸镁以及一种或多种药学上可接受的载体,其中所述异甘草酸镁的粒径为0.5-10 μm 。
4. 权利要求3所述的应用,其特征在于所述异甘草酸镁的粒径为0.5-5 μm 。
5. 权利要求3所述的应用,其特征在于所述药学上可接受的载体选自乳糖、甘露醇、海藻糖或甘氨酸。
6. 权利要求5所述的应用,其特征在于所述药学上可接受的载体为研磨乳糖、筛分乳糖或者筛分乳糖与细乳糖的混合物,其中研磨乳糖的粒径分布范围为1-350 μm ,筛分乳糖的粒径分布范围为1-200 μm ,细乳糖的粒径分布范围为1-60 μm 。
7. 权利要求6所述的应用,其特征在于所述研磨乳糖具有X50:30-100 μm 的粒度分布,所述筛分乳糖具有X50:40-110 μm 的粒度分布,所述细乳糖具有X90<45 μm 的粒度分布。
8. 权利要求4-7任意一项所述的应用,其特征在于将微粉化的异甘草酸镁和载体混合后灌装于胶囊或泡罩中。
9. 权利要求8所述的应用,其特征在于每个胶囊或泡罩包含1-50mg的微粉化异甘草酸镁以及50mg以下的乳糖。
10. 权利要求9所述的应用,其特征在于每个胶囊或泡罩包含1-30mg的微粉化异甘草酸镁和1-40mg的乳糖。
11. 权利要求3所述的应用,其特征在于所述的吸入粉雾制剂还包括:一种或多种药学上可接受的附加剂,所述附加剂为选自表面活性剂、润滑剂、矫味剂中的一种或多种。
12. 权利要求11所述的应用,其特征在于所述的表面活性剂为磷脂,润滑剂为硬脂酸镁。
13. 权利要求1或2所述的应用,其特征在于所述吸入制剂为供雾化器用的液体制剂,其包括异甘草酸镁、等渗调节剂、酸碱度调节剂和注射用水,pH为6.0-8.0,其中所述雾化器为连续型雾化器或定量雾化器。
14. 权利要求13所述的应用,其特征在于所述异甘草酸镁的含量为0.1mg/ml-5mg/ml。
15. 权利要求13所述的应用,其特征在于所述异甘草酸镁的含量为0.1mg/ml-2.5mg/ml。
16. 权利要求13所述的应用,其特征在于所述等渗调节剂选自葡萄糖、氯化钠、氯化钾、甘露醇中的一种或多种组合。
17. 权利要求16所述的应用,其特征在于所述等渗调节剂为氯化钠。
18. 权利要求13所述的应用,其特征在于所述酸碱度调节剂选自氢氧化钠、氨水、盐酸、碳酸钠、碳酸氢钠、稀硫酸、枸橼酸、枸橼酸钠、醋酸、酒石酸、醋酸钠或磷酸氢二钠中的一种或多种组合。
19. 权利要求18所述的应用,其特征在于所述酸碱度调节剂为氢氧化钠和/或氨水。
20. 权利要求14-19任意一项所述的应用,其特征在于所述pH为6.5-7.0。
21. 权利要求14-19任意一项所述的应用,其特征在于所述吸入制剂以单剂量形式进行包装,包装规格为1ml、2ml或5ml。

22. 权利要求1或2所述的应用,其特征在于所述吸入制剂给受试者施用的频率选自:达到一日三次、达到一日两次、达到一日一次、达到每隔一日一次。

异甘草酸或其盐的吸入制剂及其应用

[0001] 相关申请的交叉引用

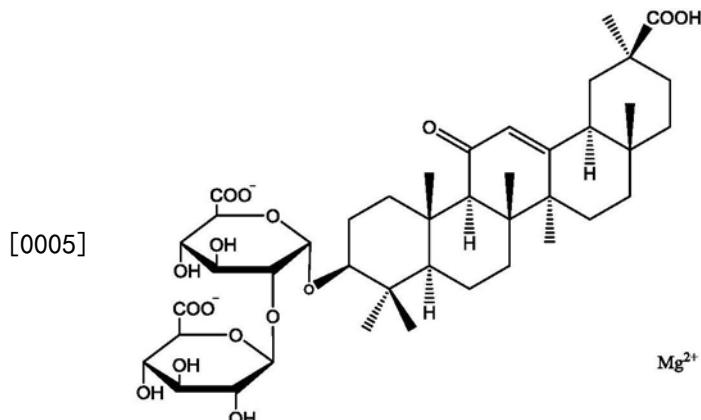
[0002] 本申请要求于2016年4月15日提交的中国申请号201610237175.3的优先权,在此通过引用整体并入本文。

技术领域

[0003] 本申请属于医药领域,涉及异甘草酸或其盐的吸入制剂,具体而言涉及异甘草酸镁的吸入制剂及其在制备治疗呼吸系统疾病药物中的应用。

背景技术

[0004] 甘草 (Glycyrrhiza) 是一种常用的药用植物,其主要活性成分为甘草酸类物质,即 18- β 构型的甘草酸和 18- α 构型的甘草酸(也称为异甘草酸)。中国专利 ZL02111693.8 公开了一种新的化合物异甘草酸镁(结构如式 I 所示,分子量 845),经大量的药理、生化研究证明,其在不同肝毒剂引起肝损伤的动物模型(例如 D-氨基半乳糖引起的大鼠急性肝损伤、四氯化碳致大鼠慢性肝损伤、四氯化碳致大鼠肝硬化、Gal/FCA 诱发黑小鼠免疫性肝损伤)中,能明显阻止动物血清转氨酶升高,减轻肝细胞变性、坏死及炎症细胞浸润,并促进肝细胞再生作用,异甘草酸镁抗肝损伤作用明显优于天然甘草酸。



[0006] 甘草的药理作用广泛,中医上认为甘草及其提取物有强心、祛痰、镇咳、平喘、肺保护以及广谱抗菌、抗病毒作用等多种功效,对于其活性成分的药效学以及新剂型的研究一直备受关注,并越加深入。

[0007] 中国专利 ZL200410041923.8 公开了一种异甘草酸镁凝胶制剂及其在制备治疗银屑病、慢性湿疹皮炎、接触性皮炎和其他变态性皮肤病药物中的应用;中国专利 ZL200510106108.X 公开了一种供静脉用异甘草酸镁制剂及其在制备治疗肝病药物中的应用;中国专利 ZL200510106109.4 公开了一种异甘草酸镁口服制剂及其在制备治疗肝病、湿疹、皮炎、银屑病、荨麻疹药物中的应用;中国专利 ZL200510106110.7 公开了一种异甘草酸镁外用制剂及其在银屑病、慢性湿疹皮炎、接触性皮炎和其他变态性皮肤病药物中的应用;中国专利 ZL200610098077.2 公开了一种注射用异甘草酸镁冻干粉针及其制备方法。

[0008] 病毒性肝炎是由多种肝炎病毒引起的以肝脏病变为主的一种传染病。临幊上以食欲减退、恶心、上腹部不适、肝区痛、乏力为主要表现。部分病人可有黄疸发热和肝大伴有肝功能损害。病毒性肝炎病程持续半年以上者即为慢性病毒性肝炎。异甘草酸镁在临幊上适用于慢性病毒性肝炎,改善肝功能异常,但采用静脉注射的形式给药,患者依从性较差。序贯治疗又称“转换治疗”,是20世纪80年代由美国和欧洲学者提出的一种新的治疗方法,指使用药物治疗疾病时,初期采用胃肠外给药(静脉注射)2-3天,待临幊症状基本稳定、病情改善后,改为口服药物治疗。静脉滴注虽对不能口服药物的患者具有及时治疗的目的,但难免会带来相应的不良反应,如输液反应、血管刺激与静脉炎,造成病人的痛苦。序贯治疗可缩短静脉用药的时间,减少输液相关不良反应的发生,可以极大程度地缩短患者的住院时间,节省个人和医疗机构的经费支出,节约有限的经济资源,减少患者住院所带来的相关社会劳动力损失。目前临幊推荐的慢性肝炎序贯疗法比较单一,常用方法为静脉滴注异甘草酸镁注射液+口服甘草酸二铵胶囊。由于肝脏细胞并非肝炎病毒的唯一宿主细胞,因此在使用甘草酸二铵制剂治疗病毒性肝炎时,存在生物利用度低的问题,为了能达到理想的治疗效果不得不加大给药剂量,但这样也同时增加了药物副作用的风险。因此,迫切需要寻找更好的异甘草酸镁药物制剂,并需要提供一种生物利用度高的慢性病毒性肝炎的序贯疗法。

[0009] 吸入制剂系指通过特定的装置将药物以雾状形式传输至呼吸道和/或肺部以发挥局部或全身作用的制剂。药物自身性质对吸收过程中也有着较大影响。微细粒子剂量是评价吸入制剂有效性的重要参数,控制粉体空气动力学粒径、改变表面性质、调节载体的种类和大小等方法可提高微细粒子剂量和肺部沉积率,从而增加生物利用度;而对于干粉吸入剂而言,如果药物粒子的吸湿性较大,在药物制备及储存过程中极可能会发生聚集、药物颗粒变大及分层,从而影响药物粒子的肺部沉积量,进而影响药效;另外,在呼吸系统(如呼吸道分泌液或肺泡液)中有适当溶解度的药物吸收较好;药物在肺部的吸收属于被动扩散,药物分子的脂溶性在其中起重要作用。大多数脂溶性药物是经过肺泡上皮细胞的脂质双分子膜扩散而吸收,故油/水分配系数较大的药物吸收迅速;药物在肺部的吸收效果还与其分子量的大小有关,小分子药物大多通过肺泡上皮细胞上的膜孔而吸收,故一般分子量小的药物吸收较快。异甘草酸镁制成吸入制剂应用于治疗疾病的用途尚未报道,且异甘草酸镁的分子量属于中等,制备成为吸入制剂可能存在较大挑战。

[0010] 慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease,COPD)是一种呼吸系统常见病、多发病,其特征为不完全可逆、持续性的气流受限。随着气流受限的进行性发展,气道和肺对有害颗粒或气体所致慢性炎症反应的增加,急性加重和合并症常影响患者整体疾病的严重程度。据报道COPD的发病率和死亡率有逐年增加的趋势,目前已居全球疾病死亡原因的第4位,严重危害着人民的健康,且因其社会经济负担重,已成为一个重要的公共卫生问题。COPD发病状态可表现为稳定期和急性加重期。COPD稳定期的治疗包括药物治疗和非药物治疗,药物治疗主要是支气管舒张剂、糖皮质激素、祛痰药(黏液溶解剂)、抗氧化剂、免疫调节剂、疫苗等,而长期规律的吸入糖皮质激素较适用于COPD重度(III级)和极重度(IV级)患者($FEV1 < 50\%$ 预计值),这一治疗可减少急性加重频率,改善生活质量;非药物治疗包括教育与管理、控制职业性或环境污染、氧疗、康复治疗和外科治疗等,目的是缓解症状,改善健康状况,增强机体免疫力,阻止疾病进展,减少急性发作的次数,降低病死率,改善活动耐力,提高生活质量等。但研究证实目前现有的治疗并不能缓解COPD患者肺

功能长期下降的趋势,尤其对稳定期肺功能进行性下降尚缺乏有效的防治方法,并且糖皮质激素和B2受体激动剂的长期应用不可避免地带来一些副作用,因而仍需寻找更好的治疗COPD的药物及制剂。

[0011] 咳、痰、喘是呼吸系统常见的三大症状,三者同时存在又相互影响,不仅给病人带来痛苦,甚至危及生命。祛痰药是一类能使痰液变稀、粘稠度降低而易于咳出的药物,同时加速呼吸道黏膜纤毛运动,改善痰液转运功能,减弱对呼吸道黏膜的刺激,间接起到镇咳平喘作用,也有利于控制继发感染。

[0012] 随着雾化吸入治疗在呼吸系统疾病上的应用日趋广泛,尤其是祛痰、治疗哮喘、COPD等常见疾病,吸入制剂市场前景广阔。目前对于甘草酸类吸入制剂在制备祛痰药物以及治疗慢性阻塞性肺疾病药物中的应用尚未见报道。

发明内容

[0013] 本发明一方面提供异甘草酸或其盐的吸入制剂。

[0014] 在本发明的一个实施方案中,所述盐为镁盐、铵盐、钾盐、钠盐或各种氨基酸盐,优选为镁盐、铵盐、钾盐或钠盐。进一步优选为镁盐。

[0015] 在本发明的一个实施方案中,所述吸入制剂选自吸入气雾剂、吸入粉雾剂、供雾化器用的液体制剂和可转变成蒸汽的制剂。优选的,所述吸入制剂选自吸入粉雾剂或供雾化器用的液体制剂。

[0016] 在本发明的一个优选实施方案中,本发明的吸入制剂为吸入粉雾剂,其包括:微粉化的异甘草酸镁以及一种或多种药学上可接受的载体,其中所述微粉化的异甘草酸镁的粒径为0.5-10 μm 。优选的,所述微粉化的异甘草酸镁的粒径为0.5-5 μm 。

[0017] 本发明所述的“异甘草酸镁的粒径为0.5-10 μm ”是指绝大部分异甘草酸镁原料药的粒径在0.5-10 μm 范围内,进一步而言,异甘草酸镁的粒径分布限定为 $X_{10} \geq 0.5\mu\text{m}$, $X_{80} \leq 10\mu\text{m}$ 。本发明所述的“ X_{10} ”是指颗粒粒径分布为10%的粒径,即小于此粒径的颗粒体积含量占全部颗粒的10%;“ X_{50} ”是指颗粒粒径分布为50%的粒径,即小于此粒径的颗粒体积含量占全部颗粒的50%;“ X_{80} ”是指颗粒粒径分布为80%的粒径,即小于此粒径的颗粒体积含量占全部颗粒的80%;“ X_{90} ”是指颗粒粒径分布为90%的粒径,即小于此粒径的颗粒体积含量占全部颗粒的90%。

[0018] 本发明所述的“药学上可接受的载体”选自乳糖、甘露醇、海藻糖或甘氨酸,优选为乳糖,进一步优选为研磨乳糖、筛分乳糖或者筛分乳糖与细乳糖的混合物,其中研磨乳糖的粒径分布范围为1-350 μm ,具有 $X_{50} < 30-110\mu\text{m}$ 的粒度分布;筛分乳糖的粒径分布范围为1-200 μm ,具有 $X_{50} < 35-115\mu\text{m}$ 的粒度分布;细乳糖的粒径分布范围为1-60 μm ,具有 $X_{90} < 45\mu\text{m}$ 的粒度分布。

[0019] 本发明所述的“研磨乳糖”是指经机械研磨成不同精细程度的乳糖,且研磨乳糖不同等级之间粒度分布有所不同,具体而言,粒径分布范围为1-350 μm ,具有 $X_{50} < 30-110\mu\text{m}$ 的粒度分布;本发明所述的“筛分乳糖”是指经筛分后可获得相对较窄的粒度分布的乳糖,具体而言,粒径分布范围为1-200 μm ,具有 $X_{50} < 35-115\mu\text{m}$ 的粒度分布;本发明所述的“细乳糖”具体包括粒度分布较窄的细研磨乳糖和微粉化的细乳糖,具体而言,细乳糖的粒径分布范围为1-60 μm ,具有 $X_{90} < 45\mu\text{m}$ 的粒度分布。

[0020] 在本发明的一个实施方案中,将上述微粉化的异甘草酸镁和载体混合后灌装于胶囊或泡罩中。在进一步的实施方案中,每个胶囊或泡罩包含1-50mg的微粉化异甘草酸镁以及0-50mg的乳糖。优选的,每个胶囊/或泡罩包含1-30mg的微粉化异甘草酸镁以及1-40mg的乳糖。

[0021] 在本发明的另一个优选实施方案中,本发明所述的吸入粉雾剂还包括:一种或多种药学上可接受的附加剂。

[0022] 本发明所述的“药学上可接受的附加剂”包括表面活性剂、润滑剂、矫味剂中的一种或几种。

[0023] 在本发明的一些实施方案中,所述的药学上可接受的附加剂为表面活性剂,例如磷脂、泊洛沙姆。

[0024] 在本发明的一些实施方案中,所述的药学上可接受的附加剂为润滑剂,例如硬脂酸镁、微粉硅胶、滑石粉。

[0025] 在本发明的一些实施方案中,所述的药学上可接受的附加剂为矫味剂,包括天然芳香剂和人工合成香精。天然芳香剂例如薄荷油、橙皮油、桂皮油、留兰香油、薄荷水、复方橙皮醑;人工合成香精如香蕉香精、菠萝香精、橘子香精。

[0026] 在本发明的另一个优选实施方案中,本发明的吸入制剂为供雾化器用的液体制剂,其包括异甘草酸镁、等渗调节剂、酸碱度调节剂和注射用水,pH为6.0-8.0,所述雾化器为连续型雾化器或定量雾化器。

[0027] 在本发明的一个优选实施方案中,所述异甘草酸镁的含量为0.1mg/ml-5mg/ml,优选为0.1mg/ml-2.5mg/ml。在一些实施方案中,异甘草酸镁的含量为0.1mg/ml-0.5mg/ml;在一些实施方案中,异甘草酸镁的含量为0.5mg/ml-2.5mg/ml。

[0028] 在本发明的一个优选实施方案中,所述等渗调节剂选自葡萄糖、氯化钠、氯化钾、甘露醇中的一种或多种组合,优选为氯化钠。

[0029] 在本发明的一个优选实施方案中,所述酸碱度调节剂选自氢氧化钠、氨水、盐酸、碳酸钠、碳酸氢钠、稀硫酸、枸橼酸、枸橼酸钠、醋酸、酒石酸、醋酸钠或磷酸氢二钠中的一种或多种组合,优选为氨水或氢氧化钠。

[0030] 在本发明的一个优选实施方案中,pH为6.5-7.0。

[0031] 优选的,以单剂量包装的形式提供的供雾化器用的液体制剂,单剂量包装规格为1ml、2ml或5ml。优选为2ml。

[0032] 在本发明的一些实施方案中,所述的吸入制剂以多剂量包装的形式提供的供雾化器用的液体制剂,多剂量包装规格为10ml、20ml或30ml。

[0033] 在本发明的一些实施方案中,所述的供雾化器用的液体制剂包含矫味剂,包括天然芳香剂和人工合成香精。天然芳香剂例如薄荷油、橙皮油、桂皮油、留兰香油、薄荷水、复方橙皮醑;人工合成香精如香蕉香精、菠萝香精、橘子香精。

[0034] 本发明的一个目的是提供一种异甘草酸或其盐的吸入制剂的给药方案,其中所述的方案包括所述吸入制剂给受试者施用的频率选自:达到一日三次、达到一日两次、达到一日一次、达到每隔一日一次,优选为达到一日两次。

[0035] 本发明另一方面提供异甘草酸或其盐的吸入制剂在制备治疗慢性病毒性肝炎的药物中的应用。优选的,其中异甘草酸或其盐选自异甘草酸镁。

[0036] 本发明又一方面提供异甘草酸镁的吸入制剂通过序贯治疗的方式在制备治疗慢性病毒性肝炎的药物中的应用,其中序贯治疗使用异甘草酸镁注射液和异甘草酸镁吸入制剂。

[0037] 本发明再一方面提供一种组合,其包括异甘草酸镁的吸入制剂和异甘草酸镁注射液。

[0038] 另一方面,本发明提供一种治疗慢性病毒性肝炎的方法,其中包括给予慢性病毒性肝炎患者治疗有效量的异甘草酸或其盐的吸入制剂。在一些实施例中,所述吸入制剂选自吸入气雾剂、吸入粉雾剂、供雾化器用的液体制剂和可转变成蒸汽的制剂。优选的,所述吸入制剂选自吸入粉雾剂或供雾化器用的液体制剂。

[0039] 再一方面,本发明提供一种试剂盒,其中包括含有一个或多个单剂量包装形式的异甘草酸或其盐的吸入制剂、给药器具、说明书以及合适的包装。在一些实施例中,所述吸入制剂选自吸入气雾剂、吸入粉雾剂、供雾化器用的液体制剂和可转变成蒸汽的制剂。优选的,所述吸入制剂选自吸入粉雾剂或供雾化器用的液体制剂。在一些实施例中,供雾化器用的液体制剂的给药器具为雾化器,所述雾化器为连续型雾化器或定量雾化器。在一些实施例中,说明书涉及治疗慢性病毒性肝炎的方法,其中包括给予慢性病毒性肝炎患者治疗有效量的异甘草酸或其盐的吸入制剂。

[0040] 本发明再一方面提供异甘草酸或其盐的吸入制剂在制备治疗慢性阻塞性肺疾病药物中的应用。优选的,其中异甘草酸或其盐选自异甘草酸镁。

[0041] 在本发明的一个实施方案中,所述吸入制剂选自吸入气雾剂、吸入粉雾剂、供雾化器用的液体制剂和可转变成蒸汽的制剂。优选的,所述吸入制剂选自吸入粉雾剂或供雾化器用的液体制剂;最优选的,所述吸入制剂选自供雾化器用的液体制剂。

[0042] 在本发明的一个优选实施方案中,本发明的吸入制剂为供雾化器用的液体制剂,其包括:异甘草酸镁、等渗调节剂、酸碱度调节剂和注射用水,pH为6.0-8.0,所述雾化器为连续型雾化器或定量雾化器。

[0043] 在本发明的一个优选实施方案中,所述异甘草酸镁的含量为0.1mg/ml-5mg/ml,优选为0.1mg/ml-2.5mg/ml。在一些实施方案中,异甘草酸镁的含量为0.1mg/ml-0.5mg/ml;在一些实施方案中,异甘草酸镁的含量为0.5mg/ml-2.5mg/ml。

[0044] 在本发明的一个优选实施方案中,所述等渗调节剂选自葡萄糖、氯化钠、氯化钾、甘露醇中的一种或多种组合,优选为氯化钠。

[0045] 在本发明的一个优选实施方案中,所述酸碱度调节剂选自氢氧化钠、氨水、盐酸、碳酸钠、碳酸氢钠、稀硫酸、枸橼酸、枸橼酸钠、醋酸、酒石酸、醋酸钠或磷酸氢二钠中的一种或多种组合,优选为氨水或氢氧化钠。

[0046] 在本发明的一个优选实施方案中,pH为6.5-7.0。

[0047] 优选的,以单剂量包装的形式提供的供雾化器用的液体制剂,单剂量包装规格为1ml、2ml或5ml。优选为2ml。

[0048] 在本发明的一些实施方案中,所述的吸入制剂以多剂量包装的形式提供的供雾化器用的液体制剂,多剂量包装规格为10ml、20ml或30ml。

[0049] 在本发明的一些实施方案中,所述的供雾化器用的液体制剂包含矫味剂,包括天然芳香剂和人工合成香精。天然芳香剂例如薄荷油、橙皮油、桂皮油、留兰香油、薄荷水、复

方橙皮醑；人工合成香精如香蕉香精、菠萝香精、橘子香精。

[0050] 本发明的一个实施方案中，所述的吸入制剂给受试者施用的频率选自：达到一日三次、达到一日两次、达到一日一次、达到每隔一日一次，优选为达到一日两次。

[0051] 在本发明的一个优选实施方案中，在香烟烟雾吸入诱发大鼠COPD的动物模型中，采用异甘草酸镁吸入制剂气管给药和雾化给药两种给药方式，评价异甘草酸镁吸入制剂的药理作用。

[0052] 在本发明的一个优选实施方案中，在脂多糖(LPS)诱导的小鼠COPD的动物模型中，采用异甘草酸镁吸入制剂雾化给药一日一次和一日两次的给药方式，给药剂量分为低、中、高三个剂量(0.5、1.5和5mg/ml)，评价异甘草酸镁吸入制剂的药理作用。

[0053] 另一方面，本发明提供一种治疗慢性阻塞性肺疾病的方法，其中包括给予慢性阻塞性肺疾病患者治疗有效量的异甘草酸或其盐的吸入制剂。在一些实施例中，所述吸入制剂选自吸入气雾剂、吸入粉雾剂、供雾化器用的液体制剂和可转变成蒸汽的制剂。优选的，所述吸入制剂选自吸入粉雾剂或供雾化器用的液体制剂；最优选的，所述吸入制剂选自供雾化器用的液体制剂。在一些实施方案中，所述的吸入制剂给受试者施用的频率选自：达到一日三次、达到一日两次、达到一日一次、达到每隔一日一次，优选为达到一日两次。

[0054] 再一方面，本发明提供一种试剂盒，其中包括含有一个或多个单剂量包装形式的异甘草酸或其盐的吸入制剂、给药器具、说明书以及合适的包装。在一些实施例中，所述吸入制剂选自吸入气雾剂、吸入粉雾剂、供雾化器用的液体制剂和可转变成蒸汽的制剂。优选的，所述吸入制剂选自吸入粉雾剂或供雾化器用的液体制剂；最优选的，所述吸入制剂选自供雾化器用的液体制剂。在一些实施方案中，供雾化器用的液体制剂的给药器具为雾化器，所述雾化器为连续型雾化器或定量雾化器。在一些实施例中，说明书涉及治疗慢性阻塞性肺疾病的方法，其中包括给予慢性阻塞性肺疾病患者治疗有效量的异甘草酸或其盐的吸入制剂。

[0055] 本发明再一方面提供异甘草酸或其盐的吸入制剂在制备祛痰药物中的应用，其中所述的祛痰药物是指能使痰液变稀、粘稠度降低而易于咳出的药物。优选的，其中异甘草酸或其盐选自异甘草酸镁。

[0056] 在本发明的一个实施方案中，所述吸入制剂选自吸入气雾剂、吸入粉雾剂、供雾化器用的液体制剂和可转变成蒸汽的制剂。优选的，所述吸入制剂选自吸入粉雾剂或供雾化器用的液体制剂；最优选的，所述吸入制剂选自供雾化器用的液体制剂。

[0057] 在本发明的一个优选实施方案中，本发明的吸入制剂为供雾化器用的液体制剂，其包括：异甘草酸镁、等渗调节剂、酸碱度调节剂和注射用水，pH为6.0-8.0，所述雾化器为连续型雾化器或定量雾化器。

[0058] 在本发明的一个优选实施方案中，所述异甘草酸镁的含量为0.1mg/ml-5mg/ml，优选为0.2mg/ml-2.5mg/ml。在一些实施方案中，异甘草酸镁的含量为0.2mg/ml-0.5mg/ml；在一些实施方案中，异甘草酸镁的含量为0.5mg/ml-2.5mg/ml。

[0059] 在本发明的一个优选实施方案中，所述等渗调节剂选自葡萄糖、氯化钠、氯化钾、甘露醇中的一种或多种组合，优选为氯化钠。

[0060] 在本发明的一个优选实施方案中，所述酸碱度调节剂选自氢氧化钠、氨水、盐酸、碳酸钠、碳酸氢钠、稀硫酸、枸橼酸、枸橼酸钠、醋酸、酒石酸、醋酸钠或磷酸氢二钠中的一种

或多种组合,优选为氨水或氢氧化钠。

[0061] 在本发明的一个优选实施方案中, pH为6.5-7.0。

[0062] 优选的,以单剂量包装的形式提供的供雾化器用的液体制剂,单剂量包装规格为1ml、2ml或5ml。优选为2ml。

[0063] 在本发明的一些实施方案中,所述的吸入制剂以多剂量包装的形式提供的供雾化器用的液体制剂,多剂量包装规格为10ml、20ml或30ml。

[0064] 在本发明的一些实施方案中,所述的供雾化器用的液体制剂包含矫味剂,包括天然芳香剂和人工合成香精。天然芳香剂例如薄荷油、橙皮油、桂皮油、留兰香油、薄荷水、复方橙皮醑;人工合成香精如香蕉香精、菠萝香精、橘子香精。

[0065] 在本发明的一个优选实施方案中,采用小鼠酚红排泄法实验评价异甘草酸镁吸入制剂对小鼠气管分泌的影响。

[0066] 另一方面,本发明提供一种祛痰的方法,其中包括给予痰液分泌不正常、排痰功能不良的患者治疗有效量的异甘草酸或其盐的吸入制剂。在一些实施例中,所述吸入制剂选自吸入气雾剂、吸入粉雾剂、供雾化器用的液体制剂和可转变成蒸汽的制剂。优选的,所述吸入制剂选自吸入粉雾剂或供雾化器用的液体制剂;最优选的,所述吸入制剂选自供雾化器用的液体制剂。

[0067] 再一方面,本发明提供一种试剂盒,其中包括含有一个或多个单剂量包装形式的异甘草酸或其盐的吸入制剂、给药器具、说明书以及合适的包装。在一些实施例中,所述吸入制剂选自吸入气雾剂、吸入粉雾剂、供雾化器用的液体制剂和可转变成蒸汽的制剂。优选的,所述吸入制剂选自吸入粉雾剂或供雾化器用的液体制剂;最优选的,所述吸入制剂选自供雾化器用的液体制剂。在一些实施例中,供雾化器用的液体制剂的给药器具为雾化器,所述雾化器为连续型雾化器或定量雾化器。在一些实施例中,说明书涉及一种祛痰的方法,其中包括给予痰液分泌不正常、排痰功能不良的患者治疗有效量的异甘草酸或其盐的吸入制剂。

[0068] 术语“异甘草酸”的化学名为:(18 α ,20 β)-20-羧基-11-氧代-30-去甲齐墩果-12-烯-3 β -基-2-0- β -D-吡喃葡萄糖醛酸基- α -D-吡喃葡萄糖苷醛酸。

[0069] 术语“异甘草酸镁”的化学名为:(18 α ,20 β)-20-羧基-11-氧代-30-去甲齐墩果-12-烯-3 β -基-2-0- β -D-吡喃葡萄糖醛酸基- α -D-吡喃葡萄糖苷醛酸镁,其结构如式I所示。该术语进一步包括其水合物,例如四水合物。

[0070] 本发明人出乎意料的发现,可以将中等分子量的异甘草酸镁制备成吸入制剂,所述制剂排空率高且微细粒子百分比较高,吸入给药可使异甘草酸镁在肺部快速入血,从而进入血液循环发挥全身作用。与普通口服制剂相比,异甘草酸镁吸入制剂的生物利用度显著提高,因此可降低给药剂量,并降低毒副作用发生的风险;与注射剂相比,异甘草酸镁吸入制剂的生物利用度相当,但患者只需主动或者被动吸入用药,极大降低了注射带来的痛苦,提高患者的顺应性。因此,本发明的吸入制剂极其适合与注射液序贯使用,在保证药效的同时降低了注射用药的带来的痛苦和治疗费用。

[0071] 在香烟烟雾吸入诱发大鼠慢性阻塞性肺疾病的动物模型中,异甘草酸镁吸入制剂能够缓解COPD大鼠的临床症状,对COPD大鼠以中性粒细胞为主的炎症因子的浸润具有抑制作用,能显著减轻肺部炎症,改善支气管壁的作用,减少支气管粘液分泌物和改善肺气肿等

作用,实验证明具有显著治疗COPD的效果。同时异甘草酸镁不同给药方式影响药效,雾化吸入给药途径(异甘草酸镁供雾化器用的液体制剂0.4mg/ml,30min)减轻炎症效果最为显著。

[0072] 在脂多糖(LPS)诱导的小鼠慢性阻塞性肺疾病的动物模型中,异甘草酸镁吸入制剂各剂量组与模型组相比,对小鼠支气管气道白细胞数有明显下调,一日两次吸入异甘草酸镁供雾化器用的液体制剂的低剂量与中剂量组的治疗效果与阳性对照组效果相当,高剂量组的治疗效果略弱于低剂量与中剂量组。另外,同等剂量下异甘草酸镁一日两次的治疗效果优于一日一次。

[0073] 采用小鼠酚红排泄法实验评价异甘草酸镁吸入制剂对小鼠气管分泌的影响,结果发现雾化给药15min(异甘草酸镁供雾化器用的液体制剂0.2mg/ml)的酚红排泌量相比于对照组的酚红排泌量显著增多($p<0.01$)。

具体实施方式

[0074] 下面结合具体实施例,进一步阐述本申请。应理解,这些实施例仅用于说明本申请而不同于限制本申请的保护范围。

[0075] 下列实施例中未注明具体条件的试验方法,可按照常规条件或按照制造厂商所建议的条件。除非另行定义,本文所使用的所有专业与科学用语与本领域熟练人员所熟悉的意义相同。

[0076] 实施例1:异甘草酸镁吸入粉雾剂

[0077] 采用微粉化处理异甘草酸镁,得到如下几种不同粒径范围的样品。

[0078]	活性成分粒径	X ₁₀ /μm	X ₅₀ /μm	X ₉₀ /μm
	大粒径	1.47	5.75	17.24
	中粒径	1.38	5.08	12.64
	小粒径	0.58	2.03	5.69

[0079] 实施例1a

[0080] 处方:

异甘草酸镁(大粒径)	1g
乳糖A	2g
制备量	100粒

[0082] 制备工艺:

[0083] 1)、称取处方量异甘草酸镁和处方量乳糖;

[0084] 2)、过筛混合;

[0085] 3)、按照30mg/粒灌装胶囊,使每粒胶囊内含异甘草酸镁10mg;

[0086] 4)、按照《中国药典》四部通则0111要求检测吸入粉雾剂关键质量指标。

[0087] 实施例1b

[0088] 处方:

异甘草酸镁(中粒径)	1g
乳糖A	2g
制备量	100粒

[0090] 制备工艺：

[0091] 1)、称取处方量异甘草酸镁和处方量乳糖；

[0092] 2)、过筛混合；

[0093] 3)、按照30mg/粒灌装胶囊，使每粒胶囊内含异甘草酸镁10mg；

[0094] 4)、按照《中国药典》四部通则0111要求检测吸入粉雾剂关键质量指标。

[0095] 实施例1c

[0096] 处方：

异甘草酸镁（小粒径）	1g
乳糖 A	2g
制备量	100 粒

[0098] 制备工艺：

[0099] 1)、称取处方量异甘草酸镁和处方量乳糖；

[0100] 2)、过筛混合；

[0101] 3)、按照30mg/粒灌装胶囊，使每粒胶囊内含异甘草酸镁10mg；

[0102] 4)、按照《中国药典》四部通则0111要求检测吸入粉雾剂关键质量指标。

[0103] 关键质量指标对比：

[0104]	质量指标	实施例1a	实施例1b	实施例1c
	排空率	99%	99%	99%
	微细粒子百分比	13%	20%	32%

[0105] 微细粒子剂量是评价吸入制剂有效性的重要参数，异甘草酸镁粒径对吸入粉雾剂的关键质量指标微细粒子百分比有至关重要的影响，因此控制异甘草酸镁的粒径在0.5-10 μm 范围之内，得到的微细粒子百分比>15%，符合药典规定。

[0106] 实施例2:异甘草酸镁吸入粉雾剂

[0107] 比较不同种类、不同粒径范围的乳糖对异甘草酸镁吸入粉雾剂关键质量的影响。

[0108]	乳糖型号	描述	粒径/ μm
	乳糖 A	粒度分布较窄的筛分乳糖	$X_{10}: 30-60; X_{50}: 70-110; X_{90}: 110-150$
	乳糖 B		$X_{10}: 7-22; X_{50}: 40-70; X_{90}: 80-120$
	乳糖 C	平均粒度受到严格控制的研磨乳糖	$X_{10}: 5-15; X_{50}: 50-100; X_{90}: 120-160$
	乳糖 D	粒度分布较宽的研磨乳糖	40%-60%<45; 75%-100%<100; 90%-100%<150; 99.5%-100%<315
	乳糖 E	粒度分布较窄的细研磨乳糖	90%-100%<45; 98%-100%<63; 100%<150
	乳糖 F	微粉化的细乳糖	$X_{50}<5; X_{90}<10$

[0109] 注:其中乳糖D的一个典型的粒径范围为: $X_{10}: 1-10\mu\text{m}; X_{50}: 30-50\mu\text{m}; X_{90}: 70-150\mu\text{m}$ 。

[0110] 实施例2a

[0111] 处方：

异甘草酸镁（小粒径）	1g
乳糖 B	2g
制备量	100 粒

[0113] 制备工艺：

- [0114] 1)、称取处方量异甘草酸镁和处方量乳糖；
[0115] 2)、过筛混合；
[0116] 3)、按照30mg/粒灌装胶囊，使每粒胶囊内含异甘草酸镁10mg；
[0117] 4)、按照《中国药典》四部通则0111要求检测吸入粉雾剂关键质量指标。

[0118] 实施例2b

[0119] 处方：

[0120]	异甘草酸镁（小粒径）	1g
	乳糖 C	2g
[0121]	制备量	

[0121] 制备量 100 粒

[0122] 制备工艺：

- [0123] 1)、称取处方量异甘草酸镁和处方量乳糖；
[0124] 2)、过筛混合；
[0125] 3)、按照30mg/粒灌装胶囊，使每粒胶囊内含异甘草酸镁10mg；
[0126] 4)、按照《中国药典》四部通则0111要求检测吸入粉雾剂关键质量指标。

[0127] 实施例2c

[0128] 处方：

[0129]	异甘草酸镁（小粒径）	1g
	乳糖 D	2g
[0130]	制备量	

[0130] 制备量 100 粒

[0131] 制备工艺：

- [0132] 1)、称取处方量异甘草酸镁和处方量乳糖；
[0133] 2)、过筛混合；
[0134] 3)、按照30mg/粒灌装胶囊，使每粒胶囊内含异甘草酸镁10mg；
[0135] 4)、按照《中国药典》四部通则0111要求检测吸入粉雾剂关键质量指标。

[0136] 实施例2d

[0137] 处方：

[0137]	异甘草酸镁（小粒径）	1g
	乳糖 E	2g
[0138]	制备量	

[0138] 制备量 100 粒

[0139] 制备工艺：

- [0140] 1)、称取处方量异甘草酸镁和处方量乳糖；
[0141] 2)、过筛混合；
[0142] 3)、按照30mg/粒灌装胶囊，使每粒胶囊内含异甘草酸镁10mg；
[0143] 4)、按照《中国药典》四部通则0111要求检测吸入粉雾剂关键质量指标。

[0144] 实施例2e

[0145] 处方：

[0145]	异甘草酸镁 (小粒径)	1g
	乳糖 A	1.5g
	乳糖 F	0.5g
	制备量	100 粒

[0146] 制备工艺：

- [0147] 1)、称取处方量异甘草酸镁和处方量乳糖；
- [0148] 2)、过筛混合；
- [0149] 3)、按照30mg/粒灌装胶囊，使每粒胶囊内含异甘草酸镁10mg；
- [0150] 4)、按照《中国药典》四部通则0111要求检测吸入粉雾剂关键质量指标。

[0151] 实施例2f

[0152] 处方：

[0153]	异甘草酸镁 (小粒径)	1g
	乳糖 B	1.5g
	乳糖 F	0.5g
	制备量	100 粒

[0154] 制备工艺：

- [0155] 1)、称取处方量异甘草酸镁和处方量乳糖；
- [0156] 2)、过筛混合；
- [0157] 3)、按照30mg/粒灌装胶囊，使每粒胶囊内含异甘草酸镁10mg；
- [0158] 4)、按照《中国药典》四部通则0111要求检测吸入粉雾剂关键质量指标。

[0159] 关键质量指标对比：

质量指标	实施例2a	实施例2b	实施例2c	实施例2d	实施例2e	实施例2f
排空率	99%	97%	97%	90%	97%	98%
微细粒子百分比	35%	40%	46%	48%	43%	45%

[0161] 不同种类、不同粒径乳糖对吸入粉雾剂的关键质量指标有至关重要的影响，筛分乳糖单独与活性成分制备的样品微细粒子百分比较低，但加入一定量的细乳糖后制备样品的微细粒子百分比明显提高；研磨乳糖与活性成分制备的样品微细粒子百分比较高。

[0162] 实施例3：异甘草酸镁供雾化器用的液体制剂

[0163] 处方：

[0164]	异甘草酸镁	10g
	氯化钠	18g
	氨水	适量
	注射用水至	2000ml
	制备量	1000 支

[0165] 制备工艺：

[0166] 按处方量称取异甘草酸镁、氯化钠，加入到1800ml的注射用水中，搅拌至完全溶解，加入氨水调节溶液pH值至6.5-7.0，所得溶液加注射用水至2000ml，过滤除菌，按照2ml/支灌装，即得含异甘草酸镁10mg的供雾化器用的液体制剂。

[0167] 主要技术评价指标：

[0168]	时间点	0天	加速1月	加速2月	加速3月	长期3月
	微细粒子百分比	38%	38%	39%	37%	38%

[0169] 实施例4:异甘草酸镁供雾化器用的液体制剂

[0170] 处方:

[0171]	异甘草酸镁	5g
	氯化钠	18g
	氨水	适量
	注射用水至	2000ml
	制备量	1000 支

[0172] 制备工艺:

[0173] 按处方量称取异甘草酸镁、氯化钠,加入到1800ml的注射用水中,搅拌至完全溶解,加入氨水调节溶液pH值至6.5-7.0,所得溶液加注射用水至2000ml,过滤除菌,按照2ml/支灌装,即得含异甘草酸镁5mg的供雾化器用的液体制剂。

[0174] 主要技术评价指标:

[0175]	时间点	0天	加速1月	加速2月	加速3月	长期3月
	微细粒子百分比	39%	38%	36%	37%	40%

[0176] 实施例5:异甘草酸镁供雾化器用的液体制剂

[0177]	异甘草酸镁	1g
	氯化钠	18g
	氨水	适量
	注射用水至	2000ml
	制备量	1000 支

[0178] 制备工艺:

[0179] 按处方量称取异甘草酸镁、氯化钠,加入到1800ml的注射用水中,搅拌至完全溶解,加入氨水调节溶液pH值至6.5-7.0,所得溶液加注射用水至2000ml,过滤除菌,按照2ml/支灌装,即得含异甘草酸镁1mg的供雾化器用的液体制剂。

[0180] 主要技术评价指标:

[0181]	时间点	0天	加速1月	加速2月	加速3月	长期3月
	微细粒子百分比	42%	38%	39%	39%	40%

[0182] 实施例6:异甘草酸镁供雾化器用的液体制剂

[0183]	异甘草酸镁	0.4g
	氯化钠	18g
	氨水	适量
	注射用水至	2000ml
	制备量	1000 支

[0184] 制备工艺:

[0185] 按处方量称取异甘草酸镁、氯化钠,加入到1800ml的注射用水中,搅拌至完全溶解,加入氨水调节溶液pH值至6.5-7.0,所得溶液加注射用水至2000ml,过滤除菌,按照2ml/

支灌装,即得含异甘草酸镁0.4mg的供雾化器用的液体制剂。

[0186] 主要技术评价指标:

[0187]	时间点	0天	加速1月	加速2月	加速3月	长期3月
	微细粒子百分比	40%	39%	37%	41%	38%

[0188] 实施例7:异甘草酸镁供雾化器用的液体制剂

[0189] 处方:

[0190]	异甘草酸镁	0.2g
	氯化钠	18g
	氢氧化钠溶液	适量
[0191]	注射用水至	2000ml
	制备量	1000 支

[0192] 制备工艺:

[0193] 按处方量称取异甘草酸镁、氯化钠,加入到1800ml的注射用水中,搅拌至完全溶解,加入氢氧化钠溶液调节溶液pH值至6.5-7.0,所得溶液加注射用水至2000ml,过滤除菌,按照2ml/支灌装,即得含异甘草酸镁0.2mg的供雾化器用的液体制剂。

[0194] 主要技术评价指标:

[0195]	时间点	0天	加速1月	加速2月	加速3月	长期3月
	微细粒子百分比	40%	43%	42%	39%	40%

[0196] 实施例8:大鼠吸入/灌胃给药后药代动力学评价

[0197] 取健康的SD雄性大鼠8只,体重223-252g,每天定时饲以大鼠标准配方颗粒饲料,实验前禁食16h,给药后4h恢复供食,实验前后和实验过程中均自由饮水。随机分组,每组4只,分别单剂量吸入异甘草酸镁供雾化器用的液体制剂(2.5mg/mL),以及灌胃给予异甘草酸镁吸入制剂(5.0mg/mL,以异甘草酸计含量为4.486mg/mL),吸入给药组每只大鼠给予200 μ L异甘草酸镁供雾化器用的液体制剂(大鼠实际给剂量为2.24-2.49mg/kg)。灌胃组给药剂量为10.0mg/kg;分别于给药前(0h)和给药后0.0833、0.25、0.5、1、2、4、6、8、10、24h由眼底静脉丛取血约0.2-0.3mL,EDTA-K2抗凝,离心分离血浆,准确量取50 μ L,加入10 μ L内标溶液涡旋混匀后,加入200 μ L甲醇,用涡旋混合器高速混匀3min,离心10min(4℃,13000rpm),收集上清液,转移100 μ L上清液至96孔板中,加入50 μ L超纯水,涡旋混匀,LC-MS/MS进样检测,记录色谱图。

[0198] 吸入异甘草酸镁供雾化器用的液体制剂及灌胃给予异甘草酸注射液后的药代动力学结果如下所示:

组别	吸入			灌胃		
样本量	N=4			N=4		
PK 参数	Mean	SD	RSD%	Mean	SD	RSD%
[0199]	剂量 (mg/kg)	2.4	0.1	10	0	
	Cmax (μg/L)	3113	712	22.9%	27.3	17.2
	AUC(0-t) (μg*h/L)	14567	6427	44.1%	89.8	105
	AUC(0-∞) (μg*h/L)	14593	6427	44.0%	102	102
	MRT(0-t) (h)	3.52	1.09	31.0%	2.35	1.58
	t1/2 z(h)	2.13	0.69	32.3%	1.88	1.47
	Tmax(h)	0.81	0.80	98.5%	1.75	2.84
	CLz/F(L/h/kg)	0.195	0.103	53.0%	162	90.1
	Cmax /Dose	1315	306	23.3%	2.73	1.72
	AUC(0-t)/Dose	6108	2577	42.2%	8.98	10.5
	F%相对	68052%				

[0200] 另外,将吸入给药的药代动力学参数与文献报道的静脉给药的平均药代动力学参数进行对比,结果如下:

组别	吸入(N=4)	静脉(N=6)
[0201]	剂量 (mg/kg)	2.37±0.13
	Cmax (μg/L)	3113±712
	AUC(0-t) (μg*h/L)	14567±6427
	AUC(0-∞) (μg*h/L)	14593±6427
	MRT(0-t) (h)	3.52±1.09
	t1/2 z(h)	2.13±0.69
	Tmax(h)	0.81±0.8
	CLz/F(L/h/kg)	0.195±0.103
	Cmax /Dose	1315±306
	AUC(0-t)/Dose	6108±2577
	F%相对	87%

[0202] 与灌胃相比,吸入给药后大鼠对异甘草酸镁的相对生物利用度高达68052%;与静脉注射给药相比,吸入给药后大鼠对异甘草酸镁的生物利用度为87%,故吸入给药相比胃肠道给药可显著提高异甘草酸镁的生物利用度,且吸入给药与静脉注射给药的生物利用度基本相当。

[0203] 实施例9:异甘草酸镁吸入制剂对慢性阻塞性肺病大鼠的药效学实验

[0204] 9.1实验方法:

[0205] 取雄性SD大鼠,在香烟烟雾吸入诱发造成慢性阻塞性肺疾病模型后,大鼠按体重随机分为6组分别为高剂量气管滴注组(1.67mg/ml异甘草酸镁,100μl/只),低剂量气管滴注组(1.67mg/ml,25μl/只),雾化吸入组,模型组以及空白对照组,每组10只。干预期间,除空白对照组和模型组气管给予生理盐水外,其他各组每日连续给药15天,给药期间各给药组给药30min后继续给予烟熏刺激,每天记录大鼠精神状态,呼吸、活动、毛发光泽、体重增幅。最后一次给药后12h后,大鼠眼眶取全血用于测定白细胞计数和细胞分类比较,处死大鼠,开胸暴露气管和肺,肉眼观察肺和气管的形态。于右主支管处结扎右肺,左肺以生理盐水2ml×3次行肺泡灌洗,回收率约80%,制得肺泡灌洗液(BALF),用于测定白细胞计数与分

类比较(白细胞、中性粒细胞、淋巴细胞和单核细胞)。最后采用10%福尔马林固定大鼠右肺,作HE染色,显微镜观察肺损伤情况,并进行病理病变评分,累加所有分数,并计算出每组每只动物的均分(mean±SD)。

[0206] 评分指标:(1)小气道腔内是否有黏液和细胞阻塞;(2)小气道上皮是否有坏死糜烂;(3)小气道上皮细胞杯状细胞化生;(4)小气道上皮细胞鳞状化生;(5)小气道管壁炎细胞浸润;(6)小气道管壁纤维结缔组织增生;(7)小气道管壁平滑肌增生;(8)小气道管壁色素沉着;(9)肺气肿。病变评分:根据病变由轻到重的程度,依次定量为轻微或极少量“0.5分”,轻度或少量“1分”,中度或较多“2分”,重度或多量“3分”,极重度或大量“4分”,无明显病变为0分。

[0207] 9.2实验结果:

[0208] 实验结果数据以mean±SD形式表示。选用单因素方差分析(One-way ANOVA)结合Post-Hoc (LSD法)方法进行组间差异分析。以P值小于0.05表示统计学差异显著性。模型组与空白对照组比较,[#]p<0.05,^{##}p<0.01;异甘草酸镁各给药组与模型对照组比较,^{*}p<0.05,^{**}p<0.01。

[0209] 9.2.1异甘草酸镁吸入制剂对COPD大鼠体重的影响

[0210] 实验结果(表1)表明在COPD造模成功后,与空白对照组比较,各给药组大鼠体重增长缓慢,与空白组比较具有显著性差异(p<0.01)。给药16d后,与模型组组比较,异甘草酸镁高剂量、低剂量气管滴注组和雾化吸入组的大鼠体重均缓慢增长,其中雾化吸入组体重增加较多,各组与空白对照组比较仍具有差异性(p<0.01)。

[0211] 表1异甘草酸镁对COPD大鼠体重的影响

组别	剂量	动物数	体重	
			初体重	末体重
[0212]	空白对照组	0.9%NS	5	395.40±16.50
	模型组	0.9%NS	10	316.30±20.06 ^{##}
	高剂量气管滴注组	1.67mg/ml, 100μl	10	324.6±12.22 ^{**}
	低剂量气管滴注组	1.67mg/ml, 25μl	10	317.60±24.23 ^{**}
	雾化吸入组	0.4mg/ml, 30min	9	319.22±10.43 ^{**}
				360.11±18.84 ^{**}

[0213] 9.2.2异甘草酸镁吸入制剂对COPD大鼠一般症状的影响

[0214] 实验结果表明:空白对照组大鼠活动正常,反应灵敏,体肥,无咳嗽、打喷嚏和呼吸困难等症状,模型组造模后大鼠俯卧不前,精神萎靡,神情呆滞,眯眼,扎堆,行走不稳,体重增长缓慢,皮毛灰黄,随之出现咳嗽、打喷嚏和呼吸困难等症状。给予异甘草酸镁高剂量和低剂量气管滴注以及雾化吸入治疗后,各组大鼠症状较模型组有所缓解,其中异甘草酸镁雾化吸入组较其它组明显。

[0215] 9.2.3异甘草酸镁吸入制剂对COPD大鼠血液中白细胞数计数和细胞分类比较的影响

[0216] 实验结果(表2)表明:模型组大鼠血液中中性粒细胞数和中性粒细胞百分比均不同程度的增高,具有显著差异性(p<0.05或p<0.01)。以上提示,COPD大鼠造模后具有以中性粒细胞浸润为主的炎症反应。从药效上看:异甘草酸镁高剂量、低剂量气管滴注组和雾化吸入组都能显著抑制COPD大鼠血液中以中性粒细胞及百分比为主的炎症因子,效果明显(p<0.05或p<0.01)。异甘草酸镁雾化吸入组效果最佳(0.4mg/ml, 30min)。药效对比为:异甘草

酸镁雾化吸入组>高剂量气管滴注组>低剂量气管滴注组。

[0217] 表2异甘草酸镁对COPD大鼠血液中白细胞和细胞分类比较的作用

组别	剂量	动物数	(mean±SD)		
			白细胞数 (10/ μ l)	中性粒细胞数 (10/ μ l)	中性粒细胞 百分数(%)
[0218]	空白对照组	-	5	1399.00±167.15	130.33±14.01
	模型组	-	10	1277.50±141.21	208.50±44.83 [#]
	高剂量气管滴注组	1.67mg/ml 100 μ l	10	1395.13±270.32	153.25±40.12 [*]
	低剂量气管滴注组	1.67mg/ml 25 μ l	10	1135.13±155.73	155.13±26.25 [*]
[0219]	雾化吸入组	0.4mg/ml, 30min	9	1123.33±170.54	123.67±23.24 ^{**}
[0220]	9.2.4异甘草酸镁吸入制剂对COPD大鼠BALF中白细胞数计数和细胞分类比较的影响				

[0221] 实验结果(表3)表明:模型组大鼠BALF中白细胞数和中性粒细胞数及百分比均不同程度的增高($p<0.05$ 或 $p<0.01$)。以上提示,COPD大鼠造模后肺部具有以中性粒细胞浸润为主的炎症反应。从药效看:异甘草酸镁雾化吸入组能够降低中性粒细胞数及中性粒细胞百分比。

[0222] 表3异甘草酸镁对COPD大鼠BALF中白细胞和细胞分类比较的作用

组别	剂量	动物数	(mean±SD)		
			白细胞数 (10/ μ l)	中性粒细胞数 (10/ μ l)	中性粒细胞百分 数(%)
[0223]	空白对照组	-	5	55.67±9.87	21.67±5.69
	模型组	-	10	155.38±31.99 ^{##}	62.38±27.62 [#]
	高剂量气管滴注组	1.67mg/ml 100 μ l	10	184.38±32.15	89.88±21.57 [*]
	低剂量气管滴注组	1.67mg/ml 25 μ l	10	172.50±26.52	66.38±25.46
	雾化吸入组	0.4mg/ml, 30min	9	170.33±55.17	57.83±20.78

[0224] 9.2.5异甘草酸镁吸入制剂对COPD大鼠病理学的影响

[0225] 实验结果(表4)表明:空白对照组大鼠肺组织由肺泡、肺内支气管分支及间质组织,结构清晰,无肺气肿,有极少量的炎症细胞浸润和杯状细胞增生。模型组大鼠肺组织主要病变为间质性肺炎,血管周围组织水肿,伴炎细胞浸润,肺内支气管壁见杯状细胞增多,支气管壁细胞变性坏死,有的支气管腔内见少量渗出物,并且肺气肿和炎症细胞浸润尤为明显($p<0.01$ 或 $p<0.05$)。异甘草酸镁高剂量、低剂量气管滴注组和异甘草酸镁雾化吸入组均能显著减轻肺部炎症,改善支气管壁的作用,减少支气管粘液分泌物和改善肺气肿等作用,其中异甘草酸镁雾化组(0.4mg/ml,30min)减轻炎症浸润最为明显。

[0226] 表4异甘草酸镁对COPD大鼠病理学的影响

组别	剂量	动物数	综合评分	病理评分 (mean±SD)		
				肺气肿	炎细胞浸润	支气管粘液分泌物
[0227]	空白对照组	-	5	0.50±0.60	0.000±0.000	0.200±0.274
	模型组	-	10	2.20±0.80 ^{##}	0.450±0.369 [#]	1.100±0.615 ^{##}
	高剂量气管滴注组	1.67mg/ml 100 μ l	10	0.90±0.52 [*]	0.300±0.422	0.450±0.550 [*]
	低剂量气管滴注组	1.67mg/ml 25 μ l	10	0.80±0.50 [*]	0.150±0.337	0.400±0.394 ^{**}
	雾化吸入组	0.4mg/ml, 30min	9	0.89±0.65 [*]	0.222±0.441	0.389±0.333 ^{**}

[0228] 实施例10:异甘草酸镁吸入制剂对慢性阻塞性肺病小鼠的药效学实验

[0229] 10.1实验方法:

[0230] 选择ICR雄性小鼠,18-22g,90只,分成9组,包括空白组,模型组,异甘草酸镁吸入制剂低剂量组(0.5mg/ml,q.d.),中剂量组(1.5mg/ml,q.d.),高剂量组(5.0mg/ml,q.d.),低剂量组(0.5mg/ml,b.i.d.),中剂量组(1.5mg/ml,b.i.d.),高剂量组(5.0mg/ml,b.i.d.)和阳性对照(阿福特罗)组。小鼠麻醉后气管滴入脂多糖(LPS)30μl造模,造模30min后,采用雾化吸入装置给予药物10ml,雾化时间30min。低剂量组(0.5mg/ml,b.i.d.),中剂量组(1.5mg/ml,b.i.d.),高剂量组(5.0mg/ml,b.i.d.)和阳性对照组在LPS造模后6小时继续采用雾化吸入装置给予药物10ml。造模后24h,小鼠麻醉后进行肺组织灌洗,取灌洗液检测炎症细胞(BALF)数,取部分肺组织进行HE染色进行病理切片检测炎症细胞的变化情况。

[0231] 表5-1脂多糖对支气管气道内炎症细胞(WBC)的影响

	组别	WBC (10 ⁹ /L)	上调比例 (%)
[0232]	空白组	0.1350±0.0778	-
	模型组	0.7971±0.1931	490.48

[0233] 表5-2异甘草酸镁吸入制剂对支气管气道内炎症细胞(WBC)的影响

	组别	WBC (10 ⁹ /L)	下调比例 (%)
[0234]	模型组	0.7971±0.1931	-
	阳性对照组 b.i.d.	0.5310±0.1424	33.39
	低剂量组 b.i.d.	0.5644±0.1599	29.19
	中剂量组 b.i.d.	0.5350±0.1277	32.89
	高剂量组 b.i.d.	0.6710±0.1723	15.82
	低剂量组 q.d.	0.6511±0.2319	18.32
	中剂量组 q.d.	0.6622±0.1895	16.93
	高剂量组 q.d.	0.6730±0.1665	15.57

[0235] 10.2实验结果:

[0236] 实验结果(表5-1)表明在脂多糖诱导模型组小鼠的支气管气道内产生大量的炎症细胞(白细胞),相对于空白组上调了490%,诱导COPD造模成功,组织病理学检查小鼠的肺组织结构结果表明,模型组动物可见明显的炎症反应,炎性细胞浸润明显,渗出的炎症细胞可见于肺泡内和肺泡隔的结缔组织。尤其是肺血管及各级支气管周围中性粒细胞滞留、聚集明显。

[0237] 实验结果(表5-2)表明在脂多糖诱导小鼠COPD的模型试验中,异甘草酸镁吸入制剂各剂量组白细胞数与模型组相比有明显差异。其中,一日两次吸入异甘草酸镁吸入制剂的低剂量(下调WBC 29%)与中剂量组(下调WBC33%)的治疗效果与阳性对照组(下调WBC 33%)效果相当,高剂量组的治疗效果略弱于低剂量与中剂量组。在同等剂量下异甘草酸镁一日两次的治疗效果优于一日一次。另外,组织病理学检查结果表明异甘草酸镁吸入制剂各剂量组未见明显炎症反应。

[0238] 实施例11:异甘草酸镁吸入制剂对气道分泌量的影响

[0239] 11.1实验方法

[0240] 取雄性ICR小鼠50只,体重21g左右,随机分成5组:对照1组(生理盐水,NS)、对照2组(生理盐水,NS)、阳性组(氯化铵,1g/kg)、给药1组(异甘草酸镁供雾化器用的液体制剂0.2mg/ml,雾化30min)、给药2组(异甘草酸镁供雾化器用的液体制剂0.2mg/ml,雾化15min)。对照1组和阳性组灌胃给予相应药物(0.1ml/10g),对照2组和给药1组用雾化器进行雾化给药,雾化30min,给药2组雾化15min。每天1次,连续6天。第6次给药前小鼠饥饿16-

18小时,只供饮水,给药后30min i.p.1%酚红生理盐水溶液0.2ml/10g,注射酚红后30min脱颈椎处死。稍许等待使小鼠体内血液凝固,以剪开颈部皮肤无明显出血(以免血液中酚红混入灌洗液),分离气管、气管插管(用针尖已磨光滑的6号针头从喉头处插入气管内约3mm,用丝线结扎固定)并与注射器相连,用5%NaHCO₃ 0.6ml,缓慢注入气管内,然后轻轻吸出,如此反复3次,合并3次灌洗液4000rpm离心5min,得到上清液。

[0241] 11.2检测指标及计算方法

[0242] 酚红标准曲线制作:

[0243] 称取酚红1.95mg,加5%NaHCO₃至3.9ml溶解,含酚红量0.5mg/ml,作为原液。取原液0.1ml加5%NaHCO₃ 3.9ml,为12.5μg/ml,依次稀释成10μg/ml、7.5μg/ml、5μg/ml、2.5μg/ml、1.25μg/ml、0.625μg/ml。用酶标仪波长546nm比色测OD值,制作酚红标准曲线。

[0244] 用酶标仪波长546nm测定样本OD值,根据酚红标准曲线计算出样本酚红量。

[0245] 11.3实验结果

[0246] 实验结果数据以 $\bar{X} \pm S$ 形式表示,以P值小于0.05表示统计学差异显著性。其中,各给药组与对照2组比较, $\triangle p < 0.01$ 。实验结果如和表6所示,给药2组(异甘草酸镁供雾化器用的液体制剂0.2mg/ml,雾化15min)的酚红排泌量相比于对照2组的酚红排泌量显著增多。

[0247] 表6异甘草酸镁吸入制剂对小鼠气管分泌的影响($\bar{X} \pm S$)

组别	剂量	给药方式	动物数	酚红排泌量(μg/ml)
对照 1 组 (NS)	-	i.g. 6d	9	0.3962±0.1715
对照 2 组 (NS)	-	雾化吸入 30min*6d	10	0.3723±0.1801
阳性组 (氯化铵)	1.0g/kg/d*6d	i.g. 6d	9	0.5924±0.3781
给药 1 组	约 6mg/kg/d*6d	雾化吸入 30min*6d	7	0.5381±0.2307
给药 2 组	约 6mg/kg/d*6d	雾化吸入 15min*6d	10	0.6926±0.1792 ^{△△}