

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

A61K 9/127

A61K 47/42 A61K 38/00



[12] 发 明 专 利 说 明 书

[21] ZL 专利号 00120726.1

[45] 授权公告日 2004 年 2 月 4 日

[11] 授权公告号 CN 1136841C

[22] 申请日 2000.7.12 [21] 申请号 00120726.1
[71] 专利权人 曾 群
地址 100037 北京市海淀区甘家口增光路 30
号汉帝商务会馆 5009 房间
[72] 发明人 曾 群
审查员 刘瑞华

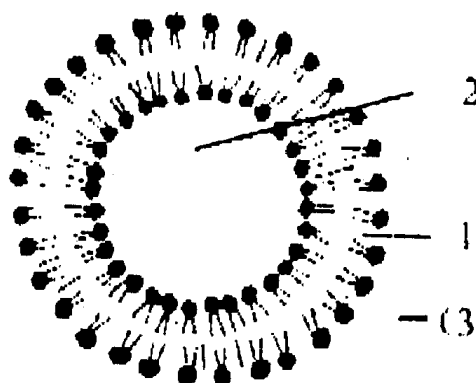
[74] 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司
代理人 曹正凤

权利要求书 1 页 说明书 20 页 附图 2 页

[54] 发明名称 组凝胶型脂质体及其组合物与应用

[57] 摘要

本发明涉及组凝胶型脂质体及其组合物与在稳定生物活性物质等方面的应用，现有技术中的非凝胶型脂质体的内相是水溶液，用作药物的载体，稳定性差。本发明凝胶型脂质体的内相是水凝胶态。其优点是所包封的内相物质不易渗漏，其本身不易聚集、沉降、化学稳定好、磷脂氧化程度降低。具有提高生物活性物质稳定性的作用和缓释作用。本发明凝胶型脂质体除有非凝胶型脂质体相同的用途外，还作为生物活性物质的稳定剂。



I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1、一种组凝胶型脂质体，包括脂质体的膜、脂质体的内相和脂质体的外相，其特征在于，脂质体的内、外相均是水凝胶。

2、根据权利要求1的组凝胶型脂质体，其特征在于，水凝胶是

a、明胶与水溶性介质形成的水凝胶；或

b、胶原蛋白与水溶性介质形成的水凝胶；或

c、琼脂与水溶性介质形成的水凝胶；或

d、明胶、胶原蛋白、琼脂三者中，任意两种或三种的混合物与水溶性介质形成的水凝胶。

3、根据权利要求1的组凝胶型脂质体，其特征在于，水凝胶的优选浓度为：

以100克水凝胶计，高分子物质与水性介质的重量比为：明胶凝胶 1.5:98.5-15:85，胶原蛋白凝胶 1:99-20:80，琼脂凝胶 0.5:99.5-3:97。

4、根据权利要求1的组凝胶型脂质体，其特征在于，所述的组凝胶型脂质体是空白凝胶型脂质体。

5、根据权利要求1的组凝胶型脂质体，其特征在于，所述的组凝胶型脂质体是含药物的凝胶型脂质体。

6、一种组凝胶型脂质体组合物，其特征在于，它是由权利要求1所述的组凝胶型脂质体与一种或一种以上药剂学可接受的剂型赋形剂和/或附加剂所制成的剂型。

组凝胶型脂质体及其组合物与应用

技术领域

本发明涉及一类药物载体，具体地说涉及组凝胶型脂质体及其组合物与在稳定生物活性物质等方面的应用。

背景技术

为了提高药物的疗效、降低药物的毒副作用，药物的制剂技术正向靶向给药系统发展。靶向给药系统(targeting drug system, TDS)，是指载体将药物通过局部给药或全身血液循环而选择性的浓集，定位于靶组织、靶器官、靶细胞内结构的给药系统。在靶向给药系统中，载体是重要的组成部分。目前常用的靶向给药的载体，有脂质体、乳剂、微球等。其中脂质体因是一种类似生物膜结构的囊泡，由与细胞膜成分相同的磷脂组成，对正常细胞和组织无损害及抑制作用，具有细胞亲和性和组织相容性，可完全生物降解，无毒、无免疫原性等优点，而成为优良的药物靶向给药载体。

目前，脂质体仍存在不易稳定等技术问题。脂质体的不稳定问题表现在以下几个方面：①脂质体的内相药物的渗漏。②构成脂质体的膜的磷脂易氧化、水解。③脂质体易聚集、沉降等。其中内相药物的渗漏是脂质体不稳定的主要表现，其大大限制了脂质体作为药物载体的应用。目前，解决脂质体不稳定问题的主要方法有：①在膜材中加入一定量的胆固醇以加固脂质双层膜，减少膜流动，降低渗漏率，但

该方法不可能避免流动内相所包封药物的渗漏；②脂质体液态内相制成固态，提高脂质体的稳定性，如先把药物制成明胶微球或环糊精包合物，再包于脂质双层膜，制得具有固态内相的脂质体（Castelli F, et al. Int. J. Pharm, 1989, 52:115）这类脂质体不仅具有靶向性和良好的稳定性，而且具有缓释作用。但其制备方法复杂，被包封物与大量的有机溶剂接触。不适于包封生物活性物质如蛋白质、多肽类药物。③将脂质体冷冻干燥制成固体保存，以避免内相药物的渗漏，如 Etvans 等人（US. 4, 311, 7120）使用冷冻干燥法制备水溶性药物脂质体；Collinis, D. S. (W095/12387) 采用重组脂质体的方法制备生物活性药物脂质体，这些方法制备工艺复杂，制得的脂质体仍然存在不稳定问题。

总之，上述方法均不能较好的解决脂质体作为靶向药物的载体的不稳定问题。本发明的目的是：

1、提供一组空白凝胶型脂质体或一组包封一种或一种以上药物的凝胶型脂质体（即含药凝胶型脂质体）；

2、提供上述空白凝胶型脂质体或已包封药物的含药凝胶型脂质体与剂型赋形剂和/或附加剂制备的药剂学中所述的剂型组合物；

3、提供上述 1、2 物质，在药物的长效、缓释给药等方面的应用；

4、提供上述 1、2 物质，在提高生物活性药物稳定性方面的应用。

以克服现有脂质体技术的不足之处。

定义下列名词：

凝胶型脂质体：内相和外相均为水凝胶的脂质体定义为凝胶型脂

质体。

空白凝胶型脂质体：未包封任何活性物质的凝胶型脂质体。

含药凝胶型脂质体：包封一种或一种以上药物的凝胶型脂质体。

组凝胶型脂质体：空白凝胶型脂质体或含药凝胶型脂质体的统称。

非凝胶型脂质体：除本发明凝胶型脂质体外的现有脂质体。

发明内容本发明通过以下措施来达到：

组凝胶型脂质体，包括凝胶型脂质体的膜、凝胶型脂质体的内相和凝胶型脂质体的外相，凝胶型脂质体的内相和外相均是水凝胶。水凝胶是

- a、明胶与水溶性介质形成的水凝胶；或
- b、胶原蛋白与水溶性介质形成的水凝胶；或
- c、琼脂与水溶性介质形成的水凝胶；或
- d、明胶、胶原蛋白、琼脂三者中，任意两种或三种的混合物与水溶性介质形成的水凝胶。

水凝胶优选的浓度：以 100 克水凝胶计，高分子物质与水性介质的重量比为：优选明胶凝胶 1.5:98.5-15:85，优选胶原蛋白凝胶 1:99-20:80，优选琼脂凝胶 0.5:99.5-3:97。

组凝胶型脂质体包括空白凝胶型脂质体或含药凝胶型脂质体。

组凝胶型脂质体的组合物，是由组凝胶型脂质体与一种或一种以上药剂学中可接受的剂型赋形剂和/或附加剂所制成的剂型。

组凝胶型脂质体，应用作生物活性物质的稳定剂。

凝胶型脂质体的结构：

凝胶型脂质体的空间结构可分为三部分，即凝胶型脂质体的膜、凝胶型脂质体的内相和凝胶型脂质体的外相。

凝胶型脂质体的特征是凝胶型脂质体的内相和外相均是水凝胶，替代了非凝胶型脂质体的内相和外相。

凝胶型脂质体与现有非凝胶型脂质体相同，有单室和/或多室结构。图 1A 所示为单室结构的凝胶型脂质体，图 1B 所示为多室结构的凝胶型脂质体。图中 1 为凝胶型脂质体的膜；2 为凝胶型脂质体的内相；3 为凝胶型脂质体的外相。

凝胶型脂质体包封药物时，所包封的药物根据其性质不同分别位于凝胶型脂质体的不同部分：脂溶性的药物嵌入凝胶型脂质体的膜中，水溶性的药物位于水凝胶内相和外相中。包封药物后，外相中游离药物，根据使用要求，可经分离除去，也可不分离，保留在外相中。

凝胶型脂质体的组成成份：

1、空白凝胶型脂质体：

本发明空白凝胶型脂质体的膜组成，与现有非凝胶型脂质的膜组成相同。常用的膜材是类脂质中磷脂〔天然的磷脂（卵磷脂、豆磷脂等）和合成的磷脂（二棕榈酰磷脂酰胆碱、二硬脂酰磷脂酰胆碱等）〕及磷脂类似物；除此之外，与非凝胶型脂质体相同，其它有类似形状和结构的、同时具有亲水亲油基的分子也可使用形成凝胶型脂质体的膜。为本发明的目的，所有适合形成凝胶型脂质体的膜的分子都被认为是类脂质。如：非磷脂类脂质包括（但不局限于此）胆固醇、胆甾

醇酯、十八胺、十二烷胺、十六烷胺等。它们其中的一种或一种以上混合物均可作为膜材。但并不仅限于这些。

本发明空白凝胶型脂质体，与现有非凝胶型脂质体相同，也可加入附加剂，常用的附加剂如：抗氧化剂（如： α -生育酚、叔丁基对羟基茴香醚、二丁基羟基甲苯）、表面活性剂（如：聚山梨酯 80）等。

本发明空白凝胶型脂质体的水凝胶含有（a）高分子物质；（b）水性介质或亲水性介质组成；（a）和（b）混合，按其通常的凝胶制备方法，在一定条件下形成物理的或化学水凝胶。

高分子物质包括：明胶、胶原蛋白、琼脂等及它们中任意两种或两种以上的混合物；

水性介质包括：水、缓冲盐溶液和其它生理相容性的亲水性介质；

因此，本发明空白凝胶型脂质体的水凝胶是：

- 1、明胶与水性介质形成的水凝胶；或
- 2、胶原蛋白与水性介质形成的水凝胶；或
- 3、琼脂与水性介质形成的水凝胶；或

4、明胶、胶原蛋白、琼脂中，任意两种或三种混合物与水性介质形成的水凝胶。本发明空白凝胶型脂质体中的水凝胶，以 100 克水凝胶计，高分子物质与水性介质的重量比为：明胶凝胶 0.5:99.5-40:60，优选 1.5:98.5-15:85，胶原蛋白凝胶 0.3:99.7-35:65，优选 1:99-20:80，琼脂凝胶 0.1:99.9-10:90，优选 0.5:99.5-3:97。

本发明空白凝胶型脂质体的水凝胶具有以下性质：即在制备条件

下，为高分子溶胶或溶液，脂质体形成后，采用不同的方法（如：改变温度，加入交联剂，辐射交联等方法）使之胶凝形成水凝胶。如明胶凝胶和琼脂凝胶，在它们的胶凝点以上温度时为液体溶胶，降低温度至胶凝点以下时为物理凝胶；胶原蛋白溶液则通过改变温度或 pH 条件导致胶凝形成水凝胶。明胶、胶原蛋白还可通过加入交联剂如：甲醛、戊二醛等醛类化合物形成化学水凝胶。

本发明空白凝胶型脂质体中的组分：类脂质，水凝胶，附加剂的用量分别与非凝胶型脂质体中类脂质，水相，附加剂组分的常用量相同。

2、含药物的凝胶型脂质体：

含药物的凝胶型脂质体是已包封一种或一种以上临床有效剂量药物的凝胶型脂质体。其组成与空白凝胶型脂质体相比，仅增加了药物组分，其膜、内相、外相的基本组成和用量同空白凝胶型脂质体。

组凝胶型脂质体的制备：

本发明凝胶型脂质体的制备方法可以采用非凝胶型脂质体的常规制备方法，各种方法制备时，只需用上述的水凝胶组分代替脂质体制备方法中的水相，并保持制备条件下，水凝胶为液体状态，如：保持制备温度在胶凝温度范围以外的温度，（如：明胶、琼脂和胶原蛋白凝胶），待脂质体形成后，采取一定的胶凝方法（如：改变温度至胶凝范围内的温度或加入交联剂、辐射交联等方法），使内相和外相胶凝，形成水凝胶。即得组凝胶型脂质体。

常规的非凝胶型脂质体制备方法，如：薄膜分散法、熔融法、注

入法、逆相蒸发法等均可用于制备本发明组凝胶型脂质体。

按上述方法制备的不包封药物的脂质体，即为空白凝胶型脂质体。

包封一种或一种以上药物的含药凝胶型脂质体的制备，同非凝胶型脂质体包封药物的方法。

本发明凝胶型脂质体较适宜包封水溶性药物，特别适合于包封生物活性物质：蛋白质、多肽、疫苗、核酸类药物，如干扰素（IFN），粒细胞集落刺激因子（G-CSF），神经生长因子（NGF），表皮生长因子（EGF），白介素（IL），成纤维细胞生长因子（FGF），红细胞生长因子（EPO）（不只局限于这些生物活性物质）及疫苗，核酸类药物（如：DNA，RNA）等；本发明凝胶型脂质体可同时包封两种或两种以上药物；如将干扰素和白介素同时包封于同一脂质体中。

在本发明凝胶型脂质体包封药物的过程中，未被凝胶型脂质体包封的游离药物，可根据使用需要与含药凝胶型脂质体分离或不分离，如需要分离可采用常规的分离方法，如离心法，透析法；

含药凝胶型脂质体或空白凝胶型脂质体所制备的剂型组合物：

用已包封临床有效治疗剂量药物的凝胶型脂质体所制备的剂型组合物，是指已包封临床治疗有效剂量药物的本发明凝胶型脂质体，与药剂学中可接受的一种或一种以上剂型赋形剂和/或附加剂，按照药剂学中常规的制备方法，制备的各种适宜剂型组合物。如凝胶型注射剂、软膏剂、眼膏剂、透皮吸收制剂、栓剂、混悬剂等。

例如：赋形剂如注射用水、软膏剂的基质：卡波沫等；附加剂如

等渗透调节剂：甘油、氯化钠等、抑菌剂：苯醇等、pH 调节剂：三乙醇胺等，缓冲液：磷酸缓冲盐等（不止局限于这些）、保湿剂：甘油、山梨醇等、透皮吸收促进剂：氮酮（Azone）等、表面活性剂：聚山梨酯 80 等、抗氧剂： α -生育酚等。

本发明空白凝胶型脂质体可直接应用；也可冷冻干燥或喷雾干燥成固体，临用前加入被包封药物的水溶液制备成含药凝胶型脂质体应用。空白凝胶型脂质体也可与药剂学中可接受的剂型赋形剂和/或附加剂，按照药剂学常规的生产方法，制备各种适宜剂型组合物。

本发明凝胶型脂质体相比现有非凝胶型脂质体具有如下优点：

1、本发明凝胶型脂质体由于外相为凝胶态，长期贮存脂质体不易聚集、沉降，粒径稳定；由于内相是凝胶态包封的水溶性药物不易渗漏；

2、本发明凝胶型脂质体化学稳定性好，磷脂的氧化程度较非凝胶型脂质体降低；

3、本发明凝胶型脂质体，包封生物活性物质时，因本发明凝胶型包封的生物活性物质位于水凝胶三维网状结构中，使生物活性物质空间构象得以保持，因此使生物活性物质稳定性提高，且具有缓释作用；

总之，本发明凝胶型脂质体，与现有非凝胶型脂质体具有类似的结构、组成和功能，且成功的解决了现有脂质体的不稳定、易聚集、沉降问题，而成为一种靶向给药载体。该载体在结构上比现有脂质体更类似一种生物细胞，具有提高生物活性药物稳定性的作用。

附图说明

图 1A 为凝胶型脂质体（单室）的结构示意图；

图 1B 为凝胶型脂质体（多室）的结构示意图；

图 2 为凝胶型脂质体的透射电镜照片。

具体实施方式

下面就几个实施例结合附图对本发明加以详细说明，使本专业的技术人员更全面地理解本发明，但不以任何方式限制本发明。

实施例 1 本发明凝胶型脂质体的制备

空白凝胶型脂质体制备方法 1：称取豆磷脂 240mg，胆固醇 40mg，置于圆底烧瓶中，加入 30ml 氯仿：乙醚（1:1）混合溶剂，溶解，在旋转蒸发仪上，减压蒸发除去溶剂，继续真空干燥 12 小时，在烧瓶壁上形成脂质膜，加入明胶凝胶（明胶与注射用水的重量比为 2.5:97.5）至 5g，40℃水浴中水化 1h. 磁力搅拌 1h，冷却至室温，即得。

空白凝胶型脂质体制备 2：取豆磷脂 120mg，胆固醇 18mg，聚山梨酯 80, 20mg，如制备方法 1 制备脂质膜，加入明胶凝胶（明胶:0.067M pH7.2 磷酸盐缓冲液重量比为 40:60）至 5 克，50℃水浴中水化 1h，40℃水浴中水化 20min，超声 50min，40℃保温用 0.45um 的微孔滤膜过滤，整粒。冷却至室温。

空白凝胶型脂质体制备 3：取卵磷脂 130mg，胆固醇 20mg，加入 15ml 氯仿：乙醚（1:1）混合溶剂，溶解，如方法 1 制备脂质膜，加

入琼脂凝胶（琼脂：0.067M pH7.2 的磷酸盐缓冲液重量比 1.5:98.5）至 5 克，55℃水浴中水化 60min，匀化机（25000rpm）匀化 10min，冷却至室温，即得。

空白凝胶型脂质体制备 4：取豆磷脂 150mg，胆固醇 30mg，加入 15ml 氯仿：乙醚（1:1）混合溶剂，溶解，如方法 1 制备脂质膜，加入明胶凝胶（明胶：蒸馏水重量比 5:95）至 5 克，45℃水浴中水化 30min，40℃水浴中磁力搅拌 20min，超声 5min，快速搅拌均匀，立即加入 18.5%的甲醛溶液 4ml，搅拌 20min，用 10%的 NaOH 调节 pH7-8，继续搅拌 20min，即得。

空白凝胶型脂质体制备 5：取豆磷脂 120mg，胆固醇 18mg，加入 15ml 氯仿：乙醚（1:1）混合溶剂，溶解，如制备方法 1 制备脂质膜，加入胶原蛋白溶液（胶原蛋白：水性介质重量比为 8:92）至 5 克，30℃水浴中水化 1h，室温搅拌 20min，匀化 5min，用 10%的 NaOH 调节 pH7.5，37℃保温 20min，即得。

空白凝胶型脂质体制备 6：取豆磷脂 3g，胆固醇 0.75g，聚山梨酯 80 0.4g 于 75℃水浴加热熔融得到熔融物，取明胶凝胶（明胶与蒸馏水的重量比 4:96）100 克，65℃水浴加热得明胶的溶胶，在搅拌下将上述熔融物滴加于明胶溶胶中，均化机（25000rpm）匀化 15min，分装入西林瓶中，每瓶 1ml，冷冻干燥，即得冻干空白凝胶型脂质体。

含 rhIFN α -2b 药物凝胶型脂质体的制备 1：避菌条件下，称取豆磷脂 240mg，胆固醇 40mg，置于圆底烧瓶中，加入氯仿：乙醚（1:1）混合溶剂 25ml，溶解，在旋转蒸发仪上，减压蒸发除去溶剂，继续

真空干燥 12 小时，在烧瓶壁上形成脂质膜，脂质膜以明胶凝胶 1.5g（明胶与注射用水的重量比 10:90）（其中含 $100\ \mu\text{L}$ 的 rhIFN- α -2b（比活： $1.32\times 10^8\text{IU/mL}$ ））， 40°C 水浴中水化 30min，再加入注射用水至 5 克， 25°C 继续水化 20min。匀化 2min， 40°C 保温先用 $0.45\ \mu\text{m}$ ，再用 $0.22\ \mu\text{m}$ 的微孔滤膜无菌过滤，冷却至室温，即得。

含 rhIFN α -2b 药物凝胶型脂质体的制备 2：避菌条件下，称取豆磷脂 120mg，胆固醇 20mg，置于圆底烧瓶中，加入氯仿：乙醚（1:1）混合溶剂 15ml，溶解，在旋转蒸发仪上，减压蒸发除去溶剂，继续真空干燥 12 小时在烧瓶壁上形成脂质膜，脂质膜以明胶凝胶 1.5 克 [明胶：水的重量比 5:95，其中含有 $100\ \mu\text{L}$ 的 rhIFN- α -2b（比活： $1.32\times 10^8\text{IU/mL}$ ）]，和胶原蛋白溶液 2 克（胶原蛋白：水性介质，重量比为 2:98）， 28°C 水浴中搅拌水化 1h，再加入注射用水至 5 克， 25°C 继续水化 1h，匀化 3min，用 0.1N 的 NaOH 调节 pH7.2，用 $0.8\ \mu\text{m}$ 的微孔滤膜过滤，冷却至凝胶态，即得。

含 rhIFN α -2b 药物凝胶型脂质体的制备 3：如空白脂质体制备方法 6，制备冻干空白脂体质，按每瓶中加入 1mL 注射用水（其中含 $5\times 10^6\text{IU}$ 的 rhIFN α -2b）的比率加入水化介质，溶胀， 40°C 水浴搅拌 20min，过滤，即得。

实施例 2 空白凝胶型脂质体的形态观察

照空白凝胶型脂质体制备方法 1，制备脂质膜后，明胶凝胶（明胶与注射用水的重量比为 2.5:97.5）加至 10g， 40°C 水浴中水化 2h。匀化 3min（15000rpm），冷却至室温，即得空白凝胶型脂质体。铜网

蘸取温热的空白凝胶型脂质体，用 2%的磷钨酸染色，自然干燥后，至于透射电镜（JEM-100 透射电子显微镜）下，观察其形态，拍照。

电镜照片见图 2。图中可见本发明凝胶型为球状，椭圆状等，与非凝胶型脂质体形状类似。

实施例 3 含 rhIFN α -2b 药物凝胶型脂质体与非凝胶型脂质体药物包封率的对比

含 rhIFN α -2b 非凝胶型脂质体的制备：称取豆磷脂 240mg，胆固醇 40mg，置于圆底烧瓶中，加入氯仿：乙醚（1:1）混合溶剂 30ml，溶解，在旋转蒸发仪上，减压蒸发除去溶剂，继续真空干燥 12 小时，在烧瓶壁上形成脂质膜，脂质膜在 40℃水浴中水化 30 分钟，水化介质为 0.15M pH7.2 的磷酸盐缓冲溶液加至 5g[其中含 100 μ l 的 rhIFN α -2b（比活：1.32 $\times 10^8$ IU/mL）]，30℃继续水化 20min。匀化 3 分钟。无菌条件下 0.45 μ m 的微孔滤膜，过滤。游离的药物用高速离心法分（25000r/min 30min），取清液，采用细胞病变抑制法（CPE）（中国生物制品检定规程）测定游离药物的生物活性，计算包封率。

$$\text{包封率} = (\text{加入药物量} - \text{游离药物量}) / \text{加入药物量} \times 100\%$$

rhIFN α -2b 凝胶型脂质体的制备：称取豆磷脂 240mg，胆固醇 40mg，置于圆底烧瓶中，加入氯仿：乙醚（1:1）混合溶剂 30ml，溶解，在旋转蒸发仪上，减压蒸发除去溶剂，继续真空干燥 12 小时，在烧瓶壁上形成脂质膜，脂质膜以明胶凝胶 1.5g（明胶与注射用水的重量比 10:90）（其中含 100 μ l 的 rhIFN- α -2b（比活：1.32 $\times 10^8$ IU/mL），40℃水浴中水化 30min，再加入注射用水至 5 克，

30℃继续水化 20min。匀化 3min，40℃保温用 0.45um 的微孔滤膜，无菌过滤。游离药物同上述方法分离和测定，计算包封率。

结果列于表 1。

表 1. rhIFN α -2b 非凝胶型脂质体与凝胶型脂质体的包封率的比较

类型	包封率	外观	
		4℃	40℃
非凝胶型脂质体	10.2%	乳白色液体	乳白色液体
凝胶型脂质体	73.4%	乳白色凝胶	乳白色液体

以上述凝胶型脂质体制备方法，包封以下生物活性的物质，以评价该方法实用性

脂质组成	包封物	包封率
豆磷脂：胆固醇：聚山梨酯-80 (摩尔比 7:2:1)	G-CSF	70%
卵磷脂：胆固醇 (摩尔比 2:1)	IL-2	76%

实施例 4 空白凝胶型脂质体与非凝胶型脂质体脂质过氧化程度的对比方法：

取豆磷脂 120mg，胆固醇 18mg，置于圆底烧瓶中，加入氯仿：乙醚（1:1）混合溶剂 15ml，溶解，在旋转蒸发仪上，减压蒸发除去溶剂，继续真空干燥 12 小时，在烧瓶壁上形成脂质膜，于其中加入 0.067MpH7.2 的磷酸盐缓冲溶液至 5g，40℃水浴中水化 2h，超声 5min 即得非凝胶型脂质体。

取上述相同量的豆磷脂，胆固醇，聚山梨脂 80，同上述方法制

备脂质膜，于其中加入明胶凝胶至 5g（明胶与注射用水的重量比为 2.5:97.5），40℃水浴水化 2h，超声 5min，即得空白凝胶型脂质体。

将上述非凝胶型脂质体和凝胶型脂质体，分别分装于安瓶中，于 37℃恒温箱中放置，不同时间取样，用丙二醛（MDA）法测定脂质氧化的程度。（翁国英等，生物化学与生物物理学进展。1990，17（1）：76）

结果：结果列于表 2。

结果表明：37℃放置 3 天，凝胶型脂质体较非凝胶型脂质体，脂质氧化程度降低一倍，凝胶型脂质体氧化稳定性较好。

表 2. 凝胶型脂质体与非凝胶型脂质体脂质过氧化程度的比较（37℃）

类型	MDA 含量（μg/10 磷脂）		
	0h	24h	72h
非凝胶型脂质体	9.15	16.60	22.89
凝胶型脂质体	8.73	8.21	10.64

实施例 5. 含 rhIFN α -2b 药物凝胶型脂质体的药物贮存稳定性

方法：避菌条件下，取豆磷脂 240mg，胆固醇 36mg，聚山梨酯 80，12mg，如上法制备脂质膜，脂质膜以明胶凝胶 1.5g[明胶与注射用水的重量比 15:85，其中含 150 μ L 的 rhIFN α -2b（比活：1.32X10⁸IU/mL）]40℃水浴中水化 40min，再加入注射用水至 5mL，30℃继续水化 20min，室温搅拌 20min，匀化 2min，40℃保温用 0.45um 的微孔滤膜无菌过滤。无菌分装于 5mL 安瓶中，于冰箱（4℃）和室温（25℃）保存，于 0，1，3，6，9，12 个月取样，采用细胞病变抑制法测定其生物活性（中国生物制品检定规程）。

结果：活性测定结果列于表 3。

结果表明：含 rhIFN α -2b 凝胶型脂质体于 4℃ 贮存 12 个月，生物活性未有明显变化，25℃ 条件下，贮存生物活性略有下降。

表 3. rhIFN α -2b 凝胶型脂质体药物的贮存稳定性

取样时间 (月)	贮存条件	
	4℃ (X10 ⁶ IU/mL)	25℃ (X10 ⁶ IU/mL)
0	3.4	3.4
1	3.7	3.0
3	3.0	3.3
6	3.5	3.1
9	2.9	3.0
12	3.0	2.8

实施例 6. 含盐酸利多卡因药物凝胶型脂质体的药物渗漏性

方法：取豆磷脂 5g，胆固醇 1.25g，聚山梨酯 80 0.3g，75℃ 水浴熔融，另取明胶凝胶 30g（明胶与蒸馏水的重量比为 20:80 盐酸利多卡因浓度为 67mg/g）预热至 65℃，将上述两液体搅拌混合 10min，25000rpm 匀化 15 分钟，加入 40℃ 的去离子水至 100mL，搅拌均匀，35℃ 水浴继续搅拌 0.5 小时。即得盐酸利多卡因凝胶型脂质体。高速离心法（25000r/min，60min）分离游离药物，游离药物，用紫外分光光度法，263nm 波长处测定吸收度，以吸收系数法计算药物含量，同实施例 3 计算包封率的方法计算包封率。

上述盐酸利多卡因凝胶型脂质体分装于安瓶中，贮存于 4℃ 考察不同时间的药物渗漏率。

结果：结果列于表 4。

结果表明：凝胶型脂质体 4℃ 贮存 6 个月，无药物渗漏现象。

表 4. 盐酸利多卡因凝胶型中药物渗漏率考察结果

时间 (月)	包封率% 4℃
0	79.4
1	78.7
3	80.2
6	79.0

实施例 7 含 rhIFN α -2b 药物凝胶型脂质体体内药物缓释作用

方法:

rhIFN α -2b 凝胶型脂质体的制备: 豆磷脂 240mg, 胆固醇 50mg, α -生育酚 100mg 混合, 用 30mL 的氯仿溶解, 按上述方法制备脂质膜, 脂质膜以明胶凝胶 3g (明胶: 注射用水重量比为 35:65, 其中含 rhIFN α -2b 5.4×10^6 IU) 40℃水浴水化 40min。再加入明胶凝胶 (明胶: 注射用水重量比为 5:95) 至 10mL 继续水化 20min, 超声 2min, 40℃保温用 0.45 μ m 的微孔滤膜过滤, 整粒。

rhIFN α -2b 的溶液剂的制备: 取 rhIFN α -2b, 100 μ L (比活: 1.32×10^8 IU/mL), 用 0.15M、pH7.2, 的磷酸盐缓冲液稀释至 25mL, 同上法测定其生物活性, 为 4.8×10^5 IU/mL。

取体重为 100-120g 的大鼠 (S. D.), 在两大腿处, 分别肌肉 0.5mL 上述凝胶型脂质体和 rhIFN α -2b 的溶液剂, 不同时间处死, 分别取下注射部位大腿肌肉, -20℃冷冻保存, 测定前制备成 10%的匀浆液, 用 ELISA 法测定药物量。(High sensitivity interferon-alpha human, ELISA system, Amersham International plc, 批号: 9392L01) 计算不同时间的药物局部滞留率。(以 0 时为 100%)。

结果见表 5。

结果表明：rhIFN α -2b 凝胶型脂质体注射给药 72h 后，注射部位仍有 51.6% 的药物滞留，具有缓释药物的作用。

表 5 rhIFN α -2b 凝胶型脂质体注射给药体内滞留量

时间 (h)	滞留量 (%)	
	溶液剂	凝胶型脂质体
2	54.4	77.6
4	46.1	68.2
8	37.3	73.4
24	-1.2	65.0
48	0	62.7
72	0	51.6

实施例 8. 含 rhIFN α -2b 药物凝胶型脂质体注射剂

组方 1:

rhIFN α -2b	1.32X10 ⁷ IU
静注用豆磷脂	125mg
胆固醇	19.5mg
明胶	125mg
α -生育酚	50mg
甘油	适量（调节等渗用量）
注射用水	加至 5g

制备:

明胶凝胶的制备: 取处方量的明胶溶胀于甘油和 1/2 处方量的注

射用水的溶液中，40℃水浴加热溶解，放冷至形成凝胶。

将豆磷脂、胆固醇、 α -生育酚溶于氯仿：乙醚（1:1）混合溶剂 15mL，同上述方法制备脂质膜，脂质膜以上述制备的明胶凝胶 1.5g（含 rhIFN α -2b1.32 $\times 10^7$ IU），40℃水浴中水化 50min，再加入注射用水至 5 克，30℃继续水化 20min，匀化 5min，40℃保温用 0.22 μ m 的微孔滤膜无菌过滤。无菌分装于西林瓶中，于 4℃贮存。

组方 2:

rhIFN α -2b	2.64 $\times 10^7$ IU
--------------------	-----------------------

静注用豆磷脂	100mg
--------	-------

胆固醇	15mg
-----	------

明胶	125mg
----	-------

1%胶原蛋白	2.5mL
--------	-------

α -生育酚	50mg
---------------	------

注射用水	加至 5g
------	-------

制备 1:

（1）明胶凝胶的制备：取处方量的明胶溶胀于 1/2 处方量的注射用水的中，40℃水浴加热溶解，放冷至形成凝胶。

（2）将豆磷脂、胆固醇、 α -生育酚溶于氯仿：乙醚（1:1）混合溶剂 15mL，同上述方法制备脂质膜，脂质膜以上述制备的明胶凝胶 1.5g（含 rhIFN α -2b2.64 $\times 10^7$ IU），40℃水浴中水化 50min，再加入剩余注射用水至 5 克，30℃继续水化 20min，匀化 5min，40℃保温用 0.22 μ m 的微孔滤膜无菌过滤。搅拌冷却至 25℃。

(3) 加入胶原蛋白溶液，混合均匀，用 0.1N 的 NaOH 溶液调节混合液 pH 为 7.2，无菌分装于注射器中，每支 1mL，于 37℃保温 30min。即得。

制备 2：(1) 和 (2) 步骤同制备 1。

(3) 加入胶原蛋白溶液，混合均匀，用 0.1N 的 NaOH 溶液调节混合液 pH 为 7.2，无菌分装于注射器中，每支 1mL，于 4℃保存。

上述的基因工程干扰素凝胶型脂质体注射剂组方中，基因工程干扰素可以为 α 、 β 、 γ 干扰素的各种亚型，也可选择性在注射用水中加入剂型附加剂抑菌剂如苄醇。

本发明凝胶型脂质体，因具有与非凝胶型脂质体相似的空间结构和膜材，因此，本发明凝胶型脂质体具有与非凝胶型脂质体如下相同的功能和用途。

(1) 具有靶向作用，用于药物靶向给药的载体。

(2) 具有缓释和长效作用，用于制备药物的缓释和长效制剂。

(3) 具有细胞亲和性和组织相容性，具有促进药物，用于制备药物透皮吸收制剂，及眼、皮肤、粘膜等局部用药制剂。

(4) 具有细胞融合作用，将包封的 DNA 等药物导入细胞中，可作为基因治疗药物的载体等作用。

同时，本发明凝胶型脂质体由于内、外相为水凝胶态，使其在结构上较非凝胶型脂质体更类似于生物细胞的结构。所包封的药物溶解或分散于水凝胶的三维网状结构中，稳定所包封药物的空间构象，因此，凝胶型脂质体除具有上述作用外，还有如下作用：本发明凝胶型

脂质体，特别具有提高生物活性物质稳定的作用，可作为生物活性物质的稳定剂。

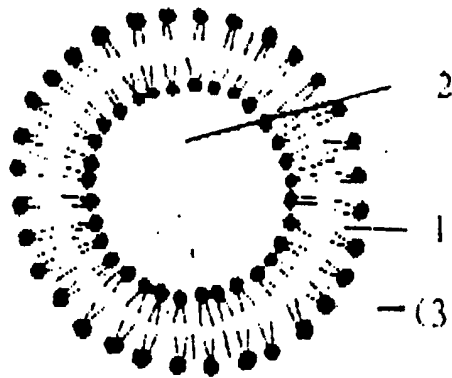


图 1A

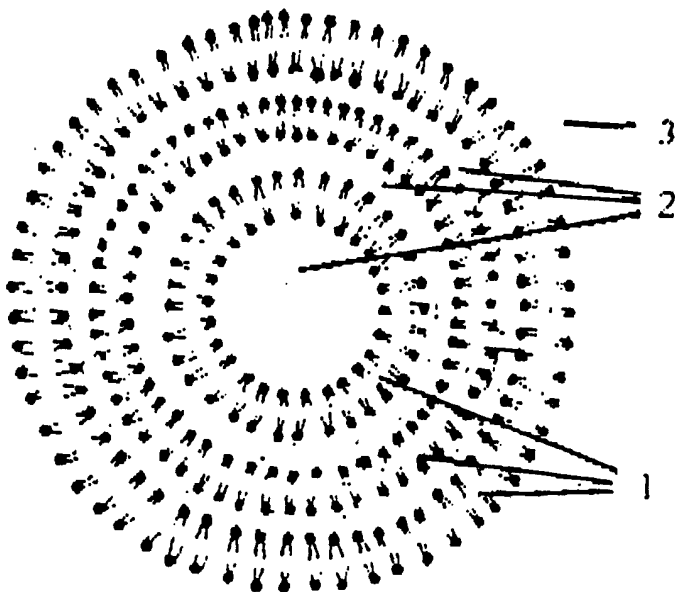


图 1B



图 2