



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108096297 A

(43)申请公布日 2018.06.01

(21)申请号 201710943408.6

A61P 15/08(2006.01)

(22)申请日 2017.10.11

(71)申请人 河北京鼎生物医药科技有限公司  
地址 055250 河北省邢台市巨鹿县城南华  
路北侧朱庄村村西

(72)发明人 陈振兴

(74)专利代理机构 北京华夏正合知识产权代理  
事务所(普通合伙) 11017  
代理人 韩登营

(51)Int.Cl.

A61K 36/185(2006.01)

A61K 9/50(2006.01)

A61K 9/00(2006.01)

A61P 17/02(2006.01)

A61P 17/14(2006.01)

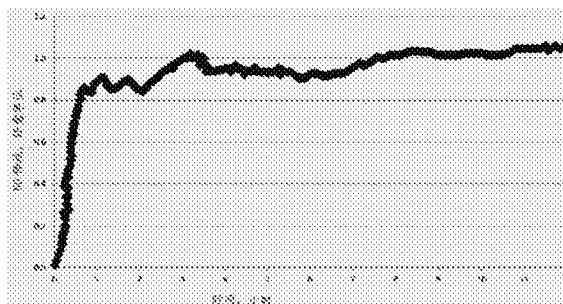
权利要求书1页 说明书8页 附图3页

(54)发明名称

基于菠菜萃取物的微胶囊化粉末和酸性微胶囊化粉末延长产生一氧化氮的系统 and 用品

(57)摘要

本发明涉及一种一氧化氮的延时释放系统,包括微囊化的菠菜萃取物和酸性微囊化粉末,所述酸性微囊化粉末具有足够的酸度将菠菜萃取物转化为一氧化氮。本发明通过使用菠菜萃取物作为NO供体在患者体表能够持续长时间的释放NO。



1. 一种一氧化氮的延时释放系统,包括微囊化的菠菜萃取物和酸性微囊化粉末,所述酸性微囊化粉末具有足够的酸度将菠菜萃取物转化为一氧化氮。

2. 如权利要求1所述的一氧化氮的延时释放系统,其特征在于,所述菠菜萃取物中含有源自菠菜维C。

3. 如权利要求1所述的一氧化氮的延时释放系统,其特征在于,所述酸度由下列有机酸中的一种或多种提供:柠檬酸、乳酸、甘油酸、甲酸和抗坏血酸。

4. 如权利要求1所述的一氧化氮的延时释放系统,其特征在于,所述酸度由硼酸提供。

5. 如权利要求1所述的治疗性一氧化氮的延时释放系统,其特征在于,所述酸性微囊化粉末还包括还原剂,还原剂包括抗坏血酸(维生素C)或抗坏血酸衍生物;所述抗坏血酸衍生物包括3-0-乙基抗坏血酸以及3-烷基抗坏血酸、6-0-辛酰基-抗坏血酸、6-0-十二烷酰基-抗坏血酸、6-0-十四烷酰基-抗坏血酸、6-0-十八烷酰基-抗坏血酸和6-0-癸二酰-抗坏血酸。

6. 如权利要求1所述的治疗性一氧化氮的延时释放系统,其特征在于,所述微囊化的菠菜萃取物的囊材为乙基纤维素、玉米醇溶蛋白、脱乙酰壳多糖、透明质酸、藻酸、可生物降解的聚酯、聚酐、聚乙烯(原酸酯)、聚磷腈或多糖。

7. 一种为患者提供延时释放的治疗性一氧化氮的成套用品,包括微囊化的菠菜萃取物和酸性微囊化粉末,所述酸性微囊化粉末具有足够的酸度将菠菜萃取物转化为一氧化氮;所述微囊化的菠菜萃取物和酸性微囊化粉末分别放置或混合后放置在一起。

8. 如权利要求7所述的成套用品,其特征在于,所述微囊化的菠菜萃取物置于伤口敷料或绷带上,所述酸性微囊化粉末置于另外的容器;或所述微囊化的菠菜萃取物与所述酸性微囊化粉末混合后放置在一起。

9. 如权利要求7所述的成套用品,其特征在于,所述微囊化的菠菜萃取物涂布在安全套的内表面,所述酸性微囊化粉末置于另外的容器;或所述微囊化的菠菜萃取物与所述酸性微囊化粉末混合后涂布在安全套的内表面。

10. 如权利要求7-8任一权利要求所述的成套用品在制备促进伤口愈合的药物中的应用。

11. 如权利要求7-8任一权利要求所述的成套用品在制备促进脱发再生的药物中的应用。

12. 如权利要求7或9所述的成套用品在制备克服性功能障碍的药物中的应用。

## 基于菠菜萃取物的微胶囊化粉末和酸性微胶囊化粉末延长产生一氧化氮的系统 and 用品

### 技术领域

[0001] 本发明属于医药领域,具体涉及一种含有菠菜萃取物作为活性成分的微囊化药剂、含有该菠菜萃取物微囊化药剂的系统 and 用品。

### 背景技术

[0002] 在哺乳动物中,NO在神经系统、免疫系统和心血管系统的很多生理过程中是一种内源性的生理调节物质,其作用包括血管平滑肌松弛,导致动脉的血管舒张和血流增加。NO是一种神经递质,与神经元的活动和各种功能有关,从回避学习到男性和女性生殖器勃起(Kim et al., J.Nutrition 134(2004) 2873S)。NO也具有部分调节巨噬细胞对微生物和肿瘤细胞的细胞毒性作用。NO除了介导正常的生理功能外,还涉及感染性休克、高血压、中风和神经退行性疾病等不同的病理生理状态。

[0003] NO以各种形式应用在药理学上,局部应用NO可以帮助创伤和烧伤的伤口愈合、毛发生长、阳痿、以及在需要的地方导致血管扩张(例如,促进由于糖尿病或其它条件受损的患者外周血流量的流通和在孕期子宫颈的成熟)。然而,虽然NO本身具有生理活性的,但是它在空气中或在体内是化学不稳定的。因此,在现有技术中其药理应用几乎总是通过不同的各种单独稳定的前体化合物的化学反应而产生。通常使用有机和无机硝酸盐作为NO供体。在局部应用的范围内,要求NO的剂量是低的、持久性的。NO作为一个强大的杀菌剂,对抗生素有抗药性的细菌是有效的。在抗菌和其它的局部应用中,需要延长NO与皮肤接触的时间。在抗菌应用中,NO有效治疗剂量是很少的,只有百万分之几(ppm)(见Ghaffari et al., Nitric Oxide Biology and Chemistry 14(2006) 21-29),但NO的有效性取决于维持与皮肤接触的时间长短(Ormerod et al., BMCResearch Notes 4(2011) 458-465)。

[0004] 尽管现有技术(专利申请CN201310355902.2、CN201310356220.3)中存在使用微囊化亚硝酸盐和酸化水凝胶的延时产生一氧化氮的系统和方法,然而其使用的NO供体为亚硝酸盐,而亚硝酸盐一般存在一定毒性,特别是当剂量大时毒性很大。此外该延时系统和操作方法的应用依赖于一个或数个激活体积的水,在具体操作中存在一定的限制。

### 发明内容

[0005] 为解决现有技术的不足,本发明提供一种基于菠菜萃取物的微胶囊化粉末和酸性微胶囊化粉末产生一氧化氮的系统,该系统采用菠菜萃取物作为NO供体,其来源于自然植物,成分天然,避免了亚硝酸盐作为NO供体对机体的潜在危害。

[0006] 本发明还涉及基于菠菜萃取物的微胶囊化粉末和酸性微胶囊化粉末产生一氧化氮的成套用品。

[0007] 本发明提供了一种延长产生一氧化氮的系统,本发明的延时产生一氧化氮的系统,能在较长时间条件下保证NO的持续释放,且操作简便,具有持续释放的效果。

[0008] 本发明还涉及延长产生一氧化氮的成套用品。

[0009] 本发明的系统和成套用品,制备过程简单,且该系统具有较高的生物安全性,能长期发挥NO的生理活性。

#### 附图说明

[0010] 图1A是一个实施方式中含有微囊化试剂的混合物(反应生成NO)的垫的剖视图;

[0011] 图1B是一个包含保持微粒适当位置的内部组件的垫的剖视图;

[0012] 图1C是一个实施方式中吸收层包含微囊化试剂(反应产生NO)的垫的剖视图;

[0013] 图2为微囊化菠菜萃取物和微囊化酸剂在溶液中NO的释放过程,释放时间持续5小时;

[0014] 图3为微囊化菠菜萃取物和微囊化酸剂在糊剂中NO的释放过程,释放时间持续10小时以上;

[0015] 图4为微囊化亚硝酸钠和微囊化酸剂在糊剂中NO的释放过程,释放时间8小时;

[0016] 图5为微囊化菠菜萃取物和微囊化酸剂在糊剂中NO的释放过程,微囊化酸剂还含有还原剂,释放时间持续10小时以上;

[0017] 附图标记:

[0018] 微粒1、层2、层3、隔离层4、吸水材料5、不透水层6。

#### 具体实施方式

[0019] 以下,对本发明的实施方式进行说明。

[0020] 本发明公开了一种一氧化氮的延时释放系统,包括微囊化的菠菜萃取物和酸性微胶囊化粉末,所述酸性微胶囊化粉末具有足够的酸度将菠菜萃取物转化为一氧化氮。

[0021] 本发明采用菠菜萃取物作为产生药学上可接受的NO的供体。本发明的反应原理根据下面的反应式(1)可见,通过亚硝酸盐与酸(HA)反应产生亚硝酸。亚硝酸低温时在水溶液中是稳定的,但在室温下,它容易分解成NO和NO<sub>2</sub>,如反应式(2)所示。

[0022] 在还原剂(如抗坏血酸,二羟基抗坏血酸(Asc(OH)<sub>2</sub>))的存在下,NO<sub>2</sub>很容易转化为NO,如下面的反应式(3)所示。

[0023]  $2HA + NaNO_2 \rightarrow 2HNO_2 + 2NaA$  (1),

[0024] HA是一种可以是有机酸或无机酸

[0025]  $2HNO_2 \rightarrow NO + NO_2 + H_2O$  (2),

[0026] 亚硝酸分解,生成二氧化氮

[0027]  $NO + NO_2 + H_2O + Asc(OH)_2 \rightarrow 2NO + 2H_2O + AscO_2$  (3),

[0028] 抗坏血酸反应,生成一氧化氮

[0029] 本发明通过菠菜萃取物作为NO的供体,减少了亚硝酸盐的毒性对人体的潜在危害。

[0030] 在一个实施方式中,所述菠菜萃取物中保留了菠菜中的维生素C,因此本发明的系统和成套用品可以在不添加还原性成分条件下,仍能持续长时间释放NO。菠菜萃取物中的维生素C能够防止或减慢一氧化氮氧化为二氧化氮的还原能力,并且还具有直接还原NO<sub>2</sub>为NO的能力,从而使由该组合中释放的气体主要是NO。

[0031] 在一个实施方式中,所述菠菜萃取物在使用菠菜萃取过程中,用酸调节各萃取步

骤溶液pH3~4,以保证源自菠菜的维C的提取和活性。

[0032] 本发明的菠菜萃取物可以使用本领域的常规方法萃取,在萃取过程调节pH为3~4,以保证其中的维C的提取和活性。

[0033] 在一个实施方式中,所述菠菜萃取物在使用菠菜萃取过程中,所述调节溶液pH的酸为草酸。

[0034] 在一个实施方式中,所述菠菜萃取物中亚硝酸盐含量为 $5.017 \times 10^{-3}$ mg/ml,硝酸盐含量为0.236mg/ml,维C含量为 $1.21 \times 10^{-2}$ mg/ml。

[0035] 在一个实施方式中,微囊化载体是一种聚合物基质。所述试剂和基质一起置于亚毫米级的结构内(至少有一个尺度规格不到1毫米)。这种结构可以是微粒、纤维或薄膜。

[0036] 本发明的一个实施方式中,利用微囊化的菠菜萃取物和足够酸度的酸性微囊化粉末接触,转化亚硝酸盐为一氧化氮。虽然无机酸如硼酸,也可能是合适的,但优选的酸化剂采用有机酸,如柠檬酸。其它酸化剂还可以包括乳酸、甘油酸、甲酸、抗坏血酸或那些在本技术领域的技术人员已知的其它的有机酸。也可以采用生物学上可接受的、有适当pKa值的无机酸(例如上述的硼酸)。

[0037] 溶解酸的介质可以是水介质或非水介质。优选水介质。酸性微囊化粉末可另外含有一个或多个所使用的酸的共轭碱。虽然优选的碱是使用的酸的共轭碱,但也可以是那些本技术领域的技术人员已知的其它有机碱或无机碱。本发明的实施方式可直接应用于促进皮肤的循环、加快伤口愈合,在头皮上保持一段时间作为一种治疗以促进头发生长,并且可被应用在其它局部释放NO有益的位置。

[0038] 本发明的一个实施方式中,在酸性微囊化粉末中包含还原剂,以进一步帮助保持一氧化氮的生物活性。酸化剂也可以是还原剂,如抗坏血酸(维生素C)或抗坏血酸衍生物。所述抗坏血酸衍生物包括但不限于3-O-乙基抗坏血酸以及其它3-烷基抗坏血酸、6-O-辛酰基-抗坏血酸、6-O-十二烷酰基-抗坏血酸、6-O-十四烷酰基-抗坏血酸、6-O-十八烷酰基-抗坏血酸和6-O-癸二酰基-抗坏血酸。优选的还原剂具有与菠菜萃取物中的维C一同防止或减慢一氧化氮氧化为二氧化氮的还原能力,并且还具有直接还原NO<sub>2</sub>为NO的能力,从而使由该组合中释放的气体主要是NO。优选的还原剂包括抗坏血酸、抗坏血酸衍生物、抗坏血酸的盐、生育酚,异抗坏血酸或 $\alpha$ -生育酚。

[0039] 本发明的一个实施方式公开了一种套装的酸性微囊化粉末和微囊化的菠菜萃取物。酸性微囊化粉末和微囊化的菠菜萃取物,都是单独包装在防潮包装中,在应用混合物前,打开包装,将它们的内容物立即混合在一起。在另一个可供选择的实施方式中,微囊化的菠菜萃取物和酸化剂被一起或单独包上防潮包装。在应用前,打开包装,用定量的水或中性pH的含水凝胶混合它们的内容物。

[0040] 微囊的一种制作方法:将一种试剂的溶解液或聚合物溶液喷雾干燥,产生细小分散的单个微粒(内部包含分散在聚合物基质内的试剂)的粉末。也可以使用其它微囊的制作方法,如锅包衣、空气悬浮包衣、离心挤压、纤维纺丝、纤维挤压、喷嘴振动、离子型凝胶化、凝聚相分离、界面交联、原位聚合法和基质聚合。

[0041] 本发明的微囊化的菠菜萃取物制备的一种实施方式,可以在菠菜萃取物中添加稳定剂,稳定剂能在微囊制备过程中,以及储存中长期维持其中的维生素C的活性,稳定剂可以为盐酸-L-半胱氨酸和焦亚硫酸钠。

[0042] 为了适用于医疗适应征,本文公开的封装聚合物是生物相容的聚合物。适合的聚合物包括乙基纤维素、天然聚合物如玉米蛋白(一种在某些禾本科植物如玉米和谷物中发现的醇溶种子储存蛋白)、脱乙酰壳多糖、透明质酸、藻酸、可生物降解的聚酯、聚酐、聚乙烯(原酸酯)、聚磷腈或多糖(见Park et al.,Molecules 10 (2005) 146-161)。

[0043] 上文所述的试剂微囊化的组合物用在药物试剂输送是众所周知的。见Shalaby and Jamiolkowski,US Pat.No.4,130,639;Buchholz and Meduski,US Pat.No.6,491,948。然而,在所有这些组合物中,微囊化的试剂是治疗剂本身,治疗剂不是通过微囊化的试剂的反应产生的。涉及一氧化氮加合物/供体的一氧化氮释放聚合物在医学文献中已有描述,例如Arnold,US Pat.No.7,829,553(二醇二氮烯翁碳基附着在疏水聚合物上);Knapp,US Pat.No.7,135,189(亚硝基硫醇的前体和一氧化氮供体)。

[0044] 本发明实施方式的应用包括直接应用微胶囊化试剂到伤口、伤口敷料、外科敷料、褥疮患者(或可能发展成患者)的床上护具、袜子、适合糖尿病和其它循环障碍患者的其他服装、骨科石膏,以及用于血管扩张剂在治疗性功能障碍时的NO局部递送。本发明还能满足与常规植入或插入身体的医疗用品(如血管支架、导管、心脏起搏器、除颤器、心脏辅助装置、人工阀、电极、以及骨科螺钉和引脚)相关的、对少量而持久的NO剂量的需要。

[0045] 本发明可以是一个伤口敷料包或绷带包,所述伤口敷料的一部分包含微囊化试剂的颗粒。这部分敷料还结合了一种有保水性能的材料,以保持使颗粒处于潮湿环境时所需的适量的水分。润湿敷料启动试剂反应,敷料开始释放NO。敷料经过设计使得在伤口附近释放NO。

[0046] 本发明的一个实施方式公开了一种多用途的、源于分层衬垫的延时释放NO技术。如图1A所示的横截面:微粒1包含在层2和层3之间,其中层2和层3中至少一个是面向身体层以传输气态NO,同时至少一个是面朝外的层,这个面朝外的层具有不渗透或有保留水分性能(允许应用的液体传输到微粒里和/或维护微粒处于潮湿环境)。在希望衬垫的一侧提供NO的应用中,层2或层3的其中之一是不渗透NO的。在亚毫米级的微粒包含微囊化的菠菜萃取物。在水溶液环境中,从微粒转化形成的试剂相互结合产生NO。当水被引入到该衬垫时,试剂开始释放,NO开始产生。

[0047] 在如图1B所示的实施方式中,外层2和3被一个隔离层4所分离,层4用于维持外层之间距以及保持微粒层的适当位置。含有的试剂微粒可被嵌入或以其它方式固定在隔离层4上,或者外层2或3中任意一个的内表面上。

[0048] 如图1所示类型的衬垫可以制备成任何指定的尺寸和形状。图1A-C中的垂直尺寸没有比例,吸水材料5可以比含有试剂的衬垫厚很多。

[0049] 这样的衬垫有多种应用。它们可以通过放置在伤口上并覆盖一个适宜的黏合医用胶带层而简单地使用。它们也可以纳入预先制成的绷带或敷料。可选的,绷带或敷料配有一个小包,小包含有能反应生成NO的微囊化试剂。此外,试剂可以被附着至不同的材料层,然后组装在一起形成完整的绷带或敷料。

[0050] 图1所示其它结构的衬垫可以作为长期持久的抗菌擦拭布。这种衬垫可以改编尺寸,插入到循环障碍患者的服装如袜子或紧身裤。通过对材料边缘和包含颗粒的衬垫结构进行合适处理,衬垫本身也可以作为循环障碍患者的袜子、手套和其它服装的织物。这些服装可以通过来自患者皮肤的自然水分激活或通过添加的水分激活。

[0051] 本发明的另一个实施方式是图1C所示的层垫,所述垫层由上述含有微粒的衬垫、吸收层或渗透层5和位于它下面的不透水层6组成。这种吸收层垫适合于已经或正在开始发展成褥疮的患者。这类患者通过尿失禁和汗水,会产生适量的水分。水分将激活产生NO的衬垫,并且多余的水分会被衬垫下面的吸收层吸收。这样的安排将褥疮沐浴在NO中,一氧化氮刺激褥疮愈合,防止溃疡面积的进一步扩大。

[0052] 在不同的应用中,小剂量的NO局部应用到阴茎从而快速刺激雄性大鼠阴茎勃起已被证明是非常有效的(Han et al., Journal of Sexual Medicine 7(2010) 224)。本发明公开了用于人类的类似效果的NO的局部应用。目前性功能障碍的全身性药物有多种副作用,而且需要一段时间才能生效。就可控制性和没有发现的全身性副作用方面来说,需要这种速效、局部治疗的药物。产生NO的试剂可以放置在勃起组织的敷料上的干燥涂层。一个实施方式是用作男用或女用避孕套的内部敷料。将应用到勃起组织的敷料润湿从而激活所述试剂,延时释放NO。

[0053] 本发明的另一个实施方式,避孕套内表面涂有涂层,所述涂层包含有微囊化的试剂,当在水溶液中时,微囊化试剂相互反应产生NO。本实施方式的微粒尺寸范围可以是0.01到100微米,优选范围为1~10微米。较小的微粒尺寸有利于制备涂层时附着于避孕套内表面,NO释放的时间尺度为分钟,而不是小时。在采用这样的实施方式中,用户在戴上避孕套之前将一个含水化合物如K-Y胶状物(由McNEIL-PPC, Inc., Ft. Washington, PA生产)应用到勃起组织上。当微粒接触到含水化合物开始释放NO。释放的NO被限制在避孕套内直到其被勃起组织透皮吸收以刺激和延长勃起。

[0054] 本发明的另一个实施方式,是一种性唤起的凝胶试剂套装,包含一种类似K-Y胶状物的含水凝胶化合物包装和两种含微囊化试剂的防潮包装,所述试剂在水溶液中一起反应产生NO。使用前,打开包装混合微囊化试剂和含水凝胶,应用于男性/女性使用者的外生殖器,刺激其血液流动,从而促进阴茎和阴蒂勃起。这种套装可用于治疗性功能障碍,和提高男性和女性的性生活满意度。

[0055] 虽然没有人类的临床研究,但是对大鼠的研究表明,Seitz等(US Pat.No.6,103,275)所描述的凝胶组合物能够刺激毛发生长。众所周知,局部血管扩张药如米诺地尔可有效缓解人类的脱发和刺激头发生长,因此持久的低剂量NO(NO是一种有效的血管舒张剂)的局部应用很可能对脱发有治疗效果。因此,在这里所公开了另一个延时释放的应用在于缓解脱发和刺激头发再生的设备和组合物。一个具体的实施方式是由如图1所示材料组成的头形状的帽子,用于治疗脱发。将帽子制作成适合于在病人头部的秃头区域应用,用水湿润来激活它。

[0056] 下面结合具体实施例来进一步描述本发明,本发明的优点和特点将会随着描述更为清楚。但这些实施例仅是范例性的,并不对本发明的范围构成任何限制。本领域技术人员应该理解的是,在不偏离本发明的精神和范围下可以对本发明技术方案的细节和形式进行修改或替换,但这些修改和替换均落入本发明的保护范围内。

[0057] 本发明实施例中所用到的化学试剂均为分析纯,购自国药集团。为使本发明更加容易理解,下面结合具体实施例,进一步阐述本发明。本发明所述的实验方法,若无特殊说明,均为常规方法;所述的生物材料,若无特殊说明,均可从商业途径获得。

[0058] 实施例1菠菜萃取物的制备

### [0059] 1.1 菠菜的萃取

[0060] 将菠菜的可食用部分用自来水和去离子水清洗,晾干,剁成小块,取10g,放入大烧杯中,加50mL去离子水,用草酸调节提取液pH为3~4,研磨后,放到70℃水浴中孵育30min,萃取液过滤到100mL的容量瓶中,用去离子水定容至100mL,用草酸调节提取液pH为3~4,再浓缩至10mL左右,转移到250mL的烧杯中,加入5mL饱和硼砂溶液和100mL(70~80℃)热水,用草酸调节提取液pH为3~4,置沸水浴中,加热15min,并不断摇动,取出后冷至室温,再加入10mL亚铁氰化钾溶液、10mL乙酸锌溶液和2g活性炭粉,每次加后,均充分混匀,然后转移到250mL的容量瓶中,用草酸调节提取液pH为3~4,用水定容,过滤,得无色清亮的溶液。

[0061] 在提取过程进一步添加盐酸-L-半胱氨酸和焦亚硫酸钠能保证在提取过程中维C的活性,选择盐酸-L-半胱氨酸含量为0.1%,焦亚硫酸钠含量为0.2%。

### [0062] 1.2 硝酸盐的测定

[0063] 用分光光度法测定菠菜萃取物中亚硝酸盐和硝酸盐的含量,结果表明,菠菜萃取物中亚硝酸盐含量为 $5.017 \times 10^{-3}$ mg/ml;硝酸盐含量为0.236mg/ml。

[0064] 用分光光度法测定菠菜萃取物中维C的含量,结果表明,菠菜萃取物中维C含量为 $1.21 \times 10^{-2}$ mg/ml。

### [0065] 实施例2微囊化菠菜萃取物的制备

[0066] 浓缩实施例1制备的菠菜萃取物,通过喷雾干燥由菠菜萃取物、盐酸-L-半胱氨酸和焦亚硫酸钠(维C稳定剂)、玉米醇溶蛋白和挥发性溶剂组成的溶液来制备以玉米醇溶蛋白为基质的菠菜萃取物的微粒,其含有相当于10%(重量百分比)的亚硝酸盐。玉米醇溶蛋白是从玉米中获得的富含脯氨酸的蛋白质,作为包衣和封装的基质可用于加工食品和药品。它由美国食品药品监督管理局(FDA)列为一般公认安全(GRAS)。该溶液为10%的玉米醇溶蛋白(Flo Chemicals, 29Puffer St., Ashburnham, MA 01430 (Lot F40000111C6))分散在由乙醇:水(90:10)组成的混合物中。溶液中还含有稳定剂盐酸-L-半胱氨酸和焦亚硫酸钠(维C稳定剂),盐酸-L-半胱氨酸含量为0.1%,焦亚硫酸钠含量为0.2%,将该溶液分散到使用旋转盘雾化器的干燥器中,以这种方式形成的微粒直径范围在10至100微米之间,这些微粒包含菠菜萃取物分散于其中的玉米醇溶蛋白基质。玉米醇溶蛋白是不溶于水的,当微粒暴露于水时,水慢慢地扩散到玉米醇溶蛋白基质中溶解菠菜萃取物中亚硝酸钠和维C,含有亚硝酸钠的溶液慢慢地从颗粒中扩散出来,从而产生了较长时间的亚硝酸钠的持续释放。

### [0067] 实施例3微囊化菠菜萃取物和酸性微囊化粉末在溶液中NO的释放

[0068] 与实施例2相同的方式制备用柠檬酸、玉米醇溶蛋白和挥发性溶剂组成的溶液来制备以玉米醇溶蛋白为基质的酸性微囊化粉末。其含有相当于10%(重量百分比)的柠檬酸。

[0069] 烧杯中放置40毫升(40ml)的水,在其溶解上述制备的微囊化菠菜萃取物和酸性微囊化粉末各10mg,在指定的时间零时(0)加入到该溶液中,用配备amiNO-700探针的inNO-T的一氧化氮测量系统(Innovative Instruments, Inc., Tampa, FL 33637)检测溶液中的NO浓度,记录溶液中的NO含量,NO的产生从加入微粒后产生,约20分钟时,产生的NO从液体中形成,而后NO逐渐增加,大约在1小时达到峰值,然后逐渐减少。整个NO的释放时间维持5小时,所述NO源于从微囊化颗粒中散发的亚硝酸钠和酸按照前述反应式(1)-(3)所发生的反



应。NO的释放过程见图2。

[0070] 实施例4微囊化菠菜萃取物在溶液中NO的释放

[0071] 将实施例2中制备的微囊化菠菜萃取物微粒10毫克(10mg)置于一个容器中。将该混合物加入到含有40毫升去离子水的烧杯中,搅拌均匀。

[0072] 用配备amiNO-700探针的inNO-T的一氧化氮测量系统(Innovative Instruments, Inc., Tampa, FL 33637)检测溶液中的NO浓度, amino-700的探针针尖在指定的时间零时(0)加入到该溶液中,记录溶液中的NO含量,接下来记录NO信号,在前三个小时的监测中,能检出微弱的NO。

[0073] 实施例5微囊化菠菜萃取物和酸性微囊化粉末在糊剂中NO的释放

[0074] 本实施例意在模拟等量的微囊化菠菜萃取物和微囊化酸剂直接应用到患者体表时,NO的释放过程。

[0075] 将各10毫克微囊化菠菜萃取物微粒和酸性微囊化粉末,放置于一个有小褶皱的称量纸上。amino-700的探针针尖插入并完全由粉末混合物覆盖。用200 $\mu$ l的水溶解微粒并混合均匀,接下来记录NO信号,记录过程中,可以根据糊状系统干燥状态适时添加微量去离子水,在整个NO的释放中,从开始记录始,约1小时左右NO的释放达到相对较高的水平,而整个释放过程达10余小时之久。而该过程中NO的水平一直处于稳定而平稳的状态。NO的释放过程见图3。

[0076] 实施例6微囊化亚硝酸钠和酸性微囊化粉末在糊剂中NO的释放

[0077] 根据实施例2的微囊制备方法,通过喷雾干燥由亚硝酸钠、乙基纤维素和挥发性溶剂组成的溶液制备以乙基纤维素为基质的亚硝酸钠的颗粒(亚硝酸钠重量比10%)。

[0078] 将上述制备的10毫克微囊化亚硝酸钠微粒,放置于一个有小褶皱的称量纸上,用等量的实施例3制备的酸性微囊化粉末与微囊化亚硝酸钠混合均匀。amino-700的探针针尖插入并完全由粉末混合物覆盖。用200 $\mu$ l的水溶解微粒并混合均匀,接下来记录NO信号,记录过程中,可以根据糊状系统干燥状态适时添加微量去离子水,在整个NO的释放中,从开始记录始,约1小时左右NO的释放达到相对较高的水平,而整个释放过程达8小时。而该过程中NO的水平一直处于稳定而平稳的状态。整个NO释放过程见图4。

[0079] 实施例7微囊化菠菜萃取物和酸性微囊化粉末在糊剂中NO的释放

[0080] 本实施例意在模拟等量的微囊化菠菜萃取物和酸性微囊化粉末直接应用到患者体表时,NO的释放过程。在制备的酸性微囊化粉末中还额外添加有还原剂维C。

[0081] 与实施例2相同的方式制备用柠檬酸、还原剂、玉米醇溶蛋白和挥发性溶剂组成的溶液来制备以玉米醇溶蛋白为基质的酸性微囊化粉末。其含有相当于10%(重量百分比)的柠檬酸和5%(重量百分比)的维C。

[0082] 将各10毫克微囊化菠菜萃取物微粒和酸性微囊化粉末混合均匀,放置于一个有小褶皱的称量纸上。amino-700的探针针尖插入并完全由粉末混合物覆盖。用200 $\mu$ l的水溶解微粒并混合均匀,接下来记录NO信号,记录过程中,可以根据糊状系统干燥状态适时添加微量去离子水,在整个NO的释放中,从开始记录始,约40分钟左右NO的释放达到相对较高的水平,而整个释放过程达10余小时之久。而该过程中NO的水平一直处于稳定而平稳的状态。整个NO释放过程见图5。

[0083] 上述实验结果表明,本发明的微囊化菠菜萃取物能够较微囊化亚硝酸盐(微囊化

亚硝酸盐能维持8个小时的NO的释放)具有更长时间的NO释放时间,即便不在系统中额外添加还原剂成分,其也能在长达10小时的过程中维持NO生理有效浓度的释放,且该过程中NO的释放速率恒定。

[0084] 分析上述原因,可能是菠菜萃取物中的亚硝酸盐和维C的特定形态或与存在其他物质形成复合结构能维持NO的长时间的释放过程。

[0085] 以上所述仅是本发明的优选实施例而已,并非对本发明做任何形式上的限制,虽然本发明已以优选实施例揭露如上,然而并非用以限定本发明,任何熟悉本专业的技术人员,在不脱离本发明技术方案的范围内,当可利用上述揭示的技术内容作出些许更动或修饰为等同变化的等效实施例,但凡是未脱离本发明技术方案的内容,依据本发明的技术实质对以上实施例所作的任何简单修改、等同变化与修饰,均仍属于本发明技术方案的范围内。

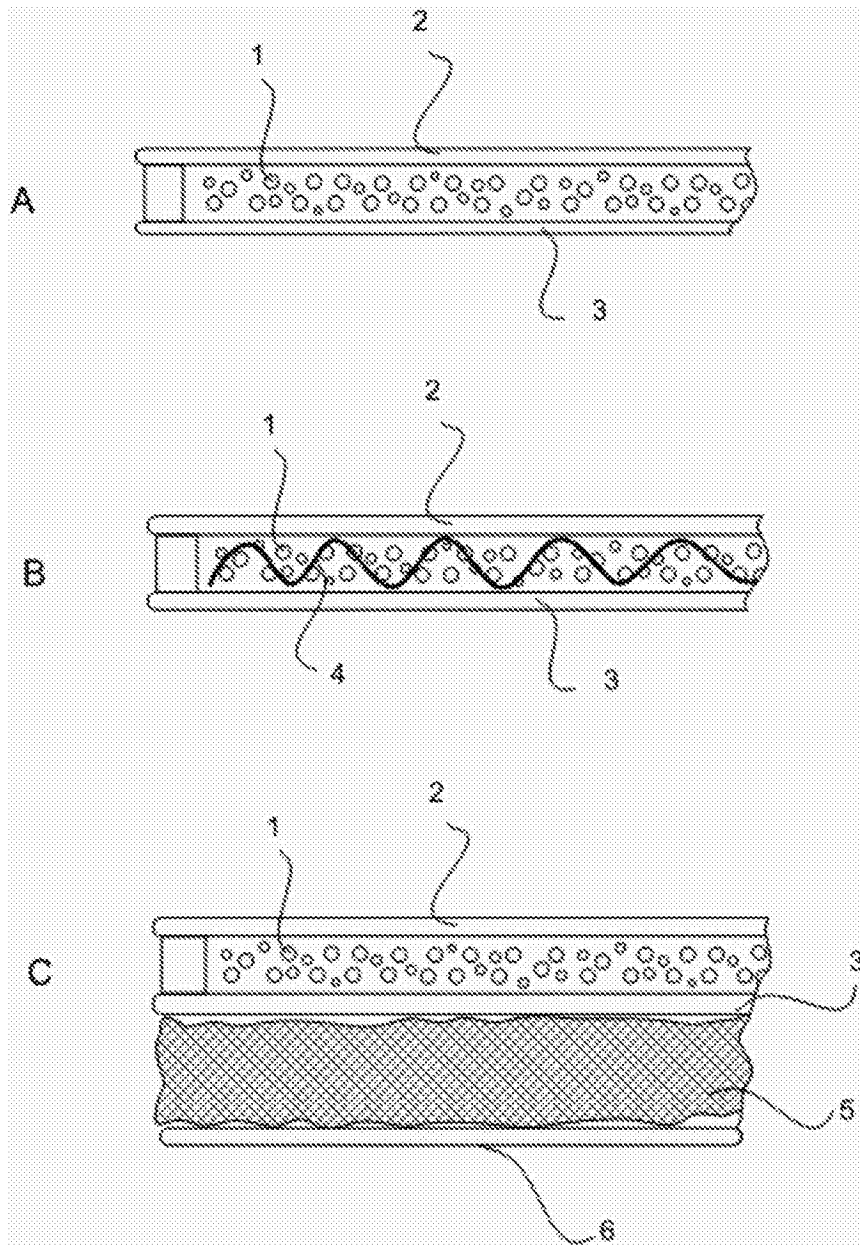


图1

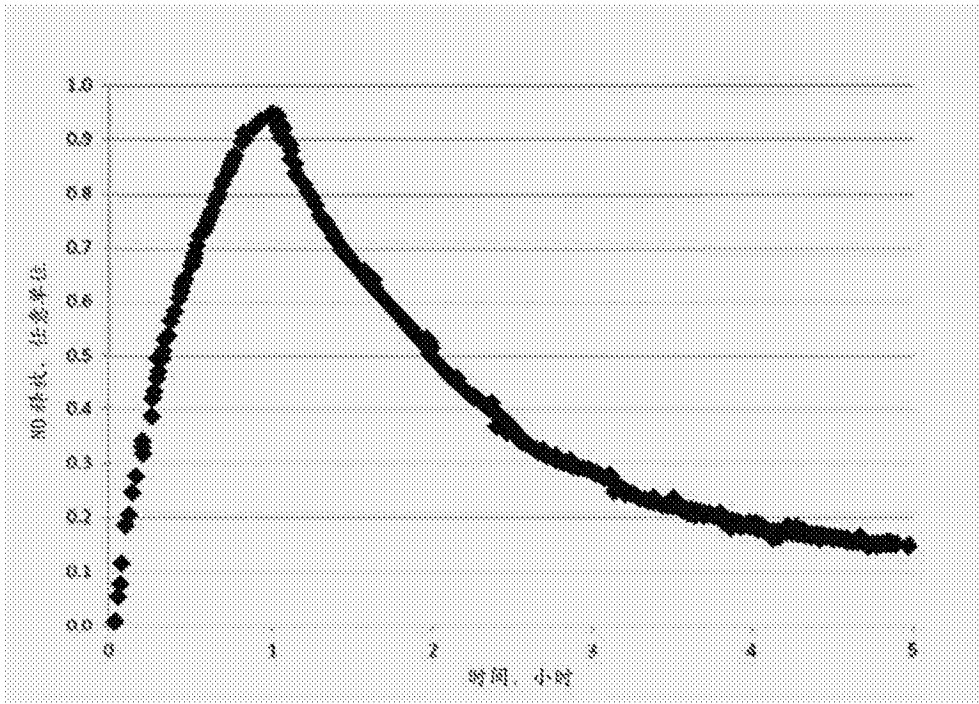


图2

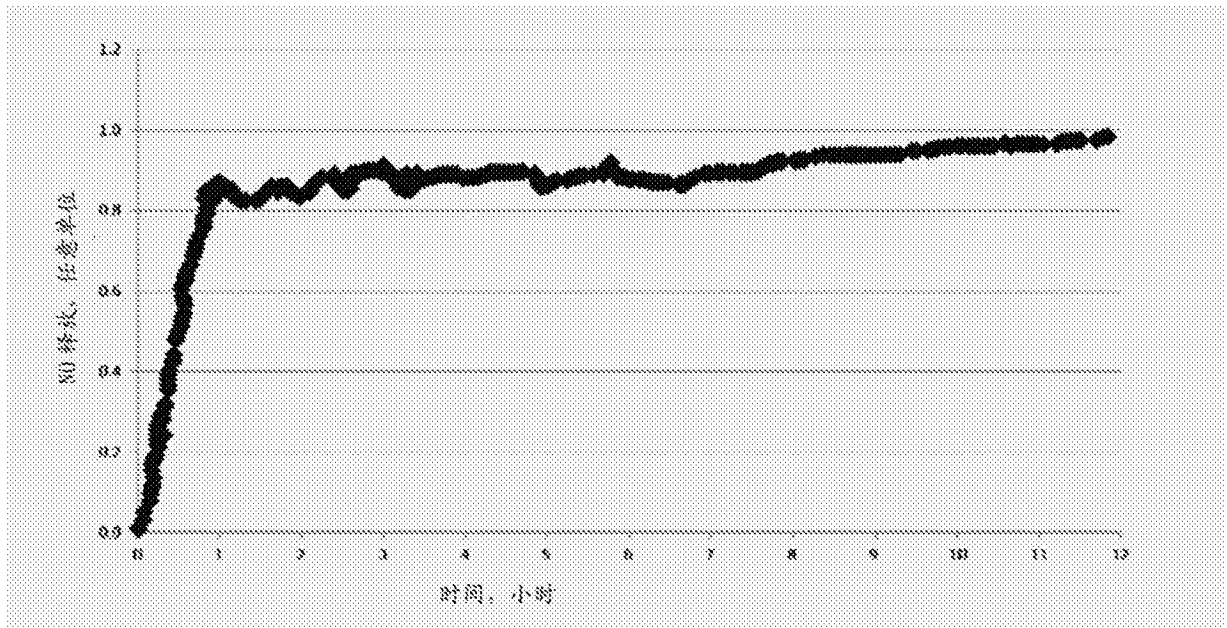


图3

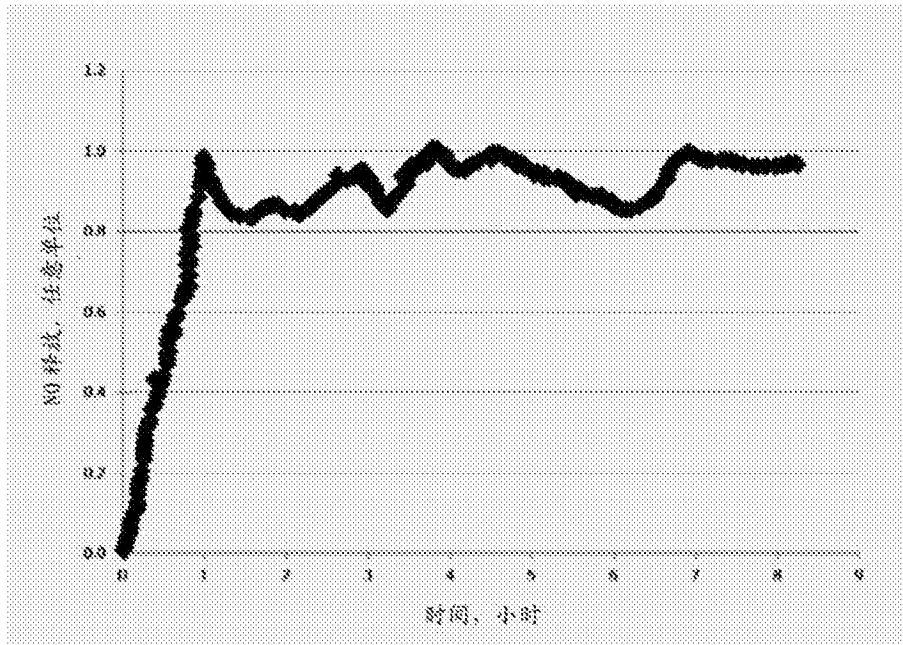


图4

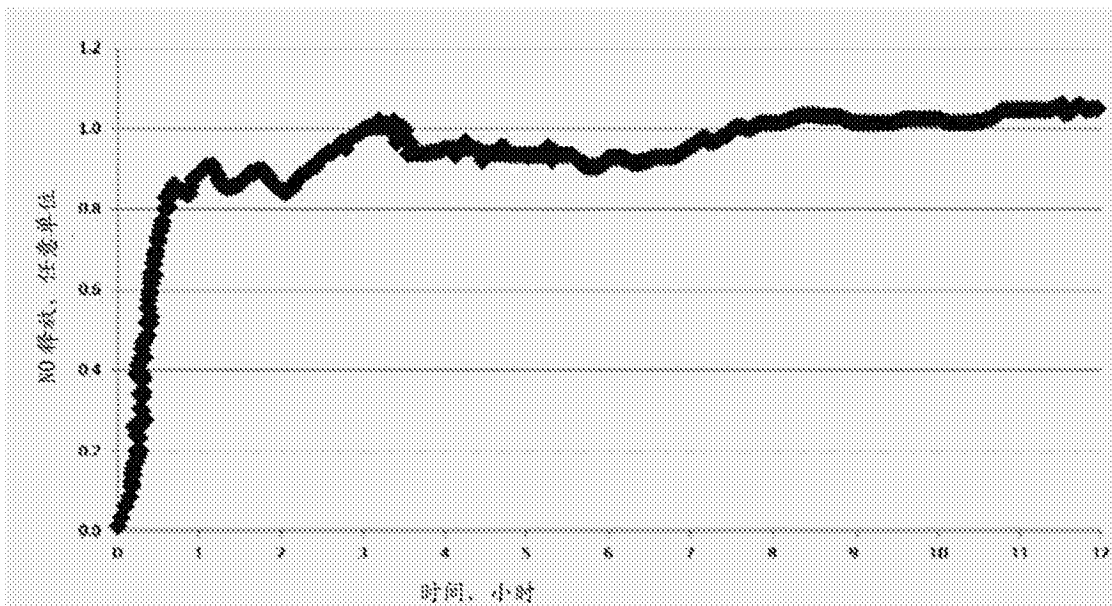


图5