



(21) 申请号 202310540333.2

(22) 申请日 2023.05.15

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 116270523 A

(43) 申请公布日 2023.06.23

(83) 生物保藏信息
CCTCC NO:M 20221759 2022.11.10

(73) 专利权人 四川厌氧生物科技有限责任公司
地址 610219 四川省成都市成都天府国际
生物城(双流区生物城中路二段18号)

(72) 发明人 彭飞 周佰慧 方溶熙 高翔

(51) Int. Cl.
A61K 9/48 (2006.01)
A61K 35/741 (2015.01)
A61K 47/44 (2017.01)
A61K 47/14 (2017.01)

(56) 对比文件

CA 3101218 A1, 2014.09.25
CN 102885799 A, 2013.01.23
CN 103689595 A, 2014.04.02
CN 109700781 A, 2019.05.03
CN 115251396 A, 2022.11.01
CN 116076731 A, 2023.05.09
EP 3836900 A1, 2021.06.23
US 2003194430 A1, 2003.10.16
US 5501857 A, 1996.03.26
WO 2016170139 A1, 2016.10.27
WO 2022271922 A1, 2022.12.29
US 2020188310 A1, 2020.06.18
王森;高东升;李焘;夏立臣;王雁萍.海藻酸钠-壳聚糖双层微胶囊包埋乳酸菌及其特性研究.饲料研究.2015,(第05期),全文.

审查员 鲁众阳

权利要求书1页 说明书9页

(54) 发明名称

一种耐酸的口服双层胶囊及其制备方法

(57) 摘要

本发明属于药物递送系统领域,具体涉及一种耐酸的口服双层胶囊及其制备方法。所述双层胶囊包括外胶囊和位于其内的内胶囊,所述外胶囊为肠溶胶囊,所述内胶囊内含酸敏感的药物活性成分,外胶囊和内胶囊之间填充药学上可接受的疏水酯类油或药学上可接受的吸水剂。本发明的双层胶囊能提升长期储存稳定性,改善耐酸效果,提高益生菌经胃酸作用后的存活率。

1. 一种耐酸的口服双层胶囊,所述双层胶囊包括外胶囊和位于其内的内胶囊,所述外胶囊为肠溶胶囊,所述内胶囊内含酸敏感的药物活性成分,其特征在于,外胶囊和内胶囊之间填充药学上可接受的吸水剂,所述药学上可接受的吸水剂选自微晶纤维素、明胶、黄原胶、海藻酸钠、无水磷酸钠、无水氯化镁、无水硫酸钠、无水醋酸钠、无水氯化钙中的一种或几种的组合,所述药物活性成分为益生菌。

2. 根据权利要求1所述的耐酸的口服双层胶囊,其特征在于,所述药学上可接受的吸水剂选自无水氯化钙。

3. 根据权利要求1所述的耐酸的口服双层胶囊,其特征在于,单个制剂中所述吸水剂的含量为50-500 mg。

4. 根据权利要求1所述的耐酸的口服双层胶囊,其特征在于,所述外胶囊为硬胶囊。

5. 根据权利要求1所述的耐酸的口服双层胶囊,其特征在于,所述内胶囊为并排设置的两个或两个以上的内胶囊。

6. 权利要求1-5任意一项所述的耐酸的口服双层胶囊的制备方法,包括向内胶囊装填药物活性成分,锁合,作为内胶囊;向外胶囊先装入药学上可接受的吸水剂,再将内胶囊装入外胶囊中,锁合即得。

一种耐酸的口服双层胶囊及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于药物递送系统领域,具体涉及一种耐酸的口服双层胶囊及其制备方法。

背景技术

[0002] 近年来,随着科研和应用的发展,益生菌类产品的作用越发受到人们的重视。益生菌类产品的功能不仅包括调理肠道功能,还具有其他潜在的治疗功能,而现在对益生菌治疗功能的研究也越来越多,益生菌市场尚有很广阔的发展空间。

[0003] 目前国内外已经开发出多种上市的益生菌类产品来维持肠道菌群的平衡。尽管益生菌类产品对人类的有益作用已经得到了确认,但是益生菌类药物抗逆性较差,在口服经过胃部时,容易受到低pH值和低氧化还原电位的伤害,而且益生菌产品通常以冻干菌粉为活性成分,对水也很敏感,遇水活化后耐性更差,这些综合因素使得极少的益生菌能活着达到肠道发挥作用。

[0004] 目前,为解决益生菌在胃酸恶劣环境下的稳定性问题,主要有以下几种方法:

[0005] 1. 菌种筛选:通过对益生菌菌种筛选,优选出耐酸性较好的菌株,然而同时兼具优良耐酸性和生物功能特性的菌株是可遇而不可求的,这种方式限制了新型功能菌株的应用;

[0006] 2. 代谢调控技术:激活耐酸等应激蛋白的表达,提高菌株抗环境应激能力,技术要求高且不稳定;

[0007] 3. 包埋技术:通过耐酸材料等对益生菌进行包埋,增加胃肠道稳定性,但其工艺较复杂,同时其释放可能存在问题;

[0008] 4. 肠溶胶囊技术:通过工业化的肠溶胶囊来装益生菌,从而实现肠道释放,但是肠溶胶囊对于酸敏感的益生菌的耐酸效果提升有限。

[0009] 双层胶囊是在一个较大的外层胶囊中再装一个内层小胶囊,早期主要用于在两个胶囊腔室中装载不同药物成分递送到所需部位,例如专利FR1454013A、FR2524311A、EP0116311A、EP0130163A中所公开的内容。在专利US5310555A中,双层胶囊技术被应用到家畜用微生物和营养补充剂的灌装,外层胶囊装营养补充剂,内层胶囊装微生物,营养补充剂分散到胃瘤中,会支持微生物细菌的快速生长,微生物和营养补充剂彼此分开有助于提高长期存储稳定性。这些双层胶囊关注的是将不宜混在一起的成分隔开,避免互相影响降低活性。

[0010] 在专利US7445795B中,还涉及将同一活性成分制备成不同的物理状态分别装在内外层胶囊中,外胶囊中液态的药物先释放,内胶囊中的固体药物后释放,实现控制释放和延迟释放的效果。Kanabar等人(*DUOCAP: THE CAPSULE IN CAPSULE TECHNOLOGY, Int. Res. J. Pharm. 2015, 6 (2)*)介绍了一种“胶囊中胶囊”的制剂,也是基于这种设计。

[0011] 但上述的双层胶囊都并不能完全阻止胃酸和水进入内层胶囊,无法有效提高益生菌到达肠道的存活率。

[0012] 近年来,益生菌领域开始尝试在益生菌制剂外增加防水、防酸涂层或包衣来提高耐酸性。例如,专利CN105228457A将益生菌颗粒包在防水、防潮湿渗透的内层,外部为热敏的包在内层外的外层。另外有专利CN112401245A采用益生菌包在海藻酸钠构成的囊材内层以及与内层通过静电作用结合的壳聚糖涂层构成的囊材外层,形成呈同心圆状的双层结构微胶囊。还有专利CN105120847A采用双层胶囊包衣的结构来包裹益生菌。这些技术对益生菌制剂抵抗胃肠道环境有一定的作用,但需要特殊材料进行包衣处理,成本较高,包衣工艺复杂,而且对酸敏感菌的耐酸效果提升有限。

[0013] 在专利W02022271922A1的实施例对比实验中,研究了多个不同材质组合的双层胶囊与单个耐酸胶囊、热敏胶囊对益生菌经过胃肠道后存活率的影响。根据其研究结果,不论是单层还是双层胶囊,当外胶囊为抗酸或含结冷胶的HPMC胶囊时,内含物的释放量都比较小,而在双层胶囊的外胶囊中填充油脂如甘油时,外胶囊的内含物释放则更少。进食状态下,采用外胶囊填充甘油,内胶囊填充益生菌的双层胶囊递送比单层热敏胶囊的存活率显著提高。由此,我们看到双层胶囊递送益生菌的潜力。

[0014] 但是,该专利仍然存在一些不足:1)样品E的双层胶囊在胃温育后并未比单层对照胶囊体现出优势,甚至比单层对照胶囊1效果差,可能是外胶囊采用HPMC capsule with gelling agent[®]的原因,这说明双层胶囊的效果仍然非常依赖外胶囊本身的材质特性;2)虽然双层胶囊B和C比单层胶囊显著提高了益生菌存活率,但是未考虑相对于初始胶囊的存活率提升情况。提高益生菌经胃酸后相对初始胶囊的存活率是益生菌递送制剂研发的最终目的。

发明内容

[0015] 本发明针对现有技术存在的不足,提供了一种工艺简单、成本低廉、耐酸效果优异的口服药物递送系统,该系统适合于各类酸敏感药物,尤其是益生菌类药物的口服递送。

[0016] 本发明的耐酸的口服双层胶囊,包括包括外胶囊和位于其内的内胶囊,所述外胶囊为肠溶胶囊,所述内胶囊内含酸敏感的药物活性成分,所述外胶囊和内胶囊之间填充药学上可接受的疏水酯类油或药学上可接受的吸水剂。

[0017] 在本发明中也将疏水酯类油称为隔水剂,在常温(15-30°C)下为液态。

[0018] 在本发明的一些实施方案中,所述药学上可接受的疏水酯类油选自大豆油、玉米油、中链甘油三酯、葵花籽油、单亚油酸甘油酯、聚甘油油酸酯、芝麻油、蓖麻油、肉桂油、棕榈油、薄荷油和油酸甘油酯等中的一种或几种的混合。

[0019] 在本发明的一些实施方案中,所述药学上可接受的疏水酯类油选自大豆油、玉米油、中链甘油三酯、葵花籽油、单亚油酸甘油酯和聚甘油油酸酯中的一种或几种的混合。

[0020] 在本发明的一些实施方案中,所述吸水剂是指药学上可以接受的、对水分具有吸附作用的物质,通常是固态的。

[0021] 吸水剂置于双层胶囊之间,避免与活性成分接触产生反应。吸水剂可以作为干燥剂吸收水分,提升长期储存中的药物活性。更重要的是,吸水剂可以有效地阻止消化道液体进入内层胶囊,提高活性成分特别是益生菌的耐酸效果和存活率。

[0022] 在本发明的一些实施方案中,所述药学上可接受的吸水剂选自无水氯化钙、无水醋酸钠、无水硫酸钠、无水硫酸镁、无水氯化镁、无水磷酸钠、海藻酸钠、黄原胶、明胶、微晶

纤维素、玉米淀粉、果糖中的一种或几种的组合。

[0023] 在本发明的一些实施方案中,疏水酯类油或吸水剂的含量根据内胶囊和外胶囊之间的容量进行选择,例如50-500 mg,或者100-400 mg,或者100-300 mg,或者100-250 mg,或者100-200 mg。在本发明的一些实施例种,采用100-200 mg。

[0024] 根据本发明的内容可知,本发明的耐酸的口服双层胶囊适合所有对酸敏感的需要递送到肠道的产品,例如对酸敏感的化合物、蛋白质、多肽、核酸或微生物。

[0025] 术语“酸敏感”是指在酸性(pH<7.0)条件下时,尤其是在胃的酸性条件下,例如pH为1.0-4.0之间时,发生化学的、物理的或生化的变化,如成盐、成酯、水解、降解、变性、失活等反应的特性,该特性会影响其原有药理、生理活性。

[0026] 术语“疏水”是指某一物质,在本发明中指酯类油,具有的与水互相排斥的物理性质。

[0027] 在本发明的一些实施方案中,所述酸敏感的药物活性成分为益生菌。为大家所知晓的,绝大多数的益生菌对酸是缺少耐受性的,这些益生菌包括但不限于酵母菌、另枝菌(*Alistipes*)、乳双歧杆菌(*Bifidobacterium lactis*)、干酪乳杆菌(*Lactocaseibacillus casei*)、狄氏副拟杆菌(*Parabacteroides distasonis*)、格氏乳球菌(*Lactococcus garvieae*)、普通居海事城球杆菌(*Phocaeicola vulgatus*)、德氏乳杆菌(*Lactobacillus delbrueckii*)、乳酸片球菌(*Pediococcus acidilactici*)、乳明串珠菌(*Leuconostoc lactis*)、碳链酶有益小杆菌(*Agathobaculum desmolans*)、哈氏梭菌(*Clostridium hathewayi*)、唾液乳杆菌(*Ligilactobacillus salivarius*)、屎肠球菌(*Enterococcus faecium*)、赫尔曼亚特兰大杆菌(*Atlantibacter hermannii*)、长双歧杆菌(*Bifidobacterium longum*)、两歧双歧杆菌(*Bifidobacterium bifidum*)、鸟肠球菌(*Enterococcus avium*)、发酵乳杆菌(*Limosilactobacillus fermentum*)、狄氏副拟杆菌(*Parabacteroides distasonis*)、耐久肠球菌(*Enterococcus durans*)、植物乳杆菌(*Lactiplantibacillus plantarum*)、芬氏别样杆菌(*Alistipes finegoldii*)等。

[0028] 另外,为大家广泛知晓的是,益生菌产品通常是制备成冻干菌粉后再制备成直接使用的制剂。将菌粉冻干也是提高菌类存活率的有效手段,而遇水会破坏这种有效状态,缩短存储时间,降低存活率。因此,针对益生菌的递送系统,其要求是更高的。我们在实验过程中也发现,虽然所有的双层胶囊对外胶囊和内胶囊中的物质外漏有很好的限制作用,但是外部水仍然可能通过胶囊材质渗入胶囊内影响益生菌或敏感药物的活性。因此,能够同时耐受胃酸和水的侵蚀的双层胶囊才是优选的。

[0029] 在本发明的一些实施方案中,所述内胶囊可以是肠溶胶囊或非肠溶胶囊。

[0030] 在本发明的一些实施方案中,所述外胶囊为硬胶囊。所述内胶囊可以是硬胶囊或软胶囊。

[0031] 外胶囊和内胶囊都可以独立地由例如明胶、增塑明胶、羟丙基甲基纤维素(HPMC)、淀粉、海藻酸钠或琼脂等材料构成。

[0032] 内胶囊和外胶囊都可以独立地是涂层的或未涂层的,包衣的或未包衣的。

[0033] 内胶囊和外胶囊各自独立地在它们的囊体和囊帽之间可以采用简单锁合方式或者密闭性更高的锁合后进一步包衣密封方式。在本发明的一些实施方案中,采用的是简单锁合方式。

[0034] 本发明的耐酸的口服双层胶囊还包括在外胶囊外进一步包括第二外胶囊的形式。

[0035] 本发明的耐酸的口服双层胶囊还包括所述内胶囊为并排设置的两个或两个以上内胶囊的形式。在这种递送系统下,每个内胶囊可以独立地含有不同的活性成分,例如不同种益生菌。

[0036] 本发明还提供了前述任一技术方案所述的耐酸的口服双层胶囊在制备肠道靶向药物中的用途,所述药物包含酸敏感的药物活性成分。优选所述药物活性成分为活体微生物,更具体地,所述活体微生物为益生菌。

[0037] 本发明还提供了前述任一技术方案所述的耐酸的口服双层胶囊的制备方法,包括向内胶囊装填药物活性成分,如益生菌菌粉,锁合,作为内胶囊;向外胶囊先装入药学上可接受的疏水酯类油或药学上可接受的吸水剂,再将内胶囊装入外胶囊中,锁合即得。

[0038] 本发明的有益效果:

[0039] 本发明提供的填充有疏水酯类油或吸水剂的双层胶囊技术,外层肠溶胶囊可以使酸敏感活性成分初步耐酸,疏水酯类油或吸水剂可以充分隔绝活性成分和外部酸性含水环境。对酸敏感药物,特别是对酸和水敏感的益生菌,填充疏水酯类油的双层胶囊在模拟胃酸液处理2 h后活菌率可达到约70%及以上,填充吸水剂的双层胶囊的活菌率可达到55%以上,相比无填充剂或其他类型填充剂的技术,可以增加活菌率约1倍以上。

具体实施方式

[0040] 下面将对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述。显然,所描述的实施例仅仅是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例,基于本发明中的实施例,本领域技术人员在没有做出创造性劳动的前提下所获得的所有其它实施例,均应属于本发明保护的范围。

[0041] 未特殊说明时,本发明实施例所用材料都可以通过常规商业渠道获得,例如美国模式菌种收集中心(ATCC)、中国医学细菌保藏管理中心(CMCC)、中国普通微生物菌种保藏管理中心(CGMCC)、中国工业微生物菌种保藏管理中心(CICC)、苏州胶囊有限公司、安徽黄山胶囊股份有限公司、青岛益青生物科技股份有限公司、广东强基药业有限公司、绍兴康可胶囊有限公司、江苏力凡胶囊有限公司、浙江弘康胶囊有限公司、重庆衡生药用胶囊有限公司、成都奥康药用胶囊有限公司、重庆衡生药用胶囊有限公司等。

[0042] 菌株保藏信息:

[0043] 芬氏别样杆菌(*Alistipes finegoldii*) Afine-1 保藏于中国典型培养物保藏中心CCTCC,保藏日期:2022年11月10日,保藏编号为CCTCC NO:M 20221759。

实施例1

[0044] 芬氏别样杆菌(*Alistipes finegoldii*) Afine-1菌粉的制备

[0045] 菌种(保藏号:CCTCC NO:M 20221759)为本公司从健康人体粪便中筛选获得,可通过培养、离心或过滤等手段进行纯化浓缩。得菌泥浓缩液,活菌数在 1×10^7 - 1×10^{11} CFU/mL。然后将菌泥浓缩液加入冻干保护剂(蔗糖 120 g/L,山梨醇 40 g/L,精氨酸盐酸 40 g/L,维生素C钠 40 g/L)至菌泥浓缩液体积的2.5倍,搅拌均匀。将菌悬液倒入冻干盘中,板层降温至-40℃,待预冻2h以上,然后真空度 0.1mbar下抽真空,再按照以下程序进行干燥:

温度℃	升温时间min	持续时间min	真空度mbar
-30	60	1800	0.1
15	300	90	0.1
25	60	120	0.1
25	1	90	0.0

[0046] 将冻干完成后的冻干盘取出,在环境湿度<30%的环境中;碾碎菌饼并过40目筛获得菌粉。

[0047] 含隔水剂的双层胶囊的制备

[0048] (1)将2号明胶胶囊装填菌粉,锁合囊体囊帽,作为内胶囊;

[0049] (2)将0号肠溶明胶胶囊囊体部分先加入大豆油 150 mg,再将上述装有菌粉的2号胶囊装入0号胶囊囊体,再锁合囊体囊帽即得。

[0050] 对比例1

[0051] 采用如实施例1的菌株和方法,但不填充隔水剂(空白填充)制得的胶囊作为对照胶囊。

[0052] 实施例2

[0053] 芬氏别样杆菌菌粉的制备同实施例1。

[0054] 含隔水剂的双层胶囊的制备

[0055] (1)将2号HPMC胶囊手动装填菌粉,锁合囊体囊帽,作为内胶囊;

[0056] (2)将0号肠溶明胶胶囊囊体部分先装入玉米油150 mg,再将上述装有菌粉的2号胶囊装入0号胶囊囊体,再锁合囊体囊帽即得。

[0057] 对比例2

[0058] 采用如实施例2的菌株和方法,但不填充隔水剂(空白填充)制得的胶囊作为对照胶囊。

[0059] 实施例3

[0060] 芬氏别样杆菌菌粉的制备同实施例1。

[0061] 含隔水剂的双层胶囊的制备

[0062] (1)将2号HPMC胶囊装填菌粉,锁合囊体囊帽,作为内胶囊;

[0063] (2)将0号肠溶明胶胶囊囊体部分先装入中链甘油三酯150 mg,再将上述装有菌粉的2号胶囊装入0号胶囊囊体,再锁合囊体囊帽即得。

[0064] 实施例4

[0065] 芬氏别样杆菌菌粉的制备同实施例1。

[0066] 含隔水剂的双层胶囊的制备

[0067] (1)将2号明胶胶囊装填菌粉,锁合囊体囊帽,作为内胶囊;

[0068] (2)将0号肠溶明胶胶囊囊体部分先加入葵花籽油150 mg,再将上述装有菌粉的2号胶囊装入0号胶囊囊体,再锁合囊体囊帽即得。

[0069] 实施例5

[0070] 芬氏别样杆菌菌粉的制备同实施例1。

[0071] 含隔水剂的双层胶囊的制备

[0072] (1)将2号HPMC胶囊装填菌粉,锁合囊体囊帽,作为内胶囊;

[0073] (2)将0号肠溶明胶胶囊囊体部分先装入单亚油酸甘油酯150 mg,再将上述装有菌粉的2号胶囊装入0号胶囊囊体,再锁合囊体囊帽即得。

[0074] 实施例6

[0075] 芬氏别样杆菌菌粉的制备同实施例1。

[0076] 含隔水剂的双层胶囊的制备

[0077] (1)将2号HPMC胶囊装填菌粉,锁合囊体囊帽,作为内胶囊;

[0078] (2)将0号肠溶明胶胶囊囊体部分先装入聚甘油油酸酯150 mg,再将上述装有菌粉的2号胶囊装入0号胶囊囊体,再锁合囊体囊帽即得。

[0079] 实施例7

[0080] 芬氏别样杆菌菌粉的制备同实施例1。

[0081] 含吸水剂的双层胶囊的制备

[0082] (1)将2号明胶胶囊装填菌粉,锁合囊体囊帽,作为内胶囊;

[0083] (2)将0号肠溶明胶胶囊囊体部分先装入无水氯化钙150 mg,再将步骤(1)中装有菌粉的2号胶囊装入0号胶囊囊体,锁合囊体囊帽即得。

[0084] 实施例8

[0085] 芬氏别样杆菌菌粉的制备同实施例1。

[0086] 含吸水剂的双层胶囊的制备

[0087] (1)将2号HPMC胶囊装填菌粉,锁合囊体囊帽,作为内胶囊;

[0088] (2)将0号肠溶明胶胶囊囊体部分先装入无水醋酸钠150 mg,再将步骤(1)装有菌粉的2号胶囊装入0号胶囊囊体,锁合囊体囊帽即得。

[0089] 实施例9

[0090] 芬氏别样杆菌菌粉的制备同实施例1。

[0091] 含吸水剂的双层胶囊的制备

[0092] (1)将2号HPMC胶囊装填菌粉,锁合囊体囊帽,作为内胶囊;

[0093] (2)将0号肠溶明胶胶囊囊体部分先装入无水硫酸钠150 mg,再将步骤(1)装有菌粉的2号胶囊装入0号胶囊囊体,锁合囊体囊帽即得。

[0094] 实施例10

[0095] 芬氏别样杆菌菌粉的制备同实施例1。

[0096] 含吸水剂的双层胶囊的制备

[0097] (1)将2号HPMC胶囊装填菌粉,锁合囊体囊帽,作为内胶囊;

[0098] (2)将0号肠溶明胶胶囊囊体部分先装入无水氯化镁150 mg,再将步骤(1)装有菌粉的2号胶囊装入0号胶囊囊体,锁合囊体囊帽即得。

[0099] 实施例11

[0100] 芬氏别样杆菌菌粉的制备同实施例1。

[0101] 含吸水剂的双层胶囊的制备

[0102] (1)将2号HPMC胶囊装填菌粉,锁合囊体囊帽,作为内胶囊;

[0103] (2)将0号肠溶明胶胶囊囊体部分先装入无水磷酸钠150 mg,再将步骤(1)装有菌粉的2号胶囊装入0号胶囊囊体,锁合囊体囊帽即得。

[0104] 实施例12

- [0105] 芬氏别样杆菌菌粉的制备同实施例1。
- [0106] 含吸水剂的双层胶囊的制备
- [0107] (1) 将2号明胶胶囊装填菌粉,锁合囊体囊帽,作为内胶囊;
- [0108] (2) 将0号肠溶明胶胶囊囊体部分先装海藻酸钠150 mg,再将步骤(1)装有菌粉的2号胶囊装入0号胶囊囊体,锁合囊体囊帽即得。
- [0109] 实施例13
- [0110] 芬氏别样杆菌菌粉的制备同实施例1。
- [0111] 含吸水剂的双层胶囊的制备
- [0112] (1) 将2号HPMC胶囊装填菌粉,锁合囊体囊帽,作为内胶囊;
- [0113] (2) 将0号肠溶HPMC胶囊囊体部分先装黄原胶150 mg,再将步骤(1)装有菌粉的2号胶囊装入0号胶囊囊体,锁合囊体囊帽即得。
- [0114] 实施例14
- [0115] 芬氏别样杆菌菌粉的制备同实施例1。
- [0116] 含吸水剂的双层胶囊的制备
- [0117] (1) 将2号HPMC胶囊装填菌粉,锁合囊体囊帽,作为内胶囊;
- [0118] (2) 将0号肠溶明胶胶囊囊体部分先装明胶(240 g Bloom)150 mg,再将步骤(1)装有菌粉的2号胶囊装入0号胶囊囊体,锁合囊体囊帽即得。
- [0119] 实施例15
- [0120] 芬氏别样杆菌菌粉的制备同实施例1。
- [0121] 含吸水剂的双层胶囊的制备
- [0122] (1) 将2号明胶胶囊装填菌粉,锁合囊体囊帽,作为内胶囊;
- [0123] (2) 将0号肠溶明胶胶囊囊体部分先装微晶纤维素150 mg,再将步骤(1)装有菌粉的2号胶囊装入0号胶囊囊体,锁合囊体囊帽即得。
- [0124] 实施例16
- [0125] 芬氏别样杆菌菌粉的制备见实施例1。
- [0126] 含抗酸剂的双层胶囊的制备
- [0127] (1) 将2号明胶胶囊装填菌粉,锁合囊体囊帽,作为内胶囊;
- [0128] (2) 将0号肠溶明胶胶囊体部分先装入药理学常用抗酸剂氧化镁150 mg,再将步骤(1)装有菌粉的2号胶囊装入0号胶囊囊体,锁合囊体囊帽即得。
- [0129] 实施例17
- [0130] 芬氏别样杆菌菌粉的制备同实施例1。
- [0131] 含抗酸剂的双层胶囊的制备
- [0132] (1) 将2号明胶胶囊装填菌粉,锁合囊体囊帽,作为内胶囊;
- [0133] (2) 将0号肠溶明胶胶囊囊体部分先装入药理学常用抗酸剂氢氧化铝150 mg,再将步骤(1)装有菌粉的2号胶囊装入0号胶囊囊体,锁合囊体囊帽即得。
- [0134] 实施例18
- [0135] 含甘油的双层胶囊的制备
- [0136] 芬氏别样杆菌菌粉见实施例1。
- [0137] (1) 将2号明胶胶囊装填菌粉,锁合囊体囊帽,作为内胶囊;

[0138] (2)将0号肠溶明胶胶囊囊体部分先加入甘油 150 mg,再将上述装有菌粉的2号胶囊装入0号胶囊囊体,再锁合囊体囊帽即得。

[0139] 试验例

[0140] 三混培养基(BHI+MRS+改良GAM)的配制:称取BHI肉汤粉末(青岛海博生物技术有限公司,HB8297-5)19.25 g,MRS肉汤粉末(广东环凯生物科技有限公司,027312)13.5 g,改良GAM肉汤粉末(青岛海博生物技术有限公司,HB8518-3)15 g(配置三混固体培养基时再加入琼脂粉12 g),溶解于1 L的蒸馏水中, N_2 置换除氧并分装,121℃高温湿热灭菌30 min,阴凉、干燥处存放。

[0141] 耐酸试验:将胶囊分别置于沉降篮中,放入250 mL pH为1.2的盐酸溶液中,再置于恒温摇床,100 rpm,37℃震荡2 h,之后取出菌粉内容物称重,在厌氧手套箱内将96孔板内每孔布入180 μ L无氧PBS缓冲液。菌粉样品传入厌氧手套箱内,加入1mL无氧PBS缓冲液,立即在自动漩涡混合器上快速溶样(2000 rpm,1min)。将完成溶解的样品按顺序吸取200 μ L到96孔板中进行稀释。取终浓度的稀释菌液100 μ L于平皿中,半小内倒入12 mL左右的上述三混培养基,摇匀;平皿静置凝固。平皿于37℃条件下,倒置于乐扣盒中加入厌氧袋密封培养36-48h。用平板菌落计数仪进行计数,并计算活菌含量。

[0142] 活菌含量(cfu/g)= 平均菌落数*稀释倍数*(5+内容物重量)/ 0.1 /内容物重量。

[0143] 耐酸存活率(%)=耐酸试验样本的活菌含量/未经耐酸试验样本的活菌含量*100。

[0144] 实施例1-18及对比例1-2的存活率结果如表1所示。

[0145] 表1 不同双层胶囊耐酸后平均存活率

[0146]

实施例	耐酸后平均存活率(%)
实施例1	83.9
实施例2	72.2
实施例3	75.6
实施例4	79.1
实施例5	69.6
实施例6	93.1
实施例7	85.7
实施例8	69.3
实施例9	63.9
实施例10	62.3
实施例11	55.6
实施例12	77.9
实施例13	74.5
实施例14	72.3
实施例15	73.1
实施例16	33.6
实施例17	28.6
实施例18	30.4
对比例1	26.6

对比例2	21.8
------	------

[0147] 实施例1-6填充疏水酯类油的益生菌胶囊的耐酸存活率约为70%及以上,实施例1和6的耐酸存活率可达到80%以上。实施例7-15填充吸水剂的双层胶囊,益生菌的耐酸存活率达到55%以上。而没有任何填充剂的对比例1-2的耐酸存活率仅分别为26.6%和21.8%。双层胶囊间填充抗酸剂和甘油也能提高耐酸活性,实施例16、17和18的耐酸存活率分别为33.6%、28.6%和30.4%。

[0148] 填充甘油的实施例18效果不如疏水酯类油,推测这种效果差异的原因是甘油具有亲水性,水分子进入外胶囊后可扩散至内胶囊内。填充抗酸剂的设计是希望通过抗酸剂中和进入外胶囊层的酸性物质,避免其进入内层胶囊,但效果不显著。吸水剂优于抗酸剂的原因可能是抗酸剂不能有效阻止水分的渗入,而益生菌对酸和水都是高敏感的,吸水剂能吸附渗入的少量水,酸性物质无法脱离载体水跨过物理隔离进入内层胶囊。

[0149] 根据上述实施例和对比例的结果可以看出,本发明的双层胶囊对益生菌耐酸活性具有显著的提高。