



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 109562073 B

(45) 授权公告日 2021.11.09

---

(21) 申请号 201780047050.7  
(22) 申请日 2017.09.21  
(65) 同一申请的已公布的文献号  
    申请公布号 CN 109562073 A  
(43) 申请公布日 2019.04.02  
(66) 本国优先权数据  
    201610864142.1 2016.09.29 CN  
(85) PCT国际申请进入国家阶段日  
    2019.01.29  
(86) PCT国际申请的申请数据  
    PCT/CN2017/102772 2017.09.21  
(87) PCT国际申请的公布数据  
    W02018/059304 ZH 2018.04.05  
(73) 专利权人 四川科伦药物研究院有限公司  
    地址 611138 四川省成都市温江区海峡两岸科技产业开发园区新华大道二段666号  
(72) 发明人 苏正兴 杨立开 赵栋 王玉君

单凤英 王可兴 王利春 王晶翼  
(74) 专利代理机构 中国贸促会专利商标事务所有限公司 11038  
    代理人 杜仙 刘海罗  
(51) Int.Cl.  
    A61K 9/19 (2006.01)  
    A61K 9/51 (2006.01)  
    A61K 47/42 (2017.01)  
    A61K 47/18 (2006.01)  
    A61K 47/22 (2006.01)  
    A61K 31/337 (2006.01)  
    A61P 35/00 (2006.01)  
(56) 对比文件  
    CN 101745103 A, 2010.06.23  
    CN 105078904 A, 2015.11.25  
    CN 101954067 A, 2011.01.26  
    CN 102327230 A, 2012.01.25  
    审查员 聂俊杰

---

权利要求书2页 说明书17页

(54) 发明名称

白蛋白药物组合物及其制备方法

(57) 摘要

一种白蛋白药物组合物,该药物组合物包含白蛋白和至少一种相对分子量为145-175的氨基酸。该白蛋白药物组合物可以有效降低临床使用因白蛋白多聚体和二聚体引起的人体内不期望的响应,如疹子、荨麻疹、过敏反应和可能的免疫应答,进一步保障临床用药安全性。

1. 一种提高白蛋白药物组合物产品质量的方法,其特征在于,在制备所述药物组合物的过程中加入至少一种相对分子量为145-175的氨基酸或其盐作为所述药物组合物中唯一的稳定剂,所述氨基酸或其盐在药物组合物的制备、储存和/或使用中抑制白蛋白二聚体的生成和/或含量增加,其中,

所述氨基酸选自精氨酸和组氨酸中的一种或多种,所述氨基酸或其盐与白蛋白的重量比为0.1:1~10:1;

所述药物组合物为白蛋白纳米粒药物组合物,其活性成分包含紫杉烷类化合物。

2. 根据权利要求1所述的方法,所述药物组合物中白蛋白二聚体的含量不大于总白蛋白含量10%。

3. 根据权利要求1所述的方法,所述白蛋白二聚体的含量不大于总白蛋白含量7%。

4. 根据权利要求1所述的方法,所述白蛋白二聚体的含量不大于总白蛋白含量5%。

5. 根据权利要求1所述的方法,其中,所述方法在药物组合物的制备、储存和/或使用中同时抑制白蛋白多聚体的生成和/或含量增加。

6. 根据权利要求5所述的方法,所述药物组合物中白蛋白多聚体的含量不大于总白蛋白含量6%。

7. 根据权利要求5所述的方法,所述白蛋白多聚体的含量不大于总白蛋白含量4%。

8. 根据权利要求5所述的方法,所述白蛋白多聚体的含量不大于总白蛋白含量2%。

9. 根据权利要求1所述的方法,其中,所述氨基酸或其盐以能够抑制组合物中白蛋白二聚体的生成和/或含量增加的添加量添加。

10. 根据权利要求1-9中任一项所述的方法,其中,所述氨基酸为精氨酸。

11. 根据权利要求10所述的方法,所述氨基酸或其盐与白蛋白的重量比为0.2:1~5:1。

12. 一种成分稳定的白蛋白药物组合物,其特征在于,所述药物组合物包括白蛋白和至少一种相对分子量为145-175的氨基酸或其盐,所述氨基酸或其盐作为所述药物组合物中唯一的稳定剂,所述药物组合物在至少一年的时间内白蛋白二聚体的含量不大于总白蛋白含量10%,其中,

所述氨基酸选自精氨酸和组氨酸中的一种或多种,所述氨基酸或其盐与白蛋白的重量比为0.1:1~10:1;

所述药物组合物为白蛋白纳米粒药物组合物,其活性成分包含紫杉烷类化合物。

13. 根据权利要求12所述的药物组合物,其中,所述药物组合物在至少一年的时间内白蛋白二聚体的含量不大于总白蛋白含量7%。

14. 根据权利要求12所述的药物组合物,其中,所述药物组合物在至少一年的时间内白蛋白二聚体的含量不大于总白蛋白含量5%。

15. 根据权利要求12所述的药物组合物,其中,所述药物组合物在至少一年的时间内白蛋白多聚体的含量不大于总白蛋白含量6%。

16. 根据权利要求12所述的药物组合物,其中,所述药物组合物在至少一年的时间内白蛋白多聚体的含量不大于总白蛋白含量4%。

17. 根据权利要求12所述的药物组合物,其中,所述药物组合物在至少一年的时间内白蛋白多聚体的含量不大于总白蛋白含量2%。

18. 根据权利要求12-17任一项所述的药物组合物,其特征在于,所述氨基酸为精氨酸。

19. 根据权利要求18所述的药物组合物,所述氨基酸或其盐与白蛋白的重量比为0.2:1~5:1。

20. 根据权利要求12所述的药物组合物,其特征在于,所述药物组合物为冻干粉针剂。

21. 一种权利要求12-20任意一项所述药物组合物的制备方法,包括如下步骤:将紫杉烷类化合物溶解于适当的有机溶剂中,得到紫杉烷类化合物溶液;将白蛋白溶解或稀释到水性溶剂中,得到白蛋白水性溶液;用注射用水制备相对分子量为145-175的氨基酸或其盐的水溶液;将紫杉烷类化合物溶液、白蛋白水性溶液、相对分子量为145-175的氨基酸或其盐的水溶液在高剪切力下分散混合,然后超滤,过滤除菌,任选地冷冻干燥;

所述方法不包括在冷冻干燥之前加入冻干保护剂的步骤,所述冻干保护剂包括海藻糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖、甘氨酸中的一种或多种。

22. 权利要求12-20任一项中所述的药物组合物在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

23. 根据权利要求22所述的用途,所述癌症选自前列腺癌、结肠癌、乳腺癌、头颈癌、胰腺癌、肺癌、卵巢癌、多发性骨髓瘤、黑素瘤、肝癌、胃癌和肾癌中的一种或多种。

24. 根据权利要求23所述的用途,所述肾癌为肾细胞癌。

25. 根据权利要求1-9中任一项所述的方法,其中,所述氨基酸为组氨酸。

26. 根据权利要求12-17任一项所述的药物组合物,其特征在于,所述氨基酸为组氨酸。

## 白蛋白药物组合物及其制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及白蛋白药物组合物,更具体地说,本发明涉及含有相对分子量为145-175的氨基酸或其盐的白蛋白纳米粒药物组合物。

### 背景技术

[0002] 白蛋白作为纳米粒药物递送系统已广泛应用,主要用于递送水难溶性药物,如紫杉烷,多西他赛等。紫杉醇不溶于水,为了提高其可溶性和使其适合静脉内注射,Bristol-Myers Squibb公司将它与表面活性剂(例如聚乙氧基化蓖麻油)混合,以及与约50%无水酒精(作为紫杉醇的载体)混合。然而,表面活性剂和无水酒精的存在除了其本身的副作用之外还具有严重的缺点,主要为强过敏性。

[0003] 为了克服强过敏性的缺点,欧洲专利EP-A-0584001和美国专利US 5641803公开了在紫杉醇药物中加入其它物质来阻止严重的过敏反应。然而,为阻止过敏反应的其它物质的加入会在药物组合物中引入这些物质本身的副作用。

[0004] 进一步地,紫杉醇白蛋白纳米粒Abraxane作为第一个上市的白蛋白纳米粒制剂,2005年已在美国批准,并且于2008年被中国CFDA批准用于治疗转移性乳腺癌。其最近在美国被批准用于治疗非小细胞性肺癌、胰腺癌等。在Abraxane的制备中使用了源自人血的白蛋白,目前各国科研人员正在尝试使用人血白蛋白来开发其他药物的白蛋白纳米粒,如多西他赛等。

[0005] 总体上认为,Abraxane在临床上的最大优势是去除普通紫杉醇注射液因辅料聚氧乙烯蓖麻油等引起的过敏反应,大大提高产品的安全性。然而,在临床应用中,部分患者对Abraxane也存在一定的过敏反应,根本原因是Abraxane在储存期间形成的白蛋白二聚体、多聚体的水平增加,导致人体内不期望的响应,如疹子、荨麻疹、过敏反应和可能的免疫应答。制剂中白蛋白二聚体、多聚体的水平增加还可致使制剂容易聚集,这可影响制剂的物理稳定性(辛酸盐和乙酰色氨酸盐对人白蛋白的稳定作用,微生物学免疫学进展,1985)。

[0006] 目前尚无十分有效的方法可以抑制储存期间白蛋白纳米粒药物组合物中白蛋白二聚体和多聚体的产生。

[0007] 因此,本领域亟待解决的问题是开发可有效控制储存期间内白蛋白药物组合物中的白蛋白二聚体和/或多聚体含量的白蛋白纳米粒组合物和药物制剂,其可有效减少临床应用中的过敏反应,进一步保障临床用药安全性。

### 发明内容

[0008] 本发明的一个目的在于提供一种提高白蛋白药物组合物产品质量的方法,其中,在制备所述药物组合物的过程中加入至少一种相对分子量为145-175的氨基酸或其盐,所述氨基酸可选自精氨酸、组氨酸和赖氨酸中的一种或多种,优选精氨酸和/或组氨酸,更优选精氨酸;所述氨基酸或其盐在药物组合物的制备、储存和/或使用中抑制白蛋白二聚体的生成和/或含量增加。

[0009] 本发明的另一个目的在于,提供一种控制白蛋白药物组合物在制备、储存和/或使用中白蛋白二聚体含量增加的方法,其特征在于,在制备所述药物组合物的过程中加入至少一种相对分子量为145-175的氨基酸或其盐,所述氨基酸可选自精氨酸、组氨酸和赖氨酸中的一种或多种,优选精氨酸和/或组氨酸,更优选精氨酸。

[0010] 在一些实施方式中,所述药物组合物中白蛋白二聚体的含量不大于总白蛋白含量约10%;更优选地,所述白蛋白二聚体的含量不大于总白蛋白含量约7%;最优选地,所述白蛋白二聚体的含量不大于总白蛋白含量约5%。

[0011] 在一些实施方式中,上述方法在所述药物组合物的制备、储存和/或使用中同时抑制白蛋白多聚体的生成和/或含量增加;

[0012] 优选地,所述药物组合物中白蛋白多聚体的含量不大于总白蛋白含量约6%;更优选地,所述白蛋白多聚体的含量不大于总白蛋白含量约4%;最优选地,所述白蛋白多聚体的含量不大于总白蛋白含量约2%。

[0013] 在一些实施方式中,本发明所述氨基酸或其盐以能够抑制组合物中白蛋白二聚体的生成和/或含量增加的添加量添加。

[0014] 本发明的另一个目的在于提供一种药物组合物的制备方法,包括如下步骤:将紫杉烷类化合物溶解于适当的有机溶剂中,得到紫杉烷类化合物溶液;将白蛋白溶解或稀释到水性溶剂中,得到白蛋白水性溶液;用注射用水制备相对分子量为145-175的氨基酸或其盐的水溶液;将紫杉烷类化合物溶液、白蛋白水性溶液、相对分子量为145-175的氨基酸或其盐的水溶液在高剪切力下分散混合,然后超滤,过滤除菌,任选地冷冻干燥;

[0015] 所述方法不包括在冷冻干燥之前加入冻干保护剂的步骤,所述冻干保护剂包括海藻糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖、甘氨酸中的一种或多种。

[0016] 本发明的另一个目的在于提供一种氨基酸或其盐在抑制药物组合物在一定期间内白蛋白二聚体生成和/或含量增加中的用途,其中,所述氨基酸的相对分子量为145-175,所述氨基酸可选自精氨酸、组氨酸和赖氨酸中的一种或多种,优选精氨酸和/或组氨酸,更优选精氨酸。

[0017] 在一些实施方式中,所述药物组合物在20-38°C、优选22-30°C、更优选25°C的条件下,在6个月以上、优选在1年以上、更优选在2年以上的期间内的白蛋白单体含量保持在总白蛋白含量的83%以上,白蛋白二聚体含量保持在总白蛋白含量的8%以下,白蛋白多聚体含量保持在总白蛋白含量的5%以下;优选白蛋白单体含量保持在总白蛋白含量的85%以上,白蛋白二聚体含量保持在总白蛋白含量的5%以下,白蛋白多聚体含量保持在总白蛋白含量的5%以下;和/或

[0018] 在一些实施方式中,所述药物组合物在50-65°C、优选58-62°C、更优选60°C的条件下,在一周以上的期间内的白蛋白单体含量保持在总白蛋白含量的80%以上,白蛋白二聚体含量保持在总白蛋白含量的9%以下,白蛋白多聚体含量保持在总白蛋白含量的6%以下;优选地,白蛋白单体含量保持在总白蛋白含量的88%以上,白蛋白二聚体含量保持在总白蛋白含量的6%以下,白蛋白多聚体含量保持在总白蛋白含量的3%以下;更优选地,白蛋白单体含量保持在总白蛋白含量的90%以上,白蛋白二聚体含量保持在总白蛋白含量的5%以下,白蛋白多聚体含量保持在总白蛋白含量的2%以下。

[0019] 本发明的另一个目的在于提供一种成分稳定的白蛋白药物组合物,所述药物组合

物包括白蛋白和至少一种相对分子量为145-175的氨基酸或其盐,所述药物组合物在至少一年的时间内白蛋白二聚体的含量不大于总白蛋白含量约10%,优选地,所述白蛋白二聚体的含量不大于总白蛋白含量约7%;更优选地,所述白蛋白二聚体的含量不大于总白蛋白含量约5%。

[0020] 在一些实施方式中,所述药物组合物在至少一年的时间内白蛋白多聚体的含量不大于总白蛋白含量约6%;优选地,所述白蛋白多聚体的含量不大于总白蛋白含量约4%;更优选地,所述白蛋白多聚体的含量不大于总白蛋白含量约2%。

[0021] 在本发明中,所述氨基酸是指相对分子量为145-175的氨基酸,进一步,本发明所述氨基酸是指选自精氨酸、组氨酸和赖氨酸中的一种或多种,优选精氨酸和/或组氨酸,更优选精氨酸。所述氨基酸或其盐与白蛋白的重量比为0.1:1~10:1,更优选为0.2:1~5:1。

[0022] 在一些实施方式中,所述药物组合物活性成分包含紫杉烷类化合物。

[0023] 在一些实施方式中,所述药物组合物为白蛋白纳米粒药物组合物。

[0024] 在一些实施方式中,所述氨基酸或其盐作为药物组合物中的唯一的稳定剂,所述氨基酸可选自精氨酸、组氨酸和赖氨酸中的一种或多种,优选精氨酸和/或组氨酸,更优选精氨酸。

[0025] 在一些实施方式中,所述药物组合物为冻干粉针剂。

[0026] 本发明的另一个目的在于提供了本发明的药物组合物在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

[0027] 在一些实施方式中,所述癌症选自前列腺癌、结肠癌、乳腺癌、头颈癌、胰腺癌、肺癌、卵巢癌、多发性骨髓瘤、肾细胞癌、黑素瘤、肝癌、胃癌和肾癌中的一种或多种。

[0028] 本发明的另一个目的在于,提供了一种白蛋白纳米粒药物组合物,所述药物组合物包含紫杉烷类化合物、白蛋白和至少一种相对分子量为145-175的氨基酸或其盐,并且所述组合中含有不小于总白蛋白含量约80%的白蛋白单体,和/或不大于总白蛋白含量约10%的白蛋白二聚体,和/或不大于总白蛋白含量约6%的白蛋白多聚体,所述氨基酸可选自精氨酸、组氨酸和赖氨酸中的一种或多种,优选精氨酸和/或组氨酸,更优选精氨酸。

[0029] 在一些实施方式中,本发明的白蛋白纳米粒药物组合物中包含的相对分子量为145-175的氨基酸是指选自精氨酸、组氨酸和赖氨酸中的一种或多种,优选精氨酸和/或组氨酸,更优选精氨酸。

[0030] 在一些实施方式中,本发明所使用的紫杉烷类化合物选自紫杉醇、多西他赛、卡巴他赛及它们的衍生物中的一种或多种。

[0031] 在一些实施方式中,本发明所使用的白蛋白选自重组白蛋白、动物血清白蛋白和人血白蛋白中的一种或多种,优选人血白蛋白。

[0032] 本发明的另一个目的在于提供一种药物制剂,其包含本发明所述的白蛋白纳米粒药物组合物,所述制剂含有不小于总白蛋白含量约80%的白蛋白单体,和/或不大于总白蛋白含量约10%的白蛋白二聚体,和/或不大于总白蛋白含量约6%的白蛋白多聚体。

[0033] 在一些实施方式中,所述药物制剂还包含一种或多种药学上可接受的载体和/或辅料。

[0034] 本发明的另一个目的在于提供本发明的白蛋白纳米粒药物组合物在制备用于治疗癌症的药物中的用途。在一些实施方式中,所述癌症选自前列腺癌、结肠癌、乳腺癌、头颈

癌、胰腺癌、肺癌、卵巢癌、多发性骨髓癌、肾细胞癌、黑素瘤、肝癌、胃癌和肾癌中的一种或多种。

[0035] 本发明的一个目的在于提供一种稳定包含紫杉烷类化合物的白蛋白纳米粒药物组合物的方法,该方法包括在制备白蛋白纳米粒组合物的过程中加入适量的至少一种相对分子量为145-175的氨基酸或其盐,所述氨基酸特别是指选自精氨酸、组氨酸和赖氨酸中的一种或多种,优选精氨酸和/或组氨酸,更优选精氨酸。本发明所述的氨基酸或其盐的加入能够减少白蛋白二聚体和/或多聚体/或抑制它们的生长。在本发明所述的方法中,所述氨基酸或其盐的加入能够减少白蛋白二聚体和/或多聚体的生成,提高白蛋白纳米粒的化学稳定性,从而根本上解决白蛋白纳米粒的理化不稳定性,减少杂质种类和含量,降低体内外毒性,提高患者安全性。

[0036] 在一些实施方式中,所述方法包括将包含紫杉烷类化合物的白蛋白纳米粒组合物在高剪切力条件下制备,在该制备过程中加入适量的至少一种相对分子量为145-175的氨基酸或其盐,所述氨基酸特别是指选自精氨酸、组氨酸和赖氨酸中的一种或多种,优选精氨酸和/或组氨酸,更优选精氨酸。

[0037] 在一些实施方式中,本发明的方法包括如下步骤:将紫杉烷类化合物溶解于适当的有机溶剂中,得到紫杉烷类化合物溶液;将白蛋白溶解或稀释到水性溶剂中,得到白蛋白水性溶液;用水(优选注射用水)制备相对分子量为145-175的氨基酸或其盐的水溶液,所述氨基酸特别是指选自精氨酸、组氨酸和赖氨酸中的一种或多种,优选精氨酸和/或组氨酸,更优选精氨酸;将紫杉烷类化合物溶液、白蛋白水性溶液、相对分子量为145-175的氨基酸或其盐的水溶液在高剪切力下分散混合,然后超滤,过滤除菌,任选地冷冻干燥。

[0038] 本发明的另一个目的在于提供相对分子量为145-175的氨基酸或其盐在稳定白蛋白纳米粒药物组合物或包含白蛋白纳米粒药物组合物的药物制剂的用途。本发明所述的用途包括使用适量的至少一种相对分子量为145-175的氨基酸或其盐抑制白蛋白纳米粒药物组合物或包含其的药物制剂在储存期间的白蛋白二聚体和/或多聚体的生成。所述氨基酸特别是指选自精氨酸、组氨酸和赖氨酸中的一种或多种,优选精氨酸和/或组氨酸,更优选精氨酸。

[0039] 本发明的另一个目的在于提供相对分子量为145-175的氨基酸或其盐在制备减少受试者不良反应的白蛋白纳米粒药物组合物中的用途,所述白蛋白纳米粒药物组合物包含紫杉烷类化合物,并且所述药物组合物含有不小于总白蛋白含量约80%的白蛋白单体,和/或不大于总白蛋白含量约10%的白蛋白二聚体,和/或不大于总白蛋白含量约6%的白蛋白多聚体。

[0040] 本发明上述用途可以提高白蛋白纳米粒的化学稳定性,从而根本上解决白蛋白纳米粒的理化不稳定性,减少杂质种类和含量,降低体内外毒性,提高患者安全性。

[0041] 本发明的白蛋白纳米粒组合物或制剂,以及根据所述制备方法制备得到的白蛋白纳米粒组合物,可以减少包括例如疹子、荨麻疹、过敏反应和免疫应答中的一种或多种不良反应。

## 具体实施方式

[0042] 在本发明中,下列术语具有如下定义:

- [0043] 本文所述的“约”是指在该词所修饰的数字的 $\pm 10\%$ 范围内,优选在 $\pm 5\%$ 范围内。
- [0044] 本文中所述的“含量”是指重量百分含量。
- [0045] 本文所述的“相对分子量”是指分子相对于碳原子的1/12的质量,单位是1。
- [0046] 本文所述的“相对分子量为145-175的氨基酸”是指相对分子量在145-175范围内的天然氨基酸,所述氨基酸具体包括赖氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甲硫氨酸、组氨酸、苯丙氨酸、精氨酸;所述氨基酸优选为碱性的氨基酸,例如赖氨酸、组氨酸和精氨酸;最优选为精氨酸。
- [0047] 本文中所述的“常温”是指20-38°C的温度。
- [0048] 本文所述的“RRT”是指在尺寸排阻HPLC色谱中相对于白蛋白单体保留的保留时间。
- [0049] 本文所述的“白蛋白单体”是指无分子间二硫键的单个白蛋白分子。
- [0050] 本文所述的“白蛋白二聚体”是指在尺寸排阻HPLC色谱中相对于白蛋白单体保留的保留时间RRT为约0.86至约0.97的白蛋白种类。
- [0051] 本文或本发明所述的“白蛋白多聚体”是指除白蛋白单体和二聚体外所有白蛋白种类的总和,在尺寸排阻HPLC色谱中相对于白蛋白单体保留的保留时间RRT为约0.50至约0.85的白蛋白种类。
- [0052] 本文中所述的“紫杉烷类”或“紫杉烷类化合物”包括抑制微管蛋白解聚的任何二萜化合物,包括天然产生的或人工合成的、结晶和/或非结晶的那些化合物,实例包括但不限于紫杉醇、多西他赛和卡巴他赛及它们的类似物、衍生物和前药形式。所述类似物和/或衍生物可以包括紫杉醇、多西他赛和卡巴他赛的醇、醚、酯、胺、盐、酰胺、卤化物、硫化物或其中的两种或更多种的混合物。
- [0053] 针对白蛋白纳米粒因包埋药物后其白蛋白空间结构发生变化,本发明人惊人地发现,相对分子量为145-175的氨基酸(特别是所述氨基酸选自精氨酸、组氨酸和赖氨酸中的一种或多种,优选精氨酸和/或组氨酸,更优选精氨酸)或其盐的加入能够有效抑制白蛋白纳米粒药物组合物在储存期间的白蛋白二聚体和多聚体含量的增长,而在组合物中加入其他氨基酸如甘氨酸、天冬氨酸等,并未达到本发明所述氨基酸及其盐抑制白蛋白纳米粒药物组合物在储存期间的白蛋白二聚体和多聚体含量的效果。进一步地,本发明所述氨基酸或其盐的加入还能够有效抑制白蛋白药物组合物在储存期间的白蛋白单体的降解。
- [0054] 本发明人还意外发现,所述氨基酸的加入可使得包含紫杉烷类化合物的白蛋白纳米粒药物组合物含有不小于总白蛋白含量约80%的白蛋白单体,和/或不大于总白蛋白含量约10%的白蛋白二聚体,和/或不大于总白蛋白含量约6%的白蛋白多聚体。例如,所述氨基酸特别是精氨酸或其盐的加入可使得包含紫杉醇的白蛋白纳米粒药物组合物中在常温(例如25°C)下储存24个月之后白蛋白单体含量保持在总白蛋白含量的80%以上,白蛋白二聚体含量保持在总白蛋白含量的8%以下,白蛋白多聚体含量保持在总白蛋白含量的5%以下。相对分子量为145-175的氨基酸特别是精氨酸或其盐的加入可使得包含多西他赛的白蛋白纳米粒药物组合物在常温(例如25°C)下储存24个月之后白蛋白单体含量保持在总白蛋白含量的85%以上,白蛋白二聚体含量保持在总白蛋白含量的5%以下,白蛋白多聚体含量保持在总白蛋白含量的5%以下。
- [0055] 基于上述发现,本发明提供了一种白蛋白纳米粒药物组合物,所述药物组合物包

含紫杉烷类化合物、白蛋白和作为稳定剂的至少一种相对分子量为145-175的氨基酸(特别是所述氨基酸选自精氨酸、组氨酸和赖氨酸中的一种或多种,优选精氨酸和/或组氨酸,更优选精氨酸)或其盐,其中所述药物组合物含有不小于总白蛋白含量约80%的白蛋白单体,和/或不大于总白蛋白含量约10%的白蛋白二聚体,和/或不大于总白蛋白含量约6%的白蛋白多聚体。

[0056] 在一些实施方式中,本发明的白蛋白纳米粒药物组合物含有不小于总白蛋白含量约80%、或约85%、或约87%、或约90%、或约92%、或约93%或更高的白蛋白单体。

[0057] 在一些实施方式中,本发明的白蛋白纳米粒药物组合物含有不大于总白蛋白含量约10%、约8%、或约6%、或约5%或更低的白蛋白二聚体。

[0058] 在一些实施方式中,本发明的白蛋白纳米粒药物组合物含有不大于总白蛋白含量约6%、或约4%、或约2%或更低的白蛋白多聚体。

[0059] 在一些实施方式中,本发明的白蛋白纳米粒药物组合物含有不小于总白蛋白含量约80%的白蛋白单体,和/或不大于总白蛋白含量约9%的白蛋白二聚体,和/或不大于总白蛋白含量约6%的白蛋白多聚体。

[0060] 在一些实施方式中,本发明的白蛋白纳米粒药物组合物含有不小于总白蛋白含量约83%的白蛋白单体,和/或不大于总白蛋白含量约8%的白蛋白二聚体,和/或不大于总白蛋白含量约5%的白蛋白多聚体。

[0061] 在一些实施方式中,本发明的白蛋白纳米粒药物组合物含有不小于总白蛋白含量约85%的白蛋白单体,和/或不大于总白蛋白含量约5%的白蛋白二聚体,和/或不大于总白蛋白含量约5%的白蛋白多聚体。

[0062] 在一些实施方式中,本发明的白蛋白纳米粒药物组合物含有不小于总白蛋白含量约88%的白蛋白单体,和/或不大于总白蛋白含量约6%的白蛋白二聚体,和/或不大于总白蛋白含量约3%的白蛋白多聚体。

[0063] 在一些实施方式中,本发明的白蛋白纳米粒药物组合物含有不小于总白蛋白含量约90%的白蛋白单体,和/或不大于总白蛋白含量约5%的白蛋白二聚体,和/或不大于总白蛋白含量约2%的白蛋白多聚体。

[0064] 本发明所用的氨基酸选自精氨酸、组氨酸和赖氨酸中的一种或多种,优选精氨酸和/或组氨酸,更优选精氨酸。

[0065] 本发明所述氨基酸的盐也可以达到与所述氨基酸相同或相似的效果。可用的所述氨基酸的盐包括无机酸盐和有机酸盐,例如但不限于盐酸盐、硫酸盐、硝酸盐等,以及羧酸盐(例如甲酸盐、乙酸盐)、磺酸盐等。本发明所述氨基酸的盐的实例包括但不限于精氨酸盐酸盐、精氨酸硝酸盐、组氨酸盐酸盐、组氨酸硫酸盐、组氨酸乙酸盐、赖氨酸磺酸盐、赖氨酸硫酸盐等。在本发明中,所述氨基酸的盐的量是经折算后按所述氨基酸的量来表示的。

[0066] 用于本发明的紫杉烷类化合物可以选自紫杉醇、多西他赛、卡巴他赛及其衍生物中的一种或多种。

[0067] 用于本发明的白蛋白可以选自重组白蛋白、动物血清白蛋白和人血白蛋白中的一种或多种,优选人血白蛋白。

[0068] 在一些实施方式中,用于本发明的人血白蛋白可以含有诸如辛酸钠和/或乙酰色氨酸盐等稳定剂。在另一些实施方式中,用于本发明的人血白蛋白可以基本上不含诸如辛

酸钠和/或乙酰色氨酸盐等稳定剂。

[0069] 用于本发明的白蛋白的来源不受限制,并且无需对白蛋白进行任何修饰或改进。

[0070] 在一些实施方式中,除所述氨基酸外,本发明的白蛋白纳米粒药物组合中可以加入其他稳定剂,例如辛酸钠和/或乙酰色氨酸盐。

[0071] 在一些实施方式中,在本发明的白蛋白纳米粒药物组合中,所述氨基酸或其盐作为唯一的稳定剂。

[0072] 在一些实施方式中,本发明的白蛋白纳米粒药物组合中基本上不含冻干保护剂。

[0073] 在一些实施方式中,本发明的白蛋白纳米粒药物组合中的所述氨基酸或其盐与白蛋白的重量比可以为0.1:1~10:1,或0.15:1~8:1,或0.2:1~5:1,或0.25:1~4:1,或0.3:1~3:1,或0.4:1~2:1,或0.5:1~1:1。

[0074] 在一些实施方式中,本发明的白蛋白纳米粒药物组合中的相对分子量为145-175的氨基酸或其盐与紫杉烷类化合物的重量比可以为不大于80:1,或2:1~60:1,或3:1~50:1,或3:1~20:1,或3:1~15:1等。在一些实施方式中,本发明的白蛋白纳米粒药物组合中的所述氨基酸或其盐与紫杉烷类化合物的重量比可以在3:1~20:1的范围内,例如如约4.5:1、约7.5:1、约11.25:1等。

[0075] 在包含多西他赛的本发明白蛋白纳米粒药物组合的一些实施方式中,所述氨基酸(例如精氨酸)或其盐与多西他赛的重量比可以为2:1~50:1,或3:1~30:1,或3:1~20:1,或4:1~25:1,或4:1~20:1,或5:1~20:1,或8:1~20:1,或10:1~15:1等,例如为约11.25:1。

[0076] 在包含紫杉醇的本发明白蛋白纳米粒药物组合的一些实施方式中,所述氨基酸(例如精氨酸或组氨酸)或其盐与紫杉醇的重量比可以为2:1~50:1,或2:1~30:1,或3:1~20:1,或3:1~15:1,或3:1~10:1等,例如为约4.5:1。

[0077] 在包含卡巴他赛的本发明白蛋白纳米粒药物组合的一些实施方式中,所述氨基酸或其盐(例如精氨酸盐酸盐)与卡巴他赛的重量比可以为1:1~50:1,或2:1~30:1,或3:1~25:1,或4:1~20:1,或5:1~15:1等,例如为约7.5:1。

[0078] 在一些实施方式中,本发明的白蛋白纳米粒药物组合中的所述氨基酸或其盐与白蛋白的重量比可以为0.1:1~10:1,或0.15:1~8:1,或0.2:1~5:1,或0.25:1~4:1,或0.3:1~3:1,或0.4:1~2:1,或0.5:1~1:1,所述氨基酸或其盐与紫杉烷类化合物的重量比可以为不大于80:1,例如为2:1~60:1,或3:1~50:1,或3:1~20:1,或4:1~15:1等,例如为约4.5:1,或约7.5:1,或约11.25:1等。

[0079] 在一些实施方式中,本发明的白蛋白纳米粒药物组合包含紫杉醇、人血白蛋白和精氨酸和/或组氨酸,其中精氨酸和/或组氨酸与人血白蛋白的重量比为0.2:1~5:1,优选0.3:1~3:1,精氨酸和/或组氨酸与紫杉醇的重量比为约3:1~20:1,优选3:1~10:1。

[0080] 在一些实施方式中,本发明的白蛋白纳米粒药物组合包含多西他赛、人血白蛋白和精氨酸,其中精氨酸与人血白蛋白的重量比为0.2:1~5:1,优选0.3:1~3:1,精氨酸与多西他赛的重量比为约3:1~20:1,优选5:1~20:1。

[0081] 在一些实施方式中,本发明的白蛋白纳米粒药物组合包含卡巴他赛、人血白蛋白和精氨酸盐酸盐,其中精氨酸盐酸盐(以精氨酸的重量计)与人血白蛋白的重量比为0.2:

1~5:1, 优选0.3:1~3:1, 精氨酸盐酸盐 (以精氨酸的重量计) 与卡巴他赛的重量比为约3:1~20:1, 优选5:1~15:1。

[0082] 本发明的白蛋白纳米粒药物组合物的纳米粒具有不大于200nm的平均粒径。在一些实施方案中, 本发明的白蛋白纳米粒药物组合物的纳米粒具有不大于160nm的平均粒径。在一些实施方案中, 本发明的白蛋白纳米粒药物组合物的纳米粒具有不大于130nm的平均粒径。在一些实施方案中, 本发明的白蛋白纳米粒药物组合物的纳米粒具有不大于110nm的平均粒径。在一些实施方式中, 本发明的白蛋白纳米粒药物组合物的纳米粒具有例如约95nm、约100nm、约110nm、约120nm的平均粒径。

[0083] 本发明的白蛋白纳米粒组合物包括上述特征中的一个或多个。

[0084] 本发明的一个目的在于提供一种稳定白蛋白纳米粒的方法, 该方法包括使用适量的至少一种相对分子量为145-175的氨基酸 (特别是所述氨基酸选自精氨酸、组氨酸和赖氨酸中的一种或多种, 优选精氨酸和/或组氨酸, 更优选精氨酸) 或其盐, 从而减少白蛋白二聚体和/或多聚体或抑制它们的生成/增长。本发明所述的方法, 包括使用所述氨基酸或其盐, 减少白蛋白二聚体和/或多聚体的生成, 提高白蛋白纳米粒的化学稳定性, 从而根本上解决白蛋白纳米粒的理化不稳定性, 减少杂质种类和含量, 降低体内外毒性, 提高患者应用性。

[0085] 本发明的方法可以采用高压均质乳化法等, 包括在高剪切力条件下制备包含药物和白蛋白载体的白蛋白纳米粒的过程中加入适量的本发明所述氨基酸或其盐。

[0086] 本发明特别提供了一种制备白蛋白纳米粒药物组合物的方法, 包括将紫杉烷类化合物分散于有机溶剂中制备得到有机相, 将白蛋白分散于水性溶剂中得到水相, 将有机相和水相在高剪切力下分散混合制得纳米粒溶液, 在上述过程中加入本发明所述氨基酸的溶液, 过滤除菌并任选地冷冻干燥, 得到白蛋白纳米粒组合物或其冻干制剂。

[0087] 本发明特别提供了一种制备方法, 其中包括如下步骤: 将紫杉烷类化合物溶解于适当的有机溶剂中, 得到紫杉烷类化合物溶液; 将白蛋白溶解或稀释到水性溶剂中, 得到白蛋白水性溶液; 用水 (优选注射用水) 制备至少一种相对分子量为145-175的氨基酸 (特别是所述氨基酸选自精氨酸、组氨酸和赖氨酸中的一种或多种, 优选精氨酸和/或组氨酸, 更优选精氨酸) 或其盐的水溶液; 将紫杉烷类化合物溶液、白蛋白水性溶液、所述氨基酸或其盐的水溶液在高剪切力下分散混合, 然后超滤, 过滤除菌, 任选地冷冻干燥。

[0088] 在一些实施方式中, 提供了一种制备本发明的白蛋白纳米粒药物组合物的方法, 所述方法包括如下步骤:

[0089] 将紫杉烷类化合物溶解于适当的有机溶剂 (例如乙醇) 中, 得到紫杉烷类化合物溶液; 将白蛋白溶解或稀释到水性溶剂 (例如水) 中, 然后孵育, 例如在55-75℃的水浴中孵育3-15min, 得到白蛋白水性溶液 (例如水溶液); 利用酸和/或碱 (如盐酸和/或氢氧化钠) 作为pH调节剂, 制备本发明所述氨基酸或其盐的水溶液 (例如, pH 6.5-7.5的水溶液); 将紫杉烷类化合物溶液、白蛋白水性溶液、所述氨基酸或其盐的水溶液在高剪切力下 (例如1000-8000转/分钟) 均匀分散混合然后超滤, 得到白蛋白纳米粒浓溶液, 过滤除菌, 任选地冷冻干燥。

[0090] 在上述过程中, 所述氨基酸或其盐与白蛋白的重量比为0.1:1~10:1。

[0091] 在上述制备方法中, 所用的水均优选为注射用水。

[0092] 本领域技术人员可以以不同顺序实施上述步骤来制备本发明的白蛋白纳米粒药

物组合物。例如,可以先分别制备本发明所述氨基酸或其盐的水溶液、紫杉烷类化合物溶液、白蛋白水性溶液,将所述氨基酸或其盐的水溶液、白蛋白水性溶液、紫杉烷类化合物溶液在高剪切力下混合,超滤,过滤除菌,冷冻干燥。

[0093] 采用本发明的制备方法在冷冻干燥之前不需要加入冻干保护剂,例如海藻糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖、甘氨酸中的一种或多种。

[0094] 采用本发明的制备方法将所述氨基酸或其盐加入到白蛋白纳米粒药物组合物中,以得到在抑制白蛋白二聚体和多聚体含量增长及白蛋白单体降解方面效果令人满意的白蛋白纳米粒药物组合物。

[0095] 在另一方面,本发明提供了一种药物制剂,所述药物制剂包含本发明的白蛋白纳米粒药物组合物。

[0096] 在一些实施方式中,本发明的药物制剂还可以包括第二活性化合物/第二治疗剂。可用于本发明的第二活性化合物/第二治疗剂可以包括但不限于萘环类药物(如表柔比星)、核苷类化合物(如吉西他滨)等。

[0097] 在一些实施方式中,本发明的药物制剂还包含一种或多种药学上可接受的载体和/或辅料。

[0098] 在一些实施方式中,用于本发明的药学上可接受的载体和/或辅料包括无菌水、盐水、葡萄糖、油(如玉米油;花生油、芝麻油及类似物)、酸、低级烷醇(二醇;聚亚烷基二醇)。在另一些实施方式中,用于本发明的药学上可接受的载体和/或辅料还可包括防腐剂、润湿剂、乳化剂、渗透促进剂及类似物。

[0099] 例如,在一些实施方式中,本发明的组合物/药物制剂还可以包括抗微生物剂(如螯合剂,包括但不限于EDTA、依地酸盐(酯)、柠檬酸盐(酯)、喷替酸盐(酯)、缓血酸胺、山梨酸盐(酯)、抗坏血酸盐(酯)、其衍生物或其混合物;如非螯合剂,包括但不限于亚硫酸盐(酯)、苯甲酸、苄醇、氯丁醇和对羟基苯甲酸酯中的任意一种或多种)、糖(如蔗糖等)、其他重构促进剂(如美国专利申请公开号2005/0152979中描述的那些,其全部内容被引入本文作为参考)、负电荷组分(例如胆汁盐、胆汁酸、甘氨酸、胆酸、鹅脱氧胆酸、牛磺胆酸、甘氨酸、牛磺鹅脱氧胆酸、石胆酸、熊脱氧胆酸、脱氢胆酸、磷脂)。

[0100] 在一些实施方式中,本发明的药物制剂为冻干粉针剂。可采用本领域中公知的制备方法将本发明的纳米粒药物组合物制备成冻干粉针剂。

[0101] 本发明的白蛋白纳米粒药物组合物可用于治疗癌症,包括但不限于前列腺癌、结肠癌、乳腺癌(如转移性乳腺癌)、头颈癌、胰腺癌(如转移性胰腺癌或局部晚期不可切除型胰腺癌)、肺癌(如非小细胞性肺癌)、卵巢癌、多发性骨髓瘤、肾细胞癌、黑素瘤(如转移性黑素瘤)、肝癌、胃癌和肾癌中的一种或多种。

[0102] 本发明的白蛋白纳米粒药物组合物的给药剂量可随具体紫杉烷类化合物、给药方法和被治疗的癌症的具体类型而变化。该剂量足以产生期望的有益效果。组合物可以配制用于单一剂量施用或多重剂量施用。

[0103] 本发明的白蛋白纳米粒药物组合物或药物制剂可以通过本领域技术人员已知的任何途径施用,包括肌内、静脉内、真皮内、病灶内、腹膜内注射或任何其他适合的途径。施用可以是局部、表面或者全身的,取决于治疗部位。在任何给定情况下的最合适途径取决于多种因素,例如疾病的性质、疾病的进程、疾病的严重性等。在一些实施方式中,本发明的药

物组合物或药物制剂通过静脉内注射给药。

[0104] 在一些实施方式中,本发明的纳米粒药物组合物或药物制剂还可以与第二活性化合物/第二治疗剂一起施用。在一些实施方式中,本发明的纳米粒药物组合物或药物制剂可以与第二活性化合物/第二治疗剂同时、相继或并行施用。在分别施用时,本发明的纳米粒药物组合物或药物制剂和第二活性化合物或第二治疗剂可以以不同的用药频率或间隔施用。

[0105] 可用于本发明的第二活性化合物/第二治疗剂可以包括但不限于蒽环类药物(如表柔比星)、核苷类化合物(如吉西他滨)等。

[0106] 在另一方面,本发明提供了本发明的白蛋白纳米粒药物组合物或药物制剂在制备用于细胞增殖或过度增殖相关的疾病(例如癌症)的药物中的用途。

[0107] 在一些实施方式中,所述癌症包括但不限于前列腺癌、结肠癌、乳腺癌(如转移性乳腺癌)、头颈癌、胰腺癌(如转移性胰腺癌或局部晚期不可切除型胰腺癌)、肺癌(如非小细胞性肺癌)、卵巢癌、多发性骨髓瘤、肾细胞癌、黑色素瘤(如转移性黑色素瘤)、肝癌、胃癌和肾癌中的一种或多种。

[0108] 在一些实施方式中,所述药物为冻干粉针剂。冻干粉针剂可以重构作为溶液、乳状液或悬浮液等施用,还可以配制为胶体。

[0109] 在另一方面,本发明提供了相对分子量为145-175的氨基酸(特别是所述氨基酸选自精氨酸、组氨酸和赖氨酸中的一种或多种,优选精氨酸和/或组氨酸,更优选精氨酸)或其盐在抑制包含紫杉烷类化合物的白蛋白纳米粒药物组合物(特别是本发明所述的白蛋白纳米粒药物组合物)在储存期间的白蛋白二聚体和/或多聚体含量中的用途。在一些实施方式中,所述相对分子量为145-175的氨基酸或其盐与药物组合物中白蛋白的重量比为0.1:1~10:1,优选为0.2:1~5:1。

[0110] 在一些实施方式中,所述储存期间可以是在常温(例如25°)下储存24个月。

[0111] 与不加入本发明所述氨基酸或其盐的组合物相比,加入所述氨基酸或其盐的紫杉烷类白蛋白纳米粒组合物具有明显改善的白蛋白特征及减少的白蛋白聚合率。这种减少比率可以例如在常温(例如25°C)长期存储条件下或者在升高的温度(例如60°C)加速条件下评估。

[0112] 在一些实施方式中,本发明所述氨基酸例如精氨酸或其盐的加入可使在常温(例如25°C)下储存24个月的白蛋白纳米粒药物组合物(例如含紫杉醇的白蛋白纳米粒药物组合物)中的白蛋白二聚体和多聚体含量分别控制在不大于总白蛋白含量的约8%和约5%,并使白蛋白单体含量保持不小于总白蛋白含量的83%。

[0113] 在一些实施方式中,本发明所述氨基酸例如精氨酸或其盐的加入可使在常温(例如25°C)下储存24个月的白蛋白纳米粒药物组合物(例如含多西他赛的白蛋白纳米粒药物组合物)中的白蛋白二聚体和多聚体含量均控制在不大于总白蛋白含量的约5%,并使白蛋白单体含量保持不小于总白蛋白含量的85%。

[0114] 在一些实施方式中,本发明所述氨基酸例如组氨酸或其盐的加入可使在升高的温度(例如60°C)下储存10天的白蛋白纳米粒药物组合物(例如含紫杉醇的白蛋白纳米粒药物组合物)中的白蛋白二聚体和多聚体含量分别控制在不大于总白蛋白含量的约9%和约6%,并使白蛋白单体含量保持不小于总白蛋白含量的80%。

[0115] 在一些实施方式中,本发明所述氨基酸例如精氨酸或其盐的加入可使在升高的温度(例如60℃)下储存10天的白蛋白纳米粒药物组合物(例如含紫杉醇的白蛋白纳米粒药物组合物)中的白蛋白二聚体和多聚体含量分别控制在不大于总白蛋白含量的约6%和约3%,并使白蛋白单体含量保持不小于总白蛋白含量的88%。

[0116] 在一些实施方式中,本发明所述氨基酸例如精氨酸或其盐的加入可使在升高的温度(例如60℃)下储存10天的白蛋白纳米粒药物组合物(例如含卡巴他赛的白蛋白纳米粒药物组合物)中的白蛋白二聚体和多聚体含量分别控制在不大于总白蛋白含量的约5%和约2%,并使白蛋白单体含量保持不小于总白蛋白含量的90%。

[0117] 在另一方面,本发明提供了相对分子量为145-175的氨基酸(特别是所述氨基酸选自精氨酸、组氨酸和赖氨酸中的一种或多种,优选精氨酸和/或组氨酸,更优选精氨酸)或其盐在制备减少受试者不良反应的白蛋白纳米粒药物组合物中的用途,所述白蛋白纳米粒药物组合物包含紫杉烷类化合物,并且所述药物组合物含有不小于总白蛋白含量约80%的白蛋白单体,和/或不大于总白蛋白含量约10%的白蛋白二聚体,和/或不大于总白蛋白含量约6%的白蛋白多聚体。

[0118] 在一些实施方式中,本发明所述氨基酸或其盐作为白蛋白纳米粒药物组合物中的稳定剂,进一步地,作为唯一稳定剂。

[0119] 本发明的有益效果在于:

[0120] 1.通过在白蛋白药物组合物中加入相对分子量为145-175的氨基酸(特别是所述氨基酸选自精氨酸、组氨酸和赖氨酸中的一种或多种,优选精氨酸和/或组氨酸,更优选精氨酸)或其盐,有效抑制白蛋白药物组合物在储存期间的白蛋白单体的降解,有效抑制该组合物在储存期间的白蛋白二聚体和多聚体含量的增长,有效减少临床应用中的不良反应,如疹子、荨麻疹、过敏反应和可能的免疫应答,进一步保障临床用药安全性。

[0121] 2.不需要加入额外的稳定剂,也不需要限制药物组合物中白蛋白的来源或对白蛋白进行任何修饰或改进,原料来源广泛和制备方法简单。

[0122] 下面给出实施例以对本发明作进一步说明。有必要在此指出的是以下实施例不能理解为对本发明保护范围的限制,如果该领域的技术人员根据上述本发明内容对本发明作出一些非本质的改进和调整,仍落在本发明的保护范围内。

[0123] 实施例中所使用的Abraxane是购买于Celgene公司的紫杉醇白蛋白纳米粒制剂。所述的多西他赛、紫杉醇和卡巴他赛为原料药,可商购获得或采用本领域技术人员公知的方法制备得到。

[0124] 实施例1使用精氨酸制备多西他赛白蛋白纳米粒组合物

[0125] 称取9g精氨酸,然后加适量注射用水后用盐酸和/或NaOH调节pH值至6.8,定容至30ml得到精氨酸溶液。然后将0.8g的多西他赛加入100ml的烧杯中,加入20ml的乙醇,超声溶解后得到含多西他赛的有机相。用注射用水溶解人血白蛋白配制成4mg/ml溶液,在63℃的水浴中孵育10min,得到含人血白蛋白的水相。将上述含多西他赛的有机相在6,000转/分钟(rpm)的高速剪切下均匀分散在含人血白蛋白的水相中,并转移到超滤浓缩装置,超滤至多西他赛的浓度为5mg/ml得到多西他赛纳米粒溶液。将配制好的精氨酸溶液加入到多西他赛纳米粒溶液中并搅拌均匀得到含精氨酸的多西他赛纳米粒溶液,测定含精氨酸的多西他赛纳米粒溶液的平均粒径为153nm(Malvern Nano-ZS90纳米粒度仪)。将制备好的含精氨酸

的多西他赛纳米粒溶液通过0.22 $\mu$ m的无菌滤头过滤除菌,冷冻干燥48h去除乙醇和注射用水,得到粉末状的多西他赛白蛋白纳米粒组合物。

[0126] 实施例2使用精氨酸制备紫杉醇白蛋白纳米粒组合物

[0127] 称取4.5g精氨酸,然后加适量注射用水后用盐酸和/或NaOH调节pH值至7.0,定容至15ml得到精氨酸溶液。将1g紫杉醇置于100ml的烧杯中,加入25ml的乙醇,超声溶解后得到含紫杉醇的有机相。用注射用水溶解9g人血白蛋白配制成6mg/ml溶液,在65 $^{\circ}$ C的水浴中孵育10min后,得到含人血白蛋白的水相。将含紫杉醇的有机相在3,000转/分钟(rpm)的高速剪切下均匀分散在含人血白蛋白的水相中,并转移到超滤浓缩装置中,超滤至紫杉醇的浓度为6mg/ml得到紫杉醇纳米粒溶液。将配制好的精氨酸溶液加入到紫杉醇纳米粒溶液中并搅拌均匀得到含精氨酸的紫杉醇纳米粒溶液,测定含精氨酸的紫杉醇纳米粒溶液的平均粒径为123nm(Malvern Nano-ZS90纳米粒度仪)。将制备好的含精氨酸的紫杉醇纳米粒溶液通过0.22 $\mu$ m的无菌滤头过滤除菌,冷冻干燥48h去除乙醇和注射用水,得到粉末状的紫杉醇白蛋白纳米粒组合物。

[0128] 实施例3使用组氨酸制备紫杉醇白蛋白纳米粒组合物

[0129] 采用与实施例2相似的方法制备实施例3的紫杉醇白蛋白纳米粒组合物,不同的是,使用组氨酸作为稳定剂替代精氨酸。

[0130] 实施例4使用盐酸精氨酸制备卡巴他赛白蛋白纳米粒组合物

[0131] 称取以精氨酸重量计的4.5g盐酸精氨酸,然后加适量注射用水后用盐酸和/或NaOH调节pH值至6.8,最后定容至10ml得到精氨酸溶液。将0.6g的卡巴他赛加入100ml的烧杯中,加入20ml的乙醇,超声溶解后得到含卡巴他赛的有机相。用注射用水溶解人血白蛋白配制成4mg/ml溶液,在63 $^{\circ}$ C的水浴中孵育5min后,得到含人血白蛋白的水相。将上述配制好的盐酸精氨酸溶液加入到人血白蛋白的水相中得到加入了盐酸精氨酸的含人血白蛋白的水相。将含卡巴他赛的有机相在3,000转/分钟(rpm)的高速剪切下均匀分散至上述加入了盐酸精氨酸的含人血白蛋白水相中,并转移到超滤浓缩装置,超滤至卡巴他赛的浓度为5mg/ml,得到含盐酸精氨酸的卡巴他赛纳米粒溶液。测定含盐酸精氨酸的卡巴他赛纳米粒溶液的平均粒径为106nm(Malvern Nano-ZS90纳米粒度仪)。将制备好的含盐酸精氨酸的卡巴他赛纳米粒溶液通过0.22 $\mu$ m的无菌滤头过滤除菌,冷冻干燥48h去除乙醇和注射用水,得到粉末状的卡巴他赛白蛋白纳米粒组合物。

[0132] 对比例1制备不含精氨酸的多西他赛白蛋白纳米粒组合物

[0133] 采用实施例1相似的方法制备多西他赛白蛋白纳米粒组合物,不同的是,不加入精氨酸溶液。

[0134] 对比例2制备不含精氨酸的紫杉醇白蛋白纳米粒组合物

[0135] 采用与实施例2相似的方法制备紫杉醇白蛋白纳米粒组合物,不同的是,不加入精氨酸溶液。

[0136] 对比例3使用甘氨酸制备紫杉醇白蛋白纳米粒组合物

[0137] 采用与实施例2相似的方法制备紫杉醇白蛋白纳米粒组合物,不同的是,使用甘氨酸替代精氨酸。

[0138] 对比例4使用天冬氨酸制备紫杉醇白蛋白纳米粒组合物

[0139] 采用与实施例2相似的方法制备紫杉醇白蛋白纳米粒组合物,不同的是,使用天冬

氨酸替代精氨酸。

[0140] 对比例5制备不含盐酸精氨酸的卡巴他赛白蛋白纳米粒组合物

[0141] 采用实施例4相似的方法制备卡巴他赛白蛋白纳米粒组合物,不同的是,不加入盐酸精氨酸溶液。

[0142] 对比例6制备以辛酸钠作为稳定剂的卡巴他赛白蛋白纳米粒组合物

[0143] 采用实施例4相似的方法制备卡巴他赛白蛋白纳米粒组合物,不同的是,使用辛酸钠替代精氨酸。

[0144] 对比例7制备以辛酸钠和乙酰色氨酸作为稳定剂的卡巴他赛白蛋白纳米粒组合物

[0145] 采用实施例4相似的方法制备卡巴他赛白蛋白纳米粒组合物,不同的是,使用辛酸钠和乙酰色氨酸(1:1)替代精氨酸。

[0146] 试验例1

[0147] 考察根据实施例1和对比例1所述的方法制备得到的多西他赛白蛋白纳米粒组合物在25℃下储存24个月的长期稳定性研究中白蛋白的二聚体和多聚体的增长趋势以及白蛋白单体的降解趋势。采用尺寸排阻色谱法分析纳米粒组合物中的白蛋白单体、二聚体和多聚体含量。

[0148] 尺寸排阻HPLC的条件:

[0149] 色谱条件与系统适用性试验:用亲水硅胶体积排阻色谱柱(色谱柱为TOSOH TSK gel G3000SWx1,300×7.8mm 5μm;保护柱TOSOH TSK gel G3000SWx1,40×6.0mm 7μm)。以含1%异丙醇的pH7.0的0.2mol/L磷酸盐缓冲液(量取0.5mol/L磷酸二氢钠200ml、0.5mol/L磷酸氢二钠420ml、异丙醇15.5ml及水914.5ml,混匀即得)为流动相;检测液长为280nm;流速为0.6ml/min;柱温为30℃。

[0150] 测定方法:取人血白蛋白对照品适量,分别用水稀释制成每1ml约含6.4mg、3.2mg、1.6mg白蛋白的溶液作为对照品溶液。量取对照品溶液各20μl,分别注入HPLC液相色谱仪,记录色谱图,以对照品溶液的浓度与峰面积计算线性回归方程。

[0151] 将供试品实施例1得到的组合物和对比例1得到的组合物各取80mg置25ml量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,配成白蛋白约3mg/ml的溶液。量取供试品溶液各20μl,注入HPLC液相色谱仪,记录色谱图,根据回归方程计算供试品中人血白蛋白的单体、二聚体和多聚体的含量。

[0152] 计算方式:

[0153] 白蛋白二聚体含量是指HPLC色谱中保留时间RRT为约0.86至约0.97的峰面积占整个峰面积的百分比。

[0154] 白蛋白多聚体含量是指尺寸排阻HPLC色谱中保留时间RRT为约0.50至约0.85的峰面积占整个峰面积的百分比值除以2。

[0155] 白蛋白单体含量采用以下公式计算得到:

[0156] 白蛋白单体% = 1 - 2 × 白蛋白多聚体% - 白蛋白二聚体%。

[0157] 测试结果见表1。

[0158] 表1实施例1的含精氨酸的组合物与对比例1的不含精氨酸的组合物在25℃长期稳定性研究中的白蛋白单体、二聚体和多聚体的含量

[0159]	组合物 25℃	实施例 1			对比例 1		
		单体	二聚体	多聚体	单体	二聚体	多聚体
	0 天	91.2%	2.0%	3.4%	90.0%	2.8%	3.6%
	24 月	86.4%	4.6%	4.5%	71.2%	17.2%	5.8%

[0160] 表1的结果表明：在25℃长期稳定性考察中，实施例1加入精氨酸后的多西他赛白蛋白纳米粒组合物中白蛋白单体含量能长期保持在85%以上，二聚体含量长期保持不大于5%，白蛋白多聚体含量长期保持不大于5%。而不加精氨酸的组合物(对比例1)中的白蛋白单体含量仅保持在70%左右，白蛋白多聚体和二聚体含量则明显超过5%。

[0161] 很明显，加入本发明所述氨基酸特别是精氨酸后，能显著降低多西他赛白蛋白纳米粒组合物中白蛋白二聚体和多聚体的含量，并可有效稳定白蛋白单体，保障白蛋白单体基本不降解，确保临床应用安全性。

[0162] 测试例2

[0163] 采用与测试例1相同的方法测定根据实施例2和对比例2制备得到的紫杉醇白蛋白纳米粒组合物与Abraxane在25℃下储存直至24个月的长期稳定性研究中白蛋白单体、二聚体和多聚体的含量。实施例2为含精氨酸的紫杉醇白蛋白纳米粒组合物，对比例2为不含精氨酸的紫杉醇白蛋白纳米粒组合物，商购Abraxane样品的制备方法与实施例2和对比例2的组合物的测试样品的制备方法相同。测试结果如表2所示。

[0164] 表2实施例2的组合物与对比例2的组合物在25℃长期稳定性研究中的白蛋白单体、二聚体和多聚体的含量

[0165]	组合物 条件	实施例 2			对比例 2			
		单体	二聚体	多聚体	单体	二聚体	多聚体	
[0166]	25℃	0 天	92.0%	4.3%	1.8%	91.0%	4.6%	2.2%
		6 月	88.7%	4.5%	3.4%	78.0%	16.2%	5.8%
		12 月	86.4%	5.8%	3.9%	64.0%	17.8%	9.1%
		24 月	84.0%	7.4%	4.3%	58.2%	20.9%	11.5%

[0167] 另外，市售来源的Abraxane在上述条件下储存24个月后，白蛋白单体、二聚体和多聚体含量分别为：72.6%、15.2%、6.1%。

[0168] 表2的结果表明：在25℃长期稳定性考察中，加入精氨酸后的紫杉醇白蛋白纳米粒组合物中白蛋白单体含量能长期保持在80%以上，二聚体含量能长期保持不大于总白蛋白含量的8%，白蛋白多聚体含量能长期保持不大于总白蛋白含量的5%。而Abraxane和不加精氨酸的组合物(对比例2)中的白蛋白多聚体和二聚体含量则显著超过5%，Abraxane中白蛋白单体含量仅保持在总白蛋白含量的70%左右，而不含精氨酸的对比例2组合物中的白蛋白单体含量还不到总白蛋白含量的60%。

[0169] 很明显,加入本发明所述氨基酸特别是精氨酸后,能显著降低紫杉醇白蛋白纳米粒组合物中白蛋白二聚体和多聚体的含量,抑制储存期间的白蛋白二聚体和多聚体含量的增长,并可有效稳定白蛋白单体,保障白蛋白单体基本不降解,确保临床应用安全性。

[0170] 试验例3

[0171] 考察根据实施例2和3与对比例2至4所述的方法制备得到的紫杉醇白蛋白纳米粒组合物在60℃加速条件下白蛋白的二聚体和多聚体的增长趋势。采用尺寸排阻色谱法测定纳米粒组合物的白蛋白单体、二聚体和多聚体的含量。尺寸排阻HPLC的条件、测定法与计算方式与测试例1中相同。实施例2为含精氨酸的紫杉醇白蛋白纳米粒组合物,实施例3为含组氨酸的紫杉醇白蛋白纳米粒组合物,对比例2为不含精氨酸的紫杉醇白蛋白纳米粒组合物,对比例3为含甘氨酸的紫杉醇白蛋白纳米粒组合物,对比例4为含天冬氨酸的紫杉醇白蛋白纳米粒组合物,测定结果如表3-1和表3-2所示。

[0172] 表3-1实施例2-3的组合物与对比例2-4的组合物在60℃加速条件下的白蛋白单体、二聚体和多聚体的含量

组合物	条件	60℃					
		0天			10天		
		单体	二聚体	多聚体	单体	二聚体	多聚体
[0173] 实施例2		92.0%	4.3%	1.8%	90.2%	5.4%	2.2%
实施例3		91.8%	4.3%	1.9%	80.1%	8.3%	5.8%
对比例2		92.0%	4.1%	1.9%	70.6%	15.9%	6.8%
对比例3		92.2%	4.5%	1.7%	60.8%	18.2%	10.5%
对比例4		91.9%	4.0%	2.5%	65.3%	17.6%	8.6%

[0174] 表3-2实施例2-3的组合物与对比例2-4的组合物在60℃加速条件下的白蛋白单体、二聚体和多聚体的含量变化量

实施例	白蛋白单体减少量	白蛋白二聚体增长量	白蛋白多聚体增长量
[0175] 实施例2	1.8%	1.1%	0.4%
实施例3	11.7%	4.0%	3.9%
对比例2	21.4%	11.8%	4.9%
对比例3	31.4%	13.7%	8.8%
对比例4	26.6%	13.6%	6.1%

[0176] 注:白蛋白单体减少量=第0天含量-第10天含量

[0177] 白蛋白二聚体/多聚体增长量=第10天含量-第0天含量

[0178] 结果表明:在60℃加速条件研究中,加入相对分子量为本发明所述氨基酸精氨酸(实施例2)或组氨酸(实施例3)后,白蛋白纳米粒组合物中的白蛋白多聚体和二聚体含量分别保持低于总白蛋白含量的6%和9%,显著低于不含精氨酸(对比例2)、加入非相对分子量为

为145-175的氨基酸甘氨酸(对比例3)和天冬氨酸(对比例4)的组合物中的白蛋白多聚体和二聚体含量。并且,本发明实施例2和3的白蛋白多聚体和二聚体含量增长率也显著低于对比例2-4的组合物,同时,本发明实施例2和3的组合物中的白蛋白单体的变化率显著低于对比例2-4的组合物。这说明,本发明所述氨基酸的加入在相同条件下能有效抑制白蛋白纳米粒药物组合物中白蛋白多聚体和二聚体含量的增长,并可有效稳定白蛋白单体,保障白蛋白单体基本不降解,确保临床应用安全性。

[0179] 试验例4

[0180] 按照测试例3相同的测定方法,测定实施例4得到的含盐酸精氨酸的卡巴他赛白蛋白纳米粒组合物与对比例5-7的卡巴他赛白蛋白纳米粒组合物在60℃加速条件下白蛋白单体、二聚体和多聚体的含量。测试结果如表4所示。

[0181] 表4实施例4的组合物与对比例5-7的组合物在60℃下的白蛋白单体、二聚体和多聚体的含量

组合物	60℃					
	0天			10天		
	单体	二聚体	多聚体	单体	二聚体	多聚体
实施例4	93.4%	4.2%	1.2%	91.6%	4.8%	1.8%
对比例5	93.1%	4.1%	1.4%	71.2%	16.4%	6.2%
对比例6	92.8%	4.1%	1.6%	76.6%	13.6%	4.9%
对比例7	92.5%	4.3%	1.6%	73.8%	15.2%	5.5%

[0183] 很明显,加入精氨酸盐酸盐后,本申请实施例4的卡巴他赛白蛋白纳米粒组合物中白蛋白二聚体和多聚体含量明显低于相应的不含精氨酸的组合物(对比例5)以及加入辛酸钠(对比例6)、辛酸钠和乙酰色氨酸(对比例7)中的白蛋白二聚体和多聚体含量,并且白蛋白多聚体和二聚体含量的增长速率也显著低于相应的不含本发明所述的氨基酸盐、加入辛酸钠、或加入辛酸钠和乙酰色氨酸的组合物,白蛋白单体的降解速率也显著低于相应的不含相对分子量为145-175的氨基酸盐、加入辛酸钠、或加入辛酸钠和乙酰色氨酸的组合物。这表明本发明所述的氨基酸盐的加入在相同条件下可有效抑制白蛋白二聚体和多聚体含量的增长。

[0184] 测试例5

[0185] 按照测试例3相同的测定方法,测定实施例4得到的含盐酸精氨酸的卡巴他赛白蛋白纳米粒组合物与对比例5得到的不含盐酸精氨酸的卡巴他赛白蛋白纳米粒组合物在40℃加速条件下白蛋白单体、二聚体和多聚体的含量。测试结果如表4所示。

[0186] 表5实施例4的组合物与对比例5的组合物在40℃下的白蛋白单体、二聚体和多聚体的含量

组合物 条件 40℃	实施例 4			对比例 5		
	单体	二聚体	多聚体	单体	二聚体	多聚体
0 月	93.4%	4.2%	1.2%	93.1%	4.1%	1.4%
1 月	92.8%	4.3%	1.5%	86.6%	7.0%	3.2%
3 月	91.5%	4.6%	2.0%	79.2%	10.4%	5.2%
6 月	90.8%	4.9%	2.2%	74.6%	14.2%	5.6%

[0187]

[0188] 综上所述表明,在包含紫杉烷类化合物的纳米粒组合物中,相对分子量为145-175的氨基酸或其盐的加入,可以有效抑制组合物中白蛋白二聚体和多聚体的增长及白蛋白单体的降解,控制组合物中白蛋白单体、二聚体和多聚体的含量,有效稳定白蛋白单体,且其白蛋白稳定作用优于常用的白蛋白稳定剂,并保障白蛋白单体基本不降解,确保临床应用安全性。

[0189] 除本文中描述的那些外,根据前述描述,本发明的多种修改对本领域技术人员而言会是显而易见的。这样的修改也意图落入所附权利要求书的范围内。本申请中所引用的各参考文献(包括所有专利、专利申请、期刊文章、书籍及任何其它公开)均以其整体援引加入本文。