(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 102247336 B
(45)授权公告日 2013.03.13

(21)申请号 201110147782.8

(22)申请日 2011.06.02

(73)专利权人 陈彦
地址 210028 江苏省南京市红山路十字街100号

(72)发明人 陈彦 张振海 贾晓斌 周蕾 吴青青

(51)Int.Cl.
A61K 9/72(2006.01)
A61K 9/14(2006.01)
A61K 31/437(2006.01)
A61K 47/26(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
A61P 11/00(2006.01)

(56)对比文件
CN 101176739 A,2008.05.14,
CN 1068043 A,1993.01.20,
CN 101822693 A,2010.09.08,
史宁等．干粉吸入剂的研究进展．《中国新药杂志》.2007,(第12期),
王振旺等．从上市产品分析干粉吸入剂的研究进展．《医药导报》.2007,(第03期),

审查员 张恺佳

权利要求书 1 页 说明书 6 页

(54)发明名称

一种蟾蜍噻吟干粉吸入剂及其制备方法、应用

(57)摘要

本发明涉及干粉吸入剂，具体的说是蟾蜍噻吟制成的干粉吸入剂、所述干粉吸入剂的制备方法和在制备治疗肺部肿瘤药物中的应用；一种蟾蜍噻吟干粉吸入剂，其特征在于它是由蟾蜍噻吟与医学上可接受的辅料组成，蟾蜍噻吟与所述的辅料的质量比为1：0.01-1：100。使用蟾蜍噻吟的干粉吸入剂主要是针对肺部肿瘤，直接作用于患部，同时不存在肝脏的首过效应，减少了不良反应，对新药开发具有极大前景。

CN 102247336 B

1. 一种蟾蜍噻吟干粉吸入剂，其特征在于它是由 D_{50} 为 6.7 微米的蟾蜍噻吟粉末、德国美剂乐InhaLac® 70 乳糖、D_{50} 为 5.1 微米的微粉化乳糖组成，三者比例为 6 ： 90 ： 5。

2. 一种蟾蜍噻吟干粉吸入剂，其特征在于它是由 D_{50} 为 6.2 微米的蟾蜍噻吟粉末、德国美剂乐InhaLac® 70 乳糖、D_{50} 为 5.8 微米的微粉化乳糖组成，三者比例为 3 ： 72 ： 1。

3. 一种蟾蜍噻吟干粉吸入剂，其特征在于它是由 D_{50} 为 6.5 微米的蟾蜍噻吟粉末、德国美剂乐InhaLac® 70 乳糖、D_{50} 为 5.4 微米的微粉化乳糖组成，三者比例为 1 ： 65 ： 13。

4. 一种制备权利要求 1 或 2 或 3 所述的一种蟾蜍噻吟干粉吸入剂的方法，其制备步骤如下：将蟾蜍噻吟通过粉碎或喷雾干燥制成粉末，与乳糖颗粒与微粉化乳糖的混合物混合均匀制成吸入用粉末，包装入胶囊或泡罩或干粉吸入器内。

5. 根据权利要求 1 或 2 或 3 的一种蟾蜍噻吟干粉吸入剂在制备治疗肺部肿瘤药物中的应用。

一种蟾蜍噻吟干粉吸入剂及其制备方法、应用

技术领域：

[0001] 本发明涉及干粉吸入剂，具体的说是蟾蜍噻吟制成的干粉吸入剂、所述干粉吸入剂的制备方法和在制备治疗肺部肿瘤药物中的应用。

背景技术：

[0002] 蟾皮为蟾蜍科动物中华大蟾蜍 Bufobufo gargarizans Cantor 的干燥皮，具有清热解毒、利水消胀之功效，蟾皮水溶性部位主要含有蟾蜍噻吟、N- 苯基 - 乙萘胺、氨基酸类化合物，其中蟾蜍噻吟是其主要成分之一。蟾蜍噻吟为无色针状结晶，其分子式为 $C_{12}H_{14}N_2O_4S$，为蟾皮中水溶性的吲哚碱类物质，而且体外抗肿瘤试验表明蟾蜍噻吟肿瘤抑制率为 87.06％。以蟾皮中水溶性成分为主开发的药品已有多个上市，目前华蟾素注射剂、口服液、片剂已应用于临床，对肝癌、肺癌、胃癌等具有较好的效果。华蟾素注射液，是从中华大蟾蜍皮经加工制成的水溶性制剂，治疗原发性肝癌和中晚期肺癌分别获得 44％和 56％的综合有效率，瘤体缩小率分别为 10％和 16％，且对化疗和放疗具有协同作用。华蟾素注射液临床虽然不良反应较少，但仍存在静脉滴注会出现局部静脉反应，引起滴注静脉收缩痉挛而致疼痛，长期刺激致静脉非特异性炎症；皮肤反应，主要表现为荨麻疹和皮肤水疱样损害；其次，少部分患者出现早搏、窦性心动过缓、窦性心动过速、房室传导阻滞等心血管系统反应，产生的原因可能是华蟾素中少量的蟾毒配基所产生的心脏毒性引起的；此外，针剂需要在医院内使用，病人顺应性差。而华蟾素口服制剂需经过肝脏的首过效应，起效慢，制剂生物利用度较低。蟾蜍噻吟是华蟾素注射剂和口服制剂的有效成分之一，但在已有注射剂和口服制剂中的含量较低，且上述制剂不能直接作用于病灶部位，不能将蟾蜍噻吟对肿瘤的抑制作用发挥到最大。

[0003] 肺部是机体的开放性器官，具有极大的表面积，肺泡壁由单层细胞组成，使得药物分子极易进入血液，因此肺吸入给药具有起效快、不良反应小等诸多优点。肺吸入给药中干粉吸入剂 (drypowder inhalers，DPIs) 不使用抛射剂和溶剂，靠患者自主呼吸产生的气流使药物粉末雾化，进而使药物粉末传递到肺部，具有应用方便、吸收迅速、无肝脏首过、速释和靶向定位的特点，是一种新型的给药系统。

[0004] 肺癌的发病率在全世界范围内正在迅速上升，死于癌病的男性病人中肺癌已居首位。当前的抗肿瘤药物大多数都是注射给药，这种全身给药方式使得药物的靶向性降低，导致药物的疗效降低，不良反应增多。

[0005] 采用定位给药将抗肿瘤药物运送到人体的肿瘤病患部位，使药物在病患部位的浓度提高，可降低药物的给药剂量、减少药物的毒副作用、提高药物的治疗效果，具有重大的临床应用价值。采用经肺给药方式的吸入剂可将药物直接传递肺癌的病灶，有利于提高药物对肺癌的疗效并降低其对正常组织的毒副作用。经国内外专利与非专利文献检索，未见有关本项目同类产品的报道。

发明内容：

[0006] 发明目的：本发明的一个目的是提供蟾蜍噻吟的肺部干粉吸入制剂及其制备方法。本发明的另一个目的是提供本发明所述干粉吸入剂在制备治疗肺部肿瘤药物中的应用。

[0007] 针对上述发明目的，本发明提供以下技术方案：

[0008] 一种蟾蜍噻吟干粉吸入剂，其特征在于它是由蟾蜍噻吟与医学上可接受的辅料组成，蟾蜍噻吟与所述的辅料的质量比为 1 ： 0.01-1 ： 100。

[0009] 所述的蟾蜍噻吟干粉吸入剂，其特征在于它是由蟾蜍噻吟加入辅料制成的吸入用粉末，粉末的粒径以 D_{50} 计在 0.1-1000 微米之间。

[0010] 所述的辅料选用糖、醇、氨基酸、磷脂、表面活性物质、环糊精、可生物降解的高分子物质、硬脂酸镁、硬脂酸、硬酯富马酸钠、微粉硅胶、滑石粉中的一种或几种混合物。

[0011] 所述的糖，可选用半乳糖、乳糖、葡萄糖、果糖、蔗糖、海藻糖、棉子糖中的一种或几种混合物；所述的醇，可选用甘露醇、木糖醇、麦芽糖醇、山梨醇中的一种或几种混合物；所述的氨基酸，可选用甘氨酸、门冬氨酸、丙氨酸、色氨酸、异亮氨酸、苏氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、亮氨酸、胱氨酸、赖氨酸、脯氨酸、精氨酸中的一种或几种；所述的磷脂，可选用大豆磷脂、卵磷脂、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、合成磷脂中的一种或几种；所述的表面活性物质，可选用肺源性表面活性物质如二棕榈酰磷脂酰胆碱、二月桂酰磷脂酰胆碱、胆固醇中的一种或几种混合物；所述的高分子物质，可选用符合安全要求的高分子，优选可生物降解的高分子物质例如白蛋白、淀粉、聚乳酸、聚乳酸－羟基乙酸、聚乙二醇、泊洛沙姆、透明质酸、透明质酸钠、海藻酸钠中的一种或几种混合物。

[0012] 优选的方式为所述辅料为不同粒径乳糖的混合物，更优选的方式为所述辅料为吸入用乳糖颗粒与微粉化乳糖的混合物，其中乳糖颗粒平均粒径在 30-250 微米，微粉化乳糖平均粒径在 1-10 微米，乳糖颗粒与微粉化乳糖的质量比为 1000 ： 1-1 ： 1，最优选的方式为乳糖颗粒与微粉化乳糖的质量比为 100 ： 1-5 ： 1。

[0013] 所述的蟾蜍噻吟干粉吸入剂，其制备步骤如下：

[0014] 将蟾蜍噻吟通过粉碎或喷雾干燥制成粉末，粉末与辅料混合均匀制成吸入用粉末，包装入胶囊或泡罩或干粉吸入器内；或者将蟾蜍噻吟与辅料混合均匀，通过粉碎或喷雾干燥制成吸入用粉末，包装入胶囊或泡罩或干粉吸入器内；或者将蟾蜍噻吟和处方中部分辅料混合均匀，通过粉碎或喷雾干燥制成粉末，粉末与处方中剩余辅料混合均匀制成吸入用粉末，包装入胶囊或泡罩或干粉吸入器内。

[0015] 优选的蟾蜍噻吟干粉吸入剂，其制备步骤如下：

[0016] 将蟾蜍噻吟通过粉碎或喷雾干燥制成粉末，与不同粒径的乳糖或乳糖颗粒与微粉化乳糖的混合物混合均匀制成吸入用粉末，包装入胶囊或泡罩或干粉吸入器内。

[0017] 所述的蟾蜍噻吟干粉吸入剂在制备肺部肿瘤药物中的应用。

[0018] 有益效果：

[0019] 1、肺部是机体的开放性器官，具有极大的表面积，肺泡壁由单层细胞组成，使得药物分子极易进入血液，因此肺吸入给药具有起效快、不良反应小等诸多优点。肺吸入给药中干粉吸入剂 (drypowder inhalers，DPIs) 不使用抛射剂和溶剂，靠患者自主呼吸产生的气流使药物粉末雾化，进而使药物粉末传递到肺部，具有应用方便、吸收迅速、无肝脏首过、速释和靶向定位的特点，是一种新型的给药系统。目前有关干粉吸入剂多用于治疗呼吸道和

肺部的感染，但用于肺部肿瘤治疗的干粉吸入剂未见报道。同时，经国内外专利与非专利文献检索，未见有关本项目同类产品的报道。目前蟾皮提取物注射剂、口服液、片剂已应用于临床，对肝癌、肺癌、胃癌等具有较好的效果。尤其是华蟾素注射液，是从中华大蟾蜍皮经加工制成的水溶性制剂，治疗原发性肝癌和中晚期肺癌分别获得 44％和 56％的综合有效率，瘤体缩小率分别为 10％和 16％，且对化疗和放疗具有协同作用。华蟾素注射液临床虽然不良反应较少，但仍存在静脉滴注会出现局部静脉反应，引起滴注静脉收缩痉挛而致疼痛，长期刺激致静脉非特异性炎症；皮肤反应，主要表现为荨麻疹和皮肤水疱样损害；其次，少部分患者出现早搏、窦性心动过缓、窦性心动过速、房室传导阻滞等心血管系统反应，产生的可能原因是华蟾素中少量的蟾毒配基所产生的心脏毒性引起的。此外，针剂需要在医院内使用，病人顺应性差。而口服制剂需经过肝脏的首过效应，起效慢，制剂生物利用度较低。蟾蜍噻吟是华蟾素注射剂和口服制剂的有效成分之一，但在注射剂和口服制剂中的含量较低，且上述制剂不能直接作用于病灶部位，不能将蟾蜍噻吟对肿瘤的抑制作用发挥到最大。而蟾蜍噻吟的干粉吸入制剂可以针对肺部肿瘤，直接作用于患部，且不存在肝脏的首过效应，没有上述的不良反应，因此其新药开发具有极大前景。

[0020] 2、蟾蜍噻吟需与辅料混合成为干粉吸入剂，实际操作中发现，由于蟾蜍噻吟是水溶性成分，易吸湿，蟾蜍噻吟粉碎到一定粒度时因粉末之间静电作用、内聚力等影响药物而易于团聚，且由于表面积增大，吸湿性增强，因此需要与辅料进行配比，克服吸湿结块的问题，申请人经过大量实验获知，将蟾蜍噻吟与辅料配比控制在特定范围内，特别是辅料选用乳糖颗粒与微粉化乳糖的混合物可以做成吸入性能优良的干粉吸入剂。

具体实施方式

[0021] 下面结合实例对本发明作进一步详细说明，但本发明的范围并不受这些实例的任何限制。

[0022] 实施例 1

[0023] 吸入剂的制备：将蟾蜍噻吟采用气流粉碎至 D_{90} ＝ 5 微米，与粒径在 45-100 微米的乳糖按质量比 1 ： 8 进行混合，将药物粉末包装入胶囊或泡罩或干粉吸入器内，获得吸入剂。

[0024] 实施例 2

[0025] 吸入剂的制备：将蟾蜍噻吟采用气流粉碎至 D_{90} ＝ 5 微米，与粒径在 45-110 微米的乳糖、粒径在 30-55 微米的亮氨酸按 10 ： 80 ： 1 的比例进行混合，包装入胶囊或泡罩或干粉吸入器内，获得吸入剂。

[0026] 实施例 3

[0027] 吸入剂的制备：将蟾蜍噻吟采用气流粉碎至 D_{90} ＝ 7 微米，与粒径 50-165 微米的亮氨酸按 1 ： 8 的比例进行混合，包装入胶囊或泡罩或干粉吸入器内，获得吸入剂。

[0028] 实施例 4

[0029] 吸入剂的制备：将蟾蜍噻吟粉末、乳糖、甘露醇、甘氨酸、二月桂酰磷脂酰胆碱、卵磷脂、硬脂酸镁按 1 ： 5 ： 5 ： 3 ： 0.5 ： 0.5 ： 0.1 的比例进行混合，气流粉碎至粉末 D_{50} ＝ 8 微米，将药物粉末包装入胶囊或泡罩或干粉吸入器内，获得吸入剂。

[0030] 实施例 5

[0031] 吸入剂的制备：将蟾蜍噻吟、乳糖、胆固醇按 1 ： 10 ： 1 的比例进行混合，气流粉碎至粉末 D_{50} ＝ 7 微米，将药物粉末包装入胶囊或泡罩或干粉吸入器内，获得吸入剂。

[0032] 实施例 6

[0033] 吸入剂的制备：分别在蟾蜍噻吟中加入质量 4 倍、2 倍、3 倍的乳糖、聚乙二醇 6000、白蛋白，喷雾干燥，粉末 D_{50} ＝ 8 微米，将药物粉末包装入胶囊或泡罩或干粉吸入器内，获得吸入剂。

[0034] 实施例 7

[0035] 吸入剂的制备：将平均粒径在 5-10 微米的蟾蜍噻吟药物粉末、粒径在 5-100 微米的甘露醇、微粉化硅胶按 10 ： 85 ： 5 的比例进行混合，混合均匀后包装入胶囊或泡罩或干粉吸入器内，获得吸入剂。

[0036] 实施例 8

[0037] 吸入剂的制备：将蟾蜍噻吟药物粉末、甘露醇、亮氨酸按 10 ： 90 ： 3 的比例进行混合，混合后加水适量，喷雾干燥得到 D_{50} 为 4.5 微米的粉末，与平均粒径为 125-150 微米的乳糖颗粒混匀，包装入胶囊或泡罩或干粉吸入器内，获得吸入剂。

[0038] 实施例 9

[0039] 吸入剂的制备：将蟾蜍噻吟粉末、甘露醇、甘氨酸按 10 ： 100 ： 3 的比例进行混合，混合后加水适量，喷雾干燥得到 D_{50} 为 6.8 微米的粉末，与平均粒径为 75-125 微米的乳糖颗粒混匀，包装入胶囊或泡罩或干粉吸入器内，获得吸入剂。

[0040] 实施例 10

[0041] 1、吸入剂的制备：将蟾蜍噻吟粉末（D_{90} ＝ 6.7 微米）、德国美剂乐InhaLac®70 乳糖、微粉化乳糖（D_{90} ＝ 5.1 微米）按 6 ： 90 ： 5 的比例进行混合，混合均匀后包装入胶囊或泡罩或干粉吸入器内，获得吸入剂。

[0042] 2、吸入剂肺部沉积率考察

[0043] 按照中华人民共和国 2010 年版药典规定方法考察，蟾蜍噻吟的肺部沉积率达到 31.4%，室温条件下放置 18 个月后，蟾蜍噻吟的肺部沉积率没有显著变化。

[0044] 实施例 11

[0045] 1、吸入剂的制备：将蟾蜍噻吟粉末（D_{90} ＝ 6.2 微米）、德国美剂乐InhaLac®70 乳糖、微粉化乳糖（D_{90} ＝ 5.8 微米）按 3 ： 72 ： 1 的比例进行混合，混合均匀后包装入胶囊或泡罩或干粉吸入器内，获得吸入剂。

[0046] 2、吸入剂肺部沉积率考察

[0047] 按照中华人民共和国 2010 年版药典规定方法考察，蟾蜍噻吟的肺部沉积率达到 28.5%，室温条件下放置 18 个月后，蟾蜍噻吟的肺部沉积率没有显著变化。

[0048] 实施例 12

[0049] 1、吸入剂的制备：将蟾蜍噻吟粉末（D_{90} ＝ 6.5 微米）、德国美剂乐InhaLac®70 乳糖、微粉化乳糖（D_{90} ＝ 5.4 微米）按 1 ： 65 ： 13 的比例进行混合，混合均匀后包装入胶囊或泡罩或干粉吸入器内，获得吸入剂。

[0050] 2、吸入剂肺部沉积率考察

[0051] 按照中华人民共和国 2010 年版药典规定方法考察，蟾蜍噻吟的肺部沉积率达到 29.4%，室温条件下放置 18 个月后，蟾蜍噻吟的肺部沉积率没有显著变化。

[0052] 实施例 13

[0053] 吸入剂的制备：将蟾蜍噻吟粉末（D_{50} = 5.5 微米）、亮氨酸（D_{50} = 215 微米）按 1 ： 8 的比例进行混合，混合后颗粒的 D_{50} 为 225 微米，包装入胶囊或泡罩或干粉吸入器内，获得吸入剂。

[0054] 实施例 14

[0055] 吸入剂的制备：将蟾蜍噻吟与亮氨酸按 1 ： 1 的比例进行混合，气流粉碎，粉末 D_{90} 在 5 微米以下，将该粉末再与 8 倍量的甘露醇混合，混合后颗粒的 D_{50} 为 279 微米，包装入胶囊或泡罩或干粉吸入器内，获得吸入剂。

[0056] 实施例 15

[0057] 吸入剂的制备：将蟾蜍噻吟与泊洛沙姆按 8 ： 1 的比例进行混合，气流粉碎，粉末 D_{90} 在 8 微米以下，将该粉末再与 10 倍量的乳糖颗粒、1 倍量的硬脂酸镁混合，混合后颗粒的 D_{50} 为 301 微米，包装入胶囊或泡罩或干粉吸入器内，获得吸入剂。

[0058] 实施例 16

[0059] 吸入剂的制备：将蟾蜍噻吟气流粉碎，粉末 D_{90} = 6 微米，将该粉末再与 15 倍量的乳糖颗粒混合，混合后颗粒的 D_{50} 为 75 微米，包装入胶囊或泡罩或干粉吸入器内，获得吸入剂。

[0060] 实施例 17

[0061] 按照实施例 1-16 获得吸入剂，进行药效学实验。

[0062] 药效实验：

[0063] 苯并芘经皮穿刺肺内注射的方法建立大鼠肺肿瘤动物模型，取建模大鼠 190 只，随机分为 19 组，每组 10 只。每天 1 次，用药 7 天。给药方式：第 1-16 组为实施例 1-16 获得的吸入剂吸入给药，给药剂量为 1mg 蟾蜍噻吟 /kg；第 17 组腹腔注射蟾蜍噻吟，给药剂量为 1mg 蟾蜍噻吟 /kg；第 18 组灌胃给予蟾蜍噻吟，给药剂量为 1mg 蟾蜍噻吟 /kg；第 19 组为生理盐水对照组，腹腔注射 10mL/kg。停药次日处死大鼠，解剖大鼠肺脏，观察肺脏病变情况。

[0064] 实验结果：吸入剂给药各组的大鼠的肺部出现肿块或结节病变的发生率最低为 15%，最高为 35%；蟾蜍噻吟注射组为 55%，蟾蜍噻吟灌胃组为 65%，生理盐水组为 100%，吸入剂给药各组与蟾蜍噻吟注射组、蟾蜍噻吟灌胃组、生理盐水组在肺部病变发生率上有显著性差异（$P < 0.05$）。

[0065] 实施例 18

[0066] 按照实施例 1-16 获得吸入剂，进行药效学实验。

[0067] 1、家兔 VX2 原位肺癌模型的建立

[0068] 1）荷瘤种兔的制作 常规复苏 VX2 肿瘤冰冻细胞悬液，制成 10^6/mL 的活细胞悬液，取 1mL 接种于 1 只兔右后腿外侧肌肉内，3 周后于接种部位可扪及一直径约 30cm 的肿块，即制成荷瘤种兔。

[0069] 2）组织块悬液的制备 无菌条件下切取荷瘤种兔腿外侧肌肉内的肿瘤，取呈鱼肉样生长旺盛的肿瘤组织，剪成泥状。RPMI 1640 培养液冲洗下过 30 目筛，去除单个细胞和过小的组织块，筛上部分在 RPMI 1640 培养液冲洗下过 20 目筛，去除过大的组织块。取筛下部分，离心沉淀后，取沉淀物 2mL，加 RPMI 1640 培养液配制成组织块悬液 20mL。

[0070] 3) 肺内接种 所有家兔右胸壁脱毛，肌内注射速眠新合剂 0.8mL/kg 麻醉后固定，常规消毒，取无菌三通接头，分别接 12 号注射针头、吸有兔自身血凝块的 1mL 注射器及吸有 VX2 肿瘤组织块悬液或细胞悬液 1mL 的注射器。在 X 线透视下，将 12 号针头刺入兔右肺下叶内，回吸无血后，注入 0.4mL 组织块悬液或细胞悬液，然后注入 0.2mL 兔自身血凝块，拔出针头，接种完毕。

[0071] 4) 移植瘤生长情况的观测 全部家兔自接种后第 3 天起，每日对胸部进行层宽、层厚均为 5mm 的 CT 扫描，观察肿瘤生长、胸腔内转移情况。

[0072] 5) 家兔 VX2 原位肺癌模型建立结果 家兔全部有肺内肿瘤生长，接种成功率 100％。

[0073] 2、药效学实验

[0074] 取成功建模家兔 190 只，随机分为 19 组，每组 10 只。每天 1 次，用药 12 天。给药方式：第 1-16 组为实施例 1-16 获得的吸入剂吸入给药，给药剂量为 1mg 蟾蜍噻吟 /kg；第 17 组腹腔注射蟾蜍噻吟，给药剂量为 1mg 蟾蜍噻吟 /kg；第 18 组灌胃给予蟾蜍噻吟，给药剂量为 1mg 蟾蜍噻吟 /kg；第 19 组为生理盐水对照组，腹腔注射 10mL/kg。停药次日处死家兔，解剖家兔肺脏，剥离肿瘤组织，称重，计算抑瘤率。

[0075] 实验结果：吸入剂给药各组的抑瘤率最小为 55.9％，最高为 65.9％；蟾蜍噻吟注射组的抑瘤率为 48.7％，蟾蜍噻吟灌胃组的抑瘤率为 28.6％，生理盐水组对肿瘤无明显抑制，吸入剂给药各组与蟾蜍噻吟注射组、蟾蜍噻吟灌胃组、生理盐水组的抑瘤率有显著性差异 ($P < 0.05$)。