



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102920657 B

(45) 授权公告日 2015.06.10

(21) 申请号 201210502652.6

(22) 申请日 2012.11.30

(73) 专利权人 沈阳药科大学

地址 110136 辽宁省沈阳市沈北新区道义大街168号

专利权人 沈阳药科大学(本溪)医药科技有限公司

(72) 发明人 孙立新 毕开顺 李清 张石

(74) 专利代理机构 沈阳杰克知识产权代理有限公司 21207

代理人 李宇彤

(51) Int. Cl.

A61K 9/107(2006.01)

A61K 31/57(2006.01)

A61P 15/00(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

(56) 对比文件

US 5968918 A, 1999.10.19, 全文.

CN 101152186 A, 2008.04.02, 说明书第1页第3段、第2页第3段-第3页第8段.

Satyendra Suryawanshi, et. al.

Preclinical pharmacokinetics, dose proportionality gender difference and protein binding study of 16-dehydropregnenolone, an antihyperlipidemic agent in rats. 《journal of pharmacy and pharmacology》. 2011, (第63期), 第41-48页.

Devendra Kumar, et. al. Dose escalation pharmacokinetics and lipid lowering activity of a novel farnesoid X receptor modulator: 16-Dehydropregnenolone. 《indian journal of pharmacology》. 2012, 第44卷(第1期), 第57-62页.

赵丽珊,等. 亚微乳作为静脉给药载体的研究进展. 《医药导报》. 2008, 第27卷(第5期), 第560-561页.

审查员 曲娜

权利要求书1页 说明书7页

(54) 发明名称

16- 妊娠双烯醇酮亚微乳注射剂及其制备方法

(57) 摘要

本发明提供一种治疗宫颈癌的 16- 妊娠双烯醇酮亚微乳注射液及其制备方法,可有效解决抗宫颈癌药物的生产及临床需要问题。将水不溶性药物 16- 妊娠双烯醇酮溶于注射用植物油中,加入乳化剂、助乳化剂及其他添加剂,制备水包油(O/W)亚微乳。亚微乳不含有有机溶剂等助溶剂,与葡萄糖注射液或生理盐水可按任意比例混合,贮存、使用或配伍时不易产生不溶性微粒,安全性高,稳定性好。本发明提供的制剂载药量及包封率高,可长期稳定贮存。

CN 102920657 B

1. 一种治疗宫颈癌的 16- 妊娠双烯醇酮亚微乳注射剂, 其特征在于组分如下:

16- 妊娠双烯醇酮 0.01-3% ;

注射用植物油 0.1-30% ;

乳化剂 0.01-6% ;

助乳化剂 0.001-3% ;

抗氧化剂 0.001-0.3% ;

等渗调节剂 0.001-10% ;

pH 调节剂 0.000001-2% ;

余量为注射用水 ;

所述的注射用植物油为大豆油、玉米油、花生油、橄榄油、中链脂肪酸甘油酯的一种或两种以上的混合物 ;

所述的乳化剂为大豆磷脂、蛋黄卵磷脂中的一种或两种的混合物 ;

所述的助乳化剂为泊洛沙姆 188、泊洛沙姆 407 的一种或两种的混合物。

2. 根据权利要求 1 所述的 16- 妊娠双烯醇酮亚微乳注射剂, 其特征在于所说的抗氧化剂为维生素 E。

3. 根据权利要求 1 所述的 16- 妊娠双烯醇酮亚微乳注射剂, 其特征在于所说的等渗调节剂为甘油、氯化钠、葡萄糖的一种或两种的混合物。

4. 根据权利要求 1 所述的 16- 妊娠双烯醇酮亚微乳注射剂, 其特征在于所说的 pH 调节剂为氢氧化钠或盐酸中的一种或两种的混合物。

5. 一种如权利要求 1 所述的 16- 妊娠双烯醇酮亚微乳注射剂的制备方法, 其特征在于, 制备方法如下:

(1) 制备水相: 按照权利要求 1 的组分量, 将助乳化剂、等渗调节剂加入注射用水中, 在 40-80 °C 条件下, 搅拌均匀, 形成水相;

(2) 制备油相: 按照权利要求 1 的组分量, 将 16- 妊娠双烯醇酮、乳化剂、抗氧化剂加入注射用植物油中, 在 40-80 °C 条件下, 搅拌均匀, 形成油相;

(3) 制备初乳: 在温度为 40-80 °C 并不断搅拌下, 将水相缓缓注入到油相中, 在均质速度 5000-25000 rpm 下均质 3-15 min, 用 pH 调节剂调节 pH 为 5-9, 得初乳;

(4) 制备终乳: 将初乳过高压均质机, 在 200-1400 bar 的压力下反复均质 3-20 次, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 得 16- 妊娠双烯醇酮亚微乳;

(5) 将 16- 妊娠双烯醇酮亚微乳分装于安瓿瓶中, 充氮气, 封口, 在 115 °C 灭菌 30 min 或在 121 °C 灭菌 15 min, 得 16- 妊娠双烯醇酮亚微乳注射剂。

16- 妊娠双烯醇酮亚微乳注射剂及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于医药技术领域,涉及 16- 妊娠双烯醇酮亚微乳注射剂及其制备方法,该制剂主要用于宫颈癌疾病的治疗。

背景技术

[0002] 宫颈癌是女性第二常见的恶性肿瘤(仅次于乳腺癌),是女性生殖道最常见的恶性肿瘤。患者年龄分布呈双峰状,35-39 岁和 60-64 岁为高发年龄,平均年龄为 52.2 岁。全世界每年大约有 50 万个新发子宫颈癌病例,中国约占 30 万个,居世界之首。

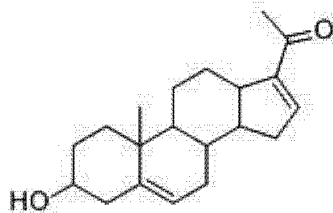
[0003] 宫颈癌又称宫颈浸润癌,由癌前病变发展至宫颈癌一般需 5-10 年时间,使得宫颈癌易于早期诊断与早期治疗。近 40 年来,国内外通过宫颈细胞学检查、阴道镜检查、宫颈活检,多数患者在 CIN 时获得诊断和治疗,宫颈癌发病率明显下降,早期宫颈癌的比例较以前明显增加,宫颈癌的死亡率也随之不断下降。但近年来我国宫颈癌发病率有增加的趋势,发病有年轻化的趋势。

[0004] 宫颈癌的治疗应根据临床分期、患者年龄、全身情况、设备条件和医疗技术水平决定治疗措施,手术和放疗是治疗宫颈癌的两大主要治疗手段,早期以手术治疗为主,中晚期大多采用放射治疗,近年来的研究表明化疗有重要的辅助作用。大量研究显示,手术及放射治疗这两种局部治疗手段不能控制肿瘤周围肉眼看不见的微小转移灶以及可能存在的全身亚临床转移,这是晚期宫颈癌治疗后复发的主要原因。为了提高晚期宫颈癌的治疗效果,近十多年来化疗逐渐引起各国学者的重视,化疗成为局部晚期宫颈癌和晚期宫颈癌综合治疗的一个重要组成部分。

[0005] 现在,市售的主要抗癌化学药物有:一类:顺铂、卡铂、紫杉醇;二类:5- 氟尿嘧啶、异环磷酰胺、托泊替康、吉西他滨等。紫杉醇、5- 氟尿嘧啶、托泊替康和氟尿嘧啶都为周期性特异性药物,紫杉醇能特异性将细胞阻滞于 G2 期和 M 期;抗代谢药 5- 氟尿嘧啶和吉西他滨对 S 期细胞作用显著,主要为干扰细胞 DNA 合成;托泊替康为拓扑异构酶 I 抑制剂,在 S 期干扰 DNA 合成。顺铂、卡铂和异环磷酰胺为周期非特异性抗肿瘤药,前两者为烷化剂药物,后者为烷化剂药物,对增殖细胞各期,以及 G0 期细胞都有杀伤作用,导致 DNA 损伤。

[0006] 16- 妊娠双烯醇酮(16-dehydropregnenolone, 16-DHP), 化学名:3 β - 羟基 - 孕甾 -5, 16- 二烯 -20- 酮, 分子式为 C₂₁H₂₀O₂, 分子量为 314.46, 结构式如下:

[0007]



[0008] 在国外,对于 16-DHP 研究最多的机构属印度的 Central Drug Research Institute。该机构下,S. K. Singh 等人采用 HPLC-UV 法进行了 16-DHP 在大鼠体内的药代

动力学研究,测定了大鼠血浆、尿液、胆汁和粪便中的16-DHP含量。Satyendra Suryawanshi 等人建立了 HPLC/ESI-MS/MS 法同时测定家兔血浆中 16-DHP 及其 5 种主要代谢物的含量。后来,他又进行了 16-DHP 在大鼠体内的临床前药动学、剂量关系、性别差异和蛋白结合率的研究。Devendra Kumar 等人研究发现 16-DHP 是一种新的法尼酯 X 受体拮抗剂,具有显著地降血脂活性。另有专利报道,16-DHP 在正常人和高血脂患者体内有显著的降血脂作用,且没有激素样作用。现在,16-DHP 正被开发为一种联合洛伐他汀的抗高血脂症的口服制剂,此种制剂能够提高高密度脂蛋白水平,抑制血小板聚集,减少胆固醇在肝脏中的生物合成。在长期毒性研究中发现,16-DHP 的毒副作用很小,且有良好的治疗窗。从毒性和药效学角度可以看出,16-DHP 有望开发为具有自主知识产权的抗肿瘤新药。

[0009] 在国内,孙立新等在对白英进行抗肿瘤活性追踪提取分离活性成分中,首次分离得到 16-DHP,并进行了体内抗肿瘤实验,结果表明 16-DHP 可以显著抑制荷瘤小鼠 S180 和 H22 实体瘤的生长。并首次发现其体外对多种肿瘤细胞的增殖具有抑制作用,并对其诱导人宫颈癌 HeLa 细胞死亡的机制作了初步研究:16- 妊娠双烯醇酮呈时间和剂量依赖性诱导 HeLa 细胞凋亡,诱导 HeLa 细胞凋亡时激活了 caspase-3,降解 caspase-3 底物 ICAD 和 PARP,使 DNA 有序化降解;16- 妊娠双烯醇酮上调了促凋亡蛋白 Bax 的表达,下调了抗凋亡蛋白 Bcl-2,激活以线粒体为中心的信号转导途径而诱导细胞凋亡;16- 妊娠双烯醇酮处理后的 HeLa 细胞被阻滞于 G₀/G₁期,且呈时间和浓度依赖关系。

[0010] 16- 妊娠双烯醇酮是一种脂溶性强的甾体类化合物,在水中几乎不溶,目前尚无 16- 妊娠双烯醇酮亚微乳制剂的文献公开。亚微乳注射剂是目前医药领域中发展较快的剂型之一,亚微乳主要是以植物油(脂肪酸甘油三酯)为油相,加乳化剂、助乳化剂和注射用水,可供静脉注射用,能完全被机体代谢利用,因此又被称为静脉注射用脂肪乳剂。目前制备亚微乳剂所应用的设备主要有高速搅拌机、超声波乳化器、高速分散均质机、高压均质机和微射流仪等。其中高压均质方法凭借所得产品粒径较小、粒度分布均匀,适宜工业化生产等优势已成为目前制备亚微乳剂的主流技术。近年来,脂肪乳剂作为药物传递系统在制药领域也正发挥着越来越重要的作用。脂肪乳剂的特殊理化特性和低毒性决定了其可以作为脂溶性药物,特别是抗癌药物的良好载体。作为给药载体,脂肪亚微乳可以保护被包封药物,而且具有载药量大、能提高药物稳定性、延长药物作用、降低毒副作用、使药物具有缓控释和靶向等作用。另外,亚微乳制备工艺简单、质量可控,适合工业化生产,因此亚微乳注射剂具有很好的应用前景。

发明内容

[0011] 针对上述情况,为克服现有技术缺陷,本发明的目的在于提供一种安全性高、疗效显著、毒副作用小、稳定性强、制备工艺简单并且适合工业化生产的 16- 妊娠双烯醇酮亚微乳注射剂及其制备方法,可有效解决抗宫颈癌药物的生产及临床需要问题。

[0012] 本发明的目的是通过以下技术方案实现的:以 16- 妊娠双烯醇酮为主药,以注射用植物油、乳化剂及助乳化剂为辅料,与注射用水配制成亚微乳注射剂,各组分的重量百分比为:16- 妊娠双烯醇酮 0.01-3%,注射用植物油 0.1-30%,乳化剂 0.01-6%,助乳化剂 0.001-3%,抗氧剂 0.001-0.3%,等渗调节剂 0.001-10%,pH 调节剂 0.000001-2%,余量为注射用水。

[0013] 本发明 16- 妊娠双烯醇酮亚微乳注射剂由以下步骤实现：

[0014] (1) 制备水相：按照权利要求 1 的组分量，将助乳化剂、等渗调节剂加入注射用水中，在 40-80 °C 条件下，搅拌均匀，形成水相；

[0015] (2) 制备油相：按照权利要求 1 的组分量，将 16- 妊娠双烯醇酮、乳化剂、抗氧化剂加入注射用植物油中，在 40-80 °C 条件下，搅拌均匀，形成油相；

[0016] (3) 制备初乳：在温度为 40-80 °C 并不断搅拌下，将水相缓缓注入到油相中，在均质速度 5000-25000 rpm 下均质 3-15 min，用 pH 调节剂调节 pH 为 5-9，得初乳；

[0017] (4) 制备终乳：将初乳过高压均质机，在 200-1400 bar 的压力下反复均质 3-20 次，过 0.22 μm 微孔滤膜，得 16- 妊娠双烯醇酮亚微乳；

[0018] (5) 将 16- 妊娠双烯醇酮亚微乳分装于安瓿瓶中，充氮气，封口，在 115 °C 灭菌 30 min 或在 121 °C 灭菌 15 min，得 16- 妊娠双烯醇酮亚微乳注射剂。

[0019] 本发明 16- 妊娠双烯醇酮亚微乳注射剂组成科学、制备工艺简单，质量稳定可控，成本低廉，适合工业化生产；本发明提供的制剂载药量及包封率高，可长期稳定贮存，有利于 16- 妊娠双烯醇酮更好地发挥药效，降低毒副作用。

具体实施方式

[0020] 以下通过实施例对本发明的具体实施方式作详细说明。

[0021] 本发明在实施中，可由以下实施例给出，但本发明的保护范围不局限于此。

[0022] 实施例 1

[0023]

16- 妊娠双烯醇酮	300 mg
大豆油	10 g
蛋黄卵磷脂 E-80	1.5 g
维生素 E	0.01 g
泊洛沙姆	0.3 g
甘油	2.5 g
注射用水稀释至 (mL)	100 mL

[0024] 制备工艺：

[0025] (1) 制备水相：称取泊洛沙姆 0.3 g，甘油 2.5 g，加入注射用水至 100 mL，在 60 °C 搅拌溶解得到水相；

[0026] (2) 制备油相：称取 16- 妊娠双烯醇酮 300 mg，大豆油 10 g，蛋黄卵磷脂 E-80 1.5 g，维生素 E 0.01 g，在 60 °C 搅拌溶解得到油相；

[0027] (3) 制备初乳：在 50~70 °C 下将水相和油相混合，以 10000 rpm 匀质 8 min，用 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 为 5.3，得初乳；

[0028] (4) 制备终乳：将初乳在 800 bar 压力下过高压均质，循环 10 次，过 0.22 μm 微孔滤膜，得 16- 妊娠双烯醇酮亚微乳；

[0029] (5) 将 16- 妊娠双烯醇酮亚微乳分装于安瓿瓶中，充氮气，封口，115 °C 灭菌 30 min，即得 16- 妊娠双烯醇酮亚微乳注射剂。

[0030] 实施例 2

[0031]

16-妊娠双烯醇酮	300 mg
大豆油	5 g
中链脂肪酸甘油酯	5 g
蛋黄卵磷脂 E-80	0.5 g
大豆磷脂 S-75	1 g
维生素 E	0.01 g
泊洛沙姆	0.3 g
甘油	2.5 g
注射用水稀释至 (mL)	100 mL

[0032] 制备工艺：

[0033] (1)制备水相：称取泊洛沙姆 0.3 g，甘油 2.5 g，加入注射用水至 100 mL，在 70 °C 搅拌溶解得到水相；

[0034] (2)制备油相：称取 16-妊娠双烯醇酮 300 mg，大豆油 5 g，中链脂肪酸甘油酯 5 g，蛋黄卵磷脂 E-80 0.5 g，大豆磷脂 S-75 1 g，维生素 E 0.01 g，在 70 °C 搅拌溶解得到油相；

[0035] (3)制备初乳：在 50~70 °C 下将水相和油相混合，以 10000 rpm 匀质 8 min，用 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 为 5.3，得初乳；

[0036] (4)制备终乳：将初乳在 800 bar 压力下过高压均质，循环 10 次，过 0.22 μm 微孔滤膜，得 16-妊娠双烯醇酮亚微乳；

[0037] (5)将 16-妊娠双烯醇酮亚微乳分装于安瓿瓶中，充氮气，封口，121 °C 灭菌 15 min，即得 16-妊娠双烯醇酮亚微乳注射剂。

[0038] 实施例 3

[0039]

16-妊娠双烯醇酮	500 mg
大豆油	15 g
蛋黄卵磷脂 E-80	3 g
维生素 E	0.01 g
泊洛沙姆	0.6 g
甘油	2.5 g
注射用水稀释至 (mL)	100 mL

[0040] 制备工艺同实施例 1。

[0041] 实施例 4

[0042]

16-妊娠双烯醇酮	500 mg
中链脂肪酸甘油酯	15 g
蛋黄卵磷脂 E-80	1 g
大豆磷脂 S-75	2 g
维生素 E	0.01 g
泊洛沙姆	0.6 g

甘油	2.5 g
注射用水稀释至 (mL)	100 mL

[0043] 制备工艺同实施例 2。

[0044] 实施例 5

[0045]

16-妊娠双烯醇酮	500 mg
大豆油	10 g
中链脂肪酸甘油酯	10 g
蛋黄卵磷脂 E-80	1 g
大豆磷脂 S-75	2 g
维生素 E	0.01 g
泊洛沙姆	0.6 g
甘油	2.5 g
注射用水稀释至 (mL)	100 mL

[0046] 制备工艺同实施例 2。

[0047] 实施例 6 稳定性研究

[0048] 将本发明实施例中制备的 16-妊娠双烯醇酮亚微乳注射剂进行稳定性实验考察：在高温 60 °C 条件下放置 10 天，各项检测指标均无明显变化；模拟市售包装在室温 25 °C 条件避光保存 1、2、3、6 个月时取样测定，各项检测指标均无明显变化。数据结果如下表 1-2 所示：

[0049]

表 1 影响因素试验结果

时间	样品	性状	pH 值	平均粒径 (nm)	包封率 (%)	有关物质 (%)	含量 (%)	无菌检查
	实例 1	均一乳白色液体	5.38	126.8	91.3	0.47	97.3	合格
	实例 2	均一乳白色液体	5.36	139.5	94.3	0.55	96.3	合格
0 天	实例 3	均一乳白色液体	5.35	135.2	93.4	0.51	99.9	合格
	实例 4	均一乳白色液体	5.32	134.3	93.3	0.50	98.8	合格
	实例 5	均一乳白色液体	5.34	134.0	94.2	0.55	97.9	合格
	实例 1	均一乳白色液体	5.15	151.9	92.5	0.56	97.6	合格
	实例 2	均一乳白色液体	5.14	151.5	94.9	0.61	95.9	合格
5 天	实例 3	均一乳白色液体	5.12	155.4	95.2	0.59	98.7	合格
	实例 4	均一乳白色液体	5.12	150.9	94.2	0.60	98.6	合格
	实例 5	均一乳白色液体	5.13	151.7	95.1	0.59	97.8	合格
	实例 1	均一乳白色液体	4.99	156.1	93.0	0.62	97.9	合格
	实例 2	均一乳白色液体	4.96	159.3	96.1	0.65	95.7	合格
10 天	实例 3	均一乳白色液体	4.95	159.6	95.8	0.63	98.5	合格
	实例 4	均一乳白色液体	5.00	159.0	94.4	0.65	97.9	合格
	实例 5	均一乳白色液体	4.99	159.9	95.3	0.59	97.0	合格

[0050]

表 2 加速试验结果

时间	样品	性状	pH 值	平均粒径 (nm)	包封率 (%)	有关物质 (%)	含量 (%)	无菌检查
	实例 1	均一乳白色液体	5.39	139.6	91.6	0.65	99.1	合格
	实例 2	均一乳白色液体	5.36	142.2	93.3	0.70	96.3	合格
1 月	实例 3	均一乳白色液体	5.34	139.7	92.4	0.79	96.5	合格
	实例 4	均一乳白色液体	5.34	140.1	91.9	0.76	98.2	合格
	实例 5	均一乳白色液体	5.32	138.8	92.8	0.74	98.6	合格
	实例 1	均一乳白色液体	5.37	140.1	91.4	0.73	96.5	合格
	实例 2	均一乳白色液体	5.35	140.5	93.3	0.67	97.3	合格
2 月	实例 3	均一乳白色液体	5.35	138.3	92.3	0.81	98.1	合格
	实例 4	均一乳白色液体	5.33	139.9	92.3	0.75	98.1	合格
	实例 5	均一乳白色液体	5.32	139.3	92.6	0.71	98.4	合格
	实例 1	均一乳白色液体	5.36	136.3	92.2	0.91	96.9	合格
	实例 2	均一乳白色液体	5.34	133.1	93.6	0.98	97.0	合格
3 月	实例 3	均一乳白色液体	5.33	140.1	94.3	0.98	98.7	合格
	实例 4	均一乳白色液体	5.32	140.8	93.3	0.69	97.9	合格
	实例 5	均一乳白色液体	5.31	139.9	92.5	0.71	98.9	合格
	实例 1	均一乳白色液体	5.35	140.5	92.1	0.92	98.2	合格
	实例 2	均一乳白色液体	5.34	134.9	94.2	0.89	96.3	合格
6 月	实例 3	均一乳白色液体	5.32	134.7	93.2	1.01	97.2	合格
	实例 4	均一乳白色液体	5.32	138.6	93.2	0.88	97.9	合格
	实例 5	均一乳白色液体	5.30	140.0	93.0	0.81	98.6	合格

[0051] 由以上数据可以看出,本发明制得的样品影响因素试验 10 天、加速试验 6 个月后各项质量指标均无明显变化,说明本发明制备的样品质量稳定性很好。

[0052] 实施例 7 安全性试验

[0053] 按实施例 1 方法制备 16- 妊娠双烯醇酮亚微乳注射液,按 5 mL/kg 剂量静脉注射给予大鼠,每日一次,连续 3 次,未见明显刺激性;在 3 h 未见明显的溶血及凝聚现象。在低剂量 36 mg/kg 和高剂量 108 mg/kg 分别隔日腹腔致敏一次,连续 5 次,末次致敏后第 12 天静脉注射本品,两种剂量下均未见过敏反应,因而可用于静脉注射给药。