

## (12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织  
国际局

(43) 国际公布日  
2008 年 7 月 10 日 (10.07.2008)



(10) 国际公布号  
**WO 2008/080369 A1**

- (51) 国际专利分类号:  
A61K 9/127 (2006.01) A61K 47/28 (2006.01)  
A61K 31/337 (2006.01) A61K 47/24 (2006.01)  
A61K 47/20 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2008/000014
- (22) 国际申请日: 2008 年 1 月 2 日 (02.01.2008)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:  
200610148707.2  
2006 年 12 月 30 日 (30.12.2006) CN
- (71) 申请人 (对除美国外的所有指定国): 上海艾力斯医药科技有限公司(SHANGHAI ALLIST PHARMACEUTICALS, INC.) [CN/CN]; 中国上海市蔡伦路 780 号 4 楼, Shanghai 201203 (CN)。
- (72) 发明人; 及
- (75) 发明人/申请人 (仅对美国): 刘善奎(LIU, Shankui) [CN/CN]; 中国上海市蔡伦路 780 号 4 楼, Shanghai 201203 (CN)。 李立民(LI, Limin) [CN/CN]; 中国上海市蔡伦路 780 号 4 楼, Shanghai 201203 (CN)。 郭建辉(GUO, Jianhui) [CN/CN]; 中国上海市蔡伦路 780 号 4 楼, Shanghai 201203 (CN)。
- (74) 代理人: 上海智信专利代理有限公司(SHANGHAI ZHI XIN PATENT AGENT LTD.); 中国上海市斜土路 1223 号之俊大厦 26 楼, Shanghai 200032 (CN)。
- (81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。
- (84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。
- 根据细则 4.17 的声明:  
— 关于申请人有权申请并被授予专利 (细则 4.17(ii))  
— 关于申请人有权要求在先申请的优先权 (细则 4.17(iii))  
— 发明人资格 (细则 4.17(iv))
- 本国际公布:  
— 包括国际检索报告。

(54) Title: STEADY LIPOSOMAL COMPOSITION

(54) 发明名称: 一种稳定的脂质体组合物

(57) Abstract: A steady liposomal composition is manufactured by using hydrogenated saturated phospholipid, cholesterol, and sodium or potassium salt of cholesterol sulfate as main film-forming lipid, using sucrose as lyophilizing excipient, and using the method of thin film evaporation-lyophilizing. This liposome is suitable for carrier of anticancer drug paclitaxel.

(57) 摘要:

一种稳定的脂质体组合物, 由氢化饱和磷脂、胆固醇以及胆固醇硫酸酯的钠盐或钾盐作为主要的成膜脂质, 以蔗糖作为冻干赋形剂, 采用薄膜蒸发-冷冻干燥的方法制备。该脂质体适合于作为抗癌药物紫杉醇的载体。

WO 2008/080369 A1

## 一种稳定的脂质体组合物

### 技术领域

本发明属于药物制剂领域，具体涉及一种稳定的脂质体及其组合物，及该脂质体组合物在包封紫杉醇方面的应用及制备方法，以及该紫杉醇脂质体组合物的用途。

### 技术背景

抗癌药物紫杉醇(paclitaxel)是从短叶红豆杉(*Taxus brevifolia* Nutt.)的树皮中提取的天然产物，用于治疗卵巢癌、乳腺癌及非小细胞肺癌。但因其在水中的溶解度极微，仅在甲醇、乙醇、二甲基亚砜等有机溶剂中可溶，因而给紫杉醇静脉给药带来极大困难。解决其溶解性的公知的方法之一，是采用表面活性剂聚氧乙烯蓖麻油和乙醇作为溶剂溶解紫杉醇，如1992年美国食品药品监督管理局(FDA)批准的紫杉醇注射液(美国百时美施贵宝公司生产，商品名为Taxol，在中国注册的商品名为泰素)。聚氧乙烯蓖麻油虽能增加紫杉醇的水溶性，但由于其在体内降解时能释放组织胺，从而可能发生严重的过敏反应。此外，紫杉醇本身亦有血液学毒性、骨髓抑制、白细胞减少、血小板减少、贫血及其它毒性。

因此，我们期望制备一种稳定的能够降低紫杉醇毒副作用的制剂，一方面避免由聚氧乙烯蓖麻油和乙醇复合溶媒带来的过敏反应，一方面降低紫杉醇的系统毒性。

将脂质体(liposome)作为紫杉醇给药的载体不失为达到该目的的一种方法。脂质体常用的成膜材料有磷脂类、胆固醇类、鞘磷脂类等两亲性物质，其中磷脂通常作为脂质双分子膜的主要构成成分，而胆固醇对调整膜的流动性、柔韧性起着重要的作用。

从1990年代初开始进行的紫杉醇脂质体的基础研究表明，紫杉醇脂质体制剂与注射剂相比，疗效相似，但毒性降低，耐受性提高。目前在紫杉醇脂质体研究领域，有多个公开的技术方案，如Sharma-A在《Int-J-Cancer》1997，71，103-107中报导用三种合成磷脂制成的紫杉醇脂质体，CN1378443A中提及的阳离子脂质体，CN1399958A中提及的采用超细磁流体制备的紫杉醇纳米磁性靶向制剂，WO9513053中提及的以磷脂酰甘油酯(PG)制备的荷电的紫杉醇脂质体，WO9318751、US5424073、US5648090、CN1275076A、CN1714094A中提及的以特别的磷脂--心磷脂(cardiolipid)制备的脂质体，CN1291474A中提及的含有氨基酸的紫杉醇脂质体，CN1391891A中提及的以两亲性聚乙二醇-二硬脂酰磷脂酰乙醇胺(PEG-DSPE)修饰脂质体膜制备的紫杉醇隐形脂质体。

在中国已经上市的注射用紫杉醇脂质体由南京思科药业有限公司生产（国药准字 H20030357，商品名为力扑素），据其说明书称，仍存在发生超敏反应的风险，需要提前注射地塞米松等进行抗过敏性预处理，与紫杉醇注射液相比，在耐受性方面并无明显改善。

在上述提及的这些技术方案中，未明确饱和磷脂的使用。而正如本领域技术人员所公知的，常用的脂质材料如天然卵磷脂、天然大豆磷脂中含有不饱和的脂肪酸基，易氧化水解成过氧化物、丙二醛、脂肪酸及溶血磷脂，后者可进一步水解成甘油磷酸复合物及脂肪酸等。磷脂的氧化水解还可使膜的流动性降低，促进药物渗漏。这些不稳定因素不利于脂质体产品的制备、贮存和临床上的安全使用。此外，带电荷的脂质体与血清或血液、细胞、组织的兼容性或相容性常是不可预期的，如强阳离子电性在血液中形成的大型聚集物导致有机体内血栓的形成。同时，如本领域技术人员所公知的，电荷可预料地影响双分子膜的稳定性，荷电磷脂形成的脂质体增加脂质体囊之间的排斥力，使之不易凝聚沉淀，但同时，双分子膜中荷同种电荷的磷脂会导致膜结构的不稳定性，因此过高的电荷对脂质体稳定的包封药物并非总是有益的。另外，隐形脂质体可使脂质体稳定，有效延长脂质体在体内的循环时间，但其采用两亲性聚乙二醇-二硬脂酰磷脂酰乙醇胺（PEG-DSPE）价格昂贵。此外，心磷脂（cardiolipid）这种特殊的脂质材料同样存在价格过高的问题。

在脂质体中，将胆固醇结合到磷脂形成的双分子膜中，可实现膜的稳定性以及适当的流动性和柔韧性。胆固醇的含量对药物包覆率、粒径均有显著影响。胆固醇的衍生物也经常用作脂质体的制备。如 US4891208 中提及的胆固醇半琥珀酸酯被用于与磷脂酰乙醇胺混合以制备 pH 敏感的脂质体。这种脂质体带有完全的负电荷，被细胞吸收的效率很低。CN1492876A 中公开的基于固醇骨架的两性化合物，环的 3-位被 1 个或多个等电点在 4 到 9 之间的两性基团取代，根据该专利公开的技术方案，需要复杂的合成工艺来生产这种胆固醇衍生物。体内多种因素影响 pH 值，但正如本领域技术人员所认识到的，基于体内 pH 值来控制药物的释放并不总是可靠的。

因此，如果能以来源广泛的普通脂质材料制备稳定的脂质体，同时控制其荷电量从而使其在体内过程更可预期，将有望弥补上述提到的技术方案的不足，提供一种新型的、质量稳定的、适合于工业化的药物载体。

## 发明内容

本发明提供了一种脂质体及其组合物，所述的脂质体不采用特殊的荷电磷脂，也避免使用昂贵的聚乙二醇-二硬脂酰磷脂酰乙醇胺（PEG-DSPE）和心磷脂（cardiolipid），而采用普通的氢化饱和磷脂、胆固醇、胆固醇硫酸酯的钠盐或钾盐作为主要载体，包裹活性成分，本发明所得脂质体组合物荷电量低、粒径均一性好，其与适宜载体组成的脂质体组合物质量非常稳定，具备工业化前景，弥补了现有脂质体技术之不足。

本发明还提供了一种脂质体组合物的制备方法，系采用薄膜蒸发-冷冻干燥的方法获得了稳定的脂质体组合物。

本发明还提供了一种同时提高脂质体稳定性和药物包封稳定性的方法，即在接近中性的成膜脂质材料中加入微量胆固醇硫酸酯的钠盐或钾盐，使脂质体分散体系的 zeta 电位保持在-15 到-35 毫伏（mV）的范围内。

本发明尤其提供了一种稳定的紫杉醇脂质体组合物及其制备方法，以及其在制备抗肿瘤药物方面的应用。

本发明还提供一种治疗人类癌症的方法。

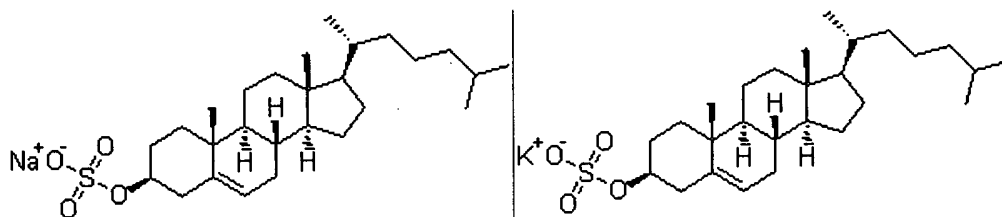
本发明通过优化脂质体组成来达到上述目的。制备本发明脂质体的必需组分之一是氢化饱和磷脂。通常，这种饱和磷脂含有的饱和脂肪酸基的碳原子数为 14~18。碳原子数小于 14，脂质体容纳内水相的能力降低，并且给予后，脂质体在血中的稳定性降低。另一方面，碳原子数过多，生物相容性降低，并且由于其碳链增长，相变温度升高，生产脂质体过程中需要非常高的温度，这对药物及脂质体的稳定性都是不利的因素。因此，本发明所使用的饱和磷脂选自例如：氢化饱和的大豆磷脂或卵磷脂、二棕榈酰磷脂胆碱、二硬脂酰磷脂酰胆碱。本发明使用的饱和磷脂不限于以上磷脂种类，凡含有的饱和脂肪酸基的碳原子数为 14~18 的磷脂，均适用于本发明的目的。

本发明优选的饱和磷脂选自氢化饱和的大豆磷脂、氢化饱和的卵磷脂、二棕榈酰磷脂胆碱、二硬脂酰磷脂酰胆碱，更优选氢化饱和的大豆磷脂、氢化饱和的卵磷脂。氢化饱和大豆磷脂优选纯度 97%以上，其主要成分为磷脂酰胆碱，同时含有微量的磷脂酰乙醇胺和肌醇磷脂，由于其脂肪链氢化饱和，从而防止水解氧化。

制备本发明脂质体的另一个必需组分是胆固醇。胆固醇与饱和磷脂一起作为成膜脂质，可以调节脂质双分子膜的流动性。

制备本发明脂质体的第三个必需组分是一类胆固醇的 3 位的衍生物，优选胆固醇硫酸酯的钠盐或钾盐。胆固醇硫酸酯钠盐系一种两亲性物质，美国上市的两性霉素胶体分散体（商品名 AMPHOCIL）即采用其作为脂质材料，与药物形成一种板状的分散体。在

US4822777、US5032582、US5194266 描述了这种组合物。在本发明中，创造性地将胆固醇硫酸酯的钠盐或钾盐，见式 I 和式 II 所示的分子结构，微量地添加在上述的脂质材料中，取得了意想不到的效果，得到稳定的平均粒径为 100~300nm，更进一步集中于 150~250nm 的脂质体。



式 I 胆固醇硫酸酯钠

式 II 胆固醇硫酸酯钾

胆固醇硫酸酯的钠盐或钾盐为一种荷负电的两亲性物质，其作用在于：（1）微量地加入到成膜脂质中，不会因电荷间的排斥而影响膜的形成；（2）由于其亲水端与磷脂亲水端的亲和作用，使脂质体的双分子膜更加稳定，增加了膜的柔韧性，形成粒径集中于 100~300nm，更进一步集中于 150~250nm 范围内的脂质体，同时，减少了药物的泄漏；（3）这种胆固醇的衍生物在体内可安全降解，不存在使用风险。

实现本发明脂质体的一个技术方案如下：

脂质体双分子层的成膜脂质由以下比例的物质组成：氢化饱和磷脂、胆固醇、胆固醇硫酸酯钠盐或钾盐的摩尔比例为：100:17~50:0.04~5，优选为 100:17~50:0.2~5，更优选这三类物质的摩尔比例为：100:35~45:0.5~2；以紫杉醇作为活性成分，其与氢化饱和磷脂的摩尔比例为：2~8.5:100，更优选 4~6:100。在该方案中，还可进一步包含天然型或合成维生素 E 作为抗氧化剂，其与氢化饱和磷脂的重量比为 0.13~1.25 :100，更优选 0.3~1:100。将上述物质按比例配制，以常用的脂质体制备方法可以得到本发明的脂质体，例如采用高压匀化法、微孔挤压法、超声分散法，优选采用高压匀化法。采用上述方法制备得到的脂质体的平均粒径在 100~300nm 范围内，优选 150~250nm。上述提到的参考文献中的脂质体的制备方法均引入本文作为参考。

如本领域技术人员所容易理解的，本发明脂质体不仅可用作紫杉醇的载体，同时适用于其它的紫杉烷类物质。同样，其他抗癌药物，如羟基喜树碱，也同样可以本发明的脂质体作为给药载体。其他药物，不论其水溶性的差异，在其性价比可以接受的前提下，

同样可采用本发明的脂质体作为载体。

将上述含有活性化合物的脂质体加入适宜载体可制成适宜的脂质体组合物形式，并以适宜的制剂形式供治疗使用。优选的一种组合物方案为：加入冻干保护剂，以冷冻干燥方法得到稳定的组合物形式，装入适宜容器，得到可供治疗使用的制剂形式。冻干保护剂具有稳定膜的作用，可维持在储存以及使用过程中脂质体的完整性。已知的冻干保护剂是多元醇类，如甘油、葡萄糖、蔗糖、乳糖、海藻糖、氨基酸等。在本发明中，优选蔗糖、乳糖、麦芽糖、葡萄糖作为冻干赋形剂，更优选蔗糖。按照本发明，冻干保护剂为氢化饱和磷脂重量的 1.5 至 10 倍，优选 4 至 9 倍。

本发明的载药脂质体组合物形式可通过上述冷冻干燥的方法来制备。例如，将活性成分、脂类物质，如果必要，和抗氧化剂，按比例溶解在适宜的溶剂中成澄清溶液，在 50℃~65℃ 恒温下，按照常规方法，如减压蒸发法，如果必要，在惰性气体存在下减压蒸发，除去该液体混合物中的溶剂，使之成膜，再加入溶有按比例计算的冻干赋形剂的水溶液，水化、超声或匀浆至细度为 0.1~0.30 微米之间，以 0.22 微米的微孔滤膜过滤除菌，分装入西林瓶等适宜的容器中，通过冷冻干燥从该混合物中除去溶剂，得到干燥的含药脂质体，再将包装容器封口或压盖，在封口和压盖之前可通惰性气体。

在上述脂质体组合物的制备方法中，不限制所使用的与脂质相关的溶剂的量，并且使脂质体溶解的液体的量是适宜的。通常，适宜的溶剂为非极性的或弱极性的并且能够蒸发后不留下毒性残余物。按照常规方法，如就通常所使用的有机溶剂而言，选自甲醇、乙醇、氯仿或它们的混合物。在本发明中，优选乙醇。本发明中采用的惰性气体选自氮气、氦气、氩气。以该制备方法制得的干燥的含药脂质体薄膜能够长期稳定贮存。

在本发明中，一个优选的方案是：活性成分为紫杉烷及其衍生物，更优选紫杉醇。本发明制备所得的紫杉醇注射给药制剂，其不含聚氧乙基代蓖麻油，避免了含聚氧乙基代蓖麻油导致的超敏反应，与常规紫杉醇注射液相比，提高了耐受性。

本发明所得紫杉醇脂质体取得了有益的效果：

#### （一）半成品及制剂的稳定性

本发明制备的紫杉醇脂质体组合物在冻干之前测定其 Zeta 电位，为 -35mV~ -15mV 之间，室温放置 24 小时，在此期间测定其 Zeta 电位，基本保持不变。脂质体在混悬的组合物中保持悬浮状态，不发生聚集。复溶后按照同样方法测定 24 小时，同样不会发生脂质体的聚集。粒径以及复溶以后的测定结果表明其粒径分布在 100~250nm。而以同样

组方但不含有硫酸胆固醇的脂质体在放置两个小时后，即发生沉降。

## (二) 治疗癌症的有效性及使用安全性

在动物试验中，紫杉醇脂质体给药组小鼠未表现出毒副反应，各项生理指标正常，而等剂量泰素组动物在给药后出现短暂昏迷。初步抗肿瘤试验结果表明，脂质体与等剂量泰素的抑瘤率无统计学差异。由此可知，本发明紫杉醇脂质体在抑瘤率相当的情况下，提高了生物体的耐受性。以紫杉醇作为活性成分制得的脂质体组合物，避免了含聚氧乙基代蓖麻油的紫杉醇制剂导致的超敏反应。根据复溶后紫杉醇脂质体的粒径分布和初步急毒试验结果，可分析得知其静脉注射后具有被动靶向特性，定向分布于网状内皮系统，从而降低紫杉醇的全身毒性，提高了患者用药的耐受性。

## (三) 产业化的可能性

本发明脂质体组合物，采用饱和磷脂和胆固醇作为成膜脂质，这些均为商业上可得到的药用制剂材料。避免使用磷脂-心磷脂等昂贵材料，降低了成本，更具产业化前景。本发明制备工艺简单，步骤少，采用的制剂设备为常规设备，便于投入工业化生产。

本发明所得的紫杉醇脂质体组合物可以适当方式和合理剂量安全地用于哺乳动物，可用作哺乳动物抗肿瘤的治疗剂，尤其可应用于人卵巢癌、卵巢转移性癌、乳腺癌、非小细胞肺癌的治疗，也可与顺铂联合用于癌症的治疗。

本发明紫杉醇脂质体治疗人类癌症的方法，包括对癌症患者施用含有有效剂量紫杉醇的紫杉醇脂质体或脂质体组合物，所述癌症的种类包括卵巢癌、卵巢转移性癌、乳腺癌和非小细胞肺癌。施用于癌症患者的方法包括静脉注射或腹腔注射或瘤体注射。

下面对本文所用术语作特别说明：

本文所用的术语“脂质体”，如本领域技术人员所公知，指主要由具有两亲性的磷脂分子和胆固醇聚合而成的封闭性小囊。在本文中，指一般意义上的单室脂质体。

本文所用的术语“脂质体组合物”是指脂质体与适宜的载体组成的适于临床使用的制剂组合物。

本文所用术语“成膜脂质”，指构成脂质体双分子层的材料，在本文中指磷脂和胆固醇及胆固醇衍生物所构成的总体，本文中“双分子层材料”与“成膜脂质具有同样的含义。

本文所用术语“饱和磷脂”，指磷脂分子中的脂肪酸基是基本饱和的，即脂肪酸基中基本不含“C=C”双键。文中“氢化磷脂”、“氢化饱和磷脂”与该术语是同样的含义。

本文所用术语“粒径”，是指以激光粒径测定仪测得的脂质体的平均粒径。

本文所用术语“胆固醇硫酸酯钠盐或钾盐”，是指式 I 和式 II 所示结构的化合物。

### 附图说明

图 1 为实施例 1 制得的脂质体的电镜照片。

图 2 为实施例 1 制得的脂质体冻干前粒径。

图 3 为实施例 1 制得的脂质体复溶后粒径分布。

### 具体实施方式

下面结合实施例对本发明作进一步详细的说明，实施例中由摩尔比换算得到的物料的重量投料，由于磷脂多为混合物，故在计算时取其大约分子量。涉及到的物质的分子量如下：

紫杉醇 853.9

氢化饱和大豆磷脂 762

氢化饱和卵磷脂 780

二硬脂酰磷脂酰胆碱 760

二棕榈酸磷脂酰胆碱 740

胆固醇 386.6

胆固醇硫酸酯钠 489

胆固醇硫酸酯钾 523

实施例作为例证的目的给出，不构成对本发明范围的限制。

#### **实施例 1 紫杉醇脂质体的制备**

处方：

紫杉醇 0.37g

氢化大豆磷脂 4g

胆固醇 1g

胆固醇硫酸酯钠 0.05g

维生素 E 0.055g

蔗糖 15g



注射用水 120ml

分别称取处方量的紫杉醇、氢化大豆磷脂、胆固醇、胆固醇硫酸酯钠、维生素 E 加入 100ml 无水乙醇，溶解后，以旋转蒸发仪在氮气存在情况下，抽干溶剂，制备成膜，置真空干燥器中过夜放置，除去残留溶剂。加入以注射用水溶解的蔗糖溶液，55℃水浴，磁力搅拌 1 小时，超声分散，用高压均质机均质，0.22 微米 PVDF 膜无菌过滤，分装入西林瓶，冷冻干燥。将西林瓶通氮气，压盖密封。

按照中国药典 2005 版二部附录 XI X E 中方法，测得样品的包封率为 93.0%。

按照中国药典 2005 版二部附录 XI X E 中方法，以激光粒径测定仪测定冻干前脂质体样品，其平均粒径为 138.6 纳米，注射用水复溶样品的平均粒径为 178.5 纳米。其电镜照片见图 1，粒径分布图见图 2 和图 3。

### 实施例 2 紫杉醇脂质体的制备

处方：

紫杉醇 0.09g

氢化大豆磷脂 4g

胆固醇 0.4g

胆固醇硫酸酯钾 0.006g

维生素 E 0.012g

乳糖 10g

注射用水 150ml

分别称取处方量的紫杉醇、氢化大豆磷脂、胆固醇、胆固醇硫酸酯钾、维生素 E 加入 100ml 无水乙醇，溶解后，用旋转蒸发仪制备成膜，置真空干燥器中过夜放置，除去残留溶剂。加入以注射用水溶解的蔗糖溶液，58℃水浴，磁力搅拌 1 小时，超声分散，依次采用 0.8,0.4,0.2 微米聚碳酸酯膜，用挤出器高压挤出，分装入西林瓶，冷冻干燥，压盖密封。

与实施例 1 同样方法测定，冻干前样品的平均粒径为 164.6 纳米，包封率为 92.1%。

### 实施例 3 紫杉醇脂质体的制备

处方：

紫杉醇 0.18g

氢化大豆磷脂 4g

胆固醇 0.9g

胆固醇硫酸酯钠 0.013g

维生素 E 0.04g

蔗糖 25g

注射用水 150ml

分别称取处方量的紫杉醇、氢化大豆磷脂、胆固醇、胆固醇硫酸酯钠、维生素 E 加入 100ml 无水乙醇，溶解后，用旋转蒸发仪制备成膜，置真空干燥器中过夜放置，除去残留溶剂。加入以注射用水溶解的蔗糖溶液，60℃水浴，磁力搅拌 1 小时，超声分散，用高压均质机均质，用 0.2 微米聚碳酸酯膜挤出，0.22 微米 PVDF 膜无菌过滤，分装入西林瓶，冷冻干燥，压盖密封。

与实施例 1 同样方法测定，冻干前样品的平均粒径为 152.6 纳米，包封率为 90.6%。

#### 实施例 4 紫杉醇脂质体的制备

处方

紫杉醇 0.2g

氢化大豆磷脂 4g

胆固醇 0.7g

胆固醇硫酸酯钾 0.012g

维生素 E 0.04g

蔗糖 15g

注射用水 150ml

分别称取处方量的紫杉醇、氢化大豆磷脂、胆固醇、胆固醇硫酸酯钾、维生素 E 加入 100ml 无水乙醇，溶解后，用旋转蒸发仪制备成膜，置真空干燥器中过夜放置，除去残留溶剂。加入以注射用水溶解的蔗糖溶液，50℃水浴，磁力搅拌 1 小时，超声分散，用高压均质机均质，用 0.2 微米聚碳酸酯膜挤出，0.22 微米 PVDF 膜无菌过滤，分装入西林瓶，冷冻干燥，压盖密封。

与实施例 1 同样方法测定，冻干前样品的平均粒径为 163.8 纳米，包封率为 93.2%。

#### 实施例 5 紫杉醇脂质体的制备

处方

紫杉醇 0.15g

二棕榈酰磷脂酰胆碱 2g

胆固醇 0.5g

胆固醇硫酸酯钠 0.005g

维生素 E 0.025g

蔗糖 6.5g

注射用水 75ml

分别称取处方量的紫杉醇、二棕榈酰磷脂酰胆碱、胆固醇、胆固醇硫酸酯钠、维生素 E 加入 100ml 无水乙醇，溶解后，用旋转蒸发仪制备成膜，置真空干燥器中过夜放置，除去残留溶剂。加入以注射用水溶解的蔗糖溶液，58℃水浴，磁力搅拌 1 小时，超声分散，依次采用 0.8,0.4,0.2 微米聚碳酸酯膜，用挤出器高压挤出，分装入西林瓶，冷冻干燥，压盖密封。

与实施例 1 同样方法测定，冻干前样品的平均粒径为 168.6 纳米，包封率为 96.4%。

#### 实施例 6 紫杉醇脂质体的制备

处方

紫杉醇 0.15g

氢化卵磷脂 4g

胆固醇 0.4g

胆固醇硫酸酯钾 0.001g

蔗糖 35g

注射用水 200ml

分别称取处方量的紫杉醇、氢化卵磷脂、胆固醇、胆固醇硫酸酯钾加入 100ml 无水乙醇，溶解后，用旋转蒸发仪制备成膜，置真空干燥器中过夜放置，除去残留溶剂。加入以注射用水溶解的蔗糖溶液，55℃水浴，磁力搅拌 1 小时，超声分散，用高压均质机均质，用 0.2 微米聚碳酸酯膜挤出，0.22 微米 PVDF 膜无菌过滤，分装入西林瓶，冷冻干燥，西林瓶中通以氩气，压盖密封。

与实施例 1 同样方法测定，冻干前样品的平均粒径为 178.5 纳米，包封率为 92.4%。

上述实施例中所用药理活性成分及主要原料来源如下：各种磷脂购买自 LIPOID GmbH 公司，胆固醇购买自河南郑州利伟生物实业有限公司，胆固醇硫酸酯钠和胆固醇硫酸酯钾购买自西安力邦制药有限公司，紫杉醇购买自上海迪赛诺生物医药有限公司，

蔗糖购买自默克中国公司。

### 实施例 7 紫杉醇脂质体组合物的稳定性试验

该试验旨在考察实施例中制备的脂质体样品的贮存稳定性和使用稳定性。

将实施例 1、2、3 中制得的干燥的紫杉醇脂质体组合物在 2~10℃ 长期稳定贮存，观察其外观，以注射用水复溶后，以显微镜观察，结果见表 1；将此溶液室温存放 12 小时，定时观察，结果见表 2。由结果可知，紫杉醇脂质薄膜在 2~10℃ 贮存 12 个月后，复溶后不发生聚集，无紫杉醇结晶析出；复溶后放置 12 小时，不发生聚集，无紫杉醇结晶析出。

表 1 紫杉醇脂质体低温（2~10℃）放置稳定性试验结果

样品来源	放置时间（月）	外观	复溶后显微镜检测
实施例 1	0	类白色疏松块状物	溶解后无结晶析出，外观均匀，不聚集
	1	类白色疏松块状物	溶解后无结晶析出，外观均匀，不聚集
	3	类白色疏松块状物	溶解后无结晶析出，外观均匀，不聚集
	6	类白色疏松块状物	溶解后无结晶析出，外观均匀，不聚集
	12	类白色疏松块状物	溶解后无结晶析出，外观均匀，不聚集
实施例 2	0	类白色疏松块状物	溶解后无结晶析出，外观均匀，不聚集
	1	类白色疏松块状物	溶解后无结晶析出，外观均匀，不聚集
	3	类白色疏松块状物	溶解后无结晶析出，外观均匀，不聚集
	6	类白色疏松块状物	溶解后无结晶析出，外观均匀，不聚集
	12	类白色疏松块状物	溶解后无结晶析出，外观均匀，不聚集
实施例 3	0	类白色疏松块状物	溶解后无结晶析出，外观均匀，不聚集
	1	类白色疏松块状物	溶解后无结晶析出，外观均匀，不聚集
	3	类白色疏松块状物	溶解后无结晶析出，外观均匀，不聚集
	6	类白色疏松块状物	溶解后无结晶析出，外观均匀，不聚集
	12	类白色疏松块状物	溶解后无结晶析出，外观均匀，不聚集

表 2 紫杉醇脂质体复溶后室温放置稳定性试验结果

样品来源	复溶后放置时间 (小时)	显微镜检测
实施例 1	0	溶解后无结晶析出, 外观均匀, 不聚集
	1	溶解后无结晶析出, 外观均匀, 不聚集
	3	溶解后无结晶析出, 外观均匀, 不聚集
	6	溶解后无结晶析出, 外观均匀, 不聚集
	12	溶解后无结晶析出, 外观均匀, 不聚集
实施例 2	0	溶解后无结晶析出, 外观均匀, 不聚集
	1	溶解后无结晶析出, 外观均匀, 不聚集
	3	溶解后无结晶析出, 外观均匀, 不聚集
	6	溶解后无结晶析出, 外观均匀, 不聚集
	12	溶解后无结晶析出, 外观均匀, 不聚集
实施例 3	0	溶解后无结晶析出, 外观均匀, 不聚集
	1	溶解后无结晶析出, 外观均匀, 不聚集
	3	溶解后无结晶析出, 外观均匀, 不聚集
	6	溶解后无结晶析出, 外观均匀, 不聚集
	12	溶解后无结晶析出, 外观均匀, 不聚集

#### 实施例 8 紫杉醇脂质体的急性毒性试验

该实施例旨在考察本发明紫杉醇脂质体按常规方式给药后的即时毒性反应和多次给药的耐受性。

将实施例 1 中制备的紫杉醇脂质体以注射用水复溶。试验动物: 昆明种雌性小鼠, 体重 18~20g, 随机分为 4 组, 每组 5 只, 阴性组给以与试验组最高体积的相应溶剂。在第 1, 4, 7 天对各组以静脉注射给药。

试验结果: (1)即时毒副反应观察: 各组小鼠给药后即时观察, 无明显毒副反应。(2)小鼠体重变化: 紫杉醇组给药后小鼠体重变化不大, 第三次给药后小鼠体重有下降, 之后体重逐步上升。空白溶剂组小鼠体重逐步上升。

具体结果见表 3。

表 3 紫杉醇脂质体急性毒性试验中动物体重变化

时间 (天)	各组小鼠体重动态变化称量结果 (g)		
	阴性	紫杉醇脂质体低剂量组 (40 mg/kg/次)	紫杉醇脂质体高剂量组 (50 mg/kg/次)
1	22.2±1.5	22.2±1.2	22.0±1.4
2	23.6±0.5	23.2±0.7	22.6±1.0
3	24.4±0.8	24.0±0.6	23.4±1.2
4	24.4±0.5	24.0±0.9	23.4±1.0
5	25.0±0.6	24.0±0.6	23.6±0.5
6	25.6±0.5	22.8±0.7	24.0±0.6
7	25.6±0.5	20.0±1.4	24.2±0.7
8	26.0±0.6	19.0±0.7	22.6±0.8
9	26.6±1.0	17.5±1.1	21.6±1.0
10	26.4±0.5	19.8±1.5	21.4±1.0
11	26.6±0.8	23.0±0.7	23.2±1.2
12	27.0±0.6	24.0±0.7	23.2±0.7

### 实施例 9 抗肿瘤作用试验

以实施例 1 中制备的紫杉醇脂质体组合物进行初步抗肿瘤试验。实验动物采用 C<sub>57</sub>BL/6 黑小鼠，雄性，体重 19~22g，随机分组，每组 10 只。取 B16 黑色素瘤源，采用匀浆法，以生理盐水 1: 6 制备成瘤细胞悬液，右腋皮下接种 B16 黑色素瘤，肿瘤接种后 24 小时，小鼠尾静脉注射给药，观察即时反应及体重变化。实验结束后，剖取肿瘤称重，按下式计算肿瘤抑制率。

$$\text{肿瘤抑制率}\% = [(\text{对照组平均瘤重} - \text{给药组平均瘤重}) / \text{对照组平均瘤重}] * 100\%$$

试验结果：(1) 即时反应观察：紫杉醇脂质体各组给药后无即时明显毒副性反应。泰素各组小鼠静脉给药后（注速为 1 ml/min），即时小鼠呈半昏迷状态，15 分钟左右可逐渐恢复。(2) 各组动物体重均无明显变化。(3) 在总剂量相等的情况下，紫杉醇脂质体与泰素的抑瘤效果无明显差异（见表 4）。

表 4 紫杉醇脂质体不同给药方案对小鼠黑色素瘤 B16（皮下接种）疗效试验

分组		给药方案	动物数（只）	抑瘤率
样品	剂量（mg/kg）		始/终	（%）
紫杉醇 脂质体	50	第 1、7 天静注给药	10/10	64.87
	33.3	第 1、5、9 天静注给药	10/10	65.38
	25	第 1、4、7、10 天静注给药	10/10	65.77
泰素	33.3	第 1、5、9 天静注给药	10/10	68.11
	25	第 1、4、7、10 天静注给药	10/10	69.18

## 权利要求

1、一种稳定的脂质体，其特征在于，所述脂质体的成膜脂质包含氢化饱和磷脂、胆固醇和胆固醇的 3 位取代衍生物，活性成分包裹在脂质体中。

2、如权利要求 1 所述的脂质体，其特征在于，所述胆固醇的 3 位取代衍生物选自胆固醇硫酸酯钠盐或胆固醇硫酸酯钾盐。

3、如权利要求 2 所述的脂质体，其特征在于，所述活性成分为紫杉烷类物质。

4、如权利要求 3 所述的脂质体，其特征在于，所述紫杉烷类物质为紫杉醇。

5、如权利要求 4 所述的脂质体，其特征在于，所述紫杉醇与氢化饱和磷脂的摩尔比例为：2~8.5:100。

6、如以上任一项权利要求所述的脂质体，其特征在于，所述氢化饱和磷脂选自氢化饱和大豆磷脂、氢化饱和卵磷脂、二棕榈酰磷脂酰胆碱和二硬脂酰磷脂酰胆碱中的一种或几种。

7、如以上任一项权利要求所述的脂质体，其特征在于，所述氢化饱和磷脂、胆固醇与胆固醇硫酸酯钠盐或钾盐的摩尔比例为：100:17~50:0.04~5。

8、如权利要求 7 所述的脂质体，其特征在于，所述氢化饱和磷脂、胆固醇与胆固醇硫酸酯钠盐或钾盐的摩尔比例为：100:35~45:0.5~2。

9、如以上任一项权利要求所述的脂质体，其特征在于，所述脂质体进一步包含天然型或合成维生素 E 作为抗氧化剂，其与氢化饱和磷脂的重量比为 0.13~1.25:100。

10、如以上任一项权利要求所述的脂质体，其特征在于，脂质体的平均粒径在 100 纳米至 300 纳米范围内。

11、一种包含权利要求 3 至 10 任一所述的脂质体的组合物，其特征在于，该组合物进一步包含冻干防护剂，其制剂形式为冻干剂。

12、如权利要求 11 所述的脂质体组合物，其特征在于，所述冻干防护剂选自蔗糖、乳糖、麦芽糖和葡萄糖。

13、如权利要求 12 所述的脂质体组合物，其特征在于，所述冻干防护剂为氢化饱和磷脂重量的 1.5~10 倍。

14、如权利要求 11 至 13 任一所述的脂质体组合物的制备方法，步骤为：将活性成分与成膜脂质，如有必要，和抗氧化剂，按比例搅拌溶于乙醇中，恒温 50℃~65℃，减压除去溶剂后成膜，加入冻干赋形剂的水溶液，水化、超声或匀浆或挤出至细度为 0.1~



5.0 微米之间，以 0.22 微米的微孔滤膜过滤除菌，分装，冷冻干燥后，得到白色块状的紫杉醇脂质体组合物。

15、权利要求 11 至 13 任一所述的脂质体组合物在制备抗癌药物方面的用途，其中癌症种类为卵巢癌、卵巢转移性癌、乳腺癌和非小细胞肺癌。

16、如权利要求 15 所述的用途，其特征在于，所述的脂质体组合物使用之前以注射用水复溶，再以 5%葡萄糖溶液稀释，其使用方式为静脉注射或腹腔注射或瘤体注射。

17、如权利要求 16 所述的用途，其特征在于，所述的脂质体组合物可与顺铂联合用于癌症的治疗。

18、一种治疗人类癌症的方法，包括对癌症患者施用含有有效剂量紫杉醇的如权利要求 11~13 任一所述的脂质体组合物，所述癌症的种类包括卵巢癌、卵巢转移性癌、乳腺癌和非小细胞肺癌。

19、如权利要求 18 所述的治疗人类癌症的方法，所述施用于癌症患者的方法包括静脉注射或腹腔注射或瘤体注射。

20、如权利要求 18 所述的治疗人类癌症的方法，包括将所述的脂质体组合物与有效剂量的顺铂联合使用。

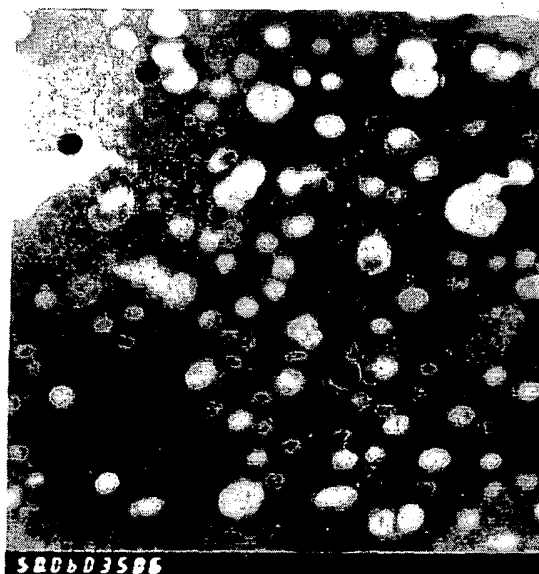


图 1

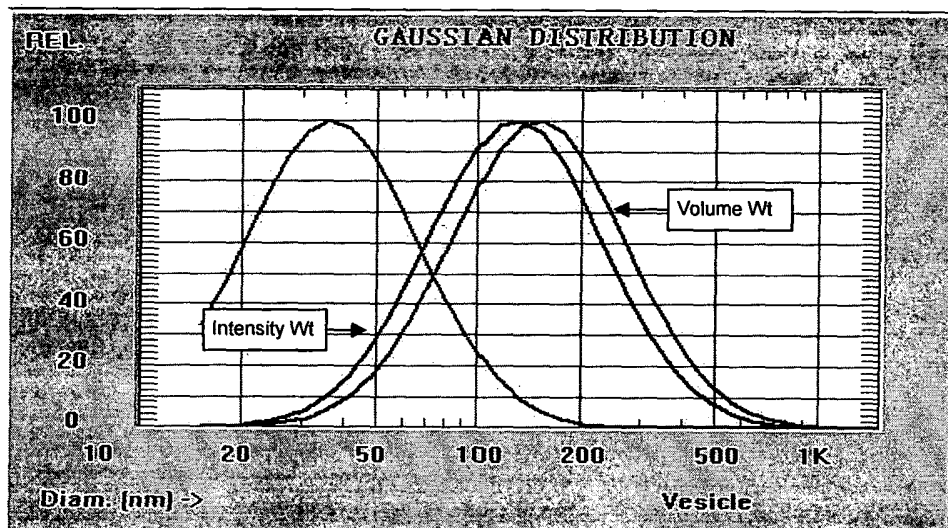


图 2

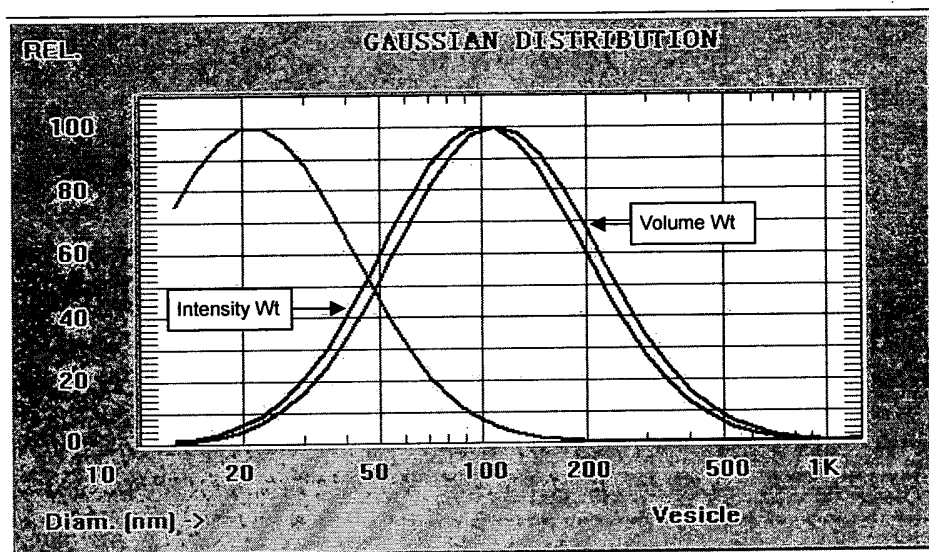


图 3

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2008/000014

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See extra sheet

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC: A61K, A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPODOC, WPI, PAJ, CA, MEDLINE, CPRS, CNKI: liposom+, phospholipid, saturated, hydrogenated, cholesterol, cholesterin, sulfate, sulfuric ester, paclitaxel, taxinol, taxane, taxol

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 4906477 A (Kurono et al), 06 Mar. 1990(06.03.1990), see claim 2	1-17
Y	Liu Hui et al, "effects of liposomes formulation and preparation method on the stability of acyclovir palmitate liposomes", Acta Pharmaceutica Sinica, 2002, vol. 37, no. 7, pages 563-566, see abstract	1-2, 6-14
Y	Cai Mingzhi, et al, "advances in the study on physical and chemical stabilities of liposome loading drug", Foreign Medical Sciences on Pharmacy, 2005, vol. 32, no. 6, pages 404-407, see page 406, lines 15-18 and lines 26-31	1-17

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex..

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"I" document which may throw doubts on priority claim (S) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 14 Mar.2008 (14.03.2008)	Date of mailing of the international search report <b>03 Apr. 2008 (03.04.2008)</b>
---	--

Name and mailing address of the ISA/CN  
The State Intellectual Property Office, the P.R.China  
6 Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, Beijing, China  
100088  
Facsimile No. 86-10-62019451

Authorized officer

LIU, Qiming

Telephone No. (86-10)62411122

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2008/000014

### Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 18-20  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
the subject-matter of claims 18-20 is directed to a method of therapeutical treatment.
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

### Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

- Remark on protest**
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
  - ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
  - ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2008/000014

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
US 4906477 A	06-03-1990	EP 0278465 A	17-08-1988
		JP 63196510 A	15-08-1988
		EP 0278465 B	01-04-1992
		DE 3869637 G	07-05-1992
		CA 1314214 C	09-03-1993
		JP 8025869 B	13-03-1996

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2008/000014

### CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 9/127 (2006.01) i  
A61K 31/337 (2006.01) i  
A61K 47/20 (2006.01) i  
A61K 47/28 (2006.01) i  
A61K 47/24 (2006.01) i  
A61P 35/00 (2006.01) i

# 国际检索报告

国际申请号  
PCT/CN2008/000014

## A. 主题的分类

参见附加页

按照国际专利分类表(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

## B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC: A61K, A61P

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

CPRS, CNKI: 脂质体, 磷脂, 饱和, 氢化, 胆固醇, 胆固醇硫酸酯, 紫杉醇, 紫杉烷

EPODOC, WPI, PAJ, MEDLINE, CA: liposom+, phospholipid, saturated, hydrogenated, cholesterol, cholesterin, sulfate, sulfuric ester, paclitaxel, taxinol, taxane, taxol

## C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
Y	US 4906477 A (Kuroono 等), 06.3 月 1990 (06.03.1990), 参见权利要求 2	1-17
Y	刘辉 等, “脂质体处方和制备方法对阿昔洛韦棕榈酸酯脂质体稳定性的影响”, 药学报, 2002 年, 第 37 卷, 第 7 期, 第 563-566 页, 参见摘要	1-2, 6-14
Y	蔡明志 等, “载药脂质体物理化学稳定性的研究进展”, 国外医药学分册, 2005 年, 第 32 卷, 第 6 期, 第 404-407 页, 参见第 406 页第 15-18 行和第 26-31 行	1-17

☐ 其余文件在 C 栏的续页中列出。

☒ 见同族专利附件。

\* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期  
14.3 月 2008 (14.03.2008)

国际检索报告邮寄日期  
03.4 月 2008 (03.04.2008)

中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN)  
中国北京市海淀区蓟门桥西土城路 6 号 100088  
传真号: (86-10)62019451

受权官员  
  
刘启明  
电话号码: (86-10) 62411122



# 国际检索报告

国际申请号  
PCT/CN2008/000014

## 第II栏 关于某些权利要求不能作为检索主题的意见(接第1页第2项)

按条约 17(2)(a)对某些权利要求未作国际检索报告的理由如下:

1. ☒ 权利要求: 18-20

因为它们涉及到不要求本国际检索单位进行检索的主题, 即:  
权利要求 18-20 涉及疾病的治疗方法。

2. ☐ 权利要求:

因为它们涉及到国际申请中不符合规定的要求的部分, 以致不能进行任何有意义的国际检索,  
具体地说:

3. ☐ 权利要求:

因为它们是从属权利要求, 并且没有按照细则 6.4(a)第 2 句和第 3 句的要求撰写。

## 第III栏 关于缺乏发明单一性时的意见(接第1页第3项)

本国际检索单位在该国际申请中发现多项发明, 即:

1. ☐ 由于申请人按时缴纳了被要求缴纳的全部附加检索费, 本国际检索报告针对全部可作检索的权利要求。

2. ☐ 由于无需付出有理由要求附加费的劳动即能对全部可检索的权利要求进行检索, 本国际检索单位未通知缴纳任何附加费。

3. ☐ 由于申请人仅按时缴纳了部分被要求缴纳的附加检索费, 本国际检索报告仅涉及已缴费的那些权利要求。  
具体地说, 是权利要求:

4. ☐ 申请人未按时缴纳被要求的附加检索费。因此, 本国际检索报告仅涉及权利要求中首次提及的发明;  
包含该发明的权利要求是:

关于异议的说明: ☐ 申请人缴纳了附加检索费, 同时提交了异议书, 缴纳了异议费。

☐ 申请人缴纳了附加检索费, 同时提交了异议书, 但未缴纳异议费。

☐ 缴纳附加检索费时未提交异议书。

国际检索报告  
关于同族专利的信息

国际申请号  
PCT/CN2008/000014

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
US 4906477 A	06-03-1990	EP 0278465 A	17-08-1988
		JP 63196510 A	15-08-1988
		EP 0278465 B	01-04-1992
		DE 3869637 G	07-05-1992
		CA 1314214 C	09-03-1993
		JP 8025869 B	13-03-1996

主题的分类

A61K 9/127 (2006.01) i  
A61K 31/337 (2006.01) i  
A61K 47/20 (2006.01) i  
A61K 47/28 (2006.01) i  
A61K 47/24 (2006.01) i  
A61P 35/00 (2006.01) i