

(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
2017 年 6 月 15 日 (15.06.2017)



(10) 国际公布号
WO 2017/097196 A1

(51) 国际专利分类号:

A61K 9/127 (2006.01) A61K 47/24 (2006.01)
A61K 31/4745 (2006.01) A61K 47/26 (2006.01)
A61K 31/337 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/436 (2006.01) A61P 35/02 (2006.01)
A61K 31/5517 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2016/108840

(22) 国际申请日: 2016 年 12 月 7 日 (07.12.2016)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:

201510897554.0 2015 年 12 月 8 日 (08.12.2015) CN

(71) 申请人: 正大天晴药业集团股份有限公司 (CHIA TAI TIANQING PHARMACEUTICAL GROUP CO., LTD.) [CN/CN]; 中国江苏省连云港市海州区郁州南路 369 号, Jiangsu 222062 (CN)。

(72) 发明人: 张喜全 (ZHANG, Xiquan); 中国江苏省连云港市海州区郁州南路 369 号, Jiangsu 222062 (CN)。董平 (DONG, Ping); 中国江苏省连云港市海州区郁州南路 369 号, Jiangsu 222062 (CN)。张焕育 (ZHANG, Huanqing); 中国江苏省连云港市海州区郁州南路 369 号, Jiangsu 222062 (CN)。程艳菊 (CHENG, Yanju); 中国江苏省连云港市海州区郁州南路 369 号, Jiangsu 222062 (CN)。周浩 (ZHOU, Hao); 中国江苏省连云港市海州区郁州南路 369 号, Jiangsu 222062 (CN)。蒋波 (JIANG, Bo); 中国江苏省连云港市海州区郁州南路 369 号, Jiangsu 222062 (CN)。

(CN)。刘飞 (LIU, Fei); 中国江苏省连云港市海州区郁州南路 369 号, Jiangsu 222062 (CN)。

(74) 代理人: 北京英赛嘉华知识产权代理有限公司 (INSIGHT INTELLECTUAL PROPERTY LIMITED); 中国北京市海淀区知春路甲 48 号盈都大厦 A 座 19A, 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, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, 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, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

(54) Title: METHOD FOR PREPARING LIPOSOME

(54) 发明名称: 脂质体的制备方法

(57) Abstract: A method for preparing a liposome, comprising the steps of: (1) dissolving a substance to be encapsulated and phospholipid in an organic solvent to obtain an organic phase, and then mixing the organic phase with water to obtain a liposome feed liquid; (2) extruding the liposome feed liquid obtained in step (1) by means of a polycarbonate membrane; and (3) lyophilizing same.

(57) 摘要: 一种脂质体的制备方法, 其包括: (1) 将待包封的物质和磷脂溶解于有机溶剂中, 得到有机相, 然后与水相混合得到脂质体料液; (2) 将步骤 (1) 所得脂质体料液经聚碳酸酯膜挤出; (3) 冷冻干燥。



WO 2017/097196 A1

脂质体的制备方法

相关申请的引用

本申请要求于 2015 年 12 月 08 日向中华人民共和国国家知识产权局提交的申请号为 201510897554.0 的中国发明专利申请的权益。

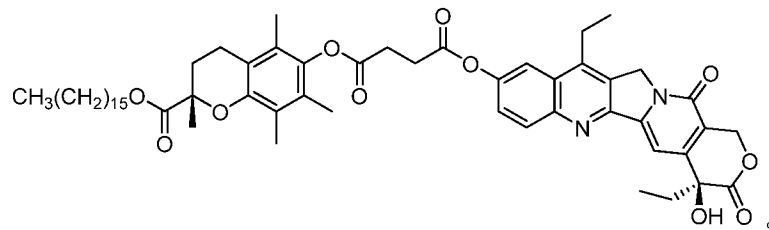
5 技术领域

本申请涉及新的脂质体制备方法及由此方法制备的脂质体。

背景技术

为了提高水溶性差或水不溶性药物的溶解度，乳剂、胶束和脂质体等制剂技术被用于此类药物的制剂开发中。但乳剂和胶束制剂存在一些缺点。例如，乳剂属于热力学不稳定系统，在储存过程中易出现聚集、融合、絮凝、氧化、降解、水解等现象，从而影响乳剂的质量和药物的疗效。再如，胶束制剂通常会利用表面活性剂来形成胶束以增溶药物。然而，表面活性剂在临床使用时会产生毒副作用，引发超敏反应，影响用药安全。虽然脂质体能够改变药物的体内分布、降低药物的毒性、减轻变态反应和免疫反应，并延缓药物的释放，但是，通过已有方法得到的脂质体制剂通常为液体状态，属于热力学不稳定系统，存在稳定性低的问题，而且包封率低、药物较易渗漏、在储存过程中会出现细菌滋生和沉降凝聚、并难以控制粒径且粒径分布宽。即使冷冻干燥后再复溶成液体脂质体时，难以被复溶且复溶后的脂质体的粒径很大且粒径分布很宽。

中国专利(专利号：ZL201110355747.5)公开了如式 I 所示的化合物(又称美西替康)，



I

美西替康在水及水性介质中不溶或几乎不溶，属于水难溶性药物。该专利提及可以将该药物配制成乳液、微乳液或胶束制剂。然而，我们发现将该药物配制成乳液、微乳液或胶束制剂后，稳定性很差且胶束制剂的毒性太大。因此，亟需开发新的适用于水溶性差或水不溶性药物的制剂及其制备方法。

25 发明概述

一方面，本申请提供了脂质体的制备方法，其包括：

(1) 将待包封的物质和磷脂溶解于有机溶剂中，得到有机相，然后与水相混合得脂质体料液；

(2)将步骤(1)所得的脂质体料液经聚碳酸酯膜挤出；

(3)冷冻干燥。

另一方面，本申请还提供了脂质体的另一制备方法，其包括：

(1)将待包封的物质和磷脂溶解于有机溶剂中，得到有机相，然后与水相混合得脂质体料液；

(2)将步骤(1)所得的脂质体料液经聚碳酸酯膜挤出；

(3)加入注射用水并除菌过滤，分装和冷冻干燥；

其中在步骤(1)的水相中或者在实施步骤(3)中的除菌过滤之前加入冻干保护剂。

再一方面，本申请提供了通过上述制备方法获得的脂质体，其特征在于，所述脂质体加水或水性溶剂后复溶，复溶后的脂质体粒径为 50-400nm。

发明详述

在以下的说明中，包括某些具体的细节以对各个公开的实施方案提供全面的理解。然而，相关领域的技术人员会认识到，不采用一个或多个这些具体的细节，而采用其它方法、部件、材料等的情况下可实现实施方案。

除非本申请中另外要求，在整个说明书和其后的权利要求书中，词语“包括(comprise)”及其英文变体例如“包括(comprises)”和“包括(comprising)”应解释为开放式的、含括式的意义，即“包括但不限于”。

在整个本说明书中提到的“一实施方案”或“实施方案”或“在另一实施方案中”或“在某些实施方案中”意指在至少一实施方案中包括与该实施方案所述的相关的具体参考要素、结构或特征。因此，在整个说明书中不同位置出现的短语“在一实施方案中”或“在实施方案中”或“在另一实施方案中”或“在某些实施方案中”不必全部指同一实施方案。此外，具体要素、结构或特征可以任何适当的方式在一个或多个实施方案中结合。

应当理解，在本申请说明书和附加的权利要求书中用到的单数形式的冠词“一”(对应于英文“a”、“an”和“the”)包括复数的对象，除非文中另外明确地规定。因此，例如提到的包括“催化剂”的反应包括一种催化剂，或两种或多种催化剂。还应当理解，术语“或”通常以其包括“和/或”的含义而使用，除非文中另外明确地规定。

一方面，本申请提供了脂质体的制备方法，其包括：

(1)将待包封的物质和磷脂溶解于有机溶剂中，得到有机相，然后与水相混合得脂质体料液；

(2)将步骤(1)所得的脂质体料液经聚碳酸酯膜挤出；

(3)冷冻干燥。

在本申请的一些实施方案中，可以在步骤(1)的水相中或者在实施步骤(3)中的冷冻干燥之前加入冻干保护剂。

在本申请的一些实施方案中，在实施步骤(3)中的冷冻干燥之前，加入注射用水并分装。

在本申请的一些实施方案中，在实施步骤(3)中的冷冻干燥之前，加入注射用水并除菌过滤，然后分装。

另一方面，本申请还提供了脂质体的另一制备方法，其包括：

(1)将待包封的物质和磷脂溶解于有机溶剂中，得到有机相，然后与水相混合得脂质体料液；

(2)将步骤(1)所得的脂质体料液经聚碳酸酯膜挤出；

(3)加入注射用水并除菌过滤，分装和冷冻干燥；

其中在步骤(1)的水相中或者在实施步骤(3)中的除菌过滤之前加入冻干保护剂。

在本申请的一些实施方案中，所述待包封的物质可以是药物，也可以是其他物质。优选的，所述待包封的物质选自药物。更优选的，所述待包封的物质选自美西替康、多西他赛、紫杉醇、阿霉素、两性霉素 B、他克莫司、伊立替康、前列地尔、利培酮、西地那非、利多卡因、芬太尼、布比卡因、地塞米松、曲前列环素、阿柏西普、非布索坦、长春瑞滨、头孢匹胺钠、异环磷酰胺、氨柔比星、夫西地酸钠、头孢美唑钠、还原型谷胱甘肽、依达拉奉、加替沙星、盐酸氟西汀、阿苯达唑、米托蒽醌、阿普唑仑、万古霉素、头孢克洛、头孢克肟、盐酸氢溴索或阿托伐他汀。还更优选的，所述待包封的物质选自美西替康、多西他赛、紫杉醇、他克莫司或阿普唑仑。

在本申请的一些实施方案中，所述磷脂选自蛋黄磷脂酰胆碱、氢化蛋黄磷脂酰胆碱、大豆磷脂酰胆碱、氢化大豆磷脂酰胆碱、双软脂酸磷脂酰胆碱、二癸酰基磷脂酰胆碱、二棕榈酰磷脂酰胆碱、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇、磷脂酰乙醇胺、培化磷脂酰乙醇胺、磷脂酰甘油、磷脂酰胆碱、二鲸蜡磷酸酯、二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱、二硬脂酰磷脂酰胆碱、二月桂酰磷脂酰胆碱、二油酰磷脂酰胆碱、二芥酰基磷脂酰胆碱、1-肉豆蔻酰基-2-棕榈酰基磷脂酰胆碱、1-棕榈酰基-2-硬脂酰基磷脂酰胆碱、1-棕榈酰基-2-肉豆蔻酰基磷脂酰胆碱、1-硬脂酰基-2-肉豆蔻酰基磷脂酰胆碱、1-硬脂酰基-2-棕榈酰基磷脂酰胆碱、1-肉豆蔻酰基-2-油酰基磷脂酰胆碱、1-棕榈酰基-2-油酰基磷脂酰胆碱、1-硬脂酰基-2-油酰基磷脂酰胆碱、二肉豆蔻酰基磷脂酰乙醇胺、二棕榈酰基磷脂酰乙醇胺、二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺、二油酰基磷脂酰乙醇胺、二芥酰基磷脂酰乙醇胺或 1-棕榈酰基-2-油酰基磷脂酰乙醇胺中的一种或多种。

优选的，所述磷脂选自蛋黄磷脂酰胆碱、氢化蛋黄磷脂酰胆碱、大豆磷脂酰胆碱或氢化大豆磷脂酰胆碱中的一种或多种。更优选的，所述磷脂选自蛋黄磷脂酰胆碱和氢化大豆磷脂酰胆

碱的组合。还更优选的，所述磷脂选自其中蛋黄磷脂酰胆碱与氢化大豆磷脂酰胆碱的重量比为 3:1 的组合。

在本申请的一些实施方案中，所述有机溶剂选自无水乙醇、95%的乙醇、甲醇、丙醇、三氯甲烷、二氯甲烷、叔丁醇、正丁醇、丙酮、甲基吡咯烷酮、乙酸乙酯、异丙醚或乙醚中的一种或多种。优选的，所述有机溶剂选自无水乙醇、95%的乙醇或叔丁醇。更优选的，所述有机溶剂选自无水乙醇。

在本申请的一些实施方案中，待包封的物质与磷脂的重量比为 1:1-1:500。优选的，待包封的物质与磷脂的重量比为 1:1-1:100。更优选的，待包封的物质与磷脂的重量比为 1:15-1:50。还更优选的，待包封的物质与磷脂的重量比为 1:20。

在本申请的一些实施方案中，待包封的物质与有机溶剂的重量比为 1:1-1:100。优选的，待包封的物质与有机溶剂的重量比为 1:9-1:50。更优选的，待包封的物质与有机溶剂的重量比为 1:30。

在本申请的一些实施方案中，所述水相包含水作为主要组分或基本上由水组成，例如，去离子水、蒸馏水、纯化水、注射用水等，优选注射用水。

在本申请的一些实施方案中，所述有机相与水相混合时的温度为 25-80℃。优选的，有机相与水相混合时的温度为 55-65℃。

在本申请的一些实施方案中，有机相与水相可在氮气保护下进行混合。

在本申请的一些实施方案中，所述聚碳酸酯膜(Polycarbonate)的孔径选自 0.015、0.03、0.05、0.08、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、2.0、3.0、5.0、8.0、10.0 或 12.0 微米，优选 0.1 微米或 0.2 微米。任选地，可在聚碳酸酯膜的下面再加一层聚酯膜(Polyester)。

在本申请的一些实施方案中，所述挤出可以是以任何方式实施的挤出，只要能使大粒径的脂质体通过所述膜后变成小粒径的脂质体即可，该步骤需要控制料液的温度为 25-80℃，优选为 55-65℃。

在本申请的一些实施方案中，所述冻干保护剂选自甘露醇、葡萄糖、半乳糖，蔗糖、乳糖、麦芽糖或海藻糖中的一种或多种。优选的，所述冻干保护剂选自蔗糖、海藻糖或甘露醇中的一种或多种。更优选的，所述冻干保护剂选自蔗糖或蔗糖与甘露醇的组合。还更优选的，所述冻干保护剂为蔗糖或蔗糖与甘露醇的重量比为 2:1 的组合。

任选地，在本申请的一些实施方案中，还可以向步骤(1)中的所述有机相中加入抗氧化剂。所述抗氧化剂选自亚硫酸钠、亚硫酸氢钠、焦亚硫酸钠、硫代硫酸钠、维生素 C、抗坏血酸棕榈酸酯，叔丁基对羟基茴香醚(BHA)、二叔丁基对甲酚(BHT)、维生素 E 醋酸酯、半胱氨酸和蛋氨酸中的一种或多种。优选的，所述抗氧化剂选自焦亚硫酸钠、叔丁基对羟基茴香醚、

二叔丁基对甲酚、维生素 E 醋酸酯。更优选的，所述抗氧化剂选自二叔丁基对甲酚或焦亚硫酸钠。

任选地，在本申请的一些实施方案中，步骤(1)中的所述水相中还可以包含金属离子螯合剂。所述金属离子螯合剂选自依地酸二钠、依地酸钙钠、1,2-二氨基环己烷四乙酸、二乙三
5 胺五乙酸、N-(2-羟乙基)-乙二胺三乙酸三钠或 N-二(2-羟乙基)甘氨酸。优选的，所述金属离子螯合剂选自依地酸二钠或依地酸钙钠。

任选地，在本申请的一些实施方案中，还可以在步骤(3)中实施冷冻干燥之前或者在步骤(3)中加入冻干保护剂之后加入 pH 调节剂。所述 pH 调节剂选自盐酸、硫酸、乙酸、磷酸、枸橼酸、酒石酸、马来酸、氢氧化钠、碳酸氢钠、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠或枸橼酸钠。优选
10 的，所述 pH 调节剂选自盐酸或氢氧化钠。在本申请的一些实施方案中，pH 的调节范围为 2-10，优选为 4-7。

在本申请的一些实施方案中，通过本申请的制备方法得到的脂质体在加入水或水性溶剂之后快速复溶，复溶后的脂质体的粒径为 50-400nm，优选 100-250nm。在本申请的一些实施方案中，粒径分散系数 ≤ 0.5 ，优选地，粒径分散系数 ≤ 0.23 。

15 本申请的制备方法具有如下优点中的一个或多个：(1)制备工艺简单，只需溶解、保温、混合、挤出和冻干等步骤，特别适合工业化大规模生产；(2)冻干前的脂质体料液经 0.22 微米过滤除菌后，然后无菌灌装和冻干，在工业生产上容易实现且保证产品是无菌的；(3)冻干后的脂质体稳定性好，其粒径、含量、有关物质、包封率等关键的质量指标同第 0 月时相比，无明显变化；(4)冻干后的产品几乎无溶剂残留。

20 与通过本领域中的常规方法制得的脂质体相比，通过本申请的制备方法所得到的脂质体具有如下优点中的一个或多个：(1)包封率高($>99\%$)，在贮存过程中药物无渗漏且包封率不会降低；(2)本申请的脂质体经聚碳酸酯膜多次挤出后粒径分布很窄，分散系数在 0.18 以下，很好地控制了脂质体的粒径及粒径分布；(3)与普通制剂(例如，胶束制剂或乳剂等)相比，本申请的脂质体经动物实验证实降低了药物制剂的毒性，在体内特定的器官和组织集中分布，
25 具有靶向性，增强了药物制剂的药效；(4)本申请的脂质体为固体，与液体形式的脂质体相比，稳定性显著增加、具有更好的重现性，易被复溶且更易于储存和运输。

本申请的脂质体可以是普通脂质体、长循环脂质体、热敏脂质体、免疫脂质体，或其他具有特殊功效的脂质体。

本申请的脂质体可以通过任何适当的途径向患者或受试者给药，例如静脉内给药、动脉
30 内给药、肌肉给药、腹膜内给药、皮下给药、关节内给药、鞘内给药、侧脑室内给药、鼻腔喷雾、肺部吸入、口服给药以及本领域技术人员已知的其他合适的给药途径。可以利用本申

请所得的脂质体治疗的组织病变包括但不限于膀胱、肝脏、肺部、肾脏、骨骼、软组织、肌肉、乳房等组织的病变。

附图说明

图 1: 向大鼠静脉注射 30mg/kg 美西替康脂质体后, 美西替康在体内的组织分布图。

5 图 2: 向大鼠静脉注射 30mg/kg 美西替康脂质体后, 活性代谢产物 SN38 在体内的组织分布图。

图 3: 荧光标记物 IR623 和经 IR623 标记的美西替康脂质体在小鼠体内的分布图。

图 4: 荧光标记物 IR623 和经 IR623 标记的美西替康脂质体在小鼠肿瘤部位和各脏器的分布图。

实施例

10 通过以下实施例示例性说明本申请的具体制备方法, 但本申请的保护范围不局限于此, 本领域技术人员在本申请披露的技术范围内, 根据本申请的技术方案及其发明构思进行的等同替换或改变都应涵盖在本申请的保护范围之内。

实施例 1

配方:

1kg 配制量	配方量
美西替康	2g
蛋黄磷脂酰胆碱	30g
氢化大豆磷脂酰胆碱	10g
无水乙醇	60g
蔗糖	60g
注射用水	加至 1000g

15 制备工艺: 将配方量的美西替康、蛋黄磷脂酰胆碱和氢化大豆磷脂酰胆碱溶解于配方量的无水乙醇中, 在 60℃ 下加热溶解, 作为有机相; 取配制量的 70% 的注射用水, 加热至 60℃, 作为水相; 边剪切水相, 边将有机相加入水相中, 得到脂质体料液; 将所得的脂质体料液经 0.1 μm 聚碳酸酯膜挤出 3 次; 加入配方量的蔗糖, 再加注射用水稀释至 1000g; 分装至中性硼硅玻璃管制注射剂瓶(西林瓶)中后冷冻干燥即得。用超滤法测得包封率 > 99%。

20 实施例 2

配方:

15kg 配制量	配方量
美西替康	30g
蛋黄磷脂酰胆碱	450g
氢化大豆磷脂酰胆碱	150g
无水乙醇	900g

蔗糖	900g
注射用水	加至 15kg

制备工艺：将配方量的美西替康、蛋黄磷脂酰胆碱和氢化大豆磷脂酰胆碱溶解于配方量的无水乙醇中，在 60℃ 下加热溶解，作为有机相；取配制量的 70% 的注射用水，加热至 60℃，作为水相；边剪切水相，边将有机相加入水相中，得到脂质体料液；将所得的脂质体料液经 0.2 μm 聚碳酸酯膜挤出 3 次；加入配方量的蔗糖，再加注射用水稀释至 15kg；分装至中性硼硅玻璃管制注射剂瓶(西林瓶)中后冷冻干燥即得。用超滤法测得包封率>99%。

实施例 3

配方：

1kg 配制量	配方量
美西替康	2g
蛋黄磷脂酰胆碱	30g
氢化大豆磷脂酰胆碱	10g
无水乙醇	60g
蔗糖	60g
注射用水	加至 1000g

制备工艺：将配方量的美西替康、蛋黄磷脂酰胆碱和氢化大豆磷脂酰胆碱溶解于配方量的无水乙醇中，在 60℃下加热溶解，作为有机相；取配方量的蔗糖和配制量的 70%的注射用水，在 60℃下加热溶清后作为水相；边剪切或搅拌水相，边将有机相加入水相中，得到脂质体料液；将所得的脂质体料液经 0.4 μm 聚碳酸酯膜挤出 3 次；再加注射用水稀释至 1000g；分装至中性硼硅玻璃管制注射剂瓶(西林瓶)中后冷冻干燥即得。用超滤法测得包封率>99%。

实施例 4

配方：

1kg 配制量	配方量
美西替康	2g
蛋黄磷脂酰胆碱	30g
氢化大豆磷脂酰胆碱	10g
无水乙醇	60g
蔗糖	40g
甘露醇	20g
注射用水	加至 1000g

制备工艺：将配方量的美西替康、蛋黄磷脂酰胆碱和氢化大豆磷脂酰胆碱溶解于配方量的无水乙醇中，在 60℃下加热溶解，作为有机相；取配制量的 70%的注射用水，加热至 60℃，

作为水相；边剪切或搅拌水相，边将有机相加入水相中，得到脂质体料液；将所得的脂质体料液经 0.2 μ m 聚碳酸酯膜挤出 3 次；加入配方量的蔗糖和甘露醇，再加注射用水稀释至 1000g；分装至中性硼硅玻璃管制注射剂瓶(西林瓶)中后冷冻干燥即得。用超滤法测得包封率 >99%。

实施例 5

5 配方：

1kg 配制量	配方量
美西替康	2g
蛋黄磷脂酰胆碱	30g
氢化大豆磷脂酰胆碱	10g
BHT	0.1g
无水乙醇	60g
蔗糖	60g
注射用水	加至 1000g

10 制备工艺：将配方量的 BHT 和美西替康溶解于配方量的无水乙醇中，在 60℃ 下加热溶解，溶清后加入配方量的蛋黄磷脂酰胆碱和氢化大豆磷脂酰胆碱，在 60℃ 下加热溶解，溶清后作为有机相；取配制量的 70% 的注射用水，加热至 60℃，作为水相；边剪切或搅拌水相，边将有机相加入水相中，得到脂质体料液；将所得的脂质体料液经 0.2 μ m 聚碳酸酯膜挤出可得具有一定粒径大小和一定粒径分布的脂质体料液；加入配方量的蔗糖，再加注射用水稀释至 1000g；分装至中性硼硅玻璃管制注射剂瓶(西林瓶)中后冷冻干燥即得。用超滤法测得包封率 >99%。

实施例 6

配方：

1kg 配制量	配方量
美西替康	2g
蛋黄磷脂酰胆碱	30g
氢化大豆磷脂酰胆碱	10g
依地酸二钠	0.1g
无水乙醇	60g
蔗糖	60g
注射用水	加至 1000g

15 制备工艺：将配方量的美西替康溶解于配方量的无水乙醇中，在 60℃ 下加热溶解，溶清后加入配方量的蛋黄磷脂酰胆碱和氢化大豆磷脂酰胆碱，在 60℃ 下加热溶解，溶清后作为有机相；取配方量的依地酸二钠和配制量的 70% 的注射用水，在 60℃ 下加热溶解，作为水相；

边剪切或搅拌水相，边将有机相加入水相中，得到脂质体料液；将所得的脂质体料液经 0.1 μm 聚碳酸酯膜挤出可得具有一定粒径大小和一定粒径分布的脂质体料液；加入配方量的蔗糖，再加注射用水稀释至 1000g；分装至中性硼硅玻璃管制注射剂瓶(西林瓶)中后冷冻干燥即得。用超滤法测得包封率>99%。

5 实施例 7

配方：

1kg 配制量	配方量
美西替康	2g
蛋黄磷脂酰胆碱	30g
氢化大豆磷脂酰胆碱	10g
盐酸或氢氧化钠	适量
无水乙醇	60g
蔗糖	60g
注射用水	加至 1000g

10 制备工艺：将配方量的美西替康溶解于配方量的无水乙醇中，在 60℃下加热溶解，溶清后加入配方量的蛋黄磷脂酰胆碱和氢化大豆磷脂酰胆碱，在 60℃下加热溶解，溶清后作为有机相；取配制量的 70%的注射用水，60℃保温后作为水相；边剪切或搅拌水相，边将有机相加入水相中，得到脂质体料液；将所得的脂质体料液经 0.2 μm 聚碳酸酯膜挤出可得具有一定粒径大小和一定粒径分布的脂质体料液；加入配方量的蔗糖，并加盐酸或氢氧化钠调节 pH 至 5，再加注射用水稀释至 1000g；分装至中性硼硅玻璃管制注射剂瓶(西林瓶)中后冷冻干燥即得。用超滤法测得包封率>99%。

实施例 8

15 配方：

1kg 配制量	配方量
美西替康	2g
蛋黄磷脂酰胆碱	30g
氢化大豆磷脂酰胆碱	10g
无水乙醇	60g
蔗糖	60g
注射用水	加至 1000g

制备工艺：将配方量的美西替康溶解于配方量的无水乙醇中，在 60℃下加热溶解，溶清后加入配方量的蛋黄磷脂酰胆碱和氢化大豆磷脂酰胆碱，在 60℃下加热溶解，溶清后作为有机相；取配方量的蔗糖和配制量的 70%的注射用水，60℃加热溶解，作为水相；边剪切或搅

拌水相，边将有机相加入水相中，得到脂质体料液；将所得的脂质体料液经 0.1 μm 聚碳酸酯膜挤出可得具有一定粒径大小和一定粒径分布的脂质体料液；再加注射用水稀释至 1000g；分装至中性硼硅玻璃管制注射剂瓶(西林瓶)中后冷冻干燥即得。用超滤法测得包封率>99%。

实施例 9

5 配方：

1kg 配制量	配方量
美西替康	2g
蛋黄磷脂酰胆碱	30g
氢化蛋黄磷脂酰胆碱	10g
无水乙醇	60g
蔗糖	60g
注射用水	加至 1000g

制备工艺：将配方量的美西替康溶解于配方量的无水乙醇中，在 60℃下加热溶解，溶清后加入配方量的蛋黄磷脂酰胆碱和氢化蛋黄磷脂酰胆碱，在 60℃下加热溶解，溶清后作为有机相；取配制量的 70%的注射用水，60℃保温后作为水相；边剪切或搅拌水相，边将有机相加入水相中，得到脂质体料液；将所得的脂质体料液经 0.1 μm 聚碳酸酯膜挤出可得具有一定粒径大小和一定粒径分布的脂质体料液；加入配方量的蔗糖，再加注射用水稀释至 1000g；分装至中性硼硅玻璃管制注射剂瓶(西林瓶)中后冷冻干燥即得。用超滤法测得包封率>99%。

10

实施例 10

配方：

1kg 配制量	配方量
美西替康	2g
蛋黄磷脂酰胆碱	22.5g
氢化大豆磷脂酰胆碱	7.5g
无水乙醇	60g
蔗糖	60g
注射用水	加至 1000g

制备工艺：具体实施步骤同实施例 2。用超滤法测得包封率>99%。

15 实施例 11

配方：

1kg 配制量	配方量
美西替康	2g
蛋黄磷脂酰胆碱	150g

氢化大豆磷脂酰胆碱	50g
无水乙醇	60g
蔗糖	60g
注射用水	加至 1000g

制备工艺：具体实施步骤同实施例 2。用超滤法测得包封率>99%。

实施例 12

配方：

1kg 配制量	配方量
美西替康	2g
蛋黄磷脂酰胆碱	30g
氢化大豆磷脂酰胆碱	10g
无水乙醇	18g
蔗糖	60g
注射用水	加至 1000g

制备工艺：具体实施步骤同实施例 2。用超滤法测得包封率>99%。

5 实施例 13

配方：

1kg 配制量	配方量
美西替康	2g
蛋黄磷脂酰胆碱	30g
氢化大豆磷脂酰胆碱	10g
无水乙醇	100g
蔗糖	60g
注射用水	加至 1000g

制备工艺：具体实施步骤同实施例 2。用超滤法测得包封率>99%。

实施例 14：

配方：

1kg 配制量	配方量
紫杉醇	2g
蛋黄磷脂酰胆碱	30g
氢化大豆磷脂酰胆碱	10g
无水乙醇	60g
蔗糖	60g
注射用水	加至 1000g

备注：除了将配方中的美西替康换成紫杉醇以外，实施例 2-13 中的各配方和工艺也适用于此实施例。

制备工艺：将配方量的紫杉醇、蛋黄磷脂酰胆碱和氢化大豆磷脂酰胆碱溶解于配方量的无水乙醇中，在 60℃ 下加热溶解，作为有机相；取配制量的 70% 的注射用水，加热至 60℃，作为水相；边剪切水相，边将有机相加入水相中，得到脂质体料液；将所得的脂质体料液经 0.1 μm 聚碳酸酯膜挤出 3 次；加入配方量的蔗糖，再加注射用水稀释至 1000g；分装至中性硼硅玻璃管制注射剂瓶(西林瓶)中后冷冻干燥即得。用超滤法测得包封率>99%。

实施例 15:

配方：

1kg 配制量	配方量
多西他赛	2g
蛋黄磷脂酰胆碱	30g
氢化大豆磷脂酰胆碱	10g
无水乙醇	60g
蔗糖	60g
注射用水	加至 1000g

备注：除了将配方中的美西替康换成多西他赛以外，实施例 2-13 中的各配方和工艺也适用于此实施例。

制备工艺：将配方量的多西他赛、蛋黄磷脂酰胆碱和氢化大豆磷脂酰胆碱溶解于配方量的无水乙醇中，在 60℃ 下加热溶解，作为有机相；取配制量的 70% 的注射用水，加热至 60℃，作为水相；边剪切水相，边将有机相加入水相中，得到脂质体料液；将所得的脂质体料液经 0.1 μm 聚碳酸酯膜挤出 3 次；加入配方量的蔗糖，再加注射用水稀释至 1000g；分装至中性硼硅玻璃管制注射剂瓶（西林瓶）中后冷冻干燥即得。用超滤法测得包封率 > 99%。

实施例 16:

配方：

1kg 配制量	配方量
他克莫司	2g
蛋黄磷脂酰胆碱	30g
氢化大豆磷脂酰胆碱	10g
无水乙醇	60g
蔗糖	60g
注射用水	加至 1000g

备注：除了将配方中的美西替康换成他克莫司以外，实施例 2-13 中的各配方和工艺也适用于

此实施例。

5 制备工艺：将配方量的他克莫司、蛋黄磷脂酰胆碱和氢化大豆磷脂酰胆碱溶解于配方量的无水乙醇中，在 60℃ 下加热溶解，作为有机相；取配制量的 70% 的注射用水，加热至 60℃，作为水相；边剪切水相，边将有机相加入水相中，得到脂质体料液；将所得的脂质体料液经 0.1 μm 聚碳酸酯膜挤出 3 次；加入配方量的蔗糖，再加注射用水稀释至 1000g；分装至中性硼硅玻璃管制注射剂瓶(西林瓶)中后冷冻干燥即得。用超滤法测得包封率 > 99%。

实施例 17：

配方：

1kg 配制量	配方量
阿普唑仑	2g
蛋黄磷脂酰胆碱	30g
氢化大豆磷脂酰胆碱	10g
无水乙醇	60g
蔗糖	60g
注射用水	加至 1000g

10 备注：除了将配方中的美西替康换成阿普唑仑以外，实施例 2-13 中的各配方和工艺也适用于此实施例。

15 制备工艺：将配方量的阿普唑仑、蛋黄磷脂酰胆碱和氢化大豆磷脂酰胆碱溶解于配方量的无水乙醇中，在 60℃ 下加热溶解，作为有机相；取配制量的 70% 的注射用水，加热至 60℃，作为水相；边剪切水相，边将有机相加入水相中，得到脂质体料液；将所得的脂质体料液经 0.1 μm 聚碳酸酯膜挤出 3 次；加入配方量的蔗糖，再加注射用水稀释至 1000g；分装至中性硼硅玻璃管制注射剂瓶(西林瓶)中后冷冻干燥即得。用超滤法测得包封率 > 99%。

对比实施例 1：薄膜分散法

配方：

100g 配制量	配方量
美西替康	0.2g
蛋黄磷脂酰胆碱	3g
氢化大豆磷脂酰胆碱	1g
无水乙醇	6g
蔗糖	6g
注射用水	加至 100g

制备工艺：将配方量的美西替康、蛋黄磷脂酰胆碱和氢化大豆磷脂酰胆碱溶解于配方量的无水乙醇中，在 60℃ 下加热溶解，作为有机相；取有机相放于梨形烧瓶内并置于旋转蒸发

仪中, 在 60℃下减压旋转蒸发除去乙醇, 使有机相形成一层薄膜; 取配制量的 70%的注射用水, 加热至 60℃, 作为水相; 将水相加入具有经旋蒸形成的薄膜的烧瓶内, 水化后形成脂质体料液; 将所得的脂质体料液经 0.2 μm 聚碳酸酯膜挤出; 加入配方量的蔗糖, 再加注射用水稀释至 100g; 分装至中性硼硅玻璃管制注射剂瓶(西林瓶)中后冷冻干燥即得。

- 5 结果: 不能顺利进行水化, 难以形成均匀的脂质体料液, 且所得脂质体料液无法通过聚碳酸酯膜挤出, 并且静置后会沉降分层, 因此薄膜分散法不适用于制备美西替康的脂质体。

对比实施例 2: 微射流均质法

配方:

1kg 配制量	配方量
美西替康	2g
蛋黄磷脂酰胆碱	30g
氢化大豆磷脂酰胆碱	10g
无水乙醇	60g
蔗糖	60g
注射用水	加至 1000g

- 10 制备工艺: 将配方量的美西替康、蛋黄磷脂酰胆碱和氢化大豆磷脂酰胆碱溶解于配方量的无水乙醇中, 在 60℃下加热溶解, 作为有机相; 取配制量的 70%的注射用水, 加热至 60℃, 作为水相; 边剪切水相, 边将有机相加入水相中, 得到脂质体料液; 将所得的脂质体料液经微射流均质处理; 处理后加入配方量的蔗糖, 再加注射用水稀释至 1000g; 分装至中性硼硅玻璃管制注射剂瓶(西林瓶)中后冷冻干燥即得。

结果: 所得脂质体样品难以复溶, 复溶后粒径很大, 粒径分布很宽。

- 15 对比实施例 3: 胶束制剂 1

1kg 配制量	配方量
美西替康	2g
聚氧乙烯蓖麻油	30g
甘油	10g
无水乙醇	58g

制备工艺: 取配方量的美西替康、聚氧乙烯蓖麻油、甘油和无水乙醇, 于 45℃水浴中加热溶清, 溶清后除菌过滤, 分装即得。

对比实施例 4: 乳剂

1kg 配制量	配方量
美西替康	1g
维生素 E	50g

F68(泊洛沙姆 188)	20g
水	1000
无水乙醇	10g

制备工艺：①取配方量的美西替康、维生素 E 和无水乙醇加热溶清；②取配方量的 F68 和配方量的水溶清；③取②所得溶液的一半，边剪切边将①所得溶液加入其中，充分剪切后，将②所得溶液的另一半加入其中，剪切混匀；④将③所得溶液经高压均质处理 10 次，分装即得。

5 对比实施例 5:胶束制剂 2

1kg 配制量	配方量
美西替康	5g
叔丁醇加至	1000g

制备工艺：取配方量的美西替康和叔丁醇，加热溶清后除菌过滤，分装冻干后可得美西替康粉末。

1kg 配制量	配方量
ELP(蓖麻油聚羟氧酯(35))	315g
甘油	105g
无水乙醇(药用级)	610g

制备工艺：取配方量的 ELP、甘油和无水乙醇，混匀后除菌过滤，分装即得专用溶媒。

用法：用 100 倍量的专用溶媒溶解美西替康粉末后得到注射液，即可进行稀释用药。

10 对比实施例 6：高压均质法

配方：

1kg 配制量	配方量
美西替康	2g
蛋黄磷脂酰胆碱	30g
氢化大豆磷脂酰胆碱	10g
无水乙醇	60g
蔗糖	60g
注射用水	加至 1000g

制备工艺：将配方量的美西替康、蛋黄磷脂酰胆碱和氢化大豆磷脂酰胆碱溶解于配方量的无水乙醇中，在 60℃ 下加热溶解，作为有机相；取配制量的 70% 的注射用水，加热至 60℃，作为水相；边剪切水相，边将有机相加入水相中，得到脂质体料液；将所得的脂质体料液经

15 高压均质处理；处理后样品粒径仍很大，在 500nm 以上，且高压均质机难以正常运行。

对比实施例 7：

配方：

1kg 配制量	配方量
美西替康	2g
蛋黄磷脂酰胆碱	30g
氢化大豆磷脂酰胆碱	10g
无水乙醇	60g
蔗糖	60g
注射用水	加至 1000g

5 制备工艺：将配方量的美西替康、蛋黄磷脂酰胆碱和氢化大豆磷脂酰胆碱溶解于配方量的无水乙醇中，在 60℃ 下加热溶解，作为有机相；取配制量的 70% 的注射用水，加热至 60℃，作为水相；边剪切水相，边将有机相加入水相中，得到脂质体料液；将所得的脂质体料液经 0.1 μm 聚碳酸酯膜挤出 3 次；加入配方量的蔗糖，再加注射用水稀释至 1000g；分装至中性硼硅玻璃管制注射剂瓶(西林瓶)中即得。结果所得样品在 40℃ 下放置 15 天后性状发生了显著的变化，即，白色乳液变成了黄色乳液。

实施例 18：稳定性试验

10 按照实施例 1-7，对比实施例 3、4、5 和 7 中的配方和制备工艺，制备含有美西替康的药物组合物 10 批。将每批样品置于 40℃ 下保存 15 天，检测各样品中的性状和有关物质并与第 0 天检测结果进行比较，结果如下。

实施例	第 0 天		40℃ 第 15 天	
	性状	总杂 (%)	性状	总杂 (%)
实施例 1	白色固体	1.15	白色固体	1.65
实施例 2	白色固体	1.14	白色固体	1.63
实施例 3	白色固体	1.17	白色固体	1.68
实施例 4	白色固体	1.12	白色固体	1.59
实施例 5	白色固体	1.15	白色固体	1.65
实施例 6	白色固体	1.13	白色固体	1.67
实施例 7	白色固体	1.14	白色固体	1.63
对比实施例 3	无色澄清液体	1.11	黄色液体	45.54
对比实施例 4	白色乳状液体	1.77	黄色液体	43.13
对比实施例 5	白色粉末	1.13	白色粉末	1.63
对比实施例 7	白色乳状液体	1.19	黄色液体	45.07

实施例 19：长期稳定性试验

按照实施例 1-7 的配方和制备工艺，制备含有美西替康的药物组合物 7 批，将每批药物

组合物分别置于 6℃和 25℃条件下保存。在 6℃下保存样品时分别于第 3、6、9、12 月取样检测有关物质，在 25℃下保存样品时分别于第 1、2、3、6 月取样检测有关物质，并与第 0 天检测结果进行比较，结果如下：

实施例	有关物质—总杂(%)				
	0 月	25℃ 1 月	25℃ 2 月	25℃ 3 月	25℃ 6 月
实施例 1	1.15	1.17	1.20	1.23	1.44
实施例 2	1.14	1.15	1.19	1.22	1.46
实施例 3	1.17	1.16	1.18	1.21	1.47
实施例 4	1.12	1.15	1.18	1.21	1.45
实施例 5	1.15	1.16	1.19	1.24	1.48
实施例 6	1.13	1.16	1.19	1.23	1.49
实施例 7	1.12	1.14	1.18	1.23	1.51

实施例	有关物质—总杂(%)				
	0 月	6℃ 3 月	6℃ 6 月	6℃ 9 月	6℃ 12 月
实施例 1	1.15	1.15	1.14	1.16	1.24
实施例 2	1.14	1.15	1.15	1.16	1.21
实施例 3	1.17	1.16	1.17	1.18	1.20
实施例 4	1.12	1.13	1.11	1.16	1.21
实施例 5	1.15	1.15	1.14	1.19	1.22
实施例 6	1.13	1.13	1.14	1.20	1.24
实施例 7	1.13	1.12	1.14	1.19	1.22

5 实施例 20：粒径检测

按照实施例 1-9 和对比实施例 2 的配方和制备工艺，制备含有美西替康的药物组合物 10 批，将每批药物组合物各取 1 支，加水复溶后取样，并用纳米粒度分析仪检测粒径，结果如下：

实施例	冻干前粒径		冻干并复溶后粒径	
	平均粒径	分散系数	平均粒径	分散系数
实施例 1	95.8	0.127	109.0	0.212
实施例 2	178.5	0.183	204.5	0.199
实施例 3	351.3	0.233	399.1	0.353
实施例 4	128.0	0.132	149.6	0.224
实施例 5	178.5	0.174	184.5	0.193
实施例 6	149.6	0.089	176.5	0.104

实施例 7	233.9	0.164	245.7	0.188
实施例 8	96.5	0.106	119.8	0.140
实施例 9	95.2	0.085	122.9	0.118
对比实施例 2	91.0	0.511	7998.1	2.022

实施例 21：毒性试验

按照实施例 2 的配方和制备工艺，制备含有美西替康的药物组合物 1 批；按照对比实施例 5 的配方和制备工艺，制备含有美西替康的胶束制剂 1 批。将所得的 2 批药物制剂分别以相同的剂量在小鼠和大鼠身上进行了小鼠的急性毒性试验、大鼠的急性毒性试验和大鼠给药 4 周的毒性试验。将两种药物制剂的毒性试验结果进行了对比，结果如下：

实施例	小鼠的急性毒性	大鼠的急性毒性	大鼠给药 4 周的毒性
实施例 2	给药后无明显异常 小鼠死亡率：40%	给药后无明显异常 给药后 5 天体重降低约 1% 大鼠死亡率：0%	给药后无明显异常 大鼠死亡率：0% 大体解剖后肺部无明显异常
对比实施例 5	给药后明显异常 小鼠死亡率：65%	给药后明显异常 给药后 5 天体重降低约 10% 大鼠死亡率：30%	给药后明显异常 大鼠死亡率：75% 大体解剖后肺部明显异常

实施例 22：药效试验

按照实施例 2 的配方和制备工艺，制备含有美西替康的药物组合物 1 批；按照对比实施例 5 的配方和制备工艺，制备含有美西替康的胶束制剂 1 批。将所得的 2 批药物在 NCI-H292 肺癌裸小鼠身上进行了药效试验，即对异种移植肿瘤生长的抑制作用。两种药物制剂的药效试验结果如下：

实施例	对 NCI-H292 肺癌裸小鼠异种移植瘤的生长的抑制作用
实施例 2	在 10mg/kg 相同剂量下实施例 2 所得制剂优于对比实施例 5 所得制剂
对比实施例 5	

实施例 23：长毒试验

按照实施例 2 的配方和制备工艺，制备含有美西替康的药物组合物 1 批；按照对比实施例 5 的配方和制备工艺，制备含有美西替康的胶束制剂 1 批。将所得的 2 批药物在大鼠身上进行了长期毒性试验。大鼠的给药剂量分别为 60、30 和 10mg/kg。将两种药物制剂的试验结果进行了对比，结果如下：

实施例	大鼠
实施例 2	死亡情况：60mg/kg 组死亡 3/6，其他组无死亡。 其他症状：骨髓抑制各组都有，呈现剂量依赖性 与对比实施例 5 所得制剂的毒性相比降低了约 5 倍

对比实 施例 5	死亡情况：60mg/kg 组死亡 6/6， 30mg/kg 组死亡 5/6， 10mg/kg 组无死亡。 其他症状：骨髓抑制各组都有，呈现剂量依赖性
-------------	---

实施例 24：组织分布

按照实施例 2 的配方和制备工艺，制备含有美西替康的药物组合物 1 批。取 SD 大鼠 18 只，分为 3 组，每组 6 只，3 雌 3 雄。向各组大鼠经尾静脉注射给予 30 mg/kg 美西替康的药物组合物后，分别于给药后 15 min、2 h 和 6 h 麻醉并采集血样和组织，血样和组织分别经
5 处理后得到血浆和组织匀浆液样品，建立 LC-MS/MS 法以测定血浆和组织匀浆液中的美西替康及其活性代谢物 SN-38(化学名：20(s)-7-乙基-10-羟基喜树碱)，结果见图 1 和图 2。图 1 显示美西替康主要分布在直肠、肝、肺、血浆、结肠、肾、卵巢和心等器官中，图 2 显示 SN-38 主要分布在结肠、直肠、肝、肺、血浆、卵巢、空肠、回肠、十二指肠和肾等器官中。直肠中美西替康和 SN-38 浓度均非常高，而结肠中虽然美西替康浓度低于血浆，但是美西替康的
10 活性代谢产物 SN-38 的浓度却最高，这表明本申请的药物组合物在特定的器官或组织中集中分布。美西替康和 SN-38 均在脑和睾丸中浓度最低。

实施例 25：体内靶向性研究

按照实施例 1 的配方(需再加入约 0.8%(w/w，以配方中的磷脂总量为 100%计)的接有荧光探针 IR623 的 DSPE(将其加入并溶解在有机相里))和制备工艺制备一批含有荧光探针(IR623)
15 的美西替康药物组合物(粒径约 100nm)。按照实施例 3 的配方(需再加入约 0.8%(w/w，以配方中的磷脂总量为 100%计)的接有荧光探针 IR623 的 DSPE(将其加入并溶解在有机相里))和制备工艺制备一批含有荧光探针(IR623)的美西替康药物组合物(粒径约 400nm)。两批药物组合物分别在 HT29 肠癌荷瘤裸小鼠身上采用近红外在体显影技术进行体内靶向性研究，并和荧光探
针 IR623 的体内靶向性进行对比，结果见图 3 和图 4。

结果显示：游离的荧光探针经尾静脉注射至体内后，0.5h 时在腹部有明显的荧光信号。
20 随着时间的推移，荧光信号逐渐减弱，并被代谢到体外(结果见图 3)。注射了粒径为 100nm 的具有荧光探针的美西替康脂质体的小鼠，0.5h 时全身遍布荧光信号，从 4h 开始荧光信号开始向肿瘤部位集中，8h 时肿瘤部位的荧光信号强度最强，8h 后肿瘤部位的荧光信号开始减弱，48h 时肿瘤部位仍有荧光信号(结果见图 3)。而注射了粒径为 400nm 的具有荧光探针的美西替
25 康脂质体的小鼠，0.5h 时在腹部有明显的荧光信号，4h 的时候腹部荧光信号增强，而后荧光信号一直集中在腹部(结果见图 3)。

在注射药物 48h 后，解剖荷瘤小鼠，取其体内各脏器(肿瘤、肝、脾、肾和肠)在活体成像仪中观察各脏器的荧光分布情况。从图 4 中，我们可以看到注射游离的荧光探针的小鼠的器官的荧光很弱，几乎代谢完全。在注射粒径为 100nm 的具有荧光探针的美西替康脂质体的
30 小鼠的器官中，相比于其他器官，肿瘤有较强的荧光。而在注射粒径为 400nm 的具有荧光探

针的美西替康脂质体的小鼠的器官中，肝脏的荧光是最强的。

从而可以推断，粒径为 100nm 的具有荧光探针的美西替康脂质体有被动的肿瘤靶向性，而粒径为 400nm 的具有荧光探针的美西替康脂质体主要是在肝脏蓄积。荧光探针主要是通过肠道及肾脏代谢排出体外。

权利要求书

1. 脂质体的制备方法，其包括：

(1) 将待包封的物质和磷脂溶解于有机溶剂中，得到有机相，然后与水相混合得脂质体料液；

(2) 将步骤(1)所得的脂质体料液经聚碳酸酯膜挤出；

(3) 冷冻干燥。

2. 如权利要求1所述的制备方法，其中在步骤(1)的水相中或者在实施步骤(3)中的冷冻干燥之前加入冻干保护剂。

3. 脂质体的制备方法，其包括：

(1) 将待包封的物质和磷脂溶解于有机溶剂中，得到有机相，然后与水相混合得脂质体料液；

(2) 将步骤(1)所得的脂质体料液经聚碳酸酯膜挤出；

(3) 加入注射用水，除菌过滤，分装和冷冻干燥；

其中在步骤(1)的水相中或者在实施步骤(3)中的除菌过滤之前加入冻干保护剂。

4. 如权利要求1-3中任一项所述的制备方法，其中所述待包封的物质选自美西替康、多西他赛、紫杉醇、阿霉素、两性霉素B、他克莫司、伊立替康、前列地尔、利培酮、西地那非、利多卡因、芬太尼、布比卡因、地塞米松、曲前列环素、阿柏西普、非布索坦、长春瑞滨、头孢匹胺钠、异环磷酰胺、氨柔比星、夫西地酸钠、头孢美唑钠、还原型谷胱甘肽、依达拉奉、加替沙星、盐酸氟西汀、阿苯达唑、米托蒽醌、阿普唑仑、万古霉素、头孢克洛、头孢克肟、盐酸氢溴索或阿托伐他汀。

5. 如权利要求1-4中任一项所述的制备方法，其中所述磷脂选自蛋黄磷脂酰胆碱、氢化蛋黄磷脂酰胆碱、大豆磷脂酰胆碱、氢化大豆磷脂酰胆碱、双软脂酸磷脂酰胆碱、二癸酰基磷脂酰胆碱、二棕榈酰磷脂酰胆碱、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇、磷脂酰乙醇胺、培化磷脂酰乙醇胺、磷脂酰甘油、磷脂酰胆碱、二鲸蜡磷酸酯、二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱、二硬脂酰磷脂酰胆碱、二月桂酰磷脂酰胆碱、二油酰磷脂酰胆碱、二芥酰基磷脂酰胆碱、1-肉豆蔻酰基-2-棕榈酰基磷脂酰胆碱、1-棕榈酰基-2-硬脂酰基磷脂酰胆碱、1-棕榈酰基-2-肉豆蔻酰基磷脂酰胆碱、1-硬脂酰基-2-肉豆蔻酰基磷脂酰胆碱、1-硬脂酰基-2-棕榈酰基磷脂酰胆碱、1-肉豆蔻酰基-2-油酰基磷脂酰胆碱、1-棕榈酰基-2-油酰基磷脂酰胆碱、1-硬脂酰基-2-油酰基磷脂酰胆碱、二肉豆蔻酰基磷脂酰乙醇胺、二棕榈酰基磷脂酰乙醇胺、二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺、二油酰基磷脂酰乙醇胺、二芥酰基磷脂酰乙醇胺或1-棕榈酰基-2-油酰基磷脂酰乙醇胺中的一种或多种；优选地，所述磷脂选自蛋黄磷脂酰胆碱、氢化蛋黄磷脂酰胆碱、大豆磷脂酰胆

碱或氢化大豆磷脂酰胆碱中的一种或多种；更优选地，所述磷脂选自蛋黄磷脂酰胆碱和氢化大豆磷脂酰胆碱的组合；还更优选地，所述磷脂选自蛋黄磷脂酰胆碱和氢化大豆磷脂酰胆碱的组合，其中蛋黄磷脂酰胆碱与氢化大豆磷脂酰胆碱的重量比为 3:1。

6. 如权利要求 1-5 中任一项所述的制备方法，其中在步骤(1)中所述有机溶剂选自无水乙醇、95%的乙醇、甲醇、丙醇、叔丁醇、正丁醇、丙酮、甲基吡咯烷酮、乙酸乙酯、异丙醚或乙醚中的一种或多种；优选地，所述有机溶剂选自无水乙醇、95%的乙醇或叔丁醇。

7. 如权利要求 1-6 中任一项所述的制备方法，其中在步骤(1)中所述待包封的物质与所述磷脂的重量比为 1:1-500；优选 1:1-100；更优选 1:15-50；还更优选 1:20。

8. 如权利要求 1-7 中任一项所述的制备方法，其中在步骤(1)中所述待包封的物质与有机溶剂的重量比为 1:1-100；优选 1:9-50；更优选 1:30。

9. 如权利要求 1-8 中任一项所述的制备方法，其中所述水相包含水作为主要组分或基本上由水组成，例如，去离子水、蒸馏水、纯化水、注射用水等，优选注射用水。

10. 如权利要求 1-9 中任一项所述的制备方法，其中所述水相进一步包含金属离子螯合剂，所述金属离子螯合剂选自依地酸二钠、依地酸钙钠、1,2-二氨基环己烷四乙酸、二乙三胺五乙酸、N-(2-羟乙基)-乙二胺三乙酸三钠或 N-二(2-羟乙基)甘氨酸。

11. 如权利要求 1-10 中任一项所述的制备方法，其中在步骤(1)中所述有机相与所述水相混合时的温度为 25-80℃；优选 55-65℃。

12. 如权利要求 1-11 中任一项所述的制备方法，其中所述聚碳酸酯膜的孔径为 0.1 微米或 0.2 微米。

13. 如权利要求 1-12 中任一项所述的制备方法，其中在步骤(2)中控制所述脂质体料液的温度为 25-80℃，优选 55-65℃。

14. 如权利要求 2-13 中任一项所述的制备方法，其中所述冻干保护剂选自甘露醇、葡萄糖、半乳糖，蔗糖、乳糖、麦芽糖或海藻糖中的一种或多种；优选地，所述冻干保护剂选自蔗糖、海藻糖或甘露醇中的一种或多种；更优选地，所述冻干保护剂选自蔗糖或蔗糖与甘露醇的组合；还更优选地，所述冻干保护剂选自蔗糖或蔗糖与甘露醇的组合，其中蔗糖与甘露醇的重量比为 2:1。

15. 如权利要求 1-14 中任一项所述的制备方法，其中在步骤(1)中所述有机相进一步包含抗氧化剂，所述抗氧化剂选自亚硫酸钠、亚硫酸氢钠、焦亚硫酸钠、硫代硫酸钠、维生素 C、抗坏血酸棕榈酸酯，叔丁基对羟基茴香醚、二叔丁基对甲酚、维生素 E 醋酸酯、半胱氨酸、蛋氨酸中的一种或多种。

16. 如权利要求 1-15 中任一项所述的制备方法，其中在步骤(3)中在实施冷冻干燥之前可加

入 pH 调节剂，所述 pH 调节剂选自盐酸、硫酸、乙酸、磷酸、枸橼酸、酒石酸、马来酸、氢氧化钠、碳酸氢钠、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠或枸橼酸钠。

17. 根据权利要求 1-16 中任一项所述的制备方法制备的脂质体，其特征在于，所述脂质体加水或水性溶剂后复溶，复溶后的脂质体粒径为 50-400nm，优选为 100-250nm。

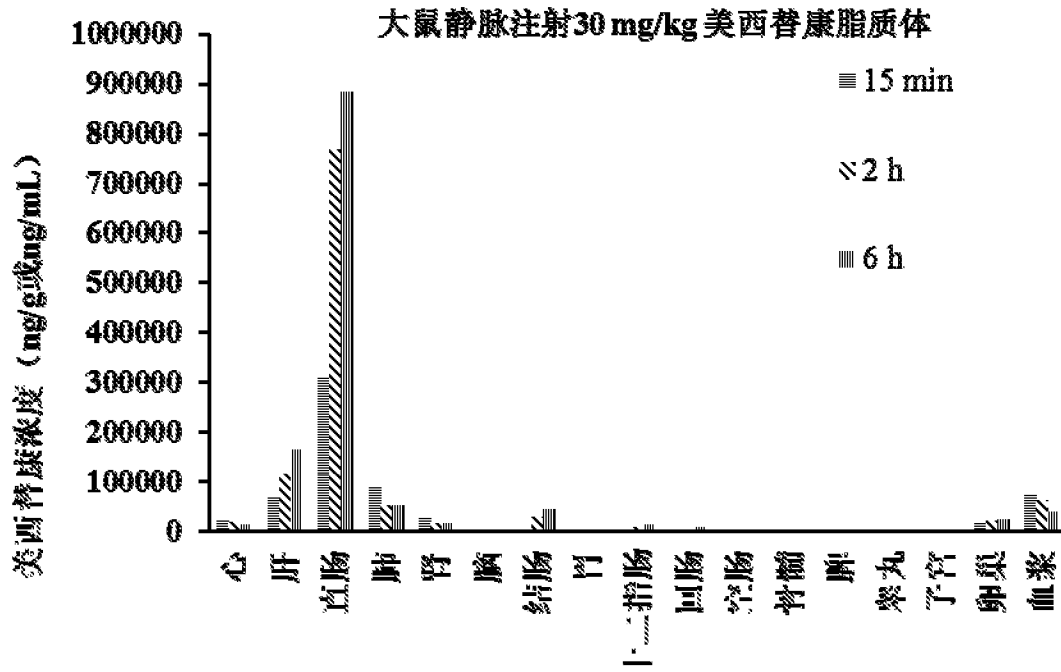


图 1

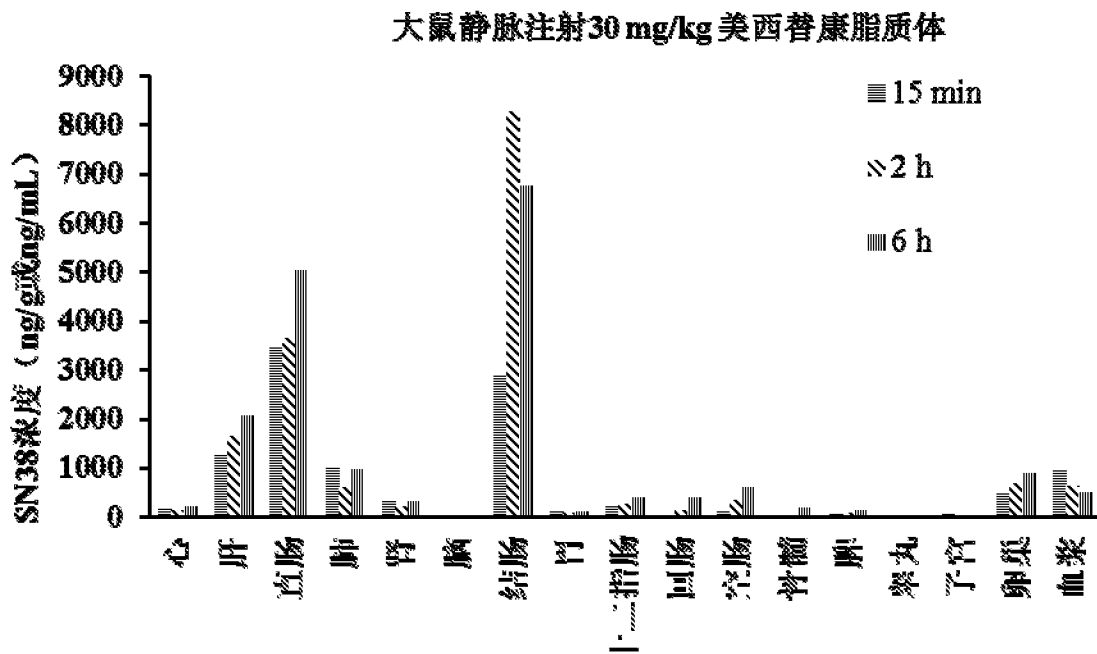


图 2

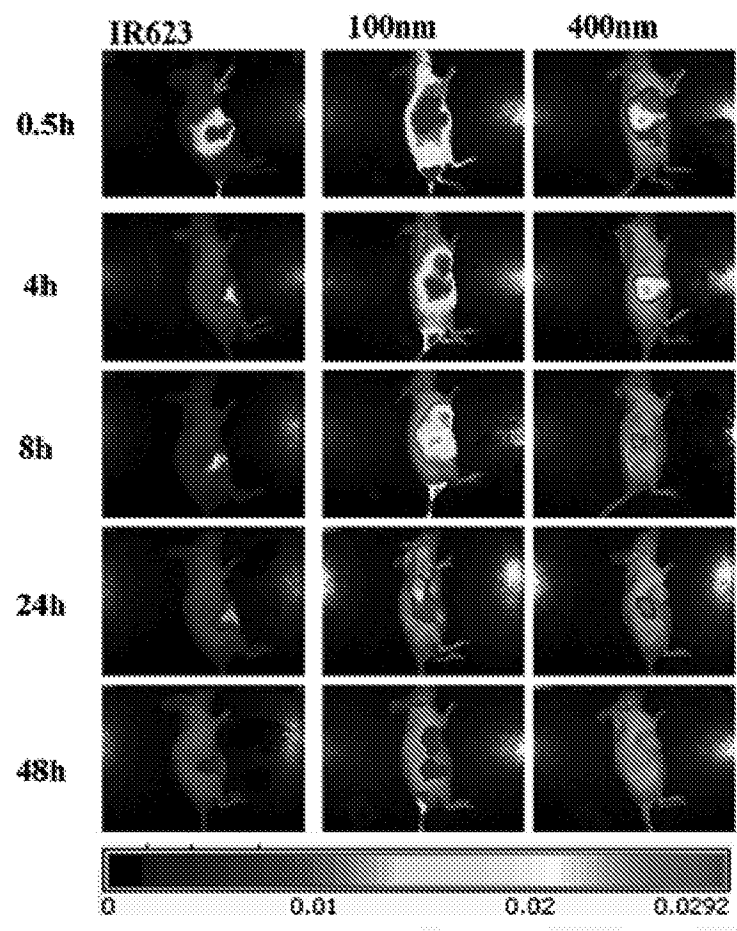


图 3

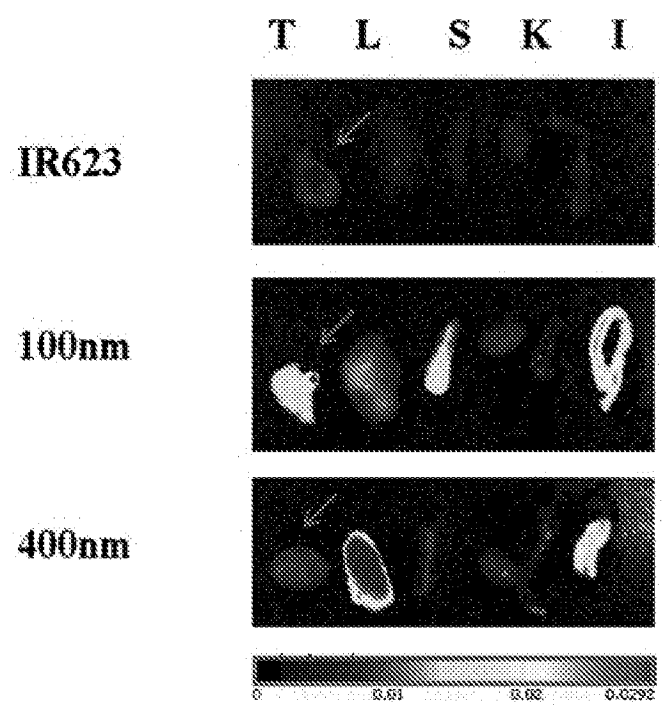


图 4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2016/108840

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 9/127 (2006.01) i; A61K 31/4745 (2006.01) i; A61K 31/337 (2006.01) i; A61K 31/436 (2006.01) i; A61K 31/5517 (2006.01) i;
A61K 47/24 (2006.01) i; A61K 47/26 (2006.01) i; A61P 35/00 (2006.01) i; A61P 35/02 (2006.01) i
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)

A61K 9/-, A61K 31/-, A61K 47/-, A61P 35/-

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)

WPI, EPODOC, CNKI, CNABS, CNTXT, ISI Web of Knowledge: CHIA TAI TIANQING, meicitecan, freeze drying, liposome, phospholipid, polycarbonate, freez+, hydroxycamptothecin, Docetaxol, Taxol

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 1753657 A (NEOPHARM INC.), 29 March 2006 (29.03.2006), claims 8, 16, 31 and 43, and description, page 2, penultimate paragraph, page 4, paragraph 2, page 5, paragraph 1, page 6, paragraph 3 and page 13, paragraph 1	1-17
A	CN 102949343 A (CSPC ZHONGQI PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY (SHIJIAZHUANG) CO., LTD.), 06 March 2013 (06.03.2013), claims 1-10	1-17
A	CN 102516258 A (NANJING MEIXINING MEDICAL TECHNOLOGY CO., LTD.), 27 June 2012 (27.06.2012), description, paragraphs 4 and 194	1-17
A	CN 101283983 A (NANJING CHANG AO PHARMACEUTICAL CO., LTD.), 15 October 2008 (15.10.2008), description, pages 6-7	1-17
A	CN 101244039 A (JIANGSU SIMCERE PHARMACEUTICAL RESEARCH AND DEVELOPMENT CO., LTD.), 20 August 2008 (20.08.2008), claims 1-10	1-17

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"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
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"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
"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)	"&" document member of the same patent family
"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	

Date of the actual completion of the international search 15 February 2017 (15.02.2017)	Date of mailing of the international search report 27 February 2017 (27.02.2017)
Name and mailing address of the ISA/CN: State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No.: (86-10) 62019451	Authorized officer LV, Maoping Telephone No.: (86-10) 62413735

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2016/108840

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 0750910 A1 (YOSHITOMI PHARMACEUTICAL INDUSTRIES, LTD.), 02 January 1997 (02.01.1997), the whole document	1-17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2016/108840

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 1753657 A	29 March 2006	EP 1613284 A2	11 January 2006
		US 2006034908 A1	16 February 2006
		MX 2005008489 A1	01 October 2005
		JP 2006517594 A	27 July 2006
		WO 2004071466 A2	26 August 2004
		WO 2004071466 A3	02 December 2004
		KR 20050105455 A	04 November 2005
		IN 200501980 P1	06 April 2007
CN 102949343 A	06 March 2013	CN 102949343 B	14 December 2016
CN 102516258 A	27 June 2012	WO 2013067882 A1	16 May 2013
		JP 5782569 B2	24 September 2015
		JP 201453273 A	08 December 2014
		EP 2799438 B1	23 March 2016
		US 9206192 B2	08 December 2015
		CN 102516258 B	25 June 2014
		CA 2855180 C	14 June 2016
		AU 2012334620 A1	03 July 2014
		EP 2799438 A1	05 November 2014
		CA 2855180 A1	16 May 2013
CN 101283983 A	15 October 2008	None	
CN 101244039 A	20 August 2008	CN 101244039 B	12 September 2012
EP 0750910 A1	02 January 1997	WO 9524201 A1	14 September 1995
		JP 1995024201 S	27 August 1996
		US 5776488 A	07 July 1998
		KR 97701551 A	12 April 1997
		EP 0750910 A4	09 July 1997

A. 主题的分类		
A61K 9/127(2006.01)i; A61K 31/4745(2006.01)i; A61K 31/337(2006.01)i; A61K 31/436(2006.01)i; A61K 31/5517(2006.01)i; A61K 47/24(2006.01)i; A61K 47/26(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A61P 35/02(2006.01)i		
按照国际专利分类(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)		
A61K 9/-, A61K 31/-, A61K 47/-, A61P 35/-		
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))		
WPI, EPODOC, CNKI, CNABS, CNTXT, ISI Web of Knowledge, 正大天晴, 脂质体, 磷脂, 聚碳酸, 美西替康, 多西他赛, 紫杉醇, 冷冻干燥, liposome, phospholipid, polycarbonate, freeze+, hydroxycamptothecin, Docetaxol, Taxol		
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
X	CN 1753657 A (新药物公司) 2006年 3月 29日 (2006 - 03 - 29) 权利要求8、16、31、43, 说明书第2页倒数第2段、第4页第2段、第5页第1段、第6页第3段、第13页第1段	1-17
A	CN 102949343 A (石药集团中奇制药技术石家庄有限公司) 2013年 3月 6日 (2013 - 03 - 06) 权利要求1-10	1-17
A	CN 102516258 A (南京美西宁医药科技有限责任公司) 2012年 6月 27日 (2012 - 06 - 27) 说明书第4、194段	1-17
A	CN 101283983 A (南京长澳医药科技有限公司) 2008年 10月 15日 (2008 - 10 - 15) 说明书第6-7页	1-17
A	CN 101244039 A (江苏先声药物研究有限公司) 2008年 8月 20日 (2008 - 08 - 20) 权利要求1-10	1-17
☒ 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(如具体说明的) “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		国际检索报告邮寄日期
2017年 2月 15日		2017年 2月 27日
ISA/CN的名称和邮寄地址		受权官员
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		吕茂平
传真号 (86-10)62019451		电话号码 (86-10)62413735

类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
A	EP 0750910 A1 (YOSHITOMI PHARMACEUTICAL INDUSTRIES, LTD.) 1997年 1月 2日 (1997 - 01 - 02) 全文	1-17

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2016/108840

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利		公布日 (年/月/日)	
CN	1753657	A	2006年 3月 29日	EP	1613284	A2	2006年 1月 11日
				US	2006034908	A1	2006年 2月 16日
				MX	2005008489	A1	2005年 10月 1日
				JP	2006517594	A	2006年 7月 27日
				WO	2004071466	A2	2004年 8月 26日
				WO	2004071466	A3	2004年 12月 2日
				KR	20050105455	A	2005年 11月 4日
				IN	200501980	P1	2007年 4月 6日
CN	102949343	A	2013年 3月 6日	CN	102949343	B	2016年 12月 14日
CN	102516258	A	2012年 6月 27日	WO	2013067882	A1	2013年 5月 16日
				JP	5782569	B2	2015年 9月 24日
				JP	201453273	A	2014年 12月 8日
				EP	2799438	B1	2016年 3月 23日
				US	9206192	B2	2015年 12月 8日
				CN	102516258	B	2014年 6月 25日
				CA	2855180	C	2016年 6月 14日
				AU	2012334620	A1	2014年 7月 3日
				EP	2799438	A1	2014年 11月 5日
				CA	2855180	A1	2013年 5月 16日
CN	101283983	A	2008年 10月 15日	无			
CN	101244039	A	2008年 8月 20日	CN	101244039	B	2012年 9月 12日
EP	0750910	A1	1997年 1月 2日	WO	9524201	A1	1995年 9月 14日
				JP	1995024201	S	1996年 8月 27日
				US	5776488	A	1998年 7月 7日
				KR	97701551	A	1997年 4月 12日
				EP	0750910	A4	1997年 7月 9日

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2009年7月)