

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

A61K 47/14 (2006.01)

A61K 9/107 (2006.01)



# [12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200910057669.3

[43] 公开日 2010年1月13日

[11] 公开号 CN 101623500A

[22] 申请日 2009.7.28

[21] 申请号 200910057669.3

[71] 申请人 中国农业科学院上海兽医研究所

地址 200241 上海市闵行区紫月路518号

[72] 发明人 朱传刚 林矫矫 张磊 汪勇沛  
陆珂

[74] 专利代理机构 上海硕力知识产权代理事务所  
代理人 王法男 周东萍

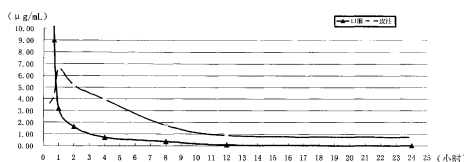
权利要求书1页 说明书6页 附图1页

## [54] 发明名称

油乳佐剂的应用

## [57] 摘要

本发明公开一种油乳佐剂的应用，该油乳佐剂作为药物溶媒的应用。本发明还公开了应用油乳佐剂制备药物制剂的方法，包括以下步骤：分别将适量的油乳佐剂、水溶液或纯净水加热到28℃~32℃；将预热的油乳佐剂和药物混合，并加入预热水溶液或纯净水进一步混合均匀，直至获得乳液状的药物制剂。本发明油乳佐剂作为药物溶媒的应用，不仅对药物起缓释作用，延长了药效，而且使非水溶性药物在溶媒中可溶，提高了药物浓度，增强了药物利用率。



1. 一种油乳佐剂的应用，其特征在于，所述油乳佐剂作为药物溶媒的应用。
2. 根据权利要求1所述的应用，其特征在于，所述油乳佐剂作为药物溶媒，对药物起缓释作用。
3. 根据权利要求1所述的应用，其特征在于，所述油乳佐剂包括矿物油佐剂和生物油佐剂。
4. 根据权利要求3所述的应用，其特征在于，所述油乳佐剂为206佐剂。
5. 根据权利要求1所述的应用，其特征在于，所述溶媒适用的药物包括：非水溶性药物、微水溶性药物或水溶性药物。
6. 根据权利要求5所述的应用，其特征在于，所述溶媒适用的药物为非水溶性药物。
7. 一种应用油乳佐剂制备药物制剂的方法，其特征在于，包括以下步骤：  
分别将适量的油乳佐剂、水溶液或纯净水加热到28℃~32℃；  
将预热的油乳佐剂和药物混合，并加入预热的水溶液或纯净水进一步混合均匀，直至获得乳液状的药物制剂。
8. 根据权利要求7所述的方法，其特征在于，所述油乳佐剂为206佐剂。
9. 根据权利要求7所述的方法，其特征在于，所述药物为非水溶性药物。
10. 根据权利要求7所述的方法，其特征在于，所述药物制剂为药物注射剂。

## 油乳佐剂的应用

### 技术领域

本发明涉及一种油乳佐剂的应用。

### 背景技术

许多药物化合物，如治疗血吸虫病的药物吡喹酮(Praziquantel, PZQ)、具有抗疟和抗血吸虫作用的蒿甲醚等，都是不溶于水的化合物，对这些化合物的传统剂型片剂或粉剂进行口服时，“首过效应”大，生物利用度低，影响了药效的发挥。寻找一种合适的药物溶媒对充分发挥这些不溶于水的化合物的药效至关重要。

免疫佐剂简称佐剂，是一类可先于或与抗原一起注入到动物体内，非特异性地增强机体对该抗原的特异性免疫应答或改变免疫应答类型的物质，而该物质本身无抗原性。佐剂种类很多，如盐类佐剂、油乳佐剂、微生物成分佐剂等。其中，油乳佐剂可以使多种抗原产生高滴度抗体，被广泛应用于新城疫、禽流感等疫苗，是动物疫苗中应用最广泛的佐剂之一。油乳佐剂包括基于矿物油的佐剂如 Montanide ISA 206、ISA 206VG、ISA 50V2、IMS 1335VG 及 Montanide GEL 等，以及基于生物油（植物油/深海鱼油等）的佐剂如以花生油为油相的佐剂 65、以角鲨烯为油相的 MF59、SAF、Montanide ISA 720 等。

到目前为止，还没有出现关于油乳佐剂作为药物溶媒的研究报道。

### 发明内容

本发明要解决的技术问题是提供一种油乳佐剂作为药物溶媒的应用，充分发挥药物化合物的药效。

此外，还需要提供一种应用油乳佐剂制备药物制剂的方法。

为了解决上述技术问题，本发明通过如下技术方案实现：

在本发明的一个方面，提供了一种油乳佐剂的应用，所述油乳佐剂作为药物溶媒的应用。

优选的，所述油乳佐剂作为药物溶媒，对药物起缓释作用，延长药效。

所述油乳佐剂包括矿物油佐剂和生物油佐剂，优选的，所述油乳佐剂为 206 佐剂，用 206 佐剂配制的药物制剂稳定性较好。

所述溶媒适用的药物包括：非水溶性药物、微水溶性药物或水溶性药物；优选的，所述溶媒适用的药物为非水溶性药物，因为本发明油乳佐剂作为非水溶性药物的溶媒时，使非水溶性药物变为可溶，显著提高非水溶性药物的浓度，增强非水溶性药物的利用率，例如不溶于水的吡喹酮药物以油乳佐剂作为溶媒时，可制成高浓度的吡喹酮注射剂，使口服吡喹酮改

成吡嗪酮注射剂，明显提高吡嗪酮的生物利用率。

在本发明的另一方面，提供了一种应用油乳佐剂制备药物制剂的方法，包括以下步骤：

分别将适量的油乳佐剂、水溶液或纯净水加热到 28℃~32℃；

将预热的油乳佐剂和药物混合，并加入预热的水溶液或纯净水进一步混合均匀，直至获得乳液状的药物制剂。

优选的，所述混合步骤通过注射器的来回推动或搅拌装置的搅拌实现，有利于混合均匀。

药物制剂中加水溶液或纯净水主要是为了根据需要配制出不同药物浓度的药物制剂。优选的，所述水溶液包括磷酸盐缓冲液或生理盐水，因为磷酸盐缓冲液或生理盐水配制方便，容易获得，该磷酸盐缓冲液的 PH 值为 8.0。

优选的，所述油乳佐剂为 206 佐剂，用 206 佐剂配制的药物制剂稳定性较好。

优选的，所述药物为非水溶性药物，本发明油乳佐剂作为非水溶性药物的溶媒时，使非水溶性药物变为可溶，显著提高非水溶性药物的浓度，增强非水溶性药物的利用率。

优选的，所述药物制剂为药物注射剂，对大牲畜给药方便。

在本发明中，术语“206 佐剂”是指法国赛比克 (SEPPIC) 公司生产的 Montanide ISA 206 系列的佐剂，包括 Montanide ISA 206、ISA 206VG 等，该佐剂属于油乳佐剂，是一类含十八烷酸和无水甘露醇酯的水包油包水型 (w/o/w) 免疫佐剂。

本发明油乳佐剂作为药物溶媒的应用，不仅对药物起缓释作用，延长了药效，而且使非水溶性药物在溶媒中可溶，提高了药物浓度，增强了药物利用率。

#### 附图说明

下面结合附图和具体实施方式对本发明作进一步详细的说明。

图 1 是本发明实施例 3 血浆提取吡嗪酮校正曲线图；

图 2 是本发明实施例 3 口服药与皮下注射同剂量 600mg/kg 吡嗪酮在 24 小时内的血药浓度变化曲线图。

#### 具体实施方式

本发明提供了一种油乳佐剂作为药物溶媒的应用，不仅对药物起缓释作用，而且增强了药物利用率，该油乳佐剂包括矿物油佐剂如 Montanide ISA 206、ISA 206VG、ISA 50V2、IMS 1335VG 及 Montanide GEL 等，和生物油佐剂如以花生油为油相的佐剂 65、以角鲨烯为油相的 MF59、SAF、Montanide ISA 720 等，优选的，该油乳佐剂为 206 佐剂，用 206 佐剂配制的药物制剂稳定性较好。用 Montanide ISA 50V2、IMS 1335VG 及 Montanide GEL 等油乳佐剂作为药物溶媒配制的药物制剂，对药物都具有缓释作用，只是在药物制剂的稳定性方面略差于 206 佐剂，且在药物注射剂注射时的流畅性方面也稍差于 206 佐剂。

该油乳佐剂作为药物溶媒适用的药物包括：非水溶性药物、微水溶性药物或水溶性药物，优选适用非水溶性药物如吡喹酮、蒿甲醚等，因为油乳佐剂作为非水溶性药物的溶媒时，使非水溶性药物变为可溶，显著提高非水溶性药物的浓度，增强非水溶性药物的利用率，使其药效充分发挥。例如，以油乳佐剂作为溶媒，可使口服吡喹酮改成吡喹酮注射剂，含高浓度吡喹酮的注射剂，将明显提高吡喹酮的生物利用率，充分发挥吡喹酮的药效。

本发明应用油乳佐剂制备药物制剂的方法，包括以下步骤：

分别将适量的油乳佐剂、水溶液或纯净水加热到 28℃~32℃；

将预热的油乳佐剂和药物混合，并加入预热的水溶液或纯净水进一步混合均匀，直至获得乳液状的药物制剂。

优选的，混合步骤通过注射器的来回推动或搅拌装置的搅拌实现，有利于混合均匀。

优选的，所述油乳佐剂为 206 佐剂，用 206 佐剂配制的药物制剂稳定性较好。

药物制剂中加水溶液或纯净水主要是为了根据需要配制出不同药物浓度的药物制剂。药物制剂中，各主要成分的重量百分比为：206 佐剂 40%~60%、药物 5%~45%、水溶液或纯净水 5%~45%。优选的，206 佐剂的重量百分比为 50%，即 206 佐剂/(药物+水溶液或纯净水)=50/50（重量比），按这个比例配制的药物制剂稳定性好。药物制剂中还可加入添加剂如抗氧化剂、稳定剂、抑菌剂等。

优选的，水溶液包括磷酸盐缓冲液（PBS）或生理盐水，因为磷酸盐缓冲液或生理盐水配制方便，容易获得，该磷酸盐缓冲液的 PH 值为 8.0。

优选的，药物制剂为药物注射剂，对大牲畜给药方便。

#### 实施例 1 应用 206 佐剂制备吡喹酮注射剂

##### （1）实验室规模：

将 206 佐剂和 PBS (PH8.0) 分别加热到 30℃±2℃；

将吡喹酮药物加入到 206 佐剂中；加入 PBS (206 佐剂/(吡喹酮+PBS)=50/50 重量比)；

用一支带针头的无橡皮塞的 10-50ml 的注射器混合；来回推动 10-20 次。

制得的乳液即为吡喹酮注射剂，将其置于 4℃~12℃ 保存。

##### （2）利用均质机(150ml 为例的乳液配置)：

分别将 87ml 的 206 佐剂和生理盐水加热到 30℃±2℃；

称取 7.5-60g 的吡喹酮，放置到无菌烧杯中，将 87ml 的 206 佐剂加入；

将 FJ-200 高速分散均质机的转头安置在装有吡喹酮和 206 佐剂的烧杯中；

低速(200-300 转/分)开始搅拌并将预热的生理盐水逐渐加入，加速到 2000 转/分并保持 10 分钟；

停止搅拌并将制得的乳液置于 4℃~12℃。

### (3) 中试规模

根据所需及配制浓度分别准备磷酸盐缓冲液和 206 佐剂以及药物吡喹酮(206 佐剂/(吡喹酮+PBS)=50/50 重量比), PBS 和 206 佐剂分别加热到 30℃±2℃;

将称取的吡喹酮和 206 佐剂倒入双层夹套容器并将温度保持在 30℃;

以低速(200-300 转/分)搅拌并将预热的 PBS 逐渐加入, PBS 的流速在 5-10 升/分;

加速到 2000 转/分并在 30℃±2℃保持 10-20 分钟;

将容器冷却至 15℃以下,并在冷却过程中持续搅拌;

停止搅拌,将乳液在 4℃~12℃存放。

### 实施例 2 口服吡喹酮与吡喹酮注射剂对 20 天血吸虫童虫的治疗效果比较

方法:吡喹酮注射剂组按照 600mg/Kg 剂量对人工感染 40 条尾蚴的昆明鼠皮下注射实施例 1 制备的吡喹酮注射剂,对照组不做药物处理。口服组为按照 600mg/Kg 剂量口服灌胃吡喹酮,给药时间均为感染后 20 天。

结论:如下表 1,本发明吡喹酮注射剂具有杀灭 20 天血吸虫童虫的效果,减虫率 54.36%,并能有效减少肝脏虫卵负荷,宿主肝脏虫卵减少 84.30%,而口服组对血吸虫童虫的杀灭作用有限,本次实验口服组只有 14.89%的减虫率和 58.55%的减卵率,由此可知,用 206 佐剂制备的吡喹酮注射剂具有口服药物无法比拟的杀灭血吸虫童虫效果,口服吡喹酮改成吡喹酮注射剂后,显著提高了吡喹酮的生物利用率。

表 1 口服与吡喹酮注射剂对 20 天血吸虫童虫的治疗效果比较

组别	虫荷数( $\bar{x} \pm sd$ )	减虫率	卵荷数( $\bar{x} \pm sd$ )	减卵率
注射剂组	14.8±2.39	54.36%	12284±12598	84.30%
口服组	27.6±6.95	14.89%	32431±16256	58.55%
对照组	32.4±6.27		78234±27415	

此外,吡喹酮注射剂给药后,未见小鼠有明显的精神状态不正常现象,连续观察 72 小时,每只小鼠都食欲正常,注射部位除了产生药储包外,未见红色炎症迹象。给药后 15 天,解剖检查注射部位,没有发现病理异常,说明用 206 佐剂制备的吡喹酮注射剂在 600mg/kg 的给药量是安全的。

实施例 3 用反相高效液相色谱法检测同等剂量皮下注射吡喹酮和口服吡喹酮的血药浓度比较

### (1) 未感染小鼠血浆样品收集

设吡嗪酮原粉口服给药组、用 206 佐剂制备的吡嗪酮注射剂皮下注射组两组，皮下注射组按 600mg/kg 皮下给药；口服组用淀粉混悬吡嗪酮后灌胃法饲喂，并分别于给药后 20min、40min、1hour、2hour、4hour、8hour、12hour、24hour、2d、3d、4d、5d、6d、7d、8d、9d、10d 收集血液，5000rpm 离心 10min 后分离血浆贮存于-20℃冰箱待检。

## (2) 血样的前处理

贮存于低温冰箱的含吡嗪酮血浆室温解冻，微量移液器吸取 400 μL 于离心管中，加入 800 μL 乙酸乙酯，漩涡振荡 10min，离心 (10000rpm, 5min)，转移上层清液至 10mL 试管，重复提取两次，合并三次的提取液，并于 60℃ 水浴氮吹仪蒸干，用 200 μL 流动相溶解残渣，0.22 μm 尼龙滤膜过滤，用 1mL 注射器将滤液注入样品瓶的内衬管待进样。

## (3) 高效液相色谱 (HPLC) 条件和线性考察

流动相：乙腈-水 (体积比为 74: 26)，流速 1.0mL/min；检测波长：211nm；进样体积：20 μL；柱温：30℃，外标法定量。每次测定做血药浓度的线性方程。

建立的血浆吡嗪酮浓度 HPLC 的测定的检测限为 0.05 μg/mL，血浆吡嗪酮在 0.208~10.4 μg/mL 范围内，吡嗪酮浓度与峰面积具有良好的线性关系 (见图 1)，回归方程如下：

$$C=0.00006*A+0.0149, R^2=0.9994, n=5$$

实验测得，吡嗪酮浓度为 0.208 μg/mL、1.04 μg/mL、5.2 μg/mL 的 RSD (相对标准偏差) 分别为 10%、9.28%、3.81%，说明测定条件良好。

## (4) 口服吡嗪酮与吡嗪酮注射剂 (实施例 1 制备) 血药浓度检测结果比较

按 600mg/kg 作吡嗪酮注射剂皮下注射及淀粉混悬吡嗪酮口服液灌胃饲喂，服药前及服药后不同时间血药浓度测定如下表 2 和图 2 所示。皮下注射吡嗪酮注射剂 10d 后，血浆吡嗪酮浓度仍在 0.3 μg/mL 以上。口服药与皮下注射同剂量 600mg/kg 吡嗪酮在 24 小时内的血药浓度变化曲线如图 2 所示，口服吡嗪酮 20min 的血药浓度高达 32.7 μg/mL，在图 2 中未表示。

表 2 经口服和皮下注射给药实测血药浓度 (μg/mL)

时间	口服组	皮注组
0.33h	32.7	3.45
0.7h	9.01	4.29
1h	3.19	6.57
2h	1.65	5.13
4h	0.71	3.96
8h	0.38	1.73
12h	0.07	0.86
24h	0	0.72
2d	0	1.01
3d	0	1.11
4d	0	0.61

5d	0	0.56
6d	0	0.25
7d	0	0.33
8d	0	0.24
9d	0	0.32
10d	0	0.34

采用高效液相色谱方法检测血药浓度，口服组血药浓度急速降低，同以往实验结果一致。与口服吡喹酮相比，实施例 1 用 206 佐剂制备的吡喹酮新注射剂使用后，机体代谢吡喹酮的速度相对缓慢，该新吡喹酮注射剂具有缓释作用，新吡喹酮注射剂皮下注射出现缓慢的下降，并较长时间维持在有效的血药浓度范围，有助于杀灭虫体，持久的有效浓度可能使血吸虫的皮层处于持续的破坏状态，皮层破损和长期暴露在宿主血液内，不仅可能影响血吸虫的营养吸收、生长、发育，而且使宿主免疫反应得以发挥。这可能是上述实施例 2 吡喹酮注射剂能杀灭 20 天童虫的原因。

#### 实施例 4 蒿甲醚注射剂的动物实验效果

方法：按照实施例 1 吡喹酮注射剂的制备方法，制备蒿甲醚的注射液，配方同吡喹酮，只是将吡喹酮改为蒿甲醚，配置 10%蒿甲醚注射液，按照 400mg/Kg 剂量对人工感染 40 条尾蚴的昆明鼠皮下给药，对照组不做药物处理。口服组按照 200mg/Kg 剂量口服灌胃，口服组连续给药 3 天，每天一次，给药时间均为感染后 7 天开始。

结论：如下表 3 所示，蒿甲醚注射剂和口服蒿甲醚对 7 天血吸虫童虫的效果相当，减虫率和减肝脏虫卵率无显著性差异，但口服药物需连续使用 3 天，而蒿甲醚注射组仅需皮下注射一次，减虫率即可达到 83.1%。

表 3 蒿甲醚注射剂的动物实验效果

组别	虫荷数( $x \pm sd$ )	减虫率	卵荷数( $x \pm sd$ )	减卵率
蒿甲醚注射组	5.20 $\pm$ 4.82	83.1%	4559 $\pm$ 3746	78.2%
口服组	7.40 $\pm$ 5.55	75.9%	6898 $\pm$ 4757	67.1%
对照组	30.71 $\pm$ 16.57		20970 $\pm$ 9975	

以上所述实施例仅表达了本发明的实施方式，其描述较为具体和详细，但并不能因此而理解为对本发明专利范围的限制。应当指出的是，对于本领域的普通技术人员来说，在不脱离本发明构思的前提下，还可以做出若干变形和改进，这些都属于本发明的保护范围。因此，本发明专利的保护范围应以所附权利要求为准。



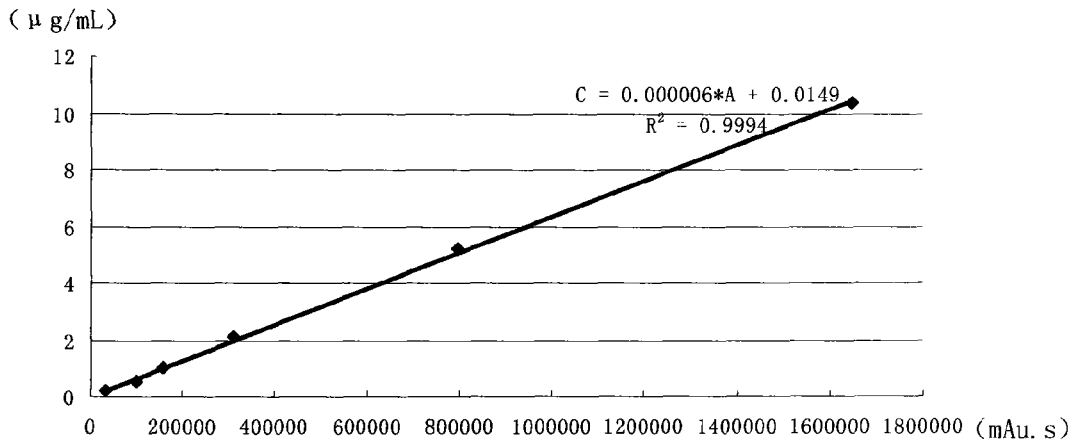


图 1

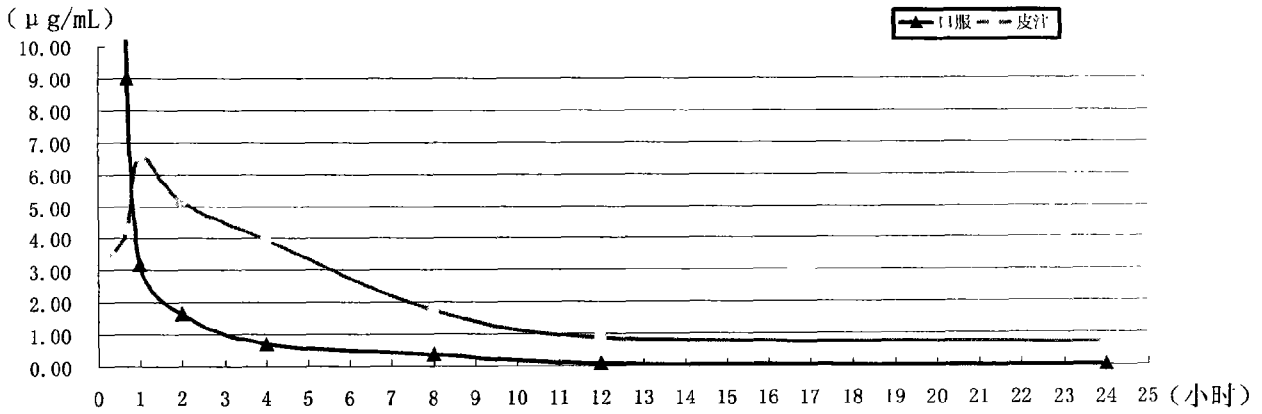


图 2