

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局



(43) 国际公布日
2007 年 11 月 8 日 (08.11.2007)

PCT

(10) 国际公布号
WO 2007/124668 A1

(51) 国际专利分类号:

A61K 9/08 (2006.01) A61K 47/40 (2006.01)
A61K 9/19 (2006.01) A61P 9/00 (2006.01)
A61K 31/7034 (2006.01) A61P 3/06 (2006.01)
A61K 47/18 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2007/001233

(22) 国际申请日: 2007 年 4 月 16 日 (16.04.2007)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
200610076175.6
2006 年 4 月 28 日 (28.04.2006) CN

(71) 申请人 (对除美国外的所有指定国): 深圳海王药业有限公司 (SHENZHEN NEPTUNUS PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [CN/CN]; 中国广东省深圳市南山区高新技术北区朗山二路海王工业城, Guangdong 518057 (CN)。

(72) 发明人; 及

(75) 发明人/申请人 (仅对美国): 姚光辉 (YAO, Guanghui) [CN/CN]; 中国广东省深圳市南山区高新技术北区朗山二路海王工业城, Guangdong 518057 (CN)。赵金华 (ZHAO, Jinhua) [CN/CN]; 中国广东省深圳市南山区高新技术北区朗山二路海王工业城, Guangdong 518057 (CN)。康晖 (KANG, Hui) [CN/CN]; 中国广东省深圳市南山区高新技术北区朗山二路海王工业城, Guangdong 518057 (CN)。曲伟 (QU, Wei) [CN/CN]; 中国广东省深圳市南山区高新技术北区朗山二路海王工业城, Guangdong 518057 (CN)。李勇 (LI, Yong) [CN/CN]; 中国广东省深圳市南山区高新技术北区朗山二路海王工业城, Guangdong 518057 (CN)。张丽娟 (ZHANG, Lijuan) [CN/CN]; 中国广东省深圳市南山区高新技术北区朗山二路海王工业城, Guangdong 518057 (CN)。李靖 (LI, Jing) [CN/CN]; 中国广东省深圳市南山

区高新技术北区朗山二路海王工业城, Guangdong 518057 (CN)。于琳 (YU, Lin) [CN/CN]; 中国广东省深圳市南山区高新技术北区朗山二路海王工业城, Guangdong 518057 (CN)。赵克森 (ZHAO, Kesen) [CN/CN]; 中国广东省深圳市南山区高新技术北区朗山二路海王工业城, Guangdong 518057 (CN)。

(74) 代理人: 北京律诚同业知识产权代理有限公司 (LECOME INTELLECTUAL PROPERTY AGENT LTD.); 中国北京市海淀区知春路甲 48 号盈都大厦 B16 层, Beijing 100098 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

根据细则 4.17 的声明:

- 关于申请人有权申请并被授予专利 (细则 4.17 (ii))
- 发明人资格 (细则 4.17 (iv))

本国际公布:

- 包括国际检索报告。

所引用双字母代码及其它缩写符号, 请参考刊登在每期 PCT 公报期刊起始的“代码及缩写符号简要说明”。

(54) Title: PHARMACEUTICAL COMPOSITION COMPRISING HIGH CONCENTRATE OF POLYDATIN

(54) 发明名称: 一种含高浓度虎杖苷的药物组合物

(57) Abstract: A pharmaceutical composition comprising high concentrate of polydatin. The composition contains polydatin, meglumine and/or cyclodextrin. The said composition is in the form of aqueous solution or lyophilized product which is to be prepared before using.

(57) 摘要:

一种含高浓度虎杖苷的药物组合物, 该组合物含有虎杖苷、葡甲胺和/或环糊精, 所述组合物为水溶液或者使用前配制成水溶液的冻干制品。

WO 2007/124668 A1

一种含高浓度虎杖苷的药物组合物

技术领域

本发明涉及一种含高浓度虎杖苷的药物组合物，具体地说涉及含有药用活性成分虎杖苷和助溶剂葡甲胺和/或环糊精的药物组合物。

背景技术

虎杖苷，即 3,4',5-三羟基二苯乙烯-3-β-D-葡萄糖苷 ($C_{20}H_{22}O_8$) 作为药用成分可见于文献及专利报道，基础药理学研究表明，虎杖苷具有改善微循环、降血脂、抗肿瘤等药理活性。

中国专利申请 CN 1709269A 指出：虎杖苷基础药理学研究文献中，在体试验研究多采用静脉内途径给予虎杖苷，试验样品多采用水或生理盐水配制 2~5mg/ml 浓度的虎杖苷溶液，但文献对溶液的可行配制方法均无进一步说明；根据文献测算，虎杖苷临床有效剂量(成人)应在 112mg/次以上，在 1~20ml 常规注射剂规格下，临床用注射剂中虎杖苷浓度应不低于 5.6 mg/ml；虎杖苷在纯水或生理盐水溶液中的溶解度有限，其常规水溶液难以达到文献所述的药物浓度：室温下，虎杖苷在水及生理盐水中的饱和浓度均低于 0.5mg/ml，远低于上述 2~5mg/ml 给药浓度。

调节 pH 值、加热、添加表面活性剂等方法，都是提高化合物溶解度的常用方法，但是，研究表明，对于制备临床所需药效浓度的稳定的虎杖苷药物组合物，这些方法的价值有限。例如，调节溶液 pH 值可以增加虎杖苷的溶解度，但是，室温下以 NaOH 调节 pH 配制虎杖苷水溶液时，当虎杖苷溶解度达到 3mg/ml 时，其水溶液 pH 值需达 12 以上。鉴于注射液之 pH 值一般应在 4.0~9.0 范围内，因此仅通过 pH 调节难以获得药效浓度的虎杖苷水溶液；加热溶解的方法显然并不适合制备成药物制剂；采用 pH 调节法和/或添加表面活性剂(吐温 80)制备较高浓度的虎杖苷注射用溶液因难以实现冷藏保存而存在药物储存方面的缺陷。

如中国专利申请 CN 1709269A 所述，在临床制剂允许的范围内，通过调节 pH 值、添加吐温类表面活性剂等常规制剂方法难以获得理想的临床用虎杖苷注射液的制剂方案。

中国专利申请 CN 1709269A 提出了一种以乙醇和/或丙二醇作为溶剂的含高浓度虎杖苷的注射用溶液及其制备方法，该专利首次实现了可供临床使用的注射剂的制备。但该专利所提供的虎杖苷注射液是注射用浓溶液，也就是说，该专利所提供的虎杖苷注射液需经注射用水或生理盐水稀释至一定程度后方可用于注射给药，其原因在于，其注射液因含较高浓度的有机溶剂而不适合直接注射给药。

毫无疑问，含高浓度虎杖苷的注射用制剂对于实现虎杖苷的临床应用价值具有至关重要的现实意义。

发明内容

本发明的目的在于提供一种含高浓度虎杖苷的药物组合物，该药物组合物

所含高浓度的虎杖苷可满足虎杖苷临床用药的需要,其组合物中可不含乙醇等有机助溶剂,因此尤其适合于临床直接注射给药使用。

本发明之含虎杖苷药用组合物采用葡甲胺和/或环糊精作为助溶剂,其剂型为水溶液或临用前用水或生理盐水配制成水溶液的冻干制品,所述虎杖苷水溶液以及用冻干制品配制的水溶液中,其虎杖苷浓度可达 5mg/ml 以上。

本发明中,所述葡甲胺是 1-脱氧-1-(甲氨基)-D-山梨醇;所述环糊精是指 β -环糊精或其衍生物,特别是 β -环糊精、羟丙基 β -环糊精以及磺丁醚- β -环糊精等;所述高浓度虎杖苷溶液是指其溶液中的虎杖苷的浓度达到约 5mg/ml 或 5mg/ml 以上。

本发明首先提供一种以葡甲胺作为增溶剂的高浓度虎杖苷水溶液。该溶液中可以含虎杖苷约 5mg/ml ~ 20mg/ml,助溶剂葡甲胺的含量可以为约 7.5mg/ml ~ 60mg/ml。

已知 pH 调节剂可用于提高虎杖苷的水溶性,但是,单用常规酸碱调节剂难以在临床允许的注射剂 pH 值范围(4.0 ~ 9.0)内制备高浓度的虎杖苷溶液。如中国专利申请 CN 1709269A 所述,虎杖苷在 pH 7 ~ 10 的 NaOH 水溶液中的溶解度均低于 0.5mg/ml。本发明人发现,葡甲胺具有良好的增强虎杖苷的溶解作用,例如,室温下,在 10mg/ml 的葡甲胺水溶液中,虎杖苷饱和溶解度可达约 5.69mg/ml,其溶液 pH 值约 8.9;在 20mg/ml 的葡甲胺水溶液中,室温下虎杖苷饱和溶解度可达约 9.68 mg/ml,其溶液 pH 值约 9.5;而以磷酸缓冲液配制含 20mg/ml 葡甲胺的 pH 9.0 水溶液,则虎杖苷饱和溶解度可达约 7.2 mg/ml。显然,葡甲胺对虎杖苷的增溶作用并非只是通过调节 pH 值来实现的。

采用纯水以及缓冲溶液作为溶剂保持葡甲胺水溶液之 pH 值在约 7.5 ~ 9.0 范围内,当葡甲胺所用浓度在约 7.5mg/ml ~ 60mg/ml 范围内时,可制备虎杖苷浓度约 5mg/ml ~ 15mg/ml 的水溶液。

另一方面,本发明提供一种以 β -环糊精作为助溶剂的高浓度虎杖苷水溶液。该水溶液中可以含虎杖苷约 5 mg/ml ~ 15 mg/ml,其中助溶剂 β -环糊精的含量可以为约 20 mg/ml ~ 60 mg/ml。

以纯水配制的 β -环糊精溶液中,当环糊精浓度为约 25mg/ml 时,其虎杖苷的溶解度即可超过 5mg/ml。在以 pH 9.0 磷酸缓冲液配制的 β -环糊精溶液中,当环糊精浓度为约 20mg/ml 时,其虎杖苷溶解度可超过 5mg/ml;当环糊精浓度为约 60mg/ml 时,则虎杖苷溶解度可超过 20mg/ml。

已知 β -环糊精类可用于制备多种化学成分的包合物。包合物的制备一般都需要经干燥制得固形物;并且一般都存在一定的包合率。本发明采用 β -环糊精等作为助溶剂制备的虎杖苷溶液,其基本物理化学原理与包合物应当有相同之处,但本发明所得虎杖苷溶液均为澄明溶液,无需经过固体过程,也不存在包合率问题。本发明中,虎杖苷的溶解度虽然随 β -环糊精类浓度的增加而升高,但两者之间并不呈现明显的线性关系,此与包合物的溶解行为有所不同。

本发明采用 β -环糊精作为增溶剂制备虎杖苷溶液时还有其它意想不到的

效果：例如，文献以及本发明人实测结果均表明，室温下， β -环糊精在纯水中的溶解度约为 18mg/ml；以纯水作为溶剂，在虎杖苷存在下， β -环糊精在室温中的最大溶解度可以达到约 60mg/ml，即 β -环糊精的自身溶解度可显著提高约 3 倍；虎杖苷在 18mg/ml β -环糊精水溶液中的溶解度仅为约 2.5 mg/ml；而在 pH 缓冲液配制的含环糊精约 60mg/ml 的溶液中，虎杖苷溶解度可接近 20mg/ml。

羟丙基- β -环糊精或磺丁醚- β -环糊精对虎杖苷具有近似而略强于 β -环糊精的助溶作用。由于羟丙基- β -环糊精或磺丁醚- β -环糊精自身具有更好水溶性，因此更适合于制备高浓度的虎杖苷水溶液。由此，本发明还提供一种以羟丙基- β -环糊精或磺丁醚- β -环糊精作为助溶剂的高浓度虎杖苷水溶液。该溶液中可以含虎杖苷约 5mg/ml ~ 60mg/ml，所采用的羟丙基- β -环糊精或磺丁醚- β -环糊精的浓度可以在约 25mg/ml ~ 500mg/ml 范围内。

室温下，在 pH 约 6 ~ 9 范围内，浓度不低于 25mg/ml 的羟丙基- β -环糊精或磺丁醚- β -环糊精水溶液可以溶解约 5mg/ml 以上的虎杖苷。

室温下，在 pH 6 ~ 9 范围内，虎杖苷的溶解度可以随着羟丙基- β -环糊精或磺丁醚- β -环糊精浓度的提高而提高，两者之间也没有明显的线性关系。以 pH 9.0 缓冲液配制的溶液中，当羟丙基- β -环糊精或磺丁醚- β -环糊精为 300 mg/ml 时，虎杖苷的溶解度可以达到约 60mg/ml。

本发明还发现联合采用 β -环糊精和葡甲胺作为助溶剂可以对虎杖苷产生意想不到的协同增溶作用。举例来说，例如，葡甲胺 5mg/ml 可使虎杖苷溶解度提高约 3.17mg/ml， β -环糊精 15mg/ml 可使虎杖苷溶解度提高约 2.72mg/ml，其加和为 5.89 mg/ml；而对应浓度的葡甲胺、 β -环糊精混合溶液中，虎杖苷的溶解度增加了 7.64mg/ml，此值较简单加和值提高约 30%。显然，葡甲胺、 β -环糊精对虎杖苷的增溶作用大于两者单独使用时的增溶作用的简单加和。

由此本发明进一步提供一种以 β -环糊精以及葡甲胺作为助溶剂的高浓度虎杖苷水溶液。所述溶液中虎杖苷的浓度可以为约 5mg/ml ~ 40 mg/ml， β -环糊精的浓度可以在约 10mg/ml ~ 60mg/ml 范围内，葡甲胺的浓度可以在约 2.5mg/ml ~ 45mg/ml 范围内。

类似地，联合采用羟丙基- β -环糊精或磺丁醚- β -环糊精和葡甲胺作为助溶剂亦可对虎杖苷产生协同增溶作用。因此，本发明还提供一种以羟丙基- β -环糊精或磺丁醚- β -环糊精以及葡甲胺作为助溶剂的高浓度虎杖苷水溶液。所述水溶液中虎杖苷的浓度可以为约 5mg/ml ~ 100 mg/ml，所述水溶液含羟丙基- β -环糊精或磺丁醚- β -环糊精约 10mg/ml ~ 300mg/ml，含葡甲胺约为 2.5mg/ml ~ 100mg/ml。

本发明所述之高浓度虎杖苷水溶液可采用纯水、生理盐水或 pH 7.0 ~ 9.0 的缓冲液作为溶剂进行配制，例如，0.9%氯化钠水溶液、5%葡萄糖溶液、碳酸盐缓冲液、磷酸盐缓冲液、Tris 缓冲液和 Hepes 缓冲液等。

由于葡甲胺的助溶作用并不等同于一般的酸碱调节剂，因此，采用葡甲胺

配制的高浓度虎杖苷水溶液时，当其 pH 值超过 9 时，可采用药学上可接受的酸碱调节剂将其 pH 回调至 pH 6~9，由此制备可供临床使用，特别是可供注射给药的高浓度虎杖苷注射液。

显而易见，本发明之高浓度虎杖苷水溶液中，除活性成分虎杖苷以及所述助溶剂外，还可以含有药学上可接受的其它药用辅料，例如抗氧剂、渗透压调节剂、pH 调节剂等。其中，所述 pH 调节剂可以是碱金属、碱土金属的氢氧化物以及碳酸钠、磷酸钠等药学上可接受的无机碱，盐酸、硫酸、磷酸等药学上可接受的无机酸，也可以是碱性氨基酸等药学上可接受的有机碱，柠檬酸、富马酸等药学上可接受的有机酸。此外，所述高浓度虎杖苷水溶液中也可以含有可以与虎杖苷联合用药的其它活性成分。

本发明之高浓度虎杖苷水溶液可作为适合以液体制剂给药的药物制剂，显而易见，这些制剂可以是液体口服制剂，也可以是通过注射给药、局部给药的液体制剂。本发明之高浓度虎杖苷水溶液优选作为适合静脉注射、肌肉注射、皮下注射等胃肠外途径给药的注射剂。

本发明进一步提供本发明之高浓度虎杖苷水溶液的制备方法，该方法包括：采用纯水、生理盐水或缓冲水溶液作为溶剂，以化学计量的虎杖苷、葡甲胺和/或环糊精配制本发明所述高浓度虎杖苷的混合水溶液，还可以任选含有其它药用辅料如抗氧化剂等，该溶液经本领域熟知的无菌和/或无热源处理后灌装于注射液容器如安瓿瓶。举例来说，其无菌和/或无热源处理可以是微孔超滤、热压灭菌等。

本发明所提供的满足临床应用需要的高浓度虎杖苷溶液中可以不含有有机溶剂，因此该溶液可以用于进一步制备冻干制品，例如冻干粉针。由此，本发明进一步提供一种在使用前以注射用水或生理盐水等重新配制成高浓度虎杖苷水溶液的冻干制剂。

显然，本发明之冻干制品可以用助溶剂葡甲胺和/或环糊精配制的浓度约为 5mg/ml ~ 100mg/ml 的虎杖苷水溶液经冷冻干燥处理所得的药用制剂，例如冻干粉针。冻干前虎杖苷水溶液可以任选添加药学上可接受的填充剂、防冻剂、渗透压调节剂、pH 调节剂等。

容易理解，本发明之虎杖苷冻干制品的制备过程中，为使冻干前溶液容易处理，冻干前溶液之溶剂用量可以适当高于配制前述高浓度虎杖苷溶液所需的溶剂量，即所配制的冻干前溶液中的虎杖苷浓度可以低于使用前配制水溶液中的虎杖苷浓度。一般地，以本发明之冻干制品配制的水溶液中，虎杖苷浓度可达约 5mg/ml ~ 100mg/ml；显而易见，如有必要，本发明之冻干制品配制的水溶液可以进行任选比例的稀释。

本发明之虎杖苷冻干制品可以用葡甲胺作为助溶剂配制的浓度约为 5mg/ml ~ 15mg/ml 虎杖苷水溶液经冷冻干燥所得的药用制剂。由于所述虎杖苷水溶液中葡甲胺的浓度可以为约 7.5mg/ml ~ 60mg/ml，因此其冻干制剂中虎杖苷与葡甲胺的比例可以在约 1:1.5~1:12 之间；本发明中，该比例可进一步优选

在 1:1.5~1:3 之间。

本发明之虎杖苷冻干制品还可以是用 β -环糊精作为助溶剂配制的浓度约为 5mg/ml ~ 20mg/ml 虎杖苷水溶液经冷冻干燥处理所得的药用制剂。所述虎杖苷水溶液中 β -环糊精的浓度可以约为 20mg/ml ~ 60mg/ml, 因此其冻干制品中虎杖苷与 β -环糊精的比例可以在约 1:3 ~ 1:12 之间; 根据本发明, 该比例还进一步优选在 1:3 ~ 1:8 之间。

本发明之虎杖苷冻干制品还可以是用羟丙基- β -环糊精或磺丁醚- β -环糊精作为助溶剂配制的浓度约 5mg/ml ~ 60mg/ml 的虎杖苷水溶液经冷冻干燥处理所得的药用制剂。所述虎杖苷水溶液中 β -环糊精的浓度可以约为 20mg/ml ~ 300mg/ml, 因此其冻干制品中虎杖苷与葡甲胺的比例可以在约 1:4 ~ 1:60 之间; 根据本发明, 该比例还进一步优选在 1:4 ~ 1:8 之间。

本发明之虎杖苷冻干制品还可以是联用 β -环糊精和葡甲胺作为助溶剂配制的浓度约 5mg/ml ~ 40mg/ml 的虎杖苷水溶液经冷冻干燥处理所得的药用制剂。所述冻干前虎杖苷水溶液中, β -环糊精的浓度可以为约 10mg/ml ~ 60mg/ml, 葡甲胺的浓度可以为约 2.5mg/ml ~ 45mg/ml, 因此其冻干制品中, 虎杖苷与葡甲胺、 β -环糊精的比例可以在约 1:0.5:1.5 ~ 1:9:12 之间; 根据本发明, 该比例还进一步优选在 1:0.5:4 ~ 1:2:8 之间。

本发明之虎杖苷冻干制品还可以是用羟丙基- β -环糊精或磺丁醚- β -环糊精以及葡甲胺作为助溶剂配制的浓度约 5mg/ml ~ 100mg/ml 的虎杖苷水溶液经冷冻干燥处理所得的药用制剂。所述冻干前虎杖苷水溶液中羟丙基- β -环糊精或磺丁醚- β -环糊精浓度可以为约 10mg/ml ~ 300mg/ml, 葡甲胺的浓度可以为约 2.5mg/ml ~ 100mg/ml, 因此其冻干制品中, 虎杖苷与葡甲胺、羟丙基- β -环糊精或磺丁醚- β -环糊精的比例可以在约 1:0.5:2 ~ 1:20:60 之间; 根据本发明, 该比例优选在 1:0.5:4 ~ 1:2:8 之间。

本发明进一步提供上述冻干粉针剂的制备方法, 该方法包括, 采用纯水、生理盐水或缓冲水溶液作为溶剂以化学计量的虎杖苷、葡甲胺和/或环糊精配制本发明所述高浓度虎杖苷水溶液, 可以另含药学上可接受的填充剂等药用辅料, 所得溶液经超滤法除热源, 无菌分装于西林瓶, 冷干成型后, 得到制品, 即含虎杖苷的冻干混合物。适当的填充剂可以有利于本发明之虎杖苷冻干制品的冻干成型, 本发明优选的填充剂包括甘露醇、NaCl 等。

本发明之含高浓度虎杖苷的冻干制品可以是分装的无菌粉末, 也可以是直接冻干成型的冻干粉针, 其中优选冻干粉针剂。本发明之含高浓度虎杖苷的冻干制品可以通过静脉注射、静脉滴注、肌肉注射、皮下注射以及局部给药等胃肠外途径给药。本发明所述之含“高浓度”虎杖苷的冻干制品意思是指该冻干制品经纯水或生理盐水等配制成水溶液后, 该溶液中的虎杖苷浓度可达 5mg/ml 以上。

本发明所提供的含虎杖苷的药物组合物可以用于制备微循环障碍相关性疾病的治疗药物。本发明之虎杖苷药物组合物具有显著的扩张和疏通微血管、

降低微血管内血液黏度、抑制血细胞黏附作用，因而可以用于治疗或预防休克以及其它与微循环障碍有关的疾病如心肌缺血、脑缺血、肢端循环障碍等。

中国专利申请 CN 1709269A 提供了一种可通过静脉滴注提供有效治疗剂量虎杖苷的药用制剂，由于该制剂含较高浓度有机溶剂而不能用于直接注射给药，因此，迄今尚无具有临床实际应用价值的、可通过直接注射给药的虎杖苷药用制剂。本发明提供了一种可以不含有有机溶剂的高浓度虎杖苷水溶液，该水溶液还可以进一步被制备成冻干制品。由于可以不含有有机溶剂，这些虎杖苷水溶液及其冻干制剂可以用于直接注射给药。

显然，本发明之高浓度虎杖苷水溶液可以不含有有机溶剂，但并不排斥使用有机溶剂，例如在不影响特定给药方式及制剂成型条件下，其水溶液亦可包括少量乙醇、丙二醇等。

本发明首次提供了一种具有实际临床应用价值的、可以直接注射给药的虎杖苷制剂，这不仅可以为虎杖苷的临床应用提供了一种更为便捷的使用途径，又可以为进一步拓宽虎杖苷的临床应用范围提供了条件。与现有的技术水平相比，本发明之药物组合物具有本质上的进步。

举例来说，虎杖苷由于其显著的微循环改善作用而可以应用于创伤性休克等危重疾病的治疗，直接注射给药无疑对于这些危重疾病的抢救治疗具有极为重要的意义。

动物试验及溶液稳定性试验表明，本发明提供的虎杖苷药物组合物安全有效、稳定性良好，因此，该溶液具有良好的临床应用前景。

为了更好地理解本发明的本质，下面结合附图，通过对部分较佳实施方式所进行的描述，详细说明但不限制本发明。

附图的简要说明

图 1 表示虎杖苷注射液对失血性休克犬平均动脉压的影响；

图 2 表示虎杖苷治疗对失血性休克犬冠脉血流的影响。

发明的具体实施方式

以下实施例中所采用的材料包括：

虎杖苷，由深圳海王技术中心提供，纯度 99.63%，批号 20050819。

葡甲胺，药用辅料，上海富蔗化工有限公司； β -环糊精，药用辅料，永光环糊精有限公司；羟丙基- β -环糊精，辅料第一类，西安德立生物化工有限公司；磺丁醚- β -环糊精，药用辅料，上海富蔗化工有限公司；氟里昂 F12，浙江荧光化工有限公司。注射用水，海王工业城；0.9%氯化钠溶液，以注射用水配制； Na_2HPO_4 - NaH_2PO_4 缓冲液，注射用水配制。

本发明所用其它试验材料，如无特别说明，均为市售购买产品。

虎杖苷注射液的制备

【实施例 1】

1. 处方

原料

用 量

虎杖苷	25.0 g
葡甲胺	50.0 g
pH 8.0 $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$ 缓冲液	至 5.0 L
制成	1000 支

2. 制法 $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$ 缓冲液 4.8L, 加入虎杖苷 25.0g, 葡甲胺 50.0g, 40°C 超声促溶, 加 $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$ 缓冲液定容至 5.0 L, 0.2 μm 微孔滤膜超滤, 灌封于 1000 支安瓿瓶中。

【实施例 2】

5

1. 处方

原料	用 量
虎杖苷	50.0 g
β -环糊精	250.0 g
pH 9.0 $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$ 缓冲液	至 5.0 L
制成	1000 支

2. 制法 $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$ 缓冲液 4.8L, 加入虎杖苷 50.0g, β -环糊精 250.0g, 40°C 超声促溶, 加 $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$ 缓冲液定容至 5.0 L, 0.2 μm 微孔滤膜超滤, 灌封于 1000 支安瓿瓶中。

【实施例 3】

10

1. 处方

原料	用 量
虎杖苷	100.0 g
羟丙基- β -环糊精	600.0 g
pH 7.5 $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$ 缓冲液	至 5.0 L
制成	1000 支

2. 制法 $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$ 缓冲液 4.8L, 加入虎杖苷 100.0g, 羟丙基- β -环糊精 600.0g, 40°C 超声促溶, 加 $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$ 缓冲液定容至 5.0 L, 0.2 μm 微孔滤膜超滤, 灌封于 1000 支安瓿瓶中。

【实施例 4】

15

1. 处方

原料	用 量
虎杖苷	75.0 g
磺丁醚- β -环糊精	400.0 g
pH 8.0 $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$ 缓冲液	至 5.0 L
制成	1000 支

2. 制法 $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$ 缓冲液 4.8L, 加入虎杖苷 75.0g, 磺丁醚- β -环糊精 400.0g, 40°C 超声促溶, 加 $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$ 缓冲液定容至 5.0 L, 0.2 μm

微孔滤膜超滤，灌封于 1000 支安瓿瓶中。

【实施例 5】

1. 处方

原料	用 量
虎杖苷	75.0 g
葡甲胺	75.0 g
β -环糊精	250.0 g
pH 8.0 Na_2HPO_4 - NaH_2PO_4 缓冲液 至	5.0 L
制成	1000 支

2. 制法 Na_2HPO_4 - NaH_2PO_4 缓冲液 4.8L，加入虎杖苷 75.0g，葡甲胺 100.0 g， β -环糊精 200.0g，40°C 超声促溶，加 Na_2HPO_4 - NaH_2PO_4 缓冲液定容至 5.0L，0.45 μm 的微孔滤膜粗滤，续滤液过 0.22 μm 的微孔滤膜，配备 1 万截留分子量的 PES 膜的板框式超滤器除热原，棕色瓶充氮气灌封。

【实施例 6】

1. 处方

原料	用 量
虎杖苷	400.0 g
葡甲胺	400.0 g
羟丙基- β -环糊精	1500.0 g
pH 7.5 Na_2HPO_4 - NaH_2PO_4 缓冲液 至	5.0 L
制成	1000 支

2. 制法 Na_2HPO_4 - NaH_2PO_4 缓冲液 4.8L，加入虎杖苷 400.0g，葡甲胺 400.0g，羟丙基- β -环糊精 1250.0g，40°C 超声促溶，加 Na_2HPO_4 - NaH_2PO_4 缓冲液定容至 5.0L，0.45 μm 的微孔滤膜粗滤，续滤液过 0.22 μm 的微孔滤膜，1 万截留分子量的 PES 膜超滤除热原，棕色瓶充氮气灌封。

虎杖苷冻干粉针的制备

【实施例 7】

1. 处方

原料	用 量
虎杖苷	25.0 g
葡甲胺	50.0 g
甘露醇	50.0 g
pH 8.0 Na_2HPO_4 - NaH_2PO_4 缓冲液 至	5.0 L
制成	1000 支

2. 制法 冻干前溶液配制： Na_2HPO_4 - NaH_2PO_4 缓冲液 4.8L，加入虎杖苷 25.0g，葡甲胺 50.0g，甘露醇 50.0g，40°C 超声促溶，加 Na_2HPO_4 - NaH_2PO_4 缓冲液定容至 5.0 L，0.2 μm 微孔滤膜超滤，分装到 1000 支冻干专用西林瓶中。

制剂成型：西林瓶放入冻干箱后板温降至-35℃，品温降至-30℃冷冻三小时，冷凝温度达-40℃，抽真空，板温缓慢升至40℃，制品温度随之升高、干燥，冻干机开箱，西林瓶压塞，轧盖。

【实施例8】

5

1. 处方

原料	用 量
虎杖苷	75.0 g
β-环糊精	400.0 g
甘露醇	100.0 g
pH 9.0 Na ₂ HPO ₄ -NaH ₂ PO ₄ 缓冲液	至 10.0 L
制成	1000 支

2. 制法 冻干前溶液配制：Na₂HPO₄-NaH₂PO₄ 缓冲液 9.5L，加入虎杖苷 75.0g，β-环糊精 400.0g，甘露醇 100.0g，40℃ 超声促溶，加 Na₂HPO₄-NaH₂PO₄ 缓冲液定容至 10.0 L，0.2μm 微孔滤膜超滤，分装到 1000 支冻干专用西林瓶中。

10

制剂成型：西林瓶放入冻干箱后板温降至-35℃，品温降至-30℃冷冻3小时，冷凝温度达-40℃，抽真空，板温缓慢升至40℃，制品温度随之升高、干燥，冻干机开箱，西林瓶压塞，轧盖。

【实施例9】

1. 处方

原料	用 量
虎杖苷	75.0 g
羟丙基-β-环糊精	500.0 g
甘露醇	50.0 g
pH 7.5 Na ₂ HPO ₄ -NaH ₂ PO ₄ 缓冲液	至 5.0 L
制成	1000 支

15

2. 制法 冻干前溶液配制：Na₂HPO₄-NaH₂PO₄ 缓冲液 4.8L，加入虎杖苷 750.0g，羟丙基-β-环糊精 500.0g，甘露醇 50.0 g，40℃ 超声促溶，加 Na₂HPO₄-NaH₂PO₄ 缓冲液定容至 5.0 L，0.2μm 微孔滤膜超滤后分装到 1000 支冻干专用西林瓶中。

20

制剂成型：西林瓶放入冻干箱后板温降至-35℃，品温降至-30℃冷冻3小时，冷凝温度达-40℃，抽真空，板温缓慢升至40℃，制品温度随之升高、干燥，冻干机开箱，西林瓶压塞，轧盖。

【实施例10】

1. 处方

原料	用 量
虎杖苷	100.0 g

磺丁醚-β-环糊精	800.0 g
甘露醇	100.0 g
pH 8.0 Na ₂ HPO ₄ -NaH ₂ PO ₄ 缓冲液 至	10.0 L
制成	1000 支

2. 制法 冻干前溶液配制: Na₂HPO₄-NaH₂PO₄ 缓冲液 9.5L, 加入虎杖苷 50.0g, 磺丁醚-β-环糊精 400.0g, 甘露醇 100.0g, 40℃ 超声促溶, 加 Na₂HPO₄-NaH₂PO₄ 缓冲液定容至 10.0L, 0.2μm 微孔滤膜超滤后分装到 1000 支冻干专用西林瓶中。

- 5 制剂成型: 西林瓶放入冻干箱后板温降至-35℃, 品温降至-30℃ 冷冻 3 小时, 冷凝温度达-40℃, 抽真空, 板温缓慢升至 40℃, 制品温度随之升高、干燥, 冻干机开箱, 西林瓶压塞, 轧盖。

【实施例 11】

1. 处方

原料	用 量
虎杖苷	50.0 g
葡甲胺	50.0 g
β-环糊精	200.0 g
甘露醇	50.0 g
pH 8.5 Na ₂ HPO ₄ -NaH ₂ PO ₄ 缓冲液 至	5.0 L
制成	1000 支

- 10 2. 制法 冻干前溶液配制: Na₂HPO₄-NaH₂PO₄ 缓冲液 4.5L, 加入虎杖苷 50.0g, 葡甲胺 50.0g, β-环糊精 200.0g, 甘露醇 100.0g, 40℃ 超声促溶, 加 Na₂HPO₄-NaH₂PO₄ 缓冲液定容至 5.0L, 0.2μm 微孔滤膜超滤后分装到 1000 支冻干专用西林瓶中。

- 15 制剂成型: 西林瓶放入冻干箱后板温降至-50℃, 品温降至-45℃ 冷冻 3 小时, 冷凝温度达-55℃, 抽真空, 板温缓慢升至 -20℃, 之后再冷冻、再升温, 如此 3 次后, 再使板温缓慢升至 40℃, 制品由此干燥成型。冻干机开箱, 西林瓶压塞, 轧盖。

【实施例 12】

1. 处方

原料	用 量
虎杖苷	300.0 g
葡甲胺	300.0 g
磺丁醚-β-环糊精	1500.0 g
甘露醇	50.0 g
pH 7.5 Na ₂ HPO ₄ -NaH ₂ PO ₄ 缓冲液 至	5.0 L
制成	1000 支

- 20 2. 制法 冻干前溶液配制: Na₂HPO₄-NaH₂PO₄ 缓冲液 4.5L, 加入虎杖

昔 300.0g, 葡甲胺 300.0g, 磺丁醚- β -环糊精 1000.0g, 甘露醇 50.0g, 40°C 超声促溶, 加 Na_2HPO_4 - NaH_2PO_4 缓冲液定容至 5.0L, 0.45 μm 的微孔滤膜粗滤, 续滤液过 0.22 μm 的微孔滤膜, 1 万截留分子量的 PES 膜超滤除热原后分装到 1000 支冻干专用西林瓶中。

- 5 制剂成型: 西林瓶放入冻干箱后板温降至-50°C, 品温降至-45°C 冷冻 3 小时, 冷凝温度达-55°C, 抽真空, 板温缓慢升至-20°C, 之后再冷冻、再升温, 如此 3 次后, 再使板温缓慢升至 40°C, 制品由此干燥成型。冻干机开箱, 西林瓶压塞, 轧盖。

虎杖苷口服溶液的制备

10 【实施例 13】

1. 处方

原料	用 量
虎杖苷	100.0 g
葡甲胺	100.0 g
β -环糊精	450.0 g
pH 8.5 Na_2HPO_4 - NaH_2PO_4 缓冲液 至	10.0 L
制成	1000 瓶

2. 制法 Na_2HPO_4 - NaH_2PO_4 缓冲液 9.5L, 加入虎杖苷 100.0g, 葡甲胺 100.0g, β -环糊精 450.0g, 40°C 超声促溶, 加 Na_2HPO_4 - NaH_2PO_4 缓冲液定容至 10.0L, 0.45 μm 微孔滤膜超滤后分装到 1000 支口服液玻璃瓶中。

15

虎杖苷喷雾剂的制备

【实施例 14】

1. 处方

原料	用 量
虎杖苷	500.0 g
葡甲胺	500.0 g
β -环糊精	3000.0 g
pH 8.0 Na_2HPO_4 - NaH_2PO_4 缓冲液 至	20.0 L
制成	1000 支

2. 制法 Na_2HPO_4 - NaH_2PO_4 缓冲液 19L, 加入虎杖苷 500g, 葡甲胺 500g, β -环糊精 3000g, 40°C 超声促溶, 加 Na_2HPO_4 - NaH_2PO_4 缓冲液定容至 20.0L, 0.45 μm 微孔滤膜粗滤, 续以 0.22 μm 的微孔滤膜过滤后, 滤液灌于超声波雾化器内即得虎杖苷喷雾剂。雾粒直径大部分在 5 μm 以下, 可吸入呼吸

20

支气管和肺泡内。

虎杖苷气雾剂的制备

【实施例 15】

25

1. 处方

原料	用 量
----	-----

虎杖苷	100.0 g
羟丙基- β -环糊精	600.0 g
pH 7.5 Na_2HPO_4 - NaH_2PO_4	3.5 L
氟利昂 F12	至 5000.0 g
制成	1000 瓶

2. 制法 Na_2HPO_4 - NaH_2PO_4 缓冲液 3.5L, 加入虎杖苷 100g, β -环糊精 600g, 40°C 超声促溶, 0.45 μm 微孔滤膜粗滤, 滤液续以 0.22 μm 的微孔滤膜过滤, 滤液分剂量灌装, 封接剂量阀门系统, 然后再加压注入 F12, 摇匀, 即得虎杖苷气雾剂。

葡甲胺及环糊精对虎杖苷的助溶作用

【实施例 16】 葡甲胺对虎杖苷的助溶作用

配制浓度为 0、2.5、5、10、20、40、80mg/ml 的葡甲胺溶液各 10ml, 每份溶液中分别加入虎杖苷至 50ml, 40°C 超声促溶 30min 后, 室温放置 3hr, 0.20 μm 微孔滤膜过滤, HPLC 法检测滤液中虎杖苷浓度, 检测结果如表 1 所示。

表 1 虎杖苷在不同浓度葡甲胺溶液中的饱和溶解度 (mg/ml)

葡甲胺溶液	0	2.5	5	10	20	40	80
虎杖苷溶解度	0.25	2.51	5.69	6.51	9.68	16.82	22.68

当葡甲胺浓度高于 10mg/ml 时, 所配制的虎杖苷饱和溶液 pH 值可在 9~12 之间, 但是, 虎杖苷在葡甲胺溶液中的溶解度比在相同 pH 值下的 NaOH 溶液中的溶解度高数十倍不等 (参见中国专利申请 CN 1709269A)。

此外, 配制浓度 7.5mg/ml 的葡甲胺溶液, 以上述方法制备虎杖苷饱和溶液, 经检测, 该溶液中虎杖苷溶解度约为 5.12mg/ml, 其 pH 值约 8.7; 以 pH7.5 磷酸缓冲液配制浓度 60mg/ml 的葡甲胺溶液, 以上述方法制备虎杖苷饱和溶液, 经检测, 该溶液中虎杖苷溶解度约为 14.83mg/ml, 其 pH 值约 8.94。

显然: (1) 葡甲胺对虎杖苷的增溶作用不能归因于 pH 调节作用; (2) 采用 7.5~60mg/ml 的葡甲胺溶液可以配制 pH 在 9 以下而虎杖苷浓度在 5~15mg/ml 范围内的虎杖苷水溶液。

【实施例 17】 虎杖苷在 β -环糊精溶液中的溶解度

分别取 β -环糊精 0、25、50、100、200、300、450mg, 加入虎杖苷 100mg, 加蒸馏水 10ml, 40°C 超声促溶 30min 后, 室温放置 3hr, 0.20 μm 微孔滤膜过滤, HPLC 法检测滤液中虎杖苷浓度, 检测结果如表 2 所示。

表 2 虎杖苷在不同浓度 β -环糊精溶液中的饱和溶解度 (mg/ml)

β -环糊精用量	0	2.5	5.0	10.0	20.0	30.0	45.0
虎杖苷溶解度	0.25	0.91	1.35	2.35	3.76	5.81	10.14

结果表明, 当溶液中 β -环糊精浓度高于 30mg/ml 时, 虎杖苷溶解度即可超

过 5mg/ml。鉴于文献及实验室实测结果均表明， β -环糊精在室温下的纯水中的溶解度约为 18mg/ml，因此上述操作中，高浓度 β -环糊精溶液配制中，所加入的 β -环糊精可能不完全溶解，也就是说，滤液中 β -环糊精可能达不到表 2 所列的 β -环糊精计算浓度；此外，检测上述虎杖苷饱和溶液之 pH 值，结果其 pH 均低于 7。为检测虎杖苷存在下的 β -环糊精实际溶解性以及不同 pH 值下 β -环糊精对虎杖苷溶解度的影响，试验进一步采用 pH 9.0 磷酸缓冲液配制下列溶液：取 β -环糊精 200, 400, 600mg，分别加入虎杖苷 50, 100, 200mg，加磷酸缓冲液 10ml，40°C 超声促溶后，室温放置 3hr。经检查，所得溶液未经过滤均为澄清溶液，说明 β -环糊精和虎杖苷在配制溶液均可完全溶解，其中 β -环糊精溶解度可在 60mg/ml 以上。

由上述结果可见，(1) 虎杖苷水溶性可随 β -环糊精存在量的增加而提高，但两者浓度没有明显的线性关系；(2) 在虎杖苷存在下， β -环糊精的自身溶解度也可以大幅度升高，这构成了利用 β -环糊精制备具有临床应用价值的高浓度虎杖苷溶液的基础条件；(3) 采用浓度 20~60mg/ml 的 β -环糊精可以制备浓度可达 5~20mg/ml 的 pH 9.0 以内的虎杖苷水溶液。

【实施例 18】虎杖苷在羟丙基- β -环糊精溶液中的溶解度

分别取羟丙基- β -环糊精 0、25、50、100、200、300、400、500、700、900、1200、1500、2000、3000、5000mg，加入虎杖苷至过饱和，加蒸馏水 10ml，40°C 超声促溶 30min 后，室温放置 3hr，0.20 μ m 微孔滤膜过滤，HPLC 法检测滤液中虎杖苷浓度，检测结果如表 3 所示。

表 3 虎杖苷在不同浓度羟丙基- β -环糊精中的饱和溶解度 (mg/ml)

环糊精用量	0	2.5	5.0	10.0	30.0	60.0
虎杖苷溶解度	0.25	0.83	1.56	2.88	6.25	11.53

环糊精用量	90	120	150	200	300	500
虎杖苷溶解度	16.34	22.60	29.12	39.18	50.12	56.32

结果表明，羟丙基- β -环糊精可产生近似于 β -环糊精的虎杖苷增溶活性，由于其自身水溶性较好而可以形成更高浓度的虎杖苷水溶液。虎杖苷水溶性可随羟丙基- β -环糊精存在量的增加而提高，但两者浓度增长亦无明显的线性关系。当羟丙基- β -环糊精浓度至 30mg/ml 时，虎杖苷溶解度即可超过 6mg/ml；当羟丙基- β -环糊精浓度至 300mg/ml 时，虎杖苷溶解度即可超过 50mg/ml。试验进一步采用 pH 9.0 磷酸缓冲液配制下列两种溶液：取羟丙基- β -环糊精 200、4500mg，分别加入虎杖苷 50、600mg，加磷酸缓冲液 10ml，40°C 超声促溶后，室温放置 3hr。经检查，所得溶液未经过滤均为澄清溶液，说明羟丙基- β -环糊精和虎杖苷在配制溶液均可完全溶解。试验表明，可以采用低至 20mg/ml 的羟丙基- β -环糊精溶液配制不低于 5mg/ml 的虎杖苷溶液；在 pH 9.0 以内可以采用羟丙基- β -环糊精溶液配制浓度达 60mg/ml 的虎杖苷溶液。试验还表明，磺

丁醚- β -环糊精可对虎杖苷产生类似的助溶作用。

【实施例 19】葡甲胺和 β -环糊精对虎杖苷的协同增溶作用

分别取葡甲胺 0、50、100 和 150mg，分别加入 0、150、300 和 450mg，加入虎杖苷 200mg，加蒸馏水 10ml，40°C 超声促溶 30min 后，室温放置 3hr，
5 0.20 μ m 微孔滤膜过滤，HPLC 法检测滤液中虎杖苷浓度，检测结果如表 4 所示。

表 4 虎杖苷在不同浓度葡甲胺、 β -环糊精溶液中的溶解度(mg/ml)

葡甲胺用量	0				5			
β -环糊精用量	0	15	30	45	0	15	30	45
虎杖苷溶解度	0.25	2.97	5.73	10.09	3.42	7.89	11.25	15.46

葡甲胺用量	10				15			
β -环糊精用量	0	15	30	45	0	15	30	45
虎杖苷溶解度	5.69	10.09	13.11	17.86	7.24	12.25	15.92	19.37

显然，无葡甲胺存在时，15、30 和 45mg/ml 的 β -环糊精可以使虎杖苷溶解
10 度分别提高 2.72、5.48 和 9.48mg/ml；无 β -环糊精存在时，5、10 和 15mg/ml 葡甲胺可以使虎杖苷溶解度分别提高 3.17、5.44 和 6.99mg/ml。显然，不同浓度葡甲胺和 β -环糊精共同存在时，其对虎杖苷的增溶作用均高于对应浓度下单独存在的葡甲胺和 β -环糊精对虎杖苷增溶作用的简单加和。例如，葡甲胺 5mg/ml 可使
15 虎杖苷溶解度提高约 3.17mg/ml， β -环糊精 15mg/ml 可使虎杖苷溶解度提高约 2.72mg/ml，其加和为 5.89 mg/ml；而对应浓度的葡甲胺、 β -环糊精混合溶液中，虎杖苷的溶解度增加了 7.64mg/ml，此值较简单加和值提高约 30%。类似地，羟丙基- β -环糊精、磺丁醚- β -环糊精与葡甲胺可对虎杖苷产生更强的协同增溶作用。

此外，取 450mg 葡甲胺和 600mg β -环糊精，加 400mg 虎杖苷后，加 10ml pH 8.5 磷酸缓冲液溶解，可得澄明的虎杖苷水溶液，说明，联用葡甲胺和 β -
20 环糊精可以配制浓度高达 40mg/ml 的虎杖苷水溶液(pH 低于 9)。取 1g 葡甲胺和 3g 羟丙基- β -环糊精，加 1g 虎杖苷后，再加 10ml pH 8.5 磷酸缓冲液溶解，亦可获得澄明的虎杖苷水溶液，说明，联用葡甲胺和羟丙基- β -环糊精可以配制浓度高达 100mg/ml 的虎杖苷水溶液 (pH 低于 9)。

虎杖苷药物组合物的安全性、稳定性研究

25 【实施例 20】虎杖苷注射液及冻干粉针之储存稳定性考察

1. 试验样品

实施例 1~12 制备的虎杖苷注射液及冻干粉针。

2. 试验方法

存在条件：供试样品分别避光储存于 30°C 恒温箱和 4°C 冰箱。

30 澄明度检查：检查供试样品于储存前和储存三个月后的溶液澄明度，其中，冻干粉针以设计容量(5ml 或 10ml)生理盐水稀释后检查。

含量检测：高效液相色谱法。色谱条件：Agilent 1100 高效液相色谱仪；Agilent DAD 检测器；大连依利特 YWG C18 10 μ m 4.6 $\times$ 250mm 色谱柱；流动相为甲醇-6%醋酸溶液(25:75)；流速为 1.0ml/min；检测波长为 306nm；柱温为 30°C；进样量为 20 μ l。

3. 结果

考察结果见表 5。结果表明，虎杖苷注射液以及冻干粉针复溶的水溶液的澄明度检查均合格；受试样品在 30°C 或 4°C 下储存 3 个月，其有效成分含量可保持稳定（变化不超过 $\pm 10\%$ ）。

表 4 虎杖苷注射液及冻干粉针的储存稳定性 (mg/ml)

供试品	澄明度检查			含量检测		
	储存前	储存 3 个月		储存前	储存 3 个月	
		30°C	4°C		30°C	4°C
实施例 1 注射液	合格	合格	合格	4.953	4.743	4.951
实施例 2 注射液	合格	合格	合格	9.883	9.664	9.823
实施例 3 注射液	合格	合格	合格	20.07	19.29	20.10
实施例 4 注射液	合格	合格	合格	14.96	14.91	14.95
实施例 5 注射液	合格	合格	合格	15.02	14.22	15.00
实施例 6 注射液	合格	合格	合格	79.51	75.40	79.52
实施例 7 冻干粉针	合格	合格	合格	4.893	4.682	4.886
实施例 8 冻干粉针	合格	合格	合格	7.492	7.403	7.429
实施例 9 冻干粉针	合格	合格	合格	14.75	14.60	14.77
实施例 10 冻干粉针	合格	合格	合格	9.852	9.731	9.826
实施例 11 冻干粉针	合格	合格	合格	10.16	9.635	10.23
实施例 12 冻干粉针	合格	合格	合格	58.63	55.36	57.98

【实施例 21】虎杖苷注射液及冻干粉针之溶血、过敏及血管刺激性检查

1. 供试品

样品 1，实施例 3 之虎杖苷注射液。

样品 2，实施例 11 虎杖苷冻干粉针。临用前以 5ml 生理盐水溶解。

2. 方法

溶血试验：新西兰兔耳静脉采血，经去纤维蛋白原，生理盐洗涤后，以生理盐水稀释成 2% 的混悬液供试验用。

分别取虎杖苷注射液或冻干粉针复溶的水溶液 0(对照)、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5ml 后，分别加生理盐水至 2.5ml，混匀后加上述 2% 血细胞混悬液，轻摇混匀后，置 27°C 室温中，观察、记录 30、60、180min 的溶血结果。

全身过敏试验：健康豚鼠 24 只(250-350g)，随机分组，每组 6 只。各组动物隔日分别腹腔注射生理盐水(阴性对照)、虎杖苷注射液或冻干粉针复溶的水

溶液及鸡蛋清(阳性对照) 1ml/只, 共 3 次。首次注射后的第 14 天, 每组取 3 只再次分别对照溶液或供试品溶液 2.5ml/只, 观察注射后试验动物的反应情况。各组余下 3 只豚鼠于首次注射后的第 21 天同法分别注射对照溶液或供试品溶液 2.5ml/只并观察动物反应情况。

5 **血管刺激性试验:** 新西兰兔 6 只, ♀ ♂ 各半, 按 5mg/kg 耳缘静脉注射虎杖苷注射液或冻干粉针复溶的水溶液, 每天一次, 连续 3 次, 观察注射后血管及其周围组织的变化情况, 末次注射后 30 分钟, 颈动脉放血处死动物, 剪下兔耳注射部位固定, 对侧兔耳同一部位剪下固定作为正常对照, 病理切片检查兔耳血管病理变化情况。

10 2. 结果

溶血试验: 虎杖苷注射液及冻干粉针复溶的水溶液在 30、60、180min 均未发生溶血现象, 出现红细胞凝集反应。

全身过敏试验: 注射虎杖苷注射液及冻干粉针复溶的水溶液末次给药后, 与阴性对照一样, 仅少数动物出现轻微抓鼻反应, 未见颤抖、呼吸困难、痉挛等过敏症状, 阳性对照组则见试验动物因强烈过敏反应而死亡。

血管刺激试验: 兔耳静脉注射虎杖苷注射液及冻干粉针复溶的水溶液后均未引起静脉扩张、充血, 周围组织未见水肿。病理检查未见兔耳皮肤破坏或皮下组织充血、水肿, 耳缘静脉未见扩张、充血, 血管内皮细胞未见改变, 血管壁未见附壁血栓及炎性细胞浸润, 血管周围未见出血。

20 **结论:** (1) 供试的虎杖苷注射液及冻干粉针没有体外溶血作用和凝集反应。(2) 供试的虎杖苷注射液及冻干粉针兔耳血管无刺激作用。(3) 供试的虎杖苷注射液及冻干粉针不引起全身过敏反应。

虎杖苷药物组合物的药效学研究

【实施例 22】虎杖苷注射液对失血性休克犬心肌血流量的影响

25 **供试品:** 实施例 5 之虎杖苷注射液, 深圳海王药业有限公司。

动物: Beagle 犬, 体重 8~12 kg。合格证号 001321, 许可证号 SYXK(粤) 2003-0007。第一军医大学动物所。

试验方法: 动物用 3% 戊巴比妥钠麻醉后, 仰卧固定于大动物手术台。行气管插管, 呼吸机(E100i 型, 美国 Newport Ven 公司产品) 维持呼吸 (15 次/min、300~400 ml/min)。双侧股动脉插管, 分别用于记录血压 (美国 Marquette Eagle4000 生理记录仪) 和放血, 行股静脉插管用于给药。左侧 2~4 肋间开胸, 暴露心脏, 剪开心包膜, 超声血流量计(T206 型, 美国 transonic systems 公司产品)记录冠脉前降支血流量。通过一侧股动脉插管放血并使之流入装有肝素生理盐水的无菌输液瓶内, 调节放血量, 使平均动脉压在 15min 内降至 40 mmHg, 使平均动脉压维持在该水平 120 min, 然后给药, 虎杖苷注射液混溶于容量为 1/3 失血量的生理盐水并在 120min 内由股静脉输入体内, 给药剂量 5.0 mg/kg。记录给药前后的冠脉血流量。试验采用生理盐水作为对照。以正常血流量为 100%对血流量数据进行标准化处理, 采用 SPSS13.0 统计软件包的多

因素方差分析(ANOVA)进行统计学分析。

5 试验结果：实验中，犬失血量约占全血量的 60%。试验结果显示，犬失血性休克期间，冠脉血流量明显减少。给予虎杖苷注射液进行复苏抢救后，犬平均动脉压显著升高（见图 1），给药后冠脉血流量得到明显恢复，给药开始 60 min 后冠脉血流达到了正常的 $62.92 \pm 8.76\%$ ；在随后的观察时间内，虎杖苷组的冠脉血流量维持在较高水平，给药开始后 120 min 时甚至达到正常水平（正常的 $101.96 \pm 15.87\%$ ）。虎杖苷组增加冠脉血流量的程度从给药 60 分钟开始，各时间点均显著高于生理盐水对照组（见表 5，图 2）。

表 5 虎杖苷治疗对失血性休克犬心脏冠脉血流量的影响 ($\%, \bar{x} \pm s$)

分组	正常	休克			给药过程			给药后		
		1'	60'	120'	30'	60'	120'	30'	60'	120'
对照组	100	31.86 $\pm$ 10.75*	32.11 $\pm$ 7.31*	35.62 $\pm$ 11.10*	48.20 $\pm$ 16.46*	59.31 $\pm$ 14.96*	60.87 $\pm$ 9.85*	51.06 $\pm$ 9.89*	52.04 $\pm$ 9.73*	40.20 $\pm$ 5.96*
虎杖组	100	27.09 $\pm$ 9.18*	30.12 $\pm$ 8.15*	32.98 $\pm$ 2.87*	62.92 $\pm$ 8.76	91.09 $\pm$ 24.02 [#]	101.96 $\pm$ 15.87 ^{^#}	85.92 $\pm$ 6.66 ^{^#}	78.97 $\pm$ 3.12 ^{^#}	82.00 $\pm$ 5.25 [#]

10 自身比较：* 与正常时相比， $p < 0.05$ ；[^] 与休克 120' 相比， $p < 0.05$ 。

组间比较：[#] 与对照组相比， $p < 0.05$ 。

工业应用性

15 本发明提供了一种具有实际临床应用价值的，可以直接注射给药的虎杖苷药物组合物，其安全有效、稳定性良好，不仅可以为虎杖苷的临床应用提供了一种更为便捷的使用途径，又可以为进一步拓宽虎杖苷的临床应用范围提供了条件。

权利要求书

1、一种含高浓度虎杖苷的药物组合物，所述药物组合物含有药用活性成分虎杖苷及助溶剂葡甲胺和/或环糊精，所述药物组合物为水溶液或使用前配制成水溶液的冻干制品，在所述水溶液以及用冻干制品配制的水溶液中虎杖苷浓度能够达到 5mg/ml ~ 100mg/ml。

2、权利要求 1 所述的药物组合物，虎杖苷与助溶剂葡甲胺和/或环糊精的质量比为 1:0.5:1.5~1:20:100。

3、权利要求 2 所述的药物组合物，其特征在于所述组合物为虎杖苷水溶液。

4、权利要求 3 所述药物组合物，其特征在于：所述虎杖苷水溶液中含有虎杖苷 5mg/ml ~ 15mg/ml 以及葡甲胺 7.5mg/ml ~ 60mg/ml。

5、权利要求 3 所述药物组合物，其特征在于：所述虎杖苷水溶液中含有虎杖苷 5mg/ml ~ 20mg/ml 以及 β -环糊精 20mg/ml ~ 60mg/ml。

6、权利要求 3 所述药物组合物，其特征在于：所述虎杖苷水溶液中含有虎杖苷 5mg/ml ~ 60mg/ml 以及羟丙基 β -环糊精或磺丁醚- β -环糊精 20mg/ml ~ 500mg/ml。

7、权利要求 3 所述药物组合物，其特征在于：所述虎杖苷水溶液中含有虎杖苷 5mg/ml ~ 40mg/ml、 β -环糊精 10mg/ml ~ 60mg/ml 以及葡甲胺 2.5mg/ml ~ 45mg/ml。

8、权利要求 3 所述药物组合物，其特征在于：所述虎杖苷水溶液中含有虎杖苷 5mg/ml ~ 100 mg/ml、羟丙基 β -环糊精或磺丁醚- β -环糊精 10mg/ml ~ 300mg/ml 以及葡甲胺 2.5mg/ml ~ 100mg/ml。

9、权利要求 3 ~ 8 所述药物组合物，其特征在于：所述虎杖苷水溶液采用注射用水、生理盐水或 pH 7.0 ~ 9.0 的缓冲液作为溶剂配制。

10、权利要求 3 所述药物组合物，其特征在于：所述虎杖苷水溶液是虎杖苷注射液。

11、权利要求 3 所述药物组合物的制备方法：采用注射用水、生理盐水或 pH 7.0 ~ 9.0 的缓冲液配制所需浓度的助溶剂葡甲胺和/或环糊精及所述高浓度虎杖苷的水溶液，所得虎杖苷水溶液经无菌和/或无热源处理后灌装于安瓿瓶。

12、权利要求 2 所述的药物组合物，其特征在于所述的组合物为冻干药物制剂，该冻干药物制剂以注射用水或注射用生理盐水配制成水溶液后，其水溶液中的虎杖苷的浓度能够达到 5mg/ml ~ 100mg/ml。

13、权利要求 12 所述药物组合物，其特征在于所述制剂中含有活性成分虎杖苷、助溶剂葡甲胺，虎杖苷与助溶剂葡甲胺的质量比为 1:1.5~1:12；所述冻干药物制剂以注射用水或注射用生理盐水配制成水溶液后，其虎杖苷浓度为 5mg/ml ~ 15mg/ml。

14、权利要求 13 所述的药物组合物，其特征在于：其中虎杖苷与葡甲胺的质量比为 1:1.5~1:3。

15、权利要求 12 所述药物组合物，其特征在于所述冻干药物制剂中含有虎杖苷、助溶剂 β -环糊精，虎杖苷与助溶剂 β -环糊精的质量比为 1:3 ~ 1:12；所述冻干药物制剂以注射用水或注射用生理盐水配制成水溶液后，其虎杖苷浓度可达 5mg/ml ~ 20mg/ml。

5 16、权利要求 15 所述药物组合物，其特征在于：其中虎杖苷与助溶剂 β -环糊精的质量比为 1:3 ~ 1:8。

17、权利要求 12 所述药物组合物，其特征在于：所述冻干药物制剂中含有虎杖苷、羟丙基- β -环糊精或磺丁醚- β -环糊精，虎杖苷与羟丙基- β -环糊精或磺丁醚- β -环糊精的质量比为 1:4 ~ 1:60；该冻干药物制剂以注射用水或注射用生理盐水配制成水溶液后，其虎杖苷浓度可达 5mg/ml ~ 60mg/ml。

18、权利要求 17 所述药物组合物，其特征在于：其中虎杖苷与羟丙基- β -环糊精或磺丁醚- β -环糊精的质量比为 1:4 ~ 1:8。

19、权利要求 12 所述药物组合物，其特征在于：所述冻干制品中含有虎杖苷、助溶剂 β -环糊精以及葡甲胺，虎杖苷与葡甲胺、 β -环糊精的质量比为 1:0.5:1.5~1:9:12；该冻干药物制剂以注射用水或注射用生理盐水配制成水溶液后，其虎杖苷浓度可达 5mg/ml ~ 40mg/ml。

20、权利要求 19 所述药物组合物，其特征在于：其中虎杖苷与助溶剂葡甲胺、 β -环糊精的质量比为 1:0.5:3~1:2:8。

21、权利要求 12 所述药物组合物，其特征在于：所述冻干药物制剂中含有虎杖苷、羟丙基- β -环糊精或磺丁醚- β -环糊精以及葡甲胺，虎杖苷与葡甲胺、羟丙基- β -环糊精或磺丁醚- β -环糊精的质量比在 1:0.5:2 ~ 1:20:60 之间；该冻干药物制剂以注射用水或注射用生理盐水配制成水溶液后，其虎杖苷的浓度可达 5mg/ml ~ 100mg/ml。

22、权利要求 21 所述药物组合物，其特征在于：其中虎杖苷与葡甲胺、羟丙基- β -环糊精或磺丁醚- β -环糊精的质量比为 1:0.5:4 ~ 1:2:8。

23、权利要求 12 ~ 22 所述药物组合物，其特征在于：所述冻干药物制剂是注射用冻干粉针。

24、权利要求 12 所述药物组合物，其特征在于：所述冻干药物制剂中进一步含有药学上可接受的填充剂。

25、权利要求 12 所述药物组合物的制备方法：采用注射用水、生理盐水或 pH 7.0 ~ 9.0 的缓冲液配制所需浓度的助溶剂葡甲胺和/或环糊精及所述高浓度虎杖苷的水溶液，其中任选加入药学上可接受的填充剂，所得溶液经超滤法除热源后，无菌分装于西林瓶，冷干成型后，封瓶。

26、权利要求 1 所述药物组合物，其特征在于：其水溶液以及用冻干制品配制的水溶液可以通过口服或静脉注射、静脉滴注、肌肉注射、皮下注射以及局部给药等胃肠外途径给药。

27、权利要求 1 所述药物组合物在制备预防和/或治疗心血管疾病的药物中的应用。

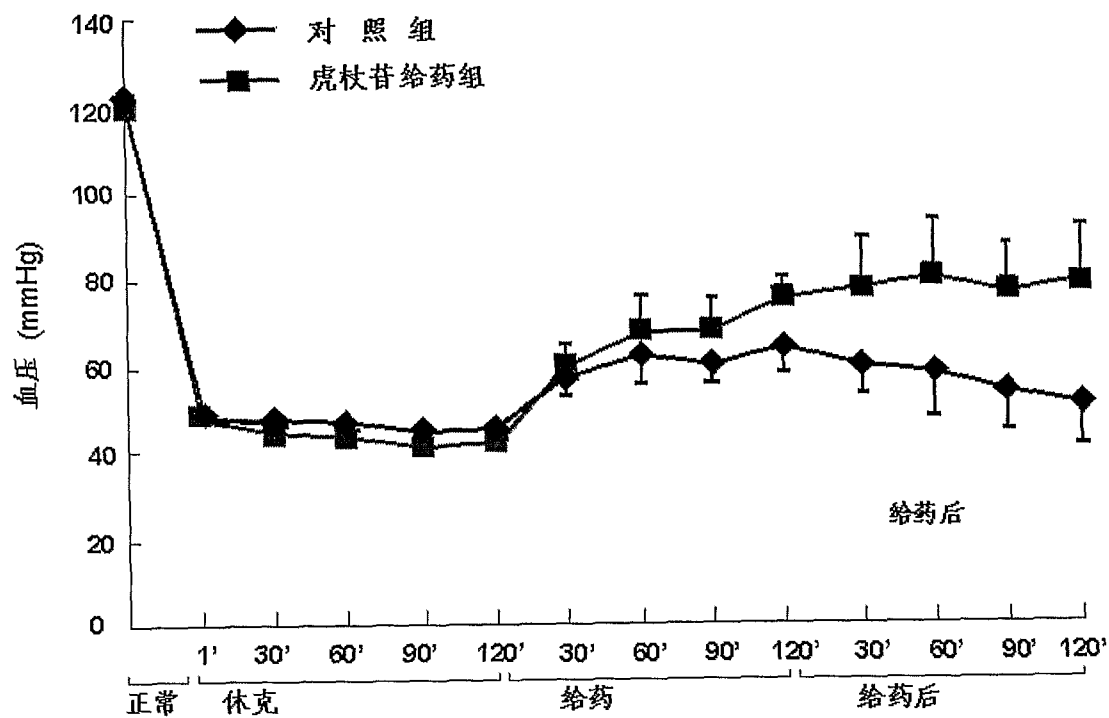


图 1

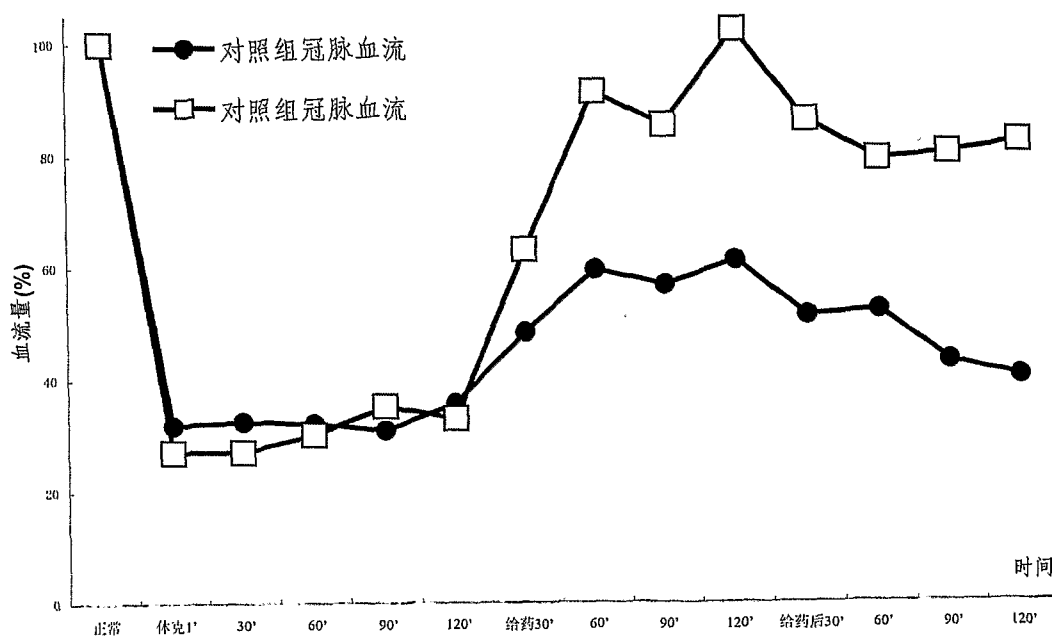


图 2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2007/001233

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See extra sheet

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC: A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPODOC, WPI, PAJ, CA, MEDLINE, CPRS, CNKI: polydatin, meglumine, cyclodextrin, and similar terms

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 1709269 A (SHENZHEN HAIWANG PHARM CO LTD), 21 Dec.2005 (21.12.2005), see abstract	1-14
A	CN 1557297 A (JIANGSU KANGYUAN PHARM CO LTD), 29 Dec.2004 (29.12.2004), see abstract	1-14

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.*** Special categories of cited documents:****"A"** document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance**"E"** earlier application or patent but published on or after the international filing date**"L"** document which may throw doubts on priority claim (S) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)**"O"** document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means**"P"** document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed**"T"** later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention**"X"** document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone**"Y"** document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art**"&"** document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

15 Jun.2007(15.06.2007)

Date of mailing of the international search report

05 Jul. 2007 (05.07.2007)

Name and mailing address of the ISA/CN

The State Intellectual Property Office, the P.R.China
6 Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, Beijing, China
100088
Facsimile No. 86-10-62019451

Authorized officer

LIUQIMING

Telephone No. (86-10)62085248

International application No.
PCT/CN2007/001233

Form PCT/ISA /210 (patent family annex) (April 2007)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2007/001233

CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 9/08 (2006.01) i
A61K 9/19 (2006.01) i
A61K 31/7034 (2006.01) i
A61K 47/18 (2006.01) i
A61K 47/40 (2006.01) i
A61P 9/00 (2006.01) n
A61P 3/06 (2006.01) n
A61P 35/00 (2006.01) n

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2007/001233

A. 主题的分类

参见附加页

按照国际专利分类表(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC: A61K

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

CPRS, CNKI: 虎杖苷, 葡甲胺, 环糊精及类似的术语

EPODOC, WPI, PAJ, CA, MEDLINE: polydatin, meglumine, cyclodextrin 及类似的术语

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	CN1709269A (深圳海王药业有限公司), 21.12 月 2005 (21.12.2005), 参见摘要	1-14
A	CN1557297A (江苏康缘药业股份有限公司), 29.12 月 2004 (29.12.2004), 参见摘要	1-14

☐ 其余文件在 C 栏的续页中列出。

☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期
15.6 月 2007 (15.06.2007)

国际检索报告邮寄日期
05.7 月 2007 (05.07.2007)

中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN)
中国北京市海淀区蓟门桥西土城路 6 号 100088
传真号: (86-10)62019451

授权官员

刘启明

电话号码: (86-10) 62085248

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2007/001233

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
CN1709269A	21-12-2005	无	
CN1557297A	29-12-2004	无	

主题的分类

A61K 9/08 (2006.01) i
 A61K 9/19 (2006.01) i
 A61K 31/7034 (2006.01) i
 A61K 47/18 (2006.01) i
 A61K 47/40 (2006.01) i
 A61P 9/00 (2006.01) n
 A61P 3/06 (2006.01) n
 A61P 35/00 (2006.01) n