

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200510020084.6

[51] Int. Cl.

A61K 33/06 (2006.01)

A61K 9/02 (2006.01)

A61K 9/06 (2006.01)

A61K 9/12 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61P 15/02 (2006.01)

[43] 公开日 2006 年 8 月 30 日

[11] 公开号 CN 1823816A

[51] Int. Cl. (续)

A61P 15/18 (2006.01)

[22] 申请日 2005.12.20

[21] 申请号 200510020084.6

[71] 申请人 武汉大学

地址 430072 湖北省武汉市武昌珞珈山

[72] 发明人 詹炳焱 洪 莉

[74] 专利代理机构 武汉天力专利事务所

代理人 程 祥 冯卫平

权利要求书 1 页 说明书 4 页

[54] 发明名称

白矾在制备治疗性传播疾病及避孕的阴道用
药物中的应用

[57] 摘要

本发明涉及白矾在制备治疗性传播疾病及避孕的阴道用药物的应用。同时提供一种治疗性传播疾病及避孕的阴道用栓剂，含有 0.2 – 1.0g 白矾、0.5 – 3.0g 半合成脂肪酸、0.1 – 0.9g 鱼肝油和 0.01 – 0.09g VitE。本发明：1. 有强的抑制淋球菌生长作用；2. 抑制滴虫活动；3. 对生殖器疱疹病毒 (HSV) 有预防感染和杀菌作用；4. 制止精子活动及破坏精子结构。将硫酸铝钾粉与半合成脂肪酸甘油醇、鱼肝油、维生素 E 在水溶上加热溶化，搅拌至 40℃ 左右倒入栓剂模具中，制成阴道栓。经豚鼠阴道试验，证实有预防和治疗生殖器疱疹病毒感染的作用。

-
1. 白矾在制备治疗性传播疾病及避孕的阴道用药物中的应用。
 2. 根据权利要求 1 所述的应用，其特征是：白矾作为有效成分用于制备栓剂、海绵剂、软膏剂、硬膏剂、涂摸剂或喷雾剂。
 3. 一种治疗性传播疾病及避孕的阴道用栓剂，其特征是：含有 0.2-1.0g 白矾、0.5-3.0g 半合成脂肪酸、0.1-0.9g 鱼肝油和 0.01-0.09 g VitE。

白矾在制备治疗性传播疾病及避孕的阴道用药物中的应用

所属技术领域

本发明涉及白矾在制备治疗性传播疾病及避孕的阴道用药物的应用。

背景技术

白矾 (potash alum, alumininm potassium sulphate) 是载入中华人民共和国药典的药物。白矾别名明矾、钾明矾, 它为硫酸盐类矿物明矾石加工提炼而成, 主含硫酸铝钾 $[\text{KAL}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}]$ 其中 K_2O 11.37%, Al_2O_3 36.9%, SO_2 38.66%, H_2O 13.05%, 为无色透明结晶, 易溶于水或甘油, 熔点为 105°C 。味酸、涩、性寒。功能与主治: 外用解毒, 燥湿止痒; 内服止血止泻, 祛痰开闭。用于湿疹、疥癣、耳耳流脓, 鼻衄齿衄、鼻息肉等。

性传播疾病是通过性行为传播的疾病, 它包括 20 多种性病。目前国内重点检测的 STD 为 8 种, 即: 淋病、非淋病性尿道炎、梅毒、尖锐湿疣、软性下疳、生殖器疱疹、性病性淋巴肉芽肿和艾滋病。STD 的发病率在全球乃至我国呈逐年上升趋势, 如何遏制其研究的热点课题。阴道避孕 (Vaginal contraception) 是人类控制生育方法之一。七十年代随着口服避孕药及宫内节育器相继发展和广泛应用, 从流行病学研究中发现, 由它们所引起的全身性副反应和使用禁忌症已日益引起人们的关注, 因而, 人们又开始转向安全性大, 副反应小的外用的避孕药。由于阴道是性生活、生殖受孕的通道, 所以经阴道用药是唯一可能达到预防 STD、阻断受孕的途径, 而目前国内外尚无理想的药物问世。硫酸铝钾阴道制剂可达到防治多种 STD 和抗生育的目的。

发明内容

本发明所要解决的问题是提供白矾的一种用途, 用白矾制备的阴道用药物可以治疗性传播疾病及避孕。

本发明提供的技术方案是: 白矾在制备治疗性传播疾病及避孕的阴道用药物中的应用。

本发明将白矾作为有效成分用于制备栓剂、海绵剂、软膏剂、硬膏剂、涂膜剂或喷雾剂。

本发明还提供了一种治疗性传播疾病及避孕的阴道用栓剂, 含有 0.2-1.0g 白矾、0.5-3.0g 半合成脂肪酸、0.1-0.9g 鱼肝油和 0.01-0.09 g VitE。

本发明为了研制出一种既能防治性传播疾病又有避孕作用的阴道制剂, 从近百种中西药物中筛选出中药白矾是一种理想的药物。它既是载入中国药典中的药物, 又是食品添加剂, 具有抗菌、凝固蛋白质和抗生育 (小鼠灌胃) 等作用。本发明采用白矾 (硫酸铝钾) 溶液进行体外试验, 证实: 1、有强的抑制淋球菌生长作用 ($\text{MIC}=4.5-6.0\text{g/L}$); 2、抑制滴虫活动; 3、对生殖器疱疹病毒 (HSV) 有预防感染作用。4、能使人精液迅速凝集, 制止精子活动及破坏精子结构, 阻止精子进入子宫内, 有避孕作用。制止精子活动。

具体实施方式

实施例 1: 用白矾制备治疗性传播疾病及避孕的阴道用药物: 将 3.0g 半合成脂肪酸甘油醇加热融化后加入 0.3g 鱼肝油、0.02g VitE 及 0.8g 白矾, 搅拌至 40℃左右倒入栓剂模具中, 放冷后刮模, 在 5℃条件下放置 19 分钟后脱模制得栓剂。

实施例 2: 用白矾制备治疗性传播疾病及避孕的阴道用药物: 白矾加入赋形剂, 按常规方法制成阴道喷雾剂。

实施例 3: 用白矾制备治疗性传播疾病及避孕的阴道用药物: 白矾加入赋形剂, 按常规方法制成阴道海绵剂。

实施例 3: 用白矾制备治疗性传播疾病及避孕的阴道用药物: 白矾加入赋形剂, 按常规方法制成阴道凝胶剂。

实施例 4: 将 0.6g 半合成脂肪酸甘油醇在水浴上加热融化后加入 0.9g 鱼肝油、0.09g VitE 及 0.3g 白矾, 搅拌至 40℃左右倒入栓剂模具中, 放冷后刮模, 在 10℃条件下放置 5 分钟后脱模制得栓剂。

一、白矾抗 HSV-2 的体内外实验研究

1. 实验材料

1.1 细胞病毒: HSV-2 标准株为武汉大学医学院病毒所保存, 在 vero 细胞内活化后备用。

1.2 细胞: vero 细胞为武汉大学医学院病毒所保存。细胞生长液为 10% 小血清 RPMI-1640、100U/ml 青霉素、100mg/L 链霉素, 细胞维持液除含 2% 小牛血清外, 其他成分同细胞生长液。

1.3 主要试剂: 小牛血清为 Gibco 公司产、RPM-1640 和 MTT 为 sigma 公司产品, 其他试剂为市售产品。

1.4 药物: 白矾微型阴道栓由硫酸钾液与栓剂基质液按不同比例充分混合 (37℃) 在特型模板上制成栓剂, 每粒药栓含生药分别为 0.1g、0.2g 或 0.4g, 基质对照栓仅含基质。

1.4 动物: 5 周龄 Havtley 雌性腺鼠体重 170~190g, 购于武汉生物制品研究所动物实验中心。

2. 实验方法:

2.1 白矾体外抗 HSV-2 感染作用

2.1.1 药物抗病毒生物合成作用 将 100TCID₅₀/ml 滴度的 HSV-2 加入单层 vero 细胞板中, 每孔 50ul, 37℃, 5%CO₂ 中吸附 2 小时。再将 6 种浓度硫酸钾液加入已换过液的细胞板中, 37℃, 5%CO₂ 中培养。逐日观察细胞病变 (CPE)。

2.1.2. 药物直接灭活病毒作用 将 100TCID₅₀/ml 滴度的 HSV-2 与不同浓度的硫酸钾液 37℃, 5%CO₂ 中作用 2 小时。然后将混合液接种于单层 vero 细胞中, 孵育 1.5 小时后用 2% 1640 培养液维持细胞生长, 逐日观察细胞病变

2.1.3 药物抗病毒吸附作用 将不同浓度的硫酸钾液加入细胞单层中, 37℃, 5%CO₂ 孵育 8 小时, 随后弃上清, 接种病毒, 逐日观察细胞病变。

2.2 白矾对豚鼠生殖器 HSV-2 感染的保护作用

动物在按体重分 4 组，每组 10 只，隔离饲养，实验开始日将含药量分别为 0.1g（小计量）、0.2g（中计量）及 0.4g（大计量）的药栓及其基质对照栓轻柔塞入不同组豚鼠阴道内，半小时后栓剂完全溶化后用微量加样器一次性阴道内接种病毒各 50ul，后逐日观察外生殖器的病变发展，病变程度及每 24h 阴道内病毒滴度测定。

3. 实验结果

3.1 白矾体外抗 HSV-2 感染作用的实验结果

3.1.1 药物抗 HSV-2 生物合成作用：HSV-2 对 vero 细胞 CPE 表现为细胞肿胀、变圆、有巨细胞和细胞融合。药物随着浓度的增加，CPE 降低，病毒抑制率升高，有量效关系。结果见表 1

表 1 药物抗 HSV-2 生物合成作用

药物剂量 (μl/ml)	625	500	375	250	125	67.5	ED50
细胞存活率 (%)	61.25	55	48.75	30	28.75	25	448.67

3.1.2 药物对 HSV 的直接灭活作用：灭活实验显示药物对 HSV-2 有直接灭活作用。结果见表 3

表 2 药物对 HSV 的直接灭活作用

药物剂量 (μl/ml)	750	625	500	375	250	125	ED50
细胞存活率 (%)	58.1	32.5	26.7	6.9	4.7	0	702.832

3.1.3 药物对 HSV-2 的拮抗作用

表 3 药物对 HSV-2 的拮抗作用

药物剂量 (μl/ml)	750	625	500	375	250	125	ED50
细胞存活率 (%)	61.9	41.7	33.8	5.9	0	0	1157.891

3.2 白矾体内抗 HSV-2 感染作用的动物室验结果

基质对照接种病毒为临床症状约 4~5 天出血，6~5 天病变最为明显最后结痂病自愈，病程 10~14 天，用药剂量组临床症状明显减轻，病程缩短，部分无症状，阴道取样病毒感染等浓度下降，大剂量组均无临床病状，每次阴道取样，在细胞培养均拔望病毒引起的空泡病变。

二、白矾排制淋球药浓试验

1. 标准株：使用淋菌标准株（A、B、C、D、E）及武汉地区株（由武汉市皮肤性病防治中心提供）

2. 实验方法及结果:

将淋球菌标准株接种于含有不同浓度药物的琼脂平皿上, 药物浓度小时细菌生长, 浓度大时细菌生长被抑制, 据此可测出药物对该菌的最小抑菌浓度 (MIC)。制备 T-M 培养基 25 个 (开标准株用)。制备含有 8、4、2、1、0.5g/L 药物浓度的培养基。基础为 T-M 培养基。开标准株 29402、29403、29404、29405 及地方株 2 株纯培养, 于 36℃CO₂ 培养 24 小时。用接种环刮下菌苔, 用 T-M 肉汤制成 $1 \times 10^7/\text{ml}$ (Mc Farland 管比浊) 的菌悬液。用特制接种环挑起菌液 (约 1~2 μl) 接种到含不同浓度药物的琼脂平皿上。放入 CO₂ 培养箱中以 35℃、5% 的 CO₂ 条件培养, 24 小时取出平皿, 以美国疾病控制中心 (center of disease control, CDC) 判断标准进行结果判断并计算最低抑菌浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC)

结果为 29402MIC6.5g/L、29403MIC5.0g/L、29404MIC5.0g/L、DFZ5MIC4.5g/L、DFZ6MIC6.0g/L。

三、硫酸铝钾溶液抑制阴道毛滴虫实验研究

使用临床获取的滴虫放入 diamonds 培养基, 并加入 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 放线菌酮抑制酵母菌及念珠菌的生长, 从而获得阴道毛滴虫的纯培养。置 37℃温箱培养 48 小时用无菌滴管渗入管底吸取 0.05ml, 分别滴入含硫酸铝钾浓度分别为 10%, 5%, 4%, 3%, 2% 的 Dulbecco's 磷酸缓冲液 (PBS) 试管及含 0.5% 的灭滴灵液试管种空白对照管中, 5 分钟时使用悬滴发用光学显微镜下观察滴虫的运动、纤毛的活动结果:

- + 2%浓度时滴虫有小块凝集团, 有部分游离, 向前运动, 纤毛活动
- ++ 3%-5%浓度时滴虫凝集团大小不等, 只能原地押运尾不能向前运动, 纤毛活动
- +++ 10%浓度时滴虫凝集团呈大块状, 无游离滴虫, 纤毛不活动

四、白矾体外排制精子活动实验及结果

采用 8 份健康成人精液 (精子计数大于 6×10^7 个/ml, 活动率大于 70%, 活力 II-III 度, 液化时间在 20 分钟以内, 畸形精子数小于 20%), 排精后半小时开始实验。分别滴入含硫酸铝钾浓度分别为 10%, 5%, 4%, 3%, 2% 的 Dulbecco's 磷酸缓冲液 (PBS) 试管及空白对照管中, 1 分钟时部用肉眼观察, 5 分钟时有光学显微镜下观察结果: 浓度达到 2% 时硫酸铝钾溶液对液化的精液有明显的凝集作用, 药物浓度与凝集程度呈正比, 肉眼与镜下观察的结果一致, 浓度达到 4% 时已见不到游离精子。而对照组无凝集现象。