



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 115666552 B

(45) 授权公告日 2024.09.13

(21) 申请号 202180035595.2

专利权人 上海恒瑞医药有限公司

(22) 申请日 2021.05.28

(72) 发明人 全新勇 邹爱峰 张淇博 刘丹

(65) 同一申请的已公布的文献号

马中华 王燕平

申请公布号 CN 115666552 A

(74) 专利代理机构 上海弼兴律师事务所 31283

(43) 申请公布日 2023.01.31

专利代理人 徐婕超

(66) 本国优先权数据

(51) Int.CI.

202010475697.3 2020.05.29 CN

A61K 31/357 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

A61K 9/127 (2006.01)

2022.11.15

A61K 47/16 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

A61K 47/18 (2006.01)

PCT/CN2021/096944 2021.05.28

A61K 47/24 (2006.01)

(87) PCT国际申请的公布数据

A61P 35/00 (2006.01)

W02021/239134 ZH 2021.12.02

(56) 对比文件

(73) 专利权人 江苏恒瑞医药股份有限公司

CN 102369008 A, 2012.03.07

地址 222047 江苏省连云港市经济技术开发区昆仑山路7号

CN 101601642 A, 2009.12.16

审查员 包宁疆

权利要求书3页 说明书16页

(54) 发明名称

含有乙二胺四乙酸或其盐的艾日布林或其可药用盐脂质体

(57) 摘要

一种含有艾日布林或其可药用盐的脂质体及制备方法,该脂质体内水相含有艾日布林或其盐以及选自乙二胺四乙酸、磷酸、喷替酸或其盐中的一种或多种。以及,含有前述脂质体的药物组合物及其制备方法。

1. 一种脂质体, 其内水相中含有活性化合物艾日布林或其可药用盐, 硫酸铵和选自乙二胺四乙酸、磷酸或其盐, 其中所述脂质体还含有磷脂, 胆固醇和亲水性聚合物修饰的脂类物质,

其中所述乙二胺四乙酸、磷酸或其盐的浓度选自1 ~ 300mM, 所述硫酸铵的浓度选自10 ~ 400mM, 所述活性化合物的浓度选自0.01 ~ 100mg/mL。

2. 根据权利要求1所述的脂质体, 其中所述活性化合物选自甲磺酸艾日布林。

3. 如权利要求1-2任一项所述的脂质体, 其中所述乙二胺四乙酸、磷酸或其盐的浓度选自20 ~ 200mM。

4. 如权利要求2所述的脂质体, 其中所述硫酸铵的浓度选自20 ~ 300mM。

5. 如权利要求1-4任一项所述的脂质体, 其中所述活性化合物的浓度选自0.05 ~ 5mg/mL。

6. 如权利要求1-4任一项所述的脂质体, 其中所述脂质体内水相中实质上不含有柠檬酸。

7. 如权利要求1-6任一项所述的脂质体, 其中所述磷脂选自二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC)、二硬脂酰磷脂酰胆碱(DSPC)、二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱(DMPC)、1-棕榈酰-2-亚油酰-sn-甘油-3-磷脂酰胆碱(PLPC)、磷酸胆碱(DOPC)、蛋黄磷脂酰胆碱(EPC)、二月桂酰磷脂酰胆碱(DLPC)、氢化卵磷脂(HEPC)、1-肉豆蔻酰-2-棕榈酰磷脂酰胆碱(MPPC)、1-棕榈酰-2-肉豆蔻酰磷脂酰胆碱(PMPC)、1-棕榈酰-2-硬脂酰磷脂酰胆碱(PSPC)、1-硬脂酰-2-棕榈酰磷脂酰胆碱(SPPC)、棕榈酰油酰磷脂酰胆碱(POPC)、溶血磷脂酰胆碱、二亚油酰磷脂酰胆碱、二硬脂酰磷脂酰乙醇胺(DSPE)、二肉豆蔻酰磷脂酰乙醇胺(DMPE)、二棕榈酰磷脂酰乙醇胺(DPPE)、二油酰基磷脂酰甘油(DOPG)、二肉豆蔻酰磷脂酰甘油(DMPG)、二硬脂酰基磷脂酰甘油(DSPG)、二棕榈酰基甘油磷酸甘油(DPPG)、二棕榈酰基磷脂酰丝氨酸(DPPS)、1,2\_二油酰基-sn-甘油-3-磷脂酰丝氨酸(DOPS)、二肉豆蔻酰基磷脂酰丝氨酸(DMPS)、二硬脂酰基磷脂酰丝氨酸(DSPS)、二棕榈酰基磷脂酸(DPPA)、1,2\_二油酰基-sn-甘油-3-磷脂酸(DOPA)、二肉豆蔻酰基磷脂酸(DMPA)、二硬脂酰基磷脂酸(DSPA)、二棕榈酰基磷脂酰肌醇(DPPI)、1,2\_二油酰基-sn-甘油-3-磷脂酰肌醇(DOPI)、二肉豆蔻酰基磷脂酰肌醇(DMPI)、二硬脂酰基磷脂酰肌醇(DSPI)中的至少一种。

8. 如权利要求7所述的脂质体, 其中所述磷脂含量选自10 ~ 80%。

9. 如权利要求7所述的脂质体, 其中所述磷脂含量选自30 ~ 70%。

10. 如权利要求1所述的脂质体, 其中所述胆固醇含量选自1 ~ 60%。

11. 如权利要求1所述的脂质体, 其中所述胆固醇含量选自10 ~ 40%。

12. 如权利要求1-11任一项所述脂质体, 其中所述亲水性聚合物修饰的脂类物质选自聚乙二醇修饰的二硬脂酰磷脂酰乙醇胺、聚乙二醇修饰的二硬脂酰磷脂酰甘油或聚乙二醇修饰的胆固醇。

13. 如权利要求12所述的脂质体, 其中所述亲水性聚合物修饰的脂类物质为聚乙二醇2000-磷脂酰乙醇胺。

14. 如权利要求12所述的脂质体, 其中所述亲水性聚合物修饰的脂类物质含量选自0.1 ~ 50%。

15. 如权利要求12所述的脂质体, 其中所述亲水性聚合物修饰的脂类物质含量选自0.5

~ 20%。

16. 如权利要求12所述的脂质体,其中所述亲水性聚合物修饰的脂类物质含量为6%。

17. 如权利要求1-16任一项所述的脂质体,其中所述脂质体含有氢化卵磷脂、胆固醇及聚乙二醇修饰的二硬脂酰磷脂酰乙醇胺。

18. 如权利要求17所述的脂质体,其中所述脂质体含有氢化大豆磷脂酰胆碱、胆固醇及聚乙二醇2000-磷脂酰乙醇胺。

19. 如权利要求1-14任一项所述的脂质体,其中所述磷脂与胆固醇的摩尔比选自1:0.01~1:1。

20. 如权利要求19所述的脂质体,其中所述磷脂与胆固醇的摩尔比选自1:1~3:1。

21. 如权利要求19所述的脂质体,其中所述磷脂与胆固醇的摩尔比为3:2。

22. 如权利要求14-21任一项所述的脂质体,其中所述磷脂与亲水性聚合物修饰的脂类物质的摩尔比选自20:1~1:1。

23. 如权利要求22所述的脂质体,其中所述磷脂与亲水性聚合物修饰的脂类物质的摩尔比选自15:1~2:1。

24. 如权利要求22所述的脂质体,其中所述磷脂与亲水性聚合物修饰的脂类物质的摩尔比为9.45:1。

25. 如权利要求1-24任一项所述的脂质体,其中所述活性成分与脂类质量比选自1:5~1:50。

26. 如权利要求25所述的脂质体,其中所述活性成分与脂类质量比选自1:10~1:45。

27. 如权利要求25所述的脂质体,其中所述活性成分与脂类质量比为1:27。

28. 如权利要求1-27任一项所述的脂质体,其中含有磷脂、胆固醇及二硬脂酰磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇缩合物,其内水相中含有活性化合物艾日布林或其可药用盐、乙二胺四乙酸、磷酸或其盐以及硫酸铵。

29. 制备权利要求1-28任一项所述脂质体的方法,包括:制备含有选自乙二胺四乙酸或其盐、磷酸或其盐的内水相的空白脂质体,去除空白脂质体的外水相中乙二胺四乙酸、磷酸或其盐,和将艾日布林或其可药用盐导入空白脂质体内水相的步骤。

30. 一种药物组合物,含有权利要求1-28任一项所述的脂质体或由权利要求1-28任一项所述的脂质体制备获得,所述药物组合物还含有缓冲液。

31. 如权利要求30所述的药物组合物,其中所述缓冲液选自醋酸盐缓冲液或组氨酸缓冲液或磷酸盐缓冲液或琥珀酸盐缓冲液或4-羟乙基哌嗪乙磺酸盐缓冲液中的至少一种。

32. 如权利要求30所述的药物组合物,其中所述缓冲液选自组氨酸缓冲液或磷酸盐缓冲液或4-羟乙基哌嗪乙磺酸盐缓冲液中的至少一种。

33. 如权利要求30所述的药物组合物,其中所述缓冲液选自组氨酸缓冲液。

34. 如权利要求30所述的药物组合物,其中还含有糖或电解质。

35. 如权利要求34所述的药物组合物,其中还含有氯化钠、海藻糖或蔗糖中的至少一种。

36. 如权利要求34所述的药物组合物,其中所述糖的浓度选自2~20%。

37. 如权利要求36所述的药物组合物,其中所述糖的浓度选自4~15%。

38. 如权利要求30-37任一项所述的药物组合物,其中所述缓冲液浓度选自1~300mM。

39. 如权利要求38所述的药物组合物,其中所述缓冲液浓度选自5~200mM。
40. 如权利要求30-37任一项所述的药物组合物,所述药物组合物的pH为5.0至8.0。
41. 如权利要求40所述的药物组合物,其中所述药物组合物的pH为5.5至7.5。
42. 一种冻干组合物,其由权利要求30-41任一项所述药物组合物冷冻干燥得到,或者所述冻干组合物经液体介质复溶后得到权利要求30-41任一项所述药物组合物,其中复溶使用的液体介质选自生理盐水、注射用水、葡萄糖注射液或葡萄糖氯化钠注射液。
43. 权利要求1-28任一项所述的脂质体或权利要求30-41任一项所述的药物组合物或权利要求42所述的冻干组合物在制备治疗或预防肿瘤的药物中的用途。
44. 如权利要求43所述的用途,其中所述癌症选自乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、子宫癌、前列腺癌、肾癌、尿道癌、膀胱癌、肝癌、胃癌、子宫内膜癌、唾液腺癌、胰腺癌和淋巴瘤。

## 含有乙二胺四乙酸或其盐的艾日布林或其可药用盐脂质体

[0001] 本申请要求申请日为2020年5月29日的中国专利申请CN202010475697.3的优先权。本申请引用上述中国专利申请的全文。

### 技术领域

[0002] 本公开属于制药领域,涉及一种含有乙二胺四乙酸或其盐的艾日布林或其可药用盐的脂质体。

### 背景技术

[0003] 艾日布林/艾立布林(Eribulin)是一种合成的大田软海绵素(halichondrin B)类似物,一种具有新颖作用机制的微管蛋白聚合抑制剂,于2010年首次获美国FDA批准用于转移性乳腺癌的治疗。

[0004] 但是临幊上经静脉给药后,游离药物直接处在偏碱性的生理环境下,易发生降解,从而失去活性,间接的降低了药物的疗效。而且,制剂的毒副作用较大,主要表现为中性粒细胞减少和迟发性腹泻。

[0005] 脂质体作为药物载体具有提高药物疗效、减轻药物不良反应的及提供靶向作用的特点。但是,想要真正的实现脂质体的治疗优势是不容易的,必须满足以下要求:1)药物能够以有效的包封效率和足够的载药量包封在脂质体内;2)在体外贮存期内,药物不会从脂质体中释放出来;3)脂质体药物在血液循环的过程中,药物不会发生显著的渗漏;4)当脂质体聚集在肿瘤区以后,药物能够有效地释放,从而发挥药物的治疗作用。

[0006] WO2010113984公开了一种脂质体内水相中含有艾日布林、铵盐和柠檬酸的脂质体组合物,解决艾日布林或其盐在脂质体组合物中稳定性及包封率的问题。同时,实施例表明,相比其他铵盐体系如乙酸铵、磷酸铵或琥珀酸铵,含有柠檬酸铵或硫酸铵的脂质体包封率较好。然而长期放置,该脂质体会发生活性成分的渗漏,包封率降低,不利于样品的长期储存。

[0007] 另外CN105163720公开了一种制备封装略微水溶性试剂的脂质体的方法,包括通过将略微水溶性试剂完全溶于非质子溶剂或多元醇来制备所述略微水溶剂试剂的溶液,在通过具有横跨脂质体膜的质子或离子梯度进行远程装载活性成分,所述活性成分包括卡非佐米、艾日布林等。但是实施例没有实际制备艾日布林脂质体,而且艾日布林水溶性优异,采用前述方法并不能获得包封率高且稳定性艾日布林脂质体。

### 发明内容

[0008] 本公开(the disclosure)提供了一种脂质体,其中脂质体内水相中含有活性化合物艾日布林或其可药用盐,和选自乙二胺四乙酸、磷酸、喷替酸或其盐中的一种或多种。

[0009] 在一些实施方案中,乙二胺四乙酸盐是乙二胺四乙酸与胺、金属离子或铵离子形成的盐。乙二胺四乙酸盐示例包括但不限于乙二胺四乙酸铵、乙二胺四乙酸钠、乙二胺四乙酸钙。

[0010] 另一方面,本公开磷酸盐是磷酸与有机碱或无机碱形成的,示例包括但不限于磷酸钠盐、磷酸钾盐、磷酸铵。

[0011] 另一方面,本公开喷替酸盐是喷替酸与有机碱或无机碱形成的,示例包括但不限于喷替酸钠盐、喷替酸钾盐、喷替酸铵。

[0012] 在一些实施方案中,所述脂质体内水相中还含有铵盐,所述铵盐优选硫酸铵、乙基硫酸铵、乙二胺四乙酸铵盐、氯化铵、氢氧化铵、乙酸铵、磷酸铵、蔗糖八硫酸酯三乙铵、葡聚糖硫酸铵或三乙基葡聚糖硫酸铵,更优选硫酸铵、氯化铵或乙二胺四乙酸铵。

[0013] 在一些实施方案中,所述脂质体内水相中含有磷酸铵。

[0014] 在一些实施方案中,所述脂质体内水相中含有活性化合物艾日布林或其可药用盐、乙二胺四乙酸或其盐和铵盐。

[0015] 在一些实施方案中,所述脂质体内水相中含有活性化合物艾日布林或其可药用盐、磷酸或其盐和铵盐。

[0016] 在一些实施方案中,所述脂质体内水相中含有活性化合物艾日布林或其可药用盐、喷替酸或其盐和铵盐。

[0017] 在一些实施方案中,所述脂质体内水相中还含有至少一种pH调节剂,pH调节剂可以选自精氨酸、组氨酸、甘氨酸等氨基酸,乙二胺四乙酸、喷替酸、盐酸、磷酸或硫酸等酸;前述酸的钠盐、钾盐、铵盐等盐;氨水、氢氧化钠、氢氧化钾等碱性化合物(碱)等。优选氢氧化钠、盐酸、氨水、磷酸、乙二胺四乙酸。另外,pH调节剂可以组合前述两种以上的铵盐使用。

[0018] 在一些实施方案中,所述脂质体内水相中乙二胺四乙酸、磷酸、喷替酸或其盐的浓度选自1~300mM,可以为1mM、2mM、3mM、4mM、5mM、6mM、7mM、8mM、9mM、10mM、15mM、20mM、25mM、30mM、35mM、40mM、45mM、50mM、55mM、60mM、65mM、70mM、75mM、80mM、85mM、90mM、95mM、100mM、105mM、110mM、115mM、120mM、125mM、130mM、135mM、140mM、145mM、150mM、155mM、160mM、165mM、170mM、175mM、180mM、185mM、190mM、195mM、200mM、205mM、210mM、215mM、220mM、225mM、230mM、235mM、240mM、245mM、250mM、255mM、260mM、265mM、270mM、275mM、280mM、285mM、290mM、295mM、300mM或任意两数值间任意值,优选20~200mM。

[0019] 在另一些实施方案中,所述脂质体内水相中铵盐如硫酸铵的浓度选自10~400mM,可以为10mM、15mM、20mM、25mM、30mM、35mM、40mM、45mM、50mM、55mM、60mM、65mM、70mM、75mM、80mM、85mM、90mM、95mM、100mM、105mM、110mM、115mM、120mM、125mM、130mM、135mM、140mM、145mM、150mM、155mM、160mM、165mM、170mM、175mM、180mM、185mM、190mM、195mM、200mM、205mM、210mM、215mM、220mM、225mM、230mM、235mM、240mM、245mM、250mM、255mM、260mM、265mM、270mM、275mM、280mM、285mM、290mM、295mM、300mM或任意两数值间任意值,优选20~200mM。

[0020] 本公开的活性化合物为艾日布林或其可药用盐。所谓可药用盐,可以为无机酸盐、有机酸盐中的任一种,只要与艾日布林形成盐即可,没有特别限定,例如可以举出盐酸盐、硫酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、硝酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、过磷酸盐、异烟酸盐、乙酸盐、乳酸盐、水杨酸盐、酒石酸盐、甲磺酸盐、抗坏血酸盐、琥珀酸盐、马来酸盐、富马酸盐、葡糖酸盐、糖精酸盐、甲酸盐、苯甲酸盐,优选盐酸盐、硫酸盐、乙酸盐、磷酸盐、甲磺酸盐等,更优选甲磺酸盐。在一些实施方案中,所述活性化合物为甲磺酸艾日布林。

[0021] 另外,作为艾日布林的药理学上允许的盐,可以为艾日布林与铝、钙、锂、镁、钙、

钠、锌、二乙醇胺形成的盐。

[0022] 在一些实施方案中,所述活性化合物的浓度选自0.01~100mg/mL,可以0.01mg/mL、0.05mg/mL、0.10mg/mL、0.15mg/mL、0.20mg/mL、0.25mg/mL、0.30mg/mL、0.35mg/mL、0.40mg/mL、0.45mg/mL、0.50mg/mL、0.55mg/mL、0.60mg/mL、0.65mg/mL、0.70mg/mL、0.75mg/mL、0.80mg/mL、0.85mg/mL、0.90mg/mL、0.95mg/mL、1mg/mL、2mg/mL、3mg/ml/4mg/ml、5mg/mL、6mg/mL、7mg/mL、8mg/mL、9mg/mL、10mg/mL、15mg/mL、20mg/mL、25mg/mL、30mg/mL、35mg/mL、40mg/mL、45mg/mL、50mg/mL、55mg/mL、60mg/mL、65mg/mL、70mg/mL、75mg/mL、80mg/mL、85mg/mL、90mg/mL、95mg/mL、100mg/mL或任意两数值间任意值,优选0.05~5mg/mL。

[0023] 另一方面,本公开所述脂质体内水相中实质上不含有柠檬酸。所谓实质上不含有柠檬酸,是指不添加柠檬酸。需要说明的是,只要确定如脂质体包封率稳定性不是由于添加的柠檬酸而引起的即可。

[0024] 在一些实施方案中,所述脂质体内水相中含有活性化合物艾日布林或其可药用盐、选自乙二胺四乙酸、磷酸、喷替酸或其盐中的一种或多种以及铵盐。

[0025] 在一些实施方案中,所述脂质体内水相中含有活性化合物艾日布林或其可药用盐、选自乙二胺四乙酸、磷酸、喷替酸或其盐中的一种或多种以及硫酸铵。

[0026] 在一些实施方案中,所述脂质体内水相中含有活性化合物艾日布林或其可药用盐、乙二胺四乙酸和乙二胺四乙酸铵。

[0027] 在一些实施方案中,所述脂质体内水相中含有活性化合物艾日布林或其可药用盐、磷酸和磷酸铵。

[0028] 另一方面,本公开所述脂质体还含有磷脂,所述磷脂选自但不限于二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC)、二硬脂酰磷脂酰胆碱(DSPC)、二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱(DMPC)、1-棕榈酰-2亚油酰-sn-甘油-3-磷脂酰胆碱(PLPC)、磷酸胆碱(DOPC)、蛋黄磷脂酰胆碱(EPC)、二月桂酰磷脂酰胆碱(DLPC)、氢化卵磷脂(HEPC)、1-肉豆蔻酰-2-棕榈酰磷脂酰胆碱(MPPC)、1-棕榈酰-2-肉豆蔻酰磷脂酰胆碱(PMPC)、1-棕榈酰-2-硬脂酰磷脂酰胆碱(PSPC)、1-硬脂酰-2-棕榈酰磷脂酰胆碱(SPPC)、棕榈酰油酰磷脂酰胆碱(POPC)、溶血磷脂酰胆碱、二亚油酰磷脂酰胆碱、二硬脂酰磷脂酰乙醇胺(DSPE)、二肉豆蔻酰磷脂酰乙醇胺(DMPE)、二棕榈酰磷脂酰乙醇胺(DPPE)、二油酰基磷脂酰甘油(DOPG)、二肉豆蔻酰磷脂酰甘油(DMPG)、二硬脂酰基磷脂酰甘油(DSPG)、二棕榈酰基甘油磷酸甘油(DPPG)、二棕榈酰基磷脂酰丝氨酸(DPPS)、1,2\_二油酰基-sn-甘油-3-磷脂酰丝氨酸(DOPS)、二肉豆蔻酰基磷脂酰丝氨酸(DMPS)、二硬脂酰基磷脂酰丝氨酸(DSPS)、二棕榈酰基磷脂酸(DPPA)、1,2\_二油酰基-sn-甘油-3-磷脂酸(DOPA)、二肉豆蔻酰基磷脂酸(DMPA)、二硬脂酰基磷脂酸(DSPA)、二棕榈酰基磷脂酰肌醇(DPPI)、1,2\_二油酰基-sn-甘油-3-磷脂酰肌醇(DOPI)、二肉豆蔻酰基磷脂酰肌醇(DMPI)、二硬脂酰基磷脂酰肌醇(DSPI)中的至少一种。

[0029] 在一些实施方案中,所述磷脂选自氢化卵磷脂、二硬脂酰磷脂酰胆碱、二棕榈酰磷脂酰胆碱、二硬脂酰磷脂酰胆碱、磷酸胆碱和二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱中的一种或多种;所述氢化卵磷脂优选氢化大豆磷脂酰胆碱。

[0030] 在一些实施方案中,所述脂质体中磷脂含量(相对全部脂质体膜成分,摩尔分数)选自10~80%,包括但不限于10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、

35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%或任意两数值间任意值,优选30~70%。

[0031] 另一方面,在一些实施方案中,所述脂质体还含有类固醇,包括但不限于胆固醇(CHOL)。

[0032] 在一些实施方案中,所述脂质体中类固醇含量(相对全部脂质体膜成分,摩尔分数)选自1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%或任意两数值间任意值,优选10~40%。

[0033] 在一些实施方案中,所述脂质体含有磷脂和类固醇如胆固醇。

[0034] 在一些实施方案中,本公开所述脂质体含有10-80%的磷脂和1-60%类固醇如胆固醇。

[0035] 在一些实施方案中,所述脂质体含有磷脂、胆固醇及二硬脂酰磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇缩合物,其内水相中含有活性化合物艾日布林或其可药用盐、选自乙二胺四乙酸、磷酸、喷替酸或其盐中的一种或多种以及铵盐。

[0036] 脂质体膜材料中加入一种或者一种以上的亲水性聚合物脂质衍生物,可用于改善脂质体-封装活性化合物的循环次数,避免或减少活性化合物从脂质体组合物中过早渗漏。将PEG附接至脂质体上称为聚乙二醇化。在本公开示例性实施方式中,脂质体是聚乙二醇化的脂质体。所述亲水性聚合物修饰的脂类物质包括但不限于聚乙二醇修饰的二硬脂酰磷脂酰乙醇胺(PEG-DSPE)、聚乙二醇修饰的二硬脂酰磷脂酰甘油(PEG-DSPG)、聚乙二醇修饰的胆固醇(PEG-CHOL)。PEG的分子量为200-10000道尔顿,优选1000-5000道尔顿,更优选2000-5000道尔顿。

[0037] 在一些实施方案中,所述脂质体还含有亲水性聚合物修饰的脂类物质,所述亲水性聚合物修饰的脂类物质选自聚乙二醇修饰的二硬脂酰磷脂酰乙醇胺(PEG-DSPE)、聚乙二醇修饰的二硬脂酰磷脂酰甘油(PEG-DSPG)、聚乙二醇修饰的胆固醇(PEG-CHOL)中的一种或多种。

[0038] 在一些实施方案中,所述脂质体含有聚乙二醇修饰的二硬脂酰磷脂酰乙醇胺。在一些实施方案中,所述聚乙二醇修饰的二硬脂酰磷脂酰乙醇胺中聚乙二醇分子量为200-10000道尔顿。在一些实施方案中,所述聚乙二醇修饰的二硬脂酰磷脂酰乙醇胺中聚乙二醇分子量为1000-5000道尔顿。在一些实施方案中,所述聚乙二醇修饰的二硬脂酰磷脂酰乙醇胺中聚乙二醇分子量为2000-5000道尔顿。

[0039] 在一些实施方案中,所述聚乙二醇修饰的二硬脂酰磷脂酰乙醇胺选自聚乙二醇2000-磷脂酰乙醇胺(mPEG2000-DSPE)。

[0040] 在一些实施方案中,所述脂质体含有聚乙二醇修饰的二硬脂酰磷脂酰甘油。

[0041] 在一些实施方案中,所述脂质体含有聚乙二醇修饰的胆固醇。

[0042] 另一方面,在一些实施方案中,所述脂质体含有氢化卵磷脂、胆固醇及二硬脂酰磷

脂酰乙醇胺-聚乙二醇缩合物。

[0043] 在一些实施方案中,所述脂质体含有氢化大豆磷脂酰胆碱、胆固醇及聚乙二醇2000-磷脂酰乙醇胺。

[0044] 另一方面,在一些实施方案中,所述亲水性聚合物修饰的脂类物质含量(相对全部脂质体膜成分,摩尔分数)选自0.1~50%,包括但不限于0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%、1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%或任意两数值间任意值,优选0.5~20%。

[0045] 在一些实施方案中,所述脂质体含有10-80%的氢化卵磷脂、1-60%的胆固醇及0~50%的二硬酯酰磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇缩合物。

[0046] 另一方面,所述脂质体中磷脂与类固醇的摩尔比选自1:0.01~1:1,包括但不限于1:0.01、1:0.02、1:0.03、1:0.04、1:0.05、1:0.06、1:0.07、1:0.08、1:0.09、1:0.1、9:1、9:2、9:4、9:5、9:7、9:8、8:1、8:3、8:7、7:1、7:2、7:3、7:4、7:5、7:6、6:1、5:1、5:2、5:3、4:1、3:1、3:2、2:1、4:3、1:1或任意两数值间任意值,1:1~3:1,例如3:2。

[0047] 在一些实施方案中,所述脂质体中磷脂与亲水性聚合物修饰的脂类物质的摩尔比20:1~1:1,包括但不限于20:1、19:1、18:1、17:1、16:1、15:1、14:1、13:1、12:1、11:1、10:1、10:1、10:1、9:1、9:2、9:4、9:5、9:7、9:8、8:1、8:3、8:7、7:1、7:2、7:3、7:4、7:5、7:6、6:1、5:1、5:2、5:3、4:1、3:1、3:2、2:1、4:3、1:1或任意两数值间任意值,优选15:1~2:1,例如9.45:1。

[0048] 在一些实施方案中,所述活性成分与脂类质量比(药脂比)选自1:5~1:45,包括但不限于1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:21、1:22、1:23、1:24、1:25、1:26、1:27、1:28、1:29、1:30、1:31、1:32、1:33、1:34、1:35、1:36、1:37、1:38、1:39、1:40、1:41、1:42、1:43、1:44、1:45、1:46、1:47、1:48、1:49、1:50或任意两数值间任意值,优选1:10~1:45,例如1:27。

[0049] 另一方面,本公开脂质体选自多层膜泡(MLV)、大单层膜泡(LUV)、小单层膜泡、寡层状膜泡(OLV)、疏层膜泡(PLV)或反相蒸发膜泡(REV)。

[0050] 另一方面,为了改善艾日布林或其可药用盐在脂质体中的包封率,可以向脂质体外相中添加含有电解质的溶液(盐类溶液)使离子强度增大,由此增加包封率。脂质体外相中含有的电解质(盐类)没有特别限定,优选为氯化钠、氯化钾,较优选为氯化钠。另外,也可以使用生理盐水。另外,作为脂质体分散液等的脂质体外相,可以含有糖、电解质、及/或氨基酸,也可以含有糖或电解质、及氨基酸。作为示例,糖选自蔗糖或海藻糖或葡萄糖,电解质选自生理盐水或氯化钠或氯化钾,氨基酸可以选自组氨酸。

[0051] 在一些实施方案中,所述脂质体外相中含有氯化钠和组氨酸。

[0052] 在一些实施方案中,所述脂质体外相中含有氯化钠和蔗糖。

[0053] 在一些实施方案中,所述脂质体外相中含有氯化钠、蔗糖及组氨酸。

[0054] 在一些实施方案中,脂质体外相中所述糖的浓度选自2~20%,包括但不限于2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、

19%、20%或任意两数值间任意值,优选4-15%。

[0055] 在一些实施方案中,脂质体外相中所述氨基酸的浓度选自1~300mM,可以为1mM、2mM、3mM、4mM、5mM、6mM、7mM、8mM、9mM、10mM、15mM、20mM、25mM、30mM、35mM、40mM、45mM、50mM、55mM、60mM、65mM、70mM、75mM、80mM、85mM、90mM、95mM、100mM、105mM、110mM、115mM、120mM、125mM、130mM、135mM、140mM、145mM、150mM、155mM、160mM、165mM、170mM、175mM、180mM、185mM、190mM、195mM、200mM、205mM、210mM、215mM、220mM、225mM、230mM、235mM、240mM、245mM、250mM、255mM、260mM、265mM、270mM、275mM、280mM、285mM、290mM、295mM、300mM或任意两数值间任意值,优选5~200mM。

[0056] 本公开还提供一种制备前述脂质体的方法,包括:制备含有选自乙二胺四乙酸、磷酸、喷替酸或其盐中的一种或多种的内水相的空白脂质体,去除空白脂质体的外水相中乙二胺四乙酸、磷酸、喷替酸或其盐,以及将艾日布林或其可药用盐导入空白脂质体内水相的步骤。

[0057] 进一步地,制备脂质体内水相还含有铵盐,所述铵盐可以为硫酸铵、乙基硫酸铵、乙二胺四乙酸铵盐、氯化铵、氢氧化铵、乙酸铵、磷酸铵、葡聚糖硫酸铵或三乙基葡聚糖硫酸铵中的至少一种,优选硫酸铵、氯化铵或乙二胺四乙酸铵中的至少一种,更优选乙二胺四乙酸铵或硫酸铵。

[0058] 在一些实施方案中,制备前述脂质体的方法,包括:制备含有乙二胺四乙酸或其盐和铵盐内水相的空白脂质体,去除空白脂质体的外水相中乙二胺四乙酸或其盐和铵盐,和将艾日布林或其可药用盐导入空白脂质体内水相的步骤。

[0059] 在一些实施方案中,制备前述脂质体的方法,包括:制备含有磷酸或其盐和铵盐内水相的空白脂质体,去除空白脂质体的外水相中磷酸或其盐和铵盐,和将艾日布林或其可药用盐导入空白脂质体内水相的步骤。

[0060] 在一些实施方案中,制备前述脂质体的方法,包括:制备含有喷替酸或其盐和铵盐内水相的空白脂质体,去除空白脂质体的外水相中喷替酸或其盐和铵盐,和将艾日布林或其可药用盐导入空白脂质体内水相的步骤。

[0061] 另一方面,为实现本申请目的,本公开采用薄膜分散法、逆相蒸发法、直接水化法、表面活性剂去除法、乙醇注入法以及改良乙醇注入法制备空白脂质体。

[0062] 在一些实施方案中,制备含有乙二胺四乙酸内水相的空白脂质体的步骤,包括:1)配制脂质体水相溶液,2)乙醇注入法制备脂质体,3)置换或稀释步骤2)脂质体溶液的步骤。

[0063] 另一方面,采用探头超声、高压均质机、微射流仪、挤出仪等装置处理获得所需粒径大小空白脂质体。

[0064] 在一些实施方案中,称取脂质混合物溶解于乙醇中,将该脂质乙醇溶液注入前述脂质体水相溶液中,搅拌,蒸除乙醇,挤出仪挤出得空白脂质体。

[0065] 含有铵盐的溶液中铵盐的浓度,可以根据包封的艾日布林等的量适当调整,浓度越高越好,优选为10mM以上,较优选为50mM以上,更优选为100mM以上。优选含有铵盐的溶液的pH为3、4、5、6、7、8、9或任意两数值间任意值,从包封率与稳定性的均衡性考虑,较优选为4~9,更优选为5~8。

[0066] 为了调节含有铵盐的溶液的pH,可以使用pH调节剂。含有铵盐的溶液中的各个pH调节剂的浓度没有特别限定,优选为1~300mM,较优选为5~100mM。

[0067] pH调节剂可以选自精氨酸、组氨酸、甘氨酸等氨基酸,乙二胺四乙酸、盐酸、磷酸或硫酸等酸;前述酸的钠盐、钾盐、铵盐等盐;氨水、氢氧化钠、氢氧化钾等碱性化合物(碱)等。优选氢氧化钠、盐酸、氨水、磷酸、喷替酸、乙二胺四乙酸。另外,pH调节剂可以组合前述2种以上的铵盐使用。

[0068] 在一些实施方案中,pH调节剂选自组氨酸、磷酸、喷替酸、盐酸、硫酸、乙二胺四乙酸、氨水(氨)、氢氧化钠、氢氧化钾。在一些实施方案中,pH调节剂选自碱,选自氨水(氨)、氢氧化钠或氢氧化钾。

[0069] 另一方面,本公开制备脂质体内水相中实质上不含有柠檬酸。所谓实质上不含有柠檬酸,是指不添加柠檬酸。需要说明的是,只要确定如脂质体包封率稳定性不是由于柠檬酸添加引起的即可。

[0070] 另外,脂质体的制备过程中各种参数(如膜成分的量、温度等)可以根据脂质体的制备方法或目标的脂质体的组成、粒径等适当调整确定。

[0071] 另一方面,本公开置换或稀释操作可以通过透析、离心分离、凝胶过滤等方法进行。另外,通过置换或稀释脂质体外相,也可以有效地将艾日布林或其可药用盐包封在脂质体内水相中。

[0072] 透析、离心分离和凝胶过滤均为本领域常规操作,例如透析可以使用透析膜进行。透析膜可选用聚醚砜材质的膜。

[0073] 根据需要,也可以利用pH梯度将艾日布林等导入脂质体内水相。此时,脂质体分散液中的脂质体内水相的pH优选为3~9,包括3、4、5、6、7、8、9或任意两数值间任意值,较优选为4~9,更优选为5~8。

[0074] 另外,可以将脂质体外相的pH设定为高于脂质体内水相的pH,赋予pH梯度。优选的pH梯度为1~5,较优选为2~3。

[0075] 进而,通过使脂质体外相的pH在艾日布林的pKa附近,可以提高包封到脂质体中的包封率。优选为7.5~12.5,较优选为8.5~11.5,更优选为9~10.5(甲磺酸艾日布林的pKa=9.6)。

[0076] 另一方面,本公开制备前述脂质体的方法还包括:包括调节载药后脂质体外水相pH的步骤。调节的外相的pH没有特别限定,但从构成脂质体的磷脂的化学稳定性的观点考虑,优选为4~10,包括4、5、6、7、8、9、10或任意两数值间任意值,较优选为5~9,更优选为6~8的中性pH,例如pH7.5。

[0077] 另一方面,本公开脂质体为固体或液体形态。

[0078] 在一些实施方案中,脂质体为液体的,可以将由上述导入的步骤得到的脂质体组合物可以直接作为最终的脂质体,或可以通过调节(置换等)得到的脂质体组合物的脂质体外相,从而获得最终的脂质体。

[0079] 在另一些实施方案中,脂质体为固体的,可以通过对由上述导入步骤得到的脂质体组合物进行干燥(包括但不限于冷冻干燥),作为最终的固态脂质体。对脂质体组合物进行干燥的方法,可以包括但不限于冻干及喷雾干燥等。

[0080] 本公开还提供一种含有前述脂质体的药物组合物或由前述脂质体制备获得。进一步地,所述药物组合物还含有缓冲液,所述缓冲液优选自醋酸盐缓冲液或组氨酸缓冲液或磷酸盐缓冲液或琥珀酸盐缓冲液或4-羟乙基哌嗪乙磺酸盐缓冲液中的至少一种,更优选组

氨酸缓冲液或磷酸盐缓冲液(如PBS)或4-羟乙基哌嗪乙磺酸盐缓冲液(如HEPES)中的至少一种,例如组氨酸缓冲液。

[0081] “缓冲液”指通过其酸-碱共轭组分的作用而耐受pH变化的缓冲液。将pH控制在适当范围中的缓冲液的例子包括醋酸盐、琥珀酸盐、葡萄糖酸盐、组氨酸、草酸盐、乳酸盐、磷酸盐、枸橼酸盐、酒石酸盐、延胡索酸盐、甘氨酰甘氨酸和其它有机酸缓冲液。

[0082] “组氨酸缓冲液”是包含组氨酸离子的缓冲液。组氨酸缓冲液的实例包括组氨酸-盐酸盐,组氨酸-醋酸盐,组氨酸-磷酸盐,组氨酸-硫酸盐等缓冲液,优选的组氨酸缓冲液是组氨酸-盐酸盐缓冲液。组氨酸-盐酸盐缓冲液是组氨酸与盐酸或组氨酸与组氨酸盐酸盐配制而成。

[0083] “琥珀酸盐缓冲液”是包括琥珀酸离子的缓冲液。琥珀酸盐缓冲液的实例包括琥珀酸-琥珀酸钠、琥珀酸组氨酸盐、琥珀酸-琥珀酸钾、琥珀酸-琥珀酸钙盐等。优选的琥珀酸盐缓冲液是琥珀酸-琥珀酸钠缓冲液。

[0084] “磷酸盐缓冲液”是包括磷酸离子的缓冲液。磷酸盐缓冲液的实例包括磷酸氢二钠酸-磷酸二氢钠、磷酸氢二钠酸-磷酸二氢钾等。优选的磷酸盐缓冲液是磷酸氢二钠酸-磷酸二氢钠缓冲液。

[0085] “醋酸盐缓冲液”是包括醋酸根离子的缓冲液。醋酸盐缓冲液的实例包括醋酸-醋酸钠、醋酸组氨酸盐、醋酸-醋酸钾、醋酸-醋酸钙、醋酸-醋酸镁等。优选的醋酸盐缓冲液是醋酸-醋酸钠缓冲液。

[0086] 另一方面,本公开药物组合物中还含有糖或电解质。

[0087] 作为示例,糖选自蔗糖或海藻糖或葡萄糖,电解质选自生理盐水或氯化钠或氯化钾,氨基酸可以选自组氨酸。

[0088] 在一些实施方案中,所述药物组合物中还含有氯化钠和组氨酸。

[0089] 在一些实施方案中,所述药物组合物中还含有氯化钠和蔗糖。

[0090] 在一些实施方案中,所述药物组合物中还含有氯化钠、蔗糖及组氨酸。

[0091] 在一些实施方案中,所述药物组合物中含有生理盐水和蔗糖。

[0092] 在一些实施方案中,所述药物组合物中含有生理盐水、蔗糖及组氨酸。

[0093] 在一些实施方案中,所述糖的浓度选自2~20%,包括但不限于2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%或任意两数值间任意值,优选4-15%。

[0094] 在一些实施方案中,所述氨基酸的浓度选自1~300mM,可以为1mM、2mM、3mM、4mM、5mM、6mM、7mM、8mM、9mM、10mM、15mM、20mM、25mM、30mM、35mM、40mM、45mM、50mM、55mM、60mM、65mM、70mM、75mM、80mM、85mM、90mM、95mM、100mM、105mM、110mM、115mM、120mM、125mM、130mM、135mM、140mM、145mM、150mM、155mM、160mM、165mM、170mM、175mM、180mM、185mM、190mM、195mM、200mM、205mM、210mM、215mM、220mM、225mM、230mM、235mM、240mM、245mM、250mM、255mM、260mM、265mM、270mM、275mM、280mM、285mM、290mM、295mM、300mM或任意两数值间任意值,优选5~200mM。

[0095] 另外,药物组合物pH值影响药物稳定性。在一些实施方案中,所述药物组合物pH选自5.0至8.0,包括但不限于5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0或任意两数值间任意值,优选5.5至7.5。

[0096] 另一方面,本公开所述药物组合物中还含有抗氧化剂,所述抗氧化剂选自但不限于 $\alpha$ -生育酚、 $\alpha$ -生育酸琥珀酸酯、 $\alpha$ -醋酸生育酚、抗坏血酸、亚硫酸氢钠、亚硫酸钠、焦亚硫酸钠、L-半胱氨酸。在一些实施方案中,抗氧剂加入量0~0.5%,包括但不限于0%、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%。

[0097] 在一些实施方案中,药物组合物为液体制剂,可以将由上述导入的步骤得到的脂质体组合物可以直接作为最终的脂质体组合物(药物组合物),或可以通过调节(置换等)得到的脂质体组合物的脂质体外相,从而获得最终的脂质体组合物(药物组合物)。

[0098] 在另一些实施方案中,药物组合物为固体制剂,可以通过对由上述导入步骤得到的脂质体组合物进行干燥,作为最终的固态脂质体组合物(药物组合物)。对脂质体组合物进行干燥的方法,可以包括但不限于冻干及喷雾干燥等。

[0099] 另一方面,药物组合物为固体制剂,药物组合物可以通过溶解或混悬在适当的溶剂中,作为液体制剂使用。溶剂可以根据脂质体组合物的使用目的等适当设定,例如药物组合物作为注射剂时,溶剂优选为灭菌蒸馏水。

[0100] 本公开还提供一种冻干组合物,其由前述药物组合物冷冻干燥得到,或者所述冻干组合物经液体介质复溶后得到前述药物组合物,其中复溶使用的液体介质选自生理盐水、注射用水、葡萄糖注射液或葡萄糖氯化钠注射液。

[0101] 另一方面,本公开的脂质体/药物组合物/冻干组合物在保藏期间相当稳定。例如从本公开脂质体初始装载起的一段时间阶段之后,由释放在脂质体外的包载/包封的活性成分与依然保持在脂质体内的活性成分的百分比所测定的。在一些实施方案中,本公开脂质体/药物组合物在25°C下稳定至少3月,例如在最初装载活性成分之后25°C、3个月,至少70%的所述活性成分保持包封在所述脂质体中。例如在最初装载活性成分之后25°C、3个月,至少75%的所述活性成分保持包封在所述脂质体中。例如在最初装载活性成分之后25°C、3个月,至少80%的所述活性成分保持包封在所述脂质体中。例如在最初装载活性成分之后25°C、3个月,至少85%的所述活性成分保持包封在所述脂质体中。例如在最初装载活性成分之后25°C、3个月,至少90%的所述活性成分保持包封在所述脂质体中。例如在最初装载活性成分之后25°C、3个月,至少95%或更高的所述活性成分保持包封在所述脂质体中。

[0102] 另一方面,例如在最初装载活性成分之后25°C、3个月,10%以下包载/包封的活性成分释放出来。例如在最初装载活性成分之后25°C、3个月,15%以下包载/包封的活性成分释放出来。例如在最初装载活性成分之后25°C、3个月,20%以下包载/包封的活性成分释放出来。例如在最初装载活性成分之后25°C、3个月,30%以下包载/包封的活性成分释放出来。

[0103] 在一些实施方案中,本公开脂质体/药物组合物/冻干组合物在2~8°C中稳定至少3个月,例如在最初装载实体之后6个月,10%以下包载的实体释放出来。在一些实施方案中,本公开脂质体/药物组合物在4°C中稳定至少2年,例如在最初装载实体之后2年,20%以下包载的实体释放出来。

[0104] 例如在对并哺乳动物如人施用脂质体抗肿瘤药物情况下,直到脂质体到达肿瘤之前,脂质体包载的实体一直保持包囊在脂质体中是有利的。在体内条件下,例如在哺乳动物如人血液中,本发明脂质体/药物组合物/冻干组合物对于包载的活性成分的释放(渗漏)显

示出惊人的稳定性。

[0105] 在一些实施方案中,前述脂质体/药物组合物/冻干组合物中活性成分在哺乳动物中提供不少于12小时的药物的持续释放,优选提供不少于24小时的药物的持续释放,更优选提供不少于48小时的药物的持续释放,最优选提供不少于72小时的药物的持续释放。

[0106] 本公开脂质体既提高了包载/包封活性成分的治疗功效,也降低了活性成分的毒性。一般而言,本发明包囊/包封入脂质体的活性成分在哺乳动物中的活性,例如甲磺酸艾日布林的抗肿瘤活性,与以相同的数量通过其常规非脂质体制剂如艾日布林注射液(Halaven)相比,至少相等、提高至少2-20倍(包括2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20倍),而包囊/包封在脂质体中活性成分的毒性,与以相同的数量通过其常规非脂质体制剂如艾日布林注射液(Halaven)相比,至少降低2倍、至少降低4倍、至少降低4倍。

[0107] 本公开的脂质体/药物组合物可以以多种方式给药,包括但不限于局部、胃肠外等给药。所述组合物可以包含眼科剂型和可注射剂型,并可以包含医学诊断产品。

[0108] 另一方面,本公开还提供了一种前述脂质体/药物组合物/冻干组合物或由前述方法制备获得脂质体/药物组合物/冻干组合物在制备治疗或预防肿瘤的药物中的用途,其中所述癌症优选乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、子宫癌、前列腺癌、肾癌、尿道癌、膀胱癌、肝癌、胃癌、子宫内膜癌、唾液腺癌、胰腺癌和淋巴瘤。

[0109] 术语:

[0110] 药脂比,是指药物与磷脂的重量比。

[0111] 脂质含量如类固醇含量,是指其在脂质体双分子层中磷脂成分总摩尔数的百分率。

[0112] 脂质体,是指有双层磷脂或任何类似的封装内部水性介质的两性脂质组成的显微脂质膜泡。本公开的脂质体可以是多层膜泡(MLV)、大单层膜泡(LUV)、小单层膜泡。尺寸通常从30mM至200mM。另外,对本公开中脂质体膜结构没有具体限制。

[0113] 脂质体膜,是指分离内部水性介质与外部水性介质的双层磷脂。

[0114] 脂质体内水相,是指被脂质体的脂质双层包围的水性区域,以“内水相”及“脂质体内水相”的相同含义进行使用。在脂质体分散在液体中时,“脂质体外相”是指没有被脂质体的脂质双层包围的区域(即除内水相及脂质双层之外的区域)。

[0115] 脂质体组合物,是指含有脂质体、并且在脂质体内水相中还含有甲磺酸艾日布林的组合物。在本公开中,脂质体组合物包括固态及液态。

[0116] 空白脂质体,是指脂质体内水相中不含有待装载的活性成分如本公开艾日布林。

[0117] 包封率,是指被包裹物质(如某药物)在脂质体悬液中占药物总量的百分量。它是脂质体和纳米粒质量控制的一个重要的指标,反映了药物被载体包封的程度。

[0118] 包封率包括百分包封率和包裹容积的测定,一般文献主要考察百分包封率(Encapsulation percentage, EN%)。其表达式是 $EN\% = (1 - Cf/Ct) \times 100\%$ 。式中Cf为游离药物的量;Ct为脂质体悬液中药物的总量。

[0119] 
$$\text{包封率(EN\%)} = 1 - \frac{\text{游离药物的量}}{\text{脂质体悬液中药物的总量}} \times 100\%$$

[0120] 可采用常规的包封率的测定方法测定包封率,例如HPLC法。在一些实施方案中,

HPLC条件:色谱柱ODS-A,150×4.6mm,5μm;流动相甲醇-醋酸-三乙胺;流速1.0mL/min;柱温25°C;进样量20μL。

[0121] 本公开中“聚合物分子量”采用数均分子量,是指样品中所有聚合链分子量的统计平均值,其定义如下其中 $M_i$ 代表单链分子量, $N_i$ 代表具有相应分子量的链数目。 $M_n$ 可以通过聚合机制来进行预测,并通过测定给定质量样品中的分子数量来确定;例如端基分析等依数性方法。如果用 $M_n$ 来表征分子量分布,则 $M_n$ 两侧分布有同等数量的分子。

[0122] 本公开中数值如包封率为测定计算的数据,不可避免存在一定程度的误差。一般而言,正负10%均属于合理误差范围内。随其所用之处的上下文而有一定程度的误差变化,该误差变化不超过正负10%,可以为正负9%、正负8%、正负7%、正负6%、正负5%、正负4%、正负3%、正负2%或正负1%,优选正负5%。

## 具体实施方式

[0123] 实施例1

处方	用量
<b>HSPC</b>	<b>1215mg</b>
<b>CHOL</b>	<b>398.09mg</b>
<b>mPEG2000-DSPE</b>	<b>460.29mg</b>
<b>甲磺酸艾日布林</b>	<b>45mg</b>

[0125] 称取上述处方量的脂质混合物加入无水乙醇中,60°C溶解后,将脂质乙醇溶液注入脂质体内水相溶液(300mM硫酸铵/60mM柠檬酸),搅拌15min-30min,减压去除乙醇,通过挤出器挤出整粒得空白脂质体

[0126] 用于180mL0.9%氯化钠/10mM组氨酸缓冲液(pH=7.5)对空白脂质体透析(切向流过滤),待外水相中大部分硫酸铵被去除,用于氢氧化钠调节脂质体外水相pH至10.5。

[0127] 用0.9%氯化钠/10mM组氨酸水溶液(pH 7.5)溶解处方量的甲磺酸艾立布林,搅拌溶解,得到5mg/mL的甲磺酸艾立布林溶液。

[0128] 将上述空白脂质体(外水相pH为10.5)和甲磺酸艾立布林溶液混合,60°C孵化,由此将甲磺酸艾日布林导入脂质体内的脂质体,调节脂质体外水相pH至7.5,浓缩,定容。

[0129] 包封率的测定:

[0130] 将包封有活性成分的脂质体以13000rpm离心10-30分钟,用HPLC测定上清液中活性成分浓度,并通过包封率公式计算得相应数值。

[0131] 甲磺酸艾日布林包封率为95.70%。

[0132] 实施例2:

处方	用量
<b>HSPC</b>	<b>1215mg</b>
<b>CHOL</b>	<b>398.09mg</b>
<b>mPEG2000-DSPE</b>	<b>460.29mg</b>
<b>甲磺酸艾日布林</b>	<b>45mg</b>

[0134] 称取上述处方量的脂质混合物加入无水乙醇中,60℃溶解后,将脂质乙醇溶液注入脂质体内水相溶液(300mM硫酸铵/60mM乙二胺四乙酸),搅拌15min-30min,减压去除乙醇,通过挤出器挤出整粒得空白脂质体。

[0135] 用于180mL0.9%氯化钠/10mM组氨酸缓冲液(pH=7.5)对空白脂质体透析(切向流过滤),待外水相中大部分硫酸铵被去除,用于氢氧化钠调节脂质体外水相pH至10.5。

[0136] 用0.9%氯化钠/10mM组氨酸水溶液(pH 7.5)溶解处方量的甲磺酸艾立布林,搅拌溶解,得到5mg/mL的甲磺酸艾立布林溶液。

[0137] 将上述空白脂质体(外水相pH为10.5)和甲磺酸艾立布林溶液混合,60℃孵化,由此将甲磺酸艾立布林导入脂质体内的脂质体,调节脂质体外水相pH至7.5,浓缩,定容。

[0138] 包封率的测定:

[0139] 甲磺酸艾立布林包封率为96.85%。

[0140] 实施例3:

	处方	用量
	<b>HSPC</b>	<b>1215mg</b>
[0141]	<b>CHOL</b>	<b>398.09mg</b>
	<b>mPEG2000-DSPE</b>	<b>460.29mg</b>
	<b>甲磺酸艾立布林</b>	<b>45mg</b>

[0142] 称取上述处方量的脂质混合物加入无水乙醇中,60℃溶解后,将脂质乙醇溶液注入脂质体内水相溶液(300mM硫酸铵/60mM磷酸),搅拌15min-30min,减压去除乙醇,通过挤出器挤出整粒得空白脂质体。

[0143] 用于180mL0.9%氯化钠/10mM组氨酸缓冲液(pH=7.5)对空白脂质体透析(切向流过滤),待外水相中大部分硫酸铵被去除,用于氢氧化钠调节脂质体外水相pH至10.5。

[0144] 用0.9%氯化钠/10mM组氨酸水溶液(pH 7.5)溶解处方量的甲磺酸艾立布林,搅拌溶解,得到5mg/mL的甲磺酸艾立布林溶液。

[0145] 将上述空白脂质体(外水相pH为10.5)和甲磺酸艾立布林溶液混合,60℃孵化,由此将甲磺酸艾立布林导入脂质体内的脂质体,调节脂质体外水相pH至7.5,浓缩,定容。

[0146] 包封率的测定:

[0147] 甲磺酸艾立布林包封率为99.46%。

[0148] 实施例4:

	处方	用量
	<b>HSPC</b>	<b>1215mg</b>
[0149]	<b>CHOL</b>	<b>398.09mg</b>
	<b>mPEG2000-DSPE</b>	<b>460.29mg</b>
	<b>甲磺酸艾立布林</b>	<b>45mg</b>

[0150] 称取上述处方量的脂质混合物加入无水乙醇中,60℃溶解后,将脂质乙醇溶液注入脂质体内水相溶液(300mM硫酸铵/60mM酒石酸),搅拌15min-30min,减压去除乙醇,通过挤出器挤出整粒得空白脂质体。

[0151] 用于180mL0.9%氯化钠/10mM组氨酸缓冲液(pH=7.5)对空白脂质体透析(切向流过滤),待外水相中大部分硫酸铵被去除,用于氢氧化钠调节脂质体外水相pH至10.5。

[0152] 用0.9%氯化钠/10mM组氨酸水溶液(pH 7.5)溶解处方量的甲磺酸艾立布林,搅拌溶解,得到5mg/mL的甲磺酸艾立布林溶液。

[0153] 将上述空白脂质体(外水相pH为10.5)和甲磺酸艾立布林溶液混合,60°C孵化,由此将甲磺酸艾日布林导入脂质体内的脂质体,调节脂质体外水相pH至7.5,浓缩,定容。

[0154] 包封率的测定:

[0155] 甲磺酸艾日布林包封率为94.92%。

[0156] 实施例5:

处方	用量
<b>HSPC</b>	<b>1215mg</b>
<b>[0157] CHOL</b>	<b>398.09mg</b>
<b>mPEG2000-DSPE</b>	<b>460.29mg</b>
<b>甲磺酸艾日布林</b>	<b>45mg</b>

[0158] 称取上述处方量的脂质混合物加入无水乙醇中,60°C溶解后,将脂质乙醇溶液注入脂质体内水相溶液(300mM硫酸铵/60mM鸟头酸),搅拌15min-30min,减压去除乙醇,通过挤出器挤出整粒得空白脂质体。

[0159] 用于180mL0.9%氯化钠/10mM组氨酸缓冲液(pH=7.5)对空白脂质体透析(切向流过滤),待外水相中大部分硫酸铵被去除,用于氢氧化钠调节脂质体外水相pH至10.5。

[0160] 用0.9%氯化钠/10mM组氨酸水溶液(pH 7.5)溶解处方量的甲磺酸艾立布林,搅拌溶解,得到5mg/mL的甲磺酸艾立布林溶液。

[0161] 将上述空白脂质体(外水相pH为10.5)和甲磺酸艾立布林溶液混合,60°C孵化,由此将甲磺酸艾日布林导入脂质体内的脂质体,调节脂质体外水相pH至7.5,浓缩,定容。

[0162] 包封率的测定:

[0163] 甲磺酸艾日布林包封率为98.02%。

[0164] 测试例1:

[0165] 将前述实施例1-5所得样品分别放置在2-8°C或25°C条件下考察其包封率稳定性,相关数据如下表:

[0166] 表1

实施例		1	2	3	4	5
起始 (%)		95.70	96.85	99.46	94.92	98.02
2-8°C	1 月 (%)	95.31	96.84	N/A	N/A	94.25
	2 月 (%)	98.04	97.29	98.80	95.35	89.93
	3 月 (%)	98.10	96.64	99.18	94.24	89.37
25°C	15 天 (%)	93.49	94.71	99.25	96.61	N/A
	1 月 (%)	81.43	93.31	93.64	92.01	73.40
	2 月 (%)	83.08	93.25	90.93	83.20	62.65
	3 月 (%)	44.06	91.64	91.45	74.67	56.29

[0168] 测试例2:

[0169] 将前述实施例1-5所得样品分别放置在2-8°C或25°C条件下考察其含量,相关数据如下表2:

[0170] 表2

实施例		1	2	3	4	5
起始 (%)		0.5368	0.5347	0.5715	0.5225	0.5136
2-8°C	1 月 (%)	0.5602	0.5454	N/A	N/A	0.4804
	2 月 (%)	0.5401	0.5319	0.5799	0.5218	0.4922
	3 月 (%)	0.5586	0.5582	0.5606	0.5551	0.4927
25°C	15 天 (%)	0.5697	0.5593	0.5734	0.5256	N/A
	1 月 (%)	0.5437	0.5595	0.5512	0.5375	0.4961
	2 月 (%)	0.5577	0.5445	0.5544	0.5378	0.5005
	3 月 (%)	0.5859	0.5583	0.5333	0.5455	0.5117

[0172] 结论:从表2中可以看出,不同成分的脂质体的含量稳定性均表现不错。在体外贮存期内,药物会不会从脂质体中释放出来更为重要,从表1中不难看出,相比于内水相含有柠檬酸或酒石酸或乌头酸脂质体而言,内水相含有磷酸或乙二胺四乙酸的包封率稳定性表现优异,尤其在加速条件下(25°C),预期含有该类脂质体的组合物适合长期储存,且保存条件温和。

[0173] 实施例6:

[0174] 参照实施例1方法制备如下表3所示药物组合物(脂质体)A、B、C和D。对雌性Balb/c裸鼠(北京维通利华实验动物技术有限公司)右侧背部皮下接种肿瘤细胞(人咽鳞癌细胞FaDu)。

[0175] 试剂:药物组合物(脂质体)A、B、C和D,甲磺酸艾日布林注射液(自制)

[0176] 给药方法:每周一次,静脉注射0.15mg/mL×10mL。

[0177] 给药后经过一定时间(0.5h、2h、6h、24h、48h)后采集血液或摘除肿瘤组织。血样将于采集后在1小时内离心(离心条件:2~8°C下约11000rpm离心5分钟),收集后最初可放于冰上,长期存放时则放于-80°C冰箱内。肿瘤组织摘取后,用PBS清洗后,用吸水纸擦拭后,测定并记录组织重量。将组织装入试管中,在冰水中冷却后,在-80°C保存待分析。

[0178] 用于LC/MS测定血浆中及肿瘤组织中甲磺酸艾日布林量。

[0179] 甲磺酸艾日布林的血浆PK数据及肿瘤组织PK数据结果分别如表4和5中所示。

[0180] 表3

处方	A	B	C
HSPC	13.5mg/mL	13.5mg/mL	13.5mg/mL
CHOL	4.42 mg/mL	4.42 mg/mL	4.42 mg/mL
mPEG2000-DSPE	5.11 mg/mL	5.11 mg/mL	5.11 mg/mL
药物/脂比	1:27	1:27	1:27
内水相	硫酸铵/乙二胺四乙酸	硫酸铵/磷酸	硫酸铵/柠檬酸
外水相	氯化钠/组氨酸	氯化钠/组氨酸	氯化钠/组氨酸

[0181] 表4: 血浆PK数据

组别	T <sub>max</sub> (h)	C <sub>max</sub> (ug/mL)	AUC <sub>0-t</sub> (h*ug/mL)	T <sub>1/2</sub> (h)	比值
甲磺酸艾日布林注射液	0.5	0.154	0.654	3.38	--
A	0.5	20.3	304	8.17	465
B	0.5	21.1	285	8.71	436
C	0.5	21.1	307	8.94	469

[0182] 比值: AUC<sub>肿瘤体</sub>/AUC<sub>甲磺酸艾日布林制剂</sub>

[0183] 表5: 肿瘤组织PK数据

组别	T <sub>max</sub> (h)	C <sub>max</sub> (ug/mL)	AUC <sub>0-t</sub> (h*ug/mL)	T <sub>1/2</sub> (h)	比值
甲磺酸艾日布林注射液	2	0.272	4.05	16.6	--
A	24	1.31	43	NA	10.6
B	6	1.2	40.6	39.6	10.0
C	24	0.936	36.7	NA	9.1

[0186] [0187] 比值:  $AUC_{\text{脂质体}} / AUC_{\text{甲磺酸艾日布林注射液}}$

[0188] 结论: 相比甲磺酸艾日布林, 药物组合物A、B、C在血浆和肿瘤组织中AUC增大, 释放半周期得到明显提高。而在肿瘤组织中, 与内水相为柠檬酸的脂质体相比, 药物组合物A、B的C<sub>max</sub>更优,  $AUC_{\text{脂质体}} / AUC_{\text{甲磺酸艾日布林注射液}}$ 更高。