(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 101889981 A
(43)申请公布日 2010.11.24

(21)申请号 201010141494.7

(22)申请日 2004.11.22

(30)优先权数据
60/523,316 2003.11.20 US

(62)分案原申请数据
200480034391.3 2004.11.22

(71)申请人 YM生物科学有限公司
地址 加拿大安大略省

(72)发明人 黛安娜·海伦·普柳拉
布拉戈亚·里斯泰夫斯基
詹姆斯·查尔斯·博伊兰 李红

(74)专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227
代理人 顾晋伟 彭鲲鹏

(51)Int.Cl.
A61K 9/127(2006.01)
A61K 47/24(2006.01)
A61K 47/28(2006.01)

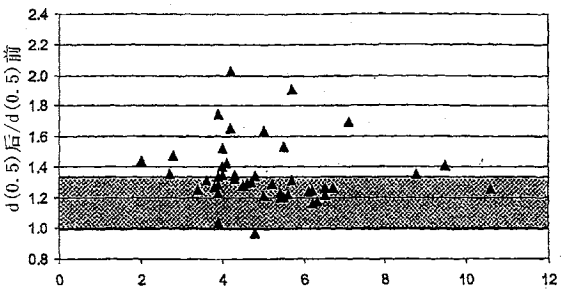
权利要求书 1 页 说明书 27 页 附图 12 页

(54)发明名称

包含含有药物成分的亲脂胺的稳定脂质体组合物

(57)摘要

用于递送药物试剂的稳定脂质体组合物，该组合物包含：(a)适当的水介质；(b)由适当的磷脂形成的脂质体；(c)至少部分包封在脂质体内的至少一种药物试剂，并选自(i)亲脂胺和药学上可接受的酸，其中药学上可接受的酸选自有机或无机酸，和(ii)亲脂胺的药学上可接受有机酸的盐，任选药学上可接受的有机酸；其中存在于组合物中的药学上可接受的酸的量为使得脂质体组合物的pH值小于或约等于药物活性的亲脂胺的氨基的pKa值。同样提供了制备相同物质的组合物、试剂盒和方法、通过高压灭菌进一步增强组合物稳定性的方法和鉴定本发明的稳定脂质体组合物的方法。



CN 101889981 A

1. 一种鉴定相稳定脂质体组合物的方法，该方法包括下列步骤：

(a) 提供包含磷脂、水溶液、药物成分和任选乙醇和固醇的脂质体组合物；

(b) 光学测定脂质体组合物的质量中值直径 (d(0.5))；

(c) 在约 1000g-5000g 下、于约 4℃下离心脂质体组合物约 2 个小时；

(d) 光学测定离心步骤 (c) 之后的脂质体组合物溶液的上清液部分的质量中值直径 (d(0.5))；

(e) 计算离心之后溶液的质量中值直径 (d(0.5)) 粒径分布值与离心之前溶液的质量中值直径 (d(0.5)) 粒径分布值的比率。

其中，如果组合物在步骤 (e) 中的比率为约 0.6 或更大，则鉴定为相稳定脂质体组合物。

2. 权利要求 1 的方法，其中如果组合物在步骤 (e) 中的比率为约 0.8 或更大，则鉴定为相稳定脂质体组合物。

3. 权利要求 1 的方法，其中在离心前，组合物经过高压灭菌。

4. 通过权利要求 1-3 中任一项方法鉴定的相稳定脂质体组合物。

包含含有药物成分的亲脂胺的稳定脂质体组合物

[0001] 本申请为分案申请，其母案 CN200480034391.3 是 PCT 申请 PCT/CA2004/002002 进入中国国家阶段的申请。

技术领域

[0002] 本发明涉及以膜脂类为基础的组合物，更具体涉及用于递送药物的稳定脂质体及其制造和使用方法，甚至更具体涉及用来递送药物的无菌和稳定的脂质体组合物及其制造和使用方法。

背景技术

[0003] 脂质体，也被称为脂囊泡，是完全封闭的脂类双分子层膜，其含有包含水介质的内部体积。脂类双分子层通常由磷脂如卵磷脂和相关材料如糖脂组成。脂质体可以是单层 (unilamellar) 的，具有单一膜双分子层，或多层的，具有一个以上的膜双分子层而且具有在不同的膜双分子层之间的水的腔隙。双分子层由二个脂质单分子层组成，每个具有相互面对的憎水部分和朝向外部水相的亲水部分。

[0004] 当磷脂或其他的适当两性分子被允许在水或水溶液中溶胀时，形成脂质体。如果水溶性材料在这一个过程期间被包含在水相之中，则材料可能嵌入在脂类双分子层之间的水相中。同样地，亲脂材料可能溶解在脂类中并且与双分子层合并，尽管亲脂材料也有极性基团，但该基团可能延伸至内部的或外部的水相内。将材料包封至脂质体内可通过多种现有技术来完成。最普遍使用的方法涉及通过蒸发有机溶剂而在烧瓶壁上浇铸磷脂薄膜。当该薄膜分散在适当的水介质中的时候，形成脂质体。作为选择，脂质体也可通过将合适的脂质悬浮在水介质中而形成。然后对混合物进行超声波处理（通过高频声波搅拌）以提供分散的封闭囊泡。制造脂质体的进一步的方法是在乙醇和水中迅速混合脂类。这通常藉由将脂类注射进水溶液内而完成。

[0005] 脂类双分子层膜通常以类似于细胞膜的方式起作用。他们因此展现出一些生物性质，如容易被接受进入活细胞环境内的能力。脂质体可以与活细胞融合就好像是它们自己的细胞器一样。因此，近年来越来越多的兴趣在于利用脂质体作为递送对患者具有特别的生物或药学特性的化合物的载体。

[0006] 关于利用脂质体作为药物和其它化合物的递送和靶向手段上出现了一些困难。一个特别的问题是，通过传统技术使用传统配方制造的脂质体通常随时间而相不稳定，可以认为这种组合物不适用于工业，特别是制药工业。这可以引起贮存时脂质体泄漏、分解、沉降和相分离、熔融、团聚或胶凝。

[0007] 提高脂质体的贮存稳定性的已知技术包括使用化学添加剂作为稳定剂或制备干燥粉末制剂。利用赋形稳定剂来稳定脂质体的方法的实例包括公开在下列专利中的那些方法：美国专利 No. 4,818,537、美国专利 No. 5,100,662、美国专利 No. 5,204,112、美国专利 No. 4,804,539 和美国专利 No. 5,962,015。脂质体的稳定剂包含具有阳离子区域的两性分子，例如三乙醇胺，一种常用的化妆品缓冲剂。可以加入这些分子以阻止脂质体聚集。无论

如何，三乙醇胺没有显示出提供足够的贮藏期限和加工稳定性。季胺化的烷基聚合物，例如硬脂基二甲铵羟基纤维素，已用于稳定包含酸性生物活性成分的卵磷脂型脂质体。相对长链的烷基胺，例如硬脂酰胺，也已用于稳定脂质体，但是这些带电的长链烷基胺在高水平下容易有毒性，因此使其缺少用于药物应用的前景。

[0008] 用于稳定脂质体的其它技术包括冷冻干燥和喷雾干燥策略。这些步骤增加了制造的复杂性并要求在对患者给药之前重组脂质体。对于可最终用于门诊病人的产品来说，重组是不希望的。

[0009] 可以适用于脂质体递送的一个特殊的领域是吸入的药物制品。许多吸入药物通过能够产生含水气溶胶小滴的装置释放水溶液的途径递送。吸入的药物制品的常规需求要求提供的产品为无菌配方。以前，脂质体配方的灭菌策略集中在除菌过滤或添加防腐剂上。通过肠道外（iv、im、sc）或吸入（经肺或鼻的）途径递送的治疗性脂质体配方必须是无菌制剂。

[0010] 很好地建立了通过高压灭菌对药物溶液的最终灭菌。然而，在历史上已经注意到脂质体在高压釜闪蒸条件下不稳定，引起脂质体以与贮存期间相同的方式团聚，溶解和凝胶化，以及脂质体尺寸或尺寸分布的改变、脂类的水解 / 氧化、化学降解和包封药物所不期望的释放，例如如 WO 2004/00246 的 11 页第 6-10 行所述。

[0011] 各种不同的团体过去已经尝试处理与高压灭菌脂质体组合物相关的稳定性议题。举例来说美国专利 5,554,382 和美国专利 5,776,486 均与脂质体的无菌制造方法有关，教导脂质体难以灭菌而且灭菌是通过高压釜或过滤来将组分如部份脂类、缓冲液、药物和水单独灭菌，随后在无菌环境下混合而完成。该专利教导，因为脂质体的加热对脂质体产生不能修补的伤害，因此对最终产品的热灭菌是不可能的。

[0012] 美国专利 5,542,935 教导因为加热脂质体产生对脂质体的不能修补的伤害，因此最终的脂质体产品的热灭菌是不可能的，但是教导气态前体填充的多层脂类悬浮液可高压灭菌。高压灭菌不改变气体脂类粒子的尺寸。

[0013] 美国专利 5,770,222、美国专利 6,071,495 和美国专利 6,479,034 也教导对前体脂质体即没有药物负载的脂质体的高压灭菌。

[0014] 美国专利 5,834,025 提供了不能将酯基脂质体高压灭菌并公开了与来自原始细菌的醚脂一起制得的脂质体能高压灭菌。酯基脂质体例如磷脂酰氯的安全性在醚脂类的毒性未知的时候被很好地建立。

[0015] 美国专利 5,230,899 描述包含非常少水分的前脂质体凝胶的高压灭菌，即仅存在至多为固体的 300 摩尔的足量水。而且，美国专利 6,424,857 描述小的（100nm 直径）空脂质体（即没有药物）的高压灭菌，而没有报导粒子尺寸方面的改变。

[0016] 美国专利 5,676,928 描述了通过带电磷脂的内含物稳定的多层脂质体的高压灭菌。本发明用于包含至少一种成像造影剂的诊断组合物。

[0017] 总的来说，现有技术教导不使用热作为对成品、包含药物的脂质体制剂的最终灭菌步骤，并且没有教导或建议在脂质体的最终灭菌时增强相稳定性。

[0018] 因此，脂质体制剂的灭菌和致热性通常已经限制为利用 0.2 微米过滤器过滤包含直径小于 0.2 微米的脂质体的制剂或应用无菌条件制造较大的脂质体。认为伽马辐射是不可接受的，这是由于脂质体的水分散体的不可接受的降解所致（例如

参 见，DaanCrommelin，Liposomes as Pharmaceutical Dosage Forms，Encyclopedia ofPharmaceutical Technology，Vol 9，Page 13)。

[0019] 因此，除菌过滤只有在脂质体足够小从而能通过 0.2 微米的过滤系统时才作为选项。如果脂质体配方的目标是增加药物在给定的作用位点的停留时间，则可以期望较大的多层脂质体。1-5 微米的脂质体适合用于肺部递送，但是明显不适用于最终除菌过滤。

[0020] 过去，向肺部吸入产品加入防腐剂和抑菌剂。当支气管扩张剂配方中包含防腐剂时，已经证实很多防腐剂诱导肺部收缩和对抗支气管扩张剂的有益作用。因此，向肺部脂质体配方中加入防腐剂仅是慎重进行且并不被认为可取。

[0021] 可能适用于脂质体递送的另一个特殊领域是用于一种或多种活性成分的持续释放组合物，例如在 Delex Therapeutics，Inc 的 US RE38,407 中公开的那些配方。该组合物可以提供来自非包封部分的药物的快速释放，随后使继续释放的脂质体包封活性剂持续释放。同样随这种组合物常规要求是包封药物的百分比随时间保持一致并且配方是随时间化学和相稳定的。

[0022] 所以存在对研发稳定性改善的脂质体配方的普遍需求，具体是药物产品的无菌和稳定的脂质体配方的制备，所述药物产品是相稳定和化学稳定的，并因此适合药学用途。

发明内容

[0023] 包含在本发明的范围内的是稳定的脂质体组合物及其相稳定制剂的制备方法。用于本发明目的的稳定脂质体制剂被认为，其中分散的脂质体基本上保留了它们的初始特性并在所需的贮存期内在整个连续相中保持基本均匀的分布。本发明的稳定脂质体组合物没有表现出相改变、沉淀和当它们被高压灭菌时的微生物污染。本发明的稳定脂质体组合物表现出最小的化学降解，这是由于脂质体组分或包封的药物成分的氧化或水解所引起的。

[0024] 因此，本发明的一个方面是提供递送药物成分的稳定脂质体组合物，该组合物包含 :(a) 适当的水介质 ;(b) 由适当的磷脂形成的脂质体 ;(c) 至少部分包封在脂质体内的至少一种药物成分，并且所述药物成分选自 :(i) 亲脂胺和药学上可接受的酸，其中药学上可接受的酸选自有机酸或无机酸和 (ii) 亲脂胺的药学上可接受有机酸的盐，并且任选药学上可接受的酸包含药学上可接受的有机酸 ;其中组合物中的药学上可接受的酸的含量为使得脂质体组合物的 pH 值小于或约等于药学活性亲脂胺的氨基的 pK_a 值。在本发明的一些实施方案中，组合物经过高压灭菌，因此提供既无菌又稳定的脂质体组合物。

[0025] 在本发明组合物的一个方面中，脂质体组合物的 pH 值约等于亲脂胺的氨基的 pK_a 值，并且组合物中 50％的亲脂胺被质子化。另一方面，脂质体组合物的 pH 值小于亲脂胺的氨基的 pK_a 值，并且组合物中大部分亲脂胺被质子化，或组合物的 pH 值低于亲脂胺的氨基的 pK_a 值约 1-2 个 pH 单位。在本发明的又一方面中，脂质体组合物的 pH 值在约 4 至亲脂胺的氨基的 pK_a 值之间。在一些实施方案中，pH 值为约 4- 约 7、或约 4.5- 约 6 或可选择约 5- 约 6。

[0026] 本发明的又一方面中，所述组合物还包含胆固醇和 / 或乙醇。在本发明的一个方面中，乙醇含量为脂质体组合物的总体积的约 2.5％ - 约 10％。

[0027] 本发明的另一方面中，本发明的脂质体组合物的磷脂在大约生理 pH 下具有净中性电荷。本发明的一个方面中，磷脂包含磷脂酰胆碱。

[0028] 本发明的又一方面中，组合物的水介质包含水。

[0029] 本发明的又一方面中，本发明组合物中的药物成分既包封在脂质体颗粒中又游离于水介质中。一些实施方案中，被脂质体包封的药物成分的百分比占存在于脂质体组合物中的药物成分总量的约 50％－约 90％、或存在于脂质体组合物中的药物成分总量的约 60％－约 80％或存在于脂质体组合物中的药物成分总量的约 50％－约 75％。

[0030] 本发明的又一方面中，脂质体组合物的药学上可接受的酸包含有机酸或无机酸。

[0031] 本发明的又一方面中，脂质体组合物的脂质体颗粒具有小于约 10 微米的质量中值直径 (d(0.5))。一些实施方案中，质量中值直径小于约 6 微米、或约 4 微米或约 2 微米。

[0032] 本发明的又一方面中，高压灭菌的脂质体组合物在脂质体组合物的凝固点以上的温度下，在物理上和化学上稳定至少约 1 年或 18 个月或 2 年。

[0033] 本发明的又一方面中，亲脂胺包含在生理 pH 下 logP 值大于约 1.0 的亲脂胺。一些实施方案中，亲脂胺具有在生理 pH 下约 2- 约 5 的 logP 值。

[0034] 本发明的一个方面中，脂质体组合物的一些实施方案对高压灭菌是物理和化学上稳定的，所述高压灭菌包括在惰性气氛下的高压灭菌，例如在惰性气氛下、于约 121℃的温度下持续最少约 15 分钟的高压灭菌。

[0035] 本发明的又一方面中，存在于组合物中的药物成分对磷脂的比率为约 1 ： 100-1 ： 10 摩尔 / 摩尔。本发明组合物中的磷脂含量也可以是约 1.5mM 或更多。

[0036] 本发明的组合物中，脂质体组合物中药物的包封百分比可以基本稳定至少 20 个月的时间。本发明的组合物经过高压灭菌后也可以在化学上基本稳定至少 20 个月的时间，其中磷脂的量在至少 20 个月的时间内没有由于化学水解或氧化而导致下降超过 10％ (重量 / 重量) 或超过 5％。一些经高压灭菌的组合物中，在至少 20 个月的时间内，磷脂量的减少不超过约 3mg/ml 脂质体组合物。同样地，在本发明的高压灭菌组合物中，在至少 20 个月的时间内，亲脂胺的化学降解不超过 5％ (重量 / 重量) 或 2％。

[0037] 本发明的又一方面中，提供递送药物成分的无菌和稳定的脂质体组合物，该组合物包含 :(a) 适当的水介质 ;(b) 由适当的磷脂形成的脂质体 ;(c) 至少部分包封在脂质体内的至少一种药物成分，并且所述药物成分选自 (i) 亲脂胺和药学上可接受的酸，其中药学上可接受的酸选自有机酸或无机酸和 (ii) 亲脂胺的药学上可接受有机酸的盐，并且任选药学上可接受的酸包含药学上可接受的有机酸 ;其中组合物被高压灭菌，一些实施方案中在惰性气氛下进行，其中组合物中的药学上可接受酸的含量为使得脂质体组合物的 pH 值小于或约等于药学活性亲脂胺的氨基的 pK_a 值。

[0038] 本发明的又一方面中，提供生产递送药物成分的本发明的稳定脂质体组合物的方法，该方法包括下列步骤 :(a) 提供合适的水介质 ;(b) 提供合适的磷脂 ;(c) 提供能够至少部分包封在脂质体内的至少一种药物成分，并且所述药物成分选自 (i) 亲脂胺和药学上可接受的酸，其中药学上可接受的酸选自有机酸或无机酸和 (ii) 亲脂胺的药学上可接受有机酸的盐，并且任选药学上可接受的酸包含药学上可接受的有机酸 ;其中组合物中的药学上可接受酸的含量为使得脂质体组合物的 pH 值小于或约等于药学活性亲脂胺的氨基的 pK_a 值 ;(d) 合并水介质、磷脂和药物成分以形成脂质体组合物和 (e) 任选对所述组合物进行高压灭菌。在本发明的重要方面中，该方法包括高压灭菌步骤。

[0039] 本发明的又一方面中，提供本发明的无菌和稳定的脂质体组合物，经高压灭菌并

在组合物凝固点以上的温度下贮存，在至少一年的时间内表现出下列特征中的一种或多种：(i) 包封百分比的改变不超过约 5％；(ii) 磷脂含量的改变不超过约 10 重量％；(iii) 由于化学水解和 / 或氧化导致的亲脂胺含量的改变不超过约 5 重量％；(iv) 没有形成可见的集聚物和 (v) 光学测定的中值粒径的改变不超过约 10％。确定这些参数的方法在下文中详细描述。

[0040] 本发明的又一方面中，当利用本文所公开的方法制备时提供稳定脂质体组合物。

[0041] 本发明的又一方面中，当利用本文所公开的方法制备时提供稳定和无菌的脂质体组合物。

[0042] 本发明的又一方面中，提供增加脂质体组合物稳定性的方法，所述方法包括下列步骤：(a) 提供适当的水介质；(b) 提供适当的磷脂；(c) 提供能够至少部分包封在脂质体内的至少一种药物成分，并且所述药物成分选自 (i) 亲脂胺和药学上可接受的酸，其中药学上可接受的酸选自有机酸或无机酸和 (ii) 亲脂胺的药学上可接受有机酸的盐，并且任选药学上可接受的酸包含药学上可接受的有机酸；其中组合物中的药学上可接受酸的含量为使得脂质体组合物的 pH 值小于或约等于药学活性亲脂胺的氨基的 pK_a 值；(d) 合并水介质、磷脂和药物成分以形成脂质体组合物和 (e) 在对所述组合物有效灭菌的条件下，对所述脂质体组合物高压灭菌，由此提供相对于高压灭菌前稳定性增加的组合物。

[0043] 本发明的又一方面中，提供鉴定相稳定的脂质体组合物的方法，该方法包括下列步骤：(a) 提供包含药物成分、磷脂、水溶液和任选的乙醇和固醇的脂质体组合物；(b) 光学测定脂质体组合物的质量中值直径 (d(0.5))；(c) 在约 4℃下，在约 1000g-5000g 下离心分离脂质体组合物约 2 小时；(d) 光学测定离心步骤 (c) 之后的脂质体组合物溶液的任意残留液体部分的质量中值直径 (d(0.5))；和 (e) 计算离心后与离心前的溶液的质量中值直径 (d(0.5)) 值的比率；其中当组合物在步骤 (e) 中的比率为约 0.6 或更大，在一些实施方案中为 0.8 或更大时，确认为相稳定脂质体组合物。在优选的实施方案中，组合物在离心之前高压灭菌。

[0044] 本发明的组合物尤其适合药物制品的肺部递送。本发明的一些实施方案中，组合物还包含胆固醇和乙醇中的至少一种。在本发明的一些实施方案中，组合物对高压灭菌是稳定的。

[0045] 本发明的一个优点在于组合物是稳定的，并且在贮存时不熔融、分离、沉淀、团聚或胶凝。它们因此保持均匀组成至少一周并且通常时间更长，在一些实施方案中，持续保持超过 12 个月或超过 18 个月或甚至超过两年。该组合物的贮存期限因此增加。此外，允许由更大批量均分成单位剂量并且在分配前不需要重组所述组合物。

[0046] 扩大的相稳定性是提供药物相关配方的配方特征之一。如果配方在延长的时间周期内相稳定，则它提供许多优点。本发明的相稳定脂质体组合物使最终药物制剂的最终填充过程更稳固，药物配方的最终填充不受产品在填充之前或填充期间的沉积或分离考虑的约束。本发明的相稳定脂质体组合物还提供由同一批次填充的不同单瓶之间的含量均匀性。来自包含本发明的相稳定药物配方的最终药物容器的个别样品也将在各个剂量之间更均匀，由此为患者提供改善的安全性，而不要求患者在使用前充分摇动组合物。这可能对老年患者尤其有优势。如果脂质体包封的药物组合物发生相分离，则存在下列可能性：当样品取自较稠密的层或配方的沉淀时，患者可能接受过高剂量；或当样品取自较稀的层时，患者

可能剂量不足；或当样品取自澄清的上清液时，患者可能接受无效的剂量。本发明提供在剂量可再现性上可信的组合物和方法。

[0047] 本发明的组合物不需要化学添加剂以使组合物稳定。本发明的脂质体包含亲脂胺和酸，例如有机酸，其中酸的浓度为使得脂质体组合物的 pH 值约等于或小于亲脂胺的氨基的 pK_a 值，如果最终溶液的 pH 值与脂质体组合物的化学稳定性不发生抵触，那么以下可见通常为约 pH 4。pH 约等于或小于 pK_a 值确保脂质体组合物中亲脂胺的至少相当部分带正电荷。在本发明的一个方面中，药物成分包含亲脂胺和作为反离子的有机酸，例如，柠檬酸芬太尼。这可以通过合并溶解在乙醇相中的游离碱性芬太尼与水相和各个相中的柠檬酸以及与其它组分合并在一起以提供在本发明意义内的柠檬酸芬太尼，从而提供在组合物中。作为选择，可以商业购买例如盐形式的药物芬太尼如柠檬酸芬太尼而用于制备脂质体组合物。一些例子中，还可以要求向组合物中加入额外量的酸，例如柠檬酸，以调节脂质体组合物的 pH 值，从而提供约等于或小于亲脂胺的氨基的 pK_a 值的 pH 值，如果脂质体溶液的 pH 值不低于 pH 4，那么在此通常满足组合物的化学稳定性。不需要其它化学添加剂而稳定脂质体的能力在用于对患者给药的组合物中尤其需要，这是由于其消除了化学添加剂的副作用的风险。

[0048] 本发明的实施方案中，脂质体组合物经高压灭菌而进一步稳定。对本发明的脂质体组合物高压灭菌的能力提供对配方灭菌的简单方法。不同于过滤，可高压灭菌的脂质体组合物将允许使用更大的脂质体，因而包封更多的药物。此外，高压灭菌脂质体组合物的能力避免了添加通常不期望的、尤其对肺部配方不期望的防腐剂或抗菌剂的需要。

[0049] 根据本发明的另一方面，提供将脂质体组合物用作药剂的方法。

[0050] 根据本发明的另一方面，稳定的脂质体组合物包含在已封装的药物和试剂盒中，以及包含在用于向肺部递送能够产生稳定脂质体组合物的气溶胶水滴的治疗成分的装置中。

[0051] 本发明的另一方面是稳定的脂质体组合物及其生产方法以及其用途，其中磷脂包含磷脂酰胆碱。

[0052] 具体而言，本发明涉及以下方面：

[0053] 1. 一种用于递送药物试剂的稳定脂质体组合物，该组合物包含：

[0054] (a) 适当的水介质；

[0055] (b) 由适当的磷脂形成的脂质体；

[0056] (c) 至少部分包封在脂质体内的至少一种药物成分，并且所述药物成分选自

[0057] (i) 亲脂胺和药学上可接受的酸，其中药学上可接受的酸选自有机酸或无机酸，和

[0058] (ii) 亲脂胺的药学上可接受有机酸的盐，任选所述药学上可接受的酸包含药学上可接受的有机酸；

[0059] 其中存在于所述组合物中的药学上可接受酸的量为使得脂质体组合物的 pH 值小于或约等于药物活性的亲脂胺的氨基的 pK_a 值。

[0060] 2. 根据 1 的组合物，其中脂质体组合物的 pH 值约等于亲脂胺的氨基的 pK_a 值，并且组合物中约 50％的亲脂胺被质子化。

[0061] 3. 根据 1 的组合物，其中脂质体组合物的 pH 值小于亲脂胺的氨基的 pK_a 值，组合物中的大部分亲脂胺被质子化。

[0062] 4. 根据 1 的组合物，其中组合物的 pH 值小于亲脂胺的氨基的 pKa 值约 1- 约 2 个 pH 单位。

[0063] 5. 根据 1 的组合物，其中脂质体组合物的 pH 值为约 4 到亲脂胺的氨基的 pK_a 值。

[0064] 6. 根据 1 的组合物，其中组合物的 pH 值为约 4- 约 8。

[0065] 7. 根据 6 的组合物，其中组合物的 pH 值为约 4- 约 7。

[0066] 8. 根据 6 的组合物，其中组合物的 pH 值为约 4.5- 约 6.5。

[0067] 9. 根据 6 的组合物，其中组合物的 pH 值为约 5- 约 6。

[0068] 10. 根据 1 的组合物，还包含胆固醇。

[0069] 11. 根据 1 的组合物，还包含乙醇。

[0070] 12. 根据 11 的组合物，其中乙醇含量为脂质体组合物总体积的约 2.5％ - 约 10％。

[0071] 13. 根据 1 的组合物，其中磷脂在约生理 pH 下具有基本中性的电荷。

[0072] 14. 根据 13 的组合物，其中磷脂包含磷脂酰胆碱。

[0073] 15. 根据 1 的组合物，其中水介质是水。

[0074] 16. 根据 1 的组合物，其中药物成分在水介质中也是游离的。

[0075] 17. 根据 16 的组合物，其中脂质体包封的药物成分的百分比占脂质体组合物中存在的药物成分总量的约 50％ - 约 90％。

[0076] 18. 根据 17 的组合物，其中脂质体包封的药物成分的百分比占脂质体组合物中存在的药物成分总量的约 60％ - 约 80％。

[0077] 19. 根据 18 的组合物，其中脂质体包封的药物成分的百分比占脂质体组合物中存在的药物成分总量的约 50％ - 约 75％。

[0078] 20. 根据 1 的组合物，其中步骤 (b)(i) 中的药学上可接受的酸包含有机酸。

[0079] 21. 根据 1 的组合物，其中步骤 (b)(i) 中的药学上可接受的酸包含无机酸。

[0080] 22. 根据 1 的组合物，其中脂质体组合物的脂质体颗粒具有小于约 10 微米的质量中值直径 (d(0.5))。

[0081] 23. 根据 22 的组合物，其中脂质体组合物的脂质体颗粒具有小于约 6 微米的质量中值直径 (d(0.5))。

[0082] 24. 根据 22 的组合物，其中脂质体组合物的脂质体颗粒具有小于约 4 微米的质量中值直径 (d(0.5))。

[0083] 25. 根据 22 的组合物，其中脂质体组合物的脂质体颗粒具有小于约 2 微米的质量中值直径 (d(0.5))。

[0084] 26. 根据 1 的组合物，其中亲脂胺包含在生理 pH 下 logP 值大于约 1.0 的亲脂胺。

[0085] 27. 根据 26 的组合物，其中亲脂胺的 logP 值在生理 pH 下为约 2- 约 5。

[0086] 28. 根据 1 的组合物，其中药物成分和磷脂之比为约 1 ： 100-1 ： 10mol/mol。

[0087] 29. 根据 1 的组合物，其中磷脂在组合物中的含量为约 1.5mM 或更多。

[0088] 30. 根据 1 的组合物，其中当在约 1000- 约 5000g、约 4℃的温度下和约两个小时的时间内离心时，离心后的脂质体组合物的脂质体粒径分布对离心前的脂质体组合物的脂质体粒径分布之比等于或大于约 0.6。

[0089] 31. 根据 1-30 中任一项的组合物，其中所述脂质体组合物被高压灭菌并且所述组合物对高压灭菌在物理上和化学上稳定。

[0090] 32. 根据 1-30 中任一项的组合物，其中脂质体组合物被高压灭菌，并且对于在约 121℃的温度下高压灭菌最少约 15 分钟而言，所述组合物在物理上和化学上稳定。

[0091] 33. 根据 31 的组合物，其中脂质体组合物在脂质体组合物的凝固点以上温度下在物理上和化学上稳定至少约 1 年。

[0092] 34. 根据 31 的组合物，其中脂质体组合物在脂质体组合物的凝固点以上温度下在物理上和化学上稳定至少 18 个月。

[0093] 35. 根据 31 的组合物，其中脂质体组合物在脂质体组合物的凝固点以上温度下在物理上和化学上稳定至少 24 个月。

[0094] 36. 根据 31 的组合物，其中药物在脂质体组合物中的包封百分比在惰性气氛下、在至少 20 个月内是基本稳定的。

[0095] 37. 根据 31 的组合物，其中磷脂的量在至少 20 个月内化学降解不超过约 10％（重量 / 重量）。

[0096] 38. 根据 31 的组合物，其中磷脂的量在至少 20 个月内化学降解不超过约 5％（重量 / 重量）。

[0097] 39. 根据 31 的组合物，其中亲脂胺在至少 20 个月内化学降解不超过约 5％（重量 / 重量）。

[0098] 40. 根据 31 的组合物，其中亲脂胺在至少 20 个月内化学降解不超过约 2％（重量 / 重量）。

[0099] 41. 一种用于递送药物试剂的无菌和稳定的脂质体组合物，组合物包含：

[0100] (a) 适当的水介质；

[0101] (b) 由适当的磷脂形成的脂质体；

[0102] (c) 至少部分包封在脂质体内的至少一种药物试剂，并选自

[0103] (i) 亲脂胺和药学上可接受的酸，其中药学上可接受的酸选自有机酸或无机酸，和

[0104] (ii) 亲脂胺的药学上可接受有机酸的盐，任选药学上可接受的有机酸以及任选药学上可接受的酸包含药学上可接受的有机酸；

[0105] 其中组合物经高压灭菌，其中存在于组合物中的药学上可接受的酸的量为使得脂质体组合物的 pH 值小于或约等于药物活性的亲脂胺的氨基的 pK_a 值。

[0106] 42. 根据 41 的无菌和稳定的组合物，其中脂质体组合物的 pH 值约等于亲脂胺的氨基的 pK_a 值，并且组合物中约 50％的亲脂胺被质子化。

[0107] 43. 根据 41 的无菌和稳定的组合物，其中脂质体组合物的 pH 值小于亲脂胺的氨基的 pK_a 值，并且组合物中的大部分亲脂胺被质子化。

[0108] 44. 根据 41 的无菌和稳定的组合物，其中组合物的 pH 值小于亲脂胺的氨基的 pKa 值约 1- 约 2 个 pH 单位。

[0109] 45. 根据 41 的无菌和稳定的组合物，其中脂质体组合物的 pH 值为约 4 到亲脂胺的氨基的 pK_a 值。

[0110] 46. 根据 41 的无菌和稳定的组合物，其中组合物的 pH 值为约 4- 约 8。

[0111] 47. 根据 46 的无菌和稳定的组合物，其中组合物的 pH 值为约 4- 约 7。

[0112] 48. 根据 47 的无菌和稳定的组合物，其中组合物的 pH 值为约 4.5- 约 6.5。

[0113] 49. 根据 48 的无菌和稳定的组合物，其中组合物的 pH 值为约 5- 约 6。

[0114] 50. 根据 41 的无菌和稳定的组合物，还包含胆固醇。

[0115] 51. 根据 41 的无菌和稳定的组合物，还包含乙醇。

[0116] 52. 根据 51 的无菌和稳定的组合物，其中乙醇含量为脂质体组合物总体积的约 2.5％ - 约 10％。

[0117] 53. 根据 41 的无菌和稳定的组合物，其中磷脂在约生理 pH 下具有基本中性的电荷。

[0118] 54. 根据 53 的无菌和稳定的组合物，其中磷脂包含磷脂酰胆碱。

[0119] 55. 根据 41 的无菌和稳定的组合物，其中水介质是水。

[0120] 56. 根据 41 的无菌和稳定的组合物，其中药物成分在水介质中也是游离的。

[0121] 57. 根据 56 的无菌和稳定的组合物，其中脂质体包封的药物成分的百分比占脂质体组合物中存在的药物成分总量的约 50％ - 约 90％。

[0122] 58. 根据 57 的无菌和稳定的组合物，其中脂质体包封的药物成分的百分比占脂质体组合物中存在的药物成分总量的约 60％ - 约 80％。

[0123] 59. 根据 58 的无菌和稳定的组合物，其中脂质体包封的药物成分的百分比占脂质体组合物中存在的药物成分总量的约 50％ - 约 75％。

[0124] 60. 根据 41 的无菌和稳定的组合物，其中步骤 (b)(i) 中的药学上可接受的酸包含有机酸。

[0125] 61. 根据 41 的无菌和稳定的组合物，其中步骤 (b)(i) 中的药学上可接受的酸包含无机酸。

[0126] 62. 根据 41 的无菌和稳定的组合物，其中脂质体组合物的脂质体颗粒具有小于约 10 微米的质量中值直径 (d(0.5))。

[0127] 63. 根据 62 的无菌和稳定的组合物，其中脂质体组合物的脂质体颗粒具有小于约 6 微米的质量中值直径 (d(0.5))。

[0128] 64. 根据 63 的无菌和稳定的组合物，其中脂质体组合物的脂质体颗粒具有小于约 4 微米的质量中值直径 (d(0.5))。

[0129] 65. 根据 64 的无菌和稳定的组合物，其中脂质体组合物的脂质体颗粒具有小于约 2 微米的质量中值直径 (d(0.5))。

[0130] 66. 根据 41 的无菌和稳定的组合物，其中脂质体组合物在脂质体组合物的凝固点以上温度下在物理上和化学上稳定至少约 1 年。

[0131] 67. 根据 66 的无菌和稳定的组合物，其中脂质体组合物在脂质体组合物的凝固点以上温度下在物理上和化学上稳定至少 18 个月。

[0132] 68. 根据 67 的无菌和稳定的组合物，其中脂质体组合物在脂质体组合物的凝固点以上温度下在物理上和化学上稳定至少 24 个月。

[0133] 69. 根据 41 的无菌和稳定的组合物，其中亲脂胺包含在生理 pH 下 logP 值大于约 1.0 的亲脂胺。

[0134] 70. 根据 41 的无菌和稳定的组合物，其中亲脂胺的 logP 值在生理 pH 下为约 2- 约 5。

[0135] 71. 根据 41 的无菌和稳定的组合物，其中药物成分和磷脂之比为约 1 ： 100-1 ： 10mol/mol。

[0136] 72. 根据 41 的无菌和稳定的组合物，其中磷脂在组合物中的含量为约 1.5mM 或更多。

[0137] 73. 根据 41 的无菌和稳定的组合物，其中药物在脂质体组合物中的包封百分比在惰性气氛下、在至少 20 个月内是基本稳定的。

[0138] 74. 根据 41 的无菌和稳定的组合物，其中所述组合物在至少 20 个月的时间内是基本化学稳定的。

[0139] 75. 根据 41 的无菌和稳定的组合物，其中磷脂在至少 20 个月内由于化学降解而减少的量不超过约 10％（重量 / 重量）。

[0140] 76. 根据 41 的无菌和稳定的组合物，其中磷脂在至少 20 个月内由于化学降解而减少的量不超过约 5％（重量 / 重量）。

[0141] 77. 根据 41 的无菌和稳定的组合物，其中亲脂胺在至少 20 个月内化学降解不超过约 5％（重量 / 重量）。

[0142] 78. 根据 41 的组合物，其中亲脂胺在至少 20 个月内化学降解不超过约 2％（重量 / 重量）。

[0143] 79. 一种生产用于递送药物试剂的稳定脂质体组合物的方法，该方法包括下列步骤：

[0144] (a) 提供适当的水介质；

[0145] (b) 提供适当的磷脂；

[0146] (c) 提供能够至少部分包封在脂质体内的至少一种药物成分，并且所述药物成分选自

[0147] (i) 亲脂胺和药学上可接受的酸，其中药学上可接受的酸选自有机酸或无机酸，和

[0148] (ii) 亲脂胺的药学上可接受有机酸的盐，任选药学上可接受的酸包含药学上可接受的有机酸；

[0149] 其中存在于组合物中的药学上可接受的酸的量为使得脂质体组合物的 pH 值小于或约等于药物活性的亲脂胺的氨基的 pK_a 值；

[0150] (d) 合并水介质、磷脂和药物成分，以形成脂质体组合物；和

[0151] (e) 任选对所述组合物高压灭菌。

[0152] 80. 根据 79 的方法，其中脂质体组合物被高压灭菌，并且其中所述组合物是无菌组合物。

[0153] 81. 根据 79 或 80 的方法，其中脂质体组合物的 pH 值约等于亲脂胺的氨基的 pK_a 值，并且组合物中约 50％的亲脂胺被质子化。

[0154] 82. 根据 79 或 80 的方法，其中脂质体组合物的 pH 值小于亲脂胺的氨基的 pK_a 值，并且组合物中的大部分亲脂胺被质子化。

[0155] 83. 根据 79 或 80 的方法，其中组合物的 pH 值小于亲脂胺的氨基的 pK_a 值约 1- 约 2 个 pH 单位。

[0156] 84. 根据 79 或 80 的方法，其中脂质体组合物的 pH 值为约 4 到亲脂胺的氨基的 pK_a 值。

[0157] 85. 根据 79 或 80 的方法，其中组合物的 pH 值为约 4- 约 8。

[0158] 86. 根据 79 或 80 的方法，其中组合物的 pH 值为约 4- 约 7。

[0159] 87. 根据 79 或 80 的方法，其中组合物的 pH 值为约 4.5- 约 6.5。

[0160] 88. 根据 79 或 80 的方法，其中组合物的 pH 值为约 5- 约 6。

[0161] 89. 根据 79 或 80 的方法，其中还提供胆固醇和乙醇中的至少一个，并且步骤 (d) 包括合并水介质、磷脂、药物试剂和胆固醇和乙醇中的至少一个以形成脂质体组合物的步骤。

[0162] 90. 根据 89 的方法，其中乙醇含量为脂质体组合物的总体积的约 2.5％ - 约 10％。

[0163] 91. 根据 79 或 80 的方法，其中磷脂在约生理 pH 下具有基本中性的电荷。

[0164] 92. 根据 79 或 80 的方法，其中磷脂包含磷脂酰胆碱。

[0165] 93. 根据 79 或 80 的方法，其中水介质是水。

[0166] 94. 根据 79 或 80 的方法，其中药物成分在水介质中也是游离的。

[0167] 95. 根据 79 或 80 的方法，其中脂质体包封的药物成分的百分比占脂质体组合物中存在的药物成分总量的约 50％ - 约 90％。

[0168] 96. 根据 79 或 80 的方法，其中脂质体包封的药物成分的百分比占脂质体组合物中存在的药物成分总量的约 60％ - 约 80％。

[0169] 97. 根据 79 或 80 的方法，其中脂质体包封的药物成分的百分比占脂质体组合物中存在的药物成分总量的约 50％ - 约 75％。

[0170] 98. 根据 79 或 80 的方法，其中步骤 (c)(i) 中的药学上可接受的酸包含有机酸。

[0171] 99. 根据 79 或 80 的方法，其中步骤 (c)(i) 中的药学上可接受的酸包含无机酸。

[0172] 100. 根据 79 或 80 的方法，其中脂质体组合物的脂质体颗粒具有小于约 10 微米的质量中值直径 (d(0.5))。

[0173] 101. 根据 100 的方法，其中脂质体组合物的脂质体颗粒具有小于约 6 微米的质量中值直径 (d(0.5))。

[0174] 102. 根据 100 的方法，其中脂质体组合物的脂质体颗粒具有小于约 4 微米的质量中值直径 (d(0.5))。

[0175] 103. 根据 100 的方法，其中脂质体组合物的脂质体颗粒具有小于约 2 微米的质量中值直径 (d(0.5))。

[0176] 104. 根据 79 或 80 的方法，其中脂质体组合物在脂质体组合物的凝固点以上温度下在物理上和化学上稳定至少约 1 年。

[0177] 105. 根据 79 或 80 的方法，其中脂质体组合物在脂质体组合物的凝固点以上温度下在物理上和化学上稳定至少 18 个月。

[0178] 106. 根据 79 或 80 的方法，其中脂质体组合物在脂质体组合物的凝固点以上温度下在物理上和化学上稳定至少 24 个月。

[0179] 107. 根据 79 或 80 的方法，其中亲脂胺包含在生理 pH 下 logP 值大于约 1.0 的亲脂胺。

[0180] 108. 根据 79 或 80 的方法，其中亲脂胺的 logP 值在生理 pH 下为约 2- 约 5。

[0181] 109. 根据 79 或 80 的方法，其中药物成分和磷脂之比为约 1 ： 100-1 ： 10mol/mol。

[0182] 110. 根据 80 的方法，其中磷脂在组合物中的含量为约 1.5mM 或更多。

[0183] 111. 根据 80 的方法，其中药物在脂质体组合物中的包封百分比在惰性气氛下、在

至少 20 个月内是基本稳定的。

[0184] 112. 根据 80 的方法，其中所述组合物在至少 20 个月的时间内是基本化学稳定的。

[0185] 113. 根据 80 的方法，其中磷脂在至少 20 个月内由于化学降解而减少的量不超过约 10％（重量 / 重量）。

[0186] 114. 根据 80 的方法，其中磷脂在至少 20 个月内由于化学降解而减少的量不超过约 5％（重量 / 重量）。

[0187] 115. 根据 80 的方法，其中亲脂胺在至少 20 个月内化学降解不超过约 5％（重量 / 重量）。

[0188] 116. 根据 80 的方法，其中亲脂胺在至少 20 个月内化学降解不超过约 2％（重量 / 重量）。

[0189] 117. 根据 41 的无菌和稳定的脂质体组合物，在高压灭菌和贮存于组合物凝固点以上的温度后至少 1 年内表现出下列特征中的一种或多种：

[0190] (i) 包封百分比的改变不超过约 5％；

[0191] (ii) 磷脂浓度的改变不超过约 10 重量％；

[0192] (iii) 由于化学水解和 / 或氧化导致的亲脂胺浓度的改变不超过 5 重量％；

[0193] (iv) 没有形成可见的聚集体；

[0194] (v) 光学测定时，质量中值直径的改变不超过约 10％。

[0195] 118. 根据 1 的稳定脂质体组合物，当通过 79 的方法制备时。

[0196] 119. 根据 41 的无菌和稳定的脂质体组合物，当通过 80 的方法制备时。

[0197] 120. 药物组合物，包含根据 1-78 中任一项的脂质体组合物。

[0198] 121. 根据 1-78 中任一项的脂质体组合物作为药物的用途。

[0199] 122. 121 的用途，其中所述药物经吸入通过肺部系统，局部地或不经肠给药。

[0200] 123. 根据 122 的用途，其中所述局部药物适合眼科给药。

[0201] 124. 根据 122 的用途，其中所述药物适合肺部给药。

[0202] 125. 包含 1 的稳定脂质体组合物以及产生用于由患者吸入的组合物的小滴的装置。

[0203] 126. 一种递送药物试剂至患者的试剂盒，该试剂盒包含使用说明、包含 1 的稳定脂质体组合物并能够产生用于由患者吸入的组合物的气溶胶小滴的装置。

[0204] 127. 一种增加脂质体组合物稳定性的方法，所述方法包括下列步骤：

[0205] (a) 提供适当的水介质；

[0206] (b) 提供适当的磷脂；

[0207] (c) 提供能够至少部分包封在脂质体内的至少一种药物成分，并且所述药物成分选自

[0208] (i) 亲脂胺和药学上可接受的酸，其中药学上可接受的酸选自有机酸或无机酸，和

[0209] (ii) 亲脂胺的药学上可接受有机酸的盐，并任选药学上可接受的有机酸；

[0210] 其中存在于组合物中的药学上可接受的酸的量为使得脂质体组合物的 pH 值小于或约等于药物活性的亲脂胺的氨基的 pK_a 值；

[0211] (d) 合并水介质、磷脂和药物成分以形成脂质体组合物；和

[0212] (e) 在对所述组合物有效灭菌的条件下，对所述脂质体组合物高压灭菌，由此提供

相对于高压灭菌前的组合物稳定性具有增大的稳定性的组合物。

[0213] 128. 根据 127 的方法，其中高压灭菌步骤在约 121℃的温度、惰性气氛下进行最少约 15 分钟。

[0214] 129. 128 的方法，其中高压灭菌期间的惰性气氛包含氩气和氮气。

[0215] 130. 一种鉴定相稳定脂质体组合物的方法，该方法包括下列步骤：

[0216] (a) 提供包含磷脂、水溶液、药物成分和任选乙醇和固醇的脂质体组合物；

[0217] (b) 光学测定脂质体组合物的质量中值直径 (d(0.5))；

[0218] (c) 在约 1000g-5000g 下、于约 4℃下离心脂质体组合物约 2 个小时；

[0219] (d) 光学测定离心步骤 (c) 之后的脂质体组合物溶液的上清液部分的质量中值直径 (d(0.5))；

[0220] (e) 计算离心之后溶液的质量中值直径 (d(0.5)) 粒径分布值与离心之前溶液的质量中值直径 (d(0.5)) 粒径分布值的比率。

[0221] 其中，如果组合物在步骤 (e) 中的比率为约 0.6 或更大，则鉴定为相稳定脂质体组合物。

[0222] 131. 130 的方法，其中如果组合物在步骤 (e) 中的比率为约 0.8 或更大，则鉴定为相稳定脂质体组合物。

[0223] 132. 130 的方法，其中在离心前，组合物经过高压灭菌。

附图说明

[0224] 参考附图，本发明的这些或其它特征将在下面的详细说明中更加直观，其中：

[0225] 图 1 示出各种脂质体组合物和组合物高压灭菌前后相稳定性的视觉分析结果的表格汇总；

[0226] 图 2 示出本发明的相稳定脂质体制剂的外观 (图 2a) 与制备和贮存之后分离的脂质体制剂的外观 (图 2b) 的比较；

[0227] 图 3 示出作为配方 pH 的函数的不含亲脂胺药物成分的安慰剂脂质体的相稳定性 (图 3a)；和作为 pH 的函数的亲脂胺对组合物的稳定作用 (图 3b)；

[0228] 图 4 示出高压灭菌前后各种脂质体制剂、pH 值、粒径 (d(0.5)) 以及相稳定性指数的表格汇总；

[0229] 图 5 示出说明本发明的脂质体组合物在高压灭菌前后 pH 值之间关系的图；

[0230] 图 6 示出不同脂质体组合物高压灭菌后对比高压灭菌前磷脂酰胆碱含量的％改变与 pH 值的函数关系的图；

[0231] 图 7 示出不同脂质体组合物在高压灭菌后相对于高压灭菌前粒径分布的改变与 pH 值的函数关系的图；

[0232] 图 8a-8c 示出分别为不稳定脂质体组合物、具有中间稳定性的脂质体组合物和本发明的稳定脂质体组合物的照片；

[0233] 图 9 示出具有中间稳定性的脂质体组合物的照片；

[0234] 图 10 示出高压灭菌前，图 4 中芬太尼组合物的相稳定性指数与 pH 之间的函数关系图；

[0235] 图 11 示出高压灭菌后，图 10 中含芬太尼的组合物的相稳定性指数与 pH 的函数关

系图；

[0236] 图 12 示出高压灭菌前，图 4 中包含昂丹司琼的脂质体组合物的稳定性指数与 pH 的函数关系图；

[0237] 图 13 示出高压灭菌后，图 12 中包含昂丹司琼的脂质体组合物的稳定性指数与 pH 的函数关系图；

[0238] 图 14 示出高压灭菌前，除了含有棕榈酸作为有机酸的配方和具有 2.4mmol 昂丹司琼的配方之外，图 4 中包含昂丹司琼的脂质体组合物的稳定性指数与 pH 的函数关系图；

[0239] 图 15 示出高压灭菌前，除了含有棕榈酸作为有机酸的配方和具有 2.4mmol 昂丹司琼的配方之外，图 14 中包含昂丹司琼的脂质体组合物的稳定性指数与 pH 的函数关系图；

[0240] 图 16 示出高压灭菌前，图 4 中包含舒马曲坦的脂质体组合物的相稳定性指数与 pH 的函数关系图；

[0241] 图 17 示出高压灭菌后，图 16 中包含舒马曲坦的脂质体组合物的相稳定性指数与 pH 的函数关系图；

[0242] 图 18 示出高压灭菌前，图 4 中包含丙氯拉嗪的脂质体组合物的相稳定性指数与 pH 的函数关系图；

[0243] 图 19 示出高压灭菌后，图 18 中包含丙氯拉嗪的脂质体组合物的相稳定性指数与 pH 的函数关系图；

具体实施方式

[0244] 以下说明中，列出了大量细节以提供对本发明的彻底理解。然而，应该理解没有这些具体细节也可以实施本发明。

[0245] 本文中，本发明的方法被要求并描述为一系列步骤。应该理解这些方法和相关的步骤可以任何合理的顺序进行。此外，该方法可以单独进行，或在本文提出的该方法和步骤进行之前、期间或之后，连同给药程序和处理一起实施，而不偏离本发明的范围和精神。

[0246] 脂质体组合物成分

[0247] 本发明提供含有并入脂质体的药物成分和在延长的时间周期内相稳定的脂质体组合物。本发明的脂质体组合物包含亲脂胺和酸，例如有机酸，其中酸的浓度为使得脂质体组合物的 pH 值约等于或小于亲脂胺的氨基的 pK_a 值，如果最终溶液的 pH 值与脂质体组合物的化学稳定性不发生抵触，那么以下可见通常为约 pH 4。pH 约等于或小于 pK_a 确保脂质体组合物中亲脂胺的至少相当部分带正电荷。在本发明的一些实施方案中，药物成分已经可包含亲脂胺和可接受的酸优选有机酸的盐。根据本发明的组合物在贮存至少一周以及在大多数情况下更长的时间，优选一年或更长时是相稳定的。

[0248] 一些实施方案中，药物成分包含亲脂胺和作为反离子的有机酸，例如，柠檬酸芬太尼。这可以通过合并溶解在乙醇相中的游离碱性芬太尼与水相和各个相中的柠檬酸以及与其它组分合并在一起以在组合物中提供本发明意义内的柠檬酸芬太尼。作为选择，可以商业购买例如盐形式的药物芬太尼如柠檬酸芬太尼而用于制备脂质体组合物。一些例子中，还可以要求向组合物中加入额外量的酸，例如柠檬酸，以调节脂质体组合物的 pH 值，从而提供约等于或小于亲脂胺的氨基的 pK_a 值的 pH 值，如果脂质体溶液的 pH 值不低于 pH 4，那么在此通常满足组合物的化学稳定性。

[0249] 本发明的脂质体组合物包含由封闭的磷脂双分子层形成的脂质体。形成用来递送药物成分的脂质体的适当的磷脂是本领域已知的，并且包含但不限于磷脂酸 (PA) 和磷脂酰甘油 (PG)、磷脂酰胆碱 (PC)、磷脂酰乙醇胺 (PE)、磷脂酰肌醇 (PI)、磷脂酰丝氨酸 (PS)、缩醛磷脂和神经鞘磷脂 (SM)。用于形成本发明的脂质体组合物的脂类可以是带电的或中性的。在一个实施方案中，优选由磷脂酰胆碱形成的脂质体，因为当对患者给药时它们通常更温和，并且药物成分通常更好地并入中性磷脂。在另一个实施方案中，期望的是带正电荷的脂质体。

[0250] 将固醇如胆固醇常规加入脂质体组合物以提高脂质体的稳定性并促进脂质体进入活体环境。术语“胆固醇”用来包括胆固醇衍生物，例如：(3- 羟基 -5,6- 胆甾烯）和相关类似物，例如 3- 氨基 -5,6- 胆甾烯和 5,6- 胆甾烯；胆甾烷、胆甾烷醇和相关类似物，例如 3- 羟基 - 胆甾烷；和带电的胆固醇衍生物例如 β - 丙氨酸胆固醇酯和半琥珀酸胆固醇酯。一些实施方案中，胆固醇含量为磷脂重量的约 0％ - 约 30％。在另一个实施方案中，胆固醇含量最高是磷脂重量的约 10％。

[0251] 本发明的药物成分是可以为了治疗目的对患者给药的试剂。本发明的试剂选自药物活性的亲脂胺及其各自的盐。本发明的亲脂胺指的是由可溶于有机溶剂基团（亲脂基团）和在生理 pH 值下携带正电荷的胺基团组成的分子。本发明的适当的亲脂胺在 pH 值约 3- 约 8 的范围内具有正电荷的氨基。

[0252] 适当的药物成分包含但不限于以下药物：

[0253]

醋丁洛尔	双氢可待因	异丙肾上腺素	纳美芬	普罗帕酮
沙丁胺醇	二氢麦角胺 (Dihyrdor-ergotamine)	苯氧丙酚胺	纳洛酮	丙氧芬
阿芬他尼	地尔硫卓	氯胺酮	纳曲酮	普萘洛尔
阿洛斯琼	地芬诺新	拉贝洛尔	那拉曲坦	普罗替林
阿米替林	丙吡胺	醋酸亮丙瑞林	奈法唑酮 (Nefazadone)	伪麻黄碱
苄胺哌替啶	多巴酚丁胺	左旋咪唑	硝苯地平	喹迪平
阿替洛尔	多拉司琼	利多卡因	去甲肾上腺素	奎尼丁
阿托品	杜尼匹次	赖诺普利	去甲替林	奎宁
氯雷他定	多巴胺	劳拉西泮	奥丹西隆	雷洛昔芬
巴氯芬	多沙普仑	Lovarphanol	邻甲苯海拉明	利血平
苯甲托品	多塞平	磺胺米隆	氧烯洛尔	金刚乙胺
Bextolol	多西拉敏	马普替林	奥昔布宁	利托君
比哌立登	氟哌利多	吗吲哚	羟可待酮	柔匹华卡因

溴莫尼定	依那普利	氯苯甲嗪	氢羟吗啡酮	东莨菪碱
溴隐亭	麻黄碱	苯丙氨酸氮芥	土霉素	司来吉兰
布比卡因	肾上腺素	哌替啶	帕洛诺司琼	索他洛尔
丁丙诺啡	二氢麦角碱 (Ergoloid)	甲哌卡因	环戊丁心安	舒芬太尼
丁萘芬	麦角胺	美索哒嗪	Pentazocrine	舒马曲坦
环丁羟吗喃	艾司唑仑	硫酸奥西那林	硫丙麦角林	他克林
咖啡因	非诺多泮 (Fenoldapam)	阿拉明	奋乃静	他莫昔芬
卡替洛尔	芬太尼	美他环素	非那吡啶	特布他林
头孢吡肟 (Cefepine)	甲美芳铵	美沙酮	苯双甲吗啉	四环素
头孢氨苄	氟卡尼	左美丙嗪	苯乙肼	硫乙哌丙嗪
氯普鲁卡因	氟西汀	去氧麻黄碱	酚苄明	甲硫哒嗪 (Thioidazine)
氯苯那敏	氟奋乃静	Methylclothiazide	苯丁胺	氨砜噻吨
氯奎宁 (Chlorquinine)	氟西泮	甲基多巴	酚妥拉明	妥卡胺
环丙沙星	福莫特罗	甲基麦角新碱	去氧肾上腺素	妥拉苏林
西酞普兰	格列吡嗪	哌甲酯	匹莫齐特	群多普利
氯米芬	氟哌啶醇	二甲基麦角碱	Pinolol	曲唑酮
可乐定	肼苯哒嗪	氯普胺	吡罗昔康	三氟拉嗪
可待因	二氢可待因酮	甲苯喹唑酮	哌唑嗪	氟丙嗪
胺苯环庚烯	氢吗啡酮	美托洛尔	伯胺喹	苯海索
去甲金霉素	羟氯喹	美西律	普罗卡因胺	异丁嗪
去甲丙咪嗪	羟喹	咪达唑仑	甲基苄肼	曲美苄胺
去氨加压素	莨菪碱	米诺环素	丙氯拉嗪	维拉帕米
右旋苯丙胺	丙咪嗪	莫雷西嗪	开马君	佐米曲坦
地西泮	吲达帕胺	吗啡	丙嗪	
安非拉酮	乙基异丙肾上腺素	莫西沙星	异丙嗪	

[0254]

[0255]

[0256] 本发明的适当的亲脂胺包括 log P 值大于约 1.0(即辛醇 / 水的分配系数大于 10)、更优选在生理 pH 值时为约 2- 约 5 的亲脂胺。本发明的实施方案的亲脂胺包括据报道 log P 值为 4.25 的芬太尼、log P 值为 2.37 的昂丹司琼、log P 值为 1.05 的舒马曲坦和 log P 值为 3.82 的丙氯拉嗪。

[0257] 用于本发明的酸是任意药学上可接受的酸。适当的酸包含有机酸和无机酸并包含那些保持生物有效性和药物性质而不是生物上或另外意义上不期望的酸。包含但不限于下列实例 :乙酸、抗坏血酸、天冬氨酸、安息香酸、丁酸、碳酸、己酸、柠檬酸、肉桂酸、癸酸、庚酸、富马酸、糠酸、葡糖酸、葡糖醛酸、谷氨酸、甘油酸、马尿酸、盐酸、乳酸、乳糖酸、扁桃酸、苹果酸、马来酸、甲磺酸、肉豆蔻酸、油酸、草酸、棕榈酸、特戊酸、吡啶羧酸、磷酸、丙酸、琥珀酸、水杨酸、硬脂酸、硫酸、酒石酸、十一烷酸和戊酸。

[0258] 用于递送药物成分的脂质体组合物优选具有患者生理上可以忍受的 pH 值。例如,对于吸入组合物而言,据报道肺部组织的 pH 值为 6.8-6.9。本发明的脂质体组合物的 pH 值典型地为约 pH 4- 约 pH 8。一个实施方案中,例如在一个组合物经高压灭菌的实施方案中,本发明的脂质体组合物的 pH 值为约 pH 4- 约 pH 7。在另一个组合物经高压灭菌的实施方案中,本发明的脂质体组合物的 pH 值为约 pH 5- 约 pH 6。尽管本发明的脂质体组合物可以在低于约 4 的 pH 值下相稳定,但这样的配方通常在化学上不稳定,并且在较低 pH 值下随时间尤其可发生磷脂的氧化和 / 或水解。

[0259] 本发明中,组合物的 pH 值小于或约等于亲脂胺活性成分的氨基的 pK_a 值。一个实施方案中,溶液的 pH 值比亲脂胺的氨基的 pK_a 值低 1-2 个 pH 单位。具有低于 pK_a 的 pH 值使得亲脂胺的大部分的氨基带正电荷。

[0260] 乙醇一般形成脂质体组合物的一部分,尤其是在通过常规方法使用乙醇制备脂质体时。另外的选择是可行的,但是限于那些不含不必要的毒性或已知吸入时没有刺激性的替代物。合适的替代物是符合这些要求的乙二醇和丙三醇。可存在于本发明的脂质体组合物中的乙醇含量可以是产生本发明的稳定脂质体组合物的任意含量。一个实施方案中,乙醇的浓度为脂质体组合物总体积的约 2.5% -10%。含有大于 10 体积%乙醇的组合物也在本发明的范围内,尽管当浓度接近或超过总体积的 15%、例如 20%时,开始危及所形成的脂质体粒子的质量。

[0261] 本发明的水介质可以是任何生理上可接受的水溶液例如不干扰衍生的脂质体组合物的缓冲液或水。一个实施方案中,缓冲液包含低离子强度缓冲液。对于缓冲液已经示出,应该使用足够低离子强度的缓冲液以便不影响所形成的脂质体充分包封药物的效率。优选的实施方案中,所述水溶液是水。

[0262] 一些情况下,在本发明的脂质体组合物中加入额外的赋形剂,例如抗氧化化合物,在一些实施方案中其至多约为磷脂的 1%或 2% (重量 / 重量),通常占组合物总体积的 0.01% -0.1%。可以加入本发明组合物的额外组分只包含那些不影响脂质体组合物的相稳定性,从而不损害组合物稳定性的成分。在优选的实施方案中,组合物基本上由包括酸的药物成分、磷脂、水溶液和任选的乙醇和固醇组成。

[0263] 脂质体组合物的制备

[0264] 本领域的技术人员将理解,本发明的脂质体悬浮液可以通过制备和调节脂质体尺寸的标准方法来制备。其包括脂类薄膜的水合、溶剂注射和反相蒸发。

[0265] 下列具体实施例中的脂质体组合物通过混合乙醇相和水相制备。乙醇相包含乙醇、药物成分、磷脂酰胆碱和胆固醇。药物成分选自由亲脂胺组成的药物。水相包含注射用水和由酸提供的胺的负的反离子。在药物成分是亲脂胺和酸的盐的情况下，水相包含注射用水。在一些实施方案中，所述酸包含疏水酸并可以将其加入随后与水相混合的乙醇相中。这可用于制备具有所需酸的亲脂胺的脂质体组合物，其中所述胺不可以其盐的形式得到。

[0266] 水相可以包含不影响相稳定性的额外量的酸。在混合之前将两相加热至温度约为56-60 摄氏度。对于体积少于 1 升的小规模制备而言，将两相混合并置于 75-80RPM 的环境振荡器上。形成脂质体泡囊并且混合物在 56-60 摄氏度下再振荡 10 分钟。随后将混合物移出振荡器并使其冷却约 2 小时至室温。对于脂质体组合物的较大规模制备而言，将乙醇加入装备有温度调控装置的反应器中的搅拌的水相中。将混合物在约 56-60℃下搅拌 10 分钟，随后经过两个小时的时间将其冷却至室温。稳定组合物的特征在于，它们在经过一周的贮存时保持均匀且不发生相分离。总而言之，已经发现各试剂可以混合在一起或以任何顺序加在一起，只要它们能够提供脂质体组合物。

[0267] 一些实施方案中，已经发现将乙醇相加入水相的速率影响所形成的脂质体的粒径分布，尤其是当不适于将水相加入乙醇相而制备较大体积批量的脂质体时。已经发现在一些实施方案中，当将乙醇加入水中的速率降低时脂质体的粒径减小。应该理解本发明的脂质体组合物包含各种粒径分布。

[0268] 使用不同的亲脂胺、酸或其盐已经制备出各种配方，如图 1 和 4 中所示，以说明本发明。

[0269] 使用该方法已经制备出各种批量生产规模，包括含有脂质体组合物的总体积为 30 毫升的一次生产量，以及如以下实施例 4 中所描述的 1、2.5、5 和 15 升的较大批量。已经发现以小和大体积制备的脂质体组合物都是适当随时间稳定的。对于以 1 升和 15 升的一次生产量制备的脂质体组合物的研究显示具有相当的化学和物理稳定性、脂质体颗粒的质量中值直径以及相当的活性成分的包封百分比。

[0270] 本发明的药物组合物可以以多种方式给药，包括通过肺部系统经吸入、局部、非肠道等给药。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。

[0271] 在此使用并如技术人员所理解的术语“非肠道的”（例如参见 Stedman’s MedicalDictionary，25th edition，1990(Williams&Wilkins)）是指包括除了经胃肠道以外的任何其它途径，具体是指通过静脉、皮下、肌肉或髓内注射将物质引入有机体中。药物组合物可以是无菌可注射制剂形式，例如，作为无菌可注射的水或油质悬浮液或经喷雾作用给药的吸入产品。如果配方是相稳定的，那么最终使用者可以使用例如顶端进样和底部进样的喷雾器的各种装置来独立定向使用所述配方。

[0272] 脂质体稳定性－物理和化学稳定性

[0273] 对于本发明的目的而言，“稳定的脂质体组合物”是指其中分散的脂质体基本保持它们的初始特征并在整个连续相中保持基本均匀的分布，以及并在所需的贮存期内显示最低程度的化学降解。

[0274] 本文使用的脂质体组合物的术语“物理稳定性”指的是脂质体特征不存在明显改变，例如经过贮存期的脂质体大小（表达为质量中值直径 d(0.5)）、组合物中包封的药物与游离药物的比率、沉淀、聚集或组合物的光散射性质。

[0275] 本文使用的术语“粒径分布”或“PSD”指的是通过本领域的技术人员熟知的动态光散射技术例如使用Malvern Mastersizer ™ 2000所测量的脂质体分散体中的粒径分布。报告脂质体组合物粒径分布的便利途径是报道指颗粒的质量中值直径和代表脂质体的中值粒径的 d(0.5) 值，即 50％的样品与较小脂质体有关，50％的样品与较大脂质体有关。本发明的脂质体的优选粒径范围小于约 10 微米，优选小于约 6 微米，或小于约 4 微米或小于约 2 微米。本领域的技术人员将理解，粒径的期望范围可以根据应用而改变。例如，处于 1-3 微米范围的 d(0.5) 值可以最大化处于脂质体可呼吸尺寸的脂质体百分比。

[0276] 各种配方的“包封百分比”或胶囊化比率或％ E 指的是包封在脂质体内的亲脂胺相对于组合物中亲脂胺的总量的百分率。本发明的脂质体中亲脂胺的包封百分率表达为并入脂质体中的药物成分的百分率。优选的包封范围是约 50％ -90％，更优选是约 60％ -80％，更优选是约 50％ -75％。本领域的技术人员将理解不同的包封百分比可以对不同的应用有利，尤其取决于期望的药物产品的最初开始时间和作用总时间。

[0277] 用以上方式制备的安慰剂脂质体不包含药物成分。所以，这些安慰剂脂质体只包含磷脂、胆固醇、乙醇、水以及在一些情况下包含盐。发现这些脂质体是不稳定的并在制备后的几小时到几天时间内发生相分离。

[0278] 如上制备但包含作为药物成分的亲脂胺药物的游离碱的脂质体在贮存时也不稳定。没有在组合物中加入药学上可接受的酸。在制备后的几天内注意到相分离。

[0279] 发现包含质子化形式的亲脂胺碱离子的游离碱和相应的酸反离子的脂质体提供稳定的脂质体制剂。具体而言，在一些实施方案中，发现酸：胺的摩尔比为约 10 ： 1-1 ： 10（摩尔 / 摩尔）有效改善脂质体的稳定性。更窄的约 3 ： 1-1 ： 3 的酸：胺的摩尔比也有效。另外，还发现这些脂质体对高压灭菌是稳定的。所制备的含有药物成分即亲脂胺和有机酸的盐的脂质体也表现出贮存稳定性和对高压灭菌的稳定性。

[0280] 在耗尽药物选择物的脂质体的条件下，包封药物产品的脂质体的渗析导致脂质体组合物发生相分离。在下表 1 中，将不同的脂质体组合物经过标出的时间周期渗析。含有作为水溶剂的水的本发明稳定脂质体组合物在渗析前后表现出基本相同的包封百分比。

[0281] 表 1

[0282]

脂质体 配方	渗析 介质	％ E 渗析前	％ E 渗析后 24 小时	渗析后外观
芬太尼和 枸木缘酸	注射用水	60％	60％	均匀的
芬太尼和 枸木缘酸	磷酸盐 缓冲液	60％	＜ 14％	沉淀
昂丹司琼 和 HCl	注射用水	60％	60％	均匀的

昂丹司琼和 HCl	磷酸盐缓冲液	60％	11％	沉淀

[0283] 惊人的是，对本发明的包封药物产品的脂质体的高压灭菌得到适当稳定和无菌的包封药物产品的脂质体。甚至更惊人的是，在一些情况下，观察到相对于高压灭菌前的稳定产品，稳定的包封药物产品的脂质体表现出增强的稳定性。同样地，在本发明的另一个方面中，提供提高脂质体组合物稳定性的方法，其中将本发明的脂质体组合物在惰性气氛下高压灭菌。即使这种组合物的应用没有要求无菌，例如局部使用的组合物，但是高压灭菌的步骤可以用于增强脂质体稳定性的方法中。

[0284] 适用于本发明的高压灭菌条件包括允许对包封药物产品的脂质体灭菌和不引起组合物的化学稳定性随时间出现实质性下降的条件。一个实施方案中，将包封药物产品的脂质体在例如氮气或氩气的惰性气氛下、于 121℃灭菌最少约 15 分钟。一个实施方案中，惰性气氛通常包含少于 1.5％的氧气。同样可以使用较高的温度与较短的时间。如果配方可以承受加热 / 冷却循环，那么最终灭菌代表制备无菌药物的一种稳定的、快速的和廉价的方法。

[0285] 已经使用不同的亲脂胺、有机酸或其盐来制备许多配方，如图 1 和 4 中所列，并测试它们的稳定性以进一步说明稳定组合物和制备本发明的稳定组合物的方法。

[0286] 本发明的特征在于，包封药物产品的脂质体构成均匀的分散体。一些组合物中，均匀的分散体具有半透明外观并且由于它们是均匀分散的，因而不需要在给药前振荡，尽管最终使用者倾向于对浑浊剂型采取这样的步骤。观察到稳定的组合物在延长的时间内是物理和化学稳定的，并不显示任何可见的聚集，一些实施方案中，甚至在 24 个月之后仍是如此。包封药物产品的不稳定脂质体在一段时间后表现出沉淀、分离和聚集。

[0287] 本发明中，稳定的脂质体组合物是相稳定的并且基本上不形成聚集体，优选在约至少一年内不形成聚集体，更优选地至少 18 个月或更长时间内，甚至更优选超过至少 24 个月，尽管时间可以根据要求长些或短些，但这具体取决于所递送的活性成分和递送的方式。

[0288] 脂质体组合物的相稳定性也可以通过如本文中实施例 3 所描述的方案来预测，该方案测量脂质体颗粒的 d(0.5) 值和离心时脂质体组合物的上清液中的减光度。进一步的细节在下面的实施例中列出。

[0289] 此外，本发明的包封药物产品的稳定脂质体的特征在于，在贮存期间粒径基本随时间保持一致，包括如本文所述以高压灭菌方式灭菌的包封药物产品的稳定脂质体。例如，下面的实施例 4 示出本发明的各种脂质体组合物的粒径分布在最高 20 个月的贮存时间内基本上保持不变，这证实了本发明的配方在贮存期间粒径基本稳定。进一步的细节在下面的实施例中列出。

[0290] 此外，本发明的包封药物产品的稳定脂质体的特征在于，在贮存期间活性成分的包封百分比随时间基本稳定，包括如本文所述以高压灭菌方式灭菌的包封药物产品的稳定脂质体。相对于高压灭菌前的活性成分包封百分比，虽然对本发明的一些组合物的高压灭菌显示影响了活性成分包封百分比，但是应该理解本文所讨论的包封百分比随时间的不同指的是还没有经过高压灭菌的、或在高压灭菌后的贮存时期内组合物的包封百分比随时间

的改变。还应该理解可用于本组合物中的游离药物对包封药物的期望百分比可根据活性成分的性质、所需剂量以及包封的和游离的药物对所期望的治疗效果的相对贡献而改变

[0291] 为了证实脂质体的物理稳定性，下面的实施例 4 显示了在惰性气氛下、经过最高 20 个月的时间，本发明的各种脂质体组合物中活性成分的包封百分比的稳定性。关于实施例 4 的进一步的细节在下面给出。

[0292] 此外，本发明的稳定脂质体组合物的特征在于，随时间基本化学稳定。本文使用的术语“化学稳定”指的是最终组合物中的亲脂胺、酸、磷脂、胆固醇或其它组分的化学结构不存在明显改变。对于活性成分，尤其是亲脂胺，化学稳定性限定为活性成分的效力的下降或变化小于约 5％、优选经过贮存期后下降小于约 2％。对于磷脂载体，化学稳定性限定为由于脂质体通过水解或氧化降解引起的磷脂含量的损失小于约 10％。

[0293] 一个实施方案中，发现本发明的脂质体组合物在 4℃、pH4、有一些氧气存在的条件下基本稳定至少一年。如下面实施例 4 描述的另一个实施方案中，发现本发明的脂质体组合物的磷脂酰胆碱的化学稳定性经最高 20 个月的时间而基本不变。关于实施例 4 的进一步的细节在下面给出。

[0294] 本发明的脂质体组合物的 pH 值通常在约 pH 4-- 约 pH 8 下具有相稳定性和化学稳定性。一个实施方案中，本发明的脂质体在约 pH 4-- 约 pH 7 下具有化学和相稳定性。另一个实施方案中，本发明的脂质体组合物在约 pH 4.5-- 约 pH 6.5 或约 pH 5-- 约 pH 6 下具有化学和相稳定性。尽管本发明的脂质体组合物可以在低于约 4 的 pH 值下相稳定，但是这种配方通常不是化学稳定的，其中磷脂的氧化和 / 或水解可以在这样低的 pH 值下随时间而发生。

[0295] 本发明的脂质体组合物包含亲脂胺，其具有带电的氨基作为赋予脂质体组合物稳定性的活性成分。已经观察到缺少带电的亲脂胺而制备的脂质体是不稳定的并快速沉淀。通常用于制备脂质体的磷脂包含磷脂酰胆碱。不希望受到任何特定理论的限制，以下提供有助于脂质体组合物的稳定或不稳定的相互作用和力的说明。在生理 pH 范围内，磷脂酰胆碱表现为具有静零电荷的中性分子。在生理 pH 下，磷脂酰基团的负电荷被胆碱基团的季胺氮的电荷所平衡。在脂质体内，磷脂酰胆碱分子通常以并列的方式排列，以使一个分子的带正电的胆碱基团与临近的脂类分子的磷脂酰基团发生静电相互反应。这样的脂质体制剂的净电荷为零（如 zeta 电势测量所反映）。脂质体中包含不带电的药物不改变脂质体的净电荷。含亲脂胺药物的脂质体的稳定化通过选择脂质体组合物的 pH 值使得 pH 值约等于或小于亲脂胺的 pK_a 值从而赋予亲脂胺以增加的正电荷而实现。因此带正电的亲脂胺可以插入脂质体结构的磷脂双分子层内，其方式为更紧密地排列正电荷的胺和带负电的磷脂酰基团，并可以破坏脂质体表面上的电荷平衡从而在生理 pH 下产生净正电性的脂质体。相信在小于亲脂胺的 pK_a 的 pH 下，通过在表面提供带电的脂质体可以增强药物作为脂质体配方自身的稳定剂的作用。因而，带电的脂质体可以彼此排斥从而提供对聚集的抵抗性。这同样可以解释不能制备不包含亲脂胺及其盐和药学上可接受的酸的稳定安慰剂脂质体组合物。此外，这同样可以解释不能制备含有主要以不带电的中性分子存在的亲脂胺的稳定脂质体。

[0296] 因此，本发明中，本发明的脂质体组合物的 pH 值约等于或小于亲脂胺活性成分的氨基的 pK_a 值。

[0297] 以上讨论的和用在本发明的关于稳定性的各种范围应理解为是近似的并作为准

则，本领域的技术人员应该理解包含其任意变体，只要所得组合物如本文所限定是稳定的即可。

[0298] 通过下面的实施例进一步举例说明本发明的优点。此处列出的实施例和它们的具体细节只举例说明，不应构成对本发明权利要求的限制。

[0299] 实施例

[0300] 实施例 1- 脂质体的制备

[0301] 每一测试批次的脂质体制剂用 1.2 克净化的大豆磷脂、溶解在 3gm 乙醇中的 0.12 克胆固醇并加热至 56 摄氏度来制备。一些制剂中，乙醇相还包含亲脂胺或亲脂胺的盐（图 1），其量为提供最终配方的目标浓度。全部组分溶解在乙醇相中之后，将乙醇溶液与 27 克加热至 56 摄氏度的水溶液混合。水相任选包含图 1 所示的各种酸或盐。两液相混合之后，将混合物在 56 摄氏度下在回转式振荡器上振荡 10 分钟，随后逐步冷却到环境温度。使用显微镜证实多层脂质体的存在。选出的脂质体制剂在 121 摄氏度下高压灭菌 15 分钟。

[0302] 实施例 2- 储存上的相稳定性

[0303] 本发明的脂质体制剂的相稳定性提供药学上有用的脂质体。如实施例 1 提到的制剂的相稳定性通过肉眼观察沉淀或集聚的形成而监控。未充分相稳定的脂质体组合物通常非常快地表现出沉淀，经常是过夜之后就出现沉淀，而其它地脂质体组合物甚至经过一年的贮存都没有沉淀的迹象。图 2a 示出相稳定脂质体的可视外观的实例，同时图 2b 中的相不稳定制剂的可视外观的实例示出明显的沉淀和相分离。

[0304] 参考图 1，没有药物成分的安慰剂脂质体组合物通常是相不稳定和快速沉淀的。超过 pH4-7 的范围时，图 1 的未经高压灭菌的安慰剂脂质体是不稳定的（图 3a）。A 表现为相稳定的安慰剂脂质体制剂通常与极限 pH 有关，亦即小于 pH3 和大于 pH8，这时化学稳定性通常受损。

[0305] 再次参考图 1，发现加入亲脂胺的盐具有对脂质体组合物的稳定作用。相反，只包含亲脂胺芬太尼（无酸反离子）的脂质体制剂是不稳定的。然而，当配方中酸的比率增加时，制剂的相稳定性增加。亲脂胺的稳定作用与适当的酸浓度结合，提供高压灭菌前在 pH 小于约 7 时相稳定的脂质体制剂，如图 3b 所示。与安慰剂配方相反，包含亲脂胺的脂质体制剂在超过约 pH 4- 约 pH 6 范围时是相稳定的，除了包含氯化钠的制剂。

[0306] 实施例 3- 各种包封药物组合物的脂质体的稳定性，包括高压灭菌的组合物。

[0307] 制药工业中，无菌配方可以被“最终灭菌”，即在装入单独的小瓶之后将它们高压灭菌。本发明的包封药物产品的经高压最终灭菌脂质体可以提供适合用于制药工业的单独包装的稳定和无菌的脂质体组合物。

[0308] 如以上所给出的，涉及脂质体高压灭菌的各种现有技术参考证明本领域的技术人员所广泛持有的观点，即脂质体、尤其是基于磷脂酰胆碱的脂质体对高压灭菌的苛刻条件是脆弱和不稳定的，从而引起脂质体的团聚、脂质体尺寸和尺寸分布的改变、脂类的水解 / 氧化、化学降解和不期望的包封药物的释放（例如，参见 WO2004/002468）。如本文所述，本发明的脂质体组合物的实施方案不仅能承受高压灭菌，而且在高压灭菌后显示出增强的相稳定性。此外，在高压灭菌前后都测量下列涉及本发明的脂质体组合物的稳定性的参数，以便进一步证明高压灭菌对本发明组合物的稳定作用 :pH、粒径分布、脂类水解、脂类氧化和相稳定性。以下逐个讨论这些参数。

[0309] 使用各种作为碱加入的亲脂胺与变化量的不同酸结合制备脂质体制剂。每一测试批次的脂质体制剂用 1.2 克净化的大豆磷脂、0.12 克胆固醇和溶解在 3gm 乙醇中的亲脂胺的碱并加热至 56 摄氏度制备。将任选包含各种酸或盐的 27gm 注射用水的水相加热至 56 摄氏度。在测试酸是棕榈酸的配方中，将该酸溶解在乙醇相中，同时将所有其它酸溶解在水相中。全部组分溶解在乙醇相之后，将乙醇溶液加入水相，在 56 摄氏度下使混合物在回转式振荡器上振荡 10 分钟，随后逐步冷却到环境温度。使用显微镜证实多层脂质体的存在。将每一脂质体制剂的样品转移到密封的玻璃小瓶中并在 121 摄氏度下高压灭菌 20 分钟。

[0310] 在高压灭菌前和高压灭菌后测量脂质体组合物的各种参数以表征组合物的物理稳定性和化学稳定性。

[0311] 图 4 提供了高压灭菌前后的脂质体制剂、pH、颗粒大小和高压灭菌前后的相稳定性指数的小结。

[0312] 对于 pH 的稳定性：高压灭菌的脂质体有关的是磷脂或药物成分的化学降解的潜力。配方中的化学降解经常有 pH 变化反映出来。如图 5 所示，高压灭菌后的本发明的脂质体组合物的 pH- 高压灭菌前的 pH 之间的关系通常可以通过等式 pH（后）＝ pH（前）来描述，表示对于初始 pH 小于 7 的配方没有 pH 变化。高压灭菌前具有弱碱性的脂质体制剂，尤其是 pH ＞ 8 的配方在高压灭菌后具有较低的 pH 并且图上的点偏离了期望的线性关系。较高 pH 值下的高压灭菌配方似乎引起配方中组分的化学降解。

[0313] 高压灭菌对磷脂酰胆碱含量的影响：与高压灭菌的脂质体有关的是酯基磷脂例如磷脂酰胆碱的水解的潜力。确定高压灭菌前后本发明的 12 种配方的磷脂酰胆碱浓度。确定高压灭菌前后本发明的 12 种不同脂质体配方的磷脂酰胆碱浓度。磷脂酰胆碱及其相关水解产物溶血磷脂胆碱的测试是通过正常相 HPLC 使用具有蒸发光散射检测器的硅 - 二醇柱测试，和以 1.5-2mL/min 的流速经过 15 分钟形成的从洗脱液 A(n- 己烷： 2- 丙醇：乙酸：三乙胺为 81.4 ： 17 ： 1.5 ： 0.8) 至洗脱液 B(2- 丙醇：水：乙酸：三乙胺为 84.4 ： 14 ： 1.5 ： 0.08) 的梯度来进行的。

[0314] 选择图 4 的 12 种配方以覆盖图 4 的配方的全部 pH 值范围。尽管如图 6 所示在 pH 值小于 4 或 pH 值大于 10 的情况下可存在明显的水解，但是 pH4-pH9，更优选 pH4-pH7 的本发明的脂质体制剂可以进行高压灭菌而没有明显的磷脂损失，通常磷脂损失小于 10％，更优选损失小于 5％。

[0315] 高压灭菌对脂类氧化的影响：高压灭菌期间通过在惰性气氛下制备和填充配方来最小化脂类的氧化。下表 2 概括了包含作为药物成分的芬太尼：柠檬酸 (1 ： 1) 的脂质体组合物在高压灭菌后脂类氧化的变化。通过比色分析法测试脂类成分的氧化。所有包含脂类的样品和标准物与氧化铁二甲酚橙 (FOX) 试剂反应并在 562nm 下测量。通过与三苯基磷反应制备空白试样，在 562nm 下测量并从样品的吸光率读数中减去。比较异丙基苯过氧化氢的标准曲线进行定量。观察到在高压灭菌期间排除氧气可以防止氧化。

[0316] 表 2

[0317]

填充条件	高压灭菌后氧化的脂类含量的增长%
氩气	0%
氮气	0%
氧气	340%
空气	155%

[0318] 高压灭菌对相稳定性指数的影响：本发明的脂质体组合物的相稳定性提供药学上有用的脂质体组合物。不充分相稳定的脂质体组合物通常显示出如图 2b 所示类型的沉淀，该沉淀出现得非常快，经常是过夜后就出现，而其它脂质体组合物只是在贮存数周后才出现沉淀。一些实施方案中药物产品在特定的储存条件下的期望贮存期限是两年或更长。例如，一个实施方案中，包含柠檬酸芬太尼作为活性成分 / 有机酸的本发明的脂质体组合物显示产品在 4 摄氏度下保持相稳定性超过两年。

[0319] 在新药物选择物的配方研发期间，在几个月或几年的时间内实时监控稳定性来评估相稳定性是不切实际的。因此，我们已经发展了使用离心来提供预测脂质体组合物长期相稳定性分析工具的方法。

[0320] 该分析中，如本文所述和图 4 总结的那样制备脂质体组合物。在脂质体在注射用水中稀释成分散体之后，通过光散射方法利用 Malvern Mastersizer 2000 测定脂质体的粒径分布。提取脂质体制剂的样品并使用 Malvern Mastersizer 测量粒径分布。记录脂质体组合物的质量中值直径 (d(0.5))。将各个脂质体制剂的 3ml 等分试样在 2,292g 和 4℃下离心 2 小时。离心之后，从离心的样品的上层提取样品的等分试样并使用 Malvern Mastersizer 测量粒径分布。记录上清液上层的质量平均直径。

[0321] 图 8a-8c 示出了通过本方案测试的脂质体组合物的实例。当样品相不稳定时，离心在离心管底部形成固体颗粒和清澈的上清液，图 8a。当用 Malvern Mastersizer 测量时，在上清液中基本没有检测到颗粒，正如通过基本为零的减光度值所证实的。本领域的技术人员熟知减光度是确定脂质体体积量的适当检验方法。当样品相稳定时，离心后没有可见的颗粒并且样品在离心管中保持为均匀分散体。当用 MalvernMastersizer 测量时，减光度值证实上清液中存在大量脂质体，并且脂质体的质量中值直径通常是初始配方中记录值的 60% -100%。

[0322] 使用 d(0.5) 值作为粒径分布一致性的标志物，我们以下面的等式来定义相稳定性指数 (PS 指数)

[0323] 相稳定性指数＝离心后 d(0.5)/ 离心前 d(0.5)

[0324] 当样品如本文所定义的那样是相稳定的，那么离心之后没有可见的颗粒并且脂质体表现为在整个液相中保持均匀分布，图 8c，PS 指数约大于约 0.6。

[0325] 如果样品具有中间的相稳定性，那么离心后肉眼观察注意到如图 8b 中的浓度梯度或部分颗粒，通常 PS 指数大于或等于 0.1 但约小于或等于 0.6。为了进一步举例说明具

有中间的相稳定性的组合物，图 9 示出了中间的相稳定性的脂质体组合物的照片。离心后，一些脂质体已经沉淀并可见到颗粒。上清液不清澈，在悬浮液中保留了一些脂质体。该图片是在背光下拍摄的以便能够看见颗粒和上清液之间的分界线。

[0326] 使用此方法在组合物高压灭菌前和高压灭菌后测量各种脂质体组合物的 PS 指数，图 4 中总结了数据。

[0327] 总的来说，只包含药物的游离碱的配方在高压灭菌前后通常是相不稳定的。唯一的例外是包含舒马曲坦的配方。然而，舒马曲坦在最终配方的 pH 下携带电荷而所有其它分子在最终配方的 pH 下不带电或只部分带电。

[0328] 总之，脂质体配方的高压灭菌增加了以 PS 指数大于 0.6 为特征的脂质体配方的数量，如下表 3 所总结的：

[0329] 表 3

[0330]

相稳定性 (PS) 指数	高压灭菌前的配方％	高压灭菌后的配方％
PS Index ＜ 0.1	51％	25％
0.1 ≤ PSIndex ≤ 0.6	23％	13％
PSIndex ＞ 0.6	26％	62％

[0331] 高压灭菌前，51％的配方通常具有差的相稳定性或无相稳定性，仅有 26％的配方具有极好的相稳定性。高压灭菌后，相稳定性脂质体制剂的数量急剧增加至所有制剂的 62％以上。

[0332] 通过加入适当量的酸，可以将制剂的 pH 值滴定到低于 pK_a 值的范围，以便使增多的亲脂胺的氨基被质子化。在 PH 值为约 4- 约 7 的范围以及在高压灭菌步骤之后，脂质体显示出显著的相稳定性。图 10 和图 11 比较了高压灭菌前后包含图 4 中作为亲脂胺的芬太尼的脂质体制剂的相稳定性指数。图 10 中，图表示出高压灭菌前配方在离心过程中易于沉淀，正如低的 PS 指数所表现的。相反，高压灭菌后，所有 pH 值低于芬太尼的 pK_a 值 (pKa ＝ 7.3) 的配方是相稳定的。

[0333] 参考图 12 和图 13，这些图表比较了高压灭菌前后包含图 4 中作为亲脂胺的昂丹司琼 (pKa ＝ 7.4) 的脂质体制剂的相稳定性指数。对于含昂丹司琼的组合物，数据比含芬太尼的组合物更分散，这似乎源自两个主要配方类别，包含棕榈酸的和包含高昂丹司琼浓度的配方。包含棕榈酸的配方表现得不太好因为趋向于形成粘性的混合物并且脂质体含量不太均匀。在高昂丹司琼浓度 (2.4mM) 时观察到药物的可见结晶。当除去配方的这两个亚类时，昂丹司琼配方的趋势与芬太尼一致，也就是说高压灭菌之后，pH 值低于亲脂胺的 pK_a 值的配方是相稳定的，图 14 和 15。

[0334] 参考图 16 和图 17，涉及包含图 4 的舒马曲坦的组合物，只有含游离碱的配方在最初制剂是相稳定的。如对其它药物，滴定配方至较低 pH 值赋予大多数配方以高压灭菌后的相稳定性。所需的 pH 值对于舒马曲坦较低。重要的是，由于舒马曲坦是亲脂胺，在其结构中也存在磺胺基团，因此具有多重可离子化基团和相应的 pK_a 值并具有最低的辛醇水分配

系数 (LogP = 1.05)。

[0335] 参考图 18 和图 19，涉及包含图 4 的丙氯拉嗪的组合物，发现配方在高压灭菌前后都是相稳定的。高压灭菌只对较高 pH 值的配方有负面影响，没有不同于含其它药物的配方。丙氯拉嗪具有 8.1 的较高 pKa 值，该值高于昂丹司琼或芬太尼。许多用昂丹司琼制备的配方低于 pKa 至少 2 个 pH 单位。

[0336] 脂质体的粒径：现有技术认为高压灭菌后脂质体的尺寸应该明显改变。脂质体的粒径分布通过使脂质体在分散剂注射用水中稀释后使用 Malvern Mastersizer 2000 的光散射方法测量。使用 PS 指数＞ 0.6 的高压灭菌后的制剂，我们研究的结果显示，测量离心之前的自生制剂和高压灭菌的制剂，测量的脂质体的 d(0.5) 在高压灭菌后部分增加，大部分配方脂质体尺寸的增加少于 33％。脂质体尺寸的较大变化发生在如图 7 中的 pH 值低于 pH 4 或高于 pH 7 的配方中。如以上所讨论的，优选配方的 pH 范围为约 4-7，优选为 5-6，以优化全部配方的物理和化学稳定性。

[0337] 实施例 4- 贮存稳定性

[0338] 通过混合乙醇相和水相，以各种批量规格制备包含游离芬太尼与脂质体包封芬太尼的混合物的制剂。乙醇相包含乙醇、柠檬酸芬太尼、磷脂酰胆碱和胆固醇。水相包含注射用水。混合之前，将两相加热至约 56-60 摄氏度的温度。混合两相并在 56-60 摄氏度下进一步搅拌混合物 10 分钟。随后将混合物经过约 2 小时冷却至室温。通常，每 ml 最终水配方在注射用水溶液中包含 500mcg 芬太尼（同 800mcg 柠檬酸芬太尼）、40mg 磷脂酰胆碱和 100mg 乙醇。填充之后，将制剂高压灭菌以最终灭菌（存在一些空气）。最终制剂包含 30-40％芬太尼作为游离药物和在包封部分中的剩余物 (70-60％)。

[0339] 表 4

[0340]

一次生产量	4℃下终止储存时间	粒径 d (0.5) (微米)		包封百分比		磷脂酰胆碱 (mg/ml)	
		T = 0	终止时间	T =0	终止时间	T=0	终止时间
1升	13个月	5.7	5.7	-	-	-	-
2.5升	20个月	6.4	6.3	66.6	64.9	33.5	32.8
15升	12个月	6.1	6.3	63.9	65.5	33.6	34.8

[0341] 水脂质体制剂贮存在 4 摄氏度下并监控粒径分布的稳定性和药物包封的变化。脂质体的粒径分布通过使用 Malvern Mastersizer 2000 的光散射方法得出，脂质体在分散剂、过滤的冲洗用水中稀释后。脂质体内药物的包封百分比通过在高离心力 (gmax277816)、4℃下将脂质体离心 2 小时来测试。对非常相稳定的配方，需要极端条件以产生适当的球丸。通过反相 HPLC 使用带 UV 检测器的 C8 柱和 40/40/20 乙酸铵缓冲液 / 甲醇 / 乙腈的缓冲液分析药物的上清液和球丸。也注入净样品来计算质量平衡。包封百分比通过下面的等式计算：

[0342]

$$\%E=\frac{C(\text{丸})}{C(\text{丸})+C(\text{上清液})}\times 100\%$$

[0343] 其中C(丸)是丸中药物的浓度和C(上清液)是上清液中药物的浓度。

[0344] 没有观察到粒径分布、包封百分比或磷脂酰胆碱含量有明显变化。通过肉眼观察制剂是相稳定的，对于来自15升批量的样品在贮存19个月后粒径指数是0.72。

[0345] 尽管在此描述了本发明的实施方案，但是本领域的技术人员将理解可以对其进行各种变化，而不背离本发明的精神或所附的权利要求范围。本领域的技术人员也将理解本发明的不同实施方案的要素可以以任何合理的方式组合。

配方	药物	药物 mM	酸	酸 μM	盐	盐 mM	pH	高压灭菌后的相稳定性	高压灭菌后的相稳定性
P01	-	-	-	-	-	-	4.6	分离	
P02	-	-	柠檬酸	0.1	-	-	4.1	分离	
P03	-	-	柠檬酸	0.5	-	-	3.6	稳定	分离
P04	-	-	马来酸	1.5	-	-	3.0	稳定	稳定
P04	-	-	磷酸	0.1	-	-	4.1	分离	
P06	-	-	磷酸	0.5	-	-	3.6	稳定	
P07	-	-	柠檬酸	1.5	-	-	3.2	稳定	分离
P08	-	-	-	-	苹果酸单钠	1.5	4.6	分离	
P09	-	-	-	-	磷酸钠	1.5	4.7	分离	
P10	-	-	-	-	酒石酸钠	1.5	5.7	分离	
P11	-	-	-	-	醋酸钠	1.5	6.2	分离	
P12	-	-	-	-	碳酸氢钠	1.5	7.6	稳定	
P13	-	-	-	-	氯化钠	150	5.5	分离	
P14	-	-	-	-	柠檬酸钠	1.5	7.3	分离	
P15	-	-	-	-	磷酸钠	1.5	9.6	稳定	
P16	-	-	-	-	焦磷酸钠	1.5	9.2	稳定	
P17	-	-	-	-	酒石酸钠	1.5	5.7	分离	
P18	芬太尼	1.5	-	-	-	-	7.9	分离	分离
P19	芬太尼	1.5	柠檬酸	0.1	-	-	7.5	分离	分离
P20	芬太尼	1.5	柠檬酸	0.5	-	-	6.5	分离	分离
P21	芬太尼	1.5	柠檬酸	1.5	-	-	4.2	稳定	稳定
P22	芬太尼	3	柠檬酸	3	-	-	4.1	稳定	稳定
P23	芬太尼	4.5	柠檬酸	4.5	-	-	4.0	稳定	稳定
P24	芬太尼	1.5	柠檬酸	1	-	-	4.6	稳定	稳定
P25	芬太尼	1.5	柠檬酸	2	-	-	3.7	稳定	稳定
P26	昂丹司琼	1.5	盐酸	1.5	-	-	4.3	稳定	
P27	芬太尼	1.5	马来酸	0.1	-	-	7.6	分离	分离
P28	芬太尼	1.5	马来酸	0.5	-	-	7.0	分离	分离
P29	芬太尼	1.5	马来酸	1	-	-	6.3	稳定	稳定
P30	芬太尼	1.5	马来酸	1.5	-	-	5.1	稳定	稳定
P31	芬太尼	1.5	马来酸	2	-	-	3.4	稳定	稳定
P32	丙氯拉嗪	1.5	马来酸	3	-	-	3.4	稳定	
P33	氢化麦角胺	1.5	甲基磺酸	1.5	-	-	4.0	稳定	
P34	多西拉敏	1.5	琥珀酸	1.5	-	-	5.0	稳定	
P35	舒马曲坦	1.5	琥珀酸	1.5	-	-	5.0	稳定	
P36	芬太尼	1.5	柠檬酸	1.5	苹果酸单钠	1.5	4.1	稳定	
P37	芬太尼	1.5	柠檬酸	1.5	酒石酸钠	1.5	4.6	稳定	
P38	芬太尼	1.5	柠檬酸	1.5	醋酸钠	1.5	6.0	稳定	
P39	芬太尼	1.5	柠檬酸	1.5	醋酸钠	75	6.1	稳定	
P40	芬太尼	1.5	柠檬酸	1.5	氯化钠	75	6.8	分离	
P41	芬太尼	1.5	柠檬酸	1.5	氯化钠	150	5.5	分离	
P42	芬太尼	1.5	柠檬酸	1.5	柠檬酸钠	1.5	3.9	稳定	
P43	芬太尼	1.5	柠檬酸	1.5	柠檬酸钠	75	3.9	稳定	
P44	芬太尼	1.5	柠檬酸	1.5	酒石酸钠	1.5	4.5	稳定	

图 1

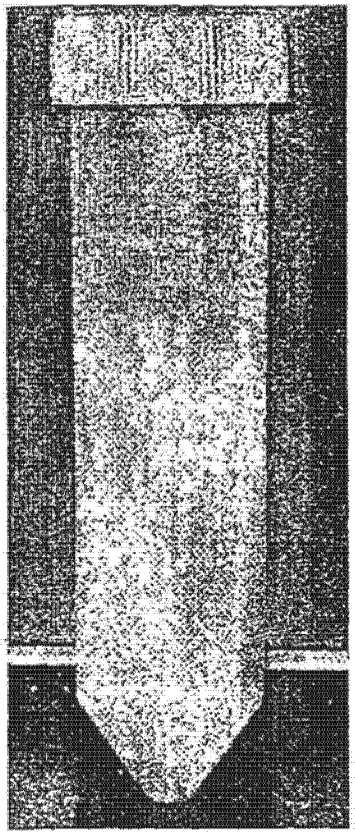


图2a

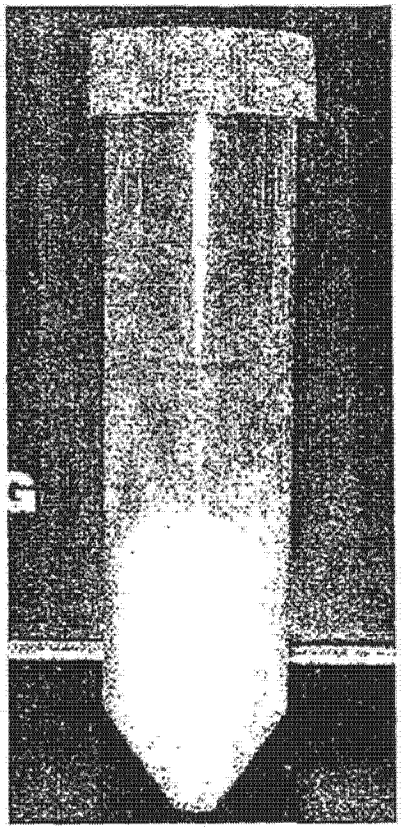


图2b

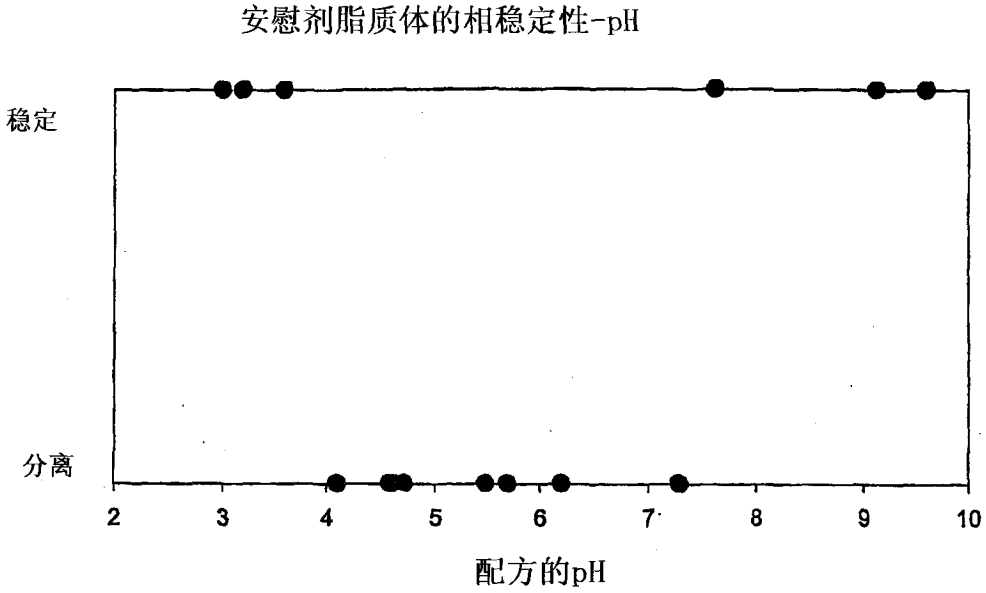


图 3a

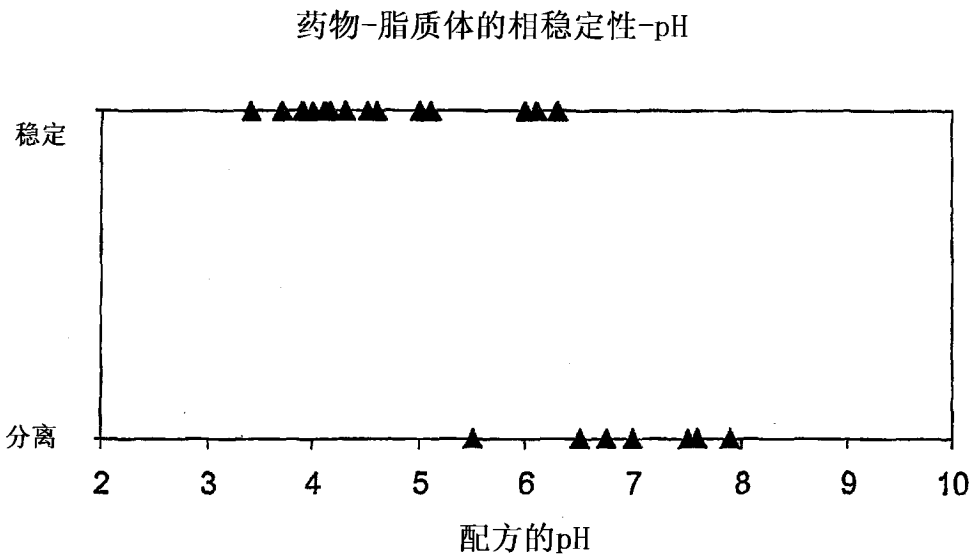


图 3b

编号	药物	药物 mM	酸	酸 mM	pH	高压灭菌前d(0.50)(微米)	高压灭菌后d(0.50)(微米)	高压灭菌前的相稳定性指数	高压灭菌后的相稳定性指数
B01	芬太尼	1.5	-	-	8.00	3.18	4.59	0.00	0.00
B02	昂丹司琼	1.5	-	-	7.40	3.21	0.00	0.00	0.00
B03	昂丹司琼	2.4	-	-	7.60	3.24	4.32	0.05	0.00
B04	舒马曲坦	1.5	-	-	9.50	3.52	4.85	0.95	0.99
B05	丙氯拉嗪	1.5	-	-	7.80	9.18	0.00	0.99	0.00
B06	昂丹司琼	2.4	棕榈酸	0.2	7.20	10.31	10.14	0.00	0.00
B07	昂丹司琼	2.4	琥珀酸	2.4	4.90	3.96	4.65	0.00	0.05
B08	昂丹司琼	2.4	琥珀酸	0.2	6.50	3.77	4.60	0.00	0.50
B09	昂丹司琼	1.5	琥珀酸	0.75	5.60	3.89	4.77	0.04	0.76
B10	昂丹司琼	1.5	磷酸钠	15.0	11.50	6.09	6.10	0.04	0.06
B11	芬太尼	1.5	乙酸	0.75	6.10	3.93	4.89	0.04	0.89
B12	昂丹司琼	1.5	琥珀酸	1.5	5.00	3.85	4.66	0.04	0.83
B13	昂丹司琼	2.4	琥珀酸	24.0	3.40	4.49	5.62	0.04	0.90
B14	舒马曲坦	1.5	磷酸	1.5	3.80	3.84	4.88	0.04	0.55
B15	昂丹司琼	2.4	苹果酸	0.2	6.70	3.60	4.65	0.04	0.05
B16	舒马曲坦	1.5	柠檬酸	1.0	4.50	3.56	4.55	0.04	0.41
B17	舒马曲坦	1.5	苹果酸	1.0	5.90	3.47	4.86	0.05	0.06
B18	舒马曲坦	1.5	柠檬酸	0.75	5.10	3.19	4.23	0.05	0.05
B19	舒马曲坦	1.5	苹果酸	1.5	3.90	3.92	5.25	0.05	0.91
B20	昂丹司琼	1.5	磷酸	0.75	6.20	3.53	4.10	0.05	0.70
B21	芬太尼	1.5	柠檬酸	0.2	7.50	3.41	4.36	0.06	0.00
B22	昂丹司琼	2.4	柠檬酸	0.2	6.70	3.33	4.25	0.06	0.08
B23	舒马曲坦	1.5	柠檬酸	1.5	4.00	3.33	5.07	0.06	0.80
B24	舒马曲坦	1.5	琥珀酸	0.75	5.70	3.50	4.60	0.06	0.23
B25	昂丹司琼	1.5	磷酸	1.5	3.90	3.55	4.37	0.06	0.98
B26	芬太尼	1.5	乙酸	1.5	5.40	3.86	4.75	0.06	0.96
B27	昂丹司琼	1.5	磷酸钠	1.5	10.60	4.05	5.11	0.06	0.16
B28	昂丹司琼	1.5	苹果酸	0.75	6.20	3.84	4.80	0.07	0.90
B29	昂丹司琼	2.4	苹果酸	2.4	5.40	3.80	4.55	0.08	0.29
B30	芬太尼	1.5	磷酸	0.75	6.70	3.56	4.51	0.08	0.94
B31	昂丹司琼	1.5	磷酸钠	0.2	8.80	3.56	4.82	0.10	0.80
B32	舒马曲坦	1.5	苹果酸	0.75	8.10	3.15	0.00	0.11	0.00
B33	昂丹司琼	2.4	柠檬酸	24.0	2.70	4.33	5.87	0.13	0.99
B34	昂丹司琼	1.5	柠檬酸	1.0	4.30	3.48	4.61	0.13	0.82
B35	昂丹司琼	2.4	柠檬酸	2.4	3.90	3.59	4.61	0.13	0.52
B36	芬太尼	1.5	磷酸	1.5	4.30	3.42	4.62	0.13	0.97
B37	芬太尼	1.5	柠檬酸	15.0	2.80	4.22	5.22	0.14	0.92
B38	昂丹司琼	2.4	HCl	2.4	3.60	3.58	4.70	0.15	0.84
B39	昂丹司琼	1.5	苹果酸	1.0	5.50	3.84	4.64	0.15	0.96
B40	舒马曲坦	1.5	琥珀酸	1.5	4.70	3.84	4.99	0.15	0.69
B41	昂丹司琼	2.4	HCl	0.2	6.50	3.57	4.52	0.16	0.92
B47	昂丹司琼	1.5	柠檬酸	1.5	4.00	3.67	4.95	0.17	0.94
B48	芬太尼	1.5	柠檬酸	1.0	4.80	3.48	4.68	0.18	0.63
B49	芬太尼	1.5	柠檬酸	1.5	4.00	3.60	5.05	0.22	0.91
B50	舒马曲坦	1.5	磷酸	0.75	7.10	3.39	0.00	0.26	0.00
B60	昂丹司琼	1.5	柠檬酸	0.75	5.20	3.23	4.17	0.29	0.72
B61	昂丹司琼	1.5	苹果酸	1.5	3.90	3.60	3.73	0.36	0.98
B62	昂丹司琼	2.4	苹果酸	24.0	2.00	5.00	7.19	0.65	0.98
B63	丙氯拉嗪	1.5	柠檬酸	0.75	4.80	5.37	5.19	0.88	0.99
B64	昂丹司琼	2.4	棕榈酸	2.4	7.10	3.96	5.70	0.77	0.87
B65	昂丹司琼	2.4	HCl	24.0	1.80	5.47	0.00	0.83	0.00
B66	丙氯拉嗪	1.5	琥珀酸	1.5	4.60	4.77	6.17	0.86	0.87
B67	丙氯拉嗪	1.5	苹果酸	0.75	5.90	3.44	28.70	0.96	0.20
B68	丙氯拉嗪	1.5	柠檬酸	1.0	4.10	4.19	5.97	0.98	0.96
B69	丙氯拉嗪	1.5	磷酸	0.75	5.70	3.51	6.71	0.98	0.76
B70	丙氯拉嗪	1.5	柠檬酸	1.5	3.90	3.84	6.70	1.01	0.85
B71	丙氯拉嗪	1.5	琥珀酸	0.75	5.50	4.01	6.16	1.02	0.96
B72	丙氯拉嗪	1.5	苹果酸	1.0	5.00	3.24	5.30	1.05	0.91
B73	昂丹司琼	2.4	棕榈酸	24.0	6.30	8.71	10.26	1.16	1.17
B74	丙氯拉嗪	1.5	苹果酸	1.5	4.20	3.26	5.39	1.34	0.86
B75	丙氯拉嗪	1.5	磷酸	1.5	4.20	4.00	8.11	1.88	0.75

图 4

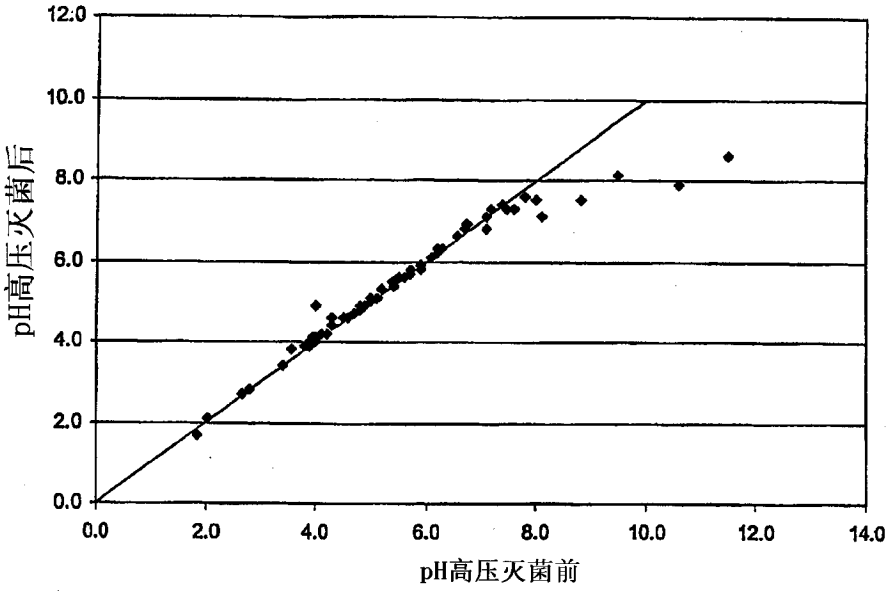

12.0
10.0
8.0
6.0
4.0
2.0
0.0
pH高压灭菌后
0.0
2.0
4.0
6.0
8.0
10.0
12.0
14.0
pH高压灭菌前

图 5

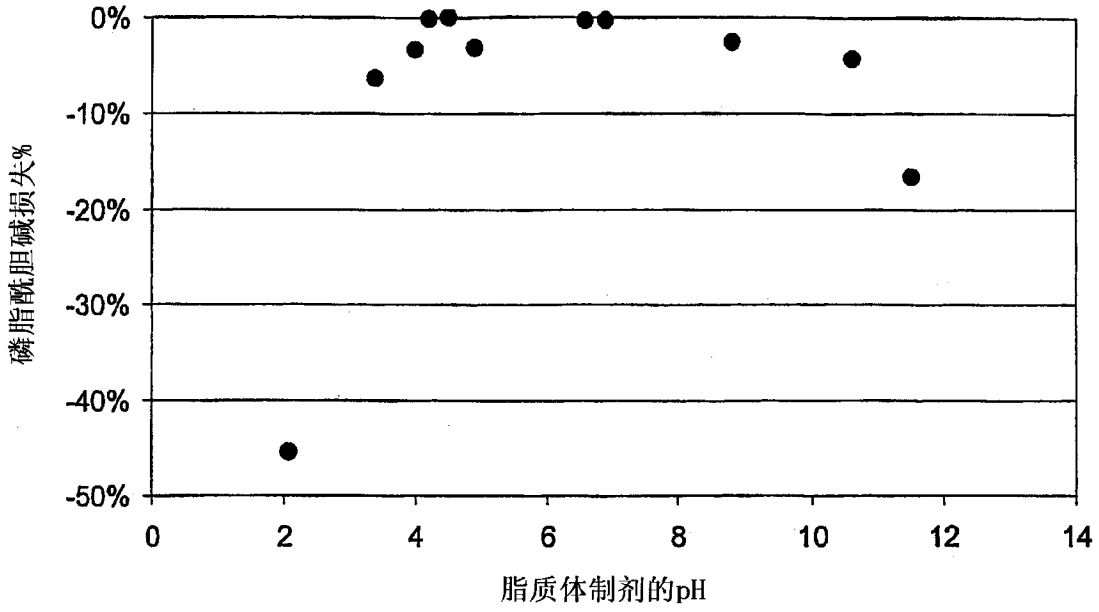

0%
-10%
-20%
-30%
-40%
-50%
磷脂酰胆碱损失%
0
2
4
6
8
10
12
14
脂质体制剂的pH

图 6

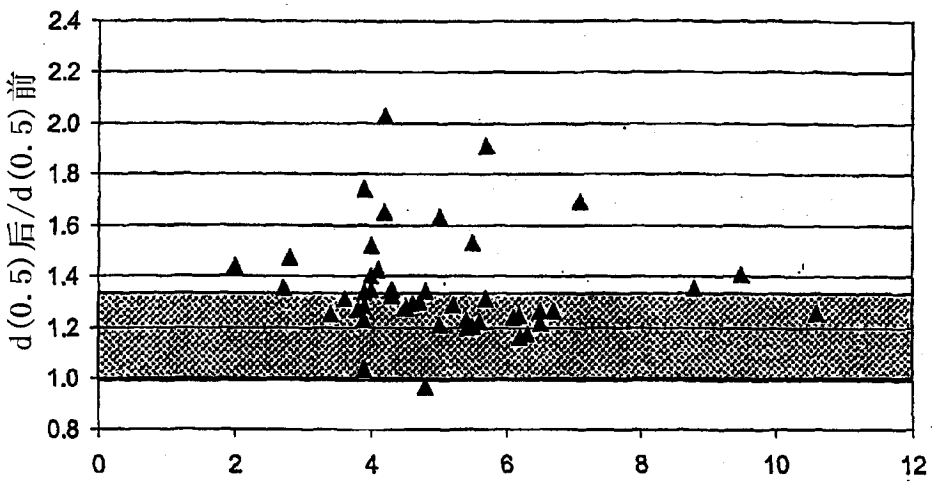


图 7

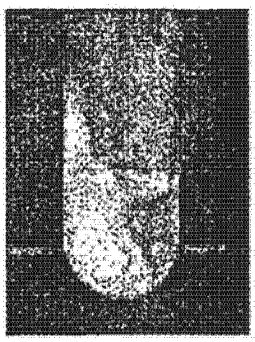


图8a

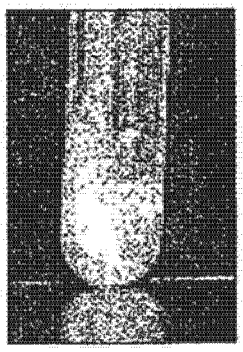


图8b

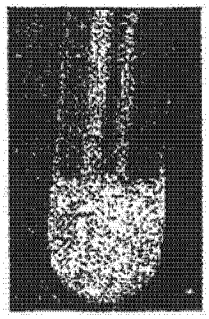


图8c

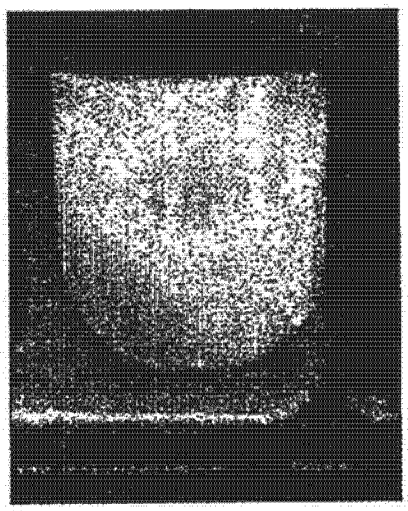


图 9

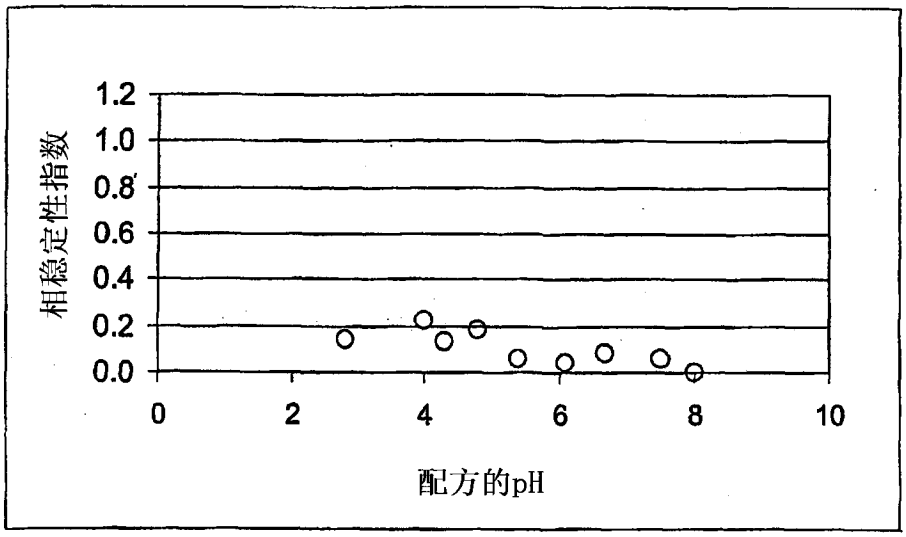


图 10

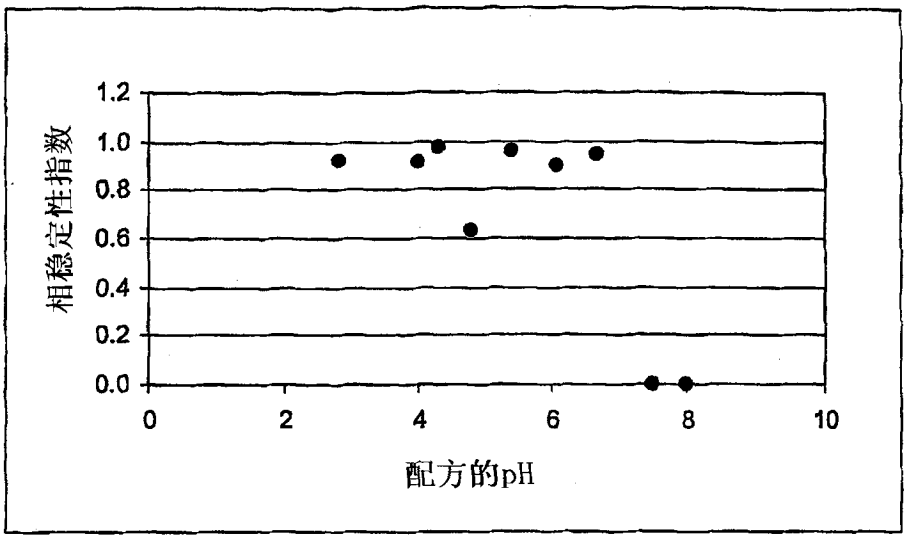

相稳定性指数
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0
2
4
6
8
10
配方的pH

图 11

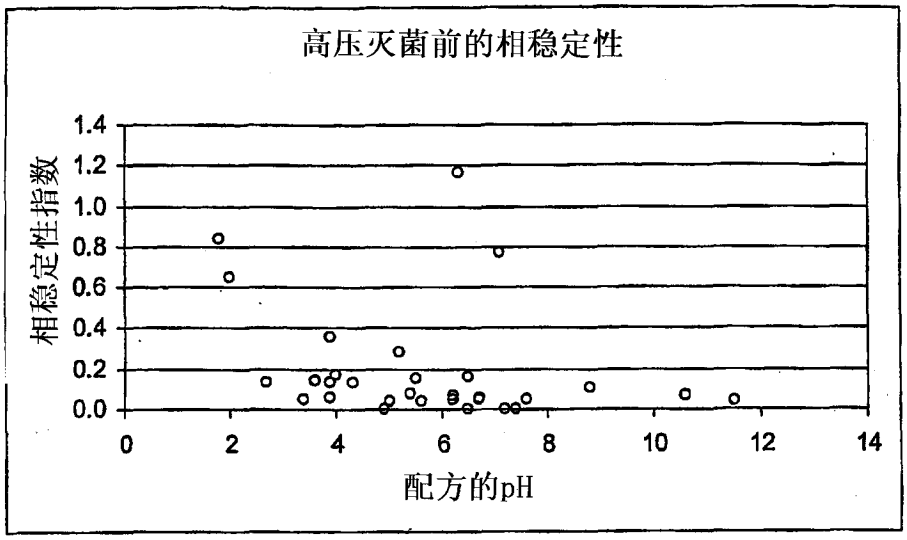

高压灭菌前的相稳定性
相稳定性指数
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0
2
4
6
8
10
12
14
配方的pH

图 12

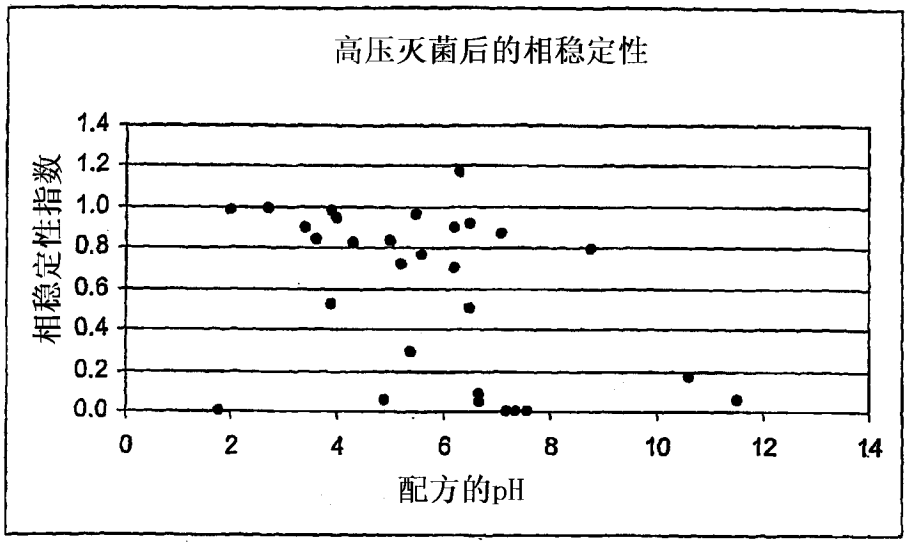

高压灭菌后的相稳定性
相稳定性指数
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0
2
4
6
8
10
12
14
配方的pH

图 13

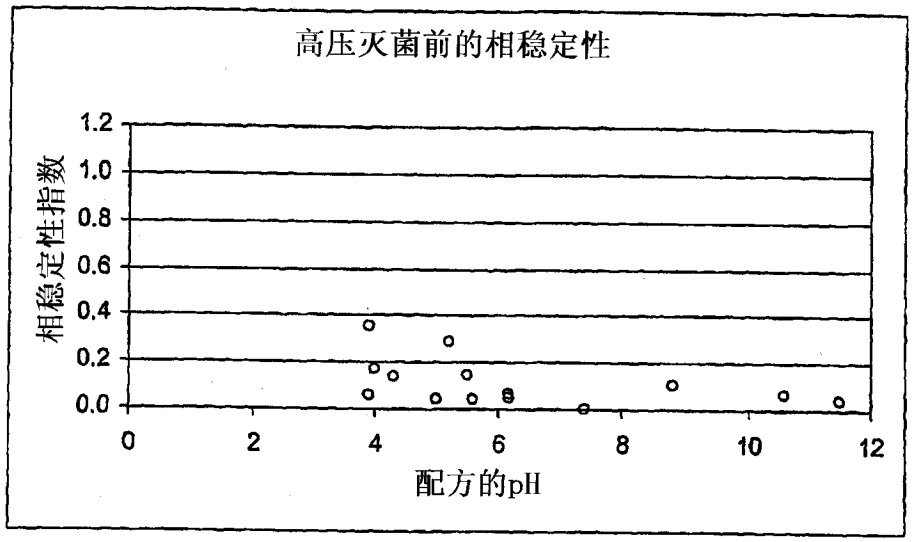

高压灭菌前的相稳定性
相稳定性指数
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0
2
4
6
8
10
12
配方的pH

图 14

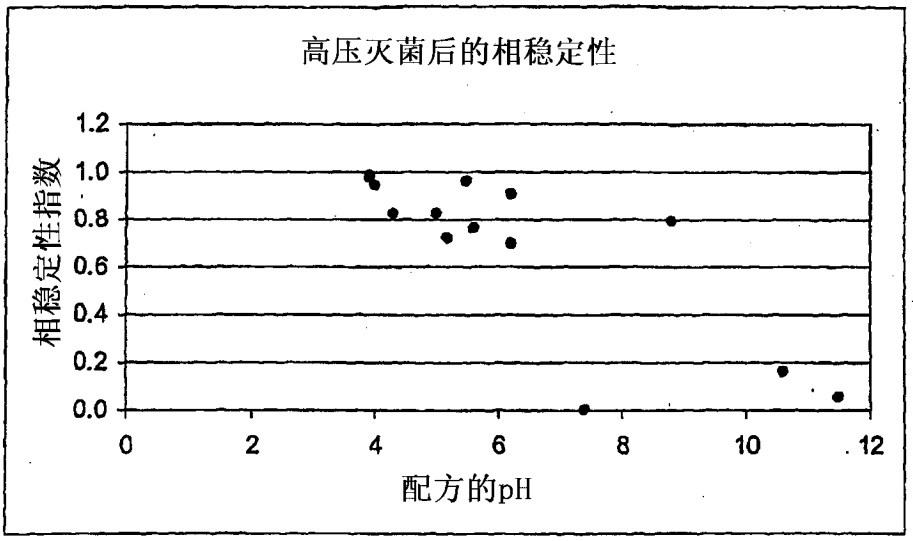

高压灭菌后的相稳定性
相稳定性指数
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0
2
4
6
8
10
12
配方的pH

图 15

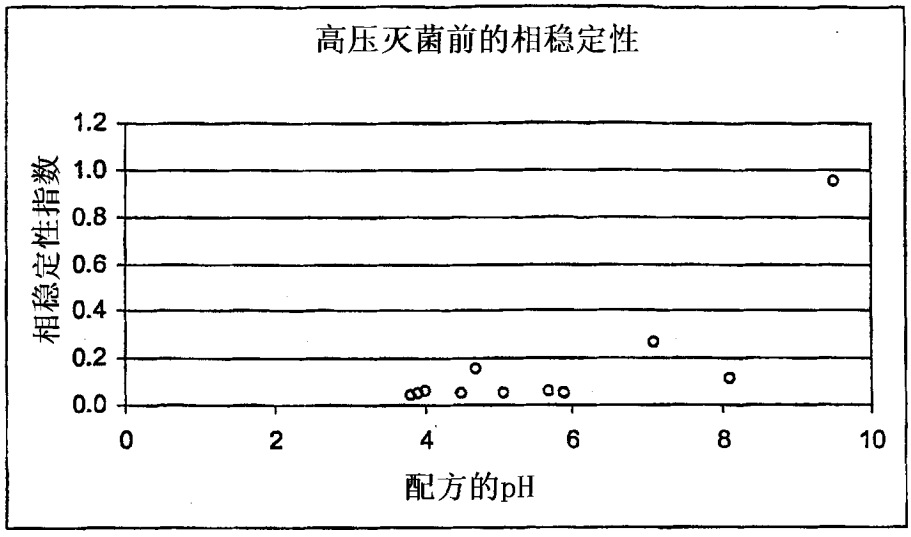

高压灭菌前的相稳定性
相稳定性指数
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0
2
4
6
8
10
配方的pH

图 16

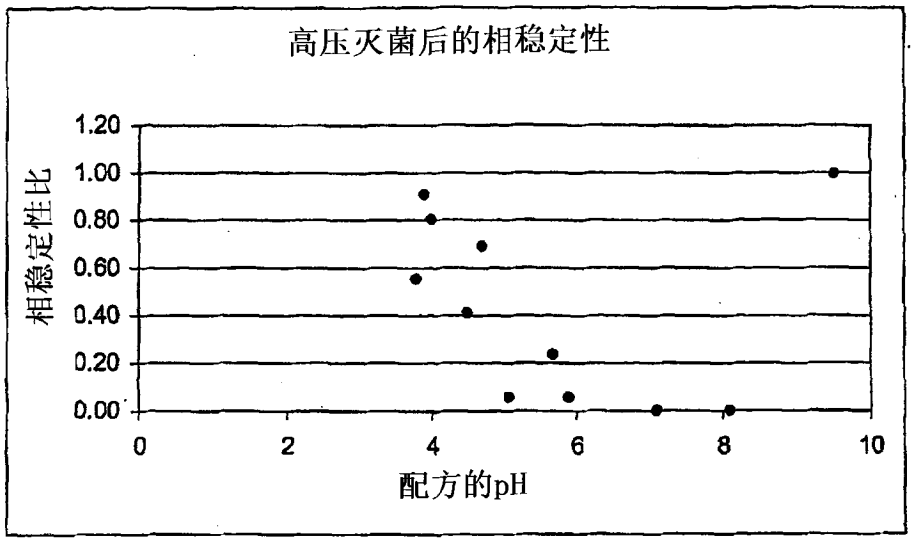

高压灭菌后的相稳定性
相稳定性比
1.20
1.00
0.80
0.60
0.40
0.20
0.00
0
2
4
6
8
10
配方的pH

图 17

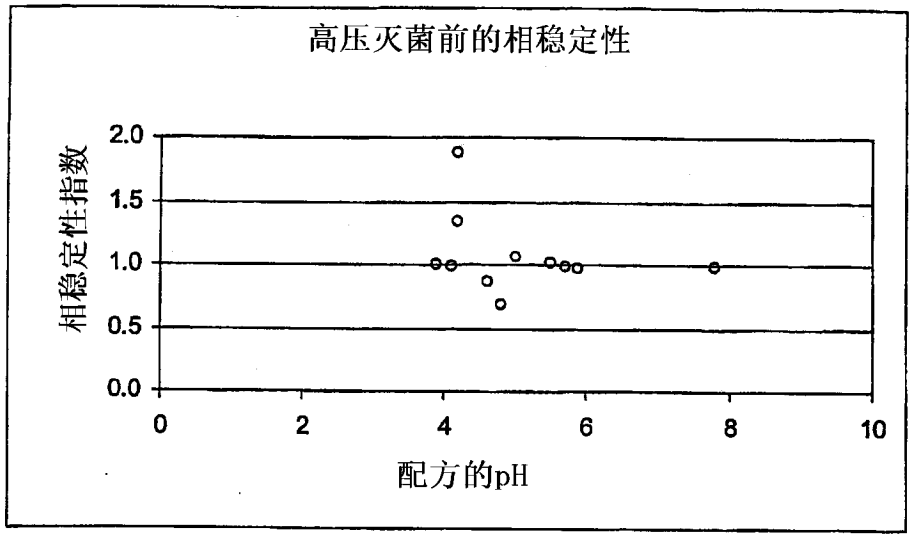

高压灭菌前的相稳定性
相稳定性指数
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0
2
4
6
8
10
配方的pH

图 18

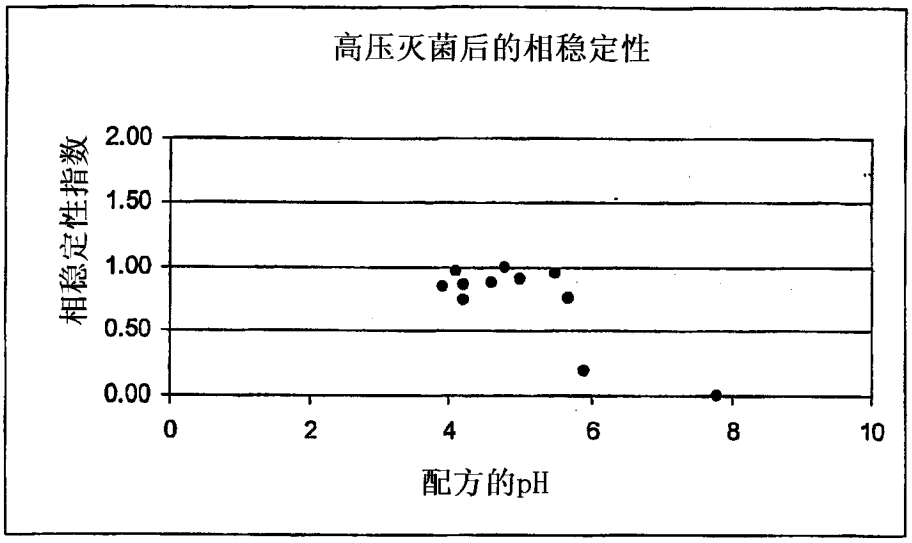


图 19