

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.



[12] 发明专利申请公开说明书

A61K 9/107 (2006.01)
A61K 31/357 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

[21] 申请号 200510100504.1

[43] 公开日 2006 年 5 月 17 日

[11] 公开号 CN 1771909A

[22] 申请日 2005.10.26

[21] 申请号 200510100504.1

[71] 申请人 裴 蕾

地址 110003 辽宁省沈阳市和平区南三经街 2 号

[72] 发明人 裴 蕾 李启燕

[74] 专利代理机构 广州粤高专利代理有限公司
代理人 陈 卫

权利要求书 2 页 说明书 10 页

[54] 发明名称

一种青蒿素脂肪乳剂及其制备方法与应用

[57] 摘要

本发明公开了一种青蒿素脂肪乳剂及其制备方法与应用。本发明的青蒿素脂肪乳剂包括注射用油、乳化剂、增溶剂、增溶剂、等渗剂，使得青蒿素或二氢青蒿素在脂肪油相中溶解，使其包封于脂肪乳油相中，稳定性好，药效增强，起到缓释和靶向给药作用，药物在血液中的驻留时间延长，生物效价显著提高。

1、一种脂肪乳剂，其特征在于含有青蒿素或其衍生物二氢青蒿素或两者的混合物。

2、根据权利要求1所述的脂肪乳剂，其特征在于所述脂肪乳剂由如下组分及重量百分数组成：

青蒿素或二氢青蒿素或其混合物	0.01%~0.5%
注射用油	5~30%
乳化剂	1~10%
增溶剂	1~20%
等渗剂	0.5~6%
水	余量。

3、根据权利要求2所述的脂肪乳剂，其特征在于所述注射用油为大豆油、茶油、麻油中长链脂肪酸酯、橄榄油中的一种或几种的混合物。

4、根据权利要求2所述的脂肪乳剂，其特征在于所述乳化剂为磷脂、普罗流尼中的一种或二种的混合物。

5、根据权利要求2所述的脂肪乳剂，其特征在于所述增溶剂为聚乙二醇、聚维酮、羟丙基 β -环糊精中的一种或几种的混合物。

6、根据权利要求4所述的乳化剂，其特征在于所述磷脂为大豆卵磷脂、蛋黄卵磷脂或合成磷脂。

7、根据权利要求2的脂肪乳剂，其特征在于所述等渗剂为甘油、葡萄糖或木糖醇。

8、一种权利要求 2 所述脂肪乳剂的制备方法，包括如下步骤：

(1)取注射用油、青蒿素或二氢青蒿素于 40~60℃混合并使青蒿素或二氢青蒿素溶解，加入乳化剂，混合形成混合液 A；

(2)将注射用水、等渗调节剂于 40~80℃与增溶剂混合，形成水相 B；

(3)将水相 B 与混合液 A 混合，在 40~80℃高速分散后机械搅拌 0.5~2 小时制成初乳，调节 pH 至 4~8 后，再进行高压匀质，制得含青蒿素或二氢青蒿素的脂肪乳剂。

9、权利要求 1 所述脂肪乳剂在制备用于治疗癌症或恶性疟疾的药物中的应用。

10、根据权利要求 9 所述的应用，其特征在于所述脂肪乳剂在制备用于治疗白血病、乳腺癌，肺、肝、淋巴肿瘤的药物中的应用。

一种青蒿素脂肪乳剂及其制备方法与应用

技术领域

本发明涉及药物制剂领域，具体涉及一种抗癌药物青蒿素及其衍生物二氢青蒿素的脂肪乳剂。

技术背景

青蒿素及其衍生物作为抗疟为主要作用的药物，现上市品种主要是作为片剂服用，以其疗效确切、毒副作用低而广为应用。随着青蒿素及其衍生物的研究深入，青蒿素及其衍生物的神奇的抗癌作用被发现，国内外大量实验研究已表明，青蒿素及其衍生物对多种动物和人体肿瘤细胞有确切的抗癌作用。1991 年中国科学院上海药物研究所邓定安首先报道了青蒿酸衍生物对小鼠白血病 P388 细胞有杀伤活性，并发现除对 P388 细胞有活性外，对人肝癌细胞 SMMC7721 和人胃癌细胞 SGC7901 均有活性，但对正常人胚肺细胞 W138 作用轻微，提示青蒿素衍生物有选择性杀伤癌细胞的作用。鉴于青蒿素及其衍生物的确切抗癌作用，美国国家癌症研究所已将其纳入抗癌药物筛选与抗癌活性研究计划。美国华盛顿赖亨利教授公布了关于青蒿素具有神奇的杀死癌细胞作用的信息。通过用患有严重骨癌的狗作试验，用药 16 小时后，几乎所有癌细胞均死亡。

研究表明，动物口服青蒿素有较强的首过效应，与肌肉注射其油混悬剂比，相对生物利用度只有 30%，生物效价低。因此我国科学家

合成了大量的衍生物，如二氢青蒿素、蒿甲醚、青蒿琥酯等，提高了口服药物的临床疗效。但同时也大大增加了青蒿素的原料成本。由于所有青蒿素及其衍生物都是通过体内代谢成二氢青蒿素而发挥作用，而且通过临床试验证明，青蒿素的抗疟效价在病人体内与体外试验结果截然不同：等剂量的青蒿素与双氢青蒿素在病人体内的杀虫效果无明显区别，表明青蒿素进入体内后迅速转化为双氢青蒿素而发挥作用。因此如果作为注射给药，青蒿素和二氢青蒿素在保证相同疗效的前提下，相对其它青蒿素衍生物在原料来源和经济成本上有较大的优势。

由于青蒿素及其脂溶性衍生物不溶于水，在临床作为注射制剂应用时需采用聚氧乙烯蓖麻油和无水乙醇(50: 50)作为助溶载体，易导致组织胺释放使患者产生严重的过敏反应与毒副作用。另外由于青蒿素转化成二氢青蒿素后在体内的半衰期短，作用时间维持时间较短。现虽有青蒿素及其脂溶性衍生物的乳剂的制备方法（专利申请号：200410023737.1）的专利申请，但该申请的专利为微乳，其配方和制备方法脱离药剂学的常理，按其专利范围中的配方和制备方法进行试验，也难以制备出其专利所描述的乳剂或微乳。

发明内容

本发明的目的在于克服现有青蒿素及其衍生物在治疗上存在的问题，将青蒿素及其衍生物溶于脂肪乳油相中，并使其稳定地包封于脂肪乳油相中，使制成长期放置后药物不析出、且不产生分层、稳定性好、符合静脉注射用标准的脂肪乳剂。

本发明的另一个目的是提供上述脂肪乳剂的制备方法。

本发明的进一步目的是提供上述脂肪乳剂在制备用于治疗癌症或恶性疟疾的药物中的应用。

为了实现上述目的，本发明采用下述技术方案：

一种脂肪乳剂，含有青蒿素或其衍生物二氢青蒿素或两者的混合物。该脂肪乳剂具体由如下组分及重量百分数组成：

青蒿素或二氢青蒿素或其混合物	0.01%~0.5%
注射用油	5~30%
乳化剂	1~10%
增溶剂	1~20%
等渗剂	0.5~6%
水	余量。

上述注射用油为大豆油、茶油、麻油中长链脂肪酸酯、橄榄油中的一种或几种的混合物。

上述乳化剂为磷脂、普罗流尼中的一种或二种的混合物；所述磷脂为大豆卵磷脂、蛋黄卵磷脂或合成磷脂。

上述增溶剂为聚乙二醇、聚维酮、羟丙基 β -环糊精中的一种或几种的混合物。

上述等渗剂为甘油、葡萄糖或木糖醇。

该脂肪乳剂的制备方法，包括如下步骤：

(1) 取注射用油、青蒿素或二氢青蒿素于 40~60℃ 混合并使青蒿素或二氢青蒿素溶解，加入乳化剂，混合形成混合液 A；

(2) 将注射用水、等渗调节剂于 40~80℃ 与增溶剂混合, 形成水相 B;

(3) 将水相 B 与混合液 A 混合, 在 40~80℃ 高速分散后机械搅拌 0.5~2 小时制成初乳, 调节 pH 至 4~8 后, 再进行高压匀质, 制得含青蒿素或二氢青蒿素的脂肪乳剂。

所得青蒿素静脉注射脂肪乳剂中的乳剂粒径分布范围为: 10%的乳剂粒径<100nm; 25%的乳剂粒径<200nm、50%的乳剂粒径<350nm、99%的乳剂粒径<500nm。产品性状为白色乳状液体, 含药量为 0.1~5mg/ml, 可用于静脉注射, 产品规格为 20~200 ml/瓶。可静脉注射。

本发明制成的载药脂肪乳可以延长半衰期, 并有一定的靶向性。增强了青蒿素及其衍生物二氢青蒿素对癌组织的靶向性, 减少对人体正常细胞造成的毒副作用, 为广大癌症患者提供一种疗效确切、毒副作用小的青蒿素及其衍生物的载药静脉注射脂肪乳剂, 既可静脉注射用药也可作口服用药。主要用于白血病、乳腺癌, 也可用于肺、肝、淋巴等系统肿瘤的和恶性疟疾的治疗。

本发明与现有技术相比, 具有如下有益效果:

1、既能发挥青蒿素抗肿瘤的效果, 也加入适量的脂肪油作为营养补充剂, 适用于危重肿瘤病人急救和肿瘤病人术后营养补充。

2、药物直接进入人体血液, 起效快, 吸收较完全。避免了药物的首过效应, 提高了青蒿素及二氢青蒿素的生物利用度, 较大限度的发挥药物的疗效, 可以与体液(特别是血液)相混合, 有效增加了药物的稳定性;

3、由于青蒿素和二氢青蒿素不溶于水，因此青蒿素和二氢青蒿素作为抗癌药物，较适宜制备成静脉注射乳剂，药物可被动定向浓集在富含吞噬细胞的肝、脾、淋巴系统等部位，不仅可实现靶向给药，并且具有潜在的缓释作用，由于 $r < 1000\text{nm}$ 而不易被网状皮质系统摄取，达到“长循环”的功效。

4、在青蒿素及其系列衍生中以青蒿素和二氢青蒿素的原料易得，生产成本较低，其中又以青蒿素的成本最低，并且工艺简单，原料易得。可用常规的生产设备和工艺制备，适合于具 GMP 生产注射剂的药厂大规模地投入批量生产，有较大的市场开发价值。

具体实施方式

实施例 1

将注射用大豆油 20g、青蒿素 160mg 投入到容器中，将该容器置于水浴中，加热至 50°C ，搅拌至药物分散溶解，降温至 40°C ，投入卵磷脂 2.5g 搅拌至磷脂溶解，混和均匀；将注射用水 170ml 置于另一容器中，甘油 2.5g 于 50°C 搅拌溶解形成水相；将含有青蒿素、大豆油和卵磷脂的混和液在 40°C 、机械搅拌下与含有甘油的水相混和，加注射用水至 200ml，并在 40°C 下继续高速搅拌 1 个小时制成初乳，调节 pH 值至 6；将制得的初乳移入高压均质机，匀化到乳滴粒径检查合格为止；将乳液灌装，通氮、压盖；用旋转高压灭菌器进行 121°C ， F_0 为 20 的条件下灭菌。即制成 80mg./100ml 的青蒿素脂肪乳静脉注射液制剂。

实施例 2

将注射用大豆油 150g、青蒿素 1200mg 投入到容器中，将该容器置于水浴中，加热至 55℃，搅拌至药物分散澄清，降温至 50℃，投入卵磷脂 25g 搅拌至磷脂溶解，混合均匀。将注射用水 750ml 置于另一容器中聚乙二醇 15g、甘油 25g 于 50℃ 搅拌溶解形成水相。将含有青蒿素、大豆油和卵磷脂的混和液在 50℃、机械搅拌下与含有甘油、聚乙二醇的水相混和，加注射用水至 1000ml 并在 50℃ 下继续高速搅拌 1 个小时制成初乳。将制得的初乳移入高压均质机，匀化到乳滴粒径检查合格为止；再将乳液灌装，通氮、熔封；用旋转高压灭菌器进行灭菌。即制成 120mg / 100ml 的青蒿素脂肪乳静脉注射液制剂。

实施例 3

将注射用大豆油 200g、青蒿素 1600mg 投入到容器中，将该容器置于水浴中，加热至 60℃，搅拌至药物分散澄清，降温至 50℃，投入 25g 卵磷脂搅拌至磷脂溶解形成均匀混和相。将注射用水 700ml 置于另一容器中，羟丙基 β-环糊精 30g、甘油 25g 于 60℃ 搅拌溶解形成水相。将含有青蒿素、大豆油和卵磷脂的混和液在 60℃、机械搅拌下与含有甘油、羟丙基 β-环糊精的水相混和，加注射用水至 1000ml，并在 55℃ 下继续机械搅拌 1 个小时制成初乳。将制得的初乳移入高压均质机，匀化到乳滴粒径检查合格为止；再将乳液灌装，通氮、熔封；用旋转高压灭菌器进行 121℃，F0 为 20 的条件下灭菌。即制成 160mg / 100ml 的青蒿素脂肪乳静脉注射液制剂。

实施例 4

将注射用大豆油 300g、青蒿素 4600mg 投入到容器中，将该容器

置于水浴中，加热至 60℃左右，搅拌至药物分散澄清，降温至 50℃，投入 35g 卵磷脂搅拌至磷脂溶解形成均匀混和相。将注射用水 600ml 置于另一容器中，羟丙基 β-环糊精 35g、甘油 25g 于 70℃搅拌溶解形成水相。将含有青蒿素大豆油和卵磷脂的混和液在 60℃、机械搅拌下与含有甘油、羟丙基 β-环糊精和卵磷脂的水相混和，加注射用水至 1000ml，并在 55℃下继续机械搅拌 1 个小时制成初乳。将制得的初乳经高速分散机分散，移入高压均质机，匀化到乳滴粒径检查合格为止；再将乳液灌装，通氮、熔封；用旋转高压灭菌器进行 121℃，F0 为 20 的条件下灭菌。即制成 460mg / 100ml 的青蒿素脂肪乳静脉注射液制剂。

实施例 5

将注射用大豆油 100g、二氢青蒿素 900mg 投入到容器中，将该容器置于水浴中，加热至 55℃左右，搅拌至药物分散，降温至 45℃。投入 15g 卵磷脂搅拌至磷脂溶解形成均匀混和相。将注射用水 800ml 置于另一容器中甘油 25g、羟丙基 β-环糊精 24g 于 45℃搅拌溶解形成水相。将含有二氢青蒿素、大豆油和卵磷脂的混和液在 45℃机械搅拌下与上述水相混和，加注射用水至 1000ml 并在 45℃下继续机械搅拌 1 个小时制成初乳。将制得的初乳移入高压均质机，匀化到乳滴粒径检查合格为止；再将乳液灌装，通氮、熔封；用旋转高压灭菌器进行灭菌。即制成 90mg / 100ml 的二氢青蒿素脂肪乳静脉注射液制剂。

实施例 6 对本发明脂肪乳剂进行安全性试验

1、血管刺激性实验：

试验方法：每日给家兔静脉注射 2.3ml/Kg 供试品（按临床用药量折算），连续三次后，解剖动物血管作病理切片观察，无组织变性或坏死等显著刺激反应。

2、溶血性实验：按新药研究安全性试验指导原则的方法进行，无溶血现象出现。

3、全身过敏性实验：

按《中华人民共和国药典》的方法规定进行试验，试验结果：第 14 天及 21 天动物后未出现竖毛、喷嚏、干呕、咳嗽、呼吸困难、啰音、抽搐、虚脱等现象，表明青蒿素脂肪乳豚鼠全身过敏性试验结果为阴性，本品无致敏性。

4、热原检查：

试验方法：参照中国药典 2000 版附录 XIII A 热原检查法进行试验结果表明青蒿素注射脂肪乳对家兔血管和肌肉均无刺激性，对豚鼠试验无过敏性，对大鼠无被动皮肤皮肤过敏性，无溶血性与家兔热原检查符合药典规定的标准。表明注射用载药青蒿素静脉脂肪乳（50mg/ml）符合安全性指标的要求。

5、青蒿素静脉乳剂的稳定性试验

采取新鲜制备的脂肪乳，置于具塞离心管中，4000rpm 离心 15min 后，未发现分层，也未见药物沉淀析出。室温阴凉处贮存一年，乳剂外观、粒径、Zeta 电位等理化性质以及含量均未发生明显变化，表明乳剂稳定。

实施例7 本发明的体外抗肿瘤实验

实验材料:人白血病细胞株 K562 , 阳性对照药阿霉素。

试剂:青蒿素, 纯度99.18% , 配制5 mmol/ L 储存液, 避光4℃保存。用前由RPMI21640 稀释至所需浓度。Fluo23/ AM(Sigma)。

RPMI21640 培养基含10 %的新生牛血清, 青霉素、链霉素各100U/ml 。

实验方法

细胞培养:细胞株 K562 , 培养液, 37℃、5%CO₂ 孵箱中, 常规传代培养。24h后进入实验。

实验结果:

表 1、青蒿素脂肪乳体外对肿瘤细胞 K562 生长抑制试验

组别	药物浓度 umol/ml	抑制率	
		青蒿素	阿霉素
1	80	74.8%	94.1%
2	40	65.3%	75.3%
3	20	48.2%	52.6%
4	10	29.1%	30.3%

实施例8 本发明的体内抗肿瘤实验

实验方法: 分别取生长旺盛的小鼠肝癌 (QGY) 肿瘤、小鼠肉瘤180, 用生理盐水匀浆制备成不同浓度的细胞悬液, 接种于裸鼠右腋部皮下, 0.2ml~5ml/鼠, 于接种后次日随机分组并开始给药。接种后约10~30d 解剖动物, 取瘤称重, 计算瘤重抑制率。

阳性对照组给予环磷酰胺, 取药液 20ml 加注射用水 20ml, 稀释

成 2.5mg/ml 的药液。小鼠阳性对照组的用量为体重 30mg/kg。

试验样给予注射用青蒿素脂肪乳剂和二氢青蒿素。规格:0.1mg/ml, 设2个剂量组。

表 2、青蒿素脂肪乳对人体肝癌（QGY）瘤的抑瘤率比较

组 别	给药剂量	动物数	抑瘤率(%)	P 值
模型	20ml/kg	12	—	—
青蒿素脂肪乳	15mg/kg	12	38.6	<0.01
青蒿素脂肪乳	30mg/kg	12	53.6	<0.01
环磷酰胺	30mg/kg	12	53.1	<0.01

表 3、二氢青蒿素脂肪乳对小鼠肉瘤 180 的抑瘤率比较

组别	给药剂量	动物数	抑瘤率(%)	P 值
模型	—	12	—	—
二氢青蒿素脂肪乳	15mg/kg	12	56.5	<0.01
二氢青蒿素脂肪乳	30mg/kg	12	62.1	<0.01
环磷酰胺	30mg/kg	12	63.2	<0.01