(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 103200932 A
(43)申请公布日 2013.07.10

(21)申请号 201180041112.6
(22)申请日 2011.06.23
(30)优先权数据
61/357,959 2010.06.23 US
(85)PCT申请进入国家阶段日
2013.02.25
(86)PCT申请的申请数据
PCT/US2011/001124 2011.06.23
(87)PCT申请的公布数据
WO2011/162818 EN 2011.12.29
(71)申请人 布莱特赛德创新有限公司
地址 美国加利福尼亚州
(72)发明人 C·G·S·埃利 D·F·霍奇森
(74)专利代理机构 北京瑞恒信达知识产权代理事务所(普通合伙) 11382
代理人 曹津燕 李渤
(51)Int.Cl.
A61K 9/133(2006.01)
A61K 9/127(2006.01)
A61K 47/48(2006.01)
A61K 47/30(2006.01)

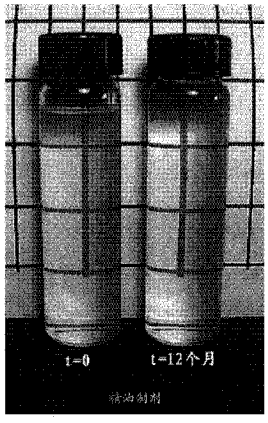
权利要求书4页 说明书15页 附图11页

(54)发明名称

卵磷脂载体囊泡及其制备方法

(57)摘要

一种水化的卵磷脂载体囊泡组合物包含在经处理的水中的卵磷脂衍生的成膜脂质囊泡,该囊泡用于结合活性成分以形成分散的组合物。一种制备水化的卵磷脂载体囊泡的方法包括在经处理的水存在时使用含有不超过约80%w/w磷脂酰胆碱的卵磷脂。



CN 103200932 A

1. 一种包含稳定、均一的分散体的组合物，其包含：

具有膜和水相的囊泡，所述囊泡包含：

磷脂酰胆碱含量为约 80w/w% 或更低的卵磷脂，以及

被结合到所述囊泡的膜中的活性成分；以及

经处理的水。

2. 根据权利要求 1 所述的组合物，其中所述经处理的水含有低于 100ppm 的硬离子。

3. 根据权利要求 1 所述的组合物，其中所述经处理的水的电导率低于每厘米 200 μ S。

4. 根据权利要求 1 所述的组合物，其中所述囊泡的体积加权平均直径为约 120nm 或更小。

5. 根据权利要求 1 所述的组合物，其中所述囊泡的膜为磷脂双层。

6. 根据权利要求 1 所述的组合物，其中所述组合物是透明的分散体。

7. 根据权利要求 1 所述的组合物，所述组合物还包含稳定剂。

8. 根据权利要求 7 所述的组合物，其中所述稳定剂为聚山梨醇酯或聚氧乙烯烷基醚。

9. 根据权利要求 1 所述的组合物，所述组合物还包含醇。

10. 根据权利要求 9 所述的组合物，其中所述醇为具有 6 个或更少碳的脂肪醇。

11. 根据权利要求 10 所述的组合物，其中所述醇为选自甲醇、乙醇、丙醇的同分异构体和丁醇的同分异构体的脂肪醇。

12. 根据权利要求 1 所述的组合物，其中所述活性成分是亲脂性化合物。

13. 根据权利要求 12 所述的组合物，其中所述亲脂性化合物为选自气味剂、天然香精、精油、着色剂、维生素、维生素的盐、药理活性维生素的代谢物、药理活性维生素的代谢物的盐、植物化学成分、油溶性酸、油溶性醇、必需脂肪酸、月见草油、红花油、鱼油、来自海洋生物的脂质、环孢菌素 A、异丙酚、脂溶性蛋白酶抑制剂、抗逆转录病毒化合物、抗生素、类胡萝卜素、甾体激素、黄酮类、蛋白质、酶、辅酶、涂料、油墨和农药中的至少一种。

14. 一种组合物，其包含：

囊泡，所述囊泡包含：

磷脂酰胆碱含量为约 80w/w% 或更低的卵磷脂，以及

活性成分；以及

经处理的水。

15. 根据权利要求 14 所述的组合物，其中所述囊泡为磷脂双层。

16. 根据权利要求 14 所述的组合物，所述组合物还包含稳定剂。

17. 根据权利要求 14 所述的组合物，其中所述稳定剂为聚山梨醇酯或聚氧乙烯烷基醚。

18. 根据权利要求 14 所述的组合物，所述组合物还包含醇。

19. 一种组合物，所述组合物包含：

磷脂酰胆碱含量为约 80w/w% 或更低的卵磷脂；

活性成分；以及

醇的均一混合物。

20. 根据权利要求 19 所述的组合物，所述组合物还包含经处理的水。

21. 根据权利要求 20 所述的组合物，其中相对于卵磷脂，基于重量计算，所述经处理的

水的量为约 10% 或更少。

22. 根据权利要求 19 所述的组合物，所述组合物还包含油。

23. 根据权利要求 19 所述的组合物，其中相对于卵磷脂，基于重量计算，所述醇的量为约 50% 或更少。

24. 一种生产囊泡载体组合物的方法，其包括 ：

在经处理的水中水化磷脂酰胆碱含量为 80w/w% 或更低的卵磷脂，以形成具有膜和水相的卵磷脂囊泡 ；以及

将活性成分结合到卵磷脂囊泡的膜中，以形成膜装载的卵磷脂囊泡。

25. 根据权利要求 24 所述的方法，所述方法还包括在结合活性成分之前，处理卵磷脂囊泡以制备卵磷脂囊泡单层。

26. 根据权利要求 25 所述的方法，其中所述处理卵磷脂囊泡包括均质化和高剪切混合。

27. 根据权利要求 24 所述的方法，其中所述活性成分结合在卵磷脂囊泡中包括加热。

28. 根据权利要求 24 所述的方法，其中所述经处理的水还包含醇。

29. 根据权利要求 24 所述的方法，所述方法还包括在水化之前通过加入稳定剂将稳定剂包含在卵磷脂中，或在活性成分结合之前或之后通过加入稳定剂将稳定剂包含在卵磷脂囊泡中。

30. 根据权利要求 24 所述的方法，所述方法还包括在活性成分结合到卵磷脂囊泡膜中之后，处理膜装载的卵磷脂囊泡，以减小膜装载的卵磷脂囊泡的尺寸。

31. 根据权利要求 30 所述的方法，其中所述卵磷脂囊泡的处理包括均质化或高剪切混合。

32. 根据权利要求 24 所述的方法，所述方法还包括将所述组合物干燥成固体形式。

33. 根据权利要求 24 所述的方法，所述方法还包括将所述组合物结合到乳剂或糊剂中。

34. 一种生产含有膜和水相的囊泡载体组合物的方法，所述方法包括 ：

混合磷脂酰胆碱含量为约 80w/w% 或更低的卵磷脂、活性成分和醇，以形成均一的液体混合物 ；以及

采用经处理的水水化所述均一的液体混合物，以形成活性成分被结合到卵磷脂囊泡的膜中的卵磷脂囊泡。

35. 根据权利要求 34 所述的方法，所述方法还包括在混合磷脂酰胆碱含量为约 80w/w% 或更低的卵磷脂、活性成分和醇期间加热。

36. 根据权利要求 34 所述的方法，所述方法还包括将油与磷脂酰胆碱含量为约 80w/w% 或更低的卵磷脂、活性成分和醇的混合物混合。

37. 根据权利要求 34 所述的方法，所述方法还包括将经处理的水与磷脂酰胆碱含量为约 80w/w% 或更低的卵磷脂、活性成分和醇的混合物混合。

38. 根据权利要求 37 所述的方法，其中相对于卵磷脂，基于重量计算，所述经处理的水的用量高达约 10%。

39. 根据权利要求 34 所述的方法，所述方法还包括在水化均一的液体混合物之后，处理卵磷脂囊泡以制备卵磷脂囊泡单层。

40. 根据权利要求 39 所述的方法，其中所述处理卵磷脂囊泡包括均质化或高剪切混合。

41. 根据权利要求 34 所述的方法，其中相对于卵磷脂，基于重量计算，所述醇的量为约 50% 或更少。

42. 一种形成均一的组合物的方法，所述方法包括 ：

混合磷脂酰胆碱含量为约 80w/w% 或更低的卵磷脂、活性成分和醇。

43. 根据权利要求 42 所述的方法，所述方法还包括将经处理的水与磷脂酰胆碱含量为 80w/w% 或更低的卵磷脂、活性成分和醇的混合物混合。

44. 根据权利要求 43 所述的方法，其中相对于卵磷脂，基于重量计算，所述经处理的水的用量高达约 10%。

45. 根据权利要求 42 所述的方法，其中相对于卵磷脂，基于重量计算，所述醇的量为约 50% 或更少。

46. 一种生产囊泡载体组合物的方法，所述方法包括 ：

在经处理的水中水化磷脂酰胆碱含量高于约 80w/w% 的卵磷脂，以形成具有膜和水相的卵磷脂囊泡 ；以及

将活性成分结合到卵磷脂囊泡的膜中，以形成膜装载的卵磷脂囊泡。

47. 根据权利要求 46 所述的方法，其中所述卵磷脂还包含磷脂酰甘油。

48. 根据权利要求 46 所述的方法，其中所述活性成分为选自环孢菌素 A、异丙酚、脂溶性蛋白酶抑制剂、抗逆转录病毒化合物、抗生素、类胡萝卜素、甾体激素、黄酮类、酶和辅酶的药物活性成分。

49. 根据权利要求 46 所述的方法，所述方法还包括在结合活性成分之前，处理卵磷脂囊泡以制成卵磷脂囊泡单层。

50. 根据权利要求 49 所述的方法，其中所述处理卵磷脂囊泡包括均质化和高剪切混合。

51. 根据权利要求 46 所述的方法，所述方法还包括在水化之前通过加入稳定剂将稳定剂包含在卵磷脂中，或在活性成分结合之前或之后通过加入稳定剂将稳定剂包含在卵磷脂囊泡中。

52. 根据权利要求 46 所述的方法，所述方法还包括在活性成分结合到卵磷脂囊泡的膜中之后，处理膜装载的卵磷脂囊泡，以减小膜装载的卵磷脂囊泡的尺寸。

53. 根据权利要求 52 所述的方法，其中所述卵磷脂囊泡的处理包括均质化或高剪切混合。

54. 一种生产含有膜和水相的囊泡载体组合物的方法，所述方法包括 ：

混合磷脂酰胆碱含量超过约 80w/w% 的卵磷脂、活性成分和醇，以形成均一的液体混合物 ；以及

采用经处理的水水化所述均一的液体混合物，以形成活性成分被结合到卵磷脂囊泡的膜中的卵磷脂囊泡。

55. 根据权利要求 54 所述的方法，其中所述卵磷脂还包括磷脂酰甘油。

56. 根据权利要求 54 所述的方法，其中所述活性成分为选自环孢菌素 A、异丙酚、脂溶性蛋白酶抑制剂、抗逆转录病毒化合物、抗生素、类胡萝卜素、甾体激素、黄酮类、酶和辅酶

的药物活性成分。

57. 根据权利要求 54 所述的方法，所述方法还包括在混合磷脂酰胆碱含量高于约 80w/w% 的卵磷脂、活性成分和醇期间加热。

58. 根据权利要求 54 所述的方法，所述方法还包括将油与磷脂酰胆碱含量高于约 80w/w% 的卵磷脂、活性成分和醇的混合物混合。

59. 根据权利要求 54 所述的方法，所述方法还包括将经处理的水与磷脂酰胆碱含量高于约 80w/w% 的卵磷脂、活性成分和醇的混合物混合。

60. 根据权利要求 54 所述的方法，其中相对于卵磷脂，基于重量计算，所述经处理的水的用量高达约 10%。

61. 根据权利要求 54 所述的方法，所述方法还包括水化均一的液体混合物之后，处理卵磷脂囊泡以制备卵磷脂囊泡单层。

62. 根据权利要求 61 所述的方法，其中所述卵磷脂囊泡的处理包括均质化或高剪切混合。

63. 根据权利要求 54 所述的方法，其中相对于卵磷脂，基于重量计算，所述醇的量为约 50% 或更少。

卵磷脂载体囊泡及其制备方法

[0001] 相关专利申请的交叉引用

[0002] 本申请要求 2010 年 6 月 23 日提交的美国临时专利申请 No. 61/357,959 的优先权和权益，该专利申请的全部内容通过引用并入本申请。

技术领域

[0003] 本申请涉及卵磷脂载体组合物和制备卵磷脂载体组合物的方法。

背景技术

[0004] 为了在含水环境中储存和处理活性成分，需要对这些目标化合物进行分散和稳定。通常使用的用于分散的方法包括乳化，其中通过表面活性剂，或将目标化合物研磨或剪切成纳米颗粒并将纳米颗粒分散到表面活性剂中，来分散和稳定活性成分的液滴。然而，这些表面活性剂乳液常常不稳定，而且表面活性剂可能有毒或具有不应有的性质，如难闻的气味和 / 或分散体具有浑浊的外观。这些性质使得这些乳液不适合进行用于消费的活性成分的分散。

[0005] 磷脂和其它成膜脂质被广泛用于包封在含水环境中输送的活性成分。特别地，当干燥的磷脂在水溶液中水化时就形成磷脂双层囊泡，由此形成被含水隔室分隔的同轴的多个磷脂双层，其被称为多层囊泡（MLV）。磷脂也可以被处理成单层囊泡（UV）。这些单层囊泡和多层囊泡可以被分成三类——平均直径范围在 20 至 100nm 的小单层囊泡（SUV）；平均直径范围在 150 至 1000nm 的大单层囊泡（LUV）；平均直径范围在 150 至 5000nm 的多层囊泡。

[0006] 磷脂磷脂酰胆碱（PC）是商用磷脂囊泡的基本组分，通常添加了一定量的带电脂质，如磷脂酰甘油。卵磷脂是由动物或植物原料通过溶剂提取油水化而获得的混合物，所述溶剂提取油包含丙酮可溶的磷脂，其主要是磷脂酰胆碱（PC）、磷脂酰乙醇胺（PE）和磷脂酰肌醇（PI），还结合了不同量的其它物质，如甘油三酯、脂肪酸和糖。

[0007] 卵磷脂是用于制备磷脂双层的磷脂酰胆碱的常用原料（Keller, B. C, 2001, Trends in Food Science Technology, 12, 25-31）。由于已经表明磷脂囊泡的分散能力和稳定性取决于囊泡中磷脂酰胆碱的量，高 PC 含量的脂质混合物（即高于 80% 的 PC）被用于形成磷脂囊泡载体。尽管曾经尝试以较低的 PC 含量来形成用于包封姜黄素化合物的分散的脂质体，但是这些尝试未得到包封姜黄素的分散的囊泡。Takahashi 等 . J. of Oleo Sci., 2007, 56, 35-42（尝试制备低 PC 含量的脂质体）和 Takahashi 等 . J. of Agr. and Food Chem., 57, 9141-9146（说明和证实低 PC 含量的脂质体不起作用）均通过引用全部并入本申请。

[0008] 在许多方案中，磷脂酰胆碱是由卵磷脂通过使用丙酮的脱油方法分离的，然后采用乙醇提取，最后进行液相色谱步骤以获得高含量磷脂酰胆碱（即总脂质含量中的 PC 高于 80%）。为了抑制磷脂囊泡的水解，使用离子缓冲液控制和维持囊泡环境的 pH（Vernooij, E. 等 , Journal of Controlled Release, 2002, 79, 299-303）。然而，高 PC 含量的卵磷脂制备成本高，制备方法需要的某些有机溶剂使得组合物不适于人使用。就此而言，需要采用最少

的组分使得活性成分稳定分散的磷脂囊泡载体，以及不需要有毒溶剂和昂贵的高 PC 含量脂质混合物的方法。

[0009] 发明概述

[0010] 在本发明的某些实施方案中，包含稳定、均一的分散体的组合物包含具有膜和水相的囊泡，包含磷脂酰胆碱含量为约 80w/w% 或更低的卵磷脂的囊泡，以及结合到囊泡膜中的活性成分；稳定、均一的分散体还包含经处理的水。在某些实施方案中，经处理的水含有低于 100ppm 的硬离子和 / 或其电导率低于每厘米 20μS (microSiemen)。在某些实施方案中，囊泡的体积加权平均直径为约 120nm 或更小。在其它实施方案中，囊泡的膜为磷脂双层。

[0011] 稳定、均一的分散体可以是透明的分散体。稳定、均一的分散体也可以包含稳定剂，例如聚山梨醇酯或聚氧乙烯烷基醚。

[0012] 在某些实施方案中，稳定、均一的分散体也可以包含醇，醇可以是短链脂肪醇，例如甲醇、乙醇、丙醇的同分异构体或丁醇的同分异构体。

[0013] 在某些实施方案中，活性成分为亲脂性化合物，亲脂性化合物可以是气味剂、天然香精、精油、着色剂、维生素、维生素的盐、具有药理活性的维生素的代谢物、具有药理活性的维生素的代谢物的盐、植物化学成分、油溶性酸、油溶性醇、必需脂肪酸、月见草油、红花油、鱼油、来自海洋生物的脂质、环孢菌素 A、异丙酚、脂溶性蛋白酶抑制剂、抗逆转录病毒化合物、抗生素、类胡萝卜素、甾体激素、黄酮类、蛋白质、酶、辅酶、涂料、油墨和农药中的至少一种。

[0014] 在其它实施方案中，组合物包含囊泡，所述囊泡包含磷脂酰胆碱含量为约 80w/w% 或更低的卵磷脂，以及活性成分；组合物还包括经处理的水。在某些实施方案中，囊泡的膜是磷脂双层。组合物还可以包含稳定剂，例如聚山梨醇酯或聚氧乙烯烷基醚。在某些实施方案中，组合物还可以包含醇。

[0015] 还是在其它实施方案中，包含均一的混合物的组合物包含磷脂酰胆碱含量为约 80w/w% 或更低的卵磷脂、活性成分和醇。均一的混合物还可以包含经处理的水，相对于卵磷脂基于重量计算，水的含量可以为约 10% 或更低。均一的混合物还可以包含油。相对于卵磷脂基于重量计算，均一的混合物的醇的含量为约 50% 或更低。

[0016] 还是在其它实施方案中，生产囊泡载体组合物的方法包括在经处理的水中水化磷脂酰胆碱含量为 80w/w% 或更低的卵磷脂，以形成具有膜和水相的卵磷脂囊泡；将活性成分结合到卵磷脂囊泡的膜中，以形成膜装载的卵磷脂囊泡。

[0017] 这种生产囊泡载体组合物的方法还包括在结合活性成分之前，处理卵磷脂囊泡以制备卵磷脂囊泡单层，所述处理可以包括均质化或高剪切混合。在某些实施方案中，经处理的水可以包含醇。

[0018] 该方法还可以包括在水化之前向卵磷脂加入稳定剂，或在结合活性成分之前或之后向卵磷脂囊泡加入稳定剂。这种方法还可以包括在将活性成分结合到卵磷脂囊泡的膜中之后，处理膜装载的卵磷脂囊泡以减小膜装载的卵磷脂囊泡的尺寸，所述加工可以包括均质化或高剪切混合。

[0019] 在某些实施方案中，这种生产囊泡载体组合物的方法还包括干燥组合物至固体形式和 / 或将组合物结合到乳剂或糊剂中。

[0020] 还是在其它实施方案中，这种生产具有膜和水相的囊泡载体组合物的方法包括混合磷脂酰胆碱含量为约 80w/w% 或更低的卵磷脂、活性成分和醇，以形成均一的液体混合物；将均一的液体混合物与经处理的水水化，以形成卵磷脂囊泡，其中活性成分被结合到卵磷脂囊泡的膜中。

[0021] 这种生产囊泡载体组合物的方法还可以包括在油与磷脂酰胆碱含量为约 80w/w% 或更低的卵磷脂、活性成分和醇的混合物混合期间，和 / 或在经处理的水与磷脂酰胆碱含量为约 80w/w% 或更低的卵磷脂、活性成分和醇的混合物混合期间进行加热。在某些实施方案中，相对于卵磷脂基于重量计算，加入的经处理的水可以高达约 10%。在某些实施方案中，相对于卵磷脂基于重量计算，加入的醇的量为约 50% 或更低。在某些实施方案中，该方法还包括在水化均一的液体混合物之后，处理卵磷脂囊泡以制备卵磷脂囊泡单层，所述处理可以包括均质化或高剪切混合。

[0022] 还是在其它实施方案中，形成均一的混合物的方法包括混合磷脂酰胆碱含量为约 80w/w% 或更低的卵磷脂、活性成分和醇，相对于卵磷脂基于重量计算，加入的醇的量可以为约 50% 或更低。该方法还可以包括将经处理的水与磷脂酰胆碱含量为约 80w/w% 或更低的卵磷脂、活性成分和醇的混合物混合，相对于卵磷脂基于重量计算，加入的经处理的水可以高达约 10%。

[0023] 还是在其它实施方案中，生产囊泡载体组合物的方法包括在经处理的水中水化磷脂酰胆碱含量高于约 80w/w% 的卵磷脂，以形成具有膜和水相的卵磷脂囊泡；将活性成分结合到卵磷脂囊泡的膜中，以形成膜装载的卵磷脂囊泡。在某些实施方案中，该方法的卵磷脂可以包含磷脂酰甘油。

[0024] 在某些实施方案中，该方法的活性成分是选自环孢菌素 A、异丙酚、脂溶性蛋白酶抑制剂、抗逆转录病毒化合物、抗生素、类胡萝卜素、甾体激素、黄酮类、酶和辅酶的药物活性成分。

[0025] 在某些实施方案中，该方法还包括在结合活性成分之前，处理卵磷脂囊泡以制备卵磷脂囊泡单层，所述处理可以包括均质化和高剪切混合。

[0026] 在某些实施方案中，该方法还包括在水化之前向卵磷脂加入稳定剂，或在结合活性成分之前或之后向卵磷脂囊泡加入稳定剂。该方法还可以包括在将活性成分结合到卵磷脂囊泡的膜中之后，处理膜装载的卵磷脂囊泡以减小膜装载的卵磷脂囊泡的尺寸，所述处理可以包括均质化和高剪切混合。

[0027] 还是在其它实施方案中，这种生产具有膜和水相的囊泡载体组合物的方法包括混合磷脂酰胆碱含量高于 80w/w% 的卵磷脂、活性成分和醇，以形成均一的液体混合物；将均一的液体混合物与经处理的水水化以形成卵磷脂囊泡，其中活性成分被结合到卵磷脂囊泡的膜中。在某些实施方案中，该方法的卵磷脂可以包含磷脂酰甘油。

[0028] 在某些实施方案中，该方法的活性成分是选自环孢菌素 A、异丙酚、脂溶性蛋白酶抑制剂、抗逆转录病毒化合物、抗生素、类胡萝卜素、甾体激素、黄酮类、酶和辅酶的药物活性成分。

[0029] 在某些实施方案中，该方法还包括在油与磷脂酰胆碱含量高于约 80w/w% 的卵磷脂、活性成分和醇的混合物混合期间，和 / 或在经处理的水与磷脂酰胆碱含量高于约 80w/w% 的卵磷脂、活性成分和醇的混合物混合期间进行加热。在某些实施方案中，相对于卵磷脂

基于重量计算，加入的经处理的水高达约 10%。在某些实施方案中，相对于卵磷脂基于重量计算，加入的醇高达约 50% 或更低。

[0030] 在某些实施方案中，该方法还包括在水化均一的液体混合物之后，处理卵磷脂囊泡以制备卵磷脂囊泡单层，所述处理可以包括均质化或高剪切混合。

附图说明

[0031] 图 1A 为根据本发明的实施方案，在经处理的水和（从左至右）0、10、20、30、40 或 50% 乙醇中，分散在水化的卵磷脂载体囊泡中的鱼油组合物的照片。

[0032] 图 1B 为根据本发明的实施方案，说明图 1A 中显示的鱼油组合物的浊度的图。

[0033] 图 1C 为根据本发明的实施方案，显示由图 1A 所示的鱼油组合物获取的颗粒尺寸分布数据的图。

[0034] 图 2A 为根据本发明的实施方案，在经处理的水和（从左至右）0、10、20、30、40 或 50% 乙醇，以及聚山梨醇酯中，分散在水化的卵磷脂载体囊泡中的鱼油组合物的照片。

[0035] 图 2B 为根据本发明的实施方案，测定图 2A 所示的鱼油组合物的浊度的图。

[0036] 图 2C 为根据本发明的实施方案，显示由图 2A 所示的鱼油组合物获取的颗粒尺寸分布数据的图。

[0037] 图 3 为根据本发明的实施方案，在经处理的水和 30% 乙醇中，以及含有和不含有聚山梨醇酯时分散在水化的卵磷脂载体囊泡中的鱼油组合物的照片。

[0038] 图 4A 为根据本发明的实施方案，在 t=0 和 12 个月时，在经处理的水和聚山梨醇酯中，分散在水化的卵磷脂载体囊泡中的精油组合物的照片。

[0039] 图 4B 为根据本发明的实施方案，显示在 t=0 时，由如图 4A 所示的精油组合物获取的颗粒尺寸分布数据的图。

[0040] 图 4C 为根据本发明的实施方案，显示在 t=12 个月时，由如图 4A 所示的精油组合物获取的颗粒尺寸分布数据的图。

[0041] 图 5A 为根据本发明的实施方案，在经处理的水和稳定剂中，分散在水化的卵磷脂载体囊泡中的磷虾油组合物的照片。

[0042] 图 5B 为根据本发明的实施方案，显示由如图 5A 所示的磷虾油组合物获取的颗粒尺寸分布数据的图。

[0043] 图 6A 为根据本发明的实施方案，在经处理的水和 30% 异丙醇中，分散在水化的卵磷脂载体囊泡中的鱼油组合物的照片。

[0044] 图 6B 为根据本发明的实施方案，显示由如图 6A 所示的在 30% 异丙醇中的鱼油组合物获取的颗粒尺寸分布数据的图。

[0045] 图 7A 为根据本发明的实施方案，在经处理的水和 5% 异丁醇中，分散在水化的卵磷脂载体囊泡中的鱼油组合物的照片。

[0046] 图 7B 为根据本发明的实施方案，显示由如图 7A 所示的在 5% 异丁醇中的鱼油组合物获取的颗粒尺寸分布数据的图。

[0047] 图 8A 为根据本发明的实施方案，含有（1）精油（香芹酚）和聚山梨醇酯；（2）精油；以及（3）单独的卵磷脂（无精油）的水化的卵磷脂载体囊泡组合物的照片。

[0048] 图 8B 为根据本发明的实施方案，显示由图 8A 的含有精油和聚山梨醇酯的组合物

(1)获取的颗粒尺寸分布数据的图。

[0049] 图 8C 为根据本发明的实施方案,显示由图 8A 的含有精油的组合物(2)获取的颗粒尺寸分布数据的图。

[0050] 图 8D 为根据本发明的实施方案,显示由图 8A 的含有单独的卵磷脂的组合物(3)获取的颗粒尺寸分布数据的图。

[0051] 发明详述

[0052] 在本发明的多个方面,水化的卵磷脂载体囊泡(HLCV)组合物包含磷脂酰胆碱含量最高为约 80w/w% 的卵磷脂和经处理的水。经处理的水水化卵磷脂形成 HLCV。在某些实施方案中,HLCV 可以含有至少一种分散于其中的活性成分。然而,在某些实施方案中,HLCV 组合物包含醇,醇可以帮助形成活性成分的 HLCV 分散体,确保在经处理的水中适当水化。在其它实施方案中,HLCV 组合物还包含一种或多种稳定剂。在某些实施方案中,在含醇或不含醇的情况下,活性成分溶解在均一的液体混合物中的卵磷脂中。本发明的其它方面涉及制备 HLCV 组合物和均一的混合物的方法。

[0053] 在本发明的其它实施方案中,水化的卵磷脂载体囊泡(HLCV)组合物基本上由具有膜和水相的囊泡和经处理的水组成。在这些实施方案中,术语“基本上由……组成”是指通常不存在不是囊泡的卵磷脂颗粒和基于卵磷脂的颗粒(或纳米颗粒)的组合物,所述囊泡的含义见如下文所定义的术语。然而,这些实施方案包含与上下文描述的实施方案相同的囊泡。而且,这些实施方案还可以包含任何下文描述的活性成分和 / 或其它组分(例如,稳定剂、醇和 / 或油)。实际上,除了通常排除非囊泡的基于卵磷脂的材料(例如,非囊泡卵磷脂颗粒和纳米颗粒,和 / 或被非囊泡卵磷脂包被的活性成分的纳米晶体)的组合物的存在,这些实施方案可以具有与上下文所述的实施方案相同的组成(例如,它们可以采用相同的材料和方法制成,可以含有相同的活性成分和其它组分,如醇、稳定剂、油等)。

[0054] 根据本发明的内容,使用卵磷脂分散活性成分可应用于被摄取的化合物,也应用于许多其他领域,包括但不限于农业、园艺、营养食品、药物(用于疾病的诊断、治疗和缓解)、化妆品和个人护理用品、芳香剂和着色剂、环境治理、无机和复合材料、涂料和油墨、催化领域和其它需要低成本天然分散剂的领域。就本发明所有的实施方案而言,考虑可以将包括水溶性物质的其它试剂任选地添加到水化的卵磷脂载体囊泡分散体,以增强其用于特定应用中的适用性,例如加入水溶性抗氧化剂,如抗坏血酸以改善营养产品的保存期限。特定添加剂的选择对于本领域技术人员是显而易见的。

[0055] 本发明的多个方面提供了大批量食品级或工业级卵磷脂在溶解水不溶性和部分水不溶性物质中的应用,这种方式具有成本效益,可广泛用于消费品,包括食品、饮料和营养添加剂,以及其它有效的商品化取决于原材料的成本,排除使用高 PC 含量卵磷脂(含有超过 80w/w% 磷脂酰胆碱的卵磷脂)的应用中。

[0056] 本发明使用的“卵磷脂”被定义为通过溶剂提取油的水化从动物和植物原料获得的复杂混合物,如 Joint World Health Organization/United Nations Food Safety Agency Evaluation Committee for Food Additives (JECFA) (Food and Agriculture Organization of the United Nations, Food and Nutrition Paper52, "Compendium of Food Additive Specifications" (FNP52), Addendum2 (1993)) 中定义的,该文献通过引用全文并入本申请。这种复杂混合物包含可溶于丙酮的磷脂,所述磷脂主要包括磷脂酰胆碱、

磷脂酰乙醇胺和磷脂酰肌醇，以及较少量的甘油三酯、脂肪酸和糖。

[0057] 本发明使用的“囊泡”被定义为具有成膜脂质组分和水相的组合物。在某些实施方案中，成膜脂质组分为磷脂双层膜。而且，如在本发明内容和权利要求书全文中所使用的，术语“囊泡”和“介质(vehicle)”互换使用。

[0058] 本发明使用的“活性成分”是指任何被选择的和能够被结合到囊泡中的化合物。例如，在某些实施方案中，活性成分可以是亲脂性的，其包括许多下文讨论的两性分子化合物。

[0059] 与在水中相比，亲脂性化合物更易溶于脂肪、油、脂质和有机溶剂，如乙醇、甲醇、乙醚、丙酮、氯仿和苯中。在它们的结构中，亲脂性化合物可以包含亲水性部分，如甾醇中的羟基和长链脂肪酸中的羧基。在某些实施方案中，亲脂性化合物与囊泡的成膜脂质组分相结合。在某些实施方案中，亲脂性化合物具有范围在约 0 至约 8 的 log P 值。在某些实施方案中，亲脂性活性成分具有范围在约 2 至约 7 的 log P 值。

[0060] 本发明使用的术语“亲脂性化合物”和“亲脂性活性成分”可互换使用，是指相比在水中，在有机溶剂、脂肪和油中具有更大溶解性的化合物。术语“亲脂性”还包括许多两性分子化合物，其包括具有疏水和亲水区域的化合物。实际上，分子可以包含喜水性(亲水性)部分，如甾醇中的羟基和长链脂肪酸中的羧基。这对于许多本发明的实施方案提供的用于形成含水分散体的组合物和方法所针对的许多(生物)活性物质是适用的。在这种情况下，分子还可以被描述为两亲的。本发明的方法和组合物包括可以这样描述的实体，以及可以分散在水化的卵磷脂囊泡双层中的实体；某些实施方案显示在实施例中。通常，两亲分子位于双层的各部分，它们的亲水性部分与极性表面相连，疏水部分指向双层内部中的磷脂的酰基链。

[0061] 本发明使用的“分散体”是指基于卵磷脂的分散相，其通常均一地分布在大量水溶液中。进一步地，如果本发明使用的分散体不受物理不稳定性的影响，它是稳定的，所述物理不稳定性是由可见的相分离来表明的，如当囊泡通过沉淀或乳液分层聚集和分离(即聚集体分别落到瓶底或升至混合物的顶部)时，或当结合的亲脂性材料从囊泡分离并形成可见的聚集体。也就是说，在不含活性成分的稳定的 HLCV 分散体中，基本上分散体中的所有囊泡在分布时没有可见的凝集。对于包含活性成分的稳定组合物，除了上文讨论的囊泡稳定性，活性成分与囊泡保持适当的连接。例如，如果亲脂性化合物被结合到 HLCV 分散体中，亲脂性化合物的疏水区域与磷脂囊泡膜的非极性区域相连(接触)。对于包含具有结合到 HLCV 分散体中的亲水部分的亲脂性化合物而言，亲脂性化合物的亲水区域与极性区域相连，疏水区域与磷脂囊泡膜的非极性区域相连。同样地，含有结合的活性成分的稳定的 HLCV 还意味着基本上存在于组合物中的所有活性成分均被结合到囊泡膜中 / 与囊泡膜相连。在其膜中具有活性成分的囊泡载体还被称为装载的载体囊泡，特别指被结合在囊泡的磷脂膜中以稳定化合物，免于在大量水溶液中聚集或降解的活性成分。相应地，被结合到磷脂膜环境中从而分散在含水介质中的活性成分在其它环境(例如食物、饮料、胃肠道或消化道)中稳定。

[0062] 本发明使用的“经处理的水”被定义为含有低于 100ppm 硬离子的水，在某些实施方案中低于 60ppm 硬离子。硬离子形成水中的硬度，水中常见的游离硬离子为钙和镁离子。经处理的水是指游离硬离子的水平降低的水，或者未经处理水的水平就降低(即软水)或者

如果处理是必须的。硬度是通过如 ASTM 方法 D1126“水中硬度标准测试法”中所述的 EDTA 滴定法测定的。降低硬度的处理可以包括螯合。天然软水(即具有低于约 100ppm 硬离子的硬度的水)被认为是用于本发明目的的经处理的水。在某些实施方案中,水基本上不含缓冲离子,在其它实施方案中,水已经通过蒸馏、去离子化、反渗透或类似的技术纯化,使得电导率低于约每厘米 20μS。缓冲离子是对抗其 pH 变化的离子,例如磷酸盐、柠檬酸盐、乙酸盐和三(羟甲基)甲基氨基离子。本发明的实施方案认为水的质量对卵磷脂囊泡的最终分散和稳定性有影响。含有不稳定的囊泡和 / 或具有宽泛或歪曲尺寸分布的囊泡(即使稳定)的组合物能够形成云雾状(浑浊的)分散体。相应地,尽管稳定剂的添加或存在不是必须的,但在稳定剂不存在时,HLCV 变白的可能性反而取决于水的纯度,即当水纯度提高,变白的可能性降低。

[0063] 水化的卵磷脂载体囊泡(HLCV)

[0064] 本发明的实施方案涉及水化的卵磷脂载体囊泡,其中结合了一种或多种活性成分。采用低 PC 含量的卵磷脂和经处理的水(CW)制备 HLCV。

[0065] 低 PC 含量的卵磷脂

[0066] 用于制备 HLCV 的卵磷脂具有低 PC 含量。本发明使用的低 PC 含量的卵磷脂意味着卵磷脂的范围从非脱油(粗)卵磷脂到磷脂酰胆碱含量为约 80w/w% 或更低的卵磷脂。实际上,在某些实施方案中,卵磷脂的 PC 含量低于但不包括 80w/w%。例如,HLCV 分散体可以由已知的适合消费的食品级原料制备,包括如美国食品药品监督管理局的“一般认为安全(GRAS)”列出的原料。相应地,本发明的实施方案中的食品级卵磷脂的磷脂酰胆碱含量为约 20% 至约 80w/w%。在其它实施方案中,卵磷脂的磷脂酰胆碱含量为约 20% 至约 70w/w%。在其它实施方案中,卵磷脂的磷脂酰胆碱含量为约 20% 至约 60w/w%。在其它实施方案中,卵磷脂的磷脂酰胆碱含量为约 20% 至约 50w/w%。在其它实施方案中,卵磷脂的磷脂酰胆碱含量为约 20% 至约 40w/w%。在其它实施方案中,卵磷脂的磷脂酰胆碱含量为约 20% 至约 30w/w%。在某些实施方案中,使用未经脱油的卵磷脂,其磷脂酰胆碱含量为约 20% 至约 25w/w%。

[0067] 活性成分

[0068] 亲脂性活性成分的非限制性例子包括 :气味剂,如天然和合成的芳香剂和精油(其在下文中更详细描述);调味化合物和味道调节剂,如天然香精和精油,例如来自苹果、橙子和柠檬的(包括这些化合物与载体油的组合);着色剂,如基于卟啉的大环类 ;维生素,如维生素 A、D、E 和 K 以及它们的药理活性代谢物、盐和化合物,例如维生素 D、维生素 E 醋酸酯和维生素 A 的棕榈酸酯 ;植物化学物质,如植物甾醇和精油,例如 β- 谷甾醇、异黄酮类、姜黄素类和多酚化合物 ;油溶性酸和醇,如乳酰乳酸和必需脂肪酸,例如亚油酸和亚麻酸、二十碳五烯酸(20 :5n-3)和二十二碳六烯酸(22 :6n-3)以及它们的天然原料,如月见草油、红花油和鱼油 ;药物,如环孢菌素 A、异丙酚、脂溶性蛋白酶抑制剂、抗逆转录病毒药物、抗生素和其它药物类别的亲脂性成员 ;类胡萝卜素,如 β- 胡萝卜素和番茄红素 ;甾族激素,如雌激素、雌二醇和可的松 ;黄酮类,如白藜芦醇 ;蛋白质、酶、辅酶和很多其它亲脂性生物活性化合物。然而,对于本领域普通技术人员显而易见的是,化合物不限于特定类别的食品、饮料、药物和营养添加剂的亲脂性成分。

[0069] 本发明使用的精油是包含来自植物的挥发性芳香化合物的浓缩的疏水性液体。除了输送有特色的香味之外,精油不必须是具有共同的特定化学性质的一类。它们因其作为

气味剂和调味剂的用途而被熟知，并且发现它们在传统医药中的广泛应用(传统医药由世界卫生组织定义，是指基于不同文化的特有的理论、信仰和经验，用于维持健康和预防、诊断、改善或治疗身体和精神疾病的知识、技巧和实践)。

[0070] 醇

[0071] 在某些实施方案中，HLCV 组合物包含醇。在某些实施方案中，向经处理的水加入醇用于卵磷脂水化以形成 HLCV。在其它实施方案中，如果活性成分在卵磷脂组合物中不容易溶解，醇的加入可以改善活性成分在均一的液体混合物中的溶解性。根据本发明的实施方案，醇是短链醇。短链醇的例子包括甲醇、乙醇、丙醇的同分异构体和丁醇的同分异构体。促进活性成分溶解所需的醇的量会变化，这取决于醇的类型和特定的活性成分，可以由本领域普通技术人员凭经验确定。

[0072] 在某些实施方案中，添加醇帮助卵磷脂中的活性成分溶解以形成均一的液体混合物，相对于卵磷脂和活性成分的组合重量而言，基于重量计算，加入的醇的范围为约 5% 至约 50%。如本发明所讨论的，向卵磷脂和活性成分加入醇可以加热或不加热，添加油或不添加油。

[0073] 在某些实施方案中，向经处理的水加入醇用于卵磷脂的水化。在某些实施方案中，加入的醇为脂肪族短链醇(例如甲醇、乙醇、丙醇或丁醇)。醇的量可以变化，这将取决于活性成分的性质。例如，就卵磷脂水化而言，高达总计 40%v/v 的醇可以存在于 HLCV 组合物中。

[0074] 在某些实施方案中，分散体可以通过标准的工业方法干燥成例如粉末、颗粒或块状。

[0075] 稳定剂

[0076] 在本发明的其它方面，HLCV 还包含至少一种稳定剂。稳定剂的非限制性例子包括聚山梨醇酯(聚氧乙烯)山梨醇酐单酯、聚氧乙烯烷基醚(PAE)等。稳定剂的加入是任选的，通常取决于将被分散在 HLCV 中的活性成分的性质。对于某些应用，加入聚山梨醇酯或 PAE 可以提高稳定性。同样地，对聚山梨醇酯或 PAE 的需要可以由本领域普通技术人员凭经验确定。

[0077] 本发明使用的术语“聚山梨醇酯”包括一类乳化剂，它们是由聚氧乙烯衍生的聚山梨醇酐(山梨醇的衍生物)与脂肪酸单酯化而衍生得到的油状液体。PAE 类分子适于用在不涉及 HLCV 摄入的应用中。本领域普通技术人员显而易见的是，对于不涉及 HLCV 摄入的应用，适合的 PAE 可以替代本发明描述的包括和 / 或使用聚山梨醇酯的方法和组合物中的聚山梨醇酯。

[0078] 正如保持澄清所证明的，本发明的包含聚山梨醇酯的 HLCV 没有可察觉的苦味，在水、很多果汁和其它饮料中稀释、巴氏灭菌和存储时物理性质稳定。以下的聚山梨醇酯是可以使用的非限制性例子：聚氧乙烯(20)山梨醇酐单油酸酯，聚氧乙烯(20)山梨醇酐单月桂酸酯，聚氧乙烯(20)山梨醇酐单棕榈酸酯和单硬脂酸酯。在某些实施方案中，使用聚氧乙烯(20)山梨醇酐单油酸酯(即聚山梨醇酯 80)，或聚氧乙烯(20)山梨醇酐单月桂酸酯。可以采用已知的方法确定聚山梨醇酯的有效量。在某些实施方案中，例如，以介于约 1:3 和约 1:20 之间的聚山梨醇酯与卵磷脂的摩尔比来使用聚山梨醇酯。在其它实施方案中，以介于约 1:5 和 1:10 之间的摩尔比例来使用聚山梨醇酯。在其它实施方案中，以介于约 1:7 和 1:9 之间的摩尔比例来使用聚山梨醇酯。出于确定摩尔比例的目的，卵磷脂的分子量假定为 800。

[0079] 制备 HLCV 的方法

[0080] 本发明的实施方案涉及制备水化的卵磷脂载体囊泡(HLCV)的方法。在某些实施方案中,在不使用任何有机溶剂、醇或相反的情况下制备至少一种活性成分装载于其中的HLCV。然而,在某些实施方案中,尽管不需要或不使用其它 / 额外的有机溶剂,但可以使用醇以促进HLCV的制备。在本发明的某些方面,形成HLCV组合物的方法包括在经处理的水中水化和处理低 PC 含量的卵磷脂,然后加入至少一种活性成分。在本发明的其它方面,活性成分可以与低PC含量的卵磷脂、醇以及最少量的水混合,以形成均一的液相(不形成囊泡),然后通过水化和处理形成分散的囊泡。在其它方面,形成具有活性成分分散于其中的 HLCV 组合物的方法包括在经处理的水中使用高 PC 含量(即高于 80w/w% 的磷脂酰胆碱)的卵磷脂。

[0081] 卵磷脂的水化

[0082] 在某些实施方案中,低磷脂酰胆碱含量的卵磷脂一但暴露于经处理的水就被水化,形成分散在 CW 中的水化的卵磷脂载体囊泡。在本发明的多个方面,卵磷脂与足够的经处理的水水化,从而有效地实施处理步骤(例如均质化、超声处理、微流化、高剪切混合等)。实际上,在任何干燥或进一步的混合步骤之前,按重量计算,HLCV 分散体包含至少与卵磷脂一样多的经处理的水(即 CW 与卵磷脂的比例至少为 1 :1)。在某些实施方案中,例如,可以以 3 份水比 1 份卵磷脂(按重量计算)水化卵磷脂。在其它实施方案中,按重量计算,可以以高达 4 份水比 1 份卵磷脂,或 5 份水比 1 份卵磷脂水化卵磷脂。在其它实施方案中,可以以高于 5 份水比 1 份卵磷脂水化卵磷脂。在这些实施方案中,CW 和卵磷脂的相对量是相对于单独的卵磷脂的。

[0083] 在其它实施方案中,在至少一种活性成分存在时水化卵磷脂。在这些实施方案中,按重量计算,卵磷脂与活性成分的比例至少为 1 :1,并且通常可以高达约 5 :1。然而,除了本领域普通技术人员显而易见的商业或实际处理的限制条件所施加的上限外,该比例没有特别的上限。在这些实施方案中,按重量计算,加入的经处理的水的比例为 CW 与卵磷脂和活性成分总量的比例为约 3 :1 至约 5 :1。加入的活性成分与卵磷脂的比例可以以高达至约 1 :1,这是必须的。例如,当卵磷脂和活性成份的总重量为 200 至 250mg (卵磷脂 + 活性成分)时,CW 的量可以为 1ml (1000mg)。对本领域普通技术人员显而易见的是,就任何进一步用于组合物的最终所需应用的生产或制造步骤而言,经处理的水相对于卵磷脂、或卵磷脂和活性成分的量通常仅受到 HLCV 组合物的所需浓度和活性成分的限制。

[0084] HLCV 中活性成分的装载

[0085] 在某些实施方案中,在加入至少一种活性成分之前,制备 HLCV 组合物(即水化卵磷脂并且随后处理)以形成分散的囊泡。当活性成分是液体时(例如在高达经处理的水的沸点或经处理的水和醇的混合物的沸点的温度下为液体形式),这些在装载活性成分之前形成 HLCV 的方法是最有效的,使得活性成分易于溶解在水化的卵磷脂囊泡组合物中。这些处理之后(即预先形成的囊泡)加入活性成分的方法特别适合于如精油、亲脂性调味化合物和含有亲脂性组分的调味化合物的混合物的成分。该方法对于装载前已经过处理(例如经过均质化或高剪切混合)形成 UV 的 HLCV 最有效。相应地,如果活性成分可以结合到水化的卵磷脂组合物中,那么活性成分就可以添加到“预先形成的”卵磷脂囊泡中。如上文所讨论的,活性成分的溶解可能需要加入醇、加热或这些的任意组合。本领域普通技术人员显而易

见的是，低溶解性的活性成分，如果少量添加将随时间缓慢地结合到囊泡组合物中。本领域普通技术人员还知道，在分散的 HLCV 中的结合程度取决于活性成分在液相中溶解的速率和时间。没有醇或加热的帮助，log Kow（即辛醇：水分配系数）小于约 4.5 的活性成分将不能在合理的时间内被结合。然而，log Kow 为 4.5 或更大的活性成分可以更快地被结合。这些活性成分的溶解性，包括通过加热和 / 或醇增强的溶解性可以由本领域普通技术人员凭经验确定。

[0086] 可以在处理之前或之后将稳定剂加到卵磷脂组合物。在某些实施方案中，处理之后将稳定剂加到 HLCV 组合物。在其它实施方案中，卵磷脂和稳定剂的混合物在处理之前在 CW 中水化。

[0087] 向 HLCV 加入活性成分后，通过高剪切混合或均质化处理混合物以形成其中含有被结合的活性成分的分散的 HLCV 组合物。

[0088] 透明度

[0089] 本发明的另一方面为可以调控卵磷脂载体分散体的尺寸分布，使得分散体基本上目视澄清（透明的）。这里出于描述发明的目的，将亚微米范围（<1,000nm）内的分散体颗粒和结构的平均直径定义为体积加权平均直径，尺寸通常为单峰分布。囊泡的体积加权平均直径可以通过任何已知的技术确定。例如，采用电子显微镜或动态光散射确定体积加权平均直径。一旦确定平均囊泡尺寸，就可以采用本领域熟知的标准方法减小囊泡的尺寸，包括但不限于超声处理、微流化和高压均质化。

[0090] 在某些实施方案中，本发明的方法制备的其中具有活性成分的卵磷脂载体囊泡在分散体中保持清澈（或透明）。澄清是指透明而不是半透明。这种透明度是通过制成其中颗粒的平均直径为 120nm 或更小，优选小于 100nm，更优选小于 80nm 的分散体来实现的。此外，尺寸分布几乎不包括引起云雾状的较大直径颗粒，这种颗粒可以由变白来证明。出于描述本发明的目的，这种较大颗粒的存在可以通过云雾状或模糊来定量，下文称之为浊度。透明的分散体为低浊度的分散体。分散体的浊度可以相对于已知的浊度标准来表示。亚显微颗粒，甚至直径明显小于光波长的颗粒通过光散射导致的浊度是包括颗粒尺寸和波长的许多变量的复杂函数。通常，较大颗粒，即导致浊度（变白、云雾状、模糊）颗粒的存在是通过在较大波长下散射来显示的。这种光的散射导致含水分散体可见的浊度（即不澄清）。相对浊度的定量测量值是采用常规 UV/ 可见光分光计测定的 800、860 和 / 或 900nm 处的相对吸光度。这样，分散体的不稳定性导致的浊度容易通过分光光度法在需要的范围内定量。

[0091] 当含有或不含有分散的活性成分的 HLCV 组合物可以如愿地是透明的或几乎透明时，透明度就不是本发明任何实施方案的要求。例如，如果要将组合物加到食品中，溶液的澄清度通常是无关紧要的，因此不必要减小囊泡的尺寸。然而，例如如果要将组合物加到透明或半透明的饮品中，将根据需要调节云雾状或浊度以满足消费者的期望。

[0092] 均一的液体混合物

[0093] 在某些实施方案中，在水化之前向卵磷脂加入活性成分。在这些实施方案中，活性成分可以在室温下溶解在基于卵磷脂的混合物中，该混合物也可以包含醇，也可以包括最少量的经处理的水和 / 或油。在某些实施方案中，均一的液体混合物中卵磷脂的重量高于均一的液体混合物的任何其它单一成分。也就是说，当卵磷脂不比所有其它组合的成分更充足时，其添加量要比任何其它单一组分更多。这样，卵磷脂可以用作均一的液体混合物的

溶剂。某些活性成分经加热可以更容易溶解。因此，在某些实施方案中，活性成分与卵磷脂混合，可以包含醇、最少量的醇、油，可以在升高的温度下混合。例如加热温度选自约 60℃至约 80℃。本领域普通技术人员可以考虑活性成分和组合物组分的性质来确定所需的温度。例如，加热温度不应超过组合物的沸点，其由组合物的各种组分控制。如本领域普通技术人员理解的，加热温度不应超过沸点最低的组合物组分的沸点。例如，如果卵磷脂组合物中存在醇时，那么最高的理想加热温度不应超过醇的沸点（其通常为沸点最低的组分）。在某些实施方案中，卵磷脂和至少一种活性成分在形成囊泡之前首先溶解在均一的液体混合物中。

[0094] 例如，植物甾醇的熔点高于 100℃（例如，β－谷甾醇的 T_{mp} 为 136 至 140℃），因此植物甾醇在囊泡形成之后不能有效地结合到 HLCV 组合物中。相应地，在本发明的某些实施方案中，其中具有至少一种活性成分的组合物是通过首先将活性成分和卵磷脂一起溶解以形成单一相的均一的液体混合物制备的。在某些实施方案中，加入醇帮助活性成分溶解在卵磷脂中。在某些实施方案中，向卵磷脂和活性成分的混合物加入多达约 50% 的醇（相对于卵磷脂基于重量计算）。如所讨论的，在某些实施方案中，可以加入最少量的经处理的水以帮助活性成分溶解在卵磷脂和醇的混合物中。例如，相对于卵磷脂的重量计算，可以加入不超过 10% 重量（w/w）的经处理的水。对于本领域普通技术人员显而易见的是，过量的水会阻碍单一相的形成。为了进一步促进含有卵磷脂、活性成分的均一的液体混合物的形成，可以首先将活性成分溶解在油中（如果必须就加热）

[0095] 在某些实施方案中，为了促进活性成分在卵磷脂中溶解以形成均一的液体混合物，首先可以将活性成分溶解在油中。例如，活性成分可以首先溶解在非极性、疏水性载体物质，如天然油中，然后与 HLCV 组合物混合。活性成分在油中的溶解也可以与加热和 / 或添加醇一起进行。油的例子包括由植物，如大豆、玉米、橄榄、向日葵、油菜籽、橄榄提取的甘油三酯种子油。油还包括动物油，如鱼油或磷虾油以及精油。精油包括但不限于香茅、丁香叶、桉树、葡萄柚、柠檬、酸橙、野薄荷 / 薄荷、橙子、牛至、胡椒薄荷、绿薄荷、八角茴香、橘子、茶树、百里香和冬青的油，实施方案包括这些油的主要化学成分，如百里酚、香芹酚、柠檬烯、薄荷醇、香芹酮、水杨酸甲酯、桉叶油素、citranal、蒎烯和松油烯 -4- 醇的应用。

[0096] 均一的液体混合物然后在 CW 中混合并水化形成囊泡。在某些实施方案中，即如果短链醇并未以充足的量存在于包含卵磷脂的混合物中，就向 CW 加入短链醇。足量的短链醇不少于使得最终的卵磷脂水化溶液的醇浓度至少为约 5v/v%，且不超过约 40v/v% 的量。在某些实施方案中，最终卵磷脂水化溶液的醇浓度为约 20%v/v 至约 30%v/v。在保持含有卵磷脂的均一的液体组合物为液体状态的温度下进行卵磷脂水化。

[0097] 通过水化形成 HLCV 之后，通过均质化或高剪切混合处理 HLCV 以形成活性成分结合到 HLCV 组合物中的分散体。

[0098] 由高 PC 含量的卵磷脂形成的 HLCV

[0099] 在本发明的另外的方面，生产 HLCV 组合物的方法使用了高 PC 含量的卵磷脂（即磷脂酰胆碱含量超过 80%w/w 的卵磷脂）。在该方法中，按照本发明公开的用于活性成分在低 PC 含量卵磷脂中溶解的方法之一，将高 PC 含量的卵磷脂（或者可选择地，基本上纯的磷脂酰胆碱）与活性成分混合。本发明描述的用于在水化和处理后加入活性成分，或者在水化和处理前通过形成均一的液体混合物的方法和中间组合物也适用于采用高 PC 含量卵磷脂制

备 HLCV。这种 HLCV 适合用于药物应用。实际上，在这些实施方案中，卵磷脂具有高 PC 含量使得其适合制药应用。例如，在这些实施方案中，按重量计算，HCLV 含有 90w/w% 或更高的 PC，用于吸入或可注射产品。

[0100] 根据制剂在体内实现期望的性能的要求，可以加入其它纯化的磷脂。在某些实施方案中，用于胃肠道外使用的异丙酚的药学可接受的制剂可以通过在经处理的水中水化磷脂酰胆碱和磷脂酰甘油的含醇混合物，再以高压均质器均质化，然后与异丙酚孵育来制备。

[0101] 任选地，可以在水化期间或处理后加入药学可接受的稳定剂，如聚山梨醇酯。本发明公开的用于卵磷脂的不采用有机溶剂的处理方法也适用于药学上可接受的磷脂酰胆碱。基于卵磷脂和其他成分的均一的液体混合物的替代方法可以与那些药学上可接受的活性成分一起使用，所述药学上可接受的活性成分可溶于磷脂酰胆碱 - 醇的混合物，所述磷脂酰胆碱 - 醇的混合物对应于关于低 PC 含量卵磷脂的实施方案所描述的那些，如需要还加入少量的经处理的水（相对于磷脂高达 10%w/w），以形成均一的液体混合物。如本发明所述，活性成分可以先溶解在药学上可接受的油，如脂肪酸的甘油三酯（其中脂肪酸可以是相同的或混合的）中，如必须就同时加热。

[0102] 进一步的处理、纯化

[0103] 形成 HLCV 后，可以根据需要进一步处理组合物。例如，为了减小囊泡尺寸，分散体可以经过高剪切混合或高压均质化。如果可行，相比醇不存在时在相同的组分上进行的相应尺寸减小处理，醇存在时减小尺寸所需的能量降低。较低能量处理具有商业上的利益，使得处理能量成本较低，能够使用较宽范围的处理设备。例如，在醇存在时，可以在给定能量输入情况下较大程度地实现尺寸减小；在某些情况下，这样能够形成目视清澈的 HLCV 外观，而在醇不存在时，这样的目视澄清度是不能实现的。

[0104] 本发明公开的 HLCV 组合物可以通过任何标准的工业干燥方法，如喷雾干燥或冷冻干燥被干燥成固体形式，例如粉末、薄片或块状，可选择地或随后被结合到糊剂或乳剂中。其它进一步的处理步骤可以包括：调节组合物的 pH，加入防腐剂或抗微生物剂，或加入调味剂以增强组合物的味道。

[0105] 应用

[0106] 根据本发明的实施方案的 HLCV 分散体基本上不含非分散性的活性成分（即活性成分一旦分散在 HLCV 组合物中，活性成分基本上保持分散并且没有任何明显程度的由分散体沉淀析出）。

[0107] 本发明的某些方面的用于生产的组合物、中间溶液和方法采用相对便宜的食品级卵磷脂，特别是按重量计 PC 含量低于约 80% 的卵磷脂提供了水不溶性材料的基于水的分散体。

[0108] 尽管不限制于任何应用，根据本发明的某些实施方案的 HLCV 可以用于制备基本上清澈的脂溶性活性成分的水分散体，所述脂溶性活性成分可以用于饮料或营养添加剂，因为在水、果汁和其它饮料中稀释、巴士灭菌和存储时，分散体是物理上稳定的。脂溶性成分可以包括抗氧化剂（例如维生素 E）。根据预期应用的需要，分散体可以被浓缩和干燥成粉末和再水化。本发明的组合物和方法还公开了食品级原料，例如已经被美国食品药品监督管理局的“一般认为安全（GRAS）”认可应用的原料。

[0109] 本发明的 HLCV 组合物可以采用广泛应用于食品和饮料工业的常规设备处理。水

化的卵磷脂载体囊泡的组分是相对便宜的。此外，食品 / 饮料 / 营养添加剂成分装载到载体中可以提升生产水平，生产用于相关消费者和其它产品的性价比高的制剂。

[0110] 本发明的 HLCV 分散体实际上的性质如同真正的溶液，可以被用于制备口服消费或其他被引入口腔的产品。某些本发明的组合物的特别益处在于它们提供的水分散体在用于最终产品时基本上目视清澈，存储、加入某些果汁和其它饮料、暴露于高温，如巴士灭菌期间保持澄清。在某些实施方案中，基于卵磷脂的基质还提供了水不溶性材料增强的化学稳定性，例如抗氧化性，以及抑制这些材料不良气味和味道以及差的口感。某些脂质本身被认为是可选择的食品或营养添加剂成分，例如磷脂酰胆碱以及特别的从海洋生物如磷虾获得的脂质。明确的是本发明描述的 HLCV、中间体和制备方法可以任选使用这些脂质。

[0111] 提出以下实施例仅用于说明的目的，不限制本申请的范围或内容。

实施例

[0112] 实施例 1-1 鱼油的 HLCV 分散体（Ω-3 制剂）

[0113] 20g 鱼油（EPAX1050）、30g 卵磷脂（Cargill Lecigran）、0.5g 维生素 E 和 4ml 乙醇在瓶中混合。混合混合物同时加热至 65℃约 60 分钟，直到溶液的外观是均一的。将该混合物加到 250ml 已经加热至 65℃的纯化水中，并混合 5 分钟。50ml 该水化的鱼油卵磷脂分散体样品与适当体积的乙醇混合以形成包含约 0、10、20、30、40 和 50%（v/v）乙醇的分散体。出于确定加入乙醇的量的目的，已经存在的小体积（来自均一的卵磷脂相）被忽略。该系列中的每一分散体在约 600 巴和 65℃的入口温度下被均质化（Niro Soavi NS1001L 均质器）4 回。然后，在经处理的水中将分散体稀释至约 3mg/ml 鱼油。图 1A 显示了这些分散体的照片。如图 1B 所示，在 800 和 900nm 处测定这些分散体的浊度。采用 Microtrac（USA）‘Nanotrac150’动态光散射仪在室温下获得颗粒尺寸分布的测量值，该动态光散射仪以 780nm 固态激光工作，对反射光强度的波动进行可控的对照法（多普勒频移）分析。显示了组合物的囊泡的体积加权平均直径（图 1C）。如所显示的，将体积加权分布和 95% 通过直径一起作图（其中 95% 的囊泡小于该直径）。体积加权平均直径在 30% 乙醇处（约 28nm）处最小。

[0114] 实施例 1-2 如实施例 1-1 制备 HLCV Ω-3 分散体，除了加入 1.0g 聚山梨醇酯 80。图 2A 显示了在含 0、10、20、30、40 和 50% 乙醇的情况下，这些含聚山梨醇酯的 Ω-3 制剂中的每一种的照片。图 2B 和 2C 分别显示了这些制剂由动态光散射得到的浊度和颗粒尺寸分布数据。如图所示，在含 30% 乙醇、聚山梨醇酯时，最小的体积加权平均直径为约 35nm。图 3 一起显示了在含 30% 乙醇、含或不含聚山梨醇酯时，这些 Ω-3 制剂的照片。

[0115] 实施例 2 精油的 HLCV 分散体

[0116] 10g 卵磷脂（Lecigran, Cargill 或 Ultralec, ADM）在 100ml 蒸馏水中混合并水化，然后在室温、约 400 巴下通过 Niro Soavi NS1001L 均质器进行均质化 6 回，以形成 HLCV。以卵磷脂 :聚山梨醇酯为 5 :1 的重量比加入聚山梨醇酯 80 并混合。然后采用蒸馏水将分散体稀释至 200ml。加入精油 :百里酚（0.7g）、桉叶油素（1.0g）、水杨酸甲酯（0.65g）和薄荷醇（0.46g）并混合，以形成这些精油基本上透明的水分散体。得到的分散体经 0.2 微米过滤器过滤。稀释透明的分散体并加入甜味剂以形成不含乙醇的精油漱口水。图 4A 显示了两个精油分散体样品的照片，一个是新鲜制备的（t=0），一个是在室温下储存 12 个月的

(t=12 个月)。图 4B 和图 4C 给出了这些样品 Nanotrac 颗粒尺寸分布分析的结果。在每种情形中,体积加权平均直径都被确定为 37 (+/1)nm。为了对比,图 4 显示了累积量(再分布柱状图上叠加 S 型曲线);两个样品的尺寸排列数据基本上无法区分。

[0117] 实施例 3 柠檬油的 HLCV 分散体

[0118] 5g 卵磷脂(Lecigran,Cargill 或 Ultralec,ADM)在 100ml 经处理的水中混合并水化,然后在约 400 巴的压力、65℃的入口温度下通过 Niro Soavi NS1001L 均质器进行均质化 4 回。以卵磷脂 :聚山梨醇酯为 5 :1 的重量比加入聚山梨醇酯 80 并混合。以卵磷脂 :柠檬油为 5 :1 的重量比加入柠檬油并混合,以形成柠檬油的 HLCV 分散体。得到的基本上透明的分散体经 0.2 微米过滤器过滤。

[0119] 实施例 4 饮料中的柠檬油的 HLCV 分散体

[0120] 6g 卵磷脂(Lecigran,Cargill 或 Ultralec,ADM)在 100ml 蒸馏水中混合并水化,然后在约 400 巴的压力、65℃的入口温度下通过 Niro Soavi NS1001L 均质器进行均质化。以卵磷脂 :聚山梨醇酯为 5 :1 的重量比加入 1.2g 聚山梨醇酯 80 并混合。以卵磷脂 :柠檬油为 5 :1 的重量比加入柠檬油并混合。混合后,分散体在相同的条件下通过相同的均质器再处理 4 回。得到的基本上透明的分散体可以经 0.2 微米过滤器过滤。将透明的分散体加到蔗糖和柠檬酸的溶液,以制备柠檬口味的饮品。

[0121] 实施例 5 植物甾醇的 HLCV 分散体

[0122] 10g 卵磷脂(Lecigran,Cargill 或 Ultralec,ADM)和 2g 植物甾醇(Cardioaid,ADM 或 Corowise,Cargill)在约 70℃下溶解在 11ml90% 的乙醇中,卵磷脂 :甾醇的重量比为 5 :1。一旦所有的组分溶解,将溶液加到蒸馏水并混合,然后通过 APV Rannie7.30.VH 均质器在 65℃的入口温度、约 600 巴下进行均质化 6 回,以形成植物甾醇 HLCV。

[0123] 实施例 6 水性饮料中的 HLCV

[0124] 以卵磷脂 :聚山梨醇酯为 5 :1 的重量比,将实施例 1-1 的 HLCV 分散体在室温下与聚山梨醇酯 80 混合。然后在运动饮品中稀释分散体以形成清澈的(低浊度)含鱼油的水性饮料。

[0125] 实施例 7 海洋生物脂质

[0126] 将 20g 磷虾油(从南极磷虾提取的油)、30g 卵磷脂(Cargill Lecigran)、0.5g 维生素 E、1.0g 聚山梨醇酯 80 和 4ml 无水乙醇在瓶中混合。混合混合物同时加热至 65℃约 60 分钟,直至溶液的外观是均一的。将该混合物加到 400ml 已经加热至 65℃的纯化水中,混合 5 分钟。分散体在约 600 巴、65℃的入口温度下通过 Niro Soavi NS1001L 均质器进行均质化 6 回。得到的分散体是半透明的,具有磷虾油的特征性粉红色。图 5A 和图 5B 分别显示了该磷虾油 HLCV 组合物的照片和颗粒尺寸数据。可见体积加权平均直径为 64nm。

[0127] 实施例 8 乙醇、异丙醇或异丁醇中的鱼油

[0128] 将 20g 鱼油(EPAX1050)、30g 卵磷脂(Cargill Lecigran)、0.5g 维生素 E、1.0g 聚山梨醇酯 80 和 4ml 乙醇在瓶中混合。在每种情况下,混合组合物同时加热至 65℃约 60 分钟,直至溶液的外观是均一和单相的。将这些混合物加到 250ml 已经加热至 65℃的纯化水中,混合 5 分钟。将 50ml 水化的鱼油和卵磷脂分散体的样品与另外的纯化水和醇混合,以形成总体积为 100ml 的在约 30% (v/v) 乙醇、30% (v/v) 异丙醇或 5% (v/v) 异丁醇中的水化的分散体。每种分散体在约 600 巴、65℃的入口温度下通过 Niro SoaviNS1001L 均质器

进行均质化 4 回。在纯化水中将分散体稀释至约 3mg/ml 鱼油。图 6A-6B 分别显示了异丙醇鱼油 HLCV 组合物的照片和颗粒尺寸数据。图 7A-7B 分别显示了异丁醇鱼油 HLCV 组合物的照片和颗粒尺寸数据。图 3 显示了 30% 乙醇样品的外观。

[0129] 实施例 9-1 精油 :香芹酚(不含聚山梨醇酯)

[0130] 在 200ml 已经加热至 65℃的纯化水中稀释 10g 卵磷脂(Cargill Lecigran)。混合分散体并水化 10 分钟,然后在约 550 巴、65℃的入口温度下通过 Niro Soavi NS1001L 均质器进行均质化 6 回。向该分散体加入 1g 香芹酚,在 65℃下维持溶液并混合 1 小时,然后在混合时使之冷却至室温,形成香芹酚在 HLCV 中的分散体。

[0131] 实施例 9-2 精油 :香芹酚(含聚山梨醇酯)

[0132] 按照实施例 9-1 制备香芹酚的 HLCV 组合物,除了均质化后,加入 1g 聚山梨醇酯 80 并搅拌分散体 10 分钟,随后加入 1g 香芹酚并在 65℃下混合 1 小时。然后在混合时使分散体冷却至室温,形成香芹酚在 HLCV 中的分散体。

[0133] 实施例 9-3 精油 :卵磷脂对照

[0134] 制备如实施例 9-1 的 HLCV 组合物,但不加入香芹酚。

[0135] 图 8A 为实施例 9-1、9-2 (2)和 9-3 (3)的 HLCV 组合物照片。采用聚山梨醇酯 80 制备的香芹酚样品(1)的外观与卵磷脂对照(3)很相似。尽管某种程度上不太透明,但是不含聚山梨醇酯 80 的香芹酚样品(2)的外观清楚地展示了不需要聚山梨醇酯 80 的香芹酚在 HLCV 中的完整分散体。图 8B、8C 和 8D 分别显示了样品 9-1 (1)、9-2 (2)和 9-3 (3)的颗粒尺寸数据,其体积加权平均直径分别为 56nm、97nm 和 37nm。图 8C 表明当不使用聚山梨醇酯时,一些较大直径颗粒存在时存在歪曲的分布,这与图 8A 中所见的透明度下降和较大的平均(根据体积计算)直径很好地对应。然而,很重要而值得注意的是通过动态激光散射测定亚微米颗粒尺寸适用于定量表征平均尺寸,但仅仅适用于定量表征颗粒尺寸在均值分布上的相似性和区别(即柱状图显示了差别,但不应依赖其提供更多的信息)。

[0136] 如贯穿实施例和附图所讨论和例举的,在经处理的水存在下,低 PC 含量的 HLCV 装载了活性成分(也可以包含醇和 / 或稳定剂),以形成分散的组合物。图 1A、2A、3、4A、5A、6A、7A 和 8A 的照片显示装载到 HLCV 中的活性成分的公开的例子,其被图 1C、2C、4B、4C、5B、6B、7B、8B、8C 和 8D 中相应的颗粒尺寸数据所证实。

[0137] 当已经参考特定的示例性实施方案说明和描述本发明时,本领域普通技术人员将明白可以在不背离本发明的精神和范围的情况下,对所述的实施方案进行各种修饰和改变,本发明的精神和范围如以下权利要求书所定义。

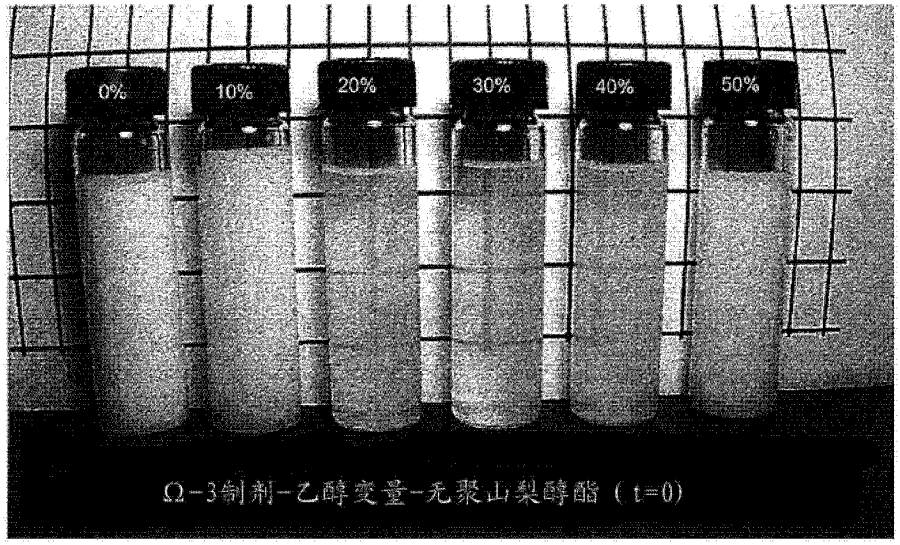

0%
10%
20%
30%
40%
50%
Ω-3制剂-乙醇变量-无聚山梨醇酯（t=0）

图 1A

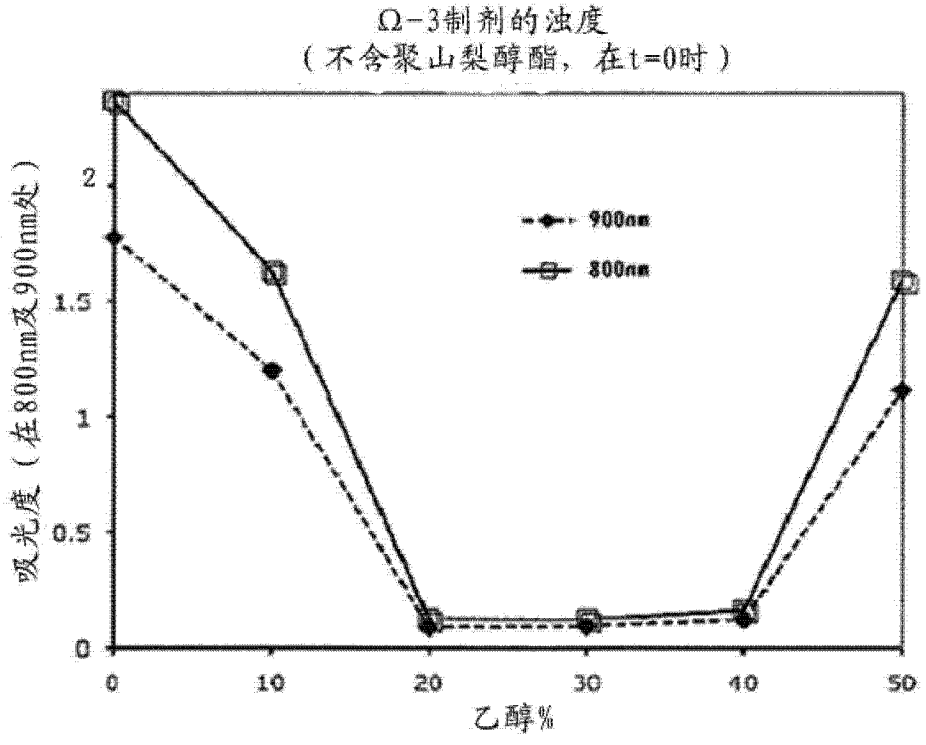

Ω-3制剂的浊度
（不含聚山梨醇酯，在t=0时）
吸光度（在800nm及900nm处）
900nm
800nm
0
0.5
1
1.5
2
0
10
20
30
40
50
乙醇%

图 1B

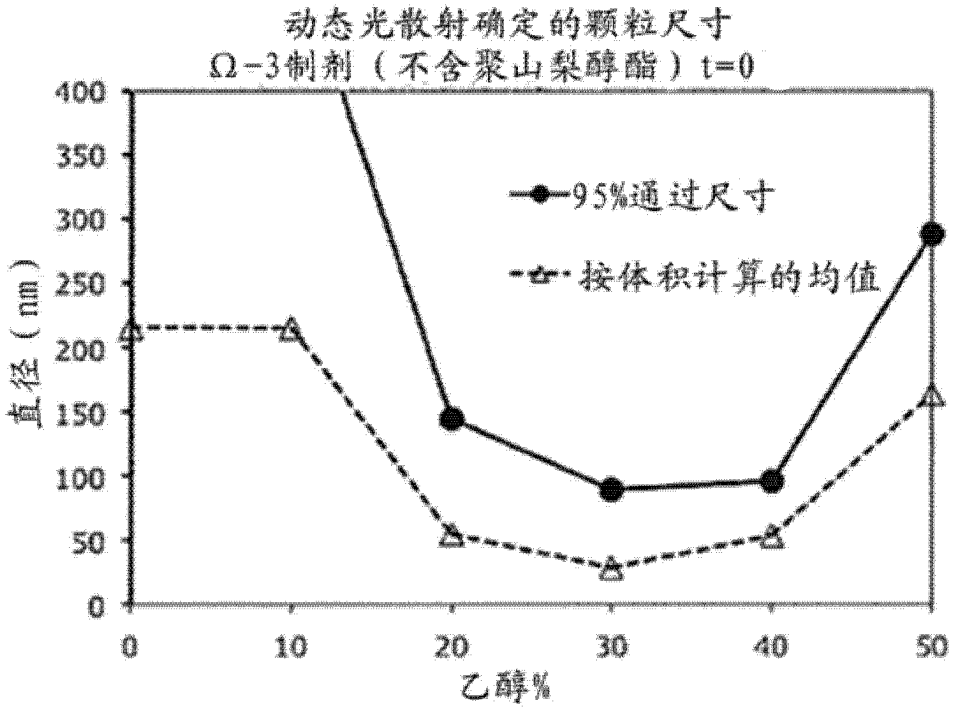

动态光散射确定的颗粒尺寸
Ω-3制剂（不含聚山梨醇酯）t=0
95%通过尺寸
按体积计算的均值
直径（nm）
400
350
300
250
200
150
100
50
0
0
10
20
30
40
50
乙醇%

图 1C

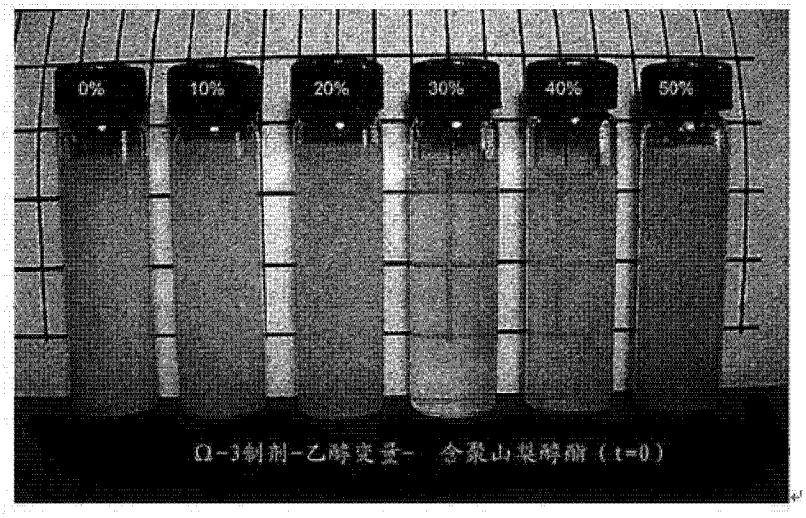

0%
10%
20%
30%
40%
50%
Ω-3制剂-乙醇变量- 含聚山梨醇酯（t=0）

图 2A

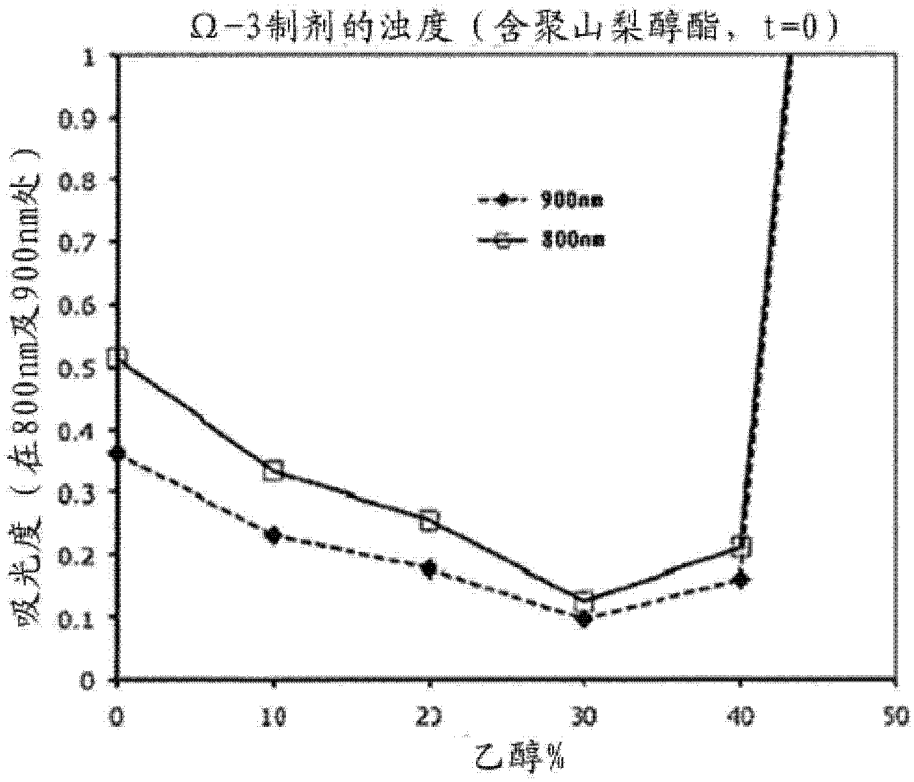

Ω-3制剂的浊度（含聚山梨醇酯，t=0）
吸光度（在800nm及900nm处）
900nm
800nm
乙醇%

图 2B

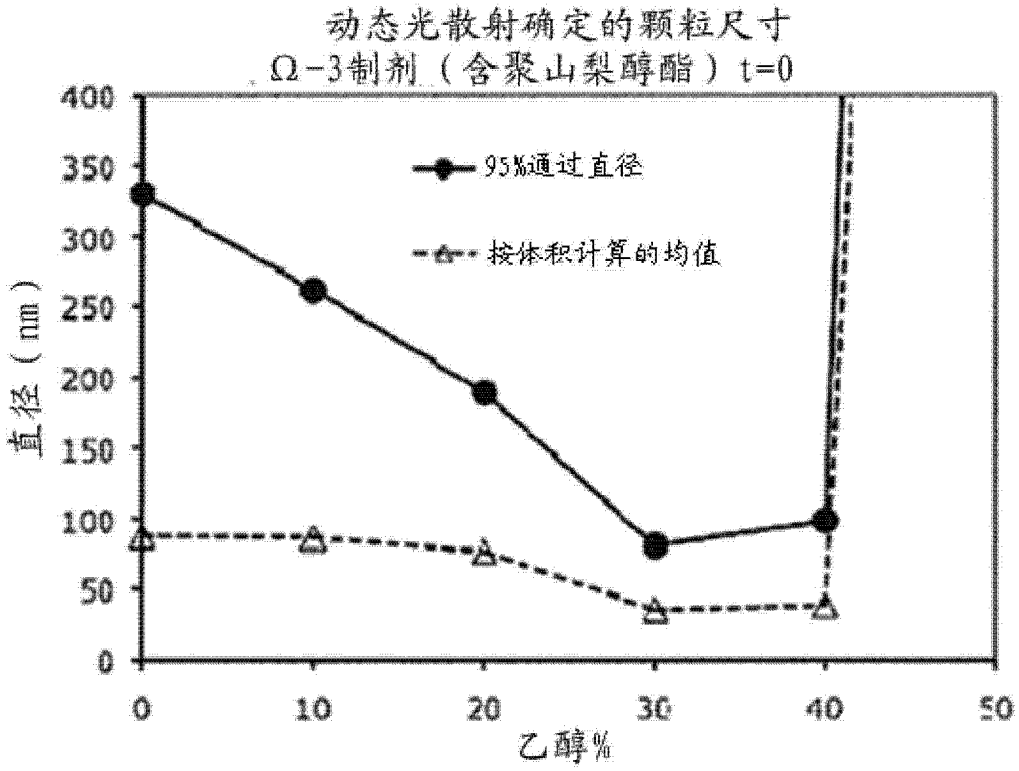

动态光散射确定的颗粒尺寸
Ω-3制剂（含聚山梨醇酯）t=0
直径（nm）
95%通过直径
按体积计算的均值
乙醇%

图 2C



图 3

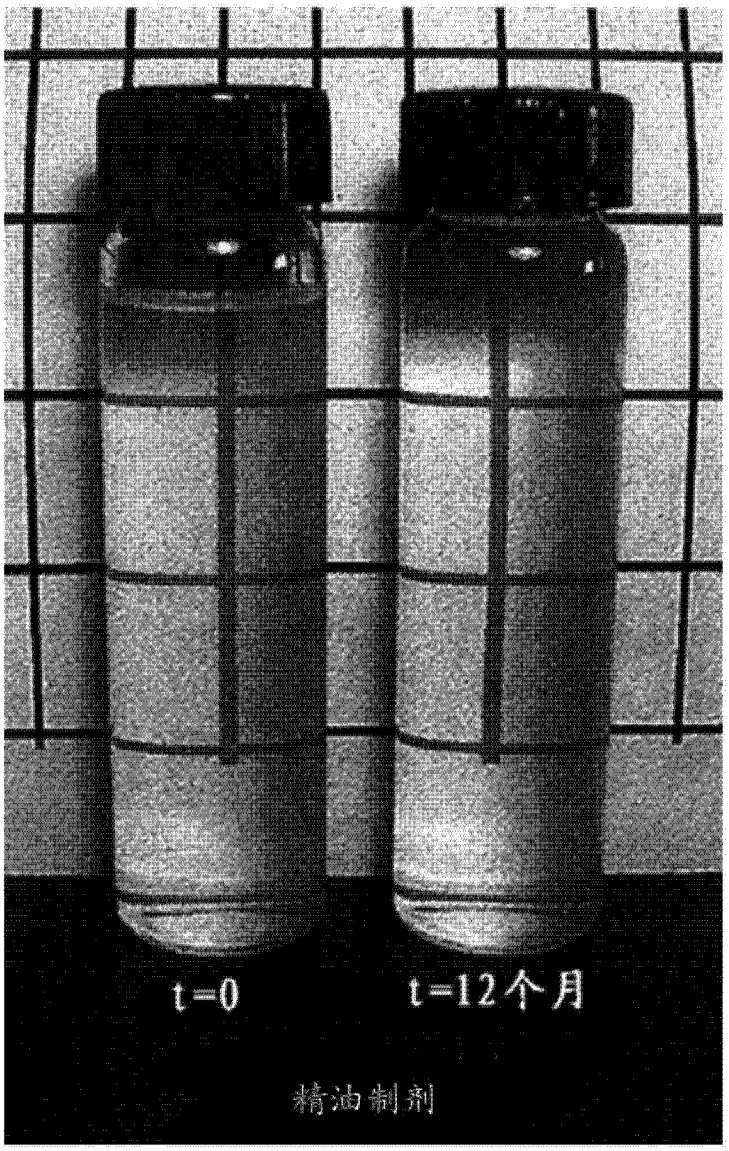


图 4A

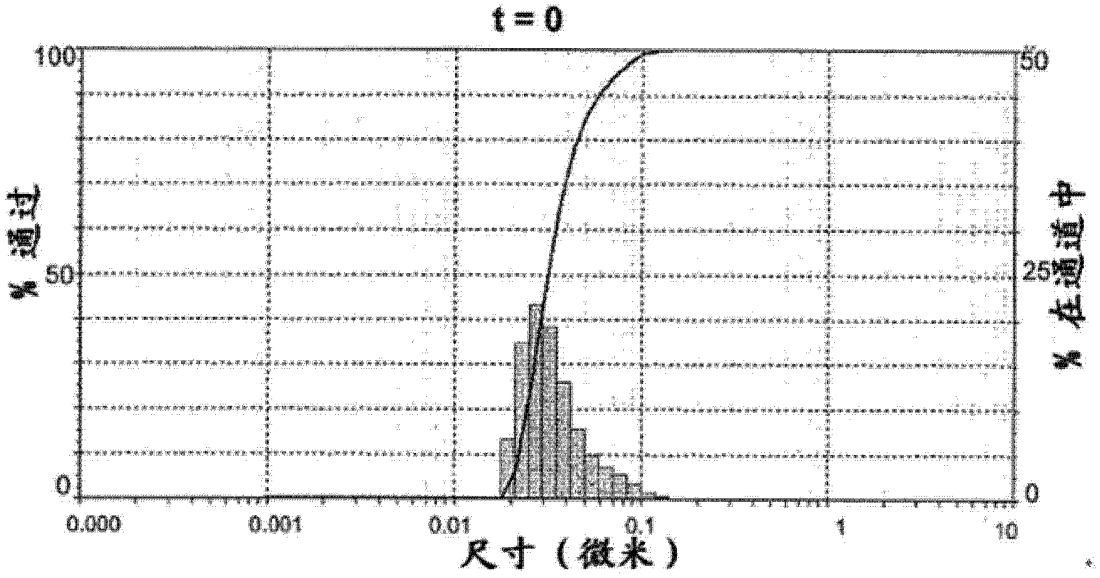

t = 0
100
50
0
% 通过
50
25
0
% 在通道中
0.000
0.001
0.01
0.1
1
10
尺寸（微米）

图 4B

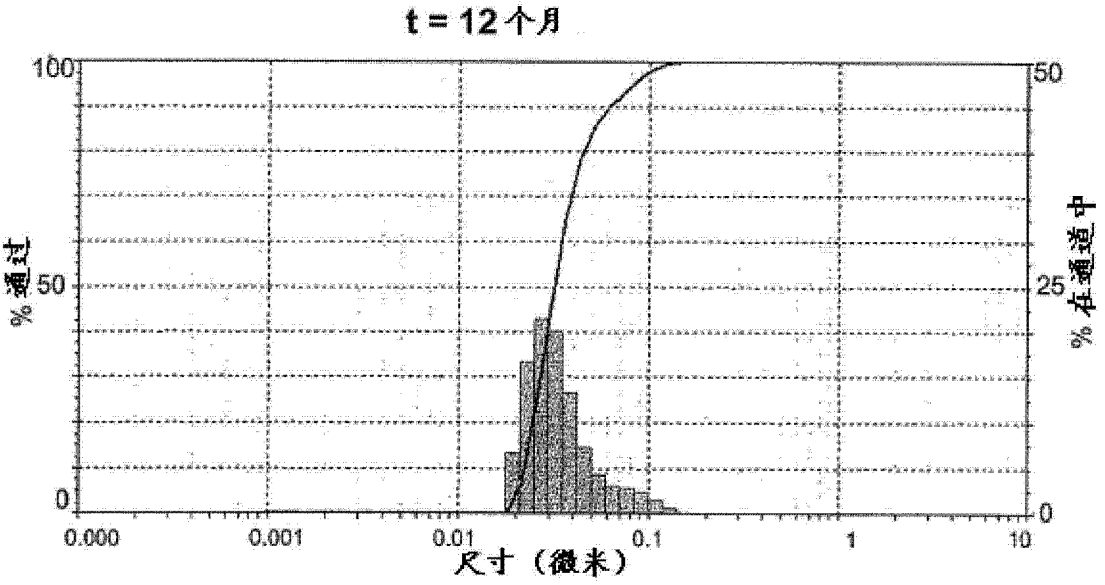

t = 12 个月
100
50
0
% 通过
50
25
0
% 在通道中
0.000
0.001
0.01
0.1
1
10
尺寸（微米）

图 4C

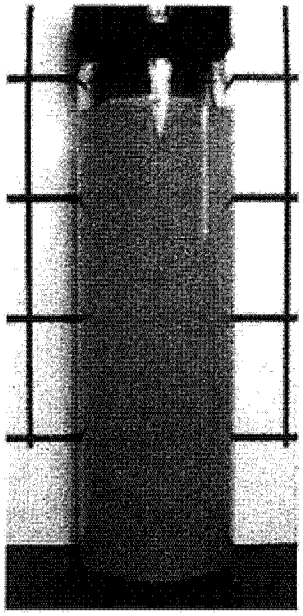


图 5A

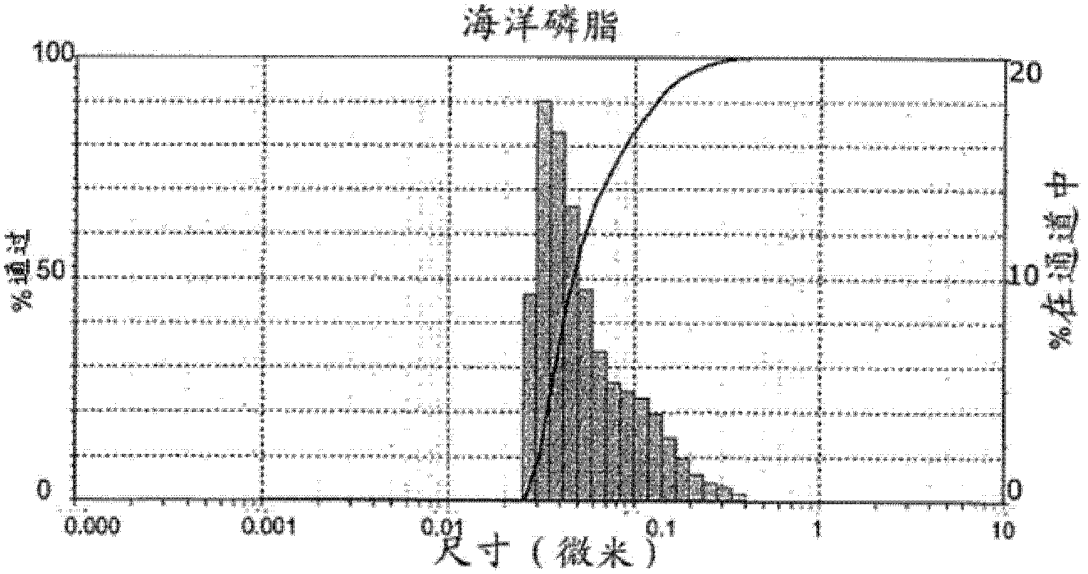


图 5B

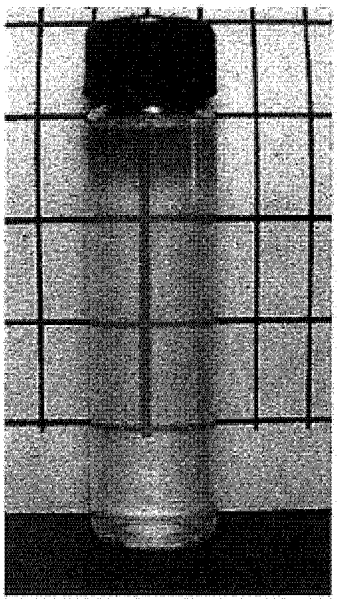


图 6A

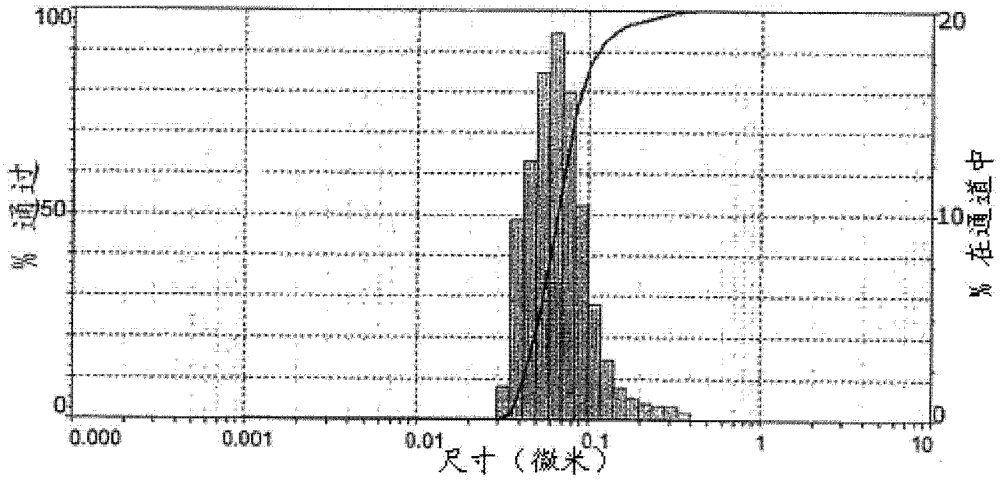


图 6B

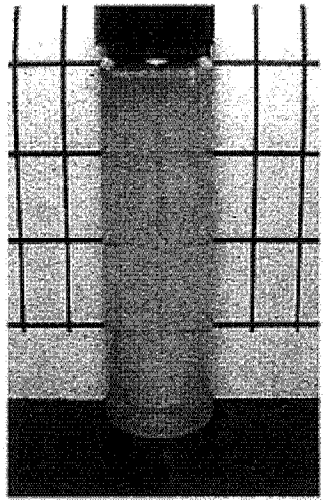


图 7A

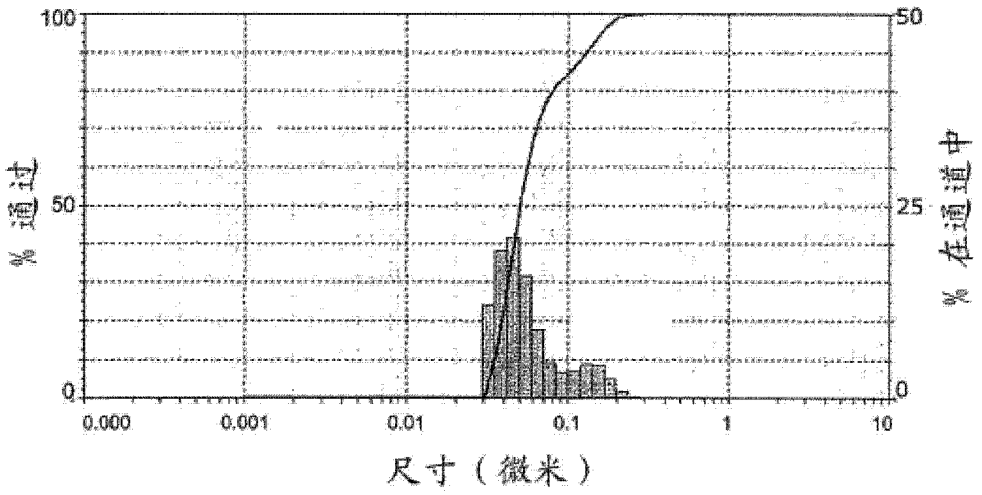


图 7B

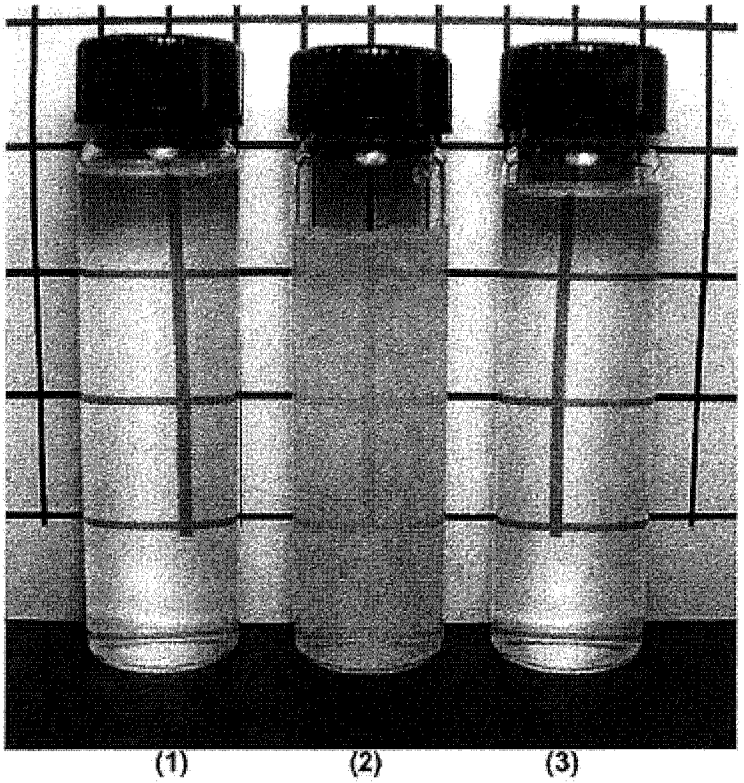


图 8A

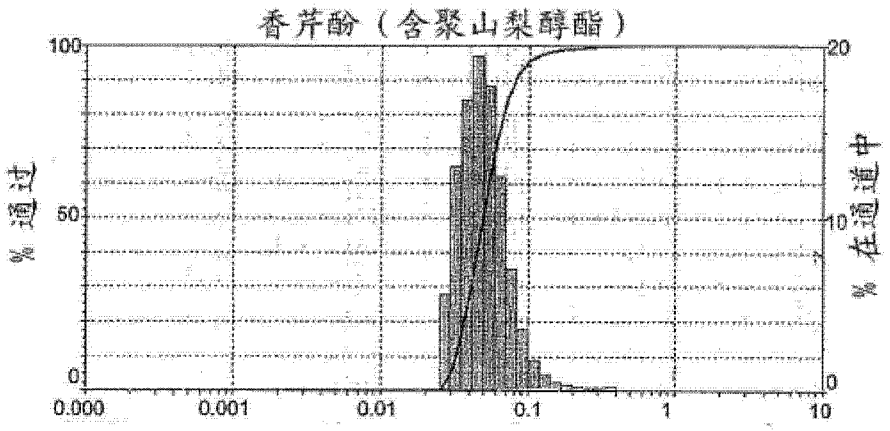


图 8B

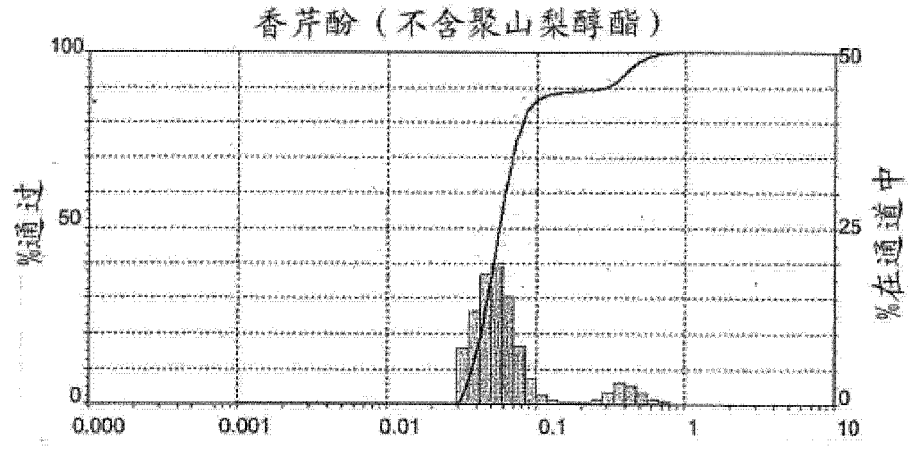

香芹酚（不含聚山梨醇酯）
100
50
0
% 通过
50
25
0
% 在通道中
0.000
0.001
0.01
0.1
1
10

图 8C

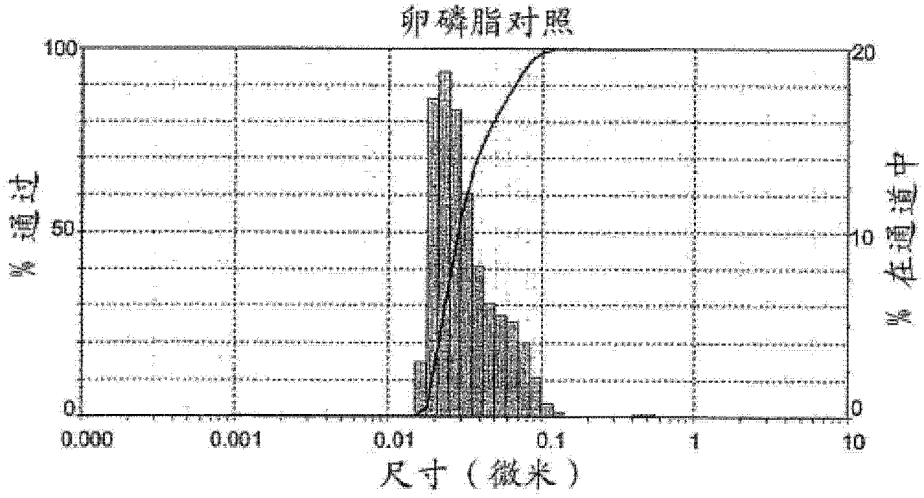

卵磷脂对照
100
50
0
% 通过
20
10
0
% 在通道中
0.000
0.001
0.01
0.1
1
10
尺寸（微米）

图 8D