紫杉醇/类固醇复合物

技术领域

本发明涉及一种紫杉醇/类固醇的复合物及其制备方法，本发明还涉及该紫杉醇/类固醇复合物的用途，属医药制剂技术领域。

背景技术

紫杉醇(paditaxel，Taxol)具有重要的抗肿瘤活性，临床上广泛用于卵巢癌、和乳腺癌、非小细胞肺癌、头癌和颈癌等的治疗。由于其几乎不溶于水（0.006μg/ml），目前用于临床的紫杉醇普通注射剂Taxol®系采用Cremopher EL（聚氧乙基蓖麻油）/乙醇（50：50，V/V）的混合溶液5ml溶解30mg的紫杉醇制成。由于处方中含有大量的Cremopher EL，易引起体内组胺释放，导致严重的过敏反应。为此，临床使用时需进行如下脱敏处理：治疗前12小时口服地塞米松10mg，治疗前6 小时再口服地塞米松10mg，治疗前30～60分钟给予苯海拉明肌注20mg、静注西咪替丁300mg或雷尼替丁50mg。即使如此，临床上仍有5%～30%的病人出现不同程度的过敏反应。此外，以Cremopher EL/乙醇增溶的紫杉醇浓溶液，稀释后存在物理稳定性问题，如环境温度偏低或滴注时间过长，均有可能析出药物，存在安全性隐患。

针对紫杉醇注射剂存在的问题，自紫杉醇上市后的二十余年来，国内外药剂学工作者开展了广泛的新型释药系统研究，涉及的技术方案包括环糊精包合物、脂质体、聚合物胶束、纳米粒等。

环糊精包合物虽能增加紫杉醇溶解度，但由于环糊精用量太大易导致严重的肾毒性，且加水稀释后易析出药物，因此，至今未能进入临床。

脂质体存在包封率低、长期贮存易泄漏、加水稀释后易析出药物的缺陷，产业化发展困难，国外虽经历了20年的研究，但最终并未见产品上市。国内早期（2004年上市）批准的紫杉醇脂质体（力扑素）冻干粉针每支含药物30mg，规格、临床使用剂量与市售的普通注射液完全一致，疗效无明显差异，但增加了中间配制环节，且同样需采用脱敏预处理，未体现出明显的技术优势。

关于紫杉醇聚合物胶束，国内外研究异常活跃，但因载药量低、放置后质量不稳定，需冻干保存，限制了产业化发展。近年来，随着新型高分子材料的涌现，使得聚合物胶束

的研究技术得到快速发展，但将大量的全新结构的聚合物材料引入体内，其临床用药的安全性有待进一步考察。

美国生物科学公司 2005 年获 FDA 批准上市的注射用白蛋白结合型紫杉醇纳米粒（代号 ABI－007）是迄今为止国际上最有影响力的获得国际专利保护的紫杉醇新制剂，其技术方案系使用人血白蛋白作为药物载体，将紫杉醇制成白蛋白结合型的纳米粒，经无菌过滤和冷冻干燥后，制成每支含紫杉醇 100mg 和白蛋白 900mg 的注射用冻干粉针。与普通注射液相比，注射用白蛋白结合型紫杉醇纳米粒的优势体现在两个方面，1）处方中不含 Cremopher EL，彻底消除了过敏反应，成为国际上唯一的不需要脱敏处理而直接使用的紫杉醇新制剂；2）由于毒性降低、耐受性提高，临床上患者使用剂量由普通注射液的 135~175mg/m^2 提高至 260mg/m^2，临床治疗效果明显优于紫极醇的普通注射液。但因载体材料白蛋白的用量过大，价格昂贵（每只售价高达 6200 元），再加上中间配制操作环节极为复杂，要求苛刻，限制了白蛋白结合型紫杉醇纳米粒的临床应用。

水包油亚微乳是利用药物的亲脂性，将药物溶于油相，以天然磷脂为乳化剂，经高压均质乳化制备而得到的平均粒径在600nm以下的乳液。由于药物存在于内油相，避免与水及空气接触，能够克服难溶性药物因溶解度低和稳定性差而不利于制成液体制剂的缺陷。与脂质体技术相比，亚微乳更具产业化发展优势；与白蛋白结合型的纳米粒相比，亚微乳制造成本低，可采用终端灭菌，临床上可直接滴注，不易析出药物，使用方便安全。因此，以亚微乳作为载体发展紫杉醇新制剂具有良好的前景。尽管国内外学者对紫杉醇亚微乳进行了大量偿试，但由于紫杉醇不仅难溶于水，同时在油中溶解度也很小（约0.25 mg/ml），直接制备亚微乳载药量低于0.02 mg/ml，且灭菌和贮存过程中药物易从油相转移至水相，导致破乳、分层或聚集。受紫杉醇在油中溶解度低的限制，至今国际上未能研制出载药量高、耐热压灭菌、长期贮存质量稳定的紫杉醇亚微乳制剂。

为提高药物在油相中溶解度、突破理化性质对紫杉醇亚微乳剂研究的限制，我们前期对“紫杉醇脂质复合物”及“以脂质复合物为中间载体的紫杉醇亚微乳剂”进行了研究，并申请了两项发明专利：申请号为200810168213.X的“紫杉醇脂质复合物”和申请号为200810168212.5的“以脂质复合物为中间载体的紫杉醇亚微乳剂”。

200810168213.X公开的紫杉醇脂质复合物，优选的脂质材料为天然蛋黄卵磷脂、大豆磷脂和胆固醇，紫杉醇和脂质材料的重量比例为1:1~19，即脂质材料的用量高达紫杉醇的

1~19倍（其中以磷脂为脂质材料时，紫杉醇与脂质材料的摩尔比约1:1~20；以胆固醇为脂质材料时，紫杉醇与脂质材料摩尔比约1:2.2~42；以胆酸类为脂质材料时，紫杉醇与脂质材料摩尔比约为1:2.1~40）。而200810168212.5公开的亚微乳剂，则是以200810168213.X公开的紫杉醇脂质复合物为中间载体。

紫杉醇脂质复合物制备目的，旨在提高紫杉醇在油中的溶解度，为后续的亚微乳制备提供良好的中间载体。但进一步研究发现，200810168213.X和200810168212.5专利中提到的技术方案存在以下缺陷：

1、以磷脂为脂质材料制备复合物时，虽对药物油溶性有明显的改善效果，但最大仅可达到2mg/ml左右，进一步提高磷脂用量并不能继续提高油中溶解度；以磷脂复合物为中间载体制备亚微乳剂，载药量最大仅可达到0.5mg/ml左右，且放置6个月后不稳定，无法满足临床治疗需求。

2、以胆固醇为脂质材料制备复合物时，对药物油溶性改善效果明显优于磷脂，但胆固醇系类固醇类脂质材料，其用量高达紫杉醇重量的1~19倍，存在多种弊端，（1）**摄入量过大**：健康成人每天胆固醇的摄入量大多在在300mg~500mg （相当于1~2个鸡蛋黄中含的胆固醇量），紫杉醇临床每次给药剂量约300mg，根据200810168213.X专利涉及的胆固醇复合物及其制剂，摄入的胆固醇相当于300mg~5700mg，最高时已相当于19个鸡蛋黄，明显偏高，存在安全性隐患；（2）**制备的亚微乳剂长期贮存不稳定**：将胆固醇复合物作为中间载体制备亚微乳剂时，根据临床治疗剂量和特定的紫杉醇浓度，复合物中的脂质材料用量越高，则亚微乳的内油相中所包裹的复合物总量就越多。受内油相油滴体积和油水界面的限制，包裹的复合物总量超过油相和油水界面可容纳的内容物时，就有可能使部分药物游离到外水相中，从而导致包封率降低，且使制得的亚微乳剂不稳定。经对200810168212.5专利所述的亚微乳进行考察，包封率低于85%，4℃贮存6个月质量还比较稳定，但贮存至12个月时出现明显的分层现象，标示含量下降，紫杉醇杂质明显升高；（3）**制备成本高**：脂质材料的用量高、制备过程中溶剂用量大、挥干溶剂所需时间长，导致制造成本高，不符合药物经济学原则。

为此，在上述两项专利申请基础上，为提供脂质材料用量少的复合物，降低成本并提高临床用药的安全性、有效性和质量可控性，本申请经过大量的试验研究，对脂质材料及其用量进行了进一步筛选和优化。本发明人发现，在众多的脂质材料中，类固醇（又称类

甾醇）为最佳的脂质材料，具体表现为类固醇脂质材料对紫杉醇的复合能力强，较少用量的类固醇即可最大限度提高药物在油中溶解度。以本发明专利所述的类固醇复合物为中间载体制备水包油亚微乳剂，因包裹的复合物总量减少，制得的亚微乳剂不仅包封率更高，且长期贮存不易破乳，物理稳定性和化学稳定性优于200810168212.5专利所述的亚微乳剂。本发明提供的紫杉醇/类固醇复合物，为后续亚微乳剂的质量可控性及临床用药的有效性和安全性奠定了坚实的基础。

发明内容

本发明的一个目的在于提供一种紫杉醇/类固醇复合物，其由紫杉醇与类固醇脂质材料复合而成。紫杉醇与类固醇的摩尔比为1:0.2~4，优选1:0.25~2，更优选1:0.33~1。

本发明所述的紫杉醇/类固醇复合物，其类固醇脂质材料为天然类固醇物质或其衍生物中的至少一种；所述的天然类固醇选自胆固醇、7-脱氢胆固醇（又称7-氢化胆固醇）、羊毛固醇、谷甾醇、豆甾醇、麦固醇、麦角固醇、菜子固醇、真菌固醇、牡蛎固醇中；所述的类固醇衍生物选自胆酸、脱氧胆酸和鹅脱氧胆酸。优选的类固醇材料为胆固醇、7-脱氢胆固醇和麦角固醇，更优选胆固醇和麦角固醇。

本发明的紫杉醇/类固醇复合物，还可含有抗氧化稳定剂。 优选的抗氧化稳定剂选自亚硫酸氢钠、焦亚硫酸钠、维生素C、EDTA及其盐、维生素E及其衍生物中的至少一种。

本发明的另一个目的在于提供本发明的紫杉醇/类固醇复合物的制备方法，所述紫杉醇/类固醇复合物可以是按照如下方法1或2制备的。

方法1包括如下步骤：

a .将紫杉醇与类固醇按比例混合，加入适量有机溶剂溶解，任选地加入抗氧化稳定剂；

b.在合适的温度条件下搅拌，去除有机溶剂，真空干燥即得。

方法2包括如下步骤：

a .将紫杉醇与类固醇，分别加入适量的不同的有机溶剂溶解，将其混合，任选地加入抗氧化稳定剂；

b.在合适的温度条件下搅拌，通过旋转蒸发或喷雾干燥去除有机溶剂， 真空干燥即

得。

在本发明的制备方法中，所述有机溶剂可选自二氯甲烷、乙醇、甲醇、苯甲醇、丙酮、乙酸乙酯、四氢呋喃、叔丁醇中的一种或多种；优选地，可选自乙醇、丙酮、乙酸乙酯和四氢呋喃中的一种或多种。当选用多种有机溶剂时，其是指所选有机溶剂的混合物。

在本发明的制备方法中，有机溶剂的去除是通过旋转蒸发或喷雾干燥实现的。

在本发明的制备方法中，“按比例混合”是指按照本申请上述给出的紫杉醇与类固醇的比例混合，即紫杉醇与类固醇的摩尔比为1:0.2~4，优选1:0.25~2，更优选1:0.33~1；“适量的有机溶剂”中的“适量”是指本领域技术人员按照常规技术可确定用于溶解紫杉醇与类固醇的混合物的量，比如，紫杉醇与类固醇复合物在溶液中的浓度以紫杉醇计算，可以为 0.5~16mg/ml，优选1.0~8.0mg/ml；“合适的温度条件”系指温度可以在25℃-70℃，优选35-55℃，例如25℃、35℃、45℃、55℃或70℃。

在本发明的制备方法中，搅拌反应的时间和真空干燥的时间都可以由本领域技术人员按照常规技术确定，比如搅拌反应的时间可以是0.5-3.0小时，例如0.5小时、1.0小时、1.5小时或2.0小时，真空干燥的时间可以是8小时至48小时，例如8小时、12小时、16小时或24小时。

在本发明的制备方法中，可以考虑加入适量的抗氧化稳定剂，抗氧化稳定剂用量是本领域在制备脂质复合物中通常采用的用量，一般不超过紫杉醇与胆固醇两者重量之和的1%（重量）。

本发明还提供本发明的紫杉醇/类固醇复合物在制备水包油型亚微乳剂、干乳剂、自微乳系统或口服制剂中的应用。其中水包油亚微乳制剂或干乳剂是通过将本发明所述的紫杉醇/类固醇复合物溶于油相制备得到的，其可通过注射给药用于肿瘤的临床治疗，该制剂载药量高、稳定性好，并且处方中不含Cremopher EL，安全性优于市售注射剂。自微乳系统是通过将本发明所述的紫杉醇/类固醇复合物溶于油相，加入适量表面活性剂（乳化剂）、助表面活性剂（助乳化剂）制备得到的，其可通过注射、粘膜或口服给药，用于肿瘤的临床治疗。口服制剂，特别是固体制剂比如胶囊或片剂等，是通过将本发明所述的紫杉醇/类固醇复合物，加入药剂学上允许的药用赋形剂制备得到的，其可通过口服给药用于的肿瘤的临床治疗，具有更高的生物利用度。

本发明还提供本发明的紫杉醇/类固醇复合物在制备抗癌药物中的应用， 所述的癌选

自卵巢癌、乳腺癌、非小细胞肺癌、头癌症或颈癌。 还可以是胃癌或胰腺癌。

在本发明中，如果没有特别地指出，本文所用的科学和技术术语以及名称都具有与本发明所属领域普通技术人员常规理解相同的意思；并且，如果没有特别地指出，其中所采用的物质及其含量或比例、装置、仪器、制备条件等都是本领域技术人员所熟知的或者其根据本发明的描述可得知的。

本发明提供的紫杉醇/类固醇复合物特别地具有如下优点：

1）脂质材料用量少、制备成本低：药物与脂质材料复合完全是药物在油中溶解度得到最大改善和提高的前提。与本领域已知的紫杉醇复合物，包括专利200810168213.X中制备得到的紫杉醇复合物相比，本发明的药物与脂质材料类固醇的摩尔比为1:0.2~4，优选1:0.25~2，更优选1:0.33~1。

本发明所选择的类固醇脂质材料分子量在384.6~414.7，由此计算，在药物与类固醇摩尔比为1:0.2时，对应的重量比为1:0.09~1:0.097；摩尔比为1:4时对应的重量比为1:1.80~1.94，即药物与类固醇的摩尔比在1:0.2~4的优选范围内，对应的重量比为1:0.09~1.94。相应地，当药物与类固醇的摩尔比优选1:0.25~2时，重量比为1:0.11~0.97；当药物与类固醇的摩尔比更优选1:0.33~1时，对应的重量比为1:0.15~0.49。

与200810168213.X公开的内容相比，本发明采用类固醇为脂质材料，药物与脂质材料的重量比例范围由1:1~19缩减到1:0.09~1.94（优选地为1:0.11~0.97），降低了脂质材料用量，缩小了用量范围，提高了复合物中紫杉醇的载药量（由5%~50%提高到35%~91.7%），并仍能确保紫杉醇被完全复合，使油中溶解度得到最大程度的提高，以满足后续亚微乳剂的制备。增加脂质材料用量并不能继续提高药物在油中的溶解度。

2）脂质摄入量少：根据紫杉醇每次给药300mg计算，每次摄入的类固醇的量可控制在27mg~580mg，优选的为33mg~290mg，与200810168213.X专利技术的300mg~5700mg相比，类固醇物质的摄入量大大降低，减少了因类固醇大量摄入而可能引发的安全性隐患。

3）有利于提高亚微乳剂的包封率和稳定性：本发明提供的复合物中类固醇的最大用量仅为紫杉醇重量1.94倍，优选的为0.97倍，将其溶于植物油中制备水包油亚微乳剂时，内油相中包裹的复合物总量较少，有利于提高包封率和长期贮存的物理稳定性及化学稳定性。经比较研究，以本发明的复合物为中间载体制备的亚微乳剂，包封率均在90％以上，

4℃贮存12个月质量稳定，而200810168212.5专利所述的亚微乳剂包封率在65%-85%，4℃贮存12个月出现明显的分层现象，杂质明显升高。

4）安全性提高：与市售普通注射液相比，以本发明的紫杉醇/类固醇复合物为中间载体制备亚微乳剂，处方中不含Cremopher EL，避免了Cremopher EL引发的严重过敏反应，降低了动物毒性，提高了耐受剂量。

下面将参照附图说明和实施例进一步详细阐述本发明，但是本领域技术人员应当理解，但本发明并不限于这些实施例以及使用的制备方法。而且，本领域技术人员根据本发明的描述可以对本发明进行对其进行等同替换、组合、改良或修饰，但这些都将包括在本发明的范围内。

附图说明

图1：试验例3中不同摩尔比的复合物和物理混合物的DSC曲线图

图2：试验例6的X-射线衍射图

图3：试验例7的红外光谱图

图 4：图 4-1：试验例 8 的紫外光谱图

图 4-2：试验例 8 的 HPLC 色图峰比较(峰 1 为紫杉醇）

具体实施方式

制备实施例

实施例1 紫杉醇胆固醇复合物

取紫杉醇9.0g，胆固醇0.81g置于旋转蒸发仪中，加入丙酮3000ml将其溶解，在40℃的温度下搅拌1小时，移至旋转蒸发仪中，旋转蒸发法去除溶剂，经40℃减压真空干燥12小时即得。

实施例2 紫杉醇胆固醇复合物

取紫杉醇9.0g，胆固醇0.99g置于旋转蒸发仪中，加入四氢呋喃3000ml将其溶解，在25℃的温度下搅拌1小时，移至旋转蒸发仪中，旋转蒸发法去除溶剂，经25℃减压真空干

燥12小时即得。

实施例3 紫杉醇胆固醇复合物

取紫杉醇8.5g，胆固醇1.275g置于三角瓶中，加入四氢呋喃3000ml将其溶解，在45℃温度条件下搅拌1.5小时，移至旋转蒸发仪中，旋转蒸发法去除溶剂，经45℃减压真空干燥16小时即得。

实施例4 紫杉醇胆固醇复合物

取紫杉醇8.0g，胆固醇1.84g置于三角瓶中，加入丙酮1000ml将其溶解，在35℃温度条件下搅拌1小时，移至旋转蒸发仪中，旋转蒸发法去除溶剂，经35℃减压真空干燥10小时即得。

实施例5 紫杉醇胆固醇复合物

取紫杉醇7.0g，胆固醇3.15g置于三角瓶中，加入丙酮32500ml将其溶解，在50℃温度条件下搅拌2小时，移至旋转蒸发仪中，旋转蒸发法去除溶剂，经50℃减压真空干燥15小时即得。

实施例6 紫杉醇胆固醇复合物

取紫杉醇7.0g，胆固醇4.2g置于三角瓶中，加入5000ml的乙酸乙酯将其溶解，在55℃温度条件下搅拌1小时，移至旋转蒸发仪中，旋转蒸发法去除溶剂，经40℃减压真空干燥15小时即得。

实施例7 紫杉醇胆固醇复合物

取紫杉醇5.2g，胆固醇4.73g，置于旋转蒸发仪中，加入3000ml的二氯甲烷将其溶解，在60℃温度条件下搅拌2.5小时，移至旋转蒸发仪中，旋转蒸发法去除溶剂，经55℃减压真空干燥15小时即得。

实施例8 紫杉醇胆固醇复合物

取紫杉醇5.2g，胆固醇4.85g，维生素E 0.05g，置于旋转蒸发仪中，加入4000ml的四

氢呋喃将其溶解，在40℃温度条件下搅拌1小时，喷雾干燥15小时去除溶剂，经55℃减压真空干燥15小时即得。

实施例9 紫杉醇胆固醇复合物

取紫杉醇5.1g，胆固醇4.95g，置于旋转蒸发仪中，加入5200ml的乙醇和叔丁醇的混合物将其溶解，在45℃温度条件下搅拌1小时，移至旋转蒸发仪中，旋转蒸发法去除溶剂，经65℃减压真空干燥15小时即得。

实施例10 紫杉醇胆固醇复合物

取紫杉醇5.0g，胆固醇7.51g，置于旋转蒸发仪中，加入5200ml的乙醇和叔丁醇的混合物将其溶解，在45℃温度条件下搅拌1小时，移至旋转蒸发仪中，旋转蒸发法去除溶剂，经65℃减压真空干燥15小时即得。

实施例11 紫杉醇胆固醇复合物

取紫杉醇5.0g，胆固醇9.10g，置于旋转蒸发仪中，加入5200ml的乙醇和叔丁醇的混合物将其溶解，在45℃温度条件下搅拌1小时，移至旋转蒸发仪中，旋转蒸发法去除溶剂，经65℃减压真空干燥15小时即得。

实施例12 紫杉醇/7-脱氢胆固醇复合物

取紫杉醇5g，加入7-脱氢胆固醇0.55g，置于旋转蒸发仪中，加入500ml的丙酮将其溶解，在45℃温度条件下搅拌1小时，移至旋转蒸发仪中，旋转蒸发法去除溶剂，经65℃减压真空干燥15小时即得。

实施例13 紫杉醇/7-脱氢胆固醇复合物

取紫杉醇5g，加入7-脱氢胆固醇4.85g，置于旋转蒸发仪中，加入500ml的丙酮将其溶解，在45℃温度条件下搅拌1小时，移至旋转蒸发仪中，旋转蒸发法去除溶剂，经65℃减压真空干燥15小时即得。

实施例14 紫杉醇/7-脱氢胆固醇复合物

取紫杉醇5g，加入7-脱氢胆固醇9.70g，置于旋转蒸发仪中，加入500ml的丙酮将其溶

解，在45℃温度条件下搅拌1小时，移至旋转蒸发仪中，旋转蒸发法去除溶剂，经65℃减压真空干燥15小时即得。

实施例15 紫杉醇/麦角固醇复合物

取紫杉醇5g，麦角固醇0.54g，一同置于旋转蒸发仪中，加入500ml的丙酮将其溶解，在45℃温度条件下搅拌1小时，移至旋转蒸发仪中，旋转蒸发法去除溶剂，经65℃减压真空干燥15小时即得。

实施例16 紫杉醇/麦角甾醇复合物

取紫杉醇5g，麦角固醇4.83g，置于旋转蒸发仪中，加入500ml的丙酮将其溶解，在45℃温度条件下搅拌1小时，移至旋转蒸发仪中，旋转蒸发法去除溶剂，经65℃减压真空干燥15小时即得。

实施例17 紫杉醇/麦角固醇复合物

取紫杉醇5g，麦角固醇9.10g，置于旋转蒸发仪中，加入500ml的丙酮将其溶解，在45℃温度条件下搅拌1小时，移至旋转蒸发仪中，旋转蒸发法去除溶剂，经65℃减压真空干燥15小时即得。

实施例18 紫杉醇胆酸复合物

各取紫杉醇4g共5份，分别加入胆酸0.5g、2.0g、3.0g、4.6g和7.70g，置于旋转蒸发仪中，各加入1000ml的丙酮将其溶解，在45℃温度条件下搅拌1小时，移至旋转蒸发仪中，旋转蒸发法去除溶剂，经65℃减压真空干燥15小时即得。

实施例19：以紫杉醇/类固醇复合物为中间载体的亚微乳剂

取甘油25g溶于约720ml注射用水中，加热至40-60℃，加入精制大豆卵磷脂15g和泊洛沙姆（188）30g，置组织捣碎机中处理，使成均匀水相，保持在该温度下；另分别取实施例1至实施例18中的紫杉醇/类固醇复合物适量（相当于紫杉醇500mg），加入200ml大豆油中，加热到40～60℃，制成油相。在搅拌条件下将水相缓缓加入至油相，搅拌使形成均匀初乳。将初乳迅速转移至高压均质机中均质数次，用0.1mol/L的盐酸调节pH至4.0-6.0，

并加水至1000ml，收集全部乳液，115℃灭菌30分钟，即得载药量为0.5mg/ml的亚微乳剂。激光粒度测定仪测定，平均粒径为125 nm~150nm。

实施例20：以紫杉醇/类固醇复合物为中间载体的亚微乳剂

取甘油12.5g溶于约300ml注射用水中，加热至约50℃，加入精制蛋黄卵磷脂7.5g和泊洛沙姆（188）15g，置组织捣碎机中处理，使成均匀水相，保持在该温度下；另取实施例5、13、16的紫杉醇/类固醇复合物适量（相当于紫杉醇500mg），加入125ml由大豆油和中链油按等体积组成的混合油中，加热到约50℃，制成油相。在搅拌条件下将水相缓缓加入至油相，高速搅拌使形成均匀初乳。将初乳迅速转移至高压均质机中均质数次，用0.1mol/L的盐酸调节pH至4.0-6.0，并加水至500ml，收集全部乳液，115℃灭菌30分钟，即得载药量为1.0mg/ml的亚微乳剂。激光粒度测定仪测定，平均粒径为230 nm~250nm。

实施例21：以紫杉醇类固醇复合物为中间载体的亚微乳剂

取甘油12.5g溶于约300ml注射用水中，加热至55℃，加入精制大豆卵磷脂7.5g和泊洛沙姆（188） 15g，置组织捣碎机处理，使成均匀水相，保持在该温度下；另取实施例1至实施例18中的紫杉醇/类固醇复合物适量（相当于紫杉醇600mg），加入125ml大豆油中，加热到55℃，制成油相。在搅拌条件下将水相缓缓加入至油相，高速搅拌使形成均匀初乳。将初乳迅速转移至高压均质机中均质数次，用0.1mol/L的盐酸调节pH至4.0-6.0，并加水至500ml，收集全部乳液，115℃灭菌30分钟，即得载药量为1.2mg/ml的亚微乳剂。激光粒度测定仪测定，平均粒径为125 nm ~133nm。

实施例22：以紫杉醇类固醇复合物为中间载体的亚微乳剂

取甘油12.5g溶于约300ml注射用水中，加热至60℃，加入精制大豆卵磷脂7.5g和泊洛沙姆（188） 15g，置组织捣碎机处理，高速搅拌使成均匀水相，保持在该温度下；另分别取实施例1至实施例18中的紫杉醇/类固醇复合物适量（相当于紫杉醇1000mg），加入150ml大豆油中，加热到60℃，制成油相。在搅拌条件下将水相缓缓加入至油相，高速搅拌使形成均匀初乳。将初乳迅速转移至高压均质机中均质数次，用0.1mol/L的盐酸调节pH至4.0-6.0，并加水至500ml，收集全部乳液，115℃灭菌30分钟，即得载药量为2.0mg/ml的亚微乳剂。激光粒度测定仪测定，平均粒径为128 nm ~141nm。

实施例23：以紫杉醇类固醇复合物为中间载体的干乳剂

取实施例20~实施例22制备的未经灭菌处理的亚微乳剂适量，加入3%（W/V）甘露醇溶解，经0.22微米的微孔滤膜无菌过滤，冷冻干燥即得。

实施例24：以紫杉醇类固醇复合物为中间载体的自微乳剂

分别取实施例1-18的紫杉醇/类固醇复合物适量（相当于紫杉醇100mg）， 加入中链油5ml，搅拌使溶解，加入1.6ml PEG400、0.5 ml吐温80，搅拌均匀，即得均匀透明的自微乳系统。

取上述自微乳系统10ml，加入5%葡萄糖注射液至50 ml，即刻形成微乳，粒径小于100nm。

实施例25：以紫杉醇类固醇复合物为中间载体的胶囊剂

分别取实施例1-18的紫杉醇/类固醇复合物适量（相当于紫杉醇250mg），装入2号硬胶囊中，即得。

实施例26：以紫杉醇类固醇复合物为中间载体的片剂

分别取实施例1-18的紫杉醇/类固醇复合物适量（相当于紫杉醇500mg），加入微晶纤维素500 mg，乳糖500 mg，硬脂酸镁适量，混合混匀，调整冲头，压制规格为100-250mg的片剂。

试验例

试验例1：

中国专利申请200810168213.X专利公开的技术方案验证

按*中国专利申请*200810168213.X专利优选的脂质材料及其用量，分别以大豆卵磷脂和胆固醇为脂质材料，药物与脂质材料的重量比控制在1:1.85~18.5，制备参比复合物，考察大豆油中的溶解度（以紫杉醇计），并与未经复合的游离紫杉醇进行比较。

表1 200810168213.X专利公开的复合物验证结果

复合物组成	紫杉醇/脂质材料投料比例		大豆油中溶解度 (mg/ml)
	摩尔比	重量比	
紫杉醇/磷脂	1:2	1:1.85，	0.68
	1:4	1:3.70	0.75
	1:6	1:5.55	2.12
	1:10	1:9.23	2.32
	1:20	1:18.46	2.25
紫杉醇/胆固醇	1:4	1:1.82	9.04
	1:6	1:2.73	8.87
	1:10	1:4.53	9.15
	1:20	1:9.06	8.75
	1:40	1:18.12	8.69
紫杉醇对照	/	/	0.27

结果显示，当磷脂用量超过紫杉醇重量的5.55倍时，溶解度趋于平稳，约为2.12~2.32mg/ml；而胆固醇用量在紫杉醇重量的1.82~18.12倍范围内，溶解度稳定在8.75~9.15 mg/ml，提示以胆固醇为脂质材料对药物油中溶解度的改善效果明显优于磷脂，且胆固醇的用量有进一步降低和优化的空间。

试验例2

本发明的紫杉醇/类固醇复合物在油中溶解度的影响因素分析

紫杉醇与类固醇的投料比例

称取紫杉醇4g，按下表2的投料比例，分别加入胆固醇、7-脱氢胆固醇和麦角固醇，一同置于旋转蒸发仪中，各加入500ml的丙酮将其溶解，在45℃温度条件下搅拌1小时，移至旋转蒸发仪中，旋转蒸发法去除溶剂，经65℃减压真空干燥15小时得复合物。取复合物适量，分别加入注射用大豆油20g，60℃水浴加热1h并振摇，得到过饱和溶液，取样过滤，称取续滤液适量，无水乙醇定容后取20μL注入液相色谱仪，以Kromasil-C18(250mm×4.6mm，5μm)为色谱柱，乙腈-水（54：46）为流动相，流速1.0mL/min，检测波长230nm，

依法测定，计算紫杉醇在植物油中的溶解度,结果见下表。

表2 紫杉醇与类固醇投料比例对复合物油溶性的影响

类固醇脂质材料	紫杉醇/类固醇投料比例		大豆油中溶解度 (mg/ml)
	摩尔比	重量比	
胆固醇	5:1（1:0.2）	1:0.091	7.66
	4:1（1:0.25）	1:0.112	8.25
	3:1（1:0.33）	1:0.151	8.56
	2:1（1:0.5）	1:0.225	9.14
	1:1	1:0.453	9.49
	1:2	1:0.906	9.06
	1:4	1:1.813	9.04
7-脱氢胆固醇	5:1（1:0.2）	1:0.090	7.47
	4:1（1:0.25）	1:0.113	7.93
	3:1（1:0.33）	1:0.150	8.77
	2:1（1:0.5）	1:0.225	9.21
	1:1	1:0.450	8.85
	1:2	1:0.901	8.69
	1:4	1:1.802	9.12
麦角固醇	5:1（1:0.2）	1:0.093	7.23
	4:1（1:0.25）	1:0.116	8.50
	3:1（1:0.33）	1:0.155	9.26
	2:1（1:0.5）	1:0.232	8.78
	1:1	1:0.465	8.59
	1:2	1:0.929	9.11
	1:4	1:1.858	8.73
紫杉醇对照	/	/	0.27

结果表明，当紫杉醇和类固醇的摩尔比在1:0.2~4，即类固醇的最大用量控制在紫杉醇摩尔数的4倍以下，药物在油中溶解度已得到最大程度提高。

紫杉醇的浓度

以丙酮为反应溶剂，紫杉醇与胆固醇的投料摩尔比为1:1，反应温度为35℃，反应时间为0.5h。考察紫杉醇浓度为16.0、8.0、4.0、2.0、1.0和0.5mg/mL 对复合物制备结果的影响。结果表明，紫杉醇的浓度对复合物在油中溶解度的影响不明显，见下表。

表3 紫杉醇浓度对胆固醇复合物油溶性的影响

紫杉醇浓度(mg/mL)	大豆油中溶解度(mg/ml)
16.0	8.89
8.0	9.21
4.0	9.58
2.0	9.47
1.0	9.39
0.5	8.44

试验例3 紫杉醇胆固醇复合物的DSC曲线特征

试验样品：

- 紫杉醇；
- 胆固醇；
- 紫杉醇/胆固醇复合物（试验例2项下表2中制备的复合物，摩尔比为4:1，3:1，2:1，1:1，1:2，1:4）；
- 紫杉醇/胆固醇物理混合物（按复合物相同的摩尔比投料，将两者直接混合即得，用于对比研究）；

试验方法：采用示差扫描量热法（DSC）考察DSC曲线特征，温度25～300℃，升温速度10℃/min，氮气流速60ml/min；DSC曲线见附图1。

试验结果：紫杉醇吸热熔融峰为225.7℃，胆固醇吸热峰在150.9℃。按不同比例制备的物理混合物中，胆固醇的吸热特征均未发生改变，融熔温度仍为149-150℃；紫杉醇的吸热峰虽发生了少量偏移，但融熔特征仍然存在，提示两者系简单的物理混合。物理混合物中紫杉醇熔融峰发生偏移的原因分析如下，胆固醇融点低于紫杉醇的熔点，当胆固醇融熔后，对药物的分散状态将产生一定影响，使紫杉醇的融熔特征发生了改变。

按不同比例制备的复合物中，胆固醇的融熔特征均发生了明显偏移，紫杉醇的吸热峰完全消失，提示两者完全复合。

试验例4 紫杉醇胆固醇复合物在不同油相中的溶解度考察

取试验例2项下表2中的紫杉醇/胆固醇复合物适量，分别加入注射用大豆油、中链油（MCT）和大豆油/MCT（1：1）混合油，加热至60℃，搅拌使充分混合、溶解，60℃水浴加热1h，此过程中不断振摇，制成过饱和溶液，取样过滤，称取续滤液适量，无水乙醇稀释后采用HPLC法测定，计算复合物在油中的溶解度；另取紫杉醇适量，同法测定溶解度。将复合物与原料药的溶解度进行比较，结果表明，本发明制备的不同比例的胆固醇复合物均可提高药物在油中溶解度，见下表：

表4 植物油中药物溶解度测定结果（mg/mL）

药物/胆固醇	5：1	4：1	3：1	2：1	1：1	1：2	1：4	紫杉醇
大豆油	7.66	8.25	8.56	9.14	9.49	9.06	9.04	0.27
中链油	25.25	26.21	26.47	26.45	23.54	27.69	27.69	2.37
混合油*	15.51	13.87	14.02	16.56	15.50	16.89	16.89	1.36

注：混合油*为大豆油/中链油(体积比1:1)的混合物。

试验例5 紫杉醇胆固醇复合物在正辛醇中的溶解度考察

取表2中的紫杉醇/胆固醇复合物适量，置于50mL锥形瓶中，加入正辛醇10 10g，置25℃恒温振荡器中，振荡24h，得到过饱和溶液。取样5mL，用0.45μm滤膜过滤，取续滤液适量，用无水乙醇稀释，按照紫外分光光度法依法测定，计算物理混合物和胆固醇复合物在正辛醇中的表观溶解度，并将结果与紫杉醇比较，结果表明，不同比例胆固醇复合物均可提高药物在正辛醇中溶解度，见下表。

表5 正辛醇中药物溶解度测定结果（mg/mL， 25 ℃）

药物/胆固醇	4：1	3：1	2：1	1：1	1：2	1：4	紫杉醇
溶解度	23.59	24.28	20.70	25.83	28.32	32.41	8.86

试验例6 紫杉醇胆固醇复合物X-射线衍射分析（XRD）

测定样品：紫杉醇，胆固醇，紫杉醇胆固醇复合物（实施例5的样品），紫杉醇胆固醇物理混合物（摩尔比为1:1）。

检测条件：Cu-K 靶，测定管压40kV，管流200MA，衍射范围为3°<2θ<60°。

测定结果：X-射线衍射测定结果见附图2。

结果表明，紫杉醇的特征衍射峰在2，4，7号，衍射角（2θ）在5.480，8.840，12.180，峰强度为23567，11319，13277；胆固醇的最强衍射峰位在1号，衍射角在5.160，峰强度为35506；混合物图谱中二者的特征衍射峰仍然能清楚的看到，是紫杉醇与胆固醇图谱的简单叠加；而复合物衍射图谱则发生了变化，紫杉醇和胆固醇各自的特征衍射峰强度大大减弱或峰消失，而在衍射角为15.240、16.759、17.160和17.960处出现了新的特征衍射峰，衍射峰强度为4492，3588，2604和3186，低于紫杉醇和胆固醇各自的特征衍射峰强度。表明紫杉醇在复合物中以微晶状态或无定形状态分散。

试验例7 紫杉醇胆固醇复合物红外光谱特性（IR）分析

分别取紫杉醇、胆固醇、紫杉醇胆固醇复合物（实施例5中摩尔比为1:1的样品），紫杉醇与胆固醇的物理混合物（摩尔比为1:1），采用溴化钾压片，在400～4000 cm-1范围内扫描红外光谱，结果见附图3。

红外图谱显示，紫杉醇主要特征吸收峰为酮羰基C＝0在1733.8 cm^{-1}和1714.4 cm^{-1}波数处的两个裂分峰，酰胺基在1646.4 cm^{-1}波数处的羰基峰，以及在3300－3500 cm^{-1}波数处羟基O－H的伸缩振动吸收峰；胆固醇红外光谱主要特征吸收峰为2933.1 cm^{-1}，2901.0 cm^{-1}和2866.4 cm^{-1}波数处的饱和C－H键的伸缩振动以及在3402.3cm^{-1}波数处的羟基伸缩振动吸收峰；物理混合物的红外光谱基本是胆固醇与紫杉醇各吸收峰的叠加；而复合物的特征吸收峰则发生了变化，紫杉醇酮羰基和酰胺基的特征峰峰形发生了变化，酮羰基由两个裂分峰变成1724.7 cm^{-1}处一个吸收强度较大的钝峰，酰胺基的羰基峰在1646.4 cm^{-1}波数处峰型变钝；胆固醇的羟基在3432.9 cm^{-1}波数处吸收峰的峰型变宽，吸收强度增加。由此表明，紫杉醇的酮羰基基团与胆固醇的羟基之间可能发生了分子间相互作用，形成了一种复合物。

试验例8 胆固醇复合物紫外吸收光谱（UV）及HPLC色谱峰考察

取紫杉醇及紫杉醇胆固醇复合物（实施例5中摩尔比为1:1的样品），分别溶于无水乙醇中，以无水乙醇为空白，在200～400nm范围内进行紫外扫描，结果见附图4-1。结果表明，紫杉醇与紫杉醇胆固醇复合物两者紫外特征一致，表明复合物中紫杉醇的发色基团未发生改变，即两者通过分子间作用力相互结合形成复合物后，并未形成新的化学键。

另取上述紫杉醇及紫杉醇胆固醇复合物的乙醇溶液20μL注入液相色谱仪，以Kromasil-C18(250mm×4.6mm，5μm)为色谱柱，乙腈—水（54：46）为流动相，流速1.0mL/min，检测波长230nm，依法测定，记录色谱峰保留时间，结果见附图4-2。结果表明，紫杉醇与紫杉醇胆固醇复合物的主峰保留时间完全一致，表明在质子化的乙醇溶液中，复合物解离出游离的紫杉醇。

试验例9：紫杉醇/胆固醇复合物的稳定性考察

取实施例1-18制备的药物/类固醇复合物固体粉末，在25℃条件下贮存，定期取样，考察外观变化。加无水乙醇制成合适浓度的溶液，量取20μL注入HPLC仪，以Kromasil-C18(250mm×4.6mm，5μm)为色谱柱，乙腈—水（54：46）为流动相，流速1.0mL/min，检测波长230nm，测定含量及杂质。结果表明，与初始相比，外观、含量及杂质均无明显变化，质量稳定。

表6 紫杉醇/类胆固醇复合物长期贮存稳定性

温度/时间		外观	含量(%)	降解产物(%)
25℃	0月	白色粉末	98.05~102.10	ND
	1月	白色粉末	98.25~102.23	<0.2
	3月	白色粉末	97.78~101.74	<0.3
	6月	白色粉末	98.90~102.36	<0.3
	9月	白色粉末	98.55~101.76	<0.2
	12月	白色粉末	98.36~101.87	<0.2
	24月	白色粉末	98.71~101.88	<0.2

试验例10

试验制备例10-1 紫杉醇类固醇复合物

实验复合物1~实验复合物6：按本发明专利的技术要求，选用胆固醇、7-脱氢胆固醇和麦角固醇，制备紫杉醇/类固醇摩尔比为1：1至1：4的复合物，具体制备方法是将紫杉醇和类固醇一同置于三角瓶中，加入丙酮2000ml将其溶解，在40℃温度条件下搅拌1小时，移至旋转蒸发仪中，旋转蒸发法去除溶剂，经40℃减压真空干燥24小时即得。，

参比复合物1~参比复合物4：按200810168212.5专利中的复合物技术要求，选用豆磷脂和胆固醇为脂质材料，按上述相同方法制备4组参比复合物用于对比研究，其中紫杉醇/磷脂复合物的摩尔比为1：6和1：10，紫杉醇/胆固醇复合物的摩尔比为1：10和1：20。详见下表。

表7：紫杉醇/胆固醇复合物的组成

复合物编号/脂质材料	紫杉醇投料	脂质材料投料	紫杉醇/脂质材料	
			摩尔比	重量比
实验复合物1/ 胆固醇	8.0 g	3.6 g	1:1	1:0.45
实验复合物2/ 胆固醇	8.0 g	7.2 g	1:2	1:0.90
实验复合物3/ 7-脱氢胆固醇	3.0 g	1.35g	1:1	1:0.45
实验复合物4/ 7-脱氢胆固醇	3.0 g	5.406g	1:4	1:1.80
实验复合物5/ 麦角固醇	3.0g	1.40g	1:1	1:0.46
实验复合物6/ 麦角固醇	3.0g	5.58g	1:4	1:1.86
参比复合物1/ 磷脂	3.0 g	16.65g	1:6	1:5.55
参比复合物2/ 磷脂	3.0 g	6.78g	1:10	1:9.23
参比复合物3/ 胆固醇	3.0g	13.5g	1:10	1:4.50
参比复合物4/ 胆固醇	3.0g	27.18g	1:20	1:9.06

试验制备例10-2：以紫杉醇胆固醇复合物为中间载体的紫杉醇亚微乳剂

[处方组成]

组分	亚微乳剂1	亚微乳剂2	亚微乳剂3	亚微乳剂4
实验复合物1*	145mg	290mg	580mg	1160mg
蛋黄卵磷脂	2g	2.4g	3g	3g
泊洛沙姆(188)	1g	2g	4g	6g

甘油	5g	5g	5g	5g
大豆油	40ml	40ml	50ml	50ml
注射用水加至	200ml	200ml	200ml	200ml
总量	200ml	200ml	200ml	200ml

*实验复合物1为实施例1中制备得到的紫杉醇/胆固醇重量比为1:0.45的实验复合物1。

[制备方法]

▸ 取注射用水约130-140ml，按处方量加入蛋黄卵磷脂、泊洛沙姆(188)和甘油，置组织捣碎机中分散，制成均匀水相，加热至40℃，保温；

▸ 按处方量量取大豆油，预热至40℃，称取实施例1制备的紫杉醇胆固醇复合物1，溶于预热的大豆油中，置组织捣碎机中分散制成均匀油相；

▸ 在搅拌条件下，将水相缓缓加入至油相中，以10000转/min剪切5min，使形成均匀初乳，迅速转移至高压均质机中，均质6次，收集全部乳液，用0.1mol/L盐酸调节pH至4.0±0.5，并加水至200ml，摇匀，分装，115℃灭菌30分钟，即得。

亚微乳1-亚微乳4，乳化剂（蛋黄卵磷脂）用量分别为亚微乳剂总量的1.0%(g/ml)、1.2%(g/ml)、1.5%(g/ml) 和1.5%(g/ml)，助乳化剂泊洛沙姆(188) 用量为亚微乳剂总量的0.5%(g/ml)、1.0%(g/ml)、2.0%(g/ml) 和3.0%(g/ml)，紫杉醇的载药量分别为0.5mg/ml，1.0mg/ml，2.0mg/ml，4.0mg/ml。激光粒度测定仪测定，4组乳剂平均粒径分别为225nm，233nm，245nm，230nm。

试验制备例10-3：以紫杉醇胆固醇复合物为中间载体的紫杉醇亚微乳剂

[处方组成]

组分	亚微乳剂5	亚微乳剂6	亚微乳剂7	亚微乳剂8
实验复合物2*	190mg	380mg	760mg	1520mg
蛋黄卵磷脂	2g	2.4g	3g	3g
泊洛沙姆(188)	2.4g	4g	4g	6g
甘油	5g	5g	5g	5g

维生素E	/	/	/	40mg
大豆油	40ml	40ml	50ml	50ml
注射用水加至	200ml	200ml	200ml	200ml
总量	200ml	200ml	200ml	200ml

*实验复合物2为实施例1中制备得到的紫杉醇/胆固醇重量比为1:0.90的实验复合物2。

[制备方法]

▸ 取注射用水约130-140ml，按处方量加入泊洛沙姆(188)和甘油，置组织捣碎机中分散，制成均匀水相，加热至80℃，保温；

▸ 按处方量量取大豆油，预热至80℃，按处方量称取复合物2、蛋黄卵磷脂及维生素E，加至预热的大豆油中，置组织捣碎机中分散溶解制成均匀透明的油相；

▸ 在搅拌条件下，将水相缓缓加入至油相中，以 20000 转/min 剪切10 min，使形成均匀初乳，迅速转移至高压均质机中，均质6次，收集全部乳液，用0.1mol/L盐酸调节pH至5.5±0.5，并加水至200ml，摇匀，分装，115℃灭菌30分钟，即得。

亚微乳5-亚微乳8，乳化剂（蛋黄卵磷脂）用量分别为亚微乳剂总量的1.0%(g/ml)、1.2%(g/ml)、1.5%(g/ml) 和1.5%(g/ml)，助乳化剂泊洛沙姆(188) 用量为亚微乳剂总量的1.2%(g/ml)、2.0%(g/ml)、2.0%(g/ml) 和3.0%(g/ml)，紫杉醇的载药量分别为0.5mg/ml，1.0mg/ml，2.0mg/ml，4.0mg/ml。激光粒度测定仪测定，4组乳剂平均粒径分别为246nm，262nm，231nm，242nm。

试验制备例10-4：以紫杉醇胆固醇复合物为中间载体的紫杉醇亚微乳剂

[处方组成]

组分	亚微乳9	亚微乳10	亚微乳11	亚微乳12
实验复合物1*	145mg	290mg	580mg	1450mg
大豆磷脂	2.4g	2.4g	2.4g	3.0g
泊洛沙姆(188)	4g	4g	4g	4g

甘油	5g	5g	5g	5g
维生素E	/	/	/	40mg
中链油	40ml	40ml	50ml	50ml
注射用水加至	200ml	200ml	200ml	200ml
总量	200ml	200ml	200ml	200ml

*实验复合物1为实施例1中制备得到的紫杉醇/胆固醇重量比为1:0.45的实验复合物1。

[制备方法]

同试验制备例10-3，其中pH值调节为5.0±0.5。

亚微乳9-亚微乳12，乳化剂(大豆磷脂)用量分别为亚微乳剂总量的1.2%(g/ml)、1.2%(g/ml)、1.2%(g/ml) 和1.5%(g/ml)，助乳化剂泊洛沙姆(188) 用量均为亚微乳剂总量的2.0%(g/ml)，紫杉醇的载药量分别为0.5mg/ml，1.0mg/ml，2.0mg/ml和5.0mg/ml。激光粒度测定仪测定，4组乳剂平均粒径分别为165nm，153nm，127nm，138nm。

试验制备例10-5：以紫杉醇胆固醇复合物为中间载体的紫杉醇亚微乳剂

[处方组成]

组分	亚微乳13	亚微乳14	亚微乳15	亚微乳16
实验复合物1*	290mg	435mg	580mg	1450mg
大豆磷脂	2.4g	2.4g	2.4g	4.0g
泊洛沙姆(188)	3g	3g	4g	4g
甘油	5g	5g	5g	5g
油混合物**	40ml	40ml	40ml	50ml
注射用水加至	200ml	200ml	200ml	200ml
总量	200ml	200ml	200ml	200ml

*实验复合物1为实施例1中制备得到的紫杉醇/胆固醇重量比为1:0.45的实验复

合物1。

**油混合物为大豆油/中链油(体积比1:1)的混合物。

[制备方法]

同实施例3。其中pH值调节为4.5±0.5。

亚微乳13-亚微乳16，乳化剂（大豆磷脂）含量分别为亚微乳剂总量的1.2%(g/ml)、1.2%(g/ml)、1.2%(g/ml) 和2.0%(g/ml)，助乳化剂泊洛沙姆(188) 用量为亚微乳剂总量的1.5%(g/ml)、1.5%(g/ml)、2.0%(g/ml) 和2.0%(g/ml)，紫杉醇的载药量分别为1.0mg/ml，1.5mg/ml，2.0mg/ml和5.0mg/ml。激光粒度测定仪测定，4组乳剂平均粒径分别为145nm，138nm，133nm，146nm。

试验制备例10-6：以紫杉醇胆固醇复合物为中间载体的紫杉醇亚微乳剂

[处方组成]

组分	亚微乳17	亚微乳18	亚微乳19	亚微乳20
实验复合物2*	190mg	380mg	760mg	1520mg
蛋黄卵磷脂	3.0g	3.0g	4.0g	6.0g
泊洛沙姆(188)	4g	4g	6g	6g
甘油	5g	5g	5g	5g
油混合物**	30ml	40ml	50ml	60ml
注射用水加至	200ml	200ml	200ml	200ml
总量	200ml	200ml	200ml	200ml

*实验复合物2为实施例1中制备得到的紫杉醇/胆固醇重量比为1:0.90的实验复合物2。

**油混合物为大豆油/中链油(体积比1:1)的混合物。

[制备方法]

同实施例2。其中pH值调节为5.5±0.5。

亚微乳17-亚微乳20，乳化剂（蛋黄卵磷脂）含量分别为亚微乳剂总量的1.5%(g/ml)、1.5%(g/ml)、2.0%(g/ml) 和3.0%(g/ml)，助乳化剂泊洛沙姆(188) 用

量为亚微乳剂总量的2.0%(g/ml)、2.0%(g/ml)、3.0%(g/ml) 和3.0%(g/ml)，的紫杉醇的载药量分别为0.5mg/ml，1.0mg/ml，2.0mg/ml和5.0mg/ml。激光粒度测定仪测定，4组乳剂平均粒径分别为255nm，263nm，285nm，232nm。

试验制备例10-7：以紫杉醇胆固醇复合物为中间载体的紫杉醇亚微乳剂

[处方组成]

组分	亚微乳21	亚微乳22	亚微乳23	亚微乳24
实验复合物1*	145mg	290mg	580mg	1160mg
脂肪酸甘油酯	3.0g	4.0g	/	/
聚氧乙烯失水山梨醇脂肪酸酯	/	/	4.0g	6.0g
泊洛沙姆(188)	3g	4g	4g	6g
甘油	5g	5g	5g	5g
油酸	0.2g	0.2g	0.2g	0.2g
油混合物**	30ml	40ml	50ml	50ml
注射用水加至	200ml	200ml	200ml	200ml
总量	200ml	200ml	200ml	200ml

*实验复合物1为实施例1中制备得到的紫杉醇/胆固醇重量比为1:0.45的实验复合物1。

**油混合物为大豆油/中链油(体积比1:1)的混合物。

[制备方法]

同实施例3。

亚微乳21和22中，脂肪酸甘油酯乳化剂的用量为亚微乳剂总量的1.5%(g/ml)和2.0%(g/ml)，亚微乳23和24使用聚氧乙烯失水山梨醇脂肪酸酯为乳化剂、用量为亚微乳剂总量的2.0%(g/ml) 和3.0%(g/ml)。亚微乳21-亚微乳24中，助乳化剂泊洛沙姆(188)的用量为亚微乳剂总量的1.5%(g/ml)、2.0%(g/ml)、2.0%(g/ml) 和3.0%(g/ml)，紫杉醇的载药量分别为0.5mg/ml，1.0mg/ml，2.0mg/ml和4.0mg/ml。

激光粒度测定仪测定，4组乳剂平均粒径分别为145nm，133nm，126nm，158nm。

试验制备例10-8： 7-氢化胆固醇或麦角甾醇复合物为中间载体的亚微乳

[处方组成]

组分	亚微乳25	亚微乳26	亚微乳27	亚微乳28
实验复合物3*	290mg	/	/	/
实验复合物4*	/	5604mg	/	/
实验复合物5*	/	/	292mg	/
实验复合物6*	/	/	/	5720mg
大豆磷脂	2.4g	2.4g	2.4g	4.0g
泊洛沙姆(188)	3g	3g	4g	4g
甘油	5g	5g	5g	5g
油混合物**	40ml	40ml	40ml	50ml
注射用水加至	200ml	200ml	200ml	200ml
总量	200ml	200ml	200ml	200ml

*实验复合物3~实验复合物6为实施例1中制备得到的紫杉醇/7-氢化胆固醇复合物和紫杉醇/麦角甾醇复合物。

**油混合物为大豆油/中链油(体积比1:1)的混合物。

[制备方法]

同实施例5。

亚微乳25-亚微乳28中，紫杉醇的载药量均为1.0mg/ml。激光粒度测定仪测定，4组乳剂平均粒径分别为143nm，138nm，141nm，132nm。

试验制备例10-9：以参比复合物为中间载体的紫杉醇亚微乳剂

取试验制备例1项下制备的参比复合物1-参比复合物4，参照上述实施例亚微乳剂的制备方法，制备亚微乳剂29~亚微乳剂32，载药量分别为0.5、1.0、1.0和2.0mg/ml，用于对比研究。

具体处方、制备方法及测得的包封率结果如下：

[处方组成]

组分	亚微乳29	亚微乳30	亚微乳31	亚微乳32
参比复合物1*	655mg	/	/	/
参比复合物2*	/	1023mg	/	/
参比复合物3*	/	/	1100mg	/
参比复合物4*	/	/	/	4024mg
蛋黄卵磷脂	3g	3g	3g	3g
泊洛沙姆188	3g	3g	3g	3g
甘油	5g	5g	5g	5g
大豆油	40ml	40ml	50ml	50ml
注射用水加至	200ml	200ml	200ml	200ml
总量	200ml	200ml	200ml	200ml

*参比复合物1、2分别为试验制备例1项中制备得到的紫杉醇/磷脂重量比为1:5.55和重量比为1:9.23的两组参比复合物。

*参比复合物3、4分别为试验制备例1项中制备得到的胆固醇紫杉醇/磷脂重量比为1:4.50和1:9.06的两组参比复合物；

[制备方法]

取注射用水约130-140ml，按处方量加入蛋黄卵磷脂、泊洛沙姆(188)和甘油，置组织捣碎机中分散，制成均匀水相，加热至40-80℃，保温；

按处方量量取大豆油，预热至40-80℃，称取实施例1制备的紫杉醇胆固醇复合物1，溶于预热的大豆油中，置组织捣碎机中分散制成均匀油相；

在搅拌条件下，将水相缓缓加入至油相中，10000-20000转/min剪切5-10 min，使形成均匀初乳，迅速转移至高压均质机中，均质6次，收集全部乳液，用0.1mol/L盐酸调节pH至4.5±0.5，并加水至200ml，摇匀，分装，115℃25 灭菌30分钟，即得。

上述试验制备例中制备的亚微乳剂的稳定性考察与比较

取试验制备例10-2至试验制备例10-8制备的28组亚微乳和试验制备例10-9制备的4组亚微乳剂，分别于4℃条件下贮存12个月，于0、6、12个月取样，照如下方法考察外观、粒径、含量及杂质变化。

性状：目视法，按实物描述亚微乳剂的颜色，记录表面是否有油滴或分层现象。

粒径：取亚微乳剂，采用MASTER SIZER 2000激光粒度测定仪（MALVERN）测定粒径。

含量及有关物质：精密量取紫杉醇亚微乳剂适量，加无水乙醇破乳，制10 备合适浓度的供试溶液。精密量取供试液20μL注入色谱仪，照HPLC法，以Kromasil-C18(300mm×4.6mm，5μm)为色谱柱，乙腈—水（54：46）为流动相，流速1.0mL/min，检测波长230nm，柱温为室温，依法测定，记录色谱图，根据峰面积按外标法计算乳剂中药物含量，按归一化法计算杂质含量。

测定结果：详见下表。

表8 亚微乳剂稳定性比较结果

样品号/载药量	初始（制备后一周内测定）				4℃贮存12个月			
	外观	粒径	含量	杂质	均匀乳	粒径	含量	杂质
乳剂1/0.5 mg/ml	均匀乳	225nm	100.2%	0.33%	均匀乳	221nm	99.7%	0.67%
乳剂2/1.0mg/ml	均匀乳	233nm	97.6%	0.31%	均匀乳	245nm	97.3%	0.62%
乳剂3/2.0mg/ml	均匀乳	245nm	98.5%	0.31%	均匀乳	236nm	98.2%	0.64%
乳剂4/3.0mg/ml	均匀乳	230nm	97.6%	0.37%	均匀乳	237nm	97.0%	0.93%
乳剂5/0.5mg/ml	均匀乳	246nm	99.5%	0.35%	均匀乳	228nm	98.8%	0.52%
乳剂6/1.0mg/ml	均匀乳	262nm	100.3%	0.30%	均匀乳	255nm	99.5%	0.61%
乳剂7/2.0mg/ml	均匀乳	231nm	98.1%	0.36%	均匀乳	240nm	98.6%	0.57%
乳剂8/4.0mg/ml	均匀乳	242nm	99.6%	0.42%	均匀乳	251nm	97.3%	1.01%
乳剂9/0.5mg/ml	均匀乳	165nm	98.8%	0.35%	均匀乳	126nm	99.2%	0.56%
乳剂10/1.0mg/ml	均匀乳	153nm	101.6%	0.30%	均匀乳	133nm	100.7%	0.52%
乳剂11/2.0mg/ml	均匀乳	127nm	102.2%	0.32%	均匀乳	131nm	100.9%	0.55%

乳剂12/5.0mg/ml	均匀乳	138nm	99.8%	0.45%	均匀乳	155nm	99.4%	1.24%
乳剂13/1.0mg/ml	均匀乳	145nm	97.4%	0.31%	均匀乳	138nm	98.0%	0.57%
乳剂14/1.5mg/ml	均匀乳	138nm	100.3%	0.35%	均匀乳	136nm	98.7%	0.65%
乳剂15/2.0mg/ml	均匀乳	133nm	99.2%	0.31%	均匀乳	137nm	98.5%	0.63%
乳剂16/5.0mg/ml	均匀乳	146nm	98.5%	0.43%	均匀乳	173nm	97.2%	1.68%
乳剂17/0.5mg/ml	均匀乳	255nm	97.8%	0.32%	均匀乳	244nm	97.6%	0.57%
乳剂18/1.0mg/ml	均匀乳	263nm	99.2%	0.36%	均匀乳	259nm	99.5%	0.53%
乳剂19/2.0mg/ml	均匀乳	285nm	100.4%	0.33%	均匀乳	272nm	98.8%	0.61%
乳剂20/5.0mg/ml	均匀乳	232nm	101.4%	0.48%	均匀乳	258nm	97.8%	1.76%
乳剂21/0.5mg/ml	均匀乳	145nm	98.7%	0.36%	均匀乳	136nm	99.1%	0.59%
乳剂22/1.0mg/ml	均匀乳	133nm	98.2%	0.32%	均匀乳	127nm	97.6%	0.57%
乳剂23/2.0mg/ml	均匀乳	126nm	101.1%	0.38%	均匀乳	134nm	99.5%	0.56%
乳剂24/4.0mg/ml	均匀乳	158nm	98.8%	0.41%	均匀乳	163nm	97.9%	1.25%
乳剂25/1.0mg/ml	均匀乳	143nm	99.5%	0.33%	均匀乳	128nm	98.9%	0.56%
乳剂26/1.0mg/ml	均匀乳	138nm	97.8%	0.35%	均匀乳	132nm	97.4%	0.58%
乳剂27/1.0mg/ml	均匀乳	141nm	99.4%	0.30%	均匀乳	145nm	99.1%	0.61%
乳剂28/1.0mg/ml	均匀乳	132nm	98.6%	0.36%	均匀乳	126nm	98.2%	0.54%
乳剂29/0.5mg/ml	均匀乳	253nm	97.5%	0.92%	分层漂油	323nm	90.8%	7.63%
乳剂30/1.0mg/ml	分层	522nm	93.2%	6.27%	油水分离	未测	未测	未测
乳剂31/1.0mg/ml	均匀乳	247nm	98.6%	0.62%	均匀乳	263nm	94.7%	3.58%
乳剂32/2.0mg/ml	均匀乳	266nm	98.9%	0.78%	轻微分层	311nm	92.8%	4.64%

以本发明的类固醇复合物为中间载体制备的亚微乳1~亚微乳28，经冰箱（4℃）贮存12个月后，与初始相比，1）载药量为5.0mg/ml的乳剂平均粒径有增加趋势，但未见分层，外观和含量均无明显变化，杂质虽有增加但未超过2.0%； 2）载药量为4.0mg/ml的乳剂未见分层，粒径、外观和含量均无明显变化，杂质虽有增加但未超过1.3%；3）载药量3mg/ml的乳剂未见分层，粒径、外观及含量均无明显变化，杂质未超过1.0%；4）载药量为2mg/ml或以下时，外观性状、粒径和含量均无明显变化，杂质水平低于0.7%。

以参比的紫杉醇/磷脂复合物为中间载体制备亚微乳剂，1）当载药量为0.5mg/ml时可形成均匀乳剂（亚微乳剂29），放置至6个月时外观和粒径均无明显变化，杂质增加至3.0%，但放置至12个月后粒径显著增大，杂质水平已高达7%以上，含量明显下降，且出现分层

和漂油现象；2）当载药量增加到1.0mg/ml时，不能形成均匀乳剂（亚微乳剂30），初始时即能观察到药物结晶和油滴存在。

以参比的紫杉醇/胆固醇复合物为中间载体，当载药量为1.0mg/ml和2.0mg/ml时均可形成均匀乳剂（样品31~32），1）放置至6个月时，乳剂其外观、粒径、含量均无明显变化，杂质虽有升高，但均未超过1.5%；2）贮存至12个月后，乳剂粒径增大，含量下降，杂质分别上升到3.58%和4.64%，其中载药量为2.0mg/ml的乳剂还出现轻微分层现象。

权 利 要 求

1、一种紫杉醇/类固醇复合物，其特征在于，由紫杉醇与类固醇复合而成，紫杉醇与类固醇的摩尔比为1:0.2~4。

2、根据权利要求1所述的紫杉醇/类固醇复合物，其特征在于，紫杉醇与类固醇的摩尔比为1:0.25~2。

3、根据权利要求2所述的紫杉醇/类固醇复合物，其特征在于，紫杉醇与类固醇的摩尔比为1:0.33~1。

4、根据权利要求1~3中任一项所述的紫杉醇/类固醇复合物，其特征在于，所述类固醇为天然类固醇或其衍生物。

5、根据权利要求4所述的紫杉醇/类固醇复合物，其特征在于，所述的天然类固醇选自胆固醇、7-脱氢胆固醇、羊毛固醇、谷甾醇、菜籽固醇、真菌固醇、牡蛎固醇、豆甾醇、麦固醇和麦角固醇中的至少一种；所述的类固醇衍生物选自胆酸、脱氧胆酸、鹅脱氧胆酸中的至少一种。

6、根据权利要求1~5中任一项所述的紫杉醇/类固醇复合物，其特征在于，所述复合物还含有抗氧化稳定剂。

7、根据权利要求6所述的紫杉醇/类固醇复合物，其特征在于，所述抗氧化稳定剂选自亚硫酸氢钠、焦亚硫酸钠、维生素C、EDTA及其盐、维生素E及其衍生物中的至少一种。

8、权利要求1~7中任一项所述的紫杉醇/类固醇复合物的制备方法，其特征在于，包括如下步骤：

a.将紫杉醇与类固醇脂质材料按比例混合，加入适量有机溶剂溶解，任选地加入抗氧化稳定剂；

b.在合适的温度条件下搅拌，去除有机溶剂，真空干燥即得。

9、根据权利要求8所述的制备方法，其特征在于，在步骤a.）中，将分别取紫杉醇与类固醇，采用不同的有机溶剂溶解，之后混合。

10、根据权利要求8~9中任一项所述的制备方法，其特征在于，所述有机溶剂可选自二氯甲烷、乙醇、甲醇、苯甲醇、丙酮、乙酸乙酯、四氢呋喃、叔丁醇中的一种或多种。

11、根据权利要求8~9中任一项所述的制备方法，其特征在于，所述有机溶剂可选自乙醇、丙酮、乙酸乙酯和四氢呋喃中的一种或多种。

12、根据权利要求1~7中任一项所述的紫杉醇/类固醇复合物在制备水包油型亚微乳剂、干乳剂、自微乳系统或口服制剂中的应用。