



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 02818959.0

[43] 公开日 2004年12月29日

[11] 公开号 CN 1558755A

[22] 申请日 2002.9.25 [21] 申请号 02818959.0

[30] 优先权

[32] 2001.9.26 [33] US [31] 09/964,273

[32] 2002.6.26 [33] US [31] 10/183,035

[86] 国际申请 PCT/US2002/030447 2002.9.25

[87] 国际公布 WO2003/026611 英 2003.4.3

[85] 进入国家阶段日期 2004.3.26

[71] 申请人 巴克斯特国际公司

地址 美国伊利诺伊州

[72] 发明人 肖恩·布林耶尔森

什穆埃尔·斯滕伯格

安德鲁·J·邓纳姆

马克·J·多蒂 詹姆士·E·基普

纳伊莱什·杰斯瓦尔

克里希纳斯瓦米·纳拉亚南

[74] 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限责
任公司

代理人 王维玉 薛俊英

权利要求书 12 页 说明书 19 页 附图 5 页

[54] 发明名称 通过分散和除去溶剂或液相制备亚
微米大小的纳米颗粒

[57] 摘要

本发明涉及制备水溶性差的化合物的亚微米大小的纳米颗粒的方法，该方法是通过声处理蒸发部分有机相，或通过冻干多相系统的分散液或微分散液，所述的多相系统具有有机相和水相，在所述的有机相中含有水溶性差的有机化合物。该方法优选用于制备水溶性差的药物活性化合物的纳米颗粒，所述的药物活性化合物适合用于体内释放，特别适用于胃肠外给药途径。

1. 制备亚微米大小的颗粒的方法，该方法包括以下步骤：

5 提供具有有机相和水相的多相系统，在所述的有机相中有药物活性化合物；和

对该系统进行声处理蒸发部分有机相，以使水相中的化合物沉淀，其平均有效颗粒大小小于大约 $2\ \mu\text{m}$ 。

10 2. 权利要求 1 的方法，其中所述有机相和水相的重量比是大约 1:99-大约 99:1。

3. 权利要求 1 的方法，其中所述化合物的存在量为小于有机相重量的大约 1%-大约 40%。

15 4. 权利要求 1 的方法，其中所述化合物的存在量为小于有机相重量的大约 1%-大约 25%。

5. 权利要求 1 的方法，其中所述化合物的存在量为小于有机相重量的大约 1%-大约 10%。

20

6. 权利要求 1 的方法，其中所述化合物的水溶解度小于 10mg/ml 。

7. 权利要求 1 的方法，其中所述化合物的水溶解度小于 $8\ \text{mg/ml}$ 。

25

8. 权利要求 1 的方法，其中对该系统进行声处理的步骤包括：提供具有发射声能的传感器的声处理设备；并将该系统暴露于足以能够产生空穴的声能之中。

30

9. 权利要求 8 的方法，其中声处理步骤包括：在大约 1kHz -大约

90kHz 的频率范围内操作该设备。

10. 权利要求 1 的方法，其中进一步包括在有机相或水相，或在有机相和水相两者之中加入表面活性化合物。

5

11. 权利要求 10 的方法，其中所述的表面活性化合物选自阴离子表面活性剂、阳离子表面活性剂、两性离子表面活性剂、非离子表面活性剂和生物表面活性分子。

10

12. 权利要求 11 的方法，其中所述的非离子表面活性剂选自：聚氧乙烯脂肪醇醚，聚氧乙烯脱水山梨醇脂肪酸酯，聚氧乙烯脂肪酸酯，脱水山梨醇酯，单硬脂酸甘油酯，聚乙二醇，聚丙二醇，十六烷醇，十六醇十八醇混合物，十八醇，芳基烷基聚醚醇，聚氧乙烯-聚氧丙烯共聚物，polaxamines，甲基纤维素，羟甲基纤维素，羟丙基纤维素，羟丙基甲基纤维素，非结晶纤维素，多糖，淀粉，淀粉衍生物，羟乙基淀粉，聚乙烯醇和聚乙烯吡咯烷酮。

15

13. 权利要求 11 的方法，其中所述的阴离子表面活性剂选自下述的阴离子表面活性剂：月桂酸钾，三乙醇胺硬脂酸酯，月桂基硫酸钠，十二烷基硫酸钠，聚氧乙烯硫酸烷基酯，藻酸钠，二辛基磺基琥珀酸钠，磷脂酰甘油，磷脂酰肌醇，磷脂酰丝氨酸，磷脂酸和它们的盐，甘油酯，羧甲基纤维素钠，胆汁酸和其盐，胆酸，脱氧胆酸，甘氨酸胆酸，牛磺胆酸，脱氧甘氨酸胆酸和羧甲基纤维素钙。

20

14. 权利要求 11 的方法，其中所述的阳离子表面活性剂选自季铵化合物，氯化苄烷基铵，十六烷基三甲基溴化铵，脱乙酰壳多糖和十二烷基二甲基苄基氯化铵。

25

15. 权利要求 11 的方法，其中所述的表面活性的生物分子选自清蛋白、酪蛋白、肝磷脂和水蛭素。

30

16. 权利要求 1 的方法，其中进一步包括以下步骤：在有机相或水相，或在有机相和水相两者之中加入磷脂。

5 17. 权利要求 16 的方法，其中所述的磷脂选自天然磷脂和/或合成的磷脂。

18. 权利要求 16 的方法，其中所述的磷脂选自：磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇、磷脂酰甘油、磷脂酸、
10 磷脂酶 B、卵磷脂或大豆磷脂。

19. 权利要求 16 的方法，其中进一步包括在系统中加入表面活性化合物的步骤。

15 20. 权利要求 19 的方法，其中所述的表面活性化合物选自阴离子表面活性剂、阳离子表面活性剂、两性离子表面活性剂、非离子表面活性剂和生物表面活性分子。

21. 权利要求 20 的方法，其中所述的非离子表面活性剂选自：
20 聚氧乙烯脂肪醇醚，脱水山梨醇脂肪酸酯，聚氧乙烯脂肪酸酯，脱水山梨醇酯，单硬脂酸甘油酯，聚乙二醇，十六烷醇，十六醇十八醇混合物，十八醇，聚氧乙烯-聚氧丙烯共聚物，polaxamines，甲基纤维素，羟基纤维素，羟丙基纤维素，羟丙基甲基纤维素，非结晶纤维素，聚乙烯醇，聚乙烯吡咯烷酮，清蛋白，酪蛋白和肝磷脂。

25 22. 权利要求 20 的方法，其中所述的阴离子表面活性剂选自：
月桂酸钾，三乙醇胺硬脂酸酯，月桂基硫酸钠，十二烷基硫酸钠，聚氧乙烯硫酸烷基酯，藻酸钠，二辛基磺基琥珀酸钠，磷脂酰甘油，磷脂酰肌醇，磷脂酰丝氨酸，磷脂酸和它们的盐，甘油酯，羧甲基纤维素钠，胆汁酸和其盐，胆酸，脱氧胆酸，甘氨酸胆酸，牛磺胆酸，脱氧
30

甘氨酸和羧甲基纤维素钙。

23. 权利要求 20 的方法，其中所述的阳离子表面活性剂选自季铵化合物，氯化苄烷基镪，十六烷基三甲基溴化铵，脱乙酰壳多糖和十二烷基二甲基苄基氯化铵。

24. 权利要求 20 的方法，其中所述的表面活性的生物分子选自清蛋白、酪蛋白、肝磷脂和其它蛋白质。

25. 权利要求 1 的方法，其中所述的有机相包括水不溶混的溶剂。

26. 权利要求 25 的方法，其中所述的水不溶混的溶剂选自下述一组溶剂：直链、支链或环状的，碳原子数为 5 或更多的烷烃，直链、支链或环状的、碳原子数为 5 或更多的烯烃，直链、支链或环状的、碳原子数为 5 或更多的炔烃；芳烃，完全或部分卤化的烃，醚，酯，酮，一、二或三甘油酯，天然油，醇，醛，酸，胺，线性或环状的硅酮，六甲基二硅氧烷，或这些溶剂的任意结合。

27. 权利要求 26 的方法，其中所述的水不溶混的溶剂在室温下的蒸汽压高于水。

28. 权利要求 1 的方法，其中所述多相系统的形成是通过活塞缝隙均化器、胶质研磨机、高速搅拌机、挤出机、手工摇动或震荡、微流化或其它高剪切力条件完成的。

29. 权利要求 1 的方法，其中所述的化合物选自：抗高血脂药，麻醉药，抗哮喘药，抗微生物剂，抗真菌剂，抗肿瘤药，非甾族抗炎药，抗高胆固醇药，止痛药，甾族化合物，退烧药，抗抑郁剂，抗心律不齐药（antiarrhythmics），抗焦虑药，抗狂躁药，抗关节炎药，抗组胺药，抗感染药，水不溶性的维生素，安定药，镇静药，抗高血压

药，诊断试剂，抗惊厥药和免疫抑制剂。

30. 制备亚微米大小颗粒的水悬浮液的方法，该方法包括以下步骤：

- 5 提供溶解在水不溶混溶剂中的药物活性化合物的有机相；
 提供水相；
 合并所述的有机相和水相，形成分散液原液；和
 对所述的分散液原液进行声处理，使所述化合物沉淀成为水相中的悬浮颗粒，其中所述的水相基本上不含有水不溶混的溶剂。

10

31. 权利要求 30 的方法，其中所述的颗粒是无定形的形式。

32. 权利要求 30 的方法，其中所述颗粒的平均有效颗粒大小小于大约 $2\ \mu\text{m}$ 。

15

33. 权利要求 30 的方法，其中所述颗粒的平均有效颗粒大小小于大约 400nm。

20

34. 权利要求 30 的方法，其中所述颗粒的平均有效颗粒大小小于大约 300nm。

35. 制备亚微米大小的颗粒的方法，该方法包括以下步骤：
提供具有有机相和水相的多相系统的分散液原液，所述的有机相中含有药物活性化合物；

25

对所述的分散液原液施加能量，形成精细分散液；
冷冻所述的精细分散液；和
冻干所述冷冻的分散液，得到平均颗粒大小为小于 500nm 的颗粒。

30

36. 权利要求 35 的方法，其中所述颗粒的平均颗粒大小小于 200

nm。

37. 权利要求 35 的方法，其中所述颗粒基本上不含有机相。

5 38. 权利要求 35 的方法，其中所述的分散液原液或精细分散液 包括在多相系统的一相或多相中的固体颗粒。

39. 权利要求 35 的方法，其中所述化合物的水溶解度小于 10mg/ml。

10

40. 权利要求 35 的方法，其中所述化合物的水溶解度小于 8 mg/ml。

15

41. 权利要求 35 的方法，其中所述的多相系统是水包油(O/W)乳液。

42. 权利要求 35 的方法，其中所述的多相系统是油包水(W/O) 乳液。

20

43. 权利要求 35 的方法，其中所述的多相系统是水包油包水 (W/O/W)乳液。

44. 权利要求 35 的方法，其中所述的多相系统是油包水包油 (O/W/O)乳液。

25

45. 权利要求 35 的方法，其中所述有机相与水相的重量比是大约 1:99-大约 99:1。

30

46. 权利要求 35 的方法，其中所述有机相与水相的重量比是大约 1:99-大约 40:60。

47. 权利要求 35 的方法，其中所述有机相与水相的重量比是大约 2:98-大约 30:70。

5 48. 权利要求 35 的方法，其中所述化合物的存在量为小于有机相重量的大约 1wt%-大约 40wt%。

49. 权利要求 35 的方法，其中所述化合物的存在量为小于有机相重量的大约 1wt%-大约 25wt%。

10

50. 权利要求 35 的方法，其中所述化合物的存在量为小于有机相重量的大约 1wt%-大约 10wt%。

15 51. 权利要求 35 的方法，其中提供所述分散液原液的方法选自震荡、摇动、涡流搅拌、混合和搅拌。

52. 权利要求 35 的方法，其中给所述分散液原液提供能量的步骤包括以下步骤：

20 提供具有发射声能的传感器的声学设备；和
使所述系统暴露于足以能够产生空穴的声能之中。

53. 权利要求 52 的方法，其中所述的声学设备在大约 1kHz-大约 90kHz 的频率下操作。

25 54. 权利要求 52 的方法，其中所述的声学设备在大约 20kHz-大约 40kHz 的频率下操作。

56. 权利要求 35 的方法，其中为所述分散液原液提供能量的步骤是均质化。

30

57. 权利要求 56 的方法，其中所述的分散液原液在大约 5,000-30,000 psi 下进行均质化。

58. 权利要求 56 的方法，其中所述的分散液原液在大约 10,000 to 15,000 psi 下进行均质化。

59. 权利要求 56 的方法，其中所述的分散液原液在大约 15,000-20,000 psi 下进行均质化。

60. 权利要求 35 的方法，其中进一步包括将表面活性化合物加入有机相或水相，或加入有机相和水相两相之中。

61. 权利要求 60 的方法，其中所述的表面活性化合物选自非离子表面活性剂，阴离子表面活性剂，阳离子表面活性剂，两性离子表面活性剂和表面活性的生物分子。

62. 权利要求 61 的方法，其中所述的非离子表面活性剂选自：聚氧乙烯脂肪醇醚，脱水山梨醇脂肪酸酯，聚氧乙烯脂肪酸酯，脱水山梨醇酯，单硬脂酸甘油酯，聚乙二醇，十六醇，十六醇十八醇混合物，十八醇，聚氧乙烯-聚氧丙烯共聚物，polaxamines，甲基纤维素，羟甲基纤维素，羟丙基纤维素，羟丙基甲基纤维素，非结晶纤维素，聚乙烯醇，聚乙烯吡咯烷酮，清蛋白，酪蛋白和肝磷脂。

63. 权利要求 61 的方法，其中所述的阴离子表面活性剂选自：月桂酸钾，三乙醇胺硬脂酸酯，月桂基硫酸钠，十二烷基硫酸钠，聚氧乙烯硫酸烷基酯，藻酸钠，二辛基磺基琥珀酸钠，磷脂酰甘油，磷脂酰肌醇，磷脂酰丝氨酸，磷脂酸和它们的盐，甘油酯，羧甲基纤维素钠，胆汁酸和其盐，胆酸，脱氧胆酸，甘氨酸胆酸，牛磺胆酸，脱氧甘氨酸胆酸和羧甲基纤维素钙。

64. 权利要求 61 的方法，其中所述的阳离子表面活性剂选自季铵化合物，氯化苄烷基鏍，十六烷基三甲基溴化铵，脱乙酰壳多糖和十二烷基二甲基苄基氯化铵。

5 65. 权利要求 61 的方法，其中所述表面活性的生物分子选自清蛋白、酪蛋白、肝磷脂和水蛭素。

66. 权利要求 61 的方法，其中所述的表面活性化合物是清蛋白。

10 67. 权利要求 35 的方法，其中进一步包括在所述多相系统中加入赋形剂的步骤。

68. 权利要求 67 的方法，其中所述的赋形剂选自蛋白质、糖、二糖和糖醇。

15

69. 权利要求 68 的方法，其中所述的二糖是蔗糖。

70. 权利要求 68 的方法，其中所述的糖醇是甘露糖醇。

20 71. 权利要求 61 的方法，其中所述表面活性化合物的存在量小于水相或有机相重量的大约 1%-大约 30%。

72. 权利要求 61 的方法，其中所述表面活性化合物的存在量小于水相或有机相重量的大约 1%-大约 20%。

25

73. 权利要求 35 的方法，其中所述的有机相包括水不溶混的溶剂。

30 74. 权利要求 73 的方法，其中所述的水不溶混溶剂选自下述一组溶剂：直链、支链或环状的，碳原子数为 5 或更多的烷烃，直链、

支链或环状的、碳原子数为 5 或更多的烯烃，直链、支链或环状的、碳原子数为 5 或更多的炔烃；芳烃，完全或部分卤化的烃，醚，酯，酮，一、二或三甘油酯，天然油，醇，醛，酸，胺，线性或环状的硅酮，六甲基二硅氧烷，或这些溶剂的任意结合。

5

75. 权利要求 73 的方法，其中所述水不溶混的溶剂在室温下的蒸汽压高于水。

10

76. 权利要求 35 的方法，其中所述的有机相包括可与水部分溶混的溶剂。

77. 权利要求 76 的方法，其中所述与水部分溶混的溶剂选自下述一组溶剂：氟代溶剂，四氢呋喃，碳酸异丙烯酯，苜醇和乙酸乙酯。

15

78. 权利要求 35 的方法，其中所述的有机相进一步包括共溶剂。

79. 权利要求 78 的方法，其中所述的共溶剂是与水溶混的有机溶剂。

20

80. 权利要求 35 的方法，其中所述的化合物选自：抗高血脂药，麻醉药，抗哮喘药，抗微生物剂，抗真菌剂，抗肿瘤药，非甾族抗炎药，抗高胆固醇药，止痛药，甾族化合物，退烧药，抗抑郁剂，抗心律不齐药，抗焦虑药，抗狂躁药，抗关节炎药，抗组胺药，抗感染药，水不溶性的维生素，安定药，镇静药，抗高血压药，诊断试剂，抗惊厥药和免疫抑制剂。

25

81. 权利要求 35 的方法，其中在冷冻和冻干以得到颗粒之前进一步包括无菌过滤所述精细分散液的步骤。

30

82. 权利要求 35 的方法，其中进一步包括将所述冻干颗粒再分

散于含水介质之中的步骤。

83. 权利要求 82 的方法，其中所述再分散的纳米颗粒适合用于通过胃肠外给药的体内释放。

5

84. 制备亚微米大小的颗粒的方法，该方法包括以下步骤：

提供含药物活性化合物的有机相，所述的药物活性化合物溶解于水不溶混的溶剂中；

提供含有表面活性化合物的水相；

10

合并有机相和水相，形成分散液原液；和

对所述的分散液原液施加能量，形成精细分散液；

冷冻所述的精细分散液；

冻干所述冷冻的分散液，得到平均颗粒大小为小于 500nm 的颗粒。

15

85. 权利要求 84 的方法，其中所述颗粒的平均颗粒大小小于 200 nm。

86. 权利要求 84 的方法，其中所述的表面活性化合物是清蛋白。

20

87. 权利要求 84 的方法，其中所述颗粒基本上不含有机相。

88. 权利要求 84 的方法，其中所述形成分散液原液的方法选自震荡、摇动、涡流搅拌、混合和搅拌。

25

89. 权利要求 84 的方法，其中所述为分散液原液提供能量的方法选自声处理和均质化。

30

90. 权利要求 84 的方法，其中在冷冻和冻干以得到颗粒之前进一步包括无菌过滤所述精细分散液的步骤。

91. 权利要求 84 的方法，其中进一步包括将所述冻干颗粒再分散于含水介质之中的步骤。

5 92. 权利要求 91 的方法，其中所述再分散的颗粒适合用于通过胃肠外给药的体内释放。

93. 制备亚微米大小颗粒的水悬浮液的方法，该方法包括以下步骤：

10 提供含药物活性化合物的有机相，所述的药物活性化合物溶解于水不溶混的溶剂中；

 提供含有表面活性化合物的水相；

 合并所述的有机相和水相，形成分散液原液；和

 对所述的分散液原液施加能量，形成精细分散液；

15 无菌过滤所述的精细分散液；

 冷冻无菌过滤的分散液；

 冻干所述冷冻的分散液，得到平均颗粒大小为小于 500nm 的颗粒；和

 将所述的颗粒再分散于含水介质中。

20

94. 权利要求 93 的方法，其中所述颗粒的平均颗粒大小小于 200 nm。

95. 权利要求 93 的方法，其中所述的颗粒基本上不含有机相。

25

96. 权利要求 93 的方法，其中所述的表面活性化合物是清蛋白。

通过分散和除去溶剂或液相制备亚微米大小的纳米颗粒

5 交叉参考的相关申请:

本申请要求保护下述共同未决的美国专利申请的权益: 美国专利申请序列号 No.09/964,273, 2001 年 9 月 26 日递交, 和美国专利申请序列号 No. 10/183,035, 2002 年 6 月 26 日递交。

10 联邦赞助研究或开发: 未申请。

发明背景:

技术领域

15 本发明涉及制备水溶性差的化合物的亚微米大小的纳米颗粒的方法, 该方法是通过冻干多相系统的分散液, 所述的多相系统具有有机相和水相, 所述的有机相中有水溶性差的化合物。该方法优选用于制备水溶性差、适合于在体内释放的药物活性化合物的纳米颗粒, 特别是通过胃肠外途径使用的化合物。

20 发明背景

25 药物在制剂时水溶性差或不溶解于水溶液的数目在不断增加。这些药物对以注射形式例如通过胃肠外途径给药释放药物提出了挑战。不溶解于水的药物在制剂成为亚微米大小颗粒的稳定悬浮剂时是有利的。对于安全有效的使用这些制剂而言, 准确控制颗粒的大小是实质性的。

30 颗粒的直径必须小于 7 微米, 以便能够安全的通过毛细血管而不会产生栓塞(Allen 等人, 1987; Davis and Taube, 1978; Schroeder 等人, 1978; Yokel 等人, 1981)。这个问题的一种解决办法是将不溶性的候选药物生产成极小的颗粒, 制成微米颗粒或纳米颗粒的悬浮剂。

用这种方法，可以把以前不能在水基系统中制剂的药物制成胃肠外给药的剂型。胃肠外给药剂型的适用性包括小的颗粒大小（ $<7\mu\text{m}$ ）、低毒（没有毒性制剂组分或残留溶剂）和给药后药物颗粒的生物可利用性。

5

这些水溶性差的药剂的胃肠外给药过去是通过乳剂的形式实现的，所述的乳剂由疏水溶剂（例如油）和分散在含水介质如缓冲溶液或常用的盐水溶液中的稳定的药物组成。这些液/液乳剂可通过静脉内注射给药。

10

这些方法的一个实例是麻醉剂异丙酚（2,6-二异丙基酚）的应用，其中的药剂被溶解于植物油的乳剂中，以便能够通过静脉内给药，参见例如 Glen 等人的下述专利：U. S. P 4,056,635、4,452,817 和 4,798,846。但是这些乳剂以油相为优势，有不够稳定的趋势，并且没有抗菌剂。在另一实例中，即使药剂被成功地掺入无油制剂，由于其大小或形式，含有药剂的颗粒可能会引起刺激。进一步地，许多人们感兴趣的不溶性药物在常规的油乳剂系统中不具有适当的溶解性。其中的一个理由是溶解性不能严格的由极性确定，还包括氢键、偶极-偶极相互作用、离子稳定性和原子与原子的相互作用。

15

20

授予 Wretlind 等人的美国专利 U.S.P4,073,943 公开了通过将药剂溶解于油和在表面活性剂[卵磷脂(egg phosphatides)、聚丙二醇与环氧乙烷的加聚物(pluronic)、聚甘油油酸酯等]存在下用水乳化该溶液，形成该药剂分散在水相中的稳定类脂颗粒，以将水不溶性的药物活性

25

授予 Motoyama 等人的美国专利 U.S.P 4,540,602 公开了用于口服给药的，含有水不溶性药物的活化药物组合物的制备方法。在该发明的一种方法中(见实施例 4-10)，该方法是通过将药物溶解于疏水的有机溶剂，所得到的溶液在水中乳化。然后通过快速喷雾干燥除去分散

30

介质，所生成的颗粒大小在大约 0.1-大约 3.0 μm 范围内。

对于基本上是水不溶性的活性药剂，为了开发适合于体内释放的稳定剂型探索了各种各样的方法。一种方法是涉及制备用蛋白质涂层的悬浮颗粒。Desai 等人的 U.S.P 5,916,596 公开了将高剪切力应用于有活性药剂分散于其中的有机相与含有生物相容的聚合物的含水介质的混合物。在高压均化器中该混合物在大约 3,000-30,000psi 的压力下进行剪切应变。'596 专利所提供的混合物必须是基本上不含有表面活性剂的，因为表面活性剂与蛋白质的结合使用可能会形成大的、类似于针状的结晶颗粒，在储存期间其大小还会增大，参见第 17-18 列，实施例 4。在高压均化器中，在高剪切力条件下，所述生物相容的聚合物可能会交联。在使用了含有巯氢基或二硫化物基团的蛋白质（例如清蛋白）的实施方案中，所述的蛋白质交联形成包复非水介质液滴的壳，参见第 8 列，第 35-48 行。在实施例 1、2、5、6、9、10、11 和 12 中，通过在 40°C 和减压至 30mm Hg 的条件下进行旋转蒸发快速除去有机相，得到由交联的蛋白质包复颗粒的含水分散液。该含水分散液进一步冻干除去水相。所述的' 596 专利还公开了其它除去溶剂的方法，包括薄膜蒸发、喷雾干燥和冷冻干燥。实施例 2 公开了可以将乳化原油进行声处理以产生大小范围为 350-420 纳米的纳米颗粒。实施例 5 公开了制备小于 200nm 的无菌过滤纳米颗粒的方法。该方法要求把药剂首先溶解于基本上与水不相溶混的有机溶剂（例如氯仿）和可与水溶混的有机溶剂例如乙醇的混合物中。

Soon-Shiong 等人的美国专利 U.S.P 5,560,933 公开了用于体内释放的聚合物壳包围的水不溶性油（其中含有药物）的制备。该方法公开了应用声处理含有聚合物的含水介质和分散剂（油）的混合物，在该混合物中分散了基本上不溶于水的药物。在此文献中，声处理使聚合物中形成二硫化物键，使其交联而产生包围药物的壳。声处理的时间是足以能够形成二硫化物键。

30

在 Grinstaff 等人的美国专利 U.S.P 5,665,383 中公开了应用超声处理单相，即水相，以使免疫刺激剂在聚合物壳内形成胶囊，用于体内释放。所述的超声处理可促进通过二硫化物键的交联形成所述的壳。

5

制备用于体内释放的水不溶性药物的制剂的另一方法集中在减少药物释放颗粒的大小。在 Parikh 等人包括 U. S. P 6,228,399、6,086,376、5,922,355 和 5,660,858 的一系列专利中公开了用声处理制备水不溶性化合物的微粒。在这些专利中，U.S.P 5,922,355 公开了使用声处理制备较小颗粒的改进方法。所述的改进包括将含有磷脂的活性药剂与表面活性剂在单相含水系统中混合，并将能量应用于该系统以生成较小的颗粒。

10

Haynes 的美国专利 U.S.P 5,091, 188 也公开了减小药物活性的水不溶性药物的颗粒大小，并使用了用脂质体包复所述的颗粒以构成固体形式。该专利涉及所述药物的固体颗粒的含水悬浮剂的药物组合物，所述颗粒的直径大约是 0.05-大约 10 微米。在所述颗粒表面用脂质体涂层附着形成了其固体形式。该组合物通过将药物加入水，然后在含水悬浮液中减小颗粒的大小。此文献的实施例 6 公开了药用油的应用，该油选用了不能溶解药物结晶的油，参见第 6 列，第 8-12 行。

15

20

制备药剂的微粒的另一方法集中在应用相倒置的原理。Mathiowitz 的两个专利 U.S.P 6,235, 224 B1 和 6,143, 211 公开了应用相倒置现象沉淀微胶囊化的微粒。该方法包括将聚合物与药物和溶剂混合。把该混合物引入有效量的易混合的非溶剂，从而自然生成微胶囊化的产品。

25

用于制备纳米颗粒药剂的分散剂的另一技术是通过改变 pH 进行微沉淀。例如参见 U.S.P 5,665,331 和 5,662,883。此技术包括在水基中溶解药物，然后进行中和形成分散剂。

30

在例如 Spenlenhauer 等人的美国专利 U.S.P 5,766, 635 的另一方法中，通过下述发制备纳米颗粒：在有机溶剂中溶解聚环氧乙烷和/或聚环氧丙烷，将如此获得的有机溶液与水溶液混合，由该溶液中沉淀出纳米颗粒，并使沉淀的溶液微流化而不使用表面活性剂。

共同转让和未决的美国专利申请序列号 Nos. 09/874,499 、09/874,799、09/874,637、09/953,979 和 10/021,692 引入本文作为参考，并且是本文的一部分，其中公开了通过微沉淀制备亚微米颗粒的方法。公开的方法包括以下步骤：(1)在与水混溶的第一有机溶剂中溶解有机化合物，制得第一溶液；(2)将第一溶液与第二溶剂水混合以沉淀有机化合物，得到预悬浮剂；和(3)以高剪切力混合或加热的形式给预悬浮剂提供能量，以得到具有理想大小范围的稳定形式的有机化合物。在第一有机溶剂或第二含水溶液中可以加入一种或多种任选的表面改性剂。

共同转让和未决的美国专利申请序列号 No. 09/964,273 被引入本文作为参考，并且是本文的一部分，其中公开了制备亚微米颗粒的方法，该方法包括用声处理具有有机相和水相的多相系统的乳化原油，在所述的有机相中含有药物活性化合物。在特定的声处理条件下将所述的有机相由乳剂中蒸发，以生成药物颗粒。通过此方法形成的颗粒通常的有效平均颗粒大小小于 $2\mu\text{m}$ 。

因为溶解性能差的药物在药物治疗中所产生的困难，仍然需要开发新的技术来解决这些问题。

发明概述

本发明提供了制备亚微米大小颗粒的方法。该方法包括以下步骤：(1)提供具有有机相和水相的多相系统，该有机相中含有药物活性化合物；和(2)除去多相系统中的部分有机相或液相，得到该化合物

的亚微米大小的颗粒。

一方面，本发明提供制备亚微米大小颗粒的方法，该方法包括以下步骤：(1)提供具有有机相和水相的多相系统，该有机相中含有药物活性化合物；和(2)将该系统进行声处理，以蒸发部分有机相，使水相中的化合物沉淀，沉淀的有效平均颗粒大小小于 $2\mu\text{m}$ 。

另一方面，本发明提供了制备亚微米大小颗粒的含水悬浮剂的方法，该方法包括以下步骤：(1)提供溶解于水不溶混溶剂中的药物活性化合物的有机相；(2)提供水相；(3)将所述的有机相与水相合并形成分散液原液；和(4)对所述的分散液原液进行声处理，使该化合物作为精细分散的颗粒在水相中沉淀，其中所述的水相基本上不含水不溶混的溶剂。

另一方面，本发明提供了制备药物活性化合物的亚微米大小颗粒的方法，该方法包括以下步骤：(1)提供具有有机相和水相的多相系统的分散液原液，该有机相中含有药物活性化合物；(2)对所述的分散液原液提供能量以形成微滴或精细的分散液；(3)冷冻该精细分散液；和(4)冻干冷冻的分散液，得到平均颗粒大小小于 500nm 的颗粒。在一优选的实施方案中，颗粒的平均颗粒大小小于 200nm 。

另一方面，本发明提供了制备药物活性化合物的亚微米大小颗粒的方法，该方法包括以下步骤：(1)提供溶解于水不溶混溶剂中的药物活性化合物的有机相；(2)提供水相；(3)将所述的有机相与水相合并形成分散液原液；和(4)对所述的分散液原液提供能量以形成微滴或精细的分散液；(5)冷冻该精细分散液；和(6)冻干冷冻的分散液，得到平均颗粒大小小于 500nm 的颗粒。在一优选的实施方案中，颗粒的平均颗粒大小小于 200nm 。

本发明的各个方面和特征将参照下面的附图和说明书进行讨论。

附图简要说明

图 1 是说明在多相系统中制备亚微米大小颗粒的方法的图示，该方法是用声处理所述的多相系统，以蒸发部分有机相。

5 图 2A 是说明在多相系统中制备亚微米大小颗粒的方法的图示，该方法是通过冷冻和冻干分散液；图 2B 是通过冷冻和冻干分散液得到本发明亚微米大小的颗粒的各步骤的示意图，。

图 3 是伊曲康唑(itraconazole)颗粒的高倍数放大 SEM 照片；

图 4 是伊曲康唑颗粒的低倍数放大 SEM 照片；和

10 图 5 是伊曲康唑纳米颗粒和原料的 X-射线粉末衍射图谱。

优选实施方案的详细描述

本发明以各种不同的方式描述实施方案，有附图，和下面的详细描述，应该理解的是，本发明公开的具体实施方案是对本发明原理的
15 举例说明，而不能把本发明局限于本发明描述的具体实施方案。

本发明涉及制备亚微米大小颗粒分散剂的方法。该方法包括以下步骤：(1)提供包括液相和水相的多相系统，所述的液相包括有机相，该有机相中含有药物活性化合物；和(2)除去多相系统中的部分有机相
20 或液相，得到该化合物的亚微米大小的颗粒。

一方面，本发明提供了制备亚微米大小颗粒分散剂的方法。该方法包括以下步骤：(1)提供具有包括有机相和水相的多相系统，该有机相中含有药物活性化合物；和(2)将该系统进行声处理，以蒸发部分
25 有机相，使水相中的化合物沉淀，沉淀的有效平均颗粒大小小于 $2\mu\text{m}$ 。

另一方面，本发明提供了制备亚微米大小的纳米颗粒的方法，该方法包括以下步骤：(1)提供具有有机相和水相的多相系统的分散液
30 原液，该有机相中含有药物活性化合物，其中溶解了表面活性化合物，

或没有表面活性化合物；(2) 对所述的分散液原液提供能量条件以形成有效平均油滴大小小于 $2\ \mu\text{m}$ 的精细分散液；(3) 冷冻该精细分散液，在冷冻状态下其中的体相被最小化；和(4)冻干该分散液，得到平均颗粒大小小于 500nm ，优选小于 200nm 的纳米颗粒。

5

提供该多相系统的优选过程包括以下步骤：：(1)将水不溶混的溶剂与药物活性化合物混合以获得有机溶液，(2)制备水基溶液，和(3)混合所述的有机溶液和水溶液，形成多相分散系统。所使用的水不溶混的溶剂可以是与水部分溶混的，该系统中的有机溶液也可以进一步包括共溶剂。所述的多相系统也可包括一种或多种表面活性化合物，该化合物可加入所述的水基溶液，或加入所述的有机溶液，或加入所述的水溶液和有机溶液两者之中，或加入所述的水溶液和有机溶液的混合物中。摇动或混合所述的多相系统以形成分散液原液。所述的分散液原液也可通过其它本领域已知的低能量输入的方法制备，例如震动、涡流搅拌、搅动、混合（例如 Ultraturrax）或搅拌。在本发明优选的实施方案中，通过将所述的多相系统用 Ultraturrax-T25 混合器混合 10 秒可形成所述的分散液原液。该分散液原液在水中的油滴大小是直径大约小于 $2\ \mu\text{m}$ 。对该分散液原液施加能量可形成微分散液或在水悬浮液中的亚微米油滴。给分散液原液提供能量的方法的实例包括声处理、均质、微流化或其它适当的高剪切技术。

15
20

术语“多相系统”是指分散液具有至少一种有机相和至少一种水相，在本发明的优选形式中是水包油(O/W)乳剂，其中的水相形成连续相，油相形成分散相。所述的有机相优选是水不溶混的，或是部分与水溶混的有机溶剂。该有机相还可包括药物活性化合物的共溶剂。优选的共溶剂是与水溶混的有机溶剂，例如乙醇、甲醇和丙酮。所述有机相和水相的重量比是大约 1:99-大约 99:1，更优选 1: 99-大约 40:60，最优选由大约 2: 98-大约 30:70，或是其中的任何范围，或范围的结合。本发明还可以使用相反的乳剂，或油包水乳剂(W/O)，其中的油相形成连续相，而水相是分散相。本发明还可以使用两相以上

25
30

的乳剂，如油包水包油乳剂(O/W/O)，或水包油包水的乳剂(W/O/W)。本发明倾向于形成液-液分散的多相系统。当所述多相系统的液相被除去，例如被冻干时，形成亚微米大小的颗粒。进一步的，这些分散系统可以进行无菌过滤。但是，在形成所述分散液原液或精细分散液的过程中可能形成固体颗粒。这些固体颗粒可能分散于该多相系统的有机相和/或水相中。

术语"药物活性化合物"是指任何有治疗作用的化合物，更具体的，这些化合物不溶于水或微溶于水，优选其溶解度小于 10mg/ml，更优选小于 8mg/ml。这些化合物可以在医生手册 Physicians' Desk Reference 中找到。具体的适用药物活性化合物包括但不限于抗高血脂药；抗微生物剂，如抗菌剂例如磺胺嘧啶，抗真菌剂如伊曲康唑；非甾族抗炎药如消炎痛；抗高胆固醇药（antihypercholesteremic agents）如丙丁酚；以及甾族化合物如地塞米松；免疫抑制剂如环孢菌素 A、他克莫司和霉酚酸吗啉乙酯(mycophenolate mofetil)。或者有机化合物是在药物制剂和化妆品中作为辅剂或赋形剂使用的化合物，例如，但不限于防腐剂，如丙基对羟基苯甲酸。

所述的药物活性化合物存在的浓度是可在所述有机相中溶解的程度。在本发明优选的形式中所述药物活性化合物的存在量小于所述有机相重量的 1%-大约 40%，更优选大约 1%-大约 25%，最优选大约 1%-大约 10%，或其中的任何范围，或范围的结合。

术语"水不溶混的溶剂"是与水溶液以 1:1 (o/w)结合时，可形成半月形界面的那些溶剂。在本发明优选的形式中，在室温下对水和该溶剂进行测量时，水不溶混溶剂的蒸汽压比水高。适当的水不溶混溶剂包括但不限于取代或未取代的，直链、支链或环状的，碳原子数为 5 或更多的烷烃，取代或未取代的，直链、支链或环状的，碳原子数为 5 或更多的烯烃，取代或未取代的，直链、支链或环状的，碳原子数为 5 或更多的炔烃；芳烃，完全或部分卤化的烃，醚，酯，酮，一、

二或三甘油酯，天然油，醇，醛，酸，胺，线性或环状的硅酮，六甲基二硅氧烷，或这些溶剂的任意结合。卤代溶剂包括但不限于四氯化碳、二氯甲烷、氯仿、四氯乙烯、三氯乙烯、三氯乙烷、氢氟烃、氯代苯（一、二或三）、三氯氟甲烷。特别适用的溶剂是二氯甲烷、氯仿、乙醚、甲苯、二甲苯和乙酸乙酯。术语"部分与水溶混的溶剂"是指该溶剂在某一浓度时与水是不溶混，但在另一较低浓度时与水是可溶混的。这些溶剂与水有有限的可混合性，能够形成稳定的乳液。部分与水溶混的溶剂的实例是四氢呋喃(THF)、碳酸异丙烯酯、苜醇和乙酸乙酯。

10

术语“精细分散液”是指一个系统，该系统中一种液体分散于第二液体（体相）中，其中可能含有或不含有乳化剂，以及分散的液滴的平均大小小于 1 微米。这种精细分散液系统可能是热稳定的或是热不稳定的。在形成精细分散液的过程中，可能形成固体颗粒。这些固体颗粒可能分散于该系统的一相或多相之中。

15

术语"表面活性化合物"是诸如下述的化合物：阴离子表面活性剂、阳离子表面活性剂、两性离子表面活性剂、非离子表面活性剂或生物表面活性分子。所述的表面活性化合物可加入有机相、水相，或加入有机相和水相两相之中。所述的表面活性化合物相对于水相或有机相重量的存在量在各种情况下可以是小于大约 1%-大约 30%，更优选大约 1%-大约 20%，或是其中的任意范围或范围的组合。

20

适当的阴离子表面活性剂包括但不限于月桂酸钾，月桂基硫酸钠，十二烷基硫酸钠，聚氧乙烯硫酸烷基酯，藻酸钠，磺基琥珀酸二辛基钠，磷脂酰胆碱，磷脂酰甘油，磷脂酰肌苷，磷脂酰丝氨酸，磷脂酸和它们的盐，甘油酯，羧甲基纤维素钠，胆酸和其它胆汁酸（例如胆酸、脱氧胆酸、甘氨酸胆酸、牛磺胆酸、脱氧甘氨酸胆酸）和它们的盐（例如脱氧胆酸钠）。

25
30

适当的阳离子表面活性剂包括但不限于季铵化合物，例如氯化苯烷基𬝓 (benzalkonium chloride)，十六烷基三甲基溴化铵，十二烷基二甲基苄基氯化铵，酰基肉毒碱氢氯化物，或烷基吡啶𬝓卤化物。作为阴离子表面活性剂，可以使用磷脂。适当的磷脂包括例如磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇、磷脂酰甘油、磷脂酸、磷脂酶 B、卵磷脂或大豆磷脂，或它们的结合。所述的磷脂可以是成盐的或脱盐的，氢化或部分氢化的，或天然的或半合成的或合成的。

适当的非离子表面活性剂包括：聚氧乙烯脂肪醇醚(Macrogol 和 Brij)，聚氧乙烯脱水山梨醇脂肪酸酯(Polysorbates)，聚氧乙烯脂肪酸酯(Myij)，脱水山梨醇酯(Span)，单硬脂酸甘油酯，聚乙二醇，聚丙二醇，十六醇，十六醇十八醇混合物，十八醇，芳基烷基聚醚醇，聚氧乙烯-聚氧丙烯共聚物(poloxomers)，polaxamines，甲基纤维素，羟纤维素，羟丙基纤维素，羟丙基甲基纤维素，非结晶纤维素，多糖，包括淀粉和淀粉衍生物，如羟乙基淀粉(HES)，聚乙烯醇和聚乙烯吡咯烷酮。在本发明的优选形式中，非离子表面活性剂是聚氧乙烯-聚氧丙烯共聚物，优选丙二醇和乙二醇的嵌段共聚物。这些聚合物以商品名 POLOXAMER 出售，有时也称作 PLURONIC®，几个供应商包括 Spectrum Chemical 和 Ruger。聚氧乙烯脂肪酸酯包括有短烷基链的那些化合物。这些表面活性剂的一个实例是 SOLUTOL® HS 15，聚氧乙烯-660-羟基硬脂酸酯，由 BASF Aktiengesellschaft 制造。

表面活性的生物分子包括清蛋白、酪蛋白、肝磷脂、水蛭素、羟乙基淀粉(hetastarch) 或其它适当的生物相容试剂。

在本发明的优选形式中，所述的水相包括蛋白质作为表面活性化合物。优选的蛋白质是清蛋白。该蛋白质的功能也可以是赋形剂。在蛋白质不是表面活性化合物的实施方案中，多相系统中可包括其它赋形剂。适当的赋形剂包括，但不限于糖、二糖和糖醇 (sugar alcohols)。

优选的二糖是蔗糖，优选的糖醇是甘露糖醇。

通过声处理除去多相系统中的部分有机溶剂以形成亚微米大小的颗粒

5 本发明形成亚微米大小颗粒的一种方法是用声处理多相系统，以蒸发部分有机溶剂而使作为悬浮颗粒的化合物在水相中沉淀（图 1）。声处理可用任何适当的声学设备(Branson Model S-450A 或 Cole-Parmer 500/750 Watt Model)进行。这些设备在该工业领域是已知的。通常的声学设备有声波喇叭或探针，可将其插入要处理的多相系统，向所述的溶液发射声能。在本发明的优选形式中，声学设备以大约
10 1kHz-大约 90kHz 的频率操作，更优选大约 20kHz-大约 40kHz，或在其范围内的任何范围或范围的结合。所述探针的大小是可变的，优选大小不同，例如 1/2 英寸或 1/4 英寸等。在进行声处理时将溶液的温度冷却到室温以下可能是有利的。也可以使用其它混合设备，例如均化器、搅拌机或其它的搅拌设备，以有利于该工艺的进行。

15

对分散液的液滴施加剪切能可减小液滴的大小。声处理提供了可有效减小分散液液滴直径的剪切能的来源。由声处理获得的剪切力可使传播声波的介质压缩或变稀疏。在纯液体中这种压缩或变稀疏之间的变化是足以产生空穴的能量，该空穴可撕开液体形成泡沫。在分散
20 液中，类似的过程可粉碎分散的液体颗粒，使之变成更小的颗粒。在声处理过程中，形成空穴和温热该分散液可能会影响水不相容溶剂的除去。由于溶剂被除去，在该分散液中的不溶于水的化合物的溶解性降低，最终沉淀出该化合物。在适当的条件下，所述不溶化合物的沉淀以保持该声处理分散液最初颗粒大小的方式出现。

25

声处理步骤对除去系统中几乎全部的溶剂是有效的，因此可提供基本上不含有机相的颗粒悬浮液。

30 本发明进一步提出了得到分散液的附加程序，包括通过例如加热或减压蒸发，或者通过二次过滤的方法（diafiltration）以除去可能存

在任何残留溶剂。然后使所述无溶剂的悬浮液通过适当的 $0.2\ \mu\text{m}$ 过滤器过滤，得到无菌悬浮液。然后对该悬浮液进行进一步加工，包括冷冻或冻干。

5 用光散射(HORIBA)或显微镜测量，有效的药物化合物的颗粒直径应该小于大约 $2\ \mu\text{m}$ 。更优选颗粒直径小于大约 $1\ \mu\text{m}$ ，进一步优选小于大约 400nm ，和更进一步优选小于大约 200nm ，最优选小于大约 100nm ，或其中的任何范围或范围的结合。

10 所述的颗粒一般是球形。另外，在本发明的优选形式中，所述的颗粒是无定形的。所谓无定形意味着在该颗粒的 X-射线结晶研究中，该颗粒实质上没有 X-射线的峰，参见实施例 8 和图 5。

精细分散液的形成

15 本发明中形成亚微米大小颗粒的另一种方法是通过冷冻或冻干多相系统的精细分散液，由所述的多相系统除去液相。所述的精细分散液可由分散液原液通过加入能量制成。各种加入能量的方法都可以用来使分散液原液形成精细分散液，优选的方法是声处理和均质化。在使用声处理方法时，可使用任何适当的声学设备。适当的声学设备的实例包括 Branson Model S-450A 或 Cole-Parmer 500/750 Watt Model。这些设备在本工业领域是已知的。通常的声学设备有声波喇叭或探针，可将其插入要处理的多相系统，以便向所述的溶液发射声能。在本发明的优选形式中，声学设备以大约 1kHz -大约 90kHz 的频率操作，更优选大约 20kHz -大约 40kHz ，或在其范围内的任何范围或范围的结合。所述探针的大小是可变的，优选大小不同，例如 1 英寸、25 $1/2$ 英寸或 $1/4$ 英寸等。在进行声处理时将溶液的温度冷却到室温以下可能是有利的。在应用均质化的方法时，可以使用任何适当的均质化设备。这些设备的一种实例是 Avestin Emulsiflex-C5 均化器，在大约 $5,000\text{psi}$ -大约 $30,000\text{psi}$ 下操作，优选大约 $10,000$ - $20,000\text{psi}$ 。在实施例 30 例 11 中，使用 Avestin Emulsiflex-C5 均化器形成精细分散液。在此实

施例中，分散液原液在 10,000-15,000psi 在温度范围为 23°C-30°C 下均化 5 分钟。其它加入能量以形成精细分散液的适当方法包括，但不限于高速混合、机械搅拌、挤出、微流化和足以能够有效地提供小于 2 μm 的分散液滴的其它适当的高剪切技术。

5

分散液原液的液滴受到剪切力时可减小液滴的大小而形成精细分散液。通过例如声处理或均质化的方法向分散液原液加入能量提供剪切能来源，可有效的减小分散液的液滴直径。由声处理或均质化获得的剪切力以及由系统中的组分带来的机械剪切力可使传播声波的介质压缩或变稀疏。在纯液体中这种压缩或变稀疏作用的变化是足以产生空穴的能量。在分散液中，类似的过程可粉碎分散的液体颗粒，使之变成更小的颗粒。

10

除去精细分散液的液相

本发明进一步包括除去精细分散液的本体液相，包括残留的水不溶混的有机溶剂，以得到亚微米大小的颗粒。声处理或均质化的分散液首先被冷冻，形成固体的本体状态，然后进行冻干(例如使用 Vertis Sentry Bench Model 冻干机)(见图 2)。由冻干得到的固体产品可获得纳米颗粒，通过光散射(HORIBA)或显微镜测量直径，平均颗粒大小小于 500nm，优选小于 200nm。本发明制备的干燥纳米颗粒优选基本上不含任何残留的所述多相系统的有机相的有机溶剂。术语“基本上不含”是指在干燥颗粒中所存在的残留有机溶剂实质上小于由毒物学观点可接受的溶剂水平，例如 5ppm 或更低。

20

所述的颗粒一般是球形。另外，在本发明的优选形式中，所述的颗粒是无定形的。所谓无定形意味着在 X-射线结晶研究中，该颗粒实质上没有 X-射线的峰。

25

精细分散液的灭菌和纳米颗粒的再分散

在本发明的另一优选形式中，所述的精细分散液在被冷冻之前进

30

行灭菌。灭菌的优选方法是用 0.22 μm 过滤膜进行无菌过滤。

5 由冻干得到的纳米颗粒可在适当的含水分散介质如水、常规的盐水、缓冲溶液、缓冲盐水等之中进一步再分散。再次分散的纳米颗粒悬浮液适合用于胃肠外给药形式的体内释放。胃肠外给药的模式包括静脉内、动脉内、鞘内、腹膜内、眼内、关节内、肌内、皮下注射等。优选的胃肠外给药模式是静脉内给药。

实施例 1:用 1:10 的 O/W 制备 0.5% 的伊曲康唑悬浮液

10 制备 5% 卵磷脂/甘胆酸盐表面活性剂溶液(100ml),并与含有伊曲康唑(0.5g)的 10mL 氯仿溶液合并。得到的混合物用手震荡以获得乳剂原液,将其放置在冰浴中冷却。在冷却 5 分钟后,每隔 1 分钟对所述的乳剂声处理 1 分钟,共 10 分钟(总的声处理时间 5 分钟,40%的功率,用 1/2" 的探针,于 20kHz 进行),然后在~120 托(不加热)旋转蒸发除去氯仿。用光散射检测器(HORIBA)分析所得到的固体颗粒分散液,结果表明颗粒的平均直径为 97.78nm。

实施例 2: 用 1:5 的 O/W 制备 1.0% 的伊曲康唑悬浮液

20 制备 5% 卵磷脂/甘胆酸盐表面活性剂溶液(50ml),并与含有伊曲康唑 (0.5g) 的 5mL 氯仿溶液合并。得到的混合物用手震荡以获得乳剂原液,将其放置在冰浴中冷却。在冷却 5 分钟后,每隔 1 分钟对所述的乳剂声处理 1 分钟,共 10 分钟(总的声处理时间 5 分钟),然后在~100 托(不加热)旋转蒸发除去氯仿。用光散射检测器(HORIBA)分析所得到的固体颗粒分散液,结果表明颗粒的平均直径为 135nm。

25

实施例 3:

30 重复实施例的方法,得到平均直径为 139nm 的颗粒。用扫描电子显微镜对该悬浮液进一步进行分析,结果表明固体球形颗粒的大小小于 200nm。图 3 表明所得到的球形颗粒的性质。该样品是由小部分悬浮液通过 80nm 的过滤器过滤和用标准 SEM 样品制备技术制得的。

分析由此方法获得的颗粒，结果表明与通过 X-射线粉末衍射测定的结果一致，该颗粒完全是无定形的(图 4)。

实施例 4: 用 2:5 的 O/W 制备 1.0% 的伊曲康唑悬浮液

5 制备 5% 卵磷脂/甘胆酸钠溶液(50ml),并与含有伊曲康唑 (0.5g) 的 20mL 氯仿溶液合并。得到的混合物用手震荡以获得乳剂原液，将其放置在冰浴中冷却。在冷却 5 分钟后，每隔 1 分钟对所述的乳剂声处理 1 分钟，共 8 分钟，然后再声处理 30 秒（总的声处理时间 4 分 30 秒），使用 1/2"探针，和 40%振幅。声处理的分散液在~100 托（不加热）蒸发溶剂除去氯仿。通过 0.2 微米的过滤器过滤最后的 10ml 溶液。
10 对过滤的和未过滤的两部分固体颗粒的分散液用光散射检测器 (HORIBA)分析，结果表明颗粒的平均直径分别为 110nm 和 106nm。

实施例 5:

15 制备 5% 卵磷脂/甘胆酸钠溶液(50ml),并与含有伊曲康唑 (0.5g) 的 10mL 二氯甲烷溶液合并。得到的混合物用手震荡以获得乳剂原液，将其放置在冰浴中冷却。在冷却 5 分钟后，每隔 1 分钟对所述的乳剂声处理 1 分钟，共 6 分钟（总的声处理时间 3 分钟），使用 1/2"探针，和 40%振幅。声处理的分散液在~100 托（不加热）蒸发溶剂除去二氯
20 甲烷。得到的固体颗粒分散液用光散射检测器(HORIBA)分析，结果表明颗粒的平均直径为 144nm。

实施例 6:

25 制备 5% 卵磷脂/甘胆酸钠溶液(50ml),并与含有伊曲康唑 (0.5g) 的 5mL 二氯甲烷溶液合并。得到的混合物用手震荡以获得乳剂原液，将其放置在冰浴中冷却。在冷却 5 分钟后，每隔 30 秒钟对所述的乳剂声处理 30 秒，共 6 分钟（总的声处理时间 3 分钟），使用 1/4"探针，和 20%振幅。声处理的溶液在~100 托（不加热）用旋转蒸发器蒸发溶剂除去二氯甲烷。得到的固体颗粒分散液用光散射检测器
30 (HORIBA)分析，结果表明颗粒的平均直径为 109nm。

实施例 7: 在声处理后直接测定固体颗粒的大小和形态

5 重复实施例 6 所述的方法, 只是在声处理后没有进行除去溶剂的步骤。而是将样品用 HORIBA 分析和扫描电子显微镜以测定颗粒大小。HORIBA 分析的结果指出平均颗粒直径为 156nm。SEM 的图象说明固体球形颗粒的大小在 200 nm 以下。

实施例 8: 测定药物颗粒的无定形性质

10 制备伊曲康唑乳剂原液: 将 50mL 表面活性剂溶液(2.2% 卵磷脂, 0.5%甘胆酸钠, 1.0%聚乙烯吡咯烷酮)和含有 0.5g 伊曲康唑的 5mL 二氯甲烷溶液合并。然后用手震动混合物, 将油滴分散于表面活性剂基质中。

15 将乳剂原液每隔 30 秒钟声处理 30 秒钟, 共 6 分钟, 使用 1/4"探针, 20%振幅和 20kHz (温度-5℃, 用冰浴冷却)。然后, 声处理的溶液以常用真空(100 托)旋转蒸发 15-20 分钟, 接着在高真空下(<20 托)旋转蒸发 10 分钟。部分溶液储存在-70℃大约 1 小时, 然后冻干(>48 小时)。留下的悬浮液中的颗粒大小用光散射分析(HORIBA)测定后为 168nm。在冻干后用可见光显微镜检查冷冻-干燥的纳米颗粒, 没有发现存在任何结晶。几乎看不见有球形的颗粒的晕圈(halos)说明伊曲康唑纳米颗粒是完整无缺的。

20

25 对冻干伊曲康唑的纳米颗粒用 X-射线粉末衍射进行评估, 经测定知其完全是无定形的(实际上没有 X-射线峰)。在原料的扫描图上(图 5 下方的曲线)可观察到很多峰, 说明化合物原始状态的结晶特性。

实施例 9:对伊曲康唑的纳米颗粒进行声处理以制备精细分散液

30 将伊曲康唑(0.5g)溶解于 3mL 二氯甲烷, 并与 50mL 5%的清蛋白溶液合并。用手震荡合并的溶液以使两种液体分散。然后分散液原液

在 5°C 进行声处理 6 分钟（每隔 30 秒钟声处理 30 秒钟，使用 1/4" 探针和 20% 振幅）。声处理的溶液在 -80°C 冷冻，接着冻干。冻干的产品用光散射检测器分析 (HORIBA)，结果表明颗粒的平均直径为 187nm。

5 实施例 10: 对环孢菌素的纳米颗粒进行声处理以制备精细分散液

重复实施例 1 的通用方法，只是用环孢菌素代替伊曲康唑。最终的颗粒大小是 185 nm (HORIBA 光散射分析)。

实施例 11: 分散液的冻干(用均质化作为增加能量的步骤)

10 将伊曲康唑(0.5g)溶解于 5.0mL 二氯甲烷，并与 50mL 5% 清蛋白溶液混合。通过用 Ultratirrax -T25 混合器将其处理 10 秒制成分散液原液。该分散液原液在 10,000-12,000psi，用 Avestin Emulsiflex C5 均化器，在 18°C-27°C 的温度范围内均质 6 次 (passes)，制成精细分散液。立即将该精细分散液于 -80°C 冷冻，和在不控制温度的情况下
15 冻干，得到蓬松的粉末。该粉末用水再造，用光散射检测器分析 (HORIBA) 固体颗粒分散液，结果表明伊曲康唑颗粒的平均直径为 122nm。

实施例 12: 在分散/冻干过程中加入无菌过滤

20 将伊曲康唑(0.5g)溶解于 5.0mL 二氯甲烷，并与 50mL 5% 清蛋白溶液混合。通过用 Ultratirrax -T25 混合器将其处理 10 秒制成分散液原液。该分散液原液在 10,000-15,000psi (Avestin Emulsiflex C5 均化器)，在 23°C-30°C 的温度范围内均质 5 分钟，制成微滴或精细分散液。这种微滴分散液很容易通过 0.22 μm 的膜过滤器。检查过滤器
25 说明不存在任何药物。然后在 -80°C 冷冻过滤的分散液。数小时后冷冻的分散液系统在不控制温度的情况下冻干，得到蓬松的粉末。所得到的含有固体伊曲康唑颗粒的冻干滤饼用水再造，和用光散射检测器 (HORIBA) 分析，伊曲康唑颗粒的平均直径为 144nm。

30 实施例 13: 在工艺中加入脱氧胆酸钠

5 将 50mL 5%清蛋白溶液、2 mL 2.75%脱氧胆酸钠溶液和含有 0.5g 伊曲康唑的 3.5mL 伊曲康唑的二氯甲烷溶液在 100mL 烧杯中混合，用 Ultratirrax -T25 混合器在 11,000rpm 处理 10 秒。该分散液原液在 15,000-20,000psi，室温下均质，制成精细分散液。将该精细分散液转移到 250mL 玻璃瓶中，立即在-80℃冷冻。将冷冻的样品冻干，得到亚微米颗粒。冻干的产品用水再造，用光散射检测器 (HORIBA)分析，说明颗粒的平均直径为 207nm。

10 由前文所述可知可以有各种变型和改进，而不会脱离本发明的实质和范围。可以理解的是，对本文所使用的设备没有特别的限制。当然，后附的权利要求书覆盖了所有这些改型，它们都落在权利要求书的保护范围之内。

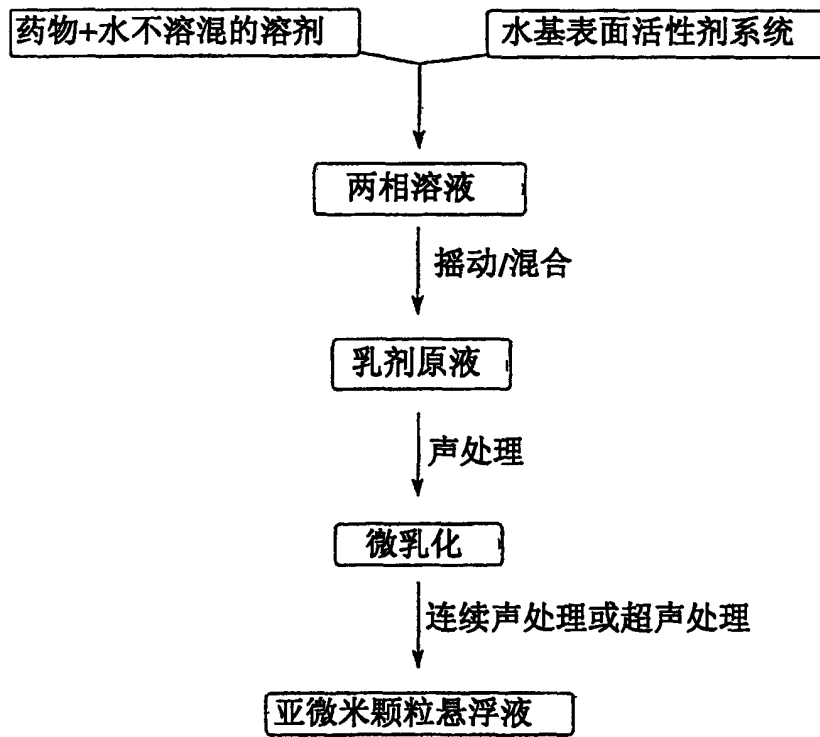


图1

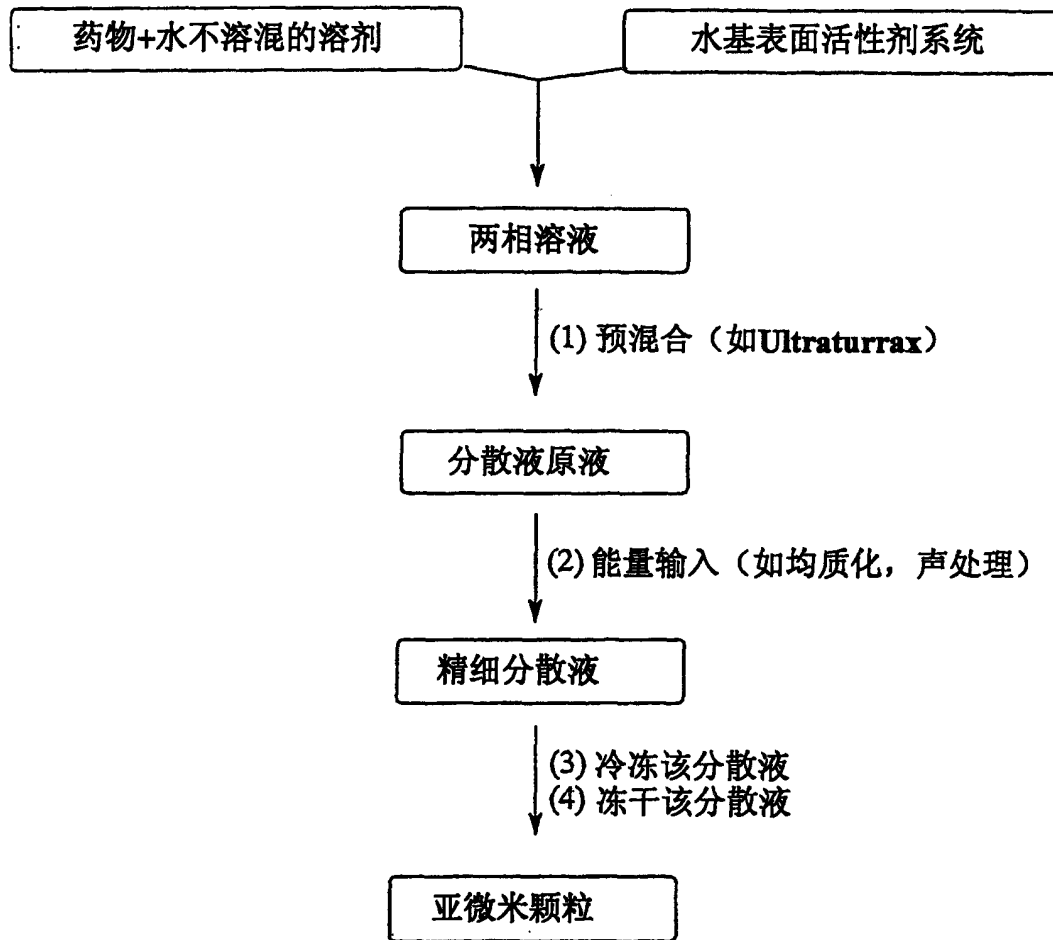


图2A

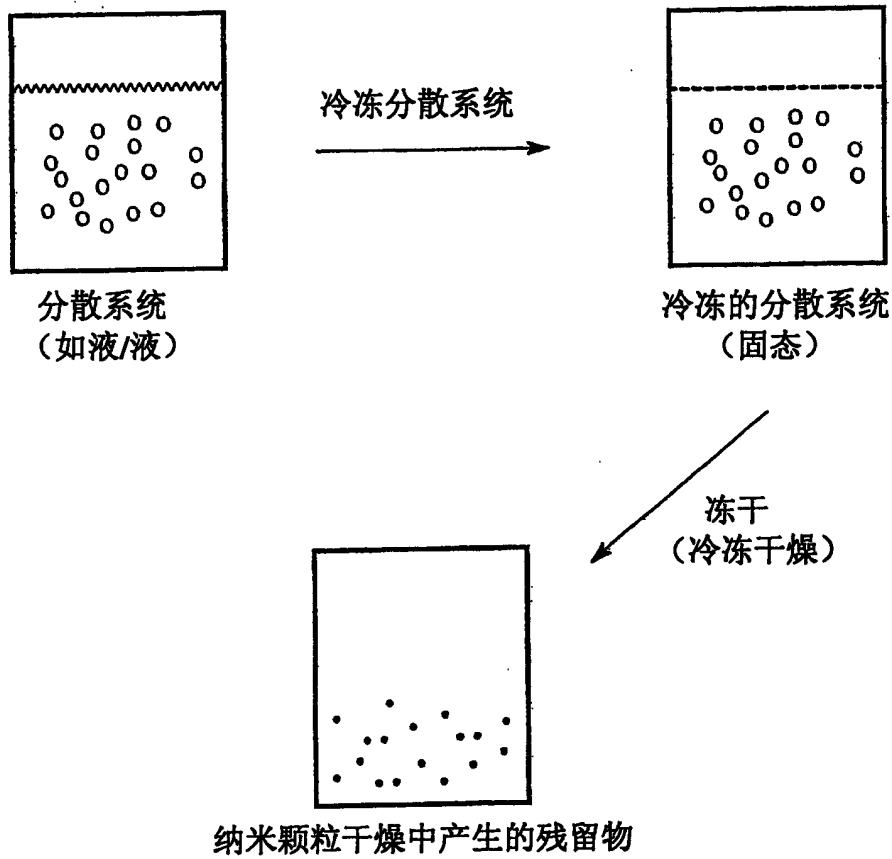


图2B

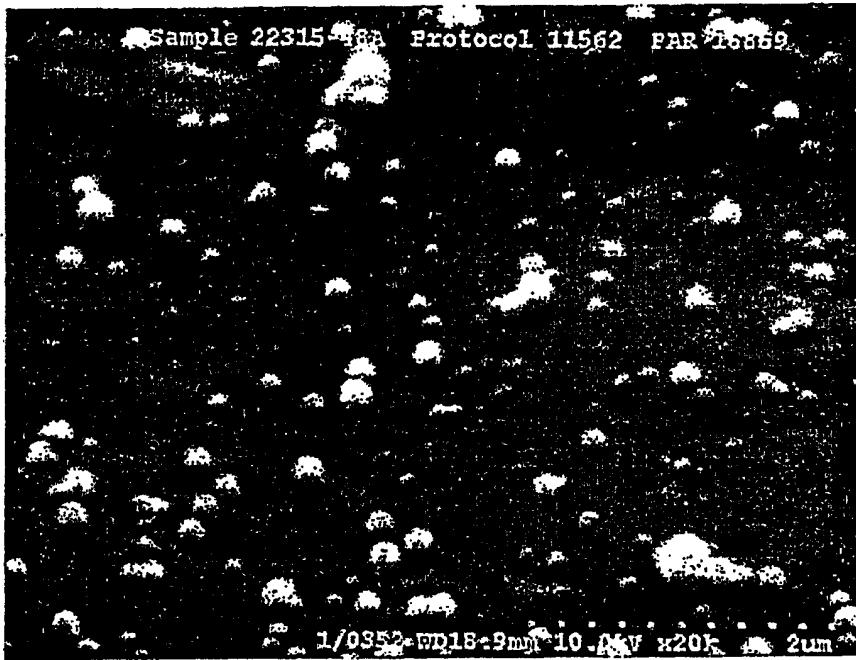


图3

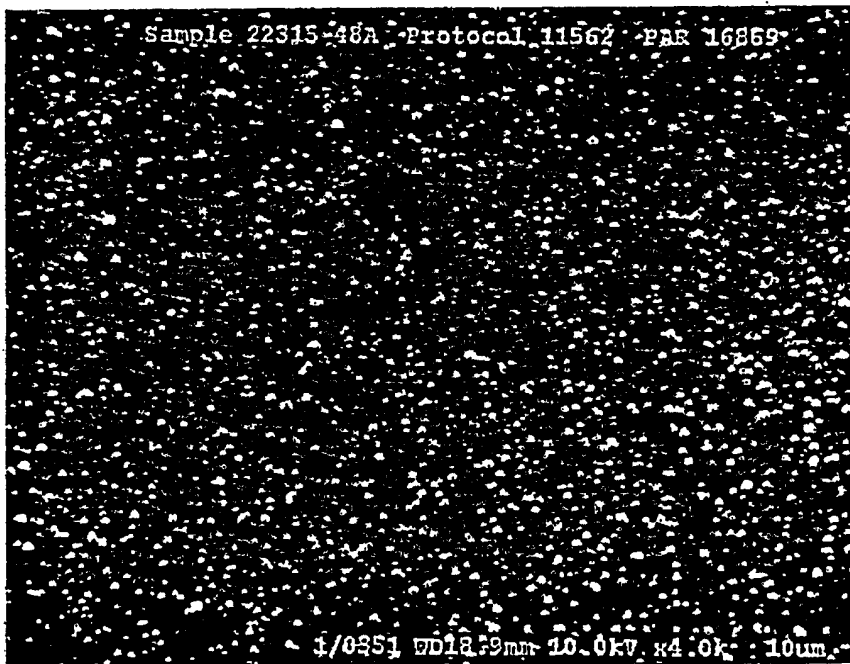


图4

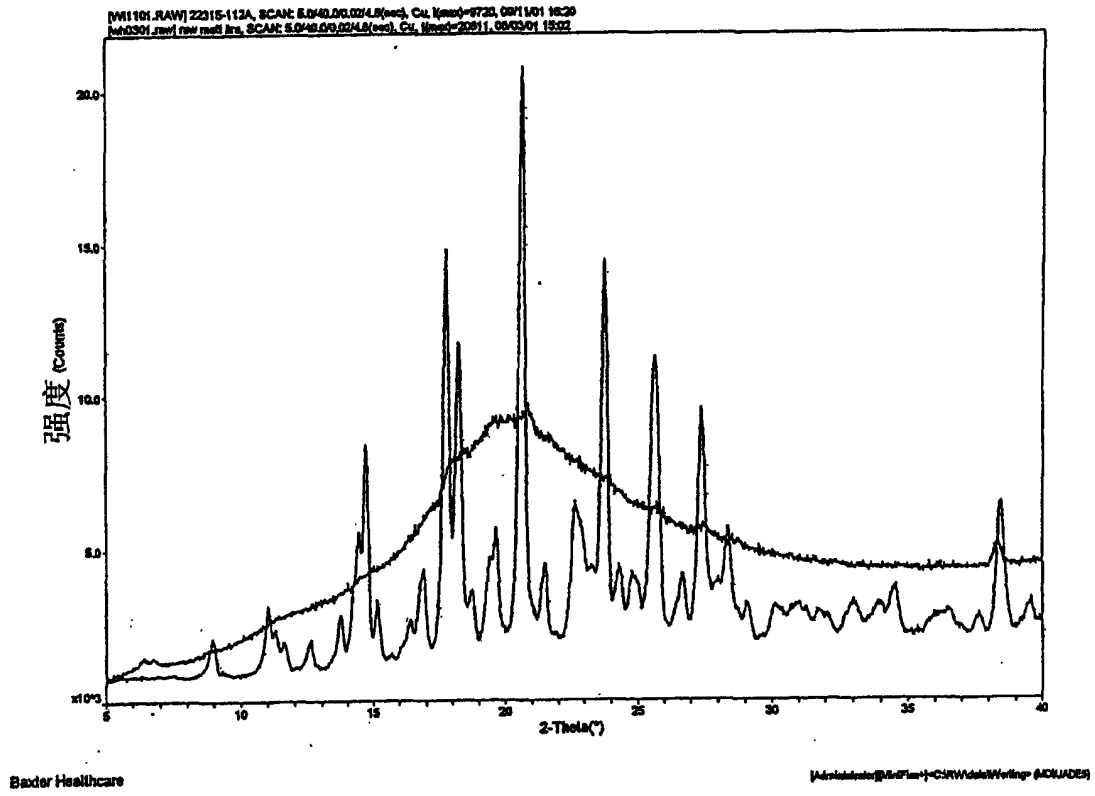


图5