



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104906586 A

(43) 申请公布日 2015. 09. 16

(21) 申请号 201410085842. 1

(22) 申请日 2014. 03. 10

(71) 申请人 中国科学院上海药物研究所
地址 201203 上海市浦东新区张江祖冲之路
555 号

(72) 发明人 李亚平 陈伶俐 郑召磊 张志文
顾王文

(74) 专利代理机构 北京金信知识产权代理有限
公司 11225

代理人 朱梅 李海明

(51) Int. Cl.

A61K 47/24(2006. 01)

A61K 47/18(2006. 01)

A61K 47/22(2006. 01)

A61K 31/4745(2006. 01)

权利要求书2页 说明书12页 附图2页

(54) 发明名称

一种盐酸伊立替康复合磷脂组合物、制备方法及其应用

(57) 摘要

本发明公开了一种盐酸伊立替康复合磷脂组合物、制备方法及其在制备治疗肿瘤或耐药性肿瘤的药物中的用途。所述复合磷脂组合物包含盐酸伊立替康、复合磷脂、胆固醇、长循环膜材、表面活性剂、缓冲介质。该组合物主要解决了现有脂质制剂体内外稳定性差、药物易泄漏等问题,能大大提高脂质制剂的稳定性及盐酸伊立替康的抗肿瘤作用,并可克服肿瘤的多药耐药。

1. 一种盐酸伊立替康复合磷脂组合物,其包含盐酸伊立替康、复合磷脂、胆固醇、长循环膜材、非离子表面活性剂和缓冲介质;其中所述复合磷脂由氢化大豆磷脂(HSPC)和其它脂质组成。

2. 根据权利要求1所述的盐酸伊立替康复合磷脂组合物,其中,盐酸伊立替康和HSPC的质量比为1:5-1:50,优选为1:5-1:20。

3. 根据权利要求1所述的盐酸伊立替康复合磷脂组合物,其中,所述复合磷脂中的氢化大豆磷脂和其它脂质的质量比为20:1-200:1,优选为50:1-150:1,更优选为50:1-100:1;

优选地,所述其它脂质选自大豆磷脂(SPC)、蛋黄卵磷脂(EPC)、氢化卵磷脂(HEPC)、鞘磷脂(SM)、心磷脂、二硬脂酰磷脂酰胆碱(DSPC)、二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC)、二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱(DMPC)、二油酰磷脂酰胆碱(DOPC)、二硬脂酰磷脂酰乙醇胺(DSPE)、二棕榈酰磷脂酰乙醇胺(DPPE)、二肉豆蔻酰磷脂酰乙醇胺(DMPE)、二油酰磷脂酰乙醇胺(DOPE)、二硬脂酰磷脂酰甘油(DSPG)、二棕榈酰磷脂酰甘油(DPPG)、二肉豆蔻酰磷脂酰甘油(DMPG)和二油酰磷脂酰甘油(DOPG)中的一种或多种,更优选为选自SPC、EPC、HEPC、DSPC和DSPG中的一种或多种,更优选为DSPC。

4. 根据权利要求1所述的盐酸伊立替康复合磷脂组合物,其中,氢化大豆磷脂与胆固醇质量比为2:1-20:1,优选为2:1-10:1,更优选为2:1-6:1。

5. 根据权利要求1所述的盐酸伊立替康复合磷脂组合物,其中,氢化大豆磷脂与长循环膜材质量比为2:1-20:1,优选为2:1-10:1;

优选地,所述长循环膜材为聚乙二醇衍生化磷脂,其是聚乙二醇分子通过共价键与磷脂分子上的活性基团结合而成;

优选地,所述聚乙二醇衍生化磷脂为选自聚乙二醇-磷脂酰乙醇胺(PEG-PE)、聚乙二醇-二肉豆蔻酰磷脂酰乙醇胺(PEG-DMPE)、聚乙二醇-二棕榈酰磷脂酰乙醇胺(PEG-DPPE)、聚乙二醇-二硬脂酰磷脂酰乙醇胺(PEG-DSPE)中的一种或多种。

6. 根据权利要求1所述的盐酸伊立替康复合磷脂组合物,其中,氢化大豆磷脂与非离子表面活性剂质量比为50:1-150:1,优选为50:1-100:1;

优选地,所述非离子表面活性剂为选自普朗尼克F68、普朗尼克F127、普朗尼克P123、普朗尼克P85、普朗尼克L61、TPGS和HS15中的一种或多种。

7. 根据权利要求1所述的盐酸伊立替康复合磷脂组合物,其中,所述缓冲介质为选自组氨酸缓冲液、甘氨酸缓冲液、磷酸盐缓冲液和4-羟乙基哌嗪乙磺酸(HEPES)缓冲液中的一种或多种,其浓度范围可以为约10-约50mM,pH为5.5-7.5。

8. 根据权利要求1所述的盐酸伊立替康复合磷脂组合物,其中,所述盐酸伊立替康复合磷脂组合物的Z均平均粒径为50-200nm,优选为50-120nm。

9. 根据权利要求1所述的盐酸伊立替康复合磷脂组合物,其中,氢化大豆磷脂与冻干保护剂的质量比为1:0.1-1:5,优选为1:0.5-1:4;

优选地,所述冻干保护剂为选自蔗糖、乳糖、甘露醇、海藻糖、麦芽糖中的一种或多种。

10. 根据权利要求1所述的盐酸伊立替康复合磷脂组合物,以重量份计,其包含:

氢化大豆磷脂	100
其他磷脂	0.5-5, 优选 0.67-2
胆固醇	5-50, 优选 10-50
长循环膜材	5-50, 优选 10-50
非离子表面活性剂	0.67-2, 优选 1-2
盐酸伊立替康	2-20, 优选 5-20
缓冲介质	适量, 稳定为 pH5.5-7.5。

11. 根据权利要求 10 所述的盐酸伊立替康复合磷脂组合物, 其中, 所述盐酸伊立替康复合磷脂组合物进一步包含约 10-500 重量份, 优选为约 50-400 重量份的冻干保护剂。

12. 根据权利要求 1 所述的盐酸伊立替康复合磷脂组合物, 其中, 所述组合物中的药物包封率大于 80%, 优选大于 85%, 更优选大于 90%。

13. 根据权利要求 1 至 12 中任一项所述的盐酸伊立替康复合磷脂组合物的制备方法, 其包括以下步骤:

a 称取配方量的 HSPC、其它脂质、长循环膜材和胆固醇溶于无水乙醇得有机相, 将有机相注入到浓度为约 100-约 400mmol/L 的硫酸铵水溶液中高速(优选转速约 5000-约 30000rpm)搅拌, 经高压(优选约 10000-约 30000psi)均质、超声或挤出工艺, 形成空白脂质体悬液;

或者, 称取配方量的 HSPC、其它脂质、胆固醇和长循环材料溶于叔丁醇中, 经冷冻干燥后, 加入浓度为约 100-约 400mmol/L 的硫酸铵水溶液分散, 形成空白脂质体悬液;

b 将步骤 a 所得空白脂质体悬液以纯水或蔗糖水溶液(浓度为 300mM)通过切向流超滤装置(膜分子量:10-100KDa;流速:20-400ml/min;压力:0-5bar), 置换脂质体体积的约 5-约 30 倍, 以除去外水相硫酸铵建立硫酸铵梯度;

c 将盐酸伊立替康加入经步骤 b 处理所得空白脂质体悬液中, 在高于脂质体相转变温度的温度(优选 37°C-70°C)下孵育 10min-1h 进行载药;

d 在经载药脂质体悬液中以固体形式加入缓冲盐和非离子表面活性剂, 搅拌溶解, 调节 pH 到 5.5-7.5 范围, 即得盐酸伊立替康复合磷脂组合物;

或者将载药脂质体悬液经切相流超滤装置置换为药学可接受的缓冲液, 再加入非离子表面活性剂, 调节 pH 到 5.5-7.5 范围, 即得盐酸伊立替康复合磷脂组合物。

14. 根据权利要求 13 所述的制备方法, 其进一步在步骤 d 之后包括加入冻干保护剂的步骤。

15. 根据权利要求 13 或 14 所述的制备方法, 其中, 在步骤 d 之后或者在加入冻干保护剂之后, 采用微孔滤膜过滤除菌得到无菌制剂。

16. 根据权利要求 1-11 中任一项所述的盐酸伊立替康复合磷脂组合物在制备治疗肿瘤, 尤其是耐药性肿瘤的药物中的用途, 其中, 所述肿瘤为结直肠癌、非小细胞肺癌、卵巢癌、宫颈癌、胃癌、恶性淋巴瘤、乳腺癌、皮肤癌或胰腺癌。

一种盐酸伊立替康复合磷脂组合物、制备方法及其应用

技术领域

[0001] 本发明属于药物制剂领域,具体涉及一种盐酸伊立替康复合磷脂组合物、制备方法及其在制备治疗肿瘤或耐药性肿瘤的药物中的用途。

背景技术

[0002] 盐酸伊立替康(Irinotecan, CPT-11)是半合成水溶性喜树碱衍生物,是DNA拓扑异构酶I(Topo I)的抑制剂。伊立替康与其活性代谢产物SN-38通过与DNA-Topo-1复合体的稳定结合引起DNA单链的断裂,使DNA产生不可逆的损伤而死亡。伊立替康是治疗转移性结直肠癌的有效药物,对氟尿嘧啶耐药病例仍有效,而且具有很广的抗肿瘤谱。I期、II期临床研究结果表明,该药对化疗抗拒性肿瘤,如非小细胞肺癌、卵巢癌和宫颈癌有肯定疗效;另外它对胃癌、恶性淋巴瘤(非霍奇金淋巴瘤)、乳腺癌、小细胞肺癌、皮肤癌、胰腺癌也有一定疗效。

[0003] 目前,国内上市的产品为盐酸伊立替康的注射剂,该药抗癌活性强,但不良反应亦较多,常见不良反应为食欲缺乏、恶心、呕吐、腹泻,白细胞和中性粒细胞减少、贫血及血小板减少,脱发和乙酰胆碱能综合症,这些不良反应大大限制了该药在临床上的使用。

[0004] 另外,因盐酸伊立替康结构中的内酯环具有pH依赖性,在碱性、中性甚至弱酸性(如pH大于6时)溶液中会形成无活性的羧酸盐形式,因此在药物进入体内后会有相当一部分药物转化为无活性的羧酸盐形式,从而降低了药效。

[0005] 而且,多药耐药(Multidrug Resistance, MDR)是另外一个限制盐酸伊立替康临床应用的主要问题。多药耐药是指肿瘤细胞对一种抗肿瘤药物出现耐药的同时,对其他结构和作用机理不同的抗肿瘤药物产生交叉耐药性。多药耐药是导致抗癌药化疗失败的主要原因。肿瘤的多药耐药会大大降低盐酸伊立替康和其它抗癌药的疗效。

[0006] 由此看来,目前上市剂型在安全性、有效性及克服多药耐药性方面均存在较大的改进空间,这无疑限制了其在临床上更为广泛地应用。

[0007] 为了增强药物的靶向性,延长体内滞留时间,增强疗效,降低毒性,美国PharmaEngine公司研发了CPT-11脂质体注射液,目前正在进行II期临床试验。在台湾进行的I期临床试验结果表明,CPT-11脂质体注射液对晚期顽固性肿瘤受试者呈现出良好的有效性、耐受性和药代动力学特性。

[0008] 中国专利申请CN101953792A公开了伊立替康长循环纳米脂质体及其制备方法,该专利限定脂质体处方组成为磷脂、胆固醇、泊洛沙姆188、聚乙二醇类化合物、伊立替康,其制备方法为,将磷脂、胆固醇、泊洛沙姆188溶于乙醇制备空白脂质体,透析法除硫酸铵,再载药,这一工艺存在以下几个问题:(1)在透析法除硫酸铵过程中容易将泊洛沙姆188和聚乙二醇类化合物如PEG2000一并除掉,造成处方比例改变;(2)透析法所需时间长,难以实现工业大生产;(3)载药过程中需调节脂质体外水相pH到7-7.5,易造成脂质体稳定性差、药物失活等问题。

[0009] 中国专利申请公开CN102485213A、CN103120645也公开了盐酸伊立替康脂质体及

制备方法,但在处方的经济性、合理性,工艺的可放大性、操作简便性,以及药物的安全性及有效性方面仍然存在较多问题,而且上述专利文献均未提及脂质体制剂的体内外稳定性及克服多药耐药问题。

[0010] 脂质体作为药物载体,既起到了对药物的保护作用,又提高了药物对机体特定部位的靶向性,因此在提高药效方面具有很多优越的特性。然而,脂质体的体内外稳定性限制了脂质体作为药物载体在临床的应用,其不稳定性主要表现在以下三个方面;

[0011] (1) 脂质体的化学稳定性:构成脂质体的主要成分磷脂易发生氧化水解,造成双分子膜流动性下降,脂质体稳定性降低,药物渗漏加剧;

[0012] (2) 脂质体的物理稳定性:脂质体属胶体分散系,磷脂膜为对称双分子膜,分子间为弱相互作用(疏水相互作用、范德华力、氢键等),因而它具有热力学不稳定性,主要表现为:脂质体膜是动态膜,磷脂分子间不断互换位置,其膜内外物质可自由跨膜交换,且交换是随机的,无选择性;脂质体粒子可自发聚集、沉淀。另外,脂质体膜通常为双层凝胶相,磷脂分子间排列紧密,碳氢链高度有序,膜流动性小,但常因温度、pH值和含水量等因素的变化发生相变和相分离。当发生凝胶相→液晶相(LB→LA)相变,膜分子间隔加大,流动性和通透性显著增加;当发生凝胶相→六角相(LB→H I或H II)相分离,膜上形成孔洞或发生膜融合,所载药物迅速渗漏;

[0013] (3) 脂质体的生物学稳定性:脂质体在血液中的稳定性是发挥药物载体作用的关键。血液中有多种破坏因素:高密度脂蛋白(HDL)是破坏脂质体的主要成分,apo A-1蛋白质易从HDL上脱落并与脂质体磷脂结合,且HDL和脂质体易发生apo A-1蛋白质与磷脂的互换,脂质体膜形成孔洞;同时脂质体在血液中激活补体系统,最终形成攻膜复合体(MAC),脂质体膜出现亲水性通道,引起药物渗漏和水、电解质的大量进入,最终渗透裂解脂质体;血清白蛋白与脂质体磷脂结合形成复合物,降低其稳定性;血液中的磷脂酶可水解磷脂,该反应强弱由磷脂结构决定;脂质体进入体内后,各种调理素如抗体、补体等与脂质体结合,促进网状内皮系统对其快速清除。

[0014] 另外,常规制备伊立替康脂质体的方法包括pH梯度法和硫酸铵梯度法,其中以pH梯度法制备的脂质体稳定性差,通常需设计成三个分装单元以提高制剂稳定性,但这种分包装的脂质体制剂给生产、运输及临床使用带来极大不便;以硫酸铵梯度法制备脂质体过程中,通常采用透析、柱层析、超滤等方法除外水相硫酸铵,这些方法存在样品处理量小、耗时、样品稀释、膜孔易堵塞超滤效率低等问题,只适合少量样品的制备,不适合工业化大生产,因而延缓伊立替康脂质体进入临床的进程。

发明内容

[0015] 技术问题

[0016] 本申请的发明人发现:已公开的伊立替康脂质体虽然较市售注射液有一定优势,但存在以下缺陷:

[0017] (1) 脂质体体外稳定性差,通常需采用三瓶装的特殊设计或冻干处理以解决长期贮存过程中脂质体聚集、药物易泄露的问题;

[0018] (2) 脂质体体内稳定性差,脂质体进入体内后,由于血液中白蛋白、调理素、抗体等各种因素的作用以及所用脂质相变温度低于体温等原因,包封药物快速泄露,大大削弱脂

质体制剂的优势,限制其疗效的发挥;

[0019] (3) 所采用的脂质体制备方法及工艺难以实现工业化生产,且制得的脂质体粒径难以控制,分布不均匀,包封率低、稳定性差;

[0020] (4) 已公开的伊立替康脂质体未针对肿瘤的多药耐药问题提出解决方案和应对策略。

[0021] 因此,对于盐酸伊立替康这个特定的药物来说,必须针对其稳定性问题、工业化生产的要求及肿瘤多药耐药问题,寻找特定的制剂及制备工艺,以实现提高制剂稳定性及疗效、降低毒副作用、克服肿瘤多药耐药的目的。

[0022] 技术方案

[0023] 为解决现有技术中存在的上述技术问题,本发明人进行了广泛深入的研究,最终得到本发明。

[0024] 本发明的目的之一是为临床提供一种稳定的盐酸伊立替康复合磷脂组合物,所述盐酸伊立替康复合磷脂组合物主要解决了现有脂质体制剂体内外稳定性差、药物易泄漏等问题,能大大提高脂质体制剂的稳定性及盐酸伊立替康的抗肿瘤作用,克服其肿瘤的多药耐药。

[0025] 本发明的另一目的是提供一种上述盐酸伊立替康复合磷脂组合物的制备方法。

[0026] 为了实现上述发明目的,本发明提供了一种盐酸伊立替康复合磷脂组合物,其包含盐酸伊立替康、复合磷脂、胆固醇、长循环膜材、非离子表面活性剂和缓冲介质;其中所述复合磷脂由氢化大豆磷脂(HSPC)和其它脂质组成。

[0027] 本发明中,盐酸伊立替康和 HSPC 的质量比为约 1:5 - 约 1:50,优选为约 1:5 - 约 1:20。

[0028] 脂质体制剂稳定性与其组成直接相关。不同磷脂形成的脂质制剂稳定性明显不同,而且由单一组分磷脂形成的脂质制剂极不稳定,所以本发明中采用复合磷脂作为组合物的膜材。相比于单一磷脂组成的脂质体制剂,复合磷脂可通过分子间相互作用,提高脂膜的刚性,使磷脂分子间的排列更加紧密有序,可以提高药物的包封率,减少药物在体内外的泄露,从而大大提高其稳定性。

[0029] 本发明中,所述复合磷脂中的氢化大豆磷脂和其它脂质的质量比为 20:1-200:1,优选为 50:1-150:1,更优选为 50:1-100:1。

[0030] 本发明中,所述的其它脂质是能够用于制备脂质体制剂的任何一种药理学上可接受的磷脂,优选可以为选自大豆磷脂(SPC)、蛋黄卵磷脂(EPC)、氢化卵磷脂(HEPC)、鞘磷脂(SM)、心磷脂、二硬脂酰磷脂酰胆碱(DSPC)、二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC)、二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱(DMPC)、二油酰磷脂酰胆碱(DOPC)、二硬脂酰磷脂酰乙醇胺(DSPE)、二棕榈酰磷脂酰乙醇胺(DPPE)、二肉豆蔻酰磷脂酰乙醇胺(DMPE)、二油酰磷脂酰乙醇胺(DOPE)、二硬脂酰磷脂酰甘油(DSPG)、二棕榈酰磷脂酰甘油(DPPG)、二肉豆蔻酰磷脂酰甘油(DMPG)和二油酰磷脂酰甘油(DOPG)中的一种或多种,更优选为选自 SPC、EPC、HEPC、DSPC 和 DSPG 中的一种或多种,更优选为 DSPC。

[0031] 本发明中,所述胆固醇作为脂质体制剂的构成成分,起到稳定剂的作用,其用量对制剂的稳定性和释放行为有显著影响。在本发明的盐酸伊立替康复合磷脂组合物中,氢化大豆磷脂与胆固醇质量比为约 2:1-约 20:1,优选为约 2:1-约 10:1,更优选为约 2:1-约

6:1。

[0032] 本发明中,所述长循环膜材用于实现脂质体制剂的长循环功能,延长药物在血液中的循环时间,增加药物在肿瘤部位的蓄积,以进一步提高疗效,降低毒性。

[0033] 在根据本发明的盐酸伊立替康复合磷脂组合物中,氢化大豆磷脂与长循环膜材质量比为约 2:1-约 20:1,优选为约 2:1-约 10:1。

[0034] 本发明中,优选地,所述长循环膜材为聚乙二醇衍生化磷脂,其是聚乙二醇分子通过共价键与磷脂分子上的活性基团结合而成。优选地,聚乙二醇衍生化磷脂为选自聚乙二醇-磷脂酰乙醇胺(PEG-PE)、聚乙二醇-二肉豆蔻酰磷脂酰乙醇胺(PEG-DMPE)、聚乙二醇-二棕榈酰磷脂酰乙醇胺(PEG-DPPE)、聚乙二醇-二硬脂酰磷脂酰乙醇胺(PEG-DSPE)中的一种或多种。聚乙二醇衍生化磷脂中所述 PEG 链段的分子量没有特殊限定,但是优选平均分子量(数均)为约 500-约 5000Da,更优选为约 1000-约 5000Da,最优选为约 2000Da。所述分子量采用凝胶渗透色谱(GPC)方法检测。

[0035] 本发明中,非离子表面活性剂使脂质混悬液中存在胶团和乳剂,其疏水端插入双分子膜,亲水端使脂质体高度亲水,防止了脂质剂相互聚集融合和沉淀。它还改变磷脂分子的排列和运动方式,导致膜纵向有序性(磷脂分子碳氢链间的紧密堆积情况)增大,流动性降低,稳定性升高,这种影响随其浓度增大而增大。而且在血液中这类脂质剂表面被高度亲水的白蛋白覆盖,保护它不被 MPS 吞噬,延长脂质组合物在血液中的循环时间,因而非离子表面活性剂的加入不仅能大大提高脂质组合物在体内外的稳定性,还有助于延长药物在体内的循环时间,提高疗效。此外,非离子表面活性剂如普朗尼克(pluronic)、天然水溶性维生素 E(TPGS)、15-羟基硬脂酸聚乙二醇酯(HS15)等能通过以下作用机制逆转肿瘤的多药耐药:第一:与 MDR 细胞膜相互作用,减少膜的微粘度,抑制 Pgp ATP 酶活性,从而抑制 Pgp 外排泵的功能;第二:抑制 MDR 细胞线粒体的呼吸链,减少细胞膜电位,诱导细胞色素 C 的释放,增加细胞质活性氧(ROS)的水平,减少 ATP 的含量;第三:抑制 GSH/GST 解毒系统的功能;第四:增加促凋亡信号并减少 MDR 细胞的抗凋亡防御,因而配方中加入非离子表面活性剂可增强耐药性肿瘤对药物的敏感型,逆转肿瘤的多药耐药。

[0036] 在根据本发明的盐酸伊立替康复合磷脂组合物中,氢化大豆磷脂与非离子表面活性剂质量比为约 50:1-约 150:1,优选为约 50:1-约 100:1。

[0037] 本发明中,优选地,非离子表面活性剂为选自普朗尼克 F68、普朗尼克 F127、普朗尼克 P123、普朗尼克 P85、普朗尼克 L61、TPGS 和 HS15 中的一种或多种。

[0038] 研究表明卵磷脂、饱和大豆磷脂和磷脂酰甘油等的水解都受 pH 值的影响。水解产物可以使脂质混悬液的 pH 值下降,加速脂质制剂的进一步水解。因此,本发明在复合磷脂组合物的混悬液中加入缓冲介质,使 pH 稳定在脂质制剂最稳定的 pH 范围,以提高组合物的稳定性。

[0039] 本发明中,优选地,所述盐酸伊立替康复合磷脂组合物中的缓冲介质可以为任何药学上可接受的缓冲介质,优选的,所述缓冲介质为选自组氨酸缓冲液、甘氨酸缓冲液、磷酸盐缓冲液和 4-羟乙基哌嗪乙磺酸(HEPES)缓冲液中的一种或多种,其浓度范围可以为约 10-约 50mM, pH 为约 5.5-约 7.5。

[0040] 复合磷脂组合物粒径会影响其在体内的循环时间。本发明中,优选地,所述盐酸伊立替康复合磷脂组合物的平均粒径(Z 均粒径)为约 50-约 200nm,优选为约 50-约 120nm。

所述粒径采用英国马尔文(Malvern)公司的 Nano Sizer90 检测。本发明中,优选地,所述盐酸伊立替康复合磷脂组合物可以进一步包含冻干保护剂。所述冻干保护剂用于将所得复合磷脂组合物冷冻干燥制备成其冻干粉。在根据本发明的盐酸伊立替康复合磷脂组合物中,氢化大豆磷脂与冻干保护剂的质量比为约 1:0.1-约 1:5,优选为约 1:0.5-约 1:4。

[0041] 本发明中,优选地,所述冻干保护剂为选自蔗糖、乳糖、甘露醇、海藻糖、麦芽糖等中的一种或多种。

[0042] 在一个优选的实施方式中,以重量份计,根据本发明的盐酸伊立替康复合磷脂组合物包含:

[0043]

氢化大豆磷脂	100
其他磷脂	约 0.5-约 5, 优选约 0.67-约 2
胆固醇	约 5-约 50, 优选约 10-约 50
长循环膜材	约 5-约 50, 优选约 10-约 50
非离子表面活性剂	约 0.67-约 2, 优选约 1-约 2
盐酸伊立替康	约 2-约 20, 优选约 5-约 20
缓冲介质	适量, 稳定为 pH 约 5.5-7.5。

[0044] 优选地,在上述优选实施方式中,所述盐酸伊立替康复合磷脂组合物可以进一步包含约 10-500 重量份,优选为约 50-400 重量份的冻干保护剂。

[0045] 在上述优选实施方式中的各组分的描述与前述内容相同,在此不再赘述。

[0046] 本发明所述的盐酸伊立替康复合磷脂组合物中,优选药物包封率大于 80%,以便脂质制剂能通过 EPR 效应聚集在肿瘤组织,减少在其它正常组织的分布,从而提高药效,降低毒性。本发明的盐酸伊立替康复合磷脂组合物中的药物包封率甚至大于 85%,甚至更大于 90%。

[0047] 制剂贮存稳定性是影响药物疗效及毒性的关键所在。本发明所述的盐酸伊立替康复合磷脂组合物,优选在 2-8°C 存放,至少可稳定半年。

[0048] 根据本发明的另一目的,提供了所述盐酸伊立替康复合磷脂组合物的制备方法,其采用切向流超滤技术结合硫酸铵梯度法制备。该方法可实现工业化规模,高效率生产出质量稳定的产品。

[0049] 因此,根据本发明的盐酸伊立替康复合磷脂组合物的制备方法包括以下步骤:

[0050] a 称取配方量的 HSPC、其它脂质、长循环膜材和胆固醇溶于无水乙醇得有机相,将有机相注入到浓度为约 100-约 400mmol/L 的硫酸铵水溶液中高速(优选转速约 5000-约 30000rpm)搅拌,经高压(优选约 10000-约 30000psi)均质、超声或挤出工艺,形成空白脂质体悬液;

[0051] 或者,称取配方量的 HSPC、其它脂质、胆固醇和长循环材料溶于叔丁醇中,经冷冻干燥后,加入浓度为约 100-约 400mmol/L 的硫酸铵水溶液分散,形成空白脂质体悬液;

[0052] b 将步骤 a 所得空白脂质体悬液以纯水或蔗糖水溶液(浓度为 300mM)通过切向流超滤装置(膜分子量:10-100KDa;流速:20-400ml/min;压力:0-5bar),置换脂质体体积的

约 5- 约 30 倍,以除去外水相硫酸铵建立硫酸铵梯度;

[0053] c 将盐酸伊立替康加入经步骤 b 处理所得空白脂质体悬液中,在高于脂质体相转变温度的温度下(优选 37℃ -70℃) 孵育 10min-1h 进行载药;

[0054] d 在经载药脂质体悬液中以固体形式加入缓冲盐和非离子表面活性剂,搅拌溶解,调节 pH 到 5.5-7.5 范围,即得盐酸伊立替康复合磷脂组合物;

[0055] 或者将载药脂质体悬液经切相流超滤装置置换为药学可接受的缓冲液,再加入非离子表面活性剂,调节 pH 到 5.5-7.5 范围,即得盐酸伊立替康复合磷脂组合物。

[0056] 进一步地,本发明的制备方法中,可上述步骤 d 之后包括加入冻干保护剂的步骤。

[0057] 本发明的制备方法中,在上述步骤 d 之后或者在加入冻干保护剂之后,可以采用微孔滤膜过滤除菌得到无菌制剂。

[0058] 这里所说的超声、高压均质或挤出工艺是为了减小空白脂质悬液的粒径,控制产品的质量;所述切向流超滤工艺是为除去空白脂质悬液外水相中的硫酸铵,以建立离子梯度用于载药。

[0059] 上述制备过程中,一个最关键的步骤就是除去外水相的硫酸铵,产生硫酸铵梯度。目前,常用除外水相硫酸铵方法是透析、柱层析、超滤。这三种方法均存在一定问题,其中透析法样品处理量少,透析时间长;柱层析会造成样品大大稀释;超滤过程中会出现膜孔堵塞、超滤效率下降,因此只适合实验室小量样品的处理,不适合工业化大规模生产。

[0060] 切向流过滤是指液体流动方向与过滤方向呈垂直方向的过滤形式。传统的液体死端 (dead end) 过滤是大部分微孔过滤,包括除菌过滤所采用的过滤形式,其液体的流动方向与过滤方向一致,随着过滤的进行,过滤膜表面形成的滤饼层或凝胶层厚度逐渐增大,流速逐渐降低。当过滤介质为孔径细小的超滤膜或微滤膜时料液中固形物含量很高时,采取死端过滤方式,流速将急速降低,因此死端过滤只能处理小体积的料液。采用切向流过滤方式,液体流动在过滤介质表面产生剪切力,减小了滤饼层或凝胶层的堆积,保证了稳定的过滤速度。目前在医药领域主要是应用于细胞收集、蛋白浓缩、蛋白脱盐、抗生素纯化等方面,本发明将其应用于脂质体外水相硫酸铵的去除,具有较大创新性。

[0061] 本发明所用切向流过滤装置中,滤膜材料选自聚醚砜树脂 (PES) 和三醋酸纤维素 (CT),滤膜分子量为 10-100KDa,流速为约 20- 约 400ml/ 分钟,压力为 0-5Bar。

[0062] 采用切向流超滤,还有如下的优势。

[0063] 采用切向流超滤技术置换外水相中硫酸铵时,样品处理量可达工业生产规模,所需时间短,工作效率高,形成的离子浓度梯度大,所得脂质组合物包封率高,便于工业化生产,减低生产成本;采用切向流超滤技术不会改变脂质制剂的性质如粒径及其分布;采用切向流超滤,整个体系可以处于密封状态,所有管道可以清洗,防止操作过程细菌微生物的影响,为整个制备过程的无菌提供保证,这对于注射剂的质量控制至关重要。

[0064] 所述相转变温度是指脂质凝胶态和液晶态之间相互转变时的温度。在高于脂质相转变温度的温度下孵育,可使脂质膜通透性增强,伊立替康在离子梯度的驱动下更易透膜,聚集于脂质体的内水相中。

[0065] 本发明又一方面提供了一种上述盐酸伊立替康复合磷脂组合物在制备治疗肿瘤,尤其是耐药性肿瘤的药物中的用途,其中,所述肿瘤为结直肠癌、非小细胞肺癌、卵巢癌、宫颈癌、胃癌、恶性淋巴瘤、乳腺癌、皮肤癌或胰腺癌。

[0066] 本发明与现有技术相比具有以下优点。

[0067] 本发明采用复合磷脂作脂质组合物的材料,相比于单一磷脂,可通过两种磷脂间的相互作用,改变脂膜的结构,增强膜的刚性,使磷脂分子间的排列更加紧密有序,降低脂膜的通透性,大大减少药物在存放过程或体内循环过程中药物的泄露,从而有助于提高疗效。这一技术优势在其它相关专利文献中未见报道。

[0068] 本发明配方中非离子表面活性剂的加入,使脂质混悬液中存在胶团,其疏水端插入双分子膜,亲水端使脂质制剂高度亲水,防止了脂质制剂间相互聚集融合和沉淀。它还改变磷脂分子的排列和运动方式,导致膜纵向有序性(磷脂分子碳氢链间的紧密堆积情况)增大,流动性降低,稳定性提高;在血液中这类脂质制剂表面被高度亲水的白蛋白覆盖,保护它不被 MPS 吞噬,延长复合磷脂组合物在血液中的循环时间,可大大提高复合磷脂组合物的物理稳定性和生物学稳定性。而且,表面活性剂如普朗尼克、HS15、TPGS 还可增强耐药性肿瘤对药物的敏感型,逆转肿瘤的多药耐药。

[0069] 缓冲介质则可维持复合磷脂组合物的 pH 值在一定范围,减少复合磷脂材料的氧化水解,提高复合磷脂组合物的化学稳定性。

[0070] 采用复合磷脂组合物作为盐酸伊立替康的载体,将药物包封于复合磷脂组合物中,能明显提高药物在体内的稳定性,保持其活性内酯环结构形式,更好的发挥抗癌作用;因盐酸伊立替康复合磷脂组合物属纳米制剂范畴,能显著延长药物在血液中的循环时间,改善其体内分布,增加药物在肿瘤部位的聚集,提高药效,降低毒副作用,从而提高治疗指数。

[0071] 本发明的盐酸伊立替康复合磷脂组合物的平均粒径为约 50- 约 200nm,能有效穿透肿瘤血管,通过增强渗透和滞留作用(EPR 效应)聚集在肿瘤部位,实现被动靶向作用。

[0072] 本发明盐酸伊立替康复合磷脂组合物的制备采用新型切向流超滤技术结合硫酸铵梯度法,较现有制备方法更易实现工业化生产,并能解决现有制备技术粒径大且不均匀的问题,更好控制产品的质量;采用硫酸铵梯度法将空白脂质体、盐酸伊立替康混合孵育,就能制得包封率大于 80% 的盐酸伊立替康复合磷脂组合物,该方法操作简单且为该制剂的临床应用提供了一个方便简单快捷的方法。

附图说明

[0073] 图 1 为根据本发明实施例 1 制备的盐酸伊立替康复合磷脂组合物的粒径分布图。

[0074] 图 2 为根据本发明实施例 2 制备的盐酸伊立替康复合磷脂组合物的 zeta 电位图。

[0075] 图 3 为根据本发明实施例 1 制备的盐酸伊立替康复合磷脂组合物和根据比较实施例 1 制备的脂质体的体外释放测试结果图。

[0076] 图 4 为以生理盐水为对照,根据本发明实施例 1 制备的盐酸伊立替康复合磷脂组合物及实施例 2 制备的脂质体的药效测试结果图。

具体实施方式

[0077] 下面结合实施例对本发明加以进一步说明,以下实施方式只以举例的方式描述本发明。但这些实施例并不意味着对本发明加以任何限制。很明显,本领域普通技术人员可在本发明的范围和实质内,对本发明进行各种变通和修改。需要了解的是,本发明意欲涵盖

在所附权利要求书中包括的变通和修改。

[0078] 试剂和药品

[0079] 大豆磷脂(上海太伟药业有限公司);HSPC(上海艾韦特医药科技有限公司);PEG-DSPE(上海艾韦特医药科技有限公司);PEG-PE(上海艾韦特医药科技有限公司);PEG-DPPE(上海艾韦特医药科技有限公司);鞘磷脂(上海紫一试剂厂);蛋黄卵磷脂(上海艾韦特医药科技有限公司);胆固醇(南京新百药业有限公司);sephadex G-50(美国GE公司);盐酸伊立替康(上海创诺制药有限公司)。

[0080] 实施例 1 盐酸伊立替康复合磷脂组合物的制备:

[0081] 将 HSPC1.2g、DSPC0.012g、胆固醇 0.3g、PEG2000-DSPE0.4g 以 1.5ml 无水乙醇超声溶解,将其注入到预热至 65℃的 30ml250mM 硫酸铵水溶液,高速(转速为 20000rpm)搅拌得初品,再于 20000psi 下高压均质 4 次,以超纯水经切向流超滤系统(膜分子量 30kDa,流速为 200ml/min,压力为 1bar)置换 10 倍体积除外水相硫酸铵,即得到空白脂质体悬液;将所得空白脂质体悬液与盐酸伊立替康水溶液(浓度为 10mg/ml)按药物与 HSPC 重量比 1:10 混合,65℃孵育 30min,再加入 0.012g F68、4.3g 蔗糖、0.065g 组氨酸,调节 pH=6.0,即得盐酸伊立替康复合磷脂组合物。

[0082] 实施例 2 盐酸伊立替康复合磷脂组合物的制备:

[0083] 称取 HSPC1.5g、大豆磷脂 0.02g、胆固醇 0.15g、PEG2000-DSPE0.15g,以 1.5ml 无水乙醇溶解,将其注入到预热至 65℃的 30ml200mM 硫酸铵水溶液,高速(转速为 25000rpm)搅拌得初品,再于 15000psi 下高压均质 4 次,以 300mM 蔗糖水溶液经切向流超滤系统(膜分子量 30kDa,流速 300ml/min,压力为 1.5bar)置换 20 倍体积除外水相硫酸铵,即得到空白脂质体悬液。将所得空白脂质体悬液与盐酸伊立替康溶液(浓度为 10mg/ml)按药物与 HSPC 重量比 1:20 混合,55℃孵育 1h 后,再经切向流超滤系统除去未包封的药物,并将其外水相置换为 300mM 蔗糖、10mM 组氨酸缓冲液(pH=6.5),再加入 0.02g HS15,搅拌溶解后,无菌过滤分装,于 4℃贮存备用。

[0084] 实施例 3 盐酸伊立替康复合磷脂组合物的制备

[0085] 称取 HSPC1.2g、蛋黄卵磷脂 0.024g、胆固醇 0.12g、PEG2000-DPPE0.4g,以 1.5ml 无水乙醇溶解,将其注入到预热至 65℃的 30ml250mM 硫酸铵水溶液,高速(转速为 20000rpm)搅拌得初品,再以 100nm 孔径的聚碳酸酯膜挤出 4 次,以 300mM 蔗糖水溶液经切向流超滤系统(膜分子量 30kDa,流速 100ml/min,压力为 1.5bar)置换 5 倍体积以除去外水相硫酸铵,即得到空白脂质体悬液。将所得空白脂质体悬液与盐酸伊立替康水溶液(浓度为 5mg/ml)按药物与 HSPC 重量比 1:5 混合,60℃孵育 10min 后,再经切向流超滤系统除去未包封的药物,并将其外水相置换为 300mM 蔗糖、20mM 磷酸盐缓冲液(pH=7.4),再加入 0.02gTPGS,溶解后即得。

[0086] 实施例 4 盐酸伊立替康复合磷脂组合物的制备:

[0087] 称取 HSPC1.5g、DSPG0.015g、胆固醇 0.4g、PEG2000-DSPE0.4g,以 1.5ml 无水乙醇溶解,将其注入到预热至 65℃的 30ml250mM 硫酸铵水溶液,高速(转速为 20000rpm)搅拌得初品,再以 100nm 孔径的聚碳酸酯膜挤出 4 次,以 300mM 蔗糖水溶液经切向流超滤系统(膜分子量 30kDa,流速 100ml/min,压力为 1.5bar)置换 5 倍体积以除去外水相硫酸铵,即得到空白脂质体悬液。将所得空白脂质体悬液与盐酸伊立替康水溶液(浓度为 5mg/ml)按药物

HSPC重量比1:10混合,60℃孵育10min后,再经切向流超滤系统除去未包封的药物,并将其外水相置换为300mM蔗糖、20mM HEPES缓冲液(pH=7.4),再加入泊洛沙姆F680.015g,搅拌溶解后即得。

[0088] 实施例5 盐酸伊立替康复合磷脂组合物冻干粉的制备:

[0089] 称取HSPC1.6g、HEPC0.032g、胆固醇0.16g、PEG2000-DMPE0.5g以5ml叔丁醇溶解,于冻干机上冷冻干燥,再加入30ml200mM硫酸铵溶液水合超声至半透明,以超纯水经切向流超滤系统(膜分子量10kDa,流速200ml/min,压力为1.5bar)置换15倍体积以除去外水相硫酸铵,即得到空白脂质体悬液。取上述空白脂质体悬液30ml与盐酸伊立替康溶液10ml(含盐酸伊立替康80mg)混合,60℃孵育1h后,加入普朗尼克F1270.008g、甘氨酸0.03g、蔗糖0.2g、甘露醇0.5g、乳糖1g,搅拌溶解,并调节pH为7.4,于冻干机中冻干即得盐酸伊立替康复合磷脂组合物冻干粉。

[0090] 比较实施例1

[0091] 盐酸伊立替康现有脂质体的制备:

[0092] 按照中国专利申请公开CN101953792A公开的配方及方法制备,具体如下:

[0093] 称取大豆磷脂3g、胆固醇1g、泊洛沙姆1880.6g、维生素E0.1g溶解于无水乙醇1.5ml中,在55℃水浴条件下注入溶解了0.3gPEG-DSPE的硫酸铵溶液(200mM)30ml中,通氮气条件下保温搅拌1h,所得长循环空白脂质体在生理盐水中透析过夜,氢氧化钠调节外水相pH为7.4,再加入盐酸伊立替康溶液30ml(10mg/ml),55℃孵育10min,过滤除菌后,按4ml/瓶分装于西林瓶中。

[0094] 比较实施例2

[0095] 盐酸伊立替康现有脂质体的制备

[0096] 按照中国专利申请CN103120645A公开的配方及方法制备,具体如下:

[0097] 将1g氢化大豆卵磷脂(HSPC)、0.25g胆固醇(CHOL)溶于适量无水乙醇得脂质溶液,与250Mm100ml硫酸铵溶液混合,减压除掉乙醇得到空白脂质体粗品。之后采用高压均质机1000bar均质5次循环,之后通过挤出设备挤出脂质体控制其粒径(挤出器铺2张0.1μm挤出膜,挤出5次)。之后加入配制好的0.1gDSPE-PEG2000水溶液,搅拌孵育20分钟。采用超滤装置透析空白脂质体,中间不间断的补充注射用水,即得空白脂质体。

[0098] 用注射用水配制盐酸伊立替康水溶液,按照盐酸伊立替康与HSPC的重量比例为1:3.5加入到上述具有离子梯度的空白脂质体分散液中,60℃加热搅拌,孵育20分钟即得载药脂质体。采用切向流超滤装置除去未包封的药物,同时将样品浓缩至约50ml,加入0.45g氯化钠调节渗透压。调整药物浓度,定容,0.22μm滤膜过滤除菌,充氮气灌封于小瓶中,即得盐酸伊立替康脂质体注射剂。

[0099] 性能测试

[0100] 粒径及分布测试:

[0101] 取实施例1制得的伊立替康复合磷脂组合物用水稀释后,经粒径测定仪(型号:Nano Sizer90,厂商:英国马尔文(Malvern)公司)测定其粒径及分布。结果如图1,其Z均粒径为71.53nm,多分散指数为0.107,粒子分布较为均匀。

[0102] 同法测得其它实施例中复合磷脂脂质组合物的粒径和分布结果见表1。

[0103] 表1

[0104]

	实施例 2	实施例 3	实施例 4	实施例 5
粒径 (nm)	79	78.43	92.48	84.98
多分散指数	0.192	0.225	0.244	0.238

[0105] Zeta 电位的测定

[0106] 取实施例 2 制得的酒石酸长春瑞滨长循环脂质体,用 nanosizer90 测定其 zeta 电位。结果如图 2,其 zeta 电位为 -12.4mv。

[0107] 包封率的测定:

[0108] 取实施例 1-5 制得的盐酸伊立替康复合磷脂组合物进行包封率的测定。

[0109] 色谱条件:色谱柱 Waters SunFire[®] C₁₈ 柱(4.6mm×250mm,5 μm);流动相为乙腈-26mmol/L 磷酸二氢钠溶液(含 8mmol/L 辛烷基磺酸钠)(32:68);流速 1ml/min;柱温 40℃;检测波长 254nm;进样量 20 μl。

[0110] 取充分溶胀的 Sephadex G-50 葡聚糖凝胶适量,制备凝胶柱(30cm×1cm),精密量取盐酸伊立替康复合磷脂组合物 0.5ml 上柱,以 PBS (PH=7.4) 洗脱,收集含组合物的流份共 14ml,置 50ml 量瓶中,用甲醇定容,摇匀后精密量取 0.5ml 置 10ml 量瓶中,用酸化甲醇定容,采用 HPLC 测定复合磷脂组合物中包裹的药量 W;另取盐酸伊立替康复合磷脂 0.5ml 置于 50ml 量瓶中,同法操作,测定临床载药纳米制剂中的总药量 W₀。计算得盐酸伊立替康临床载药纳米制剂的平均包封率为 91.27%。

[0111] 表 2

[0112]

	实施例 1	实施例 2	实施例 3	实施例 4	实施例 5
包封率	95.6	97.6	93.1	95.9	96.3

[0113] 体外释放测定:

[0114] 取实施例 1 制得的伊立替康复合磷脂组合物、比较实施例 1 中的伊立替康脂质体及盐酸伊立替康溶液进行体外释放的测定,其中盐酸伊立替康溶液配制方法为:称取一定量盐酸伊立替康以超纯水配成浓度为 2mg/ml 的溶液。

[0115] 精密量取伊立替康复合磷脂组合物、伊立替康脂质体 1ml,加至透析袋(透析袋分子量 8000-14000Da)中,扎紧两端,置于装有 20ml 释放介质(pH7.4 磷酸盐缓冲液)的锥形瓶中,于(37.0±0.5)℃条件下恒速振荡(100r/min)。分别在 0.5、1、2、4、8、12、24h 取样,进样测定,计算累积释放率(%)。同时考查伊立替康溶液的释放情况。以累积释放率(Q)对时间(t)作图,释放曲线见图 3。

[0116] 由图 3 可见,相比于伊立替康脂质体,伊立替康复合磷脂组合物药物释放较为缓慢,24h 时累积释放率为 52%,表明本发明复合磷脂组合物较比较实施例 1 中的脂质体稳定性更好。

[0117] 稳定性实验:

[0118] 取实施例 1 制得的盐酸伊立替康复合磷脂组合物和比较实施例 2 制得的盐酸伊立

替康脂质体进行稳定性试验。

[0119] 将实施例 1 制得的伊立替康复合磷脂组合物放置于 2-8℃, 于 0、1、2、3、6 月取样, 并测定盐酸伊立替康总含量、有关物质(有关物质是残留合成原料、中间体、副产物及可能降解产物的统称)、包封率、粒径等质量指标; 将比较实施例 2 制得的盐酸伊立替康脂质体相同条件放置后直接取样测定上述质量指标。

[0120] 从表 3 可以看出, 比较实施例 2 制得的伊立替康脂质体在 2-8℃ 放置 6 个月后, 盐酸伊立替康总含量下降 5.6%, 有关物质增加 3.53%; 而根据本发明的伊立替康复合磷脂组合物在放置 6 个月后, 各项质量指标与 0 月相比无明显变化, 表明根据本发明的盐酸伊立替康复合磷脂组合物稳定性较现有制剂有极大程度提高, 更具有临床应用价值。

[0121] 表 3 现有脂质体与本发明的盐酸伊立替康复合磷脂组合物稳定性

[0122]

质量指标	现有脂质体					本发明盐酸伊立替康复合磷脂组合物				
	0 月	1 月	2 月	3 月	6 月	0 月	1 月	2 月	3 月	6 月
总含量 (mg/ml)	4.98	4.90	4.84	4.76	4.70	1.66	1.65	1.64	1.65	1.63
有关物质 (%)	0.26	0.92	1.19	1.82	3.79	0.24	0.28	0.29	0.33	0.41
包封率 (%)	95.6	96.3	95.2	95.7	95.8	98.1	98.5	98.3	98.4	98.6
粒径 (nm)	93.73	93.87	94.71	96.88	99.80	75.53	77.81	75.77	78.37	77.58

[0123] 药动力学测试:

[0124] 取健康雄性 SD 大鼠(来源: 上海实验动物中心) 8 只(体重 200-220g), 随机分成 2 组。尾静脉按 10mg/kg 的剂量分别尾静脉注射给予实施例 1 和比较实施例 2 的盐酸伊立替康复合磷脂组合物和伊立替康脂质体及伊立替康注射液后, 分别于 0.083h、0.25h、0.5h、1h、2h、4h、6h、8h、24h 由大鼠眼眶静脉丛取血, 取血量约 0.3ml, 置于肝素化离心管中, 于 10000rpm 下离心 10min, 取 100 μl 血浆, 加入 10 μl 10% 甲酸和 500 μl 甲醇, 涡旋 1min, -20 度放置 1h 用以沉淀蛋白, 然后于 20000g 离心 10min。取上清液进样测定血液中伊立替康药物浓度。药代动力学参数用 WinNonlin Professional v6.3 (Pdayarsight, USA) 软件采用非房室模型分析处理。

[0125] 表 4

参数	单位	复合磷脂组合物	脂质体	注射液
K_{el}	L/kg	0.193 ± 0.0183*	0.501 ± 0.0647	0.496 ± 0.0546
[0126] $t_{1/2}$ (h)	hr	12.61 ± 0.358*	1.39 ± 0.176	1.41 ± 0.174
AUC_{0-24}	hr*ng/mL	823721 ± 33816*	19885 ± 3569	3478 ± 273
$AUC_{0-\infty}$	hr*ng/mL	823732 ± 33823*	19897 ± 3580	3491 ± 281

[0127] 注： K_{e1} 为消除速度常数， $t_{1/2}$ 为半衰期，AUC 为血药浓度时间曲线下面积

[0128] 由表 4 可以看出，本发明盐酸伊立替康复合磷脂组合物的半衰期和 AUC 分别是比较实施例 2 中伊立替康脂质体的 9.06 倍和 41 倍，表明本发明盐酸伊立替康复合磷脂组合物较脂质体具有更好的体内稳定性，大大延长了盐酸伊立替康的生物半衰期，提高了药物的生物利用度。

[0129] 抗肿瘤活性测试：

[0130] Balb/c 裸鼠（购自上海实验动物中心）适应环境 5d，将对数生长期的 MCF-7/ADR 细胞消化后制成 1×10^8 /ml 细胞悬液，在 Balb/c 裸鼠右前肢皮下注射 0.1ml 细胞悬液，建立荷瘤模型。待小鼠肿瘤平均体积长至 50-100mm³ 左右时，将裸鼠随机分为 3 组，每组 10 只。各组分别于第 1、4、7 天通过尾静脉注射给药，给药剂量为实施例 1 中的 CPT-11 复合磷脂组合物 20mg/kg，比较实施例 2 中的 CPT-11 20mg/kg 和生理盐水（对照组），用卡尺测量各裸鼠肿瘤的长径 (a) 及短径 (b)，按 $(a \times b^2) / 2$ 公式计算肿瘤体积。

[0131] 由图 4 可以看出，盐酸伊立替康复合磷脂组合物及盐酸伊立替康脂质体对裸鼠耐药性乳腺癌均有较好的抑制作用，各剂量组肿瘤体积与对照组（即生理盐水组）相比均显著降低 ($P < 0.05, 0.01$)，且同剂量的复合磷脂组合物组较比较实施例 2 中的盐酸伊立替康脂质体组有更好的抑瘤效果 ($P < 0.05$)，表明本发明盐酸伊立替康复合磷脂组合物在一定程度上可逆转肿瘤耐药。

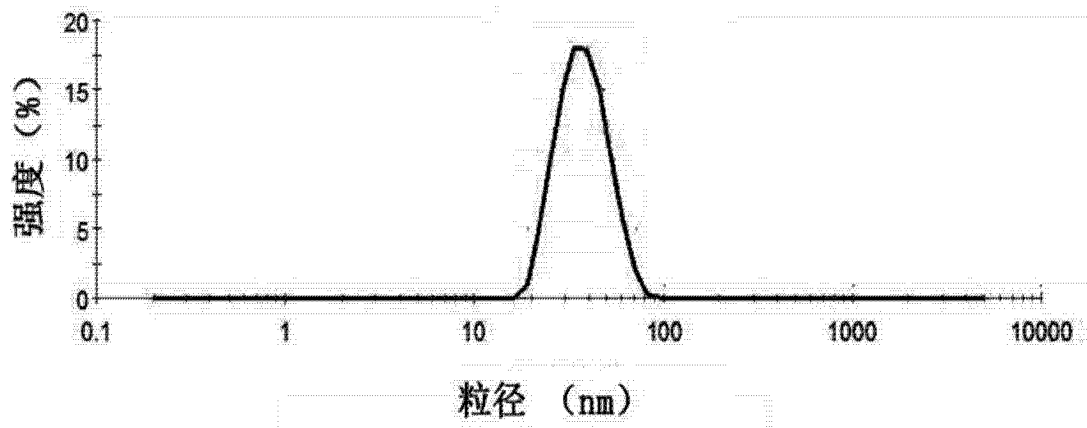


图 1

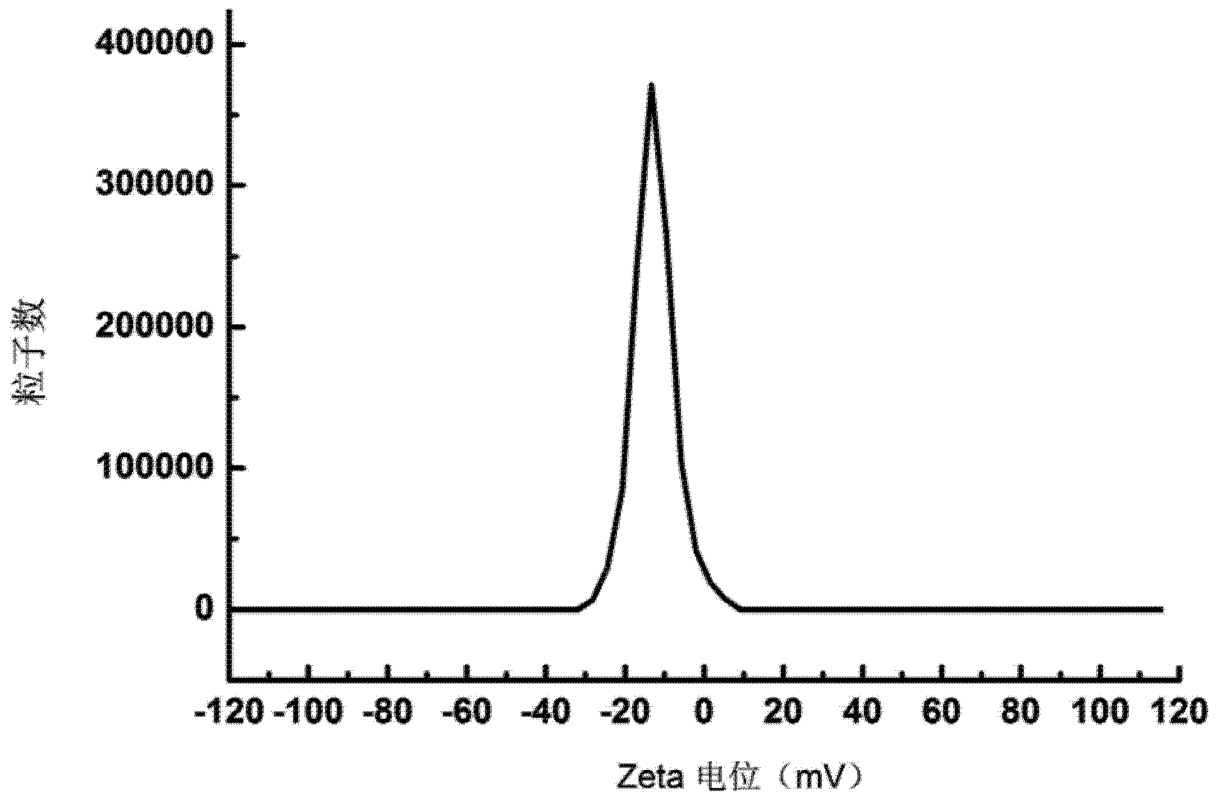


图 2

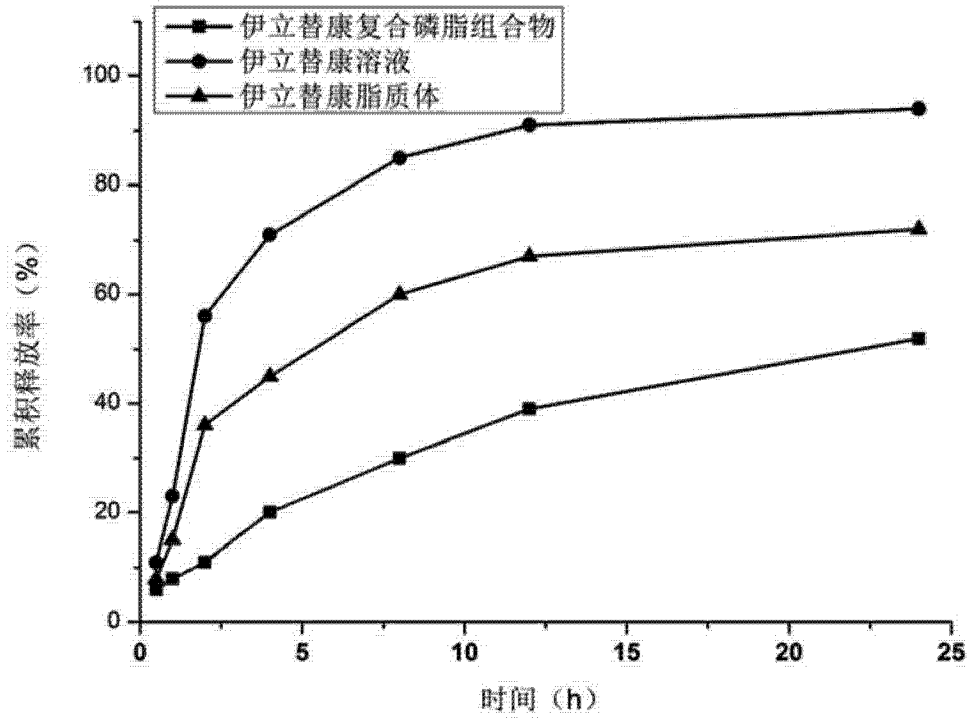


图 3

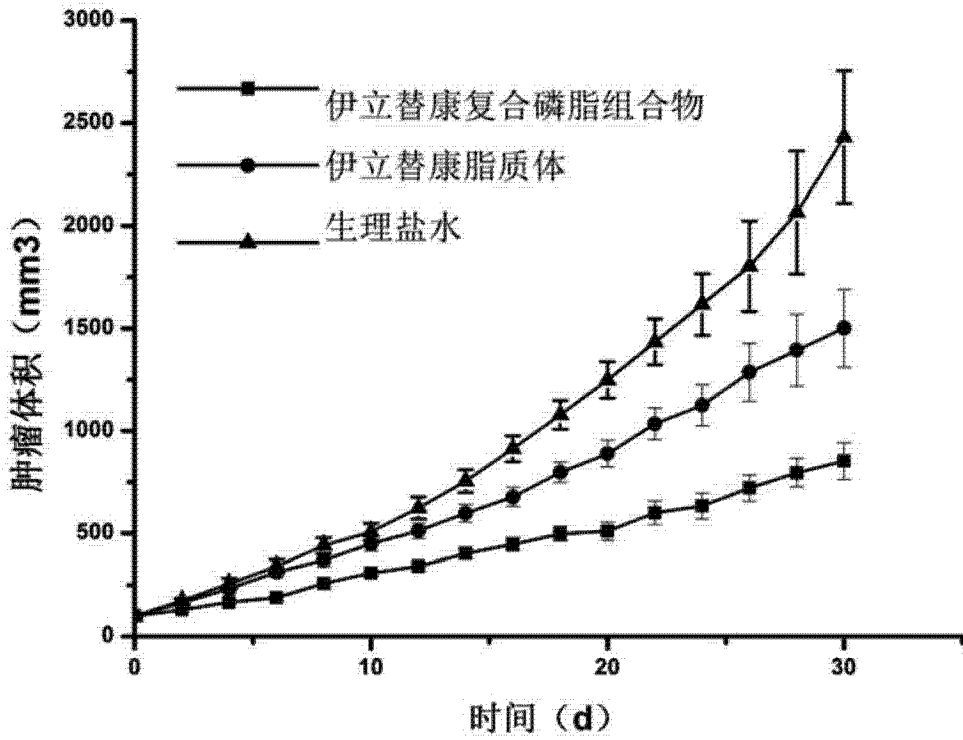


图 4