



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104163915 B

(45)授权公告日 2016.09.28

(21)申请号 201310181525.5

(22)申请日 2013.05.16

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 104163915 A

(43)申请公布日 2014.11.26

(73)专利权人 沈阳药科大学
地址 110016 辽宁省沈阳市沈河区文化路
103号

(72)发明人 邓意辉 宋艳志 刘欣荣 田清菁
隋月 蒋宫平 余振南 程晓波

(74)专利代理机构 沈阳杰克知识产权代理有限
公司 21207
代理人 李宇彤

(51) Int. Cl.
C08G 65/00(2006.01)
A61K 47/34(2006.01)
A61K 45/00(2006.01)

(56)对比文件
CN 102863630 A, 2013.01.09,
CN 102863630 A, 2013.01.09,
CN 102988998 A, 2013.03.27,

CN 1311189 A, 2001.09.05,
CN 101099866 A, 2008.01.09,
CN 101011581 A, 2007.08.08,
CN 102766188 A, 2012.11.07,
CN 1986600 A, 2007.06.27,
US 2012/0232018 A1, 2012.09.13,

徐洋等. 聚乙二醇-脂质衍生物修饰对脂质
体稳定性的影响.《药学学报》.2011,第46卷(第
10期),第1178-1186页.

徐洋等. 聚乙二醇-脂质衍生物修饰对脂质
体稳定性的影响.《药学学报》.2011,第46卷(第
10期),第1178-1186页.

曾玉玲. 医药辅料胆固醇酯泊洛沙姆聚乙
二醇单酯的合成.《中国优秀硕士学位论文全文数
据库 医药卫生科技辑》.2009,(第1期),E079-6,
第35-40页.

曾玉玲. 医药辅料胆固醇酯泊洛沙姆聚乙
二醇单酯的合成.《中国优秀硕士学位论文全文数
据库 医药卫生科技辑》.2009,(第1期),E079-6,
第35-40页.

审查员 任甜甜

权利要求书2页 说明书31页 附图18页

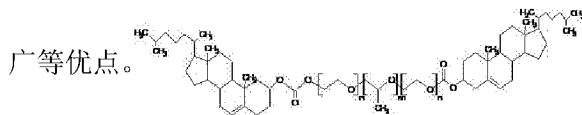
(54)发明名称

胆固醇-泊洛沙姆-胆固醇三嵌段共聚物及
其制备方法和应用

(57)摘要

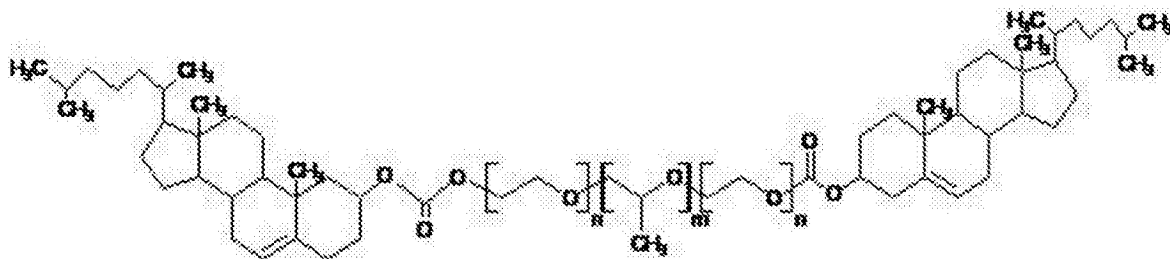
本发明涉及胆固醇-泊洛沙姆-胆固醇三嵌
段共聚物及其制备方法和应用。该三嵌段共聚物
是以泊洛沙姆为基本骨架,在其两端通过碳酸酯
键连接胆固醇得到。其制备方法为:取泊洛沙姆
置于密闭容器中,氮气条件下加入碱性催化剂和
缚酸剂,缓慢滴加含胆固醇氯甲酯的二氯甲烷溶
液。冰水浴中搅拌混合5-30min后置于室温反应,
时间为1-72 h,反应结束后减压除去溶剂,得粗
产物;向粗产物中加入适量蒸馏水,以二氯甲烷
萃取三次,再依次用冰水、饱和氯化钠和100 mM
盐酸清洗3次,经冰乙醚沉淀得白色蜡状物;对所

得白色蜡状物经冰乙醚反复沉淀精制即得。该三
嵌段共聚物具有临界胶束浓度低、载药量大、稀
释稳定性好、合成工艺简单、成本低廉、应用范围
广等优点。



CN 104163915 B

1. 一种胆固醇-泊洛沙姆-胆固醇三嵌段共聚物,其特征在于,该共聚物是以泊洛沙姆为基本骨架,在其两端通过碳酸酯键连接胆固醇得到,其结构式如下:



泊洛沙姆的平均分子量为1900-15000,n为2-130,m为15-70。

2. 根据权利要求1所述的胆固醇-泊洛沙姆-胆固醇三嵌段共聚物,其特征在于,泊洛沙姆的平均分子量为4600-15000,n为20-130,m为25-70。

3. 根据权利要求1所述的胆固醇-泊洛沙姆-胆固醇三嵌段共聚物,其特征在于,泊洛沙姆的平均分子量为4600-12600,n为20-100,m为29-70。

4. 根据权利要求1-3任一项所述的胆固醇-泊洛沙姆-胆固醇三嵌段共聚物的制备方法,其特征在于,包括如下步骤:

(1)取泊洛沙姆置于密闭容器中,氮气条件下加入碱性催化剂和缚酸剂,缓慢滴加含胆固醇氯甲酯的二氯甲烷溶液,其中泊洛沙姆与胆固醇氯甲酯的摩尔比为1:2-1:20,碱性催化剂选自4-二甲基吡啶或4-二烯丙基氨基吡啶,缚酸剂选自氢氧化钠、氢氧化钾、三乙胺、碳酸钠、碳酸钾、碳酸氢钠或吡啶,冰水浴中搅拌混合5-30min后置于室温反应,反应时间为1-72h,待反应结束后减压除去溶剂,得到粗产物;

(2)向所得粗产物中加入适量蒸馏水,以二氯甲烷萃取三次,再依次用冰水、饱和氯化钠和100mM盐酸清洗3次,经冰乙醚沉淀得白色蜡状物;

(3)对所得白色蜡状物经冰乙醚反复沉淀精制,得到白色粉末状胆固醇-泊洛沙姆-胆固醇三嵌段共聚物。

5. 根据权利要求4所述的制备方法,其特征在于,泊洛沙姆与胆固醇氯甲酯的摩尔比为1:3-1:8,反应时间为12-24h。

6. 根据权利要求4所述的制备方法,其特征在于,所述的碱性催化剂为4-二甲基吡啶,所述的缚酸剂为三乙胺。

7. 根据权利要求5所述的制备方法,其特征在于,所述的碱性催化剂为4-二甲基吡啶,所述的缚酸剂为三乙胺。

8. 一种药物载体组合物,其特征在于,包含一种或多种如权利要求1-3任一项所述的胆固醇-泊洛沙姆-胆固醇三嵌段共聚物。

9. 一种药物组合物,其特征在于,包含权利要求1-3任一项中所述的胆固醇-泊洛沙姆-胆固醇三嵌段共聚物和活性药物。

10. 根据权利要求9所述的药物组合物,其特征在于,所述的活性药物为难溶性药物,选自紫杉烷类、喜树碱类、长春碱类、阿霉素类、替尼类、埃坡霉素类、维A酸类、二氢吡啶类、人参皂甙类、脂溶性维生素类、他汀类、激素类、康唑类、泊昔类、青霉素类、头孢类、大环内酯类、多烯/多肽类、醌类化合物、金属铂类化合物、萜类化合物、黄酮类、姜黄素类、联苯酚类化合物、吡唑酮类、嘧啶类、嘌呤类、咪唑类、非甾体抗炎药、非黄酮类多酚类化合物、阿糖腺

苷类、沙坦类、有机碘化合物、烷基酚类。

11. 根据权利要求10所述的药物组合物,其特征在于,所述紫杉烷类选自紫杉醇、多西他赛、卡巴他赛,喜树碱类选自羟基喜树碱、硝基喜树碱,长春碱类选自长春新碱、长春瑞滨,阿霉素类选自阿霉素、表阿霉素、柔红霉素、伊达霉素、吡柔比星,替尼类选自来他替尼、埃克替尼、阿法替尼、奥替尼啶、多韦替尼、苏尼替尼、坦度替尼、马赛替尼、吉非替尼、巴非替尼,埃坡霉素类选自伊沙匹隆、埃坡霉素A、埃坡霉素B、埃坡霉素C、埃坡霉素D、脱氧埃坡霉素,维A酸类选自维甲酸、阿维A酯、芳维甲酸,二氢吡啶类选自尼群地平、尼莫地平、氨氯地平、西尼地平,人参皂甙类选自人参皂甙Re、人参皂甙Rg3、人参皂甙Rh1、人参皂甙Rh2、人参皂甙Rh3、人参皂甙Rh5,脂溶性维生素类选自维生素A、维生素D、维生素E、维生素K、胆骨化醇、钙三醇、VE烟酸酯,他汀类选自辛伐他汀、洛伐他汀、普伐他汀、美伐他汀,激素类选自地塞米松、地塞米松棕榈酸酯、醋酸地塞米松、非那雄胺、2-甲氧基雌二醇、乙烯雌酚、醋酸甲羟孕酮、可的松、氢化可的松、泼尼松、氢化泼尼松、前列地尔,康唑类选自伊曲康唑、伏立康唑、酮康唑、氟康唑、益康唑,泊苷类选自依托泊苷、替尼泊苷,青霉素类选自青霉素G、阿莫西林、氨苄西林,头孢类选自头孢他啶、头孢曲松、头孢唑肟,大环内酯类选自红霉素、罗红霉素、阿奇霉素、克拉霉素、雷帕霉素,多烯/多肽类选自曲古霉素、两性霉素B、环孢菌素A、放线菌素D,醌类化合物选自辅酶Q10、丹参酮IIA、丝裂霉素,金属铂类化合物选自顺铂、卡铂、奈达铂、阿劳铂、奥沙利铂,萜类化合物选自 β -榄香烯、青蒿素、二氢青蒿素、冬凌草甲素、冬凌草乙素、细辛醚、细辛脑、葫芦素提取物、蒿本内酯、马蔺子素,黄酮类选自葛根素、水飞蓟素、藤黄酸,姜黄素类选自姜黄素、单去甲氧基姜黄素、双去甲氧基姜黄素,联苯酚类化合物选自厚朴酚、和厚朴酚,吡啶酮类选自氨基比林、保泰松,嘧啶类选自氟尿嘧啶、齐多夫定棕榈酸酯、齐多夫定肉豆蔻酸酯、齐多夫定硬脂酸酯、齐多夫定胆固醇酯,嘌呤类选自恩替卡韦、疏嘌呤、磺疏嘌呤钠,咪唑类选自咪唑啉酮、咪唑妥英、咪唑丙胺,非甾体抗炎药选自尼美舒利、布洛芬、吲哚美辛、萘普生、双氯芬酸、双氯芬酸钠、美洛昔康,五环三萜类化合物选自齐墩果酸、甘草酸、乌苏酸、桦木酸、23-羟基桦木酸,非黄酮类多酚类化合物选自白藜芦醇,阿糖腺苷类选自阿德福韦酯,沙坦类选自坎地沙坦、氯沙坦、缬沙坦、依普罗沙坦、缬沙坦苄酯、坎地沙坦、坎地沙坦乙酯、洛沙坦、厄贝沙坦、奥美沙坦、替米沙坦、阿齐沙坦,有机碘化合物选自胺碘酮,烷基酚类选自丙泊酚。

12. 权利要求1-3任一项所述的胆固醇-泊洛沙姆-胆固醇三嵌段共聚物作为药物制剂载体的应用。

13. 根据权利要求12所述的应用,其特征在于,制剂为液体制剂、固体制剂或半固体制剂。

14. 根据权利要求13所述的应用,其特征在于,所述的制剂选自胶束、脂质体、乳剂、纳米粒、固体分散体、颗粒剂、胶囊剂、片剂、栓剂、凝胶剂或液体微粒制剂的干燥品。

胆固醇-泊洛沙姆-胆固醇三嵌段共聚物及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明属于药物制剂领域,具体涉及到一类泊洛沙姆衍生物的制备方法及其在药物传递系统中的应用。

背景技术

[0002] 泊洛沙姆(Poloxamer)是一种经FDA批准的多功能药用辅料,商品名为普郎尼克(Pluronic),由聚氧乙烯-聚氧丙烯-聚氧乙烯(PEO-PPO-PEO)三嵌段构成,是一种两亲性的嵌段共聚物。随着亲水EO链和疏水PO链数目的不同,具有不同的亲水亲油平衡值(HLB)、临界胶束浓度(CMC)和油水分配系数(P)。由于泊洛沙姆具有无毒性、无抗原性、无刺激性、无致敏性、不溶血性、化学性质稳定等特点,其在医药领域已有很长的研究历史。

[0003] 泊洛沙姆通常用作乳化剂、增溶剂、药物稳定剂、固体分散体载体、软膏剂及栓剂基质、透皮吸收促进剂等,可以增加难溶性药物溶解度,提高药物稳定性,控制药物释放,提高药物的生物利用度。以其为载体材料的研究涵盖了胶束、囊泡、乳剂、纳米粒等液体微粒制剂及其冻干品,也涵盖了固体分散体、颗粒剂、胶囊剂、片剂、栓剂和凝胶剂等固体和半固体制剂。

[0004] 由于泊洛沙姆具有亲水的PEO长链,使其作为载体材料时具有立体稳定性作用,能够有效阻止含药微粒被巨噬细胞吞噬,从而延长制剂在体内的循环时间。Jackson等制备了四种聚合物微球,并用泊洛沙姆407(F127)处理,结果发现,F127能够有效阻止进入体内的微球被血浆蛋白吸附和免疫球蛋白(IgG)调理,使微球免于被白细胞或单核细胞吞噬,进而降低由此引起的炎症反应。(Jackson, J.K., et al., Neutrophil activation by plasma opsonized polymeric microspheres: inhibitory effect of Pluronic F127. *Biomaterials*, 2000. 21(14): p. 1483-1491)。

[0005] 近年来人们还发现,泊洛沙姆不仅可以作为微储库用于药物的靶向递送,以其制备的胶束给药系统还具有逆转肿瘤多药耐药(Multidrug resistance, MDR)的作用。(Kabanov, A.V., E.V. Batrakova, and V.Y. Alakhov, Pluronic® block copolymers for overcoming drug resistance in cancer. *Advanced drug delivery reviews*, 2002. 54(5): p. 759-779)(Zhao, L., et al., Curcumin loaded mixed micelles composed of Pluronic P123 and F68: Preparation, optimization and *in vitro* characterization. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2012.97:p.101-108)(Alakhova, D.Y., et al., Differential metabolic responses to pluronic in MDR and non-MDR cells: a novel pathway for chemosensitization of drug resistant cancers. *Journal of Controlled Release*, 2010. 142(1): p. 89-100)目前,Alakhov研究小组开发的载阿霉素的泊洛沙姆混合胶束制剂(SP1049C)已经进入了II期临床试验阶段,其处方为0.25 % Pluronic L61和2 % Pluronic F127,对于耐药肿瘤的治疗,效果十分显著。(Alakhov, V., et al., Block copolymer-based formulation of doxorubicin. From cell screen to clinical trials. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*,

1999. 16(1): p. 113-134)(Danson, S., et al., Phase I dose escalation and pharmacokinetic study of pluronic polymer-bound doxorubicin (SP1049C) in patients with advanced cancer. *British journal of cancer*, 2004. 90(11): p. 2085-2091)(Valle, J.W., et al., A phase 2 study of SP1049C, doxorubicin in P-glycoprotein-targeting pluronics, in patients with advanced adenocarcinoma of the esophagus and gastroesophageal junction. *Investigational new drugs*, 2011. 29(5): p. 1029-1037)。

[0006] 研究还表明,泊洛沙姆在药物穿越血脑屏障(BBB)的过程中也起着重要作用,它可通过抑制P-gp、耗竭细胞内ATP、降低膜微观粘度等不同作用机制使药物靶向入脑,提高药物在脑内的生物利用度,为药物脑部靶向提供了新的思路和策略。Kabanov等以牛脑血管内皮细胞(BBMEC)为体外BBB模型,考察了Pluronic P85对P-gp外排作用及BBMEC膜微观粘度的影响。结果表明,P85单体可以显著降低膜微观黏度,使P-gp外排减少。(Kabanov, A.V., E.V. Batrakova, and D.W. Miller, Pluronic® block copolymers as modulators of drug efflux transporter activity in the blood-brain barrier. *Advanced drug delivery reviews*, 2003. 55(1): p. 151-164)(Batrakova, E.V., et al., Mechanism of pluronic effect on P-glycoprotein efflux system in blood-brain barrier: contributions of energy depletion and membrane fluidization. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2001. 299(2): p. 483-493)。

[0007] 不仅如此,人们还惊喜的发现泊洛沙姆嵌段共聚物在新型基因治疗方面也具有巨大潜力。研究表明,质粒DNA注入骨骼肌后能够产生基因表达,但在绝大多数情况下,如果采用裸DNA所获得的表达水平低,持续时间短。一项以L61和F127的混合胶束(SP1017)为载体的DNA转染研究结果显示,SP1017比裸DNA转染效率高5-20倍,更重要的是获得最大基因表达所需的聚合物浓度(0.01%)极低,比动物给药安全限度至少低500倍。(Lemieux, P., et al., A combination of poloxamers increases gene expression of plasmid DNA in skeletal muscle. *Gene therapy*, 2000. 7(11): p. 986)。

[0008] 虽然泊洛沙姆的研究成果令人们欣喜,但是也应意识到并不是所有型号的泊洛沙姆都具有上述特性。根据HLB和P0链长度的不同可将泊洛沙姆分为4类:(I)HLB 20-29的亲水性泊洛沙姆,如F68,F108,F127等;(II)HLB<20 P0链30-60的泊洛沙姆,如P85,P105,L61等;(III)HLB<20,P0链<30的泊洛沙姆,如L35,L43,L64;(IV)HLB<20,P0链>60的泊洛沙姆,如P123和L121等。Batrakova等研究泊洛沙姆结构与P-gp抑制作用的关系时发现,II类泊洛沙姆对P-gp外排的抑制作用最大,III类和IV类次之。I类由于亲水性强,细胞内化作用弱,几乎没有抑制作用。(Batrakova, E.V., et al., Optimal structure requirements for pluronic block copolymers in modifying P-glycoprotein drug efflux transporter activity in bovine brain microvessel endothelial cells. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2003. 304(2): p. 845-854)而美国FDA批准的五种药用泊洛沙姆中(F68,F127,F87,F108,P124),除P124外均属于第I类,这给泊洛沙姆在耐药方面的应用带来了限制。同时I类泊洛沙姆由于HLB值过大,亲水性较强,临界胶束浓度较高,对疏水性药物的增溶和载药也不是非常理想。

[0009] 为了降低泊洛沙姆的临界胶束浓度,提高载药能力,人们采用多种方法对其进行

改造。首先可以采用相似疏水嵌段的聚合物制备混合胶束,这从某种意义上弥补了单一胶束载药量低、稳定性差和不耐稀释等缺点。已进入II期临床试验的SP1049C就是采用L61和F127制备的混合胶束。(Valle, J.W., et al., A phase 2 study of SP1049C, doxorubicin in P-glycoprotein-targeting pluronics, in patients with advanced adenocarcinoma of the esophagus and gastroesophageal junction. *Investigational new drugs*, 2011. 29(5): p. 1029-1037)张伟等以F127和P123制备的紫杉醇混合胶束不仅具有良好的稳定性,还保持了泊洛沙姆逆转肿瘤多药耐药的作用。(Zhang, W., et al., Enhanced antitumor efficacy by Paclitaxel-loaded Pluronic P123/F127 mixed micelles against non-small cell lung cancer based on passive tumor targeting and modulation of drug resistance. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2010. 75(3): p. 341-353)其次可以将泊洛沙姆与药物偶联。周建平的专利(申请号:201010534833.8,在审)中提到将泊洛沙姆与羧酸类药物偶联后既增加了药物的溶解度,又提高了胶束的稳定性。Slepnev等研究还表明,将泊洛沙姆与肽类/蛋白类药物共价结合后,能够使其有效的靶向机体的特异性部位或受体。(Slepnev, V., *Modification of proteins for transport of biologically active compounds within the cell*. 1992, Dissertation, Moscow State University.)。

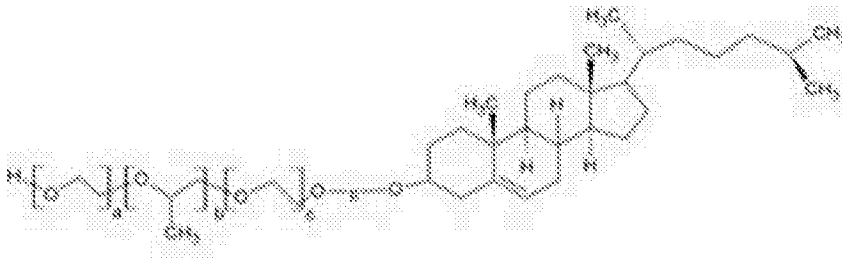
[0010] 目前研究较多的是以泊洛沙姆为基本骨架,对其进行结构修饰。如以PLA、聚癸二酸酐、亚麻酸及硬脂酸等对F127进行结构修饰,提高其载药能力。(Xiong, X., K. Tam, and L. Gan, Release kinetics of hydrophobic and hydrophilic model drugs from pluronic F127/poly (lactic acid) nanoparticles. *Journal of Controlled Release*, 2005. 103(1): p. 73-82)(Shelke, N.B. and T.M. Aminabhavi, Synthesis and characterization of novel poly (sebacic anhydride-co-Pluronic F68/F127) biopolymeric microspheres for the controlled release of nifedipine. *International journal of pharmaceutics*, 2007. 345(1): p. 51-58)(Guo, D.D., et al., Enhanced anticancer effect of conjugated linoleic acid by conjugation with Pluronic F127 on MCF-7 breast cancer cells. *Cancer letters*, 2007. 254(2): p. 244-254)(Gao, Q., et al., Synthesis and characterization of novel amphiphilic copolymer stearic acid-coupled F127 nanoparticles for nanotechnology based drug delivery system. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2011. 88(2): p. 741-748)。从上述文献可以看出,对泊洛沙姆进行结构修饰是可行的,合成的产物显著降低了泊洛沙姆的临界胶束浓度,提高了其载药能力。但是也要意识到上述配基可能存在的问题。比如以聚合物PLA和聚癸二酸酐为配基,由于聚合物自身的可降解性,会导致反应合成及纯化困难,产物分子量不单一。而采用亚麻酸这类不饱和物质为配基时,反应物本身就存在易氧化变质等问题,所得产物稳定性较差。因此,对泊洛沙姆修饰物的选择应该慎重,不仅要考虑增加泊洛沙姆的疏水性,更应该选择稳定性及生物相容性好的材料。

[0011] 胆固醇又称胆甾醇,是一种环戊烷多氢菲的衍生物,其广泛存在于动物体内,是动物组织细胞所不可缺少的重要物质,不仅参与细胞膜的形成,而且是合成胆汁酸,维生素D以及甾体激素的原料。一些研究表明由于肿瘤细胞的快速增殖,需要从血浆中大量摄取胆

固醇来满足有丝分裂,导致机体胆固醇代谢紊乱、发生低胆固醇血症现象。(Scali, J., et al., Relationship of serum cholesterol, dietary and plasma beta-carotene with lung cancer in male smokers. *Eur J Cancer Prev*, 1995. 4: p. 169-174)(Boyd, N., et al., Plasma lipids, lipoproteins, and familial breast cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 1995. 4(2): p. 117-122)。临床试验结果也显示,前列腺癌、乳腺癌、肝癌、胃癌及食管癌等患者的血清中胆固醇含量较低,癌细胞中胆固醇含量较高。(Freeman, M.R. and K.R. Solomon, Cholesterol and prostate cancer. *Journal of cellular biochemistry*, 2003. 91(1): p. 54-69)(Danilo, C. and P.G. Frank, Cholesterol and breast cancer development. *Current Opinion in Pharmacology*, 2012.12(6):p. 677-682)(Dessi, S., et al., Cholesterol content in tumor tissues is inversely associated with high-density lipoprotein cholesterol in serum in patients with gastrointestinal cancer. *Cancer*, 2006. 73(2): p. 253-258)。

[0012] 近年来对胆固醇的研究还集中在将其与siRNA偶联后用于siRNA的递送。与不含胆固醇的载体相比,含胆固醇的载体可以显著提高DNA/RNA的转染效率。(Liu, Y., et al., Factors influencing the efficiency of cationic liposome-mediated intravenous gene delivery. *Nature biotechnology*, 1997. 15(2): p. 167-173)(Liu, Y., et al., Cationic liposome-mediated intravenous gene delivery. *Journal of Biological Chemistry*, 1995. 270(42): p. 24864-24870)(Soutschek, J., et al., Therapeutic silencing of an endogenous gene by systemic administration of modified siRNAs. *Nature*, 2004. 432(7014): p. 173-178)在siRNA递送过程中,胆固醇不仅介导载体与细胞膜融合及内吞,更重要的是其还起到靶向配基的作用。(董文娟, 周银键, 梁伟, siRNA脂质纳米输送载体的研究进展. 2012. 39(5): p. 396-401)。

[0013] 因此如果将泊洛沙姆与胆固醇结合,将具有以下优势:首先,由于胆固醇具有较强的亲脂性,可以显著降低泊洛沙姆的临界胶束浓度,提高其载药能力;其次,可以利用胆固醇调节膜融合、胞饮及胞吞等特点,增加细胞对制剂的摄取,尤其对于胆固醇需求量较大的肿瘤细胞来说,还具有一定的靶向性。目前只有一篇关于泊洛沙姆与胆固醇合成的相关专利(专利申请号为:200610090689.7,无权)。该专利主要是以胆固醇、脂肪酸酐及泊洛沙姆为原料,合成单侧接枝的泊洛沙姆胆固醇聚合物,连接键为酸酐酯键,具体结构如下:



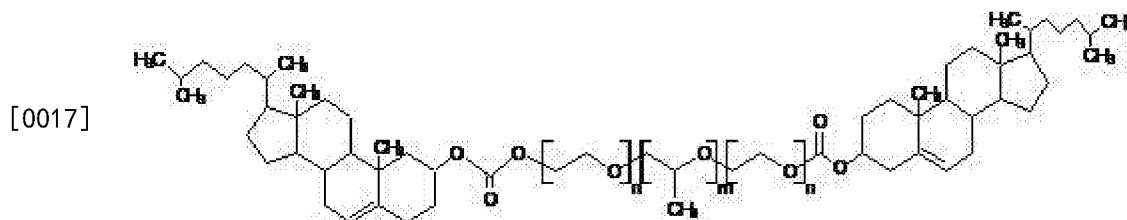
[0014]



[0015] 但该专利具有以下缺陷：(1)与双侧接枝胆固醇的泊洛沙姆相比，单侧接枝胆固醇后，泊洛沙姆的临界胶束浓度降低不明显，载药能力提高不显著；(2)由于泊洛沙姆两端均含羟基，所以单侧接枝胆固醇的聚合物合成和纯化工艺较复杂，产率较低；(3)与碳酸酯键相比，酸酐酯键在体内循环时间较短，易导致包封药物的泄漏；(Xu, H., et al., Esterase-catalyzed dePEGylation of pH-sensitive vesicles modified with cleavable PEG-lipid derivatives. *Journal of Controlled Release*, 2008. 130(3): p. 238-245)(4)该专利并未对所得结果进行结构确证，也未对实施例中制剂的性质进行考察。

发明内容

[0016] 基于上述基础，我们设计合成了一种生物相容性好，临界胶束浓度低的泊洛沙姆衍生物，即胆固醇-泊洛沙姆-胆固醇三嵌段共聚物(CHMC-Poloxamer-CHMC)，它是以泊洛沙姆为基本骨架，在其两端通过碳酸酯键连接胆固醇得到。具体结构如下：



[0017]

[0018] 泊洛沙姆的平均分子量为1900-15000，n为2-130，m为15-70；优选地，泊洛沙姆的平均分子量为4600-15000，n为20-130，m为25-70；更优选地，泊洛沙姆的平均分子量为4600-12600，n为20-100，m为29-70。

[0019] 本发明所述胆固醇-泊洛沙姆-胆固醇三嵌段共聚物的制备方法如下：

[0020] (1) 取泊洛沙姆置于密闭容器中，氮气条件下加入碱性催化剂和缚酸剂，缓慢滴加含胆固醇氯甲酯的二氯甲烷溶液，其中泊洛沙姆与胆固醇氯甲酯的摩尔比为1:2-1:20，碱性催化剂选自4-二甲基吡啶或4-二烯丙基氨基吡啶，缚酸剂选自氢氧化钠、氢氧化钾、三乙胺、碳酸钠、碳酸钾、碳酸氢钠或吡啶，冰水浴中搅拌混合5-30 min后置于室温反应，反应时间为1-72 h，待反应结束后减压除去溶剂，得到粗产物。

[0021] (2) 向所得粗产物中加入适量蒸馏水，以二氯甲烷萃取三次，再依次用冰水、饱和氯化钠和100 mM盐酸清洗3次，经冰乙醚沉淀得白色蜡状物。

[0022] (3) 对所得白色蜡状物经冰乙醚反复沉淀精制,得到白色粉末状胆固醇-泊洛沙姆-胆固醇三嵌段共聚物。

[0023] 在上述方法中,优选的是泊洛沙姆与胆固醇氯甲酯的摩尔比为1:3-1:8,反应时间为12-24 h。催化剂优选为4-二甲基吡啶,缚酸剂为三乙胺。

[0024] 通过实验我们还惊奇的发现,本发明所述的嵌段共聚物可以极显著地降低泊洛沙姆的CMC值,以F68为例,经胆固醇修饰后其CMC值由700 $\mu\text{g/mL}$ 降低至10 $\mu\text{g/mL}$,降低了70倍。当用该嵌段共聚物包载难溶性药物时,载药能力提高了5倍以上,制剂的物理、化学及生物学稳定性良好。不仅如此,如果采用两种以上本发明所述的嵌段共聚物组合,可以进一步提高制剂的载药能力和稀释稳定性。

[0025] 因此,本发明还提供了一种药物组合物,其包含上述的一种或多种胆固醇-泊洛沙姆-胆固醇三嵌段共聚物和活性药物。所述的活性药物选自紫杉醇(烷)类(如紫杉醇、多西他赛、卡巴他赛)、喜树碱类(如羟基喜树碱、硝基喜树碱)、长春碱类(如长春新碱、长春瑞滨)、阿霉素类(如阿霉素、表阿霉素、柔红霉素、伊达霉素、吡柔比星)、替尼类(如来他替尼、埃克替尼、阿法替尼、奥替尼啶、多韦替尼、苏尼替尼、坦度替尼、马赛替尼、吉非替尼、巴非替尼)、埃坡霉素类(如伊沙匹隆、埃坡霉素A、埃坡霉素B、埃坡霉素C、埃坡霉素D、脱氧埃坡霉素)、维A酸类(如(全反式)维甲酸、阿维A酯、芳维甲酸)、二氢吡啶类(如尼群地平、尼莫地平、氨氯地平、西尼地平)、人参皂甙类(如人参皂甙Re、人参皂甙Rg3、人参皂甙Rh1、人参皂甙Rh2、人参皂甙Rh3、人参皂甙Rh5)、脂溶性维生素类(如维生素A、维生素D、维生素E、维生素K、胆骨化醇、钙三醇、VE烟酸酯)、他汀类(如辛伐他汀、洛伐他汀、普伐他汀、美伐他汀)、激素类(如地塞米松、地塞米松棕榈酸酯、醋酸地塞米松、非那雄胺、2-甲氧基雌二醇、乙烯雌酚、醋酸甲羟孕酮、可的松、氢化可的松、泼尼松、氢化泼尼松、前列地尔)、康唑类(如伊曲康唑、伏立康唑、酮康唑、氟康唑、益康唑)、泊昔类(如依托泊昔、替尼泊昔)、青霉素类(如青霉素G、阿莫西林、氨苄西林)、头孢类(如头孢他啶、头孢曲松、头孢唑肟)、大环内酯类(如红霉素、罗红霉素、阿奇霉素、克拉霉素、雷帕霉素)、多烯/多肽类(如曲古霉素、两性霉素B、环孢菌素A、放线菌素D)、醌类化合物(如辅酶Q10、丹参酮IIA、丝裂霉素)、金属铂类化合物(如顺铂、卡铂、奈达铂、阿劳铂、奥沙利铂)、萜类化合物(如 β -榄香烯、青蒿素、二氢青蒿素、冬凌草甲素、冬凌草乙素、细辛醚、细辛脑、葫芦素提取物、蒿本内酯、马薊子素)、黄酮类(如葛根素、水飞蓟素、藤黄酸)、姜黄素类(如姜黄素、单去甲氧基双黄素、双曲甲氧基双黄素)、联苯酚类化合物(如厚朴酚、和厚朴酚)、吡唑酮类(如氨基比林、保泰松)、嘧啶类似物(如氟尿嘧啶、齐多夫定棕榈酸酯、齐多夫定肉豆蔻酸酯、齐多夫定硬脂酸酯、齐多夫定胆固醇酯)、嘌呤类似物(如恩替卡韦、巯嘌呤、磺巯嘌呤钠)、咪唑类(如咪唑啉酮、咪唑妥英、咪唑丙胺)、非甾体抗炎药(如尼美舒利、布洛芬、吲哚美辛、萘普生、双氯芬酸(钠)、美洛昔康)、五环三萜类化合物(齐墩果酸、甘草酸、乌苏酸、桦木酸、23-羟基桦木酸)、非黄酮类多酚类化合物(如白藜芦醇)、生物碱类(如高三尖酯碱)、阿糖腺苷类似物(如阿德福韦酯)、沙坦类(如坎地沙坦、氯沙坦、缬沙坦、依普罗沙坦、缬沙坦苄酯、坎地沙坦、坎地沙坦乙酯、洛沙坦、厄贝沙坦、奥美沙坦、替米沙坦、阿齐沙坦)、有机碘化合物(如胺碘酮)、烷基酚类(如丙泊酚),其他(如马洛替酯、去甲斑蝥素、环扁桃酯)。

[0026] 此外,本发明还提供了胆固醇-泊洛沙姆-胆固醇三嵌段共聚物作为药物制剂载体的应用,所述的制剂可为液体制剂、固体制剂或半固体制剂,例如胶束、脂质体、乳剂、纳米

粒、固体分散体、颗粒剂、胶囊剂、片剂、栓剂、凝胶剂或冻干制剂。

[0027] 本发明的优点在于:(1)所合成的胆固醇-泊洛沙姆-胆固醇三嵌段共聚物临界胶束浓度低,载药量大,稀释稳定性好,满足临床用药的要求;(2)可以广泛用于胶束、囊泡、脂质体、固体脂质纳米粒等微粒制剂的制备,所得制剂在体内循环时间长,可以更好的利用EPR效应实现靶向性;(3)由于肿瘤细胞对胆固醇需求量大,所以用该衍生物制备的制剂某种程度上具有靶向配基的作用;(4)使FDA批准的最为安全的I类泊洛沙姆具有了逆转MDR作用;(5)当两种或两种以上的胆固醇-泊洛沙姆-胆固醇三嵌段共聚物组合时,可以进一步提高制剂的载药能力和稀释稳定性;(6)合成工艺简单,成本低廉,产物易于纯化,产率高,具有工业化生产的可能性。

附图说明

[0028] 图1:胆固醇(CHM)红外光谱图。

[0029] 图2:F68红外光谱图。

[0030] 图3:CHMC-F68-CHMC红外光谱图。

[0031] 图4:CHMC-F68-CHMC $^1\text{H-NMR}$ 图谱。

[0032] 图5:CHMC-F68-CHMC $^{13}\text{C-NMR}$ 图谱。

[0033] 图6:F127红外光谱图。

[0034] 图7:CHMC-F127-CHMC 红外光谱图。

[0035] 图8:CHMC-F127-CHMC $^1\text{H-NMR}$ 图谱。

[0036] 图9:CHMC-F127-CHMC $^{13}\text{C-NMR}$ 图谱。

[0037] 图10:F87 红外光谱图。

[0038] 图11:CHMC-F87-CHMC 红外光谱图。

[0039] 图12:CHMC-F87-CHMC $^1\text{H-NMR}$ 图谱。

[0040] 图13:CHMC-F87-CHMC $^{13}\text{C-NMR}$ 图谱。

[0041] 图:14:F108 红外光谱图。

[0042] 图15:CHMC-F108-CHMC 红外光谱图。

[0043] 图16:CHMC-F108-CHMC $^1\text{H-NMR}$ 图谱。

[0044] 图17:CHMC-F108-CHMC $^{13}\text{C-NMR}$ 图谱。

[0045] 图:18:P85 红外光谱图。

[0046] 图19:CHMC-P85-CHMC 红外光谱图。

[0047] 图20:F68及衍生物浓度对芘的激发波谱 I_{340}/I_{335} 。

[0048] 图21:CHMC-F127-CHMC及其空白脂质体对脑胶质瘤细胞neuro-2A的细胞毒作用。

[0049] 图22: β -榄香烯泊洛沙姆衍生物脂质体对脑胶质瘤细胞neuro-2A的细胞毒作用。

[0050] 具体实施方式:

[0051] 下面结合实施例进一步阐述本发明,这些实施例仅用于说明本发明而不用于限制本发明的范围。

[0052] 实施例1:CHMC-F68-CHMC的合成

[0053] 取336 mg F68(0.04 mM)置于密闭容器中,氮气条件下加入2.44 mg 4-二甲基吡啶和20 μL 三乙胺,缓慢滴加胆固醇氯甲酯(0.12 mM)的二氯甲烷溶液8 mL,冰水浴中搅拌

混合30 min后室温反应24 h,待反应结束后减压除去溶剂。向所得粗产物中加入一定量蒸馏水,以二氯甲烷萃取三次,再分别以冰水、饱和氯化钠和100 mM盐酸洗3次,经冰乙醚沉淀得白色蜡状物,继续反复沉淀精制3次即得CHMC-F68-CHMC三嵌段共聚物。

[0054] 反应中使用硅胶薄层色谱(TLC)进行反应进度监测和纯度分析。展开剂:氯仿:甲醇:水:丙酮:冰醋酸=5:1:0.12:1:0.1。F68:Rf=0.19;CHMC-F68-CHMC:Rf=0.36;胆固醇氯甲酯:Rf=1,反应结束后,反应液中F68的点消失。

[0055] 使用IFS-55傅立叶变换红外光谱仪(Bruker公司,瑞士)对所得产物进行红外分析,测试谱图见附图:附图1为CHM;附图2为F68;附图3为CHMC-F68-CHMC。与CHM和F68相比,CHMC-F68-CHMC最大的特征信号是在 1740 cm^{-1} 附近出现了一个吸收峰,对应于碳酸酯键的羰基($\nu\text{ C=O}$)伸缩振动,且 3473.5 cm^{-1} 对应于F68羟基伸缩振动($\nu\text{ OH}$)的钝宽峰已经消失。

[0056] 使用BRUKER AVANCE-600MHz超导核磁共振仪(Bruker公司,瑞士)对所得产物进行氢谱和碳谱分析。在 $^1\text{H-NMR}$ 谱中(附图4), δ 6.62 ppm、 δ 5.52 ppm、 δ 4.40 ppm和 δ 1.15 ppm处的四个峰分别对应于F68中 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{80}$ -上 $-\text{CH}_2-$ 的H、 $-(\text{CH}_2\text{CHCH}_3\text{O})_{29}$ -中 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}-$ 和 $-\text{CH}_3$ 上的H,其余各峰与胆固醇氯甲酯相似。在 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱中(附图5), δ 67.75 ppm处峰为F68与胆固醇氯甲酯所形成的酯键峰, δ 0.57 ppm、 δ 5.33 ppm、 δ 3.37 ppm、和 δ 7.36 ppm处的峰对应于F68中 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{80}$ -上 $-\text{CH}_2-$ 的C、 $-(\text{CH}_2\text{CHCH}_3\text{O})_{29}$ -中 $-\text{CH}-$ 、 $-\text{CH}_2-$ 和 $-\text{CH}_3$ 上的C,其余各峰与胆固醇氯甲酯相似。

[0057] 实施例2:CHMC-F127-CHMC的合成

[0058] 取504 mg F127(0.04 mM)置于密闭容器中,氮气条件下加入2.44 mg 4-二甲基吡啶和20 μL 三乙胺,缓慢滴加胆固醇氯甲酯(0.12 mM)的二氯甲烷溶液8 mL,冰水浴中搅拌混合30 min后室温反应24 h,待反应结束后减压除去溶剂。向所得粗产物中加入一定量蒸馏水,以二氯甲烷萃取三次,再分别以冰水、饱和氯化钠和100 mM的盐酸洗3次,经冰乙醚沉淀得白色蜡状物,继续反复沉淀精制3次即得粉末状CHMC-F127-CHMC三嵌段共聚物。

[0059] 反应中使用硅胶薄层色谱(TLC)进行反应进度监测和纯度分析。展开剂:氯仿:甲醇:水:丙酮:冰醋酸=5:1:0.12:1:0.1。F127:Rf=0.15;CHMC-F127-CHMC:Rf=0.28;胆固醇氯甲酯:Rf=1,反应结束后,反应液中F127的点消失。

[0060] 使用IFS-55傅立叶变换红外光谱仪(Bruker公司,瑞士)对所得产物进行红外分析,测试谱图见附图:附图1为CHM;附图6为F127;附图7为CHMC-F127-CHMC。与CHM和F127相比,CHMC-F127-CHMC最大的特征信号是在 1741.4 cm^{-1} 附近出现了一个吸收峰,对应于碳酸酯键的羰基($\nu\text{ C=O}$)伸缩振动,且 3432.4 cm^{-1} 对应于F127羟基伸缩振动($\nu\text{ OH}$)的钝宽峰已经消失。

[0061] 使用BRUKER AVANCE-600MHz超导核磁共振仪(Bruker公司,瑞士)对所得产物进行氢谱和碳谱分析。在 $^1\text{H-NMR}$ 谱中(附图8), δ 7.72 ppm、 δ 5.54 ppm、 δ 4.40 ppm和 δ 1.24 ppm处的四个峰分别对应于F127的 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{100}$ -中 $-\text{CH}_2-$ 上的H、 $-(\text{CH}_2\text{CHCH}_3\text{O})_{65}$ -中 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}-$ 和 $-\text{CH}_3$ 上的H,其余各峰与胆固醇氯甲酯相似。在 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱中(附图9), δ 67.75 ppm处峰为F127与胆固醇氯甲酯所形成的酯键峰, δ 0.58 ppm、 δ 5.33 ppm、 δ 3.38 ppm和 δ 7.37 ppm处的峰对应于F127中 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{100}$ -上 $-\text{CH}_2-$ 的C、 $-(\text{CH}_2\text{CHCH}_3\text{O})_{65}$ -中 $-\text{CH}-$ 、 $-\text{CH}_2-$ 和 $-\text{CH}_3$ 上的C,其余各峰与胆固醇氯甲酯相似。

[0062] 实施例3:CHMC-F87-CHMC的合成

[0063] 取308 mg F87(0.04 mM)置于密闭容器中,氮气条件下加入2.44 mg 4-二甲基吡啶和20 μL 三乙胺,缓慢滴加胆固醇氯甲酯(0.12 mM)的二氯甲烷溶液8 mL,冰水浴中搅拌混合30 min后室温反应24 h,待反应结束后减压除去溶剂。向所得粗产物中加入一定量蒸馏水,以二氯甲烷萃取三次,再分别以冰水、饱和氯化钠和100 mM的盐酸洗3次,经冰乙醚沉淀得白色蜡状物,继续反复沉淀精制3次即得粉末状CHMC-F87-CHMC三嵌段共聚物。

[0064] 使用IFS-55傅立叶变换红外光谱仪(Bruker公司,瑞士)对所得产物进行红外分析,测试谱图见附图:附图1为CHM;附图10为F87;附图11为CHMC-F87-CHMC。与CHM和F87相比,CHMC-F87-CHMC最大的特征信号是在 1743.0 cm^{-1} 附近出现了一个吸收峰,对应于碳酸酯键的羰基($\nu\text{ C=O}$)伸缩振动,且 3452.0 cm^{-1} 对应于F87羟基伸缩振动($\nu\text{ OH}$)的钝宽峰已经消失。

[0065] 使用BRUKER AVANCE-600MHz超导核磁共振仪(Bruker公司,瑞士)对所得产物进行氢谱和碳谱分析。在 $^1\text{H-NMR}$ 谱中(附图12), δ .72 ppm、 δ .53 ppm、 δ .40 ppm和 δ .25 ppm处的四个峰分别对应于F87的 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{122}$ -上- CH_2 -的H、 $-(\text{CH}_2\text{CHCH}_3\text{O})_{40}$ -中- CH_2 -、-CH-和- CH_3 上的H,其余各峰与胆固醇氯甲酯相似。在 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱中(附图13), δ 67.77 ppm处峰为F87与胆固醇氯甲酯所形成的酯键峰, δ 0.58 ppm、 δ 3.40 ppm、 δ 2.89 ppm和 δ 7.36 ppm处的峰对应于F87中 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{122}$ -上- CH_2 -的C、 $-(\text{CH}_2\text{CHCH}_3\text{O})_{40}$ -中-CH-、- CH_2 -、和- CH_3 上的C,其余各峰与胆固醇氯甲酯相似。

[0066] 实施例4:CHMC-F108-CHMC的合成

[0067] 取584 mg F108(0.04 mM)置于密闭容器中,氮气条件下加入2.44 mg 4-二甲基吡啶和20 μL 三乙胺,缓慢滴加胆固醇氯甲酯(0.12 mM)的二氯甲烷溶液8 mL,冰水浴中搅拌混合30 min后室温反应24 h,待反应结束后减压除去溶剂。向所得粗产物中加入一定量蒸馏水,以二氯甲烷萃取三次,再分别以冰水、饱和氯化钠和100 mM的盐酸洗3次,经冰乙醚沉淀得白色蜡状物,继续反复沉淀精制3次即得粉末状CHMC-F108-CHMC三嵌段共聚物。

[0068] 使用IFS-55傅立叶变换红外光谱仪(Bruker公司,瑞士)对所得产物进行红外分析,测试谱图见附图:附图1为CHM;附图14为F108;附图15为CHMC-F108-CHMC。与CHM和F108相比,CHMC-F108-CHMC最大的特征信号是在 1741.2 cm^{-1} 附近出现了一个吸收峰,对应于碳酸酯键的羰基($\nu\text{ C=O}$)伸缩振动,且 3434.6 cm^{-1} 对应于F108羟基伸缩振动($\nu\text{ OH}$)的钝宽峰已经消失。

[0069] 使用BRUKER AVANCE-600MHz超导核磁共振仪(Bruker公司,瑞士)对所得产物进行氢谱和碳谱分析。在 $^1\text{H-NMR}$ 谱中(附图16), δ .73 ppm、 δ .52 ppm、 δ .40 ppm和 δ .15 ppm处的四个峰分别对应于F108的 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{133}$ -中- CH_2 -的H、 $-(\text{CH}_2\text{CHCH}_3\text{O})_{50}$ -中- CH_2 -、-CH-和- CH_3 上的H,其余各峰与胆固醇氯甲酯相似。在 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱中(附图17), δ 67.77 ppm处峰为F108与胆固醇氯甲酯所形成的酯键峰, δ 0.57 ppm、 δ 5.34 ppm、 δ 2.98 ppm和 δ 7.47 ppm处的峰对应于F108中 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{133}$ -上- CH_2 -的C、 $-(\text{CH}_2\text{CHCH}_3\text{O})_{50}$ -中-CH-、- CH_2 -和- CH_3 上的C,其余各峰与胆固醇氯甲酯相似。

[0070] 实施例5:CHMC-P85-CHMC的合成

[0071] 取184 mg P85(0.04 mM)置于密闭容器中,氮气条件下加入2.44 mg 4-二甲基吡啶和20 μL 三乙胺,缓慢滴加胆固醇氯甲酯(0.12 mM)的二氯甲烷溶液8 mL,冰水浴中搅拌混合30 min后室温反应24 h,待反应结束后减压除去溶剂。向所得粗产物中加入一定量蒸

馏水,以二氯甲烷萃取三次,再分别以冰水、饱和氯化钠和100 mM的盐酸洗3次,经冰乙醚沉淀得白色胶状物,继续反复沉淀精制3次即得CHMC-P85-CHMC三嵌段共聚物。

[0072] 使用IFS-55傅立叶变换红外光谱仪(Bruker公司,瑞士)对所得产物进行红外分析,测试谱图见附图:附图1为CHM;附图18为P85;附图19为CHMC-P85-CHMC。与CHM和P85相比,CHMC-P85-CHMC最大的特征信号是在1740.8 cm^{-1} 附近出现了一个吸收峰,对应于碳酸酯键的羰基(ν C=O)伸缩振动,且3448.5 cm^{-1} 对应于P85羟基伸缩振动(ν OH)的钝宽峰已经消失。

[0073] 实施例6:F68及其衍生物临界胶束浓度(CMC)的测定

[0074] 由于泊洛沙姆及其衍生物的分子结构中具有亲水基团和亲脂基团,因此能够在水中自发形成胶束,可以利用荧光探针法测定其临界胶束浓度。

[0075] 精密移取0.1 mL浓度为 1×10^{-5} M芘工作液若干份于西林瓶中,氮气吹干,精密称取F68及其衍生物CHMC-F68-CHMC若干份,置于上述西林瓶中,分别加10 mL纯水,得到芘工作液的浓度为 10^{-7} M(芘在水中的饱和溶解度为 7×10^{-7} M),水浴超声30 min,放置过夜,即得到浓度分别为 5×10^{-4} , 1×10^{-3} , 3×10^{-3} , 5×10^{-3} , 1×10^{-2} , 3×10^{-2} , 5×10^{-2} , 1×10^{-1} , 5×10^{-1} , 1, 5 g/L的F68及CHMC-F68-CHMC溶液。将上述芘的水溶液以 393 nm作为发射波长在300 nm-350 nm波长范围内扫描,叠加各激发波长图谱并记录数据。以340 nm和335 nm的荧光强度(I_{340}/I_{335})之比为纵坐标,对数浓度值为横坐标作图,曲线的拐点即为F68和CHMC-F68-CHMC的CMC值。结果见图20。由图20可知,F68的CMC值为0.7 mg/mL,而CHMC-F68-CHMC的CMC值为0.01 mg/mL,比F68的CMC值低70倍。

[0076] 实施例7:多西他赛(Docetaxel)泊洛沙姆衍生物胶束的制备

表 1 多西他赛泊洛沙姆衍生物胶束处方

处方	药物: 载体 (w/w)
1	Docetaxel: CHMC-F68-CHMC (1:10)
2	Docetaxel: CHMC-F68-CHMC (1:20)
3	Docetaxel: CHMC-F68-CHMC (1:40)
4	Docetaxel: CHMC-F68-CHMC (1:60)
5	Docetaxel: CHMC-F87-CHMC (1:10)
6	Docetaxel: CHMC-F87-CHMC (1:20)
7	Docetaxel: CHMC-F87-CHMC (1:40)
8	Docetaxel: CHMC-F87-CHMC (1:60)
9	Docetaxel: CHMC-F108-CHMC (1:10)
10	Docetaxel: CHMC-F108-CHMC (1:20)
11	Docetaxel: CHMC-F108-CHMC (1:40)
12	Docetaxel: CHMC-F108-CHMC (1:60)
13	Docetaxel: CHMC-F127-CHMC (1:10)
14	Docetaxel: CHMC-F127-CHMC (1:20)
15	Docetaxel: CHMC-F127-CHMC (1:40)
16	Docetaxel: CHMC-F127-CHMC (1:60)

[0077]

[0078] 制备工艺:称取一定量的多西他赛及泊洛沙姆衍生物,使药物与载体的配比为1:10、1:20、1:40及1:60,加入适量的无水乙醇溶解,将乙醇挥干后,加入生理盐水进行水化,

用0.22 μm醋酸纤维素酯膜过滤,得到透明或略带乳光的多西他赛泊洛沙姆衍生物胶束溶液,该胶束溶液的浓度为0.5 mg/mL。(市售多西他赛注射液临用前用生理盐水稀释至浓度0.3-0.74 mg/mL,其中多西他赛与聚山梨酯80的质量比为1:27)。

[0079] 制剂的稳定性结果见表2。

[0080]

表 2 多西他赛泊洛沙姆衍生物胶束稳定性试验结果 (室温析晶情况)

	1h	6h	12h	18h	24h	36h	48h	72h
1	-	-	+	+	+	+	+	+
2	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	+	+	+	+	+
6	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	+	+	+	+	+	+
10	-	-	-	+	+	+	+	+
11	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	+	+	+	+	+	+
14	-	-	-	-	-	+	+	+
15	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-

[0081] 由表2可知,对于多西他赛泊洛沙姆衍生物胶束制剂,当药物载体比例达到1:20时,各组制剂在12小时内均不析出结晶;当比例达到1:40时,各组制剂在72小时内不析出结晶,稳定性良好。(市售多西他赛注射液经生理盐水稀释后仅4小时即析出结晶)

[0082] 采用PSS粒度测定仪测定各组制剂的平均粒径在50-80 nm之间,小于200 nm。

[0083] 实施例8:卡巴他赛(Cabazitaxel)泊洛沙姆衍生物胶束的制备

表 3 卡巴他赛泊洛沙姆衍生物胶束处方

处方	药物: 载体 (w/w)
17	Cabazitaxel: CHMC-F68-CHMC (1:15)
18	Cabazitaxel: CHMC-F68-CHMC (1:30)
19	Cabazitaxel: CHMC-F68-CHMC (1:50)
20	Cabazitaxel: CHMC-F87-CHMC (1:15)
21	Cabazitaxel: CHMC-F87-CHMC (1:30)
22	Cabazitaxel: CHMC-F87-CHMC (1:50)
23	Cabazitaxel: CHMC-F108-CHMC (1:15)
24	Cabazitaxel: CHMC-F108-CHMC (1:30)
25	Cabazitaxel: CHMC-F108-CHMC (1:50)
26	Cabazitaxel: CHMC-F127-CHMC (1:15)
27	Cabazitaxel: CHMC-F127-CHMC (1:30)
28	Cabazitaxel: CHMC-F127-CHMC (1:50)

[0084]

[0085] 制备工艺:称取一定量的卡巴他赛及泊洛沙姆衍生物,药物与载体的配比为1:15、

1:30及1:50,加入适量的无水乙醇溶解,将乙醇挥干后,加入生理盐水进行水化,用0.22 μm 醋酸纤维素酯膜过滤,得到透明或略带乳光的卡巴他赛泊洛沙姆衍生物胶束溶液,该胶束溶液的终浓度为0.25 mg/mL(市售卡巴他赛注射液临用前用生理盐水稀释至浓度0.1-0.26 mg/mL,卡巴他赛与聚山梨酯80的质量比为1:26)。

[0086] 制剂的稳定性结果见表4。

[0087]

表4 卡巴他赛泊洛沙姆衍生物胶束稳定性试验结果(室温析晶情况)

	1h	6h	12h	18h	24h	36h	48h	72h
17	-	-	-	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-	-	-	-
22	-	-	-	-	-	-	-	-
23	-	-	-	-	-	-	-	-
24	-	-	-	-	-	-	-	-
25	-	-	-	-	-	-	-	-
26	-	-	-	-	-	-	-	-
27	-	-	-	-	-	-	-	-
28	-	-	-	-	-	-	-	-

[0088] 由表4可知,对于卡巴他赛泊洛沙姆衍生物胶束制剂,以CHMC-F87-CHMC为载体时,药物载体比例达到1:30时,制剂在72小时内未见结晶析出;除CHMC-F108-CHMC以外的其他载体,药物载体比例达到1:50时,也可达到制剂在72小时内也无结晶析出,稳定性良好。

[0089] 实施例9:紫杉醇(Paclitaxel)泊洛沙姆衍生物胶束的制备

表5 紫杉醇泊洛沙姆衍生物胶束处方

处方	药物:载体(w/w)
29	Paclitaxel: CHMC-F68-CHMC (1:80)
30	Paclitaxel: CHMC-F87-CHMC (1:80)
31	Paclitaxel: CHMC-F108-CHMC (1:80)
32	Paclitaxel: CHMC-F127-CHMC (1:80)
33	Paclitaxel: CHMC-F68-CHMC: F68 (1:54:26)
34	Paclitaxel: CHMC-F68-CHMC: F87 (1:54:26)
35	Paclitaxel: CHMC-F68-CHMC: F108 (1:54:26)
36	Paclitaxel: CHMC-F68-CHMC: F127 (1:54:26)
37	Paclitaxel: CHMC-F68-CHMC: P85 (1:54:26)
38	Paclitaxel: CHMC-F68-CHMC: P123 (1:26:54)
39	Paclitaxel: CHMC-F127-CHMC: P123 (1:26:54)
40	Paclitaxel: CHMC-F68-CHMC: CHMC-F87-CHMC (1:26:54)
41	Paclitaxel: CHMC-F68-CHMC: CHMC-F108-CHMC (1:26:54)
42	Paclitaxel: CHMC-F68-CHMC: CHMC-F127-CHMC (1:26:54)

[0090]

[0091] 制备工艺:称取一定量的紫杉醇、泊洛沙姆及其衍生物,药物与载体的配比为1:80,加入适量的无水乙醇溶解,将乙醇挥干后,加入生理盐水进行水化,用0.22 μm 醋酸纤维素酯膜过滤,得到透明或略带乳光的紫杉醇泊洛沙姆衍生物胶束溶液,该胶束溶液的终浓

度为0.5 mg/mL(市售紫杉醇注射液临用前用生理盐水稀释至浓度0.3-1.2 mg/mL,紫杉醇与

[0092] 聚氧乙烯蓖麻油EL的质量比为1:85)。

[0093] 制剂的稳定性结果见表6。

[0094]

表 6 紫杉醇泊洛沙姆衍生物胶束稳定性试验结果 (室温析晶情况)

	1h	6h	12h	18h	24h	36h	48h	72h
29	-	+	+	+	+	+	+	+
30	-	+	+	+	+	+	+	+
31	-	+	+	+	+	+	+	+
32	-	+	+	+	+	+	+	+
33	-	-	+	+	+	+	+	+
34	-	-	+	+	+	+	+	+
35	-	+	+	+	+	+	+	+
36	-	+	+	+	+	+	+	+
37	-	-	+	+	+	+	+	+
38	-	-	-	-	-	-	-	-
39	-	-	-	-	-	-	-	-
40	-	-	-	+	+	+	+	+
41	-	-	+	+	+	+	+	+
42	-	-	-	+	+	+	+	+

[0095] 由表6可知,对于紫杉醇泊洛沙姆衍生物胶束制剂,当以单一泊洛沙姆衍生物为载体时,在1小时内即析出结晶,但以混合泊洛沙姆衍生物为载体时,制剂稳定性有所提高,尤其是使用CHMC-F127-CHMC和P123制备的混合胶束,72小时内未见结晶析出。除CHMC-F68-CHMC和CHMC-F108-CHMC的组合外,其他各组泊洛沙姆衍生物制备的混合胶束都可以达到12小时内无结晶析出,稳定性良好。(市售紫杉醇注射液经生理盐水稀释后12小时即析出结晶)。

[0096] 实施例10:拉劳他赛(Larotaxel)泊洛沙姆衍生物胶束的制备

表 7 拉劳他赛泊洛沙姆衍生物胶束处方

处方	药物: 载体 (w/w)
43	Larotaxel: F68 (1:50)
44	Larotaxel: F68 (1:100)
45	Larotaxel: F68 (1:200)
46	Larotaxel: F68 (1:500)
47	Larotaxel: F68 (1:800)
48	Larotaxel: CHMC-F68-CHMC (1:10)
49	Larotaxel: CHMC-F68-CHMC (1:30)
50	Larotaxel: CHMC-F68-CHMC (1:50)

[0097]

[0098] 制备工艺:称取一定量的拉劳他赛、F68及CHMC-F68-CHMC,药物与载体的配比为1:10-1:800,加入适量的无水乙醇溶解,将乙醇挥干后,加入5 %的葡萄糖溶液进行水化,用0.22 μm醋酸纤维素酯膜过滤,得到透明或略带乳光的拉劳他赛泊洛沙姆衍生物胶束溶液,该胶束溶液的终浓度为0.5 mg/mL。

[0099] 制剂的稳定性结果见表8。

[0100]

表 8 拉劳他赛泊洛沙姆衍生物胶束稳定性试验结果 (室温析晶情况)

	1h	6h	12h	18h	24h	36h	48h	72h
43	+	+	+	+	+	+	+	+
44	-	+	+	+	+	+	+	+
45	-	-	+	+	+	+	+	+
46	-	-	-	+	+	+	+	+
47	-	-	-	-	-	-	-	-
48	-	-	-	+	+	+	+	+
49	-	-	-	-	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-	-	-	-

[0101] 由表8可知,对于拉劳他赛泊洛沙姆及其衍生物胶束制剂,当以F68为载体时,药物载体比例达到1:800时,才能达到72小时无结晶析出;而采用CHMC-F68-CHMC为载体制备胶束时,药物载体比例仅为1:30时即可达到与其相同效果,载体用量减少了96%。可见泊洛沙姆衍生物显著提高了胶束的载药能力。

[0102] 实施例11:葫芦素B(Cucurbitacin, CuB)泊洛沙姆衍生物胶束的制备

表 9 葫芦素 B 泊洛沙姆衍生物胶束处方

处方	药物: 载体 (w/w)
51	CuB: F68 (1:50)
52	CuB: F68 (1:100)
53	CuB: F68 (1:200)
54	CuB: F68 (1:500)
55	CuB: F68 (1:800)
56	CuB: F68-g-CHM (1:50)
57	CuB: F68-g-CHM (1:100)
58	CuB: F68-g-CHM (1:200)
59	CuB: F68-g-CHM (1:400)
60	CuB: CHMC-F68-CHMC(1:10)
61	CuB: CHMC-F68-CHMC(1:30)
62	CuB: CHMC-F68-CHMC(1:50)

[0103]

[0104] 制备工艺:按专利(申请号:200610090689.7)中的制备方法合成单侧接枝胆固醇的泊洛沙姆衍生物F68-g-CHM备用。称取一定量的葫芦素B、F68、F68-g-CHM及CHMC-F68-CHMC,药物与载体的配比为1:10-1:800,加入适量的无水乙醇溶解,将乙醇挥干后,加入生理盐水进行水化,用0.22 μm醋酸纤维素酯膜过滤,得到透明的葫芦素B泊洛沙姆衍生物胶束溶液,该胶束溶液的终浓度为0.1 mg/mL。

[0105] 制剂的稳定性结果见表10。

[0106]

表 10 葫芦素 B 泊洛沙姆衍生物胶束稳定性试验结果 (室温析晶情况)

	1h	12h	24h	48h	72h	96h	7d
S1	-	-	-	-	-	-	-
S2	-	-	-	-	-	-	-
S3	-	-	-	-	-	-	-
S4	-	-	-	-	-	-	-
S5	-	-	-	-	-	-	-
S6	-	-	-	-	-	-	-
S7	-	-	-	-	-	-	-
S8	-	-	-	-	-	-	-
S9	-	-	-	-	-	-	-
S10	-	-	-	-	-	-	-
S11	-	-	-	-	-	-	-
S12	-	-	-	-	-	-	-

[0107] 由表10可知,对于葫芦素B泊洛沙姆及其衍生物胶束制剂,当以F68为载体,药物载体比例达到1:800时,才能保证室温静置7天无结晶析出;采用单侧接枝胆固醇的F68-g-CHM为载体,药物载体比例达到1:400时,可以达到相同的稳定性;而以CHMC-F68-CHMC为载体,药物载体比例仅为1:30时,就可保证制剂在室温静置7天而无结晶析出。所以与单侧接枝胆固醇的泊洛沙姆衍生物相比,双侧接枝胆固醇的衍生物载药能力更强,制剂的稳定性更好。

[0108] 实施例12:二氢青蒿素(Dihydroartemisinin)泊洛沙姆衍生物胶束的制备

表 11 二氢青蒿素泊洛沙姆衍生物胶束处方

[0109]

处方 63
二氢青蒿素 10 mg
CHMC-F68-CHMC 300 mg

[0110] 制备工艺:称取处方量的二氢青蒿素及CHMC-F68-CHMC,加入适量的无水乙醇溶解,将乙醇挥干后,加入5%葡萄糖溶液进行水化,用0.22 μm醋酸纤维素酯膜过滤,得到透明的二氢青蒿素泊洛沙姆衍生物胶束溶液,该胶束溶液的终浓度为0.5 mg/mL。

[0111] 实验结果表明,所得二氢青蒿素泊洛沙姆衍生物胶束溶液的平均粒径为53.2 ± 4.7 nm,包封率为90.8 ± 2.5 %,在72小时内稳定性良好。

[0112] 实施例13:环孢菌素A(Ciclosporin A)泊洛沙姆衍生物胶束的制备

表 12 环孢菌素 A 泊洛沙姆衍生物胶束处方

[0113]

处方 64
环孢菌素 A 10 mg
CHMC-F87-CHMC 350 mg

[0114] 制备工艺:称取处方量的环孢菌素A及CHMC-F87-CHMC,加入适量的无水乙醇溶解,将乙醇挥干后,加入5 %葡萄糖溶液进行水化,用0.22 μm醋酸纤维素酯膜过滤,得到透明的环孢菌素A泊洛沙姆衍生物胶束溶液,该胶束溶液的终浓度为1 mg/mL。

[0115] 实验结果表明,所得环孢菌素A泊洛沙姆衍生物胶束溶液的平均粒径为64.5 ± 4.7 nm,包封率为92.3 ± 2.5 %,在72小时内稳定性良好。

[0116] 实施例14:环扁桃酯(Cyclandelatum)泊洛沙姆衍生物胶束的制备

表 13 环扁桃酯泊洛沙姆衍生物胶束处方

处方 65	
[0117]	环扁桃酯 10 mg
	L61 25 mg
	CHMC-F127-CHMC 200 mg

[0118] 制备工艺:称取处方量的环扁桃酯、L61及CHMC-F127-CHMC,加入适量的乙酸乙酯溶解,将乙酸乙酯挥干后,加入5 %葡萄糖溶液进行水化,用0.22 μm 醋酸纤维素酯膜过滤,得到透明的环扁桃酯泊洛沙姆衍生物胶束溶液,该胶束溶液的终浓度为0.3 mg/mL。

[0119] 实验结果表明,所得环扁桃酯泊洛沙姆衍生物胶束溶液的平均粒径约为 47.1 ± 3.7 nm,包封率为 87.1 ± 2.5 %,在72 小时内稳定性良好。

[0120] 实施例15:雷帕霉素(Rapamycin)泊洛沙姆衍生物胶束的制备

表 14 雷帕霉素泊洛沙姆衍生物胶束处方

处方 66	
[0121]	雷帕霉素 10 mg
	CHMC-F87-CHMC 300 mg
	CHMC-F127-CHMC 200 mg

[0122] 制备工艺:称取处方量的雷帕霉素、CHMC-F87-CHMC及CHMC-F127-CHMC,加入适量的无水乙醇溶解,将乙醇挥干后,加入5 %葡萄糖溶液进行水化,用0.22 μm 醋酸纤维素酯膜过滤,得到透明的雷帕霉素泊洛沙姆衍生物胶束溶液,该胶束溶液的终浓度为0.1 mg/mL。

[0123] 实验结果表明,所得雷帕霉素泊洛沙姆衍生物胶束溶液的平均粒径为 53.9 ± 4.6 nm,包封率为 86.9 ± 3.7 %,在72 小时内稳定性良好。

[0124] 实施例16:冬凌草甲素(Oridonin)泊洛沙姆衍生物胶束的制备

表 15 冬凌草甲素泊洛沙姆衍生物胶束处方

处方 67	
[0125]	冬凌草甲素 10 mg
	CHMC-F127-CHMC 300 mg

[0126] 制备工艺:称取处方量的冬凌草甲素及CHMC-F127-CHMC,加入适量的丙酮溶解,将丙酮挥干后,加入5 %葡萄糖溶液进行水化,用0.22 μm 醋酸纤维素酯膜过滤,得到透明的冬凌草甲素泊洛沙姆衍生物胶束溶液,该胶束溶液的终浓度为1 mg/mL。

[0127] 实验结果表明,所得冬凌草甲素泊洛沙姆衍生物胶束溶液的平均粒径约为 49.2 ± 4.7 nm,包封率为 92.8 ± 2.5 %,在72 小时内稳定性良好。

[0128] 实施例17:厚朴酚(Magnolol)泊洛沙姆衍生物胶束的制备

表 16 厚朴酚泊洛沙姆衍生物胶束处方

处方 68	
[0129]	厚朴酚 10 mg
	F68 50mg
	CHMC-F68-CHMC 300 mg

[0130] 制备工艺:称取处方量的厚朴酚、F68及CHMC-F68-CHMC,加入适量的无水乙醇溶解,将乙醇挥干后,加入生理盐水进行水化,用0.22 μm 醋酸纤维素酯膜过滤,得到透明的厚朴酚泊洛沙姆衍生物胶束溶液,该胶束溶液的终浓度为1 mg/mL。

[0131] 实验结果表明,所得厚朴酚泊洛沙姆衍生物胶束溶液的平均粒径为 61.3 ± 2.4

nm, 包封率为 $90.7 \pm 2.5\%$, 在72小时内稳定性良好。

[0132] 实施例18:埃博霉素(Epothilone)泊洛沙姆衍生物混合胶束的制备

表 17 埃博霉素泊洛沙姆衍生物混合胶束处方

处方	药物: 载体 (w/w)
69	Epothilone: F68 (1:300)
70	Epothilone: F87 (1:300)
71	Epothilone: F68-g-CHM (1:200)
72	Epothilone: F87-g-CHM (1:200)
73	Epothilone: CHMC-F68-CHMC (1:120)
74	Epothilone: CHMC-F87-CHMC (1:120)
75	Epothilone: F68: F87 (1:15:30)
76	Epothilone: F68: F87 (1:30:60)
77	Epothilone: F68: F87 (1:60:120)
78	Epothilone: F68-g-CHM: F87-g-CHMC (1:15:30)
79	Epothilone: F68-g-CHM: F87-g-CHMC (1:30:60)
80	Epothilone: CHMC-F68-CHMC: CHMC-F87-CHMC (1:15:30)

[0133] 制备工艺:按专利(申请号:200610090689.7)中的制备方法合成单侧接枝胆固醇的泊洛沙姆衍生物F68-g-CHM备用。称取处方量的埃博霉素、F68、F87、F68-g-CHM、F87-g-CHM、CHMC-F68-CHMC和CHMC-F87-CHMC,加入适量丙酮溶解后,逐渐加入到生理盐水中,加热挥去有机溶剂,用0.22 μm醋酸纤维素酯膜过滤,即可得到透明的埃博霉素泊洛沙姆衍生物胶束溶液,该胶束溶液的终浓度为0.5 mg/mL。

[0135] 制剂的稳定性结果见表18

[0136]

表 18 埃博霉素泊洛沙姆衍生物混合胶束稳定性试验结果 (室温析晶情况)

	1h	3h	6h	12h	24h	48h	72h
69	-	-	-	*	*	*	*
70	-	-	-	*	*	*	*
71	-	-	-	*	*	*	*
72	-	-	-	*	*	*	*
73	-	-	-	-	*	*	*
74	-	-	-	-	*	*	*
75	*	*	*	*	*	*	*
76	-	*	*	*	*	*	*
77	-	-	-	*	*	*	*
78	-	*	*	*	*	*	*
79	-	-	-	*	*	*	*
80	-	-	-	-	*	*	*

[0137] 由表18可知,对于埃博霉素泊洛沙姆及其衍生物胶束制剂,当单独采用一种载体制备胶束时,载药量和稳定性都不佳,其中最好的处方为CHMC-F68-CHMC和CHMC-F87-CHMC,药物载体比例达到1:200时,制剂才能在12h内保持稳定,无结晶析出;而采用混合载体制备胶束时,药物载体比例大大降低,尤其是以CHMC-F68-CHMC和CHMC-F87-CHMC的混合载体处方,药物与载体比例为1:15:30时,就可保证制剂在室温静置12h无结晶析出。

[0138] 综上, 双侧接枝胆固醇的泊洛沙姆衍生物的载药能力优于未接枝或单侧接枝胆固醇的泊洛沙姆衍生物, 并且混合载体的载药能力优于单一载体。

[0139] 实施例19: 比马前列素(Bimatoprost)泊洛沙姆衍生物胶束的制备

表 19 比马前列素泊洛沙姆衍生物胶束处方

[0140]	处方 81
	比马前列素 10 mg
	CHMC-F68-CHMC 300 mg

[0141] 制备工艺: 称取处方量的比马前列素和CHMC-F68-CHMC, 加入适量的丙酮溶解后, 逐渐加入到生理盐水中, 加热挥去有机溶剂, 用0.22 μm 醋酸纤维素酯膜过滤, 即可得到透明的比马前列素泊洛沙姆衍生物胶束溶液, 该胶束溶液的终浓度为0.3 mg/mL。

[0142] 实验结果表明, 所得比马前列素泊洛沙姆衍生物胶束溶液的平均粒径为 46.7 ± 3.3 nm, 包封率为 92.8 ± 2.5 %, 在72 小时内稳定性良好。

[0143] 实施例20: 葛根素(Puerarin)泊洛沙姆衍生物胶束的制备

表 20 葛根素泊洛沙姆衍生物胶束处方

[0144]	处方 82
	葛根素 10 mg
	P123 100 mg
	CHMC-F68-CHMC 200 mg

[0145] 制备工艺: 称取处方量的葛根素、P123及CHMC-F68-CHMC, 加入适量的无水乙醇溶解, 将乙醇挥干后, 加入5 %葡萄糖溶液进行水化, 用0.22 μm 醋酸纤维素酯膜过滤, 得到透明的葛根素泊洛沙姆衍生物胶束溶液, 该胶束溶液的终浓度为0.5 mg/mL。

[0146] 实验结果表明, 所得葛根素泊洛沙姆衍生物胶束溶液的平均粒径约为 52.8 ± 4.7 nm, 包封率为 91.7 ± 2.8 %, 在72小时内稳定性良好。

[0147] 实施例21: 叶酸修饰的紫杉醇胶束的制备

表 21 叶酸修饰的紫杉醇胶束处方

[0148]	处方 83
	紫杉醇 10 mg
	P123 267 mg
	CHMC-F127-CHMC 453 mg
	DSPE-PEG-FA 80 mg

[0149] 制备工艺: 称取处方量的紫杉醇、P123、CHMC-F127-CHMC及DSPE-PEG-FA, 加入适量的无水乙醇溶解, 将乙醇挥干后, 加入5 %葡萄糖溶液进行水化, 用0.22 μm 醋酸纤维素酯膜过滤, 得到略带乳光的叶酸修饰的紫杉醇胶束溶液, 该胶束溶液的终浓度为0.5 mg/mL。

[0150] 实验结果表明, 所得叶酸修饰的紫杉醇胶束溶液的平均粒径约为 63.6 ± 5.3 nm, 包封率为 90.4 ± 3.5 %, 在72小时内稳定性良好。

[0151] 实施例22: 葫芦素B(Cucurbitacin B)泊洛沙姆衍生物胶束的冻干

表 22 葫芦素 B 泊洛沙姆衍生物胶束的冻干处方

[0152]	处方 84
	葫芦素 B 10 mg
	CHMC-F68-CHMC 300 mg

[0153] 制备方法:用适量叔丁醇溶解处方量的葫芦素B和CHMC-F68-CHMC,挥去部分叔丁醇,加入5 mL去离子水水化制成葫芦素B泊洛沙姆衍生物胶束溶液,将5 mL该胶束溶液置于20 mL西林瓶中,于-20 °C冰箱中预冻24h,再冷冻干燥24 h即可。

[0154] 其他的泊洛沙姆衍生物胶束制剂也可以按照此方法进行冻干,还可以在冻干前加入甘露醇、葡萄糖、乳糖、海藻糖或聚乙二醇等冻干保护剂。

[0155] 所得葫芦素B泊洛沙姆衍生物胶束的冻干品,质地疏松,再分散后粒径稍有增加,由原来的 54.8 ± 3.9 nm增加到 59.2 ± 5.2 nm,再分散性良好。

[0156] 实施例23:葫芦素B泊洛沙姆衍生物胶束的喷雾干燥

表 23 葫芦素 B 泊洛沙姆衍生物胶束处方

处方 85	
[0157]	葫芦素 B 10mg
	CHMC-F68-CHMC 3 g
	乳糖 100g

[0158] 制备工艺:将处方量的葫芦素B及CHMC-F68-CHMC用适量的丙酮溶解,挥干丙酮,加入500mL去离子水进行水化制得葫芦素B胶束溶液,在胶束中加入处方量的乳糖,用喷雾干燥器进行固化即可。干燥器的进口温度为100 °C,出口温度为65 °C,压缩气体流量为475 L/h,抽气速率为38 m³/h,进料速率为3.4 mL/min。

[0159] 载药胶束溶液在喷雾干燥后的收率为69.7 %,再分散性良好。

[0160] 实施例24:泊洛沙姆衍生物修饰的阿帕利丁(Aplidine)脂质囊泡的制备

表 24 泊洛沙姆衍生物修饰的阿帕利丁脂质囊泡处方

处方 86	
[0161]	阿帕利丁 10 mg
	司盘 60 100 mg
	CHMC-F68-CHMC 50 mg

[0162] 制备方法:称取处方量的阿帕利丁、司盘60和CHMC-F68-CHMC,用氯仿溶解,40 °C条件下减压旋干溶剂,向其中加入预热至65 °C的磷酸盐缓冲液(pH 6.8),搅拌水化45 min,过0.22 μm微孔滤膜即可。

[0163] 实验结果表明,所得阿帕利丁脂质囊泡的平均粒径为 71.3 ± 3.7 nm,包封率为 86.7 ± 2.2 %,4 °C放置1个月粒径和包封率无明显变化,制剂稳定性良好。

[0164] 实施例25:泊洛沙姆衍生物修饰的辅酶Q₁₀乳剂的制备

表 25 泊洛沙姆衍生物修饰的辅酶 Q₁₀ 乳剂处方

处方 87	
[0165]	辅酶 Q ₁₀ 25 mg
	中碳链脂肪酸酯 (MCT) 250 mg
	二油酰基磷脂酰胆碱 (DOPC) 80 mg
	CHMC-F68-CHMC 50 mg
	去离子水加至 10 mL

[0166] 制备方法:称取处方量CHMC-F68-CHMC溶于去离子水中,作为水相预热至55 °C备用,另称取处方量辅酶Q₁₀、MCT及DOPC于55 °C下搅拌至全部溶解,作为油相。将水相缓慢加入油相中,高速分散,再经探头超声(200 w×2 min;400 w×6 min)处理后,过0.22 μm微孔滤膜即可。

[0167] 实验结果表明,所得辅酶Q₁₀乳剂的平均粒径为 134.7 ± 5.8 nm,4 °C放置1个月粒径无明显变化,也无分层和乳滴合并现象,制剂稳定性良好。

[0168] 实施例26:泊洛沙姆衍生物修饰的人参皂苷Rh1(Ginsenoside Rh1)乳剂的制备

表26 泊洛沙姆衍生物修饰的人参皂苷Rh1乳剂处方

处方 88	
[0169]	人参皂苷 Rh1 20 mg
	注射用大豆油 280 mg
	蛋黄卵磷脂 (EPC) 50 mg
	CHMC-F68-CHMC 40 mg
	去离子水加至 5 mL

[0170] 制备方法:称取处方量CHMC-F68-CHMC溶于去离子水中,作为水相预热至65 °C备用,另称取处方量人参皂苷Rh1、注射用大豆油及EPC于55 °C下搅拌至全部溶解,作为油相。将水相缓慢滴加入油相中,高速分散,再经探头超声(200 w×2 min;400 w×6 min)处理后,过0.22 μm微孔滤膜即可。

[0171] 实验结果表明,所得人参皂苷Rh1乳剂的平均粒径为 139.5 ± 4.3 nm,4 °C放置1个月粒径无明显变化,也无分层和乳滴合并现象,制剂稳定性良好。

[0172] 实施例27:泊洛沙姆衍生物修饰的丙泊酚(Propofol)注射用微乳的制备

表27 泊洛沙姆衍生物修饰的丙泊酚亚微乳处方

处方 89	
[0173]	丙泊酚 1 g
	注射用大豆油 10 g
	大豆卵磷脂 (SPC) 1.6 g
	CHMC-F68-CHMC 2.1 g
	注射用甘油 2.25 g
	去离子水加至 100 mL

[0174] 制备方法:称取处方量CHMC-F68-CHMC及甘油溶于适量去离子水中,作为水相预热至70 °C备用,另称取处方量丙泊酚、注射用大豆油及SPC于70 °C下搅拌至全部溶解,作为油相。将水相缓慢滴加入油相中,高速分散制成初乳后,过微射流(50MPa,循环5次),用注射用水稀释至全量,调节pH值,灌装,充氮气,封口,灭菌即可。

[0175] 实验结果表明,所得丙泊酚微乳为淡蓝色乳状液,平均粒径约为 85.3 ± 2.1 nm,4 °C放置1个月粒径无明显变化,也无分层和乳滴合并现象,制剂稳定性良好。

[0176] 实施例28:泊洛沙姆衍生物修饰的伊曲康唑(Itraconazole)纳米粒的制备

表28 泊洛沙姆衍生物修饰的伊曲康唑纳米粒处方

处方 90	
[0177]	伊曲康唑 100 mg
	大豆油 1000 mg
	单硬脂酸甘油酯 (GMS) 1000 mg
	大豆卵磷脂 (SPC) 500 mg
	CHMC-F68-CHMC 250 mg
	去离子水加至 10 mL

[0178] 制备方法:用适量乙醇溶解处方量的伊曲康唑、大豆油、GMS及SPC,减压旋转蒸发形成含药脂膜,向其中加入预热至65 °C的CHMC-F68-CHMC水溶液孵育10 min后,再探头超

声8 min(200 w×2 min;400 w×6 min),冰水浴中冷却,过0.45 μm的微孔滤膜即可。

[0179] 实验结果表明,所得伊曲康唑纳米粒的平均粒径约为 145.1 ± 3.5 nm,包封率为 92.8 ± 1.3 %,4 °C放置1个月粒径和包封率无明显变化,稳定性良好。

[0180] 实施例29:泊洛沙姆衍生物修饰的羟喜树碱(Hydroxylcamptothecine)纳米粒的制备

表 29 泊洛沙姆衍生物修饰的羟喜树碱纳米粒处方

处方 91	
[0181]	羟喜树碱 10 mg
	山嵛酸甘油酯 (ATO) 120 mg
	单硬脂酸甘油酯 (GMS) 120 mg
	蛋黄卵磷脂 (EPC) 50 mg
	CHMC-F87-CHMC 40 mg
	去离子水加至 10 mL

[0182] 制备方法:按处方量称取羟喜树碱、ATO、GMS及EPC,在通氮气的条件下加热至80 °C,向其中缓缓滴加相同温度的CHMC-F87-CHMC水溶液制成初乳后,探头超声8 min(200 w×2 min;400 w×6 min),冰水浴中冷却,过0.22 μm的微孔滤膜即可。

[0183] 实验结果表明,所得羟喜树碱纳米粒的平均粒径为 138.2 ± 4.5 nm,包封率为 95.8 ± 1.1 %,4 °C放置1个月粒径和包封率无明显变化,稳定性良好。

[0184] 实施例30:泊洛沙姆衍生物修饰的维甲酸(Retinoic acid)纳米粒的制备

表 30 泊洛沙姆衍生物修饰的维甲酸纳米粒处方

处方 92	
[0185]	维甲酸 10 mg
	单硬脂酸甘油酯 (GMS) 150 mg
	二油酰磷脂酰胆碱 (DOPC) 60 mg
	CHMC-F68-CHMC 50 mg
	去离子水加至 10 mL

[0186] 制备方法:称取处方量的CHMC-F68-CHMC溶于去离子水中作为水相,预热至80 °C备用,在避光条件下,称取处方量的维甲酸、GMS、DOPC混合均匀,于80 °C加热使其溶解作为油相。将水相缓缓加入到油相中,探头超声8 min(200 w×2 min;400 w×6 min),过0.22 μm微孔滤膜即可。

[0187] 实验结果表明,所得维甲酸纳米粒的平均粒径约为 157.4 ± 6.1 nm,包封率为 86.5 ± 3.6 %,4 °C放置1个月粒径和包封率无明显变化,稳定性良好。

[0188] 实施例31:泊洛沙姆衍生物修饰的阿德福韦酯(Adefovir dipivoxil)纳米粒的制备

表31 泊洛沙姆衍生物修饰的阿德福韦酯纳米粒处方

处方 93	
[0189]	阿德福韦酯 10 mg
	大豆油 50 mg
	山嵛酸甘油酯 (ATO) 50 mg
	单硬脂酸甘油酯 (GMS) 60 mg
	大豆卵磷脂 (SPC) 40 mg
	CHMC-F68-CHMC 60 mg
	去离子水加至 10 mL

[0190] 制备方法:称取处方量的CHMC-F68-CHMC溶于去离子水中作为水相,预热至80 °C备用,另称取处方量的阿德福韦酯、大豆油、ATO、GMS混合均匀,于80 °C加热溶解作为油相。将水相缓缓加入到油相中,探头超声8 min(200 w×2 min;400 w×6 min),过0.22 μm微孔滤膜即可。

[0191] 实验结果表明,所得阿德福韦酯纳米粒粒径为 197.9 ± 5.8 nm,包封率为 79.6 ± 5.5 %,4 °C放置1个月粒径和包封率无明显变化,稳定性良好。

[0192] 实施例32:泊洛沙姆衍生物修饰的洛伐他汀(Lovastatin)纳米粒的制备

表32 泊洛沙姆衍生物修饰的洛伐他汀纳米粒处方

处方 94	
[0193]	洛伐他汀 10 mg
	聚乳酸羟基乙酸共聚物 (PLGA) 150 mg
	CHMC-F68-CHMC 50 mg
	去离子水加至 10 mL

[0194] 制备方法:称取处方量的洛伐他汀和PLGA溶于适量丙酮中作为油相,另称取处方量的CHMC-F68-CHMC溶于去离子水中作为水相,将油相缓缓滴入水相中,常压下匀速搅拌12 h,挥发除去丙酮,过0.22 μm微孔滤膜即可。

[0195] 实验结果表明,所得洛伐他汀纳米粒粒径为 134.1 ± 5.4 nm,包封率为 87.6 ± 2.5 %,4 °C放置1个月粒径和包封率无明显变化,稳定性良好。

[0196] 实施例33:泊洛沙姆衍生物雷公藤红素(Celastrol)纳米粒的制备

表 33 泊洛沙姆衍生物雷公藤红素纳米粒处方

处方 95	
[0197]	雷公藤红素 15 mg
	山嵛酸甘油酯 (ATO) 180 mg
	中碳链脂肪酸酯 (MCT) 60 mg
	大豆卵磷脂 (SPC) 30 mg
	α-生育酚聚乙二醇琥珀酸酯 (TPGS) 30 mg
	CHMC-F68-CHMC 30 mg
	去离子水加至 5 mL

[0198] 制备方法:称取处方量的CHMC-F68-CHMC溶于去离子水中作为水相,预热至80 °C备用,另称取处方量的雷公藤红素、ATO、MCT、SPC和TPGS,在通氮气的条件下加热至80 °C熔融作为油相,将水相缓慢滴加入油相中孵育10 min后,再探头超声6 min(400 w),过0.22 μm即可。

[0199] 实验结果表明,所得雷公藤红素纳米粒的粒径为 156.8 ± 3.2 nm,包封率为 90.6 ± 1.7 %,4 °C放置1个月粒径和包封率无明显变化,稳定性良好。

[0200] 实施例34:泊洛沙姆衍生物修饰的硫酸长春新碱(Vincristine sulfate)脂质体的制备

表 34 泊洛沙姆衍生物修饰的硫酸长春新碱脂质体处方

处方 96	
[0201]	硫酸长春新碱 10 mg
	胆固醇 (Ch) 15 mg
	二棕榈酰磷脂胆碱 (DPPC) 60 mg
	CHMC-F68-CHMC 25 mg
	Na ₂ HPO ₄ pH 9, 500 mM

[0202] 制备方法:称取处方量的DPPC、Ch及CHMC-F68-CHMC,加适量无水乙醇,挥除乙醇,加枸橼酸缓冲液(300 mM;pH 4.30)水化,在65 °C水浴中磁力搅拌30 min,探头超声6 min (200 w×2 min;400 w×4 min),依次通过0.8、0.45和0.22 μm的微孔滤膜,即得空白脂质体混悬液。

[0203] 取空白脂质体0.2 mL,加1.0 mL硫酸长春新碱溶液(1 mg/mL)及Na₂HPO₄溶液(500 mM;pH 9.05)0.6 mL,加注射用水0.2 mL使外水相pH 7.30,60 °C水浴保温10 min即可。

[0204] 实验结果表明,所得硫酸长春新碱脂质体的平均粒径为156.9±4.3 nm,包封率为94.1±3.9 %,4 °C放置1个月粒径和包封率无明显变化,制剂稳定性良好。

[0205] 实施例35:泊洛沙姆衍生物修饰的β-榄香烯脂质体的制备

表 35 泊洛沙姆衍生物修饰的β-榄香烯脂质体处方

处方 97	
[0206]	β-榄香烯 10 mg
	胆固醇 (Ch) 20 mg
	氢化大豆卵磷脂 (HSPC) 60 mg
	CHMC-F68-CHMC 20 mg

[0207] 制备方法如下:在65 °C条件下,用适量乙醇溶解处方量的药物和膜材,将预热至相同温度的水相,以中速注入脂质相,孵育30 min,制得脂质体初品,探头超声8分钟(200 w×2 min;400 w×4 min),依次通过0.8、0.45、0.22 μm的微孔滤膜,即得空白脂质体。

[0208] 实验结果表明,所得泊洛沙姆β-榄香烯脂质体的平均粒径为142.3±6.1 nm,包封率为95.1±1.6%,4 °C放置1个月粒径和包封率无明显变化,制剂稳定性良好。

[0209] 实施例36:泊洛沙姆衍生物修饰的阿劳铂(Aroplatin)脂质体的制备

表 36 泊洛沙姆衍生物修饰的阿劳铂脂质体处方

处方 98	
[0210]	阿劳铂 10 mg
	胆固醇 (Ch) 20 mg
	双肉豆蔻磷脂酰胆碱 (DMPC) 70 mg
	CHMC-F68-CHMC 15 mg
	磷酸盐缓冲液 (PBS) 加至 5 mL

[0211] 制备方法:在60-65 °C水浴中,用乙醇溶解处方量的DMPC、Ch及CHMC-F68-CHMC,挥去部分乙醇后,以中速注入预热至相同温度的阿劳铂PBS溶液(pH 7.0,20 mM),孵育约20 min,制得脂质体初品,再探头超声8分钟(200 w×2 min;400 w×4 min),依次通过0.8、0.45及0.22 μm的微孔滤膜即可。

[0212] 实验结果表明,所得阿劳铂脂质体的平均粒径为126.8±4.3 nm,包封率为77.1±

1.7 %,4 °C放置1个月粒径和包封率无明显变化,制剂稳定性良好。

[0213] 实施例37:泊洛沙姆衍生物修饰的依托泊苷(Etoposide)脂质体的制备

表 37 泊洛沙姆衍生物修饰的依托泊苷脂质体处方

	处方 99
	依托泊苷 10 mg
[0214]	胆固醇 (Ch) 20 mg
	蛋黄卵磷脂 (EPC) 70 mg
	CHMC-F87-CHMC 17 mg
	磷酸盐缓冲液 (PBS) 加至 5 mL

[0215] 制备方法:精密称取处方量的依托泊苷、EPC、Ch及CHMC-F87-CHMC,加入氯仿溶解,减压蒸发形成含药脂膜,加入一定量的pH 7.4磷酸盐缓冲液水化孵育约20 min,制得脂质体初品,再探头超声8分钟(200 w×2 min;400 w×4 min),依次通过0.8、0.45、0.22 μm的微孔滤膜即可。

[0216] 实验结果表明,所得依托泊苷脂质体的平均粒径为 144.5 ± 4.2 nm,包封率为 $89.1 \pm 6.7\%$,4 °C放置1个月粒径和包封率无明显变化,制剂稳定性良好。

[0217] 实施例38:泊洛沙姆衍生物修饰的白藜芦醇(Resveratrol)脂质体的制备

表 38 泊洛沙姆衍生物修饰的白藜芦醇脂质体处方

	处方 100
	白藜芦醇 10 mg
[0218]	胆固醇 (Ch) 30 mg
	氢化大豆卵磷脂 (HSPC) 120 mg
	CHMC-F68-CHMC 35 mg
	磷酸盐缓冲液 (PBS) 加至 10 mL

[0219] 制备方法:在60-65 °C水浴中,用乙醇溶解处方量的HSPC、Ch及CHMC-F68-CHMC,挥去叔丁醇后,以中速注入预热至相同温度的白藜芦醇PBS溶液(pH 7.4),孵育约20 min,制得脂质体初品,再探头超声8分钟(200 w×2 min;400 w×4 min),依次通过0.8、0.45、0.22 μm的微孔滤膜即可。

[0220] 实验结果表明,所得白藜芦醇脂质体的平均粒径为 166 ± 6.3 nm,包封率为 $89.6 \pm 3.2\%$,4 °C放置1个月粒径和包封率无明显变化,制剂稳定性良好。

[0221] 实施例39:泊洛沙姆衍生物修饰的前列地尔(Prostaglandin E1)脂质体的制备

表 39 泊洛沙姆衍生物修饰的前列地尔脂质体处方

	处方 101
	前列地尔 10 mg
[0222]	胆固醇 (Ch) 40 mg
	氢化大豆卵磷脂 (HSPC) 120 mg
	聚乙二醇-二硬脂酰磷脂酰乙醇胺 (DSPE-PEG) 20 mg
	CHMC-F68-CHMC 20 mg
	磷酸盐缓冲液 (PBS) 加至 10 mL

[0223] 制备方法:在60-65 °C水浴中,用叔丁醇溶解处方量的HSPC、Ch、DSPE-PEG及CHMC-F68-CHMC,减压蒸发挥去部分溶剂,以中速注入预热至相同温度的前列地尔PBS溶液(pH 7.4),孵育约20 min,制得脂质体初品,再探头超声8分钟(200 w×2 min;400 w×4 min),依次通过0.8、0.45、0.22 μm的微孔滤膜即可。

[0224] 实验结果表明,所得前列地尔脂质体的平均粒径约为 145.8 ± 3.9 nm,包封率为 92.5 ± 3.7 %,4 °C放置1个月粒径和包封率无明显变化,制剂稳定性良好。

[0225] 实施例40:泊洛沙姆衍生物修饰的表阿霉素(Epirubicin)脂质体的制备

表 40 泊洛沙姆衍生物修饰的表阿霉素脂质体处方

	处方 102
	表阿霉素 10 mg
[0226]	胆固醇 (Ch) 20 mg
	氢化大豆卵磷脂 (HSPC) 60 mg
	CHMC-F68-CHMC 20 mg
	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 200 mM

[0227] 制备方法:在60-65 °C水浴中,用乙醇溶解处方量的HSPC、CH及CHMC-F68-CHMC,挥去部分乙醇后,以中速注入预热至相同温度的PBS溶液(pH 7.0,20 mM),孵育约20 min,制得脂质体初品,再探头超声8分钟(200 w×2 min;400 w×4 min),依次通过0.8、0.45、0.22 μm的微孔滤膜。采用透析法建立脂质体跨膜梯度,与表阿霉素溶液混匀,于60 °C孵育20 min即可。

[0228] 实验结果表明,所得表阿霉素脂质体的平均粒径为 137.6 ± 5.3 nm,包封率为 90.1 ± 1.3 %,4 °C放置1个月粒径和包封率无明显变化,制剂稳定性良好。

[0229] 实施例41:尼群地平(Nitrendipine)固体分散体的制备

表41 尼群地平固体分散体处方

	处方 103
[0230]	尼群地平 1 g
	CHMC-F68-CHMC 5 g

[0231] 制备方法:称取处方量的尼群地平与CHMC-F68-CHMC,用丙酮溶解后,挥干溶剂,于-20 °C冷冻固化8 h,将产品转移至真空干燥箱中干燥约12 h,经超微粉碎机粉碎并过180 μm筛即可。

[0232] 所得尼群地平固体分散体可以显著提高尼群地平的溶出速度。

[0233] 实施例42:坎地沙坦(Candesartan)固体分散体的制备

表42 坎地沙坦固体分散体处方

	处方 104
[0234]	坎地沙坦 1 g
	CHMC-F87-CHMC 5 g

[0235] 制备方法:称取处方量的坎地沙坦与CHMC-F87-CHMC,用适量混合溶剂(二氯甲烷:甲醇=1:1)溶解后,于45 °C减压蒸干溶剂,待溶剂除尽成白色固体状时,于-20 °C冷冻固化4 h,将产品转移至真空干燥箱中干燥约12 h,经超微粉碎机粉碎并过180 μm筛即可。

[0236] 所得坎地沙坦固体分散体可以显著提高坎地沙坦的溶出速度。

[0237] 实施例43:胆维他(Felvitene)固体分散体的制备

表 43 胆维他固体分散体处方

	处方 105
[0238]	胆维他 1 g
	CHMC-F108-CHMC 6 g

[0239] 制备方法:称取处方量的胆维他与CHMC-F108-CHMC,置于蒸发皿中,在80 °C水浴

上热熔,待药物呈澄清溶液后,迅速冷却固化,将成品干燥,粉碎过180 μm筛即可。

[0240] 所得胆维他固体分散体可以显著提高胆维他的溶出速度。

[0241] 实施例44:胺碘酮(Amiodarone)固体分散体的制备

表 44 胺碘酮固体分散体处方

[0242]	处方 106
	胺碘酮 1 g
	CHMC-F108-CHMC 6 g

[0243] 制备方法:称取处方量的胺碘酮与CHMC-F108-CHMC,置于蒸发皿中,加入适量乙醇在80 °C水浴上使其溶解,挥去乙醇,将熔融物倒入置于冰水浴中的不锈钢盘中,令其迅速冷却固化,置于干燥器内干燥,粉碎过筛即可。

[0244] 实施例45:尼美舒利(Nimesulide)固体分散体的制备

表 45 尼美舒利固体分散体处方

[0245]	处方 107
	尼美舒利 1 g
	CHMC-F127-CHMC 5 g

[0246] 制备方法:称取处方量的尼美舒利与CHMC-F127-CHMC,用丙酮溶解后,挥干溶剂,于-20 °C冷冻固化8 h,将产品转移至真空干燥箱中干燥约12 h,经超微粉碎机粉碎并过180 μm筛即可。

[0247] 实施例46:马洛替酯(Malotilate)片剂的制备

表 46 马洛替酯片剂处方

[0248]	处方 108
	马洛替酯 30 g
	甘露醇 25 g
	微晶纤维素 (MCC) 2 g
	低取代羟丙基纤维素 (L-HPC) 12 g
	CHMC-F68-CHMC 10 %
	硬脂酸镁 0.5 g

[0249] 制备方法:按处方称取原料药和辅料,将处方量的甘露醇、L-HPC混匀备用。称取马洛替酯,以等量递加法与上述混合辅料混匀,加入粘合剂(10% CHMC-F68-CHMC)制粒后,放于烘箱中干燥至水分为1-1.5 %,整粒,加入微晶纤维素和硬脂酸镁,压片即可。

[0250] 实施例47:非诺贝特(Fenofibrate)分散片的制备

表 47 非诺贝特分散片处方

[0251]	处方 109
	非诺贝特 100 g
	淀粉 50 g
	羧甲基淀粉钠 (CMS-Na) 2 g
	微晶纤维素 (MCC) 12 g
	CHMC-F68-CHMC 125 g
	硬脂酸镁 1.5 g

[0252] 制备方法:称取处方量的非诺贝特与CHMC-F68-CHMC,加适量乙醇溶解后,水浴加热至80 °C挥干乙醇,冰浴中冷却固化,再将其转移至35 °C干燥4 h,粉碎过80目筛,置于硅胶干燥器中保存备用。称取适量上述固体分散体,依次加入干燥粉碎过80目筛的淀粉、CMS-

Na、MCC及滑石粉,混合均匀,干法压片。

[0253] 该法制得的非诺贝特固体分散片可以显著提高非诺贝特的溶出速度。

[0254] 实施例48:恩替卡韦(Entecavir)分散片的制备

表48 恩替卡韦分散片处方

处方 110	
	恩替卡韦 0.5 g
	乳糖 55 g
[0255]	羧甲基淀粉钠 (CMS-Na) 4.5 g
	微晶纤维素 (MCC) 25 g
	CHMC-F68-CHMC 10%
	硬脂酸镁 0.9 g
	微粉硅胶 4.5 g

[0256] 制备方法:称取处方量的恩替卡韦及CHMC-F68-CHMC,加适量乙醇溶解,水浴加热到80 °C挥干乙醇后,冰浴中冷却固化,再将其转移至35 °C干燥4 h,粉碎过80目筛,置于硅胶干燥器中保存备用。称取适量上述固体分散体,依次加入干燥粉碎过80目筛的乳糖、CMS-Na、MCC、微粉硅胶及硬脂酸镁,混合均匀,干法压片。

[0257] 实施例49:阿奇霉素眼用凝胶的制备

表 49 阿奇霉素眼用凝胶处方

处方 111	
	阿奇霉素 10 mg
	CHMC-F127-CHMC 1700 mg
[0258]	卡波姆 20 mg
	枸橼酸 20 mg
	枸橼酸钠 44.5 mg
	NaCl 14 mg
	EDTA-2Na 10 mg
	NaOH调 pH 至 6.3

[0259] 制备方法:将处方量的CHMC-F127-CHMC和卡波姆分散于处方量50 %的注射用水中,放入冰箱使其充分溶胀,待形成澄清透明的溶液后,滴加0.1 M的NaOH调节至pH为6.3,灭菌,放至室温。另将枸橼酸加入到剩余处方量的注射用水中,搅拌使其溶解后,加入阿奇霉素、枸橼酸钠、NaCl、EDTA-2Na,继续搅拌至完全溶解,用0.1 M的氢氧化钠调节pH 为6.3,滤过除菌后加入到CHMC-F127-CHMC和卡波姆的无菌溶液中,搅拌至形成均一溶液,检验,无菌灌装即可。

[0260] 实验结果表明,本制剂具有在室温下为自由流动的液体,给药后在眼部生理条件下形成凝胶的特点,胶凝温度为34.5 °C,符合眼部给药的要求。

[0261] 实施例50:吡哌美辛栓剂的制备

表50 吡哌美辛栓剂处方

处方 112	
[0262]	吡哌美辛 250 mg
	PEG4000 30 g
	PEG6000 5 g
	CHMC-F68-CHMC 5 g

[0263] 制备方法:称取研细的吡哌美辛置于小研钵中,另取PEG4000、PEG6000及CHMC-

F68-CHMC置于蒸发皿中,水浴加热至基质2/3熔化时,立即取下蒸发皿,搅拌至全部溶解,将已熔化的基质分次加至研钵中与吡啶美辛细粉研匀,然后注入涂过润滑剂的栓模中用冰水浴迅速冷却固化,削去溢出部分,脱模即可。

[0264] 实施例51:地塞米松软膏的制备

表 51 地塞米松软膏处方

处方 113	
	地塞米松 10 mg
	十六醇 1000 mg
[0265]	白凡士林 1500 mg
	液体石蜡 1000 mg
	甘油 500 mg
	CHMC-F68-CHMC 700 mg
	羟苯乙酯 10 mg
	水 适量

[0266] 制备方法:称取CHMC-F68-CHMC、甘油、羟苯乙酯溶于适量蒸馏水中作为水相,加热至75 °C备用,另取十六醇、白凡士林、液体石蜡和地塞米松于75 °C水浴上加热至全部溶解作为油相。将油相缓缓加入到水相中,边加边沿同一方向搅拌,继续搅至冷凝即可。

[0267] 所得软膏剂色泽均匀,粘度适中。

[0268] 实施例52:紫杉醇泊洛沙姆衍生物胶束的过敏试验

[0269] 取健康豚鼠18只,按体重随机分为3组,分别为阴性对照组、阳性对照组和受试组,每组6只。阴性对照组豚鼠腹腔注射生理盐水,2 mL/只;阳性对照组豚鼠腹腔注射2 %卵白蛋白溶液2 mL/只;受试组豚鼠腹腔注射“实施例9”中“处方38”胶束溶液(0.5 mg/mL),2 mL/只,隔日1次,共5次。致敏期间每日观察各豚鼠的状态,初次和末次致敏及激发当日称量各豚鼠的体重,观察是否有异常改变。最后一次给药后14 d,阴性对照组豚鼠静脉注射生理盐水4 mL/只,阳性对照组豚鼠静脉注射2 %的卵白蛋白溶液4 mL/只,受试组豚鼠静脉注射“处方38”胶束溶液(0.5 mg/mL),4 mL/只,给药后详细观察并记录各豚鼠的过敏反应症状,评分标准见表51,如果反应级数超过2则记为阳性反应。

表 52 过敏试验判定标准

反应症状	反应级数
无明显症状	0
只有轻微抓鼻、颤抖或竖毛现象	1
偶尔咳嗽、有抓鼻、颤抖或竖毛现象	2
多次或连续咳嗽、伴有呼吸困难或痉挛、抽搐等现象	3
痉挛、抽搐、大小便失禁、休克死亡现象	4

表 53 紫杉醇泊洛沙姆衍生物胶束的过敏性试验结果

组别	动物数	过敏反应数	死亡数	反应级数
[0271] 2 %卵白蛋白溶液组	6	6	6	4
生理盐水组	6	0	0	0
“处方 38”	6	0	0	0

[0272] 由表52实验结果可知,致敏期间各豚鼠的饮食、活动等状态均正常,比较生理盐水组与“处方38”胶束溶液组,豚鼠的初次和末次致敏及激发当日的体重未见异常差异且均有所增加。末次给药后14 d激发时,2 %卵白蛋白溶液组的各豚鼠均不同程度地出现搔鼻、喷

嚏、咳嗽、抽搐、跳跃、喘息、休克、步态不稳、大小便失禁等过敏反应症状,且多数于15 min左右死亡,过敏发生率100%,呈强或极强阳性过敏反应。生理盐水组及“处方38”胶束溶液组的豚鼠无1例出现过敏症状,过敏反应均为阴性,表明紫杉醇泊洛沙姆衍生物胶束溶液对豚鼠无全身致敏作用。

[0273] 实施例53:紫杉醇泊洛沙姆衍生物胶束的血管刺激性试验

[0274] 取新西兰家兔12只,随机分成3组,分别为阴性对照组、紫杉醇溶液组、及“实施例9”中“处方38”胶束溶液组。紫杉醇溶液组和“处方38”胶束组在左耳缓慢注射10 mg/kg(以紫杉醇计)的制剂,阴性对照组在相同部位注射相同体积的生理盐水。每日一次,连续5 d,每天给药前后及末次给药后24 h对家兔注射部位进行肉眼观察并记录,观察注射部位的血管及周围组织是否有红肿、丘斑等刺激反应,结果按表54进行血管刺激反应,肉眼观察评分。观察期结束后处死家兔,剪去离注射部位1-5 cm距离的血管及周围组织,在10%甲醛中固定,石蜡包埋,HE染色,进行组织病理学检查。

表 54 血管刺激性评分标准

观察指标	现象	评分	判断标准
[0275] 血管充血	正常	0	≤0.5 无刺激性
	充血	1	
	血管纹路不清	2	≤2.5 轻微刺激
	血管呈紫红色	3	
周围组织水肿	无水肿	0	≤4.5 中度刺激
	轻微水肿	1	
	明显水肿	2	≤6.0 重度刺激
	严重水肿	3	

表 55 紫杉醇泊洛沙姆衍生物胶束溶液血管刺激性评分结果

组别	兔耳数/只	肉眼观察评分	评价
[0276] 生理盐水	4	0	无刺激
“处方38”胶束	4	0	无刺激
市售紫杉醇溶液	4	4	中度刺激

[0277] 家兔连续5 d耳缘静脉注射“处方38”胶束溶液后,肉眼观察注射部位及远离注射处血管和组织,均未见出血、淤血、水肿等异常改变,与注射生理盐水组相比无明显差异,肉眼观察评分结果见表55。病理切片结果显示,市售紫杉醇组血管壁及周围组织纹理紊乱,炎症细胞浸润明显,“处方38”胶束组与生理盐水组家兔状态相似,兔耳血管壁及周围组织内未见血栓,血管内皮细胞未见肿胀、增生、血管外周围组织均未见出血、坏死及炎性细胞浸润等病理改变。

[0278] 实施例54:紫杉醇泊洛沙姆衍生物胶束的溶血试验

[0279] 溶血试验过程如下:首先制备2%健康家兔红细胞悬浮液,保存于4℃冰箱中待用。然后分别取洁净试管进行编号,1-7号管分别加入不同浓度的“实施例9”中“处方38”制剂,8号管和9号管分别作为阴性对照管和阳性对照管(加入物质见表57),混匀后,立即置于(37±0.5)℃的恒温振荡器中进行温浴,开始每隔15 min观察1次,1 h后每隔1 h观察1次,共观察3 h。并分别取样品1滴,制片,于Motic摄影显微镜(DMBA450,麦克奥迪实业集团有限公司)下观察。

表 56 紫杉醇泊洛沙姆衍生物胶束溶血性试验方案

试管编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9
[0280] 2%红细胞悬液 (mL)	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
生理盐水 (mL)	1.5	1.8	2.0	2.1	2.2	2.3	2.4	2.5	/
蒸馏水 (mL)	/	/	/	/	/	/	/	/	2.5
制剂 (ml)	1.0	0.7	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1	/	/

表 57 溶血性试验判断标准

	现象	结果
[0281]	红细胞全部下沉, 上清液体无色澄明, 镜检红细胞不凝聚	不溶血
	溶液澄明, 红色或棕色, 底部有少量红细胞残留, 镜检红细胞稀少或变形	部分溶血
	溶液澄明, 红色, 管底无红细胞残留	全溶血
	溶液中有棕红色或红棕色絮状沉淀, 振摇后不分散	红细胞凝聚

表 58 紫杉醇泊洛沙姆衍生物胶束体外溶血试验结果

组别	1	2	3	4	5	6	7	8	9
[0282] 处方 38	++	-	-	-	-	-	-	-	++

[0283] 由表58实验结果可知,阴性对照管无溶血和凝聚发生,阳性对照管有溶血发生。当CHMC-F68-CHMC胶束加入量小于0.7 mL时均不产生溶血反应(3 h内);制剂加入量达1.0 mL时才出现溶血反应,因此紫杉醇泊洛沙姆衍生物胶束具有较好的注射安全性。

[0284] 实施例55:紫杉醇泊洛沙姆衍生物胶束的急毒实验

[0285] 取昆明种小白鼠30只,体重18-20 g,随机分成3组,每组10只,以50 mg/kg的剂量分别注射浓度为0.5 mg/mL的市售紫杉醇制剂、“处方38”胶束溶液及“处方40”胶束溶液,观察10天内动物的毒性反应,记录小鼠体重变化及死亡数。(实验重复3次)

表 59 紫杉醇胶束急毒实验结果

处方	存活:总数
[0286] 市售紫杉醇制剂	4/10; 5/10; 5/10
“处方 38”	9/10; 9/10; 10/10
“处方 40”	9/10; 10/10; 10/10

[0287] 从小鼠死亡数可以看出,本发明所制备的两种胶束制剂毒性均小于市售组,市售制剂毒性最大。

[0288] 实施例56:紫杉醇泊洛沙姆衍生物胶束的药效学实验

[0289] 将人肺癌耐药A-549细胞按常规条件培养,待细胞长到80-90 %融合度时,制备 5×10^6 cells/mL的单细胞悬液,接种到裸鼠的右腋下,每只接种0.2 mL,共接种30只。

[0290] 当肿瘤长至50-100 mm³时,将荷瘤小鼠随机分成3组,即生理盐水组(NS)、市售紫杉醇溶液组和治疗组(选自“处方38”胶束溶液),每组10只动物。自造模成功后第0、4、8天进行给药,共给药3次。给药体积为10 mL/kg,尾静脉注射。

[0291] 停药24 h后颈椎脱臼法处死动物,称体重,解剖剥离瘤块,称重,根据下面公式计算抑瘤率:

$$[0292] \text{重量抑瘤率}(\%) = \frac{\text{对照组平均瘤重}(\text{g}) - \text{试验组平均瘤重}(\text{g})}{\text{对照组平均瘤重}(\text{g})} \times 100$$

表 60 紫杉醇泊洛沙姆衍生物胶束的抑瘤效果

组别	死亡数	体重变化 (终-始)	瘤重 (g)	抑瘤率 (%)
[0293] NS 组	0	5.17±0.24	1.03±0.28	
市售紫杉醇组	2	4.08±0.15	0.71±0.17	31.07%
“处方 38”胶束组	0	4.98±0.13	0.22±0.18	78.64%

[0294] 由抑瘤率和动物死亡数结果可以看出,与市售紫杉醇组相比,本发明所制备的制剂抑瘤率高,毒性低。

[0295] 实施例57:不同载体制备的葫芦素B(CuB)胶束的急性毒性实验

[0296] 取昆明种小白鼠40只,随机分成4组,每组10只,以1mg/kg的剂量分别尾静脉注射浓度为1mg/mL的CuB各胶束制剂,胶束的载体材料分别为F68、F68-g-CHM、CHMC-F68-CHMC及HS15,观察3天内动物的毒性反应,记录小鼠体重变化及死亡数。(实验重复3次)

表 61 不同载体制备的 CuB 胶束的急性毒性实验结果

胶束载体	死亡数/总数
[0297] HS15	5/10; 5/10; 4/10
F68	5/10; 6/10; 5/10
F68-g-CHM	4/10; 4/10; 5/10
CHMC-F68-CHMC	1/10; 2/10; 2/10

[0298] 由表61实验结果可以看出,与单侧和不接枝胆固醇的F68相比,双侧接枝胆固醇的F68衍生物的毒性最低,这也间接的说明双侧接枝胆固醇的泊洛沙姆衍生物所制备的胶束载药能力更强,体内稀释稳定性更好。

[0299] 实施例58: β -榄香烯泊洛沙姆衍生物脂质体对脑胶质瘤细胞的细胞毒实验

[0300] 以“实施例35”中“处方97”制剂为例考察 β -榄香烯泊洛沙姆衍生物脂质体对脑胶质瘤细胞的细胞毒作用。制剂组为 β -榄香烯溶液和“处方97”的 β -榄香烯脂质体,载体材料组含F127、CHMC-F127-CHMC及由CHMC-F127-CHMC的空白脂质体。用含血清培养液将制剂组稀释至含 β -榄香烯0.001-1 μ g/mL,将载体材料组稀释至0.1-1000 μ g/mL。

[0301] 细胞毒分析采用MTT法。将脑胶质瘤细胞neuro-2A以浓度5000个/孔接种于96孔板中,隔天待细胞贴壁后更换含有不同浓度 β -榄香烯制剂的培养液继续培养24 h。之后加入细胞计数试剂(CCK-8)10 μ L,继续孵育2 h后于450 nm酶标仪测定吸光度。以空白组为100%计算细胞的死亡数,并依据该曲线初步预测制剂组合载体材料组的IC₅₀值。

[0302] 由附图21可知,当载体材料浓度小于1000 μ g/mL时,各组细胞活力依然大于85%,对neuro-2A细胞均无明显细胞毒性,可见所合成的载体材料生物相容性良好。由附图22可知,对于neuro-2A细胞, β -榄香烯溶液及 β -榄香烯脂质体都具有抑制作用,但是IC₅₀值存在着显著差异。 β -榄香烯脂质体对脑胶质瘤细胞neuro-2A具有更强的细胞毒作用,在越过血脑屏障实现脑靶向方面具有良好的潜力。

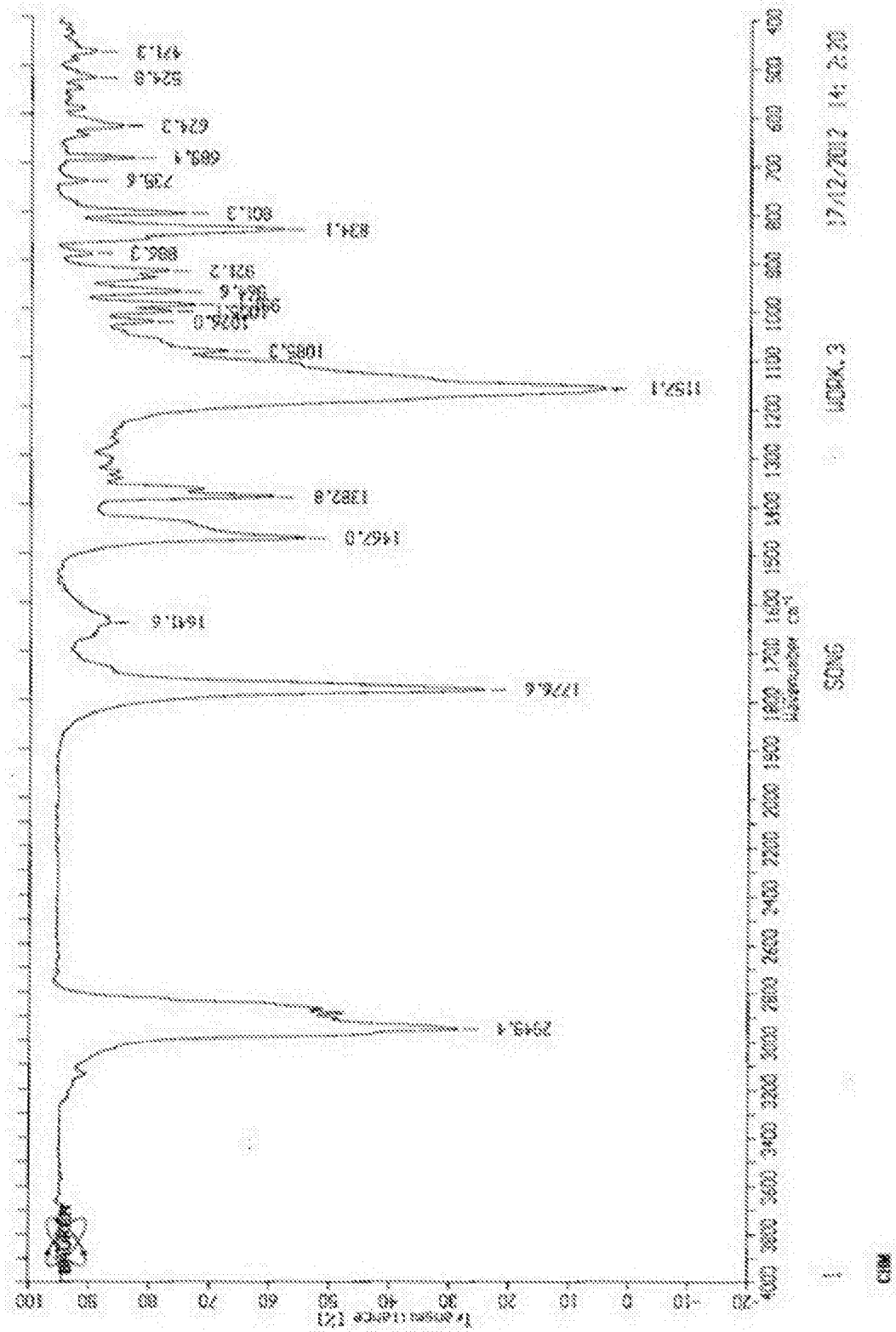


图1

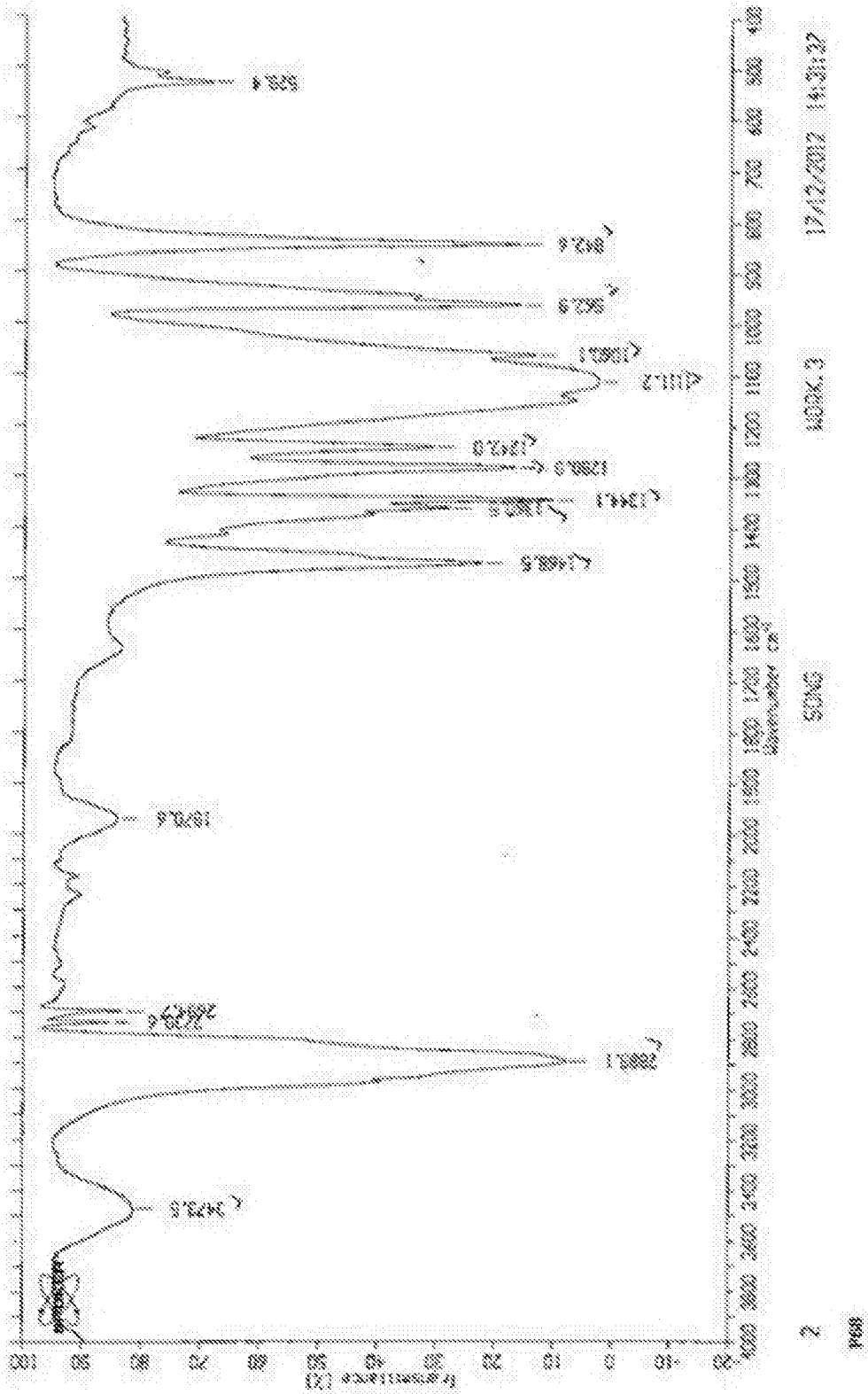


图2

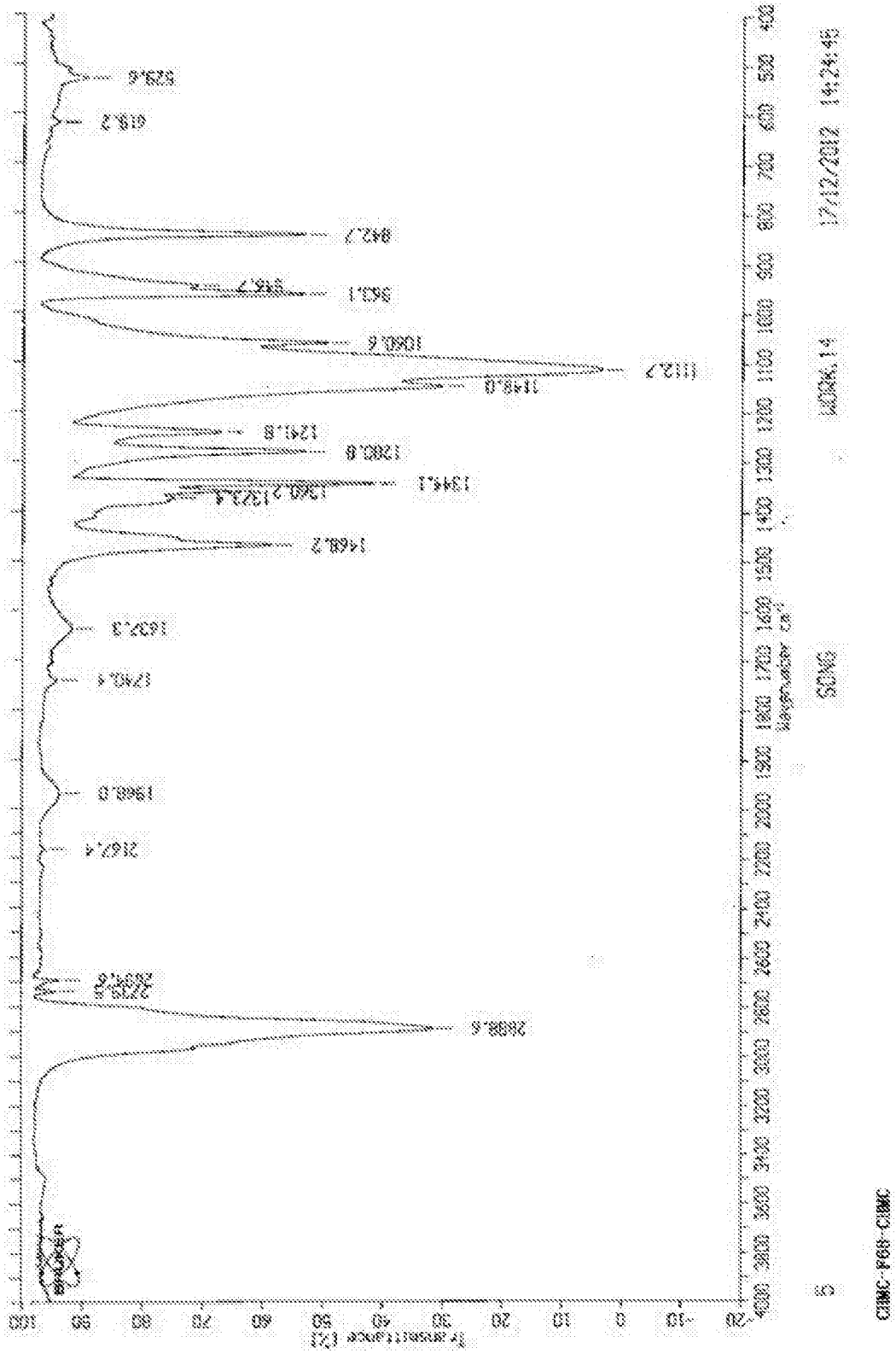


图3

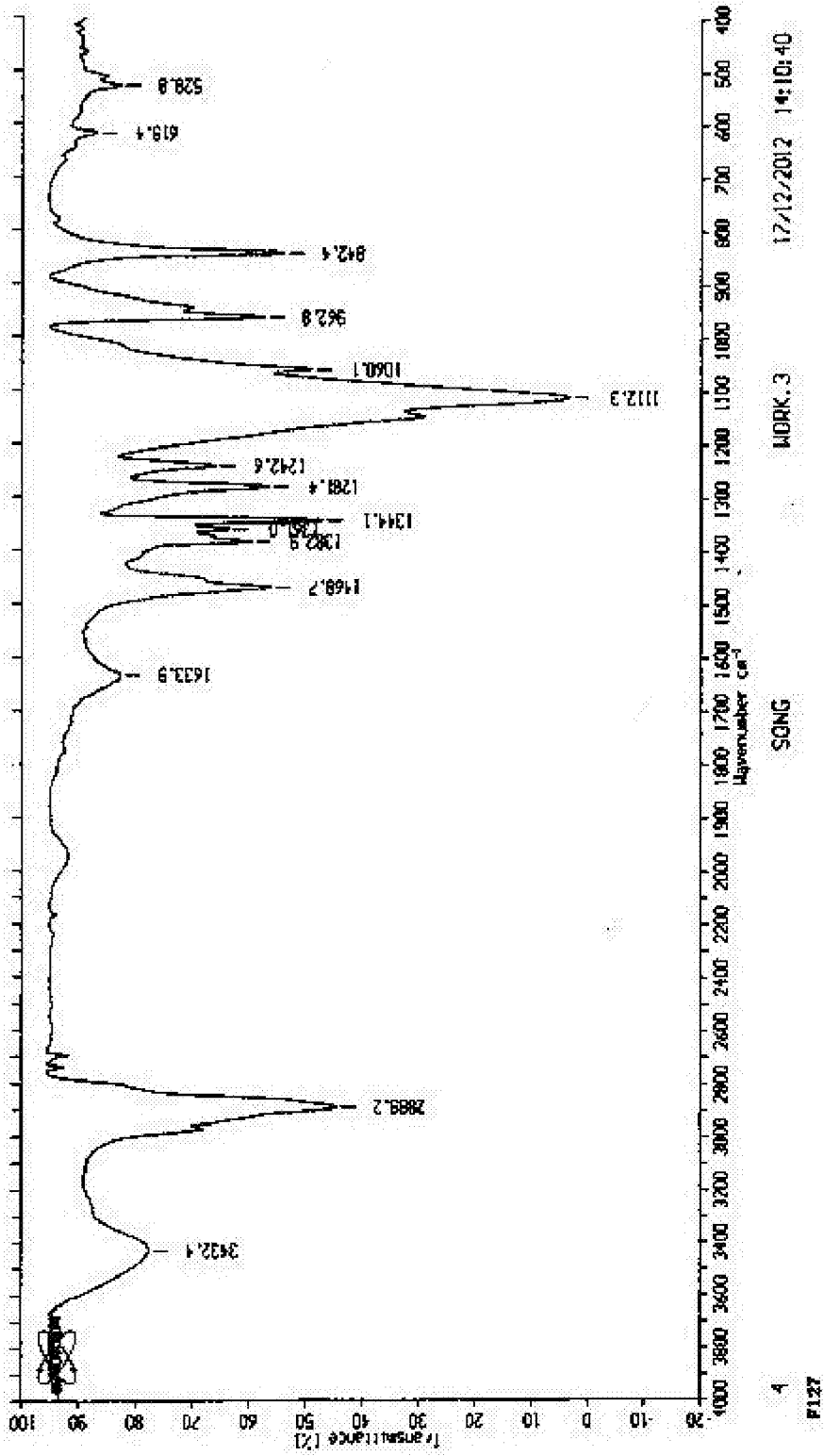


图6

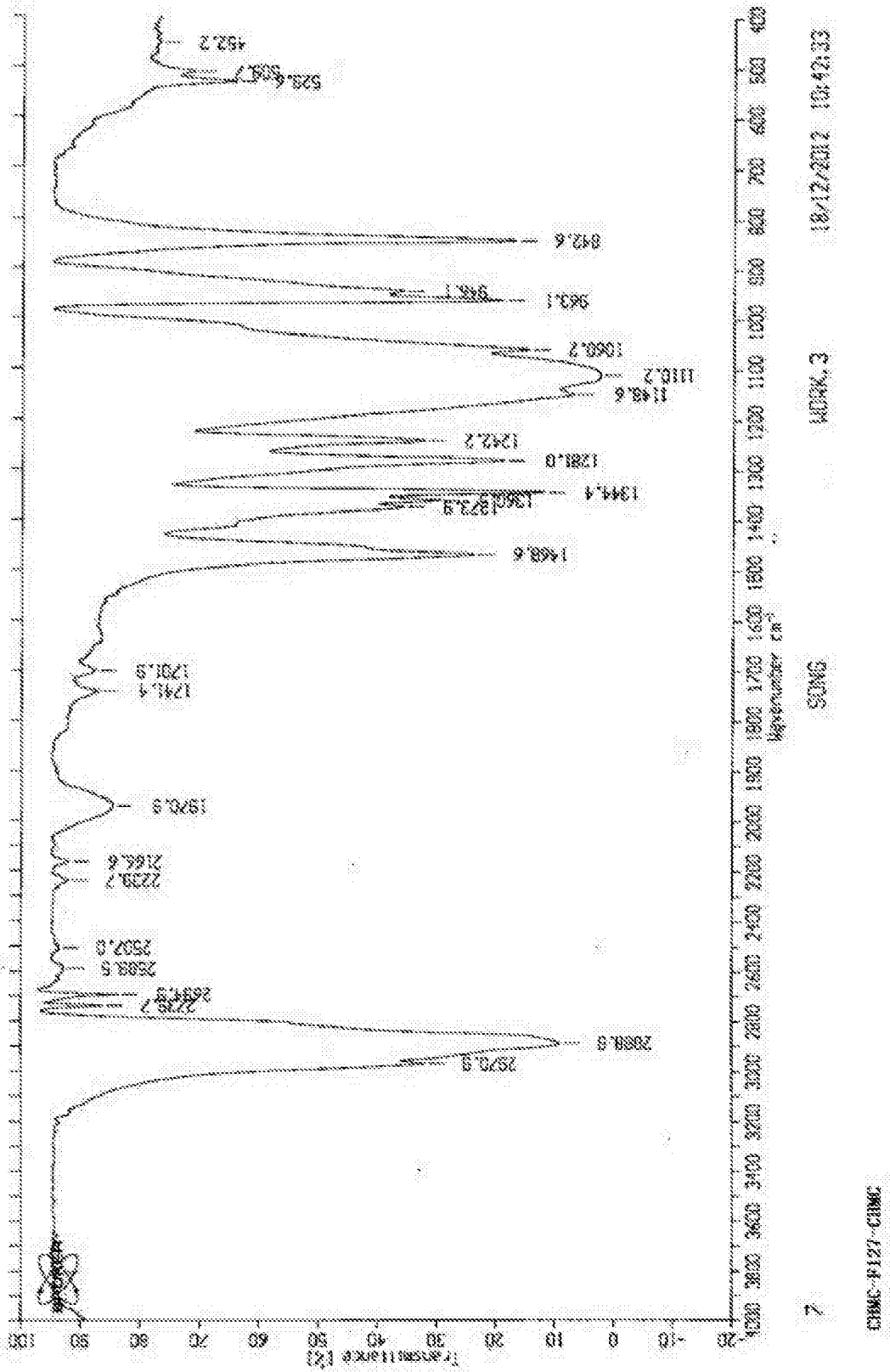


图7

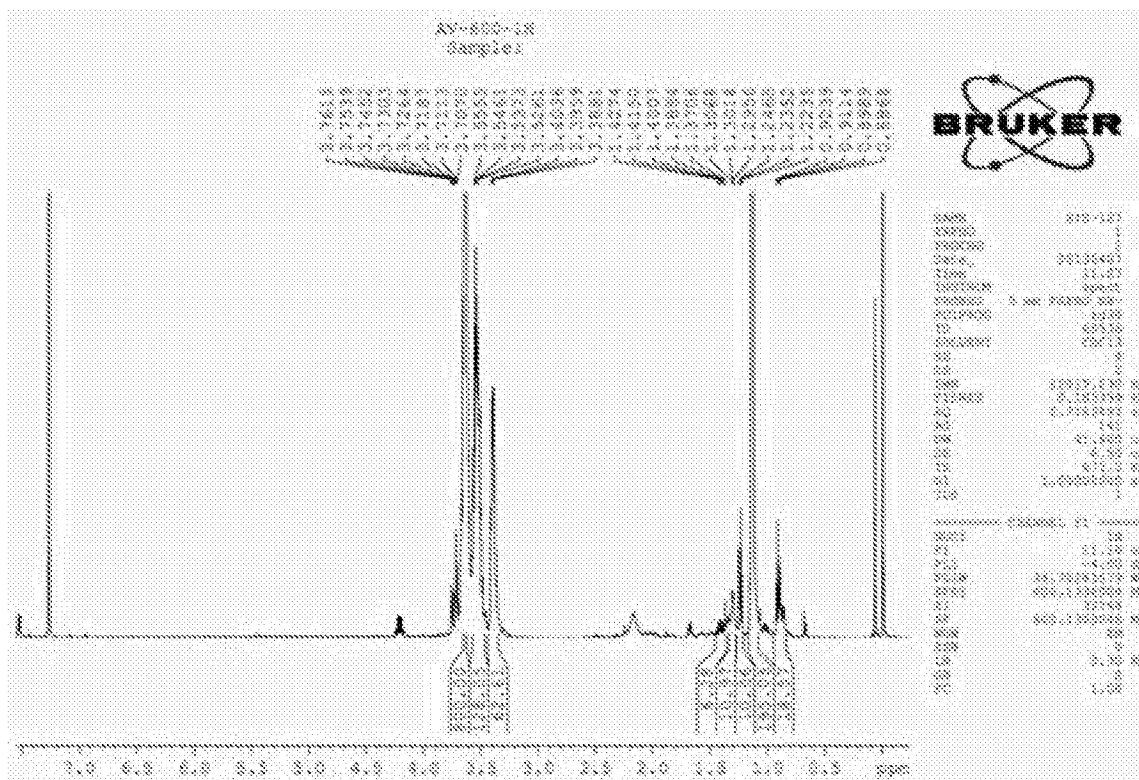


图8

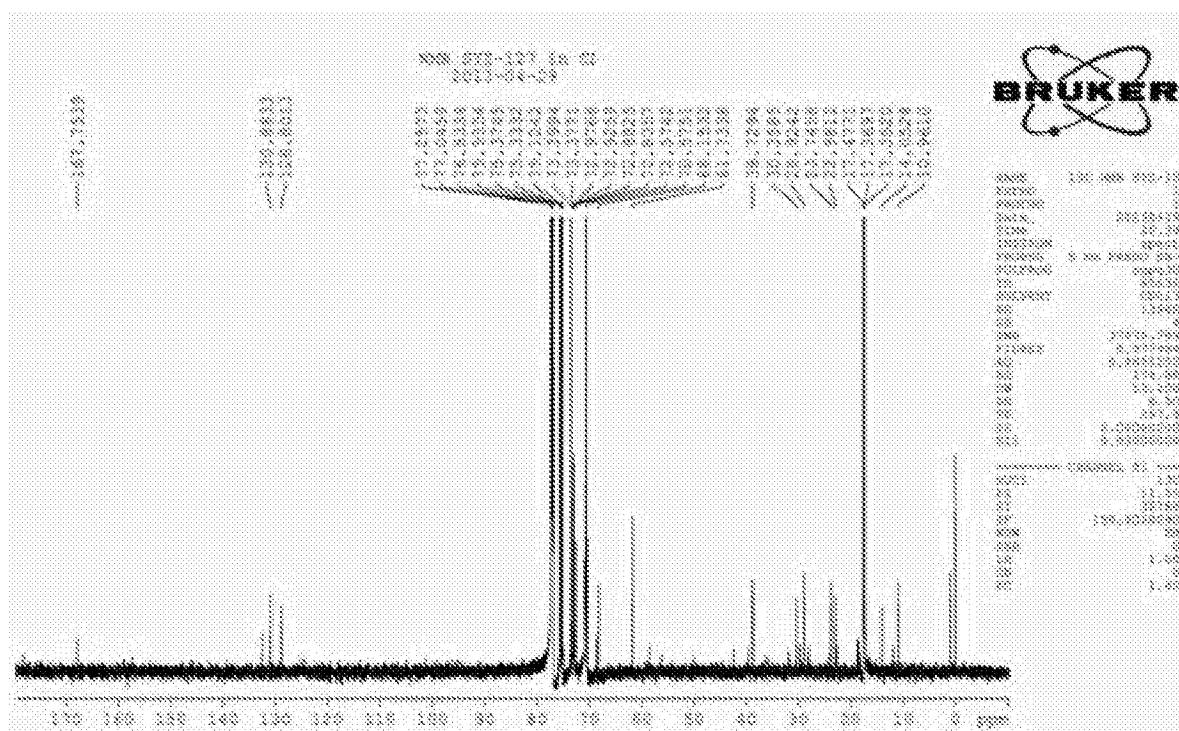


图9

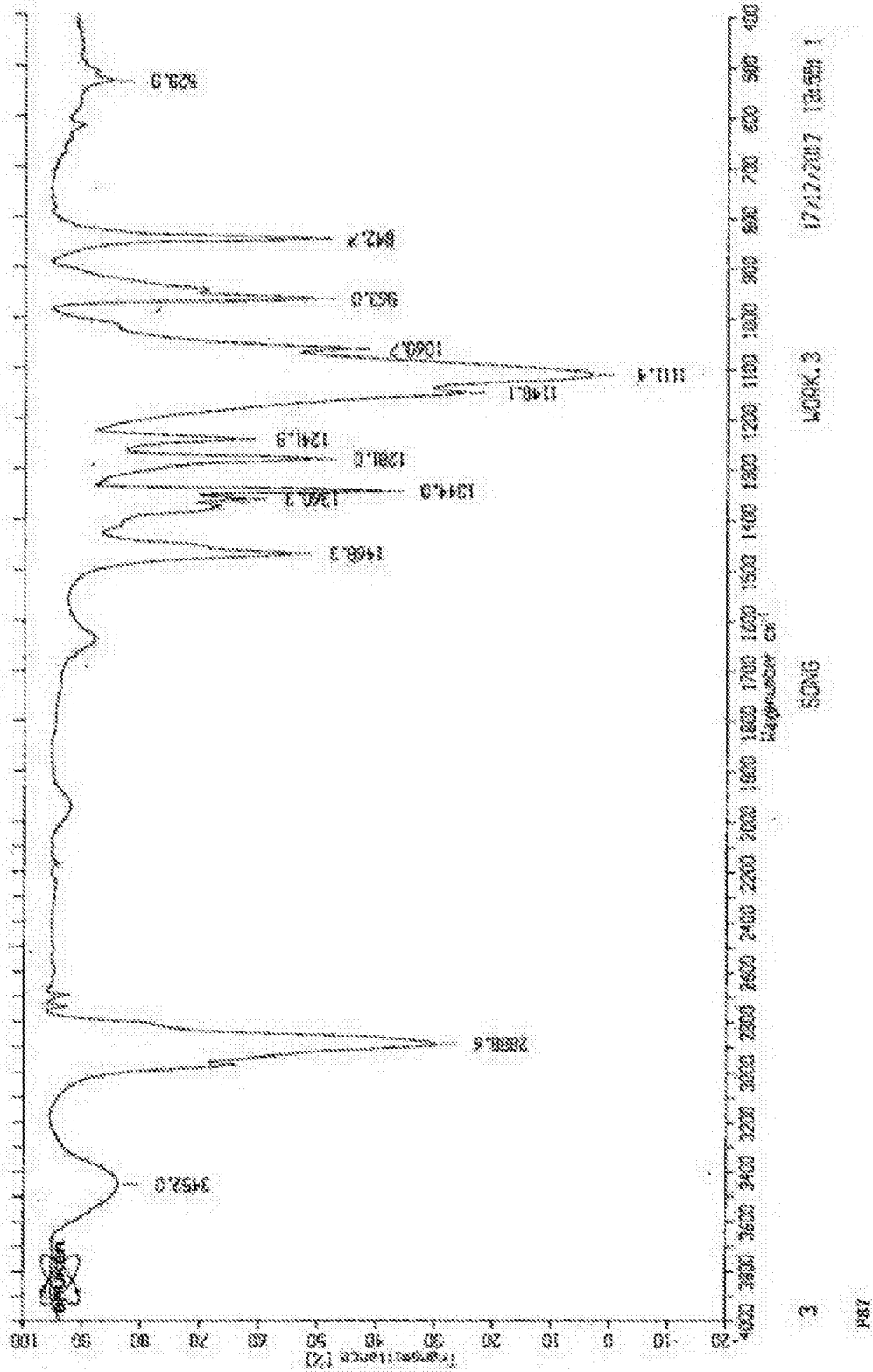


图10

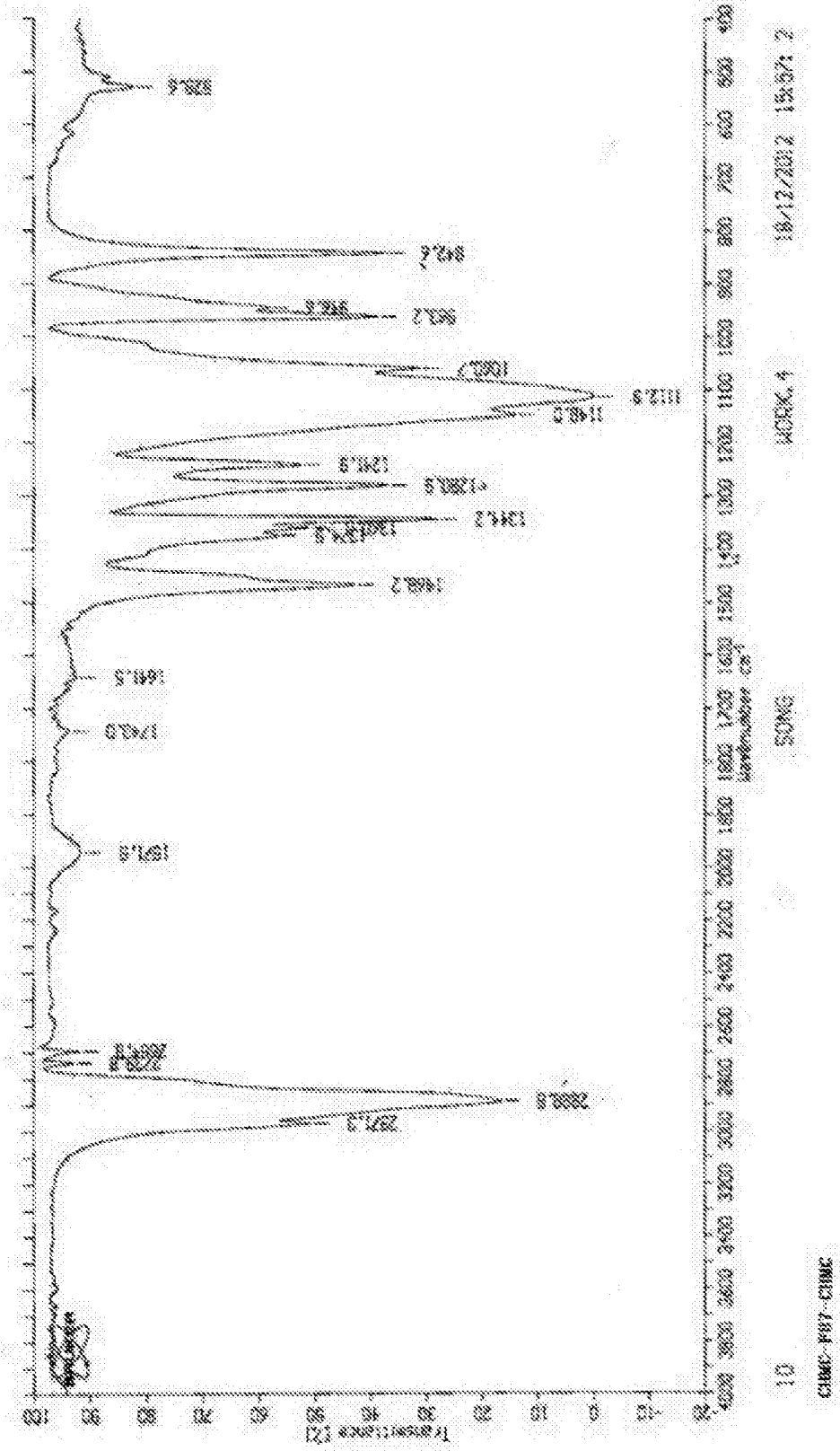


图11

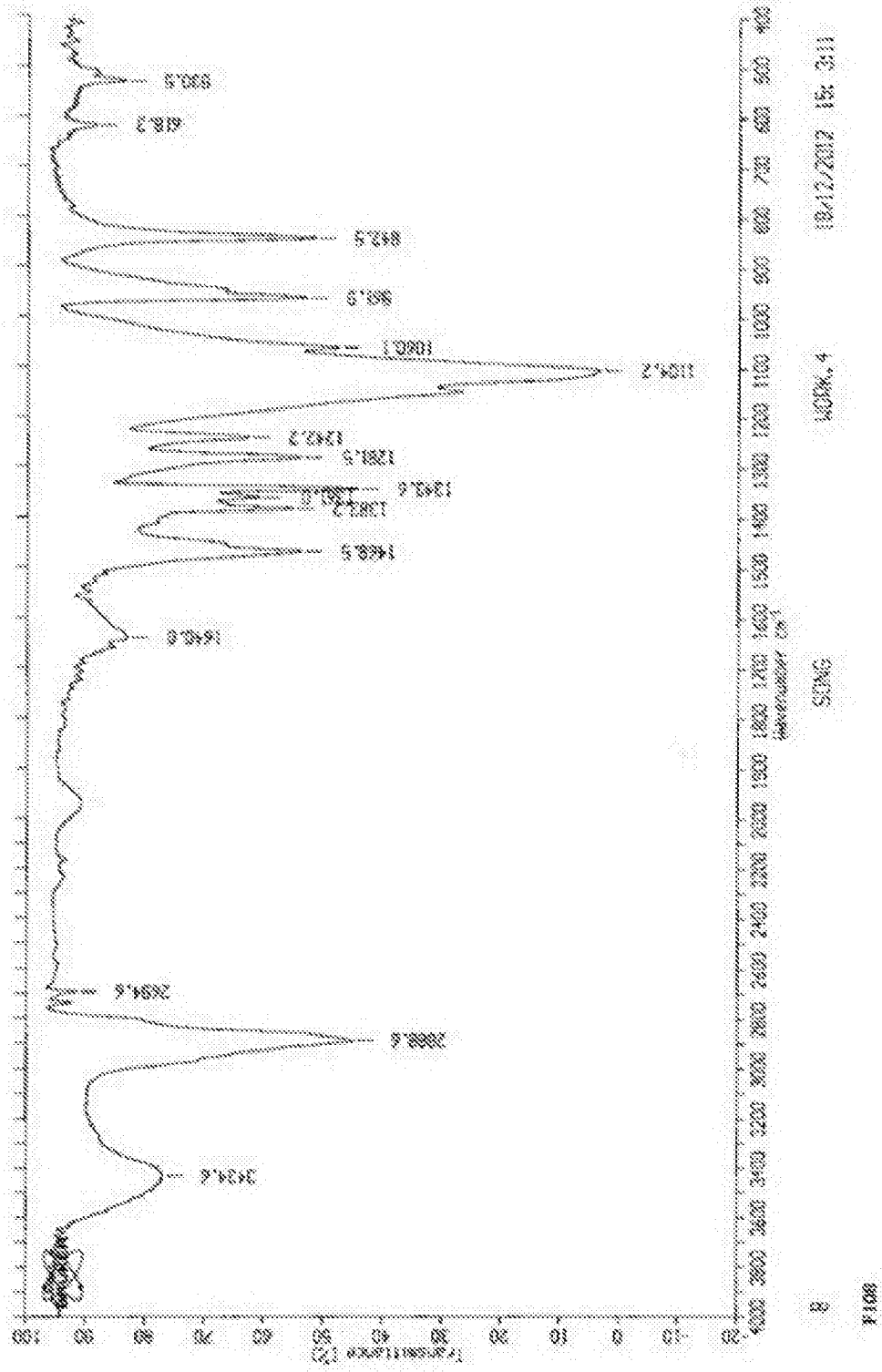


图14

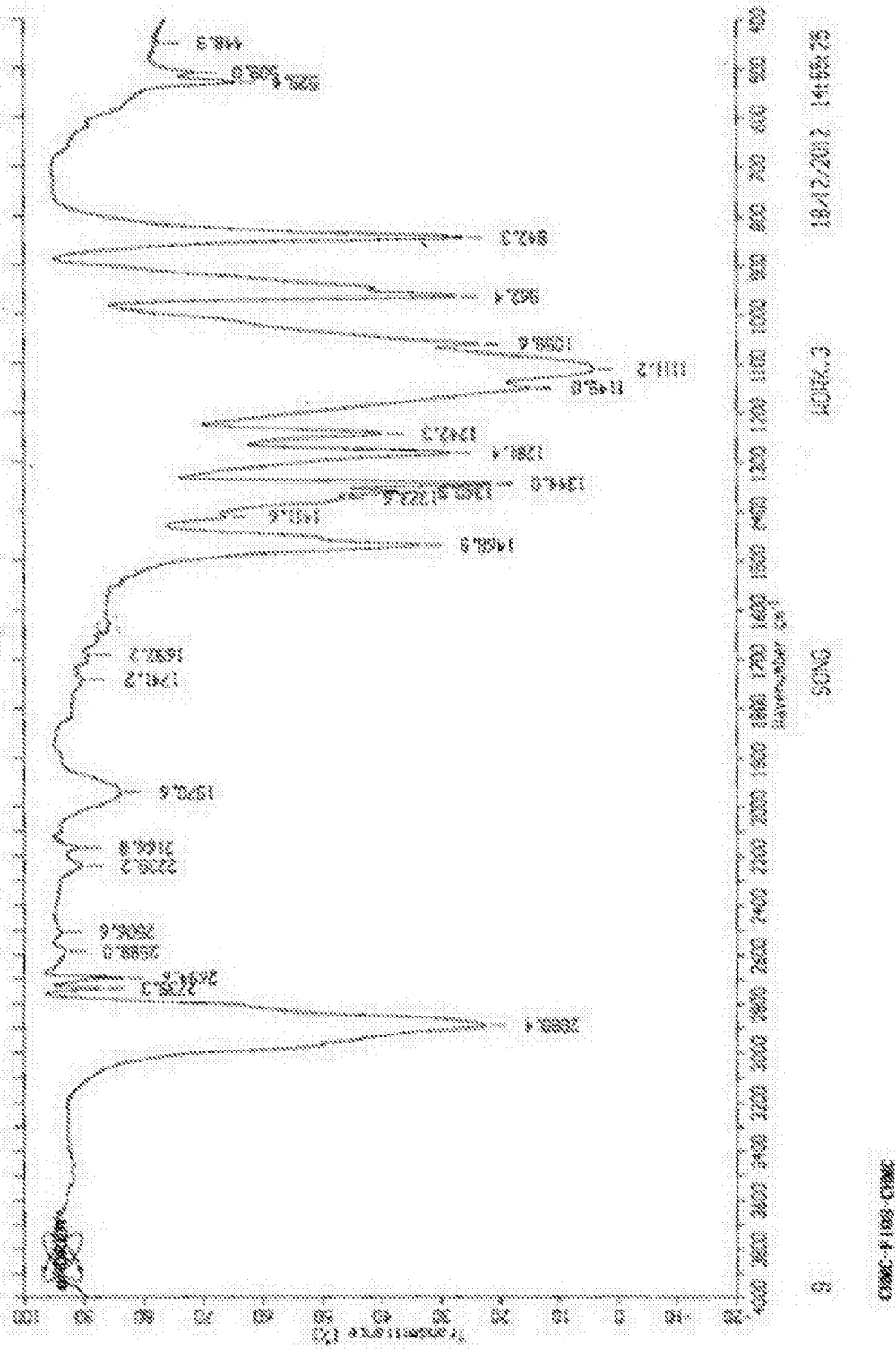


图15

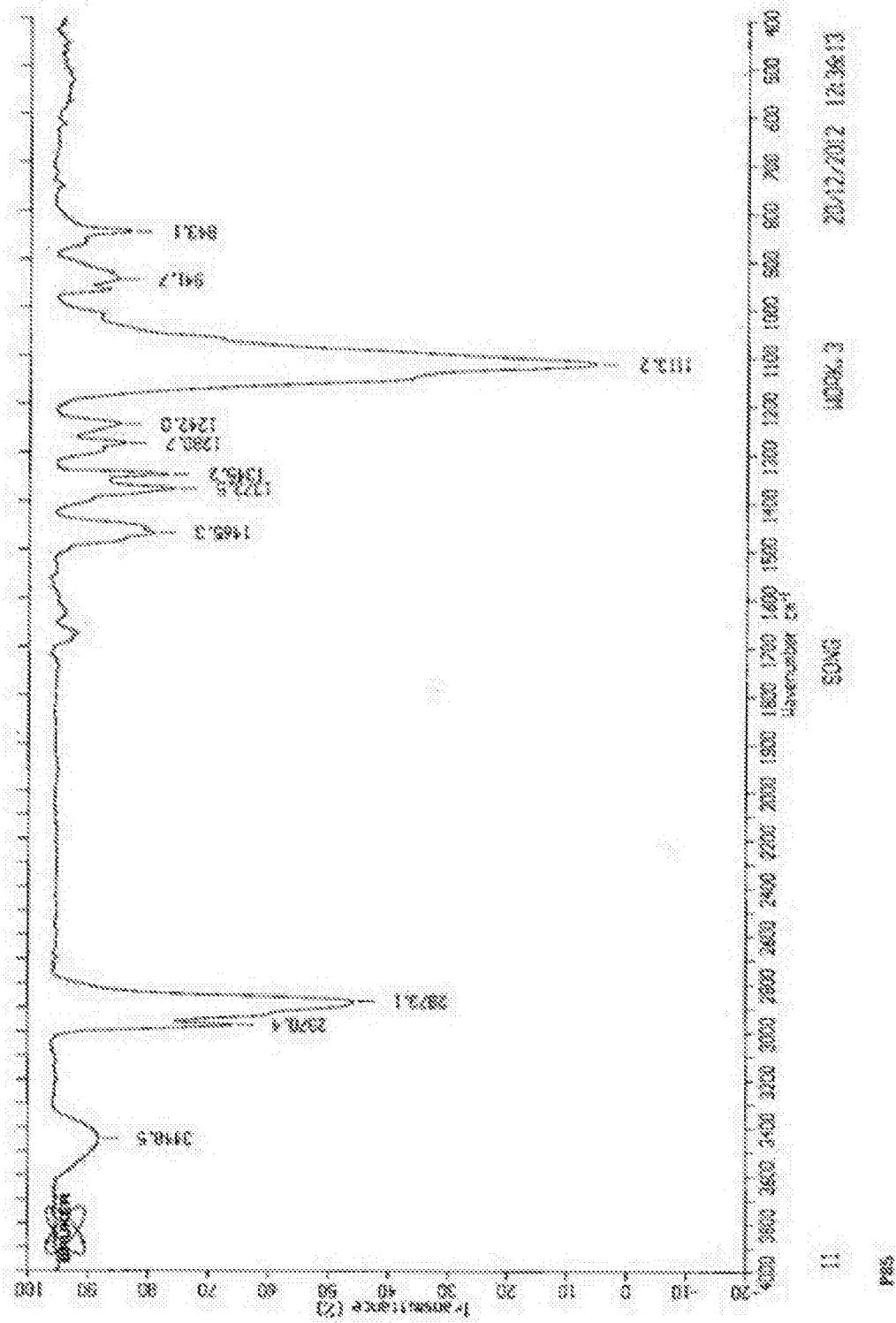


图18

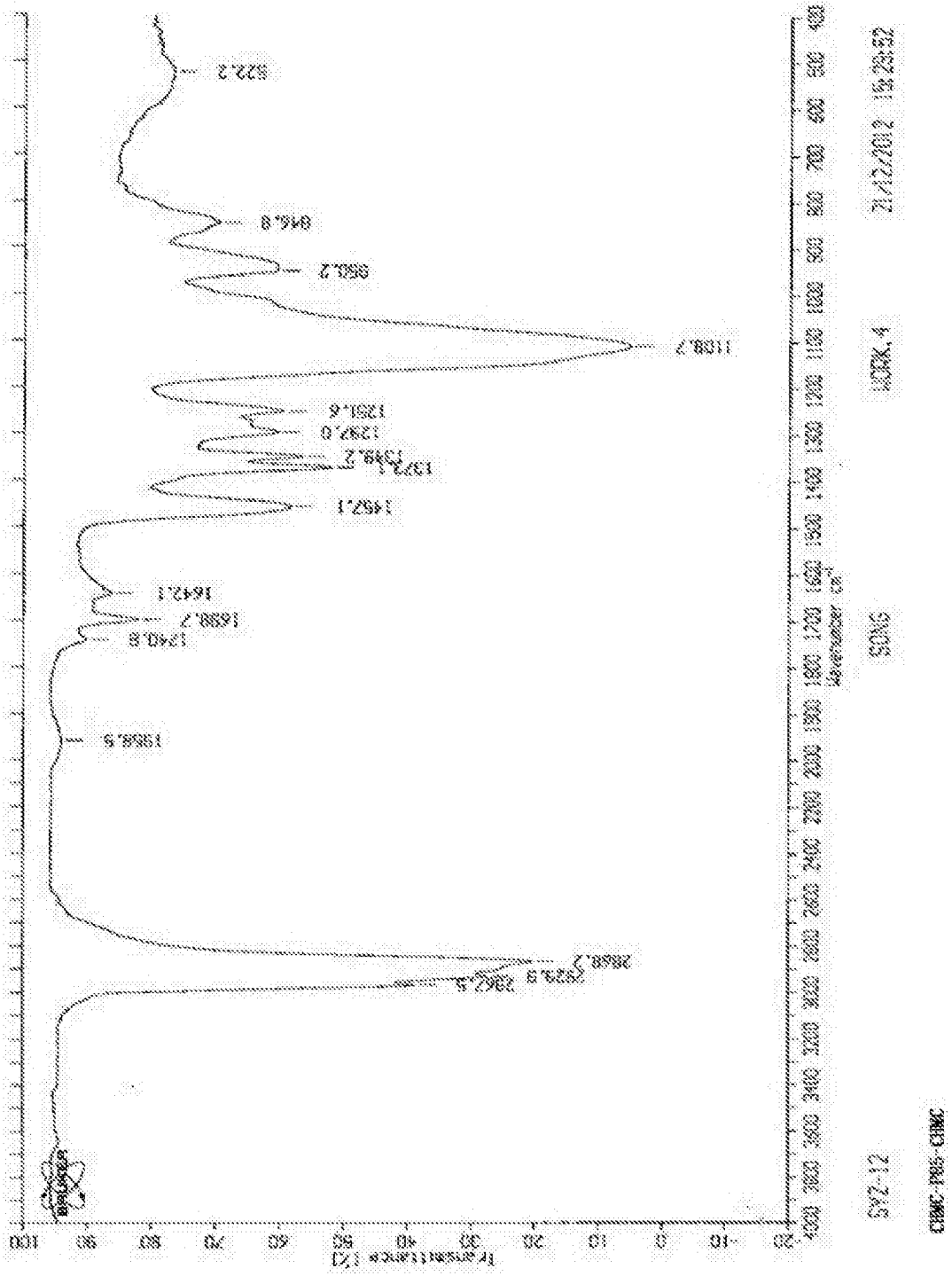


图19

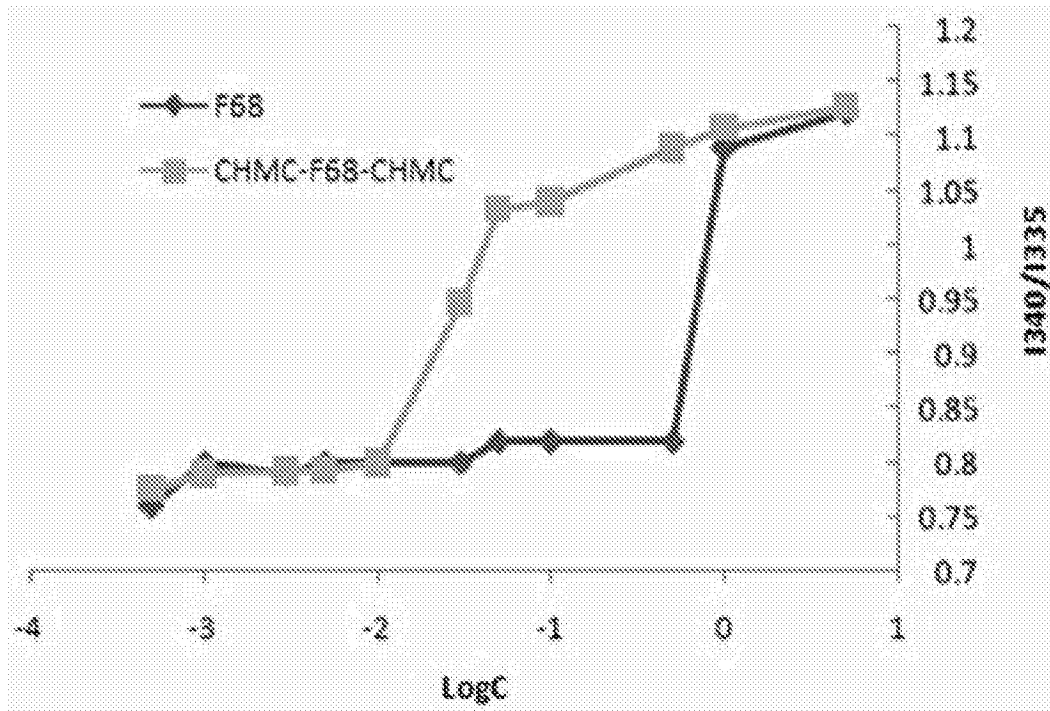


图20

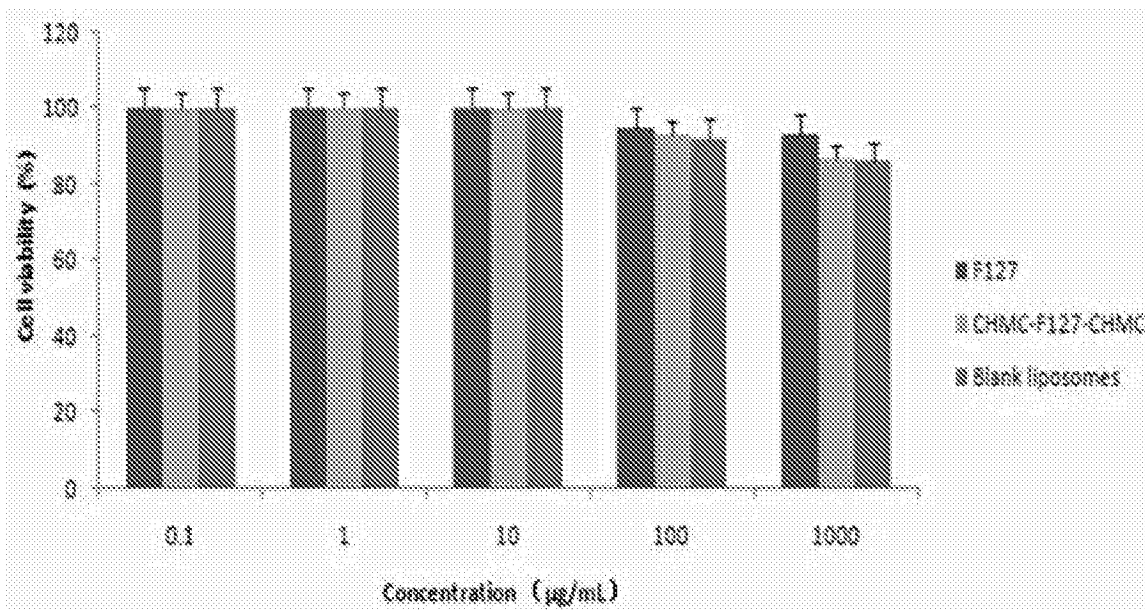


图21

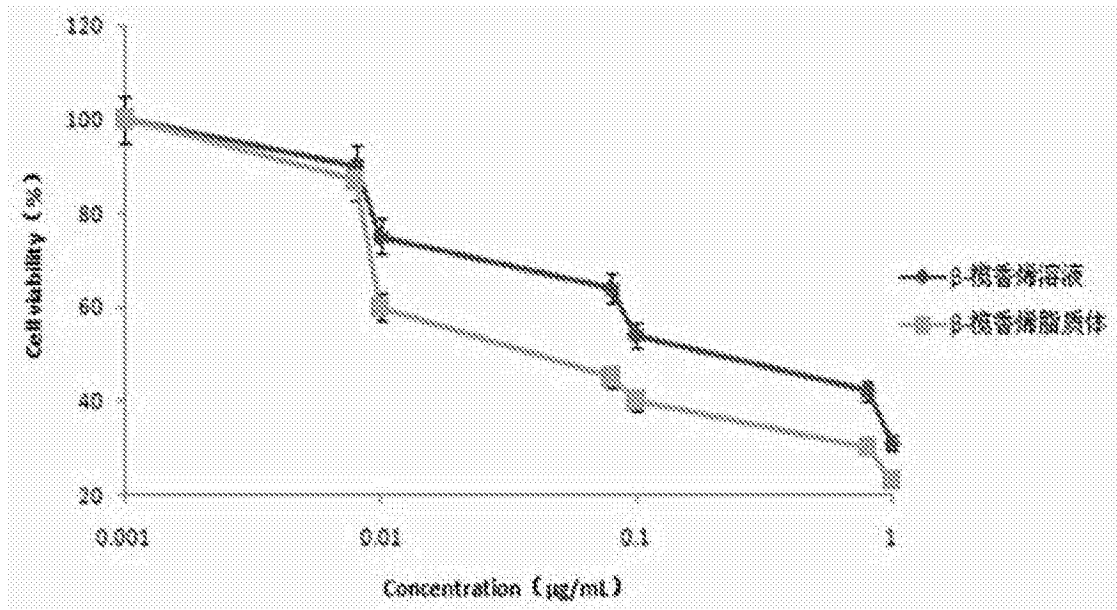


图22