



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112584821 A

(43) 申请公布日 2021.03.30

(21) 申请号 201980042856.6

(22) 申请日 2019.05.02

(30) 优先权数据

62/665,564 2018.05.02 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2020.12.24

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2019/030404 2019.05.02

(87) PCT国际申请的公布数据

WO2019/213398 EN 2019.11.07

(71) 申请人 英斯梅德股份有限公司

地址 美国新泽西州

(72) 发明人 罗伯特·沃沙姆

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

代理人 封新琴

(51) Int.Cl.

A61K 9/127 (2006.01)

A61K 31/7036 (2006.01)

A61K 47/24 (2006.01)

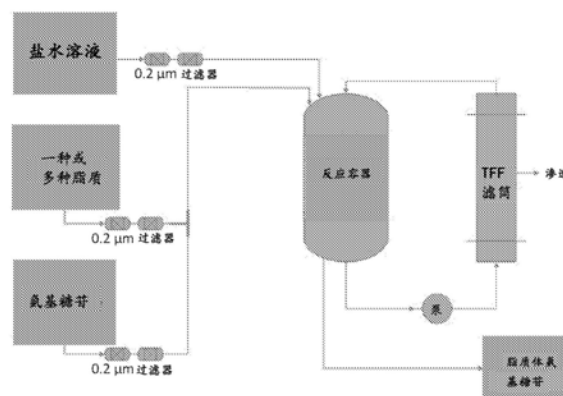
权利要求书2页 说明书10页 附图1页

(54) 发明名称

脂质体药物配制品的制造方法

(57) 摘要

本文提供了一种大规模制造含有氨基糖苷如阿米卡星的脂质体药物配制品的方法,所述脂质体药物配制品具有有利的脂质/药物特征。所述方法利用脂质与药物流的特定相对流速比率来获得具有高氨基糖苷包封效率的脂质体。所得脂质体药物配制品有利地包含小于1:1的总脂质与药物重量比率。



1. 一种大规模制备包含脂质和氨基糖苷的脂质体氨基糖苷配制品的方法,其中所述总脂质与药物重量比率小于1:1,所述方法包括:

(a) 将包含所述脂质的第一流与包含所述氨基糖苷的第二流混合以形成合并的脂质-氨基糖苷流,

(b) 在反应容器中将步骤(a)的脂质-氨基糖苷流与盐水溶液混合,和

(c) 洗涤包含所述脂质体氨基糖苷配制品的步骤(b)的产物以去除未包封的氨基糖苷,其中所述第二流与所述第一流的相对流速比率为约1.5:1至约2:1。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中所述第二流包含阿米卡星的水溶液。

3. 根据权利要求1所述的方法,其中所述第一流包含脂质的醇溶液。

4. 根据权利要求1所述的方法,其中将所述盐水溶液经由第三流添加至所述反应容器中。

5. 根据权利要求4所述的方法,其中将所述第三流与所述脂质-氨基糖苷流同时添加至所述反应容器中。

6. 根据权利要求4所述的方法,其中在所述脂质-氨基糖苷流之前,将所述第三流添加至所述反应容器中。

7. 根据权利要求1-6中任一项所述的方法,其中所述第一流的流速为约0.5kg/min至约1.5kg/min,并且所述第二流的流速为约1kg/min至约2kg/min。

8. 根据权利要求1-6中任一项所述的方法,其中所述第一流的流速为约3kg/min至约4kg/min,并且所述第二流的流速为约5kg/min至约7kg/min。

9. 根据权利要求6所述的方法,其中所述第一流的流速为约0.5kg/min至约1.5kg/min,所述第二流的流速为约1kg/min至约2kg/min,并且所述第三流的流速为约1L/min至约2L/min。

10. 根据权利要求6所述的方法,其中所述第一流的流速为约3kg/min至约4kg/min,所述第二流的流速为约5kg/min至约7kg/min,并且所述第三流的流速为约3L/min至约6L/min。

11. 根据权利要求1-10中任一项所述的方法,其中所述盐水溶液为1.5%氯化钠。

12. 根据权利要求1-11中任一项所述的方法,其中所述氨基糖苷为所述氨基糖苷的药学上可接受的盐。

13. 根据权利要求1-12中任一项所述的方法,其中所述脂质包括磷脂。

14. 根据权利要求13所述的方法,其中所述磷脂为磷脂酰胆碱。

15. 根据权利要求14所述的方法,其中所述磷脂酰胆碱为二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC)。

16. 根据权利要求1-15中任一项所述的方法,其中所述脂质包括甾醇。

17. 根据权利要求16所述的方法,其中所述甾醇为胆固醇。

18. 根据权利要求1-17中任一项所述的方法,其中所述脂质包括DPPC和胆固醇。

19. 根据权利要求1-18中任一项所述的方法,其中在混合之前,将所述药物和脂质流各自保持在约30°C至约50°C的温度下。

20. 根据权利要求19所述的方法,其中在混合之前,将所述药物和脂质流各自保持在约35°C至约45°C的温度下。

21. 根据权利要求1-20中任一项所述的方法,其中所述合并的脂质-氨基糖苷流的温是

通过所述反应容器中的盐水溶液来冷却。

22. 根据权利要求1-21中任一项所述的方法,其中在步骤(b)之后,以至少40%的氨基糖苷包封效率制备脂质体。

23. 根据权利要求1-22中任一项所述的方法,其中在所述合并的脂质-氨基糖苷流中形成脂质体。

24. 根据权利要求1至23中任一项所述的方法,其用于制备脂质体药物配制品,其中所述总脂质与药物重量比率为约0.7:1。

25. 根据权利要求1-23中任一项所述的方法,其中所述洗涤步骤(c)是使用1.5%氯化钠水溶液进行的。

26. 根据权利要求25所述的方法,其中重复所述洗涤步骤(c),并将所述产物浓缩以提供脂质体药物配制品,其中所述氨基糖苷以约60g/L至约80g/L的浓度存在。

27. 根据权利要求1-26中任一项所述的方法,其中所述氨基糖苷为阿贝卡星、阿司米星、卷曲霉素、地贝卡星、弗氏菌丝素、庆大霉素、潮霉素B、异帕米星、卡那霉素、新霉素、奈替米星、巴龙霉素、罗丹明链霉素、核糖霉素、西索米星、大观霉素、链霉素、妥布霉素、威大霉素或其组合。

28. 根据权利要求1-26中任一项所述的方法,其中所述氨基糖苷为AC4437、阿米卡星、安普霉素、阿贝卡星、阿司米星、卡那霉素B、波尔霉素、硫酸妥布霉素、卷曲霉素、地贝卡星、达替米星、依替米星、弗氏菌丝素、庆大霉素、H107、潮霉素、潮霉素B、肌胺霉素、K-4619、异帕米星、KA-5685、卡那霉素、新霉素、奈替米星、巴龙霉素、plazomicin、核糖霉素、西索米星、罗丹明链霉素、山梨醇菌素、大观霉素、糖多孢菌素、链霉素、妥布霉素、威大霉素、威替米星或其组合。

29. 根据权利要求1-26中任一项所述的方法,其中所述氨基糖苷为阿米卡星。

30. 根据权利要求29所述的方法,其中所述阿米卡星为硫酸阿米卡星。

31. 一种根据权利要求1-30中任一项所述的方法制造的脂质体药物配制品。

32. 根据权利要求31所述的脂质体药物配制品,其中所述氨基糖苷以约60g/L至约80g/L的浓度存在。

33. 根据权利要求31所述的脂质体药物配制品,其中阿米卡星以约70g/L的浓度存在。

34. 根据权利要求31-33中任一项所述的脂质体药物配制品,其中所述脂质以约40g/L至约60g/L的浓度存在。

35. 根据权利要求34所述的脂质体药物配制品,其中所述脂质以约50g/L的浓度存在。

脂质体药物配制品的制造方法

相关申请的交叉引用

[0001] 本申请要求2018年5月2日提交的美国临时申请序列号62/665,564的优先权,出于所有目的将其公开内容通过引用以其整体并入本文。

背景技术

[0002] 脂质体药物配制品能够在疾病的特定部位靶向并增强活性剂的摄取。已经开发出此类配制品来治疗各种肺部障碍,包括由肺部感染引起的那些,其中所述配制品的特征使它们成为吸入递送抗感染剂的理想选择。

[0003] 一种这样的抗感染剂阿米卡星已经被包装在脂质体中,并且已经针对由鸟分枝杆菌复合体(MAC)引起的难治性非结核分枝杆菌(NTM)肺部疾病的治疗在成年患者的多个临床试验中进行了研究。在最近的阿米卡星脂质体吸入悬浮液(ALIS)的3期研究中,已证明在基于指南的疗法(GBT)中添加ALIS可以在29%的患者中消除第6个月由痰中MAC引起的NTM肺部疾病的迹象,相比之下对于单独GBT有9%的患者出现上述情况。

[0004] 尽管已在实验室规模上制备了含有相对较高的阿米卡星与脂质比率的脂质体,但众所周知的是扩大此类过程以在商业制造规模上生产脂质体配制品不是常规问题,其中参数(如药物浓度、配制品中脂质的量、脂质与药物的比率、捕获的体积、药物泄漏、粘度和粒径)始终保持在临床和/或商业用途的规格范围内。

[0005] 本发明满足了对用于制备如下脂质体的可重复的大规模过程的需要,所述脂质体含有氨基糖苷抗生素(如阿米卡星)并且具有高的氨基糖苷与脂质重量比率(以及进而低的脂质与氨基糖苷重量比率)以及优异的包封效率。

发明内容

[0006] 一方面,本发明提供了一种大规模制造包含脂质和氨基糖苷(例如阿米卡星)的脂质体氨基糖苷配制品的方法,其中相对于脂质浓度具有高的氨基糖苷负载(即,氨基糖苷与脂质的高相对重量比率)。特别地,根据本发明的方法制备的脂质体悬浮液中的脂质与氨基糖苷(例如阿米卡星)的重量比率(也称为“L/D重量比率”)在所述过程完成时小于1:1,例如在约0.5:1与约0.9:1之间。在一个实施方案中,在完成所述制造过程后,根据本发明的方法制备的脂质体悬浮液的脂质与氨基糖苷的重量比率为约0.7:1(脂质:氨基糖苷)。

[0007] 另一方面,本发明涉及一种大规模制造包含脂质和氨基糖苷(例如阿米卡星)的脂质体药物配制品的方法,其中所述氨基糖苷以高包封效率(例如从所述配制品洗涤以去除游离氨基糖苷之前至少约40%的包封效率)被包含在所述脂质体内。

[0008] 在一个实施方案中,所述方法包括将包含脂质的第一流与包含氨基糖苷的第二流混合以形成合并的脂质-氨基糖苷流。所述合并的脂质-氨基糖苷流包含脂质体包封的氨基糖苷,在一个实施方案中,所述脂质体包封的氨基糖苷在所述脂质流和所述氨基糖苷流的相交处形成。在另外的实施方案中,将所述脂质-氨基糖苷流与盐水溶液在反应容器中混合(参见例如图1)。在一个实施方案中,在所述混合步骤之前,所述氨基糖苷存在于水溶液中。

在另一个实施方案中,在所述混合步骤之前,所述脂质存在于醇溶液,例如乙醇溶液中。在另外的实施方案中,所述脂质包括磷脂和胆固醇。在一个实施方案中,包含氨基糖苷的第二流与包含脂质的第一流的相对流速比率为约1.5:1(氨基糖苷流:脂质流)至约2:1(氨基糖苷流:脂质流)。在另外的实施方案中,所述脂质包括二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC)和胆固醇。

[0009] 在一个实施方案中,将所述盐水溶液经由第三流添加至反应容器中。在另外的实施方案中,将所述第三流与所述合并的脂质-氨基糖苷流同时添加至所述反应容器中。在另一个实施方案中,在将所述合并的脂质-氨基糖苷流添加至所述反应容器之前,将所述第三流添加至所述反应容器中。在另一个实施方案中,所述盐水溶液在进入所述反应容器之前处于约室温下。在一个实施方案中,所述盐水溶液为约1.5%氯化钠水溶液。

[0010] 在一个特定的方面,本发明提供了一种大规模制造包含脂质和氨基糖苷(例如阿米卡星)的脂质体药物配制品的方法,其中在洗涤步骤之前,以至少40%的包封效率将所述氨基糖苷包封在所述脂质体内或与所述脂质体复合。在所述洗涤步骤之后,这在一个实施方案中是由切向流过滤进行的,所述脂质体氨基糖苷配制品中脂质与氨基糖苷的重量比率小于1:1,例如在约0.5:1与约0.9:1之间(例如约0.7:1)。在该方法的一个实施方案中,所述氨基糖苷为阿米卡星。在另外的实施方案中,所述阿米卡星以硫酸阿米卡星存在。

[0011] 在一个实施方案中,将包含脂质的第一流与包含氨基糖苷的第二流混合以形成包含脂质体氨基糖苷的合并的脂质-氨基糖苷流(例如,脂质-阿米卡星流)。在一个实施方案中,所述脂质体氨基糖苷配制品在所述两种流的两处相交处形成,即在形成所述合并的脂质-氨基糖苷流时形成。在另外的实施方案中,包含脂质的所述第一流的流速为约0.5kg/min至约1.5kg/min,并且包含氨基糖苷的所述第二流的流速为约1kg/min至约2kg/min。在另外的实施方案中,包含脂质的所述第一流的流速为约3kg/min至约4kg/min,并且包含氨基糖苷的所述第二流的流速为约5kg/min至约7kg/min。在另一个实施方案中,包含氨基糖苷的所述第二流与包含脂质的所述第一流的相对流速比率为约1.5:1(氨基糖苷流流速:脂质流流速)至约2:1(氨基糖苷流流速:脂质流流速)。在又一个实施方案中,所述脂质包括二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC)和胆固醇。

[0012] 在一个实施方案中,用于脂质体药物配制品的大规模制造的方法包括将包含脂质的第一流与包含氨基糖苷的第二流混合以形成合并的脂质-氨基糖苷流,并将所述合并的脂质-氨基糖苷流添加至包含盐水溶液的容器中。在一个实施方案中,将所述盐水溶液经由第三流添加至所述反应容器中(参见例如图1)。

[0013] 在另外的实施方案中,当包含脂质的所述第一流的流速为约0.5kg/min至约1.5kg/min,并且包含氨基糖苷的所述第二流的流速为约1kg/min至约2kg/min时,所述第三流的流速为约0.5L/min至约2.0L/min,例如,约1.0L/min至约2.0L/min,例如约1.0L/min至约1.5L/min,包括约1.25L/min。在另一个实施方案中,当包含脂质的所述第一流的流速为约3kg/min至约4kg/min并且包含氨基糖苷的所述第二流的流速为约5kg/min至约7kg/min时,所述第三流的流速为约3L/min至约6L/min,例如,约4L/min至约6L/min,例如约4.5L/min至约5.5L/min,包括约5L/min。

[0014] 如本文所使用的,除非另有明确说明,否则所述术语“氨基糖苷”旨在包括氨基糖苷游离碱及其任何药学上可接受的盐。例如,所述术语“阿米卡星”旨在包括阿米卡星游离碱及其任何药学上可接受的盐(例如硫酸阿米卡星)。

[0015] 在一个实施方案中,用于脂质体氨基糖苷(例如阿米卡星)配制品的大规模制造的方法包括将包含含有磷脂的脂质的第一流与包含氨基糖苷(例如阿米卡星)的第二流混合以形成合并的脂质-氨基糖苷流。在另外的实施方案中,将所述脂质-氨基糖苷流与盐水溶液在反应容器中混合。在一个实施方案中,所述磷脂为磷脂酰胆碱。在另外的实施方案中,所述磷脂酰胆碱为DPPC。在另一个实施方案中,所述脂质包括磷脂和甾醇。在另外的实施方案中,所述甾醇为胆固醇。在一个实施方案中,所述脂质包括DPPC和胆固醇。

[0016] 在一个实施方案中,用于脂质体氨基糖苷配制品的大规模制造的方法包括将包含脂质的第一流与包含氨基糖苷的第二流混合,其中将所述第一流与所述第二流混合以形成合并的脂质-氨基糖苷流。所述合并的脂质-氨基糖苷流包含脂质体氨基糖苷。在一个实施方案中,所述脂质体氨基糖苷是在混合所述第一流和第二流时例如在所述两种流的相交处形成的。在另外的实施方案中,将所述合并的脂质-氨基糖苷流添加至反应容器中并与盐水溶液混合。在另外的实施方案中,在混合之前,将所述氨基糖苷流和所述脂质流各自保持在约30°C至约50°C的温度下。在另外的实施方案中,在混合之前,将所述氨基糖苷和脂质流各自保持在约35°C至约45°C,例如约38°C至约42°C的温度下。在一个实施方案中,所述合并的脂质-氨基糖苷流在进入所述反应容器时被冷却。在另一个实施方案中,所述合并的脂质-氨基糖苷流通过所述反应容器中的盐水溶液来冷却。在一个实施方案中,将所述反应容器保持在约25°C至约40°C,例如约27°C至约35°C的温度下。在另一个实施方案中,将所述反应容器保持在约30°C的温度下。在另一个实施方案中,将所述反应容器保持在约33°C的温度下。

[0017] 在本发明的另一方面,根据本文提供的方法大规模制造脂质体氨基糖苷配制品。在一个实施方案中,如此制备的脂质体药物配制品中存在的氨基糖苷(例如阿米卡星)的浓度为约10g/L或更高,例如约50g/L至约100g/L,包括约60g/L至约80g/L和约65g/L至约75g/L(例如,约20g/L、约30g/L、约40g/L、约50g/L、约60g/L、约70g/L或约80g/L)。在另外的实施方案中,如此制备的脂质体药物配制品中存在的脂质的浓度为约10g/L至约100g/L,包括约20g/L至约80g/L和约40g/L至约60g/L(例如约50g/L)。在另一个实施方案中,根据本文提供的方法大规模制造的脂质体药物配制品的L/D比率小于1:1,例如在约0.5:1与约0.8:1之间(例如约0.7:1)。

[0018] 在另一个实施方案中,根据本文提供的方法大规模制造的脂质体药物配制品包含平均粒径(即平均直径)为约200nm至约500nm,例如约200nm至约400nm(例如约250nm至约350nm)的脂质体颗粒。

附图说明

图1描绘了本发明的用于制备脂质体氨基糖苷配制品的一个实施方案。

图2显示了相对脂质/阿米卡星流速对各种脂质体阿米卡星配制品的所得L/D比率的影响。

具体实施方式

[0019] 一方面,本文描述的发明涉及一种大规模制造脂质体氨基糖苷配制品的方法。在一个实施方案中,所述方法包括将包含脂质的第一流(在本文中也称为“脂质流”)与包含氨

基糖苷(如阿米卡星)的第二流(在本文中也称为“药物流”)混合以形成合并的脂质-氨基糖苷流,并将脂质-氨基糖苷流与盐水溶液在反应容器中混合。在一些实施方案中,所述盐水溶液经由第三流进入反应容器中。

[0020] 进行脂质流和药物流的混合,使得当形成合并的脂质-氨基糖苷流时产生湍流。使用用于脂质和药物流的“内嵌式”混合的适当T形或Y形输注模块方便地实现湍流。

[0021] 术语“大规模”意指在药物流中使用至少约5kg氨基糖苷碱起始材料(如果使用药学上可接受的盐,则计算为至少约5kg氨基糖苷碱)。在一个实施方案中,使用约5kg至约50kg氨基糖苷碱起始材料,例如约5kg至约35kg氨基糖苷碱起始材料。在一个实施方案中,使用至少约8kg氨基糖苷碱起始材料。在另一个实施方案中,使用至少约30kg氨基糖苷碱起始材料。在一个实施方案中,所述氨基糖苷为阿米卡星(例如硫酸阿米卡星)。

[0022] 本文提供的方法中使用的氨基糖苷可以以药学上可接受的盐的形式或以游离碱的形式存在。如以上所提供的,在一个实施方案中,所述氨基糖苷为阿米卡星,例如硫酸阿米卡星。

[0023] 在另一个实施方案中,所述氨基糖苷为阿米卡星、安普霉素、阿贝卡星、阿司米星、卷曲霉素、地贝卡星、弗氏菌丝素、庆大霉素、潮霉素B、异帕米星、卡那霉素、新霉素、奈替米星、巴龙霉素、罗丹明链霉素、核糖霉素、西索米星、大观霉素、链霉素、妥布霉素、威大霉素或其组合。

[0024] 在又一个实施方案中,所述氨基糖苷为AC4437、阿米卡星、安普霉素、阿贝卡星、阿司米星、卡那霉素B、波尔霉素、硫酸妥布霉素、卷曲霉素、地贝卡星、达替米星、依替米星、弗氏菌丝素、庆大霉素、H107、潮霉素、潮霉素B、肌胺霉素、K-4619、异帕米星、KA-5685、卡那霉素、新霉素、奈替米星、巴龙霉素、plazomicin、核糖霉素、西索米星、罗丹明链霉素、山梨醇菌素、大观霉素、糖多孢菌素、链霉素、妥布霉素、威大霉素、威替米星或其组合。

[0025] “药学上可接受的盐”包括酸加成盐和碱加成盐二者。药学上可接受的加成盐是指如下这些盐,所述盐保留游离碱的生物学有效性和特性,所述盐不是生物学上或在其他方面不期望的,并且所述盐是用以下无机酸和有机酸形成的:所述无机酸例如但不限于盐酸(HCl)、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等,所述有机酸例如但不限于乙酸、2,2-二氯乙酸、己二酸、藻酸、抗坏血酸、天冬氨酸、苯磺酸、苯甲酸、4-乙酰氨基苯甲酸、樟脑酸、樟脑-10-磺酸、癸酸、己酸、辛酸、碳酸、肉桂酸、柠檬酸、环己烷氨基磺酸、十二烷基硫酸、乙烷-1,2-二磺酸、乙磺酸、2-羟基乙磺酸、甲酸、富马酸、半乳糖二酸、龙胆酸、葡庚糖酸、葡糖酸、葡糖醛酸、谷氨酸、戊二酸、2-氧代戊二酸、甘油磷酸、乙醇酸、马尿酸、异丁酸、乳酸(例如作为乳酸盐)、乳糖酸、月桂酸、马来酸、苹果酸、丙二酸、扁桃酸、甲磺酸、粘酸、萘-1,5-二磺酸、萘-2-磺酸、1-羟基-2-萘甲酸、烟酸、油酸、乳清酸、草酸、棕榈酸、扑酸、丙酸、焦谷氨酸、丙酮酸、水杨酸、4-氨基水杨酸、癸二酸、硬脂酸、琥珀酸、乙酸(例如作为乙酸盐)、酒石酸、硫氰酸、对甲苯磺酸、三氟乙酸(TFA)、十一碳烯酸等。在一个实施方案中,所述药学上可接受的盐为HCl、TFA、乳酸盐或乙酸盐。在一个实施方案中,所述药学上可接受的盐为硫酸盐,例如硫酸阿米卡星。

[0026] “脂质体氨基糖苷配制品”指脂质-氨基糖苷配制品,其中脂质呈脂质体形式,并且氨基糖苷被脂质体双层包封或与脂质体双层复合。脂质体是含有包裹的水体积的完全封闭的脂质双层膜。脂质体可以是单层囊泡(具有单个膜双层)或多层囊泡(以多个膜双层为特

征的洋葱样结构,每个膜双层彼此由水层隔开)或其组合。所述双层由具有疏水性“尾”区和亲水性“头”区的两个脂质单层组成。所述膜双层的结构使得脂质单层的疏水性(非极性)“尾”朝向双层的中心,而亲水性“头”朝向水相。

[0027] 在一个实施方案中,所述脂质-氨基糖苷配制品是经由包括两流输注过程的方法制造的。在一个实施方案中,所述方法包括在T形输注模块或Y形输注模块中将第一脂质流与第二氨基糖苷流混合。如本文所使用的,术语“T形输注模块”和“Y形输注模块”是指这样的T形或Y形腔室,其中两个或更多个流被合并,例如其中脂质流和药物流被合并以形成单个脂质-氨基糖苷流。参见例如,在图1的示意图。可以理解,输注模块将具有适合于所使用的脂质流和药物流的所需速率的孔径。合适的孔径的例子包括但不限于3/16”和3/8”。

[0028] 在一个实施方案中,所述第一流(脂质流)包含醇(例如乙醇)脂质溶液。在一个实施方案中,所述第二流(氨基糖苷流)包含氨基糖苷水溶液(例如阿米卡星水溶液)。在一个实施方案中,将所述第一流和第二流混合以形成合并的脂质-氨基糖苷流。在一个实施方案中,所述第一流和第二流各自进入输注模块,并且第一流和第二流在输注模块中混合。在另外的实施方案中,所述合并的脂质-氨基糖苷流离开输注模块,并随后进入反应容器中。参见图1。

[0029] 在一个实施方案中,将所述合并的脂质-氨基糖苷流与盐水溶液在反应容器(例如合并的脂质-氨基糖苷流离开输注模块后所进入的同一反应容器)中混合。在一个实施方案中,所述盐水溶液包含约0.5%-2%氯化钠水溶液(例如约1.5%)。在一个实施方案中,在所述合并的脂质-氨基糖苷流之前,将所述盐水溶液添加至所述反应容器中。在另一个实施方案中,将所述盐水溶液与所述合并的脂质-氨基糖苷流同时或大约同时添加至所述反应容器中。在另外的实施方案中,将所述盐水溶液经由第三流添加至所述反应容器中。因此,在一些实施方案中,所述脂质-氨基糖苷配制品是经由包括3流输注过程的方法制造的。在一些实施方案中,将所述第三流与所述合并的脂质-氨基糖苷流单独地添加至所述反应容器中。

[0030] 在一个实施方案中,所述合并的脂质-氨基糖苷流包含脂质体氨基糖苷(例如阿米卡星),其中在脂质体内(或与脂质体复合)的氨基糖苷的包封效率为至少约40%。如本文所使用的,“包封效率”是指在过滤步骤(例如脂质体氨基糖苷配制品的切向流过滤以去除游离氨基糖苷)之前,用脂质体包封或与脂质体复合的氨基糖苷的量。例如,根据本文所描述的本发明的方法,通过混合脂质流和氨基糖苷(例如阿米卡星)流,可以实现约40%至约70%(例如约45%至约55%)的包封效率。

[0031] 在一个实施方案中,在混合两种流之前,将所述氨基糖苷流和所述脂质流各自保持在约30°C至约50°C的温度下。在另外的实施方案中,在混合之前,将所述氨基糖苷和脂质流各自保持在约35°C至约45°C,例如约38°C至约42°C的温度下。在另一个实施方案中,所述脂质和氨基糖苷溶液的合并展现出放热行为。在一个实施方案中,所述合并的脂质-氨基糖苷流的温度为约40°C至55°C。在另外的实施方案中,所述合并的脂质-氨基糖苷流的温度为约45°C至约50°C。在另一个实施方案中,将所述合并的脂质-氨基糖苷流与盐水溶液在反应容器中混合,其中在与合并的脂质-氨基糖苷流混合之前将盐水溶液保持在室温下。在另一个实施方案中,将盐水溶液经由第三流添加至所述反应容器中,其中在与所述合并的脂质-氨基糖苷流混合之前,将第三流保持在室温下。在一个实施方案中,所述合并的脂质-氨基

糖苷流在进入所述反应容器时被冷却。在另一个实施方案中,所述合并的脂质-氨基糖苷流通过所述反应容器中的盐水溶液来冷却。在另一个实施方案中,所述合并的脂质-氨基糖苷流在进入反应容器时被冷却。在一个实施方案中,将所述反应容器保持在约25°C至约40°C,例如约27°C至约35°C的温度下。在另一个实施方案中,将所述反应容器保持在约30°C的温度下。在另一个实施方案中,将所述反应容器保持在约33°C的温度下。

[0032] 在一个实施方案中,通过本文提供的方法制造的脂质体药物配制品的脂质组分包括净电荷中性脂质、带正电荷的脂质、带负电荷的脂质或其组合。在另一个实施方案中,所述脂质组分包括净电荷中性脂质。在另外的实施方案中,所述脂质组分基本上由净电荷中性脂质组成。在甚至另外的实施方案中,所述脂质为DPPC和胆固醇。

[0033] 用于制造本发明脂质体配制品的脂质可以是合成的、半合成的或天然存在的脂质,包括磷脂、生育酚、甾醇、脂肪酸、带负电荷的脂质和阳离子脂质中的一种或多种。在一个实施方案中,所述脂质组分由电中性脂质(例如甾醇和磷脂)组成。

[0034] 在一个实施方案中,在所述脂质体药物配制品中存在至少一种磷脂。在一个实施方案中,所述磷脂为磷脂酰胆碱(PC)、磷脂酰甘油(PG)、磷脂酰肌醇(PI)、磷脂酰丝氨酸(PS)、磷脂酰乙醇胺(PE)、磷脂酸(PA)、大豆磷脂酰胆碱(SPC)、大豆磷脂酰甘油(SPG)、大豆磷脂酰丝氨酸(PS)、大豆磷脂酰肌醇(SPI)、大豆磷脂酰乙醇胺(SPE)和大豆磷脂酸(SPA);氢化的鸡蛋和大豆对应物(例如,氢化鸡蛋磷脂酰胆碱和氢化大豆磷脂酰胆碱)、由在甘油的2位和3位中脂肪酸(其含有12至26个碳原子的链)的酯键和在甘油的1位中不同的头基团(所述头基团包括胆碱、甘油、肌醇、丝氨酸、乙醇胺)组成的磷脂、以及相应的磷脂酸。这些脂肪酸上的碳链可以是饱和的或不饱和的,并且所述磷脂可以由不同链长和不同不饱和度的脂肪酸组成。

[0035] 在一个实施方案中,通过本文提供的方法制造的脂质体药物配制品的脂质组分包括磷脂酰胆碱。例如,在一个实施方案中,脂质体药物配制品中的脂质组分包括二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC)。在一个实施方案中,所述脂质体药物配制品的脂质组分包括DPPC和甾醇,例如DPPC和胆固醇。可替代地,所述脂质基本上由DPPC和胆固醇组成,或由DPPC和胆固醇组成。在另外的实施方案中,所述DPPC和胆固醇的摩尔比率的范围为约19:1(DPPC:胆固醇)至约1:1(DPPC:胆固醇)、或约9:1(DPPC:胆固醇)至约1:1(DPPC:胆固醇)、或约4:1(DPPC:胆固醇)至约1:1(DPPC:胆固醇)、或约2:1(DPPC:胆固醇)至约1:1(DPPC:胆固醇)。在甚至另外的实施方案中,所述DPPC和胆固醇的摩尔比率为约2:1(DPPC:胆固醇)。

[0036] 通过本文提供的方法制造的脂质体药物配制品的脂质组分的其他例子包括但不限于二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱(DMPC)、二肉豆蔻酰磷脂酰甘油(DMPG)、二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC)、二棕榈酰磷脂酰甘油(DPPG)、二硬脂酰磷脂酰胆碱(DSPC)、二硬脂酰磷脂酰甘油(DSPG)、二油酰磷脂酰乙醇胺(DOPE)、混合的磷脂(如棕榈酰硬脂酰磷脂酰胆碱(PSPC))和单酰化磷脂(例如单油酰磷脂酰乙醇胺(MOPE))。

[0037] 通过本文提供的方法制造的脂质体药物配制品中的甾醇化合物的例子包括但不限于胆固醇、胆固醇的酯(包括胆固醇半琥珀酸酯)、胆固醇的盐(包括胆固醇硫酸氢盐和胆固醇硫酸盐)、麦角甾醇、麦角甾醇的酯(包括麦角甾醇半琥珀酸酯)、麦角甾醇的盐(包括麦角甾醇硫酸氢盐和麦角甾醇硫酸盐)、羊毛甾醇、羊毛甾醇的酯(包括羊毛甾醇半琥珀酸酯)、羊毛甾醇的盐(包括羊毛甾醇硫酸氢盐、羊毛甾醇硫酸盐)以及生育酚。生育酚包括生

育酚、生育酚的酯(包括生育酚半琥珀酸酯)、生育酚的盐(包括生育酚硫酸氢盐和生育酚硫酸盐)。所述术语“甾醇化合物”包括甾醇、生育酚等。生育酚及其水溶性衍生物已经用于形成脂质体,参见例如,PCT公开号87/02219。

[0038] 在一个实施方案中,第一流中脂质的浓度为约10g/L至约50g/L、或约10g/L至约30g/L、或约15g/L至约25g/L。在一个实施方案中,第一流中脂质的浓度为约17g/L、约18g/L、约19g/L、约20g/L、约21g/L、约22g/L、约23g/L、约24g/L或约25g/L。在一个实施方案中,第一流中脂质的浓度为约20g/L

[0039] 在一个实施方案中,第二流(氨基糖苷流)中氨基糖苷的浓度为约10g/L至约100g/L;或约20g/L至约70g/L;或约30g/L至约60g/L;或约40g/L至约50g/L。在一个实施方案中,第二流中的药物浓度为约4g/L、约42g/L、约43g/L、约44g/L、约45g/L、约46g/L、约47g/L、约48g/L、约49g/L或约50g/L。在一个实施方案中,第二流中氨基糖苷的浓度为约45g/L。在另外的实施方案中,所述氨基糖苷为阿米卡星。

[0040] 在本发明的一个实施方案中,氨基糖苷流的pH为6至约7或约6.5至约7.0。在另外的实施方案中,氨基糖苷流的pH为约6.7。可以使用合适的碱(如碱或碱土金属氢氧化物,例如氢氧化钠)将氨基糖苷流的pH调节至合适的pH。

[0041] 在另一个实施方案中,所述盐水溶液包含约0.5%的氯化钠至约3%的氯化钠,例如约0.75%、约1.0%、约1.25%、约1.5%、约1.75%、约2.0%或约2.5%的氯化钠。在一个实施方案中,所述盐水溶液包含约1.5%的氯化钠。

[0042] 在一个实施方案中,脂质流的流速为约0.5kg/min至约1.5kg/min,并且氨基糖苷流的流速为约1kg/min至约2kg/min。在另外的实施方案中,脂质流的流速为约3kg/min至约4kg/min,并且物流的流速为约5kg/min至约7kg/min。在另一个实施方案中,氨基糖苷流与脂质流的相对流速比率为约1.5:1(氨基糖苷流流速:脂质流流速)至约2:1(氨基糖苷流流速:脂质流流速)。

[0043] 在一个实施方案中,当脂质流的流速为约0.5kg/min至约1.5kg/min且氨基糖苷流的流速为约1kg/min至约2kg/min时,包含盐水溶液的第三流的流速为约0.5L/min至约2.0L/min,例如约1.0L/min至约2.0L/min,例如约1.0L/min至约1.5L/min,包括约1.25L/min。在另一个实施方案中,当脂质流的流速为约3kg/min至约4kg/min且氨基糖苷流的流速为约5kg/min至约7kg/min时,包含盐水溶液的第三流的流速为约3L/min至约6L/min,例如约4L/min至约6L/min,例如约4.5L/min至约5.5L/min,包括约5L/min。

[0044] 在本发明的一个实施方案中,在混合成合并的流之前,将脂质和氨基糖苷(例如阿米卡星)溶液二者均例如通过一个或多个(例如串联的两个)约0.2 μ m的过滤器过滤(图1)。尽管图1显示了串联的两个过滤器,但应注意,可以根据所述方法的用户偏好更改此数字。例如,可以使用一到五个过滤器来初步过滤脂质流和氨基糖苷流。

[0045] 在另一个实施方案中,在与脂质-氨基糖苷合并的流在反应容器中混合之前,还将盐水溶液(例如1.5%盐水溶液)例如通过一个或多个(例如,串联的两个)约0.2 μ m的过滤器过滤。在另外的实施方案中,使用再循环过滤系统(如渗滤)将包含在脂质流和氨基糖苷流的相交处和/或在合并的脂质-氨基糖苷流中形成的脂质体的脂质体悬浮液浓缩在反应容器内。如以上所提供的,如本文所使用的“包封效率”是指在过滤步骤(例如脂质体氨基糖苷配制品的切向流过滤以去除游离的氨基糖苷)之前,用脂质体包封或与脂质体复合的氨基

糖苷的量。例如,根据本文所描述的本发明的方法,通过混合脂质流和氨基糖苷(例如阿米卡星)流,可以实现约40%至约70%(例如约45%至约55%)的包封效率。

[0046] 在另一个实施方案中,将所得浓缩的脂质体悬浮液用另外的盐水溶液(例如过滤的1.5%盐水溶液)处理(即“洗涤”),并使用再循环过滤系统(例如渗滤)进行进一步过滤,直到脂质体悬浮液包含合适的最终氨基糖苷浓度,并且基本上去除了所有的游离氨基糖苷。在另外的实施方案中,进行三次或更多次洗涤(例如3、4、5或6次洗涤)以达到合适的最终氨基糖苷浓度。

[0047] 在一个实施方案中,洗涤后,根据本文提供的方法大规模制造的脂质体氨基糖苷配制品中存在的氨基糖苷浓度为约10g/L或更高。在另外的实施方案中,氨基糖苷以约20g/L或更高的浓度存在于配制品中。在另外的实施方案中,氨基糖苷以约30g/L或更高的浓度存在于配制品中。在另外的实施方案中,氨基糖苷以约40g/L或更高的浓度存在于配制品中。在另外的实施方案中,氨基糖苷以约50g/L或更高的浓度存在于配制品中。在另外的实施方案中,氨基糖苷以约60g/L或更高的浓度存在于配制品中。在另外的实施方案中,氨基糖苷以约70g/L或更高的浓度存在于配制品中。在另一个实施方案中,所述氨基糖苷以约10g/L至约100g/L的浓度存在于配制品中。在另外的实施方案中,所述氨基糖苷为阿米卡星。在一个实施方案中,所述氨基糖苷以约50g/L至约100g/L的浓度存在于配制品中。在另外的实施方案中,所述氨基糖苷为阿米卡星。在一个实施方案中,所述氨基糖苷以约60g/L至约80g/L的浓度存在于配制品中。在另外的实施方案中,所述氨基糖苷为阿米卡星。在另一个实施方案中,所述氨基糖苷以约65g/L至约80g/L的浓度存在于配制品中。在另外的实施方案中,所述氨基糖苷为阿米卡星。在另一个实施方案中,所述氨基糖苷以约65g/L至约75g/L的浓度存在于配制品中。在另外的实施方案中,所述氨基糖苷为阿米卡星。在另一个实施方案中,阿米卡星以约70g/L的浓度存在于配制品中。在另外的实施方案中,所述氨基糖苷为阿米卡星。

[0048] 在另外的实施方案中,洗涤后,根据本文提供的方法大规模制造的脂质体药物配制品中存在的脂质浓度为约10g/L至约100g/L,包括约20g/L至约80g/L和约40g/L至约60g/L(例如约50g/L)。

[0049] 在另一个实施方案中,在渗滤后,根据本文提供的方法大规模制造的脂质体药物配制品中的脂质与氨基糖苷重量比率小于1:1,例如在约0.5:1(脂质:氨基糖苷)与约0.8:1(脂质:氨基糖苷)之间(例如约0.5:1(脂质:氨基糖苷)或0.6:1(脂质:氨基糖苷)或0.7:1(脂质:氨基糖苷)或0.8:1(脂质:氨基糖苷))。在一个实施方案中,所述脂质与氨基糖苷的重量比率为约0.7:1(脂质:氨基糖苷)。

[0050] 根据本文提供的方法大规模制造的脂质体氨基糖苷配制品包含平均粒径(即平均直径)为约200nm至约500nm,例如约200nm至约400nm(例如约250nm至约350nm)的脂质体颗粒。所述脂质体直径可以使用可商购的光散射技术测量,例如通过使用Nicomp™ 380亚微米粒度仪(Nicomp,圣巴巴拉,美国加利福尼亚州)的准弹性光散射测量。

[0051] 通过参考以下实施例进一步说明本发明。然而,应当注意,与上述实施方案和方面一样,这些实施例是说明性的,并且不应以任何方式解释为限制本发明的范围。

实施例

实施例1:脂质体阿米卡星的制造过程和过程控制

[0052] 使用无菌过程进行脂质体硫酸阿米卡星的制造,所述无菌过程涉及制备三种无菌溶液流,通过T型接头输注模块以适当的流速混合脂质流和硫酸阿米卡星流,在无菌的渗滤(反应)容器中收集含有具有包封的硫酸阿米卡星的脂质体的合并的脂质-硫酸阿米卡星流,以适当的流速向渗滤容器中添加1.5%氯化钠水溶液流,接着进行渗滤(包括洗涤)并浓缩所得脂质体分散液以形成最终产物。

a) 溶液制备:制备足量的以下三种溶液。

- 硫酸阿米卡星溶液:在注射用水(WFI)中的硫酸阿米卡星,用氢氧化钠调节pH至6.6-6.8。

- 脂质溶液:在乙醇中的DPPC/胆固醇(2:1w/w)。

- 1.5%氯化钠溶液:在WFI中的1.5%氯化钠,pH调节至6.6-6.8。

所述溶液必须在制备的24小时内使用。

b) 输注/初始浓度:将硫酸阿米卡星溶液和脂质溶液加热并在以受控制的添加速度流过内嵌式T型接头输注模块之前通过单独的灭菌过滤器。将混合流收集在预灭菌的反应器容器中。同时,使1.5%氯化钠水溶液通过灭菌过滤器,并以合适的流速作为流引入反应器容器中。在这一阶段,可以针对阿米卡星包封水平对溶液进行采样。

c) 渗滤:进行渗滤。该步骤的作用是从本体溶液去除乙醇,并洗去任何“未包裹的”或游离的硫酸阿米卡星。

d) 最终浓缩:使用过程中测试结果,将本体溶液浓缩至硫酸阿米卡星的适当浓度水平。浓缩完成后,可以进行硫酸阿米卡星浓度和L/D比率的确证试验。

表1描述了根据实施例1的一般方法进行的实验(A)和(B)。在(A)中,使用了3/8”T型接头输注模块。在(B)中,使用了3/16”T型接头输注模块。

实验	阿米卡星计算的游离碱重量(kg)	DPPC重量(kg)	胆固醇重量(kg)	硫酸阿米卡星溶液浓度(g/L)	硫酸阿米卡星溶液流速(kg/min)	脂质溶液浓度(g/L)	脂质溶液流速(kg/min)	获得的L/D比率	获得的硫酸阿米卡星浓度(mg/mL)
(A)	30.428	7.33 ± 0.050	3.67 ± 0.050	45	5.64	20	3.62	0.72	70 ± 3
(B)	8.250	1.666 ± 0.001	0.834 ± 0.001	45	1.464	20	0.851	0.68 至 0.74	70 ± 3

在另外的实验中,通常按照实施例1的过程,改变脂质和阿米卡星流(流动)速率,并测量脂质体配制品中所得的脂质和阿米卡星的浓度。计算每个实验的L/D比率,并且结果如图2所示。所述结果为针对实现优选的L/D比率的最佳相对脂质/阿米卡星流速提供了指导。

[0053] 贯穿本申请引用的所有文件、专利、专利申请、出版物、产品说明书和方案均出于

所有目的通过引用以其整体并入本文。

[0054] 在本说明书中说明和讨论的实施方案仅旨在向本领域技术人员传授诸位发明人已知的制造和使用本发明的最佳方式。在不偏离本发明的情况下,本发明的上述实施方案的修改和变异是可能的,如本领域技术人员根据上述传授内容所理解的。因此,应当理解的是,在权利要求书及其等同物的范围内,可以按不同于具体描述的方式实施本发明。

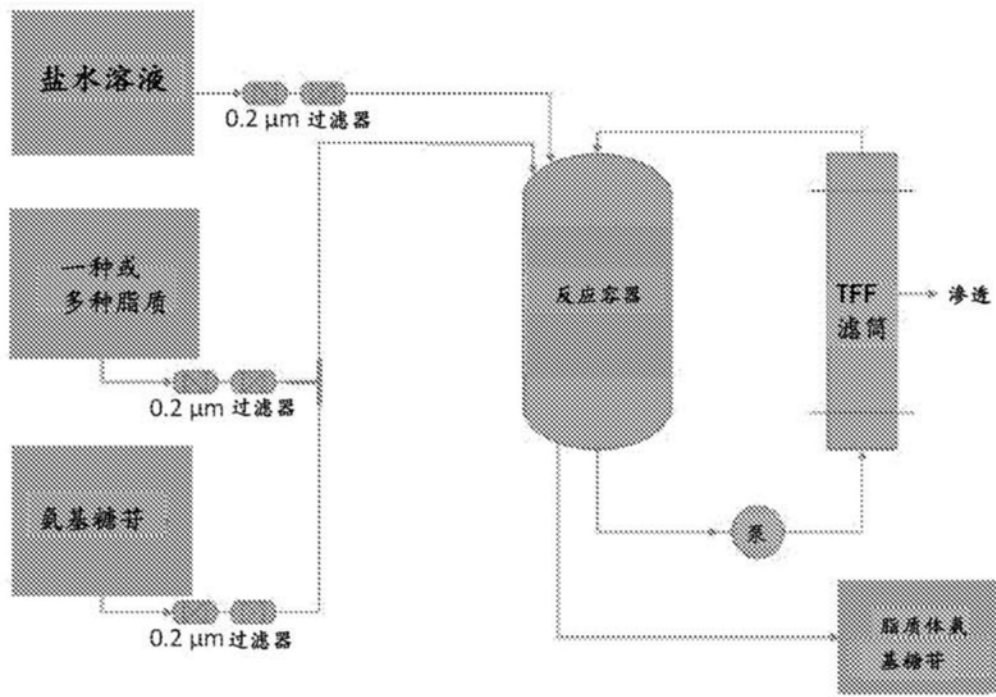


图1

脂质与阿米卡星的重量比率和脂质与阿米卡星的流速比率的关系

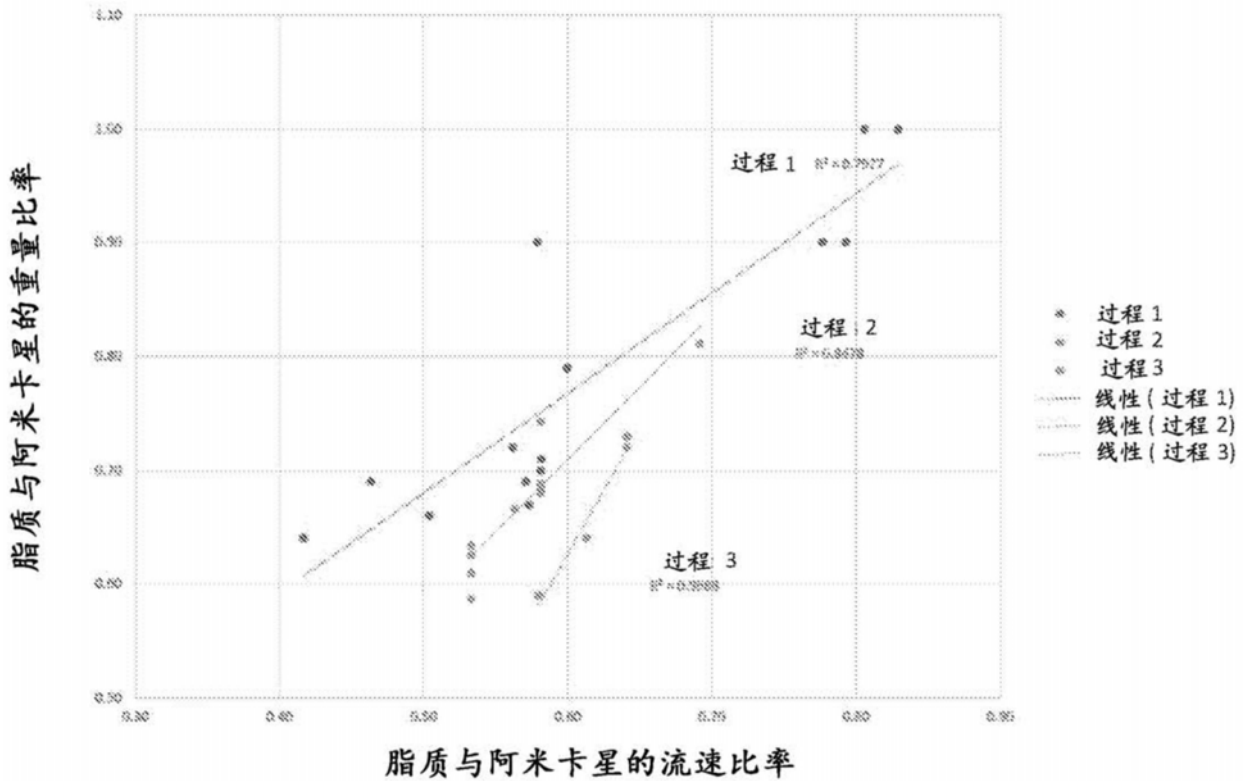


图2