

(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 1897975 B

(45) 授权公告日 2010.12.01

(21) 申请号 200480038663.7

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2004.12.24

A61K 47/44 (2006.01)

(30) 优先权数据

10-2003-0096641 2003.12.24 KR

A61K 9/14 (2006.01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

2006.06.23

(56) 对比文件

US 5510118 A, 1996.04.23, 说明书第5栏第45行 - 第9栏第43行.

(86) PCT申请的申请数据

PCT/KR2004/003448 2004.12.24

EP 0771566 A1, 1997.05.07, 说明书第3页第10-28行、实施例1-3.

(87) PCT申请的公布数据

WO2005/061004 EN 2005.07.07

US 2003/0095928 A1, 2003.05.22, 说明书第[0014]-[0015], [0025]-[0055]段.

审查员 卢立明

(73) 专利权人 株式会社三养社

地址 韩国首尔

(72) 发明人 裴哲民 闵美泓 黄俊硕 赵庆美

(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 李华英

权利要求书 2 页 说明书 14 页 附图 4 页

(54) 发明名称

口服给药的水溶性药物纳米颗粒组合物及其制备方法

(57) 摘要

本发明涉及一种含有纳米颗粒的可口服给药组合物，此纳米颗粒的粒径为500nm或更小，该组合物包括：水溶性药物和抗衡离子物质的络合物，占0.1-30%（重量），在此络合物中带电水溶性药物与抗衡离子物质结合；脂质，占0.5-80%（重量）；聚合物，占0.5-80%（重量）；以及乳化剂，占1-80%（重量），其中脂质与聚合物的重量比为1：0.05-3，本发明还涉及此组合物的制备方法。本发明的组合物在口服给药后具有高胃肠吸收率，在纳米颗粒中具有高药物包载率，而且对脂肪酶稳定。

1. 一种含有纳米颗粒的口服给药组合物,此纳米颗粒的粒径为 500nm 或更小,该组合物包括:

占 0.1-30%重量的带电水溶性药物和抗衡离子物质的络合物,在此络合物中带电水溶性药物与抗衡离子物质离子化结合,其中所述抗衡离子物质为选自 C₈₋₁₈ 脂肪酸的钠盐、十二烷基硫酸钠、胆汁酸的钠盐、藻酸钠、羧甲基纤维素钠的阴离子化合物,或为选自肉碱盐、苯扎氯铵、溴化十六烷基三甲铵及其混合物的阳离子化合物;

占 0.5-80%重量的脂质,其中该脂质选自单酸甘油酯、甘油二酯、脂肪酸丙二醇酯、脂肪酸甘油酯、十六醇十八醇混合物、十六醇及其混合物;

占 0.5-80%重量的聚合物,其中该聚合物选自甲基丙烯酸共聚物、邻苯二甲酸羟丙基甲基纤维素、乙酸丁二酸羟丙基甲基纤维素、乙酸邻苯二甲酸纤维素、紫胶、壳聚糖、羟丙基甲基纤维素、乙基纤维素、甲基纤维素、聚乙烯醇、藻酸钠、卡波姆及其混合物;以及

占 1-80%重量的乳化剂,

其中所述脂质与所述聚合物的重量比为 1 : 0.05-3,所述络合物包载于由所述脂质和所述聚合物形成的载体中,且所述聚合物包绕于脂质纳米颗粒的表面,并被插于所述脂质分子之间。

2. 权利要求 1 的组合物,其中 70%重量或以上的水溶性药物包载于此纳米颗粒中。

3. 权利要求 1 的组合物,其中在胰酶溶液存在的情况下,此水溶性药物的 80%重量或以上被保留在纳米颗粒组合物内。

4. 权利要求 1 的组合物,其中该水溶性药物选自胰岛素、红细胞生成素、降钙素、生长激素、干扰素和生长抑素。

5. 权利要求 1 的组合物,其中该水溶性药物为在水中带电的药物,它选自肝素、头孢类抗生素、阿仑膦酸钠、依替膦酸钠和帕米膦酸钠。

6. 权利要求 1 的组合物,其中脂肪酸的钠盐选自油酸钠、己酸钠和月桂酸钠。

7. 权利要求 1 的组合物,其中水溶性药物和抗衡离子物质的摩尔比为 1 : 0.1-20。

8. 权利要求 7 的组合物,其中水溶性药物和抗衡离子物质的摩尔比为 1 : 3-10。

9. 权利要求 1 的组合物,其中脂质和聚合物的重量比为 1 : 0.2-1。

10. 权利要求 1 的组合物,其中该乳化剂选自聚氧乙烯聚氧丙烯共聚物、聚乙二醇烷基醚、聚氧乙烯蓖麻油、聚氧乙烯脱水山梨醇脂肪酸酯、天然植物油甘油三酯和聚亚烷基多元醇的酯交换产物、甘油脂肪酸酯、维生素 E 聚丁二酸乙二醇酯、卵磷脂、十二烷基硫酸钠、胆汁酸,以及它们的混合物。

11. 权利要求 1 的组合物,它还包括 50%重量或以下的增溶剂。

12. 权利要求 11 的组合物,其中该增溶剂选自 C₁₋₈ 醇、二甲亚砜、二氯甲烷、甲苯、丙二醇、聚乙二醇和 12-羟硬脂酸酯。

13. 权利要求 1 的组合物,它还包括 0.1-30%重量的冷冻保护剂。

14. 权利要求 13 的组合物,其中冷冻保护剂选自葡萄糖、甘露醇、山梨醇、海藻糖、氨基酸、白蛋白及其混合物。

15. 权利要求 1 的组合物,其中该纳米颗粒的粒径为 20-300nm。

16. 权利要求 1 的口服给药组合物的制备方法,该方法包括以下步骤:

(a) 将带电水溶性药物与抗衡离子物质进行离子化结合,以形成水溶性药物和抗衡离

子物质的络合物；

(b1) 将脂质、聚合物和增溶剂加入步骤(a)所得络合物中，并将它们溶解，然后将所得溶液加入含有乳化剂的水溶液中，以获得均匀的液相；或者

(b2) 将脂质和增溶剂加入所得络合物中，并将它们溶解，然后将所得溶液加入含有聚合物和乳化剂的水溶液中，以获得均匀的液相；和

(c) 去除步骤(b1)或(b2)所得混合物中的增溶剂。

17. 权利要求16的方法，还包括步骤(d)，即应用微流化仪将粒径最小化。

18. 权利要求17的方法，其中在步骤(a)中通过用pH调节剂处理水溶性药物，使其带有电荷，以此获得带电的水溶性药物。

19. 权利要求18的方法，其中pH调节剂选自盐酸、磷酸、碳酸、枸橼酸、氢氧化钠、磷酸一氢钠、磷酸一氢钾、磷酸二氢钠、磷酸二氢钾、磷酸钠、枸橼酸钠及其混合物。

口服给药的水溶性药物纳米颗粒组合物及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及口服给药的纳米颗粒组合物及其制备方法，所述组合物包含胃肠吸收率提高的水溶性药物。特别是，本发明涉及口服给药的纳米颗粒组合物及其制备方法，该纳米颗粒组合物在由脂质和聚合物组成的纳米颗粒内水溶性药物的包载率提高，而且对脂肪酶稳定，其中通过将水溶性药物与抗衡离子物质结合，并加入脂质、聚合物和乳化剂来制备该纳米颗粒。

背景技术

[0002] 包括生理活性剂的水溶性药物、蛋白类药物在胃肠道中稳定性低且对肠道壁的透过性低，因此这些药物通常使用静脉注射剂。但是，对于日常生活中的大多数患者来说，静脉注射剂不方便，所以在将水溶性药物制备成口服给药制剂方面已进行了很多努力。

[0003] 水溶性药物一旦口服给药，这些药物将在化学上被 pH 和消化酶的作用降解，其在胃肠道中的稳定性下降。因此，施用的这些药物的大多数或一部分不能发挥其作用，则在口服给药中其药理学作用不能充分表现。特别是，当这些药物随着 pH 改变稳定性下降或者被降解时，通过胃肠道酶的作用它们丧失了效力，而且生物利用度极低。为了解决这些问题，已在制备水溶性药物制剂方面进行了研究，其中通过将这些药物包载在对生物膜具有高亲和力的脂质或聚合物内，不使这些药物暴露在外部化学环境，例如 pH 或消化酶中。

[0004] 例如，现有技术中已知应用 w/o 或 w/o/w 乳化剂或者脂质体的水溶性药物口服给药制剂。但是，它们的缺点是没有足够的药物包载率并且稳定性低。

[0005] 美国专利 6,004,534 公开了通过应用靶向脂质体，使这些水溶性药物作为疫苗或变应原靶向于特殊组织。但是，其问题是药物在脂质体中的包载率低，约为 35%。

[0006] 美国专利 6,191,105 公开了胰岛素聚合物 w/o 微乳制剂的制备。

[0007] 但是，一旦进入体内，此 w/o 乳剂结构通常可被相变分裂，因此溶解在水相中的药物不能得到油相的保护，而直接暴露于机体。

[0008] 美国专利 6,277,413 公开了 w/o/w 乳剂的制备，其中将水溶性药物加入内层水相。但在此专利中，所制备乳剂的粒径非常大，为 10-20 微米，而且在其制备过程中，包载在内层水相中的药物可能会释放至外层水相中，因此该乳剂的药物包载率低。

[0009] 公开的韩国专利 No. 2002-66776 描述了胰岛素口服给药制剂，它应用了 500nm 或更小的单酸甘油酯脂质载体。但是，该载体仅由脂质组成，因此在体内可被脂肪酶降解。

[0010] 《控释杂志》69 期 283-295 页 (2000) 公开了含有胰岛素的 PLGA 微球体，其药物包载率小于 50%，粒径大于 5 微米。据报告，100 纳米大小颗粒在肠道内的吸收是微米级颗粒的 15-250 倍，而微米级颗粒不能在肠道内吸收，一般情况下可在肠的上皮细胞表面找到它们 [Pharm. Res. 13(12)p1838-1845(1996)]。因此，5 μm 大的 PLGA 微球体的胰岛素包载率很低，其传送胰岛素的有效性小于纳米级颗粒。

[0011] 另外，美国专利 5,962,024 公开了通过制备颗粒剂或用肠溶聚合物包裹该颗粒剂，在 pH 6.5 或更高条件下溶解药物，所述聚合物例如为琥珀酸羟丙基甲基纤维素乙酸酯

或甲基丙烯酸甲基异丁烯酸酯共聚物。但是,仅由肠溶聚合物形成的微球体存在缺陷,即它不能使在胃肠道中不稳定的药物得到稳定,因为该聚合物在肠道中被溶解,微球体中包载的药物则暴露于肠道中。

[0012] 另一方面,因为水溶性药物与亲脂性物质或聚合物组成的载体亲和力低,所以它们只有小部分被包载在载体中,因此去除它们的电荷应当会降低它们的水溶解度,这样可提高它们在载体中的包载率。

[0013] WO 94/08599 公开了络合物的制备,其中胰岛素与十二烷基硫酸钠离子化结合。此制备方法将胰岛素 - 十二烷基硫酸钠络合物溶解在有机溶剂中,并将该溶液用作肺制剂或栓剂。但是,一旦口服给药,此药物将直接暴露于胃肠道中,因此不能保持稳定。

[0014] 另外,美国专利 5,858,410 公开了通过研磨和使用微流化仪的纳米颗粒化的水不溶性药物,但是其缺陷是不适于在体内不稳定的水溶性药物,例如蛋白类药物,因为这些药物直接暴露于体内环境。

[0015] 由上可见,对于在体内不稳定的水溶性药物(包括蛋白类药物)的口服给药来说,应当设计对胃肠道脂肪酶稳定的纳米颗粒,而且应当将水溶性药物高效包载于药物载体中。下面是达到这些目的的技术要求。

[0016] 首先,为了保持纳米颗粒所包载药物的稳定,不在胃肠道中发生降解,脂质纳米颗粒应当含有适量的聚合物,以提高它们在体内的稳定性。

[0017] 其次,通过将水溶性药物与抗衡离子物质制备成络合物,并选择具有相似亲和力的脂质 / 聚合物系统,通过修改水溶性药物使其与亲脂性载体具有亲和力,这样来提高水溶性药物在亲脂性载体中的包载率。

[0018] 第三,应当使脂质 / 聚合物纳米颗粒的粒径最小化,此纳米颗粒含有水溶性药物和抗衡离子物质的络合物。另外,还应当制备纳米颗粒,以便将这些药物包载在其中,这样不会使它们暴露于外部环境,而且可在保持其最大活性的情况下被吸收至体内。

[0019] 发明公开

[0020] 本发明人已进行了重复而广泛的研究,以解决上述难题并开发符合上述技术要求的药物载体。结果本发明人发现,由水溶性药物 - 抗衡离子物质络合物与一定比例的脂质和聚合物等制备可口服给药的纳米颗粒组合物,使其粒径为 500nm 或更小,这样可提高药物包载率和对体内降解酶的抵抗性,由此完成了本发明。

[0021] 本发明的目的是提供可口服给药的纳米颗粒组合物及其制备方法,通过含有水溶性药物和抗衡离子物质的络合物,提高了药物包载率和对脂肪酶的抵抗性,由此提高了体内口服吸收度。

[0022] 附图简要说明

[0023] 附图 1 显示本发明的可口服给药的纳米颗粒组合物的稳定性,该组合物中包含胰岛素,在实验 2 中作为抗胰酶(蛋白酶 / 脂肪酶)的活性成分。

[0024] -◆- : 实施例 1

[0025] -■- : 比较实施例 1

[0026] -▲- : 比较实施例 2

[0027] -X- : 比较实施例 3

[0028] -* : 实施例 1a

- [0029] 附图 2 显示肠内应用本发明可口服纳米颗粒组合物后的相对血糖浓度,该组合物中包含胰岛素在实验 3(2) 中作为治疗大鼠 I 型糖尿病的活性成分。
- [0030] -◆- :参考组 (含胰岛素的缓冲液, pH 7.4, 胰岛素剂量 3IU/kg)
- [0031] -■- :实施例 1 (胰岛素剂量 3IU/kg)
- [0032] 附图 3 显示肠内应用本发明可口服纳米颗粒组合物后的相对血糖浓度,该组合物中包含胰岛素在实验 3(3)1 中作为治疗大鼠 I 型糖尿病的活性成分。
- [0033] -◆- :参考组 1 (含胰岛素的缓冲液, pH 7.4, 胰岛素剂量 20IU/kg)
- [0034] -■- :实施例 1 (胰岛素剂量 20IU/kg)
- [0035] -▲- :比较实施例 1 (胰岛素剂量 20IU/kg)
- [0036] -X- :实施例 1a (胰岛素剂量 20IU/kg)
- [0037] 附图 4 显示肠内应用本发明可口服纳米颗粒组合物后的相对血糖浓度,该组合物中包含胰岛素在实验 3(3)1 中作为治疗大鼠 I 型糖尿病的活性成分。
- [0038] -◆- :实施例 1 (胰岛素剂量 20IU/kg)
- [0039] -■- :参考组 2 (胰岛素注射液, 皮下注射, 胰岛素剂量 0.2IU/kg)
- [0040] 附图 5 显示肠内应用本发明可口服纳米颗粒组合物后的胰岛素浓度,该组合物中包含胰岛素在实验 3(3)2 中作为治疗大鼠 I 型糖尿病的活性成分。
- [0041] -◆- :对照组 (不含胰岛素的口服纳米颗粒组合物)
- [0042] -■- :实施例 1 (胰岛素剂量 20IU/kg)
- [0043] -▲- :比较实施例 1 (胰岛素剂量 20IU/kg)
- [0044] -X- :实施例 1a (胰岛素剂量 20IU/kg)
- [0045] 附图 6 显示肠内应用本发明可口服纳米颗粒组合物后的胰岛素浓度,该组合物中包含胰岛素在实验 3(3)2 中作为治疗大鼠 I 型糖尿病的活性成分。
- [0046] -◆- :实施例 1 (胰岛素剂量 20IU/kg)
- [0047] -■- :参考组 (胰岛素注射液, 皮下注射, 胰岛素剂量 0.2IU/kg)
- [0048] 附图 7 显示十二指肠内应用本发明可口服纳米颗粒组合物后的头孢曲松浓度,该组合物中包含头孢曲松在实验 4(1)1 中作为给予正常大鼠的活性成分。
- [0049] -◆- :实施例 6 (头孢曲松剂量 40mg/kg)
- [0050] -■- :实施例 7 (头孢曲松剂量 40mg/kg)
- [0051] -▲- :比较实施例 5 (头孢曲松剂量 40mg/kg)
- [0052] -X- :参考组 1 (含头孢曲松的水溶液, 头孢曲松剂量 40mg/kg)
- [0053] 附图 8 显示十二指肠内应用本发明可口服纳米颗粒组合物后的头孢曲松浓度,该组合物中包含头孢曲松在实验 4(1)1 中为给予正常大鼠的活性成分。
- [0054] -◆- :实施例 6 (头孢曲松剂量 40mg/kg)
- [0055] -■- :实施例 7 (头孢曲松剂量 40mg/kg)
- [0056] -▲- :参考组 2 (头孢曲松注射液, 静脉注射, 头孢曲松剂量 20mg/kg)
- [0057] 本发明最佳实施方式
- [0058] 本发明提供一种口服给药组合物,它含有粒径为 500nm 或更小的纳米颗粒,该组合物包括:0.1-30% (重量) 的水溶性药物和抗衡离子物质的络合物,在此络合物中带电水溶性药物与抗衡离子物质结合;0.5-80% (重量) 的脂质;0.5-80% (重量) 的聚合物;以

及 1-80% (重量) 的乳化剂, 其中脂质与聚合物的重量比为 1 : 0.05-3。所述脂质和聚合物的重量比优选为 1 : 0.2-1。

[0059] 另外, 本发明提供一种制备本发明可口服给药纳米颗粒组合物的方法, 其步骤包括:(a) 将带电水溶性药物与抗衡离子物质进行离子化结合, 形成水溶性药物和抗衡离子物质的络合物;(b) 将脂质、聚合物和增溶剂加入所得络合物中, 并溶解整个混合物, 然后将所得溶液引入含有乳化剂的水溶液, 以获得均匀的液相;(c) 去除步骤(b) 所得混合物中的增溶剂; 和 (d) 任选地, 应用一种微流化仪将粒径最小化。

[0060] 按照本发明, 将水溶性药物包载于这种纳米颗粒组合物中, 包载率为 70% 或更高, 而且在胰酶溶液存在的情况下其包载率可保持在 80% 或更高。

[0061] 另外, 本发明还提供一种制备本发明可口服给药纳米颗粒组合物的方法, 其步骤包括:(a) 将带电水溶性药物与抗衡离子物质进行离子化结合, 形成水溶性药物和抗衡离子物质的络合物;(b) 将脂质和增溶剂加入所得络合物中, 并溶解整个混合物, 然后将所得溶液引入含有乳化剂和聚合物的水溶液, 获得均匀的液相;(c) 去除步骤(b) 所得混合物中的增溶剂; 和 (d) 任选地, 应用一种微流化仪将粒径最小化。

[0062] 下面将对本发明进行详细描述。

[0063] 本发明的口服给药纳米颗粒组合物包括:水溶性药物和抗衡离子物质的络合物, 占 0.1-30% (重量), 在此络合物中带电水溶性药物与抗衡离子物质离子化结合; 脂质, 占 0.5-80% (重量); 聚合物, 占 0.5-80% (重量); 以及乳化剂, 占 1-80% (重量), 其中脂质与聚合物的重量比为 1 : 0.05-3, 该组合物还包括粒径为 500nm 或更小的纳米颗粒。所述脂质和聚合物的重量比优选为 1 : 0.2-1。

[0064] 通过带电药物与抗衡离子物质反应而获得水溶性药物和抗衡离子物质的络合物。用作活性成分的水溶性药物可为在水溶液中带电的药物, 优选为在水中带电的药物, 它们选自肽 / 蛋白类药物, 诸如胰岛素、红细胞生成素、降钙素、生长激素、干扰素、生长抑素等; 肝素; 头孢类抗生素; 阿仑膦酸钠; 依替膦酸钠; 帕米膦酸钠等。

[0065] 可与带正电荷的药物离子化结合的带负电荷物质可优选选自 C8-18 脂肪酸的钠盐, 诸如油酸钠、十二烷基硫酸钠、己酸钠、月桂酸钠等; 胆汁酸的钠盐; 藻酸钠; 和羧甲基纤维素钠。可与带负电荷的药物离子化结合的带正电荷物质可优选选自季铵化合物, 诸如肉碱盐、苯扎氯铵、溴化十六烷基三甲铵等。

[0066] 此水溶性药物和抗衡离子物质的络合物的含量优选为纳米颗粒组合物总重量的 0.1-30% (重量)。

[0067] 当水溶性药物与抗衡离子物质形成络合物时, 该水溶性药物的初始电荷被除去或削弱, 因此提高了其与亲脂性载体的亲和力。结果, 该水溶性药物可被更多地包载于亲脂性载体中。如下面实验 1 的表 4 所示, 本发明组合物的药物包载率高。

[0068] 根据水溶性药物的离子数, 可对水溶性药物和抗衡离子物质的络合物中水溶性药物与抗衡离子物质的摩尔比进行调节, 优选为 1 : 0.1-20, 更优选为 1 : 3-10。

[0069] 所述脂质可优选为选自下列脂肪醇的一种或多种: 诸如单酸甘油酯、甘油二酯、脂肪酸的丙二醇酯 (Capriol 等)、脂肪酸的甘油酯 (GELucier 等)、十六醇十八醇混合物、十六醇等, 而且所述脂质含量优选为纳米颗粒组合物总重量的 0.5-80% (重量), 更优选为 0.5-30% (重量)。

[0070] 所述聚合物可优选为选自下列的一种或多种：肠溶聚合物，诸如甲基丙烯酸共聚物、邻苯二甲酸羟丙基甲基纤维素、乙酸丁二酸羟丙基甲基纤维素、乙酸邻苯二甲酸纤维素等；紫胶、壳聚糖、羟丙基甲基纤维素及其衍生物、乙基纤维素、甲基纤维素、聚乙烯醇、藻酸钠和卡波姆，而且所述聚合物的含量可优选为纳米颗粒组合物总重量的 0.5-80%（重量），更优选为 0.5-30%（重量）。特别是，如果使用肠溶聚合物，在胃酸中不稳定的药物（例如蛋白质）不会被分解，而且可根据肠溶聚合物的组合物的不同，它们易于被小肠或大肠选择性地吸收。

[0071] 所述聚合物不溶于水，或者溶解于水中时变得具有粘性，因此被加入脂质纳米颗粒时可被缓慢地降解，由此可控制包载于纳米颗粒中的水溶性药物的溶出率。另外，该聚合物包绕于脂质纳米颗粒的表面，并被插于脂质分子中间，因此使此纳米颗粒具有酶抵抗性。也就是说，加入聚合物可阻止脂肪酶作用所致脂质的降解，该脂质是此纳米颗粒中的结构成分，因此可保持该纳米颗粒的结构，而且也可明显改善包载于纳米颗粒中的水溶性药物的化学稳定性。

[0072] 在将聚合物加入脂质纳米颗粒组合物中时，可根据聚合物的含量来改变此脂质纳米颗粒的大小，而且应当对脂质与聚合物的比例进行适当调节，以获得 500nm 或更小的纳米颗粒。

[0073] 所述乳化剂优选为选自下列的一种或多种：聚氧乙烯聚氧丙烯共聚物（商品名：PoloxamerTM）、聚乙二醇烷基醚（商品名：BrisTM）、聚氧乙烯蓖麻油（商品名：TweenTM）、聚氧乙烯脱水山梨醇脂肪酸酯（商品名：SpanTM）、天然植物油甘油三酯和聚亚烷基多元醇的酯交换产物（商品名：LabrafilTM、LabrasolTM）、甘油脂肪酸酯（商品名：PlurolTM oleique）、维生素 E 聚丁二酸乙二醇酯（维生素 E 聚丁二酸乙二醇酯）、卵磷脂、十二烷基硫酸钠和胆汁酸及其衍生物，而且所述乳化剂的含量可优选为纳米颗粒组合物总重量的 1-80%（重量）。更优选的是，该乳化剂的含量占 30-80%（重量）。当将所制备的脂质 / 聚合物纳米颗粒分散于水溶液中时，该乳化剂使此分散体稳定。

[0074] 所述增溶剂可优选为选自下列的一种或多种： C_{1-8} 醇、二甲亚砜、二氯甲烷、甲苯、丙二醇、聚乙二醇和 12-羟硬脂酸酯（商品名：SolutolTM）。在制备纳米颗粒的同时消除此增溶剂，因此最终纳米颗粒组合物中的增溶剂含量优选为 50%（重量）或更小。另外，如果单独的增溶剂不能溶解或分散水溶性药物和抗衡离子物质的络合物、聚合物、脂质等，则可将上述乳化剂加入其中以获得均匀的溶液。

[0075] 另外，该组合物可含有惯用的口服吸收增强剂，含量为 0-20%（重量），所述口服吸收增强剂优先选自 p- 糖蛋白抑制剂、肉碱盐、螯合剂等。

[0076] 另外，可将本发明组合物进行冷冻干燥，优选含有 0.1-30%（重量）的冷冻保护剂，所以可被制备成粉末，然后再制备成常规的口服剂型，诸如胶囊或片剂。冷冻保护剂可优选为糖类，诸如葡萄糖、甘露醇、山梨醇、海藻糖；氨基酸，诸如精氨酸；蛋白，诸如白蛋白，等等。

[0077] 通过下面方法制备本发明可口服给药纳米颗粒组合物，其方法包括下列步骤：(a) 将带电水溶性药物与抗衡离子物质进行离子化结合，以形成水溶性药物和抗衡离子物质的络合物；(b) 将脂质、聚合物和增溶剂加入所得络合物中，以溶解整个混合物，然后将所得溶液加入含有乳化剂的水溶液，以获得均匀的液相；(c) 去除步骤 (b) 所得混合物中的增溶

剂 ;和 (d) 任选地,应用微流化仪将粒径最小化。

[0078] 上述步骤 (a) 中,通过将药物溶解在水或适宜缓冲液中,获得含有该药物的水溶液,然后使抗衡离子物质与该药物溶液进行反应,由此制备水溶性药物和抗衡离子物质的络合物。

[0079] 根据此药物的离子数,在摩尔比为 1 : 0.1-20 的范围内调节该水溶性药物和抗衡离子物质的最佳比例,并通过分析上述反应中未反应的药物而确定。优选用水将所得水溶性药物和抗衡离子物质的络合物冲洗 3 遍或 3 遍以上,以除去未反应的药物。

[0080] 特别是,在制备蛋白类药物和抗衡离子物质的络合物中,可使用 pH 调节剂,使此蛋白类药物具有电荷。该 pH 调节剂可选自酸化剂,诸如盐酸、磷酸、碳酸、枸橼酸等;碱化剂,诸如氢氧化钠、磷酸一氢钠 / 钾、磷酸二氢钠 / 钾、磷酸钠、枸橼酸钠等;或者由它们的混合物组成的缓冲液,而且此 pH 调节剂的用量可为该药物的 0.1-10 倍。

[0081] 在上述步骤 (b)-(c) 中,将水溶性药物和抗衡离子物质的络合物及脂质溶解在增溶剂中,然后,将该溶液加入含有聚合物的水溶液中,搅拌此混合物,然后从中去除增溶剂。在此步骤中,为了提高此聚合物的溶解度,可在其中加入酸、碱和乳化助剂,占 0.5-50% (重量),并可将此混合物进行加热,优选加热至 30-70℃。

[0082] 在上述步骤 (c) 中,如果此增溶剂是高度挥发的,则可通过注射氮气或者使用真空蒸发器将其除去。如果它挥发性不高,可通过渗析将其除去。

[0083] 在上述步骤 (d) 中,优选应用微流化仪在 100MPa 下将此溶液环化 3-10 遍。如果需要,可通过加热将此纳米颗粒的粒径进一步减小。加热温度优选为 30-70℃。

[0084] 另一种制备本发明可口服给药组合物的方法包括以下步骤:(a) 将带电水溶性药物与抗衡离子物质进行离子化结合,以形成水溶性药物和抗衡离子物质的络合物;(b) 将脂质和增溶剂加入其中,以溶解整个混合物,然后将所得溶液加入含有聚合物和乳化剂的水溶液,以获得均匀的液相;(c) 去除步骤 (b) 所得混合物中的增溶剂;和 (d) 任选地,应用微流化仪将粒径最小化。

[0085] 所得纳米颗粒组合物是液体的,如果需要,可加入冷冻保护剂将其冷冻干燥,以获得粉末。所述冷冻保护剂用于防止冷冻干燥过程中该组合物中的成分变性。此冷冻保护剂的用量优选占纳米颗粒组合物总重量的 0.1-30% (重量)。此冷冻保护剂可优选为糖,诸如乳糖、甘露醇、海藻糖等;氨基酸,诸如精氨酸;蛋白质,诸如白蛋白等等。

[0086] 通过简单的物理混合,例如通过用手摇动,可易于将如上获得的液体和粉末组合物分散于水中,而且根据所用乳化剂或药物的特性,形成此分散系的粒径为 500nm 或更小,它比先前的口服给药制剂更小。优选地,此口服给药纳米颗粒组合物的粒径为 20-300nm。

[0087] 密封在室温或更低的温度下,本发明纳米颗粒粉末组合物可长时间地稳定贮存,而且可在使用前将水加入其中,以制备其分散溶液。

[0088] 另外,通过加入其他的吸收增强剂,可将本发明纳米颗粒组合物制备为溶液、悬浮液、胶囊、片剂等,而且在固体制剂情况下,通过常规制备技术,例如肠溶衣等,还可进一步提高其口服生物利用度。

[0089] 下面将根据实施例对本发明进行更详细描述,但是不应当认为它们将对本发明的范围进行任何限制。

[0090] 实施例

[0091] 实施例 1 : 含胰岛素的可口服给药纳米颗粒组合物的制备

[0092] (1) 胰岛素和抗衡离子物质络合物的制备

[0093] 将 50mg 胰岛素 (Sigma) 溶解在 pH 3 的 20ml 枸橼酸盐缓冲液中，并将溶解在 80ml pH3 的枸橼酸盐缓冲液中的多库酯钠 (Aldrich) 与其反应，与 1 摩尔胰岛素的摩尔比为 1 : 3、1 : 6 和 1 : 9，以获得胰岛素和抗衡离子物质的络合物。一完成此反应，即按照美国药典中所述的胰岛素分析方法分析上清液中的胰岛素，以获得下面表 1 所示的结果。

[0094] 表 1 : 胰岛素和抗衡离子物质络合物的反应比

[0095]

胰岛素 : 多库酯钠的摩尔比	上清液中残余反应物
1 : 3	20.7%
1 : 6	0%
1 : 9	0%

[0096] 如上表 1 所示，当胰岛素与多库酯钠的摩尔比为 1 : 6 或以上时，大部分胰岛素与抗衡离子物质形成络合物。之后，用 pH 3 的枸橼酸盐缓冲液和水将摩尔比为 1 : 6 的胰岛素和抗衡离子物质制备的络合物各冲洗 3 遍，留待在下面步骤中使用。

[0097] (2) 含胰岛素的可口服给药纳米颗粒组合物的制备

[0098] 将 15mg 胰岛素 - 多库酯钠络合物和 60mg 甘油一油酸酯 (TCI) 溶解在 10ml 乙醇中。将此溶液加入 20ml 含 20mg 壳聚糖 (韩国壳聚糖) 和 200mg Poloxamer 407TM (BASF) 的水溶液中，对整个混合物进行搅拌，以获得均匀的溶液，然后通过注入氮气而从其中除去乙醇。在其中加入 1% 的枸橼酸，作为提高壳聚糖溶解度的添加剂。应用一种微流化仪，EmulsiFlex-C5TM (Avestin)，在室温 100MPa 下将此脂质 / 聚合物纳米颗粒环化 10 遍，以获得含有胰岛素的可口服给药纳米颗粒组合物。

[0099] (3) 粒径和分布的测定

[0100] 将 200 μl 所得液体组合物分散在 1ml 蒸馏水中，然后按照光子分光术 (ELS-8000TM, Otsuka electronics) 测定该组合物的粒径和分散度。结果，实施例 1 液体组合物的平均粒径为 83.0nm，分散度为 0.300。

[0101] 比较实施例 1

[0102] 按照与实施例 1 相同的方法制备液体组合物，但用胰岛素代替胰岛素 - 抗衡离子物质络合物，而且既不使用聚合物也不使用微流化仪。按照实施例 1 的方法测定其粒径和分散度，结果，平均粒径为 117.4nm，分散度为 0.251。

[0103] 比较实施例 2

[0104] 按照与实施例 1 相同的方法制备液体组合物，但用胰岛素代替胰岛素 - 抗衡离子物质络合物，而且不使用微流化仪。按照实施例 1 的方法测定其粒径和分散度，结果，平均粒径为 241.8nm，分散度为 0.090。

[0105] 比较实施例 3

[0106] 在 50℃ 下将按照实施例 1 获得的 15mg 胰岛素 - 抗衡离子物质络合物和 60mg 甘油一油酸酯超声处理 1 小时，然后加入 20ml 其中含有 20mg 壳聚糖和 200mg Poloxamer407TM

的 1% 枸橼酸盐水溶液，并将它们再一次进行 30 分钟的超声处理。然后在 100MPa、室温下应用微流化仪将此混合物环化 10 遍，以获得含有胰岛素络合物的液体组合物。按照实施例 1 的方法测定粒径和分散度，结果，其平均粒径为 211.6nm，分散度为 0.213。

[0107] 实施例 1a

[0108] 按照与实施例 1 相同的方法制备液体组合物，但不使用微流化仪。按照实施例 1 的方法测定其粒径和分散度，结果平均粒径为 234.3nm，分散度为 0.291。

[0109] 实施例 2：含胰岛素可口服给药纳米颗粒粉末制剂的制备

[0110] 在固化实施例 1 所得的可口服给药纳米颗粒液体制剂中，通过将 5% 甘露醇加入此可口服给药纳米颗粒液体制剂而使该纳米粒径的增加最小化，然后在不同的冷冻干燥条件下固化此液体制剂，并将其分散在水中以测定粒径。结果见下面表 2。

[0111] 表 2

[0112]

冷冻干燥条件		冻干前 (nm)	冻干后 (nm)	冻干前后粒径的 增加率
条件 1	室温, 48 小时	68.1	339.8	5.0
条件 2	0°C :12 小时 → 0 °C :8 小时 → 5 °C :24 小时	82.5	188.5	2.3
条件 3	-25°C :24 小时 → 0°C :24 小时	118.1	196.4	1.7

[0113] 由上面表 2 可见，为使粒径的变化最小化，在 < 0°C 条件下冷冻干燥是优选的。

[0114] 将甘露醇分别以 0.5%、1%、2%、4% 和 5% 加入可口服给药纳米颗粒液体制剂中，然后在 -25°C 下将此混合物固化 6 小时，随后再在 20°C 下进行 6 小时。将所得固体分散在水中，然后按照实施例 1 的方法测定粒径。所得结果见下面表 3。

[0115] 表 3

[0116]

甘露醇	-25°C, 6 小时 → 20°C, 6 小时	
	粒径	冻干前后粒径的增加率
0.5%	394.1nm	3.4
1%	335.1nm	2.8
2%	321.6nm	2.7

4%	217. 3nm	1. 8
5%	196. 4nm	1. 7

[0117] 由测定结果可见,当冷冻保护剂的浓度约为 5%时,粒径的变化可被最小化。

[0118] 实施例 3 :含胰岛素的可口服给药纳米颗粒制剂的制备 2

[0119] 在实施例 1 中,用十二烷基硫酸钠 (Sigma) 代替多库酯钠,比例是 1 : 7,以获得胰岛素与抗衡离子物质的络合物。对胰岛素与抗衡离子物质的络合物、甘油一油酸酯和聚乙二醇 2000 进行称重,分别为 15mg、45mg 和 90mg,并将它们溶解在 10ml 乙醇中。按照相同方法,制备含胰岛素的可口服给药纳米颗粒组合物。

[0120] 按照实施例 1 的方法测定其粒径和分散度,结果其平均粒径为 121nm,分散度为 0. 314。

[0121] 实施例 4 :含胰岛素的可口服给药纳米颗粒组合物的制备 3

[0122] 按照与实施例 1 相同的方法制备含胰岛素的可口服给药纳米颗粒组合物,但使用 LabrafacTM(Gattefosse) 代替甘油一油酸酯。按照实施例 1 的方法测定其粒径和分散度,结果平均粒径为 129. 4nm,分散度为 0. 227。

[0123] 实施例 5 :含胰岛素的可口服给药纳米颗粒组合物的制备 4

[0124] 按照与实施例 1 相同的方法制备含胰岛素的可口服给药纳米颗粒组合物,但使用 60mg EudragitTM(Rohm) 和 Eudragit STM(Rohm) 1 : 1 的混合物代替壳聚糖。按照实施例 1 的方法测定其粒径和分散度,结果平均粒径为 194. 2nm,分散度为 0. 128。

[0125] 比较实施例 4

[0126] 按照与实施例 5 相同的方法制备此液体制剂,但既不使用甘油一油酸酯,也不使用微流化仪。按照实施例 1 的方法测定其粒径和分散度,结果平均粒径为 350. 9nm,分散度为 0. 009。

[0127] 实施例 6 :含头孢曲松的可口服给药纳米颗粒的制备

[0128] (1) 头孢曲松和抗衡离子物质络合物的制备

[0129] 将 100mg 头孢曲松 (Hawon fine chemical) 溶解在 20ml 蒸馏水中,对苯扎氯铵 (Sigma) 进行称重,其与头孢曲松的摩尔比为 1 : 2,并将其溶解在蒸馏水中,然后在 4°C 进行反应。收集上清液,并按照美国药典中所述头孢曲松的分析方法分析头孢曲松。结果确认 99. 9% 的头孢曲松与抗衡离子物质形成了络合物。

[0130] (2) 含头孢曲松口服液体制剂的制备

[0131] 将 120mg 头孢曲松和抗衡离子物质的络合物、60mmg 甘油一油酸酯和 30mg Eudragit LTM 和 Eudragit STM1 : 1 的混合物溶解在 15ml 乙醇中。将此溶液加入 30ml 含 375mg LabrasolTM(Gattefosse) 和 300mg Poloxamer 407TM 的水溶液中,对整个混合物进行搅拌,以获得均匀的溶液。按照实施例 1 的方法,制备含头孢曲松的可口服给药纳米颗粒制剂。按照实施例 1 的方法,测定其粒径和分散度,结果其平均粒径为 199. 0nm,分散度为 0. 135。

[0132] 比较实施例 5

[0133] 按照与实施例 6 相同的方法制备液体制剂,但用头孢曲松代替头孢曲松 - 抗衡离子物质络合物,而且既不使用聚合物也不使用微流化仪。按照实施例 1 的方法测定其粒径

和分散度,结果平均粒径为 149. 4nm,分散度为 0. 124。

[0134] 实施例 7 :含头孢曲松的可口服给药纳米颗粒制剂的制备

[0135] 将 240mg 头孢曲松 - 抗衡离子物质的络合物和 1200mg CapryolTM(Gattefosse) 溶解在 15ml 乙醇中。将此溶液加入 30ml 含 240mgLabrasolTM、30mg 壳聚糖和 300mg Poloxamer 407TM 的水溶液中,对整个混合物进行搅拌。然后按照实施例 1 的方法,制备含头孢曲松的可口服给药纳米颗粒制剂。加入 300mg 枸橼酸,作为添加剂以增加壳聚糖的溶解度。按照实施例 1 的方法,测定其粒径和分散度,结果其平均粒径为 290. 1nm, 分散度为 0. 197。

[0136] 实验 1 :药物包载率的测定

[0137] 将上面实施例 1 和实施例 1a 至 7,以及比较实施例 1 至 5 中制备的 500 μ l 液体制剂分散至 500 μ l 蒸馏水中。然后,将此分散体加入 Centricon YM-30TM(fractionation MW : 30,000, Millipore), 并以 1500g 的相对离心力离心 60 分钟。分析上面分离滤液中的药物,计算该纳米颗粒中的药物包载率。所得结果见下面表 4。

[0138] 表 4 :可口服给药纳米颗粒制剂中的药物包载率

[0139]

	药物包载率 (%)
实施例 1	99. 8
实施例 1a	95. 7
实施例 2	98. 7
实施例 3	97. 2
实施例 4	90. 3
实施例 5	91. 3
实施例 6	90. 5
实施例 7	92. 0
比较实施例 1	72. 4
比较实施例 2	64. 8
比较实施例 3	70. 7
比较实施例 4	92. 6
比较实施例 5	40. 8

[0140] 实验 2 :酶降解性的评价 - 通过蛋白酶 / 脂肪酶,胰酶的降解

[0141] 脂肪酶存在于体内,而且由脂质组成的纳米颗粒应当对脂肪酶稳定,这样包载于

脂质纳米颗粒中的胰岛素才不会暴露于外部,而且这样不会被蛋白酶所降解。检测实施例和比较实施例制剂对体内酶的稳定性,这些酶可降解蛋白和脂质,如胰酶。

[0142] 将上面实施例 1、1a 和 3 至 5,以及比较实施例 1 至 4 中制备的 5ml 液体制剂加入到 15ml 含 0.0067% 胰酶 (USP 级) 的缓冲液中,其 pH 为 7.4。在 37°C 将此反应进行 0、1、3 和 5 小时,测定胰岛素的剩余量,结果见下面表 5。

[0143] 表 5 :含胰岛素的可口服给药纳米颗粒制剂对胰酶的稳定性

[0144]

	胰岛素剩余量 (%)			
	0 小时	1 小时	3 小时	5 小时
实施例 1	100.0	95.8	93.6	91.6
实施例 1a	100.0	100.0	97.5	93.5
实施例 3	100.0	100.0	97.5	93.5
实施例 4	100.0	99.1	96.8	93.4
实施例 5	100.0	92.7	92.0	91.3
比较实施例 1	100.0	9.1	0.8	0
比较实施例 2	100.0	87.5	82.6	82.1
比较实施例 3	100.0	91.6	69.2	57.2
比较实施例 4	100.0	51.2	14.9	14.5

[0145] 如上面表 4 和 5 所示,实施例 1 至 5 含胰岛素 - 抗衡离子络合物和脂质 / 聚合物的制剂具有较高的药物包载率和酶稳定性。相反,仅含脂质的比较实施例 1 的制剂和仅含聚合物的比较实施例 4 的制剂对酶的稳定性极低,即 5 小时后胰岛素对胰酶的稳定性甚至小于 20%。

[0146] 特别是,由胰岛素制备,而不是由胰岛素 - 抗衡离子络合物制备的比较实施例 1 和 2 的纳米颗粒制剂具有较低的药物包载率。如表 5 所示,含聚合物的比较实施例 2 制剂对酶的稳定性高于不含聚合物的比较实施例 1 的制剂。

[0147] 在制备纳米颗粒制剂中仅使用微流化仪而制备的比较实施例 3 制剂具有较低的胰岛素 - 抗衡离子络合物包载率,而且它对酶的稳定性比实施例 1 制剂低,实施例 1 的制剂是通过首先使用这种为乙醇的增溶剂,然后再使用微流化仪而制备的。使用增溶剂而不使用微流化仪所制备的实施例 1a 的纳米颗粒制剂具有较高的药物包载率,其对酶的稳定性与实施例 1 制剂相似。

[0148] 如上所述,由胰岛素而不是由胰岛素 - 抗衡离子络合物制备的纳米颗粒制剂具有较低的药物包载率,而由脂质和聚合物组成的纳米颗粒制剂对酶具有较高的稳定性。另外,

仅应用微流化仪是不充分的,应用增溶剂初步形成的纳米颗粒对于获得具有高药物包载率和对酶稳定性的纳米颗粒制剂是必须的。

[0149] 所以,通过形成药物 - 抗衡离子络合物,并将此络合物包载于由脂质和聚合物组成的载体中而制备的本发明的纳米颗粒被证明不仅具有优良的药物包载率,而且对脂肪酶和蛋白酶还具有优良的稳定性。

[0150] 实验 3 :对动物效力的评价 1

[0151] 应用实施例 1 所制备的可口服给药纳米颗粒液体制剂进行动物实验。

[0152] (1) 诱发糖尿病

[0153] 给重量约 180–220g 的正常雄性 Sprague Dawley 大鼠腹膜内注射 45mg/kg 链脲霉素 (Sigma) 2 次,之间间隔 2 天,以产生 I 型糖尿病大鼠。1 周后,给大鼠禁食 12 小时,然后采血,并测定血糖。结果血糖为 300mg/dl 或以上的大鼠被认为是 I 型糖尿病大鼠,在下面实验中使用这些大鼠。应用 Glucotrand2TM (Roche) 测定血糖。

[0154] (2) 测定可口服给药纳米颗粒液体制剂中胰岛素的生理学活性

[0155] 将 2ml 实施例 1 制备的纳米颗粒液体制剂分散在 2ml 生理盐水中,并以 3IU/kg 胰岛素给 I 型糖尿病大鼠进行肌注。

[0156] 以 3IU/kg 胰岛素将稀释于 pH7.4 缓冲液中的胰岛素肌注给 I 型糖尿病大鼠,以此作为参考组。在给定的时间间隔从尾静脉采血。

[0157] 如附图 2 所示,将本发明可口服给药纳米颗粒液体制剂与胰岛素溶液中的胰岛素生理学活性进行比较,证实体本发明纳米颗粒液体制剂可完整地保持胰岛素的生理学活性。因此,下面应用本发明液体制剂进行动物实验。

[0158] (3) 可口服给药纳米颗粒液体制剂的胃肠道吸收试验

[0159] 1) 血糖的测定

[0160] 将 I 型糖尿病大鼠进行乙醚麻醉,打开腹腔。取出小肠并将含胰岛素的液体制剂应用于阑尾顶部上面 5cm 处,给药剂量为 20/kg。然后缝合切口,使此糖尿病大鼠可自由活动饮水。

[0161] 试验组应用实施例 1、比较实施例 1 和实施例 1a 的制剂。比较实施例 1 的制剂是既不含胰岛素 - 抗衡离子物质络合物,也不含聚合物的纳米颗粒制剂,所以其药物包载率和酶稳定性均低于实施例 1 的制剂。

[0162] 实施例 1a 的制剂药物包载率和酶稳定性均高,但由于未使用微流化仪,其粒径大于实施例 1 的制剂。通过与实施例 1 相同的途径应用 pH7.4 的含胰岛素的磷酸盐缓冲液,给药剂量为 20IU/kg,它们作为参考组 1;皮下注射胰岛素注射液,给药剂量为 0.2IU/kg,它们作为参考组 2。

[0163] 在给药后 0、0.5、1、1.5、2、3、5 和 7 小时在尾静脉采血,测定血糖。将给药前的起始值作为 100%,以此为基础测定血糖值。

[0164] 如附图 3 所示,在施用实施例 1 制剂的情况下,血糖下降约 73%,但在施用比较实施例 1 制剂的情况下,血糖几乎不下降。另外,省略通过微流化仪而制备的实施例 1a 制剂的降糖面积约为实施例 1 的 70%。

[0165] 如上所述,仅在脂质载体中包载胰岛素而不含胰岛素 - 抗衡离子物质络合物的纳米颗粒制剂,在体内几乎未显示出降糖活性。另外,在制备脂质纳米颗粒制剂期间通过微流

化仪减小粒径,可将降糖活性提高约 40%。

[0166] 如附图 4 所示,施用实施例 1 制剂与皮下注射 0.2IU/kg 胰岛素的降糖活性非常相似。

[0167] 2) 胰岛素血浓度的测定

[0168] 按照上述方法测定血糖。应用实施例 1、比较实施例 1 和实施例 1a 制剂进行实验;而按照实施例 1 相同的途径应用不含胰岛素的口服给药纳米颗粒液体制剂,以此作为对照组;皮下注射 0.2IU/kg 胰岛素注射液,此作为参考组。

[0169] 在给药后 0、0.5、1、1.5、2、3 和 5 小时从尾静脉采血,应用胰岛素分析盒(Coat-a-countTM, Diagnostic Products Corporation) 测定胰岛素血浓度。

[0170] 如附图 5 所示,未含胰岛素的对照组中胰岛素血浓度小于 20 μ IU/ml,但在实施例 1 制剂中胰岛素最大血浓度约为 170 μ IU/ml,因此胰岛素吸收率高。仅在脂质载体中包载胰岛素而无胰岛素-抗衡离子络合物的比较实施例 1 制剂在最大血浓度时胰岛素的吸收率仅约为 15 μ IU/ml。未通过微流化仪的实施例 1a 制剂在最大血浓度时胰岛素吸收率约为 70 μ IU/ml。另外,按照时间相对于初始胰岛素浓度,比较胰岛素增大的面积(AUC),实施例 1 制剂与实施例 1a 制剂相比 AUC 增大了约 140%。这与按照时间比较血浓度减小面积的结果相似。

[0171] 证实在含有聚合物的脂质载体中包载胰岛素-抗衡离子物质络合物,而且通过高压均化器减小粒径,这样对于提高 I 型糖尿病大鼠的胰岛素吸收率很有效。

[0172] 如附图 6 所示,施用实施例 1 制剂,其胰岛素血浓度曲线与皮下注射 0.2IU/kg 胰岛素相似,皮下注射 0.2IU/kg 胰岛素可应用于早期的糖尿病患者。

[0173] 实验 4:对动物效力的评价 2

[0174] 应用实施例 6 和 7,以及比较实施例 5 所制备的含头孢曲松可口服给药纳米颗粒液体制剂进行动物实验。

[0175] (1) 可口服给药纳米颗粒液体制剂的胃肠道吸收试验

[0176] 1) 血糖的测定

[0177] 对正常大鼠(Sprague Dawley, 雄性, 体重约 200g) 进行乙醚麻醉, 打开腹腔。取出十二指肠, 并将含头孢曲松的纳米颗粒液体制剂施用于其上, 给药剂量为 40mg/kg 头孢曲松。

[0178] 将实施例 6 和实施例 7, 以及比较实施例 5 的制剂用作试验组。比较实施例 5 的制剂既不含头孢曲松-抗衡离子物质络合物, 也不含聚合物, 所以与实施例 6 的制剂相比, 比较实施例 5 制剂的药物包载率较低, 而且不能控制药物的溶出。

[0179] 在给药后 0、0.5、1、1.5、2、3 和 4 小时从尾静脉采血, 按照美国药典中头孢曲松分析方法进行分析。在 3000rpm 将血离心 10 分钟, 加入等量乙腈进行预处理。

[0180] 通过与实施例 6 相同的途径施用溶于水的头孢曲松, 给药剂量为 40mg/kg, 此作为参考组 1。

[0181] 静脉注射溶于生理盐水的头孢曲松, 给药剂量为 20mg/kg, 此作为参考组 2。

[0182] 如附图 7 和 8 所示, 与静脉注射相比, 在施用实施例 6 和 7 制剂的情况下, 其生物利用度分别为 22.8% 和 35.1%。相反, 在施用头孢曲松水溶液的参考组 1 中, 头孢曲松在体内几乎不吸收, 而与施用实施例制剂的组相比, 施用比较实施例 5 制剂的组中最大血浓

度较低,生物利用度仅约为 12.4%,在比较实施例 5 制剂中头孢曲松仅包载于脂质中。在施用实施例 6 和 7 制剂的情况下,头孢曲松血浓度比施用比较实施例 5 的制剂下降慢。特别是,在 1.5 小时后药物血浓度保持较高,而起始药物浓度低于参考组 2,此参考组 2 采用静脉注射头孢曲松。由此结果可以认为,本发明的组合物可减小高起始血浓度所带来的副作用,而且比静脉注射具有更长时间的药理学作用。

[0183] 如上所述,本发明组合物具有纳米颗粒中高的水溶性药物包载率,可在体内保护药物免受脂肪酶或蛋白酶的作用,而且在胃肠道中具有较高的吸收率,因此具有较高的药物血浓度。

[0184] 工业应用

[0185] 如上所述,本发明可口服给药纳米颗粒组合物具有纳米颗粒中高的水溶性药物包载率,可保护不稳定的药物免受胃肠道酶的作用,而且对于胃肠道粘膜具有较高的吸收率。因此对于因为电荷问题而致口服给药受限的水溶性药物来说,本发明组合物作为药物传送系统在提高这些水溶性药物的生物利用度方面非常有用。

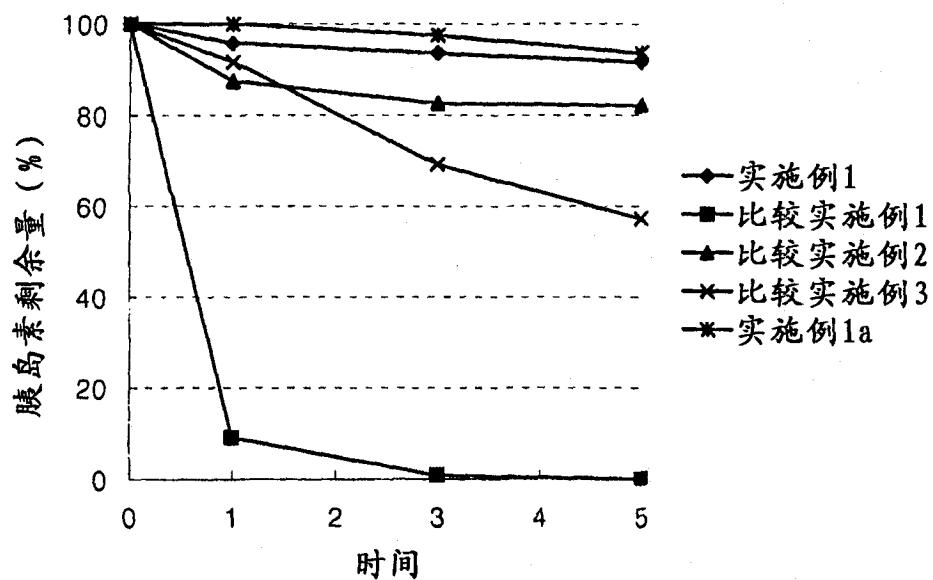


图 1

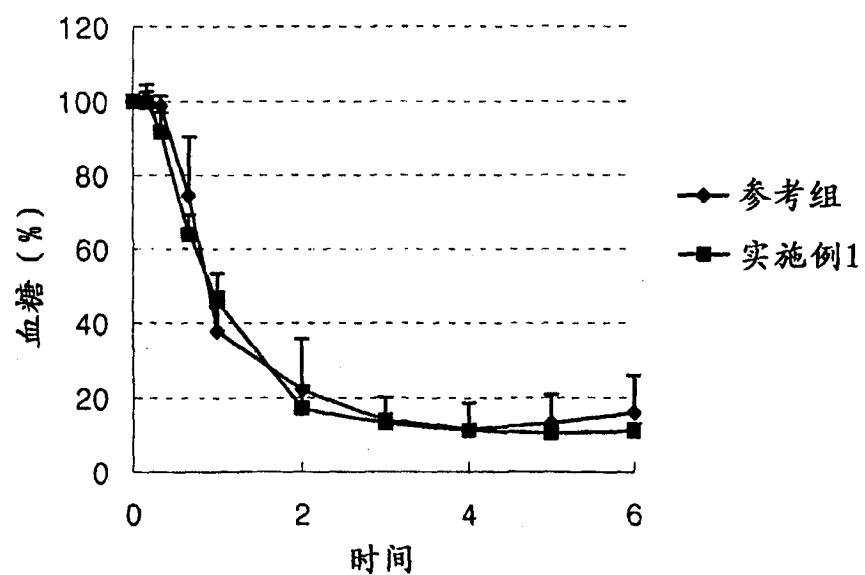


图 2

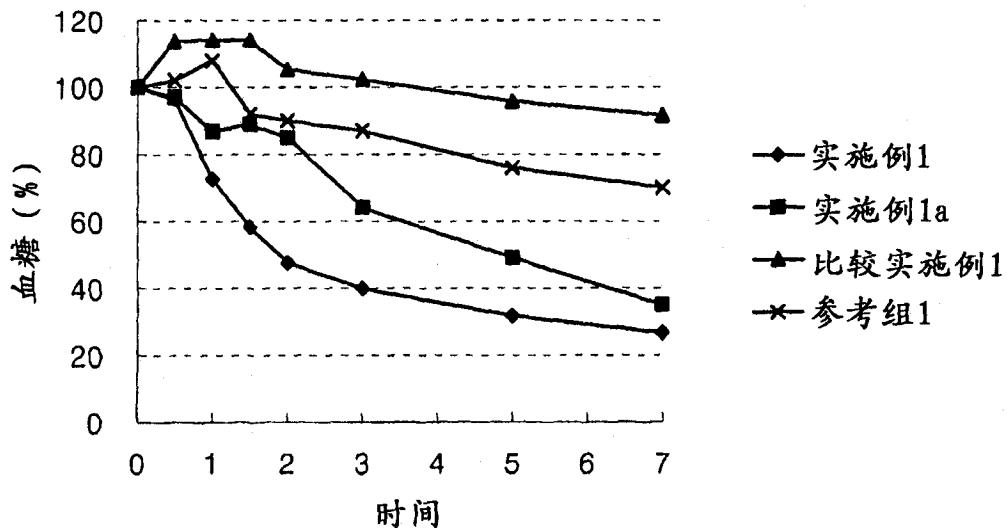


图 3

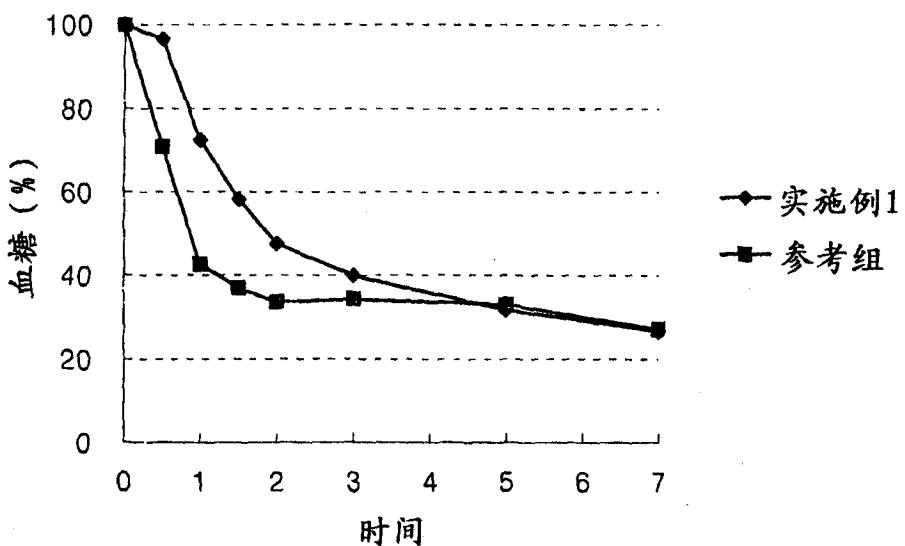


图 4

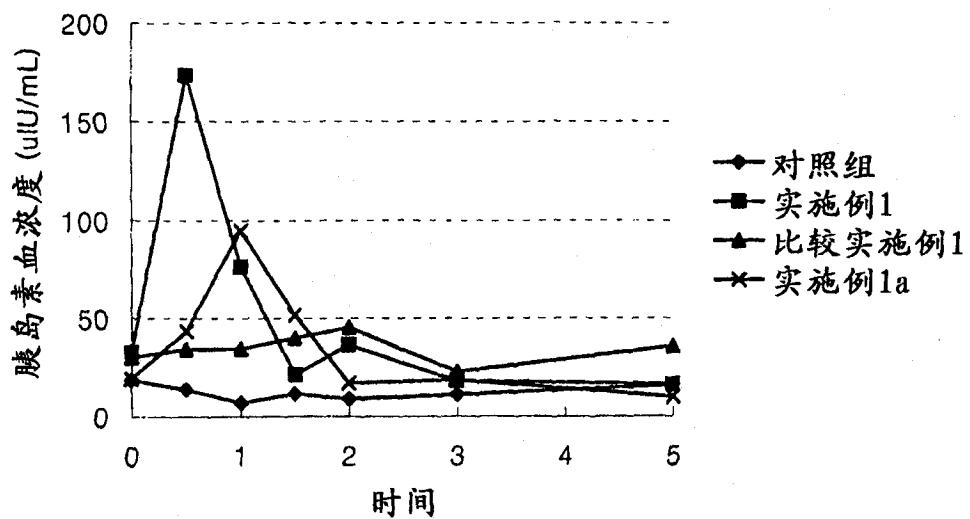


图 5

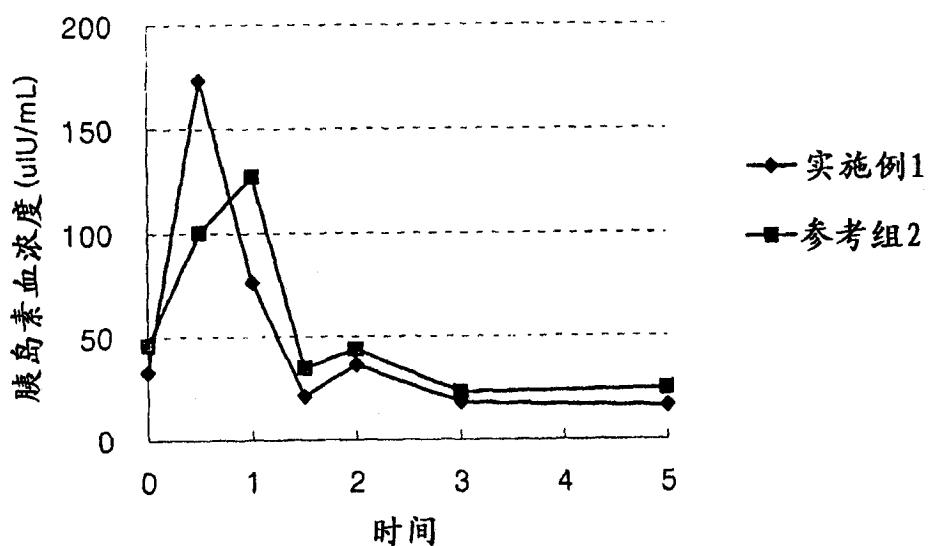


图 6

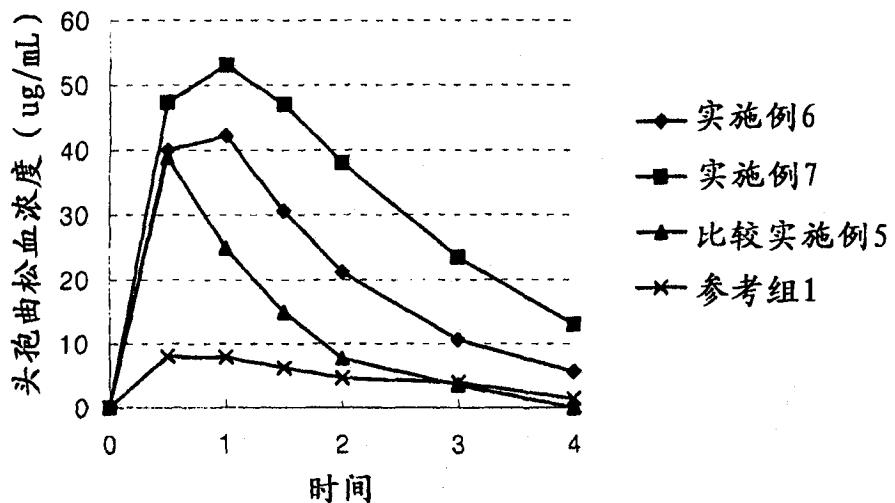


图 7

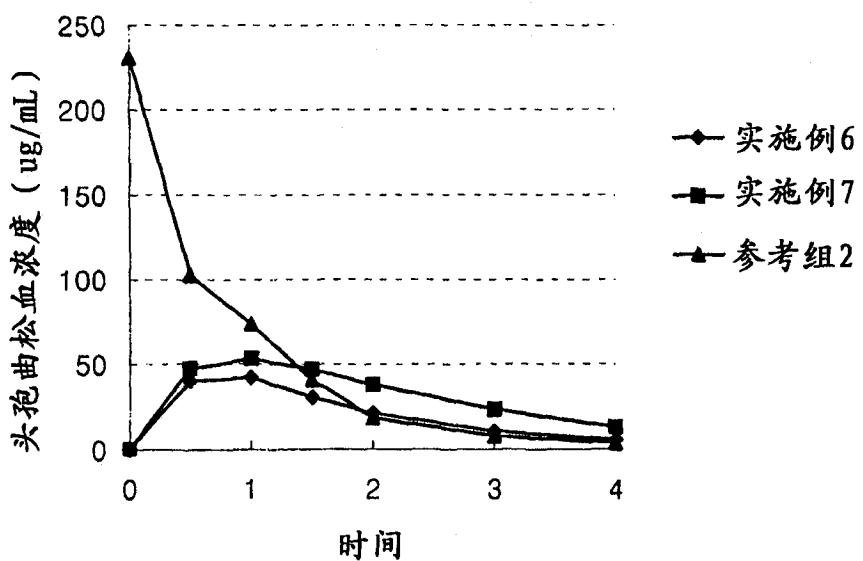


图 8