



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109010363 A

(43)申请公布日 2018.12.18

(21)申请号 201710427000.3

(22)申请日 2017.06.08

(71)申请人 卢海元

地址 100716 北京市东城区和平里中街12号

(72)发明人 卢海元

(51)Int.Cl.

A61K 33/20(2006.01)

A61K 9/00(2006.01)

A61K 47/02(2006.01)

A61P 31/18(2006.01)

权利要求书1页 说明书6页

(54)发明名称

一种艾滋病病毒分子靶向免疫氧疗药物及其制备方法

(57)摘要

一种艾滋病病毒分子靶向免疫氧疗药物及其制备方法,本发明涉及亚氯酸钠或亚氯酸钾在制备治疗HIV感染和/或艾滋病的药物中的用途,其中亚氯酸钠或者亚氯酸钾的浓度(重量百分比)为0.0015%至0.5%。本发明还涉及一种药物组合物及其在制备治疗HIV感染和/或艾滋病的药物中的用途,按照重量百分比计制备所述药物组合物的原料包含2-10%亚氯酸钠或亚氯酸钾、2-10%碳酸氢钠或碳酸氢钾、0.2-5%碳酸钠或碳酸钾、双氧水0.3-1.5%,去离子水95-73.5%。在用本发明药物组合物可以清除艾滋病等病毒,功能性治愈艾滋病,治疗期间患者的饮食、睡眠、体重、体力、精神均明显好转,生活质量全面提高,恢复了正常的生活和工作。

1. 亚氯酸钠或亚氯酸钾在制备治疗HIV感染和/或艾滋病的药物中的用途。
2. 权利要求1所述的用途,其中所述药物中亚氯酸钠或者亚氯酸钾的浓度(重量百分比)为0.0015%至0.5%。
3. 权利要求1或2所述的用途,其中所述药物中含有碳酸氢钠和碳酸钠。
4. 权利要求1或2所述的用途,其中所述药物中含有碳酸氢钾和碳酸钾。
5. 一种药物组合物,其中所述组合物各组分的重量百分比为:

亚氯酸钠或亚氯酸钾	2-10%
碳酸氢钠或碳酸氢钾	2-10%
碳酸钠或碳酸钾	0.2-5%
双氧水	0.3-1.5%
去离子水	95-73.5%。
6. 权利要求5所述的药物组合物在制备治疗HIV感染和/或艾滋病的药物中的用途。

## 一种艾滋病病毒分子靶向免疫氧疗药物及其制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种艾滋病病毒等病原体分子靶向免疫氧疗药物及其制备和使用方法,属于医药技术领域。

### 背景技术

[0002] 氧对于人、动物和植物的重要性不言而喻,它是生命的第一要素,是分秒不可离的健康最重要的基石。但是却没有成功研究如何通过补氧,利用其在体内产生的负氧离子和电子受体等,额外提高人体的氧化能力、血液的携氧能力、氧的利用能力、氧的耐受力,制备可以杀灭艾滋病病毒、细菌、寄生虫、癌细胞,提高人体免疫力,使受损细胞修复和再生的药物。

[0003] 关于病毒所导致的疾病,早在公元前二至三个世纪的印度和中国就有了关于天花的记录。但直到19世纪末,病毒才开始逐渐得以发现和鉴定。目前尚无能杀灭病毒的药物,只能抑制病毒复制。因此,一停药病毒易反复。长期用药,病毒又易变异,产生抗药性,并且往往产生不同程度的毒副作用,甚至危及生命。抗生素虽然能抑制、杀灭细菌,但细菌与病毒一样,长期用药,细菌容易变异,产生抗药性,不同程度存在毒副作用。

[0004] 病毒、细菌、寄生虫、癌细胞一旦侵入人体,首先会抑制、破坏人体的免疫系统,降低个人的免疫功能和抗病毒细菌能力,使自身丧失消除艾滋病、乙肝等病毒细菌寄生虫和癌细胞的能力、导致人体器官、组织的纤维化和病变,甚至是癌变形成肿瘤。

[0005] 人体处于健康状态时,体内的一种T细胞能够识别被病毒核酸镶嵌的体细胞,并把它当做“异己”,分泌信息物质启动细胞程序性死亡,降解感染细胞的遗传物质,从而将病毒的DNA等降解。

[0006] 目前的主流观点认为,艾滋病(acquired immunodeficiency syndrome,AIDS)即获得性免疫缺陷综合征,是由人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus,HIV)引起的一种严重传染病。HIV是一种能攻击人体免疫系统的病毒。它把人体免疫系统中最重要CD4+T淋巴细胞作为攻击目标,大量吞噬、破坏CD4+T淋巴细胞,从而破坏人的免疫系统,最终使免疫系统崩溃,使人体因丧失对各种疾病的抵抗能力而发病并死亡。

[0007] 高效抗逆转录病毒治疗(鸡尾酒疗法,Highly Active Antiretroviral Therapy,HAART)是目前公认的治疗艾滋病最有效的方法,采用齐多夫定(AZT)等多种抗逆转录病毒药物联用,治疗目标是最大限度地抑制病毒的复制,保存和恢复免疫功能,降低病死率和HIV相关性疾病的发病率,提高患者的生活质量,减少艾滋病的传播。但是,目前我国抗病毒治疗面临的主要挑战有:1.HAART虽然能够抑制病毒大量复制,但是不能够彻底清除潜伏病毒库内的病毒,是目前不能完全治愈艾滋病的瓶颈;2.临床研究发现,HAART可以显著降低HIV/AIDS患者的病毒复制,提高CD4+T淋巴细胞的数量,重建患者免疫功能,但仍有部分患者在病毒抑制的情况下不能取得良好的免疫重建,发生免疫重建不良现象。免疫重建不良者容易发生机会性感染,长期发病率和病死率也较高。此外,与AIDS相关的疾病和死亡,免疫重建不良者发生非艾滋相关疾病和死亡的概率也较高。研究证实,低CD4+T细胞计数可增

加心血管疾病的发病率和病死率,还与AIDS相关或非相关的肿瘤以及HIV相关的神经认知疾病的发生密切相关。因此,免疫重建不良者应该引起临床工作者的高度重视。3.抗病毒药物需要每天大量服用,并且具有明显的毒副作用,影响了患者服药的依从性,这是最终导致抗病毒失败的原因之一;4.可提供的药物种类少,如果患者出现病毒耐药,增加了治疗的难度,甚至无替换药物。5.目前我国推荐的一线抗病毒方案,由国家免费提供药物,最贵的药物组合每个月3112元,治疗费用每年近4万元,我国目前接受抗病毒治疗的患者在不断上升,每年国家财政补贴不断增加,增加了政府财政负担。在攻克艾滋病的道路上,这些问题引起医学界密切关注,也引发关于HAART疗法之外其他疗法的探索。

[0008] 早在100多年之前,科学家们就在研究“氧疗”或“补氧”的技术与产品,希望制造一种“可以喝的氧”,作为对呼吸渠道补氧的补充。最初的产品是双氧水一类的不稳定氧,但它会对人体带来自由基损伤。上世纪80-90年代美国的科学家率先发明了稳定性氧(Stabilized Oxygen)、活性稳定氧(ASO)等产品,并推向市场,其制造方法绝对保密,透露说有效成分是大西洋海盐。申请号为CN200510048660.8的中国专利申请公开了一种“抗缺氧和抗自由基的功能性保健食品及其制备方法”,这是一种以三七、红景天活性成分为主的中药制剂,有抗缺氧、抗自由基功效。申请号为03117918.5的中国专利文件公开了一种“含活性氧的液体的生产方法及其装置”,称其产品具有食用补氧的效果,但其中有效成分是O<sub>3</sub>,含量3.1-11.6mg/L。市场上还有“富氧水”“活性氧”之类的产品,大多是通过加压或鼓泡的方法短时间增加水中的溶解氧量,是不稳定的。美国人Jim Humble开发出了Miracle Mineral Solution/supplement -神奇矿物盐溶液/补充剂,【简称MMS,应用亚氯酸钠水溶液(NaClO<sub>2</sub>)、蒸馏水(H<sub>2</sub>O)、柠檬酸(C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>)溶液产生酸碱中和反应后生成二氧化氯(ClO<sub>2</sub>)。声称MMS能治疗几乎所有的人类已知疾病,包括艾滋病。但该产品不稳定,只能保存不超过1.5小时,没有经过临床试验,用法用量不科学,存在明显的毒副作用,被美国FDA禁止使用。正因为现有的各类补氧产品性能不稳定,要么氧化力不足难以达到预期的治疗效果,要么氧化力过强对身体产生毒副作用,不仅得不到市场的广泛认同推广应用,更没有得到主流专家和政府部门的认可,甚至对氧的基础性作用和补氧产品的研究也处于比较肤浅的水平。

[0009] 中国专利CN1895270A“抗缺氧抗疲劳的健体氧及其制备方法和作为保健品的应用”公开了一种具有抗缺氧抗疲劳的作用的保健品,其中各成分的重量百分比为亚氯酸钠或亚氯酸钾2~10%、碳酸氢钠或碳酸氢钾2~10%、碳酸钠或碳酸钾0.2~5%、去离子水95~75%。

[0010] 本发明人惊奇地发现,CN1895270A的组合物具有抗HIV病毒、治疗艾滋病的作用,是一种对艾滋病病毒进行分子治疗的安全、广谱、高效的药物,能够同时创造一种艾滋病病毒难以生存的、弱碱富氧的、细胞内环境,但CN1895270A的组合物稳定性不够。

## 发明内容

[0011] 本发明的目的在于提供一种艾滋病病毒等病原体分子靶向免疫氧疗药物组合物。

[0012] 本发明的对艾滋病病毒具有分子靶向免疫氧疗功能的药物,其中制备所述药物的原料及其重量百分比为:

亚氯酸钠或亚氯酸钾	2-10%
碳酸氢钠或碳酸氢钾	2-10%
碳酸钠或碳酸钾	0.2-5%
双氧水	0.3-1.5%
去离子水	95-73.5%

[0013] 本发明药物的制备方法,包括以下步骤:

按照上述重量百分比配置碳酸氢钠与碳酸钠,或者碳酸氢钾与碳酸钾的水溶液。

按照上述重量百分比将亚氯酸钠或亚氯酸钾溶入上述相应的水溶液中,添加上述重量百分比配置的双氧水,运用分子络合等技术,制备本发明稳定性药物水溶液。

将本发明药物水溶液静置存放60-90天去除双氧水等杂质后,制备本发明具有分子靶向免疫氧疗功能的稳定性药物水溶液。

将具有分子靶向免疫氧疗功能的本发明稳定性药物水溶液,在零下5-9℃冷冻48-72小时,进一步去除杂质,解冻过滤后灌装。

[0014] 本发明的另一个目的是提供亚氯酸钠或亚氯酸钾在制备治疗艾滋病的药物中的用途,优选治疗艾滋病的药物中亚氯酸钠或者亚氯酸钾的浓度(重量百分比)为0.0015%至0.5%。

[0015] 本发明药物的用法用量:本发明药物组合物一般稀释后服用,稀释后的亚氯酸钠或者亚氯酸钾的浓度(重量百分比)为0.0015%至0.5%。具体用法如下:开始1-2天,每天早晨空腹(或饭后1-2小时)饮用一杯(约100-200毫升)滴加本发明药物组合物3-5滴(以每滴约0.05ml计,约0.15至0.25毫升)的温开水。如无严重腹泻等不适感觉,可逐渐增加剂量。适应后可增加为每天早晨、午后和睡觉前半小时各一次,每次10-20滴(约0.5至1.0毫升)或更多。也可以实行总量控制,将一天的剂量加到350-500毫升水中,在一天内分多次服用,以缓解不适反应。优选艾滋病病情轻的患者应该将服用剂量加到20滴(1.0ml)以上,艾滋病重症患者应将服用剂量加到60-120滴(3.0ml-6.0ml)。

## 具体实施方式

[0016] 实施例1:本发明药物组合物的制备

将80克含量为85%的工业亚氯酸钠用蒸馏水经过三次重结晶,用红外线在40℃下干燥,可以获得约67克纯净亚氯酸钠,将其溶于1升由约6%分析纯碳酸氢钠和0.25%分析纯碳酸钠组成的缓冲水溶液中,添加0.12升30%的双氧水,可以获得1升含氧量( $O_2$ ) $\geq$ 15000mg/L的本发明药物组合物,静置60-90天左右去除双氧水等有害杂质,制备无色、无味,外观与纯净水一样的本发明稳定性药物水溶液。将本发明药物组合物在零下5-9℃冷冻48-72小时,进一步去除杂质,解冻过滤后,形成具有分子靶向免疫氧疗功能的药物。

[0017] 实施例2:本发明药物组合物的制备

将40克含量为85%的工业亚氯酸钾用蒸馏水经过三次重结晶,用红外线在40℃下干燥,可以获得约33.5克纯净亚氯酸钾,将其溶于1升由约3%分析纯碳酸氢钾和1.5%分析纯碳酸钾组成的缓冲水溶液中,添加0.06升30%的双氧水,可以获得1升含氧量( $O_2$ ) $\geq$ 9000mg/L的本发明药物组合物,静置60-90天左右去除双氧水等有害杂质,制备无色、无味,外观与纯净水一样的本发明稳定性药物水溶液。将本发明药物组合物在零下5-9℃冷冻48-

72小时,进一步去除杂质,解冻过滤后,形成具有分子靶向免疫氧疗功能的药物。

#### [0018] 实施例3:制备本发明药物组合物添加双氧水的稳定性对比实验

将80克含量为85%的工业亚氯酸钠用蒸馏水经过三次重结晶,用红外线在40℃下干燥,可以获得约67克纯净亚氯酸钠,将其溶于1升由约6%分析纯碳酸氢钠和0.25%分析纯碳酸钠组成的缓冲水溶液中,可以获得1升含氧量(O<sub>2</sub>)≥15000mg/L的本发明药物组合物,制备无色、无味,外观与纯净水一样的本发明药物水溶液。该药物组合物在常温下保存半小时,就可能逐步变成淡黄色,6天左右会基本丧失分子靶向免疫氧疗功能。

将80克含量为85%的工业亚氯酸钠用蒸馏水经过三次重结晶,用红外线在40℃下干燥,可以获得约67克纯净亚氯酸钠,将其溶于1升由约6%分析纯碳酸氢钠和0.25%分析纯碳酸钠组成的缓冲水溶液中,添加0.12升30%的双氧水,可以获得1升含氧量(O<sub>2</sub>)≥15000mg/L的本发明药物组合物,静置60-90天左右去除双氧水等有害杂质,制备无色、无味,外观与纯净水一样的本发明稳定性药物水溶液。将本发明药物组合物在零下5-9℃冷冻48-72小时,进一步去除杂质,解冻过滤后,形成的具有分子靶向免疫氧疗功能的药物,在常温避光条件下可以保存至少2年以上。

#### [0019] 实施例4:HIV抑制实验

用多种浓度的本发明药物组合物做为测试对象和世界首选抗艾滋病药物AZT作为阳性对照,用MTT方法测定它们对50% C8166细胞产生的毒性(即IC<sub>50</sub>);用合胞体形成抑制实验测定它们对H9/HIV-1 III B感染细胞合胞体的50%抑制率(EC<sub>50</sub>),然后用IC<sub>50</sub>/EC<sub>50</sub>得到它们的治疗指数TI值,以确定本发明药物组合物对HIV病毒的抑制活性。

##### 实验材料

试剂:AZT(3'-Azido-3'-deoxythymidine, Lot.51H7836,分子量267.2)购自Sigma公司;MTT[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide];SDS(Sodium Dodecylsulfate);DMF(N,N'-Dimethyl formamine)。

样品1:本发明实施例1的药物组合物,用蒸馏水1:5稀释。

样品2:本发明实施例1的药物组合物,用蒸馏水1:50稀释。

细胞:C8166,为T淋巴细胞系,得自英国Medical Research Council(MRC),AIDS Reagent Project。

病毒:H9/HIV-1 III B,得自英国Medical Research Council(MRC),AIDS Reagent Project。

培养基:完全培养基为RPMI-1640,含有10%新生小牛血清(自制),2mmol/L谷氨酰胺,10mmol/L HEPES,50mmol/L α-ME,100U/ml的青、链霉素。磷酸缓冲溶液(PBS,pH=7.4)。

##### 实验方法

病毒感染性的滴定:HIV-1滴定按Johnson&Byington(1990)所述方法改良进行:在96孔培养板上,将HIV-1贮存液作5倍稀释,共8个梯度,每个梯度设6孔,同时设置对照组。每孔加入C8166细胞50μl(2×10<sup>4</sup>/孔),每孔体积为200μl。37℃,5%CO<sub>2</sub>培养。第三天补加新鲜完全培养基100μl,第7天在倒置显微镜下观察每孔中病毒诱导的细胞致病效应(Cytopathic effect,CPE),以每孔是否有合胞体的形成来确定;按Reed&Muench方法计算病毒的TCID<sub>50</sub>(50% Tissue culture infectious dose),即引起50%培养细胞出现CPE的病毒上清稀释度。

MTT方法测定细胞存活与增殖:将96细胞孔培养板低速离心后,小心吸去150 $\mu$ l上清,然后每孔加5mg $\cdot$ ml<sup>-1</sup>MTT溶液20 $\mu$ l,37 $^{\circ}$ C,5%CO<sub>2</sub>细胞培养箱中孵育4h,每孔加100 $\mu$ l 20% SDS-50 %DMF,37 $^{\circ}$ C孵育过夜,用Bio-Rad3550 ELISA仪测定(测定波长为595nm;参考波长为655nm)。

样品对宿主细胞的毒性实验:取4 $\times$ 10<sup>5</sup>/ml C8166细胞悬液100 $\mu$ l与不同浓度的样品溶液混合,置 37 $^{\circ}$ C,5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养3或5天,然后测定其细胞毒性IC<sub>50</sub>(50%inhibition concentration)。

样品对HIV诱导C8166细胞形成合胞体的抑制实验在96孔培养板上,将待测物用培养基进行5倍稀释,共8个梯度,每孔100 $\mu$ l,设2个重复孔,同时设置正常细胞对照。对于HIV感染的细胞,每孔加4 $\times$ 10<sup>5</sup>/ml C8166细胞悬液80 $\mu$ l,然后每孔加20 $\mu$ l HIV-1上清,每孔体积为200 $\mu$ l。在37 $^{\circ}$ C,5% CO<sub>2</sub>培养箱中培养。感染后第3天观察样品对合胞体形成的影响。在倒置显微镜下,计数HIV-1诱导C8166 细胞形成的合胞体数。EC<sub>50</sub>(50%effective concentration)为抑制合胞体形成达50%时的样品浓度。

#### 实验结果

细胞生长抑制率(%) = (1-实验孔OD值/对照孔OD值)  $\times$  100 (样品的毒性)

合胞体形成的生长抑制率(%) = (1-实验孔合胞体数/对照孔合胞体数)  $\times$  100 (合胞体方法)

IC<sub>50</sub>为对50%的宿主细胞产毒性的样品的浓度;EC<sub>50</sub>为具有50%合胞体形成抑制率的样品的浓度。治疗指数(TI值)为IC<sub>50</sub>/EC<sub>50</sub>的比值。

实验研究发现所有测试样品均具有一定的抗艾滋病病毒活性。具体实验数据如下表。

AZT、本发明药物组合物细胞毒性(IC<sub>50</sub>)、抗HIV活性(EC<sub>50</sub>)及治疗指数(TI)值

测试样品	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ mol/L)	EC <sub>50</sub> ( $\mu$ mol/L)	TI (IC <sub>50</sub> /EC <sub>50</sub> )
AZT	3.34	0.000230	14521.74
样品 1	3.65	0.000268	13619.40
样品 1	3.48	0.000289	12041.52
样品 2	135.80	0.27	502.96
样品 2	129.03	0.21	614.42

在上述实验中测得AZT的治疗指数TI值为14521.74,AZT具有极强的HIV病毒抑制活性。而在上述实验中测得样品1(本发明制备实施例的药物组合物用蒸馏水稀释5倍)的治疗指数TI值为13619.40和 12041.52,两次平行实验的治疗指数TI平均值为12830.46,几乎与AZT相当。样品2(本发明实施例1 的药物组合物用蒸馏水稀释50倍)在上述实验条件下测得的的治疗指数TI值为502.96和614.42,有一定的HIV病毒抑制活性。这些数据表明本发明的药物组合物具有极强的抗HIV病毒的抑制活性。本发明的药物组合物生产原材料十分充足,生产工艺条件简便完善,与AZT相比价格低廉。因此,本发明的药物组合物是高效低毒价廉的抗艾滋病药物,具有优越的应用前景。

#### [0020] 实施例5:功能性治愈艾滋病

受试患者病毒载量(VL)的均值基线水平均为大于10000拷贝/毫升(VL小于10000拷贝/毫升时,疾病发展速度较慢),其CD4+细胞计数水平不超过504个/立方毫米。

功能性治愈的标准:一是CD4+上升并持续保持在500以上。该指标是衡量人体免疫功能

的客观指标,正常成年人CD4细胞为每立方毫米500-1600个。二是病毒载量“未检出”。该指标是功能性治愈艾滋病的客观指标,未检出为病毒载量低于150拷贝/ml。

艾滋病患者甲,以每天3.0ml的剂量服用本发明实施例1制备的药物30天后,患者甲的CD4+由90升至564,继续服用30天,CD4+保持在700以上。服用7个月后,CD4+达到803,病毒载量检测为“未检出”。

艾滋病患者乙,以每天4.0ml的剂量服用本发明实施例1制备药物30天后,CD4+由28升至289,服用4个月后病毒载量降为231拷贝/毫升。

艾滋病患者丙,以每天2.0ml的剂量服用本发明实施例1制备的药物40天后,CD4+由350上升到880。

艾滋病患者丁,以每天1.5ml的剂量服用本发明实施例1制备的药物30天后,CD4+由504快速上升到679。

在用本发明药物组合物治疗期间,100多艾滋病患者的CD4+均快速上升并保持在500以上,与高效抗逆转录病毒治疗同时服用,爱滋病患者的CD4+上升更快。

在用本发明药物组合物治疗期间,患者的饮食、睡眠、体重、体力、精神均明显好转,生活质量全面提高,恢复了正常的生活和工作。

上述病例,初步证实了本发明药物可以功能性治愈艾滋病,快速实现免疫重建,实现艾滋病治疗的突破。