

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷
A61K 31/337 A61K 9/107
A61P 35/00



[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 95194264.6

[45] 授权公告日 2003 年 1 月 1 日

[11] 授权公告号 CN 1097458C

[22] 申请日 1995.6.22 [21] 申请号 95194264.6

[30] 优先权

[32] 1994.7.19 [33] US [31] 08/276,899

[86] 国际申请 PCT/US95/08007 1995.6.22

[87] 国际公布 WO96/02247 英 1996.2.1

[85] 进入国家阶段日期 1997.1.20

[73] 专利权人 海马金/全氟碳公司

地址 美国密苏里州

[72] 发明人 罗伯特·J·考夫曼

托马斯·J·理查德

拉尔夫·W·富尔霍普

[56] 参考文献

WO9414415A 1994.7.7 A61K9/00

WOK9407484A 1994.4.14 A61K31/335

审查员 李 钢

[74] 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

代理人 甘 玲

权利要求书 4 页 说明书 12 页

[54] 发明名称 含有紫杉碱(紫杉醇)的稳定水包油乳剂及其制备方法

[57] 摘要

本发明涉及用于静脉输液的、在稳定水包油乳剂中的紫杉碱组合物。本发明还涉及将紫杉碱掺入到油中并形成稳定的水包油乳剂的方法。该组合物包括紫杉碱,油,水和表面活性剂。在一优选实施方案中,紫杉碱是紫杉醇,油为红花油,表面活性剂为卵磷脂。紫杉碱是通过将紫杉碱溶解在油和紫杉碱共溶剂如异丙醇的溶液中被掺入在油中的。然后除去共溶剂,以形成紫杉碱的油溶液。用表面活性剂将该溶液分散在水中,形成静脉输液用的稳定的水包油乳剂。

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

1. 一种供静脉输液用的含紫杉碱的稳定水包油乳剂的组合物，其包含：

紫杉碱；

三甘油酯；

水；和

表面活性剂，

其中所述紫杉碱以静脉输液用的药量被加溶到所述三甘油酯中，所述紫杉碱和三甘油酯在水中形成稳定的分散相。

2. 权利要求1中的组合物，其中所述紫杉碱选自紫杉醇；紫杉醚；司匹卡亭；紫杉烷-2,13-二酮,5 β ,9 β ,10 β -三羟基-,环9,10-缩丙酮乙酸酯；紫杉烷-2,13-二酮,5 β ,9 β ,10 β -三羟基-,环9,10-缩丙酮；紫杉烷-2 β ,5 β ,9 β ,10 β -四醇,环9,10-缩丙酮；紫杉烷；三尖杉宁碱-7-木糖苷；7-表-10-去乙酰三尖杉宁碱；10-去乙酰三尖杉宁碱；三尖杉宁碱；紫杉醇B；13-(2',3'-二羟基-3'-苯基丙酰基)浆果赤霉素III；云南红豆杉醇；7-(4-叠氮苯酰基)浆果赤霉素III；N-去苯酰基紫杉醇A；O-乙酰基浆果赤霉素IV；7-(三乙硅烷基)浆果赤霉素III；7,10-双-O-[(2,2,2-三氯乙氧基)羰基]浆果赤霉素III；浆果赤霉素III13-O-乙酸酯；浆果赤霉素二乙酸酯；浆果赤霉素；浆果赤霉素VII；浆果赤霉素VI；浆果赤霉素IV；7-表-浆果赤霉素III；浆果赤霉素V；浆果赤霉素I；浆果赤霉素III；浆果赤霉素A；10-去乙酰-7-表紫杉醇；表紫杉醇；10-去乙酰紫杉醇C；7-木糖酰-10-去乙酰紫杉醇；10-去乙酰紫杉醇-7-木糖苷；7-表-10-去乙酰紫杉醇；10-去乙酰紫杉醇；和10-去乙酰紫杉醇B。

3. 权利要求1或2中的组合物，其中所述紫杉碱选自紫杉醇和紫杉醚。

4. 权利要求1或2中的组合物，其中所述紫杉碱是紫杉醇。

5. 权利要求1中的组合物，其中所述三甘油酯是由富含三甘油酯的油提供的。

6. 权利要求 5 中的组合物，其中所述油选自红花油和大豆油、及其混合物。
7. 权利要求 5 或 6 中的组合物，其中所述三甘油酯是红花油。
8. 权利要求 1 中的组合物，其中所述表面活性剂是磷脂。
9. 权利要求 8 中的组合物，其中所述磷脂是卵磷脂。
10. 权利要求 1 中的组合物，其还包含选自甾醇和 C_{14} - C_{22} 醇的添加剂。
11. 权利要求 10 中的组合物，其中所述甾醇为胆固醇。
12. 权利要求 1 中的组合物，其还含有甘油。
13. 权利要求 1 中的组合物，其中以乳剂重量计，所述紫杉碱用量为 0.01% 至 1%。
14. 权利要求 1 中的组合物，其中以乳剂重量计，所述三甘油酯的用量为 1% 至 40 %。
15. 权利要求 1 中的组合物，其中以乳剂重量计，所述表面活性剂的用量为 0.5% 至 5%。
16. 权利要求 11 中的组合物，其中以乳剂重量计，所述胆固醇的用量为 0% 至 1%。
17. 权利要求 12 中的组合物，其中以乳剂重量计，所述甘油的用量为 0% 至 5%。
18. 权利要求 1 中的组合物，其中乳剂包含葡萄糖或乳酸格林氏溶液。
19. 权利要求 1 中的组合物，其中所述紫杉碱以 5 mg 紫杉碱/ml 乳剂的浓度混入所

述乳剂中。

20. 一种混合紫杉碱到三甘油酯中的方法，其包括以下步骤：

溶紫杉碱在所述三甘油酯和所述紫杉碱共溶剂的溶液中；并

除去所述共溶剂以构成所述紫杉碱的所述三甘油酯溶液。

21. 权利要求 20 中的方法，其中所述紫杉碱选自紫杉醇；紫杉醚；司匹卡亭；紫杉烷-2, 13-二酮, 5 β , 9 β , 10 β -三羟基-, 环 9, 10-缩丙酮乙酸酯；紫杉烷-2, 13-二酮, 5 β , 9 β , 10 β -三羟基-, 环 9, 10-缩丙酮；紫杉烷-2 β , 5 β , 9 β , 10 β -四醇, 环 9, 10-缩丙酮；紫杉烷；三尖杉宁碱-7-木糖苷；7-表-10-去乙酰三尖杉宁碱；10-去乙酰三尖杉宁碱；三尖杉宁碱；紫杉醇 B；13-(2', 3'-二羟基-3'-苯基丙酰基)浆果赤霉素III；云南红豆杉醇；7-(4-叠氮苯酰基)浆果赤霉素III；N-去苯酰基紫杉醇 A；0-乙酰基浆果赤霉素IV；7-(三乙硅烷)浆果赤霉素III；7, 10-双-O-[(2, 2, 2-三氯乙氧基)羰基]浆果赤霉素III；浆果赤霉素III13-O-乙酸酯；浆果赤霉素二乙酸酯；浆果赤霉素；浆果赤霉素VII；浆果赤霉素VI；浆果赤霉素IV；7-表-浆果赤霉素III；浆果赤霉素V；浆果赤霉素 I；浆果赤霉素III；浆果赤霉素 A；10-去乙酰-7-表紫杉醇；表紫杉醇；10-去乙酰紫杉醇 C；7-木糖酰-10-去乙酰紫杉醇；10-去乙酰紫杉醇-7-木糖苷；7-表-10-去乙酰紫杉醇；10-去乙酰紫杉醇；和 10-去乙酰紫杉醇 B。

22. 权利要求 20 或 21 中的方法，其中所述紫杉碱选自紫杉醇和紫杉醚。

23. 权利要求 20 或 21 中的方法，其中所述紫杉碱是紫杉醇。

24. 权利要求 20 中的方法，其中所述三甘油酯是由富含三甘油酯的油提供的。

25. 权利要求 24 中的方法，其中所述三甘油酯选自红花油和大豆油、及其混合物。

26. 权利要求 24 或 25 中的方法，其中所述三甘油酯是红花油。

27. 权利要求 20 中的方法，其中所述共溶剂为短链醇。
28. 权利要求 27 中的方法，其中所述短链醇选自甲醇、乙醇和异丙醇。
29. 权利要求 27 或 28 中的方法，其中所述醇通过蒸发除去。
30. 权利要求 20 中的方法，其还包括添加表面活性剂的步骤。
31. 权利要求 30 中的方法，其中所述表面活性剂是磷脂。
32. 权利要求 31 中的方法，其中所述磷脂是卵磷脂。
33. 权利要求 20 中的方法，其包括用表面活性剂将所述紫杉碱和三甘油酯溶液分散在水中形成稳定的水包油乳剂的后继步骤。
34. 权利要求 33 中的方法，其中所述三甘油酯是由富含三甘油酯的油提供的，所述油选自红花油和大豆油、及其混合物。
35. 权利要求 33 中的方法，其中所述共溶剂选自甲醇、乙醇和异丙醇。
36. 权利要求 33 中的方法，其中所述三甘油酯为红花油，所述共溶剂为异丙醇，所述表面活性剂为卵磷脂。

含有紫杉碱（紫杉醇）的稳定水包油乳剂及其制备方法

发明领域

本发明涉及紫杉碱类化合物，更具体地说涉及供静脉输液用的紫杉碱（紫杉醇）组合物。

发明背景

紫杉醇，作为紫杉碱类化合物的一员，由太平洋紫杉树，短叶红豆杉（*Taxus brevifolia*）中得到，已发现它治疗多种肿瘤有效。如，紫杉醇已用于治疗卵巢癌、乳腺癌、非小细胞肺癌、头癌和颈癌。David M. Peereboom 等人，"Successful Re-Treatment with Taxol After Major Hypersensitivity Reactions", *Journal of Clinical Oncology*, 11(5), PP. 885-890 (1993)。紫杉醇给药的一个难题是它在水中不溶。紫杉醇制剂技术的现状为需用 Cremophor-EL 表面活性剂（聚氧乙基代蓖麻油）和乙醇 50:50 的混合物以加溶药物。遗憾的是，该紫杉醇制剂在静脉输液时使得严重过敏反应（HSRs）有较高发生率。这些 HSRs 已被归因为加溶紫杉醇所需的不寻常高浓度的 Cremophor-EL。Id.

还有别的一些制备紫杉醇制剂的尝试，其中最成功的是把药物混入脂质体制剂中。但是这种制备方法难以定量地将药物混入脂质体腔内。另外，由于一星期内的贮藏即导致紫杉醇从水基脂质体制剂中沉淀出来，产品必需冻干并以粉末形式贮藏。因此，脂质体制剂须冻干并在使用前重新构成。

把紫杉醇制成稳定的脂质乳剂的尝试尚未获得成功。据报道紫杉醇不溶于脂质乳剂，如含有大豆油的 Intralipid[®]，或含有大豆和红花油混合物的 Liposyn[®]。L. C. Collins 等人，"Parenteral Emulsions for Drug Delivery", *Advanced Drug Delivery Reviews*, 5, PP. 189-208 (1990)。在大豆或红花油中加热紫杉醇，甚至是在声处理情况下，也不能溶解可察觉量的紫杉醇，并且在匀质过程中把紫杉醇加到脂质乳剂中结果同样也不好。含有高达 15mg/ml 紫杉醇的乳剂已用甘油三乙酯、L- α -卵磷脂、多乙氧基醚 80、

Pluronic F-68、油酸乙酯和甘油制得。但是这些乳剂是高毒性的并且也不稳定。B. Tarr 等人, "A New Parenteral Emulsion for Administration of Taxol", Pharmaceutical Research, 4, PP. 162-165(1987)。

因此, 确切需要一种稳定的、易于制备的、有生物相容性的、高效并显示最小副作用的紫杉醇制剂。

发明概述

本发明涉及供静脉输液用的含紫杉碱的稳定水包油乳剂组合物。本发明也涉及把紫杉碱混到油中并制成稳定的水包油乳剂的方法。

该组合物包含紫杉碱, 油, 水和表面活性剂。更具体地说, 紫杉碱如紫杉醇以足够供静脉输液的药量加溶至油中。紫杉碱和油的混合物在水中构成分散相。其他的紫杉碱如紫杉醚、司匹卡亭 (spicatin, 其分离及结构的确定可参考 J. Org. Chem. (1976) 41 (7): 1248-1253)。以及随后公开的其他物质。

油可为任何种类的油如矿物油、植物油、动物油、精油和合成油、或其混合物。优选为富含甘油三酯的油, 如红花油、大豆油或其混合物。由于紫杉醇在红花油中溶解性比大豆油好, 红花油最为优选。所用表面活性剂可为任何表面活性剂, 通常为磷脂如卵磷脂。

典型地, 以乳剂重为计, 紫杉碱的用量为约 0.1% 至约 1%, 油的用量为约 1% 至 40%, 表面活性剂的用量为约 0.5% 至约 5%。

如果需要, 组合物中也可添加多种添加剂。如可添加甘油来调节组合物的渗透性。通常加入足够量甘油 (典型地为 0.5-5 重量%) 调渗透性到 280 至 320 毫渗透压摩尔每升。但可根据所需最终用途加入更多或更少的甘油三酯以制得高渗透或低渗透的溶液。

根据所需最终用途, 另外一些常用的添加剂如木糖醇, 甘露醇, 葡萄糖或乳酸林格氏 (Ringer's) 液也可加到组合物中。

甾醇如胆固醇, 或长链 (C_{14} - C_{22}) 醇也可选来加入作共加溶剂。如果使用, 以乳剂重为计, 这些物质典型用量为约 1% 或更少。

紫杉碱可以多种浓度混入, 其中典型浓度为 5 mg 紫杉碱/ml 乳剂。

本发明也涉及把紫杉碱混到油中的方法。该方法包括溶解紫杉碱到油和紫杉碱共溶剂的溶液中, 接着除去紫杉碱共溶剂以构成紫杉碱油溶液。紫杉碱共溶剂可使紫杉碱加

溶到油中，优选为短链醇，如甲醇、乙醇或异丙醇。醇可用多种方法如蒸发等除去。

本发明另一方面涉及制备紫杉碱的稳定水包油乳剂的方法。在构成紫杉碱油溶液后，用表面活性剂把该溶液分散到水中构成稳定的水包油乳剂。

该创造性的组合物和方法的优点在于构成了稳定的水包油乳剂。另一优点是该紫杉碱制剂是高效的并显示最小副作用，另外，该创造性的制剂可能是易于制备的且与几种常用添加剂是生物相容性的。

发明详述

A. 紫杉碱

本发明的紫杉碱制剂包含紫杉碱，油，水和表面活性剂。文献中和此处的术语“紫杉碱”意指包括名称如“紫杉烷”的各种形式。可用的紫杉碱的例子包含紫杉醇 (Paclitaxel); 紫杉醚; 司匹卡亭; 紫杉烷-2, 13-二酮, 5 β , 9 β , 10 β -三羟基-, 环 9, 10-缩丙酮乙酸酯; 紫杉烷-2, 13-二酮, 5 β , 9 β , 10 β -三羟基-, 环 9, 10-缩丙酮; 紫杉烷-2 β , 5 β , 9 β , 10 β -四醇, 环 9, 10-缩丙酮; 紫杉烷; 三尖杉宁碱-7-木糖苷; 7-表-10-去乙酰三尖杉宁碱; 10-去乙酰三尖杉宁碱; 三尖杉宁碱; 紫杉醇 B; 13-(2', 3'-二羟基-3'-苯基丙酰基)浆果赤霉素III; 云南红豆杉醇 (yunnanxol); 7-(4-叠氮苯酰基)浆果赤霉素III; N-去苯酰基紫杉醇 A; 0-乙酰基浆果赤霉素IV; 7-(三乙硅烷基)浆果赤霉素III; 7, 10-双-0-[(2, 2, 2-三氯乙氧基)羰基]浆果赤霉素III; 浆果赤霉素III13-0-乙酸酯; 浆果赤霉素二乙酸酯; 浆果赤霉素; 浆果赤霉素VII; 浆果赤霉素VI; 浆果赤霉素IV; 7-表-浆果赤霉素III; 浆果赤霉素V; 浆果赤霉素I; 浆果赤霉素III; 浆果赤霉素 A; 10-去乙酰-7-表紫杉醇; 表紫杉醇; 10-去乙酰紫杉醇 C; 7-木糖酰-10-去乙酰紫杉醇; 10-去乙酰紫杉醇-7-木糖苷; 7-表-10-去乙酰紫杉醇; 10-去乙酰紫杉醇; 和 10-去乙酰紫杉醇 B。

B. 油

此处使用术语“油”指示一大类生理可接受性物质，不管是矿物油，植物油，动物油，精油或合成油。因此，此处使用术语“油”用以指一个宽范围的具有十分不同化学性质的物质。在以类型或功能分类油时，如矿物油源自石油并包含脂肪或蜡基烃，芳香烃或混合的脂肪与芳香基烃。在矿物油类别中也包括石油衍生的油如精制石蜡油等。在植物油类别中，油主要来源于种子或坚果，并包含干性油如亚麻子和桐油；半干性油如

红花和大豆油；不干性油如蓖麻，棉子和椰子油和可用作的皂料如棕榈和椰子油。在动物油类别中，油通常来自作为牛羊脂、猪油和硬脂酸的脂肪。液状动物油包含鱼油、油酸、鲸蜡油等。它们通常含大量脂肪酸。包含一些植物油，如橄榄、棉子、谷物和花生油，也包含一些特殊的鱼油，它们由于富含维生素而被广泛地用作药物，如鳕鱼肝、鲑鱼肝、鲨鱼肝油等。液状脂肪油如单、双、三甘油酯、或其混合物为优选的油。根据本发明，中等链长的三甘油酯也为有用的油。

C. 表面活性剂

需用表面活性剂构成稳定的乳剂。任何适用的表面活性剂均可单独使用或与其它表面活性剂复合使用。如可用蛋黄磷脂如卵磷脂或 Pluronic 乳化剂。试剂 Pluronic 为 Wyandotte 所售的嵌段聚合多元醇类聚合物，如可使用 Pluronic F68，分子量约为 8,000。乙氧基化的胆固醇、二乙酰甘油和二烷基醚甘油为有效表面活性剂。也可使用胆固醇，二乙酰甘油或二烷基醚甘油的骨架，按以下顺序以不同的量添加环氧乙烷，环氧丙烷和环氧乙烷制备嵌段共聚物以得表面活性剂。本发明的乳剂也可含有在 Kaufman 和 Richard 于 1991 年 11 月 13 日申请的美国专利 No. 791,420 中描述的烷基磷酸胆碱或烷基甘油磷酸胆碱表面活性剂。这些表面活性剂具体的例子有 1,2-二辛基甘油-3-磷酸胆碱、1,2-双十四烷基甘油-3-磷酸胆碱、1,2-双十六烷基甘油-3-磷酸胆碱、1,2-双十八烷基甘油-3-磷酸胆碱、1-十六烷基-2-十四烷基甘油-3-磷酸胆碱、1-十八烷基-2-十四烷基甘油-3-磷酸胆碱、1-十四烷基-2-十八烷基甘油-3-磷酸胆碱、1-十六烷基-2-十八烷基甘油-3-磷酸胆碱、1,2-双十八烷基甘油-3-磷酸胆碱、1-十八烷基-2-十六烷基甘油-3-磷酸胆碱、1-十四烷基-2-十六烷基甘油-3-磷酸胆碱、2,2-双十四烷基-1-磷酸胆碱乙烷和 1-十六烷基-十四烷基甘油-3-磷酸胆碱。也可用在 Kaufman 和 Richard 于 1994 年 4 月 15 日申请的美国专利 No. 08/228,224 中描述的 1,3-二烷基甘油磷酸胆碱。也可使用这些新型表面活性剂和其它已知表面活性剂的混合物。阴离子表面活性剂包含烷基或芳基硫酸酯、磺酸酯、羧酸酯或磷酸酯。阳离子表面活性剂包含如单、双、三和四烷基或芳基铵盐。非离子表面活性剂包括烷基或芳基化合物，其亲水部分由聚氧乙烯链，糖分子，多元醇衍生物或别的亲水基团组成。两性离子表面活性剂可以是上述阴离子和阳离子表面活性剂的结合产物，其亲水部分包含任何别种聚合物，如聚氧异丁烯或聚环氧丙烷。

D. 优选紫杉碱制剂及方法

依据本发明原则的紫杉碱制剂通过溶解紫杉醇 (Pacilitaxel) 于醇溶液中制备。如果需要, 所选用的甾醇共添加剂, 如胆固醇, 可加到此醇溶液中。接着把该溶液加到等体积油中并混合至清亮。用旋转蒸发或通氮气流蒸发除去醇。

磷脂, 如蛋黄卵磷脂分散到水中, 它可选择性包含甘油以调节所需渗透性。事实上, 甘油可在制备过程中的任何时刻加到水相中。在继续高速搅拌该分散体的情况下, 把含紫杉醇 (和如果需要的胆固醇和甘油) 的油溶液加到分散体中以形成原乳剂。所得原乳剂旋转通过匀质器精制, 得适于静脉输液用、搁置稳定、小颗粒度、无毒的乳剂。通过下述非限定的实施例将对本发明的这些和别的目的作进一步了解。

实施例 1

紫杉醇脂质乳剂的制备

制备含紫杉醇 15 mg/ml 和胆固醇 20 mg/ml 的异丙醇溶液。把该溶液加到等体积红花油中, 并通过旋转蒸发或通氮气蒸发除去醇, 这样得到含紫杉醇 15 mg/ml 和胆固醇 20 mg/ml 的红花油溶液。

用 Ultraturrax 高速混合器把 1.9g 蛋黄卵磷脂分散到 61ml 水中。继续高速搅拌, 同时慢慢加 32ml 含紫杉醇 (15mg/ml) 和胆固醇 (20mg/ml) 的红花油溶液到分散体中。将所得原乳剂在压力为 8000 磅每平方英寸的条件下旋转通过匀质器进行精制。使用 Microfluidizer 匀质器以供小体积操作。当然, 标准匀质装置, 如 Gaulin 匀质器由于它们常用于大量制备用于母营养物的脂肪乳剂, 可望得到同样好的结果。

所得水基乳剂的组成列于表 1, 列 1 中。为比较稳定性, 以同样方法另外制备四个制剂, 这些乳剂的组成列于表 1 中。

表 1					
乳剂	1	2	3	4	5
卵磷脂	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%
红花油	33.3%	33.4%	33.3%	33.5%	33.6%
甘油	0.0%	0.0%	2.0%	0.0%	1.9%
胆固醇	0.67%	0.67%	0.67%	0.0%	0.0%
紫杉醇	0.51%	0.00%	0.51%	0.51%	0.5%

实施例 2

紫杉醇脂质乳剂的稳定性

在 40℃ 下对上述表 1 中的五个不同的紫杉醇制剂作持续 6 周的加速老化研究。稳定性的量度包括紫杉醇浓度，pH，粘度和平均粒度。研究结果列于表 2A-2E 中。

表 2A				
乳剂 1	0 周	2 周	4 周*	6 周
紫杉醇%	0.46	0.45	0.47	0.44
pH	7.38	6.80	5.13	6.88
渗透性 (mOsm/L)				
粘度 (cP)	3.21	2.91	10.0	3.59
平均粒度 (μm)	0.367	0.317	0.740	0.360
*该 4 周样品为异己样品, 通过 6 周样品可证明				

表 2B				
乳剂 2	0 周	2 周	4 周	6 周
紫杉醇%	0.00	0.00	0.00	0.00
pH	8.01	6.98	7.06	6.36
渗透性 (mOsm/L)				
粘度 (cP)	3.62	3.42	3.54	3.59
平均粒度 (μm)	0.268	0.237	0.326	0.317

表 2C				
乳剂 3	0 周	2 周	4 周	6 周
紫杉醇%	0.45	0.44	0.45	0.45
pH	6.65	7.07	7.02	6.56
渗透性 (mOsm/L)	357	360	358	362
粘度 (cP)	3.61	2.91	3.34	4.14
平均粒度 (μm)	0.308	0.368	0.348	0.322

表 2D				
乳剂 4	0 周	2 周	4 周	6 周
紫杉醇%	0.47	0.45	0.46	0.46
pH	7.83	7.22	6.84	6.51
渗透性 (mOsm/L)				
粘度 (cP)	3.12	3.11	3.02	3.34
平均粒度 (μm)	0.322	2.95	0.315	0.315

表 2E				
乳剂 5	0 周	2 周	4 周	6 周
紫杉醇%	0.39	0.41	0.44	0.42
pH	8.06	7.29	6.37	6.88
渗透性 (mOsm/L)	344	332	342	343
粘度 (cP)	2.92	2.62	2.82	3.07
平均粒度 (μm)	0.291	0.278	0.299	0.308

研究期间紫杉醇浓度保持相对稳定。紫杉醇的加样量 (0.5%) 和稳定性研究中所列出的量的差别是由于在制备这样小量的乳剂时 (匀质器有明显的死体积) 难以保持精确的水平衡造成的。为支持该论点, 紫杉醇高效液相色谱分析得出稳定性值, 显示在整个研究过程中没有明显的紫杉醇降解。另外, 显微检验 (1200 $\times$ 放大倍数) 证明样品中的紫杉醇没有沉淀或结晶。

和所有临床用三甘油酯乳剂情况一样, 在样品老化过程中有少量的、生物不明显的 pH 值下降。粘度未显示统计上明显的变化并大大低于人血液的粘度 (9-12cP)。另外, 粒度在研究期间内保持相对稳定, 进一步证明了该紫杉醇脂质乳剂的稳定性。

实施例 3

与临床用流体的混合

为了临床应用供静脉输液的产品, 重要的是要确证是否常用添加剂如 5% 的葡萄糖或乳酸林格氏液能与产品共同给药或混合。为此, 表 1 中的乳剂 4 和 5 用葡萄糖液或乳酸林格氏液稀释成两种不同浓度 (1:1 和 1:4 稀释液), 并将样品在 25 $^{\circ}\text{C}$ 下放置 24 小时接着用 Brookhaven Model BI-90 作激光散射分析, 测定平均粒度。表 3 显示混合前后的平均粒度。结果显示在临床条件下紫杉醇液体乳剂与常用流体混合非常稳定。

表 3					
	混合前	1:1 葡萄糖	1:4 葡萄糖	1:1 乳酸格林氏液	1:4 乳酸格林氏液
乳剂 4	0.295	0.313	0.322	0.329	0.309
乳剂 5	0.278	0.293	0.267	0.301	0.294

实施例 4

相对传统紫杉醇-Cremophor 制剂紫杉醇脂质乳剂的毒性

15 只白 Sprague-Dawley 鼠五只一组分成三组。一组作对照不接受药物处置。第二组和第三组分别注射该创造性的脂质乳剂和市售的紫杉醇-Cremophor 制剂。在给药前，根据包装中插页“紫杉醇注射浓度”使用 0.9% 生理盐水把乳剂和 Cremophor 制剂中浓度最终稀至 1mg 紫杉醇/ml。接着对药物处置组动物隔 1/2 小时注射剂量 42mg/kg（42cc/kg 稀释液）。注射 14 天后检查动物的存活率，器官重量，血液学和临床化学。存活率和归一化器官重（克数每 100g 体重）列于表 4 中。

表 4						
	存活率	肝	肺	脾	睾丸	胸腺
对照组	5/5	4.45	0.49	0.32	1.09	0.29
乳剂组	4/5	4.78	0.52	0.52	0.72	0.15
紫杉醇-Cremophor 制剂组	0/5					

用紫杉醇-Cremophor 制剂处置的所有动物在注射后立即表现运动失调并对刺激不反应，并在 24 小时内全部死亡。形成鲜明对比的是，用乳剂处置的所有动物从注射起往后均表现正常行为，在最初几天里，该组动物未显示体重下降，其中有一只在注射后四天死亡。对比乳剂处置组和对照组的重量，对不同动物来说肝和肺重量在实验误差范围内，但处置组脾略微变大，睾丸和胸腺略微变小。

对用脂质乳剂处置的动物心脏穿刺提取血样，血样用血液学和临床化学参数分析，

结果分别列于表 5 和表 6 中。血液学和临床化学结果都处在随机啮齿类动物正常限内。令人吃惊地是，没有观察到预期的紫杉醇诱导的血小板减小症。这可能是因为持续 14 天研究中血小板数已得以恢复。

表 5							
血液学							
白血球 (th/mm ³)	红细胞 (mil/mm ³)	血红蛋 白 (g/dl)	红细胞压 积 (cvol%)	红细胞平 均体积 μ m ³	平均红细 胞量 (pg)	平均红细胞 浓度 (%)	中性粒细胞 (#/mm ³)
7325	5.43	12.0	36.1	66.5	22.2	33.5	1558
中性杆状 核白细胞 (#/mm ³)	淋巴细胞 (#/mm ³)	单核细 胞 (#/mm ³)	嗜酸性 粒细胞 (#/mm ³)	嗜碱性粒 细胞 (#/mm ³)	有核红细 胞 (#/mm ³)	血小板 (#/mm ³)	网织红血球 (#/mm ³)
78	5522	74	0	0	0	1427000	290460

表 6							
临床化学							
血糖 (mg/dl)	血氮 (mg/dl)	肌苷 (mg/dl)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)
232	21	0.5	144	6.8	102	10.9	11.9
UA (mg/dl)	胆固醇 (mg/dl)	甘油三 酯 (mg/dl)	胆红素 (mEq/L)	直接胆 红素 (mEq/L)	间接胆 红素 (mEq/L)	AP (U/L)	血清谷草 转氨酶 (U/L)
1.5	69	63	0.2	0.0	0.2	450	100
血清甘丙 转氨酶 (U/L)	GGTP (U/L)	乳酸脱 氢酶 (U/L)	蛋白 (g/dl)	白蛋白 (g/dl)	球蛋白 (g/dl)	白蛋白- 球蛋白比 (比率)	Fe (μ g/dl)
59	<1	578	5.6	3.4	2.1	1.6	229

实施例 5

功效

为试验该紫杉醇脂质乳剂的功效，乳剂对比于不含紫杉醇的 Cremophor 赋形剂和市售的紫杉醇—Cremophor 制剂作筛选。这三个样品用二种不同细胞系测试，所用细胞系为含 10% 马血清的在 Fische's 培养基中的鼠淋巴细胞白血病 (L1210)，和含小牛清的在 MEM 培养基中的鼠乳腺癌。对每个细胞系，10ml 培养基上培养 10^6 个细胞。淋巴细胞白血病细胞系温孵 16 小时，乳腺癌细胞系温孵 24 小时。温孵后，细胞用锥虫蓝 (trypan blue) 染色，并用细胞计数器计数活细胞。必须指出的是由于乳剂的混浊性吸收技术不能应用。另外，由于乳剂颗粒扩散速率与市售制剂溶液不同，琼脂扩散法也不能应用。每个细胞系的结果列于表 7A 和 7B 中。

表 7A			
鼠淋巴细胞白血病			
	Cremophor 赋形剂	乳剂	紫杉醇- Cremophor
0.01 μ g/ml	121	45.1	52.8
0.1 μ g/ml	126	39.1	37.0
1.0 μ g/ml	147	33.1	36.2
10 μ g/ml	3.2	35.2	2.8

表 7B			
鼠乳腺癌			
	Cremophor 赋形剂	乳剂	紫杉醇- Cremophor
0.01 μ g/ml	95.21	81.4	89.9
0.1 μ g/ml	91.7	36.8	40.8
1.0 μ g/ml	108	28.7	35.1
10 μ g/ml	48.0	20.8	24.8

数据显示不含紫杉醇的 Cremophor 赋形剂本身对所用细胞系有一定毒性。另外，市售紫杉醇制剂和本创造性的脂质乳剂没有明显差别。

在不背离本发明的范围条件下，对本领域技术人员来说本发明可有别的调整方案。